HAL open science

SUMO régule la capacité de TRIM5α à inhiber le VIH-1

Sébastien Nisole, Juliette Fernandez, Ghizlane Maarifi, Nathalie Arhel

To cite this version:

Sébastien Nisole, Juliette Fernandez, Ghizlane Maarifi, Nathalie Arhel. SUMO régule la capacité de TRIM5α à inhiber le VIH-1. Médecine/Sciences, 2019, 35 (2), pp.106-109. 10.1051/medsci/2019016 . hal-02142253

HAL Id: hal-02142253

https://hal.science/hal-02142253v1

Submitted on 6 Jul 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

SUMO régule la capacité de TRIM5α à inhiber le VIH-1

Sébastien Nisole, Juliette Fernandez, Ghizlane Maarifi, Nathalie J. Arhel

Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier (IRIM), Université de Montpellier, CNRS UMR 9004, 1919, route de Mende, 34090 Montpellier, France.
sebastien.nisole@irim.cnrs.fr
nathalie.arhel@irim.cnrs.fr

Les facteurs de restriction rétrovirale

Comme tous les virus, les rétrovirus, dont le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1), sont des « parasites » intracellulaires stricts. Le VIH-1 infecte essentiellement les lymphocytes T CD4$^+$, mais également les cellules dendritiques et les macrophages. Suite à l'entrée du virus dans ses cellules-cibles, la capside contenant l'ARN viral chemine à travers le cytoplasme jusqu'à la membrane nucléaire où l'ARN viral est rétrotranscrit en ADN double-brin. De façon concomitante, la capside subit un désassemblage contrôlé, permettant la translocation du complexe de pré-intégration contenant l'ADN proviral à travers les pores nucléaires afin qu'il s'intègre au génome de la cellule. Une fois intégré, la transcription, l'épissage et la traduction des ARN viraux néo-synthétisés sont assurés par la machinerie cellulaire et les nouvelles particules virales sont assemblées et libérées à la surface des cellules. Parallèlement au détournement de la machinerie cellulaire à son profit, le VIH-1 doit également éviter, ou contrecarrer, un arsenal de défenses cellulaires mis en place pour limiter sa réplication. Ces défenses sont assurées par des protéines cellulaires connues sous le terme de *facteurs de restriction*, qui interfèrent avec de multiples étapes de son cycle réplicatif [1]. APOBEC3G (*apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic subunit 3G*), TRIM5α (*tripartite motif protein 5α*), SAMHD1 (*sterile alpha motif and histidine-aspartate domain-containing protein 1*), Mx2 (*MX dynamin-like GTPase 2*), et BST-2 (*bone marrow stromal antigen 2*), sont quelques-uns des nombreux facteurs de restriction identifiés depuis une quinzaine d'années, mais il est vraisemblable que d'autres facteurs de restriction anti-VIH restent encore à découvrir [2] (➜).

(➜) Voir la Nouvelle de G. Chougui *et al*, *m/s* n° 1, janvier 2019, page 9

TRIM5α est une protéine appartenant à la famille TRIM, qui regroupe des protéines présentant une organisation commune, constituée de 3 domaines conservés comprenant un domaine RING[1], un ou deux motifs B-Box[2] et une région superhélice (*coiled-coil*). TRIM5α possède, en plus de ces 3 domaines canoniques, un domaine B30.2[3] à son extrémité C-terminale, qui lui permet de reconnaître la capside virale après son entrée dans le cytoplasme *(Figure 1A)*. En réponse à cette reconnaissance, la protéine s'auto-oligomérise autour de la capside et entraîne son désassemblage précoce, inhibant ainsi la réplication du virus [3]. C'est chez le macaque rhésus que cette activité antivirale de TRIM5α a été découverte en 2004 [4]. En effet, comme la plupart des singes, les macaques résistent à l'infection par le VIH-1 grâce à l'expression de cette protéine dans leurs cellules [5]. Les cellules humaines sont, quant à elles, incapables de bloquer le VIH-1, mais la protéine TRIM5α humaine peut cependant inhiber certains rétrovirus équins et murins [4].

Régulation des facteurs de restriction

Comme tout processus cellulaire, la restriction rétrovirale est un mécanisme hautement régulé et ce, à de multiples niveaux. Cette régulation s'effectue initialement au niveau transcriptionnel puisque la plupart des facteurs de restriction ne sont pas ou peu transcrits constitutivement. Ils sont induits par les interférons de type 1, des cytokines sécrétées par les cellules infectées qui déclenchent une réponse antivirale dans les cellules avoisinantes afin de limiter la propagation virale [5]. Un autre niveau de régulation important est constitué par les modifications post-traductionnelles. La plus fréquente de ces modifications, la phosphorylation, régule par exemple l'activité antivirale de SAMHD1 [6]. L'autre principale modification post-traductionnelle est l'ubiquitination, qui consiste en la fixation covalente d'une ou de plusieurs protéines d'ubiquitine sur une protéine cible, ce qui conduit, en général, à sa dégradation par le protéasome. C'est par ce mécanisme que le VIH-1 contrecarre la restriction imposée par APOBEC3G ou BST-2 [1]. De nombreuses modifications apparentées à l'ubiquitination existent, comme la SUMOylation, l'ISGylation[4] ou la NEDDylation, qui impliquent toutes la fixation covalente mais réversible d'une

[1] Un motif présent dans plusieurs centaines de protéines humaines et impliqué dans les réactions d'ubiquitination.

[2] Un motif dont la structure est proche de celle des domaines RING.

[3] Ce domaine a initialement été identifié sur la base de son homologie de séquence avec la protéine codée par l'exon B30.2, présent, chez l'homme, dans la région génétique contenant les gènes codant les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe 1.

[4] L'ISGylation, processus similaire à l'ubiquitination ou la SUMOylation, consiste en l'ajout d'une petite protéine ISG15 (*Interferon-stimulated gene 15*) à une protéine-cible. De la même façon, la NEDDylation consiste en l'ajout du peptide NEDD8.

m/s n° 2, vol. 35, février 2019
https://doi.org/10.1051/medsci/2019016

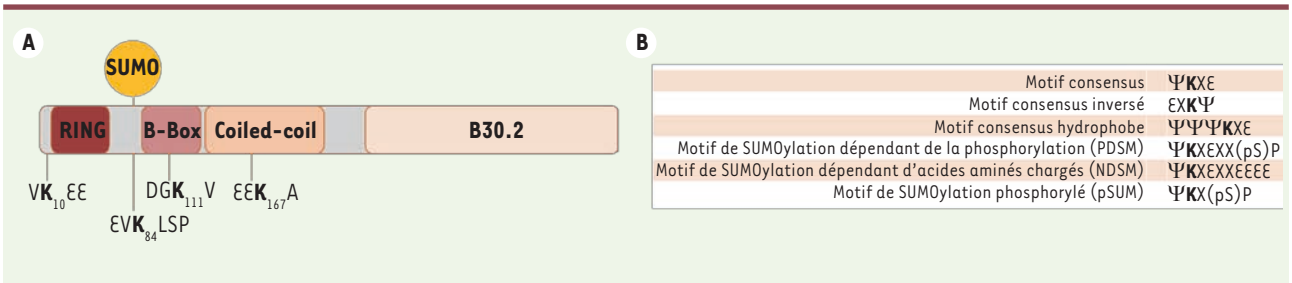

Figure 1. ***Identification des sites de SUMOylation dans TRIM5a. A.*** Représentation schématique de la protéine TRIM5α. Le principal site de SUMOylation ainsi que les autres sites de SUMOylation potentiels identifiés dans la protéine TRIM5α humaine sont représentés. ***B.*** Principaux motifs consensus de SUMOylation décrits dans la littérature. Ψ, acide-aminé hydrophobe ; X, résidu quelconque ; pS, sérine phosphorylée.

petite protéine à une protéine acceptrice. La SUMOylation, par exemple, consiste en la conjugaison d'une ou plusieurs protéines SUMO au niveau d'un résidu lysine d'une protéine cible. Cette modification peut modifier la stabilité, la localisation sub-cellulaire ou l'activité d'une protéine [7]. Tout comme l'ubiquitination, la SUMOylation fait intervenir 3 enzymes : une enzyme activatrice E1 (hétérodimère SAE1/SAE2 [*SUMO-1-activating enzyme 1/2*]), une enzyme de conjugaison E2 (Ubc9 [*ubiquitin-conjugating enzyme 9*]) et l'une des nombreuses E3-SUMO ligases. Le site consensus de SUMOylation est constitué du motif ΨKXE, dans lequel Ψ est un acide-aminé hydrophobe (Ile, Leu ou Val), X un résidu quelconque, et E un acide-aminé acide (Glu ou Asp). Outre ce motif principal, d'autres motifs alternatifs ont été décrits, dont les principaux exemples sont représentés sur la *Figure 1B* [7].

SUMO régule l'activité et la localisation sub-cellulaire de TRIM5α

Il était présumé depuis plusieurs années que l'activité de restriction de TRIM5α pouvait être régulée par SUMO, mais la preuve de cette implication n'a été apportée que récemment, et le mécanisme mis en jeu vient d'être élucidé [8-10]. En 2015, nous avons montré que la surexpression de SUMO exacerbait l'activité anti-VIH de TRIM5α, tandis que l'extinction de la machinerie de SUMOylation par ARN interférence l'inhibait, suggérant ainsi que la SUMOylation de TRIM5α pourrait réguler son activité [8]. Nous avons pu confirmer que TRIM5α constituait un substrat de SUMO, puisque nous sommes parvenus à détecter pour la première fois des formes SUMOylées de TRIM5α dans des expériences de SUMOylation *in vitro* ainsi que dans des cellules surexprimant TRIM5α, Ubc9 et SUMO. Nous avons initialement constaté que l'enzyme E3-SUMO ligase PIAS1 (*protein inhibitor of activated STAT 1*) pouvait catalyser la SUMOylation de TRIM5α *in vitro*, en modifiant la lysine K10 localisée au sein d'un site consensus ΨKXE ($VK_{10}EE$) de la protéine. Cependant, la mutation de ce résidu K10 s'est révélée sans effet sur la capacité de TRIM5α à inhiber l'infection par le VIH-1, remettant temporairement en question l'implication de SUMO dans son activité de restriction.

Récemment, nous avons à nouveau examiné cette implication sur la base d'une nouvelle hypothèse : étant donné que PIAS1 est exclusivement nucléaire et qu'à l'inverse, TRIM5α exerce son activité dans le cytoplasme, il paraissait peu vraisemblable que cette E3-SUMO ligase soit responsable de la SUMOylation de TRIM5α *in vivo*. Nous avons donc entrepris d'identifier la E3-SUMO ligase responsable de la SUMOylation de TRIM5α *in vivo*, en limitant l'étude aux enzymes dont la localisation était compatible avec celle de TRIM5α [10]. Nous avons ainsi identifié RanBP2 (*Ras-related nuclear protein-binding protein 2*) comme étant la E3-SUMO ligase qui modifie TRIM5α dans les cellules humaines. RanBP2, également nommée Nup358, est une protéine de la famille des nucléoporines, qui forme des filaments sur la face cytoplasmique des pores nucléaires et est notamment impliquée dans le transport nucléo-cytoplasmique des protéines. Il est intéressant de noter que RanBP2 est également la protéine qui permet l'ancrage des capsides de VIH-1 au pore nucléaire, prérequis à la translocation des complexes de pré-intégration dans le noyau [11]. RanBP2 est associée aux protéines RanGAP (*Ran GTPase-activating protein*), Ubc9 et SUMO pour former un complexe multiprotéique impliqué dans la SUMOylation de protéines dans le cytoplasme [12]. Nous avons pu montrer que TRIM5α est associée à ce complexe et que RanBP2 est responsable de sa conjugaison à SUMO *(Figure 2)*.

Une fois l'enzyme E3 identifiée, il nous restait alors à déterminer quel résidu était la cible de cette SUMOylation. En effet, PIAS1 n'étant pas l'enzyme responsable de la SUMOylation de TRIM5α dans les cellules. Il paraissait donc vraisemblable qu'un résidu autre que K10 en soit le substrat. Nous avons testé cette hypothèse et découvert que la protéine TRIM5α mutée sur le résidu K10 était toujours SUMOylée *in vivo* [10]. La recherche d'autres sites potentiels de SUMOylation a permis d'identifier trois autres lysines potentiellement SUMOylables : K84, K111 et K167 dans la pro-

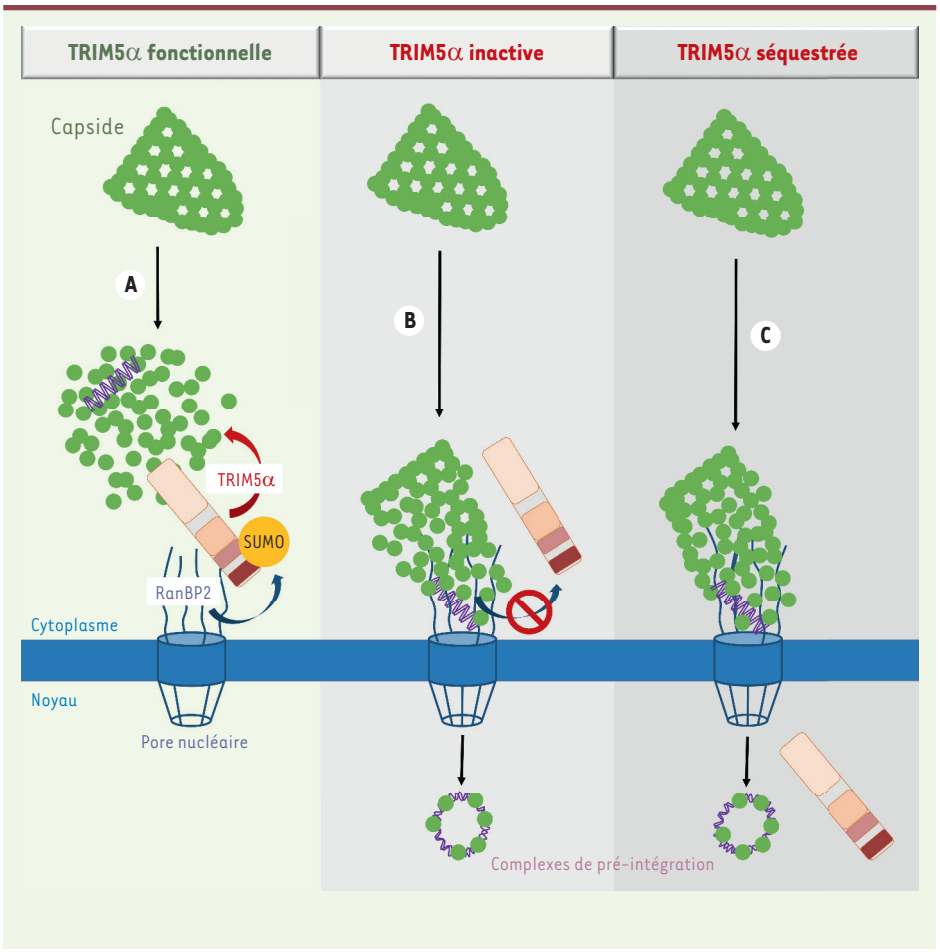

Figure 2. La SUMOylation de la protéine TRIM5a par RanBP2 régule son activité antivirale. Suite à l'entrée du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) dans le cytoplasme de ses cellules-cibles, la capside virale chemine vers les pores nucléaires. Le désassemblage contrôlé des capsides et la rétro-transcription de l'ARN viral conduisent à la formation des complexes de pré-intégration qui vont être transloqués dans le noyau. ***A.*** La capside du VIH-1 subit un désassemblage précoce par la protéine TRIM5α (*tripartite motif protein 5α*) quand celle-ci est SUMOylée par RanBP2 (*Ras-related nuclear protein -binding protein 2*). ***B.*** L'inhibition de la SUMOylation de la protéine TRIM5α l'inactive et restaure ainsi la capacité du VIH-1 à réaliser son cycle de réplication. ***C.*** Dans les cellules dendritiques, TRIM5α est incapable de reconnaître les capsides dans le cytoplasme car elle est déSUMOylée et séquestrée dans le noyau des cellules.

téine humaine, et K85, K113 et K169 dans celle de macaque rhésus *(Figure 1A)* [10]. Dans nos expériences, la protéine TRIM5α humaine mutée sur la lysine 84 fut la seule à ne plus être SUMOylée dans les cellules, démontrant que le site EVK$_{84}$LSP était le principal site de SUMOylation de la protéine TRIM5α par RanBP2 *(Figure 1A)*. Ce site correspond à deux consensus différents puisqu'il constitue un motif consensus inversé ainsi qu'un motif de SUMOylation phosphorylé (pSUM) caractérisé par la présence d'une sérine phosphorylée (pSer) *(Figure 1B)* [7]. Ce mutant de TRIM5α est incapable d'inhiber l'infection virale, démontrant ainsi que la SUMOylation de TRIM5α par RanBP2 sur le résidu K84 est indispensable à son activité de restriction *(Figure 2A)*. Ainsi, la mutation de ce résidu ou l'extinction de l'expression de RanBP2 par ARN interférence empêche TRIM5α d'exercer son activité, comme illustré dans la *Figure 2B*.

Une autre observation intéressante a permis de mettre en évidence un niveau supplémentaire de contrôle de l'activité antivirale de TRIM5α par la machinerie SUMO. Nous avons en effet constaté que la SUMOylation de TRIM5α régulait non seulement son activité, mais également sa localisation sub-cellulaire. Nous avons ainsi pu montrer que la SUMOylation de TRIM5α lui permettait de transiter entre le cytoplasme et le noyau [9]. Si TRIM5α est déSUMOylée dans le noyau, elle y est alors séquestrée et perd ainsi sa capacité à bloquer les capsides virales présentes dans le cytoplasme [9] *(Figure 2C)*. Cette séquestration nucléaire de TRIM5α peut être provoquée artificiellement *in vitro*, mais elle peut également être physiologique, notamment dans les cellules dendritiques. Dans ces cellules, la déSUMOylation de TRIM5α entraîne sa séquestration dans des corpuscules nucléaires appelés corps de Cajal, ce qui conduit à une absence de restriction dans ces cellules [9, 13].

L'ensemble de nos travaux a donc permis de démontrer que SUMO constitue un régulateur majeur des fonctions antivirales de TRIM5α. Il a permis de mettre en évidence le rôle central des pores nucléaires et également la dualité de la protéine RanPB2, bloquant l'infection par le VIH-1 dans les cellules, mais détournée par le virus pour assurer sa réplication. ◊

SUMO regulates the capacity of TRIM5α to inhibit HIV-1

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par l'Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales (ANRS), le programme ATIP/Avenir et le Labex EpiGenMed, au titre du programme « Investissements d'avenir » (ANR-10-LABX-12-01).

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Soliman M, Srikrishna G, Balagopal A. Mechanisms of HIV-1 control. *Curr HIV/AIDS Rep* 2017 ; 14 : 101-9.
2. Chougui G, Martin M, Matkovic R *et al*. Vpx n'a pas dit son dernier mot : « Hush ! ». *Med Sci (Paris)* 2019 ; 35 : 9-12.
3. Stremlau M, Perron M, Lee M, *et al.* Specific recognition and accelerated uncoating of retroviral capsids by the TRIM5alpha restriction factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 5514-9.
4. Stremlau M, Owens CM, Perron MJ, *et al.* The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in old world monkeys. *Nature* 2004 ; 427 : 848-53.
5. Bourke NM, Napoletano S, Bannan C, *et al.* Control of HIV infection by IFN-alpha: implications for latency and a cure. *Cell Mol Life Sci* 2018 ; 75 : 775-83.
6. Cribier A, Descours B, Valadao AL, *et al.* Phosphorylation of SAMHD1 by cyclin A2/CDK1 regulates its restriction activity toward HIV-1. *Cell Rep* 2013 ; 3 : 1036-43.
7. Flotho A, Melchior F. Sumoylation: a regulatory protein modification in health and disease. *Annu Rev Biochem* 2013 ; 82 : 357-85.
8. Dutrieux J, Portilho DM, Arhel NJ, *et al.* TRIM5alpha is a SUMO substrate. *Retrovirology* 2015 ; 12 : 28.
9. Portilho DM, Fernandez J, Ringeard M, *et al.* Endogenous TRIM5alpha function Is regulated by SUMOylation and nuclear sequestration for efficient innate sensing in dendritic cells. *Cell Rep* 2016 ; 14 : 355-69.
10. Maarifi G, Fernandez J, Portilho DM, *et al.* RanBP2 regulates the anti-retroviral activity of TRIM5α by SUMOylation at a predicted phosphorylated SUMOylation motif. *Commun Biol* 2018 ; 1 : 193.
11. Di Nunzio F, Danckaert A, Fricke T, *et al.* Human nucleoporins promote HIV-1 docking at the nuclear pore, nuclear import and integration. *PloS One* 2012 ; 7 : e46037.
12. Werner A, Flotho A, Melchior F. The RanBP2/RanGAP1*SUMO1/Ubc9 complex is a multisubunit SUMO E3 ligase. *Mol Cell* 2012 ; 46 : 287-98.
13. Arhel NJ, Nisole S, Carthagena L, *et al.* Lack of endogenous TRIM5alpha-mediated restriction in rhesus macaque dendritic cells. *Blood* 2008 ; 112 : 3772-6.

NOUVELLE

Lumière sur le « *twist* » final du parasite *Toxoplasma* pour envahir sa cellule hôte nourricière

Isabelle Tardieux

Institut pour l'avancée des biosciences (IAB), équipe dynamique membranaire des interactions parasite-hôte, CNRS UMR5309, Inserm U1209, Université Grenoble Alpes, allée des Alpes, 38700 Grenoble, France.
isabelle.tardieux@inserm.fr

› Au sein des écosystèmes, les relations trophiques gouvernent une large part des interactions entre microorganismes et autres organismes membres de la biocénose[1]. Dans ce contexte, le parasitisme décrit une association étroite et en équilibre dynamique entre deux organismes, le premier étant qualifié de parasite, et le second, d'hôte. Chez l'hôte, se déploie une série d'interactions bilatérales selon des modalités remarquablement variées pour chaque couple hôte-parasite et soumises à un ajustement continu impulsé par le processus co-évolutif. Dans certaines situations, le parasitisme se traduit par des dommages tissulaires locaux et/ou systémiques chez l'hôte qui menacent alors chacun des partenaires. Ainsi, dans le monde des microorganismes eucaryotes unicellulaires, ceux responsables de parasitoses humaines parfois mortelles, comme le paludisme (*Plasmodium spp.*) et la toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*), sont-ils étudiés à de nombreuses échelles afin de décoder les échanges bilatéraux, dont témoigne la réalisation du programme de développement du parasite au cours des phases symptomatique, mais également asymptomatique du parasitisme.

Les genres *Plasmodium et Toxoplasma* sont génétiquement apparentés et appartiennent au très large phylum des *Apicomplexa*. Ils partagent une capacité « adaptative » de différenciation se traduisant sous la forme de stades biologiques singuliers qui se développent dans des tissus distincts [1]. Chez les hôtes vertébrés homéothermes, les « zoïtes » des Apicomplexes sont les stades mobiles et invasifs qui garantissent au parasite l'accès aux ressources nutritives offertes par la cellule hôte et qui sont nécessaires à l'expansion transitoire intra-hôte de la population invasive. C'est le plus souvent la répétition de la triade « invasion de... - multiplication dans... - évasion hors de... » la cellule hôte qui est la cause première des dommages tissulaires locaux. Ce faisant, toute rupture prolongée des processus physiologiques au sein du système immunitaire de l'hôte qui contrôlent cette triade ou l'absence de thérapies effectives ciblant les parasites invasifs mettent en danger la vie des deux individus partenaires.

C'est parce que le potentiel invasif du zoïte détermine sa chance de survie, mais également l'étendue des perturbations occasionnées chez l'hôte, que les chercheurs se sont intéressés depuis des décennies aux mécanismes mis en jeu lors de l'entrée du parasite dans une cellule hôte, avec l'idée de concevoir des stratégies thérapeutiques et/ou vaccinales anti-invasion. Pour des raisons

[1] Ensemble des êtres vivants coexistant dans un espace écologique donné.