

Etude structurale de l'auto-assemblage des protéines de capsides virales par microscopie électronique

R. Aramayo^{a*}, E. Larquet^a, D. Prangishvili^b, T. Basta^b, S. Jonic^a, F. Tama^c,
P. Vachette^d, C. Mérigoux^d, J. Perez^e, C. Dumas^f et N. Boisset^a

^a Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, CNRS UMR 7590, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris

^b Unité de biologie moléculaire du gène chez les extrêmophile, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris CEDEX 15

^c Department of Molecular Biology, Scripps Research Institute, La Jolla, California 92037, USA

^d Institut de Biochimie et Biophysique moléculaire et cellulaire, CNRS UMR 8619, Université Paris-sud, Bâtiment 430, F-91405 Orsay Cedex

^e Synchrotron SOLEIL, l'Orme des Merisiers, Saint-Aubin-BP 48, 91192 Gif-sur-Yvette Cedex

^f Centre de Biochimie Structurale, CNRS UMR 5048, INSERM UMR 554, 29 rue de Navacelles, 34090 Montpellier

Résumé – Deux virus de structure très différente sont étudiés : un virus de plante à symétrie icosaédrique (TBSV) et un virus d'archaebactérie à symétrie hélicoïdale (SIRV2). La première étude sur le TBSV a pour but de mieux comprendre le mécanisme dynamique de transconformation de la capsidie en se servant des techniques telles que la microscopie électronique, la diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles. Le deuxième travail a pour but de mieux caractériser la structure encore mal connue du virus d'archaebactérie SIRV2, à l'aide de la cryo-microscopie électronique et des techniques de coloration négative.

1. Le mécanisme calcium et pH-dépendant de transconformation du TBSV

Le TBSV, ou *Tomato Bushy Stunt Virus*, est un petit virus à ARN qui a la particularité de subir un changement conformationnel important lors de son cycle infectieux. Il passe d'une forme native compacte (32 nm de diamètre) à une forme infectieuse gonflée (36 nm de diamètre). Des ions calcium stabilisent la structure icosaédrique de la capsidie dans sa forme compacte en renforçant les interactions de ses protéines [1,2]. Lorsque le TBSV se retrouve dans un milieu à pH neutre, faible concentration de calcium et/ou en présence d'agents chélatants comme l'EDTA, la structure est déstabilisée et le virus change de conformation, passe d'un état compact à un état dit gonflé.

La structure atomique de la capsidie du virus sous sa forme compacte a été résolue par cristallographie X en 1978 [3]. Cette structure est incomplète car la région N-terminale de la protéine interagissant avec l'ARN est non résolue. De plus, des mécanismes comme ceux du gonflement de la capsidie et les interactions protéine de capsidie / ARN sont encore mal connus.

Plusieurs études complémentaires ont été réalisées : des reconstructions tridimensionnelles (3D) des deux formes compacte et gonflée du virus par cryo-microscopie électronique (figure 1) ainsi que des études de diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles (SAXS et SANS respectivement). Une méthode a été développée pour simuler des profils de SAXS à partir des reconstructions 3D de microscopie électronique dans le but de comparer avec les résultats expérimentaux [4]. Cette méthode nous a permis notamment de modéliser à basse résolution la position d'une partie du fragment N-terminal manquant. Une étude dynamique visant à produire une série d'intermédiaires conformationnels est actuellement en cours par approche hybride de modes normaux et de variance 3D [5].

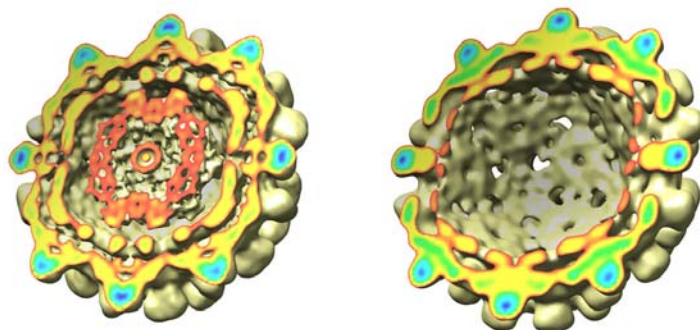


Figure 1 – Coupes des reconstructions 3D des deux formes du TBSV, compacte (à gauche) et gonflée (à droite), obtenues à partir d'images de microscopie électronique.

2. Le virus d'archaebactérie SIRV2

Le virus SIRV2 ou *Sulfolobus Islandicus Rod-shaped Virus 2* est un virus à ADN double brin de 35.8 Kpb, non enveloppé d'une famille de virus récemment caractérisée : les *Rudiviridae* [6]. Ce virus infecte les archaebactéries hyperthermophiles et acidophiles du genre *Sulfolobus*. Il a une forme en tube creux, allongé, d'une taille de 23 nm x 900 nm (figure 2). Ses extrémités présentent des « stoppers » pleins et se terminent par 3 fibres mobiles [7]. La capsid de ce virus est constituée d'une seule protéine structurale de 15.8 Kda et présente une structure en forme d'hélice avec un pas de 4,3 nm. Le but de cette étude est de déterminer les caractéristiques structurales de ce virus par microscopie électronique et reconstruction 3D.

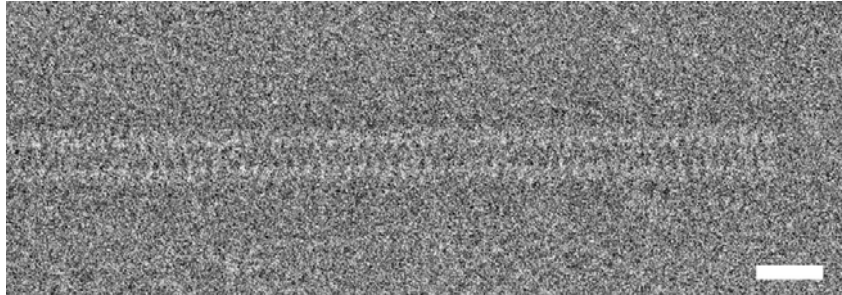


Figure 2 – Image de cryo-microscopie électronique du virus SIRV2. Barre d'échelle : 25 nm.

En règle générale, les approches hybrides où la cryo-microscopie électronique 3D se conjugue avec d'autres approches biophysiques permettent d'étudier les fonctions biologiques et les changements structuraux des capsides virales au cours du cycle infectieux.

3. Références

- [1] P. Hopper, S.C. Harrison, R.T. Sauer, *Structure of Tomato Bushy Stunt Virus: V. Coat protein sequence determination and its structural implications*, J. Mol. Biol. **177** (1984) 701
- [2] S.A. Speir, S. Munshi, J. Wang, T.S. Baker, J.E. Johnson, *Structures of the native and swollen forms of cowpea chlorotic mottle virus determined by X-ray crystallography and cryo-electron microscopy*, Structure **3** (1995) 63 – 78
- [3] S.C. Harrison, A. Olson, C.E. Schutt, F.K. Winkler, G. Bricogne, *Tomato Bushy Stunt Virus at 2.9 Å resolution*, Nature **276** (1978) 368 – 373
- [4] R. Aramayo, C. Mérigoux, E. Larquet, P. Bron, J. Perez, C. Dumas, P. Vachette, N. Boisset, *Divalent ion-dependent swelling of Tomato Bushy Stunt Virus: A multi-approach study*, Biochimica et Biophysica Acta **1724** (2005) 345 – 354
- [5] F. Tama, C.L. Brooks, *Diversity and identity of mechanical properties of icosahedral viral capsids studied with elastic network normal mode analysis*, J. Mol. Biol. **345** (2005) 399-314
- [6] Zillig, W., A. Kletzin, C. Schleper, I. Holz, D. Janekovic, *Screening for Sulfolobales, their plasmids, and their viruses in Icelandic solfataras*, Syst. Appl. Microbiol. **16** (1994) 609–628
- [7] D. Prangishvili, H.P. Arnold, D. Götz, U. Ziese, I. Holz, J.K. Kristjansson, W. Zillig, *A novel virus family, the Rudiviridae: Structure, virus-host interactions and genome variability of the sulfolobus viruses SIRV1 and SIRV2*, Genetics **152** (1999) 1387–1396