

Virologie vétérinaire

Chapitre 3 Virologie moléculaire

Thiry E. et al. Variabilité virale. Mutation, recombinaison et réassortiment. *Bulletin des GTV*, 2006, **33**, 54-57.

Le cycle de multiplication virale

- Croissance en une étape
- Multiplicité d'infection : MOI

MOI = nombre de virus / nombre de cellules

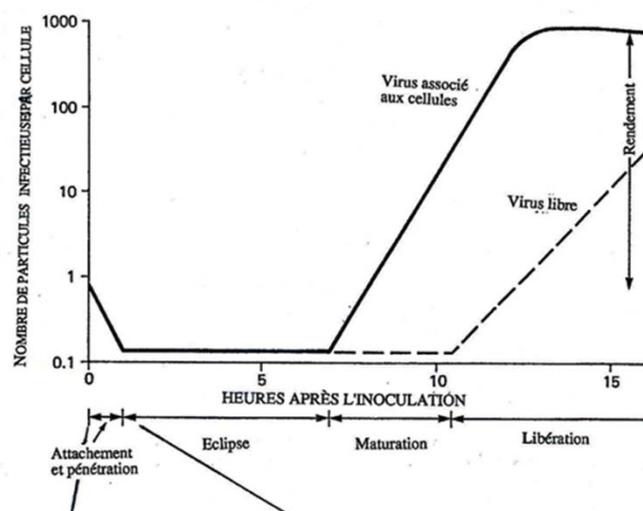
Le cycle de multiplication virale

- Phases :
 - phase d'attachement-pénétration
 - phase d'éclipse
 - (*décapsidation- multiplication virale proprement dite*)
 - phase de maturation
 - (*encapsidation - enveloppement*)
 - phase de sortie
 - plateau

3

Université
de Liège

Cycle de multiplication en une étape

Université
de Liège

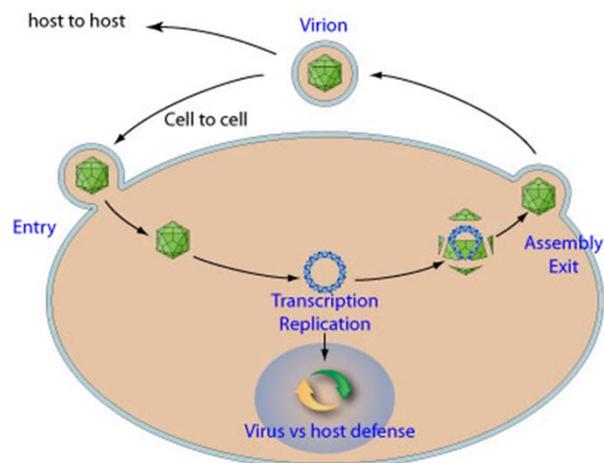
Etapes du cycle de multiplication

- Attachement
- Pénétration
- Décapsidation
- Multiplication intracellulaire
 - transcription
 - traduction
 - réplication
- Maturation
- Sortie

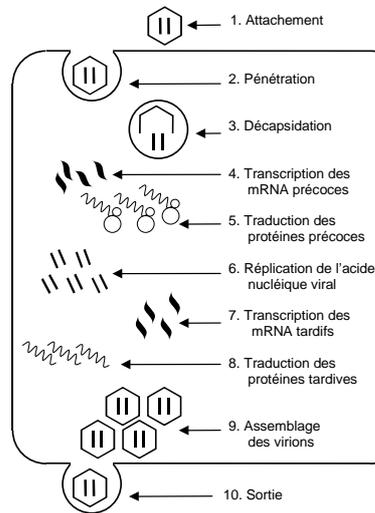
5

Université
de Liège

Cycle de multiplication virale


http://viralzone.expasy.org/all_by_species/873.html
Université
de Liège

Cycle de multiplication virale



Variabilité virale

- Diversité génétique
- Multiplication virale exponentielle dans la cellule
- Introduction d'erreurs de lecture, de réplication
 - Mutations, avec les cas particuliers de la recombinaison et du réassortiment
- Phénomène continu
 - Depuis l'apparition des virus
 - Accélééré actuellement
 - Sous diverses influences (global change)

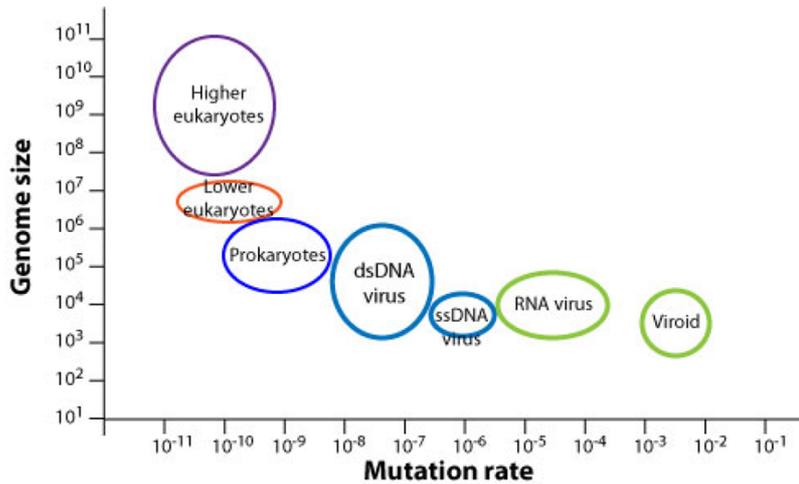
Les mutations

- Erreurs de copiage de la polymérase
- Mutations
 - Neutres
 - Létales
 - Apportant un avantage au virus
- Mutations
 - Ponctuelles (réversion possible)
 - Insertions
 - Délétions
 - Recombinaison et réassortiment

Taux de mutations ponctuelles

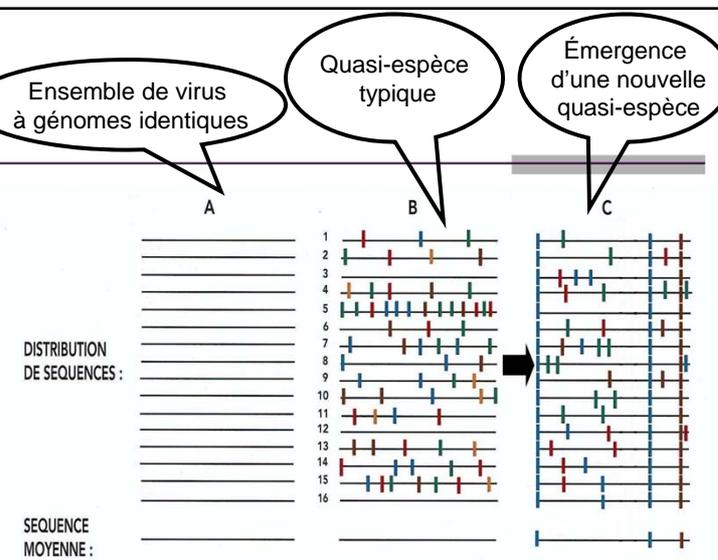
- Taux de mutations = *nombre de substitutions nucléotidiques, par nombre de bases durant un cycle de réplication du DNA/RNA viral*
 - Virus à DNA : 10^{-8} à 10^{-11}
 - Virus à RNA : 10^{-3} à 10^{-4}
- Ce taux dépend
 - de la fidélité de copiage des enzymes de réplication (et de la capacité de correction des erreurs)
 - de la supériorité du génome dominant par rapport aux mutants qui apparaissent

Taux de mutations (nombre de mutations par site et par cycle de multiplication) en fonction de la taille du génome



université de Liège http://viralzone.expasy.org/all_by_species/413

Les quasi-espèces. Chaque ligne horizontale représente une molécule d'ARN viral et les symboles représentent des mutations. La distribution A montre un groupe homogène de génomes viraux. La distribution B est hétérogène, c'est une quasi-espèce, mais sa séquence moyenne (séquence consensus) est la même qu'en A. La flèche montre la répllication de la molécule 8 provenant du spectre de mutants de la quasi-espèce B. Cela produit une nouvelle quasi-espèce C avec une nouvelle séquence moyenne. L'amplification de la molécule 8 peut être le résultat d'une sélection positive (ce génome ayant acquis un avantage sélectif dû à des modifications de l'environnement) ou d'un événement de sélection au hasard (par hasard, le génome 8 est le seul à être transmis à un animal sensible)



Quasi-espèce virale

Université de Liège

Quasi-espèce virale (virus à RNA)

- *Distributions dynamiques de génomes mutants ou recombinants, non identiques mais étroitement liés, et qui se trouvent soumis à un processus continu de variation génétique, de compétition et de sélection*
- Stratégie adaptative du virus
 - Existence d'un spectre de mutants
 - Réserve de variants génotypiques et phénotypiques

Quasi-espèce et variabilité

- Quasi-espèce = ensemble de virus différents caractérisé par un génome moyen
- Dû au taux élevé de mutations ponctuelles: 10^{-4} par réplication du RNA viral
 - mutations synonymes
 - mutations non synonymes
- Pouvoir adaptatif
 - sélection positive
 - évolution par le hasard

Pouvoir adaptatif du virus

- Proviens de 4 paramètres liés entre eux :
 - Nombre moyen de mutations par génome
 - Taille de la population virale (nombre total de particules infectieuses)
 - Complexité du génome viral (représentée en principe par la taille du génome en nucléotides)
 - Nombre de mutations nécessaires à un changement biologique important

Quelques changements biologiques,

observés chez les virus à ARN et associés à la sélection de variants présents dans le spectre de mutants d'une quasi-espèce.

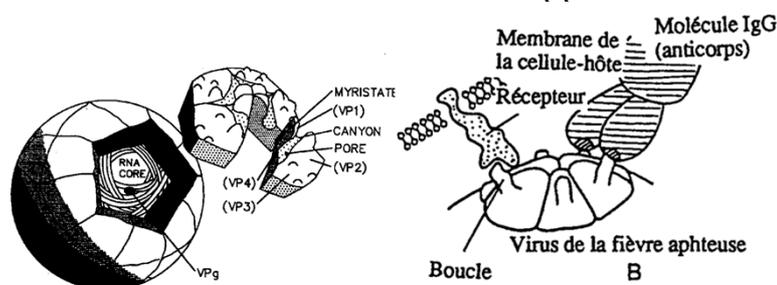
- Échappement aux anticorps neutralisants
- Échappement aux lymphocytes T cytotoxiques
- Résistance aux agents antiviraux
- Changements de tropisme cellulaire et de virulence
- Réversion de l'atténuation de la virulence
- Variation dans la capacité d'induction d'interféron
- Persistance virale

Virus de la fièvre aphteuse : exemple de l'effet des mutations sur la biologie virale

- Variation du virus de la fièvre aphteuse
 - Sept sérotypes (O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3, Asia1)
 - Sous-types
 - Variants antigéniques
- Taux de mutation élevé
 - Taille du génome : 8500 nucléotides
 - En moyenne 1 mutation/génome/cycle viral

Virus de la fièvre aphteuse : exemple de l'effet des mutations sur la biologie virale

- Avantage sélectif de certaines mutations
 - Mutations sur la VP1 (protéine de capside)
 - Échappement à la réponse immunitaire spécifique
 - 4×10^{-5} à 8×10^{-3} mutants d'échappement



La recombinaison intramoléculaire

- Échange de séquences d'acide nucléique entre deux virus apparentés, de la même espèce ou d'espèces voisines.
- Nécessite une co-infection de la cellule par 2 virus apparentés (recombinaison homologue)
- Crossing-over
- Saut de la polymérase
- Chez les virus à DNA et RNA
- Importance : BoHV-1 : recombinaison entre virus sauvage et virus vaccinal

Recombinaison au cours de la réplication du DNA viral (herpèsvirus)

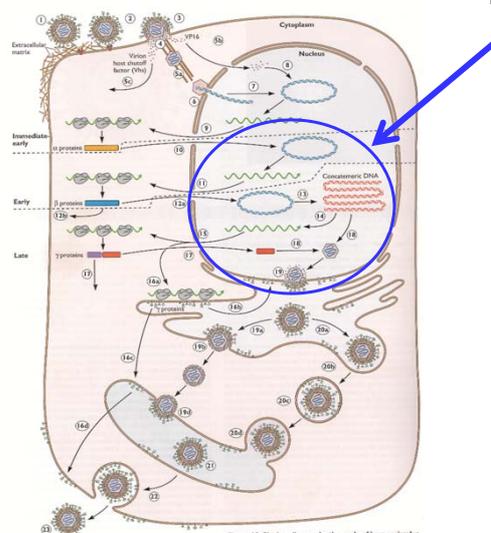
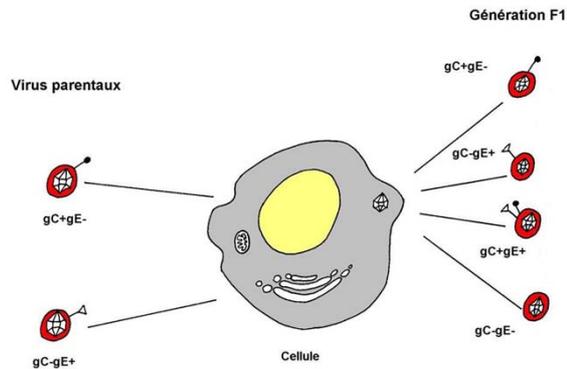
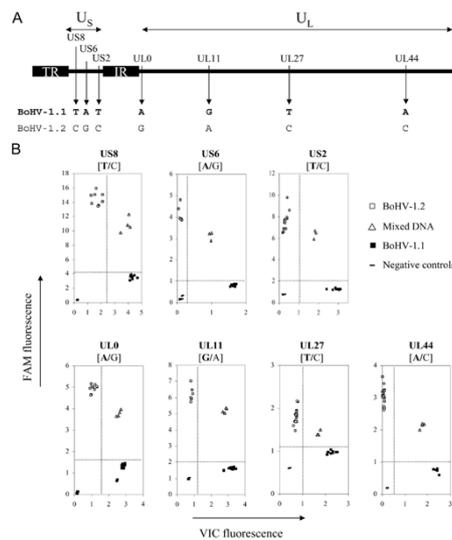


Figure 18 Single-cell reproductive cycle of herpes simplex virus type 1.

Recombinaison.
 Une cellule est coinfectée par deux souches d'herpèsvirus bovin 1, l'une déletée dans le gène de la glycoprotéine E (négatif en gE), l'autre déletée dans le gène de la glycoprotéine C (négatif en gC). Dès la première génération, des virus recombinants apparaissent. Ils sont aisément identifiables, car ils combinent des marqueurs des deux virus parentaux : soit négatifs en gC et en gE, soit positifs en gC et en gE



Génération de mosaïque de recombinants (herpèsvirus bovin 1) (Muylkens et al., J. Virology, 2009)



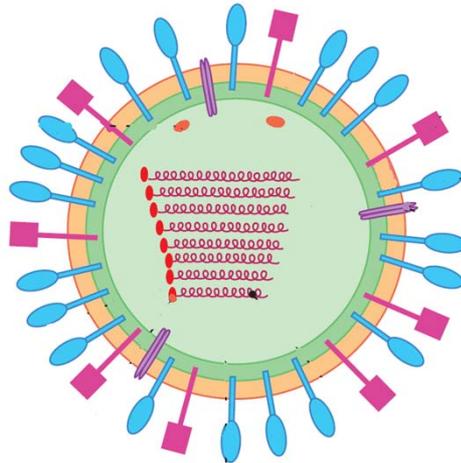
Génération de mosaïque de recombinants (herpèsvirus bovin 1) (Muylkens et al., J. Virology, 2009)

	Discriminative genotyping at 7 SNP loci					Number of genotyped viruses	Percentage in total progeny (n=298)		
	12	3	4	5	6		7	%	(p1 - p9) ₀₋₉₅
Parental							179	60.1	(54.2 - 65.6)
BoHV-1.1	●●●●●●●						26	8.7	(5.8 - 12.5)
BoHV-1.2	○	○	○	○	○	○	153	51.3	(45.5 - 57.1)
Single recombinant						74	24.8	(20.9 - 30.1)	
R1	●○	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R2	●●	○	○	○	○	○	4	1.3	(0.4 - 3.4)
R3	●●●	○	○	○	○	○	12	4.0	(2.1 - 6.9)
R4	●●●●	○	○	○	○	○	6	2.0	(0.7 - 4.3)
R5	●●●●●	○	○	○	○	○	8	2.7	(1.2 - 5.2)
R6	●●●●●●	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R7	●●●●●●●	○	○	○	○	○	10	3.4	(1.6 - 6.1)
R8	○	○	○	○	○	●	4	1.3	(0.4 - 3.4)
R9	○	○	○	○	○	●●	18	6.0	(3.6 - 9.3)
R10	○	○	○	○	○	●●●	8	2.7	(1.2 - 5.2)
Double recombinant						34	11.4	(8.0 - 15.6)	
R11	○	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R12	●○	○	○	○	○	○	3	1.0	(0.2 - 2.9)
R13	●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R14	●●●	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R15	●●●●	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R16	●●●●●	○	○	○	○	○	3	1.0	(0.2 - 2.9)
R17	●●●●●●	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R18	●●●●●●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R19	○	○	○	○	○	○	4	1.3	(0.4 - 3.4)
R20	○	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R21	●○	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R22	●●	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R23	●●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R24	●●●●	○	○	○	○	○	3	1.0	(0.2 - 2.9)
R25	●●●●●	○	○	○	○	○	5	1.7	(0.5 - 3.8)
Triple recombinant						9	3.0	(1.4 - 5.6)	
R26	○	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R27	●○	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R28	●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R29	●●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R30	●●●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R31	●●●●●	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
R32	○	○	○	○	○	○	2	0.7	(0.1 - 2.4)
R33	●○	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
Quadruple recombinant						1	0.3	(8.4x10⁻⁵ - 1.8)	
R34	○	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)
Quintuple recombinant						1	0.3	(8.4x10⁻⁵ - 1.8)	
R35	○	○	○	○	○	○	1	0.3	(8.4x10 ⁻⁵ - 1.8)

Réassortiment génétique: cas particulier de la recombinaison

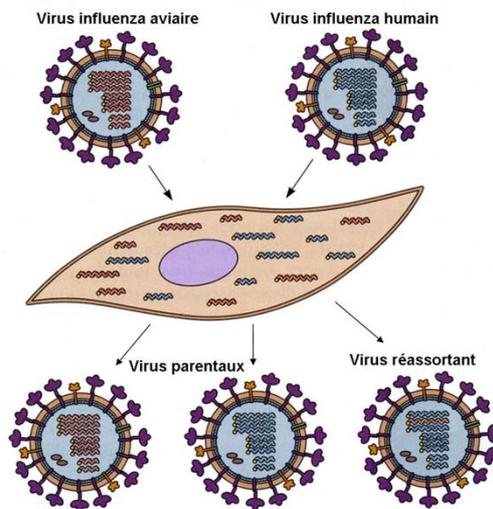
- Nécessite une co-infection de la cellule par 2 virus apparentés
- Chez les virus à génome segmenté
 - Orthomyxovirus (virus influenza)
- Échange de segments génétiques entre 2 virus apparentés, au cours de la multiplication virale

Le virus influenza



Réassortiment génétique.

Une cellule est coinfectée par deux virus influenza, l'un aviaire, l'autre humain. Ces virus sont des orthomyxovirus et possèdent un génome constitué de 8 segments. Durant la multiplication virale, les réassortiments génétiques peuvent survenir, permettant l'échange de segments d'un virus à l'autre. Les virus de nouvelle génération seront, soit des virus parentaux, soit des virus réassortants. Dans cet exemple, le deuxième segment provenant du virus aviaire a été acquis par le virus humain, qui conserve les sept autres segments



En résumé

- Le cycle viral intracellulaire en plusieurs étapes
- L'évolution génétique des virus repose sur les mutations
 - Mutations ponctuelles, délétions, insertions
 - Interprétation des taux de mutations
 - Cas des quasi-espèces
 - Recombinaison
 - Exemple des herpesvirus
 - Réassortiment génétique
 - Virus à génome segmenté
 - Cas des virus influenza