

Cytomégalovirus humain, mutations de résistance, et nouvelles cibles thérapeutiques

Dr Gaëtan LIGAT, UMR Inserm 1092, Université de Limoges

Le cytomégalovirus humain (CMVH) devient un pathogène opportuniste majeur en cas d'immunodépression et représente la principale cause d'infection congénitale d'origine virale. Bien qu'efficaces, les antiviraux actuellement utilisés en clinique, tous inhibiteurs de l'ADN polymérase virale pUL54, sont peu nombreux, présentent une toxicité hématologique et/ou rénale, entraînent l'émergence de mutations de résistance. Il devient alors nécessaire de développer de nouvelles approches thérapeutiques.

L'étude des nouvelles mutations émergeant sous traitement antiviral demeure donc essentielle. L'introduction de ces nouvelles mutations, par mutagenèse « *en passant* », dans un chromosome bactérien artificiel contenant le génome viral nous permet, après transfection en cellules humaines, de tester la sensibilité de la souche recombinante aux antiviraux. Différentes mutations de résistance ont ainsi été caractérisées (**Andouard et al., 2016**).

Afin de mettre en évidence de nouvelles cibles antivirales, des analyses bio-informatiques et la production de virus recombinants ont permis d'identifier de potentiels motifs fonctionnels essentiels à la réplication au sein du complexe terminase et hélicase-primase. Ainsi, en utilisant ces deux approches, nous avons montré que la sous-unité pUL56 du complexe terminase (pUL56-pUL89-pUL51) appartient à la famille des LAGLIDADG Homing Endonucléase. En effet, pUL56 contient en N-terminale un motif LATLNDIERFL et un motif de liaison à l'ADN (doigt de zinc). Par ailleurs, la technologie Alpha utilisant des protéines purifiées a permis de valider le caractère essentiel du fragment WMVVKYMGFF de pUL56 pour l'interaction avec la sous-unité pUL89 (**Ligat et al., 2017**). Ces résultats ont fait l'objet d'un dépôt de brevet au sein de l'Office Européen des Brevets. Le complexe hélicase-primase (pUL105-pUL70-pUL102) du CMVH est également un composant essentiel du processus de réplication. Par l'utilisation des mêmes approches, nous avons également mis en évidence les résidus probablement impliqués dans la fixation de l'ATP au sein de l'hélicase et dans la stabilisation du zinc de la primase (**Ligat et al., 2018**).

La compréhension de la relation structure-fonction de ces protéines est un point de départ pour le développement de nouvelles thérapies. En effet, le caractère essentiel fait de ces motifs de potentielles cibles antivirales. Dans un premier temps, il est envisagé de faire produire des peptides comprenant les séquences LATLNDIERFL ou WMVVKYMGFF de pUL56 ou leurs dérivés afin de réaliser une première preuve de concept en culture cellulaire et sur des explants placentaires. Ainsi, ces peptides ou dérivés en excès pourraient servir de leurre moléculaire et ainsi entraver la réplication virale en bloquant l'interaction de deux monomères de pUL56 ou l'interaction de la sous-unité pUL56 avec son partenaire pUL89.

Pris dans l'ensemble ces travaux ont tout d'abord permis d'augmenter le nombre de mutations de résistance caractérisées mais aussi de mieux appréhender la relation structure fonction de deux complexes protéiques appuyant les données existantes les présentant comme de nouvelles cibles anti-CMVH. A long terme, ces nouvelles données permettront peut-être de développer des peptides ou des molécules à visée préventives et thérapeutiques.

Mots clés : Cytomégalovirus, Résistances, Encapsidation, Terminase, Hélicase-Primase

Références :

Andouard, D., Mazon, M.-C., Ligat, G., Couvreur, A., Pouteil-Noble, C., Cahen, R., Yasdanpanah, Y., Deering, M., Viget, N., Alain, S., et al. (2016). Contrasting effect of new HCMV pUL54 mutations on antiviral drug susceptibility: Benefits and limits of 3D analysis. *Antiviral Res.* 129, 115–119.

Ligat, G., Jacquet, C., Chou, S., Couvreur, A., Alain, S., and Hantz, S. (2017). Identification of a short sequence in the HCMV terminase pUL56 essential for interaction with pUL89 subunit. *Sci Rep* 7, 8796.

Ligat, G., Da Re, S., Alain, S., and Hantz, S. (2018). Identification of Amino Acids Essential for Viral Replication in the HCMV Helicase-Primase Complex. *Frontiers in Microbiology* 9, 2483.