

UNIVERSITE DE STRASBOURG

Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Thèse présentée par

Laetitia REDEL

En vue d'obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Strasbourg

Discipline : Sciences de la Vie

Spécialité : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

**Maintien de la latence du VIH-1 : Implications des
facteurs CTIP2 et LSD1**

Soutenue le 12 octobre 2009 devant la commission d'examen :

Dr Dominique AUNIS

Pr Olivier ROHR

Dr Jean-Christophe PAILLART

Dr Stéphane EMILIANI

Dr Georges HERBEIN

Dr Carine VAN LINT

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse

Rapporteur interne

Rapporteur externe

Rapporteur externe

Examineur

A Julien

A mes Parents

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer cette thèse et pour la discussion très intéressante que nous avons eu le jour de ma soutenance de thèse. Je tiens également à remercier les Dr Aunis et Baumert de m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires, tout d'abord à l'U575 et ensuite à l'U748.

Enfin, mes remerciements iront au Pr Olivier Rohr pour avoir suivi mon parcours universitaire, d'avoir encadré cette thèse et de m'avoir permis de goûter aux joies de l'enseignement. Je tiens également à te remercier d'avoir reconnu que mon « obstination » est quelque fois une bonne chose puisqu'elle nous permis, je pense, d'explorer des voies quelque peu inattendues.

A Sylvie Grosch, un grand merci pour ces nombreuses séances de microscopie confocale sans qui mon travail ne s'étairait pas de si belles images.

Ma thèse ne ce serait pas déroulée dans de telles conditions sans l'intervention de Dominique qui nous permet d'obtenir de très bon prix grâce à ses talents de négociateurs. D'une manière plus personnelle, j'ai passée de très beaux moments dans ce laboratoire et c'est très surement grâce à toi. J'ai particulièrement appréciée toutes nos discussions alimentaires concernant les produits régionaux bios ou non. J'espère avoir encore de tes nouvelles après mon départ du labo.

A Stella..., un grand merci pour ton initiation à toutes les techniques du laboratoire et surtout à celles utilisées dans le laboratoire P3. Je me souviens de nos fous rires, nos coups de gueules, nos pleurs mais surtout j'ai rencontré une personne formidable qui je peux dire est aujourd'hui bien plus qu'une ancienne collègue de boulot, une véritable amie. Malgré la distance que la vie a mise entre nous, j'espère que nous aurons l'occasion de nous voir aussi souvent que possible.

A Thomas et Valentin, j'espère n'avoir pas montré une trop mauvaise image de ma personne, et que mes coups de gueule et que vous ne me tiendrez pas trop rigueur des moments où mon caractère de râleuse s'est exprimé. Merci de m'avoir acceptée telle que je suis.

Je tiens également à remercier Christian Schwartz de s'être intéressé autant que possible à mes projets lors de sa venue au laboratoire, d'avoir participé à l'encadrement donné par Olivier et finalement d'avoir pris le temps de relire mon manuscrit.

Mes remerciements très personnels...

Julien, toi qui est rentré dans ma vie à l'époque où je débutais tout juste ma thèse et où ma vie était un vrai chantier, merci. Sans toi, jamais je ne serais parvenue à aboutir cette quête. J'ai voulu tant de fois tout plaquer, arrêter changer de voie et tu toujours su trouver les mots justes et me pousser à ce que j'aille au bout. Aujourd'hui c'est grâce à toi que je suis docteur et finalement je suis plutôt fière de nous, je trouve qu'on forme une bonne équipe.

A mon Babeba Valentin, tu m'as quitté à un moment où pour moi il n'est pas concevable que je te perde. J'étais à ce moment encore la petite fille dont tu t'es si bien occupée quand j'avais

l'impression que tout le monde me tournait le dos. Tu m'as finalement projeté dans le monde des adultes et m'a fait grandir d'un coup. Je te dédie cette thèse, je pense que tu aurais été très fière de moi. Merci pour toutes les choses que tu as faites pour moi tout au long de ta vie. Tu as été pour moi un vrai soutien.

Enfin, je ne remercierais jamais assez mes parents, qui m'ont toujours soutenus quel que soit mes choix. Ils ont su me guider, me pousser à faire le bon choix et ne pas me mettre la pression. Ils ont été bien plus qu'un soutien financier durant mes études, ils m'ont permis de devenir ce que je suis. Maintenant, c'est à moi de bien m'occuper de vous, et c'est un rôle que je prends très au sérieux. A papa, même si quelques fois je te parais très dure, je serais éternellement ta fille et jamais je ne t'abandonnerais, et je te soutiendrais toujours à 100 % quel que soit tes décisions.

Enfin, je pense que tout le monde fait des erreurs, c'est dans la nature humaine, le plus important est de s'en rendre compte et d'essayer de faire en sorte de ne pas reproduire plusieurs fois les mêmes. Cela n'est pas bien sûr donné à tout le monde. Cependant, « Ceux qui ne se souviennent pas de leur passé sont condamnés à le revivre », Stephen King, La tour sombre.

Quelques citations concernant la science et la recherche en particulier, même si je suis tout à fait convaincu de l'utilité et la nécessité de la recherche, je trouve tout de même ces citations intéressantes et qu'elles méritent méditation.

"Mon monde est comme un gigantesque bateau échoué assez près du rivage pour que la plupart de ses épaves soient rejetées par la mer sur la plage. Bien des choses que nous trouvons sont fascinantes, quelques-unes peuvent nous être utiles, si le karma le permet, mais ça n'en sont pas moins des épaves. Des épaves dénuées de sens." – Stephen King, La Tour sombre.

« Tout ce qui est simple est faux, tout ce qui n'est pas simple est inutilisable. » Paul Valéry.

Sommaire

Liste des figures	8
Liste des abréviations	10
INTRODUCTION	15
Chapitre 1 : Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).....	17
1 Le virus de l'immunodéficience humaine : un peu d'histoire	19
2 Le SIDA aujourd'hui	20
3 Les origines du VIH.....	21
4 Le VIH	22
4.1 L'enveloppe	23
4.2 La matrice	23
4.3 La capsidite	24
4.4 La nucléocapside.....	24
4.5 Les protéines encapsidées	24
4.6 Le génome viral	25
4.6.1 Les régions non codantes.....	25
4.6.2 Les régions codantes.....	26
5 La réplication du VIH	28
5.1 La phase pré-intégrative.....	29
5.1.1 L'entrée du virus dans la cellule hôte.....	29
5.1.2 La transcription inverse et la décapsidation	31
5.1.3 L'import nucléaire	34
5.1.4 L'intégration	36
5.2 La phase post-intégrative	37
5.2.1 L'expression de l'ADN proviral.....	37
5.2.2 La production de nouveaux virions.....	37
Chapitre 2 : La pathogénèse virale	41
1 Evolution clinique de la maladie.....	43
1.1 La primo-infection	43
1.2 La phase asymptomatique.....	44
1.3 Le stade SIDA.....	44
2 Les différentes voies d'entrées du virus dans l'organisme	44
2.1 Les différents modes de transmission (figure 16).....	44
2.1.1 La voie sexuelle.....	44
2.1.2 La voie sanguine	46
2.1.3 Materno-fœtale.....	46
3 Les différentes cibles cellulaires.....	48
3.1 Le système immunitaire.....	48
3.1.1 Les cellules de Langerhans.....	48
3.1.2 Les cellules dendritiques.....	49
3.1.3 Les lymphocytes T (LT).....	50
3.1.3.1 Les lymphocytes T CD4+.....	50
3.1.3.1.1 Les lymphocytes T CD4+ activés.....	51

3.1.3.1.2	Les lymphocytes T CD4+ quiescents	51
3.1.3.2	<i>Les lymphocytes T CD8+</i>	52
3.1.4	<i>Les lymphocytes B (LB)</i>	52
3.1.5	<i>Les macrophages et les monocytes</i>	54
3.1.6	<i>Les Natural Killer (NK)</i>	56
3.2	Le système nerveux central (SNC)	56
3.2.1	<i>L'entrée</i>	56
3.2.2	<i>Les effets cytopathogènes</i>	57
3.2.2.1	<i>Les cibles cellulaires</i>	57
3.2.2.1.1	Les cellules microgliales	58
3.2.2.1.2	Les astrocytes	59
3.2.2.1.3	Les oligodendrocytes	60
3.2.2.1.4	Les neurones	60
4	Les thérapies	61
4.1	Les inhibiteurs de la transcriptase inverse	62
4.1.1	<i>Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI)</i>	62
4.1.2	<i>Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)</i>	63
4.2	Les inhibiteurs de la protéase	64
4.3	Les inhibiteurs de fusion	64
4.4	Les antagonistes du corécepteur CCR5	65
4.5	Les inhibiteurs de l'intégrase	65
4.6	Les traitements du futur	65
4.7	Les limites	66
<i>Chapitre 3 : La transcription des gènes viraux</i>		67
1	Présentation des facteurs de transcription régulant la transcription des gènes viraux	69
1.1	Les facteurs de transcription cellulaires	69
1.1.1	<i>La famille des motifs à doigts de zinc</i>	69
1.1.2	<i>La famille des crémaillères à leucine</i>	71
1.1.3	<i>La famille des hélices boucles hélices (HLH)</i>	73
1.1.4	<i>La famille des hélices tour hélices</i>	74
1.1.5	<i>La famille des facteurs nucléaires</i>	74
1.1.6	<i>La famille des facteurs à HMG box</i>	76
1.1.7	<i>La famille des facteurs LSF (Late Simian virus 40 Factor)</i>	76
1.1.8	<i>La famille des facteurs CSL (CBF-1, Su(H) and Lag-1)</i>	76
2	Les modifications de la chromatine	77
2.1	Les différents degrés d'organisation de la chromatine	77
2.1.1	<i>Le nucléosome</i>	78
2.1.2	<i>La fibre solénoïdale</i>	78
2.1.3	<i>Le chromosome</i>	78
2.2	Les mécanismes de remodelage de la chromatine	79
2.2.1	<i>Les modifications post-traductionnelles des histones</i>	79
2.2.1.1	<i>L'acétylation des histones</i>	79
2.2.1.2	<i>La méthylation des histones</i>	82
2.2.1.2.1	La méthylation et déméthylation des lysines	83
2.2.1.2.2	La méthylation et la déméthylation des arginines	86
2.2.1.3	<i>La phosphorylation des histones</i>	87
2.2.1.4	<i>L'ubiquitinylation des histones</i>	87
2.2.1.5	<i>La SUMOylation des histones</i>	89
2.2.1.6	<i>L'isomérisation</i>	89

2.2.1.7	<i>Le code histone</i>	89
2.2.2	<i>Les facteurs de remodelage de la chromatine ATP dépendants</i>	90
2.2.2.1	<i>La famille SWI/SNF (switching defective/sucrose non-fermenting)</i>	90
2.2.2.2	<i>La famille ISWI (imitation SWI)</i>	91
2.2.2.3	<i>La famille NuRD (nucleosome remodeling and deacetylation)/Mi-2/CHD (chromodomain, helicase, DNA binding)</i>	92
2.2.2.4	<i>La famille INO80 (inositol requiring 80)</i>	92
2.2.3	<i>Les méthylations de l'ADN</i>	93
2.2.3.1	<i>Les ADN méthyltransférases</i>	94
2.2.3.2	<i>La déméthylation de l'ADN</i>	95
3	<i>Régulation de la transcription par des ARN interférants</i>	95
3.1	<i>Généralités</i>	95
3.2	<i>Mécanisme de régulation de la transcription</i>	97
4	<i>Les mécanismes de régulation de la transcription des gènes viraux</i>	99
4.1	<i>La régulation de la phase initiale de la transcription des gènes viraux</i>	99
4.1.1	<i>Les lymphocytes T CD4+</i>	99
4.1.2	<i>Les cellules microgliales</i>	101
4.2	<i>Le rôle des protéines virales dans la transcription des gènes viraux</i>	102
4.2.1	<i>Le facteur de transcription viral Tat</i>	102
4.2.2	<i>Les effets de Vpr sur la transcription des gènes viraux</i>	104
4.2.3	<i>Les effets de Nef sur la transcription des gènes viraux</i>	104
4.3	<i>Le remodelage de la chromatine des gènes viraux</i>	105
4.3.1	<i>Les modifications des histones influençant la transcription virale</i>	105
4.3.2	<i>Les facteurs ATP dépendants influençant la transcription virale</i>	106
4.3.3	<i>Les méthylations de l'ADN influençant la transcription virale</i>	106
4.4	<i>Rôle des siARNs dans la régulation de la transcription des gènes viraux</i>	107
	<i>PRESENTATION DU PROJET</i>	109
	<i>PUBLICATIONS</i>	115
	<i>DISCUSSION GENERALE</i>	157
	<i>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</i>	171
	<i>ANNEXES</i>	177
	<i>REFERENCES</i>	183

Liste des figures

Figure 1 :	Le VIH dans le monde	21
Figure 2 :	Les origines du VIH-1	22
Figure 3 :	Schéma d'une particule virale.....	23
Figure 4 :	Représentation du génome virale.....	25
Figure 5 :	Le cycle viral.....	29
Figure 6 :	Les mécanismes de fusion membranaires.....	31
Figure 7 :	La phase pré-intégrative : de l'infection à l'intégration du génome viral dans la cellule hôte.....	32
Figure 8 :	La transcription inverse.....	33
Figure 9 :	L'import nucléaire	35
Figure 10 :	Mécanisme d'intégration du génome viral au génome cellulaire	36
Figure 11 :	Le précurseur Pr55Gag	38
Figure 12 :	La maturation des virions.....	39
Figure 13 :	Les phases cliniques de l'infection par le VIH	43
Figure 14 :	Les transmissions par les voies sexuelles	45
Figure 15 :	Les mécanismes de transmission in utero	46
Figure 16 :	Les voies de transmission du VIH	47
Figure 17 :	L'infection des cellules de Langerhans.....	48
Figure 18 :	La transmission du virus entre cellules dendritiques et les lymphocytes T	50
Figure 19 :	L'infection des lymphocytes T CD4+	52
Figure 20 :	Les effets de l'infection à VIH sur les lymphocytes B	54
Figure 21 :	L'infection des macrophages	55
Figure 22 :	Le passage de la barrière hémato-encéphalique.....	57
Figure 23 :	Les effets du VIH sur les cellules microgliales	58
Figure 24 :	Les effets du VIH sur les astrocytes	59
Figure 25 :	Les effets de l'infection à VIH sur le système nerveux central	61
Figure 26 :	Les thérapies anti-VIH.....	62
Figure 27 :	Le mécanisme d'action des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse.....	63
Figure 28 :	Le mécanisme d'action des inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse.....	63
Figure 29 :	Le mécanisme d'action des inhibiteurs de la protéase.....	64
Figure 30 :	Le mécanisme d'action d'un inhibiteur de fusion : le T20	65
Figure 31 :	Les protéines à motifs en doigts de zinc	70
Figure 32 :	Les protéines à motifs en crémaillère en leucines	72

Figure 33 :	Les protéines à motifs en hélices boucles hélices.....	73
Figure 34 :	Les protéines à motifs en hélices tours hélices	74
Figure 35 :	Les différents niveaux de compaction de l'ADN génomique.....	77
Figure 36 :	Le nucléosome	78
Figure 37 :	L'acétylation des lysines des histones	80
Figure 38 :	Les classes de HDAC I et II.....	81
Figure 39 :	Le mécanisme de déacétylation des histones par les Sirtuines.....	82
Figure 40 :	La réaction de méthylation des lysines	84
Figure 41 :	La réaction de déméthylation des lysines	85
Figure 42 :	Les réactions de méthylation des arginines	86
Figure 43 :	L'ubiquitinylation des histones.....	88
Figure 44 :	L'isomérisation des histones.....	89
Figure 45 :	Le complexe SWI/SNF	91
Figure 46 :	Les facteurs de remodelage de la chromatine de la famille ISWI	92
Figure 47 :	Les facteurs de remodelage de la chromatine de la famille NurD.....	92
Figure 48 :	Le complexe Ino80	93
Figure 49 :	La réaction de méthylation des cytosines de l'ADN	93
Figure 50 :	Les ADN méthyltransférases	94
Figure 51 :	Les mécanismes de méthylation de l'ADN	95
Figure 52 :	Les mécanismes de synthèse des ARN interférents.....	97
Figure 53 :	Les mécanismes d'action des ARN interférents	98
Figure 54 :	Les ARN interférents et la régulation de l'état chromatinien	99
Figure 55 :	Les facteurs de transcription liés au promoteur viral dans les lymphocytes T.....	101
Figure 56 :	Les facteurs de transcription liés au promoteur viral dans les cellules microgliales.....	102
Figure 57 :	Le mécanisme d'action de la protéine virale Tat sur la transcription des gènes viraux et sa régulation.....	104
Figure 58 :	Organisation chromatinienne du promoteur viral	105
Figure 59 :	Les mécanismes d'action de la réactivation virale	107
Figure 60 :	Représentation schématique de la protéine CTIP2	112
Figure 61 :	Les mécanismes potentiels d'action de LSD1	114
Figure 62 :	Le mécanisme d'action de CTIP2 dans les cellules microgliales.....	173
Figure 63 :	Modèle moléculaire de l'action de LSD1 dans les cellules microgliales	174
Figure 64 :	Modèle moléculaire de l'effet de CTIP2 dans les lymphocytes T.....	175

Liste des abréviations

Aa	Acide aminé
ADN	Acide DesoxyriboNucléique
ADNc	ADN complémentaire
agm	singes verts d'Afrique
AGO	ArGOnaute
AMPc (cAMP)	cyclic Adenosine MonoPhosphate
ARN (RNA)	Acide RiboNucléique
ARNi	ARN interférent
ARNm	ARN messenger
ARNpolIII	ARN polymérase II
ARNsb	ARN simple brin
ARNt	ARN de transfert
AP-1	Accessory Protein-1
APOBEC	APOlipoprotin B mRNA editing enzyme, Catalytic polypeptide-like
ATF-1	Activating Transcription Factor-1
ATM	Ataxia Telegiectascia Mutated
ATP	Adenosine Tri-Phosphaste
AZT	AzidoThymidine
BAF	Barrier to Autointegration Factor
BAFF	B cell Activating Factor
BHE	Barrière Hemato-Encéphalique
BRG-1	Brahma-Related Gene 1
BRM	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 2
bZIP	basic-leucine ZIPper transcription factor
CA	Capside
CAF	CD8+ Cell Activator Factor
CBF-1	C-promoter binding factor-1
CBP	CREB Binding Protein
CCR	Chemokine (C-C motif) Receptor
CD	Cluster of Differentiation
CDK	Cyclin Dependant Kinase
C/EBP	CCAAT/Enhancer Binding Protein
CHD	Chromodomain, Helicase, DNA binding
ChIP	Chromatin Imminoprecipitation
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMV	CytoMegalloVirus
Co-REST	corepressor for REST (RE1 silencing transcription factor)
COUP-TF	Chicken Ovalbumin Upstream Promoter Transcription Factor
CP2	LSF-CCAAT binding Protein 2
CREB	cAMP Response Element-Binding
CREM	cAMP Response Element Modulator
CSL	CBF-1, Su(H) and Lag-1
CTD	Carboxy-Terminal Domain
CTIP	COUP-TF Interacting Protein
CTS	Central Termination Signal

CXCR	Chemokine (CXC motif) Receptor
Cy	Cyanine
cpz	chimpanzé
DCAF	DDB1-Cullin 4-Associated-Factor
DC-SIGN	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
DDB1	Damage-specific DNA Binding protein 1
DMSO	DiMéthylSulfOxyde
Dnmt	DNA methyltransferase
DSIF	DRB Sensitivity Inducing Factor
Dot1	Disruptor of telomeric silencing 1
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
env	enveloppe
ESCRT	Endosomal Sorting Complexes Required for Transport
esiARN	Endogenous ARN
Ets-1	E26 transformation specific-1
FAD	Flavin Adenine Dinucleotide
FDA	Food and Drug Administration
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
gcn	cercopithèque hocheur
gag	group specific antigen
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GNAT	Gcn 5-related N-AcetylTransferase
gor	gorille
gp	glycoprotéine
GR	Glucocorticoid Receptor
HAART	Highly Active AntiRetroviral Treatment
HAT	Histone AcetylTransferase
hCG1	human nucleoporin CG1
HDAC	Histone DeACétylase
HEK	Human Embryonic Kidney
HIC1	Hypermethylated In Cancer 1
HK	Histone Kinase
HMG-1	High Mobility Group -1
HMT	Histone MethylTransferase
HP1	HeteroProtein 1
HSP	Heat Shock Protein
HTLV-1	Human T-Lymphotropic Virus -1
ICAM	Inter-Cellular Adhesion Molecule 1
IFN	InterFeroN
IκB	Inhibitor of kappa B
IKK	IκB Kinase
IL-	InterLeukine-
IN	INtegrase
iNOS	inductible Nitric Oxide Synthase
INTI	Inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
INNTI	Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
IRF-1	Interferon Regulatory Factor 1
ISWI	Imitation of SWItch
JHDM	jumonji C (JmjC)-domain-containing histone demethylase

JNK	Jun kinase
KIR3DL1	Killer cell Immunoglobulin-like Receptor, three Domains, Long cytoplasmic tail, 1
LAV	Lymphadenopathy-Associated Virus
LB	Lymphocyte B
LEDGF	Lens Epithelium Derived Growth Factor
LEF-1	Lymphoid Enhancer binding Factor-1
LSD	Lysine Specific Demethylase
LSF	Late Simian virus 40 Factor
LSP-1	Lymphocyte-Specific Ca ²⁺ -binding Protein
LT	Lymphocyte T
LTNP	Long-Term Non-Progressors
LTR	Long Terminal Repeat
LPS	LipoPolySaccharide
MA	Matrice
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MBD2	Methyl-CpG Binding protein 2
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein-1
MeCP	methyl-CpG-binding protein
miARN	microARN
MLL-1	Mixed Lineage Leukemia
mdn	mandryll
MYST	MOZ, Ybf2/Sas3, Sas2, Tip60
NA	NicotinAmide
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
Nef	Negative factor
NC	NucléoCapside
N-CoR	Nuclear receptor CoRepressor
NELF	Negative Elongation Factor
NES	Nuclear Export Signal
NF-AT	Nuclear Factor of Activating T cell
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B
NF-IL6	Nuclear Factor for InterLeukin-6
NK	Natural Killer
NLS	Nuclear Localisation Sequence
NPC	Nuclear Pore Complex
NRRE	Nuclear Receptor Responsive Element
Nuc	Nucleosome
NuRD	Nucleosome Remodelling and Deacetylating complex
ONU	Organisation des Nations Unies
ONUSIDA	Programme Commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA
p	peptide
PAD	PeptydilArginine Deiminase
PAZ	Piwi Argonaute and Zwillie
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PCAF	p300/CBP Associated Factor
PCR	Polymerase Chain Reaction
PHA	PhytoHemAgglutinin
PHD	Plant Homeo Domain
piARN	PIWI-interacting ARN

PIC	Pre-Integration Complex
PKA	Protéine kinase A
PMA	Phorbol 12-Myristate 13-Acetate
pol	polymérase
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
PPT	PolyPurine Tract
PPTc	PoluPurine Tract central
Pr	Précurseur polyprotéique
PR	PRotéase
PRMT	Protein R arginine MethylTransferase
P-TEFb	Positive-Transcription Elongation Factor b
Ptt	Pan troglodytes troglodytes
RAR	Retinoic Acid Receptor
RBD	région Binding DNA
Rcm	mangabey à tête rousse
Région PBS	Région Primer Binding Site
Région R	Région Répétée
Région U3	Région Unique en 3'
Région U5	Région Unique en 5'
Rev	Regulator of expression virion
RHD	Rel Homology Domain
RISC	RNA Induced Silencing Complex
RT/TI	Transcriptase Inverse
RTC	Reverse Transcriptase Complex
RXR	Retinoid X Receptor
SAHA	SuberoylAnilide Hydroxamic Acid
SAM	S-adénosyl-méthionine
SANT	SWI3, ADA2, NCOR, and TFIIB DNA bindind domains
SET	Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste, Trithorax
shARN	small hairpin ARN
siARN	petit ARN interférent
SIDA	Syndrome de l'ImmunoDéficiency Acquis
Sirt	Sirtuine
SIV	Simian Immunodeficiency Virus
Skp-1	S-phase Kinase-associated Protein 1A
SLIDE	SANT like ISWI
sm	sootey mangabey
SNC	Système Nerveux Central
Sp	Specific protein
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
SUMO	Small Ubiquitin-like Modofier
SUV	Supressor of Variegation
SWI/SNF	SWItching defecting/Suchrose Non Fermenting
syk	singes sykes
T3R	Thyroid hormone 3 Receptor
TAF3	TATA box binding protein (TBP)-associated factor
TAK	Tat Associated Kinase
Tat	Transcriptional transactivator
TAR	TransActivation Response element
TCF1	TransCription Factor 1

TCR	T Cell Receptor
TFII	Transcription Factor of RNA polymerase II
TLX	The human homologue of the Drosophila tailless gene
TNF	Tumor Necrosis Factor
TPA	Tetradecanoyl Phorbol Acetate
TRBP	TAR-Binding Protein
TRIM	TRIPartite Motif
TSA	Trichostatine A
Tsg101	Tumor susceptibility gene 101
USF-1	Upstream Stimulating Factor-1
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1
Vif	Viral infectivity factor
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
Vpu	Viral protein u
Vpr	Viral protein r
VSV	Vesicular Stomatitis Virus
WDR5	WD repeat domain 5
YY1	Ying Yang 1

INTRODUCTION

*Chapitre 1 : Le virus de l'immunodéficience humaine
(VIH)*

1 Le virus de l'immunodéficience humaine : un peu d'histoire

En **1981**, Gottlieb et al., décrivent pour la première fois un syndrome retrouvé chez 5 patients de Los Angeles. Il associe une immunodéficience sévère accompagnée d'une pneumonie due à *Pneumocystis Carinii* ou d'autres maladies rares telles que le sarcome de Kaposi. Très rapidement, les cliniciens français commencent à observer des cas similaires (Gottlieb et al., 1981).

En 1983, les premières évidences que le virus isolé ne fait pas partie de la famille des HTLV-1 (Human T-Lymphotropic Virus -1) sont affirmées (Barre-Sinoussi et al., 1983). Il s'agit d'un rétrovirus différent baptisé LAV (Lymphadenopathy-Associated Virus).

En 1984, le groupe de recherche français dirigé par Montagnier et le groupe américain dirigé par Gallo, publient des papiers similaires qui établissent, avec des évidences virologiques et épidémiologiques, que le virus nommé VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) est l'agent infectieux responsable du SIDA (Syndrome de l'Immunodéficience Acquise).

Le clonage du VIH (Alizon et al., 1984) et son séquençage en 1985 (Wain-Hobson et al., 1985) prouvent définitivement que le virus appartient à la famille des rétrovirus, et plus précisément à la famille des lentivirus. Un test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) permettant le dépistage du VIH est mis au point. Il est obligatoire pour tous les dons du sang évitant ainsi un grand nombre de contaminations (Silberner, 1985).

Le VIH-2 est isolé pour la première fois chez des individus d'Afrique de l'ouest en **1986** (Clavel et al., 1986). La séquence du VIH-2 est publiée par Franchini (Franchini et al., 1987), et son test de dépistage est développé par l'Institut Pasteur de Paris.

La première drogue découverte et efficace contre le VIH est l'inhibiteur de reverse transcriptase azidovudine ou AZT (Frick et al., 1988; McLeod and Hammer, 1992). Elle est admise par la FDA (Food and Drug Administration) en mars **1987** comme la première molécule antirétrovirale.

Il faut attendre **1991**, pour qu'une nouvelle molécule, le didanoside ou Videx soit approuvé par la FDA. Il fait partie, tout comme l'AZT, de la famille des INTI (Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse).

La monothérapie montre ses limites en **1994**, mais, malgré tout, l'AZT permet de diminuer le pourcentage de transmission néonatale de 25,5% à 8,3% (Connor et al., 1994).

La cristallisation de la protéase du VIH a permis le développement d'une nouvelle classe d'inhibiteur : les inhibiteurs de la protéase approuvés par la FDA en **1995** (Dorsey et al., 1994; Vacca, 1994). L'existence des réservoirs latents est mise en évidence « in vitro » (Chun et al., 1995).

Les corécepteurs CCR5 (Chemokine (C-C motif) Receptor 5) nécessaires à l'entrée du virus dans la cellule sont découverts (Cohen, 1996; Deng et al., 1996). C'est également en **1996**,

que la FDA approuve le premier inhibiteur non nucléosidique de la reverse transcriptase (INNTI) (Genin et al., 1996).

Les effets bénéfiques des bi et trithérapies ainsi que des inhibiteurs de protéase sont publiés en 1997 (Hammer et al., 1997; Hirsch et al., 1999). La présence de foyers infectieux persistants malgré les thérapies est mise en évidence (Chun et al., 1997b; Finzi et al., 1997; Wong et al., 1997), et la découverte de la précocité de la mise en place des réservoirs est démontrée (Chun et al., 1998). Les multithérapies induisent une diminution de la charge virale et de la mortalité. Mais elles ont également des limites, telles que le développement de résistances, et entraînent des complications métaboliques (Safrin and Grunfeld, 1999).

En 1999, apparaît l'utilisation de molécules (telles que l'IL-2) en plus de la trithérapie dans le but d'éradiquer le VIH des patients infectés (Kulkosky et al., 2002).

En 2001, les médicaments génériques sont commercialisés dans les pays en voie de développement.

En 2002, la certitude que l'éradication des réservoirs est impossible par les traitements actuels est publiée ; une plus grande compréhension des mécanismes mis en jeu dans la latence est nécessaire afin de développer de nouvelles stratégies (Pomerantz, 2002).

L'année 2003 voit apparaître une nouvelle classe d'agents thérapeutiques connue sous le nom d'inhibiteurs de fusion tels que le T20 (Burton, 2003). C'est également en 2003, que la première phase 3 d'essais cliniques pour un vaccin a été menée à terme. Malheureusement, il n'a pas été montré de protection (Cao et al., 2003).

En 2007, une nouvelle classe d'agents thérapeutiques est mise sur le marché. Il s'agit du Maraviroc qui bloque l'entrée du virus via les corécepteurs CCR5.

Enfin, les essais cliniques en phase 2 du vaccin V520 sont arrêtés par Merck. Les sujets traités par le vaccin semblent plus sensibles à l'infection que les sujets contrôles traités avec un placebo.

2 Le SIDA aujourd'hui

Malgré les progrès de la recherche biomédicale, ainsi que l'implication d'organisations telles que l'ONUSIDA (Programme Commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA), le SIDA reste un problème de santé publique. Les progrès réalisés par certains pays dans la lutte contre leurs épidémies nationales ne sont ni homogènes ni suffisants pour garantir l'avenir de l'épidémie ; les actions menées doivent être accentuées afin de permettre un accès universel à la prévention, aux traitements et aux soins.

D'après les données 2007 de l'ONU (Organisation des Nations Unies), le pourcentage mondial de personnes vivant avec le VIH s'est stabilisé depuis 2000, mais à un niveau que l'on ne peut accepter. En effet, 33 millions de personnes vivent avec le VIH en 2007 ; dont

67% (et 72% des décès dus au VIH) sont en Afrique subsaharienne. Cette région reste donc, malgré les efforts réalisés, la région la plus gravement touchée par l'épidémie.

Le nombre annuel de nouvelles infections a diminué de 10 % en 7 ans, passant de 3 millions en 2001 à 2,7 millions en 2007. Cependant, on voit apparaître une augmentation du nombre de personnes vivant avec le VIH, du fait de l'accès aux trithérapies et à leurs effets bienfaisants, mais également à cause des erreurs d'estimations de la prévalence et de l'augmentation des infections dans certains pays (Kenya) (figure 1A).

Afin d'inverser le cours de l'épidémie, il faut absolument prévenir les nouvelles infections à VIH. Pour cela, il ne faut pas abandonner les stratégies de prévention existantes. Des progrès majeurs ont notamment été réalisés dans la prévention de la transmission mère-enfant. Les traitements antirétroviraux, dispensés aux femmes séropositives enceintes, permettent de diminuer cette transmission du VIH (figure 1B).

Enfin, il semblerait que le nombre de personnes bénéficiant d'un traitement dans les pays à revenus faibles et intermédiaires a été multiplié par 10 en 6 ans, pour atteindre 3 millions de personnes en 2007.

De grands progrès ont donc été réalisés dans la lutte contre le VIH, cependant, la recherche biomédicale a encore son rôle à jouer, afin de proposer, dans les années à venir, de nouvelles stratégies thérapeutiques.

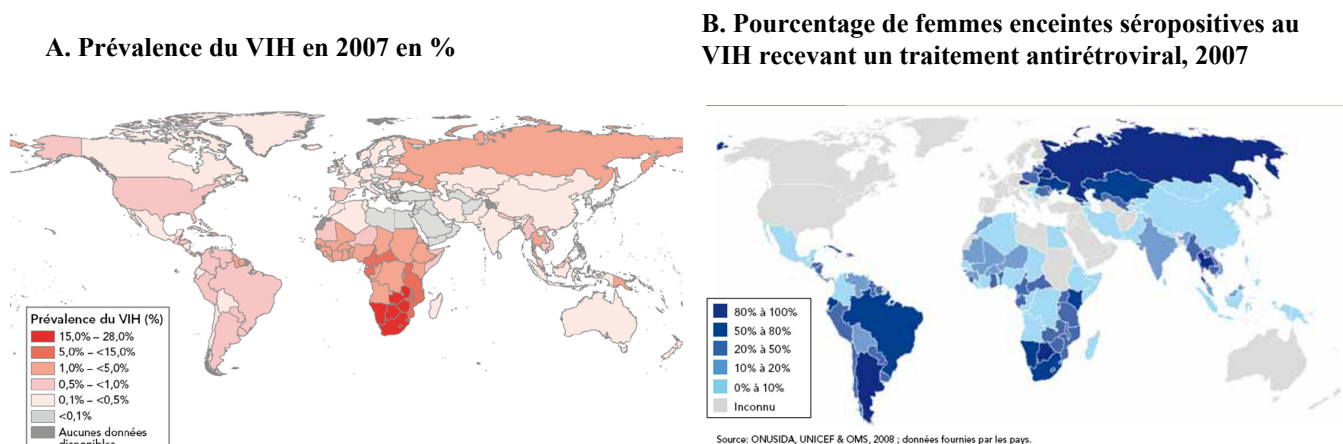


Figure 1 : Le VIH dans le monde

A. Carte de prévalence du VIH en 2007 dans le monde. D'après Unaiids.

B. Carte de répartition de l'accès aux thérapies des femmes enceintes séropositives en 2007 dans le monde. D'après Unaiids.

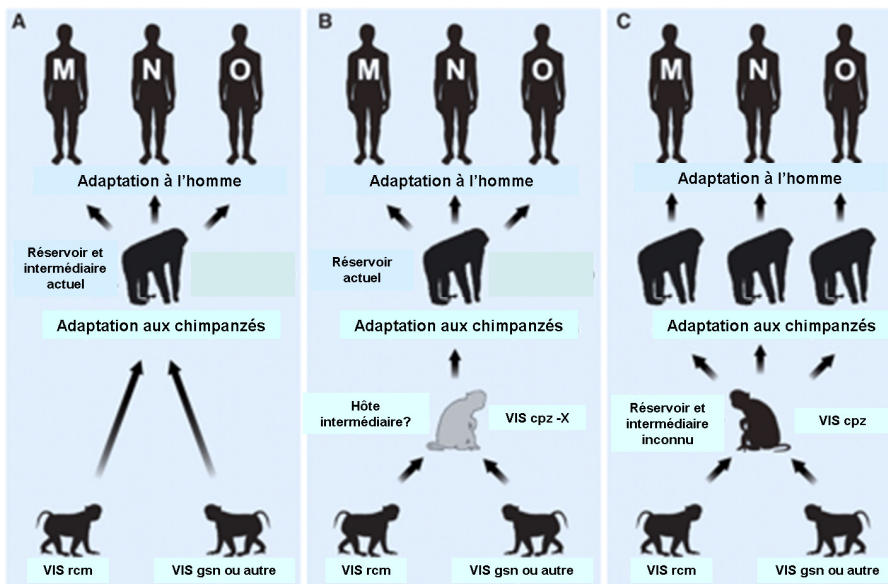
3 Les origines du VIH

Les virus VIH-1 et VIH-2 sont le résultat de plusieurs transmissions inter-espèces entre les primates et les humains. Récemment, il a été démontré que l'origine géographique du VIH-1 se situerait au Cameroun. En effet, les souches ancestrales des sous-types M et N du VIH-1

persistent dans les populations de chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*) dans le sud du Cameroun (Takehisa et al., 2009) (figure 2B). Ainsi, l'apparition du virus chez l'homme aurait pour origine le braconnage et, surtout, le dépeçage et la consommation de viande. Le SIVcpz (Simian Immunodeficiency Virus) a pu infecter en trois occasions différentes l'Homme, donnant naissance au VIH-1 (Gao et al., 1999) (figure 2A). Les gorilles (*Gorilla gorilla gorilla*) sont infectés par un SIVgor très proche du SIVcpz et du VIH-1. Les chimpanzés sembleraient être la source du SIVgor. Ce dernier pourrait être un intermédiaire entre les chimpanzés et l'Homme, et aurait pu engendrer le sous-type O (Takehisa et al., 2009; Van Heuverswyn et al., 2006).

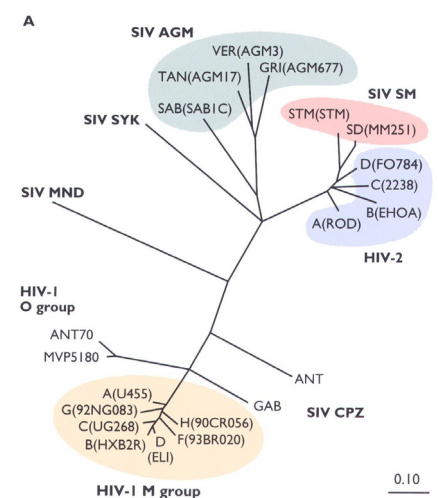
Le VIH-2 a pour origine le SIVsm, trouvé dans les mangabey couronnés (*Cercocebus atys*), et serait le résultat d'au moins 8 infections différentes (Santiago et al., 2005).

A.



(Heeney et al., 2006) avec modifications

B.



(Flint et al., 2000)

Figure 2 : Les origines du VIH-1

A. Les différentes hypothèses de l'adaptation du SIV à l'Homme. Les singes représentent un intermédiaire qui a permis au SIV d'évoluer et de s'adapter à l'infection des Hommes.

rcm : mangabey à tête rousse ; gcn : cercopithèque hocheur ; cpz : chimpanzé (en captivité)

B. Arbre phylogénétique des différents types de VIH et de SIV.

cpz : chimpanzé ; sm : sootey mangabey ; agm : singes verts d'Afrique ; syk : singes sykes ; mnd : mandrill

4 Le VIH

Le VIH, qui est l'agent étiologique du SIDA, fait partie de la famille des *retroviridae*. Il possède à ce titre toutes les caractéristiques de cette famille de virus.

Les rétrovirus se distinguent par une capsidie en forme de cône, la présence de la transcriptase inverse et de la bicouche lipidique, et enfin par une structure permettant l'ancrage de protéines étrangères.

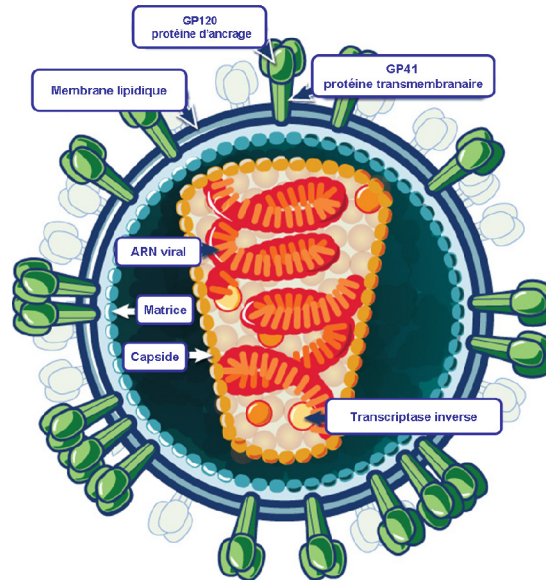


Figure 3 : Schéma d'une particule virale

La particule virale porte à sa surface les protéines gp120 et gp41 nécessaire à sa fusion avec la cellule hôte. Elle renferme l'ARN génomique et tous les composants nécessaires à l'infection de la cellule cible.

Les virions matures ont une morphologie sphérique de 80 à 120 nm de diamètre et sont constitués d'une membrane lipidique dans laquelle sont enchâssées des spicules. L'enveloppe entoure la matrice et une nucléocapsidie en forme de cône. La nucléocapsidie comporte le génome viral composé de deux molécules d'ARN monocaténares, la protéase virale, la reverse transcriptase, l'intégrase, et les protéines virales Vpu, Vif, Vpr et Nef, plus quelques facteurs cellulaires (figure 3).

4.1 L'enveloppe

D'origine cellulaire, elle est composée d'une bicouche lipidique dans laquelle sont enchâssés 72 spicules. Chaque spicule est constituée de trois glycoprotéines transmembranaires (gp41) liées de manière non covalente à un trimère de la glycoprotéine de surface (gp120) (Lu et al., 1995).

4.2 La matrice

La matrice, qui tapisse la face interne de l'enveloppe, est formée par oligomérisation de la protéine de matrice (MA, p17). Sa partie N-terminale myristillée lui permet de se lier à

l'enveloppe virale. Cette protéine est très importante, car elle possède différents rôles au cours du cycle viral :

- Elle facilite la migration du complexe de transcription inverse vers le noyau
- Elle participe à l'intégration
- Elle est importante pour l'assemblage des virions en permettant l'incorporation de la gp41 et de la gp120 dans l'enveloppe virale (pour revue (Bukrinskaya, 2007)).

4.3 La capsid

La capsid virale, renfermant la nucléocapsid ainsi que diverses protéines virales et cellulaires impliquées dans le cycle viral, est composée par un assemblage de protéines p24 (Frankel, 1996).

4.4 La nucléocapsid

La nucléocapsid réunit les deux brins d'ARN entre eux et les protège de l'action des enzymes cellulaires. Les protéines de nucléocapsid (p7) se fixent spécifiquement sur le génome viral pour former la nucléocapsid. Les protéines de nucléocapsides sont essentielles pour l'assemblage viral et possèdent une activité de chaperonnes, en facilitant la conversion rapide de l'ADN simple brin en ADN double brin lors la transcription inverse (Tsuchihashi and Brown, 1994) ; pour revue(Thomas and Gorelick, 2008).

4.5 Les protéines encapsidées

Les particules virales contiennent de nombreuses protéines virales nécessaires à différentes étapes du cycle cellulaire : la transcriptase inverse (RT, p66 et p51), l'intégrase (IN, p32), la protéase (PR, p11), la protéine p6, les peptides p1 et p2 et les protéines dites accessoires Vpr, Vif et Nef. De plus, de nombreuses protéines cellulaires sont incorporées dans les virions tels qu'ICAM-I qui augmente l'infectivité du virus probablement en stabilisant la liaison du virus aux cellules cibles (Tardif and Tremblay, 2003) ; la lysyl-ARNt-synthétase qui est nécessaire à l'incorporation de l'ARNt^{Lys} (Guo et al., 2003) ; la cyclophylin A requise pour une infectivité optimale (Franke et al., 1994; Thali et al., 1994) ; l'actine importante pour l'assemblage des virions ; l'ubiquitine impliquée dans l'ubiquitinylation de Gag qui pourrait être importante pour l'assemblage des particules virales (Martin-Serrano, 2007; Ott et al., 2000), les tétraspanines qui sembleraient jouer un rôle dans l'assemblage et le bourgeonnement des virions (Campbell et al., 2001; Ono and Freed, 2001) ; pour revue(Ott, 2008).

4.6 Le génome viral

Le génome viral est composé de deux brins d'ARN de polarité positive homologues d'environ 9,4 kb chacun et code pour 16 protéines. Il est constitué de 3 gènes de structures, *gag*, *pol*, *env*, codant pour des protéines nécessaires à tous les rétrovirus, et de 6 gènes codant pour des protéines régulatrices (*tat* et *rev*) et des protéines accessoires (*vif*, *vpr*, *vpu* et *nef*) (McCune, 1991).

Après la transcription inverse, on retrouve de part et d'autre du génome viral une région non codante longue et répétée nommée LTR pour Long Terminal Repeat (Marcello et al.) ; (figure 4).

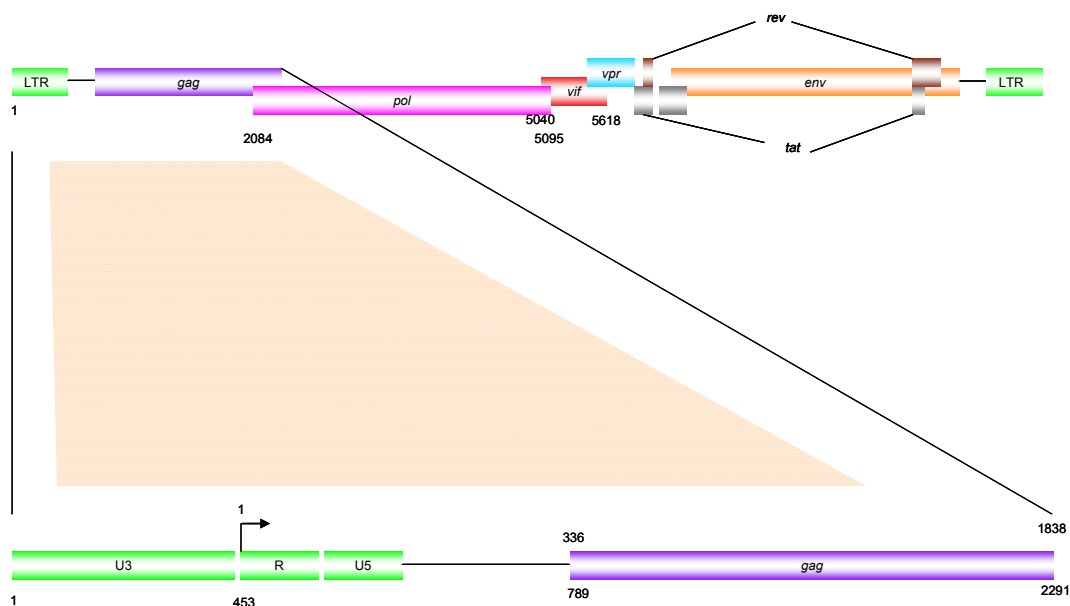


Figure 4 : Représentation du génome viral

Le génome viral contient les gènes codant pour les protéines de structures, les protéines accessoires et les enzymes nécessaires à l'infectivité du virus. Les régions codantes sont entourées par deux régions non codantes LTR (Long Terminal Repeat) en 5' et en 3' comprenant chacune les régions U3, R et U5.

4.6.1 Les régions non codantes

4.6.1.1 La région non codante en 5'

La région non codante en 5' est composée de quatre régions :

- Une coiffe qui protège l'ARN de la dégradation par les exonucléases
- Une région R (répétée) constituée de deux motifs impliqués dans la transcription des gènes viraux, la TAR (Transactivation Response Element) nécessaire à la transactivation des gènes viraux médiée par Tat et le signal de polyadénylation
- Une région U5

- Une région PBS (Primer Binding Site) qui sert d'amorce lors de transcription inverse en fixant l'ARNt3^{lys}.

La région leader englobe une partie de la région U5 et de la séquence PBS et semble très structurée (Clever et al., 2002). Elle est composée de quatre motifs en tiges boucles impliqués dans différents processus. SL1 est important pour les mécanismes de dimérisation de l'ARN génomique (Paillart et al., 2004), SL2 pour l'épissage (O'Reilly et al., 1995) et SL3 pour l'encapsidation (Berkowitz et al., 1993).

4.6.1.2 La région non codante en 3'

Subdivisée en 2 régions : U3 et R, elle est identique à celle trouvée en 5'.

4.6.2 *Les régions codantes*

Le génome viral d'une longueur de 9.4 kb code pour trois gènes structuraux communs à tous les rétrovirus :

- *gag* (group specific antigen) : synthétisée initialement sous forme d'un précurseur polyprotéique, le Pr55^{Gag}, il donne naissance, grâce à l'action de la protéase qui le clive après le bourgeonnement hors de la cellule, aux protéines de la matrice (p17), de la capsid (p24), de la nucléocapsid (p7) et à la protéine p6. Il génère également deux peptides p1 et p2 (Henderson et al., 1990).

- *pol* (polymérase) : un décalage du cadre de lecture à la fin du gène *gag* permet la synthèse d'un précurseur Gag-Pol, Pr160^{Gag-Pol} (Jacks and Varmus, 1985). Incorporé dans les virions immatures, il conduit à la libération des enzymes virales sous leur forme active : la protéase (PR), la transcriptase inverse (RT) et l'intégrase (IN) ; pour revue (Hill et al., 2005).

- *env* (enveloppe) : code pour la protéine gp160, un précurseur clivé enzymatiquement par la protéase cellulaire (furine) pour donner les protéines constitutives des spicules : gp41 et gp120.

Le génome du VIH-1 code également pour deux protéines régulatrices, Tat (transcriptional transactivator) et le régulateur de l'expression virale, Rev :

- *Tat* (p14) : Tat et son cofacteur cellulaire P-TEFb coopèrent pour se lier avec une grande affinité à la TAR (Berkhout et al., 1989), permettant à l'ARNpolII (ARNpolymérase II) de produire des transcrits viraux complets (Benkirane et al., 1998; Bres et al., 2002; Marzio et al., 1998). Tat permet non seulement la régulation de la transcription des gènes viraux, mais également la régulation de la transcription de certains gènes cellulaires, comme les cytokines (Ehret et al., 2001). De plus, Tat peut être sécrété et cause des dommages aux cellules avoisinantes qui ne sont pas nécessairement infectées. Ainsi, il a pu être montré que

- *Rev* (p19) : *Rev* participe à l'export nucléaire des transcrits non épissés et à leur épissage dans le cytoplasme (Chang and Sharp, 1989; Fischer et al., 1994). *Rev*, protéine de 116 acides aminés, possède une séquence riche en arginine qui sert à la fois de signal de localisation nucléaire (NLS) et de région de liaison à l'ARN (RBD) (Bohnlein et al., 1991). Cette région est entourée de part et d'autre de séquences nécessaires à la multimérisation (Bogerd and Greene, 1993). La séquence riche en leucine, originalement connue comme le domaine d'activation, contient la séquence d'export nucléaire (NES) (Fischer et al., 1995). Ainsi, la NLS et la NES permettent à *Rev* d'emprunter les parcours cellulaires pour entrer ou sortir du noyau. L'action de *Rev* nécessite des interactions avec des facteurs cellulaires tels que eIF-5A nécessaire à sa transactivation (Ruhl et al., 1993) et l'exportin 1b nécessaire à l'exportation des ARNm hors du noyau (Neville et al., 1997), par exemple.

Enfin le génome viral code pour 4 protéines dites accessoires.

- *Nef* (negative factor) : *Nef* est associée à la face cytoplasmique des membranes cellulaires. Elle interagit avec la queue cytoplasmique de la molécule CD4, permet le recrutement d'AP-2, l'internalisation du CD4 et la dégradation de la molécule par les lysosomes. Ainsi, *Nef* empêche la réinfection des cellules (Chaudhuri et al., 2007; Garcia and Miller, 1991; Roeth and Collins, 2006). *Nef* agit également sur les CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) de classe I et II en diminuant leur présentation à la surface des cellules (Roeth and Collins, 2006; Schindler et al., 2003; Schwartz et al., 1996). Enfin, *Nef* régule la présentation du CD3 (récepteur de la cellule T) (Thoulouze et al., 2006). *Nef* permettrait aussi d'optimiser l'infectivité du virus en facilitant la pénétration du core sur le réseau d'actine durant les premières phases de l'infection (Pizzato et al., 2007).

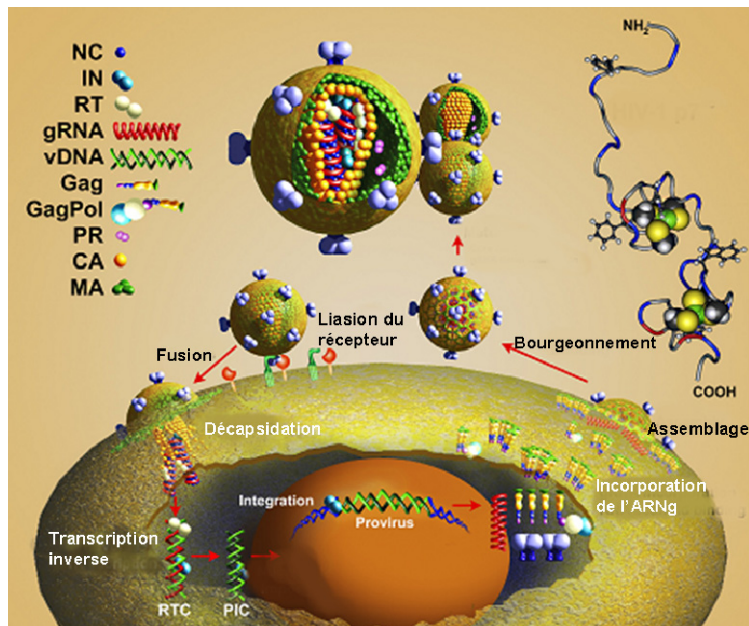
- *vpu* : (Viral protein u, p16), présente uniquement chez VIH-1 (*Vpx* pour VIH-2) permet, tout comme *Nef*, la diminution de la présentation de la molécule CD4 à la surface des cellules, en facilitant sa dégradation par le protéasome suite à son ubiquitinylation par Skp-1 (S-phase Kinase-associated Protein 1A) (Binette et al., 2007; Margottin et al., 1998; Meusser and Sommer, 2004). *Vpu* facilite le bourgeonnement des virus en empêchant la tetherin d'agir, responsable de la rétention de particules virales à la membrane cellulaire (Neil et al., 2008) et en créant un pore Ca^{2+} -dépendant (Ewart et al., 1996). Enfin, *Vpu* atténue la réponse immunitaire en diminuant la présentation des CMH de classe I et II (Hussain et al., 2008; Kerkau et al., 1997).

- *vif* (Viral infectivity factor, p23) : petite protéine de 192 acides aminés, elle est produite en grande quantité dans le cytoplasme des cellules infectées. Elle permet, la maturation des virions et diminue la formation de virions défectueux (Hoglund et al., 1994). *Vif* antagonise l'effet antiviral d'APOBEC3G (apolipoprotéine BmRNA editing enzyme,

- *vpr* (viral protein r, p15) : au cours du cycle viral, Vpr agit sur différentes étapes du cycle viral, en interagissant à la fois avec des protéines virales et cellulaires. Encapsidées dans les virions, elle est essentielle dès les premières étapes du cycle cellulaire. Ainsi, elle participe à la transcription inverse (Kaminska et al., 2007; Mansky, 1996), à l'import nucléaire du PIC (complexe de pré-intégration) (Heinzinger et al., 1994; Le Rouzic et al., 2002; Vodicka et al., 1998), à la transactivation du promoteur viral (Kino and Pavlakis, 2004; Roberts and Green, 1994), au blocage du cycle cellulaire observé dans les cellules infectées et au phénomène d'apoptose induit par le virus (Chang et al., 2000; Muthumani et al., 2002; Roumier et al., 2002; Watanabe et al., 2000). Vpr agit alors sur les voies de régulation du cycle cellulaire mises en jeu lors de la réparation des dommages à l'ADN, provoquant un arrêt en phase G2/M. Vpr inhibe l'action du complexe Cdc2/Cycline B régulant le passage en G2/M (He et al., 1995; Re et al., 1995), et induit la phosphorylation du variant X de l'histone H2 (H2AX) qui marque les zones endommagées de l'ADN (Lai et al., 2005). Vpr interagit également avec le complexe DDB1-DCAF-E3 ligase (Damage-specific DNA binding protein-DDB1-CUL4A-associated factor-E3 ligase) et empêche ainsi le fonctionnement normal de la voie de réparation de l'ADN en accélérant la dégradation des protéines cellulaires régulatrices du cycle viral (Dehart and Planelles, 2007; Le Rouzic et al., 2007; Wen et al., 2007).

5 La réplication du VIH

Le cycle de réplication du VIH se compose d'une série d'évènements qui peuvent être divisés en deux phases : une phase pré-intégrative, allant de l'entrée du virus dans la cellule hôte jusqu'à l'intégration de l'ADN proviral au génome cellulaire, et une phase post-intégrative, conduisant à la production de nouveaux virions (figure 5).



(Thomas and Gorelick, 2008) avec modifications

Figure 5 : Le cycle viral

Après fusion de la particule virale avec la membrane de la cellule hôte, le génome viral va être rétro-transcrit pour enfin être intégré dans le génome cellulaire. Après transcription du provirus, et production des protéines virales, il va y avoir formation de nouvelles particules virales qui vont bourgeonner au niveau de la membrane cellulaire.

5.1 La phase pré-intégrative

5.1.1 L'entrée du virus dans la cellule hôte

5.1.1.1 L'importance du récepteur CD4

Dans le milieu des années 1980, il a été clairement démontré que la molécule CD4 est un récepteur cellulaire de surface pour le VIH (Dalglish et al., 1984). En effet, l'attachement des virions à la surface cellulaire est possible grâce à une interaction entre les domaines extracellulaires de la gp120 et des récepteurs cellulaires. Le site d'interaction sur la molécule CD4 avec la molécule gp120 est un petit fragment du domaine N-terminal, qui est extracellulaire. La région impliquée pour l'interaction entre CD4 et gp120 est localisée dans les domaines conservés C3 et C4 de la molécule gp 120. En effet, la présence de la molécule CD4 à la surface des cellules est une condition nécessaire mais non suffisante à l'infection par le VIH. Des corécepteurs sont donc nécessaires.

Lors de la phase post-intégrative de la réplication, des dimères CD4-gp120 se forment de manière intracellulaire, migrent vers la membrane plasmique et induisent une diminution de la présence de la molécule CD4 à la surface cellulaire. Ce processus rend les cellules infectées partiellement résistantes à toute infection supplémentaire.

5.1.1.2 Les corécepteurs mis en jeu

La présence des corécepteurs CXCR4 (Chemokine (CXC motif) Receptor) (Feng et al., 1996) et CCR5 (Alkhatib et al., 1996; Deng et al., 1996) permet l'infection productive et détermine le tropisme des virus. Le récepteur CXCR4 des alpha-chimiokines est typiquement exprimé par les cellules T, alors que le récepteur CCR5 des beta-chimiokines est exprimé par les cellules T et les macrophages. Ainsi, les souches utilisant le corécepteur CCR5 sont appelées R5, celles nécessitant le CXCR4 X4 et enfin les souches utilisant les deux corécepteurs X4R5.

La boucle V3 de la gp120 joue un rôle majeur dans la détermination du tropisme du virus (O'Brien et al., 1990).

Les chimiokines sont capables de réprimer la réplication du VIH en provoquant soit une internalisation des corécepteurs, soit en les bloquant (Amara et al., 1997; Aramori et al., 1997). L'importance des corécepteurs est prouvée par le fait qu'une hétérogénéité des allèles des corécepteurs peut engendrer une susceptibilité des individus à l'infection. La mutation CCR5/Δ32 entraîne chez les individus homozygotes une complète résistance à l'infection par le VIH (Liu et al., 1996). Une étude récente a pu mettre en évidence l'importance du corécepteur CCR5 dans l'infection virale (Hutter et al., 2009). En effet, ces auteurs ont démontré chez un patient infecté par le VIH et atteint par une leucémie myéloïde aigue que la transplantation de cellules souches comportant la mutation CCR5/Δ32 permettait la non résurgence du virus après 20 mois sans thérapie.

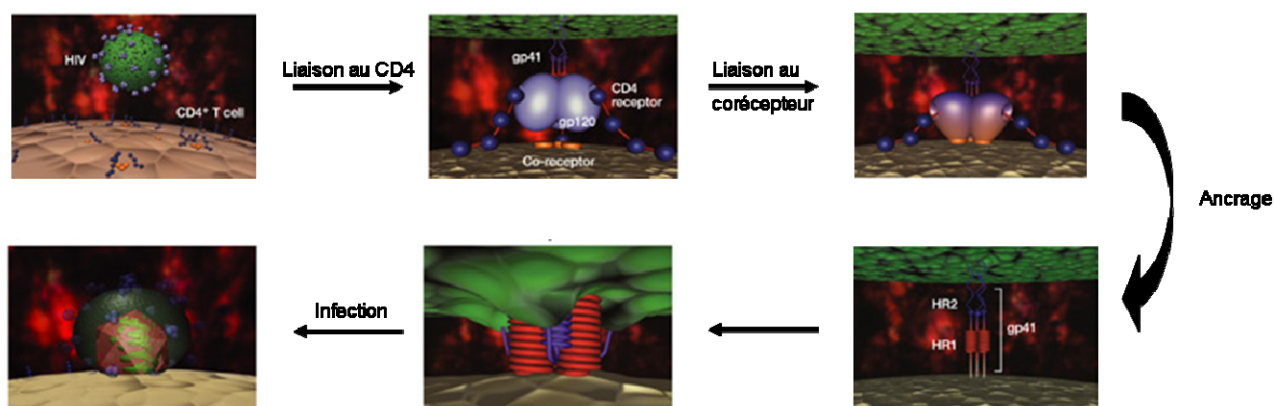
5.1.1.3 Les récepteurs alternatifs d'entrée

Le VIH ne se lie pas uniquement à la molécule CD4, mais est également capable de s'attacher à la cellule cible via des récepteurs alternatifs :

- Les récepteurs du mannose sur les macrophages et les cellules dendritiques (Ezekowitz et al., 1989).
- DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) sur les cellules dendritiques (Curtis et al., 1992; de Witte et al., 2008b; Hong et al., 2002; Wichukchinda et al., 2007).
- Les héparans sulfates sur les macrophages et les cellules dendritiques (Crublet et al., 2008; Vidricaire et al., 2007).
- Les galactosylcéramides (Backhed et al., 2002).
- Les sulfatides sur les cellules neuronales, par exemple (Harouse et al., 1991).
- La langerin sur les cellules de Langerhans (de Witte et al., 2007).
- Les récepteurs Fc sur les cellules de la lignée monocyttaire (Jouault et al., 1991; Takeda et al., 1990).

5.1.1.4 Les mécanismes de fusion membranaire

La fusion membranaire qui a lieu entre la bicouche lipidique de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire est essentielle au processus de l'infection, car elle permet à la capside virale de rejoindre le cytoplasme. Comme mentionné précédemment, la fusion membranaire est catalysée par les glycoprotéines gp120 et gp41. Le rôle de la gp120 est d'attacher le virus à la cellule hôte via les récepteurs CD4 exprimés à la surface des cellules cibles (Lasky et al., 1987). Cette interaction entraîne le changement de conformation de la gp120, induisant ainsi le déplacement de la boucle hypervariable V3, site de liaison avec les corécepteurs CCR5 ou CXCR4. Un dernier changement de conformation de la glycoprotéine gp41 permet l'interaction des domaines HR1 et HR2 entre eux, et la formation d'une structure stable de six hélices (Doms and Peiper, 1997; Freed et al., 1990). Ainsi, le domaine N-terminal de la gp41, encore appelé peptide de fusion, s'insère dans la membrane cellulaire et permet la formation du pore de fusion par déstabilisation des membranes, engendrant le transfert de la capside du virion vers la cellule (figure 6). Les récepteurs CD4 et les corécepteurs sont concentrés dans des zones particulières par un mécanisme faisant intervenir les radeaux lipidiques, les rendant ainsi accessibles par le virus dans un endroit restreint (Nguyen et al., 2005).



(Matthews et al., 2004) avec modifications

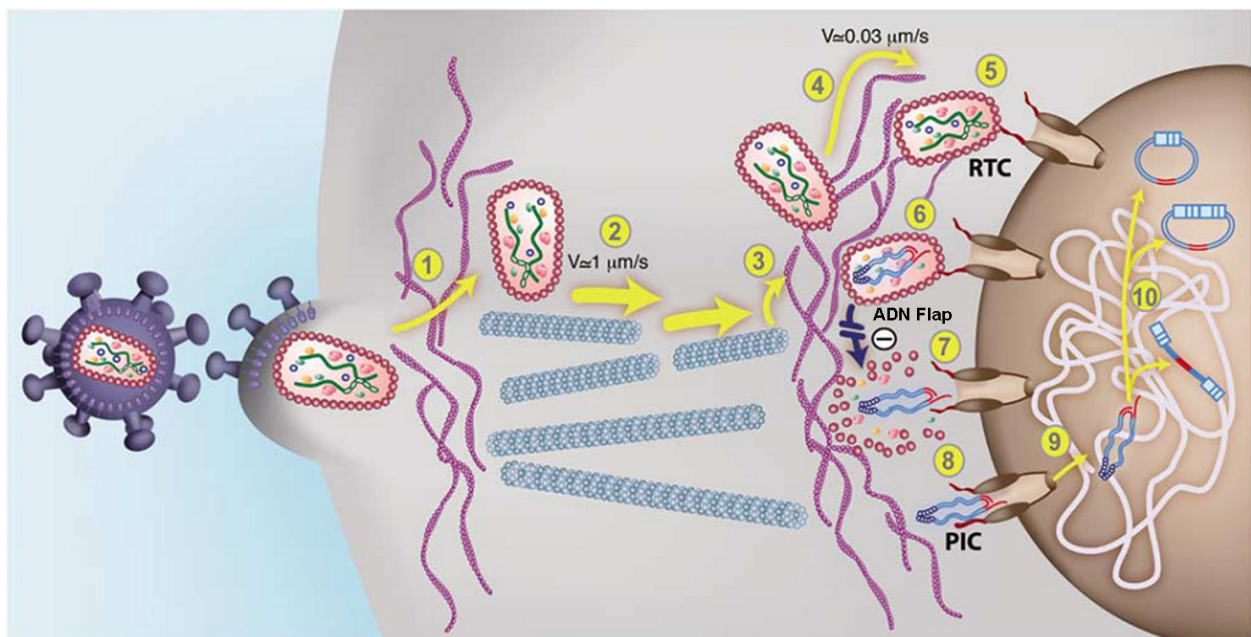
Figure 6 : Les mécanismes de fusion membranaire

La particule virale s'attache à la cellule cible via une interaction entre les protéines gp120 et CD4. Cette interaction induit un changement de conformation de la gp41 qui va permettre le rapprochement du virus et de la cellule pour enfin induire l'infection.

5.1.2 *La transcription inverse et la décapsidation*

Des études récentes tendent à montrer que la décapsidation aurait lieu après la transcription inverse, allant à l'encontre des études plus anciennes ; cependant, ce mécanisme reste encore controversé. En effet, l'environnement confiné du RTC (complexe de transcription inverse),

qui est organisé comme une coquille de molécules de capsid (CA) polymérisées, est bénéfique voire nécessaire pour une transcription inverse et une maturation du RTC en PIC efficace (Arhel et al., 2007). En effet, la formation de l'ADN flap, étant la dernière étape de la transcription inverse, elle facilite la maturation de RTC en PIC. De plus, les virus dont les cores sont instables présentent une transcription inverse inefficace (Forshey et al., 2002). Afin que l'infection virale soit productive, les virus entrés dans la cellule cible par fusion membranaire nécessitent une interaction avec le réseau d'actine (Campbell et al., 2004). Les complexes de transcription inverse (RTC) provenant directement du core de la particule virale entreprennent une migration rapide et saltatoire vers le compartiment nucléaire, via les microtubules (Arhel et al., 2006; McDonald et al., 2002). Les RTC transitent des microtubules vers les filaments d'actine et migrent à proximité de la membrane nucléaire par un mouvement lent (Arhel et al., 2006). Les RTC entrent en contact avec les pores nucléaires et la transcription inverse peut commencer (figure 7).



(Arhel et al., 2007) avec modifications

Figure 7 : La phase pré-intégrative : de l'infection à l'intégration du génome viral dans la cellule hôte

Après fusion, la capsid virale est acheminée à proximité du noyau de la cellule (1-5), où il va y avoir transcription inverse au sein de la capsid (6) et dégradation de celle-ci pour libérer l'ADN viral néosynthétisé (7). Il est alors pris en charge par le complexe de pré-intégration (PIC) qui le transporte vers le noyau où il sera intégré à l'ADN génomique.

5.1.2.1 La transcription inverse

Une des caractéristiques des rétrovirus est leur capacité à convertir leur génome ARN monocaténaire en un double brin d'ADN entouré par les deux séquences LTR (Long

Terminal Repeat). Cette réaction est catalysée par la transcriptase inverse (RT). La transcriptase inverse est un hétérodimère composé de 2 sous-unités, une de 66 kDa (p66) et une de 51 kDa (p51). C'est une enzyme multifonctionnelle comportant les activités ADN polymérase ARN dépendante, ADN polymérase ADN dépendante et l'activité ribonucléase H. On dénombre entre 80 et 120 copies de la RT par capsid.

- La transcription inverse est initiée en utilisant comme amorce l'ARNt^{lys} qui va se lier à la séquence PBS (Primer Binding Site) de la région non codante située en 5'. Cette liaison a lieu lors du bourgeonnement et de la maturation des particules virales (Ratner et al., 1985). La synthèse de l'ADN correspondant aux régions U5 et R commence en 5' de la molécule d'ARN, générant un hybride ARN/ADN (figure 8).

- L'ARN est dégradé par l'activité ribonucléase H, libérant le brin d'ADN connu sous le nom de « ADN (-) Strong Stop ».

- En utilisant de courtes régions d'homologie, les régions R, le brin d'« ADN (-) Strong Stop » passe de l'extrémité 5' à l'extrémité 3' du génome. Cette étape est appelé le premier saut de brin (Kim et al., 1997; Wu et al., 1995).

- La synthèse du brin d'ADN (-) se poursuit jusqu'à la séquence PBS en utilisant pour amorce l'extrémité 3' du brin d'« ADN (-) Strong Stop ».

- L'activité ribonucléase H va ensuite dégrader le génome viral à l'exception de deux séquences riches en purines nommées PPT3' et PPTc. La synthèse du brin d'« ADN (+) Strong Stop » peut commencer en utilisant comme amorce la séquence PPT3'. La synthèse du brin d'ADN D(+) nécessite la séquence PPTc en tant qu'amorce.

- L'activité ribonucléase va ensuite hydrolyser les amorces PPT3' et PPTc, ainsi que l'ARNt^{lys}, permettant alors à l'« ADN (+) Strong Stop » de subir le deuxième saut de brin et de s'hybrider avec la séquence PBS de l'ADN (-) (Peliska and Benkovic, 1992). Il y a alors formation d'une boucle d'ADN matrice pour la synthèse complète des brins « ADN (+) Strong Stop » et D (+).

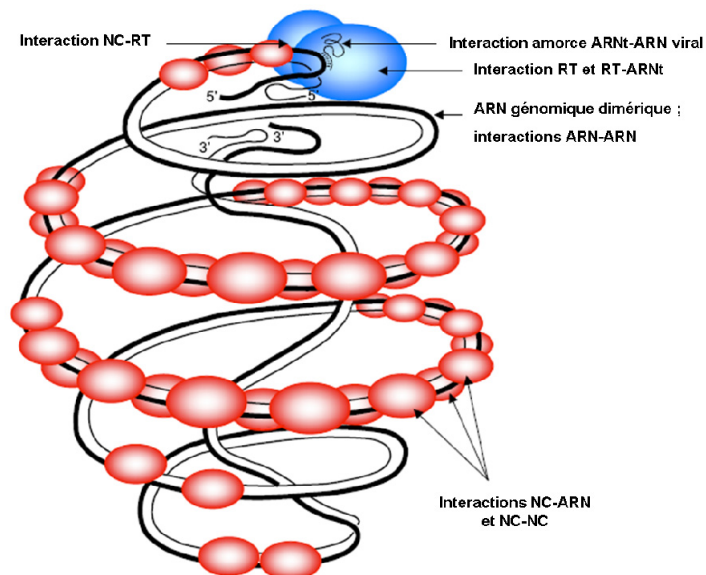
- La synthèse du brin « ADN (+) Strong Stop » se termine par un déplacement du brin D (+) sur 100 nucléotides environ au niveau de la région CTS (Central Termination Signal) (Charneau et al., 1994).

- Il en résulte la formation d'un brin d'ADN comportant un recouvrement appelé ADN flap. Le brin complémentaire est synthétisé par l'activité ADN polymérase ADN dépendante de la transcriptase inverse.

La formation de l'ADN flap facilite la maturation des RTC en PIC avant la translocation de l'ADN viral via les pores nucléaires (Arhel et al., 2007).

La transcriptase inverse doit réaliser des sauts d'une matrice à une autre, impliquant une faible affinité entre la transcriptase inverse et la matrice (Temin, 1993). Une conséquence directe est que si les molécules d'ARN d'un virion ne sont pas identiques, il peut résulter de la transcription inverse un nouveau recombinant d'ADN viral. Le taux important de

recombinaison génétique ainsi que le taux de mutation de la transcriptase inverse résultent en une population de virus très hétérogènes (Mansky and Temin, 1995). Le virus est alors capable de s'évader du système immunitaire et de développer des résistances aux traitements.



(Mougel et al., 2009) avec modifications

Figure 8 : La transcription inverse

La transcription inverse permet la production de l'ADN proviral qui sera ensuite intégré à l'ADN de la cellule hôte.

5.1.2.2 *La décapsidation*

La translocation via le pore nucléaire implique nécessairement une étape de maturation du RTC en PIC qui ne contient plus de protéine p24. La décapsidation est un phénomène encore mal connu. Une des hypothèses, avancée par Arhel et al, est que la décapsidation serait la conséquence d'un changement morphologique majeur du RTC suivant la formation de l'ADN flap, et qui ne serait plus compatible avec la présence de la capsid.

5.1.3 *L'import nucléaire*

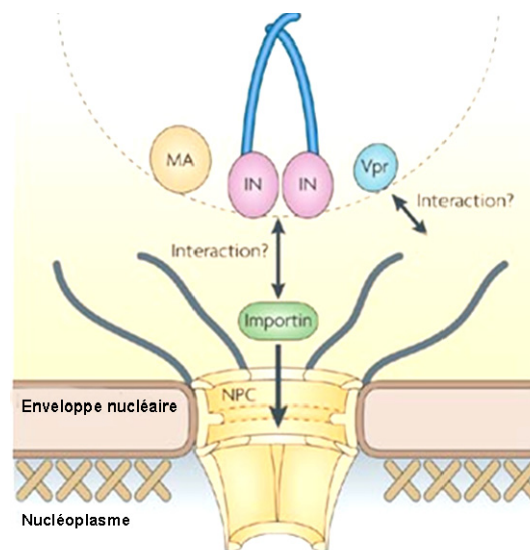
Après la décapsidation, le complexe de pré-intégration comprend l'ADN double brin (ADNc flap), des protéines de la matrice (MA), de la nucléocapside (NC), de l'intégrase (IN), de la transcriptase inverse (RT), la protéine Vpr ainsi que de certaines protéines cellulaires comme HMG-1 (Farnet and Bushman, 1997), le polypeptide 2 associé à la lamine (Lamina Associated Polypeptide 2 LAP2a) (Suzuki et al., 2004), le facteur LEDGF/p75 (Lens Epithelium Derived Growth Factor) (Llano et al., 2004; Vandegraaff et al., 2006) et le facteur

limitant d'auto-intégration (Barrier to Autointegration Factor BAF) (Lin and Engelman, 2003).

Dans les cellules se divisant, le PIC peut atteindre facilement l'ADN grâce à la dissociation de la membrane nucléaire (Lewis et al., 1992; Roe et al., 1993). Comme tous les lentivirus, le VIH est capable d'infecter les cellules ne se divisant pas, telles que les macrophages. Pour le passage de la membrane nucléaire, il utilise les pores nucléaires actifs (Sherman et al., 2003).

La protéine Vpr semble jouer un rôle important dans l'import nucléaire, en permettant le recrutement du PIC à la membrane nucléaire à proximité des complexes de pores nucléaires (Vodicka et al., 1998). En effet, Vpr s'associe aux nucléoporines (Popov et al., 1998) et interagit avec hCG1 (Le Rouzic et al., 2002) (figure 9).

L'ADN flap, ainsi que les protéines de la matrice et l'intégrase contiennent des séquences NLS (Nuclear Localisation Sequence) leur permettant d'interagir avec l'importine- α (Bukrinsky and Haffar, 1999; Haffar et al., 2000) (figure 9). L'importine- β reconnaît son ligand l'importine- α . Cette association permet d'activer leur transport ainsi que des protéines associées à l'intérieur du noyau (Fassati et al., 2003; Gallay et al., 1996). De plus, il semblerait que l'importine 7 faciliterait l'import nucléaire (Zaitseva et al., 2009).



(Suzuki and Craigie, 2007) avec modifications

Figure 9 : L'import nucléaire

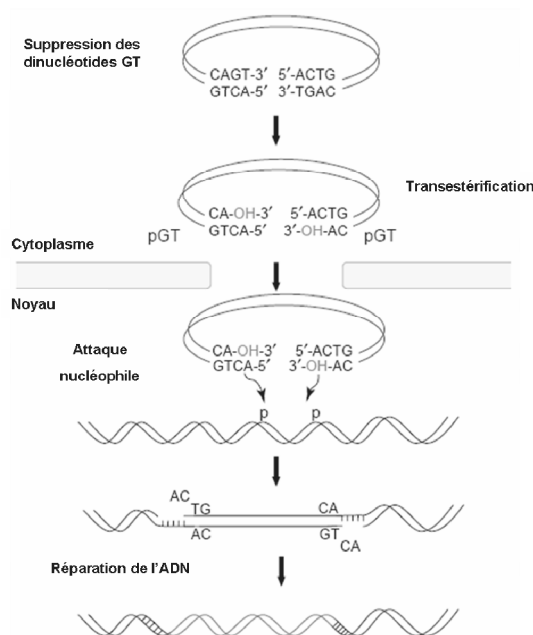
Vpr permet le recrutement du PIC à la membrane nucléaire grâce à une interaction avec les nucléoporines. L'intégrase et la matrice vont ensuite interagir avec l'importine permettant le passage du PIC par le pore nucléaire.

5.1.4 L'intégration

Suivant l'import nucléaire du PIC, l'intégrase va catalyser l'insertion de l'ADN viral double brin dans le chromosome de la cellule hôte. L'ADN intégré est appelé provirus.

Le processus d'intégration commence dans le cytoplasme avant l'import nucléaire. L'intégrase va reconnaître un fragment d'ADN de 20 paires de bases situé aux extrémités 3' des séquences LTR. Elle clive alors le dinucléotide GT sur les deux brins d'ADN, générant ainsi une molécule d'ADN bicaténaire, aux extrémités portant un groupement hydroxyle (Farnet and Haseltine, 1990).

Dans un deuxième temps, dans le noyau, l'intégrase va cliver l'ADN de la cible et procéder à une réaction de transestérification entre les extrémités 3' hydroxyles (OH) de l'ADN viral et les 5' phosphates de l'ADN cellulaire. La dernière étape de l'intégration permet le clivage des nucléotides non associés et la réparation du double brin d'ADN par des enzymes cellulaires (Yoder and Bushman, 2000) (figure 10).



(Yoder and Bushman, 2000) avec modifications

Figure 10 : Mécanisme d'intégration du génome viral au génome cellulaire

L'intégrase permet l'intégration du génome viral au génome cellulaire via des étapes de transestérification et d'attaque nucléophile. Des enzymes cellulaires catalysent alors la réparation de l'ADN, et le génome viral sera régulé et exprimé de la même manière que les gènes cellulaires.

L'intégration serait facilitée par des facteurs cellulaires contenus dans le PIC, tels que BAF (barrier to autointegration) qui agirait de manière indirecte. HMG-1 (High Mobility Group 1) faciliterait la liaison de l'ADN cible et de l'ADN viral (Hindmarsh et al., 1999). LEDGF

(Lens-Epithelium-Derived Growth Factor, p75) permet un meilleur attachement du PIC à l'ADN chromosomal (Bartholomeeusen et al., 2009; Cherepanov et al., 2003).

LEDGF/p75 est une protéine nucléaire qui pourrait agir comme un facteur permettant de retenir les complexes de pré-intégration sur la chromatine. En effet, LEDGF/p75 attache l'intégrase au niveau de la chromatine, la protège de la dégradation et influence le site d'intégration du provirus (pour revue (Poeschla, 2008)). Ce facteur très important pour l'intégration sert de cible pour l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Initialement, on pensait que le site d'intégration du provirus se trouvait dans des zones hétérochromatiniennes. Des travaux plus récents ont pu montrer que le provirus s'intégrait de manière préférentielle dans des régions transcriptionnellement actives (Han et al., 2004). Ainsi, sur 74 sites d'intégration, 93% se trouvaient dans des zones transcriptionnellement actives.

5.2 La phase post-intégrative

5.2.1 *L'expression de l'ADN proviral*

Suite à l'intégration du provirus dans l'ADN génomique de la cellule hôte, le génome viral parasite la machinerie transcriptionnelle pour son expression. La transcription des gènes viraux se déroule en deux étapes :

- Une phase précoce sous le contrôle de facteurs cellulaires
- Une phase tardive transactivée par le facteur viral Tat.

Les transcrits obtenus seront épissés pour servir d'ARN messagers, soit incorporés dans de nouvelles particules virales en tant qu'ARN génomique. Les ARN génomiques servent également d'ARNm pour la production des protéines Gag et Gag-Pol. Les ARN produits seront exportés dans le cytoplasme grâce à la fonction de Rev, capable de traverser la paroi nucléaire via ces séquences NLS et NES (Chang and Sharp, 1989; Fischer et al., 1994).

La régulation de la transcription des gènes viraux fera l'objet d'un chapitre à part entière.

5.2.2 *La production de nouveaux virions*

5.2.2.1 *L'assemblage et le bourgeonnement*

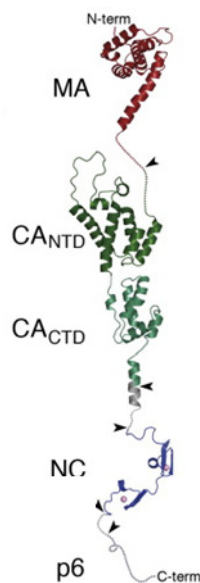
Les nouveaux virions produits sont immatures. Le précurseur Pr55^{Gag} est lié à la membrane virale via le domaine N-terminal codant pour la matrice. Ce domaine myristoylé (M) va ancrer la protéine Pr55^{Gag} grâce au groupement myristoyl qui s'enchaîne dans la bicouche lipidique. La particule immature est alors stabilisée par des interactions entre les précurseurs Pr55^{Gag}. Cette multimérisation est possible grâce au domaine d'interaction situé en C-terminal du domaine codant pour la capsid et par le peptide p1 (I). Ces domaines contenant

des doigts de zinc vont également permettre la liaison des précurseurs à l'ARN viral (Sandefur et al., 2000). Enfin, le précurseur Pr55^{Gag} possède un domaine facilitant le détachement des virions de la membrane plasmique lors du bourgeonnement (L) (Freed, 1998) (figure 11).

La production de nouveaux virions se déroule en plusieurs étapes :

1. la multimérisation des précurseurs Pr55^{Gag}
2. la liaison des complexes Pr55^{Gag} à l'ARN
3. le transport des complexes Pr55^{Gag}-ARN, Gag-Pol, Gag-pr55^{Gag} et Env au niveau des radeaux lipidiques ; ce complexe de préassemblage contient les protéines virales Vif et Vpr ainsi que des facteurs cellulaires tels qu'APOBEC3G (Bukrinskaya, 2007).

Le bourgeonnement des virions peut se faire selon les types cellulaires soit à la membrane plasmique, soit au niveau des endosomes suite à leur fusion grâce à la machinerie ESCRT (Endosomal Sorting Complexes Required for Transport) qui interagit avec Tsg101 (Tumor susceptibility gene 101) lié au domaine L de Pr55 (Gould et al., 2003; Langelier et al., 2006).



(Ganser-Pomillos et al., 2008)

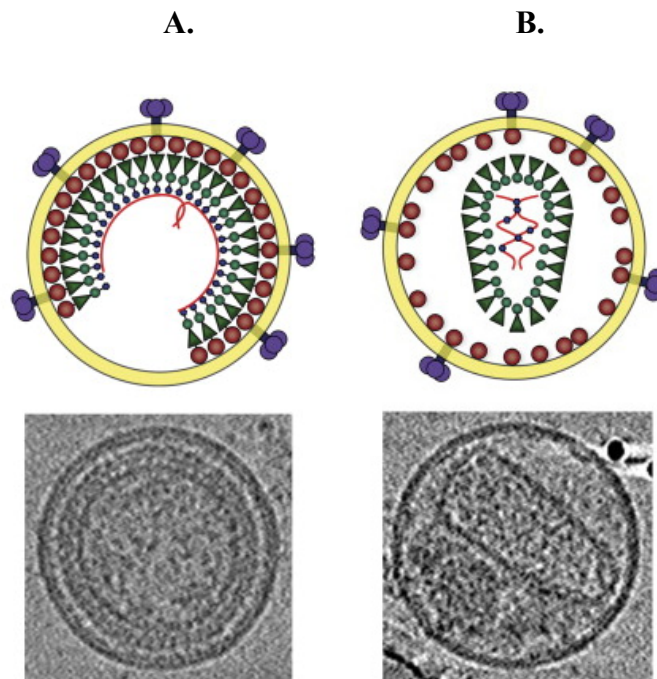
Figure 11 : Le précurseur Pr55^{Gag}

MA : Matrice ; CA : Capside ; NC : Nucléocapside ; p : peptide

5.2.2.2 La maturation des virions

Peu de temps après la libération des particules virales, Pr55^{Gag} et Pr160^{Gag-Pol} sont clivées par la protéase pour donner naissance aux protéines structurales (MA, CA, NC, p1, p2 et p6) et aux enzymes virales (IN et RT). En effet, Pr160^{Gag-Pol} dimérise pour conduire à une protéase active, qui sera libérée par un mécanisme autocatalytique (Debouck et al., 1987). Enfin, les

protéines de la capsidie forment le « core » de la particule virale (Briggs et al., 2004) et les protéines de la matrice s'organisent pour donner l'enveloppe interne. Les particules virales ainsi formées sont viables et infectieuses (figure 12).



(Ganser-Pornillos et al., 2008)

Figure 12 : La maturation des virions

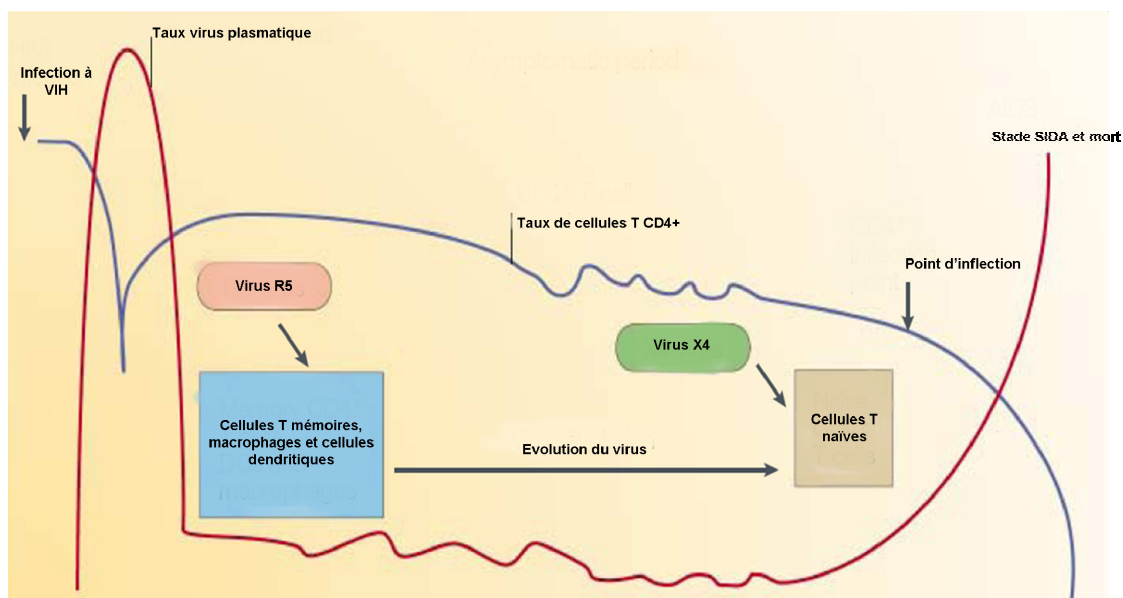
A. La particule virale avant maturation. Les précurseurs polyprotéiques sont organisées de manière radiale.(Rowland-Jones, 2003)

B. La particule virale après maturation. La protéase virale libérée par autocatalyse va permettre la maturation de la particule virale en clivant les précurseurs polyprotéiques.

Chapitre 2 : La pathogénèse virale

1 Evolution clinique de la maladie

L'évolution de la maladie peut se découper en trois phases : la phase de primo-infection, la phase asymptomatique et la phase SIDA (figure 13).



(Rowland-Jones, 2003) avec modifications

Figure 13 : Les phases cliniques de l'infection par le VIH-1

Le taux de lymphocytes T CD4+ circulants dans le sang est sujet à variation lors de l'infection à VIH. Ces variations vont permettre de caractériser les différentes phases de l'infection : la primo-infection, la phase asymptomatique et le stade SIDA.

1.1 La primo-infection

La primo-infection englobe la période allant de l'infection à la mise en place d'une réponse immunitaire et la production d'anticorps anti-VIH : on parle de séroconversion. Elle peut s'accompagner de manifestations cliniques très proches de la mononucléose infectieuse ou passer totalement inaperçue (Cooper et al., 1985). Lors de cette période, qui dure de 3 à 6 semaines, on observe une réplication exponentielle du virus, allant jusqu'à 10 milliards de virus produits par jour. Ceci a pour conséquence une chute rapide et transitoire du taux plasmatique de lymphocytes T CD4+. On observe par la suite la mise en place de la réponse immunitaire et un redressement du taux de lymphocytes T CD4+, qui redevient quasi-normal. C'est également au cours de cette phase que l'on voit la mise en place des réservoirs viraux insensibles aux traitements actuels (Chun et al., 1997a; Chun et al., 1998).

1.2 La phase asymptomatique

La phase asymptomatique se caractérise par une absence de symptômes cliniques, dont la durée peut varier de 6 à 11 ans. Malgré une réplication virale intense, le renouvellement constant des cellules immunitaires permet le contrôle de la charge virale. Cependant, cette phase est de courte durée, puisque les cellules immunitaires vont finir par décliner. Il en résultera une augmentation progressive de la charge virale et la submersion du système immunitaire.

Chez certains patients, cette phase peut être beaucoup plus longue, soit 15 à 20 ans : on parle de patients non-progressseurs à long-terme ou long-term non-progressors (LTNP). Les causes de ce phénomène ne sont pas encore élucidées, mais il semblerait que ces personnes disposent d'une réponse immunitaire plus active, leur permettant ainsi de maintenir leurs taux de cellules T (Lambotte et al., 2005; Lambotte and Delfraissy, 2006; Rodes et al., 2004; Saez-Cirion et al., 2007).

1.3 Le stade SIDA

Le déclin de la réponse immunitaire et le déclin des lymphocytes T plasmatiques, dont la concentration passe sous le seuil de 200 cellules/mm³, entraîne une très forte augmentation de la virémie. Ainsi, l'organisme rencontre des pathogènes face auxquels il n'est plus en mesure de se défendre et développe des maladies dites opportunistes (infection à CMV (cytomégalovirus), des candidoses) et des tumeurs d'origine virale (syndrome de Kaposi). On observe également, chez certains patients, des démences liées à la destruction des cellules neuronales.

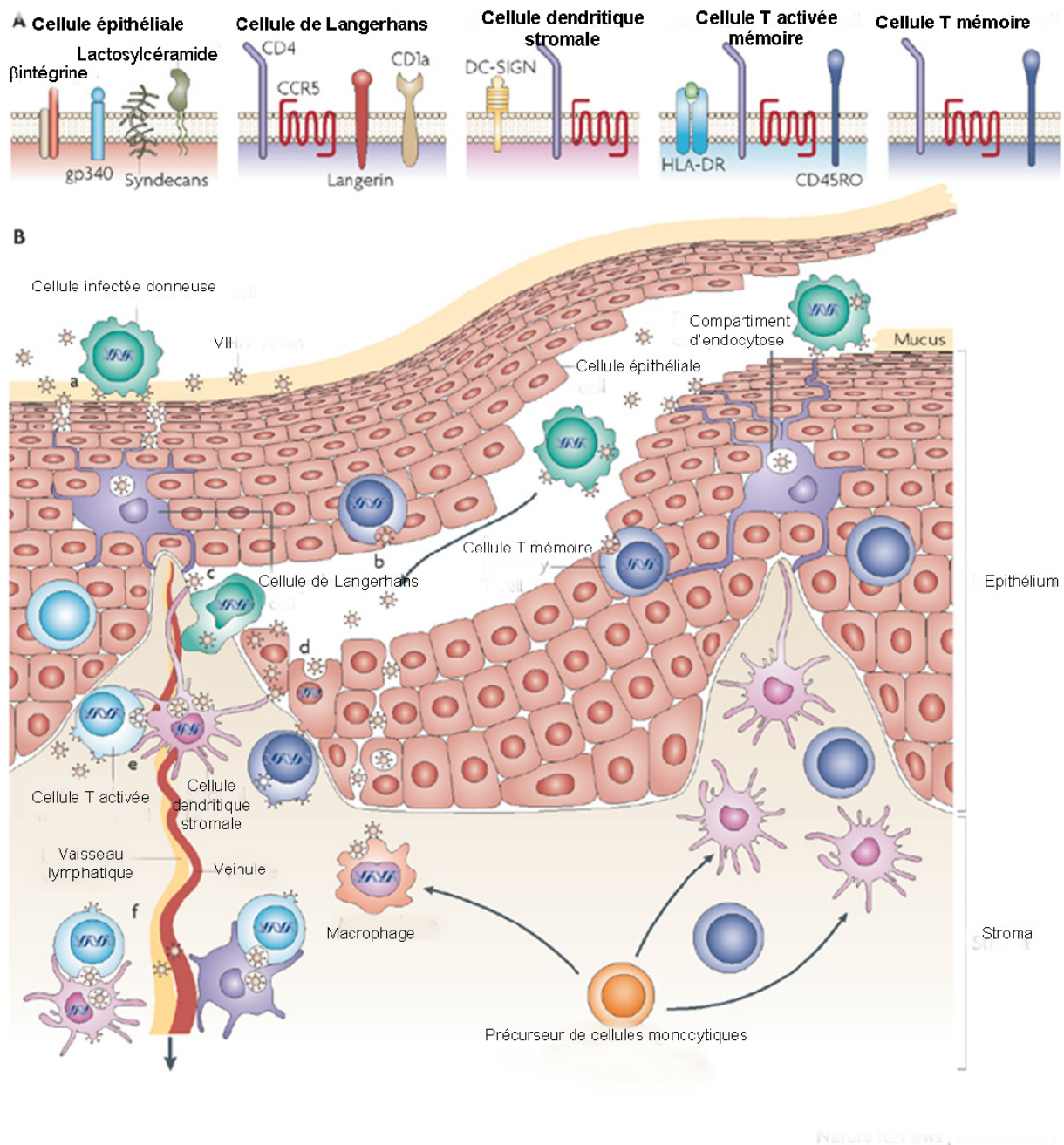
En l'absence de traitement, les maladies opportunistes conduisent à la mort du patient dans un délai de 1 à 3 ans.

2 Les différentes voies d'entrées du virus dans l'organisme

2.1 Les différentes modes de transmission (figure 16)

2.1.1 *La voie sexuelle*

Elle concerne autant les couples hétérosexuels que les couples homosexuels. Le VIH peut pénétrer les muqueuses génitales ou ano-rectales par des brèches ou des sites d'inflammation, au sein desquelles il pourrait infecter les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques pour ensuite être disséminé dans l'organisme (Hladik and McElrath, 2008) ; (figure 14).



(Hladik and McElrath, 2008) avec modifications

Figure 14 : La transmission par les voies sexuelles

Le virus pénètre les muqueuses par des brèches ou des sites d'inflammation où il pourra infecter les cellules dendritiques et les cellules de Langerhans, mais également les macrophages qui ne sont ici pas représentés, pour être ensuite disséminé dans l'organisme.

2.1.2 La voie sanguine

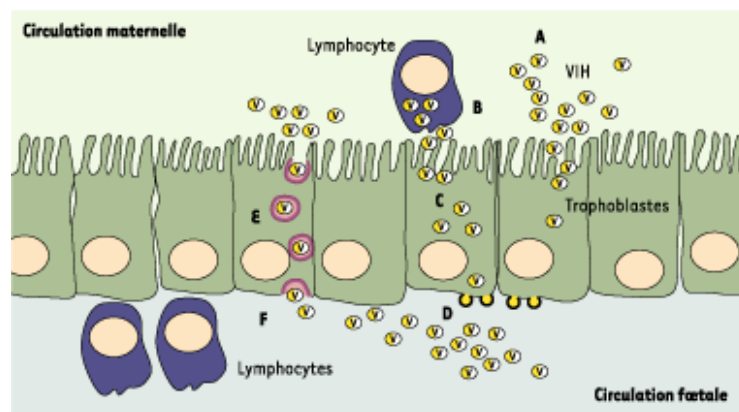
Elle intervient dans les trois cas de figure suivants : on peut citer la contamination de seringues chez les toxicomanes, la contamination accidentelle du personnel de santé et enfin la contamination lors de transfusions sanguines. La mise en place de dépistage systématique des dons de sang et de plasma ont rendus cette dernière possibilité quasi-impossible.

2.1.3 Materno-fœtale

Plus de 90% des enfants infectés le sont suite à une transmission materno-fœtale. La transmission materno-fœtale peut être le résultat d'une transmission in utero, d'une transmission périnatale (durant la naissance), ou d'une transmission post-natale qui intervient souvent par l'allaitement. Outre la transmission du VIH, cela peut entraîner, la mort du fœtus, mais aussi de graves malformations congénitales. Certains facteurs de risques semblent influencer le taux de transmission mère-enfant : la présence d'autres infections virales, la charge virale, le type d'infection, les procédures obstétricales et l'allaitement.

La transmission in utero :

Lors de la grossesse, on observe un amincissement, voire des lésions, de la barrière placentaire, facilitant ainsi le passage de cellules infectées et de virus libre dans la circulation sanguine du fœtus. L'infection se ferait via les cellules trophoblastiques qui seraient soit infectées par le VIH, soit par le passage de virions directement par transcytose (Vidricaire and Tremblay, 2004) ; (figure 15).



(Vidricaire and Tremblay, 2004)

Figure 15 : Les mécanismes de transmission in utero

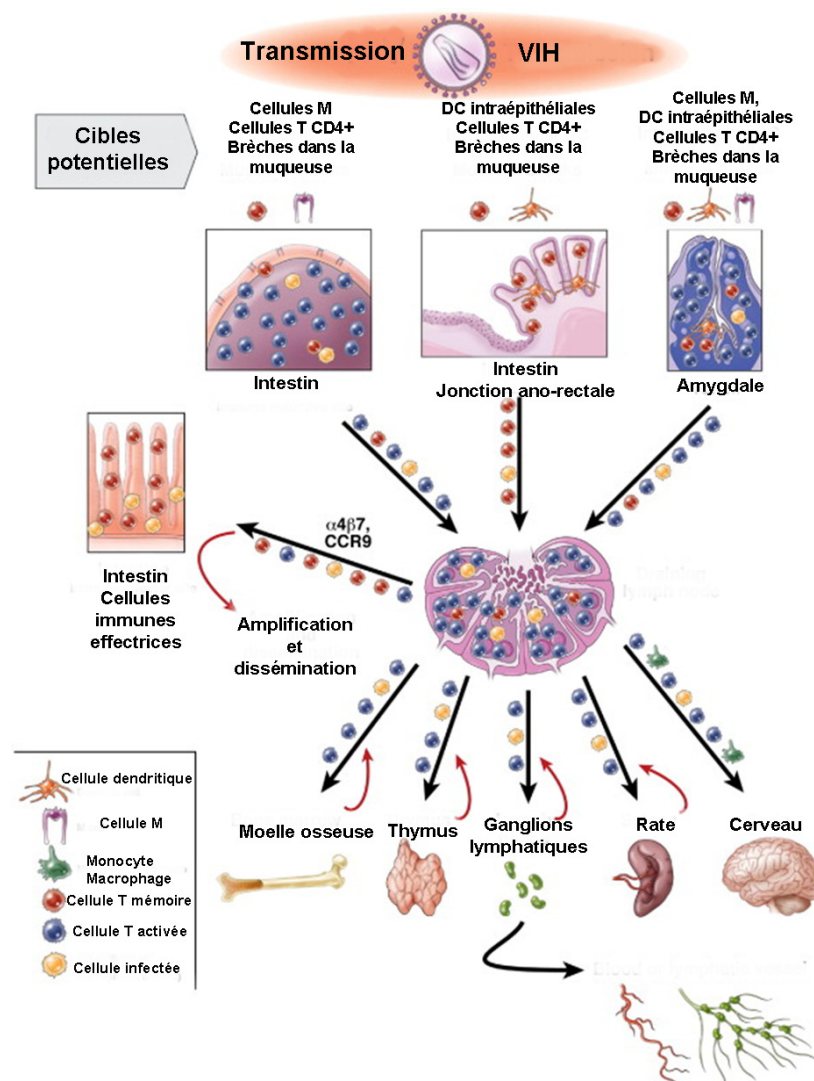
Lors de la grossesse, la paroi placentaire peut s'amincir voire avoir des brèches. Le virus en profite pour passer dans la circulation du fœtus. L'infection peut se faire par du virus libre ou par le passage de cellules infectées.

La transmission péri-natale :

Pendant l'accouchement, le bébé entre en contact avec des sécrétions vaginales et du sang contaminé provenant de la mère. Ce risque peut être grandement diminué si une césarienne est pratiquée et programmé avant le début du travail.

La transmission post-natale :

Connue depuis les années 1980, elle a lieu essentiellement si la mère allaite son bébé. Le lait contiendrait des cellules infectées ou du virus libre qui pourrait à son tour infecter le nourrisson via les voies intestinales ou les amygdales. Ainsi, les cellules M situées au niveau de brèches pourraient constituer la cible du virus.



(Lackner et al., 2009) avec modifications

Figure 16 : Les voies de transmission de VIH

Le VIH peut infecter une personne par différentes voies, conduisant à l'infection des cellules M, des cellules dendritiques, des cellules T puis à sa dissémination dans l'organisme.

3 Les différentes cibles cellulaires

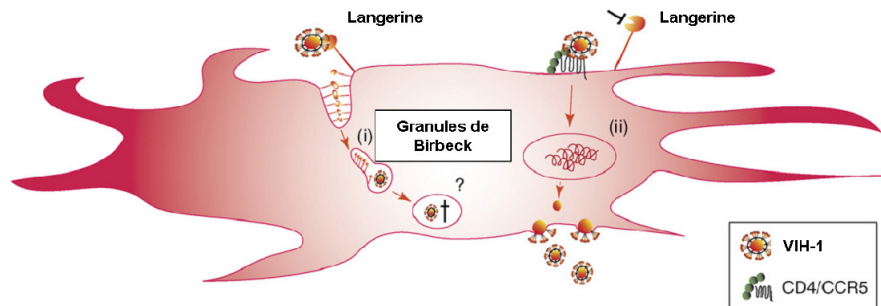
Une fois la barrière épithéliale franchie, le virus peut rencontrer des lymphocytes T CD4+ et des cellules de Langerhans. Cependant, des micro-abrasions de la surface mucoale, peuvent permettre au VIH de rencontrer directement ses cellules cibles, les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes T, au niveau de l'épithélium basal et du stroma (Norvell et al., 1984). Les cellules immunitaires infectées pourront alors rejoindre les ganglions lymphatiques, où il y aura dissémination du virus dans les lymphocytes T CD4+ activés. Ces dernières pourront alors rejoindre la circulation sanguine, où elles iront coloniser le cerveau, la rate, les muqueuses intestinales et les ganglions lymphatiques.

3.1 Le système immunitaire

Le système immunitaire est la première cible du VIH, qui va conduire à son affaiblissement jusqu'à entraîner une immunodéficience.

3.1.1 *Les cellules de Langerhans*

Les cellules de Langerhans sont un sous-type particulier des cellules dendritiques et sont caractérisées par l'expression du CD1a et de la langerine. Elles contiennent des granules de Birbeck, organelle spécifique de ce sous-type de cellules dendritiques. Ce sont les premières cellules à rencontrer le virus dans le cadre d'une muqueuse intacte. Ces cellules expriment également le récepteur CD4, ainsi que les corécepteurs CCR5 et CXCR4 (Zaitseva et al., 1997). Les études sur des cellules primaires étant particulièrement difficile à réaliser, l'infection de ces cellules est encore controversée. Cependant, les cellules de Langerhans semblent capables de capturer le virus via la langerine et se protégeraient ainsi de l'infection (de Witte et al., 2007) (figure 17). En effet, le virus capturé via la langerine est rapidement internalisé dans les granules de Birbeck puis dégradé. La queue cytoplasmique de la langerine est fixée à LSP-1 (Lymphocyte-specific Ca²⁺-binding protein), suggérant que la dégradation du virus se fait par une voie faisant intervenir le protéasome (Smith et al., 2007).



(de Witte et al., 2008a) avec modifications

Figure 17 : L'infection des cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans semblent se protéger de l'infection en captant le virus via la Langerine. Les virus seraient alors dégradés dans les granules de Birbeck.

3.1.2 Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques jouent un rôle très important dans l'initiation de la réponse immunitaire adaptative qui suit l'infection par un pathogène. Ainsi, les cellules dendritiques immatures patrouillent dans les muqueuses afin de piéger les intrus et de les internaliser. La cellule dendritique entre alors en maturation, puis migre vers les ganglions lymphatiques, ce qui va la rendre capable de présenter l'antigène de l'intrus aux lymphocytes T CD4+, et ainsi de les stimuler.

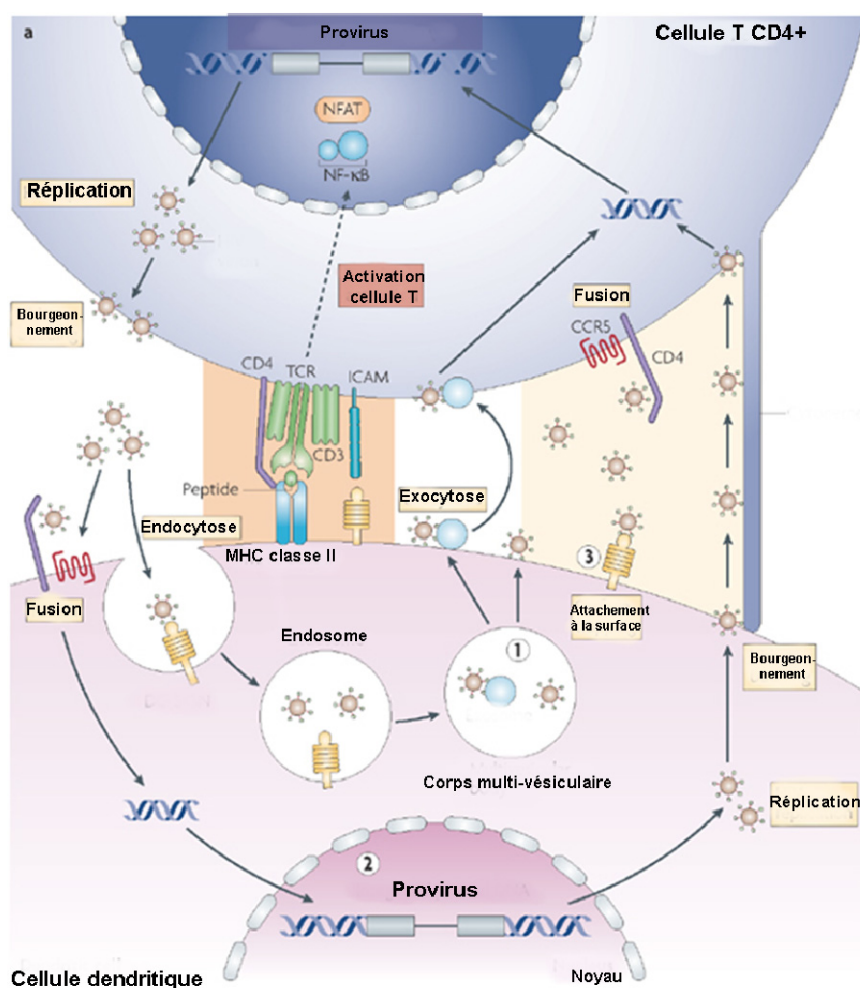
Les cellules dendritiques stromales expriment à la fois CCR5 (Hladik et al., 1999; Prakash et al., 2004) et DC-SIGN (Geijtenbeek et al., 2000; Jameson et al., 2002).

Les cellules dendritiques immatures seraient capables d'internaliser, via DC-SIGN, des particules virales intactes, au sein de larges structures vacuolaires, les vésicules d'endocytose (Blauvelt et al., 1997; Cameron et al., 1994). Une partie des virions pourrait alors échapper à la dégradation et ainsi être relâché lors de la fusion de ces vésicules avec la membrane plasmique. L'infection des cellules dendritiques se ferait via le récepteur CD4 et le corécepteur CCR5.

La maturation des cellules dendritiques entraîne l'expression du corécepteur CXCR4, mais également une diminution de l'expression du CCR5 (Cavrois et al., 2006). De plus, on a pu identifier des blocages « post-entrée » entraînant une infection non productive. Ainsi, deux familles de facteurs de restriction ont pu être identifiées : la famille APOBEC et la famille TRIM (tripartite motif) qui agissent lors de l'étape de la transcription inverse (Sheehy et al., 2002; Stremlau et al., 2004).

Après migration des cellules dendritiques vers les ganglions lymphatiques, celles-ci vont rencontrer les lymphocytes T CD4+, pour former des synapses immunologiques leur permettant d'activer les LT CD4+. Par la même occasion, le virus va être propagé de la cellule dendritique au lymphocyte. Le virus est issu de la cellule dendritique, soit par

bourgeoisement, soit par libération des endosomes, ou encore en adhérant à la molécule DC-SIGN (figure 18).



(Hladik and McElrath, 2008) avec modifications

Figure 18 : La transmission du virus entre cellules dendritiques et lymphocytes T

Les cellules dendritiques sont capables de former des synapses immunologiques avec les lymphocytes T. Le virus pourra alors infecter les lymphocytes T CD4+ par bourgeoisement depuis la cellule dendritique, libération depuis les endosomes ou alors en adhérant à la molécule DC-SIGN.

3.1.3 Les lymphocytes T (LT)

3.1.3.1 Les lymphocytes T CD4+

Les lymphocytes T CD4+ sont la cible principale du virus. Ils possèdent à leur surface le récepteur CD4+ et les corécepteurs CCR5 et CXCR4 nécessaires à l'entrée du virus (Baggiolini et al., 1997; Loetscher et al., 1998). On peut distinguer les lymphocytes T CD4+ activés et les cellules mémoires (figure 19).

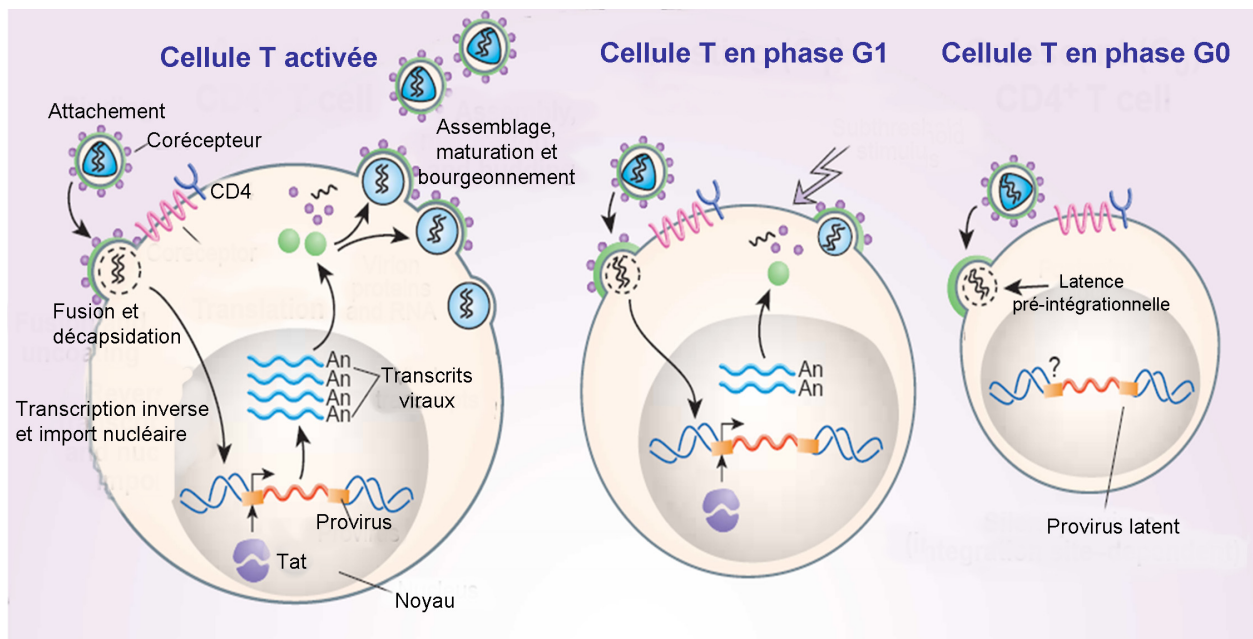
3.1.3.1.1 Les lymphocytes T CD4+ activés

Suite à leur contact avec des cellules présentatrices d'antigènes (comme les cellules dendritiques et les macrophages), les lymphocytes T CD4+ vont être activés, et proliférer. Dans ces cellules, la réplication du virus est rapide et efficace. La région LTR possède des sites de fixation pour des facteurs qui régulent de manière positive la production virale qui, cependant, va être transactivée par la protéine virale Tat. Dans ces conditions optimales, l'infection est cytopathique et réduit considérablement la durée de vie des lymphocytes dont la demi-vie est en général de quelques jours.

3.1.3.1.2 Les lymphocytes T CD4+ quiescents

Les cellules quiescentes sont de deux types, on peut distinguer les cellules naïves et les cellules mémoires. Dans les cellules naïves, l'infection va bien avoir lieu, mais ces cellules sont réfractaires à la réplication. On parle de latence pré-intégrative, qui induit le blocage du cycle viral au niveau de la transcription inverse où juste après celle-ci (Stevenson et al., 1990; Zack et al., 1990). La protéine virale nef, permettrait l'infection et la réplication du VIH dans des cellules T quiescentes (Spina et al., 1994). Ce type de latence, n'est cliniquement pas conséquente, car elle ne peut pas expliquer la résurgence du virus à l'arrêt des traitements et car la demi-vie de ces cellules est relativement courte.

Les cellules mémoires, qui résultent de cellules activées passant à un état quiescent, montrent une latence post-intégrative (Arlen et al., 2006; Han et al., 2007). Elles expriment également plus de CCR5 que les cellules circulant dans la voie sanguine (Hladik et al., 2007). Ce type de latence est très importante, car elle explique la résurgence du virus à l'arrêt du traitement, et nécessite donc une étude plus approfondie afin de proposer de nouveaux traitements.



(Stevenson, 2003) avec modifications

Figure 19 : L'infection des lymphocytes T CD4+

Les lymphocytes T CD4+ peuvent être infectés de manière productive ou latente. La latence peut être de type pré- ou post-intégrative selon l'état du lymphocyte T concerné. Les cellules T en phase G1 représentent les cellules T mémoires et les cellules T en phase G0 représentent les cellules T naïves.

3.1.3.2 *Les lymphocytes T CD8+*

A la suite de la primo-infection, la mise en place de la réponse immunitaire adaptative survient et engendre la prolifération des lymphocytes T CD8+. Ainsi, leur concentration plasmatique va augmenter et s'accompagner d'une diminution de la charge virale. Ces cellules peuvent agir de deux manières. Elles peuvent soit engendrer la lyse de la cellule infectée, suite à la reconnaissance de l'antigène présenté sur cette cellule, soit sécréter de la perforine, soit utiliser la voie Fas-FasLigand. D'autre part, certaines études ont montré, qu'un facteur dénommé CAF (CD8+ Cell Antiviral Factor), sécrété en faible quantité par ces cellules, induirait une réponse antivirale non-cytolytique en agissant sur la transcription virale (Chen et al., 1993; Mackewicz et al., 1995; Mackewicz et al., 2000; Walker et al., 1991). Au stade SIDA, on observe une apoptose très marquée de ce type de cellules.

3.1.4 *Les lymphocytes B (LB)*

Les lymphocytes B sont les acteurs de la réponse humorale ; ils produisent les anticorps après leur maturation et leur transformation en plasmablastes. Des effets délétères du VIH sur ces cellules ont pu être démontrés. Le virus pourrait agir de manière directe ou indirecte (figure 20).

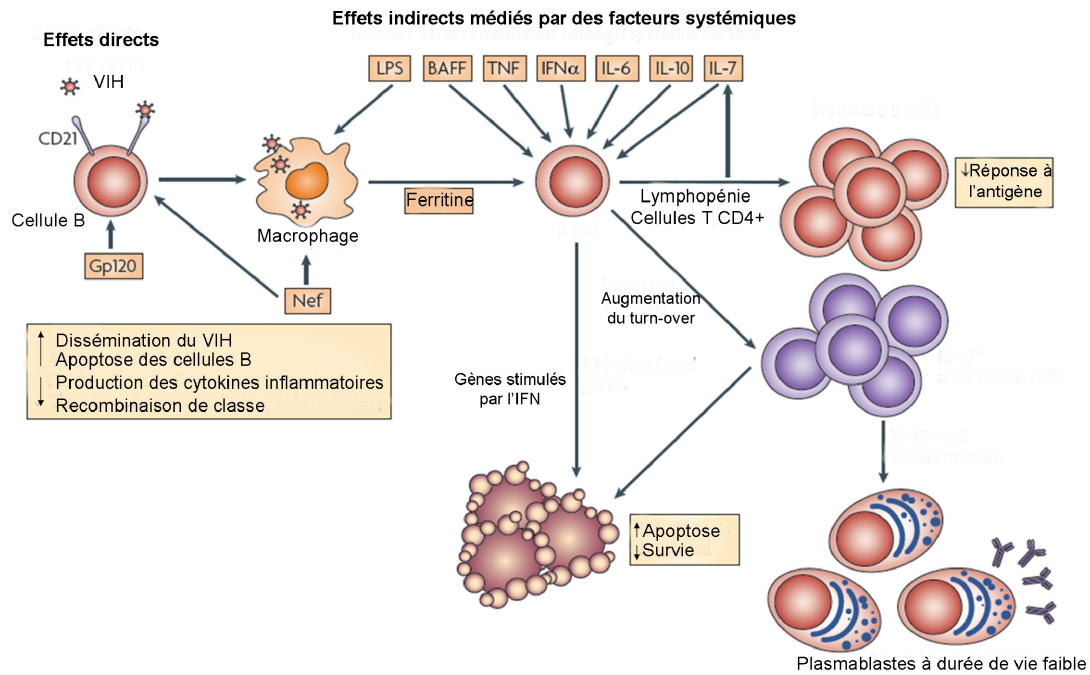
Effets de l'interaction directe entre le virus et les LB :

Le VIH se lie sur les LBs mûres via le récepteur du complément CD21, induisant la fixation des protéines du complément et l'activation des LBs (Kacani et al., 2000; Moir et al., 2000). Le virus ainsi fixé pourrait également être transmis aux cellules T CD4+.

Effets indirects du VIH sur les LBs :

L'infection à VIH est corrélée avec une hyperactivité des cellules B caractérisée par une hypergammaglobulinémie, une activation polyclonale (Lane et al., 1983; Moir et al., 2001), une augmentation du « turn-over » (Kovacs et al., 2001; Moir et al., 2004), de la différenciation en plasmablastes (Conge et al., 1998; Haynes et al., 2006; Moir et al., 2001; Shearer et al., 2000), de la production d'auto-anticorps (Haynes et al., 2005), et des cancers de cellules B (Martinez-Maza and Breen, 2002). Des cytokines ont été suggérées comme probables responsables : l'IFN α (interféron alpha) (Mandl et al., 2008), le TNF (tumor necrosis factor) (Rieckmann et al., 1991), l'IL-6 (interleukine 6) (Weimer et al., 1998), BAFF (B cell activating factor) (He et al., 2006). La plupart de ces facteurs sont impliqués dans l'hyperactivation des cellules B. De plus, des protéines virales, telles que la gp120 et Nef, pourraient également jouer un rôle dans l'hyperactivité B (He et al., 2006; Rieckmann et al., 1991; Swingler et al., 2008).

De plus, une lymphopénie des cellules T CD4+ serait liée à une augmentation de la quantité de cellules B. En effet, une augmentation de la quantité de l'IL-7 induit une augmentation de la quantité de LB immatures circulant dans le sang, et est inversement corrélée à une diminution de la quantité des lymphocytes T CD4+ (Fry and Mackall, 2001; Malaspina et al., 2006; Napolitano et al., 2001).



(Moir and Fauci, 2009) avec modifications

Figure 20 : Les effets de l'infection à VIH sur les lymphocytes B

L'infection à VIH peut avoir des effets directs et indirects sur les lymphocytes B. Elle est notamment responsable d'une augmentation de l'apoptose de ces cellules, mais également à une hyperactivité des cellules B.

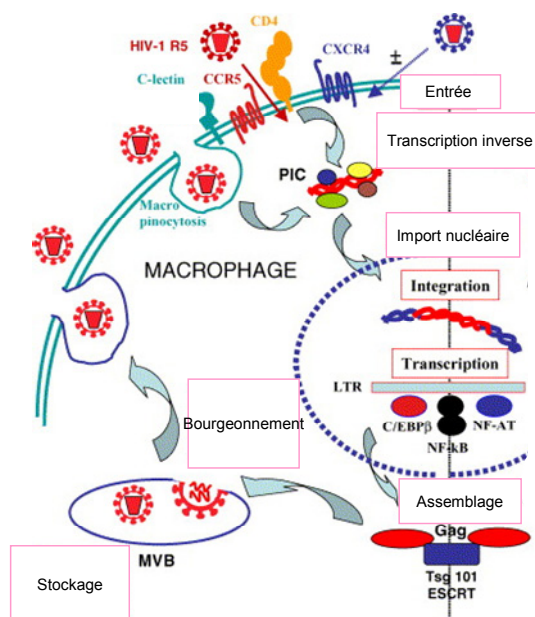
3.1.5 Les macrophages et les monocytes

Les macrophages et les monocytes présentent à leur surface cellulaire le récepteur CD4 et les corécepteurs CCR5 et CXCR4 menant à une infection productive du virus (Filion et al., 1990; Naif et al., 1998). Cette infection peut être le produit d'un phénomène de macropinocytose dans lequel aucun récepteur particulier ne permet l'entrée du virus. Cependant, ce taux d'infection productive reste très faible compte tenu d'une inefficacité de l'ensemble des étapes du cycle cellulaire, mis à part la décapsidation (Arfi et al., 2008; Sonza et al., 1996; Srichatrapimuk and Auewarakul, 2007; Triques and Stevenson, 2004). Les macrophages infectés sont moins sensibles que les lymphocytes T aux effets cytopathiques du virus (Perno et al., 2006; Verani et al., 2005). Avec leur capacité à passer la barrière hémato-encéphalique (BHE), ces cellules sont des agents potentiels de délivrance du virus dans le SNC (Système Nerveux Central) (Finzi et al., 1997; Koenig et al., 1986; Perno et al., 2006).

Les macrophages étant incapable de se diviser, l'import nucléaire du PIC ne va pas pouvoir se faire via la déstabilisation de la membrane nucléaire lors de la division cellulaire. Le PIC pénètre dans le noyau grâce à un transport actif et à l'intervention de la protéine virale Vpr (Gallay et al., 1997). L'assemblage des virions dans ces cellules reste très controversé. En effet, jusqu'à récemment, il a été accepté que l'assemblage des virions se faisait dans les corps

multivésiculaires (Kramer et al., 2005; Orenstein et al., 1988). Cependant, la découverte récente de protéines cellulaires, impliquées dans les mouvements de la polyprotéine Gag, remet en question cette affirmation en faveur d'un bourgeonnement à la membrane plasmique (Goff, 2007) (figure 21).

Enfin, l'infection des macrophages par le VIH entraîne des dérèglements dans le système immunitaire. En effet, la libération de la protéine Tat exogène va entraîner une augmentation de la survie des monocytes, suite à l'induction de Bcl-2, une molécule anti-apoptotique (Zheng et al., 2007). Nef inhibe l'expression de l'IL12p40 induite par le LPS (lipopolysaccharide) en inhibant la voie JNK (Jun kinase), ce qui aboutit à un mauvais développement de l'immunité cellulaire (Ma et al., 2009). Enfin, la protéine virale p17, via l'interaction avec son récepteur (p17R), augmente l'expression de MCP-1 (Monocyte chemotactic protein-1) et ainsi la migration des monocytes vers le site d'infection (Arfi et al., 2008; Sonza et al., 1996; Triques and Stevenson, 2004). L'infection elle-même affecterait la présentation des antigènes par les macrophages et la destruction des pathogènes, ainsi que la production des cytokines conduisant à un état d'inflammation chronique (Wahl et al., 1989; Yeh et al., 2000) ; pour revue (Kedzierska et al., 2003).



(Verani et al., 2005) avec modifications

Figure 21 : L'infection des macrophages

Les macrophages infectés par le virus sont plus résistants que les lymphocytes T car ils sont moins sensibles aux effets cytopathiques du virus. La production de nouvelles particules virales peut se faire par bourgeonnement ou par fusion des corps multivésiculaires avec la membrane plasmique.

3.1.6 *Les Natural Killer (NK)*

L'infection à VIH induit un changement dans les proportions de sous-types de NK circulants. Ainsi, la majorité des cellules NK circulantes présentent un défaut dans les fonctions effectrices, telles que la lyse des cellules infectées, la sécrétion de cytokines (Mavilio et al., 2006). Ces cellules sembleraient jouer un rôle de protection contre l'infection virale. En effet, la coexpression d'un allèle particulier du CMH de classe I : HLA-Bw4 et d'un récepteur de la cellule NK, KIR3DL1 (Killer cell immunoglobulin-like receptor, three domains, long cytoplasmic tail, 1), protégerait de la progression de la maladie (Flores-Villanueva et al., 2001).

3.2 Le système nerveux central (SNC)

Le système nerveux central constitue la deuxième grande cible du virus. Ainsi, 5 à 10% des patients infectés par le virus développent des altérations évolutives des fonctions motrices et cognitives allant jusqu'à la paralysie et la démence. L'ensemble de ces symptômes sont regroupés sous le terme de « démence associée au VIH-1 » (Navia et al., 1986). Les thérapies actuelles (HAART) ne passant que très faiblement la barrière hémato-encéphalique (Staprans et al., 1999; Taylor and Pereira, 2000), le virus s'accumule dans le SNC qui constitue alors un réservoir (Barber et al., 2006).

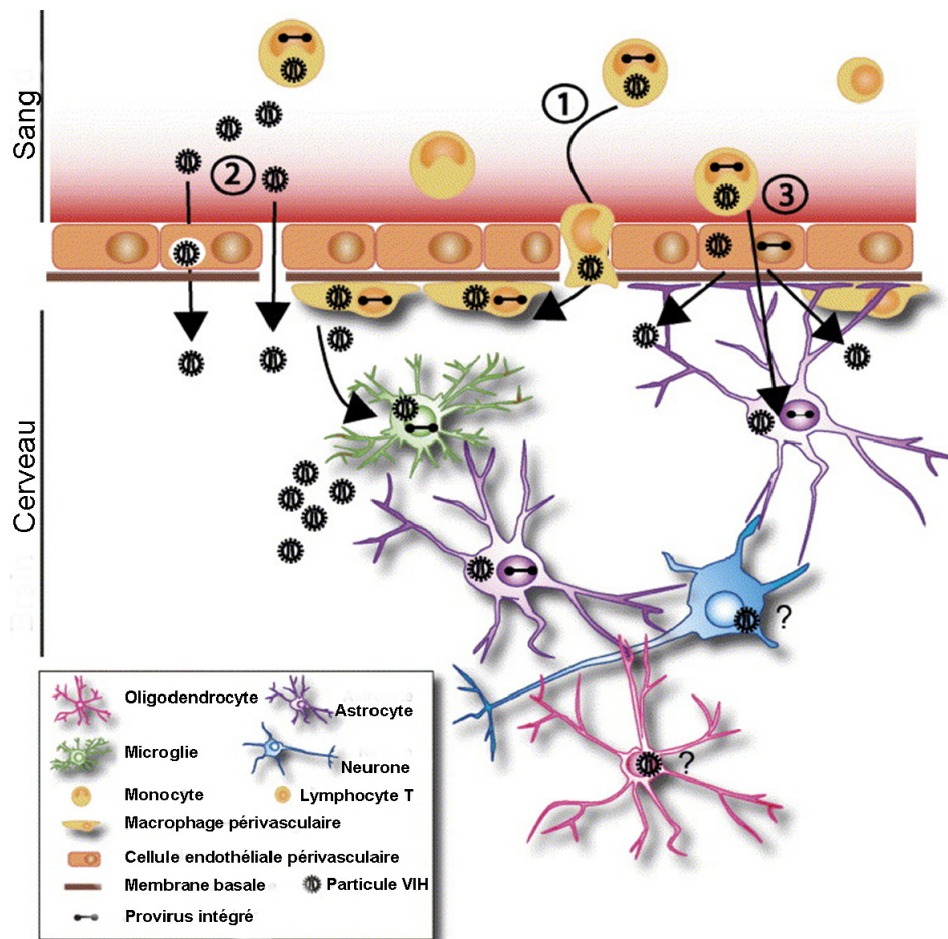
3.2.1 *L'entrée*

Malgré une apparition tardive des symptômes neurologiques, l'infection du système nerveux central se fait de manière très précoce. Ainsi, dès la séroconversion, on retrouve la présence de virus dans le cerveau (Davis et al., 1992). L'entrée dans le système nerveux central nécessite le passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE) qui fait partie des barrières cohésives de l'organisme. Trois modes de passage de la BHE ont pu être mis en évidence (Figure 22) :

1. Le passage de virus portés par des leucocytes infectés (hypothèse du cheval de Troie) : de nombreuses cellules immunitaires sont capables de passer la BHE, telles que les macrophages (Gartner, 2000) et les lymphocytes (Couraud, 1994; Miller, 1999). Puis, ces cellules sont capables d'entrer en contact avec les cellules endothéliales via des molécules d'adhésion (ICAM-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule 1), VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1)). Cette interaction permet le passage des cellules infectées en déstabilisant la BHE.

2. Le passage de virus libre entre les cellules endothéliales : les cellules endothéliales seraient également capables de capturer le virus par un mécanisme de transcytose et ainsi de

3. La libération de virus par les cellules endothéliales infectées : l'entrée du virus dans les cellules endothéliales peut engendrer l'infection de ces cellules et ainsi, la libération de nouvelles particules virales dans le SNC (Banks et al., 2004).



(Kramer-Hammerle et al., 2005) avec modifications

Figure 22 : Le passage de la barrière hémato-encéphalique par le VIH

Le VIH peut traverser la barrière hémato-encéphalique de différentes manières. Il peut en premier lieu (1) traverser la barrière via des monocytes infectés qui vont passer vers le cerveau. Le virus libre peut passer cette barrière directement (2) ou en utilisant les cellules endothéliales (3) (transcytose). Enfin, il serait également capable d'infecter ces cellules qui pourraient relarguer le virus produit dans le système nerveux central.

3.2.2 Les effets cytopathogènes

3.2.2.1 Les cibles cellulaires

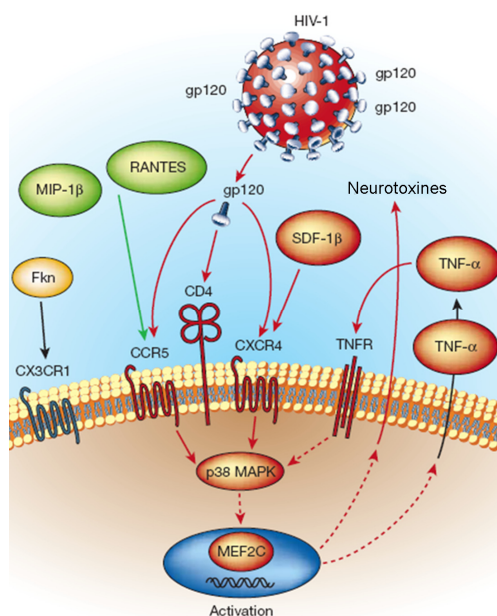
Une fois la BHE franchie, le virus va pouvoir interagir avec différentes cibles cellulaires conduisant à leur infection ou à leur mort.

3.2.2.1.1 Les cellules microgliales

Les cellules microgliales sont les macrophages résidents du SNC. Ce sont les seules cellules, avec les macrophages périvasculaires, à subir une infection virale productive (Brew et al., 1995; Lipton, 1994). Elles possèdent les récepteurs et les corécepteurs nécessaires à l'infection CD4/CCR5, ainsi que des récepteurs de chimiokines, qui ne sont visiblement pas utilisés pour l'infection (CCR3) (He et al., 1997). Suite à leur infection, les cellules microgliales vont sécréter diverses molécules telles que des cytokines, des neurotoxines et des protéines virales (Philippon et al., 1994) qui vont causer de graves dommages aux cellules environnantes (Bezzi et al., 1998) (figure 23).

L'infection par le VIH conduit à des effets cytopathiques en favorisant la formation de syncytia, grâce à la présence des gp120 et gp41 à la surface des cellules infectées. Ainsi, les cellules saines environnantes vont fusionner avec les cellules infectées (Dickson, 1986; Sharer et al., 1985).

Leur faible sensibilité aux effets cytopathogènes et leur faible accessibilité aux traitements actuels font de ces cellules des sanctuaires et de fait un réservoir de cellules infectées dans le SNC (Barber et al., 2006). Comme nous le verrons plus tard, ces cellules sont infectées de manière latente grâce à un recrutement de facteurs conduisant à la formation d'hétérochromatine (Marban et al., 2007).



(Kaul et al., 2001) avec modifications

Figure 23 : Les effets du VIH sur les cellules microgliales

Les cellules microgliales peuvent être infectées de manière productive et vont donc produire du virus. L'infection de ces cellules, ainsi que la présence de certains stimuli extérieurs conduisent à la production de neurotoxines et à la mort de cellules environnantes

3.2.2.1.3 Les oligodendrocytes

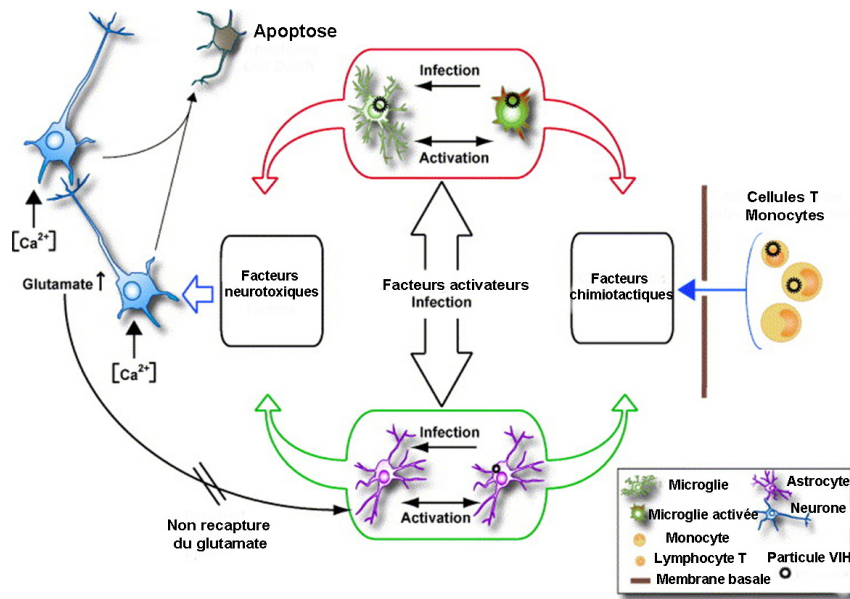
Les oligodendrocytes produisent la gaine de myéline qui entoure l'axone des neurones, facilitant ainsi la transmission de l'influx nerveux. L'infection de ces cellules est toujours controversée. Alors que des études montrent la présence d'acides nucléiques du VIH dans ces cellules par PCR, d'autres études révèlent l'absence de marqueurs viraux (Bagasra et al., 1996; Neumann et al., 2001; Nuovo et al., 1994).

3.2.2.1.4 Les neurones

Les neurones ne possèdent pas de récepteurs CD4 ; il semblerait que l'infection des neurones n'ait pas lieu, même si ce sujet est lui aussi largement controversé (Canto-Nogues et al., 2005; Trillo-Pazos et al., 2003). Même si cette infection existe, elle est très faiblement productive voire non-productive. Ainsi, les effets cytopathogènes du virus sur les neurones sont probablement tous d'origine indirecte (figure 25).

Les cellules microgliales infectées sont capables de libérer des protéines virales (gp120, Tat) qui induisent une neurotoxicité (Kaul and Lipton, 1999; Lipton and Gendelman, 1995).

Suite à l'infection du SNC par le VIH, les astrocytes vont libérer de grandes quantités de glutamate, et déclencher ainsi une hyperexcitation des neurones conduisant à leur mort (pour revue(Kaul et al., 2001)). En effet, le glutamate ainsi que d'autres neurotoxines vont activer la voie p38 MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) et la voie des caspases sous-jacentes, provoquant l'apoptose des cellules neuronales.



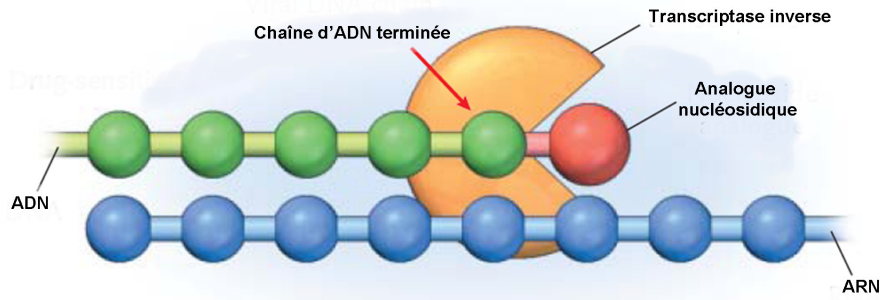
(Kramer-Hammerle et al., 2005) avec modifications

Figure 25 : Les effets de l'infection à VIH sur le système nerveux central

Les effets de l'infection à VIH sur le système nerveux central sont multiples. Le VIH agit tout d'abord sur les monocytes et les LT présents dans les vaisseaux sanguins, qui vont alors sécréter des facteurs chimiotactiques permettant le recrutement des cellules microgliales et les astrocytes. Les cellules microgliales infectées vont produire des facteurs neurotoxiques induisant la mort neuronale et la recapture du glutamate par les astrocytes conduisant également à la mort des neurones.

4 Les thérapies

Les thérapies actuelles ne permettent pas l'éradication du virus de l'organisme, ni la guérison des patients (figure 26). Cependant, elles permettent le ralentissement de l'évolution de la maladie, en maintenant la charge virale sous le seuil de détection (Richman, 2001).



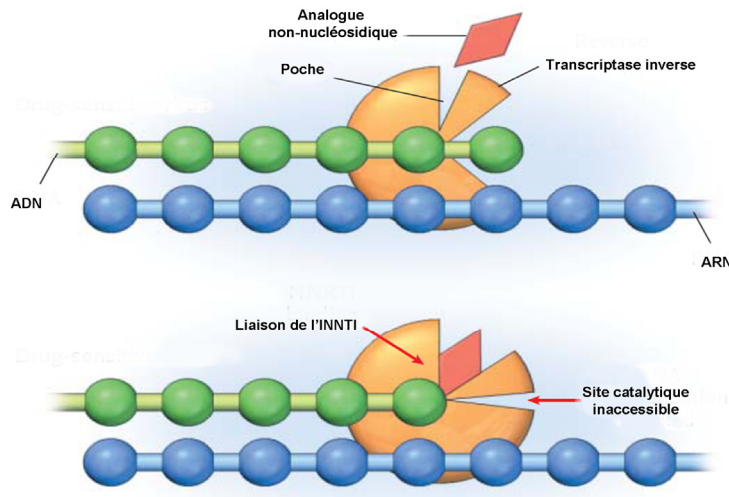
(Clavel and Hance, 2004) avec modifications

Figure 27 : Le mécanisme d'action des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse

Les analogues nucléosidiques se fixent sur le site catalytique de la transcriptase inverse, sont incorporés à la l'ADN en cours de synthèse et bloquent la son élévation.

4.1.2 Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)

Ils sont formés par un groupe de composés de structures différentes, responsables de l'inhibition de la transcriptase inverse par liaison à des acides aminés retrouvés dans une région distante du site actif, mais permettant un changement conformationnel de la protéine (figure 28).



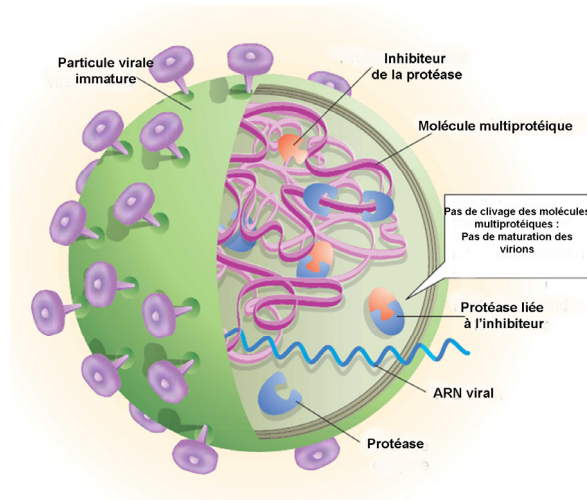
(Clavel and Hance, 2004) avec modifications

Figure 28 : Le mécanisme d'action des inhibiteurs non-nucléosidique de la transcriptase inverse

Les inhibiteurs non nucléosidiques se fixent à la transcriptase inverse pour un induire un changement de sa conformation. Il en résulte que le site catalytique de l'enzyme se retrouve inaccessible et la synthèse d'ADN est bloquée.

4.2 Les inhibiteurs de la protéase

Les inhibiteurs de la protéase se lient sur le site actif de l'enzyme lors du clivage des protéines. Ainsi, les particules virales produites ne peuvent maturer et ne deviennent pas infectieuses (figure 29).



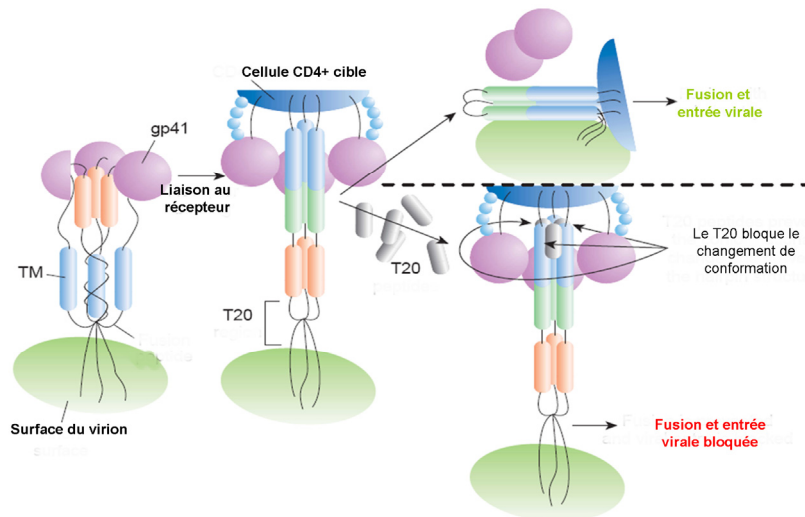
(Pomerantz and Horn, 2003) avec modifications

Figure 29 : Le mécanisme d'action des inhibiteurs de la protéase

Les inhibiteurs de la protéase empêchent le clivage des polyprotéines et ainsi la maturation des virions. Les particules virales produites seront non infectieuses.

4.3 Les inhibiteurs de fusion

Ces composés bloquent l'étape d'entrée du virus dans la cellule en inhibant la fusion. Par exemple le T20 (Enfurvitide), validé en 2003, est un peptide issu de la gp41. Lorsque le VIH, se lie à la cellule hôte, un changement conformationnel a lieu et induit l'entrée du virus. Le T20, lui, se fixe à la gp41, empêche le changement de conformation d'avoir lieu et prévient alors l'infection de la cellule (figure 30).



(Pomerantz and Horn, 2003) avec modifications

Figure 30 : Le mécanisme d'action d'un inhibiteur de fusion : le T20

Le T20 est un peptide qui se lie spécifiquement à la gp41 et bloque le changement de conformation nécessaire à la fusion du virus avec la membrane plasmique.

4.4 Les antagonistes du corécepteur CCR5

Le Maraviroc est un antagoniste du corécepteur CCR5 qui bloque la liaison du virus à ce corécepteur. Il a été approuvé récemment pour les patients en échec thérapeutique (2007; Meanwell and Kadow, 2007).

4.5 Les inhibiteurs de l'intégrase

Le Raltegravir est le premier inhibiteur de l'intégrase à avoir été approuvé comme traitement (Cocohoba and Dong, 2008). Il empêche le transfert de brins nécessaire à l'intégration d'avoir lieu.

4.6 Les traitements du futur

L'éradication du virus étant impossible avec les traitements actuels, la recherche reste active en vue de trouver de nouvelles molécules. Ainsi, des inhibiteurs de l'intégrase (elvitegravir), des inhibiteurs des corécepteurs d'entrée du virus (Vicriviroc) de même que des anticorps monoclonaux ciblant le CCR5 (PRO140) et de nouvelles classes d'inhibiteurs de la maturation (Bevirimat) sont en cours d'essais cliniques. Le Bevirimat préviendrait ainsi le processing de Gag (Martin et al., 2008; Temesgen and Feinberg, 2006).

De plus, des techniques d'excision de l'ADN viral intégré sont en cours d'études, cette technique permettrait l'élimination spécifique de l'ADN proviral intégré (Sarkar et al., 2007).

D'autres thérapies, telles que l'utilisation d'ARN interférents, permettrait d'agir à différentes étapes du cycle viral, comme l'entrée (Anderson and Akkina, 2005; Li et al., 2005) ; et la stimulation du système immunitaire qui permettrait une meilleure défense de l'organisme comme le virus sont en cours d'étude (Di Massimo et al., 1991; Natarajan et al., 2002).

4.7 Les limites

Les monothérapies ont très vite montré leurs limites (Concorde, 1994; Volberding et al., 1995). C'est pourquoi, afin de contrôler la maladie et d'apporter un soutien au système immunitaire, les multithérapies ont vu le jour (Danner et al., 1995; Markowitz et al., 1995). Elles associent :

- 3 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse,
- 2 inhibiteurs nucléosidiques et un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse
- 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse et un inhibiteur de la protéase.

Certains patients continuent néanmoins à présenter, malgré les multithérapies, une charge virale importante : on parle dans ce cas d'échappement thérapeutique. Ceci peut être notamment du au virus qui mute sans cesse et trouve de ce fait des mécanismes d'échappement aux traitements actuels. Pour ces patients, on utilise alors un inhibiteur de fusion, ainsi que les nouvelles thérapies incluant le maraviroc et le raltégravir. Ces traitements sont très lourds, ils induisent souvent de nombreux effets secondaires bénins comme des maux de têtes et des nausées et des problèmes métaboliques plus graves pouvant conduire à la mort du patient (pancréatite aigue) qui sont souvent causées par une intolérance à certains médicaments.

Les thérapies actuelles ne guérissent pas de l'infection à VIH, et il est très important d'étudier les réservoirs viraux à l'origine de la résurgence du virus à l'arrêt du traitement (Chun et al., 1997b; Finzi et al., 1997; Wong et al., 1997). De nouvelles thérapies, ciblant toute les étapes à l'origine du maintien de la latence permettraient de réactiver les réservoirs viraux et de les rendre ainsi accessibles aux multithérapies.

Chapitre 3 : La transcription des gènes viraux

Suite à l'infection des cellules par le VIH, l'ADN viral, issu de la transcription inverse, va être intégré à l'ADN de la cellule hôte. Son expression est alors dépendante des mêmes phénomènes de régulation que les gènes cellulaires. Cependant, la transcription des gènes viraux peut être divisée en deux phases. La phase initiale est sous le contrôle de facteurs de transcription cellulaires, permettant l'élongation d'une petite fraction des ARN initiés et la synthèse des protéines virales dont Tat. Tat va alors permettre le passage vers la phase tardive grâce à la transactivation de la transcription, conduisant à un plus grand nombre d'ARN élongués.

1 Présentation des facteurs de transcription régulant la transcription des gènes viraux

Divers facteurs de transcription cellulaires ou viraux ont été identifiés à ce jour comme interagissant avec le promoteur viral et régulant la transcription des gènes viraux.

1.1 Les facteurs de transcription cellulaires

Les facteurs de transcription sont des protéines dites nécessaires à l'initiation de la transcription. Ils reconnaissent de manière directe des séquences cis-régulatrice au niveau des régions promotrices des gènes. Cette liaison n'est pas forcément nécessaire, puisque certains facteurs de transcription agissent en reconnaissant un autre facteur de transcription qui, lui, se lie à l'ADN.

Les facteurs de transcription généraux et spécifiques de séquences se caractérisent par au moins deux domaines structuraux :

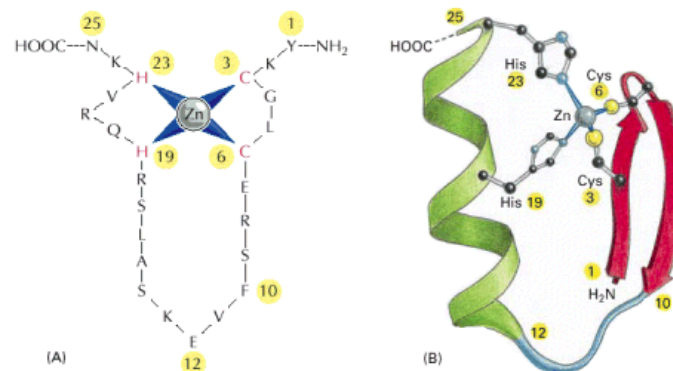
- un domaine de fixation à l'ADN (homéodomaine, doigts de zinc, crémaillère à leucine...),
- un domaine d'action sur la transcription (domaine riche en proline, en glutamine, hélices α riches, hélices α acides),
- un domaine permettant l'action d'un messager extérieur (hormone) est retrouvé sur certains facteurs de transcription.

Les facteurs de transcription cellulaires sont classés suivant leur structure.

1.1.1 La famille des motifs à doigts de zinc

Les motifs à doigts de zinc sont composés d'éléments répétitifs repliés sous forme de doigt. L'ion zinc chélaté par deux cystéines et deux histidines (C2H2), ou quatre cystéines (C4), stabilise le doigt de zinc. La partie C-terminale non conservée de chaque doigt de zinc est

structurée sous forme d'hélices qui se lient à l'ADN. La partie N-terminale est constituée de feuillets β (figure 31).



© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

Figure 31 : Les protéines à motifs en doigts de zinc

- Sp1 (Specific protein 1) : protéine ubiquitaire constituée de deux domaines activateurs et de trois doigts de zinc qui lui permettent de se fixer sur les boîtes GC adjacentes à la boîte TATA. Sp1 participe à la régulation de nombreux gènes de ménage (rôle dans l'embryogénèse, p21, etc..) (Philipsen and Suske, 1999). Elle active la transcription des gènes viraux soit en se fixant directement à l'ADN, soit en recrutant des facteurs activateurs tels que COUP-TF (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter Transcription Factor) (Rohr et al., 1997; Rohr et al., 1999) et NF-IL6 (Nuclear Factor for InterLeukin-6) (Schwartz et al., 2000). De plus, une coopération entre NF- κ B (Nuclear Factor Kappa B) et Sp1 a été montrée pour l'activation optimale par l'enhancer (Perkins et al., 1993). Enfin, Sp1 semble nécessaire à la transactivation médiée par Tat, car elle est capable de recruter la cycline T1, sous-unité de P-TEFb (Positive-Transcription Elongation Factor b) (Jeang et al., 1993; Kamine and Chinnadurai, 1992; Yedavalli et al., 2003).

- Sp3 (Specific protein 3) : protéine ubiquitaire présente sous trois isoformes : une forme longue de 115kDa, deux formes, plus courtes, de 80kDa et de 78kDa. La structure de la forme longue est très proche de celle de Sp1. Le domaine de liaison à l'ADN représente 90% d'homologie avec Sp1, et lui permet alors de se fixer sur les boîtes GC (Hagen et al., 1994). Sp3 réprime ainsi l'activité de Sp1 sur la transcription des gènes viraux (De Luca et al., 1996).

- Sp4 (Specific protein 4) : protéine exprimée très fortement dans le système nerveux central, Sp4 semblerait être un activateur de la transcription des gènes viraux (Majello et al., 1994).

- YY1 (Ying Yang -1) : facteur ubiquitaire capable de réprimer ou d'activer la transcription des gènes selon le contexte cellulaire. YY1 intervient dans l'embryogénèse, le développement, l'oncogénèse, l'expression des immunoglobulines et le contrôle du cycle cellulaire (Calame and Atchison, 2007). Dans le cas du VIH, YY1 est un répresseur qui coopère avec LSF (Late Simian virus 40 Factor) pour la fixation sur le LTR (-10/+27). Ils recrutent l'histone déacétylase (HDAC) 1 sur le nucléosome 1, ce qui permet d'induire une répression de la transcription (Pour revue (Rohr et al., 2003b)). De plus, YY1 réprime l'expression des corécepteurs CCR5 (Moriuchi and Moriuchi, 2003) et CXCR4 (Moriuchi et al., 1999) qui a pour conséquence de diminuer l'entrée du virus.

- Les récepteurs nucléaires : récepteurs intracellulaires, ils agissent sous forme de dimères et nécessitent d'être activés par un ligand. Leur activité est contrôlée par des cofacteurs inhibiteurs ou activateurs.

Ils sont constitués de cinq régions fonctionnelles :

A/B : domaine de transactivation qui possède une spécificité de promoteur et de cellules

C : domaine de liaison à l'ADN, reconnaît une séquence spécifique grâce à une structure en doigts de zinc

D : région charnière peu conservée

E : domaine de liaison au ligand, de dimérisation, d'interaction avec des protéines (HSP (Heat Shock Protein)) et d'activation dépendante du ligand

F : domaine très peu conservé (Aranda and Pascual, 2001).

Différents récepteurs nucléaires participent à la régulation de la transcription des gènes viraux, dont les récepteurs de l'acide rétinoïque (RAR, RXR), de l'hormone thyroïdienne (T3R), des glucocorticoïdes (GR), PPAR et COUP-TF (Chicken Ovalbumin Upstream Promoter Transcription Factor ; récepteur orphelin dont le ligand n'est pas connu).

CTIP2 (COUP-TF Interacting Protein 2), cofacteur de COUP-TF, induit une répression de la transcription des gènes viraux en recrutant sur le promoteur viral un complexe multienzymatique conduisant à la formation d'hétérochromatine (Marban et al., 2007).

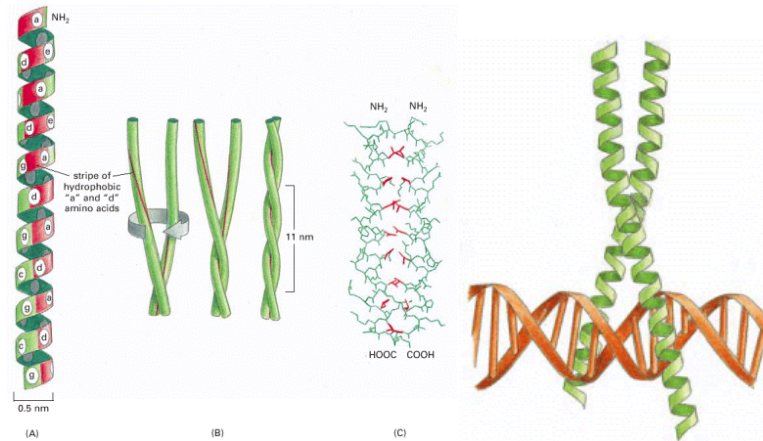
1.1.2 La famille des crémaillères à leucine

Les facteurs de transcription comportant des crémaillères à leucine sont composés de régions riches en leucine. Ils se fixent à l'ADN sous forme de dimère. Deux régions sont importantes pour l'action de ces protéines :

- un domaine riche en leucine qui permet, grâce à des liaisons hydrophobes, la dimérisation de la protéine et la formation du motif « coiled-coil »

- une région riche en charges positives, qui va permettre la fixation sur les groupes phosphates de l'ADN.

Il va y avoir formation d'un motif bZIP (basic-leucine ZIPper transcription factor), la protéine interagissant avec des séquences répétées inversées sans région de séparation (figure32).



© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

Figure 32 : Les protéines à motifs en crémaillère à leucine

- La famille C/EBP (CCAAT/Enhancer Binding Protein) : elle est composée de six membres : C/EBP α , C/EBP β (NF-IL6 chez l'homme), C/EBP γ , C/EBP δ , C/EBP ϵ , C/EBP ξ . Ils sont impliqués dans la régulation de nombreux processus cellulaires tels que la prolifération, la différenciation, le métabolisme et l'inflammation (Ramji and Foka, 2002).

NF-IL6 active la transcription des gènes viraux en permettant le recrutement de cofacteurs activateurs, tels que les histones acétyl-transférases (HAT) (Lee et al., 2002). NF-IL6 est également capable de dimériser avec CREB (cAMP response element-binding) (Ross et al., 2001; Schwartz et al., 2000).

C/EBP γ , quant à lui, est dépourvu de domaine activateur et agit alors comme répresseur de la transcription virale (Schwartz et al., 2000).

- Le complexe AP-1 (Accessory Protein-1): complexe homo ou hétérodimérique des oncoprotéines Jun et Fos, il est important pour la prolifération, la différenciation, et l'apoptose (Hess et al., 2004). Le complexe AP-1 est inductible par le tetradecanoyl phorbol acétate (TPA). AP-1 peut interagir directement avec une séquence consensus ou alors peut se lier de manière indirecte à la NRRE (Nuclear Receptor Responsive Element) en interagissant avec des récepteurs nucléaires. AP-1 a ainsi été montré comme étant un activateur de la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales (Canonne-Hergaux et al., 1995).

Enfin, la protéine virale Nef permet l'activation de la voie de signalisation médiée par AP-1 (Varin et al., 2003).

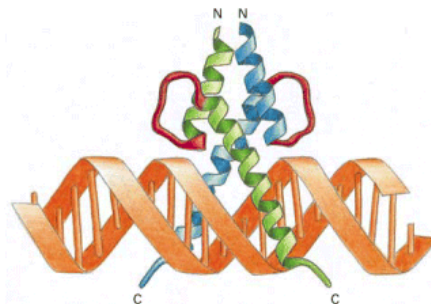
- CREB (cAMP Response Element Binding protein) : protéine ubiquitaire, elle constitue avec les protéines CREM (cAMP Response Element Modulator) et ATF-1 (Activating Transcription Factor-1), une famille de facteurs de transcription sensibles aux variations cellulaires d'AMPc. CREB est constitué de différents domaines dont un domaine phosphorylable, deux domaines activateurs riches en glutamine, un domaine basique de liaison à l'ADN et une crémaillère à leucine permettant la dimérisation (Mayr and Montminy, 2001).

Les niveaux d'AMPc sont plus importants dans les lymphocytes T des personnes séropositives, induisant une activation de CREB qui va être phosphorylé par la protéine kinase A (PKA). CREB-phosphorylé va recruter la CREB Binding Protein (CBP) et les facteurs de transcription basale. Ainsi, CREB participe à l'activation du promoteur viral (pour revue(Nordheim, 1994)).

CREB peut également interagir avec COUP-TF en présence de forskoline, d'AMPc et de dopamine induisant alors une activation synergique de la transcription virale. De plus, dans les lymphocytes T, CREB va agir de manière indirecte avec le promoteur viral, en présence d'AMPc ou de dopamine, afin de conduire à une stimulation de la transcription (Rohr et al., 1999). Enfin, des modifications telles que l'acétylation, la glycosylation, la SUMOylation et l'ubiquitinylation influent sur son activité (Johannessen et al., 2004a; Johannessen et al., 2004b).

1.1.3 La famille des hélices boucles hélices (HLH)

Ces protéines sont capables de dimérisation et de liaison à l'ADN. Elles comportent des motifs de 40 à 50 acides aminés comprenant 2 hélices α séparées par une région en forme de boucle. Les deux hélices α interagissent via des résidus hydrophobes contenus dans les deux hélices. Le domaine basique adjacent au domaine HLH constitue le domaine de liaison à l'ADN (figure 33).



© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

Figure 33 : Les protéines à motifs en hélices boucles hélices

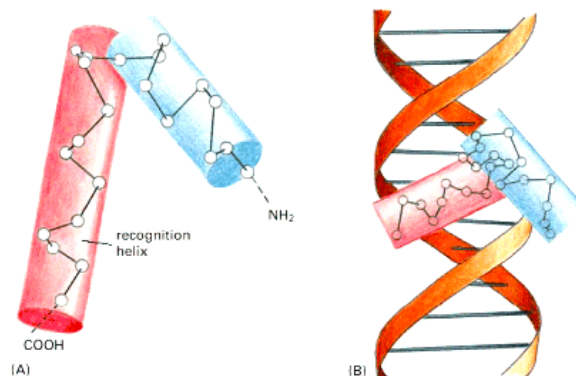
USF-1 (Upstream Stimulating Factor-1) : facteur ubiquitaire capable de se lier sous forme d'hétérodimères sur les boîtes E. Il contient, en plus du domaine hélice-boucle-hélice, un domaine crémaillère à leucine lui permettant l'interaction avec l'ADN (Gregor et al., 1990; Sirito et al., 1992).

USF-1 a été montré comme stimulant la transcription des gènes viraux via une interaction avec la TAR, avec l'élément initiateur et les boîtes E (d'Adda di Fagagna et al., 1995; Du et al., 1993).

L'hétérodimère USF-1/USF-2 coopère avec TFII-I pour réguler la transcription des gènes viraux en réponse à l'activation des LT et de la voie RAS-MAPK (Du et al., 1993; Sadowski and Mitchell, 2005).

1.1.4 La famille des hélices tour hélices

Composées de deux hélices α séparées par quelques acides aminés formant un coude β . L'hélice en position C-terminale est appelée hélice de reconnaissance, car elle permet la liaison à l'ADN (figure 34).



© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

Figure 34 : Les protéines à motifs hélices tours hélices

Le seul facteur de ce type impliqué dans la régulation de la transcription des gènes viraux est Ets-1 (E26 transformation specific-1). Essentiellement, exprimé dans les lymphocytes T et les thymocytes, il participe à la différenciation et à la survie des LT et des NK. Ets-1 permet l'activation de la transcription virale en interagissant avec USF-1, mais aussi avec Sp1 (Pazin et al., 1996; Sieweke et al., 1998).

1.1.5 La famille des facteurs nucléaires

Cette famille joue un rôle important dans la régulation de la réponse immunitaire et inflammatoire mais aussi dans l'apoptose. Les membres de cette famille sont activés dans le

cytoplasme, puis migrent dans le noyau, où ils vont permettre l'activation de la transcription des gènes.

- NF- κ B : composé de cinq membres, RelA (p65), RelB, c-Rel, p50 et p52, cette famille peut aussi bien induire ou réprimer la transcription des gènes. Différents complexes sont formés par homodimères ou hétédimères des membres de cette même famille.

NF- κ B est constitué d'un domaine RHD (Rel Homology Domain) permettant la liaison à l'ADN et la dimérisation d'un domaine de localisation nucléaire.

L'activation de NF- κ B peut se faire par différents stimuli tels que le LPS, le TNF α ou l'IL-1. Son activation implique la phosphorylation de I κ B (Inhibitor of kappa B) par IKK (I κ B Kinase) et son ubiquitinylation. Il en résulte la dégradation de I κ B par le protéasome et la libre translocation de NF- κ B dans le noyau (Palombella et al., 1994).

Plusieurs protéines virales dont notamment Tat (Mahlknecht et al., 2008) et Nef (Herbein et al., 2008) sont capables de mimer, d'augmenter voire d'interférer avec les effets du TNF α , responsable de l'activation de la réplication virale et de l'induction de l'apoptose.

NF- κ B permet la réactivation des lymphocytes T CD4⁺ latents en induisant le recrutement de TFII-H et de l'ARNpolIII (Kim et al., 2006). NF- κ B permet aussi le recrutement d'HAT (CBP/p300) sur le promoteur viral (Gerritsen et al., 1997; Krogan et al., 2002).

Cependant, dans les cellules T CD4⁺ infectées de manière latente, NF- κ B, sous la forme d'un homodimère de p50, permettrait le maintien de la latence en recrutant des facteurs de remodelage de la chromatine, comme les HDAC (Williams et al., 2006).

La régulation de l'action de NF- κ B se fait via les modifications de la chromatine (acétylation/déacétylation) mais également directement au niveau des protéines non-histones telles que les membres de la famille NF- κ B directement (p50). L'utilisation de la TSA (Trichostatin A), un inhibiteur des HDAC de classe I et II prolonge l'effet de l'induction de IKK par le TNF α et alors la translocation nucléaire de NF- κ B pour revue (Calao et al., 2008).

- NF-AT (Nuclear Factor of Activated T cells) : constituée de cinq membres ; NF-AT 1 à 5, cette famille est présente dans la plupart des cellules du système immunitaire, mais leur fonction principale est de réguler l'activation des LT. En effet, NF-AT permet l'expression de nombreuses interleukines (2,3,4,5), du TNF α et du GM-CSF (Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor) (Shaw et al., 1988).

L'activation de la cellule T, va conduire à une forte augmentation de la concentration en calcium intracellulaire entraînant l'activation de la calcineurine sérine phosphatase. Cette enzyme va activer NF-AT en le déphosphorylant et va permettre sa translocation dans le noyau, où il va activer la transcription en collaboration avec AP-1 (Lyakh et al., 1997).

NF-AT1 et NF-AT2 stimulent positivement la transcription des gènes viraux dans les LT. NF-AT2 coopère avec NF- κ B pour l'activation de l'expression des gènes viraux. De par sa

structure proche de celle de NF- κ B, NF-AT est capable de se lier aux sites de fixation de NF- κ B sur le promoteur viral (Kinoshita et al., 1998; Macian and Rao, 1999).

1.1.6 La famille des facteurs à HMG box

Impliquées dans le développement, la prolifération, la différenciation et l'apoptose, ces protéines se lient sous forme monomérique à l'ADN via leur domaine HMG box (High Mobility Group). Ce domaine est constitué de trois hélices α et d'une queue acide en N-terminal. La fixation de ces protéines induit une courbure de l'ADN, permettant à de grands complexes protéiques de venir se fixer.

LEF-1 (Lymphoid Enhancer binding Factor-1) est la seule protéine de cette famille pouvant réguler la transcription des gènes viraux. Cette activation requiert un domaine de transactivation fonctionnel en plus de la HMG box et présente un processus chromatine dépendant (Sheridan et al., 1995).

1.1.7 La famille des facteurs LSF (Late Simian virus 40 Factor)

Constituées de deux domaines activateurs, un domaine répresseur et un domaine de dimérisation, les protéines ubiquitaires de la famille LSF sont impliquées dans des processus biologiques généraux tels que le cycle cellulaire, la croissance cellulaire et l'apoptose. Ces protéines nécessitent l'association à d'autres facteurs pour leur régulation (Powell et al., 2000).

LSF-CP2 (LSF-CCAAT binding Protein 2) se fixe à l'ADN sous forme de tétramère et réprime la transcription via la formation d'un complexe YY1/LSF1 qui permet le recrutement de HDAC1 sur le promoteur viral (Romerio et al., 1997).

1.1.8 La famille des facteurs CSL (CBF-1, Su(H) and Lag-1)

Ce sont des effecteurs importants de la voie Notch et sont ainsi impliqués dans des phénomènes de développement (Artavanis-Tsakonas et al., 1999).

CBF-1 (C-promoter binding factor-1) inhibe la transcription des gènes viraux. En effet, CBF-1 est capable de recruter des HDAC sur le promoteur viral conduisant à la formation d'hétérochromatine puis à la mise en place de la latence dans les LT (Tyagi and Karn, 2007).

2 Les modifications de la chromatine

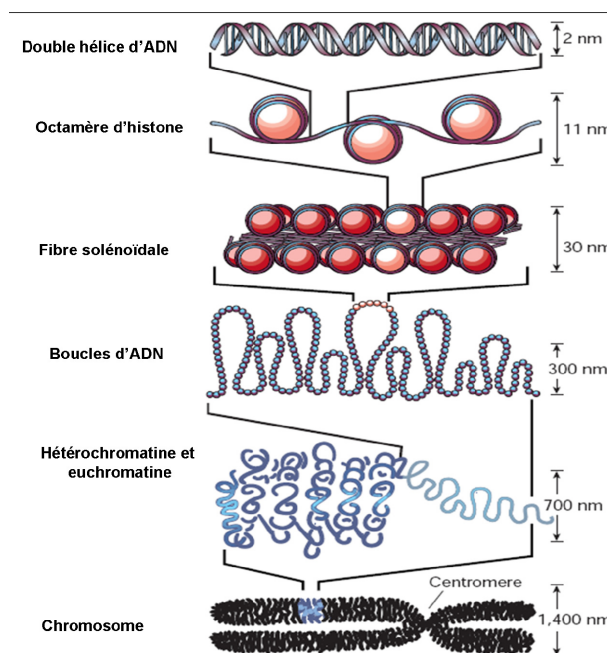
2.1 Les différents degrés d'organisation de la chromatine

Dans chaque cellule, environ 2 mètres d'ADN doit être contenus dans un noyau de quelque micromètres de diamètre. L'ADN doit nécessairement être compacté, mais doit également rester facilement accessible aux machineries protéiques. Ainsi, l'organisation dynamique de la structure chromatinienne influence potentiellement toutes les fonctions du génome.

L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le nucléosome. Composé d'ADN et d'histones, c'est le premier niveau de compaction de l'ADN dans le noyau. Le nucléosome est régulièrement répété pour former le nucléofilament (figure 35).

Au sein du noyau interphasique, la chromatine est organisée en :

- euchromatine : qui constitue les régions transcriptionnellement actives du génome,
- hétérochromatine : qui peut être soit :
 - constitutive : elle contient peu de gènes, et est constituée de séquences répétées au niveau des centromères et des télomères,
 - facultative : constituée de régions codantes.



(Felsenfeld and Groudine, 2003) avec modifications

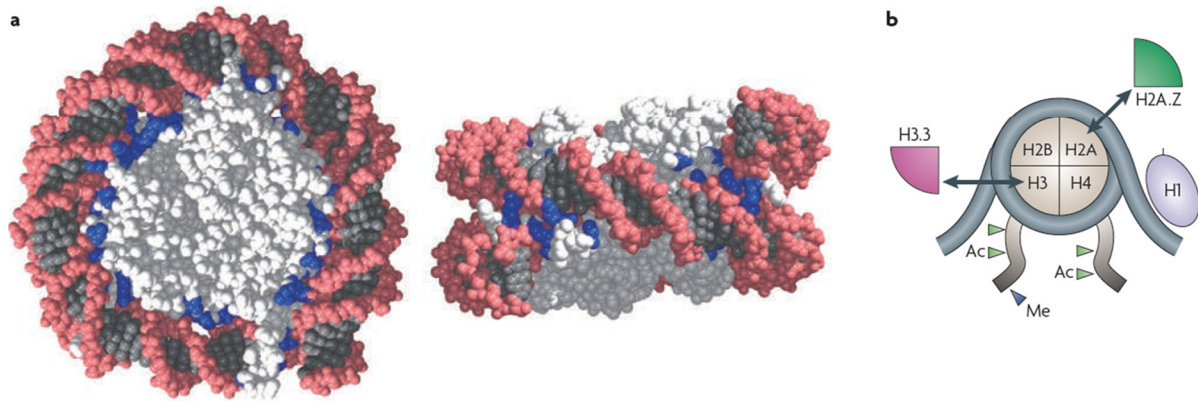
Figure 35 : Les différents niveaux de compaction de l'ADN génomique

L'ADN est très fortement compacté au sein des noyaux cellulaires. Il est tout d'abord associé à un octamère d'histones autour duquel il s'enroule 1,65 fois pour constituer le nucléofilament. Il y a ensuite formation de la fibre solénoïdale, grâce au pontage entre les histones H1 situés à l'extérieur du nucléosome, constituée de 6 nucléosomes par tour d'hélice. La fibre chromatinienne va ensuite s'enrouler en formant des boucles pour donner naissance au chromosome.

2.1.1 Le nucléosome

La chromatine observée au microscope électronique ressemble à un chapelet de perles. Le nucléosome est composé :

- d'une particule cœur : très conservée parmi les espèces, elle est composée de 146 pb d'ADN enroulées selon 1,65 tour autour d'un octamère protéique comprenant 2 exemplaires de chacune des histones H2A, H2B, H3, H4. Les histones sont incorporées de manière à ce que leur extrémité N-terminale sortent du nucléosome et soient accessibles aux enzymes de modifications post-traductionnelles (Arents et al., 1991).
- d'une région internucleosomale, dont la longueur varie selon les espèces. L'histone H1 est incorporée au niveau de cette région (figure 36).



(Jiang and Pugh, 2009) avec modifications

Figure 36 : Le nucléosome

Le nucléosome est constituée d'un octamère d'histones comprenant 2 exemplaires de chacune des histones H2A, H2B, H3 et H4 autour desquels s'enroulent 146pb d'ADN selon 1,65 tour.

2.1.2 La fibre solénoïdale

L'histone H1 (Blank and Becker, 1995; Zlatanova et al., 2000) permet le pontage entre deux nucléosomes voisins et induit l'enroulement de l'ADN sur lui-même, selon une organisation hélicoïdale régulière comprenant six nucléosomes par tour (Luger et al., 1997). Ainsi se forme la fibre solénoïdale de 30 nm de diamètre.

2.1.3 Le chromosome

La fibre solénoïdale va se disposer en boucles de 300nm de hauteur pour former la fibre chromatinienne. Lorsque les cellules se préparent pour la mitose, les boucles s'enroulent en fibres pour former les chromosomes.

2.2 Les mécanismes de remodelage de la chromatine

Le remodelage de la chromatine est nécessaire à la transcription des gènes car elle permet une facilitation de l'accès à cette chromatine de la machinerie transcriptionnelle et des facteurs de transcription.

Le remodelage de la chromatine fait intervenir trois types de complexes qui coopèrent. Ainsi, les modifications post-traductionnelles des histones, le remodelage de la chromatine faisant intervenir les facteurs dépendants de l'ATP et la méthylation de l'ADN agissent de concert pour réguler l'état de compaction de la chromatine.

2.2.1 *Les modifications post-traductionnelles des histones*

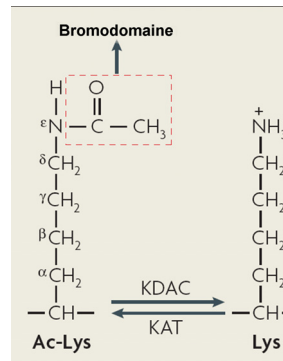
L'extrémité N-terminale accessible des histones, subit des modifications post-traductionnelles catalysées par des enzymes spécifiques.

2.2.1.1 L'acétylation des histones

L'état d'acétylation des histones est directement corrélé à l'état transcriptionnellement actif de la chromatine. En effet, une région transcriptionnellement active sera hyperacétylée alors que l'hypoacétylation caractérisera une région silencieuse (Hebbes et al., 1994).

Ainsi, l'acétylation des histones va permettre la diminution de l'interaction entre l'extrémité N-terminale de l'histone et l'ADN, en neutralisant les charges positives des histones et ainsi, en diminuant l'affinité pour les charges négatives de l'ADN. Il en résulte une décondensation de l'ADN. Des facteurs de transcription activateurs et des complexes de remodelage de la chromatine vont pouvoir venir se fixer sur la chromatine et induire l'activation de la transcription. La fixation de ces facteurs peut également se faire directement sur le site acétylé si la protéine contient un bromodomaine tel que Brd4 (Hassan et al., 2007).

L'acétylation est un processus réversible qui consiste en un transfert d'un groupement acétyle porté par une molécule de coenzyme A sur le groupement ϵ aminé d'un résidu lysine (Kuo et al., 1996) (figure 37).



(Yang and Seto, 2008) avec modifications

Figure 37 : L'acétylation des lysines des histones

L'acétylation des histones par une Histone Acétyl-Transférase (HAT) permet le transfert d'un groupement acétyl d'une molécule d'acétylcoenzyme A sur une lysine d'une histone.

L'état d'acétylation des histones est sous le contrôle de deux types d'enzymes :

- Les HAT (Histone AcétylTransférase) :

Elles peuvent être subdivisées en deux familles, les HAT nucléaires qui vont permettre l'acétylation des histones de la chromatine et les HAT cytoplasmiques qui vont acétyler les histones nouvellement synthétisées avant leur incorporation à la chromatine.

Les HAT nucléaires peuvent elles-mêmes être divisées en trois groupes :

- La famille GNAT (Gcn5-related N-AcétylTransférase) : on peut noter GCN5 et PCAF (P300/cbp-associated Factor) qui présentent 70 % d'homologie. PCAF est capable d'acétyler la lysine 14 de l'histone H3 et la lysine 8 de l'histone H4 (Schiltz et al., 1999). PCAF joue le rôle de HAT, mais aussi de coactivateur et possède différents rôles cellulaires dont le contrôle du cycle cellulaire. PCAF est également capable d'acétyler des protéines non-histones, comme TFII-E et F, mais aussi la protéine virale Tat.

- La famille MYST (MOZ, Ybf2/Sas3, Sas2, Tip60) : ces protéines possèdent de nombreuses fonctions régulatrices notamment au niveau du cycle cellulaire et de la réplication. Tip60 interagit avec Tat, entraînant une inhibition de son activité acétyltransférase (Creaven et al., 1999).

- La famille p300/CBP : exprimées de manière ubiquitaire, elles sont importantes pour divers processus biologiques, tels que le cycle cellulaire, la différenciation et l'apoptose (Giordano and Avantaggiati, 1999). La phosphorylation de CREB par la PKA permet son activation et le recrutement de p300/CBP sur le promoteur cible, induisant ainsi l'activation de la transcription.

- Les histones déacétylases (HDAC) :

Les histones déacétylases possèdent des activités épigénétiques de déacétylation des histones nucléosomales. Cependant, elles sont également capables de déacétyler des facteurs de transcription et de nombreuses protéines impliquées dans des processus cellulaires divers.

Les HDAC sont subdivisées en quatre classes :

- La classe I (HDAC1, 2, 3, 8) : ubiquitaires, elles font partie de complexes multiprotéiques nucléaires qui sont cruciaux pour la répression de la transcription. Les HDAC de cette classe sont toutes sensibles à la Trichostatine A (TSA) (Yoshida et al., 1990) (figure 38).

Les protéine HDAC1 et 2 présentent une très forte homologie et composent le core catalytique de nombreux complexes multienzymatiques tels que Sin3 (Hassig et al., 1997), CoREST (corepressor for REST (RE1 silencing transcription factor)) (Humphrey et al., 2001) et NuRD (Nucleosome Remodelling and Deacetylating complex) (Tong et al., 1998) (Grozinger and Schreiber, 2002). Ces complexes interagissent avec de nombreux facteurs de transcription dans le but de réprimer la transcription (Sp1 et YY1). Le complexe NuRD est aussi impliqué dans les phénomènes de méthylation de l'ADN. Il est en effet capable de lier les protéines MeCP1 et 2 (Methyl CpG Binding protein) (Denslow and Wade, 2007; Klose and Bird, 2006).

HDAC3 présente une homologie plus faible avec HDAC1, et nécessite pour son activité de former le complexe N-CoR (nuclear receptor corepressor) (Guenther et al., 2001).

HDAC8, enzyme exclusivement nucléaire semble avoir une action dans le développement et le cycle cellulaire. HDAC8 serait impliqué dans la tumorigenèse des neuroblastomes (Oehme et al., 2009), ainsi que dans l'inhibition de CREB induisant alors une diminution de la transcription en présence de forskoline (Gao et al., 2009).

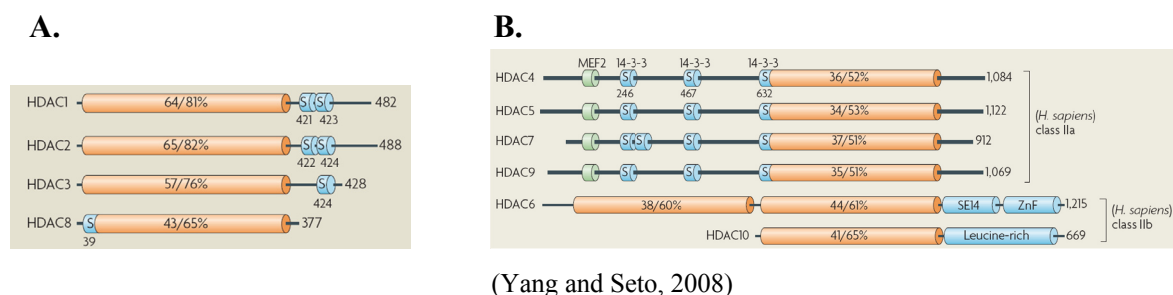


Figure 38 : Les classes de HDAC I et II

Les HDAC de classe I et II sont des enzymes sensibles à la Trichostatine A (TSA).

A. Les HDAC de classe I représentent une forte homologie entre elles et font souvent partie de complexes répresseurs tels que CoREST.

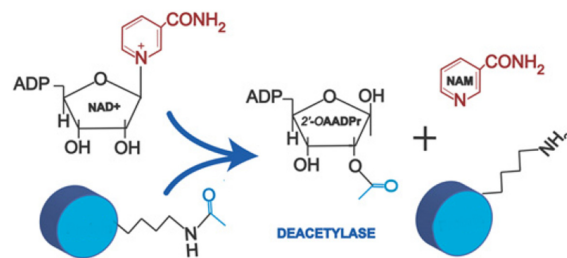
B. Les HDAC de classe II sont exprimées de manière différente d'un type cellulaire à l'autre.

- La classe II : retrouvées dans le cytoplasme et le noyau des cellules, ces protéines possèdent la capacité de faire la navette entre le noyau et le cytoplasme grâce à des

interactions avec des protéines comme 14-3-3. On distingue d'une part la classe IIa (HDAC4, 5, 7, 9), dont les éléments possèdent un domaine d'interaction avec 14-3-3 et une séquence NLS et NES (Bertos et al., 2001), et d'autre part la classe IIb (HDAC6, 10) dont HDAC6, qui est un régulateur clé des fonctions cytoplasmiques comme la mobilité cellulaire (Hubbert et al., 2002).

- La classe III (SIRT1 à 7) : ses membres jouent un rôle dans de nombreuses fonctions cellulaires dont la répression de la transcription, le contrôle du cycle cellulaire, et l'apoptose. Elles ne possèdent aucune homologie de séquence avec les HDAC de classe I et II et leur activité est NAD⁺ (Nicotinamide adénine dinucléotide) dépendante (figure 39). Elles interviennent essentiellement dans la déacétylation de protéines non histones, dont la voie NF-κB (Yeung et al., 2004).

Tat est capable d'inhiber Sirt1 et inhibe sa capacité à déacétyler la molécule de la famille NF-κB : p65 acétylé. Sirt1 est un régulateur négatif de l'activité de NF-κB, dont l'action est inhibée lors de l'infection à VIH, conduisant alors à une hyperactivation des gènes cibles de NF-κB et une hyperactivation des lymphocytes T (Kwon et al., 2008).



(Michan and Sinclair, 2007) avec modifications

Figure 39 : Le mécanisme de déacétylation des histones par les Sirtuines.

La déacétylation des histones par les Sirtuines est dépendante du NAD⁺. Elles sont ainsi sensibles à la Nicotinamide.

- La classe IV : constituée de la seule HDAC11. Aucune interaction avec un complexe connu n'a été identifiée. Cette enzyme est sensible à un analogue de la TSA, la trapoxine. Cette enzyme est impliquée dans le contrôle de l'expression de l'IL-10 (Villagra et al., 2009), et de gènes spécifiques de la glie (Liu et al., 2009).

2.2.1.2 La méthylation des histones

La méthylation peut être soit activatrice soit répressive selon le type et l'emplacement du résidu qui sera méthylé. La méthylation peut avoir lieu sur des résidus lysine ou des résidus arginine. Ainsi, pour la méthylation des lysines, la triméthylation des lysines K9 et K27 de l'histone H3 et la triméthylation de la lysine K20 de l'histone H4 sont enrichies dans l'hétérochromatine. La triméthylation des lysines K4, K36 et K79 de l'histone H3 sont

méthylation est catalysée par des enzymes nommées histones méthyltransférases (HMT) qui sont spécifiques d'un résidu. Les HMT catalysent le transfert d'un groupement méthyle porté par une molécule de S-adenosyl-méthionine (SAM) sur le groupement ϵ -aminé d'un résidu lysine ou arginine (Zhang and Reinberg, 2001).

2.2.1.2.1 La méthylation et déméthylation des lysines

- La méthylation des lysines

- Les enzymes à domaines SET (Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste, Trithorax) : leur activité catalytique réside dans leur capacité à s'assembler dans un complexe multiprotéique. Ces enzymes agissent sur les lysines 4, 9, 27 et 36 de l'histone H3 et la lysine 20 de l'histone H4 (figure 40).

Cette famille contient notamment la méthyltransférase SUV39H1 qui méthyle spécifiquement la lysine 9 de l'histone H3 (Lachner et al., 2001). La triméthylation de cette lysine permet ainsi l'établissement et le maintien de l'hétérochromatine (Nakayama et al., 2001). En effet, la protéine HP1 (Heterochromatin Protein 1), qui contient un chromodomaine, peut se fixer de manière spécifique sur la lysine 9 de l'histone H3 triméthylée (Jacobs and Khorasanizadeh, 2002; Lachner et al., 2001; Nakayama et al., 2001), conduisant alors à un environnement hétérochromatinien. Cependant, la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 n'est pas toujours retrouvée dans un environnement répressur. En effet, cette modification a pu être retrouvée en plus de la protéine HP1 γ sur le promoteur de l'IL-2 dans les lymphocytes T stimulés (Vakoc et al., 2005). De même, sur le promoteur du HIV, la protéine HP1 β , liée à la lysine 9 de l'histone H3 méthylée, est rapidement remplacée par la protéine HP1 γ lors d'une activation des lymphocytes T (Mateescu et al., 2008).

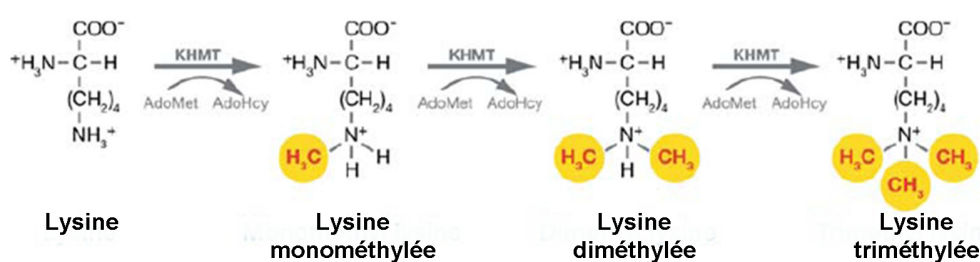
Dans cette famille d'enzymes, on retrouve également les enzymes responsables de la méthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Ainsi, des enzymes telles que MLL-1 à 4 (Mixed-lineage leukemia 1-4), hSET1A et hSET1B sont présentes dans des complexes nommés COMPASS et triméthylent la lysine 4 de l'histone H3. Cette modification a été, au départ, exclusivement associée avec des gènes transcriptionnellement actifs (Shilatifard, 2006; Sims et al., 2003; Sims and Reinberg, 2006). La triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 est distribuée dans un environnement proche du site d'initiation de la transcription (Bernstein et al., 2005), permettant ainsi l'interaction du complexe de transcription basale TFIID via le doigt PHD (Plant Homeo Domain) de la protéine TAF3 (TATA box binding protein (TBP)-associated factor) (Vermeulen et al., 2007). Cependant, la triméthylation de la lysine 4 de

l'histone H3 a été également identifiée comme associée à des régions transcriptionnellement inactives telles que dans les transcrits cryptiques chez les levures. Cette modification, engendrerait le recrutement d'un complexe Rpd3S induisant l'inhibition du complexe de pré-initiation (Pinskaya et al., 2009).

Ainsi, malgré un code histone qui établit la triméthylation de lysine 9 de l'histone H3 comme inhibitrice et la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 comme activatrice, la signification de ces marques est à prendre avec précaution en fonction du contexte cellulaire mais aussi de la région chromatinienne régulée et des exceptions existent.

De plus, il semblerait que le niveau de méthylation de la lysine 4, tri ou diméthylation n'ait pas la même signification. La triméthylation de la lysine 4 semblerait être responsable de l'augmentation de l'acétylation de l'histone H3, alors que la diméthylation de la lysine 4 permettrait le recrutement d'un complexe de déacétylation du nucléosome (Set3) (Kim and Buratowski, 2009).

- Les enzymes sans domaines SET : la triméthylation de la lysine 79 de l'histone H3, située dans un domaine globulaire de l'histone H3, est, quant à elle, catalysée par l'enzyme Dot1 (Disruptor of telomeric silencing). Cette modification induit notamment la répression de l'expression des télomères (Fingerman et al., 2007). Cependant, la triméthylation de la lysine 79 de l'histone H3 par Dot1 à été associée avec la transcription de certains gènes, et le motif de cette modification post-traductionnelle correspond tout à fait au motif de la triméthylation de la lysine 4 (Steger et al., 2008).



(Shilatifard, 2006) avec modifications

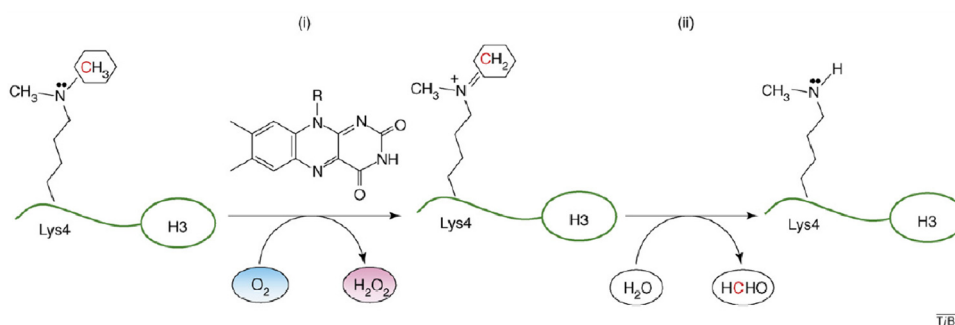
Figure 40 : La réaction de méthylation des lysines

- La déméthylation des lysines
 - La famille des amines oxydases dépendante du FAD (Flavin adenine dinucleotide) : cette famille contient les enzymes LSD1 et 2 (Lysine Specific Demethylase).
 - LSD1 déméthyle spécifiquement la di et monométhylation de la lysine 4 de l'histone H3. LSD1 est associé avec divers complexes de facteurs de transcription

répresseurs (Kim et al., 2008; Lee et al., 2005; Yokoyama et al., 2008) (figure 41). Par exemple, LSD1 est capable d'interagir avec des complexes du type de CoREST, permettant ainsi la répression de la transcription de gènes neuronaux grâce à la déméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Tout d'abord HDAC1/2 déacétylent l'histone H3, permettant la fixation de Co-REST sur la partie hypoacétylée (Shi et al., 2005). LSD1 déméthyle ensuite la lysine 4 d'une manière Co-REST dépendante (Lee et al., 2005; Shi et al., 2005). BHC80 se lie à la lysine 4 déméthylée afin d'empêcher toute reméthylation (Lan et al., 2007). Finalement, G9a méthyle la lysine 9 de l'histone H3 et induit la répression de la transcription. Ce type de répression pourrait être dépendante ou indépendante de SUMO (Ouyang et al., 2009).

En revanche, LSD1 est également capable d'interagir avec un complexe activateur qui contient une méthylase spécifique de la lysine 4, MLL-1 (Klose and Zhang, 2007). Ainsi, la présence d'enzymes de déméthylation et de méthylation de la lysine 4 dans le même complexe, montre l'importance de la balance de méthylation de la lysine 4 dans la régulation de la transcription des gènes viraux. De plus, LSD1 est également capable d'interagir avec le récepteur de l'androgène (AR) dans le but d'activer la transcription des gènes dépendant de l'AR. LSD1 est capable alors de déméthyle la lysine 9 de l'histone H3 sous sa forme mono et diméthylée (Metzger et al., 2005). Ainsi, LSD1 possède des fonctions de coactivateur (Garcia-Bassets et al., 2007; Wissmann et al., 2007).

Enfin, LSD1 est également capable d'interagir avec des protéine non-histone comme p53, où elle déméthyle la lysine 370 induisant une inhibition de l'action de p53 (Huang et al., 2007a). LSD1 jouerait également un rôle dans la méthylation de l'ADN. En effet, il semblerait que LSD1 déméthyle Dnmt1 augmentant ainsi sa stabilité et conduisant alors à une augmentation de la méthylation de l'ADN (Wang et al., 2009).



(Forneris et al., 2008)

Figure 41 : La réaction de déméthylation des lysines

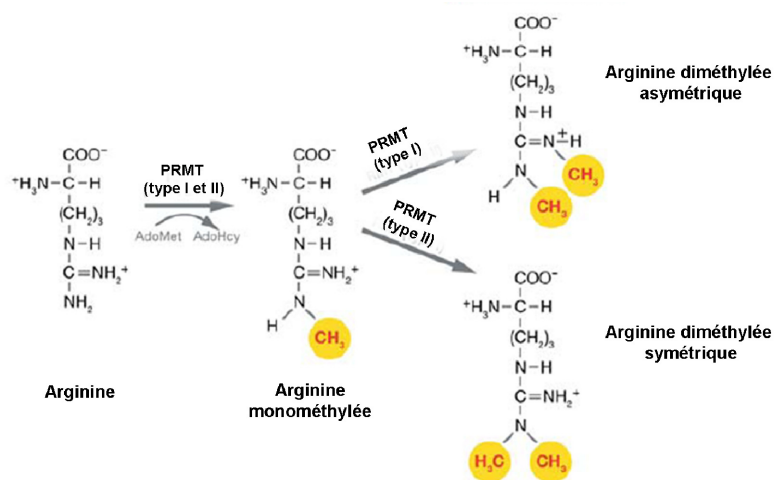
➤ LSD2 : de récentes analyses de bases de données ont permis la découverte de LSD2, qui permettrait également la déméthylation des formes mono et diméthylées de la lysine 4 de l'histone H3. Cependant LSD2 ne serait pas impliquée dans des

2.2.1.2.2 La méthylation et la déméthylation des arginines

- La méthylation des arginines : les PRMT (Protein arginine MethylTransferase). Au nombre de 12, seules les PRMT1 à 4 présentent une activité méthyltransferase in vivo. Les PRMTs ont été classées en quatre types (figure 42) :

- Les PRMTs de classe I (PRMT1, 3, 4, 6, 8) catalysent la monométhylation et la diméthylation asymétrique des arginines
- Les PRMTs de classe II (PRMT5, 7, FBXO11, Hsl7) catalysent la monométhylation et la diméthylation symétrique des arginines (Zhang and Reinberg, 2001)
- Les PRMTs de classe III (PRMT7) catalysent uniquement la monométhylation
- Les PRMT de classe IV (PRMT2) catalysent la monométhylation, mais cette activité a été montrée uniquement dans les levures (Bedford and Clarke, 2009).

Ainsi, PRMT1 agit sur l'arginine 3 de histone H4 (Wang et al., 2001), alors que PRMT4 méthyle les arginines 2, 17, 26 de l'histone H3.



(Shilatifard, 2006) avec modifications

Figure 42 : Les réactions de méthylation des arginines

jumonji : des enzymes de cette famille permettent également la déméthylation des arginines. On peut notamment citer JMJD6 capable de démétyler l'arginine 2 de l'histone H3 sous sa forme diméthylée, et l'arginine 3 de l'histone H4 également sous sa forme diméthylée (Chang et al., 2007).

- La déimination des arginines
 - Les enzymes de type PAD (PeptidylArginine Deiminase) sont capables de catalyser la transformation des résidus arginine en citrulline. Elles peuvent ainsi prévenir toute méthylation des arginines (Thompson and Fast, 2006).

2.2.1.3 La phosphorylation des histones

La phosphorylation des histones peut se faire sur les résidus sérines et les résidus thréonines. Les enzymes catalysant cette modification sont des sérine/thréonine kinases (HK : Histone Kinase) telles que ATM. La phosphorylation va elle aussi conduire, selon le contexte, à une activation ou à une répression de la transcription. Cette réaction consiste en un transfert d'un groupement phosphate porté par une molécule d'ATP sur le groupement ϵ -aminé d'une sérine ou d'une thréonine, conduisant alors à un changement de charge du résidu.

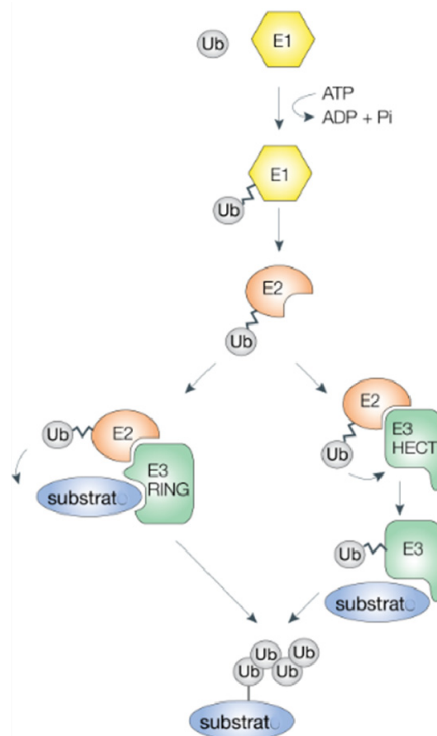
La phosphorylation de la sérine 10 de l'histone H3 est liée à un état transcriptionnellement actif (Thomson et al., 1999). Elle induit le déplacement de HP1 de l'histone H3 (Fischle et al., 2005; Fischle et al., 2003). Cependant, ceci est encore controversé, puisque il a été récemment démontré que la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et la phosphorylation de la sérine 10 de l'histone H3 pouvaient avoir lieu de manière concomitante (Mateescu et al., 2004).

D'autres résidus peuvent être phosphorylés, tels que la thréonine 11 de l'histone H3, correspondant également à une marque activatrice (Metzger et al., 2008).

2.2.1.4 L'ubiquitylation des histones

L'ubiquitine (76 acides aminés) est attachée aux protéines cellulaires par la formation d'un pont isopeptide entre la partie C-terminale de l'ubiquitine et la chaîne de la lysine, par l'action successive de trois enzymes. L'enzyme d'activation E1 va activer l'ubiquitine de manière ATP-dépendante, qui va ensuite pouvoir être conjuguée à un résidu cystéine par l'enzyme de conjugaison E2. Finalement, l'enzyme E3 ligase va transférer l'ubiquitine sur la lysine de la protéine cible (Pickart and Eddins, 2004; Pickart and Fushman, 2004; Wang et al., 2006). Les protéines poly-ubiquitylées (plus de 4 ubiquitines) sont en général dégradées par la voie du protéasome (Chau et al., 1989; Finley et al., 1994; Wang et al., 2006) (figure

43). Dans le cas des histones, l'ubiquitinylation a lieu sur les histones H1, H2A, H2B et H3 (Shilatifard, 2006; Weake and Workman, 2008; Zhang, 2003).



(Woelk et al., 2007) avec modifications

Figure 43 : L'ubiquitinylation des histones

L'ubiquitinylation des histones nécessite l'intervention de trois enzymes distinctes. Tout d'abord l'E1 est conjuguée à l'ubiquitine via un résidu cystéine puis le transfère à l'enzyme E2 également sur un résidu cystéine. E3 permet ensuite le recrutement du substrat (histone) et transfère l'ubiquitine sur l'histone.

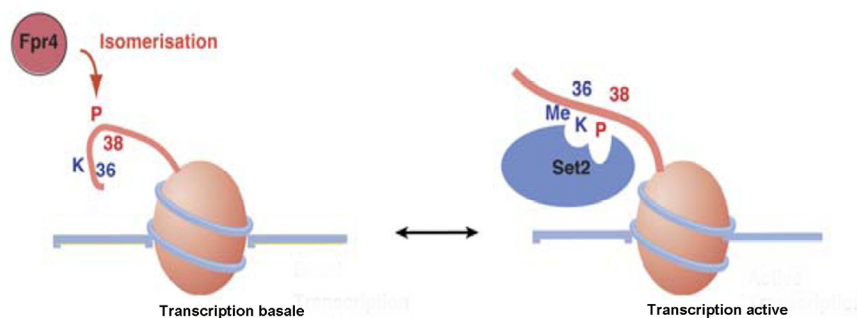
L'ubiquitinylation peut avoir lieu sur les lysines 120, 119 et 143 de l'histone H2B (Osley, 2006; Robzyk et al., 2000; Sridhar et al., 2007; Tanny et al., 2007). L'histone H2B est uniquement mono-ubiquitinylée, elle est résistante à la dégradation par le protéasome et joue un rôle important dans le maintien de la structure chromatinienne et dans la régulation de l'expression génique. L'ubiquitine peut être enlevée de l'histone par des protéases spécifique de l'ubiquitine. L'ubiquitinylation de l'histone H2B conduit à l'activation de la transcription des gènes (Daniel et al., 2004; Henry et al., 2003; Shukla et al., 2006). De plus, des études ont pu montrer que la mono-ubiquitinylation de l'histone H2B par Rad6/Bre1 est un pré-requis pour la méthylation des lysines 4 et 79 de l'histone H3. H2B ubiquitinylée contrôle la fixation de la sous-unité Csp35 du complexe COMPASS, essentielle pour l'activité méthyltransférase de ce complexe (Lee et al., 2007).

2.2.1.5 La SUMOylation des histones

La SUMOylation des histones fait intervenir la même machinerie cellulaire que l'ubiquitinylation. C'est une marque réversible. Les quatre histones peuvent être SUMOylées conduisant à la liaison de chaînes de plusieurs protéines SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) sur un résidu lysine. La SUMOylation de l'histone H2B peut avoir lieu sur les résidus 6 et 7. Cette SUMOylation conduit au recrutement de plusieurs HDAC et de la protéine HP1, induisant alors une répression de la transcription des gènes (Nathan et al., 2006; Shio and Eisenman, 2003).

2.2.1.6 L'isomérisation

La proline isomérase Fpr4 est une enzyme capable de se lier sur l'extrémité N-terminale de l'histone H3 et de catalyser l'isomérisation de la proline P38. Lorsque la P38 est en conformation *cis*, les interactions entre les histones et l'ADN sont favorisées. L'isomérisation en conformation *trans* par Fpr4 semble nécessaire à la méthylation de la lysine 36 de l'histone H3 par Set2 et à l'activation de la transcription des gènes (Nelson et al., 2006) (figure 44).



(Nelson et al., 2006) avec modifications

Figure 44 : L'isomérisation des histones

Fpr4 permet d'isomériser la proline 38. En conformation *cis*, la queue de l'histone ne peut être méthylée et la chromatine est dans un état inactif. En revanche, en conformation *trans*, la queue de l'histone peut être modifiée par Set2 qui active alors la transcription des gènes.

2.2.1.7 Le code histone

La régulation de l'état de compaction de la chromatine est régie par un ensemble de règles regroupées sous le terme de code histone. Ainsi, plusieurs modifications post-traductionnelles s'associent pour former des combinaisons qui donnent lieu soit à une activation soit à une

répression de la transcription. Cette régulation nécessite l'intervention de deux types de facteurs :

- les facteurs qui modifient les histones
- les facteurs qui interprètent ces modifications.

Par exemple, la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 est interprétée par l'ensemble des protéines HP1 (α , β , γ), qui sont capables de se fixer sur ce résidu triméthylé grâce à leur chromodomaine. Ils entraînent, alors dans la plupart des cas, la formation d'hétérochromatine, mais pas toujours (Mateescu et al., 2008; Vakoc et al., 2005).

De même, la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 peut être interprétée par le complexe de transcription basal (TFIID et TFII-I) conduisant à la transcription des gènes, mais pas toujours (Pinskaya et al., 2009).

2.2.2 Les facteurs de remodelage de la chromatine ATP dépendants

Les facteurs de remodelage de la chromatine ATP dépendants permettent un réarrangement rapide de la structure chromatinienne. Basée sur des similarités structurales, on peut classer ces facteurs en quatre grandes familles, la famille SWI/SNF, la famille ISWI, la famille NuRD/Mi2/CHD et la famille INO80. Quelque soit la famille, chaque facteur possède une sous-unité catalytique ATPase, avec un domaine hélicase qui permet la modification de la structure nucléosomale, grâce notamment à l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP (Travers, 1999).

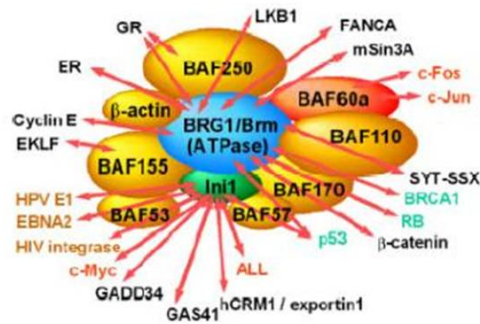
2.2.2.1 La famille SWI/SNF (switching defective/sucrose non-fermenting)

Les membres de la sous-unité catalytique de cette famille, BRM (SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 2) et BRG1 (BRM/SWI2 related gene 1), possèdent un bromodomaine C-terminal qui se lie aux extrémités N-terminales acétylées des histones (Hassan et al., 2002) (figure 45). Ainsi, le complexe peut avoir une action directe sur la chromatine au niveau du promoteur activé. Les complexes SWI/SNF désorganisent et réorganisent la position des nucléosomes, afin de promouvoir l'accessibilité de la chromatine pour les facteurs de transcription et l'activation des gènes (Martens and Winston, 2003). Ils sont ainsi capables de briser les nucléosomes et de les réorganiser en échangeant des histones. Cependant, ces complexes peuvent également induire une répression en permettant le recrutement du facteur de transcription REST (Ooi et al., 2006).

Ce type de complexe est en général recruté sur le promoteur par des facteurs de transcription. En effet, le facteur HIC1 (hypermethylated in cancer 1) permet le recrutement de ce

complexe sur les promoteurs des gènes « E2F-responsive », induisant une répression de la transcription (Zhang et al., 2009).

Ce complexe peut être recruté par le domaine riche en arginine de la protéine virale Tat via BRG1, induisant alors une activation de la transcription. Cette interaction est régulée par l'acétylation de Tat sur la lysine 50 (Treand et al., 2006).



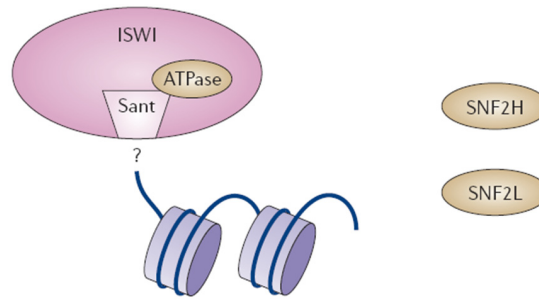
(Iba et al., 2003)

Figure 45 : Le complexe SWI/SNF

Le complexe SWI/SNF entraîne une dissociation des nucléosomes, ainsi qu'une réorganisation des octamères d'histones.

2.2.2.2 La famille ISWI (imitation SWI)

Les membres de la famille ISWI, SNF2H et SNF2L, possèdent des domaines SANT (SWI3, ADA2, NCOR, and TFIIB DNA binding domains) et SLIDE (SANT like ISWI) qui permettent l'interaction directe avec les extrémités N-terminales non modifiées des histones (Boyer et al., 2004) (figure 46). Ces complexes permettent le déplacement des nucléosomes qui gardent leur structure d'origine. Ainsi, les nucléosomes vont glisser sur la chromatine ce qui va modifier leur espacement et permettre la fixation de facteurs de transcription (Fazio and Tsukiyama, 2003; Saha et al., 2006; Zofall et al., 2006). Ils peuvent être aussi bien impliqués dans des phénomènes répresseurs (Corona and Tamkun, 2004), activateurs (Badenhorst et al., 2002; Corona and Tamkun, 2004) ou dans l'élongation de la transcription (Corona and Tamkun, 2004; Morillon et al., 2003).



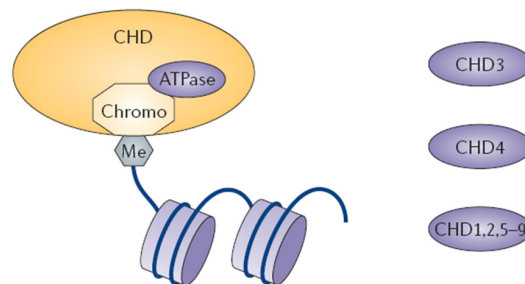
(de la Serna et al., 2006)

Figure 46 : Les facteurs de remodelage de la chromatine de la famille ISWI

Le complexe ISWI conduit à un glissement des nucléosomes.

2.2.2.3 La famille NuRD (nucleosome remodeling and deacetylation)/Mi-2/CHD (chromodomain, helicase, DNA binding)

Les membres de la famille NuRD/Mi-2/CHD, CHD 1 à 5, possèdent un tandem de chromodomaine qui reconnaît spécifiquement les extrémités N-terminales méthylées des histones (Flanagan et al., 2005; Sims et al., 2005) (figure 47). Il possède en plus de son activité ATPasique une activité déacétylase, du fait de la présence d'HDAC1 et 2, qui vont réprimer la transcription en parallèle (Tong et al., 1998; Xue et al., 1998). Ce complexe est majoritairement impliqué dans des activités de répression (Becker and Horz, 2002). Cependant, dans les nucléoles, on a pu identifier une activité activatrice (Shimono et al., 2005).



(de la Serna et al., 2006)

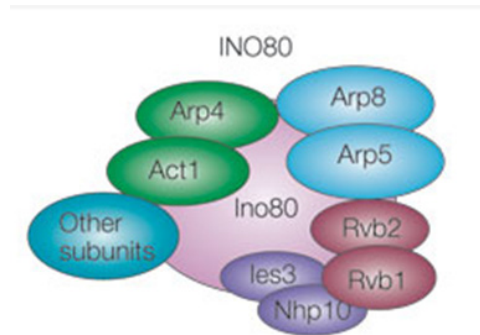
Figure 47 : Les facteurs de remodelage de la chromatine de la famille NuRD

Le complexe NuRD provoque une dissociation des nucléosomes et d'une déacétylation des HDAC.

2.2.2.4 La famille INO80 (inositol requiring 80)

Ce complexe peut être soit activateur soit répresseur (Jonsson et al., 2004; Mizuguchi et al., 2004; van Attikum et al., 2004). Ces complexes sembleraient posséder un rôle dans la réparation de l'ADN (Bao and Shen, 2007; Morrison et al., 2004; Tsukuda et al., 2005; van

Attikum et al., 2004). Cette famille, tout comme la famille SWI/SNF, permet l'échange de variant d'histones au sein du nucléosome et ainsi la modification de la chromatine (Henikoff et al., 2004) (figure 48).



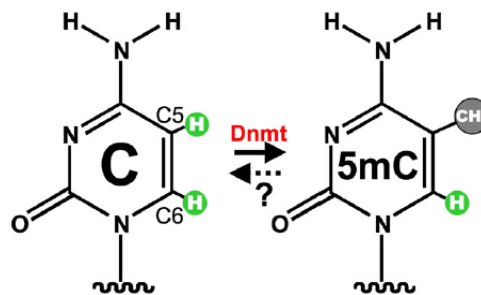
(van Attikum and Gasser, 2005)

Figure 48 : Le complexe Ino80

Le complexe Ino80 provoque une dissociation des nucléosomes.

2.2.3 Les méthylations de l'ADN

Alors que la méthylation des histones peut permettre la création d'un environnement hétérochromatinien, de façon réversible, la méthylation de l'ADN entraîne elle aussi une répression, mais qui est plus stable et héritable (figure 49). En effet, elle est reproduite à chaque réplication de l'ADN. Cependant, elle peut être modifiée ou créée en réponse à un facteur environnemental. L'ADN peut être méthylé sur les résidus cytosines des dinucléotides CpG (Gruenbaum et al., 1981). Cette méthylation consiste en transfert d'un groupement méthyle porté par une molécule de S-adénosyl-méthionine (SAM) sur le carbone en position 5' d'une cytosine (Razin and Riggs, 1980).

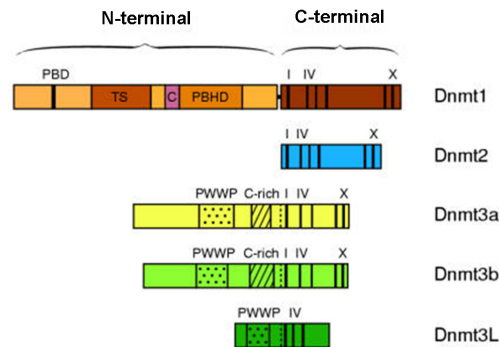


(Cheng and Blumenthal, 2008)

Figure 49 : La réaction de méthylation des cytosines de l'ADN

Le groupement SAM permet le transfert d'un groupement méthylé sur la cytosine grâce à une Dnmt (ADN méthyltransférase).

2.2.3.1 Les ADN méthyltransférases



(Margot et al., 2003)

Figure 50 : Les ADN méthyltransférases

Les ADN méthyltransférases sont classés en 3 familles (figure 50 et 51) :

- **Dnmt1** : impliqué dans le maintien des profils des méthylation durant la réplication (Chen and Li, 2006) et la réparation de l'ADN (Mortusewicz et al., 2005). Dnmt1 préfère de 30 à 40 fois les sites hémiméthylés qu'elle méthyle de manière processive (pour revue (Jeltsch, 2006)). Dnmt1 semblerait également capable de méthyle *de novo* les sites non compris dans les dinucléotides CpG (Grandjean et al., 2007) et dans les îlots CpG (Feltus et al., 2003; Jair et al., 2006). Dnmt1 est notamment connue pour interagir avec HDAC1 (Robertson and Jones, 2000), HDAC2 (Rountree et al., 2000), SUV39H1 et HP1 (Fuks et al., 2003).

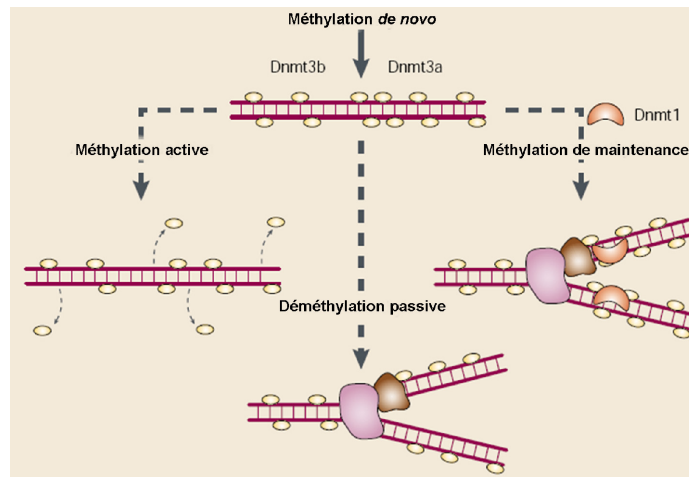
- **Dnmt2** : cet enzyme permet la méthylation de la cytosine 38 de la boucle anticodon de l'ARNt^{Asp}. Mais, le rôle de cette méthylation reste encore à déterminer (Goll et al., 2006). Dnmt2 est également capable de reconnaître les substrats ADN.

- **Dnmt3** : Dnmt3a et 3b sont les enzymes responsables de la méthylation de l'ADN *de novo*. Ils possèdent un domaine PWWP impliqué dans les liaisons à l'ADN non spécifiques (Qiu et al., 2002), un domaine riche en cystéine, et un domaine C-terminal catalytique.

Alors que Dnmt3a est une protéine ubiquitaire, Dnmt3b est exprimé uniquement dans certains tissus comme la moelle osseuse (Xie et al., 1999).

Dnmt3b est capable d'interagir avec le complexe SWI/SNF, HDAC1 et 2, SUV39H1 et HP1 (Geiman et al., 2004). Ces interactions démontrent bien la coopération entre les différents modes de remodelage de la chromatine pour induire une répression de la transcription.

DNMT3L (Dnmt 3 like) participe à l'effet de Dnmt3a et Dnmt3b en se liant à leur extrémité C-terminale et en induisant ainsi un changement de conformation, qui va leur permettre une meilleure interaction avec leur substrat (Gowher et al., 2005).



(Reik and Walter, 2001) avec modifications

Figure 51 : Les mécanismes de méthylation de l'ADN

Dnmt 3a et 3b permet la méthylation *de novo* de l'ADN alors que Dnmt1 est impliquée dans la maintenance de la méthylation.

2.2.3.2 La déméthylation de l'ADN

Le processus de déméthylation de l'ADN est encore très peu connu, mais des évidences vont dans le sens d'une déméthylation active et passive. Ainsi, la déméthylation pourrait faire intervenir une 5-méthylcytosine déméthylase qui éliminerait le groupement méthyle sur la cytosine (Ramchandani et al., 1999). La déméthylation pourrait également avoir lieu grâce à l'intervention d'une glycosylase qui éliminerait toute la base méthylée et la remplacerait par une nouvelle cytosine ; pour revue(Gehring et al., 2009).

Enfin, le dernier mécanisme évoque la possibilité d'éliminer la méthylation de manière passive en empêchant les Dnmt d'accéder à l'ADN ; pour revue(Wolffe et al., 1999).

3 Régulation de la transcription par des ARN interférant

3.1 Généralités

Les petits ARN interférents contrôlent l'expression des gènes cellulaires et protègent l'ADN contre des attaques extérieures, transposons, rétroéléments (Aravin et al., 2007; Baulcombe, 2004; Buhler and Moazed, 2007). Ils permettent la régulation de la quantité d'ARNm en jouant sur le taux de transcription et la stabilité des ARNm. Présents naturellement dans les cellules, ils appartiennent à quatre classes (figure 52) :

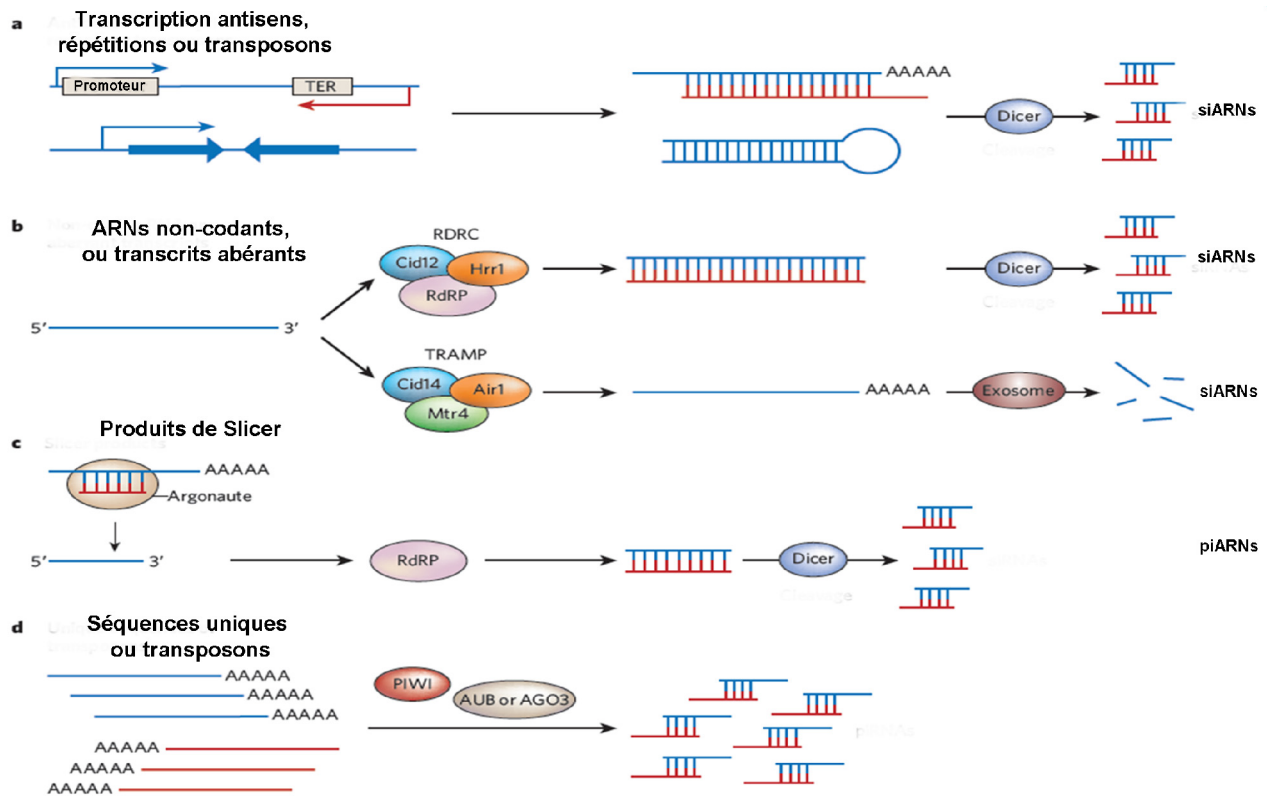
- short interfering ARN (siARN) : ces petits ARN sont synthétisés par Dicer, un enzyme qui clive de long ARN double brin afin de les générer. Ce sont des fragments de 21 à 25 nucléotides de long avec un groupement phosphate à chaque extrémité 5', et un groupement hydroxyle et deux nucléotides non associés aux extrémités 3'. Dicer possèdent

un domaine PAZ (Piwi Argonaute and Zwillie) lui permettant d'interagir avec les siRNA via leur extrémités 3', et deux domaines catalytiques RNaseIII. Ils peuvent provenir d'une source endogène ou exogène.

- micro ARN (miARN) : molécules de 21 à 25 nucléotides de long dont le précurseur est codé par le génome de la cellule et transcrit par l'ARNpolIII (Kim, 2005). Ce précurseur nommé pri-miARN à une structure en tige boucle, la séquence du miARN étant contenue à l'extrémité 5' ou 3' de la tige boucle. L'enzyme à activité RNaseIII nucléaire Drosha, va cliver le pri-miARN en pre-miARN de 65 à 70 nucléotides. Ce précurseur va ensuite être importé dans le cytoplasme grâce à l'exportine 5 (Yi et al., 2003), où Dicer va compléter le processing (Elbashir et al., 2001).

- PIWI-interacting ARN (piARN) : ce type d'ARN est capable de se lier à des protéines argonautes contenant un domaine de type PIWI. Ils possèdent une base uracile à leur extrémité 3' et un monophosphate à leur extrémité 5' et sont synthétisés à partir de rétrotransposons. Ils sont capables d'interagir à la fois au niveau post-transcriptionnel et chromatinien (Aravin et al., 2006; Batista et al., 2008; Das et al., 2008; Girard et al., 2006; Grivna et al., 2006; Lau et al., 2006; Watanabe et al., 2006).

- Endogenous siARN (esiARN) : synthétisé à partir d'ARN double brin ils participent probablement à la régulation de la structure chromatinienne (Chung et al., 2008; Ghildiyal et al., 2008; Kawamura et al., 2008).



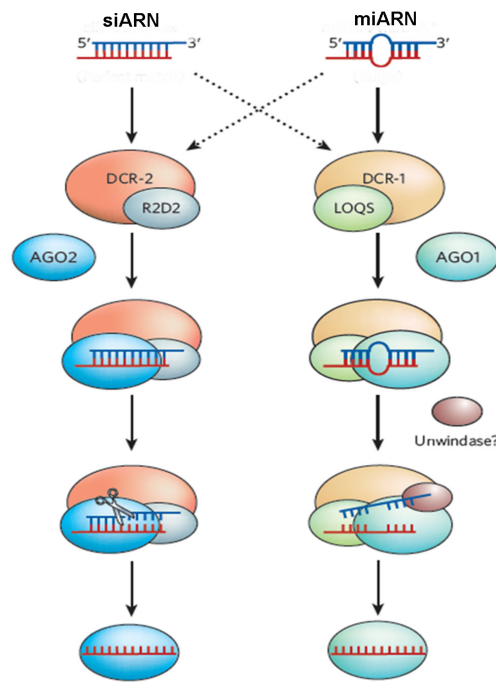
(Moazed, 2009) avec modifications

Figure 52 : Les mécanismes de synthèse des ARN interférants

Les miARN sont d'origines cellulaires alors que les siARN peuvent être d'origines cellulaires et exogènes (expérimentateur ou viral). Les piARN sont d'origines cellulaires et dérivent des transposons.

3.2 Mécanisme de régulation de la transcription

- Mécanisme d'action des petits ARN interférants : les siARN ou miARN, dont le brin guide est complexé à la séquence cible, sont chargés par le complexe RISC (RNA-Induced Silencing Complex) ou RITS, selon que l'on se trouve dans le cytoplasme ou le noyau. Dans le cas des siARN où la reconnaissance avec la séquence cible est parfaite, le complexe sera chargé sur la protéine AGO2 qui interagit avec Dicer2 et R2D2, il va alors y avoir clivage de l'ARN cible. Lorsque la reconnaissance n'est pas parfaite, comme pour les miARN, le complexe est chargé sur la protéine AGO1 qui interagit avec Dicer1 et LOQS1, empêchant alors la traduction de l'ARN messager cible (figure 53).

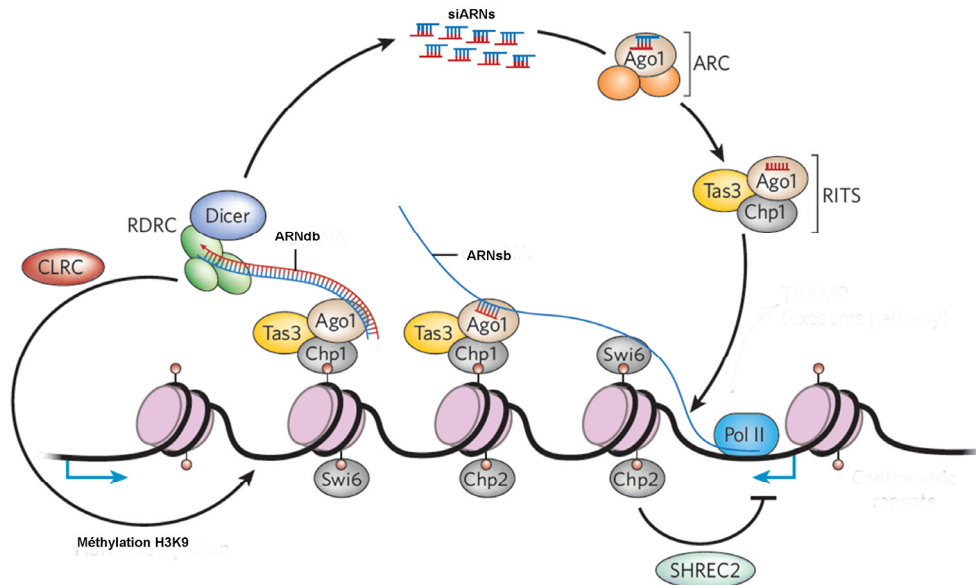


(Siomi and Siomi, 2009) avec modifications

Figure 53 : Les mécanismes d'action des ARN interférants

Dans le cas d'une complémentarité parfaite entre le siARN et l'ARN cible il y a dégradation de l'ARN cible. Toutefois, lors d'une complémentarité partielle dans le cas des miARN, il y a tout simplement un blocage de la transcription.

- Petits ARN interférents et chromatine : des évidences chez *S.pombe* nous poussent à croire qu'il existe un lien entre la régulation des ARN interférents et la formation d'hétérochromatine. Ainsi, chez cet organisme, la protéine Chp1 nécessaire à la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 a été démontrée comme interagissant avec la protéine AGO1 du complexe RITS (Verdel et al., 2004). Dans cette hypothèse, lors du début de la transcription d'ARN messager non codant, a lieu une interaction entre un siARN et le transcrite naissant d'une part, et la protéine Chp1 et la lysine 9 triméthylée de l'histone H3 d'autre part (Motamedi et al., 2004). Cela conduit au recrutement d'un complexe, contenant Dicer, qui va permettre, à partir de l'ARNm naissant, la production de siARN, et ainsi l'amplification du système. D'autre part, la présence du complexe Dicer, permettrait le recrutement d'une enzyme triméthylant la lysine 9 de l'histone H3 ainsi que le recrutement de protéines homologues à HP1 (figure 54). Cette machinerie montre bien la coopération qu'il y aurait entre les ARNi et les modifications post-traductionnelles des histones (Buker et al., 2007; Irvine et al., 2006) ; pour revue (Moazed, 2009).



(Moazed, 2009)

Figure 54 : Les ARN interférant et la régulation de l'état chromatinien

4 Les mécanismes de régulation de la transcription des gènes viraux

4.1 La régulation de la phase initiale de la transcription des gènes viraux

La transcription des gènes viraux est sous le contrôle de la séquence U3 du promoteur viral. Elle dépend du type cellulaire et de l'état physiologique des cellules infectées. De manière globale, elle conduit toujours à l'activation de la transcription des gènes viraux. Seuls quelques sites de fixation de facteurs de transcription sont utilisés en même temps. Au cours de la phase initiale de la transcription des gènes viraux, le niveau de transcription est faible et est modulé par la présence de cytokines.

Quelque soit le type cellulaire, la majorité des transcrits sont initiés par l'ARNpolIII, qui est recrutée sur le promoteur minimal par NF- κ B. Seule une partie des transcrits sera élonguée en l'absence de Tat, permettant ainsi sa production.

Nous nous intéresserons uniquement aux lymphocytes T CD4⁺ et aux cellules microgliales qui ont été l'objet de nos études.

4.1.1 *Les lymphocytes T CD4⁺*

Les sites de fixation de facteurs de transcription tels que Sp1 ne suffisent pas à l'activation de la transcription dans ces cellules. Sp1 se fixe sur les trois boîtes GC du promoteur minimal et sert de point d'ancrage pour les facteurs COUP-TF (Rohr et al., 1997) et NF-IL6 (Schwartz et al., 2000). La présence de facteurs activateurs sur le domaine modulateur, tels que COUP-TF (Rohr et al., 1999), NF-IL6 (Schwartz et al., 2000), USF1 (Naghavi et al., 2001), Ets1 (Seth

et al., 1993) et TCF1 (Sheridan et al., 1995) participe à l'activation de la transcription des gènes viraux.

Ainsi, lors de leur activation, les facteurs de transcription NF-AT1 et 2, NF- κ B et CREB vont subir une translocation dans le noyau où ils vont pouvoir activer la transcription des gènes viraux. CREB va se fixer de manière indirecte sur le promoteur proximal (Rohr et al., 1999), alors que NF-AT1 et 2 et NF- κ B vont se fixer de manière directe sur les sites NF- κ B (Giffin et al., 2003). Une étude récente a pu montrer qu'IRF-1 (interferon regulatory factor 1) interagit avec le dimère p50/p65 pour l'activation de la transcription des gènes viraux. IRF-1 est recruté sur le promoteur viral grâce à une interaction avec ce dimère et une liaison sur les sites NF- κ B (Sgarbanti et al., 2008).

Le facteur de transcription YY1, puissant répresseur de la transcription des gènes viraux est capable de se fixer sur le promoteur proximal, et permet la répression dans les LT CD4+ quiescents (Margolis et al., 1994) (figure 55). Le dimère p50, de même que CBF-1 et c-Myc se fixent également sur le promoteur viral et induisent une forte répression de la transcription virale (Jiang et al., 2007; Tyagi and Karn, 2007; Williams et al., 2006). Ces facteurs sont capables de recruter des enzymes de modification de la chromatine conduisant à la formation d'un environnement répresseur. Ainsi, c-Myc collabore avec Sp1 pour le recrutement de HDAC1 ; CBF-1 et le dimère p50 permettent également le recrutement d'activités HDAC.

La régulation de la transcription des gènes viraux dans les lymphocytes T fait intervenir de nombreux facteurs activateurs ou répresseurs. Dans les lymphocytes T latents, les facteurs retrouvés sur le promoteur viral, sont des facteurs répresseurs qui induisent souvent le recrutement d'enzymes de modifications de la chromatine permettant la mise en place de la latence.

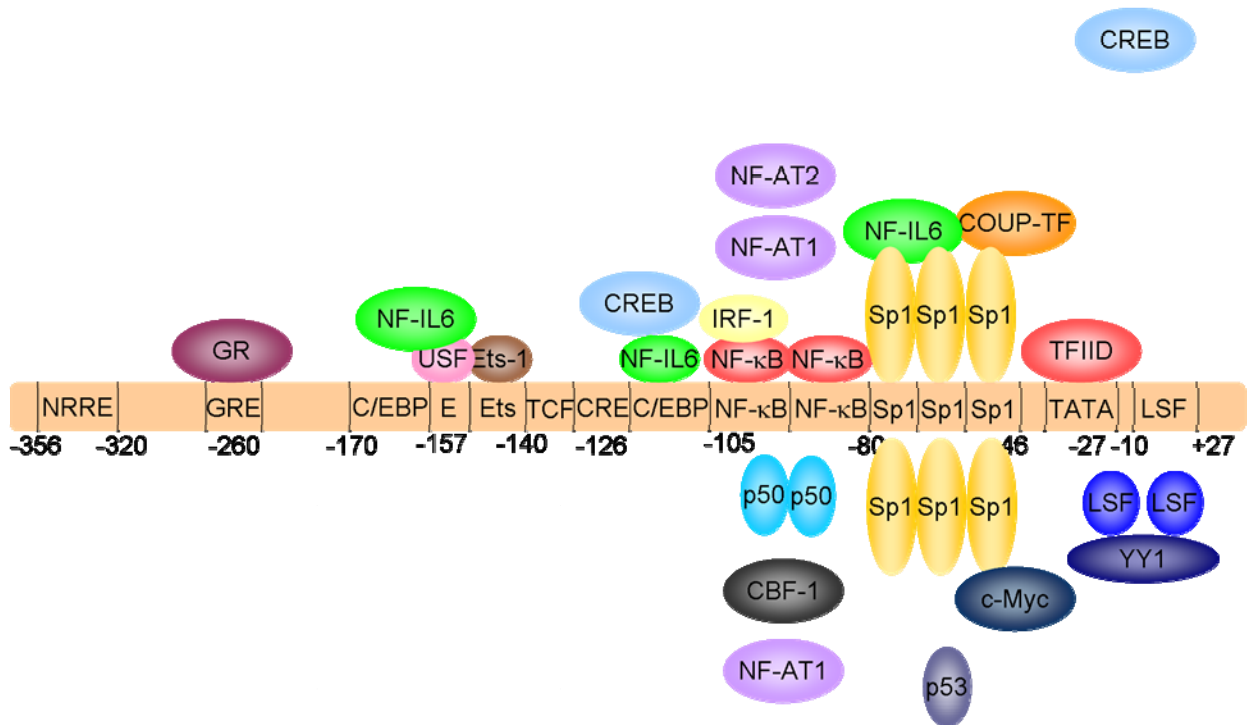


Figure 55 : Les facteurs de transcription liés au promoteur viral dans les lymphocytes T

Le promoteur viral contient d nombreuses séquences permettant la fixation de facteurs activateurs tels que NF-AT et Sp1 et la fixation de facteurs répresseurs tels que YY1.

4.1.2 Les cellules microgliales

Tout comme dans les lymphocytes T, Sp1 est un facteur de transcription très important car il sert de point d’ancrage aux facteurs de transcription COUP-TF et NF-IL6. Dans les cellules microgliales, le facteur de transcription Sp3 est capable de se fixer sur les boîtes GC et d’induire une répression de la transcription des gènes viraux, de même que C/EBP γ , qui freine une partie de l’effet activateur de NF-IL6 (figure 56).

Des études récentes menées dans notre laboratoire ont pu mettre en évidence l’importance des facteurs CTIP1 et CTIP2 dans la répression de la transcription des gènes viraux. CTIP2 est capable d’inhiber l’activation de la transcription médiée par Sp1 et COUP-TF en recrutant sur le promoteur viral un complexe multienzymatique. Ainsi, CTIP2 recrute HDAC1, HDAC2 et SUV39H1 sur le promoteur viral conduisant alors à la formation et au maintien d’un environnement hétérochromatinien (Marban et al., 2005; Marban et al., 2007; Rohr et al., 2003a).

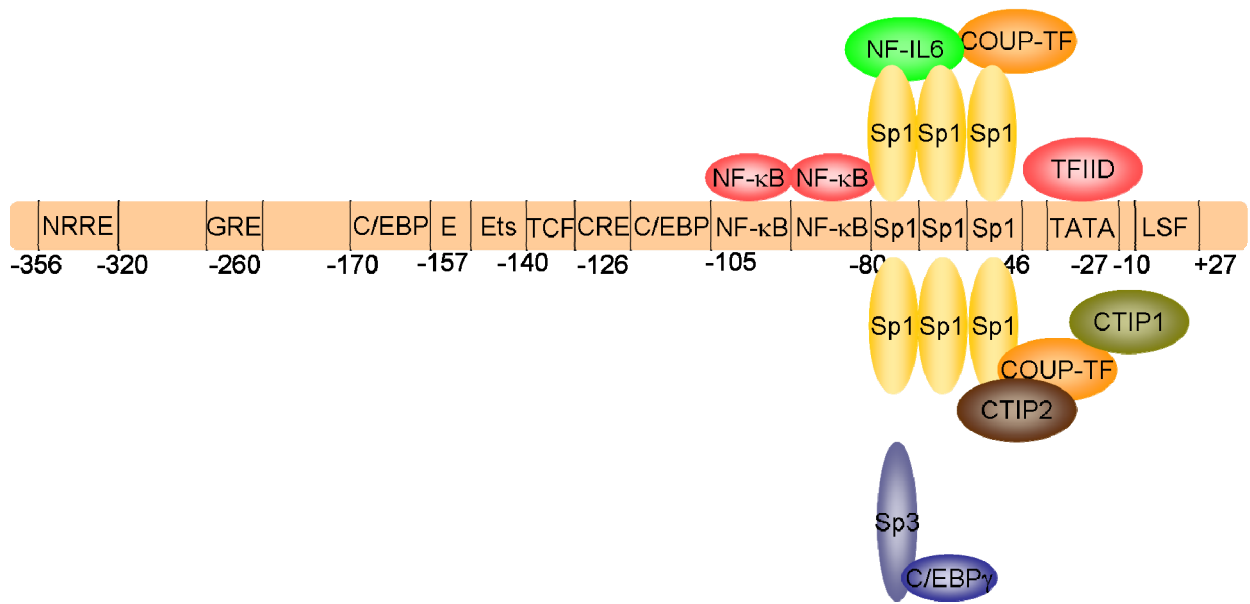


Figure 56 : Les facteurs de transcription liés au promoteur viral dans les cellules microgliales

Le promoteur viral comporte de nombreux sites de fixation pour des facteurs cellulaires. Dans les cellules microgliales, les facteurs Sp1, NF-κB, COUP-TF et NF-IL6 ont été identifiés comme activateurs et les facteurs Sp3 et C/EBP γ comme répresseurs.

4.2 Le rôle des protéines virales dans la transcription des gènes viraux

4.2.1 *Le facteur de transcription viral Tat*

La transactivation de la transcription médiée par Tat nécessite les sites Sp1 et NF-κB. Tat se fixe à la séquence (+1/+59) TAR (Transactivating Responsive), formant un motif tige-boucle à l'extrémité 5' des transcrits naissants.

Tat, protéine de 101 acides aminés, est un transactivateur exprimé à partir des 2 exons de son gène. La souche de laboratoire LAI encode une protéine de 86 acides aminés, du fait d'un remplacement d'un codon par un codon STOP. La partie C-terminale de la protéine encodée par le premier exon est générée lorsque les ARNm non épissés sont transportés par Rev dans le cytoplasme. Cette protéine tronquée est suffisante pour la transactivation.

Tat est composé de deux domaines importants :

- un domaine de transactivation riche en cystéine qui va permettre la liaison à la cycline T1,
- un domaine riche en arginine qui va permettre la liaison à la TAR au niveau de la séquence UCU, et qui contient une séquence NLS permettant à la protéine de se rendre dans le noyau.

Le recrutement de facteurs cellulaires est indispensable à l'activité de Tat. Ainsi, la cycline T1 facilite l'interaction de Tat avec la TAR (Wei et al., 1998). En effet, la cycline T1 reconnaît des résidus spécifiques de la TAR et Tat peut interagir avec elle via sa boîte

cycline. Il y a formation d'un complexe ternaire stable qui induit le recrutement de P-TEFb sur l'ARN polIII où il va phosphoryler le domaine C-terminal de la ARNpolIII (CTD) et les facteurs négatifs NELF (Negative Elongation Factor) et DSIF (DRB Sensitivity Inducing Factor), conduisant à l'activation de la transcription en favorisant l'élongation (Zhu et al., 1997).

La liaison entre Tat et la TAR nécessite l'acétylation de la lysine 28 de Tat. Ainsi acétylé, Tat peut se lier à la TAR et à la cycline T1. Il va ensuite y avoir acétylation de la lysine 50 par p300/CBP conduisant au recrutement des TAK (Tat Associated Kinases) : PCAF qui vont moduler la processivité de l'ARNpolIII (Benkirane et al., 1998; Bres et al., 2002; Kiernan et al., 1999).

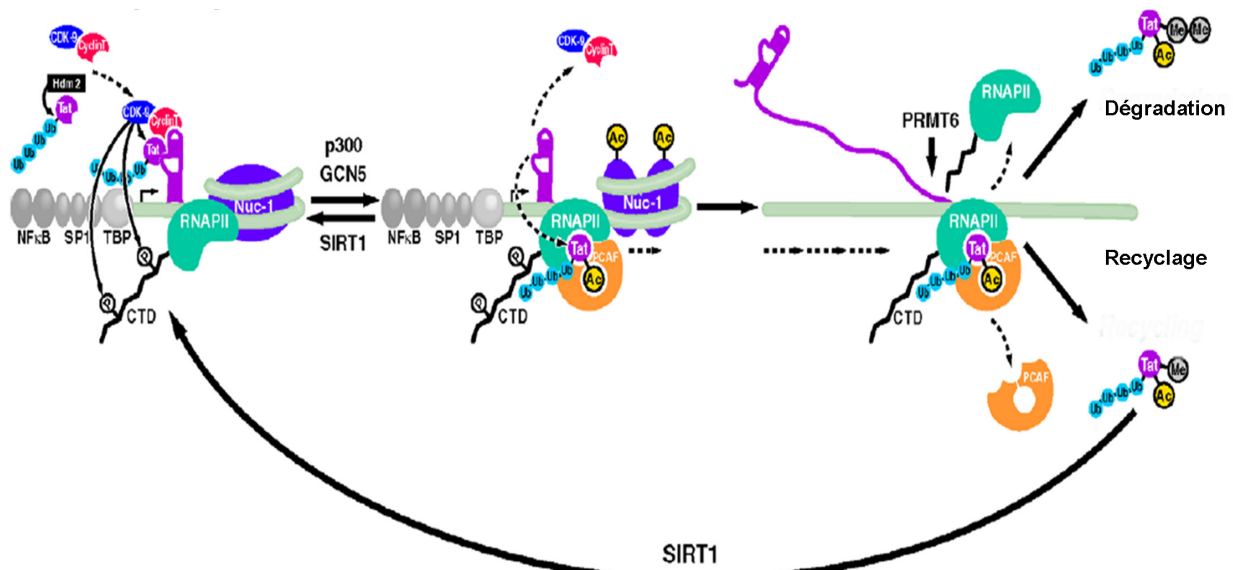
D'autres modifications peuvent avoir lieu. Ainsi, Tat peut être déacétylé par l'histone déacétylase de classe III, la Sirtuine1 (Sirt1) conduisant au recyclage de Tat sur la TAR (Pagans et al., 2005) (figure 57).

Tat peut aussi être méthylé par PRMT6 (Protein R arginine MethylTransferase 6), conduisant à la suppression de son activité et au contrôle de la dissociation de Tat du complexe d'élongation (Boulanger et al., 2005).

Enfin, Tat peut subir une ubiquitinylation qui ne va pas conduire à sa dégradation mais à l'augmentation de son pouvoir activateur (Boulanger et al., 2005; Bres et al., 2003).

Outre son action sur la transcription des gènes viraux, Tat régule de nombreux gènes cellulaires tels que le TNF α et β , et les interleukines 2 et 6 (Brother et al., 1996; Siebenlist et al., 1994).

Le mécanisme décrit ci-dessus est vrai pour toutes les cellules infectées par le virus hormis les cellules monocytaires qui ne possèdent pas de cyclinT1.



(Hetzer et al., 2005) avec modifications

Figure 57 : Le mécanisme d'action de la protéine virale Tat sur la transcription des gènes viraux et sa régulation

La protéine virale Tat permet le recrutement sur le promoteur viral de p-TEFb (CDK9/cyclin1), qui va hyperphosphoryler le domaine CTD de l'ARNpolII, la rendant alors processive. Tat est alors acétylée sur la lysine 28 par p300 conduisant à la dissociation de p-TEFb de la TAR. Tat acétylée sur la lysine 50 par PCAF vient se fixer sur l'ARNpolII qui poursuit alors l'élongation. Tat peut ensuite être soit dégradé suite à sa méthylation par PRMT6 ou soit recyclé suite à déacétylation par SIRT1.

4.2.2 Les effets de Vpr sur la transcription des gènes viraux

Vpr agit de manière indirecte sur la transcription des gènes viraux. Elle stimule NF-IL6 et NF- κ B. En effet, Vpr induit AP-1, phosphoryle I κ B et induit NF- κ B dans les macrophages (Varin et al., 2005).

Vpr interagit également avec TFIIB, induit son changement de conformation et facilite l'assemblage avec l'ARNpolII (Agostini et al., 1999).

Vpr induit positivement la transcription virale via une interaction avec Sp1 grâce au recrutement de p21 et p300. Cet effet peut être modulé par p53 (Sawaya et al., 1998).

De manière générale, Vpr est impliqué dans la phase précoce de la transcription virale en induisant le recrutement de facteurs activateurs.

4.2.3 Les effets de Nef sur la transcription des gènes viraux

La protéine virale Nef agit de manière indirecte sur la transcription des gènes viraux. Ainsi, elle augmente l'expression de facteurs activateurs comme NF-AT (Manninen et al., 2000), NF- κ B, AP-1 (Varin et al., 2003), STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription-1) (Federico et al., 2001) et cdk9 (Cyclin dependent kinase 9) (Simmons et al., 2001).

4.3 Le remodelage de la chromatine des gènes viraux.

L'activité du promoteur viral dépend de son environnement chromatinien. Les nucléosomes sont positionnés de manière précise sur le promoteur viral. Nuc1, un nucléosome localisé près du site d'initiation de la transcription, empêche les facteurs de transcription de venir se fixer (Jordan et al., 2003; Verdin, 1991; Verdin et al., 1993) (figure 58). Les modifications épigénétiques, associées au déplacement de Nuc-1, sont un pré-requis pour l'expression virale (Henderson et al., 2004; Verdin et al., 1993) (pour revue(Van Lint, 2000)).

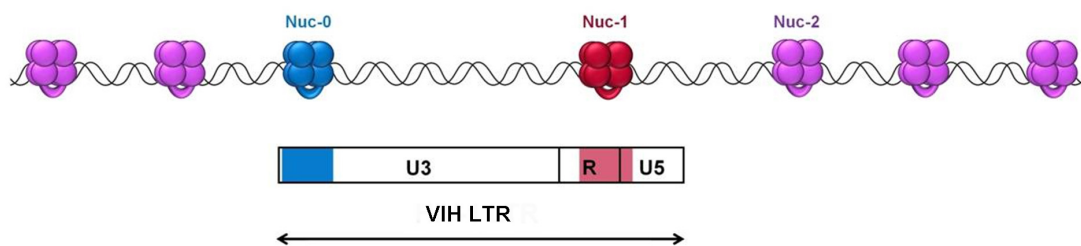


Figure 58 : Organisation chromatinienne du promoteur viral

Le promoteur viral se trouve entourée par les nucléosomes Nuc-0 et Nuc-1. Entre ces deux nucléosomes, la chromatine est accessible aux facteurs de transcription. Le nucléosome Nuc-1 est situé sur le site d'initiation de la transcription, empêchant l'ARNpolIII d'initier la transcription virale.

4.3.1 *Les modifications des histones influençant la transcription virale*

La modification des histones ne va pas uniquement permettre le remodelage de la chromatine, mais va également réguler les propriétés cellulaires et la liaison de facteurs de transcription (Van Lint, 2000; Ylisastigui et al., 2004).

Les histones nuc-0 et nuc-1 sont constitutivement déacétylées dans tous les modèles de latence du VIH-1 étudiés. Des enzymes possédant des activités déacétylases ont été montrés comme étant recrutés sur le promoteur viral par des facteurs de transcription tels que YY1 (Coull et al., 2000), le dimère p50 (Williams et al., 2006) et LSF (Hsia and Shi, 2002). Récemment, le recrutement d'activités déacétylases et méthylases a pu être montré sur le promoteur viral dans les LT CD4+. Dans cette publication, l'expression de la protéine HP1 γ et SUV39H1 a été invalidée par l'utilisation de siRNA, induisant alors une augmentation de l'expression virale (du Chene et al., 2007).

L'utilisation de molécules permettant la réactivation de la transcription dans les cellules infectées de manière latente par le VIH est une stratégie thérapeutique en cours d'étude. En effet, en réactivant les réservoirs viraux on les rend accessibles aux multithérapies et on espère ainsi en faire diminuer drastiquement le nombre. L'utilisation d'inhibiteurs de HDAC,

tels que l'acide valproïque a tout d'abord montré beaucoup d'espoir car une étude démontrait sa capacité à diminuer le nombre de cellules infectées de manière latentes (Lehrman et al., 2005). Cependant, les résultats de leurs études ont été infirmées et l'utilisation d'acide valproïque dans le cadre d'un traitement anti-VIH semble compromise (Archin et al., 2008; Sagot-Lerolle et al., 2008; Siliciano et al., 2007). Toutefois, l'utilisation d'inhibiteurs spécifique de HDAC de classe I (SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid)), semble prometteur. Une étude menée chez des patients avirémiques a pu montrer une résurgence de virus dans le plasma et ainsi une réactivation des réservoirs.(Archin et al., 2009a; Archin et al., 2009b) De plus l'utilisation simultanée d'inhibiteurs de HDAC et de prostratine qui est un inducteur de NF- κ B, permettrait une activation synergique des réservoirs latents, les rendant ainsi accessibles aux traitements (Reuse et al., 2009). Les inhibiteurs de HDAC et l'augmentation de l'activation de NF- κ B par la prostratin induit une activation synergique de l'initiation et de l'élongation de la transcription des gènes viraux. Cette découverte est très importante, car elle justifie l'utilisation d'inhibiteurs d'enzymes impliqués dans la latence en plus d'un traitement classique (HAART), dans le but de purger au maximum les réservoirs viraux. De même, la nature des réservoirs étant différente et cela justifie de nouvelles stratégies thérapeutiques (Jiang and Pugh, 2009).

4.3.2 Les facteurs ATP dépendants influençant la transcription virale

Le complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF est recruté sur le promoteur viral par la protéine Tat acétylée, induisant alors le déplacement de nuc-1. Des études ont pu montrer que BRG1 et Ini-1 sont liés au promoteur transcriptionnellement actif (Agbottah et al., 2006; Yung et al., 2004). Tat, acétylé sur la lysine 28, interagit avec la sous-unité catalytique de SWI/SNF, via son domaine riche en arginine (Henderson et al., 2004; Mahmoudi et al., 2006; Treand et al., 2006).

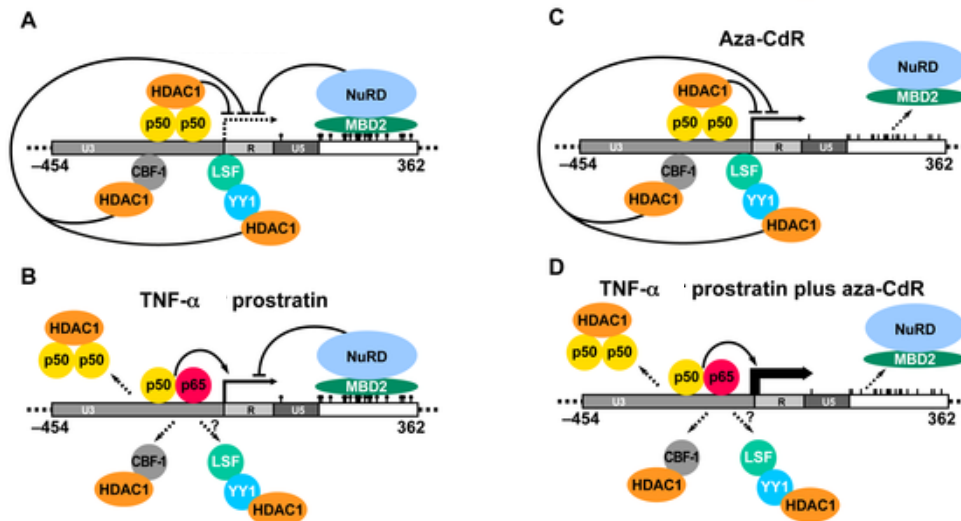
Une étude récente a démontré que SWI/SNF comportait également un rôle répresseur de l'initiation de la transcription virale et participerait alors l'établissement d'une latence post-intégrative (Boese et al., 2009).

4.3.3 Les méthylations de l'ADN influençant la transcription virale

Il semblerait qu'une forte méthylation de l'ADN soit associée à un état réprimé de la transcription virale. Lors de la réactivation de la transcription, on observe une diminution du taux de méthylation des cytosines (pour revue(Yedavalli and Jeang, 2007)).

Deux îlots CpG proches du site d'initiation sont méthylés dans les LT CD4+ latents. Les protéines MBD2 (Methyl-CpG Binding protein 2) et HDAC2 sont retrouvées sur l'un de ces îlots. L'inhibition de la méthylation par la 5-aza-2'deoxycytidine annule le recrutement à la

fois de MBD2 et de HDAC2. La 5-aza, potentialise, avec la prostratine et le TNF α pour la réactivation de la latence virale, démontrant encore une fois la réelle possibilité de réactiver les réservoirs viraux (Kauder et al., 2009) (figure 59).



(Kauder et al., 2009)

Figure 59 : Les mécanismes d'action de la réactivation virale

Le TNF α , la prostratine et le 5-aza potentialisent dans la réactivation de la transcription des gènes viraux.

4.4 Rôle des siARN dans la régulation de la transcription des gènes viraux

Des études, réalisées sur les LT CD4+ latents ont mis en évidence la présence de miARN ciblant l'ARNm viral (Huang et al., 2007b). La diminution de l'expression des protéines Dicer et Drosha permettent la levée de la latence (Triboulet et al., 2007).

Le VIH code pour ses propres siARN, qui induisent sa latence. Les régions ciblées sont la TAR, U3-R, gag, gag-pol, nef et R (Bennasser et al., 2004). Mais ce virus possède également des mécanismes d'échappement, qui peuvent être indirects et compensatoires, en augmentant son activité transcriptionnelle par des mutations qui n'ont pas lieu dans les régions cibles des siARN (Leonard et al., 2008). Tat et la TAR sont capables inhiber respectivement l'activité de Dicer et de RISC (Bennasser and Jeang, 2006). De plus, la TAR est capable de séquestrer TRBP (TAR Binding Protein) empêchant ainsi l'inhibition induite par les siARN le rendant inaccessible aux complexes Dicer et RISC (Bennasser et al., 2006).

PRESENTATION DU PROJET

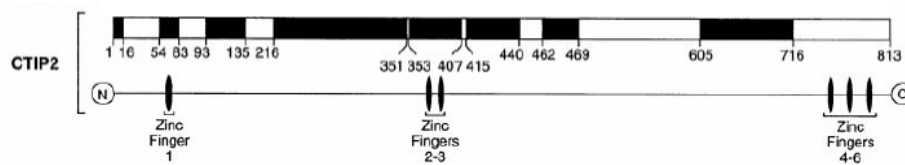
L'introduction de la multithérapie active (HAART) en 1996 a largement augmenté la survie et la qualité de vie des patients. Cette thérapie est basée sur une combinaison de trois drogues ou plus sélectionnées parmi 22 composés appartenant majoritairement à trois classes (Gulick et al., 1997; Hammer et al., 1997; Perelson et al., 1997). En accord avec les essais cliniques, la multithérapie active permet de réduire la virémie en-dessous du seuil de détection (≤ 50 copies/mL plasma) ce qui a rapidement donné l'espoir d'éradiquer le VIH-1. D'après les études menées concernant la demi-vie des cellules infectées, certains auteurs ont prédit l'éradication du virus suite à seulement 3 ans de trithérapie (Perelson et al., 1997). Malheureusement, le taux d'ARN viral plasmatique redevient détectable dès 2 semaines après l'arrêt du traitement, révélant alors l'existence de réservoirs viraux (Harrigan et al., 1999; Zhang et al., 2000).

Le premier réservoir découvert, mais également le plus étudié, est le réservoir des lymphocytes T CD4+, qui comprend les cellules naïves et les cellules mémoires. C'est un événement rare (1 sur 10^6), mais qu'il ne faut pas négliger, car il est responsable de l'échec de la thérapie. Il semblerait que la mise en place de la latence dans les cellules T CD4+ mémoires se fasse dans les cellules T CD4+ activées infectées par le virus et qui retournent à un état quiescent. La compréhension des mécanismes mis en jeu dans l'établissement et dans le maintien de la latence est tout à fait primordiale, car c'est seulement de cette manière que de nouvelles stratégies thérapeutiques pourront voir le jour. Le maintien de la latence dans ces cellules peut se faire soit par une régulation de l'environnement chromatinien ou par une inhibition des mécanismes de réactivation. Concernant, l'environnement chromatinien, de nombreux facteurs répresseurs interagissent avec le promoteur viral tels que YY1, le dimère p50 et LSF qui sont alors capables de recruter des HDAC conduisant à la formation et à la maintenance d'un environnement hétérochromatinien (Coull et al., 2000; du Chene et al., 2007; Williams et al., 2006).

Le recrutement de déacétylases et de méthylases a également pu être démontré dans les cellules microgliales, les macrophages résidents du système nerveux central (Marban et al., 2007). Ces cellules sont les cibles majeures du VIH-1 et constituent un réservoir de cellules infectées de manière latentes dans le cerveau (Barber et al., 2006). En plus de leur capacité à être infectées de manière latente, ces cellules sont protégées par la barrière hémato-encéphalique qui empêchent les drogues de les cibler. Ainsi, le cerveau est un réservoir anatomique mais également cellulaire pour le virus. Dans ces cellules, tout comme dans les lymphocytes T, Sp1 est un facteur important pour la régulation de la transcription. Dans les cellules microgliales, il sert de point d'ancrage aux facteurs COUP-TF et NF-IL6 qui vont activer la transcription virale (Rohr et al., 1997; Schwartz et al., 2000).

En 2000, Avram et al., mettaient en évidence une protéine, CTIP2, pour COUP-TF-interacting protein 2, capable d'interagir avec le facteur COUP-TF connu pour être impliqué dans la régulation de la transcription des gènes viraux (Rohr et al., 1999; Rohr et al., 2000).

C'est une protéine comprenant 6 doigts de zinc de motif C2H2 (Avram et al., 2000) (figure 60).



(Avram et al., 2000)

Figure 60 : Représentation schématique de la protéine CTIP2

CTIP2 est impliqué dans le développement des systèmes immunitaire et nerveux central. Ainsi, CTIP2 a été impliqué dans la formation des projections neuronales des motoneurones cortico-spinaux (Arlotta et al., 2005), ainsi que dans la formation de tumeurs du cerveau de type carcinome (Ganguli-Indra et al., 2009). CTIP2 permet également la différenciation et la survie des thymocytes (Wakabayashi et al., 2003b).

CTIP2 a été récemment impliqué dans la formation du derme et dans le développement de la barrière protectrice perméable du derme (Golonzhka et al., 2009a), ainsi que dans l'odontogénèse (Golonzhka et al., 2009b).

Les travaux antérieurs de l'équipe ont pu montrer que CTIP2 est capable d'inhiber le pouvoir transactivateur de Tat dans les cellules microgliales. La surexpression de CTIP2 conduit à une chute drastique de la transcription et de la réplication virale, et à une relocalisation de la protéine virale Tat dans des structures nucléaires sphériques contenant HP1 α (Rohr et al., 2003a). Il semblerait alors que le mécanisme d'action de CTIP2 conduise à la formation d'hétérochromatine, et donc à l'inhibition de la transcription.

Dans un premier temps, j'ai contribué à l'étude du rôle de CTIP2 dans le cadre de l'infection des cellules microgliales par le VIH-1. Nous avons pu montrer que CTIP2 est un répresseur de la phase précoce de la transcription des gènes viraux. En effet, il agit à l'encontre de l'activation médiée par Sp1 et COUP-TF et permet le recrutement sur le promoteur viral de la protéine HP1 α (Marban et al., 2005). Nous avons ensuite pu montrer que CTIP2 est à l'origine du recrutement d'un complexe multienzymatique sur le promoteur viral. Ces travaux démontrent le recrutement concomitant de HDAC1, HDAC2 et la méthylase SUV39H1 sur le promoteur viral par CTIP2. Les modifications des histones induites par ce complexe permettent la fixation des protéines HP1 et la formation et le maintien d'un environnement hétérochromatinien (Marban et al., 2007). Le corépresseur CTIP2 possède une action plus pléiotropique en régulant l'expression des gènes des cellules infectées. J'ai pu montrer, grâce à des expériences de micro-arrays dans des cellules exprimant ou non un shCTIP2, que

l'inhibiteur de cyclin-dépendant kinase CDKN1A/p21^{waf} est plus fortement exprimé dans les cellules shCTIP2. Une étude à laquelle j'ai contribué a pu alors montrer que CTIP2 est recruté sur le promoteur de p21 et réprime la transcription de ce gène en induisant des modifications épigénétiques similaires à celles décrites sur le promoteur viral (Cherrier et al., 2009). Cet effet de CTIP2, favorise indirectement la latence du VIH-1 car l'activation de p21 stimule l'expression virale dans les macrophages. De plus, CTIP2 contrecarre la protéine virale Vpr requise pour l'expression de p21. Ainsi, l'ensemble de ces facteurs contribuent à la latence transcriptionnelle dans les cellules microgliales.

Dans le cadre de mon projet de thèse, nous nous sommes intéressés au rôle de la déméthylase LSD1 (Lysine Specific Demethylase 1). En effet CTIP2 étant capable de recruter une méthylase, SUV39H1, méthylant spécifiquement la lysine 9 de l'histone H3, nous avons voulu savoir si une déméthylase était comprise dans ce complexe afin de réverser l'action de CTIP2 ou de la faciliter. LSD1 est un enzyme qui déméthyle spécifiquement la lysine 4 de l'histone H3 sous sa forme di et monométhylée. Cet enzyme est décrit comme pouvant faire partie d'un complexe nommé CoREST, composé notamment des HDAC1 et 2, et comme étant impliqué dans des phénomènes de répression de la transcription des gènes (Lee et al., 2005). Dans ce contexte, LSD1 faciliterait l'action de CTIP2, en préparant l'histone H3 à la méthylation de la lysine 9. En effet, la déméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 semblerait faciliter la méthylation de la lysine 9 (Lan et al., 2007; Lee et al., 2005; Shi et al., 2005). LSD1 est également capable, en présence du récepteur de l'androgène, de déméthylar la lysine 9 de l'histone H3 sous sa forme di et monométhylée, et il est dans ce cas là impliqué dans des phénomènes d'activation de la transcription (Metzger et al., 2005). Dans ce contexte, LSD1 participerait alors à la réactivation de la transcription virale.

Mon travail a donc consisté à déterminer si :

- LSD1 possède une activité sur la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales, et à en élucider les mécanismes mis en jeu ?
- LSD1 et CTIP2 sont capable de coopérer dans la mise en place de la latence post-intégrative du VIH-1 dans les cellules microgliales ? (figure 61).

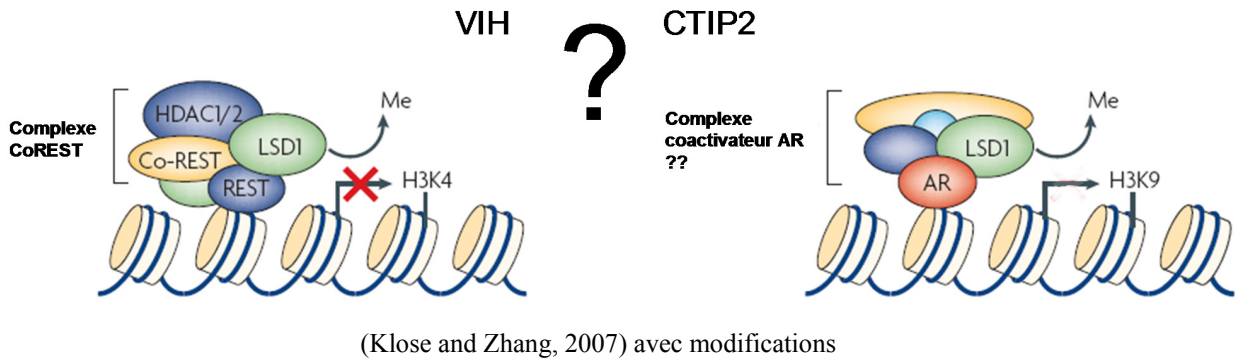


Figure 61 : Les mécanismes potentiels d'action de LSD1

La protéine LSD1 est impliquée dans des complexes répresseurs tels que le complexe CoREST, où il permet la déméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Toutefois, LSD1 pourrait également être responsable de la déméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 lorsqu'il est associé à l'AR. Quel sera alors son rôle dans la régulation de la transcription virale ?

La deuxième partie de mon projet de thèse propre a été de continuer l'étude de CTIP2 et de ces mécanismes impliqués dans la latence virale mais cette fois-ci dans les lymphocytes T. Mon travail de thèse a alors consisté à déterminer si les mécanismes mis en jeu par CTIP2 dans les cellules microgliales pouvaient être transposés dans les lymphocytes T.

PUBLICATIONS

Publication 1

CTIP2 réprime la phase précoce de la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales.

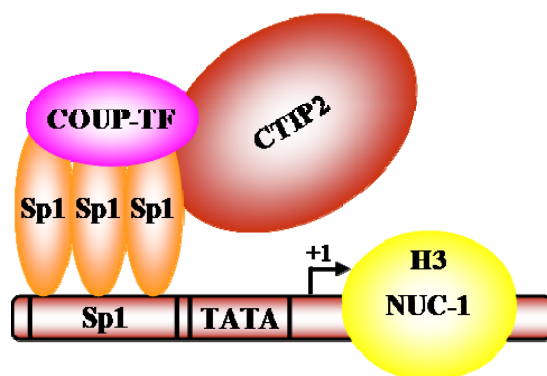
Dans les cellules microgliales, la phase initiale de la transcription des gènes viraux est sous le contrôle des facteurs COUP-TF et NF-IL6 qui viennent activer la transcription des gènes viraux via leur interaction avec Sp1.

Dans cet article, nous avons mis en évidence que CTIP2 réprime la phase précoce de la transcription des gènes viraux en agissant à l'encontre de l'activation médiée par les facteurs Sp1 et COUP-TF.

Des expériences de microscopie confocale, nous ont permis de démontrer que CTIP2 colocalise avec Sp1, COUP-TF et HP1 α dans des structures transcriptionnellement inactives. De plus, des expériences de GST-pull down démontrent la formation d'un complexe ternaire entre la partie centrale de CTIP2 (145-434), la partie C-terminale de Sp1 et N-terminale de COUP-TF.

Enfin, dans un contexte plus cellulaire, des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) ont mis en évidence que CTIP2 peut être recruté sur le promoteur viral via son association avec Sp1, qui se lie aux boîtes GC du LTR. Ces expériences, ainsi que des expériences de retard sur gel, démontrent qu'il n'y pas de compétition entre COUP-TF et CTIP2 pour la fixation sur Sp1, et confirment ainsi l'hypothèse de la formation d'un complexe ternaire.

Pour conclure, ces travaux démontrent que Sp1 est capable de recruter CTIP2 sur le promoteur viral afin d'induire un environnement hétérochromatinien et ainsi de réprimer la transcription du VIH-1 dans les cellules microgliales.



Publication 2

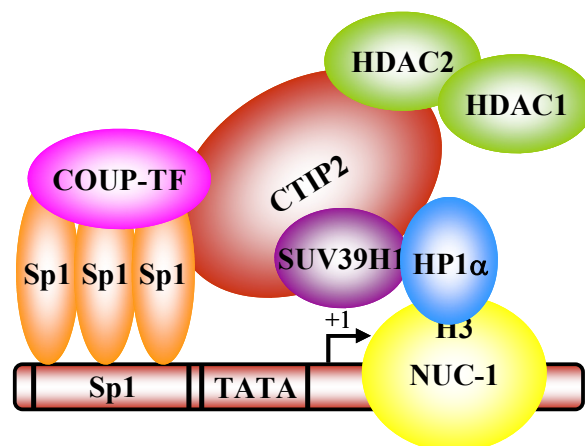
CTIP2 recrute des enzymes de modifications post-traductionnelles des histones et induit la formation d'hétérochromatine sur le promoteur du VIH, réprimant ainsi la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales.

Lors de l'infection des cellules par le VIH, le génome est rétrotranscrit puis intégré dans le génome de la cellule hôte. L'environnement chromatinien est très important dans la régulation de la transcription des gènes viraux.

Cette étude nous a permis de mettre en lumière le mécanisme d'action de CTIP2 dans la répression de la transcription des gènes viraux.

Des expériences d'immunoprécipitation, nous ont permis de détecter une interaction physique entre CTIP2, HDAC1 et HDAC2, mais aussi SUV39H1. De plus, des expériences d'immunoprécipitation chromatinienne ont mis en évidence le recrutement de HDAC1 et 2 par CTIP2 sur le promoteur viral, conduisant alors à la déacétylation de l'histone H3 et à un environnement répressif. Enfin, CTIP2 permet également le recrutement de SUV39H1, ce qui a pour conséquence d'augmenter le taux de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3. Ceci engendre le recrutement concomitant des protéines HP1 et la formation d'hétérochromatine.

Donc, CTIP2 est capable de recruter un complexe multienzymatique sur le promoteur viral. En effet, en se fixant sur Sp1, CTIP2 recrute HDAC1 et 2 qui déacétylent l'histone H3 au niveau de nuc-1. CTIP2 recrute ensuite SUV39H1 dans le but de méthyler la lysine 9 de l'histone H3 et de recruter HP1, permettant alors la formation d'hétérochromatine.



Publication 3 (*en préparation*)

LSD1 réprime la transcription des gènes viraux et favorise le recrutement de hSET1 et l'augmentation de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 dans les cellules microgliales.

Dans cette étude, nous montrons que LSD1 est un répresseur des phases précoce et tardive de la transcription des gènes viraux. En effet, la diminution de l'expression de LSD1 par un shARN (small hairpin ARN) spécifique de l'ARNm de LSD1 provoque une augmentation de la transcription des gènes viraux et une augmentation de l'expression virale. Des expériences d'essais transcriptionnels et d'immunoprécipitation chromatiniennne nous ont permis de mettre en évidence que LSD1 a besoin des sites Sp1 du promoteur proximal pour réprimer la transcription virale. De plus, le recrutement de LSD1 engendre le recrutement concomittant de hSET1, une méthylase spécifique de la lysine 4 de l'histone H3. Ainsi, le recrutement de LSD1 sur le promoteur viral induit indirectement une augmentation de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3.

Enfin, nous avons pu montrer que LSD1 et CTIP2 sont capables d'interagir physiquement, et des expériences réalisées en microscopie confocale démontrent une colocalisation de LSD1 avec CTIP2 et Tat dans le noyau des cellules microgliales.

Nos expériences indiquent que LSD1 est nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral. En effet, une surexpression de LSD1 favorise le recrutement de LSD1 mais également de CTIP2, alors que la diminution de son expression par shARN induit une diminution du recrutement de CTIP2.

Ainsi, nos travaux ont pu mettre en lumière que LSD1 est nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral, et qu'il induit le recrutement de hSET1 et l'augmentation concomitante de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Celle-ci n'est pas corrélée, dans ce cas à une activation de la transcription, mais à sa répression. Il semble donc que dans le cas du promoteur viral la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 soit une marque conduisant à la répression de la transcription.

Introduction

L'agent infectieux responsable du SIDA est identifié à l'Institut Pasteur par les prix Nobel de médecine 2008, F. Barré-Sinoussi et L. Montagnier, et baptisé VIH pour Virus de l'Immunodéficience Humaine (Barre-Sinoussi et al., 1983). Tous les efforts de recherche ont alors été concentrés sur l'établissement de traitements permettant de traiter l'infection à VIH. Ainsi, en 1996, une multithérapie active est introduite, ciblant deux étapes du cycle viral (la transcription inverse et la maturation des virions), permettant aux patients de retrouver un taux de lymphocytes T CD4+ normal et une virémie indétectable (Hammer et al., 1997; Perelson et al., 1997). Malheureusement, malgré un suivi strict du traitement, une résurgence de virions est observée lors de son arrêt. Il est ainsi rapidement apparu que l'un des principaux obstacles de l'éradication du VIH résultait de l'existence de virions intégrés de manière latente dans leurs cibles cellulaires (Chun et al., 1997a; Chun et al., 1995).

Il a été démontré que l'organisation chromatinienne du génome du VIH-1 était toujours la même, avec notamment une organisation nucléosomale particulière au niveau du promoteur (Van Lint, 2000). Cette organisation particulière permet la compaction de la chromatine et empêche ainsi l'accès au promoteur des facteurs transcriptionnels conduisant au maintien de la latence. L'état de condensation de la chromatine est dicté par un ensemble de modifications post-traductionnelles des histones (notamment des histones H3 et H4) (Wurtele et al., 2009). Ces modifications peuvent être de différents types (Peterson and Laniel, 2004). La combinaison de ces modifications (code histone) conduit soit à la condensation (triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 par SUV39H1, par exemple) ou la décondensation de la chromatine (triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 par hSET1, par exemple) (Santos-Rosa et al., 2002). Des études ont permis d'identifier les facteurs à l'origine de ces modifications. Les nucléosomes Nuc0 et Nuc1 sont constitutivement déacétylés et les enzymes nécessaires à cette modification peuvent être recrutés par les facteurs YY1, l'homodimère p50, et LSF1, par exemple. Ainsi, un recrutement de complexes possédant des activités déacétylases et méthylases sur le promoteur du VIH assure le maintien de la latence (Marban et al., 2007; Williams and Greene, 2007). On peut noter la déacétylation de la lysine 9 de l'histone H3 puis sa méthylation et le recrutement des protéines HP1 conduisant à la compaction de l'ADN proviral (du Chene et al., 2007; Marban et al., 2007).

Une étude de notre laboratoire, à laquelle j'ai participé au cours de ma thèse, a pu montrer l'importance du cofacteur transcriptionnel CTIP2 (COUP-TF-interacting protein 2) dans le maintien de la latence du VIH dans les cellules microgliales. CTIP2 est recruté au niveau des 3 sites Sp1 du promoteur via l'interaction avec les protéines Sp1 et COUP-TF. CTIP2 recrute alors un complexe enzymatique comprenant des histones déacétylases (HDAC de classe 1 et

2), une méthylase (SUV39H1), ainsi que des protéines HP1, afin de condenser la chromatine qui sera alors transcriptionnellement inactive (Marban et al., 2007).

LSD1 déméthyle spécifiquement la di et monométhylation de la lysine 4 de l'histone H3. LSD1 a été montré comme associé à de nombreux facteurs répresseurs et, dans certains cas, son intervention semble nécessaire à l'action de G9a, une méthylase de la lysine 9 de l'histone H3. En effet, LSD1 est présente dans le complexe CoREST et participe à la mise en place d'un environnement hétérochromatinien (Lee et al., 2005; Shi et al., 2005). Ainsi, dans ce contexte, nous avons voulu savoir si LSD1 est présent dans le complexe recruté par CTIP2 sur le promoteur viral dans les cellules microgliales, et si LSD1 pouvait avoir un effet répresseur de la transcription des gènes viraux.

Dans cette étude, nous avons pu montrer que LSD1 est un répresseur de la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales et de la réplication associée. Les sites Sp1 présents sur le promoteur viral sont nécessaires à l'action de LSD1. En effet, une mutation dans ces sites entraîne une perte de la répression induite par ce facteur ainsi que la perte de son recrutement sur le promoteur viral. Le recrutement de LSD1 sur le promoteur proximal implique le recrutement de hSET1 et l'augmentation de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Concernant CTIP2, il semblerait que LSD1 soit nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral comme le montrent nos expériences de ChIP. Il existe une interaction physique et fonctionnelle entre ces deux facteurs, qui coopèrent donc dans la répression de la transcription virale.

LSD1 est alors nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral. Il induit le recrutement de la méthylase hSET1 qui permet la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Cette modification considérée en général comme activatrice est retrouvée, dans notre cas, lors d'une répression.

Résultats

LSD1 réprime la transcription des gènes viraux et la réplication associée.

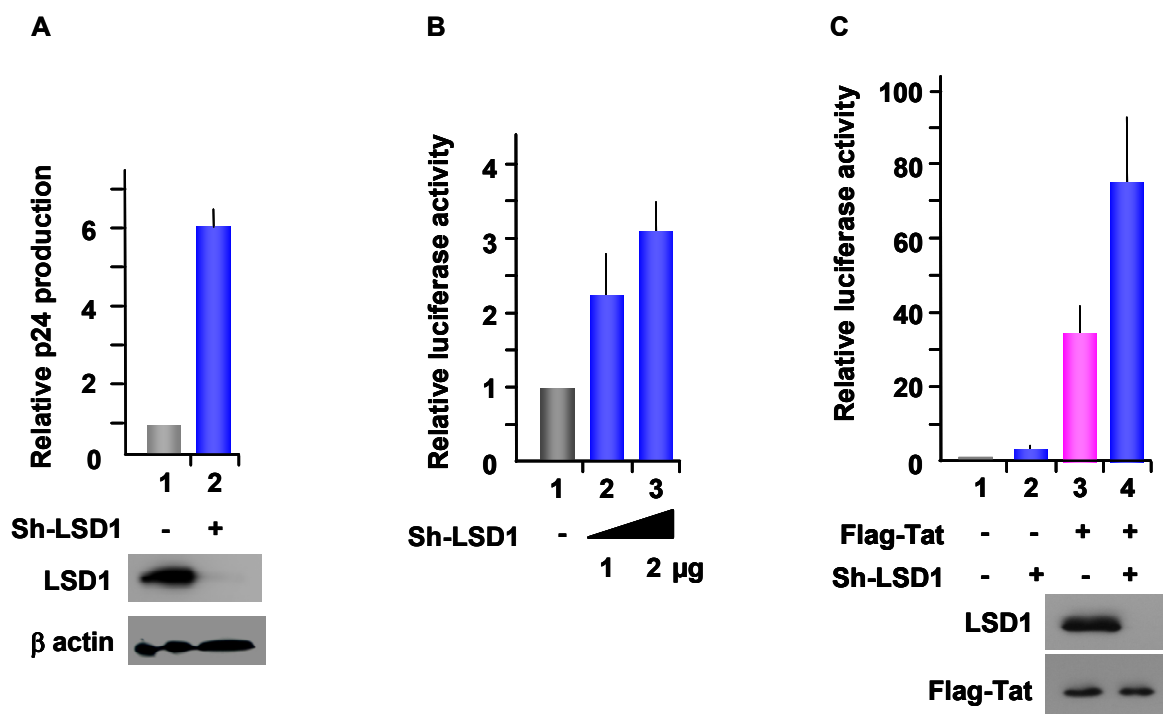


Figure 1 : LSD1 réprime la transcription des gènes viraux et la réplication associée.

Les cellules microgliales ont été cotransfectées avec le vecteur pNL4-3 (A), ou avec le vecteur épisomal (B, C) en présence des vecteurs shLSD1, Tat (C) ou en présence du vecteur contrôle. (A) 48 heures post-transfection, la p24 Gag contenue dans les surnageants de cultures a été dosée et exprimée de manière relative au contrôle. (B, C) 48 heures post-transfection, l'activité luciférase a été mesurée et exprimée de manière relative au contrôle. L'efficacité de "knock-down" de LSD1 a été contrôlée par western blot. (A, C)

Dans le but de tester l'effet de LSD1 sur la réplication virale, les cellules microgliales ont été cotransfectées avec les vecteurs pNL4-3 et shLSD1. 48h post-transfection, la protéine p24 contenue dans le surnageant a été dosée. Ainsi, nous avons pu montrer que LSD1 est un répresseur de la réplication virale (Figure 1A). De même, nous avons voulu savoir si LSD1 est également un répresseur de la transcription des gènes viraux. Les cellules microgliales ont alors été soumises à un dosage luciférase après transfection du vecteur épisomal LTR-LUC en présence d'un vecteur codant pour un shARN-LSD1 en présence ou non de FLAG-Tat. Les cellules exprimant moins de LSD1 possèdent un taux de transcription viral plus élevé que le niveau basal, et cela en absence (Figure 1B) ou en présence de Tat (Figure 1C). Ainsi, LSD1 est un répresseur des phases précoce et tardive de la transcription des gènes viraux.

Les sites Sp1 sont suffisants et nécessaires pour la répression transcriptionnelle médiée par LSD1. De même, les sites Sp1 sont nécessaires pour le recrutement de LSD1 et hSET1 sur le promoteur viral et pour la triméthylation concomitante de la lysine 4 de l'histone H3.

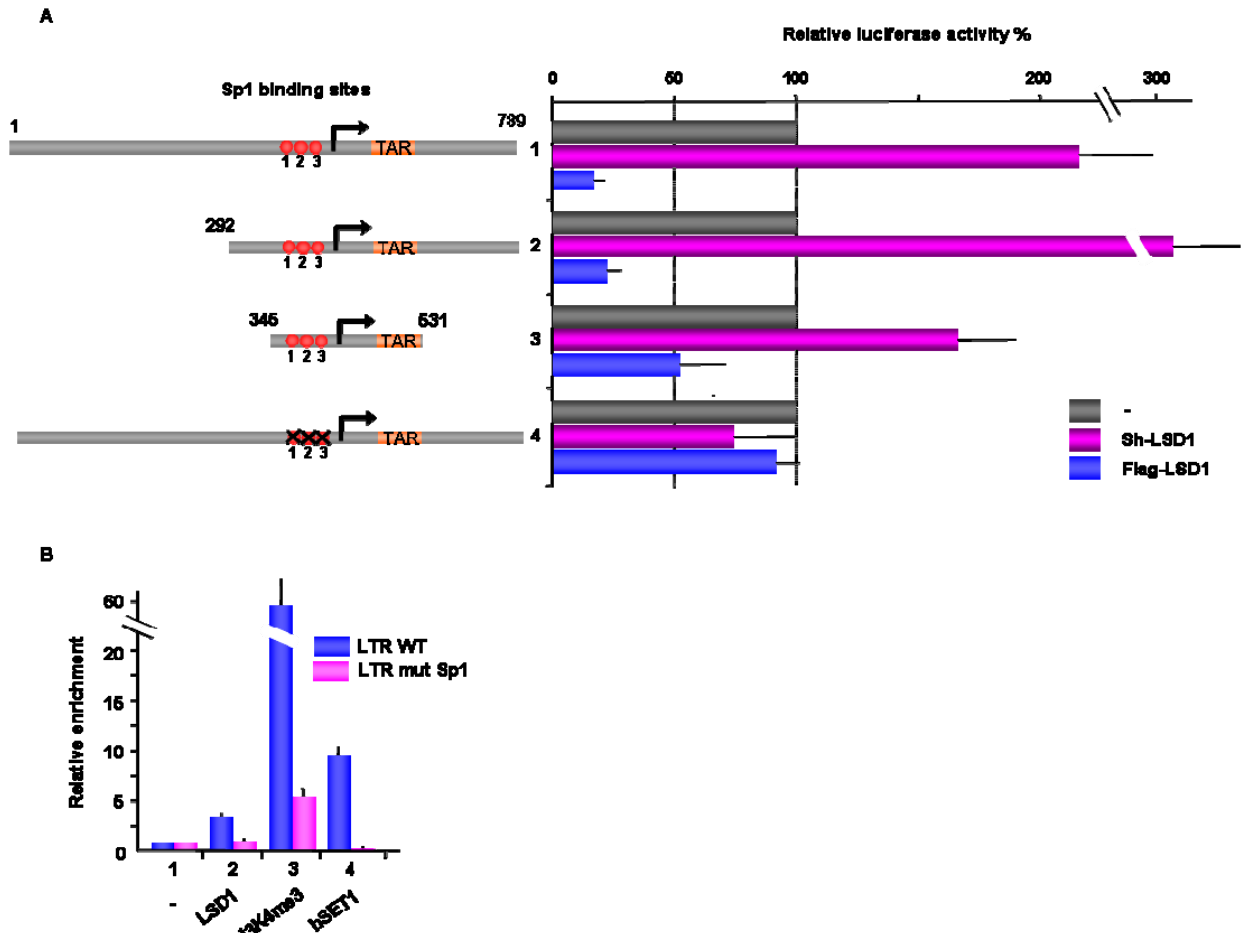


Figure 2 : Les sites Sp1 sont suffisants et nécessaires pour la répression transcriptionnelle médiée par LSD1.

(A) Les cellules microgliales ont été transfectées par 1µg de vecteur pLTR-LUC 1-789, pLTR-LUC 292-789, pLTR-LUC 345-531, ou par 1µg de pLTR-LUC 1-789 mut Sp1, et avec 1,5 µg de vecteur d'expression de LSD1 ou shLSD1. Deux jours post-transfection, les activités luciféras ont été mesurées et exprimées de manière relative au contrôle. (B) Les cellules HEK-293T ont été transfectées avec le vecteur épisomal ou avec le vecteur pLTR-LUC 1-789 mut Sp1 48 heures avant d'être soumises à des expériences d'immunoprécipitations chromatiniennes avec les anticorps indiqués. En contrôle, une immunoprécipitation a été réalisée sans anticorps (SA). L'input (1/1296) et les ADN immunoprécipités ont été quantifiés par PCR quantitative en temps réel avec des amorces spécifique du promoteur proximal. La quantité d'ADN a été normalisée par rapport à l'input.

Afin de déterminer quelle pouvait être la région importante pour la répression médiée par LSD1, les cellules microgliales ont été transfectées par les vecteurs pLTR-LUC 1-789, 292-789, 292-531, ou pLTR-LUC 1-789 mut Sp1 en présence d'un vecteur d'expression, codant soit pour FLAG-LSD1 soit pour shLSD1. Deux jours après la transfection, l'activité

luciférase a été mesurée. La délétion d'une partie du promoteur viral n'influe que très peu sur l'effet répresseur de LSD1 (Figure 2A lignes 1 à 3). Ainsi, l'essentiel de l'activité répressive de LSD1 passe par le promoteur proximal. De même, nous avons voulu tester l'hypothèse de l'importance des sites Sp1 présents sur le promoteur proximal. La mutation de ces sites entraîne l'incapacité pour LSD1 de réprimer la transcription des gènes viraux (Figure 2A ligne 4).

LSD1 étant capable de réprimer la transcription des gènes viraux et exigeant pour cette action la présence des sites Sp1, nous avons voulu déterminer si LSD1 était recruté sur le promoteur proximal et connaître son effet sur la lysine 4 de l'histone H3. Ainsi, des expériences de CHIP menées dans des cellules HEK-293T, transfectées avec le vecteur pLTR-LUC 1-789 ou pLTR-LUC 1-789 mut Sp1, ont pu mettre en évidence que LSD1 est recruté sur le promoteur proximal. Ce recrutement est corrélé à une augmentation de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 et au recrutement de la méthylase de la lysine 4, hSET1. Cet effet est perdu lorsque les sites Sp1 sont mutés (Figure 2B).

Lors de la répression de la transcription des gènes viraux médiée par LSD1, LSD1 est recruté sur le promoteur proximal, probablement via les sites Sp1. Il induit par la suite le recrutement concomitant de hSET1 et la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3.

L'activation de la transcription virale est accompagnée par une diminution du recrutement de LSD1 et de hSET1 sur le promoteur viral, et par la diminution concomitante de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3.

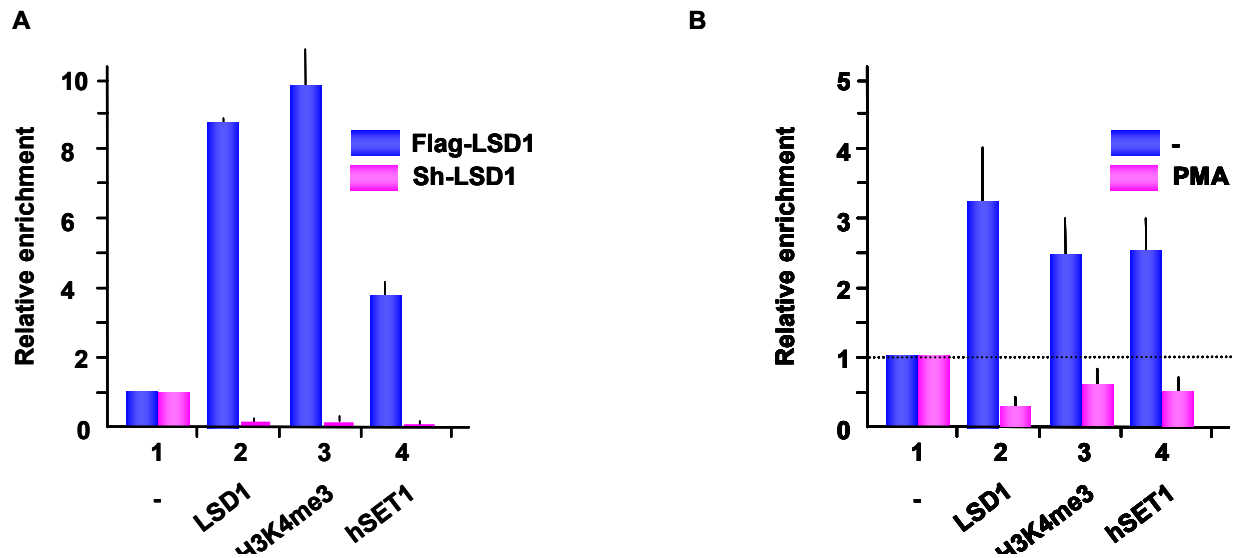


Figure 3 : L'activation de la transcription du VIH-1 est accompagnée par une diminution du recrutement de LSD1 et de hSET1 sur le promoteur viral, et par la diminution concomitante de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3.

(A) Les cellules HEK-293T ont été transfectées par le vecteur épisomal en présence du vecteur d'expression LSD1 ou shLSD1 48h avant d'être soumises à des expériences de ChIP avec les anticorps indiqués. En contrôle, une immunoprécipitation a été réalisée sans anticorps (SA). L'input et les ADNs immunoprécipités ont été quantifiés par PCR quantitative en temps réel avec des amorces spécifique du promoteur proximal. La quantité d'ADN a été normalisée par rapport à l'input. (B) Les cellules microgliales ont été infectées par un pseudo-virus VSV-pNL4-3 24 h avant d'être soumises à des expériences de ChIP. Les cellules infectées ont été traitées ou non avec du PMA (100nM) pendant 5h. (A, B) A titre de contrôle, une immunoprécipitation a été réalisée sans anticorps (SA). La quantité d'ADN a été normalisée par rapport à l'input et l'enrichissement relatif (fold enrichment) par rapport à l'enrichissement non spécifique sur le promoteur du gène codant pour la GAPDH.

Afin de déterminer si la présence sur le promoteur viral de hSET1 est liée à la présence de LSD1, nous avons réalisé des expériences de ChIP en présence de la surexpression de LSD1, ou du « knock-down » de LSD1. Les cellules HEK-293T ont été transfectées, comme indiqué dans la figure 3, 48 heures avant d'être soumises à des expériences de ChIP. La surexpression de LSD1 dans les cellules HEK-293T induit l'augmentation du recrutement de LSD1, mais également de hSET1, ce qui implique un lien entre LSD1 et hSET1. L'augmentation du recrutement de hSET1 est liée à une augmentation de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. En effet, hSET1 est une méthylase capable de méthyler la lysine 4 de l'histone H3. De même, le « knock-down » de LSD1 induit la diminution de son recrutement sur le promoteur viral, ainsi que la diminution du recrutement de hSET1 et de la

triméthylation de la lysine 4 de l’histone H3 (Figure 3A). De fait, il semblerait y avoir un lien entre LSD1 et hSET1 conduisant à la triméthylation de la lysine 4 de l’histone H3.

Nous avons ensuite voulu savoir quel serait l’impact de la réactivation de la transcription des gènes viraux au niveau du recrutement de LSD1 sur le promoteur viral. Les cellules microgliales ont été infectées par un virus de pseudotype VSV (vesicular stomatitis virus) env-pNL4-3 pendant 19 heures avant d’être soumises à un traitement contrôle, ou un traitement au PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) 100nM pendant 5 heures. Les cellules ont ensuite subies une expérience de CHIP avec les anticorps indiqués. Dans les cellules microgliales infectées, LSD1 et hSET1 sont présent sur le promoteur viral, et la lysine 4 de l’histone H3 est triméthylée. Lors de la réactivation de la transcription par le PMA, on observe un départ de LSD1, corrélé au départ de hSET1 et à la diminution de la triméthylation de la lysine 4 de l’histone H3 (Figure 3B).

Ces indications nous permettent de proposer l’hypothèse selon laquelle LSD1 intervient dans la mise en place de la latence post-intégrative du VIH-1 dans les cellules microgliales.

LSD1 coopère avec CTIP2 pour réprimer la réplication et la transcription des gènes du VIH-1.

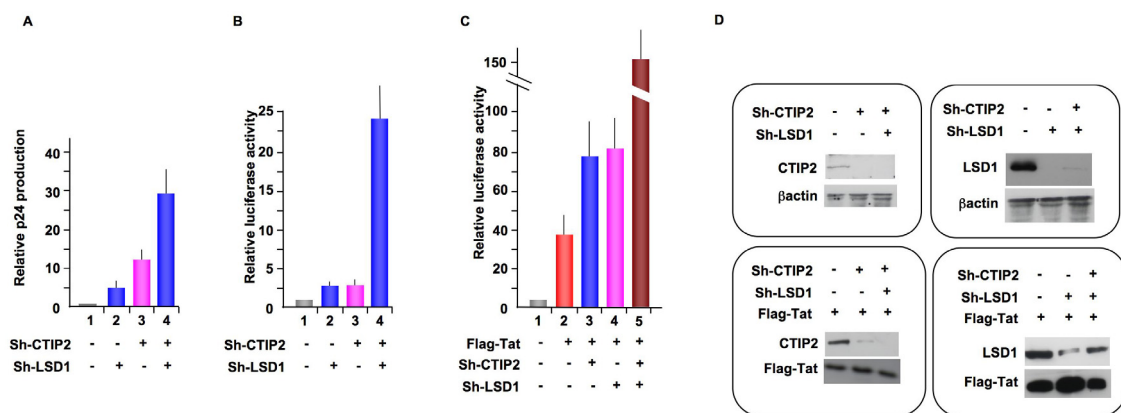


Figure 4 : LSD1 coopère avec CTIP2 pour réprimer la réplication et la transcription des gènes du VIH-1.

Les cellules microgliales ont été cotransfectées avec le vecteur pNL4-3 (A), ou le vecteur épisomal (B, C) en présence des vecteurs shLSD1, shCTIP2, Tat (C), ou du vecteur vide. (A) 48 heures post-transfection, la p24 Gag contenue dans les surnageants de cultures a été dosée et exprimée de manière relative au contrôle. (B, C) 48 heures post-transfection, l’activité luciférase a été mesurée et exprimée de manière relative au contrôle. L’efficacité de “knock-down” de LSD1 et de CTIP2 a été contrôlée par western blot. (D)

Sachant que LSD1 est recruté sur le promoteur viral, probablement via les sites Sp1 qui sont également suffisants au recrutement de CTIP2, nous avons voulu savoir si LSD1 et CTIP2 étaient capable de coopérer pour la répression de la réplication et de la transcription des gènes

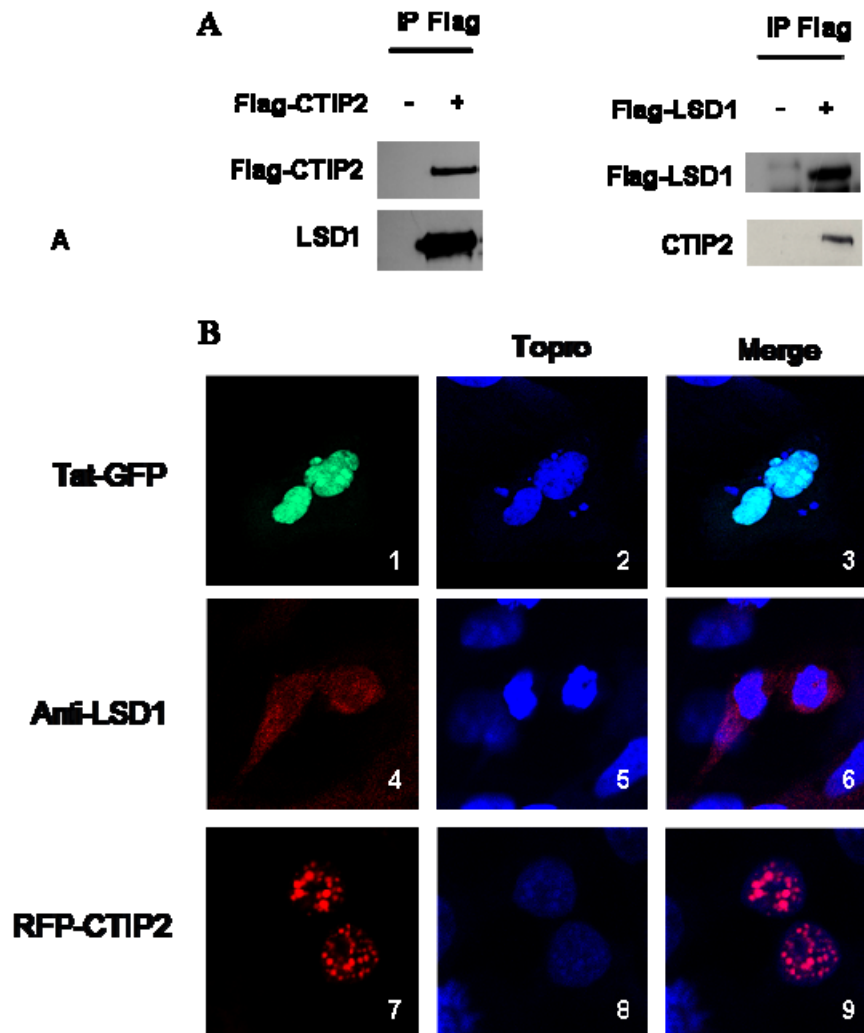
viraux. Les cellules microgliales ont été cotransfectées par le vecteur pNL4-3 et les vecteurs d'expression shLSD1 et shCTIP2 comme indiqués sur la Figure 4A. 48 heures post-transfection, la protéine p24 contenue dans le surnageant a été dosée. La diminution de l'expression de LSD1 seul ou de CTIP2 seul implique une augmentation de la réplication virale, confirmant bien l'effet répresseur de ces deux facteurs. Le double « knock-down » de CTIP2 et LSD1 induit une activation de la réplication synergique. Il semblerait donc y avoir une coopération entre LSD1 et CTIP2 pour la répression de la réplication du VIH-1.

Connaissant l'effet répresseur de la transcription de ces deux facteurs nous avons testé l'hypothèse d'une coopération. Ainsi, les cellules microgliales ont été cotransfectées par le vecteur épisomal et les vecteurs d'expression shLSD1 et shCTIP2 en présence ou non du vecteur d'expression FLAG-Tat. Deux jours après la transfection, les cellules ont été collectées et l'activité luciférase a été mesurée. Le double « knock-down » de CTIP2 et LSD1 induit une activation synergique de la phase précoce de la transcription des gènes viraux (Figure 4B). En présence de Tat, cette coopération existe toujours, mais n'est plus synergique (Figure 4C).

Ainsi, LSD1 et CTIP2 sont capables d'interagir de manière fonctionnelle lors de la transcription virale.

L'efficacité des « knock-down » a été vérifiée par western blot et est représentée sur la Figure 4D.

LSD1 interagit avec CTIP2 et colocalise avec CTIP2 et Tat dans des structures nucléaires.



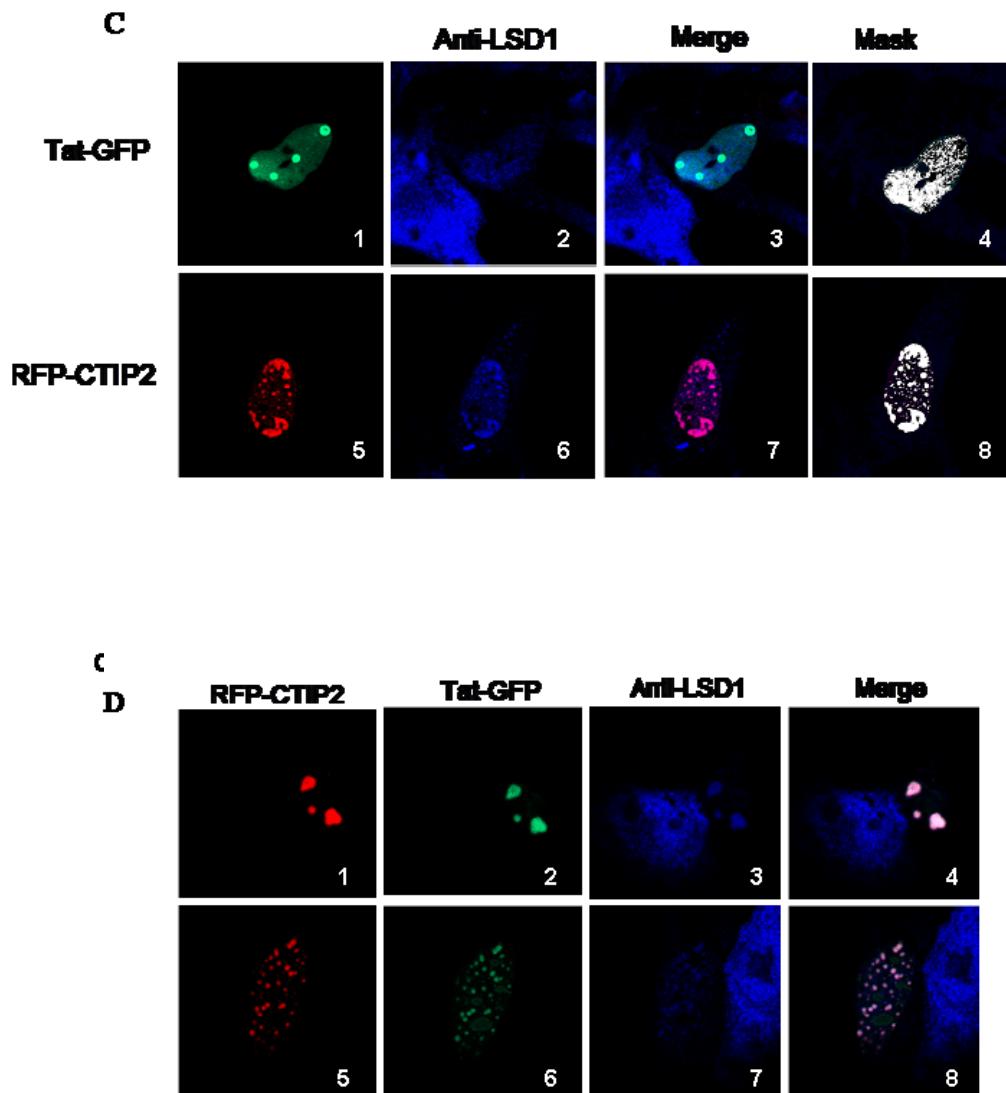


Figure 5 : LSD1 interagit avec CTIP2 et colocalise avec CTIP2 et Tat dans des structures nucléaires.

(A) Les cellules HEK-293T ont été transfectées avec le vecteur d'expression Flag-CTIP2 ou Flag-LSD1 ou le vecteur vide. Les complexes immunoprécipités avec l'anticorps anti-Flag ont été immunodéTECTÉS pour la présence de la protéine LSD1 endogène ou CTIP2 endogène par western blot. (B, C, D) Les cellules microgliales ont été transfectées avec les vecteurs d'expression RFP-CTIP2 ou Tat-GFP, comme indiqué. Après traitement, la protéine LSD1 endogène a été immunodéTECTÉE. Les complexes immuns primaires ont été immunomARQUÉS par des anticorps secondaire couplés avec Cy3 (B) ou avec Cy5 (C, D). La colonne Mask montre les marquages colocalisés.

LSD1 et CTIP2 coopèrent dans la répression de la transcription des gènes viraux. Nous avons cherché à déterminer si LSD1 et CTIP2 étaient capables d'interagir physiquement. Pour cela, les cellules HEK-293T ont été transfectées avec le vecteur d'expression FLAG-CTIP2 ou avec FLAG-LSD1 avant d'être soumises à une immunoprécipitation utilisant un anticorps anti-FLAG. Les complexes immunoprécipités ont été analysés par western blot grâce à l'utilisation d'anticorps anti-FLAG, anti-LSD1 et anti-CTIP2. Nous avons ainsi pu mettre en

évidence que la protéine LSD1 surexprimée interagit physiquement avec la protéine CTIP2 endogène. De même, la protéine CTIP2 surexprimée interagit physiquement avec la protéine LSD1 endogène (Figure 5A).

Des expériences de microscopie confocale nous ont permis de montrer que LSD1 et CTIP2 colocalisaient dans des structures nucléaires en forme de « boules » et que la surexpression de CTIP2 induit une relocalisation de LSD1 (Figure 5C). En effet, en l'absence de surexpression de CTIP2, LSD1 est localisé dans toute la cellule. La surexpression de CTIP2 induit sa relocalisation dans le noyau. LSD1 est également capable de colocaliser avec la protéine virale Tat et l'expression de Tat induit également la relocalisation de LSD1 (Figure 5C). Enfin, lorsque RFP-CTIP2 et Tat-GFP sont exprimés, on observe une parfaite colocalisation entre CTIP2, Tat et LSD1 (Figure 5D).

LSD1 et CTIP2 sont capables d'interagir physiquement et sont retrouvées toutes les deux dans des structures nucléaires comprenant la protéine virale Tat.

LSD1 est nécessaire pour le recrutement de CTIP2 sur le promoteur proximal du VIH-1.

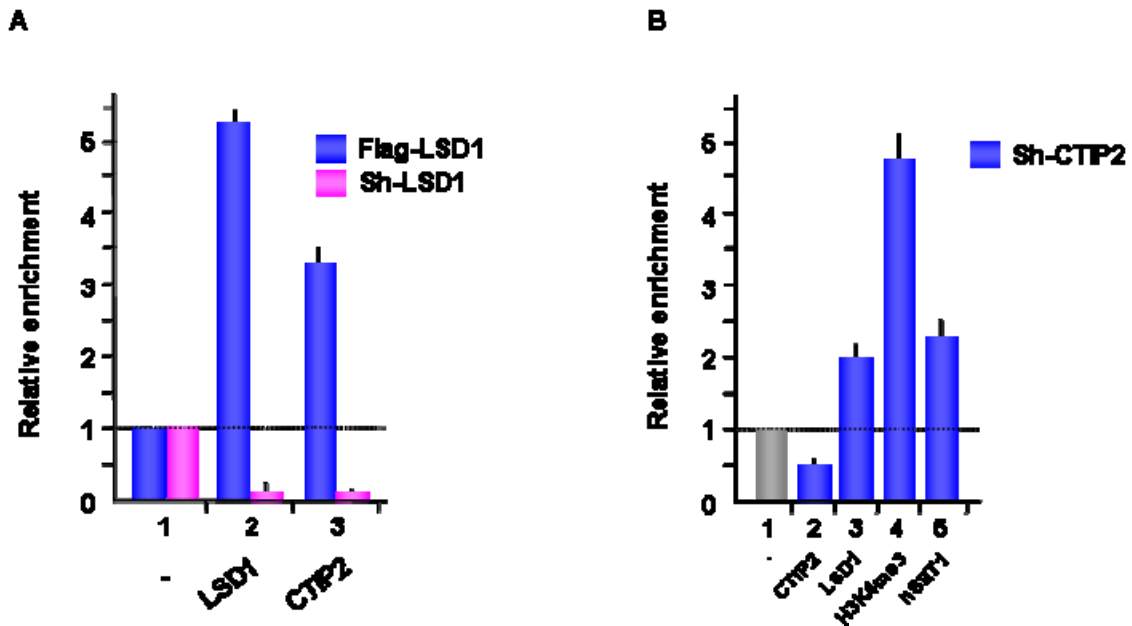


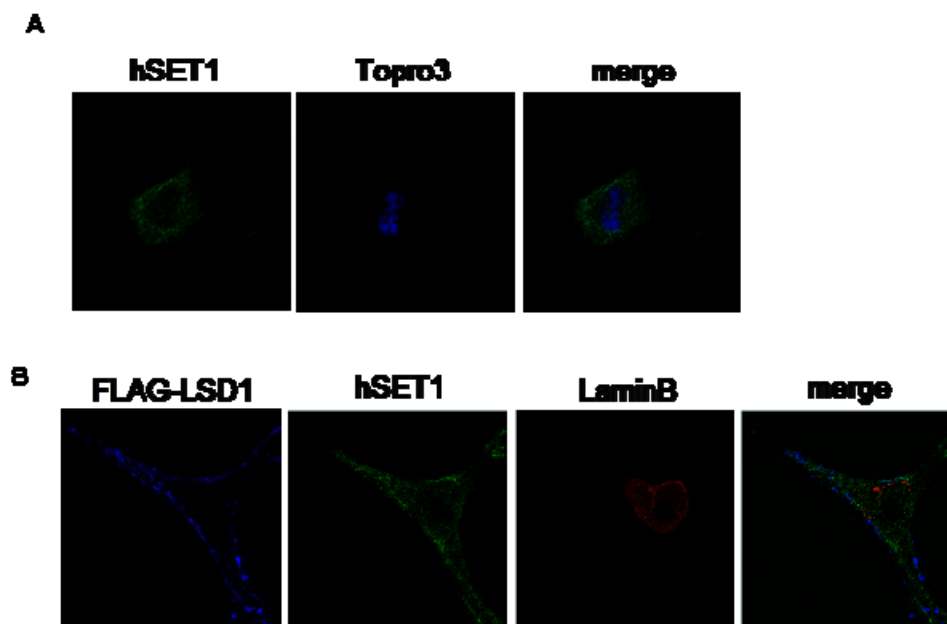
Figure 6 : LSD1 est nécessaire pour le recrutement de CTIP2 sur le promoteur proximal du VIH-1.

(A) Les cellules HEK-293T ont été transfectées par le vecteur épisomal en présence du vecteur d'expression LSD1 ou shLSD1, 48h avant d'être soumises à des expériences de ChIP avec les anticorps indiqués. (B) Les cellules microgliales et les cellules microgliales shCTIP2, n'exprimant plus CTIP2, ont été infectées par un pseudo-virus VSV-pNL4-3, 24 h avant d'être soumises à des expériences de ChIP. (A, B) A titre de contrôle, une immunoprécipitation a été réalisée sans anticorps (SA). L'input et les ADN immunoprécipités ont été quantifiés par PCR quantitative en temps réel avec des amorces spécifique du promoteur proximal du VIH-1. La quantité d'ADN a été normalisée par rapport à l'input et l'enrichissement relatif (fold enrichment) par rapport à l'enrichissement non spécifique sur le promoteur du gène codant pour la GAPDH.

LSD1 et CTIP2 interagissant, nous avons donc voulu savoir quel était l'effet de la présence de l'un sur le recrutement de l'autre. Dans un premier temps, les cellules HEK-293T ont été cotransfectées avec le vecteur épisomal et avec le vecteur d'expression FLAG-LSD1 ou avec shLSD1. 48 heures post-transfection les cellules ont subies des expériences de ChIP avec les anticorps indiqués. La surexpression de LSD1 induit l'augmentation de son recrutement sur le promoteur viral, mais également l'augmentation du recrutement de CTIP2 (Figure 6A). En revanche, la diminution de l'expression de LSD1 induit la diminution de son recrutement sur le promoteur viral, ainsi que la diminution du recrutement de CTIP2 (Figure 6A). LSD1 semble donc faciliter le recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral. L'expérience de « knock-down » tend même à montrer que LSD1 est nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur du VIH-1.

Dans un deuxième temps, des cellules microgliales et des cellules microgliales shCTIP2 ont été soumises à des expériences de ChIP avec les anticorps indiqués. La diminution de l'expression de CTIP2 n'induit pas la diminution du recrutement de LSD1, mais son augmentation. L'augmentation du recrutement de LSD1 est, encore une fois corrélée à une augmentation du recrutement de hSET1, et de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. LSD1 est alors nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral, mais la diminution de la présence de CTIP2 sur le promoteur induit quant à elle une augmentation du recrutement de LSD1. On peut dire que LSD1 pourrait profiter de la place libérée par CTIP2.

hSET1 colocalise avec LSD1 et Tat.



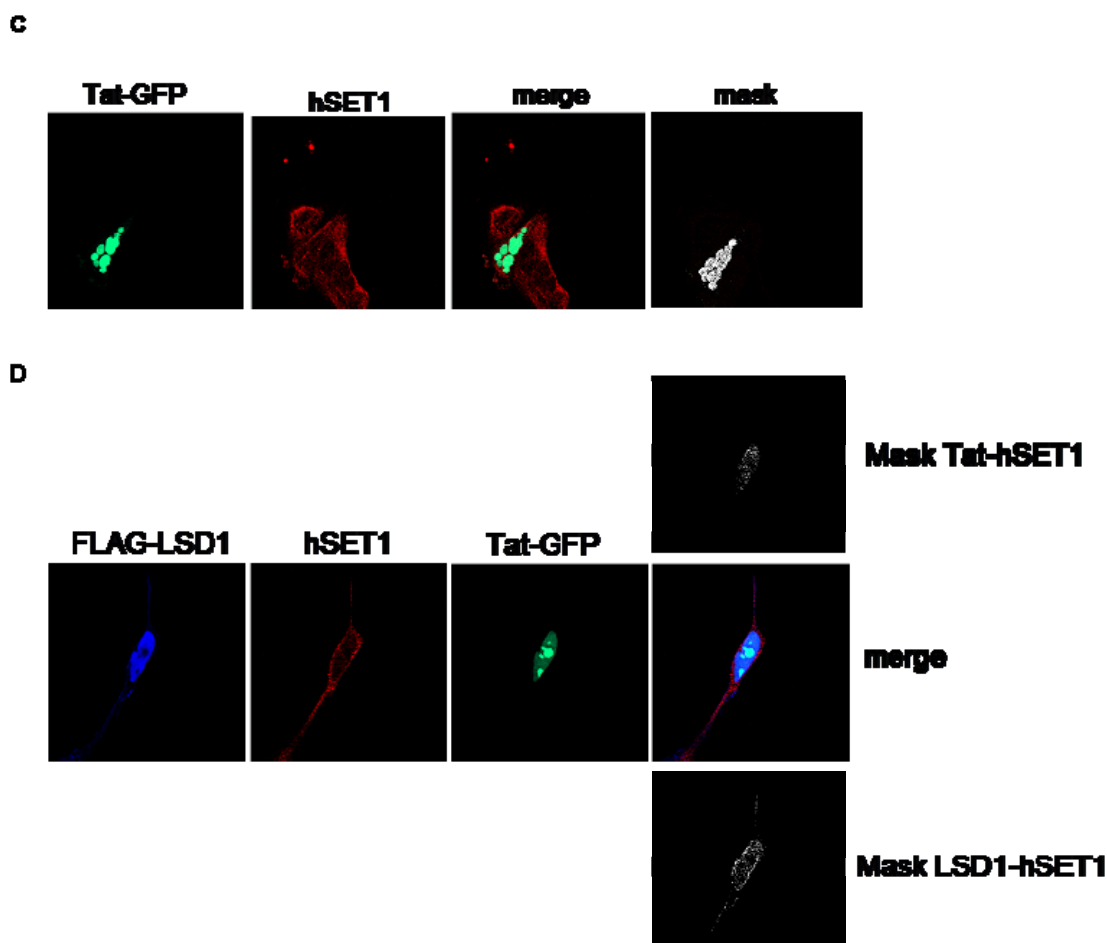


Figure 7 : hSET1 colocalise avec LSD1 et Tat.

Les cellules microgliales ont été transfectées avec les vecteurs d'expression Flag-LSD1 (B, D) et Tat (C, D). (A, B, C, D) Après traitement, les protéines hSET1 endogènes et Flag-LSD1 ont été immunodétectées. Les complexes immuns primaires ont été immunomarqués par des anticorps secondaire couplés à Cy3, Cy2 ou Cy5. La colonne Mask montre les marquages colocalisés.

Des expériences de microscopie confocale ont mis en évidence que la méthylase de la lysine 4, hSET1, est capable de colocaliser partiellement avec LSD1 (Figure 7B). L'expression de hSET1, tout comme celle de LSD1, est à la fois nucléaire et cytoplasmique.

hSET1 colocalise également partiellement avec la protéine virale Tat (Figure 7C). Enfin, le marquage concomitant de hSET1, LSD1 et Tat, nous permet de montrer une colocalisation partielle entre ces 3 protéines (Figure 7D).

Résumé des principaux résultats obtenus

Nos précédents travaux ont permis de mettre en évidence la participation de CTIP2 dans la mise en place de la latence du VIH-1 dans les cellules microgliales. En effet, nous avons mis en lumière le recrutement par CTIP2 d'un complexe multienzymatique sur le promoteur viral. Ainsi, CTIP2 recrute les HDAC 1 et 2, qui déacétylent l'histone H3, puis grâce à SUV39H1, il va y avoir méthylation de la lysine 9 de l'histone H3, conduisant au final à la mise en place d'un environnement hétérochromatinien.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence que LSD1 est recruté sur le promoteur viral du VIH-1 et qu'il conduit à une répression de la transcription. Ainsi, le recrutement de LSD1 est corrélé au recrutement de hSET1, une méthylase qui permet la méthylation de la lysine 4 de l'histone H3. L'activation de la transcription par du PMA, provoque le départ de LSD1 et de hSET1 du promoteur viral. Enfin, des expériences de CHIP nous ont permis de suggérer que le recrutement de LSD1 est nécessaire au recrutement de CTIP2.

Matériel et méthodes

Plasmides

La plupart des constructions utilisées ont été décrites précédemment : Flag-Tat dans (Rohr et al., 2003a), pcDNA3, pNL4-3 dans (Marban et al., 2005), pshARN-CTIP2 dans (Marban et al., 2007) et pshLSD1 et pFLAG-LSD1 dans (Metzger et al., 2005).

Culture cellulaire

Les lignées cellulaires HEK-293T et microgliales ont été maintenues en culture dans du Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) contenant 10% de sérum de veau fœtal et 100U/ml de pénicilline/streptomycine.

SDS-PAGE et Western Blot

Les gels de migration ont été réalisés selon les méthodes standards. Les protéines ont été détectées en utilisant des anticorps dirigés contre CTIP2 (santa cruz), LSD1 (Abcam), contre la β actine (Sigma) et contre l'épitope FLAG (Sigma). Les protéines ont été visualisées par chimiluminescence grâce au kit Super Signal Chemiluminescence Detection System de Pierce.

Essais Luciferase

Les cellules microgliales cultivées dans des plaques 48 puits ont été transfectés par la technique du phosphate de calcium. Deux jours plus tard, les cellules ont été collectées et l'activité luciférase a été mesurée à l'aide du kit Dual-GloTM Luciferase Assay System (Promega). Les valeurs correspondent à la moyenne d'au minimum 3 expériences distinctes réalisées en triplicats.

Infection et réplication virale

Les cellules microgliales ont été cultivées dans des plaques de 48 puits, et puis transfectées avec 1 μ g de vecteur pNL4-3 et les vecteurs d'expression comme indiqués pendant 4 heures. Après lavages, elles ont été maintenues en culture pendant le temps indiqué avant de mesurer la quantité de p24 dans le surnageant. Les valeurs correspondent à une moyenne de trois expériences distinctes réalisées en triplicats.

Marquages immunofluorescents et observation au microscope confocal

Les cellules microgliales ont été cultivées dans des plaques de 24 puits, contenant des lamelles de verre, puis ont été transfectées par la technique du phosphate de calcium avec les vecteurs d'expression suivants : pRFP-CTIP2, pGFP-Tat et pFLAG-LSD1. Les cellules ont été fixées et perméabilisées comme décrits précédemment.(Marban et al., 2005) Les lamelles

ont alors été incubées pendant 10min avec du TOPRO3 (Molecular Probes). Les cellules marquées ont ensuite été observées avec un microscope confocal ZEISS (modèle 510 à inversion) équipé d'un objectif à immersion à huile Plan Apo 63X (ouverture numérique 1,4).

Immunoprécipitation de la chromatine (ChIP)

Les cellules microgliales ont été cultivées dans des flacons de 175cm² puis ont ensuite été infectées par 100ng de pseudovirus VSV env-pNL4-3 pendant 19h puis traités ou non avec 100nM de PMA pendant 5h. Les cellules HEK-293T ont été transfectées avec les vecteurs indiqués par la technique du phosphate de calcium. Les expériences de ChIP ont été réalisées par utilisation du kit ChIP Assay (Millipore,) 48h post-transfection ou 5h post-traitement. Les anticorps primaires utilisés sont : anti-CTIP2 (Bethyl), anti-triMeH3K4 (Abcam), anti-hSET1 (Abcam), anti-LSD1 (Abcam). L'ADN immunoprecipité a été soumis à une PCR quantitative en temps réel et normalisé par rapport à l'enrichissement non spécifique du promoteur GAPDH (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase).

Publication 4 (*en préparation*)

CTIP2 recrute un complexe d'enzymes de modifications post-traductionnelles des histones et active la phase tardive de la transcription des gènes viraux dans les lymphocytes T.

CTIP2 est connu pour être un activateur de la transcription de l'IL-2 dans les lymphocytes T, nous avons donc voulu savoir quel était son rôle dans la transcription des gènes viraux dans ces cellules.

Dans un premier temps, nous avons élaboré une lignée de cellules T CD4⁺ 1G5 exprimant de manière stable un shARN-CTIP2. Dans un deuxième temps, nous avons mis en évidence grâce à l'utilisation de notre nouvelle lignée cellulaire, mais également dans des lymphocytes T primaires, que CTIP2 est un activateur de la phase tardive de la transcription des gènes viraux dans les lymphocytes T. Aucun traitement activateur (PMA, TNF, TSA) ne permet de restaurer une réplication dans la lignée 1G5 shRNACTIP2. La phase précoce ne semble pas affectée par la diminution de l'expression de CTIP2. Ainsi, il semblerait que l'effet activateur de CTIP2 soit lié à la transactivation de Tat.

Des expériences d'immunoprécipitations chromatiniennes, nous ont permis de montrer que l'activation des lymphocytes T par le PMA induit une augmentation du recrutement de CTIP2 et de HP1 γ sur le promoteur viral, et ainsi une augmentation concomitante de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3, et une augmentation de l'acétylation globale de l'histone H3. De même, l'expression de la protéine virale Tat induit elle aussi une augmentation du recrutement de CTIP2 et de HP1 γ sur le promoteur viral et une augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3.

Enfin, une diminution de l'expression de CTIP2 induit la diminution de son recrutement sur le promoteur viral, ainsi que la diminution du recrutement de HDAC2 et SUV39H1 impliquant alors une diminution de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et de son acétylation globale.

Ainsi, il semblerait que CTIP2 recrute sur le promoteur viral dans les lymphocytes T, le même complexe multienzymatique également présent dans les cellules microgliales. Ce recrutement induit une augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et le recrutement de HP1 γ , conduisant cette fois ci à une activation de la transcription des gènes viraux.

Introduction

La transcription des gènes viraux est une étape cruciale dans le contrôle de l'expression virale. Après entrée dans les cellules cibles et transcription inverse, les gènes viraux sont intégrés dans le génome de la cellule cible. Suivant l'intégration, la transcription du VIH est régulée par de nombreuses interactions de facteurs de transcription cellulaires et viraux avec la région LTR du provirus. La structure chromatinienne joue un rôle critique dans la transcription des gènes. Les nucléosomes sont positionnés de manière précise sur le promoteur viral. Ainsi, les modifications épigénétiques du nucléosome nuc-1, qui empêche la transcription d'avoir lieu, ainsi que son déplacement sont des pré-requis à l'activation de la transcription des gènes viraux. Un environnement hétérochromatinien favorise la mise en place de la latence (Jordan et al., 2001). Certaines activités déacétylases, et l'enzyme SUV39H1, qui méthyle la lysine 9 de l'histone H3, sont en général associées à la répression de la transcription. La triméthylation de cette lysine permet le recrutement des protéines HP1 ainsi que l'établissement et le maintien de l'hétérochromatine (Jacobs and Khorasanizadeh, 2002; Lachner et al., 2001; Nakayama et al., 2001). Des études récentes, portant sur le réservoir viral des lymphocytes T CD4+, ont pu montrer que de nombreux facteurs sont associés à des complexes enzymatiques contenant des HDAC et/ou SUV39H1, et conduisaient ainsi à la répression de la transcription et à la mise en place de la latence virale (Coull et al., 2000; du Chene et al., 2007; Williams et al., 2006). Cependant, la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3, ainsi que la présence de protéines HP1, ne sont pas exclusivement associés à la formation d'un environnement hétérochromatinien. En effet, cette modification est retrouvée, en plus de HP1 γ , sur le promoteur de l'IL-2, lorsque les lymphocytes T sont activés (Vakoc et al., 2005). De même, sur le promoteur du VIH, la protéine HP1 β est rapidement remplacée par HP1 γ , lors d'une activation des lymphocytes T (Mateescu et al., 2008). Il semblerait même que le recrutement des protéines HP1 β et HP1 γ soit dépendant de l'ARNpolIII (Mateescu et al., 2008), et que la présence de ces protéines est associée à des régions transcriptionnellement actives (de Wit et al., 2007; Piacentini et al., 2003) ou inactives (Vicent et al., 2006).

CTIP2 est un cofacteur impliqué dans le développement du système immunitaire. En effet, il permet la différenciation et la survie des thymocytes (Wakabayashi et al., 2003b). De plus, CTIP2 est connu pour avoir un effet activateur sur la transcription des gènes de l'IL-2 dans les lymphocytes T, lorsque ceux-ci sont soumis à une activation (Cismasiu et al., 2006).

Des travaux antérieurs de l'équipe ont pu montrer que CTIP2 est un répresseur de la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales. En effet, CTIP2 recrute un complexe multienzymatique sur le promoteur viral et participe à la mise en place d'un environnement hétérochromatinien. CTIP2 recrute alors les HDAC1 et 2, qui vont déacétyler l'histone H3, puis SUV39H1 va entrer en jeu, et va triméthyliser la lysine 9 de l'histone H3.

Ainsi, les protéines HP1 vont venir se fixer sur la lysine triméthylée de l'histone H3, et engendrer la mise en place et le maintien de la latence (Marban et al., 2007). Quel est alors le rôle de CTIP2 sur la transcription des gènes viraux dans les lymphocytes T ??

Dans cette étude, nous avons pu mettre en évidence que CTIP2 est un activateur de la réplication du VIH-1 dans les lymphocytes T. Des expériences d'immunoprécipitation chromatinienne, nous ont permis de montrer que l'activation de la transcription des gènes viraux, par un traitement au PMA ou l'expression de la protéine virale Tat, conduit à une augmentation du recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral. Ce recrutement s'accompagne du recrutement de HP1 γ et de l'augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3. Une diminution de l'expression de CTIP2 par shARN, permet la diminution de son recrutement sur le promoteur viral, ainsi que la diminution du recrutement de HDAC2, SUV39H1 et HP1 γ , ce qui implique une diminution de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et de son état d'acétylation globale. Il semblerait alors que CTIP2 soit capable de recruter, dans les lymphocytes T, le même complexe multienzymatique que celui recruté dans les cellules microgliales, conduisant cette fois-ci à une activation de la transcription des gènes viraux.

Résultats

CTIP2 est un activateur de la réplication du VIH-1.

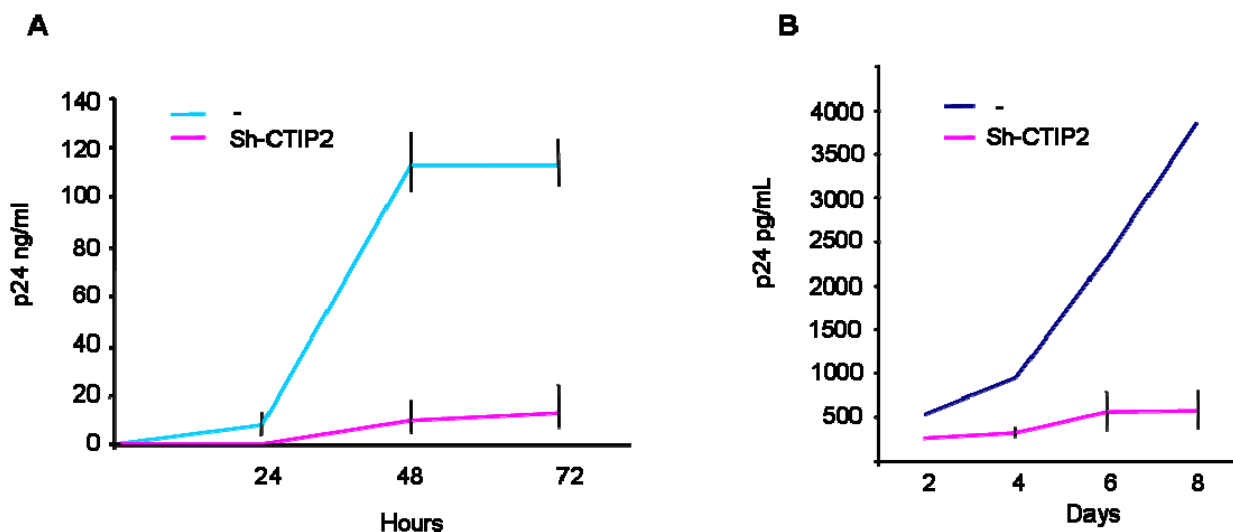


Figure 1 : CTIP2 est un activateur de la réplication du VIH-1.

(A) Les lymphocytes T 1G5 ou les lymphocytes T 1G5 shCTIP2, n'exprimant plus CTIP2, ont été infectés par le virus pNL4-3 avant d'être lavés. 24, 48 et 72 h après infection, la protéine p24 Gag a été dosée dans les surnageants de culture. (B) Des cellules T CD4+ primaires, isolées à partir de sang humain, ont été cotransfectées par le vecteur pNL4-3 et le vecteur codant pour le shCTIP2, ou le vecteur vide. 2, 4, 6, 7 jours post-transfection la protéine p24 Gag a été dosée dans les surnageants de culture.

L'étude fonctionnelle de CTIP2 sur la réplication virale a été testée sur des lymphocytes T 1G5 et shCTIP2 T 1G5. Ces cellules ont été infectées avec 40 ng de virus pNL4-3, puis lavées 3 heures post-infection. La réplication virale a ensuite été mesurée par le dosage de la protéine p24 dans le surnageant des cellules en culture, 24, 48 et 72 heures après infection. Les cellules exprimant moins la protéine CTIP2, sont moins sensibles à l'infection par le virus (Figure 1A). En effet, ces cellules sont beaucoup moins capables de répliquer le VIH-1 et semblent même résistantes à l'infection.

Afin de déterminer si l'effet observé n'est pas spécifique de la lignée de cellules utilisée, nous avons voulu vérifier l'effet de CTIP2 sur la réplication virale dans les cellules T CD4+ primaires. Nous avons alors purifié des PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cell) à partir de « buffy coat » sur un gradient de Ficoll. Les PBMC obtenus ont alors été triés et seuls les lymphocytes T CD4+ ont été conservés grâce à un kit de sélection négative (Miltenyi). Les lymphocytes T CD4+ primaires, ont subi un traitement activateur à l'IL-2 et au PHA pendant 3 jours, puis ont été maintenus pendant le reste de l'expérience dans du milieu contenant de l'IL-2. Les cellules ont subi une cotransfection de 1 µg de vecteur pNL4-3 et 1 µg de vecteur vide ou de vecteur d'expression shCTIP2. Les résultats obtenus dans les cellules primaires

valident ceux obtenus en lignées. CTIP2 est bien un activateur de la réplication du VIH-1 dans les lymphocytes T CD4+ (Figure 1B).

CTIP2 est un activateur de la phase tardive de la transcription des gènes viraux.

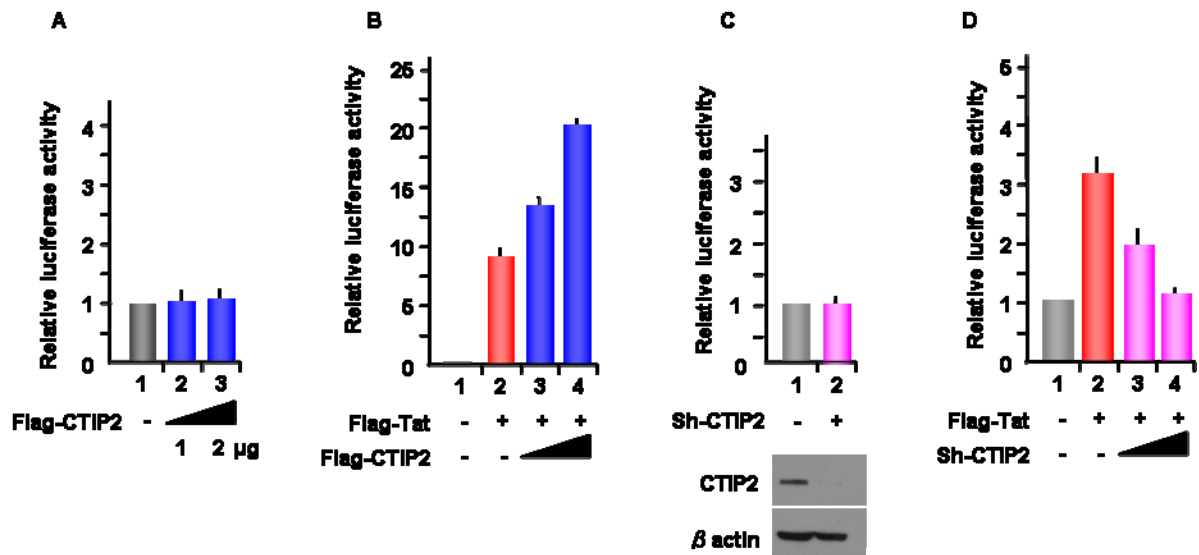


Figure 2 : CTIP2 est un activateur de la phase tardive de la transcription des gènes viraux.

(A, B, C, D) Les lymphocytes T 1G5 ont été transfectés par les vecteurs d'expression Flag-CTIP2, shCTIP2 ou Tat comme indiqué. 48 heures post-transfection, l'activité luciférase a été mesurée et exprimée de manière relative au contrôle. L'efficacité des constructions de shARN a été contrôlée par western blot (C).

Sachant que la réplication virale est sous le contrôle de la transactivation de la transcription médiée par la protéine virale Tat, nous avons voulu savoir si l'effet de CTIP2 sur la réplication virale pouvait s'expliquer par un effet activateur sur la transcription des gènes viraux. Dans le but de tester cette hypothèse les cellules 1G5, qui possèdent un promoteur LTR-LUC intégré, ont été transfectées par un vecteur d'expression Flag-CTIP2 ou shCTIP2. Dans les deux cas, la transfection de Flag-CTIP2 ou de shCTIP2 n'a pas d'effet sur la transcription virale. Ainsi, CTIP2 ne joue pas de rôle dans la phase précoce de la transcription des gènes viraux (Figure 2A et C).

Les cellules 1G5 ont ensuite été cotransfectées par un vecteur d'expression Flag-CTIP2 ou shCTIP2 en présence d'un vecteur d'expression codant pour la protéine virale Tat. Dans ces conditions, CTIP2 est capable d'activer la transcription des gènes viraux (Figure 2B et D). CTIP2 est ainsi un activateur de la phase tardive des gènes viraux.

Les traitements stimulateurs sont incapables de restaurer le niveau basal de la réplication et de la transcription virale suite à une répression induite par une extinction de l'expression de CTIP2.

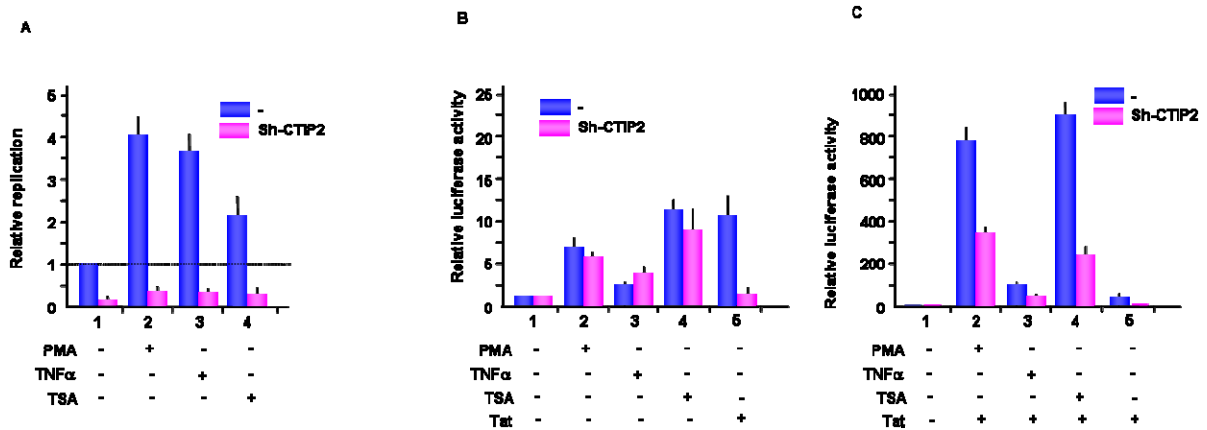


Figure 3 : Les traitements stimulateurs sont incapables de restaurer le niveau basal de la réplication et de la transcription virale suite à une répression induite par une extinction de l'expression de CTIP2.

(A) Les lymphocytes T 1G5 ou les lymphocytes T 1G5 shCTIP2 ont été infectés par le virus pNL4-3, 24h avant d'être traités par du DMSO, 100nM PMA, 10ng/mL TNF α ou 450nM de TSA, comme indiqué. 48h après infection, la protéine p24 Gag a été dosée dans les surnageants de culture et exprimée de manière relative au contrôle DMSO. (B, C) Les lymphocytes T 1G5 ou les lymphocytes T 1G5 shCTIP2 ont été traités comme indiqué. 24h post-traitement, les activités luciféras ont été mesurées et exprimées de manière relative au traitement contrôle (DMSO).

Afin de déterminer si des traitements activateurs sont capables de compenser l'effet de la diminution de l'expression de CTIP2 sur la réplication virale, les cellules 1G5 et 1G5 shCTIP2 ont été transfectées par un vecteur pNL4-3. 24h post-transfection les cellules ont été traitées par 100nM de PMA, 10ng/mL de TNF α ou 450nM de TSA. En effet, nous avons pu montrer que CTIP2 est associé aux HDAC1 et 2 dans les cellules microgliales, c'est pourquoi nous avons choisi de tester la TSA, qui va permettre l'inhibition des HDAC de classe I et II. 24h post-traitements, les surnageants de culture ont été dosés pour la protéine p24. Nous avons pu montrer qu'aucun traitement testé n'est capable de compenser la diminution de l'expression de CTIP2. Les traitements conservent leur pouvoir activateur, mais leur activation est très diminuée dans les cellules 1G5 shCTIP2 et ne permettent pas retrouver un niveau de réplication basal. (Figure 3A)

Nous avons également voulu connaître l'effet de ces traitements sur la transcription des gènes viraux en absence et en présence de CTIP2. Les cellules T 1G5 et 1G5 shCTIP2 ont alors été transfectées ou non par un vecteur d'expression codant pour la protéine virale Tat. 24h post-transfection, les cellules transfectées ont été traitées comme indiqué ci-dessus, puis 24h post-traitement, l'activité luciférase a été mesurée. Lors de la phase précoce de la transcription

virale, on observe aucune différence entre les cellules 1G5 et 1G5 shCTIP2, quelque soit le traitement appliqué (Figure 3B). Cependant, en présence de la protéine virale Tat, on retrouve un schéma similaire à la réplication virale. En effet, aucun traitement ne compense la diminution de l'expression de CTIP2 (Figure 3C). Il semblerait alors que l'effet observé soit uniquement dû à une facilitation de l'effet de Tat en présence de CTIP2. CTIP2 serait alors nécessaire à la bonne transactivation de la transcription médiée par Tat.

Le recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral est augmenté par une stimulation au PMA ou par l'expression de la protéine virale Tat. Ce recrutement est corrélé à une augmentation du recrutement de HP1 γ et de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3.

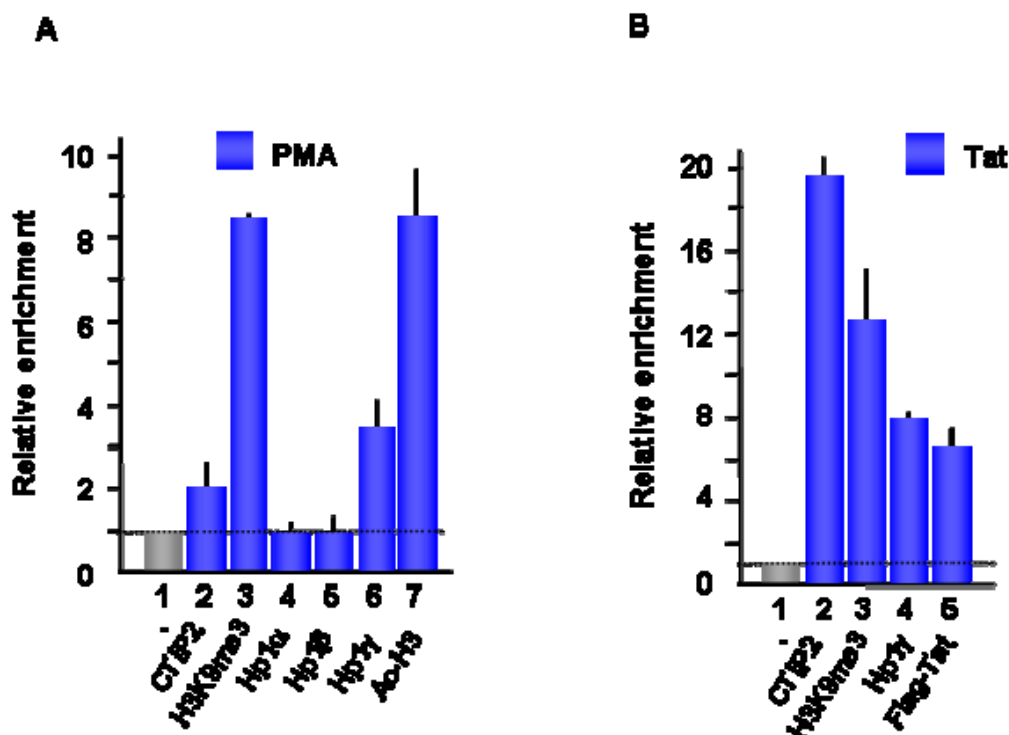


Figure 4 : Le recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral est augmenté par une stimulation au PMA ou par l'expression de la protéine virale Tat. Ce recrutement est corrélé à une augmentation du recrutement de HP1 γ et de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3.

(A) Les lymphocytes T 1G5 ont été traités par 100nM PMA ou par du DMSO, 5 heures avant d'être soumis à des expériences de ChIP. (B) Les lymphocytes T 1G5 ont été transfectés par un vecteur d'expression Flag-Tat, 48 heures avant d'être soumis à des expériences de ChIP. (A, B) En guise de contrôle, une immunoprécipitation a été réalisée sans anticorps (SA). L'input et les ADN immunoprécipités ont été quantifiés par PCR quantitative en temps réel avec des amorces spécifique du promoteur proximal. La quantité d'ADN a été normalisée par rapport à l'input et l'enrichissement relatif (fold enrichment) par rapport à l'enrichissement non spécifique sur le promoteur du gène codant pour la GAPDH.

Dans le but de déterminer si l'effet de CTIP2 sur la transcription virale peut s'expliquer par son recrutement sur le promoteur viral, nous avons réalisé des expériences d'immunoprécipitations chromatinienne (ChIP) sur les cellules 1G5 avec ou sans traitement au PMA (100nM pendant 5h). Ce traitement induit une augmentation du niveau d'acétylation globale de l'histone H3, ce qui démontre bien l'activation de la transcription. L'activation des cellules T par le PMA, se traduit par une augmentation du recrutement de CTIP2, qui est

corrélée à une augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3, et s'accompagne de l'augmentation du recrutement de la protéine HP1 γ . (Figure 4A)

De même, l'expression de la protéine virale Tat, à partir d'un vecteur d'expression, implique son recrutement sur le promoteur viral et s'accompagne de l'augmentation du recrutement de CTIP2. La présence de CTIP2 sur le promoteur viral est dans ce cas à nouveau corrélée avec l'augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et la présence concomitante de HP1 γ . Ainsi, CTIP2 semble nécessaire à la transactivation de la transcription médiée par Tat, et la présence de Tat induit une très forte augmentation du recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral (Figure 4B).

Quel que soit le traitement activateur de la transcription (PMA ou Tat), CTIP2 est recruté sur le promoteur viral, où il induit une augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et le recrutement de HP1 γ .

CTIP2 induit le recrutement de HDAC2 et de SUV39H1 sur le promoteur proximal et la triméthylation concomitante de la lysine 9 de l'histone H3.

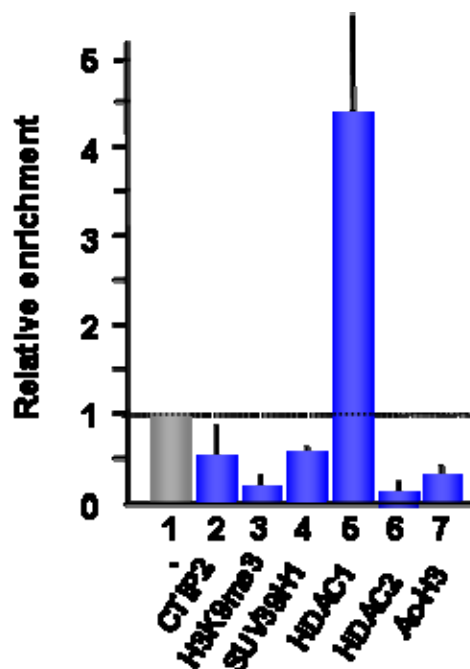


Figure 5 : CTIP2 induit le recrutement de HDAC2 et de SUV39H1 sur le promoteur proximal et la triméthylation concomitante de la lysine 9 de l'histone H3.

Les lymphocytes T 1G5 et les lymphocytes T 1G5 shCTIP2 ont été soumis à des expériences de ChIP avec les anticorps indiqués. A titre de contrôle, une immunoprécipitation a été réalisée sans anticorps (SA). L'input (1/1296) et les ADN immunoprécipités ont été quantifiés par PCR quantitative en temps réel avec des amorces spécifique du promoteur proximal. La quantité d'ADN a été normalisée par rapport à l'input et l'enrichissement relatif (fold enrichment) par rapport à l'enrichissement non spécifique sur le promoteur du gène codant pour la GAPDH.

CTIP2 est maintenant connu pour être capable de recruter sur le promoteur viral les HDAC1 et 2 et SUV39H1 dans les cellules microgliales, induisant dans ce cas une répression de la transcription des gènes viraux. Nous avons donc voulu savoir si, l'augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 suite à une activation des lymphocytes T, pouvait s'expliquer par le recrutement sur le promoteur viral de ces mêmes enzymes par CTIP2. Nous avons alors réalisé des expériences de ChIP dans les cellules 1G5 et 1G5 sh CTIP2. La diminution de l'expression de CTIP2 conduit à la diminution de son recrutement sur le promoteur viral et la diminution du niveau d'acétylation globale de l'histone H3, confirmant bien l'effet activateur de CTIP2. Ceci s'accompagne aussi d'une diminution du recrutement de HDAC2 et de SUV39H1 et de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3.

Enfin, la diminution de l'expression de CTIP2 se traduit par une diminution du recrutement de HP1 γ (Figure 5).

CTIP2 est ainsi capable, tout comme dans les cellules microgliales, de recruter un complexe multienzymatique contenant au moins HDAC2 et SUV39H1. Le recrutement de ce complexe induit l'augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3, l'augmentation du recrutement de HP1 γ et provoque l'activation de la transcription des gènes viraux.

Résumé des principaux résultats obtenus

Nous avons récemment montré que, dans les cellules microgliales, les cibles principales du VIH-1 dans le SNC, CTIP2 inhibe la transcription des gènes du VIH-1 grâce à deux mécanismes bien distincts. CTIP2 réprime la phase précoce de la transcription des gènes viraux par une association directe avec le facteur Sp1, qui est lié au promoteur viral. L'interaction de CTIP2 avec Sp1 induit le recrutement de HP1 α sur la séquence LTR et la répression de l'expression virale (Marban et al., 2005). CTIP2 est également impliqué dans la répression de la phase tardive de la transcription des gènes viraux. En effet, CTIP2 relocalise Tat dans des structures nucléaires hétérochromatiniennes contenant HP1 α (Rohr et al., 2003a). Ainsi, CTIP2 induit la formation d'un environnement hétérochromatinien grâce au recrutement d'un complexe multienzymatique contenant les HDAC1 et 2 et SUV39H1 (Marban et al., 2007).

Dans cette étude, nous avons pu montrer que CTIP2 est recruté sur le promoteur viral dans les lymphocytes T, que ce recrutement est augmenté par une activation de la transcription (PMA, Tat) et qu'il induit une activation de la phase tardive de la transcription. Le recrutement de CTIP2 est corrélé à un recrutement de HDAC2 et SUV39H1, qui conduit à une augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et au recrutement de HP1 γ .

Matériel et méthodes

Plasmides

La plupart des constructions utilisées ont été décrites précédemment : Flag-Tat dans (Rohr et al., 2003a), pcDNA3, pFLAG-CTIP2, pNL4-3 dans (Marban et al., 2005) et pshARN-CTIP2 dans (Marban et al., 2007).

Culture cellulaire

Les lignées cellulaires 1G5 et 1G5shCTIP2 ont été maintenues en culture dans du Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI1640) contenant 10% de sérum de veau fœtal et 100U/ml de pénicilline/streptomycine. Les lymphocytes T CD4+ primaires ont été isolés suivant la technique du gradient de Ficoll et purifiés par un système de billes (Miltenyi). Ils ont ensuite été stimulés par de la PHA et maintenu en culture dans du RPMI 1640 contenant 10% de sérum de veau fœtal, 0,1% d'IL-2 et 100 U/ml de pénicilline-streptomycine.

SDS-PAGE et Western Blot

Les gels de migration ont été réalisés selon les méthodes standards. Les protéines ont été détectées en utilisant des anticorps dirigés contre CTIP2 (Santa Cruz) et contre la β actine (Sigma). Les protéines ont été visualisées par chimiluminescence grâce au kit Super Signal Chemiluminescence Detection System de Pierce.

Essais Luciferase

Les lymphocytes T cultivés dans des plaques de 6 puits ont été transfectés par la technique du DEAE-Dextran. Deux jours plus tard, les cellules ont été collectées et l'activité luciférase a été mesurée par le kit Dual-GloTM Luciferase Assay System (Promega). Les valeurs correspondent à la moyenne d'au minimum 3 expériences distinctes réalisées en triplicats.

Infection et réplication virale

Les lymphocytes T 1G5 et 1G5shCTIP2 ont été cultivés dans des plaques de 6 puits, puis ont été infectés avec 40ng de virus pNL4-3 pendant 3 heures. Après lavages, ils ont été maintenus en culture pendant le temps indiqué avant de mesurer la quantité de p24 dans le surnageant. Les valeurs correspondent à une moyenne de trois expériences distinctes réalisées en triplicats. Les lymphocytes T primaires ont été cultivés dans des plaques de 12 puits avant d'être transfectés par nucleofection avec le kit spécifique d'Amaxa pour les lymphocytes T primaires humains (protocole T023). Les cellules ont été maintenues en culture le temps indiqué avant de mesurer la quantité de p24 dans le surnageant. Les valeurs correspondent à une expérience représentative de trois expériences distinctes réalisées en triplicats.

Immunoprécipitation de la chromatine (ChIP)

Les cellules T 1G5 ou 1G5shCTIP2 ont été cultivées dans des flacons de 75cm², puis ont été transfectés par la technique du DEAE-Dextran avec les vecteurs indiqués, ou traités avec 100nM de PMA. Les essais ChIP ont été réalisés par utilisation du kit ChIP Assay (Millipore) 48h post-transfection ou 5h post-traitement. Les anticorps primaires utilisés sont : anti-CTIP2 (santa-cruz), anti-triMeH3K9 (Abcam), SUV39H1 (Abcam), anti-HDAC1 (Millipore), anti-HDAC2 (Millipore), anti-AcH3 (Millipore), anti-HP1 α (Millipore), anti-HP1 β et anti-HP1 γ (Euromedex). L'ADN immunoprecipité a été soumis à une PCR quantitative en temps réel et normalisé par rapport à l'enrichissement non spécifique du promoteur GAPDH.

DISCUSSION GENERALE

Le concept de réservoir a pris toute son importance peu de temps après l'introduction de la multithérapie active, lorsque la persistance du virus a été démontrée chez les patients sous HAART. Plusieurs types cellulaires peuvent être infectés de manière latente, ainsi outre les lymphocytes T CD4+, principales cibles du virus, nous avons également les cellules de la lignée monocyte-macrophages dont font partie les cellules microgliales. La mise en place de la latence virale est un phénomène rare, puisqu'on estime que seule une cellule sur 1 million de LT CD4+ est infectée de manière latente par le VIH-1. Le virus s'intégrerait de manière préférentielle dans des zones transcriptionnellement actives (Jordan et al., 2001). La mise en place de la latence et son maintien font intervenir des mécanismes complexes tels que l'organisation chromatinienne et les modifications que peuvent subir les histones. L'étude des mécanismes entrant en jeu dans le contrôle de la latence virale est très importante, car les traitements actuels ne ciblent que les virus se répliquant. Il est alors tout à fait nécessaire de mieux comprendre ces mécanismes dans le but d'élaborer de nouvelles stratégies thérapeutiques (Pomerantz, 2002).

Nous avons dans le laboratoire choisi de consacrer une grande partie de nos études aux cellules microgliales, principale cible du virus au sein du système nerveux central, et qui constituent un réservoir pour le virus (Barber et al., 2006).

Des études antérieures de l'équipe, ont rendu compte de l'effet répresseur de CTIP2 sur la réplication et la transcription des gènes viraux. En effet, CTIP2 est capable de former des structures nucléaires hétérochromatiniennes contenant HP1 et d'y séquestrer la protéine virale Tat. CTIP2 pourrait alors être responsable de la mise en place de la latence dans les cellules microgliales. Il était donc crucial d'étudier son mécanisme d'action, notamment au niveau de la phase précoce de la transcription virale, étape responsable de l'apparition de la latence post-intégrative.

CTIP2 un répresseur de la phase précoce de la transcription des gènes du VIH-1.

- **CTIP2 réprime la transcription des gènes viraux via le promoteur proximal du VIH-1**

Des expériences d'activités transcriptionnelles ont permis de montrer l'importance de CTIP2 dans la répression de la phase précoce de la transcription des gènes viraux. CTIP2 conserve son effet répresseur malgré la délétion de la partie 5' du promoteur viral en amont des deux boîtes GC proximales. Ainsi, CTIP2 ne nécessite pas pour son action la présence des sites de fixation de COUP-TF, comme pouvait le laisser suggérer la capacité de cette protéine à interagir avec COUP-TF (Avram et al., 2000) (**Publication 1**). Les sites Sp1 sont suffisants

pour l'effet répresseur de CTIP2 ; en effet, lors d'essais transcriptionnels, la délétion ou la mutation des sites Sp1 conduit à une diminution drastique (90%) de l'activité transcriptionnelle du LTR. CTIP2 reste tout de même capable d'inhiber la transcription dans ce cas, les sites Sp1 semblent donc suffisantes mais pas absolument nécessaires à l'activité de CTIP2 (**Publication 1**). Une autre étude a confirmé que CTIP2 est une protéine capable de réprimer la transcription via son interaction avec des sites Sp1 (Cucciolla et al., 2008). CTIP2 serait soit capable de se fixer directement sur le promoteur de p57^{kip2} via les sites Sp1, soit via son recrutement dans un complexe NuRD. Enfin, une seconde étude a permis de mettre en évidence la capacité de CTIP2 à se lier sur les sites US1 du promoteur de l'IL-2 (Cismasiu et al., 2006). Nos études, ainsi que les données de la littérature tendent à montrer que CTIP2 est capable d'agir sur d'autres promoteurs via une interaction avec les sites Sp1, mais aussi grâce à une interaction avec des complexes répresseurs, ou via d'autres sites de fixation, tels que les sites US1.

Des études antérieures ont pu mettre en lumière la capacité du promoteur proximal à fixer différents facteurs de transcriptions. Ainsi, les protéines Sp1 et Sp3 sont liées de manière directe aux boîtes GC du promoteur proximal, alors que COUP-TF se lie de manière indirecte grâce à une interaction avec Sp1. Sp1 et COUP-TF, ont été identifiés comme étant les activateurs majeurs de la phase précoce de la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales (Rohr et al., 1997; Schwartz et al., 2000). Des expériences de réplication et de transcription virale, en présence de surexpression des protéines Sp1, COUP-TF et CTIP2, ont pu montrer que CTIP2 était capable d'inhiber l'activation induite à la fois par Sp1 mais aussi par COUP-TF. (**Publication 1**)

- **Formation d'un complexe ternaire et inhibition de la transcription virale**

Des expériences de GST-Pull down ont permis de délimiter les zones d'interaction de CTIP2 (145-434 et 717-813) avec les motifs doigts de zinc des protéines Sp1 (622-788) et COUP-TF (49-418). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus précédemment pour CTIP1 et COUP-TFII (Avram et al., 2000). Nos observations nous ont conduits à observer la formation d'un complexe ternaire de CTIP2 avec Sp1 et COUP-TF car aucune compétition n'a pu être mise en évidence.

Contrairement aux études publiés précédemment, CTIP2 est dans notre cas incapable de lier de manière directe les trois boîtes GC du promoteur proximal (Avram et al., 2002). Sp1 sert alors de point d'ancrage au complexe COUP-TF-CTIP2 sur le promoteur proximal au niveau des boîtes GC, conduisant à la répression de la transcription des gènes viraux (Cherrier et al., 2009; Marban et al., 2005).

CTIP2 recrute un complexe multienzymatique sur le promoteur viral et induit la formation d'un environnement hétérochromatinien.

La région C-terminale de CTIP2 serait toutefois préférée pour l'interaction avec HP1 α , ce qui a pu être déterminé grâce à des expériences de co-immunoprécipitation. (**Publication 1**) De plus, des expériences de microscopie confocale nous ont permis d'observer une colocalisation de CTIP2, Sp1, COUP-TF et HP1 α dans des structures nucléaires sphériques. Les protéines HP1 sont recrutées au niveau du promoteur lors de la formation d'hétérochromatine. En effet, les protéines HP1 sont capables de reconnaître la lysine 9 triméthylée (Jacobs and Khorasanizadeh, 2002; Lachner et al., 2001; Nakayama et al., 2001). Ainsi, nous avons émis l'hypothèse du recrutement par CTIP2 d'activités capables de modifier la structure chromatinienne et d'induire les structures nucléaires contenant HP1 α .

De plus, l'organisation chromatinienne particulière du promoteur viral, où Nuc1 empêche la transcription des gènes, nécessite un remodelage de la chromatine ainsi qu'un déplacement de Nuc1. L'état de compaction de l'ADN résulte d'une dynamique entre des facteurs favorisant la condensation, et entre des facteurs favorisant sa décondensation. Les histones de Nuc1 sont constitutivement déacétylés dans les cellules latentes. Des enzymes permettant cette déacétylation sont recrutés sur le promoteur viral par les facteurs YY1, LSF1 et le dimère p50 (Coull et al., 2000; Williams et al., 2006). La première étape de notre étude a donc été de vérifier si CTIP2 était capable de recruter des HDAC sur le promoteur viral, afin d'induire un remodelage de la chromatine conduisant à la répression de la transcription.

- **CTIP2 et les HDAC 1 et 2**

Des essais d'activité enzymatique ont révélés que CTIP2 est associée avec HDAC1 et HDAC2, des enzymes sensibles à la Trichostatine A (TSA). Ces deux enzymes sont souvent trouvés en association dans des complexes enzymatiques, tels que NuRD, Mi-2 ou CoREST (pour revue(Ahringer, 2000)). De plus, des études récentes ont pu montrer l'interaction de CTIP2 avec le complexe NuRD (Cismasiu et al., 2005). Cependant, aucun composant de ces complexes n'a pu être mis en évidence en association avec CTIP2. CTIP2 semble alors capable de recruter un complexe non encore connu à ce jour, ou de lier de manière directe les HDAC.

Encore une fois, CTIP2 a été observé en interaction fonctionnelle et physique avec SirT1, une HDAC de classe III, sensible à la nicotinamide (NA) (Senawong et al., 2003). Toutefois, nos essais biochimiques et nos analyses par western blot, ont été incapables de détecter des HDAC de la classe III en association avec CTIP2 dans les cellules microgliales.

L'expression de formes tronquées de CTIP2 et l'analyse des activités des HDAC associés, nous ont permis de déterminer le site d'interaction de CTIP2 (1-145) avec HDAC1 et 2 (**Publication 2**). Lors de précédentes études, nous avons montré que le domaine central de CTIP2 (Aa 145-434) est impliqué dans les interactions avec Sp1, COUP-TF et Tat, alors que le domaine C-terminal (Aa 717-813) interagit avec HP1 α (Rohr et al., 2003a) et (**Publication 1**). Ainsi, l'interaction de CTIP2 avec SirT1 déjà décrite (Senawong et al., 2003) semble peu probable dans notre contexte ; en effet, SirT1 devrait se lier à la même séquence que Sp1, et l'interaction de Sp1 avec CTIP2 est nécessaire pour la liaison de CTIP2 au promoteur viral. Alors, peut être que les complexes liés par CTIP2 sont différents d'un contexte cellulaire à l'autre, ou même d'un promoteur à l'autre.

Des expériences de ChIP ont permis de confirmer le recrutement de CTIP2, et des 2 HDAC sur le promoteur viral des cellules microgliales infectées (**Publication 2**). La surexpression de CTIP2 induit le recrutement de HDAC1 et 2 sur le promoteur viral, conduisant alors à la déacétylation locale de l'histone H3 au niveau de Nuc1. CTIP2 et les HDAC 1 et 2 semblent alors associées dans un mécanisme de remodelage de la chromatine bloquant Nuc1 à sa place et empêchant alors la transcription d'avoir lieu. En effet, la quantification des transcrits a révélé que CTIP2 entraîne la répression de leur initiation mais pas de leur élongation. La même observation a été faite pour le dimère p50 responsable du recrutement de HDAC1 sur le promoteur viral (Williams et al., 2006). Nous avons confirmé la nécessité de CTIP2 pour le recrutement de HDAC2 dans des cellules shCTIP2. Cependant, le recrutement de HDAC1 a été augmenté, elle doit pouvoir être recruté par d'autres facteurs favorisés par l'absence de CTIP2. On peut notamment cité l'association de HDAC1 et Sp1 (Doetzlhofer et al., 1999), mais aussi YY1 et LSF1 (Coull et al., 2000).

Ces résultats sont en faveur d'un rôle des HDAC sensibles à la TSA dans l'établissement et la persistance des réservoirs quiescents du VIH-1. Ainsi, la compréhension de ces mécanismes est cruciale dans le but de développer des stratégies de purge, au moins partielle, des réservoirs viraux. Ainsi, l'utilisation du SAHA est capable de diminuer le nombre de cellules infectées de manière latente ; grâce à une réactivation de ces cellules, ce composé les rend accessibles à la trithérapie. De plus, une étude récente a mis en lumière que l'utilisation simultanée d'inhibiteurs de HDAC et de prostratine (inducteur de NF- κ B), induit une activation synergique de l'initiation et l'élongation des transcrits viraux (Reuse et al., 2009).

- **CTIP2 et la formation d'un environnement hétérochromatinien**

Nous avons mis en évidence l'interaction de CTIP2 et HP1 α sur le promoteur viral (**Publication 1**). Dans les environnements hétérochromatiniens, les protéines HP1 interagissent spécifiquement avec les formes méthylées de la lysine 9 de l'histone H3

(Bannister et al., 2001). Des interactions physiques et fonctionnelles ont été mises en évidence entre des HDAC et des HMT telles que SUV39H1 (Reed-Inderbitzin et al., 2006; Vaute et al., 2002). CTIP2 étant capable à la fois de recruter des HDAC et la protéine HP1 α , nous avons cherché à déterminer si CTIP2 est liée à des activités HMT. Des expériences de co-immunoprécipitation ont révélées l'association de CTIP2 et SUV39H1. Les expériences de ChIP ont ensuite confirmé la présence concomitante de CTIP2 et SUV39H1 sur le promoteur viral dans les cellules microgliales (**Publication 2**). De plus, nous avons pu observer, lors du recrutement de SUV39H1 par CTIP2, la méthylation concomitante de la lysine 9 de l'histone H3. SUV39H1 permet également le recrutement des protéines HP1 via des interactions directes (Stewart et al., 2005). Ici nous révélons que CTIP2 est capable de recruter SUV39H1 et les protéines HP1 α , β et γ . De manière intéressante, le « knock-down » de CTIP2 induit le départ de HP1 β et γ du promoteur viral, mais pas de HP1 α . De même, la stimulation du modèle de latence U1 n'induit pas le départ de HP1 α du promoteur viral. Ces résultats suggèrent que l'établissement de la latence transcriptionnelle induite par CTIP2 et la réactivation transcriptionnelle ne sont pas liées de manière stricte par des mécanismes moléculaires inverses. Cela suggère également un rôle distinct pour chaque isoforme des protéines HP1. Le recrutement de SUV39H1 par CTIP2, résulte d'interactions physiques entre SUV39H1 et le domaine 145-434 de CTIP2. (**Publication 2**) Le domaine 145-434 est alors impliqué dans l'interaction avec les facteurs Sp1, COUP-TF et SUV39H1. Le rôle de SUV39H1 dans la mise en place de la latence a été confirmé dans les lymphocytes T (du Chene et al., 2007). Le mécanisme de CTIP2 pourrait-il alors être généralisé ??

HDAC1 et 2, SUV39H1 et HP1 sont clairement impliqués dans la formation d'hétérochromatine et la répression de la transcription. De plus, dans le contexte de cellules infectées de manière latente, la réactivation de la transcription est accompagnée par une diminution du recrutement de CTIP2, HDAC2, SUV39H1, HP1 β et γ , et une diminution de la méthylation de la lysine 9 de l'histone H3. Les modifications médiées par CTIP2 se propagent également à Nuc-2, suggérant une propagation tout le long du génome. Enfin, le déplacement de CTIP2 par la stimulation au PMA, et le recrutement des coactivateurs CBP, confirment que CTIP2 joue un rôle important dans la répression transcriptionnelle en imposant une structure chromatinienne au promoteur viral.

Les différentes études réalisées ont permis de démontrer la capacité de CTIP2 à recruter HDAC1 et 2, donc des enzymes qui déacétylent l'histone H3 de Nuc-1, situé sur le site d'initiation de la transcription, permettant ainsi sa stabilisation. CTIP2 permet également le recrutement de SUV39H1, qui méthyle la lysine 9 de l'histone H3. La lysine 9 méthylée conduit alors au recrutement des protéines HP1s et à la formation de l'hétérochromatine. CTIP2 est alors un répresseur de la transcription des gènes viraux, qui conduit à la formation

de la latence post-intégrative et à la mise en place de réservoirs insensibles aux thérapies actuelles.

LSD1, un répresseur de la transcription des gènes viraux dans les cellules microgliales, ...

LSD1 est une enzyme à la fois capable de réprimer et d'activer la transcription. Ainsi, LSD1 est associé à la fois à des complexes répresseurs tels que CoREST, contenant des activités HDAC (Lee et al., 2005; Ouyang et al., 2009; Shi et al., 2005) et à des complexes coactivateurs, tels que hCOMPASS, contenant des activités HMT (Wang et al., 2007). Ainsi, LSD1 peut avoir des rôles différents selon le contexte cellulaire et l'état de méthylation de la lysine 4 de l'histone H3 est un phénomène important dans la régulation de la transcription. L'activité enzymatique de LSD1 est de déméthylater la lysine 4 de l'histone H3, conduisant alors à la répression ou la lysine 9 de l'histone H3 en présence du récepteur de l'androgène, conduisant dans ce cas à l'activation de la transcription (Metzger et al., 2005). La déméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 a été montrée comme étant un pré-requis à la méthylation de la lysine 9 de l'histone H3, lors de l'interaction de LSD1 avec le complexe CoREST.

Dans cette étude, nous avons pu montrer que LSD1 est un répresseur de la transcription des gènes viraux et de la réplication associée dans les cellules microgliales. Des expériences d'activité transcriptionnelle nous ont permis de mettre en évidence la nécessité des sites Sp1 pour l'activité répressive de LSD1. En effet, la mutation de ces sites entraîne l'incapacité de LSD1 à réprimer la transcription virale (**Publication 3**).

Associé au recrutement d'une activité HMT, hSET1, ...

Nos expériences de ChIP, nous ont permis de mettre en lumière le recrutement de LSD1 sur le promoteur viral. Ce recrutement est aboli par la mutation des sites Sp1 (**Publication 3**). Peu de données dans la littérature font mention d'un site de fixation préférentiel de LSD1. Cependant, il semblerait que LSD1 soit capable de se fixer de manière directe au site TLXE, site de fixation du répresseur TLX (The human homologue of the Drosophila tailless gene) (Yokoyama et al., 2008). De plus, une étude récente propose la fixation de LSD1 sur les promoteurs via des interactions indirectes avec les sites Sp1, Pit1, Pbx, ZEB1 et T₃RE (Wang et al., 2007). Dans cette étude, nous montrons la nécessité des sites Sp1 pour l'activité répressive médiée par LSD1.

Le recrutement de LSD1 est concomitant avec le recrutement de la méthylase hSET1 sur le promoteur proximal, et la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Ce recrutement est également aboli par la mutation des sites Sp1 et la diminution de l'expression de LSD1 par

shARN. Cela suggère clairement un lien entre le recrutement de LSD1 et le recrutement de hSET1. D'autres études ont montré la capacité de LSD1 à interagir avec WDR5, un composant du complexe hCOMPASS, comprenant les enzymes MLL1 ou hSET1. WDR5 est un composant tout à fait nécessaire à l'assemblage et à l'activité de ce complexe (Wang et al., 2007). Ainsi, il est tout à fait probable que, dans notre contexte également, le recrutement de hSET1 soit lié à l'interaction de LSD1 avec WDR5. Cette hypothèse est également soutenue par le fait que hSET1 est incapable d'agir sans le complexe hCOMPASS (Briggs et al., 2001; Miller et al., 2001).

Enfin, la réactivation de la transcription par le PMA induit le départ de LSD1 et hSET1 du promoteur proximal et la diminution de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. Ainsi, ces indications nous permettent de suggérer un rôle de LSD1 et hSET1 dans la mise en place de la latence post-intégrative du VIH-1 dans les cellules microgliales.

Nécessaire au recrutement de CTIP2 ???

Notre étude a permis de mettre en évidence une interaction physique entre LSD1 et CTIP2. Cette interaction conduit à une coopération dans la répression de la transcription des gènes viraux. Des expériences de microscopie confocale ont permis de montrer une relocalisation de LSD1 par la surexpression de CTIP2 et une colocalisation entre CTIP2, LSD1 et Tat. Des expériences d'immunoprécipitation chromatinienne, ont mis en lumière la nécessité de LSD1 pour le recrutement de CTIP2 sur le promoteur proximal. Toutefois, la présence de CTIP2 n'est pas nécessaire au recrutement de LSD1 et hSET1 sur le promoteur viral. LSD1 profite de la place libérée par CTIP2. Enfin, hSET1 colocalise partiellement avec LSD1 et Tat.

Ainsi, LSD1 semble nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral. Des études antérieures ont permis de mettre en évidence la capacité de la triméthylation de la lysine 4 à recruter des complexes contenant des activités HDAC ou HMTs. ING2, une sous-unité du complexe répresseur mSin3A-HDAC1 se lie avec une forte affinité à la lysine 4 triméthylée (Shi et al., 2006). De notre côté, nous montrons une interaction directe entre CTIP2 et LSD1, mais cependant, cela n'empêche pas la possibilité d'un meilleur recrutement de CTIP2 lorsque la lysine 4 est sous sa forme méthylée.

Un des mécanismes répresseur de LSD1 serait alors le recrutement de CTIP2 et de son complexe multienzymatique conduisant à la formation d'hétérochromatine via le mécanisme décrit précédemment. Toutefois, le « knock-down » de CTIP2 conduit à une augmentation du recrutement de LSD1 et à une activation de la transcription. Si l'on ajoute à cela un « knock-down » de LSD1, on observe une augmentation synergique de la transcription virale. Cela semble suggérer que l'interaction de LSD1 avec CTIP2 n'est qu'un des mécanismes susceptibles de réprimer la transcription virale.

Une étude récente fait état de l'importance de la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 dans la répression de la transcription cryptique. La triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3, permettrait le recrutement d'un complexe HDAC (RPD3S) conduisant à l'inhibition de la formation du complexe de pré-initiation et ainsi, la répression de la transcription (Pinskaya et al., 2009). La transcription des gènes viraux est un cas particulier de transcription cryptique et ce mécanisme est probable pour la répression de la transcription des gènes viraux. Enfin, LSD1 pourrait également être capable de recruter d'autres facteurs répresseurs.

Ainsi, mon avis personnel concernant ces résultats est que LSD1 est probablement associé à WDR5 permettant alors le recrutement de l'ensemble du complexe hCOMPASS et pas uniquement l'enzyme hSET1. Ce complexe faciliterait alors le recrutement du complexe associé à CTIP2, d'une part par une interaction directe entre CTIP2 et LSD1, mais peut être aussi grâce à la triméthylation de la lysine 4 qui est associé au recrutement d'activité HDAC. Tout cela conduirait alors la mise en place d'un environnement hétérochromatinien. Cette nouvelle hypothèse que je propose est toutefois encore à confirmer par des expériences complémentaires. Elle apporte également une preuve supplémentaire de la très grande complexité de la latence du VIH-1. En effet, je suis tout à fait persuadée qu'il existe non pas un mécanisme de mise en place de la latence mais des mécanismes de mise en place de la latence intervenant dans des cellules différentes mais également au sein d'un même type cellulaire selon le contexte dans le quel le virus et la cellule cible évoluent.

Et dans les lymphocytes T ???

- **CTIP2 est un activateur de la phase tardive de la transcription des gènes viraux**

La réplication du virus VIH-1 dans les lymphocytes T est grandement affectée par la diminution de l'expression de CTIP2. En effet, dans la lignée cellulaire ou dans les lymphocytes T primaires, l'invalidation de l'expression de CTIP2, conduit à une forte diminution de la réplication du virus. CTIP2 semble être un activateur de la réplication virale (**Publication 4**).

Des essais transcriptionnels, nous ont permis de montrer que CTIP2 est un activateur de la phase tardive de la transcription des gènes viraux dans les lymphocytes T. Les traitements stimulateurs sont incapables de restaurer le niveau basal de la réplication et de la phase tardive de la transcription virale suite à une répression induite par un shCTIP2. Il semblerait que l'effet observé soit uniquement du à la facilitation de l'effet de Tat en présence de CTIP2 (**Publication 4**). CTIP2 serait alors nécessaire à la bonne transactivation de la transcription médiée par Tat. Ainsi, CTIP2 serait peut être capable de faciliter le recrutement de

l'ARNpolIII processive ou du complexe pTEF-b nécessaire à l'activité de Tat. Des expériences complémentaires vont permettre de répondre à cette hypothèse.

CTIP2 a été démontré comme responsable de la répression de la transcription des gènes viraux dans les lymphocytes T (Cismasiu et al., 2008). Toutefois, dans notre modèle d'étude, ainsi que dans les lymphocytes T primaires, nous avons été incapables de montrer une activité répressive de CTIP2. Dans le même type cellulaire, CTIP2 a été montré comme étant un activateur de la transcription de l'IL-2. Lors de la stimulation de cellule via son récepteur TCR (T Cell Receptor), les auteurs ont démontré une augmentation du recrutement de CTIP2 sur le promoteur de l'IL-2, via les sites US1 (Cismasiu et al., 2006). L'activation de la transcription de l'IL-2 pourrait se faire via deux mécanismes possibles. D'une part, CTIP2 permettrait le recrutement sur le promoteur de CBP/p300 (Cismasiu et al., 2006). D'autre part, CTIP2 permet, suite à l'activation des lymphocytes T par le TCR, l'augmentation de la translocation de NF- κ B dans le noyau par une augmentation de la dégradation de I κ B. En effet, CTIP2 augmente l'activité de la Cot Kinase, qui va activer IKK pour phosphoryler I κ B et finalement induire sa dégradation (Cismasiu et al., 2009).

- **CTIP2 induit le recrutement d'un complexe multienzymatique sur le promoteur viral**

Dans ce contexte, nous avons voulu connaître le mécanisme d'action de CTIP2. Des expériences d'immunoprécipitation chromatinienne ont révélé que le recrutement de CTIP2 est induit par une activation de la transcription (par le PMA ou par la protéine virale Tat). Le recrutement de CTIP2 est corrélé à une augmentation de la triméthylation de la lysine 9 et au recrutement de HP1 γ (**Publication 4**). Ainsi, un mécanisme activateur conduit à première vue à la mise en place d'une modification longtemps considérée comme répressive. Des études récentes, tendent à montrer que la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et le recrutement de HP1 γ , sont également retrouvés lors de l'activation de la transcription de l'IL-2 (Vakoc et al., 2005). Cependant, la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 ne semble pas majoritaire vis-à-vis de l'état d'acétylation de l'histone H3. En effet, lors de la stimulation de la transcription par le PMA, on observe une forte augmentation de l'histone H3 sous sa forme acétylée, démontrant bien ainsi l'état d'activation de la transcription. De plus, le traitement à la TSA, un inhibiteur des HDAC de classe 1 et 2, permet bien, dans notre cas, une augmentation de la transcription virale (**Publication 4**).

Dans les cellules microgliales, le recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral se fait via une interaction de CTIP2 avec Sp1 et COUP-TF, ce qui permet de dire que probablement, c'est le cas également dans les lymphocytes T. Cependant, cela n'exclut pas que d'autres mécanismes de recrutement de CTIP2 puissent exister.

De récentes mises en évidence tendent à montrer l'implication des HDAC et de SUV39H1 dans la mise en place de la latence post-intégrative dans les lymphocytes T. Ainsi, de nombreux facteurs répresseurs tels que YY1 (He and Margolis, 2002), le dimère p50 (Williams et al., 2006) et CBF-1 (Tyagi and Karn, 2007) sont associés à des activités HDAC et HMT. Une étude a alors pu montrer l'implication de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et le recrutement de HP1 β sur le promoteur viral, dans la mise en place de la latence virale dans les lymphocytes T (Pearson et al., 2008). Cette étude montre également l'importance de NF- κ B dans la réactivation de la transcription des gènes viraux. De plus, une autre étude a pu montrer que HP1 β est lié à la forme non processive de l'ARNpolIII (Ser2 phosphorylée) alors que HP1 γ est fortement lié à la forme processive de l'ARNpolIII (Ser2 et Ser5 phosphorylées) (Mateescu et al., 2008). HP1 β serait alors plutôt recruté lors de la répression de la transcription et HP1 γ lors de l'activation de la répression.

Dans cette étude, nous montrons l'augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et le recrutement de HP1 γ lors de l'activation de la transcription. Ainsi, la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 est une marque polyvalente, permettant selon l'isoforme de HP1 recrutée, soit une activation, soit une répression de la transcription.

La dernière étape de notre étude a été de découvrir les enzymes associées à CTIP2. Ainsi, des expériences de CHIP ont révélées le recrutement de HDAC2 et SUV39H1 de manière concomitante avec CTIP2. Toutefois, le « knock-down » de CTIP2 induit la diminution de la présence HDAC2 et SUV39H1 sur le promoteur viral, mais pas de HDAC1. Cette constatation avait déjà été faite dans les cellules microgliales. Des mécanismes compensateurs doivent donc se mettre en place, permettant le maintien de HDAC1 sur le promoteur viral. Ainsi, il semblerait que CTIP2 soit capable tout comme dans les cellules microgliales de recruter HDAC1, HDAC2 et SUV39H1 dans le but de méthyler la lysine 9 de l'histone H3 et de recruter HP1 γ . La présence de HP1 γ doit probablement permettre une meilleure fixation de l'ARNpolIII sous sa forme processive. Des expériences complémentaires devront répondre à cette question. Une étude menée sur CTIP2 dans les lymphocytes T a pu montrée son association avec le complexe NuRD (Cismasiu et al., 2005). Nous n'avons, dans ces cellules, pas encore réalisé les expériences nécessaires pour vérifier cette hypothèse dans notre contexte.

Pour conclure, dans les lymphocytes T, CTIP2 est capable de recruter le même complexe multienzymatique que dans les cellules microgliales, conduisant alors à l'augmentation de la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et au recrutement de HP1 γ . Cette modification de la structure chromatinienne conduit cette fois-ci à une activation de la transcription virale.

Concernant mon travail sur les lymphocytes T, je pense que le recrutement d'activités HDAC par CTIP2 sur le promoteur viral joue un rôle important dans l'activation de la transcription (que ce soit par le PMA ou par la protéine virale Tat), notamment en favorisant le

recrutement de la protéine HP1 γ . Celle-ci pourrait alors être responsable d'une meilleure association entre l'ARNpolIII processive et le site d'initiation. Cependant je suis convaincue que ce complexe n'est pas le seul recruté sur le promoteur viral par CTIP2. En effet, nos expériences de ChIP ont pu montrer que lors d'une invalidation de CTIP2, on observe une très nette diminution de l'état d'acétylation global de l'histone H3. Ainsi, je pense que CTIP2 permet l'association d'un autre complexe contenant notamment une activité HAT. Cette hypothèse devra elle aussi être vérifiée par d'autres expériences complémentaires.

Nos études ont ainsi permis la mise en évidence d'un mécanisme de formation de la latence post-intégrative, dans les cellules microgliales. Ainsi, dans les cellules microgliales, LSD1 et le recrutement corrélé de hSET1 permet la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. L'interaction directe avec LSD1 est nécessaire pour le recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral. CTIP2, quant à lui, permet le recrutement de HDAC1 et 2, et SUV39H1, conduisant à la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et au recrutement des protéines HP1. Cela a pour conséquence la formation d'un environnement hétérochromatinien et la mise en place de la latence post-intégrative. Dans les lymphocytes T, CTIP2 est capable de recruter le même complexe multienzymatique, mais conduisant cette fois à une activation de la transcription virale, probablement grâce au recrutement prépondérant de HP1 γ , connu pour faciliter la liaison avec l'ARNpolIII processive.

Une des explications permettant de comprendre la différence d'action de CTIP2 dans les deux types cellulaires étudiés, est le recrutement des protéines HP1 qui n'est pas le même si l'on considère les cellules microgliales et les lymphocytes T. En effet, ce recrutement différent pourrait permettre l'association de protéines différentes dans les deux types cellulaires. Dans les cellules microgliales, le recrutement des trois protéines HP1 engendre la condensation de la chromatine, alors que dans les lymphocytes T, la très nette augmentation du recrutement de HP1 γ par CTIP2 rendrait possible l'association de l'ARNpolIII processive. Une autre explication serait le recrutement par CTIP2 d'un deuxième complexe associé à des activités HAT dans les lymphocytes T qui n'aurait pas lieu dans les cellules microgliales.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Dans un premier temps, nos études ont permis de mettre en évidence que CTIP2 réprime la réplication du VIH-1 dans les cellules microgliales, en induisant la formation de structures hétérochromatiniennes tout au long du provirus. Nous avons ainsi pu déterminer que le domaine 1-354 de CTIP2 est responsable du recrutement de HDAC1 et HDAC2 sur le promoteur viral ; le domaine 145-434 permet à CTIP2 d'être recruté sur le promoteur viral via les interactions avec Sp1 et COUP-TF. De plus, il permet également les interactions avec SUV39H1 et la protéine virale Tat ; enfin, le domaine 717-813 permet le recrutement de HP1 α .

Ainsi, une fois recruté sur le promoteur viral via Sp1, CTIP2 recrute HDAC1 et 2, ce qui provoque la déacétylation de la lysine 9 de l'histone H3. CTIP2 interagit avec SUV39H1 permettant la méthylation de la lysine 9 de l'histone H3. La forme méthylée de la lysine 9 va permettre le recrutement de HP1 α qui interagit également avec CTIP2.

La polymérisation de HP1 le long du provirus va permettre l'inaccessibilité du promoteur aux facteurs de transcription. CTIP2 est alors responsable de la mise en place et du maintien de la latence post-intégrative du VIH-1 dans les cellules microgliales.

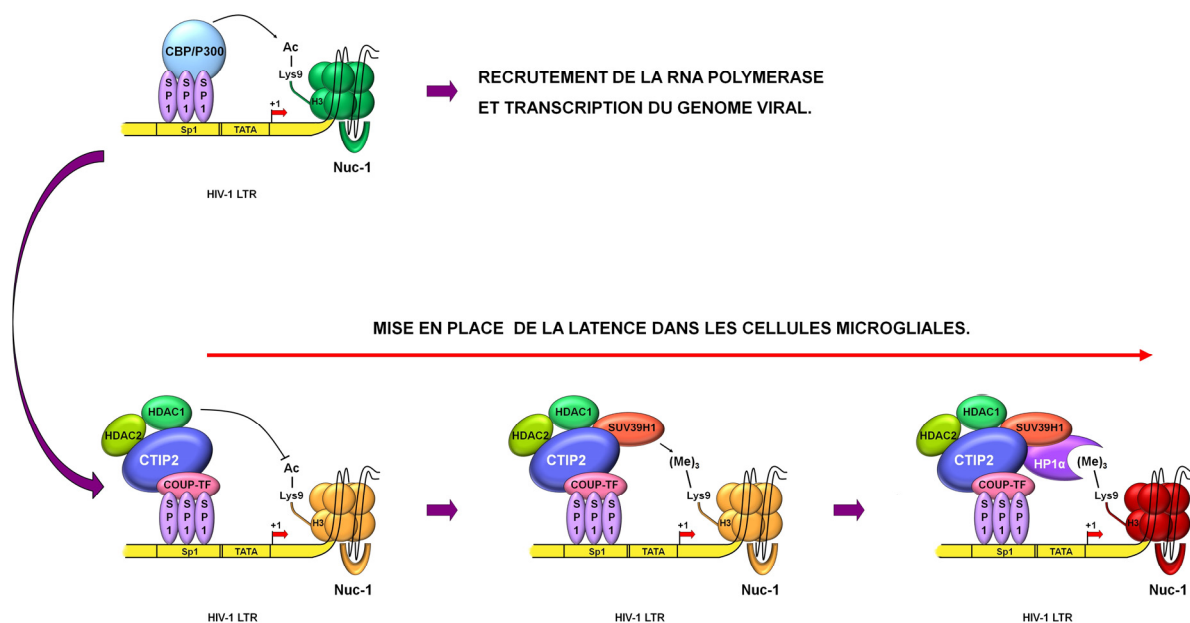


Figure 62 : Le mécanisme d'action de CTIP2 dans les cellules microgliales

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la déméthylase LSD1, capable de déméthylater la lysine 4 de l'histone H3. Des études mettaient en évidence la nécessité de la déméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 pour la méthylation de la lysine 9 de l'histone H3. Ainsi, LSD1 est connue pour être impliquée dans la répression de la transcription, notamment lorsqu'elle est associée au complexe CoREST. Nous avons alors voulu savoir, si

elle pouvait avoir un rôle dans la mise en place de la latence virale dans les cellules microgliales.

Nos études ont révélé un effet répressur de LSD1 sur la transcription virale. LSD1 est capable d'être recruté sur le promoteur viral probablement via les sites Sp1. Le recrutement de LSD1 est corrélé au recrutement de hSET1, une méthylase qui permet la méthylation de la lysine 4 de l'histone H3. De plus, la présence de LSD1 sur le promoteur viral est nécessaire au recrutement de CTIP2 sur le promoteur viral ; CTIP2 serait alors recruté sur le promoteur viral via une interaction directe avec LSD1.

LSD1 est, dans notre cas, un répressur de la transcription des gènes viraux, conduisant à la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3 et au recrutement de CTIP2. Ainsi, LSD1 serait le premier partenaire à être recruté sur le promoteur viral, permettant le recrutement de CTIP2 et de sa machinerie répressive.

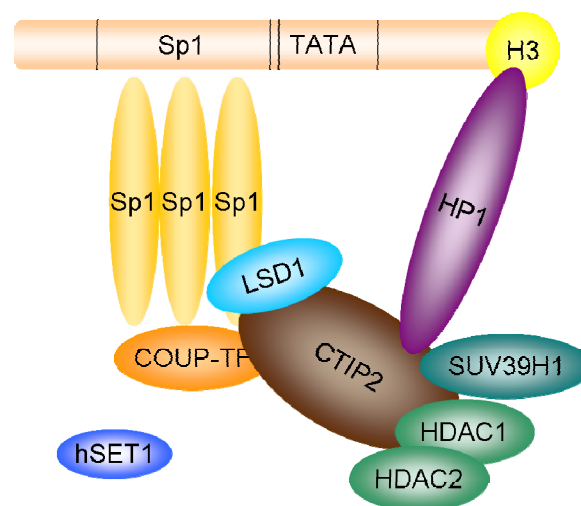


Figure 63 : Modèle moléculaire de l'action de LSD1 dans les cellules microgliales

Enfin, nous avons voulu élargir le mécanisme d'action de CTIP2 aux lymphocytes T CD4+. Toutefois, nous nous sommes rendu compte de l'effet activateur de la transcription de CTIP2 dans ces cellules. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence que CTIP2 est recruté sur le promoteur viral après une activation de la transcription par le PMA, mais aussi par la protéine virale Tat. CTIP2 semble grandement faciliter la transactivation médiée par Tat. CTIP2 permet le recrutement de HDAC2, voire de HDAC1 et de SUV39H1, sur le promoteur viral. Il en résulte la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 et le recrutement de HP1 γ . Cet isoforme est connu pour être liée avec la forme processive de l'ARNpolIII. Ainsi, cela expliquerait la facilitation de la transactivation médiée par Tat grâce à CTIP2.

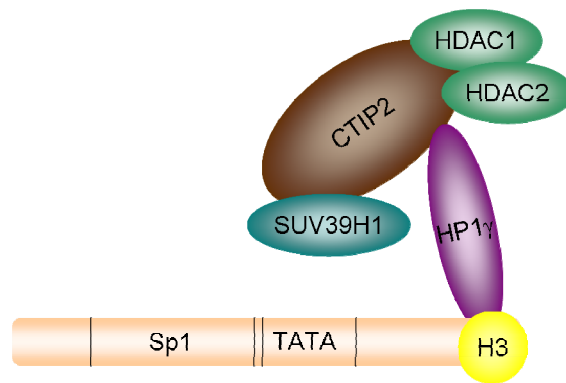


Figure 64 : Modèle moléculaire de l'effet de CTIP2 dans les lymphocytes T

La poursuite de nos études, va permettre de déceler si, oui ou non, le complexe hCOMPASS est présent sur le promoteur viral dans les cellules microgliales. En effet, une interaction entre LSD1 et WDR5, une sous-unité importante pour l'assemblage et l'activité de hCOMPASS, a déjà été montrée dans le passé (Wang et al., 2007). De même, nous allons chercher à déterminer dans quelle mesure la triméthylation de la lysine 4 est importante pour le recrutement de CTIP2. Enfin, concernant cette partie du projet, nous allons vérifier s'il peut y avoir d'autres complexes multienzymatiques, tels que celui de CTIP2, lié à LSD1 dans les cellules microgliales. Nous pourrions également affiner les domaines d'interaction entre LSD1 et CTIP2 et vérifier s'il existe une interaction directe entre LSD1 et hSET1.

Concernant les lymphocytes T CD4+, il serait intéressant de vérifier maintenant l'action de LSD1 ; est-il un répresseur ou un activateur dans ces cellules ? Il serait également intéressant de confirmer l'hypothèse de la fixation de la forme processive de l'ARNpolIII sur HP1γ, mais également de chercher à déterminer si CTIP2 est capable de recruter un complexe pTEF-b sous sa forme active. De plus, une étude menée sur les lymphocytes T latents sans l'influence de l'IL-2 serait particulièrement intéressante. En effet, l'IL-2 peut modifier les complexes associés à CTIP2.

Ces résultats ont permis de mettre en évidence que CTIP2 est un facteur polyvalent permettant, dans certains types cellulaires, la mise en place de la latence post-intégrative. Toutefois, c'est également un puissant activateur de la transcription des gènes viraux. Cela nous permet de mieux comprendre les mécanismes de mise en place et de maintien de la latence virale. Dans les lymphocytes T CD4+, malgré l'implication de la triméthylation de la lysine 9 dans un phénomène activateur, un traitement au PMA conduit cependant encore à l'augmentation de l'acétylation globale de l'histone H3, conservant alors un rôle aux HDAC dans la mise en place de la latence. La lysine acétylée est probablement la lysine 14 qui, lorsqu'elle est acétylée est prioritaire par rapport aux autres marques épigénétiques.

Ainsi, nos résultats ne vont pas à l'encontre des résultats obtenus dans d'autres études ; toutefois, ils démontrent une action différente de la triméthylation de la lysine 9.

ANNEXES

Publication 5

CTIP2 et SUV39H1 répriment la transcription du gène p21

CTIP2 possède un effet anti-apoptotique. En effet, les thymocytes KO pour CTIP2 semblent plus touchés par l'apoptose (Wakabayashi et al., 2003b). De plus, CTIP2 possède également un rôle de suppresseur de tumeurs (Wakabayashi et al., 2003a).

Régulée de manière prédominante au niveau de la transcription, la protéine p21 est un régulateur du cycle cellulaire en réponse aux dommages de l'ADN, à la sénescence et lors de la suppression de tumeurs. Tout comme le promoteur viral, le promoteur proximal de p21 possède des sites de fixation pour la protéine Sp1, qui constitue une cible de choix pour le recrutement de CTIP2.

CTIP2 est recruté sur le promoteur de p21 et réprime la transcription, via des interactions avec des histones déacétylases et l'histone méthyltransférase SUV39H1, visualisés en ChIP et en test d'activité transcriptionnelle. De plus, un traitement à la chaetocine, un inhibiteur spécifique de SUV39H1, réprime la triméthylation de la lysine 9 de l'histone H3 sur le promoteur de p21, induit la transcription de ce gène et l'arrêt du cycle cellulaire. Ainsi, il semblerait que CTIP2 agit sur la transcription de p21, en créant un environnement hétérochromatinien au niveau du promoteur de ce gène, inhibant alors l'expression de la protéine p21.

L'induction de p21 par l'infection au VIH est bénéfique pour l'expression du virus dans les macrophages. En effet, la protéine virale Vpr provoque l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M et active alors l'expression virale, grâce à une interaction de Vpr sur le promoteur de p21.

CTIP2 abolit la stimulation de p21 induite par Vpr et contribue alors indirectement à la mise en place de la latence virale.

CTIP2 est alors un régulateur de l'expression de p21, qui coopère avec SUV39H1 pour induire une répression de la transcription de p21. De cette façon, CTIP2 favorise la mise en place de la latence en induisant un contexte cellulaire défavorable à l'expression virale.

Revue 1

La régulation de l'expression du VIH-1 dans la lignée monocyte-macrophage et dans les lymphocytes T CD4+ : de la latence à la réactivation

L'introduction de la multi-thérapie active (HAART) en 1996 a soutenu l'espoir de l'éradication du VIH-1. Toutefois, l'optimisme a été tempéré face à la découverte de l'existence de réservoirs viraux latents, comme les lymphocytes T CD4+ et les cellules microgliales, les macrophages résidents du système nerveux central. Ces réservoirs à longue durée de vie, constituent l'obstacle majeur à l'éradication du virus. Une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine de la latence est essentielle pour l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques. L'identification des composants cellulaires et viraux, qui induisent la réactivation de la réplication du VIH-1 chez les personnes infectées, pourrait être utile dans le design de nouvelles molécules servant à la purge des réservoirs. Cette stratégie thérapeutique, associée à la multi-thérapie (HAART), soutient l'espoir de l'un des plus grand défis de ce début de 21^e siècle : l'éradication du VIH-1 des patients infectés.

REFERENCES

(2007) FDA approves maraviroc tablets. *AIDS Patient Care STDS*, **21**, 702.

A

- Adamson, D.C., Wildemann, B., Sasaki, M., Glass, J.D., McArthur, J.C., Christov, V.I., Dawson, T.M. and Dawson, V.L. (1996) Immunologic NO synthase: elevation in severe AIDS dementia and induction by HIV-1 gp41. *Science*, **274**, 1917-1921.
- Agbottah, E., Deng, L., Dannenberg, L.O., Pumfery, A. and Kashanchi, F. (2006) Effect of SWI/SNF chromatin remodeling complex on HIV-1 Tat activated transcription. *Retrovirology*, **3**, 48.
- Agostini, I., Navarro, J.M., Bouhamdan, M., Willetts, K., Rey, F., Spire, B., Vigne, R., Pomerantz, R. and Sire, J. (1999) The HIV-1 Vpr co-activator induces a conformational change in TFIIB. *FEBS Lett*, **450**, 235-239.
- Ahringer, J. (2000) NuRD and SIN3 histone deacetylase complexes in development. *Trends Genet*, **16**, 351-356.
- Alizon, M., Sonigo, P., Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Tiollais, P., Montagnier, L. and Wain-Hobson, S. (1984) Molecular cloning of lymphadenopathy-associated virus. *Nature*, **312**, 757-760.
- Alkhatib, G., Combadiere, C., Broder, C.C., Feng, Y., Kennedy, P.E., Murphy, P.M. and Berger, E.A. (1996) CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science*, **272**, 1955-1958.
- Amara, A., Gall, S.L., Schwartz, O., Salamero, J., Montes, M., Loetscher, P., Baggiolini, M., Virelizier, J.L. and Arenzana-Seisdedos, F. (1997) HIV coreceptor downregulation as antiviral principle: SDF-1alpha-dependent internalization of the chemokine receptor CXCR4 contributes to inhibition of HIV replication. *J Exp Med*, **186**, 139-146.
- Anderson, J. and Akkina, R. (2005) CXCR4 and CCR5 shRNA transgenic CD34+ cell derived macrophages are functionally normal and resist HIV-1 infection. *Retrovirology*, **2**, 53.
- Aramori, I., Ferguson, S.S., Bieniasz, P.D., Zhang, J., Cullen, B. and Cullen, M.G. (1997) Molecular mechanism of desensitization of the chemokine receptor CCR-5: receptor signaling and internalization are dissociable from its role as an HIV-1 co-receptor. *Embo J*, **16**, 4606-4616.
- Aranda, A. and Pascual, A. (2001) Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev*, **81**, 1269-1304.
- Aravin, A., Gaidatzis, D., Pfeffer, S., Lagos-Quintana, M., Landgraf, P., Iovino, N., Morris, P., Brownstein, M.J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Chien, M., Russo, J.J., Ju, J., Sheridan, R., Sander, C., Zavolan, M. and Tuschl, T. (2006) A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes. *Nature*, **442**, 203-207.
- Aravin, A.A., Hannon, G.J. and Brennecke, J. (2007) The Piwi-piRNA pathway provides an adaptive defense in the transposon arms race. *Science*, **318**, 761-764.
- Archin, N.M., Eron, J.J., Palmer, S., Hartmann-Duff, A., Martinson, J.A., Wiegand, A., Bandarenko, N., Schmitz, J.L., Bosch, R.J., Landay, A.L., Coffin, J.M. and Margolis, D.M. (2008) Valproic acid without intensified antiviral therapy has limited impact on persistent HIV infection of resting CD4+ T cells. *Aids*, **22**, 1131-1135.
- Archin, N.M., Espeseth, A., Parker, D., Cheema, M., Hazuda, D. and Margolis, D.M. (2009a) Expression of latent HIV induced by the potent HDAC inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **25**, 207-212.
- Archin, N.M., Keedy, K.S., Espeseth, A., Dang, H., Hazuda, D.J. and Margolis, D.M. (2009b) Expression of latent human immunodeficiency type 1 is induced by novel and selective histone deacetylase inhibitors. *Aids*.

- Arents, G., Burlingame, R.W., Wang, B.C., Love, W.E. and Moudrianakis, E.N. (1991) The nucleosomal core histone octamer at 3.1 Å resolution: a tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **88**, 10148-10152.
- Arfi, V., Riviere, L., Jarrosson-Wuilleme, L., Goujon, C., Rigal, D., Darlix, J.L. and Cimarelli, A. (2008) Characterization of the early steps of infection of primary blood monocytes by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, **82**, 6557-6565.
- Arhel, N., Genovesio, A., Kim, K.A., Miko, S., Perret, E., Olivo-Marin, J.C., Shorte, S. and Charneau, P. (2006) Quantitative four-dimensional tracking of cytoplasmic and nuclear HIV-1 complexes. *Nat Methods*, **3**, 817-824.
- Arhel, N.J., Souquere-Besse, S., Munier, S., Souque, P., Guadagnini, S., Rutherford, S., Prevost, M.C., Allen, T.D. and Charneau, P. (2007) HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration complex at the nuclear pore. *Embo J*, **26**, 3025-3037.
- Arlen, P.A., Brooks, D.G., Gao, L.Y., Vatakis, D., Brown, H.J. and Zack, J.A. (2006) Rapid expression of human immunodeficiency virus following activation of latently infected cells. *J Virol*, **80**, 1599-1603.
- Arlotta, P., Molyneaux, B.J., Chen, J., Inoue, J., Kominami, R. and Macklis, J.D. (2005) Neuronal subtype-specific genes that control corticospinal motor neuron development in vivo. *Neuron*, **45**, 207-221.
- Artavanis-Tsakonas, S., Rand, M.D. and Lake, R.J. (1999) Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*, **284**, 770-776.
- Avram, D., Fields, A., Pretty On Top, K., Nevriy, D.J., Ishmael, J.E. and Leid, M. (2000) Isolation of a novel family of C(2)H(2) zinc finger proteins implicated in transcriptional repression mediated by chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor (COUP-TF) orphan nuclear receptors. *J Biol Chem*, **275**, 10315-10322.
- Avram, D., Fields, A., Senawong, T., Topark-Ngarm, A. and Leid, M. (2002) COUP-TF (chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor)-interacting protein 1 (CTIP1) is a sequence-specific DNA binding protein. *Biochem J*, **368**, 555-563.

B

- Backhed, F., Alsen, B., Roche, N., Angstrom, J., von Euler, A., Breimer, M.E., Westerlund-Wikstrom, B., Teneberg, S. and Richter-Dahlfors, A. (2002) Identification of target tissue glycosphingolipid receptors for uropathogenic, F1C-fimbriated Escherichia coli and its role in mucosal inflammation. *J Biol Chem*, **277**, 18198-18205.
- Badenhorst, P., Voas, M., Rebay, I. and Wu, C. (2002) Biological functions of the ISWI chromatin remodeling complex NURF. *Genes Dev*, **16**, 3186-3198.
- Bagasra, O., Lavi, E., Bobroski, L., Khalili, K., Pestaner, J.P., Tawadros, R. and Pomerantz, R.J. (1996) Cellular reservoirs of HIV-1 in the central nervous system of infected individuals: identification by the combination of in situ polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *Aids*, **10**, 573-585.
- Baggiolini, M., Dewald, B. and Moser, B. (1997) Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol*, **15**, 675-705.
- Banks, W.A., Freed, E.O., Wolf, K.M., Robinson, S.M., Franko, M. and Kumar, V.B. (2001) Transport of human immunodeficiency virus type 1 pseudoviruses across the blood-brain barrier: role of envelope proteins and adsorptive endocytosis. *J Virol*, **75**, 4681-4691.
- Banks, W.A., Kastin, A.J. and Akerstrom, V. (1997) HIV-1 protein gp120 crosses the blood-brain barrier: role of adsorptive endocytosis. *Life Sci*, **61**, PL119-125.

- Banks, W.A., Robinson, S.M., Wolf, K.M., Bess, J.W., Jr. and Arthur, L.O. (2004) Binding, internalization, and membrane incorporation of human immunodeficiency virus-1 at the blood-brain barrier is differentially regulated. *Neuroscience*, **128**, 143-153.
- Bannister, A.J., Zegerman, P., Partridge, J.F., Miska, E.A., Thomas, J.O., Allshire, R.C. and Kouzarides, T. (2001) Selective recognition of methylated lysine 9 on histone H3 by the HP1 chromo domain. *Nature*, **410**, 120-124.
- Bao, Y. and Shen, X. (2007) Chromatin remodeling in DNA double-strand break repair. *Curr Opin Genet Dev*, **17**, 126-131.
- Barber, S.A., Gama, L., Dudaronek, J.M., Voelker, T., Tarwater, P.M. and Clements, J.E. (2006) Mechanism for the establishment of transcriptional HIV latency in the brain in a simian immunodeficiency virus-macaque model. *J Infect Dis*, **193**, 963-970.
- Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dautet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W. and Montagnier, L. (1983) Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, **220**, 868-871.
- Bartholomeeusen, K., Christ, F., Hendrix, J., Rain, J.C., Emiliani, S., Benarous, R., Debyser, Z., Gijssbers, R. and De Rijck, J. (2009) Lens epithelium-derived growth factor/p75 interacts with the transposase-derived DDE domain of PoggZ. *J Biol Chem*, **284**, 11467-11477.
- Batista, P.J., Ruby, J.G., Claycomb, J.M., Chiang, R., Fahlgren, N., Kasschau, K.D., Chaves, D.A., Gu, W., Vasale, J.J., Duan, S., Conte, D., Jr., Luo, S., Schroth, G.P., Carrington, J.C., Bartel, D.P. and Mello, C.C. (2008) PRG-1 and 21U-RNAs interact to form the piRNA complex required for fertility in *C. elegans*. *Mol Cell*, **31**, 67-78.
- Baulcombe, D. (2004) RNA silencing in plants. *Nature*, **431**, 356-363.
- Becker, P.B. and Horz, W. (2002) ATP-dependent nucleosome remodeling. *Annu Rev Biochem*, **71**, 247-273.
- Bedford, M.T. and Clarke, S.G. (2009) Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why. *Mol Cell*, **33**, 1-13.
- Benkirane, M., Chun, R.F., Xiao, H., Ogryzko, V.V., Howard, B.H., Nakatani, Y. and Jeang, K.T. (1998) Activation of integrated provirus requires histone acetyltransferase. p300 and P/CAF are coactivators for HIV-1 Tat. *J Biol Chem*, **273**, 24898-24905.
- Bennasser, Y. and Jeang, K.T. (2006) HIV-1 Tat interaction with Dicer: requirement for RNA. *Retrovirology*, **3**, 95.
- Bennasser, Y., Le, S.Y., Yeung, M.L. and Jeang, K.T. (2004) HIV-1 encoded candidate micro-RNAs and their cellular targets. *Retrovirology*, **1**, 43.
- Bennasser, Y., Yeung, M.L. and Jeang, K.T. (2006) HIV-1 TAR RNA subverts RNA interference in transfected cells through sequestration of TAR RNA-binding protein, TRBP. *J Biol Chem*, **281**, 27674-27678.
- Berkhout, B., Silverman, R.H. and Jeang, K.T. (1989) Tat trans-activates the human immunodeficiency virus through a nascent RNA target. *Cell*, **59**, 273-282.
- Berkowitz, R.D., Luban, J. and Goff, S.P. (1993) Specific binding of human immunodeficiency virus type 1 gag polyprotein and nucleocapsid protein to viral RNAs detected by RNA mobility shift assays. *J Virol*, **67**, 7190-7200.
- Bernstein, B.E., Kamal, M., Lindblad-Toh, K., Bekiranov, S., Bailey, D.K., Huebert, D.J., McMahon, S., Karlsson, E.K., Kulbokas, E.J., 3rd, Gingeras, T.R., Schreiber, S.L. and Lander, E.S. (2005) Genomic maps and comparative analysis of histone modifications in human and mouse. *Cell*, **120**, 169-181.
- Bertos, N.R., Wang, A.H. and Yang, X.J. (2001) Class II histone deacetylases: structure, function, and regulation. *Biochem Cell Biol*, **79**, 243-252.

- Bezzi, P., Carmignoto, G., Pasti, L., Vesce, S., Rossi, D., Rizzini, B.L., Pozzan, T. and Volterra, A. (1998) Prostaglandins stimulate calcium-dependent glutamate release in astrocytes. *Nature*, **391**, 281-285.
- Binette, J., Dube, M., Mercier, J., Halawani, D., Latterich, M. and Cohen, E.A. (2007) Requirements for the selective degradation of CD4 receptor molecules by the human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein in the endoplasmic reticulum. *Retrovirology*, **4**, 75.
- Blank, T.A. and Becker, P.B. (1995) Electrostatic mechanism of nucleosome spacing. *J Mol Biol*, **252**, 305-313.
- Blauvelt, A., Asada, H., Saville, M.W., Klaus-Kovtun, V., Altman, D.J., Yarchoan, R. and Katz, S.I. (1997) Productive infection of dendritic cells by HIV-1 and their ability to capture virus are mediated through separate pathways. *J Clin Invest*, **100**, 2043-2053.
- Bobardt, M.D., Salmon, P., Wang, L., Esko, J.D., Gabuzda, D., Fiala, M., Trono, D., Van der Schueren, B., David, G. and Gally, P.A. (2004) Contribution of proteoglycans to human immunodeficiency virus type 1 brain invasion. *J Virol*, **78**, 6567-6584.
- Boese, A., Sommer, P., Holzer, D., Maier, R. and Nehrbass, U. (2009) Integrase Interactor 1 (Ini1/hSNF5) is a repressor of basalHIV-1 promoter activity. *J Gen Virol*.
- Bogerd, H. and Greene, W.C. (1993) Dominant negative mutants of human T-cell leukemia virus type I Rex and human immunodeficiency virus type 1 Rev fail to multimerize in vivo. *J Virol*, **67**, 2496-2502.
- Bohnlein, E., Berger, J. and Hauber, J. (1991) Functional mapping of the human immunodeficiency virus type 1 Rev RNA binding domain: new insights into the domain structure of Rev and Rex. *J Virol*, **65**, 7051-7055.
- Boulanger, M.C., Liang, C., Russell, R.S., Lin, R., Bedford, M.T., Wainberg, M.A. and Richard, S. (2005) Methylation of Tat by PRMT6 regulates human immunodeficiency virus type 1 gene expression. *J Virol*, **79**, 124-131.
- Boyer, L.A., Latek, R.R. and Peterson, C.L. (2004) The SANT domain: a unique histone-tail-binding module? *Nat Rev Mol Cell Biol*, **5**, 158-163.
- Bres, V., Kiernan, R.E., Linares, L.K., Chable-Bessia, C., Plechakova, O., Treand, C., Emiliani, S., Peloponese, J.M., Jeang, K.T., Coux, O., Scheffner, M. and Benkirane, M. (2003) A non-proteolytic role for ubiquitin in Tat-mediated transactivation of the HIV-1 promoter. *Nat Cell Biol*, **5**, 754-761.
- Bres, V., Tagami, H., Peloponese, J.M., Loret, E., Jeang, K.T., Nakatani, Y., Emiliani, S., Benkirane, M. and Kiernan, R.E. (2002) Differential acetylation of Tat coordinates its interaction with the co-activators cyclin T1 and PCAF. *Embo J*, **21**, 6811-6819.
- Brew, B.J., Rosenblum, M., Cronin, K. and Price, R.W. (1995) AIDS dementia complex and HIV-1 brain infection: clinical-virological correlations. *Ann Neurol*, **38**, 563-570.
- Briggs, J.A., Simon, M.N., Gross, I., Krausslich, H.G., Fuller, S.D., Vogt, V.M. and Johnson, M.C. (2004) The stoichiometry of Gag protein in HIV-1. *Nat Struct Mol Biol*, **11**, 672-675.
- Briggs, S.D., Bryk, M., Strahl, B.D., Cheung, W.L., Davie, J.K., Dent, S.Y., Winston, F. and Allis, C.D. (2001) Histone H3 lysine 4 methylation is mediated by Set1 and required for cell growth and rDNA silencing in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev*, **15**, 3286-3295.
- Brother, M.B., Chang, H.K., Lisziewicz, J., Su, D., Murty, L.C. and Ensoli, B. (1996) Block of Tat-mediated transactivation of tumor necrosis factor beta gene expression by polymeric-TAR decoys. *Virology*, **222**, 252-256.
- Buhler, M. and Moazed, D. (2007) Transcription and RNAi in heterochromatic gene silencing. *Nat Struct Mol Biol*, **14**, 1041-1048.

- Buker, S.M., Iida, T., Buhler, M., Villen, J., Gygi, S.P., Nakayama, J. and Moazed, D. (2007) Two different Argonaute complexes are required for siRNA generation and heterochromatin assembly in fission yeast. *Nat Struct Mol Biol*, **14**, 200-207.
- Bukrinskaya, A. (2007) HIV-1 matrix protein: a mysterious regulator of the viral life cycle. *Virus Res*, **124**, 1-11.
- Bukrinsky, M.I. and Haffar, O.K. (1999) HIV-1 nuclear import: in search of a leader. *Front Biosci*, **4**, D772-781.
- Burton, A. (2003) Enfuvirtide approved for defusing HIV. *Lancet Infect Dis*, **3**, 260.

C

- Calame, K. and Atchison, M. (2007) YY1 helps to bring loose ends together. *Genes Dev*, **21**, 1145-1152.
- Calao, M., Burny, A., Quivy, V., Dekoninck, A. and Van Lint, C. (2008) A pervasive role of histone acetyltransferases and deacetylases in an NF-kappaB-signaling code. *Trends Biochem Sci*, **33**, 339-349.
- Cameron, P.U., Lowe, M.G., Crowe, S.M., O'Doherty, U., Pope, M., Gezelter, S. and Steinman, R.M. (1994) Susceptibility of dendritic cells to HIV-1 infection in vitro. *J Leukoc Biol*, **56**, 257-265.
- Campbell, E.M., Nunez, R. and Hope, T.J. (2004) Disruption of the actin cytoskeleton can complement the ability of Nef to enhance human immunodeficiency virus type 1 infectivity. *J Virol*, **78**, 5745-5755.
- Campbell, S.M., Crowe, S.M. and Mak, J. (2001) Lipid rafts and HIV-1: from viral entry to assembly of progeny virions. *J Clin Virol*, **22**, 217-227.
- Canonne-Hergaux, F., Aunis, D. and Schaeffer, E. (1995) Interactions of the transcription factor AP-1 with the long terminal repeat of different human immunodeficiency virus type 1 strains in Jurkat, glial, and neuronal cells. *J Virol*, **69**, 6634-6642.
- Canto-Nogues, C., Sanchez-Ramon, S., Alvarez, S., Lacruz, C. and Munoz-Fernandez, M.A. (2005) HIV-1 infection of neurons might account for progressive HIV-1-associated encephalopathy in children. *J Mol Neurosci*, **27**, 79-89.
- Cao, H., Kaleebu, P., Hom, D., Flores, J., Agrawal, D., Jones, N., Serwanga, J., Okello, M., Walker, C., Sheppard, H., El-Habib, R., Klein, M., Mbidde, E., Mugenyi, P., Walker, B., Ellner, J. and Mugerwa, R. (2003) Immunogenicity of a recombinant human immunodeficiency virus (HIV)-canarypox vaccine in HIV-seronegative Ugandan volunteers: results of the HIV Network for Prevention Trials 007 Vaccine Study. *J Infect Dis*, **187**, 887-895.
- Cavrois, M., Neidleman, J., Kreisberg, J.F., Fenard, D., Callebaut, C. and Greene, W.C. (2006) Human immunodeficiency virus fusion to dendritic cells declines as cells mature. *J Virol*, **80**, 1992-1999.
- Chang, B., Chen, Y., Zhao, Y. and Bruick, R.K. (2007) JMJD6 is a histone arginine demethylase. *Science*, **318**, 444-447.
- Chang, D.D. and Sharp, P.A. (1989) Regulation by HIV Rev depends upon recognition of splice sites. *Cell*, **59**, 789-795.
- Chang, L.J., Chen, C.H., Urlacher, V. and Lee, T.Z. (2000) Differential apoptosis effects of primate lentiviral Vpr and Vpx in mammalian cells. *J Biomed Sci*, **7**, 322-333.
- Charneau, P., Mirambeau, G., Roux, P., Paulous, S., Buc, H. and Clavel, F. (1994) HIV-1 reverse transcription. A termination step at the center of the genome. *J Mol Biol*, **241**, 651-662.

- Chau, V., Tobias, J.W., Bachmair, A., Marriott, D., Ecker, D.J., Gonda, D.K. and Varshavsky, A. (1989) A multiubiquitin chain is confined to specific lysine in a targeted short-lived protein. *Science*, **243**, 1576-1583.
- Chaudhuri, R., Lindwasser, O.W., Smith, W.J., Hurley, J.H. and Bonifacino, J.S. (2007) Downregulation of CD4 by human immunodeficiency virus type 1 Nef is dependent on clathrin and involves direct interaction of Nef with the AP2 clathrin adaptor. *J Virol*, **81**, 3877-3890.
- Chen, C.H., Weinhold, K.J., Bartlett, J.A., Bolognesi, D.P. and Greenberg, M.L. (1993) CD8+ T lymphocyte-mediated inhibition of HIV-1 long terminal repeat transcription: a novel antiviral mechanism. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **9**, 1079-1086.
- Chen, T. and Li, E. (2006) Establishment and maintenance of DNA methylation patterns in mammals. *Curr Top Microbiol Immunol*, **301**, 179-201.
- Cheng, X. and Blumenthal, R.M. (2008) Mammalian DNA methyltransferases: a structural perspective. *Structure*, **16**, 341-350.
- Cherepanov, P., Maertens, G., Proost, P., Devreese, B., Van Beeumen, J., Engelborghs, Y., De Clercq, E. and Debyser, Z. (2003) HIV-1 integrase forms stable tetramers and associates with LEDGF/p75 protein in human cells. *J Biol Chem*, **278**, 372-381.
- Cherrier, T., Suzanne, S., Redel, L., Calao, M., Marban, C., Samah, B., Mukerjee, R., Schwartz, C., Gras, G., Sawaya, B.E., Zeichner, S.L., Aunis, D., Van Lint, C. and Rohr, O. (2009) p21(WAF1) gene promoter is epigenetically silenced by CTIP2 and SUV39H1. *Oncogene*.
- Christensen, J., Agger, K., Cloos, P.A., Pasini, D., Rose, S., Sennels, L., Rappsilber, J., Hansen, K.H., Salcini, A.E. and Helin, K. (2007) RBP2 belongs to a family of demethylases, specific for tri- and dimethylated lysine 4 on histone 3. *Cell*, **128**, 1063-1076.
- Chun, T.W., Carruth, L., Finzi, D., Shen, X., DiGiuseppe, J.A., Taylor, H., Hermankova, M., Chadwick, K., Margolick, J., Quinn, T.C., Kuo, Y.H., Brookmeyer, R., Zeiger, M.A., Barditch-Crovo, P. and Siliciano, R.F. (1997a) Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature*, **387**, 183-188.
- Chun, T.W., Engel, D., Berrey, M.M., Shea, T., Corey, L. and Fauci, A.S. (1998) Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4(+) T cells during primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**, 8869-8873.
- Chun, T.W., Finzi, D., Margolick, J., Chadwick, K., Schwartz, D. and Siliciano, R.F. (1995) In vivo fate of HIV-1-infected T cells: quantitative analysis of the transition to stable latency. *Nat Med*, **1**, 1284-1290.
- Chun, T.W., Stuyver, L., Mizell, S.B., Ehler, L.A., Mican, J.A., Baseler, M., Lloyd, A.L., Nowak, M.A. and Fauci, A.S. (1997b) Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**, 13193-13197.
- Chung, W.J., Okamura, K., Martin, R. and Lai, E.C. (2008) Endogenous RNA interference provides a somatic defense against Drosophila transposons. *Curr Biol*, **18**, 795-802.
- Cismasiu, V.B., Adamo, K., Gecewicz, J., Duque, J., Lin, Q. and Avram, D. (2005) BCL11B functionally associates with the NuRD complex in T lymphocytes to repress targeted promoter. *Oncogene*, **24**, 6753-6764.
- Cismasiu, V.B., Duque, J., Paskaleva, E., Califano, D., Ghanta, S., Young, H.A. and Avram, D. (2009) BCL11B enhances TCR/CD28-triggered NF-kappaB activation through up-regulation of Cot kinase gene expression in T-lymphocytes. *Biochem J*, **417**, 457-466.
- Cismasiu, V.B., Ghanta, S., Duque, J., Abu, D.I., Chen, H.M., Kasturi, R. and Avram, D. (2006) BCL11B participates in the activation of IL2 gene expression in CD4+ T lymphocytes. *Blood*, **108**, 2695-2702.

- Cismasiu, V.B., Paskaleva, E., Suman Daya, S., Canki, M., Duus, K. and Avram, D. (2008) BCL11B is a general transcriptional repressor of the HIV-1 long terminal repeat in T lymphocytes through recruitment of the NuRD complex. *Virology*, **380**, 173-181.
- Clark, E., Santiago, F., Deng, L., Chong, S., de La Fuente, C., Wang, L., Fu, P., Stein, D., Denny, T., Lanka, V., Mozafari, F., Okamoto, T. and Kashanchi, F. (2000) Loss of G(1)/S checkpoint in human immunodeficiency virus type 1-infected cells is associated with a lack of cyclin-dependent kinase inhibitor p21/Waf1. *J Virol*, **74**, 5040-5052.
- Clavel, F., Guetard, D., Brun-Vezinet, F., Chamaret, S., Rey, M.A., Santos-Ferreira, M.O., Laurent, A.G., Dauguet, C., Katlama, C., Rouzioux, C. and et al. (1986) Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*, **233**, 343-346.
- Clavel, F. and Hance, A.J. (2004) HIV drug resistance. *N Engl J Med*, **350**, 1023-1035.
- Clever, J.L., Miranda, D., Jr. and Parslow, T.G. (2002) RNA structure and packaging signals in the 5' leader region of the human immunodeficiency virus type 1 genome. *J Virol*, **76**, 12381-12387.
- Cloos, P.A., Christensen, J., Agger, K., Maiolica, A., Rappsilber, J., Antal, T., Hansen, K.H. and Helin, K. (2006) The putative oncogene GASC1 demethylates tri- and dimethylated lysine 9 on histone H3. *Nature*, **442**, 307-311.
- Cocohoba, J. and Dong, B.J. (2008) Raltegravir: the first HIV integrase inhibitor. *Clin Ther*, **30**, 1747-1765.
- Cohen, J. (1996) AIDS research. Receptor mutations help slow disease progression. *Science*, **273**, 1797-1798.
- Conant, K., Garzino-Demo, A., Nath, A., McArthur, J.C., Halliday, W., Power, C., Gallo, R.C. and Major, E.O. (1998) Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in HIV-1 Tat-stimulated astrocytes and elevation in AIDS dementia. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95**, 3117-3121.
- Concorde. (1994) Concorde: MRC/ANRS randomised double-blind controlled trial of immediate and deferred zidovudine in symptom-free HIV infection. Concorde Coordinating Committee. *Lancet*, **343**, 871-881.
- Conge, A.M., Tarte, K., Reynes, J., Segondy, M., Gerfaux, J., Zembala, M. and Vendrell, J.P. (1998) Impairment of B-lymphocyte differentiation induced by dual triggering of the B-cell antigen receptor and CD40 in advanced HIV-1-disease. *Aids*, **12**, 1437-1449.
- Connor, E.M., Sperling, R.S., Gelber, R., Kiselev, P., Scott, G., O'Sullivan, M.J., VanDyke, R., Bey, M., Shearer, W., Jacobson, R.L. and et al. (1994) Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med*, **331**, 1173-1180.
- Cooper, D.A., Gold, J., Maclean, P., Donovan, B., Finlayson, R., Barnes, T.G., Michelmore, H.M., Brooke, P. and Penny, R. (1985) Acute AIDS retrovirus infection. Definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet*, **1**, 537-540.
- Corona, D.F. and Tamkun, J.W. (2004) Multiple roles for ISWI in transcription, chromosome organization and DNA replication. *Biochim Biophys Acta*, **1677**, 113-119.
- Coull, J.J., Romerio, F., Sun, J.M., Volker, J.L., Galvin, K.M., Davie, J.R., Shi, Y., Hansen, U. and Margolis, D.M. (2000) The human factors YY1 and LSF repress the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat via recruitment of histone deacetylase 1. *J Virol*, **74**, 6790-6799.
- Couraud, P.O. (1994) Interactions between lymphocytes, macrophages, and central nervous system cells. *J Leukoc Biol*, **56**, 407-415.

- Creaven, M., Hans, F., Mutskov, V., Col, E., Caron, C., Dimitrov, S. and Khochbin, S. (1999) Control of the histone-acetyltransferase activity of Tip60 by the HIV-1 transactivator protein, Tat. *Biochemistry*, **38**, 8826-8830.
- Crublet, E., Andrieu, J.P., Vives, R.R. and Lortat-Jacob, H. (2008) The HIV-1 envelope glycoprotein gp120 features four heparan sulfate binding domains, including the co-receptor binding site. *J Biol Chem*, **283**, 15193-15200.
- Cucciolla, V., Borriello, A., Criscuolo, M., Sinisi, A.A., Bencivenga, D., Tramontano, A., Scudieri, A.C., Oliva, A., Zappia, V. and Della Ragione, F. (2008) Histone deacetylase inhibitors up-regulate p57Kip2 level by enhancing its expression through Sp1 transcription factor. *Carcinogenesis*.
- Curtis, B.M., Scharnowske, S. and Watson, A.J. (1992) Sequence and expression of a membrane-associated C-type lectin that exhibits CD4-independent binding of human immunodeficiency virus envelope glycoprotein gp120. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **89**, 8356-8360.

D

- d'Adda di Fagagna, F., Marzio, G., Gutierrez, M.I., Kang, L.Y., Falaschi, A. and Giacca, M. (1995) Molecular and functional interactions of transcription factor USF with the long terminal repeat of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, **69**, 2765-2775.
- Dalgleish, A.G., Beverley, P.C., Clapham, P.R., Crawford, D.H., Greaves, M.F. and Weiss, R.A. (1984) The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, **312**, 763-767.
- Daniel, J.A., Torok, M.S., Sun, Z.W., Schieltz, D., Allis, C.D., Yates, J.R., 3rd and Grant, P.A. (2004) Deubiquitination of histone H2B by a yeast acetyltransferase complex regulates transcription. *J Biol Chem*, **279**, 1867-1871.
- Danner, S.A., Carr, A., Leonard, J.M., Lehman, L.M., Gudiol, F., Gonzales, J., Raventos, A., Rubio, R., Bouza, E., Pintado, V. and et al. (1995) A short-term study of the safety, pharmacokinetics, and efficacy of zidovudine, an inhibitor of HIV-1 protease. European-Australian Collaborative Zidovudine Study Group. *N Engl J Med*, **333**, 1528-1533.
- Das, P.P., Bagijn, M.P., Goldstein, L.D., Woolford, J.R., Lehrbach, N.J., Sapetschnig, A., Buhecha, H.R., Gilchrist, M.J., Howe, K.L., Stark, R., Matthews, N., Berezikov, E., Ketting, R.F., Tavare, S. and Miska, E.A. (2008) Piwi and piRNAs act upstream of an endogenous siRNA pathway to suppress Tc3 transposon mobility in the *Caenorhabditis elegans* germline. *Mol Cell*, **31**, 79-90.
- Davis, L.E., Hjelle, B.L., Miller, V.E., Palmer, D.L., Llewellyn, A.L., Merlin, T.L., Young, S.A., Mills, R.G., Wachsman, W. and Wiley, C.A. (1992) Early viral brain invasion in iatrogenic human immunodeficiency virus infection. *Neurology*, **42**, 1736-1739.
- de la Serna, I.L., Ohkawa, Y. and Imbalzano, A.N. (2006) Chromatin remodelling in mammalian differentiation: lessons from ATP-dependent remodellers. *Nat Rev Genet*, **7**, 461-473.
- De Luca, P., Majello, B. and Lania, L. (1996) Sp3 represses transcription when tethered to promoter DNA or targeted to promoter proximal RNA. *J Biol Chem*, **271**, 8533-8536.
- de Wit, E., Greil, F. and van Steensel, B. (2007) High-resolution mapping reveals links of HP1 with active and inactive chromatin components. *PLoS Genet*, **3**, e38.
- de Witte, L., Nabatov, A. and Geijtenbeek, T.B. (2008a) Distinct roles for DC-SIGN(+)-dendritic cells and Langerhans cells in HIV-1 transmission. *Trends Mol Med*, **14**, 12-19.

- de Witte, L., Nabatov, A. and Geijtenbeek, T.B. (2008b) Distinct roles for DC-SIGN⁺-dendritic cells and Langerhans cells in HIV-1 transmission. *Trends Mol Med*, **14**, 12-19.
- de Witte, L., Nabatov, A., Pion, M., Fluitsma, D., de Jong, M.A., de Gruijl, T., Piguet, V., van Kooyk, Y. and Geijtenbeek, T.B. (2007) Langerin is a natural barrier to HIV-1 transmission by Langerhans cells. *Nat Med*, **13**, 367-371.
- Debouck, C., Gorniak, J.G., Strickler, J.E., Meek, T.D., Metcalf, B.W. and Rosenberg, M. (1987) Human immunodeficiency virus protease expressed in *Escherichia coli* exhibits autoprocessing and specific maturation of the gag precursor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **84**, 8903-8906.
- Dehart, J.L. and Planelles, V. (2007) HIV-1 Vpr links proteasomal degradation and checkpoint activation. *J Virol*.
- Deiva, K., Khiati, A., Hery, C., Salim, H., Leclerc, P., Horellou, P. and Tardieu, M. (2006) CCR5-, DC-SIGN-dependent endocytosis and delayed reverse transcription after human immunodeficiency virus type 1 infection in human astrocytes. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **22**, 1152-1161.
- Deng, H., Liu, R., Ellmeier, W., Choe, S., Unutmaz, D., Burkhart, M., Di Marzio, P., Marmon, S., Sutton, R.E., Hill, C.M., Davis, C.B., Peiper, S.C., Schall, T.J., Littman, D.R. and Landau, N.R. (1996) Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*, **381**, 661-666.
- Denslow, S.A. and Wade, P.A. (2007) The human Mi-2/NuRD complex and gene regulation. *Oncogene*, **26**, 5433-5438.
- Di Massimo, A.M., Gilardini Montani, M.S., Bardone, M.R., Moras, M.L., Malkovsky, M., Antonelli, G. and Colizzi, V. (1991) The combined treatment of human peripheral blood mononuclear cells with thymolymphotropin and interleukin 2 increases PPD-driven T-cell proliferation and IL-2 induced cellular cytotoxicity against HIV-infected cells. *Int J Immunopharmacol*, **13**, 1157-1165.
- Dickson, D.W. (1986) Multinucleated giant cells in acquired immunodeficiency syndrome encephalopathy. Origin from endogenous microglia? *Arch Pathol Lab Med*, **110**, 967-968.
- Doetzlhofer, A., Rotheneder, H., Lagger, G., Koranda, M., Kurtev, V., Brosch, G., Wintersberger, E. and Seiser, C. (1999) Histone deacetylase 1 can repress transcription by binding to Sp1. *Mol Cell Biol*, **19**, 5504-5511.
- Doms, R.W. and Peiper, S.C. (1997) Unwelcomed guests with master keys: how HIV uses chemokine receptors for cellular entry. *Virology*, **235**, 179-190.
- Dorsey, B.D., Levin, R.B., McDaniel, S.L., Vacca, J.P., Guare, J.P., Darke, P.L., Zugay, J.A., Emini, E.A., Schleif, W.A., Quintero, J.C. and et al. (1994) L-735,524: the design of a potent and orally bioavailable HIV protease inhibitor. *J Med Chem*, **37**, 3443-3451.
- du Chene, I., Basyuk, E., Lin, Y.L., Triboulet, R., Knezevich, A., Chable-Bessia, C., Mettling, C., Baillat, V., Reynes, J., Corbeau, P., Bertrand, E., Marcello, A., Emiliani, S., Kiernan, R. and Benkirane, M. (2007) Suv39H1 and HP1gamma are responsible for chromatin-mediated HIV-1 transcriptional silencing and post-integration latency. *Embo J*, **26**, 424-435.
- Du, H., Roy, A.L. and Roeder, R.G. (1993) Human transcription factor USF stimulates transcription through the initiator elements of the HIV-1 and the Ad-ML promoters. *Embo J*, **12**, 501-511.

- Ehret, A., Li-Weber, M., Frank, R. and Krammer, P.H. (2001) The effect of HIV-1 regulatory proteins on cellular genes: derepression of the IL-2 promoter by Tat. *Eur J Immunol*, **31**, 1790-1799.
- Elbashir, S.M., Harborth, J., Lendeckel, W., Yalcin, A., Weber, K. and Tuschl, T. (2001) Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature*, **411**, 494-498.
- Ewart, G.D., Sutherland, T., Gage, P.W. and Cox, G.B. (1996) The Vpu protein of human immunodeficiency virus type 1 forms cation-selective ion channels. *J Virol*, **70**, 7108-7115.
- Ezekowitz, R.A., Kuhlman, M., Groopman, J.E. and Byrn, R.A. (1989) A human serum mannose-binding protein inhibits in vitro infection by the human immunodeficiency virus. *J Exp Med*, **169**, 185-196.
- Ezzell, C. (1987) AIDS drug gets green light. *Nature*, **329**, 751.

F

- Farnet, C.M. and Bushman, F.D. (1997) HIV-1 cDNA integration: requirement of HMG I(Y) protein for function of preintegration complexes in vitro. *Cell*, **88**, 483-492.
- Farnet, C.M. and Haseltine, W.A. (1990) Integration of human immunodeficiency virus type 1 DNA in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **87**, 4164-4168.
- Fassati, A., Gorlich, D., Harrison, I., Zaytseva, L. and Mingot, J.M. (2003) Nuclear import of HIV-1 intracellular reverse transcription complexes is mediated by importin 7. *Embo J*, **22**, 3675-3685.
- Fazio, T.G. and Tsukiyama, T. (2003) Chromatin remodeling in vivo: evidence for a nucleosome sliding mechanism. *Mol Cell*, **12**, 1333-1340.
- Federico, M., Percario, Z., Olivetta, E., Fiorucci, G., Muratori, C., Micheli, A., Romeo, G. and Affabris, E. (2001) HIV-1 Nef activates STAT1 in human monocytes/macrophages through the release of soluble factors. *Blood*, **98**, 2752-2761.
- Felsenfeld, G. and Groudine, M. (2003) Controlling the double helix. *Nature*, **421**, 448-453.
- Feltus, F.A., Lee, E.K., Costello, J.F., Plass, C. and Vertino, P.M. (2003) Predicting aberrant CpG island methylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 12253-12258.
- Feng, Y., Broder, C.C., Kennedy, P.E. and Berger, E.A. (1996) HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, **272**, 872-877.
- Filion, L.G., Izaguirre, C.A., Garber, G.E., Huebsh, L. and Aye, M.T. (1990) Detection of surface and cytoplasmic CD4 on blood monocytes from normal and HIV-1 infected individuals. *J Immunol Methods*, **135**, 59-69.
- Fine, S.M., Angel, R.A., Perry, S.W., Epstein, L.G., Rothstein, J.D., Dewhurst, S. and Gelbard, H.A. (1996) Tumor necrosis factor alpha inhibits glutamate uptake by primary human astrocytes. Implications for pathogenesis of HIV-1 dementia. *J Biol Chem*, **271**, 15303-15306.
- Fingerman, I.M., Li, H.C. and Briggs, S.D. (2007) A charge-based interaction between histone H4 and Dot1 is required for H3K79 methylation and telomere silencing: identification of a new trans-histone pathway. *Genes Dev*, **21**, 2018-2029.
- Finley, D., Sadis, S., Monia, B.P., Boucher, P., Ecker, D.J., Croke, S.T. and Chau, V. (1994) Inhibition of proteolysis and cell cycle progression in a multiubiquitination-deficient yeast mutant. *Mol Cell Biol*, **14**, 5501-5509.
- Finzi, D., Hermankova, M., Pierson, T., Carruth, L.M., Buck, C., Chaisson, R.E., Quinn, T.C., Chadwick, K., Margolick, J., Brookmeyer, R., Gallant, J., Markowitz, M., Ho,

- D.D., Richman, D.D. and Siliciano, R.F. (1997) Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science*, **278**, 1295-1300.
- Fischer, U., Huber, J., Boelens, W.C., Mattaj, I.W. and Luhrmann, R. (1995) The HIV-1 Rev activation domain is a nuclear export signal that accesses an export pathway used by specific cellular RNAs. *Cell*, **82**, 475-483.
- Fischer, U., Meyer, S., Teufel, M., Heckel, C., Luhrmann, R. and Rautmann, G. (1994) Evidence that HIV-1 Rev directly promotes the nuclear export of unspliced RNA. *Embo J*, **13**, 4105-4112.
- Fischle, W., Tseng, B.S., Dormann, H.L., Ueberheide, B.M., Garcia, B.A., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., Funabiki, H. and Allis, C.D. (2005) Regulation of HP1-chromatin binding by histone H3 methylation and phosphorylation. *Nature*, **438**, 1116-1122.
- Fischle, W., Wang, Y., Jacobs, S.A., Kim, Y., Allis, C.D. and Khorasanizadeh, S. (2003) Molecular basis for the discrimination of repressive methyl-lysine marks in histone H3 by Polycomb and HP1 chromodomains. *Genes Dev*, **17**, 1870-1881.
- Flanagan, J.F., Mi, L.Z., Chruszcz, M., Cymborowski, M., Clines, K.L., Kim, Y., Minor, W., Rastinejad, F. and Khorasanizadeh, S. (2005) Double chromodomains cooperate to recognize the methylated histone H3 tail. *Nature*, **438**, 1181-1185.
- Flores-Villanueva, P.O., Yunis, E.J., Delgado, J.C., Vittinghoff, E., Buchbinder, S., Leung, J.Y., Ugliero, A.M., Clavijo, O.P., Rosenberg, E.S., Kalams, S.A., Braun, J.D., Boswell, S.L., Walker, B.D. and Goldfeld, A.E. (2001) Control of HIV-1 viremia and protection from AIDS are associated with HLA-Bw4 homozygosity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**, 5140-5145.
- Forneris, F., Binda, C., Battaglioli, E. and Mattevi, A. (2008) LSD1: oxidative chemistry for multifaceted functions in chromatin regulation. *Trends Biochem Sci*, **33**, 181-189.
- Forshey, B.M., von Schwedler, U., Sundquist, W.I. and Aiken, C. (2002) Formation of a human immunodeficiency virus type 1 core of optimal stability is crucial for viral replication. *J Virol*, **76**, 5667-5677.
- Franchini, G., Gurgo, C., Guo, H.G., Gallo, R.C., Collalti, E., Fargnoli, K.A., Hall, L.F., Wong-Staal, F. and Reitz, M.S., Jr. (1987) Sequence of simian immunodeficiency virus and its relationship to the human immunodeficiency viruses. *Nature*, **328**, 539-543.
- Franke, E.K., Yuan, H.E. and Luban, J. (1994) Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature*, **372**, 359-362.
- Frankel, D.H. (1996) Structure of HIV p24 capsid protein revealed. *Lancet*, **348**, 184.
- Freed, E.O. (1998) HIV-1 gag proteins: diverse functions in the virus life cycle. *Virology*, **251**, 1-15.
- Freed, E.O., Myers, D.J. and Risser, R. (1990) Characterization of the fusion domain of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp41. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **87**, 4650-4654.
- Frick, L.W., Nelson, D.J., St Clair, M.H., Furman, P.A. and Krenitsky, T.A. (1988) Effects of 3'-azido-3'-deoxythymidine on the deoxynucleotide triphosphate pools of cultured human cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **154**, 124-129.
- Fry, T.J. and Mackall, C.L. (2001) What limits immune reconstitution in HIV infection? Divergent tools converge on thymic function. *Aids*, **15**, 1881-1882.
- Fuks, F., Hurd, P.J., Deplus, R. and Kouzarides, T. (2003) The DNA methyltransferases associate with HP1 and the SUV39H1 histone methyltransferase. *Nucleic Acids Res*, **31**, 2305-2312.

- Gallay, P., Hope, T., Chin, D. and Trono, D. (1997) HIV-1 infection of nondividing cells through the recognition of integrase by the importin/karyopherin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**, 9825-9830.
- Gallay, P., Stitt, V., Mundy, C., Oettinger, M. and Trono, D. (1996) Role of the karyopherin pathway in human immunodeficiency virus type 1 nuclear import. *J Virol*, **70**, 1027-1032.
- Ganguli-Indra, G., Wasyluk, C., Liang, X., Millon, R., Leid, M., Wasyluk, B., Abecassis, J. and Indra, A. (2009) CTIP2 expression in human head and neck squamous cell carcinoma is linked to poorly differentiated tumor status. *PLoS One*, **4**, e5367.
- Ganser-Pornillos, B.K., Yeager, M. and Sundquist, W.I. (2008) The structural biology of HIV assembly. *Curr Opin Struct Biol*, **18**, 203-217.
- Gao, F., Bailes, E., Robertson, D.L., Chen, Y., Rodenburg, C.M., Michael, S.F., Cummins, L.B., Arthur, L.O., Peeters, M., Shaw, G.M., Sharp, P.M. and Hahn, B.H. (1999) Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes*. *Nature*, **397**, 436-441.
- Gao, J., Siddoway, B., Huang, Q. and Xia, H. (2009) Inactivation of CREB mediated gene transcription by HDAC8 bound protein phosphatase. *Biochem Biophys Res Commun*, **379**, 1-5.
- Garcia-Bassets, I., Kwon, Y.S., Telese, F., Prefontaine, G.G., Hutt, K.R., Cheng, C.S., Ju, B.G., Ohgi, K.A., Wang, J., Escoubet-Lozach, L., Rose, D.W., Glass, C.K., Fu, X.D. and Rosenfeld, M.G. (2007) Histone methylation-dependent mechanisms impose ligand dependency for gene activation by nuclear receptors. *Cell*, **128**, 505-518.
- Garcia, J.V. and Miller, A.D. (1991) Serine phosphorylation-independent downregulation of cell-surface CD4 by nef. *Nature*, **350**, 508-511.
- Gartner, S. (2000) HIV infection and dementia. *Science*, **287**, 602-604.
- Gehring, M., Reik, W. and Henikoff, S. (2009) DNA demethylation by DNA repair. *Trends Genet*, **25**, 82-90.
- Geijtenbeek, T.B., Kwon, D.S., Torensma, R., van Vliet, S.J., van Duijnhoven, G.C., Middel, J., Cornelissen, I.L., Nottet, H.S., KewalRamani, V.N., Littman, D.R., Figdor, C.G. and van Kooyk, Y. (2000) DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell*, **100**, 587-597.
- Geiman, T.M., Sankpal, U.T., Robertson, A.K., Chen, Y., Mazumdar, M., Heale, J.T., Schmiesing, J.A., Kim, W., Yokomori, K., Zhao, Y. and Robertson, K.D. (2004) Isolation and characterization of a novel DNA methyltransferase complex linking DNMT3B with components of the mitotic chromosome condensation machinery. *Nucleic Acids Res*, **32**, 2716-2729.
- Genin, M.J., Poel, T.J., Yagi, Y., Biles, C., Althaus, I., Keiser, B.J., Kopta, L.A., Friis, J.M., Reusser, F., Adams, W.J., Olmsted, R.A., Voorman, R.L., Thomas, R.C. and Romero, D.L. (1996) Synthesis and bioactivity of novel bis(heteroaryl)piperazine (BHAP) reverse transcriptase inhibitors: structure-activity relationships and increased metabolic stability of novel substituted pyridine analogs. *J Med Chem*, **39**, 5267-5275.
- Genis, P., Jett, M., Bernton, E.W., Boyle, T., Gelbard, H.A., Dzenko, K., Keane, R.W., Resnick, L., Mizrachi, Y., Volsky, D.J. and et al. (1992) Cytokines and arachidonic metabolites produced during human immunodeficiency virus (HIV)-infected macrophage-astroglia interactions: implications for the neuropathogenesis of HIV disease. *J Exp Med*, **176**, 1703-1718.
- Gerritsen, M.E., Williams, A.J., Neish, A.S., Moore, S., Shi, Y. and Collins, T. (1997) CREB-binding protein/p300 are transcriptional coactivators of p65. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**, 2927-2932.

- Ghildiyal, M., Seitz, H., Horwich, M.D., Li, C., Du, T., Lee, S., Xu, J., Kittler, E.L., Zapp, M.L., Weng, Z. and Zamore, P.D. (2008) Endogenous siRNAs derived from transposons and mRNAs in *Drosophila* somatic cells. *Science*, **320**, 1077-1081.
- Giffin, M.J., Stroud, J.C., Bates, D.L., von Koenig, K.D., Hardin, J. and Chen, L. (2003) Structure of NFAT1 bound as a dimer to the HIV-1 LTR kappa B element. *Nat Struct Biol*, **10**, 800-806.
- Giordano, A. and Avantaggiati, M.L. (1999) p300 and CBP: partners for life and death. *J Cell Physiol*, **181**, 218-230.
- Girard, A., Sachidanandam, R., Hannon, G.J. and Carmell, M.A. (2006) A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature*, **442**, 199-202.
- Goff, S.P. (2007) Host factors exploited by retroviruses. *Nat Rev Microbiol*, **5**, 253-263.
- Goll, M.G., Kirpekar, F., Maggert, K.A., Yoder, J.A., Hsieh, C.L., Zhang, X., Golic, K.G., Jacobsen, S.E. and Bestor, T.H. (2006) Methylation of tRNA^{Asp} by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science*, **311**, 395-398.
- Golonzhka, O., Liang, X., Messaddeq, N., Bornert, J.M., Campbell, A.L., Metzger, D., Chambon, P., Ganguli-Indra, G., Leid, M. and Indra, A.K. (2009a) Dual role of COUP-TF-interacting protein 2 in epidermal homeostasis and permeability barrier formation. *J Invest Dermatol*, **129**, 1459-1470.
- Golonzhka, O., Metzger, D., Bornert, J.M., Bay, B.K., Gross, M.K., Kiousi, C. and Leid, M. (2009b) Ctip2/Bcl11b controls ameloblast formation during mammalian odontogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **106**, 4278-4283.
- Gottlieb, M.S., Schroff, R., Schanker, H.M., Weisman, J.D., Fan, P.T., Wolf, R.A. and Saxon, A. (1981) *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med*, **305**, 1425-1431.
- Gould, S.J., Booth, A.M. and Hildreth, J.E. (2003) The Trojan exosome hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 10592-10597.
- Gowher, H., Liebert, K., Hermann, A., Xu, G. and Jeltsch, A. (2005) Mechanism of stimulation of catalytic activity of Dnmt3A and Dnmt3B DNA-(cytosine-C5)-methyltransferases by Dnmt3L. *J Biol Chem*, **280**, 13341-13348.
- Grandjean, V., Yaman, R., Cuzin, F. and Rassoulzadegan, M. (2007) Inheritance of an epigenetic mark: the CpG DNA methyltransferase 1 is required for de novo establishment of a complex pattern of non-CpG methylation. *PLoS One*, **2**, e1136.
- Gregor, P.D., Sawadogo, M. and Roeder, R.G. (1990) The adenovirus major late transcription factor USF is a member of the helix-loop-helix group of regulatory proteins and binds to DNA as a dimer. *Genes Dev*, **4**, 1730-1740.
- Grivna, S.T., Beyret, E., Wang, Z. and Lin, H. (2006) A novel class of small RNAs in mouse spermatogenic cells. *Genes Dev*, **20**, 1709-1714.
- Grozinger, C.M. and Schreiber, S.L. (2002) Deacetylase enzymes: biological functions and the use of small-molecule inhibitors. *Chem Biol*, **9**, 3-16.
- Gruenbaum, Y., Stein, R., Cedar, H. and Razin, A. (1981) Methylation of CpG sequences in eukaryotic DNA. *FEBS Lett*, **124**, 67-71.
- Guenther, M.G., Barak, O. and Lazar, M.A. (2001) The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3. *Mol Cell Biol*, **21**, 6091-6101.
- Gulick, R.M., Mellors, J.W., Havlir, D., Eron, J.J., Gonzalez, C., McMahon, D., Richman, D.D., Valentine, F.T., Jonas, L., Meibohm, A., Emini, E.A. and Chodakewitz, J.A. (1997) Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N Engl J Med*, **337**, 734-739.

Guo, F., Cen, S., Niu, M., Javanbakht, H. and Kleiman, L. (2003) Specific inhibition of the synthesis of human lysyl-tRNA synthetase results in decreases in tRNA(Lys) incorporation, tRNA(3)(Lys) annealing to viral RNA, and viral infectivity in human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, **77**, 9817-9822.

H

Haffar, O.K., Popov, S., Dubrovsky, L., Agostini, I., Tang, H., Pushkarsky, T., Nadler, S.G. and Bukrinsky, M. (2000) Two nuclear localization signals in the HIV-1 matrix protein regulate nuclear import of the HIV-1 pre-integration complex. *J Mol Biol*, **299**, 359-368.

Hagen, G., Muller, S., Beato, M. and Suske, G. (1994) Sp1-mediated transcriptional activation is repressed by Sp3. *Embo J*, **13**, 3843-3851.

Hammer, S.M., Squires, K.E., Hughes, M.D., Grimes, J.M., Demeter, L.M., Currier, J.S., Eron, J.J., Jr., Feinberg, J.E., Balfour, H.H., Jr., Deyton, L.R., Chodakewitz, J.A. and Fischl, M.A. (1997) A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. *N Engl J Med*, **337**, 725-733.

Han, Y., Lassen, K., Monie, D., Sedaghat, A.R., Shimoji, S., Liu, X., Pierson, T.C., Margolick, J.B., Siliciano, R.F. and Siliciano, J.D. (2004) Resting CD4+ T cells from human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected individuals carry integrated HIV-1 genomes within actively transcribed host genes. *J Virol*, **78**, 6122-6133.

Han, Y., Wind-Rotolo, M., Yang, H.C., Siliciano, J.D. and Siliciano, R.F. (2007) Experimental approaches to the study of HIV-1 latency. *Nat Rev Microbiol*, **5**, 95-106.

Harouse, J.M., Bhat, S., Spitalnik, S.L., Laughlin, M., Stefano, K., Silberberg, D.H. and Gonzalez-Scarano, F. (1991) Inhibition of entry of HIV-1 in neural cell lines by antibodies against galactosyl ceramide. *Science*, **253**, 320-323.

Harrigan, P.R., Whaley, M. and Montaner, J.S. (1999) Rate of HIV-1 RNA rebound upon stopping antiretroviral therapy. *Aids*, **13**, F59-62.

Hassan, A.H., Awad, S., Al-Natour, Z., Othman, S., Mustafa, F. and Rizvi, T.A. (2007) Selective recognition of acetylated histones by bromodomains in transcriptional co-activators. *Biochem J*, **402**, 125-133.

Hassan, A.H., Prochasson, P., Neely, K.E., Galasinski, S.C., Chandy, M., Carrozza, M.J. and Workman, J.L. (2002) Function and selectivity of bromodomains in anchoring chromatin-modifying complexes to promoter nucleosomes. *Cell*, **111**, 369-379.

Hassig, C.A., Fleischer, T.C., Billin, A.N., Schreiber, S.L. and Ayer, D.E. (1997) Histone deacetylase activity is required for full transcriptional repression by mSin3A. *Cell*, **89**, 341-347.

Haynes, B.F., Fleming, J., St Clair, E.W., Katinger, H., Stiegler, G., Kunert, R., Robinson, J., Scarce, R.M., Plonk, K., Staats, H.F., Ortel, T.L., Liao, H.X. and Alam, S.M. (2005) Cardiolipin polyspecific autoreactivity in two broadly neutralizing HIV-1 antibodies. *Science*, **308**, 1906-1908.

Haynes, B.F., Ma, B., Montefiori, D.C., Wrin, T., Petropoulos, C.J., Sutherland, L.L., Scarce, R.M., Denton, C., Xia, S.M., Korber, B.T. and Liao, H.X. (2006) Analysis of HIV-1 subtype B third variable region peptide motifs for induction of neutralizing antibodies against HIV-1 primary isolates. *Virology*, **345**, 44-55.

He, B., Qiao, X., Klasse, P.J., Chiu, A., Chadburn, A., Knowles, D.M., Moore, J.P. and Cerutti, A. (2006) HIV-1 envelope triggers polyclonal Ig class switch recombination

- through a CD40-independent mechanism involving BAFF and C-type lectin receptors. *J Immunol*, **176**, 3931-3941.
- He, G. and Margolis, D.M. (2002) Counterregulation of chromatin deacetylation and histone deacetylase occupancy at the integrated promoter of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) by the HIV-1 repressor YY1 and HIV-1 activator Tat. *Mol Cell Biol*, **22**, 2965-2973.
- He, J., Chen, Y., Farzan, M., Choe, H., Ohagen, A., Gartner, S., Busciglio, J., Yang, X., Hofmann, W., Newman, W., Mackay, C.R., Sodroski, J. and Gabuzda, D. (1997) CCR3 and CCR5 are co-receptors for HIV-1 infection of microglia. *Nature*, **385**, 645-649.
- He, J., Choe, S., Walker, R., Di Marzio, P., Morgan, D.O. and Landau, N.R. (1995) Human immunodeficiency virus type 1 viral protein R (Vpr) arrests cells in the G2 phase of the cell cycle by inhibiting p34cdc2 activity. *J Virol*, **69**, 6705-6711.
- Hebbes, T.R., Clayton, A.L., Thorne, A.W. and Crane-Robinson, C. (1994) Core histone hyperacetylation co-maps with generalized DNase I sensitivity in the chicken beta-globin chromosomal domain. *Embo J*, **13**, 1823-1830.
- Heeney, J.L., Dalgleish, A.G. and Weiss, R.A. (2006) Origins of HIV and the evolution of resistance to AIDS. *Science*, **313**, 462-466.
- Heinzinger, N.K., Bukinsky, M.I., Haggerty, S.A., Ragland, A.M., Kewalramani, V., Lee, M.A., Gendelman, H.E., Ratner, L., Stevenson, M. and Emerman, M. (1994) The Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **91**, 7311-7315.
- Henderson, A., Holloway, A., Reeves, R. and Tremethick, D.J. (2004) Recruitment of SWI/SNF to the human immunodeficiency virus type 1 promoter. *Mol Cell Biol*, **24**, 389-397.
- Henderson, L.E., Sowder, R.C., Copeland, T.D., Oroszlan, S. and Benveniste, R.E. (1990) Gag precursors of HIV and SIV are cleaved into six proteins found in the mature virions. *J Med Primatol*, **19**, 411-419.
- Henikoff, S., Furuyama, T. and Ahmad, K. (2004) Histone variants, nucleosome assembly and epigenetic inheritance. *Trends Genet*, **20**, 320-326.
- Henriet, S., Mercenne, G., Bernacchi, S., Paillart, J.C. and Marquet, R. (2009) Tumultuous relationship between the human immunodeficiency virus type 1 viral infectivity factor (Vif) and the human APOBEC-3G and APOBEC-3F restriction factors. *Microbiol Mol Biol Rev*, **73**, 211-232.
- Henriet, S., Sinck, L., Bec, G., Gorelick, R.J., Marquet, R. and Paillart, J.C. (2007) Vif is a RNA chaperone that could temporally regulate RNA dimerization and the early steps of HIV-1 reverse transcription. *Nucleic Acids Res*, **35**, 5141-5153.
- Henry, K.W., Wyce, A., Lo, W.S., Duggan, L.J., Emre, N.C., Kao, C.F., Pillus, L., Shilatifard, A., Osley, M.A. and Berger, S.L. (2003) Transcriptional activation via sequential histone H2B ubiquitylation and deubiquitylation, mediated by SAGA-associated Ubp8. *Genes Dev*, **17**, 2648-2663.
- Herbein, G., Varin, A., Larbi, A., Fortin, C., Mahlknecht, U., Fulop, T. and Aggarwal, B.B. (2008) Nef and TNFalpha are coplayers that favor HIV-1 replication in monocytic cells and primary macrophages. *Curr HIV Res*, **6**, 117-129.
- Hess, J., Angel, P. and Schorpp-Kistner, M. (2004) AP-1 subunits: quarrel and harmony among siblings. *J Cell Sci*, **117**, 5965-5973.
- Hetzer, C., Dormeyer, W., Schnolzer, M. and Ott, M. (2005) Decoding Tat: the biology of HIV Tat posttranslational modifications. *Microbes Infect*, **7**, 1364-1369.

- Hill, M., Tachedjian, G. and Mak, J. (2005) The packaging and maturation of the HIV-1 Pol proteins. *Curr HIV Res*, **3**, 73-85.
- Hindmarsh, P., Ridky, T., Reeves, R., Andrade, M., Skalka, A.M. and Leis, J. (1999) HMG protein family members stimulate human immunodeficiency virus type 1 and avian sarcoma virus concerted DNA integration in vitro. *J Virol*, **73**, 2994-3003.
- Hirsch, M., Steigbigel, R., Staszewski, S., Mellors, J., Scerpella, E., Hirschel, B., Lange, J., Squires, K., Rawlins, S., Meibohm, A. and Leavitt, R. (1999) A randomized, controlled trial of indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with advanced human immunodeficiency virus type 1 infection and prior antiretroviral therapy. *J Infect Dis*, **180**, 659-665.
- Hladik, F., Lentz, G., Akridge, R.E., Peterson, G., Kelley, H., McElroy, A. and McElrath, M.J. (1999) Dendritic cell-T-cell interactions support coreceptor-independent human immunodeficiency virus type 1 transmission in the human genital tract. *J Virol*, **73**, 5833-5842.
- Hladik, F. and McElrath, M.J. (2008) Setting the stage: host invasion by HIV. *Nat Rev Immunol*, **8**, 447-457.
- Hladik, F., Sakchalathorn, P., Ballweber, L., Lentz, G., Fialkow, M., Eschenbach, D. and McElrath, M.J. (2007) Initial events in establishing vaginal entry and infection by human immunodeficiency virus type-1. *Immunity*, **26**, 257-270.
- Hoglund, S., Ohagen, A., Lawrence, K. and Gabuzda, D. (1994) Role of vif during packing of the core of HIV-1. *Virology*, **201**, 349-355.
- Hong, P.W., Flummerfelt, K.B., de Parseval, A., Gurney, K., Elder, J.H. and Lee, B. (2002) Human immunodeficiency virus envelope (gp120) binding to DC-SIGN and primary dendritic cells is carbohydrate dependent but does not involve 2G12 or cyanovirin binding sites: implications for structural analyses of gp120-DC-SIGN binding. *J Virol*, **76**, 12855-12865.
- Hsia, S.C. and Shi, Y.B. (2002) Chromatin disruption and histone acetylation in regulation of the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat by thyroid hormone receptor. *Mol Cell Biol*, **22**, 4043-4052.
- Huang, J., Sengupta, R., Espejo, A.B., Lee, M.G., Dorsey, J.A., Richter, M., Opravil, S., Shiekhhattar, R., Bedford, M.T., Jenuwein, T. and Berger, S.L. (2007a) p53 is regulated by the lysine demethylase LSD1. *Nature*, **449**, 105-108.
- Huang, J., Wang, F., Argyris, E., Chen, K., Liang, Z., Tian, H., Huang, W., Squires, K., Verlinghieri, G. and Zhang, H. (2007b) Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nat Med*, **13**, 1241-1247.
- Hubbert, C., Guardiola, A., Shao, R., Kawaguchi, Y., Ito, A., Nixon, A., Yoshida, M., Wang, X.F. and Yao, T.P. (2002) HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase. *Nature*, **417**, 455-458.
- Humphrey, G.W., Wang, Y., Russanova, V.R., Hirai, T., Qin, J., Nakatani, Y. and Howard, B.H. (2001) Stable histone deacetylase complexes distinguished by the presence of SANT domain proteins CoREST/kiiaa0071 and Mta-L1. *J Biol Chem*, **276**, 6817-6824.
- Hussain, A., Wesley, C., Khalid, M., Chaudhry, A. and Jameel, S. (2008) Human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein interacts with CD74 and modulates major histocompatibility complex class II presentation. *J Virol*, **82**, 893-902.
- Hutter, G., Nowak, D., Mossner, M., Ganepola, S., Mussig, A., Allers, K., Schneider, T., Hofmann, J., Kucherer, C., Blau, O., Blau, I.W., Hofmann, W.K. and Thiel, E. (2009) Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, **360**, 692-698.

I

- Iba, H., Mizutani, T. and Ito, T. (2003) SWI/SNF chromatin remodelling complex and retroviral gene silencing. *Rev Med Virol*, **13**, 99-110.
- Irvine, D.V., Zaratiegui, M., Tolia, N.H., Goto, D.B., Chitwood, D.H., Vaughn, M.W., Joshua-Tor, L. and Martienssen, R.A. (2006) Argonaute slicing is required for heterochromatic silencing and spreading. *Science*, **313**, 1134-1137.
- Iwase, S., Lan, F., Bayliss, P., de la Torre-Ubieta, L., Huarte, M., Qi, H.H., Whetstine, J.R., Bonni, A., Roberts, T.M. and Shi, Y. (2007) The X-linked mental retardation gene SMCX/JARID1C defines a family of histone H3 lysine 4 demethylases. *Cell*, **128**, 1077-1088.

J

- Jacks, T. and Varmus, H.E. (1985) Expression of the Rous sarcoma virus pol gene by ribosomal frameshifting. *Science*, **230**, 1237-1242.
- Jacobs, S.A. and Khorasanizadeh, S. (2002) Structure of HP1 chromodomain bound to a lysine 9-methylated histone H3 tail. *Science*, **295**, 2080-2083.
- Jair, K.W., Bachman, K.E., Suzuki, H., Ting, A.H., Rhee, I., Yen, R.W., Baylin, S.B. and Schuebel, K.E. (2006) De novo CpG island methylation in human cancer cells. *Cancer Res*, **66**, 682-692.
- Jameson, B., Baribaud, F., Pohlmann, S., Ghavimi, D., Mortari, F., Doms, R.W. and Iwasaki, A. (2002) Expression of DC-SIGN by dendritic cells of intestinal and genital mucosae in humans and rhesus macaques. *J Virol*, **76**, 1866-1875.
- Jeang, K.T., Chun, R., Lin, N.H., Gagnon, A., Glabe, C.G. and Fan, H. (1993) In vitro and in vivo binding of human immunodeficiency virus type 1 Tat protein and Sp1 transcription factor. *J Virol*, **67**, 6224-6233.
- Jeltsch, A. (2006) On the enzymatic properties of Dnmt1: specificity, processivity, mechanism of linear diffusion and allosteric regulation of the enzyme. *Epigenetics*, **1**, 63-66.
- Jiang, C. and Pugh, B.F. (2009) Nucleosome positioning and gene regulation: advances through genomics. *Nat Rev Genet*, **10**, 161-172.
- Jiang, G., Espeseth, A., Hazuda, D.J. and Margolis, D.M. (2007) c-Myc and Sp1 contribute to proviral latency by recruiting histone deacetylase 1 to the human immunodeficiency virus type 1 promoter. *J Virol*, **81**, 10914-10923.
- Johannessen, M., Delghandi, M.P. and Moens, U. (2004a) What turns CREB on? *Cell Signal*, **16**, 1211-1227.
- Johannessen, M., Delghandi, M.P., Seternes, O.M., Johansen, B. and Moens, U. (2004b) Synergistic activation of CREB-mediated transcription by forskolin and phorbol ester requires PKC and depends on the glutamine-rich Q2 transactivation domain. *Cell Signal*, **16**, 1187-1199.
- Jonsson, Z.O., Jha, S., Wohlschlegel, J.A. and Dutta, A. (2004) Rvb1p/Rvb2p recruit Arp5p and assemble a functional Ino80 chromatin remodeling complex. *Mol Cell*, **16**, 465-477.
- Jordan, A., Bisgrove, D. and Verdin, E. (2003) HIV reproducibly establishes a latent infection after acute infection of T cells in vitro. *Embo J*, **22**, 1868-1877.
- Jordan, A., Defechereux, P. and Verdin, E. (2001) The site of HIV-1 integration in the human genome determines basal transcriptional activity and response to Tat transactivation. *Embo J*, **20**, 1726-1738.

Jouault, T., Chapuis, F., Bahraoui, E. and Gluckman, J.C. (1991) Infection of monocytic cells by HIV1: combined role of FcR and CD4. *Res Virol*, **142**, 183-188.

K

- Kacani, L., Prodinger, W.M., Sprinzl, G.M., Schwendinger, M.G., Spruth, M., Stoiber, H., Dopfer, S., Steinhuber, S., Steindl, F. and Dierich, M.P. (2000) Detachment of human immunodeficiency virus type 1 from germinal centers by blocking complement receptor type 2. *J Virol*, **74**, 7997-8002.
- Kamine, J. and Chinnadurai, G. (1992) Synergistic activation of the human immunodeficiency virus type 1 promoter by the viral Tat protein and cellular transcription factor Sp1. *J Virol*, **66**, 3932-3936.
- Kaminska, M., Francin, M., Shalak, V. and Mirande, M. (2007) Role of HIV-1 Vpr-induced apoptosis on the release of mitochondrial lysyl-tRNA synthetase. *FEBS Lett*, **581**, 3105-3110.
- Karytinis, A., Forneris, F., Profumo, A., Ciossani, G., Battaglioli, E., Binda, C. and Mattevi, A. (2009) A novel mammalian flavin-dependent histone demethylase. *J Biol Chem*, **284**, 17775-17782.
- Kauder, S.E., Bosque, A., Lindqvist, A., Planelles, V. and Verdin, E. (2009) Epigenetic regulation of HIV-1 latency by cytosine methylation. *PLoS Pathog*, **5**, e1000495.
- Kaul, M., Garden, G.A. and Lipton, S.A. (2001) Pathways to neuronal injury and apoptosis in HIV-associated dementia. *Nature*, **410**, 988-994.
- Kaul, M. and Lipton, S.A. (1999) Chemokines and activated macrophages in HIV gp120-induced neuronal apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**, 8212-8216.
- Kawamura, Y., Saito, K., Kin, T., Ono, Y., Asai, K., Sunohara, T., Okada, T.N., Siomi, M.C. and Siomi, H. (2008) Drosophila endogenous small RNAs bind to Argonaute 2 in somatic cells. *Nature*, **453**, 793-797.
- Kedzierska, K., Azzam, R., Ellery, P., Mak, J., Jaworowski, A. and Crowe, S.M. (2003) Defective phagocytosis by human monocyte/macrophages following HIV-1 infection: underlying mechanisms and modulation by adjunctive cytokine therapy. *J Clin Virol*, **26**, 247-263.
- Kerkau, T., Bacik, I., Bennink, J.R., Yewdell, J.W., Hunig, T., Schimpl, A. and Schubert, U. (1997) The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Vpu protein interferes with an early step in the biosynthesis of major histocompatibility complex (MHC) class I molecules. *J Exp Med*, **185**, 1295-1305.
- Kiernan, R.E., Vanhulle, C., Schiltz, L., Adam, E., Xiao, H., Maudoux, F., Calomme, C., Burny, A., Nakatani, Y., Jeang, K.T., Benkirane, M. and Van Lint, C. (1999) HIV-1 tat transcriptional activity is regulated by acetylation. *Embo J*, **18**, 6106-6118.
- Kim, B.J., Kang, K.M., Jung, S.Y., Choi, H.K., Seo, J.H., Chae, J.H., Cho, E.J., Youn, H.D., Qin, J. and Kim, S.T. (2008) Esco2 is a novel corepressor that associates with various chromatin modifying enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*, **372**, 298-304.
- Kim, J.K., Palaniappan, C., Wu, W., Fay, P.J. and Bambara, R.A. (1997) Evidence for a unique mechanism of strand transfer from the transactivation response region of HIV-1. *J Biol Chem*, **272**, 16769-16777.
- Kim, T. and Buratowski, S. (2009) Dimethylation of H3K4 by Set1 recruits the Set3 histone deacetylase complex to 5' transcribed regions. *Cell*, **137**, 259-272.
- Kim, V.N. (2005) MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **6**, 376-385.

- Kim, Y.K., Bourgeois, C.F., Pearson, R., Tyagi, M., West, M.J., Wong, J., Wu, S.Y., Chiang, C.M. and Karn, J. (2006) Recruitment of TFIIH to the HIV LTR is a rate-limiting step in the emergence of HIV from latency. *Embo J*, **25**, 3596-3604.
- Kino, T. and Pavlakis, G.N. (2004) Partner molecules of accessory protein Vpr of the human immunodeficiency virus type 1. *DNA Cell Biol*, **23**, 193-205.
- Kinoshita, S., Chen, B.K., Kaneshima, H. and Nolan, G.P. (1998) Host control of HIV-1 parasitism in T cells by the nuclear factor of activated T cells. *Cell*, **95**, 595-604.
- Klose, R.J. and Bird, A.P. (2006) Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci*, **31**, 89-97.
- Klose, R.J. and Zhang, Y. (2007) Regulation of histone methylation by demethylination and demethylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **8**, 307-318.
- Koenig, S., Gendelman, H.E., Orenstein, J.M., Dal Canto, M.C., Pezeshkpour, G.H., Yungbluth, M., Janotta, F., Aksamit, A., Martin, M.A. and Fauci, A.S. (1986) Detection of AIDS virus in macrophages in brain tissue from AIDS patients with encephalopathy. *Science*, **233**, 1089-1093.
- Kouzarides, T. (2007) Chromatin modifications and their function. *Cell*, **128**, 693-705.
- Kovacs, J.A., Lempicki, R.A., Sidorov, I.A., Adelsberger, J.W., Herpin, B., Metcalf, J.A., Sereti, I., Polis, M.A., Davey, R.T., Tavel, J., Falloon, J., Stevens, R., Lambert, L., Dewar, R., Schwartzentruber, D.J., Anver, M.R., Baseler, M.W., Masur, H., Dimitrov, D.S. and Lane, H.C. (2001) Identification of dynamically distinct subpopulations of T lymphocytes that are differentially affected by HIV. *J Exp Med*, **194**, 1731-1741.
- Kramer-Hammerle, S., Rothenaigner, I., Wolff, H., Bell, J.E. and Brack-Werner, R. (2005) Cells of the central nervous system as targets and reservoirs of the human immunodeficiency virus. *Virus Res*, **111**, 194-213.
- Kramer, B., Pelchen-Matthews, A., Deneka, M., Garcia, E., Piguet, V. and Marsh, M. (2005) HIV interaction with endosomes in macrophages and dendritic cells. *Blood Cells Mol Dis*, **35**, 136-142.
- Krogan, N.J., Kim, M., Ahn, S.H., Zhong, G., Kobor, M.S., Cagney, G., Emili, A., Shilatifard, A., Buratowski, S. and Greenblatt, J.F. (2002) RNA polymerase II elongation factors of *Saccharomyces cerevisiae*: a targeted proteomics approach. *Mol Cell Biol*, **22**, 6979-6992.
- Kulkosky, J., Nunnari, G., Otero, M., Calarota, S., Dornadula, G., Zhang, H., Malin, A., Sullivan, J., Xu, Y., DeSimone, J., Babinchak, T., Stern, J., Cavert, W., Haase, A. and Pomerantz, R.J. (2002) Intensification and stimulation therapy for human immunodeficiency virus type 1 reservoirs in infected persons receiving virally suppressive highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis*, **186**, 1403-1411.
- Kuo, M.H., Brownell, J.E., Sobel, R.E., Ranalli, T.A., Cook, R.G., Edmondson, D.G., Roth, S.Y. and Allis, C.D. (1996) Transcription-linked acetylation by Gcn5p of histones H3 and H4 at specific lysines. *Nature*, **383**, 269-272.
- Kwon, H.S., Brent, M.M., Getachew, R., Jayakumar, P., Chen, L.F., Schnolzer, M., McBurney, M.W., Marmorstein, R., Greene, W.C. and Ott, M. (2008) Human immunodeficiency virus type 1 Tat protein inhibits the SIRT1 deacetylase and induces T cell hyperactivation. *Cell Host Microbe*, **3**, 158-167.

L

- Lachner, M., O'Carroll, D., Rea, S., Mechtler, K. and Jenuwein, T. (2001) Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. *Nature*, **410**, 116-120.
- Lackner, A.A., Mohan, M. and Veazey, R.S. (2009) The gastrointestinal tract and AIDS pathogenesis. *Gastroenterology*, **136**, 1965-1978.

- Lai, M., Zimmerman, E.S., Planelles, V. and Chen, J. (2005) Activation of the ATR pathway by human immunodeficiency virus type 1 Vpr involves its direct binding to chromatin in vivo. *J Virol*, **79**, 15443-15451.
- Lambotte, O., Boufassa, F., Madec, Y., Nguyen, A., Goujard, C., Meyer, L., Rouzioux, C., Venet, A. and Delfraissy, J.F. (2005) HIV controllers: a homogeneous group of HIV-1-infected patients with spontaneous control of viral replication. *Clin Infect Dis*, **41**, 1053-1056.
- Lambotte, O. and Delfraissy, J.F. (2006) [HIV controllers: a homogeneous group of HIV-1 infected patients with a spontaneous control of viral replication]. *Pathol Biol (Paris)*, **54**, 566-571.
- Lan, F., Collins, R.E., De Cegli, R., Alpatov, R., Horton, J.R., Shi, X., Gozani, O., Cheng, X. and Shi, Y. (2007) Recognition of unmethylated histone H3 lysine 4 links BHC80 to LSD1-mediated gene repression. *Nature*, **448**, 718-722.
- Lane, H.C., Masur, H., Edgar, L.C., Whalen, G., Rook, A.H. and Fauci, A.S. (1983) Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*, **309**, 453-458.
- Langelier, C., von Schwedler, U.K., Fisher, R.D., De Domenico, I., White, P.L., Hill, C.P., Kaplan, J., Ward, D. and Sundquist, W.I. (2006) Human ESCRT-II complex and its role in human immunodeficiency virus type 1 release. *J Virol*, **80**, 9465-9480.
- Lasky, L.A., Nakamura, G., Smith, D.H., Fennie, C., Shimasaki, C., Patzer, E., Berman, P., Gregory, T. and Capon, D.J. (1987) Delineation of a region of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 glycoprotein critical for interaction with the CD4 receptor. *Cell*, **50**, 975-985.
- Lau, N.C., Seto, A.G., Kim, J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Bartel, D.P. and Kingston, R.E. (2006) Characterization of the piRNA complex from rat testes. *Science*, **313**, 363-367.
- Le Rouzic, E., Belaidouni, N., Estrabaud, E., Morel, M., Rain, J.C., Transy, C. and Margottin-Goguet, F. (2007) HIV1 Vpr arrests the cell cycle by recruiting DCAF1/VprBP, a receptor of the Cul4-DDB1 ubiquitin ligase. *Cell Cycle*, **6**, 182-188.
- Le Rouzic, E., Mousnier, A., Rustum, C., Stutz, F., Hallberg, E., Dargemont, C. and Benichou, S. (2002) Docking of HIV-1 Vpr to the nuclear envelope is mediated by the interaction with the nucleoporin hCG1. *J Biol Chem*, **277**, 45091-45098.
- Lee, E.S., Sarma, D., Zhou, H. and Henderson, A.J. (2002) CCAAT/enhancer binding proteins are not required for HIV-1 entry but regulate proviral transcription by recruiting coactivators to the long-terminal repeat in monocytic cells. *Virology*, **299**, 20-31.
- Lee, J.S., Shukla, A., Schneider, J., Swanson, S.K., Washburn, M.P., Florens, L., Bhaumik, S.R. and Shilatifard, A. (2007) Histone crosstalk between H2B monoubiquitination and H3 methylation mediated by COMPASS. *Cell*, **131**, 1084-1096.
- Lee, M.G., Wynder, C., Cooch, N. and Shiekhata, R. (2005) An essential role for CoREST in nucleosomal histone 3 lysine 4 demethylation. *Nature*, **437**, 432-435.
- Lehrman, G., Hogue, I.B., Palmer, S., Jennings, C., Spina, C.A., Wiegand, A., Landay, A.L., Coombs, R.W., Richman, D.D., Mellors, J.W., Coffin, J.M., Bosch, R.J. and Margolis, D.M. (2005) Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. *Lancet*, **366**, 549-555.
- Leonard, J.N., Shah, P.S., Burnett, J.C. and Schaffer, D.V. (2008) HIV evades RNA interference directed at TAR by an indirect compensatory mechanism. *Cell Host Microbe*, **4**, 484-494.
- Lewis, P., Hensel, M. and Emerman, M. (1992) Human immunodeficiency virus infection of cells arrested in the cell cycle. *Embo J*, **11**, 3053-3058.

- Li, M.J., Kim, J., Li, S., Zaia, J., Yee, J.K., Anderson, J., Akkina, R. and Rossi, J.J. (2005) Long-term inhibition of HIV-1 infection in primary hematopoietic cells by lentiviral vector delivery of a triple combination of anti-HIV shRNA, anti-CCR5 ribozyme, and a nucleolar-localizing TAR decoy. *Mol Ther*, **12**, 900-909.
- Lin, C.W. and Engelman, A. (2003) The barrier-to-autointegration factor is a component of functional human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes. *J Virol*, **77**, 5030-5036.
- Lipton, S.A. (1994) AIDS-related dementia and calcium homeostasis. *Ann N Y Acad Sci*, **747**, 205-224.
- Lipton, S.A. and Gendelman, H.E. (1995) Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Dementia associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*, **332**, 934-940.
- Liu, H., Hu, Q., D'Ercole A, J. and Ye, P. (2009) Histone deacetylase 11 regulates oligodendrocyte-specific gene expression and cell development in OL-1 oligodendroglia cells. *Glia*, **57**, 1-12.
- Liu, R., Paxton, W.A., Choe, S., Ceradini, D., Martin, S.R., Horuk, R., MacDonald, M.E., Stuhlmann, H., Koup, R.A. and Landau, N.R. (1996) Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell*, **86**, 367-377.
- Llano, M., Delgado, S., Vanegas, M. and Poeschla, E.M. (2004) Lens epithelium-derived growth factor/p75 prevents proteasomal degradation of HIV-1 integrase. *J Biol Chem*, **279**, 55570-55577.
- Loetscher, P., Ugucioni, M., Bordoli, L., Baggiolini, M., Moser, B., Chizzolini, C. and Dayer, J.M. (1998) CCR5 is characteristic of Th1 lymphocytes. *Nature*, **391**, 344-345.
- Lu, M., Blacklow, S.C. and Kim, P.S. (1995) A trimeric structural domain of the HIV-1 transmembrane glycoprotein. *Nat Struct Biol*, **2**, 1075-1082.
- Luger, K., Mader, A.W., Richmond, R.K., Sargent, D.F. and Richmond, T.J. (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, **389**, 251-260.
- Lyakh, L., Ghosh, P. and Rice, N.R. (1997) Expression of NFAT-family proteins in normal human T cells. *Mol Cell Biol*, **17**, 2475-2484.

M

- Ma, W., Mishra, S., Gajanayaka, N., Angel, J.B. and Kumar, A. (2009) HIV-1 Nef inhibits lipopolysaccharide-induced IL-12p40 expression by inhibiting JNK-activated NFκB in human monocytic cells. *J Biol Chem*, **284**, 7578-7587.
- Macho, A., Calzado, M.A., Jimenez-Reina, L., Ceballos, E., Leon, J. and Munoz, E. (1999) Susceptibility of HIV-1-TAT transfected cells to undergo apoptosis. Biochemical mechanisms. *Oncogene*, **18**, 7543-7551.
- Macian, F. and Rao, A. (1999) Reciprocal modulatory interaction between human immunodeficiency virus type 1 Tat and transcription factor NFAT1. *Mol Cell Biol*, **19**, 3645-3653.
- Mackewicz, C.E., Blackburn, D.J. and Levy, J.A. (1995) CD8+ T cells suppress human immunodeficiency virus replication by inhibiting viral transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **92**, 2308-2312.
- Mackewicz, C.E., Patterson, B.K., Lee, S.A. and Levy, J.A. (2000) CD8(+) cell noncytotoxic anti-human immunodeficiency virus response inhibits expression of viral RNA but not reverse transcription or provirus integration. *J Gen Virol*, **81**, 1261-1264.
- Maggirwar, S.B., Tong, N., Ramirez, S., Gelbard, H.A. and Dewhurst, S. (1999) HIV-1 Tat-mediated activation of glycogen synthase kinase-3β contributes to Tat-mediated neurotoxicity. *J Neurochem*, **73**, 578-586.

- Mahlknecht, U., Dichamp, I., Varin, A., Van Lint, C. and Herbein, G. (2008) NF-kappaB-dependent control of HIV-1 transcription by the second coding exon of Tat in T cells. *J Leukoc Biol*, **83**, 718-727.
- Mahmoudi, T., Parra, M., Vries, R.G., Kauder, S.E., Verrijzer, C.P., Ott, M. and Verdin, E. (2006) The SWI/SNF chromatin-remodeling complex is a cofactor for Tat transactivation of the HIV promoter. *J Biol Chem*, **281**, 19960-19968.
- Majello, B., De Luca, P., Hagen, G., Suske, G. and Lania, L. (1994) Different members of the Sp1 multigene family exert opposite transcriptional regulation of the long terminal repeat of HIV-1. *Nucleic Acids Res*, **22**, 4914-4921.
- Malaspina, A., Moir, S., Ho, J., Wang, W., Howell, M.L., O'Shea, M.A., Roby, G.A., Rehm, C.A., Mican, J.M., Chun, T.W. and Fauci, A.S. (2006) Appearance of immature/transitional B cells in HIV-infected individuals with advanced disease: correlation with increased IL-7. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**, 2262-2267.
- Mandl, J.N., Barry, A.P., Vanderford, T.H., Kozyr, N., Chavan, R., Klucking, S., Barrat, F.J., Coffman, R.L., Staprans, S.I. and Feinberg, M.B. (2008) Divergent TLR7 and TLR9 signaling and type I interferon production distinguish pathogenic and nonpathogenic AIDS virus infections. *Nat Med*, **14**, 1077-1087.
- Manninen, A., Renkema, G.H. and Saksela, K. (2000) Synergistic activation of NFAT by HIV-1 nef and the Ras/MAPK pathway. *J Biol Chem*, **275**, 16513-16517.
- Mansky, L.M. (1996) The mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 is influenced by the vpr gene. *Virology*, **222**, 391-400.
- Mansky, L.M. and Temin, H.M. (1995) Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *J Virol*, **69**, 5087-5094.
- Marban, C., Redel, L., Suzanne, S., Van Lint, C., Lecestre, D., Chasserot-Golaz, S., Leid, M., Aunis, D., Schaeffer, E. and Rohr, O. (2005) COUP-TF interacting protein 2 represses the initial phase of HIV-1 gene transcription in human microglial cells. *Nucleic Acids Res*, **33**, 2318-2331.
- Marban, C., Suzanne, S., Dequiedt, F., de Walque, S., Redel, L., Van Lint, C., Aunis, D. and Rohr, O. (2007) Recruitment of chromatin-modifying enzymes by CTIP2 promotes HIV-1 transcriptional silencing. *Embo J*, **26**, 412-423.
- Marcello, A., Lusic, M., Pegoraro, G., Pellegrini, V., Beltram, F. and Giacca, M. (2004) Nuclear organization and the control of HIV-1 transcription. *Gene*, **326**, 1-11.
- Margolis, D.M., Somasundaran, M. and Green, M.R. (1994) Human transcription factor YY1 represses human immunodeficiency virus type 1 transcription and virion production. *J Virol*, **68**, 905-910.
- Margot, J.B., Ehrenhofer-Murray, A.E. and Leonhardt, H. (2003) Interactions within the mammalian DNA methyltransferase family. *BMC Mol Biol*, **4**, 7.
- Margottin, F., Bour, S.P., Durand, H., Selig, L., Benichou, S., Richard, V., Thomas, D., Strebel, K. and Benarous, R. (1998) A novel human WD protein, h-beta TrCp, that interacts with HIV-1 Vpu connects CD4 to the ER degradation pathway through an F-box motif. *Mol Cell*, **1**, 565-574.
- Markowitz, M., Saag, M., Powderly, W.G., Hurley, A.M., Hsu, A., Valdes, J.M., Henry, D., Sattler, F., La Marca, A., Leonard, J.M. and et al. (1995) A preliminary study of zidovudine, an inhibitor of HIV-1 protease, to treat HIV-1 infection. *N Engl J Med*, **333**, 1534-1539.
- Martens, J.A. and Winston, F. (2003) Recent advances in understanding chromatin remodeling by Swi/Snf complexes. *Curr Opin Genet Dev*, **13**, 136-142.
- Martin-Serrano, J. (2007) The role of ubiquitin in retroviral egress. *Traffic*, **8**, 1297-1303.

- Martin, D.E., Salzwedel, K. and Allaway, G.P. (2008) Bevirimat: a novel maturation inhibitor for the treatment of HIV-1 infection. *Antivir Chem Chemother*, **19**, 107-113.
- Martinez-Maza, O. and Breen, E.C. (2002) B-cell activation and lymphoma in patients with HIV. *Curr Opin Oncol*, **14**, 528-532.
- Marzio, G., Tyagi, M., Gutierrez, M.I. and Giacca, M. (1998) HIV-1 tat transactivator recruits p300 and CREB-binding protein histone acetyltransferases to the viral promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**, 13519-13524.
- Mateescu, B., Bourachot, B., Rachez, C., Ogryzko, V. and Muchardt, C. (2008) Regulation of an inducible promoter by an HP1beta-HP1gamma switch. *EMBO Rep*, **9**, 267-272.
- Mateescu, B., England, P., Halgand, F., Yaniv, M. and Muchardt, C. (2004) Tethering of HP1 proteins to chromatin is relieved by phosphoacetylation of histone H3. *EMBO Rep*, **5**, 490-496.
- Matthews, T., Salgo, M., Greenberg, M., Chung, J., DeMasi, R. and Bolognesi, D. (2004) Enfuvirtide: the first therapy to inhibit the entry of HIV-1 into host CD4 lymphocytes. *Nat Rev Drug Discov*, **3**, 215-225.
- Matute, C., Domercq, M. and Sanchez-Gomez, M.V. (2006) Glutamate-mediated glial injury: mechanisms and clinical importance. *Glia*, **53**, 212-224.
- Mavilio, D., Lombardo, G., Kinter, A., Fogli, M., La Sala, A., Ortolano, S., Farschi, A., Follmann, D., Gregg, R., Kovacs, C., Marcenaro, E., Pende, D., Moretta, A. and Fauci, A.S. (2006) Characterization of the defective interaction between a subset of natural killer cells and dendritic cells in HIV-1 infection. *J Exp Med*, **203**, 2339-2350.
- Mayr, B. and Montminy, M. (2001) Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **2**, 599-609.
- McCune, J.M. (1991) HIV-1: the infective process in vivo. *Cell*, **64**, 351-363.
- McDonald, D., Vodicka, M.A., Lucero, G., Svitkina, T.M., Borisy, G.G., Emerman, M. and Hope, T.J. (2002) Visualization of the intracellular behavior of HIV in living cells. *J Cell Biol*, **159**, 441-452.
- McLeod, G.X. and Hammer, S.M. (1992) Treatment of HIV infection: the antiretroviral nucleoside analogues. Nucleoside analogues: combination therapy. *Hosp Pract (Off Ed)*, **27 Suppl 2**, 14-25.
- Meanwell, N.A. and Kadow, J.F. (2007) Maraviroc, a chemokine CCR5 receptor antagonist for the treatment of HIV infection and AIDS. *Curr Opin Investig Drugs*, **8**, 669-681.
- Mehle, A., Strack, B., Ancuta, P., Zhang, C., McPike, M. and Gabuzda, D. (2004) Vif overcomes the innate antiviral activity of APOBEC3G by promoting its degradation in the ubiquitin-proteasome pathway. *J Biol Chem*, **279**, 7792-7798.
- Metzger, E., Wissmann, M., Yin, N., Muller, J.M., Schneider, R., Peters, A.H., Gunther, T., Buettner, R. and Schule, R. (2005) LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription. *Nature*, **437**, 436-439.
- Metzger, E., Yin, N., Wissmann, M., Kunowska, N., Fischer, K., Friedrichs, N., Patnaik, D., Higgins, J.M., Potier, N., Scheidtmann, K.H., Buettner, R. and Schule, R. (2008) Phosphorylation of histone H3 at threonine 11 establishes a novel chromatin mark for transcriptional regulation. *Nat Cell Biol*, **10**, 53-60.
- Meusser, B. and Sommer, T. (2004) Vpu-mediated degradation of CD4 reconstituted in yeast reveals mechanistic differences to cellular ER-associated protein degradation. *Mol Cell*, **14**, 247-258.
- Michan, S. and Sinclair, D. (2007) Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J*, **404**, 1-13.
- Miller, D.W. (1999) Immunobiology of the blood-brain barrier. *J Neurovirol*, **5**, 570-578.
- Miller, T., Krogan, N.J., Dover, J., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Johnston, M., Greenblatt, J.F. and Shilatifard, A. (2001) COMPASS: a complex of proteins

- associated with a trithorax-related SET domain protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**, 12902-12907.
- Mizuguchi, G., Shen, X., Landry, J., Wu, W.H., Sen, S. and Wu, C. (2004) ATP-driven exchange of histone H2AZ variant catalyzed by SWR1 chromatin remodeling complex. *Science*, **303**, 343-348.
- Moazed, D. (2009) Small RNAs in transcriptional gene silencing and genome defence. *Nature*, **457**, 413-420.
- Moir, S. and Fauci, A.S. (2009) B cells in HIV infection and disease. *Nat Rev Immunol*, **9**, 235-245.
- Moir, S., Malaspina, A., Li, Y., Chun, T.W., Lowe, T., Adelsberger, J., Baseler, M., Ehler, L.A., Liu, S., Davey, R.T., Jr., Mican, J.A. and Fauci, A.S. (2000) B cells of HIV-1-infected patients bind virions through CD21-complement interactions and transmit infectious virus to activated T cells. *J Exp Med*, **192**, 637-646.
- Moir, S., Malaspina, A., Ogwaro, K.M., Donoghue, E.T., Hallahan, C.W., Ehler, L.A., Liu, S., Adelsberger, J., Lapointe, R., Hwu, P., Baseler, M., Orenstein, J.M., Chun, T.W., Mican, J.A. and Fauci, A.S. (2001) HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**, 10362-10367.
- Moir, S., Malaspina, A., Pickeral, O.K., Donoghue, E.T., Vasquez, J., Miller, N.J., Krishnan, S.R., Planta, M.A., Turney, J.F., Justement, J.S., Kottlilil, S., Dybul, M., Mican, J.M., Kovacs, C., Chun, T.W., Birse, C.E. and Fauci, A.S. (2004) Decreased survival of B cells of HIV-viremic patients mediated by altered expression of receptors of the TNF superfamily. *J Exp Med*, **200**, 587-599.
- Morillon, A., Karabetsov, N., O'Sullivan, J., Kent, N., Proudfoot, N. and Mellor, J. (2003) Isw1 chromatin remodeling ATPase coordinates transcription elongation and termination by RNA polymerase II. *Cell*, **115**, 425-435.
- Moriuchi, M. and Moriuchi, H. (2003) YY1 transcription factor down-regulates expression of CCR5, a major coreceptor for HIV-1. *J Biol Chem*, **278**, 13003-13007.
- Moriuchi, M., Moriuchi, H., Margolis, D.M. and Fauci, A.S. (1999) USF/c-Myc enhances, while Yin-Yang 1 suppresses, the promoter activity of CXCR4, a coreceptor for HIV-1 entry. *J Immunol*, **162**, 5986-5992.
- Morrison, A.J., Highland, J., Krogan, N.J., Arbel-Eden, A., Greenblatt, J.F., Haber, J.E. and Shen, X. (2004) INO80 and gamma-H2AX interaction links ATP-dependent chromatin remodeling to DNA damage repair. *Cell*, **119**, 767-775.
- Mortusewicz, O., Schermelleh, L., Walter, J., Cardoso, M.C. and Leonhardt, H. (2005) Recruitment of DNA methyltransferase I to DNA repair sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**, 8905-8909.
- Motamedi, M.R., Verdel, A., Colmenares, S.U., Gerber, S.A., Gygi, S.P. and Moazed, D. (2004) Two RNAi complexes, RITS and RDRC, physically interact and localize to noncoding centromeric RNAs. *Cell*, **119**, 789-802.
- Mougel, M., Houzet, L. and Darlix, J.L. (2009) When is it time for reverse transcription to start and go? *Retrovirology*, **6**, 24.
- Muthumani, K., Zhang, D., Hwang, D.S., Kudchodkar, S., Dayes, N.S., Desai, B.M., Malik, A.S., Yang, J.S., Chattergoon, M.A., Maguire, H.C., Jr. and Weiner, D.B. (2002) Adenovirus encoding HIV-1 Vpr activates caspase 9 and induces apoptotic cell death in both p53 positive and negative human tumor cell lines. *Oncogene*, **21**, 4613-4625.

- Naghavi, M.H., Estable, M.C., Schwartz, S., Roeder, R.G. and Vahlne, A. (2001) Upstream stimulating factor affects human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) long terminal repeat-directed transcription in a cell-specific manner, independently of the HIV-1 subtype and the core-negative regulatory element. *J Gen Virol*, **82**, 547-559.
- Naif, H.M., Li, S., Alali, M., Sloane, A., Wu, L., Kelly, M., Lynch, G., Lloyd, A. and Cunningham, A.L. (1998) CCR5 expression correlates with susceptibility of maturing monocytes to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*, **72**, 830-836.
- Nakayama, J., Rice, J.C., Strahl, B.D., Allis, C.D. and Grewal, S.I. (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. *Science*, **292**, 110-113.
- Napolitano, L.A., Grant, R.M., Deeks, S.G., Schmidt, D., De Rosa, S.C., Herzenberg, L.A., Herndier, B.G., Andersson, J. and McCune, J.M. (2001) Increased production of IL-7 accompanies HIV-1-mediated T-cell depletion: implications for T-cell homeostasis. *Nat Med*, **7**, 73-79.
- Natarajan, V., Lempicki, R.A., Sereti, I., Badralmaa, Y., Adelsberger, J.W., Metcalf, J.A., Prieto, D.A., Stevens, R., Baseler, M.W., Kovacs, J.A. and Lane, H.C. (2002) Increased peripheral expansion of naive CD4+ T cells in vivo after IL-2 treatment of patients with HIV infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**, 10712-10717.
- Nathan, D., Ingvarsdottir, K., Sterner, D.E., Bylebyl, G.R., Dokmanovic, M., Dorsey, J.A., Whelan, K.A., Krsmanovic, M., Lane, W.S., Meluh, P.B., Johnson, E.S. and Berger, S.L. (2006) Histone sumoylation is a negative regulator in *Saccharomyces cerevisiae* and shows dynamic interplay with positive-acting histone modifications. *Genes Dev*, **20**, 966-976.
- Navia, B.A., Jordan, B.D. and Price, R.W. (1986) The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Ann Neurol*, **19**, 517-524.
- Neil, S.J., Zang, T. and Bieniasz, P.D. (2008) Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature*, **451**, 425-430.
- Nelson, C.J., Santos-Rosa, H. and Kouzarides, T. (2006) Proline isomerization of histone H3 regulates lysine methylation and gene expression. *Cell*, **126**, 905-916.
- Neumann, M., Afonina, E., Ceccherini-Silberstein, F., Schlicht, S., Erfle, V., Pavlakis, G.N. and Brack-Werner, R. (2001) Nucleocytoplasmic transport in human astrocytes: decreased nuclear uptake of the HIV Rev shuttle protein. *J Cell Sci*, **114**, 1717-1729.
- Neville, M., Stutz, F., Lee, L., Davis, L.I. and Rosbash, M. (1997) The importin-beta family member Crm1p bridges the interaction between Rev and the nuclear pore complex during nuclear export. *Curr Biol*, **7**, 767-775.
- Nguyen, D.H., Giri, B., Collins, G. and Taub, D.D. (2005) Dynamic reorganization of chemokine receptors, cholesterol, lipid rafts, and adhesion molecules to sites of CD4 engagement. *Exp Cell Res*, **304**, 559-569.
- Nordheim, A. (1994) Transcription factors. CREB takes CBP to tango. *Nature*, **370**, 177-178.
- Norvell, M.K., Benrubi, G.I. and Thompson, R.J. (1984) Investigation of microtrauma after sexual intercourse. *J Reprod Med*, **29**, 269-271.
- Nuovo, G.J., Becker, J., Burk, M.W., Margiotta, M., Fuhrer, J. and Steigbigel, R.T. (1994) In situ detection of PCR-amplified HIV-1 nucleic acids in lymph nodes and peripheral blood in patients with asymptomatic HIV-1 infection and advanced-stage AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **7**, 916-923.

- O'Brien, W.A., Koyanagi, Y., Namazie, A., Zhao, J.Q., Diagne, A., Idler, K., Zack, J.A. and Chen, I.S. (1990) HIV-1 tropism for mononuclear phagocytes can be determined by regions of gp120 outside the CD4-binding domain. *Nature*, **348**, 69-73.
- O'Reilly, M.M., McNally, M.T. and Beemon, K.L. (1995) Two strong 5' splice sites and competing, suboptimal 3' splice sites involved in alternative splicing of human immunodeficiency virus type 1 RNA. *Virology*, **213**, 373-385.
- Oehme, I., Deubzer, H.E., Wegener, D., Pickert, D., Linke, J.P., Hero, B., Kopp-Schneider, A., Westermann, F., Ulrich, S.M., von Deimling, A., Fischer, M. and Witt, O. (2009) Histone deacetylase 8 in neuroblastoma tumorigenesis. *Clin Cancer Res*, **15**, 91-99.
- Ono, A. and Freed, E.O. (2001) Plasma membrane rafts play a critical role in HIV-1 assembly and release. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**, 13925-13930.
- Ooi, L., Belyaev, N.D., Miyake, K., Wood, I.C. and Buckley, N.J. (2006) BRG1 chromatin remodeling activity is required for efficient chromatin binding by repressor element 1-silencing transcription factor (REST) and facilitates REST-mediated repression. *J Biol Chem*, **281**, 38974-38980.
- Orenstein, J.M., Meltzer, M.S., Phipps, T. and Gendelman, H.E. (1988) Cytoplasmic assembly and accumulation of human immunodeficiency virus types 1 and 2 in recombinant human colony-stimulating factor-1-treated human monocytes: an ultrastructural study. *J Virol*, **62**, 2578-2586.
- Osley, M.A. (2006) Regulation of histone H2A and H2B ubiquitylation. *Brief Funct Genomic Proteomic*, **5**, 179-189.
- Ott, D.E. (2008) Cellular proteins detected in HIV-1. *Rev Med Virol*, **18**, 159-175.
- Ott, D.E., Coren, L.V., Chertova, E.N., Gagliardi, T.D. and Schubert, U. (2000) Ubiquitination of HIV-1 and MuLV Gag. *Virology*, **278**, 111-121.
- Ouyang, J., Shi, Y., Valin, A., Xuan, Y. and Gill, G. (2009) Direct binding of CoREST1 to SUMO-2/3 contributes to gene-specific repression by the LSD1/CoREST1/HDAC complex. *Mol Cell*, **34**, 145-154.

P

- Pagans, S., Pedal, A., North, B.J., Kaehlcke, K., Marshall, B.L., Dorr, A., Hetzer-Egger, C., Henklein, P., Frye, R., McBurney, M.W., Hruby, H., Jung, M., Verdin, E. and Ott, M. (2005) SIRT1 regulates HIV transcription via Tat deacetylation. *PLoS Biol*, **3**, e41.
- Paillart, J.C., Shehu-Xhilaga, M., Marquet, R. and Mak, J. (2004) Dimerization of retroviral RNA genomes: an inseparable pair. *Nat Rev Microbiol*, **2**, 461-472.
- Palombella, V.J., Rando, O.J., Goldberg, A.L. and Maniatis, T. (1994) The ubiquitin-proteasome pathway is required for processing the NF-kappa B1 precursor protein and the activation of NF-kappa B. *Cell*, **78**, 773-785.
- Pazin, M.J., Sheridan, P.L., Cannon, K., Cao, Z., Keck, J.G., Kadonaga, J.T. and Jones, K.A. (1996) NF-kappa B-mediated chromatin reconfiguration and transcriptional activation of the HIV-1 enhancer in vitro. *Genes Dev*, **10**, 37-49.
- Pearson, R., Kim, Y.K., Hokello, J., Lassen, K., Friedman, J., Tyagi, M. and Karn, J. (2008) Epigenetic silencing of human immunodeficiency virus (HIV) transcription by formation of restrictive chromatin structures at the viral long terminal repeat drives the progressive entry of HIV into latency. *J Virol*, **82**, 12291-12303.
- Peliska, J.A. and Benkovic, S.J. (1992) Mechanism of DNA strand transfer reactions catalyzed by HIV-1 reverse transcriptase. *Science*, **258**, 1112-1118.
- Perelson, A.S., Essunger, P. and Ho, D.D. (1997) Dynamics of HIV-1 and CD4+ lymphocytes in vivo. *Aids*, **11 Suppl A**, S17-24.

- Perkins, N.D., Edwards, N.L., Duckett, C.S., Agranoff, A.B., Schmid, R.M. and Nabel, G.J. (1993) A cooperative interaction between NF-kappa B and Sp1 is required for HIV-1 enhancer activation. *Embo J*, **12**, 3551-3558.
- Perno, C.F., Svicher, V., Schols, D., Pollicita, M., Balzarini, J. and Aquaro, S. (2006) Therapeutic strategies towards HIV-1 infection in macrophages. *Antiviral Res*, **71**, 293-300.
- Peterson, C.L. and Laniel, M.A. (2004) Histones and histone modifications. *Curr Biol*, **14**, R546-551.
- Philippon, V., Vellutini, C., Gambarelli, D., Harkiss, G., Arbuthnott, G., Metzger, D., Roubin, R. and Filippi, P. (1994) The basic domain of the lentiviral Tat protein is responsible for damages in mouse brain: involvement of cytokines. *Virology*, **205**, 519-529.
- Philipsen, S. and Suske, G. (1999) A tale of three fingers: the family of mammalian Sp/XKLF transcription factors. *Nucleic Acids Res*, **27**, 2991-3000.
- Piacentini, L., Fanti, L., Berloco, M., Perrini, B. and Pimpinelli, S. (2003) Heterochromatin protein 1 (HP1) is associated with induced gene expression in *Drosophila* euchromatin. *J Cell Biol*, **161**, 707-714.
- Pickart, C.M. and Eddins, M.J. (2004) Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochim Biophys Acta*, **1695**, 55-72.
- Pickart, C.M. and Fushman, D. (2004) Polyubiquitin chains: polymeric protein signals. *Curr Opin Chem Biol*, **8**, 610-616.
- Pinskaya, M., Gourvenec, S. and Morillon, A. (2009) H3 lysine 4 di- and tri-methylation deposited by cryptic transcription attenuates promoter activation. *Embo J*.
- Pizzato, M., Helander, A., Popova, E., Calistri, A., Zamborlini, A., Palu, G. and Gottlinger, H.G. (2007) Dynamin 2 is required for the enhancement of HIV-1 infectivity by Nef. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 6812-6817.
- Poeschla, E.M. (2008) Integrase, LEDGF/p75 and HIV replication. *Cell Mol Life Sci*, **65**, 1403-1424.
- Pomerantz, R.J. (2002) Eliminating HIV-1 reservoirs. *Curr Opin Investig Drugs*, **3**, 1133-1137.
- Pomerantz, R.J. and Horn, D.L. (2003) Twenty years of therapy for HIV-1 infection. *Nat Med*, **9**, 867-873.
- Popov, S., Rexach, M., Ratner, L., Blobel, G. and Bukrinsky, M. (1998) Viral protein R regulates docking of the HIV-1 preintegration complex to the nuclear pore complex. *J Biol Chem*, **273**, 13347-13352.
- Powell, C.M., Rudge, T.L., Zhu, Q., Johnson, L.F. and Hansen, U. (2000) Inhibition of the mammalian transcription factor LSF induces S-phase-dependent apoptosis by downregulating thymidylate synthase expression. *Embo J*, **19**, 4665-4675.
- Prakash, M., Kapembwa, M.S., Gotch, F. and Patterson, S. (2004) Chemokine receptor expression on mucosal dendritic cells from the endocervix of healthy women. *J Infect Dis*, **190**, 246-250.
- Price, T.O., Ercal, N., Nakaoke, R. and Banks, W.A. (2005) HIV-1 viral proteins gp120 and Tat induce oxidative stress in brain endothelial cells. *Brain Res*, **1045**, 57-63.

Q

- Qiu, C., Sawada, K., Zhang, X. and Cheng, X. (2002) The PWWP domain of mammalian DNA methyltransferase Dnmt3b defines a new family of DNA-binding folds. *Nat Struct Biol*, **9**, 217-224.

R

- Ramchandani, S., Bhattacharya, S.K., Cervoni, N. and Szyf, M. (1999) DNA methylation is a reversible biological signal. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**, 6107-6112.
- Ramji, D.P. and Foka, P. (2002) CCAAT/enhancer-binding proteins: structure, function and regulation. *Biochem J*, **365**, 561-575.
- Ratner, L., Starcich, B., Josephs, S.F., Hahn, B.H., Reddy, E.P., Livak, K.J., Petteway, S.R., Jr., Pearson, M.L., Haseltine, W.A., Arya, S.K. and et al. (1985) Polymorphism of the 3' open reading frame of the virus associated with the acquired immune deficiency syndrome, human T-lymphotropic virus type III. *Nucleic Acids Res*, **13**, 8219-8229.
- Razin, A. and Riggs, A.D. (1980) DNA methylation and gene function. *Science*, **210**, 604-610.
- Re, F., Braaten, D., Franke, E.K. and Luban, J. (1995) Human immunodeficiency virus type 1 Vpr arrests the cell cycle in G2 by inhibiting the activation of p34cdc2-cyclin B. *J Virol*, **69**, 6859-6864.
- Reed-Inderbitzin, E., Moreno-Miralles, I., Vanden-Eynden, S.K., Xie, J., Lutterbach, B., Durst-Goodwin, K.L., Luce, K.S., Irvin, B.J., Cleary, M.L., Brandt, S.J. and Hiebert, S.W. (2006) RUNX1 associates with histone deacetylases and SUV39H1 to repress transcription. *Oncogene*, **25**, 5777-5786.
- Reik, W. and Walter, J. (2001) Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat Rev Genet*, **2**, 21-32.
- Reuse, S., Calao, M., Kabeya, K., Guiguen, A., Gatot, J.S., Quivy, V., Vanhulle, C., Lamine, A., Vaira, D., Demonte, D., Martinelli, V., Veithen, E., Cherrier, T., Avettand, V., Poutrel, S., Piette, J., de Launoit, Y., Moutschen, M., Burny, A., Rouzioux, C., De Wit, S., Herbein, G., Rohr, O., Collette, Y., Lambotte, O., Clumeck, N. and Van Lint, C. (2009) Synergistic activation of HIV-1 expression by deacetylase inhibitors and prostratin: implications for treatment of latent infection. *PLoS One*, **4**, e6093.
- Richman, D.D. (2001) HIV chemotherapy. *Nature*, **410**, 995-1001.
- Rieckmann, P., Poli, G., Fox, C.H., Kehrl, J.H. and Fauci, A.S. (1991) Recombinant gp120 specifically enhances tumor necrosis factor-alpha production and Ig secretion in B lymphocytes from HIV-infected individuals but not from seronegative donors. *J Immunol*, **147**, 2922-2927.
- Roberts, S.G. and Green, M.R. (1994) Activator-induced conformational change in general transcription factor TFIIB. *Nature*, **371**, 717-720.
- Robertson, K.D. and Jones, P.A. (2000) DNA methylation: past, present and future directions. *Carcinogenesis*, **21**, 461-467.
- Robzyk, K., Recht, J. and Osley, M.A. (2000) Rad6-dependent ubiquitination of histone H2B in yeast. *Science*, **287**, 501-504.
- Rodes, B., Toro, C., Paxinos, E., Poveda, E., Martinez-Padial, M., Benito, J.M., Jimenez, V., Wrin, T., Bassani, S. and Soriano, V. (2004) Differences in disease progression in a cohort of long-term non-progressors after more than 16 years of HIV-1 infection. *Aids*, **18**, 1109-1116.
- Roe, T., Reynolds, T.C., Yu, G. and Brown, P.O. (1993) Integration of murine leukemia virus DNA depends on mitosis. *Embo J*, **12**, 2099-2108.
- Roeth, J.F. and Collins, K.L. (2006) Human immunodeficiency virus type 1 Nef: adapting to intracellular trafficking pathways. *Microbiol Mol Biol Rev*, **70**, 548-563.
- Rohr, O., Aunis, D. and Schaeffer, E. (1997) COUP-TF and Sp1 interact and cooperate in the transcriptional activation of the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat in human microglial cells. *J Biol Chem*, **272**, 31149-31155.

- Rohr, O., Lecestre, D., Chasserot-Golaz, S., Marban, C., Avram, D., Aunis, D., Leid, M. and Schaeffer, E. (2003a) Recruitment of Tat to heterochromatin protein HP1 via interaction with CTIP2 inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication in microglial cells. *J Virol*, **77**, 5415-5427.
- Rohr, O., Marban, C., Aunis, D. and Schaeffer, E. (2003b) Regulation of HIV-1 gene transcription: from lymphocytes to microglial cells. *J Leukoc Biol*, **74**, 736-749.
- Rohr, O., Schwartz, C., Aunis, D. and Schaeffer, E. (1999) CREB and COUP-TF mediate transcriptional activation of the human immunodeficiency virus type 1 genome in Jurkat T cells in response to cyclic AMP and dopamine. *J Cell Biochem*, **75**, 404-413.
- Rohr, O., Schwartz, C., Hery, C., Aunis, D., Tardieu, M. and Schaeffer, E. (2000) The nuclear receptor chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor interacts with HIV-1 Tat and stimulates viral replication in human microglial cells. *J Biol Chem*, **275**, 2654-2660.
- Romerio, F., Gabriel, M.N. and Margolis, D.M. (1997) Repression of human immunodeficiency virus type 1 through the novel cooperation of human factors YY1 and LSF. *J Virol*, **71**, 9375-9382.
- Ross, H.L., Nonnemacher, M.R., Hogan, T.H., Quiterio, S.J., Henderson, A., McAllister, J.J., Krebs, F.C. and Wigdahl, B. (2001) Interaction between CCAAT/enhancer binding protein and cyclic AMP response element binding protein 1 regulates human immunodeficiency virus type 1 transcription in cells of the monocyte/macrophage lineage. *J Virol*, **75**, 1842-1856.
- Roumier, T., Vieira, H.L., Castedo, M., Ferri, K.F., Boya, P., Andreau, K., Druillenec, S., Joza, N., Penninger, J.M., Roques, B. and Kroemer, G. (2002) The C-terminal moiety of HIV-1 Vpr induces cell death via a caspase-independent mitochondrial pathway. *Cell Death Differ*, **9**, 1212-1219.
- Rountree, M.R., Bachman, K.E. and Baylin, S.B. (2000) DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci. *Nat Genet*, **25**, 269-277.
- Rowland-Jones, S.L. (2003) Timeline: AIDS pathogenesis: what have two decades of HIV research taught us? *Nat Rev Immunol*, **3**, 343-348.
- Ruhl, M., Himmelspach, M., Bahr, G.M., Hammerschmid, F., Jaksche, H., Wolff, B., Aschauer, H., Farrington, G.K., Probst, H., Bevec, D. and et al. (1993) Eukaryotic initiation factor 5A is a cellular target of the human immunodeficiency virus type 1 Rev activation domain mediating trans-activation. *J Cell Biol*, **123**, 1309-1320.

S

- Sadowski, I. and Mitchell, D.A. (2005) TFII-I and USF (RBF-2) regulate Ras/MAPK-responsive HIV-1 transcription in T cells. *Eur J Cancer*, **41**, 2528-2536.
- Saez-Cirion, A., Lacabaratz, C., Lambotte, O., Versmisse, P., Urrutia, A., Boufassa, F., Barre-Sinoussi, F., Delfraissy, J.F., Sinet, M., Pancino, G. and Venet, A. (2007) HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 6776-6781.
- Safrin, S. and Grunfeld, C. (1999) Fat distribution and metabolic changes in patients with HIV infection. *Aids*, **13**, 2493-2505.
- Sagot-Lerolle, N., Lamine, A., Chaix, M.L., Boufassa, F., Aboulker, J.P., Costagliola, D., Goujard, C., Pallier, C., Delfraissy, J.F. and Lambotte, O. (2008) Prolonged valproic acid treatment does not reduce the size of latent HIV reservoir. *Aids*, **22**, 1125-1129.
- Saha, A., Wittmeyer, J. and Cairns, B.R. (2006) Chromatin remodelling: the industrial revolution of DNA around histones. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **7**, 437-447.

- Sandefur, S., Smith, R.M., Varthakavi, V. and Spearman, P. (2000) Mapping and characterization of the N-terminal I domain of human immunodeficiency virus type 1 Pr55(Gag). *J Virol*, **74**, 7238-7249.
- Santiago, M.L., Range, F., Keele, B.F., Li, Y., Bailes, E., Bibollet-Ruche, F., Fruteau, C., Noe, R., Peeters, M., Brookfield, J.F., Shaw, G.M., Sharp, P.M. and Hahn, B.H. (2005) Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Tai Forest, Cote d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2. *J Virol*, **79**, 12515-12527.
- Santos-Rosa, H., Schneider, R., Bannister, A.J., Sherriff, J., Bernstein, B.E., Emre, N.C., Schreiber, S.L., Mellor, J. and Kouzarides, T. (2002) Active genes are tri-methylated at K4 of histone H3. *Nature*, **419**, 407-411.
- Sarkar, I., Hauber, I., Hauber, J. and Buchholz, F. (2007) HIV-1 proviral DNA excision using an evolved recombinase. *Science*, **316**, 1912-1915.
- Sawaya, B.E., Khalili, K., Mercer, W.E., Denisova, L. and Amini, S. (1998) Cooperative actions of HIV-1 Vpr and p53 modulate viral gene transcription. *J Biol Chem*, **273**, 20052-20057.
- Schiltz, R.L., Mizzen, C.A., Vassilev, A., Cook, R.G., Allis, C.D. and Nakatani, Y. (1999) Overlapping but distinct patterns of histone acetylation by the human coactivators p300 and PCAF within nucleosomal substrates. *J Biol Chem*, **274**, 1189-1192.
- Schindler, M., Wurfl, S., Benaroch, P., Greenough, T.C., Daniels, R., Easterbrook, P., Brenner, M., Munch, J. and Kirchhoff, F. (2003) Down-modulation of mature major histocompatibility complex class II and up-regulation of invariant chain cell surface expression are well-conserved functions of human and simian immunodeficiency virus nef alleles. *J Virol*, **77**, 10548-10556.
- Schwartz, C., Catez, P., Rohr, O., Lecestre, D., Aunis, D. and Schaeffer, E. (2000) Functional interactions between C/EBP, Sp1, and COUP-TF regulate human immunodeficiency virus type 1 gene transcription in human brain cells. *J Virol*, **74**, 65-73.
- Schwartz, O., Marechal, V., Le Gall, S., Lemonnier, F. and Heard, J.M. (1996) Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein. *Nat Med*, **2**, 338-342.
- Senawong, T., Peterson, V.J., Avram, D., Shepherd, D.M., Frye, R.A., Minucci, S. and Leid, M. (2003) Involvement of the histone deacetylase SIRT1 in chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor (COUP-TF)-interacting protein 2-mediated transcriptional repression. *J Biol Chem*, **278**, 43041-43050.
- Seth, A., Hodge, D.R., Thompson, D.M., Robinson, L., Panayiotakis, A., Watson, D.K. and Papas, T.S. (1993) ETS family proteins activate transcription from HIV-1 long terminal repeat. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **9**, 1017-1023.
- Sgarbanti, M., Remoli, A.L., Marsili, G., Ridolfi, B., Borsetti, A., Perrotti, E., Orsatti, R., Ilari, R., Sernicola, L., Stellacci, E., Ensoli, B. and Battistini, A. (2008) IRF-1 is required for full NF-kappaB transcriptional activity at the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat enhancer. *J Virol*, **82**, 3632-3641.
- Sharer, L.R., Cho, E.S. and Epstein, L.G. (1985) Multinucleated giant cells and HTLV-III in AIDS encephalopathy. *Hum Pathol*, **16**, 760.
- Shaw, J.P., Utz, P.J., Durand, D.B., Toole, J.J., Emmel, E.A. and Crabtree, G.R. (1988) Identification of a putative regulator of early T cell activation genes. *Science*, **241**, 202-205.
- Shearer, W.T., Easley, K.A., Goldfarb, J., Rosenblatt, H.M., Jenson, H.B., Kovacs, A. and McIntosh, K. (2000) Prospective 5-year study of peripheral blood CD4, CD8, and CD19/CD20 lymphocytes and serum Igs in children born to HIV-1 women. The P(2)C(2) HIV Study Group. *J Allergy Clin Immunol*, **106**, 559-566.

- Sheehy, A.M., Gaddis, N.C., Choi, J.D. and Malim, M.H. (2002) Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature*, **418**, 646-650.
- Sheridan, P.L., Sheline, C.T., Cannon, K., Voz, M.L., Pazin, M.J., Kadonaga, J.T. and Jones, K.A. (1995) Activation of the HIV-1 enhancer by the LEF-1 HMG protein on nucleosome-assembled DNA in vitro. *Genes Dev*, **9**, 2090-2104.
- Sherman, M.P., de Noronha, C.M., Eckstein, L.A., Hataye, J., Mundt, P., Williams, S.A., Neidleman, J.A., Goldsmith, M.A. and Greene, W.C. (2003) Nuclear export of Vpr is required for efficient replication of human immunodeficiency virus type 1 in tissue macrophages. *J Virol*, **77**, 7582-7589.
- Shi, X., Hong, T., Walter, K.L., Ewalt, M., Michishita, E., Hung, T., Carney, D., Pena, P., Lan, F., Kaadige, M.R., Lacoste, N., Cayrou, C., Davrazou, F., Saha, A., Cairns, B.R., Ayer, D.E., Kutateladze, T.G., Shi, Y., Cote, J., Chua, K.F. and Gozani, O. (2006) ING2 PHD domain links histone H3 lysine 4 methylation to active gene repression. *Nature*, **442**, 96-99.
- Shi, Y.J., Matson, C., Lan, F., Iwase, S., Baba, T. and Shi, Y. (2005) Regulation of LSD1 histone demethylase activity by its associated factors. *Mol Cell*, **19**, 857-864.
- Shiio, Y. and Eisenman, R.N. (2003) Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 13225-13230.
- Shilatifard, A. (2006) Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression. *Annu Rev Biochem*, **75**, 243-269.
- Shimono, K., Shimono, Y., Shimokata, K., Ishiguro, N. and Takahashi, M. (2005) Microspherule protein 1, Mi-2beta, and RET finger protein associate in the nucleolus and up-regulate ribosomal gene transcription. *J Biol Chem*, **280**, 39436-39447.
- Shukla, A., Stanojevic, N., Duan, Z., Sen, P. and Bhaumik, S.R. (2006) Ubp8p, a histone deubiquitinase whose association with SAGA is mediated by Sgf11p, differentially regulates lysine 4 methylation of histone H3 in vivo. *Mol Cell Biol*, **26**, 3339-3352.
- Siebenlist, U., Franzoso, G. and Brown, K. (1994) Structure, regulation and function of NF-kappa B. *Annu Rev Cell Biol*, **10**, 405-455.
- Sieweke, M.H., Tekotte, H., Jarosch, U. and Graf, T. (1998) Cooperative interaction of ets-1 with USF-1 required for HIV-1 enhancer activity in T cells. *Embo J*, **17**, 1728-1739.
- Silberner, J. (1985) AIDS blood screen approved. *Sci News*, **127**, 148.
- Siliciano, J.D., Lai, J., Callender, M., Pitt, E., Zhang, H., Margolick, J.B., Gallant, J.E., Cofrancesco, J., Jr., Moore, R.D., Gange, S.J. and Siliciano, R.F. (2007) Stability of the latent reservoir for HIV-1 in patients receiving valproic acid. *J Infect Dis*, **195**, 833-836.
- Simmons, A., Aluvihare, V. and McMichael, A. (2001) Nef triggers a transcriptional program in T cells imitating single-signal T cell activation and inducing HIV virulence mediators. *Immunity*, **14**, 763-777.
- Sims, R.J., 3rd, Chen, C.F., Santos-Rosa, H., Kouzarides, T., Patel, S.S. and Reinberg, D. (2005) Human but not yeast CHD1 binds directly and selectively to histone H3 methylated at lysine 4 via its tandem chromodomains. *J Biol Chem*, **280**, 41789-41792.
- Sims, R.J., 3rd, Nishioka, K. and Reinberg, D. (2003) Histone lysine methylation: a signature for chromatin function. *Trends Genet*, **19**, 629-639.
- Sims, R.J., 3rd and Reinberg, D. (2006) Histone H3 Lys 4 methylation: caught in a bind? *Genes Dev*, **20**, 2779-2786.
- Siomi, H. and Siomi, M.C. (2009) On the road to reading the RNA-interference code. *Nature*, **457**, 396-404.

- Sirito, M., Walker, S., Lin, Q., Kozlowski, M.T., Klein, W.H. and Sawadogo, M. (1992) Members of the USF family of helix-loop-helix proteins bind DNA as homo- as well as heterodimers. *Gene Expr*, **2**, 231-240.
- Smith, A.L., Ganesh, L., Leung, K., Jongstra-Bilen, J., Jongstra, J. and Nabel, G.J. (2007) Leukocyte-specific protein 1 interacts with DC-SIGN and mediates transport of HIV to the proteasome in dendritic cells. *J Exp Med*, **204**, 421-430.
- Sonza, S., Maerz, A., Deacon, N., Meanger, J., Mills, J. and Crowe, S. (1996) Human immunodeficiency virus type 1 replication is blocked prior to reverse transcription and integration in freshly isolated peripheral blood monocytes. *J Virol*, **70**, 3863-3869.
- Spina, C.A., Kwoh, T.J., Chowes, M.Y., Guatelli, J.C. and Richman, D.D. (1994) The importance of nef in the induction of human immunodeficiency virus type 1 replication from primary quiescent CD4 lymphocytes. *J Exp Med*, **179**, 115-123.
- Srichatrapimuk, S. and Auewarakul, P. (2007) Resistance of monocyte to HIV-1 infection is not due to uncoating defect. *Virus Res*, **126**, 277-281.
- Sridhar, V.V., Kapoor, A., Zhang, K., Zhu, J., Zhou, T., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A. and Zhu, J.K. (2007) Control of DNA methylation and heterochromatic silencing by histone H2B deubiquitination. *Nature*, **447**, 735-738.
- Staprans, S., Marlowe, N., Glidden, D., Novakovic-Agopian, T., Grant, R.M., Heyes, M., Aweeka, F., Deeks, S. and Price, R.W. (1999) Time course of cerebrospinal fluid responses to antiretroviral therapy: evidence for variable compartmentalization of infection. *Aids*, **13**, 1051-1061.
- Steger, D.J., Lefterova, M.I., Ying, L., Stonestrom, A.J., Schupp, M., Zhuo, D., Vakoc, A.L., Kim, J.E., Chen, J., Lazar, M.A., Blobel, G.A. and Vakoc, C.R. (2008) DOT1L/KMT4 recruitment and H3K79 methylation are ubiquitously coupled with gene transcription in mammalian cells. *Mol Cell Biol*, **28**, 2825-2839.
- Stevenson, M. (2003) HIV-1 pathogenesis. *Nat Med*, **9**, 853-860.
- Stevenson, M., Stanwick, T.L., Dempsey, M.P. and Lamonica, C.A. (1990) HIV-1 replication is controlled at the level of T cell activation and proviral integration. *Embo J*, **9**, 1551-1560.
- Steward, M.M., Lee, J.S., O'Donovan, A., Wyatt, M., Bernstein, B.E. and Shilatifard, A. (2006) Molecular regulation of H3K4 trimethylation by ASH2L, a shared subunit of MLL complexes. *Nat Struct Mol Biol*, **13**, 852-854.
- Stewart, M.D., Li, J. and Wong, J. (2005) Relationship between histone H3 lysine 9 methylation, transcription repression, and heterochromatin protein 1 recruitment. *Mol Cell Biol*, **25**, 2525-2538.
- Stremlau, M., Owens, C.M., Perron, M.J., Kiessling, M., Autissier, P. and Sodroski, J. (2004) The cytoplasmic body component TRIM5 α restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature*, **427**, 848-853.
- Suzuki, Y. and Craigie, R. (2007) The road to chromatin - nuclear entry of retroviruses. *Nat Rev Microbiol*, **5**, 187-196.
- Suzuki, Y., Yang, H. and Craigie, R. (2004) LAP2 α and BAF collaborate to organize the Moloney murine leukemia virus preintegration complex. *Embo J*, **23**, 4670-4678.
- Swingler, S., Zhou, J., Swingler, C., Dauphin, A., Greenough, T., Jolicoeur, P. and Stevenson, M. (2008) Evidence for a pathogenic determinant in HIV-1 Nef involved in B cell dysfunction in HIV/AIDS. *Cell Host Microbe*, **4**, 63-76.

T

- Takeda, A., Sweet, R.W. and Ennis, F.A. (1990) Two receptors are required for antibody-dependent enhancement of human immunodeficiency virus type 1 infection: CD4 and Fc gamma R. *J Virol*, **64**, 5605-5610.
- Takehisa, J., Kraus, M.H., Ayoub, A., Bailes, E., Van Heuverswyn, F., Decker, J.M., Li, Y., Rudicell, R.S., Learn, G.H., Neel, C., Ngole, E.M., Shaw, G.M., Peeters, M., Sharp, P.M. and Hahn, B.H. (2009) Origin and biology of simian immunodeficiency virus in wild-living western gorillas. *J Virol*, **83**, 1635-1648.
- Tanny, J.C., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P. and Allis, C.D. (2007) Ubiquitylation of histone H2B controls RNA polymerase II transcription elongation independently of histone H3 methylation. *Genes Dev*, **21**, 835-847.
- Tardif, M.R. and Tremblay, M.J. (2003) Presence of host ICAM-1 in human immunodeficiency virus type 1 virions increases productive infection of CD4+ T lymphocytes by favoring cytosolic delivery of viral material. *J Virol*, **77**, 12299-12309.
- Taylor, S. and Pereira, A. (2000) Penetration of HIV-1 protease inhibitors into CSF and semen. *HIV Med*, **1 Suppl 2**, 18-22.
- Temesgen, Z. and Feinberg, J.E. (2006) Drug evaluation: bevirimat--HIV Gag protein and viral maturation inhibitor. *Curr Opin Investig Drugs*, **7**, 759-765.
- Temin, H.M. (1993) Retrovirus variation and reverse transcription: abnormal strand transfers result in retrovirus genetic variation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **90**, 6900-6903.
- Thali, M., Bukovsky, A., Kondo, E., Rosenwirth, B., Walsh, C.T., Sodroski, J. and Gottlinger, H.G. (1994) Functional association of cyclophilin A with HIV-1 virions. *Nature*, **372**, 363-365.
- Thomas, J.A. and Gorelick, R.J. (2008) Nucleocapsid protein function in early infection processes. *Virus Res*, **134**, 39-63.
- Thompson, K.A., Churchill, M.J., Gorry, P.R., Sterjovski, J., Oelrichs, R.B., Wesselingh, S.L. and McLean, C.A. (2004) Astrocyte specific viral strains in HIV dementia. *Ann Neurol*, **56**, 873-877.
- Thompson, P.R. and Fast, W. (2006) Histone citrullination by protein arginine deiminase: is arginine methylation a green light or a roadblock? *ACS Chem Biol*, **1**, 433-441.
- Thomson, S., Mahadevan, L.C. and Clayton, A.L. (1999) MAP kinase-mediated signalling to nucleosomes and immediate-early gene induction. *Semin Cell Dev Biol*, **10**, 205-214.
- Thoulouze, M.I., Sol-Foulon, N., Blanchet, F., Dautry-Varsat, A., Schwartz, O. and Alcover, A. (2006) Human immunodeficiency virus type-1 infection impairs the formation of the immunological synapse. *Immunity*, **24**, 547-561.
- Tong, J.K., Hassig, C.A., Schnitzler, G.R., Kingston, R.E. and Schreiber, S.L. (1998) Chromatin deacetylation by an ATP-dependent nucleosome remodelling complex. *Nature*, **395**, 917-921.
- Travers, A. (1999) An engine for nucleosome remodeling. *Cell*, **96**, 311-314.
- Treand, C., du Chene, I., Bres, V., Kiernan, R., Benarous, R., Benkirane, M. and Emiliani, S. (2006) Requirement for SWI/SNF chromatin-remodeling complex in Tat-mediated activation of the HIV-1 promoter. *Embo J*, **25**, 1690-1699.
- Triboulet, R., Mari, B., Lin, Y.L., Chable-Bessia, C., Bennasser, Y., Lebrigand, K., Cardinaud, B., Maurin, T., Barbry, P., Baillat, V., Reynes, J., Corbeau, P., Jeang, K.T. and Benkirane, M. (2007) Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science*, **315**, 1579-1582.
- Trillo-Pazos, G., Diamanturos, A., Rislove, L., Menza, T., Chao, W., Belem, P., Sadiq, S., Morgello, S., Sharer, L. and Volsky, D.J. (2003) Detection of HIV-1 DNA in microglia/macrophages, astrocytes and neurons isolated from brain tissue with HIV-1 encephalitis by laser capture microdissection. *Brain Pathol*, **13**, 144-154.

- Triques, K. and Stevenson, M. (2004) Characterization of restrictions to human immunodeficiency virus type 1 infection of monocytes. *J Virol*, **78**, 5523-5527.
- Tsuchihashi, Z. and Brown, P.O. (1994) DNA strand exchange and selective DNA annealing promoted by the human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid protein. *J Virol*, **68**, 5863-5870.
- Tsukuda, T., Fleming, A.B., Nickoloff, J.A. and Osley, M.A. (2005) Chromatin remodelling at a DNA double-strand break site in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, **438**, 379-383.
- Tyagi, M. and Karn, J. (2007) CBF-1 promotes transcriptional silencing during the establishment of HIV-1 latency. *Embo J*, **26**, 4985-4995.

V

- Vacca, J.P. (1994) Design of tight-binding human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitors. *Methods Enzymol*, **241**, 311-334.
- Vakoc, C.R., Mandat, S.A., Olenchok, B.A. and Blobel, G.A. (2005) Histone H3 lysine 9 methylation and HP1gamma are associated with transcription elongation through mammalian chromatin. *Mol Cell*, **19**, 381-391.
- van Attikum, H., Fritsch, O., Hohn, B. and Gasser, S.M. (2004) Recruitment of the INO80 complex by H2A phosphorylation links ATP-dependent chromatin remodeling with DNA double-strand break repair. *Cell*, **119**, 777-788.
- van Attikum, H. and Gasser, S.M. (2005) The histone code at DNA breaks: a guide to repair? *Nat Rev Mol Cell Biol*, **6**, 757-765.
- Van Heuverswyn, F., Li, Y., Neel, C., Bailes, E., Keele, B.F., Liu, W., Loul, S., Butel, C., Liegeois, F., Bienvenue, Y., Ngolle, E.M., Sharp, P.M., Shaw, G.M., Delaporte, E., Hahn, B.H. and Peeters, M. (2006) Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas. *Nature*, **444**, 164.
- Van Lint, C. (2000) Role of chromatin in HIV-1 transcriptional regulation. *Adv Pharmacol*, **48**, 121-160.
- Vandegraaff, N., Devroe, E., Turlure, F., Silver, P.A. and Engelman, A. (2006) Biochemical and genetic analyses of integrase-interacting proteins lens epithelium-derived growth factor (LEDGF)/p75 and hepatoma-derived growth factor related protein 2 (HRP2) in preintegration complex function and HIV-1 replication. *Virology*, **346**, 415-426.
- Varin, A., Decrion, A.Z., Sabbah, E., Quivy, V., Sire, J., Van Lint, C., Roques, B.P., Aggarwal, B.B. and Herbein, G. (2005) Synthetic Vpr protein activates activator protein-1, c-Jun N-terminal kinase, and NF-kappaB and stimulates HIV-1 transcription in promonocytic cells and primary macrophages. *J Biol Chem*, **280**, 42557-42567.
- Varin, A., Manna, S.K., Quivy, V., Decrion, A.Z., Van Lint, C., Herbein, G. and Aggarwal, B.B. (2003) Exogenous Nef protein activates NF-kappa B, AP-1, and c-Jun N-terminal kinase and stimulates HIV transcription in promonocytic cells. Role in AIDS pathogenesis. *J Biol Chem*, **278**, 2219-2227.
- Vaute, O., Nicolas, E., Vandel, L. and Trouche, D. (2002) Functional and physical interaction between the histone methyl transferase Suv39H1 and histone deacetylases. *Nucleic Acids Res*, **30**, 475-481.
- Verani, A., Gras, G. and Pancino, G. (2005) Macrophages and HIV-1: dangerous liaisons. *Mol Immunol*, **42**, 195-212.
- Verdel, A., Jia, S., Gerber, S., Sugiyama, T., Gygi, S., Grewal, S.I. and Moazed, D. (2004) RNAi-mediated targeting of heterochromatin by the RITS complex. *Science*, **303**, 672-676.

- Verdin, E. (1991) DNase I-hypersensitive sites are associated with both long terminal repeats and with the intragenic enhancer of integrated human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, **65**, 6790-6799.
- Verdin, E., Paras, P., Jr. and Van Lint, C. (1993) Chromatin disruption in the promoter of human immunodeficiency virus type 1 during transcriptional activation. *Embo J*, **12**, 3249-3259.
- Vermeulen, M., Mulder, K.W., Denissov, S., Pijnappel, W.W., van Schaik, F.M., Varier, R.A., Baltissen, M.P., Stunnenberg, H.G., Mann, M. and Timmers, H.T. (2007) Selective anchoring of TFIID to nucleosomes by trimethylation of histone H3 lysine 4. *Cell*, **131**, 58-69.
- Vicent, G.P., Ballare, C., Nacht, A.S., Clausell, J., Subtil-Rodriguez, A., Quiles, I., Jordan, A. and Beato, M. (2006) Induction of progesterone target genes requires activation of Erk and Msk kinases and phosphorylation of histone H3. *Mol Cell*, **24**, 367-381.
- Vidricaire, G., Gauthier, S. and Tremblay, M.J. (2007) HIV-1 infection of trophoblasts is independent of gp120/CD4 Interactions but relies on heparan sulfate proteoglycans. *J Infect Dis*, **195**, 1461-1471.
- Vidricaire, G. and Tremblay, M.J. (2004) [For a better understanding of the mechanisms involved in vertical transmission of HIV]. *Med Sci (Paris)*, **20**, 784-787.
- Villagra, A., Cheng, F., Wang, H.W., Suarez, I., Glozak, M., Maurin, M., Nguyen, D., Wright, K.L., Atadja, P.W., Bhalla, K., Pinilla-Ibarz, J., Seto, E. and Sotomayor, E.M. (2009) The histone deacetylase HDAC11 regulates the expression of interleukin 10 and immune tolerance. *Nat Immunol*, **10**, 92-100.
- Vodicka, M.A., Koepp, D.M., Silver, P.A. and Emerman, M. (1998) HIV-1 Vpr interacts with the nuclear transport pathway to promote macrophage infection. *Genes Dev*, **12**, 175-185.
- Volberding, P.A., Lagakos, S.W., Grimes, J.M., Stein, D.S., Rooney, J., Meng, T.C., Fischl, M.A., Collier, A.C., Phair, J.P., Hirsch, M.S. and et al. (1995) A comparison of immediate with deferred zidovudine therapy for asymptomatic HIV-infected adults with CD4 cell counts of 500 or more per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med*, **333**, 401-407.

W

- Wahl, L.M., Corcoran, M.L., Pyle, S.W., Arthur, L.O., Harel-Bellan, A. and Farrar, W.L. (1989) Human immunodeficiency virus glycoprotein (gp120) induction of monocyte arachidonic acid metabolites and interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **86**, 621-625.
- Wain-Hobson, S., Sonigo, P., Danos, O., Cole, S. and Alizon, M. (1985) Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. *Cell*, **40**, 9-17.
- Wakabayashi, Y., Inoue, J., Takahashi, Y., Matsuki, A., Kosugi-Okano, H., Shinbo, T., Mishima, Y., Niwa, O. and Kominami, R. (2003a) Homozygous deletions and point mutations of the Rit1/Bcl11b gene in gamma-ray induced mouse thymic lymphomas. *Biochem Biophys Res Commun*, **301**, 598-603.
- Wakabayashi, Y., Watanabe, H., Inoue, J., Takeda, N., Sakata, J., Mishima, Y., Hitomi, J., Yamamoto, T., Utsuyama, M., Niwa, O., Aizawa, S. and Kominami, R. (2003b) Bcl11b is required for differentiation and survival of alphabeta T lymphocytes. *Nat Immunol*, **4**, 533-539.
- Walker, C.M., Thomson-Honniebier, G.A., Hsueh, F.C., Erickson, A.L., Pan, L.Z. and Levy, J.A. (1991) CD8+ T cells from HIV-1-infected individuals inhibit acute infection by human and primate immunodeficiency viruses. *Cell Immunol*, **137**, 420-428.

- Wang, H., Huang, Z.Q., Xia, L., Feng, Q., Erdjument-Bromage, H., Strahl, B.D., Briggs, S.D., Allis, C.D., Wong, J., Tempst, P. and Zhang, Y. (2001) Methylation of histone H4 at arginine 3 facilitating transcriptional activation by nuclear hormone receptor. *Science*, **293**, 853-857.
- Wang, J., Hevi, S., Kurash, J.K., Lei, H., Gay, F., Bajko, J., Su, H., Sun, W., Chang, H., Xu, G., Gaudet, F., Li, E. and Chen, T. (2009) The lysine demethylase LSD1 (KDM1) is required for maintenance of global DNA methylation. *Nat Genet*, **41**, 125-129.
- Wang, J., Scully, K., Zhu, X., Cai, L., Zhang, J., Prefontaine, G.G., Kronen, A., Ohgi, K.A., Zhu, P., Garcia-Bassets, I., Liu, F., Taylor, H., Lozach, J., Jayes, F.L., Korach, K.S., Glass, C.K., Fu, X.D. and Rosenfeld, M.G. (2007) Opposing LSD1 complexes function in developmental gene activation and repression programmes. *Nature*, **446**, 882-887.
- Wang, M., Cheng, D., Peng, J. and Pickart, C.M. (2006) Molecular determinants of polyubiquitin linkage selection by an HECT ubiquitin ligase. *Embo J*, **25**, 1710-1719.
- Watanabe, N., Yamaguchi, T., Akimoto, Y., Rattner, J.B., Hirano, H. and Nakauchi, H. (2000) Induction of M-phase arrest and apoptosis after HIV-1 Vpr expression through uncoupling of nuclear and centrosomal cycle in HeLa cells. *Exp Cell Res*, **258**, 261-269.
- Watanabe, T., Takeda, A., Tsukiyama, T., Mise, K., Okuno, T., Sasaki, H., Minami, N. and Imai, H. (2006) Identification and characterization of two novel classes of small RNAs in the mouse germline: retrotransposon-derived siRNAs in oocytes and germline small RNAs in testes. *Genes Dev*, **20**, 1732-1743.
- Weake, V.M. and Workman, J.L. (2008) Histone ubiquitination: triggering gene activity. *Mol Cell*, **29**, 653-663.
- Wei, P., Garber, M.E., Fang, S.M., Fischer, W.H. and Jones, K.A. (1998) A novel CDK9-associated C-type cyclin interacts directly with HIV-1 Tat and mediates its high-affinity, loop-specific binding to TAR RNA. *Cell*, **92**, 451-462.
- Weimer, R., Zipperle, S., Daniel, V., Zimmermann, R., Schimpf, K. and Opelz, G. (1998) HIV-induced IL-6/IL-10 dysregulation of CD4 cells is associated with defective B cell help and autoantibody formation against CD4 cells. *Clin Exp Immunol*, **111**, 20-29.
- Wen, X., Duus, K.M., Friedrich, T.D. and de Noronha, C.M. (2007) The HIV1 protein Vpr acts to promote G2 cell cycle arrest by engaging a DDB1 and Cullin4A-containing ubiquitin ligase complex using VprBP/DCAF1 as an adaptor. *J Biol Chem*, **282**, 27046-27057.
- Wichukchinda, N., Kitamura, Y., Rojanawiwat, A., Nakayama, E.E., Song, H., Pathipvanich, P., Auwanit, W., Sawanpanyalert, P., Iwamoto, A., Shioda, T. and Ariyoshi, K. (2007) The polymorphisms in DC-SIGNR affect susceptibility to HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **23**, 686-692.
- Williams, S.A., Chen, L.F., Kwon, H., Ruiz-Jarabo, C.M., Verdin, E. and Greene, W.C. (2006) NF-kappaB p50 promotes HIV latency through HDAC recruitment and repression of transcriptional initiation. *Embo J*, **25**, 139-149.
- Williams, S.A. and Greene, W.C. (2007) Regulation of HIV-1 latency by T-cell activation. *Cytokine*, **39**, 63-74.
- Wissmann, M., Yin, N., Muller, J.M., Greschik, H., Fodor, B.D., Jenuwein, T., Vogler, C., Schneider, R., Gunther, T., Buettner, R., Metzger, E. and Schule, R. (2007) Cooperative demethylation by JMJD2C and LSD1 promotes androgen receptor-dependent gene expression. *Nat Cell Biol*, **9**, 347-353.
- Woelk, T., Sigismund, S., Penengo, L. and Polo, S. (2007) The ubiquitination code: a signalling problem. *Cell Div*, **2**, 11.

- Wolffe, A.P., Jones, P.L. and Wade, P.A. (1999) DNA demethylation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**, 5894-5896.
- Wong, J.K., Hezareh, M., Gunthard, H.F., Havlir, D.V., Ignacio, C.C., Spina, C.A. and Richman, D.D. (1997) Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science*, **278**, 1291-1295.
- Wu, W., Blumberg, B.M., Fay, P.J. and Bambara, R.A. (1995) Strand transfer mediated by human immunodeficiency virus reverse transcriptase in vitro is promoted by pausing and results in misincorporation. *J Biol Chem*, **270**, 325-332.
- Wurtele, H., Li, Q., Zhou, H., Zhang, Z. and Verreault, A. (2009) [Histone acetylation and chromatin assembly]. *Med Sci (Paris)*, **25**, 121-122.

X

- Xie, S., Wang, Z., Okano, M., Nogami, M., Li, Y., He, W.W., Okumura, K. and Li, E. (1999) Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family. *Gene*, **236**, 87-95.
- Xue, Y., Wong, J., Moreno, G.T., Young, M.K., Cote, J. and Wang, W. (1998) NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell*, **2**, 851-861.

Y

- Yang, X.J. and Seto, E. (2008) The Rpd3/Hda1 family of lysine deacetylases: from bacteria and yeast to mice and men. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **9**, 206-218.
- Yedavalli, V.R. and Jeang, K.T. (2007) Methylation: a regulator of HIV-1 replication? *Retrovirology*, **4**, 9.
- Yedavalli, V.S., Benkirane, M. and Jeang, K.T. (2003) Tat and trans-activation-responsive (TAR) RNA-independent induction of HIV-1 long terminal repeat by human and murine cyclin T1 requires Sp1. *J Biol Chem*, **278**, 6404-6410.
- Yeh, M.W., Kaul, M., Zheng, J., Nottet, H.S., Thylin, M., Gendelman, H.E. and Lipton, S.A. (2000) Cytokine-stimulated, but not HIV-infected, human monocyte-derived macrophages produce neurotoxic levels of l-cysteine. *J Immunol*, **164**, 4265-4270.
- Yeung, F., Hoberg, J.E., Ramsey, C.S., Keller, M.D., Jones, D.R., Frye, R.A. and Mayo, M.W. (2004) Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *Embo J*, **23**, 2369-2380.
- Yi, R., Qin, Y., Macara, I.G. and Cullen, B.R. (2003) Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev*, **17**, 3011-3016.
- Ylisastigui, L., Coull, J.J., Rucker, V.C., Melander, C., Bosch, R.J., Brodie, S.J., Corey, L., Sodora, D.L., Dervan, P.B. and Margolis, D.M. (2004) Polyamides reveal a role for repression in latency within resting T cells of HIV-infected donors. *J Infect Dis*, **190**, 1429-1437.
- Yoder, K.E. and Bushman, F.D. (2000) Repair of gaps in retroviral DNA integration intermediates. *J Virol*, **74**, 11191-11200.
- Yokoyama, A., Takezawa, S., Schule, R., Kitagawa, H. and Kato, S. (2008) Transrepressive function of TLX requires the histone demethylase LSD1. *Mol Cell Biol*, **28**, 3995-4003.
- Yoshida, M., Kijima, M., Akita, M. and Beppu, T. (1990) Potent and specific inhibition of mammalian histone deacetylase both in vivo and in vitro by trichostatin A. *J Biol Chem*, **265**, 17174-17179.

- Yu, X., Yu, Y., Liu, B., Luo, K., Kong, W., Mao, P. and Yu, X.F. (2003) Induction of APOBEC3G ubiquitination and degradation by an HIV-1 Vif-Cul5-SCF complex. *Science*, **302**, 1056-1060.
- Yung, E., Sorin, M., Wang, E.J., Perumal, S., Ott, D. and Kalpana, G.V. (2004) Specificity of interaction of INI1/hSNF5 with retroviral integrases and its functional significance. *J Virol*, **78**, 2222-2231.

Z

- Zack, J.A., Arrigo, S.J., Weitsman, S.R., Go, A.S., Haislip, A. and Chen, I.S. (1990) HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell*, **61**, 213-222.
- Zaitseva, L., Cherepanov, P., Leyens, L., Wilson, S.J., Rasaiyaah, J. and Fassati, A. (2009) HIV-1 exploits importin 7 to maximize nuclear import of its DNA genome. *Retrovirology*, **6**, 11.
- Zaitseva, M., Blauvelt, A., Lee, S., Lapham, C.K., Klaus-Kovtun, V., Mostowski, H., Manischewitz, J. and Golding, H. (1997) Expression and function of CCR5 and CXCR4 on human Langerhans cells and macrophages: implications for HIV primary infection. *Nat Med*, **3**, 1369-1375.
- Zhang, B., Chambers, K.J., LePrince, D., Faller, D.V. and Wang, S. (2009) Requirement for chromatin-remodeling complex in novel tumor suppressor HIC1-mediated transcriptional repression and growth control. *Oncogene*, **28**, 651-661.
- Zhang, L., Chung, C., Hu, B.S., He, T., Guo, Y., Kim, A.J., Skulsky, E., Jin, X., Hurley, A., Ramratnam, B., Markowitz, M. and Ho, D.D. (2000) Genetic characterization of rebounding HIV-1 after cessation of highly active antiretroviral therapy. *J Clin Invest*, **106**, 839-845.
- Zhang, Y. (2003) Transcriptional regulation by histone ubiquitination and deubiquitination. *Genes Dev*, **17**, 2733-2740.
- Zhang, Y. and Reinberg, D. (2001) Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev*, **15**, 2343-2360.
- Zheng, L., Yang, Y., Guocai, L., Pauza, C.D. and Salvato, M.S. (2007) HIV Tat protein increases Bcl-2 expression in monocytes which inhibits monocyte apoptosis induced by tumor necrosis factor-alpha-related apoptosis-induced ligand. *Intervirology*, **50**, 224-228.
- Zhu, Y., Pe'ery, T., Peng, J., Ramanathan, Y., Marshall, N., Marshall, T., Amendt, B., Mathews, M.B. and Price, D.H. (1997) Transcription elongation factor P-TEFb is required for HIV-1 tat transactivation in vitro. *Genes Dev*, **11**, 2622-2632.
- Zlatanova, J., Caiafa, P. and Van Holde, K. (2000) Linker histone binding and displacement: versatile mechanism for transcriptional regulation. *Faseb J*, **14**, 1697-1704.
- Zofall, M., Persinger, J., Kassabov, S.R. and Bartholomew, B. (2006) Chromatin remodeling by ISW2 and SWI/SNF requires DNA translocation inside the nucleosome. *Nat Struct Mol Biol*, **13**, 339-346.

Maintien de la latence du VIH-1 : Implications des facteurs CTIP2 et LSD1

L'expression du VIH-1 est contrôlée par de nombreux phénomènes très complexes. Une étude de notre laboratoire a pu montrer l'importance du cofacteur transcriptionnel CTIP2 dans le maintien de la latence du VIH-1 dans les cellules microgliales. En effet, CTIP2 recrute un complexe enzymatique comprenant HDAC1 et 2 et SUV39H1, afin de condenser la chromatine qui sera alors transcriptionnellement inactive.

Dans un premier temps, j'ai mis en évidence l'effet répresseur de LSD1 sur la transcription virale dans les cellules microgliales. J'ai également pu démontrer que le recrutement de LSD1 sur le promoteur viral est associé à hSET1, une histone méthyltransférase, induisant alors la triméthylation de la lysine 4 de l'histone H3. J'ai pu également mettre en lumière que le recrutement de LSD1 est nécessaire à l'association de CTIP2 au promoteur viral. Ainsi, CTIP2 et LSD1 coopèrent dans la répression de la transcription virale dans les cellules microgliales.

Dans la seconde partie de ma thèse, j'ai étudié l'influence du cofacteur transcriptionnel CTIP2 sur la transcription virale dans les lymphocytes T CD4+. CTIP2 facilite la transactivation médiée par Tat. Dans ce cadre, ainsi que suite à une activation de la transcription par le PMA, CTIP2 est recruté sur le promoteur viral de manière concomitante avec HDAC2, SUV39H1 et HP1 γ . Ici, le recrutement de ces enzymes ne conduit pas à la formation d'un environnement hétérochromatinien mais à l'activation de la transcription virale.

Ainsi, mes travaux ont pu mettre en évidence la dualité de CTIP2 qui est un répresseur du VIH-1 dans les cellules microgliales infectées de manière latente et un activateur du VIH-1 dans les lymphocytes T CD4+ infectés de manière productive.

Mots clés : VIH-1, Transcription, CTIP2, LSD1, Chromatine

How to maintain the transcriptional post-integrative latency : implications of CTIP2 and LSD1

HIV-1 expression is controlled by various and complex phenomenons. We have shown that CTIP2 contributes to the post-integrative latency in microglial cells. CTIP2 associates with HDAC1, HDAC2 and SUV39H1 to favour heterochromatic environment surrounding the HIV promoter, thereby silencing HIV-1 expression.

I first described that the histone demethylase LSD1 represses HIV-1 transcription in microglial cells. LSD1 is associated with the HIV-1 promoter and facilitates the recruitment of the histone methylase hSET1 which is responsible for the Histone H3 Lysine 4 trimethylation. Moreover, my studies indicate that LSD1 is required in order to recruit CTIP2 onto the HIV-1 promoter. Thus, LSD1 and CTIP2 cooperate physically and functionally to induce a transcriptional repression.

In the second part of my thesis, I investigated the influence of CTIP2 on HIV-1 transcription in the T CD4+ lymphocytes. Following Tat expression or PMA treatment, CTIP2 enhances the Tat-mediated transactivation. CTIP2 induces the recruitment of HDAC2, SUV39H1 and HP1 γ on the HIV-1 promoter. Here, the recruitment of these enzymes does not lead to the formation of a heterochromatic environment but to the activation of the viral expression. So, my works were able to bring to light the duality of CTIP2 which repress the HIV-1 transcription in latently infected microglial cells and facilitates the HIV-1 expression in productively infected CD4+ T cells.

Key words : HIV-1, Transcription, CTIP2, LSD1, Chromatin