

par **Géraldine Mayeux**

Institut de Biologie Structurale

Groupe Entrée et bourgeonnement des virus enveloppés

Caractérisation biochimique et structurale de la protéine IFITM3, un facteur de restriction antiviral du système immunitaire inné

Thèse de Doctorat de l'Université de Grenoble

Les protéines IFITM (« InterFeron Inducible TransMembrane proteins »), et en particulier les membres 1, 2 et 3, sont des facteurs de restriction antiviraux dont l'expression est induite par le système immunitaire inné en réponse à une infection virale. Elles inhibent la réplication de nombreux virus pathogènes pour l'Homme qui entrent dans la cellule hôte, soit par fusion directe avec la membrane plasmique, soit par la voie de l'endocytose. Il est à présent communément admis que les protéines IFITM, localisées au sein des membranes plasmiques et endolysosomales, agissent en inhibant la fusion des membranes virales et cellulaires, empêchant par conséquent l'entrée du virus dans la cellule et donc sa réplication. Cependant, les mécanismes moléculaires par lesquels les protéines IFITM interfèrent avec le cycle viral ne sont pas encore clairement définis.

Parmi les membres de la famille IFITM, IFITM3 est celui qui présente l'effet antiviral le plus systématique selon les différentes études. Il constitue donc un modèle de référence pour étudier la famille IFITM.

Déterminer la structure ainsi que la topologie membranaire d'IFITM3 sous sa forme active rendrait alors possible la réalisation d'études fonctionnelles, dont les résultats contribueraient sans nul doute à élucider le(s) mécanisme(s) par le(s)quel(s) IFITM3 exerce son activité antivirale.

C'est pourquoi, nous nous sommes tout d'abord attelés à reconstituer IFITM3 au sein de membranes artificielles (liposomes, nanodisques) afin d'avoir de plus grandes chances de l'y étudier sous sa forme active. Nous y avons ensuite mis en évidence la formation de dimère de la protéine ainsi que de plus grandes espèces oligomériques. L'analyse structurale d'IFITM3 reconstituée en nanodisques par RMN nous a quant à elle permis d'identifier une courte région hélicoïdale dans la région N-terminale extramembranaire d'IFITM3 pouvant correspondre à un motif d'internalisation. Nous avons en outre observé, par microscopie électronique à coloration négative, de potentiels effets d'IFITM3 sur la courbure de la membrane de liposomes qui pourraient être à l'origine de son action inhibitrice sur la fusion virale. Et enfin, nous avons montré au travers d'expériences TEVC que lorsqu'IFITM3 est présente dans l'environnement extracellulaire d'ovocytes de xénope, celle-ci est capable d'engendrer des fuites ioniques au travers de la membrane des ovocytes qui pourraient résulter soit, d'une déstabilisation de la membrane par IFITM3 soit, d'une formation de pores membranaires par la protéine.