

# Les rôles de la protéine codée par le cadre de lecture ouvert 73 (ORF73) dans la latence des rhadinovirus

Muriel Thirion  
Alain Vanderplasschen

Université de Liège,  
faculté de médecine vétérinaire B43b,  
département des maladies infectieuses  
et parasitaires,  
immunologie-vaccinologie,  
boulevard de Colonster, 20,  
4000 Liège,  
Belgique  
<A.vdplasschen@ulg.ac.be>

**Résumé.** Le produit d'expression du cadre de lecture ouvert 73 (pORF73) est une protéine essentielle à la latence des *Rhadinovirus*, un genre viral associé à la sous-famille des *Gammaherpesvirinae*. pORF73 a pour fonction d'assurer une interaction physique entre les génomes viraux et la chromatine cellulaire, lors de la division cellulaire, afin de garantir la transmission du génome viral aux cellules filles. Il a aussi un rôle de modulation, tant au niveau viral que cellulaire, pour générer un environnement favorable à la latence. Le but de cette revue est de résumer les connaissances actuelles sur la protéine pORF73 en détaillant les différents rôles identifiés, principalement pour le pORF73 de l'herpèsvirus humain 8 (HHV-8). Néanmoins, cette revue envisage également les données disponibles pour les autres orthologues. Elle met en exergue la variété de mécanismes, démontrés ou hypothétiques, attribués à pORF73 et souligne son rôle crucial dans la latence virale.

**Mots clés :** rhadinovirus, latence, ORF73, pORF73, LANA-1

**Abstract.** The expression product of the ORF73 (pORF73) is a protein essential for latency of rhadinoviruses, a viral genus related to the *Gammaherpesvirinae*. pORF73 mediates the tethering of the viral genomes to cellular chromosomes enabling transmission of viral episome to daughter cells. Moreover, pORF73 modulates viral and cellular processes to generate an environment favourable to latency. The goal of this review is to summarize the knowledge available to date on pORF73. This review will focus on the prototype pORF73 encoded by Human Herpes Virus 8 (HHV-8) but also on the orthologues that have been studied so far. It highlights the diversity of pORF73 orthologue functions in the latency of rhadinoviruses.

**Key words:** rhadinovirus, latency, ORF73, pORF73, LANA-1

## Introduction

Les gammaherpèsvirus, à l'instar des autres virus de la famille des *Herpesviridae*, présentent deux phases distinctes dans leur cycle biologique : l'infection productive et l'infection latente. La phase productive permet de générer un grand nombre de particules virales. Elle est caractérisée par un programme de transcription où les gènes viraux sont exprimés en cascade [1]. Suite à l'infection primaire, les gammaherpèsvirus établissent pour la plupart une infection latente dans les cellules mononuclées sanguines. Cette

phase de latence correspond au maintien du génome viral (ADN double brin) sous une forme circulaire non intégrée appelée épisome. C'est une phase d'infection silencieuse au cours de laquelle seuls quelques gènes et micro-ARN sont exprimés pour permettre au génome viral de persister dans la cellule infectée et pour favoriser la survie de celle-ci [2-4]. Ce programme d'expression particulier agit, d'une part, en inhibant la cascade transcriptionnelle déclenchée en phase productive. D'autre part, il permet d'empêcher toute réaction cellulaire, telle l'apoptose ou l'arrêt du cycle cellulaire, qui pourrait aboutir à la mort cellulaire et, *in fine*, à la perte du virus.

Le cadre ouvert de lecture 73 (*open reading frame 73* ou ORF73) code une protéine indispensable pour la latence

**Tirés à part :** A. Vanderplasschen

des membres du genre *Rhadinovirus* de la sous-famille des *Gammaherpesvirinae*. La protéine ORF73 des *Rhadinovirus* représente un homologue fonctionnel et structurel de la protéine EBNA1 du *Lymphocryptovirus* Epstein-Barr, et ce, malgré l'absence d'une homologie de séquence entre ces protéines, ce qui suggère un processus d'évolution convergente.

Les rôles de l'ORF73 dans l'infection latente et la réplication virale, d'une part, et son influence sur les voies de régulation cellulaire, d'autre part, sont étudiés depuis de nombreuses années [5-7]. L'ORF73 la plus étudiée et la mieux caractérisée à ce jour est l'ORF73 de l'herpèsvirus humain 8 (HHV-8, aussi appelé herpèsvirus associé au sarcome de Kaposi ou KSHV). Elle code une protéine appelée *latency-associated nuclear antigen 1* (LANA-1). LANA-1 est responsable :

- du maintien du génome viral au sein de la cellule infectée et de sa descendance ;
- de l'inhibition de la phase productive ;
- de la modulation d'événements cellulaires générant un environnement propice à la latence.

Le but de cette revue est de résumer les connaissances actuelles disponibles sur l'ORF73 des rhadinovirus. Pour ce faire, nous aborderons tout d'abord la structure des différents ORF73s décrits à ce jour. Ensuite, nous développerons successivement les différents rôles décrits pour le produit d'expression (pORF73). Vu le grand nombre d'études réalisées sur LANA-1 du KSHV, cette revue sera axée sur la description de cette protéine. Les éléments connus pour les autres orthologues seront également énumérés.

## Structure de *latency-associated nuclear antigen 1* et de ses orthologues

LANA-1 est une protéine de 1162 aa (HHV-8 type M, genBank U75698.1) comportant trois grandes régions (*figure 1*) ; une région amino(N)-terminale, une région centrale et une région carboxy(C)-terminale. Chaque région contient des domaines structuraux et/ou fonctionnels. Ainsi, la région N-terminale contient une région riche en prolines (P, 59-263 aa) et la région centrale contient des zones répétées riches en résidus acides (aspartate/glutamate [D/E], 312-440 aa ; glutamine/glutamate [Q/E], 440-769 aa). La région centrale contient également une région appelée *leucine (L) zipper* (769-839 aa) faisant partie des domaines fixant l'ADN. Aucune composition particulière n'a été révélée dans la région C-terminale. Il existe une très large variation de taille entre le pORF73 le plus long (1300 aa, exprimé par l'herpèsvirus alcélaphin 1 ou AlHV-1) et le plus petit (253 aa, exprimé par l'herpèsvirus bovin 4 ou BoHV-4). La majorité des pORF73 comportent les trois

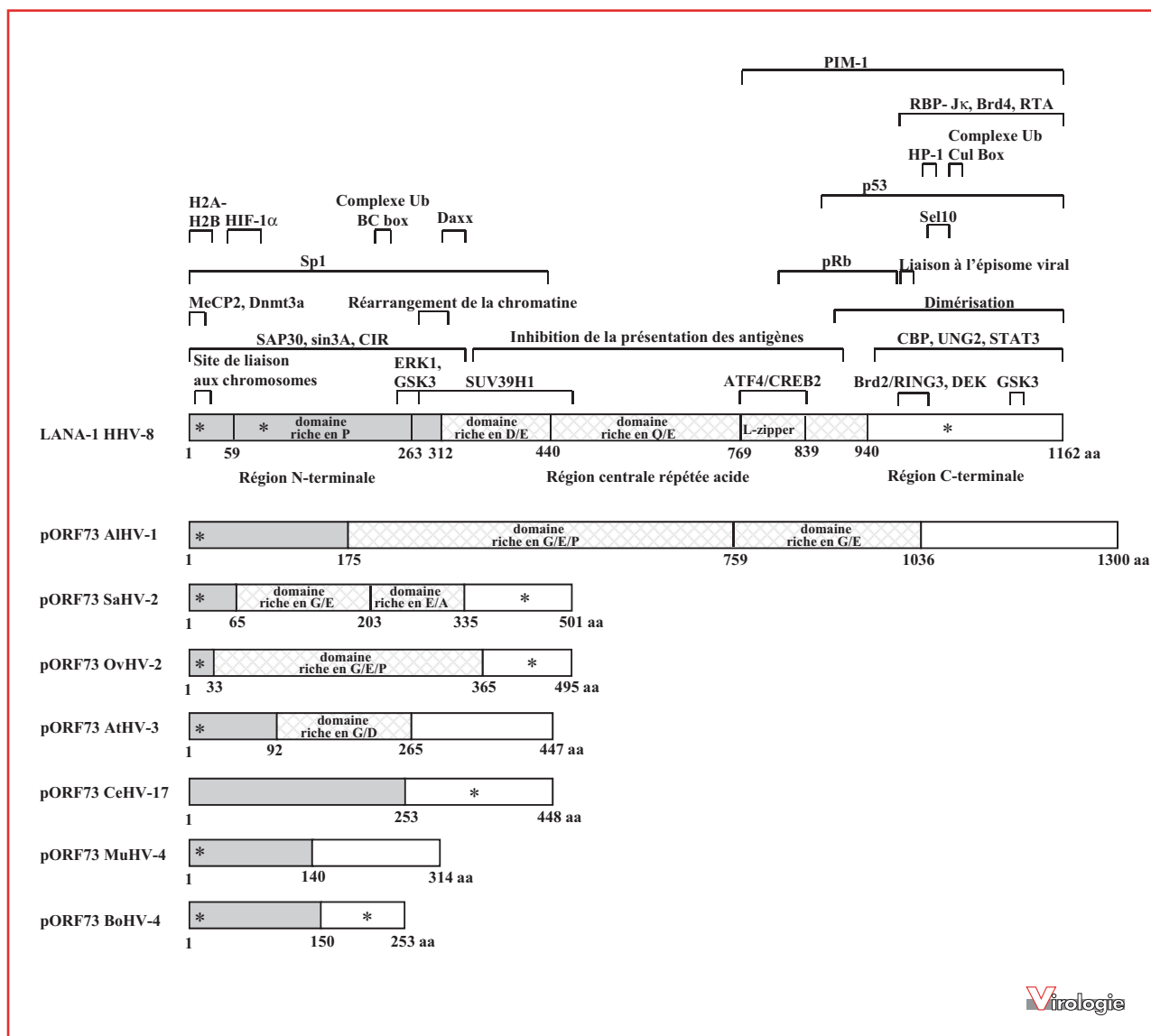
régions décrites pour LANA-1, bien que la composition en aa, notamment celle des régions répétées riches en résidus acides, puisse varier. Trois pORF73 ne possèdent pas de région centrale ; le pORF73 de l'herpèsvirus cercopithèque 17 (CeHV-17, 448 aa), de l'herpèsvirus murin 4 (MuHV-4, 314 aa) et du BoHV-4. Les analyses de séquence réalisées sur l'ensemble des pORF73s ont montré que les zones où ont été identifiées les principales fonctions de LANA-1 semblent être conservées (*figure 1*). En effet, bien que l'homologie de la région N-terminale soit limitée, la région C-terminale est fortement conservée au sein des rhadinovirus. Par exemple, l'homologie de la région C-terminale du pORF73 du BoHV-4 est de 35,9 % d'identité protéique avec le pORF73 de l'herpèsvirus atelin 3 (AtHV-3) et de 34,6 % avec LANA-1. Cependant, les résidus basiques de la partie N-terminale, importants pour la localisation nucléaire de la protéine (signal de localisation nucléaire ou NLS, *figure 1*), sont présents chez tous les pORF73, à l'exception du CeHV-17 (qui possède peut-être un NLS non classique et donc non prédit par programme bio-informatique). De plus, les différentes données expérimentales obtenues, notamment sur les plus petits pORF73s, ont montré que ces mêmes principales fonctions identifiées chez LANA-1 étaient conservées [6, 8].

Pour conclure, récemment, Barbera *et al.* ont décrit la structure cristalline du peptide comprenant les 23 premiers aa de LANA-1 [9]. Cette structure leur a permis d'obtenir une représentation spatiale révélant l'interaction entre LANA-1 et le complexe ADN – histones ou nucléosome (*figure 1*, site de liaison aux chromosomes). Ainsi, le peptide de LANA-1 forme une structure dite « en épingle à cheveux » qui interagit exclusivement avec la région acide constituée par les histones 2A et 2B (H2A et H2B, respectivement). Ces données ont permis d'élaborer un mécanisme d'attachement de la protéine LANA-1 aux chromosomes (*figure 2A*).

Il a également été démontré que LANA-1 est capable de dimériser *via* sa partie C-terminale (*figure 1*) [10]. La dimérisation étant une caractéristique commune des protéines associées à l'ADN, Schwam *et al.* ont suggéré que ce domaine pouvait être crucial dans la fonction d'attachement aux chromosomes. Ces données ont également été obtenues pour le pORF73 de l'herpèsvirus simien (SaHV-2 plus communément appelé HVS) [11].

## Rôle de *latency-associated nuclear antigen 1* dans le maintien de l'épisome viral

La première fonction établie de la protéine LANA-1 a été le maintien du génome viral. Des tests réalisés *in vitro* avec le KSHV et l'HVS, et *in vivo* avec le MuHV-4 et le BoHV-4 ont démontré le rôle essentiel de cette protéine

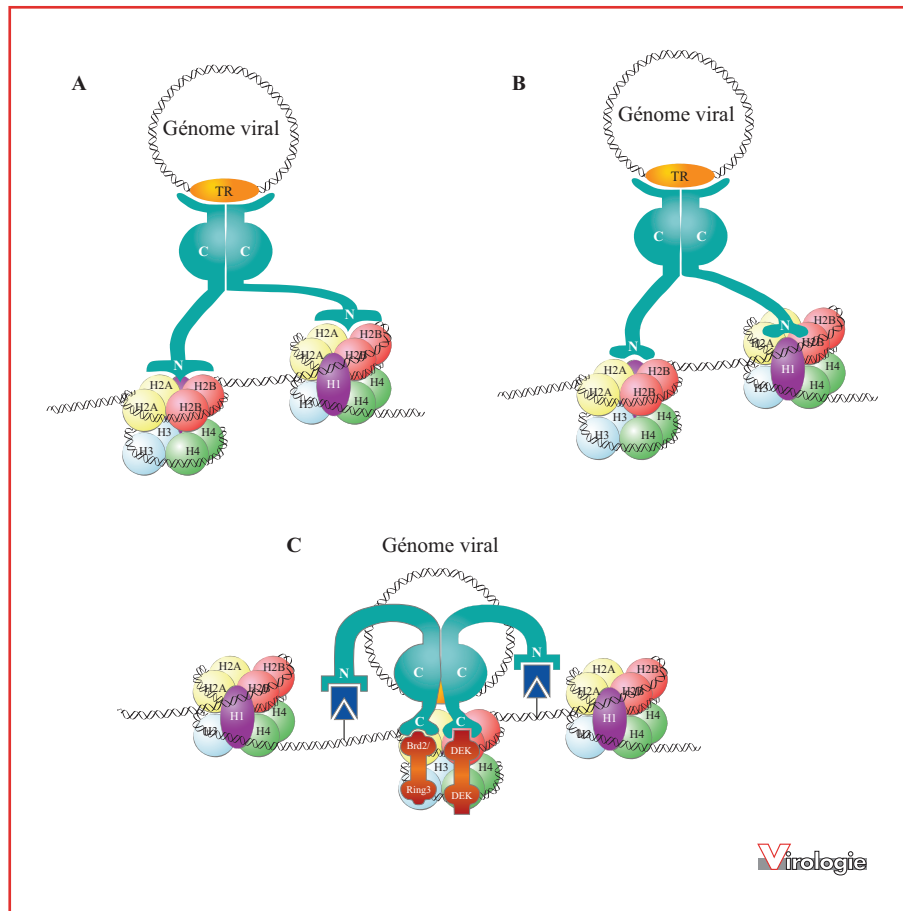


**Figure 1.** Représentation schématique des pORF73. Sont illustrés les différents domaines structuraux (indiqués dans les rectangles) et fonctionnels (indiqués entre crochets) identifiés à ce jour. L’astérisque représente la position du signal de localisation nucléaire (NLS).

dans la latence virale [5, 6, 12]. Cette protéine dimérise et crée un lien entre le génome viral et la chromatine cellulaire, lien qui existe en interphase et en mitose. Lors de la division cellulaire, l'épisode viral, attaché aux chromosomes mitotiques, profite de la machinerie de réplication de la cellule. Les copies du génome viral sont alors réparties entre les cellules filles en même temps que le génome cellulaire.

Deux grandes zones d'interaction sont présentes au niveau de la protéine LANA-1 : une pour la liaison au génome viral, et une pour la liaison au génome cellulaire. LANA-1

interagit *via* son domaine C-terminal (1007-1021 aa) avec les régions terminales répétées (TR) du génome viral (figures 2A, B et C). Griffiths *et al.* ont démontré que le domaine de liaison aux TR chez le pORF73 de l'HVS était également en C-terminal (418-501 aa) [13]. Le domaine de liaison aux chromosomes (CBS) en position N-terminale (5-32 aa) serait impliqué, seul ou en partenariat, dans l'interaction avec les chromosomes cellulaires [14]. Différents modèles ont été proposés en fonction des partenaires cellulaires identifiés et sont représentés schématiquement dans les figures 2A, B et C. Le modèle le plus récent est



**Figure 2.** Représentation schématique des modèles de maintien de l'épisome viral au génome cellulaire. **A)** Interaction de la région N-terminale du pORF73 sous forme dimérisée à la poche acide générée par les histones (H) 2A et 2B. **B)** Interaction de la région N-terminale du pORF73 sous forme dimérisée à l'H1. **C)** Interactions multiples de pORF73 impliquant les régions N- et C-terminales du pORF73, sous forme dimérisée, à de nombreux partenaires cellulaires agissant dans la régulation transcriptionnelle. Parmi ces partenaires, il y a la protéine *methyl-CpG-binding protein 2* ([MeCP-2], forme bleu foncé) qui reconnaît l'ADN méthylé (triangle bleu foncé). Les trois modèles montrent l'interaction de pORF73 avec le génome viral au niveau des régions répétées (TR) via un domaine C-terminal de la protéine.

issu des données obtenues grâce à la structure cristalline du peptide N-terminal riche en résidus basiques de LANA-1, en interaction avec la poche acide générée par H2A et H2B (figure 2A) [9]. Cotter et Robertson ont quant à eux démontré que la protéine LANA-1 interagit avec l'histone 1 (H1) associée au génome cellulaire (figure 2B) [15]. L'équipe de Griffiths a récemment fait de même pour le pORF73 de l'HVS [13]. Ils ont identifié une petite région en partie C-terminale (324-379 aa, figure 1) suffisante pour l'interaction avec H1.

Finalement, sur la base de leurs observations et de celles de leurs collègues, Wong *et al.* ont élaboré un modèle regroupant différents partenaires cellulaires (figure 2C) [16]. Dans ce modèle, LANA-1 interagit, via son domaine CBS en N-terminal, avec la protéine cellulaire *methyl-*

*CpG-binding protein 2* (MeCP2) qui lie l'ADN méthylé. Avec son domaine C-terminal, la protéine LANA-1, dimérisée, serait capable de s'associer, d'une part, à la protéine cellulaire Brd2 (protéine à double bromodomaine, aussi appelée RING3) et, d'autre part, à la protéine cellulaire DEK. Brd2 interagit avec les extrémités acétylées de H2A et H3 alors que DEK lie l'ADN incorporé dans les nucléosomes. Brd2, DEK et MeCP2 sont des protéines qui restent associées au génome cellulaire tout au long du cycle cellulaire. Cet élément est en concordance avec le maintien du lien, créé par LANA-1, durant l'intégralité du cycle cellulaire. Le pORF73 de l'HVS a également été démontré comme interagissant avec MeCP2 via la même partie C-terminale impliquée dans l'interaction avec l'H1 (324-396 aa) [17].

## Rôle de *latency-associated nuclear antigen 1* dans l'inhibition de la phase productive

La deuxième fonction de LANA-1 est d'inhiber la phase productive à deux moments clés : la mise en latence après infection primaire et la réactivation virale. La réactivation virale est l'étape par laquelle le virus, suite à un stimulus, passe de l'état latent à l'infection productive. Cette phase permet de revenir à un processus de transcription séquentielle en bloquant l'effet inhibiteur des produits de latence et en activant la transcription des gènes lytiques. Contrairement à la mise en latence qui a été relativement peu étudiée, la réactivation virale a fait l'objet de nombreuses études. Deux protéines majeures sont impliquées dans la régulation positive et négative du processus de réactivation : d'une part, la protéine de latence LANA-1 empêche le retour à une phase lytique, notamment en inhibant la protéine de réactivation activateur de transcription et de réplication (RTA), codée par l'ORF50 ; d'autre part, RTA induit la phase lytique en inhibant LANA-1 et en stimulant la transcription de gènes lytiques [18, 19]. Ces deux protéines, de par leur régulation mutuelle, régulent la balance entre la phase latente et la phase productive. Différents modèles sont proposés pour expliquer l'implication de LANA-1 dans l'inhibition de RTA lors de la latence. Cette inhibition se situe à un niveau transcriptionnel (deux modèles, *figures 3* et *4*). Cette inhibition a également été démontrée pour le pORF73 de l'HVS et du CeHV-17 [20, 21].

Selon le premier modèle (*figure 3*), LANA-1 induirait la répression transcriptionnelle au niveau du promoteur de l'ORF50 (Rp), codant RTA, *via* le recrutement de méthyltransférases et de protéines liant les groupements méthyles (*figure 3A*) [18]. La méthylation peut se faire au niveau de l'ADN, notamment *via* DNA méthyltransférase 3a (DNMT3a, *figure 3B*) [22] ou se faire au niveau des histones, par exemple, *via* SUV39H1 (pour *suppressor of variegation 3-9 homolog 1*, non représenté) [23]. La méthylation de l'ADN et des histones est un mécanisme épigénétique bien connu. Des protéines telles MeCP2 et HP1 (pour *heterochromatin protein 1*) reconnaissent et lient respectivement l'ADN (*figure 3B*) et H3 méthylés (non représenté). Elles sont également capables d'interagir entre elles et de recruter sur le site d'autres protéines de répression. Ainsi, le changement conformationnel généré par la présence des groupements méthyles va induire la dissociation du complexe transcriptionnel (CT), et les partenaires en présence vont bloquer l'accès du CT au promoteur du gène codant RTA (*figure 3B*).

Dans le deuxième modèle (*figure 4*), LANA-1 interagirait avec un cofacteur transcriptionnel, *recombination signal sequence-binding protein Jκ* (RBP-Jκ) [24]. Ce cofacteur

transcriptionnel intervient dans une des voies de transduction de signaux cellulaires majeures, la voie de signalisation *notch*. Il a été démontré qu'un certain nombre de promoteurs de gènes lytiques, dont Rp, contient des séquences reconnues par RBP-Jκ [24]. Durant la réactivation, RTA mimerait la protéine ICN (pour *intracellular activated Notch*) et interagirait avec RBP-Jκ et d'autres cofacteurs transcriptionnels dont CBP (pour *cAMP responsive element binding protein*) pour activer la transcription des gènes précoces-immédiats et précoces, gènes séquentiels de la phase lytique (*figure 4A*). Récemment, Lan *et al.* ont démontré que LANA-1 inhibait la dégradation d'ICN par le protéasome [25]. Cette protéine, devenue abondante dans le noyau, entrerait alors en compétition avec RTA et dissocierait le CT formé au niveau des promoteurs viraux (*figure 4B*). Considérant les partenaires de LANA-1 identifiés à ce jour, un autre mode d'inhibition peut être envisagé (*figures 4C* et *D*). En effet, LANA-1 interagit avec RBP-Jκ, CBP et RTA [26]. Il serait possible qu'en interagissant avec l'un ou plusieurs de ces partenaires (*figure 4C*), LANA-1 entraîne la dissociation du CT formé au niveau des promoteurs de gènes lytiques (*figure 4D*). RBP-Jκ et CBP pourraient alors être disponibles pour l'activation de LANA-1 alors que l'interaction de LANA-1 avec RTA pourrait inhiber l'activité de celle-ci.

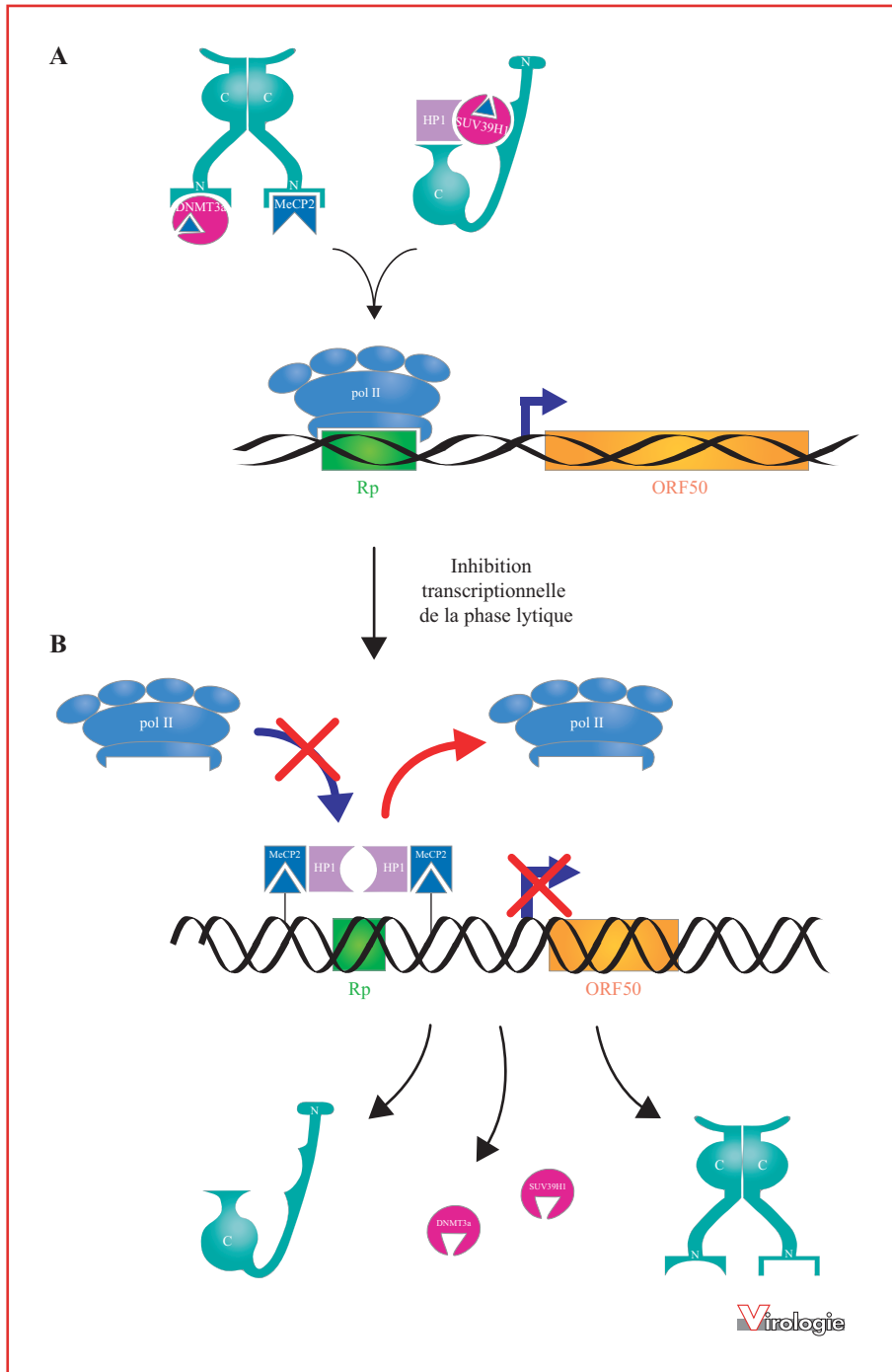
Ces deux modèles révèlent la multifonctionnalité associée à LANA-1 dans la mesure où les partenaires qu'elle lie sont impliqués à la fois dans le maintien du génome viral et dans la régulation transcriptionnelle virale et cellulaire.

## Rôle de *latency-associated nuclear antigen 1* dans la modulation de processus cellulaires

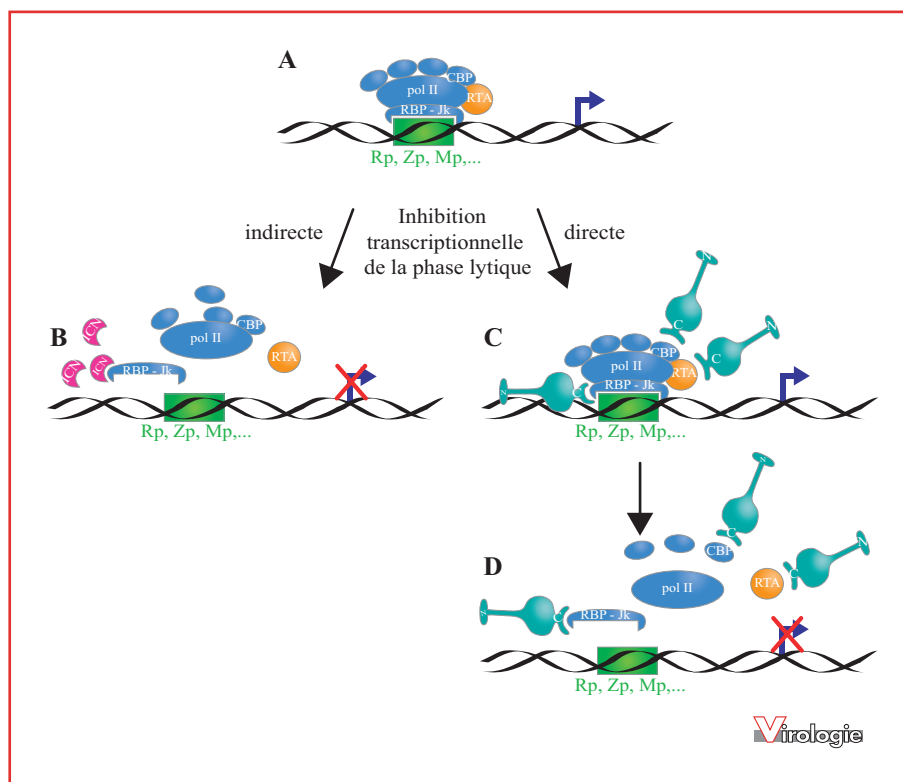
En plus d'être un régulateur de la transcription des gènes viraux, la protéine LANA-1 module également les événements cellulaires. Cette capacité est le dernier élément nécessaire à l'accomplissement de la latence. De nombreux partenaires ont été identifiés et les domaines d'interaction correspondants se situent, pour l'essentiel, dans les domaines N- et C-terminaux de la protéine (*figure 1*). Ces partenaires cellulaires peuvent être regroupés en différentes catégories fonctionnelles :

- régulation transcriptionnelle ;
- cycle cellulaire ;
- apoptose ;
- modifications post-traductionnelles ;
- immuno-évasion.

Beaucoup de partenaires identifiés sont des facteurs ou cofacteurs transcriptionnels, impliqués dans l'activation



**Figure 3.** Inhibition de la réactivation virale par inhibition transcriptionnelle de l'ORF50. Le pORF73 interagit avec des répresseurs transcriptionnels tel *methyl-CpG-binding protein 2* (MeCP2) (A). Il les amène ensuite à proximité du promoteur (Rp) de l'ORF50 (codant pour RTA) rendant la zone transcriptionnellement inactive. L'ORF50 n'est pas transcrite, RTA pas produite et la réactivation est donc inhibée (B).

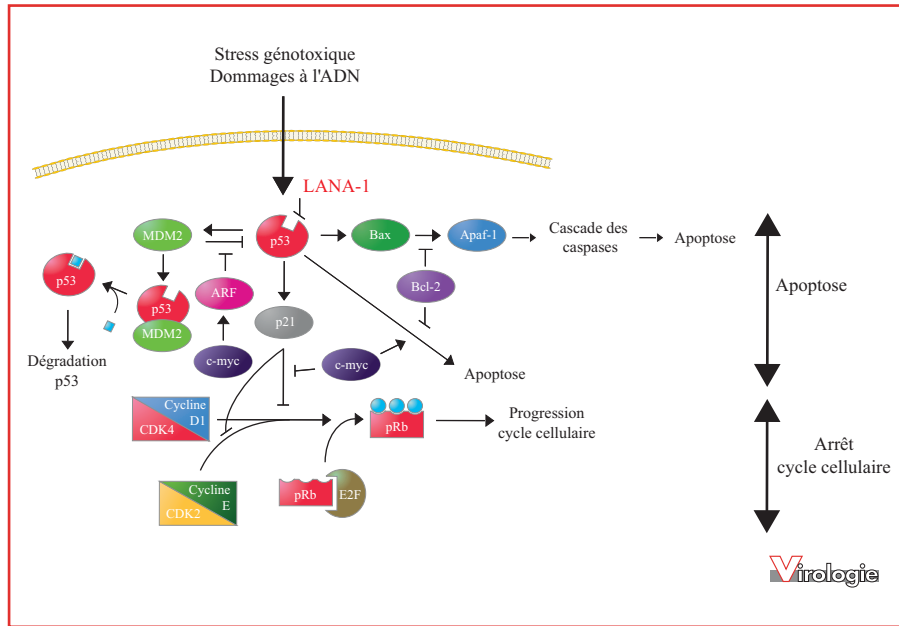


**Figure 4.** Inhibition de la réactivation virale par inhibition transcriptionnelle. Ce modèle montre deux modes d'inhibition. Le premier est un mode d'action indirect où pORF73 empêche la dégradation d'*intracellular activated notch* (ICN) qui peut dès lors entrer en compétition avec un des cofacteurs transcriptionnels (*recombination signal sequence-binding protein*  $J_k$  [RBP-Jk]) du complexe formé au niveau des promoteurs de gènes lytiques (**A** et **B**). Le second mode d'action est direct et implique l'interaction de pORF73 avec différents cofacteurs du complexe transcriptionnel formé au niveau des promoteurs de gènes lytiques (Rp, Zp, Mp... ) (**A**, **C** et **D**). Dans les deux cas, l'interaction avec les cofacteurs entraîne une dissociation du complexe et l'inhibition de la transcription des gènes lytiques (**B** et **D**).

et/ou dans la répression transcriptionnelle. Grâce à ce panel de protéines, LANA-1 peut, selon les conditions cellulaires, rendre une région de la chromatine, transcriptionnellement active ou inactive pour permettre la latence, comme déjà illustré ci-dessus au niveau du génome viral (*figures 3 et 4*). Parmi les partenaires identifiés se trouvent, en plus de ceux déjà évoqués ci-dessus, le complexe histone déacétylase formé par sin3A, SAP30 (pour protéine de 30 k daltons associée à sin3A) et *C promoter-binding factor 1* – *CBF-1* – *interacting corepressor* (CIR) [27], Sp1 [28], *death domain-associated protein* (Daxx) [29], *extracellular signal-regulated kinase 1* (ERK-1) [30], PIM1 [31], Brd4 [32], *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3) [33], *glycogen synthase kinase 3* (GSK3) [34] et *activating transcription factor 4/cAMP response element-binding protein 2* ([ATF4/CREB2], [35]). Ce dernier est le seul partenaire démontré comme interagissant avec le motif L-zipper de LANA-1 pour former un hétérodimère fonctionnel.

En plus de ces protéines se trouvent *product of the TP53 tumor suppressor gene* (p53) et protéine du rétinoblastome (pRb), deux régulateurs majeurs du devenir de la cellule [36, 37]. LANA-1, en interagissant avec p53 empêche cette protéine d'induire l'apoptose (*figure 5*). Cela constitue un niveau de contrôle supplémentaire de l'apoptose, par rapport à une autre protéine de latence appelée *viral Fas-associated death domain-like interleukin-1 $\beta$ -converting enzyme (FLICE)-like inhibitory protein* (FLIP) [v-FLIP] [38]. LANA-1 empêche aussi p53 d'induire l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1/S (*figure 5*). De même, en interagissant avec pRb, LANA-1 permet la libération du facteur de transcription *eukaryotic transcription factor 2* (E2F), facteur indispensable à la progression du cycle cellulaire en phase S. Plusieurs de ces partenaires cellulaires ont également été identifiés pour les orthologues de pORF73 isolés chez d'autres rhabdovirus [17, 39, 40].

LANA-1 peut aussi intervenir dans les mécanismes de modifications post-traductionnelles sur des protéines



**Figure 5.** Effet de pORF73 sur la modulation des événements cellulaires. L'interaction de pORF73 avec p53 inhibe l'effet apoptotique et l'arrêt du cycle cellulaire dépendant de p53.

cibles, par exemple en recrutant un complexe permettant l'ubiquitination d'une protéine et sa dégradation consécutive [41]. Ce mécanisme permettrait d'éliminer des protéines qui pourraient empêcher la latence virale.

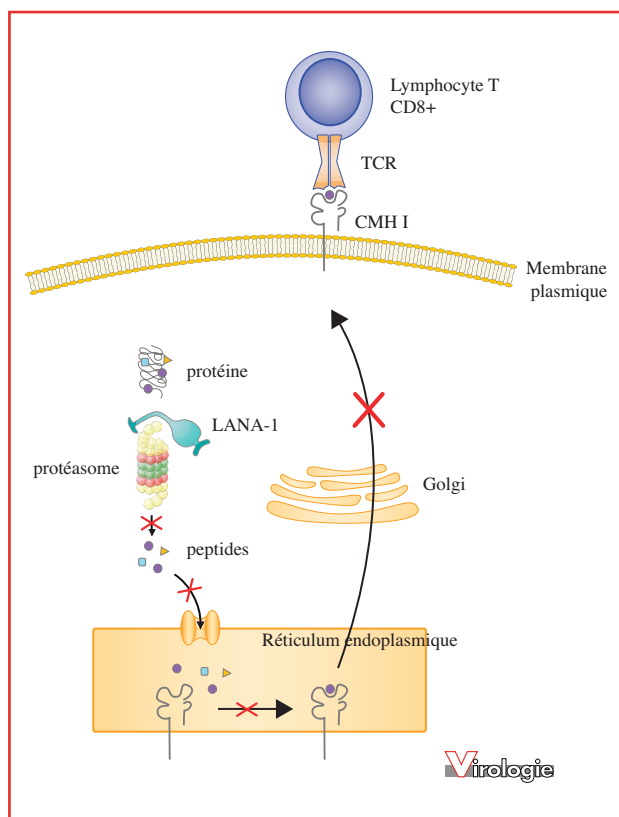
LANA-1 est également impliquée dans les mécanismes d'immuno-évasion en inhibant la présentation des antigènes par le complexe majeur d'histocompatibilité de type I (CMHI, *figure 6*). Ce rôle dans l'immuno-évasion semble être crucial dans la survie des cellules infectées de façon latente. Cette fonction est une des seules impliquant la région centrale de la protéine (360-911 aa). Cependant, l'étude réalisée par Bennett *et al.* sur le pORF73 du MuHV-4, qui ne possède pas de domaine central acide, démontre que l'inhibition n'est pas tributaire de la nature des aa composant ces motifs répétés [42]. De plus, l'étude récente de Gao *et al.* sur le pORF73 de l'HVS a permis de démontrer que la région centrale (65-335 aa) avait la même fonction et qu'un motif répété court de 9 aa de cette région était suffisant, à lui seul, pour réduire la présentation par le CMH I [43]. Il semblerait donc que ni la taille, ni les résidus acides ne soient impliqués directement dans ce mécanisme. Ces mécanismes d'immuno-évasion ont été montrés en latence et affecteraient notamment LANA-1. Il n'est cependant pas à exclure que l'inhibition puisse impliquer d'autres protéines et d'autres mécanismes de modulation, agissant sur la présentation des antigènes ou sur le turn-over des protéines, en latence ou même en phase lytique.

## Conclusion

Comme tous les herpèsvirus, les gammaherpèsvirus sont capables de rester à l'état latent dans la cellule infectée, persistant ainsi à long terme [1]. Pour la plupart d'entre eux, pORF73 joue un rôle essentiel dans la latence. Les nombreuses études citées dans cette revue démontrent le rôle crucial et les activités très diversifiées de cette protéine. Néanmoins, deux constats s'en dégagent. Le premier est le fait que beaucoup d'études se sont intéressées à l'identification d'un partenaire cellulaire et se sont attachées uniquement à l'étude de l'interaction et/ou de l'effet de pORF73 sur ce partenaire. Une étude des complexes formés avec pORF73 dans diverses conditions cellulaires se révélerait plus critique, plus informative et sans doute plus proche de la réalité biologique.

Un second constat est que certains points ne sont pas encore entièrement résolus. D'une part, de nombreux partenaires semblent redondants d'un point de vue fonctionnel. Il est donc possible que des partenaires identifiés dans des études *in vitro*, tel le test du double hybride, ne soient pas des partenaires réels dans le contexte viral. D'autre part, de nombreuses études ont permis d'élaborer divers mécanismes d'interaction du pORF73 avec le génome cellulaire, sans qu'aucune ne puisse réellement écarter les autres. Ces constats nous ramènent à l'importance de réaliser une étude plus globale, permettant d'identifier non pas un partenaire





**Figure 6.** Évasion de la réponse immune des cellules latentes par inhibition de la présentation de pORF73 via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH I). La portion centrale de LANA-1 fait encombrement stérique à l'entrée du protéasome. Cela a pour effet d'empêcher sa dégradation et sa présentation à la surface de la cellule par le CMH I.

mais bien le complexe protéique formé autour de LANA-1 dans un contexte donné. Finalement, la plupart des études du rôle du pORF73 sur l'inhibition de la phase productive ont été faites dans le cadre de l'inhibition de la réactivation virale et non dans celui du phénomène de mise en latence. Il y a de ce fait de grosses lacunes concernant le mécanisme d'entrée en latence après primo-infection. Il serait donc intéressant de focaliser les études futures sur ces points afin d'améliorer notre compréhension sur les rôles du pORF73 dans la latence des gammaherpèsvirus. Cette meilleure compréhension permettrait sans doute d'élaborer des stratégies mieux adaptées pour lutter contre la tumorigenèse associée à la plupart des gammaherpèsvirus, tumorigenèse liée à une dérégulation de voies cellulaires clés pour permettre l'établissement et le maintien du virus à l'état latent [44].

**Remerciements.** Les auteurs tiennent à remercier Jessica Collard pour son aide précieuse dans la réalisation des

figures. Muriel Thirion est boursière du Fonds pour la formation à la recherche dans l'industrie et l'agriculture (Fria).

**Conflits d'intérêts :** aucun.

## Références

1. Roizman B, Pellett PE. The family *Herpesviridae*: a brief introduction. In : Fields BN, Knipe DM, eds. *Virology*, 5<sup>th</sup> edition. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer Business, 2007 : 2479-99.
2. Cai X, Lu S, Zhang Z, Gonzalez CM, Damania B, Cullen BR. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus expresses an array of viral microRNAs in latently infected cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 ; 102 : 5570-5.
3. Sarid R, Flore O, Bohenzky RA, Chang Y, Moore PS. Transcription mapping of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) genome in a body cavity-based lymphoma cell line (BC-1). *J Virol* 1998 ; 72 : 1005-12.
4. Weck KE, Kim SS, Virgin HI, Speck SH. Macrophages are the major reservoir of latent murine gammaherpesvirus 68 in peritoneal cells. *J Virol* 1999 ; 73 : 3273-83.
5. Calderwood M, White RE, Griffiths RA, Whitehouse A. Open reading frame 73 is required for herpesvirus saimiri A11-S4 episomal persistence. *J Gen Virol* 2005 ; 86 : 2703-8.
6. Fowler P, Marques S, Simas JP, Efstathiou S. ORF73 of murine herpesvirus-68 is critical for the establishment and maintenance of latency. *J Gen Virol* 2003 ; 84 : 3405-16.
7. Renne R, Barry C, Dittmer D, Compitello N, Brown PO, Ganem D. Modulation of cellular and viral gene expression by the latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Virol* 2001 ; 75 : 458-68.
8. Verma SC, Robertson ES. ORF73 of herpesvirus saimiri strain C488 tethers the viral genome to metaphase chromosomes and binds to *cis*-acting DNA sequences in the terminal repeats. *J Virol* 2003 ; 77 : 12494-506.
9. Barbera AJ, Chodaparambil JV, Kelley-Clarke B, et al. The nucleosomal surface as a docking station for Kaposi's sarcoma herpesvirus LANA. *Science* 2006 ; 311 : 856-61.
10. Schwam DR, Luciano RL, Mahajan SS, Wong L, Wilson AC. Carboxy terminus of human herpesvirus 8 latency-associated nuclear antigen mediates dimerization, transcriptional repression, and targeting to nuclear bodies. *J Virol* 2000 ; 74 : 8532-40.
11. Calderwood MA, Hall KT, Matthews DA, Whitehouse A. The herpesvirus saimiri ORF73 gene product interacts with host-cell mitotic chromosomes and self-associates via its C terminus. *J Gen Virol* 2004 ; 85 : 147-53.
12. Ye FC, Zhou FC, Yoo SM, Xie JP, Browning PJ, Gao SJ. Disruption of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latent nuclear antigen leads to abortive episome persistence. *J Virol* 2004 ; 78 : 11121-9.
13. Griffiths R, Harrison SM, Macnab S, Whitehouse A. Mapping the minimal regions within the ORF73 protein required for herpesvirus saimiri episomal persistence. *J Gen Virol* 2008 ; 89 : 2843-50.
14. Piolot T, Tramier M, Coppey M, Nicolas JC, Marechal V. Close but distinct regions of human herpesvirus 8 latency-associated nuclear antigen 1 are responsible for nuclear targeting and binding to human mitotic chromosomes. *J Virol* 2001 ; 75 : 3948-59.
15. Cotter 2nd MA, Robertson ES. The latency-associated nuclear antigen tethers the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus genome to host chromosomes in body cavity-based lymphoma cells. *Virology* 1999 ; 264 : 254-64.
16. Wong LY, Matchett GA, Wilson AC. Transcriptional activation by the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency-associated nuclear

antigen is facilitated by an N-Terminal chromatin-binding motif. *J Virol* 2004 ; 78 : 10074-85.

17. Griffiths R, Whitehouse A. Herpesvirus saimiri episomal persistence is maintained *via* interaction between open reading frame 73 and the cellular chromosome-associated protein MeCP2. *J Virol* 2007 ; 81 : 4021-32.

18. Lan K, Kuppers DA, Verma SC, Robertson ES. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded latency-associated nuclear antigen inhibits lytic replication by targeting RTA: a potential mechanism for virus-mediated control of latency. *J Virol* 2004 ; 78 : 6585-94.

19. Lan K, Kuppers DA, Verma SC, Sharma N, Murakami M, Robertson ES. Induction of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency-associated nuclear antigen by the lytic transactivator RTA: a novel mechanism for establishment of latency. *J Virol* 2005 ; 79 : 7453-65.

20. DeWire SM, Damania B. The latency-associated nuclear antigen of rhesus monkey rhadinovirus inhibits viral replication through repression of ORF50/RTA transcriptional activation. *J Virol* 2005 ; 79 : 3127-38.

21. Schafer A, Lengenfelder D, Grillhosl C, Wieser C, Fleckenstein B, Ensser A. The latency-associated nuclear antigen homolog of herpesvirus saimiri inhibits lytic virus replication. *J Virol* 2003 ; 77 : 5911-25.

22. Shamay M, Krithivas A, Zhang J, Hayward SD. Recruitment of the *de novo* DNA methyltransferase Dnmt3a by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus LANA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 ; 103 : 14554-9.

23. Sakakibara S, Ueda K, Nishimura K, *et al.* Accumulation of heterochromatin components on the terminal repeat sequence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus mediated by the latency-associated nuclear antigen. *J Virol* 2004 ; 78 : 7299-310.

24. Lan K, Kuppers DA, Robertson ES. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus reactivation is regulated by interaction of latency-associated nuclear antigen with recombination signal sequence-binding protein Jkappa, the major downstream effector of the Notch signaling pathway. *J Virol* 2005 ; 79 : 3468-78.

25. Lan K, Verma SC, Murakami M, Bajaj B, Kaul R, Robertson ES. Kaposi's sarcoma herpesvirus-encoded latency-associated nuclear antigen stabilizes intracellular activated notch by targeting the Sel10 protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 ; 104 : 16287-92.

26. Lim C, Gwack Y, Hwang S, Kim S, Choe J. The transcriptional activity of cAMP response element-binding protein-binding protein is modulated by the latency associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 31016-22.

27. Krithivas A, Young DB, Liao G, Greene D, Hayward SD. Human herpesvirus 8 LANA interacts with proteins of the mSin3 corepressor complex and negatively regulates Epstein-Barr virus gene expression in dually infected PEL cells. *J Virol* 2000 ; 74 : 9637-45.

28. Verma SC, Borah S, Robertson ES. Latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus up-regulates transcription of human telomerase reverse transcriptase promoter through interaction with transcription factor Sp1. *J Virol* 2004 ; 78 : 10348-59.

29. Murakami Y, Yamagoe S, Noguchi K, *et al.* Ets-1-dependent expression of vascular endothelial growth factor receptors is activated by latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus through interaction with Daxx. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 28113-21.

30. Liu J, Martin H, Shamay M, Woodard C, Tang QQ, Hayward SD. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus LANA protein downregulates nuclear glycogen synthase kinase 3 activity and consequently blocks differentiation. *J Virol* 2007 ; 81 : 4722-31.

31. Bajaj BG, Verma SC, Lan K, Cotter MA, Woodman ZL, Robertson ES. KSHV encoded LANA upregulates Pim-1 and is a substrate for its kinase activity. *Virology* 2006 ; 351 : 18-28.

32. You J, Srinivasan V, Denis GV, *et al.* Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency-associated nuclear antigen interacts with bromodomain protein Brd4 on host mitotic chromosomes. *J Virol* 2006 ; 80 : 8909-19.

33. Muromoto R, Okabe K, Fujimuro M, *et al.* Physical and functional interactions between STAT3 and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded LANA. *FEBS Lett* 2006 ; 580 : 93-8.

34. Fujimuro M, Liu J, Zhu J, Yokosawa H, Hayward SD. Regulation of the interaction between glycogen synthase kinase 3 and the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency-associated nuclear antigen. *J Virol* 2005 ; 79 : 10429-41.

35. Lim C, Sohn H, Gwack Y, Choe J. Latency-associated nuclear antigen of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus-8) binds ATF4/CREB2 and inhibits its transcriptional activation activity. *J Gen Virol* 2000 ; 81 : 2645-52.

36. Friberg Jr J, Kong W, Hottiger MO, Nabel GJ. p53 inhibition by the LANA protein of KSHV protects against cell death. *Nature* 1999 ; 402 : 889-94.

37. Radkov SA, Kellam P, Boshoff C. The latent nuclear antigen of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus targets the retinoblastoma-E2F pathway and with the oncogene *Hras* transforms primary rat cells. *Nat Med* 2000 ; 6 : 1121-7.

38. Thome M, Schneider P, Hofmann K, *et al.* Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 1997 ; 386 : 517-21.

39. Forrest JC, Paden CR, Allen 3rd RD, Collins J, Speck SH. ORF73-null murine gammaherpesvirus 68 reveals roles for mLANA and p53 in virus replication. *J Virol* 2007 ; 81 : 11957-71.

40. Ottinger M, Pliquet D, Christalla T, Frank R, Stewart JP, Schulz TF. The interaction of the gammaherpesvirus 68 orf73 protein with cellular BET proteins affects the activation of cell cycle promoters. *J Virol* 2009 ; 83 : 4423-34.

41. Cai QL, Knight JS, Verma SC, Zald P, Robertson ES. EC5S ubiquitin complex is recruited by KSHV latent antigen LANA for degradation of the VHL and p53 tumor suppressors. *PLoS Pathog* 2006 ; 2 : e116.

42. Bennett NJ, May JS, Stevenson PG. Gamma-herpesvirus latency requires T cell evasion during episome maintenance. *PLoS Biol* 2005 ; 3 : e120.

43. Gao J, Coulson JM, Whitehouse A, Blake N. Reduction in RNA levels rather than retardation of translation is responsible for the inhibition of major histocompatibility complex class I antigen presentation by the glutamic acid-rich repeat of herpesvirus saimiri open reading frame 73. *J Virol* 2009 ; 83 : 273-82.

44. Ganem D. KSHV infection and the pathogenesis of Kaposi's sarcoma. *Annu Rev Pathol* 2006 ; 1 : 273-96.