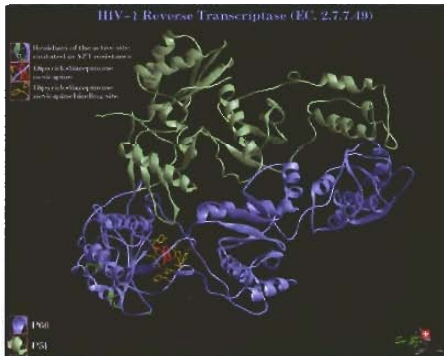


1) La transcriptase inverse

• Structure

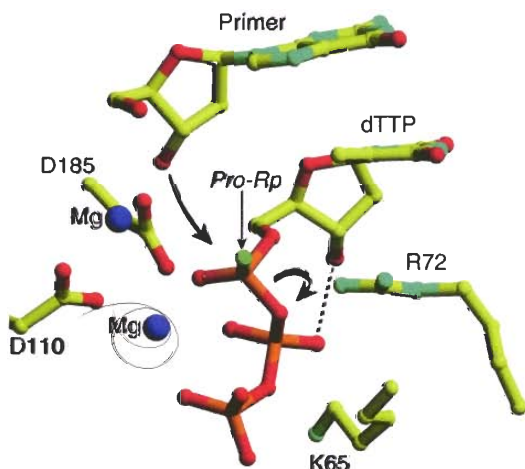


La structure tridimensionnelle de la transcriptase inverse a été mise en évidence en 1992. Il a fallu attendre 1998 pour que l'équipe de Steve Harisson (Boston) caractérise la structure « protéine – ARN viral – ADN néosynthétisé – nucléotide ».

Cette structure est comparée à une « main droite » qui agrippe l'ADN, ajoute le nucléotide et synthétise.

Le site catalytique de la transcriptase inverse est responsable de l'incorporation des nucléotides.

• Fonction



* La transcriptase inverse utilise l'ARN viral qu'elle transforme en ADN double brin qui est importé dans le noyau de la cellule.

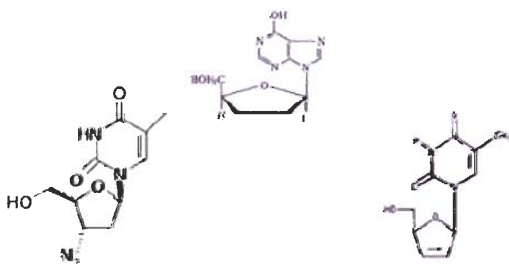
* La réaction de polymérisation n'est possible qu'en présence d'ions magnésium. Ceux-ci permettent de dégager les charges négatives pour que le noyau soit attaqué.

* Mécanisme de répllication

- pendant la première phase, l'enzyme se fixe à un ADN en cours de croissance.
- au cours de la synthèse, elle ajoute un premier nucléotide en face de la base à recopier, puis la translation permet de passer à la base suivante.

La cristallisation de l'enzyme puis de l'ADN dans le site actif a été réalisée au fil du temps, puis en 1998 a été obtenue la cristallisation de l'ADN et du nucléotide en train d'être ajouté.

• Inhibition



Molécules utilisées en thérapeutique (AZT, ddI, ddC, D4T, 3TC, abacavir, PMPA, FTC)

→ ces molécules vont être reconnues par la transcriptase inverse qui va les intégrer (sélectivité) ;

→ la transcriptase inverse va les « confondre » avec des nucléotides naturels.

2) Les mécanismes de résistance

* **Le virus est capable** de sélectionner des isolats comportant des mutations

→ ces mutations sont retrouvées au sein de la transcriptase inverse, dans le site actif de l'enzyme : les médicaments deviennent alors inefficaces

→ un grand nombre de mutations a été décrit, permettant de déterminer quel médicament va être exclus.

* **Les mécanismes de résistance** se sont révélés complexes

→ au départ, on pensait que la transcriptase inverse « rejetait » la molécule (ex : AZT) en cas de mutation : il n'en est rien !

→ l'évolution des connaissances a permis de mettre en évidence 2 *principaux mécanismes de résistance* de la transcriptase inverse.

- **Discrimination de l'inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse** (ddN, 3TC, ténofovir,...)

* **La transcriptase inverse** a le choix d'insérer le nucléotide naturel ou le médicament

→ elle peut acquérir des mutations qui vont la conduire à accepter beaucoup plus facilement le nucléotide naturel que le médicament

→ pour cela, elle peut

- soit *fixer le médicament de façon différente*
- soit *l'incorporer beaucoup moins vite*

* Cette « **efficacité d'incorporation** » va permettre de déterminer le *facteur de discrimination* et de caractériser le taux d'enzyme muté.

La résistance est ainsi liée :

- soit à l'affinité pour la molécule
- soit à la vitesse d'incorporation de cette molécule.

| | | |
|-----|-----------|-----------------|
| 65 | ddN, PMPA | K_{pol} |
| 74 | ddN | $K_{pol} + K_d$ |
| 151 | MDR | K_{pol} |
| 184 | 3TC | K_d |

- **Excision**

Elle est typique de l'*AZT* et des *TAMS*.

L'*AZT* est incorporé et « quelque chose le répare ».

L'excision de l'*AZT* paraît liée à la concentration d'ATP

Les mutations (TAMS) :

- facilitent la liaison de l'ATP dans le site actif
- facilitent la réaction catalytique.

De nouvelles pistes thérapeutiques peuvent être imaginées (ex : *AZT* + adjuvant empêchant l'excision).