

Aspects Structuraux et Dynamiques de l'Inhibition de l'Intégrase de VIH-1 par un Anticorps Monoclonal spécifique

L'intégrase (IN : 312 acides aminés) est l'enzyme du VIH-1 qui catalyse l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN de la cellule infectée. Ce processus est initié par une reconnaissance spécifique de l'ADN viral par le biais de l'hélice $\alpha 4$ localisée à la surface du domaine catalytique (150-212) au sein de IN. Dans ce projet nous préparerons un anticorps monoclonal anti-IN par injection dans la souris du peptide synthétique (K159) de 29 acides aminés (147-175) incluant l'hélice $\alpha 4$. L'anticorps sera caractérisé par des tests spécifiques (ELISA, western blot,...) en utilisant différents fragments et analogues du peptide de départ. Les études structurales et dynamiques des complexes anticorps/peptides K159 et analogues en solution seront menées par résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectroscopies optiques. Nous obtiendrons des informations sur les mutations modifiant la reconnaissance de l'ADN par IN ainsi que sur les inhibiteurs dont le mode d'action procède par une interaction majeure avec l'hélice $\alpha 4$.

Dans un passé récent, l'injection d'un peptide de 29 acides aminés (K159), issu d'un motif hélice tour hélice (HTH) incluant l'hélice $\alpha 4$ de l'intégrase du VIH-1 un tour et une petite partie de l'hélice $\alpha 5$ au lapin nous a permis d'obtenir un anticorps polyclonal qui, après purification, a manifesté une affinité spécifique pour la partie C-terminale de K159 (résidus 163-171). Ce dernier s'est avéré être un puissant inhibiteur de IN dans des tests d'intégration *in vitro*. Cet anticorps a aussi permis de montrer que IN se fixe sous forme de dimère à chaque extrémité de l'ADN viral. Dans le présent travail, nous souhaitons préparer un anticorps monoclonal chez la souris contre le même peptide K159. Ce nouvel anticorps nous servira d'outils précieux afin de détecter l'hélice $\alpha 4$ avec une bonne affinité. Il permettra de même d'étudier : le degré d'accessibilité de l'hélice $\alpha 4$ au sein du dimère (étape de maturation) et au sein du tétramère (étape de transfert) ; la capacité de liaison de l'hélice $\alpha 4$ à l'ADN viral processé et non processé, les inhibiteurs antiviraux agissant à l'interface de l'hélice $\alpha 4$ – ADN.