

Les viroïdes, vestiges du monde ARN à la frontière du vivant ?

Résumé Les viroïdes sont des ARN nus qui infectent des cellules. Certains sont pathogènes, d'autres asymptomatiques, d'autres enfin sont même bénéfiques à la croissance et au développement végétal. Ils ne codent pour aucune protéine et certains, qui possèdent des ribozymes, exercent les propriétés catalytiques nécessaires à leur réplication. On peut dès lors les considérer comme des survivants-reliques de l'évolution précellulaire... tout un programme de recherche !

Mots-clés Viroïdes, ARN, ribozyme, évolution précellulaire.

Abstract **Viroïds: remnants of the RNA world at the frontier of the living?**

Viroïds are naked RNAs that infect cells. Some are pathogenic, some are asymptomatic, and some are even beneficial to plant growth and development. They do not code for any protein and some that possess ribozymes exert the catalytic properties necessary for their replication. They can therefore be considered as survivors of pre-cellular evolution... a whole research program!

Keywords Viroïds, RNA world, ribozyme, pre-cellular evolution.

C'est en 1922 que fut décrite pour la première fois la maladie des tubercules en fuseau de la pomme de terre, maladie que les chercheurs ont d'abord attribuée à des bactéries, puis à des virus, avant de découvrir l'existence d'ARN libre, pathogène responsable de ce symptôme. Beaucoup ont initialement douté de l'existence de ces ARN nus jusqu'à ce que soient réalisées des infections expérimentales qui montrèrent pour la première fois que des ARN pathogènes plus petits que le plus petit des virus étaient responsables de maladies dévastatrices chez les plantes. En 1971, Theodor Diener, spécialiste des maladies végétales, les nomma viroïdes. Le Comité international de taxonomie des virus (ICTV) a finalement reconnu que ces agents subviraux occupent une position taxonomique unique parmi toutes les entités biologiques, clairement distincte de tous les virus.

« Bizarre, comme c'est bizarre... »

Contrairement aux virus, ces agents infectieux sont composés exclusivement d'un brin d'ARN circulaire. Dépourvu d'enveloppe ou de capside, ils ne produisent aucune protéine et sont constitués de 250 à 375 ribonucléotides agencés en brins capables de s'apparier et de former des boucles. Certains sont organisés en bâtonnets de 50 nm de long environ (figure 1).

Lorsqu'une plante est infectée par un viroïde, la plupart des symptômes se manifestent au niveau des tissus et des organes. Le feuillage et les tiges peuvent être déformés, décolorés ou abimés. Les fleurs sont nécrosées, petites, dépigmentées. La taille, la forme et la qualité des fruits sont également affectées (figure 2).

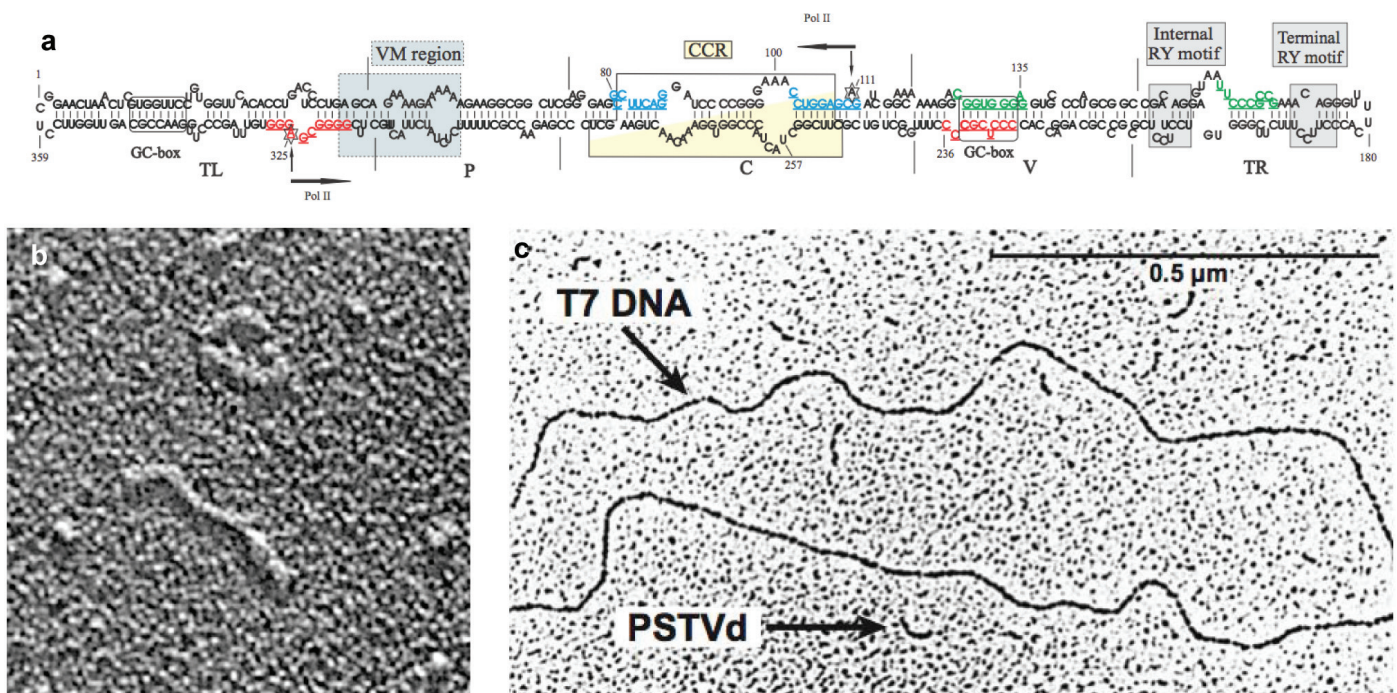


Figure 1 - Le viroïde de la pomme de terre (PSTVd) : (a) séquence ribonucléotidique (adaptée de [1]) ; (b) photographie en microscopie électronique, © Henry A. Wallace Beltsville Agricultural Research Center ; (c) tailles relatives du viroïde et de l'ADN du bactériophage T7 [1].



Figure 2 - Plants de tomate sain et infecté par le *Tomato planta macho viroid* (TPMVd).



Figure 3 - Cocotiers *Cocos nucifera* infectés par le *Coconut cadang nucifrage viroid*.

Contrairement aux virus, on ne leur connaît pas de récepteurs cellulaires. L'infection et la transmission ont été bien étudiées dans le cas du *Coconut cadang cadran viroid* (CCCVD) et du *Coconut tinangaja viroid* (CTIVd) qui infectent les palmiers (*Elaeis guineensis*) et les cocotiers (*Corypha elata*) par le pollen, les piqûres d'insectes ou les plaies induites par des outils agricoles de taille ou d'entretien (figure 3). La mort des plantes est alors inéluctable, entraînant souvent des catastrophes économiques.

Tous les viroïdes ne sont pas pathogènes : certains sont asymptomatiques comme le du viroïde du houblon, et d'autres sont mêmes bénéfiques pour leurs hôtes. La production de citronniers nains après infection par des viroïdes asymptomatiques a été mise au point dans des plantations à Dareton (Australie) afin de permettre une augmentation de la densité plantée pour une meilleure récolte. Les rendements par hectare planté se sont avérés supérieurs pour des arbres inoculés par le viroïde, comparés aux mêmes arbres non inoculés !

D'autre part, la lumière et la température favorisent l'expression des viroïdes dans la plante. Ainsi, un accroissement notable des symptômes est observé lorsqu'on passe de 20 °C à 35 °C.

Les viroïdes agirait en inactivant des gènes selon les modalités du « RNA gene silencing ». Capables de perturber ou de

bloquer l'expression de certains gènes par interférence, ce sont les interactions qu'ils peuvent établir avec certaines enzymes qui empêcheraient ou favoriseraient la croissance de la plante.

On connaît 34 espèces de viroïdes divisées en deux familles : les *Pospiviroidae* et les *Avsunviroidae*. Ils se composent de 246 à 375 nucléotides et se replient selon des structures compactes de type « rod-like » ou ramifiées. Les *Avsunviroidae* se répliquent dans les chloroplastes et les *Pospiviroidae* se répliquent dans le noyau cellulaire. Les viroïdes, ainsi que les ARN satellites, sont les seules molécules d'ARN connues à pouvoir se répliquer sans intermédiaire ADN et sans coder pour des protéines. Contrairement aux virus, dont ils sont phylogénétiquement distants, ils ne codent donc pour aucune protéine et sont dépendants des enzymes de l'hôte pour leur réplication qui se déroule selon le modèle du cercle roulant symétrique (en A) ou asymétrique (en B) (figure 4).

Chez les *Avsunviroidae* (en A), l'ARN monocaténaire forme des motifs catalytiques particuliers, des ribozymes dits en « tête de marteau » (« hammerhead »), qui interviennent dans l'auto-coupeure du brin en train de se répliquer (étape 2, figure 4A) générant un monomère qui se repliera en cercle pour former le brin de polarité (-) complémentaire au brin matrice.

On ne connaît pas de motifs autocatalytiques actifs au cours de la réplication des *Pospiviroidae* (en B) ; cependant, certains portent des structures en « hammerhead » qui n'interviennent pas aujourd'hui dans le processus de réplication.

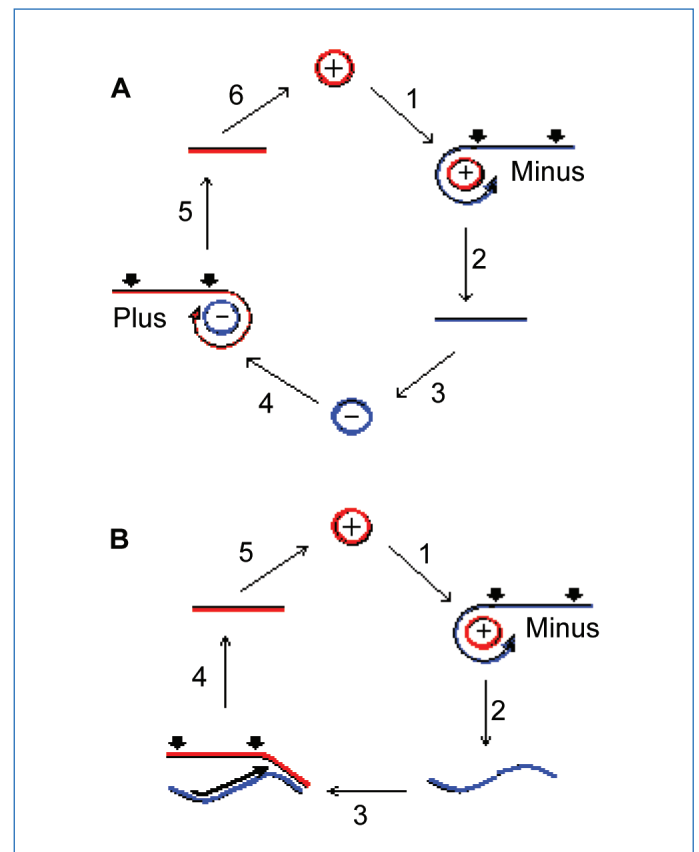


Figure 4 - A) Réplication symétrique en cercle roulant. Les *Avsunviroidae* possèdent dans leurs séquences un ARN ribozyme qui catalyse leur auto-coupeure durant la réplication. Celle-ci se déroule dans les chloroplastes via un mécanisme qui produit des ARN multimériques des deux polarités. À partir d'un viroïde circulaire positif (+), une ARN polymérase à activité ARN-dépendante synthétise un long ARN linéaire négatif qui, après auto-clivage ribozymique, produit des monomères qui seront re-circularisés. Ces viroïdes circulaires (-) vont à leur tour servir de matrice pour copier des viroïdes positifs selon les mêmes étapes. B) Réplication asymétrique des *Pospiviroidae*. Ces derniers ne possèdent pas de ribozyme.

Une fois répliqués dans la cellule, les viroïdes se déplacent de cellule en cellule en empruntant le système circulatoire de la plante. Transportés par la sève qui circule dans le phloème, ils empruntent les plasmodesmes, mus par une dynamique qui leur est propre.

À ce jour, tous les viroïdes connus ont été découverts dans des plantes. Cependant, leurs différents lieux de réplication (noyau ou chloroplaste), ainsi que la présence de domaines de type viroïde dans l'ARN du virus HDV humain (« hepatitis delta virus »), révèlent leur diversité et leur capacité d'adaptation à différents environnements. Les ARN viroïdes et HDV partagent plusieurs caractéristiques : la structure circulaire, le repliement compact et la réplication via un mécanisme en cercle roulant. Nous savons depuis 2011 que le viroïde de l'avocat, l'*Avocado sunblotch viroid* (ASBVd), est capable de s'auto-couper, de se répliquer et de se maintenir pendant au moins 25 générations dans un eucaryote unicellulaire non photosynthétique : la levure *Saccharomyces cerevisiae* [2-3]. La réplication a également été montrée en 2016 chez une cyanobactérie *Nostoc* sp. PCC 7120 [4].

Ajoutons que, bien que des viroïdes n'ont jamais été mis en évidence dans le monde animal, trois petits ARN exceptionnellement stables ont été associés à la maladie de Crohn et à la colite ulcéreuse.

Origine et évolution

L'analyse phylogénétique des viroïdes et des ARN satellites témoigne d'une origine commune. Des virus à ARN, parasites des végétaux comme *Sobemovirus*, *Polerovirus* et *Nepovirus*, sont accompagnés d'ARN « satellites » qui ressemblent fortement à des viroïdes avec des séquences de type ribozyme en « hammerhead ».

Les viroïdes pourraient avoir évolué à partir d'ARN satellites qui ont acquis une dépendance vis-à-vis de leur hôte après être devenus des éléments intracellulaires.

Bien que leur origine évolutive demeure incertaine, on considère les viroïdes actuels comme des « fossiles » d'un ancien monde ARN [5]. Descendants d'ARN originellement « libres » – les « proviroïdes » – qui, à un moment donné au cours de l'évolution cellulaire, sont entrés dans les organismes et en sont devenus dépendants, les viroïdes actuels seraient des descendants de proviroïdes « libres » qui ont envahi d'anciennes cyanobactéries, probablement par phagocytose. Ces organismes sont devenus des endosymbiotes de plantes primitives et ont finalement évolué en chloroplastes.

Une fois à l'intérieur des chloroplastes, certains viroïdes auraient pu éventuellement se déplacer vers le noyau, devenir dépendants des polymérases nucléaires et perdre leur capacité d'auto-coupage.

Des survivants-reliques de l'évolution précellulaire ?

Avec la découverte en 1985 par Cech et Altman des ARN-enzymes, les ribozymes, l'hypothèse selon laquelle l'ARN aurait précédé l'ADN comme vecteur de l'information génétique et catalyseur des premiers actes métaboliques est devenue plausible. L'ARN, à la fois génotype et phénotype, aurait initié l'évolution darwinienne au niveau moléculaire, en l'absence d'ADN et de protéines.

Les viroïdes comme prototypes des *Acytota*, un taxon différent des *Cytota* (*Archaea*, *Bacteria* et *Eukarya*), sont considérés par certains comme une forme de vie non cellulaire au côté des

virus. L'idée selon laquelle il y aurait ainsi une quatrième branche dans l'arbre du vivant ne fait cependant pas l'unanimité. Et le débat est vif dans un contexte où le concept d'espèce considérée comme le taxon de base de la taxonomie est flou et mal défini.

L'ARN aurait-il pu exister seul ?

Dans ce cadre, il est intéressant d'explorer les propriétés de résistance des viroïdes et des ARN satellites [6-7]. Les viroïdes ancestraux auraient pu exister bien avant l'univers des cellules et être à la base d'un monde à ARN qui a précédé le monde actuel basé sur l'ADN et les protéines. Au cours de l'évolution, ces molécules libres auraient survécu grâce à l'acquisition d'un mode de vie intracellulaire.

Les viroïdes qui adoptent une forme circulaire et compacte sont résistants aux enzymes de dégradation (nucléases, RNases...), ainsi qu'à bon nombre de facteurs physiques et environnementaux. Par exemple, la dénaturation du PSTVd ne commence qu'à 55 °C à pression atmosphérique et n'augmente fortement qu'après 65 °C. Nous avons étudié au laboratoire les effets des hautes pressions et températures élevées simulant les conditions probablement présentes au cours des premières étapes du vivant. Dans le cadre d'une origine de la vie thermophile où les ARN étaient protégés par le milieu salin environnant, nous avons étudié les conformations de ribozymes par diffusion de neutrons [8]. Toutes ces études nous donnent des informations précieuses sur le comportement des macromolécules en milieux extrêmes.

Sous certaines conditions, l'ASBVd s'auto-assemble en complexes homodimériques, qui modulent l'activité catalytique des ribozymes encastrés [9].

La multiplication des viroïdes nécessite plusieurs activités catalytiques : polymérisation de l'ARN, clivage et ligation. La polymérisation et la ligation de l'ARN requièrent des enzymes protéiques de la plante hôte, par exemple l'ARN polymérase d'origine chloroplastique codée par le noyau de la cellule (« nuclear-encoded chloroplastic RNA polymerase » ou NEP) qui ressemble à l'enzyme bactérienne. Alors que le clivage de l'ARN est obtenu par le motif HHR du viroïde, les activités catalytiques manquantes ont été découvertes dans des molécules modifiées par sélection artificielle (*in vitro*) [10].

La (bio)diversité de deux familles différentes de ribozymes (« tête de marteau » et enroulés dits « twister ») présentes dans tous les domaines du vivant (bactéries, archées et eucaryotes) corrobore la possibilité de l'existence précoce de ribozymes. Enfin, les viroïdes ont un taux de mutation élevé, supérieur à celui des virus, ce qui permet une évolution plus rapide.

L'hypothèse « viroïdes d'abord » apparus précocement sur Terre dans un continuum monde ARN-monde ADN est désormais une question ouverte et passionnante étudiée au plan expérimental et phylogénétique pour tenter de comprendre les débuts et l'évolution de la vie sur Terre.

Cet article est une reprise de celui publié dans The Conversation en 2018.

[1] R. Flores, A naked plant-specific RNA ten-fold smaller than the smallest known viral RNA: the viroid, *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, **2001**, 324, p. 943-952.

[2] C. Delan-Forino, M.-C. Maurel, C. Torchet, Replication of *Avocado sunblotch viroid* in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Virol.*, **2011**, 85, p. 3229-3238.

[3] C. Delan-Forino, J. Deforges, L. Benard, B. Sargueil, M.-C. Maurel, C. Torchet, Structural analyses of *Avocado sunblotch viroid* reveal differences in the folding of the plus and minus RNA strands, *Viruses*, **2014**, 6, p. 489-506.

- [4] A. Latifi, C. Bernard, L. da Silva, Y. Andéol, A. Elleuch, V. Risoul, J. Vergne, M.-C. Maurel, Replication of *Avocado sunblotch viroid* in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120, *J. Plant Pathol. Microbiol.*, **2016**, *7*, <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000341>
- [5] T.O. Diener, Circular RNAs: relics of precellular evolution?, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1989**, *86*, p. 9370-9374.
- [6] M.-C. Maurel, F. Leclerc, J. Vergne, G. Zaccai, RNA back and forth: looking through ribozyme and viroid motifs, *Viruses*, **2019**, *11*, 283, <https://doi.org/10.3390/v11030283>
- [7] G. Hui-Bon-Hoa, H. Kaddour, J. Vergne, S.G. Kruglik, M.-C. Maurel, Raman characterization of *Avocado sunblotch viroid* and its response to external perturbations and self-cleavage, *BMC Biophys.*, **2014**, *7*, <https://doi.org/10.1186/2046-1682-7-2>
- [8] Y.L. Li, M.-C. Maurel, C. Ebel, J. Vergne, V. Pipich, G. Zaccai, Self-association of a denine-dependent hairpin ribozymes, *Eur. Biophys. J.*, **2008**, *37*, p. 173-182.
- [9] F. Leclerc, G. Zaccai, J. Vergne, M. Řihová, A. Martel, M.-C. Maurel, Self-assembly controls self-cleavage of HHR from ASBVd (-): a combined SANS and modeling study, *Scientific Reports*, **2016**, *6*, 30287, <https://doi.org/10.1038/srep30287>
- [10] M.-C. Maurel, F. Leclerc, From foundation stones to life: concepts and results, *Elements*, **2016**, *12*, p. 407-412, <https://doi.org/10.2113/gselements.12.6.407>

- M.-C. Maurel, F. Leclerc, G. Hervé, Ribozyme chemistry: to be or not to be under high pressure, *Chem. Rev.*, **2020**, *120*, p.4898-4918, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00457>
- G. Steger, D. Riesner, M.-C. Maurel, J.P. Perreault, Viroid structure, In *Viroids and Satellites*, A. Hadidi, R. Flores, J.W. Randles, P. Palukaitis (eds), Academic Press, **2017**, p. 63-70.
- E.N. Trifonov, E. Kejnovsky, *Acytota* - associated kingdom of neglected life, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2016**, *34*, p. 1641-1648.

Pour en savoir plus

- J.M. Claverie, C. Abergel, Giant viruses: update, enigmas, controversies and perspectives, *Med. Sci.*, **2016**, *32*, p. 1087-1096.

Marie-Christine MAUREL,

Professeure à Sorbonne Université, chercheuse à Sorbonne Université et au Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN), ISYEB (Institut de systématique, évolution, biodiversité), UMR 7205 MNHN-CNRS-UPMC-EPHE, Sorbonne Université.

*marie-christine.maurel@sorbonne-universite.fr

<https://sites.google.com/view/marie-christine-maurel/accueil>

"Made in Europe for the World" Oui, mais avec vos contributions !



Les journaux de Chemistry Europe*

*Chemistry Europe regroupe 16 sociétés de chimie européennes, dont la SCF

- Chemistry - A European Journal
- EurJOC
- EurJOC



- Batteries & Supercaps
- ChemBioChem
- ChemCatChem
- ChemElectroChem
- ChemMedChem
- ChemPhotoChem
- ChemPhysChem
- ChemPlusChem
- ChemSusChem
- ChemSystemsChem
- ChemistryOpen
- ChemistrySelect
- ChemViews

WILEY-VCH

Analytical and
Bioanalytical Chemistry

Springer

L'Actualité Chimique



Société Chimique de France

Pour montrer la vitalité de la chimie française, toutes ces revues attendent vos communications.