



Impact sur la relation hôte-pathogène de l'interaction entre l'hélicase UPF1 et les transporteurs rétroviraux, Rex d'HTLV-1 et Rev d'HIV-1

Léa Prochasson

► To cite this version:

Léa Prochasson. Impact sur la relation hôte-pathogène de l'interaction entre l'hélicase UPF1 et les transporteurs rétroviraux, Rex d'HTLV-1 et Rev d'HIV-1. Virologie. Ecole normale supérieure de lyon - ENS LYON, 2022. Français. NNT : 2022ENSL0059 . tel-03980423

HAL Id: tel-03980423

<https://theses.hal.science/tel-03980423>

Submitted on 9 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Numéro National de Thèse : 2022ENSL0059

THESE

en vue de l'obtention du grade de Docteur, délivré par
l'ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE LYON

Ecole Doctorale N° 340

Biologie Moléculaire Intégrative et Cellulaire

Discipline : Sciences de la vie et de la santé

Soutenue publiquement le 16/12/2022, par :

Léa PROCHASSON

Impact sur la relation hôte-pathogène de l'interaction entre l'hélicase UPF1 et les transporteurs rétroviraux, Rex d'HTLV-1 et Rev d'HIV-1

Devant le jury composé de :

PIQUE, Claudine – DR – Institut COCHIN, Paris
SAVEANU, Cosmin – DR – Institut PASTEUR, Paris
MANET, Evelyne – DR – CIRI, Lyon
PETOSA, Carlo – DR – IBS, UGA Grenoble
MOCQUET, Vincent – CR – LBMC, Lyon

Rapporteuse
Rapporteur
Examinatrice
Examineur
Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Il est probable que je ne sois pas exhaustive tant j'ai croisé de chemins qui m'ont finalement amenée jusqu'ici, à écrire ces quelques lignes.

Tout d'abord, je tiens à remercier Madame Evelyne Manet, Madame Claudine Pique, Monsieur Cosmin Saveanu et Monsieur Carlo Petosa, d'avoir accepté de participer à ce travail en y apportant leurs expertises.

Je souhaiterais également remercier chaleureusement les membres de mon comité de suivi de thèse, Francesca Fiorini, Fabrice Lejeune et Franck Mortreux de leurs conseils éclairés et de leurs encouragements.

Je souhaiterais aussi grandement remercier mon directeur de thèse, Vincent Mocquet. Merci énormément Vincent, de ta confiance et de la richesse de nos discussions sur tout ce qui peut toucher de près ou de loin au sujet de cette thèse ! J'ai scientifiquement beaucoup appris de ces années de thèse sous ta direction et je serais bien restée !

L'équipe CEGOV devenue PRIO, n'y est d'ailleurs pas pour rien. J'aimerais adresser un remerciement particulier à Pierre Jalinot. Merci Pierre, de tes conseils, de tes relectures et de tes réunions bibliographiques toujours passionnantes ! Steph de Steph, Armelle et Jean-Philippe de la Maison Robin : sans vous, cette thèse n'aurait pas eu la même saveur. Stéphane, merci pour ta bonne humeur, de ton humour dirons-nous « bien à toi », et surtout des petites phrases qui resteront ! Armelle, merci de m'avoir toujours soutenue et écoutée quand les moments difficiles se sont faits sentir ; de m'avoir parlé musique, de m'avoir emmenée au sport entre midi et deux, de nous avoir fait des clafoutis et des crêpes à tomber, et j'en passe ! Jean-Philippe alias JP alias DjPi ... je ne sais pas si j'arriverais à mettre en mots à quel point je te suis reconnaissante pour ces dernières années. Merci infiniment de ton écoute attentive sans faille, de ta patience infinie à l'égard de mon hyperactivité chronique, de toutes les impros (poudoup'pou'poudou !) que l'on a pu faire et de toutes nos discussions passionnantes (pleines de graphiques et de couleur rouge !). Sans toi, les pauses passerelles et les journées au labo n'auraient définitivement pas eu la même saveur. Merci aussi à toi, Makram, je suis ravie que tu puisses reprendre ce projet que je sais entre de bonnes mains !

Un très grand merci tout particulièrement à toi Camille, qui a été durant toute cette thèse un pilier amical. Merci de toutes nos discussions et de tes conseils de thésarde toujours judicieux ! Je suis très heureuse d'avoir pu partager ces années de thèse avec toi !

Merci aussi à toi, Mélanie, de tes nombreux conseils, et de ton rire qui remplit de vie le couloir du M4 !

J'aimerais également adresser un merci particulier au LBMC, où l'ambiance est très agréablement à la Science !

A ma famille, à toutes mes familles et à tou.te.s mes ami.e.s, pour qui les mots me manquent et ne seront jamais suffisamment nombreux pour vous dire à quel point je vous dois beaucoup, à commencer par d'incommensurables remerciements. Sans votre amour, sans votre soutien, sans vos conseils éclairés, sans vos expériences, sans toutes vos petites attentions, sans votre écoute, sans vous, je ne serai pas qui je suis aujourd'hui. Merci pour tout.

Résumé des travaux :

De par son rôle central dans plusieurs voies de dégradation de l'ARN, l'hélicase UPF1 (UP-Frameshift 1) est associée à différents processus cellulaires contrôlant la stabilité de l'ARN, tels que le Nonsense Mediated Decay (NMD). Parmi les fonctions associées au NMD, celle de « barrière antivirale » est désormais clairement reconnue : plusieurs ARN viraux sont démontrés comme pouvant être ciblés par le NMD ; en réponse, ces virus ont également développé des mécanismes d'échappement. C'est le cas du rétrovirus humain HTLV-1 (Human T-Lymphotropic Virus 1), dont la protéine virale Rex inhibe le NMD. Rex, comme son homologue fonctionnel Rev d'HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus 1), est essentiellement décrite comme un acteur de l'export cytoplasmique des ARN viraux non épissés via l'exportine CRM1/XPO-1 (Chromosome Region Maintenance 1 / Exportin-1). Dans ce contexte, nous avons cherché à comprendre comment Rex inhibe le NMD, si cela implique son rôle de transporteur rétroviral et si, par homologie, Rev d'HIV-1 agit de la même façon.

Des mesures de stabilité de l'ARN et des immunoprécipitations ont confirmé l'inhibition du NMD par Rex et corrélé cet effet à son interaction avec UPF1 et CRM1 au sein d'un complexe CRM1-Rex-UPF1 (CRU). Ces effets sont associés à une rétention nucléaire d'UPF1. Des résultats similaires ont été obtenus avec Rev, permettant d'établir une homologie mécanistique entre HIV-1 et HTLV-1 dans l'inhibition du NMD. Ces résultats suggèrent également que Rex et Rev pourraient induire une dérégulation plus globale de l'export CRM1-dépendant et des processus associés. Enfin, des expériences d'immunofluorescence et d'immunoprécipitations de l'ARN réalisées en lignées lymphoïdes chroniquement infectées par HTLV-1 démontrent également l'existence d'un mécanisme de recrutement d'UPF1 sur l'ARN viral dépendant de Rex et indépendant du NMD, suggérant un possible rôle proviral d'UPF1.

Ce travail décrit de façon précise et pour la première fois, un processus de détournement de l'export d'UPF1, ici par Rex, et son impact potentiel sur l'homéostasie cellulaire via l'inhibition du NMD. L'ensemble de ces résultats ouvrent également une question plus large : celle d'une éventuelle contribution de la dérégulation de l'export par CRM1 dans la pathogenèse d'HTLV-1.

LISTE DES ABREVIATIONS

4E-SE : 4E-sequence element
AKT : serine/threonine-protein kinase
AlyREF/THOC4 : THO complex subunit 4
APRIL/ANP32B : Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B
ATL : Adult T-cell Leukemia
CBC : Cap Binding Complex
CBP80/NCBP1 : Nuclear cap-binding protein subunit 1
CCR4-NOT : Carbon Catabolite Repression—Negative On TATA-less
CRM1/XPO-1 : Chromosome Region Maintenance 1 ; Exportin-1
CTE : Constitutive Transport Element
DCP (1A et 2) : mRNA-decapping protein
eIF4E : Eukaryotic translation initiation factor 4E
EJC : Exon Junction Complex
eRF1 : Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1
eRF3 : Eukaryotic peptide chain release factor GTP-binding subunit ERF3A
Exp : Exportine ; XPO-1
FV : Foamy Virus
GMD : Glucocorticoid receptor-Mediated Decay
HAM/TSP : HTLV-1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis
HBZ : HTLV-1 basic zipper factor
HEAT : Huntingtin, Elongation factor 3, protein phosphatase 2A, et la kinase Tor1
HIV-1 : Human Immunodeficiency Virus 1
HMD : Histone-replication dependent-Mediated Decay
HTLV-1 : Human T-Lymphotropic Virus 1
HuD : RNA-binding protein Human antigen D
HuR : RNA-binding protein Human antigen R
Imp : Importine
Kaps : Karyophérines
LMB : Leptomycine B
LRPPRC : Leucine Riche PentatrικοPeptide Repeat Protein
MHV : Mouse Hepatitis Virus
MLV : Murine Leukemia Virus
MMTV : Mouse Mammary Tumor Virus
MPMV : Mason-Pfizer Monkey Virus
N/C : Nucleo-cytoplasmique
NES : Nuclear Export Signal
NLS : Nuclear Localisation Signal
NMD : Nonsense Mediated Decay
NMD3 : 60S ribosomal export protein NMD3
NPC : Nuclear Pore Complex
NTF2 : Nuclear Transport Factor 2
NXF1/Tap : Nuclear RNA Export Factor 1
NXF3 : Nuclear Export Factor 3
NXT1/p15 : NTF2-related export protein 1
p62/NUP62 : Nuclear pore glycoprotein p62
PBMC : Peripheral Blood Mononuclear Cell
PHAX : Phosphorylated adapter RNA export protein
PNRC2 : Proline-rich nuclear receptor coactivator 2
PP2A : Serine/threonine-protein phosphatase 2A
PTC : Premature Stop Codon
RanBP1 : Ran-binding protein 1 ; Ran-specific GTPase-activating protein
RanBP2 : Ran-binding protein 2 ; NUP358 ; E3 SUMO-protein ligase
RanBP3 : Ran-binding protein 3
RanGAP : Ran GTPase-activating protein 1

RCC1 : Regulator of Chromosome Condensation 1
RMD : Regnase 1-Mediated Decay
RNP : RiboNucléoParticule
RNPv : RiboNucléoParticule virale
RSV : Rous Sarcoma Virus
SFPQ : Splicing factor proline and glutamine rich
SMD : Staufen-Mediated Decay
SMG : Serine/threonine-protein kinase
SRD : Structured-mediated RNA Decay
SRSF : Serine/arginine-rich splicing factors
TREX : Transcription Export Complex
TumiD : Tudor-Staphylococcal/micrococcal-like Nuclease- Mediated Decay
UAP56 : Spliceosome RNA helicase DDX39B
UMD : UPF1-Mediated Decay
UPF1 : Up-Frameshift suppressor 1 ; RENT1 (REgulator of Nonsense Transcripts 1)
UPF2/RENT2 : Regulator of nonsense transcripts 2
UPF3B/RENT3B : Regulator of nonsense transcripts 3
XPO-1/CRM1 : Exportin-1 ; Chromosome Region Maintenance 1
XRNI : 5'-3' exoribonuclease 1

Des notes de bas de pages sont également à disposition pour préciser certaines abréviations ou informations.

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE I : LE TRANSPORT NUCLEO-CYTOPLASMIQUE	8
I. TRANSPORT NUCLEO-CYTOPLASMIQUE DES MACROMOLECULES	9
A. Dépendance du gradient RanGTP/RanGDP pour le cycle d'export-import.....	9
B. Systèmes de l'import : les importines β	11
C. Export CRM1-dépendant des macromolécules	12
1. Association cargo-CRM1 : Les différentes classes de motif NES	12
2. Coopérativité de l'association Cargo-CRM1-RanGTP	13
3. Implications cellulaires de CRM1 : plongée au cœur de son exportome	15
II. EXPORT NUCLEO-CYTOPLASMIQUE DES ARN CELLULAIRES	17
A. Export NXF1/NXT1-dépendant des ARN messagers	17
B. Export CRM1-dépendant de certains ARN cellulaires	19
III. IMPACTS PATHOLOGIQUES DES DEREGULATIONS DE CRM1.....	21
A. Dérégulations de CRM1 et oncogénèse	21
B. Détournement de la voie CRM1 par les virus : quels impacts ?	22
CHAPITRE II : UPF1, L'HELICASE A ARN/ADN AUX MULTIPLES FONCTIONS	26
I. STRUCTURE-FONCTION D'UPF1	27
II. UPF1 : AU CŒUR DU METABOLISME DES ARN ET DE L'ADN	29
A. Les UMD : UPF1-Mediated Decay	29
1. Le Nonsense-Mediated Decay (NMD)	29
a. La mécanistique du NMD	29
b. Les éléments déclencheurs et régulation du NMD : une question de contexte	32
c. Les fonctions du NMD : l'importance des cibles	33
2. Le Staufen-Mediated Decay (SMD)	35
3. Le Regnase-1-Mediated Decay (RMD)	36
4. L'Histone-replication dependant-Mediated Decay (HMD)	37
5. Le Structure-mediated RNA Decay (SRD)	37
6. Le TSN-mediated miRNA Decay (TumiD)	38
7. Le Glucocorticoïd-receptor-Mediated Decay (GMD)	39
8. Les autres voies dégradatives dépendantes d'UPF1	42
B. Les autres fonctions cellulaires d'UPF1	43
III.IMPACTS PATHOLOGIQUES DES DEREGULATIONS D'UPF1	45
A. UPF1 : cible privilégiée de certains virus.....	45
B. Dérégulations d'UPF1 et tumorigénèse.....	46
CHAPITRE III : L'INFECTION PAR LE RETROVIRUS ONCOGENE HTLV-1	48
I. EPIDEMIOLOGIE ET PATHOLOGIES ASSOCIEES A L'INFECTION PAR HTLV-1	49
A. TRANSMISSION VIRALE.....	49
B. PATHOLOGIES ASSOCIEES A HTLV-1.....	51
1. La réponse immunitaire dirigée contre HTLV-1	51
2. L'ATL	51
3. L'HAM/TSP.....	52
4. Autres pathologies associées à HTLV-1.....	54
II. ORGANISATION DU GENOME VIRAL ET PROTEINES VIRALES d'HTLV-1	55
A. LES PROTEINES STRUCTURALES	56
B. LES PROTEINES REGULATRICES.....	57
1. La protéine oncogène Tax	57
2. La protéine oncogène HBZ	59
3. La protéine virale Rex.....	60
C. LES PROTEINES AUXILIAIRES	63
1. Les protéines p12/8	63
2. La protéine p13	64
3. La protéine p30	64
III. MECANISMES DE RESTRICTION DU CYCLE REPLICATIF INFECTIEUX D'HTLV-1.....	66
A. Attachement et fusion	66
B. Rétrotranscription, import nucléaire et intégration du génome viral	67

C. Transcription du génome viral et export des ARN viraux	68
D. Traduction des protéines virales	69
E. Assemblage, bourgeonnement et maturation de la particule virale	69
CHAPITRE IV : TRAVAUX REALISES DURANT LA THESE	74
I. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIF DE L'ETUDE.....	74
II. RESULTATS	75
A. REX D'HTLV-1 DETOURNE L'EXPORT CRM1-DEPENDANT D'UPF1.....	75
B. L'EXPORT CRM1-DEPENDANT COMME ETAPE CLE DE LA REGULATION DU NMD.....	112
III. DISCUSSION	117
IV. CONCLUSION.....	129
BIBLIOGRAPHIE	130

ANNEXE “The complex relationship between HTLV-1 and Nonsense-Mediated mRNA Decay (NMD)”

LISTE DES FIGURES

Chapitre I. Le transport nucléo-cytoplasmique

Figure 1 : Dépendance du gradient RanGDP-RanGTP pour les cycles d'import-export (p.10)

Figure 2 : Les différentes classes de NES et association d'un cargo exemple, la Snurportine. (p.13)

Figure 3 : Domaines structuraux et fonctionnels de CRM1. (p.14)

Figure 4 : Les différentes fonctions dans lesquelles CRM1 est impliquée. (p.16)

Figure 5 : Les différents systèmes d'export des ARN cellulaires. (p.17)

Figure 6 : Comparaison des voies NXF1/NXT1 et CRM1 dans l'export des ARNm. (p.19)

Table 1A : Export CRM1-dépendant des ARN rétroviraux non ou partiellement épissés. (p.23)

Table 1B : Export de facteurs viraux via CRM1. (p.24-25)

Chapitre II. UPF1 : l'hélicase à ARN/ADN aux multiples fonctions

Figure 7 : Les différents domaines d'UPF1 et vues structurales d'UPF1 seule ou en complexe avec UPF2. (p.28)

Figure 8 : Mécanistique du Nonsense Mediated Decay (NMD). (p.30)

Figure 9 : Les fonctions du NMD selon l'architecture du transcrit. (p.35)

Figure 10 : Les différentes UMD impliquant UPF1 décrites à ce jour. (p.41)

Chapitre III. L'infection par le rétrovirus oncogène HTLV-1

Figure 11 : Les différents modes de transmissions cellule-cellule d'HTLV-1. (p.50)

Figure 12 : Organisation du génome d'HTLV-1 et protéines virales issues des différents transcrits. (p.55)

Figure 13 : La particule virale d'HTLV-1. (p.56)

Figure 14 : Représentation schématique des différents domaines de Tax et son implication dans la réplication virale et la pathogenèse d'HTLV-1. (p.58)

Figure 15 : Représentation schématique des domaines protéiques de l'isoforme sHBZ et son implication dans la réplication virale et la pathogenèse d'HTLV-1. (p.60)

Figure 16 : La protéine virale Rex d'HTLV-1. (p.61)

Figure 17 : Cycle réplcatif d'HTLV-1 et restriction par les facteurs de la cellule hôte. (p.67)

Table 3A : Tableau comparatif des aspects cliniques, biochimiques et thérapeutiques de l'ATL et de l'HAM/TSP. (p.53 à 54)

Table 3B : Rôles des différentes protéines auxiliaires d'HTLV-1 dans la persistance et la transmission virale. (p.65)

Table 3C : Implications des facteurs cellulaires dans la restriction par HTLV-1. (p.71 à 72)

Chapitre IV. Travaux réalisés durant la thèse

Partie A : Figures de la publication scientifique en préparation (p.96 à 111)

Partie B : Fig. 7 : Impact fonctionnel de l'export CRM1-dépendant dans la régulation du NMD (p. 114) ; Fig. 8 : Construction du mutant HA::UPF1 muté sur le domaine NES (p. 116)

Discussion

Figure 18 : Modèle commun d'inhibition du NMD par les rétrotransporteurs viraux Rex d'HTLV-1 et Rev d'HIV-1. (p.122)

Figure 19 : Un potentiel rôle proviral d'UPF1 dans la réplication d'HTLV-1. (p.125)

Figure 20 : Impacts potentiels de Rex sur la cellule hôte. (p.127)

CHAPITRE I : LE TRANSPORT NUCLÉO-CYTOPLASMIQUE

Le maintien de l'homéostasie cellulaire repose en partie sur un contrôle strict de la répartition des macromolécules entre les compartiments nucléaires et cytoplasmiques. Le transport unidirectionnel ou bidirectionnel des molécules s'effectue au travers des pores nucléaires qui résultent de l'assemblage de nucléoporines enchâssées dans la membrane. Les macromolécules (> 40 kDa) ne pouvant diffuser librement, elles nécessitent des récepteurs du transport nucléo-cytoplasmique qui vont permettre le passage du pore nucléaire. La majorité de ces transporteurs appartient à une seule et même famille : les karyophérines ou importines/exportines qui peuvent transloquer des cargos protéiques, seuls ou en association avec de l'ARN. CRM1-RanGTP est la voie majoritaire d'export des cargos protéiques, qui incluent un grand nombre de suppresseurs de tumeurs et de régulateurs de croissance cellulaire (tels que p53, BRCA1/2, FOXO3, IκBα ou encore la Survivine). CRM1 elle-même est fréquemment surexprimée dans plusieurs pathologies cancéreuses, et cette surexpression a été associée à de faibles taux de survie chez les patients. Grandement favorisé par les nombreuses études structurales poussées de CRM1, le développement d'inhibiteurs sélectifs dans le traitement de plusieurs pathologies cancéreuses et infections virales est en cours.

Si CRM1-RanGTP est la voie majoritaire d'export des cargos protéiques seuls, c'est la voie NXF1/NXT1¹ qui est majoritairement utilisée pour l'export de l'ARNm, bien qu'un certain nombre d'ARNm soient spécifiquement exportés via CRM1-RanGTP. Cette hétérogénéité dans les voies d'export de l'ARNm s'explique notamment par la diversité en facteurs constituant les ribonucléoparticules (RNP) dont la composition, déterminante dans le recrutement des protéines adaptatrices et *in fine* dans l'export, résulte des différents processus nucléaires de maturation de l'ARNm, de la transcription à l'épissage. Or certains virus ont besoin d'exporter des ARN non ou partiellement épissés. Arrivée au pore nucléaire, la ribonucléoparticule virale (RNPv) qui résulte de l'assemblage de l'ARN viral avec certaines protéines cellulaires nécessaires à sa stabilité et son métabolisme, diffère de celle des RNP cellulaires. Cette composition différente pourrait s'expliquer notamment par une absence de passage par certaines étapes de maturations de l'ARN, telle que l'épissage par exemple. Tout ceci conduit au développement de stratégies virales, à l'image des rétrovirus HTLV-1 (Human T-Lymphotropic Virus 1) et HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus 1) qui expriment des transporteurs rétroviraux, respectivement Rex et Rev, pour exporter leurs RNPv via la voie CRM1.

Ce chapitre s'intéresse donc en première partie à présenter les systèmes d'import/export, avec un focus particulier sur l'export protéique via l'exportine CRM1. En deuxième partie, l'export des ARN cellulaires sera abordé pour présenter plus particulièrement les deux voies actuellement connues d'export des ARN messagers (NXF1/NXT1 et CRM1). L'export des différents ARN rétroviraux y sera également succinctement abordé. Enfin, une troisième partie abordera les impacts pathologiques associés aux dérégulations de CRM1.

¹ N'appartenant pas à la famille des Karyophérines.

Transport nucléo-cytoplasmique des macromolécules

I. Alors que les petites molécules (< 40 kDa) peuvent diffuser passivement au travers du complexe du pore nucléaire (NPC), la majorité du transport des macromolécules dites “cargos protéiques” repose sur des récepteurs de transport nucléaire de la famille des Karyophérines β (Kaps). En cellules humaines, cette famille regroupe une vingtaine de membres qui partagent une homologie de séquence avec l’importine β (Imp β), une structure similaire en domaines HEAT² (répétitions en tandem) et un fonctionnement dépendant de la GTPase Ran. Les Kaps incluent des récepteurs d’import appelés importines, des récepteurs d’export appelés exportines ainsi que des récepteurs bidirectionnels. Leur rôle consiste à faire le lien entre d’une part le cargo protéique à transporter et d’autre part les nucléoporines du NPC (*Fung and Chook, 2014; Güttler and Görlich, 2011*). Chaque Kaps reconnaît un motif particulier (ou une structure) dans la protéine cargo (ou adaptatrice pour l’export des ARN, cf II.) définissant des importomes/exportomes propres à chacune d’entre elles. Ces motifs, définis par la séquence minimale et suffisante pour l’import ou l’export, sont communément et respectivement appelés NLS (Nuclear Localisation Signal) et NES (Nuclear Export Signal). Ces motifs présentent une grande diversité. Les mieux décrits à ce jour sont, pour les NLS, ceux interagissant avec l’importine α , l’importine $\beta 1$ et l’importine $\beta 2$ et, pour les NES, ceux interagissant avec CRM1/XPO-1 (*Wing et al., 2022; Cautain et al., 2015*).

Concernant l’import, c’est le système importine α /importine $\beta 1$ qui est actuellement supposé comme étant la voie d’import avec le plus large spectre et qui ne sera que succinctement décrit ci-après. Concernant l’export, parmi les sept exportines décrites pour le moment, CRM1/XPO-1 est l’exportine dont l’exportome est le plus large ; avec l’exportine XPO-7 dont l’exportome a été récemment considérablement élargi (environ 200 cargos d’export) et qui s’est révélée importer également une trentaine de cargos³ (*Aksu et al., 2018; Kırılı et al., 2015*). Les exportines telles que CAS (XPO-2), l’exportine t (XPO-3) et l’exportine 5 (XPO-5) semblent être davantage spécialisées puisqu’elles sont à l’heure actuelle décrites dans l’export de quelques cargos uniquement : XPO-2 exporte l’adaptateur de l’import, importine α (*Kutay et al., 1997*) ; XPO-3 exporte les ARN de transfert (ARNt) (*Kutay et al., 1998*) ; XPO-5 exporte principalement les précurseurs des microARN (pré-miARN) (*Cautain et al., 2015; Lund et al., 2004*).

A. Dépendance du gradient RanGTP/RanGDP pour le cycle d’export-import

Toutes les Karyophérines β lient directement le RanGTP et utilisent l’énergie métabolique du système Ran comme force conductrice du transport. La liaison du RanGTP induit une modification importante de leurs affinités respectives pour leur cargo. Ce système RanGTPase repose sur la protéine Ran (Ran-related ou Ras-like nuclear) qui est mobile dans toute la cellule. Sa répartition nucléo-cytoplasmique est donc déterminée par des régulateurs de

² Acronyme pour les quatre protéines dans lesquelles cette structure a été retrouvée pour la première fois chez la levure : Huntingtin, Elongation factor 3, protein phosphatase 2A, et la kinase Tor1.

³ Faisant d’XPO-7 une biportine.

son activité : Ran interagit dans le cytoplasme avec RanGAP⁴ et dans le noyau avec RCC1⁵, principal facteur d'échange de nucléotide guanine de Ran, associée à la chromatine. Grâce à la compartimentalisation de ces protéines régulatrices, un gradient RanGTP-RanGDP est maintenu de part et d'autre de la membrane nucléaire (*Wing et al., 2022; Güttler and Görlich, 2011; Kaláb et al., 2006*) (**Figure 1b**).

La formation du complexe d'export cargo-exportine-RanGTP se fait par des interactions dites coopératives, c'est-à-dire nécessitant la liaison de l'exportine à RanGTP d'une part et son cargo d'autre part, pour former un complexe stable. Une fois formé, le complexe d'export cargo-exportine-RanGTP peut lier plusieurs nucléoporines du NPC. Arrivé dans le cytoplasme, le complexe cargo-exportine-RanGTP interagit avec RanBP1 et RanBP2⁶, impliquées dans la dissociation du cargo. Elles favorisent un changement conformationnel du complexe d'export permettant l'interaction de RanGTP avec RanGAP. RanGAP catalyse ensuite l'hydrolyse de RanGTP en RanGDP pour terminer le processus d'export et l'exportine est ensuite recyclée dans le noyau pour un nouveau cycle d'export (*Fung and Chook, 2014; Güttler and Görlich, 2011*) (**Figure 1a**). Un cofacteur supplémentaire est décrit pour l'export CRM1-dépendant : dans le noyau, la liaison de la protéine RanBP3 faciliterait le processus de chargement du cargo protéique (*Langer et al., 2011; Nemergut et al., 2002*).

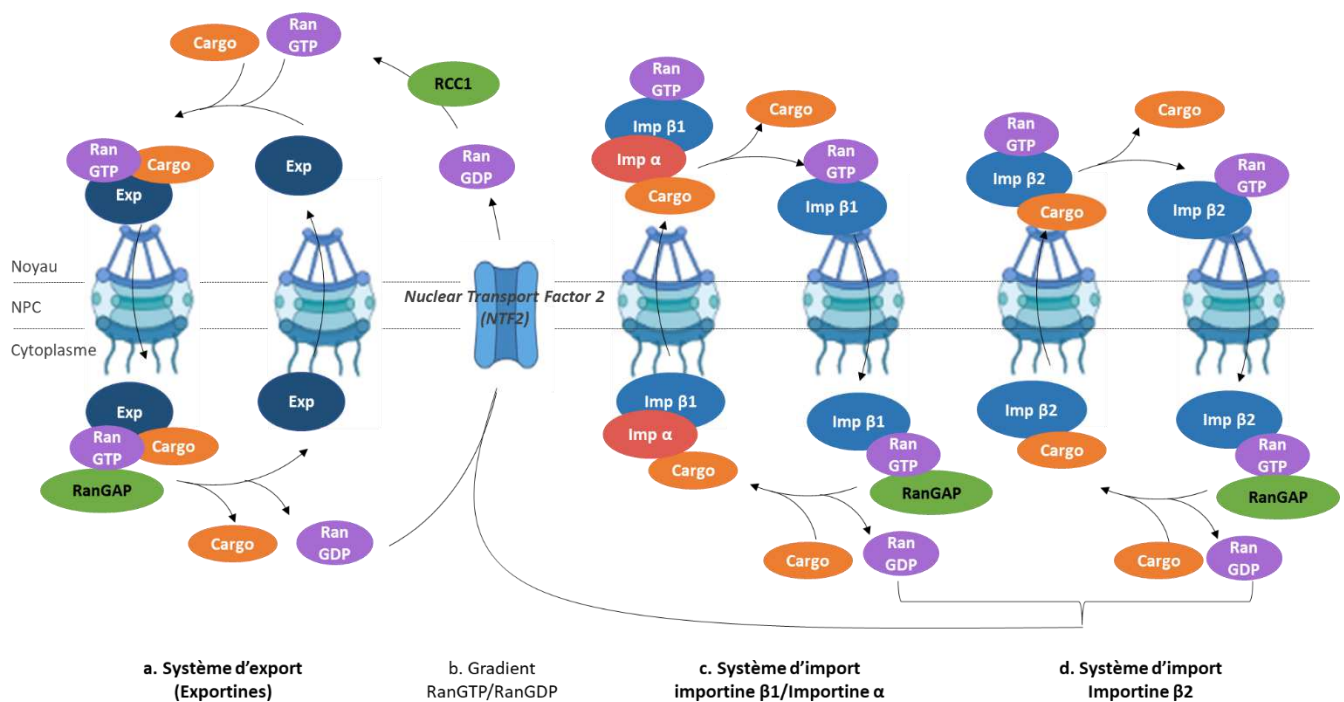


Figure 1. Dépendance du gradient RanGDP-RanGTP pour les cycles d'import-export, adaptée de Güttler and Görlich 2011.

Etant donné que les concentrations nucléaires de RanGTP sont environ 1000 fois supérieures aux concentrations cytoplasmiques, ce gradient RanGDP-RanGTP détermine également la directionnalité du transport. En effet, les complexes d'import s'associent à leur

⁴ Ran GTPase-activating protein 1

⁵ Regulator of Chromosome Condensation 1

⁶ Aussi connue sous le nom de Nup358 ; Ran-binding protein 2

cargo lorsque les concentrations en RanGTP sont faibles (dans le cytoplasme) et traversent le NPC sous forme d'un dimère importine β -cargo. Dans le noyau, la liaison du RanGTP à l'importine β dissocie le cargo de l'importine β rendant l'import irréversible. Le complexe importine β -RanGTP est recyclé dans le cytoplasme où l'action de la GTPase déloge Ran de l'importine. Le Nuclear Transport Factor 2 (NTF2 ; n'appartenant pas à la famille des Kaps) permet la translocation de la molécule de RanGDP du cytoplasme vers le noyau, où RanGTP est reformé par l'action de la RCC1, permettant ainsi le maintien de ce gradient Nucléo-Cytoplasmique (N/C) de RanGTP-RanGDP (*Güttler and Görlich, 2011; Smith et al., 2002, 1998*) (**Figure 1b**).

B. Systèmes de l'import : les importines β

L'import nucléaire repose sur le système importine β qui s'associe à ses cargos directement (Importine $\beta 2$) ou, le plus souvent, par l'intermédiaire de protéines adaptatrices (Importine $\beta 1$), telles que l'importine α ou la Snurportine⁷ (**Figure 1c,d**). Les protéines adaptatrices reconnaissent une séquence consensus appelée NLS (Nuclear Localisation Signal) présente dans les protéines cargo à importer. Elles recrutent l'importine β via un domaine, appelé domaine de liaison N-terminal de l'importine β (IBB), aussi considéré comme un NLS, pour former un hétérodimère avec l'importine β et transporter les protéines cargo du cytoplasme vers le noyau. C'est notamment ce domaine IBB des protéines adaptatrices de l'import qui permet une régulation fine de l'import nucléaire : il va jouer un rôle dans la régulation de la formation du complexe d'import, l'arrimage et la translocation à travers le NPC, la libération des cargos d'import dans le noyau et enfin le recyclage des adaptateurs dans le cytoplasme (*Wing et al., 2022; Lott and Cingolani, 2011*).

Selon le type de NLS reconnu et la protéine adaptatrice qui le reconnaît, plusieurs voies d'import sont décrites :

- (1) La protéine importine α (Imp α)⁸, qui reconnaît les NLS dits classiques⁹ et hétérodimérise avec l'importine $\beta 1$, définit la voie importine α /importine $\beta 1$ (Imp α /Imp $\beta 1$) (*Cautain et al., 2015*). L'importine α est recyclée dans le cytoplasme par l'exportine CAS (*Kutay et al., 1997*). L'importine $\beta 1$ est une voie d'import à spectre large : elle est décrite comme important les facteurs impliqués dans l'expression des gènes et la régulation du cycle cellulaire ou encore les protéines de la membrane interne du noyau (*Wing et al., 2022*).
- (2) La protéine importine $\beta 2$ (appelée aussi transportine 1) reconnaît quant à elle directement son cargo via un NLS dit non classique, dont une des caractéristiques communes est la présence de motifs proline-tyrosine (PY-NLS)¹⁰. Les facteurs à PY-NLS identifiés comme étant importés par l'importine $\beta 2$ regroupent à ce jour des facteurs impliqués dans la maturation de l'ARNm (*Wing et al., 2022; Cautain et al., 2015*).

⁷ ou SNUPN

⁸ Dont 7 isoformes sont décrites chez l'homme : Imp $\alpha 1$, Imp $\alpha 3$, Imp $\alpha 4$, Imp $\alpha 5$, Imp $\alpha 6$, Imp $\alpha 7$, et Imp $\alpha 8$.

⁹ Généralement de petites tailles, contenant un (pour les NLS classiques monopartites) ou deux (pour les NLS classiques bipartites) clusters d'acides aminés chargés positivement, typiquement riches en Lysine ou Arginine. Dans le cas des NLS classiques bipartites, les deux clusters sont généralement séparés par 10-12 acides aminés.

¹⁰ Les NLS non classiques varient significativement en termes de taille et de charge.

- (3) Enfin, la Snurportine est une protéine adaptatrice un peu particulière : elle permet l'import des UsnRNP, composants essentiels du spliceosome, en reconnaissant leur coiffe triméthylguanosine (m₃G) d'une part et l'importine β1 de l'autre. Elle est recyclée dans le cytoplasme par CRM1 (Monecke et al., 2009; Strasser et al., 2004; Paraskeva et al., 1999).

De manière intéressante, l'import nucléaire de certains facteurs viraux est également médié par les importines. Par exemple, les protéines virales Rev d'HIV-1 et Rex d'HTLV-1 sont importées dans le noyau par interaction avec l'importine β1. Rev est également capable d'interagir directement avec l'importine β2 (Spittler et al., 2022; Cautain et al., 2015; Palmeri and Malim, 1999; Henderson and Percipalle, 1997).

En réalité, une dizaine d'importines sont décrites à ce jour et, pour la majorité d'entre-elles, les cargos d'imports sont connus. De plus, deux autres classes de NLS ont récemment été caractérisées : les IK-NLS¹¹ reconnus par l'importine 5 (Imp β3) qui sont notamment retrouvés dans les facteurs de l'organisation de la chromatine ; les RS-NLS¹² fonctionnant avec la Transportine 3 (Imp-12) qui sont retrouvés dans un grand nombre de facteurs de l'épissage appelés protéines SR (riches en Sérine-Arginine) (Wing et al., 2022).

C. Export CRM1-dépendant des macromolécules

CRM1 est la première importine à avoir été identifiée et ce chez *Schizosaccharomyces pombe* par la caractérisation d'une mutation dans un gène causant un phénotype de distorsion de structure des chromosomes, lui valant le nom de Chromosome Region Maintenance 1 (Adachi and Yanagida, 1989). Ce n'est qu'ensuite que CRM1 est identifiée comme récepteur nucléaire, grâce à la découverte conjointe d'un inhibiteur naturel et sélectif de son export, la Leptomycine B (LMB) (Kudo et al., 1998; Fukuda et al., 1997; Stade et al., 1997), la même année que l'identification de la protéine virale Rev d'HIV-1 comme protéine adaptatrice de l'export des ARN viraux (Fornerod et al., 1997; Neville et al., 1997; Wolff et al., 1997). La découverte de son rôle dans l'export de certains ARN cellulaires n'émerge d'ailleurs qu'encore plus tard, sous l'impulsion des premières études menées chez HIV-1 (cf. II).

1. Association Cargo - CRM1 : les différentes classes de motif NES

La protéine cargo s'associe à CRM1 au niveau d'une poche hydrophobe, généralement appelée « NES pocket », via un domaine NES (Figure 2b). Les motifs NES sont classiquement définis comme de courtes séquences de 8 à 15 acides aminés contenant un *pattern* de résidus hydrophobes et possèdent une grande diversité d'affinité pour CRM1 (Lee et al., 2019; Güttler et al., 2010).

Les nombreuses études structurales ont permis de déterminer une séquence consensus comme suit : $\Phi^0-(x)_2\Phi^1-(x)_{2-3}-\Phi^2-(x)_{2-3}-\Phi^3-x-\Phi^4$, où Φ représente les résidus hydrophobes¹³ et

¹¹ Riche en Isoleucine-Lysine.

¹² Riche en Arginine-Sérine.

¹³ Généralement Leu, Ile, Val, Met et Phe.

x représente un acide aminé quelconque. Sur la base de ces résidus hydrophobes (Φ) et du nombre d'acides aminés les séparant, les motifs NES sont répartis en différentes classes (**Figure 2a**). En fonction de leur classe, les NES adoptent des conformations appelées “binding groove” d'association à CRM1. Cette diversité de séquences pouvant constituer un NES illustre la diversité d'affinité des NES pour CRM1. Mais si les affinités calculées expérimentalement (K_D) varient grandement entre les différentes classes (K_D NES_{Rev} de classe 2 = 1180 nM ; K_D NES_{SNUPN} de classe 1c = 12500 nM), elles varient également au sein d'une même classe (K_D NES_{PKI} de classe 1a = 34 nM ; K_D NES_{Strad α} de classe 1a = 10300 nM), suggérant que la classe du NES ne détermine pas entièrement l'affinité du cargo pour CRM1 (Lee et al., 2019; Fu et al., 2018; Fung et al., 2017; Güttler et al., 2010). Il est d'ailleurs montré que cette affinité de CRM1 pour son cargo est favorisée par l'interaction de CRM1 avec RanGTP (cf II.2) ; d'autre part, il est suggéré que l'affinité de CRM1 pour son cargo pourrait être en partie modulée par une interaction plus large du cargo avec CRM1 qu'uniquement au niveau de la poche d'interaction : les structures obtenues du complexe RanGTP-CRM1-Snurportine montrent que la Snurportine se lie à CRM1 de manière plus large que la région de la « NES pocket » (Monecke et al., 2014, 2009), ajoutant probablement des contraintes physiques/stériques supplémentaires contribuant à la modulation de l'affinité des domaines NES (**Figure 2b**).

Quoi qu'il en soit, l'affinité pour CRM1 de la plupart des domaines NES est plutôt faible, en cohérence avec la nécessité de libérer la protéine cargo efficacement dans le cytoplasme (Fu et al., 2018; Kehlenbach and Port, 2016; Engelsma et al., 2004).

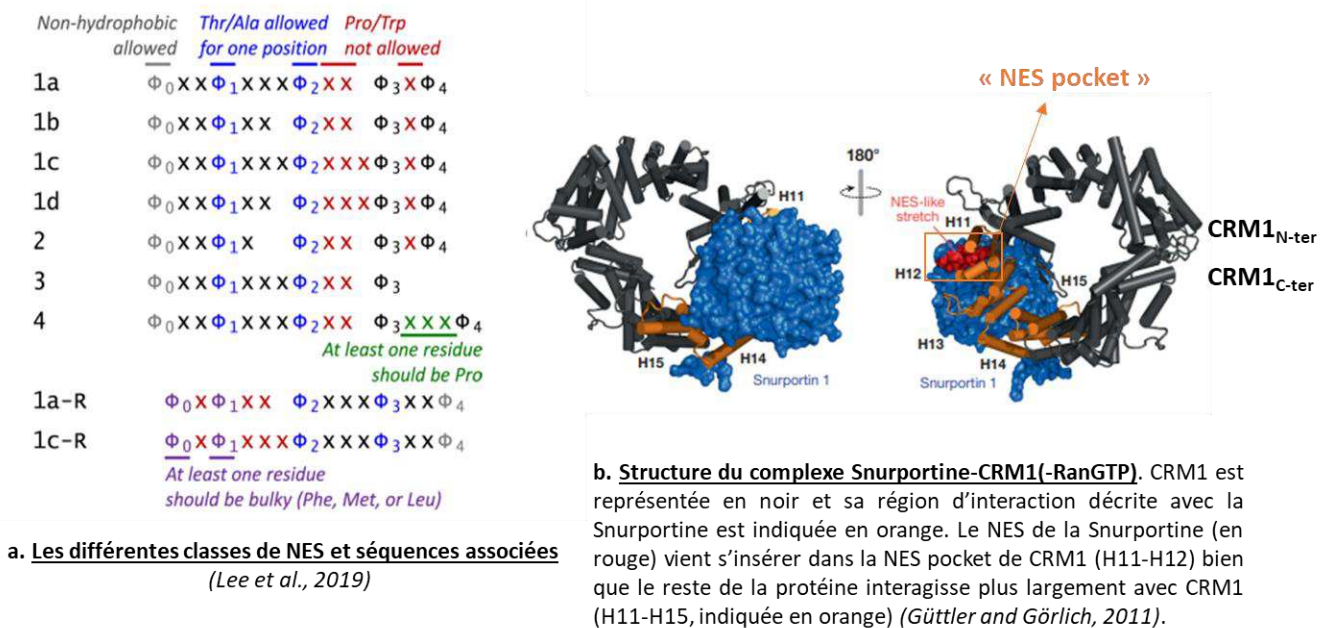


Figure 2. Les différentes classes de NES et association d'un cargo exemple, la Snurportine.

2. Coopérativité de l'association Cargo-CRM1-RanGTP

Pour le chargement des cargos, côté nucléaire, et le déchargement côté cytoplasmique, CRM1, comme toutes les autres Kaps, utilise donc la GTPase Ran. Les interactions deux à deux de CRM1 avec soit RanGTP soit le cargo étant faibles, la formation du complexe d'export

cargo-CRM1-RanGTP se fait donc par des interactions dites coopératives, c'est-à-dire nécessitant la liaison de CRM1 à ces deux partenaires pour former un complexe ternaire stable (Fung and Chook, 2014; Güttler and Görlich, 2011; Petosa et al., 2004). Plusieurs caractéristiques structurales de CRM1 vont être importantes dans cette coopérativité des interactions et *in fine* dans les mécanismes de formation des complexes d'export avec CRM1.

CRM1 est composée de 21 domaines de répétitions HEAT, motifs qui se structurent en tandems hélice A - boucle - hélice B : les deux hélices alpha antiparallèles A et B de chaque répétition HEAT s'empilent et s'alignent de manière à ce que les hélices de type A forment une surface externe convexe et les hélices B forment une surface interne concave (Figure 3b). L'ensemble formant un solénoïde prenant la forme d'un anneau, tel que les domaines N-terminal et C-terminal se trouvent à proximité (Figure 3b). En N-terminal de la protéine, les motifs HEAT 1 à HEAT 3 (H1 à H3) forment un domaine CRIME¹⁴ impliqué, avec les domaines H9 et H21B, dans la liaison de RanGTP. En effet, la région C-terminale (CTR) et la boucle H9 sont décrites comme des éléments inhibiteurs de l'interaction NES-CRM1 en absence de RanGTP. La liaison de RanGTP à CRM1 permettrait ainsi de libérer les domaines H11 et H12, qui forment une poche hydrophobe à la surface extérieure de CRM1, ou « NES pocket » (Ferreira et al., 2020; Fung and Chook, 2014; Dian et al., 2013; Güttler and Görlich, 2011).

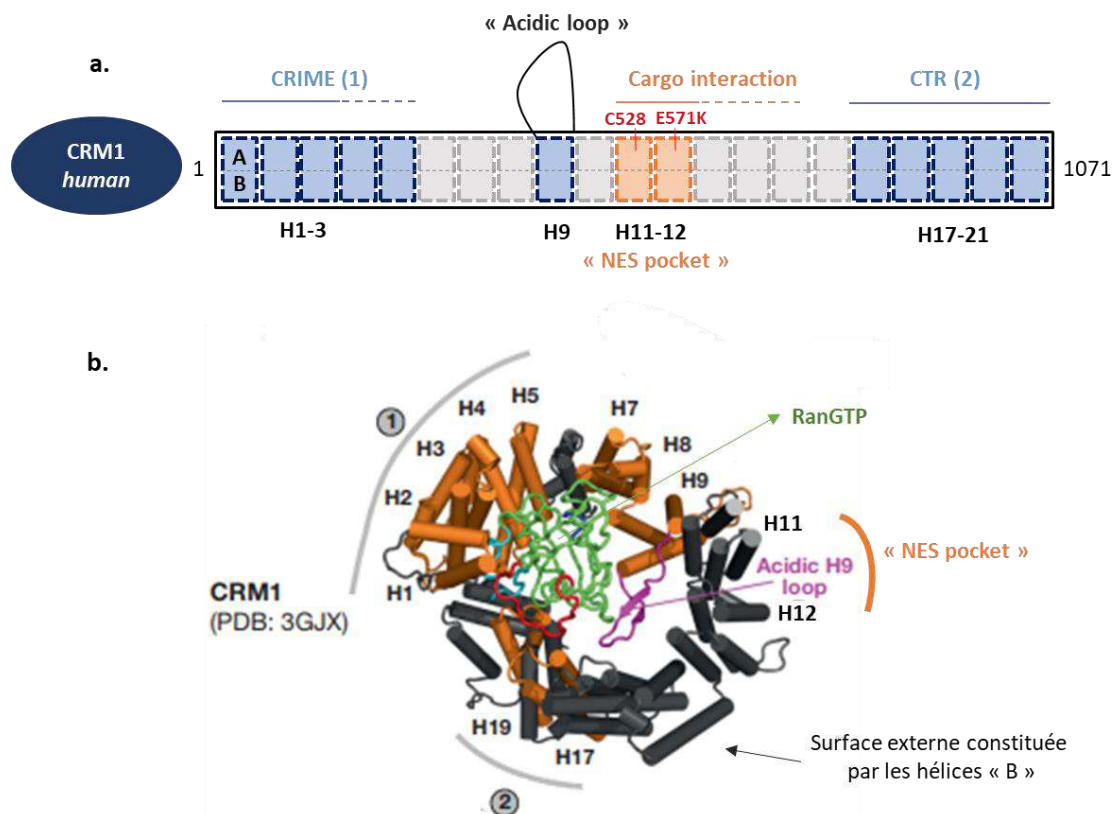


Figure 3. Domaines structuraux et fonctionnels de CRM1, adaptée de Ferreira et al., 2020 et Güttler and Görlich., 2011. La figure 3a reprend de manière schématique et linéaire les domaines structuraux de CRM1 (C528 : cystéine 528 impliquée dans l'interaction avec la leptomycine B ; E571K : mutation fréquemment retrouvée dans les cancers). La figure 3b montre l'organisation tridimensionnelle de

¹⁴ Pouvant être étendu à H5 ; partage une homologie de séquence avec l'importine β.

CRM1 en complexe avec RanGTP (en vert) et les différents domaines fonctionnels (1 : domaine CRIME ; 2 : CTR ou Région C-terminale ; Acidic H9 Loop : boucle entre les hélices 9A et 9B).

Par interaction avec ces éléments structuraux, d'autres facteurs vont pouvoir moduler la stabilité du complexe d'export. Par exemple, il est montré que RanBP3, en se liant également au niveau de la boucle H9 stabilise le complexe d'export, notamment en augmentant l'affinité de liaison de Ran à CRM1 dans le noyau, et lui valant le rôle de cofacteur de CRM1 dans l'export (*Langer et al., 2011*). Il est également montré que RanBP3 peut moduler la sélectivité de CRM1 pour son cargo : par exemple, RanBP3 augmente l'affinité du NES de Rev d'HIV-1 pour CRM1 (*Englmeier et al., 2001*). De manière intéressante, cette région de fixation de RanBP3 à CRM1 est également celle décrite comme interagissant avec Rex et favorisant sa multimérisation (*cf. chapitre II*) (*Hakata et al., 2003*). Enfin, c'est dans la "NES pocket" que se fixe la Leptomycine B (LMB) qui, par liaison covalente avec la cystéine 528, inhibe sélectivement et de manière non compétitive l'export via CRM1 (*Kudo et al., 1998*). C'est aussi dans cette région qu'une mutation fréquemment retrouvée dans les cancers, E571K, est décrite (*Puente et al., 2011*) (*cf. II.4*) (**Figure 3a**).

3. Implications cellulaires de CRM1 : plongée au cœur de son exportome

CRM1 a d'abord été identifiée par son rôle essentiel dans la régulation de la mitose : elle est retrouvée au niveau des kinétochores mitotiques où elle est nécessaire à la nucléation des microtubules, premier stade de polymérisation des microtubules (*Torosantucci et al., 2008*; *Arnaoutov and Dasso, 2005*). Elle est également impliquée dans différents aspects de l'assemblage du fuseau mitotique, comme d'autres membres de la famille des importines β et les nucléoporines (*Forbes et al., 2015*).

Si CRM1 est donc essentielle pour la ségrégation des chromosomes en anaphase, elle assure ses fonctions d'export pendant l'interphase, lorsque la membrane nucléaire est intacte. Outre ses fonctions dans l'export des ARN cellulaires (détaillée ci-après, *cf. II*), CRM1 est impliquée dans l'export d'une large diversité de cargos protéiques, associés à diverses fonctions cellulaires. Une grande partie de la méthode de validation de ces cargos repose sur l'utilisation de la Leptomycine B, inhibiteur sélectif de CRM1 : si le traitement à la Leptomycine B induit une séquestration nucléaire du facteur, alors son export est considéré comme dépendant de CRM1. Si certains cargos tels que p53, BRCA1/2, ou p27 ont été identifiés au travers de l'étude ciblée de ces facteurs¹⁵ (*Azizian and Li, 2020*; *Kim et al., 2016*; *Gravina et al., 2014*), ce sont les études en spectrométrie de masse qui ont permis un apport considérable de données pour l'identification de l'exportome de CRM1 (*Kirli et al., 2015*; *Thakar et al., 2013*). Notamment, l'étude de *Kirli et al.* qui, en comparant les exportomes de CRM1 chez *S. cerevisiae*, dans les oocytes de *Xenopus* et en cellules HeLa, retrouvent plus de 700 cargos chez la levure, 1000 cargos dans les oocytes de xénope et 1050 cargos en cellules HeLa (*Kirli et al., 2015*). Les résultats obtenus par *Kirli et al.* ont permis d'enrichir les données existantes concernant le lien entre CRM1 et la biogenèse des ribosomes, l'export des protéines régulatrices de type kinases, phosphatase et du système ubiquitine/protéasome, la régulation des centrosomes ou encore

¹⁵ En cancérologie notamment, au travers du développement d'inhibiteurs de CRM1 comme pour les protéines RB et p21 - protéine du rétinoblastome (RB), p21 (=CDK1), p27 = KIP1, régulateur du cycle cellulaire.

d'établir de nouveaux liens avec le métabolisme des ARN, l'assemblage vésiculaire des voies sécrétoires, l'autophagie et les peroxysomes (**Figure 4**). De manière intéressante, parmi les cargos à haut score, ils identifient des facteurs impliqués dans la dégradation de l'ARNm, et notamment des facteurs de la voie du Nonsense Mediated Decay (UPF1, UPF2 et UPF3) ainsi que des composants des P-bodies¹⁶ (compartiment associé à la dégradation de l'ARNm), suggérant une potentielle régulation du métabolisme des ARN, peut-être par renouvellement des *pool* cellulaires de ces facteurs. Ces cargos sont également retrouvés dans les oocytes de xénope et *S. cerevisiae*, suggérant une fonction conservée (Kırılı *et al.*, 2015). Si l'export via CRM1 d'UPF1 était déjà montré par Mendell *et al.* en cellules HeLa, ces données suggèrent un lien potentiel plus global entre le métabolisme des ARN et l'export CRM1 (Mendell *et al.*, 2002). Enfin, en exportant la Snurportine, adaptateur de l'import des éléments du spliceosome, CRM1 pourrait être impliquée de manière indirecte dans la régulation de l'épissage.

La majorité des cargos identifiés par Kırılı *et al.* sont des protéines exclusivement cytoplasmiques, aussi les auteurs suggèrent que CRM1 pourrait fonctionner à la manière d'une pompe éjectant du noyau un grand nombre de facteurs (Kırılı *et al.*, 2015). Les dérégulations de CRM1 étant associées à un grand nombre de pathologies notamment cancéreuses (*cf.* 4), ceci suggère que CRM1 pourrait être un point clé de régulation dans les divers processus qui nécessitent les facteurs qu'elle exporte.

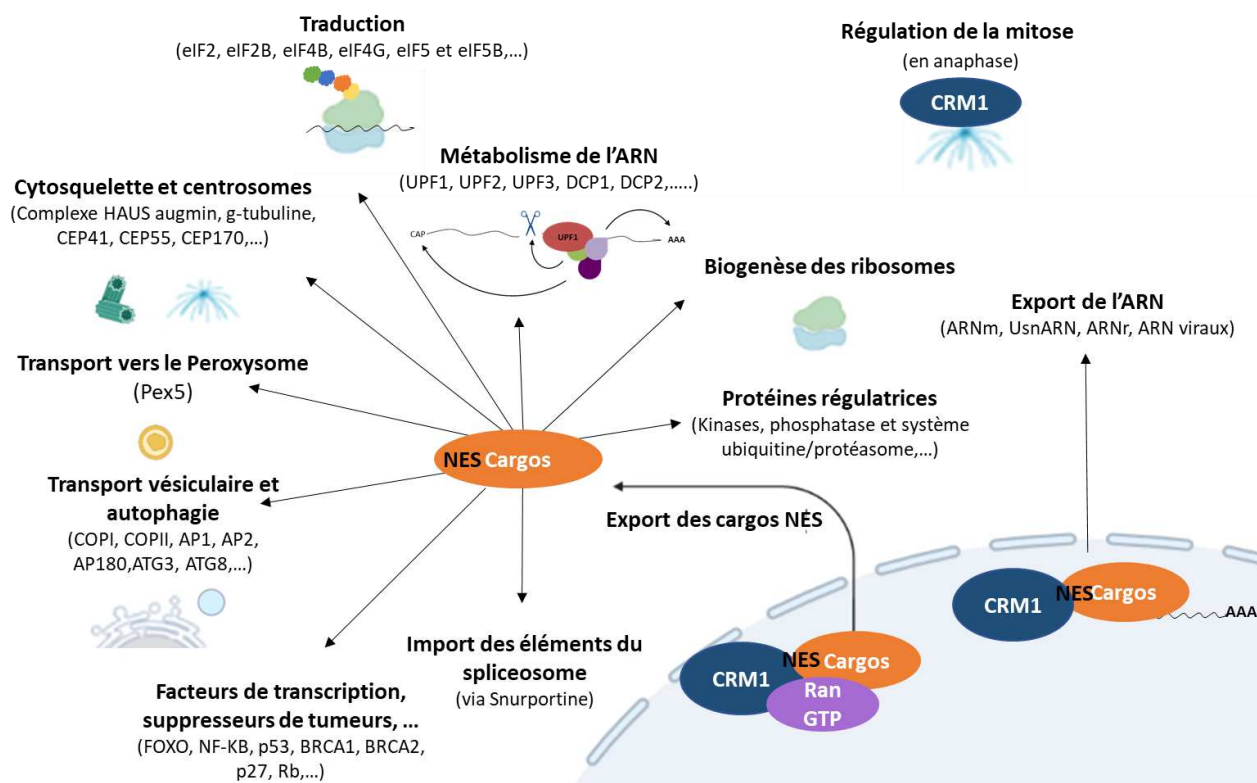


Figure 4. Les différentes fonctions dans lesquelles CRM1 est impliquée en cellules humaines.

¹⁶ DCP1 et DCP2 et des protéines du decapping de l'ARNm.

Export nucléo-cytoplasmique des ARN cellulaires

II. A l'exception des ARN de transfert (tRNA) et des microARN (miRNA), les ARN cellulaires sont généralement exportés sous forme d'une ribonucléoparticule mature (RNP) qui résulte du recrutement sur l'ARN de plusieurs facteurs au cours des différentes étapes de maturation de l'ARN (Björk and Wieslander, 2017; Okamura et al., 2015). Un premier niveau de régulation de cet export des RNPs réside dans le fait qu'intrinsèquement les récepteurs d'export ne lient pas directement l'ARN : CRM1 n'est pas une protéine de liaison à l'ARN, et NXF1, lorsqu'elle est libre, ne présente pas une conformation favorable à sa liaison à l'ARN (Okamura et al., 2015; Viphacone et al., 2012). De ce fait, l'export nécessite la présence de protéines adaptatrices, qui vont interagir avec les cofacteurs présents sur l'ARN ou avec des motifs particuliers (Figure 5).

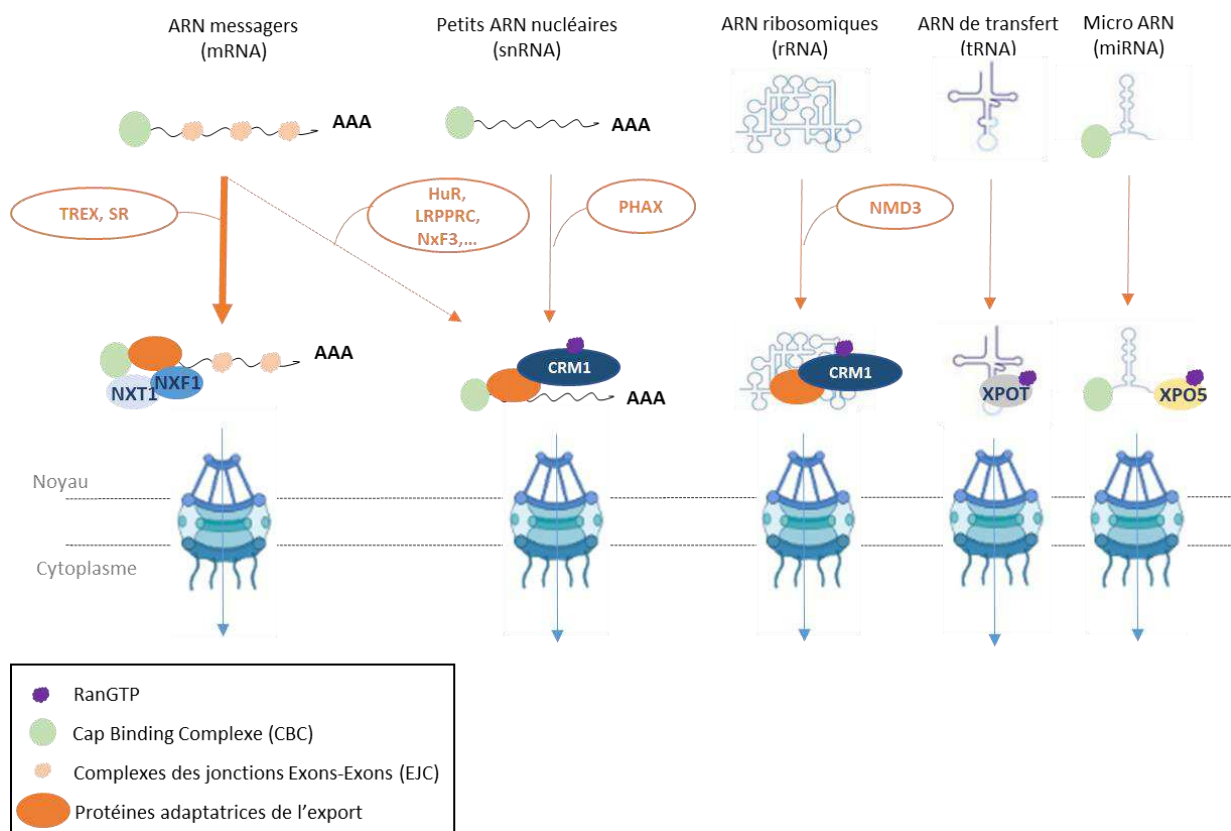


Figure 5. Les différents systèmes d'export des ARN cellulaires, adaptée d'Okamura et al. 2015.

A. Export NXF1/NXT1-dépendant des ARN messagers (ARNm)

Le système NXF1/Tap est décrit comme la voie majeure d'export des ARNm, et passe par la formation d'un hétérodimère avec NTX1/p15 pour lier l'ARN via plusieurs protéines adaptatrices : le complexe TREX (TRanscription EXport Complex) et les protéines SR (riches en Sérine-Arginine) (Figure 6) (Björk and Wieslander, 2017; Okamura et al., 2015).

Un des complexes adaptateurs le mieux décrit est le complexe hautement conservé TREX. Au sein de ce complexe, on retrouve les sous-unités protéiques AlyREF, le sous

complexe THO¹⁷ ainsi qu'UAP56¹⁸, une DEAD-Box hélicase à ARN qui, en tant que facteur de l'épissage, favorise l'assemblage du spliceosome. Chez les mammifères, le complexe TREX est recruté sur les ARNm épissés, en amont d'un EJC (Exon Junction Complex) et dans les régions proches de l'extrémité 5' de l'ARNm, par des mécanismes indépendants de la transcription : son recrutement nécessite les étapes d'épissage et de coiffage (Dufu et al., 2010; Masuda et al., 2005; Okamura et al., 2015). Il est notamment montré que la sous-unité AlyREF interagit avec eIF4A3¹⁹, un composant de l'EJC (Björk and Wieslander, 2017; Gromadzka et al., 2016). De plus CBP80, sous-unité du complexe de la coiffe 5'(CBC), interagit également avec les sous-unités AlyREF et THO pour l'export de l'ARN messager (Cheng et al., 2006; Chi et al., 2013). NXF1 seul, a une faible affinité pour l'ARN. C'est donc la liaison du complexe TREX, via les sous-unités THOC5 et AlyREF, qui entraîne un changement de conformation lui permettant de lier l'ARN (Viphakone et al., 2012). Bien que peu décrite, la protéine NXT1/p15 semble, quant à elle, davantage jouer un rôle dans les étapes ultérieures de liaison du complexe NXT1/NXF1-ARNm à la nucléopore p62 (Matzat et al., 2008).

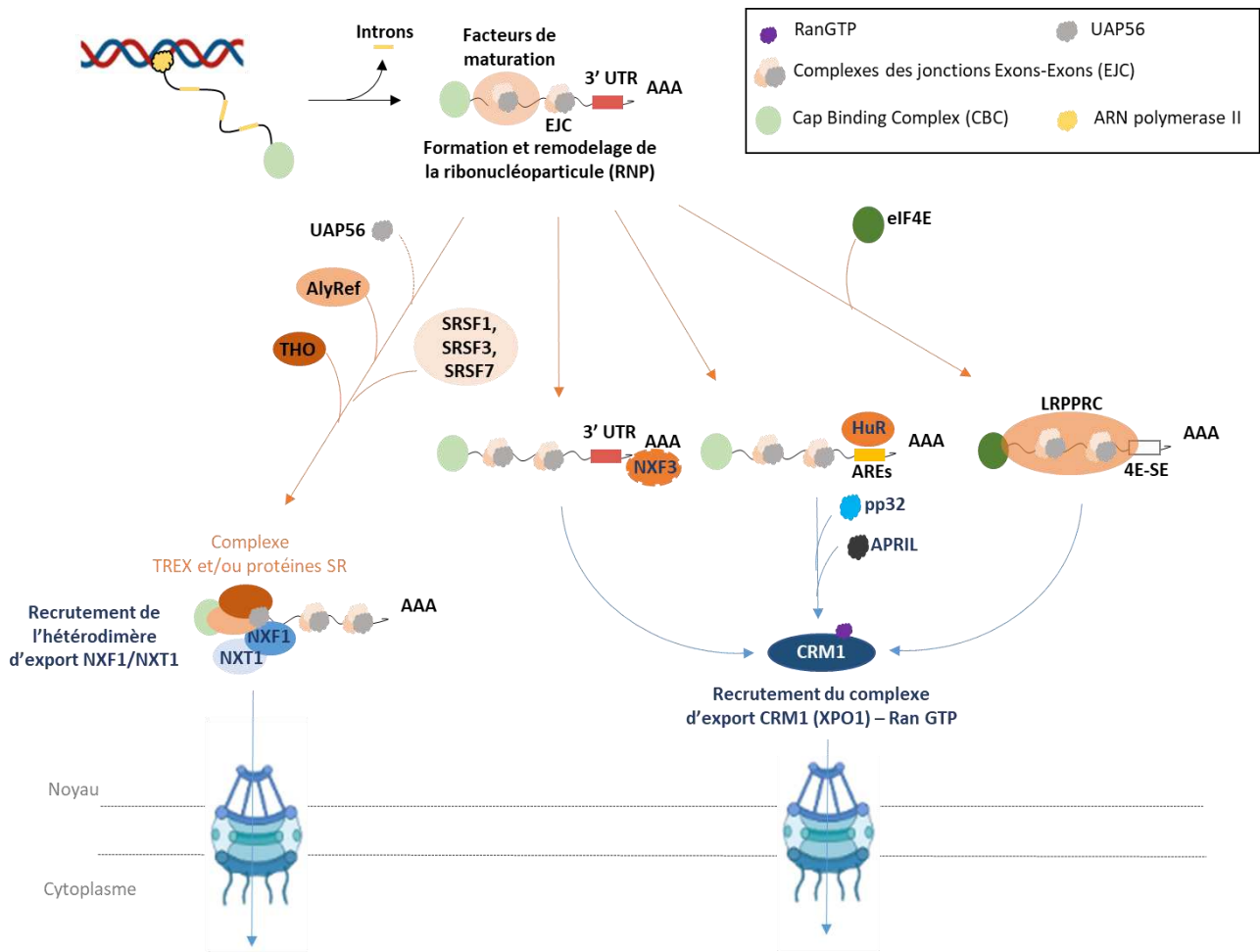
En plus du complexe TREX, trois protéines à domaine Sérine-Arginine (SRSF1, SRSF3 et SRSF7) ou protéines SR, sont également capables de recruter NXF1 au niveau des ARNm épissés chez les mammifères (Huang et al., 2003). Les protéines SR sont des protéines de liaison à l'ARN recrutées sur l'ARN pré-messager pendant la transcription où elles jouent un rôle dans la régulation de l'épissage (Änkö, 2014; Howard and Sanford, 2015). En restant associées aux ARNm après l'épissage, elles régulent également d'autres processus tels que la polyadénylation, la stabilité de l'ARNm ou encore la traduction (Bradley et al., 2015; Lemaire et al., 2002; Maslon et al., 2014). S'il est admis que le complexe TREX est l'adaptateur majeur entre NXF1/NXT1 et l'ARNm, il n'est pour le moment pas établi que TREX et les protéines SR régulent l'export de sous-catégories particulières d'ARN messagers (Okamura et al., 2015). Néanmoins, SRSF3 a été montrée comme pouvant lier le dernier exon et promouvoir l'export des ARNm avec des longs 3'UTR, en recrutant NXF1 (Björk and Wieslander, 2017; Müller-McNicoll et al., 2016). SRSF3 et SRSF7 sont nécessaires pour l'export de transcrits rapporteurs contenant un élément d'export de la région codante du gène de l'histone H2A (Huang and Steitz, 2001) et permettraient également de réguler la longueur de la région 3'UTR (Schwich et al., 2021). Récemment, il a été montré que SRSF1 et SRSF7 sont recrutées sur l'ARN NKILA, un ARN long non codant dépourvu d'introns. Pour son export, SRSF1 et SRSF7 recrutent le complexe TREX via une interaction avec UAP56 et AlyREF (Khan et al., 2021), suggérant un lien potentiel entre les deux types de protéines adaptatrices.

Enfin, il semble exister des adaptateurs spécifiques à certains tissus dont au moins un est décrit : HuD, uniquement exprimé dans les neurones, se fixe aux ARNm porteurs de séquences « ARE » pour les exporter via le système NXF1/NXT1. De manière intéressante, l'export de ces ARN dépend classiquement dans les autres tissus de CRM1 via la protéine adaptatrice HuR (Björk and Wieslander, 2017; Okamura et al., 2015; Saito et al., 2004) (Cf. paragraphe suivant).

¹⁷ Qui se compose des sous-unités THOC2, THOC3, THOC5, THOC6 et THOC7.

¹⁸ Spliceosome RNA helicase DDX39B

¹⁹ Hélicase à ARN aussi connue sous le nom de DDX48 ; Eukaryotic translation initiation factor 4A, isoforme 3.



B. Export CRM1-dépendant de certains ARN cellulaires

Comme introduit plus tôt, CRM1-RanGTP est la voie majoritaire d'export des cargos protéiques seuls, bien qu'un certain nombre d'ARNm soient spécifiquement exportés via CRM1-RanGTP. En effet, le rôle de CRM1 dans l'export de l'ARN n'a d'abord été décrit qu'au travers de celui de l'ARN viral non épissé d'HIV-1, où la protéine virale Rev a été identifiée comme protéine adaptatrice (Fornerod et al., 1997; Neville et al., 1997; Wolff et al., 1997). Depuis, CRM1 a été identifiée comme voie d'export spécifique de certains ARN messagers, mais également des petits ARN nucléaires (snRNA) et des ARN ribosomiques.

Trois protéines adaptatrices ont été pour le moment identifiées comme fonctionnant avec le complexe CRM1-RanGTP pour l'export des ARNm : HuR (RNA-binding protein Human antigen R), LRP (Leucine-Rich Pentatricopeptide Repeat protein), et NXF3 (Nuclear Export Factor 3) (Figure 6). HuR est recrutée sur les ARN messagers contenant des séquences riches en motifs AU : ces éléments « ARE » sont retrouvés dans la région 3'UTR de nombreux proto-oncogènes et de certaines cytokines²⁰ pour cibler leur dégradation. HuR

²⁰ Plus globalement dans les ARN liés à la réponse inflammatoire et immunologique.

s'associe ensuite avec les cofacteurs pp32 et APRIL²¹ puis, via son domaine NES, à CRM1-RanGTP pour l'export (*Scott et al., 2019; Lourou et al., 2019; Brennan et al., 2000*). Indépendamment de sa fonction dans la traduction cytoplasmique, eIF4E²² est également impliquée dans l'export de certains ARN messagers porteurs d'éléments de séquences 4E-SE de la région 3'UTR. Cet export dépendant d'eIF4E – 4ESE est impliqué dans la régulation de la prolifération cellulaire, notamment par la régulation de l'export de l'ARNm de la cycline D1. LRPPRC s'associe de manière coopérative au motif 4E-SE de l'ARN et à eIF4E, présent au niveau de la coiffe des ARN. Le complexe eIF4E-LRPPRC-ARNm recrute ensuite CRM1-RanGTP pour l'export, grâce au domaine NES retrouvé dans LRPPRC (*Scott et al., 2019; Osborne and Borden, 2015; Culjkovic et al., 2006, 2005*). Quant à NXF3, elle diffère des autres membres de la famille des NXF (dont fait partie NXF1) par la présence d'un domaine NES de liaison à CRM1. Bien qu'il ait été rapporté que NXF3 interagissait avec l'ARNm au niveau de la queue poly(A), le mécanisme *in vivo* de cette liaison n'est pas clair, étant donné que NXF3 est dépourvue d'une partie importante de son domaine de liaison à l'ARN (*Scott et al., 2019; Yang et al., 2001*). De fait, le type d'ARNm exportés par NXF3-CRM1-RanGTP n'est à ce jour pas connu. Néanmoins, NXF3 a été récemment caractérisée dans l'export des petits ARN nucléolaires (snoRNA) via CRM1-RanGTP en réponse à des conditions de stress ainsi que dans l'export des précurseurs des piRNA (PIWI-interacting ARN ; petits ARN répresseurs non codants) chez la drosophile (*ElMaghraby et al., 2019; Li et al., 2017*). Enfin, il semblerait également qu'un certain nombre d'autres ARN messagers soient exportés par CRM1 mais pour lesquels aucune protéine adaptatrice n'est connue pour le moment (*Scott et al., 2019; Okamura et al., 2015; Hutten and Kehlenbach, 2007*).

Une autre catégorie d'ARN est également exportée par CRM1-RanGTP : les petits ARN spliceosomaux (UsnRNA) qui, à l'image du *pool* d'ARN messagers, sont également transcrits par l'ARN polymérase II et possèdent une coiffe en 5' recrutant le complexe de la coiffe (CBC). Mais, à la place d'un export dépendant de NXF1/NXT1 où le CBC devrait recruter ALYREF, c'est la protéine adaptatrice PHAX²³ qui se lie conjointement au CBC (via CBP80) et à l'ARN puis recrute CRM1-RanGTP (**Figure 6**). Ce différentiel de recrutement de PHAX versus ALYREF par le CBC semble être dû à la faible taille des ARN spliceosomaux, comme le suggère la haute affinité de PHAX pour les petits ARN de moins de 200 à 300 nt (*Okamura et al., 2015; McCloskey et al., 2012; Ohno et al., 2002, 2000*).

Enfin, les ARN ribosomiques sont également exportés par CRM1-RanGTP grâce à la protéine adaptatrice NMD3²⁴ (**Figure 5**). Juste après leur transcription, les pré-ARN ribosomiques s'associent aux protéines ribosomales (PR) pour préformer des sous-unités immatures qui seront exportées et modifiées dans le cytoplasme. Chez les mammifères, la sous-unité préformée 60S peut être exportée par NMD3-CRM1-RanGTP ou l'exportine XPO5-RanGTP, tandis que la sous-unité préformée 40S est uniquement exportée par CRM1 bien que l'adaptateur n'ait pas encore été décrit (*Okamura et al., 2015; Wild et al., 2010*).

²¹ Connue également sous le nom d'ANP32B (Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B)

²² Eukaryotic translation initiation factor 4E

²³ Phosphorylated adapter RNA export protein.

²⁴ 60S ribosomal export protein NMD3

Si NXF1/NXT1 est la voie majoritairement utilisée pour l'export de l'ARNm, un certain nombre d'ARNm sont plus spécifiquement exportés via CRM1-RanGTP, nécessitant des protéines adaptatrices différentes de la voie NXF1/NXT1. Cette hétérogénéité dans les voies d'export de l'ARNm s'explique notamment par la diversité en facteurs constituant les RNP dont la composition, déterminante dans le recrutement des protéines adaptatrices et *in fine* dans l'export, résulte des différents processus nucléaires de maturation de l'ARNm, de la transcription à l'épissage. Grâce notamment à l'apport de techniques expérimentales nouvelles et à haut débit ainsi qu'un nombre d'études croissant dans le domaine de l'export des ARNm, il est aujourd'hui proposé que cette étape de reconnaissance par les récepteurs de l'export soit une étape clé dans les divers processus de contrôle qualité de l'ARN (Scott et al., 2019; Björk and Wieslander, 2017; Cautain et al., 2015; Siddiqui and Borden, 2012; Güttler and Görlich, 2011).

Impacts pathologiques des dérégulations de CRM1

III. A. Dérégulations de CRM1 et oncogénèse

Les cargos exportés par CRM1 incluent un grand nombre de suppresseurs de tumeurs (p53, BRCA1/2,...), de protéines oncogènes (la protéine du rétinoblastome RB, BCR-ABL,...) et des facteurs de la transcription (les protéines FOXO, NF- κ B,...). Un certain nombre de ces cargos protéiques sont retrouvés dérégulés dans les cellules cancéreuses (Azizian and Li, 2020; Ferreira et al., 2020; Mathew and Ghildyal, 2017; Gravina et al., 2014). Or, la surexpression de CRM1 est une caractéristique fréquemment retrouvée dans divers types de cancers (pancréatique, gliomal, ovarien, pulmonaire, prostatique, colorectal) et est généralement associée à un mauvais pronostic. Cette surexpression²⁵ est également retrouvée pour d'autres facteurs qui interviennent dans l'export CRM1-dépendant des ARNm (tels que HuR, eIF4E, LRPPRC et NXF3) établissant un lien particulier entre l'export de l'ARNm, CRM1 et l'oncogénèse (Azizian and Li, 2020; Siddiqui and Borden, 2012). Des mutations de CRM1 sont également retrouvées dans des tumeurs solides et hématopoïétiques mais leurs implications fonctionnelles dans les processus d'oncogénèse associés sont mal connues (Azizian and Li, 2020; Taylor et al., 2019; Camus et al., 2017; Puente et al., 2011). Une étude à grande échelle, qui reprend des données de séquençage génomique en exome complet de 42,793 patients, identifie dans ce panel trois acides aminés de CRM1 fréquemment mutés : E571, R749 et D624 (Puente et al., 2011). Récemment, deux études se sont intéressées à caractériser une de ces mutations particulièrement retrouvée dans les cellules lymphoblastiques de type B : CRM1^{E571K}. Miloudi et al. montrent que CRM1^{E571K} s'accumule à la membrane périmoléculaire et trouvent une association anormale avec certains partenaires, notamment avec l'importine β 1 (Miloudi et al., 2020). Baumhardt et al. suggèrent que CRM1^{E571K} aurait une affinité plus importante pour les NES, entraînant un possible ralentissement de l'export des cargos liés à CRM1 (Baumhardt et al., 2020). Aussi, CRM1 est de plus en plus largement décrite comme un « oncogenic driver » et est une cible thérapeutique dans de nombreux cancers (Azizian and Li, 2020; Ferreira et al., 2020; Wang and Liu, 2019).

²⁵ Associée également à un mauvais pronostic.

Il est également montré que des surexpressions de CRM1 altèrent les processus d'apoptose, de réparation des dommages à l'ADN, la stabilité des chromosomes ou encore d'angiogenèse (*S. Liu et al., 2022; Nakashima et al., 2020; Sun et al., 2016*). De fait, CRM1 est également considérée comme une cible intéressante dans le traitement de l'inflammation et des pathologies auto-immunes, dans lesquelles elle est surexprimée (*S. Liu et al., 2022; Olazagoitia-Garmendia et al., 2022; Haines et al., 2015; Mao and Yang, 2013*).

B. Détournement de la voie CRM1 par les virus : quels impacts ?

CRM1 est une voie privilégiée par certains rétrovirus pour l'export de certains de leurs ARN viraux (ARNv). En effet, les rétrovirus présentent un génome viral compact sous forme d'un ARN polycistronique codant l'ensemble des protéines virales. Après rétrotranscription et intégration, grâce notamment à des signaux de décalages du cadre de lecture et d'épissage alternatif, la transcription du génome viral aboutit à différents types d'ARN : totalement, partiellement ou non épissés. S'il est montré que certains rétrovirus sont capables d'exporter leurs ARN viraux complètement épissés via la voie canonique d'export de l'ARNm NXT1/NXF1 (*Beemon, 2022; Pessel-Vivares et al., 2014*), l'export des ARN viraux partiellement ou non épissés nécessite quant à lui de compenser l'absence de protéines adaptatrices de la ribonucléoparticule virale (RNPv). Les rétrovirus ont développé plusieurs stratégies pour contourner cette contrainte (décrites ci-après et résumées dans la **Table 1A**).

Concernant les rétrovirus dits simples, n'exprimant pas de protéines auxiliaires, ils ne semblent pas exprimer de protéines adaptatrices pour l'export. De fait, ils possèdent un motif présent sur l'ARN viral qui est capable d'interagir directement avec l'hétérodimère NXF1/NXT1. La première séquence d'export de l'ARN viral de ce type a été décrite chez le Mason-Pfizer Monkey Virus (MPMV) : une séquence nommée Constitutive Transport Element (CTE), d'environ 130 nt en 3'LTR de l'ARN génomique simple brin, est capable de recruter directement l'hétérodimère NXF1/NXT1 (*Aibara et al., 2015; Bray et al., 1994*). Par la suite, des séquences analogues au CTE (DR ; Direct Repeat) ont été retrouvées chez le Rous Sarcoma Virus (RSV). Bien que l'export de l'ARN viral nécessite NXF1, ces séquences DR ne semblent pas lier directement NXF1 suggérant l'existence d'une protéine adaptatrice encore non identifiée (*Beemon, 2022; Paca et al., 2000; Ogert et al., 1996*). Des séquences CTE ont également été identifiées pour l'export NXF1-dépendant de l'ARN non épissé du Murine Leukemia Virus (MLV) (*Mougel et al., 2020; Bartels and Luban, 2014*). De manière intéressante, il a été récemment montré que le MLV utilise également la voie CRM1 pour l'export de l'ARN non épissé : *Mougel et al.*, démontrent que le choix de la voie NXF1/NXT1 vs. CRM1-RanGTP repose davantage sur le devenir de l'ARN non épissé, à savoir respectivement la traduction ou l'encapsidation dans la particule virale (*Mougel et al., 2020*).

Concernant les rétrovirus complexes, ils semblent quant à eux, avoir adopté une stratégie consistant à coder une protéine virale adaptatrice de l'export. C'est le cas par exemple d'HIV qui code pour une protéine régulatrice, Rev. Rev se lie d'une part au domaine RRE (Rev Responsive Element) de l'ARN viral, et d'autre part à CRM1 via son domaine NES. Rev est ainsi caractérisée comme transporteur des ARN viraux partiellement ou non épissés d'HIV de

manière CRM1-dépendante (*Ajamian et al., 2015; Neville et al., 1997*). Par homologie fonctionnelle, Rex, retrouvée chez HTLV (Human T-Lymphotropic Virus), est également décrite comme transporteur des ARN viraux partiellement ou non épissés par CRM1-RanGTP (*Hakata et al., 1998; Ahmed et al., 1990; Dokheler et al., 1989; Rimsky et al., 1988*). Le Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV) code également une protéine virale appelée Rem pour l'export CRM1-dépendant (*Mertz et al., 2005*). De manière intéressante, les Foamy Virus (FV) qui sont également des rétrovirus complexes n'expriment pas d'homologues de Rev. En revanche, ils utilisent la protéine adaptatrice cellulaire HuR pour exporter leurs ARN partiellement épissés via la voie CRM1 (*Bodem, 2011*).

Un export CRM1-dépendant des ARN viraux est également décrit pour les orthomyxovirus. En effet, les virus influenza expriment la protéine virale NS2, qui se comporte comme une protéine adaptatrice de CRM1 : NS2²⁶ s'associe d'une part à la protéine de Matrice M1, qui lie la RNPv, et d'autre part à CRM1 via son domaine NES (retrouvé dans son domaine N-Terminal) (*Mathew and Ghildyal, 2017; Boulo et al., 2007; Akarsu et al., 2003*) (**Table 1B**).

Génome		Famille/Genre	Virus	Voie d'export de l'ARNv non ou partiellement épissé	Stratégie d'adaptation	Protéine adaptatrice	Hôte /Pathogénicité
Virus à ARN simple brin – intermédiaire ADN pour réplication (RT)	Retrovirus "simples"	Betaretrovirus	Mason-Pfizer Monkey Virus (MPMV)	NXF1/NXT1	Séquence CTE de l'ARNv dans la région 3'UTR	N.A	Macaques / Déficiences immunitaires
		Alpharetrovirus	Rous Sarcoma Virus (RSV)	NXF1/NXT1	Séquence DR de l'ARNv de part et d'autre du gène <i>src</i>	Inconnue	Poulets / Sarcomes
		Gammaretrovirus	Murine Leukemia Virus (MLV)	NXF1/NXT1	Séquence CTE de l'ARNv dans la région 3'UTR	N.A	Souris / Cancers
				CRM1	Séquence <i>Psi</i> de packaging	Inconnue	
	Rétrovirus "complexes"	Lentivirus	Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1)	CRM1	Séquence RRE dans la région du gène <i>env</i>	Rev (transporteur viral)	Humains / Syndrome d'Immunodéficience Acquise (SIDA)
		Deltaretrovirus	Human T-cell Leukemia 1 (HTLV-1)	CRM1	Séquence RxRE dans la région 3'UTR	Rex (transporteur viral)	Humains / Leucémie et pathologie immune inflammatoire
		Betaretrovirus	Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV)	CRM1	Séquence RmRE dans la région entre le gène <i>env</i> et le 3'UTR	Rem (transporteur viral)	Souris /Tumeurs Mammaires
		<i>Spumaretroviridae</i>	Foamy Viruses (FV)	CRM1	Séquence probablement analogue au RRE, appelée FREE	HuR	Primates non humain, chats, chevaux, bovins / infection persistante sans pathogénicité particulière

TABLE 1A. Export CRM1-dépendant des ARN rétroviraux non ou partiellement épissés.

²⁶ Appelée aussi NEP pour Nuclear Export Protein.

	Famille/Genre	Virus	Export CRM1-dépendant des facteurs viraux (fonctions virales)	Effet de la protéine virale sur la cellule hôte	Références
Rétrovirus (Virus à ARN simple brin)	Cf. Table 1A				
Virus à ARN simple brin de polarité (+)	<i>Coronaviridae</i>	SARS-CoV	ORF-9b ; ORF-3b ; Nucleocapside N (réplication et assemblage viral)	potentiellement inhibitrice de l'apoptose ; N.D (Non déterminé) ; N.D	(Shang et al., 2021; Kashyap et al., 2021; Sharma et al., 2011; Freundt et al., 2009; You et al., 2007)
	<i>Flaviviridae</i>	Virus de la Dengue	NS5 (réplication virale)	Module la réponse antivirale de l'hôte (induction de la production d'IL-8)	(Rawlinson et al., 2009; Pryor et al., 2006)
		Virus de l'Hépatite C (HCV)	Core (protéine de capsid)	Active la voie NF-κB et favorise l'expression des chimiokines CCL2 et CXCL10 (montré dans les macrophages)	(Song et al., 2021; Levin et al., 2014; Cerutti et al., 2011)
	<i>Togaviridae</i>	Virus du Chikungunya	Protéine de Capsid (assemblage viral)	Stimule l'activation des cellules dendritiques et leur maturation déclenchant une réponse inflammatoire (chez la souris)	(Nghia et al., 2020; Thomas et al., 2013)
		Virus de l'Encéphalite Equine Venezuelienne (VEE)	Protéine de Capsid (assemblage viral)	N.D	(Lundberg et al., 2017)
	<i>Potyviridae</i>	Virus de la mosaïque du Navet (turnip mosaic virus)	Réplicase virale (réplication virale)	CRM1 est montré comme facilitant l'infection par l'export de la réplicase virale et favorisant la répression de l'immunité de la plante	(Zhang et al., 2021)
Virus à ARN simple brin de polarité (-)	<i>Orthomyxoviridae</i>	Virus Influenza (IV)	NS2 (Export des RNPv)	NS2 d'IAV inhibe la maturation et la capacité de présentation de l'antigène des cellules dendritiques	(Lin et al., 2022; Akarsu et al., 2003)
	<i>Pneumoviridae (anciennement Paramyxoviridae)</i>	Virus Respiratoire Syncytial (VRS)	Protéine de Matrice (M) (assemblage viral)	Inhibition de la transcription	(H.-M. Li et al., 2021; Ghildyal et al., 2009)
	<i>Rhabdoviridae</i>	Virus de la Rage	Protéines P1 et P2 (assemblage viral)	Inhibe la réponse IFN de type I et II	(Oksayan et al., 2012; Vidy et al., 2007, 2005; Pasdeloup et al., 2005)

Virus à ADN	<i>Hepadnaviridae</i>	Virus de l'Hépatite B (HBV)	CORE (HBc) (contient l'ARN viral encapsidé - production de virions)	Inhibe l'expression d'IFITM1 (interferon alpha induit) par interaction avec BAF200	(Yang et al., 2022; Li et al., 2019)
	<i>Herpesviridae</i>	Epstein Barr Virus (EBV)	BLLF2 (Fonction inconnue)	N.D	(J. Li et al., 2021)
		Bovin Herpes Virus (BHV)	VP8 et VP22 (protéines de surface des virions)	N.D	(Zheng et al., 2005, 2004)
		CytoMegaloVirus (CMV)	Protéine de matrice Pp65 (réplication virale)	Retarde la réponse interféron de type I	(Sanchez et al., 2007; Abate et al., 2004)
	<i>Papillomaviridae</i>	Papillomavirus	E2 ; E7 (réplication virale)	E7 est une oncoprotéine (exprimée par les sous-types à haut risque 18 et 16)	(Onder et al., 2015; Knapp et al., 2009; Blachon et al., 2005)
	<i>Parvoviridae</i>	Parvovirus	VP2 ; Voie alternative (à celle de l'apoptose ou de la lyse) pour l'export de la capside assemblée dans le noyau	N.D	(Mattola et al., 2022)

TABLE 1B. Export de facteurs viraux via CRM1.

Enfin, un certain nombre d'autres virus tels que les paramyxovirus, les flavivirus, les coronavirus, les rhabdovirus ou encore les herpes virus, utilisent CRM1 pour exporter certaines protéines virales (**Table 1B – liste non exhaustive**). De plus, il est suggéré que les protéines Rev d'HIV-1 et Rex d'HTLV-1 puissent également s'exporter par CRM1 hors du contexte de l'export de l'ARN viral pour d'autres fonctions cytoplasmiques (Nakano and Watanabe, 2016; Ajamian et al., 2015; Heger et al., 1998), à l'image d'autres protéines rétrovirales telles que Tax (HTLV-1) et Tat (HIV-1) (Alefantis et al., 2003; Stauber and Pavlakis, 1998). Enfin, dès lors qu'un domaine NES est présent dans une protéine virale, il est probable que son export dépende de CRM1.

Pour conclure, l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs de l'export CRM1-dépendant diminue l'expression de certaines protéines virales, réduit la réplication virale, l'assemblage viral ou encore l'infectiosité, ce qui renforce l'importance des études du détournement de CRM1 dans les infections virales (Kashyap et al., 2021; Mathew and Ghildyal, 2017; Cao et al., 2009). Pour autant, les dérégulations de l'exportome de CRM1 potentiellement liées à ce détournement par les protéines virales ne sont *a priori* que peu évoquées dans la littérature.

CHAPITRE II : UPF1, l'hélicase à ARN/ADN aux multiples fonctions

Au cours de la traduction, le ribosome déplace les protéines associées à l'ARNm, tels que les complexes des Jonctions Exon-Exon (EJC) apposés au cours du processus de maturation nucléaire de l'épissage. Arrivé au codon stop, le ribosome se décroche de l'ARNm, libérant ainsi l'ARNm et la protéine issue de sa traduction. Lorsque le ribosome détecte certains défauts dans l'ARNm au cours de la traduction, des mécanismes de contrôle qualité vont se mettre en place. Ainsi, l'absence d'un codon stop réglementaire prévient la traduction de l'ARNm en initiant sa dégradation via la voie du Non-stop Mediated Decay (NSD) ; la présence d'un codon stop prématuré (PTC ou Premature Stop Codon) va engendrer la dégradation de l'ARNm par la voie du Non-sens Mediated Decay (NMD) ; c'est le No-Go Decay (NGD) qui s'enclenche lorsque le ribosome est anormalement ralenti lors de l'élongation de la traduction (*Morris et al., 2021*). Parmi ces mécanismes de contrôle qualité, ce travail s'intéresse plus particulièrement à la voie du NMD dont les rôles cellulaires ne se limitent pas au contrôle qualité : le NMD participe également à la régulation de l'expression des gènes par la dégradation de transcrits présentant des déterminants déclencheurs autres qu'un PTC ; la voie du NMD contribuerait également à la réponse de la cellule hôte aux infections virales, dès lors qu'elle est capable de cibler certains ARN viraux.

Ces différentes fonctions du NMD reposent toutes sur son facteur central, l'hélicase à ARN, UPF1. UPF1 (UP-Frameshift suppressor 1)/RENT 1 (REgulator of Nonsense Transcripts 1) est une hélicase à ARN/ADN dont l'expression est constitutive dans tous les tissus, et qui est retrouvée chez tous les eucaryotes de la levure à l'homme. Des études réalisées en cellules de mammifères montrent qu'UPF1 est une protéine essentielle : l'extinction d'UPF1 est létale dès le stade embryonnaire et des cellules immortalisées déplétées en UPF1 stoppent leurs divisions et meurent au bout de 5 à 7 jours (*Azzalin and Lingner, 2006a; Medghalchi et al., 2001*). Si historiquement, *upf-1* a d'abord été identifiée chez la levure comme un gène requis pour stimuler la dégradation des ARNm porteurs de codons stop prématurés par le NMD, il est clair aujourd'hui qu'UPF1 participe plus largement au catabolisme des ARN au sein de diverses voies, regroupées sous le nom d'UMDs (UPF1-Mediated Decay). Ses fonctions cellulaires ne se limitent pas uniquement au catabolisme des ARN puisque des fonctions d'UPF1 dans la stabilité du génome, la réplication et la réparation de l'ADN ou encore la régulation du cycle cellulaire sont également rapportées.

Ce deuxième chapitre s'intéresse donc dans une première partie à décrire structurellement l'hélicase UPF1 pour aborder dans une seconde partie ses différentes fonctions cellulaires, avec un focus particulier sur la mécanistique du Nonsense Mediated Decay (NMD). Les différentes pathologies associées aux dérégulations d'UPF1, et notamment l'inhibition du NMD, seront également abordées dans une troisième partie.

Structure-fonction d'UPF1

I. Initialement décrite dans les années 90 chez *S. cerevisiae*, UPF1 appartient à la famille des hélicases (Superfamille des SF1), enzymes décrites comme des moteurs moléculaires qui convertissent l'énergie chimique de l'hydrolyse des nucléotides triphosphates (ATP, GTP,...) en énergie mécanique. Ainsi, elles catalysent l'ouverture d'acides nucléiques appariés sous forme doubles brins (ARN et/ou ADN). De plus, par leur capacité à se déplacer le long de ces structures simple ou doubles brins (translocation), elles permettent le déroulement de structures secondaires.

Structurellement, UPF1 possède au cœur de la protéine une région dite hélicase (HD) (entre les acides aminés 295-914) lui permettant de lier simultanément l'ATP et l'ARN ou l'ADN (**Figure 7a**). Cette région s'organise autour de deux domaines RecA-like, RecA1 et RecA2, contenant des motifs hélicases conservés qui forment une interface de liaison : sur l'orientation de la **Figure 7c**, c'est la partie supérieure qui lie l'ARN, où RecA2 interagit avec le côté 5' de l'ARN et RecA1 le côté 3', et la partie inférieure de la poche lie l'ATP. Deux domaines régulateurs, Rec1C plutôt rigide, et Rec1B émergent du domaine Rec1A et lui sont reliés par deux hélices alpha, formant une structure en « fourche » non conservée, retrouvée uniquement dans la structure d'UPF1_{humain} (Chakrabarti et al., 2011). De part et d'autre de ce domaine hélicase, deux autres domaines, hautement conservés chez les eucaryotes supérieurs, sont particulièrement impliqués dans la régulation intramoléculaire de l'activité enzymatique d'UPF1. Du côté N-terminal, le domaine CH (riche en cystéine et histidine) réprime l'activité ATPase et hélicase²⁷, maintenant UPF1 dans une conformation dite « inactive » (Fiorini et al., 2013; Chakrabarti et al., 2011)(**Figure 7a**). Du côté C-terminal, le domaine SQ (riche en sérine et en glutamine) est décrit comme capable d'inhiber l'activité ATPase d'UPF1 en se liant au domaine HD (Fiorini et al., 2013)(**Figure 7a**). Proche de ce domaine, UPF1 possède également plusieurs sites de phosphorylations, en lien avec la régulation des interactions d'UPF1 avec d'autres facteurs (Durand et al., 2016). En absence d'interaction avec d'autres facteurs, UPF1 est donc dans une conformation dite « inactive » où les domaines CH et SQ limitent son association à l'ARN et sa capacité à hydrolyser l'ATP (Chakrabarti et al., 2011).

UPF1 n'est pas recrutée sur l'ARN par une séquence particulière, et plusieurs études montrent qu'elle est capable de s'associer à tous les transcrits qui lui sont accessibles (Kurosaki et al., 2014; Zünd et al., 2013; Hurt et al., 2013; Hogg and Goff, 2010). Aussi, cette régulation des activités enzymatiques d'UPF1 (ATPases et hélicases) par les domaines CH et SQ jouent un rôle essentiel dans l'activation d'UPF1. L'étude de Chakrabarti et al., montre que structurellement, l'interaction d'UPF2²⁸ avec le domaine CH d'UPF1 amène ce domaine CH complètement à l'opposé de la protéine (**Figure 7b, d**)(Chakrabarti et al., 2011). Ce changement conformationnel entraîne une augmentation de l'activité ATPase et stimule l'activité hélicase d'UPF1 qui sont démontrées comme essentielles au NMD (Lee et al., 2015; Franks et al., 2010; Chakrabarti et al., 2011; Chamieh et al., 2008). En effet, en étant capable de se déplacer efficacement sur des structures doubles brins ou des séquences associées à des protéines, UPF1

²⁷ Par son interaction avec le domaine RecA2 au niveau des sites de liaison à l'ARN.

²⁸ Impliquée dans le processus de NMD décrit ci-après.

fonctionne comme un remodeleur de ribonucléoparticules (RNP) (Kanaan *et al.*, 2018; Fiorini *et al.*, 2015). Elle possède également plusieurs résidus (sérines et thréonine) dont la phosphorylation favorise le recrutement d'enzymes de dégradation de l'ARN (**Figure 7a**) (cf. paragraphes suivants).

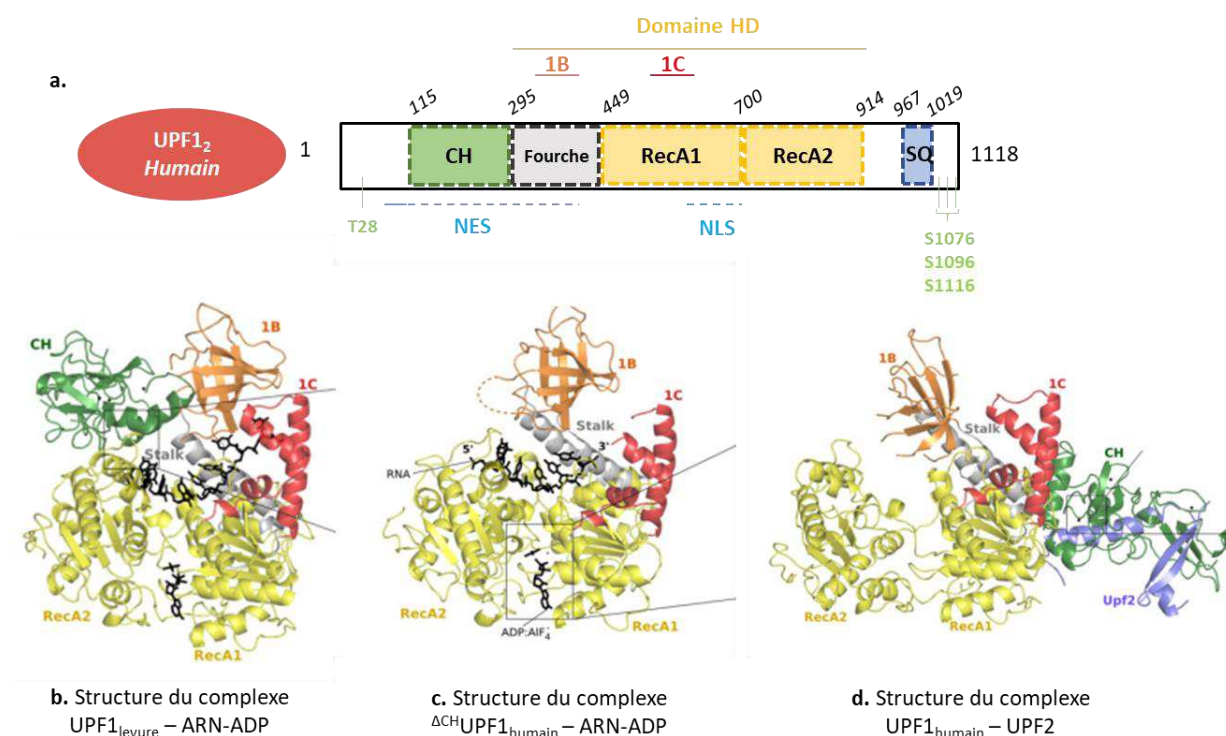


Figure 7. Les différents domaines d'UPF1 (a) et vues structurales d'UPF1, seule ou en complexe avec UPF2 (b, c, d) adaptée de Chakrabarti *et al.* 2013.

Enfin, UPF1 possède également deux régions impliquées dans la régulation de sa distribution dans les différents compartiments cellulaires en lien avec ses différentes fonctions : un motif d'adressage au noyau, le NLS (Nuclear Localization Signal), et un motif NES (Nuclear Export Signal) d'export via CRM1-RanGTP²⁹ (**Figure 7a**). En effet, l'export CRM1-dépendant d'UPF1 a été établi par Mendell *et al.*, en 2002, où les auteurs montrent qu'en cellules HeLa, un traitement à la Leptomycine B (inhibiteur sélectif de CRM1) induit une séquestration nucléaire d'UPF1. Pour l'import, UPF1 interagit avec l'importine β 1 (Hu *et al.*, 2021, 2013). Mais les domaines NLS et NES actuellement définis sont assez larges³⁰, alors que les motifs consensus sont généralement de l'ordre d'une dizaine d'acides aminés (cf. chapitre 1) : le domaine NLS comprend les 100 derniers acides aminés du domaine RecA1 (a.a 596-697) et le domaine NES comprend une partie du domaine N-terminal, le domaine CH et une partie du domaine HD (a.a 55-416) (Mendell *et al.*, 2002). Néanmoins, une étude récente non publiée s'est intéressée à restreindre les motifs NLS et NES d'UPF1. Par des analyses bioinformatiques et l'utilisation de mutants d'UPF1, ils restreignent le domaine NES aux 20 acides aminés situés en amont du domaine CH (a.a 89-105). Cette équipe confirme également que la région précédemment identifiée comme le NLS contient bien un signal responsable de la localisation

²⁹ En cohérence avec les études en spectrométrie de masse qui retrouvent UPF1 comme cargo de CRM1 et avec la séquestration nucléaire d'UPF1 retrouvée sous traitements à la Leptomycine B.

³⁰ Etabli par Mendell *et al.*, en 2002 sur la base de mutants de délétion.

nucléaire d'UPF1, sans parvenir à restreindre davantage le domaine NLS à un motif consensus (Eberle et al., 2021).

UPF1 : au cœur du métabolisme des ARN et de l'ADN

A. Les UMD : UPF1-Mediated Decay

- II. Si la fonction d'UPF1 la mieux caractérisée est celle au cœur de la mécanistique du Nonsense Mediated Decay (NMD), UPF1 est également le facteur central de plusieurs voies de dégradation de l'ARNm regroupées sous le terme d'UMD (UPF1-Mediated Decay). Actuellement, les UMD comprennent les voies du Nonsense-Mediated Decay (NMD), du Staufen-Mediated Decay (SMD), du Histone-replication dependent-Mediated Decay (HMD), du Regnase 1-Mediated Decay (RMD), du Structured-mediated RNA Decay (SRD), du Tudor-Staphylococcal/micrococcal-like Nuclease- Mediated Decay (TSN-mediated Decay ou TumiD) ainsi que du Glucocorticoïd receptor-Mediated Decay (GMD). Les éléments initiateurs de ces différentes UMD sont multiples et davantage sous la dépendance de l'architecture du transcrit : la séquence de l'ARNm, son organisation et/ou la composition en facteurs des RNP sont autant d'éléments qui semblent favoriser le recrutement et/ou la stabilisation d'UPF1. Les étapes initiatrices des différents processus ont en commun la stabilisation et/ou l'activation d'UPF1 sur l'ARN. Cette stabilisation d'UPF1 sur l'ARN ciblé va favoriser le recrutement d'autres facteurs aboutissant à la dégradation de l'ARN. Ces différentes voies sont donc autant définies par les transcrits ciblés que par les facteurs recrutés, certains spécifiques, d'autres communs, engendrant potentiellement des modulations fonctionnelles importantes (cf. **Figure 10**). En effet, comme introduit plus tôt, UPF1, seule, n'a que peu de fonctionnement intrinsèque et son activation repose sur ses interactions avec différents facteurs (May and Simon, 2021; Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Kishor et al., 2019a; Kim and Maquat, 2019; Karousis and Mühlemann, 2019).

1. Le Nonsense-Mediated Decay (NMD)

a. La mécanistique du NMD

La voie de dégradation du NMD est un processus co-translationnel. Dans un contexte de terminaison de la traduction dit « typique » ou normal, UPF1 a été déplacée par le ribosome en cours de traduction et s'accumule sur l'ARNm, dans la région 3'UTR (UnTranslated Region) (Hurt et al., 2013; Kurosaki and Maquat, 2013; Zünd et al., 2013) (**Figure 8a**). S'il n'est pas encore établi qu'UPF1 joue un rôle direct dans la terminaison de la traduction, c'est, quoi qu'il en soit, un facteur indispensable à l'initiation du NMD. Aussi, il est admis que le NMD s'initie dans un contexte de terminaison de la traduction atypique, où le ralentissement des étapes de terminaison de la traduction favoriserait la stabilisation et/ou les interactions d'UPF1 avec les facteurs stimulateurs du NMD. Par exemple, un ribosome rencontrant prématurément un codon stop (PTC), comme présenté dans la figure 8b, est un des contextes atypiques initiateurs du NMD (Karousis and Mühlemann, 2019; Kishor et al., 2019a). La mécanistique proposée dans la figure 8 montre une vue globale de la voie du NMD, au moment où le ribosome rencontre le codon stop prématuré jusqu'à la dégradation du transcrit.

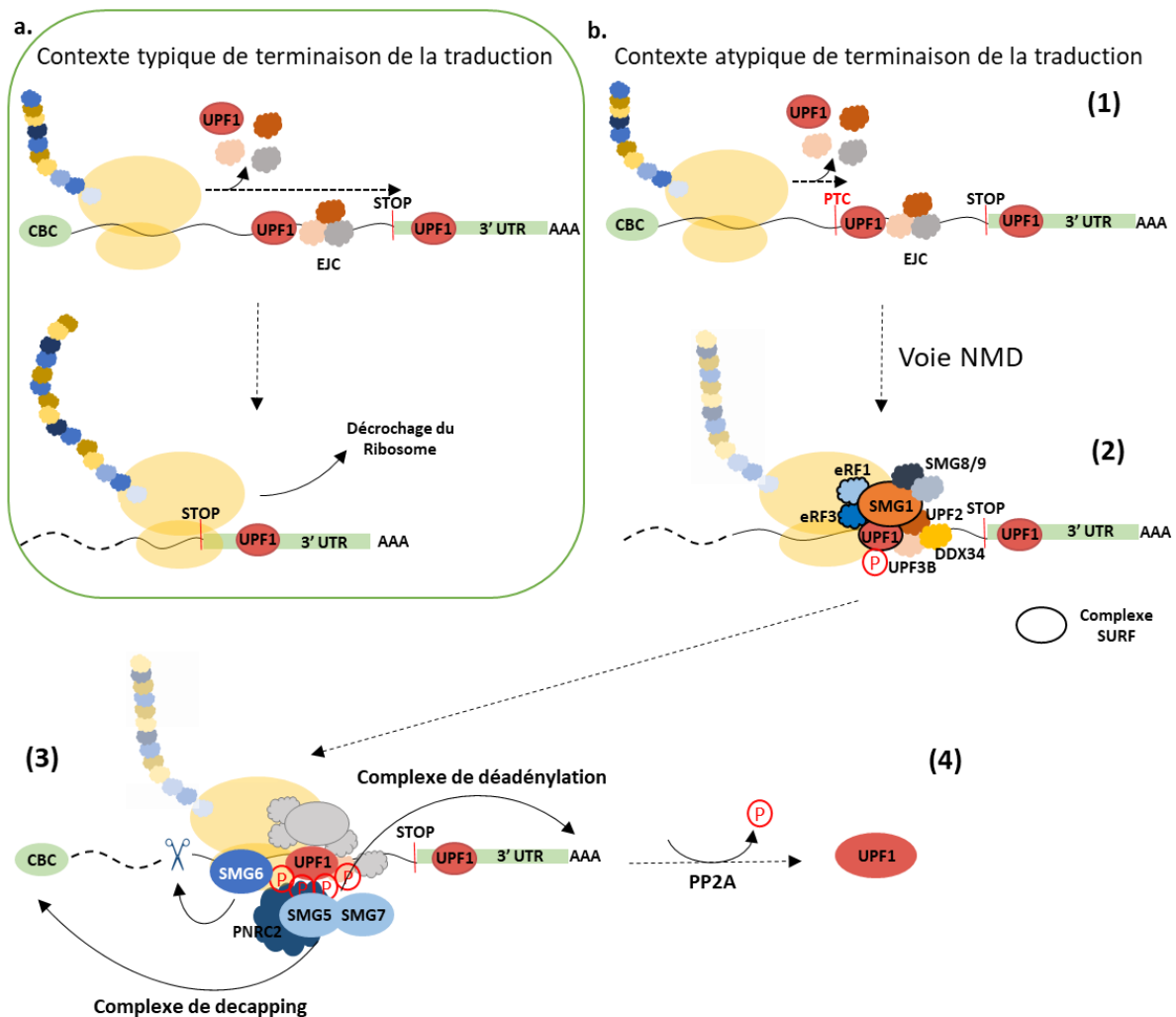


Figure 8. Mécanistique du Nonsense Mediated Decay (NMD). (1) Stabilisation d'UPF1 ; (2) Recrutement de la kinase SMG1 et phosphorylation d'UPF1 ; (3) Remodelage des complexes associés à l'ARNm ; (4) Déphosphorylation d'UPF1 et dégradation du transcrit

(1) Stabilisation d'UPF1 : L'étape initiatrice résulterait de l'interaction d'UPF1 avec d'une part le facteur eRF3 associé à eRF1 (facteurs de terminaison de la traduction associés au ribosome) et d'autre part avec UPF3B, composant de l'EJC. Il est d'ailleurs suggéré qu'UPF3B, en interagissant également avec eRF3, serait directement impliquée dans la terminaison de la traduction *in vitro* (Neu-Yilik et al., 2017). Quoiqu'il en soit, ces interactions permettent une stabilisation d'UPF1 au niveau du codon stop (Karousis and Mühlemann, 2019; Kishor et al., 2019a).

(2). Le recrutement de la kinase SMG1 et phosphorylation d'UPF1 : Le recrutement de la kinase SMG1 (PI3K)³¹ permet la constitution du complexe initiateur du NMD, appelé SURF pour SMG1-UPF1-release factors (indiqué par le cerclage noir des facteurs sur la figure 8, b). Ce recrutement serait favorisé par la stabilisation du complexe UPF1-UPF3B au niveau du ribosome terminateur et permet l'activation d'UPF1 par phosphorylation (Durand et al., 2016; Yamashita, 2013; Kashima et al., 2006; Yamashita et al., 2001). La phosphorylation d'UPF1 par

³¹ De la famille des phosphorylases liées à la phosphatidylinositol 3-kinase.

SMG1 est d'ailleurs particulièrement stimulée par le recrutement d'UPF2 et de l'hélicase DEAH-box DHX34 (Melero et al., 2016; Hug and Cáceres, 2014; Chamieh et al., 2008). La temporalité de l'interaction d'UPF2 avec UPF1 n'est pas clairement établie : bien qu'il soit montré qu'UPF2 peut être recrutée à proximité d'UPF1 par une interaction avec UPF3B, le fait qu'UPF2 interagisse avec UPF1 en amont de la formation du complexe SURF n'est pas démontré (Melero et al., 2016, 2012; Schell et al., 2003). Enfin, il est également proposé que les sous-unités SMG8 et SMG9, qui régulent l'activité kinase de SMG1, soient parties prenantes du complexe SURF (Karousis and Mühlemann, 2019; Yamashita et al., 2009).

(3). L'hyperphosphorylation d'UPF1 et remodelage des complexes associés à l'ARNm : Comme introduit plus tôt, la liaison d'UPF2 à UPF1 induit un changement de conformation d'UPF1 nécessaire au déclenchement de ses activités ATPase et hélicase (*cf I.*) (Chakrabarti et al., 2011). UPF1 pourrait ainsi permettre un remodelage des complexes associés à l'ARNm et favoriser l'accessibilité du transcrit aux enzymes dégradatives (Kanaan et al., 2018). En effet, l'hyperphosphorylation d'UPF1 proche des domaines CH et SQ va créer des plateformes de recrutement pour les facteurs favorisant la dégradation l'ARNm, tels que l'endonucléase SMG6³² (Durand et al., 2016). SMG6 va permettre un clivage dit endonucléolytique : en clivant l'ARN à proximité du codon stop, des fragments d'ARN 5' et 3' non protégés vont être produits puis dégradés par XRN1 (5'-3' exoribonucléase) et l'exosome (Franks et al., 2010). L'hyperphosphorylation d'UPF1 peut également recruter l'hétérodimère SMG5-SMG7³³, qui est directement lié à l'activité de déadénylation (dégradation de la queue poly(A)) par le recrutement du complexe CCR4-NOT. Enfin, la phosphorylation d'UPF1 permet également le recrutement de PNRC2 qui, avec SMG5/7, sont également liés au *decapping* (dégradation de la coiffe) via le recrutement des sous-unités DCP1A et DCP2 du complexe de *decapping* (Cho et al., 2013b; Loh et al., 2013; Unterholzner and Izaurralde, 2004).

(4). Dans la dernière étape, UPF1 est déphosphorylée par PP2A, la sérine/thréonine-protéine phosphatase 2A, et se dissocie de la mRNP cible (Ohnishi et al., 2003).

Plutôt bien caractérisé *in vitro*, le séquentiel *in vivo* des étapes nécessaires, notamment à l'activité enzymatique d'UPF1, n'a pas encore été entièrement élucidé. En effet, cette cascade du NMD repose sur la formation de complexes protéiques dynamiques compliquant considérablement la détermination d'une temporalité des événements (Karousis and Mühlemann, 2019; Kishor et al., 2019a). De plus, l'initiation du NMD présente une grande flexibilité mécanistique puisque d'autres voies alternatives sans UPF2 ou UPF3B sont décrites (Yi et al., 2021). Enfin, il a été récemment montré que les kinases de la famille AKT pouvaient aussi phosphoryler UPF1 dans un contexte NMD, élargissant encore les possibilités mécanistiques (Cho et al., 2022; Palma et al., 2021).

³² Phosphorylation de la T28 serait responsable du recrutement de SMG6.

³³ Phosphorylations de S1076, S1096 et S1116 seraient responsables du recrutement de SMG5/7.

b. Les éléments déclencheurs et la régulation du NMD : une question de contexte

UPF1 étant présent sur tous les ARNm, selon la description faite ci-dessus, tout codon stop dès qu'il est lu par le ribosome, pourrait être capable d'initier le NMD. C'est donc le contexte dans lequel UPF1 se retrouve stabilisée qui détermine l'initiation du NMD. Deux grands types de contextes peuvent être définis comme : dépendant de la présence d'un Complexe de Jonction Exon-Exon (EJC) (1), et indépendamment de la présence d'un EJC (2).

(1). La présence d'un EJC est un paramètre critique : lorsqu'il est situé en aval du codon stop (au moins à 50 nucléotide de distance), l'EJC favorise l'enrichissement de la région 3'UTR en facteurs du NMD tels que UPF3B et UPF2, conduisant à une forte stimulation du NMD (*Dyle et al., 2020; Karousis and Mühlemann, 2019; Kishor et al., 2019a*). La présence d'un EJC a également été décrite comme favorisant l'endonucléolyse médiée par SMG6 (*Kashima et al., 2010*). De plus, différentes compositions de l'EJC ont été observées et sont associées à une modulation de l'efficacité du NMD (*Mabin et al., 2018*). Par exemple, une réduction de l'efficacité du NMD est notamment observée lorsque le facteur de l'EJC, RNPS1³⁴ est remplacé par MNL51³⁵ (*Michelle et al., 2012*). De même, il est montré que lorsque l'EJC se compose d'UPF3A préférentiellement à UPF3B, l'efficacité du NMD est réduite (*Kunz et al., 2006*).

(2). Indépendant de l'EJC : D'autres ARNm peuvent être ciblés par le NMD de manière indépendante de l'EJC (mais pas nécessairement d'UPF2 et d'UPF3A/B) (*Yi et al., 2021; Metze et al., 2013*). Actuellement, la sensibilité de ces ARNm au NMD est notamment expliquée par **l'absence de motifs de liaison aux éléments inhibiteurs du NMD**. Par exemple, lorsque la protéine PTBP1³⁶ est associée à l'ARN en aval d'un codon stop, elle inhibe le NMD en empêchant le recrutement d'UPF1 (*Ge et al., 2016*). PTBP1 se lie à une séquence spécifique connue sous le nom d'« élément de stabilité de l'ARN » (RSE), d'abord identifié dans l'ARN du virus du sarcome de Rous (RSV) (*Barker and Beemon, 1994*). Récemment ces éléments ont été retrouvés dans de nombreuses séquences proches du codon de terminaison dans la région 3'UTR d'ARN cellulaires (*Balagopal and Beemon, 2017*). La protéine hnRNPL³⁷, un facteur de régulation de l'épissage alternatif, semble également être inhibitrice du NMD : les ARNm, lorsqu'ils sont liés par hnRNP, sont montrés comme pouvant échapper à leur dégradation par la voie du NMD (*Kishor et al., 2019b*). La sensibilité de ces ARNm au NMD est également expliquée par **la distance entre le codon stop et les motifs de liaison aux facteurs inhibiteurs du NMD**, définissant des ARN dits « longs 3'UTRs ». Plusieurs études montrent que plus la distance entre le codon stop et la queue poly(A)³⁸ est grande, plus le taux d'initiation du NMD est important (*Toma et al., 2015; Singh et al., 2008; Eberle et al., 2008*). Cette distance, associée à une longue région 3'UTR³⁹, stimule l'initiation du NMD notamment via l'éloignement de

³⁴ RNA-binding protein with serine-rich domain 1.

³⁵ Metastatic lymph node 51, appelé aussi CASC3.

³⁶ Polypyrimidine tract-binding protein 1.

³⁷ Ribonucléoprotéine nucléaire hétérogène L.

³⁸ Située en 3'UTR de l'ARNm.

³⁹ 750 nt en moyenne chez l'humain (*Hurt et al., 2013*).

PABPC⁴⁰, qui normalement favorise la terminaison de la traduction et s'oppose au recrutement stable d'UPF1 (*Hurt et al., 2013; Zünd et al., 2013; Kurosaki and Maquat, 2013; Hogg and Goff, 2010*). Il est également montré que des structures secondaires de l'ARN qui permettent un rapprochement de la queue poly(A) et la réduction de cette longueur en 3'UTR, induisent une inhibition du NMD (*Eberle et al., 2008; Singh et al., 2008*).

L'initiation du NMD présente donc une grande flexibilité mécanistique, mais reste organisée autour d'un retard de terminaison de la traduction, d'une stabilisation d'UPF1 suivie de son activation et du recrutement des facteurs de dégradation. *Kishor et al.*, proposent que la composition de la mRNP en facteurs stimulateurs et inhibiteurs soit à l'origine d'une balance modulatrice du NMD. Le déclenchement du NMD résulterait alors davantage d'un "déséquilibre" de cette balance en faveur de son initiation, favorisé par une architecture de la mRNP permettant la stabilisation d'UPF1 (*Kishor et al., 2019a*).

c. Les fonctions du NMD : l'importance des cibles

Si le NMD devrait aboutir dans tous les cas à la dégradation de l'ARNm, deux fonctions principales lui sont généralement associées selon le type de transcrits ciblés : le contrôle de la qualité de l'ARN **(a)** et la régulation de l'expression génique au niveau post-transcriptionnel **(b)** (*Kurosaki et al., 2019*). Etant donné que certains transcrits viraux présentent des déterminants architecturaux les rendant sensibles au NMD, une troisième fonction a récemment émergé pour le NMD : celle de barrière antivirale **(c)** (*Popp et al., 2020*)(**Figure 9**).

(a). Historiquement, le NMD a été décrit comme un processus de contrôle de la qualité de l'ARN, dégradant l'ARNm avec un codon de terminaison prématuré (PTC) (*Lykke-Andersen and Jensen, 2015; Lykke-Andersen et al., 2000*). Il est estimé que ce type d'ARN représente 5 à 10 % des transcrits humains : en effet, la protéine tronquée qui résulterait de cette traduction peut être délétère pour la cellule puisqu'elle est non fonctionnelle, voire avoir un effet négatif dominant. Les PTC sont présents à l'intérieur du cadre de lecture ouvert (ORF) et peuvent résulter de mutations génomiques (non-sens, décalage de cadre de lecture), d'un épissage alternatif défectueux (environ 30 % des événements d'épissage alternatif) ou d'erreur de traduction (**Figure 9**). Les PTC peuvent également créer un long 3'UTR lorsque la mutation est présente dans le dernier exon, par augmentation de la distance entre le codon stop et l'environnement normal de terminaison de la traduction. Une altération des sites de polyadénylation peut également générer une distance anormale entre la région 3'UTR et PABPC (*cf. paragraphe précédent*). Qu'ils se retrouvent en amont d'un EJC ou fasse advenir un long 3'UTR, les PTC vont stimuler le déclenchement du NMD et conduire à l'élimination de l'ARNm (*Karousis and Mühlemann, 2019; Kishor et al., 2019a; Lykke-Andersen and Jensen, 2015*).

(b). Outre la fonction de contrôle qualité par laquelle le NMD dégrade les ARNm aberrants, le NMD peut également réguler des ARNm spécifiques : il est d'ailleurs montré que le NMD serait impliqué dans la régulation de près de 10 % des ARNm physiologiques, non aberrants (*Mendell et al., 2004*). Cette sensibilité intermittente au NMD est basée sur une modification

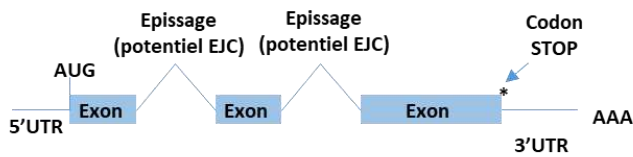
⁴⁰ Protéine de liaison Poly(A), appelée aussi PABP.

localisée de l'architecture du transcrit, qui peut être influencée par plusieurs paramètres : L'uORF (upstream Open Reading Frame en 5' de l'ARNm), l'épissage alternatif ou encore les décalages programmés du cadre de lecture (PRF ou programmed Ribosomal Frameshift) (**Figure 9**). L'uORF est susceptible de déclencher le NMD par la présence d'un EJC en aval du codon stop de l'uORF (devenant un PTC). L'ARNm CREB-2/ATF4 en est un bon exemple (Mendell et al., 2004; Vattem and Wek, 2004). L'épissage alternatif peut également soit augmenter la longueur du 3'UTR soit produire périodiquement des isoformes porteuses d'un PTC. D'ailleurs, plusieurs types de facteur de réparation de l'ADN ou de l'épissage, comme les protéines SR, sont régulés de cette manière, illustrant l'impact que peut avoir le NMD sur la régulation post-transcriptionnelle (Ge and Porse, 2014; Weischenfeldt et al., 2012; Saltzman et al., 2008; Lewis et al., 2003). Enfin, les décalages programmés du cadre de lecture redirigent le ribosome vers un autre cadre de lecture, qui dans plus de 95% des cas présentent un PTC, comme cela a été montré avec l'ARNm du récepteur des chimiokines CC (CCR) de type 5, ainsi qu'avec plusieurs interleukines (Belew et al., 2014). Par la régulation de la stabilité de ces ARN non aberrants, il est montré que le NMD contribue à la régulation de l'expression des gènes, notamment ceux impliqués dans l'hématopoïèse, l'apoptose et la prolifération cellulaire, ou encore l'inflammation et la réponse immunitaire (Kurosaki et al., 2019).

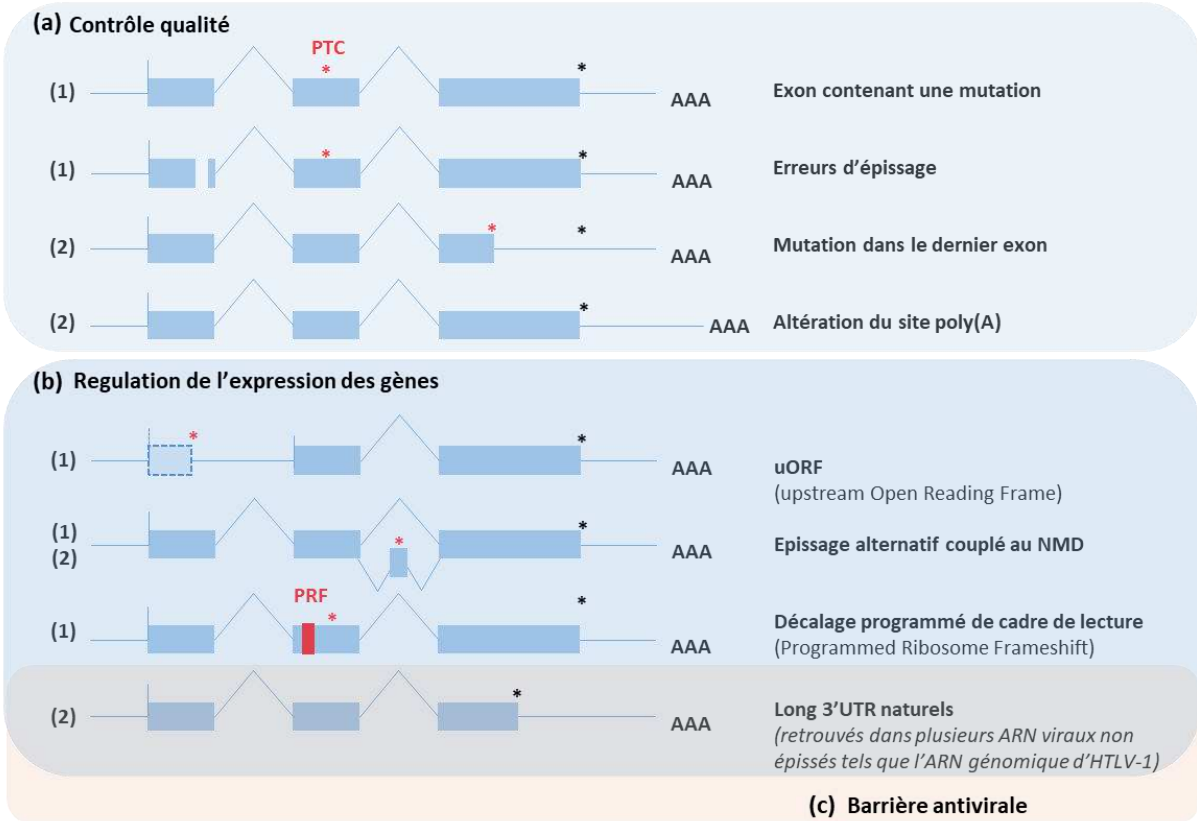
(c). Le NMD comme barrière antivirale : Depuis plusieurs années, une nouvelle fonction de barrière antivirale émerge pour le NMD : plusieurs virus à ARN de polarité positive et rétrovirus⁴¹ sont décrits comme inhibiteurs du NMD (Li et al., 2019; Lukhovitskaya and Ryabova, 2019; Fontaine et al., 2018; May et al., 2018; Wada et al., 2018; Tang et al., 2016; Ramage et al., 2015; Garcia et al., 2014; Balistreri et al., 2014; LeBlanc and Beemon, 2004). En effet, certains transcrits viraux présentent des déterminants architecturaux les rendant sensibles au NMD, avec notamment la présence d'un long 3'UTR, retrouvé notamment dans l'ARN génomique (ARNg) d'HTLV-1 (**Figure 9**). D'ailleurs, cette sensibilité au NMD est suggérée par deux études : l'une montre qu'en condition de surexpression d'UPF1, l'ARNg d'HTLV-1 a une demi-vie plus faible, suggérant que sa dégradation est sous la dépendance d'UPF1 (Nakano et al., 2013); une seconde étude réalisée en condition de déplétion d'UPF1 rapporte une augmentation significative de l'expression de tous les ARN viraux d'HTLV-1, dans le sens également d'une restriction de leur expression médiée par UPF1 (Mocquet et al., 2012). Il est donc admis que cette inhibition du NMD s'inscrit dans une stratégie de protection du génome viral mise en place pour échapper à la dégradation des ARN viraux par le NMD. Un certain nombre de ces stratégies d'échappement consistent à coder des protéines virales inhibitrices du NMD et dont certaines ciblent directement UPF1 (cf. III.A de ce chapitre). D'autres mécanismes d'inhibition du NMD sont décrits et passent par des éléments directement présents dans la séquence de l'ARN viral, tels que les motifs RSE retrouvés chez le Rous Sarcoma Virus (Popp et al., 2020; Mocquet et al., 2015).

⁴¹ West Nile Virus (WNV), Virus de la dengue (DENV); Cauliflower mosaic Virus (CaMV); ZIKA Virus (ZIKV); Umbravirus Pea enation mosaic virus (PEMV2); Mouse Hepatitis Virus (MHV); Moloney Murine Leukemia Virus (MoMLV ou MMLV); Hepatitis C Virus (HCV); Potato Virus X (PVX); Semliki Forest Virus (SMV); Rous Sarcoma Virus (RSV).

ARN NON SENSIBLE AU NMD



ARN SENSIBLES AU NMD



(1) Initiation du NMD stimulée par la présence d'un EJC

(2) Initiation du NMD stimulée par la taille de la région 3'UTR

Figure 9. Les fonctions du NMD selon l'architecture du transcrit.

2. Le Staufen-Mediated Decay (SMD)

Dans le cas du Staufen-Mediated Decay (SMD), la stabilisation d'UPF1 sur l'ARNm dépend également de la terminaison de la traduction. En revanche, la stabilisation n'est pas sous la dépendance de la présence d'un EJC, mais sous celle des protéines de liaison à l'ARN doubles brins Staufen (STAU 1 et STAU 2) (**Figure 10**). Il est montré que les protéines Staufen se lient à la région 3'UTR de l'ARNm, au niveau de structures doubles brins particulières, de type épingle à cheveux ou stem-loop, sans séquence spécifique et appelées site de liaison STAU (SBS). Simultanément, les protéines Staufen lient UPF1 (au niveau de son domaine CH), présente en aval d'un codon de terminaison de la traduction (Kim and Maquat, 2019; Park et al., 2013; Kim et al., 2007, 2005). UPF1 est également activée par une phosphorylation qui dépend de SMG1 et suit une mécanistique dégradative similaire au NMD : decapping (via PRCN2) et clivage 5'-3' exo-ribonucléolytique (Cho et al., 2012, 2013b). Pour autant, l'implication des facteurs SMG6, SMG5/7 ou de phosphorylations différentielles des motifs (S/T)Q restent à

encore déterminer. Quoi qu'il en soit, les activités ATPases et hélicases d'UPF1 sont montrées comme essentielles au SMD (Kim and Maquat, 2019).

Le SMD cible divers transcrits et participe ainsi à plusieurs processus cellulaires tels que la myogenèse, l'adipogenèse, la motilité cellulaire ou encore l'autophagie (Paul et al., 2018; Cho et al., 2012; Gong et al., 2009; Maquat and Gong, 2009; Kim et al., 2007, 2005). De manière intéressante, il est montré que le processus de différenciation nécessaire à la myogenèse⁴² nécessite la dégradation de l'ARNm *Pax3* (cible du SMD) et l'absence de la dégradation de l'ARNm *Myogenin* (cible du NMD). Or dans les myotubes (stade « différencié »), STAU1 est retrouvée davantage associée à UPF1, alors qu'UPF2 y est retrouvée moins associée. Gong et al. suggèrent alors l'existence d'une compétition pour le recrutement d'UPF1 permettant une balance entre la voie du NMD et celle du SMD aboutissant à la myogenèse (Gong et al., 2009). Cette compétition entre les deux voies serait le reflet d'une compétition entre UPF2 (NMD) et les protéines STAU (SMD) pour la liaison au domaine CH d'UPF1 (Kim and Maquat, 2019). Néanmoins, il a été récemment montré qu'en réalité, dans le SMD, UPF2 se lie à un dimère de STAU1, recrute UPF1 et active ses fonctions catalytiques par liaison au domaine CH (Gowravaram et al., 2019). La même équipe montre que la déplétion d'UPF2 abolit l'initiation du SMD : UPF2 semble donc davantage favoriser l'interaction STAU1-UPF1 que l'inhiber. Ainsi, la compétition observée entre les voies du NMD et du SMD par Gong et al., pourrait être finalement liée à une compétition pour le recrutement d'UPF2 (Lavysch and Neu-Yilik, 2020; Gowravaram et al., 2019).

3. Le Regnase-1-Mediated Decay (RMD)

D'autres éléments structuraux des transcrits semblent être capables d'induire une stabilisation d'UPF1, dépendante de la terminaison de la traduction (Figure 10). C'est notamment ce qui est observé pour les ARNm produits en réponse à l'inflammation⁴³ qui contiennent dans la région 3'UTR des motifs conservés, tels que des motifs « ARE⁴⁴ » ou encore des motifs de désintégration constitutive (CDE). Les motifs CDE se structurent en épingle à cheveux et contiennent une boucle pyrimidine-purine-pyrimidine (Leppek et al., 2013; Glasmacher et al., 2010; Stoecklin et al., 2003). Ils sont reconnus sélectivement et rapidement dégradés par une protéine à doigts de zinc, appelée Roquin (Leppek et al., 2013). Les CDE peuvent également être reconnus par une autre protéine à doigt de zinc, la Regnase-1 (Matsushita et al., 2009). Mécanistiquement, peu de choses sont actuellement établies. Néanmoins, la Regnase-1 contient un domaine RNase à activité endoribonucléasique (qui pourrait supplanter le recrutement de SMG6) et dont l'activité est montrée comme essentielle à l'efficacité du RMD (Leppek et al., 2013). Le domaine d'interaction de la Regnase-1 avec UPF1 n'est actuellement pas connu : il n'est donc pas établi que ce soit la liaison de Regnase-1 à UPF1 qui active l'activité hélicase d'UPF1, démontrée comme essentielle au RMD (Mino et al., 2015). Aussi, dans leur revue sur les rôles d'UPF1 dans les différentes voies dégradatives de l'ARN, Kim et Maquat proposent la mécanistique suivante : UPF1 pourrait faire le lien entre le complexe de

⁴² Résultant de la différenciation des myoblastes (C2C12) en myotubes.

⁴³ Qui sont très instables et généralement rapidement dégradés dans les cellules immunitaires innées ; codant typiquement les cytokines.

⁴⁴ Régions riches en AU.

terminaison de la traduction et la regnase-1 liée au CDE en aval, permettant ainsi l'activation de l'activité endoribonucléasique de la Regnase-1. Il reste encore à déterminer si le RMD nécessite la phosphorylation d'UPF1, son activité ATPase ou d'autres facteurs de dégradation de l'ARNm habituellement recrutés par UPF1 (*Kim and Maquat, 2019; Mino et al., 2015; Leppek et al., 2013*).

En revanche, il est décrit que la reconnaissance du domaine CDE par la Roquin induit une dégradation rapide des transcrits codant les cytokines notamment via le recrutement du complexe de déadénylation CCR4-NOT indépendamment de la traduction, alors que la reconnaissance par la Regnase-1 induit une stabilisation d'UPF1 sur son substrat sous la dépendance de la traduction (*Mino et al., 2015*). Cette reconnaissance différentielle pourrait s'expliquer par une différence de « temporalité » d'activation de ces voies : la Regnase-1 et la Roquin sont chargées de dégrader les ARNm inflammatoires respectivement dans les phases aiguës et tardives de l'inflammation (*Mino et al., 2015; Mino and Takeuchi, 2015*).

4. L'Histone-replication dependant-Mediated Decay (HMD)

Au cours de la terminaison de la traduction, UPF1 peut également être stabilisée par la protéine SLBP (Stem-Loop Binding Protein) qui reconnaît une structure en tige-boucle hautement conservée qui termine la région 3'UTR⁴⁵ des ARNm codant les histones (*Hoefig and Heissmeyer, 2014; Jaeger et al., 2005*). En effet, les ARNm histones ont la particularité de ne pas avoir de queue poly(A) (*Marzluff and Koreski, 2017; Marzluff et al., 2008*). Mécanistiquement, le HMD s'initie en condition de stress lorsque la réplication de l'ADN est bloquée : les kinases ATR⁴⁶ et DNA-PK sont activées et vont phosphoryler UPF1 (**Figure 10**). Cette phosphorylation d'UPF1 est montrée comme essentielle au HMD et permettrait de favoriser la liaison d'UPF1 à SLBP (au niveau du domaine HD d'UPF1) (*Kim and Maquat, 2019; Choe et al., 2014; Kaygun and Marzluff, 2005*). Ce complexe UPF1_{phosphorylée}-SLBP recrute préférentiellement SMG5 et PNRC2 entraînant le decapping et la dégradation 5'-3'. SMG6 et SMG7 ne seraient pas impliquées dans la dégradation des ARN histones, suggérant que SLBP pourrait directement influencer le recrutement des complexes dégradatifs (*Choe et al., 2014*). En lien avec cette idée, une voie indépendante de PNRC2 et alternative aux étapes de decapping et de dégradations exonucléolytiques a été décrite dans le HMD (*Kim and Maquat, 2019; Lackey et al., 2016; Su et al., 2013; Mullen and Marzluff, 2008*). Enfin, les activités ATPase et hélicases d'UPF1 ont été montrées comme essentielles au HMD (*Choe et al., 2014; Kaygun and Marzluff, 2005*).

Les ARNm codant les histones sont hautement régulés et ne sont présents en grande quantité qu'en phase S (répliative) : ils vont permettre la production des histones nécessaires à la compaction de l'ADN nouvellement répliqué (*Marzluff and Koreski, 2017*).

5. Le Structure-mediated RNA Decay (SRD)

Récemment *Fischer et al.*, ont caractérisé une voie de dégradation de l'ARN impliquant UPF1 et G3BP1⁴⁷ (**Figure 10**) (*Fischer et al., 2020*). G3BP1 est déjà décrite comme impliquée

⁴⁵ En aval du codon de terminaison de la traduction.

⁴⁶ Appartenant à la famille des PI3K-related kinases.

⁴⁷ Ras GTPase-activating protein-binding protein 1.

dans la formation des granules de stress, pouvant séquestrer et réprimer la traduction de certains transcrits cellulaires en condition de stress (Ivanov et al., 2019; Wheeler et al., 2016; Matsuki et al., 2013). Il a été déterminé par CLIP-seq⁴⁸ que G3BP1 et UPF1 sont toutes deux enrichies au niveau de séquences d'ARN doubles brins en 3'UTR qui diffèrent des sites de liaisons de STAU1 : l'interaction UPF1-G3BP1 est indirecte et davantage médiée par ces séquences doubles brins (May and Simon, 2021; Fischer et al., 2020; Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Sugimoto et al., 2015). De plus, Fischer et al. montrent que la déplétion d'UPF1 et de G3BP1 entraîne une augmentation globale des niveaux d'ARNm et d'ARN circulaires lorsqu'ils présentent des régions 3'UTR hautement structurées (dites « HSU », comparativement à des régions moins structurées dites « PSU » pour Poorly Structured). Mécanistiquement, les auteurs montrent que l'activité hélicase d'UPF1 est nécessaire au SRD, mais que l'initiation du SRD est également dépendante de G3BP1 et indépendante des facteurs habituellement impliqués dans les voies du NMD, du SMD ou du RMD (UPF2, UPF3A, UPF3B, SMG6, STAU1, STAU2, et la Regnase-1 ont été testés). (Fischer et al., 2020). Les facteurs impliqués dans la cascade dégradative restent encore à déterminer, notamment une potentielle activité endoribonucléase de G3BP1. De même, étant donné que G3BP1 est également une hélicase, il reste à déterminer si le déroulement de ces structures « HSU » dépend uniquement d'UPF1 ou si G3BP1 et UPF1 y travaillent de concert (Guo et al., 2020).

Fonctionnellement, Fischer et al., établissent deux fonctions au SRD : une dans la régulation préférentielle d'isoformes spécifiques d'ARNm (présentant différenciellement des « HSU » ou des « PSU »)⁴⁹ ; une autre dans la régulation de l'expression des ARN circulaires, pour lesquels, bien qu'ils soient généralement stables dans les cellules, il est montré que la dynamique d'expression varie au cours du développement (Fischer et al., 2020; Venø et al., 2015). Le fait que l'initiation du SRD soit sous la dépendance de la traduction n'est pas encore établi. Néanmoins, il est tout de même supposé que l'initiation de cette voie repose sur la terminaison de la traduction compte tenu du fait que le SRD régule certains ARNm⁵⁰ (Lavysh and Neu-Yilik, 2020).

6. Le TSN-mediated miRNA Decay (TumiD)

Les microARN (miARN) regroupent plusieurs classes de petits ARN non codants (22 nucléotides en moyenne) qui régulent la stabilité et/ou la traduction de la plupart des transcrits codant les protéines. Et si la biogenèse des miARN est aujourd'hui plutôt bien décrite, les mécanismes qui contrôlent leur dégradation sont quant à eux peu connus (Kim and Maquat, 2019; Elbarbary et al., 2017b, 2017a). La TSN⁵¹ est une nucléase faisant partie du complexe RISC (RNA-induced silencing complex) qui est impliqué dans la machinerie de l'ARN interférence en guidant les miARN à leur ARNm cibles (Caudy et al., 2003). Il a été récemment suggéré qu'UPF1 favoriserait le processus de dégradation de certains micro-ARN (miARN) par la voie du TSN-mediated miRNA decay (TumiD) (Figure 10) : grâce à son activité hélicase, UPF1

⁴⁸ Cross-Linking ImmunoPrecipitation-Sequencing

⁴⁹ Ils rapportent l'exemple des isoformes de protéines ARAF, où ARAF HSU inhibe l'apoptose, à l'inverse de l'isoforme PSU (Rauch et al., 2011).

⁵⁰ Et de l'implication de G3BP1.

⁵¹ Tudor-Staphylococcal/micrococcal-like Nuclease.

favorise *in vitro* la dissociation des miARN de leurs cibles ARNm, les rendant ainsi plus accessibles à la dégradation par la TSN (Elbarbary et al., 2017a). Aussi, compte tenu des cibles du TumiD, il est proposé que la voie du TumiD soit indépendante de la terminaison de la traduction (Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Kim and Maquat, 2019). Elbarbary et al., ont identifié qu'*in cellulo*, la voie du TumiD nécessite l'activité hélicase d'UPF1 mais pas sa phosphorylation. Et si TSN et UPF1 sont démontrées comme interagissant de manière directe *in vitro*, la manière dont l'activité hélicase d'UPF1 est activée dans le TumiD est actuellement inconnue (Kim and Maquat, 2019; Elbarbary et al., 2017a). De plus, approximativement 50% des miARN matures régulés par la TSN sont retrouvés surexprimés en conditions de déplétion d'UPF1, mais pas dans des conditions de déplétions d'UPF2, UPF3b ou de STAU1, suggérant que l'implication d'UPF1 dans la voie du TumiD est bien indépendante de ses fonctions dans le NMD ou le SMD (Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Elbarbary et al., 2017a).

Dans un premier temps, Elbarbary et al., ont caractérisé la voie du TumiD en identifiant les cibles de la nucléase TSN : les miARN qui présentent des séquences dinucléotidiques CA et/ou UA sont reconnus par la TSN pour leur dégradation endonucléolytique (Elbarbary et al., 2017b). Puis, par inhibition ciblée (par CRISPR-Cas9) de TSN, les auteurs ont montré que la voie du TumiD serait impliquée dans la progression du cycle cellulaire en régulant la quantité des miRNA impliqués dans la production des protéines de la transition de phase G1 à S (Elbarbary et al., 2017b).

7. Le Glucocorticoid-receptor-Mediated Decay (GMD)

Les glucocorticoïdes sont des hormones (stéroïdes) régulant divers processus physiologiques tels que le métabolisme du glucose, l'inflammation⁵², le développement ou encore les fonctions cérébrales (Vandevyver et al., 2012; Oakley and Cidlowski, 2011; Santos et al., 2011). Leurs fonctions sont médiées par un récepteur nucléaire aux glucocorticoïdes (GR) : le GR est un facteur de transcription se liant à l'ADN. Or plusieurs études ont récemment révélé que le GR fonctionne également comme une protéine de liaison à l'ARN capable de provoquer la dégradation rapide de ses substrats cibles dans un processus appelé GR-mediated mRNA decay (GMD) (Kim and Maquat, 2019; Ishmael et al., 2011; Kino et al., 2010; Dhawan et al., 2007; Cho et al., 2015; Park et al., 2016). Le GMD se distingue des autres voies dépendantes de la traduction (NMD, SMD, RMD, HMD) de plusieurs façons (Figure 10). Tout d'abord, le GMD se produit indépendamment de la traduction d'un substrat ARNm comme le démontrent Cho et al. : le blocage de l'initiation de la traduction à l'aide d'une structure en épingle à cheveux dans le 5' UTR ne modifie pas l'efficacité de la GMD. De plus, la région 3'UTR ne semble pas déterminante dans l'initiation du processus. En effet, le premier substrat cellulaire identifié comme étant dégradé par le GMD, l'ARNm *ccl2*⁵³, présente un site de liaison au GR situé en 5'UTR (Cho et al., 2015). Enfin, bien que le GMD nécessite la liaison de PNRC2 à UPF1 (dans son domaine N-terminal entre les a.a 1-72), ainsi que l'activité ATPase et hélicase d'UPF1, la phosphorylation de cette dernière n'est pas médiée par SMG1 mais par ATM⁵⁴, généralement

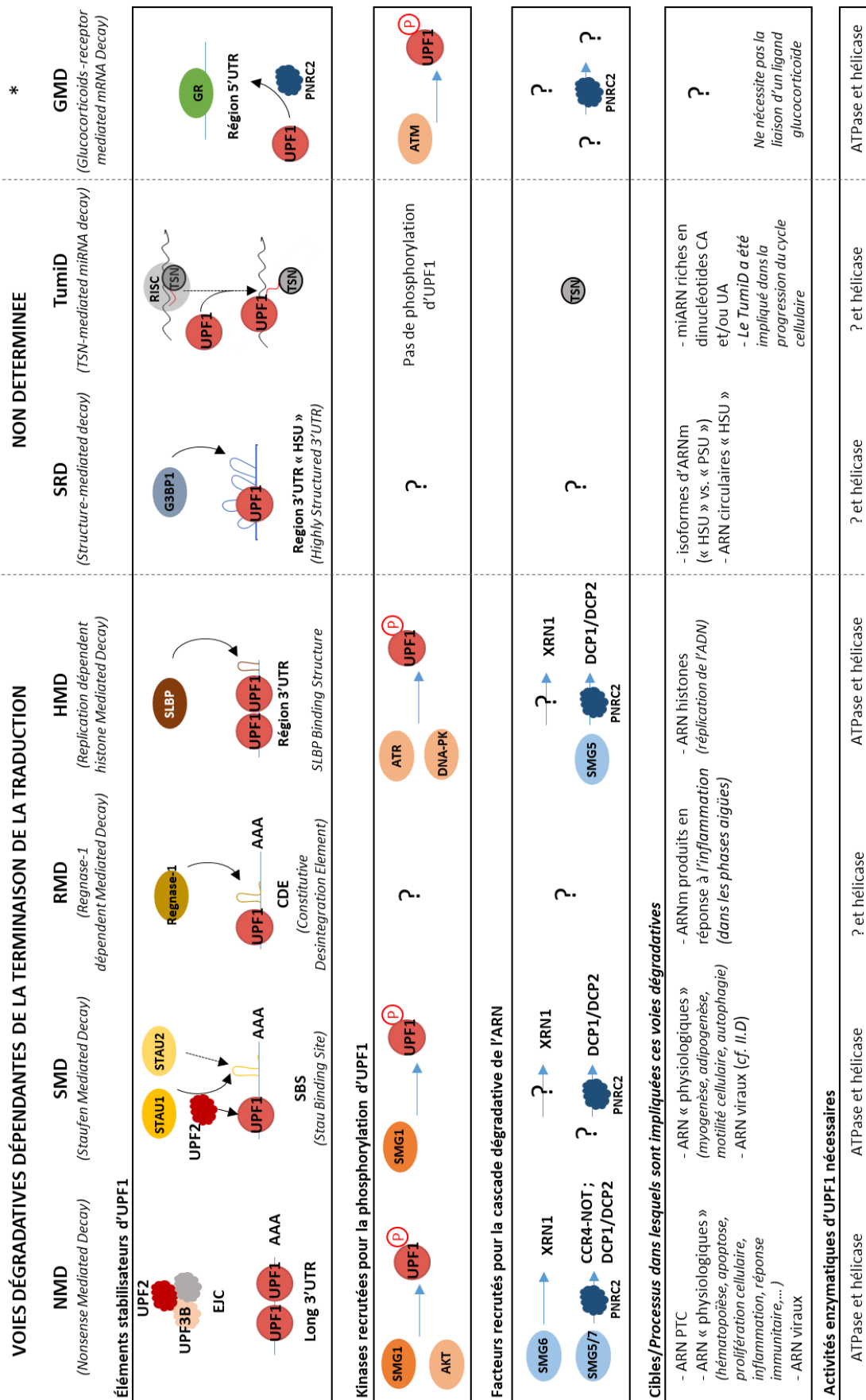
⁵² Anti-inflammatoires.

⁵³ Chemokine ligand 2 (cytokine de type chimiokine).

⁵⁴ Appartenant à la famille des PI3K-related kinases.

recrutée et activée lors des cassures doubles brins de l'ADN (*Kim and Maquat, 2019; Park et al., 2016; Cho et al., 2015*).

Bien que fonctionnellement le type d'ARNm ciblés par le GMD ne soit pas encore caractérisé, il est néanmoins démontré que la liaison du GR à l'ARNm ne nécessite par un ligand de type Glucocorticoïde (à la différence de sa liaison à l'ADN) (*Kim and Maquat, 2019; Park et al., 2016; Cho et al., 2015*).



* VOIE DÉGRADATIVE INDÉPENDANTE DE LA TERMINAISON DE LA TRADUCTION

Figure 10. Les différentes UMD impliquant UPF1, décrites à jour.

8. Les autres voies dégradatives dépendantes d'UPF1

D'autres événements de dégradation impliquant UPF1 ont été décrits. Il n'est pas encore bien défini s'il s'agit de voies de dégradation UPF1 dépendante à part entière ou de voies de régulation alternatives issues de celles décrites ci-dessus (*Lavysh and Neu-Yilik, 2020*). Le choix a donc été fait de les décrire succinctement dans le paragraphe suivant.

TRIM71 est un facteur spécifique des cellules souches qui joue un rôle essentiel dans les stades précoces de l'embryogenèse et dans la carcinogenèse⁵⁵. TRIM71 est retrouvée au niveau de la région 3'UTR de l'ARNm *cdkn1a*⁵⁶, où elle interagit avec un motif tige-boucle particulier (TRE, pour TRIM71 Responsive Element). Et si SMG6 ne semble pas être impliquée dans la dégradation de cet ARN, il est montré que TRIM71 co-immunoprécipite avec UPF1, SMG1 et SMG7. En étudiant d'autres cibles, les auteurs montrent que TRIM71 et UPF1 coopèrent dans la régulation d'un certain nombre d'autres ARN décrits comme sensibles au NMD via la présence d'un long 3'UTR (*cf. 1.b*). Aussi, il est encore à déterminer si ce TRIM71-Mediated Decay est une des nombreuses voies alternatives du NMD ou encore une voie alternative du SRD (compte tenu de la structure tige-boucle reconnue par TRIM71) (*Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Torres-Fernández et al., 2019*).

De même, une voie dégradative par les miARN sous la dépendance d'UPF1 et de SMG7 (appelée UPF1-SMG7-miRNA-Mediated Decay) a récemment été décrite (*Park et al., 2019*). En effet, *Park et al.*, montrent qu'une part significative d'ARNm ciblés par une sous-famille des miARN sont régulés positivement en condition de déplétion d'UPF1. Cet effet disparaissant lorsque les motifs reconnus par ces miARN (motifs CUG) sont mutés, ainsi qu'en absence de DICER (enzyme impliquée dans la formation des miARN⁵⁷), les auteurs concluent à une corrélation entre la dégradation médiée par UPF1 et l'ARN interférence médiée par les miARN. De plus, ils montrent qu'UPF1 et les protéines Argonautes⁵⁸ (composantes du complexe RISC ; permettant de recruter les miARN sur des séquences MRE⁵⁹) coopèrent dans une voie dégradative de l'ARNm nécessitant SMG7. SMG5 et SMG6 étant montrées comme non nécessaires à cette voie, la dégradation s'opère par CCR4/NOT, recrutée par SMG7. Or, la voie dégradative par les miARN actuellement décrite est basée sur le recrutement par les protéines Argonautes de GW182⁶⁰ recrutant ensuite CCR4/NOT. Ainsi, les auteurs concluent que cette voie UPF1-SMG7-miRNA-Mediated Decay pourrait être une voie alternative à la voie canonique AGO-GW182 (*Park et al., 2019*). De plus, bien que l'activité hélicase d'UPF1 ne soit apparemment pas nécessaire à cette voie, cela reste à confirmer. Etant donné qu'il est montré que la taille de la région 3'UTR influence la présence de MRE, *Parks et al.*, suggèrent même que la voie du UPF1-SMG7-MiRNA-Mediated-Decay pourrait finalement être la norme pour l'initiation du NMD lorsqu'elle est indépendante de l'EJC (*Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Park et al., 2019; Nam et al., 2014; Mayr and Bartel, 2009; Sandberg et al., 2008*).

⁵⁵ Les carcinomes sont des tumeurs neuroendocrines de type « slow-growing ».

⁵⁶ Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1A/p21, qui joue notamment un rôle dans la senescence.

⁵⁷ Notamment par clivage des pré-microARN.

⁵⁸ Généralement abrégées AGO.

⁵⁹ miRNA recognition Element.

⁶⁰ TRNC6A/C ; famille de protéines qui fournissent une plateforme de recrutement aux complexes de la déadénylation.

Pour conclure, comme présenté dans la figure 10, les différents éléments stabilisateurs d'UPF1 initiant ces différentes UMD sont majoritairement retrouvés dans les régions 3'UTR des ARNm. Or ces régions non traduites (des ARNm comme des ARN non codants) sont généralement hautement structurées (*Beaudoin et al., 2018*), comme le suggère d'ailleurs les différentes structures tige-boucle pouvant initier le SMD, le RMD, le HMD ou encore le SRD. Parmi les facteurs favorisant ces structures secondaires de l'ARN, le pourcentage en GC est un paramètre important (*Fischer et al., 2020*). De plus, il est montré que les ARNm porteurs de régions hautement structurées ont généralement une demi-vie plus courte (*Su et al., 2018*). UPF1 étant une hélicase impliquée dans de nombreuses voies dégradatives, l'idée que les structures secondaires soient des éléments stimulateurs de dégradation par UPF1 fait sens. D'ailleurs il est montré qu'UPF1 est particulièrement enrichie dans les séquences 3'UTR ayant un fort pourcentage en GC et préférentiellement au niveau de motifs CCUG(GA)(GA)(GA) (*Lavysh and Neu-Yilik, 2020; Imamachi et al., 2017; Kurosaki et al., 2014; Lee et al., 2015*). Puisqu'UPF1 est capable de s'associer à tous les transcrits accessibles, que les motifs GC tendent à former des structures secondaires et qu'il a été récemment montré que l'activité ATPase d'UPF1 est plus faible sur des séquences riches en GC⁶¹, *Lavysh et al.*, proposent l'idée suivante : la translocation d'UPF1 serait ralentie par ces régions riches en GC, augmentant la possibilité pour UPF1 d'être phosphorylée et de recruter des facteurs de la dégradation de l'ARNm. Cette idée se retrouve également dans le travail de *Kishor et al.*, qui proposent à leur tour que le déclenchement du NMD soit davantage liée à l'accumulation d'UPF1 dans ces régions 3'UTR qu'à son recrutement spécifique dans ces régions, favorisant grandement la probabilité de phosphorylation d'UPF1 et de déclenchement du processus.

Ainsi, la catégorisation des différentes voies proposées en figure 10 (*basée sur les revues très détaillées de Kim and Maquat, 2019 et de Lavysh et al. 2020*) pourrait être amenée à évoluer et s'enrichir. D'ailleurs, là où *Kim and Maquat.*, proposent une classification davantage basée sur les différents interactants d'UPF1 initiant les différentes UMD, *Lavysh et al.*, proposent une vision complémentaire : tous ces facteurs seraient mis à disposition dans un « cloud » et mobilisés selon les besoins rencontrés par la cellule pour moduler/réguler l'expression des gènes. Ces besoins étant définis par les différents éléments présents sur l'ARNm, permettant d'y stabiliser et/ou recruter durablement UPF1.

B. Les autres fonctions cellulaires d'UPF1

Bien qu'en cellules humaines, la majorité du *pool* cellulaire d'UPF1 soit retrouvée dans le cytoplasme en lien avec ses fonctions dans différentes voies de dégradations des ARNm, UPF1 est également retrouvée dans le noyau (*Hong et al., 2019; Ajamian et al., 2015; Mendell et al., 2002*). L'impact de cette localisation nucléaire n'est que peu étudiée et ce sont principalement ses rôles cytoplasmiques qui sont les mieux décrits. Certaines études suggèrent tout de même qu'UPF1 jouerait un rôle dans le métabolisme de l'ADN distinctement de ses

⁶¹ *Fischer et al., 2020*

rôles dans le catabolisme de l'ARN (*Varsally and Brogna, 2012; Nicholson et al., 2010; Azzalin and Lingner, 2006b*).

UPF1 a notamment été montrée comme ayant des fonctions dans le maintien de la stabilité du génome, au travers du bon déroulement de la réplication et de la réparation de l'ADN, ainsi que dans la progression du cycle cellulaire (*Ngo et al., 2021; Nicholson et al., 2010; Azzalin and Lingner, 2006a; Mendell et al., 2002*). Par exemple, la déplétion d'UPF1 entraîne un arrêt du cycle cellulaire en phase S précoce. *Azzalin et al.*, montrent qu'UPF1, en interagissant avec l'ADN polymérase, s'associe à la chromatine durant la phase S et favorise la progression du cycle cellulaire. Cette interaction est également stimulée par les dommages à l'ADN qui activent la kinase ATR, qui va ensuite phosphoryler UPF1 (*Azzalin and Lingner, 2006a*). Récemment, *Ngo et al.* ont découvert que les cassures doubles brins (Double Strand Break ou DBS) menaient à la formation d'hybrides ADN-ARN et de structures de types R-Loop pour permettre la réparation de l'ADN. Or, les auteurs montrent, à l'aide de conditions déplétées en UPF1, que la formation de ces structures est favorisée par UPF1 au niveau de DSBs non et sub-télomériques (*Ngo et al., 2021*). De manière intéressante, la kinase SMG1 est également impliquée dans la stabilité du génome, où des expériences en conditions de déplétions de SMG1 montrent l'apparition spontanée de dommages à l'ADN et une sensibilité augmentée des cellules aux rayonnements ionisants (IR). Les auteurs montrent également que l'exposition aux IR déclenche la phosphorylation d'UPF1, où les deux kinases ATM et SMG1 contribuent à ces événements de phosphorylation, suggérant un rôle potentiel d'UPF1 également dans la réparation des dommages liés aux IR (*Brumbaugh et al., 2004*).

Le facteur SMG6 est, quant à lui, impliqué dans le métabolisme des télomères par son association à la télomérase. (*Azzalin et al., 2007; Azzalin and Lingner, 2006b; Brumbaugh et al., 2004; Reichenbach et al., 2003*). De manière intéressante, UPF1 pourrait également être impliquée dans le métabolisme des télomères : sa déplétion conduit à une augmentation des quantités d'ARN TERRA (Telomeric repeat-containing RNA ; issus de la transcription des télomères) ainsi qu'à des dommages aux télomères (observé en cellules humaines HeLa). Il est suggéré qu'UPF1 puisse faciliter le décrochage de l'ARN TERRA des télomères, lorsqu'il forme une structure hybride ADN/ARN (*Nicholson et al., 2010; Azzalin et al., 2007*). Une autre étude réalisée en cellules humaines montre qu'UPF1 co-immunoprécipite avec la télomérase hTERT, à la différence d'UPF2, et de manière dépendante de la phosphorylation par la kinase ATR et indépendamment de celle par SMG1. Les auteurs montrent également qu'UPF1 interagit avec le facteur télomérique TPP1⁶² qui recrute et active les télomérases (hTERT - human télomérase reverse transcriptase - et TER - Télomérase ARN) et est impliqué dans la régulation de la longueur des télomères (*B. Liu et al., 2022; Chawla et al., 2011*). Après avoir montré que l'activité ATPase d'UPF1 favorise la réplication télomérique, *Chawla et al.*, proposent donc qu'UPF1 soit impliquée dans plusieurs aspects du métabolisme des télomères, incluant la réplication et le maintien de la longueur télomérique (*Chawla et al., 2011*).

Hors de ce rôle dans le métabolisme de l'ADN, une étude récente réalisée chez *D. melanogaster*, dans des cellules de glandes salivaires, montre qu'UPF1 pourrait s'associer à l'ARN de manière co-transcriptionnelle et que cette association pourrait dépendre de la

⁶² Issue du gène ACD pour AdrenoCortical Dysplasia protein homolog ; appelée aussi PTP, PIP1 ou encore TINT1.

reconnaissance des sites 5' d'épissage (*Singh et al., 2019*). Il y est également montré que la déplétion d'UPF1 entraîne une rétention des ARN poly(A) aux sites transcriptionnels ainsi qu'un défaut de leur export. Leurs résultats suggèrent qu'UPF1 pourrait jouer un rôle global⁶³ dans les étapes nucléaires de maturation de l'ARNm, du relargage des ARNm du site de transcription jusqu'à leur export dans le cytoplasme (*Singh et al., 2019*). D'ailleurs, une autre étude en cellules HeLa montre que le *pool* nucléaire d'UPF1 (représentant 30% environ du *pool* cellulaire total) est fortement enrichi dans la fraction chromatinienne (*Hong et al., 2019*). Cette étude montre également que la localisation nucléaire d'UPF1 est affectée par des perturbations de l'initiation et de l'élongation de la transcription, suggérant un rôle d'UPF1 dans les processus couplés à l'élongation de la transcription également chez les mammifères (*Hong et al., 2019*). Enfin, *Hong et al.* montrent qu'un traitement au cycloheximide (CHX, inhibiteur de la traduction) en cellules HeLa induit une accumulation d'UPF1 plus importante à la chromatine (*Hong et al., 2019*). Ces deux études suggèrent également qu'UPF1 pourrait s'associer à ses substrats cibles dès le noyau.

Enfin, deux études rapportent une fonction directe d'UPF1 dans la dégradation des protéines, par une activité E3 ubiquitine ligase via son domaine RING-like (dans le domaine CH). Chez l'humain, cette activité d'UPF1 jouerait un rôle dans la différenciation musculaire en ciblant la dégradation du facteur de transcription MYOD⁶⁴ (*Plank and Wilkinson, 2018; Feng et al., 2017*).

III. Impacts pathologiques des dérégulations d'UPF1

A. UPF1 : cible privilégiée de certains virus

Comme introduit plus tôt, l'inhibition du NMD s'inscrit dans la stratégie répliquative d'un grand nombre de virus, notamment les rétrovirus et les virus à ARN de polarité positive (+) qui, de fait, ont développé divers moyens de protection, dont certains d'entre eux ciblent directement UPF1. C'est par exemple le cas du Zika Virus⁶⁵ (ZIKV) décrit comme capable d'inhiber le NMD et pour lequel il est montré que la protéine de capsid lie directement UPF1 entraînant sa dégradation via le protéasome (*Fontaine et al., 2018*). Au cours des infections par le Semliki Forest Virus⁶⁶ (SMV), le NMD est inhibé par plusieurs protéines virales : NSP3 et la capsid. Cette dernière est capable d'interagir avec UPF1, suggérant qu'une interférence avec l'hélicase est un des moteurs de l'inhibition du NMD (*Contu et al., 2021; Balistreri et al., 2014*). C'est également le cas de deux coronavirus, Infectious Bronchitis Virus (IBV) et le Sars-Cov2, pour lesquels l'interaction des nucléocapsides (protéine virale N) avec UPF1 suggère une possible interférence du NMD (*Popp et al., 2020; Gordon et al., 2020; Emmott et al., 2013*). En effet, seule l'expression de la nucléocapside du Mouse Hepatitis Virus (MHV, coronavirus murin) a pour le moment été démontrée comme affectant le NMD pour favoriser la réplication virale (*Wada et al., 2018*). Dans les cas des Rotavirus (RV), l'inhibition du NMD a été récemment

⁶³ Au moins dans les cellules de glandes salivaires chez la drosophile.

⁶⁴ pro-muscle transcription factor.

⁶⁵ De la famille des *Flaviviridae*.

⁶⁶ De la famille des *Togaviridae*.

montrée et passe par une interaction directe avec UPF1 : la protéine rotavirale NSP5 se lie avec UPF1 pour favoriser sa dégradation via le protéasome (Sarkar et al., 2022). Pour les rétrovirus, HTLV-1 cible UPF1 et inhibe son activité ATPase et hélicase via sa protéine virale Tax, menant à une inhibition du NMD (Fiorini et al., 2018). En revanche, pour HIV-1, si l'interaction de la protéine virale Rev avec UPF1 est décrite comme supposément inhibitrice de l'interaction UPF1-UPF2, l'inhibition du NMD n'est pour le moment pas établie (Ajamian et al., 2015).

Concernant les autres UMD, il existe actuellement peu de littérature concernant leurs capacités de restriction virale. En effet, la plupart des études sont généralement centrées autour de l'inhibition du NMD. Or, comme introduit plus tôt, le facteur STAU1 (du SMD) peut s'associer aux ARN porteurs de 3'UTR structurés et riches en GC (cf II.2). Ainsi, dès lors que certains ARN viraux présenteraient ces éléments structuraux capables de recruter les protéines STAU, il est envisageable qu'ils soient également ciblés par le SMD. D'ailleurs, la protéine NS1 du virus de l'influenza A (IAV) a été décrite comme inhibitrice du SMD : en interagissant avec STAU1, NS1 empêche l'association de STAU1 à UPF1 et l'initiation du SMD (Cho et al., 2013a). Comme le NMD ne semble pas être impliqué dans la restriction de la propagation d'IAV (Tran et al., 2021), cela suggère que ces deux voies de dégradations pourraient être une forme de relai l'une de l'autre dans la restriction virale. De manière intéressante, les protéines STAU1 et STAU2 sont décrites comme favorisant différentes étapes du cycle réplcatifs d'HIV-1, suggérant un détournement de leurs fonctions initiales au profit de la réplication virale (May and Simon, 2021; Rao et al., 2019b; Abrahamyan et al., 2010; Chatel-Chaix et al., 2008, 2004; Balakrishnan et al., 2021; Banerjee et al., 2014). Ce détournement pourrait être un argument supplémentaire en faveur d'une capacité initiale de restriction par le SMD qui *in fine* est contournée par HIV-1.

Enfin la protéine G3BP1, récemment impliquée avec UPF1 dans le SRD, est déjà montrée comme capable d'inhiber la réplication virale des virus Sendaï et de la stomatite vésiculaire en facilitant la réponse antivirale RIG-I⁶⁷. Chez HIV-1, G3BP1 est montrée comme capable de séquestrer les ARN viraux. De plus, plusieurs protéases virales des picornavirus ciblent et clivent spécifiquement G3BP1, suggérant la mise en place d'un mécanisme d'échappement à une restriction virale par G3BP1 (May and Simon, 2021; Kim et al., 2019; Yang et al., 2019; Visser et al., 2019; Cobos Jiménez et al., 2015; Ng et al., 2013; White et al., 2007). Pour autant, aucun lien direct entre le SRD et la dégradation de l'ARN viral n'est pour le moment établi, et l'implication d'UPF1 dans les mécanismes de restriction virale par G3BP1 n'est pas connue.

B. Dérégulations d'UPF1 et tumorigenèse

Compte tenu de l'implication fonctionnelle d'UPF1 dans diverses voies contribuant à la régulation de l'expression des gènes via les UMD, l'intégrité du génome et la différenciation cellulaire, il n'est pas surprenant que de plus en plus d'études rapportent des dérégulations d'UPF1 dans divers types de tumeurs (Chen et al., 2021).

⁶⁷ Récepteur du système immunitaire inné, impliqué dans l'initiation de la réponse interféron de type I.

UPF1 semble jouer majoritairement un rôle de suppresseur de tumeur : plusieurs études montrent qu'UPF1 est significativement sous-exprimée dans la plupart des cancers, incluant les carcinomes hépatocellulaires, les cancers gastriques, le cancer pancréatique adénosquameux, les tumeurs inflammatoires myofibroblastiques, les cancers de la thyroïde, les cancers ovariens ou encore les gliomes (*Chen et al., 2021*). Plus particulièrement, UPF1 pourrait jouer un rôle dans la tumorigenèse via une diminution de sa fonction dans le NMD. En effet, comme introduit plus tôt, le NMD est un processus finement contrôlé impliqué dans la régulation de l'expression des gènes. Or, une étude de transcriptomique réalisée sur près de 10.000 échantillons tumoraux divers montre que près de 30% des mutations retrouvées dans ces tumeurs génèrent des PTC (*Lindeboom et al., 2016*). De plus, 1/3 des cancers seraient dus à un PTC « non détecté » dans un gène suppresseur de tumeur tels que p53 ou encore BRCA1 (*Lindeboom et al., 2016; Fan et al., 2001; Sylvain et al., 2002; Cardinali et al., 1997*), soulevant la question du rôle de l'inhibition du NMD dans les phénomènes liés à l'oncogenèse. En effet, de nombreuses études rapportent un lien entre dérégulations du NMD et cancers mais les facteurs causaux de la modulation/déficience du NMD sont divers et parfois difficiles à établir (*Nogueira et al., 2021*). Ainsi, si les dérégulations d'UPF1 peuvent y contribuer, rien n'est à ce jour établi de manière directe.

D'ailleurs, UPF1 pourrait jouer des rôles différents dans la tumorigenèse en fonction des contextes. En effet, *Chen et al.*, rapportent que dans les adénocarcinomes pulmonaires (LADC), deux études trouvent des dérégulations contraires d'UPF1 : *Cao et al.* trouvent une expression diminuée tandis qu'*Han et al.* montrent une surexpression d'UPF1 (*Han et al., 2020; Cao et al., 2017*). Or, une autre étude s'intéressant aux carcinomes colorectaux (CCR) montre un différentiel d'expression d'UPF1 selon le type de tumeur : le niveau d'expression d'UPF1 est plus élevé dans les CCR primaires, instables génétiquement (type MSI), que dans les CCR, stables (type MSS) (*Bokhari et al., 2018*). Enfin, de récents travaux montrent notamment que des modifications post-transcriptionnelles impliquant UPF1 contribuent à la modulation de l'architecture et de la stabilité des transcrits tumoraux (*Chen et al., 2021; Oka et al., 2021*).

Bien que, globalement, les mécanismes moléculaires associés à ces dérégulations d'UPF1 dans les cancers ne soient pas encore clairement établis, les dérégulations d'UPF1 ont tout de même été liées à la prolifération, la migration et l'invasion des cellules cancéreuses ainsi qu'à un mauvais pronostic dans la plupart des cancers, lui valant un rôle potentiel de biomarqueur dans le diagnostic et le traitement de ceux-ci (*Chen et al., 2021*).

CHAPITRE III : L'INFECTION PAR LE RETROVIRUS ONCOGÈNE HTLV-1 **(Human T-Lymphotropic Virus)**

Découvert en 1980, HTLV-1 (Human T-Lymphotropic Virus 1) appartient à la famille des *Retroviridae*, à la sous-famille des *Orthoretrovirinae* et au genre *Deltaretrovirus*⁶⁸. HTLV-1 est un oncovirus qui infecte au moins 10 millions de personnes dans le monde, selon une répartition en cluster de zones endémiques (Afrique sub-saharienne, Asie du Sud-Est, Amérique du Sud et les Caraïbes). Plusieurs années après, l'existence de trois autres virus T-lymphotropes humains HTLV-2, HTLV-3 et HTLV-4 a été rapportée, mais leur pathogénicité n'étant pour le moment pas bien établie, ils ne seront pas décrits dans ce chapitre.

Si l'infection par HTLV-1 est asymptomatique pour la majorité des patients, elle est parfois associée au développement au long cours de plusieurs pathologies qui sont principalement : soit une leucémie/lymphome de l'adulte à cellules T (ATL) qui est une forme agressive de leucémie ; soit une myélopathie associée à HTLV/paraparésie spastique tropicale (HAM/TSP) qui est une pathologie neurodégénérative du système nerveux central liée à une inflammation chronique. Les rôles joués par les réponses immunitaires innées et adaptatives dans la restriction de l'infection par HTLV-1 sont largement étudiés. Des modèles expliquant comment HTLV-1 parvient à échapper à ces réponses immunitaires ou à les déréguler afin de prolonger l'infection et provoquer des pathologies ont été proposés et sont régulièrement mis à jour. Bien que les contributions des oncoprotéines Tax et HBZ d'HTLV-1 à la pathogenèse soient plutôt bien établies, notamment dans l'oncogenèse associée à HTLV-1, certains mécanismes moléculaires liés à l'émergence pathologique restent encore à déterminer.

Dans les phases précoces de l'infection et avant l'établissement d'une réponse immunitaire adaptative, HTLV-1 peut également être ciblé par plusieurs facteurs cellulaires de l'hôte à différentes étapes du cycle de la réplication virale. Cette immunité intrinsèque repose sur une grande diversité de processus antiviraux, dont le NMD. Mais la persistance même des infections par HTLV-1 suggère que ces mécanismes ne parviennent pas à restreindre entièrement le virus et/ou qu'HTLV-1 a évolué vers le développement de contre-mesures, sinon complètes, du moins suffisamment efficaces pour permettre une expression minimale. La contribution de ces mécanismes précoces à l'émergence pathologique est encore en questionnement.

Ce chapitre introductif sur HTLV-1 s'intéressera dans un premier temps à décrire succinctement les mécanismes moléculaires et la clinique qui sont associés aux pathologies induites par HTLV-1. Dans une seconde partie, les différentes protéines d'HTLV-1 et leurs fonctions virales seront abordées. Enfin, en troisième partie, le cycle réplcatif sera présenté en parallèle des facteurs cellulaires dont l'implication dans la restriction d'HTLV-1 est actuellement décrite ou suggérée.

⁶⁸ Qui inclut également le BLV (Bovine leukemia Virus) et les PTLV (T-lymphotropic viruses infecting primates).

Epidémiologie et pathologies associées à l'infection par HTLV-1

Les cas d'infections par HTLV-1 sont géographiquement répartis en clusters de forte endémicité, généralement proches de zones dont le virus est absent. L'hypothèse associée à cette répartition particulière serait l'existence de sous-groupes de populations dont la variabilité génétique entre individus est particulièrement faible⁶⁹ les rendant davantage susceptibles à la persistance d'un fort taux de transmission virale. Au moins 10 millions de personnes sont infectées dans le monde dont 5 à 10 % développent des pathologies graves. Le spectre des pathologies induites par HTLV-1 varie entre des troubles inflammatoires, neurodégénératifs et malins, et les deux pathologies qui lui sont le plus fréquemment associées sont : l'ATL (Leucémie à cellules T de l'Adulte) qui est une forme agressive de leucémie ; ou l'HAM/TSP (Myélopathie associée à HTLV-1/Paraparésie Spastique Tropicale) qui est une pathologie neurodégénérative du système nerveux central liée à une inflammation chronique (*Afonso et al., 2019; Gessain and Cassar, 2012*).

A. Transmission virale

Trois modes de transmission sont décrits pour HTLV-1 : la voie maternelle (allaitement, accouchement) dite à transmission verticale ; la voie sexuelle et la transfusion sanguine/transplantations d'organes, dites à transmission horizontale. HTLV-1 infecte principalement les Lymphocytes T-CD4+ et suit un cycle viral non lytique : une fois entré dans la cellule, le génome viral est intégré dans celui de la cellule hôte pour établir la réplication virale (**Figure 11**). Les particules virales nouvellement produites sont libérées en surface de la cellule hôte infectée et se retrouvent alors dans un environnement appelé biofilm, défini comme une accumulation de particules virales associées avec de la matrice extracellulaire. En effet, hors de la cellule infectée, les virions sont particulièrement instables. De fait, HTLV-1 ne se transmet efficacement à une cellule non infectée que par le contact avec une cellule infectée (*Carcone et al., 2022; Pique and Jones, 2012; Pais-Correia et al., 2010*).

Plusieurs modes de transmission cellule-cellule sont décrits (**Figure 11**) :

- Le biofilm viral (1)
- La synapse virologique (2) : ce mode de transmission implique une polarisation de la cellule infectée (via son Centre Organisateur de Microtubules ou MTOC) et les protéines de surfaces LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen) et ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1)
- Le conduit membranaire issu de protrusions cellulaires (3)

Une fois intégré dans le génome de la cellule hôte, le virus se réplique selon deux modes : soit via un cycle réplicatif infectieux conduisant à la production de nouvelles particules virales pour infecter d'autres cellules, soit par expansion clonale, c'est-à-dire la mitose de la cellule ayant intégrée HTLV-1 sous forme provirale (*Carcone et al., 2022; Mahieux et al., 2005*). Bien

⁶⁹ Appelé « Effet fondateur » en génétique des populations.

qu'il existe plusieurs souches HTLV-1⁷⁰, le taux évolutif global du génome viral est faible et aucune recombinaison génétique n'est observée⁷¹ : HTLV-1 présente une stabilité génétique remarquable. En effet, en favorisant les mutations, les cycles réplcatifs infectieux des rétrovirus contribuent généralement à leurs variations génétiques (Afonso *et al.*, 2019). Aussi, il est admis qu'HTLV-1, après une phase infectieuse précoce, se réplique peu fréquemment par de nouveaux cycles infectieux et persiste dans l'hôte principalement par expansion clonale des cellules ayant intégrées le provirus.

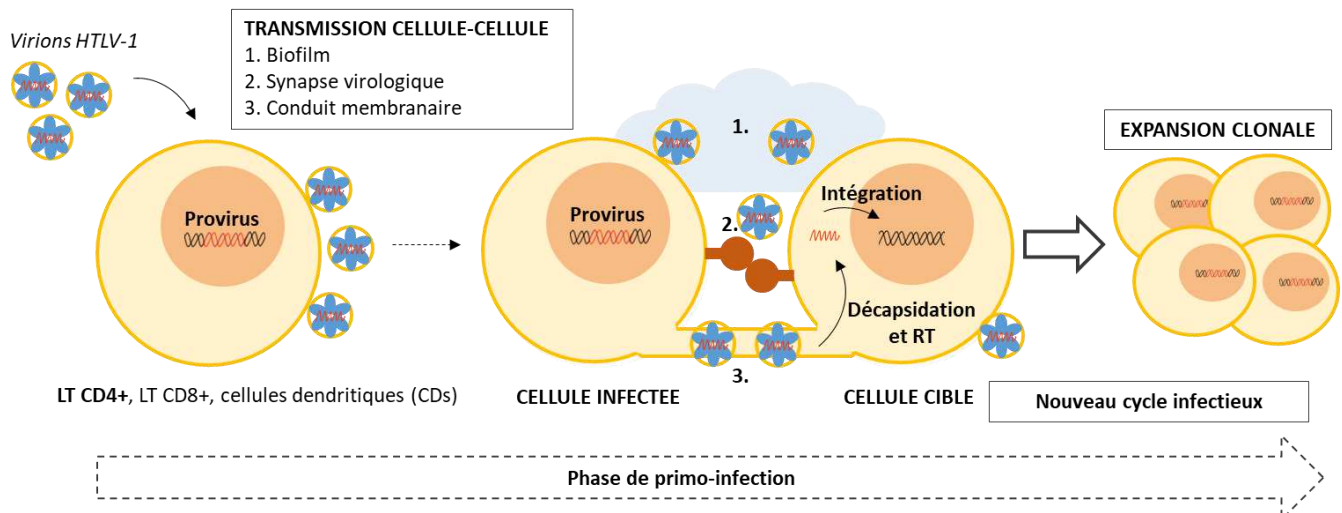


Figure 11. Les différents modes de transmissions cellule-cellule d'HTLV-1, adaptée de Carcone *et al.*, 2022.

Si HTLV-1 possède un tropisme particulier pour les LT-CD4+, il a en réalité le potentiel d'infecter une grande variété d'autres cellules : LT-CD8+, Lymphocytes B, cellules dendritiques myéloïdes et plasmacytoïdes (CDs), cellules endothéliales, fibroblastes, polynucléaires neutrophiles et monocytes (Furuta *et al.*, 2017; Rizkallah *et al.*, 2017; Alais *et al.*, 2015; Jones *et al.*, 2008; Koyanagi *et al.*, 1993). Chez les patients chroniquement infectés, le provirus d'HTLV-1 est principalement retrouvé dans les LT-CD4+ et LT-CD8+ circulants, ainsi que dans les cellules dendritiques (CDs) (Hishizawa *et al.*, 2004). Il est d'ailleurs montré que les CDs sont en réalité plus susceptibles à l'infection par HTLV-1 que les LTs et qu'elles sont capables d'infecter des LTs (Alais *et al.*, 2015). Or, les CDs jouent un rôle central dans l'activation des LTs naïfs et dans la réponse immunitaire en réponse à l'infection. Elles dérivent des monocytes et sont largement distribuées dans le sang circulant, les tissus périphériques et les muqueuses. Les CDs matures regroupent différentes sous-catégories selon les cytokines qui vont induire leur différenciation : IL-4 pour les CDs myéloïdes retrouvées dans le sang, TGF- β pour les CD retrouvées dans les muqueuses du tube digestif, et INF- α pour les CDs inflammatoires (Martinek *et al.*, 2019). De manière intéressante, Rizkallah *et al.*, montrent que toutes les CDs ne présentent pas la même susceptibilité à l'infection par HTLV-1 ($CD_{\text{immatures}} > CD_{\text{IL-4 induites}} > CD_{\text{TGF-}\beta \text{ induites}} ; CD_{\text{TNF-}\alpha \text{ induites}}$ sont non susceptibles) et proposent que les CD soient en réalité les premières cellules rencontrées et infectées par le virus (Rizkallah *et al.*, 2017).

⁷⁰ Classifiées en plusieurs génotypes et sous-groupes, qui généralement reflètent l'origine géographique de la souche (Afonso *et al.*, 2019).

⁷¹ Corrélatant avec l'absence de surinfections d'une même cellule décrite pour HTLV-1.

B. Pathologies associées à HTLV-1

1. La réponse immunitaire dirigée contre HTLV-1

Dans les semaines suivant la primo-infection, les réponses immunitaires de l'hôte se mettent en place : dans les premiers mois apparaissent des anticorps dirigés contre les protéines virales Gag, Env et Tax. En parallèle, une forte réponse Cytotoxique médiée par les Lymphocytes T (CTL) se déclenche et est principalement dirigée contre Tax (*Tu et al., 2022; Bangham, 2000; Manns et al., 1991a, 1991b*). Bien que cette réponse immunitaire aide à contrôler l'infection, elle ne permet pas d'éliminer intégralement les cellules ayant intégrées le virus. Cette pression immunitaire se traduit par une présence de quantités très faibles de virions HTLV-1 sous forme libre (*Pique and Jones, 2012*). Ainsi, la présence du virus est principalement détectée par une évaluation de la charge provirale, qui représente le nombre de copies provirales retrouvées dans un nombre donné de cellules (généralement les PBMC ou cellules mononucléaires circulantes du sang) (*Tu et al., 2022*). Des charges provirales plus élevées sont associées à un risque supérieur de développer une pathologie associée à HTLV-1. Il est par exemple montré que les patients HAM/TSP présentent une charge virale 10 à 100 fois plus élevée que les patients asymptomatiques (*Nagai et al., 1998; Bangham, 1993*). Et si chez 90 à 95% des patients infectés, la réponse immunitaire joue un rôle important dans la réduction de cette charge virale, chez certains individus, HTLV-1 échappe à son contrôle.

La réponse immunitaire initiée par la primo-infection pourrait influencer la pathologie qui sera développée. En effet, il est suggéré que le mode de transmission influe sur la pathologie développée au long cours : alors que le mode de transmission vertical est davantage associé au développement d'une pathologie cancéreuse (ATL), le mode de transmission horizontal est associé au développement de pathologies inflammatoires type HAM/TSP (*Tagaya et al., 2019; Fujino and Nagata, 2000; Osame et al., 1990*). Aussi, il est suggéré que la voie d'entrée du virus (muqueuses gastriques, sexuelles ou circulation sanguine) influence le type de cellules immunitaires rencontrées, les paramètres d'initiation de la réponse immunitaire et ainsi la pathologie développée (*Mulherkar et al., 2022, 2018; Rizkallah et al., 2017*).

Enfin, après plusieurs décennies suivant la primo-infection par HTLV-1, phase dite de latence, deux types de pathologies peuvent survenir : une pathologie cancéreuse, l'ATL, et des pathologies inflammatoires dont l'HAM/TSP.

2. L'ATL (Adult T-cell Leukemia ou Leucémie de l'Adulte à cellules T)

Dans environ 5% des cas, l'infection par HTLV-1 est associée à l'ATL (Adult T Cell Leukemia). L'ATL est un syndrome lymphoprolifératif malin caractérisé par la prolifération monoclonale de LT-CD4 + transformés qui possèdent des noyaux multilobés dits "cell flower"⁷² (non retrouvées dans le sous-type lymphomateux ; **Table 3A**). Globalement, l'ATL est associée

⁷²Cellules qui présentent une chromatine particulièrement condensée et une anomalie du nombre de chromosomes (aneuploïdie).

à un mauvais pronostic, avec un taux de survie à 5 ans de 20% tout sous-type confondu (*El Hajj and Bazarbachi, 2022; Takatsuki, 1995; Wattel et al., 1995*).

L'émergence de ces clones leucémiques, dits clones ATL, est rendue possible par une coordination fine des fonctions respectives des protéines virales oncogènes Tax et HBZ⁷³. Ensembles, elles vont promouvoir l'immortalisation ainsi que la persistance de la tumeur formée.

Dans les étapes précoces de l'infection, il est montré que Tax active la voie NF-κB de manière constitutive, favorisant ainsi la prolifération des lymphocytes et la résistance des cellules à l'apoptose. Tax provoque également des dommages à l'ADN favorisant l'accumulation de mutations somatiques. Tax interagit également avec un grand nombre de facteurs cellulaires (facteurs de transcriptions, kinases, cyclines, protéines à PDZ⁷⁴,...) associées au cycle cellulaire et à plusieurs voies de signalisation retrouvées dérégulées dans les cancers (dont mTOR⁷⁵, JNK⁷⁶ et p38⁷⁷). Ainsi, en dérégulant l'ensemble de ces voies, Tax favorise l'initiation tumorale (*Bangham and Ratner, 2015; Matsuoka and Jeang, 2011*).

Tax est une protéine très immunogène et qui de surcroît n'est pas retrouvée exprimée chez environ 50 % des patients ATL. Aussi, le modèle actuel de maintien au long cours de la tumeur formée implique une diminution progressive de l'expression de Tax due à la protéine HBZ ainsi qu'à des méthylations et des délétions du génome viral réprimant son activité. De plus, il est également montré qu'au cours du développement de l'ATL, Tax pourrait tout de même s'exprimer sous forme de *burst*, tandis qu'HBZ s'exprime continuellement, contribuant à distiller les effets oncogènes de Tax tout en échappant au système immunitaire. Enfin, Tax et HBZ ayant des effets opposés sur plusieurs voies et la protéine HBZ possédant également des capacités de transformation, il est proposé qu'elles travaillent de concert à l'initiation d'un clone pathologique et à son maintien tumoral (*El Hajj and Bazarbachi, 2022; Bangham et al., 2019; Bangham and Ratner, 2015; Matsuoka and Yasunaga, 2013*).

Si plusieurs traitements existent, l'hétérogénéité de la réponse aux traitements observée chez les patients et leur absence d'efficacité à long terme font de l'ATL une pathologie complexe dans sa prise en charge thérapeutique (**Table 3A**). Des vaccins sont d'ailleurs en développement pour prévenir l'infection et tenter de pallier ces difficultés (*Tu et al., 2022*).

3. L'HAM/TSP (HTLV-1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis)

Chez 0,3 à 5 % des individus infectés par HTLV-1, c'est une pathologie neurodégénérative liée à une démyélinisation irréversible de la moelle épinière qui est progressivement développée : l'HAM/TSP. Un développement plus rapide est observé dans les infections associées à une transplantation. L'HAM/TSP résulte d'une accumulation de LT-CD8⁺ et LT-CD4⁺ infectées par HTLV-1 dans le liquide céphalo-rachidien et les tissus neuronaux générant un environnement inflammatoire chronique responsable de la destruction des tissus environnants (*Mulherkar et al., 2022; Tagaya et al., 2019*).

⁷³ HTLV-1 basic zipper factor

⁷⁴ Impliquées dans le contrôle de la migration et de l'invasion cellulaire, la prolifération cellulaire, la polarité cellulaire, la fixation cellulaire, le contact cellule-cellule, l'apoptose et l'établissement des synapses immunologiques.

⁷⁵ Ser/Thr kinase impliquée dans la régulation de la prolifération, la croissance et la survie cellulaires.

⁷⁶ MAP kinase qui promeut l'apoptose par la transactivation des FdT c-Jun/AP1.

⁷⁷ MAP kinase impliquée dans la réponse au stress.

En effet, il est montré que l'infection par HTLV-1 induit une perturbation de l'équilibre des cytokines pro-inflammatoires (telles que IFN- γ , TNF- α ,...) et anti-inflammatoires (telles que TGF- β , IL-10,...). Ce déséquilibre entraîne notamment une perte de tolérance aux antigènes de l'hôte et un recrutement de LT-CD8+ responsables d'une inflammation chronique : Tax, sous forme soluble, est capable de se lier aux CD matures et immatures pour favoriser leur activation ou leur maturation en phénotype TH1 (lié à la réponse CTL) ; ceci induirait une présentation constante de l'antigène et une co-stimulation des LT déclenchant chroniquement la réponse de type CTL qui sous-tend l'état inflammatoire de l'HAM/TSP (Mulherkar et al., 2022; Futsch et al., 2018; Sagar et al., 2014; Manuel et al., 2007).

HBZ stimulerait également la réponse LT-CD8+ (Hilburn et al., 2011; Macnamara et al., 2010). De plus, on retrouve dans le sérum et le LCR⁷⁸ des patients HAM/TSP des titres plus élevés d'anticorps de type IgM spécifiques d'HTLV-1, suggérant une réplication active et continue chez ces patients là (Rafatpanah et al., 2013; Kira et al., 1992). Une étude récente montre que le niveau d'expression de Tax est significativement plus élevé chez les patients HAM/TSP, alors que le niveau d'expression d'HBZ, bien que légèrement plus élevé, n'est significativement pas différent comparativement aux porteurs asymptomatiques (Mulherkar et al., 2022; Saffari et al., 2022). Ainsi, l'HAM/TSP pourrait résulter d'une perte de maintien du contrôle de l'expression de Tax par HBZ. Néanmoins, les mécanismes conduisant différenciellement à l'ATL ou l'HAM/TSP sont encore mal compris.

Les traitements actuels de l'HAM/TSP comprennent principalement des traitements symptomatiques par des anti-inflammatoires stéroïdiens qui limitent la progression de la pathologie en réduisant l'inflammation (Nozuma et al., 2020). Compte tenu de la réplication active observée dans l'HAM/TSP, des traitements antiviraux sont également utilisés : par exemple un inhibiteur de l'intégrase, le Raltégravir, est actuellement à l'essai (Enose-Akahata et al., 2021)(Table 3A).

Pathologie	Transmission	Symptômes les plus courants	Paramètres cliniques/biochimiques associés		
ATL	Verticale (accouchement, allaitement)	Lésions cutanées et/ou pulmonaires, lymphadénopathie, et hépatosplénomégalie	Formes à progression rapide (Taux de survie à 5 ans : 8 -10%)	Aigue	Charge virale élevée (0,2 à 2,8 - moy. 1 copie/cellule) ; Anticorps anti-HTLV-1 ; LT CD4+ transformés circulants
				Lymphomateux	
			Formes à progression lentes	Chronique	
				Indolent	
HAM/TSP	Horizontale (voie sexuelle, parentérale et transplantation)	Paraparésie spastique progressive, troubles de la marche, et dysfonctionnement du système nerveux autonome de l'intestin et de la vessie	Perte de volume de la moelle épinière visible en IRM suggérant une pathologie dégénérative causant une démyélinisation irréversible	Charge virale élevée (moy. 0,35 copie/cellule) ; Anticorps anti-HTLV-1 dans le sang circulant et liquide cébrospinal (CSF) ; Taux élevé de LT CD8+ dirigés contre Tax, Rex et Env ; LT CD4+ infectés	

⁷⁸ Liquide Céphalo-Rachidien

Pathologie	Traitements disponibles		Références
ATL	AZT/IFN α (Zidovudine/interferon alpha) +/- arsenic	Inefficace sur les formes lymphomateuses ; toxicité importante de l'arsenic ; La zidovudine est un inhibiteur de la RT	(Shichijo et al., 2022; Shimizu et al., 2022; Tagaya et al., 2019; Yoshida and Weinstock, 2018; Saito et al., 2009; Takatsuki, 1995)
	Chimiothérapies conventionnelles	Principalement utilisées au Japon, pour les formes agressives ; efficacité sur l'espérance de vie des patients limitée	
	Greffe de moelle osseuse	Meilleure efficacité mais le nombre de patients pouvant en bénéficier est limité	
	Anticorps monoclonaux (Mogamulizumab)	Dirigé contre les CCR4 surexprimés dans les LT infectés ; essais cliniques en cours	
HAM/TSP	Anti-inflammatoire stéroïdiens (Prednisolone)	Traitement symptomatique de l'inflammation limitant la progression de la neurodégénérescence	(Enose-Akahata et al., 2021; Nozuma et al., 2020; Enose-Akahata and Jacobson, 2019; Starling et al., 2013; Saito et al., 2009; Jacobson et al., 1990)
	Anticorps monoclonaux (Mogamulizumab)	Dirigé contre les CCR4 surexprimés dans les LT infectés ; essais cliniques en cours	
	Raltégravir	Inhibiteur de l'intégrase - Essais cliniques en cours	

Table 3A. Tableau comparatif des aspects cliniques, biochimiques et thérapeutiques de l'ATL et de l'HAM/TSP.

4. Autres pathologies associées à HTLV-1

D'autres études montrent que l'infection par HTLV-1 est également associée à une inflammation de l'oeil (uvéite), des articulations (arthrite), des muscles (myosite), des poumons (alvéolite) et de la peau (dermatite) (El Hajj and Bazarbachi, 2022; Gessain, 2011). De plus, l'infection par HTLV-1 prédispose les patients à une immunodépression profonde : dans les cas d'ATL particulièrement, des infections opportunistes sont fréquemment retrouvées telles que la pneumocystose (*Pneumocystis jiroveci*), la cryptosporidiose (*Cryptosporidium parvum*), strongyloïdose (*Strongyloides stercoralis*), la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*), ou encore des infections fongiques ou une réactivation du Cytomégalovirus (El Hajj and Bazarbachi, 2022; Tagaya et al., 2019; Verdonck et al., 2007; Blayney et al., 1983; Ueda et al., 1979). Cette immunodépression, généralement plus légère, est également retrouvée chez des porteurs asymptomatiques (Tagaya et al., 2019). Récemment, l'émergence d'un cluster d'infections à HTLV-1 en Australie centrale a d'ailleurs été associée à des infections bronchiques chroniques (bronchites, bronchiolites et bronchiectasie) causant une importante morbidité/mortalité (Tagaya et al., 2019; Einsiedel et al., 2016).

Enfin, il est à noter que des cas de co-infections par HTLV-1 et HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus 1) sont retrouvés dans les zones endémiques des deux virus (notamment en Afrique subsaharienne) et où les patients co-infectés semblent progresser plus rapidement vers le Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis (SIDA) associé à HIV-1 (Mouinga-Ondémé et al., 2022). En effet, HTLV-1 et l'autre rétrovirus pathogène humain, HIV-1, bien qu'aboutissant à des pathologies différentes, partagent notamment leurs modes de transmission, un tropisme cellulaire pour les LT CD4⁺ et un cycle répliatif proche (Nakano and Watanabe, 2016).

Organisation du génome viral et protéines virales d'HTLV-1

Une fois intégré, l'ADN proviral d'HTLV-1 contient les séquences classiques des rétrovirus (*gag*, *pro*, *pol* et *env*) entourées de deux séquences LTR (Long Terminal Repeat) qui fonctionnent comme des promoteurs viraux. Entre le gène *env* et la région LTR en 3' (3'LTR), on retrouve une région spécifique des *Deltaretrovirus* nommée région "pX" : elle code les protéines régulatrices Tax, Rex (p27 et p21) et HBZ ; ainsi que les protéines auxiliaires p12, p13 et p30.

La transcription virale s'initie depuis le LTR en 5' (5'LTR) ainsi que depuis le LTR en 3' (3'LTR) pour la transcription antisens. Grâce à plusieurs cadres de lectures (Open Reading Frame ou ORF) se chevauchant partiellement⁷⁹, plusieurs sites d'épissage alternatif et une transcription antisense, le provirus donne naissance à plusieurs transcrits coiffés et polyadénylés codant plus d'une dizaine de protéines virales décrites ci-après (**Figure 12**) (Nakano and Watanabe, 2016; Shida, 2012).

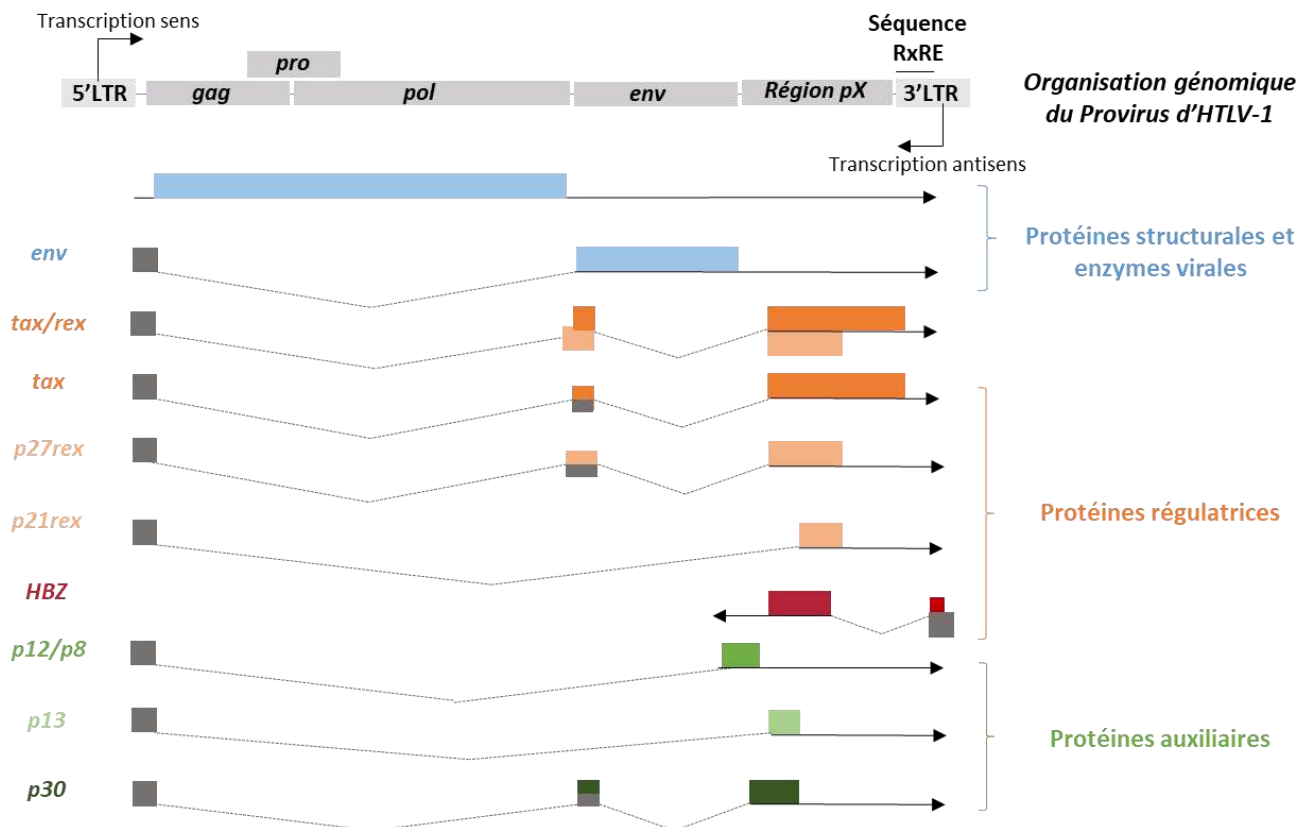


Figure 12. Organisation du génome d'HTLV-1 et protéines virales issues des différents transcrits. L'ARNv *gag*-(*pro*)-*pol* sera soit traduit pour donner les différentes protéines structurales, soit non traduit et encapsidé en tant qu'ARNv génomique. L'ARNv *tax/rex* est transcrit lors du premier round de transcription (cf. B) (Nakano and Watanabe, 2016).

⁷⁹ Déterminés par des signaux -1 de décalage programmé du ribosome (Programmed Ribosomal Frameshift ou PRF).

A. Les protéines structurales et enzymes virales

Les ARNv codant les protéines structurales vont permettre la production des enzymes virales nécessaires au cycle réplcatif ainsi que la formation de la particule virale. L'ARN viral *gag-(pro)-pol*, non épissé, contient l'intégralité du génome. Il sera traduit en trois produits : GAG, GAG-PRO et GAG-PRO-POL. Ces protéines de fusion donneront après clivage le précurseur GAG^{pr55} , la protéase (PR), l'intégrase (IN), et la transcriptase inverse (RT). Le précurseur GAG^{pr55} sera lui-même clivé par la suite en protéines de matrice p19/MA, de la capside p24/CA et de la nucléocapside p15/NC. L'ARN viral *gag-(pro)-pol*, lorsqu'il n'est pas traduit, correspond également à l'ARN viral génomique qui sera incorporé dans la particule virale. Ensuite, la transcription du gène *env* génère, elle, un ARNv partiellement épissé qui sera traduit en précurseur gp61 et clivé en protéines d'enveloppe : la protéine transmembranaire de 21 kDa (TM/gp21) et une glycoprotéine de surface membranaire de 46 kDa (SU/gp46) (Martin et al., 2016).

La particule virale d'HTLV-1 se présente sous forme d'un virion de diamètre moyen de 73 nm, enveloppé d'une membrane bi-lipidique empruntée à la cellule hôte au moment du bourgeonnement, et où les glycoprotéines virales d'enveloppe gp46 et gp21 y sont enchâssées (Figure 13). La protéine gp21 assure également des interactions avec la protéine de matrice p19. Au centre, la capside de forme icosaédrique, constituée d'un assemblage de protéines p24 protège le génome viral, présent sous forme de deux copies d'environ 9 kb d'ARN simple brin de polarité positive. L'ARN génomique (ARNg) est également associé aux protéines virales de la nucléocapside p15 et aux enzymes virales : intégrase, protéase virale et transcriptase inverse (Perès, 2017).

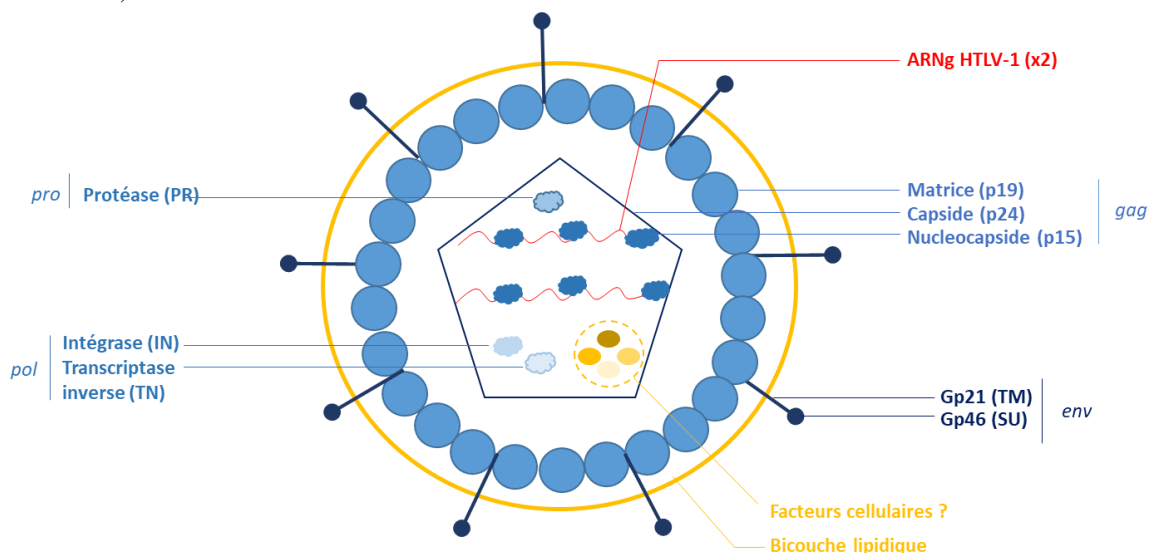


Figure 13. La particule virale d'HTLV-1, adaptée de Perès, 2017.

De manière intéressante, la protéine TM/gp21 pourrait jouer un rôle dans l'échappement au système immunitaire : elle a récemment été montrée comme inhibitrice de l'activation des lymphocytes *T in vitro* et chez la souris, notamment par une inhibition de la réponse associée au TCR (T-Cell Receptor) (Rotem et al., 2018). De récentes études faites en spectrométrie de

masse montrent également que des facteurs cellulaires, notamment des protéines de liaison à l'ARN (RNA Binding Protein ou RBPs), seraient incorporées dans les particules virales de plusieurs virus (à ARN simple brin de polarité +, - et rétrovirus). Ces RBP pourraient avoir des fonctions dans la formation de la particule virale, son infectiosité et l'échappement aux mécanismes de restriction intrinsèques lors du cycle infectieux suivant (*Dicker et al., 2021; Serquiña et al., 2013*).

B. Les protéines régulatrices

Les protéines régulatrices de la réplication virale regroupent les protéines Tax, HBZ (HTLV-1 B-Zip Factor) et Rex. Au premier round de transcription du provirus, l'ARN viral transcrit est doublement épissé en un ARNv *tax/rex* par la machinerie cellulaire. Puis, Tax et Rex seraient ensuite traduites à partir des transcrits (codés par les ORF IV et III respectivement) et HBZ à partir du transcrit antisens (*Nakano and Watanabe, 2016; Shida, 2012*).

1. La protéine oncogène Tax

Grâce à ses domaines NLS et NES, Tax fait la navette entre le noyau et le cytoplasme et se répartit dans l'ensemble de la cellule infectée (**Figure 14**) (*Alefantis et al., 2003; Nicot et al., 1998*). Pendant la phase active de l'infection, Tax est le principal moteur de la transcription virale : grâce à son domaine N-terminal, Tax recrute la protéine de liaison de l'élément de réponse à l'AMP cyclique (CREB) au site TRE-1 (Tax-responsive element 1) du génome viral. Ensuite, le complexe promoteur Tax-CREB recrute les co-activateurs cellulaires tels que p300/CBP⁸⁰ au niveau des LTRs. Le domaine C-terminal de Tax quant à lui, permettrait de favoriser l'initiation et l'élongation de la transcription en interagissant directement avec le facteur de transcription TBP (protéine de liaison à la Boîte TATA) du complexe d'initiation de la transcription TFIID. Tax peut également recruter XPB, sous unité du facteur d'initiation de la transcription TFIIH (*Martella et al., 2020; Martin et al., 2016*).

Intrinsèquement désordonnée, Tax subit plusieurs modifications post-traductionnelles (phosphorylation, acétylation, ubiquitination et SUMOylation) qui régulent ses interactions avec un grand nombre de facteurs cellulaires (notamment grâce à son domaine PBM de liaison aux protéines PDZ). Par ces interactions, Tax est impliquée dans la modulation d'un grand nombre de voies cellulaires associées à ses fonctions oncogènes et qui conduisent à l'immortalisation des lymphocytes T d'une part, et des dérégulations du cycle cellulaire et une instabilité génétique d'autre part (**Figure 14**) (*Pène et al., 2014; Shirinian et al., 2013; Lodewick et al., 2009; Boxus et al., 2008; Nasr et al., 2006*).

⁸⁰ CREB-Binding Protein

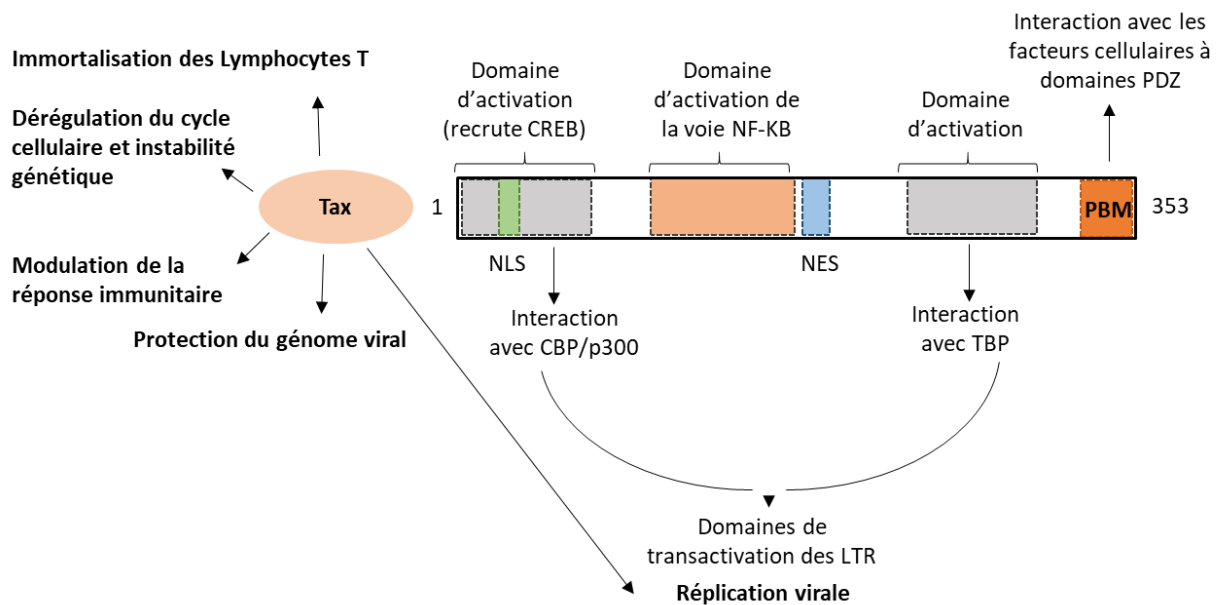


Figure 14. Représentation schématique des différents domaines de Tax et son implication dans la réplication virale et la pathogenèse d'HTLV-1.

Immortalisation des Lymphocytes T

Tax induit l'immortalisation des LTs principalement par une inhibition de l'apoptose et une induction de la prolifération lymphocytaire et ce de plusieurs manières : (1) Par une activation constitutive de la voie NF-KB, Tax favorise notamment la translocation nucléaire de facteurs de la transcription (RelA/p50 et RelB/p52) conduisant à l'activation de la transcription des gènes impliqués dans l'inhibition de l'apoptose et la prolifération lymphocytaire ; (2) Indépendamment de la voie NF-KB, Tax inhibe l'activité de p53, protéine régissant l'entrée en apoptose ; (3) En parallèle, Tax active également de manière constitutive les voies des MAP Kinases JNK et Raf (inhibition de l'apoptose ; activation de la prolifération lymphocytaire), la voie Wnt (prolifération cellulaire), la voie des kinases PI3 (inhibition de l'apoptose ; activation de la télomérase hTERT généralement associée à l'immortalisation des cellules) ou encore la voie AP-1 (impliquée dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose) (El Hajj and Bazarbachi, 2022; Bangham et al., 2019; Bangham and Ratner, 2015; Romanelli et al., 2013).

Dérégulations du cycle cellulaire et instabilité génétique :

Tax conduit également à la transformation cellulaire en favorisant des dérégulations du cycle cellulaire, notamment en favorisant la liaison à l'ADN de facteurs impliqués dans la régulation du cycle cellulaire (SRF pour Serum Response Factor) ou encore par ses nombreuses interactions avec plusieurs cyclines favorisant la transition de phase G1/S et plus globalement la progression du cycle cellulaire. Tax contribue également à l'instabilité génétique par sa capacité à interférer avec plusieurs mécanismes de maintenance du génome : Tax favorise des défauts dans la réparation des mésappariements (inhibition du Base Excision Repair), augmente l'incorporation de mauvais nucléotides (Nucleotide Excision Repair), diminue la reconnaissance et la réparation des cassures doubles brins (Inhibition des processus de la recombinaison homologue et de la NHEJ, Non Homologous End Joining) (Giam and Pasupala, 2022; Mohanty and Harhaj, 2020; Baydoun et al., 2012).

En plus de toutes ses implications dans l'oncogenèse, il est montré que Tax a également un rôle dans la modulation de la réponse immunitaire, notamment en inhibant la voie du TGF- β qui physiologiquement permet la différenciation en lymphocytes T régulateurs impliqués dans la tolérance immune (Arnulf et al., 2002). Enfin, Tax joue un rôle dans la protection du génome viral en inhibant le NMD via une interaction directe avec le domaine HD d'UPF1, entraînant une inhibition de ses activités ATPase et hélicase (Fiorini et al., 2018). Pour autant, l'implication de cette inhibition du NMD dans l'oncogenèse associée à HTLV-1 n'est pas établie.

2. La protéine oncogène HBZ

La transcription antisense du génome HTLV-1 permet la synthèse de la protéine HBZ. HBZ se caractérise par la présence d'un domaine d'activation (N-terminal), d'un domaine central où sont notamment retrouvés trois domaines NLS et d'un domaine analogue aux domaines Leucine Zipper (bZIP ; en C-terminal), caractéristique des facteurs de liaison à l'ADN et impliqué dans l'interaction avec plusieurs facteurs cellulaires (Figure 15). L'une des fonctions principale d'HBZ réside dans l'inhibition de la transcription virale permettant l'entrée en latence. En interagissant avec CREB-2 via son domaine bZIP, HBZ empêche Tax de s'y associer et d'initier la transactivation du LTR (Accolla, 2022; Gaudray et al., 2002). Comme introduit plus tôt, la protéine HBZ semble globalement s'opposer aux effets de Tax : lorsque Tax active la voie NF-kB ou encore la voie JNK (via AP-1), HBZ les inhibe (Accolla, 2022; Matsuoka and Yasunaga, 2013; Zhao et al., 2009) ; de même, là où HBZ active la voie TGF- β /Smad, Tax l'inhibe (Accolla, 2022; Zhao et al., 2011). Cet équilibre permettrait de contrebalancer la sénescence induite par les effets constitutifs de Tax. HBZ serait également impliquée dans cette entrée en latence et dans son maintien par une régulation post-transcriptionnelle des ARNv : il est montré qu'HBZ inhibe l'export Rex-dépendant de certains ARNv (Philip et al., 2014).

La protéine HBZ possède également des capacités d'immortalisation : il est notamment montré qu'elle participe à l'activation des voies de prolifération lymphocytaires et à la modulation de l'apoptose (Figure 15) (Ma et al., 2016; Satou et al., 2011). L'activité proliférative semble être davantage portée par l'ARN (*sHBZ*) qui ciblerait le facteur de transcription E2F1 impliqué dans la transition de phase G1/S (Ma et al., 2016). La modulation de l'apoptose se fait de plusieurs manières : HBZ augmente également l'expression de la télomérase hTERT ; via son domaine central, HBZ séquestre le facteur de transcription FoxO3a diminuant la transcription des gènes pro-apoptotiques ; HBZ interagit également avec le modulateur ATF3 et inhibe son activité pro-apoptotique (Ma et al., 2016; Tanaka-Nakanishi et al., 2014; Hagiya et al., 2011). De plus, à l'image de Tax, HBZ interagit également avec un grand nombre de facteurs cellulaires et contribue ainsi également à l'instabilité génétique en ciblant notamment des protéines impliquées dans les voies de réparation de l'ADN (Ku70, Ku80,...). Enfin, HBZ a récemment été impliquée dans des dérégulations de l'épissage contribuant à la modulation du transcriptome dans les cellules infectées⁸¹ (Shallak et al., 2022; Vandermeulen et al., 2021; Rushing et al., 2018).

⁸¹ Récemment montré dans des cellules ATL par Vandermeulen et al. 2021.

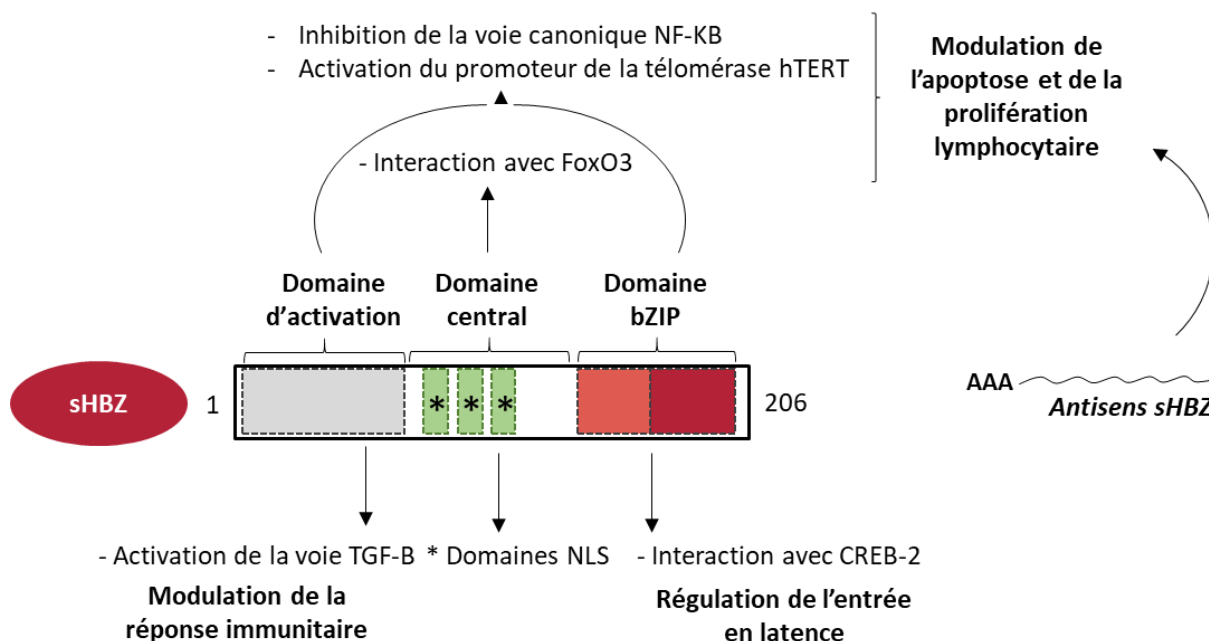


Figure 15. Représentation schématique des domaines protéiques de l'isoforme sHBZ et son implication dans la réplication virale et la pathogenèse d'HTLV-1. L'isoforme sHBZ correspond à la forme épissée de l'ARN antisens (sHBZ), isoforme qui est la plus abondante. NLS : Nuclear Localisation Signal. Les domaines d'activation et bZIP sont conjointement impliqués dans l'inhibition de la voie NF-KB et l'activation du promoteur de la télomérase hTERT.

HBZ module également la réponse immunitaire : l'expression d'HBZ dans les LT-CD4⁺ est associée à une modification de leur phénotype (en cellules T régulatrices ou Treg). Ce changement de phénotype est dû à une activation de la voie du TGF- β par l'induction de l'expression du facteur FoxP3 (Figure 15). HBZ favorise également la production d'IL-10 (favorise l'expression de TIGIT en surface des LT infectés) et diminue l'expression d'IL-2 (activatrice de la réponse cytotoxique), d'IFN- γ et de TNF- α (sous la dépendance des voies de signalisation NFAT et AP-1) contribuant à établir un déséquilibre des cytokines pro et anti-inflammatoires (El Hajj and Bazarbachi, 2022; Mulherkar et al., 2022; Bangham and Ratner, 2015). De manière intéressante, la répartition cellulaire d'HBZ varie entre les patients ATL et HAM/TSP : elle est retrouvée majoritairement dans le noyau des cellules ATL, alors que chez les patients HAM/TSP HBZ se localise dans le cytoplasme, suggérant des fonctions différentes pour HBZ selon sa répartition (Baratella et al., 2017).

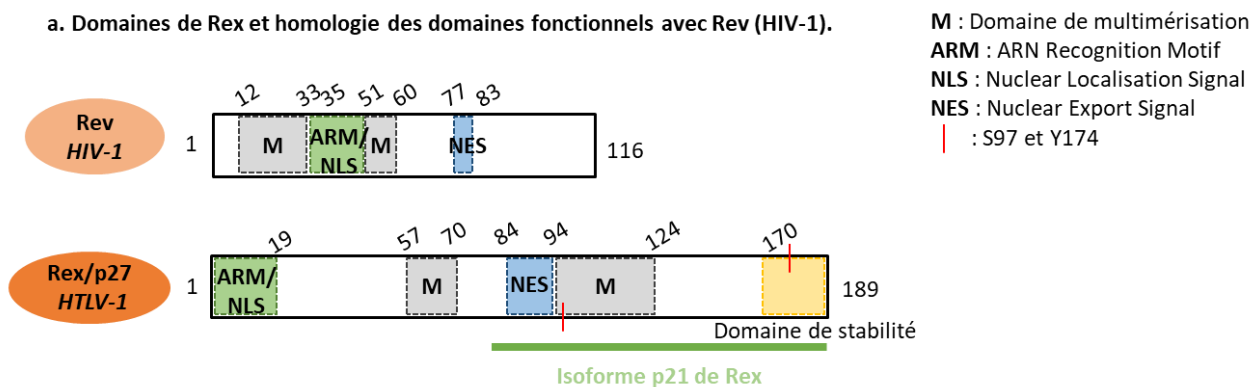
3. La protéine virale Rex

Rex/p27 est principalement décrite pour son rôle de rétrotransporteur viral des ARNv : en se fixant au *Rex Responsive Element* (RxRE) situé dans la région 3'UTR⁸² des ARNm_v, et d'autre part à l'exportine CRM1/XPO-1, grâce à son domaine NES (Figure 16). Les motifs RxRE sont définis par 255 nucléotides qui forment une structure secondaire stable constituée de 4 structures tige-boucle. Très particulière, cette structure favorise la polyadénylation des

⁸² Entre les régions nommées U3 et R du 3'LTR.

ARNv en ramenant le signal de polyadénylation proche du site de polyadénylation (*Bar-Shira et al., 1991*). Ces motifs permettent également de recruter spécifiquement Rex sur l'ARN viral (*D'Agostino et al., 2019; Nakano and Watanabe, 2016*). L'interaction de Rex avec le RxRE se fait au niveau du domaine ARM de Rex (ARN Recognition Motif) (**Figure 16a**). Bien que ces motifs RxRE soient présents sur tous les transcrits d'HTLV-1, il est montré que Rex régule différemment l'export des ARN viraux : l'export de l'ARNv génomique, des ARNv *env*, *p12/8* et *p13* ainsi que *p30* est sous la dépendance de Rex (*Cavallari et al., 2016*). En revanche, l'export des ARNv *tax/rex* et *p21rex* serait indépendant de Rex, bien qu'une autre étude montre que Rex stimulerait partiellement l'expression de Tax, notamment via un export de *tax/rex* (*D'Agostino et al., 2019; Nakano and Watanabe, 2016; Cavallari et al., 2016; Bai et al., 2012*). De manière intéressante, il est montré que le facteur cellulaire hnRNPA1⁸³ entre en compétition avec Rex pour la formation du complexe Rex-RxRE et serait ainsi impliqué dans cette modulation de l'export par Rex (*Kress et al., 2005; Dodon et al., 2002*). Quoiqu'il en soit, même si le mécanisme n'est pas bien décrit au niveau moléculaire, la fixation de Rex aux ARNv leur permettrait d'échapper à l'épissage et contribuerait à leur stabilité (*Gröne et al., 1996*).

a. Domaines de Rex et homologie des domaines fonctionnels avec Rev (HIV-1).



b. Comparatif de constitution des complexes d'export de l'ARNv entre HIV-1 (Rev-dep) et HTLV-1 (Rex-dep.).

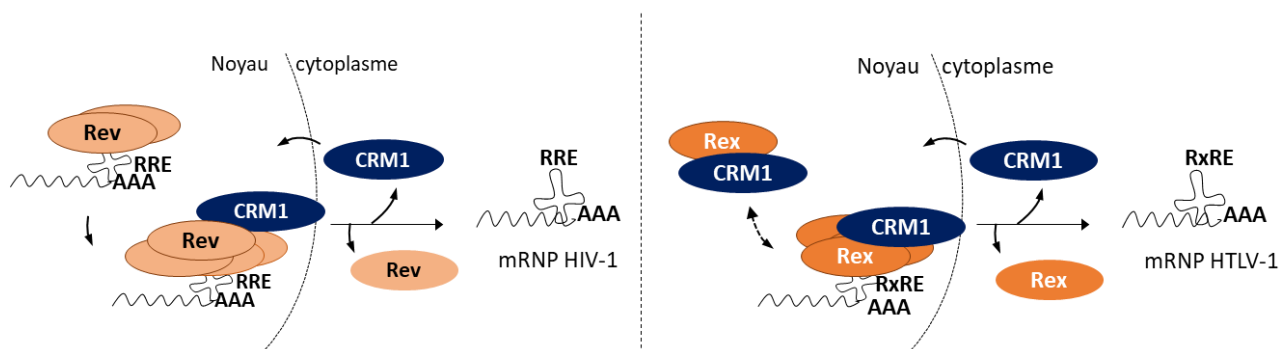


Figure 16. La protéine virale Rex d'HTLV-1.

La protéine Rex est beaucoup décrite en regard de son homologue fonctionnel, Rev d'HIV-1, impliquée également dans l'export des ARN viraux : les domaines NES et de multimérisation sont également retrouvés chez Rev (**Figure 16b**) (*Nakano and Watanabe, 2016; Shida, 2012*). Les étapes de constitution du complexe d'export RRE-Rev-CRM1-RanGTP sont

⁸³ heterogeneous nuclear RiboNucleoProtein A1.

plutôt bien décrites : un dimère de Rev se lie au RRE⁸⁴, puis multimérise (jusqu'à 8 molécules de Rev ont été retrouvées sur l'ARN viral). C'est cette multimérisation de Rev qui permet de recruter CRM1. A l'image des complexes cargo-CRM1-RanGTP, la constitution du complexe (ARNv)RRE-Rev-CRM1-RanGTP semble être un processus hautement coopératif (*Bai et al., 2014; Booth et al., 2014; Jayaraman et al., 2014; Zimmel et al., 1996*). A l'inverse, la constitution du complexe RxRE-Rex-CRM1-RanGTP n'est pour le moment que peu investiguée (*cf. discussion*). Néanmoins, grâce aux travaux d'*Hakata et al.*, il est montré que Rex nécessite de se multimériser pour se lier au domaine RxRE. Leurs résultats suggèrent également que la liaison de Rex à CRM1 serait impliquée dans la multimérisation de Rex. Aussi, il est actuellement proposé que Rex s'associe d'abord à CRM1, pour se multimériser et ensuite se lier au RxRE (*Shida, 2012; Hakata et al., 2003, 1998*). Si Rex et Rev partagent une certaine homologie fonctionnelle, l'homologie de séquence reste modeste et les différences de structures adoptées (non disponibles à ce jour) pourraient expliquer les différences moléculaires de constitution du complexe d'export.

Rex présente un domaine NLS⁸⁵ et NES lui permettant de faire la navette entre le noyau et le cytoplasme : une interaction avec l'Importine β 1 est décrite pour son import dans le noyau (*Palmeri and Malim, 1999*) ; il est également suggéré que Rex puisse s'exporter via CRM1 hors du contexte de l'export de l'ARN viral (*Heger et al., 1998*). Un domaine impliqué dans la stabilité de la protéine a été décrit dans la région C-terminale de Rex (a.a 170-189)(*Nakano et al., 2022a*). Rex possède également plusieurs résidus phosphorylables impliqués dans une régulation fine de sa fonction dont deux sont particulièrement impliqués dans l'efficacité de l'export des ARNv (S97 et Y174 ; **Figure 16a**) (*Kesic et al., 2009*). La protéine virale Rex existe sous 2 isoformes : une longue, p27 et une plus courte, p21. L'isoforme courte correspond au 2/3 C-terminal de la protéine et ne possède donc pas le domaine ARM/NLS : elle est uniquement cytoplasmique et n'a pas de fonction dans l'export de l'ARN viral (*Bai et al., 2012*). De manière intéressante, chez les patients porteurs asymptomatiques et ATL, Rex/p21 est tout de même retrouvée constitutivement exprimée dans les cellules du sang circulant (*Saiga et al., 1996; Berneman et al., 1992*). Pour autant, aucun rôle ne lui est encore attribué à ce jour.

Si la fonction d'export a longtemps été l'unique fonction décrite pour Rex, un nombre croissant d'études récentes suggèrent que Rex pourrait avoir des fonctions bien plus larges dans l'établissement d'un environnement favorable à la réplication d'HTLV-1. Notamment, il a été suggéré que Rex pourrait inhiber le NMD⁸⁶ et ainsi contribuer à la protection du génome viral (*cf. discussion ; (Nakano et al., 2013)*). De plus, s'il était déjà suggéré que Rex pourrait contribuer à réduire l'activité d'épissage de la cellule hôte, *Nakano et al.*, ont récemment confirmé cet impact de Rex sur l'épissage : au travers d'une étude de l'interactome de Rex, ils trouvent une interaction avec les protéines NONO et SFPQ, impliquées dans la régulation de la transcription et l'épissage (*Nakano et al., 2022b; Gröne et al., 1996*). En lien avec cette interaction, les profils d'expression et d'épissage d'une grande variété de gènes sont significativement modifiés par

⁸⁴ Bien qu'un monomère de Rev puisse lier le RRE, c'est la dimérisation qui facilite la liaison au RRE.

⁸⁵ Qui se superpose au domaine ARM ; se superpose également au domaine de liaison à la protéine auxiliaire p30.

⁸⁶ En redondance avec la protéine virale Tax ; récemment un mécanisme d'inhibition du NMD par Rex a été proposé par *Nakano et al., 2022* et sera discuté plus tard dans ce manuscrit.

l'expression de Rex. Ils valident notamment cet effet de Rex sur l'épissage au niveau de l'ARNm *vPD-L1*, où une forme alternative sans l'exon 4⁸⁷ est significativement plus exprimée dans les cellules exprimant Rex. L'expression de *PD-L1*^{wt} conduit à une protéine native transmembranaire (CD274) alors que l'expression de *vPD-L1* conduit à une forme tronquée du domaine d'ancrage à la membrane et, de fait, elle est excrétée par les cellules. De manière intéressante, les auteurs montrent que l'expression de cette forme tronquée, dont l'ARN contient un codon stop prématuré, est rendu possible par l'inhibition du NMD. PD-L1 est le ligand du récepteur PD-1 (Programmed cell death protein 1) (Nakano et al., 2022b). PD-L1 est retrouvé à la surface des cellules présentatrices d'antigènes telles que les cellules dendritiques et les macrophages et se lie à PD-1 exprimé à la surface des LT cytotoxiques CD8⁺ pour inhiber leur activité cytotoxique. PD-L1 est surexprimée dans plusieurs types de tumeurs où elle permet notamment une évaison au système immunitaire (Guo et al., 2022; Nakano et al., 2022b; Kuzevanova et al., 2022; Jiang et al., 2022; Jubel et al., 2020; Schönrich and Raftery, 2019). Enfin, si l'interactome de Rex établi par Nakano et al., retrouve une interaction avec près de 80 facteurs cellulaires notamment impliqués dans la transcription, l'épissage, la traduction et le contrôle qualité de l'ARN, aucun lien clair n'est à ce jour encore établi entre Rex et la pathogénicité d'HTLV-1.

C. Les protéines auxiliaires

Les protéines auxiliaires p12/p8, p13 et p30 sont traduites à partir d'ARNv doublement épissés (codées par l'ORF I pour p12 et II pour p13 et p30). Initialement appelée protéines accessoires parce que non nécessaires à la réplication du virus *in vitro*, elles sont tout de même impliquées dans l'infectiosité et la persistance *in vivo* d'HTLV-1 (Omsland et al., 2020; Moles et al., 2019; Sarkis et al., 2019; Derse et al., 1997).

1. Les protéines p12/p8

Les protéines p12/p8 contribuent toutes deux à l'infectiosité et la persistance d'HTLV-1 (**Table 3B**). Dans le RE (Réticulum Endoplasmique), la protéine p12 est clivée par protéolyse donnant la protéine p8 qui est montrée comme favorisant la formation des contacts cellule - cellule : l'adhésion des cellules T infectées aux cellules non infectées est favorisée par l'induction d'un clustering à la membrane de la protéine antigène-1 associé à la fonction lymphocytaire (LFA-1). De plus, p8 est associée à une augmentation du nombre et de la longueur des conduits cellulaires entre les cellules T, favorisant ainsi la transmission d'HTLV-1 (Sarkis et al., 2019).

Il est également montré que p12/p8 sont impliquées dans l'activation de la prolifération lymphocytaire (indépendamment de l'interleukine (IL-2)) via plusieurs mécanismes : **(1)** dans le réticulum endoplasmique (RE), p12 se lie aux formes immatures des sous-unités β et γ du récepteur de l'interleukine-2 (IL-2) et les retient, réduisant leur adressage à la membrane plasmique. L'accumulation des chaînes γ et β du récepteur IL-2R via p12 entraîne également la

⁸⁷ Sur 7 exon dans le transcrit natif.

phosphorylation du transducteur de signal et de l'activateur de transcription 5 (STAT5) en l'absence d'IL-2, permettant la translocation de STAT5 vers le noyau pour favoriser la prolifération cellulaire ; **(2)** p12 module également la libération des ions calcium (Ca^{2+}) du RE en se liant à la calréticuline et à la calnexine. La libération de Ca^{2+} inhibe la liaison de la calcineurine au facteur nucléaire des cellules T (NFAT), empêchant sa déphosphorylation, sa translocation nucléaire, l'induction de l'expression de l'IL-2 et l'activation des cellules T via la voie de l'IL-2. p12 peut également inhiber la transduction NFAT-dépendante en liant directement la calcineurine (*Sarkis et al., 2019*).

2. La protéine p13

La protéine p13 est également impliquée dans la persistance de l'infection, par modulation de l'apoptose (1), modulation de l'homéostasie calcique (2) et de l'expression virale (3) (**Table 3B**). **(1)** p13 est impliquée dans la modulation de l'apoptose via une modulation de l'homéostasie potassique (K^+) : en s'accumulant dans la membrane mitochondriale interne, elle induit un courant K^+ entrant induisant une activation de la chaîne respiratoire, l'augmentation de la production de ROS et l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (PTP). Ceci aboutit à un "gonflement" des mitochondries et au déclenchement de l'apoptose. L'interaction de p13 avec l'enzyme de prénylation de Ras (farnesyl pyrophosphate synthase ou FPase) interfère avec le ciblage de Ras vers la membrane plasmique, contribuant également à l'apoptose. **(2)** p13 interfère également avec l'absorption de Ca^{2+} par les mitochondries, ce qui entraîne une accumulation locale de calcium cytosolique. **(3)** Lorsque p13 est coexprimée avec Tax, elle est stabilisée par ubiquitination. p13 s'accumule alors partiellement dans le noyau, où p13 et Tax sont colocalisées dans des structures subnucléaires, inhibant la transactivation du LTR par Tax⁸⁸ (*Omsland et al., 2020*).

3. La protéine p30

La protéine p30 est notamment impliquée dans la persistance virale en favorisant notamment l'entrée en latence (**Table 3B**) : il est montré qu'elle interagit directement avec Rex pour inhiber l'export des ARNv. De plus, en se localisant principalement dans le nucléole, elle réprime la réplication virale en y séquestrant l'ARNv *Tax/Rex* (*Nakano and Watanabe, 2016; Rende et al., 2012; Bai et al., 2010; Sinha-Datta et al., 2007*). Enfin, p30 est également capable de limiter l'assemblage du complexe CREB-Tax-p300 réprimant ainsi la transcription virale (*Moles et al., 2019*).

La protéine p30 bloque également la progression du cycle cellulaire (**Table 3B**). En l'absence de la protéine virale p30, la cycline CDK2 et la cycline E interagissent et permettent la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome (Rb). Lorsque Rb est phosphorylée, elle libère le facteur de transcription E2F qui transloque dans le noyau et active la transcription des gènes de transition de phase G1/S pour favoriser la prolifération des cellules T. En présence de p30, l'interaction entre CDK2 et cycline E et la phosphorylation de Rb sont modifiées. Dans ce

⁸⁸ Par une inhibition de l'interaction entre Tax et CBP/p300.

contexte, E2F est séquestré par Rb et est incapable d'activer l'expression des gènes de transition G1/S, conduisant à un arrêt du cycle cellulaire (Moles et al., 2019).

Il est également suggéré que p30 puisse activement soutenir la transformation oncogène : elle induit notamment l'acétylation de la protéine oncogène c-MYC, conduisant à favoriser la transcription des gènes cibles de c-MYC. Mais en parallèle, p30 inhibe l'apoptose induite par le stress génotoxique dépendant de c-MYC. p30 est également capable d'interagir avec les membres du complexe MRN, NBS1, et Rad50, essentiels à l'initiation de la réparation par recombinaison homologue. En présence de p30, la réparation de la recombinaison homologue est altérée, et les cassures doubles brins de l'ADN sont réparées préférentiellement par le NHEJ, ce qui peut conduire à des mutations génétiques. Enfin, il est montré que la protéine p30 contribue également à la suppression de la réponse à l'interféron dans les macrophages, où elle favoriserait la libération de cytokine anti-inflammatoires (IL-10) et inhibe la libération de cytokines anti-inflammatoires (MCP1, TNF- α , IL-8,...) (Moles et al., 2019).

Protéines auxiliaires d'HTLV-1	Rôles dans la persistance et la transmission virale	
p12/p8	<i>Transmission virale</i>	Favorise la formation des contacts cellule - cellule (clustering LFA-1)
	<i>Activation de la prolifération lymphocytaire</i>	(1) activation du récepteur à l'Interleukine 2 (IL-2) et de la voie de signalisation associée à STAT5 (2) modulation de la libération des ions calcium (Ca ²⁺) du RE ; inhibition de la transduction NFAT-dépendante
p13	<i>Modulation de l'apoptose</i>	Modulation de l'homéostasie potassique (K ⁺) et augmentation de la production de ROS mitochondriaux
	<i>Modulation de l'homéostasie calcique</i>	La potentielle coopération avec p12 dans la prolifération lymphocytaire n'est pas encore connue
	<i>Diminution de l'expression virale</i>	Inhibition de la transactivation du LTR par Tax
p30	<i>Diminution de l'expression virale</i>	Favorise l'entrée en latence par interaction avec Rex et par l'inhibition de la transactivation par Tax
	<i>Inhibition de la prolifération lymphocytaire</i>	Bloque la progression du cycle cellulaire

Table 3B. Rôles des différentes protéines auxiliaires d'HTLV-1 dans la persistance et la transmission virale.

Mécanismes de restriction du cycle réplcatif infectieux d'HTLV-1

III. L'émergence pathologique associée à HTLV-1 résulte donc d'un dialogue complexe entre les protéines virales et la réponse immunitaire. Or, dans les phases précoces de l'infection, en parallèle de l'initiation de la réponse immunitaire innée et avant l'établissement de la réponse adaptative, HTLV-1 peut être ciblé par plusieurs facteurs cellulaires de l'hôte, appelés facteurs de restriction. Cette immunité intrinsèque est, soit exprimée de manière constitutive, soit étroitement coordonnée avec l'immunité innée. Bien qu'elle constitue l'une des premières couches de défense de l'hôte, les connaissances sur son efficacité et son impact dans l'infection par HTLV-1 sont beaucoup moins exhaustives. Ces facteurs ont généralement été découverts et largement étudiés d'abord dans le cas de l'infection par HIV-1, aussi les données disponibles concernant leur capacité de restriction d'HTLV-1 sont moins nombreuses et parfois controversées. En effet, le manque d'études moléculaires sur les premiers stades de l'infection par HTLV-1 ainsi que le développement de contre-mesures virales rendent parfois difficile la possibilité d'établir clairement le statut de facteur de restriction (*Prochasson et al., 2020*). Quoiqu'il en soit, cette immunité intrinsèque s'appuie sur un ensemble large et diversifié de processus antiviraux : les protéines TRIM (tripartite motif-containing protein), SAMHD1 (la protéine 1 contenant un domaine SAM et un domaine HD), la famille APOBEC (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like), les miARN, le facteur CIITA (Major Histocompatibility Complex class II transactivator), la protéine ZAP (Zinc finger Antiviral Protein), le NMD et la protéine BTS2/Tetherine ont toutes et tous fait l'objet d'études pour évaluer leurs effets sur la réplication du HTLV-1 (**Figure 17**) (*Carcone et al., 2022; Prochasson et al., 2020*). Aussi, dans la suite de cette introduction, ces différents mécanismes de restriction mis en place par la cellule hôte seront présentés en regard du cycle viral d'HTLV-1.

Le cycle viral est classiquement subdivisé en deux phases : de l'entrée à l'intégration du génome viral dans le génome de la cellule hôte constituant la phase précoce (abordée ici dans les points A et B) puis de la synthèse des transcrits viraux jusqu'au bourgeonnement de nouvelles particules virales constituant la phase dite tardive du cycle viral (abordée ici dans les points C à E).

A. Attachement et fusion

Comme introduit plus tôt, HTLV-1 possède un tropisme cellulaire principalement pour les LT-CD4⁺ bien qu'il ait le potentiel d'infecter une grande variété d'autres cellules *in vitro*. Cette diversité de tropisme s'explique en partie par le fait que la protéine SU/gp46 est capable d'interagir séquentiellement avec trois récepteurs de surface largement distribués : le protéoglycane héparine-sulfate HSPG, le récepteur au VEGF-165 appelé neuropiline-1 (NRP-1) et le transporteur du glucose GLUT1. Le processus d'entrée dans la cellule implique les étapes suivantes : attachement du virus, stabilisation de la liaison avec la membrane cellulaire et fusion des membranes virale-cellule cible (*Martin et al., 2016; Pique and Jones, 2012*).

Il est montré que l'attachement du virus se fait par une interaction entre la protéine virale gp46 avec les chaînes HS des protéoglycanes présents à la surface des cellules. Cette interaction

va favoriser l'interaction des HSPG avec la NRP-1 et permettre la formation d'un complexe, probablement stabilisateur de la particule virale à la surface de la cellule ; c'est cette liaison de gp46 aux complexes HSPG/NRP-1 qui expose ensuite le domaine de liaison à GLUT1. *In fine*, ceci va permettre la liaison du complexe gp46/HSPG/NRP-1 et de la protéine virale gp21 à GLUT1. L'ensemble de ces interactions déclenchent le processus de fusion permettant l'entrée de la capside d'HTLV-1 dans le cytoplasme de la cellule hôte (Martin et al., 2016; Pique and Jones, 2012). Actuellement, les facteurs ainsi que les mécanismes qui sont à l'œuvre pour l'étape de décapsidation du génome viral d'HTLV-1 ne sont pas connus, mais pourraient être étroitement liés à l'étape suivante de rétrotranscription (Martin et al., 2016).

Immédiatement après l'entrée dans la cellule et avant la rétrotranscription, les facteurs antiviraux de la famille TRIM (TRIM5α, TRIM22 et TRIM19/PML) limiteraient l'étape de décapsidation en reconnaissant des déterminants de la capside, bien que cela n'ait pas encore été complètement étudié au niveau mécanistique pour HTLV-1 (Figure 17; Table 3C).

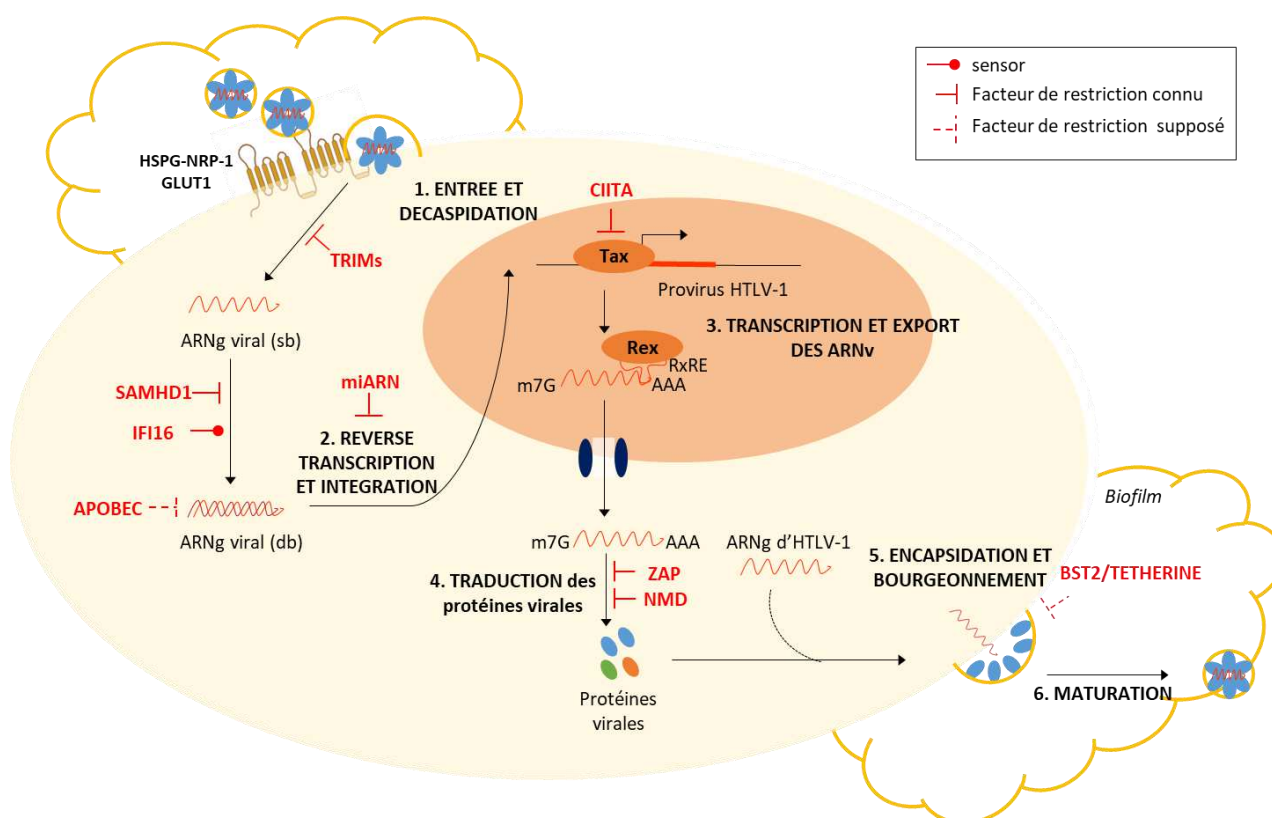


Figure 17. Cycle réplcatif d'HTLV-1 et restriction par les facteurs de la cellule hôte.

B. Rétrotranscription, import nucléaire et intégration du génome viral

Avant l'intégration dans le génome de la cellule hôte, le génome viral sous forme d'ARN simple brin positif est donc rétrotranscrit en ADN doubles brins par la transcriptase inverse (RT). A l'image de ce qui est décrit chez HIV-1, le processus de rétrotranscription se

ferait tout au long du trajet entre le cytoplasme et le noyau de la cellule hôte, avec la production de produits intermédiaires de rétrotranscription (RTI) qui, associés aux enzymes virales (RT et IN), forment les Complexes de Pré-Intégration (CPI) ou de Reverse Transcription (RTC). Ces RTC sont probablement protégés des facteurs cellulaires hôtes par le cœur de la capsid tout au long du trajet jusqu'au noyau (*Scoca and Di Nunzio, 2021; Martin et al., 2016*). Puis les RTC sont importés dans le noyau. La séquence d'ADN rétrotranscrite contient les éléments de séquence nécessaires à l'intégration et à l'expression ultérieure du provirus (forme intégrée dans le génome de la cellule hôte) (*Aiken and Rousso, 2021; Martin et al., 2016*). Si plusieurs études s'accordent à montrer qu'HTLV-1 s'intègre de manière aléatoire dans le génome, il est admis que le site d'intégration est probablement un facteur qui participe à l'émergence pathologique (*Martin et al., 2016; Cook et al., 2014; Niederer et al., 2014*).

En se basant notamment sur les études réalisées chez HIV-1, il est possible que cette étape de reverse transcription soit ciblée par plusieurs facteurs de restriction viraux (*Carcone et al., 2022; Prochasson et al., 2020*) (**Figure 17; Table 3C**). Notamment, l'étape de transcription inverse pourrait être limitée à un stade précoce par SAMHD1, une enzyme qui diminue le *pool* disponible de dNTP cellulaires. Les RTI peuvent également stimuler l'induction de la réponse immunitaire par l'interféron : pour HTLV-1, il est montré que c'est la protéine IFI16⁸⁹ qui agirait comme un sensor des intermédiaires de rétrotranscription d'HTLV-1 (*Yang et al., 2018*). Le rôle des miARN dans la restriction de l'infection par HTLV-1 est apparu récemment : en ciblant une séquence conservée de l'ARNg d'HTLV-1, miR-28-3p s'est révélé être un inhibiteur de l'étape d'intégration, probablement en empêchant la formation du complexe de pré intégration. Enfin, l'enzyme d'édition C->U APOBEC3G pourrait également cibler le produit de la rétrotranscription avant son intégration. Son action restrictive consisterait à générer des mutations introductrices de codon stop prématurés dans le génome d'HTLV-1. Néanmoins, son rôle dans la restriction de la réplication d'HTLV-1 reste controversé (**Table 3C**).

C. Transcription du génome viral et export des ARN viraux

Après intégration dans le génome de la cellule hôte, le génome viral est transcrit par la machinerie cellulaire. En l'absence de Rex et aux premiers stades de l'infection, c'est l'ARNv *tax/rex* qui est transcrit par la machinerie cellulaires. Du fait d'une séquence Kozak plus forte, Tax est davantage traduit, puis retourne au noyau. Ensuite, Tax stimule la transcription de l'ARNv entraînant l'accumulation progressive de Rex dans la cellule infectée. Une fois que la quantité de Rex est suffisante, les ARNv sont exportés permettant la traduction des protéines structurales et enzymes virales Gag, Pro, Pol et Env (*Nakano and Watanabe, 2016; Rende et al., 2012*).

Plusieurs facteurs de la cellule hôte peuvent interférer directement avec la transcription du génome viral (*Martin et al., 2016*) (**Figure 17; Table 3C**). Notamment, le facteur CIITA a été montré comme capable de restreindre l'expression d'HTLV-1 en interagissant directement avec Tax et empêchant sa capacité de transactivation du LTR (*Forlani et al., 2019*).

⁸⁹ Interferon (IFN)-inducible protein 16.

D. Traduction des protéines virales

Arrivés dans le cytoplasme, les ARNv sont traduits par la machinerie de la cellule hôte. Il est montré que les ARNv doublement épissés et non épissés sont traduits par des ribosomes libres, tandis qu'*env* serait traduit par des ribosomes liés à la membrane du réticulum endoplasmique. Il est supposé que l'ARNv génomique complet est soit traduit, soit transporté vers la membrane plasmique pour l'étape de formation des virions (*Martin et al., 2016; Coffin et al., 1997*). De nombreux virus à ARN utilisent un mécanisme indépendant de la coiffe pour recruter la sous-unité ribosomique 40S via une séquence IRES (région structurée de l'ARNm permettant le recrutement des facteurs d'initiation de la traduction) dans la région 5'UTR de l'ARNv (*Martin et al., 2016; Sarnow et al., 2005; Jackson, 2005*). Si une étude montre que la traduction d'HTLV-1 est inhibée par l'utilisation d'un inhibiteur de la traduction coiffe-indépendante (Edéine), une autre étude suggère quant à elle que des mécanismes coiffe-dépendant pourraient exister pour HTLV-1 (*Olivares et al., 2014; Attal et al., 1996*). Aussi, il est probable qu'HTLV-1 utilise plusieurs mécanismes pour la traduction de ces ARNv.

La protéine antivirale à doigts de zinc (ZAP) est capable de cibler un grand nombre d'ARN viraux⁹⁰ au niveau d'éléments de réponse spécifiques (ZRE) qui sont des séquences riches en îlots CpG. Pour autant, les paramètres permettant à ZAP de discriminer les ARNv des ARNm cellulaires sont à ce jour mal connus (*Gonçalves-Carneiro et al., 2022*). ZAP recruterait des facteurs de dégradation tels que la deadénylase PARN et l'enzyme de décapping DCP1. Récemment, *Miyazato et al.*, ont démontré la sensibilité d'HTLV-1 à la dégradation par la voie impliquant la protéine ZAP (*Miyazato et al., 2019*) (**Figure 17; Table 3C**). Il s'avère que l'ARNg d'HTLV-1 peut également être ciblé par la voie du Nonsense-Mediated Decay (NMD). Comme introduit plus tôt dans le chapitre II, le NMD est un processus co-translationnel de dégradation des ARNm, hautement régulé et organisé autour de l'hélicase à ARN UPF1. La sensibilité de l'ARNg d'HTLV-1 au NMD est suggérée par deux études : l'une montre qu'en condition de surexpression d'UPF1, l'ARN génomique d'HTLV-1 a une demi-vie plus faible, suggérant que sa dégradation est sous la dépendance d'UPF1 (*Nakano et al., 2013*) ; une seconde étude réalisée en conditions de déplétion d'UPF1 montre une augmentation significative de l'expression de tous les ARN viraux d'HTLV-1, allant dans le sens également d'une restriction de leur expression médiée par UPF1 (*Mocquet et al., 2012*) (**Figure 17; Table 3C**). Un autre argument en faveur de la restriction de la réplication d'HTLV-1 par le NMD est l'existence d'au moins un mécanisme d'inhibition du NMD, réalisé par la protéine virale Tax (*Fiorini et al., 2018*).

E. Assemblage, bourgeonnement et maturation de la particule virale

La formation des particules virales nécessite un adressage de GAG^{pr55} à la membrane, ainsi que celui de l'ARNv génomique (ARNvg). La façon dont ils se déplacent du site de traduction vers la membrane est mal connue. Cependant, des formes monomériques de GAG^{pr55} existent dans le cytoplasme et sont détectées à la membrane peu après l'initiation de la traduction de la protéine virale (*Fogarty et al., 2011*). Et s'il est montré que les cellules infectées

⁹⁰ HIV-1, MLV (Murine Leukemia Virus), alphavirus, filovirus, HBV (Herpes Bovine Virus).

par HTLV-1 modifie la polarisation du cytosquelette, le lien avec le trafic de GAG^{pr55} vers la membrane plasmique n'est pour le moment pas bien établi (Barnard et al., 2005). Il est possible qu'à la manière de ce qui est décrit chez HIV-1, l'ARNvg se déplace de manière diffuse dans le cytoplasme jusqu'aux sites de bourgeonnement de la particule virale (Pocock et al., 2016; Chen et al., 2014).

Les interactions GAG^{pr55}-ARNv génomique, GAG^{pr55}-GAG^{pr55} et GAG^{pr55}-membrane sont démontrées comme nécessaires à l'assemblage et au bourgeonnement des particules virales (Martin et al., 2016; Zhang et al., 2015). GAG^{pr55} formerait des oligomères principalement par des interactions de son domaine CA (Capside) et dans une certaine mesure par son domaine NC (nucléocapside). En effet, le domaine NC possède un domaine C-terminal anionique qui a une faible affinité pour l'ARNvg. Aussi, il est proposé que ce soit davantage la protéine de matrice p19, qui présente une affinité plus importante pour l'ARNg, qui se lie à celui-ci pour l'encapsidation (Martin et al., 2018, 2017, 2016).

Une fois à la membrane plasmique, les sites d'assemblage et de bourgeonnement des particules virales sont généralement identifiés par des zones riches en lipides appelées radeaux lipidiques (Martin et al., 2016; Sonnino and Prinetti, 2013; Ono, 2009). Si une interaction particulière entre la protéine de matrice d'HIV-1 et le phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate (PI(4,5)P2) est décrite, il est montré que ce n'est pas le cas pour HTLV-1 (Inlora et al., 2014). Des facteurs cellulaires pourraient également être recrutés pour favoriser le bourgeonnement et la libération des particules virales immatures (PVI), comme montré pour HIV-1 (Lingappa et al., 2014). Pendant et/ou peu de temps après la libération des PVI, la protéase virale (PR) clive les polyprotéines GAG^{pr55} et POL ; p19 reste étroitement associée à la membrane plasmique ; la protéine CA forme la capsid qui contient la transcriptase inverse (RT), l'intégrase (IN) et l'ARNg associé à la protéine NC. La particule virale est alors mature, et capable d'infecter une autre cellule (Martin et al., 2016).

Pour HIV-1, il est montré que la protéine BST2/Tetherine inhibe la libération des virions en les maintenant à la surface de la cellule après l'étape de bourgeonnement. Concernant HTLV-1, il est suggéré que les virions naissants puissent être ciblés par BST2, et ainsi subir une endocytose et une dégradation (Ilinskaya et al., 2013). De manière intéressante, BST2 a été identifiée un composant du biofilm d'HTLV-1 (Maali et al., 2020). Néanmoins, l'implication réelle de BST2 dans la restriction de la réplication du HTLV-1 reste à déterminer (**Figure 17; Table 3C**).

Facteur de restriction antiviral	Mécanismes de restriction	Implication potentielle dans la restriction d'HTLV-1		Références
Famille TRIM (TRIM5α, TRIM22, TRIM19/PML,...)	Reconnait des éléments de la capsid virale ; Interfère avec le désassemblage de la particule virale ; possède une activité U3 ubiquitine ligase qui cible les composants du "core" viral	TRIM19/PML interfère avec la réplication d'HTLV-1 via la dégradation par le protéasome de Tax.	+	(Dassouki et al., 2015)
		Variant R136Q de TRIM5α est corrélé avec des charges virales plus faibles.	+	(Nozuma et al., 2017)
		Correlation négative entre les paramètres virologiques associés à HTLV-1 ou le statut clinique et l'expression de TRIM5α et TRIM22. Correlation négative entre les niveaux d'ARN tax et l'expression de TRIM19/PML.	+	(Leal et al., 2018)
SAMHD1	SAMHD1 diminue les quantités disponibles de dNTPs inhibant la reverse transcription ; elle module également l'activité antivirale en inhibant les voies NF-κB et interféron (Chen et al., 2018)	Pas d'effets sur l'expression d'HTLV-1 dans les macrophages et les LT CD4+.	-	(Gramberg et al., 2013)
		Réponse apoptotique médiée par SAMHD1 retrouvée dans les monocytes primaires humains.	+	(Sze et al., 2013)
		Pas de corrélation avec les paramètres HAM/TSP.	-	(Nozuma et al., 2017)
		SAMHD1 est corrélé négativement dans les cohortes HAM/TSP.	+	(Leal et al., 2018)
Famille APOBEC (APOBEC3A to G)	Enzyme éditrice de C → U pouvant mener à l'incorporation de codon stop après la reverse transcription (Yang et al., 2017; Salter et al., 2016)	APOBEC3G (h3AG) est encapsidée dans les virions HTLV-1. Le génome d'HTLV-1 pourrait être édité in vivo par h3AG, ainsi que d'autres membres de la famille APOBEC3 (A, B, C, F, and H).	+	(Ooms et al., 2012; Sasada et al., 2005; Mahieux et al., 2005)
		Des mutations G-en-A ne sont pas détectées dans les provirus issus de patients infectés. Les auteurs émettent l'hypothèse que la protéine HTLV-1 Gag réduirait l'encapsulation d'h3AG dans les virions (comparativement à HIV-1, où h3AG est retrouvée dans les virions).	-	(Derse et al., 2007; Mahieux et al., 2005)
		Des mutations "perte de d'expression" probablement générées par h3AG ont été retrouvées dans une étude menée sur 60 patients ATL.	+	(Fan et al., 2010)
		Niveau d'expression augmenté d'h3AG chez les porteurs asymptomatiques et les patients ATL.	+	(Kataoka et al., 2015)
		Pas de corrélation avec le statut clinique HAM/STP, la charge virale ou des mutations du génome viral.	-	(Nozuma et al., 2017)
		Correlation négative entre les membres de la famille des APOBEC3 et les niveaux de tax.	+	(Leal et al., 2018)
		Taux d'expression élevé d'h3AG dans des souris humanisées reproduisant la pathologie ATL.	+/-	(Yao et al., 2019)
CIITA	Interagit directement avec Tax	Empêche la capacité transactivatrice de Tax.	+	(Forlani et al., 2019; Tosi et al., 2011)
miARN	Cible l'ARNg d'HTLV-1	miR-28-3p réduit l'expression de toutes les protéines virales d'HTLV-1.	+	(Bai and Nicot, 2015)
Zinc finger Antiviral Protein (ZAP)	Cible les ARN viraux au niveau des éléments ZRE ; recrute des facteurs cellulaires de dégradation (PARN, DCP-1)	L'ARN d'HTLV-1 est ciblé par la protéine ZAP durant les phases précoces de l'infection.	+	(Miyazato et al., 2019)
Nonsense-Mediated Decay (NMD)	Cible les transcrits viraux pour leur dégradation (processus co-translationnel)	Augmentation des quantités de tous les ARNv d'HTLV-1 en condition de déplétion par UPF1 (facteur central du NMD).	+	(Mocquet et al., 2012)
		Diminution de la demi-vie de l'ARNg d'HTLV-1 en condition de surexpression d'UPF1.	+	(Nakano et al., 2013)

		Tax inhibe le NMD par une interaction avec l'hélicase UPF1.	+	(Fiorini et al., 2018)
BST2/Tetherine	Inhibe la libération des virions enveloppés en les maintenant à la surface des cellules, permettant leur endocytose et leur dégradation ; retrouvée dans le biofilm d'HTLV-1	Absence de corrélation avec la transmission cellule-cellule mais n'excluent pas une restriction potentielle par BST2	-	(Ilinskaya et al., 2013)
		Pas de corrélation avec les paramètres liés à l'HAM/TSP.	-	(Nozuma et al., 2017)
		BST2 est corrélée négativement avec le statut HAM/TSP.	+	(Leal et al., 2018)

Table 3C. Implications des facteurs cellulaires dans la restriction par HTLV-1.

TRIM5α, TRIM22 et TRIM19/PML. Nozuma et al. décrivent grâce à un séquençage de l'exome entier dans une cohorte de 113 patients HAM/TSP, deux variantes rares dans TRIM5α qui semblent être liées à des charges provirales (PVL) différentielles (Nozuma et al., 2017). Les patients porteurs du polymorphisme R136Q, que l'on retrouve également plus fréquemment chez les personnes résistantes à HIV-1 (Price et al., 2010; Javanbakht et al., 2006), présentent des PVL plus faibles alors que les patients porteurs du variant H304L présentent des PVL plus élevés (Nozuma et al., 2017). De même, dans une autre cohorte HAM/TSP, Leal et al. montrent une corrélation négative entre d'une part les paramètres virologiques ou le statut clinique HTLV-1 et d'autre part l'expression de TRIM5α et TRIM22 (Leal et al., 2018). D'autres membres de la famille TRIM, TRIM19/PML, sont également corrélés négativement avec le niveau d'expression de l'ARN *tax* d'HTLV-1. En lien avec cette observation, TRIM19/PL est déjà décrite comme interférant avec la réplication d'HTLV-1 via la dégradation protéosomale de Tax, dans des cas d'ATL (Leal et al., 2018). Toutes ces données renforcent l'implication potentielle de la famille TRIM dans la restriction précoce de la réplication d'HTLV-1.

SAMHD1. SAMHD1 est une désoxynucléoside triphosphate triphosphohydrolase qui convertit normalement en une seule étape les dNTP en nucléosides. En réduisant le *pool* de dNTPs disponibles en dessous d'un niveau suffisant pour soutenir la transcription inverse, SAMHD1 est capable de limiter la rétrotranscription d'un large éventail de rétrovirus, y compris HIV-1, aux étapes précoces de la RT (Baldauf et al., 2012; Goldstone et al., 2011). De plus, SAMHD1 pourrait présenter une capacité à moduler l'activité antivirale par l'inhibition des voies NF-κB et interféron (Chen et al., 2018). En ce qui concerne HTLV-1, Gramberg et al. ont démontré que dans les macrophages et les cellules T CD4+ cyclisés, le virus n'était pas bloqué par SAMHD1 et conduisait à la production de Tax (Gramberg et al., 2013). D'autre part, l'infection par HTLV-1 de monocytes primaires déclenche une réponse apoptotique médiée par SAMHD1 via le recrutement cellulaire de STING, un capteur d'intermédiaires de transcription inverse (Sze et al., 2013), ce qui est cohérent avec la déplétion des monocytes observée chez les patients infectés par HTLV-1 (Nascimento et al., 2011; Makino et al., 2000). Leal et al. ont retrouvé SAMHD1 dans ce qu'ils définissent comme le "cluster antiviral élargi", alors qu'aucun polymorphisme significatif de SAMHD1 ne semble être associé à l'HAM/TSP dans l'étude de Nozuma et al., soulignant la nécessité d'études supplémentaires pour évaluer l'implication de SAMHD1 dans la restriction et/ou la pathogenèse du HTLV-1.

Famille APOBEC. L'implication potentielle de la sous-famille APOBEC3 (APOBEC3A à H) est l'une des plus documentées chez HTLV-1. La sous-famille APOBEC3 regroupe un ensemble d'enzymes d'édition dC->U qui peuvent induire la conversion de la cytosine en uracile. Leur action est visible par l'incorporation d'une mutation G->A dans le génome rétroviral, pouvant introduire des codons stop prématurés (Yang et al., 2017; Salter et al., 2016). Il a d'abord été supposé que, comme pour HIV-1, APOBEC3G (h3AG) serait incorporée dans les virions HTLV-1. Au cours du cycle d'infection suivant, h3AG pourrait alors inhiber la réplication du HTLV-1 au début de la rétrotranscription en se liant à l'ADN ou à l'ARN viral, ce qui entraînerait une mutation G vers A dans l'ADN du brin viral négatif

nouvellement synthétisé ou la dégradation de la transcription inverse riche en dU (*Sasada et al., 2005; Mangeat et al., 2003*). Malgré la première étude démontrant l'incorporation d'APOBEC3G dans les virions d'HTLV-1 (*Sasada et al., 2005*) et le fait que le génome de HTLV-1 puisse être modifié *in vivo* par hA3G, ainsi que par d'autres membres de hA3 (A, B, C, F et H) (*Ooms et al., 2012; Mahieux et al., 2005*), HTLV-1 semble être plus résistant à APOBEC3G que le VIH-1. Il est suggéré que cette résistance soit liée à un motif de GAG d'HTLV-1 qui réduit considérablement l'encapsidation d'hA3G dans les virions (*Derse et al., 2007*). HTLV-1 se réplique principalement par expansion clonale induite par Tax plutôt que par transcription inverse et, de manière cohérente, les mutations G vers A n'ont pas été détectées dans les provirus des patients infectés, soutenant une implication limitée de la famille APOBEC dans la restriction du HTLV-1 (*Mahieux et al., 2005*). Pourtant, dans le cas des patients ATL et des porteurs asymptomatiques (AC), l'hypothèse que les mutations non-sens générées par hA3G dans le génome viral permettaient d'échapper au système immunitaire des cellules infectées par le HTLV-1 a été émise. Les auteurs ont observé dans une cohorte de 60 cas d'ATL des mutations de perte d'expression dans d'autres gènes viraux, dont *tax*, alors que l'oncogène *hbx* restait intact (*Fan et al., 2010*). De manière cohérente, *Leal et al.*, ont retrouvé dans leur " cluster antiviral élargi " une corrélation négative entre les membres de la famille APOBEC3 et les niveaux d'ARN *tax* davantage que la charge provirale ou le statut clinique HAM/TSP. Il est intéressant de noter qu'une augmentation de hA3B, mais pas de hA3G, a été récemment rapportée chez des souris humanisées infectées par le HTLV-1 et présentant des caractéristiques similaires à celles des ATL (*Yao et al., 2019*), en accord avec une autre analyse moléculaire intégrée montrant une expression augmentée d'hA3B dans une grande cohorte d'ATL et de patients asymptomatiques (*Kataoka et al., 2015*). D'autre part, des niveaux similaires de toutes les enzymes APOBEC3 ont été trouvés dans les cohortes HAM/TSP par rapport aux caractéristiques des donneurs sains (*Yao et al., 2019*), et aucune différence significative n'a été observée dans les états cliniques, les PVL ou les mutations virales concernant la famille APOBEC dans la cohorte HAM/TSP de *Nozuma et al.* Toutes ces données montrent que l'implication de la famille APOBEC dans la restriction ou la pathogenèse de la réplication du HTLV-1 est encore assez contradictoire.

CHAPITRE IV : TRAVAUX REALISES DURANT LA THESE

PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

I. Dans les phases précoces de l'infection et avant l'établissement d'une réponse immunitaire adaptative, HTLV-1 peut donc être ciblé par plusieurs facteurs cellulaires de l'hôte à différentes étapes du cycle de réplication virale. Cette immunité intrinsèque repose sur une grande diversité de processus antiviraux. Mais la persistance même des infections par HTLV-1 suggère que ces mécanismes ne parviennent pas à restreindre entièrement le virus et/ou qu'HTLV-1 a évolué vers le développement de contre-mesures, sinon complètes, du moins suffisamment efficaces pour permettre une expression minimale. Parmi ces mécanismes de restriction virale, ce travail de thèse est centré sur une des voies de dégradation de l'ARNm appelée Nonsense Mediated Decay (NMD), qui peut cibler plusieurs ARN viraux y compris l'ARN génomique non épissé d'HTLV-1. De fait, le NMD est décrit comme un processus de restriction antivirale et dépend de l'hélicase à ARN/ADN UPF1 qui peut donc être considérée comme un facteur de restriction de la cellule hôte.

L'ARN génomique d'HTLV-1 étant sensible au NMD, HTLV-1 a développé plusieurs stratégies d'inhibition du NMD qui reposent sur deux protéines virales : Tax, pour laquelle le mécanisme est bien décrit et passe par une interaction avec UPF1, et Rex pour laquelle aucun mécanisme n'est encore décrit. En revanche, Rex est connue pour sa fonction dans l'export des ARN viraux non ou partiellement épissés via l'exportine CRM1. UPF1 étant une protéine cargo retrouvée dans l'exportome de CRM1, nous avons posé l'hypothèse première que l'inhibition du NMD observée pour Rex pouvait être en lien avec une dérégulation de l'export CRM1-dépendant d'UPF1, hélicase centrale du NMD. De manière intéressante, Rex est l'homologue fonctionnel d'un autre rétrotransporteur de l'ARN viral, Rev d'HIV-1. Et si pour HIV-1, la présence d'UPF1 dans le complexe d'export de l'ARN viral CRM1-Rev-UPF1 est déjà décrite, rien n'est établi concernant l'inhibition du NMD par HIV-1. Aussi, nous avons cherché à établir si HIV-1 était capable d'inhiber le NMD, et nous nous sommes interrogés quant à l'existence d'un mécanisme commun d'inhibition du NMD par les rétrotransporteurs Rex et Rev chez HTLV-1 et HIV-1. Les résultats associés à ces deux problématiques sont présentés dans la publication scientifique en cours de soumission (Partie A du chapitre suivant).

Enfin, étant donné que d'une part UPF1 est actuellement associée à l'oncogenèse non viro-induite et d'autre part CRM1 étant de plus en plus décrit comme un « oncogénique driver », la question d'un détournement de l'export d'UPF1 comme mécanisme d'inhibition du NMD ouvre une autre question : le NMD pourrait-il être régulé par l'export CRM1 ? En effet, si un lien entre l'export CRM1 et la régulation du NMD est déjà suggéré par le fait que plusieurs facteurs du NMD (notamment UPF2, UPF3B) sont retrouvés dans l'exportome de CRM1, rien n'est encore établi. Nous avons donc cherché à déterminer si des dérégulations de l'export CRM1 pouvait impacter la régulation du NMD. Les résultats associés à cette troisième problématique sont présentés dans la partie B du chapitre suivant.

RESULTATS

II.

**PARTIE A : Rex d'HTLV-1 détourne l'export CRM1-dépendant d'UPF1
conduisant à l'inhibition du NMD et au chargement d'UPF1 dans la particule
virale**

Résumé

Parmi les protéines cargo exportées par CRM1/XPO-1, un certain nombre d'entre elles sont impliquées dans le métabolisme de l'ARN. Notamment, l'hélicase ADN/ARN UPF1 et son partenaire UPF2 ont été rapportés comme faisant la navette entre le cytoplasme et le noyau via CRM1 : des interactions ont été identifiées par spectrométrie de masse et des traitements à la Leptomycine B, inhibiteur sélectif de CRM1 induit leur rétention nucléaire. Pour autant, l'impact d'une perturbation de la navette N/C de ces facteurs sur leurs fonctions cellulaires n'a jamais été évalué. Or par leur caractère de parasites obligatoires, les rétrovirus utilisent les machineries cellulaires pour bons nombres de leurs étapes de réplication virales. Notamment, HTLV-1 et HIV-1 utilisent l'exportine CRM1 pour l'export de leurs ARN viraux partiellement ou non épissés, via les rétrotransporteurs viraux Rex (HTLV-1) et Rev (HIV-1). De manière intéressante, le rétrotransporteur Rev s'associe également à UPF1 au cours de la formation de ce complexe d'export UPF1-CRM1-Rev-ARNviral. Bien que des dérégulations de CRM1 soient associées à de nombreuses pathologies de types cancéreuses soulignant l'importance d'une répartition correcte des cargos entre noyaux et cytoplasme, l'impact de ce détournement de CRM1 par les rétrovirus sur l'homéostasie cellulaire est peu évoqué dans la littérature.

Question/problématique

Dans ce travail, nous avons donc cherché à déterminer si le détournement de l'export de CRM1 par le transporteur viral Rex d'HTLV-1 pouvait impacter l'homéostasie cellulaire et ce au travers d'un cargo exemple, l'hélicase à ARN UPF1, et de sa fonction cellulaire la plus décrite : le NMD.

Techniques/Résultats

Par des approches d'immunoprécipitation et de visualisation résolutive *in cellulo* d'interactions (PLA) combinées à des techniques de microscopie à fluorescence dans des modèles cellulaires sans ARN viral (HeLa et 293T), nous avons démontré d'une part la constitution d'un complexe UPF1-Rex-CRM1, où Rex stabilise l'interaction UPF1-CRM1. D'autre part, Rex modifie la répartition cellulaire d'UPF1, en retenant une part significative du *pool* d'UPF1 dans le noyau. Par des techniques d'immunoprécipitation de l'ARN (RIP) par UPF1, nous avons pu corréler cette rétention nucléaire d'UPF1 par Rex à une diminution de l'association d'UPF1 aux ARN cellulaires. **Ces premiers résultats nous ont permis d'établir un lien entre le détournement de CRM1 par Rex et l'export d'UPF1.** Grâce à l'utilisation de mutants des fonctions export/import de Rex et de techniques de RNA decay permettant d'évaluer l'efficacité du NMD, nous avons pu corréler la formation de ce complexe UPF1-Rex-CRM1 à un défaut de NMD. Ces observations ont également été validées en présence d'ARN viral, dans des lignées lymphoïdes chroniquement infectées par HTLV-1 : la stabilisation des interactions UPF1-CRM1 en présence de Rex et la rétention nucléaire d'UPF1 dépendante de Rex y est retrouvée. Ensembles, **ces résultats nous permettent de proposer ici un nouveau mécanisme d'inhibition du NMD par Rex chez HTLV-1.**

De manière intéressante, au cours de ce travail, nous avons également démontré qu'HIV-1 est capable d'inhiber le NMD via Rev, transporteur qui détourne également CRM1 pour l'export des ARN viraux et où UPF1 est décrit comme faisant partie intégrante de ce

complexe d'export. Ici, les résultats obtenus en modèles cellulaires sans ARN viral montrent qu'à l'image de Rex, Rev induit également une rétention nucléaire d'UPF1 associée à une diminution de l'association d'UPF1 aux ARN et corrélée à une inhibition du NMD. Ces résultats renforcent ceux obtenus pour Rex mais suggèrent également un **mécanisme commun d'inhibition du NMD aux rétrovirus complexes** exprimant des transporteurs de type Rev/Rex.

De manière plutôt inattendue, des approches de RIP UPF1 et d'immunoprécipitation en lignées lymphoïdes chroniquement infectées par HTLV-1 ont également montré que Rex charge spécifiquement UPF1 sur l'ARN viral, contribuant probablement aussi à l'inhibition du NMD. De plus, ce détournement semble avoir lieu au moment de la constitution du complexe d'export. Ainsi le mutant Rex NES, n'interagissant plus avec CRM1 diminue l'association d'UPF1 à l'ARN viral. Enfin, les données obtenues par western blot montrent UPF1 dans le biofilm extrait de surnageant de culture de C91PL (HTLV-1+ ; Rex+) comparativement au C8166 (HTLV-1+ ; Rex-). Ces données, renforcées par la superposition des signaux de p19 et d'UPF1 en microscopie confocale, **suggèrent fortement que ce chargement d'UPF1 sur l'ARN viral génomique pourrait contribuer à son incorporation dans les virions d'HTLV-1.**

Conclusion :

Ce détournement de CRM1 par Rex pourrait être finalement la première étape d'un détournement plus global d'UPF1 : d'un côté Rex stabilise les interactions UPF1/CRM1, provoque une accumulation nucléaire d'UPF1 et réprime son association avec le *pool* d'ARN cellulaires. En conséquence, cela inhibe le NMD. D'un autre côté, nous avons trouvé que Rex favorise le chargement d'UPF1 sur l'ARN viral et que cela aide à l'expression de protéines structurales supportant un rôle également proviral d'UPF1 durant l'infection par HTLV-1.

Le matériel et la méthode de l'ensemble des résultats présentés par la suite (partie A et B confondues) sont décrits dans la partie « Methods » de la publication scientifique. Le parti a donc été pris de ne pas faire doublon avec une partie « matériels et méthodes » traduite en français.

HTLV-1 Rex hijacks UPF1 in a CRM1 dependant manner, leading to NMD inhibition and UPF1 loading in the viral particle

Prochasson L¹, Mghezzi-Habellah M¹, Roisin A¹, Palma M², Robin JP¹, De Bossoreille S¹, Cluet D¹, Mouehli M¹, Decimo D³, Réty S¹, Dutartre H³, Lejeune F², Jalinot P¹, Mocquet V¹

INTRODUCTION

The maintenance of cell homeostasis requires a strict control of the repartition of macromolecules between nucleus and cytoplasm. Pathways monitoring this shuttling are dependent on the nature of the macromolecules to be exported or imported. Notably, whereas bulk mRNA export occurs via the Nxf1/Tap1 pathway after its association with TREX complex, the exportin CRM1 (XPO1) mediates the export of proteins containing a Nuclear Export Signal (NES). These cargoes may be associated or not with a specific subset of RNA such as rRNA, snRNA and some mRNA^{1,2}. The NES is characterized by a specific stretch of 4 hydrophobic amino acids with variable interspaced amino acids that influences the NES affinity to CRM1. The formation of the complex between CRM1 and the NES containing protein also requires the GTPase Ran to conformationally stabilize the NES binding groove of CRM1³⁻⁶. However, the affinity of many NES substrates for CRM1 is rather low, suggesting that the formation of this trimeric transport complex is a rate-limiting step in nuclear export⁷⁻⁹. Once in the cytoplasm, Ran GAP, at the nuclear pore, catalyses the conversion of RanGTP to RanGDP, inducing the dissociation of the trimeric complex CRM1/Cargo/Ran and the release of the cargo in the cytoplasm. Ultimately, the free CRM1 re-enter the nucleus for a new round of export¹⁰.

Among the plethora of functionally and structurally unrelated protein and RNP cargoes, the mislocalisation of several of them due to CRM1 dysfunction supports a role of CRM1 in disease: that is the case of proteins involved in the control of DNA repair, cell cycle, transcription regulation or apoptosis such as BARD1, p21, p27, p53, FOXO3, APC and Survivin (reviewed in^{11,12}). In addition, CRM1 overexpression and mutations were directly correlated with multiple types of cancer, notably pancreatic cancer, ovarian cancer, glioma, osteosarcoma, acute myeloid leukemia and multiple myeloma¹³⁻¹⁶. As a consequence, CRM1 was considered as a valuable target for anticancer therapies. CRM1 inhibitors were shown to sensitize cancerous cells to apoptosis and several of them are currently under clinic trial^{17,18}. An important subset of CRM1 cargoes includes proteins involved in RNA processing. Notably, the DNA/RNA helicase UPF1 and its partner UPF2 have been reported to shuttle between cytoplasm and nucleus via CRM1: interactions were identified by mass spectrometry and leptomycin B treatments induced their nuclear retention¹⁹⁻²¹. However, the impact of a shuttling perturbation on their cellular functions have never been evaluated. UPF1 works at the crossroad of multiple process for DNA and RNA maintenance and is directly involved in the post-transcriptional regulation of gene expression. Its function in Nonsense Mediated mRNA Decay (NMD) is the most described^{22,23}. It is commonly accepted that NMD targets and degrades mRNA harbouring premature codons (PTC) due to the wrong accumulation of UPF1 between the stalled ribosome and a downstream Exon Junction Complex: while UPF1 binds along the length of mRNA, it is gradually displaced by the running ribosome and stabilized downstream a stop codon by its partner UPF3²⁴⁻²⁶. Then UPF1 assembles a NMD promoting

complex with UPF2, that activates its ATPase activity and SMG1 that phosphorylates its Nter and Cter extremity²⁷⁻²⁹. Phosphorylated UPF1 creates a scaffold for the further recruitment of decapping enzymes as well as endo/exonucleases leading to proper RNA decay³⁰. In addition to PTC containing RNA, NMD was shown to target several viral RNA, exerting an antiviral function³¹⁻³⁷. In the light of this, the unspliced viral RNA from the human delta retrovirus HTLV-1 has been characterized to be destabilized in a UPF1 and UPF2 dependant manner^{38,39}. To counter this threat and fully express their compact genome, virus evolved different bypass strategies (reviewed in⁴⁰). A well characterized example is a PTBP1 binding motif from Rous sarcoma virus, known as RNA stability element (RSE) that reduces UPF1 recruitment to viral RNA^{41,42}. Alternatively, the viral protein Rev from HIV binds UPF1 during vRNA export: in silico protein-protein docking analyses suggest that this interaction occurs in a region that overlaps the UPF2 binding site protecting vRNA from NMD activation⁴³. In a context of HTLV-1 infection, the viral proteins Tax and Rex were shown to trans-inhibit NMD^{38,39}. Tax directly binds UPF1 and exerts a dual effect on this latter, inhibiting its ATPase activity and ultimately NMD⁴⁴; the Nterminal domain of Rex as well as its phosphorylation were shown to be critical for Rex/UPF1 interaction. Nakano et al, also suggest that this interaction results in the incorporation of Rex in the NMD complex⁴⁵.

Interestingly, viruses also express NES containing proteins. Notably, the retroviral proteins Rex from HTLV-1 and its functional homolog Rev from HIV-1 which have been extensively studied. HTLV and HIV are two human complex retroviruses which impact on the infected cell homeostasis is different, resulting in fundamentally different diseases: HTLV is the causative agent of the Adult T cell Leukemia (ATL) a malignant lymphoproliferative syndrome established after decades of latency, or the HTLV associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), an inflammatory disease^{46,47}. To the opposite, HIV is the causative agent of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), characterized by the weakening of the immune system due to the progressive destruction of infected cells⁴⁸. However, as retroviruses, their overall replication cycle share common features. Notably, both viruses export unspliced viral RNA (vRNA) molecules to the cytoplasm. To do so, they rely on viral transporters that interfere with the host splicing machinery, stabilize unspliced RNA over spliced isoforms and hijack the cellular shuttling machinery to export vRNA from the nucleus. Yet genetically divergent, these transporters, namely HTLV Rex and HIV Rev, share similar functional domains and a similar *modus operandi* to accomplish this task⁴⁹: first they display a highly basic motif rich in arginine, allowing RNA binding at the Rex/Rev responsive elements present on viral RNA (RxRE and RRE respectively)^{50,51}. This RNA binding domain is partially overlapping with the Nuclear Localisation Signal (NLS), this latter being involved in their interaction with the importins. Both viral transporters also display a Nuclear Export Signal (NES) directly involved in their binding to the exportin CRM1/XPO1⁵². Rev NES is defined as a class2 while Rex NES fits a class1c. Finally, they both have a dual multimerization motif, encompassing the NLS for Rev or the NES for Rex^{53,54}. After their translation, both viral transporters are translocated to the nucleus via importin b and accumulate in the nucleolus^{55,56}. Rev has a strong Nucleolus localization signal (NoLS) while Rex may be driven there through interactions with the viral p30. The interaction with the nucleolar phosphoprotein B23 is another important partner controlling Rev and Rex nucleolar localization⁵⁷⁻⁵⁹. In the nucleolus, Rex and Rev bind the RxRE and the RRE motif of their vRNA respectively. Rev bound to vRNA

then multimerizes in order to interact more efficiently with CRM1 via its NES. Concerning HTLV-1, it was proposed that Rex interacts with CRM1 and multimerizes before binding the RxRE motif of vRNA^{52,60,61}. Although the sequential steps leading to the formation of an export complex with Rex are not as much described as with Rev and may diverge, both result in the formation of a viral transporter multimer interacting with vRNA and CRM1. Thus, CRM1 hijacking is a critical step that allows the cytoplasmic accumulation of unspliced vRNA. This RNA is the support of the structural polyprotein GAG translation. In addition, two copies are packaged in newly synthesized viral particles for viral transmission⁶².

Unexpectedly, while the causative role of CRM1 in disease strongly stresses the importance of a correct repartition of cargoes between nucleus and cytoplasm for the proper functioning of the cell and supports the effort of developing CRM1 inhibitors for clinic, understanding the impact of CRM1 hijack by retroviral transporters on the cellular homeostasis is barely evoked in the literature. Thus, in this work, we investigated how the hijack of CRM1 by HTLV-1 Rex affects the relationship between CRM1 and the cargo UPF1 as well as this latter most described function: the NMD. We found that Rex dependent hijacking of CRM1 is the initial step of an additional UPF1 hijacking: on one side, Rex stabilizes the UPF1/CRM1 interaction, provokes the nuclear accumulation of UPF1, and repress its association with bulk RNA. As a consequence, this inhibits NMD. On the other side, we found that Rex favours UPF1 repositioning on unspliced vRNA supporting an unexpected pro-viral role of the helicase during HTLV-1 infection.

METHODS

Antibodies. Anti-UPF1 rabbit polyclonal (RENT1, A301-902A, Bethyl), Anti-CRM1 rabbit polyclonal (A300-469A, Bethyl), Anti-UPF2 rabbit polyclonal (A303-029A, Bethyl), Anti-HA mouse monoclonal (clone HA-7, SIGMA), Anti-FLAG mouse monoclonal (FlagM2, Sigma), Anti-HTLV-1 p19 mouse monoclonal (TP-7, Abcam), Anti-Tax mouse monoclonal, Anti-Rex and Anti-Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M2 (RRM2) rabbit polyclonal were homemade. For immunofluorescence specifically: primary Goat UPF1 (A300-036A, Bethyl), and secondary antibodies were goat anti-mouse Alexa Fluor 488 (Thermofischer), mouse anti-Goat CFL 555 (Santa Cruz), Donkey anti-Rabbit AlexaFluor 647 (Abcam).

Mutagenesis. To construct Rex mutant plasmids, directed mutagenesis was carried out as follow: a 20 cycle PCR was done with Phusion polymerase, 2µM of complementary primers with the point mutation and 50ng of the parental plasmid (pCMV Rex WT). PCR products were digested by DpnI before XL1 blue transformation. Rex NLSmut oligos: cgatcccaaagaGATTTAccaccaacacc and ggtgttggtggTAAATCtcttgggatcg. Rex NESmut: to sequential mutagenesis were done with the following primers couples: tcagctctacagttccGGAtccctccttc and ggaaggagggaTCCggaactgt agagctga; ctacagttccGGAtccctccttcccccac and gaaggagggaTCCggaactgttagagctg. pCMVHTLV WT and Tax9Q plasmids were already described. To modify Rex, a 1kb fragment between both BlnI restriction sites was amplified (primers: 5'forward -ggacgcgttatcagctcagctctacagttccTAAccctcg; 3' reverse attgtcttcagggggacac). The 5' forward primer harboured the nonsense mutation L23stop in the Rex sequence. It is neutral for the Tax sequence encoded on the same RNA. The DNA fragment and retroviral backbone were digested by BlnI (NEB). Both were ligated at 16°C overnight with T4DNA ligase (NEB) before XL1 blue transformation. All mutants were validated by sanger sequencing (Genewiz).

Immunoprecipitations. $\sim 2 \times 10^6$ 293T cells were transfected as described in the figures using jet prime reagent (Polyplus). 48h post transfection, cells were washed with PBS two times and pelleted in two dry pellets: 10% of the cells were put aside and directly resuspended in Laemmli buffer (loading buffer). It is referred as the INPUT fraction. The other pellet composed of the remaining 90% cells was resuspended in 400 μ l of lysis buffer (50 mM Tris-Cl, pH 8, 1% Triton, 10% glycerol, 0.05% SDS, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM GTP, 200 mM KCl, protease inhibitor (Roche)) for 30 min at 4°C. The soluble fraction obtained after centrifugation at 11,000g for 10 min was pre-cleared with sepharose beads pre-coated with tRNA and BSA-0.3% for 30 min. Supernatant was further incubated with primary antibody (5 μ l) overnight at 4 °C. Protein A Sepharose® beads (Sigma) were coated with PBS + 0.3% BSA, supplemented with tRNA overnight. After re-equilibration in lysis buffer, 30 μ L of beads were added to the lysate for 2h30 at 4°C before three extensive washings of 15 min in lysis buffer. The dry beads were resuspended in loading buffer for western blotting. For RNase treatment, 0.1 mg/ml RNase A was added before the washing step.

Immunofluorescence. 50 000 cells were cultivated per well into 4 well Chamber Slide™ Labtek® II in DMEM (for HeLa or 293T cells) or RPMI medium (for Jurkat, C91PL or C8166 cells) complemented with 10% SVF and Penicillin/Streptomycin. 48h after transfection (HeLa or 293T) or after 30 minutes of sedimentation at room temperature (Jurkat, C91PL, C8166 cells), cells were fixed with PFA 4% during 20 min. After extensive washing, aldehyde groups were saturated in a 0.1M PBS Glycine solution for 30 min then washed one time with PBS 1X. Cells were permeabilized with PBS-1%Triton for 5 min and then extensively washed. Saturation of non-specific sites was performed by 0.1% PBS-BSA for 30 min then extensively washed. The indicated primary antibodies were incubated for 1h30 at Room Temperature (RT) at 1/1000 (vol/vol) and further washed three times. Secondary antibodies were incubated for 50 min at 1/500 before three washes. Hoechst coloration at 1/10 000 (10 mg/ml starting concentration) were used to visualize nucleus. Fluoromount-G® from SouthernBiotech was used before recovering with cover slips 22*60 mm from Menzel Gläser.

Proximity Ligation Assay (PLA). HARex plasmid was transfected in 293T cells using jet Optimus. After 24h, cells were subjected to PLA using a kit and following the manufacturer indications. Dilutions of primary antibodies (vol/vol): anti-UPF1 (1/250^{eme}) ; anti-AKT1 (1/50^{eme}) ; anti-HA (1/500^{eme}) ; anti-FTSJ1 (1/250^{eme}) ; anti-eIF4E (1/250^{eme}) ; anti-eIF5A (1/250^{eme}). Dilutions of secondary antibodies (PLUS et MINUS): 1/5^{eme}. Acquisition were performed with Spinning Disk at 60x oil objective (Live SR) microscope. Huygens Professional software was used for image deconvolution. ImageJ software was used to image treatment and IMARIS software to count based on 8 pictures per condition. Experiment was repeated twice.

Image acquisition, treatment and manual counting. Image acquisitions were performed with the confocal microscope LSM800 at 60x oil objective. ImageJ software (Version 2.3.0) was used to apply 'gaussian blur' filter (3.00 rad) to all images. Then colocalisation pixel was performed on 8-bit gray scale images with the function "image calculator" and "AND" command between channels of interest. Gray scale was used to identify common pixels. For UPF1 nuclear retention quantification, common pixels between UPF1 and nucleus was used to determine the proportion of nuclear UPF1 with a yes or no criteria. The detection of cytoplasmic and nucleus region of interest (ROI) was determined on the signal strength from UPF1+CRM1 channels and Hoechst+CRM1 channels respectively, then manually verified and/or adjusted. To avoid bias from disparate volumes and proximity of different cells, ROI cytoplasm was restricted to an area near ROI nuclear. Then, nuclear/cytoplasmic ratio was extracted from fluorescence intensity mean in each ROI. Graphs was obtained with R Studio (V4.1.1) (github address to add). For foci identification, detouring with ImageJ tool of CRM1 reinforced signals was

performed, then UPF1 colocalization was determined based on colocalization pixel function and extracted with a Yes or No criteria. % of foci area was determined regarding the total cell area by detouring cells on transmission (direct light) images. HeLa, cells were counting as n = 54 for control, n = 36 for Rex, n = 37 for Rev, n = 67 for C91PL and n = 66 for C8166 conditions. P values were calculated by performing first Fischer test then a Student's t-test (paired, two-tailed) ns: P > 0.05; *P < 0.05; **P < 0.01.

RNA immunoprecipitation (RIP). $\sim 2 \times 10^6$ HeLa cells were transfected as described in the figures, harvested and resuspended in lysis buffer (50 mM Tris-Cl, pH 7.5, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.05% SDS, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl, protease inhibitor (Roche) and RNasin (Promega)) as previously described. Extracts obtained after centrifugation at 12,000g for 15 min were incubated with primary antibody overnight at 4 °C. Protein A and G magnetic beads (dynabeads, Life Technology; 5 μ l each) were mixed and coated with PBS + 0.3% BSA, supplemented with tRNA and RNasin (Promega) overnight. After re-equilibration in lysis buffer (supplemented with tRNA), the beads were added to the lysate for 2 h at 4 °C before extensive washing in lysis buffer. The beads were resuspended in elution buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.0, 1 mM EDTA, 10 mM DTT and 1% SDS). Double RIP were performed as reported previously⁴⁴: $\sim 6 \times 10^6$ HeLa cells were transfected as described in the figures, harvested and fixed with 0.05% formaldehyde for 20 min at room temperature. Then, 0.25 M glycine was added for 5 min before PBS washing. The cell pellet was resuspended in lysis buffer, and the lysate was sonicated (bioruptor, diagenode). First, the HA tag was immunoprecipitated. The immunoprecipitation steps were carried out as described for simple RIP except that samples were incubated with Sepharose beads. Extensive washings were performed with 50 mM Tris-Cl, pH 7.5, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.05% SDS, 1 mM EDTA, 1 M NaCl and 1 M urea. The beads were resuspended in elution buffer (50 mM Tris-Cl, pH 8, 1% Triton, 10% glycerol, 0.05% SDS, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM GTP, 200 mM KCl, protease inhibitor (Roche), RNasin + HA peptide at 0.1 mg/mL) and incubated at 4 °C for 1h, then for 10 min at 30°C to ensure elution. Finally, the elution volume was increased to 400 μ l and Rex immunoprecipitation was performed. After extensive washing, the formaldehyde fixation was reversed by heating samples 45 min at 70°C. Finally, the beads were resuspended in RNeasy lysis reagent for RNA extraction. RNA was quantified by qRT-PCR using the following primers: Viral unspliced RNA: forward 5'-GGCCCGAGGACACACTAATA-3', reverse 5'-CAGCGGGGAGGTCTAATAGG-3'); GADD45 α (forward 5'-ACGAGGACGACGACAGAGAT-3', reverse 5'-GCAGGATCCTTCCATTGAGA-3'); GAPDH (forward 5'-GAGTCAACGGATTTGGTCGT-3', reverse 5'-TTGATTTTGGAGGGATCTCG-3'.....) and SMG5 (forward 5'-ACAGAATGGGATGCCAGGAA-3', reverse 5'-TCAACAC TCCAAAAGCCAGC-3'). The values represented in the graphs correspond to the mean of at least three biological replicates, and the error bars correspond to the SD. P values were calculated by performing a Student's t-test (unpaired, two-tailed) ns: P > 0.05; *P < 0.05; **P < 0.01.

RNA decay assays and qRT-PCR/RT-PCR. RNA decay assays were performed to assess the stability of mRNA expressed from a β -globin reporter minigene that was either WT (Gl-WT) or with a PTC in the second exon (Gl-PTC). For this procedure, 0.5 μ g of Gl-PTC or 0.05 μ g of Gl-WT constructs were co-transfected as indicated with 0.5 μ g of renilla-expressing vector (unsensitive to NMD) in 0.7×10^6 HeLa cells with jet prime reagent (polyplus). Additional plasmids were co-transfected as indicated in the figures. After 48h, the cells were treated with DRB (100 μ g.mL⁻¹) to block transcription for 0, 1, 3 or 4 h. Total mRNAs were extracted using the Macherey-Nagel RNA easy extraction kit and quantified by qRT-PCR using the QuantiTect SYBR Green qRT-PCR kit (Qiagen) and appropriate primers: GLOBIN (Globin 3' forward 5'-TTGGGGATCTGTCCACTCC-3', Globin 3' reverse 5'-CACACCAGCCACCACTTTC-3'. Normalisation was carried out with respect to renilla mRNA (renilla

forward primer 5'-CTAACCTCGCCCTTCTCCTT-3', renilla reverse 5'-TCGTCCATGCTGAGAGTGTC-3'). The values represented in the graphs correspond to the mean of at least three biological replicates, and the error bars correspond to the SD. Half-lives were calculated for each replicate, and P values were calculated by performing a Student's t-test (unpaired, two-tailed) ns: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Metabolic assays (SUnSET®). The SUnSET® assay was used to monitor de novo protein synthesis as described previously⁶³. $\sim 2 \times 10^6$ of HeLa cells were transfected as described in the figures. Briefly, 10 min prior harvesting the cells, puromycin was added to culture medium at 1 μ g/ml. As a control, cycloheximide was added at 10 μ g/ml, 15min before puromycin addition, resulting in complete blockade of protein synthesis. Cell extracts were then processed for Western blotting using anti-puromycin 12D10 antibody (Millipore) at 1/5000^{emc}. Puromycin relative incorporation was calculated based on quantification of puromycin signals normalized by total protein. Total protein levels were visualized with stain free gels. Western blot signals and total protein levels were acquired on a Biorad Chemidoc imaging system before quantification with Image Lab software. The values represented in the graphs correspond to the mean of at least three biological replicates, and the error bars correspond to the SD. P values were calculated by performing a Student's t-test (unpaired, two-tailed) ns: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Cell fractionation. $\sim 2 \times 10^6$ HeLa cells were transfected as described in the figures, harvested and resuspended in lysis buffer (Sucrose 340 mM, Glycerol 10%, HEPES pH 7.5 10mM, KCl 10mM, MgCl₂ 1.5mM, Triton 0.1%, DTT 1mM, Na₃VO₄ 1mM, protease inhibitor (Roche) and RNasin (Promega)). The cytoplasmic fraction was collected after 1300g centrifugation and conserved for further RNA extraction with RNeasyLysR reagent (MRC) and subjected to qRT-PCR or for Western blotting. The isolated nucleus were washed two times with lysis buffer and further pelleted. Nucleus were resuspended in nucleus lysis buffer (EDTA 3mM, EGTA 0.2mM, Triton 0.1%, DTT 1mM, Na₃VO₄ 1mM, protease inhibitor (Roche) and RNasin (Promega))) and kept under rotation during 30min at 4°C. Nuclear fraction was collected after 12 000g centrifugation, were supernatant was conserved for further RNA extraction with RNeasyLysR reagent (MRC) and subjected to qRT-PCR. The values represented in the graphs correspond to the mean of at least three biological replicates, and the error bars correspond to the SD. P values were calculated by performing a Student's t-test (unpaired, two-tailed) ns: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Viral particles and biofilm harvest. $\sim 15 \times 10^6$ of lymphoid cells were harvest washed in PBS and pelleted. Culture supernatant and PBS washes were subjected to centrifugation at 4000g 4°C overnight; the pellet was resuspended in loading buffer for western blot and referred as extra cellular matrix (ECM). Three dilutions of the cell lysate (4×10^6 , 2×10^6 , 1×10^6) was used to assess the specificity of UPF1 signal; RRM2 was used as a cytoplasmic cellular marker and p19 as a marker of viral particles production in the infected cells. Total protein signals were obtained as described before. Experiment was repeated at least 3 times.

RESULTS

1. Rex interferes with CRM1-dependent export of UPF1

To address the question of the CRM1 hijacking by the retroviral protein Rex and its impact on the cell functioning, we decided to use the RNA helicase UPF1 as a model, since its nuclear export relies on CRM1. Having verified that UPF1 export effectively depends on CRM1 (**S1**), we looked at the formation of protein complexes involving Rex, CRM1 and UPF1. First, we validated the conditions of interaction between Rex and CRM1: 293T cells were transfected with combinations of a plasmid coding Rex and a plasmid expressing a RNA with a Rex Responsive Element (RxRE) to mimic the viral RNA that Rex binds and exports via CRM1 ⁶⁴. Co-immunoprecipitations (coIP) followed by western blot confirmed that Rex binds endogenous CRM1 efficiently and specifically (**1A-B lane 3**). Moreover, the expression of an RNA harbouring the RxRE motif did not modify the levels of CRM1 coIP by Rex and vice versa (**1A-B, compare lanes 2 and 3**) supporting the hypothesis that Rex can hijack CRM1 before its binding to viral RNA. Second, to investigate the composition of complexes associated to UPF1, 293T cells were transfected with combinations of plasmids coding Rex and the RxRE containing RNA. UPF1 coIP were further carried out. In the context of Rex expression, the endogenous UPF1 was able to coIP CRM1 and Rex (**1C; lane 2**). Before further explorations, we wanted to confirm the interaction of Rex with UPF1 since it is reported here for the first time with endogenous UPF1. To do so, we used Proximity Ligation Assay (PLA), a 40nm resolution technique to monitor proteins-proteins colocalization. In 293T cells expressing HA-Rex, we investigated the colocalization of this latter and different endogenous proteins: FTSJ1 (ribosomal RNA methyltransferase 1) a nucleolar protein that is not described to interact with Rex was used as a negative control and eIF5A, a known partner of Rex was used as positive control. Finally, PLA between Rex and UPF1 displayed numerous foci (in par with Rex /eIF5A PLA) localized in the nucleus as well as in the cytoplasm what supports their association (**1D, S2A**). A further analysis of the UPF1 coIP experiments (**1C**) revealed that Rex expression is linked with an increase in the amounts of CRM1 associated with UPF1, comparatively to control conditions. This suggests a stabilization of the UPF1-CRM1 interaction by Rex expression (**1C panel i, compare lanes 1 and 2**). Interestingly, the co-expression of Rex and the RxRE containing RNA didn't enhance the UPF1-Rex association nor the UPF1-CRM1 stabilization (**1C panel i, lane 2,4 compared to lane 3**). Since UPF1 is a RNA binding protein, we looked at these interactions after RNase treatment. The same profile of UPF1-CRM1 association is observed with or without RNase treatment (**1C panel ii, lane 2,4 compared to lane 3**), indicating that the interactions between Rex, UPF1 and CRM1 are not bridged by RNA, and that the formation of a UPF1-Rex-CRM1 complex can exist independently of RNA, including the viral RNA containing the RxRE motif. To confirm the role of Rex in stabilizing UPF1-CRM1 interaction, we looked at the CRM1-UPF1 association after UPF1 immunoprecipitation when Rex is no longer able to shuttle between nucleus and cytoplasm (**1E**). We constructed Rex shuttling mutants targeting the Nuclear Export Signal (NES) and the Nuclear Localisation Signal (NLS) of Rex: the Rex NES mutant no longer interacts with CRM1 and is functionally not able to export RNA containing a RxRE motif comparing to Rex WT (**S2B-C**); the Rex NLS mutant still interacts with CRM1 but is also greatly impaired to export RNA (**S2B-C**). UPF1 coIP experiments were then carried out in 293T cells expressing Rex WT,

NES mutant or Rex NLS mutant. They revealed that the association of CRM1 with UPF1 is significantly reduced in both Rex mutants' conditions compared to Rex WT condition (**1E, lane 3, 4 compared to 2**) as confirmed by the CRM1 quantification (**S1D**). Finally, UPF1 coIP were carried out in cells expressing Rex and treated with CRM1 siRNA. Interestingly we found that Rex is less co-precipitated with UPF1 after CRM1 depletion (1F, compared lane 2 to 3). Altogether, those data are consistent with the formation of a tripartite complex UPF1/CRM1/Rex, stabilized by UPF1/CRM1 contacts, as well as Rex/CRM1 contacts and occurring during CRM1 hijack by the retroviral transporter Rex.

In order to evaluate the consequences of Rex expression on UPF1 behaviour, we first looked at the cellular localisation of endogenous CRM1 and UPF1 by confocal microscopy (**2A-B**). As illustrated in control condition, CRM1 repartition is mostly nuclear with a homogenous staining, while endogenous UPF1 is mostly cytoplasmic (**2A-B, panel (i)**). By investigating the colocalizing pixels from UPF1 and CRM1 channels only, we observed that UPF1 and CRM1 staining overlap at the nuclear periphery consistently with the CRM1-dependent export of UPF1 (**2A, panel (i)**). Strikingly, when Rex is expressed, UPF1 is significantly retained in the nucleus compared to control conditions. As shown by common pixel superposition, Rex, CRM1 and UPF1 colocalize in the nucleus and at the nuclear membrane. To assess it, we quantified in both populations of cells, the nucleo/cytoplasmic repartition of UPF1 signal as well as the proportion of cells showing a nuclear retention of UPF1 (**2A-B panel (ii)**). Thus, these results demonstrate that *in cellulo*, the expression of Rex and the further formation of a UPF1-Rex-CRM1 complex, affects UPF1 cellular repartition by retaining a significant part of the UPF1 pool in the nucleus.

2. CRM1 hijacking by Rex interferes with UPF1 function during NMD

To test whether the modification of UPF1 export by Rex could impact its activity, we focus on one of its well described functions: the Nonsense-Mediated Decay (NMD). Since UPF1 activity in NMD is functionally linked to its RNA binding capacity, we first investigated this latter by RNA immunoprecipitation (RIP) assays. HeLa cells were transfected with a plasmid coding a NMD sensitive reporter mRNA (Globin PTC, a globin minigene with a stop codon in the second exon) as well as increasing amounts of Rex coding plasmids. UPF1 was further immunoprecipitated and the amounts of bound Globin PTC were quantified by RTqPCR. Rex expression as well as UPF1 immunoprecipitations were checked by western blot (**3A**). When Rex is expressed, the level of Globin PTC associated to UPF1 are significantly reduced compared to conditions without Rex. This effect is observed in a Rex dose-dependent manner (**3A**). In addition, to correlate this effect with the formation of the previously described UPF1/CRM1/Rex complex and Rex export function, we also carried out UPF1 RIP experiments in cells transfected with Rex NES mutant coding plasmid. Compared to Rex WT, Rex NES mutant is no longer able to interact with CRM1 and to stabilize UPF1/CRM1 interaction (**1E and S2**); As expected, Rex NES mutant restored UPF1 binding capacity to globin PTC compared to Rex WT (**3B**). This recovery confirms that CRM1 hijacking by Rex leads to UPF1 decreased association to its RNA substrate.

Since NMD requires UPF1 recruitment to RNA to initiate their degradation, we checked whether we could correlate the previously identified RNA binding defect with NMD inhibition through Rex expression. To do so, we analysed the decay rate of the Globin PTC mRNA with

or without Rex expression: decay rates were performed by monitoring the evolution of RNA levels after a treatment of HeLa cells by 100µg/ml DRB for 3h. Here, Rex expression led to a statistically significant decrease in the decay rate of Glob PTC (**3C, compare red and purple bars**). To attest the specificity of this result, the decay rate of a NMD insensitive RNA (Globin WT, a globin minigene without stop codon in the second exon) was analysed. In the absence of Rex, the decay rate of Globin WT is lower than the Globin PTC's one, as expected from a NMD insensitive RNA (**3C, compare blue and red bars**). When Rex is expressed, the decay rate of Glob WT is unaffected (**3C, compare blue and green bars**) and is of similar value than Globin PTC's one (**3C, compare green and purple bars**). These results demonstrate that Rex specifically and efficiently inhibits NMD. Lastly, we checked the possible trans-acting effect of a RxRE containing RNA over Rex dependent NMD inhibition. As indicated in **Fig 3C**, the expression of the RxRE RNA motif did not significantly modified Rex stabilization of the Globin PTC decay rate (**3C, compare purple and orange bars**). Consistently with the UPF1 coIP (**1C**), the co-expression of Rex and the RxRE RNA motif doesn't enhance NMD inhibition comparatively to the "Rex only" condition.

NMD is a translation dependent process. To confirm that our observations are not related to a possible impact of Rex on translation, we monitored puromycin incorporation in peptides being synthesized, using sunset assay. While translation inhibition by cycloheximide treatment prevents puromycin incorporation after 30min of puromycin pulse chase (**3D compare lanes 1 and 2**), the expression of Rex does not significantly modify it (**3D compare lanes 2 and 4**).

In order to correlate this Rex dependent NMD inhibition with our previous observations, we decided to analyse the effect of the Rex NES mutant on Globin PTC mRNA half-life (as an indication of NMD efficiency). From Fig1E and 3B, Rex NES mutant was unable to stabilize the Rex/CRM1/UPF1 complex and to prevent UPF1 binding to RNA. To measure Globin PTC mRNA half-life, HeLa cells were transfected with different Rex coding plasmids and further treated with the transcription inhibitor DRB for 0, 1, 3 or 4h. Total RNA were purified and the Globin PTC mRNA was quantified by RTqPCR. Globin PTC half live was measured for each condition and compared with the Rex WT condition as indicated in **3E**. Consistently with previous results, Globin PTC half-life is significantly increased by Rex WT expression comparatively to control condition (9.9h compared to 2.9h) showing NMD inhibition. Conversely, Rex NES loss its ability to inhibit NMD as showed by the restored Globin PTC half-life (3.8h). As a control, we monitored the effect of Rex NLS mutant, that also couldn't inhibit NMD (2.3h). Interestingly, the co-expression of NES and NLS mutants didn't restored NMD inhibition (1.9h), suggesting that the presence of Rex both in nucleus and cytoplasm is not sufficient for NMD inhibition but its shuttling capacity is required.

Altogether, these results demonstrate that Rex expression and shuttling lead to a diminution of UPF1 association with RNA, which is functionally correlated to NMD inhibition.

3. Rev from HIV-1 also interferes with UPF1 cellular localization and its NMD function.

In the other pathogenic human retrovirus HIV-1, the Rev protein is the functional homolog of HTLV-1 Rex: both shuttle between cytoplasm and nucleus and hijack the CRM1

pathway to export the unspliced viral RNA. In order to reinforce our observations supporting an impact of CRM1 hijacking on UPF1 activity, we decided to investigate the impact of Rev expression as we did previously with Rex. Interestingly, a UPF1/Rev/CRM1 export complex has already been described (*Ajamian et al., 2015*). Thus, we directly looked at the UPF1 cellular repartition under Rev expression by confocal microscopy. Rev strongly colocalizes with UPF1 and CRM1 in nucleolar compartments, as showed by a large view as well as a unique cell view (**respectively 4A and S3A-B**). Still, as for Rex, a significant nuclear retention of UPF1 can be quantified when Rev is expressed compared to control condition (**4A, quantifications in panel ii**). To pursuit the comparative analysis, we then checked whether the re-localisation of UPF1 due to Rev expression can be correlated with NMD inhibition. To evaluate NMD activity, we measured the half live of the Globin PTC reporter in HeLa cells expressing a FlagRev construction or an empty vector, as we did previously. The increased half-life of Globin PTC under Rev expression compared to control condition (4.3h for 1.6h - **4B**) suggests that Rev is able to inhibit NMD and alter the stability of non-viral RNA. To exclude that this effect was related to a translation defect, we carried out a sunset assay in cells expressing or not Rev and found that global translation was not affected (**S3B**). Moreover, to confirm that our observations illustrate the inhibition of NMD specifically, we analysed the impact of Rev expression on the decay rate of the NMD unsensitive RNA reporter (Globin WT) and compared it to the NMD sensitive one (Globin PTC). As expected, the decay rate of Globin WT was not much affected due to Rev expression while the one of Globin PTC was significantly decreased (**4C**). In addition, to determine if those observations could be verified in the context of HIV-1 infection, we infected HeLa cells (pre-transfected with Globin PTC or Globin WT expression plasmids) with HIV-GFP lentiviral particles (HIV) versus GFP only expressing lentiviral particles (VLPCtr) for 48h. Decay rate were measured as previously described: while the decay rate of Globin WT was not affected by HIV infection, the one of Globin PTC was significantly reduced, indicating that HIV infection is able to inhibit NMD (**4D**). Altogether, these results demonstrate a specific NMD inhibition during HIV infection, occurring at least in a Rev-dependent manner.

In order to identify whether Rev dependent NMD inhibition can be explained by a defect in UPF1 binding to RNA as suggested with Rex, we carried out UPF1 RIP experiments in HeLa cells transfected with Globin PTC as well as with Rev or Rex or an empty vector. Protein expression as well as immunoprecipitation levels were controlled by western blot (**4E**). Consistently with our precedent results with Rex, Rev expression is associated with a decreased association of UPF1 with the NMD sensitive reporter mRNA, Globin PTC (**4F**). The same experiment was performed in cells expressing the NMD unsensitive reporter Globin WT and showed a similar profil (**4G**). To reinforce these observations, the association of UPF1 with endogenous NMD sensitive (*smg5* and *gadd45a*) and NMD unsensitive (*gapdh*) RNA was also investigated. We observed the same decrease in UPF1 association with these endogenous RNA (**4H**). These results indicate that Rev, as Rex, decreases/prevents UPF1 binding to all RNA including NMD sensitive RNA, supporting an early inhibition of NMD. Although CMR1 export essentially target protein cargos and not bulk RNA, one can hypothesize that these results illustrate a defect in RNA export rather than in UPF1 accessibility. To eliminate this possibility, we carried out fractionation of cells expressing Rex, Rev or an empty vector and quantified the

Nuclear/Cytoplasmic ratio of the previously studied RNA. Viral proteins expression didn't modify the nucleo/cytoplasmic RNA repartition (**S3C**).

Here we found that HIV Rev, known to hijack the CRM1 export pathway as HTLV-1 Rex does, induces the nuclear re-localisation of UPF1. Same as Rex, Rev provokes a decrease of UPF1 recruitment to RNA that could be correlated with the inhibition of NMD. This strongly supports our previous conclusions about HTLV-1 Rex.

4. CRM1 hijacking by Rex in HTLV-1 transformed cell line leads to UPF1 relocalization

So far, we demonstrated that independently of the presence of viral full-length RNA, Rex can form a tripartite complex with CRM1 and UPF1, strongly stabilizing UPF1/CRM1 interaction. We correlated the formation of this complex with the nuclear retention of UPF1 and to NMD inhibition. In order to investigate this question in physiological and more relevant cellular models, we cultivated 3 HTLV-1 chronically infected CD4+ T cells: C91PL and HUT102 that express Rex protein as well as C8166 that displays a defect in Rex expression. This was attested by western blot (**5A**) as well as confocal microscopy (**S4B**). As a negative control we also used uninfected Jurkat CD4+ T cells. We performed UPF1 coIP with protein extracts from each cell line. In Rex expressing cells (C91PL and HUT102) UPF1 co-immunoprecipitates Rex as well as CRM1 proteins. Interestingly, in the Rex deficient cells C8166, the level of CRM1 co-immunoprecipitated by UPF1 was strikingly lower, close to the levels obtained in Jurkat coIP (**5A, compare lanes 1-2 to 3-4**). Then we looked at the localisation of UPF1 and CRM1 in C91PL and C8166 by confocal microscopy (**5B and S4B**). We found UPF1 nuclear localisation is significantly increased in C91PL compared to C8166: quantifications attest that ~75% of C91PL cells display such a profile compared to 32% of C8166 (**5B (ii)**). In addition, in more than 70% of C91PL (compared to less than 15% of C8166), we identified a higher concentration of UPF1 and CRM1 producing "super foci", suggesting that Rex induces another supplementary UPF1 retention phenotype, more focalised and associated to CRM1 (**5B, white arrow**); notably, in each cell type, more than 80% of CRM1 super foci are colocalizing with UPF1 super foci.

Here it is difficult to directly correlate those observations with an inhibition of NMD, since C8166 and C91PL cells both express the viral protein Tax, another NMD inhibitor that we characterized in the past^{38,44}. The expression of Tax in these cell lines is documented and we validated it by confocal microscopy (**S4B**). In these cell lines, Tax localisation is not specifically linked to either Rex or CRM1 profiles (**S4B-C**). To evaluate NMD efficiency in a close model, we measured the half-life of the Glob PTC reporter in HeLa cells transfected with different mutated versions of a HTLV molecular clone. As expected, we found that a molecular clone deficient for Rex alone (mimicking C8166 cells) or Tax alone inhibited NMD at similar levels than a WT clone (mimicking C91PL cells) (**S4D**). Noteworthy, considering the NMD activity in infected T cells, we showed in the past that NMD is effectively inhibited in C91PL compared to Jurkat³⁸.

5. UPF1 is addressed to vRNA and viral particles

To the contrary of HeLa and 293T cells, C91PL cells constitutively express viral RNA. Since the Rex/CRM1 complex is selectively bound to unspliced viral RNA (vRNA) to drive its nuclear export, and as we just illustrated, Rex and CRM1 can redirect endogenous UPF1 localisation and function, we wondered what that implies for UPF1 interplay with vRNA. First, we asked whether UPF1 and Rex can be found concomitantly on vRNA. To do so, we carried out double-RIP experiments. 293T cells were transfected with a replicative HTLV-1 molecular clone with or without a plasmid coding UPF1 with the HA tag. First, a RIP targeting the HA tag was performed (**5C, blue bar**). Cells without HA-UPF1 were used as a RIP control. Second, RNAs were eluted from HA-RIP and further subjected to a second RIP against Rex (**5C, green bar**) or a control immunoglobulin. RTqPCR on each RIP revealed a significant enrichment of vRNA associated to UPF1 as well as to Rex, yet in a lesser amount. Thus, we can conclude that UPF1 can be recruited on vRNA concomitantly with Rex. Then we carried out UPF1 RIP experiments in C8166 and C91PL cells, as well as in Jurkat as a negative control. Interestingly, we found that UPF1 RIP were specifically enriched in vRNA in the Rex expressing cells (**5D, compare C8166 and C91PL**). To confirm that the observed UPF1 recruitment is not related to NMD activation, we carried out RIP targeting UPF2, a NMD cofactor of UPF1. We found no specific enrichment of vRNA after UPF2 RIP in C91PL compared to C8166. In addition, we performed UPF2 coIP in C91PL extracts: an interaction between UPF2 and CRM1 was found as expected since UPF2 is a known cargo of CRM1. However, no specific association between Rex and UPF2 could be found, while UPF1 efficiently binds the viral protein (**5E**). Thus, the specific recruitment of UPF1 on vRNA occurs on a Rex dependent manner but independently of its NMD function. Finally, we investigated the impact of the Rex NES mutant expression on UPF1 recruitment to vRNA. RIP experiments were carried out in 293T cells transfected with the HTLV-R23L molecular clone complemented with either Rex WT or NESmut plasmids. RIP Rex experiments showed a similar enrichment of vRNA with Rex WT and NES mutant proteins. To the contrary, vRNA enrichment in UPF1 RIP was drastically reduced with the Rex NES mutant compared to Rex WT. As demonstrated previously, Rex NES mutant is unable to hijack CRM1 exportin, indicating that this function of Rex is critical for UPF1 recruitment to vRNA. Altogether, these results indicate that in HTLV-1 infected T cells, the CRM1 hijacking by Rex induces a stabilization of the CRM1/UPF1 interaction with a nuclear retention of UPF1, and drives the loading of UPF1 onto vRNA.

As introduced before, an additional fate of vRNA is to be encapsidated in viral particle. Thus, we wonder whether UPF1 presence on viral RNA can lead to its incorporation in viral particles as well. First, we monitored the localisation of p19 and UPF1 in T cells. As expected, C8166 do not express GAG due to the absence of Rex. In C91PL, p19 is displayed as foci at the periphery of the cytoplasmic membrane supporting virion accumulation. UPF1 profile shows foci colocalizing with p19. These profiles suggest that UPF1 is present at the sites of particles budding and may be incorporated into the virion (**6A**). To address this point, we isolated the extracellular matrix (EM) containing the viral biofilm, in which HTLV-1 particles are concentrated. EM from C91PL, C8166 and Jurkat was analysed by western blot. The presence of viral particles was assessed by the presence of p19 in C91PL only. To exclude a contamination of EM by cytoplasmic proteins, we revealed the cytoplasmic protein RRM2: its

absence of the EM from all cell type confirmed the quality of our preparation. Finally, UPF1 was identified in EM from C91PL only (**6B**) indicating the presence of UPF1 in HTLV-1 viral biofilm and corroborating our hypothesis of UPF1 encapsidation. Thus, we demonstrated here that UPF1 can be loaded on vRNA in a Rex dependant manner and UPF1 is further loaded into the budding viral particles.

DISCUSSION

By regulating cellular repartition of hundreds of proteins and some specific RNA species, CRM1 export pathway is part of cellular homeostasis. In line with this, CRM1 is a therapeutic target in many human diseases. As introduced earlier, complex retroviruses like HTLV-1 and HIV-1 use retroviral transporters, respectively Rex and Rev, to export their viral RNA via CRM1. While the mechanistic steps of this export are already well described, the cellular consequences of CRM1 hijacking hasn't been addressed yet. Here, we were interested in characterizing how CRM1 hijacking by Rex could affect the NMD, a well described RNA quality control and post-transcriptional process involved in cellular homeostasis, knowing that its core factor UPF1 is a CRM1 cargo.

We observed that Rex impacts CRM1-dependent UPF1 export through the formation of an UPF1-Rex-CRM1 complex. Our data support that this complex relies on the combined interactions between UPF1 and CRM1, Rex and CRM1 as well as Rex and UPF1, leading to increased levels of CRM1 associated to UPF1. Hypothesizing that we face a sequestration complex, confocal microscopy confirms that while UPF1 is usually mostly cytoplasmic due to an efficient/active nuclear export, Rex expression effectively favours UPF1 nuclear accumulation. Consistently with UPF1 improper localization^{21,65} and the current model of NMD in which UPF1 binds its target in the cytoplasm, we were able to correlate the formation of this sequestration complex with a defect in UPF1 binding to RNA. Finally, the consequences of these alterations were analysed at the light of the NMD process : NMD activity was repressed under Rex expression as shown previously³⁹ but more interestingly, by using selected Rex mutants, we were able to correlate this inhibition with the formation of the sequestration complex and the capacity of Rex to shuttle with CRM1. The concomitant expression of a RxRE containing RNA did not change our observations, allowing us to conclude that this inhibition process can occur independently of the Rex binding to viral RNA (in accordance with previous observations suggesting that RNA binding is not indispensable to provoke the shuttling of Rex)⁵⁴. In addition, similar results were obtained in HTLV-1 chronically infected cells, confirming their physiological relevance.

Nakano et al reported few month ago that overexpressed UPF1 can interact with Rex in the cytoplasm and p-bodies and that NMD inhibition was dependant on several domains of Rex including its Nter (ARM NLS and X domains)⁴⁵. Our results support and complete theirs: first we report an interaction between Rex and endogenous UPF1, which is vulnerable to a mutation in the NLS domain of Rex. Interestingly, PLA experiments support that this interaction occurs in the cytoplasm as well as in the nucleus. While the cytoplasmic presence of these complexes matches with the model of Nakano et al, suggesting that Rex alters the composition of the NMD complex after its recruitment via UPF1, the existence of nuclear complexes support the accumulation of UPF1 in the nucleus under Rex control. The modification of UPF1 nuclear

export fitness in a Rex dependant manner definitely reduces the ability of UPF1 to bind RNA, further preventing NMD initiation. Thus, we reveal a second model for the Rex mediated NMD inhibition, specifically based on the capacity of Rex and UPF1 to be exported by CRM1.

In order to reinforce the demonstration that CRM1 hijacking by a retroviral transporter can alter cellular pathways, we also investigated the effect of HIV Rev expression. As expected, Rev expression globally led to similar observations, although some mechanistical divergences may support slight differences in our observations: strikingly, Rev induces a stronger UPF1 nuclear retention, essentially in nucleolus, while UPF1 staining was essentially diffuse in the nucleus with Rex. Interestingly, this demonstration also points out for the first time that HIV is able to trans-inhibit NMD in a Rev dependant manner, affecting the stability of non-viral RNA. So far, in the HIV field, UPF1 was known to be involved in viral RNA export with Rev and CRM1, and UPF1 was shown not to be part of an NMD complex when bound to viral RNA, before being encapsidated with RNA^{43,66}; its presence being then necessary for a further efficient viral transmission⁶⁷. Considering HTLV-1, although the sequestration complex UPF1/CRM1/Rex can be constituted without vRNA, we found that it also led to the loading of UPF1 onto the unspliced vRNA exported by Rex, in infected cells. Ultimately, we observed that UPF1 is effectively driven into HTLV-1 viral particles, strengthening the convergence between Rex and Rev's effect towards UPF1. Although the reasons of UPF1 presence in the HTLV-1 viral particles are still unknown and will be investigated in a future work, it may imply that UPF1 can modulate retroviral transmission/replication in the next infected cell. Several viruses, including the complex retroviruses that express Rev like protein, subvert the CRM1 nucleo/cytoplasmic export to ensure a proper replicative cycle and the production of infectious virion⁶⁸⁻⁷². In parallel, it is well described that viruses capture cellular RBP at the expense of the host mRNP, to compose their own mRNP⁷³⁻⁷⁷. In line with this, our results thus suggest that the export of unspliced vRNA by CRM1 is a critic step in the formation of the retroviral mRNP and UPF1 incorporation.

Finally, this work also reveals unexpected data on the regulation of NMD: in the past, the nuclear import of UPF1 by the importin B was stress out as a critical step of the process. Here the expression of viral proteins shows that the CRM1 dependant export also impacts the NMD, emphasizing the importance of the nucleo/cytoplasmic shuttling process as a regulation node of the NMD. To understand how the NMD can be controlled at this step without a viral infection and the "locking" effect of Rex and Rev, still need further investigations that are currently under progress.

In conclusion, this work describes how the process of CRM1 subjugation unexpectedly provokes the coordinated hijacking of UPF1, since the formation of a sequestration complex not only trans-inhibits the NMD (which constitutes a threat toward retroviral RNA), but also redirects UPF1 isolated from its NMD partner UPF2 on the viral RNA before packaging.

References

1. Okamura, M., Inose, H. & Masuda, S. RNA Export through the NPC in Eukaryotes. *Genes* **6**, 124–149 (2015).
2. Cautain, B., Hill, R., de Pedro, N. & Link, W. Components and regulation of nuclear transport processes. *FEBS J.* **282**, 445–462 (2015).
3. Fung, H. Y. J., Niesman, A. & Chook, Y. M. An update to the CRM1 cargo/NES database NESdb. *Mol. Biol. Cell* **32**, 467–469 (2021).
4. Fung, H. Y. J. & Chook, Y. M. Atomic basis of CRM1-cargo recognition, release and inhibition. *Semin. Cancer Biol.* **27**, 52–61 (2014).
5. Güttler, T. & Görlich, D. Ran-dependent nuclear export mediators: a structural perspective. *EMBO J.* **30**, 3457–3474 (2011).
6. Güttler, T. *et al.* NES consensus redefined by structures of PKI-type and Rev-type nuclear export signals bound to CRM1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 1367–1376 (2010).
7. Kehlenbach, R. H., Dickmanns, A. & Gerace, L. Nucleocytoplasmic shuttling factors including Ran and CRM1 mediate nuclear export of NFAT In vitro. *J. Cell Biol.* **141**, 863–874 (1998).
8. Fu, S.-C., Fung, H. Y. J., Çağatay, T., Baumhardt, J. & Chook, Y. M. Correlation of CRM1-NES affinity with nuclear export activity. *Mol. Biol. Cell* **29**, 2037–2044 (2018).
9. Engelsma, D., Bernad, R., Calafat, J. & Fornerod, M. Supraphysiological nuclear export signals bind CRM1 independently of RanGTP and arrest at Nup358. *EMBO J.* **23**, 3643–3652 (2004).
10. Zhang, X., Yamada, M., Mabuchi, N. & Shida, H. Cellular requirements for CRM1 import and export. *J. Biochem. (Tokyo)* **134**, 759–764 (2003).
11. Hill, R., Cautain, B., de Pedro, N. & Link, W. Targeting nucleocytoplasmic transport in cancer therapy. *Oncotarget* **5**, 11–28 (2014).
12. Nguyen, K. T., Holloway, M. P. & Altura, R. A. The CRM1 nuclear export protein in normal development and disease. *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* **3**, 137–151 (2012).
13. Saulino, D. M., Younes, P. S., Bailey, J. M. & Younes, M. CRM1/XPO1 expression in pancreatic adenocarcinoma correlates with survivin expression and the proliferative activity. *Oncotarget* **9**, 21289–21295 (2018).
14. Chen, Y. *et al.* Inhibition of the Nuclear Export Receptor XPO1 as a Therapeutic Target for Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **23**, 1552–1563 (2017).
15. Jiang, Y. *et al.* Circ-XPO1 upregulates XPO1 expression by sponging multiple miRNAs to facilitate osteosarcoma cell progression. *Exp. Mol. Pathol.* **117**, 104553 (2020).
16. Song, P., Li, W., Xie, J., Hou, Y. & You, C. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2. *Clin. Chim. Acta Int. J. Clin. Chem.* **509**, 280–287 (2020).
17. Ferreira, B. I., Cautain, B., Grenho, I. & Link, W. Small Molecule Inhibitors of CRM1. *Front. Pharmacol.* **11**, 625 (2020).
18. Wang, A. Y. & Liu, H. The past, present, and future of CRM1/XPO1 inhibitors. *Stem Cell Investig.* **6**, 6 (2019).
19. Kırılı, K. *et al.* A deep proteomics perspective on CRM1-mediated nuclear export and nucleocytoplasmic partitioning. *eLife* **4**, e11466 (2015).
20. Thakar, K., Karaca, S., Port, S. A., Urlaub, H. & Kehlenbach, R. H. Identification of CRM1-dependent Nuclear Export Cargos Using Quantitative Mass Spectrometry. *Mol. Cell. Proteomics MCP* **12**, 664–678 (2013).

21. Mendell, J. T., Sharifi, N. A., Meyers, J. L., Martinez-Murillo, F. & Dietz, H. C. Nonsense surveillance regulates expression of diverse classes of mammalian transcripts and mutes genomic noise. *Nat Genet* **36**, 1073–8 (2004).
22. Kurosaki, T., Popp, M. W. & Maquat, L. E. Quality and quantity control of gene expression by nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **20**, 406–420 (2019).
23. Karousis, E. D. & Mühlemann, O. Nonsense-Mediated mRNA Decay Begins Where Translation Ends. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **11**, (2019).
24. Hurt, J. A., Robertson, A. D. & Burge, C. B. Global analyses of UPF1 binding and function reveal expanded scope of nonsense-mediated mRNA decay. *Genome Res* **23**, 1636–1650 (2013).
25. Zund, D., Gruber, A. R., Zavolan, M. & Muhlemann, O. Translation-dependent displacement of UPF1 from coding sequences causes its enrichment in 3' UTRs. *Nat Struct Mol Biol* **20**, 936–43 (2013).
26. Neu-Yilik, G. *et al.* Dual function of UPF3B in early and late translation termination. *EMBO J.* **36**, 2968–2986 (2017).
27. Chamieh, H., Ballut, L., Bonneau, F. & Le Hir, H. NMD factors UPF2 and UPF3 bridge UPF1 to the exon junction complex and stimulate its RNA helicase activity. *Nat Struct Mol Biol* **15**, 85–93 (2008).
28. Chakrabarti, S. *et al.* Molecular mechanisms for the RNA-dependent ATPase activity of Upf1 and its regulation by Upf2. *Mol Cell* **41**, 693–703 (2011).
29. Yamashita, A., Ohnishi, T., Kashima, I., Taya, Y. & Ohno, S. Human SMG-1, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase, associates with components of the mRNA surveillance complex and is involved in the regulation of nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev* **15**, 2215–28 (2001).
30. Durand, S., Franks, T. M. & Lykke-Andersen, J. Hyperphosphorylation amplifies UPF1 activity to resolve stalls in nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Commun.* **7**, 12434 (2016).
31. Balistreri, G. *et al.* The host nonsense-mediated mRNA decay pathway restricts Mammalian RNA virus replication. *Cell Host Microbe* **16**, 403–411 (2014).
32. Hogg, J. R. & Goff, S. P. Upf1 senses 3'UTR length to potentiate mRNA decay. *Cell* **143**, 379–89 (2010).
33. LeBlanc, J. J. & Beemon, K. L. Unspliced Rous sarcoma virus genomic RNAs are translated and subjected to nonsense-mediated mRNA decay before packaging. *J. Virol.* **78**, 5139–5146 (2004).
34. Wada, M., Lokugamage, K. G., Nakagawa, K., Narayanan, K. & Makino, S. Interplay between coronavirus, a cytoplasmic RNA virus, and nonsense-mediated mRNA decay pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, E10157–E10166 (2018).
35. Quek, B. L. & Beemon, K. Retroviral strategy to stabilize viral RNA. *Curr. Opin. Microbiol.* **18**, 78–82 (2014).
36. Garcia, D., Garcia, S. & Voinnet, O. Nonsense-mediated decay serves as a general viral restriction mechanism in plants. *Cell Host Microbe* **16**, 391–402 (2014).
37. Li, M. *et al.* Identification of antiviral roles for the exon-junction complex and nonsense-mediated decay in flaviviral infection. *Nat. Microbiol.* **4**, 985–995 (2019).
38. Mocquet, V. *et al.* The human T-lymphotropic virus type 1 tax protein inhibits nonsense-mediated mRNA decay by interacting with INT6/EIF3E and UPF1. *J Virol* **86**, 7530–43 (2012).
39. Nakano, K. *et al.* Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication. *Microbes Infect.* **15**, 491–505 (2013).

40. Popp, M. W.-L., Cho, H. & Maquat, L. E. Viral subversion of nonsense-mediated mRNA decay. *RNA N. Y. N* **26**, 1509–1518 (2020).
41. Weil, J. E. & Beemon, K. L. A 3' UTR sequence stabilizes termination codons in the unspliced RNA of Rous sarcoma virus. *RNA N. Y. N* **12**, 102–110 (2006).
42. Ge, Z., Quek, B. L., Beemon, K. L. & Hogg, J. R. Polypyrimidine tract binding protein 1 protects mRNAs from recognition by the nonsense-mediated mRNA decay pathway. *eLife* **5**, (2016).
43. Ajamian, L. *et al.* HIV-1 Recruits UPF1 but Excludes UPF2 to Promote Nucleocytoplasmic Export of the Genomic RNA. *Biomolecules* **5**, 2808–2839 (2015).
44. Fiorini, F. *et al.* HTLV-1 Tax plugs and freezes UPF1 helicase leading to nonsense-mediated mRNA decay inhibition. *Nat. Commun.* **9**, (2018).
45. Nakano, K. *et al.* Elucidation of the Mechanism of Host NMD Suppression by HTLV-1 Rex: Dissection of Rex to Identify the NMD Inhibitory Domain. *Viruses* **14**, 344 (2022).
46. Iwasaki, Y. Pathology of chronic myelopathy associated with HTLV-I infection (HAM/TSP). *J. Neurol. Sci.* **96**, 103–123 (1990).
47. Poiesz, B. J. *et al.* Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **77**, 7415–7419 (1980).
48. Barré-Sinoussi, F., Ross, A. L. & Delfraissy, J.-F. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 877–883 (2013).
49. Ahmed, Y. F., Hanly, S. M., Malim, M. H., Cullen, B. R. & Greene, W. C. Structure-function analyses of the HTLV-I Rex and HIV-1 Rev RNA response elements: insights into the mechanism of Rex and Rev action. *Genes Dev.* **4**, 1014–1022 (1990).
50. Ballaun, C. *et al.* Functional analysis of human T-cell leukemia virus type I rex-response element: direct RNA binding of Rex protein correlates with in vivo activity. *J. Virol.* **65**, 4408–4413 (1991).
51. Malim, M. H. & Cullen, B. R. HIV-1 structural gene expression requires the binding of multiple Rev monomers to the viral RRE: implications for HIV-1 latency. *Cell* **65**, 241–248 (1991).
52. Shida, H. Role of Nucleocytoplasmic RNA Transport during the Life Cycle of Retroviruses. *Front. Microbiol.* **3**, 179 (2012).
53. Madore, S. J., Tiley, L. S., Malim, M. H. & Cullen, B. R. Sequence requirements for Rev multimerization in vivo. *Virology* **202**, 186–194 (1994).
54. Hakata, Y., Umemoto, T., Matsushita, S. & Shida, H. Involvement of human CRM1 (exportin 1) in the export and multimerization of the Rex protein of human T-cell leukemia virus type 1. *J. Virol.* **72**, 6602–6607 (1998).
55. Palmeri, D. & Malim, M. H. Importin beta can mediate the nuclear import of an arginine-rich nuclear localization signal in the absence of importin alpha. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 1218–1225 (1999).
56. Henderson, B. R. & Percipalle, P. Interactions between HIV Rev and nuclear import and export factors: the Rev nuclear localisation signal mediates specific binding to human importin-beta. *J. Mol. Biol.* **274**, 693–707 (1997).
57. Adachi, Y., Copeland, T. D., Hatanaka, M. & Oroszlan, S. Nucleolar targeting signal of Rex protein of human T-cell leukemia virus type I specifically binds to nucleolar shuttle protein B-23. *J. Biol. Chem.* **268**, 13930–13934 (1993).
58. Lin, M.-H. *et al.* Nullbasic, a potent anti-HIV tat mutant, induces CRM1-dependent disruption of HIV rev trafficking. *PloS One* **7**, e51466 (2012).

59. Baydoun, H., Duc-Dodon, M., Lebrun, S., Gazzolo, L. & Bex, F. Regulation of the human T-cell leukemia virus gene expression depends on the localization of regulatory proteins Tax, Rex and p30II in specific nuclear subdomains. *Gene* **386**, 191–201 (2007).
60. Nakano, K. & Watanabe, T. HTLV-1 Rex: the courier of viral messages making use of the host vehicle. *Front. Microbiol.* **3**, 330 (2012).
61. Daelemans, D., Costes, S. V., Lockett, S. & Pavlakis, G. N. Kinetic and molecular analysis of nuclear export factor CRM1 association with its cargo in vivo. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 728–739 (2005).
62. Nakano, K. & Watanabe, T. HTLV-1 Rex Tunes the Cellular Environment Favorable for Viral Replication. *Viruses* **8**, 58 (2016).
63. Schmidt, E. K., Clavarino, G., Ceppi, M. & Pierre, P. SUnSET, a nonradioactive method to monitor protein synthesis. *Nat. Methods* **6**, 275–277 (2009).
64. Farjot, G. *et al.* Epstein-Barr virus EB2 protein exports unspliced RNA via a Crm-1-independent pathway. *J. Virol.* **74**, 6068–6076 (2000).
65. Singh, A. K. *et al.* The RNA helicase UPF1 associates with mRNAs co-transcriptionally and is required for the release of mRNAs from gene loci. *eLife* **8**, e41444 (2019).
66. Ajamian, L. *et al.* Unexpected roles for UPF1 in HIV-1 RNA metabolism and translation. *RNA N. Y. N* **14**, 914–927 (2008).
67. Serquina, A. K. *et al.* UPF1 Is Crucial for the Infectivity of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Progeny Virions. *J Virol* **87**, 8853–61 (2013).
68. Huang, S. *et al.* A second CRM1-dependent nuclear export signal in the influenza A virus NS2 protein contributes to the nuclear export of viral ribonucleoproteins. *J. Virol.* **87**, 767–778 (2013).
69. Rawlinson, S. M., Pryor, M. J., Wright, P. J. & Jans, D. A. CRM1-mediated nuclear export of dengue virus RNA polymerase NS5 modulates interleukin-8 induction and virus production. *J. Biol. Chem.* **284**, 15589–15597 (2009).
70. Bodendorf, U., Cziepluch, C., Jauniaux, J. C., Rommelaere, J. & Salomé, N. Nuclear export factor CRM1 interacts with nonstructural proteins NS2 from parvovirus minute virus of mice. *J. Virol.* **73**, 7769–7779 (1999).
71. Beemon, K. L. Retroviral RNA Processing. *Viruses* **14**, 1113 (2022).
72. Mathew, C. & Ghildyal, R. CRM1 Inhibitors for Antiviral Therapy. *Front. Microbiol.* **8**, 1171 (2017).
73. Knoener, R. A., Becker, J. T., Scalf, M., Sherer, N. M. & Smith, L. M. Elucidating the in vivo interactome of HIV-1 RNA by hybridization capture and mass spectrometry. *Sci. Rep.* **7**, 16965 (2017).
74. Kamel, W. *et al.* Global analysis of protein-RNA interactions in SARS-CoV-2-infected cells reveals key regulators of infection. *Mol. Cell* **81**, 2851-2867.e7 (2021).
75. Garcia-Moreno, M. *et al.* System-wide Profiling of RNA-Binding Proteins Uncovers Key Regulators of Virus Infection. *Mol. Cell* **74**, 196-211.e11 (2019).
76. Iselin, L. *et al.* Uncovering viral RNA-host cell interactions on a proteome-wide scale. *Trends Biochem. Sci.* **47**, 23–38 (2022).
77. Zhang, S. *et al.* Comparison of viral RNA-host protein interactomes across pathogenic RNA viruses informs rapid antiviral drug discovery for SARS-CoV-2. *Cell Res.* **32**, 9–23 (2022).
78. Palma, M. *et al.* A role for AKT1 in nonsense-mediated mRNA decay. *Nucleic Acids Res.* **49**, 11022–11037 (2021).

Figures

Figure 1

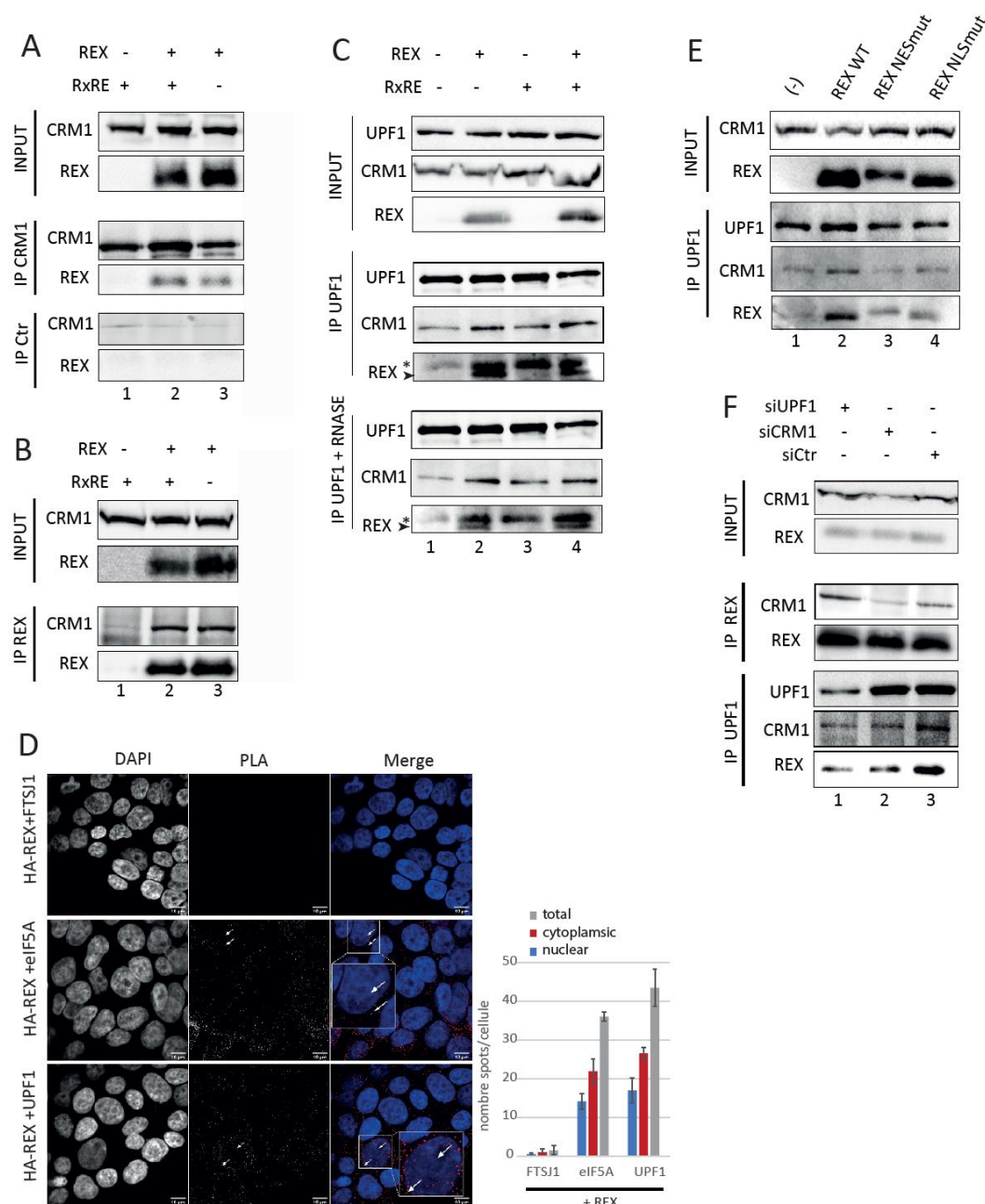


Figure 1 : Rex interacts with CRM1 and UPF1 to form a tripartite complex. **A)** Coimmunoprecipitation (coIP) experiments on 293T cells extracts. Cells express the indicated combinations of Rex and RxRE motif containing RNA. IP were performed using rabbit polyclonal antibodies against CRM1 (middle panel) or from a pre-immune serum. Proteins revealed by western blot were indicated on the side. **B)** Same as A with an antibody targeting Rex. **C)** Same as A) with an antibody targeting UPF1. coIP were incubated 30 min with RNase A (0.1mg/ml) (lower panel) or not (middle panel). * indicates an aspecific signal. Rex specific signal corresponds to the lower band. **D)** Proximity Ligation Assay (PLA) carried out in 293T cells transiently transfected with a HA-REX coding plasmid. PLA combined antibodies specific of the HA tag and FTSJ1, eIF5A or UPF1 as indicated. Each dot corresponds to the colocalization of the indicated protein with a resolution of 40nm. Magnification

of one representative cell is framed in the merge. **E)** coIP experiments in 293T cells transfected with plasmids coding the indicated forms of Rex and revealed by western blot. An empty vector is transfected in lane 1. IP was performed with a rabbit polyclonal antibody against UPF1. **F)** coIP experiments in 293T cells transfected with the indicated siRNA and revealed by western blot. IP was performed against Rex (middle panel) or UPF1 (lower panel).

Figure :

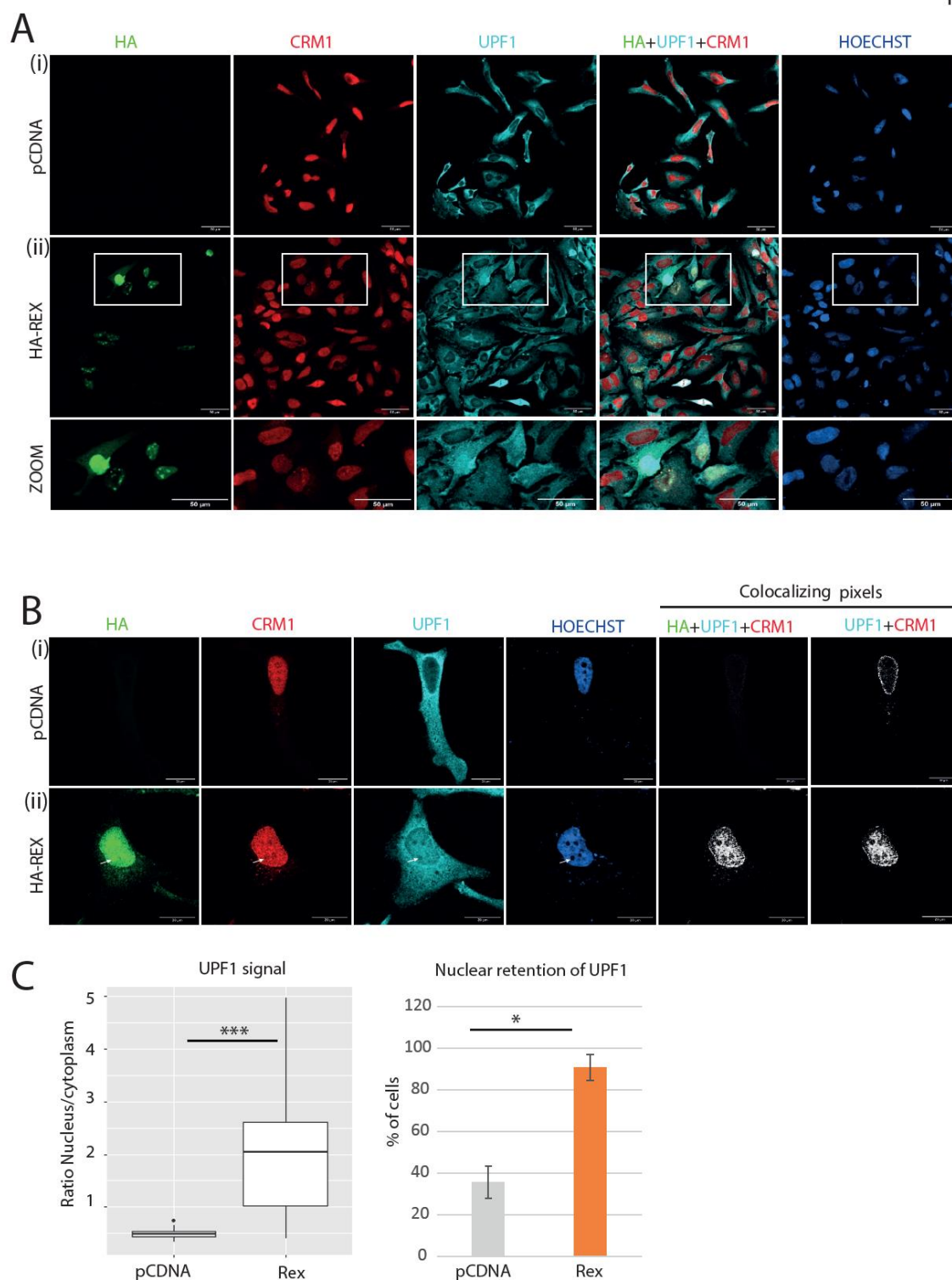


Figure 2 : Rex expression modifies UPF1 localisation. **A)** Confocal microscopy experiments were performed in HeLa cells transfected with the plasmids indicated on the left side. Rex was revealed with an antiHA tag antibody and a secondary anti mouse Alexa 488. CRM1 antibody was targeted with an anti-rabbit Alexa 647 and the UPF1 antibody with an anti-goat CFL 555. Magnification of the framed zone is shown in the lower panel (ZOOM). Images were acquired with a x20 objective. Scale: 50µm. **B)** same as A with a x63 objective. Scale: 20µm. Colocalizing pixels view is obtained as mentioned in the methods section and only show the pixels activated at the indicated conditions. **C)** Quantitative

analysis of the microscopy experiments. On the left panel, UPF1 signal was quantified in the cytoplasm and in the nucleus and express as a ratio. Wilcoxon, p-value < 0.005,***. On the right panel, the number of cells displaying nuclear retention of UPF1 is indicated. t-test p-value <0.05 *.

Figure 3

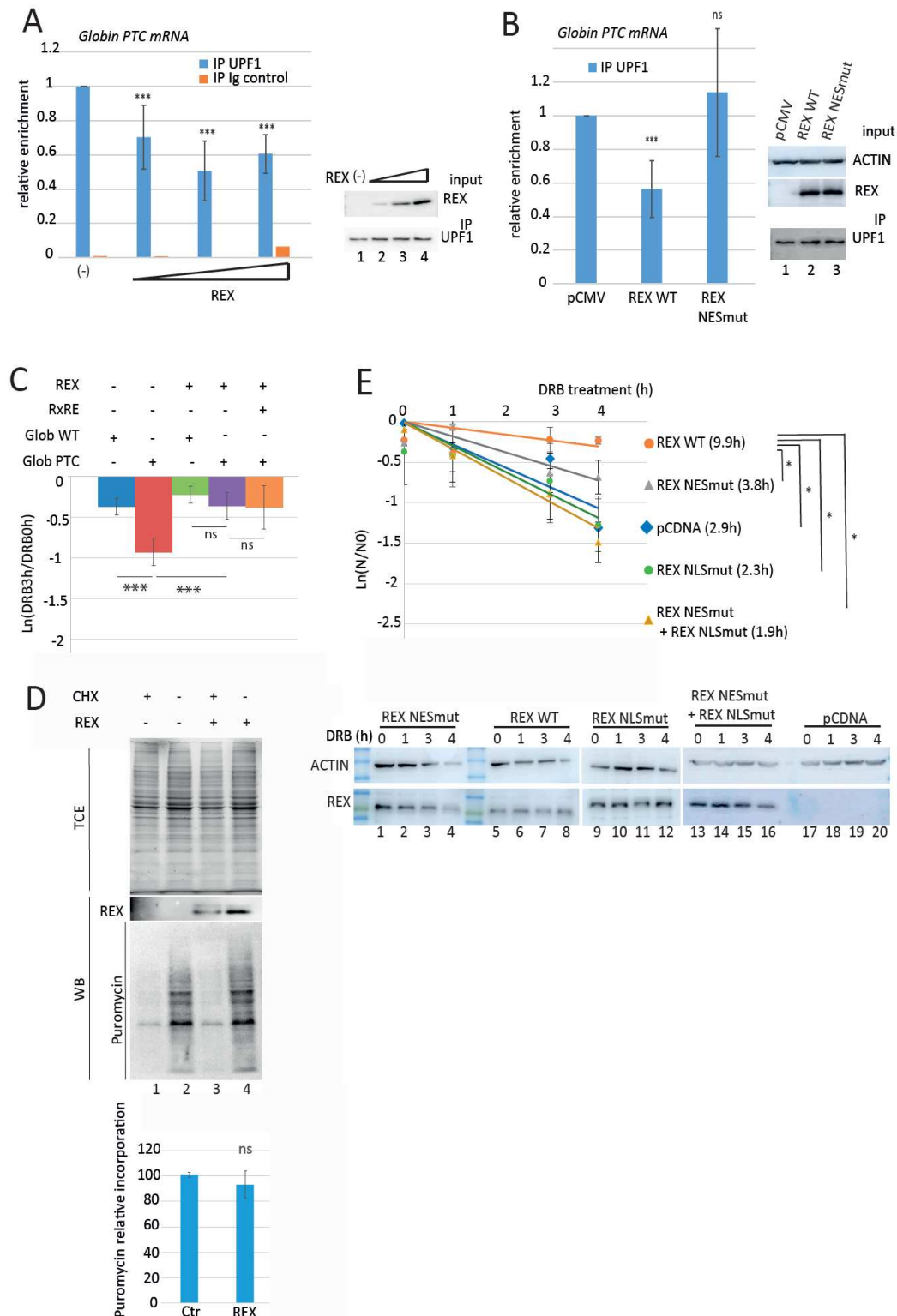


Figure 3 : Rex expression leads to UPF1 diminished association to RNA, what is functionally link to NMD inhibition. A) RNA immunoprecipitation experiment (RIP) using a rabbit polyclonal antibody targeting UPF1 or from a pre-immune serum (Ig control) were performed with HeLa cells transfected with a Globin PTC coding plasmid and increasing amounts of Rex coding plasmid. Immunoprecipitated RNA (Globin PTC) were quantified by RTqPCR. For each condition, the relative enrichment of Globin

PTC RNA associated to UPF1 compared to conditions without Rex was displayed in the graph. Statistical analysis: t-test *** $p < 0.005$; ns: $p > 0.05$. On the right panel, western blot controlling the levels of expressed Rex and immunoprecipitated UPF1. **B)** Same as A with empty vector, Rex WT or Rex NES mutant plasmids transfected as indicated. **C)** Decay rate analysis of Globin PTC and Globin WT RNA. Globin RNA levels were quantified after HeLa cells were treated with DRB for 0h or 3h. The rate of decay is expressed as $\ln(\text{DRB3h}/\text{DRB0h})$. Statistical analysis: t-test *** $p < 0.005$; ns: $p > 0.05$. **D)** Sunset assay with HeLa cells expressing or not Rex (lane 2 and 4). The level of total protein was acquired before transfer with stainless method, Rex expression and puromycin incorporation were evaluated by western blot. Puromycin quantification was indicated on the right panel. As a negative control, cells were pre-treated with cycloheximide to inhibit translation (lane 1 and 3). Statistical analysis: t-test ns: $p > 0.05$. **E)** Half-life evaluation of the Glob PTC mRNA in HeLa cells transfected with the indicated forms of Rex. mRNA half-lives ($t_{1/2} = \ln(2)/\lambda$ with λ the time constant of the decay curves) are indicated in front of their respective conditions. Statistical analysis: t-test * $p < 0.05$. The expression of Rex at each time point after DRB treatment was evaluated by WB (lower panel).

Figure 4

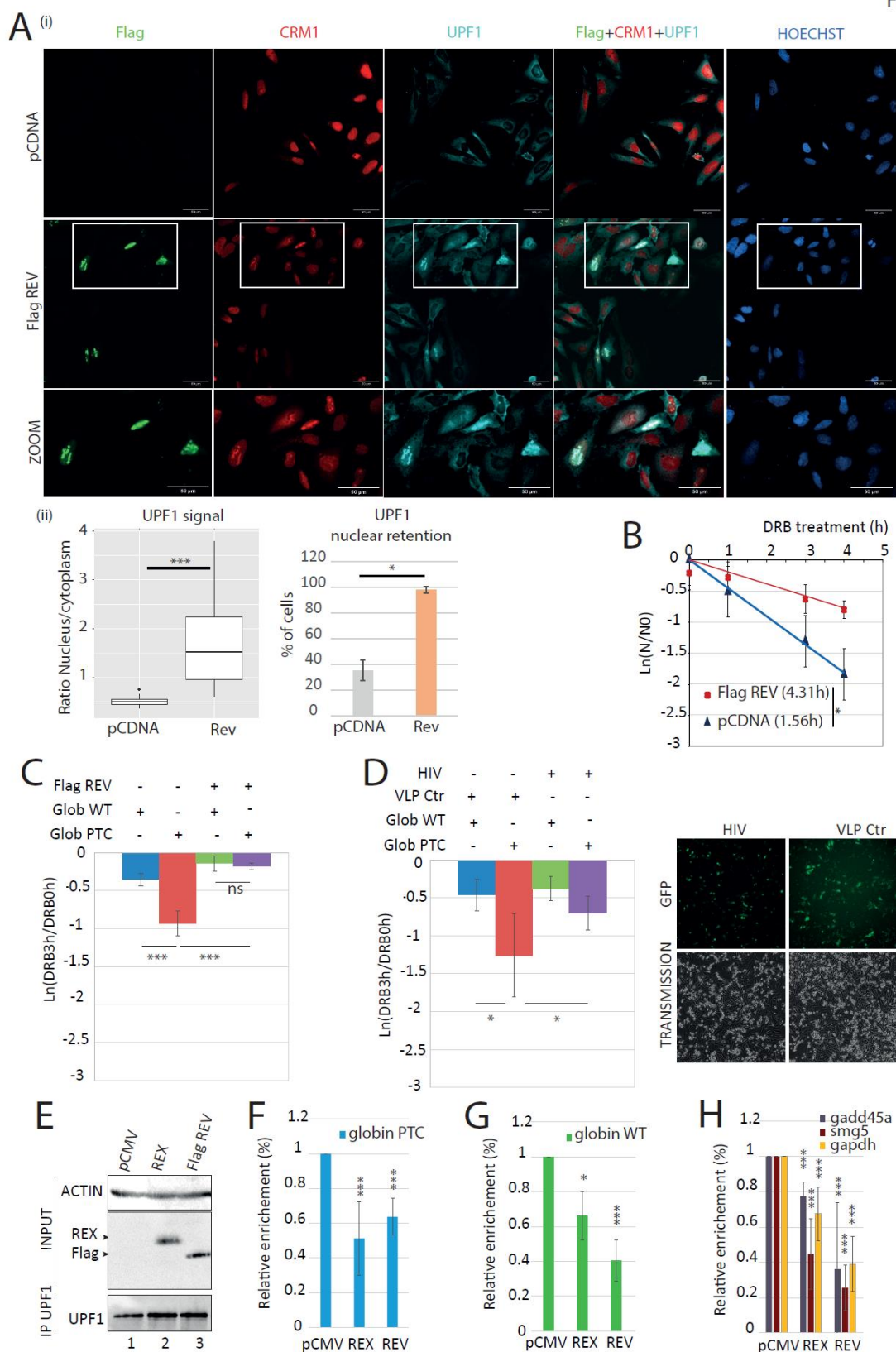


Figure 4 : Rev from HIV-1 also inhibits NMD through UPF1 nuclear retention and diminished RNA association. A) (i) Confocal microscopy experiments were performed in HeLa cells transfected with the plasmids indicated on the left side. Rev was revealed with an anti-Flag tag antibody and a secondary anti-mouse Alexa 488. CRM1 antibody was targeted with an anti-rabbit Alexa 647 and the UPF1 antibody with an anti-goat CFL 555. Magnification of the framed zone is shown in the lower

panel (ZOOM). Images were acquired with a x20 objective. Scale: 50µm. (ii) The same quantitative analysis was carried out as for Rex in Fig 2C **B)** Half-life evaluation of the Glob PTC mRNA in HeLa cells transfected with the indicated forms of Rev. mRNA half-lives ($t_{1/2} = \ln(2)/\lambda$ with λ the time constant of the decay curves) are indicated in front of their respective conditions. Statistical analysis: t-test * $p < 0.05$. **C)** Decay rate analysis of Globin PTC and Globin WT RNA. Globin RNA levels were quantified after HeLa cells were treated with DRB for 0h or 3h. The rate of decay is expressed as $\ln(\text{DRB3h}/\text{DRB0h})$. Statistical analysis: t-test *** $p < 0.005$; ns: $p > 0.05$. **D)** Same as C) except that HeLa cells were infected with HIV particles or control Virus Like Particles (CtrVLP) instead of being transfected with Flag Rev (left panel). GFP expressed from HIV or CtrVLP was observed with epifluorescence microscope (right panel). **E)** Western blot controlling the following RIP experiment: Rex and Rev proteins expression was monitored in the whole cell extract (INPUT) as well as UPF1 immunoprecipitations. **F)** RIP using a rabbit polyclonal antibody targeting UPF1 was performed with HeLa cells expressing Globin PTC mRNA as well as Rex or Rev as indicated. Immunoprecipitated RNA (Globin PTC) were quantified by RTqPCR. For each condition, the relative enrichment of Globin PTC RNA associated to UPF1 compared to control conditions (pCMV) was displayed in the graph. Statistical analysis: t-test *** $p < 0.005$; ns: $p > 0.05$. **G)** Same as F with cells expressing globin WT mRNA. **H)** same as G with the quantification of endogenous mRNA gadd45a, smg5 and gapdh.

Figure 5

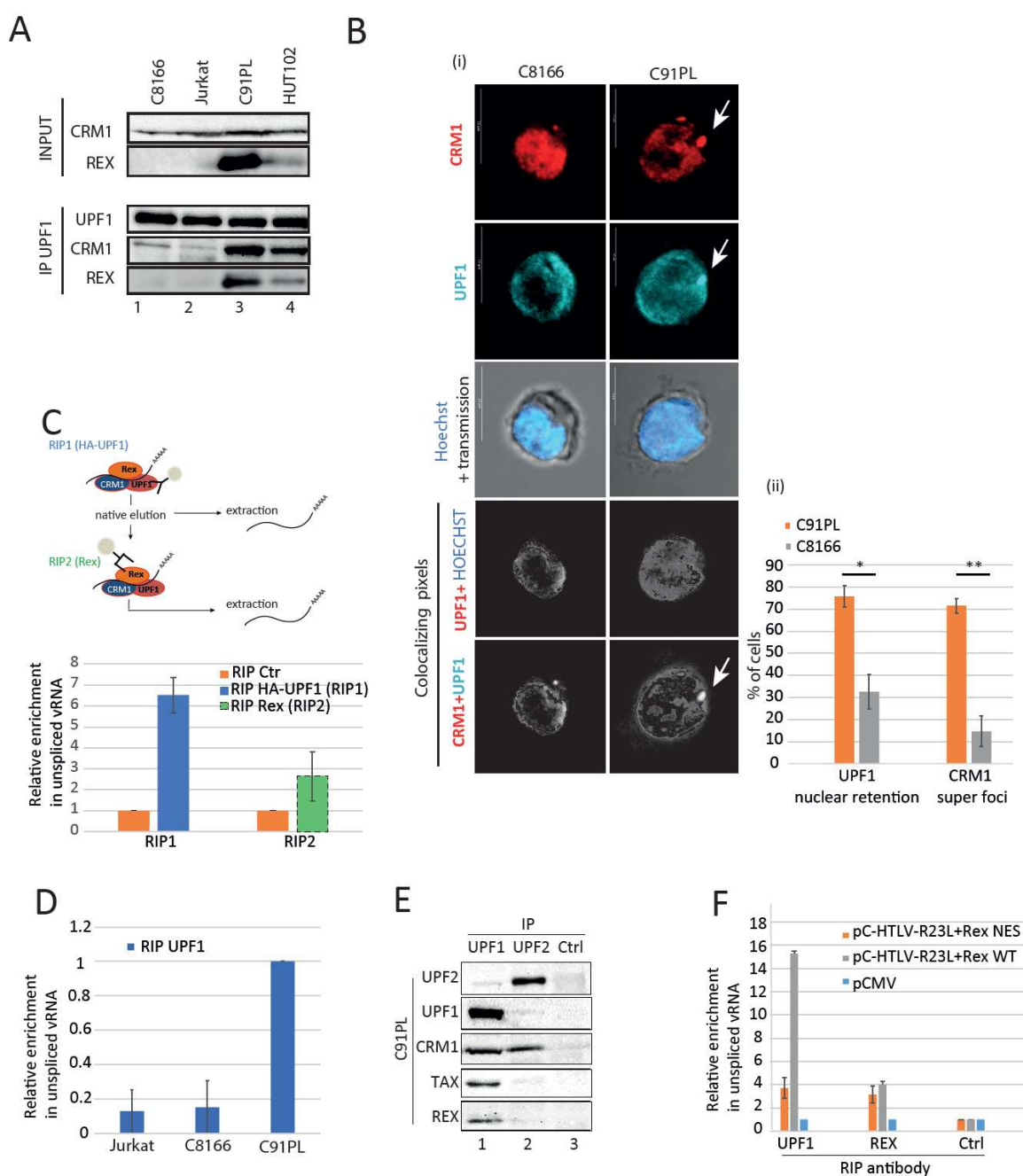


Figure 5 : Rex drives UPF1 sticking to CRM1, cellular relocation and loading on viral unspliced RNA. **A)** coIP experiments in the indicated lymphocytes cells extracts. IP were performed using rabbit polyclonal antibodies against UPF1. Proteins revealed by western blot were indicated on the side. **B)** (i) Confocal microscopy experiments were performed in C91PL and C8166 lymphocytes. CRM1 and UPF1 were revealed. The arrow shows a representative example of the CRM1 and UPF1 super foci (surface $\geq 1\%$ total surface. Images were acquired with a x63 objective. Scale: 10 μ m. (ii) Quantitative analysis showing the relative number of cells with UPF1 nuclear retention (left) or with at least one CRM1 superfoci (SF). **C)** Schematic diagram of the double RIP experiment performed in 293T cells cotransfected with the HTLV-1 WT molecular clone and a HA-UPF1 coding plasmid (upper panel). Quantification of the relative enrichment in unspliced viral RNA (vRNA) after HA RIP targeting UPF1 (RIP1) and Rex RIP (RIP2) (lower panel) compared to RIP Ctr. **D)** RIP using a rabbit polyclonal

antibody targeting UPF1 or UPF2 were performed with Jurkat, C91PL or C8166 lymphocytes. Immunoprecipitated RNA (vRNA) was quantified by RTqPCR. The relative enrichment of vRNA associated to UPF1 or UPF2 in C91PL was compared to Jurkat and C8166 and displayed in the graph. **E)** coIP experiments in the C91PL cells extracts. IP were performed against UPF1, UPF2 or using a control antibody (Ctr). Proteins revealed by western blot were indicated on the side. **F)** RIP targeting UPF1, Rex or using a control antibody (as indicated) were performed with 293T cells transfected with HTLV-1 R23L molecular clone complemented with either Rex NES or Rex WT (orange and grey bars respectively). As a negative control, cells were transfected with an empty vector (blue bars). Immunoprecipitated RNA (vRNA) was quantified by RTqPCR. The relative enrichment of vRNA associated to UPF1 or Rex compared to control was displayed in the graph.

Figure 6

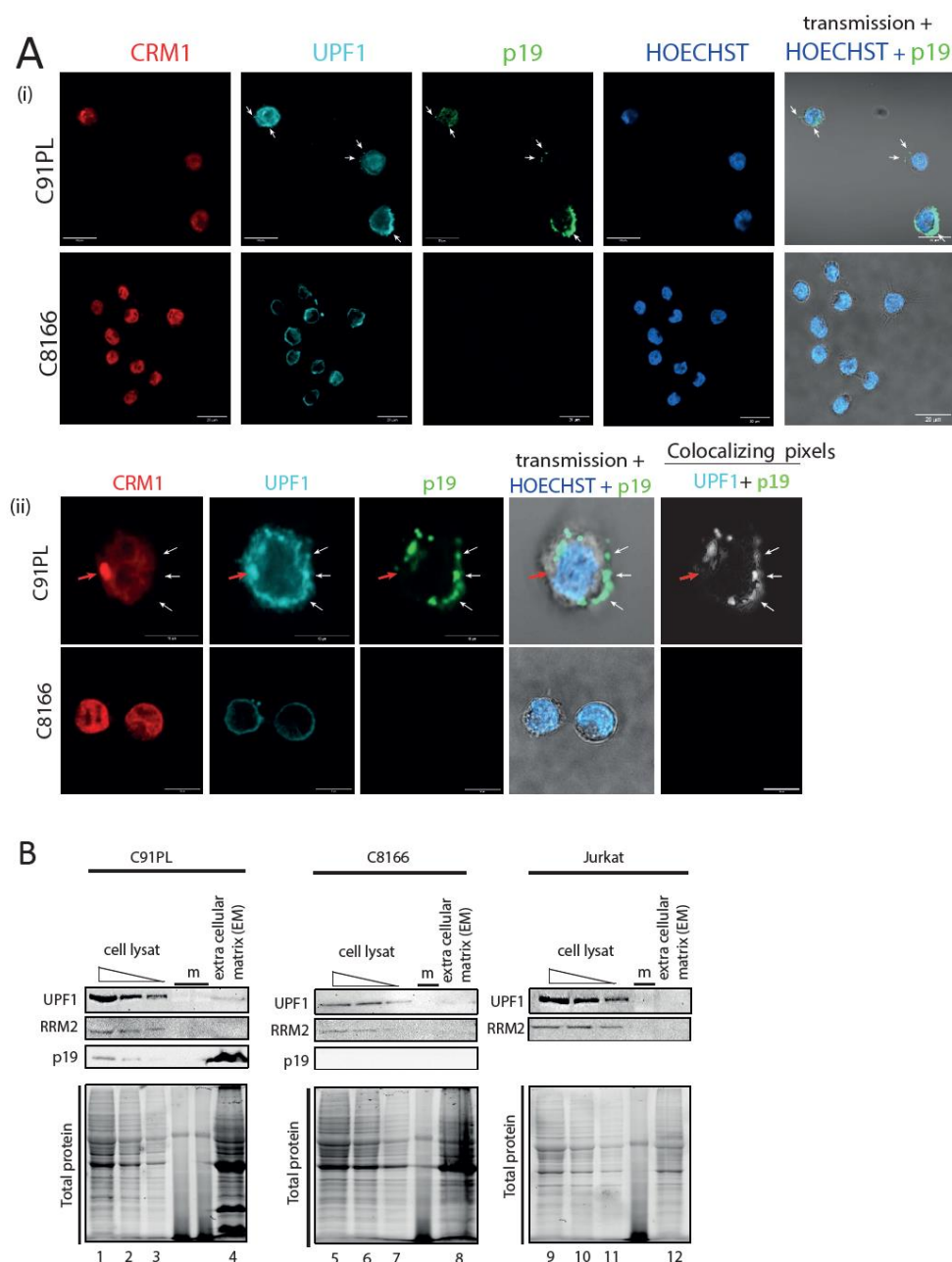
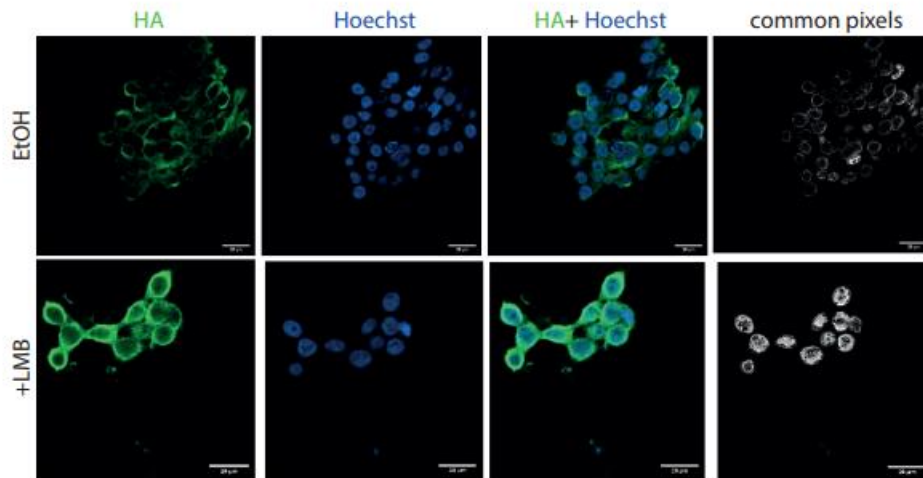
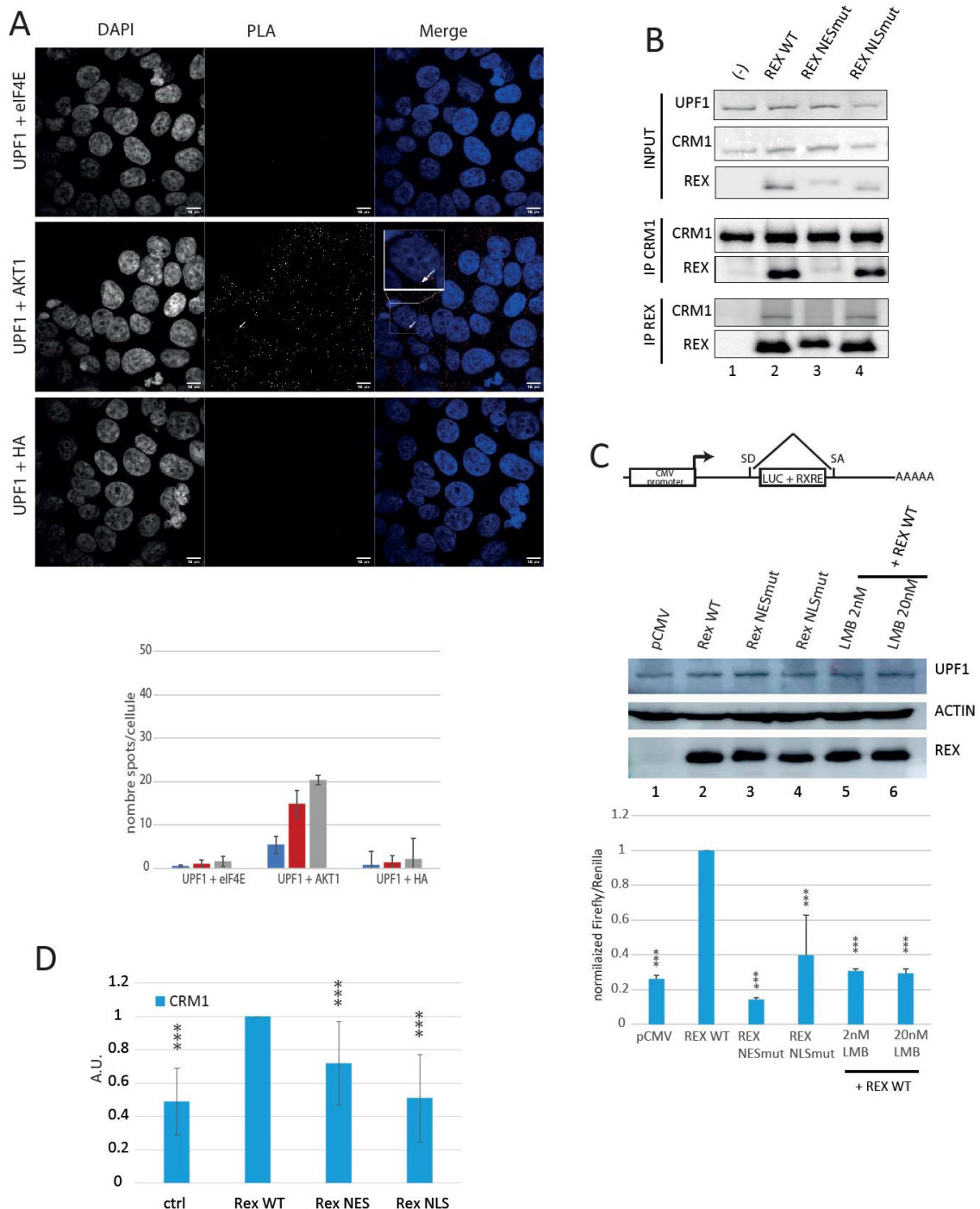


Figure 6 : UPF1 colocalize with p19 and is found in HTLV-1 biofilm. **A)** Confocal microscopy experiments were performed in C91PL and C8166 lymphocytes. Panel (i): CRM1, UPF1 and p19 GAG were revealed. The arrow shows a representative example of p19 and UPF1 colocalization in C91PL. Images were acquired with a x20 objective. Scale: 50µm. Panel (ii): same as panel (i) with acquisitions with a x63 objective (scale 10µm). White arrows show p19 foci. Red arrow shows CRM1 superfoci. **B)** Extracellular matrix (EM) containing the viral biofilm was collected in C91PL, C8166 and Jurkat cells and analysed (lanes 4, 8, 12). The presence of UPF1, RRM2 and p19 was evaluated by WB and total protein was monitored with stainless procedure (upper and lower panels respectively). Corresponding cell lysates were also monitored (lanes 1-3, 5-7, 9-11).

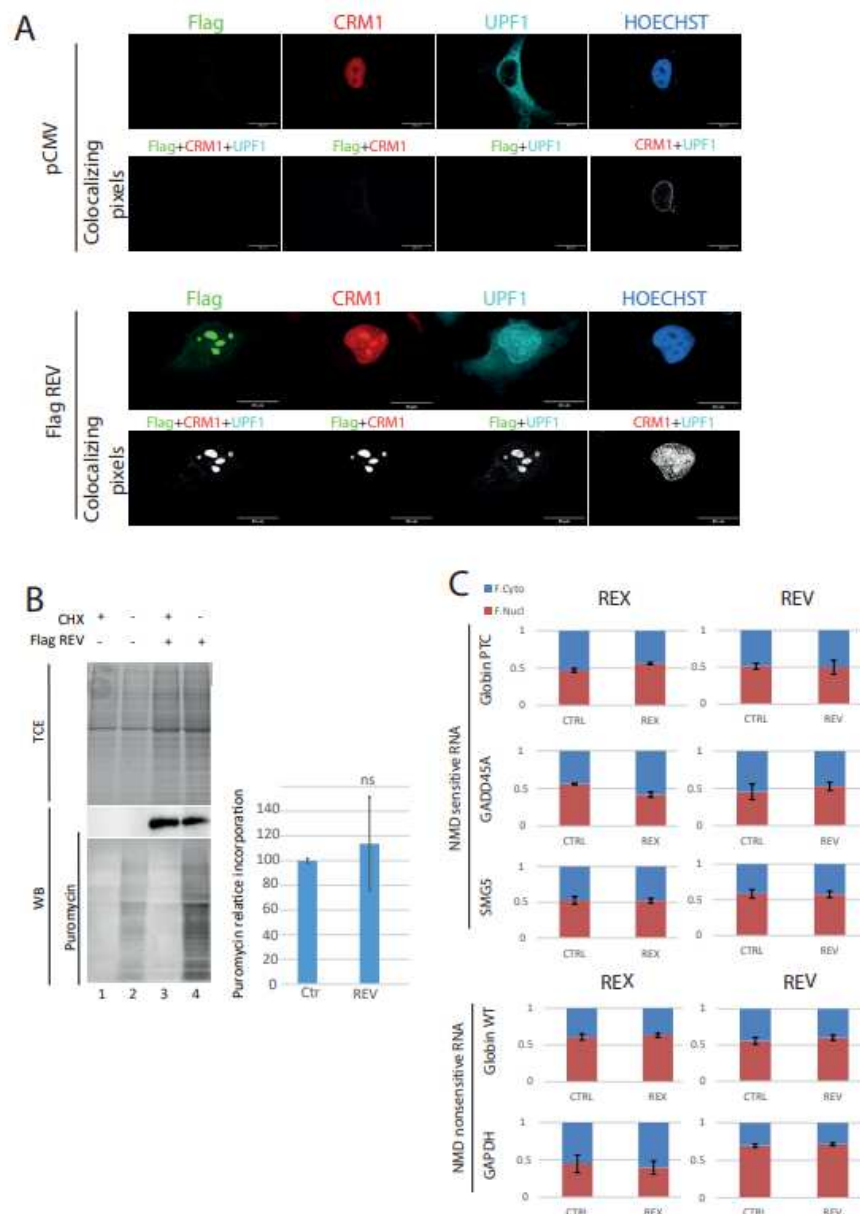


Supplementary figure 1 : CRM1-dependent UPF1 export tested by LMB treatment. 293T cells were transfected with a HA UPF1 plasmid. 12h before fixation, cells were treated with either 50nM leptomycin B (LMB) or EtOH. Cells were further stained with a anti HA antibody to localize UPF1. Nucleus were stained with Hoechst. Merge with HA and Hoechst was performed (HA+Hoechst) as well as the presentation of pixel jointly excited with anti HA and Hoechst staining (common pixels). This experiment shows a nuclear retention of HAUPF1 after LMB treatment confirming data from the literature.



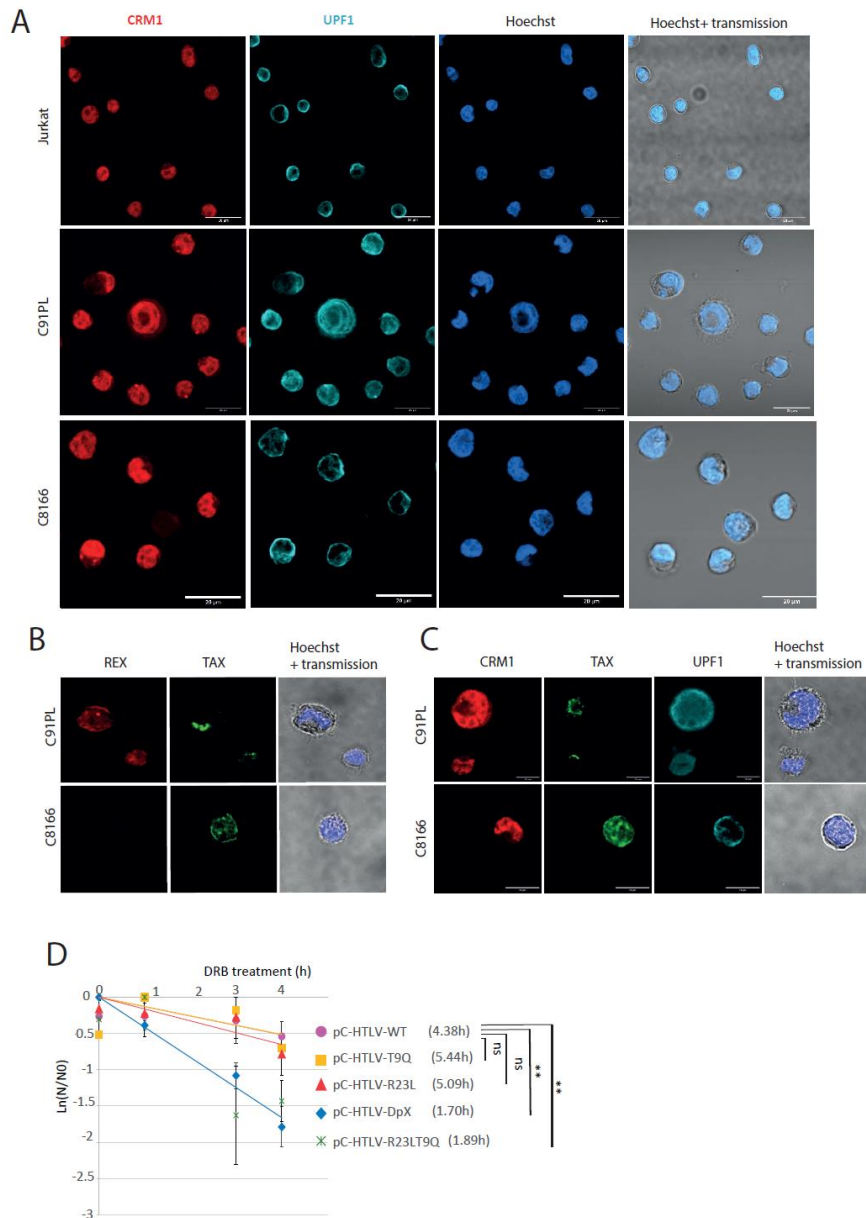
Supplementary figure 2. A) PLA control experiments showing UPF1 signal specificity. PLA were performed using anti UPF1 and anti eIF4E or anti HA and shows no spots, as expected of negative controls. Anti UPF1 combined with anti AKT1 generated spots as shown previously (Palma et al., 2021). **B)** coIP experiment in 293T cells transfected with WT and mutant forms of Rex. Immunoprecipitations of either CRM1 or Rex show that Rex NES mutant is not able to interact with CRM1 (lane 3) while Rex NLS mutant is still able (lane 4) compared with Rex WT (lane 2). **C)** An export assay was performed as

previously described (*Farjot et al., 2000*). The Rex reporter is composed of the luciferase gene followed by the RxRE motif under the control of a pCMV promoter. The luciferase/RxRE cassette is encompassed with splicing donor and acceptor sites that provoke its splicing preventing luciferase expression (upper panel). When Rex is expressed, this latter binds the RxRE, prevents the of the Luciferase/RxRE cassette and drives its export in a CRM1 dependant manner splicing (like with vRNA), allowing luciferase expression. The luciferase expression is quantified with the “luciferase dual glo luciferase assay” (Promega). A renilla coding plasmid is co transfected with the luc RxRE plasmid for normalization, following the manufacturer protocol. In addition, we transfected Rex WT (positive control, lane2), Rex NES mutant (lane3), Rex NLS mutant (lane 4) or an empty vector (negative control, lane1). As controls we also treated cells that expressed Rex with LMB at the indicated concentrations for 12h (lanes 5-6). Protein level expression was controlled by western blot (middle panel). Luciferase quantification were displayed as a percentage of the Rex WT condition (lower panel, lane2). As expected, in the absence of Rex or when cells were treated with LMB, luciferase expression was strongly reduced (lower panel, compare lane1, 5, 6 and 2). The expression of Rex NES mutant or Rex NLS mutant also impaired luciferase expression, validating the export defect of both mutants (lower panel, compare lane 3-4 and 2). **D)** Quantification of the western blots corresponding to figure 1E. Bars represent the medium of 4 independent experiments. Co-immunoprecipitated CRM1 was quantified using ImageLab (Biorad). And further normalized by the levels of immunoprecipitated UPF1(IP UPF1) and the levels of CRM1 in the total extracts (input).



Supplementary figure 3. A) Confocal microscopy experiments were performed in HeLa cells transfected with the Flag-Rev plasmid. Rev was revealed with an anti-Flag tag antibody and a secondary anti-mouse Alexa 488. CRM1 antibody was targeted with an anti-rabbit Alexa 647 and the UPF1 antibody with an anti-goat CFL 555. Colocalizing pixels view is obtained as mentioned in the methods section and only show the pixels activated at the indicated conditions. Images were acquired with a x63 objective. Scale: 20 μm. on this representative close up image, we clearly observed the nuclear localisation of UPF1 and its colocalization with Rev and CRM1. **B)** Sunset assay with HeLa cells expressing or not Rev (lane 2 and 4). The level of total protein was acquired before transfer with stainless method, Rex expression and puromycin incorporation were evaluated by western blot. Puromycin quantification was indicated on the right panel. As a negative control, cells were pre-treated with cycloheximide to inhibit translation (lane 1 and 3). Statistical analysis: t-test ns: $p > 0.05$. **C)** Quantification of the indicated RNA in the nuclear and cytoplasmic compartments after cell fractionation. Beforehand, cells were transfected with Rex or Rev as indicated. RNA in each compartment is represented as a fraction of the total amount of RNA. No significant change in RNA repartition could be found, suggesting that Rex and Rev impact on RIP experiments (Fig 4F-H) is not due to a defect in RNA availability in each cellular compartment.

Supplementary figure 4



Supplementary figure 4. A) Wide field views of Jurkat, C91PL and C8166 lymphocytes stained for CRM1 and UPF1 and observed by confocal microscopy. Images were acquired with a x3 objective. Scale: 20 μ m. **B)** Close up view of C91PL and C8166 lymphocytes stained for Rex and Tax and observed by confocal microscopy. Images were acquired with a x3 objective. Scale: 10 μ m **C)** same as B with CRM1, Tax and UPF1 staining. **D)** Half-life evaluation of the Glob PTC mRNA in HeLa cells transfected with the indicated forms of HTLV-1 molecular clones: pC-HTLV-WT ; pC-HTLV-T9Q (extinction of Tax expression due to a point mutation inducing nonsense codon at position 9 of Tax but maintaining Rex expression) ; pC-HTLV-R23L (extinction of Rex expression due to a point mutation inducing a nonsense mutation at position 90 of Rex but maintaining Tax expression) ; pC-HTLV-R23LT9Q (extinction of Tax and Rex expression due to the combination of the 2 point mutations) ; pC-HTLV-DpX (extinction of Tax and Rex expression) ; pC-HTLV-WT was previously shown to inhibit NMD while pC-HTLV-DpX couldn't (Fiorini et al., 2018). Here mRNA half-lives were measured as described in Fig 3 and 4, ($t_{1/2} = \ln(2)/\lambda$ with λ the time constant of the decay curves) and reported in front of their respective conditions. Statistical analysis: t-test ** $p < 0.01$.

PARTIE B : L'export CRM1-dependant comme étape clé de la régulation du NMD

Du fait de l'inhibition du NMD observée avec la constitution du complexe Rex-CRM1-UPF1, nous nous sommes demandé si la modulation du fonctionnement de la protéine CRM1 pouvait toujours affecter UPF1 et le NMD hors d'un contexte viral.

Pour déterminer si CRM1 pouvait être un facteur d'intérêt dans la régulation du NMD, nous avons d'abord testé l'efficacité du NMD lorsque CRM1 n'est plus présent (**1A**). Après traitement par un siCRM1 versus siCTRL, la demi-vie de l'ARN rapporteur sensible au NMD (globine PTC) a été calculée sur la base des quantités d'ARN, quantifiées aux temps 0h, 1h, 3h et 4h post blocage transcriptionnel au DRB. En absence de CRM1, la demi-vie de la globine PTC est significativement augmentée comparativement à la condition contrôle (2.2h, courbe orange vs 1.3h, courbe bleue) traduisant un état d'inhibition du NMD. Et ce, malgré la faible diminution des quantités de CRM1, visibles par western blot, suggérant que CRM1 serait non seulement un paramètre clé mais également un facteur limitant dans la régulation du NMD (**Fig. 7A ; western blot ; panel du bas**). Le NMD étant un processus co-traductionnel, l'état traductionnel a été vérifié par essai métabolique froid (Sunset©) mesurant l'incorporation de puromycine dans les peptides en cours de traduction (**Fig. 7B**). L'absence de différence significative de quantité de puromycine incorporée entre la condition siCRM1 et siCTRL montre que l'effet observé sur le NMD n'est pas dû à un arrêt traductionnel global.

Pour établir que l'effet observé sur le NMD est en lien avec la fonction d'export de CRM1, des expériences de fractionnements et d'immunofluorescence ont été réalisées (**Fig. 7C,D**). Les résultats de fractionnement montrent un enrichissement de la fraction nucléaire d'UPF1 en condition siCRM1 comparativement à la condition siCTRL. Ceci confirme d'une part que l'export d'UPF1 est bien dépendant de CRM1 dans nos conditions et suggère d'autre part que l'effet précédemment observé sur le NMD pourrait découler d'une rétention nucléaire d'UPF1 (**Fig. 7C, piste 4**). En effet, cette accumulation nucléaire d'UPF1 est retrouvée en immunofluorescence après traitement à la Leptomycine B, inhibiteur sélectif et irréversible de CRM1, qui se lie à la cystéine 528 située dans la « NES pocket », site d'interaction des domaines NES des protéines cargos pour l'export, empêchant ainsi l'export de ces cargos (**Fig. 7D**).

Ensuite, UPF1 étant une RNA binding protein, l'association d'UPF1 à son substrat ARN a été testée par RIP UPF1 (RNA immunoprecipitation) en condition siCRM1 versus siCTRL (**Fig. 7E**). La diminution significative de l'association d'UPF1 à la globine PTC en l'absence de CRM1 comparativement à la condition contrôle (**Fig. 7E**) corrèle fonctionnellement avec l'augmentation de la demi-vie de la globine PTC observée en condition siCRM1 par RNA decay (**Fig. 7A**). En cohérence avec la rétention nucléaire d'UPF1, ce résultat suggère qu'en absence de CRM1, UPF1 serait moins disponible pour s'associer à son substrat NMD. CRM1 étant également connue pour exporter certains ARN cellulaires, nous avons contrôlé que l'ARN rapporteur sensible, globine PTC, était également bien exporté en absence de CRM1 (**Fig. 7F**). L'absence de différence significative entre la condition siCRM1 et siCTRL montre que les résultats observés en RIP ne sont pas dus à une modification de la répartition N/C de l'ARN globine PTC (**Fig. 7F**).

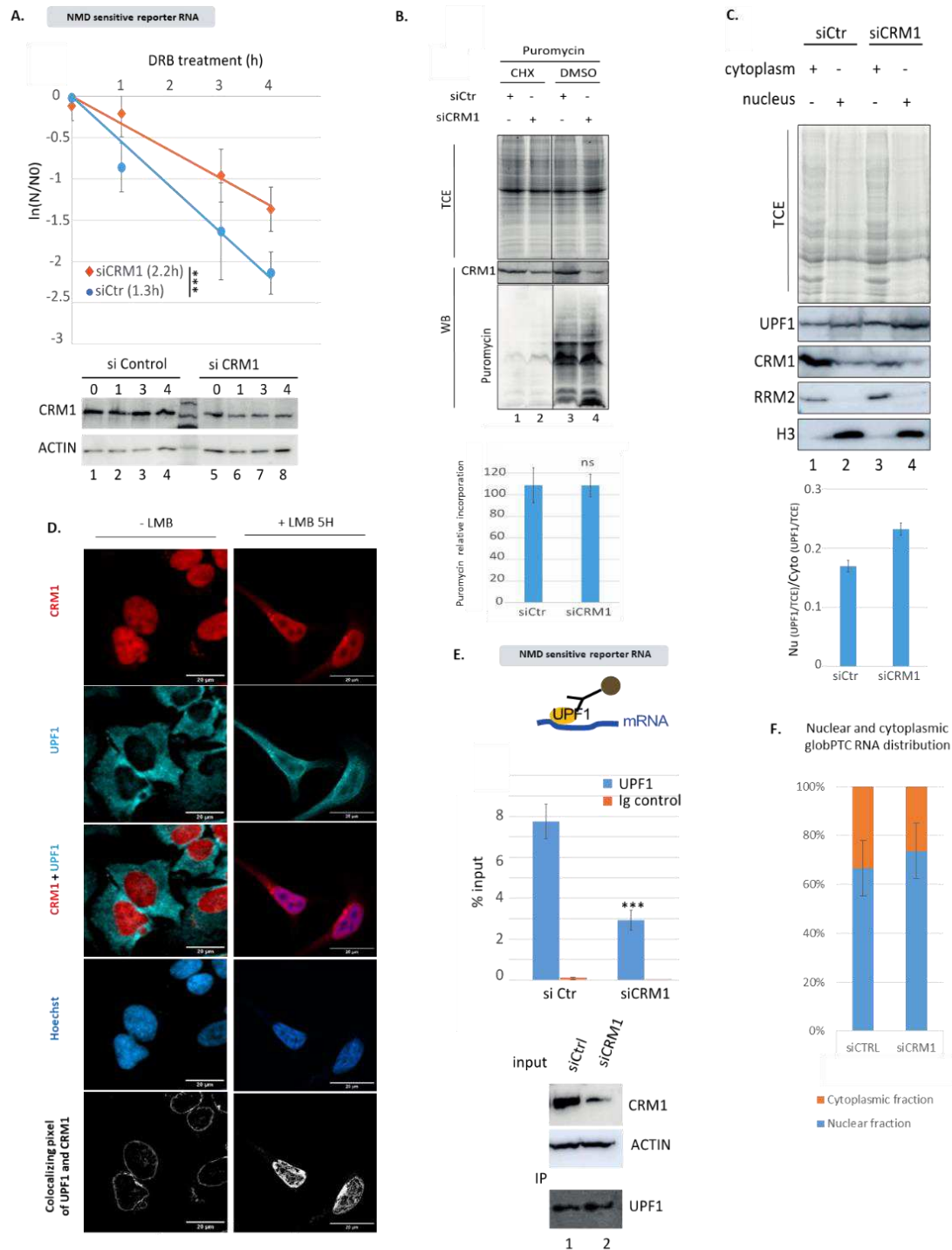


Fig.7 : Impact fonctionnel de l'export CRM1-dépendant dans la régulation du NMD. (A) Test d'efficacité du NMD par estimation de la demi-vie d'un ARN rapporteur (Glob PTC) sensible au NMD, après déplétion de CRM1 (siCRM1 – orange) versus contrôle (siCtrl – bleu) ; n = 3 ; (***) = $p < 0,001$. (B) Test de l'état traductionnel par des essais métaboliques froids par mesure de l'incorporation de puromycine. CHX = cycloheximide ; TCE = 2,2,2-trichloroethanol, marquage des protéines totales ; n=3. (C) Fractionnement nucléo-cytoplasmique en cellule 293T après transfections de siCtrl (contrôle – 1,2) ou déplétion de CRM1 (siCRM1 – 3,4). TCE = 2,2,2-trichloroethanol, marquage des protéines totales. RRM2, marqueur de la fraction cytoplasmique ; H3, marqueur de la fraction nucléaire. (D) Visualisation des protéines endogènes UPF1 et CRM1 par immunofluorescences réalisées sur des cellules HeLa non traitées (-LMB), et 5h après traitement à 50 nM de Leptomycine B (+LMB) ; Visualisation des noyaux par coloration au Hoechst. Echelle = 20 μ m ; Détection au microscope confocal

inversé LSM 800 ; objectif x63 oil. (E) Quantification par RTqPCR de l'ARN Glob PTC associé à UPF1 (bleu) versus Immunoglobuline contrôle (orange) après RNA immunoprécipitation (RIP) en présence de CRM1 (siCtr) ou en absence de CRM1 (siCRM1) ; (***) = $p < 0,001$. (F) Quantification par RTqPCR de l'ARN globine PTC dans la fraction nucléaire soluble (Bleu) et dans la fraction cytoplasmique (Orange) après fractionnement de cellules 293T traitées par un siCRM1 versus siCTRL ; $n = 1$

Pris ensemble, ces résultats initient la démonstration d'un lien fonctionnel entre l'export CRM1-dépendant d'UPF1 et l'initiation du processus de NMD. A l'image de ce qui a été fait dans le contexte viral, il reste d'une part à valider l'effet spécifique sur le NMD par comparaison des taux de dégradation du rapporteur sensible versus non sensible au NMD (globine PTC versus globine WT) en condition siCRM1. D'autre part, il reste à tester l'association d'UPF1 aux autres substrats ARN testés pour Rex et Rev, afin de valider si de la même manière, la perte d'association d'UPF1 est généralisable à plusieurs cibles, ce qui suggérerait une inhibition en amont de l'initiation du NMD. Il est également prévu de valider l'accumulation nucléaire d'UPF1 par microscopie confocale en conditions siCRM1. Enfin, il serait intéressant de tester par fractionnement si l'absence de NXF1, voie principale d'export nucléo-cytoplasmique de l'ARNm, a une influence sur la répartition N/C d'UPF1.

Pour terminer d'établir un lien entre d'une part les effets fonctionnels observés sur le NMD et la rétention nucléaire d'UPF1 et d'autre part l'export d'UPF1 par CRM1, nous avons cherché à construire un mutant d'UPF1 qui n'interagit plus avec CRM1. Pour cela, il nous a fallu restreindre le domaine NES (Nuclear Export Signal) d'UPF1, qui jusqu'ici était défini entre les acides aminés 55 à 416 et contenait deux autres domaines fonctionnels : le domaine CH et une partie du domaine HD (Cysteine and Histidine rich domain and Helicase domain) qui forment une boucle impliquée dans la régulation de l'activité catalytique d'UPF1 (**Fig. 8A**).

Par comparaison manuelle entre la séquence d'UPF1 et les différentes combinaisons décrites pour les motifs NES (*cf. introduction – Chapitre I*), trois zones candidates ont été présélectionnées et confirmées grâce aux scores donnés par l'algorithme LocNES (**Fig. 8B**). Puis, grâce aux prédictions de structures réalisées via alphafold, notre choix s'est porté sur la région potentiellement la plus accessible, malgré un score LocNES plus faible que les deux autres, en amont du domaine CH entre les a.a 89 et 103 : le motif SVAKTSQLLAEL peut être considéré comme un NES de classe 1a (**Fig. 8A**). La stratégie de mutagenèse sur ce domaine, réalisée par Makram Mghezzi, a permis d'enlever les trois derniers acides aminés hydrophobiques et de remplacer la Lysine 99 par une Glycine dans une construction déjà tagguée HA pour obtenir un mutant HA::UPF1_{NESmuté}. Pour valider la construction, la répartition du mutant HA::UPF1_{NESmuté} après transfection dans des cellules 293T a été observée par immunofluorescence (**Fig. 8C**). Comme attendu pour un mutant n'interagissant plus avec CRM1, le mutant HA:UPF1_{NESmut} montre un phénotype de rétention nucléaire comparativement à HA::UPF1_{NESwt}, comme observé après un traitement à la Leptomycine B (**Fig. 7D**). Ces résultats préliminaires valident en partie l'obtention d'un mutant du domaine NES d'UPF1, bien que la perte d'interaction avec CRM1 reste à vérifier par immunoprécipitation notamment. Des expériences de RNA decay et RNA immunoprécipitations avec le mutant HA::UPF1_{NESmuté} sont désormais prévues pour évaluer la capacité de ce mutant à inhiber le NMD et à s'associer à son substrat ARN.

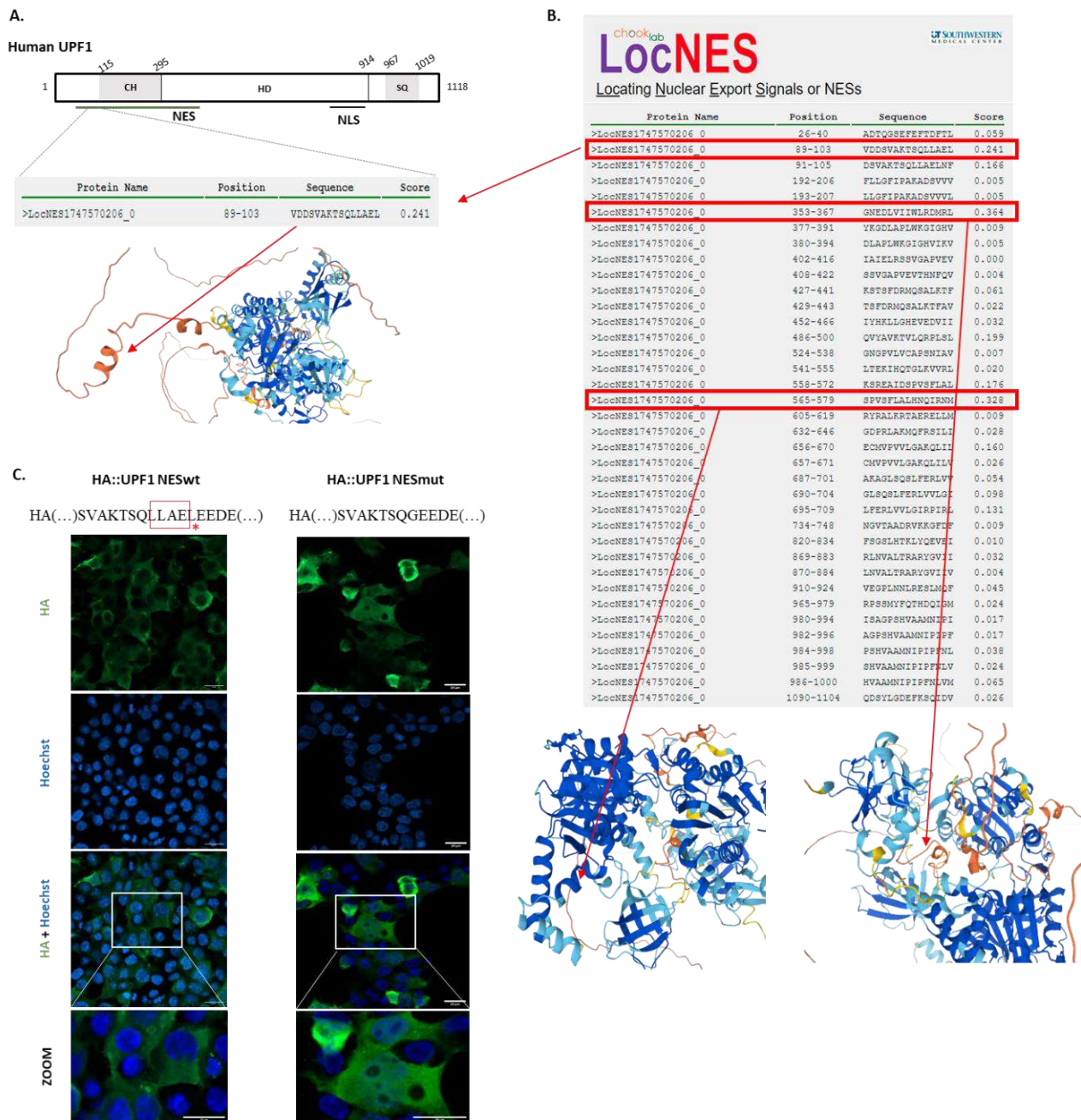


Fig. 8 : Construction du mutant HA::UPF1 muté sur le domaine NES. (A) Redéfinition du motif NES d'UPF1. Jusqu'ici le domaine NES d'UPF1 comprenait les a.a 55 à 416 (trait vert). Grâce à l'algorithme LocNES et aux prédictions de structures d'alphafold, le domaine NES putatif a été restreint aux a.a 89 à 103, correspondant à un NES de classe 1A. (B) Résultats LocNES associés aux structures obtenues par alphafold, avec indications « scores » correspondant à des p values, calculés par LocNES. (C) Répartition en 293T après transfection de la construction HA::UPF1 NESmuté résultante de la mutagenèse, et de la construction initiale HA::UPF1 NESwt par immunofluorescence dirigée contre HA; Echelle = 20 µm ; objectif x40 oil ; le cadre rouge indique les acides aminés qui ont été déléts et l'étoile rouge indique l'acide aminé qui a été muté.

DISCUSSION

III. Dans ce travail, j'ai cherché à déterminer si le détournement de l'export de CRM1 par les transporteurs viraux Rex d'HTLV-1 et Rev d'HIV-1 pouvait impacter l'homéostasie cellulaire et ce au travers d'un cargo exemple, l'hélicase à ARN UPF1, et de sa fonction cellulaire la plus décrite : le NMD. Les résultats obtenus seront discutés dans les points A à D. De plus, compte tenu qu'UPF1 n'est pas l'unique facteur du NMD retrouvé dans l'exportome de CRM1 (*cf. introduction – chapitre I*), une deuxième partie de ce travail s'est intéressée à établir un lien, jusqu'ici non démontré, entre l'export CRM1-dépendant et la régulation du NMD hors d'un contexte viral. Les résultats préliminaires précédemment présentés en partie B seront discutés dans le point E.

A. Le transporteur rétroviral Rex interfère avec l'export CRM1-dépendant d'UPF1

1. Constitution du complexe d'export CRM1-Rex-UPF1 (CRU)

Dans ce travail, il est décrit la formation d'un complexe tripartite constitué de la protéine virale Rex, et des protéines endogènes UPF1 et CRM1. Si les interactions Rex-CRM1 et CRM1-UPF1 étaient déjà décrites, l'interaction Rex-UPF1, elle, n'avait jamais été suggérée (*Hakata et al., 2003; Mendell et al., 2002; Hakata et al., 1998*). Les données obtenues par Protein Linked Assay (PLA) – technique résolutive de visualisation *in situ* d'interaction protéine-protéine - montrent que Rex est effectivement capable d'interagir avec UPF1 endogène, aussi bien dans le noyau que dans le cytoplasme (**Fig. 1D ; S2A**). Cette interaction UPF1-Rex a d'ailleurs été récemment retrouvée par UPF1 GST-pull down par *Nakano et al.* : l'utilisation de l'isoforme p21 de Rex qui n'interagit pas avec UPF1, leur a permis d'identifier la région N-terminale de Rex comme domaine d'interaction avec UPF1. Cette région contient les domaines d'association à l'ARN viral et le domaine NLS (*Nakano et al., 2022a*). En cohérence avec ces résultats, l'immunoprécipitation par l'UPF1 endogène que nous avons réalisée en présence des différents mutants de Rex montrent une diminution des quantités immunoprécipitées de Rex lorsqu'il est muté sur son domaine NLS (**Fig. 1E**). Pour autant, le domaine précis d'UPF1 qui interagit avec Rex reste à identifier.

Nos résultats obtenus par immunoprécipitation par UPF1 montrent également que lorsque CRM1 n'est plus présent, UPF1 immunoprécipite moins de Rex (**Fig. 1F**). De même, lorsque Rex n'interagit plus avec UPF1, les quantités immunoprécipitées de CRM1 sont diminuées (alors qu'il interagit toujours efficacement avec CRM1 (**Fig. S2A**)). Ces résultats suggèrent l'interdépendance des interactions entre Rex, CRM1 et UPF1. A ceux-ci s'ajoute l'observation d'une stabilisation des quantités de CRM1 associées à UPF1 en présence de Rex, ce qui renforce l'existence d'un complexe tripartite CRM1-Rex-UPF1 (**Fig. 1C**). En 293T, l'immunoprécipitation par UPF1 de Rex et de CRM1 est indépendante du traitement à la RNase comme de l'expression du RxE, motif structuré de l'ARN viral sur lequel se fixe Rex pour l'export, suggérant des interactions relativement directes et supportent également la formation d'un complexe tripartite (**Fig. 1C**). Cela suggère aussi que l'ARN viral et/ou l'ARN cellulaire ne sont pas requis pour la formation de ce complexe. Ceci est cohérent avec plusieurs études

montrant que Rex seule est capable d'interagir avec CRM1, bien que l'association au RxRE et la multimérisation soient requises pour efficacement exporter l'ARN viral (*Hakata et al., 2003, 1998; Heger et al., 1998*). Les images obtenues par microscopie confocale soutiennent également la formation de ce complexe, où en cellules HeLa, (HA)Rex colocalise avec les protéines endogène CRM1 et UPF1 et ce dans le noyau et à la membrane nucléaire, en cohérence avec un complexe d'export (**Fig. 2A,B**). Enfin, ce complexe est également retrouvé dans les lignées lymphoïdes chroniquement infectées par HTLV-1, où Rex et CRM1 sont co-immunoprécipitées par UPF1. Dans ce contexte plus physiologique, la stabilisation de l'interaction UPF1-CRM1 induite par l'expression de Rex est retrouvée (**Fig. 5A**).

Ensembles, ces résultats permettent de démontrer la formation d'un complexe CRM1-Rex-UPF1, appelé par la suite complexe « CRU ». Et s'ils ne nous permettent pas de déterminer si le complexe CRU se forme avant l'association à l'ARN viral, après ou simultanément, ils nous ont permis de conclure que la présence de l'ARN viral ne module pas sa formation.

2. Compétition à l'export ou complexe de séquestration ?

Les données obtenues par immunofluorescence montrent que Rex modifie la répartition cellulaire d'UPF1, avec un phénotype de rétention nucléaire observé aussi bien en absence (HeLa) qu'en présence d'ARN viral (C91PL) (**Fig. 2B,C et 5B**).

CRM1 étant décrite comme un facteur limitant de l'export et Rex et UPF1 possédant toutes deux des domaines NES d'interaction avec CRM1, nous avons d'abord émis l'hypothèse d'une compétition à l'export : en s'associant préférentiellement à CRM1, Rex diminuerait les quantités de CRM1 disponibles pour réaliser l'export d'UPF1 entraînant sa rétention dans le noyau. Mais les résultats obtenus par immunoprécipitation par UPF1 en conditions d'expression de Rex montrent une stabilisation des interactions UPF1-CRM1 suggérant que Rex favorise davantage l'association UPF1-CRM1 que sa dissociation (**Fig. 1C**). Cette augmentation des quantités de CRM1 associées à UPF1 pourraient s'expliquer par le recrutement d'un dimère de CRM1 par Rex, à l'image de ce qui a été décrit pour Rev chez HIV-1 (*Booth et al., 2014*). Cependant, dans ce modèle établi par *Booth et al.*, l'interaction avec UPF1 ou les cofacteurs de l'export de l'ARN viral n'est pas prise en compte. En effet, l'interaction UPF1-Rev ne sera décrite qu'un an plus tard par *Ajamian et al.*, et modélisée par docking avec un dimère de Rev mais non lié au RRE et sans les domaines NES, donc sans CRM1 (*Ajamian et al., 2015*). Quoi qu'il en soit, nos résultats d'immunoprécipitation par UPF1 avec les mutants de Rex suggèrent que les interactions Rex-UPF1 et Rex-CRM1 stabiliseraient les interactions UPF1-CRM1, séquestrant UPF1 dans le noyau (**Fig. 1E**). Pour autant, le séquentiel des étapes de formation de ce complexe reste à déterminer.

Comme introduit plus tôt, le rétrotransporteur viral Rev d'HIV-1 forme également un complexe d'export des ARN viraux avec UPF1 et CRM1. De manière intéressante, nous observons aussi cette rétention nucléaire d'UPF1 avec l'expression de la protéine virale Rev (**Fig. 4A**). Malgré des limites techniques qui ne nous ont pas permis d'établir la colocalisation de Rex, UPF1 et CRM1 en lignées transformées HTLV-1, l'ensemble de ces résultats nous ont

amenés à conclure que ce défaut d'export d'UPF1 observé avec l'expression de Rex est en lien avec la constitution d'un complexe CRU.

3. CRU, un complexe inhibiteur du NMD ?

UPF1 est une hélicase à ARN, facteur clé du processus de NMD dont l'initiation est notamment conditionnée à la liaison d'UPF1 à l'ARN. Si l'inhibition du NMD par Rex était déjà rapportée par une autre équipe, aucun mécanisme n'était encore connu (*Nakano et al., 2013*).

Nous avons donc tout d'abord redémontré cette capacité de Rex à inhiber le NMD en mesurant la demi-vie d'un ARN rapporteur sensible au NMD (**Fig. 3C**). L'utilisation de provirus mutés nous a également permis de valider cet effet inhibiteur de Rex dans un contexte viral complet (**Fig. S4D**). De plus, la restauration du NMD observée en présence des mutants de répartition N/C de Rex (NES et NLS) établit un lien entre la formation du complexe de séquestration CRU et l'inhibition du NMD (**Fig. 3E**). Cette inhibition du NMD n'est pas retrouvée par l'expression conjointe des deux mutants ce qui suggère que, davantage que la présence de Rex dans tous les compartiments cellulaires, c'est sa capacité à faire la navette entre les compartiments qui est importante. Mais cela peut également suggérer que Rex doit être capable d'interagir conjointement avec CRM1 et UPF1 dans le noyau pour inhiber le NMD (*en prenant en considération les résultats de Nakano et al. sur le domaine d'interaction de Rex avec UPF1*). En effet, il est admis qu'UPF1 s'associe à l'ARN dans le cytoplasme pour initier le NMD. Or si UPF1 est retenue dans le noyau par la formation du complexe CRU, l'initiation du NMD n'est plus possible. Pour tester cette association d'UPF1 à l'ARN lorsque Rex s'exprime, nous avons donc réalisé des immunoprécipitations de l'ARN par UPF1 (**Fig. 3B et 4F,G,H**). Les résultats obtenus montrent que l'expression de Rex entraîne une diminution de l'association d'UPF1 à tous les substrats ARN testés, corrélant l'inhibition du NMD par Rex à un défaut d'association d'UPF1 à l'ARN (**Fig. 4F,G,H**). D'autre part, cette diminution d'association d'UPF1 étant généralisée à tous les ARN étudiés (sensibles et non sensibles au NMD, transfectés ou endogènes), ces résultats suggèrent que l'inhibition du NMD décrite ici s'opère dans les étapes précoces, en amont de son initiation. En effet, l'expression du mutant NES de Rex qui n'interagit plus avec CRM1 et ne supporte plus la formation d'un complexe CRU, restaure l'association d'UPF1 à l'ARN et est corrélée à une restauration de l'efficacité du NMD (**Fig. 3B**).

Ensemble, ces données permettent de faire le lien entre la constitution du complexe CRU, la rétention nucléaire d'UPF1 et l'inhibition du NMD. Renforcées par des résultats identiques obtenus pour Rev, un autre rétrotransporteur des ARNv, l'ensemble des données présentées jusqu'ici montrent comment Rex, par détournement de l'export CRM1, impacte la disponibilité d'UPF1 pour son association à l'ARN et, par conséquent, inhibe le NMD.

4. Plusieurs mécanismes d'inhibition du NMD pour HTLV-1

Comme présenté en introduction, HTLV-1 exprime un autre facteur viral capable d'inhiber le NMD : Tax. Les données obtenues par mesure de la demi-vie d'un ARN rapporteur sensible au NMD avec les différents provirus mutés d'HTLV-1 montrent une redondance

fonctionnelle de Tax et de Rex dans l'inhibition du NMD (**Fig. S4D**). Les immunomarquages réalisés en C91PL (**Fig. S4B**) ne montrant pas de colocalisation de Tax et de Rex en cohérence avec la littérature (*Nakano et al.*, 2022b; *D'Agostino et al.*, 2019; *Boxus et al.*, 2008; *Baydoun et al.*, 2007), ceci indique donc que Tax et Rex affectent bien le NMD selon deux voies indépendantes.

En effet, par sa capacité à cibler certains ARN viraux, le NMD fait partie de l'arsenal dont dispose la cellule hôte pour limiter la réplication virale. L'ARN viral génomique d'HTLV-1 étant sensible au NMD et à UPF1, cette capacité redondante de Tax et Rex à inhiber le NMD souligne donc l'importance pour le virus d'échapper à cette menace. Pour Tax, les mécanismes d'inhibition du NMD sont bien établis et passent par une interaction par UPF1 : soit Tax peut empêcher UPF1 de s'associer à l'ARN par gêne stérique, soit, quand UPF1 est déjà présente sur l'ARN, inhiber ses activités ATPase et hélicase (*Fiorini et al.*, 2018; *Mocquet et al.*, 2012). En revanche, au début de cette étude aucun mécanisme n'était décrit pour Rex. Très récemment, l'équipe de *Nakano et al.* a proposé un modèle où Rex exercerait sa fonction d'inhibition du NMD dans le compartiment cytoplasmique et en se liant sélectivement à UPF3B. Cette liaison de Rex à UPF3B réduirait son incorporation dans des complexes NMD actifs au profit d'une incorporation d'UPF3A, montrée comme modulant négativement le NMD (*Kunz et al.*, 2006). Grâce à des mutants de délétion des différents domaines fonctionnels de Rex, ils identifient également que la région X de Rex (aa20-57, sans fonction décrite pour l'instant, absents de l'isoforme p21) est nécessaire à l'interaction avec UPF1 et est requise pour l'inhibition du NMD (*Nakano et al.*, 2022a).

En accord avec nos résultats de co-expression des mutants Rex_{NLS} et Rex_{NES} qui n'inhibent pas le NMD, leur double mutant ponctuel Rex_{NLS/NES} n'inhibe pas non plus le NMD (**Fig. 3E**). De manière surprenante, leur mutant ponctuel Rex_{NES} conserve sa capacité à inhiber le NMD : ce résultat pourrait être dû au fait que leur technique d'évaluation de l'efficacité du NMD est moins directe ou sensible que la nôtre. En support de cette hypothèse, leurs données obtenues par traitement avec la Leptomycine B, montrent bien une réduction de la capacité de Rex à inhiber le NMD lorsqu'il ne peut plus interagir avec CRM1. D'ailleurs, les auteurs n'excluent pas la possibilité que l'étape d'export par CRM1 soit requise pour l'inhibition du NMD (*Nakano et al.*, 2022a). Aussi, compte tenu d'une part de nos résultats de PLA qui montrent que l'interaction Rex-UPF1 se produit aussi bien dans le noyau que dans le cytoplasme, et d'autre part des différents mécanismes décrits pour Tax, il est fort probable que plusieurs mécanismes d'inhibition du NMD par Rex coexistent chez HTLV-1. D'ailleurs, il est suggéré que Rex puisse faire la navette N/C également hors du contexte de l'export de l'ARN viral (*Heger et al.*, 1998). De plus, Rex étant une petite protéine de 27 KDa, elle devrait être en mesure de diffuser passivement au travers du pore nucléaire lui permettant de se répartir de manière uniforme dans la cellule sans dépendre obligatoirement de CRM1 pour sa localisation cytoplasmique. La formation indépendante de plusieurs types de complexes inhibiteurs du NMD, nucléaires et cytoplasmiques, avec et sans CRM1, ainsi qu'avec et sans d'autres cofacteurs cellulaires indéterminés, n'est donc pas à exclure.

Pour conclure, ce mécanisme de détournement de l'export CRM1 dépendant d'UPF1 par Rex semble s'inscrire entièrement dans la stratégie répliquative d'HTLV-1, avec un double avantage : il assure l'export des ARN viraux tout en inhibant le NMD. Aussi ces résultats, en combinaison à ceux obtenus par *Nakano et al.*, démontrent une implication directe de Rex dans

une dérégulation de la cellule hôte associée à l'infection par HTLV-1 qu'est l'inhibition du NMD.

B. Inhibition du NMD par les rétrotransporteurs viraux Rex et Rev : vers un modèle commun d'inhibition du NMD

Si pour HTLV-1, l'inhibition du NMD est déjà bien établie, pour l'autre rétrovirus pathogène humain HIV-1, la capacité de restriction de la réplication virale par le NMD est encore discutée. En effet, dans le cas d'HIV-1, UPF1 est principalement décrite pour ses effets positifs à plusieurs étapes du cycle réplcatif : l'activité hélicase d'UPF1 est requise pour les étapes précoces de réverse transcription ; elle est également impliquée dans la régulation de l'export des ARNv ; enfin UPF1 est également requise pour l'encapsidation de l'ARN viral (*Ajamian et al., 2015; Serquiña et al., 2013; Ajamian et al., 2008*). Or les données récemment obtenues par *Rao et al.* en condition de déplétion d'UPF2 et SMG6 suggèrent une restriction potentielle de la réplication d'HIV-1 par le NMD⁹¹ (*Rao et al., 2019a, 2018*). Ceci va dans le sens de l'hypothèse avancée par *Ajamian et al.*, qui suggéraient déjà que Rev, en interagissant avec le domaine CH d'UPF1, empêcherait UPF2 de s'y associer impactant l'initiation du NMD (*Ajamian et al., 2015*). Pour autant, aucune donnée ne démontrait cet impact fonctionnel de Rev sur le NMD. Grâce à l'utilisation d'un ARN rapporteur sensible au NMD permettant de s'affranchir des effets proviraux d'UPF1, nous avons pu établir clairement la capacité inhibitrice du NMD par HIV-1 dans le contexte d'un clone moléculaire et ce, de manière Rev dépendante (**Fig. 4D ; Fig.4B,C**). De plus, les résultats obtenus en modèles cellulaires sans ARN viral montrent qu'à l'image de Rex, Rev induit également une rétention nucléaire d'UPF1 ainsi qu'une diminution de l'association d'UPF1 aux ARN, corrélée à une inhibition du NMD (**Fig. 4**). Ces résultats démontrent qu'en lien avec leur homologie fonctionnelle dans l'export des ARN viraux, Rex et Rev semblent également partager une homologie mécanistique dans l'inhibition du NMD.

Les résultats d'immunofluorescence en cellules HeLa en conditions d'expression de Rev montrent que certaines différences moléculaires entre Rex et Rev subsistent (**Fig. S3A**). En effet, pour Rev la rétention nucléaire d'UPF1 est davantage marquée que celle induite par Rex : Rev, UPF1 et CRM1 colocalisent fortement dans des structures subnucléaires. Il est connu que Rev, grâce à son NoLS (Nucleolar import Signal), s'accumule dans différents compartiments subnucléaires (probablement pour diriger les ARN viraux à l'écart des facteurs d'épissage ou de dégradation) puis les transporte dans le cytoplasme. De plus, UPF1 étant récemment suggérée comme pouvant s'associer aux ARNm co-transcriptionnellement (*Hong et al., 2019; Singh et al., 2019*), il est envisageable que ce soit dans ces compartiments subnucléaires que Rev recruterait UPF1 et CRM1 pour les charger sur l'ARN viral avant son adressage à la membrane nucléaire pour l'export. D'ailleurs les travaux de *Nawroth et al.* suggèrent déjà que Rev et CRM1 seraient chargés sur les ARN viraux porteurs d'un RRE de manière co-transcriptionnelle sous forme d'un seul et même complexe (*Nawroth et al., 2014*). Le caractère plus diffus de la rétention nucléaire observée avec Rex ne permet pas d'établir d'homologie mécanistique

⁹¹ Les KO d'UPF2 et de SMG6 entraînent une augmentation des niveaux d'ARNv et de la protéine GAG ; étude réalisée dans des macrophages dérivés de Jurkat et des monocytes.

complète mais pourrait suggérer ici une différence dans les étapes d'assemblage du complexe, au regard de celles déjà rapportées dans la littérature dans le séquentiel des interactions Rex/Rev – ARN viral – CRM1. En effet, si pour Rex il est montré qu'il ne nécessite pas l'interaction avec le RxRE des ARN viraux pour s'associer à CRM1 et transloquer dans le cytoplasme, pour Rev cette association semble être davantage un processus hautement coopératif où Rev nécessiterait tout de même d'abord de se lier sous forme d'un dimère au RRE, pour ensuite multimériser (jusqu'à 8 molécules sur l'ARN viral) et recruter plusieurs molécules de CRM1 (*cf. introduction*). Aussi, il est envisageable que la liaison au RRE de Rev entraînant sa dimérisation soit également nécessaire au recrutement d'UPF1.

Pour conclure, bien que moléculairement il existe des différences entre Rex et Rev dans la formation du complexe d'export de l'ARN, probablement liées à des différences mécanistiques d'association aux ARN viraux, ces résultats suggèrent un **mécanisme commun d'inhibition du NMD aux rétrovirus complexes** exprimant des transporteurs de l'ARN viral de type Rev/Rex.

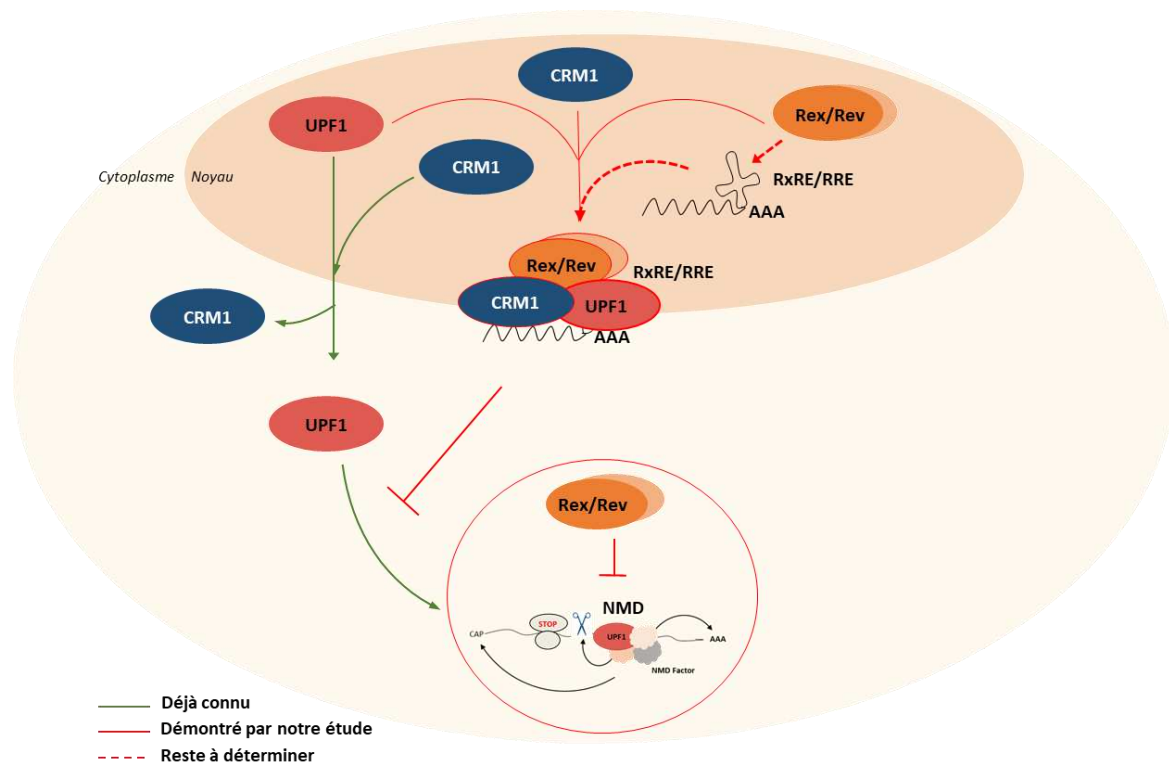


Figure 18. Modèle commun d'inhibition du NMD par les rétrotransporteurs viraux Rex d'HTLV-1 et Rev d'HIV-1.

C. Un détournement du rôle antiviral d'UPF1 au profit de la réplication d'HTLV-1 ?

Comme évoqué précédemment, chez HIV-1 UPF1 a également des effets proviraux, où elle est notamment impliquée comme cofacteur de l'export des ARNv. De plus, il est montré qu'UPF1 est requis pour la traduction de la protéine GAG ainsi que pour l'encapsulation de l'ARN génomique viral. D'ailleurs, *Serquina et al.*, suggèrent même qu'UPF1 serait incorporée

dans les virions et pourrait contribuer à l'infectiosité des particules virales d'HIV-1 nouvellement produites en facilitant les étapes précoces de la rétrotranscription (*Ajamian et al., 2015; Serquiña et al., 2013; Ajamian et al., 2008*).

Dans cette étude, il est montré que Rex provoque une relocalisation d'UPF1 sur l'ARN viral non épissé d'HTLV-1 (**Fig. 5C,D**). Or, comme introduit plus tôt, UPF1 est le facteur central de la voie dégradative du NMD et cible certains ARN viraux. UPF1 est généralement décrite comme un facteur de restriction antiviral de l'hôte. Pour autant, ici, aucune interaction entre Rex et UPF2 n'est retrouvée (**Fig. 6E**). De plus, des résultats préliminaires d'immunoprécipitation de l'ARN par UPF2 ne montrent pas d'enrichissement significatif de l'ARN *gag* (associé à UPF2) dans les C91PL par rapport aux C8166 (*données préliminaires non présentées*). Ensembles, ces résultats suggèrent que ce chargement d'UPF1 sur l'ARNv ne se fait pas dans un contexte dégradatif et qu'UPF1 serait activement chargé par Rex sur un ARN non épissé dans un but inconnu. En effet, ce recrutement d'UPF1 sur l'ARN viral génomique décrit comme sensible au NMD est surprenant. Tout d'abord, cela pose la question de l'impact de Rex sur l'activité enzymatique d'UPF1 : Rex est-il également capable de figer UPF1, comme Tax, mais sur l'ARN viral dans une conformation inactive pour le NMD ?

Des expériences d'immunoprécipitation de l'ARN non épissé par UPF1 réalisées en 293T transfectées par le clone moléculaire mutant ponctuel de Rex (R23L) suggèrent fortement que ce chargement d'UPF1 par Rex semble se produire pendant l'étape d'export via CRM1 : en effet, l'enrichissement en ARNv non épissé observé en immunoprécipitant par UPF1 est considérablement réduit avec la complémentation par le mutant Rex_{NES} par rapport au Rex_{WT} (**Fig. 5F**). Sachant que nos résultats précédents montrent que le mutant Rex_{NES} est incapable de détourner CRM1, cela suggère que l'interaction de Rex avec CRM1 et la formation du complexe CRU est critique pour le recrutement d'UPF1 sur l'ARNv. Etant donné que l'ARNv ne semble pas se trouver dans un contexte de dégradation par le NMD et que Rex est impliqué avec CRM1 dans l'export de ces ARNv, ce résultat pourrait être lié à un défaut d'export. Cela revient donc à poser la question suivante : est-ce qu'à l'image de ce qui est montré chez HIV-1, UPF1 est également un cofacteur de l'export des ARNv chez HTLV-1 ? Ou bien, cette association d'UPF1 à l'ARNv s'opère-t-elle *a posteriori* dans le cytoplasme ? En d'autres termes, il faudrait déterminer quand se forme le complexe CRU : au niveau nucléaire et au moment de l'export ou juste après, dans le cytoplasme ? Pour tenter d'éclaircir ce point, nous avons construit un mutant domaine NES d'UPF1 (*cf. partie B*). A l'aide de ce mutant, il est prévu de tester si le complexe CRU est impliqué dans le chargement d'UPF1 sur l'ARN viral. Il est également envisagé de déterminer dans quel compartiment se fait l'association d'UPF1 à l'ARNv par immunoprécipitation de l'ARN par UPF1 sur les fractions nucléaires et cytoplasmiques (en cellules C91PL et C8166). Enfin, *Nakano et al.*, testent l'association de Rex à deux mutants d'UPF1, un perdant son activité ATPase (G495R/G497E) et l'autre son activité hélicase (R843C) : ces deux mutants, décrits comme déficients pour le NMD, n'interagissent plus avec Rex. Aussi, tester la formation du complexe CRU avec ces mutants d'UPF1 permettrait également de déterminer si UPF1 est un cofacteur de l'export de l'ARNv.

Enfin, pour déterminer si UPF1 peut avoir d'autres fonctions pro-répliquatives chez HTLV-1, nous sommes en train de tester l'effet d'une déplétion d'UPF1 sur les quantités de protéine de matrice p19 (codée par l'ARNv *gag*). Les données préliminaires obtenues par des

expériences de shUPF1 en 293T suggèrent que les niveaux d'UPF1 corrélaient positivement avec ceux de la protéine p19. Là encore, il reste à vérifier si cela ne résulte pas d'un défaut d'export de l'ARNv, en vérifiant notamment les niveaux d'ARN *gag* et de protéines par RTqPCR et western blot. De plus, chez HTLV-1, c'est la protéine p19 qui interagit de manière préférentielle avec l'ARNv avant son incorporation dans les particules virales (*cf. introduction - Chapitre III*). De manière intéressante, les images obtenues par microscopie confocale montrent une colocalisation d'UPF1 et de p19 en périphérie des C91PL (**Fig. 6A**). Une interaction d'UPF1 avec p19 a également été trouvée dans les C91PL. Mais l'expérience nécessite encore d'être répétée, notamment en présence de RNase (*données non présentées*). Enfin, UPF1 est retrouvée dans le biofilm d'HTLV-1, mais sa contribution à l'infectivité des virions ou son incorporation dans la particule virale reste à démontrer (**Fig. 6B**). Ensemble, ces résultats pourraient suggérer que l'UPF1 chargée sur l'ARN *gag* pourrait finalement suivre cet ARN jusqu'à son encapsidation contribuant potentiellement à le protéger de la dégradation et/ou favoriser son incorporation dans la particule d'HTLV-1. Néanmoins, cela reste encore à démontrer. Chez HIV-1, *Ajamian et al.*, montrent l'existence de deux RNPv distinctes où UPF1 est présente mais dont les compositions en facteurs cellulaires et viraux diffèrent : une première nucléaire qui contient Rev, CRM1, DDX3 et la nucléoporine p62. La seconde, dans le cytoplasme et qui n'est pas associée à ces marqueurs de l'export nucléaire mais contient GAG^{pr55} (*Ajamian et al., 2015*). Pour autant, les auteurs n'ayant pas démontré la présence de Rev dans ces complexes, il n'est pas exclu que ce soit le même ARN, dont CRM1 et les autres facteurs se soient décrochés une fois dans le cytoplasme.

De manière intéressante, il a été récemment proposé par *Mougel et al.*, sur l'exemple du rétrovirus de la leucémie murine (MLV), que la voie d'export de l'ARN viral utilisée pourrait être en lien avec le devenir de l'ARN exporté. Comme présenté en introduction, le MLV utilise les voies NXF1/NXT1 et CRM1 pour exporter ses ARN non épissés. Les auteurs montrent que les ARN viraux génomiques, non destinés à être traduits mais encapsidés, sont exportés par CRM1 sous forme d'une RNPv contenant la protéine GAG, qui interagit avec la séquence Psi de packaging de l'ARN viral. A l'inverse, les ARN viraux (non ou partiellement épissés) qui vont être traduits seraient exportés par la voie NXF1, grâce à une séquence CTE-like putative retrouvée en 5'LTR de ces ARN viraux "traductibles" (*Mougel et al., 2020*). Bien que cette ségrégation de l'ARN génomique en deux populations fonctionnellement distinctes ne soit pas clairement établie chez HIV-1, plusieurs études démontrent un rôle de la voie d'export de l'ARN dans l'assemblage d'HIV-1 et suggèrent qu'elle pourrait influencer les événements cytoplasmiques menant à l'assemblage viral (*Mailler et al., 2016*). En effet, il est notamment montré que les ARN viraux dont l'export est Rev-like (contenant un RRE-like) et ceux dont l'export est indépendant de Rev (contenant un CTE-like) ont un transport cytoplasmique remarquablement différent : les ARNv contenant des RRE présentent un export "en masse" dans le cytoplasme correspondant à un transport cytoplasmique basé sur la diffusion, tandis que les ARN contenant des CTE-like circulent grâce à des éléments du cytosquelette (notamment dirigés par le centre d'organisation des microtubules ou MTOC) (*Pocock et al., 2016*). Les CTE-like étant démontrés comme interagissant avec la voie NXF1/NXT1, et les Rev-like avec la voie CRM1, cela suggère que la voie d'export utilisée par l'ARN viral pourrait impacter les étapes ultérieures du cycle de vie du virus en ayant également une influence sur la manière dont

est adressé l'ARN viral dans le cytoplasme. Aussi, ce détournement de CRM1 par Rex pourrait être finalement la première étape d'un détournement plus global d'UPF1 de son rôle antiviral pour d'une part le détourner de son rôle dans le NMD et d'autre part favoriser son chargement sur l'ARN viral contribuant par la suite à l'expression des protéines structurales voir à son trajet dans le cytoplasme et l'encapsidation du génome viral. A noter tout de même, qu'à l'heure actuelle, un chargement cytoplasmique d'UPF1 juste après l'export de l'ARN viral n'est pas à exclure.

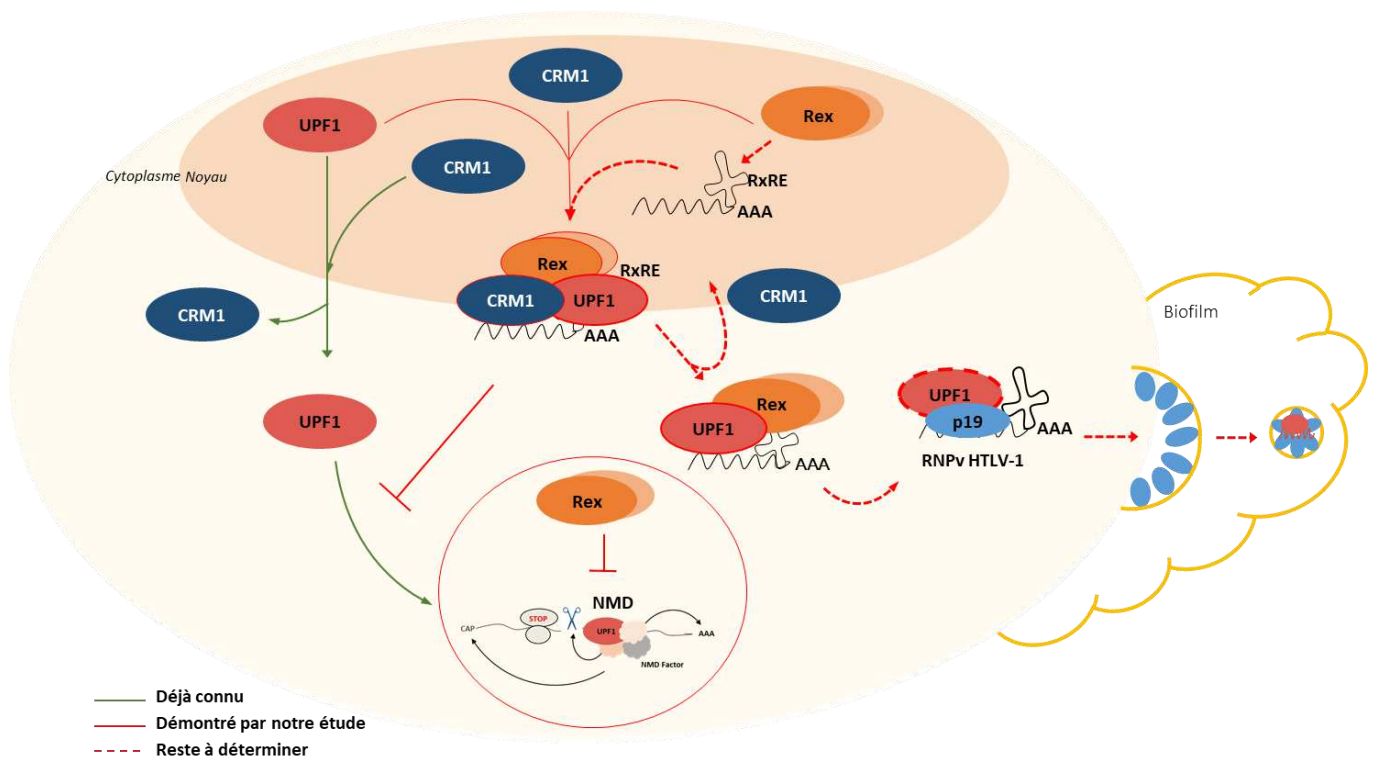


Figure 19. Un potentiel rôle proviral d'UPF1 dans la réplication d'HTLV-1.

D. Conséquences cellulaires de l'expression du rétrotransporteur viral Rex

Le NMD étant un processus antiviral, au cours des premières étapes de l'infection, l'inhibition du NMD par HTLV-1 pourrait permettre de favoriser la production de particules, contribuant probablement au maintien de la transmission virale. Toutefois, l'impact direct à long terme de cette inhibition du NMD reste à déterminer. De plus, comme introduit dans le chapitre II, UPF1 est également impliquée dans d'autres voies cellulaires de dégradation des ARN messagers (UMD) ainsi que dans d'autres fonctions cellulaires, autant dans le cytoplasme que dans le noyau. Aussi, il est envisageable que Rex, au travers de son interaction avec UPF1, impacte bien plus largement les fonctionnements cellulaires d'UPF1. En effet, UPF1 étant le facteur central de l'initiation de toutes les UMD, il est probable que leurs cibles ARN respectives se retrouvent anormalement stabilisées par l'expression de Rex, contribuant potentiellement à la dérégulation de l'expression des gènes dans les cellules HTLV-1. UPF1 étant également impliquée dans des processus de réparation de l'ADN, sa dérégulation pourrait

également contribuer dans une certaine mesure à l'instabilité génétique permettant l'émergence de clones ATL.

De manière intéressante, Rex semble également modifier la répartition de CRM1 : un phénotype d'ultrastructures de CRM1, supérieure ou égale à 1% de la surface totale de la cellule, co-localisant fréquemment avec des foci d'UPF1 est observé uniquement en C91PL (**Fig. 5B**). Du fait du rapport nucléocytoplasmique particulièrement élevé des lignées lymphoïdes et de leur morphologie ronde, la localisation et le dénombrement de ces structures a été difficile à établir. Elle semble parfois nucléaires et péri nucléaires comme bloquées au niveau du pore, et apparaissent se distribuer de manière « polaire », c'est-à-dire non réparties de manière aléatoires dans les cellules. Des données préliminaires acquises en Z-stack laissent à penser que ces structures seraient davantage cytoplasmiques, et il serait intéressant d'identifier leur nature par des marquages identifiant les P-bodies (DCP2 ou DCP1), les granules de stress (G3BP1) ou encore le sequestosome-1 (SQSTM1). Quoi qu'il en soit, leur absence des C8166 n'exprimant pas Rex laisse à penser que la formation de ces structures pourrait dépendre de Rex. Sachant que CRM1 n'exporte pas qu'UPF1 mais une large diversité de facteurs cellulaires, et notamment d'autres facteurs du NMD (*Kırlı et al., 2015*), cette observation soulève la possibilité d'un impact plus global de Rex sur l'exportome de CRM1. De manière intéressante, il a été récemment montré que CRM1 est surexprimée dans les cellules mononucléaires du sang circulant (PBMC) d'une cohorte de patients ATL (*Boons et al., 2021*). Étant donné que CRM1 est décrit comme un "oncogenic driver", ce travail ouvre également la question de la contribution d'une dérégulation plus globale de CRM1 dans l'oncogenèse associée à HTLV-1.

Enfin, l'exportome de Rex récemment publié par *Nakano et al.*, montre que Rex interagit avec près de 80 facteurs cellulaires impliqués notamment dans la transcription, l'épissage, la traduction, et le contrôle qualité des ARN. Ceci suggère que l'expression de Rex, à l'image de Tax, pourrait impacter bien plus vastement le fonctionnement cellulaire et contribuer aux dérégulations de la cellule hôte d'HTLV-1 de diverses façons. Par exemple, *Nakano et al.*, montrent déjà que Rex impacte globalement l'épissage de la cellule hôte (*Nakano et al., 2022b*) (*cf. chapitre III*). Or, il est déjà montré que chez HIV-1, Rev réduit également l'activité d'épissage de la cellule par un recrutement des facteurs de l'épissage (notamment SF2/ASF) sur le complexe Rev-RRE-RNPv (*Powell et al., 1997*). Il est également montré que Rev interagit avec près de 300 facteurs cellulaires hôtes, dont un certain nombre sont recrutés par Rev sur la RNPv. La composition de la RNP étant déterminante pour l'export, Rev pourrait contribuer activement à l'organisation de la RNPv (*Truman et al., 2020; Wang et al., 2019; Yedavalli et al., 2004*). Aussi, il est fort probable que Rex recrute également un certain nombre de facteurs cellulaires permettant ainsi la constitution d'une RNPv stable et fonctionnelle au détriment des voies cellulaires nécessitant ces facteurs.

Quoi qu'il en soit, l'implication de Rex dans la pathogénicité d'HTLV-1 reste encore à élucider. Et si aujourd'hui le développement de l'ATL est principalement décrit par les fonctions oncogènes de Tax et d'HBZ, c'est finalement peut-être l'ensemble des protéines régulatrices, Rex comprise, qui contribueraient à établir un environnement favorable à l'expression d'HTLV-1.

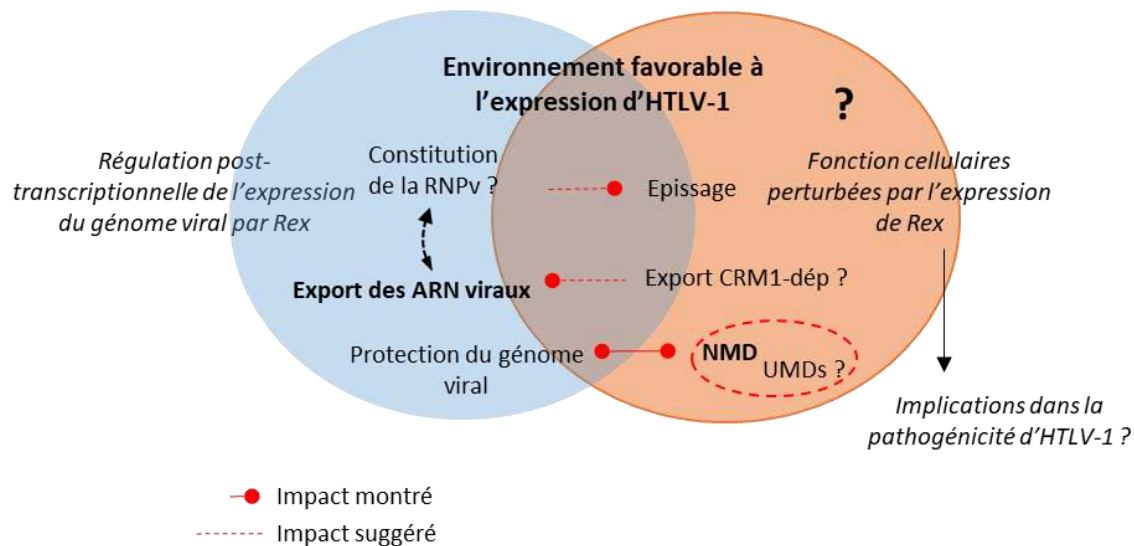


Figure 20. Impacts potentiels de Rex sur la cellule hôte.

E. Une modulation du NMD au rythme de l'export CRM1 ?

Du fait de l'inhibition du NMD observée avec la constitution du complexe CRU, nous nous sommes demandés si la modulation du fonctionnement de la protéine CRM1 pouvait toujours affecter UPF1 et le NMD hors d'un contexte viral. Les résultats obtenus en condition de déplétion de CRM1 montrent qu'une diminution des quantités de CRM1, même faible, est fonctionnellement corrélée à une inhibition du NMD et diminue significativement la capacité d'UPF1 à s'associer à l'ARN rapporteur globine PTC (**Fig. 7A,E**). Ces premiers résultats suggèrent un impact de l'export CRM1 sur le NMD, en cohérence avec le fait que CRM1 est montré comme étant un facteur limitant de l'export (*Kehlenbach and Port, 2016*). A l'image de ce qui a été fait dans le contexte viral (*cf. partie A*), il reste d'une part à valider l'effet spécifique sur le NMD par comparaison des taux de dégradations du rapporteur sensible versus non sensible au NMD (globine PTC versus globine WT) en condition siCRM1. D'autre part, il est prévu de tester l'association d'UPF1 à d'autres substrats ARN (sensible versus non sensible au NMD ; exogènes vs. endogènes) afin de valider si la perte d'association d'UPF1 est généralisable à plusieurs cibles. Ce qui suggérerait une inhibition des étapes précoces de l'initiation du NMD (comme démontré précédemment avec les protéines virales Rex et Rev). Il est également prévu de valider l'accumulation nucléaire d'UPF1 observée en fractionnement, par immunofluorescence en microscopie confocale en absence de CRM1. Il serait intéressant de tester en fractionnement si l'absence de NXF1, voie principale d'export nucléocytoplasmique de l'ARNm, a une influence sur la répartition N/C d'UPF1. Enfin, UPF1 n'étant pas l'unique facteur du NMD retrouvé dans l'exportome de CRM1, les effets observés sur le NMD pourrait également être dû à une déplétion plus globale de l'export de ces facteurs. Aussi il est prévu de tester l'impact de l'inhibition de l'export CRM1 sur d'autres facteurs (tels qu'UPF2 et UPF3 par exemple). Pour l'étude spécifique du complexe CRU, nous avons construit un mutant plus précis du domaine NES d'UPF1 (HA::UPF1^{NESmuté}). La restriction du domaine NES aux acides aminés 89-103 concorde parfaitement avec celle obtenue par l'équipe

d'Oliver Mühlemann qui identifie un NES de 21 acides aminés (89-105) (**Fig. 8** ; Eberle *et al.*, 2021). Ils identifient les mêmes résidus essentiels d'UPF1 pour son export (L103 et F105) que ceux que nous avons sélectionnés pour la création du mutant HA::UPF1^{NESmuté}. Aussi, leur mutant ponctuel « LF » (L103A ; F105A) montre un phénotype de rétention nucléaire, similaire à celui de notre mutant (**Fig. 8**). Il reste néanmoins à valider la perte d'interaction avec CRM1 par immunoprécipitation du mutant NES d'UPF1.

En se basant sur l'hypothèse où l'étape d'export d'UPF1 par CRM1 est un paramètre critique dans l'initiation du NMD, des expériences de stabilité de l'ARN (RNA decay) et d'immunoprécipitation de l'ARN par HA avec le mutant HA::UPF1^{NESmuté} seraient donc informatives quant à sa capacité à inhiber le NMD et à s'associer à son substrat ARN, respectivement. Nous pourrions nous attendre à observer une inhibition du NMD et une diminution de l'association à l'ARN comparativement au HA::UPF1^{NESwt}. Or, l'équipe d'Olivier Mühlemann montrent que ce mutant « LF » est fonctionnel pour le NMD, par des expériences de *rescues* avec différents mutants résistants au siUPF1 dans des cellules *knockdown* pour UPF1. De plus, il conserve sa capacité à interagir avec UPF2 et SMG6, ce qui, selon les auteurs, n'est pas surprenant aux vues des quantités cytoplasmiques importantes du mutant « LF » retrouvées en microscopie (Eberle *et al.*, 2021). De manière intéressante, ces données suggèrent qu'UPF1, pour l'initiation du NMD, s'associerait à son substrat ARN en cytoplasmique plutôt qu'en nucléaire, en cohérence avec les données que nous avons obtenues avec les protéines virales Rex et Rev. D'autre part, ces résultats suggèrent aussi que ce n'est pas l'étape d'export d'UPF1 au sens propre qui serait critique dans le processus de NMD mais davantage la quantité cytoplasmique disponible d'UPF1 et donc la dynamique de répartition N/C d'UPF1.

Si les effets observés sur le NMD en absence de CRM1 sont davantage liés à une perturbation de la dynamique de l'export/import par CRM1, on pourrait émettre l'hypothèse que cet export fonctionne comme un système tampon, capable de moduler plus ou moins rapidement la disponibilité de certains facteurs. C'est d'ailleurs ce que suggère l'étude de Singh *et al.* réalisée en cellules de glandes salivaires de *D. melanogaster* : en utilisant une technique de FLIP/FRAP (Fluorescence Loss In Photobleaching / Fluorescence Recovery After Photobleaching), ils montrent qu'UPF1 possède une grande mobilité dans et entre les compartiments nucléaires et cytoplasmiques (de l'ordre de quelques secondes) (Singh *et al.*, 2019). D'ailleurs, une autre étude réalisée en cellules HeLa montre que la localisation nucléaire d'UPF1 est affectée par des perturbations de l'initiation et de l'élongation de la transcription. Les auteurs montrent également qu'un traitement à la cycloheximide (inhibiteur de la traduction) induit une accumulation d'UPF1 plus importante à la chromatine (Hong *et al.*, 2019). Prises ensemble, ces deux études suggèrent une régulation de la disponibilité d'UPF1 dans les différents compartiments par sa mobilité Noyau/Cytoplasme. Aussi, il est prévu de tester cette mobilité d'UPF1, grâce notamment aux constructions tagguées HA en 293T, par FLIP/FRAP. Il est également prévu de tester si les protéines virales Rex et Rev, davantage que de séquestrer UPF1, modifie sa mobilité intracellulaire (inter et intra-compartimentale).

IV. CONCLUSIONS

Dans ce travail, il est montré comment le détournement de l'export de CRM1 par le transporteur viral Rex d'HTLV-1 impacte négativement l'export de l'hélicase à ARN UPF1 ainsi que l'une de ses fonctions cellulaires : le NMD. Il est également démontré qu'HIV-1, l'autre rétrovirus pathogène humain, possède la capacité d'inhiber le NMD via Rev, rétrotransporteur qui détourne également CRM1, et par un impact similaire à Rex sur UPF1. Cette inhibition du NMD dépendante des rétrotransporteurs viraux Rex et Rev suggère un mécanisme commun aux rétrovirus exprimant des facteurs d'export de l'ARN viral de type Rex/Rev. Les données obtenues suggèrent également qu'UPF1 pourrait jouer des rôles pro-réplicatifs chez HTLV-1. Il est notamment montré qu'UPF1 est chargé activement par Rex sur l'ARN génomique d'HTLV-1. Aussi, ce détournement de CRM1 par Rex pourrait être finalement la première étape d'un détournement plus global d'UPF1 de son rôle antiviral pour d'une part le détourner de son rôle dans le NMD et d'autre part favoriser son chargement sur l'ARN viral contribuant par la suite à l'expression des protéines structurales voir à son trajet dans le cytoplasme et l'encapsidation du génome viral. UPF1 comme CRM1 étant impliquées dans un grand nombre de processus au cœur de l'homéostasie cellulaire, leurs dérégulations conjointes par Rex pourraient contribuer à la pathogenèse et/ou à l'oncogenèse associée à HTLV-1. Néanmoins, le lien entre ces dérégulations d'UPF1 et de CRM1 et l'oncogenèse associée à HTLV-1 reste à déterminer. Enfin, l'export CRM1 étant également détourné par un certain nombre d'autres virus, des inhibiteurs sélectifs de CRM1 sont à l'essai dans le traitement de plusieurs infections virales. Compte tenu des difficultés de traitement rencontrées notamment chez les patients ATL, la détermination de l'impact pathogénique de Rex sur l'exportome de CRM1 s'avère donc être un enjeu thérapeutique.

Ce travail s'est également intéressé à établir un lien jusqu'ici non démontré entre l'export CRM1-dépendant et la régulation du NMD hors d'un contexte viral. Le NMD et CRM1 étant également tous deux impliqués dans l'oncogenèse non viro-induite, ces résultats ouvrent également sur de nouveaux liens potentiels entre ces trois champs d'étude.

BIBLIOGRAPHIE

- Abate, D.A., Watanabe, S., Mocarski, E.S., 2004. Major human cytomegalovirus structural protein pp65 (ppUL83) prevents interferon response factor 3 activation in the interferon response. *J. Virol.* 78, 10995–11006. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.20.10995-11006.2004>
- Abrahamyan, L.G., Chatel-Chaix, L., Ajamian, L., Milev, M.P., Monette, A., Clément, J.-F., Song, R., Lehmann, M., DesGroseillers, L., Laughrea, M., Boccaccio, G., Mouland, A.J., 2010. Novel Staufen1 ribonucleoproteins prevent formation of stress granules but favour encapsidation of HIV-1 genomic RNA. *J. Cell Sci.* 123, 369–383. <https://doi.org/10.1242/jcs.055897>
- Accolla, R.S., 2022. The Road to HTLV-1-Induced Leukemia by Following the Subcellular Localization of HTLV-1-Encoded HBZ Protein. *Front. Immunol.* 13, 940131. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.940131>
- Adachi, Y., Yanagida, M., 1989. Higher order chromosome structure is affected by cold-sensitive mutations in a *Schizosaccharomyces pombe* gene *crm1+* which encodes a 115-kD protein preferentially localized in the nucleus and its periphery. *J. Cell Biol.* 108, 1195–1207. <https://doi.org/10.1083/jcb.108.4.1195>
- Afonso, P.V., Cassar, O., Gessain, A., 2019. Molecular epidemiology, genetic variability and evolution of HTLV-1 with special emphasis on African genotypes. *Retrovirology* 16, 39. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0504-z>
- Ahmed, Y.F., Hanly, S.M., Malim, M.H., Cullen, B.R., Greene, W.C., 1990. Structure-function analyses of the HTLV-I Rex and HIV-1 Rev RNA response elements: insights into the mechanism of Rex and Rev action. *Genes Dev.* 4, 1014–1022. <https://doi.org/10.1101/gad.4.6.1014>
- Aibara, S., Katahira, J., Valkov, E., Stewart, M., 2015. The principal mRNA nuclear export factor NXF1:NXT1 forms a symmetric binding platform that facilitates export of retroviral CTE-RNA. *Nucleic Acids Res.* 43, 1883–1893. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv032>
- Aiken, C., Rouso, I., 2021. The HIV-1 capsid and reverse transcription. *Retrovirology* 18, 29. <https://doi.org/10.1186/s12977-021-00566-0>
- Ajamian, L., Abel, K., Rao, S., Vyboh, K., García-de-Gracia, F., Soto-Rifo, R., Kulozik, A.E., Gehring, N.H., Mouland, A.J., 2015. HIV-1 Recruits UPF1 but Excludes UPF2 to Promote Nucleocytoplasmic Export of the Genomic RNA. *Biomolecules* 5, 2808–2839. <https://doi.org/10.3390/biom5042808>
- Ajamian, L., Abrahamyan, L., Milev, M., Ivanov, P.V., Kulozik, A.E., Gehring, N.H., Mouland, A.J., 2008. Unexpected roles for UPF1 in HIV-1 RNA metabolism and translation. *RNA N. Y. N* 14, 914–927. <https://doi.org/10.1261/rna.829208>
- Akarsu, H., Burmeister, W.P., Petosa, C., Petit, I., Müller, C.W., Ruigrok, R.W.H., Baudin, F., 2003. Crystal structure of the M1 protein-binding domain of the influenza A virus nuclear export protein (NEP/NS2). *EMBO J.* 22, 4646–4655. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg449>
- Aksu, M., Pleiner, T., Karaca, S., Kappert, C., Dehne, H.-J., Seibel, K., Urlaub, H., Bohnsack, M.T., Görlich, D., 2018. Xpo7 is a broad-spectrum exportin and a nuclear import receptor. *J. Cell Biol.* 217, 2329–2340. <https://doi.org/10.1083/jcb.201712013>
- Alais, S., Mahieux, R., Dutartre, H., 2015. Viral Source-Independent High Susceptibility of Dendritic Cells to Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Infection Compared to That of T Lymphocytes. *J. Virol.* 89, 10580–10590. <https://doi.org/10.1128/JVI.01799-15>
- Alefantis, T., Barmak, K., Harhaj, E.W., Grant, C., Wigdahl, B., 2003. Characterization of a nuclear export signal within the human T cell leukemia virus type I transactivator protein Tax. *J. Biol. Chem.* 278, 21814–21822. <https://doi.org/10.1074/jbc.M211576200>
- Änkö, M.-L., 2014. Regulation of gene expression programmes by serine-arginine rich splicing factors. *Semin. Cell Dev. Biol.* 32, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.03.011>
- Arnautov, A., Dasso, M., 2005. Ran-GTP regulates kinetochore attachment in somatic cells. *Cell Cycle Georget. Tex* 4, 1161–1165. <https://doi.org/10.4161/cc.4.9.1979>

- Arnulf, B., Villemain, A., Nicot, C., Mordelet, E., Charneau, P., Kersual, J., Zermati, Y., Mauviel, A., Bazarbachi, A., Hermine, O., 2002. Human T-cell lymphotropic virus oncoprotein Tax represses TGF-beta 1 signaling in human T cells via c-Jun activation: a potential mechanism of HTLV-I leukemogenesis. *Blood* 100, 4129–4138. <https://doi.org/10.1182/blood-2001-12-0372>
- Attal, J., Théron, M.C., Taboit, F., Cajero-Juarez, M., Kann, G., Bolifraud, P., Houdebine, L.M., 1996. The RU5 ('R') region from human leukaemia viruses (HTLV-1) contains an internal ribosome entry site (IRES)-like sequence. *FEBS Lett.* 392, 220–224. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00815-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00815-0)
- Azizian, N.G., Li, Y., 2020. XPO1-dependent nuclear export as a target for cancer therapy. *J. Hematol. Oncol.* *J Hematol Oncol* 13, 61. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00903-4>
- Azzalin, C.M., Lingner, J., 2006a. The human RNA surveillance factor UPF1 is required for S phase progression and genome stability. *Curr. Biol. CB* 16, 433–439. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.01.018>
- Azzalin, C.M., Lingner, J., 2006b. The double life of UPF1 in RNA and DNA stability pathways. *Cell Cycle Georget. Tex* 5, 1496–1498. <https://doi.org/10.4161/cc.5.14.3093>
- Azzalin, C.M., Reichenbach, P., Khoriauli, L., Giulotto, E., Lingner, J., 2007. Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science* 318, 798–801. <https://doi.org/10.1126/science.1147182>
- Bai, X.T., Baydoun, H.H., Nicot, C., 2010. HTLV-I p30: a versatile protein modulating virus replication and pathogenesis. *Mol. Aspects Med.* 31, 344–349. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.05.004>
- Bai, X.T., Nicot, C., 2015. miR-28-3p is a cellular restriction factor that inhibits human T cell leukemia virus, type 1 (HTLV-1) replication and virus infection. *J. Biol. Chem.* 290, 5381–5390. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.626325>
- Bai, X.T., Sinha-Datta, U., Ko, N.L., Bellon, M., Nicot, C., 2012. Nuclear export and expression of human T-cell leukemia virus type 1 tax/rex mRNA are RxRE/Rex dependent. *J. Virol.* 86, 4559–4565. <https://doi.org/10.1128/JVI.06361-11>
- Bai, Y., Tambe, A., Zhou, K., Doudna, J.A., 2014. RNA-guided assembly of Rev-RRE nuclear export complexes. *eLife* 3, e03656. <https://doi.org/10.7554/eLife.03656>
- Balagopal, V., Beemon, K.L., 2017. Rous Sarcoma Virus RNA Stability Element Inhibits Deadenylation of mRNAs with Long 3'UTRs. *Viruses* 9, E204. <https://doi.org/10.3390/v9080204>
- Balakrishnan, K., Jaguva Vasudevan, A.A., Mohareer, K., Luedde, T., Münk, C., Banerjee, S., 2021. Encapsidation of Staufer-2 Enhances Infectivity of HIV-1. *Viruses* 13, 2459. <https://doi.org/10.3390/v13122459>
- Baldauf, H.-M., Pan, X., Erikson, E., Schmidt, S., Daddacha, W., Burggraf, M., Schenkova, K., Ambiel, I., Wabnitz, G., Gramberg, T., Panitz, S., Flory, E., Landau, N.R., Sertel, S., Rutsch, F., Lasitschka, F., Kim, B., König, R., Fackler, O.T., Keppler, O.T., 2012. SAMHD1 restricts HIV-1 infection in resting CD4(+) T cells. *Nat. Med.* 18, 1682–1687. <https://doi.org/10.1038/nm.2964>
- Balistreri, G., Horvath, P., Schweingruber, C., Zünd, D., McInerney, G., Merits, A., Mühlemann, O., Azzalin, C., Helenius, A., 2014. The host nonsense-mediated mRNA decay pathway restricts Mammalian RNA virus replication. *Cell Host Microbe* 16, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.007>
- Banerjee, A., Benjamin, R., Balakrishnan, K., Ghosh, P., Banerjee, S., 2014. Human protein Staufer-2 promotes HIV-1 proliferation by positively regulating RNA export activity of viral protein Rev. *Retrovirology* 11, 18. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-11-18>
- Bangham, C.R., 2000. The immune response to HTLV-I. *Curr. Opin. Immunol.* 12, 397–402. [https://doi.org/10.1016/s0952-7915\(00\)00107-2](https://doi.org/10.1016/s0952-7915(00)00107-2)
- Bangham, C.R., 1993. Human T-cell leukaemia virus type I and neurological disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* 3, 773–778. [https://doi.org/10.1016/0959-4388\(93\)90152-o](https://doi.org/10.1016/0959-4388(93)90152-o)
- Bangham, C.R.M., Miura, M., Kulkarni, A., Matsuoka, M., 2019. Regulation of Latency in the Human T Cell Leukemia Virus, HTLV-1. *Annu. Rev. Virol.* 6, 365–385. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-092818-015501>

- Bangham, C.R.M., Ratner, L., 2015. How does HTLV-1 cause adult T-cell leukaemia/lymphoma (ATL)? *Curr. Opin. Virol.* 14, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.09.004>
- Baratella, M., Forlani, G., Raval, G.U., Tedeschi, A., Gout, O., Gessain, A., Tosi, G., Accolla, R.S., 2017. Cytoplasmic Localization of HTLV-1 HBZ Protein: A Biomarker of HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, e0005285. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005285>
- Barker, G.F., Beemon, K., 1994. Rous sarcoma virus RNA stability requires an open reading frame in the gag gene and sequences downstream of the gag-pol junction. *Mol. Cell. Biol.* 14, 1986–1996. <https://doi.org/10.1128/mcb.14.3.1986-1996.1994>
- Barnard, A.L., Igakura, T., Tanaka, Y., Taylor, G.P., Bangham, C.R.M., 2005. Engagement of specific T-cell surface molecules regulates cytoskeletal polarization in HTLV-1-infected lymphocytes. *Blood* 106, 988–995. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2850>
- Bar-Shira, A., Panet, A., Honigman, A., 1991. An RNA secondary structure juxtaposes two remote genetic signals for human T-cell leukemia virus type I RNA 3'-end processing. *J. Virol.* 65, 5165–5173. <https://doi.org/10.1128/JVI.65.10.5165-5173.1991>
- Bartels, H., Luban, J., 2014. Gammaretroviral pol sequences act in cis to direct polysome loading and NXF1/NXT-dependent protein production by gag-encoded RNA. *Retrovirology* 11, 73. <https://doi.org/10.1186/s12977-014-0073-0>
- Baumhardt, J.M., Walker, J.S., Lee, Y., Shakya, B., Brautigam, C.A., Lapalombella, R., Grishin, N., Chook, Y.M., 2020. Recognition of nuclear export signals by CRM1 carrying the oncogenic E571K mutation. *Mol. Biol. Cell* 31, 1879–1891. <https://doi.org/10.1091/mbc.E20-04-0233>
- Baydoun, H., Duc-Dodon, M., Lebrun, S., Gazzolo, L., Bex, F., 2007. Regulation of the human T-cell leukemia virus gene expression depends on the localization of regulatory proteins Tax, Rex and p30II in specific nuclear subdomains. *Gene* 386, 191–201. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.09.008>
- Baydoun, H.H., Bai, X.T., Shelton, S., Nicot, C., 2012. HTLV-I tax increases genetic instability by inducing DNA double strand breaks during DNA replication and switching repair to NHEJ. *PloS One* 7, e42226. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042226>
- Beaudoin, J.-D., Novoa, E.M., Vejnar, C.E., Yartseva, V., Takacs, C.M., Kellis, M., Giraldez, A.J., 2018. Analyses of mRNA structure dynamics identify embryonic gene regulatory programs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 25, 677–686. <https://doi.org/10.1038/s41594-018-0091-z>
- Beemon, K.L., 2022. Retroviral RNA Processing. *Viruses* 14, 1113. <https://doi.org/10.3390/v14051113>
- Belew, A.T., Meskauskas, A., Musalgaonkar, S., Advani, V.M., Sulima, S.O., Kasprzak, W.K., Shapiro, B.A., Dinman, J.D., 2014. Ribosomal frameshifting in the CCR5 mRNA is regulated by miRNAs and the NMD pathway. *Nature* 512, 265–269. <https://doi.org/10.1038/nature13429>
- Berneman, Z.N., Gartenhaus, R.B., Reitz, M.S., Blattner, W.A., Manns, A., Hanchard, B., Ikehara, O., Gallo, R.C., Klotman, M.E., 1992. Expression of alternatively spliced human T-lymphotropic virus type I pX mRNA in infected cell lines and in primary uncultured cells from patients with adult T-cell leukemia/lymphoma and healthy carriers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89, 3005–3009. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.7.3005>
- Björk, P., Wieslander, L., 2017. Integration of mRNP formation and export. *Cell. Mol. Life Sci.* 74, 2875–2897. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2503-3>
- Blachon, S., Bellanger, S., Demeret, C., Thierry, F., 2005. Nucleo-cytoplasmic shuttling of high risk human Papillomavirus E2 proteins induces apoptosis. *J. Biol. Chem.* 280, 36088–36098. <https://doi.org/10.1074/jbc.M505138200>
- Blayney, D.W., Jaffe, E.S., Blattner, W.A., Cossman, J., Robert-Guroff, M., Longo, D.L., Bunn, P.A., Gallo, R.C., 1983. The human T-cell leukemia/lymphoma virus associated with American adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 62, 401–405.
- Bodem, J., 2011. Regulation of foamy viral transcription and RNA export. *Adv. Virus Res.* 81, 1–31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385885-6.00006-7>

- Bokhari, A., Jonchere, V., Lagrange, A., Bertrand, R., Svrcek, M., Marisa, L., Buhard, O., Greene, M., Demidova, A., Jia, J., Adriaenssens, E., Chassat, T., Biard, D.S., Flejou, J.-F., Lejeune, F., Duval, A., Collura, A., 2018. Targeting nonsense-mediated mRNA decay in colorectal cancers with microsatellite instability. *Oncogenesis* 7, 70. <https://doi.org/10.1038/s41389-018-0079-x>
- Boons, E., Nogueira, T.C., Dierckx, T., Menezes, S.M., Jacquemyn, M., Tamir, S., Landesman, Y., Farré, L., Bittencourt, A., Kataoka, K., Ogawa, S., Snoeck, R., Andrei, G., Van Weyenbergh, J., Daelemans, D., 2021. XPO1 inhibitors represent a novel therapeutic option in Adult T-cell Leukemia, triggering p53-mediated caspase-dependent apoptosis. *Blood Cancer J.* 11, 27. <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00409-3>
- Booth, D.S., Cheng, Y., Frankel, A.D., 2014. The export receptor Crm1 forms a dimer to promote nuclear export of HIV RNA. *eLife* 3, e04121. <https://doi.org/10.7554/eLife.04121>
- Boulo, S., Akarsu, H., Ruigrok, R.W.H., Baudin, F., 2007. Nuclear traffic of influenza virus proteins and ribonucleoprotein complexes. *Virus Res.* 124, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.09.013>
- Boxus, M., Twizere, J.-C., Legros, S., Dewulf, J.-F., Kettmann, R., Willems, L., 2008. The HTLV-1 Tax interactome. *Retrovirology* 5, 76. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-5-76>
- Bradley, T., Cook, M.E., Blanchette, M., 2015. SR proteins control a complex network of RNA-processing events. *RNA* 21, 75–92. <https://doi.org/10.1261/rna.043893.113>
- Bray, M., Prasad, S., Dubay, J.W., Hunter, E., Jeang, K.T., Rekosh, D., Hammariskjöld, M.L., 1994. A small element from the Mason-Pfizer monkey virus genome makes human immunodeficiency virus type 1 expression and replication Rev-independent. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 1256–1260. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.4.1256>
- Brennan, C.M., Gallouzi, I.E., Steitz, J.A., 2000. Protein ligands to HuR modulate its interaction with target mRNAs in vivo. *J. Cell Biol.* 151, 1–14. <https://doi.org/10.1083/jcb.151.1.1>
- Brumbaugh, K.M., Otterness, D.M., Geisen, C., Oliveira, V., Brognard, J., Li, X., Lejeune, F., Tibbetts, R.S., Maquat, L.E., Abraham, R.T., 2004. The mRNA surveillance protein hSMG-1 functions in genotoxic stress response pathways in mammalian cells. *Mol. Cell* 14, 585–598. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.05.005>
- Camus, V., Miloudi, H., Taly, A., Sola, B., Jardin, F., 2017. XPO1 in B cell hematological malignancies: from recurrent somatic mutations to targeted therapy. *J. Hematol. Oncol.* 10, 47. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0412-4>
- Cao, L., Qi, L., Zhang, L., Song, W., Yu, Y., Xu, C., Li, L., Guo, Y., Yang, L., Liu, C., Huang, Q., Wang, Y., Sun, B., Meng, B., Zhang, B., Cao, W., 2017. Human nonsense-mediated RNA decay regulates EMT by targeting the TGF- β signaling pathway in lung adenocarcinoma. *Cancer Lett.* 403, 246–259. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.06.021>
- Cao, Y., Liu, X., De Clercq, E., 2009. Cessation of HIV-1 transcription by inhibiting regulatory protein Rev-mediated RNA transport. *Curr. HIV Res.* 7, 101–108. <https://doi.org/10.2174/157016209787048564>
- Carcone, A., Journo, C., Dutartre, H., 2022. Is the HTLV-1 Retrovirus Targeted by Host Restriction Factors? *Viruses* 14, 1611. <https://doi.org/10.3390/v14081611>
- Cardinali, M., Kratochvil, F.J., Ensley, J.F., Robbins, K.C., Yeudall, W.A., 1997. Functional characterization in vivo of mutant p53 molecules derived from squamous cell carcinomas of the head and neck. *Mol. Carcinog.* 18, 78–88. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2744\(199702\)18:2<78::aid-mc3>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2744(199702)18:2<78::aid-mc3>3.0.co;2-m)
- Caudy, A.A., Ketting, R.F., Hammond, S.M., Denli, A.M., Bathoorn, A.M.P., Tops, B.B.J., Silva, J.M., Myers, M.M., Hannon, G.J., Plasterk, R.H.A., 2003. A micrococcal nuclease homologue in RNAi effector complexes. *Nature* 425, 411–414. <https://doi.org/10.1038/nature01956>
- Cautain, B., Hill, R., de Pedro, N., Link, W., 2015. Components and regulation of nuclear transport processes. *FEBS J.* 282, 445–462. <https://doi.org/10.1111/febs.13163>
- Cavallari, I., Rende, F., Bona, M.K., Sztuba-Solinska, J., Silic-Benussi, M., Tognon, M., LeGrice, S.F.J., Franchini, G., D'Agostino, D.M., Ciminale, V., 2016. Expression of Alternatively Spliced Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 mRNAs Is Influenced by Mitosis and by a Novel cis-Acting Regulatory Sequence. *J. Virol.* 90, 1486–1498. <https://doi.org/10.1128/JVI.02298-15>

- Cerutti, A., Maillard, P., Minisini, R., Vidalain, P.-O., Roohvand, F., Pecheur, E.-I., Pirisi, M., Budkowska, A., 2011. Identification of a functional, CRM-1-dependent nuclear export signal in hepatitis C virus core protein. *PLoS One* 6, e25854. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025854>
- Chakrabarti, S., Jayachandran, U., Bonneau, F., Fiorini, F., Basquin, C., Domcke, S., Le Hir, H., Conti, E., 2011. Molecular Mechanisms for the RNA-Dependent ATPase Activity of Upf1 and Its Regulation by Upf2. *Mol. Cell* 41, 693–703. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.02.010>
- Chamieh, H., Ballut, L., Bonneau, F., Le Hir, H., 2008. NMD factors UPF2 and UPF3 bridge UPF1 to the exon junction complex and stimulate its RNA helicase activity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15, 85–93. <https://doi.org/10.1038/nsmb1330>
- Chatel-Chaix, L., Boulay, K., Mouland, A.J., Desgroseillers, L., 2008. The host protein Staufen1 interacts with the Pr55Gag zinc fingers and regulates HIV-1 assembly via its N-terminus. *Retrovirology* 5, 41. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-5-41>
- Chatel-Chaix, L., Clément, J.-F., Martel, C., Bériault, V., Gagnon, A., DesGroseillers, L., Mouland, A.J., 2004. Identification of Staufen in the human immunodeficiency virus type 1 Gag ribonucleoprotein complex and a role in generating infectious viral particles. *Mol. Cell. Biol.* 24, 2637–2648. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.7.2637-2648.2004>
- Chawla, R., Redon, S., Raftopoulou, C., Wischniewski, H., Gagos, S., Azzalin, C.M., 2011. Human UPF1 interacts with TPP1 and telomerase and sustains telomere leading-strand replication. *EMBO J.* 30, 4047–4058. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.280>
- Chen, B.-L., Wang, H.-M., Lin, X.-S., Zeng, Y.-M., 2021. UPF1: a potential biomarker in human cancers. *Front. Biosci. Landmark Ed.* 26, 76–84. <https://doi.org/10.52586/4925>
- Chen, J., Grunwald, D., Sardo, L., Galli, A., Plisov, S., Nikolaitchik, O.A., Chen, D., Lockett, S., Larson, D.R., Pathak, V.K., Hu, W.-S., 2014. Cytoplasmic HIV-1 RNA is mainly transported by diffusion in the presence or absence of Gag protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, E5205–E5213. <https://doi.org/10.1073/pnas.1413169111>
- Chen, S., Bonifati, S., Qin, Z., St Gelais, C., Kodigepalli, K.M., Barrett, B.S., Kim, S.H., Antonucci, J.M., Ladner, K.J., Buzovetsky, O., Knecht, K.M., Xiong, Y., Yount, J.S., Guttridge, D.C., Santiago, M.L., Wu, L., 2018. SAMHD1 suppresses innate immune responses to viral infections and inflammatory stimuli by inhibiting the NF- κ B and interferon pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, E3798–E3807. <https://doi.org/10.1073/pnas.1801213115>
- Cheng, H., Dufu, K., Lee, C.-S., Hsu, J.L., Dias, A., Reed, R., 2006. Human mRNA export machinery recruited to the 5' end of mRNA. *Cell* 127, 1389–1400. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.10.044>
- Chi, B., Wang, Q., Wu, G., Tan, M., Wang, L., Shi, M., Chang, X., Cheng, H., 2013. Aly and THO are required for assembly of the human TREX complex and association of TREX components with the spliced mRNA. *Nucleic Acids Res.* 41, 1294–1306. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1188>
- Cho, H., Abshire, E.T., Popp, M.W., Pröschel, C., Schwartz, J.L., Yeo, G.W., Maquat, L.E., 2022. AKT constitutes a signal-promoted alternative exon-junction complex that regulates nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell* S1097-2765(22)00480–4. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.05.013>
- Cho, H., Ahn, S.H., Kim, K.M., Kim, Y.K., 2013a. Non-structural protein 1 of influenza viruses inhibits rapid mRNA degradation mediated by double-stranded RNA-binding protein, staufen1. *FEBS Lett.* 587, 2118–2124. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.05.029>
- Cho, H., Han, S., Choe, J., Park, S.G., Choi, S.S., Kim, Y.K., 2013b. SMG5-PNRC2 is functionally dominant compared with SMG5-SMG7 in mammalian nonsense-mediated mRNA decay. *Nucleic Acids Res.* 41, 1319–1328. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1222>
- Cho, H., Kim, K.M., Han, S., Choe, J., Park, S.G., Choi, S.S., Kim, Y.K., 2012. Staufen1-mediated mRNA decay functions in adipogenesis. *Mol. Cell* 46, 495–506. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.03.009>
- Cho, H., Park, O.H., Park, J., Ryu, I., Kim, J., Ko, J., Kim, Y.K., 2015. Glucocorticoid receptor interacts with PNRC2 in a ligand-dependent manner to recruit UPF1 for rapid mRNA degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, E1540–E1549. <https://doi.org/10.1073/pnas.1409612112>

- Choe, J., Ahn, S.H., Kim, Y.K., 2014. The mRNP remodeling mediated by UPF1 promotes rapid degradation of replication-dependent histone mRNA. *Nucleic Acids Res.* 42, 9334–9349. <https://doi.org/10.1093/nar/gku610>
- Cobos Jiménez, V., Martínez, F.O., Booiman, T., van Dort, K.A., van de Klundert, M.A.A., Gordon, S., Geijtenbeek, T.B.H., Kootstra, N.A., 2015. G3BP1 restricts HIV-1 replication in macrophages and T-cells by sequestering viral RNA. *Virology* 486, 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.09.007>
- Coffin, J.M., Hughes, S.H., Varmus, H.E., 1997. The Interactions of Retroviruses and their Hosts, in: Coffin, John M., Hughes, Stephen H., Varmus, Harold E. (Eds.), *Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor (NY).
- Contu, L., Balistreri, G., Domanski, M., Uldry, A.-C., Mühlemann, O., 2021. Characterisation of the Semliki Forest Virus-host cell interactome reveals the viral capsid protein as an inhibitor of nonsense-mediated mRNA decay. *PLoS Pathog.* 17, e1009603. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009603>
- Cook, L.B., Melamed, A., Niederer, H., Valganon, M., Laydon, D., Foroni, L., Taylor, G.P., Matsuoka, M., Bangham, C.R.M., 2014. The role of HTLV-1 clonality, proviral structure, and genomic integration site in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 123, 3925–3931. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-02-553602>
- Culjkovic, B., Topisirovic, I., Skrabanek, L., Ruiz-Gutierrez, M., Borden, K.L.B., 2006. eIF4E is a central node of an RNA regulon that governs cellular proliferation. *J. Cell Biol.* 175, 415–426. <https://doi.org/10.1083/jcb.200607020>
- Culjkovic, B., Topisirovic, I., Skrabanek, L., Ruiz-Gutierrez, M., Borden, K.L.B., 2005. eIF4E promotes nuclear export of cyclin D1 mRNAs via an element in the 3'UTR. *J. Cell Biol.* 169, 245–256. <https://doi.org/10.1083/jcb.200501019>
- D'Agostino, D.M., Cavallari, I., Romanelli, M.G., Ciminale, V., 2019. Post-transcriptional Regulation of HTLV Gene Expression: Rex to the Rescue. *Front. Microbiol.* 10, 1958. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01958>
- Dassouki, Z., Sahin, U., El Hajj, H., Jollivet, F., Kfoury, Y., Lallemand-Breitenbach, V., Hermine, O., de Thé, H., Bazarbachi, A., 2015. ATL response to arsenic/interferon therapy is triggered by SUMO/PML/RNF4-dependent Tax degradation. *Blood* 125, 474–482. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-04-572750>
- Derse, D., Hill, S.A., Princler, G., Lloyd, P., Heidecker, G., 2007. Resistance of human T cell leukemia virus type 1 to APOBEC3G restriction is mediated by elements in nucleocapsid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 2915–2920. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609444104>
- Derse, D., Mikovits, J., Ruscetti, F., 1997. X-I and X-II open reading frames of HTLV-I are not required for virus replication or for immortalization of primary T-cells in vitro. *Virology* 237, 123–128. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8781>
- Dhawan, L., Liu, B., Blaxall, B.C., Taubman, M.B., 2007. A novel role for the glucocorticoid receptor in the regulation of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA stability. *J. Biol. Chem.* 282, 10146–10152. <https://doi.org/10.1074/jbc.M605925200>
- Dian, C., Bernaudat, F., Langer, K., Oliva, M.F., Fornerod, M., Schoehn, G., Müller, C.W., Petosa, C., 2013. Structure of a Truncation Mutant of the Nuclear Export Factor CRM1 Provides Insights into the Auto-Inhibitory Role of Its C-Terminal Helix. *Structure* 21, 1338–1349. <https://doi.org/10.1016/j.str.2013.06.003>
- Dicker, K., Järvelin, A.I., Garcia-Moreno, M., Castello, A., 2021. The importance of virion-incorporated cellular RNA-Binding Proteins in viral particle assembly and infectivity. *Semin. Cell Dev. Biol.* 111, 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.08.002>
- Dodon, M.D., Hamaia, S., Martin, J., Gazzolo, L., 2002. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 interferes with the binding of the human T cell leukemia virus type 1 rex regulatory protein to its response element. *J. Biol. Chem.* 277, 18744–18752. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109087200>
- Dokhelar, M.C., Pickford, H., Sodroski, J., Haseltine, W.A., 1989. HTLV-I p27rex regulates gag and env protein expression. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2, 431–440.
- Dufu, K., Livingstone, M.J., Seebacher, J., Gygi, S.P., Wilson, S.A., Reed, R., 2010. ATP is required for interactions between UAP56 and two conserved mRNA export proteins, Aly and CIP29, to assemble the TREX complex. *Genes Dev.* 24, 2043–2053. <https://doi.org/10.1101/gad.1898610>

- Durand, S., Franks, T.M., Lykke-Andersen, J., 2016. Hyperphosphorylation amplifies UPF1 activity to resolve stalls in nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Commun.* 7, 12434. <https://doi.org/10.1038/ncomms12434>
- Dyle, M.C., Kolakada, D., Cortazar, M.A., Jagannathan, S., 2020. How to get away with nonsense: Mechanisms and consequences of escape from nonsense-mediated RNA decay. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 11, e1560. <https://doi.org/10.1002/wrna.1560>
- Eberle, A.B., Schranz, K., Nasif, S., Grollmus, L., Mühlemann, O., 2021. Dissecting the import and export pathways of the human RNA helicase UPF1. *bioRxiv* 2021.08.02.454737. <https://doi.org/10.1101/2021.08.02.454737>
- Eberle, A.B., Stalder, L., Mathys, H., Orozco, R.Z., Mühlemann, O., 2008. Posttranscriptional gene regulation by spatial rearrangement of the 3' untranslated region. *PLoS Biol.* 6, e92. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060092>
- Einsiedel, L., Woodman, R.J., Flynn, M., Wilson, K., Cassar, O., Gessain, A., 2016. Human T-Lymphotropic Virus type 1 infection in an Indigenous Australian population: epidemiological insights from a hospital-based cohort study. *BMC Public Health* 16, 787. <https://doi.org/10.1186/s12889-016-3366-5>
- El Hajj, H., Bazarbachi, A., 2022. Interplay between innate immunity and the viral oncoproteins Tax and HBZ in the pathogenesis and therapeutic response of HTLV-1 associated adult T cell leukemia. *Front. Immunol.* 13, 957535. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.957535>
- Elbarbary, R.A., Miyoshi, K., Hedaya, O., Myers, J.R., Maquat, L.E., 2017a. UPF1 helicase promotes TSN-mediated miRNA decay. *Genes Dev.* 31, 1483–1493. <https://doi.org/10.1101/gad.303537.117>
- Elbarbary, R.A., Miyoshi, K., Myers, J.R., Du, P., Ashton, J.M., Tian, B., Maquat, L.E., 2017b. Tudor-SN-mediated endonucleolytic decay of human cell microRNAs promotes G1/S phase transition. *Science* 356, 859–862. <https://doi.org/10.1126/science.aai9372>
- ElMaghraby, M.F., Andersen, P.R., Pühringer, F., Hohmann, U., Meixner, K., Lendl, T., Tirian, L., Brennecke, J., 2019. A Heterochromatin-Specific RNA Export Pathway Facilitates piRNA Production. *Cell* 178, 964–979.e20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.007>
- Emmott, E., Munday, D., Bickerton, E., Britton, P., Rodgers, M.A., Whitehouse, A., Zhou, E.-M., Hiscox, J.A., 2013. The cellular interactome of the coronavirus infectious bronchitis virus nucleocapsid protein and functional implications for virus biology. *J. Virol.* 87, 9486–9500. <https://doi.org/10.1128/JVI.00321-13>
- Engelsma, D., Bernad, R., Calafat, J., Fornerod, M., 2004. Supraphysiological nuclear export signals bind CRM1 independently of RanGTP and arrest at Nup358. *EMBO J.* 23, 3643–3652. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600370>
- Englmeier, L., Fornerod, M., Bischoff, F.R., Petosa, C., Mattaj, I.W., Kutay, U., 2001. RanBP3 influences interactions between CRM1 and its nuclear protein export substrates. *EMBO Rep.* 2, 926–932. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve200>
- Enose-Akahata, Y., Billioux, B.J., Azodi, S., Dwyer, J., Vellucci, A., Ngouth, N., Nozuma, S., Massoud, R., Cortese, I., Ohayon, J., Jacobson, S., 2021. Clinical trial of raltegravir, an integrase inhibitor, in HAM/TSP. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 8, 1970–1985. <https://doi.org/10.1002/acn3.51437>
- Enose-Akahata, Y., Jacobson, S., 2019. Immunovirological markers in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Retrovirology* 16, 35. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0499-5>
- Fan, J., Ma, G., Nosaka, K., Tanabe, J., Satou, Y., Koito, A., Wain-Hobson, S., Vartanian, J.-P., Matsuoka, M., 2010. APOBEC3G generates nonsense mutations in human T-cell leukemia virus type 1 proviral genomes in vivo. *J. Virol.* 84, 7278–7287. <https://doi.org/10.1128/JVI.02239-09>
- Fan, S., Yuan, R., Ma, Y.X., Meng, Q., Goldberg, I.D., Rosen, E.M., 2001. Mutant BRCA1 genes antagonize phenotype of wild-type BRCA1. *Oncogene* 20, 8215–8235. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205033>
- Farjot, G., Buisson, M., Duc Dodon, M., Gazzolo, L., Sergeant, A., Mikaelian, I., 2000. Epstein-Barr virus EB2 protein exports unspliced RNA via a Crm-1-independent pathway. *J. Virol.* 74, 6068–6076. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.13.6068-6076.2000>
- Feng, Q., Jagannathan, S., Bradley, R.K., 2017. The RNA Surveillance Factor UPF1 Represses Myogenesis via Its E3 Ubiquitin Ligase Activity. *Mol. Cell* 67, 239–251.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.034>

- Ferreira, B.I., Cautain, B., Grenho, I., Link, W., 2020. Small Molecule Inhibitors of CRM1. *Front. Pharmacol.* 11, 625. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00625>
- Fiorini, F., Bagchi, D., Le Hir, H., Croquette, V., 2015. Human Upf1 is a highly processive RNA helicase and translocase with RNP remodelling activities. *Nat. Commun.* 6, 7581. <https://doi.org/10.1038/ncomms8581>
- Fiorini, F., Boudvillain, M., Le Hir, H., 2013. Tight intramolecular regulation of the human Upf1 helicase by its N- and C-terminal domains. *Nucleic Acids Res.* 41, 2404–2415. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1320>
- Fiorini, F., Robin, J.-P., Kanaan, J., Borowiak, M., Croquette, V., Le Hir, H., Jalinet, P., Mocquet, V., 2018. HTLV-1 Tax plugs and freezes UPF1 helicase leading to nonsense-mediated mRNA decay inhibition. *Nat. Commun.* 9. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02793-6>
- Fischer, J.W., Busa, V.F., Shao, Y., Leung, A.K.L., 2020. Structure-Mediated RNA Decay by UPF1 and G3BP1. *Mol. Cell* 78, 70–84.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.01.021>
- Fogarty, K.H., Chen, Y., Grigsby, I.F., Macdonald, P.J., Smith, E.M., Johnson, J.L., Rawson, J.M., Mansky, L.M., Mueller, J.D., 2011. Characterization of cytoplasmic Gag-gag interactions by dual-color z-scan fluorescence fluctuation spectroscopy. *Biophys. J.* 100, 1587–1595. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.02.008>
- Fontaine, K.A., Leon, K.E., Khalid, M.M., Tomar, S., Jimenez-Morales, D., Dunlap, M., Kaye, J.A., Shah, P.S., Finkbeiner, S., Krogan, N.J., Ott, M., 2018. The Cellular NMD Pathway Restricts Zika Virus Infection and Is Targeted by the Viral Capsid Protein. *mBio* 9, e02126-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.02126-18>
- Forbes, D.J., Travesa, A., Nord, M., Bernis, C., 2015. Nuclear Transport Factors: Global Regulation of Mitosis. *Curr. Opin. Cell Biol.* 35, 78–90. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.04.012>
- Forlani, G., Shallak, M., Ramia, E., Tedeschi, A., Accolla, R.S., 2019. Restriction factors in human retrovirus infections and the unprecedented case of CIITA as link of intrinsic and adaptive immunity against HTLV-1. *Retrovirology* 16, 34. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0498-6>
- Fornerod, M., Ohno, M., Yoshida, M., Mattaj, J.W., 1997. CRM1 is an export receptor for leucine-rich nuclear export signals. *Cell* 90, 1051–1060. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80371-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80371-2)
- Franks, T.M., Singh, G., Lykke-Andersen, J., 2010. Upf1 ATPase-dependent mRNP disassembly is required for completion of nonsense-mediated mRNA decay. *Cell* 143, 938–950. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.043>
- Freundt, E.C., Yu, L., Park, E., Lenardo, M.J., Xu, X.-N., 2009. Molecular determinants for subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading frame 3b protein. *J. Virol.* 83, 6631–6640. <https://doi.org/10.1128/JVI.00367-09>
- Fu, S.-C., Fung, H.Y.J., Çağatay, T., Baumhardt, J., Chook, Y.M., 2018. Correlation of CRM1-NES affinity with nuclear export activity. *Mol. Biol. Cell* 29, 2037–2044. <https://doi.org/10.1091/mbc.E18-02-0096>
- Fujino, T., Nagata, Y., 2000. HTLV-I transmission from mother to child. *J. Reprod. Immunol.* 47, 197–206. [https://doi.org/10.1016/s0165-0378\(00\)00054-1](https://doi.org/10.1016/s0165-0378(00)00054-1)
- Fukuda, M., Asano, S., Nakamura, T., Adachi, M., Yoshida, M., Yanagida, M., Nishida, E., 1997. CRM1 is responsible for intracellular transport mediated by the nuclear export signal. *Nature* 390, 308–311. <https://doi.org/10.1038/36894>
- Fung, H.Y.J., Chook, Y.M., 2014. Atomic basis of CRM1-cargo recognition, release and inhibition. *Semin. Cancer Biol.* 27, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.03.002>
- Fung, H.Y.J., Fu, S.-C., Chook, Y.M., 2017. Nuclear export receptor CRM1 recognizes diverse conformations in nuclear export signals. *eLife* 6, e23961. <https://doi.org/10.7554/eLife.23961>
- Furuta, R., Yasunaga, J.-I., Miura, M., Sugata, K., Saito, A., Akari, H., Ueno, T., Takenouchi, N., Fujisawa, J.-I., Koh, K.-R., Higuchi, Y., Mahgoub, M., Shimizu, M., Matsuda, F., Melamed, A., Bangham, C.R., Matsuoka, M., 2017. Human T-cell leukemia virus type 1 infects multiple lineage hematopoietic cells in vivo. *PLoS Pathog.* 13, e1006722. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006722>
- Futsch, N., Prates, G., Mahieux, R., Casseb, J., Dutartre, H., 2018. Cytokine Networks Dysregulation during HTLV-1 Infection and Associated Diseases. *Viruses* 10, 691. <https://doi.org/10.3390/v10120691>

- Garcia, D., Garcia, S., Voinnet, O., 2014. Nonsense-mediated decay serves as a general viral restriction mechanism in plants. *Cell Host Microbe* 16, 391–402. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.001>
- Gaudray, G., Gachon, F., Basbous, J., Biard-Piechaczyk, M., Devaux, C., Mesnard, J.-M., 2002. The complementary strand of the human T-cell leukemia virus type 1 RNA genome encodes a bZIP transcription factor that down-regulates viral transcription. *J. Virol.* 76, 12813–12822. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.24.12813-12822.2002>
- Ge, Y., Porse, B.T., 2014. The functional consequences of intron retention: alternative splicing coupled to NMD as a regulator of gene expression. *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* 36, 236–243. <https://doi.org/10.1002/bies.201300156>
- Ge, Z., Quek, B.L., Beemon, K.L., Hogg, J.R., 2016. Polypyrimidine tract binding protein 1 protects mRNAs from recognition by the nonsense-mediated mRNA decay pathway. *eLife* 5, e11155. <https://doi.org/10.7554/eLife.11155>
- Gessain, A., 2011. [Human retrovirus HTLV-1: descriptive and molecular epidemiology, origin, evolution, diagnosis and associated diseases]. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1990 104, 167–180. <https://doi.org/10.1007/s13149-011-0174-4>
- Gessain, A., Cassar, O., 2012. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Front. Microbiol.* 3, 388. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00388>
- Ghildyal, R., Ho, A., Dias, M., Soegiyono, L., Bardin, P.G., Tran, K.C., Teng, M.N., Jans, D.A., 2009. The respiratory syncytial virus matrix protein possesses a Crm1-mediated nuclear export mechanism. *J. Virol.* 83, 5353–5362. <https://doi.org/10.1128/JVI.02374-08>
- Giam, C.-Z., Pasupala, N., 2022. NF- κ B-Induced R-Loops and Genomic Instability in HTLV-1-Infected and Adult T-Cell Leukemia Cells. *Viruses* 14, 877. <https://doi.org/10.3390/v14050877>
- Glasmacher, E., Hoefig, K.P., Vogel, K.U., Rath, N., Du, L., Wolf, C., Kremmer, E., Wang, X., Heissmeyer, V., 2010. Roquin binds inducible costimulator mRNA and effectors of mRNA decay to induce microRNA-independent post-transcriptional repression. *Nat. Immunol.* 11, 725–733. <https://doi.org/10.1038/ni.1902>
- Goldstone, D.C., Ennis-Adeniran, V., Hedden, J.J., Groom, H.C.T., Rice, G.I., Christodoulou, E., Walker, P.A., Kelly, G., Haire, L.F., Yap, M.W., de Carvalho, L.P.S., Stoye, J.P., Crow, Y.J., Taylor, I.A., Webb, M., 2011. HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase. *Nature* 480, 379–382. <https://doi.org/10.1038/nature10623>
- Gonçalves-Carneiro, D., Mastrocola, E., Lei, X., DaSilva, J., Chan, Y.F., Bieniasz, P.D., 2022. Rational attenuation of RNA viruses with zinc finger antiviral protein. *Nat. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01223-8>
- Gong, C., Kim, Y.K., Woeller, C.F., Tang, Y., Maquat, L.E., 2009. SMD and NMD are competitive pathways that contribute to myogenesis: effects on PAX3 and myogenin mRNAs. *Genes Dev.* 23, 54–66. <https://doi.org/10.1101/gad.1717309>
- Gordon, D.E., Jang, G.M., Bouhaddou, M., Xu, J., Obernier, K., White, K.M., O’Meara, M.J., Rezelj, V.V., Guo, J.Z., Swaney, D.L., Tummino, T.A., Hüttenhain, R., Kaake, R.M., Richards, A.L., Tutuncuoglu, B., Foussard, H., Batra, J., Haas, K., Modak, M., Kim, M., Haas, P., Polacco, B.J., Braberg, H., Fabius, J.M., Eckhardt, M., Soucheray, M., Bennett, M.J., Cakir, M., McGregor, M.J., Li, Q., Meyer, B., Roesch, F., Vallet, T., Mac Kain, A., Miorin, L., Moreno, E., Naing, Z.Z.C., Zhou, Y., Peng, S., Shi, Y., Zhang, Z., Shen, W., Kirby, I.T., Melnyk, J.E., Chorbha, J.S., Lou, K., Dai, S.A., Barrio-Hernandez, I., Memon, D., Hernandez-Armenta, C., Lyu, J., Mathy, C.J.P., Perica, T., Pilla, K.B., Ganesan, S.J., Saltzberg, D.J., Rakesh, R., Liu, X., Rosenthal, S.B., Calviello, L., Venkataramanan, S., Liboy-Lugo, J., Lin, Y., Huang, X.-P., Liu, Y., Wankowicz, S.A., Bohn, M., Safari, M., Ugur, F.S., Koh, C., Savar, N.S., Tran, Q.D., Shengjuler, D., Fletcher, S.J., O’Neal, M.C., Cai, Y., Chang, J.C.J., Broadhurst, D.J., Klippsten, S., Sharp, P.P., Wenzell, N.A., Kuzuoglu-Ozturk, D., Wang, H.-Y., Trenker, R., Young, J.M., Cavero, D.A., Hiatt, J., Roth, T.L., Rathore, U., Subramanian, A., Noack, J., Hubert, M., Stroud, R.M., Frankel, A.D., Rosenberg, O.S., Verba, K.A., Agard, D.A., Ott, M., Emerman, M., Jura, N., von Zastrow, M., Verdin, E., Ashworth, A., Schwartz, O., d’Enfert, C., Mukherjee, S., Jacobson, M., Malik, H.S., Fujimori, D.G., Ideker, T., Craik, C.S., Floor, S.N., Fraser, J.S., Gross, J.D., Sali, A., Roth, B.L., Ruggero, D., Taunton, J., Kortemme, T., Beltrao, P., Vignuzzi, M., García-Sastre, A., Shokat, K.M., Shoichet, B.K., Krogan, N.J., 2020. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature* 583, 459–468. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2286-9>

- Gowravaram, M., Schwarz, J., Khilji, S.K., Urlaub, H., Chakrabarti, S., 2019. Insights into the assembly and architecture of a Staufen-mediated mRNA decay (SMD)-competent mRNP. *Nat. Commun.* 10, 5054. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13080-x>
- Gramberg, T., Kahle, T., Bloch, N., Wittmann, S., Müllers, E., Daddacha, W., Hofmann, H., Kim, B., Lindemann, D., Landau, N.R., 2013. Restriction of diverse retroviruses by SAMHD1. *Retrovirology* 10, 26. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-26>
- Gravina, G.L., Senapedis, W., McCauley, D., Baloglu, E., Shacham, S., Festuccia, C., 2014. Nucleo-cytoplasmic transport as a therapeutic target of cancer. *J. Hematol. Oncol.* 7, 85. <https://doi.org/10.1186/s13045-014-0085-1>
- Gromadzka, A.M., Steckelberg, A.-L., Singh, K.K., Hofmann, K., Gehring, N.H., 2016. A short conserved motif in ALYREF directs cap- and EJC-dependent assembly of export complexes on spliced mRNAs. *Nucleic Acids Res.* 44, 2348–2361. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw009>
- Gröne, M., Koch, C., Grassmann, R., 1996. The HTLV-1 Rex protein induces nuclear accumulation of unspliced viral RNA by avoiding intron excision and degradation. *Virology* 218, 316–325. <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0200>
- Guo, S., Wang, X., Zhou, H., Gao, Y., Wang, P., Zhi, H., Sun, Y., Zhang, Y., Gan, J., Xiao, Y., Ning, S., 2022. PD-L1-Mediated Immunosuppression in Hepatocellular Carcinoma: Relationship with Macrophages Infiltration and Inflammatory Response Activity. *Biomolecules* 12, 1226. <https://doi.org/10.3390/biom12091226>
- Guo, Y., Wei, X., Peng, Y., 2020. Structure-Mediated Degradation of CircRNAs. *Trends Cell Biol.* 30, 501–503. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.04.001>
- Güttler, T., Görlich, D., 2011. Ran-dependent nuclear export mediators: a structural perspective. *EMBO J.* 30, 3457–3474. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.287>
- Güttler, T., Madl, T., Neumann, P., Deichsel, D., Corsini, L., Monecke, T., Ficner, R., Sattler, M., Görlich, D., 2010. NES consensus redefined by structures of PKI-type and Rev-type nuclear export signals bound to CRM1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17, 1367–1376. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1931>
- Hagiya, K., Yasunaga, J.-I., Satou, Y., Ohshima, K., Matsuoka, M., 2011. ATF3, an HTLV-1 bZip factor binding protein, promotes proliferation of adult T-cell leukemia cells. *Retrovirology* 8, 19. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-8-19>
- Haines, J.D., Herbin, O., de la Hera, B., Vidaurre, O.G., Moy, G.A., Sun, Q., Fung, H.Y.J., Albrecht, S., Alexandropoulos, K., McCauley, D., Chook, Y.M., Kuhlmann, T., Kidd, G.J., Shacham, S., Casaccia, P., 2015. Nuclear export inhibitors avert progression in preclinical models of inflammatory demyelination. *Nat. Neurosci.* 18, 511–520. <https://doi.org/10.1038/nn.3953>
- Hakata, Y., Umemoto, T., Matsushita, S., Shida, H., 1998. Involvement of human CRM1 (exportin 1) in the export and multimerization of the Rex protein of human T-cell leukemia virus type 1. *J. Virol.* 72, 6602–6607. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.8.6602-6607.1998>
- Hakata, Y., Yamada, M., Shida, H., 2003. A multifunctional domain in human CRM1 (exportin 1) mediates RanBP3 binding and multimerization of human T-cell leukemia virus type 1 Rex protein. *Mol. Cell. Biol.* 23, 8751–8761. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.23.8751-8761.2003>
- Han, S., Cao, D., Sha, J., Zhu, X., Chen, D., 2020. LncRNA ZFPM2-AS1 promotes lung adenocarcinoma progression by interacting with UPF1 to destabilize ZFPM2. *Mol. Oncol.* 14, 1074–1088. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12631>
- Heger, P., Rosorius, O., Koch, C., Casari, G., Grassmann, R., Hauber, J., 1998. Multimer formation is not essential for nuclear export of human T-cell leukemia virus type 1 Rex trans-activator protein. *J. Virol.* 72, 8659–8668. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.11.8659-8668.1998>
- Henderson, B.R., Percipalle, P., 1997. Interactions between HIV Rev and nuclear import and export factors: the Rev nuclear localisation signal mediates specific binding to human importin-beta. *J. Mol. Biol.* 274, 693–707. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1420>
- Hilburn, S., Rowan, A., Demontis, M.-A., MacNamara, A., Asquith, B., Bangham, C.R.M., Taylor, G.P., 2011. In vivo expression of human T-lymphotropic virus type 1 basic leucine-zipper protein generates specific CD8+ and

- CD4⁺ T-lymphocyte responses that correlate with clinical outcome. *J. Infect. Dis.* 203, 529–536. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq078>
- Hishizawa, M., Imada, K., Kitawaki, T., Ueda, M., Kadowaki, N., Uchiyama, T., 2004. Depletion and impaired interferon- α -producing capacity of blood plasmacytoid dendritic cells in human T-cell leukaemia virus type I-infected individuals. *Br. J. Haematol.* 125, 568–575. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2004.04956.x>
- Hoefig, K.P., Heissmeyer, V., 2014. Degradation of oligouridylated histone mRNAs: see UUUUU and goodbye. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 5, 577–589. <https://doi.org/10.1002/wrna.1232>
- Hogg, J.R., Goff, S.P., 2010. Upf1 senses 3'UTR length to potentiate mRNA decay. *Cell* 143, 379–389. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.10.005>
- Hong, D., Park, T., Jeong, S., 2019. Nuclear UPF1 Is Associated with Chromatin for Transcription-Coupled RNA Surveillance. *Mol. Cells* 42, 523–529. <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0116>
- Howard, J.M., Sanford, J.R., 2015. The RNAissance family: SR proteins as multifaceted regulators of gene expression. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 6, 93–110. <https://doi.org/10.1002/wrna.1260>
- Hu, J., Li, P., Shi, B., Tie, J., 2021. Importin β 1 mediates nuclear import of the factors associated with nonsense-mediated RNA decay. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 542, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.01.034>
- Hu, J., Li, Y., Li, P., 2013. MARVELD1 Inhibits Nonsense-Mediated RNA Decay by Repressing Serine Phosphorylation of UPF1. *PloS One* 8, e68291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068291>
- Huang, Y., Gattoni, R., St  venin, J., Steitz, J.A., 2003. SR splicing factors serve as adapter proteins for TAP-dependent mRNA export. *Mol. Cell* 11, 837–843. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(03\)00089-3](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(03)00089-3)
- Huang, Y., Steitz, J.A., 2001. Splicing factors SRp20 and 9G8 promote the nucleocytoplasmic export of mRNA. *Mol. Cell* 7, 899–905. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(01\)00233-7](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(01)00233-7)
- Hug, N., Cáceres, J.F., 2014. The RNA helicase DHX34 activates NMD by promoting a transition from the surveillance to the decay-inducing complex. *Cell Rep.* 8, 1845–1856. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.020>
- Hurt, J.A., Robertson, A.D., Burge, C.B., 2013. Global analyses of UPF1 binding and function reveal expanded scope of nonsense-mediated mRNA decay. *Genome Res.* 23, 1636–1650. <https://doi.org/10.1101/gr.157354.113>
- Hutten, S., Kehlenbach, R.H., 2007. CRM1-mediated nuclear export: to the pore and beyond. *Trends Cell Biol.* 17, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2007.02.003>
- Ilinskaya, A., Derse, D., Hill, S., Princler, G., Heidecker, G., 2013. Cell-cell transmission allows human T-lymphotropic virus 1 to circumvent tetherin restriction. *Virology* 436, 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.11.012>
- Imamachi, N., Salam, K.A., Suzuki, Y., Akimitsu, N., 2017. A GC-rich sequence feature in the 3' UTR directs UPF1-dependent mRNA decay in mammalian cells. *Genome Res.* 27, 407–418. <https://doi.org/10.1101/gr.206060.116>
- Inlora, J., Collins, D.R., Trubin, M.E., Chung, J.Y.J., Ono, A., 2014. Membrane binding and subcellular localization of retroviral Gag proteins are differentially regulated by MA interactions with phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate and RNA. *mBio* 5, e02202. <https://doi.org/10.1128/mBio.02202-14>
- Ishmael, F.T., Fang, X., Houser, K.R., Pearce, K., Abdelmohsen, K., Zhan, M., Gorospe, M., Stellato, C., 2011. The human glucocorticoid receptor as an RNA-binding protein: global analysis of glucocorticoid receptor-associated transcripts and identification of a target RNA motif. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 186, 1189–1198. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001794>
- Ivanov, P., Kedersha, N., Anderson, P., 2019. Stress Granules and Processing Bodies in Translational Control. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 11, a032813. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032813>
- Jackson, R.J., 2005. Alternative mechanisms of initiating translation of mammalian mRNAs. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 1231–1241. <https://doi.org/10.1042/BST20051231>

- Jacobson, S., Shida, H., McFarlin, D.E., Fauci, A.S., Koenig, S., 1990. Circulating CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes specific for HTLV-I pX in patients with HTLV-I associated neurological disease. *Nature* 348, 245–248. <https://doi.org/10.1038/348245a0>
- Jaeger, S., Barends, S., Giegé, R., Eriani, G., Martin, F., 2005. Expression of metazoan replication-dependent histone genes. *Biochimie* 87, 827–834. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2005.03.012>
- Javanbakht, H., An, P., Gold, B., Petersen, D.C., O’Huigin, C., Nelson, G.W., O’Brien, S.J., Kirk, G.D., Detels, R., Buchbinder, S., Donfield, S., Shulenin, S., Song, B., Perron, M.J., Stremlau, M., Sodroski, J., Dean, M., Winkler, C., 2006. Effects of human TRIM5 α polymorphisms on antiretroviral function and susceptibility to human immunodeficiency virus infection. *Virology* 354, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.06.031>
- Jayaraman, B., Crosby, D.C., Homer, C., Ribeiro, I., Mavor, D., Frankel, A.D., 2014. RNA-directed remodeling of the HIV-1 protein Rev orchestrates assembly of the Rev-Rev response element complex. *eLife* 3, e04120. <https://doi.org/10.7554/eLife.04120>
- Jiang, S., Li, X., Huang, L., Xu, Z., Lin, J., 2022. Prognostic value of PD-1, PD-L1 and PD-L2 deserves attention in head and neck cancer. *Front. Immunol.* 13, 988416. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.988416>
- Jones, K.S., Petrow-Sadowski, C., Huang, Y.K., Bertolette, D.C., Ruscetti, F.W., 2008. Cell-free HTLV-1 infects dendritic cells leading to transmission and transformation of CD4(+) T cells. *Nat. Med.* 14, 429–436. <https://doi.org/10.1038/nm1745>
- Jubel, J.M., Barbaty, Z.R., Burger, C., Wirtz, D.C., Schildberg, F.A., 2020. The Role of PD-1 in Acute and Chronic Infection. *Front. Immunol.* 11, 487. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00487>
- Kaláb, P., Pralle, A., Isacoff, E.Y., Heald, R., Weis, K., 2006. Analysis of a RanGTP-regulated gradient in mitotic somatic cells. *Nature* 440, 697–701. <https://doi.org/10.1038/nature04589>
- Kanaan, J., Raj, S., Decourty, L., Saveanu, C., Croquette, V., Le Hir, H., 2018. UPF1-like helicase grip on nucleic acids dictates processivity. *Nat. Commun.* 9, 3752. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06313-y>
- Karousis, E.D., Mühlemann, O., 2019. Nonsense-Mediated mRNA Decay Begins Where Translation Ends. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 11, a032862. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a032862>
- Kashima, I., Jonas, S., Jayachandran, U., Buchwald, G., Conti, E., Lupas, A.N., Izaurralde, E., 2010. SMG6 interacts with the exon junction complex via two conserved EJC-binding motifs (EBMs) required for nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* 24, 2440–2450. <https://doi.org/10.1101/gad.604610>
- Kashima, I., Yamashita, A., Izumi, N., Kataoka, N., Morishita, R., Hoshino, S., Ohno, M., Dreyfuss, G., Ohno, S., 2006. Binding of a novel SMG-1-Upf1-eRF1-eRF3 complex (SURF) to the exon junction complex triggers Upf1 phosphorylation and nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* 20, 355–367. <https://doi.org/10.1101/gad.1389006>
- Kashyap, T., Murray, J., Walker, C.J., Chang, H., Tamir, S., Hou, B., Shacham, S., Kauffman, M.G., Tripp, R.A., Landesman, Y., 2021. Selinexor, a novel selective inhibitor of nuclear export, reduces SARS-CoV-2 infection and protects the respiratory system in vivo. *Antiviral Res.* 192, 105115. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2021.105115>
- Kataoka, K., Nagata, Y., Kitanaka, A., Shiraishi, Y., Shimamura, T., Yasunaga, J.-I., Totoki, Y., Chiba, K., Sato-Otsubo, A., Nagae, G., Ishii, R., Muto, S., Kotani, S., Watatani, Y., Takeda, J., Sanada, M., Tanaka, H., Suzuki, H., Sato, Y., Shiozawa, Y., Yoshizato, T., Yoshida, K., Makishima, H., Iwanaga, M., Ma, G., Nosaka, K., Hishizawa, M., Itonaga, H., Imaizumi, Y., Munakata, W., Ogasawara, H., Sato, T., Sasai, K., Muramoto, K., Penova, M., Kawaguchi, T., Nakamura, H., Hama, N., Shide, K., Kubuki, Y., Hidaka, T., Kameda, T., Nakamaki, T., Ishiyama, K., Miyawaki, S., Yoon, S.-S., Tobinai, K., Miyazaki, Y., Takaori-Kondo, A., Matsuda, F., Takeuchi, K., Nureki, O., Aburatani, H., Watanabe, T., Shibata, T., Matsuoka, M., Miyano, S., Shimoda, K., Ogawa, S., 2015. Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nat. Genet.* 47, 1304–1315. <https://doi.org/10.1038/ng.3415>
- Kaygun, H., Marzluff, W.F., 2005. Regulated degradation of replication-dependent histone mRNAs requires both ATR and Upf1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 12, 794–800. <https://doi.org/10.1038/nsmb972>
- Kehlenbach, R.H., Port, S.A., 2016. Analysis of CRM1-Dependent Nuclear Export in Permeabilized Cells. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 1411, 489–501. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3530-7_30

- Kesic, M., Doueiri, R., Ward, M., Semmes, O.J., Green, P.L., 2009. Phosphorylation regulates human T-cell leukemia virus type 1 Rex function. *Retrovirology* 6, 105. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-105>
- Khan, M., Hou, S., Azam, S., Lei, H., 2021. Sequence-dependent recruitment of SRSF1 and SRSF7 to intronless lncRNA NKILA promotes nuclear export via the TREX/TAP pathway. *Nucleic Acids Res.* 49, 6420–6436. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab445>
- Kim, J., McMillan, E., Kim, H.S., Venkateswaran, N., Makkar, G., Rodriguez-Canales, J., Villalobos, P., Neggers, J.E., Mendiratta, S., Wei, S., Landesman, Y., Senapedis, W., Baloglu, E., Chow, C.-W.B., Frink, R.E., Gao, B., Roth, M., Minna, J.D., Daelemans, D., Wistuba, I.I., Posner, B.A., Scaglioni, P., White, M.A., 2016. XPO1-dependent nuclear export is a druggable vulnerability in KRAS-mutant lung cancer. *Nature* 538, 114–117. <https://doi.org/10.1038/nature19771>
- Kim, S.S.-Y., Sze, L., Liu, C., Lam, K.-P., 2019. Correction: The stress granule protein G3BP1 binds viral dsRNA and RIG-I to enhance interferon- β response. *J. Biol. Chem.* 294, 9655. <https://doi.org/10.1074/jbc.AAC119.009397>
- Kim, Y.K., Furic, L., Desgroseillers, L., Maquat, L.E., 2005. Mammalian Staufen1 recruits Upf1 to specific mRNA 3'UTRs so as to elicit mRNA decay. *Cell* 120, 195–208. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.050>
- Kim, Y.K., Furic, L., Parisien, M., Major, F., DesGroseillers, L., Maquat, L.E., 2007. Staufen1 regulates diverse classes of mammalian transcripts. *EMBO J.* 26, 2670–2681. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601712>
- Kim, Y.K., Maquat, L.E., 2019. UPFront and center in RNA decay: UPF1 in nonsense-mediated mRNA decay and beyond. *RNA* 25, 407–422. <https://doi.org/10.1261/rna.070136.118>
- Kino, T., Hurt, D.E., Ichijo, T., Nader, N., Chrousos, G.P., 2010. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor. *Sci. Signal.* 3, ra8. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2000568>
- Kira, J., Nakamura, M., Sawada, T., Koyanagi, Y., Ohori, N., Itoyama, Y., Yamamoto, N., Sakaki, Y., Goto, I., 1992. Antibody titers to HTLV-I-p40tax protein and gag-env hybrid protein in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with increased HTLV-I proviral DNA load. *J. Neurol. Sci.* 107, 98–104. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(92\)90215-7](https://doi.org/10.1016/0022-510x(92)90215-7)
- Kishor, A., Fritz, S.E., Hogg, J.R., 2019a. Nonsense-mediated mRNA decay: The challenge of telling right from wrong in a complex transcriptome. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 10, e1548. <https://doi.org/10.1002/wrna.1548>
- Kishor, A., Ge, Z., Hogg, J.R., 2019b. hnRNP L-dependent protection of normal mRNAs from NMD subverts quality control in B cell lymphoma. *EMBO J.* 38, e99128. <https://doi.org/10.15252/embj.201899128>
- Kirli, K., Karaca, S., Dehne, H.J., Samwer, M., Pan, K.T., Lenz, C., Urlaub, H., Görlich, D., 2015. A deep proteomics perspective on CRM1-mediated nuclear export and nucleocytoplasmic partitioning. *eLife* 4, e11466. <https://doi.org/10.7554/eLife.11466>
- Knapp, A.A., McManus, P.M., Bockstall, K., Moroianu, J., 2009. Identification of the nuclear localization and export signals of high risk HPV16 E7 oncoprotein. *Virology* 383, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.09.037>
- Koyanagi, Y., Itoyama, Y., Nakamura, N., Takamatsu, K., Kira, J., Iwamasa, T., Goto, I., Yamamoto, N., 1993. In vivo infection of human T-cell leukemia virus type I in non-T cells. *Virology* 196, 25–33. <https://doi.org/10.1006/viro.1993.1451>
- Kress, E., Baydoun, H.H., Bex, F., Gazzolo, L., Duc Dodon, M., 2005. Critical role of hnRNP A1 in HTLV-1 replication in human transformed T lymphocytes. *Retrovirology* 2, 8. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-2-8>
- Kudo, N., Wolff, B., Sekimoto, T., Schreiner, E.P., Yoneda, Y., Yanagida, M., Horinouchi, S., Yoshida, M., 1998. Leptomycin B inhibition of signal-mediated nuclear export by direct binding to CRM1. *Exp. Cell Res.* 242, 540–547. <https://doi.org/10.1006/excr.1998.4136>
- Kunz, J.B., Neu-Yilik, G., Hentze, M.W., Kulozik, A.E., Gehring, N.H., 2006. Functions of hUpf3a and hUpf3b in nonsense-mediated mRNA decay and translation. *RNA* 12, 1015–1022. <https://doi.org/10.1261/rna.12506>

- Kurosaki, T., Li, W., Hoque, M., Popp, M.W.-L., Ermolenko, D.N., Tian, B., Maquat, L.E., 2014. A post-translational regulatory switch on UPF1 controls targeted mRNA degradation. *Genes Dev.* 28, 1900–1916. <https://doi.org/10.1101/gad.245506.114>
- Kurosaki, T., Maquat, L.E., 2013. Rules that govern UPF1 binding to mRNA 3' UTRs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 3357–3362. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219908110>
- Kurosaki, T., Popp, M.W., Maquat, L.E., 2019. Quality and quantity control of gene expression by nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 20, 406–420. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0126-2>
- Kutay, U., Bischoff, F.R., Kostka, S., Kraft, R., Görlich, D., 1997. Export of importin alpha from the nucleus is mediated by a specific nuclear transport factor. *Cell* 90, 1061–1071. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80372-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80372-4)
- Kutay, U., Lipowsky, G., Izaurralde, E., Bischoff, F.R., Schwarzmaier, P., Hartmann, E., Görlich, D., 1998. Identification of a tRNA-specific nuclear export receptor. *Mol. Cell* 1, 359–369. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80036-2](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80036-2)
- Kuzevanova, A., Apanovich, N., Mansorunov, D., Korotaeva, A., Karpukhin, A., 2022. The Features of Checkpoint Receptor-Ligand Interaction in Cancer and the Therapeutic Effectiveness of Their Inhibition. *Biomedicines* 10, 2081. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092081>
- Lackey, P.E., Welch, J.D., Marzluff, W.F., 2016. TUT7 catalyzes the uridylation of the 3' end for rapid degradation of histone mRNA. *RNA N. Y. N* 22, 1673–1688. <https://doi.org/10.1261/rna.058107.116>
- Langer, K., Dian, C., Rybin, V., Müller, C.W., Petosa, C., 2011. Insights into the function of the CRM1 cofactor RanBP3 from the structure of its Ran-binding domain. *PloS One* 6, e17011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017011>
- Lavysh, D., Neu-Yilik, G., 2020. UPF1-Mediated RNA Decay—Danse Macabre in a Cloud. *Biomolecules* 10, 999. <https://doi.org/10.3390/biom10070999>
- Leal, F.E., Menezes, S.M., Costa, E.A.S., Brailey, P.M., Gama, L., Segurado, A.C., Kallas, E.G., Nixon, D.F., Dierckx, T., Khouri, R., Vercauteren, J., Galvão-Castro, B., Saraiva Raposo, R.A., Van Weyenbergh, J., 2018. Comprehensive Antiretroviral Restriction Factor Profiling Reveals the Evolutionary Imprint of the ex Vivo and in Vivo IFN- β Response in HTLV-1-Associated Neuroinflammation. *Front. Microbiol.* 9, 985. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00985>
- LeBlanc, J.J., Beemon, K.L., 2004. Unspliced Rous sarcoma virus genomic RNAs are translated and subjected to nonsense-mediated mRNA decay before packaging. *J. Virol.* 78, 5139–5146. <https://doi.org/10.1128/jvi.78.10.5139-5146.2004>
- Lee, S.R., Pratt, G.A., Martinez, F.J., Yeo, G.W., Lykke-Andersen, J., 2015. Target Discrimination in Nonsense-Mediated mRNA Decay Requires Upf1 ATPase Activity. *Mol. Cell* 59, 413–425. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.06.036>
- Lee, Y., Pei, J., Baumhardt, J.M., Chook, Y.M., Grishin, N.V., 2019. Structural prerequisites for CRM1-dependent nuclear export signaling peptides: accessibility, adapting conformation, and the stability at the binding site. *Sci. Rep.* 9, 6627. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43004-0>
- Lemaire, R., Prasad, J., Kashima, T., Gustafson, J., Manley, J.L., Lafyatis, R., 2002. Stability of a PKCI-1-related mRNA is controlled by the splicing factor ASF/SF2: a novel function for SR proteins. *Genes Dev.* 16, 594–607. <https://doi.org/10.1101/gad.939502>
- Leppek, K., Schott, J., Reitter, S., Poetz, F., Hammond, M.C., Stoecklin, G., 2013. Roquin promotes constitutive mRNA decay via a conserved class of stem-loop recognition motifs. *Cell* 153, 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.016>
- Levin, A., Neufeldt, C.J., Pang, D., Wilson, K., Loewen-Dobler, D., Joyce, M.A., Wozniak, R.W., Tyrrell, D.L.J., 2014. Functional characterization of nuclear localization and export signals in hepatitis C virus proteins and their role in the membranous web. *PloS One* 9, e114629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114629>
- Lewis, B.P., Green, R.E., Brenner, S.E., 2003. Evidence for the widespread coupling of alternative splicing and nonsense-mediated mRNA decay in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 189–192. <https://doi.org/10.1073/pnas.0136770100>

- Li, H.-M., Ghildyal, R., Hu, M., Tran, K.C., Starrs, L.M., Mills, J., Teng, M.N., Jans, D.A., 2021. Respiratory Syncytial Virus Matrix Protein-Chromatin Association Is Key to Transcriptional Inhibition in Infected Cells. *Cells* 10, 2786. <https://doi.org/10.3390/cells10102786>
- Li, J., Guo, Y., Deng, Y., Hu, L., Li, B., Deng, S., Zhong, J., Xie, L., Shi, S., Hong, X., Zheng, X., Cai, M., Li, M., 2021. Subcellular Localization of Epstein-Barr Virus BLLF2 and Its Underlying Mechanisms. *Front. Microbiol.* 12, 672192. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.672192>
- Li, M., Johnson, J.R., Truong, B., Kim, G., Weinbren, N., Dittmar, M., Shah, P.S., Von Dollen, J., Newton, B.W., Jang, G.M., Krogan, N.J., Cherry, S., Ramage, H., 2019. Identification of antiviral roles for the exon-junction complex and nonsense-mediated decay in flaviviral infection. *Nat. Microbiol.* 4, 985–995. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0375-z>
- Li, M.W., Sletten, A.C., Lee, J., Pyles, K.D., Matkovich, S.J., Ory, D.S., Schaffer, J.E., 2017. Nuclear export factor 3 regulates localization of small nucleolar RNAs. *J. Biol. Chem.* 292, 20228–20239. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.818146>
- Lin, J., Cao, Y., Shah, A.U., Zuo, J., Zhang, S., Yu, Q., Chong, M.M.W., Yang, Q., 2022. Inhibition of the antigen-presenting ability of dendritic cells by non-structural protein 2 of influenza A virus. *Vet. Microbiol.* 267, 109392. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2022.109392>
- Lindeboom, R.G.H., Supek, F., Lehner, B., 2016. The rules and impact of nonsense-mediated mRNA decay in human cancers. *Nat. Genet.* 48, 1112–1118. <https://doi.org/10.1038/ng.3664>
- Lingappa, J.R., Reed, J.C., Tanaka, M., Chutiraka, K., Robinson, B.A., 2014. How HIV-1 Gag assembles in cells: Putting together pieces of the puzzle. *Virus Res.* 193, 89–107. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.07.001>
- Liu, B., He, Y., Wang, Y., Song, H., Zhou, Z.H., Feigon, J., 2022. Structure of active human telomerase with telomere shelterin protein TPP1. *Nature* 604, 578–583. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04582-8>
- Liu, S., Wang, S., Gu, R., Che, N., Wang, J., Cheng, J., Yuan, Z., Cheng, Y., Liao, Y., 2022. The XPO1 Inhibitor KPT-8602 Ameliorates Parkinson's Disease by Inhibiting the NF- κ B/NLRP3 Pathway. *Front. Pharmacol.* 13, 847605. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.847605>
- Lodewick, J., Lamsoul, I., Polania, A., Lebrun, S., Burny, A., Ratner, L., Bex, F., 2009. Acetylation of the human T-cell leukemia virus type 1 Tax oncoprotein by p300 promotes activation of the NF-kappaB pathway. *Virology* 386, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.12.043>
- Loh, B., Jonas, S., Izaurralde, E., 2013. The SMG5-SMG7 heterodimer directly recruits the CCR4-NOT deadenylase complex to mRNAs containing nonsense codons via interaction with POP2. *Genes Dev.* 27, 2125–2138. <https://doi.org/10.1101/gad.226951.113>
- Lott, K., Cingolani, G., 2011. The Importin β Binding Domain as a Master Regulator of Nucleocytoplasmic Transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1813, 1578–1592. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.10.012>
- Lourou, N., Gavriilidis, M., Kontoyiannis, D.L., 2019. Lessons from studying the AU-rich elements in chronic inflammation and autoimmunity. *J. Autoimmun.* 104, 102334. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102334>
- Lukhovitskaya, N., Ryabova, L.A., 2019. Cauliflower mosaic virus transactivator protein (TAV) can suppress nonsense-mediated decay by targeting VARICOSE, a scaffold protein of the decapping complex. *Sci. Rep.* 9, 7042. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43414-0>
- Lund, E., Güttinger, S., Calado, A., Dahlberg, J.E., Kutay, U., 2004. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 303, 95–98. <https://doi.org/10.1126/science.1090599>
- Lundberg, L., Carey, B., Kehn-Hall, K., 2017. Venezuelan Equine Encephalitis Virus Capsid-The Clever Caper. *Viruses* 9, E279. <https://doi.org/10.3390/v9100279>
- Lykke-Andersen, J., Shu, M.D., Steitz, J.A., 2000. Human Upf proteins target an mRNA for nonsense-mediated decay when bound downstream of a termination codon. *Cell* 103, 1121–1131. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00214-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00214-2)
- Lykke-Andersen, S., Jensen, T.H., 2015. Nonsense-mediated mRNA decay: an intricate machinery that shapes transcriptomes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 16, 665–677. <https://doi.org/10.1038/nrm4063>

- Ma, G., Yasunaga, J.-I., Matsuoka, M., 2016. Multifaceted functions and roles of HBZ in HTLV-1 pathogenesis. *Retrovirology* 13, 16. <https://doi.org/10.1186/s12977-016-0249-x>
- Maali, Y., Journo, C., Mahieux, R., Dutartre, H., 2020. Microbial Biofilms: Human T-cell Leukemia Virus Type 1 First in Line for Viral Biofilm but Far Behind Bacterial Biofilms. *Front. Microbiol.* 11, 2041. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02041>
- Mabin, J.W., Woodward, L.A., Patton, R.D., Yi, Z., Jia, M., Wysocki, V.H., Bundschuh, R., Singh, G., 2018. The Exon Junction Complex Undergoes a Compositional Switch that Alters mRNP Structure and Nonsense-Mediated mRNA Decay Activity. *Cell Rep.* 25, 2431–2446.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.11.046>
- Macnamara, A., Rowan, A., Hilburn, S., Kadolsky, U., Fujiwara, H., Suemori, K., Yasukawa, M., Taylor, G., Bangham, C.R.M., Asquith, B., 2010. HLA class I binding of HBZ determines outcome in HTLV-1 infection. *PLoS Pathog.* 6, e1001117. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001117>
- Mahieux, R., Suspène, R., Delebecque, F., Henry, M., Schwartz, O., Wain-Hobson, S., Vartanian, J.-P., 2005. Extensive editing of a small fraction of human T-cell leukemia virus type 1 genomes by four APOBEC3 cytidine deaminases. *J. Gen. Virol.* 86, 2489–2494. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80973-0>
- Mailler, E., Bernacchi, S., Marquet, R., Paillart, J.-C., Vivet-Boudou, V., Smyth, R.P., 2016. The Life-Cycle of the HIV-1 Gag-RNA Complex. *Viruses* 8, E248. <https://doi.org/10.3390/v8090248>
- Makino, M., Wakamatsu, S., Shimokubo, S., Arima, N., Baba, M., 2000. Production of functionally deficient dendritic cells from HTLV-I-infected monocytes: implications for the dendritic cell defect in adult T cell leukemia. *Virology* 274, 140–148. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0445>
- Mangeat, B., Turelli, P., Caron, G., Friedli, M., Perrin, L., Trono, D., 2003. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature* 424, 99–103. <https://doi.org/10.1038/nature01709>
- Manns, A., Murphy, E.L., Wilks, R., Haynes, G., Figueroa, J.P., Hanchard, B., Barnett, M., Drummond, J., Waters, D., Cerney, M., 1991a. Detection of early human T-cell lymphotropic virus type I antibody patterns during seroconversion among transfusion recipients. *Blood* 77, 896–905.
- Manns, A., Murphy, E.L., Wilks, R.J., Haynes, G., Figueroa, J.P., Hanchard, B., Palker, T.J., Blattner, W.A., 1991b. Early antibody profile during HTLV-I seroconversion. *Lancet Lond. Engl.* 337, 181–182. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)90852-g](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)90852-g)
- Manuel, S.L., Rahman, S., Wigdahl, B., Khan, Z.K., Jain, P., 2007. Dendritic cells in autoimmune diseases and neuroinflammatory disorders. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 12, 4315–4335. <https://doi.org/10.2741/2390>
- Mao, L., Yang, Y., 2013. Targeting the nuclear transport machinery by rational drug design. *Curr. Pharm. Des.* 19, 2318–2325. <https://doi.org/10.2174/1381612811319120018>
- Maquat, L.E., Gong, C., 2009. Gene expression networks: competing mRNA decay pathways in mammalian cells. *Biochem. Soc. Trans.* 37, 1287–1292. <https://doi.org/10.1042/BST0371287>
- Martella, C., Tollenaere, A.I., Waast, L., Lacombe, B., Groussaud, D., Margottin-Goguet, F., Ramirez, B.C., Pique, C., 2020. Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 Transactivator Tax Exploits the XPB Subunit of TFIIH during Viral Transcription. *J. Virol.* 94, e02171-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02171-19>
- Martin, J.L., Maldonado, J.O., Mueller, J.D., Zhang, W., Mansky, L.M., 2016. Molecular Studies of HTLV-1 Replication: An Update. *Viruses* 8, E31. <https://doi.org/10.3390/v8020031>
- Martin, J.L., Mendonça, L.M., Angert, I., Mueller, J.D., Zhang, W., Mansky, L.M., 2017. Disparate Contributions of Human Retrovirus Capsid Subdomains to Gag-Gag Oligomerization, Virus Morphology, and Particle Biogenesis. *J. Virol.* 91, e00298-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00298-17>
- Martin, J.L., Mendonça, L.M., Marusinec, R., Zuczek, J., Angert, I., Blower, R.J., Mueller, J.D., Perilla, J.R., Zhang, W., Mansky, L.M., 2018. Critical Role of the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Capsid N-Terminal Domain for Gag-Gag Interactions and Virus Particle Assembly. *J. Virol.* 92, e00333-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00333-18>
- Martinek, J., Wu, T.-C., Cadena, D., Banchereau, J., Palucka, K., 2019. Interplay between dendritic cells and cancer cells. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 348, 179–215. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2019.07.008>

- Marzluff, W.F., Koreski, K.P., 2017. Birth and Death of Histone mRNAs. *Trends Genet.* TIG 33, 745–759. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.07.014>
- Marzluff, W.F., Wagner, E.J., Duronio, R.J., 2008. Metabolism and regulation of canonical histone mRNAs: life without a poly(A) tail. *Nat. Rev. Genet.* 9, 843–854. <https://doi.org/10.1038/nrg2438>
- Maslon, M.M., Heras, S.R., Bellora, N., Eyra, E., Cáceres, J.F., 2014. The translational landscape of the splicing factor SRSF1 and its role in mitosis. *eLife* 3, e02028. <https://doi.org/10.7554/eLife.02028>
- Masuda, S., Das, R., Cheng, H., Hurt, E., Dorman, N., Reed, R., 2005. Recruitment of the human TREX complex to mRNA during splicing. *Genes Dev.* 19, 1512–1517. <https://doi.org/10.1101/gad.1302205>
- Mathew, C., Ghildyal, R., 2017. CRM1 Inhibitors for Antiviral Therapy. *Front. Microbiol.* 8.
- Matsuki, H., Takahashi, M., Higuchi, M., Makokha, G.N., Oie, M., Fujii, M., 2013. Both G3BP1 and G3BP2 contribute to stress granule formation. *Genes Cells Devoted Mol. Cell. Mech.* 18, 135–146. <https://doi.org/10.1111/gtc.12023>
- Matsuoka, M., Jeang, K.-T., 2011. Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and leukemic transformation: viral infectivity, Tax, HBZ and therapy. *Oncogene* 30, 1379–1389. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.537>
- Matsuoka, M., Yasunaga, J., 2013. Human T-cell leukemia virus type 1: replication, proliferation and propagation by Tax and HTLV-1 bZIP factor. *Curr. Opin. Virol.* 3, 684–691. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2013.08.010>
- Matsushita, K., Takeuchi, O., Standley, D.M., Kumagai, Y., Kawagoe, T., Miyake, T., Satoh, T., Kato, H., Tsujimura, T., Nakamura, H., Akira, S., 2009. Zc3h12a is an RNase essential for controlling immune responses by regulating mRNA decay. *Nature* 458, 1185–1190. <https://doi.org/10.1038/nature07924>
- Mattola, S., Aho, V., Bustamante-Jaramillo, L.F., Pizzioli, E., Kann, M., Vihinen-Ranta, M., 2022. Nuclear entry and egress of parvoviruses. *Mol. Microbiol.* <https://doi.org/10.1111/mmi.14974>
- Matzat, L.H., Berberoglu, S., Lévesque, L., 2008. Formation of a Tap/NXF1 Homotypic Complex Is Mediated through the Amino-Terminal Domain of Tap and Enhances Interaction with Nucleoporins. *Mol. Biol. Cell* 19, 327–338. <https://doi.org/10.1091/mbc.E07-03-0255>
- May, J.P., Simon, A.E., 2021. Targeting of viral RNAs by Upf1-mediated RNA decay pathways. *Curr. Opin. Virol.* 47, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2020.11.002>
- May, J.P., Yuan, X., Sawicki, E., Simon, A.E., 2018. RNA virus evasion of nonsense-mediated decay. *PLOS Pathog.* 14, e1007459. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007459>
- Mayr, C., Bartel, D.P., 2009. Widespread shortening of 3'UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells. *Cell* 138, 673–684. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.016>
- McCloskey, A., Taniguchi, I., Shinmyozu, K., Ohno, M., 2012. hnRNP C tetramer measures RNA length to classify RNA polymerase II transcripts for export. *Science* 335, 1643–1646. <https://doi.org/10.1126/science.1218469>
- Medghalchi, S.M., Frischmeyer, P.A., Mendell, J.T., Kelly, A.G., Lawler, A.M., Dietz, H.C., 2001. Rent1, a trans-effector of nonsense-mediated mRNA decay, is essential for mammalian embryonic viability. *Hum. Mol. Genet.* 10, 99–105. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.2.99>
- Melero, R., Buchwald, G., Castaño, R., Raabe, M., Gil, D., Lázaro, M., Urlaub, H., Conti, E., Llorca, O., 2012. The cryo-EM structure of the UPF-EJC complex shows UPF1 poised toward the RNA 3' end. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 19, 498–505, S1-2. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2287>
- Melero, R., Hug, N., López-Perrote, A., Yamashita, A., Cáceres, J.F., Llorca, O., 2016. The RNA helicase DHX34 functions as a scaffold for SMG1-mediated UPF1 phosphorylation. *Nat. Commun.* 7, 10585. <https://doi.org/10.1038/ncomms10585>
- Mendell, J.T., ap Rhys, C.M.J., Dietz, H.C., 2002. Separable roles for rent1/hUpf1 in altered splicing and decay of nonsense transcripts. *Science* 298, 419–422. <https://doi.org/10.1126/science.1074428>
- Mendell, J.T., Sharifi, N.A., Meyers, J.L., Martinez-Murillo, F., Dietz, H.C., 2004. Nonsense surveillance regulates expression of diverse classes of mammalian transcripts and mutes genomic noise. *Nat. Genet.* 36, 1073–1078. <https://doi.org/10.1038/ng1429>

- Mertz, J.A., Simper, M.S., Lozano, M.M., Payne, S.M., Dudley, J.P., 2005. Mouse Mammary Tumor Virus Encodes a Self-Regulatory RNA Export Protein and Is a Complex Retrovirus. *J. Virol.* 79, 14737–14747. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.23.14737-14747.2005>
- Metze, S., Herzog, V.A., Ruepp, M.-D., Mühlemann, O., 2013. Comparison of EJC-enhanced and EJC-independent NMD in human cells reveals two partially redundant degradation pathways. *RNA N. Y. N* 19, 1432–1448. <https://doi.org/10.1261/rna.038893.113>
- Michelle, L., Cloutier, A., Toutant, J., Shkreta, L., Thibault, P., Durand, M., Garneau, D., Gendron, D., Lapointe, E., Couture, S., Le Hir, H., Klinck, R., Elela, S.A., Prinos, P., Chabot, B., 2012. Proteins associated with the exon junction complex also control the alternative splicing of apoptotic regulators. *Mol. Cell. Biol.* 32, 954–967. <https://doi.org/10.1128/MCB.06130-11>
- Miloudi, H., Bohers, É., Guillonneau, F., Taly, A., Gibouin, V.C., Viailly, P.-J., Jegou, G., Grumolato, L., Jardin, F., Sola, B., 2020. XPO1E571K Mutation Modifies Exportin 1 Localisation and Interactome in B-Cell Lymphoma. *Cancers* 12, 2829. <https://doi.org/10.3390/cancers12102829>
- Mino, T., Murakawa, Y., Fukao, A., Vandenbon, A., Wessels, H.-H., Ori, D., Uehata, T., Tartey, S., Akira, S., Suzuki, Y., Vinuesa, C.G., Ohler, U., Standley, D.M., Landthaler, M., Fujiwara, T., Takeuchi, O., 2015. Regnase-1 and Roquin Regulate a Common Element in Inflammatory mRNAs by Spatiotemporally Distinct Mechanisms. *Cell* 161, 1058–1073. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.029>
- Mino, T., Takeuchi, O., 2015. Regnase-1 and Roquin regulate inflammatory mRNAs. *Oncotarget* 6, 17869–17870. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4891>
- Miyazato, P., Matsuo, M., Tan, B.J.Y., Tokunaga, M., Katsuya, H., Islam, S., Ito, J., Murakawa, Y., Satou, Y., 2019. HTLV-1 contains a high CG dinucleotide content and is susceptible to the host antiviral protein ZAP. *Retrovirology* 16, 38. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0500-3>
- Mocquet, V., Durand, S., Jalinot, P., 2015. How Retroviruses Escape the Nonsense-Mediated mRNA Decay. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 31, 948–958. <https://doi.org/10.1089/AID.2014.0326>
- Mocquet, V., Neusiedler, J., Rende, F., Cluet, D., Robin, J.-P., Terme, J.-M., Duc Dodon, M., Wittmann, J., Morris, C., Le Hir, H., Ciminale, V., Jalinot, P., 2012. The human T-lymphotropic virus type 1 tax protein inhibits nonsense-mediated mRNA decay by interacting with INT6/EIF3E and UPF1. *J. Virol.* 86, 7530–7543. <https://doi.org/10.1128/JVI.07021-11>
- Mohanty, S., Harhaj, E.W., 2020. Mechanisms of Oncogenesis by HTLV-1 Tax. *Pathog. Basel Switz.* 9, E543. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070543>
- Moles, R., Sarkis, S., Galli, V., Omsland, M., Purcell, D.F.J., Yurick, D., Khoury, G., Pise-Masison, C.A., Franchini, G., 2019. p30 protein: a critical regulator of HTLV-1 viral latency and host immunity. *Retrovirology* 16, 42. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0501-2>
- Monecke, T., Dickmanns, A., Ficner, R., 2014. Allosteric control of the exportin CRM1 unraveled by crystal structure analysis. *FEBS J.* 281, 4179–4194. <https://doi.org/10.1111/febs.12842>
- Monecke, T., Güttler, T., Neumann, P., Dickmanns, A., Görlich, D., Ficner, R., 2009. Crystal structure of the nuclear export receptor CRM1 in complex with Snurportin1 and RanGTP. *Science* 324, 1087–1091. <https://doi.org/10.1126/science.1173388>
- Morris, C., Cluet, D., Ricci, E.P., 2021. Ribosome dynamics and mRNA turnover, a complex relationship under constant cellular scrutiny. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 12, e1658. <https://doi.org/10.1002/wrna.1658>
- Mougel, M., Akkawi, C., Chamontin, C., Feuillard, J., Pessel-Vivares, L., Socol, M., Laine, S., 2020. NXF1 and CRM1 nuclear export pathways orchestrate nuclear export, translation and packaging of murine leukaemia retrovirus unspliced RNA. *RNA Biol.* 17, 528–538. <https://doi.org/10.1080/15476286.2020.1713539>
- Mouinga-Ondémé, A., Boundenga, L., Koumba Koumba, I.P., Idam Mamimandjiami, A., Diané, A., Engone-Ondo, J.D., Djuicy, D.D., Sica, J., Mombo, L.E., Gessain, A., Aghokeng Fobang, A., 2022. Human T-Lymphotropic virus type 1 and human immunodeficiency virus co-infection in rural Gabon. *PloS One* 17, e0271320. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271320>
- Mulherkar, R., Karabudak, A., Ginwala, R., Huang, X., Rowan, A., Philip, R., Murphy, E.L., Clements, D., Ndhlovu, L.C., Khan, Z.K., Jain, P., 2018. In vivo and in vitro immunogenicity of novel MHC class I presented epitopes

- to confer protective immunity against chronic HTLV-1 infection. *Vaccine* 36, 5046–5057. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.07.002>
- Mulherkar, T.H., Gómez, D.J., Sandel, G., Jain, P., 2022. Co-Infection and Cancer: Host–Pathogen Interaction between Dendritic Cells and HIV-1, HTLV-1, and Other Oncogenic Viruses. *Viruses* 14, 2037. <https://doi.org/10.3390/v14092037>
- Mullen, T.E., Marzluff, W.F., 2008. Degradation of histone mRNA requires oligouridylation followed by decapping and simultaneous degradation of the mRNA both 5' to 3' and 3' to 5'. *Genes Dev.* 22, 50–65. <https://doi.org/10.1101/gad.1622708>
- Müller-McNicoll, M., Botti, V., de Jesus Domingues, A.M., Brandl, H., Schwich, O.D., Steiner, M.C., Curk, T., Poser, I., Zarnack, K., Neugebauer, K.M., 2016. SR proteins are NXF1 adaptors that link alternative RNA processing to mRNA export. *Genes Dev.* 30, 553–566. <https://doi.org/10.1101/gad.276477.115>
- Nagai, M., Usuku, K., Matsumoto, W., Kodama, D., Takenouchi, N., Moritoyo, T., Hashiguchi, S., Ichinose, M., Bangham, C.R., Izumo, S., Osame, M., 1998. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J. Neurovirol.* 4, 586–593. <https://doi.org/10.3109/13550289809114225>
- Nakano, K., Ando, T., Yamagishi, M., Yokoyama, K., Ishida, T., Ohsugi, T., Tanaka, Y., Brighty, D.W., Watanabe, T., 2013. Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: implications for retroviral replication. *Microbes Infect.* 15, 491–505. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2013.03.006>
- Nakano, K., Karasawa, N., Hashizume, M., Tanaka, Y., Ohsugi, T., Uchimar, K., Watanabe, T., 2022a. Elucidation of the Mechanism of Host NMD Suppression by HTLV-1 Rex: Dissection of Rex to Identify the NMD Inhibitory Domain. *Viruses* 14, 344. <https://doi.org/10.3390/v14020344>
- Nakano, K., Watanabe, T., 2016. HTLV-1 Rex Tunes the Cellular Environment Favorable for Viral Replication. *Viruses* 8, 58. <https://doi.org/10.3390/v8030058>
- Nakano, K., Yokoyama, K., Shin, S., Uchida, K., Tsuji, K., Tanaka, M., Uchimar, K., Watanabe, T., 2022b. Exploring New Functional Aspects of HTLV-1 RNA-Binding Protein Rex: How Does Rex Control Viral Replication? *Viruses* 14, 407. <https://doi.org/10.3390/v14020407>
- Nakashima, A., Cheng, S.-B., Ikawa, M., Yoshimori, T., Huber, W.J., Menon, R., Huang, Z., Fierce, J., Padbury, J.F., Sadovsky, Y., Saito, S., Sharma, S., 2020. Evidence for lysosomal biogenesis proteome defect and impaired autophagy in preeclampsia. *Autophagy* 16, 1771–1785. <https://doi.org/10.1080/15548627.2019.1707494>
- Nam, J.-W., Rissland, O.S., Koppstein, D., Abreu-Goodger, C., Jan, C.H., Agarwal, V., Yildirim, M.A., Rodriguez, A., Bartel, D.P., 2014. Global analyses of the effect of different cellular contexts on microRNA targeting. *Mol. Cell* 53, 1031–1043. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.02.013>
- Nascimento, C.R., Lima, M.A., de Andrada Serpa, M.J., Espindola, O., Leite, A.C.C., Echevarria-Lima, J., 2011. Monocytes from HTLV-1-infected patients are unable to fully mature into dendritic cells. *Blood* 117, 489–499. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-272690>
- Nasr, R., Chiari, E., El-Sabban, M., Mahieux, R., Kfoury, Y., Abdulhay, M., Yazbeck, V., Hermine, O., de Thé, H., Pique, C., Bazarbachi, A., 2006. Tax ubiquitylation and sumoylation control critical cytoplasmic and nuclear steps of NF-kappaB activation. *Blood* 107, 4021–4029. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-09-3572>
- Nawroth, I., Mueller, F., Basyuk, E., Beerens, N., Rahbek, U.L., Darzacq, X., Bertrand, E., Kjems, J., Schmidt, U., 2014. Stable assembly of HIV-1 export complexes occurs cotranscriptionally. *RNA N. Y. N* 20, 1–8. <https://doi.org/10.1261/rna.038182.113>
- Nemergut, M.E., Lindsay, M.E., Brownawell, A.M., Macara, I.G., 2002. Ran-binding protein 3 links Crm1 to the Ran guanine nucleotide exchange factor. *J. Biol. Chem.* 277, 17385–17388. <https://doi.org/10.1074/jbc.C100620200>
- Neu-Yilik, G., Raimondeau, E., Eliseev, B., Yeramala, L., Amthor, B., Deniaud, A., Huard, K., Kerschgens, K., Hentze, M.W., Schaffitzel, C., Kulozik, A.E., 2017. Dual function of UPF3B in early and late translation termination. *EMBO J.* 36, 2968–2986. <https://doi.org/10.15252/embj.201797079>

- Neville, M., Stutz, F., Lee, L., Davis, L.I., Rosbash, M., 1997. The importin-beta family member Crm1p bridges the interaction between Rev and the nuclear pore complex during nuclear export. *Curr. Biol.* CB 7, 767–775. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(06\)00335-6](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(06)00335-6)
- Ng, C.S., Jogi, M., Yoo, J.-S., Onomoto, K., Koike, S., Iwasaki, T., Yoneyama, M., Kato, H., Fujita, T., 2013. Encephalomyocarditis virus disrupts stress granules, the critical platform for triggering antiviral innate immune responses. *J. Virol.* 87, 9511–9522. <https://doi.org/10.1128/JVI.03248-12>
- Nghia, V.X., Giang, N.V., Canh, N.X., Ha, N.H., Duong, N.T., Hoang, N.H., Xuan, N.T., 2020. Stimulation of dendritic cell functional maturation by capsid protein from chikungunya virus. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 23, 1268–1274. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2020.40386.9558>
- Ngo, G.H.P., Grimstead, J.W., Baird, D.M., 2021. UPF1 promotes the formation of R loops to stimulate DNA double-strand break repair. *Nat. Commun.* 12, 3849. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24201-w>
- Nicholson, P., Yepiskoposyan, H., Metze, S., Zamudio Orozco, R., Kleinschmidt, N., Mühlemann, O., 2010. Nonsense-mediated mRNA decay in human cells: mechanistic insights, functions beyond quality control and the double-life of NMD factors. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 67, 677–700. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0177-1>
- Nicot, C., Tie, F., Giam, C.Z., 1998. Cytoplasmic forms of human T-cell leukemia virus type 1 Tax induce NF-kappaB activation. *J. Virol.* 72, 6777–6784. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.8.6777-6784.1998>
- Niederer, H.A., Laydon, D.J., Melamed, A., Elemans, M., Asquith, B., Matsuoka, M., Bangham, C.R.M., 2014. HTLV-1 proviral integration sites differ between asymptomatic carriers and patients with HAM/TSP. *Virol. J.* 11, 172. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-172>
- Nogueira, G., Fernandes, R., García-Moreno, J.F., Romão, L., 2021. Nonsense-mediated RNA decay and its bipolar function in cancer. *Mol. Cancer* 20, 72. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01364-0>
- Nozuma, S., Kubota, R., Jacobson, S., 2020. Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and cellular immune response in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J. Neurovirol.* 26, 652–663. <https://doi.org/10.1007/s13365-020-00881-w>
- Nozuma, S., Matsuura, E., Kodama, D., Tashiro, Y., Matsuzaki, T., Kubota, R., Izumo, S., Takashima, H., 2017. Effects of host restriction factors and the HTLV-1 subtype on susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Retrovirology* 14, 26. <https://doi.org/10.1186/s12977-017-0350-9>
- Oakley, R.H., Cidlowski, J.A., 2011. Cellular processing of the glucocorticoid receptor gene and protein: new mechanisms for generating tissue-specific actions of glucocorticoids. *J. Biol. Chem.* 286, 3177–3184. <https://doi.org/10.1074/jbc.R110.179325>
- Ogert, R.A., Lee, L.H., Beemon, K.L., 1996. Avian retroviral RNA element promotes unspliced RNA accumulation in the cytoplasm. *J. Virol.* 70, 3834–3843.
- Ohnishi, T., Yamashita, A., Kashima, I., Schell, T., Anders, K.R., Grimson, A., Hachiya, T., Hentze, M.W., Anderson, P., Ohno, S., 2003. Phosphorylation of hUPF1 induces formation of mRNA surveillance complexes containing hSMG-5 and hSMG-7. *Mol. Cell* 12, 1187–1200. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(03\)00443-x](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(03)00443-x)
- Ohno, M., Segref, A., Bachi, A., Wilm, M., Mattaj, I.W., 2000. PHAX, a mediator of U snRNA nuclear export whose activity is regulated by phosphorylation. *Cell* 101, 187–198. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80829-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80829-6)
- Ohno, M., Segref, A., Kuersten, S., Mattaj, I.W., 2002. Identity elements used in export of mRNAs. *Mol. Cell* 9, 659–671. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00454-9](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00454-9)
- Oka, M., Xu, L., Suzuki, T., Yoshikawa, T., Sakamoto, H., Uemura, H., Yoshizawa, A.C., Suzuki, Y., Nakatsura, T., Ishihama, Y., Suzuki, A., Seki, M., 2021. Aberrant splicing isoforms detected by full-length transcriptome sequencing as transcripts of potential neoantigens in non-small cell lung cancer. *Genome Biol.* 22, 9. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02240-8>
- Okamura, M., Inose, H., Masuda, S., 2015. RNA Export through the NPC in Eukaryotes. *Genes* 6, 124–149. <https://doi.org/10.3390/genes6010124>

- Oksayan, S., Wiltzer, L., Rowe, C.L., Blondel, D., Jans, D.A., Moseley, G.W., 2012. A novel nuclear trafficking module regulates the nucleocytoplasmic localization of the rabies virus interferon antagonist, P protein. *J. Biol. Chem.* 287, 28112–28121. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.374694>
- Olazagoitia-Garmendia, A., Zhang, L., Mera, P., Godbout, J.K., Sebastian-DelaCruz, M., Garcia-Santisteban, I., Mendoza, L.M., Huerta, A., Irastorza, I., Bhagat, G., Green, P.H., Herrero, L., Serra, D., Rodriguez, J.A., Verdu, E.F., He, C., Bilbao, J.R., Castellanos-Rubio, A., 2022. Gluten-induced RNA methylation changes regulate intestinal inflammation via allele-specific XPO1 translation in epithelial cells. *Gut* 71, 68–76. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322566>
- Olivares, E., Landry, D.M., Cáceres, C.J., Pino, K., Rossi, F., Navarrete, C., Huidobro-Toro, J.P., Thompson, S.R., López-Lastra, M., 2014. The 5' untranslated region of the human T-cell lymphotropic virus type 1 mRNA enables cap-independent translation initiation. *J. Virol.* 88, 5936–5955. <https://doi.org/10.1128/JVI.00279-14>
- Omsland, M., Silic-Benussi, M., Moles, R., Sarkis, S., Purcell, D.F.J., Yurick, D., Khoury, G., D'Agostino, D.M., Ciminale, V., Franchini, G., 2020. Functional properties and sequence variation of HTLV-1 p13. *Retrovirology* 17, 11. <https://doi.org/10.1186/s12977-020-00517-1>
- Onder, Z., Chang, V., Moroianu, J., 2015. Nuclear export of cutaneous HPV8 E7 oncoprotein is mediated by a leucine-rich nuclear export signal via a CRM1 pathway. *Virology* 474, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.012>
- Ono, A., 2009. HIV-1 Assembly at the Plasma Membrane: Gag Trafficking and Localization. *Future Virol.* 4, 241–257. <https://doi.org/10.2217/fvl.09.4>
- Ooms, M., Krikoni, A., Kress, A.K., Simon, V., Münk, C., 2012. APOBEC3A, APOBEC3B, and APOBEC3H haplotype 2 restrict human T-lymphotropic virus type 1. *J. Virol.* 86, 6097–6108. <https://doi.org/10.1128/JVI.06570-11>
- Osame, M., Janssen, R., Kubota, H., Nishitani, H., Igata, A., Nagataki, S., Mori, M., Goto, I., Shimabukuro, H., Khabbaz, R., 1990. Nationwide survey of HTLV-I-associated myelopathy in Japan: association with blood transfusion. *Ann. Neurol.* 28, 50–56. <https://doi.org/10.1002/ana.410280110>
- Osborne, M.J., Borden, K.L.B., 2015. The eukaryotic translation initiation factor eIF4E in the nucleus: taking the road less traveled. *Immunol. Rev.* 263, 210–223. <https://doi.org/10.1111/imr.12240>
- Paca, R.E., Ogert, R.A., Hibbert, C.S., Izaurralde, E., Beemon, K.L., 2000. Rous Sarcoma Virus DR Posttranscriptional Elements Use a Novel RNA Export Pathway. *J. Virol.* 74, 9507–9514.
- Pais-Correia, A.-M., Sachse, M., Guadagnini, S., Robbiati, V., Lasserre, R., Gessain, A., Gout, O., Alcover, A., Thoulouze, M.-I., 2010. Biofilm-like extracellular viral assemblies mediate HTLV-1 cell-to-cell transmission at virological synapses. *Nat. Med.* 16, 83–89. <https://doi.org/10.1038/nm.2065>
- Palma, M., Leroy, C., Salomé-Desnoullez, S., Werkmeister, E., Kong, R., Mongy, M., Le Hir, H., Lejeune, F., 2021. A role for AKT1 in nonsense-mediated mRNA decay. *Nucleic Acids Res.* 49, 11022–11037. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab882>
- Palmeri, D., Malim, M.H., 1999. Importin β Can Mediate the Nuclear Import of an Arginine-Rich Nuclear Localization Signal in the Absence of Importin α . *Mol. Cell. Biol.* 19, 1218–1225.
- Paraskeva, E., Izaurralde, E., Bischoff, F.R., Huber, J., Kutay, U., Hartmann, E., Lührmann, R., Görlich, D., 1999. CRM1-mediated recycling of snurportin 1 to the cytoplasm. *J. Cell Biol.* 145, 255–264. <https://doi.org/10.1083/jcb.145.2.255>
- Park, E., Gleghorn, M.L., Maquat, L.E., 2013. Staufen2 functions in Staufen1-mediated mRNA decay by binding to itself and its paralog and promoting UPF1 helicase but not ATPase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 405–412. <https://doi.org/10.1073/pnas.1213508110>
- Park, J., Seo, J.-W., Ahn, N., Park, S., Hwang, J., Nam, J.-W., 2019. UPF1/SMG7-dependent microRNA-mediated gene regulation. *Nat. Commun.* 10, 4181. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12123-7>
- Park, O.H., Park, J., Yu, M., An, H.-T., Ko, J., Kim, Y.K., 2016. Identification and molecular characterization of cellular factors required for glucocorticoid receptor-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* 30, 2093–2105. <https://doi.org/10.1101/gad.286484.116>

- Pasdeloup, D., Poisson, N., Raux, H., Gaudin, Y., Ruigrok, R.W.H., Blondel, D., 2005. Nucleocytoplasmic shuttling of the rabies virus P protein requires a nuclear localization signal and a CRM1-dependent nuclear export signal. *Virology* 334, 284–293. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.02.005>
- Paul, S., Dansithong, W., Figueroa, K.P., Scoles, D.R., Pulst, S.M., 2018. Staufen1 links RNA stress granules and autophagy in a model of neurodegeneration. *Nat. Commun.* 9, 3648. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06041-3>
- Pène, S., Waast, L., Bonnet, A., Bénit, L., Pique, C., 2014. A non-SUMOylated tax protein is still functional for NF- κ B pathway activation. *J. Virol.* 88, 10655–10661. <https://doi.org/10.1128/JVI.01827-14>
- Perès, E., 2017. La souris humanisée : modèle d'étude in vivo du processus leucémogène induit par HTLV-1 (Theses). Université de Lyon.
- Pessel-Vivares, L., Ferrer, M., Lainé, S., Mougél, M., 2014. MLV requires Tap/NXF1-dependent pathway to export its unspliced RNA to the cytoplasm and to express both spliced and unspliced RNAs. *Retrovirology* 11, 21. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-11-21>
- Petosa, C., Schoehn, G., Askjaer, P., Bauer, U., Moulin, M., Steuerwald, U., Soler-López, M., Baudin, F., Mattaj, I.W., Müller, C.W., 2004. Architecture of CRM1/Exportin1 suggests how cooperativity is achieved during formation of a nuclear export complex. *Mol. Cell* 16, 761–775. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.11.018>
- Philip, S., Zahoor, M.A., Zhi, H., Ho, Y.-K., Giam, C.-Z., 2014. Regulation of human T-lymphotropic virus type I latency and reactivation by HBZ and Rex. *PLoS Pathog.* 10, e1004040. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004040>
- Pique, C., Jones, K.S., 2012. Pathways of cell-cell transmission of HTLV-1. *Front. Microbiol.* 3, 378. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00378>
- Plank, T., Wilkinson, M.F., 2018. A hidden talent for a RNA decay factor: UPF1 directs protein decay. *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* 40, 10.1002/bies.201700170. <https://doi.org/10.1002/bies.201700170>
- Pocock, G.M., Becker, J.T., Swanson, C.M., Ahlquist, P., Sherer, N.M., 2016. HIV-1 and M-PMV RNA Nuclear Export Elements Program Viral Genomes for Distinct Cytoplasmic Trafficking Behaviors. *PLoS Pathog.* 12, e1005565. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005565>
- Popp, M.W.-L., Cho, H., Maquat, L.E., 2020. Viral subversion of nonsense-mediated mRNA decay. *RNA* 26, 1509–1518. <https://doi.org/10.1261/rna.076687.120>
- Powell, D.M., Amaral, M.C., Wu, J.Y., Maniatis, T., Greene, W.C., 1997. HIV Rev-dependent binding of SF2/ASF to the Rev response element: possible role in Rev-mediated inhibition of HIV RNA splicing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 973–978. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.3.973>
- Price, H., Lacap, P., Tuff, J., Wachihi, C., Kimani, J., Ball, T.B., Luo, M., Plummer, F.A., 2010. A TRIM5 α exon 2 polymorphism is associated with protection from HIV-1 infection in the Pumwani sex worker cohort. *AIDS Lond. Engl.* 24, 1813–1821. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833b5256>
- Prochasson, L., Jalinot, P., Mocquet, V., 2020. The Complex Relationship between HTLV-1 and Nonsense-Mediated mRNA Decay (NMD). *Pathogens* 9, 287. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040287>
- Pryor, M.J., Rawlinson, S.M., Wright, P.J., Jans, D.A., 2006. CRM1-dependent nuclear export of dengue virus type 2 NS5. *Novartis Found. Symp.* 277, 149–161; discussion 161–163, 251–253.
- Puente, X.S., Pinyol, M., Quesada, V., Conde, L., Ordóñez, G.R., Villamor, N., Escaramis, G., Jares, P., Beà, S., González-Díaz, M., Bassaganyas, L., Baumann, T., Juan, M., López-Guerra, M., Colomer, D., Tubío, J.M.C., López, C., Navarro, A., Tornador, C., Aymerich, M., Rozman, M., Hernández, J.M., Puente, D.A., Freije, J.M.P., Velasco, G., Gutiérrez-Fernández, A., Costa, D., Carrió, A., Guijarro, S., Enjuanes, A., Hernández, L., Yagüe, J., Nicolás, P., Romeo-Casabona, C.M., Himmelbauer, H., Castillo, E., Dohm, J.C., de Sanjosé, S., Piris, M.A., de Alava, E., Miguel, J.S., Royo, R., Gelpí, J.L., Torrents, D., Orozco, M., Pisano, D.G., Valencia, A., Guigó, R., Bayés, M., Heath, S., Gut, M., Klatt, P., Marshall, J., Raine, K., Stebbings, L.A., Futreal, P.A., Stratton, M.R., Campbell, P.J., Gut, I., López-Guillermo, A., Estivill, X., Montserrat, E., López-Otín, C., Campo, E., 2011. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 475, 101–105. <https://doi.org/10.1038/nature10113>

- Rafatpanah, H., Farid Hosseini, R., Pourseyed, S.H., 2013. The Impact of Immune Response on HTLV-I in HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis (HAM/TSP). *Iran. J. Basic Med. Sci.* 16, 235–241.
- Ramage, H.R., Kumar, G.R., Verschueren, E., Johnson, J.R., Von Dollen, J., Johnson, T., Newton, B., Shah, P., Horner, J., Krogan, N.J., Ott, M., 2015. A combined proteomics/genomics approach links hepatitis C virus infection with nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell* 57, 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.12.028>
- Rao, S., Amorim, R., Niu, M., Breton, Y., Tremblay, M.J., Mouland, A.J., 2019a. Host mRNA decay proteins influence HIV-1 replication and viral gene expression in primary monocyte-derived macrophages. *Retrovirology* 16, 3. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0465-2>
- Rao, S., Amorim, R., Niu, M., Temzi, A., Mouland, A.J., 2018. The RNA surveillance proteins UPF1, UPF2 and SMG6 affect HIV-1 reactivation at a post-transcriptional level. *Retrovirology* 15, 42. <https://doi.org/10.1186/s12977-018-0425-2>
- Rao, S., Hassine, S., Monette, A., Amorim, R., DesGroseillers, L., Mouland, A.J., 2019b. HIV-1 requires Staufen1 to dissociate stress granules and to produce infectious viral particles. *RNA N. Y. N* 25, 727–736. <https://doi.org/10.1261/rna.069351.118>
- Rawlinson, S.M., Pryor, M.J., Wright, P.J., Jans, D.A., 2009. CRM1-mediated nuclear export of dengue virus RNA polymerase NS5 modulates interleukin-8 induction and virus production. *J. Biol. Chem.* 284, 15589–15597. <https://doi.org/10.1074/jbc.M808271200>
- Reichenbach, P., Höss, M., Azzalin, C.M., Nabholz, M., Bucher, P., Lingner, J., 2003. A human homolog of yeast Est1 associates with telomerase and uncaps chromosome ends when overexpressed. *Curr. Biol. CB* 13, 568–574. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(03\)00173-8](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(03)00173-8)
- Rende, F., Cavallari, I., Romanelli, M.G., Diani, E., Bertazzoni, U., Ciminale, V., 2012. Comparison of the Genetic Organization, Expression Strategies and Oncogenic Potential of HTLV-1 and HTLV-2. *Leuk. Res. Treat.* 2012, 876153. <https://doi.org/10.1155/2012/876153>
- Rimsky, L., Hauber, J., Dukovich, M., Malim, M.H., Langlois, A., Cullen, B.R., Greene, W.C., 1988. Functional replacement of the HIV-1 rev protein by the HTLV-1 rex protein. *Nature* 335, 738–740. <https://doi.org/10.1038/335738a0>
- Rizkallah, G., Alais, S., Futsch, N., Tanaka, Y., Journo, C., Mahieux, R., Dutartre, H., 2017. Correction: Dendritic cell maturation, but not type I interferon exposure, restricts infection by HTLV-1, and viral transmission to T-cells. *PLoS Pathog.* 13, e1006494. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006494>
- Romanelli, M.G., Diani, E., Bergamo, E., Casoli, C., Ciminale, V., Bex, F., Bertazzoni, U., 2013. Highlights on distinctive structural and functional properties of HTLV Tax proteins. *Front. Microbiol.* 4, 271. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00271>
- Rotem, E., Faingold, O., Charni, M., Klug, Y.A., Harari, D., Shmuel-Galia, L., Nudelman, A., Rotter, V., Shai, Y., 2018. The HTLV-1 gp21 fusion peptide inhibits antigen specific T-cell activation in-vitro and in mice. *PLoS Pathog.* 14, e1007044. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007044>
- Rushing, A.W., Hoang, K., Polakowski, N., Lemasson, I., 2018. The Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Basic Leucine Zipper Factor Attenuates Repair of Double-Stranded DNA Breaks via Nonhomologous End Joining. *J. Virol.* 92, e00672-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00672-18>
- Saffari, M., Rahimzada, M., Mirhosseini, A., Ghezaldasht, S.A., Valizadeh, N., Moshfegh, M., Moradi, M.-T., Rezaee, S.A., 2022. Coevolution of HTLV-1-HBZ, Tax, and proviral load with host IRF-1 and CCNA-2 in HAM/TSP patients. *Infect. Genet. Evol.* 103, 105337. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105337>
- Sagar, D., Masih, S., Schell, T., Jacobson, S., Comber, J.D., Philip, R., Wigdahl, B., Jain, P., Khan, Z.K., 2014. In vivo immunogenicity of Tax(11-19) epitope in HLA-A2/DTR transgenic mice: implication for dendritic cell-based anti-HTLV-1 vaccine. *Vaccine* 32, 3274–3284. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.087>
- Saiga, A., Aono, Y., Imai, J., Kinoshita, K., Orita, S., Igarashi, H., 1996. Presence of antibodies to p21X and/or p27rex proteins in sera from human T-cell leukemia virus type I-infected individuals. *J. Virol. Methods* 57, 157–168. [https://doi.org/10.1016/0166-0934\(95\)01979-0](https://doi.org/10.1016/0166-0934(95)01979-0)

- Saito, K., Fujiwara, T., Katahira, J., Inoue, K., Sakamoto, H., 2004. TAP/NXF1, the primary mRNA export receptor, specifically interacts with a neuronal RNA-binding protein HuD. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 321, 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.06.140>
- Saito, M., Matsuzaki, T., Satou, Y., Yasunaga, J.-I., Saito, K., Arimura, K., Matsuoka, M., Ohara, Y., 2009. In vivo expression of the HBZ gene of HTLV-1 correlates with proviral load, inflammatory markers and disease severity in HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Retrovirology* 6, 19. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-6-19>
- Salter, J.D., Bennett, R.P., Smith, H.C., 2016. The APOBEC Protein Family: United by Structure, Divergent in Function. *Trends Biochem. Sci.* 41, 578–594. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.05.001>
- Saltzman, A.L., Kim, Y.K., Pan, Q., Fagnani, M.M., Maquat, L.E., Blencowe, B.J., 2008. Regulation of multiple core spliceosomal proteins by alternative splicing-coupled nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell. Biol.* 28, 4320–4330. <https://doi.org/10.1128/MCB.00361-08>
- Sanchez, V., Mahr, J.A., Orazio, N.I., Spector, D.H., 2007. Nuclear export of the human cytomegalovirus tegument protein pp65 requires cyclin-dependent kinase activity and the Crm1 exporter. *J. Virol.* 81, 11730–11736. <https://doi.org/10.1128/JVI.02760-06>
- Sandberg, R., Neilson, J.R., Sarma, A., Sharp, P.A., Burge, C.B., 2008. Proliferating cells express mRNAs with shortened 3' untranslated regions and fewer microRNA target sites. *Science* 320, 1643–1647. <https://doi.org/10.1126/science.1155390>
- Santos, G.M., Fairall, L., Schwabe, J.W.R., 2011. Negative regulation by nuclear receptors: a plethora of mechanisms. *Trends Endocrinol. Metab.* 22, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.11.004>
- Sarkar, R., Banerjee, S., Mukherjee, A., Chawla-Sarkar, M., 2022. Rotaviral nonstructural protein 5 (NSP5) promotes proteasomal degradation of up-frameshift protein 1 (UPF1), a principal mediator of nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, to facilitate infection. *Cell. Signal.* 89, 110180. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2021.110180>
- Sarkis, S., Galli, V., Moles, R., Yurick, D., Khoury, G., Purcell, D.F.J., Franchini, G., Pise-Masison, C.A., 2019. Role of HTLV-1 orf-I encoded proteins in viral transmission and persistence. *Retrovirology* 16, 43. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0502-1>
- Sarnow, P., Cevallos, R.C., Jan, E., 2005. Takeover of host ribosomes by divergent IRES elements. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 1479–1482. <https://doi.org/10.1042/BST20051479>
- Sasada, A., Takaori-Kondo, A., Shirakawa, K., Kobayashi, M., Abudu, A., Hishizawa, M., Imada, K., Tanaka, Y., Uchiyama, T., 2005. APOBEC3G targets human T-cell leukemia virus type 1. *Retrovirology* 2, 32. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-2-32>
- Satou, Y., Yasunaga, J.-I., Zhao, T., Yoshida, M., Miyazato, P., Takai, K., Shimizu, K., Ohshima, K., Green, P.L., Ohkura, N., Yamaguchi, T., Ono, M., Sakaguchi, S., Matsuoka, M., 2011. HTLV-1 bZIP factor induces T-cell lymphoma and systemic inflammation in vivo. *PLoS Pathog.* 7, e1001274. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001274>
- Schell, T., Köcher, T., Wilm, M., Seraphin, B., Kulozik, A.E., Hentze, M.W., 2003. Complexes between the nonsense-mediated mRNA decay pathway factor human upf1 (up-frameshift protein 1) and essential nonsense-mediated mRNA decay factors in HeLa cells. *Biochem. J.* 373, 775–783. <https://doi.org/10.1042/BJ20021920>
- Schönrich, G., Raftery, M.J., 2019. The PD-1/PD-L1 Axis and Virus Infections: A Delicate Balance. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 9, 207. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00207>
- Schwich, O.D., Blümel, N., Keller, M., Wegener, M., Setty, S.T., Brunstein, M.E., Poser, I., Mozos, I.R.D.L., Suess, B., Münch, C., McNicoll, F., Zarnack, K., Müller-McNicoll, M., 2021. SRSF3 and SRSF7 modulate 3'UTR length through suppression or activation of proximal polyadenylation sites and regulation of CFIm levels. *Genome Biol.* 22, 82. <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02298-y>
- Scoca, V., Di Nunzio, F., 2021. The HIV-1 Capsid: From Structural Component to Key Factor for Host Nuclear Invasion. *Viruses* 13, 273. <https://doi.org/10.3390/v13020273>

- Scott, D.D., Aguilar, L.C., Kramar, M., Oeffinger, M., 2019. It's Not the Destination, It's the Journey: Heterogeneity in mRNA Export Mechanisms. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1203, 33–81. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31434-7_2
- Serquiña, A.K.P., Das, S.R., Popova, E., Ojelabi, O.A., Roy, C.K., Göttlinger, H.G., 2013. UPF1 is crucial for the infectivity of human immunodeficiency virus type 1 progeny virions. *J. Virol.* 87, 8853–8861. <https://doi.org/10.1128/JVI.00925-13>
- Shallak, M., Alberio, T., Fasano, M., Monti, M., Iacobucci, I., Ladet, J., Mortreux, F., Accolla, R.S., Forlani, G., 2022. The endogenous HBZ interactome in ATL leukemic cells reveals an unprecedented complexity of host interacting partners involved in RNA splicing. *Front. Immunol.* 13, 939863. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.939863>
- Shang, J., Du, L., Han, N., Lv, D., Wang, J., Yang, H., Bai, L., Tang, H., 2021. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 for physicians: Molecular characteristics and host immunity. *Mol. Med. Rep.* 23, 262. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.11901>
- Sharma, K., Åkerström, S., Sharma, A.K., Chow, V.T.K., Teow, S., Abrenica, B., Booth, S.A., Booth, T.F., Mirazimi, A., Lal, S.K., 2011. SARS-CoV 9b protein diffuses into nucleus, undergoes active Crm1 mediated nucleocytoplasmic export and triggers apoptosis when retained in the nucleus. *PLoS One* 6, e19436. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019436>
- Shichijo, T., Nosaka, K., Tatetsu, H., Higuchi, Y., Endo, S., Inoue, Y., Toyoda, K., Kikukawa, Y., Kawakita, T., Yasunaga, J.-I., Matsuoka, M., 2022. Beneficial impact of first-line mogamulizumab-containing chemotherapy in adult T-cell leukaemia-lymphoma. *Br. J. Haematol.* 198, 983–987. <https://doi.org/10.1111/bjh.18281>
- Shida, H., 2012. Role of Nucleocytoplasmic RNA Transport during the Life Cycle of Retroviruses. *Front. Microbiol.* 3, 179. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00179>
- Shimizu, Y., Koyasu, S., Suzukida, M., Izumi, K., Kidera, E., Shindo, T., Saga, T., Ono, M., Takaori-Kondo, A., Nakamoto, Y., 2022. Development of a novel Indium-111 radiolabeled mogamulizumab targeting CCR4 for imaging adult T-cell leukemia/lymphoma in vivo. *Ann. Nucl. Med.* 36, 319–326. <https://doi.org/10.1007/s12149-021-01706-4>
- Shirinian, M., Kfoury, Y., Dassouki, Z., El-Hajj, H., Bazarbachi, A., 2013. Tax-1 and Tax-2 similarities and differences: focus on post-translational modifications and NF-κB activation. *Front. Microbiol.* 4, 231. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00231>
- Siddiqui, N., Borden, K.L.B., 2012. mRNA export and cancer. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 3, 13–25. <https://doi.org/10.1002/wrna.101>
- Singh, A.K., Choudhury, S.R., De, S., Zhang, J., Kissane, S., Dwivedi, V., Ramanathan, P., Petric, M., Orsini, L., Hebenstreit, D., Brogna, S., 2019. The RNA helicase UPF1 associates with mRNAs co-transcriptionally and is required for the release of mRNAs from gene loci. *eLife* 8, e41444. <https://doi.org/10.7554/eLife.41444>
- Singh, G., Rebbapragada, I., Lykke-Andersen, J., 2008. A competition between stimulators and antagonists of Upf complex recruitment governs human nonsense-mediated mRNA decay. *PLoS Biol.* 6, e111. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060111>
- Sinha-Datta, U., Datta, A., Ghorbel, S., Dodon, M.D., Nicot, C., 2007. Human T-cell Lymphotropic Virus Type I Rex and p30 Interactions Govern the Switch between Virus Latency and Replication *. *J. Biol. Chem.* 282, 14608–14615. <https://doi.org/10.1074/jbc.M611219200>
- Smith, A., Brownawell, A., Macara, I.G., 1998. Nuclear import of Ran is mediated by the transport factor NTF2. *Curr. Biol. CB* 8, 1403–1406. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(98\)00023-2](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(98)00023-2)
- Smith, A.E., Slepchenko, B.M., Schaff, J.C., Loew, L.M., Macara, I.G., 2002. Systems analysis of Ran transport. *Science* 295, 488–491. <https://doi.org/10.1126/science.1064732>
- Song, X., Gao, X., Wang, Y., Raja, R., Zhang, Y., Yang, S., Li, M., Yao, Z., Wei, L., 2021. HCV Core Protein Induces Chemokine CCL2 and CXCL10 Expression Through NF-κB Signaling Pathway in Macrophages. *Front. Immunol.* 12, 654998. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.654998>
- Sonnino, S., Prinetti, A., 2013. Membrane domains and the “lipid raft” concept. *Curr. Med. Chem.* 20, 4–21.

- Spittler, D., Indorato, R.-L., Boeri Erba, E., Delaforge, E., Signor, L., Harris, S.J., Garcia-Saez, I., Palencia, A., Gabel, F., Blackledge, M., Noirclerc-Savoye, M., Petosa, C., 2022. Binding stoichiometry and structural model of the HIV-1 Rev/importin β complex. *Life Sci. Alliance* 5, e202201431. <https://doi.org/10.26508/lsa.202201431>
- Stade, K., Ford, C.S., Guthrie, C., Weis, K., 1997. Exportin 1 (Crm1p) is an essential nuclear export factor. *Cell* 90, 1041–1050. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80370-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80370-0)
- Starling, A.L.B., Martins-Filho, O.A., Lambertucci, J.R., Labanca, L., de Souza Pereira, S.R., Teixeira-Carvalho, A., Martins, M.L., Ribas, J.G., Carneiro-Proietti, A.B.F., Gonçalves, D.U., 2013. Proviral load and the balance of serum cytokines in HTLV-1-asymptomatic infection and in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Acta Trop.* 125, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.09.012>
- Stauber, R.H., Pavlakis, G.N., 1998. Intracellular trafficking and interactions of the HIV-1 Tat protein. *Virology* 252, 126–136. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9400>
- Stoecklin, G., Lu, M., Rattenbacher, B., Moroni, C., 2003. A constitutive decay element promotes tumor necrosis factor alpha mRNA degradation via an AU-rich element-independent pathway. *Mol. Cell. Biol.* 23, 3506–3515. <https://doi.org/10.1128/MCB.23.10.3506-3515.2003>
- Strasser, A., Dickmanns, A., Schmidt, U., Penka, E., Urlaub, H., Sekine, M., Lührmann, R., Ficner, R., 2004. Purification, crystallization and preliminary crystallographic data of the m3G cap-binding domain of human snRNP import factor snurportin 1. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 60, 1628–1631. <https://doi.org/10.1107/S0907444904015380>
- Su, W., Slepnev, S.V., Slevin, M.K., Lyons, S.M., Ziemniak, M., Kowalska, J., Darzynkiewicz, E., Jemielity, J., Marzluff, W.F., Rhoads, R.E., 2013. mRNAs containing the histone 3' stem-loop are degraded primarily by decapping mediated by oligouridylation of the 3' end. *RNA N. Y. N* 19, 1–16. <https://doi.org/10.1261/rna.034470.112>
- Su, Z., Tang, Y., Ritchey, L.E., Tack, D.C., Zhu, M., Bevilacqua, P.C., Assmann, S.M., 2018. Genome-wide RNA structurome reprogramming by acute heat shock globally regulates mRNA abundance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 12170–12175. <https://doi.org/10.1073/pnas.1807988115>
- Sugimoto, Y., Vigilante, A., Darbo, E., Zirra, A., Militti, C., D'Ambrogio, A., Luscombe, N.M., Ule, J., 2015. hiCLIP reveals the in vivo atlas of mRNA secondary structures recognized by Staufen 1. *Nature* 519, 491–494. <https://doi.org/10.1038/nature14280>
- Sun, Q., Chen, X., Zhou, Q., Burstein, E., Yang, S., Jia, D., 2016. Inhibiting cancer cell hallmark features through nuclear export inhibition. *Signal Transduct. Target. Ther.* 1, 16010. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2016.10>
- Sylvain, V., Lafarge, S., Bignon, Y.-J., 2002. Dominant-negative activity of a Brca1 truncation mutant: effects on proliferation, tumorigenicity in vivo, and chemosensitivity in a mouse ovarian cancer cell line. *Int. J. Oncol.* 20, 845–853.
- Sze, A., Belgnaoui, S.M., Olganier, D., Lin, R., Hiscott, J., van Grevenynghe, J., 2013. Host restriction factor SAMHD1 limits human T cell leukemia virus type 1 infection of monocytes via STING-mediated apoptosis. *Cell Host Microbe* 14, 422–434. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.09.009>
- Tagaya, Y., Matsuoka, M., Gallo, R., 2019. 40 years of the human T-cell leukemia virus: past, present, and future. *F1000Research* 8, F1000 Faculty Rev-228. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17479.1>
- Takatsuki, K., 1995. Adult T-cell leukemia. *Intern. Med. Tokyo Jpn.* 34, 947–952. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.34.947>
- Tanaka-Nakanishi, A., Yasunaga, J., Takai, K., Matsuoka, M., 2014. HTLV-1 bZIP factor suppresses apoptosis by attenuating the function of FoxO3a and altering its localization. *Cancer Res.* 74, 188–200. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0436>
- Tang, X., Zhu, Y., Baker, S.L., Bowler, M.W., Chen, B.J., Chen, C., Hogg, J.R., Goff, S.P., Song, H., 2016. Structural basis of suppression of host translation termination by Moloney Murine Leukemia Virus. *Nat. Commun.* 7, 12070. <https://doi.org/10.1038/ncomms12070>
- Taylor, J., Sendino, M., Gorelick, A.N., Pastore, A., Chang, M.T., Penson, A.V., Gavrila, E.I., Stewart, C., Melnik, E.M., Chavez, F.H., Bitner, L., Yoshimi, A., Lee, S.C.-W., Inoue, D., Liu, B., Zhang, X.J., Mato, A.R., Dogan, A., Kharas, M.G., Chen, Y., Wang, D., Soni, R.K., Hendrickson, R.C., Prieto, G., Rodriguez, J.A., Taylor, B.S., Abdel-

- Wahab, O., 2019. Altered Nuclear Export Signal Recognition as a Driver of Oncogenesis. *Cancer Discov.* 9, 1452–1467. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-0298>
- Thakar, K., Karaca, S., Port, S.A., Urlaub, H., Kehlenbach, R.H., 2013. Identification of CRM1-dependent Nuclear Export Cargos Using Quantitative Mass Spectrometry. *Mol. Cell. Proteomics MCP* 12, 664–678. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.024877>
- Thomas, S., Rai, J., John, L., Schaefer, S., Pützer, B.M., Herchenröder, O., 2013. Chikungunya virus capsid protein contains nuclear import and export signals. *Virol. J.* 10, 269. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-269>
- Toma, K.G., Rebbapragada, I., Durand, S., Lykke-Andersen, J., 2015. Identification of elements in human long 3' UTRs that inhibit nonsense-mediated decay. *RNA N. Y. N* 21, 887–897. <https://doi.org/10.1261/rna.048637.114>
- Torosantucci, L., De Luca, M., Guarguaglini, G., Lavia, P., Degrassi, F., 2008. Localized RanGTP accumulation promotes microtubule nucleation at kinetochores in somatic mammalian cells. *Mol. Biol. Cell* 19, 1873–1882. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-10-1050>
- Tosi, G., Forlani, G., Andresen, V., Turci, M., Bertazzoni, U., Franchini, G., Poli, G., Accolla, R.S., 2011. Major histocompatibility complex class II transactivator CIITA is a viral restriction factor that targets human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax-1 function and inhibits viral replication. *J. Virol.* 85, 10719–10729. <https://doi.org/10.1128/JVI.00813-11>
- Tran, G.V.Q., Kleinehr, J., Preugschas, H.F., Anhlan, D., Mohamed, F.F., Ehrhardt, C., Ludwig, S., Hrincius, E.R., 2021. Nonsense-mediated mRNA decay does not restrict influenza A virus propagation. *Cell. Microbiol.* 23, e13323. <https://doi.org/10.1111/cmi.13323>
- Truman, C.T.-S., Järvelin, A., Davis, I., Castello, A., 2020. HIV Rev-isited. *Open Biol.* 10, 200320. <https://doi.org/10.1098/rsob.200320>
- Tu, J.J., Maksimova, V., Ratner, L., Panfil, A.R., 2022. The Past, Present, and Future of a Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Vaccine. *Front. Microbiol.* 13, 897346. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.897346>
- Ueda, N., Iwata, K., Tokuoka, H., Akagi, T., Ito, J., Mizushima, M., 1979. Adult T-cell leukemia with generalized cytomegalic inclusion disease and pneumocystis carinii pneumonia. *Acta Pathol. Jpn.* 29, 221–232. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.1979.tb03176.x>
- Unterholzner, L., Izaurralde, E., 2004. SMG7 acts as a molecular link between mRNA surveillance and mRNA decay. *Mol. Cell* 16, 587–596. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.10.013>
- Vandermeulen, C., O'Grady, T., Wayet, J., Galvan, B., Maseko, S., Cherkaoui, M., Desbuleux, A., Coppin, G., Olivet, J., Ben Ameer, L., Kataoka, K., Ogawa, S., Hermine, O., Marçais, A., Thiry, M., Mortreux, F., Calderwood, M.A., Van Weyenbergh, J., Peloponese, J.-M., Charlotiaux, B., Van den Broeke, A., Hill, D.E., Vidal, M., Dequiedt, F., Twizere, J.-C., 2021. The HTLV-1 viral oncoproteins Tax and HBZ reprogram the cellular mRNA splicing landscape. *PLoS Pathog.* 17, e1009919. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009919>
- Vandevyver, S., Dejager, L., Libert, C., 2012. On the trail of the glucocorticoid receptor: into the nucleus and back. *Traffic Cph. Den.* 13, 364–374. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01288.x>
- Varsally, W., Brogna, S., 2012. UPF1 involvement in nuclear functions. *Biochem. Soc. Trans.* 40, 778–783. <https://doi.org/10.1042/BST20120052>
- Vattem, K.M., Wek, R.C., 2004. Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 11269–11274. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400541101>
- Venø, M.T., Hansen, T.B., Venø, S.T., Clausen, B.H., Grebing, M., Finsen, B., Holm, I.E., Kjems, J., 2015. Spatio-temporal regulation of circular RNA expression during porcine embryonic brain development. *Genome Biol.* 16, 245. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0801-3>
- Verdonck, K., González, E., Van Dooren, S., Vandamme, A.-M., Vanham, G., Gotuzzo, E., 2007. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. *Lancet Infect. Dis.* 7, 266–281. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70081-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70081-6)

- Vidy, A., Chelbi-Alix, M., Blondel, D., 2005. Rabies virus P protein interacts with STAT1 and inhibits interferon signal transduction pathways. *J. Virol.* 79, 14411–14420. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.14411-14420.2005>
- Vidy, A., El Bougrini, J., Chelbi-Alix, M.K., Blondel, D., 2007. The nucleocytoplasmic rabies virus P protein counteracts interferon signaling by inhibiting both nuclear accumulation and DNA binding of STAT1. *J. Virol.* 81, 4255–4263. <https://doi.org/10.1128/JVI.01930-06>
- Viphakone, N., Hautbergue, G.M., Walsh, M., Chang, C.-T., Holland, A., Folco, E.G., Reed, R., Wilson, S.A., 2012. TREX exposes the RNA-binding domain of Nxf1 to enable mRNA export. *Nat. Commun.* 3, 1006. <https://doi.org/10.1038/ncomms2005>
- Visser, L.J., Medina, G.N., Rabouw, H.H., de Groot, R.J., Langereis, M.A., de Los Santos, T., van Kuppeveld, F.J.M., 2019. Foot-and-Mouth Disease Virus Leader Protease Cleaves G3BP1 and G3BP2 and Inhibits Stress Granule Formation. *J. Virol.* 93, e00922-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00922-18>
- Wada, M., Lokugamage, K.G., Nakagawa, K., Narayanan, K., Makino, S., 2018. Interplay between coronavirus, a cytoplasmic RNA virus, and nonsense-mediated mRNA decay pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, E10157–E10166. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811675115>
- Wang, A.Y., Liu, H., 2019. The past, present, and future of CRM1/XPO1 inhibitors. *Stem Cell Investig.* 6, 6. <https://doi.org/10.21037/sci.2019.02.03>
- Wang, Y., Zhang, H., Na, L., Du, C., Zhang, Z., Zheng, Y.-H., Wang, X., 2019. ANP32A and ANP32B are key factors in the Rev-dependent CRM1 pathway for nuclear export of HIV-1 unspliced mRNA. *J. Biol. Chem.* 294, 15346–15357. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008450>
- Wattel, E., Vartanian, J.P., Pannetier, C., Wain-Hobson, S., 1995. Clonal expansion of human T-cell leukemia virus type I-infected cells in asymptomatic and symptomatic carriers without malignancy. *J. Virol.* 69, 2863–2868. <https://doi.org/10.1128/JVI.69.5.2863-2868.1995>
- Weischenfeldt, J., Waage, J., Tian, G., Zhao, J., Damgaard, I., Jakobsen, J.S., Kristiansen, K., Krogh, A., Wang, J., Porse, B.T., 2012. Mammalian tissues defective in nonsense-mediated mRNA decay display highly aberrant splicing patterns. *Genome Biol.* 13, R35. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-5-r35>
- Wheeler, J.R., Matheny, T., Jain, S., Abrisch, R., Parker, R., 2016. Distinct stages in stress granule assembly and disassembly. *eLife* 5, e18413. <https://doi.org/10.7554/eLife.18413>
- White, J.P., Cardenas, A.M., Marissen, W.E., Lloyd, R.E., 2007. Inhibition of cytoplasmic mRNA stress granule formation by a viral proteinase. *Cell Host Microbe* 2, 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2007.08.006>
- Wild, T., Horvath, P., Wyler, E., Widmann, B., Badertscher, L., Zemp, I., Kozak, K., Csucs, G., Lund, E., Kutay, U., 2010. A protein inventory of human ribosome biogenesis reveals an essential function of exportin 5 in 60S subunit export. *PLoS Biol.* 8, e1000522. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000522>
- Wing, C.E., Fung, H.Y.J., Chook, Y.M., 2022. Karyopherin-mediated nucleocytoplasmic transport. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 23, 307–328. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00446-7>
- Wolff, B., Sanglier, J.J., Wang, Y., 1997. Leptomycin B is an inhibitor of nuclear export: inhibition of nucleocytoplasmic translocation of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Rev protein and Rev-dependent mRNA. *Chem. Biol.* 4, 139–147. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(97\)90257-x](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(97)90257-x)
- Yamashita, A., 2013. Role of SMG-1-mediated Upf1 phosphorylation in mammalian nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Cells Devoted Mol. Cell. Mech.* 18, 161–175. <https://doi.org/10.1111/gtc.12033>
- Yamashita, A., Izumi, N., Kashima, I., Ohnishi, T., Saari, B., Katsuhata, Y., Muramatsu, R., Morita, T., Iwamatsu, A., Hachiya, T., Kurata, R., Hirano, H., Anderson, P., Ohno, S., 2009. SMG-8 and SMG-9, two novel subunits of the SMG-1 complex, regulate remodeling of the mRNA surveillance complex during nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* 23, 1091–1105. <https://doi.org/10.1101/gad.1767209>
- Yamashita, A., Ohnishi, T., Kashima, I., Taya, Y., Ohno, S., 2001. Human SMG-1, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase, associates with components of the mRNA surveillance complex and is involved in the regulation of nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* 15, 2215–2228. <https://doi.org/10.1101/gad.913001>

- Yang, B., Li, X., Lei, L., Chen, J., 2017. APOBEC: From mutator to editor. *J. Genet. Genomics Yi Chuan Xue Bao* 44, 423–437. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2017.04.009>
- Yang, B., Song, D., Liu, Y., Cui, Y., Lu, G., Di, W., Xing, H., Ma, L., Guo, Z., Guan, Y., Wang, H., Wang, J., 2018. IFI16 regulates HTLV-1 replication through promoting HTLV-1 RTI-induced innate immune responses. *FEBS Lett.* 592, 1693–1704. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13077>
- Yang, C.-C., Chang, C.-H., Chen, H.-L., Chou, M.-C., Yang, C.-J., Jhou, R.-S., Huang, E.-Y., Li, H.-C., Suen, C.-S., Hwang, M.-J., Shih, C., 2022. CRM1-spike-mediated nuclear export of hepatitis B virus encapsidated viral RNA. *Cell Rep.* 38, 110472. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110472>
- Yang, J., Bogerd, H.P., Wang, P.J., Page, D.C., Cullen, B.R., 2001. Two closely related human nuclear export factors utilize entirely distinct export pathways. *Mol. Cell* 8, 397–406. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(01\)00303-3](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(01)00303-3)
- Yang, W., Ru, Y., Ren, J., Bai, J., Wei, J., Fu, S., Liu, X., Li, D., Zheng, H., 2019. G3BP1 inhibits RNA virus replication by positively regulating RIG-I-mediated cellular antiviral response. *Cell Death Dis.* 10, 946. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2178-9>
- Yao, J., Tanaka, M., Takenouchi, N., Ren, Y., Lee, S.-I., Fujisawa, J.-I., 2019. Induction of APOBEC3B cytidine deaminase in HTLV-1-infected humanized mice. *Exp. Ther. Med.* 17, 3701–3708. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7375>
- Yedavalli, V.S.R.K., Neuveut, C., Chi, Y.-H., Kleiman, L., Jeang, K.-T., 2004. Requirement of DDX3 DEAD box RNA helicase for HIV-1 Rev-RRE export function. *Cell* 119, 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.029>
- Yi, Z., Sanjeev, M., Singh, G., 2021. The Branched Nature of the Nonsense-Mediated mRNA Decay Pathway. *Trends Genet. TIG* 37, 143–159. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.08.010>
- Yoshida, N., Weinstock, D.M., 2018. Clinicogenetic risk modeling in ATL. *Blood* 131, 159–160. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-11-815472>
- You, J.-H., Reed, M.L., Hiscox, J.A., 2007. Trafficking motifs in the SARS-coronavirus nucleocapsid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358, 1015–1020. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.05.036>
- Zemmel, R.W., Kelley, A.C., Karn, J., Butler, P.J., 1996. Flexible regions of RNA structure facilitate co-operative Rev assembly on the Rev-response element. *J. Mol. Biol.* 258, 763–777. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1996.0285>
- Zhang, M., Gong, P., Ge, L., Chang, Z., Cheng, X., Zhou, X., Wang, A., Li, F., 2021. Nuclear exportin 1 facilitates turnip mosaic virus infection by exporting the sumoylated viral replicase and by repressing plant immunity. *New Phytol.* 232, 1382–1398. <https://doi.org/10.1111/nph.17657>
- Zhang, W., Cao, S., Martin, J.L., Mueller, J.D., Mansky, L.M., 2015. Morphology and ultrastructure of retrovirus particles. *AIMS Biophys.* 2, 343–369. <https://doi.org/10.3934/biophy.2015.3.343>
- Zhao, T., Satou, Y., Sugata, K., Miyazato, P., Green, P.L., Imamura, T., Matsuoka, M., 2011. HTLV-1 bZIP factor enhances TGF- β signaling through p300 coactivator. *Blood* 118, 1865–1876. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-326199>
- Zhao, T., Yasunaga, J., Satou, Y., Nakao, M., Takahashi, M., Fujii, M., Matsuoka, M., 2009. Human T-cell leukemia virus type 1 bZIP factor selectively suppresses the classical pathway of NF-kappaB. *Blood* 113, 2755–2764. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-06-161729>
- Zheng, C., Brownlie, R., Babiuk, L.A., van Drunen Littel-van den Hurk, S., 2005. Characterization of the nuclear localization and nuclear export signals of bovine herpesvirus 1 VP22. *J. Virol.* 79, 11864–11872. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.18.11864-11872.2005>
- Zheng, C., Brownlie, R., Babiuk, L.A., van Drunen Littel-van den Hurk, S., 2004. Characterization of nuclear localization and export signals of the major tegument protein VP8 of bovine herpesvirus-1. *Virology* 324, 327–339. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.03.042>
- Zünd, D., Gruber, A.R., Zavolan, M., Mühlemann, O., 2013. Translation-dependent displacement of UPF1 from coding sequences causes its enrichment in 3' UTRs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 20, 936–943. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2635>

Review

The Complex Relationship between HTLV-1 and Nonsense-Mediated mRNA Decay (NMD)

Léa Prochasson, Pierre Jalinot and Vincent Mocquet *

Laboratory of Biology and Modelling of the Cell (LBMC), ENS de Lyon, Univ Lyon, CNRS UMR 5239, INSERM U1210, 46 allée d'Italie, 69364 Lyon, France

* Correspondence: vincent.mocquet@ens-lyon.fr

Received: 14 February 2020; Accepted: 12 April 2020; Published: 15 April 2020



Abstract: Before the establishment of an adaptive immune response, retroviruses can be targeted by several cellular host factors at different stages of the viral replication cycle. This intrinsic immunity relies on a large diversity of antiviral processes. In the case of HTLV-1 infection, these active innate host defense mechanisms are debated. Among these mechanisms, we focused on an RNA decay pathway called nonsense-mediated mRNA decay (NMD), which can target multiple viral RNAs, including HTLV-1 unspliced RNA, as has been recently demonstrated. NMD is a co-translational process that depends on the RNA helicase UPF1 and regulates the expression of multiple types of host mRNAs. RNA sensitivity to NMD depends on mRNA organization and the ribonucleoprotein (mRNP) composition. HTLV-1 has evolved several means to evade the NMD threat, leading to NMD inhibition. In the early steps of infection, NMD inhibition favours the production of HTLV-1 infectious particles, which may contribute to the survival of the fittest clones despite genome instability; however, its direct long-term impact remains to be investigated.

Keywords: HTLV-1; retrovirus; antiviral process; nonsense mRNA decay; UPF1

1. Introduction

HTLV-1 is a delta-retrovirus infecting approximately 10 million people worldwide [1]. Only 2%–5% of HTLV-1 carriers experience disease: either adult T cell leukemia/lymphoma (ATL), an aggressive form of leukemia characterized by the proliferation of CD4⁺ T cells, or HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), an inflammatory disease associated with demyelination of the spinal cord [2–4]. HTLV-1 mainly infects CD4⁺ T cells, although it has the potential to infect a wide variety of other cells: CD8⁺ T cells, B lymphocytes, myeloid cells, endothelial cells, fibroblasts, neutrophils, monocytes, myeloid and plasmacytoid dendritic cells [5–7].

The roles played by innate and adaptive immune responses during HTLV-1 infection are extensively studied. Models of how HTLV-1 successfully escapes or dysregulates these immune responses in order to extend the infection and provoke diseases have been proposed and are regularly updated [8–10]. However, concomitantly with the initiation of the innate immune response and before the establishment of the adaptive response, HTLV-1 is targeted by several cellular host factors at different stages of the viral replication cycle. This intrinsic immunity is either constitutively expressed or may be closely coordinated with innate immunity. Although it is one of the first layers of defence from the host, our knowledge about its efficiency and its impact in the context of HTLV-1 is much less exhaustive. This intrinsic immunity relies on a large and diverse set of antiviral processes. Notably, several restriction factors such as the tripartite motif-containing protein (TRIM) and apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like (APOBEC) family, SAM domain and HD domain-containing protein 1 (SAMHD1), miRNAs, BTS2/tetherin (recently reviewed here [11]) or zinc finger antiviral protein (ZAP) are already under investigation to evaluate their effect on HTLV-1 replication (Figure 1). First discovered

and extensively studied in the case of HIV-1, there are fewer data available regarding HTLV-1 that are summarized in Table 1. However, the involvement of most of these factors remains controversial, and the exact role of the innate host defense against HTLV-1 is not clear, likely due to a lack of molecular studies on early infection stages.

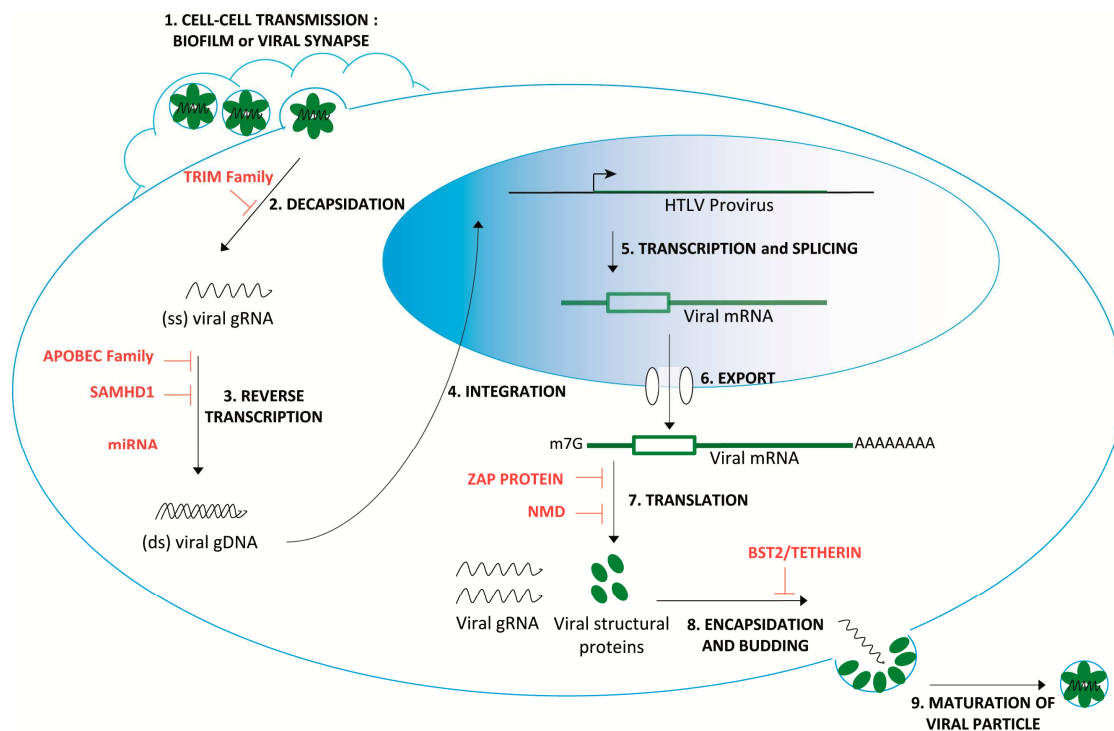


Figure 1. HTLV-1 infection cycle and host antiviral factors. After attachment to the cell membrane receptors (GLUT1, HSPG or NRP-1) through the viral Env protein, a fusion process enables the release of the capsid core containing the viral genome and the proteins into the cytoplasm [12]. Immediately after cell entry and before reverse transcription, the tripartite motif-containing protein (TRIM) family antiviral factors could limit the decapsidation step by recognizing determinants of the capsid, although it has not yet been investigated at the mechanistic level for HTLV-1 (Table 1). Following the entry, the viral RNA genome is reverse transcribed into double-stranded DNA, and together with associated proteins, this newly synthesized DNA forms the reverse transcription complex, also called the pre-integration complex. This reverse transcription step could be restricted early by SAM domain and HD domain-containing protein 1 (SAMHD1), decreasing the available pool of cellular dNTPs, by apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like (APOBEC) members that can misedit the HTLV-1 RNA genome and as recently suggested, by miRNA that likely prevents the formation of the pre-integration complex (Table 1). To date, no antiviral factors have been fully characterized regarding the integration, transcription and splicing or RNA export steps. However, viral mRNA can be targeted at the translational level by the zinc finger antiviral protein (ZAP) protein, as well as by the nonsense mediated mRNA decay (NMD) process (described in the following sections). Finally, bone marrow stromal cell antigen 2 (BST2) could tether nascent virions at the budding step before the release and maturation of the viral particle.

Table 1. Potential involvement of host antiviral factors in HTLV-1 restriction. Regarding TRIM Family implication, all data reinforce the potential involvement of the TRIM family in the early restriction of HTLV-1 replication. The majority of the data are obtained by whole exome sequencing analysis [13] or microarray analysis of CD4+ T Cells [14] in HAM/TSP cohorts of patients. Consistently with the fact that HTLV-1 mainly replicates by clonal expansion and the fact that virions are poorly infective, the involvement of APOBEC family, as well as BST2/Tetherin, remains uncertain. HTLV-1 seems to be more resistant to h3AG than HIV-1, but interestingly h3AG could generated nonsense mutations in the viral genome that enable HTLV-1-infected cells to escape from the host immune system in ATL cases. SAMHD1 is able to restrict a broad range of retroviruses [15], including HIV-1, but further studies are needed to assess its implication in HTLV-1 restriction and/or pathogenesis. As previously demonstrated for HIV-1 [16], the role of miRNA in HTLV-1 infection has recently emerged [17]. Finally, HTLV-1 is susceptible to a ZAP-mediated regulation, which was shown as an mRNA decay pathway depending on the translation like the NMD pathway [18]. These data regarding HTLV-1 restriction by the host antiviral factors are quite still conflicting. It could be explained in part by the fact that a lot of these studies are based on data obtained in HIV, where the molecular determinants of the retroviral replication and life cycle differ from HTLV-1. Secondly, it could be explained by the fact that all these process are differentially involved according to the cell-type infected, the stage of infection, or even the evolution of chronically infected patients towards HAM/TSP or ATL.

Host Antiviral Factors	Restriction Mechanisms	Potential Involvement in HTLV-1 Restriction		References
TRIM Family	Recognition of the capsid lattice Interference with disassembly of the viral particles. E3 ubiquitin ligase activity targeting viral core component. [19]	TRIM19/PML interferes with HTLV-1 replication via the proteosomal degradation of the viral protein Tax.	+	[20]
		R136Q TRIM5 α variants are correlated with lower proviral loads.	+	[13]
		Negative correlation between HTLV-1 virological parameters or clinical status and the expression of TRIM5 α and TRIM22. Negative correlation between Tax mRNA levels and the expression of TRIM19/PML.	+	[14]
APOBEC Family	C->U editing enzymes leads to stopping codon incorporation after reverse transcription.	APOBEC3G (h3AG) is packaged into HTLV-1 virions. The HTLV-1 genome may be edited in vivo by h3AG, as well as other hA3 members (A, B, C, F, and H).	+	[21–23]
		G-to-A mutations were not detected in the proviruses from infected patients. HTLV-1 Gag protein would reduce the packaging of h3AG into virions.	-	[21,24]
		Loss-of-expression mutations likely generated by hA3G induced mutagenesis in HTLV-1 genes of 60 ATL cases.	+	[25]
		hA3B increased expression in ATL and asymptomatic carriers.	+	[26]
		No correlation with the clinical HAM/TSP states, PVLs or viral mutations.	-	[13]
		Negative correlation between members of APOBEC3 family and Tax mRNA levels.	+	[14]
		In HTLV-1 infected humanized mice showing ATL-like feature, an increased expression level of hA3. No correlation in HAM/TSP cohorts study.	+/-	[27]

Table 1. Cont.

Host Antiviral Factors	Restriction Mechanisms	Potential Involvement in HTLV-1 Restriction		References
SAMHD1	SAMHD1 decreases the pool of available dNTPs, inhibiting reverse transcription. Modulates antiviral activity by inhibiting the NF- κ B and interferon pathways [28]	No effect on HTLV-1 and Tax expression in macrophages and cycling CD4+ T cells.	-	[15]
		SAMHD1-mediated apoptotic response in human primary monocytes.	+	[29]
		No correlation with the HAM/TSP parameters.	-	[13]
		SAMHD1 is negatively correlated within HAM/TSP cohorts.	+	[14]
miRNA	miR-28-3p targets genomic viral mRNA of HTLV-1 strains.	miR-28-3p could inhibit HTLV-1 replication by reducing expression of all viral proteins in a Tax-independent manner.	+	[30]
BST2/Tetherin	Inhibits the release of enveloped viruses by tethering them to the cell surface, where they undergo endocytosis and degradation.	No correlation with cell-cell transmission.	-	[31]
		No correlation with the HAM/TSP parameters.	-	[13]
		BST2 is negatively correlated with HAM/TSP status.	+	[14]
Zinc finger Antiviral Protein (ZAP)	Targets viral RNA at specific response elements (such as ZRE). Recruits cellular decay factors (PARN, DCP-1, 3'-5' exosome). [18]	HTLV-1 is susceptible to a ZAP-mediated viral RNA processing during early infection.	+	[32]

The nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway is an interferon (IFN) independent process that has been recently demonstrated by convergent studies to degrade several viral RNA [33–41], hence it can be considered as an antiviral process as well. Concerning HTLV-1, it was shown that NMD inhibition led to an upregulation in the steady state levels of all viral mRNAs, revealing a direct and/or indirect sensitivity to NMD [42]. A complementary study subsequently validated the direct involvement of NMD by measuring the stability of unspliced genomic RNA (gRNA), exposing an inverse correlation between the levels of NMD proteins and viral gRNA stability. The knockdown of NMD factors was also associated with an increase in the GAG protein encoded by the full-length gRNA [43]. Altogether, these data indicate that NMD targets HTLV-1 at translational level, thus confirming a function for NMD in host protection against pathogens (Figure 1). However, the persistence of an HTLV-1 infection around the world nowadays suggests that HTLV-1 succeeds in bypassing NMD, at least partially, similar to other antiviral processes.

In this review, we thus propose an analysis of the interplay between HTLV-1 and NMD. In order to give a better insight about this process since NMD does not have a wide audience in the HTLV-1 field to the contrary of other antiviral process mechanisms, we first describe the mechanism, its regulation and the RNA features triggering its initiation. Then, we analyse how HTLV-1 protects itself against NMD and suggest how the consequences of NMD inhibition might converge with known cellular dysfunctions associated with HTLV-1 infection, highlighting a relationship more complex than meets the eye.

2. NMD in the Cell

2.1. Mechanism and Regulation

NMD is a co-translational pathway conserved through evolution from yeast to mammals and leads to the degradation of mRNA. It is initiated when translation is terminated in a specific unfavourable environment. The slowing of the translation terminating steps due to mRNA sequence, organization and/or mRNP composition greatly favours the retention of the NMD central factor UPF1 at the stop codon with the stalled ribosome, leading to NMD activation. UPF1 is a helicase that binds RNA without sequence specificity. It appears to be displaced by the translating ribosome and subsequently accumulates on the mRNA 3'UTR [44,45]. It is not yet clear whether UPF1 plays a direct role in translation termination despite its association with the ribosome release factors eRF1 and eRF3, but it is an indispensable factor of NMD initiation. A recent study has shown that another NMD factor, UPF3B, can inhibit translation termination without UPF1 and favours post-termination complex dissociation *in vitro* [46]. UPF1 also interacts with UPF3B, mutually increasing the stability of them both at the stop codon. The interaction of UPF1 with the SMG1 PI3K kinase at the terminating ribosome completes the NMD initiating complex, which is named SURF for SMG1-UPF1-release factors [47–49]. Next, UPF1 phosphorylation is stimulated by the recruitment of UPF2 and the DEAH-box helicase DHX34 [50–52]. UPF2 may be recruited to the vicinity of UPF1 through an interaction with UPF3B [53,54]. UPF2 binds UPF1, inducing the large conformational change necessary for triggering UPF1 ATPase and helicase activities [55]. UPF1 hyperphosphorylation at its Nter and Cter (CH and SQ domains, respectively) creates scaffolds to recruit degradation-promoting factors such as the endonuclease SMG6 [56]. SMG6 cleaves RNA at the vicinity of the stop codon, leading to unprotected 5' and 3' RNA fragments, which are then degraded by the 5'–3' exoribonuclease XRN1 and the exosome [57]. Phospho-UPF1 can also recruit the heterodimer SMG5-SMG7, which is directly linked to deadenylation (with CCR4-NOT) or de-capping (with DCP1a and DCP2) activity [58–60]. Well characterized *in vitro*, the *in vivo* steps necessary for UPF1 enzymatic activity have not yet been elucidated but could play a role in stripping proteins from the 3' cleavage products to enable XRN1 exonuclease activity. UPF1 may also be involved in complex remodelling, controlling the necessary sequence of steps leading to decay [57]. In the last step, UPF1 is unphosphorylated by PP2A, serine/threonine-protein phosphatase 2A, and dissociates from the target mRNP [61].

Closely related to translation termination, NMD efficiency is naturally modulated by mRNP composition. Notably, the presence of an exon-junction complex (EJC) is a critical parameter:

when located downstream of the stop codon, the EJC promotes the enrichment of the 3'UTR in NMD factors such as UPF3B and UPF2, leading to strong stimulation of NMD (reviewed in [62–64]). EJC was also described as an enhancer of SMG6-mediated endonucleolysis [65]. Moreover, different compositions of the EJC have been observed and are associated with NMD modulation [66]. While the EJC can be considered the most important NMD stimulator, multiple mRNAs can, nevertheless, undergo NMD in an EJC-independent manner. Currently, the sensitivity of these RNA is explained by the absence or the distance between NMD inhibitors binding motifs and the stop codon. For instance, converging studies demonstrated that the longer the distance between the stop codon and the poly (A) tail associated with the Poly(A) binding protein (PABPC) (referring to “long 3'UTR” RNA), the higher the rate of NMD initiation because PABPC stimulates translation termination and opposes UPF1 stable recruitment. Polypyrimidine track binding protein1 (PTBP1), when associated with RNA downstream of a stop codon, inhibits NMD by preventing UPF1 recruitment [67]. It binds a specific sequence known as the RNA stability element, which was first identified in the Rous sarcoma virus RNA and more recently found in many cellular 3'UTR sequences close to the termination codon. Similarly, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L (hnRNPL) antagonizes NMD [68] (Figure 2).

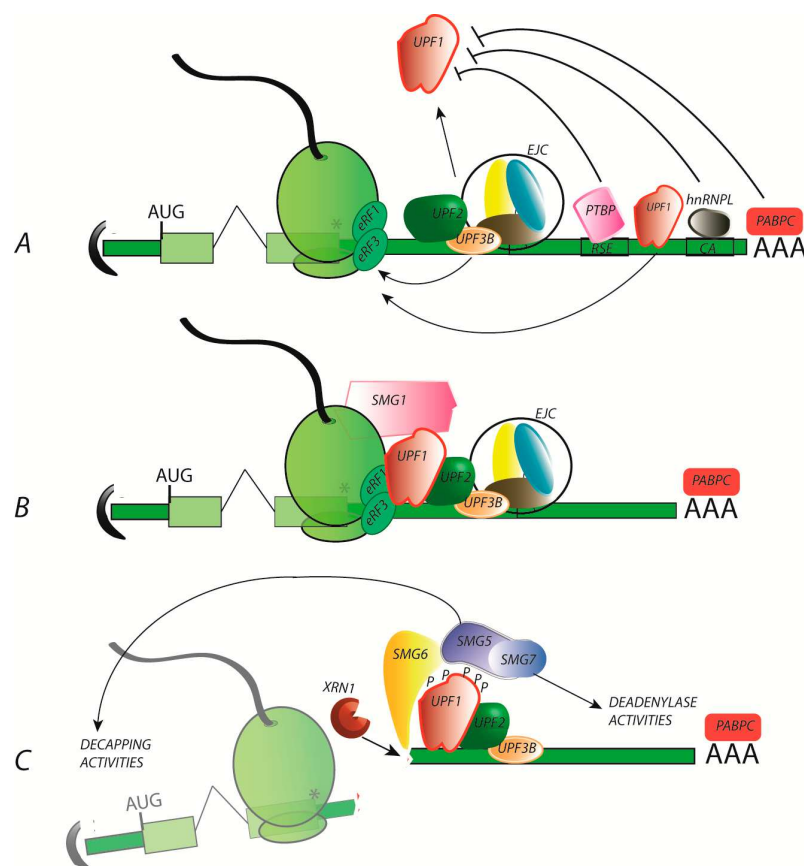


Figure 2. The nonsense-mediated mRNA decay (NMD) mechanism in three key steps. The NMD mechanism is organized into approximately 3 key steps. (A) Translation termination delay: NMD is initiated when translation termination is delayed. Multiple factors can be involved, notably by preventing/promoting the recruitment of the RNA helicase UPF1 to the ribosome. (B) UPF1 recruitment and stabilization favours the assembly of an active NMD complex. The EJC is a very potent stimulator of NMD initiation, bringing UPF2 and UPF3 in close vicinity to UPF1. Although EJC-independent NMD events occur, the details of the mechanism continue to be debated. (C) UPF1 phosphorylation by SMG1 initiates the decay step with the recruitment of the endonuclease SMG6 or/and the SMG5/SMG7 complex. SMG6 cleavage is followed by XRN1 degradation, while SMG5 and SMG7 initiate de-capping and deadenylation activities, respectively.

According to the above description, any stop codon, as soon as it is read by the ribosome, might be able to initiate NMD, with the outcome being dependent on the equilibrium between the stimulators and the inhibitors at each step. While the unique function of NMD is to degrade mRNA, two main functions are usually associated with NMD depending on the origin of the stop codon initiating NMD: RNA quality control and gene expression regulation at the post-transcriptional level (for an exhaustive review, see [69]).

2.2. NMD Targets and Functions

Historically, NMD was described as a RNA quality control process, degrading mRNA with a premature termination codon (PTC). It is estimated that such RNA represents 5%–30% of human transcripts and may be the result of genomic mutations (nonsense and frameshift), faulty alternative splicing (approximately 30% of alternative splicing events) or translational errors. The truncated protein can be deleterious for the cell since it is non-functional, or it may even have a dominant negative effect. PTCs are present inside the open reading frame (ORF), creating a longer 3'UTR with a greater distance between the physiologic stop codon and the related translation termination regulatory environment. PTC may also be upstream of exon-exon junctions marked by an EJC. As described above, these parameters greatly favour NMD triggering and lead to the elimination of the PTC-harbouring mRNA.

In addition to the quality control function in which NMD prompts the cell to systematically degrade “aberrant” mRNA, NMD can also periodically regulate specific “non-aberrant” mRNA. This intermittent sensitivity to NMD is a programmed cellular protocol based on the local modification of an mRNA sequence, organization and/or mRNP composition. Among the different parameters influencing those local modifications, we can find uORF (upstream open reading frame), which is a translation that may trigger NMD due to the EJC downstream in the main ORF. CREB-2/ATF4 mRNA is a well-documented example [70–72]. Alternative splicing can also increase the 3'UTR length and modify the secondary structure of mRNA that are a major characteristic triggering NMD. It can also periodically produce alternative isoforms bearing a PTC. Several types of DNA repair or splicing factors, such as SR-proteins, are regulated like this, indicating an expanded impact of NMD on the post-transcriptional regulation [73–76]. Finally, programmed frameshifts (PRF) redirect the ribosome towards another reading frame with a PTC in more than 95% of the cases, as shown with the CC chemokine receptor (CCR) type 5 mRNA, as well as several interleukins [77]. In the following section we propose an analysis of the interplay between HTLV-1 and the NMD regarding these characteristics.

3. HTLV-1 Confronts NMD

3.1. HTLV-1 Viral mRNA Exhibits NMD-Initiating Features

HTLV-1 is a complex retrovirus with multiple proteins coded in a single genomic RNA. The overall sensitivity of HTLV-1 retroviral RNA to NMD has been known for a few years [42,43]. Although the molecular determinants of RNA features triggering NMD sensitivity have not yet been clearly defined [78], we can at least suggest that this sensitivity may have multiple origins; the viral RNA can be directly as well as indirectly targeted by the NMD machinery.

Direct regulation: As described above, the half-life of unspliced HTLV-1 RNA is increased under NMD inhibition. How can this sensitivity be explained? Since the mRNA is un-spliced, it should not have bound an EJC, especially in the 3'UTR, which is expected to hamper its sensitivity to NMD. However, according to the above findings and our knowledge of HTLV-1 RNA organization, the 3'UTR size stands out as a possible factor. While the median human 3'UTR size is ~750 nt [79], the gag mRNA 3'UTR is ~4000 nt, making it a suitable target for NMD. For instance, Garcia et al. showed that two RNA(+) viruses had genomic and sub-genomic RNA NMD sensitivity because their 3'UTRs ranged from 1 kb to 2.5 kb [37]. In contrast, the secondary structure of RNA and its mRNP composition can also compete for the long 3'UTR to have an effect on sensitivity [40,67,80]. Another noteworthy

parameter of HTLV unspliced mRNA, and that of other retroviruses, is the -1 frameshift (-1 FS). HTLV-1 has two successive -1 FS in the un-spliced mRNA region, allowing for the synthesis of three different polyproteins: GAG, GAG-PRO and GAG-PRO-Pol fusion proteins. The low frequency of these (-1 FS) maintains the correct ratio of these three viral proteins. By slowing ribosome reading and preventing translation termination, a frameshift can promote NMD. On the other hand, Hogg et al. suggested that retroviral readthroughs and frameshiftings destabilize UPF1 accumulation in the 3'UTR and impair NMD by redirecting the ribosome and avoiding the in-frame stop codon, even at a rate of approximately 1% [81]. In the case of HTLV-1, the treatment of infected cells by okadaic acid led to increased levels of unspliced viral RNA associated with UPF1 [43]. Okadaic acid prevented the dephosphorylation of active UPF1 molecules and suspended NMD in the latest steps of mRNA decay. These observations strongly suggest that UPF1 is not stripped from the unspliced viral RNA and that this RNA is subjected to active decay.

Indirect regulation: In cells transfected with an HTLV-1 molecular clone, the knockdown of UPF1 led to a 3-to-4-fold homogeneous upregulation of all viral RNAs in the steady state [42]. This homogeneity might suggest that the transcriptional activator(s) of HTLV-1 can be controlled by NMD, leading to the indirect regulation of viral mRNA. Supporting this hypothesis, CREB-2/ATF4 has been shown to be involved in LTR transactivation, regulated by NMD and stabilized by Tax at the post-transcriptional level [42].

While the sensitivity of HTLV-1 to NMD is well documented, additional work is needed to clearly demonstrate which stop codons are the most likely to induce NMD. Moreover, to maintain its capacity to replicate, HTLV-1 had to evolve solutions to evade the NMD threat. These solutions are discussed in the next section.

3.2. HTLV-1 Protection against NMD

The arms race involving HTLV-1 and NMD led to the evolution of two viral countermeasures. The viral proteins Tax and Rex were shown to target the NMD process in what is called “trans-inhibition”, incapacitating the decay of viral as well as cellular NMD targets. This evidence emerged from observations that HTLV-1-infected lymphocytes were able to specifically stabilize globin mRNA with a PTC [42]. Nakano et al. also showed that, in HeLa cells co-cultivated with HTLV-1-infected cells, this inhibition was maintained as long as *Tax/Rex* mRNA was expressed [43].

Tax was first described as the main viral transactivator [82]. It has the capacity to bind multiple host factors in the nucleus and in the cytoplasm, leading to dysfunctions promoting cell transformation [83,84]. Tax-dependent NMD inhibition was initially investigated due to its interaction with the translation initiation factor eIF3E/INT6 [85], known to interact with UPF2 and to be involved in NMD [86]. In addition to this interaction, INT6 was observed to be delocalized from the nucleus to the cytoplasm by Tax. This study also revealed contacts between Tax and several NMD factors and a direct interaction between Tax and the helicase UPF1. A complementary study introduced interesting details on Tax: first, Tax can bind to the helicase domain of UPF1 at the exit of the RNA binding channel, preventing UPF1 loading onto its target. Second, when UPF1 is already bound to RNA due to its action in NMD, Tax binding blocks ATP hydrolysis and helicase activity, freezing UPF1 on RNA. These observations suggest a broad effect on UPF1 with the capacity to impact NMD at different steps [87]. When analysing viral mRNA, it is difficult to dissociate the transactivation role of Tax on the viral promoter from its post-transcriptional effect via NMD. Therefore, a mutant form of Tax specific for NMD interference must be engineered. Nevertheless, when Tax is expressed alone or from a provirus, the half-lives of host mRNAs, such as *creb-2/atf4*, growth and arrest DNA damage-inducible 45 (*Gadd45A*) and *smg5*, are stabilized as a consequence of NMD trans-inhibition.

The Rex protein was also shown to inhibit NMD. Similarly to Tax, several host mRNAs known to be NMD sensitive had increased half-lives upon Rex expression. Rex is known to bind viral RNA at the RxRE motif. Upon binding to RxRE, Rex controls viral mRNA splicing. It also contacts the CRM1 export system to ensure the nucleo-cytoplasmic shuttling of the unspliced viral mRNA [88–90]. To date,

the mechanism of NMD inhibition by Rex has not been described. It has also not yet been investigated whether the HTLV-1 RNA secondary structure provides a first line of defence against NMD (Figure 3).

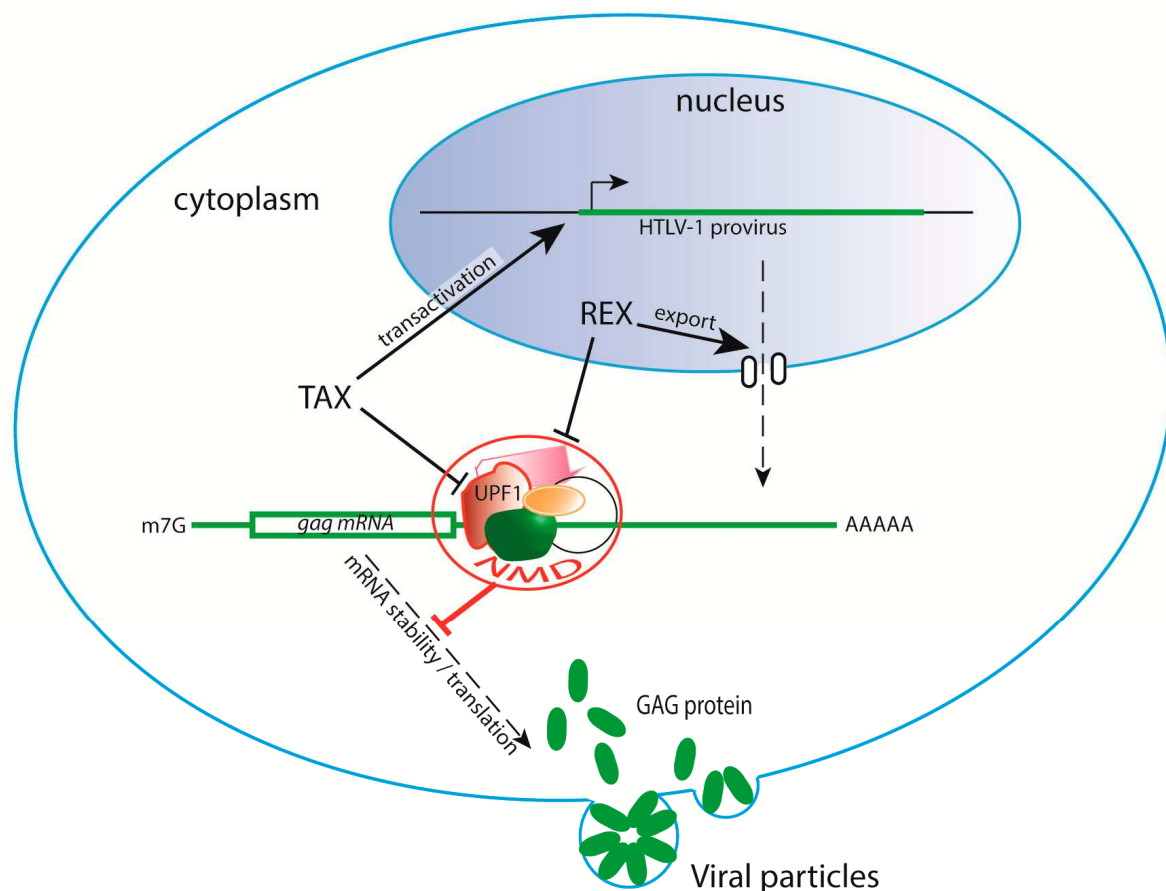


Figure 3. HTLV-1 confronts NMD. NMD is able to target viral gag mRNA, preventing further formation of viral particles. However, the viral proteins Tax and Rex, which are involved in viral transactivation and unspliced viral mRNA nuclear export, respectively, have been shown to inhibit NMD. The Rex mechanism of action has yet to be deciphered, while several approaches have revealed that Tax was shown to target UPF1.

3.3. When Does NMD Inhibition Occur during HTLV-1 Infection?

During infection, HTLV-1 is spread in two different ways: viral propagation is initially dependent on cell-to-cell transmission, then it evolves towards polyclonal and monoclonal expansion (reviewed elsewhere [12]). Cell-to-cell infection depends on virion production. These virions are composed of structural proteins translated from singly spliced mRNA (ENV) and unspliced viral mRNA (GAG). Tax, as the viral transactivator, is indispensable for the production of this unspliced mRNA. Additionally, the modulation of splicing, leading to the stabilization of viral unspliced mRNA as well as their nuclear export, depends on Rex. By targeting the gag unspliced mRNA, NMD prevents virion formation. Supporting this hypothesis, knockdown of UPF2 was associated with increased levels of the p24 and p19 GAG protein [43]. Interestingly, HIV gag mRNA and GAG protein expression were also shown to be affected by UPF2 and SMG6 expression in the context of virus reactivation [91]. Hence, it is understandable that NMD, which does not require induction by type I interferon and thus acts as a cell-intrinsic antiviral barrier, plays a role in the early steps of HTLV-1 infection. The results of an analysis of viral mRNA kinetics showed a clear separation between the early phase when Tax and Rex (p21 and p27) are produced and the later phases characterized by the increase in other mRNAs, including gag mRNA [92]. This finding suggests that the stabilization of gag mRNA and the production

of the gag protein necessitate the formation of a favourable environment: NMD inhibition might contribute to this initial condition. Notably, the results from kinetics experiments performed with RNA(+) virus infections suggest that the impact of NMD inhibition on viral RNA is greater in the early steps of the infection [37,39]. Finally, it is striking how the same factors, Tax and Rex, are involved in both the production and the protection of viral particles.

The second mode of provirus amplification is clonal expansion, which depends on the proliferation of a few selective clones. This oncogenic behaviour emerges from the modulation of multiple cellular processes by non-structural viral proteins such as Tax and HBZ; notably, Tax plays an essential role in this cellular transformation by generating instability and bypassing checkpoints: it inhibits DNA repair, disrupts cell cycle progression, and affects autophagy. It also modulates transcription through the modification of the epigenetic landscape and transcription complex composition and deregulates signalling pathways, including NF- κ B (inducing its constitutive activation) and innate immune pathways (with an immunosuppressive effect) (reviewed in [4,12]). Knowing that Tax is the immunodominant HTLV-1 antigen in the T-cell response, it is considered that the progression of an infected clone is then favoured by the progressive inhibition or occasional bursts of expression of Tax [93], which confers a survival advantage through escape from the strong cytotoxic T-lymphocyte (CTL) immune response [94]. The other viral oncoprotein HBZ that triggers a less efficient immunity is continuously expressed in infected cells and plays important roles in viral latency and the proliferation of infected cells. Interestingly, *hbz* RNA appears to play specific roles in T cell proliferation (reviewed in [95]).

Although it is widely accepted that HTLV-1 infection leads to cell proliferation, it has been frequently observed to cause apoptosis and senescence of lymphoid and non-lymphoid cells in a Tax-dependent manner. It has been proposed that cells responding by senescence or apoptosis have very high levels of expressed Tax and Rex, are associated with robust replication of the virus and are subjected to great oncogenic pressure. This viral hyperactivity might be dependent on the site of integration, stimulating LTR transactivation and thus may be specific to each clone. Senescence induction has been shown to be linked with the stabilization of the p27 protein and cyclin-dependent kinase inhibitor p21CIP/WAF1 mRNA because of NF- κ B hyperactivation ([96–98] reviewed in [99]). NF- κ B activation is a hallmark of Tax expression and HTLV-1-infected cells, and multiple steps in the NF- κ B pathway were shown to be regulated directly or indirectly by Tax. For example, NIK (MAP3K14), the NF- κ B inducing kinase that activates IKK α , is highly expressed in HTLV-1-infected cells [100]. Moreover, p21, p27 and NIK transcripts are known to be NMD targets. Their mRNA levels are tightly controlled, and NMD inhibition experiments induced their stabilization [71,101,102]. In lung inflammatory myofibroblast tumors, decreased NMD leads to the increased expression of the transcript for the NIK protein kinase, which activates the NF- κ B pathway and promotes cytokine expression and inflammation. Supporting this observation, the stabilization of the NIK mRNA half-life was observed in a separate Tax and Rex-dependent manner [43,87]. Additionally, it is worth noting that NMD is involved in the apoptotic response induced by high stress levels; more precisely, it has been demonstrated that maintained NMD inhibition induces cell death [103,104]. Gadd45 isoforms promote apoptosis by upregulating the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway upon the activation of diverse forms of stress, including that from TNF α and DNA damage. Gadd45 α and β transcripts are dependent on canonical as well as non-canonical NF- κ B pathway activation and are upregulated in Tax and HTLV-1 expressing lymphocytes [105]. Gadd45 α and β mRNA are also sensitive to NMD due to their respective 3'UTRs. This regulation of Gadd45 by NMD is evolutionarily conserved from flies to mammals. It was recently shown that the upregulation of Gadd45 isoforms due to NMD inhibition is a major contributor to NMD-associated programmed cell death [106]. Altogether, these observations suggest that, in the context of HTLV-1 infection, high levels of Tax and Rex, viral-induced senescence/apoptosis and NMD inhibition might be correlated (Figure 4). However, NMD inhibition in vivo does not always lead to the activation of apoptosis; for example, the absence of the key NMD factors UPF1 and SMG1 induces embryonic cell death, but UPF3-null mice are viable.

Similarly, during hematopoiesis, NMD inhibition by UPF2 knockdown prevents hematopoietic stem cell and progenitor survival, whereas mature cells are only mildly affected [107–110]. Thus, whether NMD inhibition can activate apoptosis might be dependent on the degree of the NMD inhibition, the cell type and differentiation state.

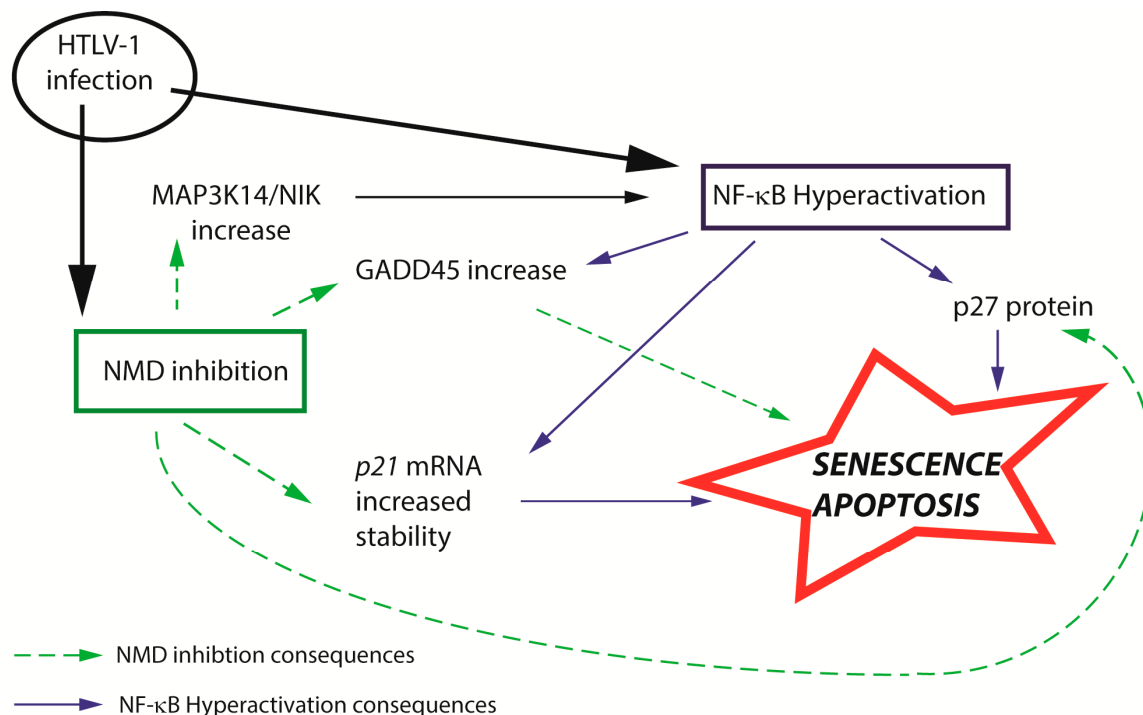


Figure 4. Convergence of NMD inhibition and NF-κB hyperactivation. HTLV-1-induced NMD inhibition and NF-κB hyperactivation might induce apoptosis and senescence via the stabilization/stimulation of the same host factors.

While in the early steps of infection when HTLV-1 directly benefits from NMD inhibition to produce infectious particles, it is conceivable that, in a second step, this NMD trans-inhibition also participates in the selection of a clone with attenuated expression of Tax and Rex that is more suited to avoid the immune response and thus to maintain infection.

3.4. HTLV-1-Associated Pathologies. How Can NMD Inhibition Impact the Host in the Long Term?

As introduced above, HTLV-1 is the etiological agent of ATL and HAM/TSP. ATL is a malignant lymphoproliferative syndrome established after decades of latency and characterized by genetic instability combined with checkpoint adaptation. A favorable environment enabling malignant proliferation is dependent on the establishment of an immunosuppressive state. The viral protein Tax plays a major role in these steps. HAM/TSP is an immune-mediated inflammatory disease associated with the accumulation of HTLV-1-specific CD8⁺ T cells and infected CD4⁺ T cells in cerebrospinal fluid and neural tissues. It is characterized by a chronic inflammatory state due to elevated cytokine expression and production (reviewed in [111]). We wondered whether NMD downregulation, induced for the early infective stage of HTLV-1, may play a role in the later steps of the infection and could converge with ATL or HAM/TSP onset.

In 2015, genomic sequencing of 400 ATL samples showed that the mutation rate for ATL was relatively high compared to other hematologic malignancies, with an average of 2.3 mutations per mega base in coding regions [26,112]. Notably, transacting T cell-specific transcription factor GATA3, which is required for multiple steps of T-cell differentiation in both developing thymocytes and mature T cells, is commonly affected by nonsense and frameshift mutations. The authors suggest

that these mutants confer altered protein function (possibly dominant negative functions due to truncated proteins), rather than GATA3 haploinsufficiency. Most CCR4 and CCR7 mutations in ATL-related proteins cause truncation of the cytoplasmic domain with gain of function. Moreover, more than half of ATL cases have either nonsense or frameshift mutations in the components of the class I MHC. Although the NMD sensitivity of mRNA resulting from these hotspot mutations has not yet been analysed, these mutations seem to be promising targets, and NMD inhibition by Tax and Rex might be an important parameter to consider. Of course, due to its quality control function, NMD defects contribute to genetic instability; in combination with alternative splicing, NMD tunes the level of many DNA repair factors [75,113,114]. Pancreatic squamous carcinoma cells have mutations in the *upf1* gene allowing the synthesis of mutated dominant negative p53, functionally correlating NMD inhibition with cancer [115]. Loss-of-function or overexpression of NMD proteins is also associated with several other cancer types, including colorectal cancer, hepatocellular carcinoma and neuroblastoma [116–118]. NMD is also involved in the adaptation to stress response [119,120]. Hypoxia, amino acid deprivation and reactive oxygen species production downregulate NMD, which leads to the stabilization of transcripts such as activating transcription factor ATF4, ATF3, ATF6, CCAAT-enhancer binding protein homologous protein (CHOP) and TNF receptor-associated factor 2 (TRAF2), which re-establish homeostasis by the integrated stress response (ISR). It is now acknowledged that tumour cells must adapt to microenvironment stresses such as these to proliferate. In this context, it has been shown that NMD downregulation plays a role in this adaptation, promoting tumorigenesis [121]. Moreover, it was also recently proposed that NMD tunes the immune response. Impaired NMD in mice with forebrain-specific UPF2KO triggers immune response activation and results in exacerbated neuroinflammation. The latter symptom was partially reversed upon UPF2 restoration [122]. In Arabidopsis, NMD downregulation due to bacterial infection has been shown to control the turnover frequency of numerous TIR domain-containing, nucleotide-binding, leucine-rich repeat (TNL) receptor mRNAs, inducing innate immunity. However, maintained NMD inhibition by silencing NMD components deregulates homeostasis, leading to an autoimmunity phenotype characterized by stunting, spontaneous formation of necrotic lesions, and elevated salicylic acid levels [123]. The role of NMD in cancer and immunity likely depends on the tissues implicated and the associated genomic stress, but the effects of its inhibition in HTLV-1 unrelated examples likely converge with HTLV-1 phenotypes.

However, to clarify whether there is an effective link between NMD and HTLV-1-associated pathologies, the status of NMD in the later stages of the infection and in patient cells, ATL and HAM/TSP, has yet to be analysed. The absence of (+) strand transcription in most ATL cells due to epigenetic repression and genomic alterations raises the following questions: Is the burst of (+) strand expression sufficient to inhibit NMD? HBZ, the protein expressed from the HTLV-1 minus strand, is a critical component of cell proliferation and tumorigenesis and maintains constant expression during infection, in contrast to Tax and Rex; could it also be involved in NMD inhibition? NMD is also sensitive to bivalent cation concentrations [124], and interestingly, ATL patients show hypercalcemia; does this suggest that NMD can be constitutively inhibited? Without additional experimental data, these questions remain unanswered.

4. Concluding Remarks

Although HTLV-1 infects its host on the long term and can spread into the organism by inducing clonal expansion of infected cells, a strong immune response is usually directed against some of its protein. Over the years, models were proposed to explain this apparent contradiction. However, in these models, the intrinsic immunity operating within virus-infected cells, i.e., antiviral factors, are usually put aside. The very persistence of the HTLV-1 infections suggests that these mechanisms fail to restrict the virus or that HTLV-1 evolved countermeasures, if not completely, at least efficiently enough to allow minimum expression. In this review we have presented that HTLV-1 depends on a polycistronic RNA, which tends to have a long 3'UTR which is a critical NMD determinant. To protect

its mRNA, HTLV-1 evolved independent mechanisms to trans-inhibit NMD through two viral proteins: Tax and Rex. The strength of these countermeasures shows the size of the threat that NMD constitutes for viral replication and the place of NMD among the cellular antiviral function. Those conclusions are also supported by comparison with several other viruses, especially retroviruses and (+) RNA viruses, which RNAs are also targeted by NMD and that evolved protective means [33,35–37,39–43,87,125–127]. It is important to note that the viruses that develop a trans-inhibition process against NMD, such as HTLV-1 and potentially HIV, might only protect themselves progressively; before the viral inhibitor is expressed at an adequate level and while viral mRNA are at low level during the early phase of infection, the NMD would inhibit optimal viral replication as demonstrated with the mouse hepatitis virus (MHV, a prototypic member of the betacoronaviridae, as SARS-CoV and MERS-CoV), the plant virus potato virus X (alfaflexiviridae) and turnip crinkle virus (Tombusviridae) [37,39]. The importance of this initial slowdown of viral replication for the survival of the host on the long term is still unknown but deserves further investigations.

However, while HTLV-1 and the host cell seem to be engaged in an arms race involving NMD, we wonder which partner truly benefits from NMD inhibition during each steps of the infection. The virus, in the early steps, because it is able to produce viral particles again? The host, since NMD inhibition establishes the immune response? Is the apoptosis induced from NMD inhibition contributing to the clonal selection involved in leukaemia emergence? Could the NMD activity be controlled by an occasional burst of Tax expression and be involved in the latency exit as suggested with HIV [91]? Similarly, does NMD inhibition contribute to the genetic instability and cell adaptation associated with HTLV-1, as observed in NMD-related cancers? All these questions have yet to be addressed in detail. It is also rather interesting to note that these questions could be asked in the context of other antiviral processes where their activation could help HTLV-1 during clonal expansion. For instance, it was observed that APOBEC family members generate nonsense mutations on the (+) strand of the viral genome which favour the escape of HTLV-1-infected cells from the host immune system, while the HBZ (-) strand is not affected. Supporting that point, APOBEC family members seem to be more involved in the ATL progression than HAM/TSP in the actual literature.

Finally, multiple “NMD-like” processes have been recently discovered, and they depend on the RNA helicase UPF1 and factors recognizing specific RNA features. In addition to NMD, UPF1 is involved in replication-dependent histone mRNA decay, miRNA decay, glucocorticoid receptor-mediated mRNA decay and regnase1-mediated mRNA decay (RMD) (reviewed in [128]). Since evidence has shown that Tax inhibits UPF1 enzymatic activity by preventing its association with RNA [87], we can hypothesize that other RNA decay pathways that depend on UPF1 are also likely altered, extending the impact of UPF1 on HTLV-1 deregulation. Notably, RMD plays a critical role in immunity and inflammation with the downregulation of multiple transcripts, such as IL-6, IL-2, IL-1b, tumour necrosis factor receptor 2 (TNFR2), CD44, and the proto-oncogene c-Rel, which are also often characterized in HTLV-1 infection [111,129].

Considering HTLV-1 has already evolved counteracting measures to take advantage of the host machinery, it is still a promising strategy to gain insights into these molecular biology processes to better understand the virus biology and eventually develop efficient antiretroviral therapies.

Author Contributions: All authors have read and agreed to publish this version of the manuscript. Conceptualization, V.M.; writing—original draft preparation, L.P., V.M., and P.J.; writing—review and editing, L.P., V.M., and P.J.; supervision, V.M., and P.J.; funding acquisition, L.P. and V.M.

Acknowledgments: The authors acknowledge support from the Agence Nationale de Recherche contre le Sida (ANRS; 2019-1 ECTZ89398) to L.P.; grants from the ANRS (No. 2018-2 ECTZ75066) and from the Association de Recherche contre le Cancer (ARC 2018 PJA 20181207764) to V.M.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

Abbreviation

HTLV-1	Human T cell leukaemia/lymphoma virus type 1.
ATL	Adult T cell leukemia/lymphoma.
HAM/TSP	HTLV-1 associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis.
TRIM	Tripartite motif-containing protein.
APOBEC	Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like.
SAMHD1	SAM domain and HD domain-containing protein 1.
BTS2	Bone marrow stromal cell antigen 2.
ZAP	Zinc finger Antiviral Protein.
NMD	nonsense-mediated mRNA decay.
mRNP	Ribonucleoprotein associated with mRNA.
UTR	untranslated region.
PTC	Premature termination codon.
EJC	Exon-junction complex.
SMG1 PI3K	SMG1 nonsense mediated mRNA decay associated PI3K related kinase.
CCR4-NOT	The multi-subunit CCR4 (carbon catabolite repressor 4)-NOT (Negative on TATA) complex.
DCP1a/2	mRNA-decapping enzyme subunit 1a/2.
CREB-2/ATF4	C-AMP Response Element-binding protein 2/Activating transcription factor 4.

References

- Gessain, A.; Cassar, O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Front. Microbiol.* **2012**, *3*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Enose-Akahata, Y.; Vellucci, A.; Jacobson, S. Role of HTLV-1 Tax and HBZ in the Pathogenesis of HAM/TSP. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 2563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Gallo, R.C. The discovery of the first human retrovirus: HTLV-1 and HTLV-2. *Retrovirology* **2005**, *2*, 17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bangham, C.R.M. Human T Cell Leukemia Virus Type 1: Persistence and Pathogenesis. *Annu. Rev. Immunol.* **2018**, *36*, 43–71. [[CrossRef](#)]
- Alais, S.; Mahieux, R.; Dutartre, H. Viral Source-Independent High Susceptibility of Dendritic Cells to Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Infection Compared to That of T Lymphocytes. *J. Virol.* **2015**, *89*, 10580–10590. [[CrossRef](#)]
- Furuta, R.; Yasunaga, J.; Miura, M.; Sugata, K.; Saito, A.; Akari, H.; Ueno, T.; Takenouchi, N.; Fujisawa, J.; Koh, K.-R.; et al. Human T-cell leukemia virus type 1 infects multiple lineage hematopoietic cells in vivo. *PLoS Pathog.* **2017**, *13*. [[CrossRef](#)]
- Koyanagi, Y.; Itoyama, Y.; Nakamura, N.; Takamatsu, K.; Kira, J.; Iwamasa, T.; Goto, I.; Yamamoto, N. In vivo infection of human T-cell leukemia virus type I in non-T cells. *Virology* **1993**, *196*, 25–33. [[CrossRef](#)]
- Bangham, C.R.M. CTL quality and the control of human retroviral infections. *Eur. J. Immunol.* **2009**, *39*, 1700–1712. [[CrossRef](#)]
- Gazon, H.; Chauhan, P.; Hamaidia, M.; Hoyos, C.; Li, L.; Safari, R.; Willems, L. How Does HTLV-1 Undergo Oncogene-Dependent Replication Despite a Strong Immune Response? *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 2684. [[CrossRef](#)]
- Rocamonde, B.; Carcone, A.; Mahieux, R.; Dutartre, H. HTLV-1 infection of myeloid cells: From transmission to immune alterations. *Retrovirology* **2019**, *16*, 45. [[CrossRef](#)]
- Forlani, G.; Shallak, M.; Ramia, E.; Tedeschi, A.; Accolla, R.S. Restriction factors in human retrovirus infections and the unprecedented case of CIITA as link of intrinsic and adaptive immunity against HTLV-1. *Retrovirology* **2019**, *16*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Martin, J.L.; Maldonado, J.O.; Mueller, J.D.; Zhang, W.; Mansky, L.M. Molecular Studies of HTLV-1 Replication: An Update. *Viruses* **2016**, *8*, 31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Nozuma, S.; Matsuura, E.; Kodama, D.; Tashiro, Y.; Matsuzaki, T.; Kubota, R.; Izumo, S.; Takashima, H. Effects of host restriction factors and the HTLV-1 subtype on susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Retrovirology* **2017**, *14*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

14. Leal, F.E.; Menezes, S.M.; Costa, E.A.S.; Brailey, P.M.; Gama, L.; Segurado, A.C.; Kallas, E.G.; Nixon, D.F.; Dierckx, T.; Khouri, R.; et al. Comprehensive Antiretroviral Restriction Factor Profiling Reveals the Evolutionary Imprint of the ex Vivo and in Vivo IFN- β Response in HTLV-1-Associated Neuroinflammation. *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 985. [\[CrossRef\]](#)
15. Gramberg, T.; Kahle, T.; Bloch, N.; Wittmann, S.; Müllers, E.; Daddacha, W.; Hofmann, H.; Kim, B.; Lindemann, D.; Landau, N.R. Restriction of diverse retroviruses by SAMHD1. *Retrovirology* **2013**, *10*, 26. [\[CrossRef\]](#)
16. Chiang, K.; Rice, A.P. MicroRNA-mediated restriction of HIV-1 in resting CD4⁺ T cells and monocytes. *Viruses* **2012**, *4*, 1390–1409. [\[CrossRef\]](#)
17. Sampey, G.C.; Van Duyne, R.; Curren, R.; Das, R.; Narayanan, A.; Kashanchi, F. Complex role of microRNAs in HTLV-1 infections. *Front. Genet.* **2012**, *3*, 295. [\[CrossRef\]](#)
18. Zhu, Y.; Wang, X.; Goff, S.P.; Gao, G. Translational repression precedes and is required for ZAP-mediated mRNA decay. *EMBO J.* **2012**, *31*, 4236–4246. [\[CrossRef\]](#)
19. Soliman, M.; Srikrishna, G.; Balagopal, A. Mechanisms of HIV Control. *Curr. HIV/AIDS Rep.* **2017**, *14*, 101–109. [\[CrossRef\]](#)
20. Dassouki, Z.; Sahin, U.; El Hajj, H.; Jollivet, F.; Kfoury, Y.; Lallemand-Breitenbach, V.; Hermine, O.; de Thé, H.; Bazarbachi, A. ATL response to arsenic/interferon therapy is triggered by SUMO/PML/RNF4-dependent Tax degradation. *Blood* **2015**, *125*, 474–482. [\[CrossRef\]](#)
21. Mahieux, R.; Suspène, R.; Delebecque, F.; Henry, M.; Schwartz, O.; Wain-Hobson, S.; Vartanian, J.-P. Extensive editing of a small fraction of human T-cell leukemia virus type 1 genomes by four APOBEC3 cytidine deaminases. *J. Gen. Virol.* **2005**, *86*, 2489–2494. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Sasada, A.; Takaori-Kondo, A.; Shirakawa, K.; Kobayashi, M.; Abudu, A.; Hishizawa, M.; Imada, K.; Tanaka, Y.; Uchiyama, T. APOBEC3G targets human T-cell leukemia virus type 1. *Retrovirology* **2005**, *2*, 32. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Ooms, M.; Krikoni, A.; Kress, A.K.; Simon, V.; Münk, C. APOBEC3A, APOBEC3B, and APOBEC3H haplotype 2 restrict human T-lymphotropic virus type 1. *J. Virol.* **2012**, *86*, 6097–6108. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Derse, D.; Hill, S.A.; Princler, G.; Lloyd, P.; Heidecker, G. Resistance of human T cell leukemia virus type 1 to APOBEC3G restriction is mediated by elements in nucleocapsid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 2915–2920. [\[CrossRef\]](#)
25. Fan, J.; Ma, G.; Nosaka, K.; Tanabe, J.; Satou, Y.; Koito, A.; Wain-Hobson, S.; Vartanian, J.P.; Matsuoka, M. APOBEC3G generates nonsense mutations in human T-cell leukemia virus type 1 proviral genomes in vivo. *J. Virol.* **2010**, *84*, 7278–7287. [\[CrossRef\]](#)
26. Kataoka, K.; Nagata, Y.; Kitanaka, A.; Shiraishi, Y.; Shimamura, T.; Yasunaga, J.-I.; Totoki, Y.; Chiba, K.; Sato-Osubo, A.; Nagae, G.; et al. Integrated molecular analysis of adult T cell leukemia/lymphoma. *Nat. Genet.* **2015**, *47*, 1304–1315. [\[CrossRef\]](#)
27. Yao, J.; Tanaka, M.; Takenouchi, N.; Ren, Y.; Lee, S.-I.; Fujisawa, J.-I. Induction of APOBEC3B cytidine deaminase in HTLV-1-infected humanized mice. *Exp. Ther. Med.* **2019**, *17*, 3701–3708. [\[CrossRef\]](#)
28. Chen, S.; Bonifati, S.; Qin, Z.; St Gelais, C.; Kodigepalli, K.M.; Barrett, B.S.; Kim, S.H.; Antonucci, J.M.; Ladner, K.J.; Buzovetsky, O.; et al. SAMHD1 suppresses innate immune responses to viral infections and inflammatory stimuli by inhibiting the NF- κ B and interferon pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, E3798–E3807. [\[CrossRef\]](#)
29. Sze, A.; Belgnaoui, S.M.; Olganier, D.; Lin, R.; Hiscott, J.; van Grevenynghe, J. Host restriction factor SAMHD1 limits human T cell leukemia virus type 1 infection of monocytes via STING-mediated apoptosis. *Cell Host Microbe* **2013**, *14*, 422–434. [\[CrossRef\]](#)
30. Bai, X.T.; Nicot, C. miR-28-3p is a cellular restriction factor that inhibits human T cell leukemia virus, type 1 (HTLV-1) replication and virus infection. *J. Biol. Chem.* **2015**, *290*, 5381–5390. [\[CrossRef\]](#)
31. Ilinskaya, A.; Derse, D.; Hill, S.; Princler, G.; Heidecker, G. Cell-cell transmission allows human T-lymphotropic virus 1 to circumvent tetherin restriction. *Virology* **2013**, *436*, 201–209. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Miyazato, P.; Matsuo, M.; Tan, B.J.Y.; Tokunaga, M.; Katsuya, H.; Islam, S.; Ito, J.; Murakawa, Y.; Satou, Y. HTLV-1 contains a high CG dinucleotide content and is susceptible to the host antiviral protein ZAP. *Retrovirology* **2019**, *16*, 38. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

33. Balistreri, G.; Horvath, P.; Schweingruber, C.; Zünd, D.; McInerney, G.; Merits, A.; Mühlemann, O.; Azzalin, C.; Helenius, A. The host nonsense-mediated mRNA decay pathway restricts Mammalian RNA virus replication. *Cell Host Microbe* **2014**, *16*, 403–411. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. LeBlanc, J.J.; Beemon, K.L. Unspliced Rous sarcoma virus genomic RNAs are translated and subjected to nonsense-mediated mRNA decay before packaging. *J. Virol.* **2004**, *78*, 5139–5146. [\[CrossRef\]](#)
35. Fontaine, K.A.; Leon, K.E.; Khalid, M.M.; Tomar, S.; Jimenez-Morales, D.; Dunlap, M.; Kaye, J.A.; Shah, P.S.; Finkbeiner, S.; Krogan, N.J.; et al. The Cellular NMD Pathway Restricts Zika Virus Infection and Is Targeted by the Viral Capsid Protein. *mBio* **2018**, *9*. [\[CrossRef\]](#)
36. Li, M.; Johnson, J.R.; Truong, B.; Kim, G.; Weinbren, N.; Dittmar, M.; Shah, P.S.; Von Dollen, J.; Newton, B.W.; Jang, G.M.; et al. Identification of antiviral roles for the exon-junction complex and nonsense-mediated decay in flaviviral infection. *Nat. Microbiol.* **2019**, *4*, 985–995. [\[CrossRef\]](#)
37. Garcia, D.; Garcia, S.; Voinnet, O. Nonsense-mediated decay serves as a general viral restriction mechanism in plants. *Cell Host Microbe* **2014**, *16*, 391–402. [\[CrossRef\]](#)
38. Rao, S.; Amorim, R.; Niu, M.; Breton, Y.; Tremblay, M.J.; Mouland, A.J. Host mRNA decay proteins influence HIV-1 replication and viral gene expression in primary monocyte-derived macrophages. *Retrovirology* **2019**, *16*, 3. [\[CrossRef\]](#)
39. Wada, M.; Lokugamage, K.G.; Nakagawa, K.; Narayanan, K.; Makino, S. Interplay between coronavirus, a cytoplasmic RNA virus, and nonsense-mediated mRNA decay pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, E10157–E10166. [\[CrossRef\]](#)
40. May, J.P.; Yuan, X.; Sawicki, E.; Simon, A.E. RNA virus evasion of nonsense-mediated decay. *PLoS Pathog.* **2018**, *14*, e1007459. [\[CrossRef\]](#)
41. Lukhovitskaya, N.; Ryabova, L.A. Cauliflower mosaic virus transactivator protein (TAV) can suppress nonsense-mediated decay by targeting VARICOSE, a scaffold protein of the decapping complex. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 7042. [\[CrossRef\]](#)
42. Mocquet, V.; Neusiedler, J.; Rende, F.; Cluet, D.; Robin, J.P.; Terme, J.M.; Duc Dodon, M.; Wittmann, J.; Morris, C.; Le Hir, H.; et al. The human T-lymphotropic virus type 1 tax protein inhibits nonsense-mediated mRNA decay by interacting with INT6/EIF3E and UPF1. *J. Virol.* **2012**, *86*, 7530–7543. [\[CrossRef\]](#)
43. Nakano, K.; Ando, T.; Yamagishi, M.; Yokoyama, K.; Ishida, T.; Ohsugi, T.; Tanaka, Y.; Brighty, D.W.; Watanabe, T. Viral interference with host mRNA surveillance, the nonsense-mediated mRNA decay (NMD) pathway, through a new function of HTLV-1 Rex: Implications for retroviral replication. *Microbes Infect.* **2013**, *15*, 491–505. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Zund, D.; Gruber, A.R.; Zavolan, M.; Muhlemann, O. Translation-dependent displacement of UPF1 from coding sequences causes its enrichment in 3' UTRs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2013**, *20*, 936–943. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Hurt, J.A.; Robertson, A.D.; Burge, C.B. Global analyses of UPF1 binding and function reveal expanded scope of nonsense-mediated mRNA decay. *Genome Res.* **2013**, *23*, 1636–1650. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Neu-Yilik, G.; Raimondeau, E.; Eliseev, B.; Yeramala, L.; Amthor, B.; Deniaud, A.; Huard, K.; Kerschgens, K.; Hentze, M.W.; Schaffitzel, C.; et al. Dual function of UPF3B in early and late translation termination. *EMBO J.* **2017**, *36*, 2968–2986. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Kashima, I.; Yamashita, A.; Izumi, N.; Kataoka, N.; Morishita, R.; Hoshino, S.; Ohno, M.; Dreyfuss, G.; Ohno, S. Binding of a novel SMG-1-Upf1-eRF1-eRF3 complex (SURF) to the exon junction complex triggers Upf1 phosphorylation and nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* **2006**, *20*, 355–367. [\[CrossRef\]](#)
48. Yamashita, A.; Izumi, N.; Kashima, I.; Ohnishi, T.; Saari, B.; Katsuhata, Y.; Muramatsu, R.; Morita, T.; Iwamatsu, A.; Hachiya, T.; et al. SMG-8 and SMG-9, two novel subunits of the SMG-1 complex, regulate remodeling of the mRNA surveillance complex during nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* **2009**, *23*, 1091–1105. [\[CrossRef\]](#)
49. Yamashita, A.; Ohnishi, T.; Kashima, I.; Taya, Y.; Ohno, S. Human SMG-1, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase, associates with components of the mRNA surveillance complex and is involved in the regulation of nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* **2001**, *15*, 2215–2228. [\[CrossRef\]](#)
50. Chamieh, H.; Ballut, L.; Bonneau, F.; Le Hir, H. NMD factors UPF2 and UPF3 bridge UPF1 to the exon junction complex and stimulate its RNA helicase activity. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2008**, *15*, 85–93. [\[CrossRef\]](#)
51. Hug, N.; Cáceres, J.F. The RNA helicase DHX34 activates NMD by promoting a transition from the surveillance to the decay-inducing complex. *Cell Rep.* **2014**, *8*, 1845–1856. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

52. Melero, R.; Hug, N.; López-Perrote, A.; Yamashita, A.; Cáceres, J.F.; Llorca, O. The RNA helicase DHX34 functions as a scaffold for SMG1-mediated UPF1 phosphorylation. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 10585. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Melero, R.; Uchiyama, A.; Castaño, R.; Kataoka, N.; Kurosawa, H.; Ohno, S.; Yamashita, A.; Llorca, O. Structures of SMG1-UPFs Complexes: SMG1 Contributes to Regulate UPF2-Dependent Activation of UPF1 in NMD. *Structure* **2014**, *22*, 1105–1119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Melero, R.; Buchwald, G.; Castano, R.; Raabe, M.; Gil, D.; Lazaro, M.; Urlaub, H.; Conti, E.; Llorca, O. The cryo-EM structure of the UPF-EJC complex shows UPF1 poised toward the RNA 3' end. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2012**, *19*, 498–505. [[CrossRef](#)]
55. Chakrabarti, S.; Jayachandran, U.; Bonneau, F.; Fiorini, F.; Basquin, C.; Domcke, S.; Le Hir, H.; Conti, E. Molecular mechanisms for the RNA-dependent ATPase activity of Upf1 and its regulation by Upf2. *Mol. Cell* **2011**, *41*, 693–703. [[CrossRef](#)]
56. Durand, S.; Franks, T.M.; Lykke-Andersen, J. Hyperphosphorylation amplifies UPF1 activity to resolve stalls in nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 12434. [[CrossRef](#)]
57. Franks, T.M.; Singh, G.; Lykke-Andersen, J. Upf1 ATPase-dependent mRNP disassembly is required for completion of nonsense-mediated mRNA decay. *Cell* **2010**, *143*, 938–950. [[CrossRef](#)]
58. Cho, H.; Han, S.; Choe, J.; Park, S.G.; Choi, S.S.; Kim, Y.K. SMG5-PNRC2 is functionally dominant compared with SMG5-SMG7 in mammalian nonsense-mediated mRNA decay. *Nucleic Acids Res.* **2013**, *41*, 1319–1328. [[CrossRef](#)]
59. Loh, B.; Jonas, S.; Izaurralde, E. The SMG5-SMG7 heterodimer directly recruits the CCR4-NOT deadenylase complex to mRNAs containing nonsense codons via interaction with POP2. *Genes Dev.* **2013**, *27*, 2125–2138. [[CrossRef](#)]
60. Unterholzner, L.; Izaurralde, E. SMG7 acts as a molecular link between mRNA surveillance and mRNA decay. *Mol. Cell* **2004**, *16*, 587–596. [[CrossRef](#)]
61. Ohnishi, T.; Yamashita, A.; Kashima, I.; Schell, T.; Anders, K.R.; Grimson, A.; Hachiya, T.; Hentze, M.W.; Anderson, P.; Ohno, S. Phosphorylation of hUPF1 induces formation of mRNA surveillance complexes containing hSMG-5 and hSMG-7. *Mol. Cell* **2003**, *12*, 1187–1200. [[CrossRef](#)]
62. Dyle, M.C.; Kolakada, D.; Cortazar, M.A.; Jagannathan, S. How to get away with nonsense: Mechanisms and consequences of escape from nonsense-mediated RNA decay. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* **2020**, *11*, e1560. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Kishor, A.; Fritz, S.E.; Hogg, J.R. Nonsense-mediated mRNA decay: The challenge of telling right from wrong in a complex transcriptome. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* **2019**, *10*, e1548. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Karousis, E.D.; Mühlemann, O. Nonsense-Mediated mRNA Decay Begins Where Translation Ends. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2019**, *11*. [[CrossRef](#)]
65. Kashima, I.; Jonas, S.; Jayachandran, U.; Buchwald, G.; Conti, E.; Lupas, A.N.; Izaurralde, E. SMG6 interacts with the exon junction complex via two conserved EJC-binding motifs (EBMs) required for nonsense-mediated mRNA decay. *Genes Dev.* **2010**, *24*, 2440–2450. [[CrossRef](#)]
66. Mabin, J.W.; Woodward, L.A.; Patton, R.D.; Yi, Z.; Jia, M.; Wysocki, V.H.; Bundschuh, R.; Singh, G. The Exon Junction Complex Undergoes a Compositional Switch that Alters mRNP Structure and Nonsense-Mediated mRNA Decay Activity. *Cell Rep.* **2018**, *25*, 2431–2446.e7. [[CrossRef](#)]
67. Ge, Z.; Quek, B.L.; Beemon, K.L.; Hogg, J.R. Polypyrimidine tract binding protein 1 protects mRNAs from recognition by the nonsense-mediated mRNA decay pathway. *Elife* **2016**, *5*. [[CrossRef](#)]
68. Kishor, A.; Ge, Z.; Hogg, J.R. hnRNP L-dependent protection of normal mRNAs from NMD subverts quality control in B cell lymphoma. *EMBO J.* **2019**, *38*. [[CrossRef](#)]
69. Kurosaki, T.; Popp, M.W.; Maquat, L.E. Quality and quantity control of gene expression by nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2019**, *20*, 406–420. [[CrossRef](#)]
70. Gardner, L.B. Hypoxic inhibition of nonsense-mediated RNA decay regulates gene expression and the integrated stress response. *Mol. Cell. Biol.* **2008**, *28*, 3729–3741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
71. Mendell, J.T.; Sharifi, N.A.; Meyers, J.L.; Martinez-Murillo, F.; Dietz, H.C. Nonsense surveillance regulates expression of diverse classes of mammalian transcripts and mutes genomic noise. *Nat. Genet.* **2004**, *36*, 1073–1078. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Vattam, K.M.; Wek, R.C. Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 11269–11274. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

73. Ge, Y.; Porse, B.T. The functional consequences of intron retention: Alternative splicing coupled to NMD as a regulator of gene expression. *Bioessays* **2014**, *36*, 236–243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Lewis, B.P.; Green, R.E.; Brenner, S.E. Evidence for the widespread coupling of alternative splicing and nonsense-mediated mRNA decay in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 189–192. [[CrossRef](#)]
75. Saltzman, A.L.; Kim, Y.K.; Pan, Q.; Fagnani, M.M.; Maquat, L.E.; Blencowe, B.J. Regulation of multiple core spliceosomal proteins by alternative splicing-coupled nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell. Biol.* **2008**, *28*, 4320–4330. [[CrossRef](#)]
76. Weischenfeldt, J.; Waage, J.; Tian, G.; Zhao, J.; Damgaard, I.; Jakobsen, J.S.; Kristiansen, K.; Krogh, A.; Wang, J.; Porse, B.T. Mammalian tissues defective in nonsense-mediated mRNA decay display highly aberrant splicing patterns. *Genome Biol.* **2012**, *13*, R35. [[CrossRef](#)]
77. Belew, A.T.; Meskauskas, A.; Musalgaonkar, S.; Advani, V.M.; Sulima, S.O.; Kasprzak, W.K.; Shapiro, B.A.; Dinman, J.D. Ribosomal frameshifting in the CCR5 mRNA is regulated by miRNAs and the NMD pathway. *Nature* **2014**, *512*, 265–269. [[CrossRef](#)]
78. Mocquet, V.; Durand, S.; Jalinot, P. How retroviruses escape the Nonsense Mediated mRNA Decay (NMD)? *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **2015**. [[CrossRef](#)]
79. Mazumder, B.; Seshadri, V.; Fox, P.L. Translational control by the 3'-UTR: The ends specify the means. *Trends Biochem. Sci.* **2003**, *28*, 91–98. [[CrossRef](#)]
80. Weil, J.E.; Beemon, K.L. A 3' UTR sequence stabilizes termination codons in the unspliced RNA of Rous sarcoma virus. *RNA* **2006**, *12*, 102–110. [[CrossRef](#)]
81. Hogg, J.R.; Goff, S.P. Upf1 senses 3'UTR length to potentiate mRNA decay. *Cell* **2010**, *143*, 379–389. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Zhao, L.J.; Giam, C.Z. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) transcriptional activator, Tax, enhances CREB binding to HTLV-I 21-base-pair repeats by protein-protein interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 7070–7074. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Brown, A.; Shao, S.; Murray, J.; Hegde, R.S.; Ramakrishnan, V. Structural basis for stop codon recognition in eukaryotes. *Nature* **2015**, *524*, 493–496. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Zhang, L.-L.; Wei, J.-Y.; Wang, L.; Huang, S.; Chen, J.-L. Human T-cell lymphotropic virus type 1 and its oncogenesis. *Acta Pharmacol. Sin.* **2017**, *38*, 1093–1103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Desbois, C.; Rousset, R.; Bantignies, F.; Jalinot, P. Exclusion of Int-6 from PML nuclear bodies by binding to the HTLV-I Tax oncoprotein. *Science* **1996**, *273*, 951–953. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Morris, C.; Wittmann, J.; Jack, H.M.; Jalinot, P. Human INT6/eIF3e is required for nonsense-mediated mRNA decay. *EMBO Rep* **2007**, *8*, 596–602. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Fiorini, F.; Robin, J.-P.; Kanaan, J.; Borowiak, M.; Croquette, V.; Le Hir, H.; Jalinot, P.; Mocquet, V. HTLV-1 Tax plugs and freezes UPF1 helicase leading to nonsense-mediated mRNA decay inhibition. *Nat. Commun.* **2018**, *9*. [[CrossRef](#)]
88. Hidaka, M.; Inoue, J.; Yoshida, M.; Seiki, M. Post-transcriptional regulator (rex) of HTLV-1 initiates expression of viral structural proteins but suppresses expression of regulatory proteins. *EMBO J.* **1988**, *7*, 519–523. [[CrossRef](#)]
89. Hakata, Y.; Umemoto, T.; Matsushita, S.; Shida, H. Involvement of human CRM1 (exportin 1) in the export and multimerization of the Rex protein of human T-cell leukemia virus type 1. *J. Virol.* **1998**, *72*, 6602–6607. [[CrossRef](#)]
90. Nakano, K.; Watanabe, T. HTLV-1 Rex Tunes the Cellular Environment Favorable for Viral Replication. *Viruses* **2016**, *8*, 58. [[CrossRef](#)]
91. Rao, S.; Amorim, R.; Niu, M.; Temzi, A.; Mouland, A.J. The RNA surveillance proteins UPF1, UPF2 and SMG6 affect HIV-1 reactivation at a post-transcriptional level. *Retrovirology* **2018**, *15*, 42. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Rende, F.; Cavallari, I.; Corradin, A.; Silic-Benussi, M.; Toulza, F.; Toffolo, G.M.; Tanaka, Y.; Jacobson, S.; Taylor, G.P.; D'Agostino, D.M.; et al. Kinetics and intracellular compartmentalization of HTLV-1 gene expression: Nuclear retention of HBZ mRNAs. *Blood* **2011**, *117*, 4855–4859. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Billman, M.R.; Rueda, D.; Bangham, C.R.M. Single-cell heterogeneity and cell-cycle-related viral gene bursts in the human leukaemia virus HTLV-1. *Wellcome Open Res.* **2017**, *2*, 87. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
94. Rowan, A.G.; Suemori, K.; Fujiwara, H.; Yasukawa, M.; Tanaka, Y.; Taylor, G.P.; Bangham, C.R.M. Cytotoxic T lymphocyte lysis of HTLV-1 infected cells is limited by weak HBZ protein expression, but non-specifically enhanced on induction of Tax expression. *Retrovirology* **2014**, *11*, 116. [[CrossRef](#)]

95. Matsuoka, M.; Mesnard, J.-M. HTLV-1 bZIP factor: The key viral gene for pathogenesis. *Retrovirology* **2020**, *17*, 2. [\[CrossRef\]](#)
96. Ho, Y.-K.; Zhi, H.; DeBiaso, D.; Philip, S.; Shih, H.-M.; Giam, C.-Z. HTLV-1 tax-induced rapid senescence is driven by the transcriptional activity of NF- κ B and depends on chronically activated IKK α and p65/RelA. *J. Virol.* **2012**, *86*, 9474–9483. [\[CrossRef\]](#)
97. Philip, S.; Zahoor, M.A.; Zhi, H.; Ho, Y.-K.; Giam, C.-Z. Regulation of human T-lymphotropic virus type I latency and reactivation by HBZ and Rex. *PLoS Pathog.* **2014**, *10*, e1004040. [\[CrossRef\]](#)
98. Zhi, H.; Yang, L.; Kuo, Y.-L.; Ho, Y.-K.; Shih, H.-M.; Giam, C.-Z. NF- κ B hyper-activation by HTLV-1 tax induces cellular senescence, but can be alleviated by the viral anti-sense protein HBZ. *PLoS Pathog.* **2011**, *7*, e1002025. [\[CrossRef\]](#)
99. Giam, C.-Z.; Semmes, O.J. HTLV-1 Infection and Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma—A Tale of Two Proteins: Tax and HBZ. *Viruses* **2016**, *8*, 161. [\[CrossRef\]](#)
100. Yamagishi, M.; Watanabe, T. Molecular hallmarks of adult T cell leukemia. *Front. Microbiol.* **2012**, *3*, 334. [\[CrossRef\]](#)
101. Wittmann, J.; Hol, E.M.; Jack, H.M. hUPF2 silencing identifies physiologic substrates of mammalian nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell. Biol.* **2006**, *26*, 1272–1287. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
102. Lou, C.H.; Shao, A.; Shum, E.Y.; Espinoza, J.L.; Huang, L.; Karam, R.; Wilkinson, M.F. Posttranscriptional control of the stem cell and neurogenic programs by the nonsense-mediated RNA decay pathway. *Cell Rep.* **2014**, *6*, 748–764. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
103. Jia, J.; Furlan, A.; Gonzalez-Hilarion, S.; Leroy, C.; Gruenert, D.C.; Tulasne, D.; Lejeune, F. Caspases shutdown nonsense-mediated mRNA decay during apoptosis. *Cell Death Differ.* **2015**, *22*, 1754–1763. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
104. Popp, M.W.; Maquat, L.E. Attenuation of nonsense-mediated mRNA decay facilitates the response to chemotherapeutics. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6632. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
105. Chevalier, S.A.; Durand, S.; Dasgupta, A.; Radonovich, M.; Cimarelli, A.; Brady, J.N.; Mahieux, R.; Pise-Masison, C.A. The transcription profile of Tax-3 is more similar to Tax-1 than Tax-2: Insights into HTLV-3 potential leukemogenic properties. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e41003. [\[CrossRef\]](#)
106. Nelson, J.O.; Moore, K.A.; Chapin, A.; Hollien, J.; Metzstein, M.M. Degradation of Gadd45 mRNA by nonsense-mediated decay is essential for viability. *Elife* **2016**, *5*. [\[CrossRef\]](#)
107. Weischenfeldt, J.; Damgaard, I.; Bryder, D.; Theilgaard-Monch, K.; Thoren, L.A.; Nielsen, F.C.; Jacobsen, S.E.; Nerlov, C.; Porse, B.T. NMD is essential for hematopoietic stem and progenitor cells and for eliminating by-products of programmed DNA rearrangements. *Genes Dev.* **2008**, *22*, 1381–1396. [\[CrossRef\]](#)
108. Medghalchi, S.M.; Frischmeyer, P.A.; Mendell, J.T.; Kelly, A.G.; Lawler, A.M.; Dietz, H.C. Rnt1, a trans-effector of nonsense-mediated mRNA decay, is essential for mammalian embryonic viability. *Hum. Mol. Genet.* **2001**, *10*, 99–105. [\[CrossRef\]](#)
109. McIlwain, D.R.; Pan, Q.; Reilly, P.T.; Elia, A.J.; McCracken, S.; Wakeham, A.C.; Itie-Youten, A.; Blencowe, B.J.; Mak, T.W. Smg1 is required for embryogenesis and regulates diverse genes via alternative splicing coupled to nonsense-mediated mRNA decay. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 12186–12191. [\[CrossRef\]](#)
110. Huang, L.; Shum, E.Y.; Jones, S.H.; Lou, C.-H.; Dumdie, J.; Kim, H.; Roberts, A.J.; Jolly, L.A.; Espinoza, J.L.; Skarbrevik, D.M.; et al. A Upf3b-mutant mouse model with behavioral and neurogenesis defects. *Mol. Psychiatry* **2018**, *23*, 1773–1786. [\[CrossRef\]](#)
111. Futsch, N.; Prates, G.; Mahieux, R.; Casseb, J.; Dutartre, H. Cytokine Networks Dysregulation during HTLV-1 Infection and Associated Diseases. *Viruses* **2018**, *10*, 691. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
112. Kogure, Y.; Kataoka, K. Genetic alterations in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci.* **2017**, *108*, 1719–1725. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Anczukow, O.; Ware, M.D.; Buisson, M.; Zetoune, A.B.; Stoppa-Lyonnet, D.; Sinilnikova, O.M.; Mazoyer, S. Does the nonsense-mediated mRNA decay mechanism prevent the synthesis of truncated BRCA1, CHK2, and p53 proteins? *Hum. Mutat.* **2008**, *29*, 65–73. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
114. Perrin-Vidoz, L.; Sinilnikova, O.M.; Stoppa-Lyonnet, D.; Lenoir, G.M.; Mazoyer, S. The nonsense-mediated mRNA decay pathway triggers degradation of most BRCA1 mRNAs bearing premature termination codons. *Hum. Mol. Genet.* **2002**, *11*, 2805–2814. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

115. Liu, C.; Karam, R.; Zhou, Y.; Su, F.; Ji, Y.; Li, G.; Xu, G.; Lu, L.; Wang, C.; Song, M.; et al. The UPF1 RNA surveillance gene is commonly mutated in pancreatic adenosquamous carcinoma. *Nat. Med.* **2014**, *20*, 596–598. [[CrossRef](#)]
116. Chang, L.; Li, C.; Guo, T.; Wang, H.; Ma, W.; Yuan, Y.; Liu, Q.; Ye, Q.; Liu, Z. The human RNA surveillance factor UPF1 regulates tumorigenesis by targeting Smad7 in hepatocellular carcinoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2016**, *35*, 8. [[CrossRef](#)]
117. Bokhari, A.; Jonchere, V.; Lagrange, A.; Bertrand, R.; Svrcek, M.; Marisa, L.; Buhard, O.; Greene, M.; Demidova, A.; Jia, J.; et al. Targeting nonsense-mediated mRNA decay in colorectal cancers with microsatellite instability. *Oncogenesis* **2018**, *7*, 70. [[CrossRef](#)]
118. Karam, R.; Wilkinson, M. A conserved microRNA/NMD regulatory circuit controls gene expression. *RNA Biol.* **2012**, *9*, 22–26. [[CrossRef](#)]
119. Gardner, L.B. Nonsense-mediated RNA decay regulation by cellular stress: Implications for tumorigenesis. *Mol. Cancer Res.* **2010**, *8*, 295–308. [[CrossRef](#)]
120. Wengrod, J.; Martin, L.; Wang, D.; Frischmeyer-Guerrerio, P.; Dietz, H.C.; Gardner, L.B. Inhibition of nonsense-mediated RNA decay activates autophagy. *Mol. Cell. Biol.* **2013**, *33*, 2128–2135. [[CrossRef](#)]
121. Wang, D.; Zavadil, J.; Martin, L.; Parisi, F.; Friedman, E.; Levy, D.; Harding, H.; Ron, D.; Gardner, L.B. Inhibition of nonsense-mediated RNA decay by the tumor microenvironment promotes tumorigenesis. *Mol. Cell. Biol.* **2011**, *31*, 3670–3680. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
122. Johnson, J.L.; Stoica, L.; Liu, Y.; Zhu, P.J.; Bhattacharya, A.; Buffington, S.A.; Huq, R.; Eissa, N.T.; Larsson, O.; Porse, B.T.; et al. Inhibition of Upf2-Dependent Nonsense-Mediated Decay Leads to Behavioral and Neurophysiological Abnormalities by Activating the Immune Response. *Neuron* **2019**, *104*, 665–679.e8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
123. Gloggnitzer, J.; Akimcheva, S.; Srinivasan, A.; Kusenda, B.; Riehs, N.; Stampfl, H.; Bautor, J.; Dekrout, B.; Jonak, C.; Jiménez-Gómez, J.M.; et al. Nonsense-Mediated mRNA Decay Modulates Immune Receptor Levels to Regulate Plant Antibacterial Defense. *Cell Host Microbe* **2014**, *16*, 376–390. [[CrossRef](#)]
124. Nickless, A.; Jackson, E.; Marasa, J.; Nugent, P.; Mercer, R.W.; Piwnica-Worms, D.; You, Z. Intracellular calcium regulates nonsense-mediated mRNA decay. *Nat. Med.* **2014**, *20*, 961–966. [[CrossRef](#)]
125. Ajamian, L.; Abel, K.; Rao, S.; Vyboh, K.; García-de-Gracia, F.; Soto-Rifo, R.; Kulozik, A.E.; Gehring, N.H.; Mouland, A.J. HIV-1 Recruits UPF1 but Excludes UPF2 to Promote Nucleocytoplasmic Export of the Genomic RNA. *Biomolecules* **2015**, *5*, 2808–2839. [[CrossRef](#)]
126. Ramage, H.R.; Kumar, G.R.; Verschuere, E.; Johnson, J.R.; Von Dollen, J.; Johnson, T.; Newton, B.; Shah, P.; Horner, J.; Krogan, N.J.; et al. A combined proteomics/genomics approach links hepatitis C virus infection with nonsense-mediated mRNA decay. *Mol. Cell* **2015**, *57*, 329–340. [[CrossRef](#)]
127. Tang, X.; Zhu, Y.; Baker, S.L.; Bowler, M.W.; Chen, B.J.; Chen, C.; Hogg, J.R.; Goff, S.P.; Song, H. Structural basis of suppression of host translation termination by Moloney Murine Leukemia Virus. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 12070. [[CrossRef](#)]
128. Kim, Y.K.; Maquat, L.E. UPFront and center in RNA decay: UPF1 in nonsense-mediated mRNA decay and beyond. *RNA* **2019**, *25*, 407–422. [[CrossRef](#)]
129. Mino, T.; Iwai, N.; Endo, M.; Inoue, K.; Akaki, K.; Hia, F.; Uehata, T.; Emura, T.; Hidaka, K.; Suzuki, Y.; et al. Translation-dependent unwinding of stem-loops by UPF1 licenses Regnase-1 to degrade inflammatory mRNAs. *Nucleic Acids Res.* **2019**, *47*, 8838–8859. [[CrossRef](#)]

