**Résumé**

**La chaperone d’histones, HIRA, est essentielle dans l’établissment précoce du minichromosome du virus de l’hépatite B.**

Le virus de l’hépatite B (HBV) infecte de manière chronique 240 millions de personnes dans le monde, et est la principale cause de carcinome hépatocellulaire. Actuellement, les traitements standards permettent une suppression virale à long terme, mais ne sont pas capables d’éliminer complètement le virus, en raison de la persistance de l’ADN circulaire et clos de façon covalente.

Ce minichromosome viral réside dans le noyau des hépatocytes infectés, grâce à sa structure chromatinienne. En effet, lors de l’infection d’un hépatocyte, l’ADN viral partiellement double brin (ADN relaché circulaire (rc)) est libéré dans le noyau, où il est réparé et enveloppé par des protéines histones, afin de former une structure d’épisome chromatinisé. Les méchanismes conduisant à la formation ainsi qu’à la chromatinisation de l’ADNccc sont encore largement inconnus, et leur élucidation constituerait une première étape vers l’identification de nouvelles cibles thérapeutiques, susceptibles d’altérer la persistance de l’ADNccc. Dans ce but, nous avons étudié le rôle des facteurs hôtes de réparation de l’ADN, et des voies d’assemblage des nucléosomes, dans la formation de l’ADNccc, à des stades précoces (entre 30 minutes et 72 heures) de l’infection, dans des lignées cellulaires d’HepG2-NTCP, ainsi que dans des hépatocytes primaires humains. Nous nous sommes particulièrement concentrés sur la protéine chaperone d’histones, HIRA, qui est connue pour déposer le variant d’histone 3.3 (H3.3) sur l’ADN cellulaire d’une manière indépendante de la réplication et en association avec le remaniement des nucléosomes pendant la transcription et la réparation de l’ADN.

Nous avons été capables de détecter l’ADNccc dans la fraction nucléaire des hépatocytes dès 30 minutes et 24 heures post-infection, par qPCR et Southern Blotting (SB), respectivement. L’extinction de HIRA par ARN interférent (siARN) avant l’inoculation du virus, a conduit à une forte diminution de l’accumulation de l’ADNccc (à la fois par qPCR et southern blot), qui était indépendante de la protéine HBx (en utilisant un virus HBx-défectueux). Les niveaux d’ADNrc sont restés stables, indiquant soit une éventuelle transition de l’ADNrc en ADNccc incomplète, ou retardée. L’analyse par immunoprécipitation de la chromatine a montré que HIRA était liée à l’ADNccc dès 30 minutes après infection, et que son recrutement était concomitant avec le dépot de l’histone H3.3, ainsi que la liaison de la protéine de capside du HBV (HBc). Après 24 heures d’infection, une augmentation de la liaison de H3.3 et de l’ARN polymerase II sur l’ADNccc a été observée, en corrélation avec l’initiation de la transcription de l’ARN viral de 3.5 kb. Par des expériences de co-immunoprécipitaton et de test de lien entre protéines (PLA), nous avons montré que HIRA était capable d’interagir avec HBc dans des hépatocytes infectés et dans une lignée cellulaire HepaRG exprimant HBc de manière inductible. En conclusion, nos résultats suggèrent que la chromatinisation de l’ADN viral entrant est un événement très précoce, nécessitant l’histone chaperone HIRA. Bien que HBx ne soit pas requis pour ce processus, HBc pourrait jouer un rôle majeur, suggérant que l’intéraction entre HIRA et HBc pourrait représenter une nouvelle cible thérapeutique à étudier.

**Mot clés :** Virus de l’hépatite B, ADNccc, Chaperone d’histones, protéine de capsid (HBc)