

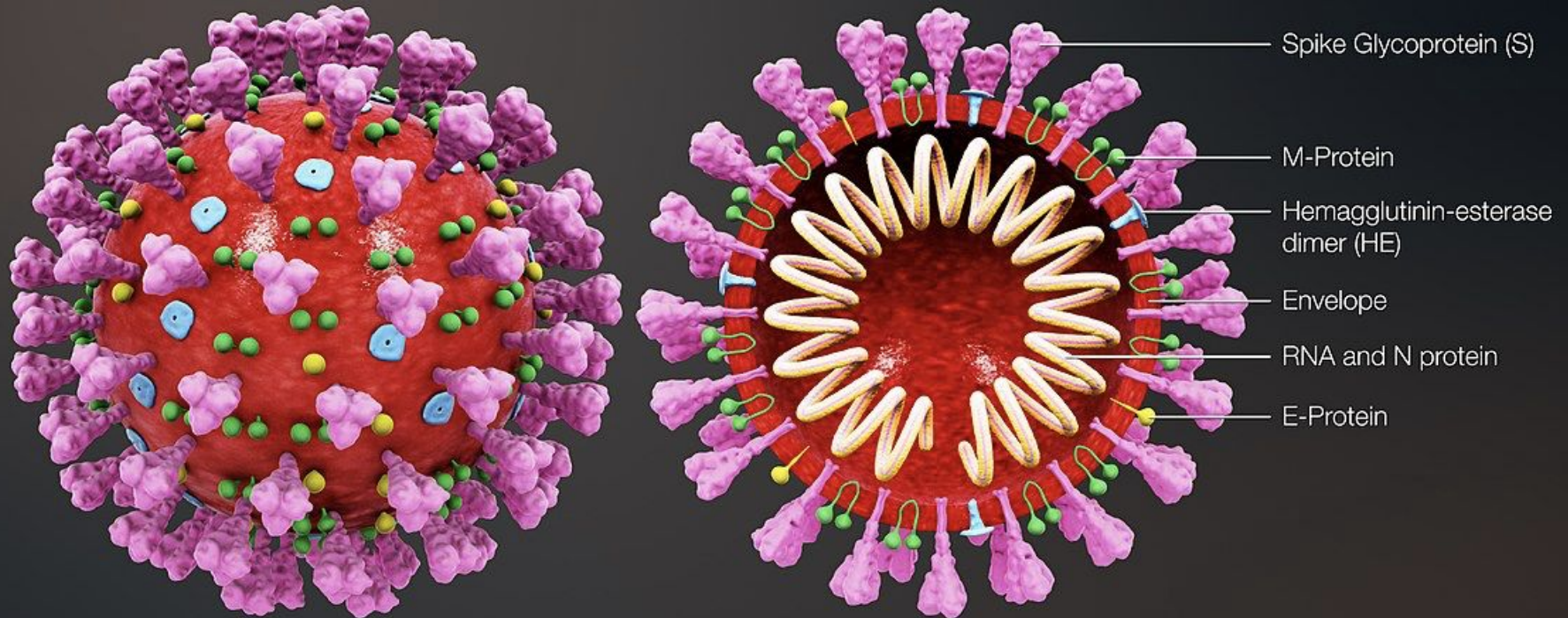
ETIENNE DECROLY
JACQUES VAN HELDEN
MARTINE QUINIO

COVID-19 : APPROCHES SCIENTIFIQUES & ENJEUX SOCIÉTAUX



COVID-19 : APPROCHES SCIENTIFIQUES & ENJEUX SOCIÉTAUX

Cycle de cours de l'Université Populaire de Marseille, Automne 2020



Séance 1 : Approches de virologie moléculaire
Etienne Decroly, virologue, Directeur de Recherches au CNRS

Covid-19 : approches scientifiques et enjeux sociétaux

par Etienne Decroly, Jacques van Helden & Martine Quinio

Campus Saint-Charles, Bâtiment 2, grand amphi

Inscription : contact@universite-populaire-de-marseille.net

Info et documents : http://universite-populaire-de-marseille.net/covid-19_2020/

Vidéos : <https://www.youtube.com/c/UniversitePopulairedeMarseille/>

Lundi 28/09

Etienne Decroly
Virologue, Directeur de Recherches au CNRS

Approches de virologie moléculaire

Jeudi 01/10

Jacques van Helden
Professeur de bioinformatique à Aix-Marseille
Université

Retracer dans les génomes l'origine et la propagation du
virus

Jeudi 08/10

Martine Quinio
Professeure de mathématiques à Aix-Marseille
Université

Raisonnement statistique et modélisation

Mercredi
14/10

Annick Stevens, Jacques van Helden, Martine Quinio
et Etienne Decroly

Covid-19: et maintenant ?
a. Table-ronde-débat
b. Compléments d'information

Présentation générale du cours

- Qu'est ce qu'un virus ?
- Mécanismes de réplication des Coronavirus et outils d'étude
- Contrôle de l'épidémie
 - ▣ antiviraux
 - ▣ vaccins
 - ▣ prophylaxie
- Pathologies associées au SARS-CoV-2
- Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme
- Origine du SARS-CoV-2

Séance 2 : Retracer dans les génomes l'origine et la propagation du virus

(Jacques van Helden)

- Retracer l'origine de SARS-CoV-2 à partir des génomes viraux
 - Questions :
 - Comment ce virus est-il passé d'hôtes animaux (non-humains) à l'humain ?
 - Est-il d'origine naturelle ou artificielle ?
 - Hypothèses alternatives
 - zoonose récente
 - zoonose ancienne et circulation "à bas bruit" dans les populations humaines
 - virus cultivé en laboratoire
 - virus produit par des méthodes de bioingénierie
 - Approches
 - Comparaisons de séquences d'ARN entre souches virales infectant différents animaux
 - Inférence de l'histoire évolutive des coronavirus
- Suivi de l'évolution de SARS-CoV-2 dans la population humaine
 - Questions
 - Peut-on tracer la propagation du virus dans la population humaine ?
 - Observe-t-on une évolution du virus au fil de l'épidémie ?
 - Approches
 - Comparaison des génomes viraux séquencés dans différents pays
 - Analyse de la distribution géographique des mutations
 - Corrélation entre fréquences de certains mutants et incidence / mortalité
 - Etude expérimentale de la toxicité de certains mutants

Séance 3 : Modélisation mathématique (Martine Quinio)

- Comment la science statistique peut-elle, par son langage et ses raisonnements spécifiques, contribuer à donner un sens aux informations chiffrées et permettre à tous – décideurs et population – de mieux comprendre les risques et incertitudes des modèles prédictifs ?
- Définir certains mots et concepts jetés dans les médias (incidence, taux de positivité, sensibilité)
- Définir les principes des tests de dépistage et leur lecture (le fameux Ro)
- Aborder les raisonnements statistiques dans leur diversité
 - raisonnements basés sur la formule Bayes
 - raisonnements de type « fréquentiste » (ex: études cas testés/cas témoins)
- Définir ce que l'on appelle « un modèle de probabilité »
- Un exemple de collaboration mathématiques-médecine : les tests groupés (pooling)

Séance 1

Approches de virologie moléculaire

Etienne Decroly

Préambule

- La société attend de science la “connaissance et la vérité”. Les controverses scientifiques sont trop souvent vue comme un échec de la science.
- Lors de la découverte d’un nouveau pathogène les savoirs sont en cours d’élaboration..; et évoluent. C’est le processus de la recherche.
- Actuellement, efforts intenses de milliers de chercheurs dans le monde entier → ce que nous présenterons dans ce cours méritera certainement des mises à jour très prochainement
- Le doute est nécessaire pour l’élaboration de la pensée scientifique.

- **Qu'est ce qu'un virus ?**
- Mécanismes de réplication des coronavirus
- Contrôle de l'épidémie
 - antiviraux
 - vaccins
 - prophylaxie
- Pathologies associées au SARS-CoV-2
- Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme
- Origine du SARS-CoV-2

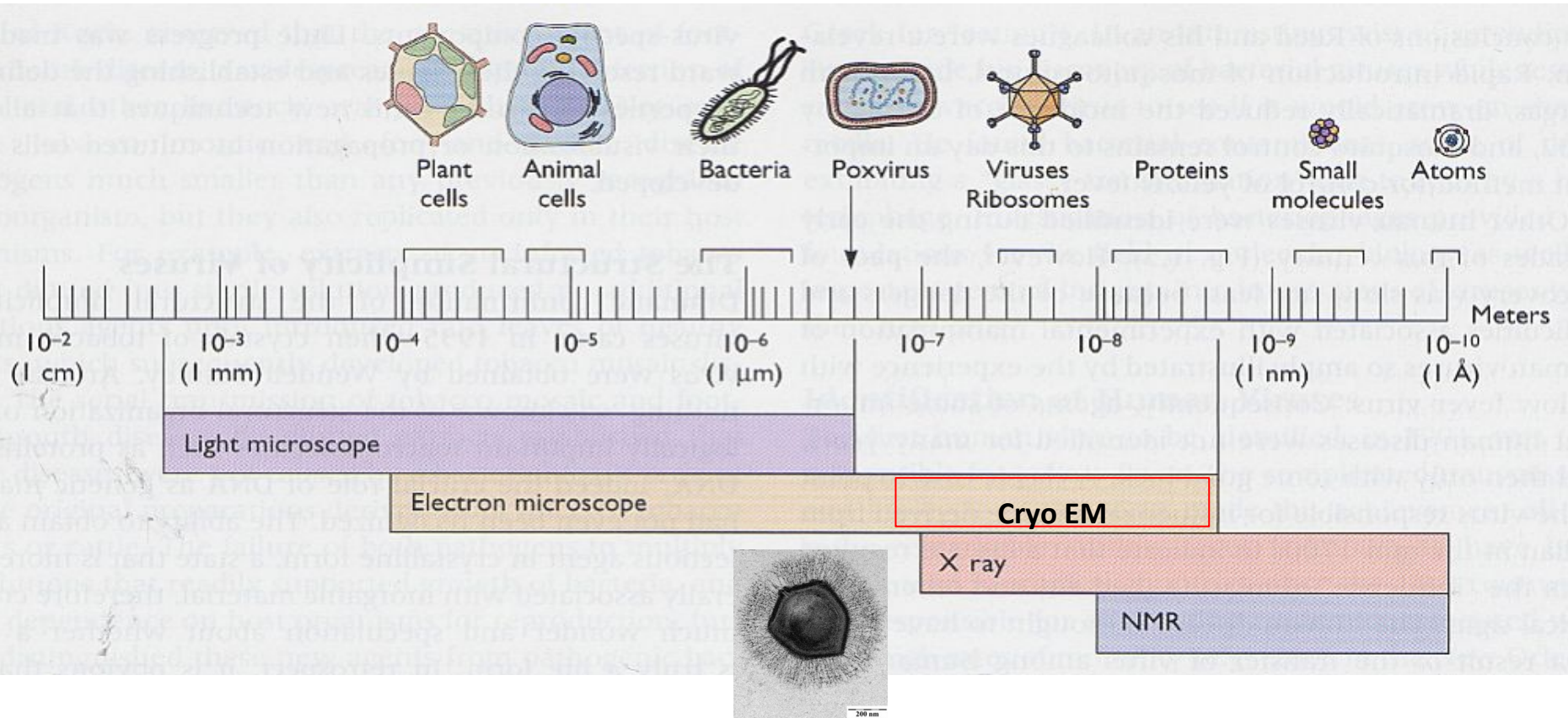
Pasteur découvre la rage (1881) Qu'est ce qu'un virus

« L'agent infectieux responsable de la rage est invisible au microscope et impossible de l'isoler sur des milieux de culture artificiels. »

Pasteur "cultive" l'agent infectieux en partant d'un broyat de cerveau de chien enragé qu'il inocule à la surface du cerveau d'un lapin trépané.



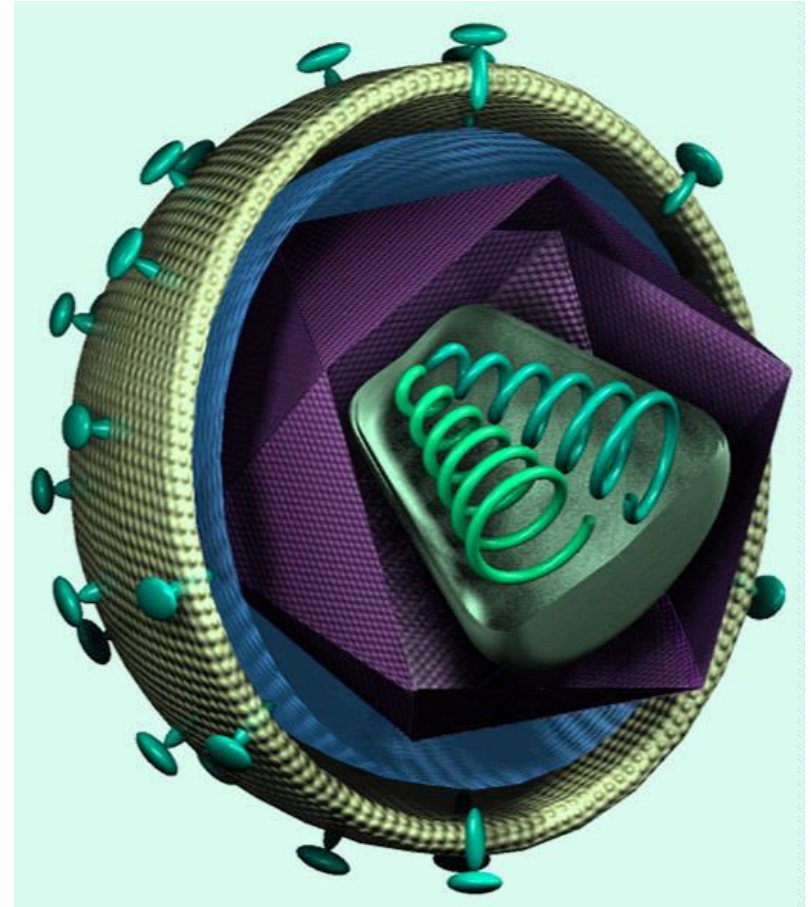
Méthodes d'observation des virus



Mimi virus/Marseille virus

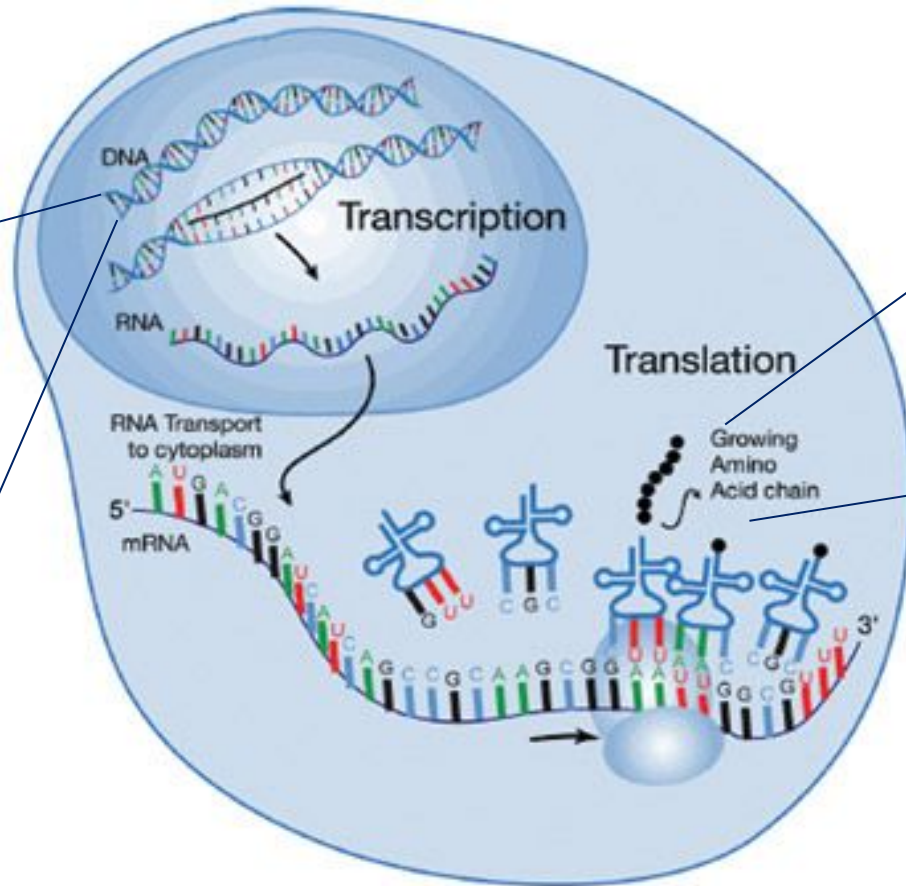
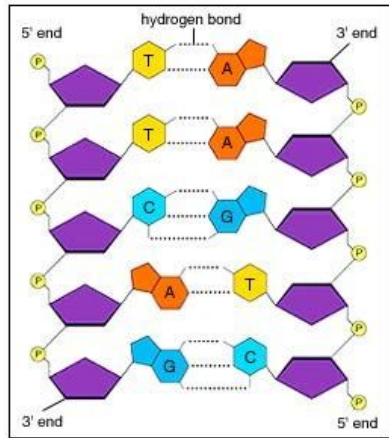
Définition

- Parasites intracellulaires obligatoires
 - pas de machinerie de synthèse des protéines
 - utilisent le métabolisme cellulaire
- Particule virale
 - ADN/ARN
 - Capside
 - (enveloppe)



Le matériel génétique, support de l'hérédité et de l'information

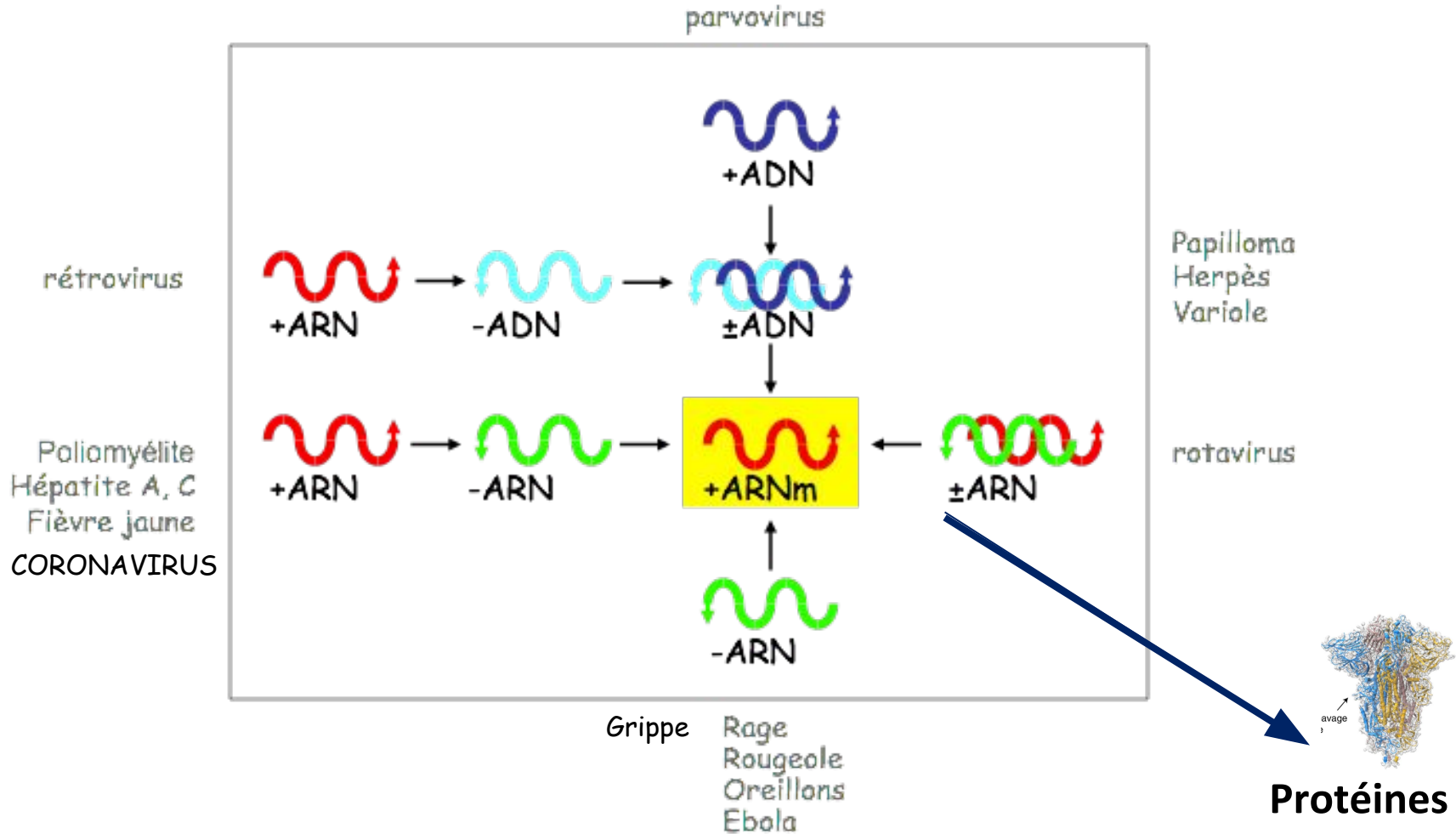
ADN = matériel génétique



Protéines = enzymes

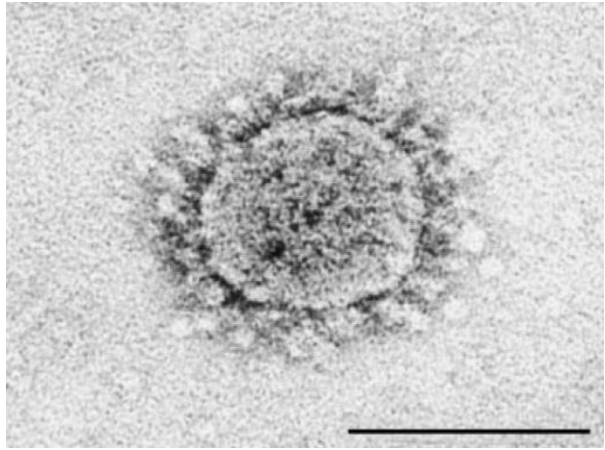


Le matériel génétique des virus



- Qu'est ce qu'un virus ?
- **Mécanismes de réplication des coronavirus**
- Contrôle de l'épidémie
 - ▣ antiviraux
 - ▣ vaccins
 - ▣ prophylaxie
- Pathologies associées au SARS-CoV-2
- Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme
- Origine du SARS-CoV-2

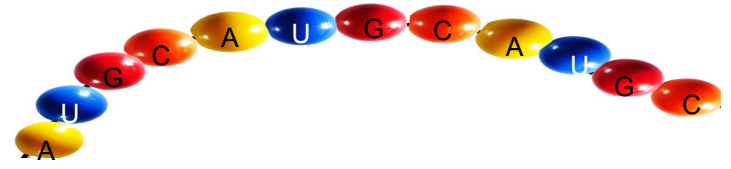
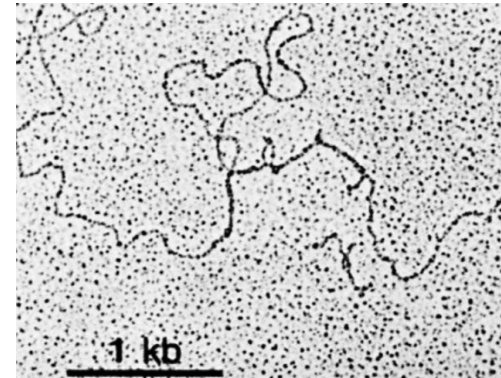
Coronavirus (CoV)



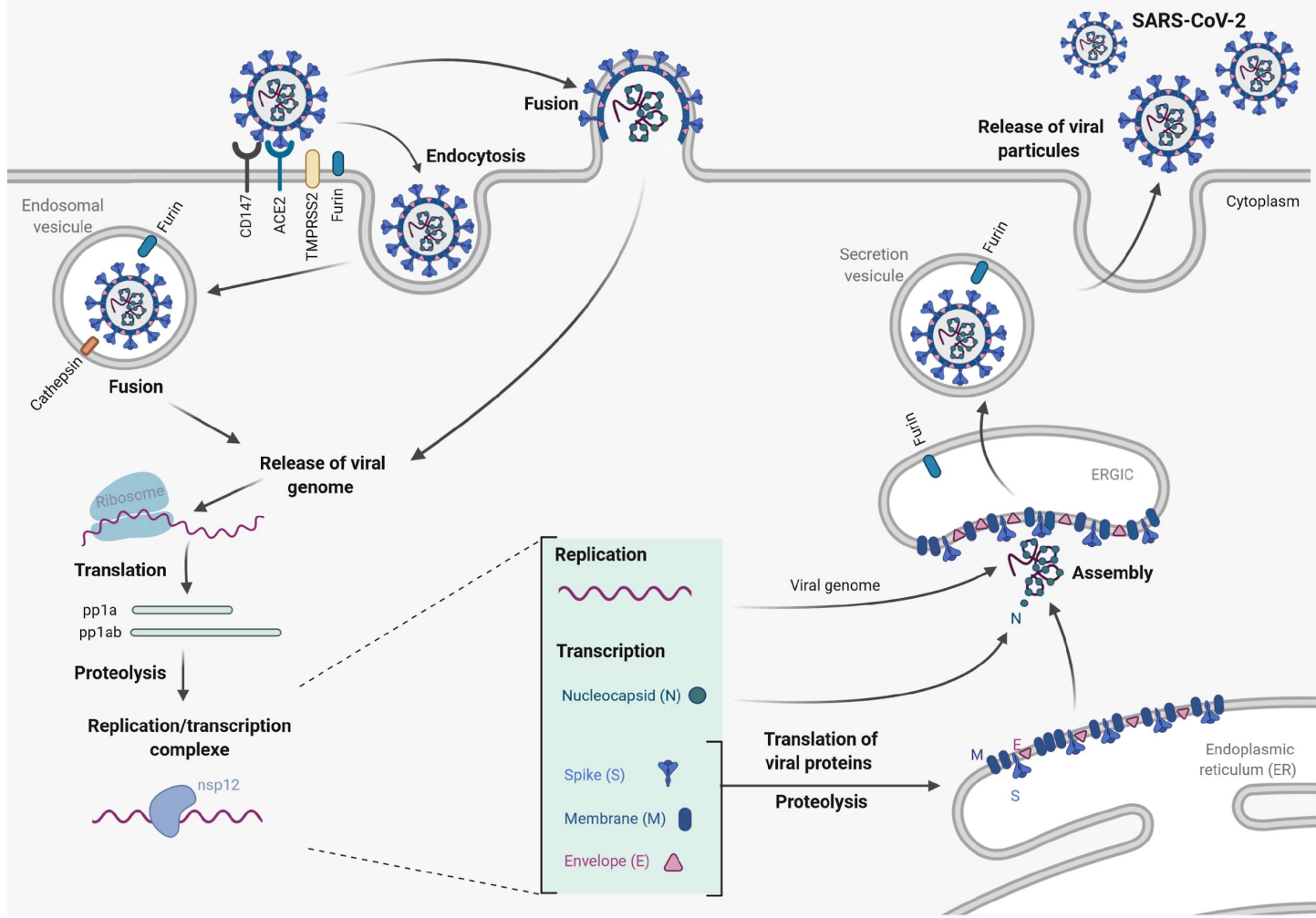
100 nm



- Virus enveloppé
- Génome ARN+ de 30 000 nucléotide
- Virus entériques et respiratoires
- Virus infectant de nombreuses espèces animales



Cycle de répliation des coronavirus



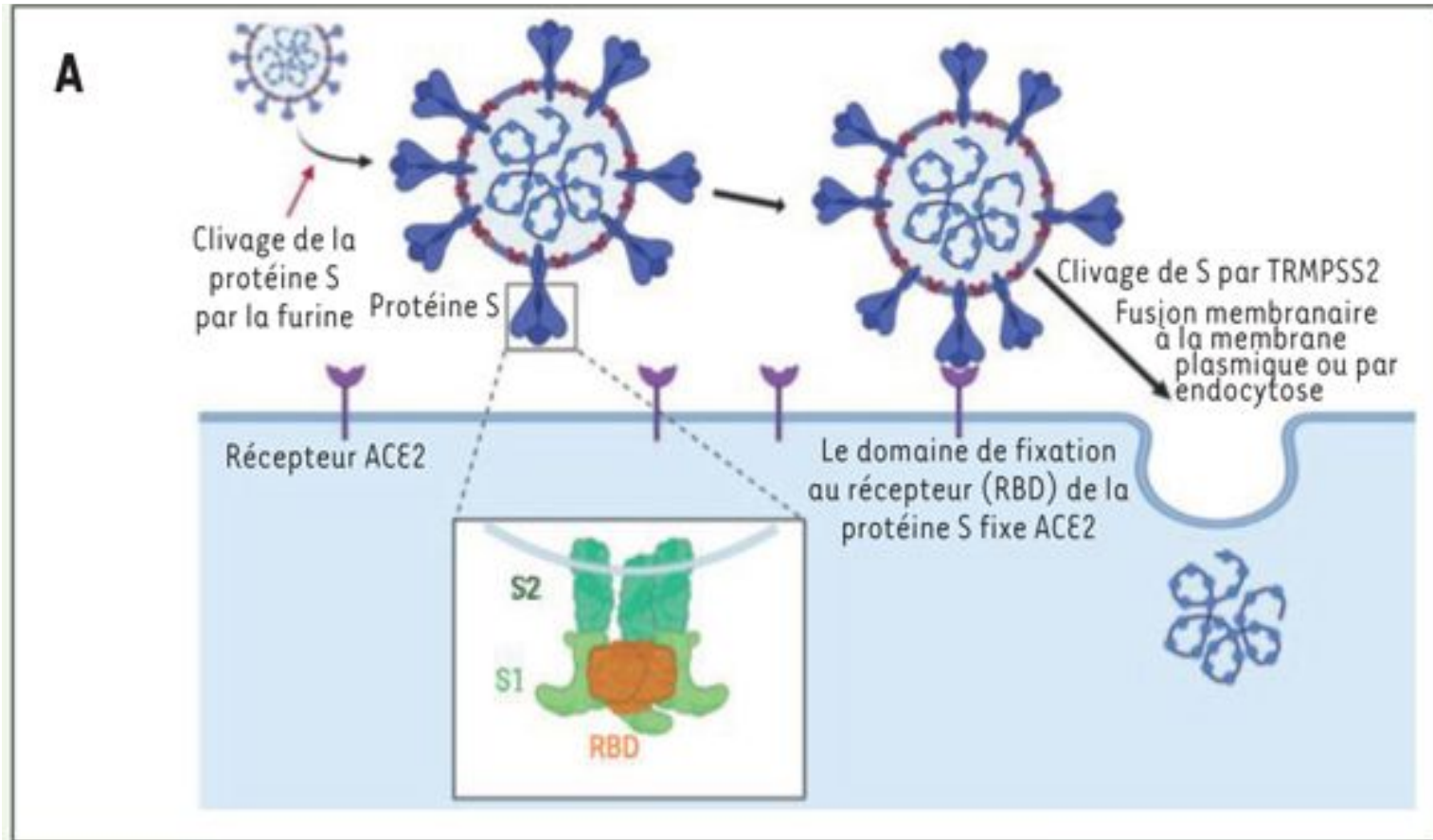
Comment un virus entre-t-il dans une cellule?



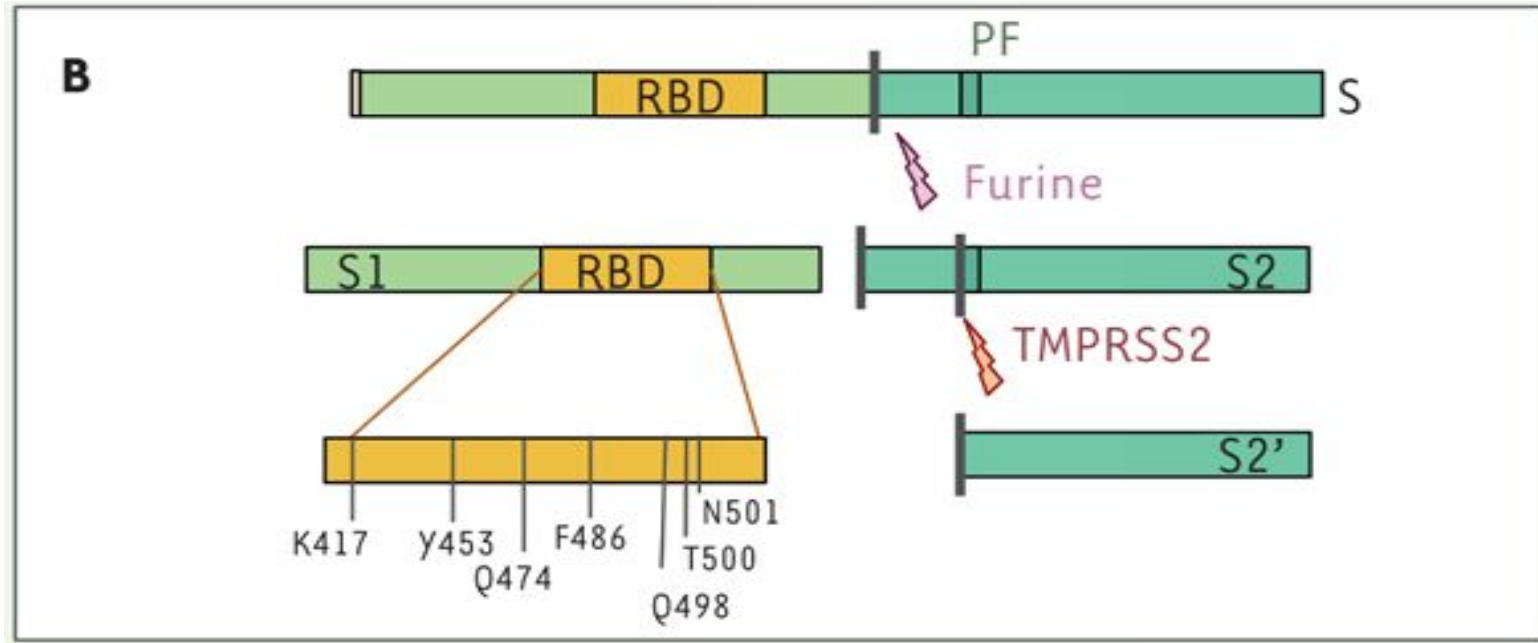
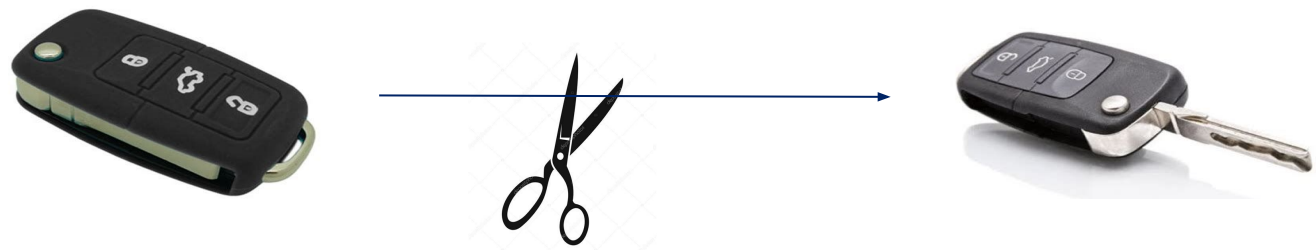
**Récepteur
(ACE2)**

**Protéine virale
se liant au récepteur
(S, Spike, spicule,...)**

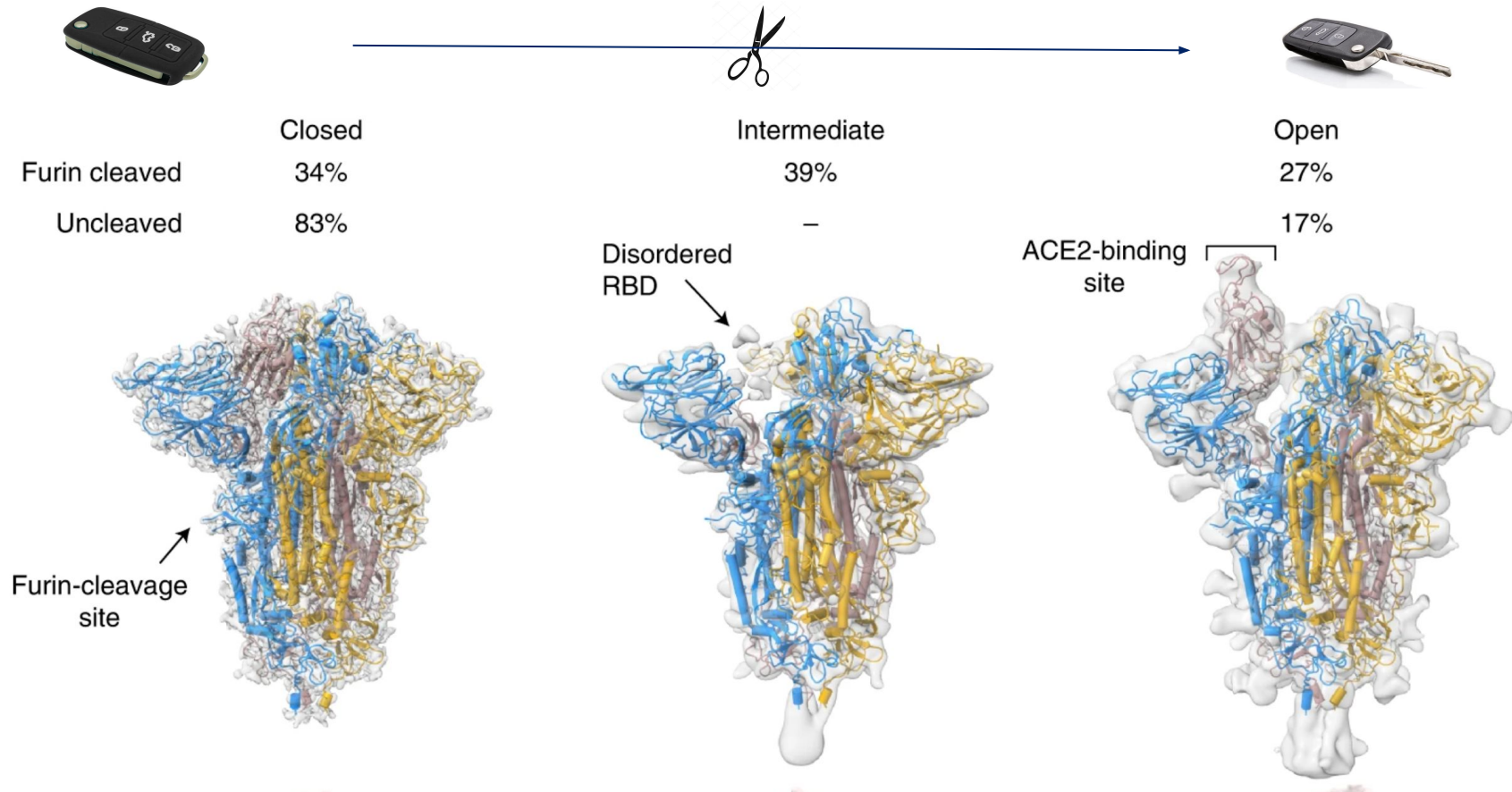
La protéine S reconnaît un récepteur cellulaire (SARS likes ACE2)



La protéine S doit être activée par un clivage protéolytique (priming)



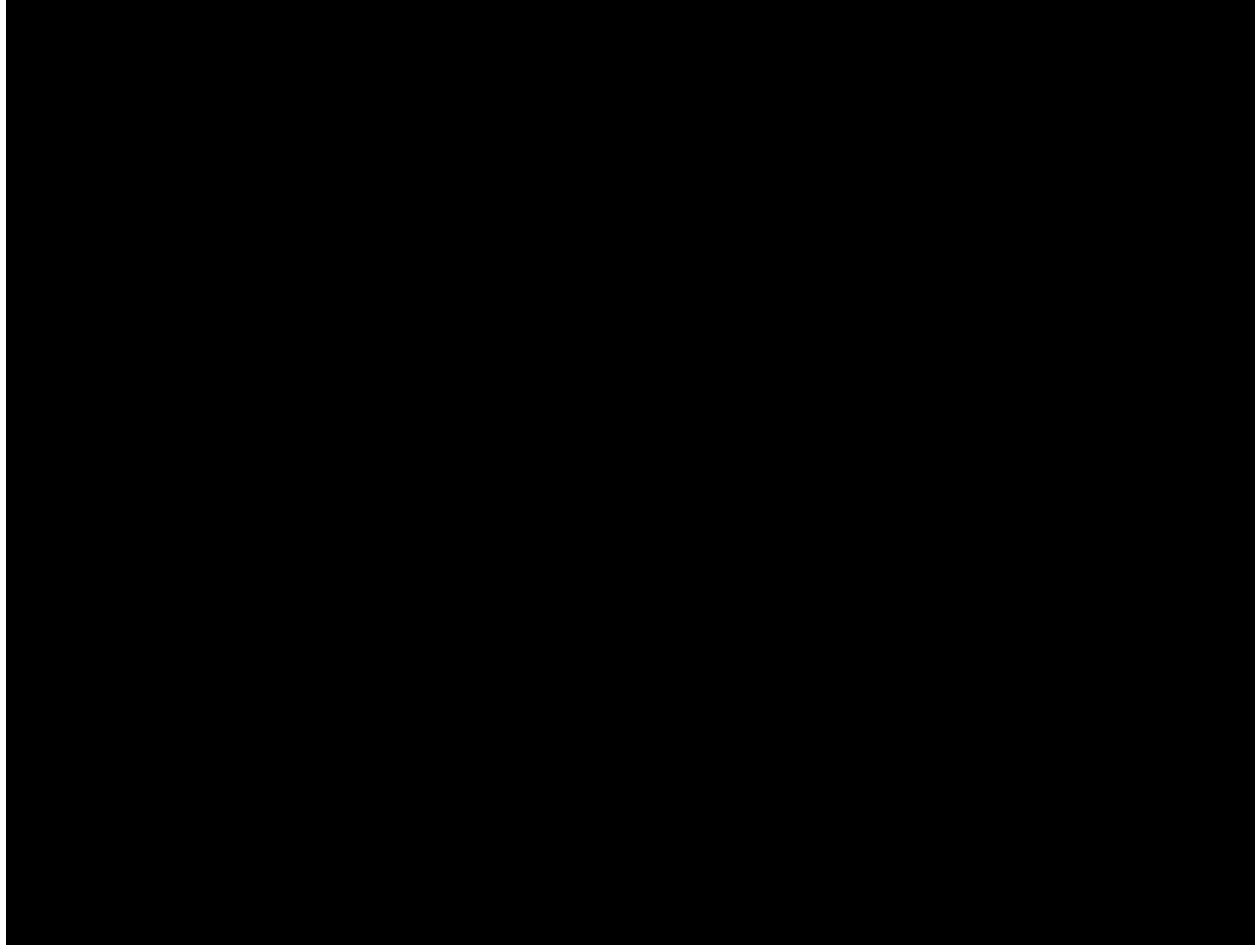
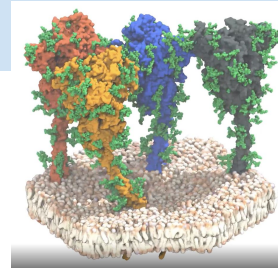
Effet du "priming" sur la structure de la protéine S



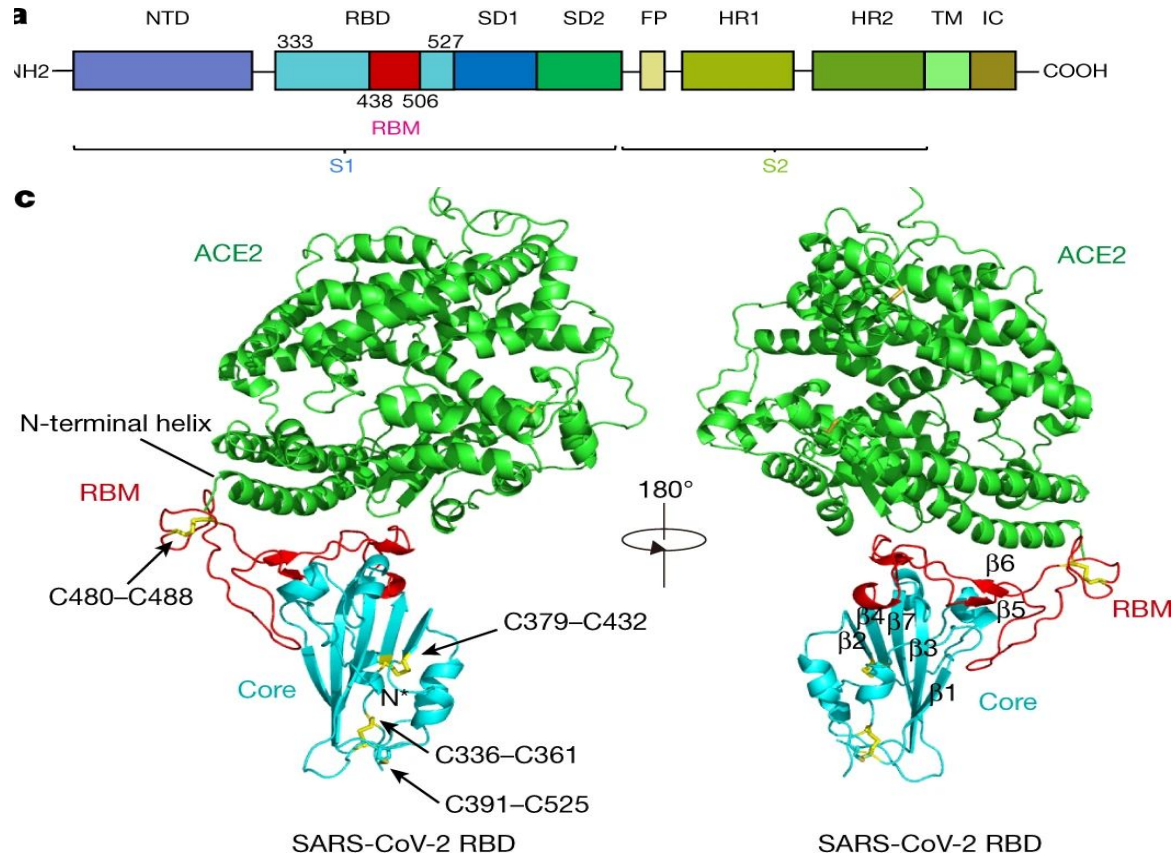
Vue latérale

SARS-CoV-2 and bat RaTG13 spike glycoprotein structures inform on virus evolution and furin-cleavage effects.
 Wrobel AG, Benton DJ, Xu P, Roustan C, Martin SR, Rosenthal PB, Skehel JJ, Gamblin SJ.
 Nat Struct Mol Biol. 2020 Aug;27(8):763-767. doi: 10.1038/s41594-020-0468-7. Epub 2020 Jul 9.

Structure de la protéine S & dynamique moléculaire



Structure de la protéine S en complexe avec ACE2



Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor

Jun Lan et al., Nature. 2020 May;581(7807):215-220. doi: 10.1038/s41586-020-2180-5. Epub 2020 Mar 30.

Structure de la protéine S & dynamique moléculaire

<https://youtu.be/e2Qi-hAXdJo?t=12>

Un modèle visuel de simulation dynamique illustrant la façon dont la protéine de spicule (spike protein) assure la fusion des membranes virale et cellulaire.

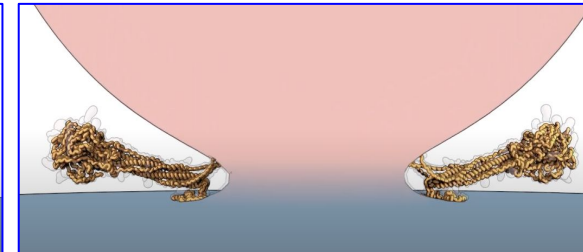
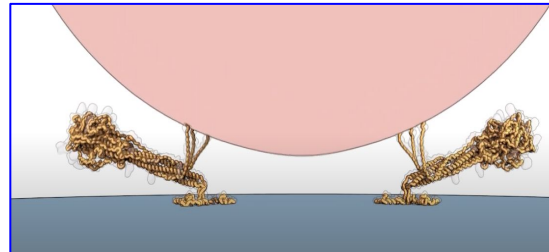
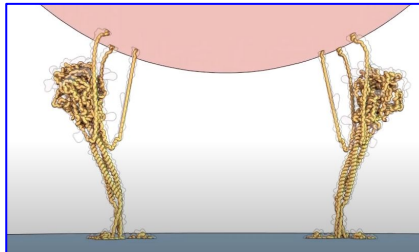
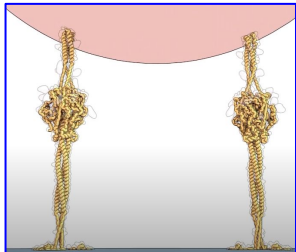
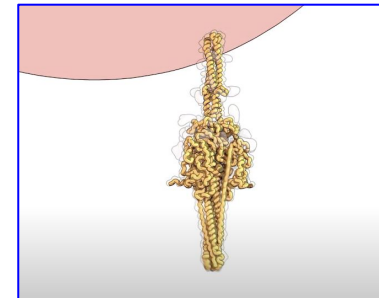
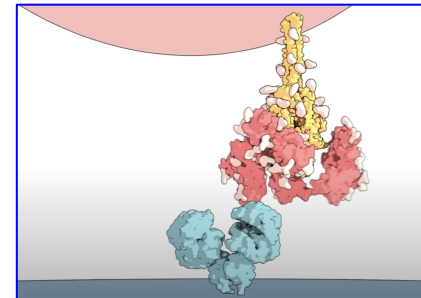
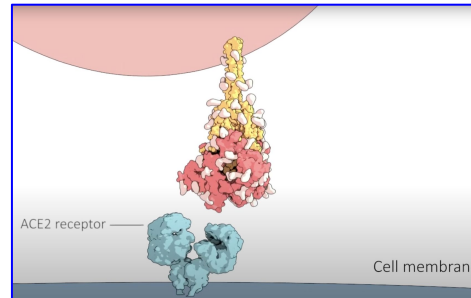
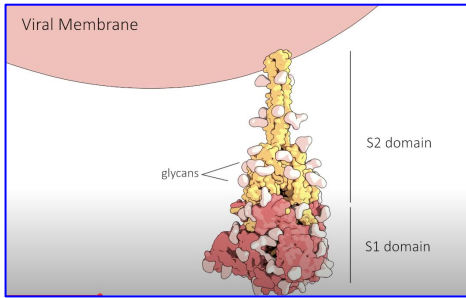
Created by Jonathan Khao, Ph.D. & Gaël McGill, Ph.D.

Digizyme Inc.
www.digizyme.com

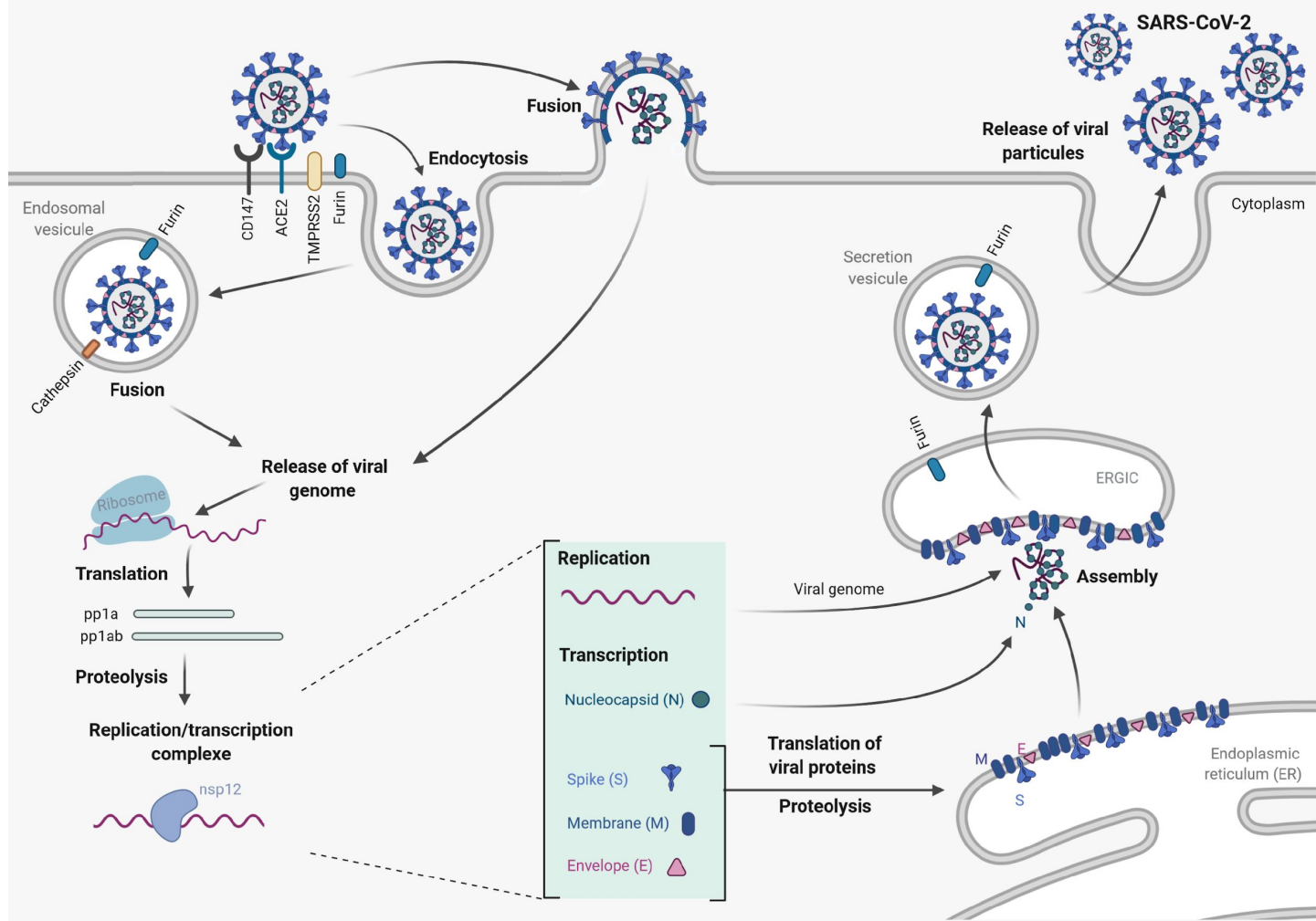
Modeled & Simulated with Molecular Maya (Modeling & Rigging kits)

www.clarafi.com/tools/mmaya

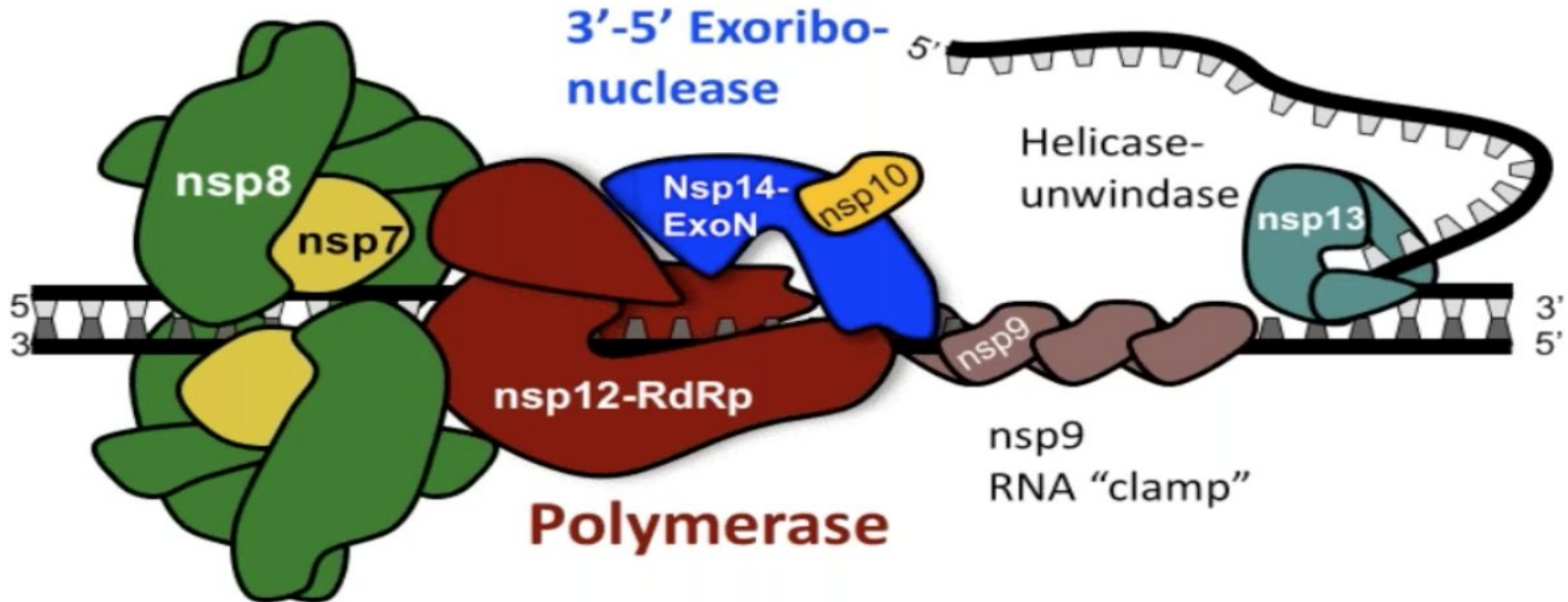
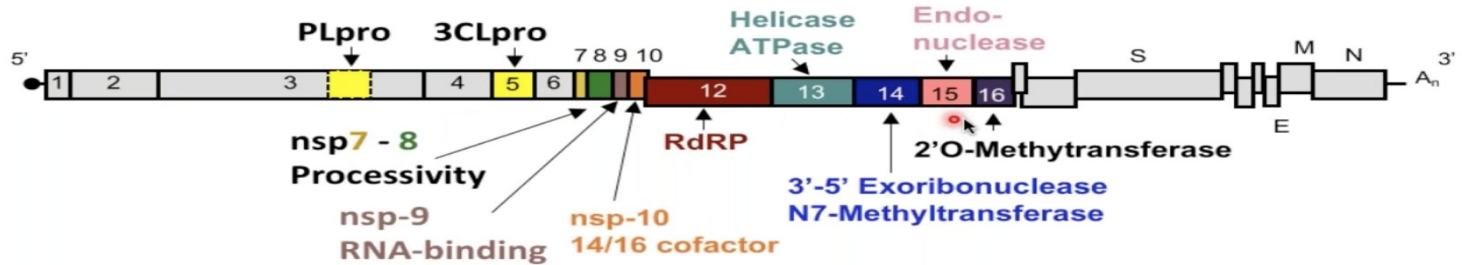
We wish to thank Bing Chen, Ph.D. and Stephen Harrison, Ph.D. for their guidance and sharing data prior to publication.



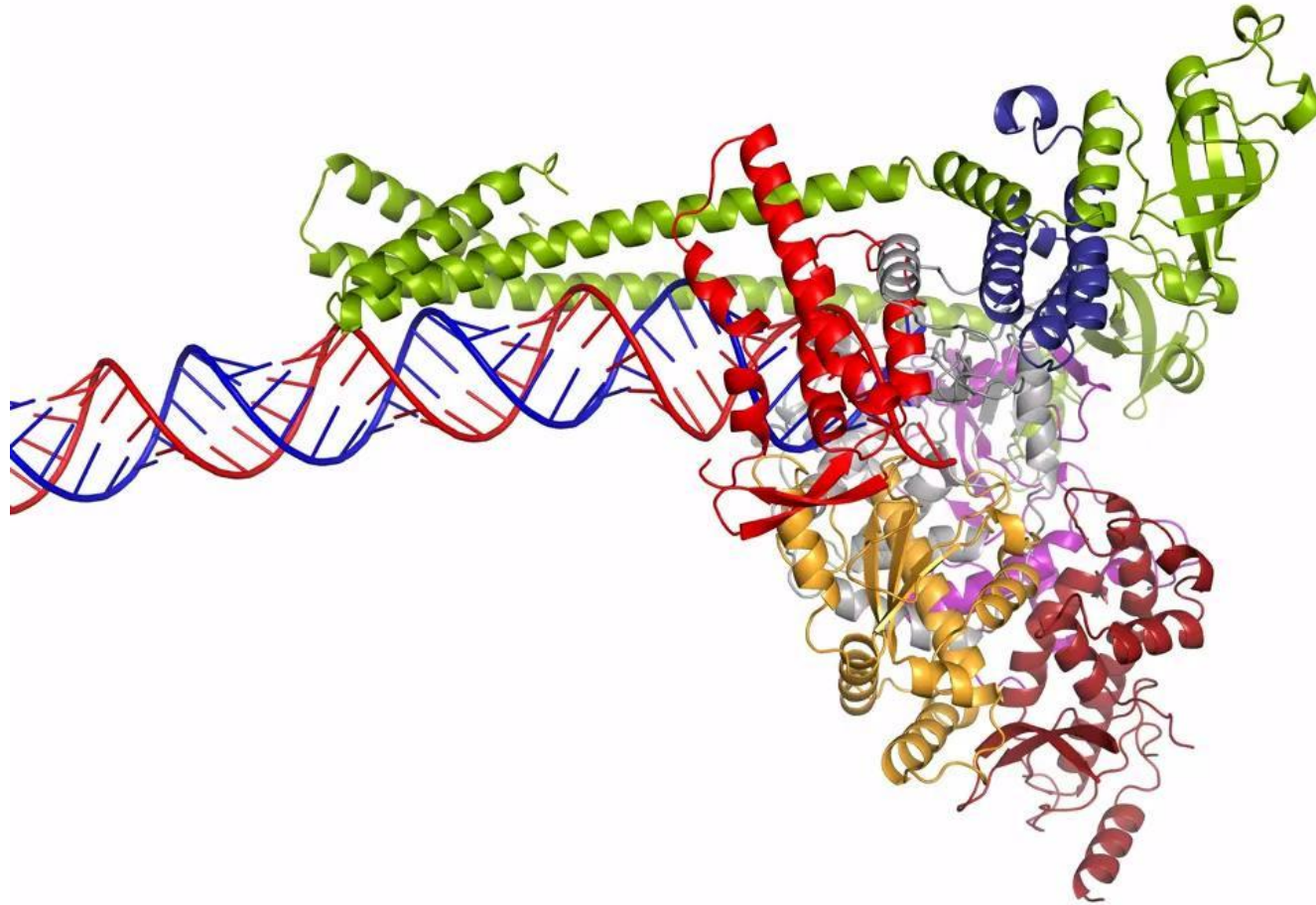
Cycle de répllication des coronavirus



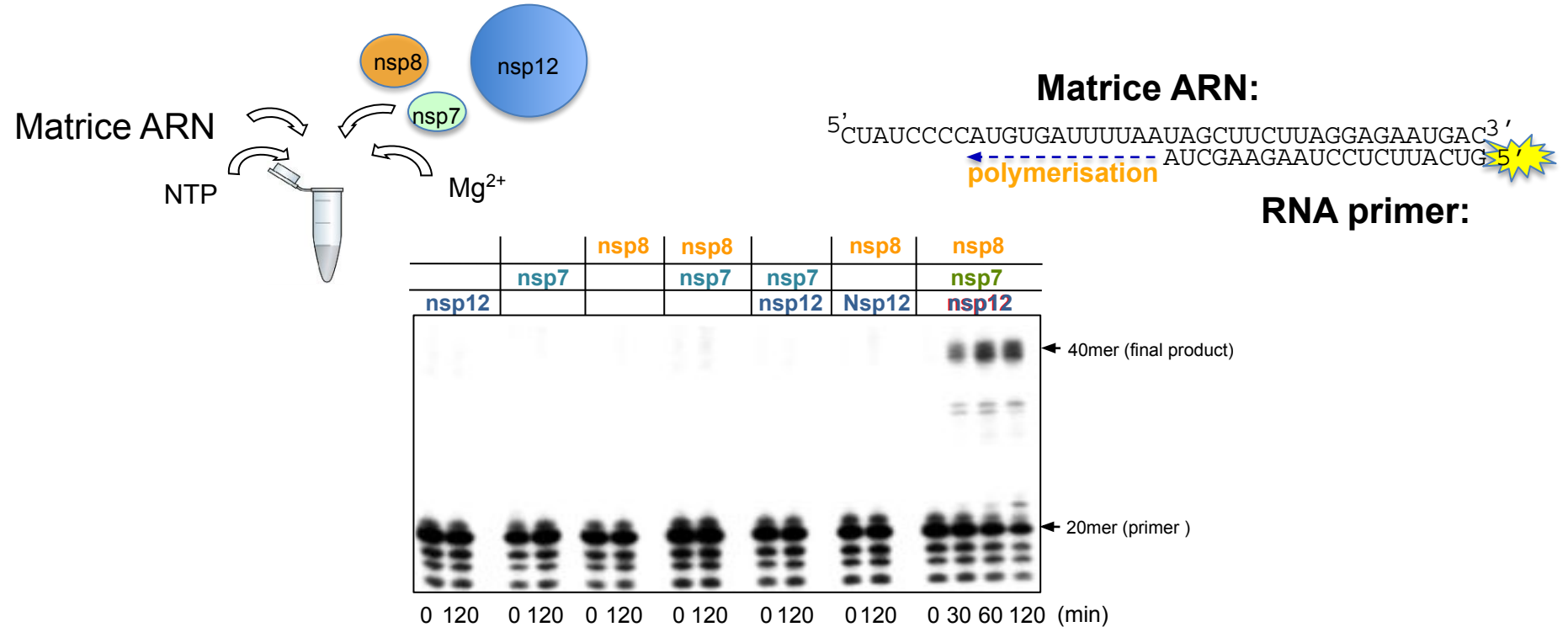
SARS-CoV : le complexe réplication/transcription



SARS-CoV : le complexe répllication/transcription



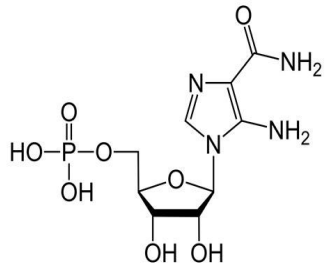
Activité *in vitro* du complexe de réplication



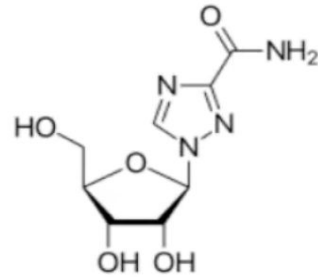
[One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities](#)

Lorenzo Subissi, Clara C. Posthuma, Axelle Collet, Jessika C. Zevenhoven-Dobbe, Alexander E. Gorbalenya, Etienne Decroly, Eric J. Snijder, Bruno Canard, Isabelle Imbert
 Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Sep 16; 111(37): E3900–E3909. Published online 2014 Sep 2.

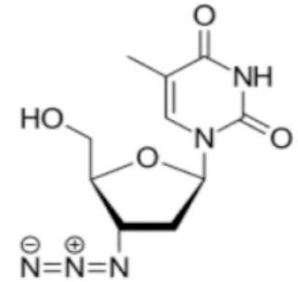
La stratégie des analogues de nucléotides/nucléosides



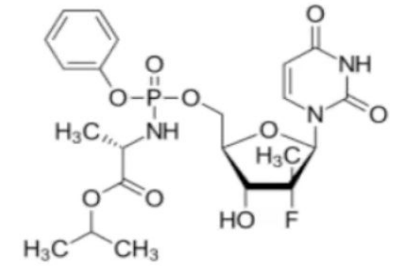
Ribonucléotide



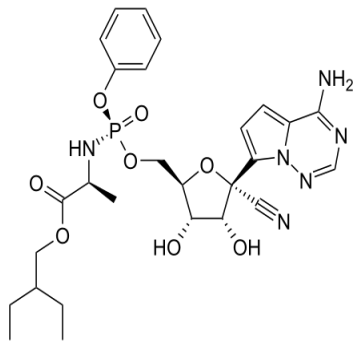
Ribavirin
HCV, RSV



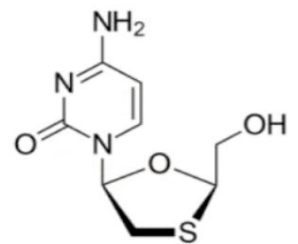
Azidothymidine (AZT)
HIV



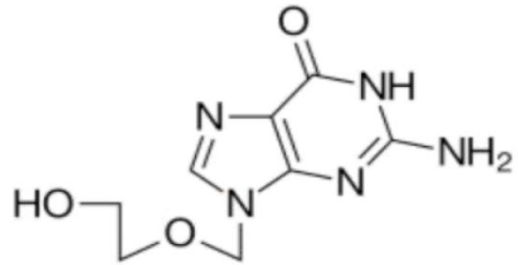
Sofosbuvir
HCV



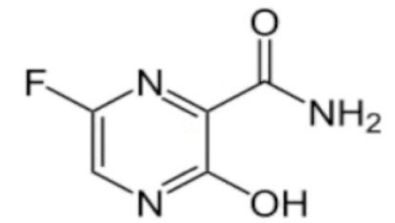
Remdesivir
ebola, CoV



Lamivudine (3TC)
HIV, HBV



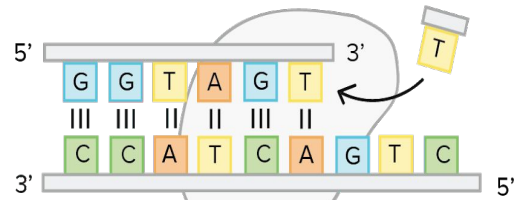
Acyclovir
Herpes viruses



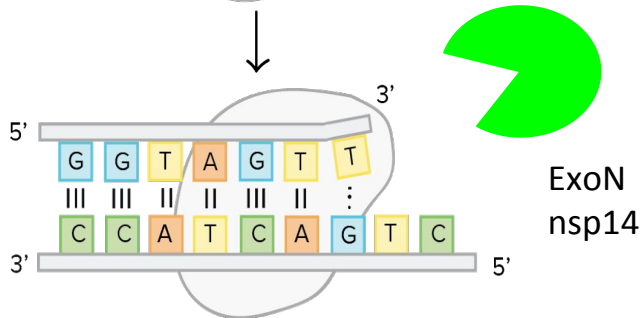
Favipiravir
Influenza



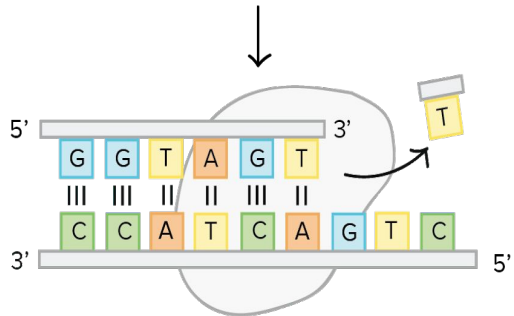
Le complexe de réplication possède un activité de correction des erreurs



La polymérase nsp12 incorpore un mauvais nucléotide (mutation) ou un inhibiteur



L'exonucléase nsp14 détecte le mésappariement ("mismatch") et excise le mauvais nucléotide ou l'inhibiteur

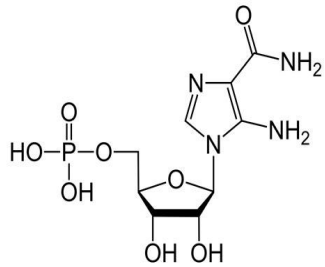


La polymérase nsp12 redémarre son activité 3'-5' et corrige l'erreur

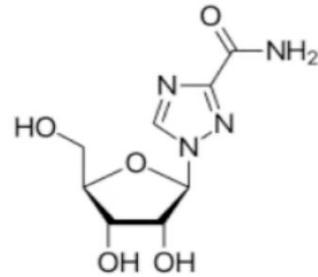
[One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities](#)

Lorenzo Subissi, Clara C. Posthuma, Axelle Collet, Jessika C. Zevenhoven-Dobbe, Alexander E. Gorbalenya, Etienne Decroly, Eric J. Snijder, Bruno Canard, Isabelle Imbert
Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Sep 16; 111(37): E3900–E3909. Published online 2014 Sep 2.

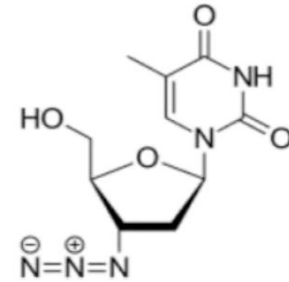
La stratégie des analogues de nucléotides/nucléosides



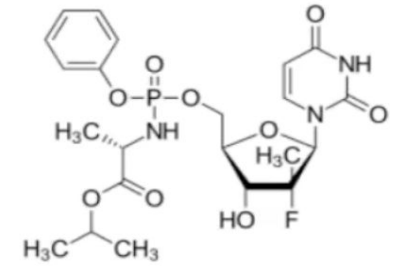
Ribonucléotide



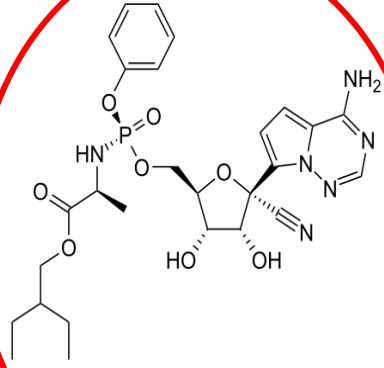
Ribavirin
HCV, RSV



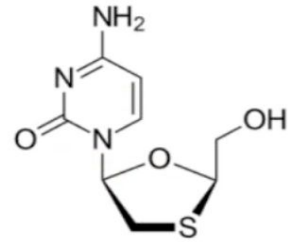
Azidothymidine (AZT)
HIV



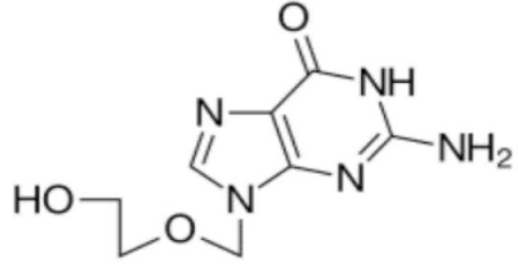
Sofosbuvir
HCV



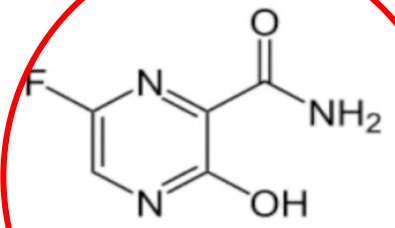
Remdesisvir
ebola, CoV



Lamivudine (3TC)
HIV, HBV



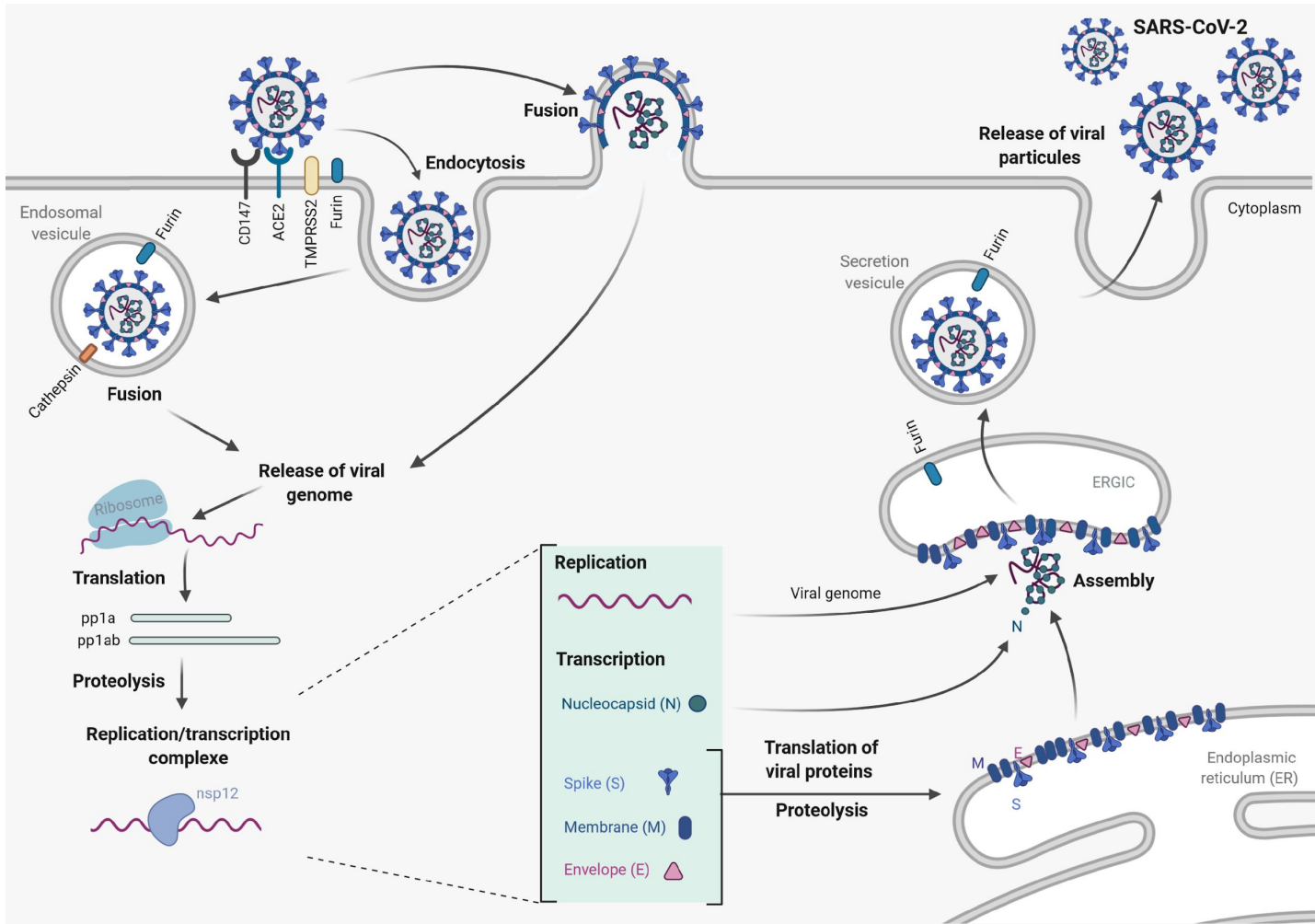
Acyclovir
Herpes viruses



Favipiravir
Influenza



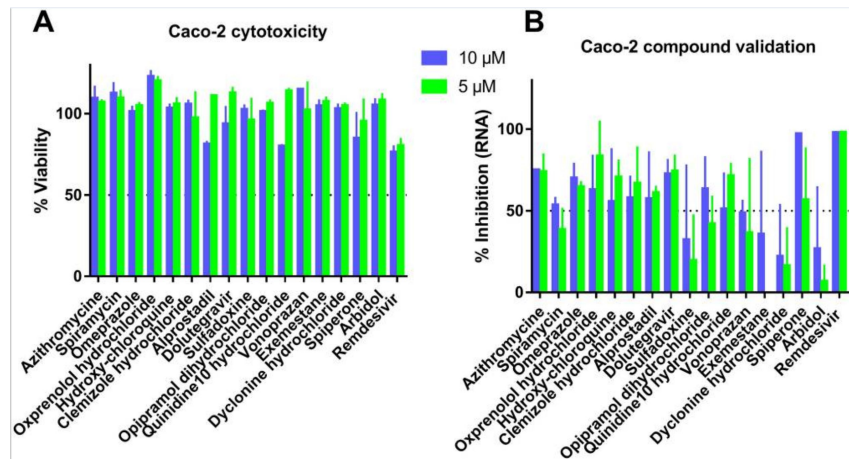
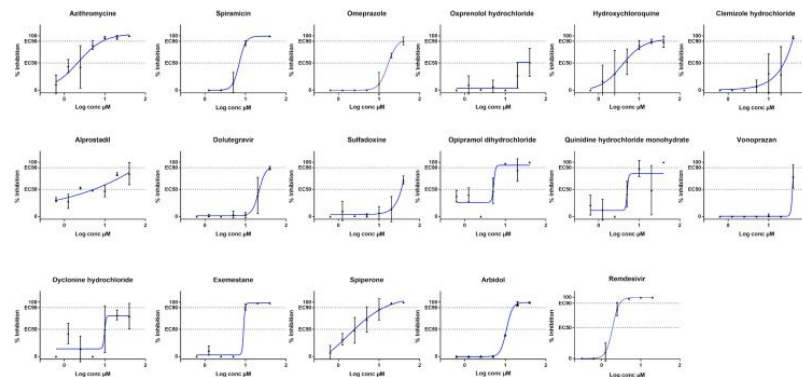
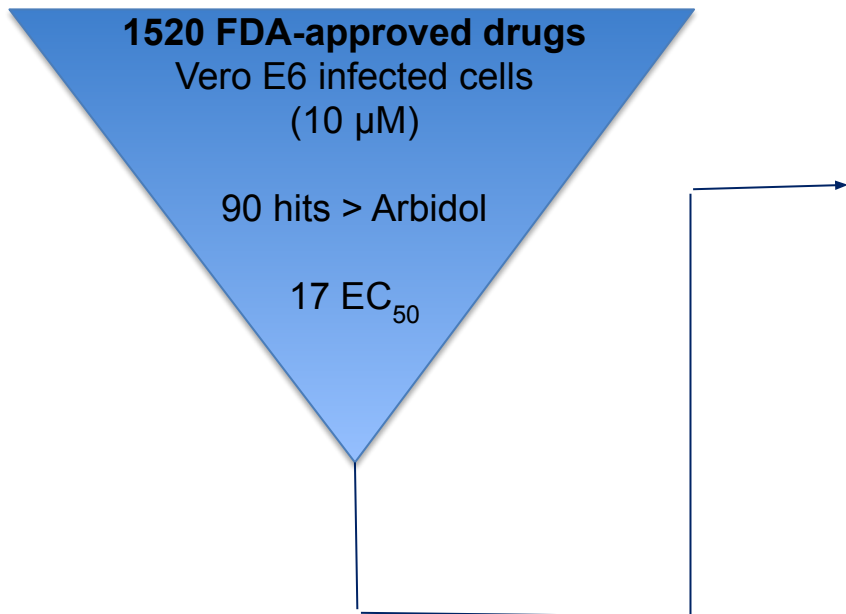
Cycle de répllication des coronavirus



- Qu'est ce qu'un virus ?
- Mécanismes de réplication des Coronavirus
- **Contrôle de l'épidémie**
 - ▣ **antiviraux**
 - ▣ **vaccins**
 - ▣ **prophylaxie**
- Emergence du SARS-CoV-2 et pathologies associées
- Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme
- Origine du SARS-CoV-2

Développement de médicaments antiviraux

Stratégies de repositionnement de médicaments



Sci Rep. 2020; 10: 13093.

Published online 2020 Aug 4. doi: [10.1038/s41598-020-70143-6](https://doi.org/10.1038/s41598-020-70143-6)

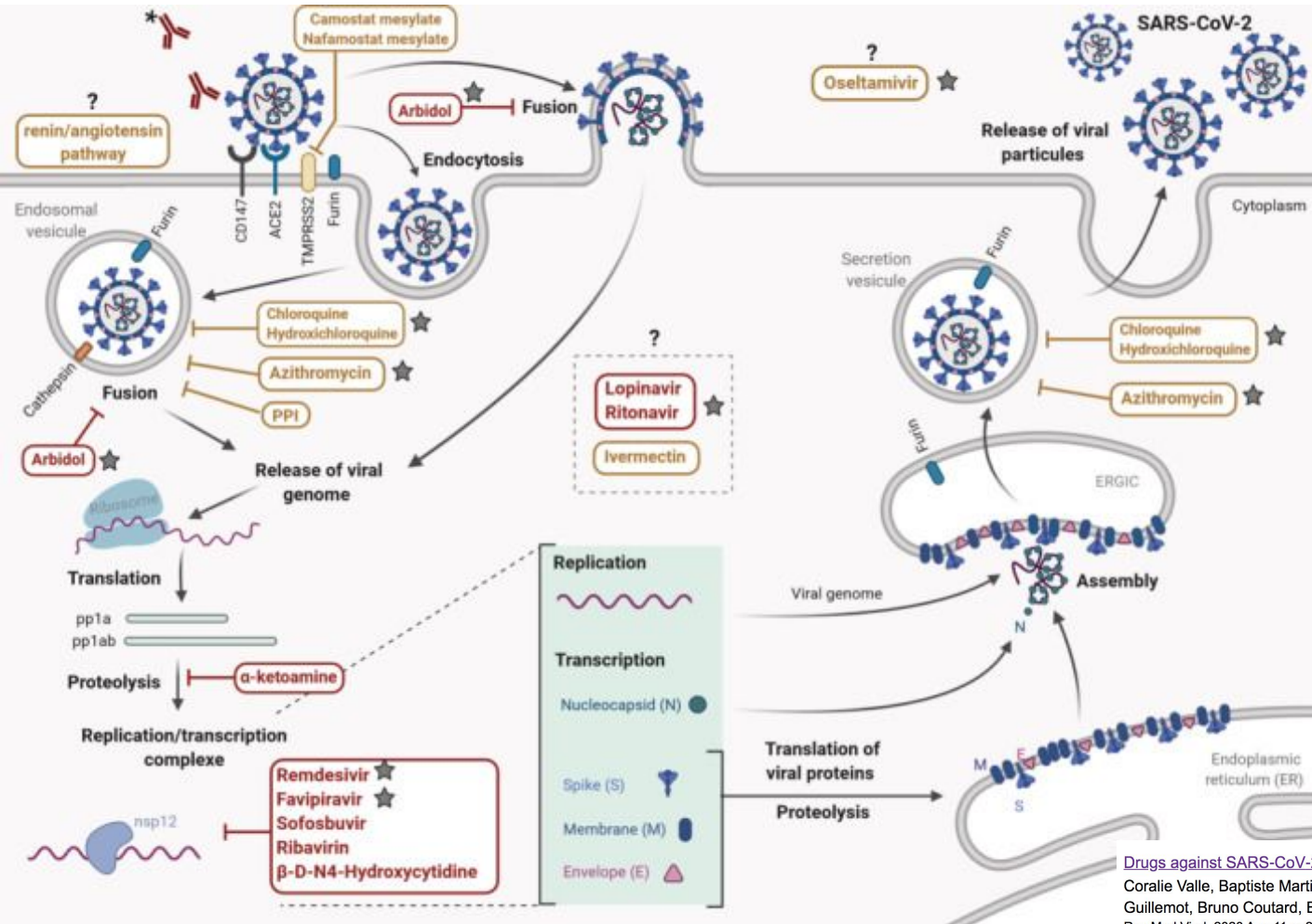
PMCID: PMC7403393

PMID: [32753646](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32753646/)

In vitro screening of a FDA approved chemical library reveals potential inhibitors of SARS-CoV-2 replication

Franck Touret,¹ Magali Gilles,¹ Karine Barra,² Antoine Nougairède,¹ Jacques van Helden,^{3,4} Etienne Decroly,⁵ Xavier de Lamballerie,¹ and Bruno Coutard¹

Mécanismes d'action des médicaments contre le SARS-CoV-2



Drugs against SARS-CoV-2: What do we know about their mode of action?

Coralie Valle, Baptiste Martin, Franck Touret, Ashleigh Shannon, Bruno Canard, Jean-Claude Guillemot, Bruno Coutard, Etienne Decroly

Rev Med Virol. 2020 Aug 11 : e2143. doi: 10.1002/rmv.2143 [Epub ahead of print]

- Antiviraux
 - limitation : infection aiguë, traitement précoce
- Sérum et immunothérapie
- Régulateur de la réponse antivirale
 - traitement tardif, contrôle de la tempête cytokinique

Biodiversité



Observation, compréhension, respect

Vaccination



Enjeux techniques, chronologiques, sociétaux

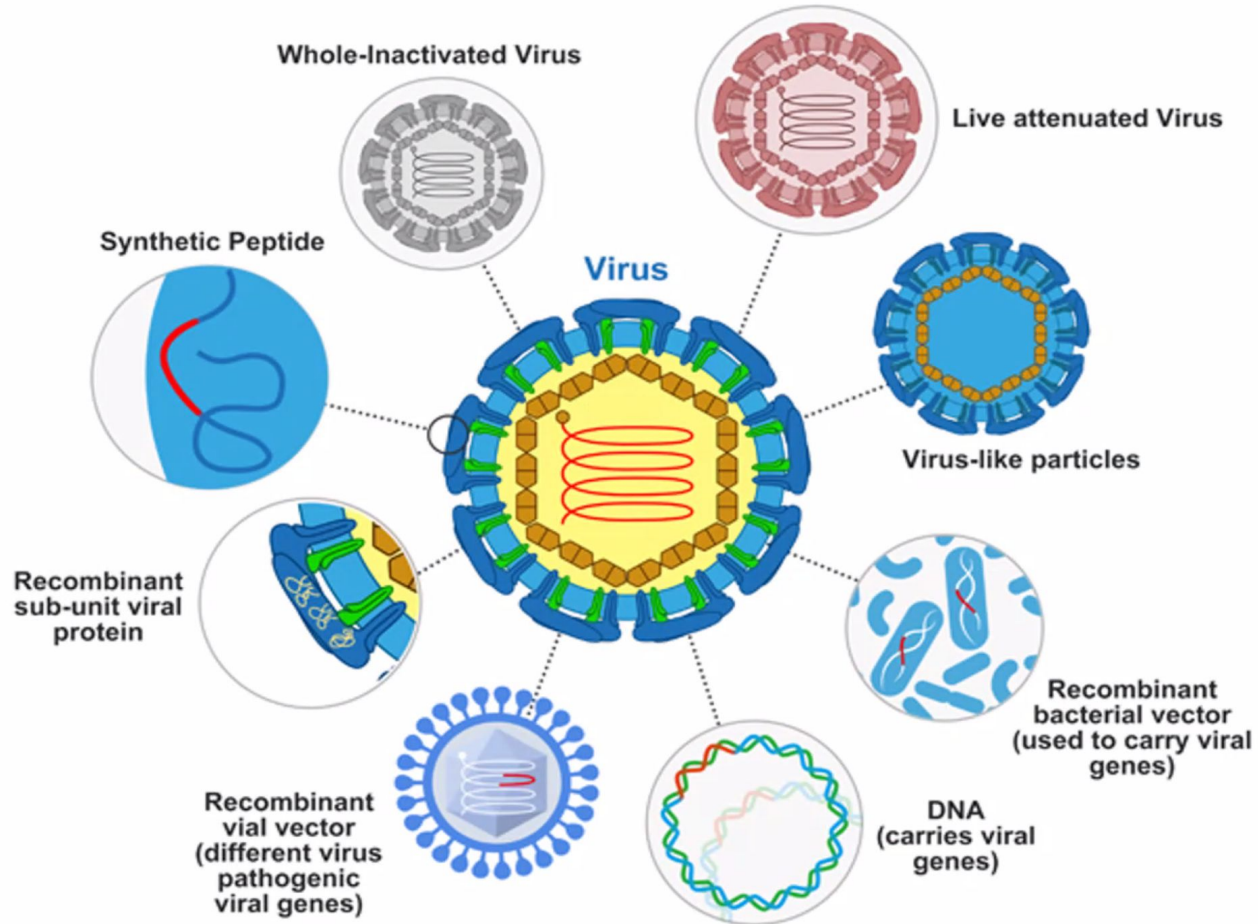
La variolisation



Pasteur : un vaccin post-exposition



Différentes stratégies vaccinales



Les phases du développement de vaccins

Pre-clinical



Lab studies
Animals

Phase I



Tens of people

Phase II



Hundreds of
people

Phase III



Thousands of
people

Phase IV

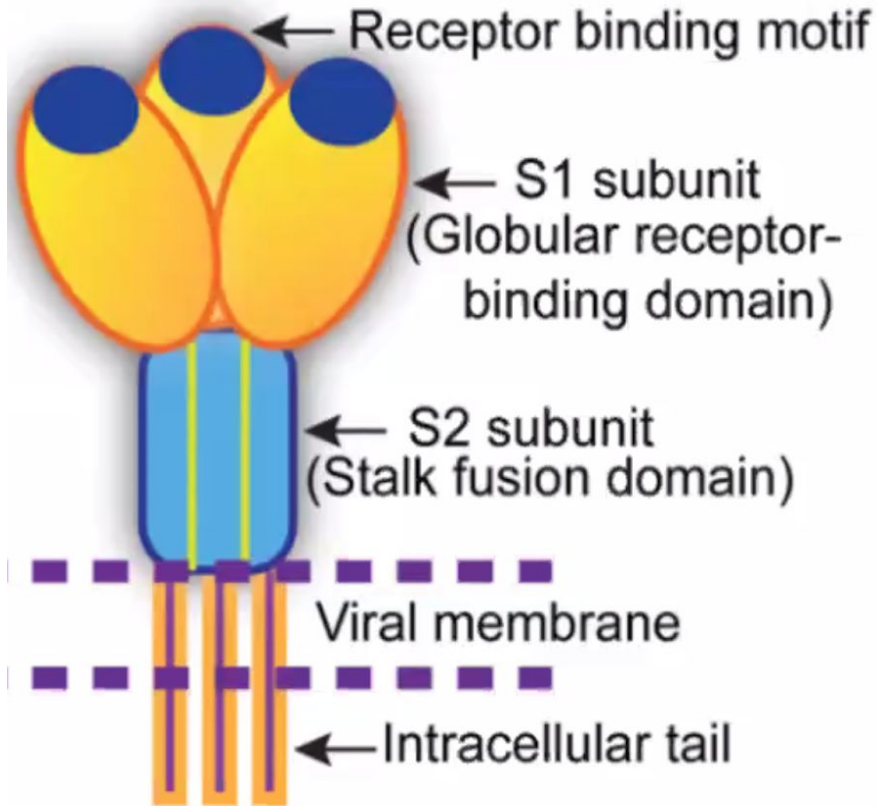


Hundreds of
thousands of
people

Pre-licensure tests

Post-licensure tests

La protéine S est principalement ciblée

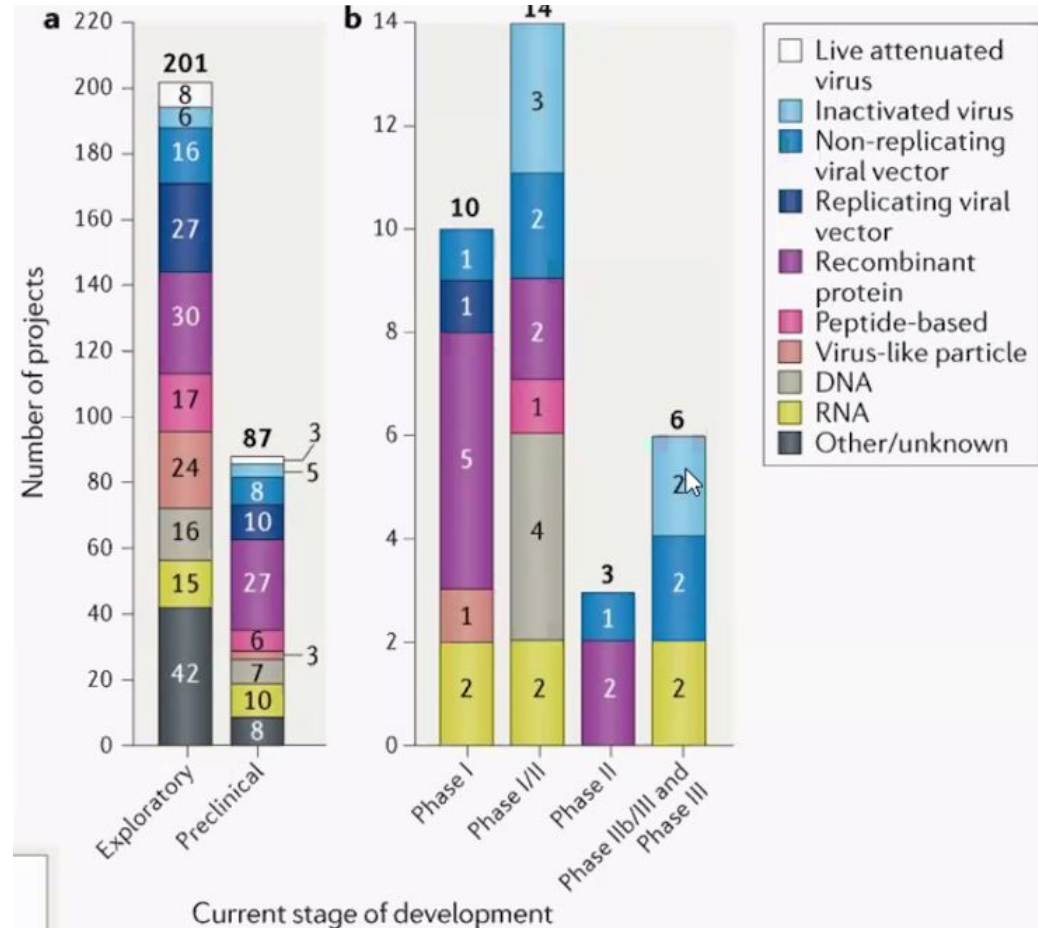


- Chez les patients
 - S est l'antigène majeur
 - N est aussi immunogène mais réponse TCD4 et CD8 ne semble pas protective (sévérité)
- Des anticorps reconnaissant S peuvent être neutralisants
- Le RBD est conservé est est bien antigénique
- Stabilisation de la conformation de pré fusion (délétion site furine).
- difficultés potentielles:
 - échappement
 - Anticorps facilitants?

Différentes stratégies vaccinales

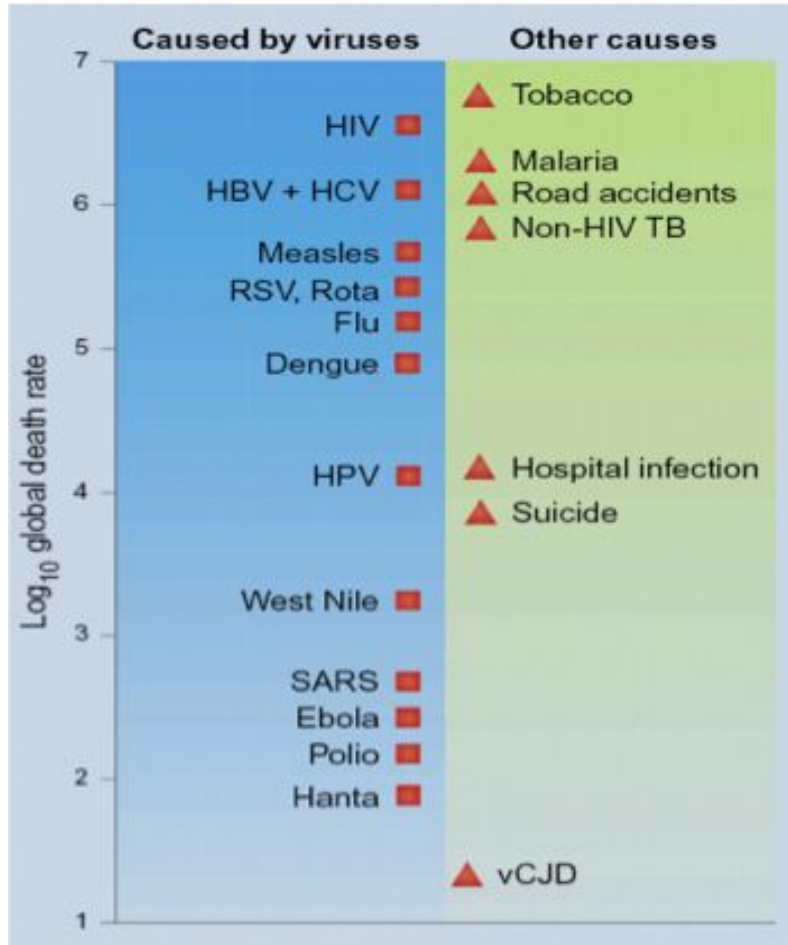
Début septembre 2020

- 321 candidats vaccins en test
- 33 candidats vaccins en phase clinique
- 280 000 participants
- 34 pays



- Qu'est ce qu'un virus ?
- Mécanismes de réplication des Coronavirus
- Contrôle de l'épidémie
 - antiviraux
 - vaccins
 - prophylaxie
- **Pathologies associées au SARS-CoV-2**
- Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme
- Origine du SARS-CoV-2

Les grands pathogènes



Virus

Nb de morts/an dans le monde

HIV	~ 1 500 00 - 2 00 0000
HCV	~ 350 000 - 700 000
HBV	~ 750 000
Hépatite A	~ 100 000
Grippe	~ 250 000 - 600 000
Rougeole	~ 100 000 - 150 000
Dengue	~ 25 000 - 100 000
Rage	~ 75 000
Hépatite E	~ 50 000
RSV	~ 75 000- 250 000
EBOLA	~ 5 000 -12 000
SARS-Cov-2	~ 1 000 000

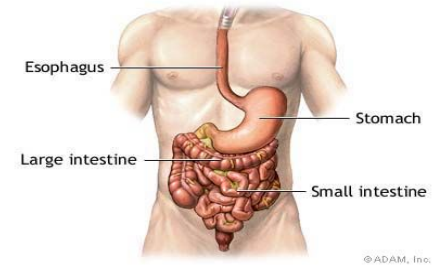
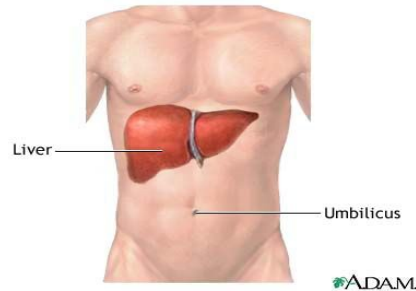
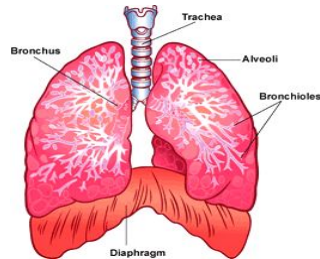
Type d'infections liées aux Coronavirus

Avant 2002 CoV= problèmes vétérinaires:

Coronavirus de souris (MHV) (1949)

Hôtes: Proc, bœuf, gallinacés

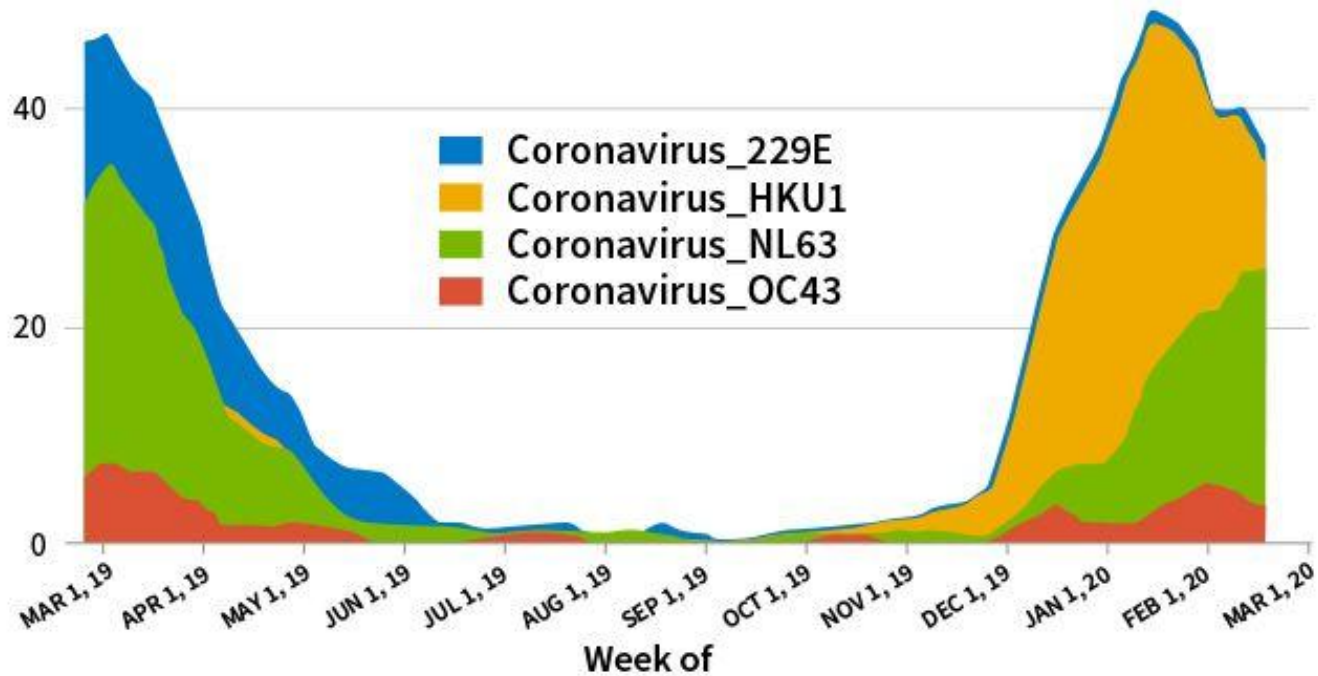
- Respiratoires (human OC43, 229E; avian IBV; bovine BCV)
- Cerveaux (neurotropic MHV, encephalitis, demyelination)
- Foie (MHV)
- Gastro intestinal (porcine TGEV; avian IBV; bovine BCV; MHV; feline FeCoV)
- Peritonites (feline FIPV)



- **Pas d'immunité persistante – réinfection fréquentes**
- **Pas des Vaccin – pas de traitement**

Modified from Matt Frieman

Weekly Cases of Seasonal Coronavirus

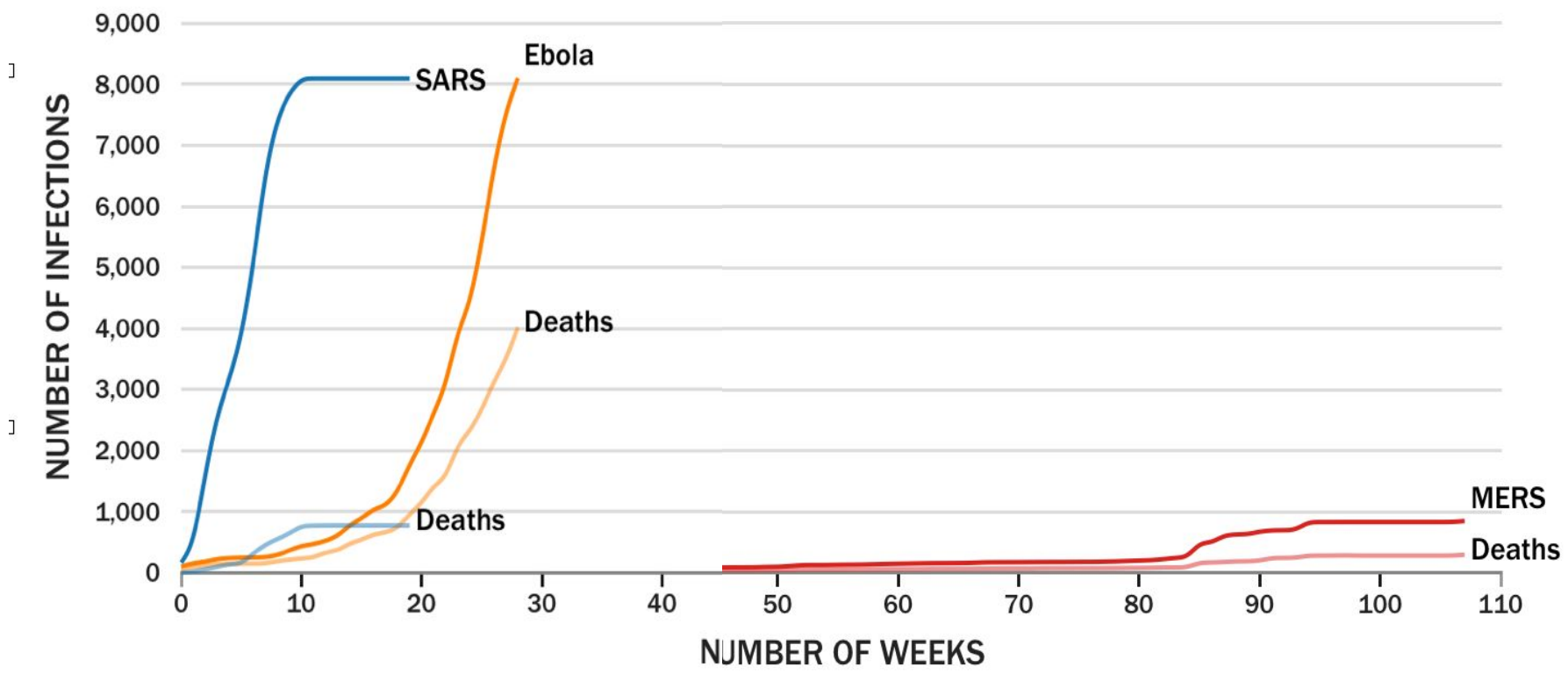


Source: Intermountain Healthcare.

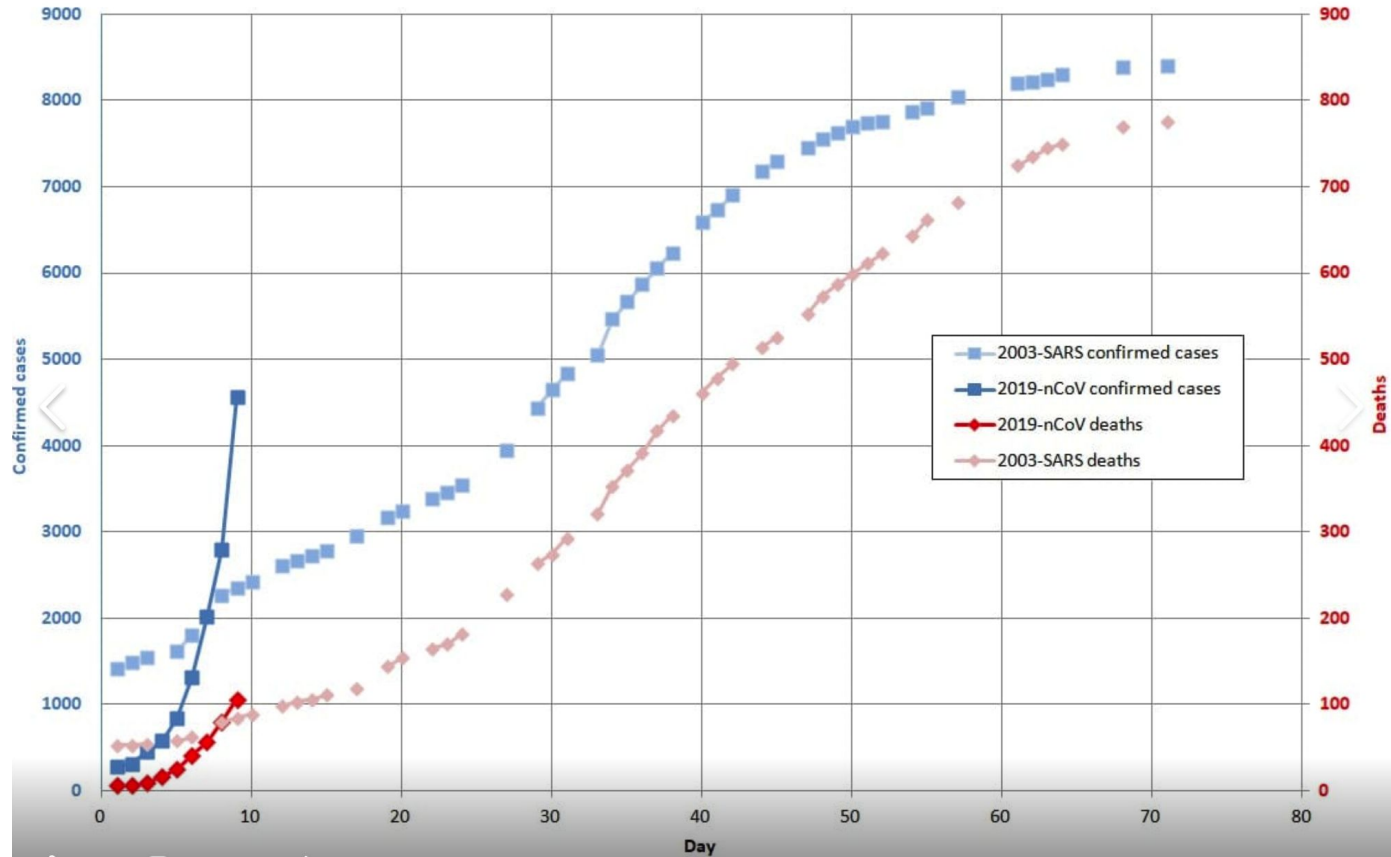
Mais ... l'immunité est présente



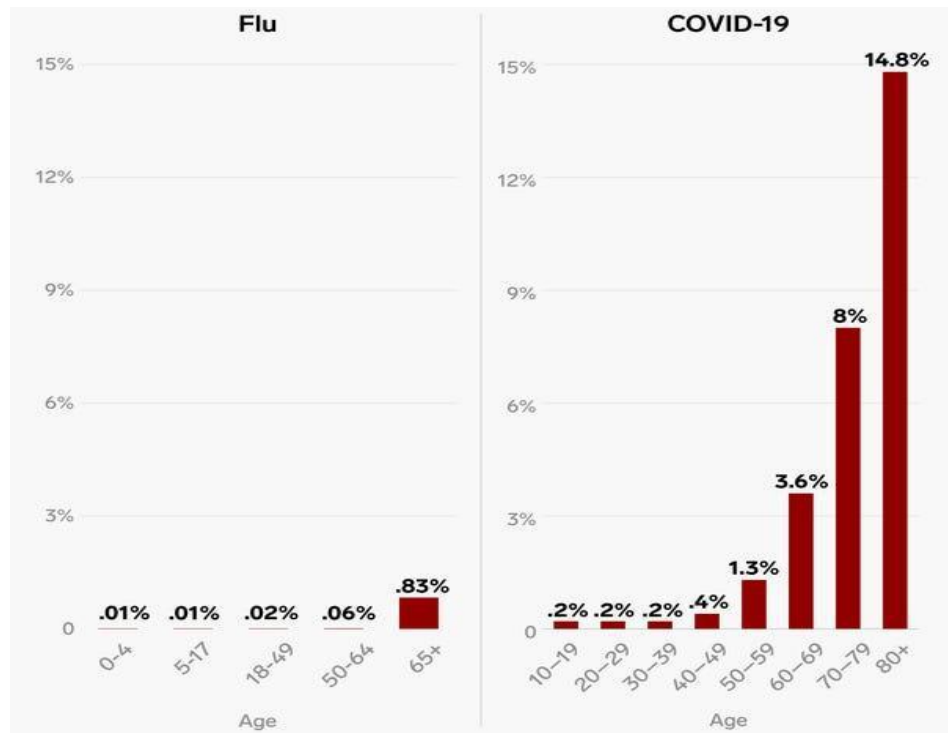
Cinétique de l'émergence du SARS-CoV (épidémie de 2002-2003)



Cinétique de l'émergence du SARS-CoV-2 (2019-nCoV) versus SARS-CoV (2003)



Létalité de la grippe (Flu) versus SARS-CoV-2

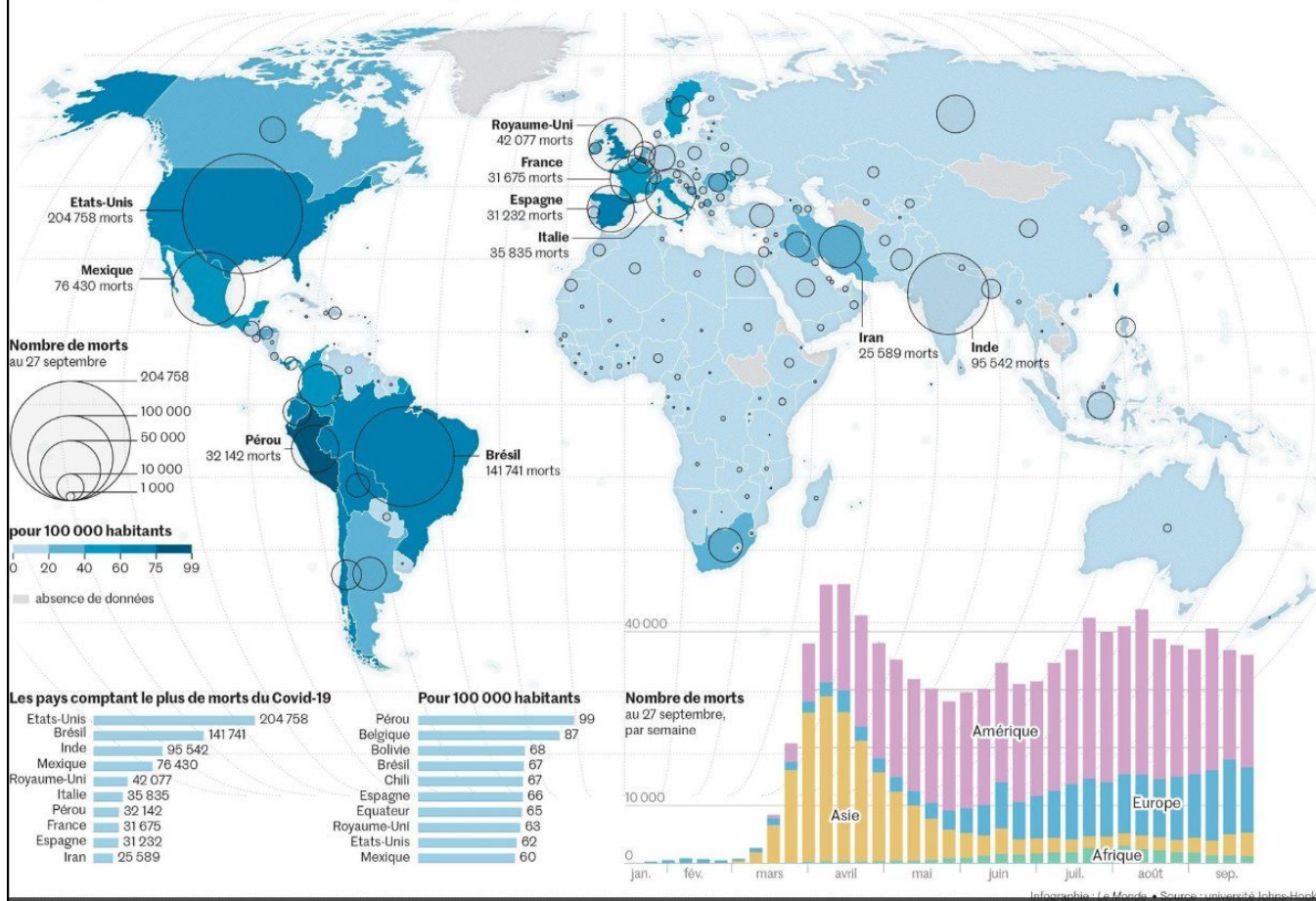


20 à 40 fois plus léthal

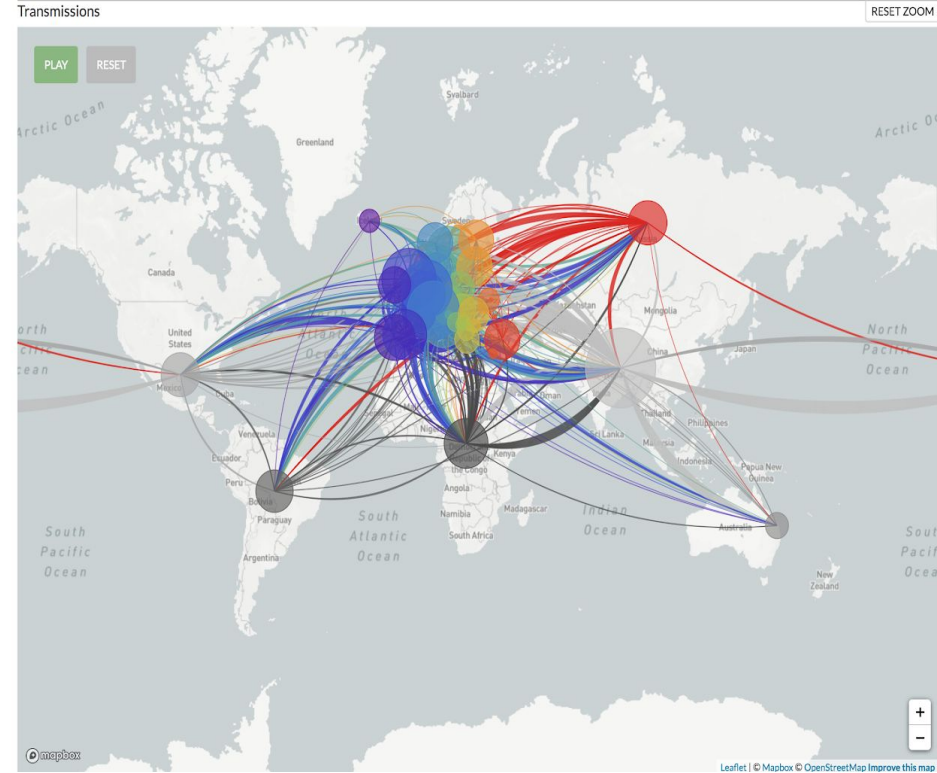
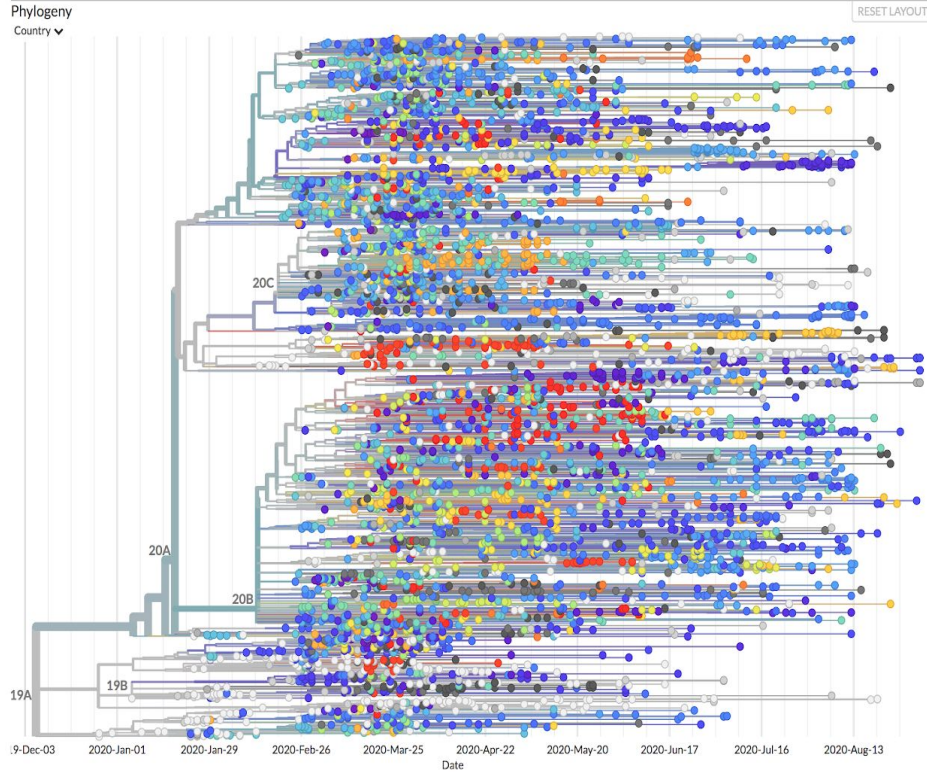
- La figure indique la létalité (nombre de morts par cas positif) en fonction des tranches d'âge.
- Données de mars 2020

Propagation mondiale du SARS-CoV-2 -

L'Amérique, le continent le plus endeuillé par la pandémie de Covid-19

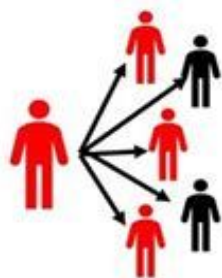


Propagation mondiale du SARS-CoV-2

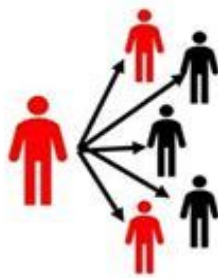


R_0 et progression de l'épidémie

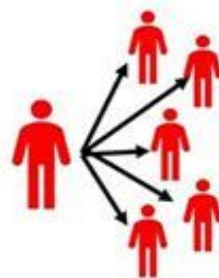
Basic Reproduction Number (R_0) = Attack Rate x Contacts



AR = 60%
 $R_0 = 3$



AR = 40%
 $R_0 = 2$

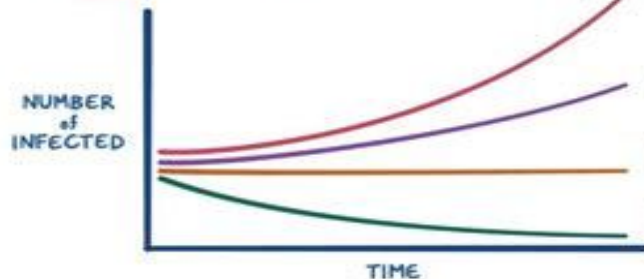


AR = 100%
 $R_0 = 5$



R_0 → HOW QUICKLY it SPREADS

SARS-CoV-2 $R_0 \approx 1.4 - 3.9$



$R_0 > 1$

$R_0 = 1$

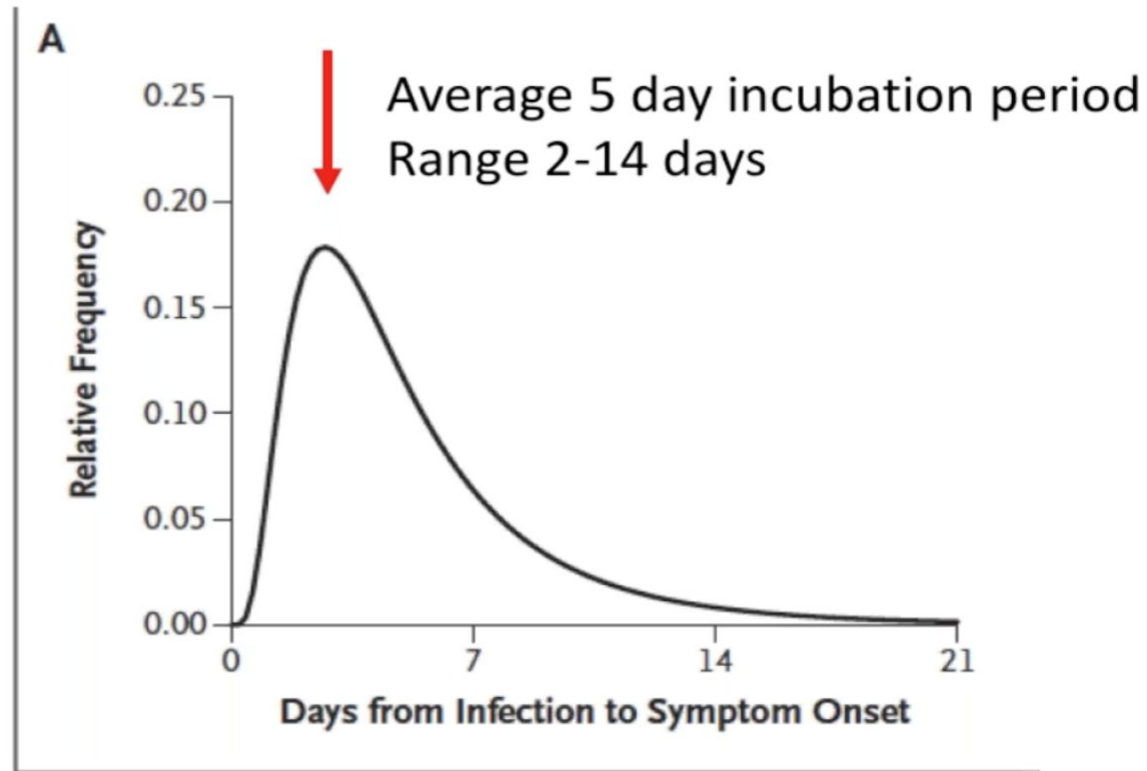
$R_0 < 1$



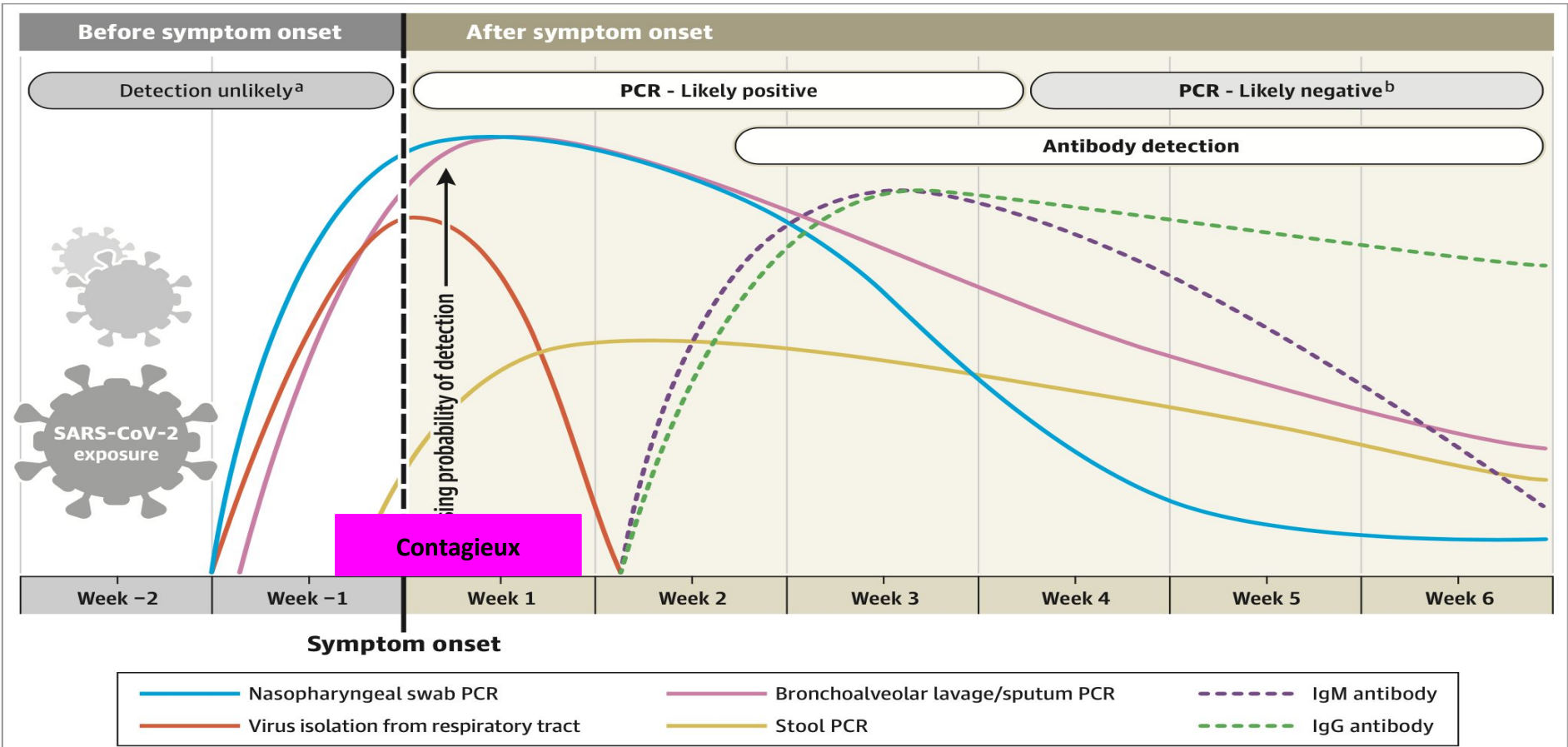
SUPERSPREADERS



Période d'incubation du SARS-CoV-2



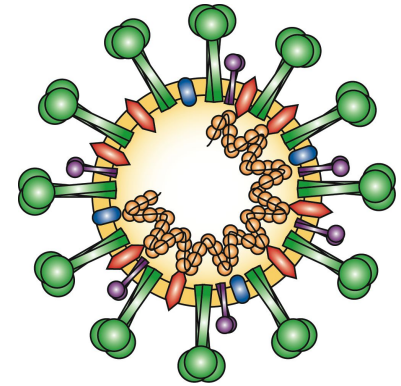
Contagion et stratégie prophylactique



Détecter & isoler

- Qu'est ce qu'un virus ?
- Mécanismes de réplication des Coronavirus
- Contrôle de l'épidémie
 - antiviraux
 - vaccins
 - prophylaxie
- Pathologies associées au SARS-CoV-2
- **Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme**
- Origine du SARS-CoV-2

Emergences de coronavirus humains



Common cold
OC43 can infect
lower respiratory
track
229E
OC43

HKU1; Pneumonia
NL63; Bronchiolitis

SARS-CoV

HKU1

NL63

MERS-CoV

2019-nCoV

1967/1970

1980

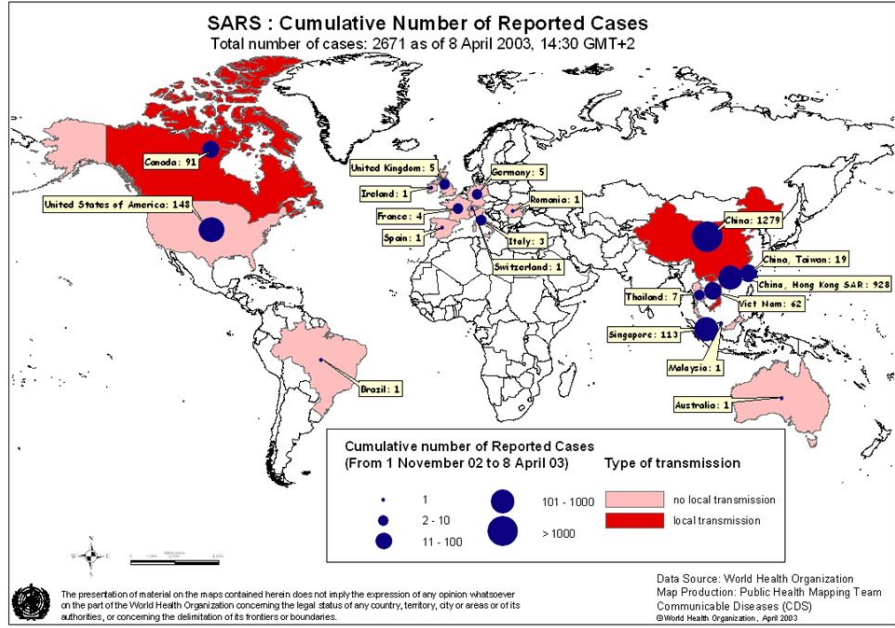
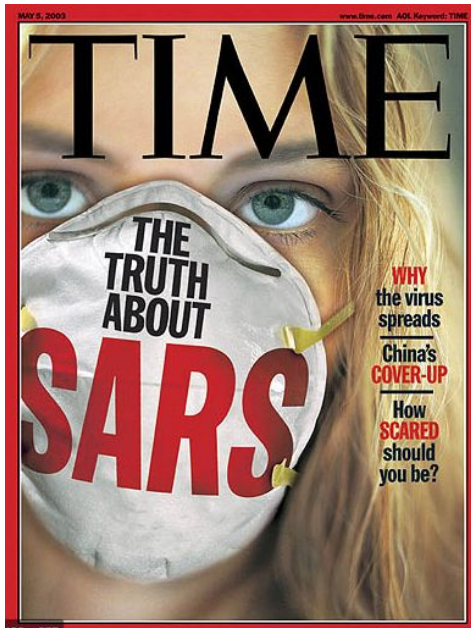
2002/2004/2005

2012

2019

OC43 genome similar to
Bovine coronavirus

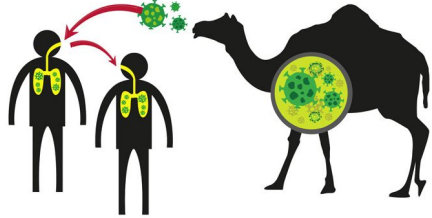
SARS-CoV, MERS-CoV, 2019-nCoV
Severe respiratory disease



Mécanisme de transfert zoonotique

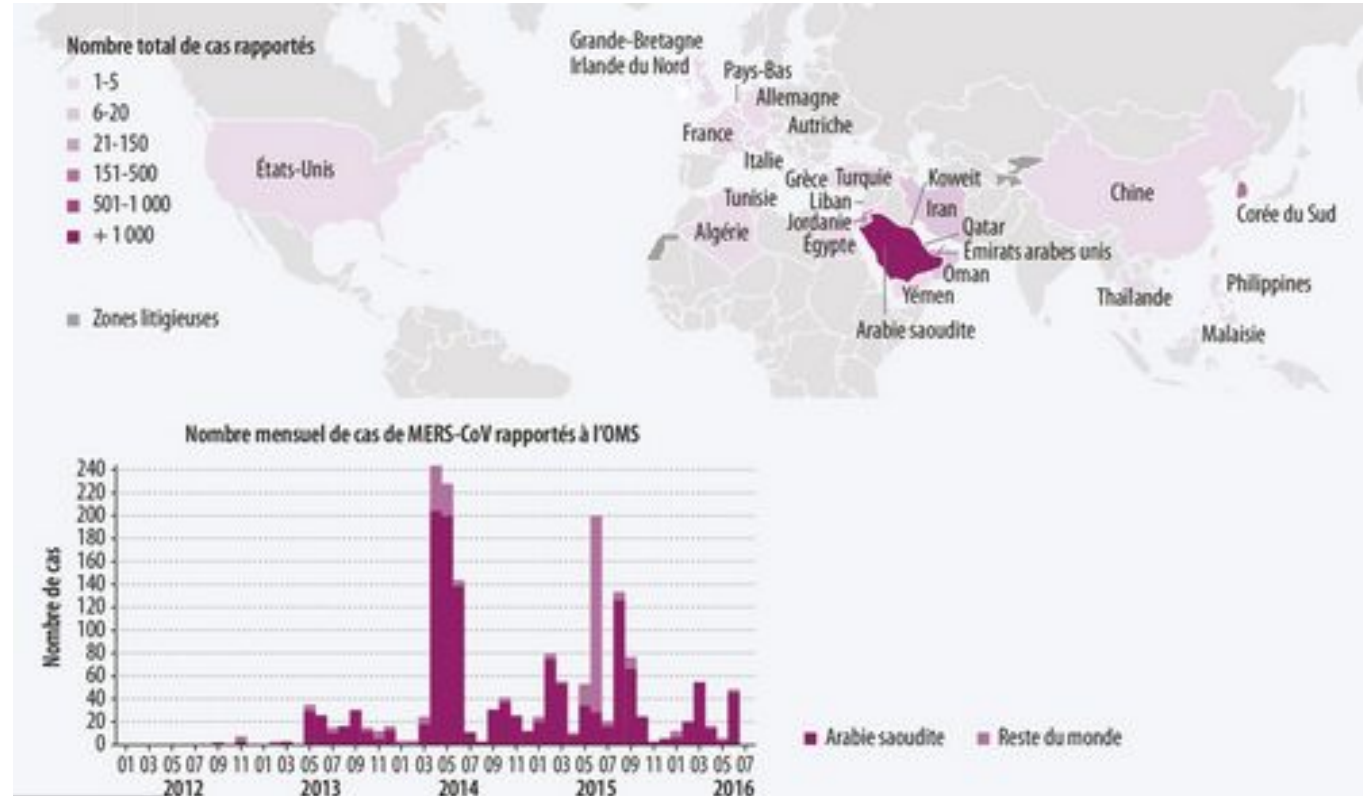


?

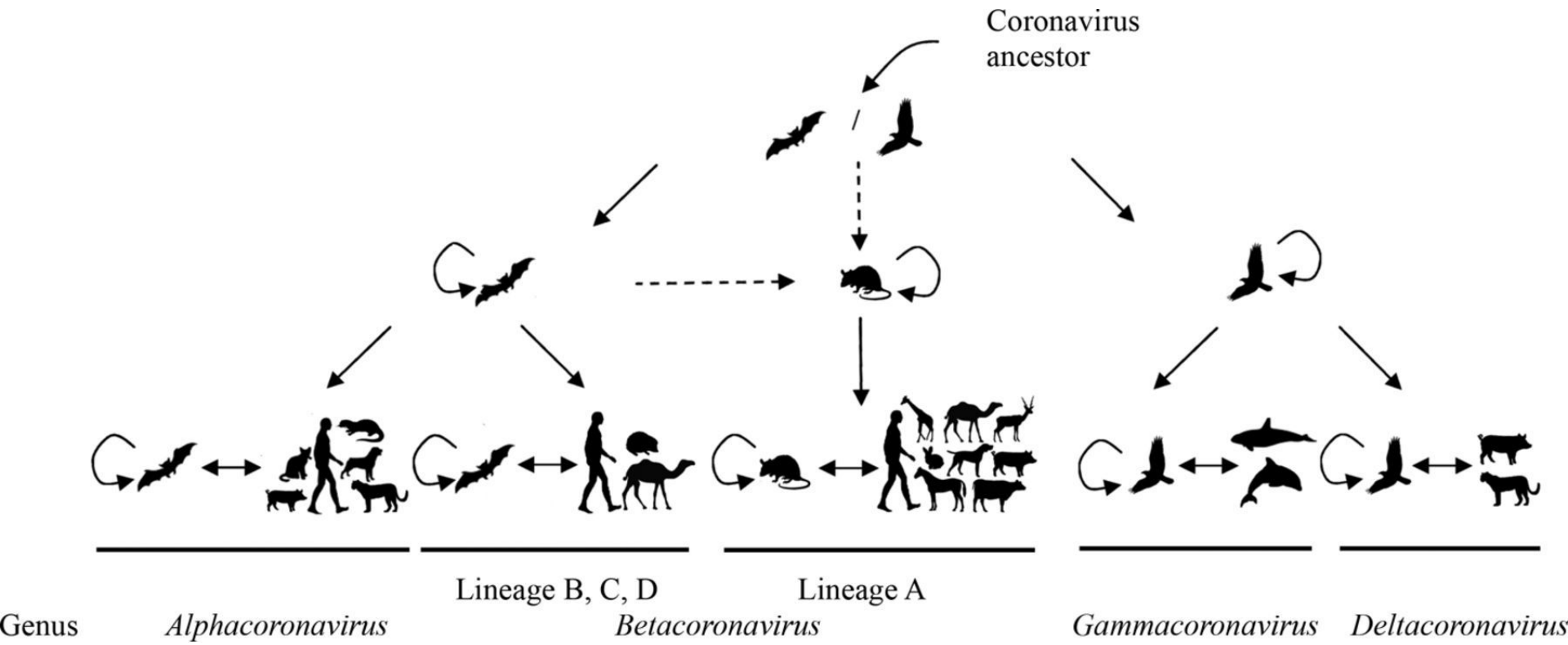


MERS-CoV
Middle East Respiratory Syndrome

Date: 26.08.2015 Category: Science Comment

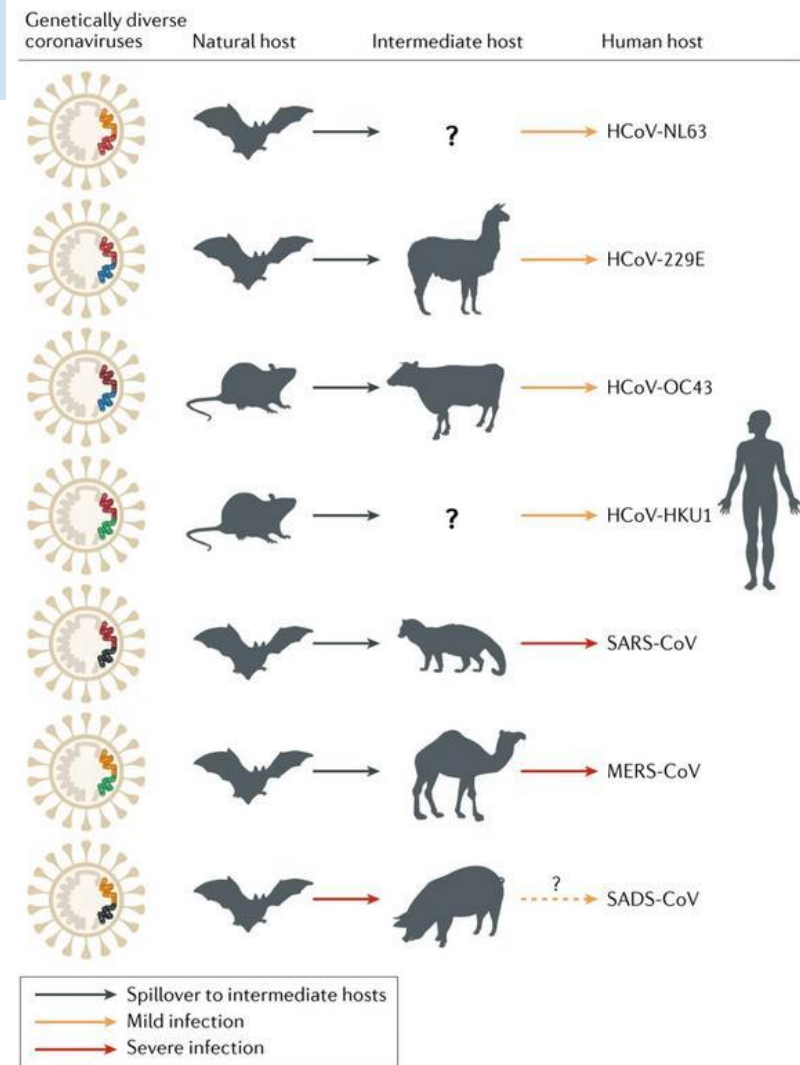


Cycle zoonotique des coronavirus



- Modèle du “débordement”
- Modèle de la circulation de « quasi espèces”

Mécanismes d'émergence des CoV humains



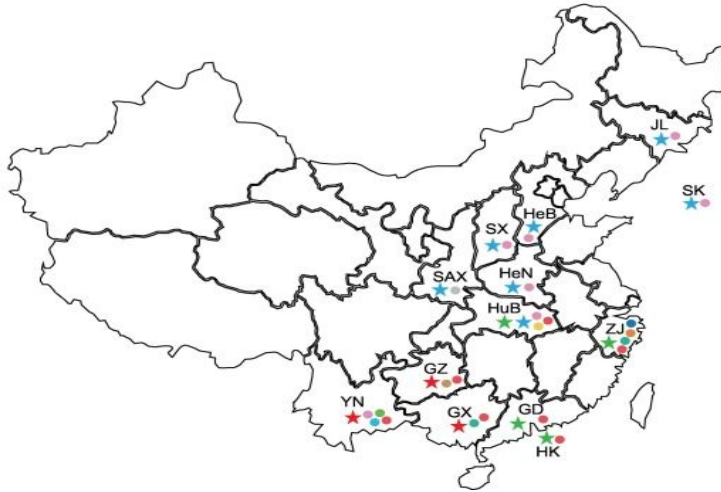
Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Jie Cui, Fang Li & Zheng-Li Shi.

Nature Reviews Microbiology volume 17, pages 181–192(2019)

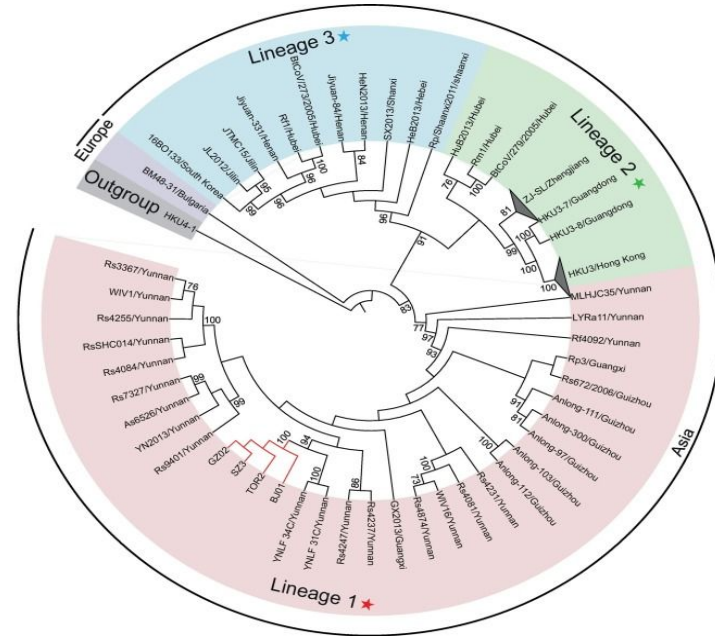
Échantillonner les CoV circulant chez les chauves souris : une stratégie prévenir les pandémies ?

B

- A. stoliczkanus* ●
 - R. affinis* ●
 - R. ferrumequinum* ●
 - R. macrotis* ●
 - R. monoceros* ●
 - R. pearsonii* ●
 - R. pusillus* ●
 - R. rex* ●
 - R. sinicus* ●
 - R. thomasi* ●
-
- Lineage 1 ★
 - Lineage 2 ★
 - Lineage 3 ★



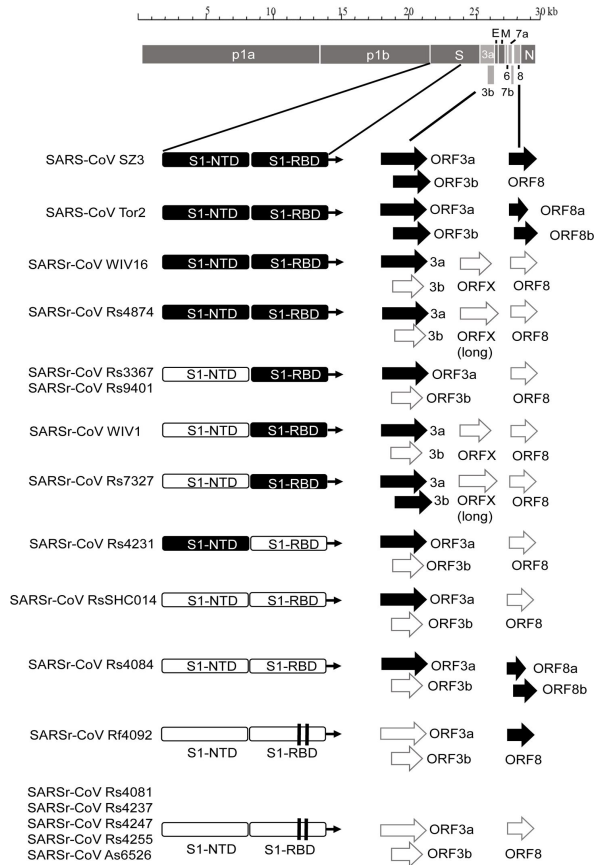
A



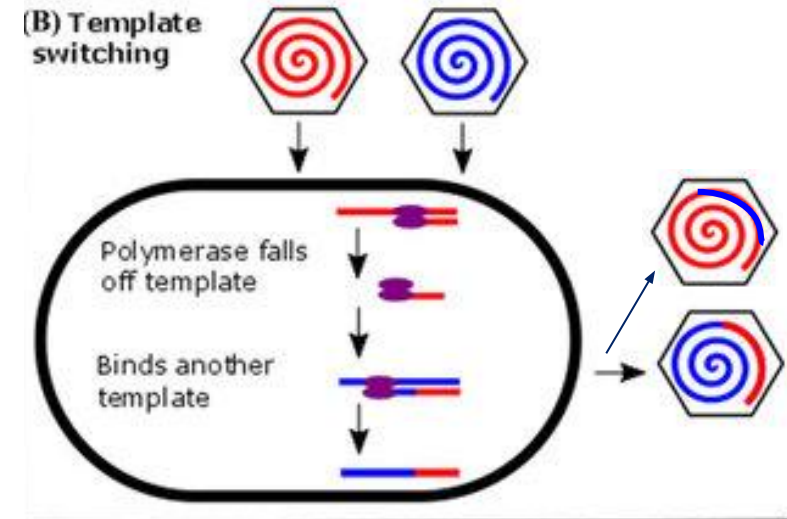
- **Diversité importante chez les chauves-souris qui sont un réservoir**
- **Des CoV de chauves-souris capables d'infecter l'homme sont présents dans la province du Yunnan (Chine)**

- Menachery VD, et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat Med* 2015 ; 21 : 1508–1513.
- Hu B, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog* 2017 ; 13 : e1006698
- Geographical structure of bat SARS-related coronaviruses. Ping Yu 1, Ben Hu 2, Zheng-Li Shi 2, Jie Cui 3

Échantillonnage de SARS-CoV proches du SARS-CoV-1 chez les chauves-souris



- Les chauve souris sont infectées par de nombreuses espèces des CoV.
- Des évènements de **recombinaisons** sont détectables dans les études de phylogénie (génomés chimériques).



1. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus
2. Ben Hu ,et al Plos path : November 30, 2017
3. J. [Dennehy](#), Evolutionary ecology of virus emergence: Virus emergence, 2016, Annals of the New York Academy of Science

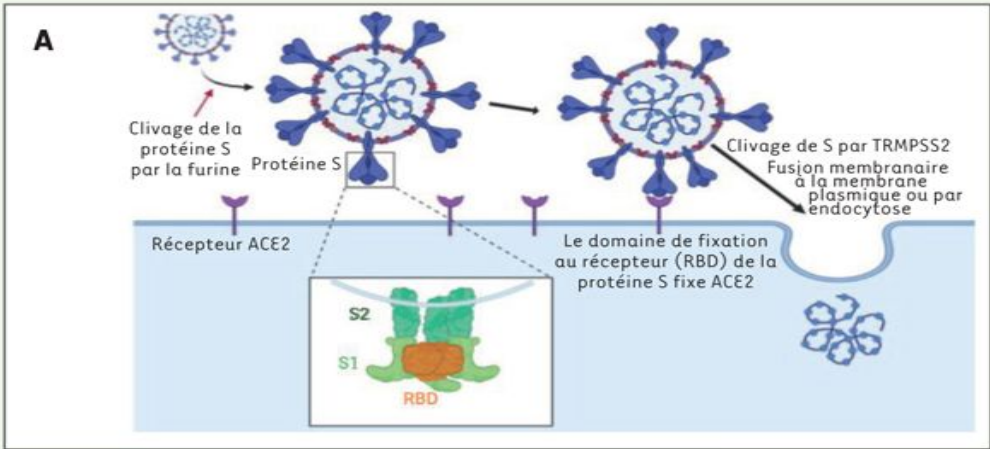
La capacité d'entrée du virus est essentielle au transfert zoonotique ?



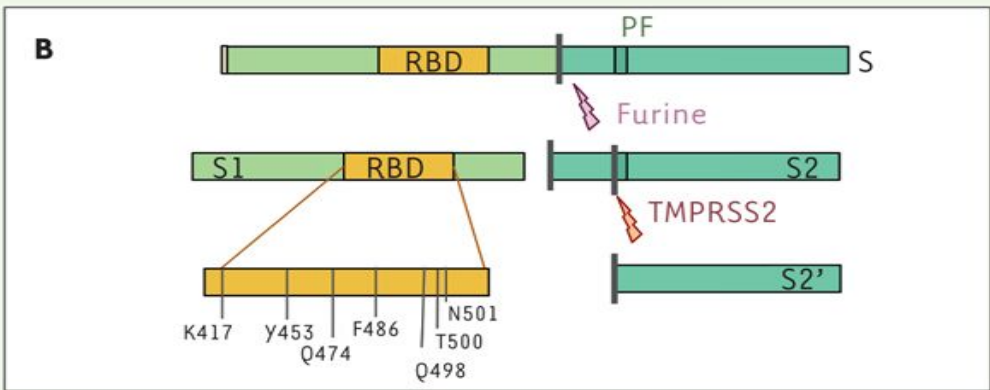
**Récepteur
(ACE2)**

**Protéine virale
se liant au récepteur
(S, Spike, spicule,...)**

La protéine S est un déterminant majeur du franchissement de la barrière d'espèce

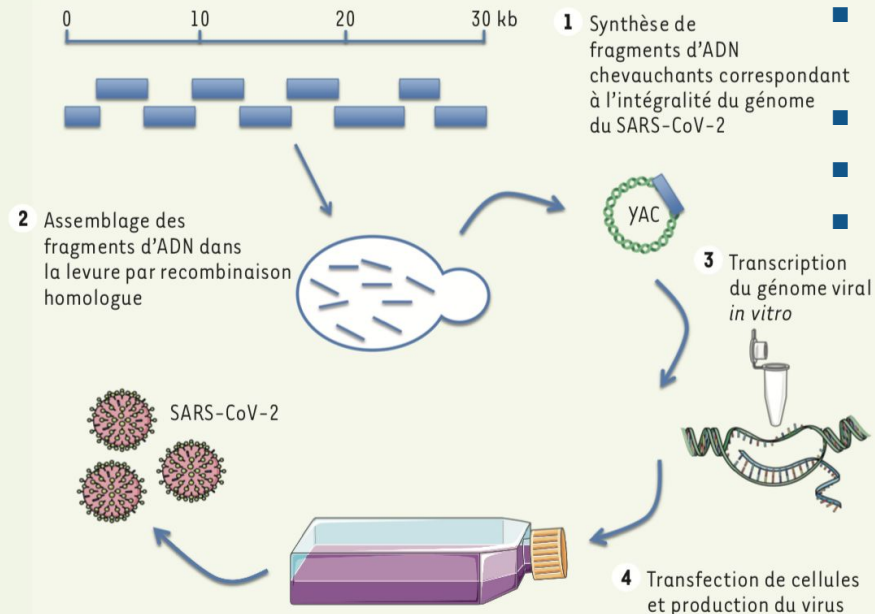


Reconnaissance du récepteur ACE2



Clivage par des protéases cellulaire de la protéine S

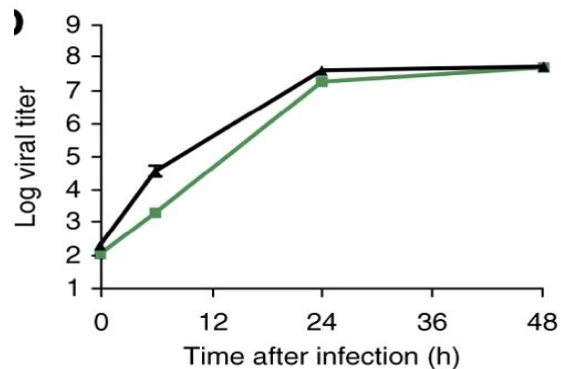
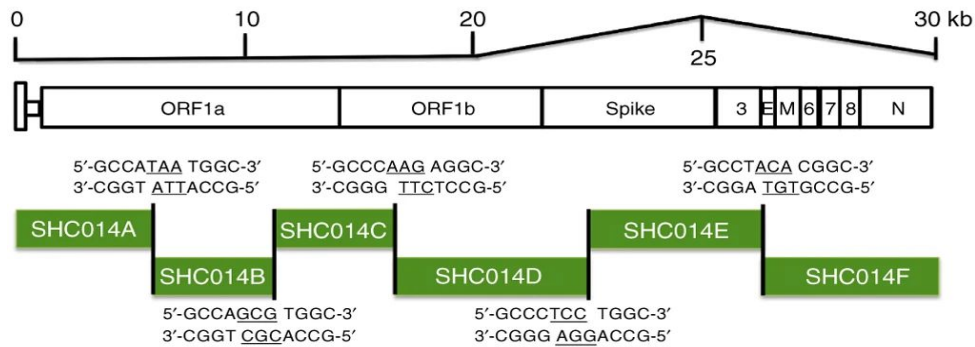
Comment a-t-on démontré ces deux assertions ?



- Il est possible de construire des CoV à partir de séquences synthétiques
- Ces virus synthétiques sont infectieux
- Ceci a été fait récemment avec le SARS-CoV-2
- Pour plus de détails, lire [Iseni & Tournier, 2020](#).

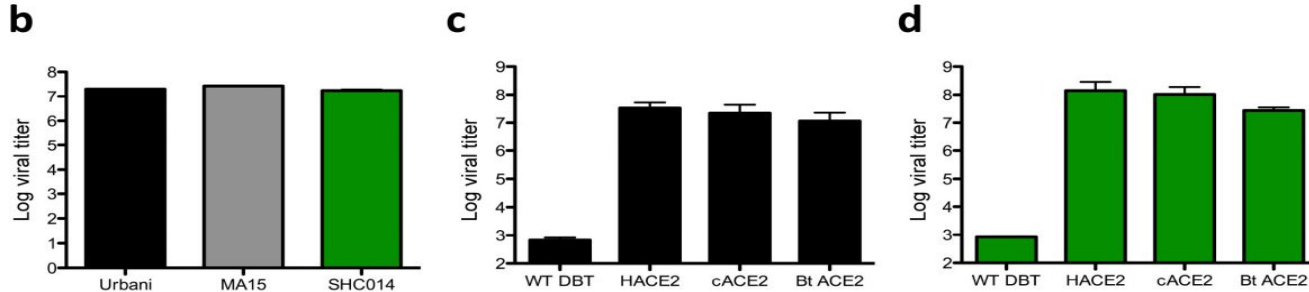
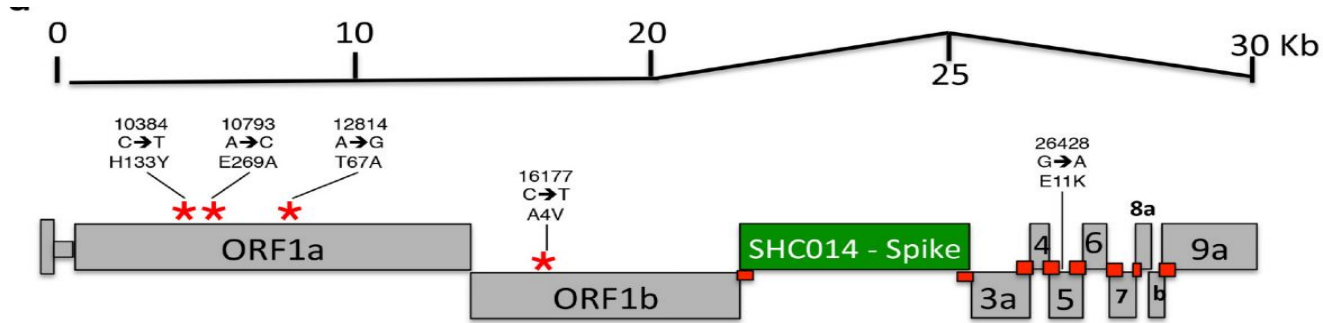
Figure 2. Schéma des étapes de la reconstruction du SARS-CoV-2. Voir le texte pour le détail des différentes étapes.

Reconstruction de COV



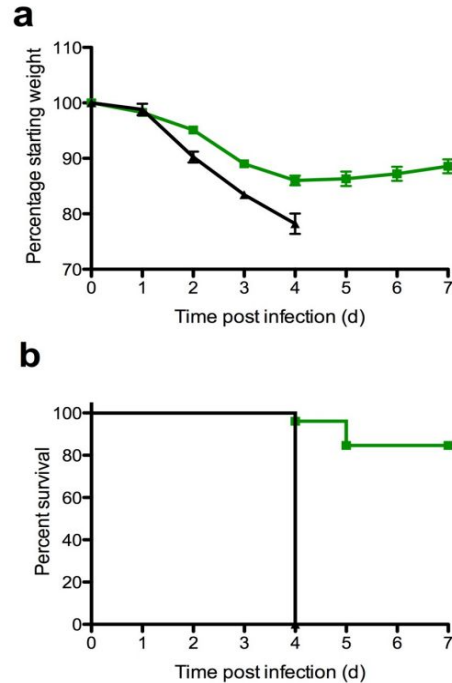
- Dès 2008, on a construit des coronavirus synthétiques à partir de fragments chevauchants de génomes.
- Exemple (2015) souche de coronavirus RsSHC014A, isolée à partir de la chauve-souris de la famille des Rhinolophidae (horseshoe bats).
- Figure du haut : fragments de départ (boîtes vertes) utilisés pour assembler un génome complet (rectangle blanc).
- Bas : expérience démontrant que le virus reconstruit est infectieux sur des cultures cellulaires.

Expériences de Gain de fonction: Comment construire des virus chimériques qui franchissent la barrière d'espèce?



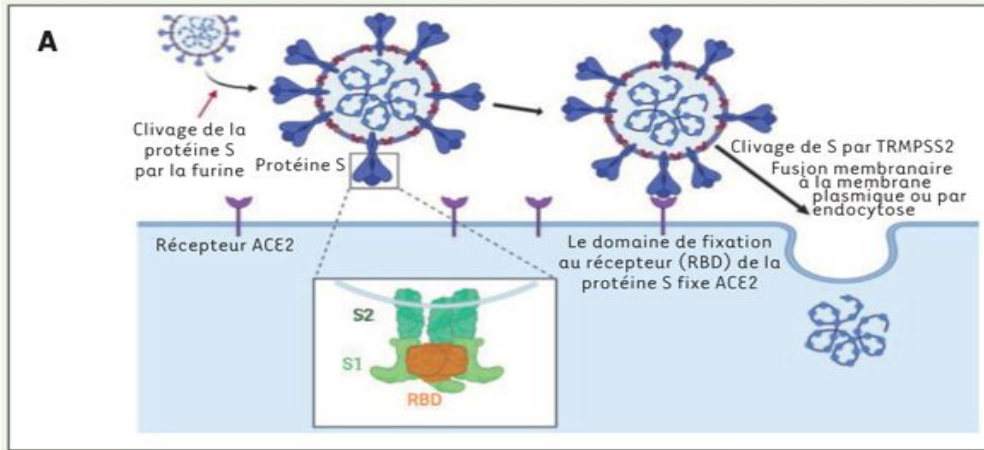
Supplementary Figure 2: Chimeric SHC014-MA15 CoV is viable and utilizes ACE2 orthologs for entry. (a) Organization of chimeric SARS-like virus which substitutes SHC014 (green) spike protein into the SARS-CoV mouse adapted (MA15) backbone. Amino acid changes between epidemic SARS-CoV Urbani and MA15 highlighted by stars. (b) End point titers 24 hours post infection following infection with wild-type Urbani (black, $n = 1$), mouse adapted MA15 (Gray, $n = 1$), or SHC014-MA15 CoV (green, $n = 3$). (c,d) End point titers of (c) SARS-CoV Urbani or (d) SHC014-MA15 in wild-type or DBT cells expressing human, civet, or bat ACE2 receptors ($n = 3$ for all groups). For each graphical figure, center value representative of group mean and error bars defined by SEM.

Ces virus chimériques infectent et induisent la maladie chez des souris

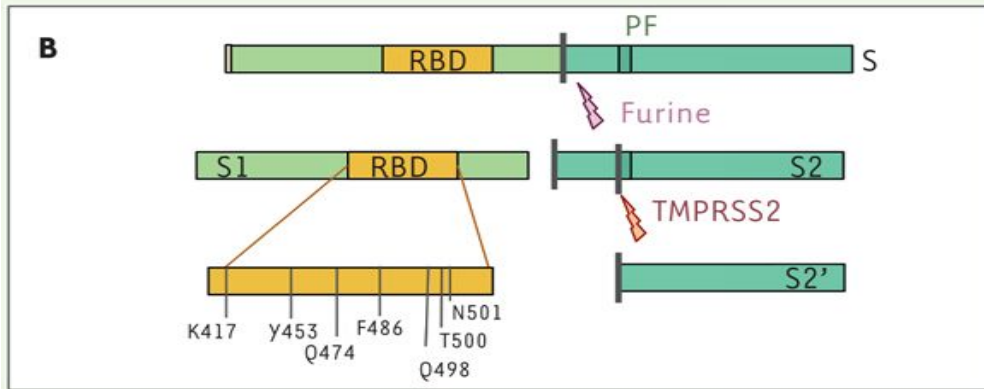


Supplementary Figure 3: Chimeric SHC014-MA15 induces robust disease in aged animals. In vivo infection of 12 month old Balb/c mice infected with 1×10^4 PFU of SARS-CoV MA15 (black, $n = 4$) or SHC014-MA15 (green, $n = 29$) via the *i.n.* route. **(a)** Weight loss and **(b)** lethality. For each graphical figure, center value representative of group mean and error bars defined by SEM.

La protéine S est un déterminant majeur du franchissement de la barrière d'espèce



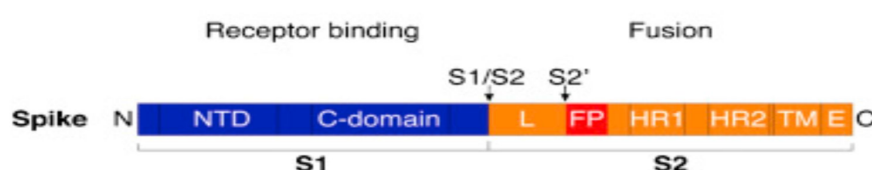
Reconnaissance du récepteur ACE2



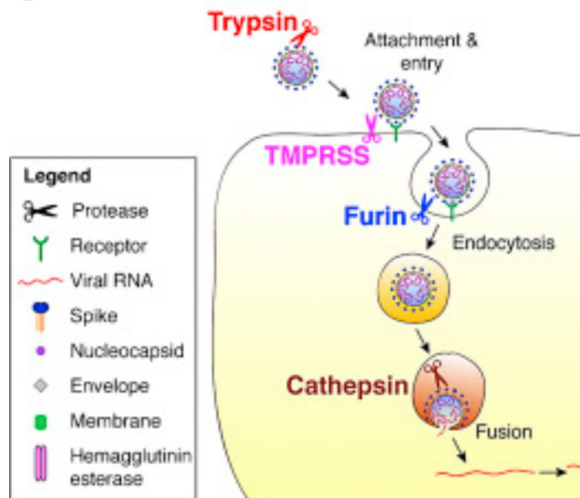
Clivage par des protéases cellulaire de la protéine S

Comment a-t-on démontré que le clivage est important ?

Le clivage de la protéine d'enveloppe joue un rôle déterminant dans l'infection



C



- L'activation de propriétés fusogène de la S requiert
 1. priming (S1/S2)
 2. clivage en amont de S2
- Plusieurs enzymes sont impliquées dans ce processus (dépend des cellules et espèces animales)
- Remarque : pour démontrer cela, on a inséré des sites de clivage de la furine dans le gène spike de CoV

Trypsin Treatment Unlocks Barrier for Zoonotic Bat Coronavirus Infection.

Menachery VD, Dinnon KH 3rd, Yount BL Jr, McAnarney ET, Gralinski LE, Hale A, Graham RL, Scobey T, Anthony SJ, Wang L, Graham B, Randell SH, Lipkin WI, Baric RS.

J Virol. 2020 Feb 14;94(5):e01774-19. doi: 10.1128/JVI.01774-19. Print 2020 Feb 14.

A Single Point Mutation Creating a **Furin** Cleavage Site in the Spike Protein Renders Porcine Epidemic Diarrhea **Coronavirus** Trypsin Independent for Cell Entry and Fusion.

Li W, Wicht O, van Kuppeveld FJ, He Q, Rottier PJ, Bosch BJ.

J Virol. 2015 Aug;89(15):8077-81. doi: 10.1128/JVI.00356-15. Epub 2015 May 13.

The S2 Subunit of QX-type Infectious Bronchitis Coronavirus Spike Protein Is an Essential Determinant of Neurotropism.

Cheng J, Zhao Y, Xu G, Zhang K, Jia W, Sun Y, Zhao J, Xue J, Hu Y, Zhang G.

Viruses. 2019 Oct 22;11(10):972. doi: 10.3390/v11100972.

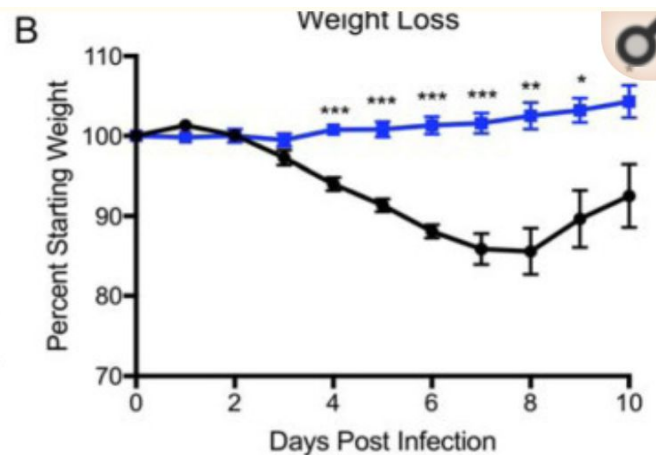
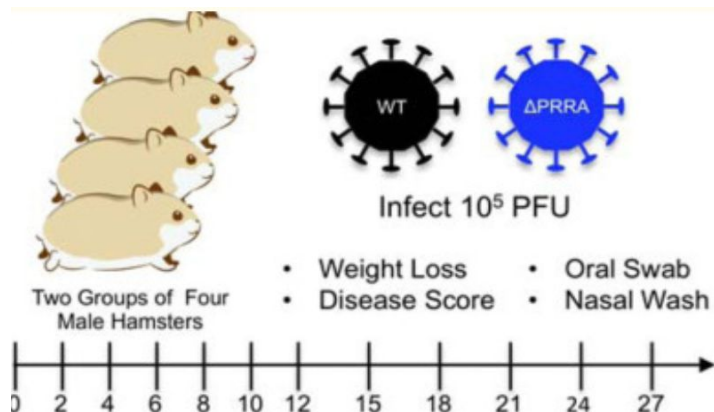
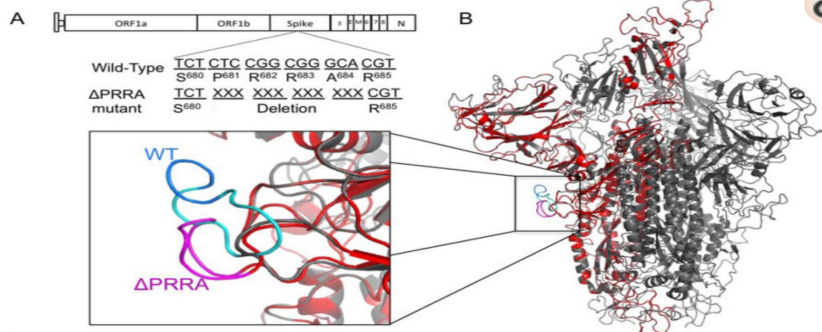
Le site de clivage par la furine est important pour l'infection et la pathogénèse en modèle animaux

Furin Cleavage Site Is Key to SARS-CoV-2 Pathogenesis.

Johnson BA, Xie X, Kalveram B, Lokugamage KG, Muruato A, Zou J, Zhang X, Juelich T, Smith JK, Zhang L, Bopp N, Schindewolf C, Vu M, Vanderheiden A, Swetnam D, Plante JA, Aguilar P, Plante KS, Lee B, Weaver SC, Suthar MS, Routh AL, Ren P, Ku Z, An Z, Debbink K, Shi PY, Freiberg AN, Menachery VD.

bioRxiv. 2020 Aug 26:2020.08.26.268854. doi: 10.1101/2020.08.26.268854. Preprint.

PMID: 32869021 [Free PMC article.](#)

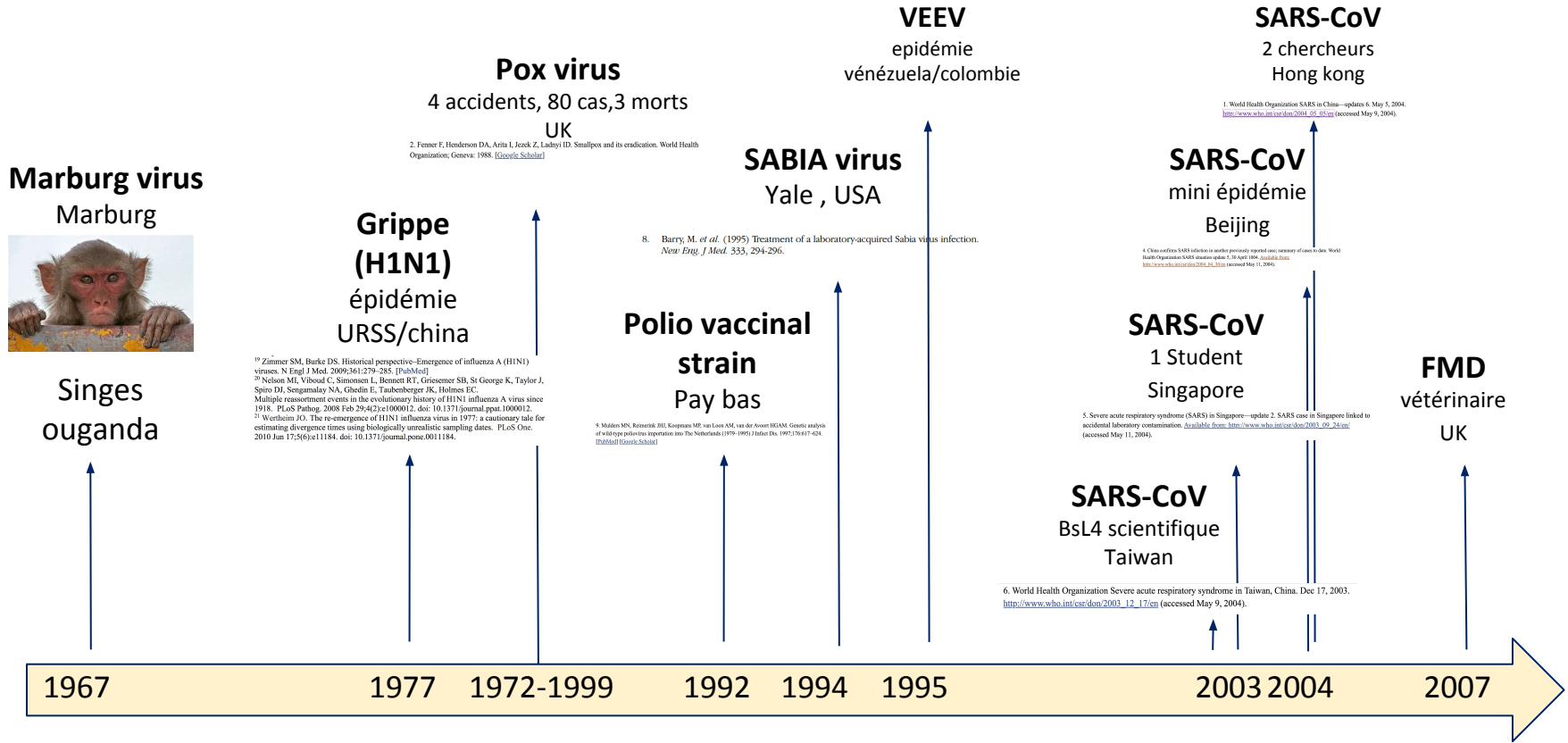


- Qu'est ce qu'un virus ?
- Mécanismes de réplication des Coronavirus
- Contrôle de l'épidémie
 - antiviraux
 - vaccins
 - prophylaxie
- Pathologies associées au SARS-CoV-2
- Mécanismes d'émergence des coronavirus chez l'homme
- **Origine du SARS-CoV-2**

Hypothèses sur l'origine du SARS-CoV-2

- Zoonose naturelle ... c'est le processus usuel des émergences
 - modèle spillover (débordement)
 - modèle des “quasi espèces”
 - Note: la collecte des échantillons sur les sites naturels génère des risques de zoonose
- Origine de laboratoire (accidentelle) ?
 - Il y a eu plusieurs précédents de virus échappés de laboratoires, par exemple grippe, ebola, variole, SARS-CoV (de 2002), ...
 - Virus “naturel” cultivé en laboratoire
 - culture en cellules
 - expérimentation animale
 - Virus génétiquement modifié (et cultivé en laboratoire)
 - expérience de gain de fonction
- Sirotnin et Sirotkin (2020) explorent les hypothèses d'échappement d'un laboratoire pour SARS-CoV-2.

Accidents de labo : cas répertoriés d'échappement de virus



Marburg virus

Marburg



Singes

ouganda

¹⁹ Zimmer SM, Burke DS. Historical perspective—Emergence of influenza A (H1N1) viruses. *N Engl J Med*. 2009;361:279–285. [PubMed]
²⁰ Nelson ML, Viboud C, Simonsen L, Bennett RT, Grenier SB, St George K, Taylor J, Spiro DJ, Sengamlay NA, Ghedin E, Taubenberger JK, Holmes EC. Multiple reassortment events in the evolutionary history of H1N1 influenza A virus since 1918. *PLoS Pathog*. 2008 Feb 29;4(2):e1000012. doi: 10.1371/journal.ppat.1000012
²¹ Wertheim JO. The re-emergence of H1N1 influenza virus in 1977: a cautionary tale for estimating divergence times using biologically unrealistic sampling dates. *PLoS One*. 2010 Jun 17;5(6):e11184. doi: 10.1371/journal.pone.0011184.

⁸ Madon RP, Zimmerli HJ, Kopmans MP, van Loon AM, van der Avoort HJAM. Genetic analysis of wild-type poliovirus sequences from The Netherlands (1979–1999). *J Gen Virol*. 1997;78(6):1424. [PubMed] [CrossRef]

⁸ Barry M, et al. (1995) Treatment of a laboratory-acquired Sabia virus infection. *New-Eng. J Med*. 333, 294-296.

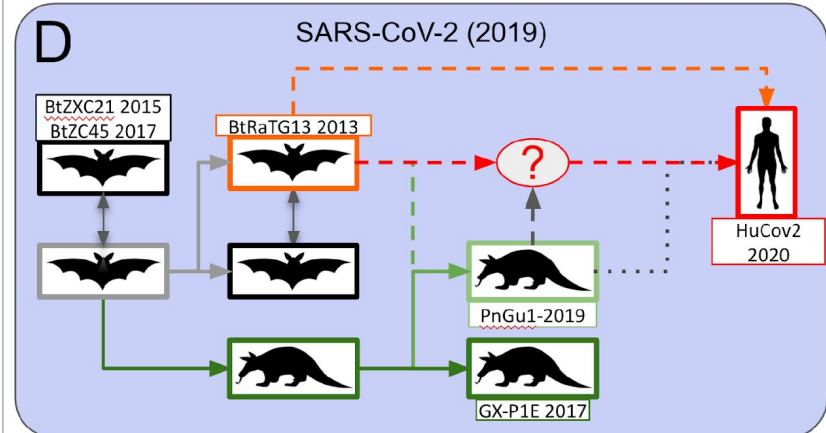
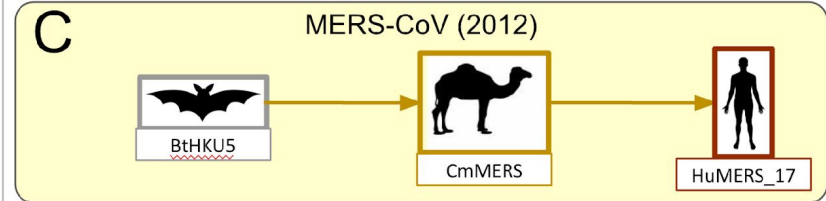
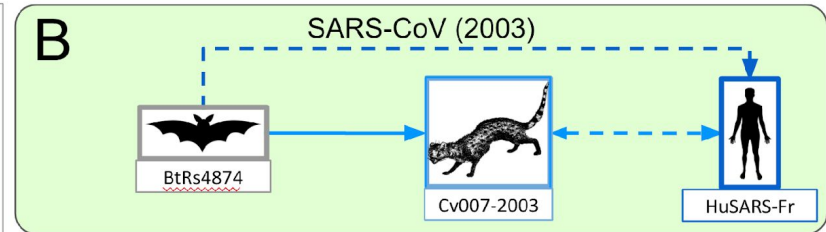
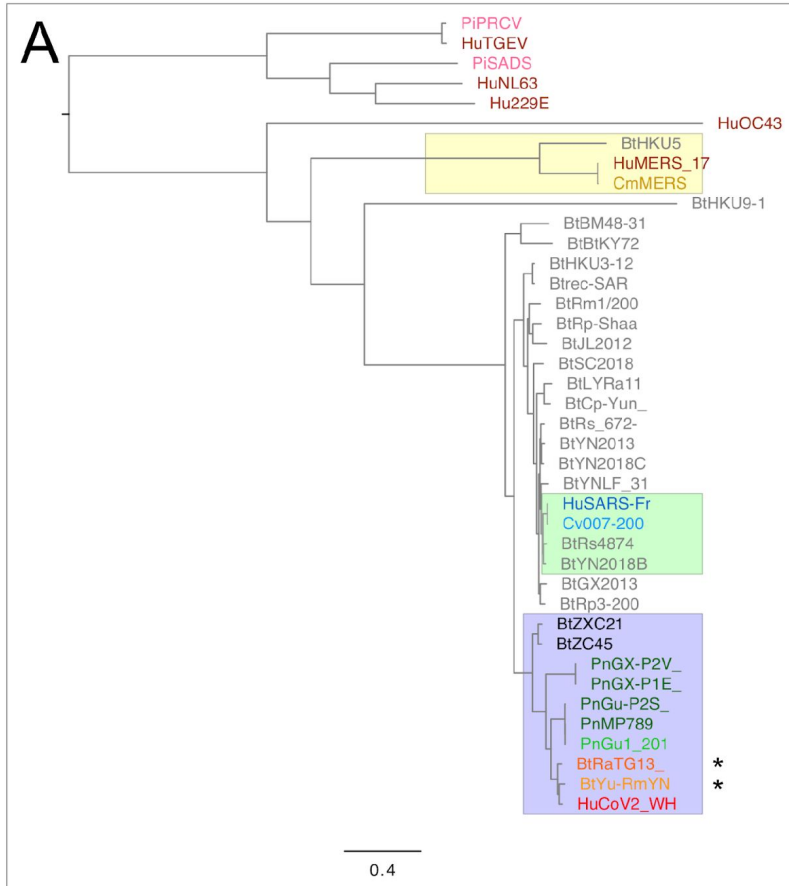
¹ World Health Organization SARS in China—updates 6. May 5, 2004. http://www.who.int/csr/don/2004_05_05.html (accessed May 9, 2004).

⁴ China confirms SARS infection in another previously reported case summary of case studies. World Health Organization SARS situation update 7. 16 April 2004. http://www.who.int/csr/don/2004_04_16.html

⁵ Severe acute respiratory syndrome (SARS) in Singapore—update 2. SARS case in Singapore linked to accidental laboratory contamination. Available from: http://www.who.int/csr/don/2003_09_25/en (accessed May 11, 2004).

⁶ World Health Organization Severe acute respiratory syndrome in Taiwan, China. Dec 17, 2003. http://www.who.int/csr/don/2003_12_17/en (accessed May 9, 2004).

La phylogénie permet de retracer les origines des virus

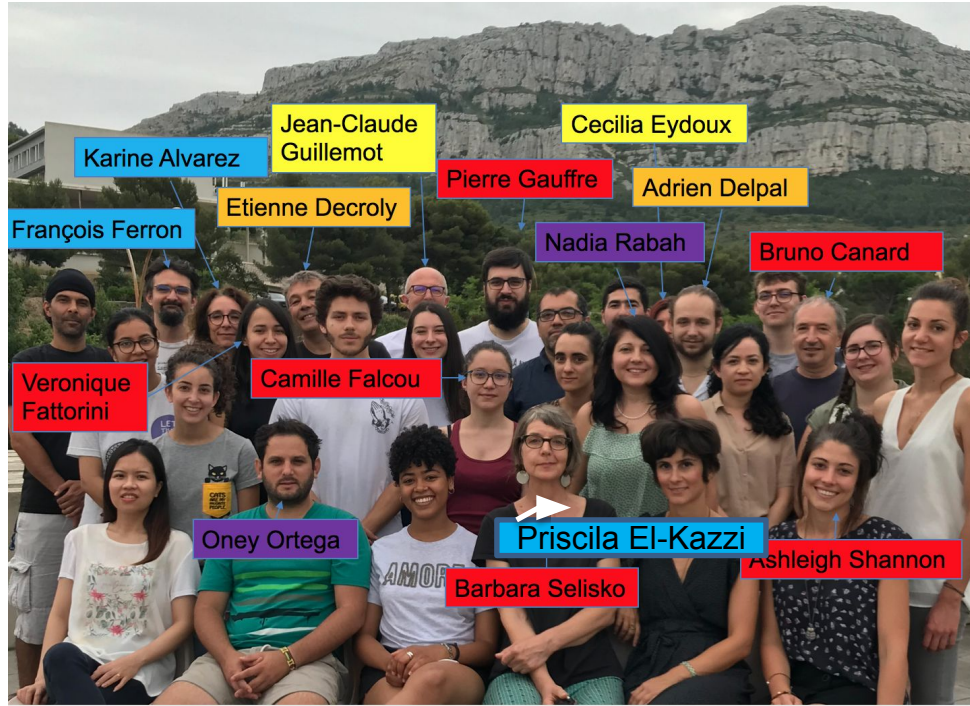


Que faut-il retenir ?

1. Des coronavirus circulent dans la faune sauvage (en particulier chez les chauves-souris).
2. Le transfert direct des CoV de chauve-souris à l'humain n'est pas documenté. Des espèces intermédiaires sont souvent requises.
3. Le récepteur humain ACE2 est la porte d'entrée du SARS et est très conservé entre espèces animales, ce qui facilite le passage de virus d'une espèce à l'autre.
4. La recombinaison entre souches virales est un mécanisme majeur de leur évolution.
5. L'hypothèse la plus explorée pour SARS-CoV-2 est l'origine zoonotique naturelle.
6. L'hypothèse d'un accident de laboratoire mérite cependant d'être explorée.
 - ❑ Il y a plusieurs précédents de virus échappés de laboratoires
 - ❑ On pratique régulièrement
 - la collecte d'échantillons naturels
 - la cultures de virus en laboratoire
 - des expériences visant à tester la capacité de transmission entre espèces
 - des expériences de gain de fonction

Peut-on retrouver dans les séquences génomiques des indices concernant les origines vraisemblables ?
Vous le saurez en suivant le prochain cours de ce cycle (saison 1, épisode 2) : *Retrouver les origines du SARS-CoV-2 dans les phylogénies de coronavirus*

Remerciements à la CoV-team (laboratoire AFMB, CNRS-AMU)



Olive Peersen – CSU (USA)
Ft Collins □ Marseille
CSU: Confined Sabbatical at University

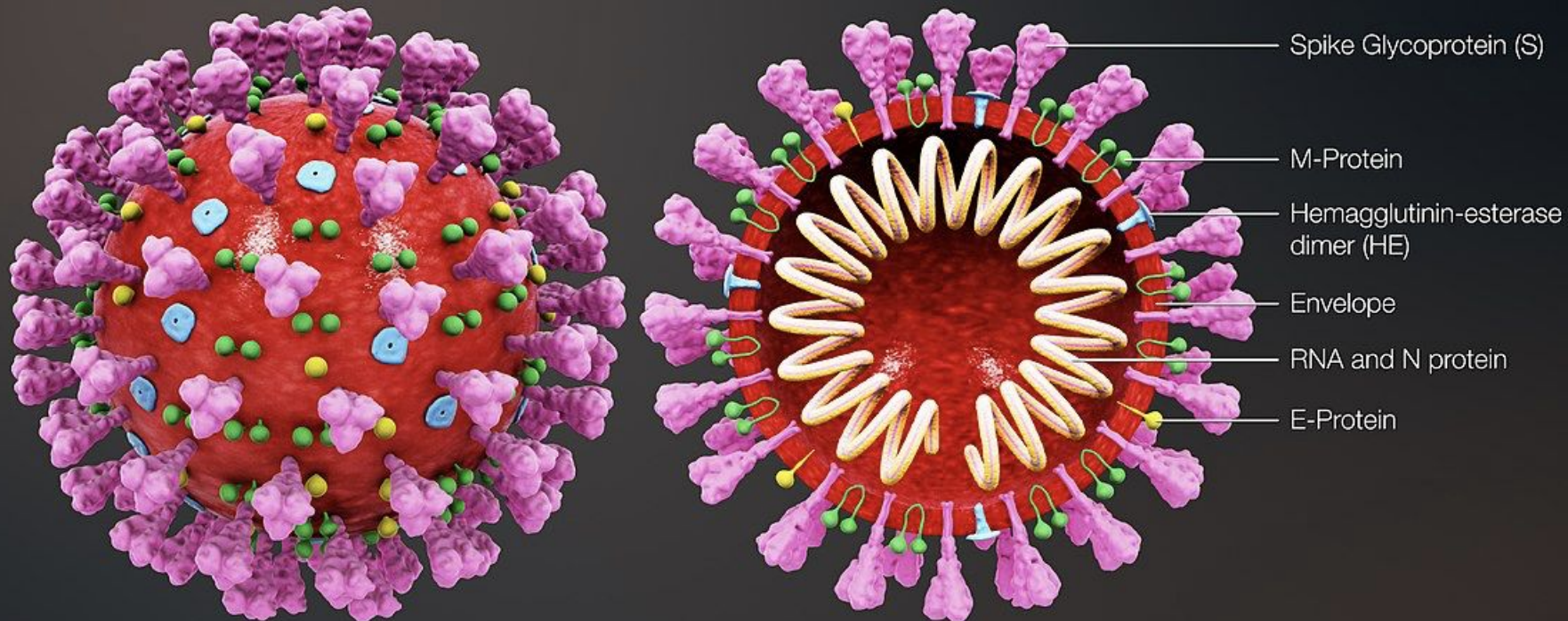
people's favorite
enzymes/projects :

- RdR
- Exonuclease
- Methyltransferases
- Macro Domain
- Screening Platform

Past members: Mickael Bouvet, Lorenzo Subissi, Nhung Le, Isabelle Imbert, Ana-Theresa Morais, Marion Sevajol, Wahiba Aouadi, **Bruno Coutard**, Axelle Collet, Laure Gluais, Claire Debarnot, H elene Malet, Marie-Pierre Egloff.

COVID-19 : APPROCHES SCIENTIFIQUES & ENJEUX SOCIÉTAUX

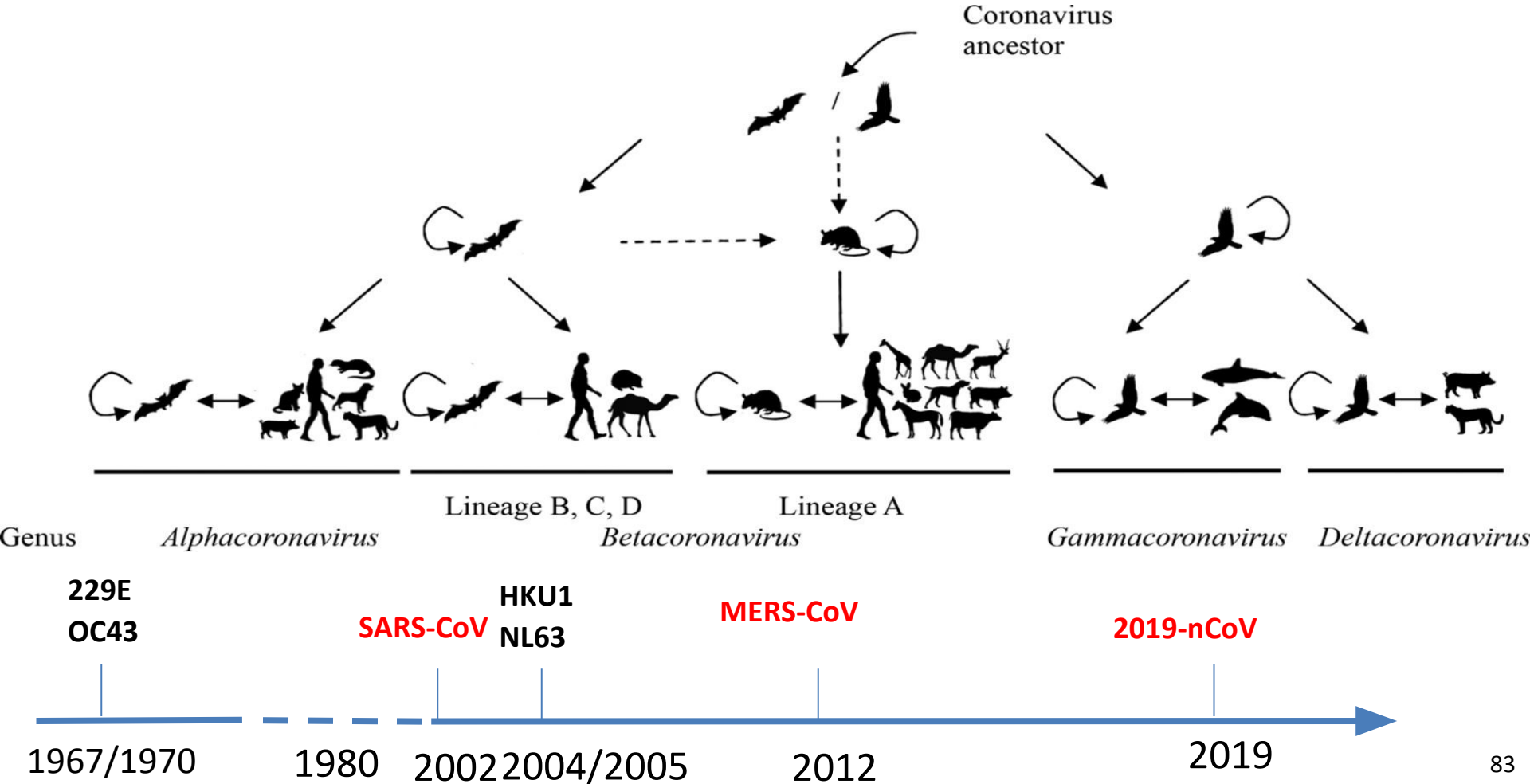
Cycle de cours de l'Université Populaire de Marseille, Automne 2020



Résumé de la Séance 1 : **Approches de virologie moléculaire**

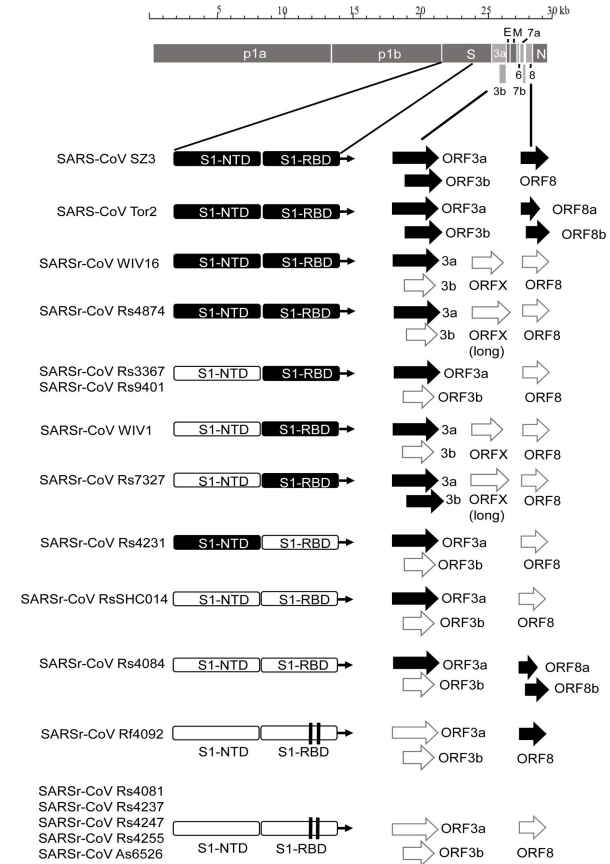
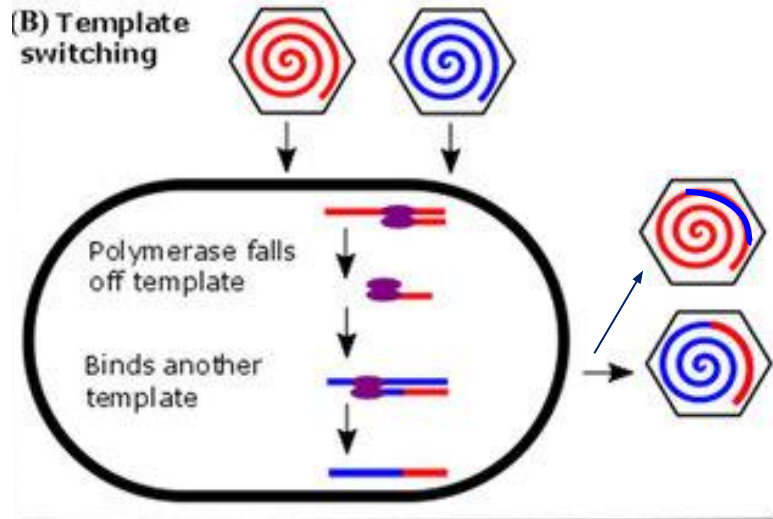
Etienne Decroly, virologue, Directeur de Recherches au CNRS

Cycle zoonotique et émergence des coronavirus



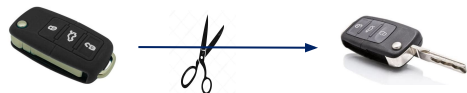
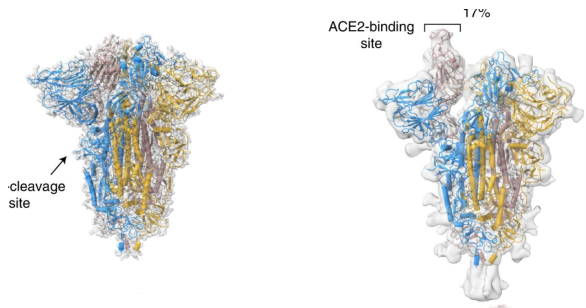
La recombinaison est un facteur d'évolution des virus chez les chauves-souris

- Les chauve souris sont infectées par de nombreuses espèces des CoV.
- Des évènements de **recombinaisons** sont détectables dans les études de phylogénie (génomés chimériques).

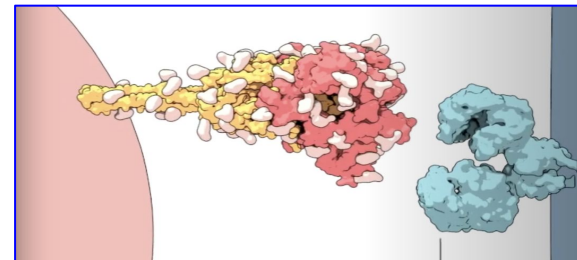


1. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus
2. Ben Hu ,et al Plos path : November 30, 2017
3. J. [Dennehy](#), Evolutionary ecology of virus emergence: Virus emergence, 2016, Annals of the New York Academy of Science

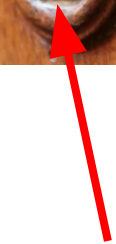
Comment un virus passe il la barrière d'espèce?



**“Priming”
clivage
protéolytique**



**Protéine virale
se liant au récepteur
(S, Spike, spicule,...)**



**Récepteur
(ACE2)**

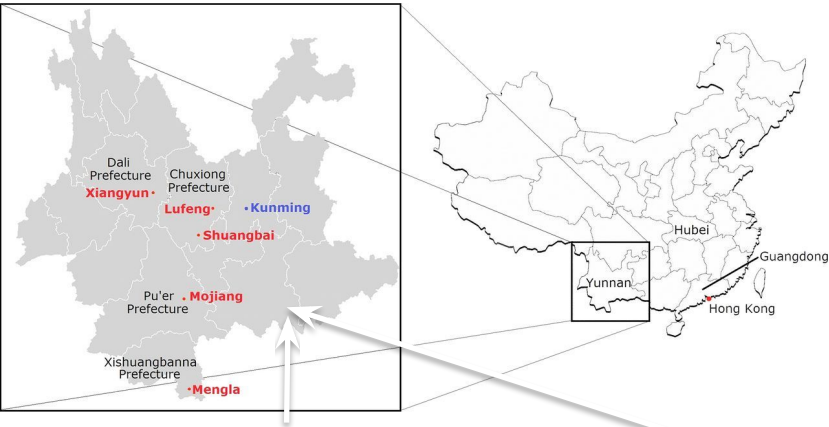
Hypothèses sur l'origine du SARS-CoV-2

- Zoonose naturelle ... c'est le processus usuel des émergences
 - modèle spillover (débordement)
 - modèle des “quasi espèces”
 - Note: la collecte des échantillons sur les sites naturels génère des risques de zoonose
- Origine de laboratoire (accidentelle) ?
 - Il y a eu plusieurs précédents de virus échappés de laboratoires, par exemple grippe, ebola, SARS-CoV (de 2002), ...
 - Virus “naturel” cultivé en laboratoire
 - culture en cellules
 - expérimentation animale
 - Virus génétiquement modifié (et cultivé en laboratoire)
 - expérience de gain de fonction
- Sirotnin et Sirotkin (2020) explorent les hypothèses d'échappement d'un laboratoire pour SARS-CoV-2.

Le marché de wuhan est-il à l'origine de l'épidémie ?



RaTG13, un virus proche du SARS-COV-2



Puits de mine (Mojiang, 2012)



- 6 mineurs sont hospitalisées pour une pneumonie sévère
- 3 mineurs meurent
- Suspicion de CoV

Collecte d'échantillons (2013)
BtCoV/4991
Rhinolophus affilis



2020

Séquence complète RaTG13
370 nucléotides of RdRp identique à l'échantillon
BtCoV/4991
96% d'identité avec le SARS-COV-2

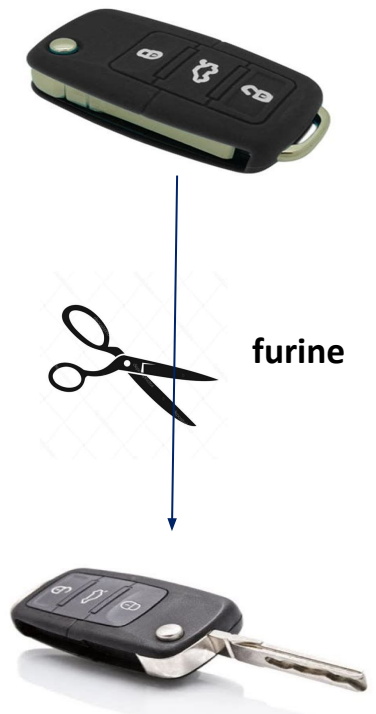
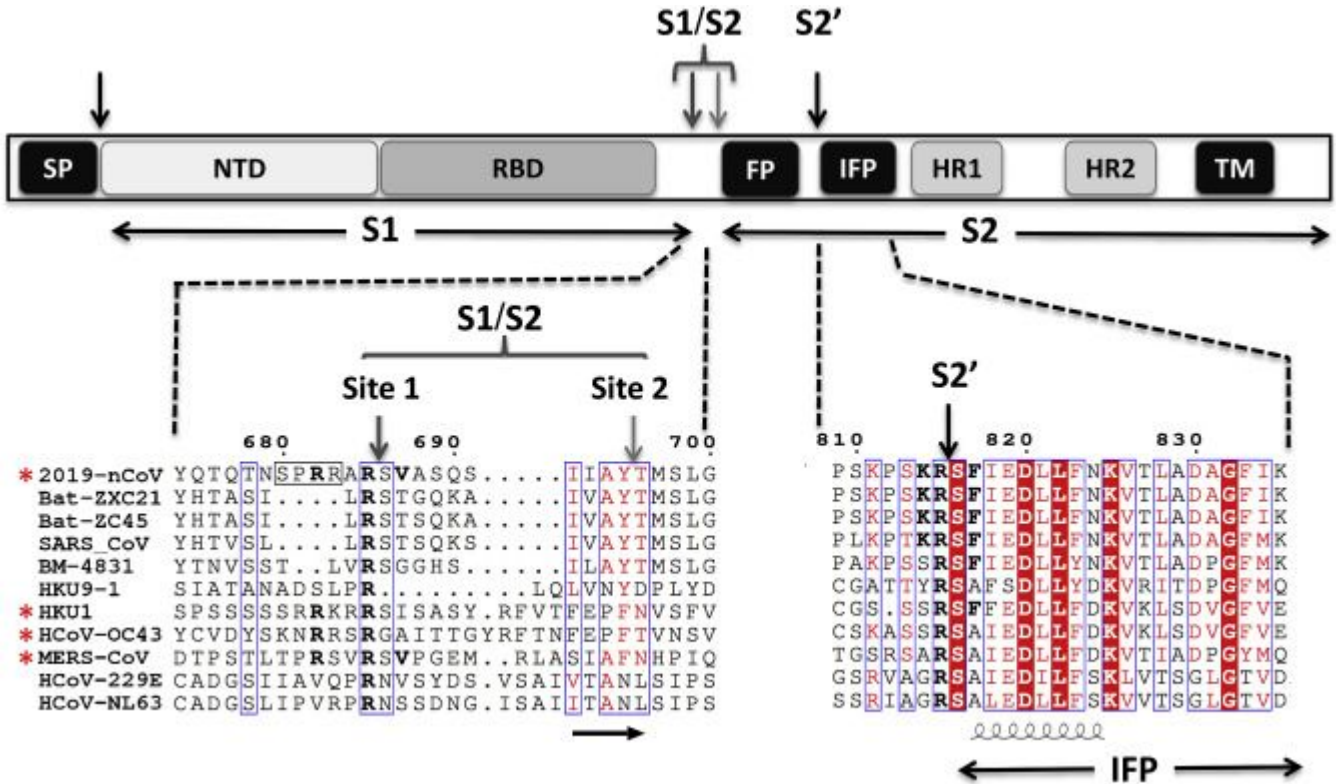
Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020; 579 : 270–3

2016

Séquence de la polymérase
370 nucléotides de
BtCoV/4991

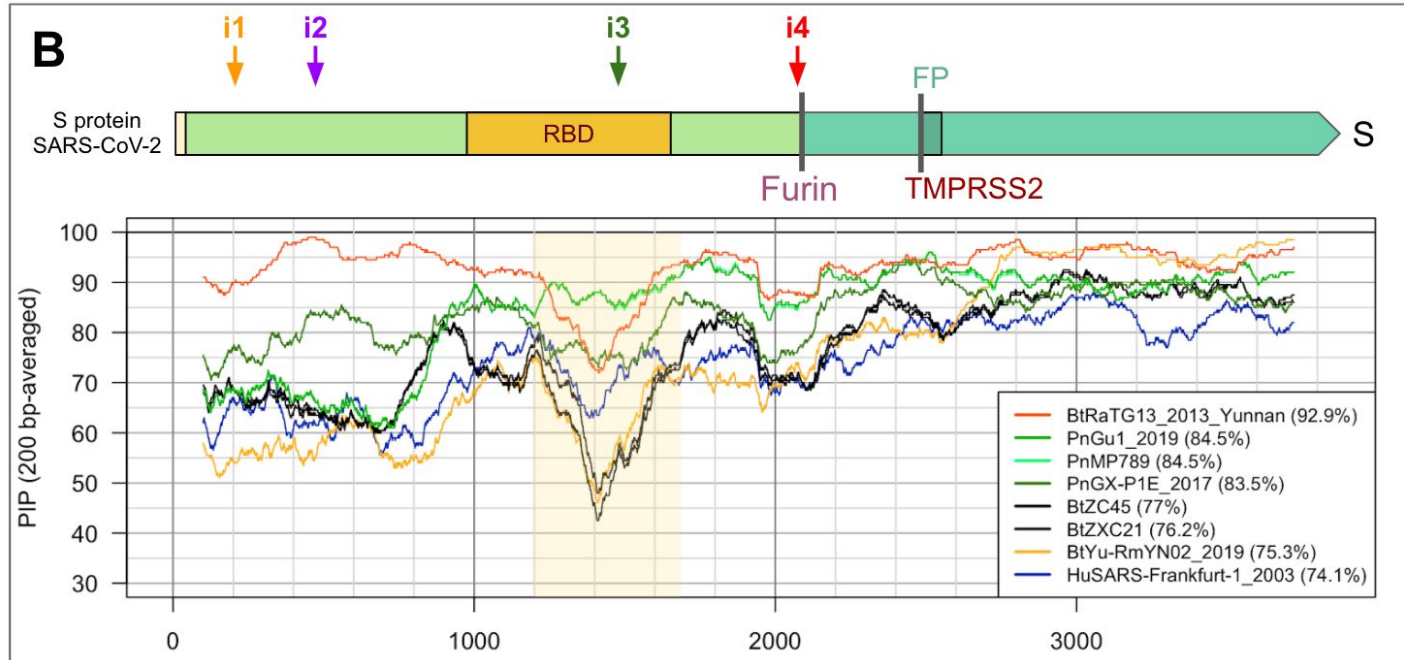
Ge XY, Wang N, Zhang W, et al. Coexistence of multiple coronaviruses in several bat colonies in an abandoned mineshaft. Virol Sin 2016 ; 31 : 31–40

Le SARS-CoV-2 contient un site de "priming" par la furine unique cher les SARS-like CoV



The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. B Coutard, et al.

Le génome du SARS-CoV-2 comporte de traces de recombinaisons



SARS-Cov-2 origin take home message

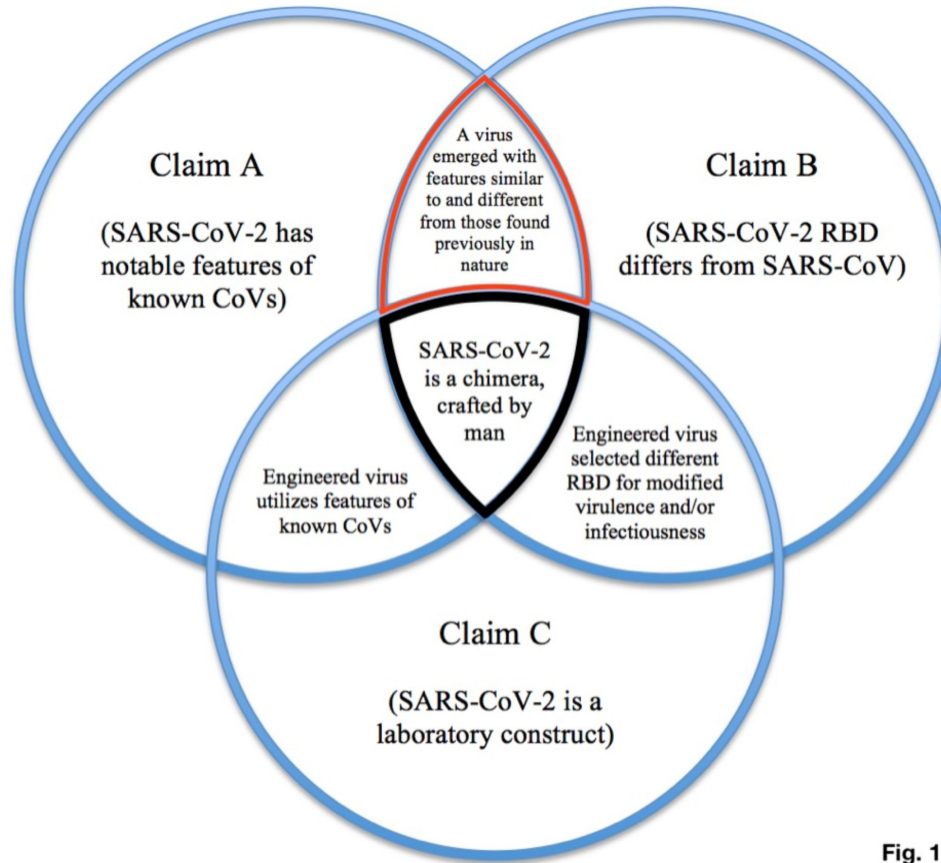
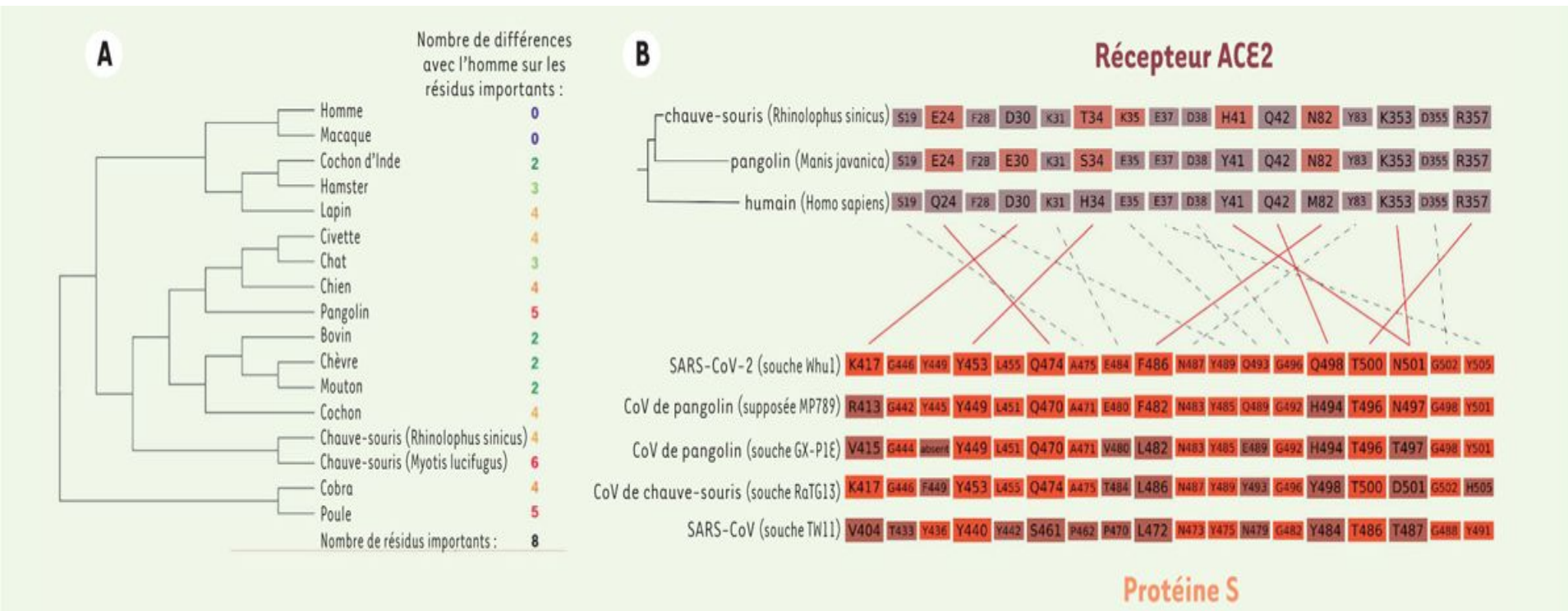


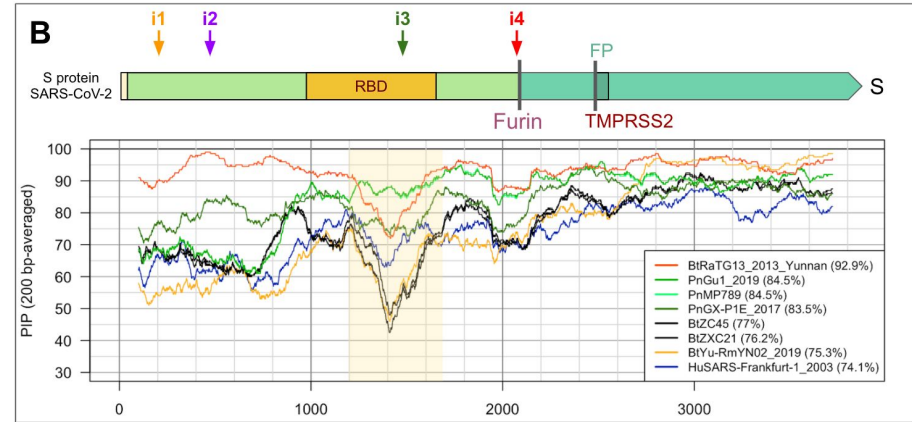
Fig. 1

Évolution du domaine « RBD » de la protéine S et franchissement de la barrière d'espèce

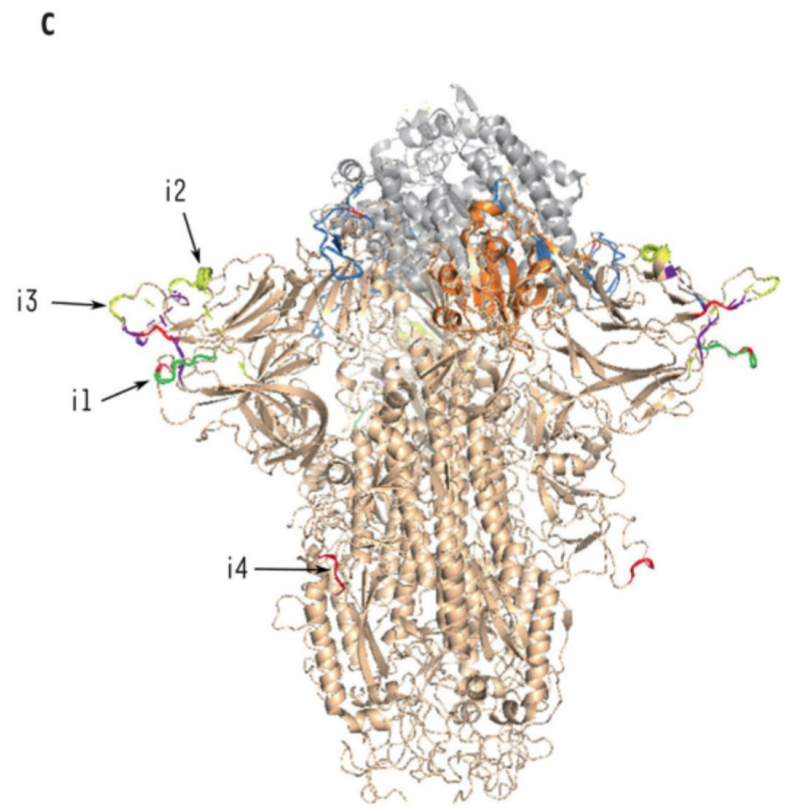
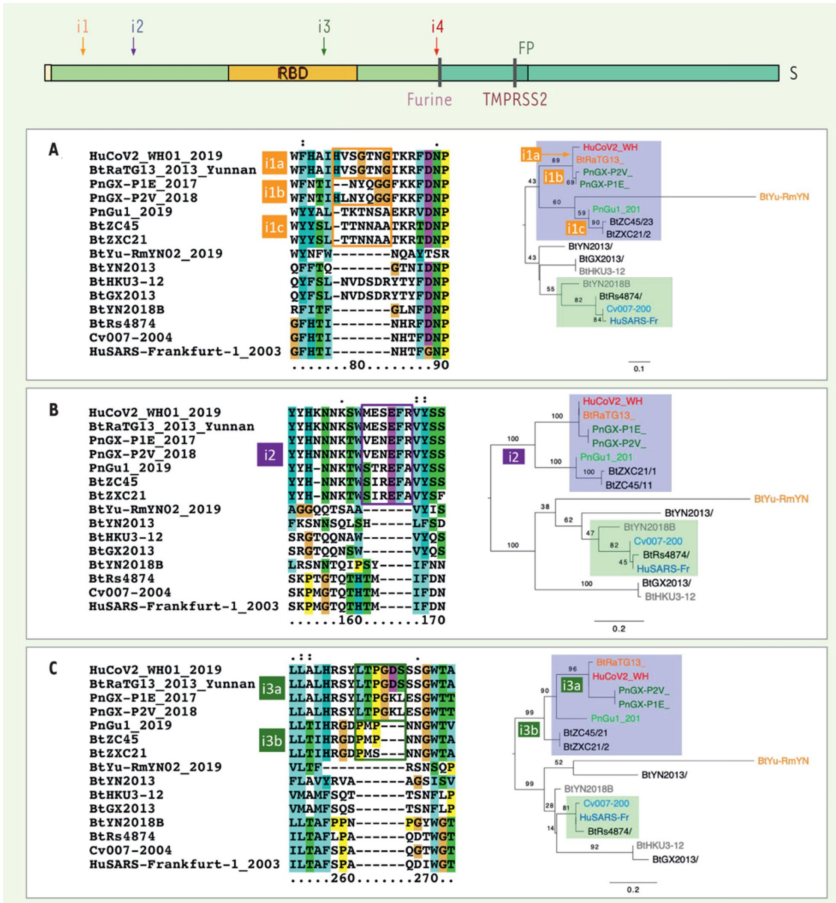


SARS-CoV-2 mosaicism in the S protein

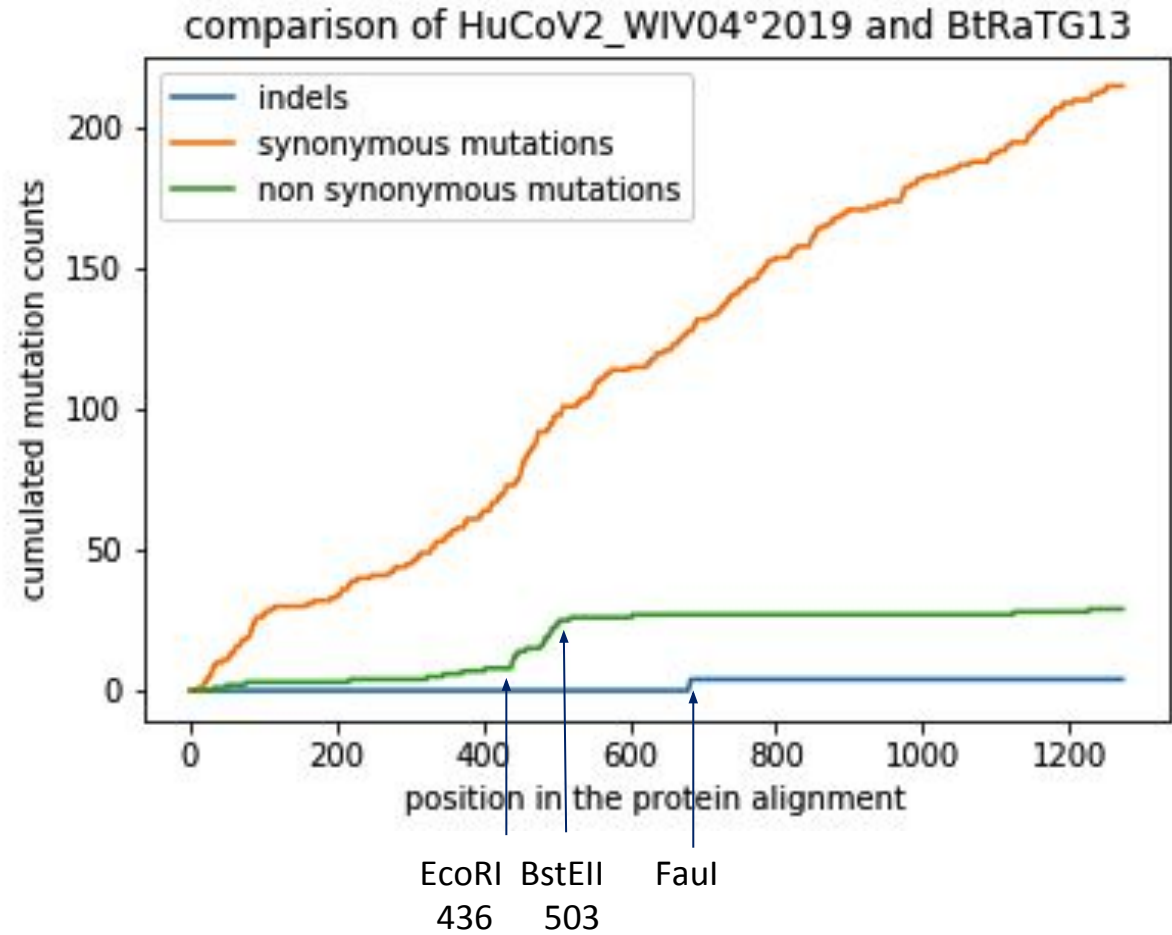
- The RBD is a hotspot of evolution
 - 1) recombination?
 - 2) convergent evolution?
- The 4 insertions detected in the S protein occur at different evolutionary times
- The last insertion corresponds to a furin cleavage site which is essential for human transmission



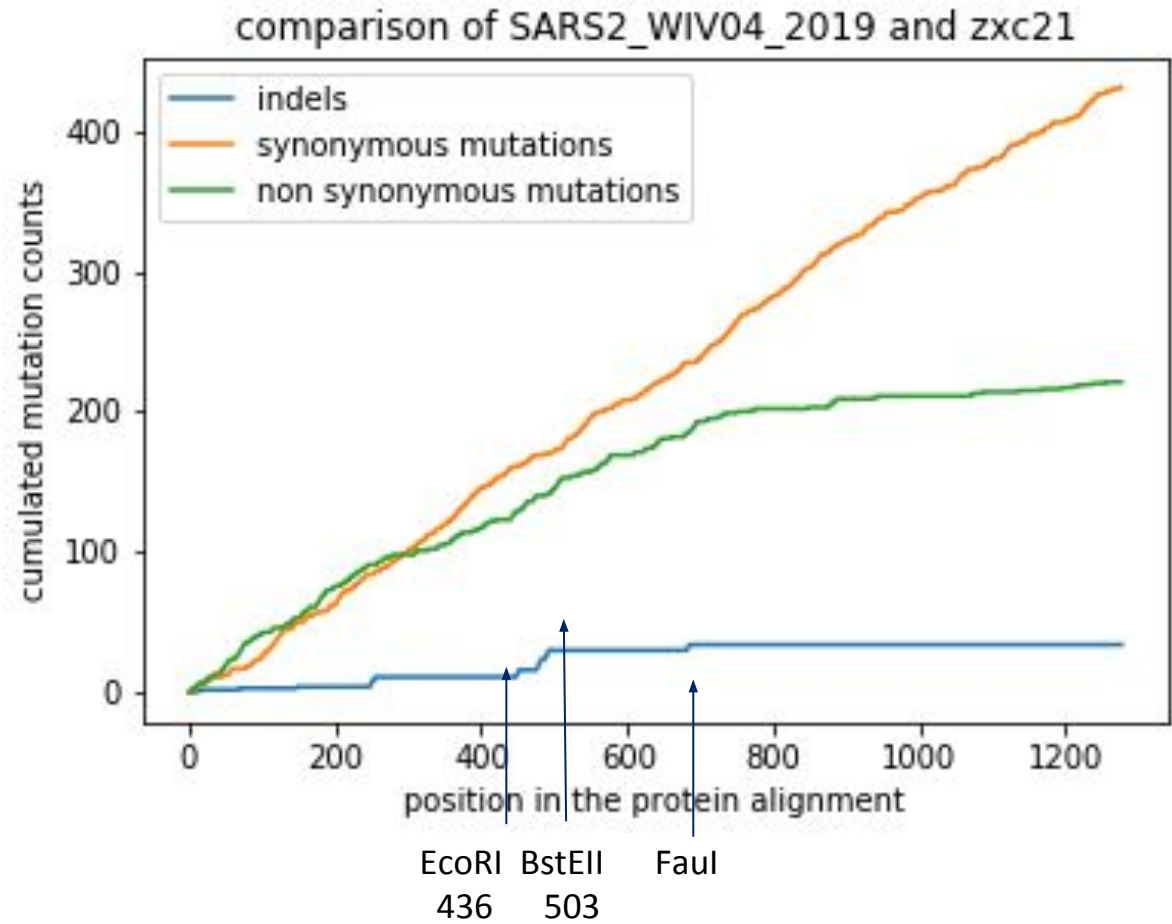
Des insertions dans la séquence de la protéine S



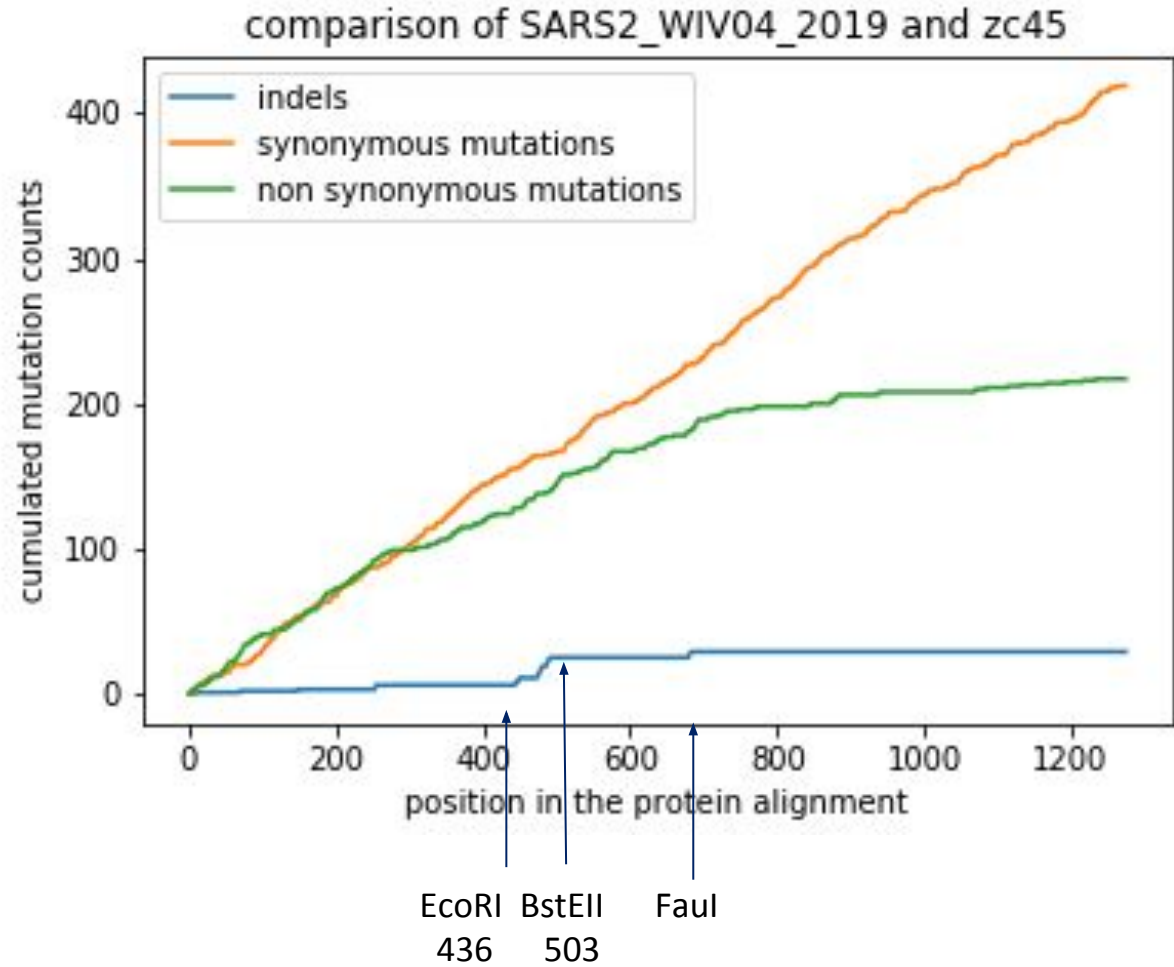
Profils de mutations synonymes sur la protéine S



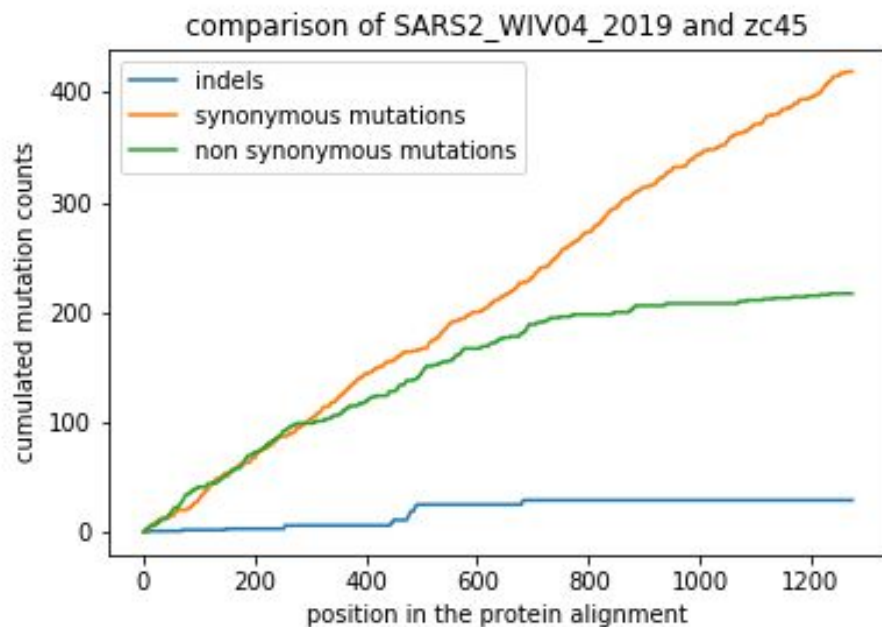
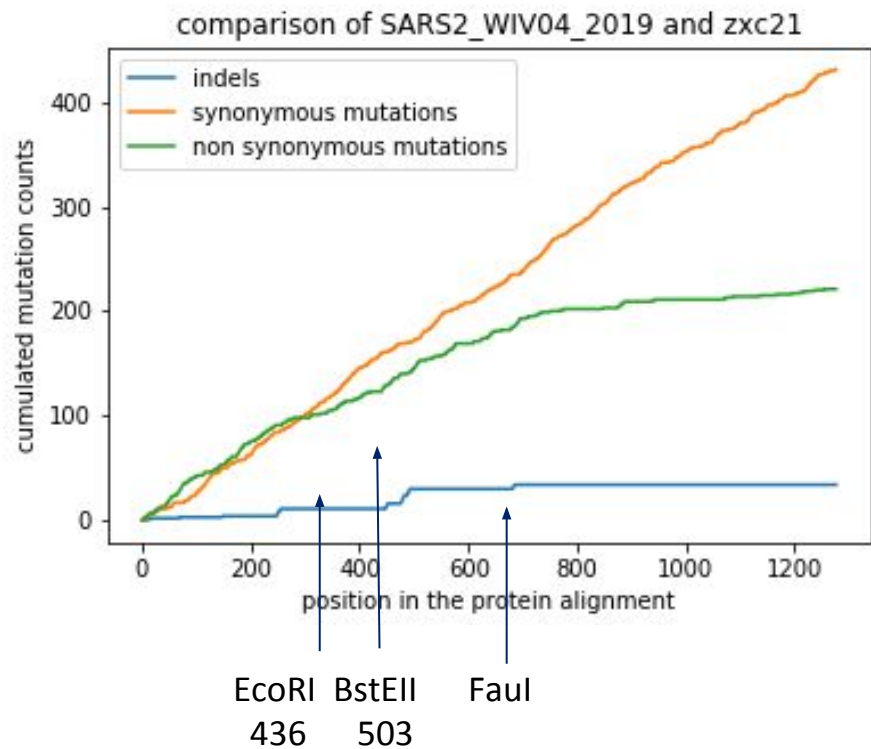
Profils de mutations synonymes sur la protéine S



Profils de mutations synonymes sur la protéine S

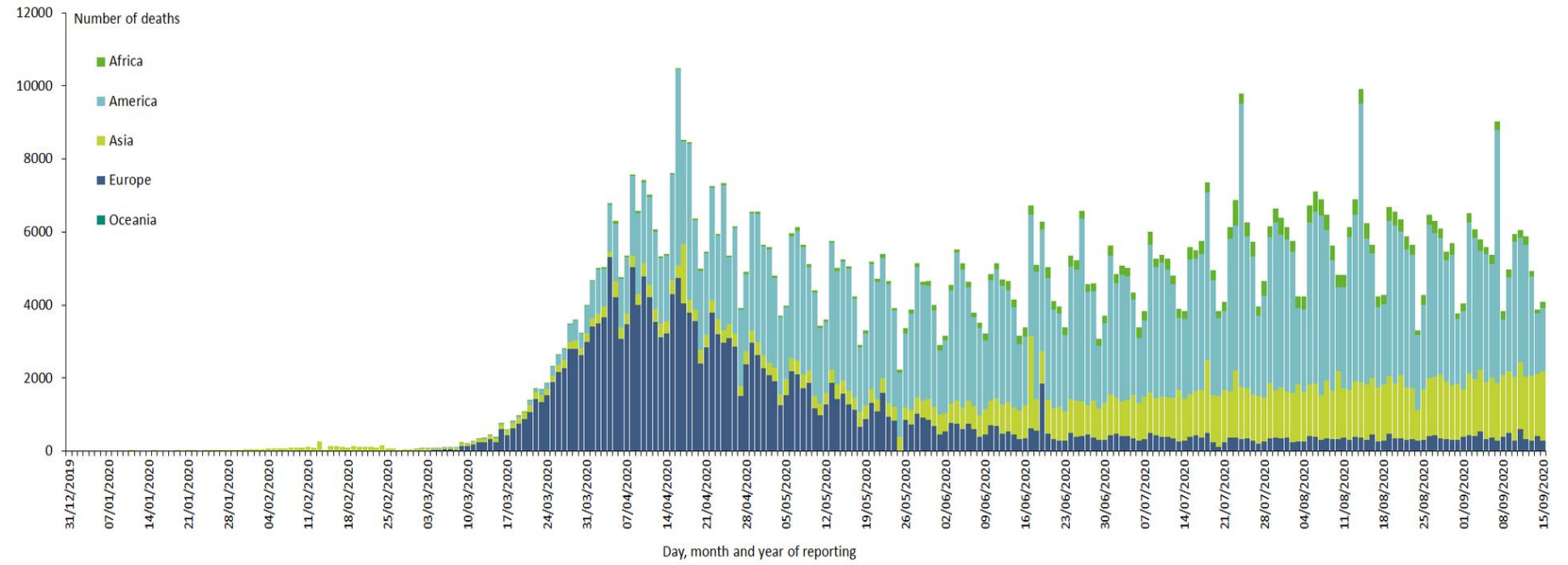


Profils de mutations synonymes sur la protéine S



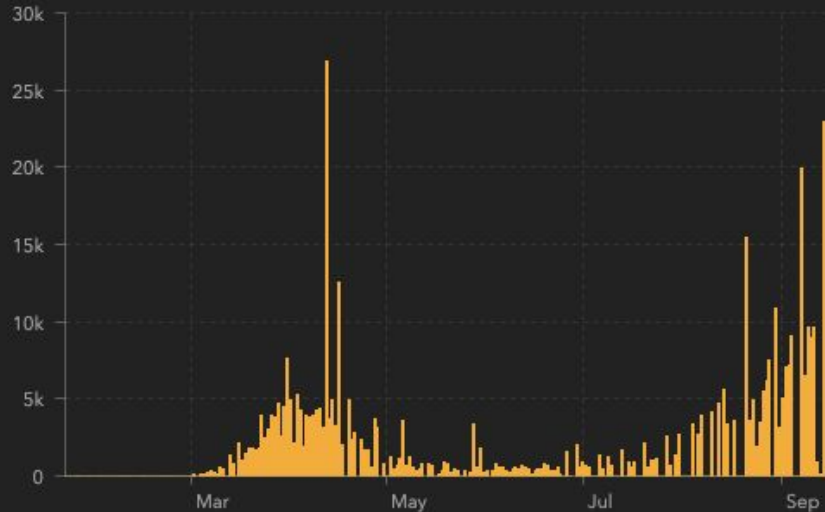
Propagation mondiale du SARS-CoV-2 – Nombre de décès déclarés

Countries and territories ▾



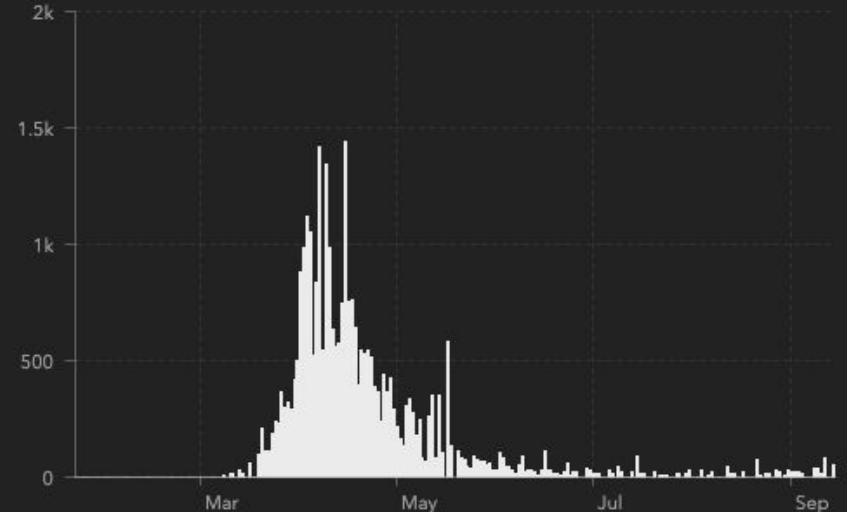
Cas déclarés et décès en France

Nombre de cas déclarés par jour
(total: 433.722)



Daily Cases

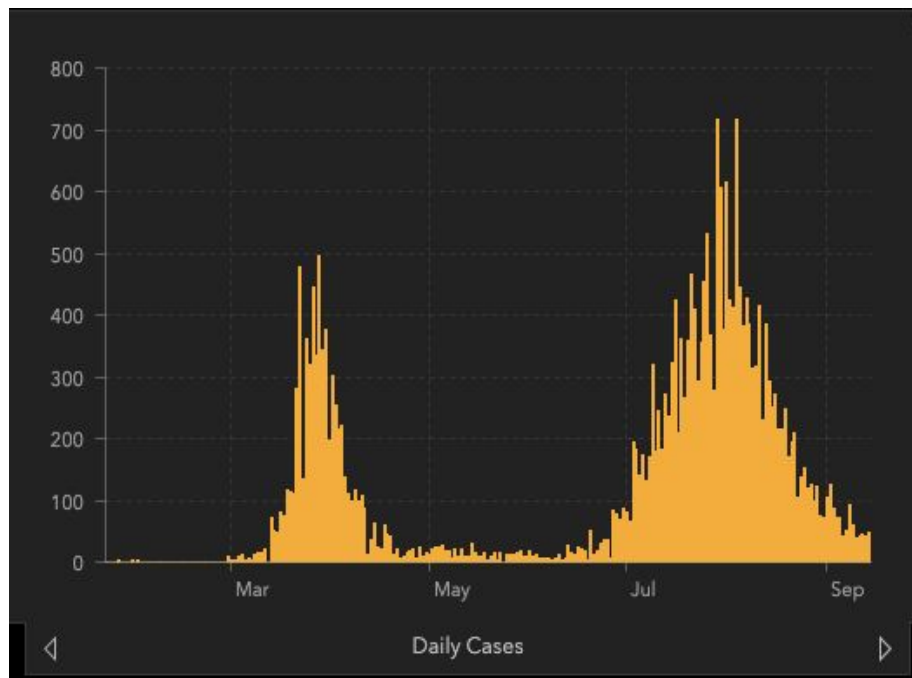
Nombre de décès déclarés par jour
(total: 31.007)



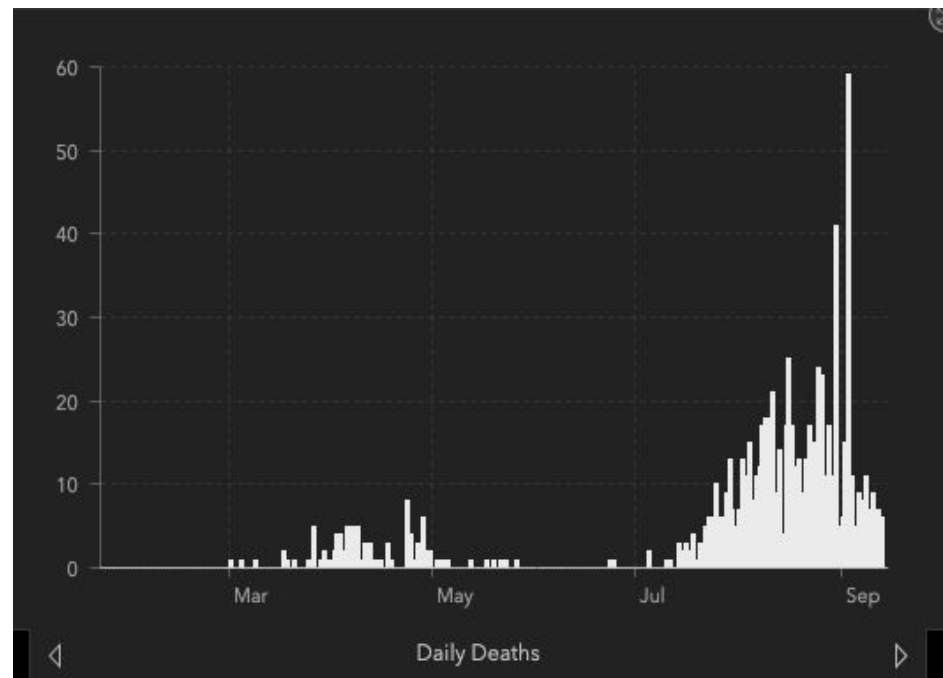
Daily Deaths

Cas déclarés et décès en Australie

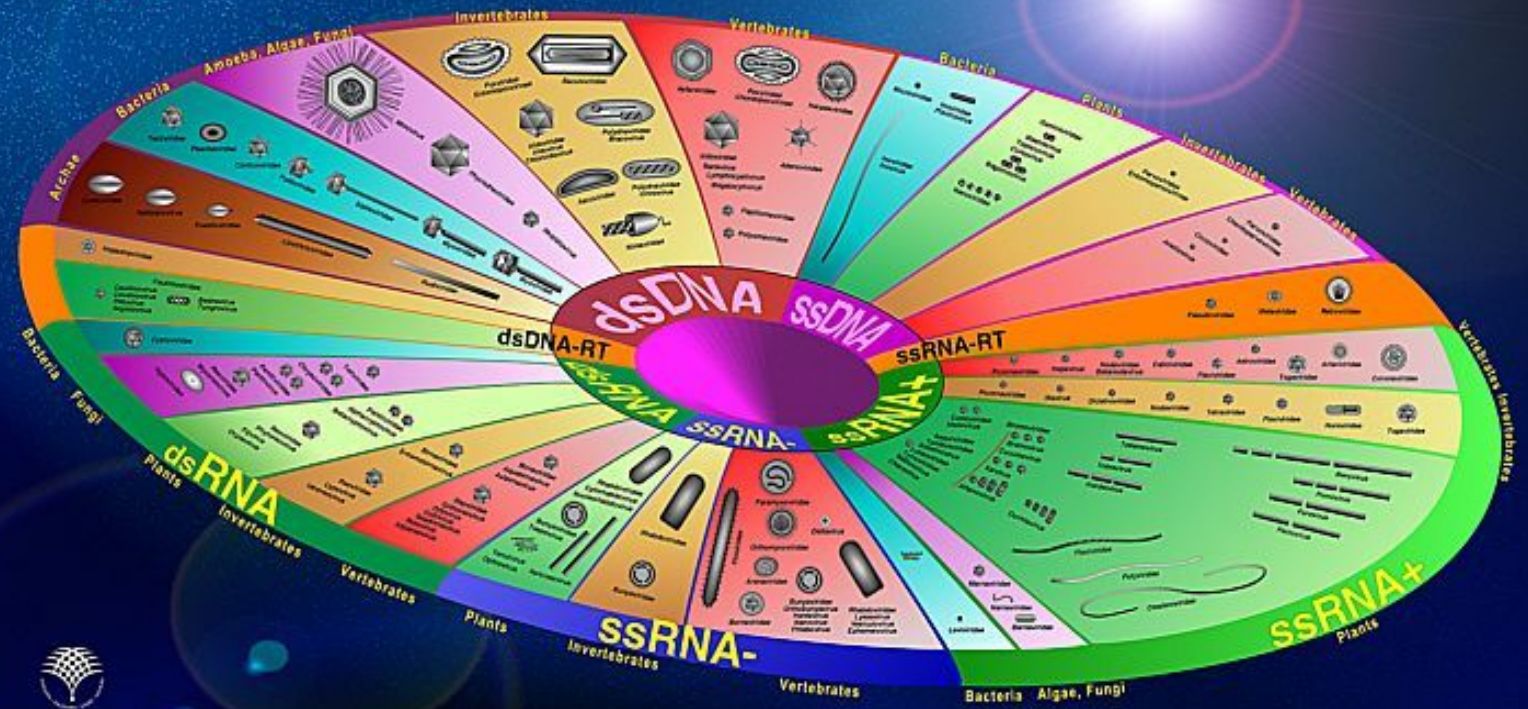
Nombre de cas déclarés par jour
(total: 26.779)



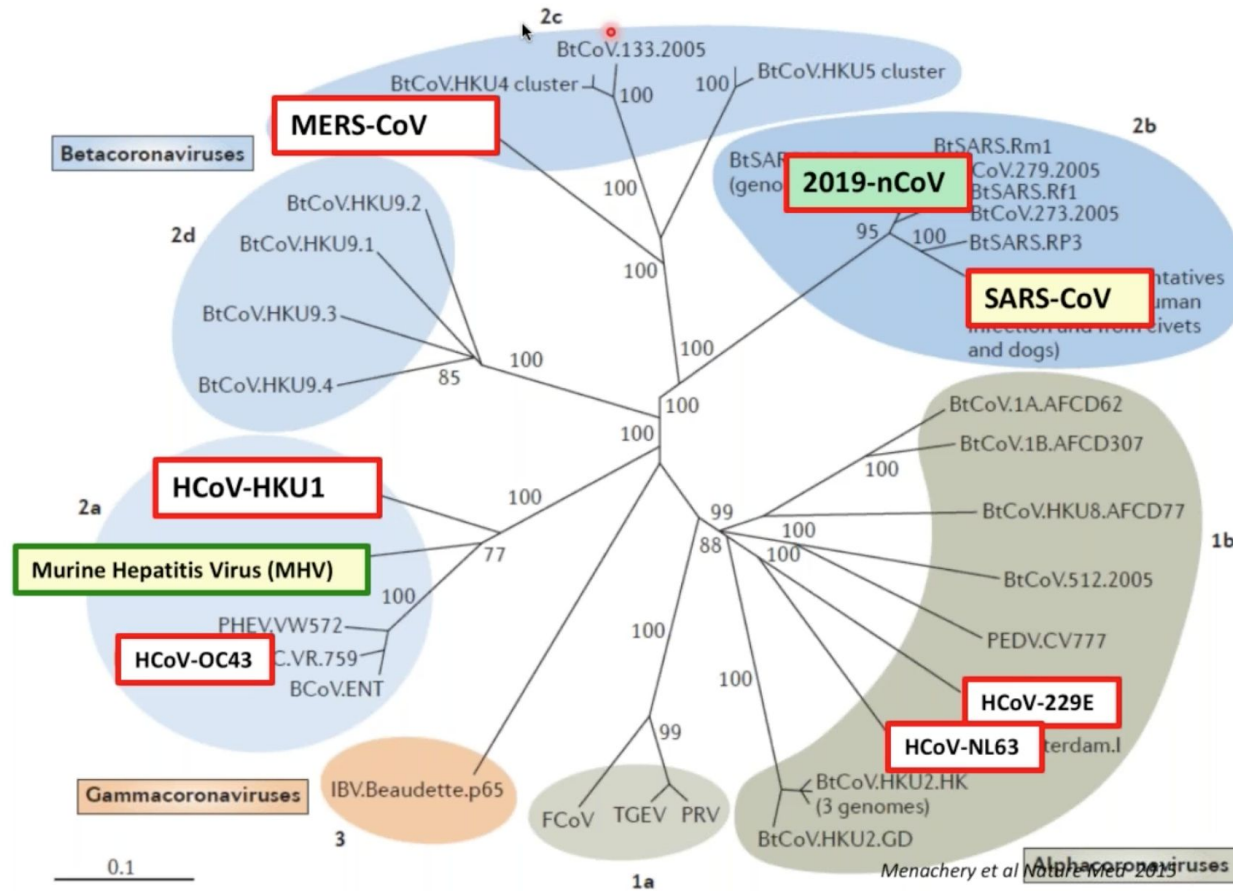
Nombre de décès déclarés par jour
(total: 824)



Virosphere 2005



Arbre phylogénétique des coronavirus



China, **1590 hospitalized patients** (13,4% of all cases reported in China)

Age (median): 48,9 years \pm 16,3

Male: 904 (57,3 %)

Comorbidities

- Hypertension: 16,9 %
- Diabetes: 8,2 %
- CHD: 3,7 %
- Cerebrovascular disease: 1,9 %
- COPD: 1,5 %
- Chronic kidney disease: 1,3 %
- Malignancy: 1,1 %

Symptoms

- Fever: 88 %
- Cough: >70 %
- Fatigue: 42,8 %
- Shortness of breath: 20,8 %
- Myalgia/athralgia: 17,5 %
- Pharyngalgia: 14,7 %
- Headache: 15,4 %
- Chill: 12,2 %
- Nausea/vomiting: 5,8 %
- Diarrhea: 4,2 %

Abnormal chest CT: 1130 (71,1 %)

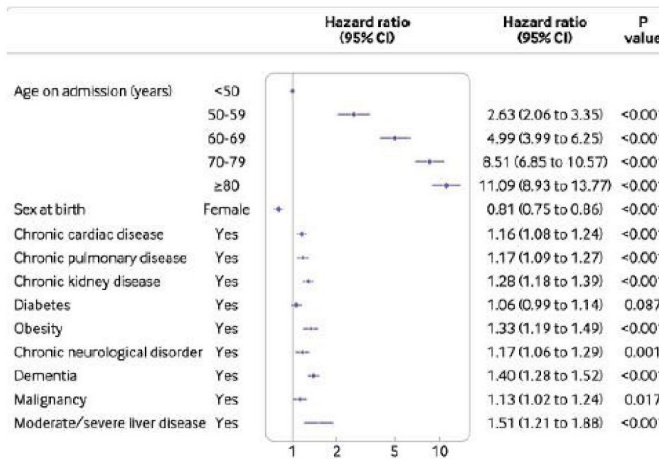
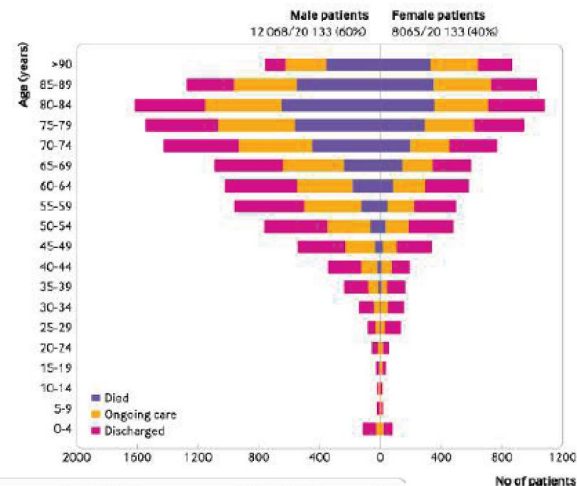
Outcomes

- Critical illness: 131 (8,24 %)
- ICU admission: 99 (6,23 %)
- Mechanical ventilation: 50 (3,1 %)

Case fatality rate: 50 (3,1 %)

Risk factor of mortality

- ISARIC WHO Clinical characterization protocol
- 208 acute care hospitals (England, Wales & Scotland)
- 20133 patients (6 February and 19 April 2020)
 - 8199 (41%) discharged alive
 - 5165 (26%) died
 - 6769 (34%) continued to receive care
- Strong predictor of mortality in hospital
 - Increasing age after adjusting for major comorbidity
- Independent risk factor of hospital mortality
 - Chronic disease
 - Cardiac, Pulmonary, Kidney, Neurological disorders
 - Obesity
 - Dementia
 - Malignancy
 - Liver disease



N = 15194
Hazard = death
No of events: 3911

Vaccins candidats au 9 septembre 2020 (OMS)

35 candidate vaccines in clinical evaluation

COVID-19 Vaccine developer/manufacturer	Vaccine platform	Type of candidate vaccine	Number of doses	Timing of doses	Route of Administration	Clinical Stage			
						Phase 1	Phase 1/2	Phase 2	Phase 3
University of Oxford/AstraZeneca	Non-Replicating Viral Vector	ChAdOx1-S	1		IM		PACTR202006922165132 2020-001072-15 Interim Report	2020-001228-32	ISRCTN89951424 NCT04516746
CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology	Non-Replicating Viral Vector	Adenovirus Type 5 Vector	1		IM	ChiCTR2000030906 Study Report		ChiCTR2000031781 Study Report	NCT04526990 NCT04540419
Gamaleya Research Institute	Non-Replicating Viral Vector	Adeno-based (rAd26-S+rAd5-S)	2	0,21 days	IM	NCT04436471 NCT04437875 Study Report			NCT04530396
Janssen Pharmaceutical Companies	Non-Replicating Viral Vector	Ad26COVS1	2	0, 56 days	IM		NCT04436276		NCT04505722 (not yet recruiting)
Sinovac	Inactivated	Inactivated	2	0, 14 days	IM		NCT04383574 NCT04352608		NCT04456595 669/UN6.KEP/EC/2020
Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm	Inactivated	Inactivated	2	0,14 or 0,21 days	IM		ChiCTR2000031809 Interim Report		ChiCTR2000034780
Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm	Inactivated	Inactivated	2	0,14 or 0,21 days	IM		ChiCTR2000032459		ChiCTR2000034780
Moderna/NIAID	RNA	LNP-encapsulated mRNA	2	0, 28 days	IM	NCT04283461 Interim Report		NCT04405076	NCT04470427

R_0 et progression de l'épidémie

- Basic reproduction number (R_0): 2,2 to 6.4
- R_0 depends on
 - Geographic location
 - Stage of outbreak
 - Inclusion only nosocomial versus general transmission
- Doubling time : 2.9 to 7.3 days

