L'action des antiviraux contre le SARS-Cov2

Problématique : Comment agissent les antiviraux ? A partir de l'analyse documentaire suivante vous allez déterminer comment des antiviraux ont pu être identifiés contre le coronavirus et expliquer leur mode d'action pour lutter contre l'infection virale.

Document 1 : étude du cycle du coronavirus SARS-Cov2

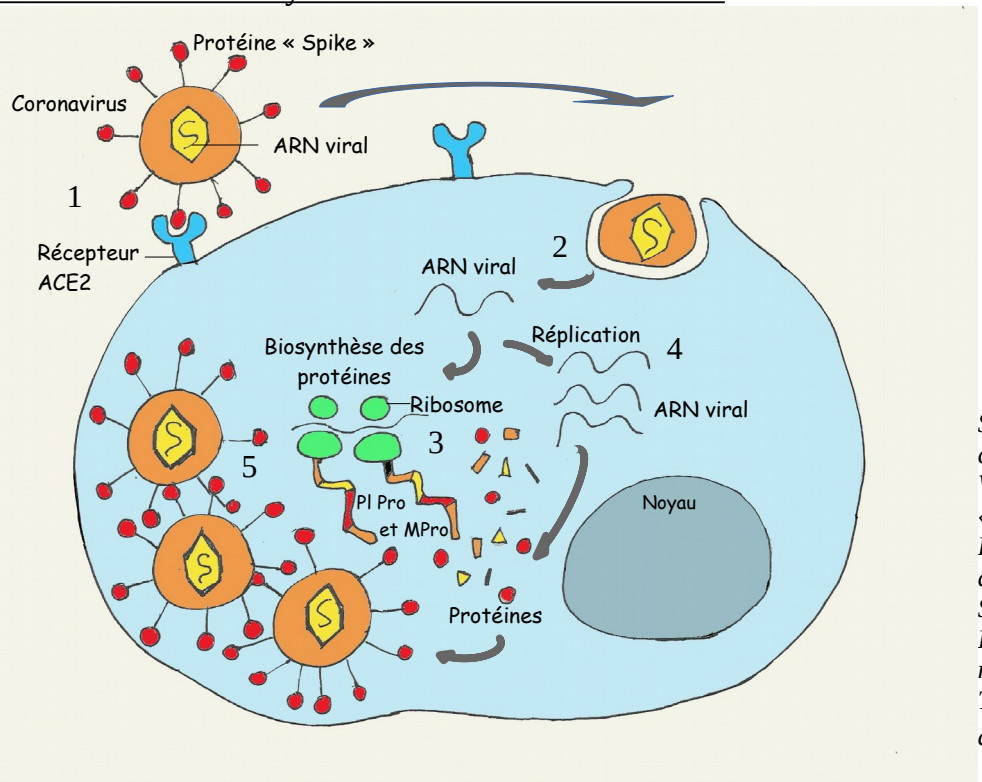


Schéma du cycle d'un coronavirus réalisé par Laure Willhelm, modifié d'après « Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV » de Jared S. Morse+ , Tyler Lalonde + , Shiqing Xu, and Wenshe Ray Liu

Cycle de vie d'un coronavirus entrant dans une cellule et se répliquant à l'intérieur :
Le virus se lie grâce à ses protéines de surface, les protéines « Spike », à un récepteur membranaire de la cellule pour entrer dans la cellule (1). Pour le SARS-Cov2, ce récepteur est l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 : ACE2. Ce récepteur est présent sur les cellules de différents organes : le nez, les yeux, les poumons, le système digestif, le cœur et dans une moindre mesure dans les reins et le foie. Le SARS-Cov2 peut donc infecter tous ces organes.
Le génome du coronavirus est un ARN simple brin, il est libéré lors de l'entrée virale (2) ; cela démarre le processus de synthèse des protéines virales au niveau des ribosomes (3) puis la réplication de l'ARN viral (4). La traduction de l'ARN viral conduit à la synthèse de deux grandes protéines, coupées ensuite par 2 protéases : une protéinase (appelée Mpro ou 3CLpro) et la protéase de type papaïne (Plpro) ce qui donne des protéines plus courtes qui vont composer les nouveaux virus (5). Une de ces protéines produites est la RDRP, c'est une ARN polymérase qui permet la réplication du génome du virus (4). Ainsi le virus utilise la machinerie cellulaire pour se répliquer et fabriquer de nouveaux virus.

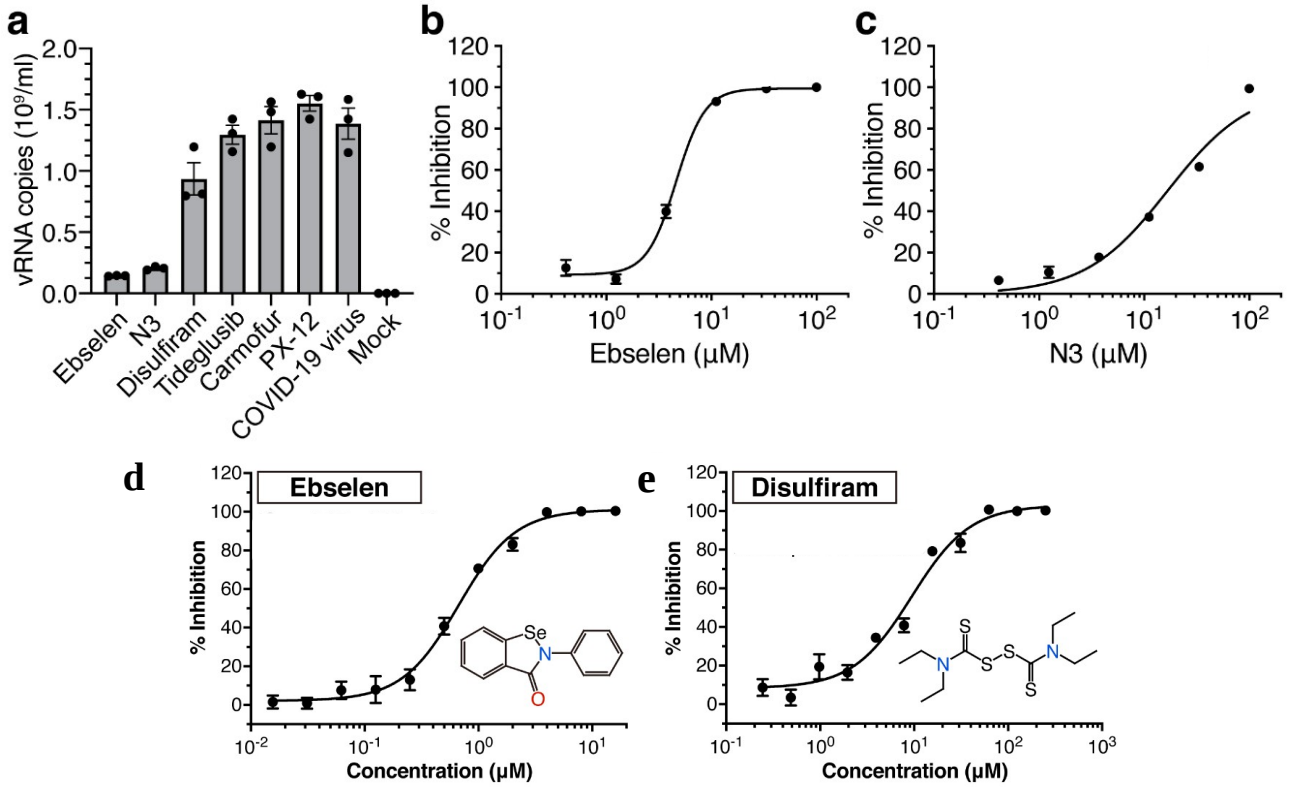
Document 2 : La cristallographie permet l'identification d'antiviraux potentiels

Parmi les chercheurs, les bio-structuralistes jouent un rôle essentiel en déterminant les structures à l'échelle atomique des principales protéines de SARS-Cov2 par diffraction de rayons X et/ou par cryo-microscopie électronique. Les deux principales protéines faisant l'objet d'études structurales sont la glycoprotéine S « Spyke » permettant l'entrée du virus et la protéase Mpro. Ces informations structurales pourront maintenant être exploitées pour l'identification d'inhibiteurs de ces protéines intervenant dans les étapes clés du cycle viral. Par l'étude des structures spatiales de complexes entre la protéase Mpro et des petites molécules inhibitrices, ont a pu identifier des inhibiteurs potentiels de la protéase.
Vous disposez d'un modèle moléculaire de l'enzyme (protéase) Mpro du SARS-Cov 2 que vous pouvez visualiser avec le logiciel Rastop lié à un antiviral (inhibiteur irréversible) N3.

Document 3 : Étude de l'action inhibitrice in-vitro de quelques antiviraux sur la protéase Mpro

On cherche de nouvelles pistes de médicaments empêchant la multiplication du virus. La principale protéase du virus du SARS-cov2 , Mpro, est une cible intéressante. Les inhibiteurs identifiés de cette protéases peuvent être testés in vitro sur des cellules infectées par le SARS-Cov2.

Action de quelques inhibiteurs, testés in-vitro, sur la protéase Mpro, sur la réplication du coronavirus :



a : Quantification du nombre de copies d'ARN viral (par ml) dans la culture cellulaire 72 h après l'infection. Mock est un témoin négatif (sans virus), COVID-19 virus est un témoin où on a infecté les cellules par le virus mais aucun inhibiteur n'a été ajouté. On utilise une concentration de 10 µM (micromoles) d'inhibiteur.
b,c : courbes montrant l'action inhibitrice de l'Ebselen et de N3 sur l'infection des cellules par le SARS-Cov2 pour différentes concentration de l'inhibiteur. (à 100 % : pas de destruction cellulaire liée à l'infection).
d, e : courbes montrant l'action inhibitrice de l'Ebselen et du Disulfiram sur l'activité enzymatique de Mpro pour 0.2 µM d'enzyme, 20 µM de substrat et l'inhibiteur à différentes concentrations.

D'après *Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors de Zhenming Jin et Al.*

https://www.nature.com/articles/s41586-020-2223-y

1) Déterminez quelles sont les phases clefs du cycle viral et les protéines du SARS-Cov2 contre lesquelles peuvent agir les antiviraux.

2) Ouvrez le fichier « N3-Mpro » dans Rastop afin de visualiser le modèle moléculaire en 3D de l'enzyme Mpro lié à un inhibiteur N3. Affichez l'enzyme en sphères et l'inhibiteur N3 en boules et bâtonnets, puis colorez l'inhibiteur N3 en vert et l'enzyme Mpro en bleu. Mettez en évidence en les colorant en violet les acides-aminés du site actif de l'enzyme : Ser16, Met49, Tyr54, Phe140, Leu141, Asn142, Gly143, Cys145, His163, His164, Met165, Glu166, Leu167, Pro168, Phe185, Asp187, Gln189.

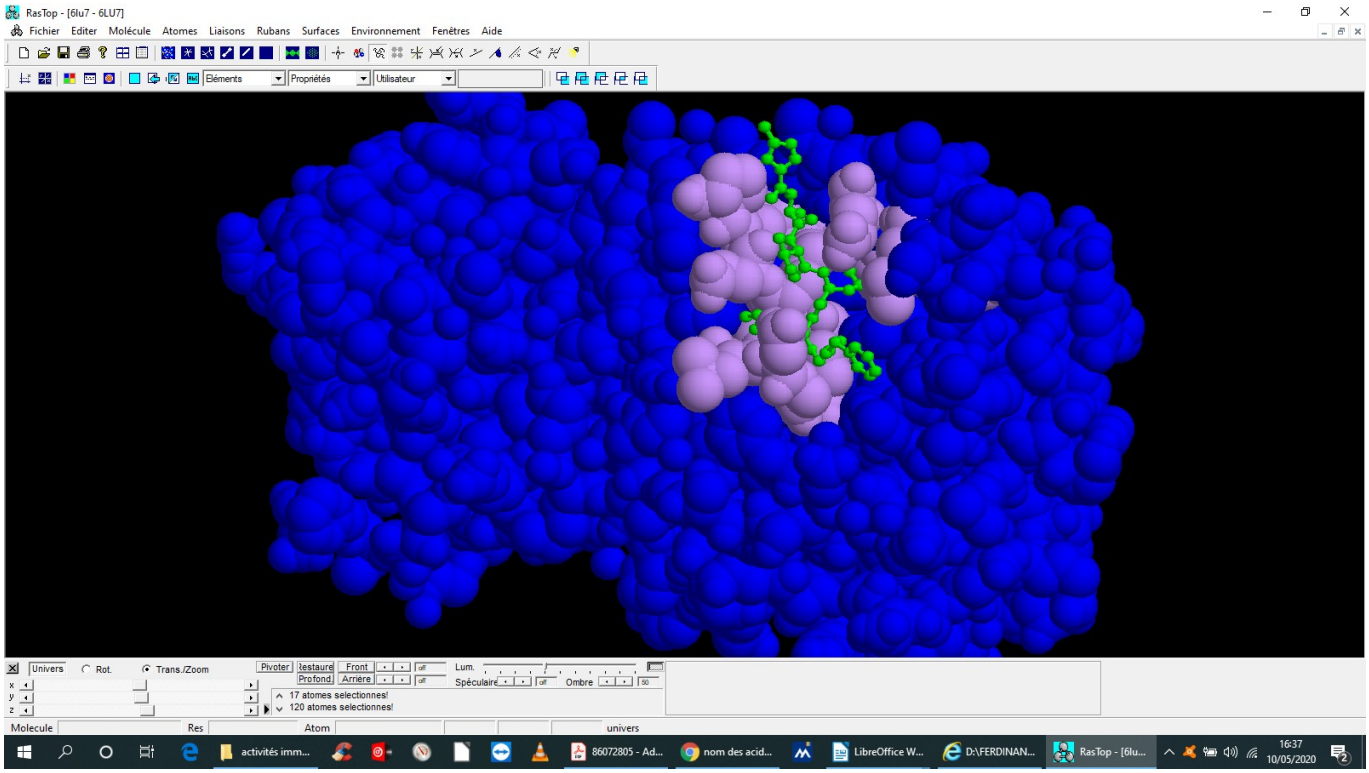
Après avoir présenté de façon numérique votre modèle moléculaire légendé et titré, mettez en relation vos observations avec vos connaissances sur les enzymes pour proposer une explication à l'action inhibitrice de l'antiviral N3 sur l'activité de l'enzyme Mpro du SARS-Cov2.

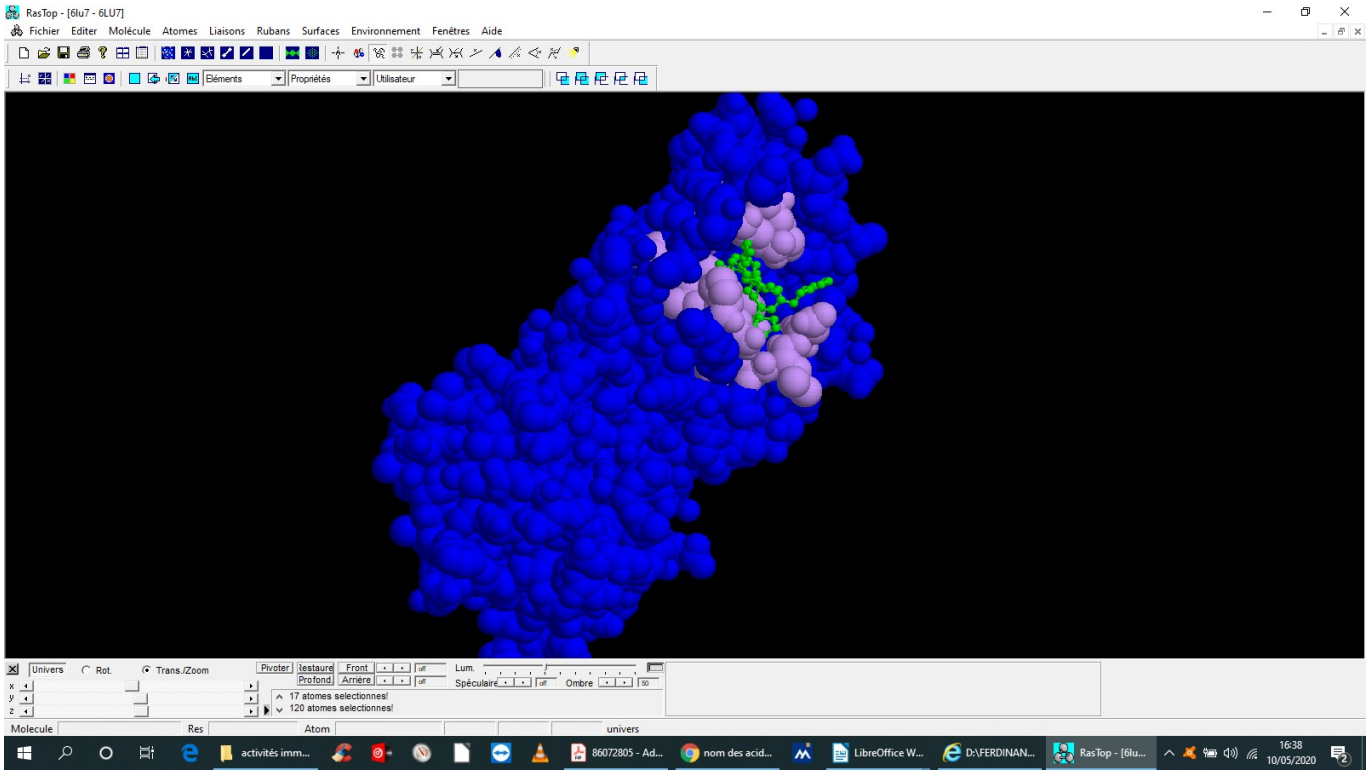
3) A partir du document 3, proposez des antiviraux qui apparaissent prometteurs pour lutter contre le SARS-Cov2 d'après l'étude de leur action sur les cellules infectée in-vitro (en laboratoire).

4) Exploitez l'ensemble des documents pour expliquer d'une part comment sont identifiés des antiviraux potentiellement prometteurs contre le SARS-Cov2 et d'autre part comment peuvent agir ces antiviraux contre l'infection virale.

Activité proposée par Laure Willhelm, professeur agrégé de SVT au lycée Léon Gontran Damas.

Résultats obtenus sur Rastop : (document de secours)





Activité proposée par Laure Willhelm, professeur agrégé de SVT au lycée Léon Gontran Damas .