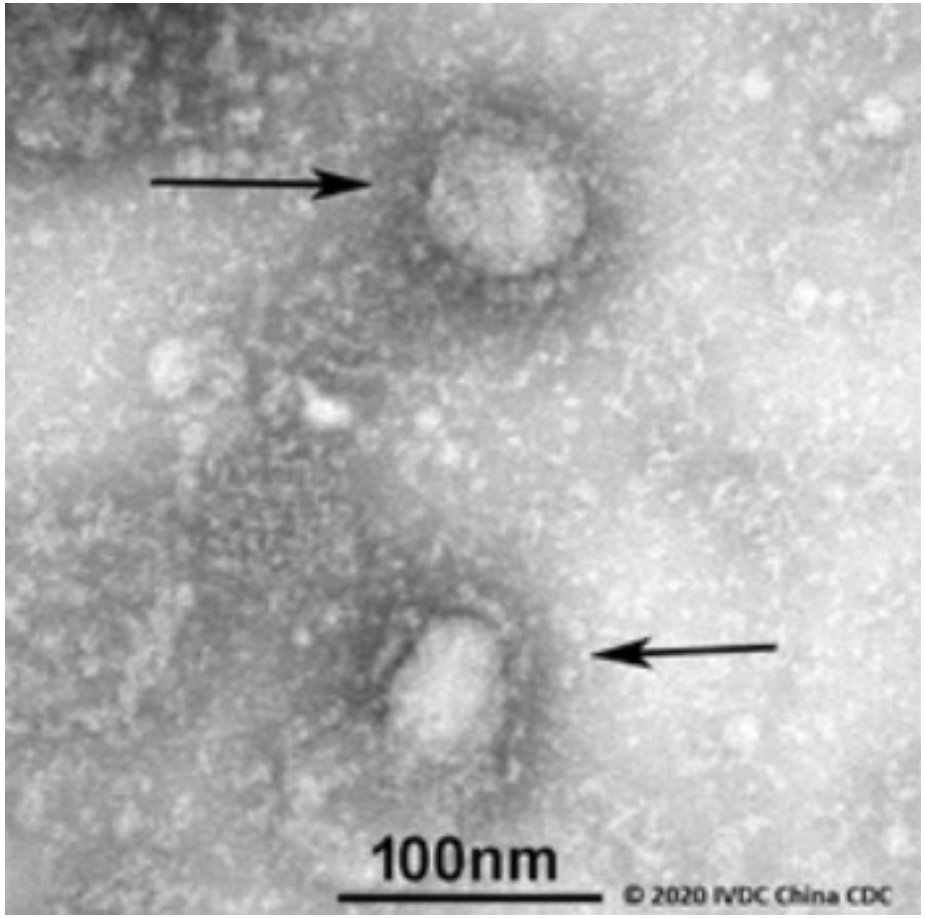
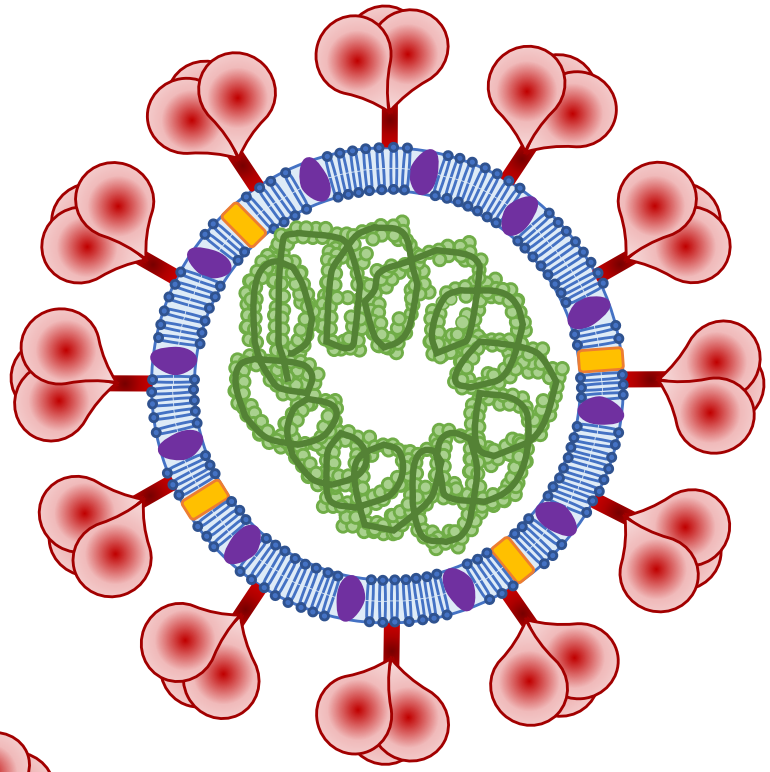
Pr Agnès Gautheret-Dejean

Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Pharmacie de Paris
INSERM UMR-S 1139, 3PHM, Université de Paris
Laboratoire de Virologie, HU La Pitié-Salpêtrière

PHARMACIE
Santé
Université de Paris

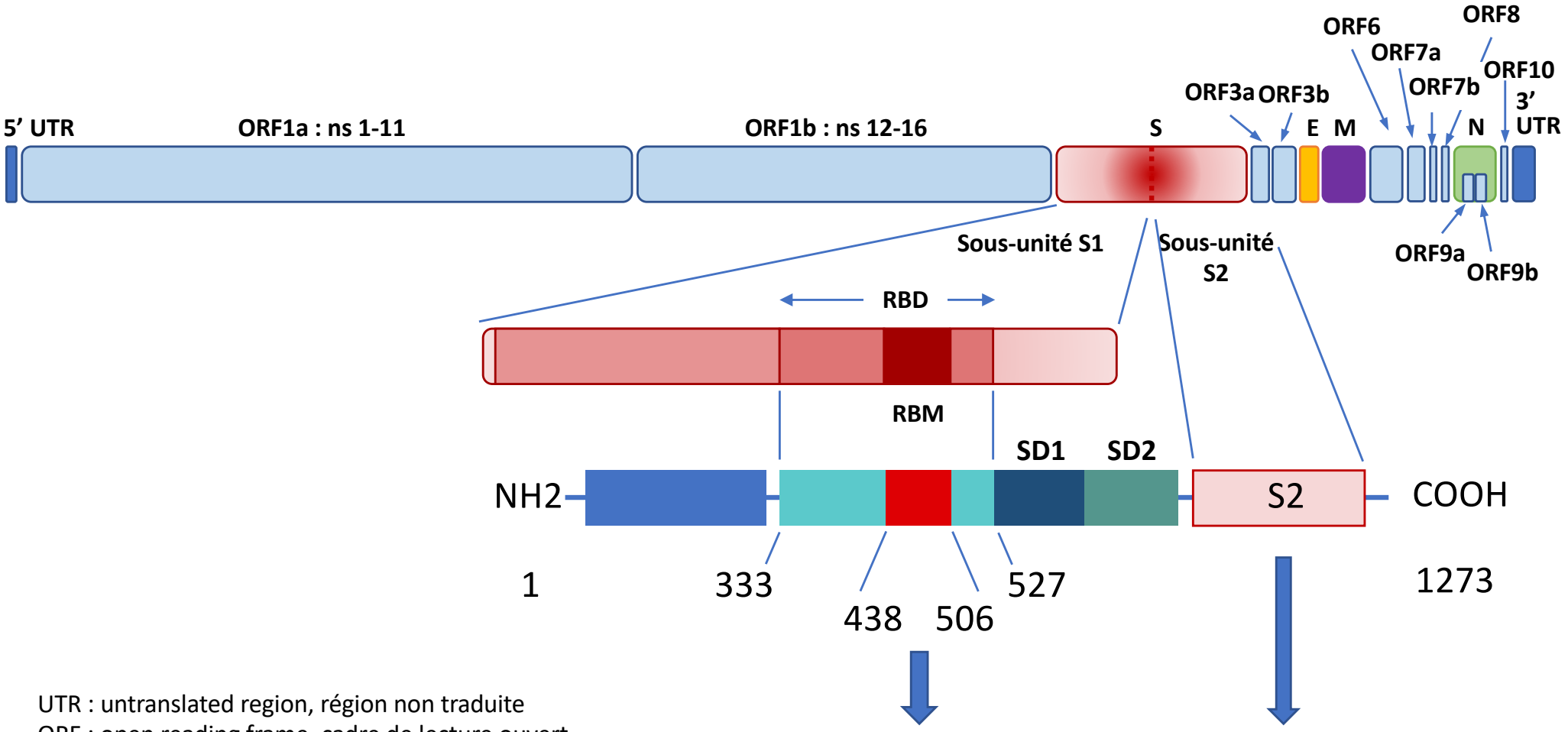
SARS-CoV-2 Severe Acute Respiratory Syndrome CoV-2





- Glycoprotéine de surface (S, spike)
- Protéine de membrane (M)
- Protéine d'enveloppe (E)
- Phospholipides
- Protéine de nucléocapside (N)
- ARN génomique (monocaténaire de polarité positive)

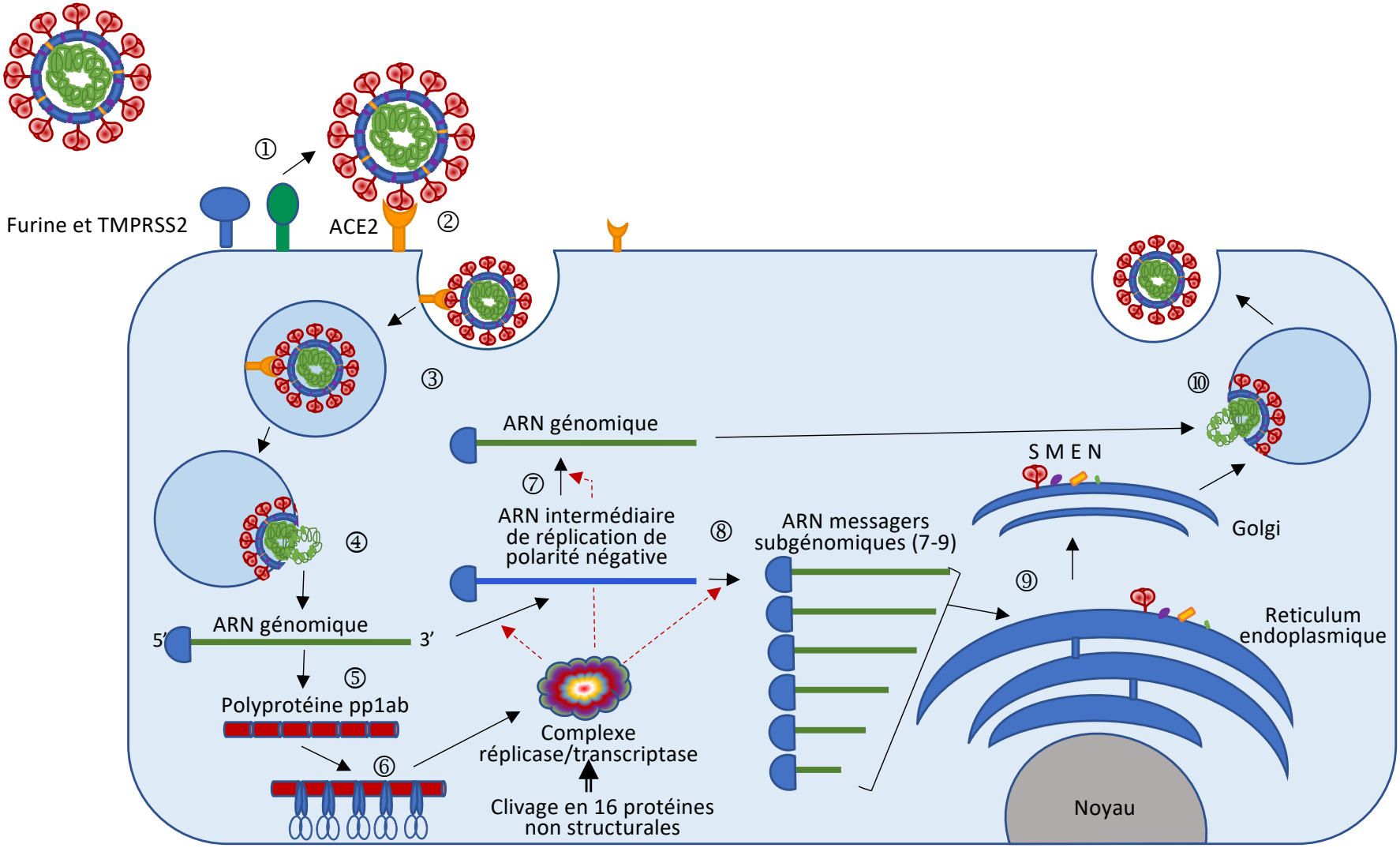
Structure schématisée de l'ARN génomique du SARS-CoV-2 et de la protéine Spike Souche de référence hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019 (29674 nucléotides)



UTR : untranslated region, région non traduite
ORF : open reading frame, cadre de lecture ouvert
ns : non structural
S : glycoprotéine d'enveloppe S, spike
E : protéine d'enveloppe
M : protéine de membrane
N : protéine de nucléocapside
RBD : receptor binding domain, domaine de liaison au récepteur
RBM : receptor binding motif, motif de liaison au récepteur

A. Gautheret-Dejean 2020

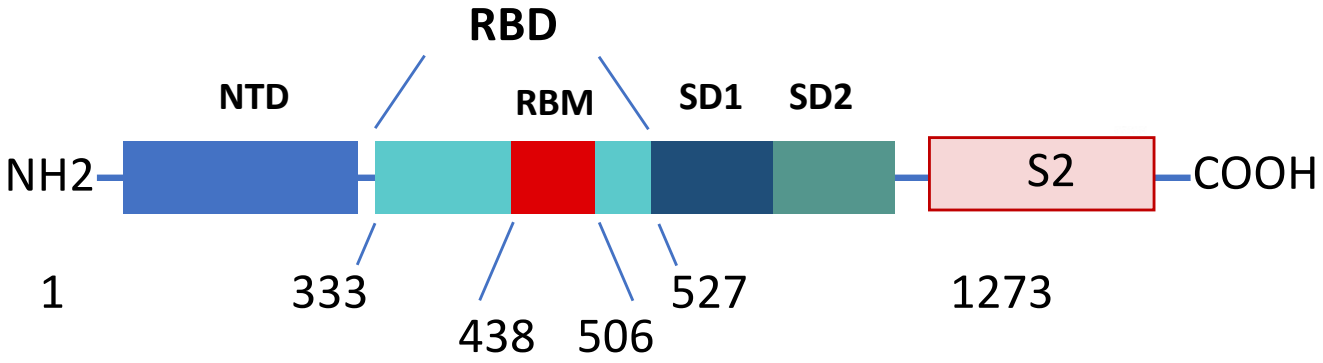
Schéma du cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2

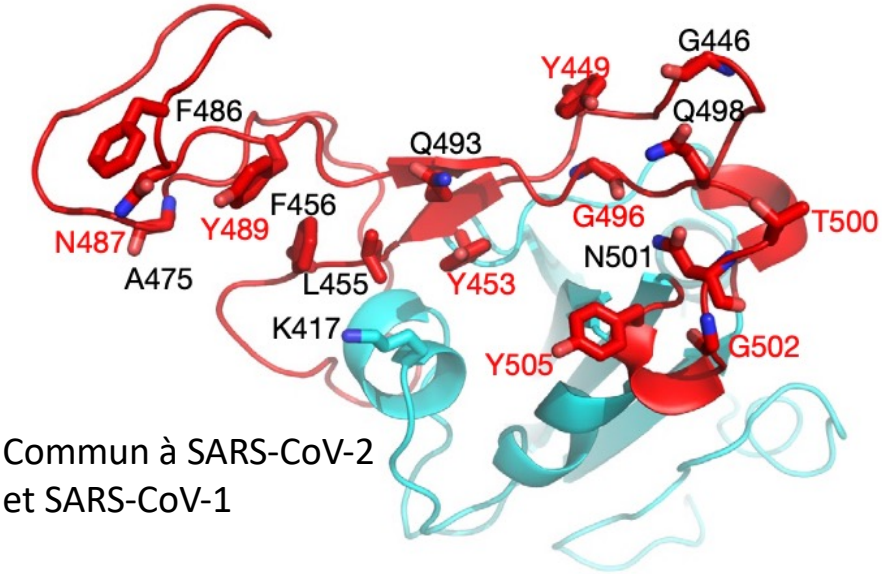


TMPRSS2 : sérine protéase transmembranaire 2 ; ACE2 : angiotensin converting enzyme 2 ; S : protéine spike ; M : protéine de membrane ; E protéine d'enveloppe ; N : protéine de nucléocapside

A. Gautheret-Dejean 2020

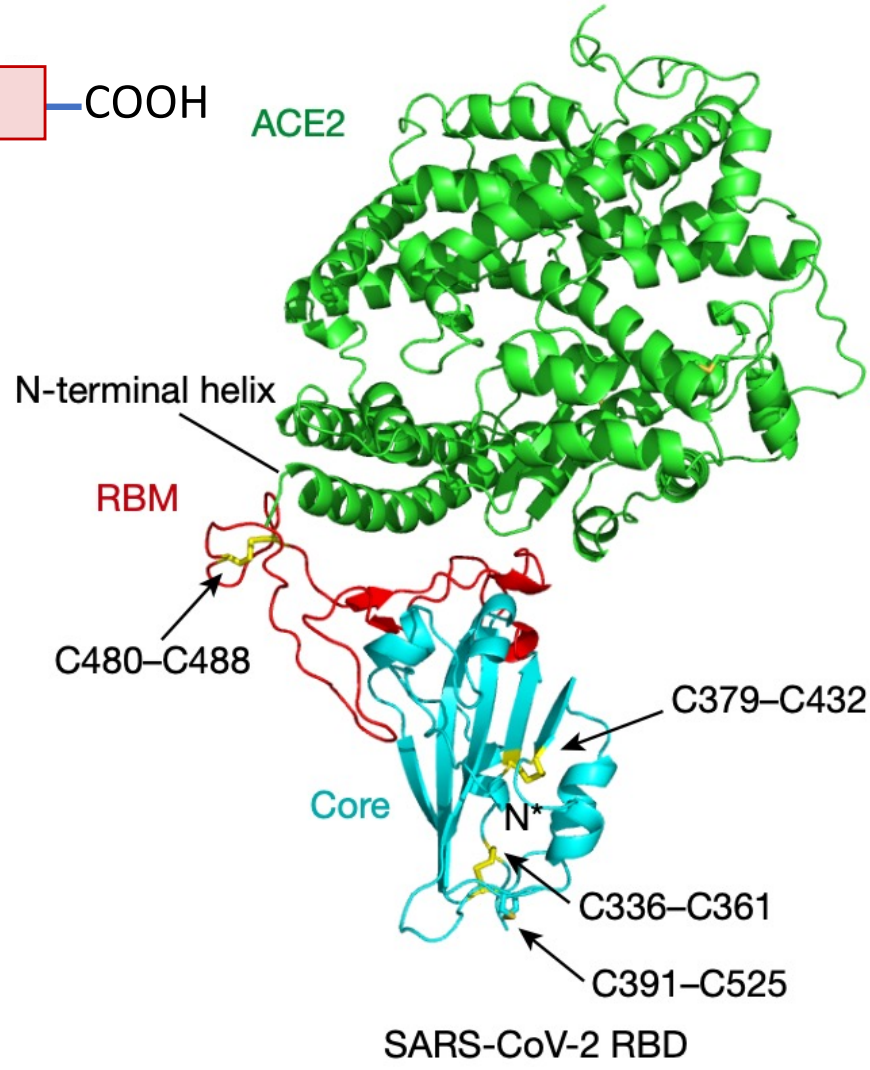
Structure tridimentionnelle de la protéine Spike du SARS-CoV-2 liée au récepteur ACE2, 17 résidus de liaison (+1)





AAxxx Commun à SARS-CoV-2 et SARS-CoV-1

SARS-CoV-2 RBD

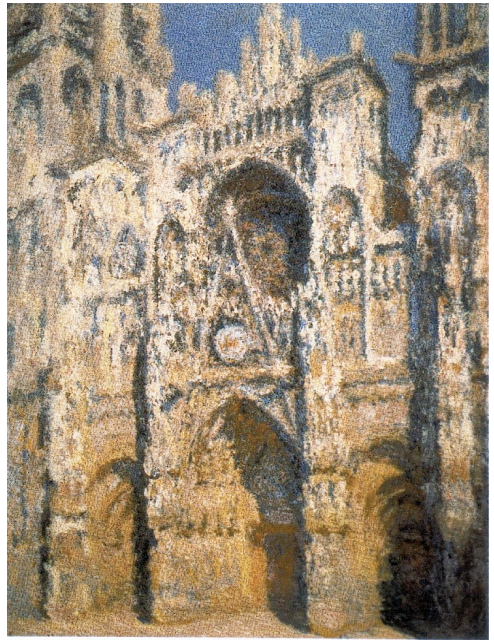


SARS-CoV-2 RBD

NTD : N-terminal domain, domain N-terminal
RBD : receptor binding domain, domaine de liaison au récepteur
RBM : receptor binding motif, motif de liaison au récepteur
SD1 : subdomain 1, sous-domaine 1
SD2 : subdomain 2, sous-domaine 2

Lan J et al., Nature 2020

Variabilité génétique des virus



Lors de la replication de leur génome

- Mutations : insertions, délétions, subtitutions
- Recombinaisons

- Taux de substitution/nucleotide/génome/an

Herpes simplex virus 1 $3,5x10^{-8}$

Grippe A $5,14x10^{-3}$

SARS-CoV-2 $8x10^{-4}$

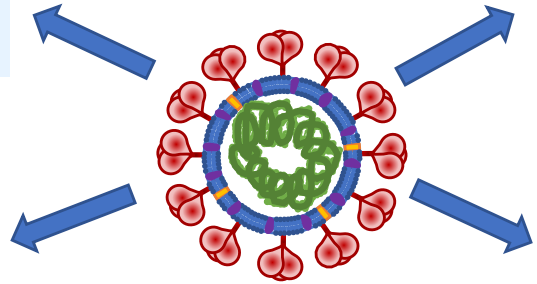
VIH (gène ENV) $1,58x10^{-2}$

Activité de relecture (proofreading) par l'exonucléase codée par Nsp14 *(Eskier et al. 2020, Ogando et al. 2020)*

- Conséquences de la variabilité génétique

Optimisation de l'adaptation à l'hôte

Augmentation de l'infectiosité



Echappement aux outils de diagnostic direct ou sérologique

Echappement aux effecteurs de la réponse immunitaire

Facteurs favorisant l'émergence de souches porteuses de mutations ?

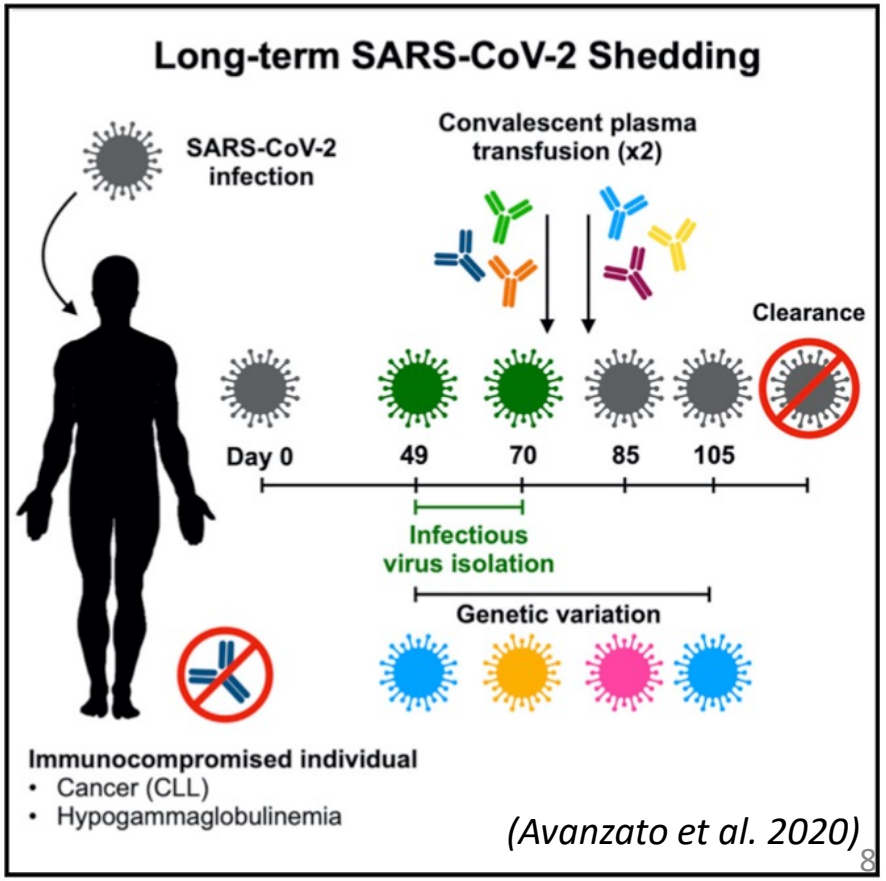
- Multiplication virale → Avantage de la souche mutée

→ Repérer les homoplasies (occurrence d'un caractère commun chez deux espèces, qui n'est pas le résultat d'une transmission de la part d'un ancêtre commun, contrairement à une homologie).

- Portage et multiplication virale prolongée asymptomatique ou symptomatique dans un contexte d'immunodépression *(Avanzato et al. 2020, Kemp et al. 2021, Choi et al. 2020)*

- Culture en présence d'anticorps monoclonaux *(Weisblum et al. 2020, Liu et al. 2021, Wang et al. 2021, Baum et al. 2020)*

- Culture en présence de plasma de convalescents *(Andreano et al. 2021, Kemp et al. 2021)*

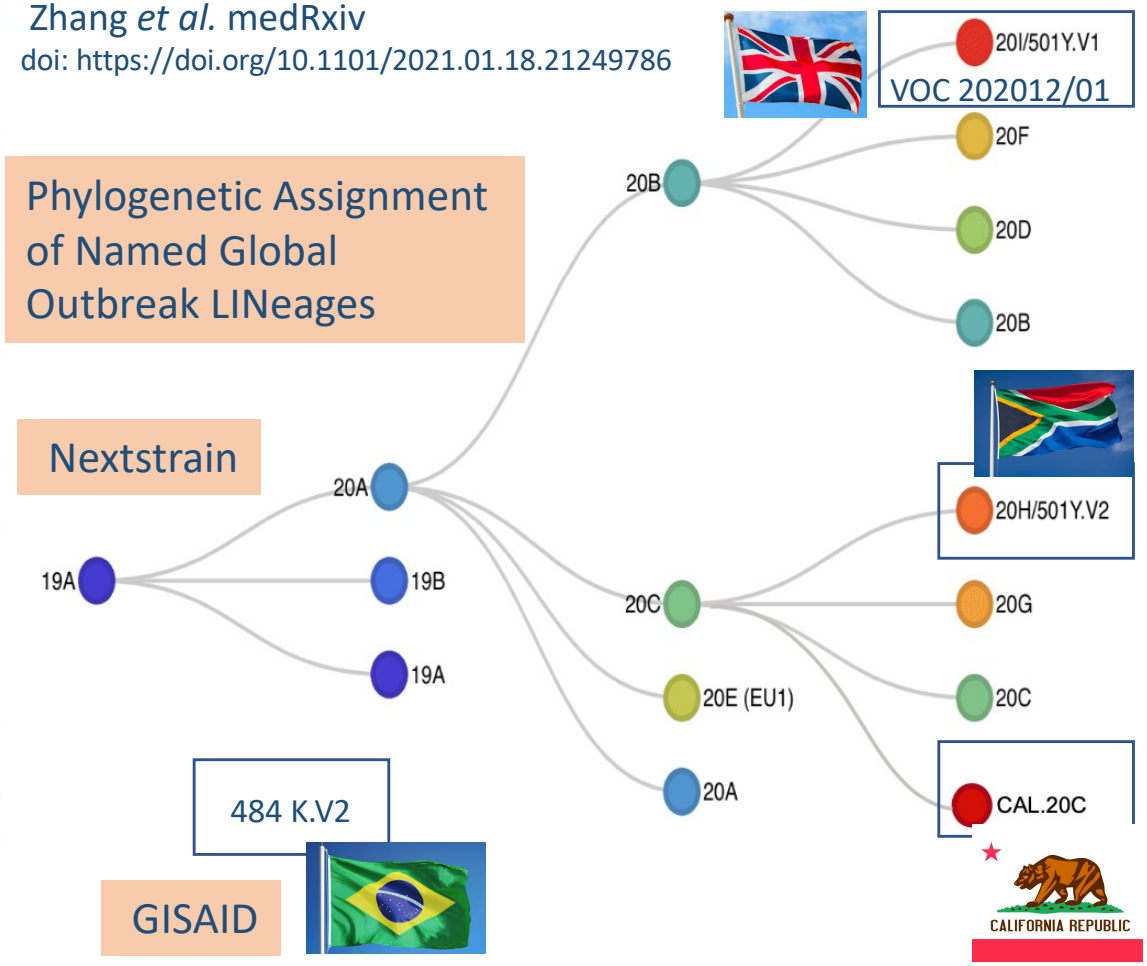


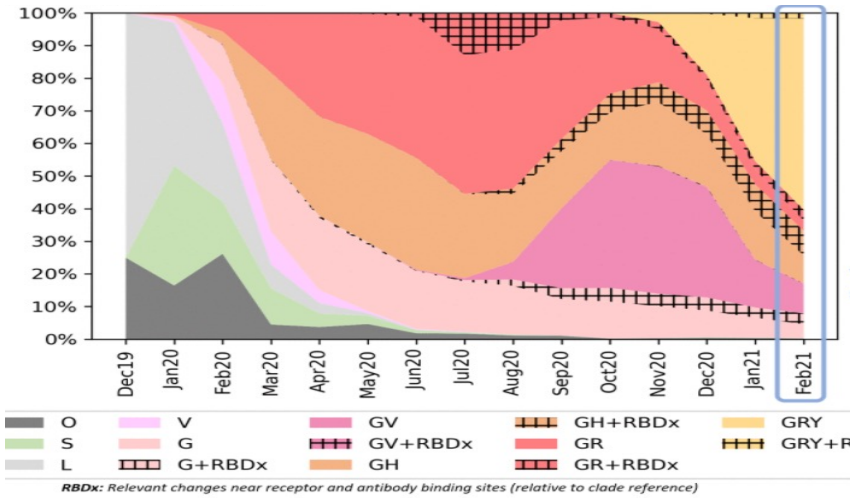
(Avanzato et al. 2020)

SARS-CoV-2 corresponding nomenclatures[2] [hide]

Pango lineage (Rambaut *et al.*)		Nextstrain clades, 2020	Nextstrain clades, 2021[4]	GISAID clades	Notable variants or mutations
A.1–A.6		19B	19B	S	contains "sequence zero"[1]
B.3–B.7, B.9, B.10, B.13–B.16		19A	19A	L	
				O[a]	
B.2				V	
B.1	B.1.5–B.1.72	20A	20A	G	Lineage B.1 in the Rambaut *et al.* system
	B.1.9, B.1.13, B.1.22, B.1.26, B.1.37			GH	
	B.1.3–B.1.66	20C	20C		Includes CAL.20C[5]
			20G		
			20H		Includes 501.V2 aka (20C/501Y.V2 or) 20H/501Y.V2 or B.1.351 lineage
	B.1.1	20B	20B	GR	Includes B.1.1.207
			20D		Includes P.1, aka B.1.1.248
			20F		
			20I		Includes VOC-202012/01 aka (20B/501Y.V1 or) 20I/501Y.V1 or lineage B.1.1.7
	B.1.177	20A.EU1,[6]	20E (EU1)[4]	GV[a]	Derived from 20A[4]

Zhang *et al.* medRxiv
doi: https://doi.org/10.1101/2021.01.18.21249786





Cell Reports

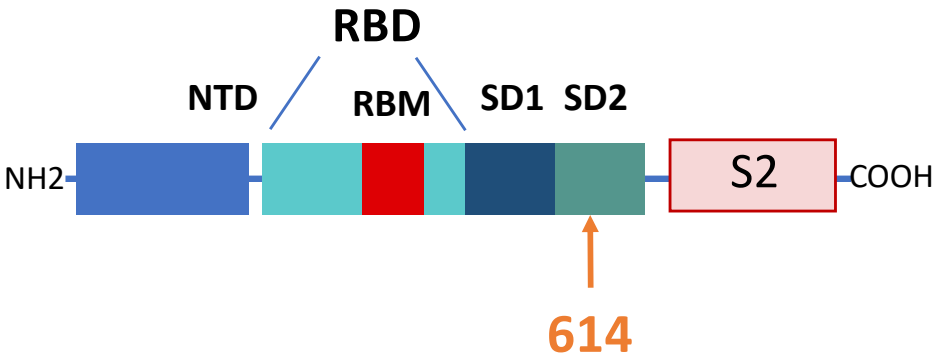
Article

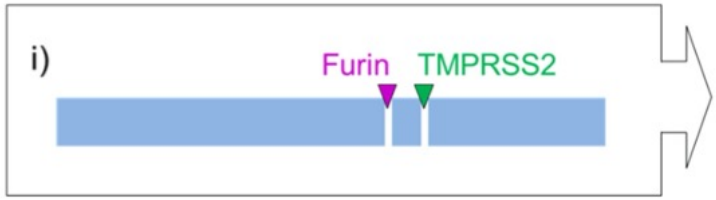
D614G Mutation Alters SARS-CoV-2 Spike Conformation and Enhances Protease Cleavage at the S1/S2 Junction

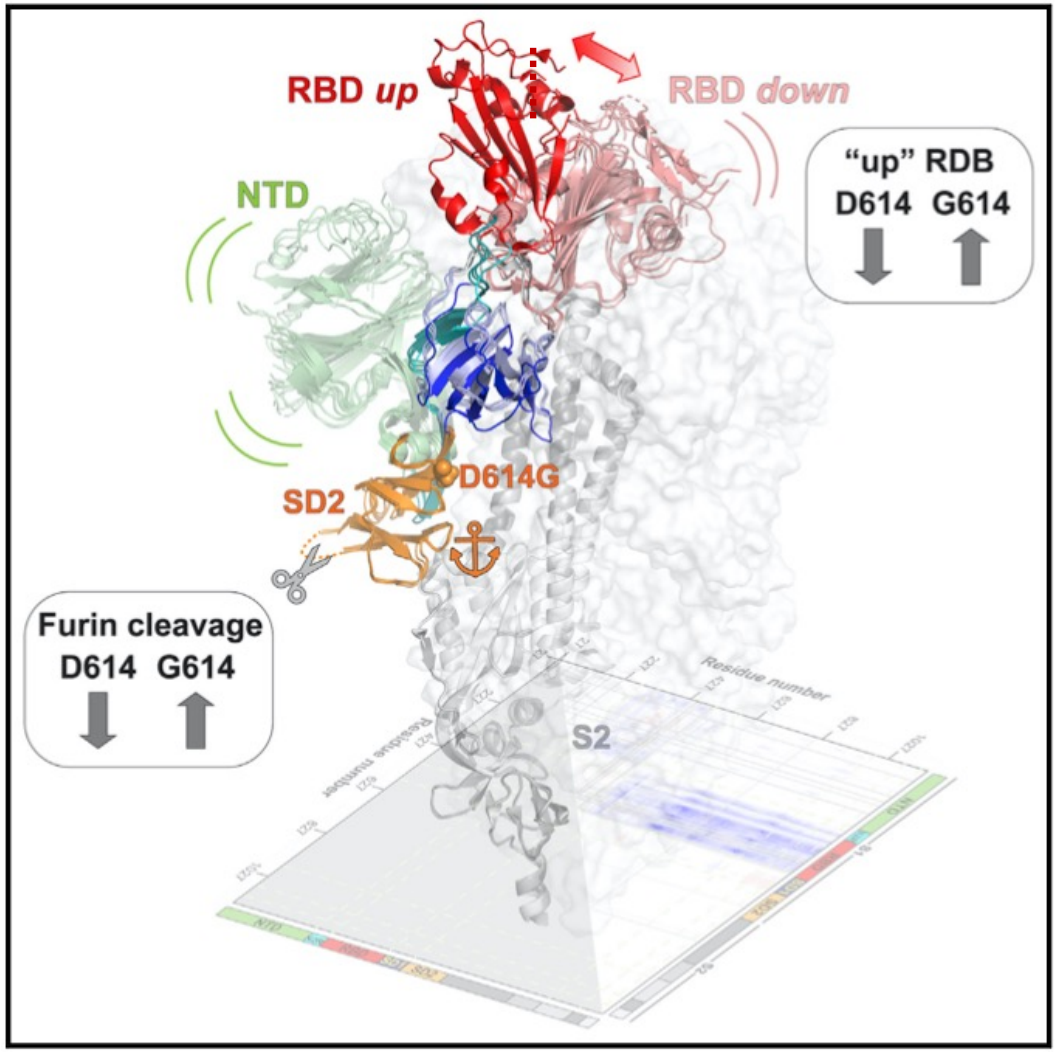
Authors

Sophie M.-C. Gobeil,
Katarzyna Janowska,
Shana McDowell, ..., Robert J. Edwards,
Barton F. Haynes, Priyamvada Acharya

34, 108630, January 12, 2021







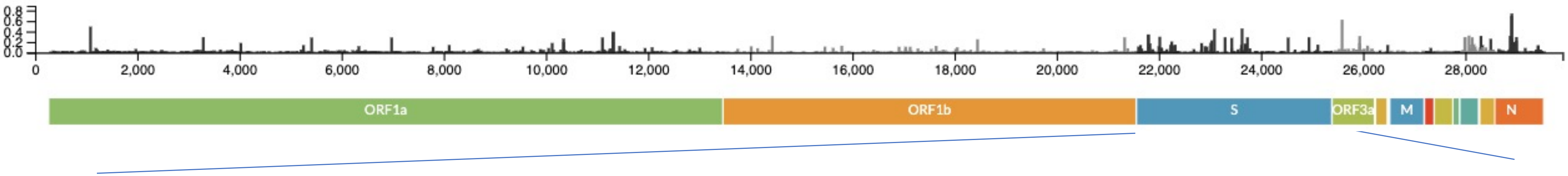
1- Clivage par furine en SD2
2- Clivage par TMPRSS2 (sérine protéase2 transmembranaire) en S2'

Bestle et al. bioRxiv 2020

Conséquences de la mutation D614G
Aspartate 614 Glycine

- La glycine entraîne un changement de conformation avec augmentation de l'état « up » du RBD et amélioration du clivage par la furine dans SD2 des sous-unités S1 et S2 de la forme de Spike préfusionnelle. *(Becerra-Flores et al. 2020, Benvenuto et al. 2020, Gobeil et al. Cell 2020)*
- Augmentation de la densité de la protéine S à la surface des particules virales et de la liaison au récepteur ACE2 *(Zhang et al. 2020, Benvenuto et al. 2020)*
- Augmentation de la transmissibilité des souches liée à une charge virale plus élevée lors de l'infection par le mutant G614 *(Korber et al. 2020)*
- La capacité réplicative du mutant G614 supérieure à celle de la forme D614 *in vivo* chez l'Homme, dans un modèle hamster et *in vitro* en culture de cellules *(Korber et al. 2020, Li et al. 2020, Shi et al. 2020)*
- Résultats divergents sur l'impact sur la sévérité de la maladie *(Becerra-Flores et al. 2020, Korber et al. 2020)*
- Pas d'impact sur le vaccin. Augmentation de la sensibilité à la neutralisation *(McAuley et al. 2020, Shi et al. 2020, Weissman et al. 2021)*

Les variants d'intérêt du SARS-CoV-2



VOC 202012/01 501Y.V1 (B.1.1.7): del69-70 del144 *501 570 614 681 716 982 1118

501Y.V2 (B.1.351): #18 80 215 #246 *417 (*)484 *501 614 701 del 242-244

484 K.V2 501Y.V3 (B.1.1.28.1) P.1: 18 20 26 138 190 *417 (*)484 *501 614 655 1027

CAL.20C 452R.V1 (B.1.429): 13 152 (*)452 614

VOC 202102/02 (B.1.525): del69-70 52 del144 (*)484 *501 570 614 677 681 716 888 982 1118

A.23.1: 102 157 367 613 681

B.1.526: 5 95 253 (*)484 614 701

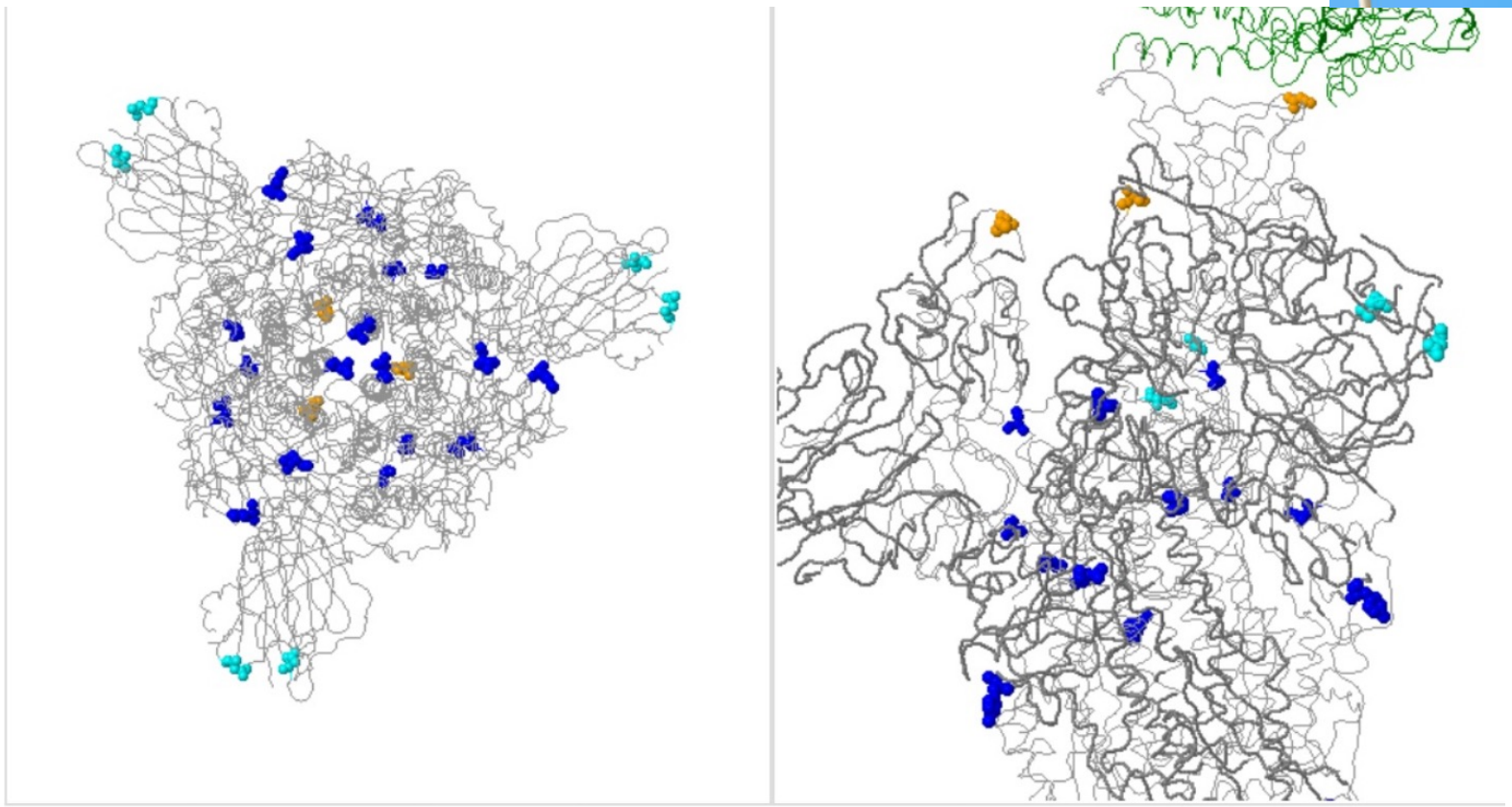
Selon la lignée ; * Site liaison à l'ACE2 ; (*) Site proche de liaison à l'ACE2

Le variant : VOC 202012/01 (dit « variant UK »)

Variant Of Concern (année mois/variant n° 01)

501Y.V1
B.1.1.7

Clade GR



Spin ON | Spin OFF | Save IMAGE

Spike glycoprotein (PDB: 6acc, EM 3.6 Angstrom) with RBD in down conformation.

Spin ON | Spin OFF | Save IMAGE

Spike glycoprotein (PDB: 6acj, EM 4.2 Angstrom) in complex with hos cell receptor ACE2 (green ribbon).

% AA identity:

99.214%

 # mutations:

10

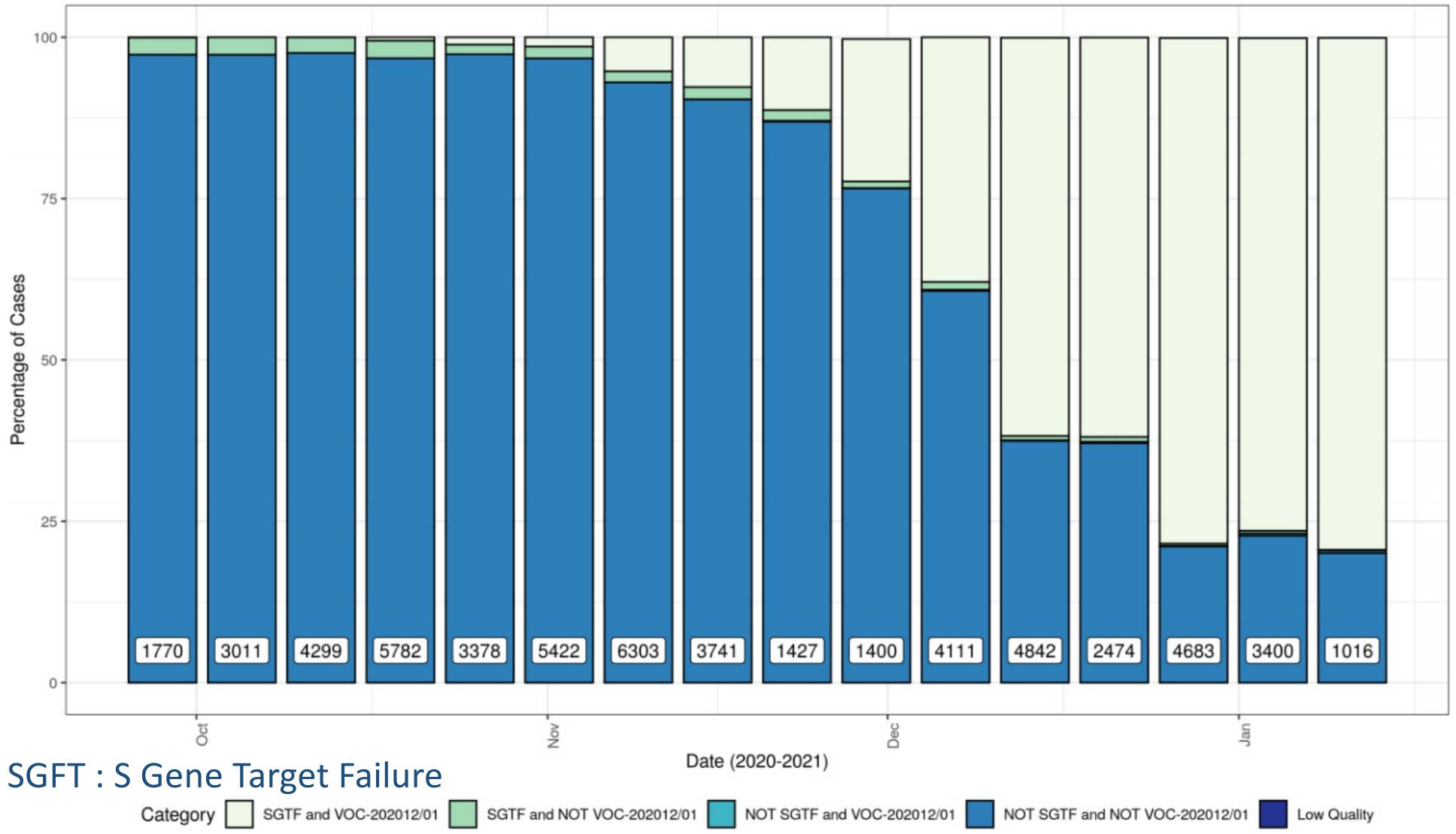
List of variations displayed in structure (nearest residue if in loop/termini region)

H69del V70del(69) Y145del(143) N501Y A570D D614G P681H(674) T716I S982A D1118H

Fixation AcN

Codon stop ORF8

Figure 1 shows the weekly percentage of VOC202012/01 and STGF combinations, showing increasing proportion of VOC202012/01 with SGTF (Pillar 2 samples with CT <30).



SGFT : S Gene Target Failure

Estimated date of dominance of VOC-202012/01 strain in France and projected scenarios

Report #26 [previous reports at: www.epicx-lab.com/covid-19.html]

Chiara E. Sabbatini[1], Laura Di Domenico[1], Giulia Pullano[1,2], Vittoria Colizza[1,*]

1 INSERM, Sorbonne Université, Pierre Louis Institute of Epidemiology and Public Health, Paris, France
2 Orange Labs, Sociology and Economics of Networks and Services (SENSE), Chatillon, France

**vittoria.colizza@inserm.fr*

16/01/2021 (DATA UP TO 10/01/2021)

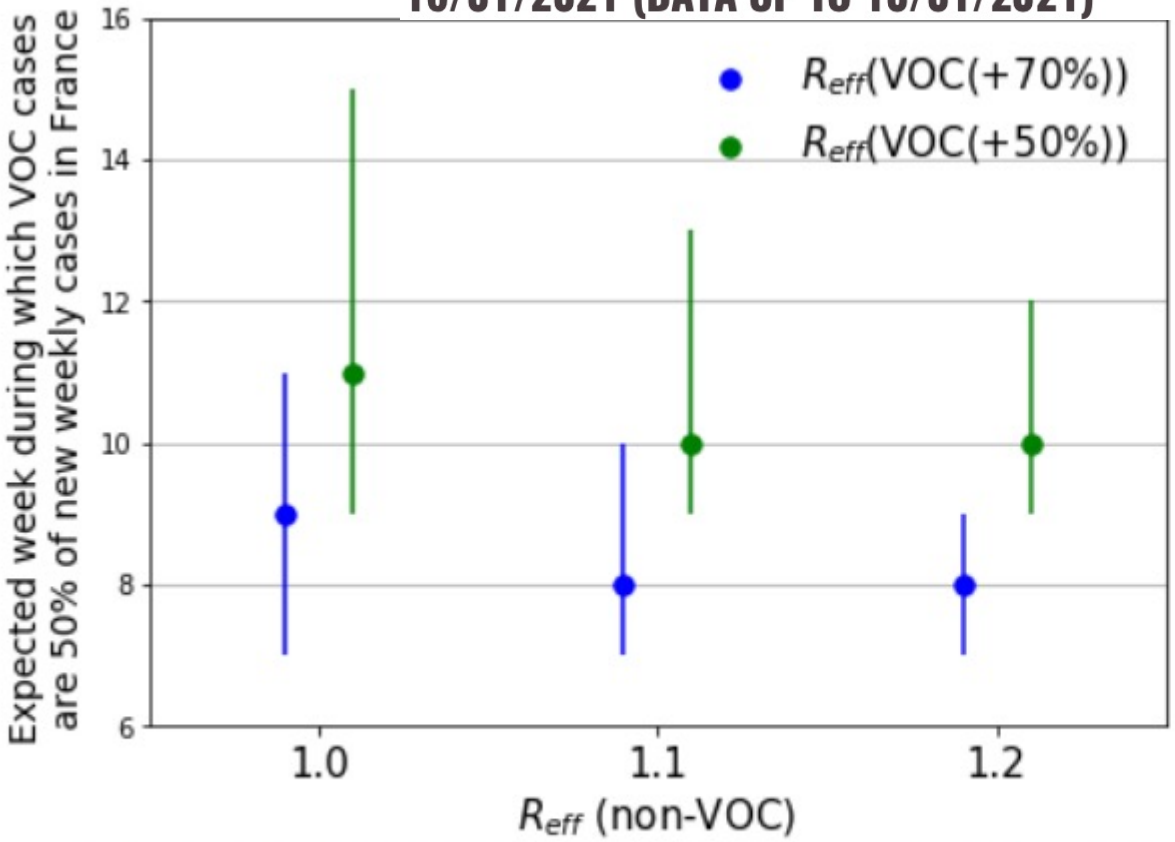


Figure 2. Estimated week of VOC dominance. Estimated time at which the weekly number of new VOC cases accounts for 50% of all weekly new cases. Dots indicate median values. Error bars represent 95% probability ranges obtained from 500 stochastic runs.

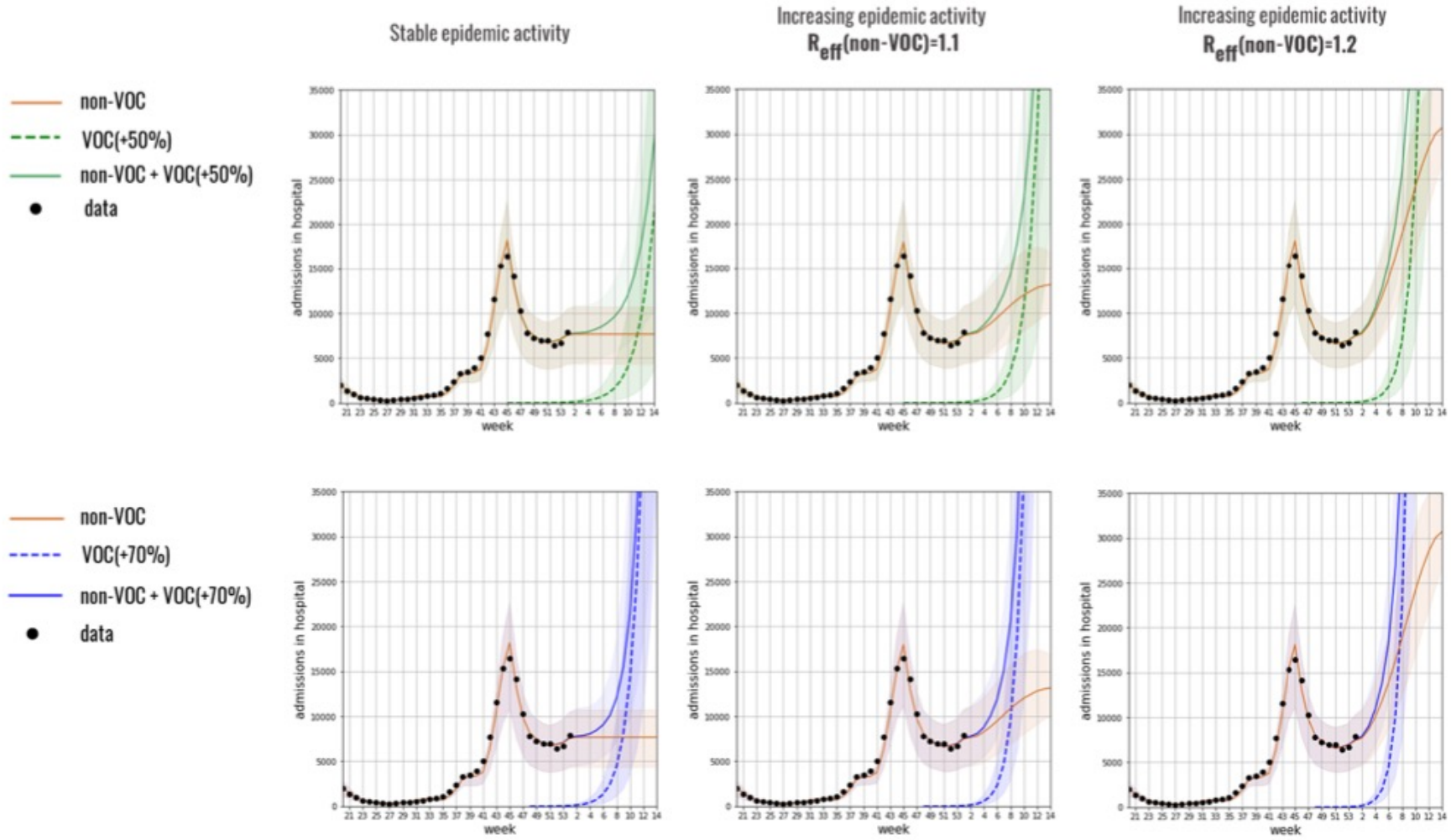
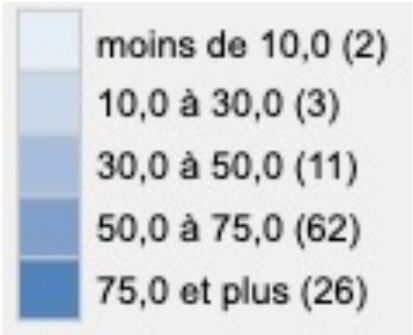
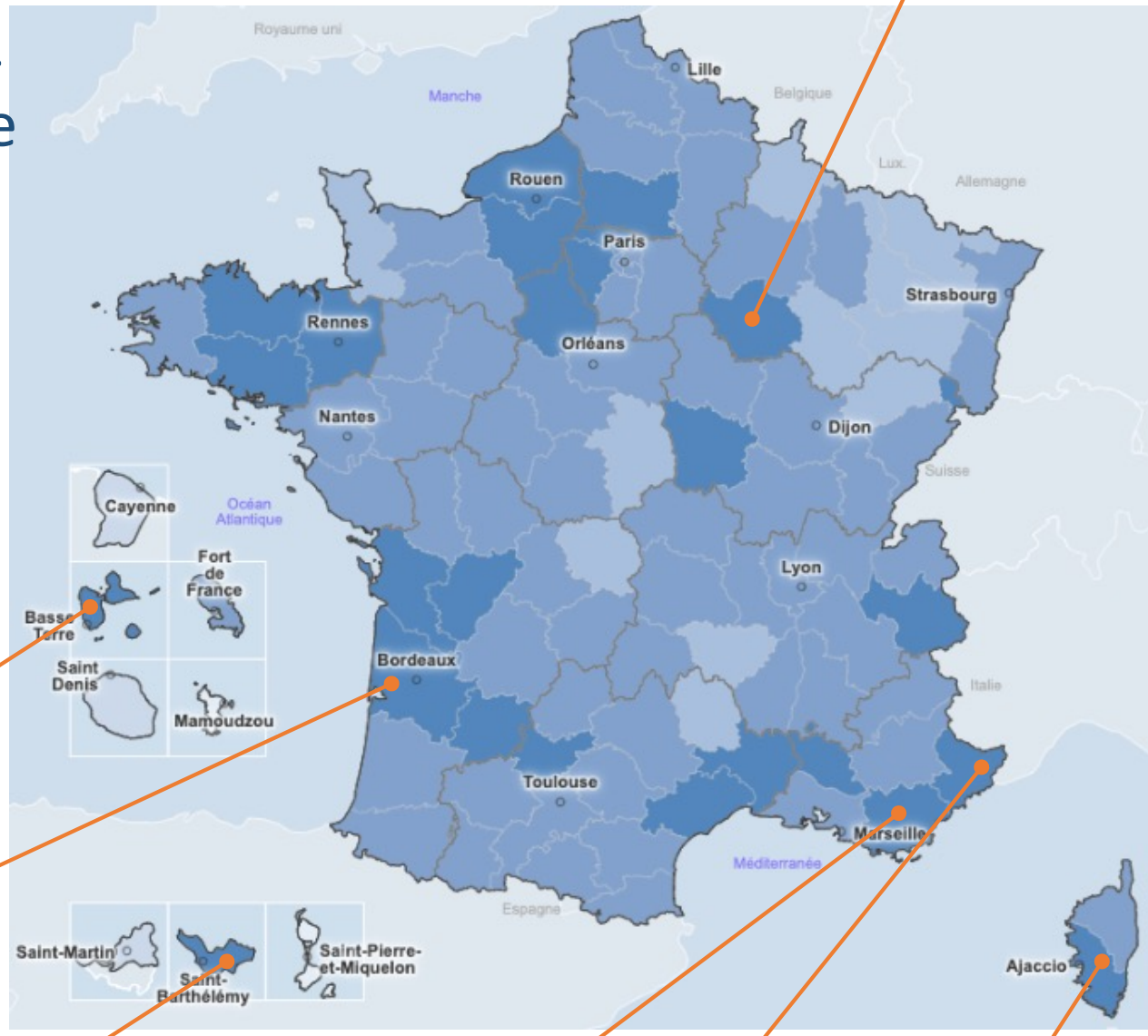


Figure 1. Predicted weekly number of hospitalizations due to non-VOC and VOC strain of SARS-CoV-2. The orange curve indicates hospitalizations due to non-VOC strain. Black dots correspond to weekly hospitalization data (up to week 1, 2021). Projections are obtained assuming R_{eff}(non-VOC) = 1.0 (left), R_{eff}(non-VOC) = 1.1 (center), R_{eff}(non-VOC) = 1.2 (right). Top panels: The dashed green curve represents weekly hospitalization due to VOC strain, assuming a 50% increasing in transmissibility with respect to the wild strain, corresponding to R_{eff}(VOC) = 1.5, 1.65, 1.8 respectively (from left to right). The solid green curve indicates the total (non-VOC and VOC) number of hospitalized cases. Bottom panels: As in the top panels, assuming a 70% increase in transmissibility for VOC strain with respect to the non-VOC strain, corresponding to R_{eff}(VOC) = 1.7, 1.9, 2 respectively (from left to right). In all panels: curves represent median values; shaded areas indicate 95% probability ranges obtained from 500 stochastic runs.

Prévalence du variant 501Y.V1/B.1.1.7 (anglais) à la semaine 9 de 2021 (Point épidémiologique 11 mars 2021) : 70,1%

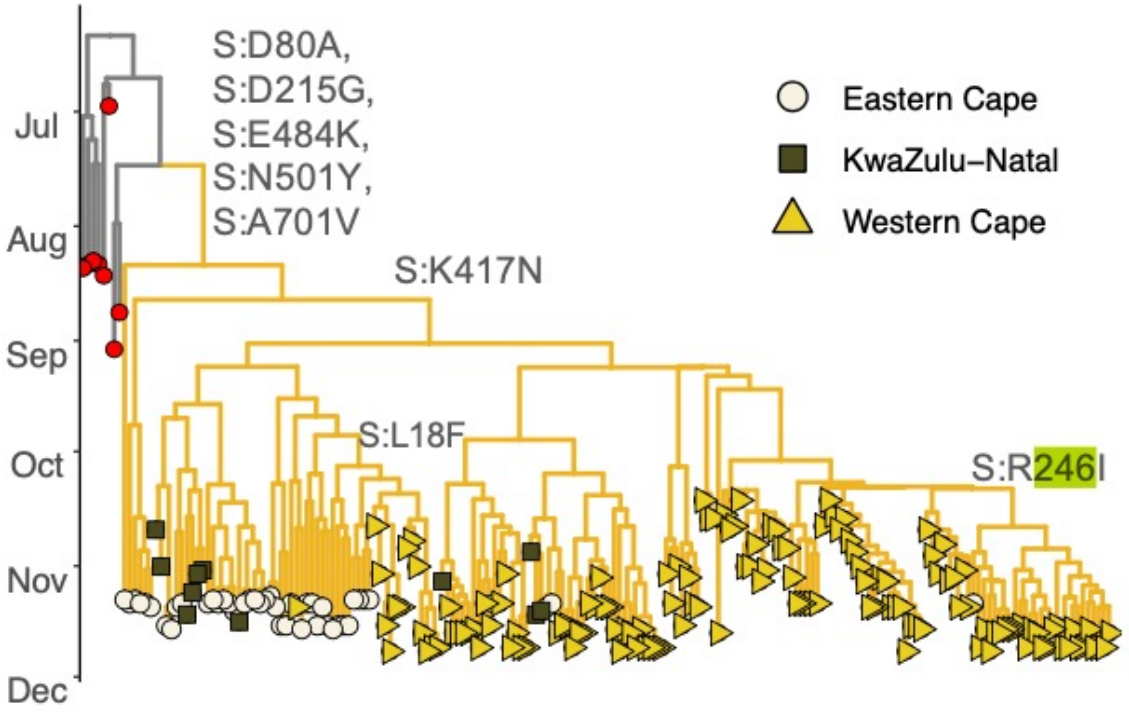




Le variant 501Y.V2 (sud-africain) B.1.351

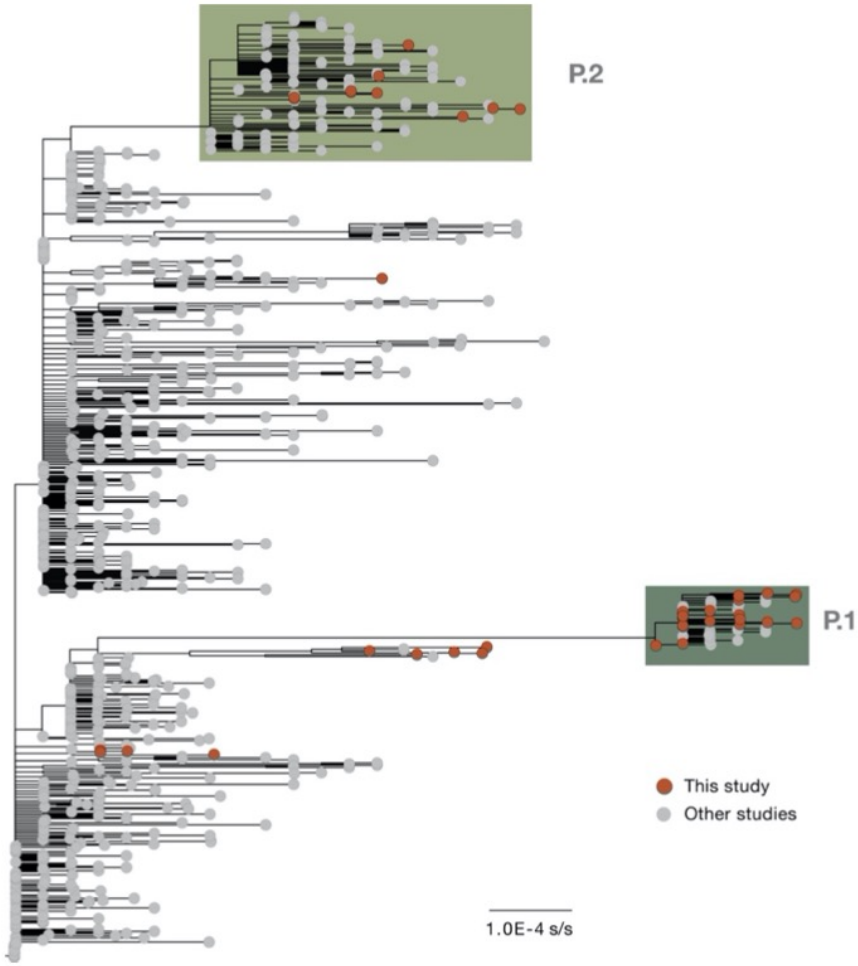
- Apparu en Afrique du sud depuis octobre 2020 *(Tegally et al., medRxiv 2020, Wibmer et al., bioRxiv 2021)*

- Clade GH



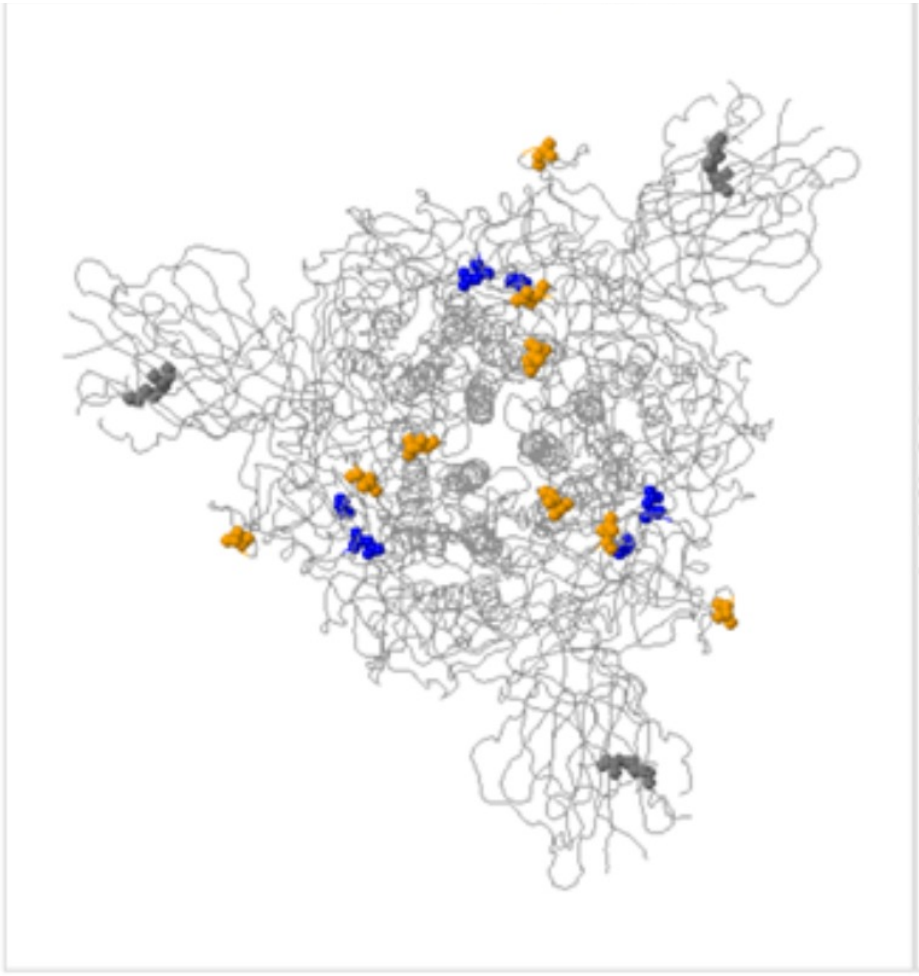
Les variants brésiliens
501Y.V3 ou 484K.V2 ou B.1.1.28.1 ou P.1
B.1.1.28.2 ou P.2

- Apparus au Brésil depuis décembre 2020
- Clade GR, lignée 20J *(Faria et al. medRxiv 2021, Voloch et al. medRxiv 2020)*
- P.1 : de mutations K417N, E484K, N501Y
- P.2 : mutation E484K
- Propagation rapide à partir du 05/10/2020



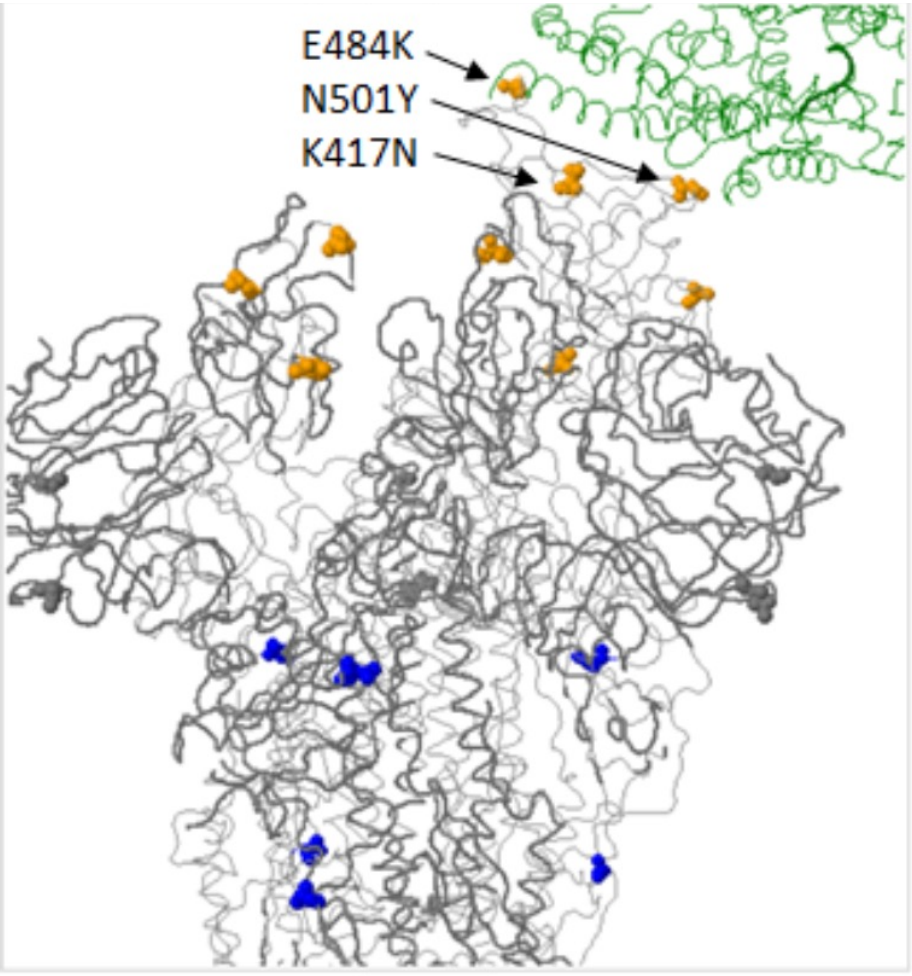
Réinfection de sujets ayant déjà fait une COVID-19 avec une souche « ancestrale »

Positionnement des mutations K417N, E484K et N501Y, dans l'espace



Spin ON | Spin OFF | Save IMAGE

Spike glycoprotein (PDB: 6acc, EM 3.6 Angstrom) with RBD in down conformation.



Spin ON | Spin OFF | Save IMAGE

Spike glycoprotein (PDB: 6acj, EM 4.2 Angstrom) in complex with host cell receptor ACE2 (green ribbon).

% AA identity:
99.450%

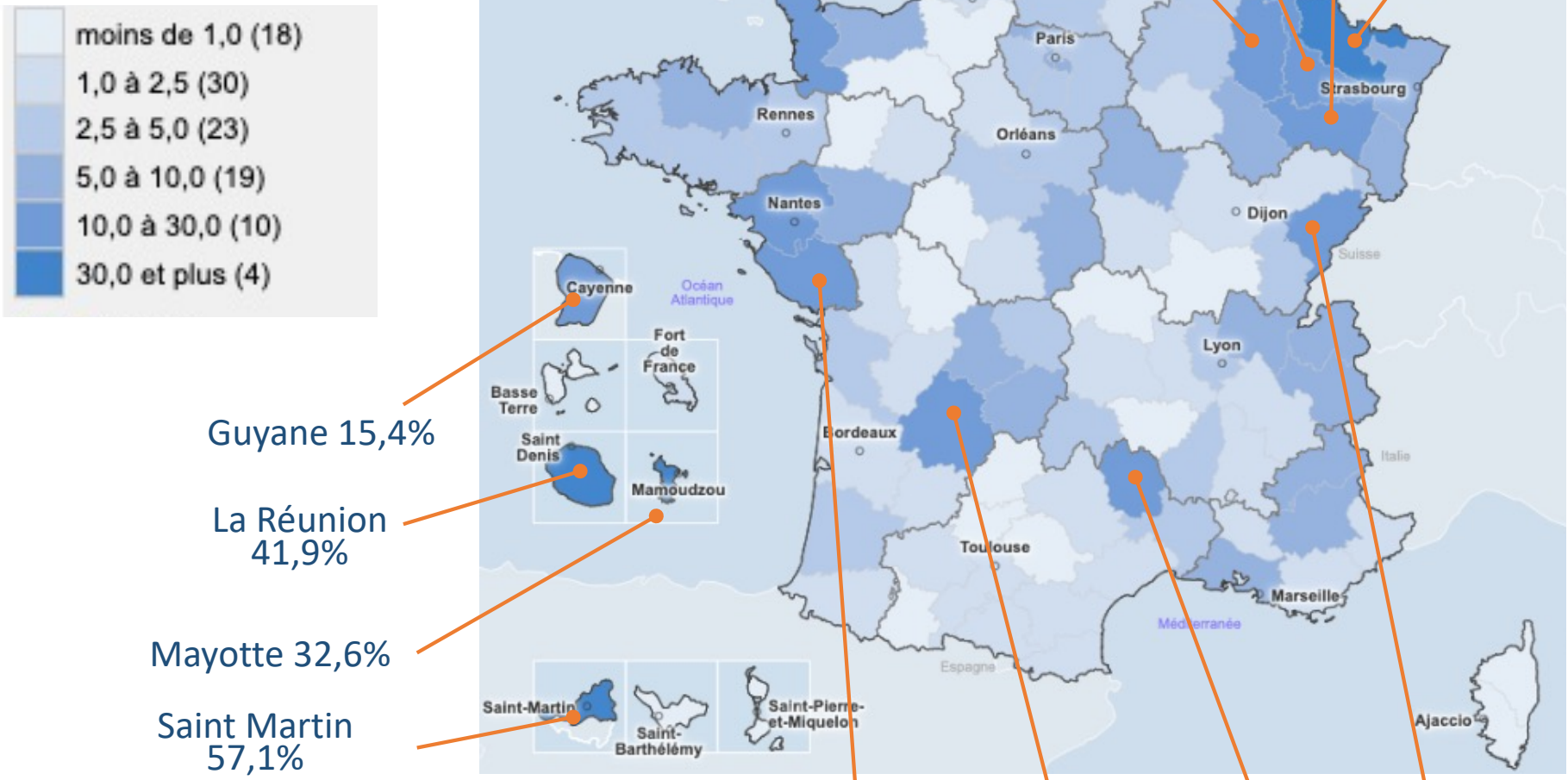
 # mutations:
7

List of variations displayed in structure (nearest residue if in loop/termini region)
D80A D215G K417N E484K N501Y D614G A701V L18F R246I

Les mutations E484K/A Glutamate 484 Lysine/ Alanine

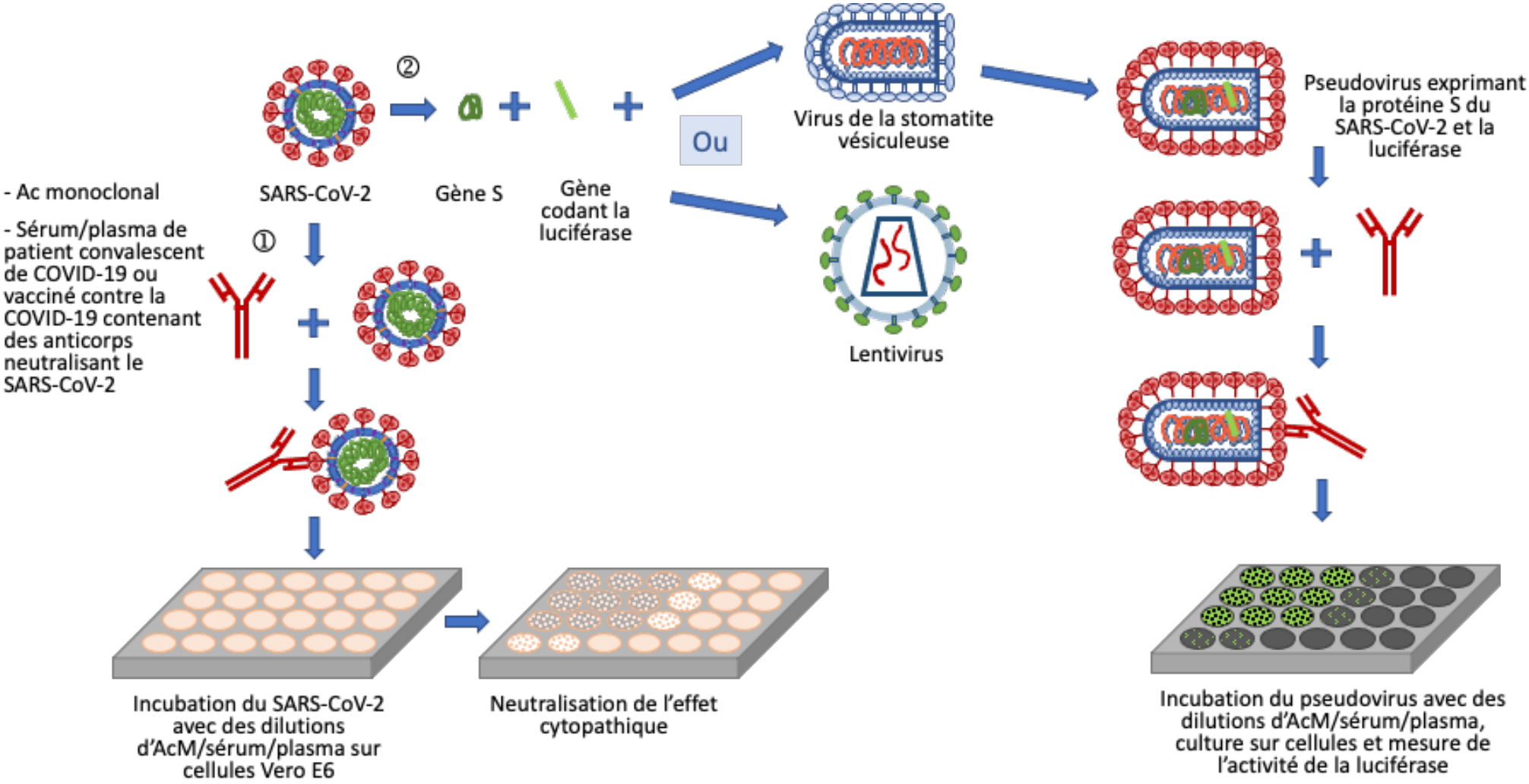
- Augmente la liaison à l'ACE2 d'autant plus en présence de K417N et N501Y *(Zahradnik et al. bioRxiv 2021)*, Augmentation in silico *(Chen et al.)*
- Mutation majeure entraînant la réduction de la fixation des anticorps sur RBD et de la capacité de neutralisation de sérums de convalescents à 1 et 3 mois datant de février 2020 *(Greaney et al., bioRxiv 2020),* ou de plasma de sujet convalescent de COVID-19 et entraînant l'échappement à la neutralisation *(Andreano et al., bioRxiv 2020)* ou une diminution nette *(Jangra et al., medRxiv 2020)*
- Mutation émergeant rapidement en culture sous la pression d'anticorps monoclonaux *(Weisblum et al., Elife 2020)*
- Diminution de neutralisation plus ou moins prononcée chez des sujets vaccinés *(Xie et al., bioRxiv 2021, Wu et al., bioRxiv 2021, Wang et al., bioRxiv 2021)*

Prévalence des variants contenant le trio de mutations 417/484/501 à la semaine 9 (Point épidémiologique du 11 mars 2021) : 5%



Impact de la variabilité sur l'échappement aux anticorps neutralisants ?

Tests de séroneutralisation avec du SARS-CoV-2 ① ou un pseudovirus ②



A. Gautheret-Dejean 2020

Vaccin	Non-variant	Variant		
		B.1.1.7.	B.1.351	P.1/P.2
BioNTech/Pfizer EV formes symptomatiques	**95% post-D2** *(EMA, 2020)* **52% post-D1** *(Mahase 2020)*	ND	ND	ND
EV vie réelle	**51,4% post-D1** (*Chodick, 2021*)	**85% sur hospitalisations post-D1** *(Vasileiou, 2021)* **Réduction 94% cas symptomatiques** *(Dagan, 2021)*	ND	ND
Moderna EV formes symptomatiques	**94,5% post-D2** *(EMA, 2020)* *(Mahase, 2020)*	ND	ND	ND
EV vie réelle	ND	ND	ND	ND
AstraZeneca EV formes symptomatiques	**59,5% post-D2** *(EMA, 2020)*	**74,6% post-D2** *(Emary, 2021)* **84% post-D2** *(Emary, 2021)*	ND **10,4% formes légères à modérées** *(Rawlinson, 2021)*	ND ND
EV vie réelle	ND	**94% sur hospitalisations post-D1** *(Vasileiou, 2021)* **60-75% dose unique formes symptomatiques** *(Lopez Bernal, 2021)*	ND	ND
Janssen EV formes symptomatiques	**66,1%** *(Johnson&Johnson announces, 2021)*	ND	**52,0%** (variant B.1.351 prédominant à 94,5%) *(Johnson&Johnson announces, 2021)*	**66,2%** Brésil (variant P.2 prédominant à 69,4%)
EV vie réelle	ND	ND	ND	ND
Novavax EV formes symptomatiques	**95,6% post-D2** *(Shinde, 2021)*	**89,3% post-D2** *(Mahase, 2021)*	**49,4% post-D2** *(Novavax)*	
EV vie réelle	ND	ND	ND	ND

Conclusion

- La variabilité est dans la nature même du SARS-CoV-2

- Un virus à ARN qui se multiplie à l'intérieur d'un organisme et qui se propage à l'intérieur d'une population va obligatoirement muter

- Les mutations vont aboutir à une optimisation de l'adaptation à son hôte, à la réponse immunitaire et éventuellement aux vaccins.

- En l'absence de traitement antiviral permettant de bloquer la multiplication virale, seule la vaccination sera efficace contre ce virus

- L'évolution des vaccins devra se faire en tenant compte des nouveaux variants qui émergeront au fil du temps

Merci de votre attention