



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة زيان عاشور-الجلفة
Université Ziane Achour –Djelfa
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيوجيا

Département de Biologie

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME

La protéase « Papain-like » du SARS
CoV-2 : Mécanisme de fonction et
d'inhibition.

Présenté par :

M^{elle} HOUA Nesrine

M^{elle} RADOUANE Nadjat

Examiné le :

Par le Jury composé de :

Président :	Mr. Boutaiba Saad	Professeur	Université de Djelfa
Encadreur :	Mr. Ounissi Mourad	MCB	Université de Djelfa
Examineur ;	Mr. Khled Khodja .Y	MCA	Université de Djelfa

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous tenons à remercier le Dieu tout puissant qui nous a accordé la santé et le courage pour mener ce travail jusqu'à son terme. Ce modeste travail a été réalisé au sein de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ziane Achour, Djelfa, sous la direction de Mr. Ounissi Mourad (MCB) au département de biologie à l'université Ziane Achour, Djelfa. Nous lui témoignons de la disponibilité des moyens mis à notre disposition, sa patience, des renseignements scientifiques qui nous ont permis de construire ce travail.

Notre reconnaissance va tout spécialement à Mr. Boutaiba Saad, Professeur au département biologie à l'université Ziane Achour, Djelfa, qui nous fait l'honneur de présider le jury de ce travail, nous tenons à le remercier.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mr. Khled Khodja .Y, Maitres de conférences au département biologie à l'université Ziane Achour, Djelfa, d'avoir accepté de juger ce modeste travail et de participer à ce jury.

Nous tenons à remercier, également tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Nesrine & Nadjat



Dédicace



C'est avec profonds et sincères mots je dédie ce mémoire de fin d'études

À mon cher père.

À ma chère mère.

À ma chère grand-mère

À mon cher oncle A.

Pour leurs sacrifices, leurs amours et leurs soutiens.

Je leurs dois beaucoup d'amour et respect que dieu me les gardes.

À mes sœurs et À mes frères.

Pour leurs encouragements permanents.

À ma cher binôme : Nadjet

Pour sa sympathise, pour son soutien indéfectible et sa patience infinie.

**À mes amies : Roukaya, Nafissa, Fatima, Hamide, Achouak, Hadjer,
Mariem, Massouda, souhaila .**

À tous ceux qui sont chers.

**Et à tous mes collègues de la promotion 2021/2022 Microbiologie appliquée avec
lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur**

Nesrine





Dédicace



Au propriétaire d'une biographie parfumée et d'une pensée éclairée, c'était le principal crédit pour mes études supérieures (mon père bien-aimé), que Dieu prolong sa vie.

A celle qui m'a mis sur le chemin de la vie, et m'a apaisé tu as pris soin de moi jusqu'à ce que je grandisse (ma chère mère), que Dieu prolong sa vie.

À mes frères : **Abdel Hakim, Abdel Qadir et Ismail**

À ma soeur : **Fatima Al-Zahra**

Ceux qui ont eu un grand impact sur de nombreux obstacles et difficultés.

À ma cher binôme : **Nesrine**

Pour sa sympathie, pour son soutien indéfectible et sa patience infinie.

À mon cher ami : **Afaf**

À tous ceux qui sont chers.

Et à tous mes collègues de la promotion 2021/2022 microbiologie appliquée avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

Nadjet



Résumé:

L'émergence du virus SARS-CoV-2 a conduit à la pandémie de COVID-2 qui s'est propagée dans le monde entier, ce qui a conduit à la déclaration de l'état d'urgence par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). À cet égard, la protéase SARS-CoV-2 PL^{pro}, qui possède plusieurs activités enzymatiques essentielles intégrées dans des protéines non structurales (NSPs), a été mise en évidence. Ce travail vise à étudier et à analyser la structure structurelle de PL^{pro} et à discuter de sa fonction, car il est responsable du clivage des changements d'ubiquitine et d'ISG15 dans la cellule hôte, altérant les réponses immunitaires innées, indiquant que PL^{pro} est une excellente cible médicamenteuse pour la prochaine génération et médicaments antiviraux. Après cela, l'étude des inhibiteurs de PL^{pro} et de son mécanisme de liaison à l'aide d'acides aminés a été discutée, et les propriétés de chaque inhibiteur ont également été discutées.

Mots-clés : Coronavirus ,SARS-CoV-2, COVID-19, protéase papain-like (PL^{pro}), Nsp3, inhibiteurs.

ملخص:

أدى ظهور فيروس SARS-CoV-2 إلى جائحة COVID-2 الذي إنتشر في جميع أنحاء العالم، مما أدى إلى إعلان حالة الطوارئ من قِبَل منظمة الصحة العالمية (OMS). في هذا الصدد، تم تسليط الضوء على بروتياز SARS-CoV-2 PL^{pro} الذي يحتوي على العديد من الأنشطة الإنزيمية الأساسية المضمنة في البروتينات غير الهيكلية (nsps). يهدف هذا العمل إلى دراسة وتحليل البنية الهيكلية ل PL^{pro} ومناقشة وظيفته، حيث، أنه المسؤول عن شق التغيرات في يوبيكويتين و ISG15 في الخلية المضيفة، مما يُعرقِل الإستجابات المناعية الفطرية، مما يُشير إلى أن PL^{pro} هدف دوائي ممتاز للأدوية المضادة للفيروسات من الجيل التالي. بعد ذلك، تم التَّنَرُق إلى دراسة مثبطات PL^{pro} وآلية الإرتباط به وذلك بمساعدة الأحماض الأمينية، وأيضاً مناقشة خصائص كل مثبط.

الكلمات المفتاحية: كورونا فيروس، SARS-CoV-2، كوفيد 19، بروتياز (PL^{pro}) Papain-like، Nsp3، مثبطات.

Abstract

The emergence of the SARS-cov-2 virus led to the COVID-2 pandemic that spread around the world, which led to the declaration of a state of emergency by the World Health Organization (OMS). In this regard, the SARS-cov-2 PL^{pro} protease, which has several essential enzymatic activities embedded in non-structural proteins (nsps), has been highlighted. This work aims to study and analyze the structural structure of PL^{pro} and discuss its function, as it is responsible for cleaving changes in ubiquitin and ISG15 in the host cell, impairing innate immune responses, indicating that PL^{pro} is an excellent drug target for next-generation antiviral drugs. After that, the study of PL^{pro} inhibitors and its binding mechanism with the help of amino acids was discussed, and the properties of each inhibitor were also discussed.

Keywords: Coronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, papain-like protease (PL^{pro}), Nsp3, inhibitors.



Tables des Matières

Sommaire

Résumé:.....	
Tables des Matières.....	
Sommaire	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Abréviations.....	
Introduction.....	1

CHAPITRE I Revue BIBLIOGRAPHIQUE

1 Généralités sur le coronavirus.....	5
1.1 Définition :.....	5
1.2 Classification de coronavirus:	5
1.3 Type de coronavirus :.....	6
2. SARS-Cov2.....	8
2.1. Historique :	8
2.2 Définition de SARS-COV-2 :	8
2.3 Composition biochimique:	9
2.3.1 Structure de SARS-COV-2:.....	9
2.3.2 Organisation génomique :.....	11
2.3.3 Protéines de SARS-COV-2 :	12
2.4 Variantes du SARS-CoV-2:	14
2.4.1 Variante B.1.1.7 (Alpha) :	15
2.4.2 Variante B.1.1.298 (cluster) :.....	15
2.4.3 Variantes B.1.429 et B.1.427 (Epsilon) :.....	16
2.4.4 Variant B.1.351 (bêta) :	16
2.4.5 Variante P.1 :	16

2.4.6 Variante P.2 (zêta) :	17
2.4.7 Omicron :	17
2.5 Modes de transmission:	18
2.5.1 Transfert direct :	18
2.5.2 Transmission indirect:	18
2.6 Symptômes de SARS-COV-2 :	18
2.7 Mode d'interaction avec la cellule hôte :	20
2.8 Cycle de réplication :	21
2.9 Réponse immunitaire face au SARS-CoV-2 :	22
2.10 Diagnostic de l'infection par le SARS-CoV-2	24
2.10.1 Test moléculaire par RT PCR :	24
2.10.2 Test sérologique avec le rapide test :	25
2.11 Thérapeutique :	25
2.12 Vaccines:	29

CHAPITRE II Matériel et banque de donnée utiliser

1. Banque de données des structures protéiques (PDB)	31
2. Python moléculaire (PYMOL).....	32
3. Bioédit.....	34

CHAPITRE III La protéase de papain-like de SARS-CoV-2

1. Définition de la protéase :	37
2. Papain -like	38
2.1 Structure :	38
2.2 Site actif de PL ^{pro} ;	41
2.3 FONCTION;	41
2.4 Mécanisme d'action du PL ^{pro} ;	44
2.5 Comparaison ;	41

CHAPITRE IV Inhibiteur et méthode de couverte

Inhibiteur et méthode de couverte de PL ^{pro}	49
--	----

1. Définition d'inhibiteur	49
2. Inhibiteur de papain-like de SARS-COV-2	49
2.1. Les inhibiteurs covalents.....	49
2.1.1 VIR 250 et VIR 251 :	50
2.2 Les inhibiteurs non covalents :.....	53
2.2.1 Inhibiteur GRL0617 :	53
2.2.2 Inhibiteur 3k	55
2.2.3 Inhibiteur Ebselen.....	56
3 Mutations dans la protéase de papain-like du SARS-COV-2.....	57
Conclusion:	65
Référence bibliographique	67

Liste des Figures

Figure 1 : Classification des coronavirus.....	5
Figure 2: Chronologie des coronavirus humains.	6
Figure 3 : Structure de SARS-COV-2.	10
Figure 4 : Génome et les protéines de SARS-COV-2.....	12
Figure 5 : Chronologie de quelques variantes du SARS-COV-2.	15
Figure 6 : mode d'interaction de SARS-COV-2.	21
Figure 7 : Cycle de réplication de SARS-CoV-2.....	22
Figure 8 : Mécanismes suspectées de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-CoV-2.....	23
Figure 9 : La fenêtre de visualisation de PDB.	32
Figure 10 : L'apparition de la fenêtre PDB lors de la recherche sur une protéase papain-like.	32
Figure 11 : la fenetre de visualisation de PyMol.	34
Figure 12 : La fenêtre de visualisation de BioEdit.	35
Figure 13 : Principe d'action des inhibiteurs des proteases.	37
Figure 14 : Structure de protéase papain-like de SARS-COV-2(a) vue de haut (b) vue de cote.	38
Figure 15 : Structure une chaine de papain-like. (a) α helice en rouge et β feuille en jaune (b) structure en ruban montre les residus de cysteine en batonet.	39
Figure 16 : Les domaines de protéase papain-like (PL ^{pro}).....	40
Figure 17 : L'interaction du zinc avec les Cys189, Cys192, Cys224 et Cys226 au bout des doigts.....	41
Figure 18 : Représentation du site actif de SARS-COV-2 PL ^{pro} en complexe avec l'inhibiteur peptidique VIR251 (code pdb 6WX4).....	42
Figure 19 : Structure PL ^{pro} avec ubiquitine en bleu, (code pdb 7UV5).....	43
Figure 20 : Structure PL ^{PRO} avec ISG15.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 21 : Sites de clivage de PL ^{pro}	44
Figure 22 : Comparaison de PL ^{pro} de SARS-COV-2 et SARS-COV-1.....	46
Figure 23 : alignement de SARS-CoV-2 avec SARS-CoV PL ^{pro}	47
Figure 24: Caractérisation des inhibiteurs non naturels contenant des acides aminés VIR250 et VIR251.....	50
Figure 25 : Structure 3d de la protéase papain-like liée a l'inhibiteur vir250(le code pdb : 6wuu).	52

Figure 26 : Structure 3D de la protéase papain-like liée a l'inhibiteur VIR251 (le code PDB 6WX4).....	52
Figure 27 : Structure 3D de la complexe PL ^{pro} et GRL0617(PDB:7CMD).	55
Figure 28 : Structure 3d de complexe PL ^{pro} et 3k (le code PDB :7TZJ).	56
Figure 29 : Structure 3D de complexe PL ^{pro} et ebselen(PDB:7M1Y).	57

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification, Decouverte, Recepteur Cellulaire et Hote Naturel du Coronavirus	7
Tableau 2 : Classification de SARS-COV-2.....	9
Tableau 3 : Certaines variantes importantes du SARS-COV-2.....	17
Tableau 4 : Stratégies de traitement et médicaments candidats pour le traitement de la COVID-19.....	26
Tableau 5 : Les caractérisations du 6w9c	41
Tableau 6 : Les caractérisations du complexe papain-like –inhibiteurs	59
Tableau 7 : Les caractérisations des inhibiteurs	60

Liste des Abréviations

2D: Deux dimensions.

3CL: 3Chymotrypsine-like.

3D: Trois dimensions.

Å: Angström.

AA: Acide Aminé.

ACE2: Angiotensin Converting Enzyme 2.

ADAM: A disintegrin and metalloprotease.

ADMET: Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité.

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

AP-1: Protéine activatrice 1 (AP-1).

AR: Activation de Régule.

ARN: Acide Ribonucléique.

ARNm: Acide Ribonucléique messenger.

BBB: Blood-brain-barrier.

BL2: La boucle de blocage 2.

BMRB: BioMagResBank

C: Carbone

CALM: Clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia

CD4: Cluster de différenciation 13

CDC: Les données ouvertes du Chinois.

CDK: Complexe cycline-kinase cycline-dépendante.

COVID-19: Coronavirus Disease appeared in 2019.

Cox-2: Cyclooxygénase.

CTD: Domain C-terminal.

CYP: Cytochrome P.

DL50: Dose létale 50.

DPP4: Dipeptidyl peptidase 4.

E : protéine d'enveloppe

ECMO: Extracorporeal Membrane Oxygenation.

Egr-1: Early growth response 1.

EM: Microscope électronique.

EMA: European Medicines Agency.

ER : Réticule Endoplasmique

ERGIC: Endoplasmic Reticulum Golgi Intermediate Compartment.

FRET: Transfert d'énergie par résonance Forster

GLEW:GL Extended Wrangler

JC: Jésus-Christ (Avant la naissance du Christ).

H: Hydrogène

HE :protéine hémagglutinine-estérase ou protéine E.

HcoV: Humain corona virus.

hERG: Human Ether-à-go-go-Related Gene.

H-HT: Human Hepatotoxicity.

HIA: Human Intestinal Absorption.

HR: Répétition Hepeptidique.

ICTV: Comité international de taxonomie des virus.

IC50: Inhibitory Concentration 50 %.

IFN: Interferon.

IgG:immunoglobulines G

IgM:immunoglobulines M

IKK: Inhibiteurs-kB kinases.

IL: interleukin

INF-I: Interféron de type I.

IRF3: Interferon-regulatory factor-3.

ISG15: Le gène 15 stimulé par l'interféron.

Kcal: Kilocalorie.

KDa: Kilodalton.

LogD: Coefficient de distribution.

LogP: Coefficient de partage.

LLNA: Local Lymph Node Assay.

M :Protéine de membrane

MERS-COV: Middle East respiratory syndrome coronavirus.

Mg: Milligramme.

Mm: Masse molaire.

Mpro: Main protéase.

NcoV: Nouveau coronavirus

N :Protéine de Nucléokapside

NF- κ B: Nuclear factor-kappa B.

NIH: National Institutes of Health.

NM: Nano-mètre.

NTD: N-terminal domain.

NF- κ B: Nuclear factor-kappa B.

NIH: National Institutes of Health.

Nsp: Protéine non structural.

OMS: L'Organisation Mondiale de la Santé.

ORF: Open Reading Frame.

PDB: Protein Data Bank.

Plpro: Papain-like protease.

PM: Poids moléculaire.

Pp: Polyprotéines répliques.

PYMOL: Python Moléculaire

RBD: Receptor Binding Domain.

RBM: Receptor Binding Motif.

RdRp: ARN polymérase dépendant de l'ARN.

RIG-I: Le gène I inductible par les rétinoïdes.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

RMSD: RootMean Square Deviation.

S : Protein Spike.

S1: Sous-unités-1.

S2: Sous-unités -2.

SARS-CoV: Severe acute respiratory syndrome coronavirus.

SARS-CoV-2: Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2.

TBK1: La TANK-binding kinase-1.

TC: Le complexe réplique-transcriptase.

TGF- β 1: Transforming Growth Factor.

TLR : Les récepteurs Toll-like.

TMPRSS2: Transmembrane Protease Serine 2.

TPSA: Polar surface area.

Ub: Ubiquitine.

Ubl: Ubiquitine-like.



Introduction

Introduction :

En 2002 et 2012, deux coronavirus hautement pathogènes d'origine zoonotique, c'est le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) et le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), sont apparus chez l'humain et ont causé des maladies respiratoires mortelles. Ces coronavirus ont un nouveau problème de santé publique au 21^e siècle. Le SARS-CoV-2 a émergé à la fin de 2019 et a causé une pandémie de maladie respiratoire aiguë, appelée « maladie à coronavirus 2019 » (COVID-19), qui menace la santé humaine et la sécurité publique (Hu, 2019).

Après que les premiers cas de cette maladie virale ont été signalés pour la première fois à Wuhan, dans la province de Hubei, en Chine, le SARS-CoV-2 s'est rapidement répandu dans le monde entier en peu de temps, obligeant l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) à déclarer qu'il s'agit d'une pandémie mondiale le 11 mars 2020.

La pandémie a également entraîné la perte de moyens de subsistance en raison de fermetures prolongées, qui ont eu un effet d'entraînement sur l'économie mondiale, alors que le SARS-CoV-2 continue de faire des ravages dans le monde entier. Avec de nombreux pays subissant une deuxième ou troisième vague d'éclotions de cette maladie virale attribuée principalement à l'émergence de variantes mutantes du virus.

Le SARS-CoV-2, tout en s'adaptant à ses nouveaux hôtes humains, est susceptible d'évolution génétique avec des mutations évoluant au fil du temps, entraînant des variantes mutantes qui peuvent avoir des caractéristiques différentes de leurs souches ancestrales. Selon la récente mise à jour épidémiologique de l'OMS, en date du 11 décembre 2021, cinq variants du SARS-CoV-2 ont été identifiés depuis le début de la pandémie : Alpha (B.1.1.7) : premier variant préoccupant décrit au Royaume-Uni à la fin de décembre 2020, Bêta (B.1.351) : première déclaration en Afrique du Sud en décembre 2020, Gamma (P.1) : première déclaration au Brésil au début de janvier 2021, Delta (B.1.617.2) : première déclaration en Inde en décembre 2020, Omicron (B.1.1.529) : première déclaration en Afrique du Sud en novembre 2021 (Casella M, n.d.), dont les principaux symptômes sont la toux, la fièvre et les difficultés respiratoires, ces symptômes peuvent évoluer vers une détresse respiratoire et une insuffisance organique. En outre, la maladie peut provoquer une inflammation systémique (M. De, 2021). Le virus se transmet de plusieurs façons : salive, gouttelettes de l'éternuement ou de la toux, contacts directs avec des patients porteurs ou indirects via des surfaces contaminées (Greef et al., 2019). Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé grossièrement

sphérique, avec un diamètre allant de 80 à 299 nm. Structurellement, contient quatre protéines structurales, qui comprennent les protéines de Spike (S), d'enveloppe (E), de membrane (M) et de nucléocapside (N) (M. De, 2021).

La pandémie de coronavirus 2019 (COVID-19) a changé le monde comme jamais auparavant. Cette crise est peu probable en l'absence de thérapies ou de vaccins efficaces (Gao et al., 2021). Sa protéase de type papaïne (SRAS-CoV-2 PL^{pro}) est l'une des cibles cruciales pour stopper la réplication du virus (Ibrahim et al., 2020), présentant une cible thérapeutique attrayante (Gao et al., 2021).

La protéase PL^{pro} (NSP3) est un trimère de trois chaînes d'acides aminés homologues (Li et al., 2020), Chaque chaîne se compose de 315 acides aminés avec un pourcentage élevé de résidus de cystéine (3,5%), formant sept α hélices et treize brins β .

PL^{pro} est divisé en deux domaines principaux - le domaine catalytique (c'est le domaine C-terminal et divisé à trois sous domaine : Thumb, Palm et Fingers (dans la région du bout des doigts, quatre résidus de cystéine se coordonnent à un ion zinc), PL^{pro} est ressemblé à une main ouverte). et Le domaine N-terminal de type ubiquitine-like (Ubl) se compose de trois brins β (Ubi, β 1-3).

PL^{pro} est une cible attrayante parce qu'elle joue un rôle essentiel dans le clivage et la maturation des poly-protéines virales, l'assemblage du complexe de réplication-transcriptase et la perturbation des réponses de l'hôte (Osipiuk et al., 2021) et il traite la polyprotéine virale, ainsi qu'une fonction supplémentaire d'élimination de l'ubiquitine et l'ISG15 (une enzyme désubiquitinante et dés-ISGylante) pour supprimer l'inflammation et la signalisation antivirale (Algerienne & Et, 2021).

Étant donné que les protéases du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV partagent une identité de séquence d'acides aminés à 82 %, le logiciel BIOÉDIT a été utilisé pour comparer les séquences d'acides aminés. Et l'inhibiteur développé pour le SARS-CoV PL^{pro} est un point de départ prometteur du développement thérapeutique (Gao et al., 2021).

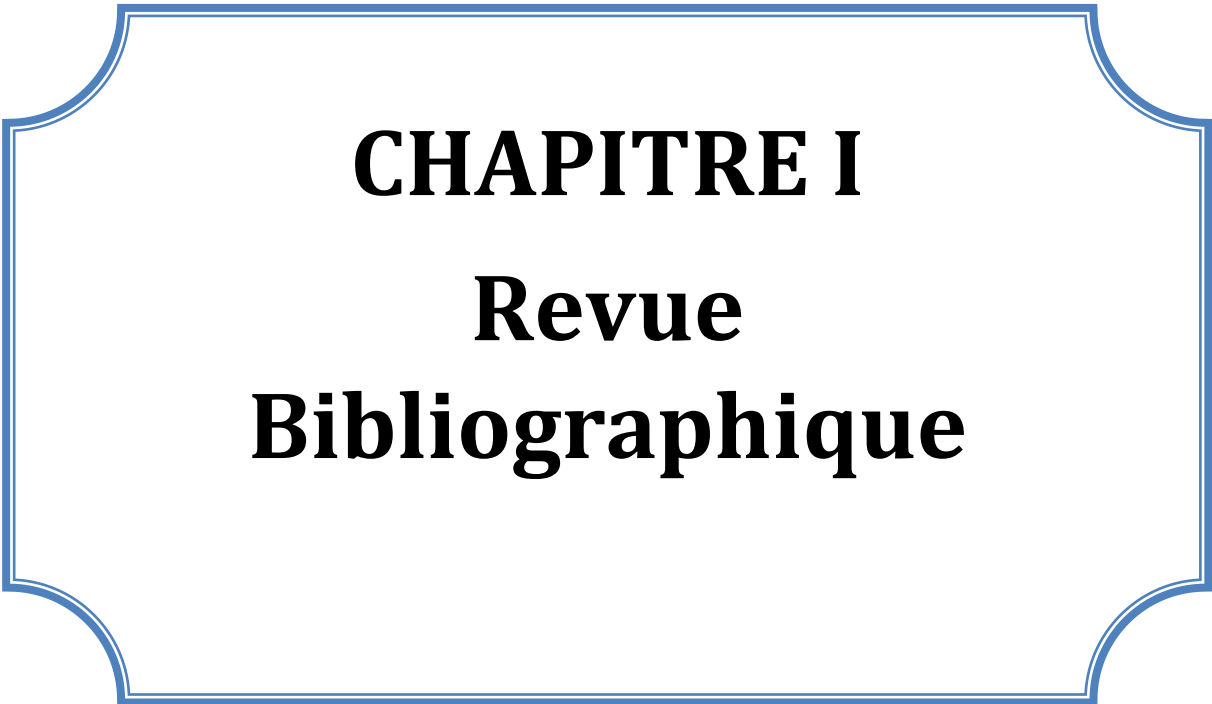
Le document propose l'étude de nombreux aspects importants des inhibiteurs du SARS-CoV-2 PL^{pro}, y compris le mécanisme de travail et la description de la structure 3D ainsi que ses caractéristiques.

Des inhibiteurs du SARS-CoV-2 PL^{pro} ont été étudiés et analysés en utilisant le logiciel PYMOL et la banque PDB (un certain nombre de cas déposés dans le PDB, par exemple 6WZU, 6W9C. etc)(Ma et al., 2021) OÙ, ont été trouvés deux classes d'inhibiteurs : , à savoir, les inhibiteurs covalents forment une liaison thioéther C-S avec le résidu catalytique cystéine, et les inhibiteurs non covalents interagissent avec la protéase par une liaison non covalente qui est toujours un processus réversible(Jiang et al., 2022).

Ensuite ont été discuté du mécanisme de liaison entre les inhibiteurs et SARS-CoV-2 PL^{pro}. OÙ, il a été constaté que certains inhibiteurs (composés) ne pouvaient pas se lier directement au site catalytique Cyc111, mais l'aspect le plus important de leur mécanisme de liaison dépend de boucle de blocage 2 (BL2). Tandis que le mécanisme de liaison d'autres inhibiteurs dépend du site catalytique Cyc111, De plus, les acides aminés contribuent au mécanisme de liaison entre les inhibiteurs et SARS-CoV-2 PL^{pro}.

A la fin les propriétés des inhibiteurs (composés) qui leur permettent de se lier à SARS CoV-2 PL^{pro} ont été étudiées et analysées , par exemple (numéro IC50, structure 3D et nom du composé).

Et la richesse de l'information structurale sur l'inhibition du SARS-CoV-2 PL^{pro} a été discuté , pour laquelle il existe maintenant 30 structures cristallographiques distinctes avec de petits molécules (inhibiteurs) liés dans un nombre surprenant de paramètres cristallographiques distincts(Calleja et al., 2022).



CHAPITRE I
Revue
Bibliographique

1 Généralités sur le coronavirus

1.1 Définition :

Le coronavirus forme un large groupe de virus qui infectent les mammifères et les oiseaux. Le genre de coronavirus a été apparu en 1967, et Il a été nommé ainsi en raison de sa forme qui ressemble à une couronne(C. De, 2020). Ce sont des virus enveloppés à ARN monocaténaire à brin positif d'une taille de l'ordre de 30 kilo bases, ce qui en fait le génome le plus grand chez les virus à ARN. Ce sont des virus de taille moyenne de 100 à 150 nm. Ils contiennent les protéines structurales : S(Spike), E(Enveloppe), M (Membrane) et N (nucléocapside) (Segondy, 2020).

1.2 Classification de coronavirus:

Le coronavirus est classé selon le Comité international de taxonomie des virus (ICTV), il fait partie de l'ordre des Nidovirales, du sous-ordre des Coronavirinae et de la famille des Coronaviridae. La famille est subdivisée en sous-famille des orthocoronavirinae, qui se compose de quatre genres, les alphacoronavirus, les bêtacoronavirus, les gammacoronavirus et les deltacoronavirus (Everest et al., 2022). (Figure 01)

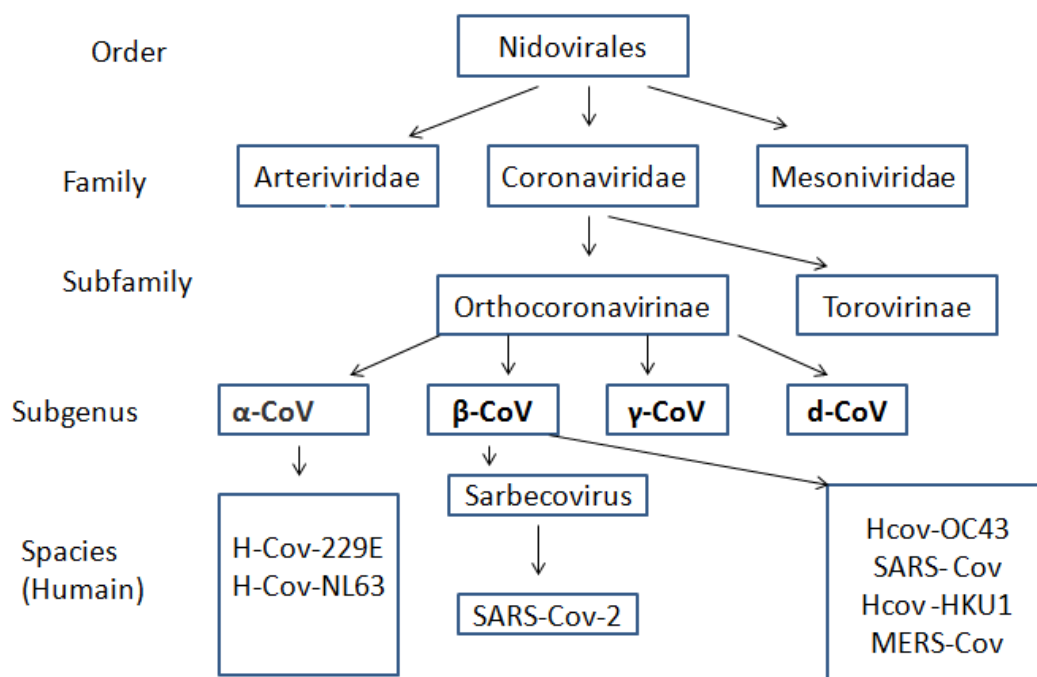


Figure 1 : Classification des coronavirus(Malik, 2020).

1.3 Type de coronavirus :

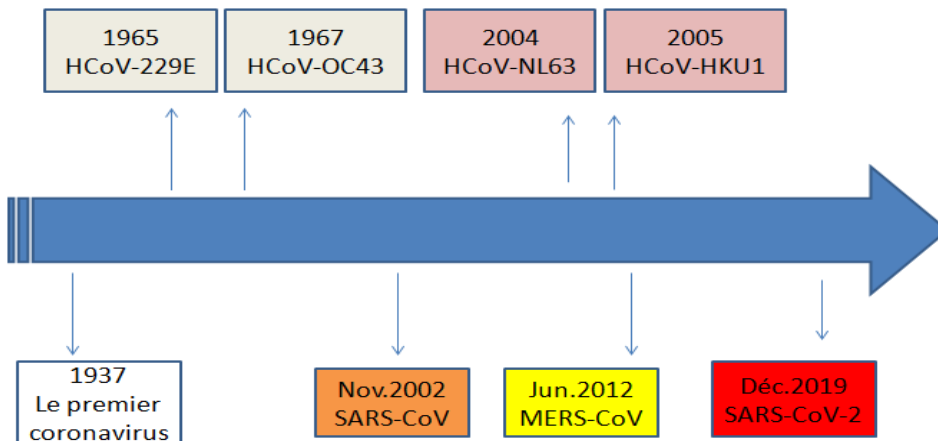


Figure 2: Chronologie des coronavirus humains(M. DE, 2021).

Il y a quatre coronavirus, qui sont responsables d'infections respiratoires fréquentes chez l'homme et le plus souvent bénignes, il s'agit que :

1.3.1 HCoV-229E : c'est le premier coronavirus humain 229E (HCoV-229E), qui appartient au genre alphacoronavirus. Le HCoV-229E a été signalé pour la première fois en 1966(Shirato et al., 2017), Il se lie au récepteur de l'aminopeptidase N (CD13) et pénètre dans les cellules via les voies endosomiales et de surface cellulaire à l'aide de protéases(Yamaya et al., 2020).(Tableau 01)

1.3.2 HCoV-oc43 : appartient à bêtacoronavirus. Il a d'abord été découvert lorsque quelqu'un a eu un rhume en 1967. Les animaux d'élevage à sabots (vaches) sont à l'origine des virus Hcov oc43(Rohilla, 2021). Ce virus possède un déterminant Neu5.9Acz, qu'il utilise comme bobine spécifique du récepteur parce qu'il se lie aux globules rouges et aussi pour infecter une lignée de cellules cultivées(Of & Receptors, n.d.).

1.3.3 HCoV-NL63 : est une espèce de coronavirus qui a été isolée en 2004 aux Pays-Bas à partir d'un échantillon d'un bébé de 7 mois (É. Coronavirus, 2020), appartenant au genre alphacoronavirus(H. Coronavirus et al., 2018). Le Hcov-NL63 se trouve dans les matières fécales des chauves-souris européennes et africaines de la famille des Vespertilionieus (Corman et al., 2020). Le virus Hcov-NL63 se lie aux cellules cibles en utilisant des protéoglycans de sulfate d'héparine et interagit avec la protéine ACE2, il interagit avec les cellules hôtes par CD13 (aminopeptidase) (H. Coronavirus et al., 2018).

1.3.4 HCoV-HKU1 : appartient au genre betacoronavirus (β CoV) ,qui a été isolé d'un patient en 2005(Liu et al., 2021). Ce virus utilise deux protéines, est le seul à avoir un récepteur cellulaire non identifié, et code une protéine hémagglutinine-estérase (HE). Que le HCoV-HKU1 exploite l'O-Ac-Sia en tant que récepteur d'attachement cellulaire déterminant pour initier l'infection des cellules hôtes et que sa protéine HE possède l'activité sialate-O-acétylsterase RDE correspondante(Huang et al., 2015).

À côté de ces coronavirus humains endémiques, trois nouveaux coronavirus d'origine zoonotique ont émergé dans la population humaine ces vingt dernières années. Il s'agit que :

1.3.5 SARS-CoV : C'est le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère, qui appartient au genre betacoronavirus (β CoV). Ce virus avait apparu premier fois en novembre 2002 et l'origine du virus SARS-CoV c'est civettes de palmier. L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) est le récepteur de l'hôte qui assure la médiation de l'entrée du SARS-CoV(Hui, 2020).

1.3.6 MERS-CoV : C'est le Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient Infection à Coronavirus, qui appartient au genre betacoronavirus (β CoV). Il a été signalé pour la première fois en septembre 2012. La variété de MERS-CoV à partir de chauves-souris et de chameaux. La dipeptidyl peptidase 4 (DPP4), également connue sous le nom de CD26, a été identifiée comme le récepteur cellulaire fonctionnel du MERS-CoV. Les homologues de DPP4 permettant l'infection par le MERS-CoV sont présents dans diverses lignées cellulaires(Hui, 2020).

Tableau 1 : Classification, Découverte, Récepteur cellulaire et Hôte Naturel du Coronavirus (Pillaiyar et al., 2021) :

HCoV	Coronavirus	Découverte	Récepteur cellulaire	Hôte(s) naturel
α-Coronavirus	HCoV-229E	1996	Human aminopeptidase N (CD13)	chauve-souris civettes de palmier, chauve-souris
	HCoV-NL63	2004	ACE2	-souris
β-Coronavirus	HCoV-OC43	1967	9-O-Acetylated sialic acid	Cattle
	HCoV-HKU1	2005	9-O-Acetylated sialic acid	Mice
	SARS-CoV	2003	ACE2	civettes de palmier
	MERS-CoV	2012	DPP4	chauve-souris, camels
	SARS-CoV-2	2019	ACE2	chauve-souris,(?)

2. SARS-COV2

2.1. Historique :

En décembre 2019, dans la ville de Wuhan, province du Hubei, en Chine, un nombre de personnes ayant fréquenté le marché de Huanan avaient été hospitalisés pour des infections pulmonaires graves d'étiologie inconnue, avec un grand nombre de décès. Des enquêtes microbiologiques ont débouché sur l'identification de l'agent responsable de l'infection au début de janvier 2020 (Lepelletier.D, Grandbastien B, Michael J. Smart, 2020). Cet agent est nommé provisoirement nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV) par l'Organisation mondiale de la santé (OMS).

Au 11 février 2020, l'OMS a nommé cette nouvelle pneumonie à coronavirus "COVID-19" (coronavirus disease 2019). Le 27 février 2020, il s'était propagé dans 46 pays, et selon les données ouvertes du CDC chinois, le COVID-19 a causé 82 623 cas confirmés et 2 858 décès dans le monde.

Source :

Il n'y a aucune preuve épidémiologique de transmission directe ou indirecte du SARS-CoV-2 des chauves-souris à l'homme. Le moment du débordement du SARS-CoV-2 par les chauves-souris et toute implication d'espèces hôtes intermédiaires restent indéterminés (Y. Wang et al., 2020).

2.2 Définition de SARS-COV-2 :

Le SARS-CoV-2 (Sévère Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-2) est une nouvelle souche de coronavirus et le septième membre de la famille des coronavirus qui infecte les humains. Il est un membre de la famille des Coronaviridae, genre Bêtacoronavirus, sous-genre Sarbecovirus (tableau 02). Et c'est la cause du coronavirus 2019 (COVID-19) (Mcdanal et al., 2020).

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à ARN monocaténaire positivement polarisé de 29,9 kb. Les deux tiers du génome codent pour un vaste gène réplicase (composé d'**orf1a** et **orf1b**) qui sera traduit en deux poly-protéines, par la suite clivées en seize protéines non structurales (NSP) indispensables à la réplication virale. Le tiers restant du génome code essentiellement pour les protéines de structures du virus dont quatre glycoprotéines membranaires - la protéine Spike (S) est la protéine qui lie le récepteur cellulaire du SARS-

CoV-2 (ACE2) qui permet l'entrée de virus dans la cellule. Elle est formée de deux sous-unités : S1 qui contient le domaine de liaison au récepteur cellulaire, et S2 qui est essentiel pour la fusion du virus à la membrane cellulaire.

Ce virus est formé quatre protéines de surface : l'Hémagglutinine-Estérase (HE) et les protéines de membrane (M) et d'enveloppe (E) ainsi que la protéine de capsid (N). La nucléocapside, hélicoïdale, formée de la protéine de capsid (N) complexée à l'ARN viral, est protégée par une enveloppe phospholipidique dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines de surface (S, HE, M et E)(Bonny, Maillard, Mousseaux, Plaçais, et al., 2020).

Tableau 2 : Classification de SARS-COV-2(Bank, 2019):

Type	<u>Viruses</u>
Royaume	<u>Riboviria</u>
Règne	<u>Orthonavirae</u>
Embranchement	<u>Pisuviricota</u>
Classe	<u>Pisoniviricetes</u>
Ordre	<u>Nidovirales</u>
Sous-ordre	<u>Cornidovirineae</u>
Famille	<u>Coronaviridae</u>
Sous-famille	<u>Orthocoronavirinae</u>
Genre	<u>Betacoronavirus</u>
Sous-genre	<u>Sarbecovirus</u>
Espèce	<u>Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</u> (SARS-CoV-2)

2.3 Composition biochimique:

2.3.1 Structure de SARS-COV-2:

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé grossièrement sphérique, avec un diamètre allant de 80 à 299 nm. Structuellement, le SARS-CoV-2 a ARN monocaténaire positivement polarisé de 29,9 kb et quatre protéines structurales principales, dont la glycoprotéine Spike (S), la glycoprotéine de petite enveloppe (E), la glycoprotéine membranaire (M) et la protéine de nucléocapside (N), ainsi que plusieurs protéines accessoires.

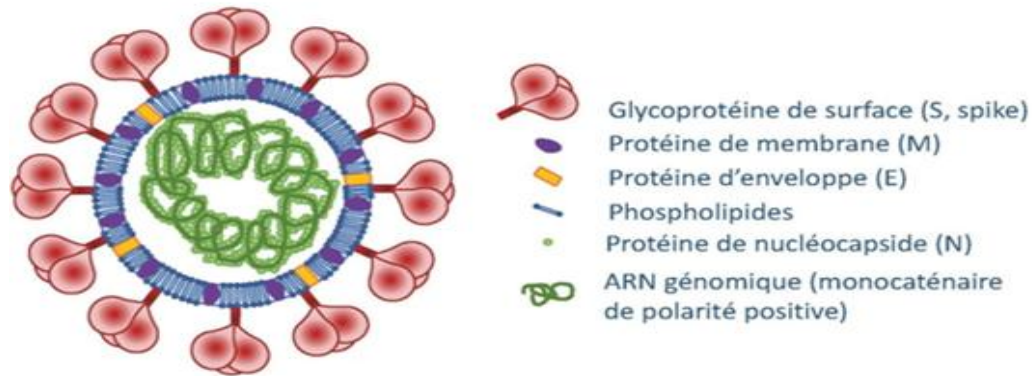


Figure 3 : Structure de SARS-COV-2.

Glycoprotéine Spike (S) :

La protéine S est une glycoprotéine de fusion de surface, qui est directement reconnue par le système immunitaire de l'hôte. Il donne au virus une couronne ou apparence de couronne. La protéine S médie l'entrée virale dans les cellules hôtes. Le mécanisme de l'infection par le SARS-CoV-2 repose sur l'entrée du virus dans les cellules humaines via le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE 2). Le virus attaque principalement les cellules épithéliales des voies respiratoires et gastro-intestinales. Le SARS-CoV-2 se lie au récepteur ACE 2 environ 10 à 20 fois plus que le SARS-CoV-2. La protéine S forme un trimère sur la membrane virale et se compose de deux sous-unités (S1 et S2).

La sous-unité S1 contient deux domaines tels que le domaine N-terminal (NTD) et le domaine C-terminal (CTD). Ce dernier comprend le domaine de liaison au récepteur (RBD). RBD est responsable de la liaison au récepteur de la cellule hôte. La sous-unité S2 favorise la fusion membranaire entre les membranes virales et celle des cellules hôtes. La protéine S se lie au récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) et facilite directement l'entrée virale. Il est à l'étude pour une utilisation comme antigène dans les vaccins, soit en tant que protéine S complète, soit en tant que domaine RBD, sous-unité S1 et NTD. La protéine S est l'une des protéines immunodominantes importantes des coronavirus, qui peuvent induire des réponses immunitaires de l'hôte. Cette glycoprotéine est le plus souvent la cible des vaccins développés contre le SARS-CoV-2, notamment les vaccins sous-unitaires à base d'adénovirus, à base d'ARN, à base d'ADN et de protéines.

Protéine N :

La protéine N a plusieurs fonctions. L'auto-association de la protéine N est nécessaire à l'encapsidation du génome viral et à la formation de la capsid virale. Il est également impliqué dans le bourgeonnement du virus, la réplication de l'ARN et la transcription de l'ARNm. La protéine N peut inhiber l'activité du complexe cycline-kinase cycline-dépendante (cycline-CDK), inhibant ainsi la progression en phase S (réplication du génome) dans le cycle cellulaire des mammifères. La protéine N du SARS-CoV peut activer une voie AP-1, qui régule de nombreux processus cellulaires, notamment la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose. La protéine de la nucléocapside inhibe également l'interféron de type I (IFN) Et les réponses immunitaires, tout en activant simultanément la cyclooxygénase-2 (COX-2) entraînant une inflammation pulmonaires.

Protéine M :

La protéine M est une glycoprotéine transmembranaire, qui possède trois domaines transmembranaires. Il se lie à la nucléocapside et participe à l'assemblage du virus. Il interagit avec la protéine N pour encapsuler le génome d'ARN et générer des virions. La protéine M peut inhiber la production de CoV-2 et l'activation du facteur nucléaire kappa B (NFκB), améliorant ainsi la prolifération virale. Dans le virus du SRAS, il a été rapporté que cette protéine induisait l'apoptose via une cascade de caspases canoniques.

Protéine E :

La protéine E est une petite protéine membranaire avec une activité de canal ionique. Cette protéine joue également un rôle dans l'assemblage viral, la libération de virions et la pathogenèse virale. Cette protéine a été signalée comme ayant une activité viroporine et peut médier des processus pathogènes et induire une cytotoxicité. Contrairement à d'autres protéines structurales majeures, la protéine E n'est pas adaptée à une utilisation en tant qu'immunogène. La protéine E affecte la production des cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL-6 et TNF.

2.3.2 Organisation génomique :

Le SARS-CoV-2 consiste en un grand génome d'ARN monocaténaire positif de 29891 nucléotides et 9860 acides aminés. Le génome réside dans une protéine de nucléocapside circulaire et est en outre encapsulé. Le génome du SARS-CoV-2 se compose

de 10 cadres de lecture ouverts (ORF). Dans le premier ORF (ORF1a/b), environ les deux tiers de l'ARN viral sont présents et codent pour la polyprotéine 1a et la polyprotéine 1b et la protéine non structurale 1e16. Les ORF restants codent pour des protéines structurales telles que S, M, E et N et des protéines accessoires (Kadam, Pable, et al., 2021).

SARS-CoV-2 Genome and Proteins

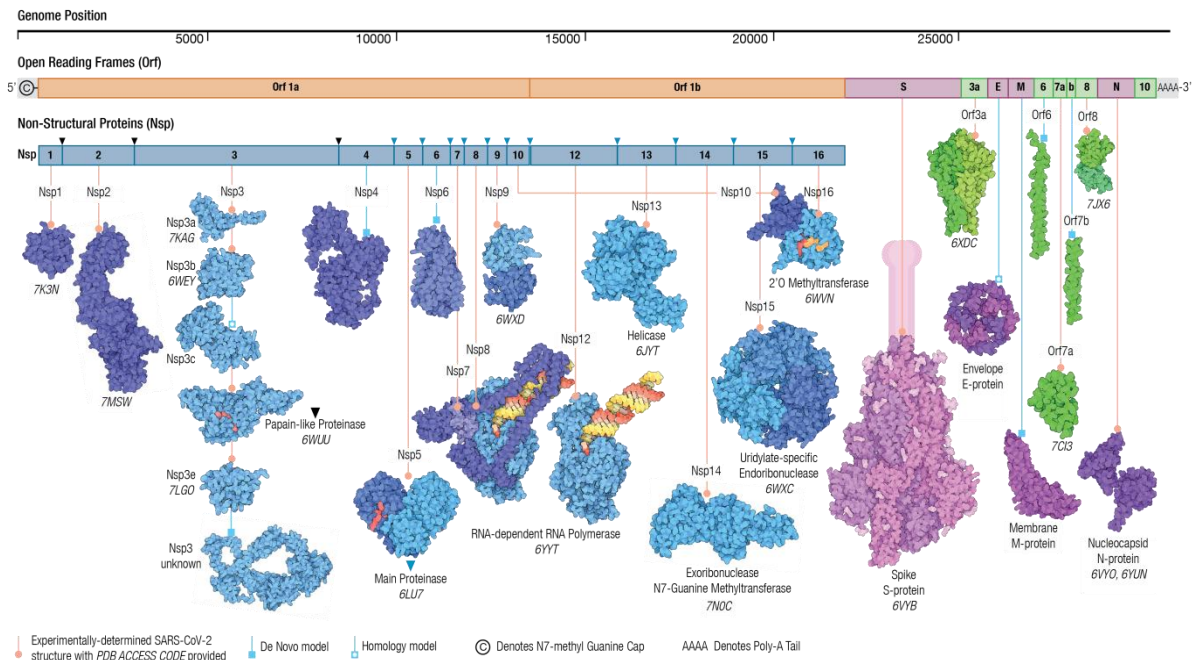


Figure 4 : Génome et les protéines de SARS-COV-2.

2.3.3 Protéines de SARS-COV-2 :

Protéines, provenant du grec (protos) qui signifie (primordial, primitive), sont des composés organiques, elles contenant les éléments suivants qui sont le carbone (C), l'hydrogène (H), l'oxygène (O), et l'azote (N) et souvent du soufre (S). Il s'agit de macromolécules complexes classées en biopolymères, composées d'une ou de plusieurs chaînes de polypeptides, qui sont des copolymères d'environ 20 acides aminés appartenant à la Série L. Ces acides aminés sont reliés ensemble par des liaisons peptidiques (liaisons amides).

La taille d'une protéine varie énormément de quelques centaines à plusieurs millions de kilo dalton, les protéines ont de nombreuses fonctions: protéines de structure et contractiles et transport et immunitaires, enzymatiques, hormones, récepteurs etc. Leur

structure monomérique est l'acide amine (AA), et la structure de base des protéines se décompose en quatre: La structure primaire (I) et structure secondaire (II), structure tertiaire (III), La structure quaternaire (IV) (Claude & Lyon, n.d.).

2.3.3.1 ARN polymérase dépendent :

L'ARN polymérase dépendant de l'ARN (RdRp) est l'une des enzymes les plus polyvalentes dans les virus de l'ARN, elle est essentielle pour la réplication et la transcription du génome. Les principales caractéristiques structurelles des RdRps sont conservées malgré leurs différences de séquence. La structure de RdRp ressemble à une coupe transversale de la main droite, composée de sous-domaines des Finger, de la Palm et du Thumb. La catalyse implique la participation d'acide aspartique conservé et d'ions métalliques divalents. Les complexes de RdRps avec des substrats, des inhibiteurs et des ions métalliques fournissent une compréhension complète de leurs mécanismes fonctionnels et fournissent des informations précieuses sur le développement de médicaments antiviraux.

Les RdRps sont des protéines multi-domaine (α et β) et appartiennent à la classe 2.7.7.48 de la classification structurelle des protéines (SCOP). En présence d'ions métalliques divalents, ils catalysent la formation dépendante de la matrice d'ARN de liaisons phosphodiester entre les ribonucléotides. L'initiation de la synthèse se produit à l'extrémité 3' de la matrice, soit dépendante de l'amorce, soit indépendante, et se déroule dans la direction 5' \rightarrow 3'. La longueur moyenne du domaine central RdRp est inférieure à 500 acides aminés et se replie en trois sous-régions, à savoir le Thumb, la Palm et les doigts similaires à la coupe de Finger.

Les sites actifs de RdRps de différents virus à ARN sont conservés et similaires à ceux d'autres enzymes telles que la transcriptase inverse et l'ADN polymérase, suggérant leurs rôles similaires dans les réactions de transfert de nucléotides (Shao et al., 2021).

2.3.3.2 Main protéase

La protéase principale (M^{pro}) du coronavirus 2 (SARS-CoV-2) constitue une enzyme clé (Zhao et al., 2022). M^{pro} est une cystéine protéase homodimérique. La principale protéase (M^{pro}) du SARS-CoV-2 joue un rôle dans la réplication et la transcription des gènes viraux. Il hydrolyse la polyprotéine dans au moins 11 sites de conservation, en commençant par le clivage de pp1a et pp1b sur M^{pro} . La symétrie cristalline indique que M^{pro} forme des homodimers (protomères A et B), dont chacun contient trois sous-domaines, à savoir le domaine I, le domaine II et le domaine III, I (résidus 8 à 101) et II (résidus 102-184), qui sont

domaines β -tonneau qui forment des structures de type chymotrypsine, tandis que le domaine III (résidus 201 à 306) consistent en une hélice alpha. Le site actif du CoV M^{pro} utilise une dyade catalytique (Cys145 -His41), constituée de quatre sites : S1', S1, S2 et S4, où la cystéine agit comme un nucléophile dans la protéolyse et l'histidine Les acides agissent comme des bases acides générales. Pour les inhibiteurs, la liaison covalente est essentielle pour maintenir son activité antivirale(Pillaiyar et al., 2021) (M. Wang et al., 2020) .

2.3.3.3 Papain like

La protéase PL^{pro} de type papaine est une enzyme coronavirus essentielle utilisée pour traiter la polyprotéine virale afin de produire des répliques fonctionnelles et de favoriser la reproduction virale. PL^{pro} est aussi impliqué dans le clivage protéique Modifications post-translacionnelles des protéines hôtes comme mécanismes d'évasion Réponse immunitaire antivirale de l'hôte. Papaine (PL^{pro}, le domaine de protéase nsp3), SCoV2-PL^{pro} cligne préférentiellement les interférons de type ubiquitine stimulés Gène protéine 15 (ISG15), contribue au clivage ISG15 des interférences Réponse Factor 3 (IRF3) et atténue la réponse aux interférences de type 1(Shin et al., 2020).

2.4 Variantes du SARS-COV-2:

Depuis que le premier cas d'infection par le SARS-CoV-2 a été détecté à Wuhan, en Chine, en décembre 2019, plus de 107 millions de cas confirmés d'infection ont été enregistrés, permettant la diversification des virus et l'émergence de six grandes lignées distinctes avec de nombreuses variantes. Un sous-ensemble de ces variantes ont été désignées par l'Organisation mondiale de la santé(Garcia-beltran et al., 2021), comme des variantes préoccupantes parce qu'ils contiennent des mutations susceptibles d'augmenter la transmissibilité, la virulence ou d'échapper aux réponses immunitaires(Garcia-beltran et al., 2021; Mcdanal et al., 2020). Mutations lignagères et compositionnelles. En conséquence, le virus Les sous-ensembles appartenant à la même lignée mais contenant des mutations différentes peuvent être classés comme différents Variantes : se concentrer sur les variantes d'intérêt décrites pour la première fois aux États-Unis Royaume-Uni (B.1.1.7), Danemark (B.1.1.298), États-Unis (B.1.429), Brésil et Japon (P.2 et P.1) et Afrique du Sud (B.1.351)(Garcia-beltran et al., 2021).

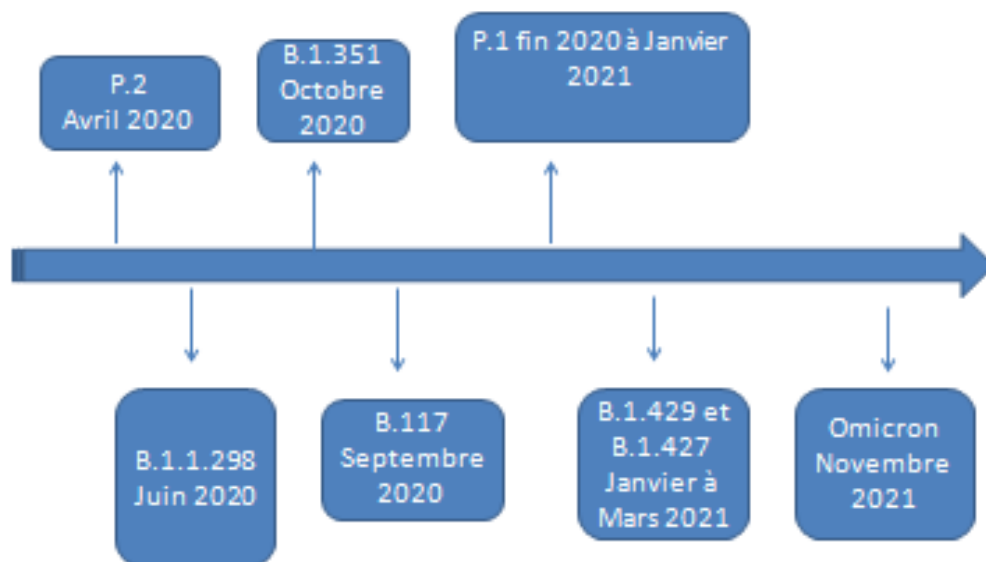


Figure 5 : Chronologie de quelques variantes du SARS-COV-2.

2.4.1 Variante B.1.1.7 (Alpha) :

La lignée SARS-CoV-2 B.1.1.7(Alpha) a été découverte au Royaume-Uni en septembre 2020(Alpha et al., 2022), est rapidement devenue la variante dominante dans le monde, est l'une des variables préoccupantes, B.1.1.7 est défini par 23 mutations: 17 qui modifient la séquence protéique (14 mutations non synonymes et 3 délétions) (y compris la mutation D614G et 8 mutations supplémentaires: DH69-V70, DY144, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A et D1118H. Trois mutations de B.1.1.7 sont particulièrement préoccupantes : une délétion de deux acides aminés en position 69-70 du domaine N-terminal (NTD) ; N501Y, situé dans le motif de liaison au récepteur (RBM); et P681H, à proximité du site de clivage de la furin.) Et 6 mutations synonymes. Les changements de codage protéique sont concentrés dans Spike, qui facilite l'entrée virale en interagissant avec le récepteur humain ACE2(Mcdanal et al., 2020).

2.4.2 Variante B.1.1.298 (cluster) :

En juin 2020, les premières séquences de la variante danoise B.1.1.298 ont été obtenues auprès d'un faible nombre de travailleurs infectés dans un élevage de vison. La souche dite du cluster 5 contient les deux mêmes délétions N-terminales (DH69, DV70) que

UK B.1.1.7 au niveau de la protéine Spike et trois mutations Y453F, I692V et M1229I en plus de D614G (tableau 3).

2.4.3 Variantes B.1.429 et B.1.427 (Epsilon) :

Après une surveillance continue de janvier 2021 à mars 2021, les deux variantes ont été décelés au Colorado, aux États-Unis, et se sont avérés très contagieux. Ces variantes conduisent à une maladie plus grave. Une autre étude a révélé qu'en Californie du Nord, les travailleurs de la santé porteurs de ces variantes ont été infectés après avoir été vaccinés. Au lieu de cela, les propriétés d'évasion immunitaire de ces deux variantes sont rapportées. Plusieurs mutations majeures ont été trouvées dans la glycoprotéine S, la seule mutation significative étant dans la RBD (L452R). En plus de RBD, la glycoprotéine S est mutée en S13I, W152C et D614G.

2.4.4 Variant B.1.351 (BETA) :

En octobre 2020, cette souche est apparue en Afrique du Sud. Plusieurs mutations sont accumulées dans le génome de ce variant. Parmi elles, 1 mutation par délétion et 12 mutations non synonymes étaient significatives pour la souche Wuhan. Les mutations dans la domaine RBD sont K417N, E484K et N501Y. En plus de RBD, les mutations de la glycoprotéine S sont D80A, D215G, 241del, 242del, 243del, D614G et A701V.

2.4.5 Variante P.1 :

La variante P.1, définie comme B.1.1.28.1 (Gamma), appartient à la lignée B.1.1.28. C'est une variante mondiale importante, découverte pour la première fois au Brésil (fin 2020 à janvier 2021) à partir de séquences cliniques du génome. Les variantes P.1 sont également connus sous les noms 20J/501Y.V3 et GR/501Y.V3, comme décrit dans les bases de données Nextstrain et GISAID. Il existe trois mutations notables dans cette variante : E484K, K417T et N501Y, ont été identifiés dans cette variante de séquençage génomique. Des multiples mutations ont été cumulé de multiples mutations dans le génome de la variante P.1. Plusieurs mutations significatives ont été trouvées dans la glycoprotéine S, ORF1ab, ORF8 et la protéine N, parmi lesquelles le nombre de mutations dans la glycoprotéine S était d'environ 12, et il s'est avéré qu'il s'agissait de la plus grande souche par rapport à Wuhan. Les mutations dans domaine RBD sont K417T, E484K et N501Y, et les mutations de la

glycoprotéine S sont T20N, R190S, D614G, P26S, D138Y, H655Y, L18F et T1027I. Ces mutations du variant P.1 entraînent une augmentation de la résistance aux nAbs.

2.4.6 Variante P.2 (ZETA) :

La variante P.2, définie comme B.1.1.28.2 (zêta), a été identifiée pour la première fois au Brésil en avril 2020, appartenant à la lignée B.1.1.28, il a été découvert en Uruguay. La variante P.2 est également connue sous le nom de 20B/S.484K et est identifiée par Base de données Nextstrain. Le 20 B/S.484K est également connu sous le nom de clade suivant. Des mutations importantes ont été trouvées dans la glycoprotéine S. Cette souche (F565L, D614G, V1176F). et une mutation considérable a été observée dans le domaine RBD (E484K) (Winger & Caspari, 2021).

2.4.7 Omicron :

Omicron est une variante virale hautement mutée, une variante mondiale majeure, identifiée pour la première fois en Autriche, en Australie, en Belgique, au Canada, en République tchèque, au Danemark, en France, en Allemagne, en Italie, aux Pays-Bas et au Royaume-Uni en novembre 2021. Omicron a été divisé en deux lignées distinctes BA.1 et BA.2. Les lignées BA.1 et BA.2 contenaient 51 mutations, dont 32 étaient partagées par les deux, tandis que chaque lignée avait 19 mutations caractéristiques. Sur les 19 mutations uniques dans la région de la glycoprotéine S, BA.1 en contient 13, tandis que BA.2 contient 7 mutations uniques. Une autre lignée BA.3 a maintenant été signalée (Khandia et al., 2022).

Tableau 3 : Certaines variantes importantes du SARS-COV-2:

Variant SARS-CoV-2	Mutations S1	Mutations RBD	Mutations S2
B.1.1.7 (UK)	DH69, DV70, DY144, N501Y, A570D, D614G	N501Y	T716I, S982A, D1118H
B.1.1.298 (DEN)	DH69, DV70, D614G	Y453F	I692V, M1229I
B.1.429/B.1.427 (USA)	S13I, W152C, D614G	L452R	
P.1/B.1.1.28 (BRA)	L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, D614G, H655Y	K417T , E484K, N501Y	T1027I, V1176F *
P.2 (BRA)	D614G	E484K	V1176F
B.1.351 v1 (SA)	D80A, D215G, DL242, DA243, DL244, D614G	K417N , E484K, N501Y	A701V

2.5 Modes de transmission:

La transmission d'une personne à une autre est le principal mode de transmission du virus SARS-CoV-2, qui survient directement ou indirectement.

2.5.1 Transfert direct :

Aérosols provenant des gouttelettes respiratoires produites par la respiration normale, lorsqu'une personne entre en contact (dans un rayon d'un mètre) avec une personne infectée (toux, éternuements, parler ou chanter), ce qui entraîne la propagation de gouttelettes d'infections respiratoires dans la bouche, le nez ou les yeux exposés à des personnes infectées ainsi qu'à des sources d'infection. Les gouttelettes respiratoires de diamètre supérieur à 5 à microns et les gouttelettes de diamètre inférieur à 5 microns sont appelées noyaux de gouttelettes ou aérosols. Le virus SARS-CoV-2 peut persister dans les aérosols jusqu'à trois heures(L. Zhou et al., 2021).

2.5.2 Transmission indirect:

Les virus apparaissent lorsqu'un hôte sensible entre en contact avec un objet ou une surface infecté, ou en touchant une surface à l'environnement immédiat ou aux muqueuses d'une personne infectée, puis en touchant le nez, la bouche ou des objets contaminés par le virus d'un personne infectée. Conjonctive, car le virus survit plusieurs jours sur la surface d'origine. En dépit de la présence d'ARN viral dans les selles et le sang du patient (dans les tests RT-PCR), la probabilité de transmission est faible, et il n'existe aucun signe de transmission intra-utérine du virus d'une femme enceinte infectée au fœtus, et le virus peut être transmis par les humains à d'autres mammifères, comme les chiens et les chatons(Bonny, Maillard, Mousseaux, Plac, et al., 2020).

2.6 Symptômes de SARS-COV-2 :

La plupart des patients développent des symptômes dans les 4 à 5 jours, appelés période d'incubation. Le même patient peut avoir un ou plusieurs symptômes. Chez les personnes asymptomatiques, l'infection est très précoce.

- _ Les symptômes les plus courants sont :
- Elle affecte l'appareil respiratoire
- Fièvre supérieure à 38 degrés Celsius

- Toux et mal de gorge
- Ainsi que la perte nasale et les éternuements
- Difficulté à respirer.
- Ils infectent également le système nerveux parce que ces virus peuvent envahir le tronc cérébral des poumons et du système respiratoire par le biais de synapses.
- Perte d'odorat et de goût
- Troubles de la conscience (étourdissements, convulsions).
- _ Symptômes moins courants : Il s'agit de symptômes atypiques
- Conjonctivite
- Congestion pharyngée
- Hypertrophie des amygdales
- Adénopathie
- Lymphopénie
- Thrombopénie
- Leucopénie
- Augmentation des protéines réactives
- Eruption cutanée, qui est presque absente
- En ce qui concerne les symptômes gastro-intestinaux :
 - Comme la diarrhée
 - Nausées et vomissements, rares en raison de la détection multiple d'ARN viral dans les selles des personnes infectées
 - Ainsi que les complications cardiovasculaires
- _ Symptômes graves : Il est apparu tard dans la première semaine et était caractérisé par un essoufflement sévère, un manque d'oxygénation et des douleurs thoraciques(Guan et al., 2020).

2.7 Mode d'interaction avec la cellule hôte :

Le mécanisme d'interaction du SARS-CoV-2 avec les cellules humaines envahies par ce virus est semblable à celui du SARS-CoV. Le virus se lie à l'enzyme de conversion de l'angiotensine humaine 2 (ACE2) liée à la membrane pour pénétrer dans les cellules hôtes (humaine et chauve-souris) (Ragia, 2020). ACE2 est trouvé à la surface des pneumocytes, cellules endothéliales, cellule de l'endocarde, du foie et notamment de l'intestin (Saxena et al., 2020). Régule l'expression l'ACE2 en activant (Ragia, 2020).

Cette interaction avec l'ACE2 est médiée par la glycoprotéine de pointe (S) à la surface du SARS-CoV-2. Lors de l'infection, la protéine S est clivée en sous-unités, S1 et S2. S1 contient le domaine de liaison au récepteur (RBD) qui permet au SRAS-CoV-2 de se lier directement au domaine peptidase de l'ACE2. La sous unité S2, peut alors jouer un rôle dans la fusion membranaire. L'amorçage initial de la protéine Spike repose sur la protéase transmembranaire humaine, la sérine 2 (TMPRSS2) essentielle pour l'entrée du SARS-CoV-2 (L'activation de régule à la hausse l'expression de TMPRSS2) (Ragia, 2020), et sa présence à la surface de la cellule hôte clive ACE2 et active protéine S, qui ressemble à une pointe attachée à un récepteur. L'activation de la protéine S entraîne un changement conformationnel et permet au virus de pénétrer dans la cellule (Grudlewska-buda et al., 2021). De plus, l'ectodomaine de l'ACE2 peut être éliminé de manière endogène par la disintégrin metalloproteinase 17 (ADAM-17). Cette forme soluble d'ACE2 n'a pas d'ancrage membranaire et circule dans le sang en petites quantités. Enfin, il a été démontré que la calmoduline (CALM) interagit avec l'ACE2 et inhibe l'excrétion de son ectodomaine (Ragia, 2020). Un résumé de la voie ACE2/TMPRSS2 et de son interaction avec le SARS-CoV-2 est illustré à la Figure 6 (Ragia, 2020).

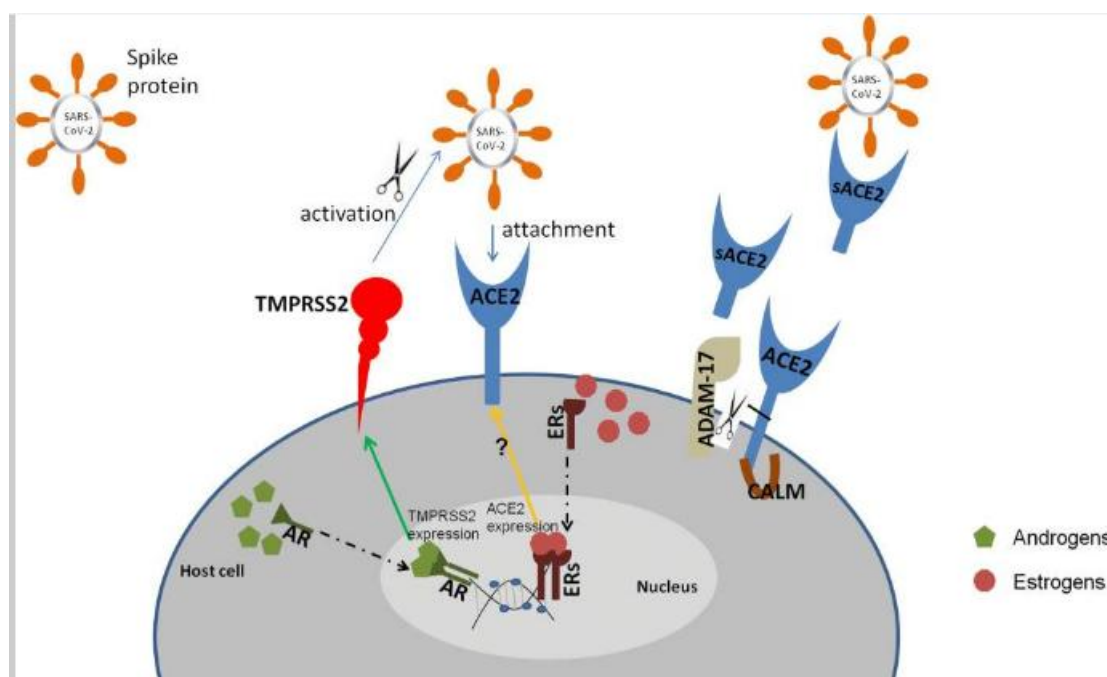


Figure 6 : mode d'interaction de SARS-COV-2(Ragia, 2020).

2.8 Cycle de réplication :

Après le mécanisme d'interaction sars-cov-2 avec les cellules humaines:

Les deux régions RH, c'est-à-dire HR1 et HR2 dans le domaine S2, s'assemblent en un hélicoïdal stable qui fusionne les virus et la membrane cellulaire, et plusieurs faisceaux peuvent former des pores de fusion. Le second se fait par absorption endosomique/lysosomique et par activation lysosomique intra lysosomique de la protéine avancée par cathepsine L, Le faisceau de 6 HB entraîne la fusion de deux membranes et libère le génome viral dans la cellule hôte(Kadam, Pable, et al., 2021).

Le processus de réplication virale démarre avec la traduction d'un gène homologue, comprenant deux grandes trames de lecture superposées (orfs) (rep1a et rep2ba) qui sont traduites en deux types de polyprotéine (pp1a et pp1ab). Ces protéines contiennent plusieurs protéines non structurales telles que (pp1ab = 1-16, pp1a = nsp = 1-11) et le champ polymérase dépendant de l'ARN (RdRP) (nsp12).

Permet de produire de l'ARN antisens(Universit et al., 2021). polypeptides subissent un clivage protéolytique par Mpro ou 3CL^{pro} synthétisant pp1a et pp1a/b. NSP forme un complexe de répétition (RTC)(Kadam, Sukhramani, et al., 2021), dans lequel RTC reproduit l'ARN génomique et l'ARN subgénomique et code pour les protéines structurales et autres

protéines supplémentaires. Le nucléocapside est conservé dans le cytosol et complexé avec l'ARN génomique, les protéines structurales virales M, E et S sont traduites et insérées dans la membrane grossière du réticule endoplasmique (ER) puis transférés dans le compartiment intermédiaire ER Golgi (ERGIC), un précurseur de virion qui enveloppe le génome et transporte les complexes d'ARNm jusqu'à la surface cellulaire dans les vésicules, où ils sont libérés par expulsion cellulaire (Virologie, 2022).

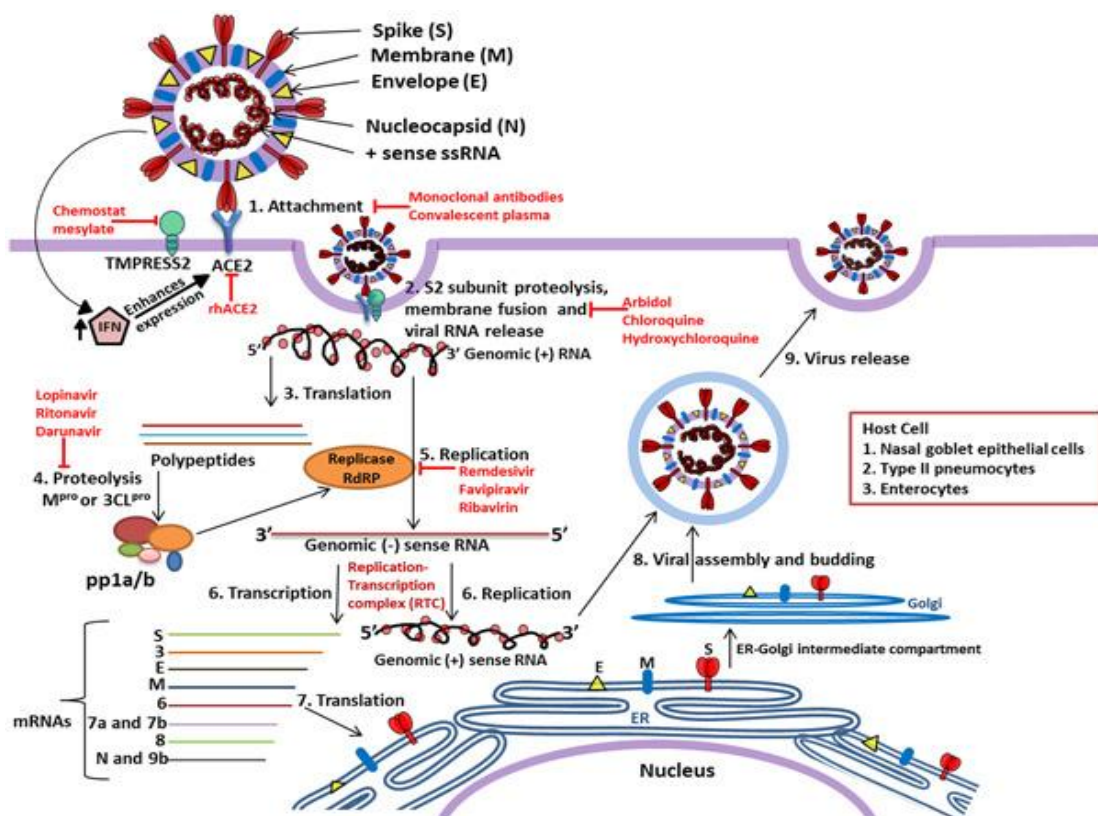


Figure 7 : Cycle de réplication de SARS-CoV-2 (KADAM, PABLE, ET AL., 2021).

2.9 Réponse immunitaire face au SARS-COV-2 :

Les déterminants de la réponse immunitaire directe au SARS-CoV-2 sont inconnus mais peuvent être déduits à partir de modèles d'infection virale (Figure 8). L'infection des cellules épithéliales des voies respiratoires et des cellules immunitaires génère plusieurs signaux de danger qui sont liés par différents récepteurs (récepteurs de reconnaissance de formes ou PRR) aux ARN viraux (TLR3, 7, 8, RIG-1, MDA-5) ou aux protéines de reconnaissance de surface virale (TLR 2, TLR 4). Ces récepteurs vont alors activer des facteurs de transcription (IRF-3, IRF-7, AP-1, NF-B).

Cette activation se traduit par la sécrétion de cytokines (TNF-, IL-1, IL-6) entraînant la perméabilité capillaire et l'attraction des cellules inflammatoires, ainsi que la sécrétion d'interféron de type I (IFN-1), qui favorise les gènes cibles (ISG), pour les gènes stimulés par l'interféron). Ces interférons favoriseront l'expression de gènes cibles (ISG de gènes stimulés par l'interféron) en se liant à leurs récepteurs IFNAR, signalant via JAK/STAT.

La voie de l'interféron de type I est au cœur de la réponse antivirale initiale, inhibant spécifiquement la réplication virale, protégeant les cellules non infectées et stimulant l'immunité lymphocytaire antivirale (TCD8, lymphocytes NK) conduisant à la lyse des cellules infectées. L'activation des facteurs de transcription conduit à la sécrétion initiale de cytokines par les cellules infectées (interféron, TNF-, IL-1, IL-6, chimiokines). Les antigènes viraux sont internalisés par les cellules présentatrices d'antigène, traités et présentés aux cellules CD4, CD8 et T par les complexes majeurs d'histocompatibilité de types 1 (pour l'ARN viral) et 2 (pour les protéines de surface). Les lymphocytes B, polarisés par la sécrétion initiale de cytokines, assurent l'établissement d'une immunité durable (Bonny, Maillard, Mousseaux, Plaçais, et al., 2020).

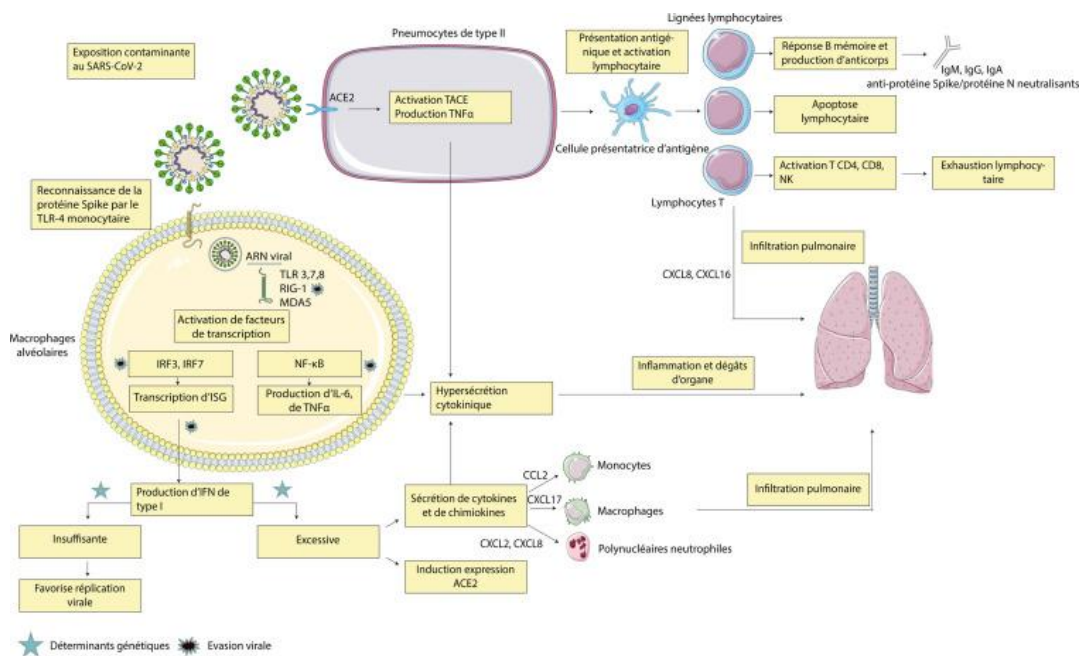


Figure 8 : Mécanismes suspectés de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-CoV-2 (BONNY, MAILLARD, MOUSSEAU, PLAÇAIS, ET AL., 2020).

2.10 Diagnostic de l'infection par le SARS-COV-2

Le diagnostic rapide des agents infectieux est une étape critique dans la lutte contre l'épidémie. Quand un nouveau virus infecte les humains, le diagnostic devient un défi. Le diagnostic est divisé en trois sections principales - l'échantillonnage, l'isolement du virus et l'identification. En particulier, la méthode PCR pour la détection des virus, même si elle existe dans le corps humain. Autre technique d'application Les méthodes immunodiagnostiques ont connu peu de succès(*Challenges and Opportunities to Develop Diagnostics and Therapeutic Interventions for Severe Acute Respiratory Syndrome- Corona Virus 2*, n.d.).

2.10.1 Test moléculaire par RT PCR :

La réaction en chaîne transcriptase-polymérase inverse (RT-PCR) est une technique d'origine nucléaire qui détecte la présence du matériel génétique d'un agent pathogène (SARS-CoV-2). Il s'agit de l'une des techniques de laboratoire les plus utilisées pour détecter le virus de la covid-19, étant donné qu'il est utilisé dans de nombreux pays pour détecter d'autres maladies, et est aussi utilisé dans des tests nucléotidiques ou moléculaires, pour détecter avec une spécificité et une sensibilité inégalées dans l'échantillonnage d'ARN biologique pour l'ARN viral. Les échantillons proviennent de parties du corps qui causent le virus, comme le nez et la gorge, et ARN échantillons sont purifiés avec plusieurs solutions chimiques pour éliminer certaines substances telles que les protéines et les graisses(*Covid-19 : Ce Qu'il Faut Savoir Sur Les Tests de Dépistage RT-PCR | Ameli.Fr | Assuré*, n.d.).

Cette étape prend une à deux heures, après laquelle l'ARN est converti en ADN par l'enzyme de transcription inverse (RT), des séquences d'ADN dites complémentaires sont assemblées en utilisant l'ARN comme matrice, puis l'ADNc du virus, est amplifié, si par PCR quantitative réaction en chaîne par polymérase (PCR) présente dans l'échantillon. La réaction est réalisée en trois étapes : l'ADNc est chauffé à 95 °C pour séparer ses brins, les amorces sont hybridées aux extrémités de la séquence souhaitée, et l'ADN polymérase est allongée à 58 °C. Amplification de brins d'ADN-C avec amorçages ligaturés qui sont des séquences d'ADN monocaténaire spécifiques au virus. Le cycle PCR a une durée de 1 minute et est répété 45 fois pour obtenir un doublement exponentiel de la séquence d'ADN cible, et c'est l'étape d'amplification qui confère au test RT-PCR une très grande sensibilité(Mizumoto et al., 2020).

2. 10.2 Test sérologique avec le rapide test :

La sérologie est une méthode biologique qui permet le diagnostic par l'étude du sérum et de ses composants, notamment les anticorps spécifiques associés à la présence de certains pathogènes (essentiellement bactéries et virus, et parfois parasites). peut être utilisé pour diagnostiquer des maladies infectieuses, maladies auto-immunes, détermination des groupes sanguins, suivi de l'évolution de certaines maladies et vérifier les vaccins(*Sérologie : Comment Interpréter Les Résultats d'un Test Sérologique ?*, n.d.).

La sérologie est réalisée à partir de prélèvements sanguins. Ensuite, l'étude est principalement fait pour le sérum ou le plasma obtenu après le tube de centrifugation (donc la fraction sans érythrocytes). En pratique, deux types de tubes sont utilisés : des tubes secs pour l'obtention de sérum après coagulation, et des tubes contenant des anticoagulants comme l'héparine pour le plasma. Plus d'études ont été faites sur le sérum car moins de sérologie a été validée sur le plasma. Une fois le sérum obtenu, le travail de laboratoire consiste à mesurer les immunoglobulines spécifiques recherchées. Ces immunoglobulines (IgG ou IgM) indiquent une exposition à des agents pathogènes aigus ou chroniques. Les biologistes médicaux interprètent ensuite ces résultats et en tirent des conclusions à l'attention des médecins prescripteurs.

Deux types d'anticorps ont été détectés : IgG et IgM. Les IgM sont produites lors de la première exposition de l'organisme à des agents pathogènes : elles marquent une infection en cours ou récente. Les IgG sont produites dans la deuxième étape et peuvent fournir une protection à plus long terme à l'organisme. "Les interprétations sérologiques sont toujours alternatives, car les IgG apparaissent plusieurs semaines après l'exposition, selon l'agent pathogène. Et seulement dans certaines pathologies, les IgM peuvent indiquer une infection aiguë(*Sérologie : Tout Savoir Sur l'étude Des Sérums*, n.d.).

2.11 Thérapeutique :

Malgré des mesures de protection strictes, l'infection par le SARS-CoV-2 se propage de manière incontrôlable. Comprendre et exploiter différents hôtes et facteurs viraux est essentiel pour développer des approches préventives et thérapeutiques pour lutter contre le COVID-19. Le tableau 4 répertorie différentes stratégies thérapeutiques et candidats médicaments contre le COVID-19(Rohilla, 2021).

Tableau 4 : Stratégies de traitement et médicaments candidats pour le traitement de la COVID-19 (ROHILLA, 2021):

Composé	Classe	Stratégies de traitement	Mécanisme d'action
Griffithsine	Dérivé d'algues rouges	protéine Spike inhibition de la glycoprotéine	il lie les oligosaccharides surface de la glycoprotéine virale bloquant ainsi la liaison du virus- à la cellule hôte.
Inhibiteurs de la furin convertase	Inhibiteur de protéase	Inhibition de l'entrée virale non endosomale	Inhibe le clivage S1/S2 dépendant de la furine
Mésylate de camostat	Inhibiteur de la sérine protéase	Inhibition de l'entrée virale non endosomale	activation inhibitrice médiée Sérine protéaseTMPRSS2 hôte de la protéine de pointe virale.
Mésylate de nafamostat	Inhibiteur de la sérine protéase	Inhibition de l'entrée virale non endosomale	activation inhibitrice médiée Sérine protéase TMPRSS2 hôte de la protéine de pointe virale.
Baricitinib	Inhibiteur de JAK	Inhibition de l'endocytose médiée par les récepteurs Suppression de la progression de la maladie	Inhibition de la kinase1 liée à la cycline G(CGK) par liaison à la protéine kinase 1 associée à AP2 (AAK1) Inhibition de la voie Janus kinase-STAT.
Chlorpromazine	Antipsychotique	Inhibition de l'endocytose médiée par les récepteurs	gêner le montage vésicules recouvertes de clathrine.
Umifénovir	Antiviral	Inhiber la fusion cellule hôte-membrane virale	perturber la fluidité membranaire Provoque des réarrangements conformationnels et rend les bicouches lipidiques moins adaptées à la fusion.
Chloroquine	Antipaludéen	Prévenir l'entrée virale Arrêter la progression de la maladie	Interfère avec la glycosylation du récepteur ACE2 Acidification endosomale Régulation immunitaire anti-inflammatoire
Teicoplanine	Antibiotique glycopeptidique	Inhibition de la cathepsine protéase	Bloque le clivage médié par la cathepsine des protéines sp dans les endosomes tardifs.
Lopinavir	Antiviral	Inhibition de la protéase virale (3CL pro)	Inhibe la protéolyse des polyprotéines virus et interrompent le cycle de réplication virale.
Ritonavir	Antiviral	Inhibition de la protéase virale (3CL pro)	Inhibe la protéolyse des polyprotéines virus et interrompent le cycle de réplication virale.
Disulfirame	Inhibiteur irréversible de l'acétaldéhyde	Inhibition de la protéase virale (PL2pro)	Inhibe la protéolyse des polyprotéines virus et interrompent le cycle de réplication virale.

Aloès émodine	déshydrogénase Composé phénolique d'origine végétale	Inhibition de la protéase virale (3CL pro)	Inhibe la protéolyse des polyprotéines virus et interrompent le cycle de réplication virale.
Hespérétine	Composé phénolique d'origine végétal	Inhibition de la protéase virale (3CL pro)	Inhibe la protéolyse des polyprotéines virus et interrompent le cycle de réplication virale.
Remdésivir	Antiviral	Inhibition de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN	résiliation anticipée chaîne et synthèse inhibitrice protéine virale.
Favipiravir	Antiviral	Inhibition de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN	Incorporation d'ARN viral naissant et bloquer le processus Réplication et transcription virales.
Ribavirine	Antiviral	Inhibition de l'ARN polymérase dépendante de l'ARN	Inhibe la synthèse de l'ARN viral et Coiffage de l'ARNm. Réduit le pool de GTP intracellulaire.
Saracatinib	Double inhibiteur kinase (famille Src/abl des inhibiteurs de kinases)	Inhiber la réplication virale	inhibition sélective Famille Src de tyrosine kinases(SFK) et la prévention de la réplication virale.
Resvératrol	Polyphénol phytogène	Inhiber l'assemblage du virion	Diminue le niveau d'expression Protéine de nucléocapside et Empêcher l'assemblage de particules virales.
Oseltamivir	Antiviral	Inhiber l'exocytose de nouvelles particules virales	inhibe les enzymes céramidase (NA) et Prévenir l'exocytose.
Tocilizumab	Anticorps Monoclonal humanisé	Inhibition de l'interleukine (IL)-6	empêche l'IL-6 de se lier aux récepteurs solubles et membranaires de l'IL-6.
Siltuximab	Anticorps monoclonal	Inhibition de l'interleukine (IL)-6	empêche l'IL-6 de se lier aux récepteurs solubles et membranaires de l'IL-6.

Sarilumab	recombinant Anticorps mono humain	Inhibition de l'interleukine (IL)-6	empêche l'IL-6 de se lier aux récepteurs solubles et membranaires de l'IL-6.
Anakinra	Antagoniste des récepteurs de l'interleukine-1	Inhibition de l'interleukine (IL)-1	Cytokine Interleukine pro-inflammatoire (IL)-1 α et (IL)-1 β et prévenir une inflammation excessive.
Adalimumab	Anticorps monoclonal	Inhibition du facteur de nécrose tumorale (TNF) α	inhibe le facteur de nécrose. tumeur (TNF) alpha et prévenir les cascades Cytokines TNF-dépendantes et lésions tissulaires.
ACE2 soluble humain recombinant (rhACE2)	Modificateur RAS	Amélioration de l'ACE2 Rétablir l'équilibre du système rénine- angiotensine	Neutraliser la glycoprotéine de pointe SRAS CoV-2 et récepteur de la cellule hôte
Losartan	Bloqueur des récepteurs de l'angiotensine AT1	Rétablir l'équilibre du système rénine- angiotensine	Losartan Bloqueurs des récepteurs AT1 de l'angiotensine rétablir l'équilibre système rénine Angiotensine Stopper les effets néfastes sur l'organisme Médiée par l'angiotensine II Fonctionne en activant les récepteurs AT1 AVE0091 Agonistes non sélectifs des récepteurs peptidiques mas rétablir l'équilibre système rénine Angiotensine augmenter la protection organisation médiée par l'activation récepteur de qualité
AVE0091	Agoniste non sélectif des récepteurs mas peptidiques	Rétablir l'équilibre du système rénine- angiotensine	

2.12 Vaccines:

Il existe trois méthodes principales de fabrication d'un vaccin. Leurs différences résident dans la question de savoir s'ils utilisent un virus ou une bactérie en entier ; uniquement les parties du germe qui déclenche le système immunitaire ; ou uniquement le matériel génétique qui fournit les instructions pour la fabrication de protéines spécifiques et non pas le virus en entier.

Types de vaccins:

Différents types de vaccins potentiels contre la COVID-19 ont été mis au point, notamment :

-Des vaccins inactivés ou vivants atténués contenant une forme inactivée ou atténuée du virus qui ne peut pas causer de maladie, mais qui entraîne tout de même une réponse immunitaire.

_Des vaccins à base de protéines qui contiennent des fragments inoffensifs de protéines ou d'enveloppe protéique qui imitent le virus de la COVID-19 pour entraîner une réponse immunitaire en toute sécurité.

_Des vaccins à vecteurs viraux qui contiennent un virus inoffensif qui ne peut pas causer de maladie, mais qui sert de plateforme pour la production de protéines du coronavirus afin de générer une réponse immunitaire.

_Des vaccins à ARN et à ADN, mis au point selon une méthode de pointe consistant à utiliser un ARN ou un ADN génétiquement modifié pour produire une protéine qui entraîne une réponse immunitaire en toute sécurité(*Les Différents Types de Vaccins Contre La COVID-19*, n.d.).



CHAPITRE II
Matériel et Banque de
Donnée Utiliser

1. Banque de données des structures protéiques (PDB) :

La banque de données des structures protéiques (Protein Data Bank : BDP) est le dépôt global unique de structures 3D expérimentalement déterminées de macromolécules biologiques et de leurs complexes. Il a été créé en 1971, devenant ainsi la première ressource numérique en libre accès en sciences biologiques. Fr. Mai 2017, l'archive du PDB comptait environ 130 000 entrées. Il est géré par l'organisation Worldwide Protein Data Bank (wwPDB; wwpdb.org), qui comprend la RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB; rcsb.org), la Protein Data Bank Japan (PDBj; pdbj.org), la Protein Data Bank in Europe (PDBe; pdbe.org) et BioMagResBank (BMRB; www.bmrwisc.edu). Les quatre partenaires wwPDB exploitent un système logiciel mondial unifié qui applique les normes de données convenues par la communauté et prend en charge le dépôt (Burley et al., 2018).

À l'heure actuelle, la PDB archive les données expérimentales, les métadonnées associées et les modèles structuraux 3D au niveau atomique dérivés de trois méthodes bien établies : la cristallographie, la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) et la microscopie électronique (3DEM). Les partenaires de wwPDB travaillent en étroite collaboration avec des experts dans des domaines expérimentaux connexes (diffusion aux petits angles, réticulation chimique/spectrométrie de masse, transfert d'énergie par résonance Forster ou FRET, etc.) pour établir une fédération de ressources de données qui soutiendra l'archivage et la validation durables de Modèles structuraux 3D et données expérimentales issues de méthodes intégratives ou hybrides (Burley et al., 2018).

Utilisation de la banque :

Extraction de modèles structuraux 3D au niveau atomique de protéases de type papain-like pour déterminer sa forme et complexe papain-like – inhibition.



Figure 9 : La fenêtre de visualisation de PDB.



Figure 10 : L'apparition de la fenêtre PDB lors de la recherche sur une protéase papain-like.

2. Python moléculaire (PYMOL) :

PYMOL est un logiciel de visualisation moléculaire open source capable de produire des images 3D de haute qualité, ce logiciel a été créé par Warren Lyford DeLano et commercialisé initialement par DeLano Scientific LLC. Schrödinger est responsable de la mise au point et de l'entretien de PyMOL, aussi bien que le soutien et les ventes, y compris tous abonnements. PyMOL utilise de multiples plateformes Widget Toolkit (Tk) pour les

widgets GUI. PyMOL utilise la bibliothèque OpenGL Extended Wrangler (GLEW) et des utilitaires gratuits OpenGL Toolkit (Freeglut).

PYMOL est disponible en téléchargement au <http://pymol.sourceforge.net>. Sur votre ordinateur, utilisez l'application native compatible pour Mac OS X et Windows. Celui-ci est disponible sur les systèmes d'exploitation Linux, Mac OS X, IRIX et Windows. pour utiliser les fonctionnalités avancées, ou pour développer de nouvelles extensions, il faut installer Python. Il est un logiciel libre, il est disponible sur le site <http://www.python.org> et peut être téléchargé en cliquant sur le lien download (<http://www.python.org/download/>)

Ce logiciel a de nombreuses fonctionnalités, telles que :

- support de nombreux formats de fichier
- outil pour le chargement de structures depuis le site de la Protéine Data Bank
- manipulation de plusieurs molécules d'une manière conjointe ou indépendante.
- nombreux styles de visualisation moléculaire, avec la possibilité d'avoir des effets d'ombre, des vues

Stéréoscopiques, de modifier la perspective, ...

- moteur de lancer de rayons (ray-tracing) intégré (dont de nombreux paramètres peuvent être modifiés)
- réalisation de captures d'écran (la résolution des images étant paramétrable)
- interprétation des cartes de densité électronique (format CCP4 ou X-PLOR)
- mode batch
- génération d'animation
- API extensible via l'utilisation du langage Python(Yuan, 2017).

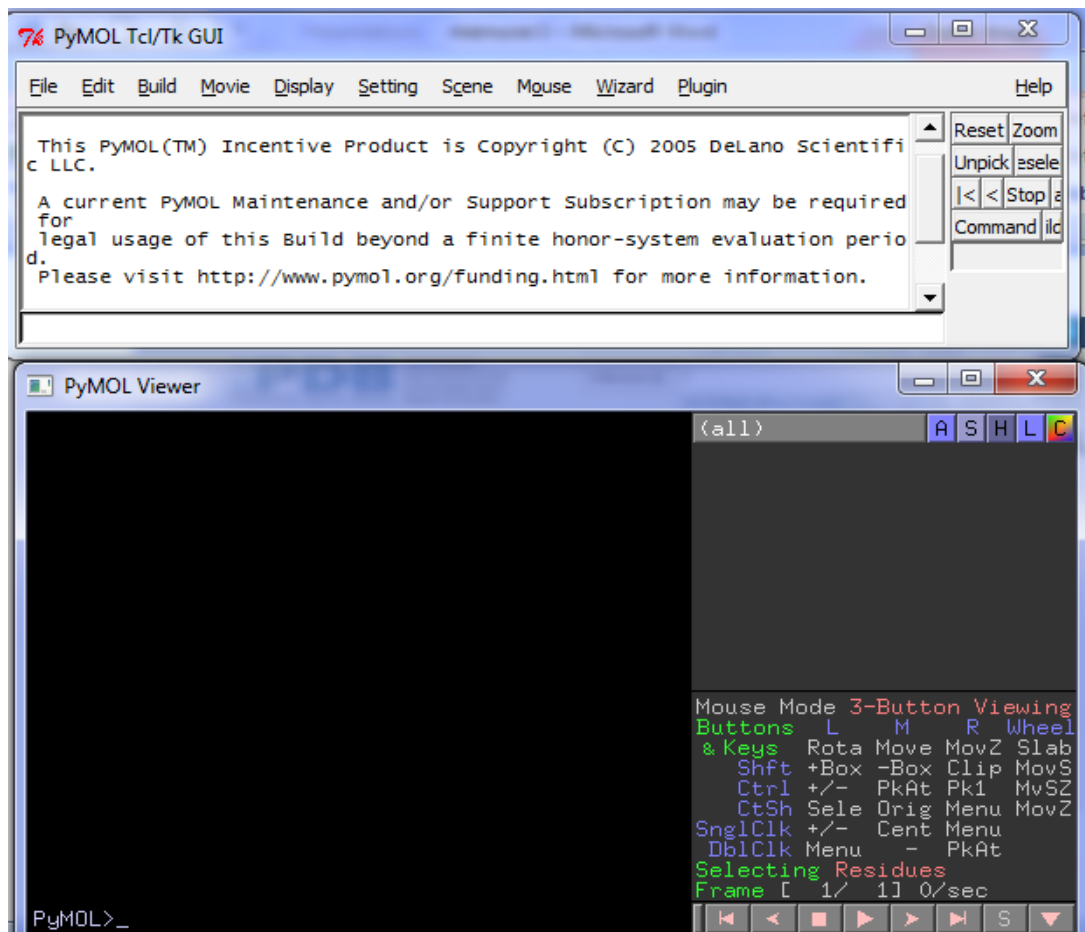


Figure 11 : la fenêtre de visualisation de PYMOL.

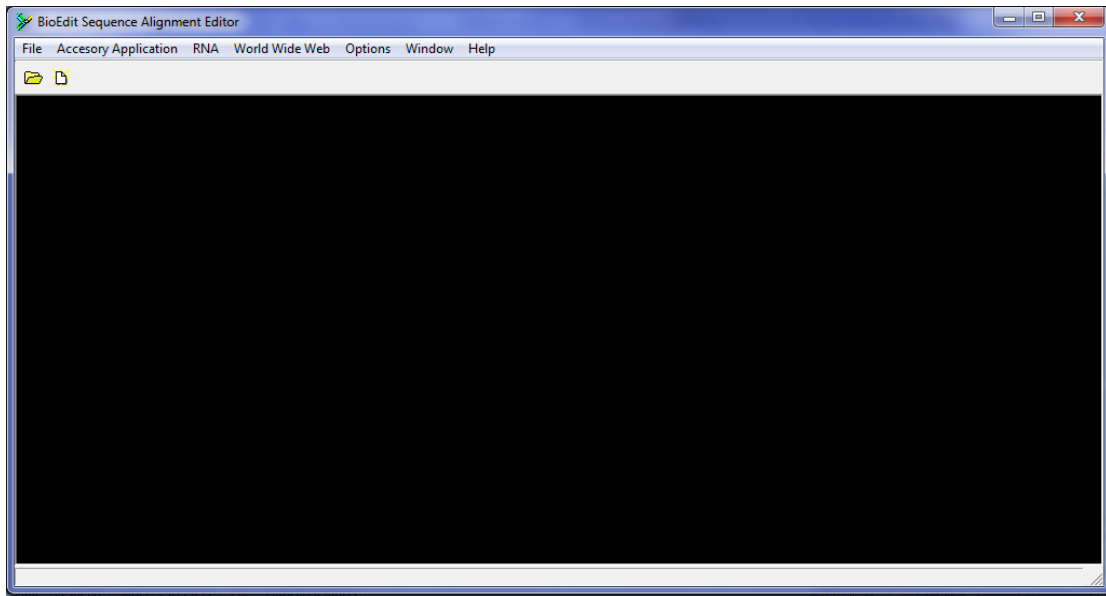
Utilisation de PYMOL :

L'utilisation logicielle PYMOL pour obtenir des images 3D de grande qualité de la structure des enzymes de papain-like.

3. BioEdit :

Bioédit est l'un des programmes les plus couramment utilisés dans les études de biologie moléculaire. BioEdit est un éditeur de séquences biologiques qui fonctionne sous Windows 95/98/NT/2000/XP et est destiné à fournir des fonctions de base pour l'édition de séquences protéiques et nucléiques, l'alignement, manipulation et analyse. Nous l'utilisons pour comparer les séquence de protéase PL^{pro} (papaine like). Il a été initialement développé comme un éditeur d'alignement de séquences biologiques écrit pour Windows uniquement. Il contient de nombreuses fonctionnalités pour les modes d'alignement de séquences d'alignement facile, la vue de fenêtre fractionnée, la couleur définie par l'utilisateur, l'ombrage

basé sur les informations et l'intégration automatique avec d'autres programmes tels que ClustalW et Blast(A. T. Hall, 2011; T. Hall, 2004).



Cliquer File \Rightarrow New Aligement

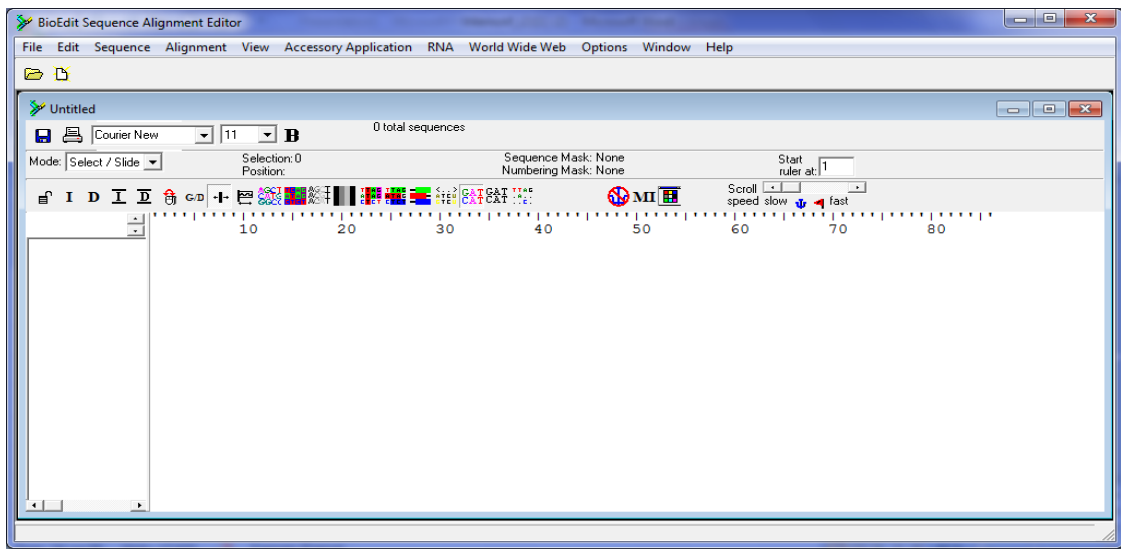


Figure 12 : La fenêtre de visualisation de BioEdit.

Utilisation de BioEdit :

Le logiciel BIOÉDIT a été utilisé pour comparer les séquences d'acides aminés de SARS-CoV-2 et SARS-CoV-1.



CHAPITRE III

**La Protéase de Papain-
like de SARS-CoV-2**

1. Définition de la protéase :

Ce sont des macromolécules de haut poids moléculaire (10 à 100 kDa) elle existent dans les cellules de tous les organismes et sont des enzyme capable d'hydrolyser les liaisons peptidiques des protéines en fragments plus courts, peptides et acides aminés. Ils jouent un rôle important dans le contrôle des processus métaboliques qui convertissent les nutriments en énergie et en matériel cellulaire. Ils existent aussi bien chez les plantes que chez les animaux micro-organisme. Il s'agit d'un groupe complexe d'enzymes qui diffèrent les unes des autres par des propriétés telles que la spécificité du substrat, le site actif et le mécanisme catalytique, l'optimum de pH et de température et la stabilité. Les protéases constituent le premier groupe d'enzymes industriels en termes de tonnage et de part de marché (Biotechnologie & Jury, 2015; Minist et al., 2011).

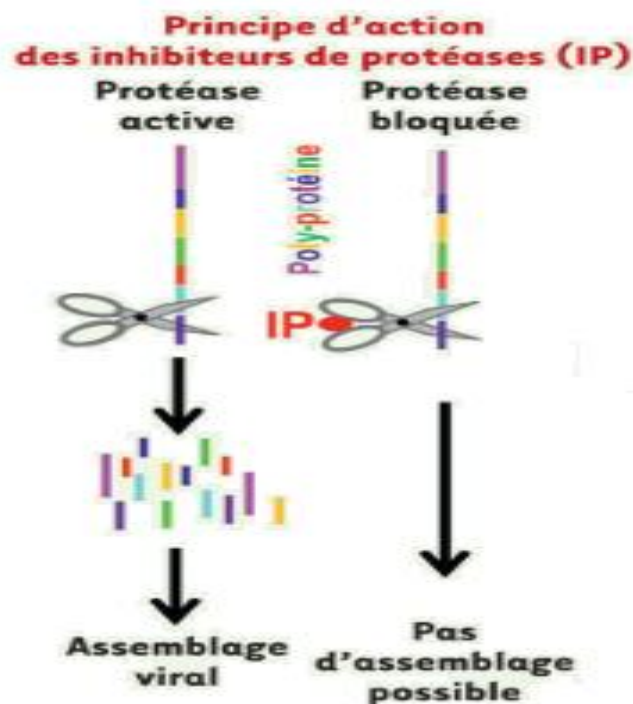


Figure 13 : Principe d'action des inhibiteurs des protéases (Ladoux et al., 2020).

2. Papain -like :

2 .1 Structure :

La protéase papaine-like de SARS-CoV-2 (PI^{pro}) est une cystéine protéase. PI^{pro} est un trimère de trois chaînes d'acides aminés homologues (A, B et C), on a été utilisée (PDB : 6W9C, chaînes A, B, C) comme matrice pour étude et l'analyse structurale. Le 6W9C est résolu par cryo-microscopie électronique avec une résolution de 2,70 Å. Les molécules d'eau et les ligands ont été retirés du PBD à l'aide de Pymol(Li et al., 2020).

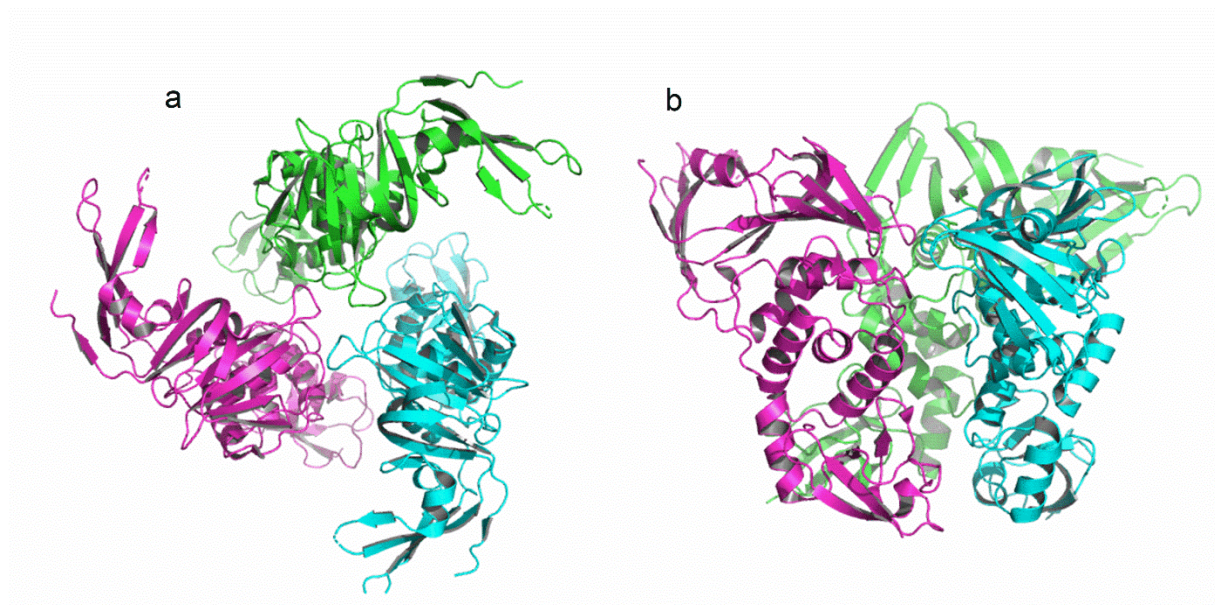


Figure 14 : Structure de protéase papain-like de SARS-COV-2(a) vue de haut (b) vue de cote.

Chaque chaîne se compose de 315 acides aminés avec un pourcentage élevé de résidus de cystéine (3,5%)(Osipiuk et al., 2021), il formant de sept 7 α hélices et treize brins 13 β . PI^{pro} être divisé en deux domaines principaux - le domaine catalytique et le domaine de type ubiquitine (Ubl).

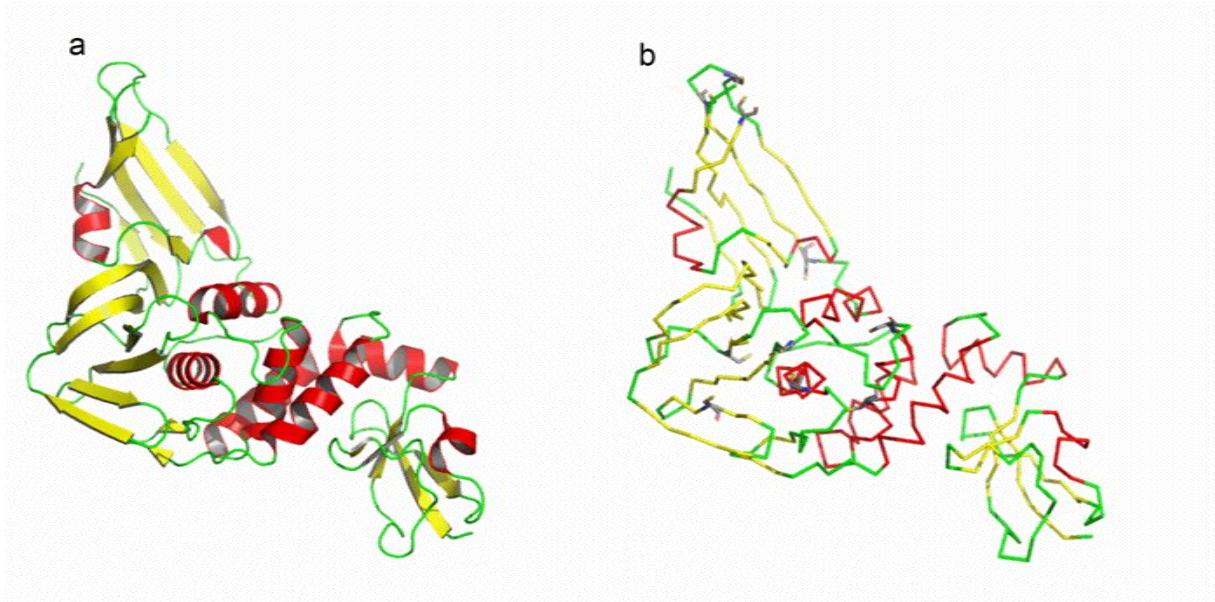


Figure 15 : Structure une chaîne de papain-like. (a) α hélice en rouge et β feuille en jaune (b) structure en ruban montre les résidus de cystéine en batonet.

Le domaine N-terminal de type ubiquitine-like c'est trois brins β (Ubi, β 1-3), il contient 60 acide aminée et la séquence d' Ubi (1-60) .

Le domaine catalytique c'est le domaine C-terminal et diviser à trois sous domaine : Thumb , Palm et Fingers, PL^{pro} est ressemblé à une main ouverte.

Le Thumb est signifiant le pouce en français, il est nommé ainsi parce qu'il ressemble aux le pouce de la main. Le sous domaine Thumb comprend six hélices α (α 2-7) et une petite épingle à cheveux β , il y a des 120 acides aminés et la séquence de Thumb c'est (résidus 61-180).

Palm qui signifie coup droit en français, est ainsi nommé en raison de sa forme. Le sous-domaine palm est composé de six brins β (β 8-13). il y a des 64 acide aminée et la séquence de palm (résidus 239-315) (Razali & Asis, 2021).

Fingers signifie doigts en français, et il est nommé ainsi parce qu'il ressemble aux doigts d'une main humaine. Ce sous-domaine contient 58 acides aminées et il est composé de quatre brins β (β 4-7). Sa séquence est située entre les résidus 181-238(Gao et al., 2021). Dans la région du bout des Finger, quatre résidus de cystéine se coordonnent à un ion de zinc. L'ion de Zn est labile et coordonné de manière tétraédrique par des résidus Cys conservés

(Cys189 - X - X - Cys192 - Xn - Cys224 - X - Cys226). Il est essentiel pour le processus de catalyse car il conserve l'intégrité structurale du PL^{pro} - CoV - 2. Par conséquent, la mutation de la cystéine de coordination du zinc a provoqué une perte significative d'activité enzymatique, suggérant que la capacité de liaison du zinc est essentielle pour sa fonction enzymatique (Razali & Asis, 2021).

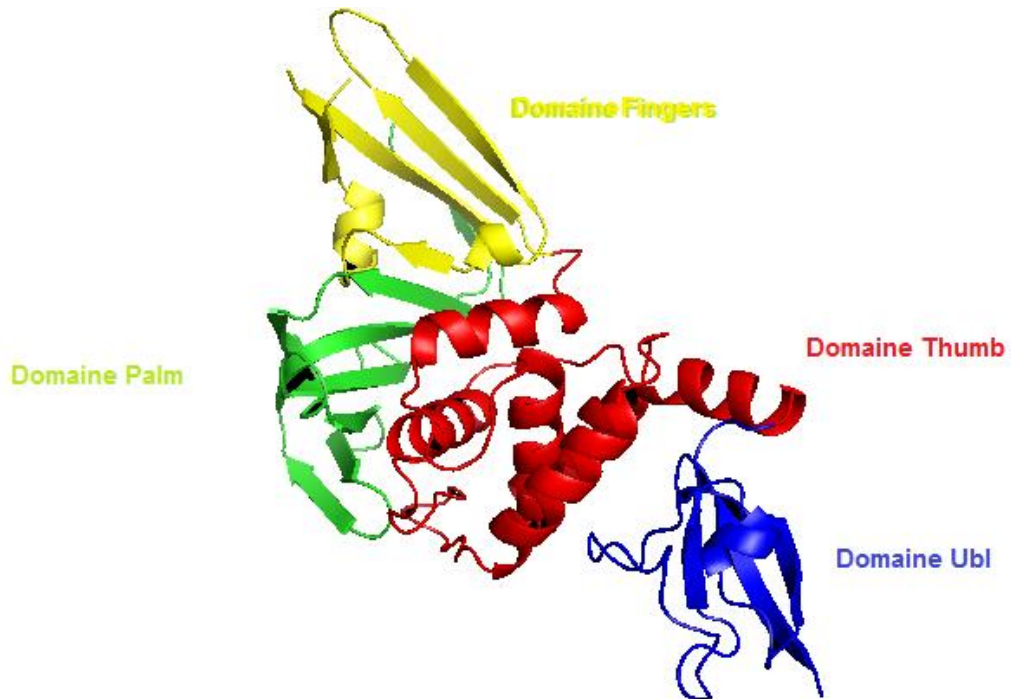


Figure 16 : Les domaines de protéase papain-like (PL^{pro}).

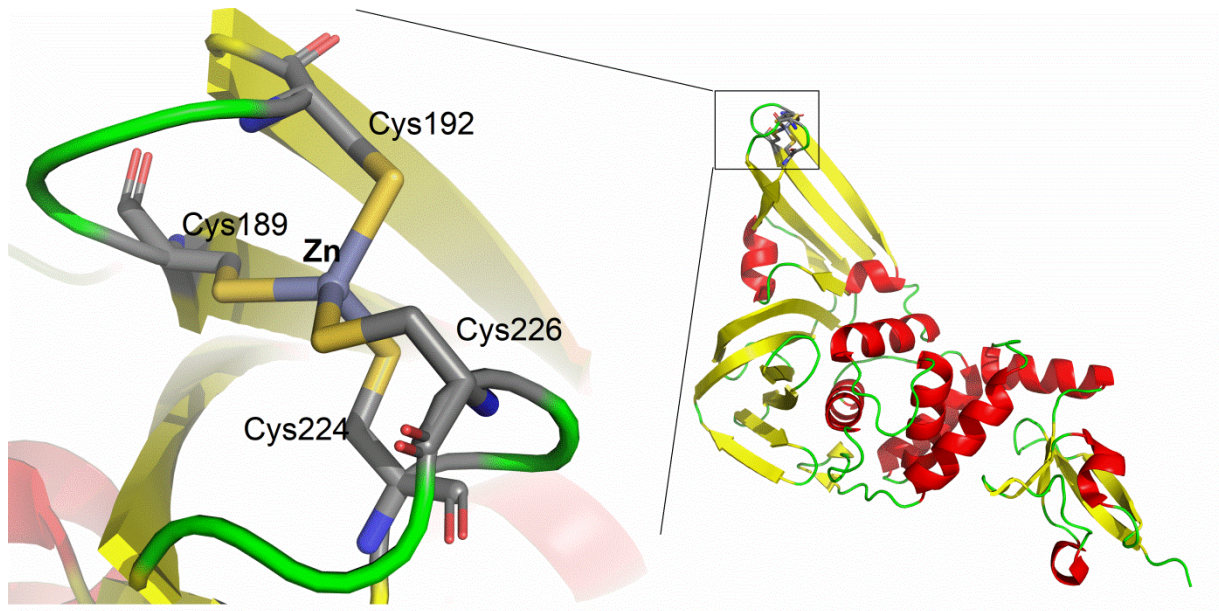


Figure 17 : L'interaction du zinc avec les Cys189, Cys192, Cys224 et Cys226 au bout des doigts.

Préparation de la protéase :

Télécharger la structure de protéase papain-like 6W9C sous format pdb. À l'aide du logiciel Pymol.

Tableau 5 : Les caractérisations du 6w9c

Code PDB	Résolution	Nombre de chaînes	classification	Nombre des AA	Organisme
6W9C	2.70	A ,B,C	E.C :3.4.19.12	317	CoronaVirus-2

2.2 Site actif de PL^{pro} :

Le site actif de PL^{pro} formé de triade catalytique (Cys111, His272 et Asp286) qui catalyse la liaison peptidique. La Cys111 est cystéine nucléophile, elle est située au pied (extrémité N-terminale) de l'hélice α dans le domaine du Thumb ($\alpha 4$).

PL^{pro} est fortement préservé et trouvé dans tous les coronavirus. L'enzyme reconnaît un motif de clivage consensus, LXGG (X = n'importe quel acide aminé, L = leucine et G = glycine) (P4–P1), qui est présent dans deux grandes poly-protéines ppla et pplab, correspondant aux positions de substrat P4–P1 de cystéine protéases. Il clive les liaisons peptidiques entre nsp1 et nsp2 (LNGG↓AYTR), nsp2 et nsp3 (LKGG↓APTK), et nsp3 et

nsp4 (LKGG↓KIVN), sans préférence en position P1. Le processus de clivage libérant ainsi les protéines nsp1, nsp2 et nsp3 qui s'assembleront et entraînera la génération d'un complexe de réplicase multifonctionnel associé à la membrane sur les membranes hôtes, initiant la réplication et la transcription du génome viral (Razali & Asis, 2021).

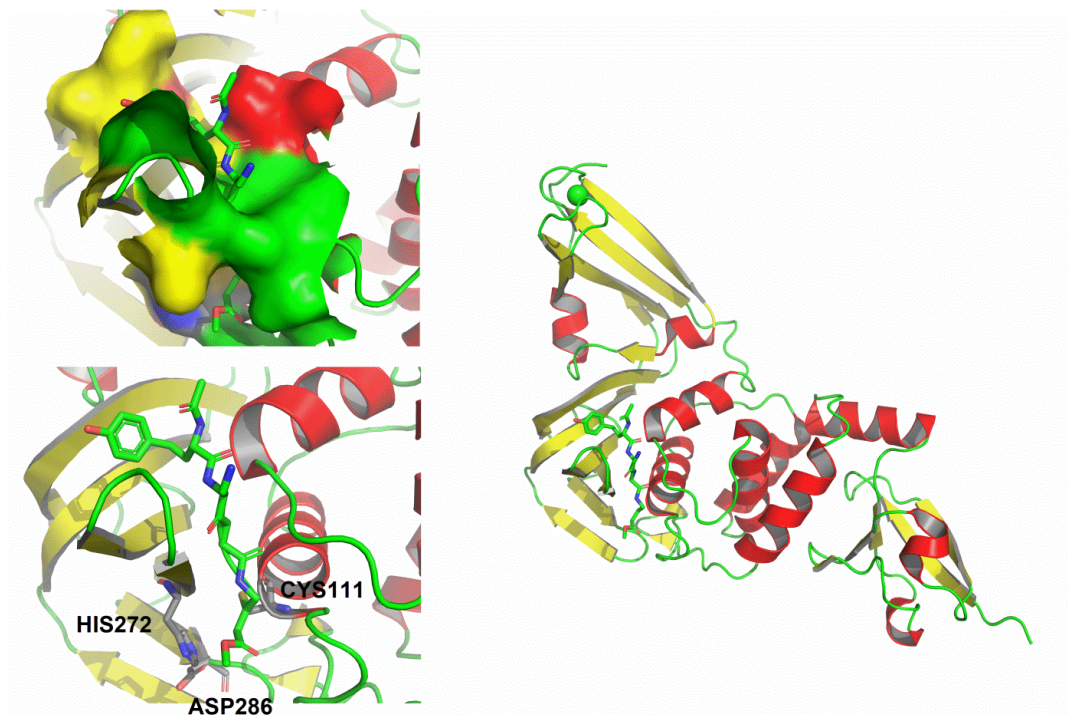


Figure 18 : Représentation du site actif de SARS-COV-2 PL^{pro} en complexe avec l'inhibiteur peptidique VIR251 (code PDB 6WX4).

2.3 Fonction :

Le PL^{pro} reconnaît et hydrolyse les protéines cellulaires de l'ubiquitine et la protéine de type ubiquitine (Ubl) ISG15 (gène induit par l'interféron 15) comme portant le motif de reconnaissance LXGG à leur extrémité C-terminale pour les éliminer de protéines de la cellule hôte. L'ubiquitine est une protéine de 76 acides aminés associée à la régulation des processus endocytaires, de la réponse cellulaire aux dommages à l'ADN et des processus immunologiques avec l'activation de la signalisation NFκB. La modification ISG15 induite lors d'une infection virale comprend deux plis Ubl fusionnés ressemblant structurellement à la diubiquitine. En raison du motif de reconnaissance similaire, PL^{pro} possède également des capacités de désubiquitination et de désISGylation qui interfèrent avec les voies de signalisation critiques conduisant à l'expression des interférons de type I. Cette interférence

se traduit ainsi par un effet antagoniste sur la réponse immunitaire innée de l'hôte en inhibant la production de cytokines et de chimiokines responsables de l'activation de la réponse immunitaire innée de l'hôte contre l'infection virale. De plus, PL^{pro} supprime l'activation de NFκB et par la suite, interfère avec la production d'interféron-β et supprime la réponse immunitaire. L'ubiquitination et l'ISGylation jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires innées à l'infection virale. Par conséquent, il n'est peut-être pas surprenant d'observer que plusieurs virus ont développé différentes stratégies pour s'opposer à ces voies. En conclusion, l'inhibition de l'activité de PL^{pro} peut arrêter la réplication virale et perturber son rôle dans l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte, ce qui en fait une excellente cible antivirale (Razali & Asis, 2021).

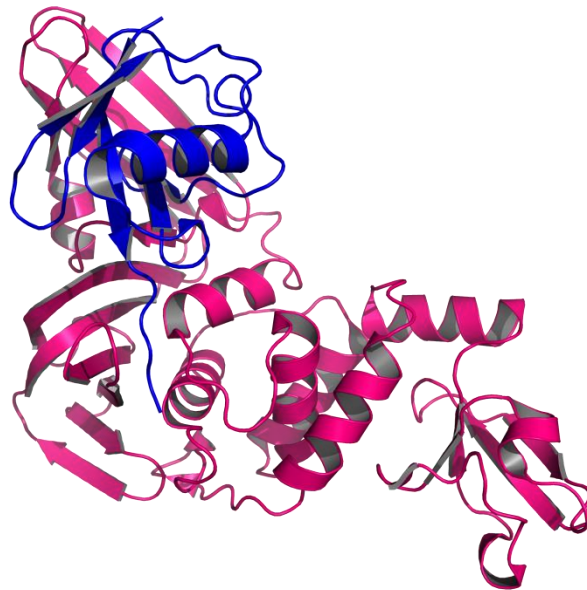


Figure 19 : Structure PL^{pro} avec ubiquitine en bleu, (code PDB 7UV5).

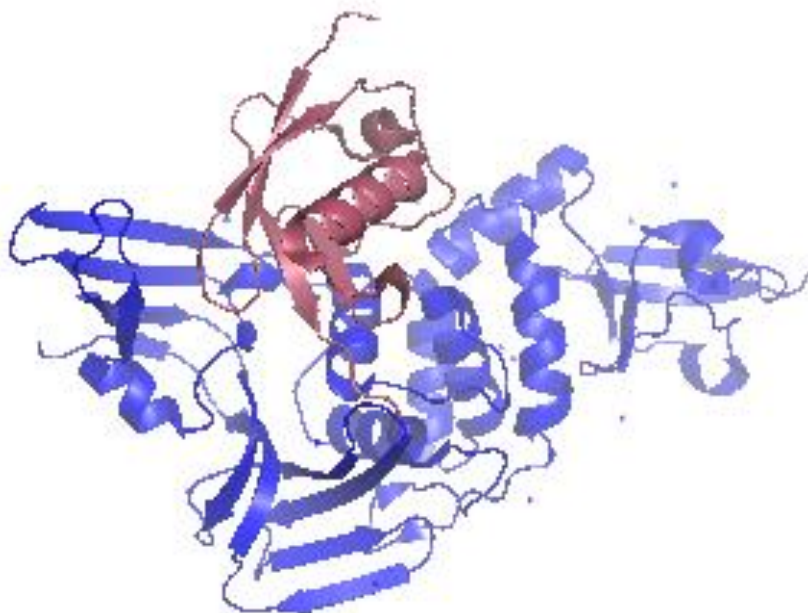


Figure 20 : Structure PL^{PRO} avec ISG15.

PL^{PRO}, connu sous le nom de domaine protéase de nsp3, fonctionne avec 3CL^{PRO} pour générer un complexe de réplication fonctionnelle et permettre la propagation virale. L'enzyme se trouve en nsp3 entre le seul domaine du SARS (SUD/HVR) et un domaine de liaison des acides nucléiques (NAB) (Razali & Asis, 2021).

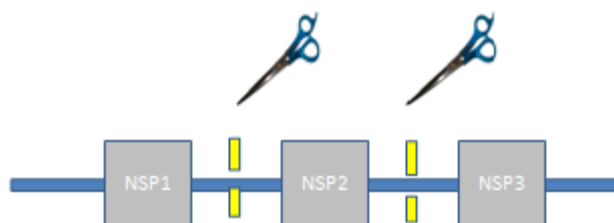


Figure 21 : Sites de clivage de PL^{PRO}.

2.4 Mécanisme d'action du PL^{PRO} :

La réponse immunitaire innée de la cellule hôte aux virus commence une fois que les acides nucléiques viraux sont détectés par des récepteurs de reconnaissance de formes tels que les récepteurs Toll-like (TLR) et le gène I inductible par les rétinoïdes (RIG-I). Cet événement déclenche des cascades de signaux, notamment des kinases telles que la TANK-binding

kinase-1 (TBK1) et les inhibiteurs-kB kinases (IKK), conduisant à l'activation de facteurs de transcription tels que l'interféron-regulatory factor-3 (IRF3) et le facteur nucléaire kappa. Ces protéines se transloquent dans le noyau et servent de facteurs de transcription en se liant aux éléments promoteurs dans les gènes cibles, conduisant à l'expression de plusieurs cytokines, y compris les IFN du type I, qui à leur tour déclencheront un grand nombre d'intra et des processus extracellulaires conduisant à l'activation de la réponse immunitaire innée (Y. Zhou et al., 2017).

- La PLpro de SARS-CoV-2 clive principalement la protéine du type ubiquitine ISG15 des protéines de l'hôte et, par conséquent, possède une plus grande capacité à bloquer la voie IFN du type 1 qui est corrélée à l'initiation de l'immunité innée antivirale (Tomczak et al., 2021).

- La PLpro inactive également TBK1, bloque la signalisation NF-kappaB, empêche la translocation d'IRF3 vers le noyau, inhibe la voie de signalisation TLR7 et induit une régulation positive Egr-1-dépendante de TGF- β 1 (Chen et al., 2014; Clasman et al., 2020).

- Un rôle essentiel dans le traitement des poly-protéines virales, la maturation et l'assemblage du RTC, et elle peut également agir sur les protéines de la cellule hôte en perturbant la machinerie de réponse virale de l'hôte pour faciliter la prolifération et la réplication virales. En raison de la centralité de PLpro pour la réplication virale, c'est un excellent candidat pour le ciblage thérapeutique (Osipiuk et al., 2021).

2.5 Comparaison :

Le séquençage et la comparaison du génome a montré une similitude de 80 % entre les séquences génétiques du SARS-CoV et du SARS-CoV-2. L'alignement de séquences multiples (MSA) de PL^{pro} à partir des virus corona humains les plus pertinents sur le plan clinique, par exemple SARS-CoV-2 et SARS-CoV, est illustré à la figure 22. La comparaison du pourcentage d'identité de séquence du SRAS -CoV-2 PL^{pro} avec d'autres virus corona humains révèle que le SARS-CoV PL^{pro} est la souche la plus proche du SARS-CoV-2 PL^{pro} avec 82,9 % d'identité. Fait intéressant, SARS-CoV PL^{pro} et SARS-CoV-2 PL^{pro} partagent des résidus de site de liaison identiques pour la liaison des petites molécules, comme indiqué par le rectangle en pointillé bleu sur la figure 23. Les résidus Tyr269 et Gln270 dans le SRAS-CoV, marqués par le rectangle rouge en pointillés, jouent un rôle important dans l'événement

de liaison aux petites molécules-protéines. Ils englobent une boucle flexible capable de s'adapter à différentes conformations de squelette et de chaîne latérale.

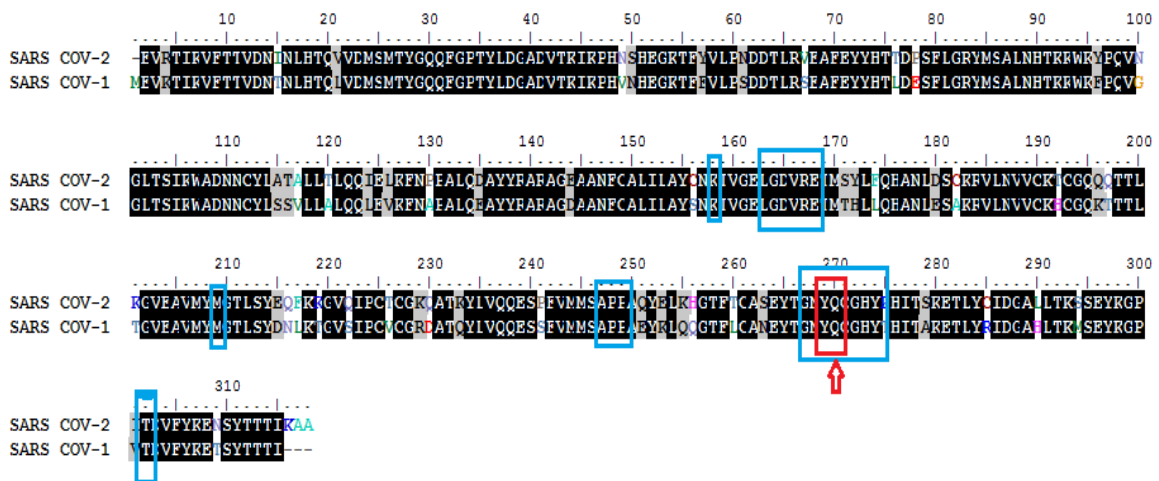


Figure 22 : Comparaison de PL^{pro} de SARS-COV-2 et SARS-COV-1.

Les aspects structuraux de SARS-CoV PL^{pro} contre SARS-CoV-2 PL^{pro} montre que Les résidus du site de liaison du SARS-CoV et du SARS-CoV-2 PL^{pro} sont identiques à 100 %. Les structures PDB des deux protéines (SARS-CoV et SARS-CoV-2 PL^{pro}) semblent montrer un pli comparable et ne s'écartent pas sensiblement des conformations du squelette.

Pour le SARS-CoV-2 PL^{pro}, trois structures cristallographiques sont disponibles sous la forme apo, avec une matrice RMSD moyenne par paires pour le squelette autour de 1 Å, comme le montre la figure 23.

Tandis que SARS-CoV PL^{pro} sept structures cristallines sont disponibles sous la forme apo, avec une matrice RMSD moyenne par paires pour le squelette <2 Å (données non présentées). D'autre part, SARS-COV2 PL^{pro} Le site de liaison présente des conformations plus diverses pour le squelette et les chaînes latérales de la boucle flexible (c'est-à-dire Tyr268 et Gln269) où les chaînes latérales semblent principalement pointer vers l'extérieur vers la zone exposée au solvant.

Tandis que SARS-CoV PL^{pro} Le site de liaison présente a affiché un large éventail de conformations pour le squelette et les chaînes latérales de la boucle flexible (résidus Tyr269 et Gln270) D'autre part, les structures co-cristallines avec de petites molécules (quatre structures cristallines) ont montré un réarrangement plus ordonné de Tyr269 pour chacune d'entre elles. Ceci est susceptible d'offrir une paroi hydrophobe pour des interactions optimales avec la

sous-structure aromatique de la petite molécule liée, tandis que Gln270 semble adapter davantage de conformations en fonction de la topologie et de la taille du ligand.

Sur la base de ce qui précède, il est probable que le SARS-CoV-2 PL^{pro} se comporte de la même manière que son analogue, le SARS-CoV PL^{pro}, lors de la liaison à une petite molécule (Ibrahim et al., 2020).

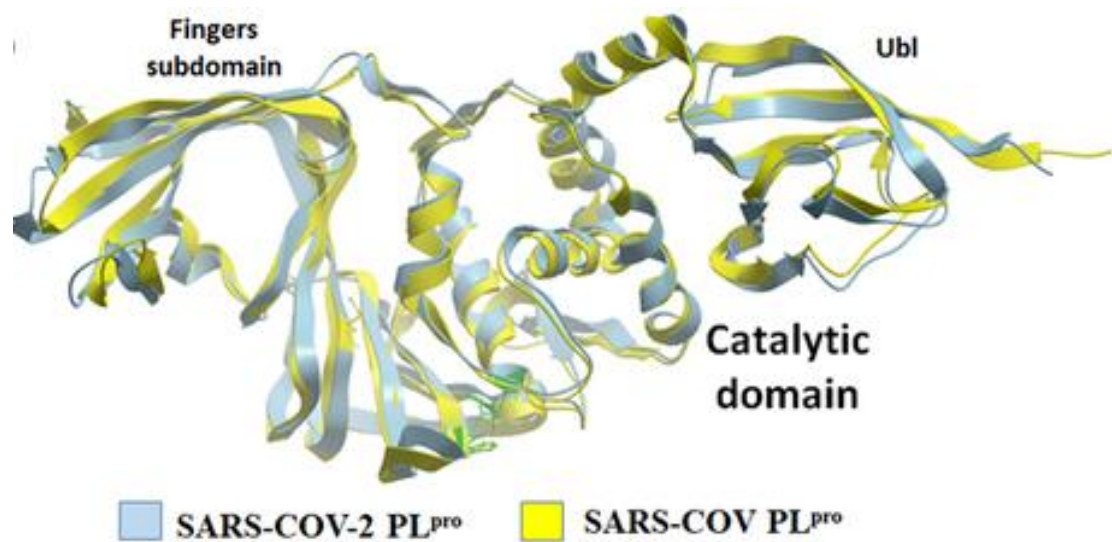


Figure 23 : Alignement de SARS-CoV-2 avec SARS-CoV PL^{pro} (Kandeel et al., n.d.).



CHAPITRE IV
Inhibiteur et Méthode de
Couverte

Inhibiteur et méthode de couverture de PL^{pro}

La pandémie de COVID-19 a été désastreuse pour la société et l'économie mondiale, des médicaments efficaces sont nécessaires de toute urgence pour la affronter. La protéase papain-like (PL^{pro}) du SARS-CoV-2 (SCoV2) est indispensable à la réplication virale et représente une cible putative pour l'intervention pharmacologique. Dans ce travail, nous décrivons le développement des inhibiteurs puissants et sélectifs de SARS-CoV-2 PL^{pro}. Ces inhibiteurs non seulement bloquent efficacement le clivage du substrat et la fonction immunosuppressive conférée par PL^{pro}, mais atténuent également de façon marquée la réplication du SCoV2 dans les cellules humaines, avec une IC50 submicromolaire. Dans ce chapitre, nous divulguons la structure co-cristalline de SCoV2 PL^{pro} en complexe avec un inhibiteur prototype, qui éclaire leur mode de liaison détaillé. Dans l'ensemble, ces résultats fournissent des pistes prometteuses et des outils importants pour la découverte de médicaments visant à cibler le SARS-CoV-2 PL^{pro}.

1. Définition d'inhibiteur

Les inhibiteurs de protéases sont des molécules actives qui agissent en bloquant sa fonction. Ce sont principalement des médicaments antiviraux, mais ils peuvent également lutter contre des maladies parasitaires comme le paludisme, ou agir sur des protéases humaines (*Définition / Inhibiteur de Protéase - Antiprotéase / Futura Santé, n.d.*).

2. Inhibiteur de papain-like de SARS-COV-2

2.1. Les inhibiteurs covalents

Représentent l'un des types de composés les plus importants étudiés jusqu'à présent. Dans ce groupe, la direction principale semble se concentrer sur les échafaudages peptidiques (Rut et al., 2020). Il existe également d'autres propositions d'inhibiteurs covalents non peptidiques, tels que l'elsén (Brul & Amsterdam, 2020), ses dérivés (Zmudzinski et al., 2020) et le disulfirame (Article, 2020). Dans le cas des inhibiteurs peptidiques, la liaison covalente est formée avec l'un des acides aminés de la triade catalytique-Cys111. Comme les structures de ces composés forment des chaînes assez longues, la grande partie de la molécule est placée hors du site actif et se trouve sous la boucle de blocage 2 (BL2) dans le sous-domaine de la paume (Rut et al., 2020).

2.1.1 VIR 250 et VIR 251 :

VIR251 est le substrat (Ac-hTyr-Dap-Gly-Gly-VME) était un inhibiteur plus puissant mais moins sélectif de ces enzymes que le substrat VIR250 c'est substrat (Ac-Abu(Bth)-Dap-Gly-VME). Les deux composés présentent une sélectivité élevée pour les variantes du SARS-PL^{pro} et inhibent fortement les activités du SARS-CoV PL^{pro} et du SARS-CoV-2 PL^{pro}. on converti les deux substrats en inhibiteurs en remplaçant l'étiquette fluorescente par un groupe réactif — ester vinylméthylique (VME). Un groupe VME a été sélectionné en raison de sa réactivité générale envers les UVB (la sélectivité des inhibiteurs est déterminée par la séquence térapeptidique). Les résultats de l'analyse cinétique des inhibiteurs du SARS-CoV PL^{pro} et du SARS-CoV-2 PL^{pro} reflétaient ceux de l'hydrolyse du substrat.

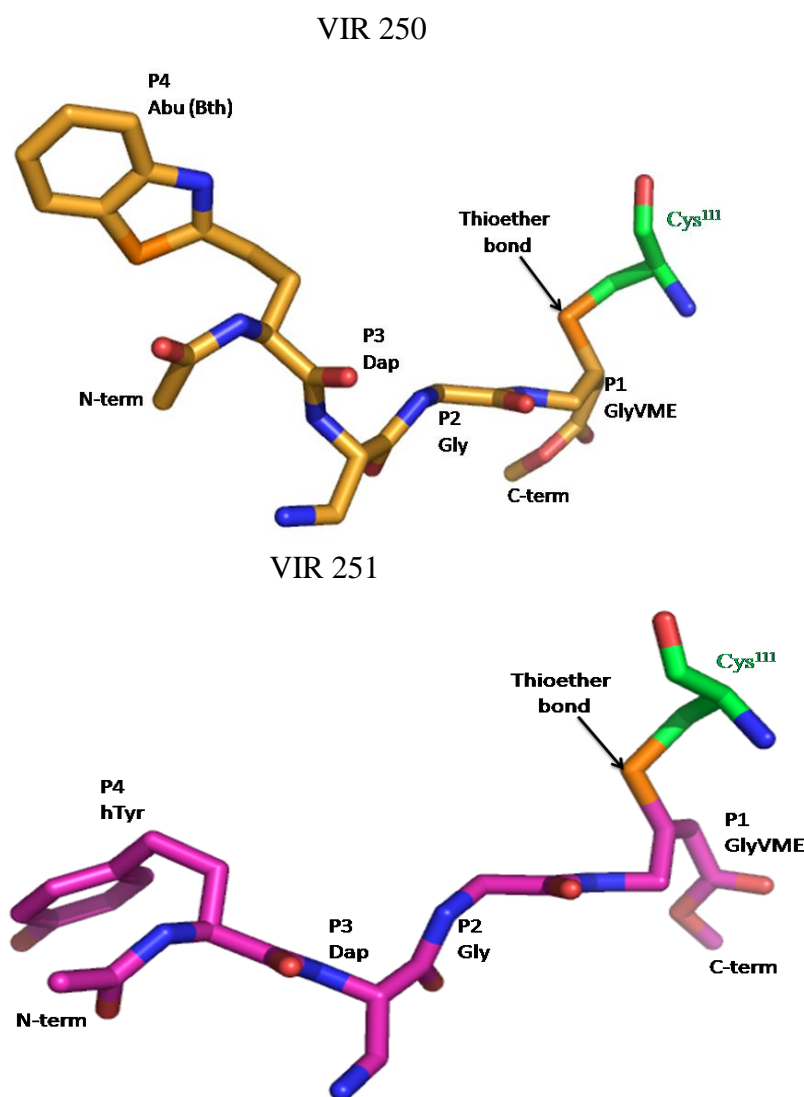


Figure 24: Caractérisation des inhibiteurs non naturels contenant des acides aminés VIR250 et VIR251.

Reconnaissance moléculaire de VIR250 et VIR251

À la position P4 de VIR250 et VIR251, qui se livrent en grande partie à des interactions hydrophobes avec le CoV-2 PL^{pro}, la plupart des interactions aux positions P1-P3 des deux inhibiteurs sont médiées par des interactions polaires et des liaisons hydrogène.

À la position P1 de VIR250, GlyVME est lié de façon covalente par une autre liaison à Cys111 catalytique de CoV-2 PL^{pro} (former d'un lien covalent) et s'engage dans une liaison hydrogène backbone-backbone à Gly271.

À la position P2 VIR250, Gly s'engage dans deux liaisons hydrogène backbone-backbone à Gly163, et van der Waals contacts à Leu163 et Tyr164 de CoV-2 PL^{pro} et P3 Dap de VIR250 participe à une liaison hydrogène backbone-backbone avec Gly271.

Le réseau de liaisons hydrogène backbone-backbone auquel ont participé les sites P3-P1 de VIR250 est entièrement conservé dans VIR251. En revanche, alors que le groupe méthylester de l'ogive GlyVME de VIR250 s'engage dans une liaison hydrogène avec His272 de la triade catalytique du CoV-2 PL^{pro}, le méthylester correspondant de VIR251 participe à des liaisons hydrogène avec des chaînes latérales Trp106 et Asn109, qui sont proposés pour contribuer à la stabilisation du trou d'oxyanion.. Trp106 adopte une conformation différente et est mal ordonné dans le complexe VIR250.

Il existe des différences importantes différences dans la façon dont les chaînes latérales sont impliquées aux positions P3 et P4 de VIR250 et VIR251 engagent le CoV-2 PL^{pro}. L'amine de la chaîne latérale de Dap au site P3 de VIR250 s'engage dans une liaison hydrogène avec l'oxygène carbonyle de base de Tyr268 et le site P4 Abu (Bth) projette vers Met208, Pro247, Pro248 et Thr301 où elle s'engage dans un réseau d'interactions van der Waals.

En revanche, c'est l'amine de base de P3 Dap qui s'engage dans la liaison d'hydrogène avec l'oxygène carbonyle de Tyr268, et de façon inattendue, hTyr au P4 positionne les projets vers le côté opposé de la poche S4 par rapport à Abu (Bth) de VIR250 en s'étendant vers Pro248, Tyr264 et Tyr268 de CoV-2 PL^{pro} et participation à un réseau distinct d'interactions van der Waals. Ce nouveau réseau d'interactions est facilité par un déplacement de 1,5-Å de la boucle β 14- β 15 (Asn267, Tyr268 et Gln269) vers le hTyr de VIR251, facilitant ainsi de nombreux nouveaux contacts qui ne pourraient se produire en l'absence de ce déplacement. En particulier, tous les résidus de CoV-2 PL^{pro} impliqués dans

les contacts avec VIR250 et VIR251 sont entièrement conservés dans le CoV-1 PL^{pro}, et les structures globales des deux variantes PL^{pro} du SRAS sont très similaires dans le site catalytique de l'enzyme qui explique probablement la capacité de ces inhibiteurs à cibler les deux enzymes (Rut et al., 2020).

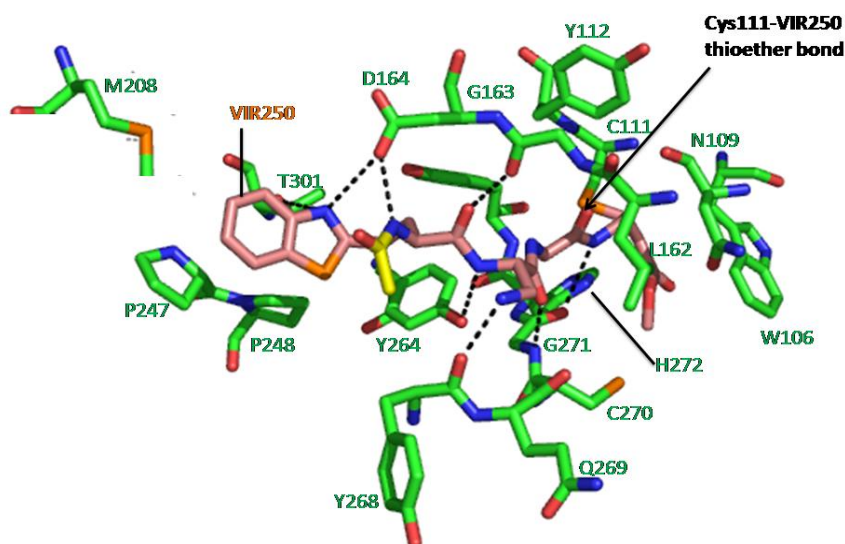


Figure 25 : Structure 3d de la protéase papain-like liée à l'inhibiteur vir250 (le code pdb : 6wuu).

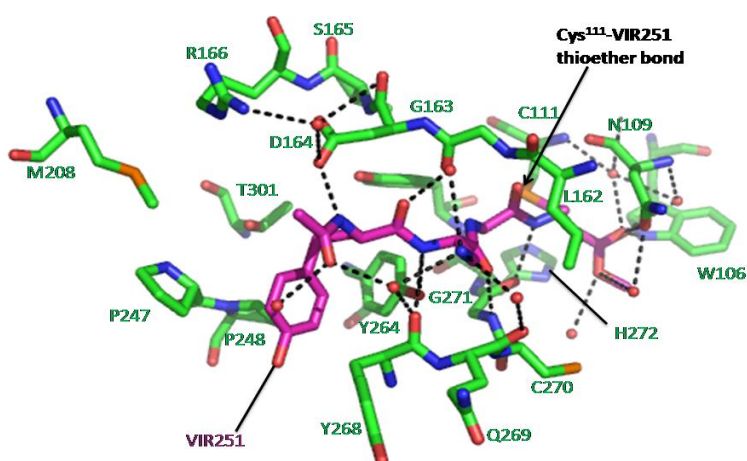


Figure 26 : Structure 3D de la protéase papain-like liée à l'inhibiteur VIR251 (le code PDB 6WX4).

2.2 Les inhibiteurs non covalents :

C'est le deuxième type principal de médicaments anti-SARS-CoV-2 potentiels. Dans ce groupe, les composés les plus importants et les plus étudiés comprennent des inhibiteurs connus pour agir sur le SARS-CoV PL^{pro} et leurs dérivés. Une telle direction est raisonnable en raison de la similitude séquentielle élevée (90 %) et de l'identité (83 %) du PL^{pro} entre le SARS-CoV et le SARS-CoV-2 (Osipiuk et al., 2021). Les inhibiteurs non covalents du SARS-CoV PL^{pro} sont en grande partie membres d'un groupe structural de composés, à savoir les dérivés du N-[1-(naphtalène-1-yl)éthyl]benzamide (par exemple: GRL0617) (Freitas et al., 2020).

2.2.1 Inhibiteur GRL0617 :

Étant donné que les protéases PL^{pro} du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV partagent une homologie importante, l'inhibiteur développé pour le SARS-CoV PL^{pro} est un point de départ prometteur du développement thérapeutique.

Nous démontrons qu'un puissant inhibiteur du SARS-CoV PL^{pro} GRL0617 est très efficace pour inhiber l'activité protéase du SARS-CoV-2 avec une CI₅₀ de 2,2 à 0,3 µmol/L (Gao et al., 2021).

2.2.1.1 Propriétés:

- Poids moléculaire: 304.39
- Niveau de qualité: 100
- Essai/Dosage: ≥98% (HPLC)
- Forme: powder
- Activité optique: $[\alpha]_D$ -72.0 to -82.0°, c = 0.5 in chloroform-d
- Couleur: white to beige
- Solubilité: DMSO: 2 mg/mL, clear
- Temp. de stockage: 2-8°C

2.2.1.2 Mode de liaison :

GRL-0617 se lie à un sillon dans le domaine « Palm » de PL^{pro} (pour la nomenclature Figure 27a), qui est utilisé pour contenir le motif de clivage de PL^{pro}. Cependant, l'aspect le plus important de son mécanisme de liaison repose sur un segment flexible, appelé boucle de blocage 2 (BL2), une épingle à cheveux β qui se replie sur le cœur du composé et le protège du solvant. Le Tyr268 à l'extrémité de l'épingle à cheveux β retient le benzamide substitué, l'enfonçant presque entièrement dans l'enzyme (figure 27a).

D'un côté du composé, l'anneau de naphthyle se prolonge dans une cavité hydrophobe entre BL2 et le domaine Palm, contre Pro247 et Pro248. Deux liaisons hydrogène stabilisent davantage le composé dans son site de liaison; l'azote amide du composé avec la chaîne latérale de l'Asp164 du domaine « Thumb »; et l'amide carbonyle du composé avec la colonne vertébrale de Gln269 sur le BL2 (figure 27a). Vers le Cys111 catalytique, à environ 7 Å, un groupe orthométhyle sur l'anneau phénylique substitué s'insère dans une poche hydrophobe garnie de Leu162, Tyr264 et Tyr273 (Figures 27b), occupant la position du résidu habituellement chargé positivement (Lys ou Arg) précédant le motif Gly (y compris Arg74 dans l'ubiquitine ou Arg155 dans ISG15; ci-après, nous nous référons aux nombres de résidus d'ubiquitine). Leu162 qui tapisse le canal dans des structures apo et liées au substrat, fait tourner sa chaîne latérale pour bloquer le canal et le chemin vers Cys111 catalytique, et interagit maintenant avec le phényle substitué du composé (Figures 27b) (voir les inhibiteurs de peptide ci-dessous pour un exemple de cas où Leu162 tourne à nouveau pour ouvrir le canal congestionné). Ce changement conformationnel est observé dans toutes les structures composées GRL-0617 ou 5c à ce jour et est un bon indicateur de la liaison des composés (Calleja et al., 2022).

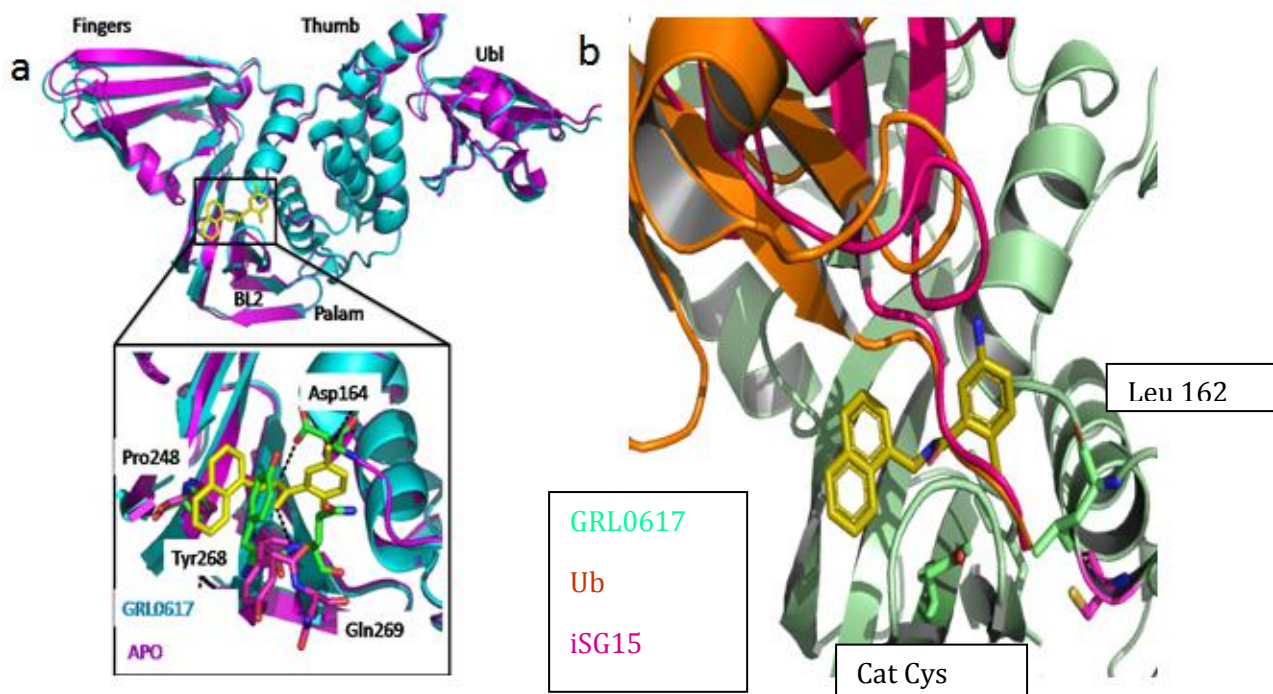


Figure 27 : Structure 3D de la complexe PL^{PRO} et GRL0617(PDB:7CMD).

2.2.2 Inhibiteur 3k :

L'inhibiteur 3k occupe le canal requis par l'enzyme pour tenir à la queue terminale en C-terminale de l'ubiquitine et de l'iSG15, qui est sur deux côtés bordée par le noyau statique du domaine PL^{PRO} Thumb et maintenue en place par la boucle de blocage plus flexible (aa 267-272), appelée BL2, une β étendue-épingle à cheveux qui se replie sur le site de liaison composé (figures 28). Tyr268 au tour de BL2 retient l'anneau central de pipéridine, l'enterrant presque entièrement dans l'enzyme ; le groupe aminé de pipéridine forme une liaison d'hydrogène avec la chaîne latérale d'Asp164 du domaine de pouce. L'anneau de naphthyle se prolonge dans une poche hydrophobe vers le bol de reliure d'ubiquitine de PL^{PRO}, contre Pro247 et Pro248 (figure 28). De l'autre côté de la molécule s'étendant vers le cavité catalytique, un groupe de phényle substitué est relié à la para-position de l'anneau de pipéridine par un amide-linker qui forme des interactions à la fois avec le domaine et BL2, y compris par une liaison hydrogène clé entre le composé amide et le carbonyle de base de BL2 Tyr268.

L'anneau de phényle substitué s'étend vers l'extérieur du noyau du domaine, en raison de la rotation de la chaîne latérale de Leu162, qui bloque le chemin vers le Cys111 catalytique (Figures 28). En conséquence, 3k et les composés apparentés semblent s'enrouler autour de BL2, à distance de la Cys111 catalytique (distance de composé la plus proche 9.7

Å), mais en concurrence directe avec ubiquitine / Ubl-queue de liaison au canal de protéase(Lv et al., 2022).

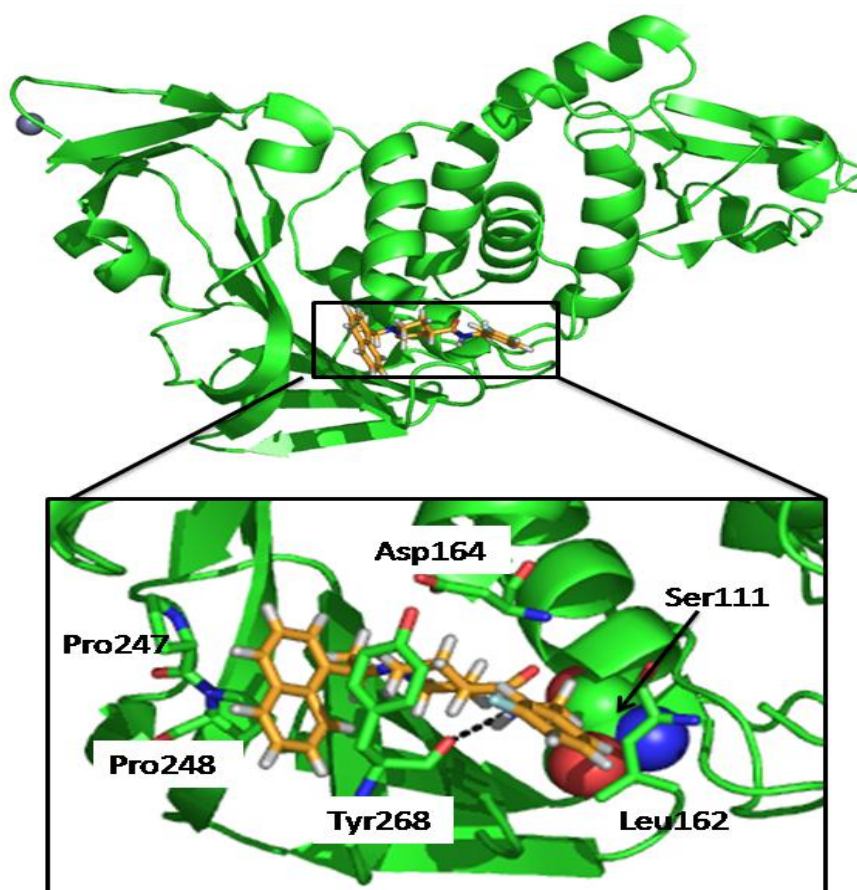


Figure 28 : Structure 3d de complexe PL^{pro} et 3k (le code PDB :7TZJ).

2.2.3 Inhibiteur Ebselen :

Ebselen est un médicament organosélénique de faible poids moléculaire qui a une faible toxicité pour les humains et qui est un double inhibiteur pour PL^{pro} et M^{pro} avec une puissance plus élevée vers M^{pro}.

Ebselen inhibe PL^{pro} avec le même mécanisme de disulfirame qu'il ajoute de façon covalente aux cystéines de SARS-CoV-2 PL^{pro} et éjecte Zn²⁺. Il a une valeur IC₅₀ de 0,67 0,09 μM mesurée par le substrat peptidique fluorogène.

Mécanisme d'inhibition:

L'inhibition par l'ebselen en PL^{pro} est effectuée par la formation d'un adduct à la cystéine catalytique pour former une liaison de sulfure de sélénium. Lorsqu'il est co-

cristallisé avec PL^{PRO} au niveau de C111S, une faible densité d'électrons montre ebselen lié à une poche peu profonde sur le domaine de la paume. Le groupe phényle du sélénium est entouré de chaînes latérales de résidus E263, K274, C284, T291 et Y296, et à l'autre extrémité, le groupe phényle est bordé par la chaîne principale de E295 et Y296 (figure 29). Ebselen a inhibé la réplication virale avec la CE50 = 4,67 μ M, ce qui pourrait avoir pour effet combiné de cibler à la fois M^{PRO} et PL^{PRO}.

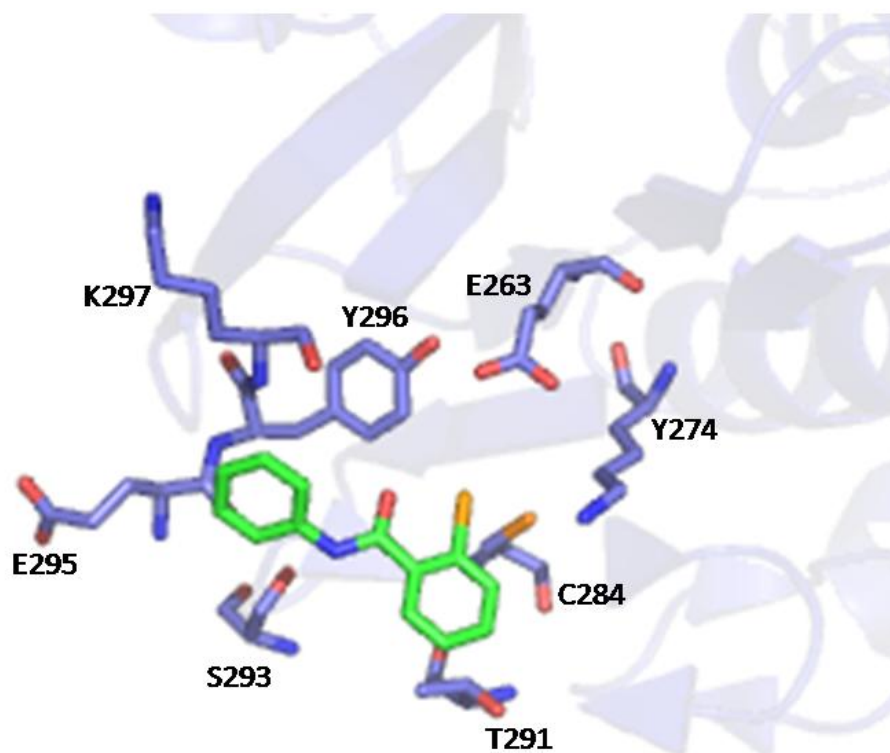


Figure 29 : Structure 3D de complexe PL^{PRO} et ebselen (PDB:7M1Y).

3 Mutations dans la protéase de papain-like du SARS-COV-2

Mutation est un phénomène courant dans les systèmes viraux et retarde l'identification des médicaments candidats.

Types de mutations :

-Alpha : A145D, M23I, T4A

-Bêta : K92N

-Gamma : K232Q

-Delta : P77L

-Kappa : T4I

-Autres : P77L,T74I,T75I,D76N,K182I

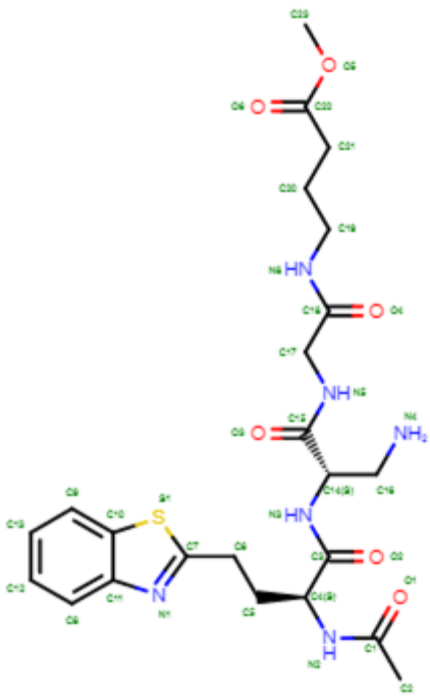
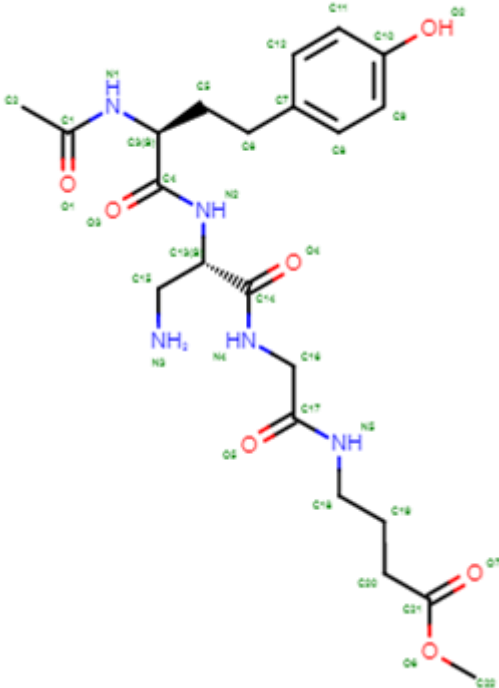
Ces résidus sont éloignés du site catalytique et ne perturberont pas la liaison des inhibiteurs adjacents au site catalytique; par conséquent, le développement d'inhibiteurs PL^{pro} ciblant les sites P1-P4 n'est pas affecté négativement par l'émergence de nouvelles variantes.

Toutefois, la localisation de la mutation est liée à la liaison d'Ubl. Par exemple, il a été démontré que la mutation de T75I rétablit partiellement l'activité du SARS-CoV-2 PL^{pro} dans le clivage du poly-Ub lié au K48. Il est intéressant de noter que de multiples mutations ont été observées dans les COV de cette région, y compris T74I, T75I, N76N et P77L. Ces mutations pourraient améliorer la faible réactivité du SARS-CoV-2 PL^{pro} vers le substrat Ub lié au K48. Cette hypothèse et le mécanisme sous-jacent sont à l'étude(Lv et al., 2022).

Tableau 6 : Les caractérisations du complexe papain-like –inhibiteurs :

Code PDB	Résolution	Nombre de chaînes	classification	Nombre des AA	Organisme	Mutation	Type de ligand
6WUU	2.79 Å	4(A,B,C, D)	EC: 3.4.22	326	CoronaVirus-2	Non mutant	covalent
6WX4	1.66 Å	1(A)	EC: 3.4.22	326	CoronaVirus-2	Non mutant	covalent
7CMD	2.59 Å	4(A,B,C, D)	EC: 3.4.22	319	CoronaVirus-2	Non mutant	Non covalent
7TZJ	2.66 Å	2 (A, B)	EC: 3.4.22	318	CoronaVirus-2	Non mutant	Non covalent
7M1Y	2.02 Å	2 (A, B)	EC: 3.4.22	318	CoronaVirus-2	C111S mutant	Non covalent
7E35	2.40 Å	2 (A, B)	EC: 3.4.22	315	CoronaVirus-2	C112S mutant	Non covalent
7SGU	1.79 Å	1(A)	EC: 3.4.22	318	CoronaVirus-2	C111S mutant	Non covalent
7LBR	2.20 Å	2(A,B)	EC: 3.4.22	316	CoronaVirus-2	Non mutant	Non covalent
7D7L	2.11 Å	2(A,B)	EC: 3.4.22	312	CoronaVirus-2	Non mutant	Non covalent

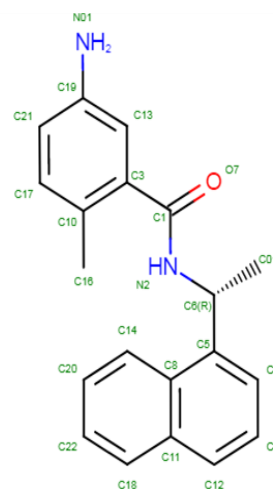
Tableau 7 : Les caractérisations des inhibiteurs :

Code	Nom	Formule	2D	ID
VIR250	methyl 4-[2- [[[(2~{S})-2- [[[(2~{S})-2- acetamido-4-(1,3- benzothiazol-2- yl)butanoyl]amino]-3- azanyl- propanoyl]amino]etha noylamino]butanoate	$C_{23}H_{32}N_6O_6S$	 The 2D chemical structure of VIR250 is a complex molecule. It features a central benzothiazole ring system (a benzene ring fused to a five-membered thiazole ring containing a sulfur atom). This is connected via a methylene group to a chiral center. This chiral center is further linked to a chain of amide bonds. The chain includes a propanoyl group, an ethyl group, and a butanoyl group, all connected through amide linkages. The terminal group is a methyl butanoate ester. The structure is highly branched and contains multiple nitrogen and oxygen atoms.	PRD_002385
VIR251	methyl 4-[2- [[[(2~{S})-2- [[[(2~{S})-2- acetamido-4-(4- hydroxyphenyl)butan oyl]amino]-3-azanyl- propanoyl]amino]etha noylamino]butanoate	$C_{22}H_{33}N_5O_7$	 The 2D chemical structure of VIR251 is a complex molecule. It features a central benzothiazole ring system (a benzene ring fused to a five-membered thiazole ring containing a sulfur atom). This is connected via a methylene group to a chiral center. This chiral center is further linked to a chain of amide bonds. The chain includes a propanoyl group, an ethyl group, and a butanoyl group, all connected through amide linkages. The terminal group is a methyl butanoate ester. The structure is highly branched and contains multiple nitrogen and oxygen atoms.	PRD_002390

GRL0617

5-amino-2-methyl-
N-[(1R)-1-
naphthalen-1-
ylethyl]benzamide

$C_{20}H_{20}N_2O$

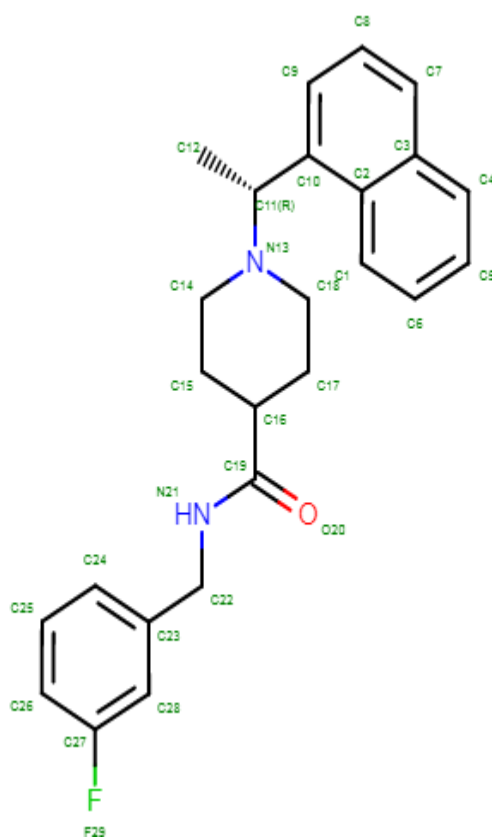


TTT

3K

N-[(3-
fluorophenyl)methyl
]-1-[(1R)-1-
naphthalen-1-
ylethyl]piperidine-4-
carboxamide

$C_{25}H_{27}FN_2O$

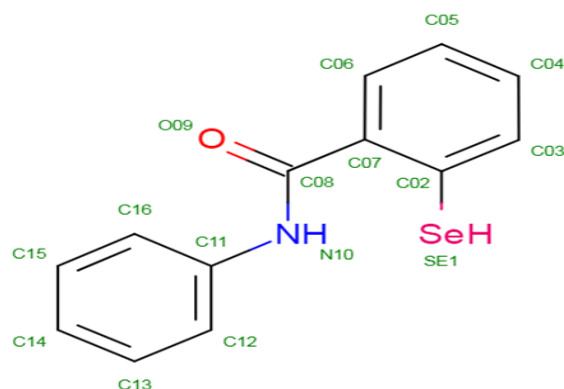


S88

EBSELEN

~{N}-phenyl-2-
selanyl-benzamide

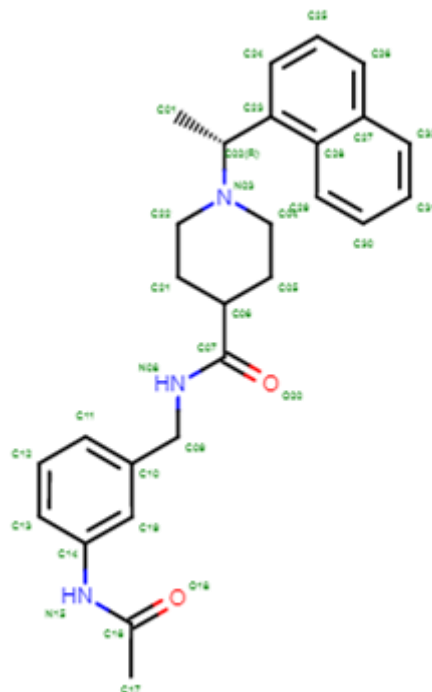
$C_{13}H_{11}NOSe$



9JT

S43

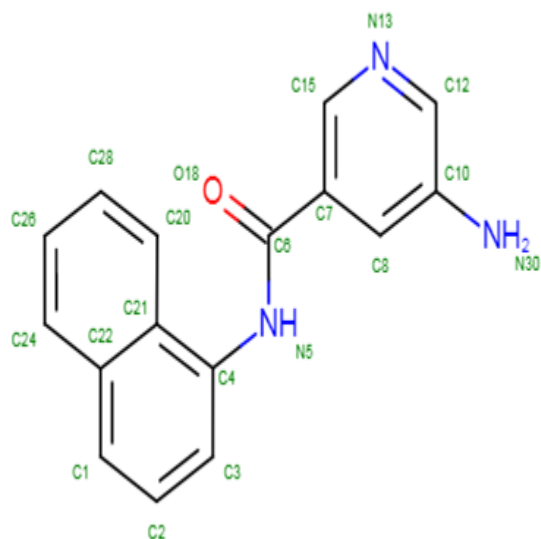
N-[(3-acetamidophenyl)methyl]-1-[(1R)-1-naphthalen-1-ylethyl]piperidine-4-carboxamide

 $C_{27}H_{31}N_3O_2$


GYX

PLP_SNYDER608

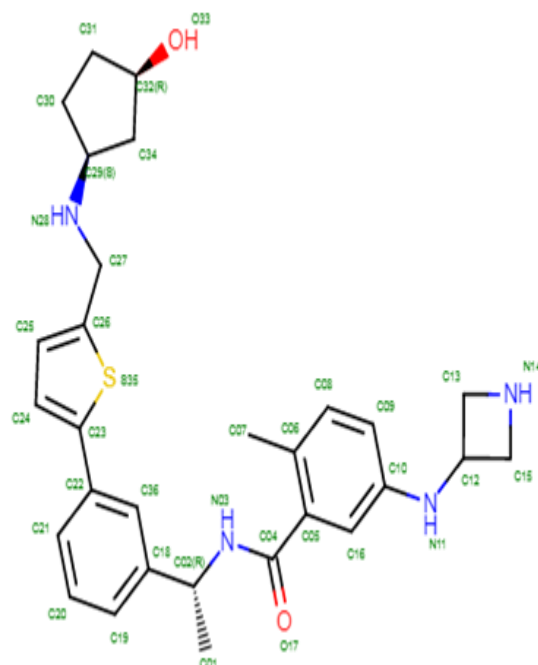
5-amino-N-(naphthalen-1-yl)pyridine-3-carboxamide

 $C_{16}H_{13}N_3O$


9EI

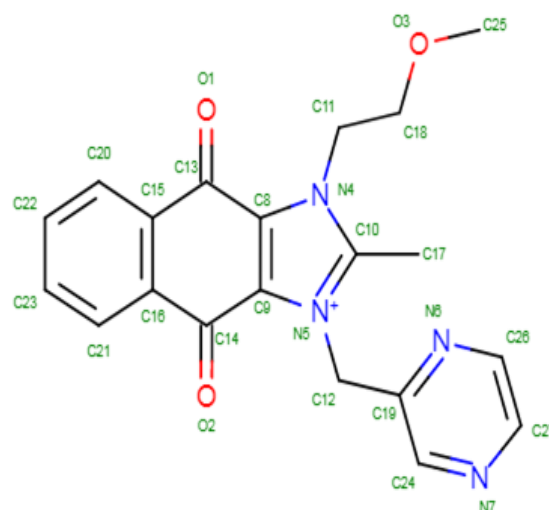
XR8-89

5-[(azetidin-3-yl)amino]-N-[(1R)-1-{3-[5-({[(1S,3R)-3-hydroxycyclopentyl]amino)methyl}thiophen-2-yl]phenyl}ethyl]-2-methylbenzamide

 $C_{29}H_{36}N_4O_2S$


YM155

1-(2-methoxyethyl)-2-methyl-3-(pyrazin-2-ylmethyl)benzo[f]benzimidazol-3-ium-4,9-dione

 $C_{20}H_{19}N_4O_3$


GXU



Conclusion

Conclusion:

L'infection par le SARS-CoV-2 est un problème de santé publique mondial. Malgré les mesures prises, l'épidémie semble hors de contrôle et demeure un problème sanitaire et économique. Depuis le début de la pandémie, aucun médicament n'a été confirmé pour le traitement, et il est devenu difficile pour les chercheurs de formuler des traitements efficaces qui nécessitent des dizaines d'années de recherche et coûtent des milliards de dollars.

Pour trouver des composés qui peuvent devenir des inhibiteurs prometteurs pour arrêter la propagation du virus, il faut premièrement comprendre le virus SARS-CoV-2 de façon exhaustive. Cela a été fait dans le premier chapitre de notre travail.

D'après notre compréhension du SARS-CoV-2, nous avons conclu que le ciblage des principales protéiques comme la protéase papain-like fait l'objet de nombreuses études visant à trouver des composés qui empêchent le virus de se reproduire.

Le but de ce travail est de simuler les interactions entre la protéase et leurs natifs inhibiteurs. Pour étudier ces interactions le logiciel PYMOL a été choisi et défini le dans le deuxième chapitre ainsi que le logiciel BioEdit et la banque PDB ces outils ont été utilisés dans le troisième et quatrième chapitre.

Dans le troisième chapitre de cette étude, la structure de la protéase papain-like de SARS-CoV-2 a été récupéré, en la téléchargeant à partir de la banque PDB (PDB : 6W9C) et étudié à l'aide du logiciel PYMOL La séquence de protéase papain-like de SARS CoV-2 a été comparées au PLpro du SARS-CoV en utilisant BioEdit. En étudiant la structure de la protéase, il a été découvert qu'elle possède un site actif, la triade catalytique (Cys111 His272 Asp286) qui peut être inhibée pour empêcher le virus de se reproduire.

Le quatrième et le dernier chapitre de cette étude, a été consacré aux inhibiteurs de la protéase de papain-like où il existe deux types : les inhibiteurs covalents VIR 250 et VIR 251 et les inhibiteurs non covalents : GRL0617, 3K et Epselon...



**Référence
Bibliographique**

Référence bibliographique :

- Algerienne, R., & Et, D. (2021). *Remerciements*.
- Alpha, B., Lubinski, B., Maureen, H. V, Diel, G., Javier, A., Gary, R., Lubinski, B., Fernandes, M. H. V, Frazier, L., Tang, T., Daniel, S., & Diel, D. G. (2022). iScience II Functional evaluation of the P681H mutation on the proteolytic activation of the SARS-CoV-2 variant. *ISCIENCE*, 25(1), 103589. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103589>
- Article, E. (2020). *Chemical Science Multi-targeting of functional cysteines in multiple conserved SARS-CoV-2 domains by clinically safe*. 9904–9909. <https://doi.org/10.1039/d0sc02646h>
- Bank, P. D. (2019). *RCSB PDB: Homepage*. Rcsb Pdb. <https://www.rcsb.org/>
- Biotechnologie, E., & Jury, D. (2015). *Etude des protéases de quelques plantes endémiques . Purification , propriétés , mécanisme d ' action et applications technologiques .*
- Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plac, L., & Richier, Q. (2020). *ScienceDirect COVID-19 : physiopathologie d ' une maladie à plusieurs visages COVID-19 : Pathogenesis of a multi-faceted disease*. 41, 375–389.
- Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plaçais, L., & Richier, Q. (2020). COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *La Revue de Médecine Interne*, 41(6), 375–389. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2020.05.003>
- Brul, S., & Amsterdam, V. U. (2020). *Ebselen as a highly active inhibitor of PL Pro*. 1–15.
- Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., & Markley, J. L. (2018). *HHS Public Access*. 627–641. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7000-1>
- Calleja, D. J., Lessene, G., & Komander, D. (2022). *Inhibitors of SARS-CoV-2 PLpro*. 10(April), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.876212>
- Cascella M, R. M. A. A. et al. (n.d.). *Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) - StatPearls - NCBI Bookshelf*. Retrieved September 8, 2022, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/?report=reader>
- Challenges and Opportunities to Develop Diagnostics and Therapeutic Interventions for Severe Acute Respiratory Syndrome- Corona Virus 2*. (n.d.). <https://doi.org/10.37871/jbres1147>
- Chen, X., Yang, X., Zheng, Y., Yang, Y., Xing, Y., & Chen, Z. (2014). *RESEARCH ARTICLE SARS coronavirus papain-like protease inhibits the type I interferon signaling pathway through interaction with the STING-TRAF3- TBK1 complex*. 5(5), 369–381. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0026-3>
- Clasman, J. R., Everett, R. K., Srinivasan, K., & Mesecar, A. D. (2020). Decoupling deISGylating and deubiquitinating activities of the MERS virus papain-like protease.

Antiviral Research, 174(November 2019), 104661.
<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104661>

Claude, U., & Lyon, B. (n.d.). *Creative commons : Paternité - Pas d ' Utilisation Commerciale -*.

Corman, V. M., Muth, D., Niemeyer, D., & Drosten, C. (2020). *free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. January.*

Coronavirus, É. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . January.*

Coronavirus, H., Milewska, A., Nowak, P., Owczarek, K., Szczepanski, A., & Zarebski, M. (2018). *crossm.* 92(3), 1–16.

Covid-19 : ce qu'il faut savoir sur les tests de dépistage RT-PCR | ameli.fr | Assuré. (n.d.). Retrieved September 26, 2022, from <https://www.ameli.fr/assure/covid-19/tester-alerter-protéger-comprendre-la-strategie-pour-stopper-l-epidemie/les-tests-de-depistage-du-covid-19/les-tests-de-depistage-rt-pcr>

De, C. (2020). *Changement de tropisme des coronavirus. January.*

De, M. (2021). *MASTER DE « Biotechnologie médicale » Conception de nouveaux inhibiteurs de 3CLpro- SARS-CoV-2 par approche in silico.*

Définition | Inhibiteur de protéase - Antiprotéase | Futura Santé. (n.d.). Retrieved September 26, 2022, from https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-inhibiteur-protéase-6942/?fbclid=IwAR1AIOw80OyKXTjel_ob_x-3euD8aNuKti2g-lrNMGoEw7vv5xpUQO_Xmg

Everest, H., Stevenson-leggett, P., Bailey, D., & Bickerton, E. (2022). *Known Cellular and Receptor Interactions of Animal and Human Coronaviruses : A Review.* 1–37.

Freitas, B. T., Durie, I. A., Murray, J., Longo, J. E., Miller, H. C., Crich, D., Je, R., Tripp, R. A., & Pegan, S. D. (2020). *Characterization and Noncovalent Inhibition of the Deubiquitinase and deISGylase Activity of SARS-CoV - 2 Papain-Like Protease.* 15.
<https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.0c00168>

Gao, X., Qin, B., Chen, P., Zhu, K., Hou, P., Aleksandra, J., Wang, M., & Cui, S. (2021). Crystal structure of SARS-CoV-2 papain-like protease. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(1), 237–245. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.08.014>

Garcia-beltran, W. F., Lam, E. C., Denis, K. S., Iafrate, A. J., Naranbhai, V., Balazs, A. B., Garcia-beltran, W. F., Lam, E. C., Denis, K. S., Nitido, A. D., Garcia, Z. H., & Hauser, B. M. (2021). Article Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity II Article Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell*, 184(9), 2372-2383.e9.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.013>

Greef, J. De, Pothen, L., Yildiz, H., Poncin, W., Reychler, G., Brilot, S., Demartin, S., Lagneaux, E., Lattenist, R., Lux, J., Pierman, G., Vandercam, G., Wallemacq, S., Scohy, A.,

Verroken, A., Mwenge, B., Liistro, G., Froidure, A., Pilette, C., ... Yombi, J. (2019). *COVID-19 : infection par le virus SARS-CoV-2. 1.*

Grudlewska-buda, K., Wiktorczyk-kapischke, N., Walecka-zacharska, E., & Kwieci, J. (2021). *SARS-CoV-2 — Morphology , Transmission and Diagnosis during Pandemic , Review with Element of Meta-Analysis. 2, 1–33.*

Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D. S. C., Du, B., Li, L., Zeng, G., Yuen, K.-Y., Chen, R., Tang, C., Wang, T., Chen, P., Xiang, J., ... Zhong, N. (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine, 382*(18), 1708–1720. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2002032>

Hall, A. T. (2011). *BioEdit : An important software for molecular biology. 2*(June), 60–61.

Hall, T. (2004). *BioEdit Help Contents.*

Hu, B. (2019). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology, December.* <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>

Huang, X., Dong, W., Milewska, A., Golda, A., Qi, Y., Zhu, Q. K., & Marasco, W. A. (2015). *Human Coronavirus HKU1 Spike Protein Uses O -Acetylated Sialic Acid as an Attachment Receptor Determinant and Employs Hemagglutinin-Esterase Protein as a Receptor-Destroying Enzyme. 89*(14), 7202–7213. <https://doi.org/10.1128/JVI.00854-15>

Hui, D. S. (2020). *Epidemic and Emerging Coronaviruses (Severe Acute Respiratory Syndrome and Middle East Respiratory Syndrome). January.*

Ibrahim, T. M., Ismail, M. I., Bauer, M. R., & Bekhit, A. A. (2020). *Supporting SARS-CoV-2 Papain-Like Protease Drug Discovery : In silico Methods and Benchmarking. 8*(November), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.592289>

Jiang, H., Yang, P., & Zhang, J. (2022). *Potential Inhibitors Targeting Papain-Like Protease of SARS-CoV-2 : Two Birds With One Stone. 10*(February), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.822785>

Kadam, S. B., Pable, A. A., Sukhramani, G. S., & Barvkar, V. T. (2021). *SARS - CoV - 2 , the pandemic coronavirus : Molecular and structural insights. December 2020, 180–202.* <https://doi.org/10.1002/jobm.202000537>

Kadam, S. B., Sukhramani, G. S., Bishnoi, P., Pable, A. A., & Barvkar, V. T. (2021). *SARS- CoV- 2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. Journal of Basic Microbiology, 61*(3), 180–202. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000537>

Kandeel, M., Kitade, Y., Fayez, M., Venugopala, K. N., & Ibrahim, A. (n.d.). *The emerging SARS - CoV - 2 papain - like protease : Its relationship with recent coronavirus epidemics.* <https://doi.org/10.1002/jmv.26497>

Khandia, R., Singhal, S., Alqahtani, T., Kamal, M. A., El-Shall, N. A., Nainu, F., Desingu, P. A., & Dhama, K. (2022). Emergence of SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant, salient features, high global health concerns and strategies to counter it amid ongoing COVID-19 pandemic. In *Environmental Research* (Vol. 209, p. 112816). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112816>

Ladoux, A., Azoulay, S., & Dani, C. (2020). Cibler la protéase majeure du SARS-CoV-2 pour fabriquer un médicament efficace contre ce coronavirus. *Médecine/Sciences*, 36(6–7), 555–558. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020106>

Lepelletier, D., Grandbastien B., Michael J. Smart, R. B. N. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-. *Ann Oncol, January*, 19–21.

Les différents types de vaccins contre la COVID-19. (n.d.). Retrieved September 26, 2022, from <https://www.who.int/fr/news-room/feature-stories/detail/the-race-for-a-covid-19-vaccine-explained>

Li, D., Luan, J., & Zhang, L. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . January.*

Liu, D. X., Liang, J. Q., & Fung, T. S. (2021). Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (Coronaviridae). *Encyclopedia of Virology, January*, 428–440. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.21501-x>

Lv, Z., Cano, K. E., Jia, L., Drag, M., & Huang, T. T. (2022). *Targeting SARS-CoV-2 Proteases for COVID-19 Antiviral Development.* 9(February), 1–31. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.819165>

Ma, C., Sacco, M. D., Xia, Z., Lambrinidis, G., Townsend, J. A., Hu, Y., Meng, X., Szeto, T., Ba, M., Zhang, X., Gongora, M., Zhang, F., Marty, M. T., Xiang, Y., Kolocouris, A., Chen, Y., & Wang, J. (2021). Discovery of SARS-CoV-2 Papain-like Protease Inhibitors through a Combination of High-Throughput Screening and a FlipGFP-Based Reporter Assay. *ACS Central Science*, 7(7), 1245–1260. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c00519>

Malik, Y. A. (2020). *Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2.* 42(1), 3–11.

Mcdanal, C., Glenn, G. M., Korber, B., & Montefiori, D. C. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- research that is available on the COVID-19 resource centre - including this Short Article SARS-CoV-2 variant B. January.*

Minist, P., Sup, E., Universit, R. S., Facult, M. C., En, M., Appliqu, M., Pr, B. M., & Aicha, B. (2011). *Remerciements.* 2010–2011.

Mizumoto, K., Kagaya, K., Zarebski, A., & Chowell, G. (2020). Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. In *Eurosurveillance* (Vol. 25, Issue 10). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180>

Of, A., & Receptors, C. (n.d.). *HUMAN CORONA VIRUS OC43.* 371–374.

Osipiuk, J., Azizi, S., Dvorkin, S., Endres, M., Jedrzejczak, R., Jones, K. A., Kang, S., Kathayat, R. S., Kim, Y., Lisnyak, V. G., Maki, S. L., Nicolaescu, V., Taylor, C. A., Tesar, C., Zhang, Y., Zhou, Z., Randall, G., Michalska, K., Snyder, S. A., ... Joachimiak, A. (2021). and its complexes with non-covalent inhibitors. *Nature Communications*, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21060-3>

Pillaiyar, T., Wendt, L. L., Manickam, M., & Easwaran, M. (2021). The recent outbreaks of human coronaviruses: A medicinal chemistry perspective. *Medicinal Research Reviews*, *41*(1), 72–135. <https://doi.org/10.1002/med.21724>

Ragia, G. (2020). *Inhibition of SARS-CoV-2 entry through the ACE2 / TMPRSS2 pathway : a promising approach for uncovering early COVID-19 drug therapies*. *2*, 1623–1630.

Razali, R., & Asis, H. (2021). *Structure-Function Characteristics of SARS-CoV-2 Proteases and Their Potential Inhibitors from Microbial Sources*.

Rohilla, S. (2021). *Designing therapeutic strategies to combat severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 disease : COVID-19*. *2*(June 2020), 12–26. <https://doi.org/10.1002/ddr.21720>

Rut, W., Lv, Z., Zmudzinski, M., Patchett, S., Nayak, D., Snipas, S. J., Oualid, F. El, Huang, T. T., Bekes, M., Drag, M., & Olsen, S. K. (2020). *Activity profiling and crystal structures of inhibitor- bound SARS-CoV-2 papain-like protease : A framework for anti – COVID-19 drug design*. *October*, 1–13.

Saxena, S. K., Kumar, S., Baxi, P., & Srivastava, N. (2020). Chasing COVID-19 through SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *VirusDisease*, *31*(4), 399–407. <https://doi.org/10.1007/s13337-020-00642-7>

Segondy, M. (2020). Dossier scientifique Les coronavirus humains. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES*, *January*, 1–8.

Sérologie : comment interpréter les résultats d'un test sérologique ? (n.d.). Retrieved September 26, 2022, from <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2638629-serologie-comment-interpreter-resultats-test-serologique/?fbclid=IwAR3lO10S4nltKnPvuBAKtlYCTIUY5T3h08EM08pRoR5G2AiHxjvGf4GmXJk>

Sérologie : tout savoir sur l'étude des sérums. (n.d.). Retrieved September 26, 2022, from <https://www.passeportsante.net/fr/specialites-medicales/Fiche.aspx?doc=serologie>

Shao, C., Feng, Z., Westbrook, J. D., Peisach, E., Berrisford, J., Ikegawa, Y., Kurisu, G., Velankar, S., Burley, S. K., & Young, J. Y. (2021). *Modernized uniform representation of carbohydrate molecules in the Protein Data Bank*. *31*(9), 1204–1218.

Shin, D., Mukherjee, R., Grewe, D., Bojkova, D., Baek, K., Geurink, P. P., Wilhelm, A., Noort, G. J. V. D. H. Van, & Ovaa, H. (2020). Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. *Nature*, *587*(April). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2601-5>

Shirato, K., Kanou, K., Kawase, M., & Matsuyama, S. (2017). Clinical Isolates of Human Coronavirus 229E Bypass the Endosome for Cell Entry. *Journal of Virology*, *91*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1128/jvi.01387-16>

Tomczak, E. W., Tomczak, J. M., & Talma, M. (2021). Identification of ebselen and its analogues as potent covalent inhibitors of papain - like protease from SARS - CoV - 2. *Scientific Reports*, *0123456789*, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83229-6>

Universit, M. I. E. D. E. V., Saint-quentin-en-yvelines, D. E. V., Veil, S., Pour, S. E.,

Diplome, L. E., En, T. A. T. D. E. D., Pr, P. A. R. N. H., Pr, D., Jami, P., Directeur, A., Co-directeur, P. C. P., & Florence, D. P. (2021). *Remerciements*. 1–113.

Virologie, P. De. (2022). *L ' impact des groupes sanguins érythrocytaires sur Le risque d ' infection et de formes graves*.

Wang, M., Zhao, R., Gao, L., Gao, X., Wang, D., & Gallagher, T. (2020). *SARS-CoV-2 : Structure , Biology , and Structure-Based Therapeutics Development*. 10(November), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.587269>

Wang, Y., Wang, Y., Chen, Y., & Qin, Q. (2020). Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *Journal of Medical Virology*, 92(6), 568–576. <https://doi.org/10.1002/jmv.25748>

Winger, A., & Caspari, T. (2021). *The Spike of Concern — The Novel Variants of SARS-CoV-2*. 1–15.

Yamaya, M., Nishimura, H., & Deng, X. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . January*.

Yuan, S. (2017). *Using PyMOL as a platform for computational drug design*. September. <https://doi.org/10.1002/wcms.1298>

Zhao, Y., Zhu, Y., & Liu, X. (2022). *Structural basis for replicase polyprotein cleavage and substrate specificity of main protease from SARS-CoV-2*. 1–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.2117142119/-/DCSupplemental.Published>

Zhou, L., Ayeh, S. K., Chidambaram, V., & Karakousis, P. C. (2021). *Modes of transmission of SARS-CoV-2 and evidence for preventive behavioral interventions*. 1–9.

Zhou, Y., He, C., Wang, L., & Ge, B. (2017). *Post-translational regulation of antiviral innate signaling*. 3, 1414–1426. <https://doi.org/10.1002/eji.201746959>

Zmudzinski, M., Rut, W., & Olech, K. (2020). *Ebselen derivatives are very potent dual inhibitors of SARS-CoV-2 proteases - PL pro and M pro in in vitro studies*.