

Un nouveau test biologique pour quantifier l'entrée de SARS-CoV-2 dans les cellules

Fabien Abdul^{1*}, Olivier Preynat-Seaube^{2*}, Aurélie Caillon³, Yves Cambet⁴, Karl-Heinz Krause^{2,3}

¹Département de microbiologie et médecine moléculaire, UNIGE

²Département diagnostique, HUG

³Département de pathologie et immunologie, UNIGE

⁴READS unit, UNIGE

* Contribution égale



1 – L'enjeu

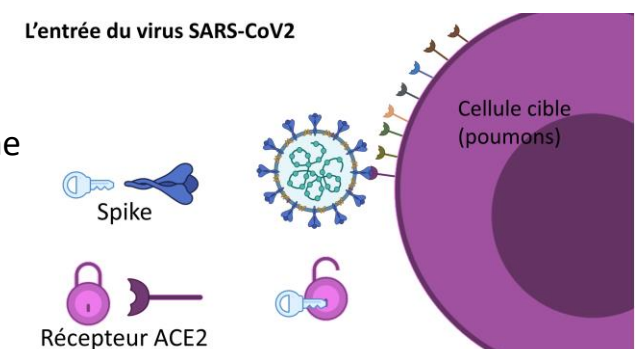
Il est très important de pouvoir reproduire au laboratoire l'entrée de SARS-CoV-2 dans les cellules de l'appareil respiratoire. Cette entrée permet au virus de se multiplier et de tuer la cellule hôte. Reproduire et mesurer au laboratoire cette entrée permettra de:

- (i) comprendre si les anticorps de la population réduisent efficacement cette étape
- (ii) Rechercher et identifier des médicaments qui bloquent cette étape

Les méthodes actuelles impliquent des laboratoires sécurisés (P2 ou P3), l'utilisation d'un virus natif ou artificiel ressemblant à SARS-CoV-2. Elles sont donc complexes, fastidieuses, peu standardisées et onéreuses.

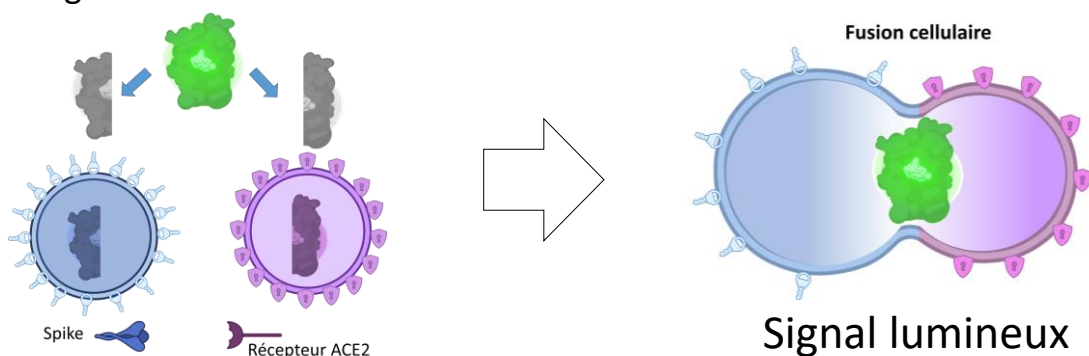
2 – Comment SARS-CoV-2 entre dans les cellules de l'appareil respiratoire ?

L'entrée du virus dépend essentiellement de l'interaction entre la protéine virale Spike (clef) et le récepteur ACE2 (serrure)



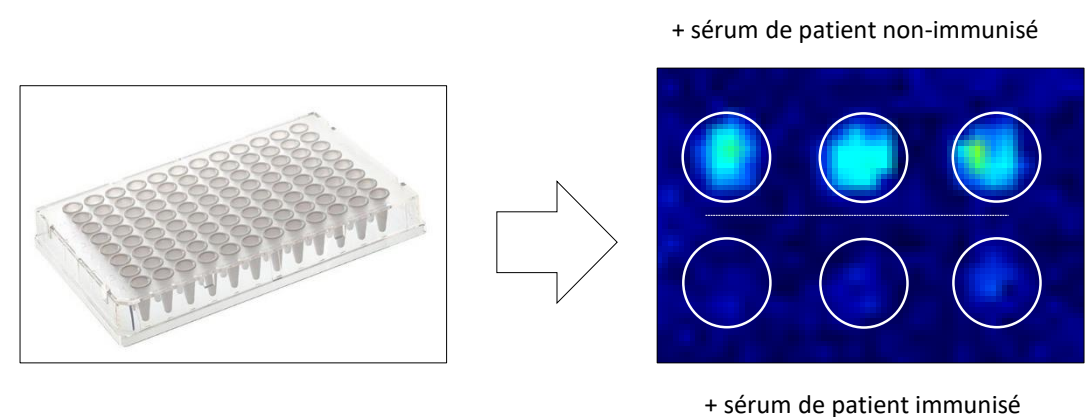
3 – Un test simple, standardisé et peu onéreux de mesure de l'entrée de SARS-CoV-2 dans les cellules

Des cellules ont été modifiées génétiquement pour exprimer soit la protéine virale Spike soit le récepteur ACE2. La luciférase, molécule émettrice de lumière a été coupée en deux et chaque moitié a été placée dans chacune des cellules. Le mélange des cellules permet l'interaction entre la clef Spike et la serrure ACE2. Un phénomène de fusion des cellules se produit qui permet la réunification de la luciférase qui va alors émettre un signal lumineux.



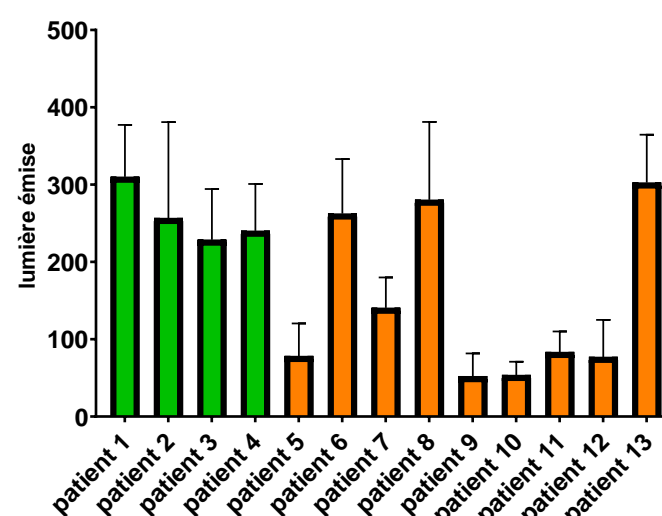
4 – Résultats

Un des avantages de cette méthode d'analyse est sa MINIATURISATION. Nous pouvons opérer 96 mesures dans une plaque de 96 puits, chaque puit permettant une mesure dans une condition donnée. L'image ci-dessous montre l'émission de lumière dans trois puits identiques. Il est intéressant de noter que l'ajout de sérum de patients présentant des anticorps anti-SARS-CoV-2 neutralise l'émission de lumière, donc l'interaction entre Spike et ACE2.



5 – Comparaison de patients immunisés versus non-immunisés

L'analyse de 4 patients ayant une sérologie négative (=non-immunisés) montre un signal utilisé comme contrôle. L'analyse dans le même test de 9 patients présentant des anticorps (=immunisés) montre 3 patients ayant un signal de lumière similaire aux contrôles non-immunisés et 6 patients ayant un signal réduit. Les anticorps ne pourraient donc pas être systématiquement efficaces sur l'entrée du virus dans la cellule.



6 – conclusions et perspectives

Ce test est simple, peu onéreux, standardisable, miniaturisable, automatisable et ne nécessite pas de laboratoire sécurisé pour protéger l'expérimentateur.

Il permettra d'étudier à large échelle l'efficacité des anticorps de la population sur l'entrée du virus dans les cellules. Il ouvre également la perspective de recherche des médicaments inhibiteurs de l'entrée du virus dans les cellules.