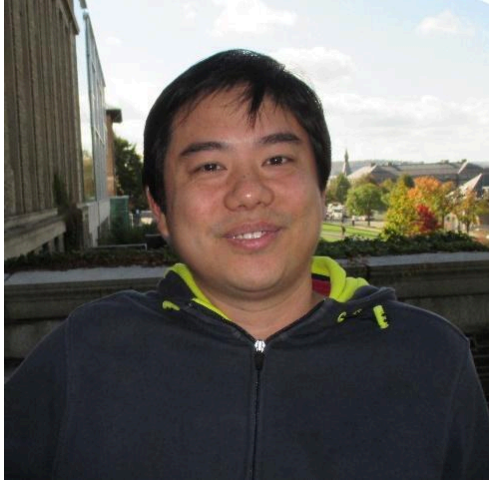


[COVID Information Commons \(CIC\) Research Lightning Talk](#)

[Transcript of a Presentation by Liqi Alex Lai \(Cornell University\), July 16, 2021](#)



Title: SARS-CoV-2 Fusion Peptide has a Greater Membrane Perturbating Effect than SARS-CoV with Highly Specific Dependence on Ca.

[Liqi Alex Lai CIC Database Profile](#)

NIH Project #: [5P41GM103521-20](#)

[YouTube Recording with Slides](#)

[July 2021 CIC Webinar Information](#)

Transcript Editor: Julie Meunier

Transcript:

Liqi Alex Lai:

Slide 1

Bonjour à tous et merci aux organisateurs. Mon sujet porte sur le peptide de fusion SARS-CoV-2, qui est plutôt une étude bio-physique.

Slide 2

C'est ainsi que le virus du SRAS pénètre dans les cellules de l'hôte. Il s'agit d'un processus commun à de nombreux virus à enveloppe. Le virus s'attache d'abord aux récepteurs de la membrane cellulaire, puis il peut emprunter deux voies. La première consiste à traverser la membrane plasmique. Il y a donc fusion entre l'enveloppe du virus et la membrane plasmique. Ensuite, le virus est d'abord englouti par la cellule hôte pour aller dans l'endosome, puis la fusion entre la membrane endosomale et l'enveloppe virale libère le matériel génétique dans la cellule hôte.

Slide 3

Au cours de ce processus, la protéine spike ou d'autres protéines similaires ou d'autres virus sont très importants. Fondamentalement, la protéine spike est un trimère d'hétérodimères S1-S2. La S1 est responsable de la liaison des récepteurs et la sous-unité S2 est responsable de la fusion des membranes. Comme nous pouvons le voir ici, une toute petite partie, que nous appelons le peptide de fusion, est insérée dans la membrane. Cette insertion est très importante car elle déclenche la fusion membranaire, une étape indispensable à l'infection virale. C'est pourquoi nous devons découvrir le mécanisme

d'interaction du peptide de distribution avec la membrane et la manière dont il déclenche la fusion membranaire.

Slide 4

La méthode que nous utilisons principalement est celle que nous appelons ESR [vitesse de sédimentation des érythrocytes], c'est-à-dire la méthode du spectromètre magnétique. En gros, nous voulons placer des lipides marqués par un spin libre sur la membrane, comme nous le montrons ici, et ce faisceau localisera nos différentes positions dans la membrane. Ensuite, nous mélangeons le peptide de fusion à la membrane et détectons le changement de structure de la membrane, qui est reflété par le spectre. Nous recueillons donc ce spectre, puis nous répétons l'expérience en fonction de la concentration du peptide. Ensuite, à partir de ce spectre, nous effectuons une simulation et nous extrayons les paramètres. L'un des paramètres les plus importants dans cette étude est appelé paramètre d'ordre. Comme vous pouvez le voir sur cette figure, si la concentration du peptide augmente, le x n'augmente pas beaucoup non plus et il y a donc un saut de type x . Nous avons répété cette expérience pour un très grand nombre de peptides. Nous avons répété cette expérience pour une très large gamme de peptides de fusion de virus et ce que nous avons constaté, c'est que le peptide de fusion actif induit cette forme de saleté, alors que les mutants et les mutants non actifs ne peuvent pas induire ce type de saleté. Nous pensons donc que cet effet d'ordonnement de la membrane est une condition préalable à la fusion membranaire dans le processus d'entrée virale.

Slide 5

Lorsqu'il s'agit de la glycoprotéine SARS-CoV, la protéine S, il est un peu difficile de déterminer quelle partie est le peptide de fusion, car la protéine S du SARS COVID possède plusieurs sites de clivage distincts. Les plus importants sont l'outil que nous appelons le côté S1H2 et le côté primaire S2, que l'on voit ici. La première chose à faire est donc de déterminer lequel est le véritable peptide de fusion. En fait, nous avons plusieurs candidats et si nous les plaçons dans un système artificiel, ils peuvent induire une sorte de fusion membranaire artificielle. C'est donc très... ce n'est pas très efficace. Ils utilisent la méthode traditionnelle. C'est pourquoi nous pensons que l'ordre de la membrane peut être un critère permettant d'identifier le véritable peptide de fusion.

Slide 6

Ce que nous constatons ici, c'est que le FP1 peut montrer un saut très significatif alors que les deux autres candidats ne peuvent pas avoir ce genre de degré d'augmentation. Ainsi, nous pouvons finalement identifier - déterminer que le FP1 qui se trouve immédiatement après le site de clivage de la position primaire S2 est le véritable peptide de fusion. Au cours de ce processus, nous avons également découvert une chose très intéressante qui n'est pas rare dans le virus - qui dépend du calcium. Ainsi, comme vous pouvez le voir ici, sans calcium, il n'y a pas de saut important. Et ici, si nous fixons la concentration du peptide de fusion et augmentons la concentration de calcium, nous pouvons voir que le calcium augmente de manière significative la capacité du peptide de fusion à induire la mise en ordre de la membrane.

Slide 7

En ce qui concerne le peptide de fusion du SRAS-2, nous comparons d'abord la séquence du SRAS avec celles du SRAS-1, du SRAS-2 et du MERS et nous identifions la séquence homologue du SRAS-2. Nous

pensons alors qu'il s'agit du peptide de fusion du SRAS-2. Nous réalisons ensuite cette expérience et nous constatons qu'il peut également induire l'ordonnement de la membrane et l'état du calcium. Nous avons ensuite comparé la capacité du SARS-1, du SARS-2 et du MERS à induire l'ordonnement de la membrane, et nous avons constaté que le SARS-2 avait une activité plus élevée. Nous avons également détecté que la dépendance au calcium du peptide de fusion du SARS-2 est très spécifique, comme nous l'avons montré ici. Les autres ions n'ont pas - ne peuvent pas induire l'ordonnement de la membrane autant que le calcium. Ainsi, et avec une autre méthode, nous pouvons également savoir qu'un peptide de fusion du SRAS-2 lie deux ions calcium et que l'interaction entre le peptide de fusion du SRAS-2 et le calcium est plus forte que ces - ce dernier est le peptide de fusion du MERS.

Slide 8

Nous allons également plus loin en formant un peptide de fusion distinct pour l'hôte par le biais d'un trimère de protéines. N'oublions pas que le peptide de fusion n'est qu'une partie de la protéine entière et que nous devons savoir si la protéine entière - le domaine du peptide de fusion de la protéine entière - fonctionne comme le peptide de fusion séparé. Nous utilisons donc une particule virale de pseudotype que nous appelons pp et qui exprime les trimères de la protéine spike sur la membrane. Nous les utilisons pour interagir avec les SUV qui ont une étiquette de spin sur la membrane et nous détectons alors l'augmentation de l'ordre de la membrane en temps réel. Ainsi, comme nous pouvons le voir ici, après avoir déclenché avec le calcium, nous pouvons constater le saut, et si nous utilisons d'autres ions, nous ne pouvons pas l'observer. Cela signifie donc que l'ancrage du trimère de la protéine S dans la membrane induit également l'ordonnement de la membrane comme le peptide de fusion et qu'il s'agit d'un facteur très spécifique dépendant du calcium.

Slide 9

Il s'agit donc d'une conclusion. Le peptide de fusion SARS-2 se situe en aval du site de clivage primaire S2 et peut induire la mise en ordre de la membrane de manière dépendante du calcium. Il se lie spécifiquement au calcium dans un rapport d'un peptide pour deux calcium et a une affinité de liaison plus élevée et un effet de mise en ordre de la membrane plus fort que le peptide de fusion SARS-1. Nous avons également remarqué que le trimère de la protéine S2-S du SRAS induit également l'ordonnement de la membrane comme le peptide de fusion séparé. Cette étude nous aidera donc à comprendre le mécanisme d'entrée du virus dans la cellule entière et nous indiquera également comment développer des médicaments et des vaccins. Voilà, c'était mon exposé. Je vous remercie de votre attention.