



Title: [RAPID: Ecological Dynamics of Human Coronavirus](#), [EAGER: Rapid and Sensitive Drug Testing for COVID-19](#)

John Yin CIC Database Profile

NSF Award #: [2029281](#), [2030750](#)

YouTube Recording with Slides

December 2020 CIC Webinar Information

Transcript Editor: Macy Moujabber

Transcript

Slide 1

Donc, je suis John Yin. Je suis professeur de génie chimique et biologique à l'Université du Wisconsin-Madison. Je fais également partie de l'Institut de découverte du Wisconsin et j'ai l'honneur de partager certains de nos travaux. Il s'agit en fait de travaux en cours depuis les 15 dernières années que nous avons réorientés pour les appliquer au coronavirus. Il s'agit de réguler les infections par le coronavirus. Nous avons deux projets de recherche. L'un vise à augmenter les infections et l'autre vise à les réduire. Je vais essayer d'expliquer ce que cela signifie.

Slide 2

Je n'ai pas réalisé ces travaux. Les personnes qui ont réalisé ces travaux sont toutes présentes ici, passées et présentes, beaucoup d'entre elles travaillent maintenant dans l'industrie ou le milieu universitaire. Je pense que deux de mes collègues, Nan Jiang et Huicheng Shi, sont présents dans l'appel avec nous aujourd'hui. Ce sont donc ces personnes qui réalisent réellement le travail.

Slide 3

Pour vous aider à comprendre d'où je viens, je dois vous expliquer comment nous quantifions le virus infectieux. Il existe une méthode standard pour quantifier le virus infectieux. Nous avons une solution de stock de virus que nous aimerions quantifier, généralement des millions ou des dizaines de millions de particules, et nous aimerions savoir combien de particules sont réellement présentes. La manière dont nous faisons cela est en réalisant une série de dilutions connues, c'est un peu comme diluer une boisson jusqu'à obtenir quelques tubes qui contiennent simplement des nombres comptables de particules. Les volumes connus de ces tubes fortement dilués sont placés sur des monocouches de cellules, indiquées ici en rouge et recouvertes de gel d'agar, et elles sont autorisées à se reproduire. Les virus se propagent localement et tuent les cellules. Ensuite, nous colorons les cellules en bleu et partout où ce virus a tué

les cellules, il y a un petit trou. Le trou s'appelle une plaque, une région de cellules mortes causée par un seul virus que nous pouvons maintenant voir à l'œil nu. En comptant ces trous, ou plaques, nous pouvons déduire en connaissant les volumes que nous avons et la dilution du stock original, combien de particules nous avons dans le stock original. Donc, c'est un outil clé que nous utilisons pour quantifier l'infection et que nous utiliserons pour caractériser comment nous augmentons ou diminuons les virus.

Slide 4

La première chose que nous avons faite ici était d'essayer d'explorer des moyens d'obtenir plus de signal de ce type de test. Ce que nous avons fait, c'est au lieu de recouvrir d'agar, comme je le montre dans les cas sans écoulement, ce sont des plaques standard que vous pourriez voir dans des boîtes de Pétri où il y a des plaques et vous les compteriez. Nous avons réalisé l'infection en présence de liquide plutôt qu'en utilisant une couche d'agar, et nous avons découvert que si vous ne touchez pas les plaques, des écoulements spontanés se produisent, des écoulements radiaux vers l'extérieur qui créent des morphologies de plaques semblables à des comètes. Il y a donc un écoulement qui se produit automatiquement là-dedans qui aide à propager le virus. Et pour des plaques qui ont le même niveau de virus, nous voyons un signal beaucoup plus lumineux, nous avons donc un rapport signal/bruit beaucoup plus élevé. Nous avons réalisé des modèles théoriques, des modèles informatiques de ce processus et en essence nous avons dit : ceci pourrait être un outil utile pour caractériser les médicaments. Que se passe-t-il si vous ajoutez des médicaments contre le virus à ce type de signal ?

Slide 5

Ici, dans le coin supérieur gauche, nous avons un échantillon qui ne contient pas de médicament, puis nous avons cinq autres échantillons qui contiennent des quantités croissantes de médicament, et ce que vous constatez, c'est que les feux d'artifice s'estompent à mesure que nous augmentons la quantité de médicament. Cela signifie que nous avons de moins en moins de propagation du virus et moins d'infection. Nous pouvons quantifier cela ici, et sur le graphique, vous voyez un essai de comète amélioré par l'écoulement par rapport à l'essai de réduction de la plaque, qui est actuellement la norme de référence. Donc, notre test est environ 20 fois plus sensible et plus rapide à réaliser que le test de plaque existant pour les médicaments. C'est quelque chose que nous avons breveté il y a cinq ans et avec le financement du NIH [Institut national de la santé], désolé du financement de la NSF [Fondation nationale de la science]. Nous allons maintenant adapter ce test pour tester les médicaments contre le coronavirus. C'était augmenter l'infection et faciliter la propagation. Nous sommes également intéressés à diminuer l'infection.

Slide 6

Comment diminuez-vous les infections virales ? Cela peut se produire dans la nature. Voici trois scénarios. Le premier est que le virus infecte la cellule et produit un tas de particules virales. Typiquement, pour le coronavirus, il produit environ 100 particules de coronavirus par cellule. Parmi ces particules virales, il peut y en avoir de défectueuses. Donc, les particules défectueuses, indiquées en orange ici, si elles pénètrent dans une cellule, elles ne produisent rien. Elles ne peuvent pas se développer. Cependant, la particule défectueuse conserve certains aspects du virus. La capacité à utiliser la machinerie de réplication virale. Ainsi, si à la fois un virus intact, indiqué ici en bleu, et le virus défectueux, indiqué en orange, pénètrent dans la même cellule en co-infection, alors la particule défectueuse peut se reproduire, volant des ressources à la croissance du virus normal. Donc, ces

particules défectueuses sont appelées particules interférentes défectueuses car elles interfèrent avec la croissance normale du virus. Elles sont connues depuis longtemps depuis les années 1950, et dans les années 1970, j'ai pris cet extrait de cet article de revue très important en 1970. Donc, il y a 50 ans, les gens spéculaient déjà sur le fait que celles-ci pourraient jouer un rôle dans les maladies virales. S'appuyant sur cela, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'essayer de quantifier l'interférence. Comment quantifiez-vous l'interférence ?

Slide 7

Eh bien, nous avons mis en place quelque chose comme le test de comète et les détails ici ne sont pas si importants si ce n'est que nous avons dû faire quelques dilutions et au lieu de fournir des virus vivants aux cellules comme nous le faisons pour le test de plaque, nous devons fournir des cellules infectées par des particules défectueuses. C'est sur cela que les particules défectueuses se nourrissent.

Slide 8

Si je passe à la diapositive suivante, nous pouvons voir les données telles que à mesure que nous augmentons les niveaux de ces particules interférentes défectueuses allant de gauche à droite sur l'axe des x, la production de virus diminue, puis remonte. Si nous regardons la production des creux des particules défectueuses - comment elle dépend de leurs propres niveaux d'entrée, nous avons un autre type de comportement qui augmente jusqu'à un certain point, puis chute très rapidement. Donc, le point clé ici est que les creux présentent un comportement complexe en ce qui concerne leur capacité à inhiber la croissance du virus, et également en ce qui concerne leur capacité à influencer leur propre réplication. Ainsi, pour mieux comprendre cela, nous avons étudié un autre type de virus, un virus de type rage, et nous avons conçu deux types de virus. L'un qui transporte une protéine fluorescente rouge, donc lorsqu'il infecte des cellules, il colore les cellules en rouge, et l'autre qui est une particule défectueuse qui transporte une protéine fluorescente verte.

Slide 9

Le scénario est le suivant. Il existe deux virus différents. L'un est le virus rouge et l'autre est le virus défectueux vert. Et ce que nous faisons, c'est infecter une seule cellule avec les deux et observer comment ils se propagent sur plusieurs générations. Donc, dans cette boîte, vous ne voyez aucune protéine fluorescente trois heures après l'infection, vous ne voyez aucune protéine fluorescente, et si vous regardez en haut à droite, vous verrez le temps s'écouler à mesure que nous prenons des images à divers moments. C'est 300 microns, soit environ un tiers de millimètre. D'accord, surveillez la minuterie et observez les motifs.

C'est notre pandémie dans une boîte de Pétri. Donc, des millions de cellules sont infectées à partir de cette seule particule virale et les particules défectueuses libérées par cette cellule se propagent sur cette période de moins d'une journée environ. Nous avons utilisé cela pour étudier en profondeur ce qui se passe au niveau de la cellule unique et ces types de motifs que vous verrez sont assez complexes. C'est vraiment un comportement prédateur-proie dans le sens où le virus défectueux se nourrit des cellules infectées.

Slide 10

Si nous examinons l'étendue de la propagation normale du virus en l'absence de toute particule défectueuse, nous pouvons voir que le rouge s'étend. En présence uniquement de particules défectueuses, il n'y a aucune infection, mais en présence des deux, nous obtenons une propagation de la co-infection qui est inhibée par rapport au virus normal. Alors, nous nous demandons si les particules défectueuses de coronavirus pourraient être utilisées pour traiter la COVID-19 d'une manière qui inhibe ou ralentit la propagation.

Slide 11

Aujourd'hui, je vous ai parlé de deux cas où nous amplifions la propagation de l'infection, ce qui est bénéfique pour les tests antiviraux car cela nous donne un test plus sensible. J'ai également abordé la réduction de l'infection. Il existe des particules naturelles qui résultent de ces infections et qui peuvent inhiber la croissance et la propagation des virus. Nous espérons étudier cela pour réduire la gravité de la COVID-19, désolé, cela devrait être COVID-19. Si vous souhaitez en savoir plus, je serais ravi de répondre à vos questions par chat ou par e-mail. Merci beaucoup.