

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Neuraminidase N8 et mutations de résistance à l'oseltamivir

Nom, Prénom du Maitre de Stage : ESCURET Vanessa

Qualité : MCU-PH Faculté de Médecine Lyon Est

Téléphone : 04 78 77 10 08 (04 72 07 10 35) **E-mail** : vanessa.escuret@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : LINA Bruno

Qualité : PU-PH Faculté de Médecine Lyon Est

Téléphone : 04 78 77 10 04 (04 72 07 10 20) **E-mail** : bruno.lina@univ-lyon1.fr

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : Inserm U1111, CNRS UMR5308, CIRI, ENS Lyon – Pr Bruno LINA
- Equipe Virpath

Adresse : 4^{ème} étage, Bât B, Faculté de Médecine RTH Laënnec, 7 RUE GUILLAUME PARADIN
69372 LYON Cedex 08

Nom du candidat éventuellement proposé :

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - Non

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s),...):

Les virus influenza A ont pour réservoir les oiseaux sauvages aquatiques. La majorité de ces virus sont faiblement pathogènes (LP, *low pathogenic*) chez l'oiseau car bien adapté à cet hôte mais certains sont hautement pathogènes (HP). Certains virus aviaires peuvent infecter l'homme avec un taux de mortalité élevé, c'est le cas des virus A(H5N1)HP ou A(H7N9)LP. En 2014-2015 et 2016-2017 des virus A(H5N8) HP transmis par les oiseaux sauvages ont causé des épidémies dans les élevages aviaires dans le monde et notamment en France. A ce stade le risque de transmission de ce virus A(H5N8)HP à l'homme est très faible et reste sous surveillance. Les antiviraux actuellement utilisés contre la grippe sont des analogues d'acide sialique et inhibent la neuraminidase (NA) des virus influenza. La NA permet notamment la propagation des virions après bourgeonnement. Les inhibiteurs de la neuraminidase (INA) disponibles en France sont l'oseltamivir et le zanamivir. La poche catalytique de la NA est bien conservée malgré des différences selon les groupes de NA. Pour les virus influenza A on distingue les NA du groupe 1 (N1, N4, N5, N8) et les NA du groupe 2 (N2, N3, N6, N7, N9). La majorité des NA des virus influenza circulant sont actuellement sensibles aux INAs mais des substitutions d'acides aminés ayant des fonctions structurales ou plus rarement catalytiques de la NA peuvent conférer une résistance aux INAs. Avec l'émergence de virus influenza A aviaires dont certains peuvent infecter l'homme, la question du traitement antiviral et de l'émergence de virus porteurs de substitutions dans la NA conférant une résistance aux INAs est d'actualité. L'impact des mutations de résistance est bien connu pour les N1 et N2 des virus influenza A infectant l'homme. Mais l'impact de mutations de résistance sur les autres NA d'origine aviaire est peu connu. Nous avons déjà travaillé au laboratoire sur l'analyse de l'impact de la mutation H274Y (numérotation dans N2) connue pour conférer une résistance à l'oseltamivir sur les NA du groupe 1 (N1, N4 et N5). Mais nous n'avons pas encore de résultat pour la N8.

Objectifs : L'objectif du travail proposé est d'analyser l'impact de la substitution H274Y sur les propriétés enzymatiques, la stabilité et la structure d'une N8 issue d'un virus A(H5N8)HP qui a circulé dans les élevages de volailles en France en 2016-2017.

Méthodologie : Nous disposons au laboratoire d'un virus A(H5N8)HP inactivé (MTA dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire Anses de Ploufragan, Dr Nicolas Eterradossi). Après amplification puis clonage de la N8, une expérience de mutagenèse dirigée permettra de disposer de N8 sauvage ou portant la mutation H274Y. Nous construirons ensuite par génétique inverse (fond A/Puerto Rico/8/1934) des virus réassortants portant la NA sauvage ou substituée.

L'impact de la mutation sur la résistance aux antiviraux, les propriétés enzymatiques et la stabilité de la N8 sera analysé dans ce contexte de virus réassortant entier. Si le travail évolue rapidement, l'impact d'autres mutations de résistance sur la N8 pourra aussi être éventuellement étudié.

Sur un plan mécanistique il sera intéressant de comprendre comment les mutations de la NA peuvent affecter le niveau d'expression à la surface cellulaire et en particulier quel est leur impact sur le réarrangement du tétramère de NA ou le transport de la NA à la surface des virions.

Principales Références du laboratoire en lien avec le sujet:

- Gaymard A, Charles-Dufant A, Sabatier M, Cortay JC, Frobert E, Picard C, Casalegno JS, Rosa-Calatrava M, Ferraris O, Valette M, Ottmann M, Lina B, Escuret V. 2016. Impact on antiviral resistance of E119V, I222L and R292K substitutions in influenza A viruses bearing a group 2 neuraminidase (N2, N3, N6, N7 and N9). *J Antimicrob Chemother.* 71:3036-3045.
- Escuret V, Collins PJ, Casalegno JS, Vachieri SG, Cattle N, Ferraris O, Sabatier M, Frobert E, Caro V, Skehel J, Gamblin S, Valla F, Valette M, Ottmann M, Mccauley JW, Daniels RS, Lina B. 2014. A Novel I221L substitution in neuraminidase confers high-level resistance to oseltamivir in influenza B viruses. *JID.* 210:1260-1269.
- Ferraris O, Escuret V, Bouscambert M, Casalegno J S, Jacquot F, Raoul H, Caro V, Valette M, Lina B, Ottmann M. 2012. H1N1 influenza A virus neuraminidase modulates infectivity in mice. *Antiviral Res.* 93: 374-380.
- Moules V, Terrier O, Yver M, Riteau B, Moriscot C, Ferraris O, Julien T, Giudice E, Rolland J P, Erny A, Bouscambert-Duchamp M, Frobert E, Rosa-Calatrava M, Pu Lin Y, Hay A, Thomas D, Schoehn G, Lina B. 2011. Importance of viral genomic composition in modulating glycoprotein content on the surface of influenza virus particles. *Virology.* 414: 51-62.
- Richard M, Ferraris O, Erny A, Barthelemy M, Traversier A, Sabatier M, Hay A, Lin Y P, Russell R J, Lina B. 2011. Combinatorial effect of two framework mutations [E119V and I222L] in the neuraminidase active site of H3N2 influenza virus on resistance to oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother.* 55: 2942-2952.
- Ottmann M, Duchamp M B, Casalegno J S, Frobert E, Moules V, Ferraris O, Valette M, Escuret V, Lina B. 2010. Novel influenza A(H1N1) 2009 in vitro reassortant viruses with oseltamivir resistance. *Antivir Ther.* 15: 721-726.
- Casalegno J S, Bouscambert-Duchamp M, Caro V, Schuffenecker J, Sabatier M, Traversier A, Valette M, Lina B, Ferraris O, Escuret V. 2010. Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) viruses in south of France. 2007/2009. *Antiviral Res.* 87 :242-248.