

Cos'è SARS-CoV2 dal punto di vista genetico e come si è evoluto da animale a uomo?

Abstract

La componente principale dei virus è il suo DNA o RNA, in quanto essenziale per la sua replicazione e la sua sopravvivenza all'interno dell'ospite. Capire il genoma di SARS-CoV2 è diventata una priorità tra i ricercatori, in quanto può fornire informazioni sui suoi meccanismi d'azione e a sua volta potrebbe portare non solo alla comprensione di come trattare l'infezione e le complicazioni associate, ma anche al possibile sviluppo di vaccini efficaci.

Il recettore ACE2 nelle cellule umane è normalmente presente sull'epitelio di molti organi interni, come il cuore, vasi sanguigni e nei polmoni - in particolare su alcune cellule epiteliali degli alveoli polmonari - dove si verificano gli scambi gassosi. È probabilmente tramite tale recettore che il virus infetta l'uomo.

I primi casi di infezione erano collegati ad un mercato all'ingrosso di animali vivi nella città di Wuhan, in Cina, suggerendo che questo posto specifico potrebbe essere stato la fonte di questa epidemia, dove probabilmente il virus si è trasmesso da un animale ad un essere umano.

Sapere come il genoma del virus si sia evoluto e trasformato in una minaccia per gli esseri umani sta sconcertando i ricercatori da tutto il mondo, in quanto capire come sia iniziata una pandemia rappresenta la chiave per poter prevenire la prossima. La somiglianza genetica tra il SARS-CoV-2 e simili Coronavirus ritrovati nel pipistrello, indicano questa come la specie che più probabilmente ha fatto da incubatore per il progenitore del virus. Tuttavia SARS-CoV2 è passato attraverso un animale intermedio, come nel caso dell'epidemia del 2002, la quale è stata trasmessa dai rinolofidi agli zibetti, all'essere umano.

Oltre a questa, sono qui presentate possibili spiegazioni dell'origine della SARS-CoV2 e della trasmissione dagli animali all'uomo.

Parole Chiave

ACE (enzima di conversione dell'angiotensina) RBD (Dominio di legame recettoriale) Ratg13 (un coronavirus che colpisce i pipistrelli correlato alla SARS).

Cos'è la SARS-Cov2 da una prospettiva genetica?

I meccanismi di azione di SARS-Cov 2 dipendono dalla presenza dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (recettore ACE2) sulle cellule umane.

ACE2 è normalmente espresso sull'epitelio di molti organi interni, come polmoni, cuore e vasi sanguigni ed è normalmente coinvolto in vie biochimiche fondamentali, come la regolazione della pressione sanguigna, la guarigione delle ferite e delle infiammazione. ACE2 è particolarmente espresso sui pneumociti che sono le cellule epiteliali degli alveoli polmonari, dove avviene lo scambio tra ossigeno e anidride carbonica.

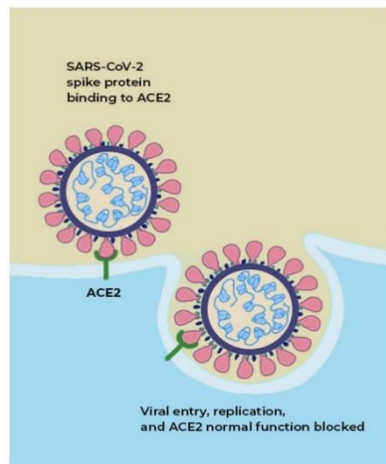


Figura 1: La proteina ACE2 è espressa sulla superficie esterna di molti organi interni, come polmoni, cuore e vasi sanguigni. La proteina spike SARS-Cov 2 è geneticamente progettata per interagire con ACE2. Dopo questa interazione, l'epitelio è in grado di cambiare la sua struttura, piegare intorno al virus e includerlo all'interno dell'organo, dove inizia a replicarsi e infettare l'ospite, e quindi bloccare le normali funzioni ACE2.

Una volta nel corpo umano, è stato dimostrato che SARS-Cov 2 può specificamente legarsi con il recettore ACE2 sulla superficie delle cellule epiteliali, utilizzando la proteina chiamata "Spike", entrando così nella cellula e iniziando l'infezione. Una sezione specifica di Spike chiamata RBD, è responsabile dell'interazione con il recettore ACE2. Questa sezione è in effetti la parte più variabile del genoma del coronavirus e gli amminoacidi (blocchi che costituiscono le proteine) di questa hanno dimostrato essere fondamentali per il legame con i recettori ACE2 e quindi determinare la suscettibilità dell'ospite.

Il meccanismo è simile ad un'interazione tra una chiave e una serratura: la proteina Spike è la chiave, il ricevitore ACE2 è la serratura per entrare nelle cellule umane.

L'infezione innesca una compromissione dei processi normalmente mediati dal recettore ACE2, quindi causa un'accelerazione nello sviluppo delle infiammazioni e la morte delle cellule degli alveoli, riducendo la quantità di ossigeno introdotta nel corpo, come mostrato nella Figura 1 e Figura 2

Nei Coronavirus, il gene della proteina Spike non è solo molto importante in quanto parte più variabile del genoma virale, ma può essere utilizzato per classificare meglio i virus. Infatti, anche una piccola mutazione del gene della proteina Spike può determinare un grande cambiamento della struttura della proteina, cambiando il modo in cui la particella virale si attacca ai recettori nelle cellule umane (da qui la specificità verso una particolare cellula).

Le analisi del gene Spike di SARS-Cov 2 hanno dimostrato che la sua struttura è unica e crea legami con il recettore umano quattro volte più forti di quelli di altri coronavirus: questo potrebbe essere una delle ragioni per cui il nuovo coronavirus è così altamente contagioso [1].

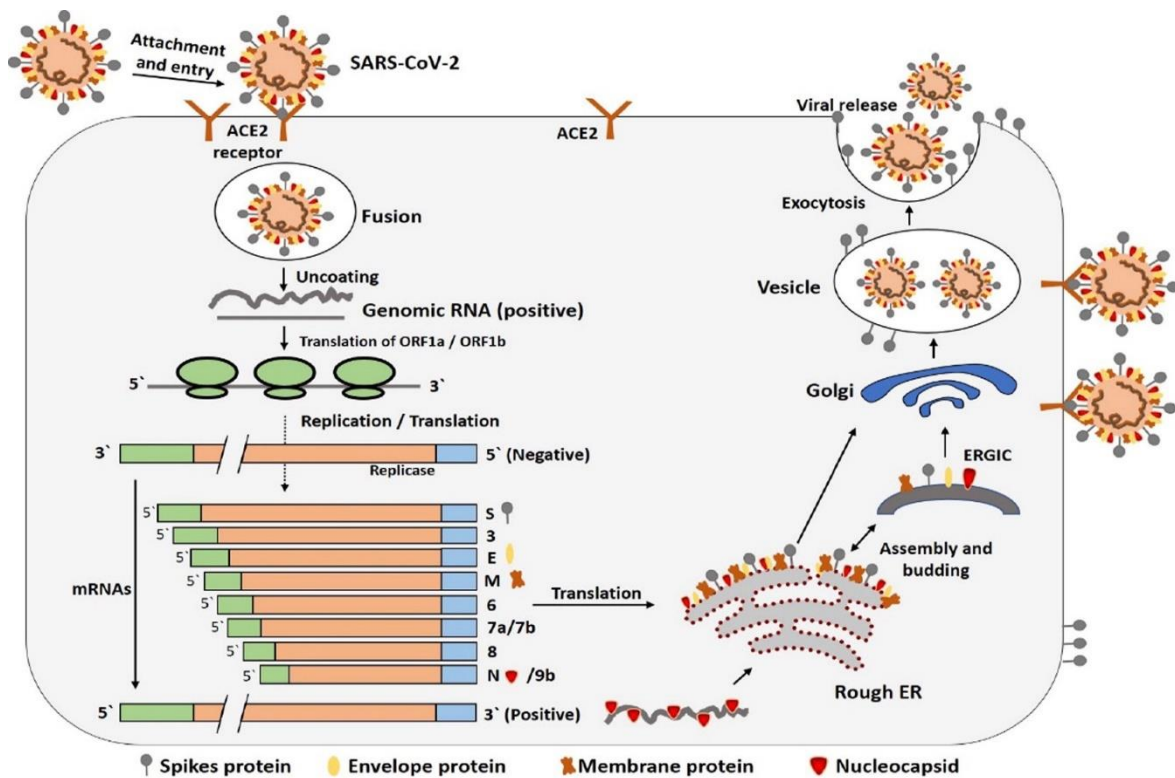


Figura 2: Una volta entrato nella cellula attraverso l'interazione tra ACE2 e Spike, l'RNA del SARS-CoV2 viene rilasciato dal virus e, utilizzando le proteine e organelli dell'ospite, vengono prodotte proteine virali. Queste proteine sono in grado di assemblarsi nuovamente in nuove strutture contenenti copie di RNA e proteine di membrana. Attraverso l'esocitosi, perfette copie del virus iniziale vengono rilasciate all'esterno, pronte ad infettare altre cellule.

Comprendere il genoma di SARS-CoV2 è fondamentale per comprendere i suoi meccanismi d'azione, non solo per combattere l'infezione risultante e le complicazioni associate, ma anche per sviluppare vaccini potenzialmente efficaci.

L'Europa ha recentemente finanziato il progetto GEFACOVID (analisi dei fattori genetici che influenzano l'infezione da SARS-CoV2 e la progressione in COVID-19). Un consorzio di università e aziende private dall'Europa, Cina, India ed altri paesi, studieranno il genoma di SARS-CoV2 e le caratteristiche genetiche umane che influenzano la suscettibilità dell'ospite all'infezione, il coinvolgimento della risposta immunitaria e il rischio di complicanze potenzialmente letali.

Mutazioni nel dominio di legame del recettore di SARS-CoV2

Come accennato in precedenza, la porzione RBD della proteina Spike è la parte più variabile del genoma del virus. Le analisi computazionali prevedono che l'interazione tra RBD di SARS-CoV2 e ACE2 umano non sia ideale e che la sequenza RBD sia diversa da quella riscontrata in SARS-CoV per essere ottimale per il legame del recettore. Molto probabilmente il legame ad alta affinità della proteina Spike della SARS-CoV2 con ACE2 umano è il risultato della selezione naturale su una proteina ACE2 umana, o simile, che ha permesso l'insorgere di una soluzione di un legame ottimale.

Queste prove dimostrano che la SARS-CoV2 non è il risultato di una manipolazione intenzionale.

Come si è evoluto SARS-Cov2 da animale ad umano?

Il primo caso segnalato di SARS-Cov2 dai funzionari della città Wuhan, in Cina, è stato il 26 dicembre 2019. I primi casi noti avevano un legame con un mercato alimentare all'ingrosso a Wuhan. Molti dei primi pazienti erano proprietari di bancarelle, dipendenti del mercato o clienti abituali del mercato.



Il possibile meccanismo di trasmissione dagli animali del mercato all'uomo e origine della SARS-CoV2 potrebbe essere:

a) Selezione naturale in un ospite animale prima del trasferimento zoonotico.

Studi genetici hanno rivelato somiglianze tra SARS-CoV2 e coronavirus riscontrati nei pipistrelli, come RaTG13. Quindi c'è un'alta probabilità che i pipistrelli siano il serbatoio del progenitore del virus. Sebbene RaTG13 sia circa per il 96% identico a SARS-CoV2, la sua proteina Spike si *differenzia* nella regione RBD, il che suggerisce che potrebbe non legarsi in maniera efficace con ACE2 umano.

È stato dimostrato che nei pangolini malesi importati illegalmente in Cina sono stati riscontrati coronavirus simili a SARS CoV-2, in particolare tra le loro regioni RBD. [2] [6]

Il virus RaTG13 rimane il più vicino a SARS-CoV2; tuttavia la somiglianza con i coronavirus riscontrati nei pangolini suggerisce che la proteina Spike di SARS-CoV2 possa essere il risultato di una selezione naturale. [6]

Ulteriori mutazioni potrebbero verificarsi nella proteina Spike mediante un processo evolutivo naturale, in particolare una regione, chiamata sito di scissione polibasica, che risulta mutata e gioca un ruolo fondamentale nel determinare l'infettività virale e la scelta dell'ospite.

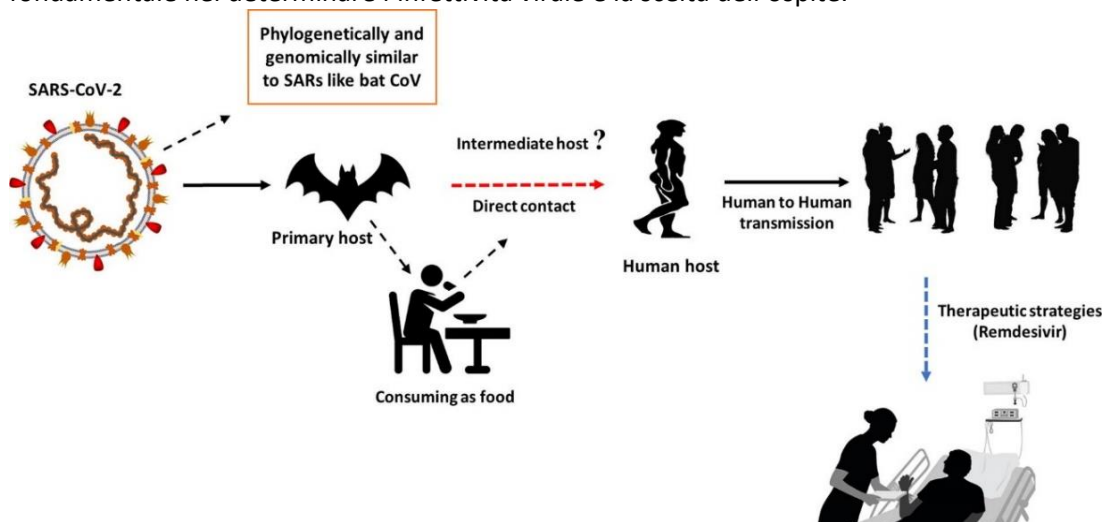


Figura 3: Possibile selezione naturale in un ospite animale prima del trasferimento zoonotico. Probabilmente i pipistrelli sono il serbatoio naturale del progenitore del virus (teoria basata sulla somiglianza genomica). Potrebbe essere un ospite intermedio, ad ora sconosciuto, la fonte del trasferimento all'essere umano.

Fonte: Muhammad Adnan Shereen, Suliman Khan, Abeer Kazmi, Nadia Bashir, Rabee Siddiquea, The Department of Cerebrovascular Diseases, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, PR China b State Key Laboratory of Virology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan, PR China College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan, PR China Journal of Advanced Research 24 (2020) 91–98



b) Selezione naturale nell'uomo dopo il trasferimento zoonotico

Il possibile progenitore della SARS-CoV2 è arrivato all'uomo, acquisendo le caratteristiche genomiche attraverso l'adattamento durante la trasmissione, non rilevata, da uomo a uomo. Una volta acquisiti, questi adattamenti consentono alla pandemia di decollare e causare sufficienti casi da innescare un sistema di sorveglianza che ne ha permesso il rilevamento.

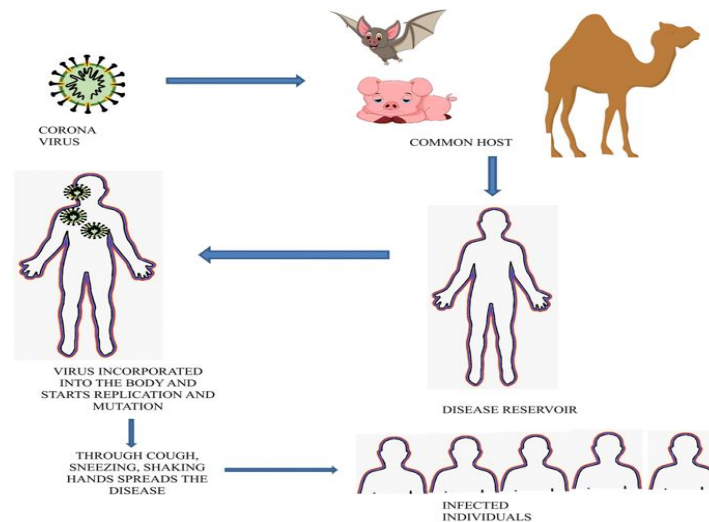


Figura 4: La selezione naturale nell'uomo dopo il trasferimento zoonotico. Descrive il meccanismo per cui, una volta arrivato all'uomo, il virus è in grado di cambiare le proprie caratteristiche genetiche adattandosi a quelle dell'uomo e perfezionandole ad ogni trasmissione da uomo a uomo, causando nel lungo periodo lo sviluppo della pandemia.

c) Selezione naturale durante il passaggio

La ricerca base è in corso da molti anni in tutto il mondo, quindi la possibilità di un rilascio involontario di SARS-CoV2 da un laboratorio non può essere esclusa completamente. In teoria è possibile che SARS-CoV2 abbia acquisito mutazioni del dominio RBD durante l'adattamento nelle colture cellulari. Seppur possibile, la scoperta di virus simili alla SARS-CoV con RBD quasi identici, suggerisce diversamente, richiedendo una spiegazione più significativa di come SARS-CoV2 abbia acquisito questi RBD tramite ricombinazione o mutazione in vitro. [8], [9]. Inoltre, un'ipotetica generazione di SARS-Cov-2 mediante coltura cellulare o passaggio di animali avrebbe richiesto l'isolamento preventivo di un virus progenitore con somiglianza genetica molto elevata, che non è stato definito [5], [10].

d) Analisi Filogenetica

Ulteriori studi suggeriscono che SARS-cov-2 sia un virus ricombinante di coronavirus provenienti da pipistrelli e serpenti, paragonando la frequenza d'utilizzo dei relativi codoni sinonimi tra le diverse specie di animali.

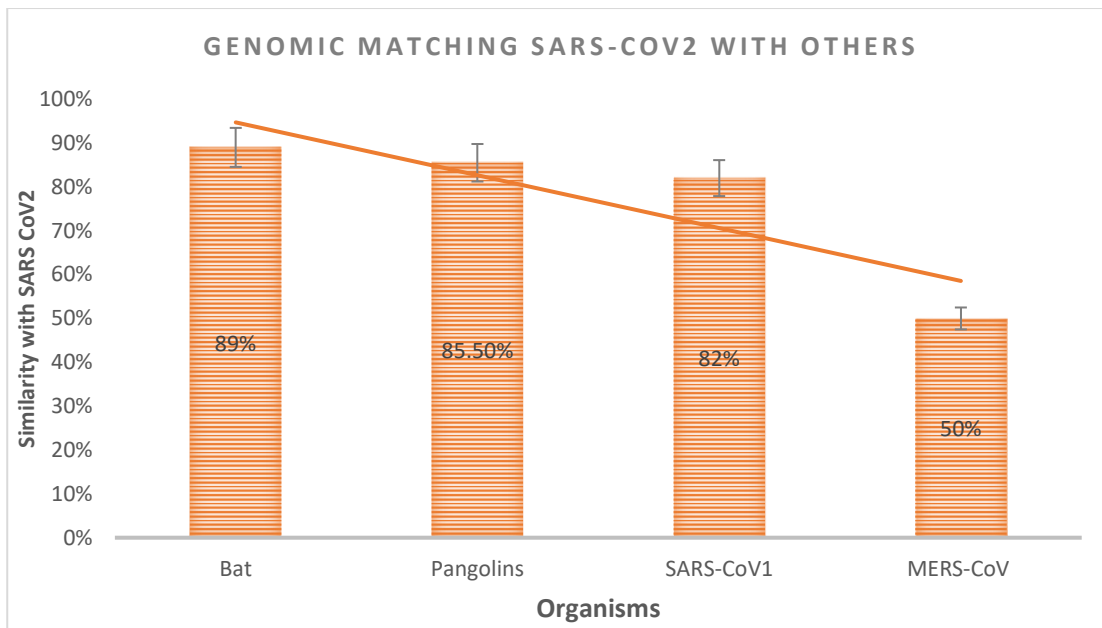


Figura 5: Le analisi filogenetiche mostrano il pipistrello come possibile serbatoio animale. Sulla base della corrispondenza del sequenziamento del genoma, SARS-CoV è simile all'89% al virus riscontrato nei pipistrelli, all'82% alla SARS-CoV1 umana e al 50% a MERS-CoV [10]. Sia la SARS-CoV1 che la MERS-CoV sono state trasmesse agli esseri umani attraverso un ospite intermedio, nel caso della SARS-Cov2 i pangolini sono stati suggeriti come possibili ospiti intermedi, perché il loro genoma aveva circa l'85,5%-92,4% di corrispondenza [11].

Conclusioni

Poiché il virus è nuovo al mondo e lo scoppio di SARS-CoV2 ha causato gravi danni a tutti i livelli, la comprensione della sua genetica, origine, evoluzione e la trasmissione agli esseri umani è diventata una necessità primaria. Sulla base dei dati disponibili per provare l'origine esatta di SARS-CoV2 sono necessarie ulteriori indagini, per avere una conoscenza più ampia e profonda. Le indagini devono essere incentrate sul "come e perché", non sul "cosa". I leader nazionali dovrebbero prestare maggiore attenzione, condividere più informazioni iniziali sull'origine ed essere più inclusivi nella lotta contro il virus. Solo collaborando, con le conoscenze adeguate, gli scienziati di tutto il mondo potranno identificare l'origine del virus e, in questo modo, il processo di sviluppo di un vaccino potrebbe essere accelerato.



- [1] J. Shang *et al.*, “Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2,” *Nature*, vol. 581, no. 7807, pp. 221–224, May 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2179-y.
- [2] Y. Wan, J. Shang, R. Graham, R. S. Baric, and F. Li, “Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus,” *J. Virol.*, 2020, doi: 10.1128/jvi.00127-20.
- [3] K. G. Andersen, A. Rambaut, W. I. Lipkin, E. C. Holmes, and R. F. Garry, “The proximal origin of SARS-CoV-2,” *Nature Medicine*. 2020, doi: 10.1038/s41591-020-0820-9.
- [4] F. Wu *et al.*, “A new coronavirus associated with human respiratory disease in China,” *Nature*, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
- [5] P. Zhou *et al.*, “A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin,” *Nature*, 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- [6] T. Zhang, Q. Wu, and Z. Zhang, “Pangolin homology associated with 2019-nCoV,” *bioRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.02.19.950253.
- [7] Y. Yamada and D. X. Liu, “Proteolytic Activation of the Spike Protein at a Novel RRRR/S Motif Is Implicated in Furin-Dependent Entry, Syncytium Formation, and Infectivity of Coronavirus Infectious Bronchitis Virus in Cultured Cells,” *J. Virol.*, 2009, doi: 10.1128/jvi.00613-09.
- [8] T. Sheahan *et al.*, “Mechanisms of Zoonotic Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Host Range Expansion in Human Airway Epithelium,” *J. Virol.*, 2008, doi: 10.1128/jvi.02041-07.
- [9] J. Cui, F. Li, and Z. L. Shi, “Origin and evolution of pathogenic coronaviruses,” *Nature Reviews Microbiology*. 2019, doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
- [10] T. Ito *et al.*, “Generation of a Highly Pathogenic Avian Influenza A Virus from an Avirulent Field Isolate by Passaging in Chickens,” *J. Virol.*, 2001, doi: 10.1128/jvi.75.9.4439-4443.2001.
- [11] W. Ji, W. Wang, X. Zhao, J. Zai, and X. Li, “Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV,” *J. Med. Virol.*, 2020, doi: 10.1002/jmv.25682.