UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

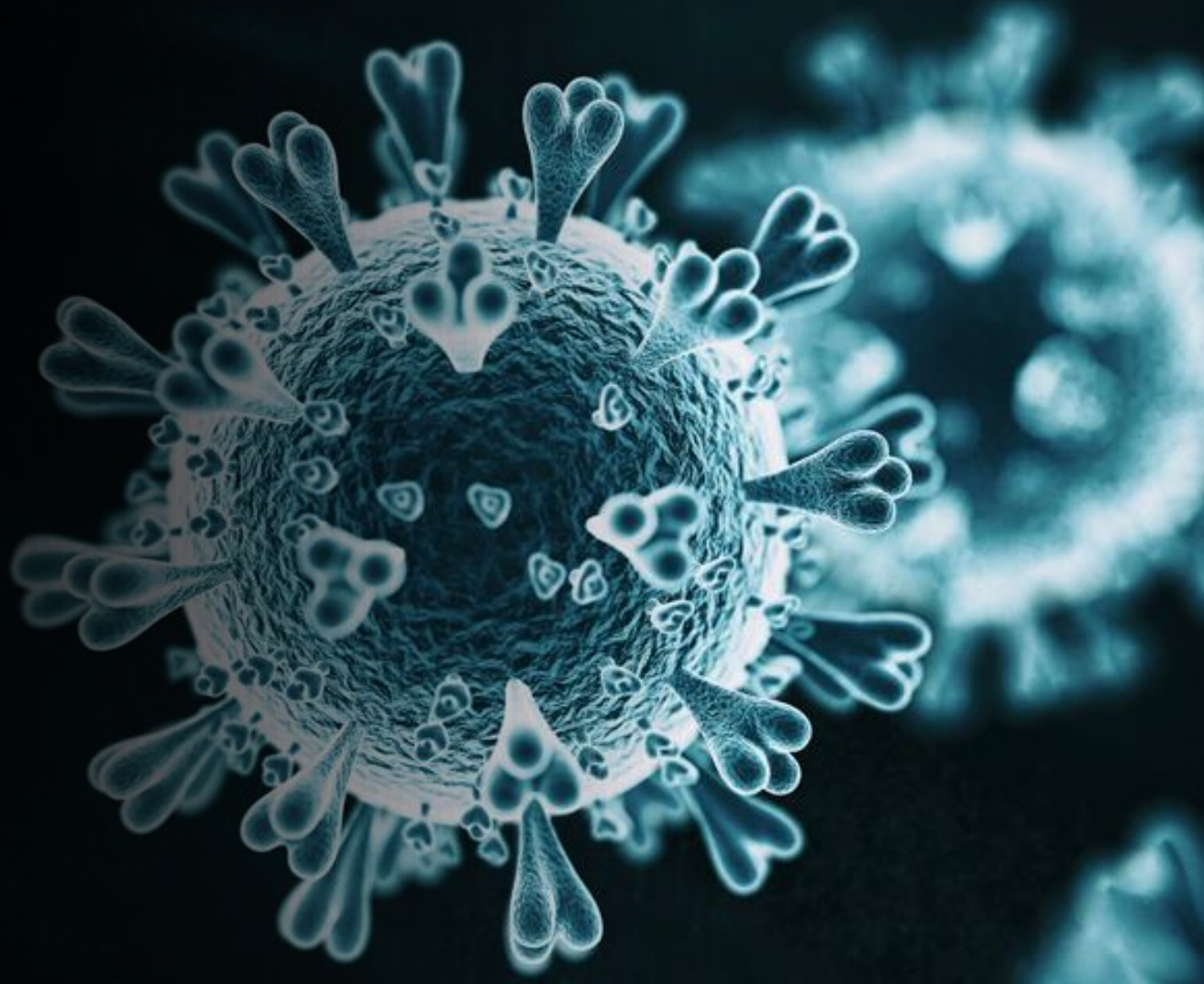
Università Politecnica delle Marche A. A. 2019/20

Analisi strutturale del riconoscimento del coronavirus SARS-CoV-2 da parte del recettore umano ACE2

Candidato: **Marisa Di Giuseppe**

Relatore: Prof. **Daniele Di Marino**

Corso di Laurea in Scienze Biologiche



Indice

- Riassunto Pag. 3
- Cos’è il recettore ACE2? Pag. 4
- Ingresso nella cellula del virus Pag. 5
- Legami B0AT1-ACE e struttura Pag. 6-7-8
- Paragone Sars-CoV/ Sars-CoV2 Pag. 9
- Conclusioni Pag. 11
- Ringraziamenti Pag. 12
- Referenze Pag. 13

Riassunto

Il coronavirus da sindrome respiratoria acuta grave (SARS-CoV2) è un betacoronavirus a RNA a filamento a polarità positiva, responsabile dell'attuale diffusione pandemica di una polmonite atipica, il COVID-2019.

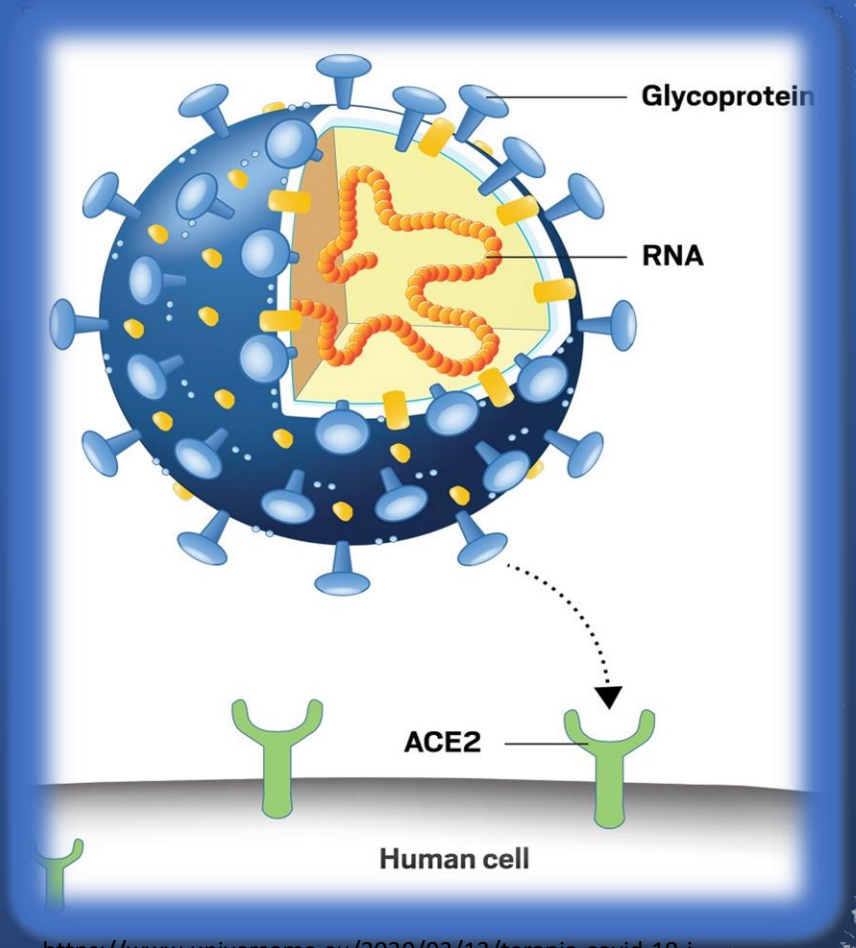
E' un virus di origine animale, il quale in seguito a quello che definiamo ''salto di specie'' è arrivato a contagiare l'uomo grazie a una serie di mutazioni

Il primo focolaio è avvenuto tra Novembre e Dicembre 2019, nella cittadina di Wuhan in Cina, colpendo principalmente i lavoratori dei ''WET MARKET '' locali, per poi andarsi a diffondere su scala mondiale causando ad oggi circa mezzo milione di morti.

Obiettivo dello studio

Chiarire le interazioni molecolari che il virus utilizza durante l'infezione di cellule umane.

Cos'è l'ACE2?



https://www.universome.eu/2020/03/13/terapia-covid-19-i-trattamenti-attuali-e-quelli-sperimentali

- **ACE2** (Angiotensin converting enzyme 2) è un enzima che converte l'angiotensina , l'effettore più efficace ad azione ipertensiva del sistema RAAS (renina-angiotensina-aldosterone) , ed è inoltre riconosciuto dal SARS-CoV2 come recettore per l'ingresso nelle cellule.

- E' stato possibile ottenere la struttura complessiva tramite microscopia crioelettronica di ACE2 umano, in complesso con **B0AT1,** una proteina transmembrana.

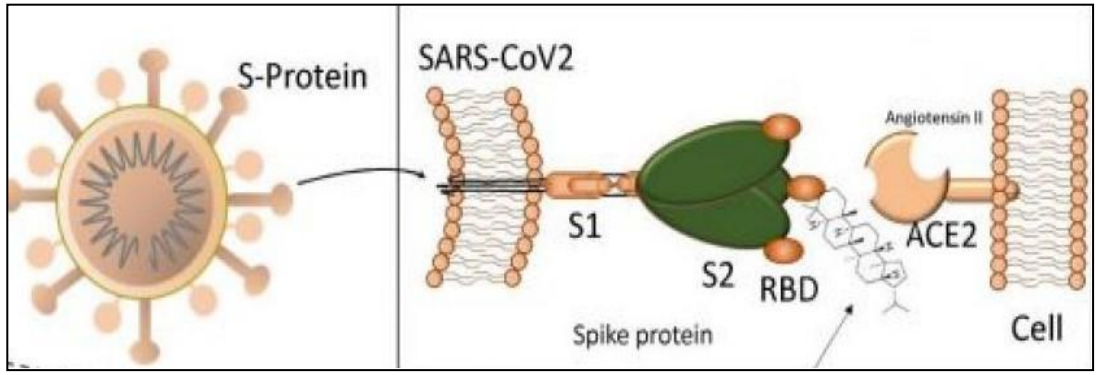
- Questo ha permesso di capire come avviene l'interazione tra **l'RBD** (receptor-binding-domain) della spike protein del SARS-CoV2 e il dominio peptidasico (**PD**) di ACE2

Inizio dell’infezione virale

Le proteine Spike si assemblano in un trimero sulla superficie del virione, dando al virus la distintiva forma a corona. L’ectodominio di tutte le proteine Spike di coronavirus è organizzato in due domini:

- **Un dominio N-terminale** chiamato S1 responsabile del legame con il recettore ACE2
- **Uno C-terminale** chiamato S2 responsabile della fusione e riconosciuto da RBD

L’ingresso del virus è mediato da una **proteasi TMPRSS2** situata in prossimità di ACE2 che si lega a S1 causando la separazione dei due domini.

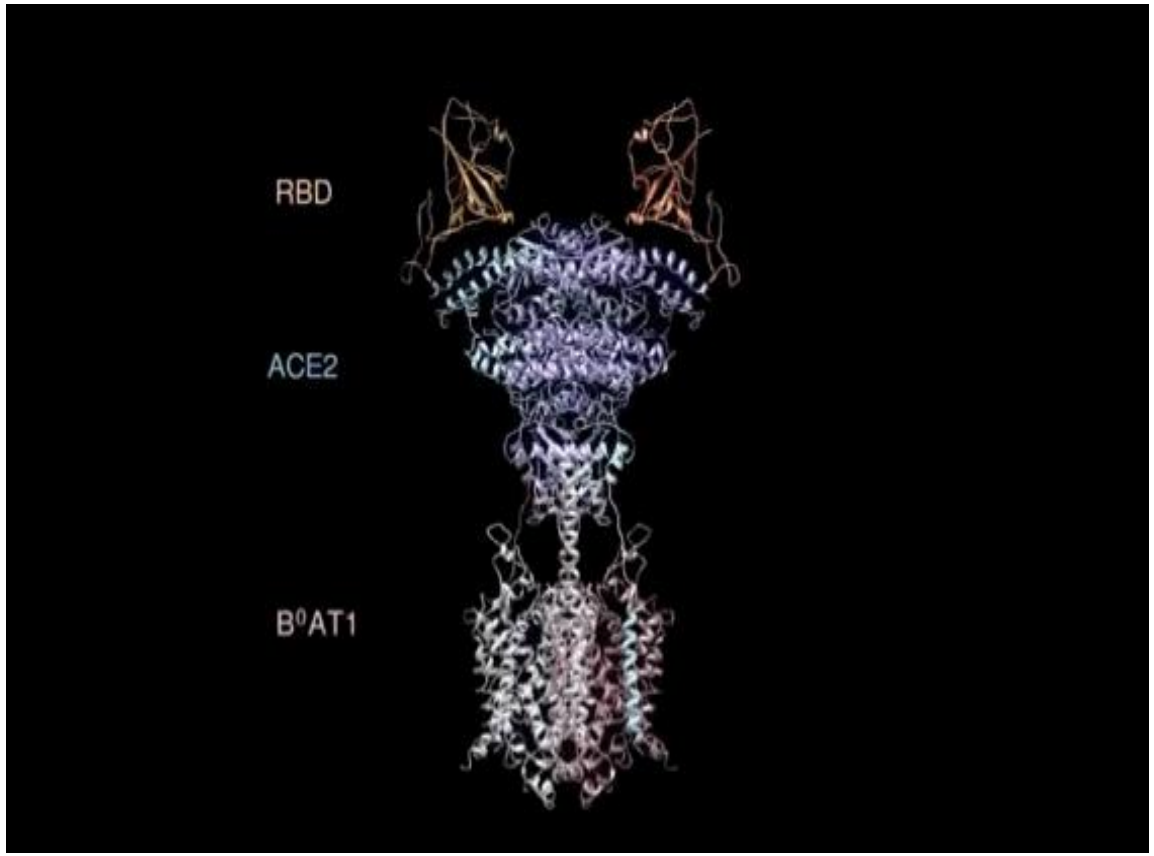


Struttura del complesso B0AT1-ACE2

- **ACE2** è composto quindi dal **PD** (residui 19-615) e il **Collectrin-Like-Domain** (CLD, residui 616-768), quest'ultimo composto da un dominio extracellulare, un lungo linker e la **singola elica Transmembrana (TM).** Tra il PD e il TM c'è un il dominio Neck (residui 616-726)

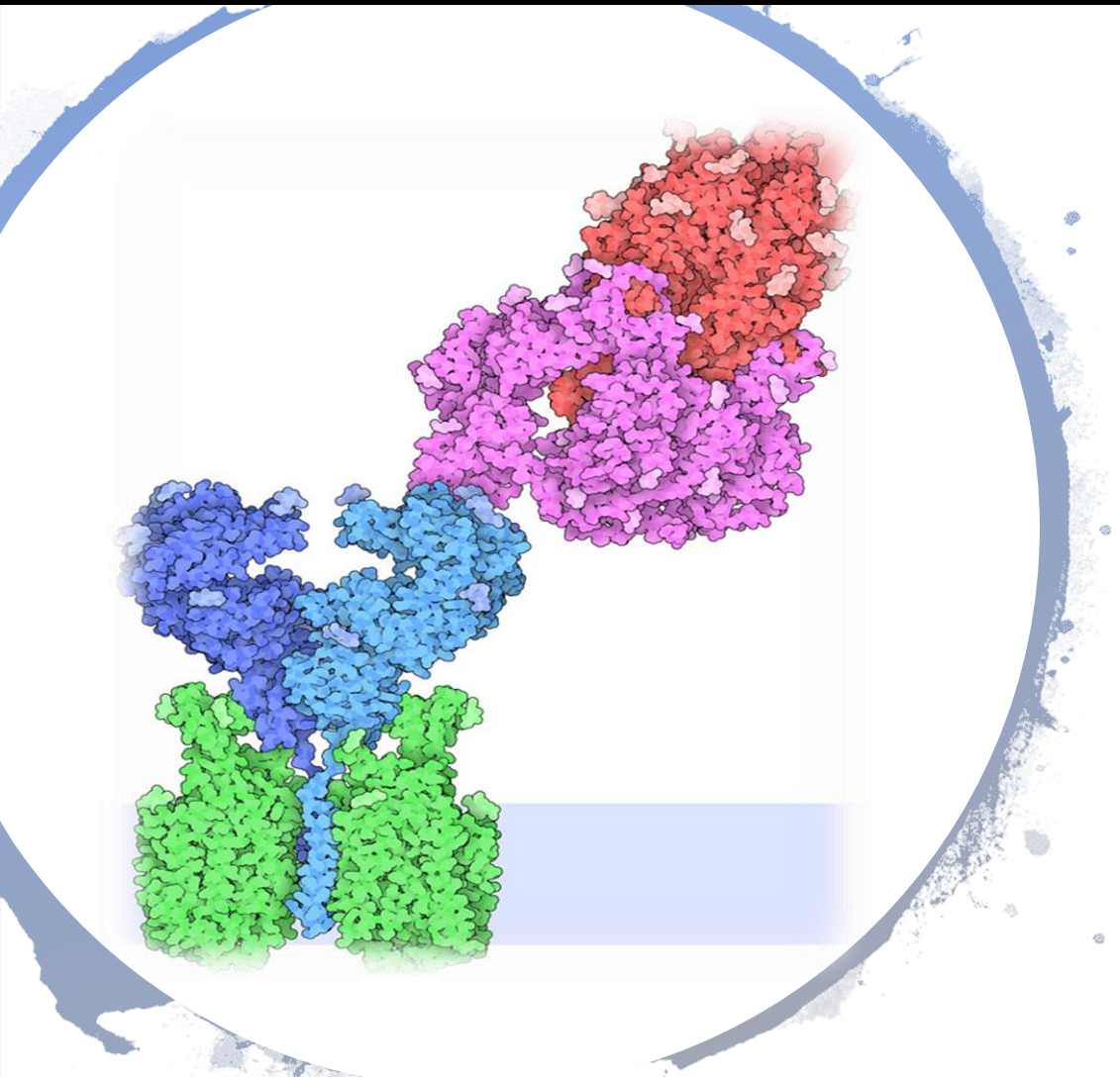
- L'omodimerizzazione di ACE2 è mediata principalmente dal Neck Domain mentre il PD interviene marginalmente. B0at1 non partecipa alla dimerizzazione di ACE2 ma interagisce con quest'ultimo a livello del Neck Domain e l'elica TM

- ACE2- B0AT1: è un complesso formato da un dimero di eterodimeri che si può presentare sia in conformazione aperta che chiusa**.** In complesso con RBD di Spike protein invece si presenta in conformazione chiusa.



https://en.westlake.edu.cn/news_events/westlakenews/202002/t20200225_3069.shtml

Complesso ACE2-SPIKE-B0AT1



https://www.pianetachimica.it/mol_mese/mol_mese_2020/06_SARS-CoV2_Spike/SARS-CoV2_Spike.htm

In questa figura sono visibili le seguenti strutture:

Dominio S2 Spike protein: in rosso

RBD di Spike protein : in rosa

ACE2: in blu e in azzurro

B0AT1: in verde

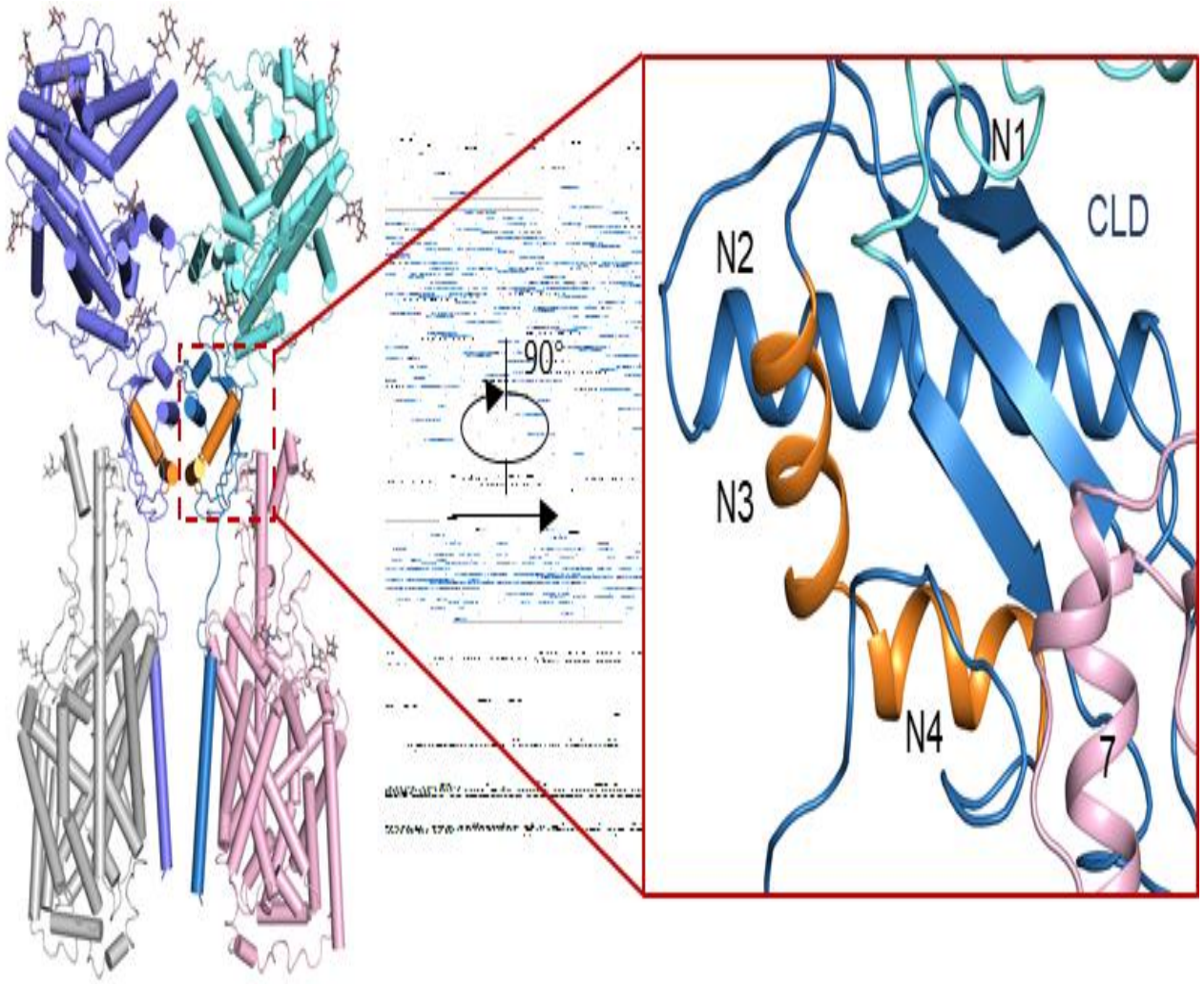
La componente B0AT1 ha permesso di risolvere per la prima volta la struttura per intero della proteina ACE2 mostrando la componente **Transmembrana** della proteina

A cosa potrebbe servire B0AT1?

- La scissione del segmento C-terminale di ACE2, visibile in arancione nella figura, da parte della proteasi transmemebrana serina 2 TMPRSS2, favorisce l'ingresso del virus nella cellula.

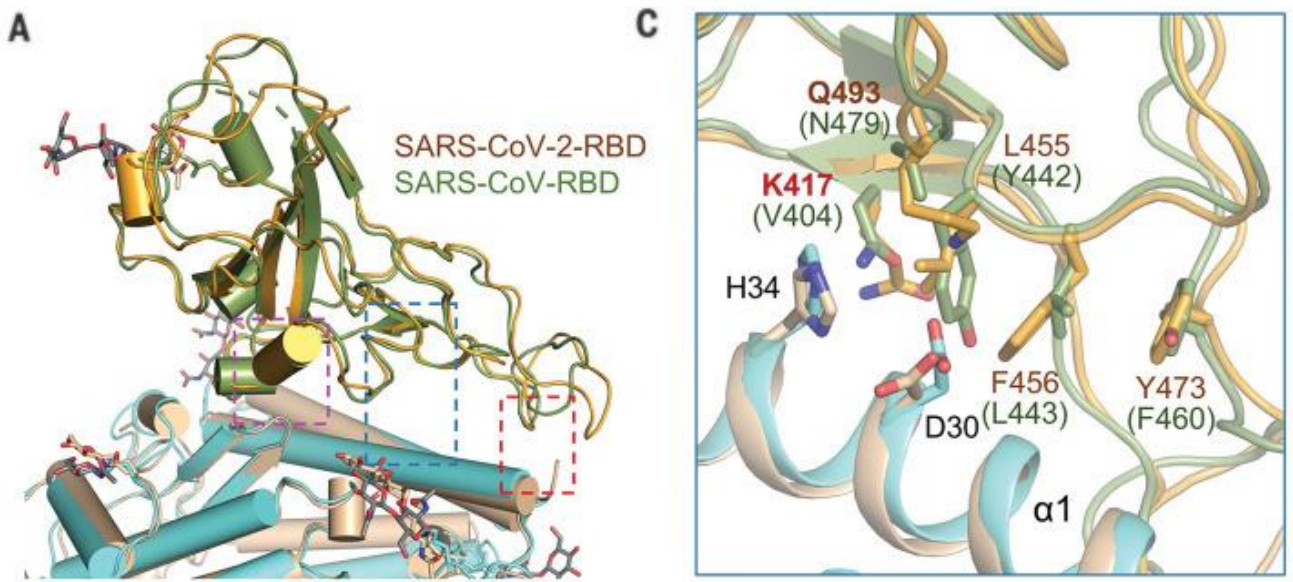
- Gli autori hanno dunque pensato che la presenza di B0AT1 può fisicamente bloccare l'accesso della proteasi in questione, al sito di taglio di ACE2.

- D'altro canto la distribuzione nei tessuti di ACE2 è più ampia di B0AT1, per cui **resta da verificare se B0AT1 può sopprimere l'infezione SARS-CoV-2 bloccando la scissione di ACE2**



Comparando l'interfaccia di interazione con ACE2 di SARS-CoV e SARS-CoV2

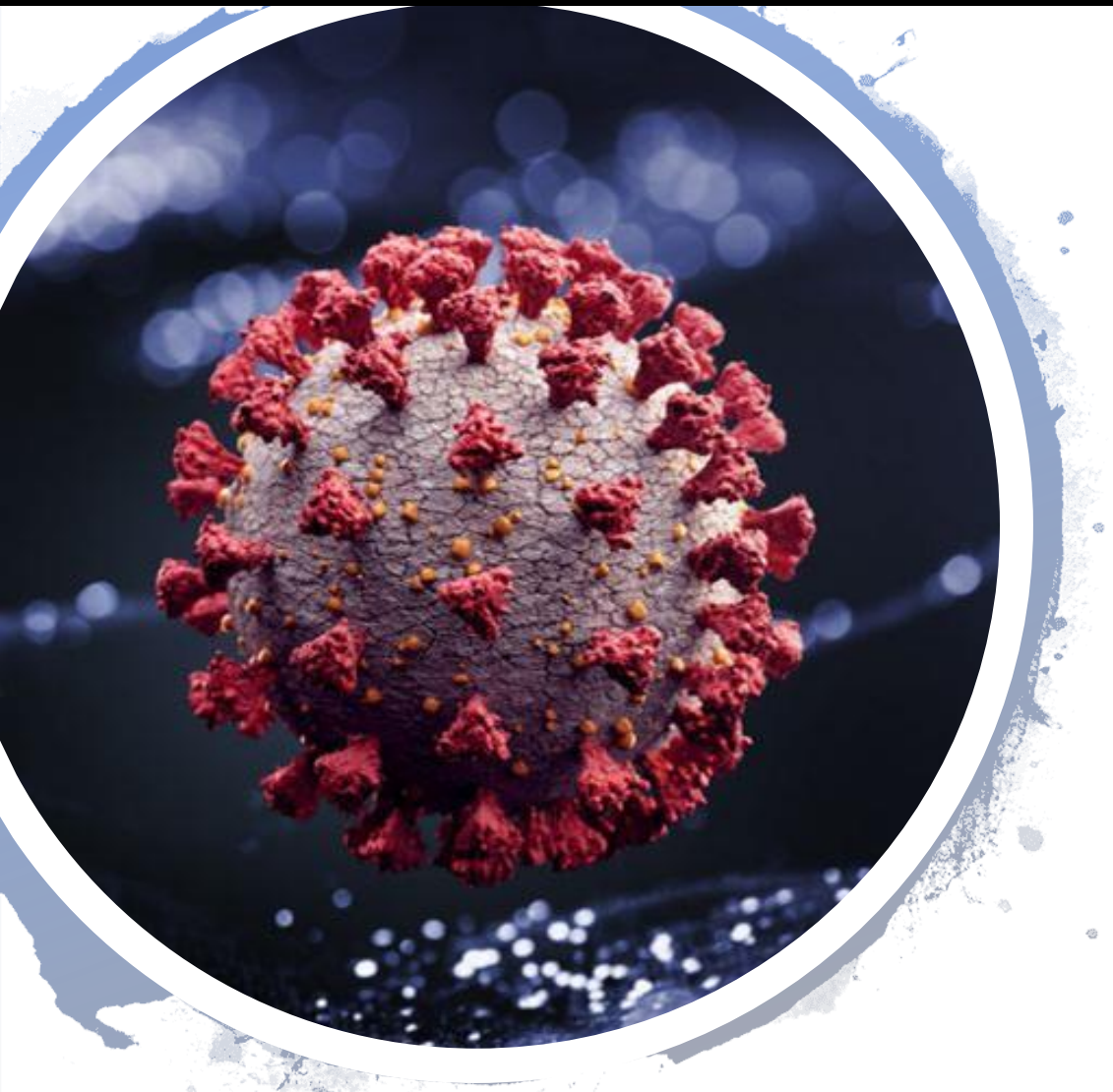
La superimposizione delle strutture di RBD-SARS-CoV e ACE2-PD con SARS-CoV2-RBD e ACE2-PD mostra delle somiglianze nell'interfaccia molecolare di interazione. Tuttavia si evidenziano delle variazioni strutturali dell'interfaccia, alcune delle quali hanno migliorato l'affinità di legame tra SARS-CoV2 e ACE2 rispetto a SARS-CoV.



A: Superimposizione delle strutture ACE2/RBD SARS-CoV con ACE2/RBD SARS-CoV2 nell'interfaccia di interazione

C: Variazione amminoacidi nell'interfaccia di legame

Cos’è cambiato?



- Il virus SARS-CoV2 in seguito a mutazioni a livello amminoacidico ha alterato la propria affinità per il recettore ACE2.
- La differenza più rilevante tra SARS-CoV e SARS-Cov2 è appunto la sostituzione della **Valina 404 del Sars-CoV con una Lisina 497 nel Sars-CoV2**, in quanto crea un legame più saldo grazie alla presenza di un ponte salino.

Conclusioni

- La risoluzione del complesso ACE2-B0AT1 ha evidenziato la struttura dimerica del recettore ACE2 composto da un dominio PD e un dominio CLD, più una componente a elica transmembrana.

- Il PD interagisce con RBD della spike protein in uno stato conformazionale detto “chiuso”, mentre il legame tra ACE2 con B0AT1 consente entrambe le conformazioni.

- Il confronto tra ACE2-RBD di SARS-CoV e ACE2-RBD di SARS-CoV2 ha mostrato alcune differenze nella composizione aminoacidica dell’interfaccia di interazione

- Questo studio strutturale ha permesso di evidenziare le regioni chiave del legame tra il recettore e la spike protein virale: ciò potrebbe consentire di disegnare ligandi esca competitori per il sito di legame utili per una futura terapia in attesa dei trial clinici per il vaccino

GRAZIE DELL’ATTENZIONE

Referenze

- . R. N. Kirchdoerfer, N. Wang, J. Pallesen, D. Wrapp, H. L. Turner, C. A. Cottrell, K. S. Corbett, B. S. Graham, J. S. McLellan, A. B. Ward, Stabilized coronavirus spikes are resistant to conformational changes induced by receptor recognition or proteolysis. Sci. Rep. 8, 15701 (2018). doi:10.1038/s41598-018-34171-7 Medline

- https://www.universome.eu/2020/03/13/terapia-covid-19-i-trattamenti-attuali-e-quelli-sperimentali

- https://www.pianetachimica.it/mol_mese/mol_mese_2020/06_SARS-CoV2_Spike/SARS-CoV2_Spike.htm

- Ministero della salute: http://www.salute.gov.it/portale/nuovocoronavirus/dettaglioContenutiNuovoCoronavirus.jsp?lingua=italiano&id=5338&area=nuovoCoronavirus&menu=vuoto