



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

ZOONOSI E GENETICA: LA COMPARSA DEL VIRUS SARS-CoV-2

RELATORE: Prof. Marco Barucca

TESI DI LAUREA DI: Martina Mariani

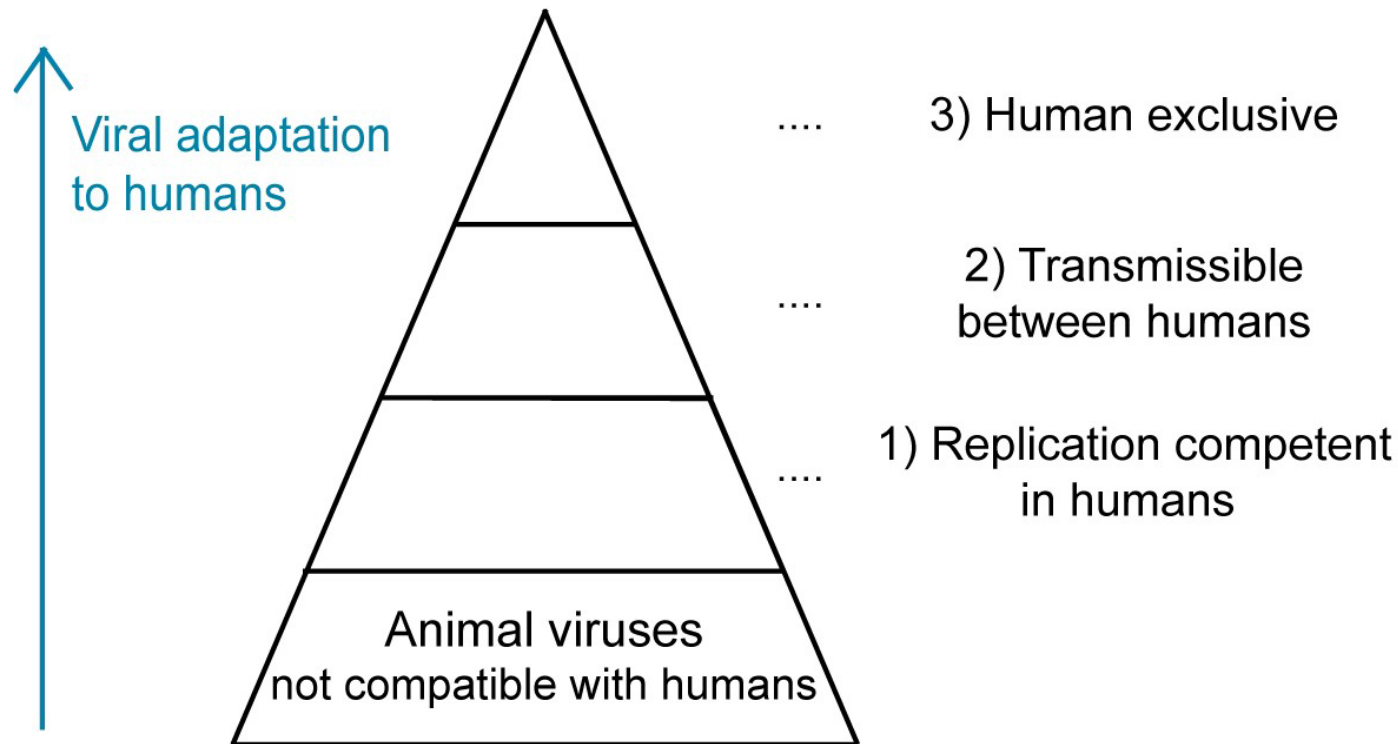
ANNO ACCADEMICO
2019/2020

Zoonosi = un virus animale infetta l'uomo

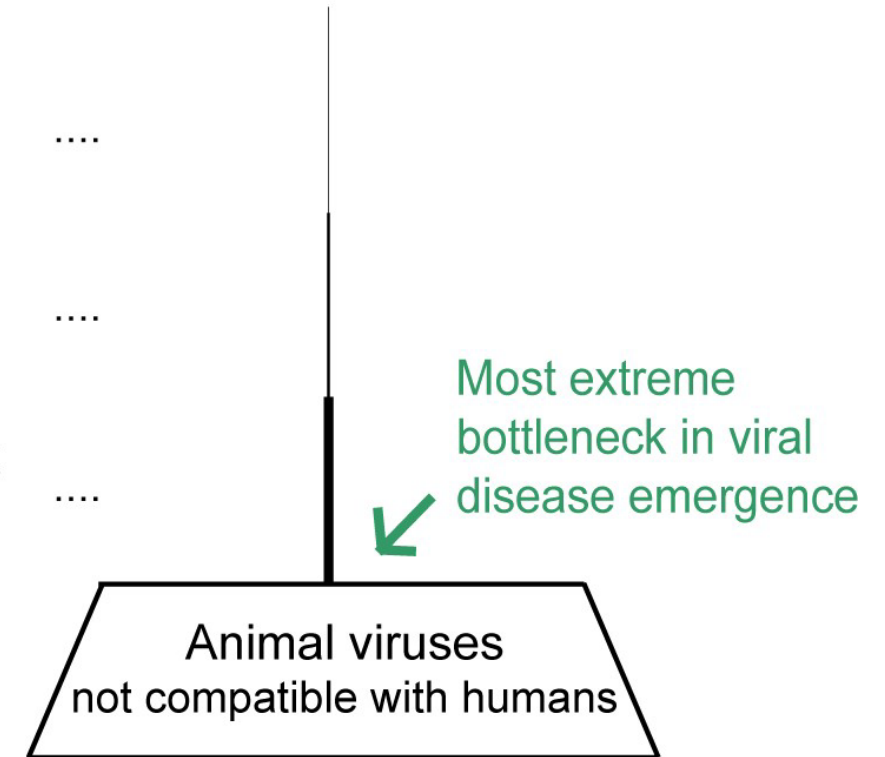
- È un fenomeno molto raro
- Dipende dalla genetica dell'ospite: solo i virus animali con poche o nulle barriere genetiche faranno il cosiddetto «salto di specie»
- L'uomo è costantemente esposto ai virus animali ma solo < 0,1% di questi lo infetta
- Fattori esterni
- Deriva genetica

Modelli utilizzati per illustrare le fasi della zoonosi

Pyramid model



Pinhole model



Fonte: Plos Biology. *How host genetics dictates successful viral zoonosis*. (2019).

MODELLO A PIRAMIDE:

- Alla base: virus animali incompatibili con l'uomo
- Fase 1: virus in grado di replicarsi nell'uomo
- Fase 2: virus in grado di diffondersi fra gli uomini
- Fase 3: virus esclusivi per gli uomini

MODELLO A FORO STENOPEICO:

Collo di bottiglia tra tutti i virus animali presenti in natura e quelli in grado di replicarsi nell'uomo. La freccia verde indica che < 0,1% dei virus animali passa alla Fase 1 del processo e quindi ancora meno a quelle successive.

«La genetica dell'ospite influenza la possibilità o meno di un virus di diversa natura di infettarlo; quindi, piuttosto che pensare che siano limitate le opportunità, è più plausibile che siamo noi uomini ad essere attivamente protetti dalla grande maggioranza di queste interazioni con i virus animali»

- Proteine dell'ospite
- Fattori di restrizione
- Geni ortologi proteina ospite



Fonte: GreenMe. *Uomini che salvano animali: 10 incredibili storie.* (2013).



Fonte: Italia Star Magazine. *La zoonosi dello spillover.* (2020).



Fonte: GreenMe. *Coronavirus: cosa sono i 'mercati umidi' che stanno facendo sviluppare i devastanti virus in Cina.* (2020).

Punto chiave della zoonosi:

replicazione di un virus animale dentro il corpo del primo soggetto umano

«Uno dei temi predominanti sorti nello studio della zoonosi è che i recettori della superficie cellulare proteggono comunemente gli uomini dalle infezioni da virus animali.

Per identificare ed entrare nelle loro cellule bersaglio, i virus interagiscono con i recettori (solitamente, proteine) espressi sulla superficie delle cellule ospiti.»

Le **mutazioni** sono la principale fonte di variabilità genetica in una specie e consistono in un'alterazione della sequenza di basi.

A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019

Na Zhu, Ph.D., Dingyu Zhang, M.D., Wenling Wang, Ph.D., Xingwang Li, M.D., Bo Yang, M.S., Jingdong Song, Ph.D., Xiang Zhao, Ph.D., Baoying Huang, Ph.D., Weifeng Shi, Ph.D., Roujian Lu, M.D., Peihua Niu, Ph.D., Faxian Zhan, Ph.D., et al., for the China Novel Coronavirus Investigating and Research Team

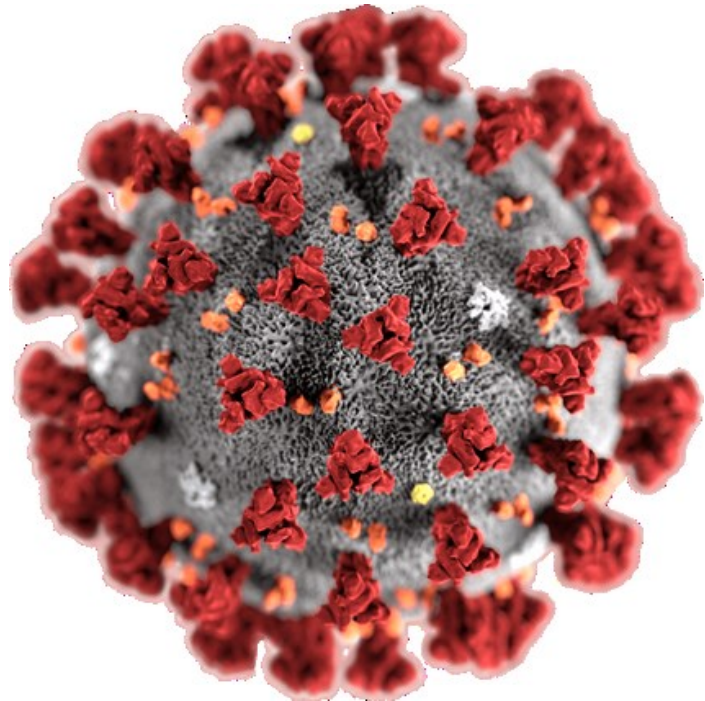
Fonte: «The New England Journal of Medicine». DOI: 10.1056/NEJMoa2001017. (2020).

- Wuhan, dicembre 2019: nuova **zoonosi**
- Nuovo coronavirus trasmissibile fra gli uomini, in aggiunta ai 6 già noti
- Simile a un virus di pipistrello del sottogenere Sarbecovirus
- Passaggio pipistrello → uomo
- Sintomi aspecifici

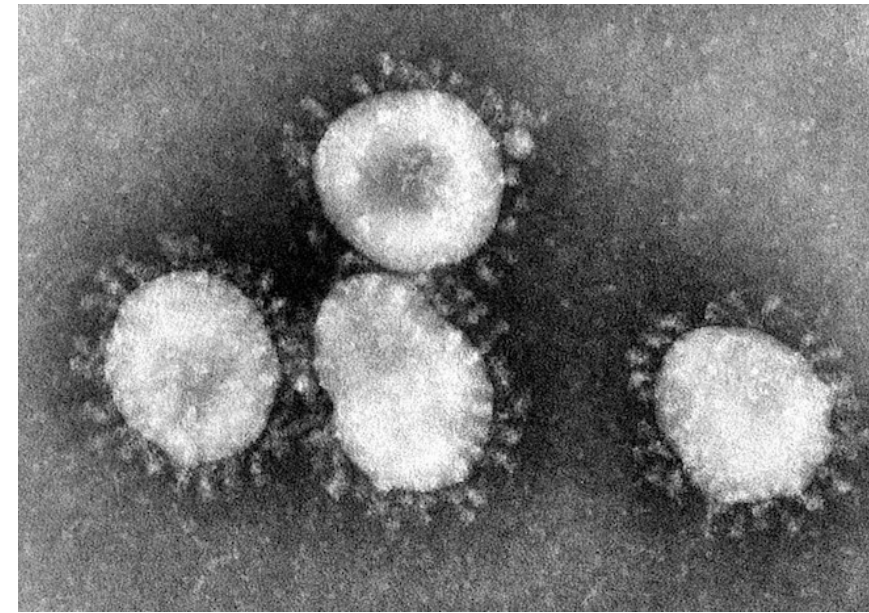
Il Coronavirus SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 è un **beta-coronavirus** e la patologia che causa è chiamata COVID-19.

È geneticamente simile a SARS-CoV, ma differisce per sostituzioni aminoacidiche.



Fonte: Wikipedia. SARS-CoV-2.



Fonte: Wikipedia. *Orthocoronavirinae*.

Si chiama Coronavirus perché, osservato al microscopio elettronico, ha l'aspetto di una corona per la presenza della **glicoproteina S (Spike protein)** attorno al capside.

È un virus a RNA a singolo filamento con polarità positiva: il suo genoma è costituito da un ssRNA+ utilizzato direttamente per la codifica delle proteine, che per questo virus sono 7.

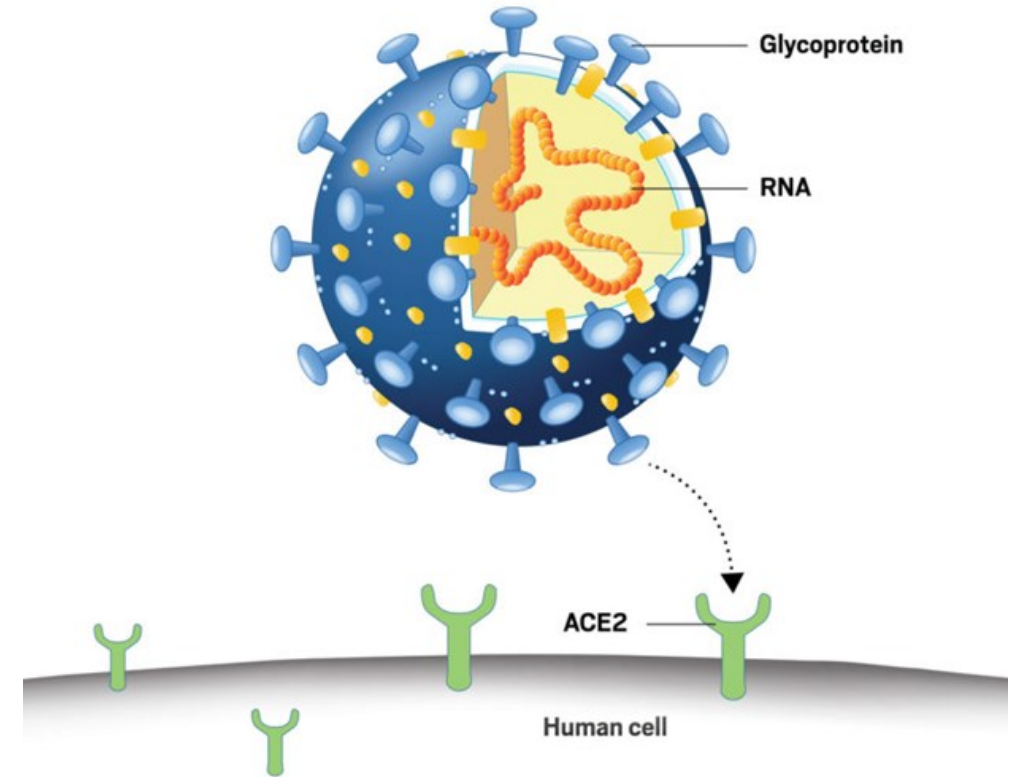
Meccanismo molecolare del SARS-CoV-2

La proteina S fa sì che il virus riesca ad interagire fisicamente con le cellule eucariotiche: il **dominio S1** permette il legame con il recettore e il **dominio S2** la fusione della membrana cellulare.

Il dominio S1 è suddiviso nel dominio terminale N e nel dominio terminale C: **CTD** è responsabile del legame con l'enzima 2 di conversione dell'angiotensina (ACE2).

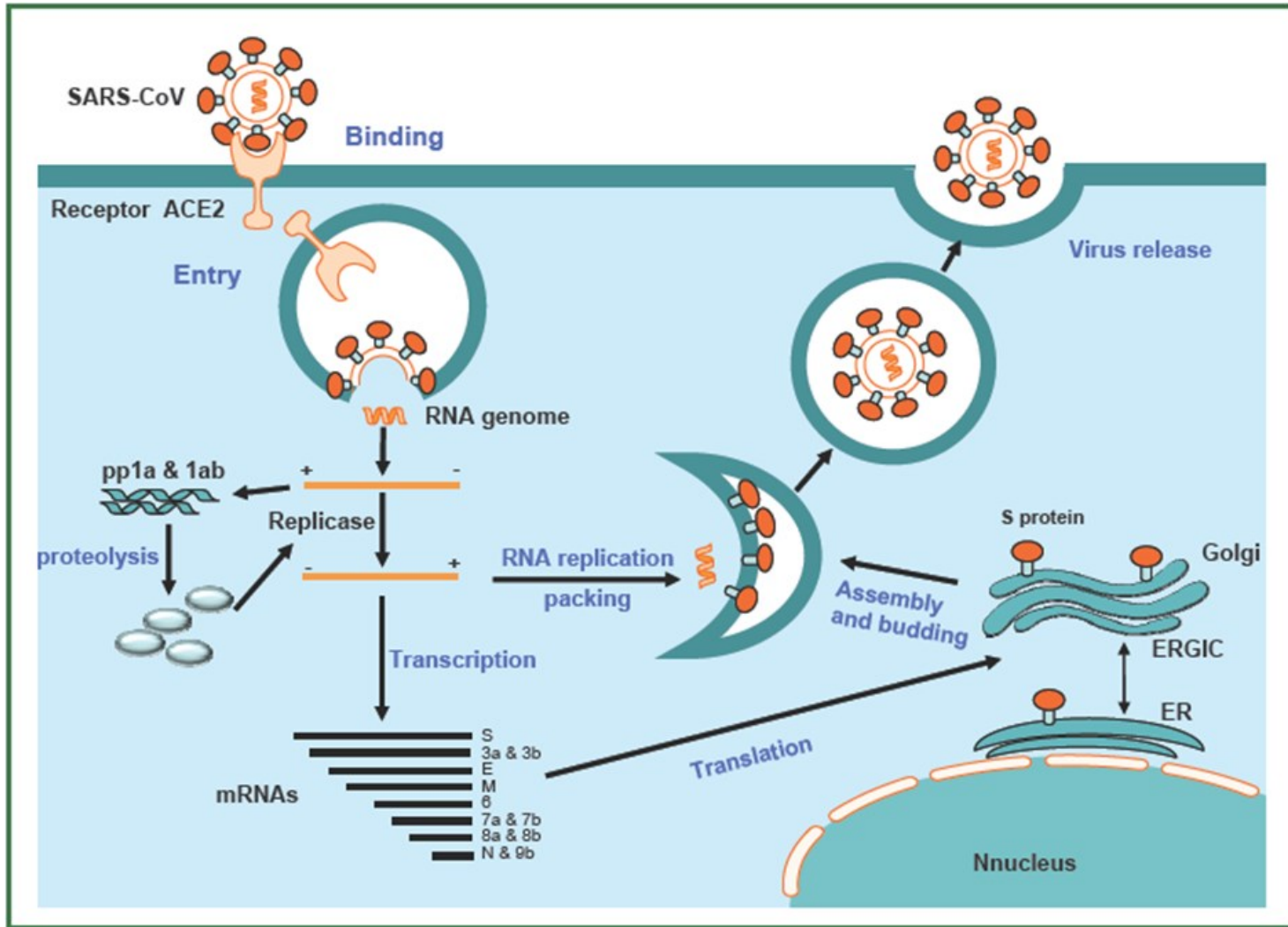
ACE2 (Angiotensin Converting Enzyme 2) è il recettore umano per la conversione dell'angiotensina, una molecola che serve a regolare la pressione dei vasi sanguigni e funge da recettore che serve al virus per legarsi alle nostre cellule.

I Coronavirus richiedono **mutazioni** nella glicoproteina di superficie per sfruttare il **gene ortologo** umano del recettore di membrana ed entrare nella cellula.



Fonte: UniVersoMe. *Terapia COVID-19: trattamenti attuali e novità promettenti con immunoterapia.* (2020).

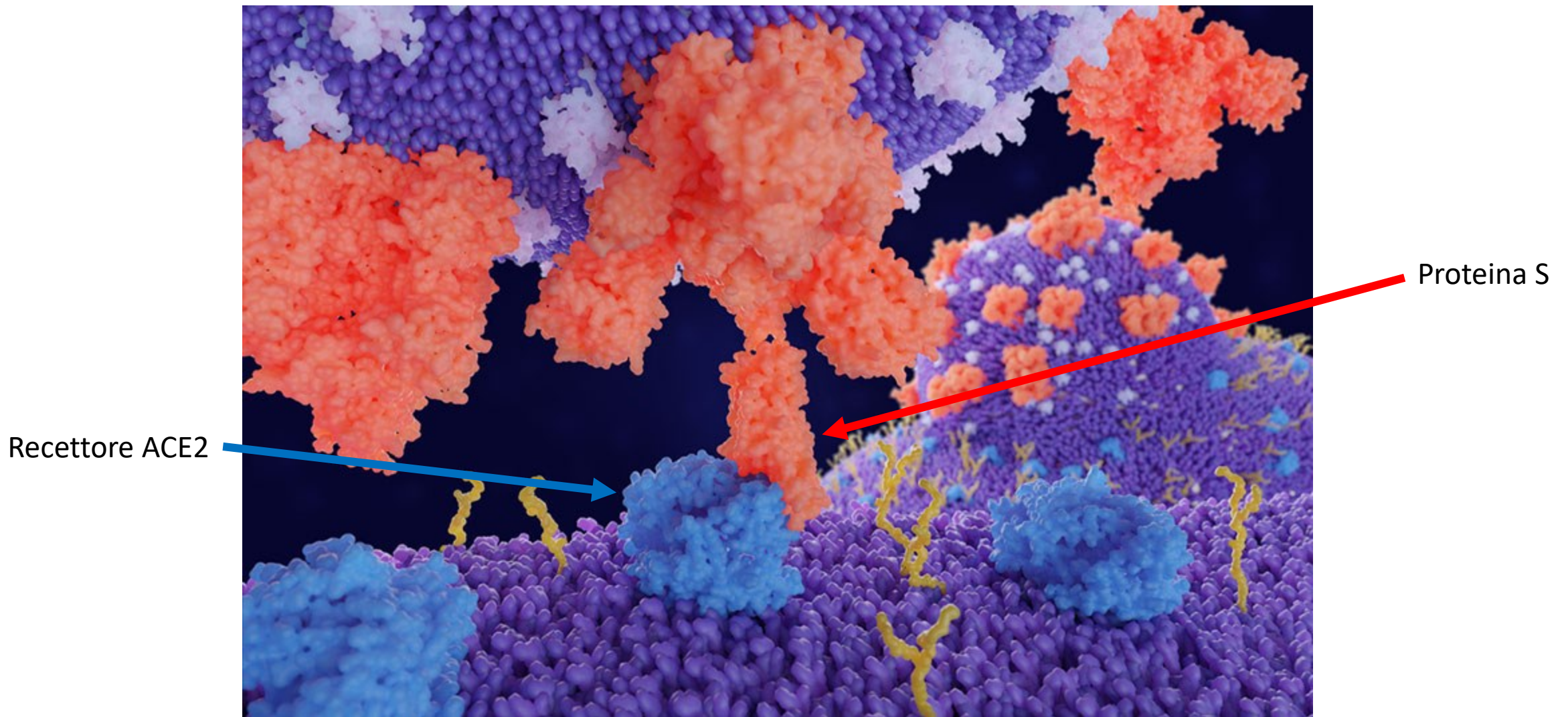
«È qui, quindi, che è avvenuta la mutazione genetica che ha reso possibile al virus animale infettare il corpo umano.»



Fonte: Journal of Thoracic Disease. *Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines.* (2013)

- La proteina S del virus si lega al recettore umano ACE2;
- Il virus entra nella cellula ospite;
- Nel citoplasma della cellula umana il virus rilascia il proprio RNA a singolo filamento positivo;
- L'RNA si attacca ai ribosomi e viene tradotto;
- La traduzione produce una RNA-polimerasi RNA-dipendente che trascrive un RNA a singolo filamento negativo;
- Si ottengono nuovi RNA a filamento positivo e le 7 proteine virali

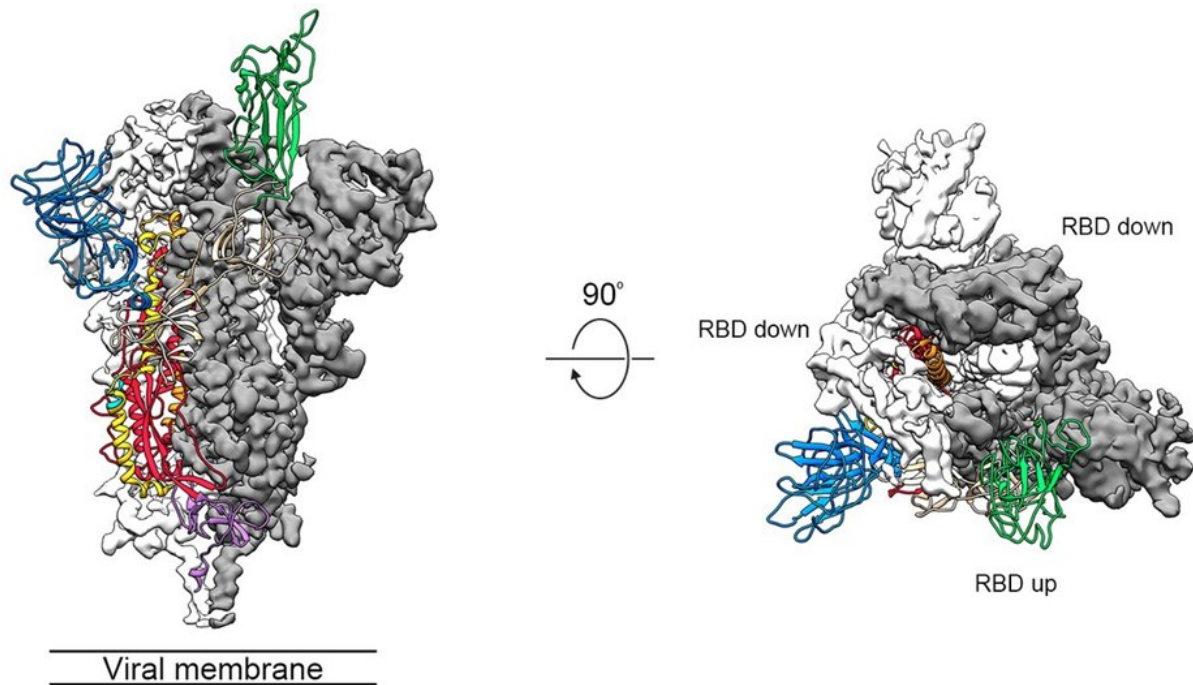
Virus con **genoma a RNA con polarità positiva**: diversamente da un virus a RNA con polarità negativa che deve essere trasformato in un RNA messaggero (mRNA) prima di poter codificare proteine, questo è in grado di codificare proteine immediatamente.



Fonte: Biomol. ACE2 – The SARS-CoV-2 Receptor. (2020).

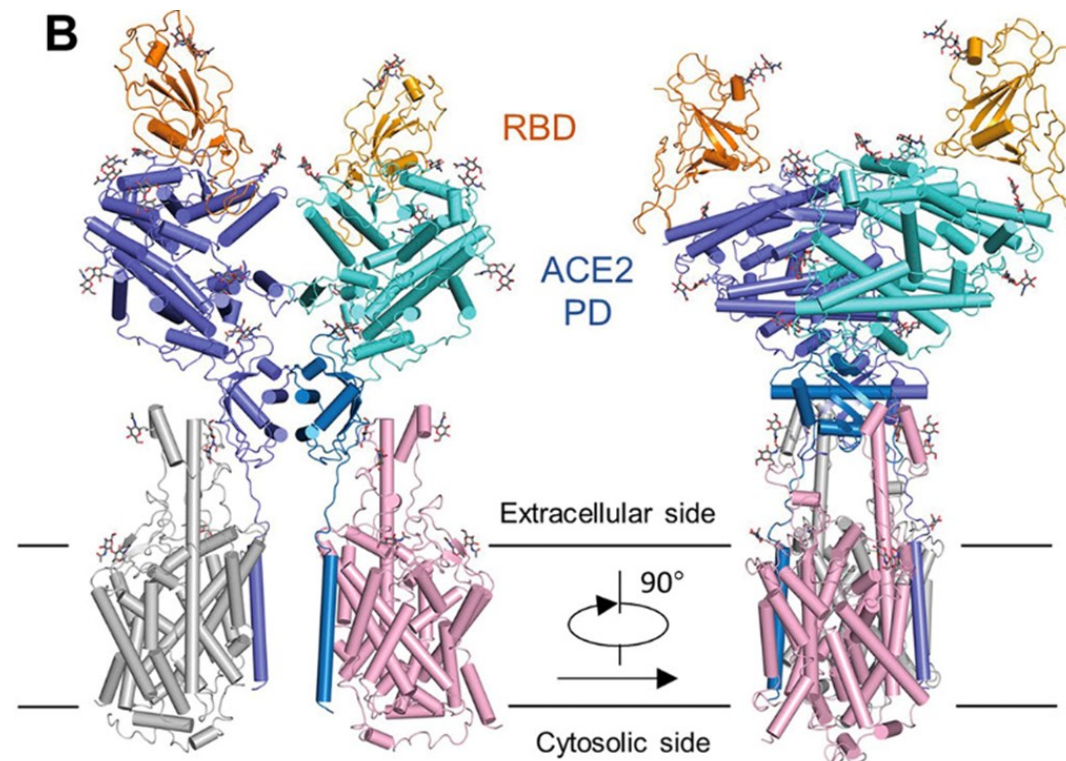
Rappresentazione dell'interazione fra la proteina S che sporge dal capsido del virus SARS-CoV-2 (in rosso) e il recettore umano di membrana ACE2 (in blu).

Conclusioni



Fonte: Science. *Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation.* (2020).

Struttura della glicoproteina S (Spike protein) di SARS-CoV-2



Fonte: Science. *Structural basis for the recognition of the SARS-CoV-2 by full-length human ACE2.* (2020).

Struttura del recettore di membrana ACE2 dell'uomo e struttura del dominio RBD della glicoproteina S (Spike protein) di SARS-CoV-2

Conoscenze fondamentali per comprendere il funzionamento del virus e sviluppare inibitori (molecole antivirali)

Riassumendo...

- Zoonosi e deriva genetica
- Modello a piramide, modello a foro stenopeico ed effetto collo di bottiglia
- Genetica dell'ospite e mutazioni
- Coronavirus SARS-CoV-2
- Meccanismo molecolare del virus: interazione proteina S – recettore umano ACE2
- Conoscenze strutturali utili per comprendere l'azione del virus e sviluppare antivirali

Bibliografia

- Cody J. Warren and Sara L. Sawyer. *How host genetics dictates successful viral zoonosis in "Plos Biology"*. BioFrontiers Institute and Department of Molecular, Cellular, and Developmental Biology, University of Colorado Boulder, Boulder, Colorado, United States of America. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000217. (2019).
- Jemma L. Geoghegan and Edward C. Holmes. *Predicting virus emergence amid evolutionary noise in "The Royal Society Publishing"*. Department of Biological Sciences, Macquarie University, Sydney, New South Wales 2109, Australia. Marie Bashir Institute for Infectious Diseases and Biosecurity, Charles Perkins Centre, School of Life and Environmental Sciences and Sydney Medical School, The University of Sydney, Sydney, New South Wales 2006, Australia. DOI: 10.1098/rsob.170189. (2017). *5. A population-genetic framework to understand virus emergence*.
- Mark Woolhouse, Fiona Scott, Zoe Hudson, Richard Howey and Margo Chase-Topping. *Human viruses: discovery and emergence in "The Royal Society Publishing"*. Centre for Immunity, Infection and Evolution, University of Edinburgh, Ashworth Laboratories, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh EH9 3JT, UK. DOI: 10.1098/rstb.2011.0354. (2012).
- 3. EMERGENCE AS A BIOLOGICAL PROCESS (b) Pathogen pyramid & (e) Cell receptor usage and host range*.
- James M. Hughes, Mary E. Wilson, Brian L. Pike, Karen E. Saylor, Joseph N. Fair, Matthew LeBreton, Ubald Tamoufe, Cyrille F. Djoko, Anne W. Rimoin, Nathan D. Wolfe. *The Origin and Prevention of Pandemics in "Oxford Academic". Clinical Infectious Diseases*, Volume 50, Issue 12, 15 June 2010, Pages 1636–1640. Global Viral Forecasting Initiative, San Francisco, and Department of Epidemiology, University of California–Los Angeles School of Public Health, California. DOI: 10.1086/652860. (2010). *ZOONOTIC DISEASE EMERGENCE*, pages 1636-1637.
- Roujian Lu *et al.* *Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding in "ScienceDirect. The Lancet"*. Volume 395, Issue 10224, 22-28 February 2020, Pages 565-574. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8. (2020).
- B. Coutard, C. Valle, X. De Lamballerie, B. Canard, N.G. Seidah, E. Decroly. *The Spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade in "ScienceDirect. Elsevier Journal. Antiviral Research"*. Volume 176, April 2020, 104742. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104742. (2020).
- Daniel K.W. Chu, Yang Pan, Samuel M.S. Cheng, Kenrie P.Y. Hui, Pavithra Krishnan, Yingzhi Liu, Daisy Y.M. Ng, Carrie K.C. Wan, Peng Yang, Quanyi Wang, Malik Peiris and Leo L.M. Poon. *Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia in "Oxford Academic". Clinical Chemistry*, Volume 66, Issue 4, April 2020, Pages 549-555. DOI: 10.1093/clinchem/hvaa029. (2020).
- Aiping Wu, Yousong Peng, Baoying Huang, Xiao Ding, Xianyue Wang, Peihua Niu, Jing Meng, Zhaozhong Zhu, Zheng Zhang, Jiangyuan Wang, Jie Sheng, Lijun Quan, Zanzhan Xia, Wenjie Tan, Genhong Cheng and Taijiao Jiang. *Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China in "Science Direct. Cell Host & Microbe"*. Volume 27, Issue 3, 11 March 2020, Pages 325-328. DOI: 10.1016/j.chom.2020.02.001. (2020).
- Marco Ciotti, Silvia Angeletti, Marilena Minieri, Marta Giovannetti, Domenico Benvenuto, Stefano Pascarella, Caterina Sagnelli, Martina Bianchi, Sergio Bernardini, Massimo Ciccozzi. *COVID-19 Outbreak: An Overview in "Karger"*. Chemotherapy. Antimicrobial Section/Review. DOI: 10.1159/000507423. (2020).
- Yu Chen, Qianyun Liu, Deyin Guo. *Emerging coronaviruses: Genome structure, replication and pathogenesis in "Wiley Online Library. Journal of Medical Virology"*. Volume 92, Issue 4. State Key Laboratory of Virology, Modern Virology Research Center, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan, China; Center for Infection and Immunity Study, School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China. DOI: 10.1002/jmv.25681. (2020).
- Jiumeng Sun, Wan-Ting He, Lifang Wang, Alexander Lai, Xiang Ji, Xiaofeng Zhai, Gairu Li, Marc A. Suchard, Jin Tian, Jiyong Zhou, Michael Veit and Shuo Su. *COVID-19: Epidemiology, Evolution and Cross-Disciplinary Perspectives in "ScienceDirect. Trends in Molecular Medicine"*. DOI: 10.1016/j.molmed.2020.02.008. (2020).
- <http://dp.univr.it/~laudanna/LCTST/resources/Geni-ortologhi-vs.-paraloghi.pdf>. *Geni ortologhi e paraloghi*. dp.univr.it. Carlo Laudanna.
- Xiaojie Zhu, Qi Liu, Lanying Du, Lu Lu, Shibo Jiang. *Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines in "NCBI, PMC, Journal of Thoracic Disease"*. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.06.06.(2013)
- Daniel Wrapp, Nianshuang Wang, Kizzmekia S. Corbett, Jory A. Goldsmith, Ching-Lin Hsieh, Olubukola Abiona, Barney S. Graham and Jason S. McLellan. *Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation in "Science"*. Vol. 367, Issue 6483, pp. 1260-1263. DOI: 10.1126/science.abb2507. (2020).
- Renhong Yan, Yuanyuan Zhang, Yanning Li, Lu Xia, Yingying Guo, Qiang Zhou. *Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 in "Science"*. Vol. 367, Issue 6485, pp. 1444-1448. DOI: 10.1126/science.abb2762. (2020).
- Michael Letko, Andrea Marzi and Vincent Munster. *Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses in "Nature Microbiology"*. DOI: 10.1038/s41564-020-0688-y. (2020).
- Tao Zhang, Qunfu Wu and Zhigang Zhang. *Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak in "Science Direct. Current Biology"*. Volume 30, Issue 7, 6 April 2020, Pages 1346-1351.e26 April 2020, Pages 1346-1351.e2. DOI: 10.1016/j.cub.2020.03.022. (2020).
- Peter J. Russell. *Genetica. Un approccio molecolare*. 2014 Pearson Italia – Milano, Torino. 4° edizione: settembre 2014. Edizione italiana a cura di: Carla Cicchini & Alessandra Marchetti. Sapienza Università di Roma. Capitoli 7 (mutazione, riparazione del DNA ed elementi trasponibili) e 21 (genetica di popolazione).
- Prof. Daniele Di Marino, Prof. Anna La Teana, Prof. Emiliano Trucchi, Dr. Mattia D’Agostino, Dr. Alice Romagnoli, Dr. Chiara Ardiccioni, Dr. Stefano Motta, Dr. Ilda D’Annessa. UNIVPM, Bicocca, CNR. *Il Buono, Il Brutto, Il Coronavirus*. Università Politecnica delle Marche. Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente. Webinar (2020).
- Jasper Fuk-Woo Chan, Kin-Hang Kok, Zheng Zhu, Hin Chu, Kelvin Kai-Wang To, Shuofeng Yuan & Kwok-Yung Yuen. *Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan in "Taylor & Francis Journal"*. DOI: 10.1080/222217551.2020.1719902. Pages 221-236. (2020).
- Peng Zhou *et al.* *A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin in "Nature"*. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7. (2020).