



DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E
DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche

La possibile origine del virus SARS-CoV-2

Relatore

Prof.ssa Carla Vignaroli

Laureando

Vincenzo Presutti

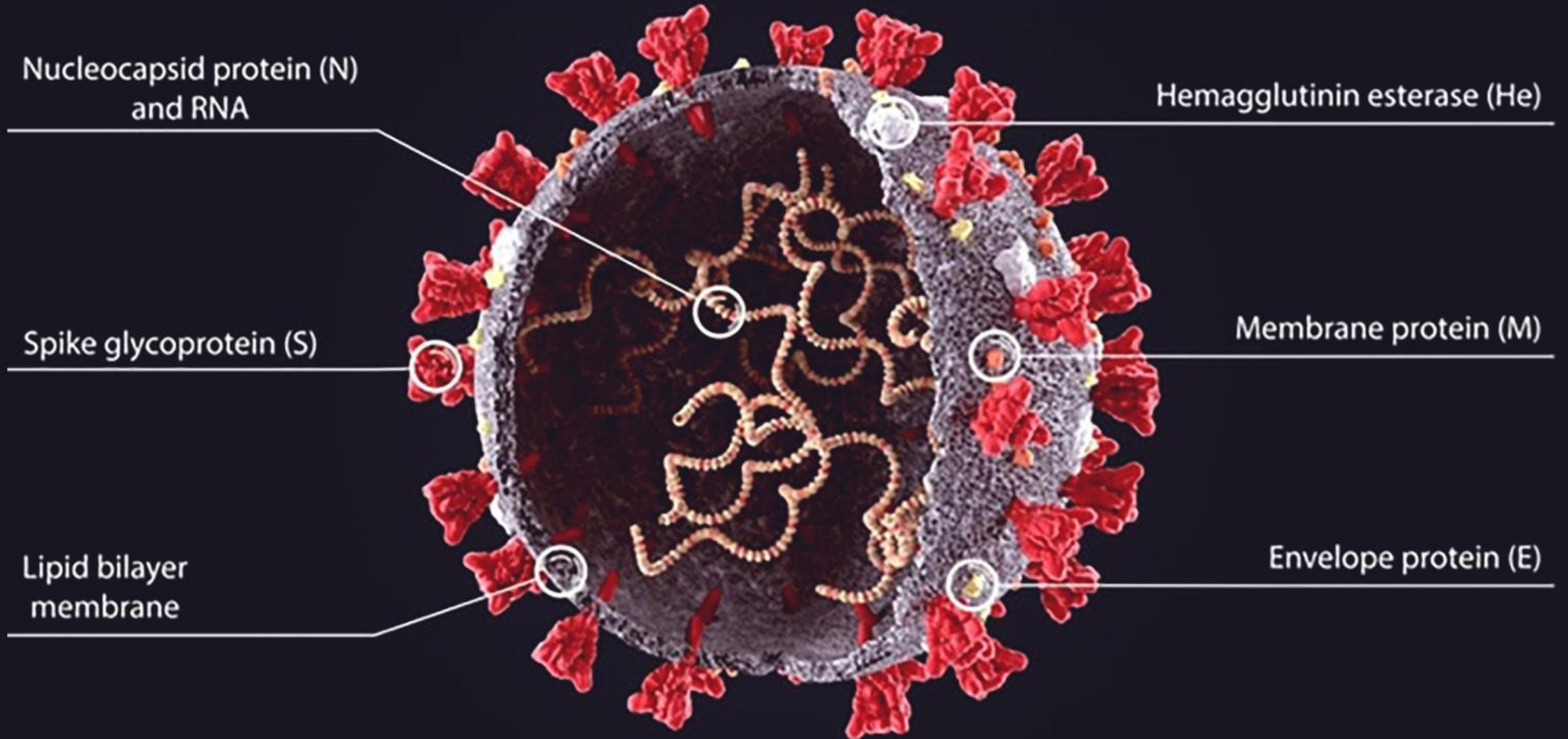
Anno Accademico 2019/20



L' origine della pandemia tra ipotesi e realtà...



Struttura del Coronavirus





...manipolazione
intenzionale?

sulla base degli studi esaminati
sembra improbabile per due
caratteristiche del virus:

1) Sito di taglio enzimatico nella sequenza aminoacidica della proteina S:

- Ruolo della furina e delle proteasi:

in particolare è proprio la proteasi TMPRSS2 che “attacca” l’unità S1 e grazie alla sua attività enzimatica, la distacca dall’unità S2. A distacco avvenuto, l’unità S2 virale si fonde con la cellula e attraverso tale unità avviene il trasferimento del contenuto virale all’interno della cellula.

Proteina S Virale ('Spike' protein).

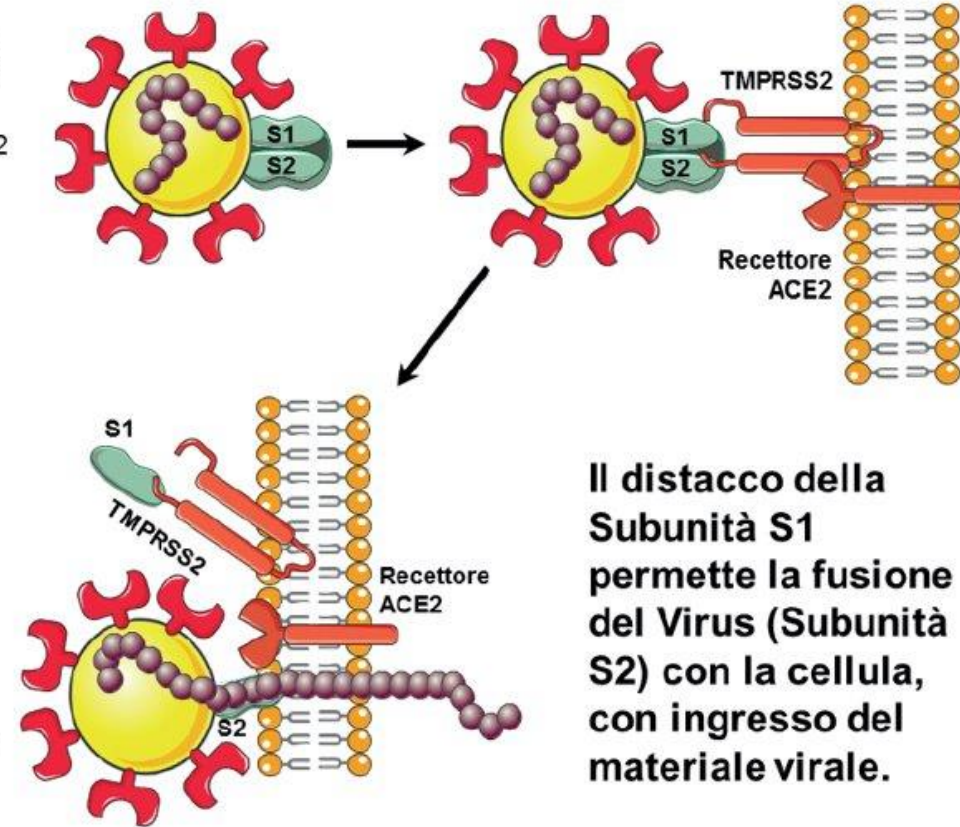
Composta da 2 subunità (S1 e S2).
SARS-Cov e SARS-Cov-2 condividono il 76,5% della sequenza aminoacidica di questa proteina. L'affinità con l'ACE2 è maggiore per la proteina del SARS-Cov-2

Recettore ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2).

Metallopeptidasi trans-membrana diffusamente presente nell'endotelio vascolare. Molto abbondante nei pneumociti tipo 2. SARS-Cov, MERS-CoV e SARS-Cov-2, oltre ad altri virus, entrano nelle cellule attraverso il recettore ACE2

Transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2).

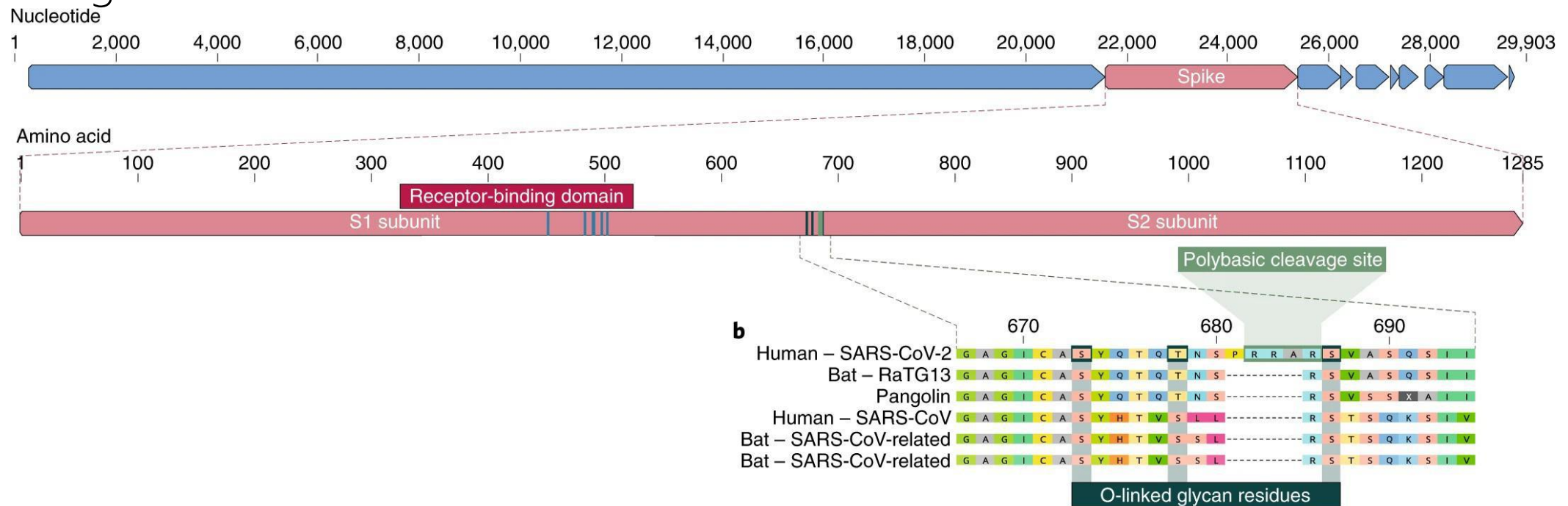
Altamente espressa nelle cellule epiteliali polmonari. Stechiometricamente contigua alla tasca dell'ACE2 responsabile dell'attività enzimatica. TMPRSS2 si lega alla Subunità 1 della Proteina S dei coronavirus e di altri virus, rompendo il legame tra le Subunità S1 ed S2.



Il distacco della Subunità S1 permette la fusione del Virus (Subunità S2) con la cellula, con ingresso del materiale virale.

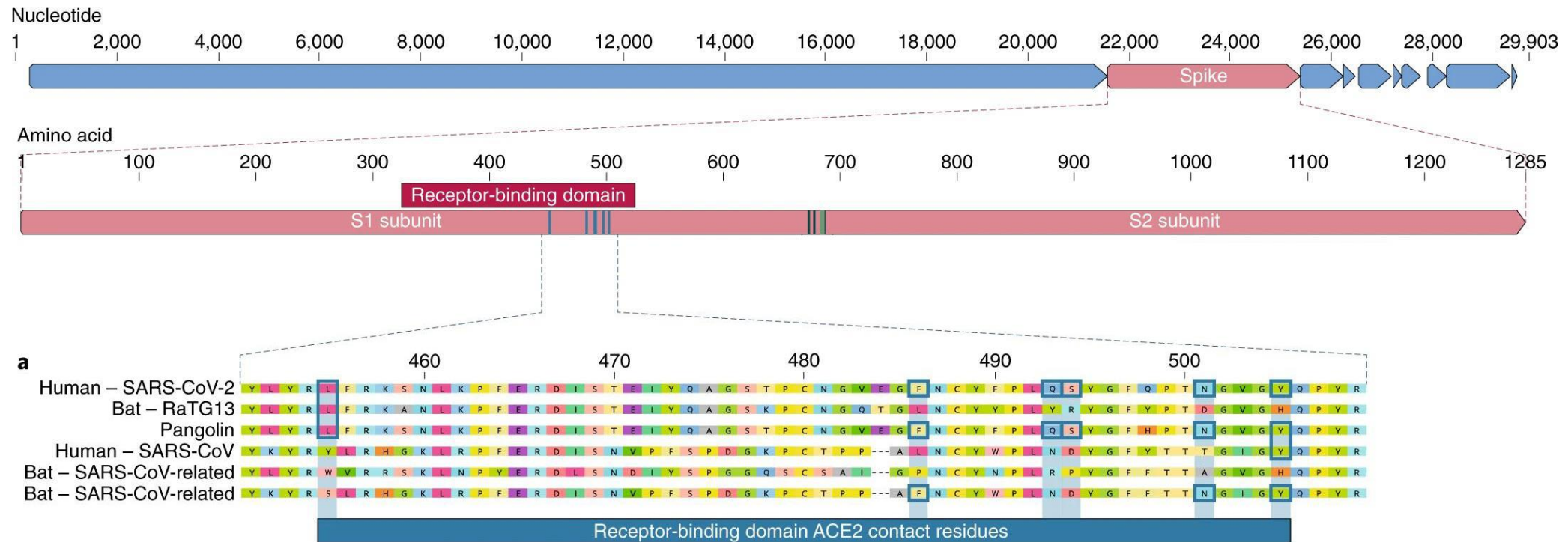
Importanza del sito PRRA:

- unico per Sars-Cov-2;
- importante per il riconoscimento e taglio delle subunità S1 e S2;
- l'inserimento della prolina modifica la conformazione della proteina permettendo il legame di catene glicaniche ai gruppi -OH (O- linked glycans) dei residui aminoacidici S673, T678 e S686 situati in prossimità del sito di taglio.



2) Mutazione del dominio peptidico di legame(RBD):

degli aminoacidi che lo compongono, sei (L455- F486- Q493- S494- N501- Y505) hanno dimostrato di essere critici per il legame con l' ACE2 umano. Di questi, solo uno è in comune con Bat RaTG13, mentre ben cinque lo sono con il coronavirus isolato nel pangolino.



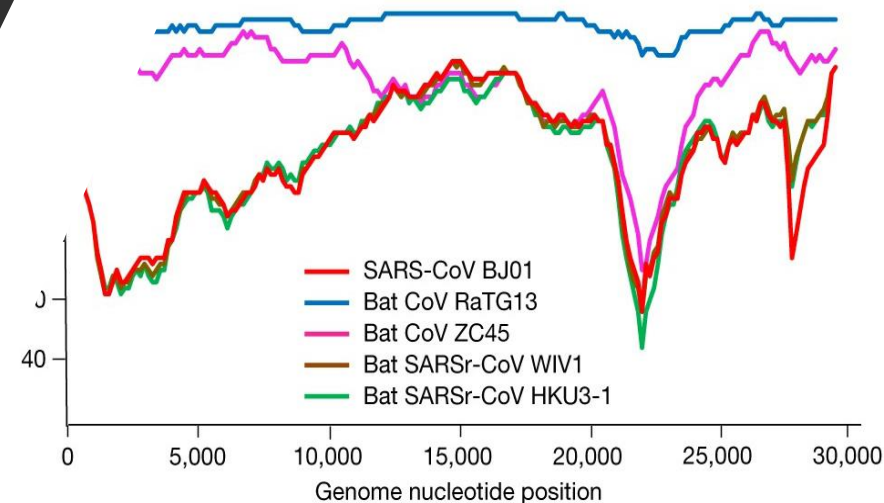
(Andersen et al., 2020; *Nat Med* volume 26, pag.450–452)



Origine per selezione naturale prima del
traferimento zoonotico

Legame con Bat Cov RaTG13:

- SARS-CoV-2 è identico per circa il 96% a Bat Cov RaTG13 per l'intero genoma ;
- L' RBD differisce solo in tre piccole inserzioni del dominio n-terminale e in quattro dei cinque residui amminoacidici dell' RBM, con una identità pari al 93,1%.
- L' RBM di SARS-CoV-2 e RaTG13 contengono entrambi un motivo a quattro residui glicina-valina / glutamina-glutammato / treonina-glicina; i due residui relativamente voluminosi e le due glicine flessibili, portano ad una maggiore compattezza e quindi ad una migliore adesività con l' ACE2. (Jian Shang et al, 2020; Nature vol 581 pag 221-224).



(Peng Zhou et al, 2020; Nature vol 579 pag 270-289)



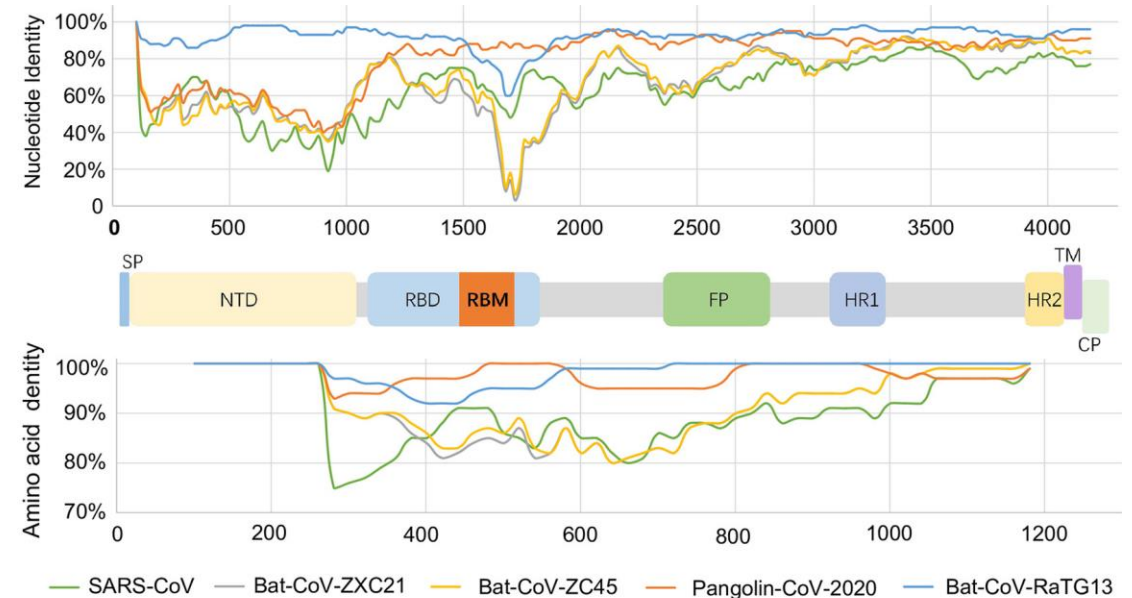
<https://www.nationalgeographic.it/scienza/2020/04/coronavirus-nuove-ipotesi-sul-prossimo-potenziale-animale-ospite>

Ruolo emergente del pangolino:

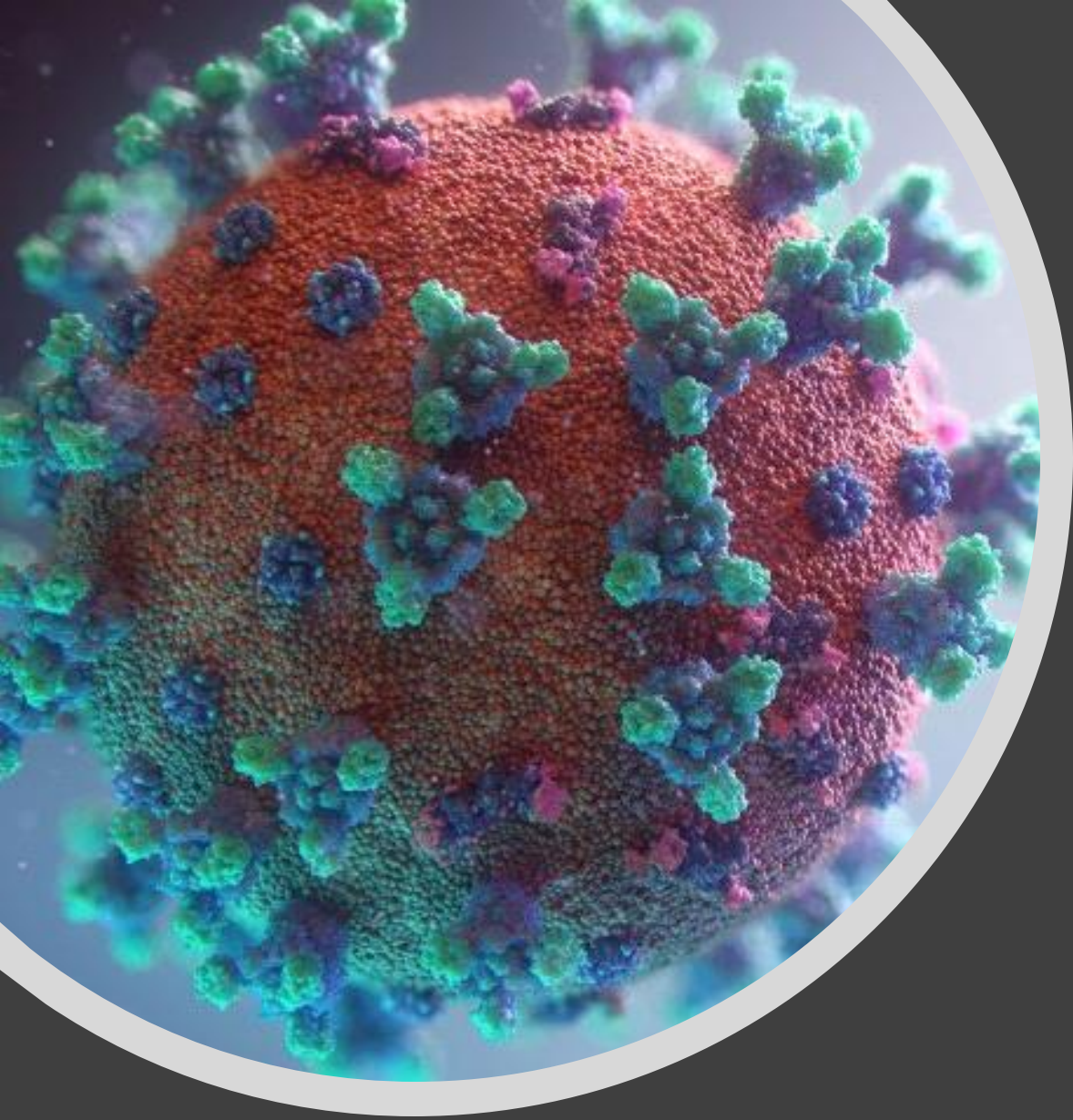
Analisi metagenomiche hanno dimostrato che il coronavirus riscontrato nei pangolini ha un'identità di circa il 90,32% per le sequenze nucleotidiche e il dominio di legame del recettore (RBD) risulta essere più simile (98,6%) rispetto a Bat-Cov RaTG13



<https://www.lastampa.it/la-zampa/altri-animali/2020/05/09/news/coronavirus-caccia-al-segreto-del-pangolino-l-animale-veicola-i-virus-ma-li-tollera-1.38821180>



(Peng Zhou et al, 2020; Nature , vol 579, pages 270–289).



Conclusione

- Poco probabile la manipolazione intenzionale
- Bat Cov RaTG13 sembra essere il più vicino a SARS- CoV-2 nel genoma
- Il coronavirus del pangolino mostra una forte somiglianza nel sito RBD inclusi 5 su 6 dei residui chiave
- La proteina spike di SARS-CoV-2 è ottimizzata per il legame con l' ACE2 umano dimostrando che il virus è il risultato della selezione naturale
- Studi futuri potranno indagare la possibilità che ci siano altri ospiti intermedi e che vi sia stata una selezione a seguito del trasferimento zoonotico
- Chiarire l' origine del virus e definirne meglio la modalità di trasmissione aiuterà nella prevenzione di futuri eventi zoonotici

Riassunto

Il 31 Dicembre 2019 le autorità sanitarie cinesi riferiscono che nella città di Wuhan (provincia di Hubei, Cina centro orientale) si è sviluppato un focolaio epidemico di casi di polmonite atipica ad eziologia non nota. Molti dei casi iniziali riferivano la frequentazione del mercato ittico di Wuhan, dove sono venduti anche animali selvatici, tra cui il pangolino che potrebbe aver avuto un ruolo importante nella trasmissione del virus all'uomo.

L'11 febbraio 2020 l'International Committee on Taxonomy of Viruses assegna il nome di SARS-CoV-2 a questo nuovo beta-coronavirus.

I coronavirus appartengono alla famiglia *Coronaviridae* nell'ordine *Nidovirales* e sono virus ad RNA positivo non segmentato.

La tipica conformazione a corona è data dalla presenza della glicoproteina spike, la cui funzione è quella di mediare l'adesione alle cellule epiteliali del tratto respiratorio umano, grazie all'affinità per il recettore ACE2 espresso dalle cellule dei capillari polmonari.

Attraverso le analisi condotte da numerosi scienziati, si tende ad escludere che SARS-CoV-2 sia frutto di una manipolazione intenzionale, avvalorando così l'ipotesi della selezione naturale.

Gli scienziati evidenziano che «se qualcuno avesse cercato di ingegnerizzare un nuovo coronavirus come patogeno, lo avrebbe costruito dalla struttura portante di un virus noto per causare malattie».

Ma è stato scoperto che la struttura portante del SARS-CoV-2 differiva sostanzialmente da quella dei coronavirus già noti e assomigliava per lo più a virus correlati trovati nei pipistrelli e nei pangolini.

Sulla base di studi sulla struttura del virus, due sono le caratteristiche che avvalorano questa ipotesi:

1-Sito di scissione polibasico al confine tra S1 e S2: che permette la scissione della proteina S da parte di furine e proteasi dell'ospite ed ha un ruolo chiave nel determinare l'infezione virale.

2-Il dominio legante il recettore (RBD) presente nella proteina spike è la parte più variabile del genoma del coronavirus. Sei aminoacidi di RBD hanno dimostrato essere fondamentali per il legame con il recettore ACE2 umano. Tale legame è talmente preciso che può essere solo il risultato di una selezione naturale.

Secondo studi più recenti sull'origine del SARS-Cov-2 sembrerebbero indicare una selezione naturale del virus in un ospite animale prima del suo trasferimento zoonotico. Peng Zhou e colleghi hanno recentemente analizzato campioni provenienti da pazienti affetti da coronavirus evidenziando che il genoma di SARS-CoV-2 è identico per circa il 96% a quello di coronavirus isolati da pipistrello. Inoltre un'alta identità nucleotidica è stata evidenziata anche con coronavirus isolati dal pangolino (90,32%) con cui SARS-CoV-2 condivide un'identità nucleotidica in singole proteine che può arrivare al 100%.

Di fondamentale importanza è il dominio RBD che risulta avere omologia maggiore con quello descritto nel ceppo da pangolino (98,6%) rispetto al dominio RBD di Bat-RaTG13 (76,4%).

In conclusione possiamo dire che dagli studi esaminati è emerso che SARS-CoV-2 ha un genoma quasi identico a Bat-RaTG13 ad eccezione del recettore RBD che sembra essere più simile a quello di coronavirus isolati dal pangolino. Gli studi in nostro possesso avvalorano la tesi che Sars-CoV 2 abbia avuto origine da una selezione naturale piuttosto che da una manipolazione intenzionale. Tuttavia studi successivi potranno chiarire al meglio l'origine del virus e le modalità di trasmissione.

Bibliografia e articoli consultati

- Kristian G. Andersen, Andrew Rambaut, W. Ian Lipkin, Edward C. Holmes and Robert F. Garry "The proximal origin of SARS-CoV-2" Nat Med volume 26, pag.450–452 (2020). doi: 10.1038/s41591-020-0820-9
- Naganori Nao, Junya Yamagishi, Hiroko Miyamoto, Manabu Igarashi, Rashid Manzooret al. "Genetic Predisposition To Acquire a Polybasic Cleavage Site for Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Hemagglutinin" Mary K. Estes, Editor vol. 8 (2017) doi:10.1128/mBio.02298-16
- Ping Liu, Jing-Zhe Jiang, Xiu-Feng Wan, Yan Hua, Linmiao Li, et al. "Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)?" PLoS Pathogens vol 16(5): e1008421., Published: May 14, 2020 doi: 10.1371/journal.ppat.1008421
- Timothy Sheahan, Barry Rockx, Eric Donaldson, Davide Corti, Ralph Baric "Pathways of Cross-Species Transmission of Synthetically Reconstructed Zoonotic Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus"; Journal of virology Sept. 2008, p. 8721–8732 Vol. 82, No. 17 doi:10.1128/JVI.00818-08
- Paolo Verdecchia, Gianpaolo Reboldi, Claudio Cavallini, Giovanni Mazzotta, Fabio Angeli "ACE-inibitori, sartani e sindrome respiratoria acuta da coronavirus 2" (2020) G Ital Cardiol 2020; 21(5):321-327; do: 10.1714/3343.33127
- Yushun Wan, Jian Shang, Rachel Graham, Ralph S. Baric, Fang Li "Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus" (2020) Journal of Virology 2020 Mar vol 17;94(7):e00127-20. doi: 10.1128/JVI.00127-20.
- Alexandra C. Walls, Young-Jun Park, M. Alexandra Tortorici, Abigail Wall, Andrew T. McGuire, David Veasley "Structure, function and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein" (2020) ; Cell press vol 180 pag. 281-292 . doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058
- Daniel Wrapp, Nianshuang Wang, Kizzmekia S. Corbett, Jory A. Goldsmith, Ching-Lin Hsieh, Olubukola Abiona, Barney S. Graham, Jason S. McLellan, "Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation" (2020) Science 13 Mar 2020: Vol. 367, Issue 6483, pp. 1260-1263 doi: 10.1126/science.abb2507
- Jian Shang, Gang Ye, Ke Shi, Yushun Wan¹, Chuming Luo, Hideki Aihara, Qibin Geng, Ashley Auerbach & Fang Li "Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2" (2020) Nature vol 581 pag. 221–224 . doi: 10.1038/s41586-020-2179-y
- Peng Zhou, Xing-Lou Yang, Xian-Guang Wang, Ben Hu, Lei Zhang, et al. "A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin". Nature vol 579 pag 270-289 doi:10.1038/s41586-020-2012-7

Grazie per l' attenzione!