

coronavirus disease in fever clinics. Lancet Respir Med [Epub ahead of print].
Zhou, P., Yang, X.L., Wang, X.G., Hu, B., Zhang, L., and Zhang, W., et al. (2020) A pneumonia outbreak associated with a new

coronavirus of probable bat origin. Nature [Epub ahead of print].
<https://doi.org/10.1038/s41586-0202012-7>
Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., et al. (2020) A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 382: 727-733.

The Novel Coronavirus – A Snapshot of Current Knowledge

Translated by Translated by Bahrol Olom H., Norae S. and Aminzdeh S.

National Institute of Genetic Engineering, and Biotechnology, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Another animal to human transmission of a coronavirus occurred in December 2019 on a live animal market in the Chinese city of Wuhan causing an epidemic in China, reaching now different continents. This minireview summarizes the research literature on the virological, clinical and epidemiological aspects of this epidemic published until end of February 2020.

ژنوتیپ و فنوتیپ کووید-۱۹: نقش آنها در بیماری زائی

سعیده جعفری نژاد*

کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

چکیده

کووید-۱۹ کروناویروس نوظهور در ووهان چین است که با شیوع غیر معمول عفونت ریوی همراه بوده، اکنون به صورت همه‌گیری درآمده است. بر اساس ارتباطات تبارزایی و ساختارهای ژنتیکی، کووید-۱۹ متعلق به جنس بتاکروناویروسها است. بتاکروناویروسهای انسانی (سارس- کرونا، مرس- کرونا، سارس- کرونا-۲) شباهت زیادی با یکدیگر دارند، اما در ساختارهای ژنتیکی و فنوتیپی تفاوت‌هایی وجود دارد در بیماری زائی آنها مؤثرند. کووید-۱۹ RNA تک رشته ای مثبت (رشته sense) دارد که به نوکلئوپروتئینی متصل است و در کپسید حاوی پروتئین ماتریکس قرار دارد. یک کروناویروس معمول، حداقل شش چارچوب خوانش باز (Open reading frame; ORFs) در ژنگان خود دارد. تمام پروتئین‌های ساختاری و کمکی از روی RNA های تک زنجیره کرونا ویروسها ترجمه می‌شوند. چهار پروتئین ساختاری اصلی با ORF شماره ۱۰ و ۱۱ که یک سوم ژنگان را تشکیل می‌دهند و نزدیک به انتهای ۳' قرار دارند رمزگذاری می‌شوند. ساختار ژنتیکی و فنوتیپی کووید-۱۹ در بیماری زائی آن اهمیت دارد. این مقاله ویژگی‌های مهم ژنتیکی و فنوتیپی کووید-۱۹ را در مقایسه با دیگر بتاکروناویروسها مشخص می‌کند.

کلیدواژگان: کووید-۱۹، ژنوتیپ، فنوتیپ، بیماری زائی

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: sajaf1166@yahoo.com

مقدمه

کرونا-سارس از رسپتور سطح سلولی ACE2 به عنوان گیرنده ورود استفاده می‌کند. با توجه به شباهت کووید-۱۹ به سارس- کرونا، گروه مطالعات کروناویروس در کمیته بین المللی تاکسونومی ویروسها، آن را کرونا-سارس ۲- نامید. درک ما از بیماری زائی ساختار ژنتیکی و فنوتیپی کووید-۱۹ اهمیت زیادی در تولید داروها و واکسنها خواهد داشت. در این مقاله مروری، جدیدترین ویژگی‌های فنوتیپی و ساختاری کووید-۱۹ را در مقایسه با دیگر اعضای خانواده کروناویروسها برای بررسی نقش این دو عامل در بیماری زائی مطرح خواهیم کرد.

کروناویروسها در بیماری انسان و مهره داران نقش دارند. کروناویروسها عضوی از زیرخانواده *coronavirinae* متعلق به خانواده *Coronaviridae* و در راسته *Nidovirales* هستند. کووید-۱۹ یا 2019-nCoV، یک کروناویروس نوظهور، اخیراً در ووهان چین پدیدار شده، با شیوع غیرمعمول عفونت ریوی ویروسی در حال حاضر به صورت همه‌گیری جهانی درآمده است. کووید-۱۹ از نظر ساختاری متعلق به جنس بتاکروناویروسهاست و توالی‌های کووید-۱۹ شباهت نزدیک با کروناویروس سندرم تنفسی حاد (کرونا-سارس) دارد و مانند

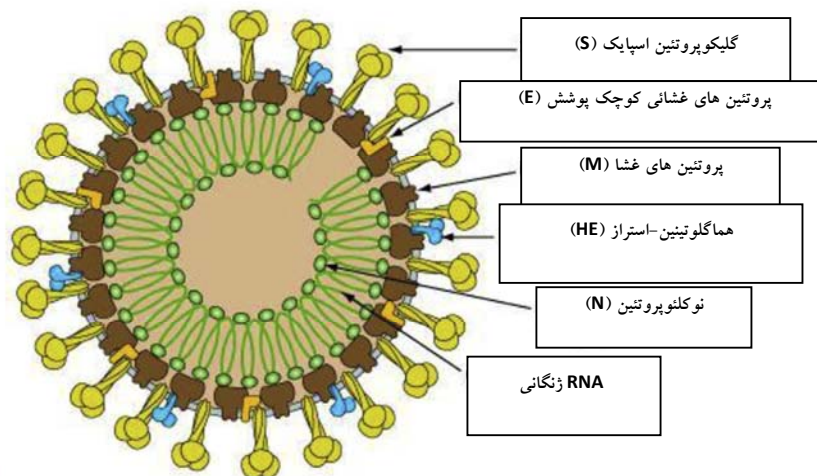
ساختار ژنگان (genome) و چرخه حیات ویروس

کوئید-۱۹ ذراتی با پوشش کروی یا چند شکل هستند که RNA تک رشته ای (رشته مثبت) غلاف شده با یک نوکلئوپروتئین در کپسید حاوی پروتئین ماتریکس جای گرفته است. سرتاسر پوشش ویروس دارای برجستگی هائی گلیکوپروتئینی است. برخی از کروناویروسها دارای پروتئین همآگلوتینین-استراز (Hem agglutinin-esterase; HE) هستند. کرونا ویروسها در میان تمام ویروس های شناخته شده RNA بزرگترین ژنگان (۳۱,۷-۲۶,۴ کیلوباز) را دارند و محتوای G + C آنها بین ۳۲ تا ۴۳ درصد است. ORF های کوچک با تعداد متغیر در بین ژن های حفظ شده (ORF1a، اسپایک، پوشش، غشا و نوکلئوکپسید) و در فرودست ژن نوکلئوکپسید در دودمانهای مختلف کرونا ویروس وجود دارد. ژنگان ویروس دارای ویژگیهای متمایزی از جمله وجود ناحیه انتهائی - N منحصر به فرد در پروتئین اسپایک است. ژنهای پروتئینهای اصلی ساختاری در تمام کروناویروسها به ترتیب از سمت ۵' به ۳' شامل E، S، M و N هستند (شکل ۲).

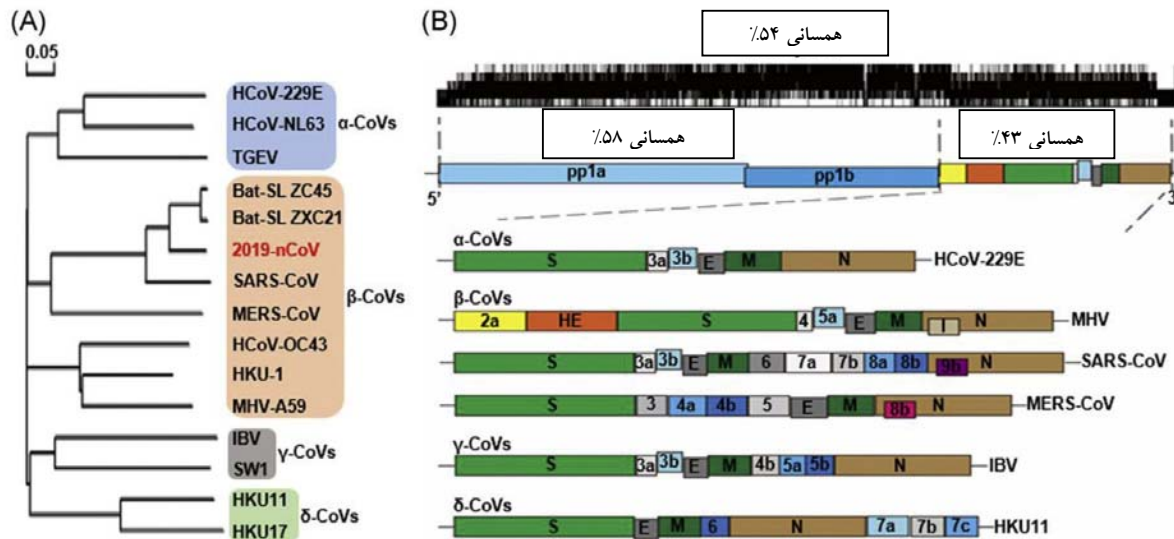
یک کروناویروس معمول، حداقل شش OFR در ژنگان دارد. به استثنای گاما کروناویروسها که nsp1 را ندارند، اولین ORF ها (ORF1a/b) حدود دو سوم طول ژنگان را تشکیل داده و شانزده nsp (nsp1-16) را رمزگذاری می کنند. ORF1a و ORF1b دارای تغییر چارچوب خوانش هستند که دو پلی پپتید PP1a و PP1ab را تولید می کند. این پروتئینها توسط پروتئازهای رمز شده توسط ویروس شامل: پروتئاز شبه کیموترپسین (3CLpro)، پروتئاز اصلی (Mpro)، و یک یا دو پروتئاز شبه پاپین به شانزده nsp پردازش می شوند. تمام پروتئینهای ساختاری و کمکی از

روی RNA تک زنجیره ویروس ترجمه می شوند. چهار پروتئین اصلی ساختاری اسپایک (S)، غشا (M)، پوشش (E)، و نوکلئوکپسید (N) از ORF های شماره ۱۰ و ۱۱ که یک سوم ژنگان را در ناحیه انتهائی ۳' تشکیل می دهند رمز می شوند. علاوه بر این چهار پروتئین ساختاری اصلی، کروناویروسهای مختلف پروتئینهای ویژه ساختاری و کمکی مانند: پروتئین HE، 3a/b، 4a، b را نیز رمز می کنند (شکل B۲، بخش پائین شکل). این پروتئینهای بالغ (بعد از انجام پردازشهای لازم) مسئول پایداری ژنگان و همانند سازی ویروس هستند. بین سه تا چهار پروتئین در غشای کرونا ویروسها وجود دارد.

فراوانترین پروتئین ساختاری گلیکوپروتئین غشا (M) است. این پروتئین دو لایه غشا را سه مرتبه طی کرده و بخش کوچک انتهائی N-آن در سمت بیرونی ویروس و انتهای طولانی کربوکسیل (بخش سیتوپلاسمی) در درون ویروس جای گرفته است. پروتئین اسپایک (S)، به عنوان گلیکوپروتئین نوع یک برجستگیهای ویروس را تشکیل می دهد. در حقیقت، پروتئینهای S خنثی کنندگان اصلی آنتی بادیها هستند. برهمکنشهای مولکولی بین پروتئینهای پوشش ویروسی، شکل و ترکیب ساختاری غشای کرونا ویروس را مشخص می کند. پروتئین M بدون نیاز به پروتئین S نقش اساسی در تشکیل ساختارهای درون سلولی ذرات ویروس دارد. در حضور تونیکامایسین (tunicamycin) کرونا ویروس بدون اسپایک (برجستگیهای سطحی) شکل می گیرد، ویروسی غیر عفونی که حاوی M و بدون S است.



شکل ۱- طرح وارهٔ یک کروناویروس. ویروس جدید احتمالاً باید بسیار شبیه به این باشد. برگرفته از Biowiki: (<http://ruleof6ix.fieldofscience.com/2012/09/a-new-coronavirus-should-youcare.html>).



شکل ۲- ساختار ژنتیکی و درخت تبارزایی کرونا ویروس ها: A، درخت تبارزایی کرونا ویروس های موجود، به همراه کرونا ویروس جدید کووید-۱۹ که به رنگ قرمز مشخص شده است. B، ساختار ژنتیکی چهار جنس کروناویروس ها: دو پلی پپتید طولی، ۱۶ پروتئین غیر ساختاری از پردازش Pp1a و pp1b به دست می آیند. S، E، M و N کد کننده چهار پروتئین ساختاری اسپایک، پوشش، غشا و نوکلئوکسپید هستند. CoV، کروناویروس؛ HE، هماتوگلوپتینین-استراز؛ اسامی ویروس ها: HKU: کروناویروس یافته شده توسط دانشگاه هنگ کنگ؛ HCov، کروناویروس انسانی؛ IBV، ویروس عفونت برونشیت؛ MHV، ویروس هپاتیت موشی؛ TGEV، ویروس گاستروانتریت مسری.

نقش همانند سازی در بیماری زائی

کرونا-سارس-۲ (کووید-۱۹) از طریق پروتئین های اسپایک به گیرنده ACE2^۲ متصل شده و به سلول وارد می شود. برای تکمیل مرحله ورود ویروس به سلول، پروتئین اسپایک توسط آنزیمی به نام پروتئاز بُرش می یابد. همانند کرونا-سارس، کووید-۱۹ از پروتئازی با نام TMPRSS2 برای تکمیل این مرحله استفاده می کند. به عبارت دیگر، برای اتصال گیرنده ویروس (پروتئین اسپایک) به لیگاند (ACE2) فعالیت TMPRSS2 به عنوان یک پروتئاز لازم است (شکل ۴).

بعد از ورود ویروس به سلول و برداشته شدن پوشش ویروسی، ژنگان ویروس رونویسی و سپس ترجمه می شود. همانند سازی و رونویسی کرونا ویروس در غشاهای سیتوپلاسمی انجام می شود و شامل مراحل سنتز پیوسته یا منقطع RNA توسط همانندساز ویروس است، یک کمپلکس بزرگ پروتئینی که توسط ژن همانند ساز ۲۰ کیلوبازی رمز می شود. به نظر می رسد کمپلکس همانند ساز، از شانزده زیرواحد ویروسی و گروهی از پروتئین های سلولی تشکیل شده باشد.

علاوه بر فعالیت RNA پلیمرز وابسته به RNA، RNA هلیکاز و پروتئاز که برای تمام ویروس های RNA مشترک است،

مقایسه سارس-کرونا-۲ (کووید-۱۹)،

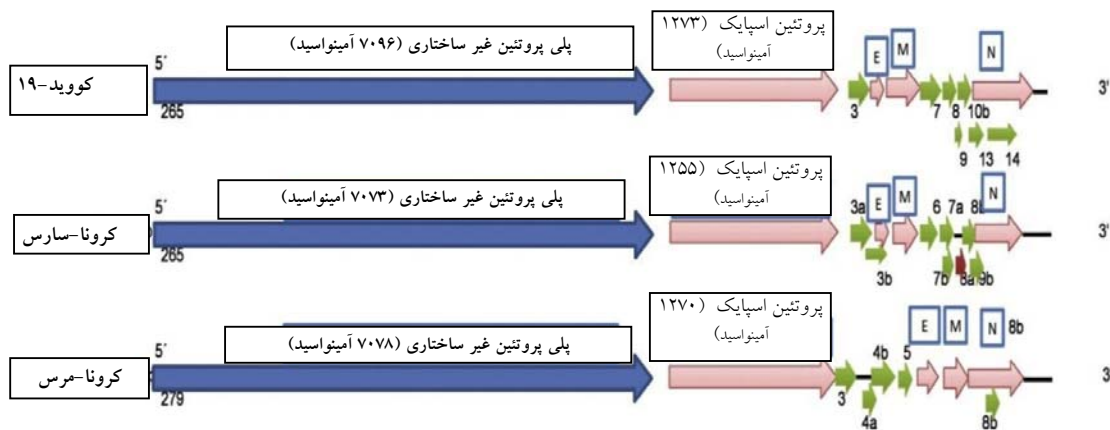
سارس-کرونا و مرس-کرونا

بخش های غیر رمزگذار انتهای ۵' و ۳' در برهمکنش های درون و برون سلولی نقش دارند که از نظر عملکردی در برهمکنش RNA-RNA و اتصال پروتئین های سلولی و ویروسی اهمیت دارند. در انتهای ۵'، Pb1ab اولین ORF ژنگان، پروتئین های غیر ساختاری با اندازه های ۲۹۸۴۴ جفت باز (۷۰۹۶ آمینواسید)، ۲۹۷۵۱ جفت باز (۷۰۷۳ آمینواسید) و ۳۰۱۱۹ جفت باز (۷۰۷۸ اسید آمینه) را به ترتیب در کووید-۱۹، کرونا-سارس و کرونا-مرس رمز می کند. مقایسه طول پروتئین اسپایک بین کرونا ویروس ها به ویژه این سه بتا کروناویروس در انتهای ۳'، تفاوت ۱۲۷۳ آمینواسید، ۲۱۴۹۳ آمینواسید و ۱۲۷۰ آمینواسید را به ترتیب در کووید-۱۹، کرونا-سارس و کرونا-مرس نشان داد. از نظر ژنتیکی کووید-۱۹ کمترین شباهت را به کرونا-سارس (حدود ۷۹٪) و کرونا-مرس (حدود ۵۰٪) دارد.

سازمان یابی پروتئین های نوکلئوکسپید (N)، پوشش (E)، و پروتئین غشا (M) در بین بتا کروناویروس ها همان گونه که در شکل ۳ نشان داده شده است متفاوت است.

² Angiotensin converting enzyme 2

5' UTR و 3' UTR



شکل ۳- ناحیه غیررمزگذار انتهای ۳' و ۵' و ناحیه کد کننده در کووید-۱۹، کرونا-سارس و کرونا-مرس. تعداد جفت بازها در بتاکروناویروسها نشان داده شده است. این شکل اصلاح شده مقایسه ساختار و سازمان بای بی ژنگانی 2019-nCoV، ۲۰۲۰ است. تفاوت سازمان بای پوشش (E)، غشا (M) و نوکلئوکپسید (N) در کووید-۱۹، کرونا-سارس و کرونا-مرس در انتهای ۳' نشان داده شده است.

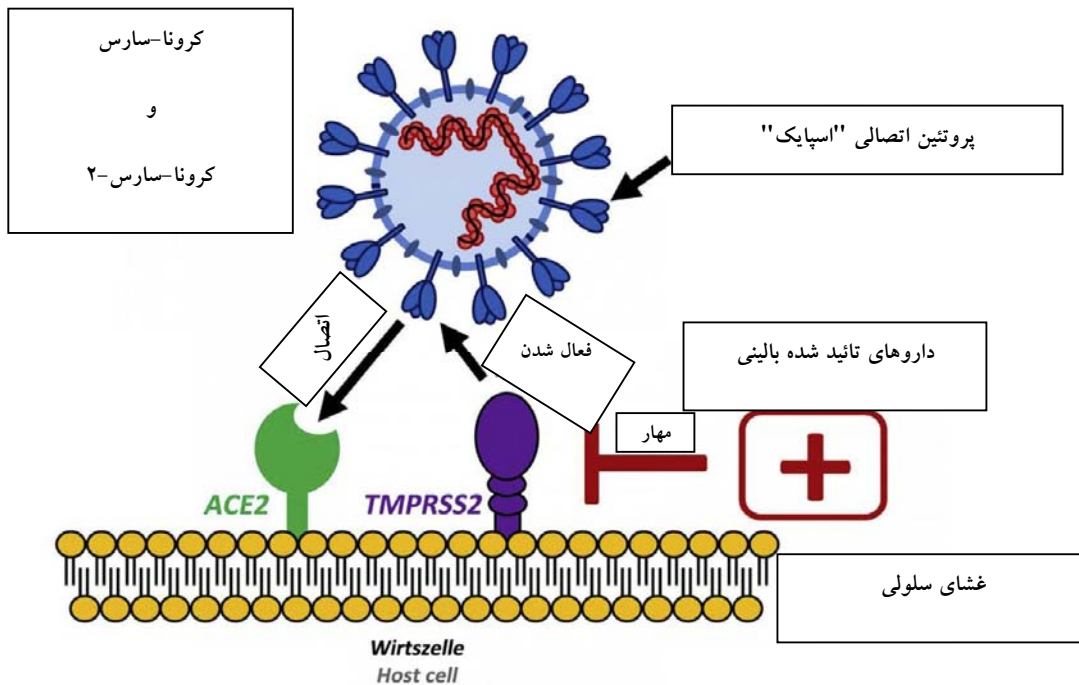
به سلول، خشی کنندگان آنتی بادیها، مهارکنندگان پروتئاز، مهار کنندگان پروتئین S، و RNA های کوچک مداخله گر (RNA interference) هستند.

همچنین برخی مواد نو ترکیب شامل اینترفرونها و ریبویرین که اثر محدودی بر کووید-۱۹ دارند نیز وجود دارند. ناحیه اتصال به گیرنده در کرونا-سارس-۲ تمایل بالایی به ACE2 دارد در حالی که این تمایل در کرونا-سارس اندک است. آنزیم تبدیل کننده آنژیوتنسین (ACE) و هومولوگ آن ACE2 به خانواده پپتیدیل کربوکسی دی پپتیداز تعلق دارند و عملکردهای فیزیولوژیک متنوعی دارند. از طرفی، ACE2 به عنوان جایگاه اتصال برای کووید-۱۹ عمل می کند. بر اساس این اطلاعات، گرویتس پیشنهاد می کند از سدکننده های گیرنده آنژیوتنسین ۱ (ATIR) مانند لوزارتان، به عنوان راهکار درمانی برای کاهش عفونت کووید-۱۹ استفاده شود. در حال حاضر، درمان بر اساس تشخیص و تولید آنتی بادی های مونوکلونال موثر و ویژه کووید-۱۹، به همراه رمدزیویر (Remdesivir) که پیش داروی جدید و آنالوگ نوکلئوتیدی ست و برای درمان ویروس ابولا استفاده شده است. برای درک میزان گسترش ویروس در میان مردم، باید مشخص شود که آیا کووید-۱۹ برای بهبود اتصالات به گیرنده های انسانی در حال جهش است یا خیر. هر گونه سازگاری در توالی کووید-۱۹ که انتقال آن را در میان مردم بهبود بخشد، سرایت ویروس را بیشتر خواهد کرد. انتظار می رود قدرت کووید-۱۹ ضمن انتقال از انسان به انسان به دلیل تنگنای ژنتیکی برای ویروس های RNA که از راه ترشحات تنفسی منتقل می شوند کاهش می داد.

همانند ساز کرونا ویروس انواع مختلفی از آنزیم های پردازش کننده را که بندرت در دیگر ویروس های RNA دیده می شوند را به خدمت می گیرد. از جمله آنها اندو ریبونوکلئاز وابسته به توالی، ۳' به ۵' آگزوریبونوکلئاز، ۲'-O-ریبوز متیل ترانسفراز، ADP ریبوز ۱' - فسفاتاز و در برخی از کروناویروس های گروه دو، شامل فسفودی استراز حلقوی است. پروتئین ها تماما در غشای سلولی تجمع یافته و ژنگان RNA در آن قسمت قرار گرفته و ذره بالغ ویروسی با جوانه زدن از بخش درونی غشای پلاسمائی شکل می گیرد.

عوامل مؤثر بر بیماری زائی ویروس

بیماری های [مستعدساز] همراه شامل بیماریهای قلبی عروقی و مغزی عروقی و بیماری دیابت هستند. برخی از مشکلات شامل نقص ایمنی سلولی، آسیب بافت قلب، فعالیت سیستم انعقادی، آسیب کلیوی و کبدی و عفونت ثانویه باکتریائی نیز مشاهده شده اند. در اغلب موارد شدید بیماری و مرگ، کمبود لنفوسیت ها و التهاب پایدار گزارش شده است. این مشاهدات در کووید-۱۹ مشابه با سندرم تنفسی حاد (سارس) در طول همه گیری ۲۰۰۳ است. چندین نوع واکسن و داروی ضد ویروسی بر علیه پروتئین S پیش از این مورد ارزیابی قرار گرفته اند. دوو و همکاران واکسن هائی که می توانند بر اساس پروتئین S طراحی شوند شامل: طول کامل پروتئین S، وکتور ویروسی، DNA، پروتئین نو ترکیب S و پروتئین نو ترکیب RBD را نشان داد. در مطالعات برون تنی، درمان های ضد ویروسی که بر اساس پروتئین S طراحی شده اند شامل سدکننده گان RBD-ACE2، مهار کنندگان شکست پروتئین S، سدکنندگان هسته اتصالی ویروس



شکل ۴- پروتئین اتصال "اسپایک" در کروناویروس کووید-۱۹ و کرونا-سارس از فاکتور اتصال سلولی (ACE2) و پروتئاز سلولی (TMPRSS2) یکسان برای فعال شدن استفاده می‌کند. داروهای بالینی تائید شده کنونی که بر علیه TMPRSS2 هستند آلودگی سلولهای ریه به کرونا-سارس-۲ را مهار می‌کنند.

جمع بندی

احتمالاً نقش مهمی در بیماری زائی و درمان این ویروس بازی می‌کند. با این حال، مشخص شدن جزئیات مولکولی ویژه این ویروس برای اهداف درمانی کمک کننده خواهد بود.

این مقاله ترجمه ای است از:

Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis, Mousavizadeh L, Ghasemi S, Journal of Microbiology, Immunology and Infection, <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>.

در حال حاضر درمان ویژه برای کووید-۱۹ وجود ندارد. با توجه به نرخ بالای انتقال این ویروس در بین انسان‌ها و همه گیری آن، تشخیص اساس همانند سازی، ساختار، و بیماری زائی آن در یافتن درمان ویژه و حتی پیشگیری از آن اهمیت خواهد داشت. با توجه به شباهت بالای این ویروس به خانواده خود، تلاش‌ها برای یافتن دارو و واکسن کووید-۱۹ ادامه دارد. تفاوت در طول اسپایک ویروسی که در کووید-۱۹ بلندتر است

منابع

- Andersen, K.G., Rambaut, A., Lipkin, W.I., Holmes, E.C., and Garry, R.F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat. Med. Published online March 17, 2020. 10.1038/s41591-020-0820-9.
- CDC (2020). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Centers for Disease Control and Prevention, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html>.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T.S., Herrler, G., Wu, N.-H., Nitsche, A., et al. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry De-pends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. Published online March 5, 2020. 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K.S.M., Lau, E.H.Y., Wong, J.Y., et al. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Corona-virus-Infected Pneumonia. N. Engl. J. Med. 382, 1199–1207.
- McCreary, E.K., and Pogue, J.M. (2020). Coronavirus Disease 2019 Treatment: A Review of Early and Emerging Options. Open Forum Infect. Dis. 7, ofaa105.
- Pang, J., Wang, M.X., Ang, I.Y.H., Tan, S.H.X., Lewis, R.F., Chen, J.I.-P., Gutierrez, R.A., Gwee, S.X.W., Chua, P.E.Y., Yang, Q., et al. (2020). Potential Rapid Diagnostics, Vaccine and Therapeutics for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV): A Systematic Review. J. Clin. Med. 9, 623.
- Promptchara, E., Ketloy, C., and Palaga, T. (2020). Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. Asian Pac. J. Allergy Immunol. 38, 1–9.
- Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M.A., Niemeyer, D., Jones, T.C., Vollmar, P., Rothe, C., et al. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. 10.1038/s41586-020-2196-x.
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., et al. (2020a). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. The Lancet 395, 1054–1062.
- Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H.-R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C.-L., et al. (2020b). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 579, 270–273.

Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis

Translated by Jafarinejad S.

Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

COVID-19 is a novel coronavirus with an outbreak of unusual viral pneumonia in Wuhan, China, and then pandemic. Based on its phylogenetic relationships and genomic structures the COVID-19 belongs to genera Betacoronavirus. Human Betacoronaviruses (SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV) have many similarities, but also have differences in their genomic and phenotypic structure that can influence their pathogenesis. COVID-19 is containing single-stranded (positive-sense) RNA associated with a nucleoprotein within a capsid comprised of matrix protein. A typical CoV contains at least six ORFs in its genome. All the structural and accessory proteins are translated from the sgRNAs of CoVs. Four main structural proteins are encoded by ORFs 10, 11 on the one-third of the genome near the 3'-terminus. The genetic and phenotypic structure of COVID-19 in pathogenesis is important. This article highlights the most important of these features compared to other Betacoronaviruses.