



1

Un virus è semplicemente una brutta notizia racchiusa in proteine.

Jean e Peter Medawar (1977)

A gennaio 2020, gli scienziati hanno decifrato una brutta notizia: il genoma di SARS-CoV-2, il virus che causa COVID-19.

Il campione proveniva da un uomo di 41 anni che lavorava al mercato del pesce di Wuhan dove apparve il primo gruppo di casi.

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

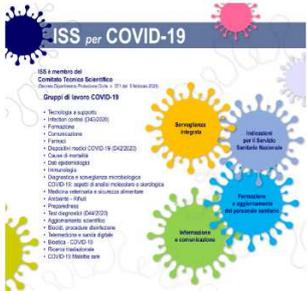
COVID-19

2



ISS per COVID-19

ISS per COVID-19



Il 9 gennaio 2020 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha dichiarato che le autorità sanitarie cinesi hanno individuato un nuovo ceppo di coronavirus mai identificato prima nell'uomo, provvisoriamente chiamato 2019-nCoV e classificato in seguito ufficialmente con il nome di SARS-CoV-2. Il virus è associato a un focolaio di casi di polmonite registrati a partire dal 31 dicembre 2019 nella città di Wuhan, nella Cina centrale. L'11 febbraio, l'OMS ha annunciato che la malattia respiratoria causata dal nuovo coronavirus è stata chiamata COVID-19. Il 30 gennaio, l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha confermato i primi due casi di infezione da COVID-19 in Italia e il 21 febbraio ha confermato il primo caso autoctono in Italia.

L'ISS dal 28 febbraio coordina un sistema di sorveglianza che integra a livello individuale i dati microbiologici ed epidemiologici forniti dalle Regioni e Province Autonome (PA) e dal Laboratorio nazionale di riferimento per SARS-CoV-2 dell'ISS. Ogni giorno un'infografica dedicata riporta - con grafici, mappe e tabelle - una descrizione della diffusione nel tempo e nello spazio dell'epidemia di COVID-19 in Italia e una descrizione delle caratteristiche delle persone affette.

<http://www.iss.it/coronavirus>

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

3

3

Infezioni e epidemie

- **Virus**
 - Influenza stagionale, COVID-19, Ebola (effetti diretti, risposta immunitaria abnorme)
- **Batteri**
 - Peste, Colera, Difterite (tossine)
- **Eucarioti**
 - Malaria, infezioni fungine (effetti diretti, tossine, risposta immunitaria abnorme)

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

4

4

Infezioni e epidemie

- **Virus**
Influenza, COVID-19, Ebola
(effetti diretti e indiretti, immunità abnorme)
- **Batteri**
Peste, Colera, Difterite (tossine)
- **Eucarioti**
Malaria, infezioni fungine (effetti diretti, tossine, risposta immunitaria abnorme)

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

5

5

Infezioni e epidemie

- **Virus**
Influenza, COVID-19, Ebola
(effetti diretti e indiretti, immunità abnorme)
- **Batteri**
Peste, Colera, Difterite (tossine)
- **Eucarioti**
Malaria, infezioni fungine (effetti diretti, tossine, risposta immunitaria abnorme)

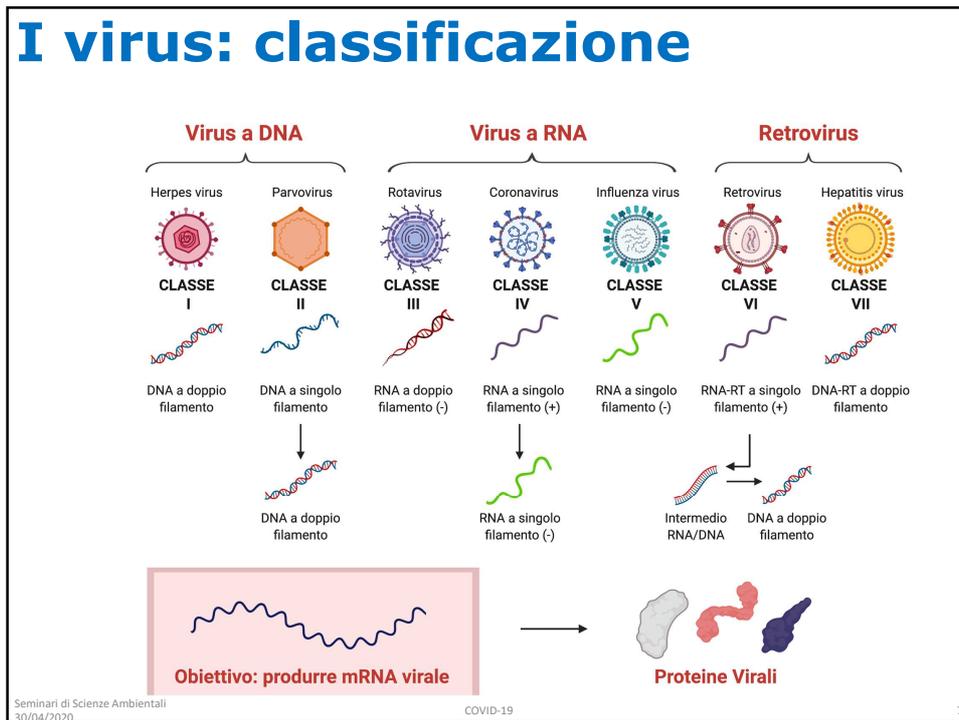
Sistema immunitario
Igiene
Vaccini
Farmaci

Seminari Scienze Ambientali
30/04/2020

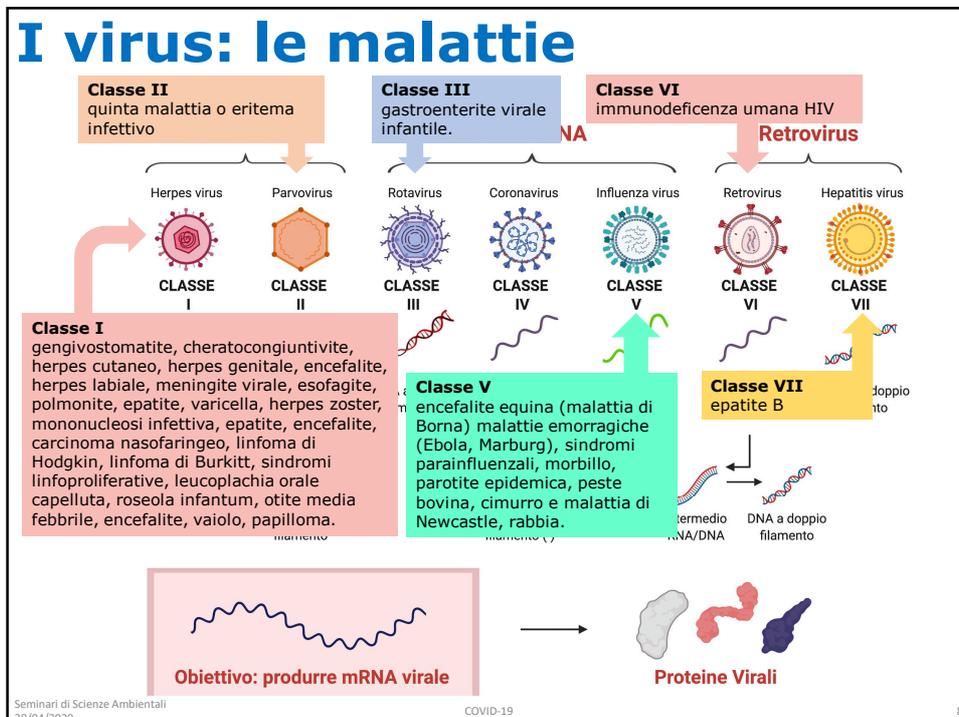
COVID-19

6

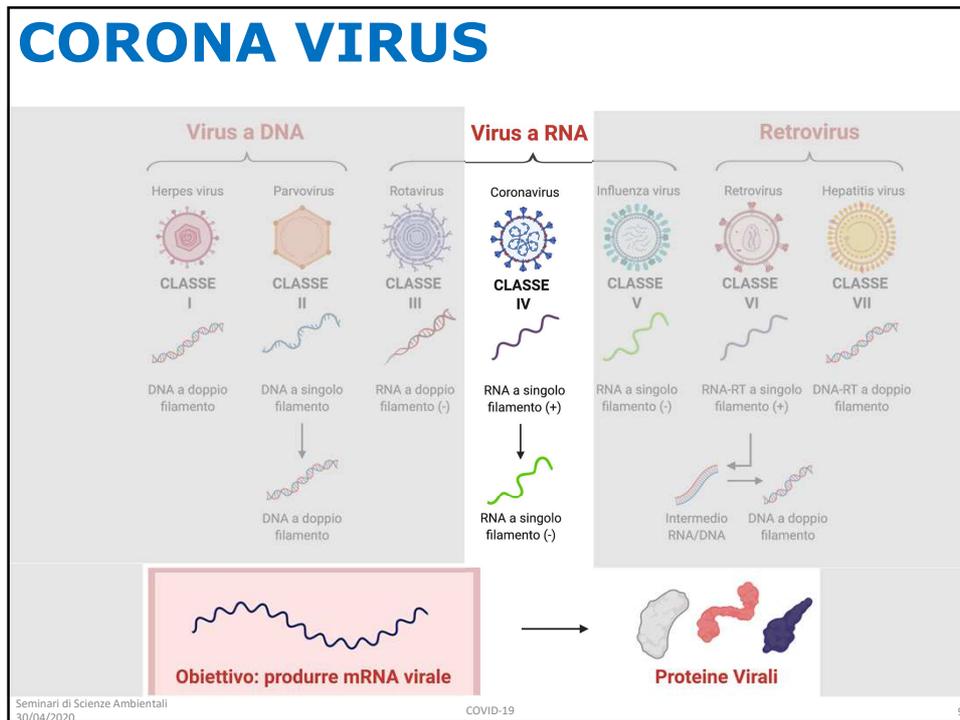
6



7



8



9

SARS CoV-2 Corona virus

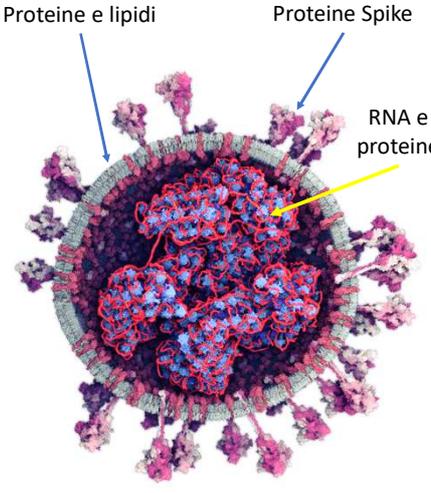
- Il virus che sta provocando COVID-19 appartiene alla famiglia dei corona virus, «corona» per via delle protuberanze della proteina Spike sulla superficie.
- Almeno altri sei tipi di coronavirus sono noti per infettare l'uomo, alcuni che causano il raffreddore comune e due che hanno causato focolai:
 - **SARS** (*Severe acute respiratory syndrome*) dal 2002 al 2004 con 8000 infetti in 29 paesi e circa 800 morti e
 - **MERS** (*Middle East respiratory syndrome*) ripetuti focolai in varie parti del mondo dal 2012 al 2018.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 10

10

SARS CoV-2 Corona virus

- Il virus che sta provocando COVID-19 appartiene alla famiglia dei corona virus, «corona» per via delle protuberanze della proteina Spike sulla superficie.
- Almeno altri sei tipi di coronavirus sono noti per infettare l'uomo, alcuni che causano il raffreddore comune e due che hanno causato focolai:
 - **SARS** (*Severe acute respiratory syndrome*) dal 2002 al 2004 con 8000 infetti in 29 paesi e circa 800 morti e
 - **MERS** (*Middle East respiratory syndrome*) ripetuti focolai in varie parti del mondo dal 2012 al 2018.



Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 11

11

Non solo umano...

JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY | WILEY | 421

TABLE 2 List of important pathogenic coronaviruses

Virus	Genus	Host	Symptoms
Human CoV 229E	Alpha	Human	Mild respiratory tract infections
Human CoV-NL63	Alpha	Human	Mild respiratory tract infections
PRCV/ISU-1	Alpha	Pig	Mild respiratory tract infections
TGEV/PUR46-MAD	Alpha	Pig	Diarrhea, with 100% mortality in piglets less than 2-wk-old
PEDV/ZJU-G1-2013	Alpha	Pig	Severe watery diarrhea
SeACoV-CH/GD-01	Alpha	Pig	Severe and acute diarrhea and acute vomiting
Canine CoV/TU336/F/2008	Alpha	Dog	Mild clinical signs, diarrhea
Camel alphacoronavirus isolate camel/Riyadh	Alpha	Camel	Asymptomatic
Feline infectious peritonitis virus	Alpha	Cat	Fever, vasculitis, and serositis, with or without effusions
Human CoV-HKU1	Beta	Human	Pneumonia
Human CoV-OC43	Beta	Human	Mild respiratory tract infections
SARS-CoV	Beta	Human	Severe acute respiratory syndrome, 10% mortality rate
MERS-CoV	Beta	Human	Severe acute respiratory syndrome, 37% mortality rate
Bovine CoV/ENT	Beta	Cow	Diarrhea
Equine CoV/Obihiro12-1	Beta	Horse	Fever, anorexia, leucopenia
MHV-A59	Beta	Mouse	Acute pneumonia and severe lung injuries
Beluga Whale CoV/SW1	Gamma	Whale	Pulmonary disease, terminal acute liver failure
IBV	Gamma	Chicken	Severe respiratory disease
Bulbul coronavirus HKU11	Delta	Bulbul	Respiratory disease (collected from respiratory tracts of wild birds)
Sparrow coronavirus HKU17	Delta	Sparrow	Respiratory disease (collected from respiratory tracts of wild birds)

Da: Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis - Chen et al., Journal Medical Virology (2020) 92, 418-423.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 12

12

... umano

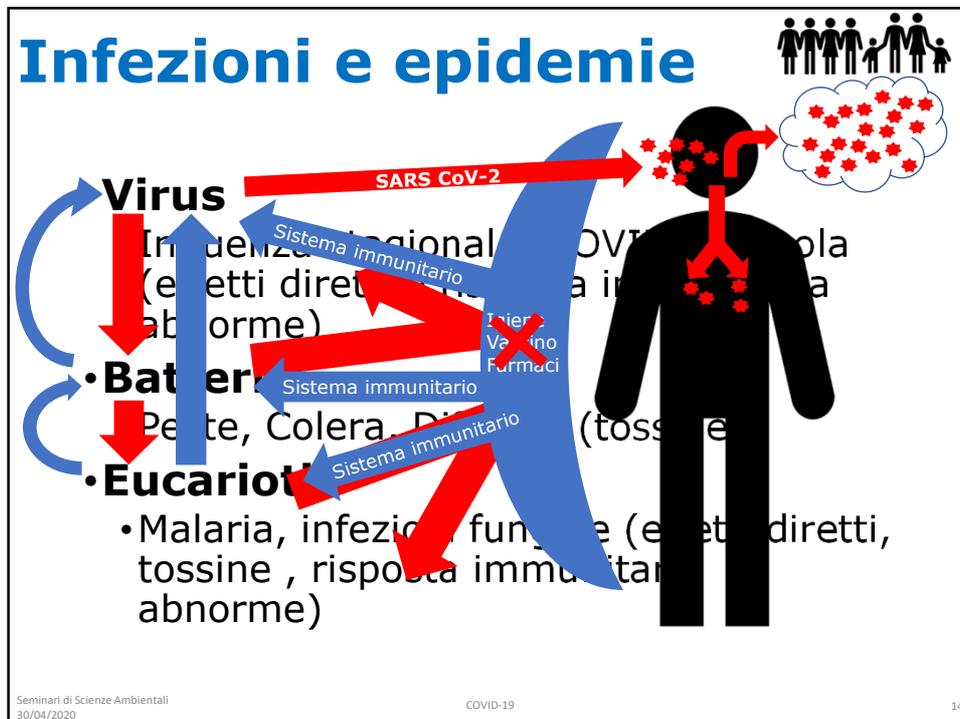
Journal of Medical Virology | WILEY | 421

TABLE 2 List of important pathogenic coronaviruses

Virus	Genus	Host	Symptoms
1 Human CoV 229E	Alpha	Human	Mild respiratory tract infections
2 Human CoV-NL63	Alpha	Human	Mild respiratory tract infections
PRCV/ISU-1	Alpha	Pig	Mild respiratory tract infections
TGEV/PUR46-MAD	Alpha	Pig	Diarrhea, with 100% mortality in piglets less than 2-wk-old
PEDV/ZJU-G1-2013	Alpha	Pig	Severe watery diarrhea
SeACoV-CH/GD-01	Alpha	Pig	Severe and acute diarrhea and acute vomiting
Canine CoV/TU336/F/2008	Alpha	Dog	Mild clinical signs, diarrhea
Camel alphacoronavirus isolate camel/Riyadh	Alpha	Camel	Asymptomatic
Feline infectious peritonitis virus	Alpha	Cat	Fever, vasculitis, and serositis, with or without effusions
3 Human CoV-HKU1	Beta	Human	Pneumonia
4 Human CoV-OC43	Beta	Human	Mild respiratory tract infections
5 SARS-CoV	Beta	Human	Severe acute respiratory syndrome, 10% mortality rate
6 MERS-CoV	Beta	Human	Severe acute respiratory syndrome, 37% mortality rate
Bovine CoV/ENT	Beta	Cow	Diarrhea
Equine CoV/Obihiro12-1	Beta	Horse	Fever, anorexia, leucopenia
MHV-A59	Beta	Mouse	Acute pneumonia and severe lung injuries
Beluga Whale CoV/SW1	Gamma	Whale	Pulmonary disease, terminal acute liver failure
IBV	Gamma	Chicken	Severe respiratory disease
Bulbul coronavirus HKU11	Delta	Bulbul	Respiratory disease (collected from respiratory tract of dead wild birds)
Sparrow coronavirus HKU17	Delta	Sparrow	Respiratory disease (collected from respiratory tract of dead wild birds)

13

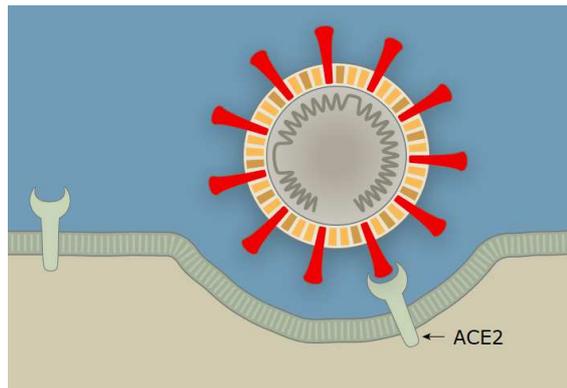
13



14

Come entra:

- Il virus entra attraverso il naso, la bocca o gli occhi, quindi si lega alle cellule delle vie aeree che esprimono una proteina: ACE2.
- Si ritiene che il virus abbia avuto origine in pipistrelli (o dal pangolino), dove potrebbe essersi legato a una proteina simile.
- ACE2 è un enzima di membrana coinvolto nel funzionamento del sistema dell'angiotensina.



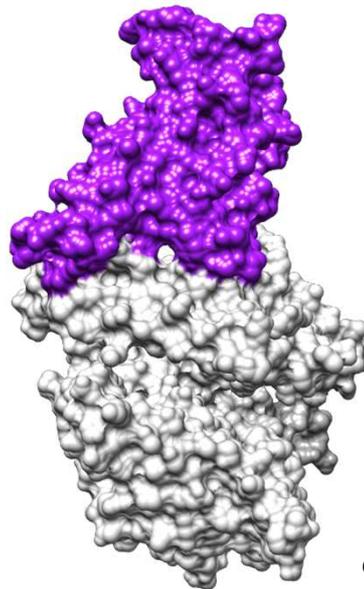
Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

15

15

Come entra nell'uomo:

- Il salto di specie dal pipistrello (o dal pangolino) sembra essere dovuto ad una mutazione della proteina **Spike** (nel modello il solo dominio di legame) che ne ha aumentato l'affinità per **ACE2** umana.



6lzg

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

16

16

ACE2 - Angiotensin Converting Enzyme 2

- L'Angiotensin Converting Enzyme (ACE) converte l'angiotensina I (AT I) in angiotensina II (AT II) la quale si lega al recettore 1a dell'angiotensina II (AT1aR) che porta a danni ai tessuti e edema polmonare o al recettore 2 (AT2R), riducendo i danni ai tessuti.
- A sua volta, l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) converte la più potente AT II in un'angiotensina meno attiva 1-7 (AT1-7).
- Il virus SARS si lega ad ACE2 utilizzando la propria proteina Spike portando ad una downregulation di ACE2 attraverso la sua internalizzazione e quindi, ridotta inattivazione di AT II.
- Lo stesso meccanismo di internalizzazione permette l'entrata del virus nella cellula.

Da: Good ACE, bad ACE do battle in lung injury, SARS - Nicholls and Peiris, Nature Medicine (2005) 11, 821-822.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 17

17

Spike - ACE2

B

Receptor	426	436	440	442	473	475	479	484	486	488	491						
SARS (Fra1)	NTR	NIDATSTGN	NYK	RLRHGKLRPF	FERDISNV	PSPDGK	PCTP-PAL	NCWPL	DYGF	TTAG	IGQPY						
ACE2 (+)	WIV1	NTR	NIDATQ	TGN	NYK	RLRHGKLRPF	FERDISNV	PSPDGK	PCTP-PAL	NCWPL	DYGF	ITNGIGQPY					
WIV16	NTR	NIDATQ	TGN	NYK	RLRHGKLRPF	FERDISNV	PSPDGK	PCTP-PAL	NCWPL	DYGF	ITNGIGQPY						
RsSHC014	NTS	SKDSST	SGN	NYL	RVRRSKLN	PNYERD	LSNDI	YSPGGQ	CSPA-VG	PCINPL	FYGF	ITAGVGQPY					
SARS-2	NSN	NLDSK	VGGN	NYL	RLFRKSNL	KPFERD	ISTE	IYQAG	STPC	NGVE	PCNCFPL	LSYGF	PPTNGVGQPY				
ACE2 (-)	Rp3	NTAKQ	DQ	---	QYY	RS	HRKTKL	KPFERD	LS	---	SGV	---	QAT				
BM48-31	NTS	SLD	SSN	---	EFF	FR	FRHGKI	KPYGRD	LSN	VLFN	PSGG	TCSA-EGL	NCIKPL	AS	YGF	TS	SGIGQPY

High Similarity (green arrow) and Low Similarity (red arrow) are indicated between SARS-2 and ACE2 (+) sequences.

Figure 2. SARS-2-S Harbors Amino Acid Residues Critical for ACE2 Binding
(B) Alignment of the receptor binding motif of SARS-S with corresponding sequences of bat-associated betacoronavirus S proteins, which are able or unable to use ACE2 as cellular receptor, reveals that SARS-CoV-2 possesses crucial amino acid residues for ACE2 binding.

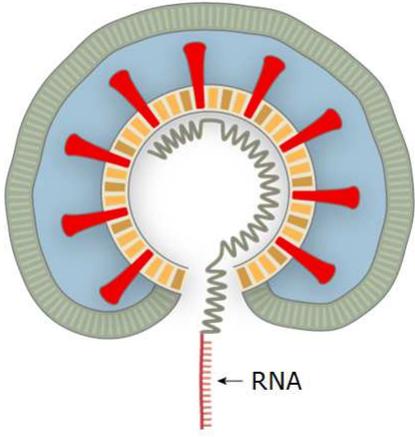
Da: SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 andTMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor - Hoffmann et al. Cell (2020), 181, 271-280

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 18

18

Come entra:

- Il virus infetta quindi la cellula fondendo la sua membrana con la membrana cellulare.
- Una volta entrato nel citoplasma, il coronavirus inietta un filamento di RNA che contiene l'intero genoma del coronavirus.
- Il genoma del nuovo coronavirus è lungo meno di 30.000 basi e (sembra) codifichi per 29 proteine.

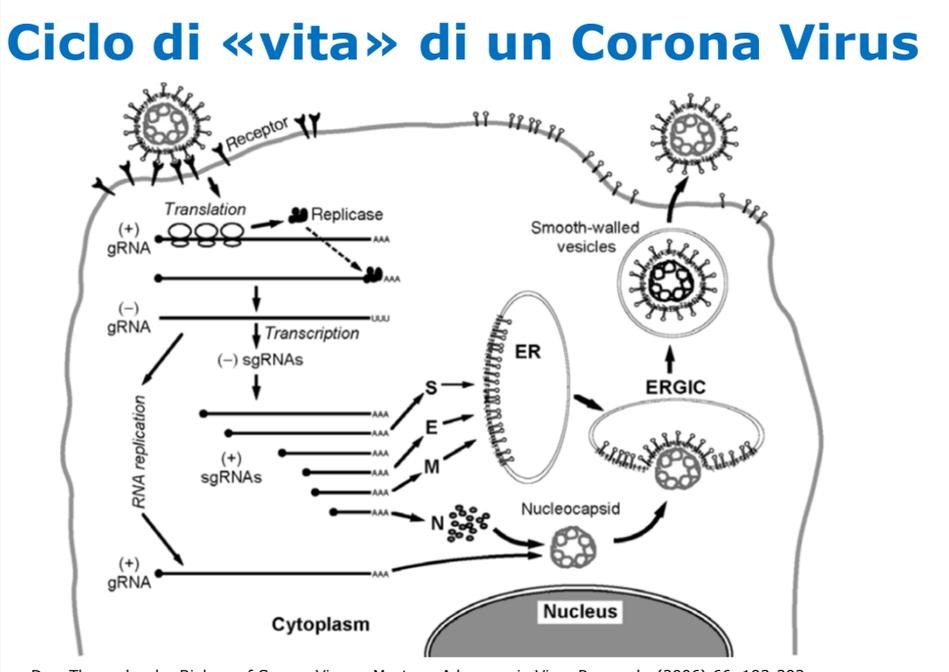


← RNA

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 19

19

Ciclo di «vita» di un Corona Virus



Da: The molecular Biology of Corona Virus – Masters, Advances in Virus Research, (2006) 66, 193-292.
Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 20

20

Sintesi delle proteine virali:

- Nel genoma virale sono stati identificati i geni per 29 proteine, che svolgono una serie di operazioni, dal fare copie delle proteine virali, permettendo l'assemblaggio di nuove particelle di coronavirus, fino alla soppressione delle risposte immunitarie.
- La parte iniziale della sequenza del RNA virale:

```

a u u a a a g g u u u a u a c c u u c c c a g g u a a c a a a c c a a c c a a c u u c g a u c u c u u g u a g a u c u g u u c u c u a a a c g a a c u u u a a a a u c u g u g u g
c u g u c a c u c g g c u g c a u g c u u a g u g c a c u c a c g c a g u a u a a u u a a a c u a u u a c u g u c g u g a c a g g a c a c g a g u a a c u c g u c u a u c u u
c u g c a g g c u g c u u a c g g u u u c g u c c g u g u g c a g c c g a u c a u c a g c a c a c u a g g u u u c g u c c g g g u g u g a c c g a a a g g u a a g
    
```

- recluta il macchinario ribosomiale all'interno della cellula infetta per leggere il codice e convertirlo nelle proteine del virus.

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

21

21

Una catena di proteine: ORF1ab

- La prima proteina virale creata all'interno della cellula infetta è in realtà una catena di 16 proteine unite. Due di queste proteine agiscono come proteasi, attivando i diversi sistemi enzimatici necessari alla proliferazione virale.

- Struttura del genoma di SARS-CoV. In rosso proteasi 3CL (3CLpro), in verde polimerasi (pol) e geni per le proteine strutturali Spike, envelope (E), di membrane (M) e del nucleocapside (N).
- *Tra queste e tra le altre proteine ve ne sono alcune di misteriose che potrebbero addirittura non fare nulla.*

Ridisegnato da: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus as an Agent of Emerging and Reemerging Infection - Cheng et al., Clinical Microbiology Review (2007) 20, 660-694.

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

22

22

Proteine Non Strutturali

NSP

Da: Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis - Fehr and Perlman, Coronaviruses: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, (2015) 1282 1- 23.

Table 2
Functions of coronavirus non-structural proteins (nsps)

Protein	Function	References
nsp1	Promotes cellular mRNA degradation and blocks host cell translation, results in blocking innate immune response	[125–128]
nsp2	No known function, binds to prohibitin proteins	[129, 130]
nsp3	Large, multi-domain transmembrane protein, activities include: <ul style="list-style-type: none"> • Ubl1 and Ac domains, interact with N protein • ADRP activity, promotes cytokine expression • PLPro/Deubiquitinase domain, cleaves viral polyprotein and blocks host innate immune response • Ubl2, NAB, G2M, SUD, Y domains, unknown functions 	[131–138]
nsp4	Potential transmembrane scaffold protein, important for proper structure of DMVs	[139, 140]
nsp5	Mpro, cleaves viral polyprotein	[141]
nsp6	Potential transmembrane scaffold protein	[142]
nsp7	Forms hexadecameric complex with nsp8, may act as processivity clamp for RNA polymerase	[143]
nsp8	Forms hexadecameric complex with nsp7, may act as processivity clamp for RNA polymerase; may act as primase	[143, 144]
nsp9	RNA binding protein	[145]
nsp10	Cofactor for nsp16 and nsp14, forms heterodimer with both and stimulates ExoN and 2'-O-MT activity	[146, 147]
nsp12	RdRp	[148]
nsp13	RNA helicase, 5' triphosphatase	[149, 150]
nsp14	N7 MTase and 3'-5' exoribonuclease, ExoN; N7 MTase adds 5' cap to viral RNAs, ExoN activity is important for proofreading of viral genome	[151–154]
nsp15	Viral endoribonuclease, NendoU	[155, 156]
nsp16	2'-O-MT; shields viral RNA from MDA5 recognition	[157, 158]

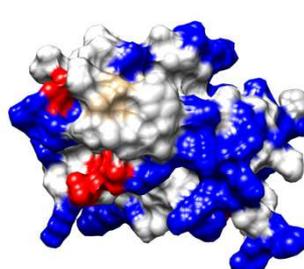
Ubl ubiquitin-like, *Ac* acidic, *ADRP* ADP-ribose-1'-phosphatase, *PLPro* papain-like protease, *NAB* nucleic acid binding, *SUD* SARS-unique domain, *DMV* double-membrane vesicles, *Mpro* main protease, *RdRp* RNA-dependent RNA polymerase, *MTase* methyltransferase, *Exo N* viral exoribonuclease, *Nendo U* viral endoribonuclease, *2'-O-MT* 2'-O-methyltransferase, *MDA5* melanoma differentiation associated protein 5

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 23

23

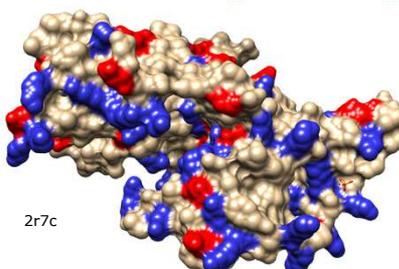
NSP1 - Sabotatore cellulare

- Questa proteina rallenta la produzione di proprie proteine da parte delle cellule infette.
- Questo sabotaggio costringe la cellula a produrre più proteine virali e le impedisce di assemblare proteine antivirali che potrebbero bloccare il virus.



2hsx

NSP2 - Mystery Protein



2r7c

- Non è ben chiaro cosa faccia **NSP2**. Sembra coinvolta con altre due proteine nella formazione di endosomi.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 24

24

NSP3

- **NSP3** è una proteina di membrana di grandi dimensioni con più domini e presiede a importanti funzioni:
 - Interagisce con la proteina strutturale del **Nucleocapside**;
 - Promuove l'espressione di citochine (mediatori dell'infiammazione);
 - Ha attività proteasica al fine di produrre le altre proteine virali con attività enzimatica (attività deubiquitinasi);
 - Altera anche molte delle proteine della cellula infetta.

Fig. 4. Domain architecture and structure of the conserved DMV-making proteins nsp3 through nsp6. A partially schematic view combining the known domain structures of SARS-CoV nsp3 is shown in panel A, combining the PDB entries 2IDY, 2ACF, 2FE8, 2KAF, 2IZF, 2W2G and 2K87. Conservation of structural domains and other important sequence features is shown for four representative coronaviruses in panel B. Structures of the C-terminal domain of FCoV nsp4 (3GZF), SARS-CoV nsp5 (1UJ1), TGEV nsp5 (1LVO) and IBV nsp5 (2Q6F) are shown in panels C–F, respectively.

Da: Atlas of coronavirus replicase structure - Neuman et al., Virus Research (2014) 194, 49–66

25

NSP3 – NSP4 – NSP5 – NSP6

- **NSP3**, inoltre, con **NSP4** (scaffold), **NSP5** (proteasi) e **NSP6** (scaffold?) forma un blocco conservato di proteine coinvolte nella formazione delle vescicole che sono il sito di sintesi dell'RNA virale

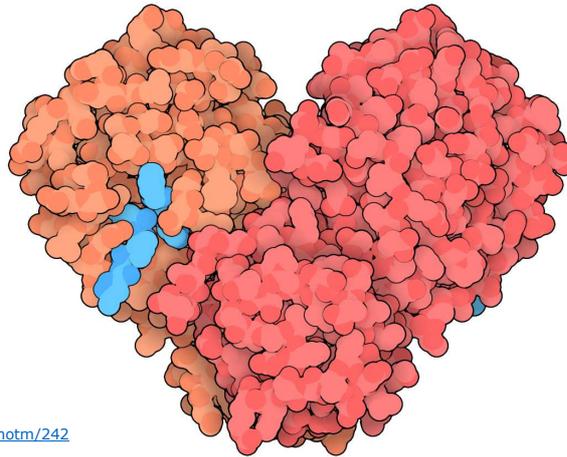
Fig. 4 Model proposed by Hagemeijer, Monastyrska [177] for the induction of ER membrane curvature. The luminal loops of CoV nsp3 and 4 are required to initiate rearrangement of the ER membrane and produce the DMVs characteristically seen in CoV-infected cells

Da: Coronavirus envelope protein: current knowledge - Schoeman and Fielding, Virology Journal (2019) 16, 69-81

26

NSP5 - Proteasi

- **NSP5** (M^{Tor}) è la principale proteasi di SARS-CoV-2 è un dimero di due subunità identiche che formano due siti attivi. Il folding è simile a quello delle proteasi a serina come la tripsina, con un residuo di cisteina al posto della serina.



<http://pdb101.rcsb.org/motm/242>

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

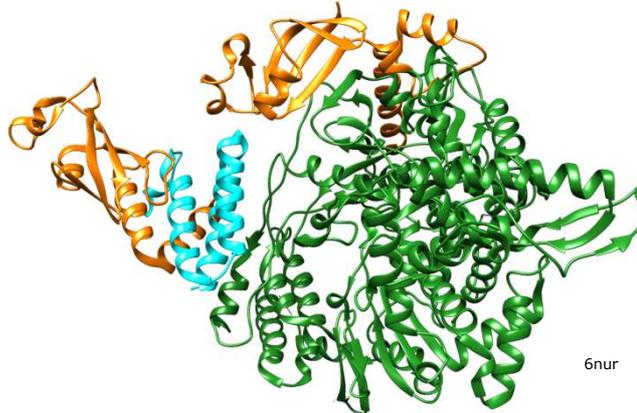
COVID-19

27

27

NSP12, NSP7 e NSP8

- Il complesso **NSP12** con i cofattori **NSP7** e (due) **NSP8** funziona come una **RNA-Polimerasi-RNA-dipendente**
- e si occupa di sintetizzare nuove copie del RNA virale.
- **NSP12** possiede un'architettura comune a tutte le polimerasi virali e evidenzia una grande estensione N-terminale contenente un ripiegamento simile a quello delle chinasi.



Da: Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus - Y. Gao et al., Science (2020) 1-8

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

28

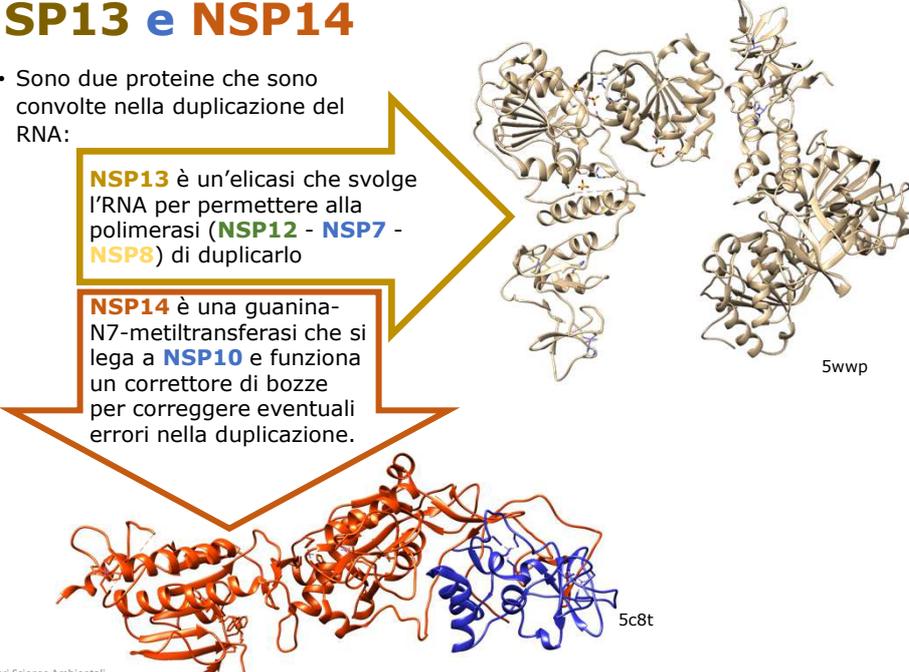
28

NSP13 e NSP14

- Sono due proteine che sono coinvolte nella duplicazione del RNA:

NSP13 è un'elicasi che svolge l'RNA per permettere alla polimerasi (**NSP12** - **NSP7** - **NSP8**) di duplicarlo

NSP14 è una guanina-N7-metiltransferasi che si lega a **NSP10** e funziona un correttore di bozze per correggere eventuali errori nella duplicazione.



5wvp

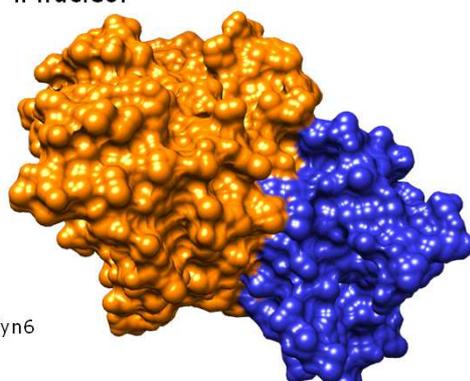
5c8t

Seminari Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 29

29

NSP9, NSP10 e NSP16

- **NSP9**: Questa proteina si infila nel nucleo della cellula infetta e sembra essere in grado di gestire il traffico delle molecole dentro e fuori il nucleo.



1qz8

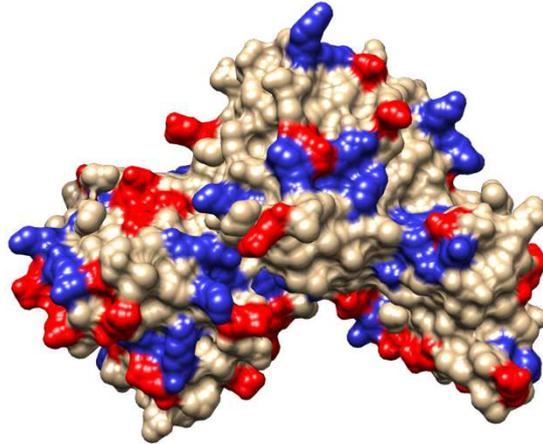
- **NSP10**: Le cellule umane hanno proteine antivirali che trovano l'RNA virale e lo distruggono. Questa proteina funziona con **NSP16** per camuffare i geni del virus in modo che non vengano eliminati.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 30

30

NSP15

- NSP15 è una endoribonucleasi che taglia l'RNA virale residuo in modo da impedire alla cellula e al sistema immunitario di riconoscerlo come estraneo.



6w01

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

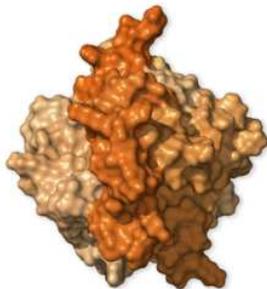
COVID-19

31

31

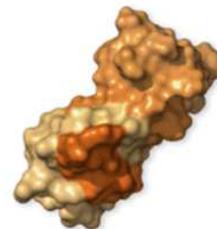
Proteine Accessorie

Il genoma SARS CoV-2 codifica anche un gruppo di proteine accessorie che contribuiscono a modificare la cellula infetta per facilitare la replica del virus.



- **ORF3a** rende la membrana della cellula infetta più fragile attraverso le interazioni con caveolina, facilitando la fuoriuscita di nuovi virioni.
- Innesca anche l'infiammazione, uno dei sintomi più pericolosi di Covid-19.

- **ORF6** Questa proteina accessoria blocca i segnali che la cellula infetta invierebbe al sistema immunitario.
- Blocca anche alcune delle proteine che combattono il virus della cellula, le stesse colpite da altri virus come la poliomielite e l'influenza

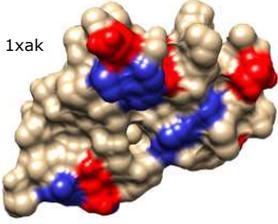
Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

32

32

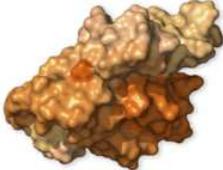
Proteine Accessorie

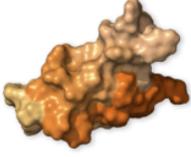


1xak

ORF7a Quando i nuovi virus cercano di sfuggire a una cellula, la cellula può intrappolarli con proteine chiamate tetherin (proteina associata a raft lipidici). Alcune ricerche suggeriscono che ORF7a riduca l'espressione di tetherin da parte di una cellula infetta, consentendo così al virus di fuggire. Si è anche scoperto **ORF7a** può scatenare la morte delle cellule infette contribuendo così al danno polmonare.

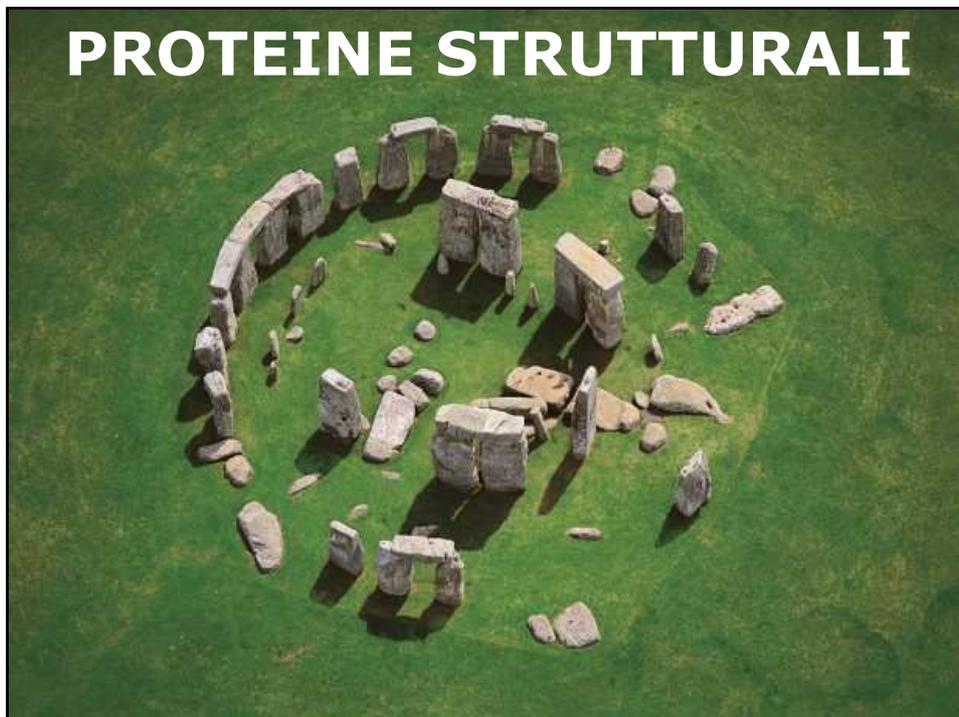
- **ORF8 Altra Mystery Protein.** Il gene per questa proteina accessoria è notevolmente diverso in SARS CoV-2 rispetto ad altri coronavirus. Non si sa bene che ruolo abbia.


- **ORF10 Ancora una Mystery Protein.** I parenti stretti del virus SARS CoV-2 non hanno il gene per questa minuscola proteina accessoria, quindi è difficile sapere di cosa si tratta o se il virus ricava proteine da questo gene.



Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020
COVID-19
33

33



34

Proteine strutturali

Envelope (E) protein

Spike (S) protein

Membrane (M) protein

100 nm

Lipid bilayer envelope

Nucleocapsid (N) protein and RNA genome

Da: The molecular Biology of Corona Virus – Masters, Advances in Virus Research, (2006) 66, 193-292

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 35

35

Proteine strutturali

- Le proteine strutturali non sono importanti solo nella struttura del virus ma svolgono anche funzioni importanti nell'assemblaggio e nel riconoscimento, esse sono:
 - S: **S**pike, glicoproteina di membrana, serve al riconoscimento di ACE2;
 - M: glicoproteina di **M**embrana;
 - N: proteina del **N**ucleocapside;
 - E: proteina di membrana necessaria per l'assemblaggio (**E**nvelope).

A.

B.

Lumen/Virion Exterior

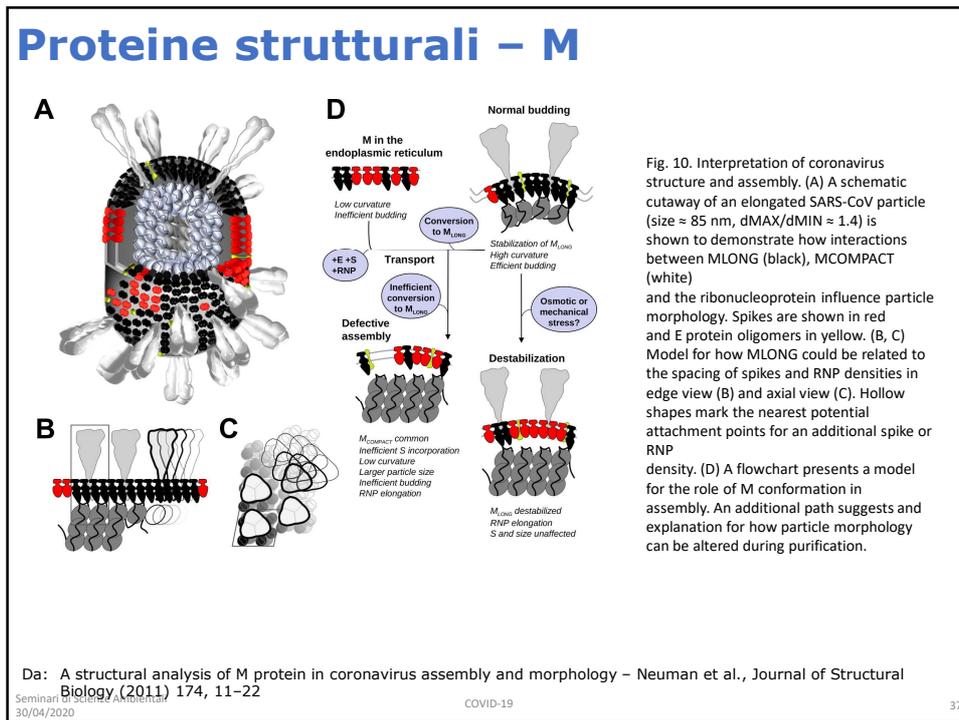
S **M** **E**

Figure 1. Primary structure of the Coronavirus (CoV) E protein. **(A)** A cartoon depicting a CoV virion. The structural proteins are labeled. **(B)** The three major CoV structural proteins in the virion envelope. Oligosaccharides are shown on S and M.

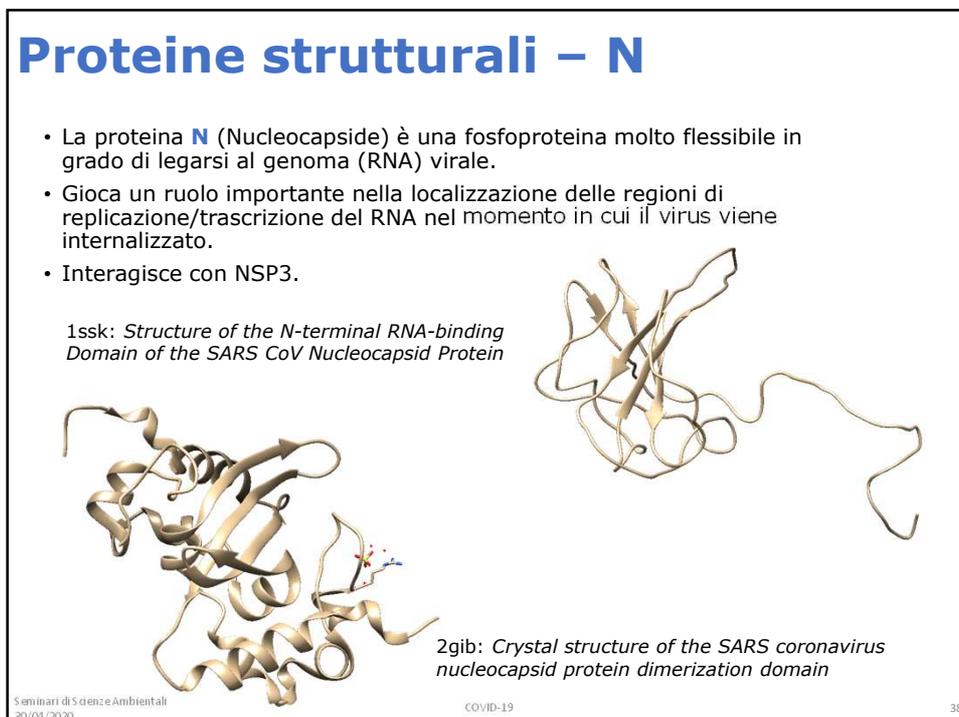
Da: The Coronavirus E Protein: Assembly and Beyond - Ruch and Machamer, Viruses (2012) 4, 363-382.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 36

36



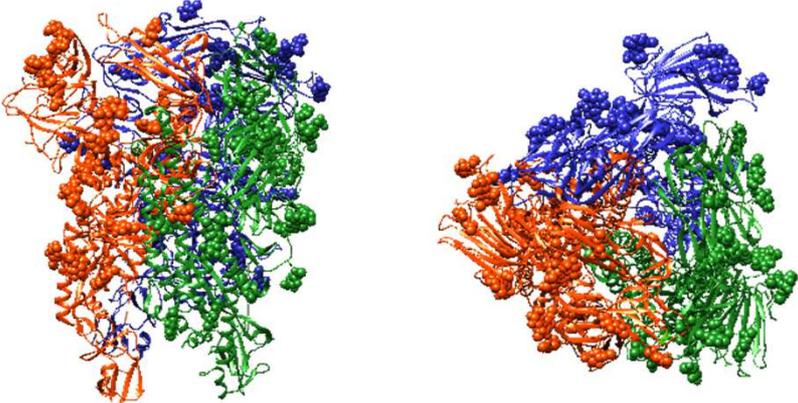
37



38

Proteine strutturali – S (Spike)

- **Spike** è una glicoproteina omotrimerica che riconosce con notevole affinità ACE2.
- la mutazione di **Spike** ha portato al salto di specie.



6lu7

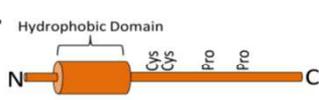
Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 39

39

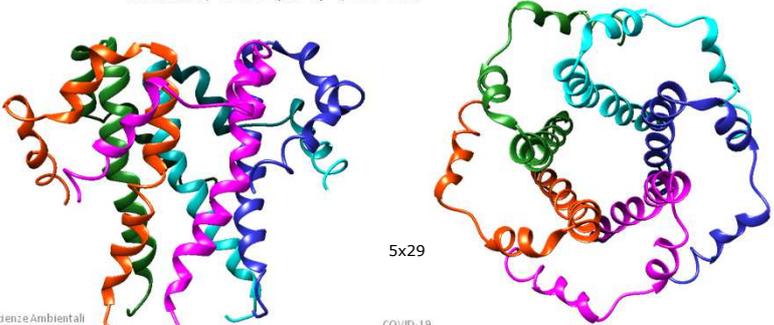
Proteine strutturali – E

- Sono piccole glicoproteine di circa 100 aminoacidi circa 30 di questi al N-terminale definiscono il dominio idrofobico e permettono l'interazione con la membrana formando un pentamero.
- E, inoltre, è coinvolta nella morfogenesi della particella virale.

D.



Da: The Coronavirus E Protein: Assembly and Beyond - Ruch and Machamer, Viruses (2012) 4, 363-382.



5x29

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 40

40

Proteine strutturali – E

Figure 2. CoVs assemble and bud intracellularly at the ERGIC. (A) Newly formed virions bud into the lumen of the ERGIC and traverse the secretory pathway for egress. (B) Potential roles for E in assembly. The E protein is shown in orange and the M protein is shown in green. CoV E could help to bend membranes or play a role in membrane scission.

Da: The Coronavirus E Protein: Assembly and Beyond - Ruch and Machamer, *Viruses* (2012) 4, 363-382.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 41

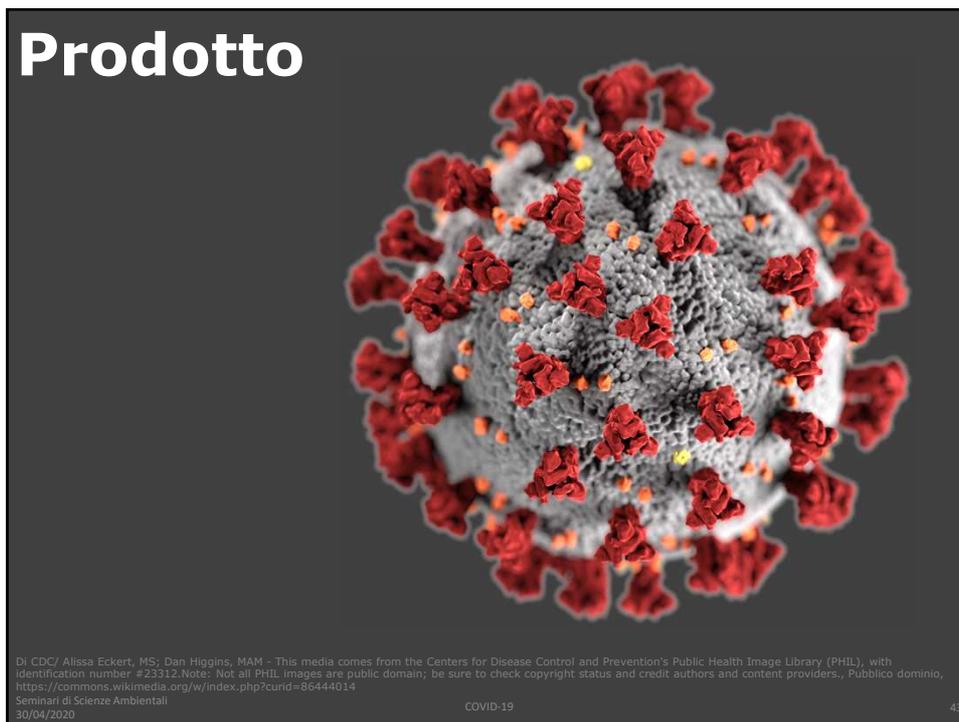
41

Assemblaggio del virus

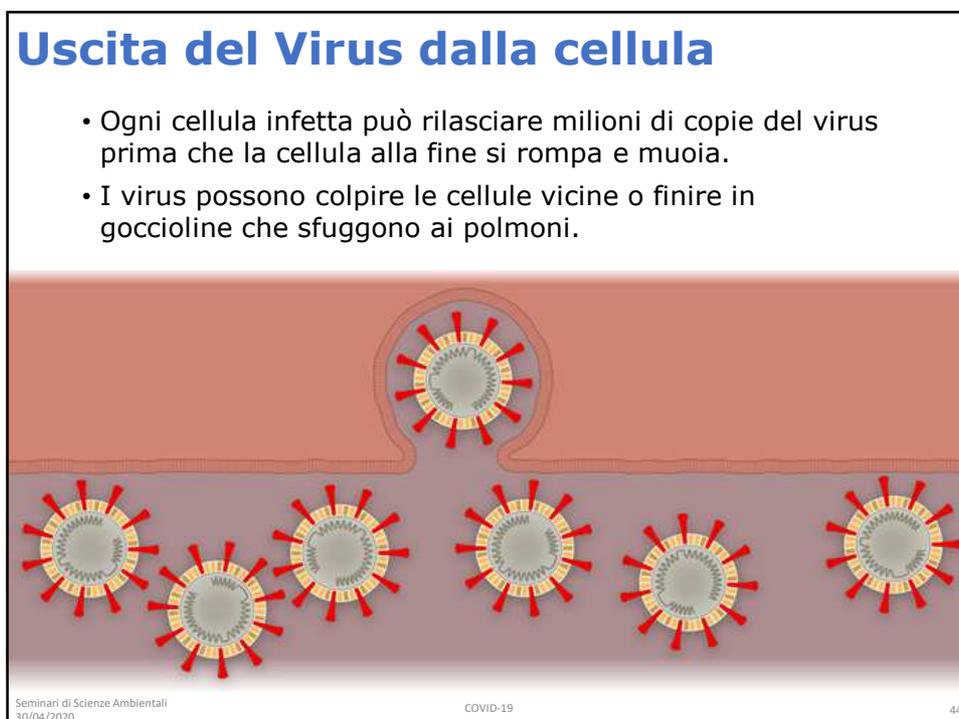
Da: The Coronavirus E Protein: Assembly and Beyond - Ruch and Machamer, *Viruses* (2012) 4, 363-382.

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 42

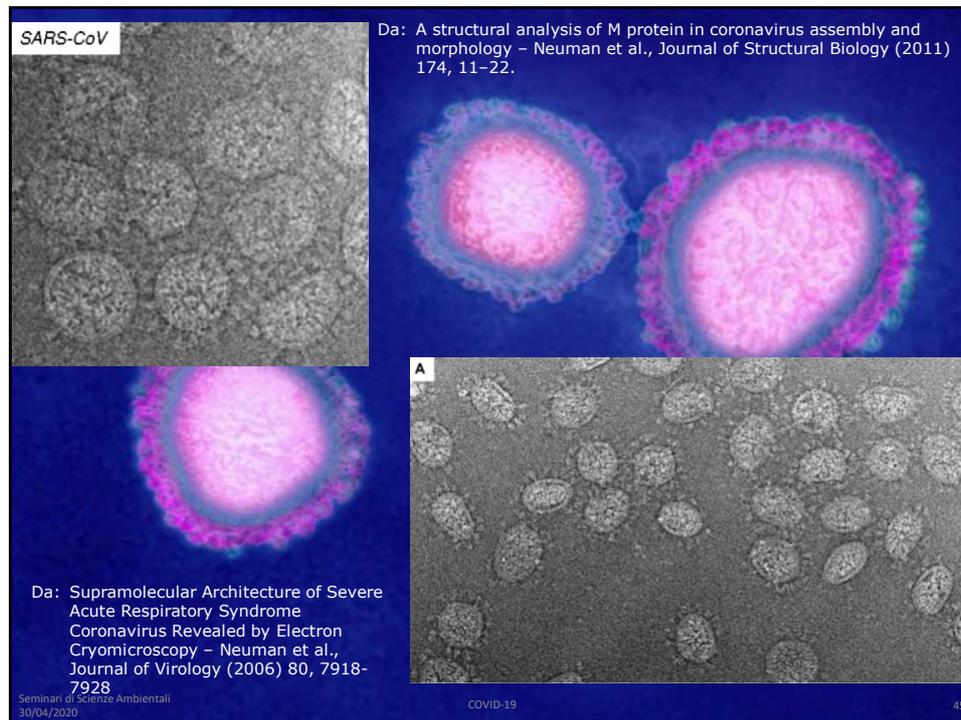
42



43



44



45

Risposta immune

- La maggior parte delle infezioni da Covid-19 provoca febbre mentre il sistema immunitario combatte per eliminare il virus.
- Nei casi più gravi, il sistema immunitario può reagire in modo eccessivo e iniziare ad attaccare le cellule polmonari.
- I polmoni si ostruiscono con cellule fluide e morenti, rendendo difficile la respirazione.
- Una percentuale di infezioni può portare alla sindrome da distress respiratorio acuto e, eventualmente, alla morte.

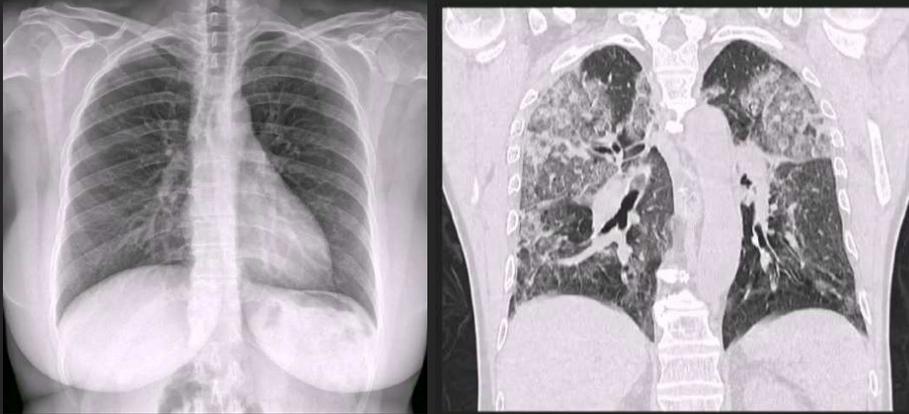
Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

46

46

Risultato

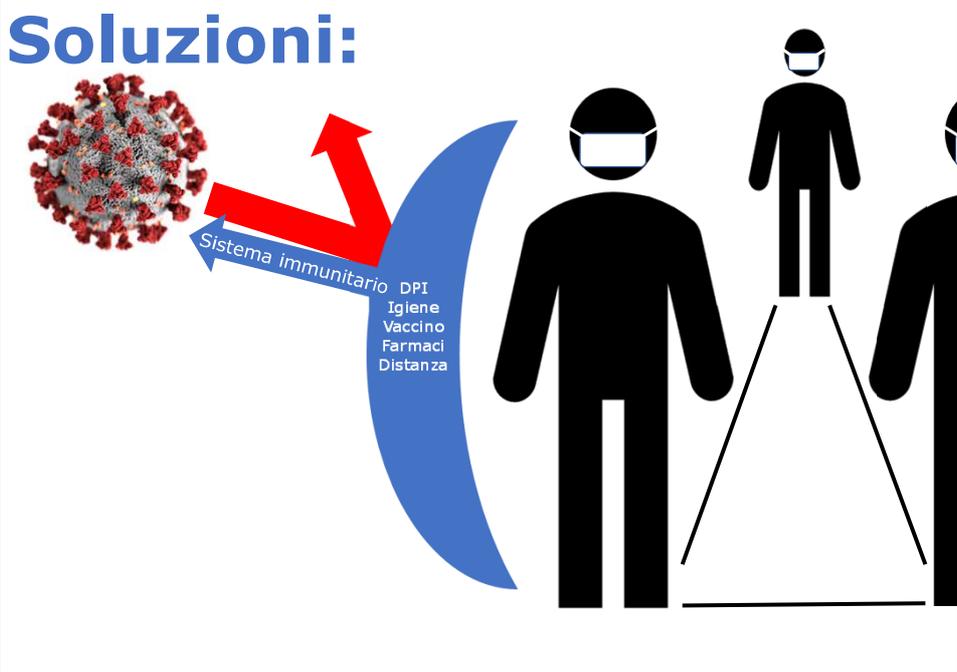


<https://www.sirm.org/>

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 47

47

Soluzioni:



Sistema immunitario

DPI
Igiene
Vaccino
Farmaci
Distanza

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 48

48

Soluzioni: VACCINO

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

49

49

Soluzioni: INIBITORI

SARS-CoV		SARS-CoV-2 <small>(as of 16.02.2020)</small>	
	SARS		COVID-19
Winter 2002	- Disease -	Winter 2019	- Emergence -
8,096	- Cases -	51,857	- Cases -
774	- Deaths -	1,669	- Deaths -
26	- Countries affected -	25	- Countries affected -

Attachment Receptor

ACE2 & ACE2

Spike Protein Priming by Cellular Proteases

TMPRSS2 Clinically-approved Inhibitor available

Neutralization Efficiency by SARS Convalescent Sera

Yes (High) Yes (Moderate)

Da: SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor - Hoffmann et al. Cell (2020), 181, 271-280

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020

COVID-19

50

50

Considerazioni finali

- **I virus sono vivi?**
 - *I virus sono parassiti che costeggiano il confine tra vita e materia inerte. Possiedono lo stesso tipo di proteine e le stesse molecole di acidi nucleici delle cellule viventi, delle quali hanno però bisogno per replicarsi e diffondersi.*
 - *I ricercatori discutono da decenni se i virus siano da considerarsi vivi o meno. Questo dibattito ha fatto trascurare un punto più importante: **i virus hanno giocato un ruolo di assoluto primo piano nell'evoluzione.***
 - *Numeri enormi di virus si stanno replicando di continuo, mutando il proprio genoma, un processo che produce molti nuovi geni.*
 - *Un gene nuovo, dotato di una funzione utile, talvolta può essere incorporato nel genoma di una cellula ospite e diventarne parte integrante*

di Luis P. Villarreal

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 51

51

Infezioni, epidemie, **evoluzione**

Virus
Influenza, COVID-19, Ebola
(effetti diretti, risposta immunitaria abnorme)

Batteri
Peste, Colera, Difteria
(tossine)

Eucarioti
Malaria, infezioni fungine (effetti diretti, tossine, risposta immunitaria abnorme)

Sistema immunitario
Igiene, Vaccini, Farmaci
DNA virale
Evoluzione

Seminari di Scienze Ambientali 30/04/2020 COVID-19 52

52

Crediti:

- **Molto del materiale usato in questa presentazione è tratto da *The New York Times***
 - How Coronavirus Hijacks Your Cells - By Jonathan Corum and Carl Zimmer - Updated March 13, 2020
 - Bad News Wrapped in Protein: Inside the Coronavirus Genome - By Jonathan Corum and Carl Zimmer - April 3, 2020
- **Altri riferimenti bibliografici:**
 - A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus - induced lung injury - Kuba et al., Nature Medicine (2005) 11, 875-879.
 - Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis - Chen et al., Journal Medical Virology (2020) 92, 418-423.
 - Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation - Wrapp et al., Science (2020) 367, 1260-1263.
 - Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2 - Li et al., Journal Medical Virology (2020) 1-10 <https://doi.org/10.1002/jmv.25731>
 - Good ACE, bad ACE do battle in lung injury, SARS - Nicholls and Peiris, Nature Medicine (2005) 11, 821-822.
 - Atlas of coronavirus replicase structure - Neuman et al., Virus Research (2014) 194, 49-66.
 - The molecular Biology of Corona Virus - Masters, Advances in Virus Research, (2006) 66, 193-292.
 - Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus as an Agent of Emerging and Reemerging Infection - Cheng et al., Clinical Microbiology Review (2007) 20, 660-694.
 - Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis - Fehr and Perlman, Coronaviruses: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, (2015) 1282 1- 23.
 - Coronavirus envelope protein: current knowledge - Schoeman and Fielding, Virology Journal (2019) 16, 69-81.
 - A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology - Neuman et al., Journal of Structural Biology (2011) 174, 11-22.
 - Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus - Y. Gao et al., Science (2020) 1-8.
 - The Coronavirus E Protein: Assembly and Beyond - Ruch Machamer, Viruses (2012) 4, 363-382.
 - Supramolecular Architecture of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Revealed by Electron Cryomicroscopy - Neuman et al., Journal of Virology (2006) 80, 7918-7928.
 - SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 andTMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor - Hoffmann et al. Cell (2020), 181, 271-280.
 - **Modello del virus:** <https://nanographics.at/projects/sars-cov-2>
 - **Le strutture delle proteine sono state ottenute da Protein Data Bank:** <https://www.rcsb.org/> e riprodotte usando UCSF Chimera 1.14 <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>
 - **Tutti questi riferimenti (e altri) sono liberamente raggiungibili alla pagina** <http://www.qsartor.org/science/covid.html>

Seminari di Scienze Ambientali
30/04/2020 COVID-19 53

53

1220 - I Mongoli
1320 - La peste nera
1520 - Vaiolo
1620 - Malattia mortale portata dal Mayflower
1720 - Peste
1820 - Colera
1920 - Spagnola
2020 - COVID-19
2120 - non mi faccio trovare

... 1420 anno fortunato

Ho finito.
(spero finisca presto anche lui)

Giorgio Sartor

Seminari Scienze Ambientali
30/04/2020 COVID-19 54

54