DOI: 10.22122/jims.v38i587.12988 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۵۸۷/هفته‌ی سوم مهر ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۴ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۷/۲۱

مروری بر ویژگی‌های ژنومی کرونا ویروس جدید (2019-nCoV) و چشم‌اندازهای پیش رو در پاتوژنز و درمان عفونت کووید ۱۹

سمیه میرزاآقایی[۱]، سید حسین میرهندی[۲]

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: شیوع بیماری Coronavirus disease-2019 (COVID-19) ناشی از ویروس Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-COV-2) دسته‌ی کروناویروس‌ها موسوم به 2019-nCoV، از اواخر سال ۲۰۱۹ میلادی در چین و در پی آن در دیگر کشورها، هنوز موضوع اصلی و مورد توجه در همه‌ی مجامع علمی و اجتماعی دنیا می‌باشد. با توجه به نوظهور بودن این ویروس، کسب اطلاعاتی درمورد تشابه یا تفاوت‌های آن با سایر ویروس‌های این خانواده، ویژگی‌های ژنتیک، چرخه‌ی بیولوژیک و چگونگی عملکرد پاتولوژیک آن، می‌تواند کمک شایانی در اتخاذ راهبردهای دقیق‌تر و بازدهی بالاتر در شناخت، کنترل و درمان بیماری حاصل از آن داشته باشد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مروری نقلی، تلاش شده است تا با جمع‌بندی مختصری از گزارش‌های متعدد علمی از دسامبر ۲۰۱۹ تا آپریل ۲۰۲۰ در زمینه‌ی مشخصات ویروس، ویژگی‌های ژنوم آن و ارزیابی با شواهد علمی از پیش موجود در زمینه‌ی کروناویروس‌ها، راهکارهای پیش رو در پاتوژنز، درمان و طراحی و تولید واکسن علیه آن ارایه شود.

یافته‌ها: واکاوی و مقایسه‌ی ژنوم کروناویروس جدید با دیگر اعضای این خانواده، نشان دهنده‌ی شباهت زیاد بخش‌های مختلف ژنوم با انواع بیماری‌زای قبلی SARS و MERS (Middle East Respiratory Syndrome) می‌باشد و منشأگیری آن از گونه‌هایی با میزبان خفاش را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اضطرار شناخت و معرفی راهکارهای درمانی و پیش‌گیرانه در پاندمی حاضر، شناخت مکانیسم‌های مولکولی درگیر در تکثیر و عفونت‌زایی ویروس بر پایه‌ی شباهت ژنوم آن با دیگر هم‌خانواده‌های کرونا ویروسی و همچنین، ویروس‌های دیگر، امکان پیش‌بینی راهبردهای فوری و امیدبخش را در مواجهه با ویروس فراهم می‌آورد.

واژگان کلیدی: کرونا ویروس؛ کووید ۱۹؛ SARS-CoV-2؛ ژنومیکس؛ درمان

ارجاع: میرزاآقایی سمیه، میرهندی سید حسین. **مروری بر ویژگی‌های ژنومی کرونا ویروس جدید (2019-nCoV) و چشم‌اندازهای پیش رو در پاتوژنز و درمان عفونت کووید ۱۹.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۸۷): ۶۰۱-۵۸۹.

مقدمه

در حال حاضر، بیماری ویروسی Coronavirus disease-2019 (COVID-19) بزرگ‌ترین و چالش برانگیزترین اپیدمی‌هایی است که به سرعت در تمام کشورهای دنیا گسترش یافته است. با مطالعه‌ی مشخصات ژنتیک ویروس جدید (2019-nCoV) و مقایسه‌ی آن با ژنوم سایر کروناویروس‌های توالی‌یابی شده و با در نظر گرفتن علایم عفونت در بیماران (که بارزترین آن‌ها عبارت از علایم حاد تنفسی مشابه اما با علایم ملایم‌تر نسبت به عفونت ناشی از Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) در اپیدمی ۲۰۰۲ و ۲۰۰۳ بود)، منجر به نام‌گذاری آن با عنوان کروناویروس سندرم حاد تنفسی شماره‌ی ۲ یا SARS-CoV-2 شد. اطلاعات ژنومیک ویروس‌ها، اکنون و در آینده به شناسایی اولویت‌های تحقیقات ویروس‌شناسی و آن گاه کنترل ویروس در جوامع درگیر کمک خواهد کرد (۱).

بررسی اولین موارد بیماران گزارش شده در ووهان (Wuhan) چین دلالت بر منشأ حیوانی این ویروس دارد، اما با وجود تمام تمهیدات پیش‌گیرانه، به خاطر قابلیت بالای ویروس در انتقال از انسان به انسان، به سرعت به کشورهای دیگر انتشار یافت. انتقال

۱- محقق پسا دکتری، دکتری ژنتیک مولکولی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: سید حسین میرهندی؛ استاد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: s.h.mirhendi@gmail.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

www.SID.ir

ویروس بین انسان‌ها از طریق ریزقطرات (Droplet) و همچنین، تماس مستقیم صورت می‌گیرد و دوره‌ی کمون آن به طور متوسط ۶/۴ روز محاسبه شده است. تب و به دنبال آن سرفه، از معمول‌ترین علایم گزارش شده در بین بیماران می‌باشد و تصاویر سی‌تی اسکن (Computational tomography یا CT)، Ground-glass opacity در هر دو ریه را نشان می‌دهد. طبق گزارش World Health Organization (WHO) تا روز اصلاح این مقاله (۱۷ جولای ۲۰۲۰) ۱۳/۳۷۸/۸۵۳ نفر به این عفونت مبتلا شده‌اند که از بین آن‌ها، ۵۸۰/۰۴۵ نفر جان خود را از دست داده‌اند. همچنان، نمی‌توان عواقب حاصل از اپیدمی این ویروس را پیش‌بینی کرد، اما دولت‌ها در تلاش برای ایجاد تمهیداتی در جهت کنترل بیماری و تأثیرات وسیع بهداشتی- اجتماعی ناشی از آن هستند. همه‌ی این تمهیدات در سایه‌ی به دست آوردن اطلاعات هر چه بیشتر در مورد مشخصات ویروس و عفونت ناشی از آن امکان‌پذیر است. در همین راستا، محققان در سرتاسر دنیا تلاش‌های بی‌وقفه‌ای جهت شناسایی ویروس و ویژگی‌های آن در پیش گرفته‌اند که لازمه‌ی معرفی راهبردهای درمانی مؤثر و راهکارهای پیش‌گیرانه از جمله تولید واکسن علیه این ویروس می‌باشد (۳-۲).

کروناویروس‌ها، اصلی‌ترین پاتوژن‌های شناخته شده در بیماری‌های تنفسی طی سال‌های گذشته بوده‌اند. مطالعات صورت گرفته بر روی محتوای ژنتیک Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV) و SARS-CoV به عنوان دو عامل اصلی عفونت‌های اپیدمیک کروناویروسی اخیر و 2019-nCoV و مقایسه‌ی آن با ژنوم CoVهای خفاش‌ها، حاکی از این است که این حیوانات، میزبان اولیه‌ی هر سه نوع CoV هستند که در طی ۱۸ سال اخیر، عامل اپیدمی‌های گسترده در مناطقی از جهان و اغلب با منشأ اولیه از کشور چین بوده‌اند. این مسأله، می‌تواند به دلیل ویژگی‌های زیستی این حیوانات و ارتباط نزدیک آن‌ها با انسان و به ویژه عادات و فرهنگ چینی‌ها در تغذیه از حیوانات باشد؛ به نحوی که پیش‌تر، احتمال بروز یک اپیدمی گسترده با منشأ خفاش و با احتمال زیاد از مبدأ چین بیان شده و اهمیت شناسایی و پیش‌گیری از آن مطرح بوده است (۷-۴). در این راستا، چالش اصلی پیش رو برای مقابله با همه‌گیری‌های مربوط به عفونت‌های ناشی از CoVها، تنوع زیاد این ویروس‌ها و نیاز به تمهید راهبردهای درمانی کارآمد در شرایط اضطراری شیوع اپیدمی احتمالی ناشی از گونه‌های جدید این ویروس‌ها می‌باشد (۸، ۶).

با وجود تلاش‌های گسترده جهت شناسایی و معرفی راهبردهای درمانی علیه انواع مختلف کروناویروس‌های بیماری‌زا، هنوز هیچ یک از راهبردهای درمانی معرفی شده، نتوانسته‌اند استانداردهای لازم جهت تأیید توسط سازمان غذا و دارو (FDA یا Food and Drug Administration) را کسب کنند (۸). این موضوع، تا حد زیادی به تنوع بسیار بالای کروناویروس‌ها و قابلیت سازگاری آن‌ها با شرایط اکولوژیک جدید و میزبان‌های متنوع بر می‌گردد. سه دلیل عمده برای انعطاف‌پذیری این ویروس‌ها در انتخاب میزبان مطرح شده است:

۱) ماهیت خطاپذیری بالای آنزیم RNA پلیمراز وابسته به RNA (RdRp) در کروناویروس‌ها که نرخ جهش را به حد ۱ در هر ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ نوکلئوتید تکثیر شده افزایش می‌دهد.

۲) فراوانی نوترکیبی RNA همولوگ در کروناویروس‌ها که به دلیل قابلیت ویژه‌ی کروناویروس‌ها موسوم به انتخاب کپی (Copy- choice) است که امکان سوئیچ تصادفی RNA الگو در طی فرایند تکثیر RNA را فراهم می‌آورد.

۳- اندازه‌ی ژنوم کروناویروس‌ها (۳۱/۷-۲۶/۴ کیلوباز) که در بین ویروس‌های دارای RNA از همه بزرگتر است. اندازه‌ی بزرگ ژنوم قابلیت مضاعفی در تغییر ژن‌ها و سازگاری با شرایط متنوع و متغیر را برای اعضای این خانواده فراهم می‌آورد. این ویژگی‌ها، می‌تواند منجر به نتایج فاجعه‌باری به دنبال شیوع گونه‌های حیوانی در بین انسان‌ها شود (۹).

هدف از انجام مطالعه‌ی مروری حاضر، این بود که با جمع‌بندی یافته‌های اخیر علمی در زمینه‌ی ویژگی‌های کلی کروناویروس‌ها، به ویژه مشخصه‌های ژنتیک آن‌ها و مقایسه‌ی 2019-nCoV با سایر خویشاوندانش، نحوه‌ی عملکرد و بیماری‌زایی این ویروس را بهتر دریابیم تا شاید جهت انتخاب راهکارهای تشخیصی و درمانی کارامد، موفق‌تر عمل کنیم.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مروری نقلی، تلاش شده است تا با جمع‌بندی مختصری از گزارش‌های متعدد علمی از دسامبر ۲۰۱۹ تا آپریل ۲۰۲۰ در زمینه‌ی مشخصات ویروس، ویژگی‌های ژنوم آن و ارزیابی با شواهد علمی از پیش موجود در زمینه‌ی کروناویروس‌ها، راهکارهای پیش رو در پاتوژنز، درمان و طراحی و تولید واکسن علیه آن ارایه شود.

یافته‌ها

واکاوی و مقایسه‌ی ژنوم کروناویروس جدید با دیگر اعضای این خانواده، نشان دهنده‌ی شباهت زیاد بخش‌های مختلف ژنوم با انواع بیماری‌زای قبلی SARS و MERS می‌باشد و منشأگیری آن از گونه‌هایی با میزبان خفاش را نشان می‌دهد.

طبقه‌بندی کروناویروس‌ها و ساختار کلی ژنتیک آن‌ها:

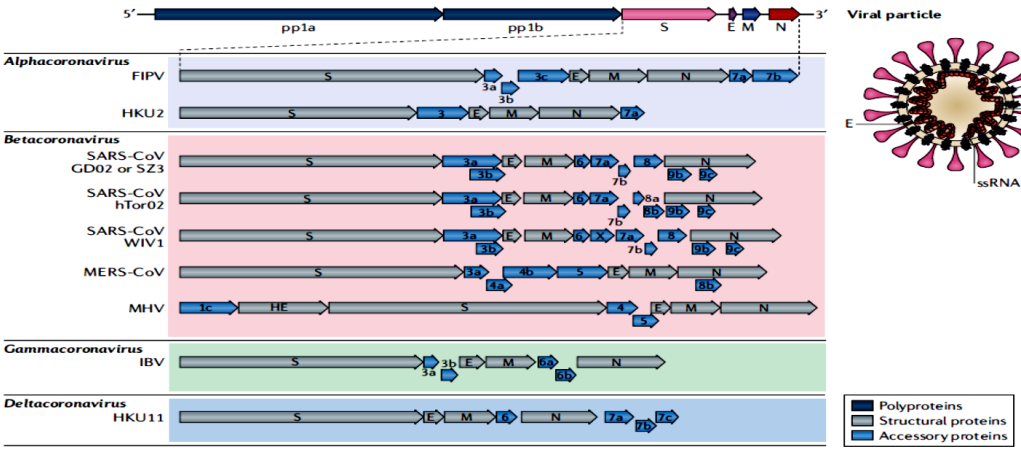
کروناویروس‌ها، متعلق به زیرخانواده‌ی Coronavirinae، خانواده‌ی Coronaviridae و شاخه‌ی Nidovirals می‌باشند. این ویروس‌ها،

www.SID.ir

مجموعه‌ی متنوعی از ویروس‌های دارای پوشش (Enveloped) با مادهٔ ژنتیک RNA تک رشته به صورت ssRNA+ می‌باشند و می‌توانند عفونت‌هایی با شدت‌های مختلف در ریه و گاهی روده، کبد و اعصاب در میزبان‌های انسان، سایر پستانداران و پرندگان ایجاد کنند. شکل ۱، طبقه‌بندی کروناویروس‌ها (CoVs) را به چهار جنس مختلف آلفا (Alphacoronavirus)، بتا (Betacoronavirus)، گاما (Gammacoronavirus) و دلتا (Deltacoronavirus) بر اساس شباهت‌های فایلوژنتیک نشان می‌دهد (۹). کروناویروس‌های نوع آلفا و بتا، تنها پستانداران را آلوده می‌کنند و می‌توانند با ایجاد عفونت‌های تنفسی و گوارشی به ویژه در انسان و پستانداران، عواقب اپیدمیولوژیک گسترده به بار آورند.

چهار گونه‌ی 229E، OC43، NL63 و HKU1 از گروه بتاکروناویروس‌ها (CoVs) در مجاری فوقانی تنفسی، عفونت خفیف ایجاد می‌کنند که با عنوان کلی سرماخوردگی معمولی شناسایی می‌شود. دو گونه‌ی دیگر کروناویروس، عامل سندرم حاد تنفسی (SARS-CoV) و کروناویروس عامل سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS-CoV) هستند که به ترتیب یکی عامل همه‌گیری عفونت حاد تنفسی در سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۲ در چین و دیگری در خاورمیانه در سال ۲۰۱۲ و هر دو با منشأ حیوانی (Zoonotic) بوده‌اند. کروناویروس‌های نوع گاما و دلتا اغلب پرندگان را آلوده می‌کنند، اما برخی از آن‌ها، امکان ایجاد عفونت در پستانداران را هم دارند (۷، ۴). مطالعات ژنومیک نشان داده‌اند که SARS-CoV-2، هفتمین عضو از CoVsها با میزبان انسان و سومین CoV با منشأ حیوانی با شیوع بسیار بالا است و عفونت حاصل از آن، از یک بازار فروش عمده‌ی حیوانات در شهر Wuhan در ایالت Hubei چین شروع شده و اکنون به طور گسترده در بسیاری از کشورها در حال گسترش است (۱۲-۱۰).

بررسی توالی ژنوم 2019-nCoV و ارتباط فایلوژنتیک آن با سایر کروناویروس‌ها و منشأ احتمالی آن: بررسی و مقایسه‌ی توالی ژنوم کروناویروس‌های مختلف، حاکی از ۵۴ درصد تشابه در کل توالی ژنوم، ۵۸ درصد تشابه در توالی‌های کد کننده‌ی پروتئین‌های غیر ساختاری و ۴۳ درصد تشابه در توالی‌های کد کننده‌ی پروتئین‌های ساختاری آن‌ها می‌باشد. این موضوع، نشان می‌دهد که پروتئین‌های غیر ساختاری، حفاظت شده‌ترین نواحی و پروتئین‌های ساختاری متنوع‌ترین نواحی را به خود اختصاص داده‌اند که توجیه کننده‌ی سازگاری‌پذیری انواع مختلف این ویروس‌ها با طیف متنوعی از میزبان‌ها می‌باشد. ویروس‌های دارای RNA نسبت به انواع دارای DNA میزان جهش‌پذیری بالاتری دارند و احتمال می‌رود به همین دلیل، اندازه‌ی ژنوم آن‌ها اغلب کوچک و حدود ۱۰ کیلوباز باشد. در این میان، اندازه‌ی بزرگ ژنوم کروناویروس‌ها (حدود ۳۰ کیلوباز) را می‌توان به ویژگی‌های خاص RTC یا Replication-transcription complex) نسبت داد که شامل انواع آنزیم‌های ویرایشگر RNA از جمله ۵′-۳′ اگزوریبونوکلئاز است که نقش تصحیح کننده (Proofreading) را در RTC به عهده دارد. قابلیت نوترکیبی همولوگ و غیر همولوگ RNA کروناویروس‌ها، امکان تنوع بسیار بالا و سازگاری با انواع میزبان‌های مختلف را برای این ویروس‌ها به ارمغان آورده است (۱۴-۱۳).



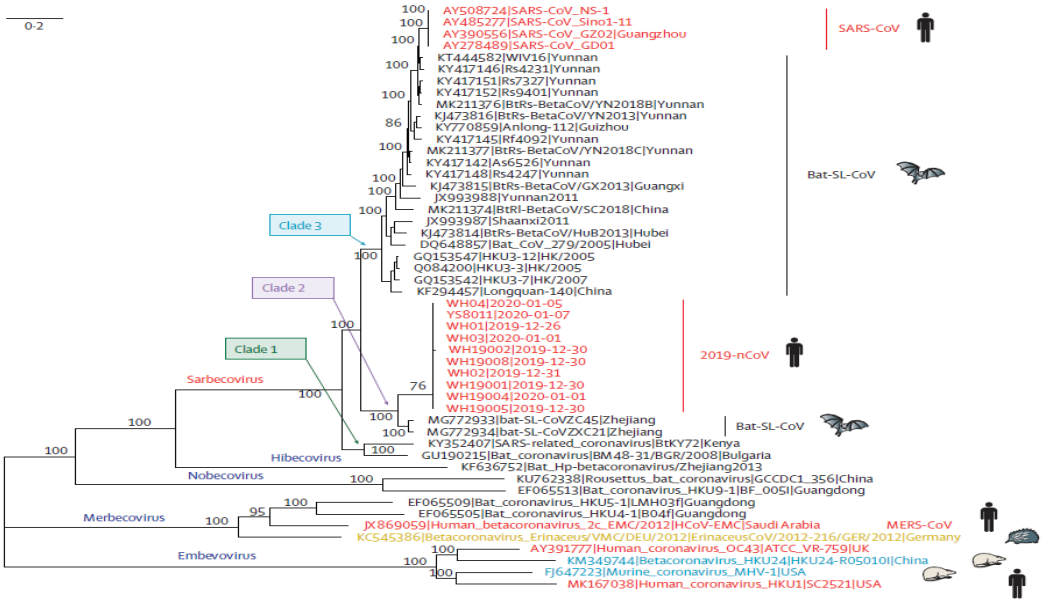
شکل ۱. ساختار کلی ژنوم کروناویروس‌ها و مقایسه‌ی برخی قسمت‌های مهم‌تر از ژنوم، ژن و پروتئین‌ها در انواع آن‌ها. ژنوم کروناویروس‌ها ssRNA+ است که دو سوم انتهای ′۵ ژنوم، پلی‌پروتئین‌های pp1a/b را کد می‌کنند که پس از شکستن محصول آن توسط پروتئازها، بر حسب گونه تا ۱۶ پروتئین غیر ساختاری مجزا را تشکیل می‌دهند. یک‌سوم انتهای ′۳ پروتئین‌های ساختاری S، E، M و N را کد می‌کنند. گونه‌های مختلف حاوی ژن‌های کمکی (Accessory) مختلف هستند که اختصاصی گونه می‌باشند و برای همانندسازی ویروس ضروری نیستند. در این شکل، چند نمونه‌ی پروتوتیپیک از سویه‌های مختلف چهار جنس مختلف کروناویروس‌ها به طور شماتیک نشان داده شده‌اند (۷).

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

مقایسه‌ی توالی ژنوم ویروسی به دست آمده از ۹ بیمار از ۳ بیمارستان مختلف در ووهان، نشان داده است که ژنوم ویروس جدید با دو کرونـاویروس شبیه عامل سندرم حاد تنفسی (SARS-like coronaviruses) با منشأ خفاش، یعنی bat-SL-CoVZC45 و bat-SL-CoVZXC21 که در سال ۲۰۱۸ در Zhoushan در شرق چین شناسایی شدند، به ترتیب ۸۷/۹ درصد و ۸۷/۲۳ درصد شباهت دارد (شکل ۲) (۱۱).

توالی‌یابی ژنوم 2019-nCoV و اهمیت آن در ردیابی و شناسایی مولکولی ویروس در بیماران: گروه‌های متعددی از محققین اقدام به طراحی روش‌های مولکولی برای شناسایی این ویروس کرده‌اند که اغلب آن‌ها بر مبنای روش Realtime-polymerase chain reaction (RT-PCR) هستند. توالی‌یابی ژنوم، امکان طراحی پرایمر و پروب‌های اختصاصی را برای تشخیص COVID-19 در نمونه‌های بالینی فراهم می‌آورد. در حال حاضر، قطعات مختلفی همچون ORF1ab، N1، N2، N3، RdRP، E و ORF1b-nsp14 برای ردیابی و شناسایی ویروس در کیت‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگر چه در طراحی این روش‌ها سعی شده است که نواحی حفاظت شده و ثابت (Conserved) ژنوم ویروس‌ها استفاده شود، با توجه به میزان بالای تنوع ژنتیکی ویروس‌های RNA دار، تغییرات ژنتیکی ممکن است منجر به عدم اتصال نوکلئیک اسیدهای پرایمر یا پروب به توالی هدف شده و اعتبار تشخیص را کاهش دهد (۱۵).

ژنومیک کروناویروس‌ها و تکثیر در سلول میزبان: اساس سازماندهی ژنوم در همه‌ی کروناویروس‌ها با دیگر اعضای شاخه‌ی Nidovirus (جنس Torovirus و همچنین خانواده‌ی Coronaviridae و اعضای خانواده‌ی Arteriviridae) مشابه است. دوسوم اولیه‌ی انتهای ۵ ژنوم را دو ORF بزرگ (Open reading frame یا ORF1a/b) شامل ژن‌های رپلیکاز (rep 1a و rep 1b) به خود اختصاص می‌دهند که پس از اتصال و فیوژن ذره‌ی ویروسی با سلول میزبان، در نتیجه‌ی شناسایی گیرنده‌ی سطح سلولی توسط پروتئین اسپایک ترجمه می‌شود و دو پلی‌پروتئین pp1a و pp1ab را سنتز می‌کند. این دو پلی‌پروتئین، درنتیجه‌ی یک فرایند فریم شیفت ریبوزوم در نتیجه‌ی توقف آن در ناحیه‌ی کدون پایان rep1a، بلوکه شدن ریبوزوم در برخورد با یک RNA pseudoknot و فراهم شدن امکان لغزیدن ریبوزوم به اندازه‌ی یک نوکلئوتید به عقب، روی یک توالی لغزنده (5´-UUUAAAC-3´) تعبیه شده در این ناحیه صورت می‌گیرد که با عبور ریبوزوم و ترجمه‌ی rep1b در ادامه، pp1ab تولید می‌شود.



شکل ۲. درخت فایلوژنتیک ترسیم شده بر اساس توالی کامل ژنوم 2019-nCoV در مقایسه با ژنوم بتاکروناویروس‌های دیگر. توالی‌یابی ژنوم 2019-CoV از ۹ بیمار مختلف و یک نمونه‌ی کشت شده‌ی بیمار با ژنوم نمونه‌های مختلف بتاکروناویروس‌ها، ۵ زیرجنس مختلف را نشان می‌دهد. زیرجنس Sarbecovirus به سه زیرمجموعه‌ی دیگر طبقه‌بندی می‌شود؛ به این ترتیب که clade1 شامل دو سویه‌ی مرتبط با SARS (SARS-CoV-related strains) و clade2 شامل 2019-nCoVهای به دست آمده از بیماران در ووهان چین و همچنین، دو سویه‌ی مشتق از خفاش مشابه SARS (SARS-like strain) می‌باشد و دیگر انواع کروناویروس‌های شبه SARS در clade3 قرار گرفته‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، انواع به دست آمده از خفاش در کف clade3 است و از نظر فایلوژنتیک نزدیک‌تر به 2019-nCoV طبقه‌بندی می‌شوند. این مسأله، ارتباط تکاملی نزدیک 2019-nCoV را با گونه‌های مشتق از میزبان خفاش نشان می‌دهد (۱۱).

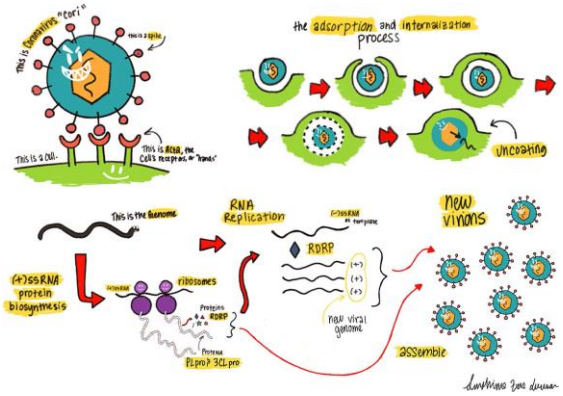
www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

یک سوم انتهای ′۳ ژنوم حاوی ژن‌های کد کننده‌ی گلیکوپروتئین‌های پوششی به ترتیب مشتمل بر زایده‌های سطحی یا اسپایک (Spike یا S)، پوشش (Envelope یا E)، غشا (Membrane یا M) و نوکلئوکپسید (Nucleocapsid یا N) می‌باشند. به جز ژن‌های ساختاری، برخی ژن‌های کمکی غیر ضروری اختصاصی گونه هم در این ناحیه قرار گرفته‌اند (۱۷-۱۶).

پلی‌پروتئین‌های pp1a و pp1ab به ترتیب پروتئین‌های غیر ساختاری (Non-structural proteins یا nsps) ۱-۱۱ و ۱-۱۶ را کد می‌کنند که در فرایندهای پروتئولیتیک، تکثیر ژنوم، رونوشت‌برداری mRNAهای ساب‌ژنومیک و عفونت‌زایی ویروس در میزبان دخالت دارند. بسته به نوع کروناویروس، دو یا سه پروتئاز ویروسی شامل پروتئاز شبه پاپائین (Papain-like protease) یا PLpro) و یک سرین‌پروتئاز که پروتئاز شبه کموتریپسین (3C-like protease یا 3CLpro) یا پروتئاز اصلی (Main protease یا Mpro) نامیده می‌شود. این پلی‌پروتئین‌ها را به اجزای پروتئینی مجزا می‌شکنند. بیشتر nspها، دمین‌های آنزیمی و عملکردی جهت همانندسازی RNA را شامل می‌شوند که برای تشکیل کمپلکس رپلیکاز-ترنس‌کریپتاز (RTC) سر هم می‌شوند و محیط مناسب جهت همانندسازی و رونوشت‌برداری RNAهای ساب‌ژنومیک را فراهم می‌آورند. از آن جمله، می‌توان به nsp12 کد کننده‌ی آنزیم RNA پلیمراز وابسته به RNA (RdRp)، nsp13 کد کننده‌ی دمین هلیکاز و nsp14 کد کننده‌ی اگزوریبونوکلئاز (ExoN) که جهت حفظ صحت همانندسازی ضروری است، اشاره کرد. علاوه بر این، nspها می‌توانند در فعالیت‌های دیگری نظیر مهار پاسخ‌های ایمنی ذاتی میزبان و فرایندهای دیگر نقش داشته باشند که بسیاری هنوز ناشناخته است (۱۶، ۱۴).

به دنبال تشکیل کمپلکس رپلیکاز، سنتز RANهای ژنومیک و ساب‌ژنومیک صورت می‌گیرد. در واقع، RNAهای ساب‌ژنومیک، mRNAهای مربوط به ژن‌های کمکی و ساختاری هستند که پایین‌دست ژن‌های پلی‌پروتئین‌های رپلیکاز قرار می‌گیرند و RNAهای Positive-sense مربوط به همه‌ی آن‌ها در انتهای ′۳ خود با انتهای ′۳ RNA ژنوم مشترک می‌باشند و مجموعه‌ای از RNAهای تودرتو (Nested) را به وجود می‌آورند که مشخصه‌ی اصلی شاخه‌ی Nidovirales می‌باشد. هر دو نوع RNA ژنومیک و ساب‌ژنومیک، از روی رشته‌های حد واسط منفی ساخته می‌شوند که دارای توالی‌های مکمل پلی‌آدنیل و توالی رهبر می‌باشند و از نظر مقدار ۱ درصد رشته‌های مثبت می‌باشند (شکل ۳) (۱۶).

پس از سنتز رپلیکازها و RNAهای ساب‌ژنومیک، پروتئین‌های ساختاری ویروس (S، E و M) طی فرایند ترجمه سنتز می‌شوند و به داخل شبکه‌ی اندوپلاسمی و از آن جا به شبکه‌ی وزیکولی حد واسط شبکه‌ی اندوپلاسمی- دستگاه گلژی (ERGIC یا Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment) وارد می‌شود. در این وزیکول‌ها، ژنوم ویروسی توسط پروتئین N کپسول‌دار می‌شود و از غشای ERGIC که حاوی پروتئین‌های ساختاری ویروس است، جوانه می‌زند و ویروس بالغ تشکیل می‌شود.



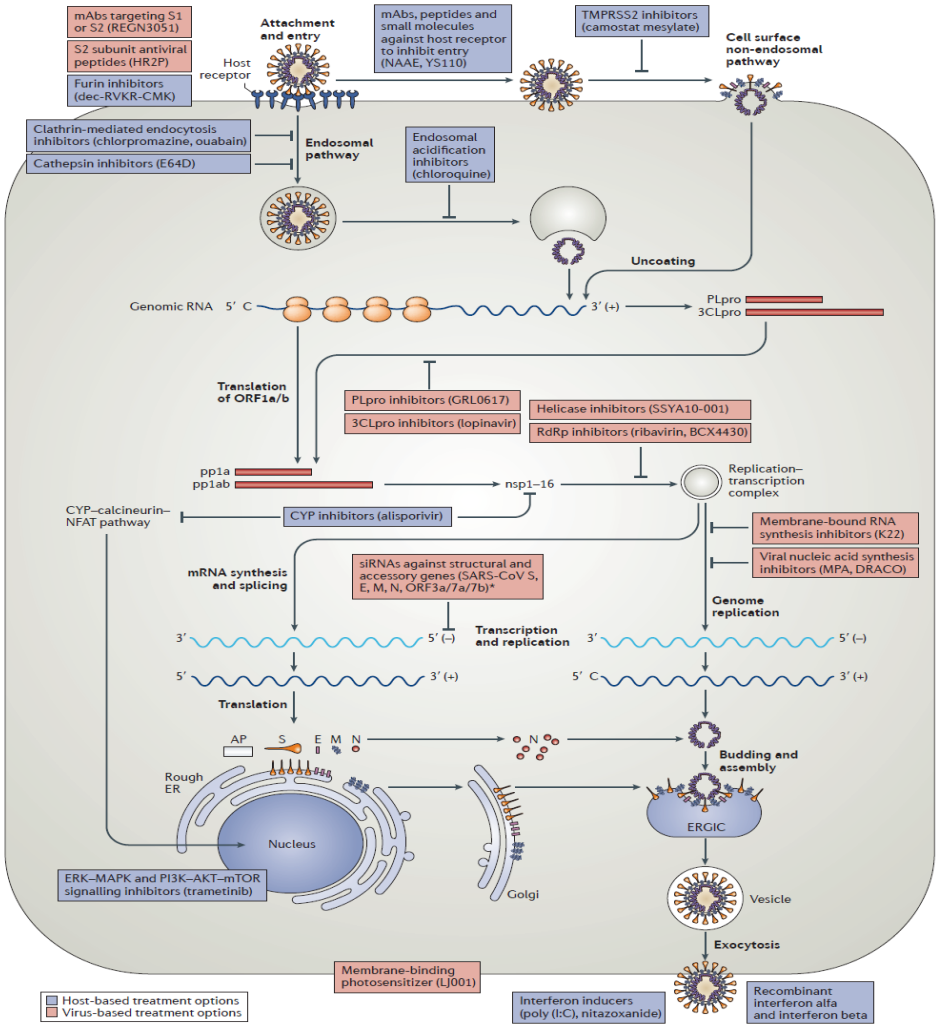
شکل ۳. چرخه‌ی زیستی کروناویروس‌ها. با ورود به سلول میزبان و تکثیر آن درون سلول، رشته‌ی RNA+ داخل سلول آزاد می‌شود و با تکثیر خود و تولید اجزای کپسید ویروس، امکان تشکیل ذرات ویروسی جدید را فراهم می‌آورد. اتصال ذره‌ی ویروسی با سطح سلول از طریق اتصال پروتئین S به گیرنده‌ی آن در سطح سلول امکان ورود ژنوم تک رشته‌ی RNA به سیتوپلاسم و بیان ORF1a/b و ایجاد pp1a و pp1ab را فراهم می‌آورد. جدا شدن اجزای این پلی‌پروتئین‌ها از طریق پروتئازهای PLpro و 3CLpro صورت می‌گیرد. یکی از این پروتئین‌ها، آنزیم RdRp است که در تکثیر دیگر RNAهای تک‌رشته + ژنومیک و ساب‌ژنومیک نقش دارد. در این فرایند، RNAهای تک‌رشته‌ی منفی به عنوان رشته‌های حد واسط عمل می‌کنند. پروتئین‌های ساختاری در نتیجه‌ی ترجمه‌ی RNAهای ساب‌ژنومیک بیان می‌شوند و به این ترتیب، با تکمیل اجزای مختلف، تشکیل ذره‌ی ویروسی تکمیل می‌شود (۲۲).

پروتئین M از طریق میان‌کنش‌های پروتئین- پروتئین، سر هم شدن و تشکیل ذرات ویروسی را هدایت می‌کند و برای این عملکرد خود، نیازمند حضور پروتئین E می‌باشد. هر چند که از نظر کمیت پروتئین E بسیار کمتر از M است، اما بدون آن، پروتئین M قادر به تشکیل ذرات شبه ویروسی (Virus-like particle یا VLP) نمی‌باشد. پروتئین N با کپسول‌دار کردن ژنوم و فیوژن آن با ERGIC، بسته‌بندی ذرات ویروسی را تسهیل می‌کند. در این مرحله، ورود پروتئین S به ویریون‌ها صورت می‌گیرد که از طریق میان‌کنش آن با پروتئین M انجام می‌شود (۱۶). با توجه به نقش کلیدی پروتئین E در تشکیل VLPها، به عنوان یکی از اهداف درمانی در عفونت‌های ناشی از کروناویروس‌ها در نظر گرفته شده است (۱۹-۱۸).

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

ژنومیک کروناویروس‌ها و رویکردهای درمانی: انواع گزینه‌ها نظیر واکسن‌ها، آنتی‌بادی‌های منوکلونال، درمان‌های بر پایه‌ی الیگونوکلئوتیدها، پپتیدها، اینترفرون‌ها و داروهای کوچک- مولکول برای مقابله با 2019-nCoV وجود دارد. با این حال، متأسفانه هنوز هیچ دارو یا واکسن تأیید شده‌ای علیه کروناویروس‌ها وجود ندارد و حتی در شرایط اضطراری کنونی، رسیدن به یک راهبرد درمانی اختصاصی برای 2019-nCoV، می‌تواند ماه‌ها و حتی سال‌ها به طول انجامد. با این توضیح، شاید مناسب‌ترین راه هدف‌گذاری مجدد داروهای تأیید شده‌ی قبلی باشد که درمان عفونت‌های ویروسی ناشی از Human immunodeficiency viruses (HIV)، ویروس هپاتیت B (Hepatitis B virus یا HBV)، ویروس هپاتیت C (Hepatitis C virus یا HCV) و همچنین، کروناویروس‌های مسؤول SARS و MERS را امکان‌پذیر کرده‌اند.

راهکارهای درمانی موجود را می‌توان به دو دسته‌ی کلی Virus-based و Host-based طبقه‌بندی کرد که به ترتیب، مولکول‌ها و اجزای ساختمانی یا عملکردی ویروسی و یا میزبان را هدف قرار می‌دهند (شکل ۴). برای این منظور، با تأکید بر جنبه‌های مشترک 2019-nCoV با دیگر ویروس‌ها که از اطلاعات حاصل از بررسی توالی‌های حفظ شده در ژنوم و شباهت توالی اسیدهای آمینه‌ی پروتئین‌های ساختاری و آنزیم‌های کلیدی ویروس به دست آمده‌اند، می‌توان راهکارهای درمانی مشترکی اتخاذ کرد (۲۱-۲۰).



شکل ۴. راهکارهای درمانی بالقوه‌ی موجود بر اساس روابط ویروس- میزبان در راستای مهار چرخه‌ی زیستی کروناویروس‌ها. راهبردهای درمانی بر اساس Host-based و Virus-based به تفکیک به رنگ‌های آبی و قرمز در شکل نشان داده شده‌اند (۷).

+: رشته‌ی RNA مثبت؛ -: رشته‌ی RNA منفی؛ AP: پروتئین‌های کمکی (Accessory proteins)؛

ERGIC (Endoplasmic-reticulum–Golgi intermediate compartment): تشکیلات حد واسط گلژی شبکه‌ی اندوپلاسمی

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

از میان انواع پروتئین‌های ویروس، پروتئین‌های غیر ساختاری 3CLpro، PLpro، RdRp و هلیکاز، به واسطه‌ی شناخته شده بودن عملکرد زیست‌شناختی و جایگاه فعال آنزیمی آن‌ها و انواع ساختاری پروتئین S به واسطه‌ی نقش کلیدی آن در ورود ویروس، از مهم‌ترین اهداف دارویی جهت طراحی مهار کننده‌های کوچک مولکول می‌باشند (۲۱).

ORF1a/b: مهار کننده‌های آنزیمی (Anti-CoV) متعددی علیه پروتئین‌های کد شده توسط ORF 1a/b معرفی شده‌اند که قابلیت مهار فعالیت ویروس را در شرایط برون‌تنی از خود نشان داده‌اند (۲۲، ۸). Lopinavir/ritonavir و GRL-001 از جمله مهار کننده‌های پروتئاز 3CLpro هستند که برای درمان HIV معرفی شده‌اند و استفاده از این مهار کننده‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از کروناویروس‌ها نظیر SARS و MERS نیز توصیه شده است (۲۴-۲۳) و بررسی‌های بالینی این دارو روی بیماران COVID-19 با شرایط حاد نتایج رضایت‌بخشی نشان داده است (۲۵). از مهار کننده‌های PLpro می‌توان GRL0617 را نام برد که با اتصال کووالان اختصاصی به پروتئاز و القای تغییر کانفورماسیونی در جایگاه فعال آن، باعث مهار تکثیر و عفونت‌زایی SARS-CoV می‌شود (۲۶).

RNA پلیمراز وابسته به RNA (RdRp): RdRp وظیفه‌ی کلیدی رونوشت‌برداری RNAهای ژنومیک و انواع ساب‌ژنومیک را در ویروس به عهده دارد. از جمله ویژگی‌های خاص این آنزیم، خطاپذیری آن است که شانس جهش‌پذیری بالای آن را فراهم می‌آورد و دیگری، قابلیت Strand switching این آنزیم است که امکان نوترکیبی را برای اعضای کروناویروس‌ها فراهم می‌کند و به این ترتیب، نقش مهمی در تکامل کروناویروس‌ها ایفا می‌کند. این ویژگی‌ها، RdRp را به عنوان یکی از اهداف کلیدی در پیش‌بینی راهبردهای درمانی علیه کروناویروس‌ها مورد توجه محققین قرار داده است (۲۲، ۱۶، ۸). بررسی مقایسه‌ای ژنوم 2019-nCoV، حاکی از تشابه ۹۶ درصدی توالی RdRp آن با SARS-CoV است. این مشخصه، احتمال اثرپذیری داروهای طراحی شده علیه RdRp SARS-CoV را در مقابله با 2019-nCOV مطرح می‌کند (۲۷). آنالوگ‌های نوکلئوزیدی، دارای قابلیت مهار تکثیر RNA ویروسی از معمول‌ترین داروها در مهار عفونت‌های ویروسی هستند. Ribavirin و Favipiravir، هر دو از مهار کننده‌های RdRp هستند که در عفونت‌های ناشی از ویروس‌های دارای RNA از جمله کروناویروس‌ها معرفی شده‌اند (۲۹-۲۸، ۸). Ribavirin در دزهای بالا علیه SARS-CoV و MERS-CoV استفاده می‌شود؛ هر چند که با توجه به عوارض جانبی دزهای بالا، مصارف بالینی آن در بیماری‌های شدید ناشی از کروناویروس‌ها محدود است و توصیه نمی‌شود (۳۰، ۸).

Favipiravir (T-705)، یک آنالوگ گوانوزین است که جایگاه فعال RdRp را بلوکه می‌کند و اگر چه در ابتدا به طور اختصاصی جهت درمان آنفلوانزا طراحی شد، اما با توجه به این که جایگاه فعال آنزیم RdRp در دیگر RNA ویروس‌ها محافظت شده می‌باشد، این مهار کننده، قابلیت استفاده در عفونت‌های ویروسی دیگر را هم دارد (۲۹). Remdesivir (RDV, GS-5734)، یک آنالوگ نوکلئوتیدی ضد ویروسی قوی با گستره‌ی عملکردی بالا علیه انواعی از RNA ویروس‌ها از جمله Ebola، SARS-CoV و همچنین، MERS-CoV می‌باشد که جهت درمان 2019-nCoV نیز توصیه شده است (۳۱) و نتایج آزمایش بالینی در بیماران با شدت بیماری حاد رضایت‌بخش گزارش شده است (۳۲). علاوه بر این‌ها، یک آنالوگ آدنوزین با نام BCX4430 یا Immucillin-A، قابلیت مهار RNA پلیمرازهای طیف وسیعی از RNA ویروس‌ها نظیر کرونا‌ویروس‌ها به ویژه SARS-CoV و MERS-CoV، فیلوویروس‌ها (مانند Ebola) و Marburg ویروس‌ها را نشان داده است و می‌تواند یک گزینه‌ی مناسب دیگر در درمان کروناویروس جدید باشد (۳۳).

گلیکوپروتئین سطحی اسپایک (S): برقراری ارتباط بین ویروس و گیرنده‌ی سلول میزبان، نقش کلیدی در عفونت‌زایی ویروس ایفا می‌کند و گلیکوپروتئین S در کروناویروس‌ها، این نقش را به عهده دارد. ناحیه‌ی S، از بخش انتهای آمین که ناحیه‌ی متصل شونده به گیرنده‌ی S1 نامیده می‌شود و انتهای کربوکسیل که زیرواحد فیوژن S2 می‌باشد، تشکیل شده است. در ناحیه‌ی اتصال S1-S2، ناحیه‌ی برش پروتئاز قرار دارد که شکستن آن جهت فعال‌سازی فرایند فیوژن، ورود ویروس و تشکیل سن‌سیتیوم ضروری است. S1 یا دمین متصل شونده به گیرنده (RBD)، با اتصال به گیرنده‌ی سطح سلول، باعث تغییر در کنفورماسیون زیرواحد S2 (ناحیه‌ی ساقه در S) و در نتیجه، نزدیک شدن ویروس به غشای سلول و در نهایت امکان انجام فرایند فیوژن می‌شود.

آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (mAbs) علیه S1 و همچنین، مهار کننده‌های S2، قابلیت بالایی در مهار فعالیت کروناویروس‌ها در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی از خود نشان داده‌اند. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، علیه زیرواحد S1 این گلیکوپروتئین از اتصال ویروس و گیرنده‌ی آن در سطح سلول جلوگیری می‌کنند و آنتی‌بادی‌های ضد زیرواحد S2 می‌توانند مانع از فیوژن ذره‌ی ویروسی و سلول و به این ترتیب، ورود ویروس شوند (۳۵-۳۴). علاوه بر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (۳۷-۳۶)، ترکیبات دیگر نیز با قابلیت مهار عملکرد گلیکوپروتئین Spike، می‌توانند ورود ویروس را به سلول میزبان مختل کنند. از آن جمله، می‌توان Griffithsin را نام برد که یک لکتین مشتق از جلبک قرمز با تمایل بالا برای گلیکوپروتئین‌های

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

سطح ویروس‌ها می‌باشد که ورود ویروس را به درون سلول در غلظت‌های پیکومولار مهار می‌کند و می‌تواند یکی از گزینه‌های مناسب جهت مهار عفونت‌های دیگر ویروس‌های پوشش‌دار نظیر کروناویروس جدید باشد (۳۸).

در رویکرد دیگری جهت مهار فرایند فیوژن ویروس، می‌توان از مهار گیرنده‌های سطحی سلول میزبان (رویکرد Host based) به عنوان اهداف درمانی بهره جست. تفاوت‌های موجود در S در CoVهای مختلف باعث شده است که انواع متفاوتی از گیرنده‌های سلولی، قابلیت اتصال و برقراری فیوژن با کروناویروس‌های مختلف را فراهم آورند. به عنوان مثال، گیرنده‌ی Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) توسط SARS-CoV و (HCoV)-NL63 و دی‌پپتیدیل پپتیداز ۴ (DPP4) توسط MERS-CoV مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴۰-۳۹). گیرنده‌ی میزبان، نقش مهمی در پاتوژنیسیتی، گرایش ویروس به بافت خاص (Tissue tropism) و همچنین، طیف موجوداتی که می‌توانند به عنوان میزبان ویروس مطرح شوند، دارد (۲۲، ۸). توالی‌یابی کامل ژنوم 2019-nCoV و مقایسه‌ی آن با ژنوم سایر ویروس‌های این گروه، حاکی از تشابه بالای توالی نوکلئوتیدی و همچنین، آمینواسیدهای کلیدی S1 در 2019-nCoV با SARS-CoV است. این ناحیه در اتصال آن به گیرنده‌ی ACE2 در سطح سلول‌های انسانی نقش دارد (۳۹، ۲۷، ۱۱). این ویژگی، امکان اثربخشی استفاده از داروهای مهار کننده‌ی S1 طراحی شده برای SARS-CoV، به منظور مهار 2019-nCoV به عنوان یک راهکار اورژانسی در شرایط حاضر را مطرح می‌کند. در عین حال، با توجه به نقش گیرنده‌ی سلول میزبان در پاتوژنیسیتی ویروس، می‌توان اثر پلی‌مورفیسم‌های مختلف ACE2 در جمعیت‌های مختلف را برای نشان دادن ارتباط احتمالی آن با شدت بیماری مطرح ساخت و آن را در دستور کار مطالعات آتی قرار داد (۴۱).

از جمله مهار کننده‌های ACE2 که با هدف درمان SARS-CoV معرفی و تأیید شده‌اند، عبارت از P4 و P5 می‌باشند که پپتیدهای مشتق از ACE2 هستند و از طریق اتصال به گلیکوپروتئین S ویروس و ممانعت از میان‌کنش ACE2-S مهار عفونت‌زایی ویروس را اعمال می‌کنند (۴۲). از دیگر مهار کننده‌های SARS-CoV معرفی شده بر علیه گیرنده‌ی میزبان، یک مهار کننده‌ی کوچک- مولکول با نام N-(2-aminoethyl)-1-aziridine-ethanamine (NAAE) است و فعالیت ACE2 و در نتیجه، ورود ویروس را مهار می‌کند. این مهار کننده‌ها را می‌توان به عنوان گزینه‌های امیدبخش درمانی در اپیدمی جدید در نظر گرفت؛ هر چند، ضروری است که استفاده‌ی بالینی از این داروها پس از بررسی‌های ایمونوپاتولوژی‌های احتمالی آن‌ها صورت گیرد (۸).

راهبردهای دیگر Host-based، پروتئازهای درگیر در مسیر ورود ویروس از سطح سلول یا از طریق مسیر اندوزومال را هدف قرار می‌دهند که با شکست ناحیه‌ی S، موجب فعال‌سازی فرایند فیوژن می‌شوند. از این دسته، می‌توان مهار کننده‌های کاتپسین‌ها (Catepsins) یا سیستئین پروتئازهای درگیر در مسیر اندوزومال را نام برد. K11777 و یک آنالوگ‌وینیل‌سولفون (Vinylsulfone) در زمره‌ی این دسته از مهار کننده‌ها هستند که اثرات مفیدی نه تنها در مدل‌های حیوانی عفونت‌های انگلی (۴۳)؛ بلکه در درمان طیف وسیعی از RNA ویروس‌های پوشش‌دار نظیر کرونا‌ویروس‌ها (SARS-CoV، MERS-CoV، HCoV-229E و HCoV-NL63) و فیلوویروس‌ها (Ebola و Marburg) از خود نشان داده‌اند (۴۴).

داروی دیگری که می‌تواند اندوسیتوز و عفونت‌زایی کروناویروس‌ها نظیر 2019-nCoV و SARS-CoV را مهار کند، یک داروی آنتی‌سایکوتیک به نام Chlorpromazine است که در درمان اسکیزوفرنی استفاده می‌شود و تشکیل فرورفتگی‌های با پوشش کلاترین را مختل می‌کند (۴۵). یکی از راهکارهای درمانی اولیه علیه SARS-CoV-2، داروی کلروکین (Chloroquine) و به ویژه هیدروکسی‌کلروکین معرفی شده بود که با توجه به عدم مشاهده‌ی نتایج رضایت‌بخش، در حال حاضر، توقف استفاده‌ی آن در بیماران توصیه شده است (۴۶). هر چند آزیترومایسین داروی ضد ویروسی نیست، اما با توجه به شواهد موجود، از قابلیت جانبی آن در کاهش التهاب و با هدف تعدیل التهاب شدید در بیماران COVID 19 و جلوگیری از آسیب بافتی ناشی از آن در بیماران با علایم متوسط تا شدید تجویز می‌شود (۴۷).

درگزارشی، درمان هم‌زمان هیدروکسی کلروکین با آزیترومایسین، نتایج رضایت‌بخش‌تری نسبت به درمان تک دارویی نشان داده است (۴۸). البته با توجه به این که هیدروکسی کلروکین نیز اثرات ایمونومدولاتوری دارد و از مسیری متفاوت با آزیترومایسین منجر به کاهش سایتوکاین‌های التهابی می‌شود (۴۹)، استفاده‌ی هم‌زمان این دو دارو با هم توصیه نمی‌شود (۴۷). یکی از چالش‌های درمان در عفونت COVID 19، فعالیت بیش از حد سیستم ایمنی در پاسخ به ویروس و ترشح فوق‌العاده‌ی سایتوکاین‌ها است که به آن Cytokine storm می‌گویند و افزایش التهاب ناشی از این فرایند، آسیب‌های بافتی شدیدی را به بافت ریه القا می‌کند که در شرایط حاد بیماری، می‌تواند عامل مهمی در کشندگی عفونت COVID 19 باشد.

به تازگی، مطالعات بالینی انجام شده در بررسی اثربخشی دگزامتازون و همچنین، دیگر کورتیکواستروئیدهای (پردنیزون و متیل پردنیزولون) سرکوبگر سیستم ایمنی در بیمارانی با شرایط بسیار وخیم، حاکی از بهبود قابل توجه در شرایط این دسته از بیماران بوده

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

است. هر چند که باید توجه داشت استفاده‌ی زودهنگام این داروها با توجه به اثر ضد التهاب قوی، می‌تواند با تضعیف سیستم ایمنی بیمار شرایط او را وخیم‌تر کند (۵۰).

در یک مطالعه‌ی *In silico*، محققان با استفاده از تکنیک‌های Homology modeling و Molecular ducking، به بررسی قابلیت مهاری مجموعه‌ای از انواع داروهای مطرح شده در پایگاه‌های داده‌ی ZINC و پایگاه داده‌ی مواد مؤثره‌ی گیاهی بر پروتئین‌های ویروسی مطرح به عنوان اهداف دارویی توسط این مولکول‌ها پرداخته است. از جمله ترکیبات مؤثره‌ی گیاهی پیشنهاد شده در این تحقیق، می‌توان به فلاونوئید موجود در مرکبات با نام Hesperidin و مشابه سنتتیک آن Neohesperidin که قابلیت مهار PLpro، 3Lpro و همچنین، پروتئین اسپایک و اتصال آن با ACE2 را می‌تواند داشته باشد و نیز ترکیبات مؤثره‌ی فلاونوئیدی گیاهان چای سبز (Epigallocatechin gallate) و خار مریم (Sylibin) که دارای خاصیت مهار PLpro هستند، اشاره کرد (۲۱).

علاوه بر داروهای مطرح شده، برخی شرکت‌های تجاری اعلام نموده‌اند که تأیید FDA جهت بررسی داروی ضد روماتوئید Actemra یا Tocilizumab را در مرحله‌ی III بررسی بالینی در مورد بیمارانی که شکل حاد COVID-19 را تجربه می‌کنند، دریافت کرده‌اند (۵۱). این دارو، یک آنتاگونیست برای گیرنده‌ی اینترلوکین ۶ می‌باشد و جهت بیماران آرتریت روماتوئید مورد استفاده قرار می‌گیرد.

SiRNAها، گزینه‌های درمانی دیگر: یکی از رویکردهای جذاب در درمان بیماری‌هایی نظیر عفونت‌های ویروسی، استفاده از SiRNAها می‌باشد. قابلیت این الیگونوکلئوتیدهای کوچک دو رشته‌ای در مهار اختصاصی و مؤثر بیان ژن‌های مورد نظر، موجب شده است تا استفاده از این رویکرد در پیش‌بینی راهبردهای درمانی در طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از عفونت‌های ویروسی گرفته تا انواع سرطان در کانون توجه بسیاری از مطالعات قرار گیرد (۵۳-۵۲). در زمینه‌ی مهار عفونت کرونا‌ویروس‌ها، SiRNAهای مختلف با اهداف نوکلئوتیدی S، E، M، N، ORF3a، ORF7a و ORF7b در SARS-CoV احتمال مهار تکثیر ویروس در شرایط برون‌تنی را نشان داده‌اند، اما هنوز سیستم داررسانی مناسبی برای SiRNAها جهت استفاده در انسان گزارش نشده است (۵۴، ۸).

تشابه ویروس 2019-nCoV با دیگر کرونا‌ویروس ها و طراحی واکسن: به همراه روش‌های تشخیصی سریع، واکسن‌های مؤثر نیز در تکمیل روند درمان و کنترل اپیدمی‌های ناشی از ویروس‌های جدید ضروری هستند. واکسن‌های ویروسی، باید ایمنی‌زا (ایمنوژنیک) و با پایداری کافی باشند و بتوانند ایمنی مناسبی به مدت طولانی ایجاد کنند. برای نیل به این هدف، اطلاعات زیادی در رابطه با نوع پاسخ ایمنی علیه ویروس، انواع و پیچیدگی آنتی‌ژن‌های اصلی ویروس و ویژگی‌های مولکولی و پاتوژنز لازم است (۱۳). توجه به محدودیت اطلاعات کرونا‌ویروس جدید 2019-nCoV و نیاز به مطالعات گسترده‌تر جهت شناسایی دقیق‌تر ویژگی‌های آن، می‌توان از تجربه و اطلاعات به دست آمده از سایر کرونا‌ویروس‌ها جهت سرعت بخشیدن به شناخت راهبرد درمانی و ایمنی‌زایی سریع بهره گرفت.

تا به حال، از راهبردهای متعددی از جمله ویروس ضعیف شده، کشته شده، DNA vaccines و واکسن‌های مبتنی بر وکتورهای ویروسی (Viral vectored vaccines) جهت واکسینه کردن علیه SARS-CoVهای حیوانی استفاده شده است (۲۲). مطالعات متعددی نیز در زمینه‌ی ساخت واکسن‌های انسانی علیه MERS-CoV همچنان در حال انجام است (۵۷-۵۵). از آن جایی که در افراد دچار بیماری‌های زمینه‌ای و یا دارای نقص سیستم ایمنی، اغلب نوع شدید بیماری مشاهده می‌شود، استفاده از واکسن‌های ویروس ضعیف شده، مناسب نیست. دیگر راهبردهای به کار گرفته شده بر ضد MERS-CoV عبارت از DNA پلاسمیدها، وکتورهای ویروسی، نانوذرات، ذرات شبه ویروسی و زیرواحدهای پروتئینی نوترکیب است که برخی از آن‌ها در مدل‌های حیوانی به تأیید رسیده‌اند (۲۲، ۸).

در مطالعه‌ای، واکسن ساخته شده از ذرات شبه‌ویروسی کایمر sVLP که دمین RBD ویروس MERS را در سطح خود بیان می‌کرد، قابلیت بالایی در القای پاسخ قوی سلول‌های B و همچنین، T را در موش داشت که این قابلیت، با اضافه کردن poly(I:C)، پلیمر دو رشته‌ی RNA که عفونت ویروسی را شبیه‌سازی می‌کند، بیشتر تقویت شد؛ به طوری که قابلیت القای پاسخ Th1 و همچنین، Th2 را با هم نشان داد (۵۶).

در مطالعه‌ی دیگری از سروتایپ آدنوویروس۵ که پروتئین Spike مربوط به کروناویروس MERS را درسطح خود بیان می‌کرد، به همراه نانوذرات پروتئین Spike که با اجوانت آلومینیم فرموله شده بود، به صورت هترولوگ و جهت تقویت استفاده کردند و نشان دادند که این روش، قابلیت القای پاسخ Th1 و Th2 را با هم دارد (۵۵). در دو مطالعه‌ی اخیر، قابلیت القای Th1 و Th2 به عنوان یک مزیت نسبت به واکسن‌های پیشین (از نوع DNA واکسن‌های حاوی ژن پروتئین Spike، خود پروتئین Spike، واکسن‌های زیر واحد RBD و برخی وکتورهای ویروسی تغییر یافته) مطرح شده است و از این رو، می‌تواند در طراحی واکسن علیه ویروس جدید 2019-nCoV مورد توجه واقع شود.

تلاش‌های گسترده‌ای جهت معرفی هر چه سریع‌تر واکسن علیه COVID-19 در حال انجام است، اما به احتمال زیاد، برای معرفی و تأیید اولین واکسن‌ها، ماه‌ها وقت لازم باشد (۵۸). اولین نمونه از این

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

واکسن‌ها که قابلیت ورود به مرحله‌ی I بررسی‌های بالینی را به دست آورد، یک واکسن بر پایه mRNA به نام mRNA-1273 است (۵۹). در حال حاضر، محققان در سرتاسر دنیا در حال مطالعه بر روی بیش از ۱۴۵ واکسن مختلف علیه این ویروس هستند و از این میان، ۲۱ واکسن وارد مراحل I، II و III مطالعات بالینی شده‌اند که از نوع واکسن‌های بر پایه‌ی mRNA، DNA، ویروس غیر فعال شده، ویروس زنده‌ی ضعیف شده، وکتورهای ویروسی Nonreplicative و Replicative و زیرواحدهای پروتئینی می‌باشند. واکسن‌هایی که وارد مرحله‌ی III مطالعات بالینی شده‌اند، شامل یک واکسن بر پایه‌ی ویروس ضعیف شده و یک DNA vector vaccine می‌باشند (۶۰).

نتیجه‌گیری

با توجه به گستردگی و سرعت انتشار بالای عفونت ناشی از 2019-nCoV در کشورهای مختلف و ضرورت پیش‌بینی راهبردهای فوری در تشخیص و درمان آن و با در نظر گرفتن زمان‌بر بودن شناخت و معرفی راهکارهای اختصاصی برای مقابله با این ویروس نوظهور، در این مطالعه سعی شده است با جمع‌بندی اطلاعات و یافته‌های اخیر حاصل از توالی‌یابی و مقایسه‌ی ژنوم 2019-nCoV با سایر ویروس‌ها و همچنین، با در نظر گرفتن توالی اسیدهای آمینه، برخی پروتئین‌های کلیدی در پاتوژنز و عفونت‌زایی ویروس، چشم‌اندازی کاربردی در رابطه با راهکارهای عملی در شناخت هر چه بیشتر ویروس، درمان عفونت ناشی از آن و شاید طراحی واکسن علیه آن ارایه شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش منبع حمایت مالی ندارد. مقاله منبع حمایت مالی ندارد.

References

1. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. Nat Microbiol 2020; 5(4): 536-44.
2. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). Treasure Island, FL, StatPearls Publishing; 2020.
3. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. Int J Antimicrob Agents 2020; 55(3): 105924.
4. Restaurant-associated scombroid fish poisoning--Alabama, Tennessee. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1986; 35(16): 264-5.
5. Anthony SJ, Johnson CK, Greig DJ, Kramer S, Che X, Wells H, et al. Global patterns in coronavirus diversity. Virus Evol 2017; 3(1): vex012.
6. Menachery VD, Yount BL, Debbink K, Agnihothram S, Gralinski LE, Plante JA, et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. Nat Med 2015; 21(12): 1508-13.
7. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019; 17(3): 181-92.
8. Zumla A, Chan JF, Azhar EI, Hui DS, Yuen KY. Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. Nat Rev Drug Discov 2016; 15(5): 327-47.
9. Woo PC, Lau SK, Huang Y, Yuen KY. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. Exp Biol Med (Maywood) 2009; 234(10): 1117-27.
10. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 2020; 382(8): 727-33.
11. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet 2020; 395(10224): 565-74.
12. Phan T. Novel coronavirus: From discovery to clinical diagnostics. Infect Genet Evol 2020; 79: 104211.
13. Enjuanes L, Zuniga S, Castano-Rodriguez C, Gutierrez-Alvarez J, Canton J, Sola I. Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development. Adv Virus Res 2016; 96: 245-86.
14. Tang JW, Tambyah PA, Hui DSC. Emergence of a novel coronavirus causing respiratory illness from Wuhan, China. J Infect 2020; 80(3): 350-71.
15. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VYC, et al. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. ACS Nano 2020; 14(4): 3822-35.
16. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. Methods Mol Biol 2015; 1282: 1-23.
17. Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. Curr Top Microbiol Immunol 2005; 287: 1-30.
18. He ML, Zheng BJ, Chen Y, Wong KL, Huang JD, Lin MC, et al. Development of interfering RNA agents to inhibit SARS-associated coronavirus infection and replication. Hong Kong Med J 2009; 15(3 Suppl 4): 28-31.
19. Wilson L, Gage P, Ewart G. Hexamethylene amiloride blocks E protein ion channels and inhibits coronavirus replication. Virology 2006; 353(2): 294-306.
20. Li G, De CE. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). Nat Rev Drug Discov 2020; 19(3): 149-50.
21. Wu C, Liu Y, Yang Y, Zhang P, Zhong W, Wang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. Acta Pharm Sin B 2020; 10(5): 766-88.

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

22. Morse JS, Lalonde T, Xu S, Liu WR. Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV. Chembiochem 2020; 21(5): 730-8.
23. Dayer MR, Taleb-Gassabi S, Dayer MS. Lopinavir; a potent drug against coronavirus infection: Insight from molecular docking study. Arch Clin Infect Dis 2017; 12(4): e13823.
24. Chu CM, Cheng VC, Hung IF, Wong MM, Chan KH, Chan KS, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: Initial virological and clinical findings. Thorax 2004; 59(3): 252-6.
25. Carmona-Bayonas A, Jimenez-Fonseca P, Castanon E. a trial of lopinavir-ritonavir in covid-19. N Engl J Med 2020; 382(21): e68.
26. Ratia K, Pegan S, Takayama J, Sleeman K, Coughlin M, Baliji S, et al. A noncovalent class of papain-like protease/deubiquitinase inhibitors blocks SARS virus replication. Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105(42): 16119-24.
27. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020; 579(7798): 270-3.
28. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. Cell Res 2020; 30(3): 269-71.
29. Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 2017; 93(7): 449-63.
30. Al-Tawfiq JA, Momattin H, Dib J, Memish ZA. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: an observational study. Int J Infect Dis 2014; 20: 42-6.
31. Sheahan TP, Sims AC, Leist SR, Schafer A, Won J, Brown AJ, et al. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. Nat Commun 2020; 11(1): 222.
32. Grein J, Ohmagari N, Shin D, Diaz G, Asperges E, Castagna A, et al. Compassionate use of remdesivir for patients with severe covid-19. N Engl J Med 2020; 382(24): 2327-36.
33. Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA, et al. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. Nature 2014; 508(7496): 402-5.
34. Coughlin MM, Prabhakar BS. Neutralizing human monoclonal antibodies to severe acute respiratory syndrome coronavirus: Target, mechanism of action, and therapeutic potential. Rev Med Virol 2012; 22(1): 2-17.
35. Elshabrawy HA, Coughlin MM, Baker SC, Prabhakar BS. Human monoclonal antibodies against highly conserved HR1 and HR2 domains of the SARS-CoV spike protein are more broadly neutralizing. PLoS One 2012; 7(11): e50366.
36. Park BK, Maharjan S, Lee SI, Kim J, Bae JY, Park MS, et al. Generation and characterization of a monoclonal antibody against MERS-CoV targeting the spike protein using a synthetic peptide epitope-CpG-DNA-liposome complex. BMB Rep 2019; 52(6): 397-402.
37. Zhou G, Zhao Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. Int J Biol Sci 2020; 16(10): 1718-23.
38. Lusvarghi S, Bewley CA. Griffithsin: An antiviral lectin with outstanding therapeutic potential. Viruses 2016; 8(10).
39. Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. Nat Med 2005; 11(8): 875-9.
40. Raj VS, Mou H, Smits SL, Dekkers DH, Muller MA, Dijkman R, et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. Nature 2013; 495(7440): 251-4.
41. Cao Y, Li L, Feng Z, Wan S, Huang P, Sun X, et al. Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. Cell Discov 2020; 6: 11.
42. Han DP, Penn-Nicholson A, Cho MW. Identification of critical determinants on ACE2 for SARS-CoV entry and development of a potent entry inhibitor. Virology 2006; 350(1): 15-25.
43. Chaparro JD, Cheng T, Tran UP, Andrade RM, Brenner SBT, Hwang G, et al. Two key cathepsins, TgCPB and TgCPL, are targeted by the vinyl sulfone inhibitor K11777 in in vitro and in vivo models of toxoplasmosis. PLoS One 2018; 13(3): e0193982.
44. Zhou Y, Vedantham P, Lu K, Agudelo J, Carrion R, Jr., Nunneley JW, et al. Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry. Antiviral Res 2015; 116: 76-84.
45. Dyall J, Coleman CM, Hart BJ, Venkataraman T, Holbrook MR, Kindrachuk J, et al. Repurposing of clinically developed drugs for treatment of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. Antimicrob Agents Chemother 2014; 58(8): 4885-93.
46. World Health Organization. Targeted Update: Safety and efficacy of hydroxychloroquine or chloroquine for treatment of COVID-19 [Online]. [cited 2020 Jun 17]; Available from: URL: https://www.who.int/publications/m/item/targeted-update-safety-and-efficacy-of-hydroxychloroquine-or-chloroquine-for-treatment-of-covid-19
47. Bleyzac N, Goutelle S, Bourguignon L, Tod M. Azithromycin for COVID-19: More than just an antimicrobial? Clin Drug Investig 2020; 40(8): 683-6.
48. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. Int J Antimicrob Agents 2020; 56(1): 105949.
49. Silva JC, Mariz HA, Rocha LF, Oliveira PS, Dantas AT, Duarte AL, et al. Hydroxychloroquine decreases Th17-related cytokines in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. Clinics (Sao Paulo) 2013; 68(6): 766-71.
50. Harvard Medical School. Treatments for COVID-19: What helps, what doesn't, and what's in the pipeline. Harvard Health Publishing [Online 2020 Aug 24].

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

[cited]; Available from: URL: https://www.health.harvard.edu/diseases-and-conditions/treatments-for-covid-19
51. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Bruggen MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. Allergy 2020; 75(7): 1564-81.
52. Gavrilov K, Saltzman WM. Therapeutic siRNA: Principles, challenges, and strategies. Yale J Biol Med 2012; 85(2): 187-200.
53. Levanova A, Poranen MM. RNA interference as a prospective tool for the control of human viral infections. Front Microbiol 2018; 9: 2151.
54. Liu C, Zhou Q, Li Y, Garner LV, Watkins SP, Carter LJ, et al. Research and development on therapeutic agents and vaccines for covid-19 and related human coronavirus diseases. ACS Cent Sci 2020; 6(3): 315-31.
55. Jung SY, Kang KW, Lee EY, Seo DW, Kim HL, Kim H, et al. Heterologous prime-boost vaccination with adenoviral vector and protein nanoparticles induces both Th1 and Th2 responses against Middle East respiratory syndrome coronavirus. Vaccine 2018; 36(24): 3468-76.
56. Wang C, Zheng X, Gai W, Wong G, Wang H, Jin H, et al. Novel chimeric virus-like particles vaccine displaying MERS-CoV receptor-binding domain induce specific humoral and cellular immune response in mice. Antiviral Res 2017; 140: 55-61.
57. Coleman CM, Venkataraman T, Liu YV, Glenn GM, Smith GE, Flyer DC, et al. MERS-CoV spike nanoparticles protect mice from MERS-CoV infection. Vaccine 2017; 35(12): 1586-9.
58. Kelly E. The race for a COVID-19 vaccine: A look at some of the main research teams working to develop a vaccine [Online]. [cited 2020 Mar 23]; Available from: URL: https://sciencebusiness.net/covid-19/news/race-covid-19-vaccine
59. National Institutes of Health. NIH clinical trial of investigational vaccine for COVID-19 begins [Online]. [cited 2020 Mar 16]; Available from: URL: https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-clinical-trial-investigational-vaccine-covid-19-begins
60. World Health Organization. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines [Online]. [cited 2020 Sep 22]; Available from: URL: https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines

www.SID.ir
http://jims.mui.ac.ir

Archive of SID

DOI: 10.22122/jims.v38i587.12988 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Vol. 38, No. 587, 3rd Week, October 2020

Received: 27.04.2020 Accepted: 25.08.2020 Published: 19.10.2020

An Overview on the Genomic Characteristics of the New Coronavirus (2019-nCoV) and the Prospective in Pathogenesis and Treatment of COVID-19 Infection

Somayeh Mirzaaghaei[1], Hossein Mirhendi[2]

Review Article

Abstract

Background: Emergence of Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-COV-2) infection (coronavirus disease-2019 or COVID-19) in China since late 2019 and its global distribution has attracted a big international attention. As 2019-nCov is an emerging pathogen, extending our knowledge about the similarities/differences of this virus with other members of the Coronaviridae family, its genetic characteristics, and pathogenesis could be beneficial to develop better strategies of diagnosis, control, and treatment. This pandemic disease is still so new to be fully identified, and there is a long way ahead for complete characterization of SARS-COV-2 and its disease.

Methods: In this study, we investigated the most recent publications from December 2019 to April 2020 on general and genetic features of SARS-COV-2, evaluating the results with primarily approved data about coronaviruses.

Findings: Genetic analysis of SARS-CoV-2 comparing with primarily introduced species indicated high similarity with SARS and Middle East Respiratory Syndrome (MERS) indicating bat source of the emergence.

Conclusion: Approving the molecular biologic and pathologic similarities between SARS-CoV-2 and previously studied viruses provides prospective for pathogenesis, therapeutics, and development of vaccines, which is more valuable in emergencies of this new pandemic infection.

Keywords: Coronavirus; COVID-19; SARS-CoV-2; Genomics; Therapeutics

Citation: Mirzaaghaei S, Mirhendi H. **An Overview on the Genomic Characteristics of the New Coronavirus (2019-nCoV) and the Prospective in Pathogenesis and Treatment of COVID-19 Infection.** J Isfahan Med Sch 2020; 38(587): 589-601.

1- PhD in Molecular Genetics, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hossein Mirhendi, Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Email: s.h.mirhendi@gmail.com

www.SID.ir