

بررسی تکامل ژنتیکی کروناویروس جدید ۲۰۱۹ و کروناویروس سایر گونه‌ها

سمیه اسمعیلی رینه*

کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

چکیده

بیماری کرونا ویروس ۲۰۱۹ (COVID-19) که با ویروس سندروم حاد تنفسی ۲ (SARS-CoV-2) ایجاد شده است، یک نگرانی بین‌المللی در زمینه بهداشت عمومی است. با این حال، هنوز اختلافاتی در مورد منشأ این ویروس و میزبان حدواسط آن وجود دارد. در اینجا ما کشف کردیم که ویروس کرونا جدید ارتباط نزدیکی با کرونا ویروس‌های به دست آمده از پنج حیوان وحشی شامل سه گونه سیوت، سیوت نخلی نقابدار (*Paguma larvata*)، سیوت نخلی آسیایی (*Paradoxurus hermaphroditus*) و گونه دیگری از سیوت و دو گونه خفاش، نعل اسبی سینکوس (*Rhinolophus sinicus*) و بینی برگه ای سه دندان ای (*Aselliscus stoliczkanus*)، دارد که در یک انشعاب در درخت فیلوژنتیک بودند. با این حال، هومولوژی ژنگان (genome) و ORF1a نشان می‌دهد که این ویروس جدید همانند ویروس مشتق شده از این پنج حیوان نیست، در حالی که ویروس بالاترین هومولوژی را با کرونا ویروس خفاش RaTG13 دارد.

کلیدواژگان: کرونا ویروس سندروم حاد تنفسی ۲ (SARS-CoV-2)، ژنگان، تکامل ژنتیکی، پروتئین ساختاری.

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: sesmaeili@razi.ac.ir

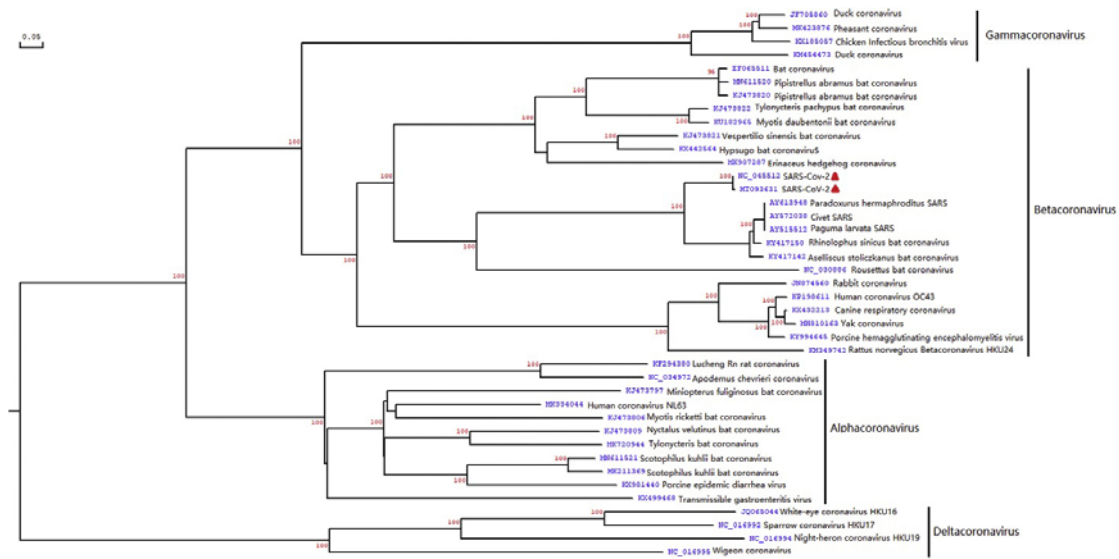
هومولوژی نوکلئوتیدی در کل ژنگان دارد. البته تصور می‌شود که گروه‌های جانوری دیگر نظیر مورچه خوار پانگولین، راسو، مار و لاک پشت‌ها نیز ممکن است میزبان‌های حدواسط بالقوه برای این ویروس باشند، که نیاز به شواهد بیشتر برای تأیید آن است (Association, 2020; Guo et al., 2020; Ji et al., 2020; Lam et al., 2020; Liet al., 2020; Liu et al., 2020a; Liu et al., 2020b; Xiao et al., 2020; Zhanget al., 2020a; Zhang et al., 2020b).

برای بررسی این موضوع، توالی‌های SARS-CoV-2 و ۳۹ سویه از کروناویروس‌های متعلق به گونه‌های دیگر با استفاده از DNAMAN 6، مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، ۴۱ سویه در چهار کلاد *Gammacoronavirus*، *Betacoronavirus*، *Alphacoronavirus* و *Deltacoronavirus* گروه‌بندی شدند. دو سویه SARS-CoV-2 متعلق به کلاد *Betacoronavirus* هستند (شکل ۱) که خویشاوندی نزدیکی با سویه‌های گونه‌های سیوت نخلی نقابدار (*Paguma larvata*)، سیوت نخلی آسیایی (*Paradoxurus hermaphroditus*) و گونه دیگری از سیوت و دو گونه خفاش، نعل اسبی سینکوس (*Rhinolophus sinicus*) و بینی برگه ای سه دندان ای (*Aselliscus stoliczkanus*) دارند و یک انشعاب را در درخت فیلوژنتیک تشکیل می‌دهند.

تجزیه و تحلیل بیشتر نشان داد که همسانی کل ژنگان هفت ویروس ۸۹،۰۷ درصد بود. تحلیل دیگری نشان داد که کل ژنگان ۷ ویروس که در یک انشعاب درخت قرار می‌گیرند ۷۱/۹۸ درصد هم ساختار هستند.

بیماری کرونا ویروس ۲۰۱۹، کووید-۱۹ که با ویروس سندروم حاد تنفسی ۲ (SARS-CoV-2) ایجاد شده است، یک نگرانی بین‌المللی در زمینه بهداشت عمومی، و تهدیدی جدی برای سلامتی مردم و همچنین سیستم پزشکی و بهداشتی است (Association, 2020; Suet al., 2020). از ۱۲ دسامبر ۲۰۱۹ پس از پذیرش اولین بیمار تا ۵ مارس ۲۰۲۰، چین در مجموع ۸۰،۵۸۵ مورد مبتلا تأیید شده و ۳۰۱۶ مورد فوت ناشی از عفونت SARS-CoV-2 را گزارش کرده است. تا به امروز این بیماری در سراسر جهان گسترش یافته و تبدیل به یک بیماری عفونی جدی برای سلامت انسان در سراسر جهان شده است. در بیش از ۷۸ کشور و مناطق خارج از چین ۱۷،۶۳۷ مورد تأیید شده و ۳۳۸ فوت وجود دارد. با افزایش تعداد موارد این بیماری، سازمان جهانی بهداشت (WHO) ارزیابی خطر شیوع و تأثیر کووید-۱۹ را در سطح جهانی در ۲۸ فوریه سال ۲۰۲۰ بسیار زیاد اعلام کرد (Association, 2020; Lai et al., 2020; Su et al., 2020).

تا به امروز، مطالعات متعدد نشان داده‌اند که پاتوژن کووید-۱۹، یک کروناویروس جدید متعلق به خانواده Coronavirus ها، جنس *Betacoronavirus* و زیرجنس *Sarbecovirus* است، که شامل یک ژنگان تک رشته ای RNA مثبت با حدود ۳۰ کیلوباز است (Ceraoloand Giorgi, 2020; Jiang and Shi, 2020; Lai et al., 2020; Li et al., 2020; Lu et al., 2020; Zhou et al., 2020). اما، هنوز در مورد منشأ این ویروس و میزبان یا میزبان‌های حدواسط آن اختلاف نظراتی وجود دارد. تحلیل‌های تکاملی نشان می‌دهد که کرونا ویروس جدید بیشترین شباهت را با سویه کروناویروس خفاش RaTG13 با ۹۶/۲ درصد



شکل ۱- تحلیل فیلوژنتیکی کروناویروس های متعلق به گونه های مختلف و کروناویروس جدید ۲۰۱۹ از چین را نشان می دهد. توالی کامل ژنگانی ۴۱ سویه کروناویروس با استفاده از نرم افزار MEGA 5.0 تحلیل شدند. درخت فیلوژنتیکی حداکثر درست نمایی با بوتسترپ ۱۰۰ طراحی شد. مثلث های قرمز سویه های SARS-CoV-2 را نشان می دهند.

ویروس RaTG13 خفاش بالاترین همسانی را داشته و تنها در چهار آمینو اسید (267A/Q, 243G/S, 215G/S, 37S/P) از یکدیگر متفاوت هستند. دو ویروس در ۳۳ اسید آمینه در پروتئین S با یکدیگر تفاوت دارند. همچنین، گزارش شده است که ویروس SARS-CoV-2 دارای یک پپتید منحصر به فرد (PRRA) الحاقی است، که ممکن است در شکستن پروتئولیتیک پروتئین S توسط پروتئازهای سلولی نقش داشته باشد و بر تعداد میزبان و میزان انتقال آن اثر بگذارد (Li et al., 2020). این پپتید PRRA در پروتئین S در SARS-CoV-2 قرار دارد و در پروتئین S کروناویروس RaTG13 خفاش وجود ندارد. ۱۰۳ جایگاه مختلف اسید آمینه (۱،۴۵ درصد) پروتئین ORF1ab در دو سویه ویروس وجود دارد. برعکس بررسی ها در این تحقیق نشان می دهد که هم ساختاری بین SARS-CoV-2 و سایر کروناویروس ها به استثنای مورچه خوار پانگولین کمتر از ۹۰ درصد است (جدول ۱). این نتایج بیشتر نشان داده بود که دو ویروس SARS-CoV-2 و کرونا ویروس RaTG13 خفاش رابطه خویشاوندی نزدیکی با یکدیگر دارند. همولوژی کل ژنگان، ژن های ORF1ab، S و N در SARS-CoV-2 و کرونا ویروس شبه سارس خفاش Rs4874 که از خفاش *R. sinicus* جدا شده بود کمتر از ۹۰٪ بود و این نشان می دهد که کروناویروس حمل شده توسط افراد مختلف خفاش ممکن است متفاوت باشد.

علاوه بر آن، SARS-CoV-2 و کرونا ویروس پانگولین نیز رابطه خویشاوندی نزدیکی با یکدیگر دارند (Lam et al., 2020; Xiao et al., 2020; Zhang et al., 2020). اما به دلیل کامل نبودن

در میان آنها SARS-CoV-2، با سایر سویه ها به ترتیب ۷۳/۸۱، ۷۳/۶۰، ۷۳/۵۸، ۷۴/۵۸ و ۷۱،۹۸ درصد همساختار است. همچنین بررسی کل ژنگان و ژن های ORF1a، ORF1ab، و S proteins کرونا ویروس راسو با SARS-CoV-2 با ۶۸، ۴۶/۹۶، ۵۲/۴۴ و ۴۷/۳۶ همسانی نشان داد که SARS-CoV-2 کمترین شباهت را با کروناویروس های موجود در راسوها دارند و کروناویروس راسوها زیرگروه مجزایی را تشکیل می دهند (Yang et al., 2020). بنابراین، از آنجا که همسانی SARS-CoV-2 و این کرونا ویروس ها کمتر از ۷۵ درصد است، فرض بر این است که SARS-CoV-2 همان ویروس حاصل از این پنج حیوان وحشی نیست.

برای تایید بیشتر این گمانه زنی ها، در مطالعه ای دیگر، سه کروناویروس غیرانسانی و سه کروناویروس مشتق از میزبان های مشکوک برای آنالیز هم ساختاری انتخاب شدند. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، SARS-CoV-2 و کروناویروس RaTG13 خفاش بالاترین میزان همساختاری را در کل ژنگان، ژن ORF1ab، ژن پروتئین نوکلئوکسید (N) و ژن پروتئین Spike (S) دارند و همساختاری اسیدهای آمینه این پروتئین ها در دو ویروس به ترتیب ۹۸،۵۵، ۹۹،۰۵ و ۹۷،۴۱ درصد است. بنابراین نتایج نشان می دهد که دو ویروس روابط خویشاوندی ژنتیکی بالایی دارند که نتایج مطالعات محققان دیگر را تایید می کند (Jiang and Shi, 2020; Li et al., 2020; Paraskevis et al., 2020; Zhou et al., 2020).

علاوه بر آن، پروتئین N موجود در SARS-CoV-2 و کرونا

جدول ۱- درصد همولوژی SARS-CoV-2 و شش سویه کروناویروس از میزبان های مختلف در چین.

Isolate	Host	Complete genome	ORF1ab	N protein	Spike protein
SARS coronavirus civet020(A Y572038)	Civet	73.58	79.23	87.79	71.44
Bat SARS-like coronavirus As6526 (KY417142)	<i>Aselliscus stoliczkanus</i>	74.58	79.23	87.55	68.17
Bat SARS-like coronavirus Rs4874(KY417150)	<i>Rhinolophus sinicus</i>	71.98	79.18	87.94	71.29
Alphacoronavirus Mink/China/1/2016(MF113046)	Mink	34.97	38.47	33.70	30.89
coronavirus isolate RaTG13(MN996532)	<i>Rhinolophus affinis</i>	93.7	96.5	96.9	92.86
Pangolin coronavirus(MT084071)	<i>Manis javanica</i>	?	?	95	90

جمعیت ها و همچنین مکانیسم انتقال بین گونه‌ای ضروری به نظر می رسد.

به طور خلاصه، بر اساس این نتایج، ما در مورد تحقیقات SARS-CoV-2 در آینده چند فکر داریم:

۱- SARS-CoV-2 رابطه نزدیکی با کروناویروس خفاش RaTG13 (bat coronavirus RaTG13) دارند، اما با کرونا ویروس های جدا شده از گونه‌های دیگر آنالیز شده در این مطالعه فاصله زیادی دارد. اینک پرسش این است که، آیا *R. affinis* میزبان مخزن سازی SARS-CoV-2 است؟

۲- اگر SARS-CoV-2 از *R. affinis* تکامل یافته باشد آیا میزبان دیگری نیز در جهش ویروس دخیل است.

۳- اگر SARS-CoV-2 از *R. affinis* نیامده است، آیا جانور ممکن است به عنوان میزبان حدواسط کلیدی، برای نوترکیبی و تکامل SARS-CoV-2 عمل کند.

۴- با توجه به محدودیت داده ها، آیا منابع دیگری از SARS-CoV-2 وجود دارد که ارزش تحقیق و تجزیه و تحلیل بیشتر را داشته باشد.

توالی ژنگان آن در بانک ژن، مقایسه کامل آنها و بررسی این که آیا پانگولین میزبان حدواسط است، امکان پذیر نیست. همچنین، گزارش شده که ویروس SARS-CoV-2 مستقیماً از پنگولین ها ناشی نمی شود (Li et al., 2020). بنابراین، رابطه بین SARS-CoV-2 و کرونا ویروس پانگولین و اینکه پانگولین میزبان حدواسطی برای SARS-CoV-2 است، به تحقیقات بیشتری نیاز دارد.

قابل ذکر است که اگر چه کل توالی ژنگانی سویه های مختلف SARS-CoV-2 تقریباً یکسان (۹۹/۹) است (Ceraolo and Giorgi, 2020; Li et al., 2020; Lu et al., 2020; Paraskevis et al., 2020) اما ویروس در بدن بیماران جهش می کند (Zhao et al., 2020). جهش ها عمدتاً در سویه های مختلف SARS-CoV-2 در پنج ژن S، N، ORF8، ORF3a، ORF1ab و ORF1ab رخ می دهند و ۴۲ درصد جهش ها، غیر مترادف هستند (Zhao et al., 2020). سطوح بالایی از تنوع ویروسی در بعضی بیماران آلوده به SARS-CoV-2 یافت شده است (Shen et al., 2020) که نشان می دهد ویروس ها در حال سازش با محیط بدن انسان بوده و ژنگان آن در جمعیت های انسانی در حال تکامل اند. بنابراین، شناسایی و بررسی دقیق جهش و تکامل ویروس در

منابع

- Association, S.E.G.f.c.o.t.E.o.N.C.P.o.t.C.P.M., 2020. An update on the epidemiological characteristics of novel coronavirus pneumonia(COVID-19). *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 41, 139-144. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.002>.
- Ceraolo, C., Giorgi, F.M., 2020. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *J. Med. Virol.* <https://doi.org/10.1002/jmv.25700>.
- Guo, Q., Li, M., Wang, C., Wang, P., Fang, Z., Tan, J., Wu, S., Xiao, Y., Zhu, H., 2020. Host and infectivity prediction of Wuhan 2019 novel coronavirus using deep learning algorithm. *bioRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.01.21.914044>.
- Ji, W., Wang, W., Zhao, X., Zai, J., Li, X., 2020. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J. Med. Virol.* 92, 433-440. <https://doi.org/10.1002/jmv.25682>.
- Jiang, S., Shi, Z.L., 2020. The first disease X is caused by a highly transmissible acute respiratory syndrome coronavirus. *Virol. Sin.* <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00206-5>.
- Lai, C.C., Shih, T.P., Ko, W.C., Tang, H.J., Hsueh, P.R., 2020. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents* 105924. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>.
- Lam, T.T.-Y., Shum, M.H.-H., Zhu, H.-C., Tong, Y.-G., Ni, X.-B., Liao, Y.-S., Wei, W., Cheung, W.Y.-M., Li, W.-J., Li, L.-F., Leung, G.M., Holmes, E.C., Hu, Y.-L., Guan, Y., 2020. Identification of 2019-nCoV related coronaviruses in Malayan pangolins in southern China. *bioRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.02.13.945485>.
- Li, X., Zai, J., Zhao, Q., Nie, Q., Li, Y., Foley, B.T., Chaillon, A., 2020. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. *J. Med. Virol.* <https://doi.org/10.1002/jmv.25731>.
- Liu, P., Jiang, J.-Z., Wan, X.-F., Hua, Y., Wang, X., Hou, F., Chen, J., Zou, J., Chen, J., 2020a. Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV)? *bioRxiv.* <https://doi.org/10.1101/2020.02.18.954628>.
- Liu, Z., Xiao, X., Wei, X., Li, J., Yang, J., Tan, H., Zhu, J., Zhang, Q., Wu, J., Liu, L., 2020b. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J. Med. Virol.* <https://doi.org/10.1002/jmv.25726>.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., Meng, Y., Wang, J., Lin, Y., Yuan, J., Xie, Z., Ma, J., Liu, W.J., Wang, D., Xu, W.,

- Holmes, E.C., Gao, G.F., Wu, G., Chen, W., Shi, W., Tan, W., 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 395, 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
- Paraskevis, D., Kostaki, E.G., Magiorkinis, G., Panayiotakopoulos, G., Sourvinos, G., Tsiordas, S., 2020. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect. Genet. Evol.* 79, 104212. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104212>.
- Shen, Z., Xiao, Y., Kang, L., Ma, W., Shi, L., Zhang, L., Zhou, Z., Yang, J., Zhong, J., Yang, D., Guo, L., Zhang, G., Li, H., Xu, Y., Chen, M., Gao, Z., Wang, J., Ren, L., Li, M., 2020. Genomic diversity of SARS-CoV-2 in coronavirus disease 2019 patients. *Clin. Infect. Dis.* <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa203>.
- Su, S., Li, X., Hao, H., Wang, X.-Y., Zhang, M.-M., Geng, H., Ma, M., 2020. Advances in research on SARS-CoV-2. *J. Xi'an Jiaotong Univ.(Medical Sciences)* 41 (preprint), 1–7. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1399.R.20200224.0944.010.htm>.
- Xiao, K., Zhai, J., Feng, Y., Zhou, N., Zhang, X., Zou, J.-J., Li, N., Guo, Y., Li, X., Shen, X., Zhang, Z., Shu, F., Huang, W., Li, Y., Zhang, Z., Chen, R.-A., Wu, Y.-J., Peng, S.-M., Huang, M., Xie, W.-J., Cai, Q.-H., Hou, F.-H., Liu, Y., Chen, W., Xiao, L., Shen, Y., 2020. Isolation and characterization of 2019-nCoV-like coronavirus from Malayan pangolins. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.02.17.951335>.
- Yang, Y., Chen, S., Ren, L., 2020. Genetic evolution analysis of Marten coronavirus and 2019 novel coronavirus. *Chin. J. Anim. Health Inspection* 37 Accepted.
- Zhang, C., Zheng, W., Huang, X., Bell, E.W., Zhou, X., Zhang, Y., 2020a. Protein structure and sequence re-analysis of 2019-nCoV genome does not indicate snakes as its intermediate host or the unique similarity between its spike protein insertions and HIV-1. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.02.04.933135>.
- Zhang, T., Wu, Q., Zhang, Z., 2020b. Pangolin homology associated with 2019-nCoV. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.02.19.950253>.
- Zhao, W., Song, S., Chen, M., Zou, D., Ma, L., Ma, Y., Li, R., Hao, L., Li, C., Tian, D., Tang, B., Wang, Y., Zhu, J., Chen, H., Zhang, Z., Xue, Y., Bao, Y., 2020. The 2019 novel coronavirus resource. *Hereditas* 42, 212–221. <https://doi.org/10.16288/j.ycz.20-030>.
- Zhou, P., Yang, X.L., Wang, X.G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H.R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C.L., Chen, H.D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R.D., Liu, M.Q., Chen, Y., Shen, X.R., Wang, X., Zheng, X.S., Zhao, K., Chen, Q.J., Deng, F., Liu, L.L., Yan, B., Zhan, F.X., Wang, Y.Y., Xiao, G.F., Shi, Z.L., 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.