

معرفی کروناویروس SARS-CoV-2 و بررسی منشأ احتمالی آن

Introduction of coronavirus SARS-CoV-2 and investigation of possible origin of this virus

امین سهندی خلیفه‌کندی^۱، جعفر رازقی^۲

Amin Sahandi Khalifeh-Kandy¹, Jafar razeghi²

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه

بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

۲- گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران

1. PhD student in Agricultural Biotechnology. Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, IRAN

2. Plant Biology Dept. Natural Science Faculty, University of Tabriz, Tabriz, IRAN

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jafar_razeghi@tabrizu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۴ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۰)

چکیده

واژه‌های کلیدی

انتخاب طبیعی،

دستکاری ژنتیکی،

کروناویروس سندرم حاد تنفسی ۲،

کووید-۱۹،

گیرنده ACE2

ظهور بیماری خطرناک و کشنده کووید-۱۹ در اواخر سال ۲۰۱۹ در شهر ووهان چین و انتشار سریع آن، سبب تأثیر گسترده و جهانی بر روی سلامت، امنیت روانی، اقتصاد، فرهنگ و سیاست کشورهای مختلف گردیده است که باعث جلب توجه جامعه پزشکی و علوم مرتبط با آن در جهت شناسایی و درمان این بیماری شده است. مطالعات مختلف انجام گرفته بر روی این بیماری از شناسایی یک کروناویروس جدید به عنوان عامل آن حکایت دارد. با توجه به ایجاد بیماری شدید تنفسی و شباهت این ویروس به SARS-CoV اسم آن را SARS-CoV-2 نامیدند. با اینکه مطالعات زیادی در جهت شناسایی منشأ این ویروس صورت گرفته و براساس نتایج به دست آمده اکثر پژوهشگران فرضیه انتخاب طبیعی جهش رخ داده در ویروس Bat-RaTG13 خفاش را مطرح کرده‌اند اما برخی از محققان نیز براساس شواهد به دست آمده معتقد به ساخت آزمایشگاهی این ویروس هستند. با این حال هر دو گروه از پژوهشگران اعتقاد دارند تا زمان پیدا شدن مستندات قوی در ارتباط با منشأ و چگونگی ایجاد ویروس هیچ کدام از فرضیه‌ها را نمی‌توان رد کرد. در این مقاله مروری، در کنار بحث بر روی منشأ ایجاد ویروس SARS-CoV-2 به معرفی این ویروس، نحوه عملکرد، بیماری‌زایی و راه کارهای جلوگیری از ایجاد بیماری و درمان آن اشاره می‌شود.

مقدمه

خانواده کروناویریده

کروناویروس‌ها متعلق به خانواده *Coronaviridae* بوده که ویروس‌هایی کروی با اندازه‌ای نسبتاً بزرگ در حدود ۸۰ تا ۲۲۰ نانومتر می‌باشند. علت نام‌گذاری این ویروس‌ها وجود برجستگی‌های تاج ماندنی شبیه به پرتوهای خورشید است که بر روی پوشش خارجی آن قرار دارد و ظاهری شبیه به پرتوهای خورشید به آن می‌دهد (Payne, 2017).

اگرچه اولین ویروس از این خانواده (ویروس پرندگان) در سال ۱۹۳۲ شناسایی شد (Hudson and Beaudette, 1932) اما تا ۳۰ سال بعد از آن که اولین انسان آلوده به کروناویروس شناسایی شود به عنوان یک خانواده طبقه‌بندی نمی‌شد (Tyrrell and Bynoe, 1965). در سال‌های گذشته نیز این خانواده از ویروس‌ها به واسطه ایجاد چندین بیماری اپیدمی در جهان به عنوان یک خانواده معروف از ویروس‌ها شناسایی شده است. این ویروس‌ها دامنه میزبانی بسیار بالایی دارند که این امر از لحاظ انتشار و همه‌گیری بیماری‌های ایجاد شده توسط این ویروس‌ها در جهان از اهمیت بالایی برخوردار است برای مثال ویروس SARS می‌تواند موجوداتی نظیر انسان، دلفین، پرندگان، ماهی‌ها و حتی گاو را آلوده کند (Belouzard et al. 2012).

طبقه‌بندی خانواده *Coronaviridae*

برای طبقه‌بندی ویروس‌های شناسایی شده از ژنوم کامل و از طریق تجزیه و تحلیل درخت فیلوژنتیکی عمل می‌شود. در این رده بندی ویروس‌های جدید شناسایی شده بر اساس فواصل تکاملی دوطرفه در یک زیرخانواده، جنس یا گونه خاصی قرار می‌گیرد. این فاصله‌های تکاملی دو طرفه براساس دومین‌های حفاظت شده در پلی‌پروتئین رپلیکاز (ADRP)، nsp5 (3CLpro)، nsp12 (RdRp)، nsp13 (Hel)، nsp14، nsp15 (NendoU) و nsp16 (O-MT) انجام می‌شود. با استفاده از این روش در این خانواده، ۲۰ خوشه غیرهمپوشان که شامل ۱۷ کروناویروس، ۲ توروویروس و یک بافینی‌ویروس

است شناسایی شده است. فاصله‌های دور فیلوژنتیکی تعیین شده در این خانواده ممکن است نشان دهنده جنسی باشد که در هیچ‌کدام از جنس‌های دیگر قرار نگرفته و کمتر از ۴۶ درصد تشابه با توالی دومین‌های رپلیکاز مرجع باشد، در حالی که ویروس‌هایی با تشابه بالای ۹۰ درصد در این دومین‌های حفاظت شده در فاصله نزدیک به هم و در یک گونه قرار می‌گیرند. این سطح شناسایی ۹۰ درصد به عنوان تنها معیار مشخص کردن گونه‌ها به شمار می‌رود (King et al. 2012).

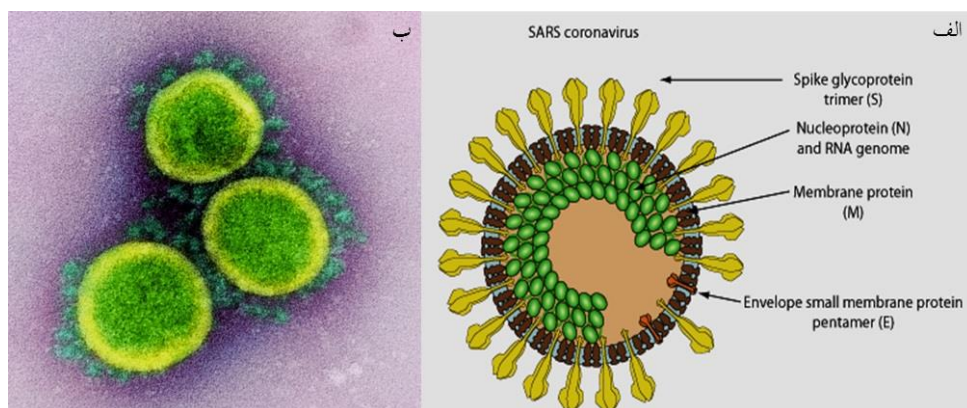
این خانواده از ویروس‌ها که جزء ویروس‌های RNA دار تک- رشته‌ای با RNA مثبت و پوشینه (Envelope) هستند به دو زیرخانواده *Coronavirinae* و *Torovirinae* تقسیم می‌شوند. زیرخانواده *Coronavirinae* شامل تعدادی از پاتوژن‌های پستانداران و پرندگان است که تعدادی از بیماری‌ها از جمله پنومونی، آنتریت، هپاتیت، آنسفالومیلیت، نفريت و دیگر اختلالات را ایجاد می‌کند. علاوه بر این عفونت‌های کروناویروسی و شبه کروناویروسی در خوک، گاو، اسب، شتر، گربه، سگ، جوندگان، پرندگان، خفاش‌ها، خرگوش، راسو، سمور و گونه‌هایی از حیات وحش توصیف شده است، هر چند بسیاری از عفونت‌های کروناویروسی به صورت تحت بالینی هستند (Payne, 2017). زیرخانواده *Torovirinae* نیز شامل پاتوژن‌هایی در حیوان‌های آبی و خشکی‌زی بوده و دربردارنده دو جنس *Torovirus* مثل بردا ویروس گاوی (*Bovine Breda virus*) (Hoet and Saif, 2004) و بافینی ویروس مثل ویروس بریم سفید در ماهی (*White bream virus*) می‌باشد (Cowley, 2016). لازم به ذکر است که در براساس آخرین طبقه بندی موجود در ICTV خانواده *Coronaviridae* به دو زیرخانواده *Letovirinae* و *Orthocoronavirinae* تقسیم شده است.

اعضای زیرخانواده *Coronavirinae* یا *Orthocoronavirinae* براساس خصوصیات ژنومی به چهار خوشه شامل جنس‌های آلفاکروناویروس، بتا کروناویروس، گاما کروناویروس و ویروس‌های جدید تقسیم می‌شوند. بتا کروناویروس‌ها به چهار کلاس A، B، C و D تقسیم می‌شوند. ویروس‌های خوشه چهار که اخیراً از پرندگان شناسایی شدند و براساس همه استانداردها به عنوان

شناسایی شده‌اند شامل ویروس‌هایی از خوک‌ها و تعدادی از پرندگان وحشی و نیز ویروسی از گربه پلنگی آسیایی است (Cowley 2016). ویروس SARS-CoV-2 که اخیراً شناسایی شده و عامل ایجاد بیماری کووید ۱۹ است براساس مطالعات فیلوژنتیکی در گروه B جنس بتاکروناویرس‌ها در زیرخانواده کروناویرینه قرار می‌گیرد (Zhou et al. 2020). همچنین یکی از تازه‌ترین تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی بر روی ۱۶۰ ژنوم کامل SARS-CoV-2 جداسازی شده از انسان، سه نوع وارسته این ویروس با تغییرات اسیدآمینه‌ای را نشان می‌دهد که با نام وارسته-های A، B و C نامگذاری شده‌اند. مطالعه بر روی پراکندگی این سه وارسته نشان می‌دهد که وارسته نوع A و C به طور معمول در اروپا و آمریکا یافت می‌شوند، در حالی که نوع B متداول‌ترین وارسته در آسیای شرقی می‌باشد (Forster et al. 2020). بررسی-های میکروسکوپی ساختار کروی شکل و سایر خصوصیات ظاهری خانواده کروناویریده را در این ویروس نشان داده است (شکل ۱).

ویژگی‌های مشترک ویروس‌های خانواده Coronaviridae

اعضای این خانواده از ویروس‌ها دارای شکل مارپیچی متشکل از ژنوم و فسفوپروتئین هستند و اغلب به شکل کروی و در برخی گروه‌ها به صورت میله‌ای دیده می‌شود. درواقع ژنوم این ویروس-ها که از نوع RNA است توسط پوشش پروتئینی بنام Envelope پوشیده می‌شود.



شکل ۱- شمای کلی از ساختارهای ویروس، گلیکوپروتئین S، نوکلئوپروتئین N، ژنوم RNA، پروتئین غشایی M و پروتئین پوشینه E (الف) (Viralzone, 2020)، تصویر میکروسکوپ الکترونی ویروس SARS-COV-2، نشان دهنده شکل کروی و تاج‌های روی آن است (ب) (NIAID, 2020).

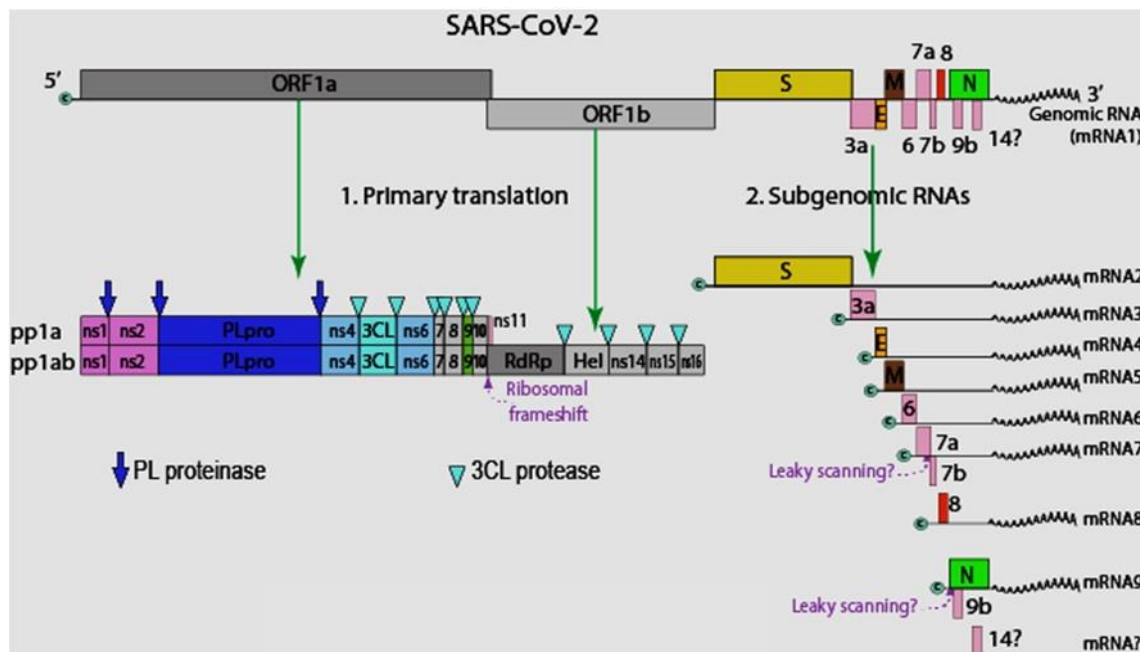
Figure 1. The general outline of the virus structures, Spike glycoprotein (S), nucleoprotein (N), genomic RNA, membrane protein (M) and Envelope protein E (A) (Viralzone, 2020), electron microscope image of SARS-CoV-2 virus, showing spherical shape and crowns on it (b) (NIAID, 2020).

پروتئین‌های پوششی ویروس در شبکه آندوپلاسمی سلول میزبان سنتز شده و سپس درون وزیکول‌هایی که از طریق جوانه زدن دستگاه گلژی به وجود می‌آید مونتاژ می‌شوند. پروتئین‌های پوششی ویروس شامل تعداد متغیری از دو گونه گلیکوپروتئین اختصاصی ویروس (M) membrane و (S) spike در اعضای مختلف این خانواده است. این ویروس‌ها که دامنه میزبانی بسیار بالایی دارند از طریق اتصال این پروتئین‌ها به گیرنده‌هایی در سطح سلول‌های میزبان به این سلول‌ها متصل شده و ماده ژنتیکی خود را به داخل سلول‌های میزبان تزریق می‌کنند (Kuo et al. 2016). شباهت ساختاری، عملکردی و اندازه پروتئین‌های S و M نشان می‌دهد که همه این ویروس‌ها از یک جد مشترک مشتق شده‌اند. باتوجه به شباهت بسیار زیاد توالی S پروتئین در زیرخانواده‌های *Coronavirinae* و *Torovirinae* این احتمال وجود دارد که پروتئین‌های این دو گروه در آخرین جد مشترک این ویروس‌ها کدگذاری شده و نزدیکترین ویروس‌ها به هم باشند (Payne, 2017).

سازماندهی ژنومی کروناویروس‌ها

همان‌طوری که گفته شد این خانواده از ویروس‌ها جزو ویروس‌های RNA دار تک‌رشته‌ای با RNA سنس مثبت می‌باشند که طول ژنوم این ویروس‌ها ۲۶ تا ۳۲ کیلوباز است که در میان ویروس‌های RNA دار انسانی دارای یکی از بزرگترین ژنوم‌های ویروسی می‌باشند. ژنوم ویروس در انتهای ۵' و ۳' به ترتیب دارای کلاهک و دم پلی‌آدنین است، ساختار کلی ژنوم این ویروس‌ها که به عنوان mRNA عمل می‌کند شامل 5'-UTR-replicase-S-E-M-N-3-UTR است. در حالیکه چارچوب‌های خوانش مربوط به پروتئین‌های (S) spike، (E) envelope، (M) membrane و (N) nucleoprotein در کروناویروس‌ها مشترک است، با این حال در کنار این چارچوب‌های خوانش مشترک تعدادی چارچوب ترجمه جانبی نیز بر روی ژنوم این ویروس در گونه‌های مختلف وجود دارد. تعداد و نحوه آرایش این چارچوب‌های خوانش یکی از پارامترهای اصلی برای شناسایی جنس‌های مختلف و گونه‌های

مختلف یک جنس محسوب می‌شود (Liu et al. 2014). برای مثال تعداد این چارچوب‌های جانبی از یک عدد در ویروس CoV NL63 انسانی که جزو آلفا کروناویروس‌هاست تا ۱۰ عدد در ویروس CoV HKU22 که یک گاما کروناویروس است می‌تواند متغیر باشد (Payne, 2017). موقعیت ژنومی این ژن‌های جانبی نیز در گونه‌های مختلف متفاوت است، برای مثال در بعضی از آلفا کروناویروس‌ها، بین S و E و در اکثر بتا کروناویروس‌ها، (از جمله در SARS-CoV-2) بین M و N قرار دارند، و در بعضی از ویروس‌ها از قبیل برخی از آلفا کرونا ویروس‌ها و بتا کرونا ویروس‌ها و یا با فراوانی بیشتر در دلتا کرونا ویروس‌ها ممکن است به ندرت حتی بعد از N قرار بگیرند (Woo et al. 2014). بررسی‌های مولکولی نشان داده است که نواحی حفاظت شده کمتری بر روی ژنوم این ویروس‌ها قرار دارد و بیشتر قسمت‌های این ژنوم در طول تکامل دچار تغییر شده‌اند. ژن رپلیکاز از همپوشانی دو چارچوب خوانش ORF1a و ORF1b تشکیل شده است و چنانچه گفته شد دو پلی‌پروتئین بزرگ را کد می‌کنند. چارچوب خوانش ORF1b در کنار ژن‌های نوکلئوکسپید (N) و ناحیه غیر قابل ترجمه انتهای ۳' (UTR ۳') از نواحی حفاظت شده در کروناویروس‌ها محسوب می‌شوند که در شناسایی مولکولی این ویروس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (King et al. 2012). شکل ۲ ساختار کلی ژنوم ویروس SARS-CoV-2 و چهارچوب‌های موجود بر روی آن را نشان می‌دهد. مطالعات فیلوژنتیکی بر روی توالی آنزیم RNA پلی‌مراز وابسته به RNA با هدف مطالعه واگرایی نشان داده است که اجداد مشترک کروناویروس‌های آلوده کننده پستانداران در حدود ۷ تا ۸ هزار سال قبل ظاهر شده است، در حالیکه اجداد مشترک کروناویروس‌های پرندگان حدود ۱۰ هزار سال پیش به وجود آمده است که این دوره با آغاز کشاورزی و دامپروری مطابقت دارد. با این حال طبق برآوردهای فعلی احتمال پیدایش این ویروس‌ها را هم‌زمان با پراکندگی انسان‌ها بر روی کره زمین و حدود ۵۰ تا ۱۰۰ هزار سال قبل می‌دانند (Chan et al. 2013).



شکل ۲- ساختار کلی ژنوم ویروس SARS-CoV-2 و موقعیت قرارگیری هرکدام از چهارچوب‌های خوانش بر روی آن (Viralzone, 2020).

Figure 2. General structure of the SARS-CoV-2 genome and the position of open reading frame on it (Viralzone, 2020).

ژن مسئول بیماری‌زایی

پروتئین S نقش مهمی را در قدرت بیماری‌زایی این ویروس ایفا می‌کند. این گلیکوپروتئین یک جزء مهم ویروس در بیماری‌زایی، فرار از سیستم ایمنی و اختصاصی گونه است. مانند پروتئین gp160 ویروس HIV، هموگلوبین ویروس آنفلوانزا و گلیکوپروتئین ویروس ابولا، گلیکوپروتئین S کروناویروس‌ها یک پروتئین فیوژن ویروسی کلاس I است که واسطه اتصال ویروس به گیرنده و ورود ویروس به داخل سلول میزبان می‌شود. گلیکوپروتئین S مانند سایر پروتئین‌های فیوژن کلاس I از دو زیرواحد عملکردی S1 و S2 تشکیل شده است که توسط یک سایت برشی پروتئاز به هم متصل شده‌اند. زیرواحد S1 که بین اسیدآمینه‌های ۱۷ تا ۷۵۶ قرار دارد دارای دومین اتصال به گیرنده یا (RBD) receptor binding domain در محدوده اسیدآمینه ۳۱۸ تا ۵۱۰ است، زیرواحد S2 که بین اسیدآمینه‌های ۷۵۷ تا ۱۲۲۵ قرار دارد شامل دو ناحیه تکراری (HR) که باعث تسهیل اتصال ویروس به گیرنده می‌شود و دومین ناقل غشایی که مابین اسیدآمینه‌های ۱۱۸۹ و ۱۲۲۷ که مثل لنگر روی پوشینه ویروس قرار می‌گیرد (Xu et al. 2004). بررسی‌ها نشان می‌دهد که کروناویروس‌ها به واسطه گیرنده‌های خاصی با توالی‌های خاص از

جمله ACE2 بر روی سلول‌های میزبان تجمع کرده و از طریق اندوسیتوز وارد سلول میزبان می‌شوند، بعد از ورود و تکثیر ژنوم و تولید پروتئین‌های مورد نیاز، برش و بازآرایی زیرواحدهای مختلف این پروتئین‌ها اتفاق افتاده و در نهایت ژنوم و نوکلئوکسپیدهای ویروسی باهم مونتاژ شده و بعد از تشکیل ذرات کامل ویروسی این ویروس‌ها با اتصال غشای خود به غشای سلول میزبان از سلول خارج و وارد سیتوپلاسم می‌شود. مطالعات نشان داده است که گلیکوپروتئین S کروناویروس‌ها یک جزء اختصاصی گونه و عامل مهمی در بیماری‌زایی می‌باشد چرا که ویروسی که قابلیت اتصال و آلوده کردن سلول را نداشته باشد نمی‌تواند بیماری ایجاد کند. استفاده از مهندسی ژنتیک معکوس و جایگزینی پروتئین S ویروس هپاتیت موش با پروتئین S ویروس پریئون عفونی گربه نشان داد که این پروتئین به تنهایی برای آلوده کردن سلول‌های گربه با استفاده از ویروس گرمسیری موش کافی است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ایجاد جهش و تغییر در توالی گلیکوپروتئین S می‌تواند باعث تغییر در دامنه میزبانی این ویروس‌ها باشد (De Haan et al. 2005).

مطالعات مربوط به توالی ژن پروتئین S بر روی ویروس SARS-CoV انسانی نشان داده است که توالی ژن مربوط به این

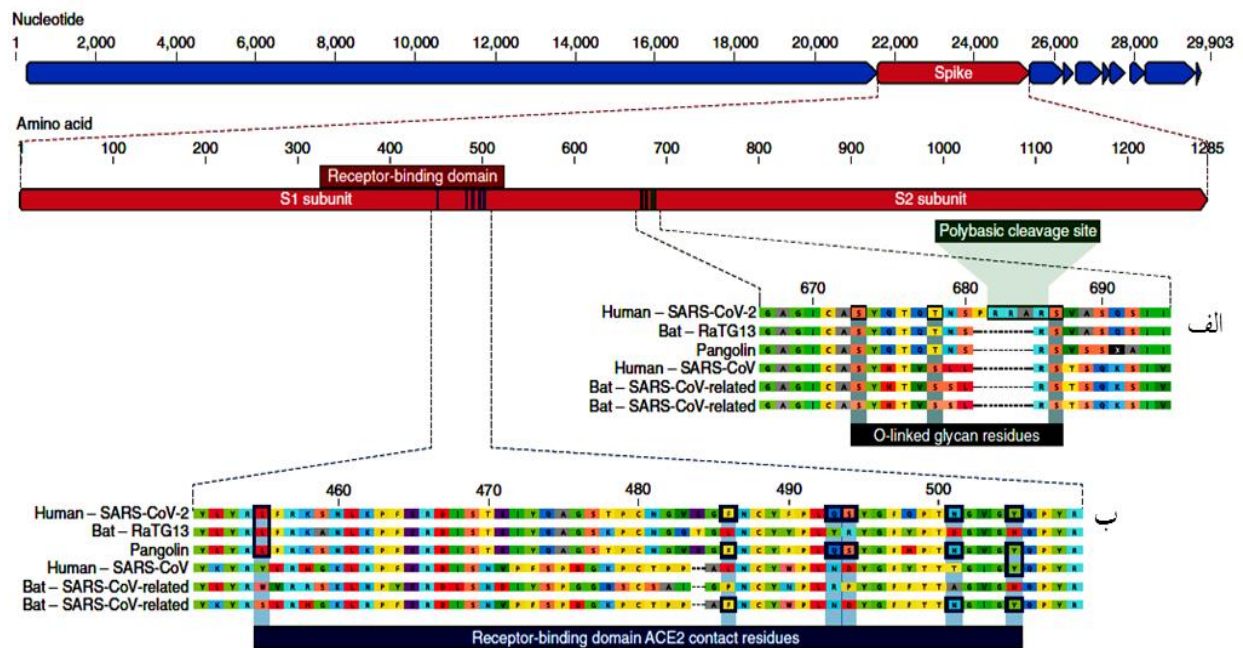
گلیکوپروتئین که از ویروس SARS-COV در طول اولین اپیدمی طی سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۳ از انسان جدا شده بسیار شبیه به استرین SZ16 می‌باشد. بررسی توالی اسیدآمینه‌ای پروتئین مربوط به این ژن در دو ویروس نیز بیانگر شباهت بالای پروتئین‌های آن‌ها است و تنها در ۱۸ اسیدآمینه آن‌ها تفاوت دیده می‌شود که ۱۶ اسیدآمینه آن در زیرواحد S1 و مربوط به دومین RDB است (Sheahan and Baric, 2010).

مطالعات بر روی توالی ژنی و پروتئینی Spike در کروناویروس‌های مختلف نشان دهنده تفاوت در این ناحیه از ویروس به سبب آلودگی میزبان‌های مختلف می‌باشد. مطالعه بر روی کروناویروس جدید (SARS-CoV-2) که باعث بیماری حاد تنفسی شده و به صورت پاندمیک در آمده است، نشان از بیشترین تشابه SARS-CoV-2 به ویروس RaTG13 خفاش می‌باشد. باتوجه به تشابه بالای ۹۶ درصدی ژنوم این دو ویروس می‌توان گفت که دور از انتظار نیست که این ویروس طی جهش از ویروس خفاش به وجود آمده باشد. اما بررسی ناحیه Spike در این ویروس و مقایسه آن با سایر کروناویروس‌ها منشا دیگری نیز برای این ویروس مطرح می‌کند که آن ویروس مربوط به pangolin (مورچه‌خوار) است. بررسی این ناحیه نشان داده است که با اینکه موقعیت قرارگیری اسیدهای آمینه شرکت کننده در قسمت RDB در دو ویروس مورد نظر (SARS-CoV-2 و pangolin) تغییر کرده است ولی در توالی ۶ ریشه اسید آمینه اصلی که در اتصال به ACE2 شرکت می‌کنند تغییری رخ نداده است. بنابراین می‌توان گفت از این نظر ویروس SARS-CoV-2 بیشتر شبیه ویروس pangolin است تا ویروس خفاش. درحالی‌که در مقایسه بین Bat-RaTG13 و SARS-CoV-2 مشاهده می‌کنیم که در ۵ ریشه از ۶ ریشه اسیدآمینه شرکت کننده در پیوند با گیرنده تغییر ایجاد شده است (Andersen et al. 2020).

با این حال با توجه به تشابه کل توالی پروتئین S در ویروس‌های SARS-CoV-2 و RatG13 و تشابه بالای ۹۶ درصد کل ژنوم این دو ویروس می‌توان فرضیه‌ای مطرح کرد که در اثر جهش طبیعی ایجاد شده در حدود چهار درصد از توالی ژنوم در ویروس خفاش، ویروس SARS-CoV-2 به وجود آمده است. علاوه بر

توالی ژن Spike، همچنین بررسی کل توالی ژنومی دو ویروس فوق از طریق همردیفی نشان دهنده وجود جهش‌های تک نوکلئوتیدی زیادی در سطح ژنوم نیز هست که تا حدی نشان دهنده طبیعی بودن این جهش‌ها می‌باشد. لازم به ذکر است که تراکم این جهش‌ها در ناحیه Spike بسیار بیشتر از سایر قسمت‌های ژنوم است، که باتوجه به نقش این پروتئین در اتصال به گیرنده دور از انتظار نیست. بررسی دقیق‌تر از طریق همردیفی پروتئین S در کروناویروس‌ها نشان می‌دهد که علاوه بر همه این تفاوت‌ها یک تغییر مهم در محل اتصال دو زیرواحد S1 و S2 که توسط پروتئین‌ها شناسایی و برش داده می‌شود ایجاد شده است. این ناحیه که در تشکیل پیوندهای O-گلیکانی شرکت می‌کند در اکثر کروناویروس‌ها وجود دارد، با این حال یک تفاوت عمده در SARS-CoV-2 در این ناحیه مشاهده شده است. که آن تشکیل ناحیه Polybasic cleavage site و اضافه شدن چهار اسید آمینه جدید PRRA به این ناحیه است (شکل ۳-الف).

تعیین دقیق نقش این ناحیه در SARS-CoV-2 نیازمند آزمایش‌های مختلفی روی مدل‌های حیوانی و کشت‌های سلولی است. با این حال درج یک سایت برش فورین در SARS-CoV در محل اتصال S1 و S2 باعث افزایش اتصال سلول به سلول و در MERS-CoV باعث ایجاد قدرت آلودگی در انسان می‌شود. همچنین ایجاد سایت مشابهی در ویروس آنفلوآنزای مرغی از طریق درج یا نوترکیبی نیز به شدت باعث افزایش بیماری زایی این ویروس شده است. اما نکته جالب توجه در ارتباط با به وجود آمدن این سایت ایجاد جهش ۱۲ نوکلئوتیدی (tcctcgccgggc) مربوط به Polybasic cleavage site در محل اتصال زیرواحدهای S1 و S2 این است که با وجود اینکه این توالی وارد یک کد ژنتیکی شده است با این حال هیچ تغییری در توالی اسیدهای آمینه قبل و بعد از خود ایجاد نکرده است. در این جهش کد TCA کدی است که توالی ۱۲ نوکلئوتیدی در آن بین نوکلئوتید C و A وارد شده است (TC tcctcgccgggc A) (Andersen et al. 2020). باتوجه به عدم شناسایی چنین جهشی در سایر ویروس‌ها و بسیار هوشمندانه بودن آن که بدون تغییر در سایر بخش‌های توالی رخ داده است احتمال دستکاری و وارد شدن این توالی از طریق مهندسی ژنتیک نیز دور از انتظار نیست.



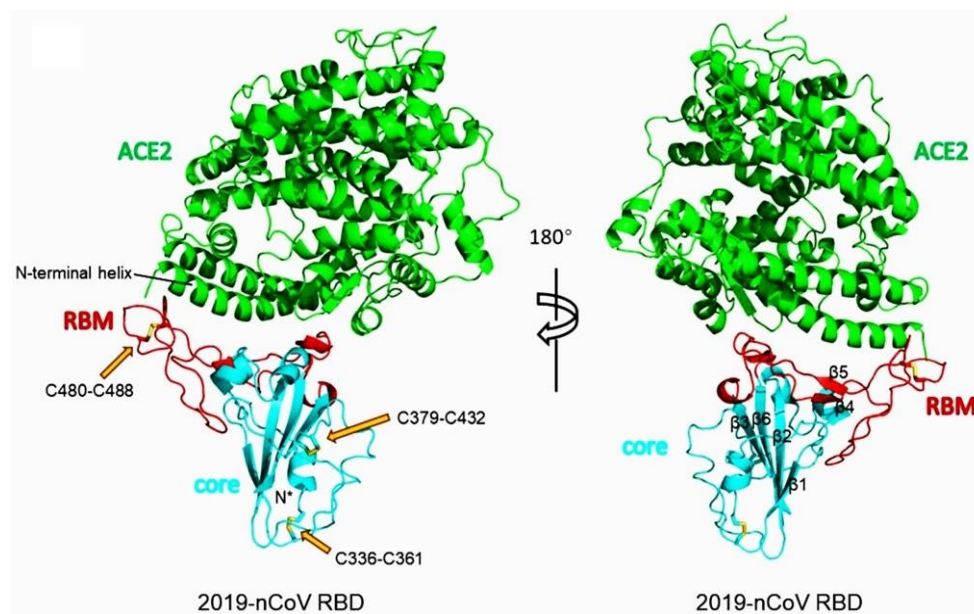
شکل ۳- ناحیه تشکیل پیوندهای O-گلیکانی و موقعیت قرارگیری Polybasic cleavage site (الف)، موقعیت قرارگیری دومین متصل شونده به ACE2 انسانی و ریشه‌های اسیدآمینه-ای شرکت کننده در این اتصال در کروناویروس‌های مختلف (ب) (Andersen *et al.* 2020).

Figure 3. The site of formation of O-linked glycans and the location of Polybasic cleavage site (a), the location of receptor binding domain (RBD) in the spike protein to human ACE2 and residues participating in this binding in different coronaviruses (B) (Andersen *et al.* 2020).

گیرنده ACE2

خارج سلولی ACE2، می‌تواند توسط آنزیم دیگری به نام شداژ (Sheddase) که نوعی آنزیم تجزیه‌کننده است از دومین تراغشایی آن تجزیه و جدا شده و پروتئین حاصل که محلول در آب است، به خون می‌ریزد و از طریق ادرار دفع می‌شود (Patel *et al.* 2014). همانطور که قبلاً اشاره شد دومین خارجی آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲، نقطه ورود برخی از انواع کروناویروس‌ها نظیر SARS-CoV-2 و SARS-CoV، HCoV-NL63 به سلول‌های بدن است، شکل ۴ چگونگی اتصال دومین خارجی ACE2 با دومین RBD پروتئین S را نشان می‌دهد. گمان می‌رود که کاهش سطح آنزیم ACE2 در سلول، در نبرد با عفونت ویروسی کمک کننده باشد. اما از طرفی دیگر، وجود آنزیم ACE2، با افزایش دادن سطح ماده گشادکننده، سلول‌های ریوی را از آسیب ناشی از این ویروس، محافظت می‌کند. علاوه بر اینها، بر اساس مطالعات انجام شده بر روی موش‌ها، تعامل خارهای روی ویروس با آنزیم ACE2، سبب می‌شود که سطح این آنزیم در سلول افت کند و آسیب وارده به ریه‌ها بیشتر شود (Walls *et al.* 2020).

پروتئین 2 Angiotensin-converting enzyme که به اختصار ACE2 نامیده می‌شود یک آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ است. در واقع در بدن ابتدا پیش‌ساز هورمون یعنی آنژیوتانسینوزن توسط کبد ساخته و در خون آزاد می‌شود. پروتئین آنژیوتانسینوزن توسط هورمون رنین به آنژیوتانسین یک، تبدیل می‌شود و آنژیوتانسین یک، توسط آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) در ریه به آنژیوتانسین دو، تبدیل می‌شود که هم یک عامل قوی انقباض عروقی است و هم از راهکارهای مختلف موجب احتباس آب و سدیم می‌شود بنابراین عملکرد نهایی هورمون آنژیوتانسین دو، افزایش فشار خون است. آنزیم ACE2 که به سطح بیرونی (غشاء خارجی) سلول‌های ریه‌ها، رگهای خونی، قلب، کلیه‌ها و روده متصل می‌شود از طریق تجزیه و تبدیل آنژیوتانسین ۲ به آنژیوتانسین ۷-۱ موجب کاهش فشار خون می‌گردد. نوع انسانی این آنزیم را به اختصار hACE2 می‌نامند (Wang *et al.* 2016). آنزیم ACE2 یک پروتئین تک‌گذر غشایی است، دومین فعال آن در سطح سلول‌های ریه و سایر بافت‌ها آشکار است. دومین



شکل ۴- اتصال دومین RBD پروتئین S ویروس SARS-CoV-2 توسط موتیف RBM (قرمز) به دومین خارج سلولی آنزیم ACE2 (Lan et al. 2020).

Figure 4. The connection of RBD of SARS-CoV-2 by RBM motif (red) to extracellular domain of ACE2 enzyme (Lan et al. 2020).

در ناحیه RDB به کمک اسیدهای آمینه Phe486، Leu455، Tyr505 و Asn501، Ser494، Gln493 به گیرنده ACE2 سلول انسانی متصل می‌شود و در این اتصال اسیدآمینه لیزین ۳۱ در گیرنده ACE2 انسان نقش مهمی داشته و به Gln493 پروتئین S متصل می‌شود. لازم به ذکر است که این اتصال در ویروس SARS-CoV با اسیدهای آمینه Y442، L4721، N479، D480، T487 و Y491 و در ویروس Bat-RaTG13 که احتمالاً منشأ ویروس SARS-CoV-2 است با اسیدهای آمینه L455، L486، Y493، R494، D501 و H505 صورت می‌گیرد (شکل ۳-ب)، همان‌طور که ملاحظه می‌شود با وجود مطرح بودن ایجاد این ویروس از ویروس Bat-RaTG13 در دومین RDB و محل اتصال این ویروس به گیرنده ACE2 تفاوت بسیار زیادی مشاهده می‌شود و تنها در یکی از ریشه‌های اسیدآمینه مشترک هستند که این امر با وجود تفاوت میزبان و به منظور اتصال به ACE2 سلول‌های انسانی قابل درک است با این حال این مقایسه حتی تفاوت در پنج اسیدآمینه از شش اسیدآمینه را با گونه‌ای که توانایی اتصال به ACE2 انسان را دارد (SARS-CoV) نشان می‌دهد، درحالی‌که مقایسه این توالی بین ویروس SARS-CoV-2 با کروناویروس مورچه‌خوار بیانگر اشتراک در هر شش اسیدآمینه شرکت کننده در اتصال به ACE2 انسان است، بنابراین ویروس مورچه‌خوار نیز

مطالعه بر روی بیماران مبتلا به بیماری کووید ۱۹ یافته‌های جالبی را در ارتباط با آنزیم ACE2 نشان داده است. برای مثال این مطالعات نشان داده است که بیان گیرنده ACE2 در سلول‌های ریه با افزایش سن زیاد می‌شود که این امر می‌تواند توجیهی بر عدم ابتلای جدی کودکان به بیماری کرونا و ابتلای شدید افراد مسن به این بیماری باشد. از یافته‌های جالب دیگر این است که تجزیه و تحلیل توالی یابی RNA در سلول‌های افراد نشان می‌دهد که بیان گیرنده ACE2 در آقایان آسیایی زیاد است که این یافته نیز توجیهی بر ابتلای زیاد آقایان در مقایسه با زنان است. البته تاکنون امکان مقایسه با نمونه‌های غیرآسیایی به دلیل گزارشات کم کلینیکی محدود است. همچنین تجزیه و تحلیل توالی یابی RNA سلول افراد در جامعه‌های مختلف نشان داده است که آسیایی‌ها نسبت بالایی از بیان گیرنده ACE2 را در مقایسه با آمریکایی-آفریقایی‌های سفید پوست دارند که در آسیا نیز وابسته به نژاد و جمعیت‌ها میزان بیان این گیرنده مختلف است که این مورد نیز می‌تواند توجیه تفاوت شیوع در جمعیت‌های مختلف باشد (Cao et al. 2020).

مطالعات مولکولی نشان داده است که دومین RDB پروتئین S این ویروس‌ها در گونه‌های مختلف با اسیدهای آمینه مختلفی به گیرنده ACE2 متصل می‌شوند برای مثال ویروس SARS-CoV-2

به ترجمه و ساخت پروتئین‌های مورد نیاز خود می‌کند. ساخت این پروتئین‌ها توسط سیستم ترجمه سلول میزبان در شبکه آندوپلاسمی صورت می‌گیرد، بعد از ترجمه اولیه و تولید آنزیم-های مورد نیاز برای رونویسی مثل آنزیم هلیکاز و RNA پلی‌مراز، این آنزیم‌ها از روی رشته‌های منفی RNA ویروس، رشته‌های مثبت ژنومی را سنتز می‌کنند، سپس سیستم ترجمه از طریق RNAهای subgenomic شروع به سنتز نوکلئوپروتئین‌ها برای بسته‌بندی ژنوم ویروس و پروتئین‌های غشایی جهت ساخت پوشش ویروس می‌کند، پروتئین‌های پوششی ساخته شده از روی RNA ژنومی در امتداد سیستم ترشحی در محفظه میانی شبکه آندوپلاسمی-گلژی حرکت کرده و ژنوم ویروس را در بر می‌گیرند. در نهایت ذرات کامل ویروسی شکل گرفته و در داخل وزیکول‌هایی بسته‌بندی شده و به سطح سلول حرکت کرده و در نهایت از طریق اگزوسیتوز از سلول خارج می‌شود (Fehr and Perlman, 2015).

می‌تواند یک منشاء احتمالی دیگر ویروس SARS-CoV-2 باشد (Andersen et al. 2020).

چرخه زندگی ویروس SARS-CoV-2

همانطور که گفته شد کروناویروس‌ها از طریق RBD به گیرنده ACE2 در سطح سلول‌های میزبان متصل شده و از طریق اندوسیتوز وارد سلول‌ها می‌شوند. برای رها شدن ژنوم ویروس به داخل سلول ابتدا پروتئین S توسط پروتئین‌های اسیداندوزومی برش یافته و غشای اندوزومی (سلول میزبان) و غشای ویروس به هم متصل می‌شود، در نهایت ژنوم ویروس از پوشش پروتئین خارج و ترجمه آن آغاز می‌شود. ابتدا پلی‌پروتئین‌های pp1a و pp1ab سنتز شده و توسط پروتئاز ویروسی به محصولات کوچکی تبدیل می‌شوند. برخی از این پروتئین‌ها مثل Nsp1 سیستم ترجمه میزبان را برای ترجمه RNAهای خود میزبان غیرفعال می‌کند. برخی دیگر از پروتئین‌های Nsp در تشکیل کمپلکس رونویسی برای رونویسی RNAهای زیرژنومی بکار گرفته می‌شوند. ویروس با به کارگیری سیستم ترجمه میزبان اقدام

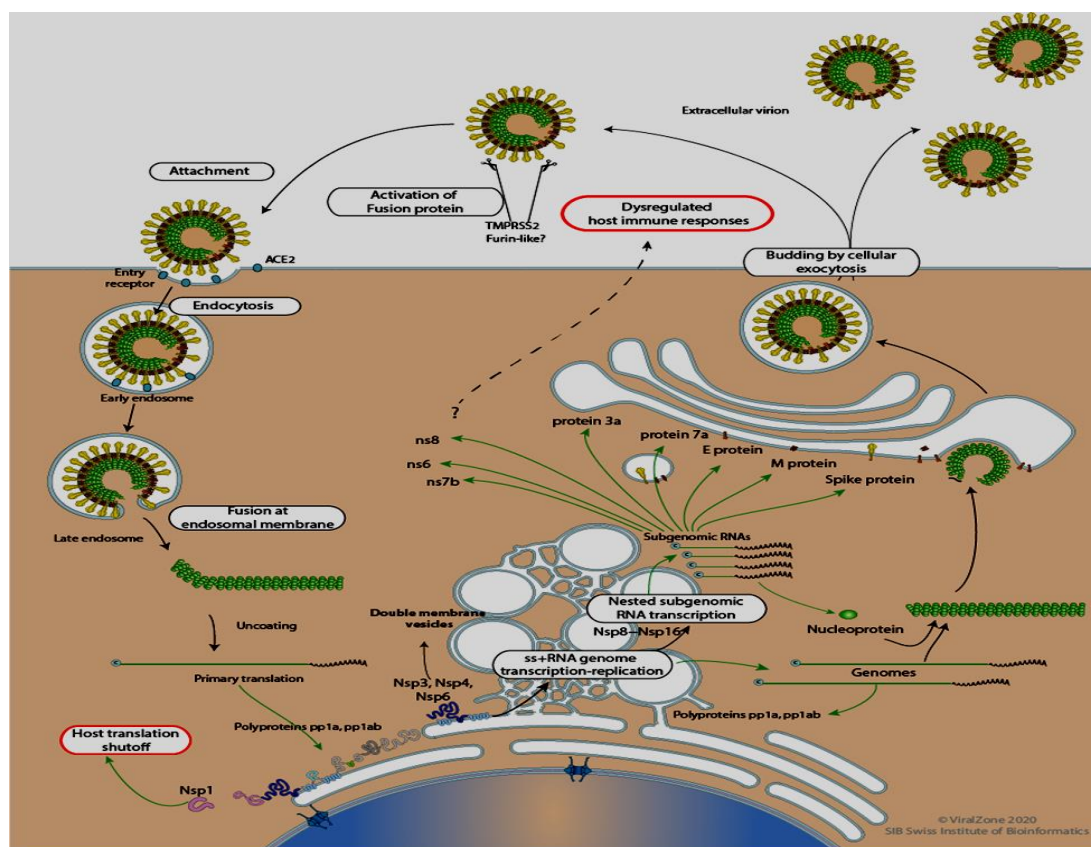


Figure 5. The Coronavirus life-cycle (Viralzone, 2020). شکل ۵- چرخه زندگی SARS-CoV-2 (Viralzone, 2020).

علائم بیماری COVID-19 ایجاد شده توسط ویروس SARS-CoV-2

با اینکه درصد بالایی از افراد جامعه (حدود ۸۰ درصد) عفونت بدون علامت و یا با علائم خفیف سرماخوردگی را بروز می‌دهند اما عمده‌ترین علامت ظاهری این بیماری در زمان شروع عفونت تب، سرفه و خستگی است درحالی‌که ممکن است با علائم دیگر مانند خلط سینه، سردرد، خلط خونی، اسهال و تنگی نفس همراه باشد. از نظر بالینی نیز علائم این بیماری بسیار شبیه به عفونت‌های ویروسی دیگر شامل پنومونی، سپسیس، شوک سپتیک و سندرم تنگی نفس حاد که با تجمع مایع در ریه همراه است. از طرفی افزایش آنزیم‌های کبدی نیز در این بیماران ممکن است شود. همچنین با وجود اینکه میزان پرولاکتونین در اوایل بیماری طبیعی به نظر می‌رسد اما با بستری شدن بیمار در ICU افزایش پیدا می‌کند. مهم‌ترین علامت رادیولوژی این بیماری نیز کدورت دو طرفه ریه در سی‌تی‌اسکن است که به صورت سایه‌های وصله شده و کدورت‌های شیشه‌ای مشاهده می‌شود، و در کنار انجام آزمایش PCR از روش‌های تشخیصی این بیماری محسوب می‌شود (McIntosh, 2020).

راهکارهای پیشنهادی برای درمان بیماری کرونا

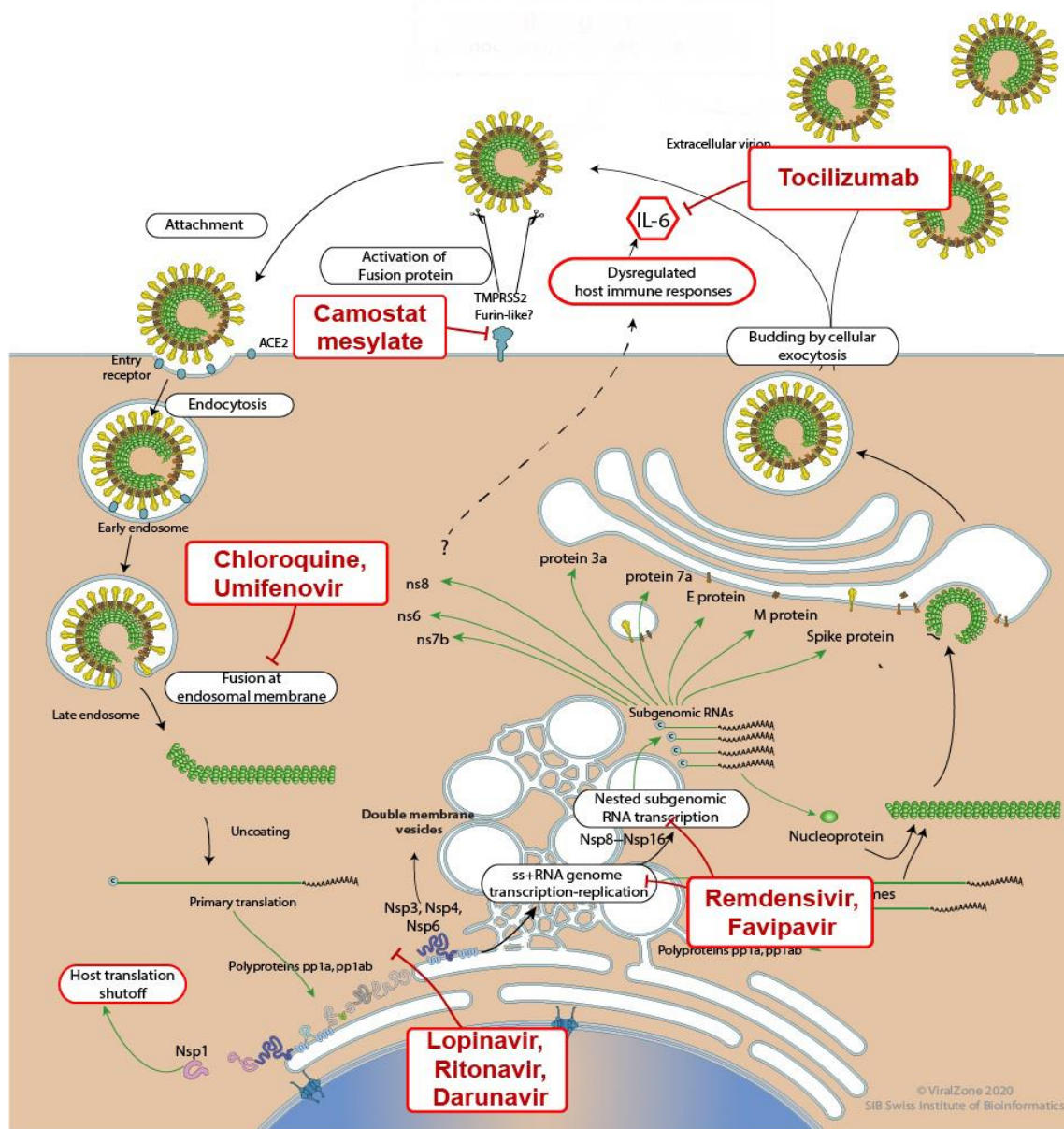
تولید واکسن بر پایه Spike protein

یکی از راهکارهای مهم در ارتباط با این بیماری تولید واکسن است. اما تولید واکسن با کارایی مناسب و به منظور جلوگیری از ابتلا به بیماری چندین سال طول می‌کشد. از طرفی مطالعه بر روی واکسن‌ها نشان داده است که واکسنی که بر اساس پپتیدهای ساخته شده ویروسی می‌باشد نمی‌تواند در برابر کروناویروس‌های آینده مقاومت ایجاد کند که این امر به خاطر جهش‌هایی است که با فراوانی بالا می‌تواند در ویروس رخ دهد. از سوی دیگر بر اساس یک گزارش علمی که کار مشترک پژوهشگران انستیتو ویروس شناسی ووهان چین و دپارتمان میکروبیولوژی و ایمونولوژی کارولینای شمالی و مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه هاروارد در سال ۲۰۱۵ می‌باشد، پژوهشگران اقدام به تولید یک ویروس ترکیبی با منشأ کروناویروس خفاش چینی و

کروناویروس آلوده کننده موش کرده‌اند که بر اساس نتایج منتشر شده این ویروس ترکیبی می‌تواند به سرعت در جمعیت‌های انسانی منتشر شود و هیچ واکسن و آنتی بادی مونوکلونال هم بر روی آن موثر نیست، بنابراین در صورتیکه ویروس مورد نظر حاصل دستکاری و مهندسی ژنتیک باشد و در صورت نبود امکان تولید واکسن با کارایی مناسب باید به دنبال راهکارهای موثر دیگری گشت (Menachery et al. 2015).

استفاده از پلاسمای خون بیماران بهبود یافته

از دیگر راهکارهای ارائه شده برای کنترل و درمان بیماری کرونا استفاده از پلاسمای خون بیماران معالجه شده است. این روش درمان به حدود یک قرن قبل و زمان همه‌گیری آنفلانزا در اسپانیا در سال ۱۹۱۸ باز می‌گردد. مطالعات مربوط به انتقال پلاسمای خون مبتلایان معالجه شده توسط تیم‌های پزشکی کشورهای مختلف از چین، ایران، آمریکا و انگلستان پیشرفت‌های قابل توجهی را در بهبود بیماران مبتلا به کرونا نشان می‌دهد. این روش درمانی به واسطه پلاسمای جمع‌آوری شده از خون بیماران بهبود یافته با سیستم ایمنی قوی که مقادیر زیادی آنتی‌بادی در مقابل ویروس تولید کرده اند انجام می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که بدن این افراد حاوی مقادیر زیادی پادتن می‌باشد. پژوهش‌ها نشان داده است که تزریق این پلاسما در افرادی که به بیماری شدید کرونا مبتلا شده و از علائم تنگی نفس، درد قفسه سینه، تب و سرفه رنج می‌برند سه روز بعد از تزریق بهبودی ایجاد شده است. با این حال این روش نیز به گفته پزشکان نمی‌تواند خالی از عیب باشد و امکان انتقال عوامل مختلفی از پلاسمای خون افراد بهبود یافته به افراد بیمار وجود دارد که ممکن است خطراتی در پی داشته باشد، از طرفی در اکثر گزارش‌ها آمده است که بیشتر افراد بهبود یافته با تزریق پلاسمای خون همزمان از برخی داروهای ضد ویروسی نیز استفاده می‌کردند. به این نکته نیز باید توجه شود که جهش در ویروس و فرار از آنتی‌بادی‌های پلاسمای تزریق شده باعث از بین رفتن این خط دفاعی خواهد شد (Duan et al. 2020).



شکل ۶- محل اثر و چگونگی مکانیسم داروهای ضد ویروسی مورد استفاده در کنترل بیماری کووید-۱۹ (Viralzone, 2020).

Figure 6. Location of effect and mechanism of antiviral drugs used.

استفاده از مسدود کننده‌های گیرنده ویروس

با توجه به اینکه کروناویروس‌های SARS-CoV و SARS-CoV-2 از گیرنده مشترک ACE-2 برای ورود به سلول میزبان استفاده می‌کنند می‌توان از استراتژی مسدود کردن گیرنده برای ویروس جدید نیز استفاده کرد. مطرح کنندگان این استراتژی معتقد هستند از آنجا که در شیوع فعلی، ویروس فرصت جهش ژنتیکی و استفاده از گیرنده جدید را ندارد، استفاده از این روش می‌تواند درمان مناسبی تلقی شود. لوزارتان که از دسته داروهای بلوک

کننده گیرنده آنژیوتانسین ۲ می‌باشد و از باریک شدن رگ‌های خونی جلوگیری می‌کند و فشار خون را کاهش داده و جریان خون را بهبود می‌بخشد می‌تواند به عنوان مسدود کننده گیرنده ویروس SARS-CoV-2 (ACE2) برای بهبود بیماران مبتلا به کووید ۱۹ و پیشگیری از ورود ویروس به سلول‌ها مورد استفاده قرار گیرد. البته این گیرنده در بافت ریه به طور مداوم تکثیر و تخریب می‌شود و بنابراین، اینکه چه مقدار دارو باید به ریه وارد شود تا این گیرنده را خنثی کند مشخص نیست. علاوه بر این در

پژوهش‌ها انجام شده بر روی مدل حیوانی با مشکلات جدی همراه بوده است که می‌تواند از موانع مهم در بکارگیری این دارو باشد (Gurwitz, 2020).

درمان بیماری کووید ۱۹ با استفاده از آنزیم ACE2 نو ترکیب انسانی (rhACE2)

پژوهش‌های اخیر نشان داده است که دانشمندان دارویی را کشف کرده‌اند که به شکل موثری جلوی اتصال ویروس کرونا به بدنه سلول‌ها را مسدود می‌کند و می‌تواند به صورت بالقوه سبب درمان بیماری کووید ۱۹ در همان ساعات اولیه شود. انتشار نتایج این پژوهش سبب افزایش امیدها برای یافتن درمان موثر بیماری ناشی از ویروس کرونا شده است. این دارو درواقع پروتئین نو ترکیب آنزیم ACE2 است که از طریق مهندسی ژنتیک طراحی و تولید شده است و نام علمی hrsACE2 را دارد. پژوهش‌ها درباره این دارو بر دو جنبه متمرکز بوده است، از یک سو نحوه تعامل ویروس با غشای سلول‌های بدن انسان و چگونگی بی‌اثر کردن مکانیسم اتصال ویروس به سلول‌های بدن و از سوی دیگر چگونگی گسترش عفونت در رگ‌ها و درگیر شدن کلیه با این بیماری است. این تحقیق که در محیط آزمایشگاهی و بر روی سلول‌های کشت شده صورت گرفته، نشان داده است که ویروس کرونا می‌تواند علاوه بر ریه، به صورت مستقیم در رگ‌های خونی و کلیه تکثیر شود. نتیجه کشت سلولی آزمایشگاهی نشان داده است که داروی جدید می‌تواند میزان ویروس در بافت آلوده را بین هزار تا پنج هزار برابر وضعیت عادی، کاهش دهد، در واقع این دارو که فرم نو ترکیب آنزیم ACE2 است با ACE2 سلول‌ها برای اتصال به ویروس رقابت کرده و مانع از اتصال ویروس کرونا به گیرنده ACE2 در سطح سلول‌ها می‌شود، در نتیجه مقادیر کمی از ویروس موفق به اتصال به گیرنده‌های سطح سلول و ورود به سلول می‌شوند بنابراین تکثیر و فعالیت ویروس محدود شده و تا حد زیادی از ایجاد بیماری شدید جلوگیری می‌کند. امید است با انجام پژوهش‌های بالینی و در صورت موثر بودن یا تولید تجاری این دارو گام مهمی در جهت درمان بیماری کووید ۱۹ ایجاد شود (Batlle et al. 2020).

در حال حاضر در کنار بررسی و پیدا کردن راهکار مناسب جهت درمان قطعی این بیماری، از داروهای ضد ویروسی استفاده می‌شود، برای مثال ریتوناویر (Ritonavir) و لویپناویر (Lopinavir) از مهارکننده‌های پروتئاز هستند که برای درمان HIV به کار می‌روند (Oldfield and Plosker 2006). این داروها در درمان بیماری SARS و MERS نیز کارایی داشته‌اند. براساس دستورالعمل‌های درمان کووید ۱۹، ایتترفون آلفا و Lopinavir یا Ritonavir به عنوان درمان ضد ویروسی توصیه می‌شوند. داروناویر (Darunavir) یکی دیگر از داروهای ضد ویروسی است که معمولاً با سایر ترکیبات ضد ویروسی برای معالجه و جلوگیری از ایدز استفاده می‌شود. این دارو نیز مثل ریتوناویر و لویپناویر خاصیت مهار کنندگی پروتئازی دارد و از طریق تعامل با پروتئازهای ویروسی مانع فعالیت آن‌ها می‌شود (Haviernik et al. 2018). داروهای آنالوگ نوکلئوزیدی مهار کننده سنتز RNA نیز می‌توانند در روند درمان کووید-۱۹ مؤثر باشند، آنالوگ نوکلئوزیدی رمدزیویر (Remdesivir) که آزمایش بالینی را جهت درمان عفونت ویروسی ابولا به اتمام رسانده و بی خطر بودن آن تأیید شده است می‌تواند برای درمان بیماری کووید ۱۹ بکار گرفته شود، این دارو در عملکرد آنزیم RNA پلی‌مراز وابسته به RNA تداخل ایجاد کرده، همچنین از ویرایش ژنوم از طریق اگزونوکلئازها جلوگیری می‌کند، در نتیجه میزان تولید RNA ویروسی را کاهش می‌دهد (Agostini et al. 2018). یکی دیگر از مهارکننده‌های غیراختصاصی آنزیم RNA پلی‌مراز وابسته به RNA داروی فابی‌پیراویر (Favipiravir) است، این دارو که فرم فعال آن favipiravir-ribofuransyl-5'-triphosphate است در کنار ممانعت از سنتز RNA ویروسی باعث ایجاد جهش کشنده نیز در ویروس می‌شود، در نتیجه ویروس تا حد زیادی قدرت بیماری‌زایی خود را از دست می‌دهد (Delang et al. 2018). توسیلی‌زوماب (Tocilizumab) داروی دیگری است که استفاده از آن برای درمان بیماری کووید ۱۹ گزارش شده است، این دارو یک سرکوبگر سیستم ایمنی است که برای درمان بیمای‌های خودایمنی مثل آرتریت روماتوئید استفاده می‌شود، احتمال می‌رود که این دارو با مهار اینترلوکین ۶ (interleukin 6) که در پاسخ به واکنش‌های التهابی و ایمنی توسعه پیدا می‌کند باعث کاهش اثرات

همچنین مثل هیدروکسی کلروکین مانع همجوشی بین پاکت ویروسی و غشای سلولی سلول هدف می‌شود در نتیجه از ورود ویروس به سلول هدف جلوگیری می‌کند (Boriskin Yuri S et al. 2006). شکل ۶ نشان دهنده محل و نحوه اثر هرکدام از داروهای فوق می‌باشد.

منشا ویروس

همان‌طور که در بالا اشاره شد کرونا ویروس SARS-CoV-2 ویژگی‌هایی دارد که یک سری از این ویژگی‌ها بین اعضای خانواده و یک سری بین گونه‌های یک جنس مشترک است در حالی که ویژگی‌های منحصر به فردی نیز مختص این ویروس شناسایی شده است که براساس میزان شباهت و تفاوت این ویژگی‌ها با خصوصیات سایر ویروس‌ها فرضیه‌های مختلفی در ارتباط با منشأ و چگونگی به وجود آمدن این ویروس مطرح شده است.

فرضیه انتخاب طبیعی

همان‌طور که اشاره شد براساس مطالعات ژنومی و بررسی توالی‌های حفاظت شده در کروناویروس‌ها و باتوجه به شباهت بالای ۹۶ درصدی ژنوم ویروس جدید با ژنوم کروناویروس آلوده کننده خفاش (Bat-RaTG13)، این ویروس در خانواده کروناویروس‌ها و در جنس بتاکروناویروس قرار گرفت. اولین فرضیه مطرح شده باتوجه به این میزان تشابه، جهش در ویروس Bat-RaTG13 و ایجاد ویروس SARS-CoV-2 است. طرفداران این فرضیه معتقد هستند که در اثر انتخاب طبیعی چندین جهش بر روی ژنوم ویروس Bat-RaTG13 رخ داده که طی این جهش‌ها ویروس جدید ایجاد شده قابلیت آلوده‌سازی سلول‌های انسانی و برخی از پستانداران را پیدا کرده است. ایجاد جهش در دومین RBD پروتئین S ویروس Bat-RaTG13 یکی از مهمترین جهش‌های ایجاد شده است که به ویروس SARS-CoV-2 قابلیت اتصال به آنزیم ACE2 را که به‌عنوان گیرنده بر سطح سلول‌های انسانی قرار دارد می‌دهد. به‌نظر می‌رسد که SARS-CoV-2 با این RBD توانایی اتصال به ACE2 شبه انسانی مثل راسوی اهلی و گربه را نیز داشته باشد. طبق این فرضیه، دومین جهش ایجاد شده در ویروس Bat-RaTG13 که در محل اتصال دو زیرواحد S1 و S2

بیماری و کنترل آن شود (Michot et al. 2020). کامواستات متیلاز (Camostat) که یک مهار کننده سرین پروتئاز است و در درمان رفلاکس مری و همچنین درمان برخی از سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد از دیگر داروهای مورد استفاده برای درمان بیماری کووید-۱۹ محسوب می‌شود. این دارو از طریق مهار آنزیم transmembrane protease, serine 2 (TMPRSS2) از آلودگی سلول‌های آزمایشی Hela توسط کروناویروس‌های SARS-CoV و NL63 جلوگیری کرده است. یک مطالعه آزمایشگاهی دیگر نشان داد که کامواستات عفونت سلول‌های Calu-3 ریه توسط SARS-CoV-2 را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (Hoffmann et al. 2020). هیدروکسی کلروکین یا Hydroxychloroquine (HCQ)، دارویی است که به طور عمده برای پیشگیری و درمان مالاریا در مناطقی که مالاریا نسبت به کلروکین حساس است، و همچنین برای درمان آرتریت روماتوئید و لوپوس استفاده می‌شود. با ظهور بیماری کووید-۱۹ همچنین به عنوان درمانی برای این بیماری مورد بررسی قرار گرفته است (Cortegiani et al. 2020). هیدروکسی کلروکین باعث افزایش pH اندوزومال در سلول‌های حاوی آنتی‌ژن می‌شود، بر همین اساس احتمال داده می‌شود که این ماده با تغییر pH سلول از ورود ژنوم ویروسی به داخل سلول جلوگیری کند، هرچند این دارو در کنترل بیماری حاد تنفسی ایجاد شده توسط ویروس SARS-CoV موثر بوده است (Vincent et al. 2005) و بر همین اساس نیز به منظور درمان بیماری کووید-۱۹ مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی پژوهش‌های اخیر در ارتباط با این دارو از اثرات محدود این دارو در درمان بیماری کووید-۱۹ گزارش داده است (Chen et al. 2020). اومی‌فناویر (Umifenovir) باوجود اینکه به عنوان یک داروی ضد ویروسی شناخته می‌شود و در روسیه و چین برای درمان آنفلوانزا استفاده می‌شود (Boriskin YS et al. 2008) ولی توسط FDA ایالات متحده برای درمان یا پیشگیری از آنفلوانزا تأیید نشده است. ادعا می‌شود که این دارو مانع از ورود ویروس به سلول‌های هدف شده و باعث تحریک پاسخ ایمنی می‌شود. اخیراً نیز به‌دلیل شیوع SARS-CoV-2 مورد توجه قرار گرفته است. این دارو در واقع یک ممانعت کننده از ترکیب غشایی است و از تماس بین ویروس و سلول‌های میزبان جلوگیری می‌کند. و

پروتئین S ایجاد شده است اضافه شدن توالی نوکلئوتیدی `tcctcgcggggc` است که منجر به افزودن چهار اسیدآمینه جدید PRRA بین دو زیرواحد S1 و S2 می شود که یک سایت برشی منحصر به فرد (Polybasic cleavage site) در این ویروس ایجاد کرده است. بر طبق این فرضیه در طی جهش ویروس از خفاش به انسان یک درج ۱۲ نوکلئوتیدی بر روی ژنوم ویروس و در حفاصل توالی های نوکلئوتیدی دو زیرواحد S1 و S2 رخ داده است. مطالعات انجام گرفته تاکنون حاکی از آن است که این توالی در سایر کروناویروس ها از جمله ویروس خفاش و پنگولین مشاهده نشده است با این حال طرفداران این فرضیه معتقد هستند که با مطالعه و بررسی بیشتر کروناویروس ها احتمالاً سایت برشی کاملاً شبیه Polybasic cleavage site ویروس SARS-CoV-2 و یا مشابه آن در سایر ویروس ها شناسایی خواهد شد که این شناسایی فرضیه جهش عادی و انتخاب طبیعی را حمایت می کند. عملکرد این توالی در SARS-CoV-2 به طور کامل شناسایی نشده است ولی باتوجه به ایجاد یک پیچ توسط اسیدآمینه پرولین که منجر به برقراری پیوندهای گلیکانی بر روی اسیدهای آمینه S673 ، T678 و S686 می شود احتمالاً این سایت در محافظت ای بی توپ- های ویروس در برابر سیستم ایمنی نقش دارد که با افزایش بیماری زایی ویروس رابطه مستقیم دارد. بنابراین یک جهش کلیدی و مهم در ویروس محسوب می شود (Andersen et al. 2020).

پژوهشگران مطرح کننده این فرضیه براساس یافته های خود ادعا می کنند که غیرممکن است که SARS-CoV-2 از طریق دستکاری آزمایشگاهی و مهندسی ژنتیک یک کروناویروس دیگر مانند SARS-CoV به وجود آمده باشد. همان طور که گفته شد RBD پروتئین S ویروس SARS-CoV-2 برای اتصال به ACE2 انسانی بهینه شده است. با وجود اینکه توانایی اتصال و قدرت بیماری-زایی ویروس نشان می دهد این جهش باعث ایجاد یک اتصال موثر شده است اما بررسی های بیوانفورماتیکی و شبیه سازی های رایانه ای جهش ایجاد شده در SARS-CoV-2 را برای اتصال به سلول های انسانی مناسب ترین جهش نمی داند و جهش متفاوتی را در ناحیه RBD ویروس SARS-CoV-2 برای بهترین حالت بیماری زایی پیش بینی کرده است (Andersen et al. 2020).

بنابراین این ادعا مطرح می شود که اگر دانشمندان عمداً این ویروس را مهندسی کرده بودند، جهشی را انتخاب نمی کردند که مدل های رایانه ای معتقد است که بالاترین کارایی را ندارد و در صورت دستکاری این ویروس باید از بهترین حالت جهش برای بیماری زایی با کارایی بالا استفاده می شد. اما به نظر می رسد طبیعت از دانشمندان باهوش تر بوده و کروناویروس جدید بهتر و کاملاً متفاوت از آن چیزی است که دانشمندان می توانستند از طریق مهندسی ژنتیک ایجاد کنند.

دومین دلیل محققان بر طبیعی بودن این ویروس ساختار کلی مولکولی این ویروس است. بررسی ساختار کلی مولکولی این ویروس نشان داده است که ساختار این ویروس با سایر کروناویروس های شناخته شده متفاوت است، و در عوض بیشتر شبیه ویروس های موجود در خفاش ها و مورچه خوارها است که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته و از نظر بیماری زایی در انسان تا حدی ناشناخته بودند. بنابراین این پژوهشگران می گویند اگر کسی به دنبال مهندسی ویروس جدیدی به عنوان یک عامل بیماری زا بود، می توانست از ساختار کلی ویروس شناخته شده از نظر بیماری زایی استفاده کند. این گروه از پژوهشگران در ارتباط با نحوه ایجاد این ویروس دو سناریو مطرح می کنند. سناریوی اول انتخاب طبیعی ویروس در یک میزبان حیوانی قبل از انتقال به انسان است، طبق این سناریو، خصوصیات ژنتیکی کروناویروس جدید که در شناسایی، اتصال و بیماری زایی سلول های انسانی تا این اندازه موثر است قبل از انتقال این ویروس به انسان وجود داشته است. با توجه به ویژگی های ژنتیکی و پروتئینی کروناویروس جدید (SARS-CoV-2) و کروناویروس های خفاش و مورچه خوار که قبلاً گفته شد، ویروس جدید از لحاظ ژنومی بیش از ۹۶ درصد شبیه به ویروس خفاش بود ولی از نظر توالی اسیدآمینه های درگیر در برقراری پیوند بین RDB ویروس و ACE2 انسان بیشتر شبیه به ویروس مورچه خوار است، بنابراین طبق این سناریو پژوهشگران پیشنهاد می کنند که احتمالاً منشأ ویروس SARS-CoV-2، ویروس Bat-RaTG13 خفاش است که ابتدا به مورچه خوار منتقل شده و در نهایت بعد از ایجاد تغییرات مناسب ژنتیکی در این ویروس و به سبب استفاده از مورچه خوار

توسط برخی از افراد بومی این ویروس به انسان منتقل شده است (Andersen et al. 2020).

دومین سناریو در ارتباط با ایجاد طبیعی SARS-CoV-2، انتخاب طبیعی در انسان به دنبال انتقال در جانوران است. طبق این سناریو خصوصیات بیماری‌زایی ویروس پس از پرش ویروس از میزبان حیوانی خود به انسان تکامل پیدا کرده است. در واقع ویروس ویژگی‌های ژنومی که در بالا به آن اشاره شد را از طریق سازگاری در انتقال غیرقابل شناسایی انسان به انسان به دست آورده است. در ارتباط با این سناریو پژوهشگران معتقد هستند باتوجه به شباهت RDB کروناویروس مورچه‌خوار به RDB ویروس SARS-CoV-2 احتمالاً این ویروس از یک مورچه‌خوار به طور مستقیم یا غیرمستقیم به میزبان انسانی منتقل شده است. سپس با ایجاد تغییرات و جهش‌های ژنتیکی، ژنوم خود را تا حد زیادی شبیه به ژنوم ویروس خفاش کرده است. طی این جهش-های ایجاد شده نیز محل برش جدیدی (Polybasic cleavage site) ما بین زیرواحدهای S1 و S2 پروتئین S که متفاوت از سایت برشی موجود در پروتئین S کروناویروس‌ها است ایجاد می‌کند که به ویروس اجازه می‌دهد تا به راحتی در سلول‌های انسانی شکسته شود. پژوهشگران معتقد هستند که بعد از این تغییرات و ایجاد این ظرفیت، ویروس جدید علاوه بر ایجاد آلودگی، حتی توانایی گسترش در بین مردم و اوج گرفتن پاندمی را نیز پیدا کرده است. از جمله دلایل دیگری که مدعیان جهش خودبه‌خودی و انتخاب طبیعی مطرح می‌کنند این است که برای ایجاد سایت‌های برشی چند بازی به زمان طولانی‌تری نیاز است که ایجاد این سایت با توجه گذر زمان در طبیعت منطقی است. درحالی‌که تولید و انتخاب یک جایگاه برش چند بازی در آزمایشگاه احتیاج به واکشت مکرر در کشت سلولی یا حیوانات دارای گیرنده‌های ACE2 شبیه به انسان دارد، که توضیحات مربوط به چنین کارهایی قبلاً توضیح داده نشده است. در نهایت، تولید پیوندهای گلیکانی نیز باتوجه به اینکه این ویژگی حاکی از دخالت سیستم ایمنی بدن است نمی‌تواند در محیط کشت سلول رخ داده باشد (Andersen et al. 2020).

علاوه بر سناریوهای فوق در ارتباط با انتخاب طبیعی ویروس برخی از پژوهشگران فرضیه نوترکیبی را نیز مطرح می‌کنند، این پژوهشگران معتقد هستند باتوجه به شباهت بالای ۹۹ درصدی توالی ۷۴ اسیدآمینه‌ای از پروتئین S ویروس مورچه‌خوار به SARS-CoV-2 که احتمالاً توانایی آلوده کردن سلول‌های انسانی را به این ویروس می‌دهد، توالی اسیدآمینه‌ای ویروس خفاش در این ناحیه فقط ۷۶ درصد مشابه ویروس SARS-CoV-2 می‌باشد، بنابراین امکان آلوده‌سازی سلول انسانی را ندارد و از طرفی باتوجه به شباهت بالای ۹۶ درصدی ژنوم این ویروس خفاش به ویروس SARS-CoV-2 احتمالاً این دو ویروس با انجام نوترکیبی در یک میزبان واسطه، ویروس جدید SARS-CoV-2 را ایجاد کرده‌اند که توانایی آلوده کردن انسان را دارد (Hassanin, 2020).

یک تحقیق اخیر نیز در ارتباط با به وجود آمدن این ویروس گزارش جالبی از ترکیب ویروس خفاش با ویروس HIV1 ارائه کرده است. در این گزارش به چهار درج جدید در ژن گلیکوپروتئین S ویروس SARS-CoV-2 اشاره می‌شود که برای ورود ویروس به سلول‌های هدف ضروری است. در این مقاله ادعا شده است که توالی‌های درج شده مشابه موتیف‌های متغیر شناخته شده در گلیکوپروتئین یا پروتئین گگ (Gag protein) استرین HIV1 است و بدون شک این احتمال وجود دارد که SARS-CoV-2 از طریق کسب برخی قطعات ژنی از ژنوم HIV-1 تولید شده است (Xiao et al. 2020).

مطالعه دیگری که اخیراً منتشر شده است منشا طبیعی ایجاد ویروس را خوک می‌داند. در این مطالعه نتایج فیلوژنتیک و تجزیه و تحلیل نوترکیبی نشان داد است که *Mus* و *Sus scrofa* و تحلیل نوترکیبی می‌توانند منشا ویروس SARS-CoV-2 باشند. در این مطالعه بیش از ۳۰۰ توالی ژنوم SARS-CoV-2 از GenBank استخراج و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل‌های مربوط به ترجیح کدونی در *Mus musculus* و *Sus scrofa* نشان داده است که سیستم codon usage هر دو مشابه با SARS-CoV-2، همچنین بررسی فاصله اقلیدسی نشان داده است که این فاصله بین *Sus scrofa* و SARS-CoV-2 بسیار کم بوده و SARS-CoV-

2 می‌تواند به طور موثری از سیستم ترجمه خوک بهتر از سایر حیوان‌ها استفاده کند. علاوه بر این محاسبه فاصله زوج (Pairwise Distance) بین SARS-CoV-2 با خوک و موش به ترتیب برابر ۱۴,۸۹ و ۱۴,۹۴ است که نشان می‌دهد هر دو موجود تا حدودی می‌توانند منشأ ویروس در نظر گرفته شوند. بنابراین، حدس زده می‌شود که SARS-CoV-2 ممکن است در مرحله اول منشأ خفاشی داشته باشد، و بعد از انجام نوترکیبی که احتمالاً در خوک یا موش به عنوان ناقل حدواسط صورت گرفته به انسان منتقل شده است (Hu et al. 2020).

با این حال پژوهشگران معتقد به نقش انتخاب طبیعی در ایجاد SARS-CoV-2 ابراز می‌کنند که اگرچه شواهد نشان می‌دهد که SARS-CoV-2 یک ویروس دستکاری شده هدفمند نیست، اما در حال حاضر اثبات یا رد سایر نظریه‌های منشأ ویروس غیرممکن است، در نتیجه شناسایی و کشف ویروس‌هایی با توالی‌های مشابه از منابع حیوانی قطعی‌ترین راه آشکار شدن منشأ ویروس است برای مثال، مشاهده یک جایگاه برشی چند بازی مشابه یا کاملاً شبیه SARS-CoV-2 در یک ویروس حیوانی می‌تواند از فرضیات انتخاب طبیعی حمایت کند، همچنین شناسایی یک میزبان واسطه بالقوه SARS-CoV-2، می‌تواند در تعیین منشأ ویروس بسیار مفید باشد (Andersen et al. 2020).

فرضیه ساخت آزمایشگاهی ویروس

در کنار فرضیه‌های ایجاد طبیعی ویروس در نتیجه انتخاب طبیعی، برخی از پژوهشگران ساخت ویروس جدید در آزمایشگاه از

طریق مهندسی ژنتیک را مطرح می‌کنند. یکی از دلایل مهم مطرح شدن این فرضیه توسط پژوهشگران این است که طی سال‌های گذشته پژوهش‌های بسیاری بر روی کروناویروس‌های شبیه به کروناویروس خفاش در کشت سلولی و حیوانی در آزمایشگاه-های ایمنی زیستی سراسر دنیا صورت گرفته است، و شواهد و مستندات از فرار آزمایشگاهی ویروس SARS-CoV نیز وجود دارد. بنابراین باید احتمال انتشار غیرمجاز SARS-CoV-2 نیز مورد بررسی قرار گیرد. طبق این فرضیه، این امکان وجود دارد که کروناویروس SARS-CoV-2 جهش‌های مربوط به دومین RBD را در طی سازگاری کشت سلولی به دست آورده است و با ایجاد خطای آزمایشگاهی یا به صورت عمدی این ویروس در بین مردم رها شده است (Andersen et al. 2020). از طرفی باتوجه به عدم شناسایی میزبان‌های حدواسط و همچنین عدم شناسایی ویروس-های با توالی‌های مشابه به ویروس SARS-CoV-2 از جمله سایت برشی چند بازی در بین سایر ویروس‌های مطالعه شده احتمال دستکاری و ایجاد مصنوعی این ویروس نباید نادیده گرفته شود، علاوه بر این برخلاف پژوهشگرانی که انتظار دارند در صورت تولید آزمایشگاهی این ویروس، مطالعات و پژوهش‌هایی مربوط به مراحل ساخت و مهندسی آن باید چاپ می‌شد می‌توان گفت که در صورت ایجاد و انتشار عمدی این ویروس با اهدافی نظیر بیوتروریسم عدم انتشار این پژوهش‌ها و نبود گزارش‌های مربوط به آن منطقی به نظر می‌رسد.

منابع

- Agostini ML, Andres EL, Sims AC, Graham RL, Sheahan TP, Lu X, et al. 2018. Coronavirus Susceptibility to the Antiviral Remdesivir (GS-5734) Is Mediated by the Viral Polymerase and the Proofreading Exoribonuclease. *mBio*. 9(2). PubMed PMID: 29511076. Pubmed Central PMCID: PMC5844999.
- Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. 2020. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*: 1-3.
- Battle D, Wysocki J, Satchell K. 2020. Soluble angiotensin-converting enzyme 2: a potential approach for coronavirus infection therapy? *Clin Sci (Lond)* 134: 543-545.
- Belouzard S, Millet JK, Licitra BN, Whittaker GR. 2012. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses* 4: 1011-1033.

- Boriskin Y, Leneva I, Pecher E-I, Polyak S. 2008. Arbidol: a broad-spectrum antiviral compound that blocks viral fusion. *Current medicinal chemistry* 15: 997-1005.
- Boriskin YS, Pecher E-I, Polyak SJ. 2006. Arbidol: a broad-spectrum antiviral that inhibits acute and chronic HCV infection. *Virology journal* 3: 56.
- Chan JF-W, To KK-W, Tse H, Jin D-Y, Yuen K-Y. 2013. Interspecies transmission and emergence of novel viruses: lessons from bats and birds. *Trends in microbiology* 21: 544-555.
- Chen J, LIU D, LIU L, LIU P, XU Q, XIA L, LING Y, HUANG D, SONG S, ZHANG D. 2020. A pilot study of hydroxychloroquine in treatment of patients with common coronavirus disease-19(COVID-19). *Journal of Zhejiang University (Medical Science)* 49: 0-0.

- Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, Giarratano A, Einav S. 2020.** A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. *Journal of Critical Care* 57: 279-283.
- Cowley JA. 2016.** Chapter 32 - Nidoviruses of Fish and Crustaceans. Pages 443-472
- De Haan CA, Li Z, te Lintelo E, Bosch BJ, Haijema BJ, Rottier PJ. 2005.** Murine coronavirus with an extended host range uses heparan sulfate as an entry receptor. *Journal of virology* 79: 14451-14456.
- Delang L, Abdelnabi R, Neyts J. 2018.** Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res* 153: 85-94.
- Duan K, Liu B, Li C, Zhang H, Yu T, Qu J, et al. 2020.** Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. PubMed PMID: 32253318.
- Fehr AR, Perlman S. 2015.** Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. Pages 1-23. *Coronaviruses*, Springer.
- Forster P, Forster L, Renfrew C, Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. 2020.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. PubMed PMID: 32269081.
- Gurwitz D. 2020.** Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. *Drug development research*. PubMed PMID: 32129518
- Hassanin A. 2020.** Coronavirus Origins: Genome Analysis Suggests Two Viruses May Have Combined. <https://www.sciencealert.com/genome-analysis-of-the-coronavirus-suggests-two-viruses-may-have-combined>.
- Haviernik J, Stefanik M, Fojtikova M, Kali S, Tordo N, Rudolf I, Hubalek Z, Eyer L, Ruzek D. 2018.** Arbidol (Umifenovir): A Broad-Spectrum Antiviral Drug That Inhibits Medically Important Arthropod-Borne Flaviviruses. *Viruses* 10(4). PubMed PMID: 29642580. Pubmed Central PMCID: PMC5923478.
- Hoet AE, Saif LJ. 2004.** Bovine torovirus (Breda virus) revisited. *Anim Health Res Rev* 5: 157-171.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N-H, Nitsche A. 2020.** SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*.
- Hu X, Li W, He Z, Zhang F. 2020.** Identification *Sus scrofa* and *Mus musculus* as potential hosts of SARS-CoV-2 via phylogenetic and homologous recombination analysis. *F1000Research* 9: 190.
- Hudson C, Beaudette F. 1932.** Infection of the cloaca with the virus of infectious bronchitis. *Science* 76: 34-34.
- King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ. 2012.** Family - Coronaviridae. Pages 806-828 in King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, eds. *Virus Taxonomy*. San Diego: Elsevier.
- Kuo L, Hurst-Hess KR, Koetzner CA, Masters PS. 2016.** Analyses of coronavirus assembly interactions with interspecies membrane and nucleocapsid protein chimeras. *Journal of virology* 90: 4357-4368.
- Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, Zhang Q, Shi X, Wang Q, Zhang L. 2020.** Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* 581: 215-220.
- Liu DX, Fung TS, Chong KK-L, Shukla A, Hilgenfeld R. 2014.** Accessory proteins of SARS-CoV and other coronaviruses. *Antiviral research* 109: 97-109.
- McIntosh K. 2020.** Coronavirus disease 2019 (COVID-19). UpToDate. Mar 16.
- Michot JM, Albiges L, Chaput N, Saada V, Pommeret F, Griscelli F, et al. 2020.** Tocilizumab, an anti-IL6 receptor antibody, to treat Covid-19-related respiratory failure: a case report. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. PubMed PMID: 32247642. Pubmed Central PMCID: PMC7136869.
- NIAID. 2020.** Novel Coronavirus SARS-CoV-2 NIAID (March 09 2020) CC BY. <https://creativecommons.org/2020/03/19/now-is-the-time-for-open-access-policies-heres-why/novel-coronavirus-sars-cov-2-niaid-march-09-2020-cc-by/>
- Oldfield V, Plosker GL. 2006.** Lopinavir/ritonavir: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs* 66: 1275-1299.
- Patel VB, Clarke N, Wang Z, Fan D, Parajuli N, Basu R, Putko B, Kassiri Z, Turner AJ, Oudit GY. 2014.** Angiotensin II induced proteolytic cleavage of myocardial ACE2 is mediated by TACE/ADAM-17: a positive feedback mechanism in the RAS. *Journal of molecular and cellular cardiology* 66: 167-176.
- Payne S. 2017.** Chapter 17 - Family Coronaviridae. Pages 149-158 in Payne S, ed. *Viruses*, Academic Press.
- Sheahan TP, Baric RS. 2010.** SARS coronavirus pathogenesis and therapeutic treatment design. *Molecular Biology of the SARS-Coronavirus*, Springer Pages 195-230.
- Tyrrell D, Bynoe M. 1965.** Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *British medical journal* 1: 1467.
- Vincent MJ, Bergeron E, Benjannet S, Erickson BR, Rollin PE, Ksiazek TG, Seidah NG, Nichol ST. 2005.** Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virol J* 2: 69.
- Viralzone. 2020.** ViralZone resources SARS-CoV-2. https://viralzone.expasy.org/764?outline=all_by_species
- Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. 2020.** Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*.
- Wang W, McKinnie SM, Farhan M, Paul M, McDonald T, McLean B, Llorens-Cortes C, Hazra S, Murray AG, Vederas JC. 2016.** Angiotensin-converting enzyme 2 metabolizes and partially inactivates pyr-apelin-13 and apelin-17: physiological effects in the cardiovascular system. *Hypertension* 68: 365-377.
- Woo PC, Lau SK, Lam CS, Tsang AK, Hui S-W, Fan RY, Martelli P, Yuen K-Y. 2014.** Discovery of a novel bottlenose dolphin coronavirus reveals a distinct species of marine mammal coronavirus in Gammacoronavirus. *Journal of virology* 88: 1318-1331.
- Xiao C, Li X, Liu S, Sang Y, Gao S-J, Gao F. 2020.** HIV-1 did not contribute to the 2019-nCoV genome. *Emerging Microbes & Infections* 9: 378-381.
- Xu Y, Lou Z, Liu Y, Pang H, Tien P, Gao GF, Rao Z. 2004.** Crystal structure of severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein fusion core. *Journal of Biological Chemistry* 279: 49414-49419.
- Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si H-R, Zhu Y, Li B, Huang C-L. 2020.** A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579: 270-273.

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 9, Number 1**Introduction of coronavirus SARS-CoV-2 and investigation of possible origin of this virus**Amin Sahandi Khalifeh-Kandy¹, Jafar Razeghi²

1. PhD student in Agricultural Biotechnology. Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, IRAN

2. Plant Biology Dept. Natural Science Faculty, University of Tabriz, Tabriz, IRAN

*Corresponding Author, Email: jafar_razeghi@tabrizu.ac.ir

Abstract

The emergence of the dangerous and deadly COVID-19 disease in late 2019 in Wuhan, China, and its rapid spread has had a profound global impact on health, mental security, economy, culture and politics of various countries, drawing the attention of the medical community and related sciences for identification and treatment of this disease. Various studies on this disease have identified a new *coronavirus* as the cause. Due to the development of severe respiratory infection and the similarity of this virus to SARS-CoV, it was named SARS-CoV-2. Although many studies have been conducted to identify the origin of this virus and based on the obtained results, most researchers have proposed the hypothesis of natural selection of mutation in the bat-RaTGG13, but some researchers also believe that this virus was engineered in a laboratory based on the evidence obtained. However, both groups of researchers believe that none of the hypotheses can be refuted until strong evidence is found as to the origin of the virus. In this review, along with the discussion on the origin of SARS-CoV-2 virus, the introduction of this virus, its function, pathogenesis and ways to prevent and treat the disease will be introduced.

Keywords: ACE2 receptor, COVID-19, Genetic engineering, Natural selection, Severe Acute Respiratory Syndrome *Coronavirus 2*