



Evaluation of Mutation Spread in The SARS-CoV2 Genome

ARTICLE INFO

Article Type Original Research

Authors

Kamal Fakhredini¹
Hoorieh Soleimanjahi^{2*}
Razieh Sadat Banijamali³
Taravat Bamdad⁴

1- Ph.D. student, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2- Professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- M.Sc., Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

4- Associate professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Correspondence

Address: Postal Code: 1411713116, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran,
Email: soleim_h@modares.ac.ir

Article History

Received: January10, 2020

Accepted: February10, 2021

ePublished: March 18, 2021

ABSTRACT

The Coronaviridae family includes viruses that are considered the causative agents of respiratory infections, and among human RNA viruses have the largest genome. Coronaviruses undergo elusive genetic changes through mutation during replication. A gene mutation is a permanent alteration in the nucleic acid sequence; if it occurs in large numbers, it causes changes in the biological features of a species. Fundamentally, viruses adapt to the human body during replication. Several studies have shown that most mutations do not have much effect on pathogenicity. Sequence diversity in new coronaviruses is very low. However, antigen drift has been observed among some coronaviruses. Most coronavirus mutations occur intermittently in Iran and other countries and have little effect on the pathogenicity of the virus but have increased its rate of transmission. In mutated viruses, deletion of nucleotide sequences has been observed relatively in some reading frames extensively. Studies have shown that the host protein induced mutagenesis through interaction via viral proteins. The most important mutation in SARS-CoV2 compared to the original Wuhan virus was the spike D614G mutation and the lineage of B.1.1.7, 20I/501Y.V1 become the dominant and exhibit greater virus spread but did not associate with higher viral loads and morbidity. However, it may affect the effectiveness of the vaccines and mortality rate.

Keywords: SARS-CoV2, COVID-19, Mutation, Coronavirus.

بررسی گسترش جهش در ژنوم کرونا ویروس جدید (SARS-CoV2)

کمال فخرالدینی

دانشجوی دکتری، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

حوریه سلیمان جاهی

استاد، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

راضیه سادات بنی جمالی

کارشناسی ارشد، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

طراوت بامداد

دانشیار، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

چکیده

خانواده کروناویریده ویروس‌هایی را شامل می‌شوند که عامل بیماری‌های تنفسی هستند و بین RNA ویروس‌های انسانی بزرگ-ترین ژنوم را دارند. کروناویروس‌ها در اثر تکثیرهای مکرر دچار تغییرات جزئی (جهش) در ژن‌های خود می‌شوند. جهش یک تغییر دائمی ژنتیکی است که اگر به تعداد زیادی اتفاق بیفتد، باعث تغییر در صفات زیستی یک‌گونه می‌شود. اصولاً ویروس‌ها طی تکثیر، خودشان را به نوعی با بدن انسان تطبیق می‌دهند. مطالعات نشان داده است که اغلب جهش‌های ایجادشده، تأثیر چندانی روی بیماری‌زایی آن ندارند. تنوع توالی ژنومی در کروناویروس‌های جدید بسیار کم است؛ اما دریافت آنتی‌ژنی در برخی کروناویروس‌ها مشاهده شده است. اغلب جهش‌های کروناویروس در ایران و در بقیه کشورها متناوب اتفاق افتاده و در بیماری‌زایی ویروس تأثیر چندانی نداشته، اما سرعت سرایت آن را افزایش داده است. در ویروس‌های جهش‌یافته، حذف نسبتاً گسترده توالی نوکلئوتیدی در بعضی قالب‌های خوانش مشاهده شده است. مطالعات نشان می‌دهد که پروتئین‌های میزبان از طریق تعامل با پروتئین‌های ویروسی، موجب القای جهش می‌شوند. منشأ بسیاری از موتاسیون‌ها را در

فرایندهای ژنومیک و متاژنومیک میزبان باید جستجو کرد. مهم‌ترین موتاسیون‌های ایجادشده در سارس کروناویروس -۲ در مقایسه با ویروس ووهان، موتاسیون D614G و واریته جهش‌یافته انگلیسی به نام واریته B.1.1.7, 20I/501Y.V1 است که باعث شد ویروس بیشتر انتشار یابد، اما بار ویروس و بیماری‌زایی را افزایش نداد؛ باوجوداین ممکن است بر اثربخشی واکسن و تعداد مرگ‌ومیر تأثیر بگذارد.

کلیدواژه‌ها: سارس کروناویروس - ۲، کووید-۱۹، موتاسیون، کروناویروس.

تاریخ دریافت ۹۹/۱۰/۲۱

تاریخ پذیرش ۹۹/۱۱/۲۲

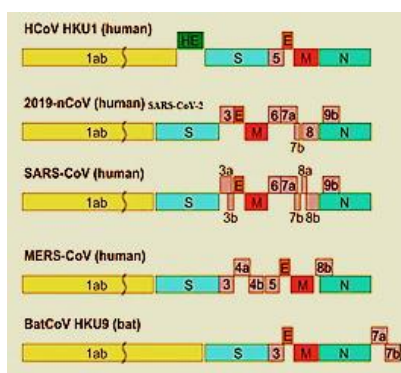
*نویسنده مسئول: soleim_h@modares.ac.ir

مقدمه

کروناویروس‌ها ویروس‌هایی با اندازه نسبتاً بزرگ هستند و در سطح خود پروتئین‌های اتصال‌ی مشخص دارند که به ویروس، ظاهری همچون تاج خورشید می‌دهند. این ویروس در میان RNA ویروس‌های انسانی، بزرگ‌ترین ژنوم را دارد. کروناویروس‌های انسانی بعد از رینوویروس‌ها، به‌عنوان دومین عامل سرماخوردگی ویروسی در نظر گرفته می‌شوند. عفونت انسان با دو عضو مهم از این ویروس‌ها، در اوایل کودکی و سپس پیوسته طی زندگی اتفاق می‌افتد. در آب و هوای معتدل، شناسایی این دو ویروس اغلب در ماه‌های بین پاییز و بهار است و فراوانی آنها از سالی به سال دیگر متفاوت است و اغلب، هر دو تا چهار سال اوج فعالیت ویروس رخ می‌دهد. کروناویروس‌ها می‌توانند عفونت‌های بین گونه‌ای انسان و حیوان را ایجاد کنند. کروناویروس‌های حیوانی در حالت طبیعی قادر نیستند انسان را آلوده کنند، ولی با وقوع جهش ژنومی توانایی آلوده کردن انسان را به دست می‌آورند. تماس انسان با مخزن حیوانی ویروس یا خوردن گوشت نیم‌پز حیوان آلوده توسط انسان، باعث انتقال عفونت ویروسی می‌شود. منشأ اولیه کروناویروس‌ها معمولاً خفاش است که معمولاً به یک میزبان واسطه بیماری را منتقل

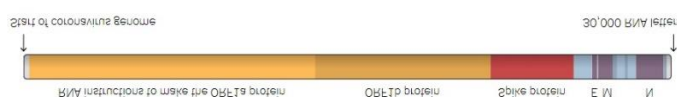
اولین کروناویروس جدید شناخته شده

در اوایل ژانویه، محققان از مردی که در بازار ووهان کار می‌کرد اولین ژنوم کروناویروس جدید را جداسازی و سپس تعیین توالی کردند. این ژنوم مبنایی شد برای دانشمندان که بتوانند ویروس SARS-CoV2 را که در سرتاسر جهان گسترش یافته بود، دنبال کنند. سلول‌های آلوده به ویروس کرونا، میلیون‌ها ویروس جدید را تولید و آزاد می‌کند که همگی دارای نسخه‌های اصلی ژنوم ویروس بودند. هنگامی که در سلول آلوده از ژنوم ویروس کپی‌برداری می‌شود گاهی اوقات در اثر اشتباه آنزیم رونویسی، نوکلئوتیدی اشتباهی در زنجیره در حال ساخت قرار می‌گیرند که این پدیده را جهش می‌نامند. گاهی با گسترش و انتقال کروناویروس از شخصی به شخصی دیگر تصادفی جهش‌های بیشتری نیز ایجاد می‌شود. همانند ویروس‌های دیگر در کروناویروس جدید نیز امکان ایجاد جهش وجود دارد. ژنوم زیر (شکل ۲) از بیمار اولیه دیگری در ووهان است و جز یک جهش، با مورد اول یکسان است. به‌طوری که در جایگاه ۶۸۱ در RNA ویروس به جای نوکلئوتید C، نوکلئوتید U قرار گرفته است.



می‌کند و انسان تصادفی آلوده می‌شود و بعد از طریق انتقال انسان به انسان، گسترش می‌یابد.

اندازه ژنوم ویروس عامل کووید از ۲۹,۸ کیلوباز تا ۲۹,۹ کیلوباز متغیر است. انتهای ۵' ژنوم، ناحیه ژنی ORF 1ab قرار گرفته است که حدود دوسوم ژنوم را به خود اختصاص می‌دهد و یک پلی-پروتئین تولید می‌کند. درحالی که انتهای ۳' ژنوم حدود یک‌سوم ژنوم را تشکیل می‌دهد و پروتئین‌های ساختمانی شامل S (سطحی)، E (انولوپ)، M (ممبران) و پروتئین‌های N، نوکلئوکسپید را تولید می‌کند. SARS-CoV2 همچنین ۶ پروتئین جانبی دارد که ژن‌های ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b و ORF8 آنها را تولید می‌کنند. در شکل ۱، ساختار ژنوم SARS-CoV2 و مقایسه آن با سایر کروناویروس‌ها نشان داده شده است (۱، ۲).



شکل ۱. ساختار ژنوم SARS-CoV2 و مقایسه آن با سایر کروناویروس‌ها

ظهور کروناویروس جدید SARS-CoV2 و بیماری

COVID-19

در دسامبر سال ۲۰۱۹ اپیدمی دیگری از یک نوع بیماری تنفسی ناشناخته با عوارض پنومونی و مرگ در بازار ووهان چین اتفاق افتاد. موارد اولیه بیماری با بازار فروش حیوانات ووهان مرتبط شناخته و مشخص شد که منشأ این بیماری یک عفونت مشترک بین انسان و حیوان است. بین ویروس جدید و دو نوع کروناویروس شبه سارس در خفاش حدود ۸۸ درصد شباهت ژنتیکی وجود داشت و احتمالاً ویروس از خفاش با واسطه نوعی مورچه‌خوار به نام پانگولین به انسان منتقل شده بود.

موارد ابتلای بعدی در بین پزشکان و پرستارانی اتفاق افتاد که در تماس نزدیک با بیماران بودند. بعضی از افراد مبتلا هیچ تماسی با بازار ووهان نداشتند. این ویروس در تعداد بیماران که سابقه تماس با حیوان را نداشتند به سرعت افزایش پیدا کرد و انتقال انسان به انسان باعث گسترش عفونت شد.



شکل ۲. ژنوم WH-09، جداسازی شده در ۸ ژانویه از بیماری در ووهان

هنگامی که محققان چندین ژنوم از ویروس‌های مربوط به ووهان را که اصطلاحاً یک گروه (Cluster) نامیده می‌شوند با یکدیگر مقایسه کردند، فقط تعداد کمی جهش‌های جدید یافتند که نشان می‌دهد ژنوم‌های مختلف از یک جد (ancestor) مشترک منشأ گرفته‌اند. ویروس‌ها جهش‌های جدید را با سرعت تقریباً منظم

توالی پروتئین می‌شوند. از آنجاکه پروتئین‌ها معمولاً از صدها یا هزاران اسید آمینه ساخته شده‌اند در بسیاری از موارد مانند آنچه در ویروس گوانگزو رخ داد، تغییر یک اسید آمینه منفرد تأثیر زیادی در شکل و نحوه عملکرد آنها ندارد.

برخی جهش‌ها ناپدید می‌شوند، برخی دیگر گسترش می‌یابند

با گذشت یک سال، بخش‌هایی از ژنوم کروناویروس جهش‌های زیادی را کسب کردند. برخی دیگر هیچ یا تعداد اندکی جهش کسب کردند. این تغییر چشمگیر ممکن است سرنخ‌های مهمی برای بیولوژی کروناویروس باشد. جهش‌های رخ داده در ژنوم‌های کروناویروس، به دانشمندان این امکان را می‌دهند تا گسترش COVID-19 را در سراسر جهان دنبال کنند. بخش‌هایی از ژنوم که جهش‌های زیادی دارند انعطاف‌پذیرتر هستند و می‌توانند تغییرات در توالی ژنتیکی خود را بدون آسیب‌رساندن به ویروس تحمل کنند. قسمت‌های دارای جهش‌های کمی، شکننده‌تر هستند. جهش در آن قسمت‌ها می‌تواند با ایجاد تغییرات در پروتئین‌ها، کروناویروس را از بین ببرد. این مناطق مهم، ممکن است اهداف مناسبی برای داروهای ضد ویروسی یا کاندید واکسن باشند (شکل ۴).

اولین مورد کرونا ویروس در آمریکا

در ۱۵ ژانویه، اولین مورد ابتلا در ایالات متحده گزارش شد که هم‌زمان با ظهور علائم، آزمایش PCR او مثبت شد. ژنوم ویروس جداسازی شده از این فرد، حاوی سه جهش تکنوکلوئیدی بود که در ویروس‌های ایزوله‌شده در چین نیز یافت شده بود. این جهش‌ها باعث شد دانشمندان بتوانند منبعی را که فرد از آن آلوده شده بود، ردیابی کنند.

بعد از اولین مورد، موارد دیگری در اسنوهومیش، واشنگتن، با علائم شبه آنفلوانزا دیده شد. محققان ژنوم کروناویروس آنها را توالی‌یابی کردند که علاوه بر جهش‌های ایجادشده در مورد اول در واشنگتن، سه جهش اضافی را به همراه داشت. از آن زمان به بعد،

ایجاد می‌کنند. بنابراین، دانشمندان توانستند تخمین بزنند که منشأ شیوع این بیماری، حدوداً در نوامبر ۲۰۱۹ در چین بوده است. در ۲۴ ژانویه محققان در مؤسسه ویروس‌شناسی ووهان (WIV) توالی ویروس جداسازی شده از گونه‌های خفاش *Rhinolophus affinis* در سال ۲۰۱۳ را با عنوان Bat_RaTG13 که از نظر نوکلئوتیدی ۹۶٪ با SARS-CoV2 یکسان بود و در توالی اسید آمینه حتی شباهت بیشتری نیز نشان می‌داد، منتشر کردند (۳). وجود چنین نزدیکی به توالی ویروس همه‌گیر در آزمایشگاه تحقیقاتی در مسافت کوتاه (۱۲ کیلومتری) از مرکز شیوع بیماری این مسئله را مطرح کرد که SARS-CoV2 از دستکاری آزمایشگاهی یا حداقل از انتشار تصادفی یک ایزوله آزمایشگاهی به دست آمده است. علاوه بر این مشخص شد که به ژنوم SARS-CoV2 چهار اسید آمینه اضافه شده است که یک جایگاه شناخته شده حساس به آنزیم فورین میزبان را ایجاد می‌کند. فعال‌سازی اختصاصی گلیکوپروتئین spike توسط فورین در کروناویروس‌ها معمول است (۴). خارج از ووهان (در گوانگزو چین)، همان جهش در نوکلئوتید ۱۸۶ ژنوم در یک نمونه دیگر که ۷ هفته بعد جداسازی شده بود، یافت شد. همچنین در طول مسیر انتقال فرد به فرد طی این ۷ هفته، دو جهش جدید دیگر نیز ایجاد شده و دو نوکلئوتید دیگر RNA به U تغییر یافته بود (شکل ۳).



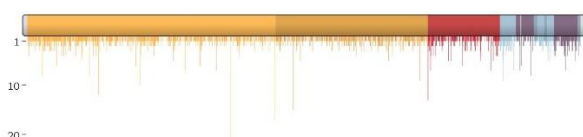
شکل ۳. ژنوم به دست آمده از ویروس در گوانگزو

جهش‌ها چه موقع مهم هستند؟

جهش‌ها اغلب ژن را بدون تغییر در پروتئینی که کد می‌کند، تغییر می‌دهند. پروتئین‌ها از زنجیره‌های طولانی اسیدهای آمینه که به اشکال مختلف تاخورد، تشکیل شده‌اند. هر اسید آمینه با سه حرف ژنتیکی رمزگذاری می‌شود. اما در بسیاری از موارد یک جهش در حرف سوم این سه حرف هنوز همان اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند. این جهش‌ها به اصطلاح "جهش‌های بی صدا (Silent mutation)" نامیده می‌شوند، که پروتئین حاصل را تغییر نمی‌دهند و جهش‌های "غیر بی صدا (Non-Silent mutation)" باعث تغییر

ویروس آهسته و مداوم در حال حرکت است

در این مرحله از همه‌گیری، ژنوم کروناویروس با جهش‌های متفاوتی در حال گردش هستند، ولی هنوز هم کمتر از یک‌دهم درصد از ژنوم دچار تغییر شده است. با گذشت زمان ویروس‌ها می‌توانند به سویه‌های جدید تکامل یابند. از ژانویه، محققان هزاران ژنوم SARS-CoV2 را توالی‌یابی و تمام جهش‌های به‌وجودآمده را ردیابی کردند. آنها تاکنون شواهد قانع‌کننده مبنی بر اینکه جهش‌ها تغییر زیادی در نحوه بیماری‌زایی کروناویروس داشته‌اند، پیدا نکرده‌اند.



شکل ۴. تعداد کل جایگزین‌های اسید آمینه یافت شده در 4400 ژنوم کروناویروس از ماه دسامبر تا آوریل

در حقیقت، محققان دریافتند که کروناویروس جدید در مقایسه با برخی دیگر از ویروس‌های RNA دار نسبتاً به آرامی در حال جهش است. شاید علت آن حضور پروتئین‌هایی از ویروس است که به-عنوان اصلاح‌کننده عمل می‌کنند و قادرند برخی از اشتباهات را رفع کنند. در آینده، کروناویروس‌ها ممکن است برخی جهش‌هایی را انتخاب کنند که به فرار از سیستم ایمنی بدن کمک می‌کند. اما سرعت جهش آهسته کروناویروس بدان معناست که این تغییرات طی سال‌ها پدیدار می‌شوند.

با اطلاعات امروز می‌دانیم که کروناویروس با سرعت در جهان گسترش یافت و اکثر بیماران فقط علائم خفیف تا متوسط مانند افزایش دمای بدن و برخی علائم تنفسی مانند سرفه، گلودرد و سردرد و برخی نیز علائم شدید ریوی مانند پنومونی و سندرم حاد تنفسی از خود نشان دادند. در برخی افراد نیز عوارض بیشتری مانند بیماری‌های قلبی، بیماری‌های مزمن ریوی و دیابت بروز کرد. تا امروز هیچ داروی ضدویروسی مؤثری برای این ویروس تولید نشده است (۵).

توالی‌یابی ژنوم کروناویروس جدید از کشورهای مختلف جهان اطلاعات بسیار زیادی درباره خصوصیات ژنی و جهش‌های

ویروس‌هایی با قرابت ژنتیکی با گروه واشنگتن در ایالت‌های مختلف و چندین کشور در جهان ظاهر شدند.

نسخه متفاوتی از کروناویروس نیز در کالیفرنیا در گردش بود. در تاریخ ۲۶ فوریه، مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC) اعلام کرد که یک بیمار در شهر سولانو که ارتباطی با موارد قبلی یا مسافرت خارج از کشور نداشته، مثبت بوده است.

نمونه گرفته‌شده نشان داد که ویروس جهش‌های متفاوتی را که در ایالت واشنگتن یافت شده است، ندارد. اما فقط یک جهش واحد داشت که آن را از ژنوم اصلی ووهان متمایز می‌کرد. این نشان می‌دهد که این ویروس از طریق دیگری از چین به کالیفرنیا رسیده است. در دو کارمندی که از بیماران مراقبت می‌کردند علاوه بر جهش فوق، جهش‌های دیگری هم دیده شد. در ماه ژانویه و فوریه، افراد بیشتری به ایالات متحده وارد شدند که آلوده به ویروس بودند. برخی از ویروس‌ها جهش‌هایی دارند که نشان می‌دهد از چین یا مناطق دیگری از آسیا و نیز از اروپا وارد شده‌اند. در شهر نیویورک، اکثر ویروس‌هایی که محققان از بیماران جداسازی کرده بودند، تطابق ژنتیکی با ویروس‌های در گردش اروپا داشتند.

انتقال ویروس در شهرهای مختلف آمریکا

پس از انجام مطالعات و آنالیز داده‌های ژنومی حضور و ارتباط عفونت با ایزوله‌های چین و اروپا در آمریکا نشان داده شد. بیشتر کروناویروس‌ها در نیویورک که دانشمندان توالی‌های آنها را بررسی کردند، نشان‌دهنده پیوندهای ژنتیکی با کروناویروس‌های یافت‌شده در اروپا هستند. برخی دیگر نیز از آسیا یا احتمالاً از مناطق دیگر ایالات متحده آمریکا انتشار یافته‌اند.

گردش ویروس از کشورهای مختلف به یکدیگر

پس از گسترش اولیه ویروس از کشور چین، ایالات متحده و اروپا به منابع جدید انتشار ویروس به کشورهای دیگر تبدیل شدند. ده‌ها گواتمالایی که از ایالات متحده به خارج از کشور اعزام شده بودند، جواب آزمایش آنها از نظر حضور ویروس مثبت شد و کروناویروس‌هایی که دارای جهش‌های دیده‌شده در اروپا بودند، دوباره به آسیا انتشار یافتند.

موقعیت RdRp ویروسی (RdRp P323L) می‌شود. هاپلوتا‌یپ حاوی این ۴ موتاسیون مرتبط به هم فرم غالب در سطح جهان است. در مطالعه‌ای که Bette Korber و همکاران انجام دادند، از ۹۹۹ نفر که بیماری COVID-19 داشتند در بیمارستان شفیلد نمونه‌گیری و اطلاعات بالینی آنها اخذ شد. از تست Real PCR Time و با استفاده از CT بیماران، وایرال لود آنها به صورت تقریبی بررسی شد. به گونه‌ای که CT پایین نشان از وایرال لود بالا و CT بالا نشان از وایرال لود پایین بود. در این مطالعه با توجه به آنالیزهای اطلاعات بیمارستانی و آزمایشگاهی، ارتباط معناداری بین وضعیت D614G و شدت بیماری مشاهده نشد (۷).

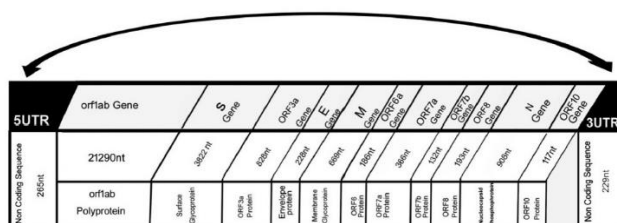
در مطالعه‌ای دیگر ژنوم ویروس در حدود ۱۰۰۰۰ نمونه بیمار مبتلا به SARS-CoV2 بررسی شد تا درک جامع و درستی از تنوع واریانت‌های موجود و نیز در حال ظهور به دست آید. اگرچه مطالعات نشان نمی‌دهند که آیا جهش‌های مشاهده‌شده به کاهش یا افزایش عملکرد و شدت بیماری منجر شده است یا نه، پیامدهای عملکرد ویروسی ناشی این جهش‌ها را روشن می‌کند.

جهش‌یافته‌های V483A و G476S در ابتدا در نمونه‌های ایالات متحده مشاهده شد؛ درحالی‌که V367F در نمونه‌های چین، هنگ کنگ، فرانسه و هلند مشاهده شدند. گزارش شده است که انواع V367F و D364Y باعث می‌شود پایداری ساختار پروتئین اسپایک افزایش یابد و اتصال کارآمد به گیرنده ACE2 را تسهیل می‌کند (۸).

Caspar I. van der Made و همکاران طی مطالعه‌ای روی ۴ بیمار مرد جوان مبتلا به COVID-19 شدید، نشان دادند که میزان از دست دادن عملکرد واریانت‌های کروموزوم X، TLR7 با اختلال در پاسخ ایترتروپن تیپ ۱ و ۲ همراه بود (۹).

حذف در قالب بازخواندن ۸ (ORF8) سندرم تنفسی حاد کرونا ویروس معمولاً طی شیوع سندرم حاد تنفسی در ۲۰۰۲-۲۰۰۳ تشخیص داده شد. این حذف‌ها باعث کاهش تکثیر ویروس در شرایط *in vitro* شد و فرضیه تضعیف شدت عفونت را مطرح کرد؛ اگرچه تأثیر این حذف بر نتایج بالینی ناشناخته مانده است. حذف نوکلئوتید-۳۸۲ (Δ382) در ژنوم سارس کرونا ویروس - ۲ (SARS-CoV2) در سنگاپور تشخیص داده شده است. همچنین یک حذف نوکلئوتید-۳۸۲ یکسان در ORF8 از مسافری که از

احتمالی در اختیار متخصصان قرار داد و مطالعات بسیار گسترده‌ای در این زمینه انجام شده است. در مطالعه‌ای Rozhgar A. Khailany و همکاران، ۹۵ ژنوم کرونا ویروس جدید توالی‌یابی و آنالیز شده است. در ۲۴ نمونه جز در جفت‌بازهای ابتدا و انتها، تغییری نداشته‌اند. واریانت‌های مجزایی، ۴۶ جهش غیرمحسوس (missense)، ۵۲ جهش شبیه (synonymous)، ۲ نوع الحاق (Insertion)، ۱ حذف و ۱۴ ال غیر کدکننده داشتند (۶) (شکل ۵).



شکل ۵. ساختار ژنوم کرونا ویروس جدید (COVID-19)

اکثر واریانت‌ها دارای (ORF1ab) 8782C>T در ۱۳ نمونه (ORF8) 28144C>T در ۱۴ نمونه و 29095C>T(N) در ۸ نمونه بودند.

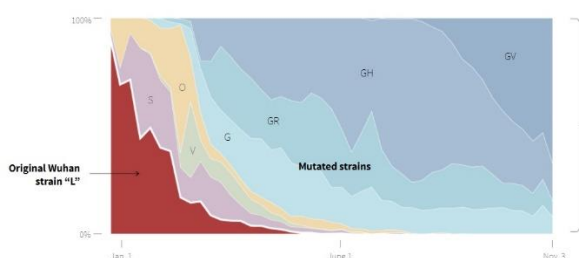
در ۴۶ واریانت جهش غیرمحسوس، ۲۴ واریانت در ORF1ab مشاهده شد که بزرگ‌ترین ORF را در ژنوم تشکیل می‌دهد. ORF1ab به تعداد زیادی پروتئین غیر ساختمانی (NSP1-NSP3) برش می‌خورد. در میان پروتئین‌های غیر ساختمانی، NSP3 بیشترین تغییرات را در نمونه‌های آنالیز شده دارد. بیشترین موتاسیون‌های غیر کدکننده در ناحیه 5' UTR و 3' UTR قرار دارد. همچنین در بین بازها نیز بیشترین تغییر در C>T دیده شد (۶).

افزایش گستردگی جهانی ویروسی

امروزه تغییر آمینو اسید D614G به واسطه جهش نوکلئوتید A به G در موقعیت 23403 در سویه رفرنس ووهان گزارش شده است. این جهش اولین تغییر آنالیز اسپایک شناخته‌شده در اوایل مارس ۲۰۲۰ بود. در آن زمان فرم G614 نادر بود اما در اروپا از اهمیت خاصی برخوردار بود. تغییر D614G معمولاً با ۲ موتاسیون دیگر دیده می‌شود. (موتاسیون C به T در 5' UTR در موقعیت ۲۴۱ نسبت به توالی رفرنس ووهان)، موتاسیون بی‌صدا C به T در

تغییرات آن در ویروس برای توسعه استراتژی‌های مبارزه با بیماری COVID-19 بسیار مهم است.

تجزیه و تحلیل ژنوم این ویروس نشان می‌دهد که در حال حاضر هفت سویه اصلی ویروس وجود دارد. سویه اصلی که در دسامبر ۲۰۱۹ در شهر ووهان چین شناسایی شد، سویه L است. سپس ویروس در ابتدای سال ۲۰۲۰ به سویه S جهش پیدا کرد. پس از آن سویه‌های V و G ایجاد شدند. سویه G جهش یافته و بیشتر به سویه‌های GR، GH و GV تبدیل شده است. چندین جهش نادر دیگر در مجموع به عنوان سویه O گروه‌بندی شده‌اند.



شکل ۶. آنالیز بیش از ۱۸۵۰۰۰ نمونه ویروس از سراسر جهان

نمودار بالا (شکل ۶) نشان می‌دهد که چگونه سویه اصلی L تقریباً از بین رفته است و در این مرحله از همه‌گیر شدن، سویه‌های G غالب باقی‌مانده‌اند. اهمیت این مسئله به این دلیل است که جهش در سویه‌های G، اتصال پروتئین‌های سطح ویروس SARS-CoV2 را به گیرنده‌های سلول انسانی تسهیل می‌کند و احتمال عفونت و انتقال ویروس را بالقوه افزایش می‌دهد.

در اوایل همه‌گیری، ویروس به سرعت در سراسر جهان راه خود را پیدا کرد و پیوسته به مکان‌های مختلف وارد شد. طی آن زمان، مخلوط متنوع‌تری از سویه‌ها در بین نمونه‌های گزارش شده به GISAID وجود داشت. با آغاز بستن مرزهای کشورها، سویه‌های جدید کمتری معرفی شد. در کشورهایی که سویه‌های نوع G با مقاومت بیشتری وجود داشت، آنها بیشتر تسلط پیدا کردند و لذا شیفت سویه‌ای اتفاق افتاد.

با این حال، زمان و میزان تکامل به سویه‌های جدید در مراحل مختلف در کشورها و مناطق مختلف رخ داده است. این الگوهای متفاوت تا حد زیادی منعکس‌کننده سرعت انتقال ویروس در هر منطقه خاص یا نشان‌دهنده شیوع ویروس ناشی از ویروس وارد شده، هستند. در آسیا، سویه اصلی L برای مدت طولانی در

ووهان به تایوان بازگشته بود گزارش شد، اما اثر بالینی این حذف، توصیف نشده است. مطالعه Barnaby E Young و همکاران نشان داد که ORF8 کانون مناسبی برای جهش ویروس کرونا است. به نظر می‌رسد حذف در این منطقه به عفونت خفیف‌تری با انتشار سیستمیک کمتر سیتوکین‌های پیش‌التهابی منجر و پاسخ ایمنی مؤثرتری به SARS-CoV2 ایجاد شود. تجزیه و تحلیل بیشتر این موتاسیون می‌تواند برای پیشرفت درمان و تولید واکسن مؤثر باشد (۱۰).

در مجموع می‌توان گفت که تغییرات ساختاری و عملکردی هم‌زمان با جهش‌های پروتئین اسپایک باید دقیق طی طراحی و توسعه درمان مطالعه شود. با وجود اینکه به نظر می‌رسد اولین نمونه‌های مثبت ایالات متحده از چین مشتق شده‌اند، افزایش بعدی افراد مبتلا در ایالات متحده بیشتر به کلادهای اروپایی از قبیل Q57H و D614G متمایل است (۷).

افزایش سریع تعداد افراد آلوده، نمونه‌های بیشتری از ژنوم را فراهم کرده است که می‌تواند بینش بیشتری درباره انتشار ویروس، به‌ویژه بررسی امکان انتقال SARS-CoV2 از حیوانات به جمعیت انسانی را فراهم کند.

تعداد افراد مبتلا به COVID-19 تأیید شده طی ماه‌های گذشته به سرعت افزایش یافته است و هیچ نشانه‌ای از افت در آینده نزدیک نیست. مبارزه با COVID-19، تا زمانی که واکسن‌ها و روش‌های درمانی مؤثر تولید شوند، طولانی خواهد بود. هرچند امیدهای برای تولید واکسن و کسب ایمنی گروهی وجود دارد. برای تسهیل توسعه سریع درمانی، اطلاعات بالینی، ژنومیک و اطلاعات دیگر جامعه باید بین محققان، پزشکان و مقامات بهداشت عمومی به اشتراک گذاشته شود. همچنین با توجه به تکامل ماهیت ژنوم SARS-CoV2، تولیدکنندگان دارو و واکسن باید همچنان مراقب ظهور انواع جدید یا زیرشاخه‌های ویروس باشند.

در حال حاضر جهان با نوع دیگری از SARS-CoV2 -نسبت به انواع قبلی که تقریباً یک سال پیش در چین به وجود آمده است- سر و کار دارد؛ جهش‌هایی که تاکنون بیش از هفت وارسته جدید ویروس را ایجاد کرده است.

ویروس با سازگاری با میزبان‌های انسانی خود به چندین گروه بزرگ یا استرین تبدیل شده است. شناسایی نقشه ژنومی و درک

نتیجه گیری

همان‌طور که در مطالب پیشین ذکر شد، ۵ ژنوم ویروس یک پلی-پروتئین تولید می‌کند که پروتئین S آن اهمیت خاصی دارد و به دو زیرواحد S1 و S2 برش می‌خورد (۱۱). کروناویروس‌ها دارای مکانیسم‌های اصلاح ژنتیکی هستند (۱۲) و تنوع توالی در کروناویروس‌های جدید بسیار کم است (۱۳)، گرچه دریافت آنتی-ژنی در میان برخی کروناویروس‌ها مانند کروناویروس OC43 (۱۴) 299E (۱۵) و SARS-CoV1 (۱۶) مشاهده شده است. تغییر تک‌نوکلئوتیدی اسید آمینه در SARS-CoV1 در ناحیه D480A/G Spike در دومین متصل‌شونده به گیرنده (RBD) در افراد آلوده به ویروس رخ می‌دهد و D480A/G باعث می‌شود ویروس از خنثی‌سازی توسط آنتی‌بادی فرار کند. این تغییرات باعث انتشار گسترده ویروس بین انسان‌ها می‌شود، اما هنوز شواهدی از دریافت آنتی‌ژنیک برای SARS-CoV2 وجود ندارد. به نظر می‌رسد این ویروس‌ها توانایی کسب جهش و مقاومت‌های توانمند ایمنولوژیک می‌توانند داشته باشند.

رایج‌ترین خوشه (clade) ویروسی شناسایی شده واریانت D614G و واریته جهش‌یافته در انگلیس به نام واریته B.1.1.7، 20I/501Y.V1 است و بنابراین ممکن است بر اثربخشی واکسن تأثیر بگذارد. ظهور واریته‌هایی با جهش‌های مؤثر، امر واکسیناسیون را با اختلال مواجه می‌کند (۱۷). چندین واریانت بر اساس D614G و واریته انگلیسی B.1.1.7 شناسایی شده‌اند که اسیدهای آمینه در این اپی‌توپ‌ها حفظ شده‌اند. تقریباً اغلب سویه‌های دارای جهش در پروتئین مسئول تکثیر (ORF1ab P4715L, RdRp P323L) نیز هستند، که ممکن است بر سرعت تکثیر ویروس تأثیر بگذارد. این پروتئین هدف داروهای ضد ویروسی Remdesivir و Favipiravir است و حساسیت به جهش نشان می‌دهد که سویه-های مقاوم در برابر درمان ممکن است به سرعت ظهور کنند (۱۸). سویه‌های متفاوت ایجاد شده از SARS-CoV2 در روند پاندمی تأثیر چندانی نداشته‌اند اما ممکن است در آینده تأثیرات آن مشاهده شود. جهش‌هایی که در دومین متصل‌شونده به گیرنده پروتئین اسپایک اتفاق می‌افتد، به نظر می‌رسد تمایل ویروس به اتصال به ACE2 را کاهش نمی‌دهد؛ زیرا ممکن است به کاهش عملکرد ویروس منجر شود؛ اما گاهی هم ممکن است ویروس در رقابت با

چندین کشور از جمله چین مقاومت کرد؛ کشوری که سریع مرزها را بست و فعالیت‌ها را محدود کرد. در مقابل، آمریکای شمالی و اروپا حداقل در ابتدا فعالیت‌ها را محدود نکردند، که این به سویه-های G اجازه می‌داد با سرعت بیشتری گسترش و جهش یابند. واریته‌های G و انگلیسی B.1.1.7 اکنون در سراسر جهان غالب هستند. یک جهش خاص D614G، به رایج‌ترین نوع تبدیل شده است. این نام به این دلیل است که یک اسید آمینه در موقعیت ۶۱۴ ام روی پروتئین‌های سطحی ویروسی، از D (آسپارات) به G (گلیسین) تبدیل شده است. غلبه سویه G با داده‌های استرالیا، ژاپن و تایلند نشان داده شده است. طی موج دوم عفونت‌های استرالیا، سویه‌های G تقریباً در همه نمونه‌ها وجود داشت، که نشان می‌دهد کشور از طریق مجموعه‌ای از اقدامات فاصله‌گذاری اجتماعی، انتقال سویه‌های L و S را زودتر از بین برده است. همه خوشه‌های موج دوم استرالیا و کشورهای دیگر را افرادی که از خارج از کشور بازگشتند و قرنطینه را شکستند، ایجاد شدند. با غلبه سویه‌های G ایالات متحده تاکنون پیشرو در تعداد کلی عفونت و مرگ‌ومیر و به‌عنوان کانون‌های اصلی عفونت تبدیل شده است. اکثر عفونت‌ها و امواج اول، دوم و سوم همگی با افزایش نمونه‌هایی که سه سویه G نشان می‌دهند، هم‌زمان هستند.

خوش‌بینی محتاطانه

ویروس SARS-CoV2 تاکنون به آرامی جهش یافته است و به دانشمندان و سیاست‌گذاران اجازه می‌دهد تا پیشرفت خود را ادامه دهند. هنوز هم دانشمندان درباره نتایج برخی از جهش‌ها اختلاف نظر داشته‌اند. برخی از کارشناسان گزارش داده‌اند که تغییر D614G و واریته انگلیسی B.1.1.7 باعث انتقال ویروس بیشتر شده است، با این حال مطالعات دیگر با این موضوع مخالفت کرده‌اند.

در هر صورت، تغییرات تاکنون به ایجاد سویه‌هایی منجر نشده است که احتمالاً در برابر واکسن‌های در حال توسعه مقاومت نشان دهند. یک مطالعه نشان داد که سویه‌های G ممکن است هدف ساده‌تری برای یک واکسن باشند، زیرا این سویه‌ها پروتئین‌های سطحی بیشتری در سطح خود دارند که هدف آنتی‌بادی‌های هستند که با واکسن تحریک شده‌اند.

۱۰. Young BE, Fong S-W, Chan Y-H, Mak T-M, Ang LW, Anderson DE, et al. Effects of a major deletion in the SARS-CoV2 genome on the severity of infection and the inflammatory response: an observational cohort study. *The Lancet*. 2020.

۱۱. Gallaher WR. A palindromic RNA sequence as a common breakpoint contributor to copy-choice recombination in SARS-COV2. *Archives of Virology*. 2020;1-8.

۱۲. Lorenzo-Redondo R, Nam HH, Roberts SC, Simons LM, Jennings LJ, Qi C, et al. A Unique Clade of SARS-CoV2 Viruses is Associated with Lower Viral Loads in Patient Upper Airways. *medRxiv*. 2020.

۱۳. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinno III KH, et al. SARS-CoV2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell*. 2020.

۱۴. Ren L, Zhang Y, Li J, Xiao Y, Zhang J, Wang Y, et al. Genetic drift of human coronavirus OC43 spike gene during adaptive evolution. *Scientific reports*. 2015;5:11451.

۱۵. Chibo D, Birch C. Analysis of human coronavirus 229E spike and nucleoprotein genes demonstrates genetic drift between chronologically distinct strains. *Journal of general virology*. 2006;87(5):1203-8.

۱۶. Song H-D, Tu C-C, Zhang G-W, Wang S-Y, Zheng K, Lei L-C, et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(7):2430-5.

۱۷. Koyama T, Weeraratne D, Snowdon JL, Parida L. Emergence of drift variants that may affect COVID-19 vaccine development and antibody treatment. *Pathogens*. 2020;9(5):324.

۱۸. Chen W-H, Hotez PJ, Bottazzi ME. Potential for developing a SARS-CoV receptor-binding domain (RBD) recombinant protein as a heterologous human vaccine against coronavirus infectious disease (COVID)-19. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2020;1-4.

۱۹. Callaway E. The coronavirus is mutating-does it matter? *Nature*. 2020;585(7824):174-7.

۲۰. Ho M-S, Chen W-J, Chen H-Y, Lin S-F, Wang M-C, Di J, et al. Neutralizing antibody response and SARS severity. *Emerging infectious diseases*. 2005;11(11):1730.

۲۱. Liu W, Fontanet A, Zhang P-H, Zhan L, Xin Z-T, Baril L, et al. Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome. *The Journal of infectious diseases*. 2006;193(6):792-5.

ویروس‌های دیگر حذف شود (۱۹). یکی از اهداف مناسب برای ساخت واکسن، پروتئین اسپایک تراپمر سطحی ویروسی است که اتصال و ورود ویروس را واسطه‌گری می‌کند و مهم‌تر اینکه، هدف اصلی، خنثی‌سازی توسط آنتی‌بادی است (۱۸). در برخی بیماران پاسخ خنثی‌کننده آنتی‌بادی سریع و زیاد است که در برخی موارد با تشدید بیماری همراه است (۲۰، ۲۱). در مورد SARS-CoV2 نیز اکثر تست‌های آزمایشگاهی بر اساس توالی پروتئین اسپایک ویروس رفرنس ووهان است.

منابع

۱. Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*. 2019;17(3):181-92.

۲. Banerjee A, Kulcsar K, Misra V, Frieman M, Mossman K. Bats and coronaviruses. *Viruses*. 2019;11(1):41.

۳. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, 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.

۴. Coutard B, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah N, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral research*. 2020;176:104742.

۵. Adhikari SP, Meng S, Wu Y-J, Mao Y-P, Ye R-X, Wang Q-Z, et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infectious diseases of poverty*. 2020;9(1):1-12.

۶. Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV2. *Gene reports*. 2020;۱۰۰۶۸۲.

۷. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking changes in SARS-CoV2 Spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 2020.

۸. Ou J, Zhou Z, Dai R, Zhang J, Lan W, Zhao S, et al. Emergence of RBD mutations in circulating SARS-CoV2 strains enhancing the structural stability and human ACE2 receptor affinity of the spike protein. *bioRxiv*. 2020.

۹. van der Made CI, Simons A, Schuurs-Hoeijmakers J, van den Heuvel G, Mantere T, Kersten S, et al. Presence of genetic variants among young men with severe COVID-19. *JAMA*. 2020;324(7):663-73.