

20Maggio

Que rest-t-il ? : la localizzazione delle proteine non strutturali di Sars-2

Un souvenir qui me poursuit
Sans cesse

Il team **Stéphanie Miserey** del *Dipartimento di Biologia Cellulare e Cancro, Institut Curie, PSL Research della Sorbonne* ha realizzato una vasta libreria di plasmidi fluorescenti capaci di rilevare il legame delle proteine prodotte da SARS-CoV-2 con i vari compartimenti cellulari dell'ospite. Questa libreria è della massima utilità ed amplifica enormemente le metodiche di imaging sub-microscopiche.

Sars-2 grazie al suo genoma può non solo sintetizzare i macchinari molecolari indispensabili per la sua replicazione, ma produrre una serie di proteine che abbiamo analizzato nei giorni precedenti (orf-6, elicasi Nsp3) capaci di interferire/neutralizzare con la sua replicazione.

Alcune di queste proteine possono essere rilasciate (secrete), ma non è noto la loro attività ed il loro destino. Conoscere una loro possibile localizzazione intracellulare potrebbe consentire di spiegare molti degli effetti che permangono per lungo tempo nei soggetti clinicamente guariti ma con una sintomatologia apparentemente "sine causa" (Que rest-t-il...)

Come la maggior parte dei virus a RNA, il virus Sars-2 stabilisce più interazioni proteina-proteina con i fattori dell'ospite per sovvertire le funzioni cellulari. In particolare, l'infezione e la replicazione comporta l'uso sequenziale di diversi organelli delle vie endocitiche e secretorie.

Questi includono l'interazione della proteina virale Spike con i recettori cellulari e la sua scissione da parte delle proteasi per la fusione del virione con le membrane cellulari, la sovversione della membrana del reticolo endoplasmatico (ER) per promuovere la formazione dell'organello di replicazione, interazione con il compartimento intermedio ER-Golgi per la formazione dei virioni e l'uscita finale dei virioni appena assemblati attraverso organelli simili al lisosoma.

Il genoma di Sars-2 (30 Kb) possiede **14** frame di lettura aperti. Due di loro, Orf1a e Orf1ab, codificano per polipeptidi lunghi alternativi, che danno origine a **16 singole proteine non strutturali** (Nsp1-16) in seguito a scissione automatica.

Alcune di queste proteine sono direttamente coinvolte nella replicazione del genoma virale, in particolare il complesso della replicasi **Nsp7-8-12 e l'elicasi Nsp13**. Altre, come **Nsp3, 4 e 6**, sono proteine transmembrana che promuovono la formazione del template di replicazione identificabile in una struttura vescicolare a doppia membrana.

Da ricordare anche le Orfs protein per le proteine strutturali dei virioni: **spike (S)**, che lega i recettori di superficie sulle cellule (enzima di conversione dell'angiotensina 2), la **proteina nucleocapsidica (N)**, che è responsabile del confezionamento del genoma, e **due proteine di membrana (E e M)**. Un insieme di codici Orfs molto piccoli per i polipeptidi coinvolti nelle fasi finali della formazione del virione (*ad esempio*, Orf3a e Orf9b).

Il vantaggio di queste sonde plasmidiche risiede nel fatto che consentono l'identificazione di presunti percorsi farmacologici, indicando i farmaci approvati esistenti che potrebbero essere riutilizzati per combattere l'attuale pandemia mondiale. Informazioni complementari possono essere ottenute da studi di imaging della localizzazione cellulare e della dinamica delle proteine

virali. Dato che le proteine SARS - CoV - 2 espresse individualmente interagiscono con un numero di proteine specifiche degli organelli, ci si può aspettare che queste proteine virali possano localizzarsi ed esercitare la loro funzione nei rispettivi organelli.

Ad esempio, **Nsp7** e **Nsp13**, proteine virali coinvolte nella replicazione del genoma, interagiscono con piccole proteine G della famiglia Rab o con i Golgi quindi potrebbero localizzarsi nel Golgi e / o influenzare la morfologia o la funzione del Golgi. Inoltre, poiché molte proteine SARS - CoV - 2 formano complessi proteici (*ad es.* , Nsp7 / 8/12; Nsp10 / 14), l'espressione combinata di tali proteine potrebbe essere necessaria per una ricapitolazione *in vitro* del loro comportamento.

Riferimento

Miserey-Lenkei S et al. A comprehensive library of fluorescent constructs of SARS-CoV-2 proteins and their initial characterisation in different cell types. Biol Cell. 2021 Mar 5:10.1111/boc.202000158.

