

23. Ottobre

Il tallone di Achille di SARS-CoV-2: **EXON** l'implacabile correttore di bozze

Se la vita avesse una seconda edizione.

Ah, come correggerei i refusi!

Oscar Wilde

Sebbene i vaccini forniscano protezione contro la sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2), permane la necessità di poter utilizzare antivirali efficaci per colpire COVID-19 attaccandolo nei suoi bersagli sensibili .

Uno dei più importanti target farmacologico per SARS-CoV-2 è il suo **complesso di replicazione e trascrizione (RTC)**, una "macchina multi sub unità" che esegue la replicazione del genoma virale e che pertanto, svolge un ruolo centrale nel ciclo vitale del virus .Il motore dell'**RTC** del coronavirus è l' **RNA polimerasi RNA-dipendente (RdRp)** una proteina non strutturale 12 (nsp12) che interagisce con **nsp7** e nsp8 due proteine del capsido, un bersaglio promettente per antivirali analoghi dei nucleotidi come ad esempio il **Remdesivir**.

Purtroppo l'efficacia degli inibitori dell'analogo nucleotidico è compromessa dalla presenza **dell'esoribonucleasi virale Nsp14 ExoN**, un "correttore di bozze" di RNA specifico per i coronavirus e alcune altre famiglie di virus strettamente correlate dell'ordine *Nidovirales* e che svolge un ruolo centrale per mantenere l'integrità del loro insolitamente grande genoma ad RNA.

Inoltre, gli **ExoN** dei coronavirus e di altri virus a RNA svolgono un ruolo strategico nell'evasione delle risposte immunitarie dell'ospite degradando gli intermedi virali di RNA a doppio filamento (dsRNA) che sarebbero altrimenti riconosciuti dai recettori di riconoscimento dei patogeni dell'ospite .

Nsp14 è in realtà un enzima bifunzionale che ospita sia **ExoN che mRNA cap guanina-N7 metiltransferasi (N7-MTasi)** .Il dominio **N-terminale ExoN di nsp14** migliora la fedeltà della sintesi dell'RNA rimuovendo nucleotidi o analoghi nucleotidici mal incorporati dall'RNA nascente, mentre il dominio **N7-MTasi C-terminale** è coinvolto nei processi di capping 5' degli mRNA virali genomici e subgenomici.

Inoltre l'attività **ExoN di nsp14** è stimolata da **nsp10**, che si lega al dominio **ExoN** e aiuta a stabilizzare l'architettura del **sito attivo ExoN** .

Tuttavia, i dettagli molecolari del legame del substrato da parte del coronavirus **nsp10-nsp14 ExoN** sono poco chiari. Il modo con **l'ExoN virale** riconosce ed elimina i nucleotidi incorporati in modo errato o gli inibitori degli analoghi dei nucleotidi all'estremità 3' dell'RNA appena sintetizzato, è solo parzialmente noto.

Gli analoghi dei nucleotidi come il **Remdesivir**, che prendono di mira la **RNA polimerasi virale**, sono ostacolati dall'attività **dell'esoribonucleasi (ExoN)** che implacabilmente rimuove i nucleotidi errati dall'RNA appena sintetizzato.

Remdesivir è l'unico antivirale analogo nucleotidico approvato dalla Food and Drug Administration statunitense per il trattamento del COVID-19. Per valutare se può essere asportato da **SARS-CoV-2 ExoN**,

Il team di **Liu** del *Department of Immunobiology di Yale* ha esplorato la struttura del complesso che ospita l'attività **ExoN** (nsp10–nsp-14) modellando un **mimo dell'RNA (RMP)** capace di incorporare un nucleotide errato. I dettagli sono nel lavoro ***Structural basis of mismatch recognition by a SARS-CoV-2 proofreading enzyme*** (*Science* 3 settembre 2021).

Questo ha consentito di comprendere come viene riconosciuto l'RNA e suggerisce come **ExoN** rimuova specificamente i nucleotidi non corrispondenti. Fornisce inoltre indizi per la progettazione di nucleotidi analoghi capaci di eludere la 'escissione.

Le informazioni ricavate dalla microscopia crio-elettronica rivelano i determinanti molecolari della specificità del substrato **ExoN** e offrono informazioni sui meccanismi molecolari della correzione del disadattamento durante la sintesi dell'RNA del coronavirus.

L'RMP modellato mantiene la maggior parte delle interazioni favorevoli formate tra nsp14 e il CMP 3'-end. Inoltre, il gruppo 1'-ciano di RMP, il determinante della sua attività di stallo RdRp ritardata **si adatta perfettamente** allo spazio tra H95 e N104 e forma legami idrogeno con gli atomi di azoto della catena laterale dai due residui

Queste osservazioni indicano che l'RNA prodotto contenente RMP **potrebbe essere un substrato** per **ExoN**, e che i coronavirus privi di attività di correzione di bozze ExoN sono significativamente più sensibili a **Remdesivir** ; inoltre che l'RNA prodotto **contenente RMP** potrebbe essere un substrato per il **coronavirus ExoN**, coerentemente con i risultati che l'RNA terminato con **RMP** non mostra una resistenza sostanziale all'escissione di **ExoN** e che i coronavirus privi di attività di correzione di bozze **ExoN** sono significativamente più sensibili a **Remdesivir**

Riflessioni e conclusioni:

Questo studio oltre ad offrire approfondimenti sul meccanismo di correzione del disadattamento durante la sintesi dell'RNA SARS-CoV-2 esplora le caratteristiche strutturali del substrato, essenziali per il riconoscimento e la catalisi del **complesso di replicazione e trascrizione (RTC)** fornendo una base per la progettazione guidata dalla struttura di **inibitori ExoN specifici e potenti.**

La co-somministrazione di tali inibitori con **antivirali RdRp** virali basati su analoghi nucleotidici potrebbe costituire un trattamento più efficace per COVID-19.