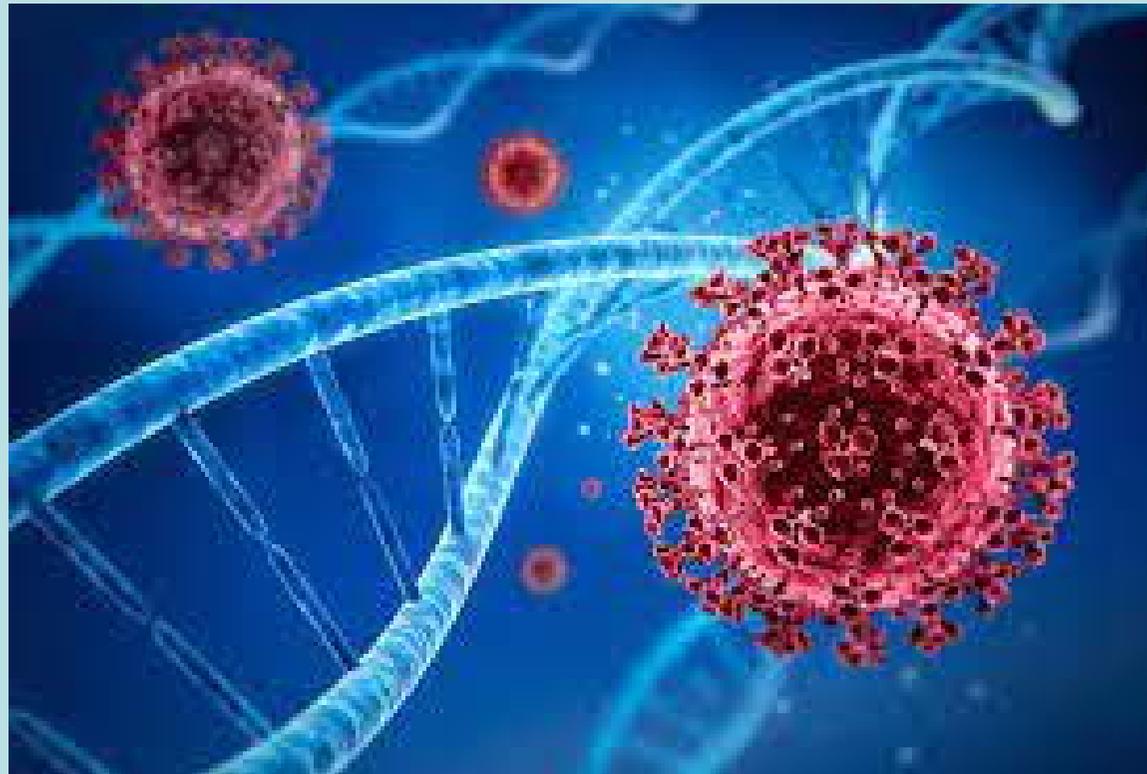


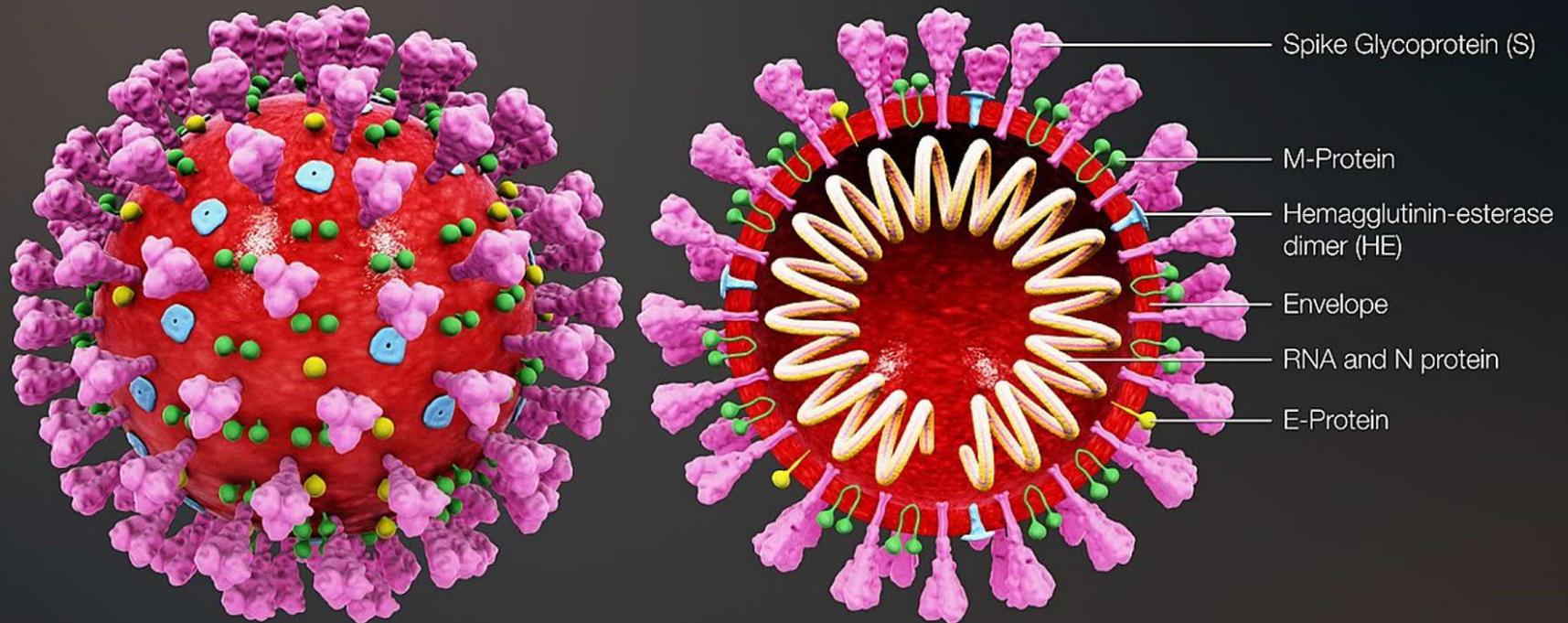
Genetica 4

Cosa c'è di nuovo in genetica?



Rita Dougan 2022

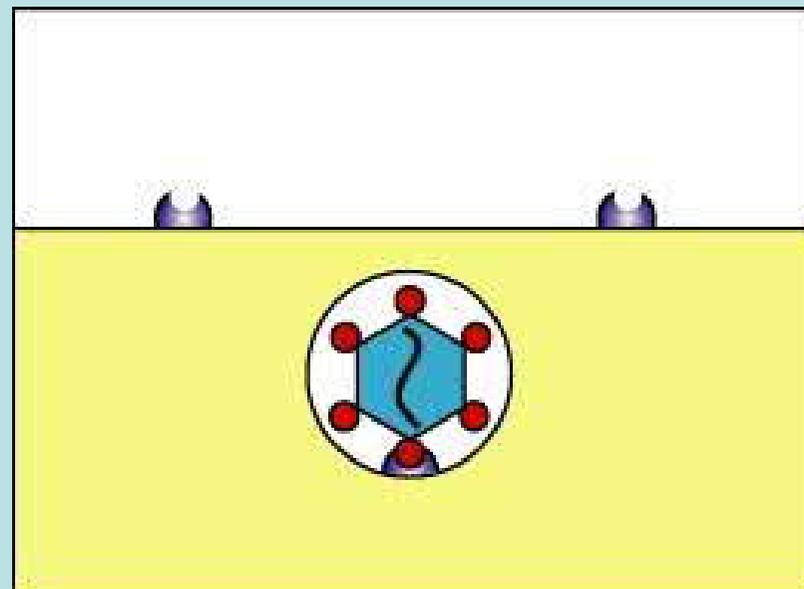
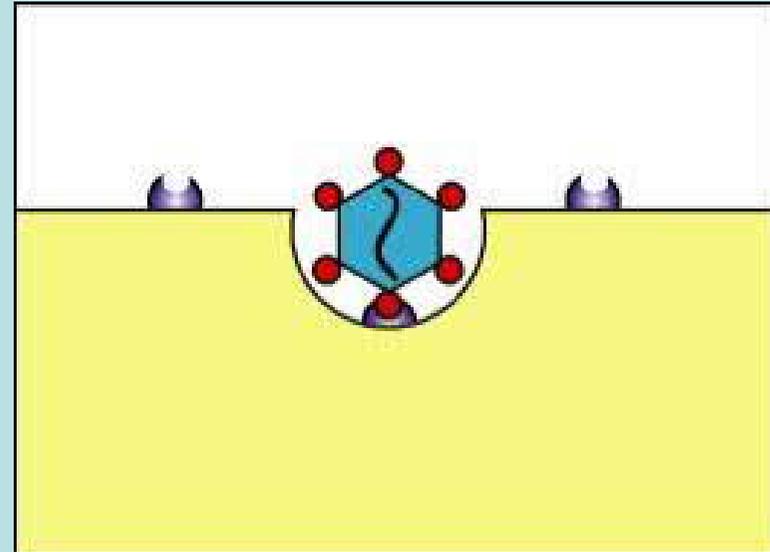
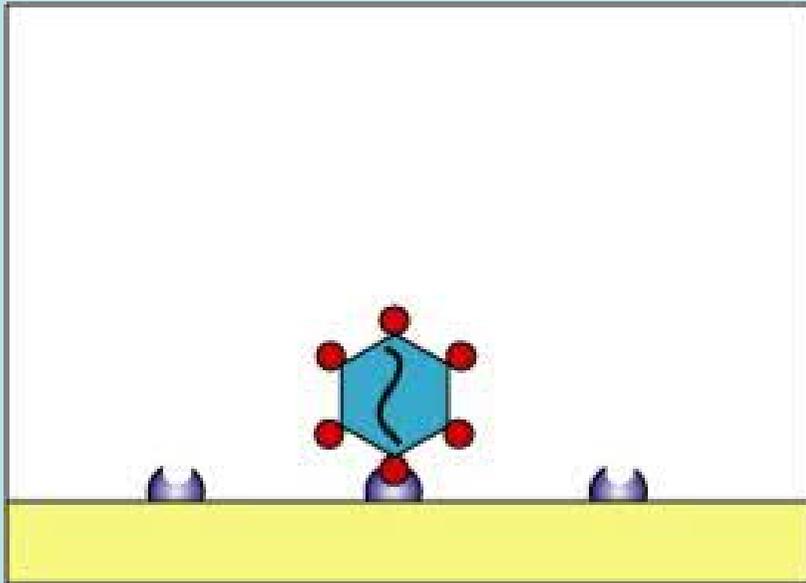
Coronavirus Sars CoV-2



Infezione da Covid 19

1. Il **Coronavirus Sars CoV-2** si lega alle cellule della mucosa respiratoria (il naso, la bocca) agganciandosi a un recettore cellulare dell'acetilcolina 2, detta ACE2, presente sulle cellule dell'epitelio delle alte vie respiratorie, ma anche del tratto intestinale superiore e inferiore, del cuore e del rene.
2. Il virus si fonde con la cellula e libera nella cellula il suo genoma, costituito da una catena di RNA.

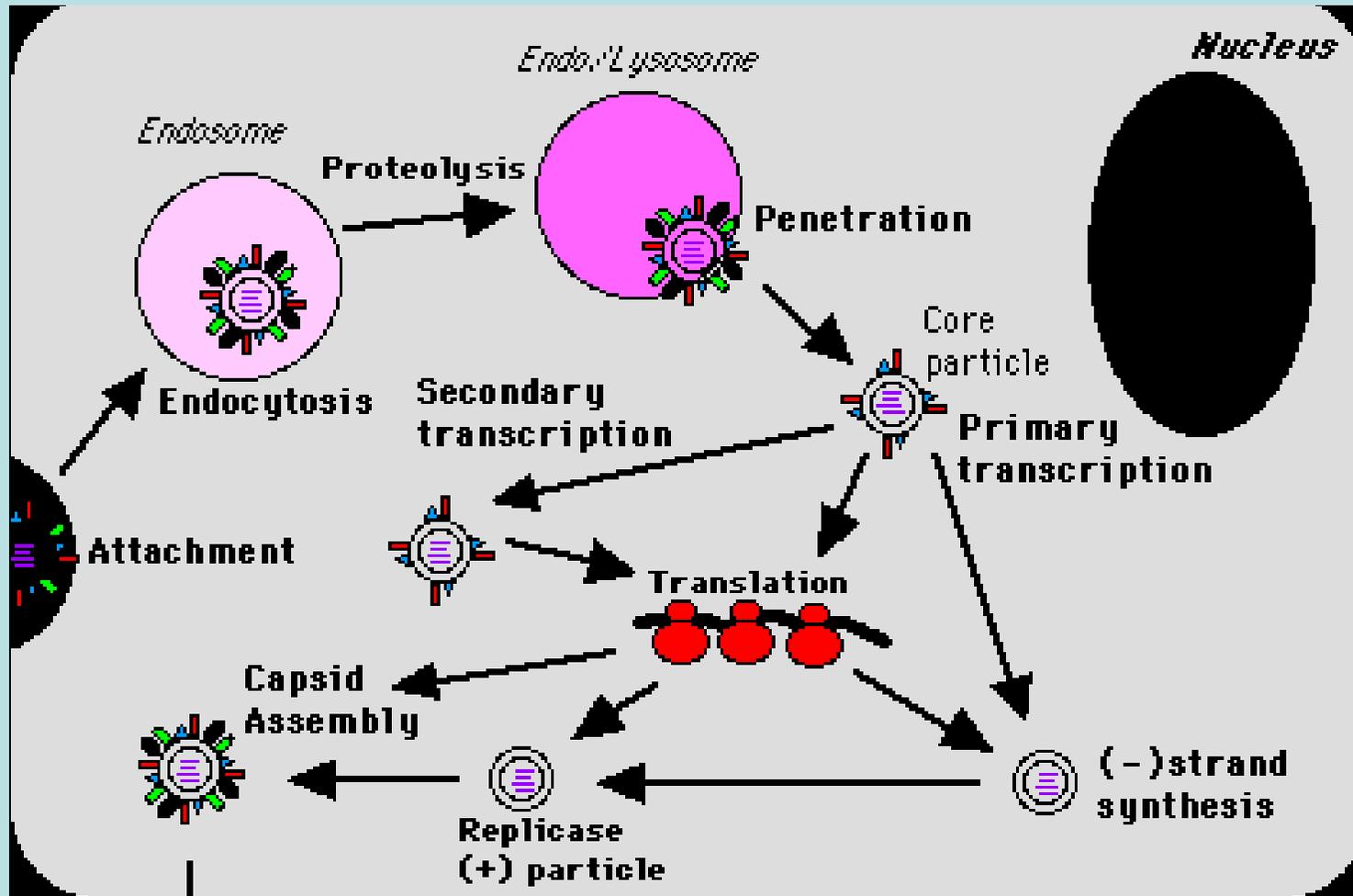
Attacco e penetrazione



Infezione da Covid 19

3. Dentro la cellula i ribosomi traducono il codice genetico dell'RNA virale producendo una proteina che si chiama "RNA polimerasi RNA dipendente", un enzima che può copiare l'RNA del Coronavirus creando così nuove copie del genoma virale.
4. I ribosomi traducono anche il codice genetico degli altri geni dell'RNA virale producendo tutte le altre proteine del virus.
5. Queste proteine vengono assemblate con una copia del genoma virale
6. Si forma un "virus figlio" che esce dalla cellula ed è pronto a infettare altre cellule e altre persone

Replicazione dei virus a RNA



Infezione da Covid 19

7. Una cellula può rilasciare **centinaia di copie** del virus poi muore perchè le sue risorse sono esaurite o viene uccisa dal sistema immunitario
8. Alcuni virus **infettano altre cellule**
9. Altri sono **liberati nell'aria** con il respiro

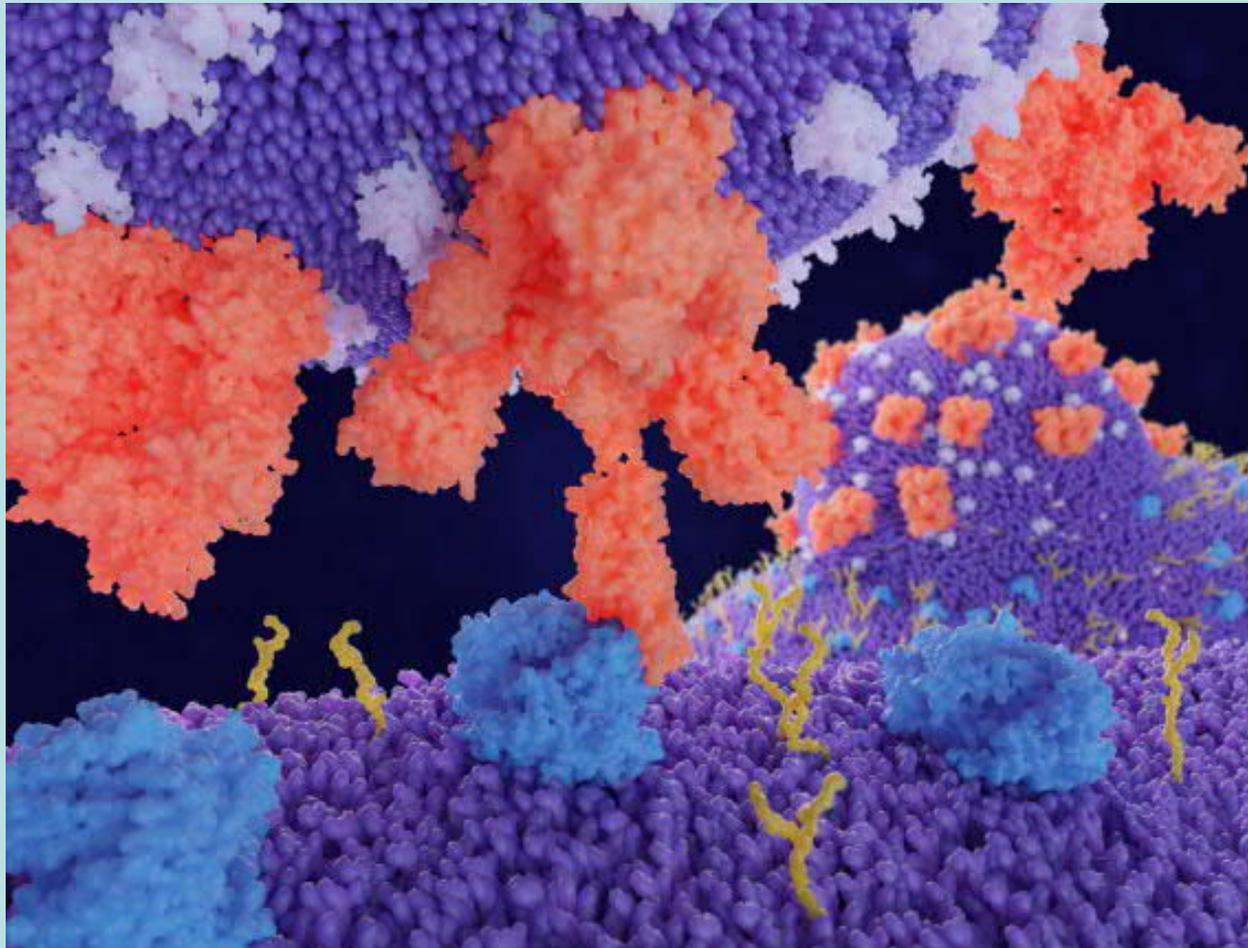
Infezione da Covid 19

L'infezione e la replicazione dipendono dalla capacità del virus di legare la sua proteina spike al recettore ACE 2 della cellula, ed entrare nelle cellule,

bloccando questo legame, impediamo al virus di entrare nella cellula e di provocare l'infezione.

Questa funzione di blocco del legame tra proteina spike e recettore ACE 2 viene svolta dagli anticorpi diretti contro la proteina spike che vengono prodotti grazie alla stimolazione dei vaccini

La proteina spike del SARS-CoV-2 (in rosso) si lega a un recettore ACE2 (blu) su una cellula umana e consente al virus di entrare nell'organismo: una visualizzazione 3D. In natura, al momento di fondersi con la cellula da attaccare, la proteina spike cambia forma, passando da un aspetto che ricorda quello di un tulipano alla sagoma slanciata di un giavellotto. Questa trasformazione confonde il sistema immunitario perché rende più difficile riconoscere l'antigene (ossia la "firma" proteica) dell'invasore.



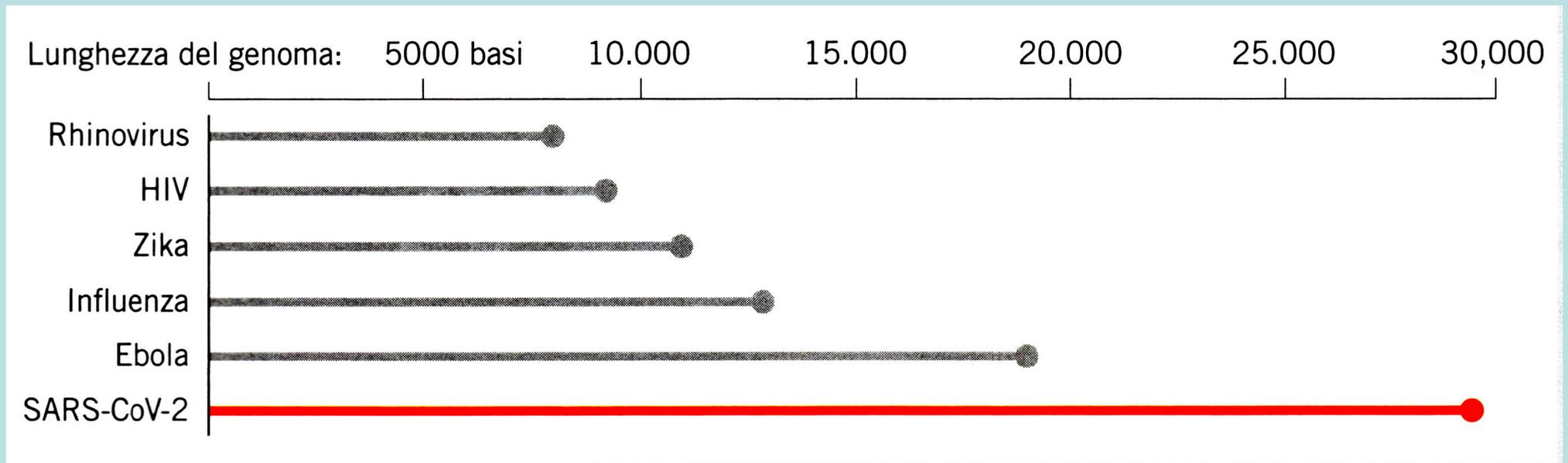
Caratteristiche virus Sars CoV-2

I Sars CoV-2 hanno il genoma più grande di tutti i virus a RNA è formato da 29900 basi

La sintesi dell'RNA di Sars CoV-2 presenta delle particolarità:

nella cellula infetta sono sintetizzate, nel complesso, più molecole di mRNA del CoV-2 che della cellula stessa, come se, in qualche modo, l'espressione dei geni cellulari venisse spenta

Lunghezza del genoma



Caratteristiche virus Sars CoV-2

L'RNA del virus contiene oltre al gene replicasi, i geni per la produzione delle proteine strutturali:

spike

envelope (proteina del rivestimento del virione);

M (proteina di membrana);

N (proteina del nucleocapside, che complessa l'RNA virale)

Ci sono anche dei geni accessori che forse codificano per proteine che aiutano il virus ad eludere il sistema immunitario

La ricerca

La risposta al virus è molto individuale e partendo da questo si sono fatti molti studi, si è arrivati a comprendere che questa variabilità è strettamente legata a

fattori genetici

fattori immunologici

quasi il 15% delle forme gravi di Covid-19 dipende proprio da queste cause.

"Covid Human Genetic Effort"

Progetto di ricerca condotto dal Consorzio internazionale di genetica 'Covid Human Genetic Effort'

Ricerca iniziata nel 2020 dal gruppo internazionale coordinato da Jean-Laurent Casanova, della Rockefeller University, comprende oltre 50 centri di sequenziamento e centinaia di ospedali in tutto il mondo e al quale partecipa anche l'Italia: Laboratorio di genetica medica dell'università di Roma Tor Vergata,

Istituto San Raffaele di Milano,

Ospedale Bambino Gesù di Roma,

Istituto di genetica e biofisica "A. Buzzati-Traverso" del Consiglio nazionale delle ricerche (Cnr-Igb)

Ricerca

Hanno analizzato campioni di sangue di 987 pazienti gravemente malati di tutto il mondo e hanno scoperto che oltre il 10% di loro presentavano livelli elevati di auto-anticorpi che, invece di colpire il patogeno, andavano a bersagliare l'interferone I, impedendone l'azione antivirale.

Questi anticorpi sono invece risultati scarsi nella popolazione generale, presentandosi solo nello 0,33% di oltre 1200 persone sane testate, e non sono stati rilevati in nessuna delle 663 persone con infezione lieve o asintomatica da SARS-CoV-2 che andavano a costituire il gruppo di controllo

Ricerca

In circa il 10% dei pazienti sani in cui l'infezione evolve in forme gravi tutto ha origine da un **comportamento errato degli anticorpi** che **attaccano l'interferone I** al posto del virus, secondo meccanismi tipici delle malattie autoimmuni.

In un altro 3,5% dei casi severi è una **mutazione genetica** **limita la produzione dell'interferone I**.

Sono lavori complementari e che si rinforzano a vicenda perché entrambi sottolineano la relazione esistente tra una parte dei casi gravi di Covid-19 e il funzionamento anomalo, o l'assenza, del sistema di difesa costituito dagli interferoni.

"Covid 19 Host Genomics Initiative"

Marzo del 2020: è nata la "Covid-19 Host Genomics Initiative", una rete internazionale di circa 3.500 ricercatori di 50 Paesi, a cui ha contribuito anche l'Italia con la partecipazione di numerosi enti, come l'**università di Siena, l'Irccs Humanitas e il Politecnico di Milano**.

Il progetto, partito da un'idea di Andrea Ganna e del collega Mark Daly, entrambi al lavoro all'università di Helsinki e al Broad Institute di Cambridge, in Massachusetts, si è esteso fino a diventare una delle più ampie collaborazioni nell'ambito della genetica umana e il riepilogo dei loro studi (in totale sono oltre 40) è arrivato sulle pagine della rivista Nature

Si tratta di una ricerca basata sui dati di quasi **50.000 persone positive al virus** e su quelli di circa **2 milioni di soggetti sani** di controllo:
una mole di informazioni (in continua estensione) che rendono questo lavoro il più grande studio di associazione a livello genomico che sia mai stato eseguito per Covid-19

Risultati

Risultati: sono coinvolte 13 varianti genetiche del DNA

- quattro regioni del DNA sembrano **umentare** la **probabilità** di contrarre l'infezione,
- altre nove sembrano **favorire** lo sviluppo di un **quadro clinico grave** in caso di contagio da SARS-CoV-2.

Queste regioni sono molto indipendenti l'una dall'altra, esiste

- una componente genetica legata alla suscettibilità
- un'altra legata alla progressione della malattia

"Si tratta di qualcosa che nell'ambito delle malattie infettive non era noto, anche perché sono state tradizionalmente poco esplorate dagli studi di genetica umana", spiega il professor Andrea Ganna

Ricerca dell'Istituto Humanitas

Uno studio coordinato dall'Istituto Clinico Humanitas in collaborazione con l'Ospedale San Raffaele di Milano ed altri istituti internazionali, ha scoperto che la produzione della **molecola MBL** (Mannose Binding Lectin) da parte del nostro sistema immunitario è in grado di **legare** e **neutralizzare** la **proteina spike** del coronavirus.

Complemento e molecola MBL

Alla base dell'immunità innata c'è la produzione di particolari proteine dette del "complemento" che servono a rispondere in maniera rudimentale alle infezioni.

Una sorta di "antenati" degli anticorpi che negli ultimi anni sono stati caratterizzati con maggior precisione.

Alberto Mantovani, direttore scientifico di Humanitas- spiega:

Concentrandoci sull'interazione tra questi e Sars-CoV-2 abbiamo scoperto che una di tali molecole dell'immunità innata, chiamata **Mannose Binding Lectin (MBL)**, si lega alla proteina spike del virus e lo blocca».

Funzioni di MBL

Incrociando i dati sulla severità della malattia e i livelli di MBL è risultato che variazioni genetiche che controllano la produzione di MBL sono associate a gravità di malattia da Covid-19

Una caratteristica, quella dei livelli di MBL, che se fosse confermata potrebbe essere sfruttata per orientare le scelte dei medici di fronte a manifestazioni così diverse e mutevoli della malattia

MBL dimostra un'importante attività antivirale, azione di blocco, che potrebbe essere un'arma in più contro le varianti in circolazione, inclusa Omicron.

La vaccinazione

- I **vaccini tradizionali** contengono microrganismi o parte di essi:
 - virus o batteri attenuati, cioè manipolati in modo da essere ancora in grado di moltiplicarsi nel corpo umano ma non di dare la malattia;
 - virus o batteri inattivati, cioè uccisi;
 - virus o batteri disgregati;
 - componenti purificate da preparazioni di virus o batteri.
- I **vaccini ricombinanti** sono costituiti da proteine virali prodotte con biotecnologie, a partire da geni clonati in cellule di lievito.

Nuovi vaccini

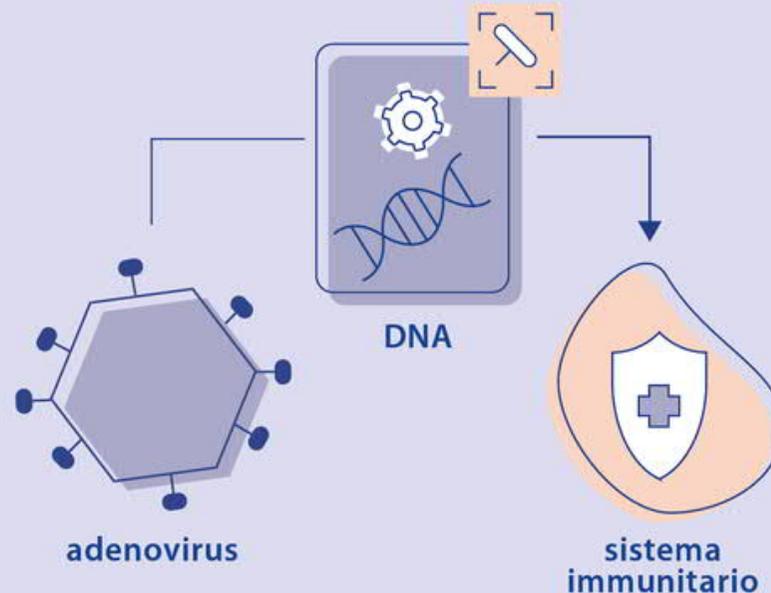
Vaccini a vettore virale: Astra Zeneca,
Johnson

Vaccini a RNA: Pfitzer, Moderna

Vaccini a vettore virale

Cos'è un vettore virale?

I vaccini a vettore virale sfruttano la versione meno aggressiva di un virus per fornire in sicurezza alle nostre cellule **istruzioni** sotto forma di codice genetico.

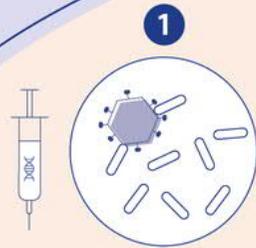


Grazie a tali istruzioni il corpo è in grado di produrre un elemento innocuo del coronavirus: la **proteina spike**.

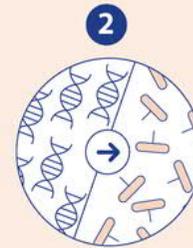
Con questo tipo di vaccino il sistema immunitario si familiarizza con la proteina spike e, in caso di infezione, è in grado di neutralizzare il coronavirus e **prevenire la malattia**.

I vettori virali utilizzati nei vaccini
non modificano il DNA né interagiscono con esso

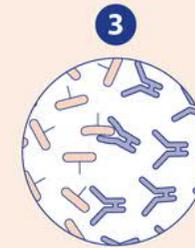
Cosa succede nel corpo quando riceviamo un vaccino a vettore virale?



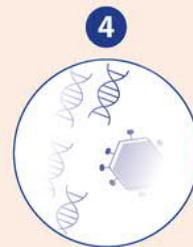
1
dopo l'iniezione
l'**adenovirus** che trasporta le
istruzioni per la creazione di
proteine spike **penetra nelle**
cellule



2
il corpo **crea**
proteine spike



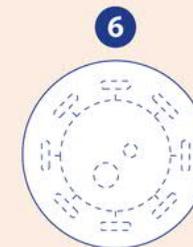
3
il sistema immunitario
individua le proteine
estrane e produce
anticorpi e **immunociti**
per attaccarle



4
il corpo si libera
rapidamente
dell'**adenovirus** e
delle **informazioni**
genetiche



5
se veniamo poi infettati
dal coronavirus, il
sistema immunitario
individua le proteine
spike e **distrugge** il
virus



6
non ci ammaliamo

Vaccini a RNA

I vaccini a mRNA devono essere conservati a temperature fino a 80 gradi sotto lo zero,

perchè l'RNA è una molecola effimera, fragile che è presente nella cellula unicamente durante lo svolgimento della sua specifica funzione e si degrada molto facilmente,

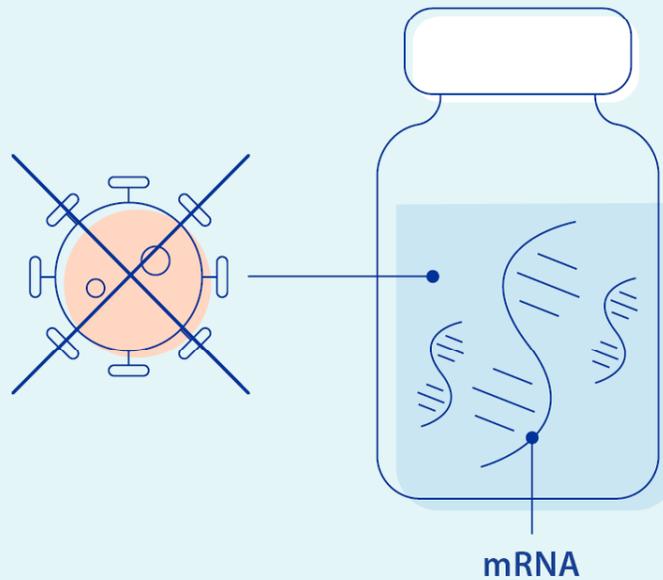
all'interno del vaccino, l'mRNA è protetto, incapsulato all'interno di sfere fatte di grassi (liposomi), simili a quelli presenti delle nostre cellule,

una volta iniettati nel nostro corpo, i liposomi liberano l'mRNA che contiene le informazioni necessarie per produrre la proteina Spike del virus.

Vaccini a RNA

I vaccini basati sulla tecnologia mRNA ci proteggono dalla COVID-19 senza esporci al virus.

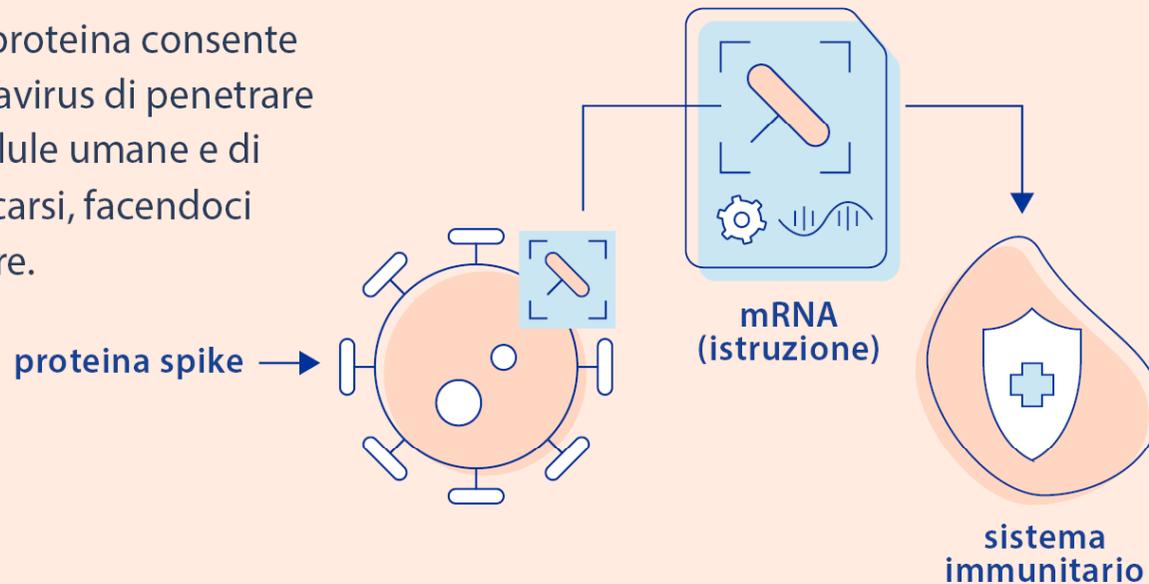
Non contengono virus attenuati o inattivati.



Contengono invece un tipo di **informazione** genetica (detta mRNA) con istruzioni su come creare **copie** della **proteina spike** del coronavirus.

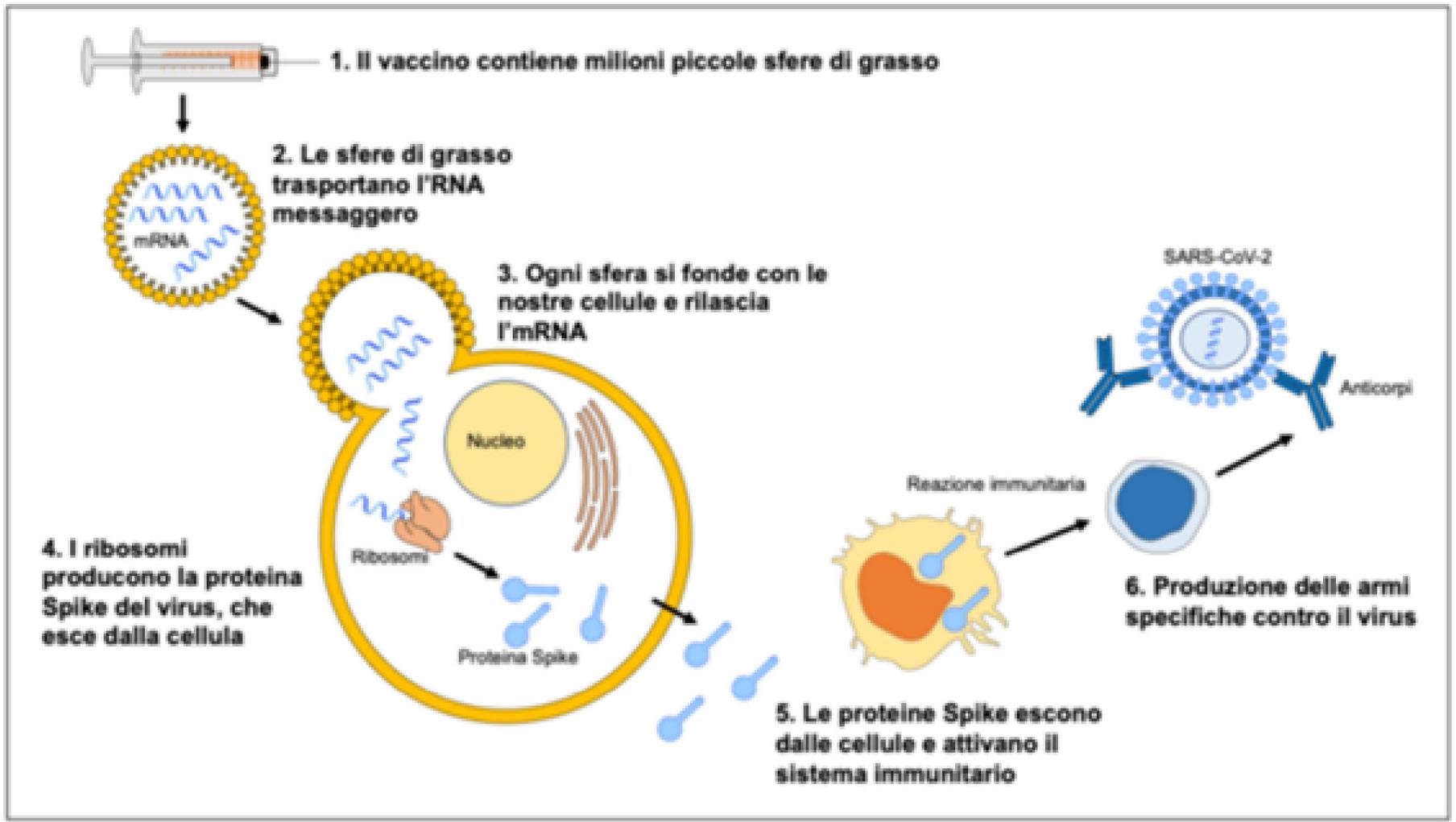
Perché è necessario che il corpo crei la **proteina spike**?

Questa proteina consente al coronavirus di penetrare nelle cellule umane e di moltiplicarsi, facendoci ammalare.

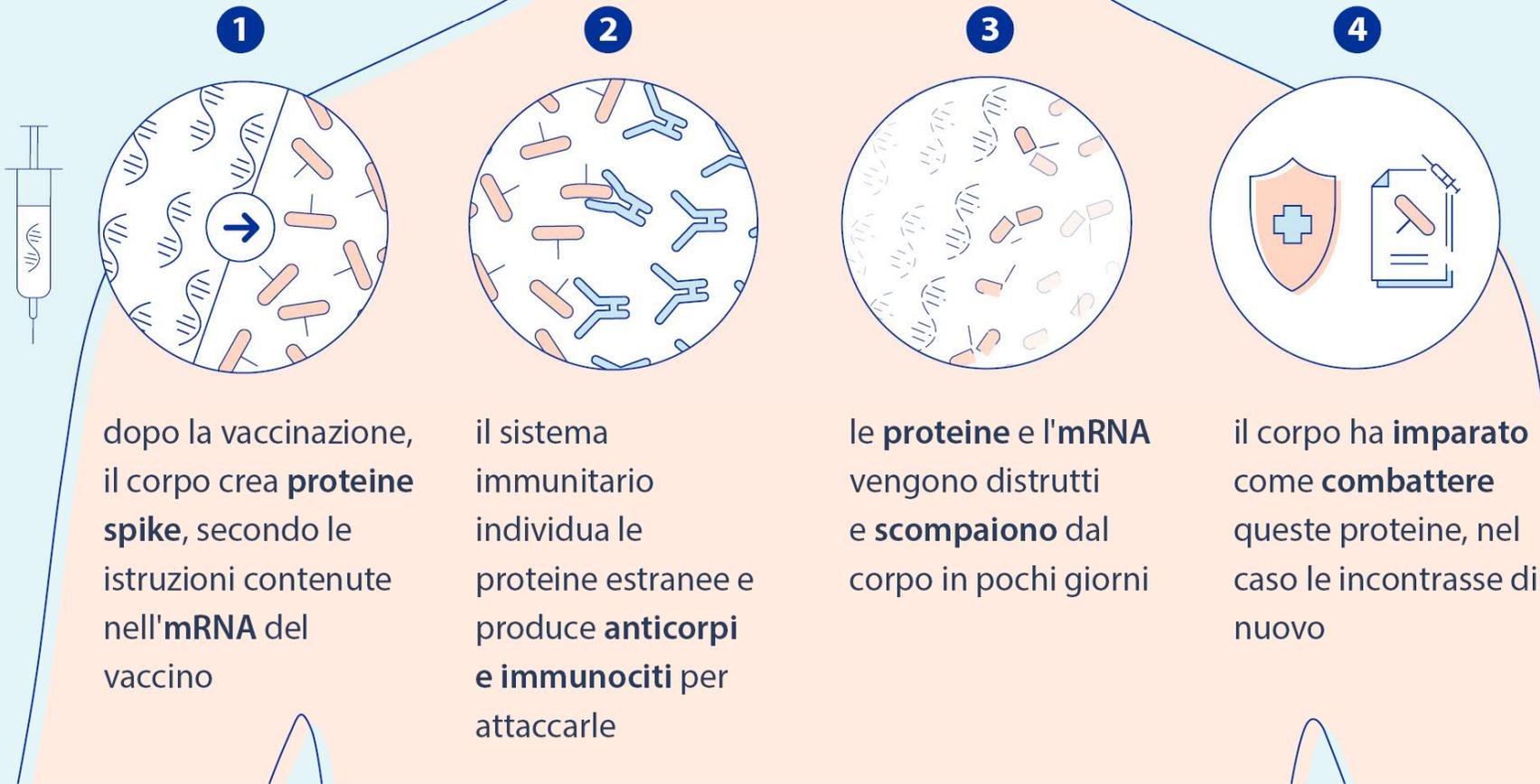


I vaccini a mRNA insegnano al corpo a creare queste proteine, così che il sistema immunitario si familiarizzi e sia pronto a sconfiggerle nel caso si venga infettati dal virus.

Da sola la proteina spike **non ci può fare alcun male.**



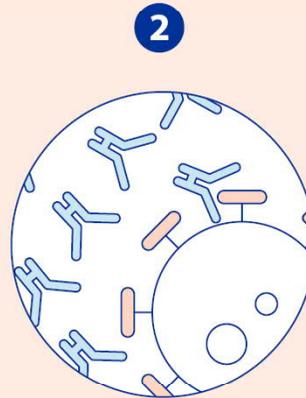
Cosa succede nel corpo quando riceviamo un vaccino a mRNA?



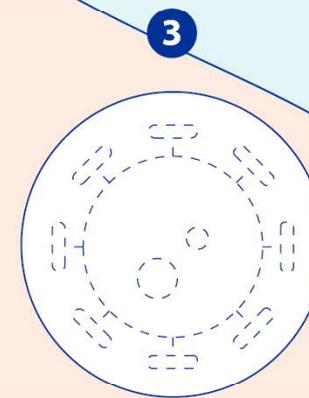
Come reagisce il corpo se veniamo infettati dal coronavirus quando siamo già vaccinati?



1
il sistema immunitario **individua** le proteine spike del coronavirus



2
il corpo sa già come combattere queste proteine e le **attacca**



3
di conseguenza **non ci ammaliamo**

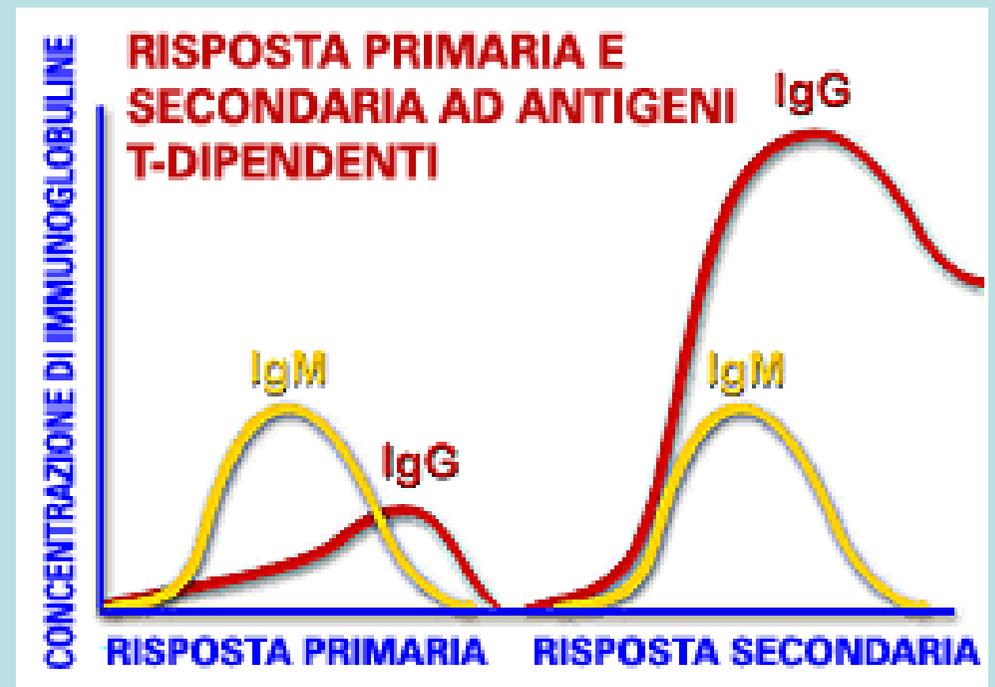
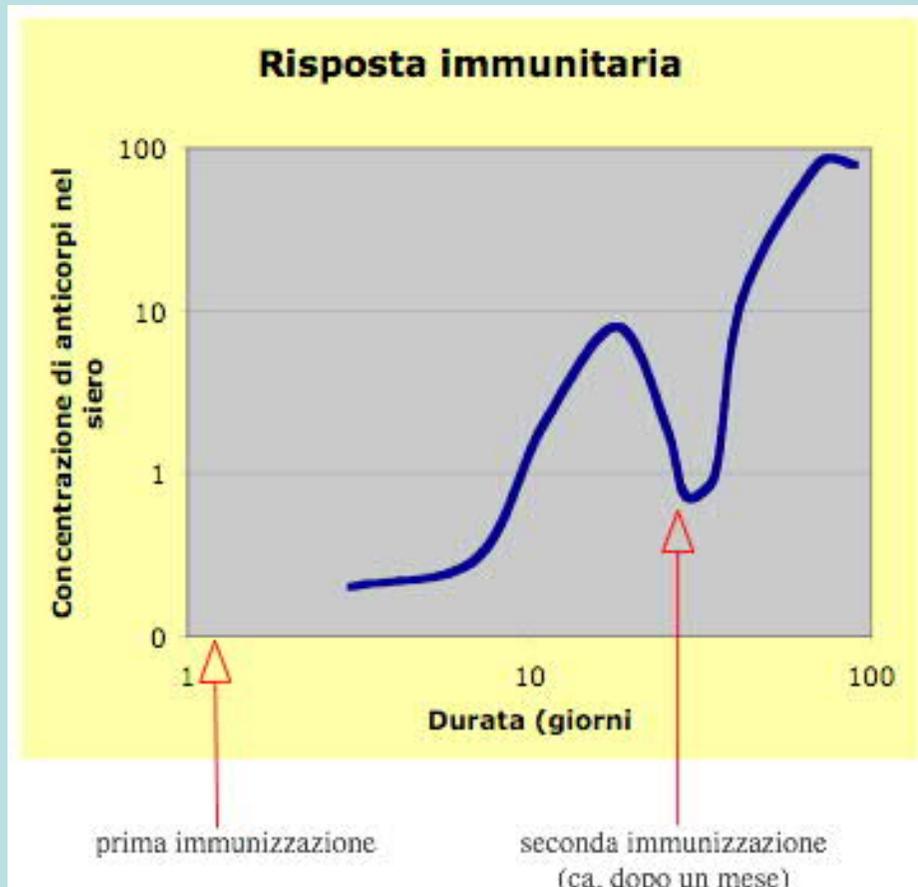
I vaccini a mRNA hanno un elevato tasso di efficacia comprovato che arriva al **95%**



Consiglio dell'Unione europea
Segretariato generale

© Unione europea, 2021
Riproduzione autorizzata con indicazione della fonte

Risposta immunitaria



Vaccini a RNA

- 1987 esperimenti con RNA contenuto in liposomi
- 1993 vaccini a mRNA per influenza testati su topi
- 2001-2005 perfezionamento tecnica produzione nanoparticelle lipidiche
- 2005 scoperta che l'mRNA con "U" modificata funziona meglio (non viene distrutto dal sistema immunitario)
- 2013 primo trial clinico (vaccino antirabbico)
- 2015 primo trial clinico (influenza)
- 2018 approvazione primo farmaco con nanoparticelle lipidiche
- 2020 approvazione vaccini mRNA per Covid 19

Genoma SARS CoV-2 e vaccino

Tra il 5 e il 10 gennaio 2020 gli scienziati cinesi hanno pubblicato il genoma completo del SARS CoV-2.

Ci sono voluti 42 (?) giorni per avere un mRNA candidato alla produzione del vaccino.

Gli ingenti fondi e il capitale umano investiti nello sviluppo hanno permesso di avere risultati in tempi da record, senza mai trascurare la sicurezza.

"Ricetta genetica" del vaccino Pfizer

Vaccino Cominarty Biontech = Pfizer

Genoma del vaccino:
sequenza di 4284 caratteri

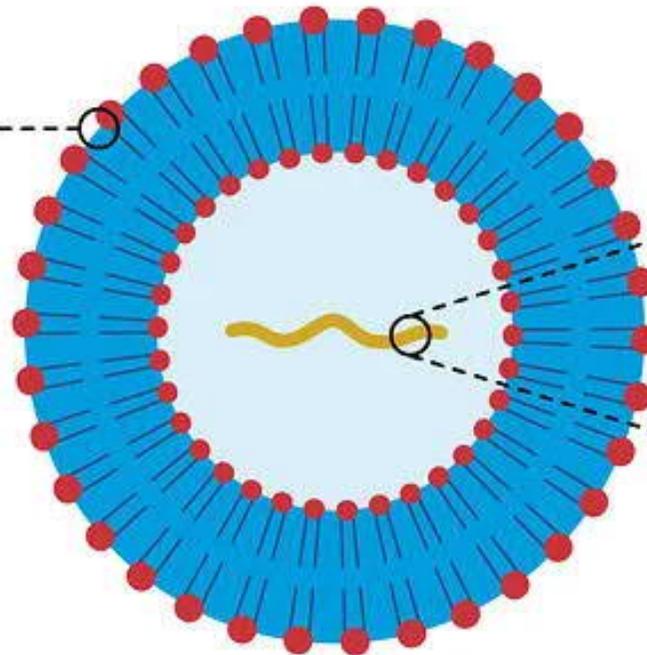
proteina spike con 2 mutazioni = 3777 nucleodidi =
= 1256 codoni

la U è sostituita con una pseudo-U (Y), scoperta da Katalin Karikó nel 1995, che ha la proprietà di essere sufficientemente diversa dalla U, da permettere al vaccino di aggirare il sistema di riconoscimento e distruzione dell'RNA esterno da parte della cellula, ma sufficientemente uguale alla U, da permetterne l'uso da parte del ribosoma per la produzione delle proteine

Vaccino Pfizer

Nanoparticella lipidica

L'involucro lipidico consente un miglior assorbimento da parte delle cellule in cui è iniettato



Molecola di RNA messaggero



...GCA $\Psi\Psi$ CAG Ψ AC $\Psi\Psi\Psi$ GA...

La base azotata uridina (U) è sostituita da una pseudouridina (Ψ)

Questa modifica stabilizza l'RNA messaggero e ne limita la degradazione da parte del sistema immunitario

Vaccino Novavax

Il **vaccino Novavax** contiene, aggregati di proteine simili alla proteina Spike del virus responsabile della COVID 19

Si inocula questa proteina estranea



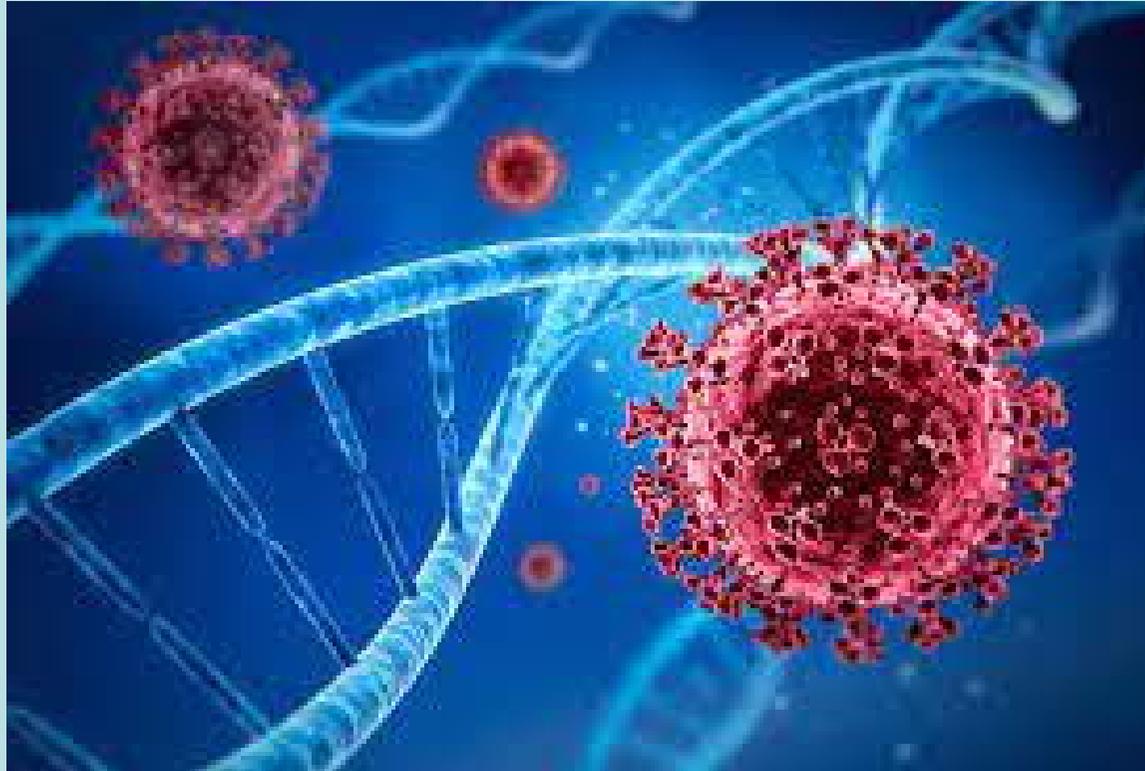
il sistema immunitario a reagisce
produce anticorpi e cellule immunitarie specifiche



pronte ad intervenire in caso di contagio.

Il vaccino non contiene codice genetico, quindi niente RNA o DNA come i vaccini di Pfizer e Moderna, e né contiene il virus vivo o attenuato, ma solo frammenti proteici prodotti mediante **tecnologie ricombinanti**.

Genetica 4



Grazie

Rita Dougan 2022