ارزیابی مخازن ویروس سارس کوید۲ بر اساس آنالیز فیلوژنتیک توالی آمینواسیدهای پروتیین سطحی S و گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2)

مجید باصری صالحی*

دانشیار گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

دریافت مقاله: ۱۱ بهمن ۱۴۰۰، بازنگری: ۱۷ اسفند ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۲۲ اسفند ۱۴۰۰

چکیده

ویروس سارس کوید۲ دارای ساختاری کروی شکل است که حاوی پروتئین‌های M، E، N و S می‌باشد. پروتئین سطحیS این ویروس نقش مهمی در اتصال ویروس به گیرنده سطحی سلولی ACE2 میزبان دارد. هدف از این تحقیق ارزیابی مخازن ویروس سارس کوید۲ بر اساس ارتباط فیلوژنتیک توالی آمینو اسیدهای پروتئین سطحی S ویروس و گیرنده سطحی سلولی ACE2 در موجودات مختلف می‌باشد. برای انجام این تحقیق توالی کامل ژنوم، توالی آمینو اسیدهای پروتئین سطحی S ویروس سارس کوید۲ و توالی آمینو اسیدهای گیرنده سطح سلول ACE2 برخی حیوانات و انسان از وبگاه NCBI و GenBank گرفته شد و با استفاده از نرم‌افزار مگا x روابط فیلوژنتیکی مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که ویروس‌های سارس کوید۲ جدا شده از مناطق جغرافیایی مختلف دارای منشأ مشترکی بودند. آنالیز پروفایل آمینو اسیدهای پروتئین سطحی S در واریته‌های مختلف نشان‌دهنده تغییرات زیاد و سرعت جهش در ژنوم این ویروس‌ها می‌باشد. از طرف دیگر توالی آمینو اسیدهای پروتئین ACE2 انسان شباهت زیادی به حیواناتی مانند خوک، شتر، خفاش، روباه پرنده و خفاش میوه‌خوار داشت که نشان‌دهنده مخزن‌های مختلف ویروس می‌باشد. بنابر این جهش ژنی در ناحیه کدکننده پروتئین سطحیS این ویروس و تشابه توالی آمینو اسیدهای پروتئین ACE2 در موجودات مختلف می‌تواند باعث ظهور واریته‌های جدید ویروس در مخازن گوناگون حیوانی گردد که این پدیده احتمال سرایت ویروس را به انسان، حتی پس از واکسیناسیون و ایجاد ایمنی گروهی افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: *آنالیز فیلوژنتیک، سارس کوید ۲، S پروتئین، ACE2*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: majidbaserisalehi682@gmail.com

مقدمه

کرونا ویروس، ویروس کروی و RNA داری است که به‌عنوان عامل ایجاد کننده بیماری‌های سارس و مرس شناخته می‌شود. این ویروس در سال ۲۰۱۹ در شهر ووهان از استان هوبی کشور چین عفونتی شبیه به ذات‌الریه ایجاد کرد که این بیماری را به نام کوید ۱۹ و عامل آن را سارس کوید ۲ گزارش کردند (۱، ۲). عموماً علایم این بیماری تب، سرفه، درد عضلانی، خستگی، بی‌حالی همراه با تنگی احتمالی مجاری تنفسی است که در برخی موارد با میزان ۲ تا ۳ درصد باعث ایجاد مرگ می‌گردد. ویروس سارس کوید ۲ دارای پروتیین‌های S، M، N و E می‌باشد که نقش مهمی در بقای ویروس ایفا می‌کنند. پروتیین S با وزن مولکولی ۱۸۰ تا ۲۲۰ دالتون به تعداد زیاد بر روی سطح این ویروس قرار دارد و در اتصال به سلول میزبان و ایجاد عفونت نقش مهمی ایفا می‌کند. این پروتیین با اتصال به گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2) و ایجاد فعالیت پروتولیتیکی شکسته شده و شرایط نفوذ ویروس را به درون سلول مهیا می‌نماید (۳). گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین بر روی غشا خارجی بسیاری از سلول‌های انسان از جمله ریه، رگ‌های خونی، قلب، کلیه‌ها و روده وجود دارد. این آنزیم از طریق تجزیه و تبدیل آنژیوتنسین ۲ موجب کاهش فشار خون از طریق گشاد کردن رگ می‌گردد (۴). امروزه ثابت شده است که گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2) علاوه بر انسان، در سطح سلول‌های موش، خوکچه، اسب، میمون، پرندگان، حشره، خفاش و بسیاری از موجودات دیگر هم وجود دارد (۵، ۶).

به‌طور کل ویروس‌ها موجوداتی کاملاً وابسته به میزبان در نظر گرفته می‌شوند. به همین دلیل بقای ویروس‌ها می‌تواند در طبیعت وابسته به میزبان و مخازن آنها باشد. این مخازن با ایجاد شرایط مطلوب موجب رشد ویروس و حفظ بقای آنها می گردند (۷، ۸). سوالی که با توجه به این اطلاعات مطرح می‌گردد این است که چه موجوداتی و با چه ویژگی می‌توانند قابلیت مخزن شدن ویروس‌ها و به‌خصوص ویروس کرونا را در طبیعت داشته باشند. برای پاسخ به این سوال، تحقیق حاضر گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2)را به عنوان مولکول گیرنده ویروس کرونا بر اساس گزارش ها (۳، ۵) در نظر گرفته و با استفاده از توالی نوکلئوتیدهای ژنوم کامل ویروس، توالی آمینواسیدهای پروتیین سطحی S و توالی آمینو اسیدهای این مولکول سعی بر انجام آنالیز فیلوژنتیک با هدف آشنایی با مخازن ویروس کرونا می‌نماید. در این تحقیق مخازن ویروس کرونا (وابسته به منطقه جغرافیایی) که باعث همه‌گیری‌های احتمالی در آینده باشد ارزیابی شده، و سرایت این ویروس به انسان با استفاده از مخازن ویروس مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

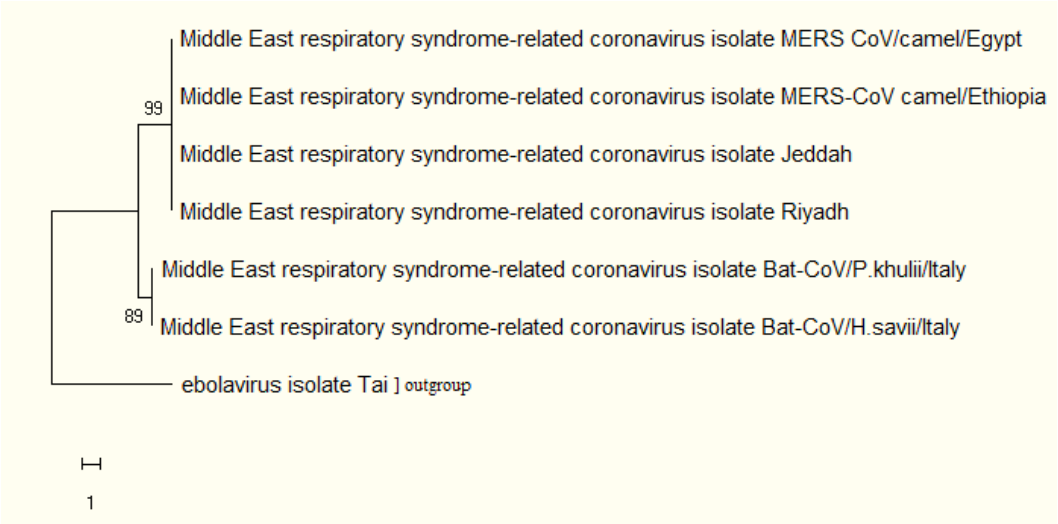
مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر توالی ژنوم کامل ویروس کرونا، توالی آمینواسیدهای پروتئین‌های سطحی S این ویروس و توالی گیرنده سطح سلولی ACE2 موجودات مختلف مانند خفاش نعل بینی، خفاش پهن بینی، شتر دو کوهان، خفاش برزیلی، خوک، خفاش قهوه‌ای، خفاش، روباه پرنده، خفاش سبیل‌دار و خفاش میوه‌خوار از وبگاه NCBI و GenBank دانلود گردید.. سپس با استفاده از نرم‌افزار Mega X توالی‌های به دست آمده هم ردیف شده و با استفاده از روش نیبورن جونینیگ با بوت استراپ ۵۰۰ تکرار مورد آنالیز قرار گرفتند (۹). در ادامه توالی ژنوم کامل ویروس مرس نیز بر اساس منطقه جغرافیایی از وبگاه NCBI و GenBank دانلود گردید. سپس ژنوم‌های به دست آمده در مقایسه با یکدیگر و همچنین در مقایسه با توالی ژنوم کامل ویروس سارس کوید۲ مورد آنالیز قرار گرفتند. این توالی‌ها با

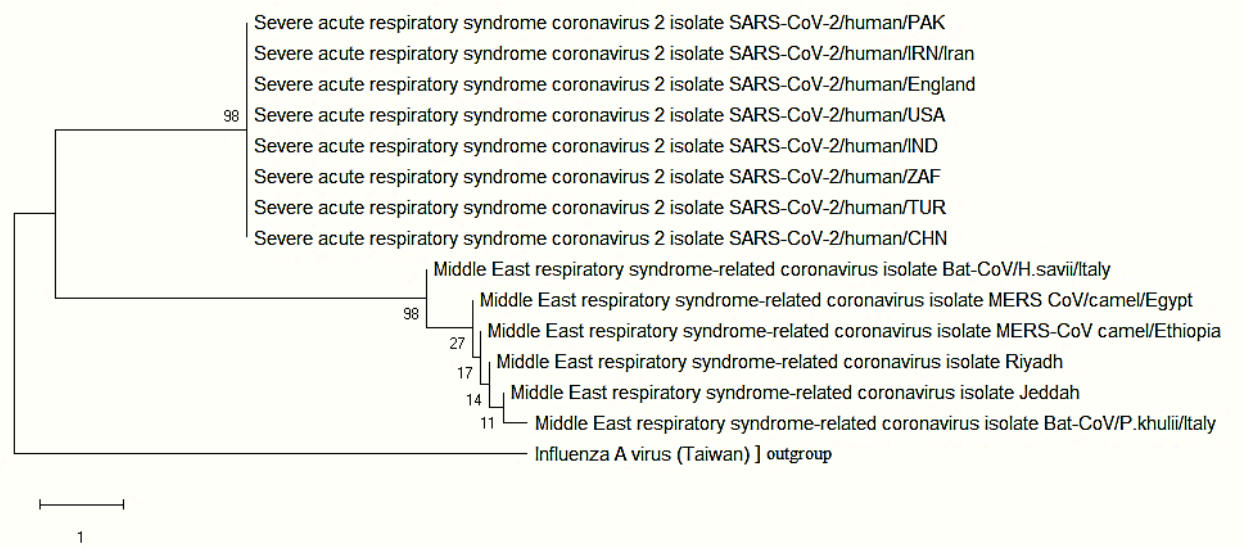
استفاده از روش بیان شده هم ردیف شدند. سپس با استفاده از روش نیبورن جونینیگ با بوت استراپ ۵۰۰ تکرار مورد آنالیز قرار گرفتند. در تحقیق حاضر علاوه بر آنالیزهای انجام شده فاصله توالی ژنوم‌های کامل ویروس کرونا و نوع جهش (ترانزیشن و ترانس ورژن) با استفاده از نرم‌افزار Mega X محاسبه و ثبت گردید.

نتایج

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان دادکه ویروس‌های کرونای عامل بیماری مرس جدا شده از مصر، اتیوپی، جده و ریاض (عربستان صعودی) همگی منشأ یکسانی دارند (این ویروس‌ها همه در یک کلد درخت فیلوژنتیک قرار گرفتند). اگرچه ویروس کرونای عامل بیماری مرس جدا شده از ایتالیا در کلدی جداگانه قرار گرفت (شکل ۱). ترسیم درخت فیلوژنتیکی کرونا ویروس‌های عامل بیماری کوید ۱۹ و ویروس‌های عامل بیماری مرس نشان می‌دهد که توالی ژنوم همه ویروس‌های سارس کوید۲ به دست آمده از مناطق جغرافیایی مختلف (پاکستان، ایران، انگلستان، آمریکا، هندوستان، افریقای جنوبی، ترکیه و چین) در یک کلد قرار گرفتند که بیانگر ارتباط نزدیک با منشأ مشترک این ویروس‌ها می‌باشد (شکل ۲). از طرف دیگر محاسبه فاصله ساختار ژنوم به دست آمده (d=0.53) نشان داد که با در نظر گرفتن گروه خارجی (out group) این فاصله بسیار ناچیز بوده است (شکل ۳). از نظر نوع جهش بیشترین جهش نقطه‌ای ترانزیشن (۱۵/۹) و بیشترین جهش نقطه‌ای ترانس ورژن (۶/۸۵) مربوط به نوکلئوتیدهای T/U می‌باشد. در حالی که کمترین جهش نقطه‌ای ترانزیشن (۱۰/۸) و کمترین جهش نقطه‌ای ترانس ورژن (۴/۹) مربوط به نوکلئوتید C محاسبه گردید (جدول ۱).



شکل ۱- درخت فیلوژنتیک ویروس کرونا عامل بیماری مرس جدا شده از مناطق مختلف



شکل ۲- ترسیم درخت فیلوژنتیک کرونا ویروس‌های عامل بیماری کوید ۱۹ (Sar s- cov۲) و مرس

Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/IND	0.0013													
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/England	0.0000	0.0013												
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/USA	0.0013	0.0000	0.0013											
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/PAK	0.0000	0.0013	0.0000	0.0013										
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/ZAF	0.0000	0.0013	0.0000	0.0013	0.0000									
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/TUR	0.0013	0.0000	0.0013	0.0000	0.0013	0.0013								
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/IRN/Iran	0.0013	0.0026	0.0013	0.0026	0.0013	0.0013	0.0026							
Severe_acute_respiratory_syndrome_coronavirus_2_isolate_SARS-CoV-2/human/CHN	8.8814	8.8838	8.8814	8.8838	8.8814	8.8814	8.8838	8.8804						
Influenza_A_virus_(Taiwan)	7.1678	7.1697	7.1678	7.1697	7.1678	7.1678	7.1697	7.1679	11.2618					
Middle_East_respiratory_syndrome-related_coronavirus_isolate_MERS_CoV/camel/Egypt	7.2502	7.2522	7.2502	7.2522	7.2502	7.2502	7.2522	7.2503	11.2539	0.0039				
Middle_East_respiratory_syndrome-related_coronavirus_isolate_MERS-CoV_camel/Ethiopia	7.2940	7.2960	7.2940	7.2960	7.2940	7.2940	7.2960	7.2940	11.3538	0.0065	0.0104			
Middle_East_respiratory_syndrome-related_coronavirus_isolate_Jeddah	7.2896	7.2917	7.2896	7.2917	7.2896	7.2896	7.2917	7.2896	11.3371	0.0078	0.0117	0.0091		
Middle_East_respiratory_syndrome-related_coronavirus_isolate_Riyadh	8.0282	8.0311	8.0282	8.0311	8.0282	8.0282	8.0311	8.0280	13.1251	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
Middle_East_respiratory_syndrome-related_coronavirus_isolate_Bat-CoV/P.khulii/Italy	8.1108	8.1123	8.1108	8.1123	8.1108	8.1108	8.1123	8.1110	10.6254	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0196
Middle_East_respiratory_syndrome-related_coronavirus_isolate_Bat-CoV/H.savii/Italy														

شکل ۳- تعیین فاصله ژنتیکی ویروس‌های عامل بیماری کوید ۱۹ (Sar s cov۲) و مرس

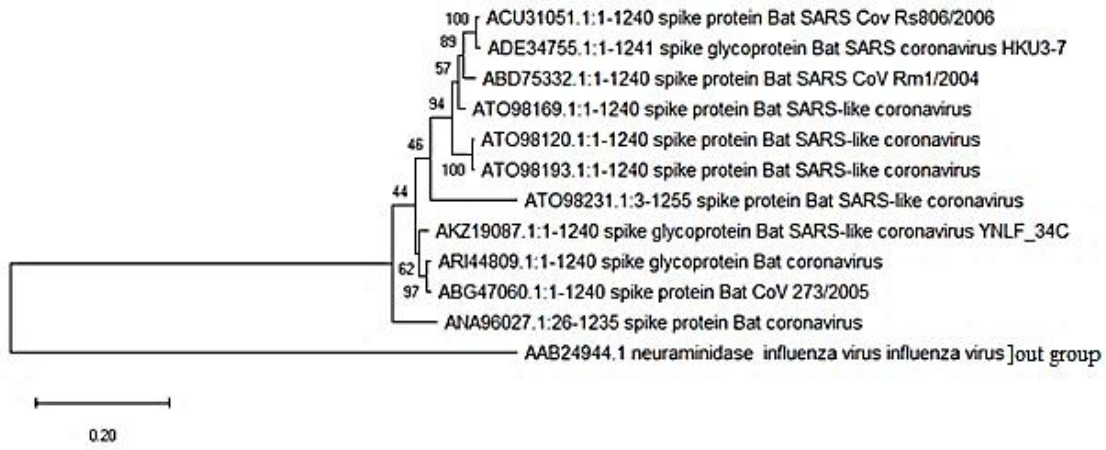
جدول۱- تعیین نوع جهش در ژنوم کرونا ویروس‌های جدا شده از مناطق جغرافیایی مختلف

نوکلئوتید	A	T/U	C	G
A	-	*6.85*	*4.90*	**12.73**
T/U	*6.21*	-	**10.80**	*5.42*
C	*6.21*	**15.09**	-	*5.42*
G	**14.59**	*6.85*	*4.90*	-

اعداد تیره جهش ترانزیشن

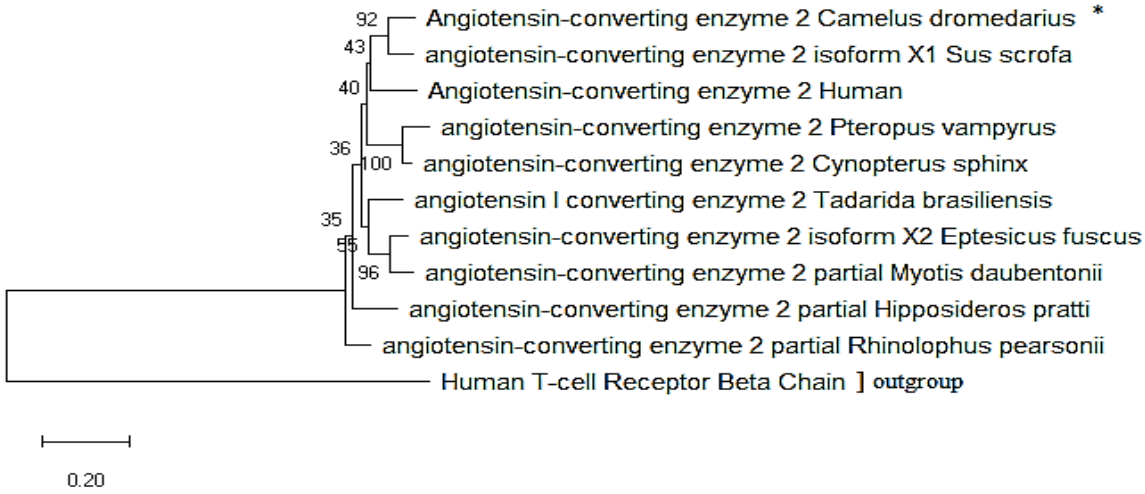
اعداد کم‌رنگ جهش ترانس ورژن

همان‌گونه که در شکل ۴ نشان داده شده است درخت فیلوژنتیک رسم شده دارای تعداد زیادی کلد است که نشان‌دهنده تغییرات زیاد در توالی آمینواسیدهای پروتیین سطحی S در واریته‌های ویروس کرونا می‌باشد. بر اساس محاسبات انجام شده در این تحقیق تغییرات عموماً حذف آمینواسیدهای هیستیدین و تریپتوفان در بعضی واریته‌های ویروس کرونا و کاهش آمینو اسیدهای والین و تیروزین است.



شکل ۴- تعیین ارتباط توالی آمینو اسیدهای پروتیین سطحی S ویروس سارس کوید۲

نتایج به دست آمده از ارزیابی توالی آمینو اسیدهای پروتیین گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین ACE2 در موجودات گوناگون نشان داد که توالی آمینو اسیدهای پروتیین ACE2 انسان به‌ترتیب نزدیک به خوک، شتر، خفاش، روباه پرنده و خفاش میوه‌خوار می‌باشد. علاوه بر این توالی آمینو اسیدهای ACE2 خفاش نعل بینی کمترین قرابت را به توالی آمینو اسیدهای ACE2 انسان دارد.



شکل ۵- تعیین ارتباط توالی آمینو اسیدهای گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین ACE2 در موجودات مختلف

* *Rhinolophus pearsonii*خفاش نعل بینی، *Hipposideros pretty* خفاش پهن بینی، *Camelus dromedaries* شتر دو کوهان، *Tadarida brasiliensis* خفاش بزرلی، *Sus scrofa* خوک، *Eptesicus fuscus* خفاش قهوای، *Pteropus vampyrus* خفاش (روباه پرنده)، *Myotis daubentonii* خفاش سیبل‌دار و *Cynoplerus phinx*خفاش میوه‌خوار.

بحث

جهش در ژنوم ویروس کرونا می‌تواند منجر به ظهور واریته‌های جدید و ظهور سارس کوید ۱ و۲ گردد (۱۰). بر اساس گزارش محققین این ویروس پس از جهش یافتن تمایل به اتصال به گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین ACE2 در میزبان‌های متفاوت از جمله انسان می یابد (۱۱). اگرچه در سال ۲۰۰۸ برخی محققین بر اساس تأیید موارد عنوان شده مبنی بر اتصال ویروس‌های کرونا w1v1 و w1v16 به گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین ACE2، عنوان نمودند که برخی از ویروس‌های کرونا مانند RP3 قادر به اتصال به گیرنده ACE2 نمی‌باشد (۱۲). با این وجود امروزه گیرنده اصلی ویروس سارس کوید ۲ در میزبان آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2) در نظر گرفته می‌شود. در سال ۲۰۰۳ در گزارشی عنوان گردید که بعضی حیوانات مانند سرنواری چینی بدون داشتن علایم عفونت دارای آنتی‌بادی بر علیه ویروس کرونا بودند (۵) که دلیل آن احتمالاً ساختار متفاوت گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2) می‌باشد.

همان‌گونه که قبلاً عنوان گردید ویروس‌های کرونا عامل بیماری‌های مرس، سارس و کوید ۱۹ می‌باشد. اما با وجود منشأ مشترک این ویروس‌ها به چه دلیلی بیماری‌های متفاوتی بر اساس مناطق مختلف جغرافیایی ایجاد می‌کند. نتیجه این تحقیق نشان داد که ویروس‌های کرونای عامل بیماری مرس جدا شده از مصر، اتیوپی، جده و ریاض (عربستان صعودی) همگی دارای یک کلد درخت فیلوژنتیک بودند. در حالی که ویروس کرونای عامل بیماری مرس جدا شده از ایتالیا در کلد جداگانه قرار گرفت. این یافته نشان‌دهنده اهمیت مخزن برای ویروس کرونا می‌باشد، چرا که مخزن ویروس کرونای عامل بیماری مرس در مصر ، اتیوپی و عربستان صعودی شتر و مخزن ویروس کرونای عامل بیماری مرس در ایتالیا خفاش می‌باشد. بنابراین می‌توان به احتمالی نتیجه گرفت که جهش در این ویروس منجر به تطبیق ویروس به مخزن جدید می‌گردد. جالب این که نتیجه به دست آمده از تعیین ارتباط توالی آمینو اسیدهای پروتیین سطحی S ویروس سارس کوید۲ نشان داد که حتی ویروس‌های جدا شده از خفاش دارای توالی یکسان نبودند و اعداد محاسبه شده از نزدیکی توالی آمینو اسیدهای پروتیین سطحی S بسیار کم است که نشان‌دهنده عدم مشابهت ویروس‌ها حتی در مخزن‌هایی یکسان مانند خفاش می‌باشد. باید در نظر داشت تغییرات در ژنوم این ویروس‌ها می‌توانند منجر به اتصال ویروس کرونا به گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE2) در میزبان جدید شده که در این روند شرایط سرایت به انسان مهیا می‌گردد. از طرف دیگر نتایج تحقیق حاضر نشان داد که توالی آمینو اسیدهای پروتیین ACE2 انسان شباهت زیادی به خوک، شتر و سپس به خفاش روباه پرنده و خفاش میوه‌خوار دارد. بنابراین تغییرات جزیی در پروتئین سطحی ویروس کرونا که احتمالاً در مخزن صورت می‌گیرد منجر به افزایش تمایل ویروس برای اتصال به گیرنده سلولی ACE2 انسان می‌گردد. چندین محقق معتقد هستند که پدیده نوترکیبی و تغییر آنتی‌ژنی ویروس دو عامل مهم برای سرایت ویروس کرونا به انسان می‌باشد. عموماً این دانشمندان کسب قطعه کوچکی از ماده ژنتیکی ویروس کرونایی که ژن کدکننده پروتیین سطحی ویروس کرونا است به وسیله ویروس سارس کوید۱ علت سرایت این ویروس به انسان می‌دانند (۱۳، ۱۴، ۱۵). نتایج توالی ویروس‌های سارس کوید۲ جدا شده از مناطق گوناگون در این تحقیق نشان داد که این ویروس‌ها همگی دارای منشأ یکسانی بودند. اگرچه ارتباط نزدیکی بین ویروس‌های سارس

کوید۲ و ویروس‌های کرونا عامل بیماری مرس مشاهده نشد. اخیراً ژنوم سارس کوید۲ در کشور چین توالی یابی شده و مشخص گردیده است که دارای ۱۵ ژن با ۳۰۰۰۰ باز می‌باشد که در صورت جهش در این ژن‌ها می‌تواند منجر به ظهور واریته‌های جدید ویروس گردد (۱۶). نتایج آنالیز مقایسه‌ای ژنوم ویروس سارس کوید نشان داد که ویروس کرونایی که در سال ۲۰۰۲ در چین یافت شد تباری بسیار نزدیک به ویروس سارس داشته که باعث مرگ ۷۷۴ نفر شده است. مخزن اصلی این ویروس خفاش نعل بینی بوده است، اگرچه از تعداد زیادی گربه نخل آسیایی و راکون هم جدا گردیده است (۱۶، ۱۷). امروزه مشخص گردیده است که ویروس سارس کوید ۲ عامل بیماری کوید۱۹ مشابه به ویروس کرونای RatG13 می‌باشد که در سال ۲۰۱۳ در چین یافت شده است. اگرچه مخزن ویروس کرونای RatG13 به درستی مورد بررسی و ارزیابی قرار نگرفته است اما خفاش، جوندگان و حتی پرند گان مخزن احتمالی این ویروس قلمداد شده است (۱۸، ۱۹). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که توالی آمینو اسیدهای پروتیین ACE2 انسان به بعضی حیوانات احتمالاً می‌تواند علت سرایت ویروس به انسان باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی یافته‌های این تحقیق تأیید کننده منشأ یکسان همه ویروس‌های عامل بیماری کوید۱۹ می‌باشد. از طرف دیگر جهش ژنومی در ناحیه کدکننده پروتیین سطحیS این ویروس و مشابهت توالی آمینو اسیدهای پروتیین ACE2 در موجودات مختلف (مانند خوک ، شتر، خفاش روباه پرنده و خفاش میوه‌خوار) احتمالاً باعث ایجاد واریته‌های جدید ویروس کرونا در مخزن می‌گردد. در این روند تمایل پروتیین سطحی S برای اتصال به گیرنده سلولی آنزیم مبدل آنژیوتنسین ACE2 انسان افزایش یافته و سرایت آغاز می‌گردد. بنابر این نتیجه این تحقیق بیان کننده شناخت کامل مخزن‌های ویروس کرونا برای محدود کردن بیماری کوید۱۹ می‌باشد. از طرف دیگر عدم شناخت صحیح مخزن‌های این ویروس می‌تواند باعث همه‌گیری‌های مجدد حتی پس از انجام واکسیناسیون و ایجاد ایمنی گروهی گردد.

References

1- Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *The indian journal of pediatrics*. 2020; 87(4): 281-6.

2- Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annual review of virology*. 2016; 3: 237-61.

3- Jung BK, An YH, Jang JJ, Jeon JH, Jang SH, Jang H. The human ACE-2 receptor binding domain of SARS-CoV-2 express on the viral surface of the Newcastle disease virus as a non-replicating viral vector vaccine candidate. *PloS one*. 2022; 17(2): e0263684.

4- Goyal M, Tewatia N, Vashisht H, Jain R, Kumar S. Novel corona virus (COVID-19); Global efforts and effective investigational medicines: A review. *Journal of Infection and Public Health*. 2021; 14(7): 910-21.

5- Koleya T, Kumara M, Goswami A, Ethayathulla AS, Hariprasada G. Structural modeling of Omicron spike protein and its complex with human ACE-2 receptor: Molecular basis for high transmissibility of the virus. *Biochemical and biophysical research communications*. 2022.

6- Alfaleh MA, Zawawi A, Al-Amri SS, Hashem AM. David versus goliath: ACE2-Fc receptor traps as potential SARS-CoV-2 inhibitors. InmAbs. 2022; 14(1): 2057832. Taylor & Francis.

7- Wang X, Ye Y, Gong H, Wu J, Yuan J, Wang S, *et al.* The effects of different angiotensin II type 1 receptor blockers on the regulation of the ACE-AngII-AT1 and ACE2-Ang (1–7)-Mas axes in pressure overload-induced cardiac remodeling in male mice. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2016; 97: 180-90.

8- Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, Fung SY, Chan CP, Jin DY. Zoonotic origins of human coronaviruses. *International journal of biological sciences*. 2020; 16(10): 1686.

9- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*. 2018; 35(6): 1547.

10- Boni MF, Lemey P, Jiang X, Lam TT, Perry BW, Castoe TA, *et al*. Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID-19 pandemic. *Nature microbiology*. 2020; 5(11): 1408-17.

11- Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003; 426(6965): 450-4.

12- Zhou H, Chen X, Hu T, Li J, Song H, Liu Y, *et al*. A novel bat coronavirus closely related to SARS-CoV-2 contains natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the spike protein. *Current biology*. 2020; 30(11): 2196-203.

13- Yang XL, Hu B, Wang B, Wang MN, Zhang Q, Zhang W, *et al*. Isolation and characterization of a novel bat coronavirus closely related to the direct progenitor of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of virology*. 2015; 90(6): 3253-6.

14- Ren W, Qu X, Li W, Han Z, Yu M, Zhou P, *et al.* Difference in receptor usage between severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and SARS-like coronavirus of bat origin. *Journal of virology*. 2008; 82(4): 1899-907.

15- Menachery VD, Graham RL, Baric RS. Jumping species—a mechanism for coronavirus persistence and survival. *Current opinion in virology*. 2017; 23: 1-7.

16- Luk HK, Li X, Fung J, Lau SK, Woo PC. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019; 71: 21-30.

17- Zarehzadeh S, Baserisalehi M. SARS-CoV-2 originated from laboratory?. *Japanese Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020 Oct.1.

18- Yu P, Hu B, Shi ZL, Cui J. Geographical structure of bat SARS-related coronaviruses. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019; 69: 224-9.

19- Zhou P, Yang XL, Wang XG, 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.

Study on Sara-CoV 2 reserviors by phylogenetic analysis of aminoacid Sequences of S and Angiotension-converting Enzyme (ACE2) proteins

Majid Baseri Salehi*

Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.

Receive: January 31, 2022; Revise: March 8, 2022; Accept: March 13, 2022

Summary

Sars-Cov2 has spherical shape with many spike proteins *viz*, M,N,E and S. S protein of this virus has major role in attachement of the virus to host receptor Angiotension-converting Enzyme (ACE2) protein.The purpose of this study was evaluation of Sars-Cov2 reservoirs by phylogenetic analysis of aminoacid sequences of S and Angiotension-converting Enzyme (ACE2) proteins in the differents animals. To perform the study, the whole genome and amino acid sequences of S protein of Sars-Cov2 and sequences of ACE2 protein of some animals and human were downloaded from NCBI and GenBank and subjected to phylogenetic analysis of their relationship using MegaX software. The results obtained indicated that all Sars-Cov2 isolated from different geographical areas have similar origin. On the other hand, amino acid profile of S protein in the different viral variants showed several sequences. In addition, amino acid sequence of Human ACE2 was very close to camels, swines and bats (*Pteropus vampyrus* and *Cynoplerus phinx*). Therefore, the present study showed that gene mutation in surface protein coding sequence of corona virus and the similarity of ACE2 amino acid sequences in different animals cause emergence of the new variants of corona virus in the different reservoirs. Hence, it might increase the rate of transmission of the virus to human even after vaccination and herd immunity.

Keywords: *Phylogenetic analysis, Sars cov2, S protein, ACE2*