

时丹怡, 范宝超, 常新见, 等. 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)与常见家养动物冠状病毒的同源性分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(1): 251-253.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.01.035

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)与常见家养动物冠状病毒的同源性分析

时丹怡^{1,2}, 范宝超¹, 常新见^{1,3}, 黄伟¹, 李彬¹

(1.江苏省农业科学院兽医研究所/农业部兽用生物制品工程技术重点实验室, 江苏 南京 210014; 2.河北科技师范学院动物科技学院, 河北 秦皇岛 066004; 3.西藏农牧学院动物科技学院, 西藏 林芝 860000)

关键词: 新型冠状病毒 2(SARS-CoV-2); 动物冠状病毒; 基因组; S 基因; 同源性分析

中图分类号: S855.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)01-0251-03

Genetic analysis on the homology between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2) and common domestic animal coronaviruses

SHI Dan-yi^{1,2}, FAN Bao-chao¹, CHANG Xin-jian^{1,3}, HUANG Wei¹, LI Bin¹

(1. Institute of Veterinary Medicine, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Veterinary Biological Engineering and Technology, Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China; 2. College of Animal Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao 066004, China; 3. College of Animal Science and Technology, Tibet Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, China)

Key words: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2); animal coronaviruses; genome; S gene; homology analysis

冠状病毒(Coronaviruses, CoVs)是一类具有囊膜的单链RNA病毒,也是目前已知的基因组最大的RNA病毒,在分类上属于套式病毒目(Nidovirales)冠状病毒科(Coronaviridae)冠状病毒属(Coronavirus)^[1]。该病毒可以引起动物呼吸道、消化道和神经系统疾病,主要感染人和脊椎动物,后者主要包括猪、牛、犬、猫、鼠、禽类和一些其他动物(含野生动物)等。冠状病毒科分为4个属,即 α 、 β 、 γ 和 δ 属^[2-3]。其中, α 属冠状病毒感染人、长翼蝠、猪、犬、猫等^[4]; β 属冠状病毒感染人、猪、牛、马、鼠、家蝠等,人们熟知的引起严重急性呼吸综合征(Severe acute respiratory syndrome, SARS)的冠状病毒和引起中东呼吸综合征(Middle east respiratory syndrome, MERS)的相关病毒等^[5]均属 β 属冠状病毒; γ 属冠状病毒感染禽和白鲸2个种,其中最主要的是引起禽传染性支气管炎(Infectious bronchitis, IB)^[6]; δ 属冠状病毒感染猪、夜莺、文鸟等^[7]。

2019年12月,中国湖北省武汉市首次报道发现不明原因肺炎,2020年1月证实系新型冠状病毒感染所致。截至2020

年2月24日24:00,全国累计报告确诊病例数已超过77 000例,累计死亡病例数超过2 600例。2020年1月12日,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将该新病毒暂时命名为2019新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)^[8]。2月11日,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)宣布了新型冠状病毒的正式名称:严重急性呼吸综合征冠状病毒2(Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)^[9]。SARS-CoV-2是一种具有高传染性并且可以引起严重呼吸道疾病的新冠状病毒。目前有研究表明,蝙蝠是新型冠状病毒的天然宿主,但是并不清楚其如何将病毒传播给人类,并且也没有明确找到病毒发生变异的中间宿主。此外,关于新型冠状病毒能否感染常见家养动物,能否通过家养动物传播给人类等科学问题都亟待明确。因此,本研究从全基因组和S蛋白水平重点分析新型冠状病毒和家养动物冠状病毒的亲缘关系和同源性,不仅可为新型冠状病毒的跨种传播能力分析提供理论依据,而且对于揭示该病毒的来源具有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 冠状病毒序列来源

新型冠状病毒与不同家养动物冠状病毒基因组序列、S蛋白序列均来自GenBank数据库。

收稿日期:2020-02-25

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0500101)

作者简介:时丹怡(1994-),女,黑龙江七台河人,硕士研究生,主要从事动物病毒学方面的研究。(E-mail) 1063373429@qq.com

通讯作者:李彬, (E-mail) libinana@126.com

1.2 基因序列分析

用 BLAST、DNAMAN 软件对相关序列进行同源性分析,用 MEGA 6 绘制系统进化树。

2 结果与分析

2.1 基因组系统进化树及同源性分析

2020年2月,从 GenBank 数据库中收集了9个新型冠状病毒(SARS-CoV-2)基因组序列与常见家养动物的冠状病毒基因组序列,共计46个序列,包括猪冠状病毒、牛冠状病毒、马冠状病毒、禽类冠状病毒、犬冠状病毒、猫冠状病毒等基因组序列。通过对冠状病毒基因组进化树分析得知,SARS-CoV-2属于 β 冠状病毒属,与蝙蝠冠状病毒、SARS冠状病毒的亲缘关系最近,同源性达79.4%以上。此外, β 冠状病毒属中的家养动物冠状病毒与SARS-CoV-2、蝙蝠冠状病毒的进化关系稍远,成为一个相对独立的分支。

猪冠状病毒类型较多,分布在3个属,主要有 α 冠状病毒属的猪流行性腹泻病毒(Porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)和猪传染性胃肠炎病毒(Transmissible gastroenteritis virus, TGEV),它们主要引起仔猪腹泻,与SARS-CoV-2的进化关系较远,基因组同源性为42.8%~43.5%。 β 冠状病毒属的猪血凝性脑脊髓炎病毒(Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, PHEV)主要引起仔猪的消化系统或神经系统症状,与SARS-CoV-2的同源性为49.2%~49.3%。猪 δ 冠状病毒(Porcine delta-coronavirus, PDCoV)可引起仔猪消化道症状,与SARS-CoV-2的同源性最低,仅为40.3%~40.4%。由此可见,这些病毒中与新型冠状病毒同源性最高的是同属于 β 冠状病毒属的PHEV,而其同源性也低于50%。犬冠状病毒、猫冠状病毒和貂冠状病毒属于 α 冠状病毒属,都可引起幼龄动物的消化道疾病,与SARS-CoV-2的进化关系较远。犬冠状病毒与SARS-CoV-2的基因组同源性为43.6%~44.0%;猫冠状病毒与SARS-CoV-2的基因组同源性为43.3%~43.6%;貂冠状病毒与SARS-CoV-2的基因组同源性为43.3%~43.4%。

牛、马、兔、鼠冠状病毒与SARS-CoV-2同属于 β 冠状病毒属,其中鼠冠状病毒主要引起鼠的肝炎、脑炎和肠炎症状,与SARS-CoV-2的基因组同源性最高,为51.7%。其次是马冠状病毒,常引起马驹的胃肠道疾病,与SARS-CoV-2的基因组同源性为51.5%~51.6%。目前仅发现这2种动物冠状病毒与SARS-CoV-2的基因组同源性超过了50%。在其他家养动物冠状病毒中,牛冠状病毒主要引起犊牛腹泻,与SARS-CoV-2的基因组同源性为49.2%;兔冠状病毒可引起兔轻微腹泻,与SARS-CoV-2的基因组同源性为49.1%。

禽类冠状病毒主要属于 γ 冠状病毒属,包括鸡、鸭、鹅、火鸡等冠状病毒。鸡传染性支气管炎病毒(Infectious bronchitis virus, IBV)可侵害鸡的多种器官,引起呼吸型、肾型等多种症状,该病毒与SARS-CoV-2的基因组同源性为43.0%~43.2%。鸭冠状病毒可引起鸭的消化道症状,与SARS-CoV-2的基因组同源性为45.9%~46.0%。鹅冠状

毒与SARS-CoV-2的基因组同源性为45.0%。火鸡冠状病毒是引起火鸡肠道病的重要病原,与SARS-CoV-2的基因组同源性为43.2%~43.4%。

δ 属冠状病毒主要包括猪 δ 冠状病毒、夜莺冠状病毒、文鸟冠状病毒、麻雀冠状病毒等,除猪 δ 冠状病毒外,其他几种 δ 冠状病毒并不常见。

2.2 S蛋白进化树及同源性分析

本研究基于S蛋白氨基酸序列绘制进化树,分析了37个冠状病毒的S蛋白氨基酸序列,其中包括4个SARS-CoV-2和33个家养动物冠状病毒S蛋白氨基酸序列。结果显示,SARS-CoV-2与SARS冠状病毒的亲缘关系最近,同源性在74.8%以上,与MERS冠状病毒的同源性为49.1%。

α 冠状病毒属的PEDV和TGEV与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列同源性为37.1%~38.7%,氨基酸序列同源性为20.3%~22.1%; β 冠状病毒属的PHEV与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列同源性为43.4%~43.5%,氨基酸序列同源性为28.8%~29.0%; δ 冠状病毒属的PDCoV与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列同源性为38.5%~39.0%,氨基酸序列同源性为21.9%~22.6%。由此可见,与新型冠状病毒同属于 β 冠状病毒属的PHEV与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列同源性相对较高,但是其氨基酸序列同源性仅为29%左右,表明猪冠状病毒与SARS-CoV-2的亲缘关系较远。 α 冠状病毒属的犬、猫、貂冠状病毒与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列的同源性分别为38.5%~40.0%、39.2%、38.6%,氨基酸序列同源性分别为20.8%、20.3%、22.2%。结果显示, α 冠状病毒属中的犬、猫、貂冠状病毒与SARS-CoV-2的S蛋白同源性较低。

与SARS-CoV-2同属于 β 冠状病毒属的兔、鼠、牛、马冠状病毒与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列同源性分别为45.6%、43.4%~45.7%、43.9%、46.2%,氨基酸序列同源性分别为30.6%、29.1%~29.5%、28.8%~29.2%、30.8%。其中与SARS-CoV-2 S蛋白同源性最高的是马冠状病毒。

γ 冠状病毒属中的鸡、鸭、鹅、火鸡冠状病毒与SARS-CoV-2 S蛋白基因核苷酸序列同源性分别为40.9%~41.1%、41.3%、42.8%、40.2%,氨基酸序列同源性分别为22.2%~22.3%、22.1%、23.2%~23.3%、23.6%,可见这几种冠状病毒与新型冠状病毒的同源性较低。

3 讨论

2019年12月在湖北省武汉市出现的新型冠状病毒肺炎,潜伏期长、传染性极强、蔓延迅速^[10-11],目前已经在全国乃至全球多个国家暴发,导致中国超过 7×10^4 人被感染,由于没有疫苗和缺乏针对性的药物,当前主要通过隔离感染人群,控制传染源,切断传播途径等手段防控该病的蔓延。因此,该病发生以来,寻找病毒的来源、发现病毒变异的中间宿主成为防控该病的重要环节。虽然华南农业大学和香港大学等单位发文指出,穿山甲为新型冠状病毒的潜在中间宿主^[12],但是该观点仍然需要更多的研究结果去证实。也有报道认为,水貂可能是新型冠状

病毒的潜在宿主^[13],但是仍然需要更进一步的科学验证。

作为重要的人兽共患病病毒,冠状病毒可以感染人和多种家养动物,尤其是常见的猪、禽、牛、马、犬、猫等家畜和伴侣动物,主要引起动物呼吸道、消化道和神经系统疾病。这些与人类生活密切相关的家养动物是否有可能成为新型冠状病毒传播的中间宿主并传播疾病是人们非常关注的问题。此外,能否安全地吃肉、饲养宠物等问题也引发了人们的很多讨论。鉴于此,本研究收集了新型冠状病毒和常见家养动物冠状病毒基因组序列,从病毒全基因组和S蛋白水平分析了其进化关系和同源性,以期新型冠状病毒的跨种传播途径分析提供相应的数据,并为新型冠状病毒的防控提供理论依据。从本研究结果可以看出,新型冠状病毒与常见家养动物冠状病毒基因组的同源性为40.3%~51.7%,与同属于 β 冠状病毒属的家养动物冠状病毒基因组的同源性为49.1%~51.7%,可见常见家养动物冠状病毒与新型冠状病毒的同源性在52%以下,亲缘关系较远。S蛋白分析结果表明,新型冠状病毒与家养动物冠状病毒S蛋白基因核苷酸序列同源性为37.1%~46.2%;S蛋白氨基酸序列同源性非常低,低于31%。由于S蛋白包含冠状病毒受体结合区域,因此看出,新型冠状病毒感染家养动物的可能性非常低。此外,由于新型冠状病毒与同属于 β 冠状病毒属的家养动物冠状病毒的基因组同源性仅在50%左右,可见跨种感染很难实现。

猪冠状病毒是危害养猪业的主要病原之一,可引起猪的呼吸道、消化道和神经系统疾病。研究结果表明,在新型冠状病毒(SARS-CoV-2)非敏感的细胞中表达猪ACE2蛋白,可使新型冠状病毒(SARS-CoV-2)成功感染^[14]。但是,目前还没有关于新型冠状病毒(SARS-CoV-2)可以感染猪细胞或在猪样品中检测到新型冠状病毒的报道。犬、猫是人类主要的伴侣动物,与人类的接触非常密切。犬、猫冠状病毒属于 α 冠状病毒属,与新型冠状病毒的亲缘关系较远,基因组同源性低于45%,S蛋白氨基酸序列只有20%左右的同源性,可见新型冠状病毒难以感染犬、猫。目前未在犬上检测出新型冠状病毒^[15]。

虽然冠状病毒的感染宿主范围较广,但一种冠状病毒一般只感染同种属或亲缘关系较近的家养动物。目前的研究结果表明,家养动物冠状病毒不会直接感染人,而动物对人的冠状病毒也不易感。因此,不必过于担心通过家养动物将新型冠状病毒传染给人。对于新型冠状病毒,现有的证据很多都指向蝙蝠等野生动物是其宿主。由此可见,人类必须与野生动物和平相处,同时拒绝野味,保护生态平衡,才是防控新发传染病的根本之路。本研究结果初步表明,新型冠状病毒与一些家养动物冠状病毒的同源性较低,遗传距离远,初步排除其从家养动物冠状病毒演化而来的可能性,并且通过家养动物传染给人的可能性也较低。

参考文献:

[1] DREXLER J F, GLOZA-RAUSCH F, GLENDE J, et al. Genomic

characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences[J]. Journal of Virology, 2010, 84(21): 11336-11349.

- [2] FEHR A R, PERLMAN S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis[J]. Methods in Molecular Biology, 2015, 1282: 1-23.
- [3] WU A P, PENG Y S, HUANG B Y, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China[J/OL]. Cell Host & Microbe, [2020-02-25]. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>.
- [4] MASTERS P S. The molecular biology of coronaviruses[J]. Advances in Virus Research, 2006, 66: 193-292.
- [5] GRALINSKI L E, BARIC R S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections[J]. Journal of Pathology, 2015, 235(2): 185-195.
- [6] CHU V C, MCELROY L J, ARONSON J M, et al. Feline aminopeptidase N is not a functional receptor for avian infectious bronchitis virus[J]. Virology Journal, 2007, 4(1): 20.
- [7] 边荃芳,周继勇,廖敏. 冠状病毒非结构蛋白的研究进展[J]. 中国动物传染病学报, 2013, 21(4): 67-74.
- [8] WHO. Novel coronavirus (2019-nCoV)[EB/OL]. [2020-02-25]. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.
- [9] NGUYEN T M, ZHANG Y, PANDOLFI P P. Virus against virus: a potential treatment for 2019-nCoV (SARS-CoV-2) and other RNA viruses[J/OL]. Cell Research, [2020-02-25]. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0290-0>.
- [10] HUANG C L, WANG Y M, LI X W, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. The Lancet, 2020, 395(10223): 497-506.
- [11] CHEN J F, YUAN S F, KOK K, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster[J]. The Lancet, 2020, 395(10223): 514-523.
- [12] XIAO K P, ZHAI J Q, FENG Y Y, et al. Isolation and characterization of 2019-nCoV-like coronavirus from Malayan pangolins[EB/OL]. [2020-02-25]. <https://doi.org/10.1101/2020.02.17.951335>.
- [13] GUO Q, LI M, WANG C H, et al. Host and infectivity prediction of Wuhan 2019 novel coronavirus using deep learning algorithm[EB/OL]. [2020-02-25]. <https://doi.org/10.1101/2020.01.21.914044>.
- [14] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J/OL]. Nature, [2020-02-25]. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.
- [15] 崔尚金,赵花芬,纪志辉,等.对24例宠物临诊病例检测未发现新型冠状病毒(SARS-CoV-2)核酸阳性[J/OL]. 病毒学报, [2020-02-25]. <https://doi.org/10.13242/j.cnki.bingduxuebao.003650>.

(责任编辑:徐艳)