

## VARIABILITA' DEL GENOMA NUCLEARE E MITOCONDRIALE DELL'OSPITE NELL'INFEZIONE DA COVID-19

### PROGRAMMA DI RICERCA

COVID-19, acronimo di CORONAVIRUS DISEASE 2019, è una malattia infettiva respiratoria causata dal virus denominato SARS-CoV-2, appartenente alla famiglia dei coronavirus e identificato alla fine del 2019. Il virus colpisce principalmente le vie respiratorie, ma sono descritti casi con sintomi che denotano il coinvolgimento di tutti gli organi, incluso il sistema nervoso centrale (1). Inoltre, nella metà dei casi l'infezione decorre in maniera asintomatica o pauci-sintomatica, mentre nel 20% dei casi la malattia può manifestarsi in forma severa o critica, fino al decesso. Ad oggi, nel mondo ci sono oltre 200 milioni di casi confermati e oltre 4 milioni di decessi.

La crisi pandemica da SARS-CoV-2 ha reso necessario un approccio innovativo per essere meglio preparati in caso di ulteriori ondate, o di nuove pandemie da patogeni diversi. Oltre agli aspetti epidemiologici, clinici, microbiologici, dell'ambiente e delle caratteristiche socioeconomiche, l'analisi della variabilità genetica nella popolazione è uno degli aspetti cruciali per capire la variabilità del quadro clinico, e in ultima analisi per la prevenzione e il trattamento mirato delle infezioni da SARS-CoV-2.

Sin dalle prime fasi della pandemia sono stati pubblicati vari studi del genoma dell'ospite, con la identificazione di una serie di geni e varianti associate alla severità della malattia, con particolare attenzione puntata sul sistema immunitario e sull'infiammazione (2). Tuttavia, molti elementi del meccanismo patogenetico dell'infezione da SARS-CoV-2 rimangono oscuri. Un settore finora negletto è stata la biologia mitocondriale, nonostante fin dai primi studi è emerso chiaramente un possibile ruolo dei mitocondri, come documentato da studi di interattomica (3,4). Circa 1.200 proteine che compongono il proteoma mitocondriale sono codificate dal DNA nucleare, mentre 13 cruciali geni codificanti per altrettante subunità implicate negli enzimi chiave della fosforilazione ossidativa risiedono nel DNA mitocondriale. Quest'ultimo, che presenta una grande variabilità di sequenza, è già stato coinvolto come background genetico in grado di modulare stati infettivi, come nella sepsi (5). Infine, il ruolo del DNA mitocondriale è di crescente interesse nel modulare lo stato infiammatorio (6).

Su queste basi ci si propone di indagare la variabilità genetica dell'ospite in quattro coorti: popolazione generale (infetti e non infetti), individui SARS-CoV-2 positivi, popolazioni fragili (anziani, bambini, donne in gravidanza, sieropositivi, trapiantati e quelli con malattie di Parkinson e malattie reumatologiche - infetti e non infetti) e gli operatori sanitari (infetti e non infetti). Dall'analisi genetica dell'intero genoma (WGS) e del genoma mitocondriale (mtDNA) saranno selezionate le varianti più promettenti, in base alla loro frequenza e al loro impatto funzionale previsto da diversi punteggi, cercando quelle che sono diversamente rappresentate nei pazienti COVID-19 rispetto ai controlli, o correlano con la gravità della malattia. Inoltre, i dati di sequenziamento del genoma saranno utilizzati per ottenere i Copy Number Variants (CNV). Uno specifico focus sarà posto sul proteoma mitocondriale, includendo sia i geni codificati dal DNA nucleare che mitocondriale.

### OBIETTIVI

Analisi della variabilità del genoma nucleare e mitocondriale e dell'arricchimento di varianti geniche in coorti di pazienti stratificate per severità di espressione clinica e ricorrenza di pattern clinici nelle famiglie nucleari.

## REFERENZE

1. Osuchowski MF, et al. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. *Lancet Respir Med*. 2021 Jun;9(6):622-642. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00218-6. Epub 2021 May 6. PMID: 33965003; PMCID: PMC8102044.
2. Kwok AJ, Mentzer A, Knight JC. Host genetics and infectious disease: new tools, insights and translational opportunities. *Nat Rev Genet*. 2021 Mar;22(3):137-153. doi: 10.1038/s41576-020-00297-6. Epub 2020 Dec 4. PMID: 33277640; PMCID: PMC7716795.
3. Gordon DE, et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature*. 2020 Jul;583(7816):459-468. doi: 10.1038/s41586-020-2286-9. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32353859; PMCID: PMC7431030.
4. Guzzi PH, Mercatelli D, Ceraolo C, Giorgi FM. Master Regulator Analysis of the SARS-CoV-2/Human Interactome. *J Clin Med*. 2020 Apr 1;9(4):982. doi: 10.3390/jcm9040982. PMID: 32244779; PMCID: PMC7230814.
5. Baudouin SV, Saunders D, Tiangyou W, Elson JL, Poynter J, Pyle A, Keers S, Turnbull DM, Howell N, Chinnery PF. Mitochondrial DNA and survival after sepsis: a prospective study. *Lancet*. 2005 Dec 17;366(9503):2118-21. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67890-7. Erratum in: *Lancet*. 2006 May 27;367(9524):1730. PMID: 16360789.
6. Zhang Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010 Mar 4;464(7285):104-7. doi: 10.1038/nature08780. PMID: 20203610; PMCID: PMC2843437.

## PROGRAMMA DI ATTIVITÀ DELL'ASSEGNIATA

In relazione al progetto di ricerca il piano di formazione permetterà all'assegnista di acquisire conoscenze tecniche e scientifiche in genetica medica, biologia molecolare, e analisi bioinformatica, con particolare riferimento alla biologia mitocondriale.

Specificamente il piano di formazione prevede che il candidato perfezioni tecniche già apprese e acquisisca esperienze riguardanti principalmente:

- estrazione di acidi nucleici da campioni biologici
- preparazione delle librerie NGS (Next Generation Sequencing), in particolare per l'analisi di WES (Whole Exome Sequencing), WGS (Whole Genome Sequencing) e mtDNA (mitochondrial DNA)
- analisi bioinformatica delle sequenze di NGS

- interpretazione delle varianti identificate
- analisi statistica dei dati