

RESEARCH ARTICLE

# Transmisión entre especies del recién identificado coronavirus 2019 - nCoV

Wei Ji<sup>1</sup> | Wei Wang<sup>2</sup> | Xiaofang Zhao<sup>3</sup> | Junjie Zai<sup>4</sup> | Xingguang Li<sup>5</sup>

Traducción por °Leandro Greta Coaquira

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Pekín  
Escuela Universitaria del Centro de Ciencias de la Salud de  
Ciencias Médicas Básicas, Beijing, China  
<sup>2</sup>Departamento de Enfermedades del Bazo y del Estómago,  
El primer hospital afiliado de Guangxi  
Universidad de Medicina China, Nanning, China  
<sup>3</sup>Departamento de Ciencia y Tecnología,  
Hospital de Ruikang afiliado a Guangxi  
Universidad de Medicina China, Nanning, China  
<sup>4</sup>Equipo de Innovación en Inmunología, Escuela de  
Medicina, Universidad de Ningbo, Ningbo, China  
<sup>5</sup>Centro de Investigación de Ingeniería Hubei de Viral  
Vector, Universidad de Bioingeniería de Wuhan,  
Wuhan, China  
Correspondencia  
Wei Ji, Departamento de Microbiología, Pekín  
Escuela Universitaria del Centro de Ciencias de la Salud de  
Ciencias Médicas Básicas, Beijing, China.  
Correo electrónico: j102938@126.com  
Información de financiación  
Proyecto del Comité de Salud de Guangxi,  
Número de concesión / concesión: Z20191111;  
Natural  
Fundación de Ciencias de la provincia de Guangxi de  
China, número de concesión / premio:  
2017GXNSFAA198080; K.C. Wong  
Fondo Magna

## Resumen

El brote actual de neumonía viral en la ciudad de Wuhan, China, fue causado por un nuevo coronavirus designado 2019 - nCoV por la Organización Mundial de la Salud, como determinado secuenciando el genoma viral de ARN. Muchos pacientes iniciales fueron expuestos a animales salvajes en el mercado mayorista de mariscos de Huanan, donde las aves de corral, también se vendieron serpientes, murciélagos y otros animales de granja. Para investigar posibles virus depósito, hemos llevado a cabo análisis exhaustivos de secuencia y comparación en junto con el sesgo relativo del uso de codones sinónimos (RSCU) entre diferentes especies animales basadas en la secuencia 2019 - nCoV. Los resultados obtenidos de nuestros análisis sugieren que el 2019-nCoV puede parecer un virus recombinante entre el coronavirus de murciélago y un coronavirus de origen desconocido. La recombinación puede ocurrió dentro de la glicoproteína de pico viral, que reconoce un receptor de superficie celular. Además, nuestros hallazgos sugieren que 2019 - nCoV tiene la genética más similar información con coronavirus de murciélago y el sesgo de uso de codones más similar con serpiente.

Tomados en conjunto, nuestros resultados sugieren que puede ocurrir una recombinación homóloga y contribuir a la transmisión entre especies de 2019 - nCoV.

## PALABRAS CLAVE

2019 - nCoV, sesgo de uso de codones, transmisión entre especies, análisis filogenético, recombinación

## 1 | INTRODUCCIÓN

China ha sido el epicentro de infecciones virales emergentes y reemergentes que continúan suscitando una preocupación mundial. En los últimos 20 años, China ha sido testigo de varias enfermedades virales emergentes, incluida una gripe aviar en 1997, el síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) en 2003, [2] y una fiebre severa con síndrome de trombocitopenia (SFTS) en 2010. La crisis reciente fue el brote de una neumonía viral en curso con una etiología desconocida en la ciudad de Wuhan, China. El 12 de diciembre de 2019, la Comisión de Salud Municipal de Wuhan (WMHC) notificó 27 casos de neumonía viral, de los cuales 7 estaban gravemente enfermos. La mayoría de ellos tenían antecedentes de exposición al virus en el mercado mayorista de mariscos de Huanan, donde se encuentran aves de corral, murciélagos, serpientes; y otros animales salvajes también fueron vendidos. [4] El 3 de enero de 2020, WMHC

actualizó el número de casos a un total de 44 con 11 de ellos en estado crítico. El 5 de enero, el número de casos aumentó a 59 con 7 pacientes críticos. El brote de neumonía viral no fue causado por el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS - CoV), el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS - CoV), el virus de la influenza o el adenovirus según lo determinado por las pruebas de laboratorio. [4] El 10 de enero, fue informado que se identificó un nuevo coronavirus designado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [5] 2019 nCoV mediante la secuenciación de alto rendimiento del genoma viral de ARN, que se lanzó a través de virological.org. Más significativamente, el nuevo 2019 - CoV también se aisló de un paciente. La disponibilidad de la secuencia viral de ARN

posible desarrollar métodos de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) para la detección de ARN viral en muestras de pacientes y posibles huéspedes. [6] Como resultado, se confirmó que 217 pacientes estaban infectados con el 2019-nCoV, y 9 pacientes fallecieron el 20 de enero de 2020. También se informó de varios pacientes de Wuhan en Tailandia, Singapur, Hong Kong, Corea del Sur y Japón. La secuenciación de alto rendimiento del ARN viral de las muestras de los pacientes ha identificado un nuevo coronavirus designado como 2019 - nCoV por la Organización Mundial de la Salud. Actualmente, se lanzaron un total de 14 secuencias completas de 2019-nCoV a GISAID y GeneBank.

La familia coronavirinae consta de cuatro géneros basados en sus propiedades genéticas, incluyendo el género Alphacoronavirus, el género Betacoronavirus, el género Gammacoronavirus y el género Deltacoronavirus. [7] El genoma del ARN coronavirus (que varía de 26 a 32 kb) es el más grande entre todos los ARN virus. [8] El coronavirus puede infectar a los humanos y a muchas especies animales diferentes, incluidos cerdos, vacas, caballos, camellos, gatos, perros, roedores, aves, murciélagos, conejos, hurones, visones, serpientes y otros animales salvajes. [7,9] Muchos coronavirus las infecciones son subclínicas. [7,9] El SARS-CoV y el MERS-CoV pertenecen al género Betacoronavirus y son patógenos zoonóticos que pueden causar enfermedades respiratorias graves en humanos. [7]

El brote de neumonía viral en Wuhan se asocia con antecedentes de exposición al reservorio de virus en el mercado de venta total de mariscos de Huanan, lo que sugiere una posible zoonosis. El mercado de mariscos también vendía animales vivos como serpientes, marmotas, pájaros, ranas y erizos. Actualmente, no hay evidencia que sugiera un huésped de vida silvestre específico como reservorio de virus. Los estudios sobre el sesgo relativo del uso de codones sinónimos (RSCU) entre los virus y sus anfitriones sugirieron que los virus tienden a evolucionar el sesgo de uso de codones que es comparable a sus anfitriones. [10,11] Los resultados de nuestro análisis sugieren que 2019 - nCoV tiene la información genética más similar con el murciélago Coronavirus y tiene un sesgo de uso de codones más similar con la serpiente. Más interesante aún, puede ocurrir una recombinación homóloga de origen desconocido dentro de la glucoproteína espiga del 2019-nCoV, [5] lo que puede explicar su transmisión entre especies y la diseminación limitada de persona a persona.

## El | Análisis filogenético y simplot

Los árboles filogenéticos se construyeron utilizando métodos de máxima verosimilitud y un modelo general reversible en el tiempo de sustitución de nucleótidos con tasas de distribución gamma entre sitios (modelo de sustitución GTR + G) en RAXML v8.0.9.14 El apoyo a las relaciones inferidas se evaluó mediante El análisis de arranque con 1000 réplicas y árboles estaban enraizados en el punto medio.

Para investigar los supuestos padres del 2019 - nCoV, realizamos análisis de parcelas de similitud y análisis de arranque basados en el modelo de dos parámetros Kimura con un tamaño de ventana de 500 pb, tamaño de paso de 30 pb usando SimPlot v.3.5.1.15 Dividimos Nuestro conjunto de datos en cuatro clados, la secuencia recién descubierta 2019-nCoV se agrupó como la secuencia de consulta. Los coronavirus relativos más cercanos (bat - SL- CoVZC45 y bat - SL - CoVZXC21) obtenidos de la ciudad de Nanjing, China, se agruparon como "Clade A". Los otros dos coronavirus (BtCoV / BM48-31 / BGR / 2008 y BtKY72) de Bulgaria y Kenia se agruparon como "Clade B". Las secuencias de descanso se agruparon como "Clade C" (Figura 1).

## 2.2 | Análisis de uso de codones sinónimo

Para estimar el sesgo de RSCU del 2019 - nCoV y sus posibles hospedadores, todas las secuencias de codificación disponibles (que retienen las secuencias de codificación con cebador ATG y múltiples de 3 nucleótidos, excluyendo las secuencias de codificación incorrectas) del genoma 2019-nCoV (1CDS, 9672 codones), genoma bat - SL- CoVZC45 (1CDS, 9680 codones), genes Bungarus multicinctus (38 CDS, 5381 codones), genes Naja atra (64 CDS, 9587 codones), genina Erinaceus europaeus CDS (28947 CDS, 16717458 codones), Genes Marmota (36055CDS, codones 21090600), CDS genéricos de Manis javanica (39192 CDS, codones 22980491), genes Rhinolophus sinicus (10 CDS, codones 8081) y CDS del genoma Gallus gallus (49453 CDS, 36086657 codones) de GenBank calculado con Codon W1.4.2.16,17 La RSCU de genes humanos (codones 40662582) se recuperó de la Base de datos de uso de codones (<http://www.kazusa.or.jp/codon/>). La relación entre estas secuencias se calculó utilizando

## 2 | MATERIALES Y MÉTODOS

una distancia euclidiana al cuadrado ( $d_{ik} = \frac{1}{2} \sum_j (X_{ij} - X_{kj})^2$ ), como lo hicimos anteriormente

### 2.1 | Recolección de datos de secuencia

El genoma recientemente secuenciado del Beta-coronavirus (MN908947) se descargó de la base de datos GenBank. Quinientas secuencias estrechamente relacionadas también se descargaron de GenBank. Fuera de ellos. Se utilizaron 271 secuencias del genoma (> 19 000 pb de longitud) en este estudio junto con la secuencia del genoma del Beta-coronavirus (2019 - nCoV, MN908947) descrita anteriormente (Tabla S1). Los orígenes geográficos de las secuencias fueron de Bulgaria (n = 1), Canadá (n = 2), China (n = 67), Alemania (n = 1), Hong Kong (n = 5), Italia (n = 1), Kenia (n = 1), Rusia (n = 1), Singapur (n = 24), Corea del Sur (n = 1), Taiwán (n

= 11), Reino Unido (n = 2), Estados Unidos de América (n = 67), y desconocido (n = 88). Las secuencias se alinearon usando MAFFT v7.222,12 seguido de un ajuste manual usando BioEdit v7.2.5.13reported.<sup>[18]</sup> A heat El mapa de RSCU se dibujó con el software MeV 4.9.0.19 El coronavirus y sus posibles huéspedes se agruparon utilizando un método de distancia euclidiana.

## 3 | RESULTADOS

### 3.1 | Clasificación filogenética

El análisis filogenético de 276 genomas de coronavirus reveló que la secuencia de coronavirus 2019-nCoV recientemente identificada era monofilética con un soporte de arranque del 100%. El Clade A (bat - SL- CoVZC45 y bat - SL - CoVZXC21) derivado de los murciélagos en la ciudad de Nanjing, China, entre 2015 y 2017 representa el linaje hermano de 2019 - nCoV. El Clade B (BtCoV / BM48-31 / BGR / 2008..

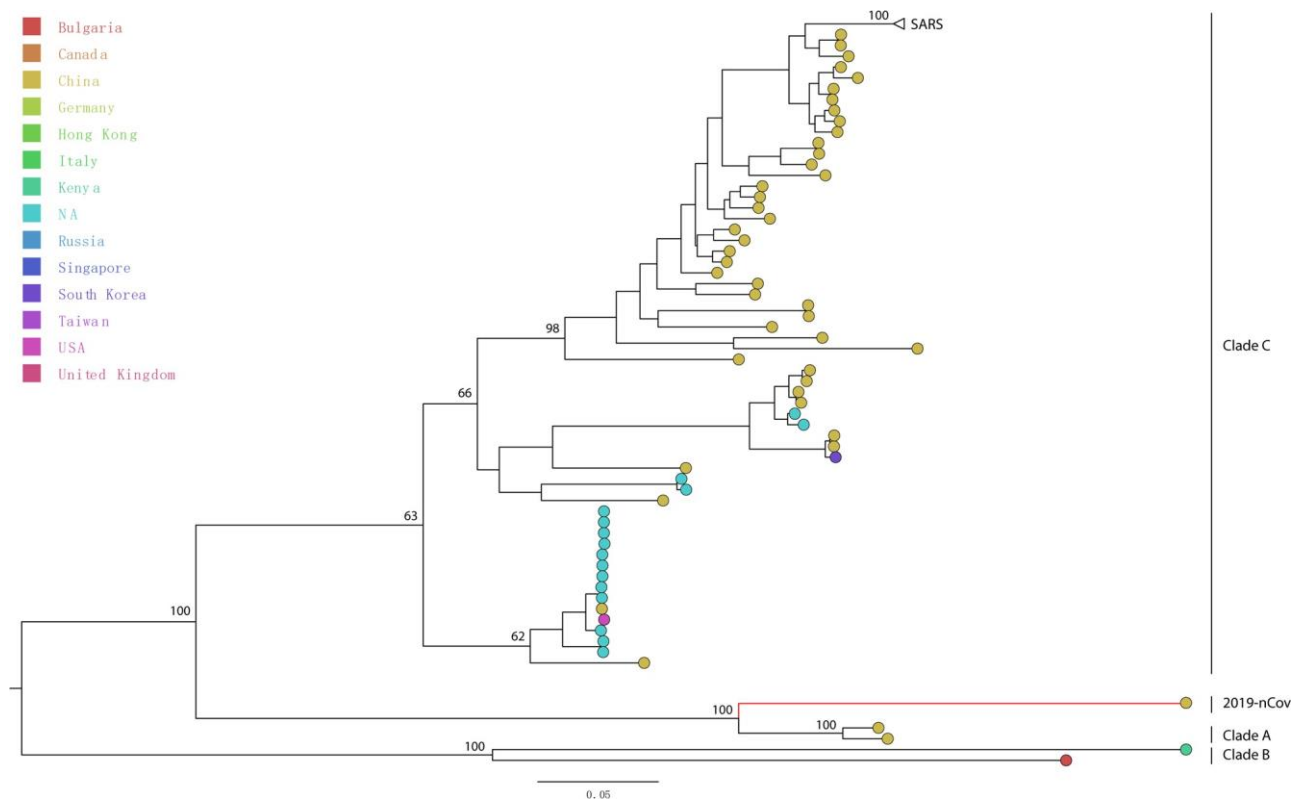


FIGURE 1 Árbol filogenético de máxima verosimilitud del 2019 - nCoV. El árbol filogenético inferido a partir de 272 secuencias genómicas casi completas de coronavirus estaba enraizado en el punto medio y se agrupaba en 4 clados (2019-nCoV, clados A, B y C). Los coronavirus originarios de diferentes países / regiones se resaltan en colores.

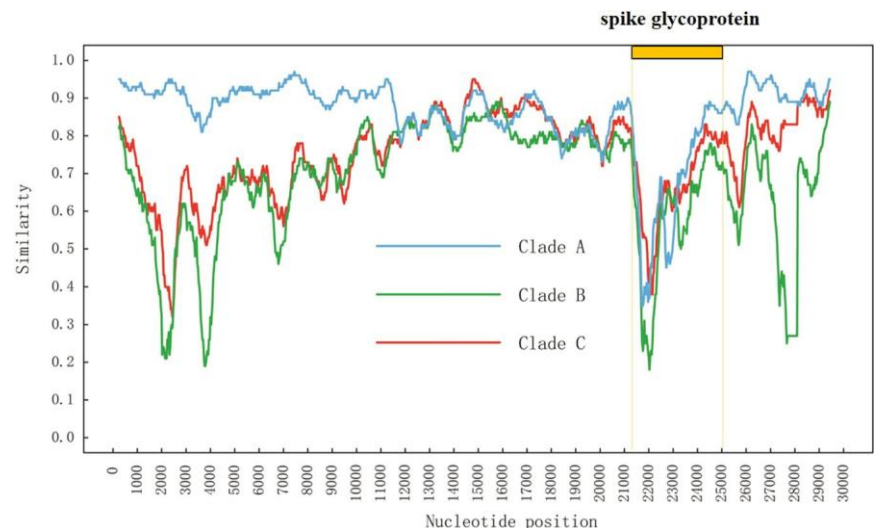
y BtKY72) obtenidos de murciélagos en Bulgaria y Kenia entre 2005 y 2007 formaron un grupo monofilético distinto con un 100% de soporte de arranque. El Clade C que incluía 267 cepas de coronavirus se agrupó junto con un 63% de soporte de arranque (Figura 1). Esto sugiere que 2019 - nCoV tiene la información genética más similar con el coronavirus de murciélago.

3.1 | La recombinación homóloga puede ocurrir dentro de la glicoproteína de la punta viral

La recombinación homóloga es una fuerza evolutiva importante y estudios anteriores han encontrado que la recombinación homóloga se produjo en muchos virus, incluido el virus del dengue, 20 inmunodeficiencia humana.

FIGURA 2 Comparación de secuencias entre diferentes coronavirus. Se realizó un análisis de parcelas de similitud entre los coronavirus en los Clados A, B y C. El análisis de recombinación se realizó con una ventana deslizante de 500 pb y un tamaño de paso de 30 pb.

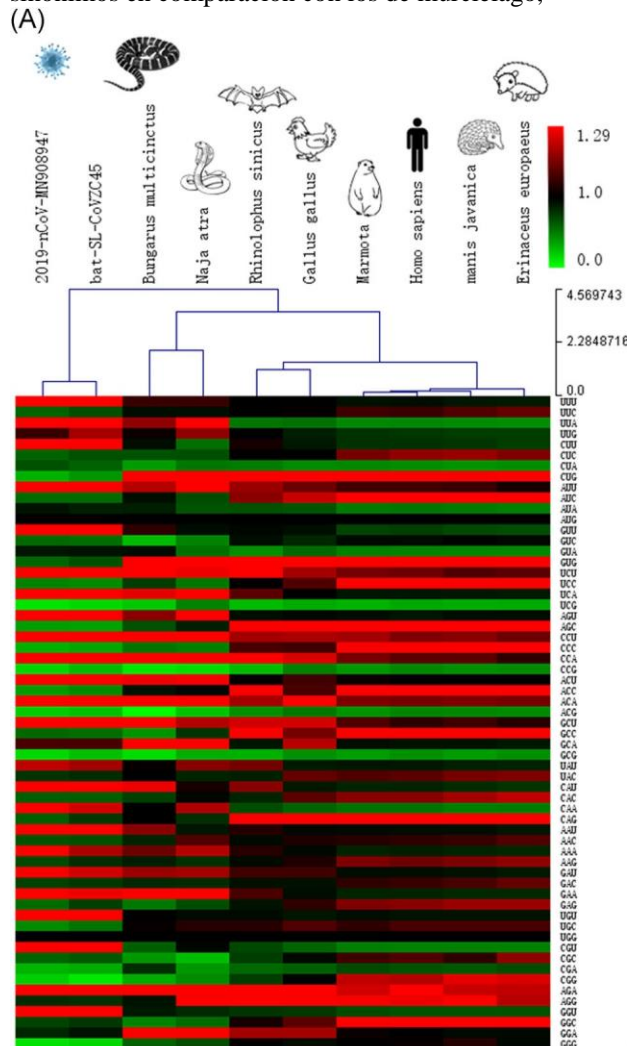
Los sitios de recombinación se ubicaron dentro de los genes de la glucoproteína de la espiga viral, como lo indica un cuadro naranja en la parte superior



virus, 21 virus de la hepatitis B, 22 virus de la hepatitis C, 23 y el virus de la peste porcina clásica.<sup>18</sup> El análisis de la parcela de similitud del 2019-nCoV reveló que puede ocurrir una recombinación homóloga entre las cepas del Clado A (coronavirus murciélago) y los aislamientos de origen desconocido, ubicado dentro de la glucoproteína espiga que reconoce el receptor de la superficie celular (Figura 2). Estas características indican que la transmisión entre especies puede ser causada por recombinación homóloga.

### 3.1 | Análisis relativo del uso de codones sinónimos

Como microorganismo parásito, el patrón de uso de codones de virus se parece en cierta medida a su huésped. El sesgo de RSCU muestra que el 2019 - nCoV, bat- SL - CoVZC45 y las serpientes de China tienen un sesgo similar en el uso de codones sinónimos (Figura 3A, Tabla 1). La distancia euclidiana al cuadrado indica que el 2019 - nCoV y las serpientes de China tienen la mayor similitud en el sesgo de uso de codones sinónimos en comparación con los de murciélago,



pájaro, Marmota, humano, Manis y erizo y (Figura 3B). Dos tipos de serpientes, que contienen B. multicinctus (krait de muchas bandas) y N. atra (cobra china) se utilizaron para el análisis RSCU. Cuadrado

La distancia euclidiana entre el 2019 - nCoV y B. multicinctus es 13.54. La distancia entre el 2019 - nCoV y otra serpiente N. atra es 16.69. La distancia entre 2019 - nCoV y Rhinolophus sinicus es 23.46. Sin embargo, la distancia entre el 2019 - nCoV y otros animales es mayor que 26, específicamente 26.93 para aves, 34.79 para Marmota, 35.36 para humanos, 36.71 para Manis y 37.96 para erizo. Estos datos sugieren que 2019 - nCoV podría usar de manera más efectiva la maquinaria de traducción de serpientes que la de otros animales. Dos tipos de serpientes son comunes en el sureste de China, incluida la ciudad de Wuhan (Figura 4). Distribuciones geográficas de

B. multicinctus incluye Taiwán, China central y meridional, Hong Kong, Myanmar (Birmania), Laos y Vietnam del Norte.<sup>24</sup> N. atra se encuentra en el sureste de China, Hong Kong, el norte de Laos, el norte de Vietnam y Taiwán.<sup>25</sup> También se vendieron serpientes en el

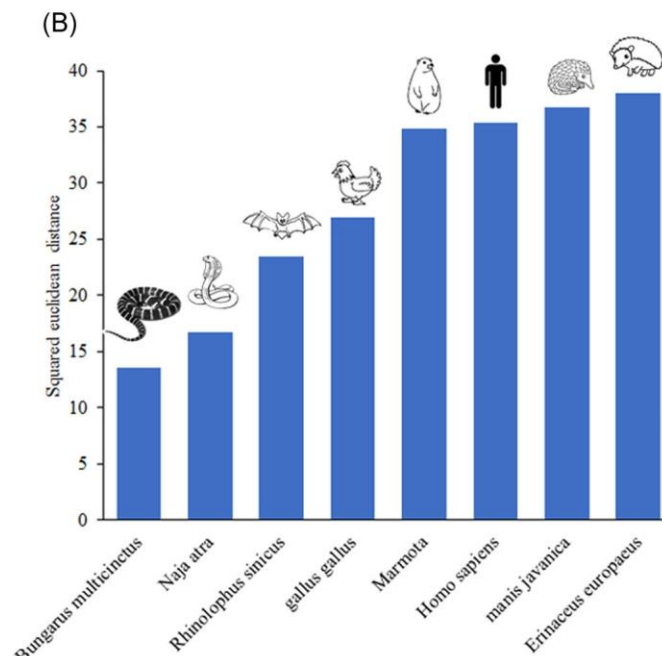


FIGURE 3 Comparación del uso relativo de codones sinónimos (RSCU) entre 2019 - nCoV y sus supuestos reservorios de animales de vida silvestre.

A, mapa de calor resultante del análisis de conglomerados de la RSCU entre 2019 - nCoV, bat - SL - CoVZC45, Bungarus multicinctus, Naja atra, Rhinolophus sinicus, Gallus gallus, Marmota, Homo sapiens, Manis javanica y Erinaceus europaeus. B, Comparación de la distancia euclidiana al cuadrado entre 2019 - nCoV y diferentes especies animales. La distancia euclidiana cuadrada se calculó con base en la RSCU



TAB L E 1 El análisis RSCU de los codones preferidos (codones con RSCU > 1), los codones óptimos y los codones raros para coronavirus, serpientes, erizo, murciélago Marmota, Manis, Gallus y genoma humano

	bat-SL-CoVZC45	2019-nCoV-MN908947	BUNGARUS MULTICINCTUS	Naja atra	Rhinolophus sinicus	GALLUS GALLUS	Marmota	Homo sapiens	manis javanica	ERINACEUS EURO-PAEUS
<b>Phe</b> UUU	1.33	1.41	1.07	1.07	1	<b>0.99</b>	<b>0.92</b>	<b>0.93</b>	<b>0.9</b>	<b>0.88</b>
UUC	<b>0.67</b>	<b>0.59</b>	<b>0.93</b>	<b>0.93</b>	1	1.01	1.08	1.07	1.1	1.12
<b>Leu</b> UUA	<b>1.37</b>	<b>1.64</b>	<b>1.17</b>	<b>1.32</b>	<b>0.52</b>	<b>0.54</b>	<b>0.45</b>	<b>0.46</b>	<b>0.44</b>	<b>0.43</b>
UUG	<b>1.19</b>	<b>1.07</b>	<b>1.02</b>	<b>1.17</b>	1	<b>0.87</b>	<b>0.79</b>	<b>0.77</b>	<b>0.75</b>	<b>0.74</b>
CUU	1.77	1.75	<b>0.94</b>	<b>0.55</b>	<b>1.03</b>	<b>0.89</b>	<b>0.79</b>	<b>0.79</b>	<b>0.78</b>	<b>0.74</b>
CUC	<b>0.66</b>	<b>0.59</b>	<b>0.66</b>	<b>0.67</b>	<b>0.99</b>	1	<b>1.14</b>	<b>1.17</b>	<b>1.18</b>	<b>1.15</b>
CUA	<b>0.6</b>	<b>0.66</b>	<b>0.38</b>	<b>0.51</b>	<b>0.5</b>	<b>0.44</b>	<b>0.45</b>	<b>0.43</b>	<b>0.41</b>	<b>0.43</b>
CUG	<b>0.4</b>	<b>0.3</b>	1.83	1.77	1.95	2.26	2.37	2.37	2.44	2.5
<b>Ile</b> AUU	1.57	1.53	1.21	1.67	1.18	<b>1.13</b>	<b>1.08</b>	<b>1.08</b>	<b>1.07</b>	<b>1.03</b>
AUC	<b>0.56</b>	<b>0.56</b>	<b>0.93</b>	<b>0.68</b>	<b>1.16</b>	1.23	1.42	1.41	1.43	1.5
AUA	<b>0.86</b>	<b>0.91</b>	<b>0.87</b>	<b>0.65</b>	<b>0.66</b>	<b>0.64</b>	<b>0.5</b>	<b>0.51</b>	<b>0.5</b>	<b>0.48</b>
<b>Met</b> AUG	1	1	1	1	1	1	1	<b>1.00</b>	1	1
<b>Val</b> GUU	1.89	1.95	<b>1.06</b>	<b>0.94</b>	<b>0.97</b>	<b>0.93</b>	<b>0.71</b>	<b>0.73</b>	<b>0.69</b>	<b>0.67</b>
GUC	<b>0.55</b>	<b>0.57</b>	<b>0.26</b>	<b>0.47</b>	<b>0.94</b>	<b>0.83</b>	<b>0.95</b>	<b>0.95</b>	<b>0.98</b>	<b>0.96</b>
GUA	<b>0.91</b>	<b>0.9</b>	<b>0.93</b>	<b>0.54</b>	<b>0.42</b>	<b>0.57</b>	<b>0.48</b>	<b>0.47</b>	<b>0.46</b>	<b>0.45</b>
GUG	<b>0.66</b>	<b>0.58</b>	1.75	2.05	1.68	1.67	1.86	1.85	1.87	1.91
<b>Ser</b> UCU	2.04	1.96	1.96	<b>1.27</b>	<b>1.29</b>	<b>1.19</b>	<b>1.14</b>	<b>1.13</b>	<b>1.1</b>	<b>1.11</b>
UCC	<b>0.44</b>	<b>0.47</b>	<b>0.74</b>	<b>0.51</b>	1	1.1	<b>1.31</b>	<b>1.31</b>	<b>1.3</b>	<b>1.3</b>
UCA	<b>1.66</b>	<b>1.66</b>	<b>1.26</b>	<b>1.43</b>	<b>1.11</b>	<b>0.99</b>	<b>0.9</b>	<b>0.90</b>	<b>0.89</b>	<b>0.88</b>
UCG	<b>0.15</b>	<b>0.11</b>	<b>0.21</b>	<b>0.47</b>	<b>0.26</b>	<b>0.32</b>	<b>0.29</b>	<b>0.33</b>	<b>0.31</b>	<b>0.32</b>
AGU	<b>1.36</b>	<b>1.43</b>	<b>1.16</b>	<b>1.46</b>	<b>0.93</b>	<b>0.96</b>	<b>0.94</b>	<b>0.90</b>	<b>0.93</b>	<b>0.94</b>
AGC	<b>0.36</b>	<b>0.37</b>	<b>0.66</b>	<b>0.86</b>	1.4	1.45	1.42	1.44	1.46	1.45
<b>Pro</b> CCU	1.82	1.94	1.91	1.81	<b>1.19</b>	<b>1.2</b>	<b>1.19</b>	<b>1.15</b>	<b>1.16</b>	<b>1.13</b>
CCC	<b>0.34</b>	<b>0.3</b>	<b>0.52</b>	<b>0.49</b>	<b>1.09</b>	<b>1.08</b>	1.28	1.29	1.31	1.37
CCA	<b>1.59</b>	<b>1.6</b>	<b>1.47</b>	<b>1.57</b>	1.46	1.25	<b>1.14</b>	<b>1.11</b>	<b>1.11</b>	<b>1.06</b>
CCG	<b>0.26</b>	<b>0.16</b>	<b>0.1</b>	<b>0.13</b>	<b>0.26</b>	<b>0.48</b>	<b>0.39</b>	<b>0.45</b>	<b>0.42</b>	<b>0.44</b>
<b>Thr</b> ACU	1.75	1.78	<b>1.27</b>	<b>1.28</b>	<b>1.01</b>	<b>1.08</b>	<b>1.02</b>	<b>0.99</b>	1	1
ACC	<b>0.44</b>	<b>0.38</b>	<b>0.91</b>	<b>0.96</b>	1.38	<b>1.09</b>	1.42	1.42	1.41	1.42
ACA	<b>1.58</b>	<b>1.64</b>	1.79	1.52	<b>1.19</b>	1.32	<b>1.15</b>	<b>1.14</b>	<b>1.15</b>	<b>1.14</b>
ACG	<b>0.24</b>	<b>0.2</b>	<b>0.02</b>	<b>0.23</b>	<b>0.42</b>	<b>0.51</b>	<b>0.41</b>	<b>0.46</b>	<b>0.45</b>	<b>0.44</b>
<b>Ala</b> GCU	2.13	2.19	<b>1.95</b>	<b>1.21</b>	<b>1.24</b>	1.24	<b>1.1</b>	<b>1.06</b>	<b>1.08</b>	<b>1.05</b>
GCC	<b>0.55</b>	<b>0.57</b>	<b>0.41</b>	<b>0.78</b>	1.57	<b>1.14</b>	1.59	1.60	1.62	1.65
GCA	<b>1.09</b>	<b>1.09</b>	1.5	1.7	<b>0.9</b>	<b>1.21</b>	<b>0.94</b>	<b>0.91</b>	<b>0.92</b>	<b>0.89</b>
GCG	<b>0.24</b>	<b>0.15</b>	<b>0.14</b>	<b>0.31</b>	<b>0.3</b>	<b>0.42</b>	<b>0.37</b>	<b>0.42</b>	<b>0.38</b>	<b>0.42</b>
<b>Tyr</b> UAU	1.19	1.22	1.01	1.16	1.14	<b>0.88</b>	<b>0.9</b>	<b>0.89</b>	<b>0.86</b>	<b>0.85</b>
UAC	<b>0.81</b>	<b>0.78</b>	<b>0.99</b>	<b>0.84</b>	<b>0.86</b>	1.12	1.1	1.11	1.14	1.15
<b>His</b> CAU	1.39	1.39	1.27	1.03	1.16	<b>0.89</b>	<b>0.84</b>	<b>0.84</b>	<b>0.81</b>	<b>0.78</b>
CAC	<b>0.61</b>	<b>0.61</b>	<b>0.73</b>	<b>0.97</b>	<b>0.84</b>	1.11	1.16	1.16	1.19	1.22
<b>Gln</b> CAA	1.24	1.39	1	1.2	<b>0.68</b>	<b>0.59</b>	<b>0.53</b>	<b>0.53</b>	<b>0.49</b>	<b>0.5</b>
CAG	<b>0.76</b>	<b>0.61</b>	1	<b>0.8</b>	1.32	1.41	1.47	1.47	1.51	1.5
<b>Asn</b> AAU	1.34	1.35	1.16	<b>0.9</b>	1.05	<b>0.96</b>	<b>0.95</b>	<b>0.94</b>	<b>0.93</b>	<b>0.9</b>
AAC	<b>0.66</b>	<b>0.65</b>	<b>0.84</b>	1.1	<b>0.95</b>	1.04	1.05	1.06	1.07	1.1
<b>Lys</b> AAA	1.2	1.31	1.13	1.21	1.05	<b>0.96</b>	<b>0.85</b>	<b>0.87</b>	<b>0.85</b>	<b>0.83</b>
AAG	<b>0.8</b>	<b>0.69</b>	<b>0.87</b>	<b>0.79</b>	<b>0.95</b>	1.04	1.15	1.13	1.15	1.17
<b>Asp</b> GAU	1.24	1.28	1.18	1.19	1.08	1.08	<b>0.94</b>	<b>0.93</b>	<b>0.91</b>	<b>0.88</b>
GAC	<b>0.76</b>	<b>0.72</b>	<b>0.82</b>	<b>0.81</b>	<b>0.92</b>	<b>0.92</b>	1.06	1.07	1.09	1.12

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

	bat-SL-CoVZC45	2019-nCoV-MN908947	BUNGARUS MULTICINCTUS	Naja atra	Rhinolophus sinicus	GALLUS GALLUS	Marmota	Homo sapiens	manis javanica	ERINACEUS EURO-PAEUS
<b>Glu</b>	<b>GAA</b>	1.27	1.44	1.49	1.32	1.09	<b>0.94</b>	<b>0.85</b>	<b>0.84</b>	<b>0.82</b>
	<b>GAG</b>	<b>0.73</b>	<b>0.56</b>	<b>0.51</b>	<b>0.68</b>	<b>0.91</b>	1.06	1.15	1.16	1.18
<b>Cys</b>	<b>UGU</b>	1.47	1.56	<b>0.99</b>	<b>0.95</b>	<b>0.95</b>	<b>0.9</b>	<b>0.94</b>	<b>0.91</b>	<b>0.91</b>
	<b>UGC</b>	<b>0.53</b>	<b>0.44</b>	1.01	1.05	1.05	1.1	1.06	1.09	1.09
<b>Trp</b>	<b>UGG</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1.00</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Arg</b>	<b>CGU</b>	1.52	1.45	<b>0.61</b>	<b>0.97</b>	<b>0.7</b>	<b>0.59</b>	<b>0.49</b>	<b>0.48</b>	<b>0.48</b>
	<b>CGC</b>	<b>0.63</b>	<b>0.59</b>	<b>0.39</b>	<b>0.26</b>	<b>0.74</b>	<b>0.96</b>	<b>1.08</b>	<b>1.10</b>	<b>1.06</b>
	<b>CGA</b>	<b>0.32</b>	<b>0.29</b>	<b>0.8</b>	<b>0.4</b>	<b>0.57</b>	<b>0.61</b>	<b>0.69</b>	<b>0.65</b>	<b>0.63</b>
	<b>CGG</b>	<b>0.1</b>	<b>0.19</b>	<b>0.32</b>	<b>0.44</b>	<b>0.74</b>	<b>0.98</b>	<b>1.22</b>	<b>1.21</b>	<b>1.26</b>
	<b>AGA</b>	2.63	2.67	2.97	2.47	1.84	1.52	1.24	1.29	1.23
	<b>AGG</b>	<b>0.79</b>	<b>0.81</b>	<b>0.91</b>	<b>1.46</b>	<b>1.42</b>	<b>1.35</b>	<b>1.28</b>	<b>1.27</b>	<b>1.34</b>
<b>Gly</b>	<b>GGU</b>	2.16	2.34	<b>0.89</b>	<b>0.82</b>	<b>0.78</b>	<b>0.76</b>	<b>0.68</b>	<b>0.65</b>	<b>0.65</b>
	<b>GGC</b>	<b>0.77</b>	<b>0.71</b>	<b>0.47</b>	<b>0.56</b>	<b>1.03</b>	<b>1.11</b>	1.32	1.35	1.35
	<b>GGA</b>	<b>0.91</b>	<b>0.83</b>	2.03	1.95	1.19	1.19	<b>1.02</b>	<b>1.00</b>	<b>0.95</b>
	<b>GGG</b>	<b>0.16</b>	<b>0.12</b>	<b>0.6</b>	<b>0.68</b>	<b>1</b>	<b>0.94</b>	<b>0.99</b>	<b>1.01</b>	<b>1.05</b>

Nota: Los codones más preferidos están en negrita. Abreviatura: RSCU, uso relativo de codones sinónimos.

Huanan Seafood Wholesale Market, donde muchos pacientes trabajaban o tenían antecedentes de exposición a la vida silvestre o animales de granja.

### 3 | DISCUSIÓN

En este estudio, hemos realizado un análisis evolutivo utilizando 272 secuencias genómicas de coronavirus obtenidas de varias ubicaciones geográficas. Nuestros resultados muestran que la nueva secuencia de coronavirus obtenida del brote de neumonía viral que ocurre en la ciudad de Wuhan forma un grupo separado que es muy distintivo del SARS-CoV. El SARS-CoV surgió por primera vez en China en 2002 y luego se extendió a 37 países / regiones en 2003 y causó un brote global relacionado con los viajes con una tasa de mortalidad de 9.6% .26 Más importante aún, los resultados de nuestro análisis revelan que puede ocurrir una recombinación homóloga entre coronavirus de murciélago y un coronavirus de origen desconocido dentro del gen de la glucoproteína espiga viral. El análisis de homología de secuencia de los genes de glucoproteína de pico parcial (1-783 pb) del 2019-nCoV se realizó a través de BLAST en el sitio web de NCBI. Curiosamente, no se encontró una secuencia similar con la secuencia conocida en la base de datos, lo que sugiere que todavía se desconoce un supuesto virus parental recombinante.

Un estudio anterior sugirió que la recombinación del SARS en los genes de la glicoproteína espiga podría haber mediado el evento de transmisión cruzada entre especies de murciélagos a otros mamíferos.[27] El análisis de la trama de análisis de Bootscanning (datos no mostrados) sugirió que los principales padres del 2019 - nCoV se originaron en Clade A (bat-SL-CoVZC45 y bat-SL-CoVZXC21) pero formó un grupo monofilético diferente de ellos. En general, el origen ancestral del 2019 - nCoV fue más probable de especies hospedadoras divergentes que del SARS-CoV.

El rango de hospedadores de algunos coronavirus animales fue promiscuo.

Llamaron nuestra atención solo cuando causaron enfermedades humanas como el SARS, el MERS y la neumonía 2019 - nCoV.[4,9,28] Es fundamental determinar el reservorio animal del 2019 - nCoV para comprender el mecanismo molecular de su propagación entre especies. La recombinación homóloga dentro de las proteínas estructurales virales entre coronavirus de diferentes hospedadores puede ser responsable de la transmisión de "especies cruzadas" .[27] La información obtenida del análisis de RSCU proporciona algunas ideas sobre la cuestión del reservorio de animales silvestres, aunque requiere una validación adicional por parte de Estudios experimentales en modelos animales.

Actualmente, el 2019 - nCoV no se ha aislado de especies animales, aunque se obtuvo de un paciente. Identificar y caracterizar el reservorio animal para 2019 - nCoV será útil para la investigación de la recombinación y para una mejor comprensión de su propagación de persona a persona entre las poblaciones humanas.

El 2019-nCoV ha causado un total de 217 casos confirmados de neumonía en China a partir del 20 de enero de 2020 con nuevos pacientes también reportados en Hong Kong, Tailandia, Singapur, Corea del Sur y Japón. A diferencia del SARS-CoV, el 2019-nCoV parecía causar inicialmente una forma leve de neumonía viral y tenía una capacidad limitada de propagación de persona a persona. Esto podría deberse a que la recombinación se produjo dentro de la glucoproteína de unión al receptor. Sin embargo, existe una preocupación acerca de su adaptación en humanos que puede adquirir la capacidad de replicarse de manera más eficiente y propagarse más rápidamente a través del contacto cercano de persona a persona. En resumen, los resultados derivados de nuestro análisis evolutivo.

sugieren que 2019 - nCoV tiene la información genética más similar con el coronavirus de murciélago y tiene un sesgo de uso de codones más similar con la serpiente. Además, puede producirse una recombinación homóloga dentro de la glicoproteína de la espiga que se une al receptor viral, lo que puede determinar la transmisión entre especies. Estos nuevos hallazgos justifican una investigación futura para determinar experimentalmente sí.

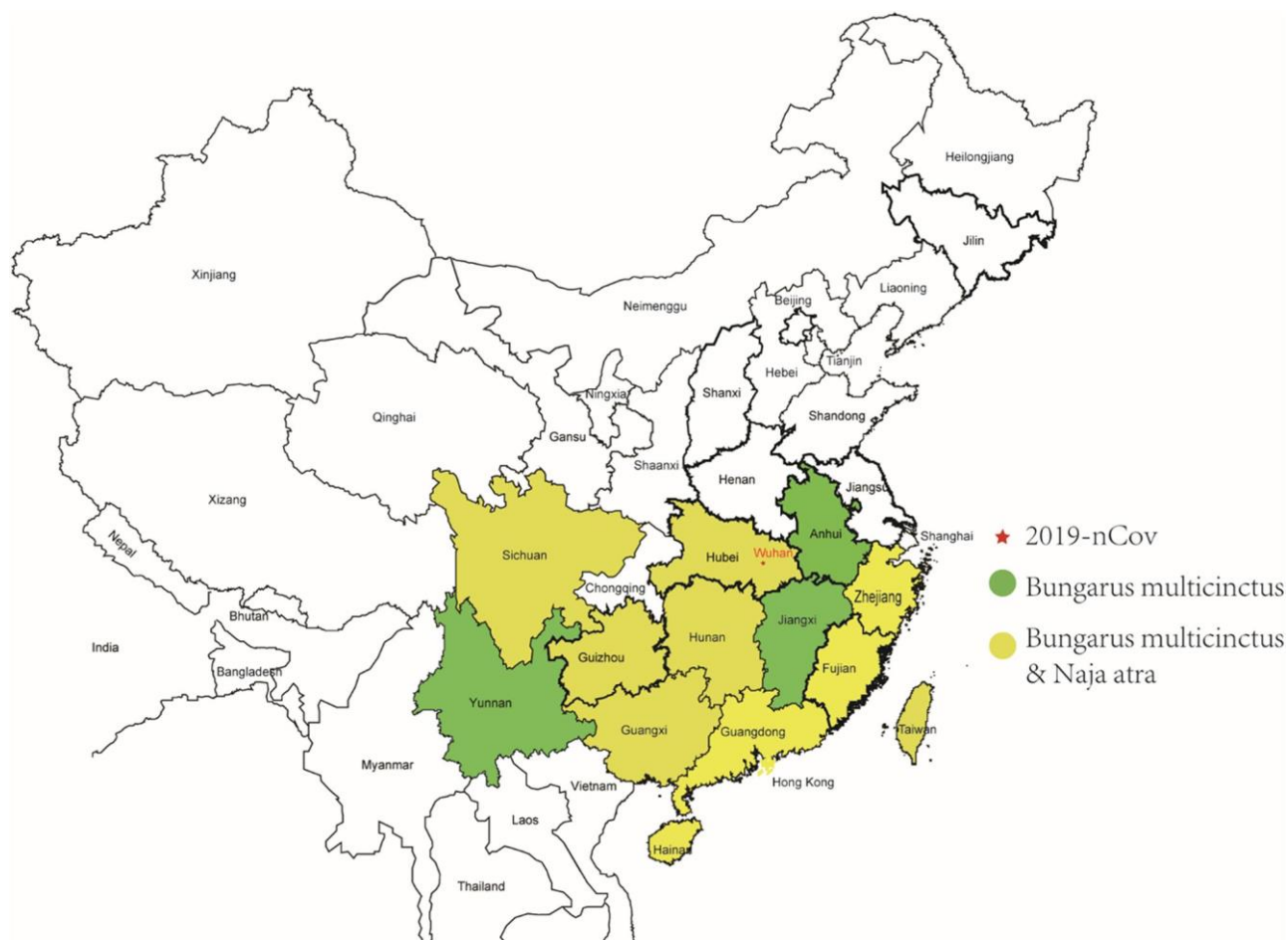


FIGURE 4 Distribución geográfica de *Bungarus multicinctus* y *Naja atra* en China. La distribución geográfica de *Bungarus multicinctus* y *Naja atra* se resalta en colores. El color amarillo representa la distribución geográfica común de *Bungarus multicinctus* y *Naja atra*. El color verde representa una distribución geográfica adicional de *Bungarus multicinctus*. La ubicación de la ciudad de Wuhan donde se produce el brote de 2019-nCoV se indica en rojo. Los mapas se obtuvieron del sitio web Craft MAP (<http://www.craftmap.box-i.net/>)

La recombinación homóloga dentro de la glucoproteína espiga determina el tropismo del 2019-nCoV en la transmisión y replicación viral. La nueva información obtenida de nuestro análisis evolutivo es altamente significativa para el control efectivo del brote causado por la neumonía inducida por 2019 nCoV.

#### EXPRESIONES DE GRATITUD

Este estudio fue apoyado por el Proyecto del Comité de Salud de Guangxi (No. Z20191111) y la Fundación de Ciencias Naturales de la Provincia de Guangxi de China (No. 2017GXNSFAA198080) al Dr. Xiaofang Zhao. Este estudio fue patrocinado por K.C. Fondo Wong Magna en la Universidad de Ningbo. Los autores desean agradecer al profesor Yongzhen Zhang (Universidad de Fudan) por depositar la secuencia del coronavirus recientemente identificado 2019 - nCoV en GeneBank, que se utilizó en este estudio.

#### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

#### CONTRIBUCIONES DE AUTOR

Escritura: WJ y XL. Recopilación de datos: JZ, WW y XZ. Análisis de datos: WJ y XL.

#### ORCID

Wei Ji  <http://orcid.org/0000-0002-0818-5578>

#### REFERENCES

1. Chan PK. Outbreak of avian influenza A (H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin Infect Dis*. 2002;34:S58-S64.
2. Guan Y. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*. 2003;302:276-278.
3. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N Engl J Med*. 2011;364:1523-1532. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1010095>
4. Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan China: the mystery and the miracle. *J Med Virol*. 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25678>
5. World Health Organization. Coronavirus. 2019. <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>



6. Zhang N, Wang L, Deng X, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. *J Med Virol.* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25674>
7. MacLachlan NJ, Dubovi EJ. In: MacLachlan NJ, Dubovi EJ, eds. *Fenner's Veterinary Virology*. 5th ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2017:393-413.
8. Howley DMKP. *Fields Virology*. 1. Lippincott Williams & Wilkins; 2013: 830P.
9. World Health Organization. *Consensus Document on the Epidemiology of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)*. Geneva: World Health Organization; 2003.
10. Wang H, Liu S, Zhang B, Wei W. Analysis of synonymous codon usage bias of Zika virus and its adaption to the hosts. *PLoS One*. 2016;11: e0166260.
11. Bahir I, Fromer M, Prat Y, Linial M. Viral adaptation to host: a proteome-based analysis of codon usage and amino acid preferences. *Mol Syst Biol.* 2009;5:311.
12. Katoh K, Standley DM. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol.* 2013;30:772-780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
13. Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser.* 1999;41:95-98. <https://doi.org/citeulike-article-id:691774>
14. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics.* 2014;30:1312-1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
15. Lole KS, Bollinger RC, Paranjape RS, et al. Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination. *J Virol.* 1999;73:152-160.
16. Liu X, Zhang Y, Fang Y, Wang Y. Patterns and influencing factor of synonymous codon usage in porcine circovirus. *Virol J.* 2012;9:1-9.
17. Wright F. The 'effective number of codons' used in a gene. *Gene.* 1990; 87:23-29.
18. Ji W, Niu D-D, Si H-L, Ding N-Z, He C-Q. Vaccination influences the evolution of classical swine fever virus. *Infect Genet Evol.* 2014;25:69-77.
19. Howe H, Holton K, Nair S, Schlauch D, Sinha R, Quackenbush J. In: Ochs MF, Casagrande JT, Davuluri RV, eds. *Biomedical Informatics for Cancer Research*. Boston, MA: Springer; 2010:2677.
20. Tolou HJ, Couissinier-Paris P, Durand JP, et al. Evidence for recombination in natural populations of dengue virus type 1 based on the analysis of complete genome sequences. *J Gen Virol.* 2001;82:1283-1290.
21. Clavel F, Hoggan MD, Willey RL, Strebel K, Martin MA, Repaske R. Genetic recombination of human immunodeficiency virus. *J Virol.* 1989;63:1455-1459.
22. Bollyky PL, Rambaut A, Harvey PH, Holmes EC. Recombination between sequences of hepatitis B virus from different genotypes. *J Mol Evol.* 1996;42:97-102.
23. Colina R, Casane D, Vasquez S, et al. Evidence of intratypic recombination in natural populations of hepatitis C virus. *J Gen Virol.* 2004;85:31-37.
24. Wikipedia. Many-banded krait. 2020. [https://en.wikipedia.org/wiki/Many-banded\\_krait](https://en.wikipedia.org/wiki/Many-banded_krait).
25. Wikipedia. Chinese cobra. 2020. [https://en.wikipedia.org/wiki/Chinese\\_cobra](https://en.wikipedia.org/wiki/Chinese_cobra).
26. Smith RD. Responding to global infectious disease outbreaks: lessons from SARS on the role of risk perception, communication and management. *Soc Sci Med.* 2006;63:3113-3123.
27. Graham RL, Baric RS. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission. *J Virol.* 2010;84:3134-3146.
28. Cunha CB, Opal SM. Middle East respiratory syndrome (MERS) A new zoonotic viral pneumonia. *Virulence.* 2014;5:650-654.

## SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J, Li X. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J Med Virol.* 2020;92: 433–440. <https://doi.org/10.1002/jmv.25682>