

Similarità / Correlazione filogenetica, determinata tramite software per allineamento multiplo Clustal Omega, tra il gene codificante per la Spike Glycoprotein del SARS-CoV-2, i geni PRNP e SPRN, codificanti per la Proteina Prionica nell'uomo e la sequenza del costrutto genico del vaccino Pfizer-BioNTech per SARS-CoV-2

By

Dr. Stefano Turini MBioLSc PhD

Docente Capri Campus, sezione Medicina Ambientale e Sicurezza Ambientale

Sinossi del lavoro:

Il lavoro qui riportato, interamente svolto dal punto di vista bioinformatico, deriva da un processo di simulazione, eseguita con il software per allineamento multiplo Clustal Omega (da qui il link al sito web, <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>), al di sopra di sequenze estrapolate dalla banca dati NCBI (National Center for Biotechnology Informations, da qui il link al sito web <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Le sequenze erano: il gene codificante per la Glicoproteina Spike (Gene ID: 43740568), il gene SPRN (Shadow of the Prion Protein) (Gene ID: 503542), il gene PRNP (Gene ID: 5621), la sequenza del costrutto genico presente nelle nanoparticelle lipidiche / lipofectamine, presenti nel vaccino Pfizer-BioNTech (*a tale scopo, allego, il lavoro da cui ho estrapolato la sequenza*). Tale lavoro è stato svolto sulla base della presenza di letteratura scientifica che associa non solo la particella virale SARS-CoV-2, ma la specifica glicoproteina pericapsidica, nota come Glicoproteina Spike, con la Proteina Prionica [1,2]. Oltre tale associazione, è anche presente un lavoro facente capo ad una demenza progressiva rapida con rigidità asimmetrica, a seguito della seconda inoculazione del vaccino per il SARS-CoV-2 ChAdOx1 (COVISHIELD) [3], per di, più, una pubblicazione,

ancora più specifica, riporta il rischio connesso tra l'RNA ricombinante presente nei vaccini per il SARS-CoV-2 e le malattie da Prioni [4]. Il risultato ottenuto a seguito di tale lavoro, dopo aver eseguito un allineamento genetico multiplo tra i geni sopra riportati, quali: Gene della Glicoproteina Spike, Gene SPRN, Gene PRNP e sequenza del costrutto genetico del vaccino Pfizer-BioNTech, hanno mostrato una ridotta distanza filogenetica, a livello dei filogrammi e degli alberi filogenetici, tra il costrutto genetico del vaccino Pfizer-BioNTech e i geni codificanti per: la Glicoproteina Spike, SPRN e PRNP. Più la distanza filogenetica risulta ridotta, maggiore è la similarità tra le sequenze e minore è la distanza evolutiva (filogenetica) che separa due sequenze. In parole semplici, più la distanza filogenetica è ridotta più due o più sequenze sono vicine e simili. La distanza filogenetica è determinata, nei grafici che seguiranno, da un coefficiente numerico presente al lato destro dell'albero filogenetico o cladogramma. Più i numeri sono simili più la distanza filogenetica è ridotta. La vicinanza filogenetica è direttamente proporzionale alla similarità tra due coefficienti numerici rappresentanti il coefficiente di distanza / similarità filogenetica.

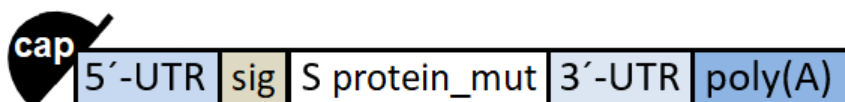
NOTA: Qui di seguito segue il rapporto da cui è stata estrapolata la sequenza presente nel costrutto genetico del vaccino Pfizer-BioNTech.

11889

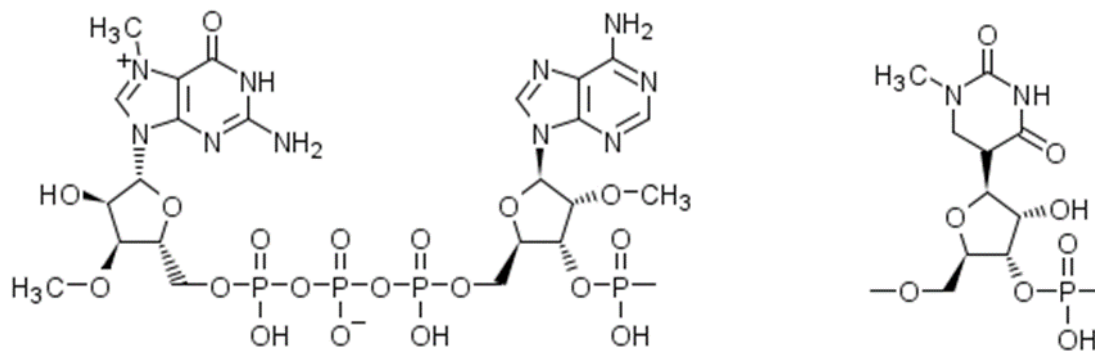
Description

Messenger RNA encoding the full-length SARS-CoV-2 spike glycoprotein.

Schematic



UTR = Untranslated region; sig = extended signal sequence of the S glycoprotein; S protein_mut = S glycoprotein sequence containing mutations K986P and V987P; poly(A) = polyadenylate signal tail.



5'- capping structure

cap G¹A² = m⁷G⁺m³-5'-ppp-5'-Am²-3'-p-
 [m⁷ = 7-CH₃; m³ = 3'-O-CH₃; m² = 2'-O-CH₃;
 -ppp- = -PO₂H-O-PO₂H-O-PO₂H)-; -p- = -PO₂H-]

m¹ψ = 1-methyl-3'-pseudouridylyl

Table of features

Element	Description	Position
cap	A modified 5'-cap1 structure (m ⁷ G+m ³ -5'-ppp-5'-Am)	1-2
5'-UTR	5'-untranslated region derived from human alpha-globin RNA with an optimized Kozak sequence	3-54
sig	S glycoprotein signal peptide (extended leader sequence), which guides translocation of the nascent polypeptide chain into the endoplasmic reticulum.	55-102
S protein_mut	Codon-optimized sequence encoding full-length SARS-CoV-2 spike (S) glycoprotein containing mutations K986P and V987P to ensure the S glycoprotein remains in an antigenically optimal pre-fusion conformation; stop codons: 3874-3879 (underlined)	103-3879
3'-UTR	The 3' untranslated region comprises two sequence elements derived from the amino-terminal enhancer of split (AES) mRNA and the mitochondrial encoded 12S ribosomal RNA to confer RNA stability and high total protein expression.	3880-4174
poly(A)	A 110-nucleotide poly(A)-tail consisting of a stretch of 30 adenosine residues, followed by a 10-nucleotide linker sequence and another 70 adenosine residues.	4175-4284

Sequence / Séquence / Secuencia

GAGAAΨAAAC ΨAGΨAΨΨCΨΨ CΨGGΨCCCCA CAGACΨCAGA GAGAACCCGC 50
 CACC**A**Ψ**G**Ψ**Ψ**C **G**Ψ**G**Ψ**Ψ**C**C**Ψ**G**G Ψ**G**CΨ**G**CΨ**G**CC Ψ**C**Ψ**G**GΨ**G**Ψ**C**C **A**GC**C**AGΨ**G**Ψ**G** 100
 Ψ**G**A**A**CCΨ**G**AC CACCAGAA**A** CAGCΨ**G**CCΨ**C** CAGCCΨ**A**CAC CAACAGCΨ**Ψ**Ψ 150
 ACCAGAGGCG Ψ**G**Ψ**A**CΨ**A**CC CGACAAGGΨ**G** Ψ**Ψ**CAG**A**Ψ**C**CA GCGΨ**G**CΨ**G**CA 200
 CΨ**C**Ψ**A**CC**C**AG GACCΨ**G**Ψ**Ψ**CC Ψ**G**CCΨ**Ψ**ΨCΨ**Ψ**Ψ CAGCAACGΨ**G** ACCΨ**G**GΨ**Ψ**CC 250
 ACGCC**A**Ψ**C**CA CGΨ**G**Ψ**C**GGC ACCAAΨ**G**GCA CCAAGAG**A**Ψ**Ψ** CGACAACCC 300
 GΨ**G**CΨ**G**CC**C**Ψ Ψ**C**AACGACGG GGΨ**G**Ψ**A**CΨ**Ψ**Ψ GCCAGC**A**CCG AGAAGΨ**C**CAA 350
 CAΨ**C**AΨ**C**AGA GGCΨ**G**GAΨ**C**Ψ Ψ**C**GGCACCAC ACΨ**G**GACAGC AAGACCCAGA 400
 GCCΨ**G**CΨ**G**AΨ CGΨ**G**AACAAC GCCACCAACG Ψ**G**GΨ**C**AΨ**C**AA AGΨ**G**Ψ**G**CGAG 450
 Ψ**Ψ**CCAGΨ**Ψ**CΨ GCAACGACCC CΨ**Ψ**CCΨ**G**GGC GΨ**C**Ψ**A**CΨ**A**CC ACAAGAACAA 500
 CAAGAGCΨ**G**G AΨ**G**GA**A**AGCG AGΨ**Ψ**CCGGGΨ GΨ**A**CAGCAGC GCCAACAACΨ 550
 GCACCΨ**Ψ**CGA GΨ**A**CGΨ**G**Ψ**C**C CAGCCΨ**Ψ**ΨCC Ψ**G**AΨ**G**GACCΨ GGAAGGCAAG 600
 CAGGGCAACΨ Ψ**C**AAGAACCΨ GCGCGAGΨ**Ψ**C GΨ**G**Ψ**Ψ**ΨAAGA ACAΨ**C**GACGG 650
 CΨ**A**CΨ**Ψ**CAAG AΨ**C**Ψ**A**CAGCA AGCACACCC Ψ**A**Ψ**C**AACCΨC GΨ**G**CGGG**A**ΨC 700
 Ψ**G**CCΨ**C**AGGG CΨ**Ψ**CΨ**C**Ψ**G**CΨ CΨ**G**GAACCC Ψ**G**GΨ**G**GAΨ**C**Ψ GCCCAΨ**C**GGC 750
 AΨ**C**AACAΨ**C**A CCCGΨ**Ψ**Ψ**C**A GACACΨ**G**CΨ**G** GCCCΨ**G**CACA GAAGCΨ**A**CCΨ 800
 GACACCΨ**G**GC GAΨ**A**GCAGCA GCGGAΨ**G**GAC AGCΨ**G**GΨ**G**CC GCCGCΨ**Ψ**A**C**Ψ 850
 AΨ**G**Ψ**G**GGCΨ**A** CCΨ**G**CAGCCΨ AGAACCΨ**Ψ**CC Ψ**G**CΨ**G**AAGΨ**A** CAACGAGAAC 900
 GGCACCAΨ**C**A CCGACGCCΨ GGAΨ**Ψ**GΨ**G**CΨ CΨ**G**GAΨ**C**ΨC Ψ**G**AGCGAGAC 950

AAAGΨGCACC	CΨGAAGΨCCΨ	ΨCACCGΨGGA	AAAGGGCAΨC	ΨACCAGACCA	1000
GCAACΨΨCCG	GGΨGCAGCCC	ACCGAAΨCCA	ΨCGΨGCGGΨΨ	CCCCAAΨAΨC	1050
ACCAAΨCΨGΨ	GCCCCΨΨCGG	CGAGGΨGΨΨC	AAΨGCCACCA	GAΨΨCGCCΨC	1100
ΨGΨGΨACGCC	ΨGGAACCGGA	AGCGGAΨCAG	CAAΨΨGCGΨG	GCCGACΨACΨ	1150
CCGΨGCΨGΨA	CAACΨCCGCC	AGCΨΨCAGCA	CCΨΨCAAGΨG	CΨACGGCGΨG	1200
ΨCCCCΨACCA	AGCΨGAACGA	CCΨGΨGCΨΨC	ACAAACGΨGΨ	ACGCCGACAG	1250
CΨΨCGΨGAWC	CGGGGAGAWG	AAGΨGCGGCA	GAΨΨGCCCCΨ	GGACAGACAG	1300
GCAAGAΨCGC	CGACΨACAAC	ΨACAAGCΨGC	CCGACGACΨΨ	CACCGGCΨGΨ	1350
GΨGAΨΨGCCΨ	GGAACAGCAA	CAACCΨGGAC	ΨCCAAAGΨCG	GCGGCAACΨA	1400
CAAΨΨACCΨG	ΨACCGGCΨGΨ	ΨCCGGAAGΨC	CAAΨCΨGAAG	CCCΨΨCGAGC	1450
GGGACAΨCΨC	CACCGAGAWC	ΨAΨCAGGCCG	GCAGCACCCC	ΨΨGΨAACGGC	1500
GΨGGAAGGCΨ	ΨCAACΨGCΨA	CΨΨCCCACΨG	CAGΨCCΨACG	GCΨΨΨCAGCC	1550
CACAAAΨGGC	GΨGGGCΨAΨC	AGCCCΨACAG	AGΨGGΨGGΨG	CΨGAGCΨΨCG	1600
AACΨGCΨGCA	ΨGCCCCΨGCC	ACAGΨGΨGCG	GCCCΨAAGAA	AAGCACCAAΨ	1650
CΨCGΨGAAGA	ACAAAΨGCGΨ	GAACΨΨCAAC	ΨΨCAACGGCC	ΨGACCGGCAC	1700
CGGCGΨGCΨG	ACAGAGAGCA	ACAAGAAGΨΨ	CCΨGCCAΨΨC	CAGCAGΨΨΨG	1750
GCCGGGAΨAΨ	CGCCGAΨACC	ACAGACGCCG	ΨΨAGAGAWC	CCAGACACΨG	1800
GAAAΨCCΨGG	ACAΨCACCCC	ΨΨGCAGCΨΨC	GGCGGAGΨGΨ	CΨGΨGAΨCAC	1850
CCCΨGGCACC	AACACCAGCA	AΨCAGGΨGGC	AGΨGCΨGΨAC	CAGGACGΨGA	1900
ACΨGΨACCGA	AGΨGCCCGΨG	GCCAWΨCACG	CCGAWCAGCΨ	GACACCΨACA	1950
ΨGGCGGGΨGΨ	ACΨCCACCGG	CAGCAAΨGΨG	ΨΨΨCAGACCA	GAGCCGGCΨG	2000
ΨCΨGAΨCΓGA	GCCGAGCACG	ΨGAACAΨAΨG	CΨACGAGΨGC	GACAΨCCCCA	2050
ΨCGGCGCΨGG	AAΨCΨGCGCC	AGCΨACCAGA	CACAGACAAA	CAGCCCΨCGG	2100
AGAGCCAGAA	GCGΨGGCCAG	CCAGAGCAΨC	AΨΨGCCΨACA	CAAΨGΨCΨCΨ	2150
GGGCGCCGAG	AACAGCGΨGG	CCΨACΨCCAA	CAACΨCΨAΨC	GCΨAΨCCCCA	2200
CCAACΨΨCAC	CAΨCAGCGΨG	ACCACAGAGA	ΨCCΨGCCΨGΨ	GΨCCAΨGACC	2250
AAGACCAGCG	ΨGGACΨGCAC	CAΨGΨACAΨC	ΨGCGGCGAΨΨ	CCACCAGΨG	2300
CΨCCAACCΨG	CΨGCΨGCAGΨ	ACGGCAGCΨΨ	CΨGCACCCAG	CΨGAΨΨAGAG	2350
CCCΨGACAGG	GAΨCGCCGΨG	GAACAGGACA	AGAACACCCA	AGAGGΨGΨΨC	2400
GCCCAAGΨGA	AGCAGAWCΨA	CAAGACCCCΨ	CCΨAΨCAAGG	ACΨΨCGGCGG	2450
CΨΨCAAΨΨΨC	AGCCAGAWC	ΨGCCCGAWC	ΨAGCAAGCCC	AGCAAGCGGA	2500
GCΨΨCAΨCGA	GGACCΨGCΨG	ΨΨCAACAAAG	ΨGACACΨGGC	CGACGCCGGC	2550
ΨΨCAΨCAAGC	AGΨAΨGGCGA	ΨΨGΨCΨGGGC	GACAΨΨGCCG	CCAGGGAΨCΨ	2600
GAΨΨΨGCGCC	CAGAAGΨΨΨA	ACGGACΨGAC	AGΨGCΨGCCΨ	CCΨCΨGCΨGA	2650
CCGAWGAGAW	GAΨCGCCAG	ΨACACAΨCΨG	CCCΨGCΨGGC	CGGCACAAΨC	2700
ACAAGCGGCΨ	GGACAΨΨΨGG	AGCAGGCGCC	GCΨCΨGCAGA	ΨCCCCΨΨΨGC	2750
ΨAΨGCAGAWG	GCCΨACCGGΨ	ΨCAACGGCAΨ	CGGAGΨGACC	CAGAAΨGΨGC	2800
ΨGΨACGAGAA	CCAGAAGCΨG	AΨCGCCAACC	AGΨΨCAACAG	CGCCAΨCGGC	2850
AAGAWCCAGG	ACAGCCΨGAG	CAGCACAGCA	AGCGCCΨGG	GAAAGCΨGCA	2900
GGACGΨGGΨC	AACCAGAAΨG	CCCAGGCACΨ	GAACACCCΨG	GΨCAAGCAGC	2950
ΨGΨCCΨCCAA	CΨΨCGGCGCC	AΨCAGCΨCΨG	ΨGCΨGAACGA	ΨAΨCCΨGAGC	3000
AGACΨGGACC	CΨCCΨGAGGC	CGAGGΨGCAG	AΨCGACAGAC	ΨGAΨCACAGG	3050
CAGACΨGCAG	AGCCΨCCAGA	CAΨACGΨGAC	CCAGCAGCΨG	AΨCAGAGCCG	3100
CCGAGAWΨΨAG	AGCCΨCΨGCC	AAΨCΨGGCCG	CCACCAAGAW	GΨCΨGAGΨGΨ	3150
GΨGCΨGGGCC	AGAGCAAGAG	AGΨGGACΨΨΨ	ΨGCGGCAAGG	GCΨACCACCΨ	3200
GAΨGAGCΨΨC	CCΨCAGΨCΨG	CCCCΨCACGG	CGΨGGΨGΨΨΨ	CΨGCACGΨGA	3250
CAΨAΨGΨGCC	CGCΨCAAGAG	AAGAAΨΨΨCA	CCACCGCΨCC	AGCCAΨCΨGC	3300
CACGACGGCA	AAGCCCACΨΨ	ΨCCΨAGAGAA	GGCGΨGΨΨCG	ΨGΨCCAACGG	3350
CACCCAΨΨGG	ΨΨCGΨGACAC	AGCGGAACΨΨ	CΨACGAGCCC	CAGAWCAΨCA	3400
CCACCGACAA	CACCΨΨCΓGΨ	ΨCΨGGCAACΨ	GCGACGΨCΓΨ	GAΨCGGCAΨΨ	3450
GΨGAACAATA	CCGΨGΨACGA	CCCΨCΨGCAG	CCCGAGCΨGG	ACAGCΨΨCAA	3500
AGAGGAACΨG	GACAAGΨACΨ	ΨΨAAGAACCA	CACAAGCCCC	GACGΨGGACC	3550
ΨGGGCGAWAW	CAGCGGAAΨC	AAΨGCCAGCG	ΨCGΨGAACAW	CCAGAAAGAG	3600

```

AΨCGACCGGC ΨGAACGAGGΨ GGCCAAGAAΨ CΨGAACGAGA GCCΨGAΨCGA 3650
CCΨGCAAGAA CΨGGGGAAGΨ ACGAGCAGΨA CAΨCAAGΨGG CCCΨGGΨACA 3700
ΨCΨGGCΨGGG CΨΨΨAΨCGCC GGACΨGAΨΨG CCAΨCGΨGAΨ GGΨCACAAΨC 3750
AΨGCΨGΨGΨΨ GCAΨGACCAG CΨGCΨGΨAGC ΨGCCΨGAAGG GCΨGΨΨGΨAG 3800
CΨGΨGGCAGC ΨGCΨGCAAGΨ ΨCGACGAGGA CGAΨΨCΨGAG CCCGΨGCΨGA 3850
AGGGCGΨGAA ACΨGCACΨAC ACAΨGAΨGAC ΨCGAGCΨGGΨ ACΨGCAΨGCA 3900
CGCAAΨGCΨA GCΨGCCCCΨΨ ΨCCCCΨCCΨG GGΨACCCCGA GΨCΨCCCCCG 3950
ACCΨCGGGΨC CCAGGΨAΨGC ΨCCCACCΨCC ACCΨGCCCCA CΨCACCACCΨ 4000
CΨGCΨAGΨΨC CAGACACCΨC CCAAGCACGC AGCAAΨGCAG CΨCAAAACGC 4050
ΨΨAGCCΨAGC CACACCCCA CGGGAAACAG CAGΨGAΨΨAA CCΨΨΨAGCAA 4100
ΨAAACGAAAAG ΨΨΨAACΨAAG CΨAΨACΨAAC CCCAGGGΨΨG GΨCAAΨΨΨCG 4150
ΨGCCAGCCAC ACCCΨGGAGC ΨAGCAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 4200
AAAAGCAΨAΨ GACΨAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 4250
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAA 4284

```

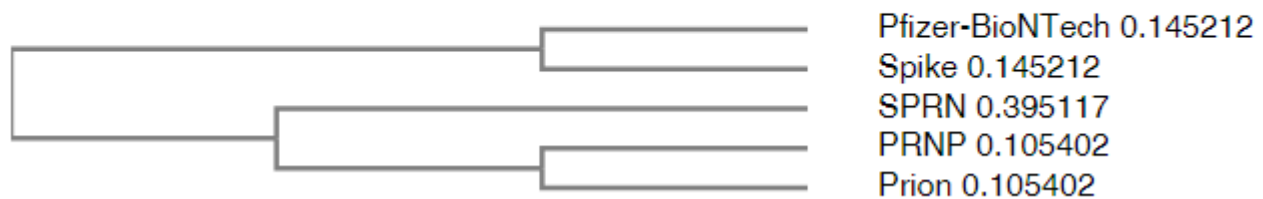
Ψ = 1-methyl-3'-pseudouridylyl

Risultati:

Qui di seguito verranno mostrati I cladogrammi, derivanti dalla comparazione delle sequenze, mediante l'ausilio del software Clustal Omega, necessario per poter eseguire degli allineamenti genetici multipli.

Phylogram

Branch length: Cladogram Real



Cladogramma 1

Come sopraccitato, il valore numerico decimale, riportato sul lato destro del cladogramma, rappresenta il coefficiente di distanza e/o similarità filogenetica. Come è possibile notare, e ne abbiamo la conferma dal punto di vista bioinformatico, la sequenza del costruito genetico dell'mRNA del vaccino Pfizer-BioNTech è la stessa della Glicoproteina Spike, con un coefficiente che, per entrambe vale 0,145212. Il che significa che entrambe le sequenze sono uguali. Tuttavia, notiamo che, per il gene PRNP e la sequenza Prion, ricavata da una rielaborazione computerizzata della sequenza proteica della proteina prionica, da 253 amminoacidi, che è stata convertita in nucleotidi tramite il programma Reverse Translate

(https://www.bioinformatics.org/sms2/rev_trans.html), si ha lo stesso valore, ossia 0,105402. Il che significa che, il gene PRNP codifica per la proteina prionica Prp, la quale, nella sua forma fisiologica, legata all'omeostasi del rame, è formata da una sequenza primaria di 253 aminoacidi ed un ripiegamento ad α -elica. Da notare la similarità da un punto di vista della distanza filogenetica; sia la Spike che PRNP possiedono un coefficiente con il primo valore decimale uguale, ossia 0,1, solo al secondo decimale si ha una variazione. Ciò denota una certa similarità filogenetica, che può essere tradotta nella percentuale di: $0,145212 : 100 = 0,105402 : X$. Con tale calcolo arbitrario, otteniamo il risultati di percentuale di similarità di: $X = 0,105402 * 100 / 0,145212$, $X = 72,59 \%$. Dunque, ad una prima analisi computerizzata, di natura bioinformatica, la similarità filogenetica tra il costrutto genico del vaccino Pfizer-BioNTech, il gene codificante per la **glicoproteina Spike** e **il gene PRNP**, derivante dal corrispettivo coefficiente, opportunatamente rielaborato, è del **72,59%**.

Phylogenetic Tree

This is a Neighbour-joining tree without distance corrections.

Branch length: Cladogram Real

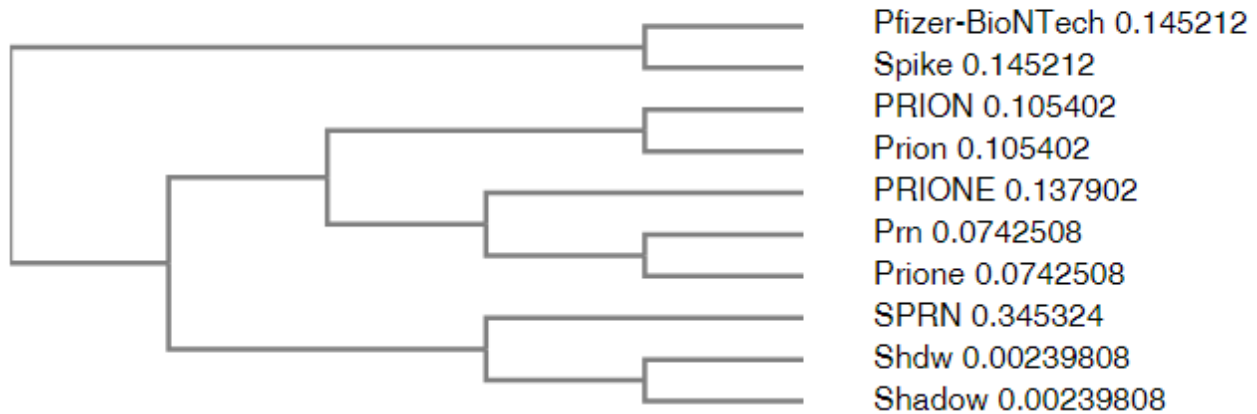


Cladogramma 2

L'albero filogenetico, a differenza del filogramma, entrambe cladogrammi, riporta il valore del coefficiente di distanza filogenetica, da un punto di vista più preciso e riporta un altro tipo di vicinanza filogenetica tra i geni di nostro interesse; come si nota, il costrutto di Pfizer-BioNTech e Spike possiedono una similarità elevata ma non identica: Pfizer-BioNTech ha il valore di 0,13526, Spike di 0,14234 e PRNP di 0,18338. Se assumiamo che il valore di PRNP corrisponda al 100 %, allora il calcolo sarebbe, tra **PRNP** e **Spike**: $0,18338 : 100 = 0,14234 : X$, $X = 77,62 \%$ e, la percentuale di similarità filogenetica tra **PRNP** e **Pfizer-BioNTech** è: $0,18338 : 100 = 0,13526 : X$, $X = 73,74 \%$.

Phylogram

Branch length: Cladogram Real



Cladogramma 3

In questo grafico vengono esaminate le stesse sequenze, con la sola aggiunta del gruppo delle ultime cinque sequenze denominate Prn, Prione, SPRN, Shdw, Shadow, facenti capo alla proteina prionica nel Cervo Comune, mammifero, ungulato, in cui è stata riscontrata la presenza del SARS-CoV-2 ed organismo di elezione per gli studi sulla patologia prionica, per via del fatto che, in esso, si riscontra una patologia denominata CWD ossia Chronic Wasting Disease, o Malattia da Dimagrimento Cronico nel Cervo ad eziologia prionica. Ancora una volta, Pfizer-BioNTech e Spike possiedono lo stesso valore di coefficiente di similarità filogenetica: 0,145212. Questa volta, la similarità con la sequenza PRNP è maggiore poiché, esso ha un valore di 0,137902. La similarità è molto elevata. Dunque, volendo dare il 100 %, come valore numerico a Spike e Pfizer-BioNTech, il valore percentuale di distanza filogenetica, con PRNP corrisponderà a: $0,145212 : 100 = 0,137902 : X$, **X = 94,96 %**. Il gene SPRN del Cervo Comune (*Cervus norvegicus*) possiede un valore di 0,345324, dunque, la similarità con il PRNP di *Homo sapiens* è di: $0,345324 : 100 = 0,137902 : X$, **X = 39,93 %**. Ancora, la similarità tra Spike-Pfizer-BioNTech e SPRN del Cervo Comune è di: $0,345324 : 100 = 0,145212 : X$, **X = 42,05 %**. Il gene SPRN nell'uomo ha un valore di coefficiente di distanza filogenetica di 0,105402.

Tabella:

Geni / Costrutti confrontati	Tipologia di Cladogramma	Percentuale di Similarità Filogenetica
Glicoproteina Spike – Gene PRNP (<i>Homo sapiens</i>)	Cladogramma / Filogramma 1	72,59 %
Glicoproteina Spike – Gene PRNP (<i>Homo sapiens</i>)	Cladogramma / Albero Filogenetico 2	77,62 %
Pfizer-BioNTech – Gene PRNP (<i>Homo sapiens</i>)	Cladogramma / Albero Filogenetico 2	73,74 %
Glicoproteina Spike – Pfizer BioNTech – Gene PRNP (<i>Homo sapiens</i>)	Cladogramma / Filogramma 3	94,96 %
SPRN Cervo Comune PRNP <i>Homo sapiens</i>	Cladogramma / Filogramma 3	39,93 %
Glicoproteina Spike – Pfizer BioNTech SPRN Cervo Comune	Cladogramma / Filogramma 3	42,05 %

Sulla base di due pubblicazioni riportate, la teoria che ho formulato, al di là dell'analisi bioinformatica riportata precedentemente è che, siccome nell'encefalo umano è stata riscontrata la presenza di nanocristalli di Magnetite [5], corrispondente ad un ossido di Ferro, nello specifico il Tetrossido di triFerro (Fe_3O_4) (formula bruta espletata: $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}_2\text{O}_4$), ed essendo il Ferro un elemento essenziale per la generazione spontanea dei prioni [6], al momento dimostrata in vitro, ritengo che il costrutto inoculato tramite vaccino possa esprimere una sequenza prion-like, la quale, una volta entrata in contatto con la circolazione cerebrale (non conoscendo se il costrutto genetico del vaccino è in grado di oltrepassare la membrana ematoencefalica), ed in contatto con i nanocristalli di Magnetite, può dare origine allo sviluppo di proteina prionica nella forma Scrapie, ossia ripiegata in forma di foglietti β , in grado di portare alla neurodegenerazione. Essa, rimane al momento solo una teoria, supportata da due pubblicazioni ma che non ha ancora trovato un riscontro sperimentale. Va detto che, ciò che non avalla la suddetta teoria è il tempo di latenza delle patologie da

prioni. Per una patologia come la malattia di Creutzfeldt-Jacob o CJD, dopo il contatto con l'agente infettivo, tramite ingestione e/o inoculazione, si ha un tempo di latenza di circa 5-15 anni prima dell'inizio della sintomatologia. Per la forma genetica il tempo di insorgenza dipende dal livello di espressione del gene aberrante / mutato.

Conclusioni:

Sulla base del risultato sperimentale, ottenuto mediante modello virtuale, si ha che, a seguito di un allineamento multiplo tra: la Glicoproteina Spike del SARS-CoV-2, il costrutto genetico mRNA del vaccino Pfizer-BioNTech e il gene PRNP dell'Homo sapiens, il valore più elevato di similarità filogenetica, ottenuto con Albero Filogenetico è del 94,96 %. Altri valori di comparazione, ottenuti mediante Filogramma e sempre tra Spike, PRNP e costrutto genetico del Pfizer-BioNTech, hanno dato valori percentuali maggiori del 70 %, dunque una elevata percentuale di similarità. Ciò permette di supporre che una parte della sequenza del gene codificante per la proteina prionica si trovi inscritto nel gene codificante per la glicoproteina Spike del SARS-CoV-2, dunque nel costrutto genetico del mRNA del vaccino Pfizer-BioNTech. Solo con successive conferme sperimentali e genic probe (sonde genetiche) sarà possibile confermarlo da un punto di vista sperimentale. A corollario di quanto appena esposto, l'autore della suddetta relazione, impiegato come PI (Principal Investigator) in una clinica privata nella città di Belgrado, in Serbia, ha ricevuto l'informazione che, negli ultimi tempi, nella città di Belgrado, si ha avuto un aumento dei casi di patologia prionica. Ciò costituisce un fatto inusuale dal momento che, stando all'epidemiologia di tale patologia (in realtà tali, poichè esistono differenti tipologie di malattia da prioni, a seconda della porzione cerebrale interessata e a varianti nel quadro clinico, quali CJD o Malattia di Creutzfeld Jacob, vCJD o variante della Malattia di Creutzfeld Jacob, IFF o Insonnia Familiare Fatale, malattia ad eziologia prionica con causa genetica, e la GSS o Malattia di Gerstmann-Straussler-Scheinker, altra patologia ad eziologia prionica, con causa genetica), l'incidenza delle malattie da prioni è alquanto minima. Sulla base del lavoro svolto da Liliana Sánchez-González et al., 2020, l'incidenza di tali patologie è di circa **1.5 casi su un milione di individui, per anno**, e, talvolta, **1,2 per milione di individui, all'anno**. Lo studio è avvenuto a livello dello stato di Washington, nell'arco temporale 2006-2017. [7]

Bibliografia:

1. Danish Idrees, Vijay Kumar. **SARS-CoV-2 spike protein interactions with amyloidogenic proteins: Potential clues to neurodegeneration.** *Biochemical and Biophysical Research Communications* 554 (2021) 94e98. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.03.100> 0006-291X/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.
2. George Tetz and Victor Tetz. **SARS-CoV-2 prion-like domains in spike proteins enable higher affinity to ACE2.** Preprints (www.preprints.org) | NOT PEER-REVIEWED | Posted: 29 March 2020 doi:10.20944/preprints202003.0422.v1
3. Sankha Shubhra Chakrabarti, Ashutosh Tiwari, Sumit Jaiswal, Upinder Kaur, Ishan Kumar, Amit Mittal, Anup Singh, Kunlin Jin, Sasanka Chakrabarti. **Rapidly Progressive Dementia with Asymmetric Rigidity Following ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination.** *Aging and Disease*, <http://dx.doi.org/10.14336/AD.2021.1102>
4. J. Bart Classen. **COVID-19 RNA Based Vaccines and the Risk of Prion Disease.** February 2021. DOI:10.33425/2639-9458.1109
5. JOSEPH L. KIRSCHVINK, ATSUKO KOBAYASHI-KIRSCHVINK, AND BARBARA J. WOODFORD. **Magnetite biomineralization in the human brain (iron/extremely low frequency magnetic fields).** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 89, pp. 7683-7687, August 1992. Biophysics
6. Julie A. Edgeworth, Nathalie Gros, Jack Alden, Susan Joiner, Jonathan D. F. Wadsworth, Jackie Linehan, Sebastian Brandner, Graham S. Jackson, Charles Weissmann and John Collinge. **Spontaneous generation of mammalian prions.** 14402–14406 | *PNAS* | August 10, 2010 | vol. 107 | no. 32 www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1004036107
7. Liliana Sánchez-González, Ryan A. Maddox, Larissa C. Lewis, Janis E. Blevins, Elizabeth J. Harker, Brian S. Appleby, Marissa K. Person, Lawrence B. Schonberger, Ermias D. Belay, Chas DeBolt, Kathryn H. Lofy. **Human Prion Disease Surveillance in Washington State, 2006-2017.** *JAMA Network Open*. 2020;3(10):e2020690. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.20690

