

**TITOLO: RILEVAMENTO DI PEPTIDI SIMILI A TOSSINE IN CAMPIONI DI PLASMA E URINE DI PAZIENTI AFFETTI DA COVID-19.****AUTORI**

Carlo Brogna<sup>\*,+</sup>, Mauro Petrillo<sup>+</sup>, Simone Cristoni, Maddalena Querci, Ornella Piazza and Guy Van den Eede

*\*Autore corrispondente.*

*+Contributo di parità.*

**AFFILIAZIONI**

Carlo Brogna  
Craniomed Group srl, Montemiletto, Italia  
Posta: [dir.brogna@craniomed.it](mailto:dir.brogna@craniomed.it)

Mauro Petrillo  
Commissione europea, Centro comune di ricerca (CCR), Ispra, Italia  
Posta: [Mauro.PETRILLO@ec.europa.eu](mailto:Mauro.PETRILLO@ec.europa.eu)

Simone Cristoni  
ISB Ion Source & Biotechnologies srl, Bresso, Italia  
Posta: [simone.cristoni@isbiolab.com](mailto:simone.cristoni@isbiolab.com)

Maddalena Querci  
Commissione europea, Centro comune di ricerca (CCR), Ispra, Italia  
Posta: [Maddalena.QUERCI@ec.europa.eu](mailto:Maddalena.QUERCI@ec.europa.eu)

Ornella Piazza  
Dipartimento di Medicina e Chirurgia Università degli Studi di Salerno,  
Baronissi, Italia Posta: [opiazza@unisa.it](mailto:opiazza@unisa.it)

Guy Van den Eede  
Commissione europea, Centro comune di ricerca (CCR), Geel,  
Belgio Mail: [Guy.VAN-DEN-EEDE@ec.europa.eu](mailto:Guy.VAN-DEN-EEDE@ec.europa.eu)

**SOMMARIO**

La frequente associazione tra la malattia COVID-19 e diverse manifestazioni cliniche extrapolmonari in pazienti sintomatici è stata riportata di recente.

I dati qui riportati suggeriscono un'associazione tra la malattia COVID-19 e il rilascio nel corpo di (oligo-)peptidi quasi identici ai componenti tossici dei veleni degli animali. La presenza di questi peptidi apre nuovi scenari sull'eziologia della COVID-19 sintomi clinici osservati fino ad ora, comprese le manifestazioni neurologiche.

## INTRODUZIONE

Sono state segnalate numerose manifestazioni cliniche extrapolmonari in concomitanza con la malattia COVID-19 (come quelle neurologiche, emorragiche e trombotiche) e le prove della loro gravità e persistenza sono in aumento. Gupta et al.

*ha esaminato la fisiopatologia extrapolmonare organo-specifica dei pazienti con COVID-19, "per aiutare medici e scienziati a riconoscere e monitorare lo spettro delle manifestazioni e a sviluppare le priorità di ricerca e le strategie terapeutiche per tutti i sistemi d'organo coinvolti"*<sup>1</sup>. Liotta et al. hanno caratterizzato la

incidenza di manifestazioni neurologiche in una coorte di pazienti ospedalizzati con COVID-19 confermato: le più frequenti sono state la mialgia, il mal di testa, encefalopatia, vertigini, disgeusia e anosmia; l'encefalopatia è stata trovata *"associata ad un aumento della morbilità e della mortalità, indipendentemente dalla gravità della malattia respiratoria"*<sup>2</sup>. Se queste manifestazioni sono collegate ad altre

disturbi co-occorrenti con l'infezione da SARS-CoV-2, è in discussione. Frontera et al., conducendo uno studio prospettico, multicentrico, osservazionale di

adulti ricoverati in ospedale con infezione da SARS-CoV-2 confermata in laboratorio, ha concluso che *'disturbi neurologici sono stati rilevati nel 13,5% dei pazienti COVID-19 durante il periodo di studio. Molti di questi disturbi neurologici si verificano comunemente tra i pazienti con malattia critica. Encefalite, meningite o mielite riconducibili all'infezione da SARS-CoV-2 non si sono verificati, anche se è stata identificata la sindrome post-infettiva della Guillain-Barre. Nel complesso, i disturbi neurologici nel contesto dell'infezione da SARS-CoV-2 conferiscono un rischio più elevato di mortalità in ospedale e una ridotta probabilità di dimissioni a domicilio"*<sup>3</sup>.

Gli studi sull'uso della spettrometria di massa nei pazienti affetti da COVID-19 si concentrano sulla ricerca di molecole infiammatorie umane aumentate da utilizzare come biomarcatori per valutare lo stato di gravità di COVID-19 (si veda ad esempio il lavoro di Messner et al. <sup>4</sup>). Il nostro intento era quello di utilizzare la spettrometria di massa per scoprire l'eventuale presenza di molecole suggerite dalla descrizione clinica dei sintomi neurologici, della coagulazione e infiammatori. Pertanto, il nostro approccio è partito dalle manifestazioni cliniche descritte di COVID-19 (come iposmia, disgeusia, ecc.).

Qui presentiamo i risultati delle nostre analisi. Utilizzando la spettrometria di massa, abbiamo trovato peptidi simili a tossine in campioni di plasma e urine di pazienti COVID-19, ma non in campioni di controllo. Poiché i nostri risultati non corrispondono al pensiero attuale dell'eziologia relativa alle manifestazioni cliniche osservate nei pazienti affetti da COVID-19, riteniamo che la loro immediata condivisione con la comunità scientifica sia fondamentale.

## PROGETTAZIONE SPERIMENTALE

Campioni utilizzati nel presente studio: campioni di plasma raccolti da 5 pazienti COVID-19 provenienti da diverse città italiane e da 5 soggetti di controllo (cioè negativi ai test SARS-CoV-2 e non affetti da cancro o malattie autoimmuni) e campioni di urina raccolti da altri 2 pazienti COVID-19 e da 2 soggetti di controllo.

Tutti i campioni sono stati analizzati per la presenza di proteine con potenziale effetto tossico utilizzando la spettrometria di massa della mobilità ionica delle nubi (CIMS) accoppiata con la ionizzazione chimica attivata in superficie-Electrospray-NIST (SANIST) Ricerca nel database del modello bayesiano (SANIST-CIMS), come descritto al punto 5<sup>6</sup>. Il set completo "UniprotKB set di proteine e tossine velenose e tossine revisionate manualmente"<sup>7</sup> (miscelato con un sottoinsieme di proteine e tossine non velenose di UniprotKB al fine di dare un significato statistico ai risultati) è stato utilizzato come set di dati sulle proteine di riferimento.

I dettagli su materiali e metodi sono contenuti nel file dei materiali supplementari.

## RISULTATI

La presenza di (oligo-)peptidi caratterizzati come componenti tossici di veleni animali è stata osservata in campioni di plasma e urine di pazienti affetti da SARS-CoV-2 e mai in campioni di plasma e urine di individui di controllo. Diversi (oligo-)peptidi (tra 70 e 115, a seconda del campione analizzato) sono stati abbinati a diverse proteine e tossine del veleno animale come le conotossine, le fosfolipasi A2, le metalloproteinasi (l'86% delle assegnazioni ha un  $-\log(e)$  superiore a 25).

Un elenco di 36 proteine coperte dai peptidi simili alle tossine trovate è riportato nella tabella

1. Una selezione di spettri rappresentativi per 30 di essi è riportata nei materiali supplementari (Figura S1).

Alcuni dei peptidi di tipo tossinico trovati mappati sulla stessa proteina di riferimento (UniprotKB:D2DGD8), sono riportati nella Figura 1: questi peptidi sono stati trovati nei cinque campioni di plasma. È interessante notare che, osservando le caratteristiche dei peptidi tossino-simili mappati su proteine note per essere secrete e maturate, in alcuni casi abbiamo notato che la regione funzionale C-terminale era abbondante nei campioni di plasma, il peptide di segnale e il propeptide (N-terminale) erano più abbondanti nei campioni di urina (dati non mostrati, in preparazione).

## DISCUSSIONE

I tipi di peptidi tossici simili ai peptidi trovati assomigliano a conotossine conosciute, fosfolipasi A2, metalloproteinasi, attivatori della protrombina, fattori di coagulazione, solitamente presenti nei veleni animali, che sono noti per avere un'elevata specificità e affinità verso i canali ionici umani, i recettori e i trasportatori del sistema nervoso, come il recettore nicotinico dell'acetilcolina.

Quello che segue è il nostro tentativo di capire una potenziale relazione tra la loro presenza e la sintomatologia extrapolmonare COVID-19.

*Conotossine.*

Le monotossine sono un gruppo di peptidi neurotossici isolati dal veleno della lumaca dal cono marino del genere *Conus*. Le conotossine mature sono costituite da 10-30 residui di aminoacidi e tipicamente hanno uno o più legami disolfuro. Questi

I modelli di disolfuro sono utilizzati per definire le classi strutturali delle conotossine (le  $\mu$ -conotossine,  $\omega$ -conotossine e  $\alpha$ -conotossine sono le classi principali). Sono solubili in acqua e hanno una varietà di meccanismi di azione, la maggior parte dei quali non è stata ancora determinata<sup>8</sup>. Tuttavia, è stato dimostrato che molti di questi peptidi modulano l'attività di diversi recettori, compresi i canali ionici, i recettori nicotinici dell'acetilcolina (nAChR) e gli enzimi (acetilcolinesterasi) che degradano l'acetilcolina, determinando così l'alterazione dei livelli di acetilcolina e della trasmissione colinergica<sup>9,10,11</sup>.

La presenza di peptidi simili a conotossine potrebbe spiegare la comparsa di molti sintomi (come iposmia, ipogeusia e i segni tipici della sindrome di Guillain-Barre) osservati in alcuni pazienti affetti da COVID-19. La loro presenza può alterare il normale funzionamento dei canali ionici, dei recettori nicotinici dell'acetilcolina e dei livelli di acetilcolina.

#### *Fosfolipasi A2.*

Le fosfolipasi A2 (PLA2, E.C. 3.1.1.4) idrolizzano i fosfolipidi e portano al rilascio di acido lisofosfatidico e acido arachidonico<sup>12</sup>. L'acido arachidonico è un importante precursore di molti mediatori pro-infiammatori come leucotrine, trombossani e prostaglandine; di conseguenza, la presenza anomala di PLA2 attiva può indurre una grave infiammazione<sup>13</sup>. Nei veleni animali, il PLA2 agisce come proteine neurotossiche che si legano e idrolizzano i fosfolipidi della membrana del nervo motore terminale (e, nella maggior parte dei casi, la membrana plasmatica del muscolo scheletrico) per causare una grave risposta infiammatoria degenerativa che porta alla degenerazione del nervo terminale e del muscolo scheletrico<sup>12</sup>. Il desametasone è in grado di inibire la sintesi delle prostaglandine e la formazione di leucotriene<sup>14</sup>. Poiché il desametasone è ancora l'unico farmaco terapeutico che ha dimostrato di essere efficace contro il nuovo coronavirus nei pazienti<sup>15</sup> con sintomi gravi, può essere che l'effetto positivo di questo farmaco sui pazienti COVID-19 sia anche dovuto alla riduzione dei peptidi PLA2-like qui identificati.

#### *Metalloproteinasi.*

L'ultimo esempio di peptidi simili a tossine identificate riguarda quelli riconosciuti come metalloproteinasi presenti nei veleni animali, enzimi dipendenti dallo zinco di peso molecolare variabile con organizzazione multidominio. Questi enzimi tossici causano emorragie, mionecrosi locale, danni alla pelle e reazioni infiammatorie<sup>16</sup>. È stato riportato che i pazienti sintomatici di COVID-19 hanno livelli di zinco significativamente più bassi rispetto ai controlli e che i pazienti con carenza di zinco sviluppano più complicazioni<sup>17</sup>. La presenza di questo specifico gruppo di peptidi simili a tossine, che catturano lo zinco, può essere una delle ragioni di tali livelli di zinco significativamente bassi nei pazienti sintomatici di COVID-19.

Le ricerche per similarità effettuate da TBLASTN<sup>18</sup> con parametri rilassanti sul sito web del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (vedi Materiali e Metodi) hanno rivelato (oltre alle sequenze di mRNA delle specie animali riportate nella Tabella 1) tratti brevi quasi identici (fino a 10 amminoacidi) di questi peptidi in potenziali regioni codificanti di molte sequenze batteriche e virali, ma non è stato trovato alcun potenziale telaio codificante lungo che copra interamente uno di essi. Di conseguenza, al momento della scrittura non abbiamo ancora identificato la "fonte genetica" di questi peptidi, che potrebbe essere:

- Il genoma della SARS-CoV-2 RNA con il suo set di lettura delle proteine, come proposto da Brogna<sup>19</sup>, che ha riportato l'identificazione nella SARS-CoV-2 RNA di molte regioni che codificano per oligopeptidi (quattro - cinque aminoacidi lunghi) identici ai peptidi neurotossici tipici dei veleni animali.
- Il genoma SARS-CoV-2 letto direttamente dai batteri, supponendo che il genoma SARS-CoV-2, o parti di esso, sia in grado di replicarsi con una possibile modalità d'azione "batteriofago", come descritto in precedenza in <sup>20</sup>.
- Genomi di batteri che, come reazione alla presenza del virus, secernono questi peptidi. Questo potrebbe essere ottenuto utilizzando meccanismi ancora poco conosciuti e controversi, come la lettura alternativa dovuta all'eterogeneità della sequenza di rRNA (come descritto nel 21-22), o il coinvolgimento di piccoli ncRNA batterici (sRNA), noti per essere importanti regolatori dell'espressione genica in condizioni specifiche (come la risposta allo stress, il rilevamento del quorum e la virulenza; Coleman ad al., nel 1984 ha descritto le prime prove di un sRNA funzionale di origine batterica con la caratterizzazione di *micF* non codificante RNA<sup>23</sup>).
- Una combinazione di quanto sopra: ad esempio, il codice genetico "tossina" è presente nei batteri e l'espressione può essere innescata dalla SARS-CoV-2, che agisce come batteriofagi temperati, che sono noti per interagire con i batteri in modo da esprimere (o meno) alcuni geni, come descritto da Carey et al. <sup>24</sup>.

Non è stata ancora condotta un'analisi dettagliata della somiglianza strutturale 3D tra i peptidi simili alle tossine trovate e le proteine di riferimento. Di conseguenza, al momento della scrittura, possiamo solo ipotizzare che questi peptidi simili alle tossine siano coinvolti nelle manifestazioni cliniche extrapolmonari nei pazienti affetti da COVID-19 sintomatici. Inoltre, secondo le nostre conoscenze, questi peptidi simili alle tossine non sono mai stati ricercati in animali considerati serbatoi di SARS-CoV.

I risultati qui riportati sollevano ulteriori domande oltre a quelle già elencate da noi in <sup>20</sup>:

- Questi risultati sono in linea con quanto proposto da Tizabi et al. <sup>24</sup>, cioè un potenziale ruolo terapeutico per nicotina, agonisti nicotinici, o modulatori allosterici positivi dei recettori colinergici nicotinici in COVID-19?
- Se indotta dalla SARS-CoV-2, la produzione di peptidi simili a tossine può essere coinvolta nei disturbi neurologici e nelle lesioni osservate nei pazienti ospedalizzati con COVID-19?
- Se indotta dalla SARS-CoV-2, la produzione di peptidi simili a tossine può influenzare malattie complesse apparentemente innescate o potenziate dalla COVID-19, come ad esempio la sindrome di Guillain-Barré<sup>25</sup> o il morbo di Parkinson<sup>26</sup> ?
- I peptidi di tipo tossinico sono associati all'infezione da SARS-CoV-2 o ad altre infezioni virali o, più in generale, la loro presenza è legata alla malattia?
- I nostri risultati sono a sostegno del suggerimento del Consorzio iVAMP<sup>27</sup> sulle relazioni tra le ghiandole velenifere animali e i microambienti dei microrganismi?

Riteniamo che la condivisione immediata di questi risultati possa contribuire a districarsi nella molteplice serie di manifestazioni cliniche nei pazienti affetti da COVID-19 sintomatici e a comprendere meglio i meccanismi coinvolti.

## **DICHIARAZIONI**

La produzione scientifica espressa non implica una posizione politica della Commissione Europea. Né la Commissione europea né qualsiasi persona che agisca per conto della Commissione è responsabile dell'uso che potrebbe essere fatto di questa pubblicazione.

## **PROPRIETÀ INTELLETTUALE - BREVETTI E DIRITTI D'AUTORE**

Le proteine qui riportate sono state depositate come brevetto in corso di registrazione per lo sviluppo di antitossine e anticorpi (ITA 1020200000023809) da parte di Craniomed Group srl.

## RIFERIMENTI

- 1 Gupta A, Madhavan M V., Sehgal K, *et al.* Manifestazioni extrapolmonari di COVID-19. *Nat Med* 2020; **26**: 1017-32.
- 2 Liotta EM, Batra A, Clark JR, *et al.* Manifestazioni neurologiche frequenti e morbilità associata a encefalopatia in pazienti affetti da Covid-19. *Ann Clin Transl Neurol* 2020; : acn3.51210.
- 3 Frontera JA, Sabadia S, Lalchan R, *et al.* A Prospective Study of Neurologic Disorders in Hospitalized COVID-19 Patients in New York City. *Neurologia* 2020; : 10.1212/WNL.00000000000010979.
- 4 Messner CB, Demichev V, Wendisch D, *et al.* Ultra-High-Throughput Clinical Proteomics rivela i classificatori di infezioni da COVID-19. *Syst Cellulare* 2020; **11**: 11-24.e4.
- 5 Arzoni A, Bernardi LR, Cristoni S. Spettrometria di massa della mobilità ionica delle nubi in sorgente. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2015; **29**: 690-4.
- 6 Cristoni S, Dusi G, Brambilla P, *et al.* SANIST: ottimizzazione di una tecnologia per l'identificazione dei composti basata sulla direttiva dell'Unione Europea con applicazioni in analisi forensi, farmaceutiche e alimentari. *J Massa*
- 7 UniprotKB. Progetto di annotazione delle tossine animali. <https://www.uniprot.org/program/Toxins> (visitato il 4 ottobre 2020).
- 8 Strato R, McIntosh J. Conotossine: Potenziale terapeutico e applicazione.
- 9 Cestè S. Meccanismi molecolari di azione delle neurotossine sui canali di sodio a tensione. *Biochimie* 2000; **82**: 883-92.
- 10 Lebbe E, Peigneur S, Wijesekara I, Tytgat J. Conotoxins Targeting Nicotinic Acetylcholine Receptors: Una panoramica. *Mar Drugs* 2014; **12**: 2970-3004.
- 11 Prasasty V, Radifar M, Istyastono E. Peptidi naturali nella scoperta di droga Acetilcolinesterasi di destinazione. *Molecole* 2018; **23**: 2344.
- 12 Harris J, Scott-Davey T. Fosfolipasi secrete A2 di veleno di serpente: Effetti sul sistema neuromuscolare periferico con commenti sul ruolo delle fosfolipasi A2 nei disturbi del SNC e il loro uso nell'industria. *Tossine (Basilea)* 2013; **5**: 2533-71.
- 13 Teixeira C, Fernandes CM, Leiguez E, Chudzinski-Tavassi AM. Infiammazione indotta da veleni di serpente viperide attivatori di piastrine: Prospettive sulla tromboinfiammazione. *Immunol anteriore* 2019; **10**. DOI:10.3389/fimmu.2019.02082.
- 14 Goppelt-Struebe M, Wolter D, Resch K. I glucocorticoidi inibiscono la sintesi delle prostaglandine non solo a livello di fosfolipasi A2 ma anche a livello di cicloossigenasi/isomerasi GPE. *Br J Pharmacol* 1989; **98**: 1287-95.
- 15 Desametasone nei pazienti ospedalizzati con Covid-19 - Rapporto preliminare. *N Engl J Med* 2020; : NEJMoa2021436.
- 16 Teixeira C de FP, Fernandes CM, Zuliani JP, Zamuner SF. Effetti infiammatori del veleno di serpente metalloproteinasi. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; **100**: 181-4.
- 17 Jothamani D, Kailasam E, Danielraj S, *et al.* COVID-19: Scarsi risultati in pazienti con carenza di zinco. *Int J Infettare Dis* 2020; **100**: 343-9.

- 18 Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Strumento di ricerca di base per l'allineamento locale. *J Mol Biol* 1990; **215**: 403-10.

- 19 Brogna C. Il doppio meccanismo patogeno del virus Covid-19. Una nuova prospettiva. 2020 DOI:10.20944/preprints202004.0165.v2.
- 20 Petrillo M, Brogna C, Cristoni S, Querci M, Piazza O, Van den Eede G. L'aumento del carico di SARS-CoV-2 RNA nei campioni fecali spinge a ripensare la biologia della SARS-CoV-2 e l'epidemiologia COVID-19. 2020; pubblicato online il 14 ottobre. DOI:10.5281/ZENODO.4088208.
- 21 Lilleorg S, Reier K, Volõnkin P, Remme J, Liiv A. Effetti fenotipici delle proteine ribosomiali paraloghe bL31A e bL31B in *E. coli*. *Sci Rep* 2020; **10**: 11682.
- 22 Chen Y-X, Xu Z-Y, Ge X, *et al.* Traduzione selettiva mediante ribosomi batterici alternativi. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; **117**: 19487-96.
- 23 Coleman J, Green PJ, Inouye M. L'uso di RNA complementari a specifici mRNA per regolare l'espressione dei singoli geni batterici. *Cella* 1984; **37**: 429-36.
- 24 Carey JN, Mettert EL, Fishman-Engel DR, Roggiani M, Kiley PJ, Goulian M. L'integrazione dei fagi modifica la strategia respiratoria del suo ospite. *Elife* 2019; **8**. DOI:10.7554/eLife.49081.
- 25 Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, *et al.* Sindrome di Guillain-Barré associata alla SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 2020; **382**: 2574-6.
- 26 Pavel A, Murray DK, Stoessl AJ. COVID-19 e la vulnerabilità selettiva al morbo di Parkinson. *Lancet Neurol* 2020; **19**: 719.
- 27 Ul-Hasan S, Rodríguez-Román E, Reitzel AM, *et al.* Il campo emergente della micromicrobiomica del veleno per l'esplorazione del veleno come microambiente, e la corrispondente Iniziativa per i microbi e i parassiti associati al veleno (iVAMP). *Toxicon X* 2019; **4**: 100016.

## FIGURE E TABELLE LEGGENDE

**Figura 1. Allineamento dei peptidi simili alle tossine alla Conotossina Pu6.1.** La Conotossina Pu6.1 del *Conus pulicarius* (UniprotKB:D2DGD8) è allineata con la

peptidi simili a tossine identificati in quattro campioni di plasma su cinque. Essendo la proteina secreta e scissione, leader-regione pro-peptide e cisteina matura domini ricchi di cisteina sono evidenziati in verde, giallo e rosso, rispettivamente. Ogni peptide simile a una tossina identificata è nominato in base al campione di origine e la sua unicità. Per ognuno di essi, il numero riportato tra parentesi quadre indica il numero di peptidi identici simili alle tossine identificati nello stesso campione.

**Tabella 1. Panoramica delle proteine sulle quali sono stati mappati peptidi simili a tossine.**

36 sequenze di proteine candidate su cui sono stati mappati i peptidi simili a tossine identificate sono qui riportati, insieme alle informazioni recuperate da Banche dati UniprotKB e Tassonomia. La tabella è divisa in 3 sezioni, secondo il phylum delle specie segnalate: Chordata (verde), *Echinodermata* (rosa), *Mollusca* (azzurro).

**Figura S1. Esempi di spettri**

Sono riportati 31 spettri, come insieme rappresentativo di 30 peptidi simili a tossine mappati sulle proteine riportate nella Tabella 1.

**TABELLA 1**

INFORMAZIONI DEL CANDIDATO UNIPROTKB							INFORMAZIONI SUL CANDIDATO ALLA TASSONOMIA			
AC	ID	Stato	Nome della proteina	ENZYME CE	Altro(i) nome(i)	Lunghezza (aa)	ID Specie	Phylum - Famiglia	L'organizzazione nome(i) comune(i)	
Q8AY46	VKTHB_BUNCA	recensito	Proteasi di serina di tipo Kunitz inibitore omologo beta-catena bungarotossina B1	NA	-	85	92438 <i>Bungarus candidus</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Krait malese	
A6MEY4	PA2B_BUNFA	recensito	<b>Fosfolipasi di base A2 BFA</b>	CE 3.1.1.1.4	. Fosfolipasi antimicrobica A2 . Fosfatidilcolina 2-acilidrolasi (svPLA2)	145	8613 <i>Bungarus fasciatus</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Krait a bande Pseudoboa fasciata	
F5CPF1	PA235_MICAT	recensito	<b>Fosfolipasi A2 MALT0035C</b>	CE 3.1.1.1.4	. Fosfolipasi A2 MALT0035C (svPLA2)	142	129457 <i>Micurus altirostris</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Serpente corallo uruguaiano Elaborazioni altirostris	
A8QL59	VM3_NAJAT	recensito	Zinco <b>metalloproteinasidisintegrante</b> -come NaMP	CE 3.4.24.-	. Veleno di serpente metalloproteinasid (SVMP)	621	8656 <i>Naja atra</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Cobra cinese	
Q91900	PA2AD_NAJSP	recensito	<b>Fosfolipasi acida A2 D</b>	CE 3.1.1.1.4	. svPLA2 . APLA . Fosfatidilcolina 2-acilidrolasi	146	33626 <i>Naja sputatrix</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Cobra malese che sputa Naja naja naja sputatrix	
Q58L90	FA5V_OXYMI	recensito	<b>Attivatore di protrombina</b> velenosa sottounità omaricarina-C non catalitica	NA	. vPA . Fattore di coagulazione del veleno Proteina Va-like  <i>Tagliato in 2 catene</i>	1460	111177 <i>Oxyuranus microlepidotus</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Taipan interno Diemenia microlepidota	
Q58L91	FA5V_OXYSU	recensito	<b>Attivatore di protrombina</b> velenosa sottounità oscurarina-C non catalitica	NA	. vPA . Fattore di coagulazione del veleno Proteina Va-like  <i>Tagliato in 2 catene</i>	1459	8668 <i>Oxyuranus scutellatus</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Taipan costiero	
Q9W719	3S34_PSETE	recensito	<b>Neurotossina</b> a breve termine 4	NA	. SNTX4 . Alfa-neurotossina 4	79	8673 <i>Pseudonaja textilis</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Serpente marrone orientale	
P23028	PA2AD_PSETE	recensito	<b>Fosfolipasi acida omologata A2</b> catena textitossina D	NA	. svPLA2 omologato	152	8673 <i>Pseudonaja textilis</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Serpente marrone orientale	
Q593B6	FA5_PSETE	recensito	<b>Fattore di coagulazione V</b>	NA	<i>Tagliato in 2 catene</i>	1459	8673 <i>Pseudonaja textilis</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Serpente marrone orientale	
Q7SZN0	FA5V_PSETE	recensito	<b>Attivatore di protrombina</b> velenosa sottounità pseutarina-C non catalitica	NA	. PCNS . vPA . Fattore di coagulazione del veleno Proteina Va-like  <i>Tagliato in 2 catene</i>	1460	8673 <i>Pseudonaja textilis</i>	<b>Chordata - Elapidae</b>	Serpente marrone orientale	
Q2XXQ3	CRVP1_PSEPL	recensito	Proteina velenosa ricca di cisteina ENH1	NA	. CRVP . Proteina secretoria ENH1 ricca di cisteina (CRISP-ENH1)	239	338839 <i>Pseudoferania polylepis</i>	<b>Chordata - Hamalopsidae</b>	Serpente d'acqua di Macleay Enidride pollessia	
Q9PW56	BNP2_BOTJA	recensito	<b>Bradichinina-potenziante</b> e C-tipo peptidi natriuretici	NA	. Cervello BPP-CNP . Evasin-CNP  <i>Fessurato nelle 12 catene</i>	265	8724 <i>Gocce di jararaca</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Jarararaca	
A8YPR6	SVM1_ECHOC	recensito	Veleno di serpente <b>metalloproteasi</b> inibitore	NA	. 02D01 . 02E11 . 10F07 . Svmpi-Eoc7  <i>Tagliato in 15 catene</i>	308	99586 <i>Echis ocellatus</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Vipera a sega ocelata	
Q698K8	VM2L4_GLOBR	recensito	Zinco <b>metalloproteinasid/disintegrazione dello zinco</b> [Frammento]	CE 3.4.24.-	<i>Tagliato in 3 catene</i>	319	259325 <i>Gloydium brevicaudus</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Serpente slamosa coreano Agkistrodon halys brevicaudus	
Q8AW15	VM3HA_GLOHA	recensito	Zinco <b>metalloproteinasidisintegrante</b> -come l'alisasi	CE 3.4.24.-	. Zinco metalloproteinasid-disintegrina come alisasi . Veleno di serpente metalloproteinasid (SVMP) . Proteina che induce apoptosi vascolare (VAP)	610	8714 <i>Aloni Gloydium</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Mocassino d'acqua cinese Agkistrodon aureole	
P82662	3L26_OPHHA	recensito	Alfa-neurotossina	NA	. Alfa-elapitossina-OH2b (Alpha-EPTX-OH2b) . Alfa-elapitossina-OH2b . LNTX3 . Neurotossina lunga OH-6A/OH-6B . OH-3	91	8665 <i>Ophiophagus hannah</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Re cobra Naja hannah	
Q2PG83	PA2A_PROEL	recensito	<b>Fosfolipasi acida A2</b> PePLA2	CE 3.1.1.1.4	. Fosfatidilcolina 2-acilidrolasi (svPLA2)	138	88086 <i>Protobothrops elegans</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Elegante pitvip Trimeresurus elegans	
P06860	PA2BX_PROFL	recensito	<b>Fosfolipasi di base A2</b> PL-X	CE 3.1.1.1.4	. Fosfatidilcolina 2-acilidrolasi (svPLA2)	122	88087 <i>Protobothrops flavoviridis</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Habu Trimeresurus flavoviridis	
P0C7P5	BNP_PROFL	recensito	<b>Bradichinina-potenziante</b> e C-tipo peptidi natriuretici	NA	. BPP-CNP  <i>Tagliato in 6 catene</i>	193	88087 <i>Protobothrops flavoviridis</i>	<b>Chordata - Viperidae</b>	Habu Trimeresurus flavoviridis	
Q3C2C2	PA21_ACAPL	recensito	<b>Fosfolipasi A2</b> AP-PLA2-I	CE 3.1.1.1.4	. Fosfatidilcolina 2-acilidrolasi (svPLA2)	159	133434 <i>Acanthaster planci</i>	<b>Echinodermata - Acanthasteridae</b>	Stella marina Corona di spine	
D6C4M3	CU96_CONCL	recensito	<b>Conotossina</b> Cl9.6	NA	. Conotossina Cl9.6	81	1736779 <i>Californiconus californicus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono della California Conus californicus	
D2Y488	VKT1A_CONCL	recensito	Proteasi di serina di tipo Kunitz inibitore della <b>conotossina</b> Cal9.1a	NA	-	78	1736779 <i>Californiconus californicus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono della California Conus californicus	
D6C4J8	CUE9_CONCL	recensito	<b>Conotossina</b> Cl14.9	NA	-	78	1736779 <i>Californiconus californicus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono della California Conus californicus	
P0DPT2	CA1B_CONCT	recensito	Alfa-conotossina ClB [Frammento]	NA	. C1.2	41	101291 <i>Conus catus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono per gatti	
V5V893	CQG3_CONFL	recensito	<b>Conotossina</b> Fla16d	NA	. Conotossina Fla16d  <i>Tagliato in 2 catene</i>	76	101302 <i>Conus flavidus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono giallo del Pacifico	
P58924	CS8A_CONGE	recensito	Sigma-conotossina GVIII A	NA	. Sigma-conotossina GVIII A	88	6491 <i>Conus geographus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono geografico Nubecula geographus	
P0DM19	NF2_CONMR	recensito	<b>Conotossina</b> Mr15.2	NA	. Conotossina Mr15.2 (Mr094)	92	42752 <i>Conus marmoreus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono di marmo	
P0C1N5	M3G_CONMR	recensito	<b>Conotossina</b> mr3g	NA	. Conotossina mr3g (Mr3.6)	68	42752 <i>Conus marmoreus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono di marmo	
D2DGD8	I361_CONPL	recensito	<b>Conotossina</b> Pu6.1	NA	-	83	93154 <i>Conus pulicarius</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono morso di pulce	
P0C8U9	CA15_CONPL	recensito	Pu1,5 alfa-conotossina simile a Pu1,5	NA	-	81	93154 <i>Conus pulicarius</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono morso di pulce	
A1X8B8	CA1_CONQU	recensito	Alfa-conotossina Qc presunta alpha-1	NA	. QcaL-1	68	101313 <i>Conus quercinus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono di quercia	
P58786	COW_CONRA	recensito	<b>Contryphan-R</b>	NA	. Bromocontryphan  <i>Scanalato in 2 catene</i>	63	61198 <i>Conus radiatus</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono a raggiera	
P58811	CA1A_CONTU	recensito	Rho-conotossina TIA	NA	. Rho-TIA	58	6495 <i>Conus tulipa</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Chiocciola a cono per la caccia al pesce Conus tulipa	

Q5K0CS	O16A_CONVR	recensito	<a href="#">Conotossina 10</a>	NA	-	79	89427	<i>Conus virgo</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono vergine
B3FIA5	CVFA_CONVR	recensito	<a href="#">Conotossina V15a</a>	NA	. Conotossina V15.1	74	8765	<i>Conus virgo</i>	<b>Mollusca - Conidae</b>	Cono vergine

FIGURA 1

D2DGD8 - I361\_CONPL Conotoxin Pu6.1 (*Conus pulicarius*)

D2DGD8

MKLVLAIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIESA

PS01.01 [01] MKLVLAIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVC-----  
PS01.02 [01] MKLVLAIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQI---  
PS01.03 [02] --LVLAIIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQI---  
PS01.04 [30] --LVLAIIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIES-  
PS02.01 [01] MKLVLAIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIES-  
PS02.02 [01] -KLVLAIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIESA  
PS02.03 [31] --LVLAIIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIESA  
PS03.01 [01] ----LAIIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIESA  
PS03.02 [11] --LVLAIIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIESA  
PS04.01 [01] -KLVLAIVLILMLVSLSTGAEESGQEISMVGPPLYIWDPIPPCKQLDEDCGYGYSCCEDLSCQPLIEPDTMEITALVCQIESA