

Miből van a koronavírus?

a SARS-CoV-2 egy szerkezetkutató szemével

Gáspári Zoltán

gaspari.zoltan@itk.ppke.hu



Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Információs Technológiai és Bionikai Kar



Alkímia ma, 2020.09.24.



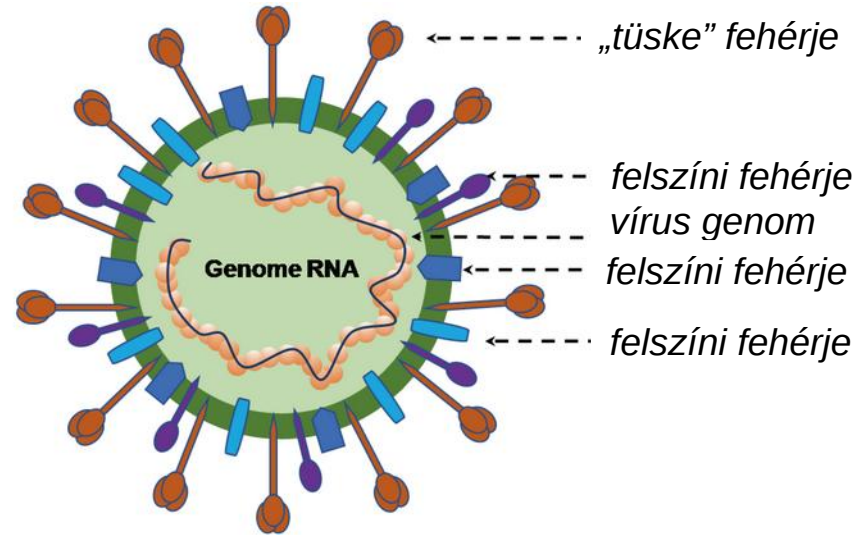
Ábra forrása: David S. Goodsell
(<http://pdb101.rcsb.org/sci-art/goodsell-gallery/coronavirus>)

Mik a vírusok?

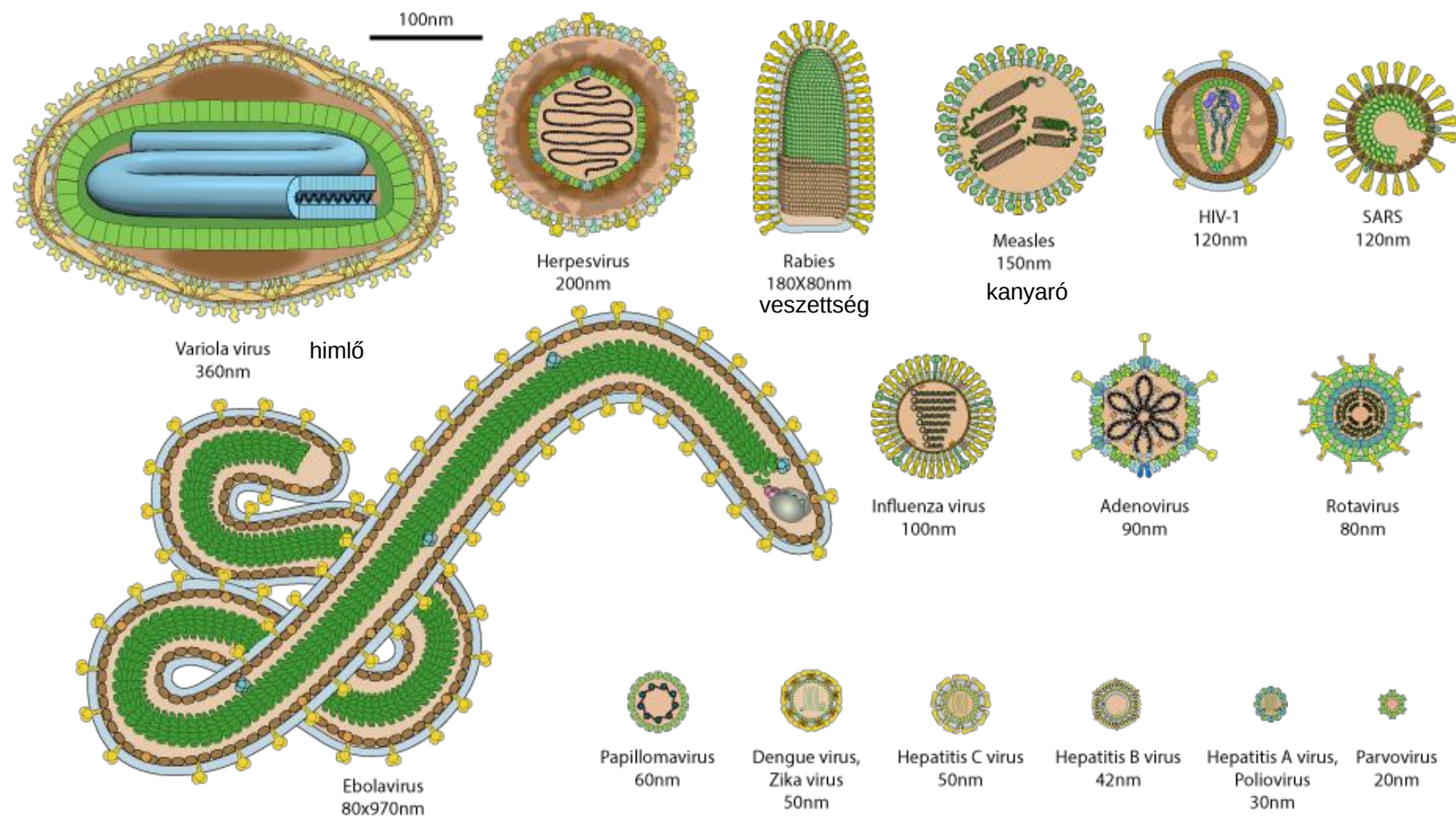
A vírusok olyan képződmények, melyek élő sejtekbe bejutva azokat „**átprogramozzák**” arra, hogy új vírusokat gyártsanak. **Önmagukban nem képesek szaporodni**, csak egy élőlény sejtjeit felhasználva. Ezért nem tekintjük őket igazán élőlényeknek, de a biológia tudománya foglalkozik velük.

A vírusok (vírusrészecskék) felépítése sokkal egyszerűbb a sejtekénél, az **örökítőanyaguk** (genomjuk) lehet RNS vagy DNS, ezen kívül a genom **becsomagolásához és a sejtbe jutáshoz** szükséges **fehérjéket** tartalmazzák.

A vírus ezeken kívül **kódolja**,
de – vírushajtától függően – részecskéjében
nem feltétlenül hordozza is a
szaporodásához szükséges egyéb fehérjéket.



Mekkorák a vírusok?



Zhu et al. 2020, *New Eng J Medicine* 382:727-33.

Az új koronavírus elektronmikroszkópos képe

<https://viralzone.expasy.org/5216>

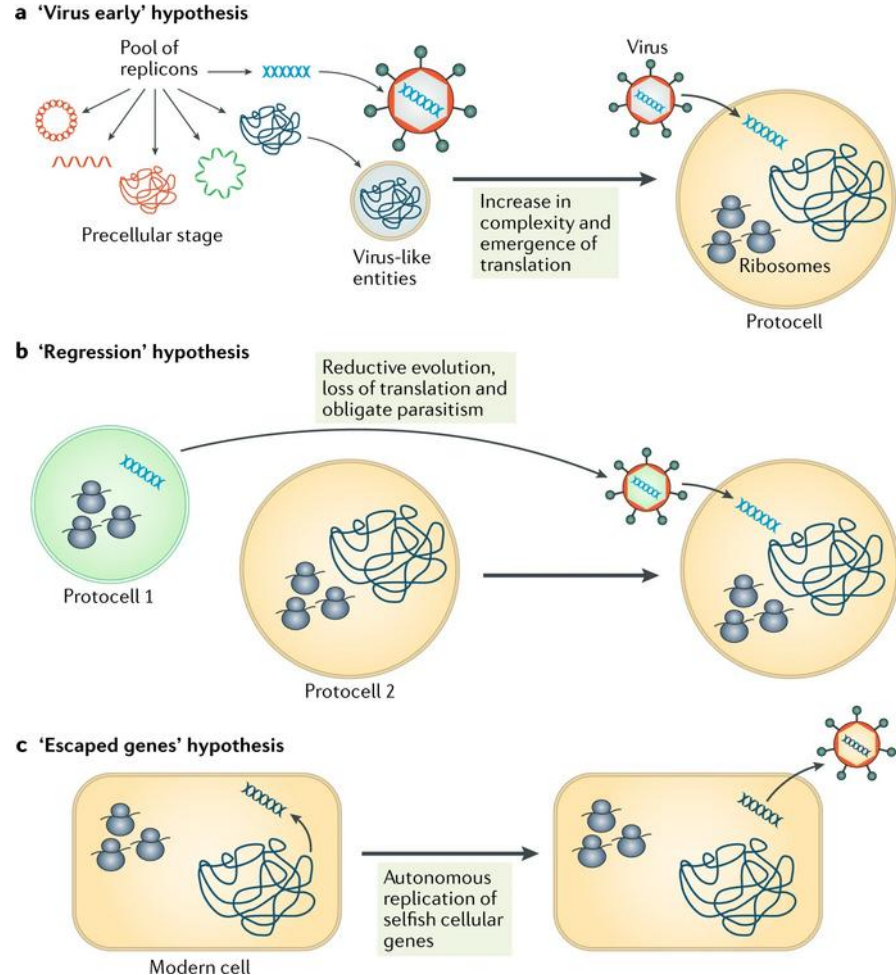
A koronavírus egy baktériumnál kb. 5-10-szer, egy vörösvértestnél 70-szer kisebb

Honnan jönnek a vírusok és mit „akarnak”?

Bár fogalmazhatunk úgy, hogy a vírusnak egyetlen „célja” **önmaga sokszorosítása**, ez egy erősen antropomorf megközelítés. Evolúciós oldalról inkább azt mondhatjuk, hogy az **a vírus marad fent/terjed el**, amelyik képes önmagát **hatékonyan** sokszorosítani (pontosabban erre a megfelelő sejteket átprogramozni).

A vírusok eredetére többféle elképzelés is létezik:

- az élővilág hajnala óta velünk vannak, igazából a **sejtes létformák előtt** léteztek már valahogyan
- teljes sejtek **egyszerűsödésével**. A más sejteken belüli élősködés során elvesztették az ehhez feltétlenül nem szükséges alkotórészeket
- progresszív módon a sejtek létező alkotórészeiből jöttek létre mint **önálló genetikai elemek**.
(vannak másféle önálló genetikai elemek is, melyek magukat képesek sokszorosítani sejteken belül)



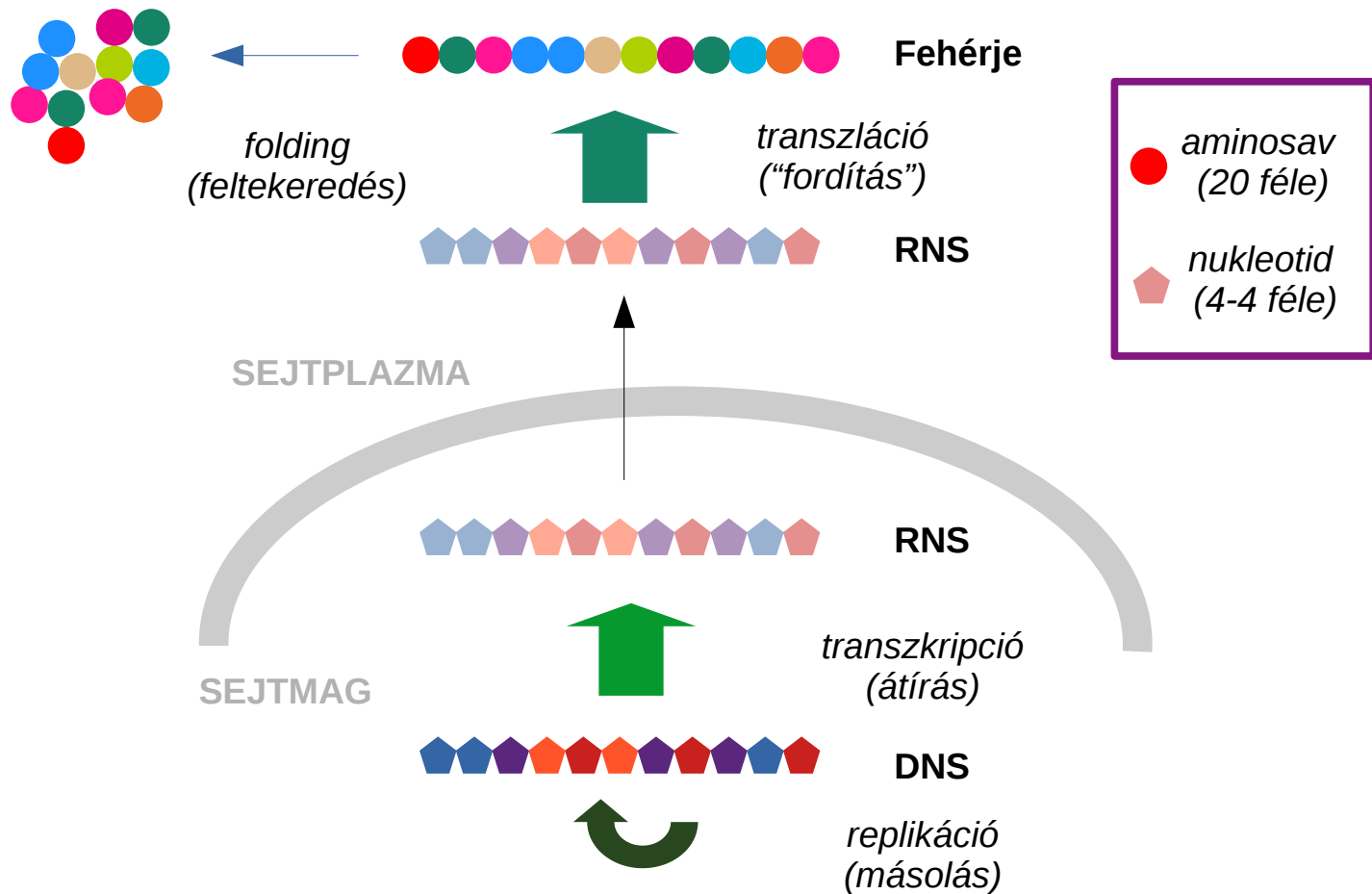
A biológiai információáramlás egy emberi sejtben

A fehérjék az aminosavsorrendjüknek megfelelő **háromdimenziós szerkezetet** vesznek fel

Az RNS **lefordítódik** és **fehérjemolekula** keletkezik

A **DNS** egy adott szakasza **átíródik RNS** molekulává. Az RNS ezután **kijut a sejtmagból**.

Az átörökített információt a **DNS** hordozza. **Másolása** teszi lehetővé a **továbbörökítést**.



Hogyan működik a koronavírus?

A SEJT SAJÁT MOLEKULÁI

 Fehérje



transzláció
("fordítás")

 RNS

SEJTPLAZMA



 RNS

transzkripció
(átírás)



 DNS

replikáció
(másolás)



SEJTMAG

A VÍRUS MOLEKULÁI

 Fehérje



transzláció
("fordítás")

 RNS

transzkripció
(átírás)



 RNS

replikáció
(másolás)

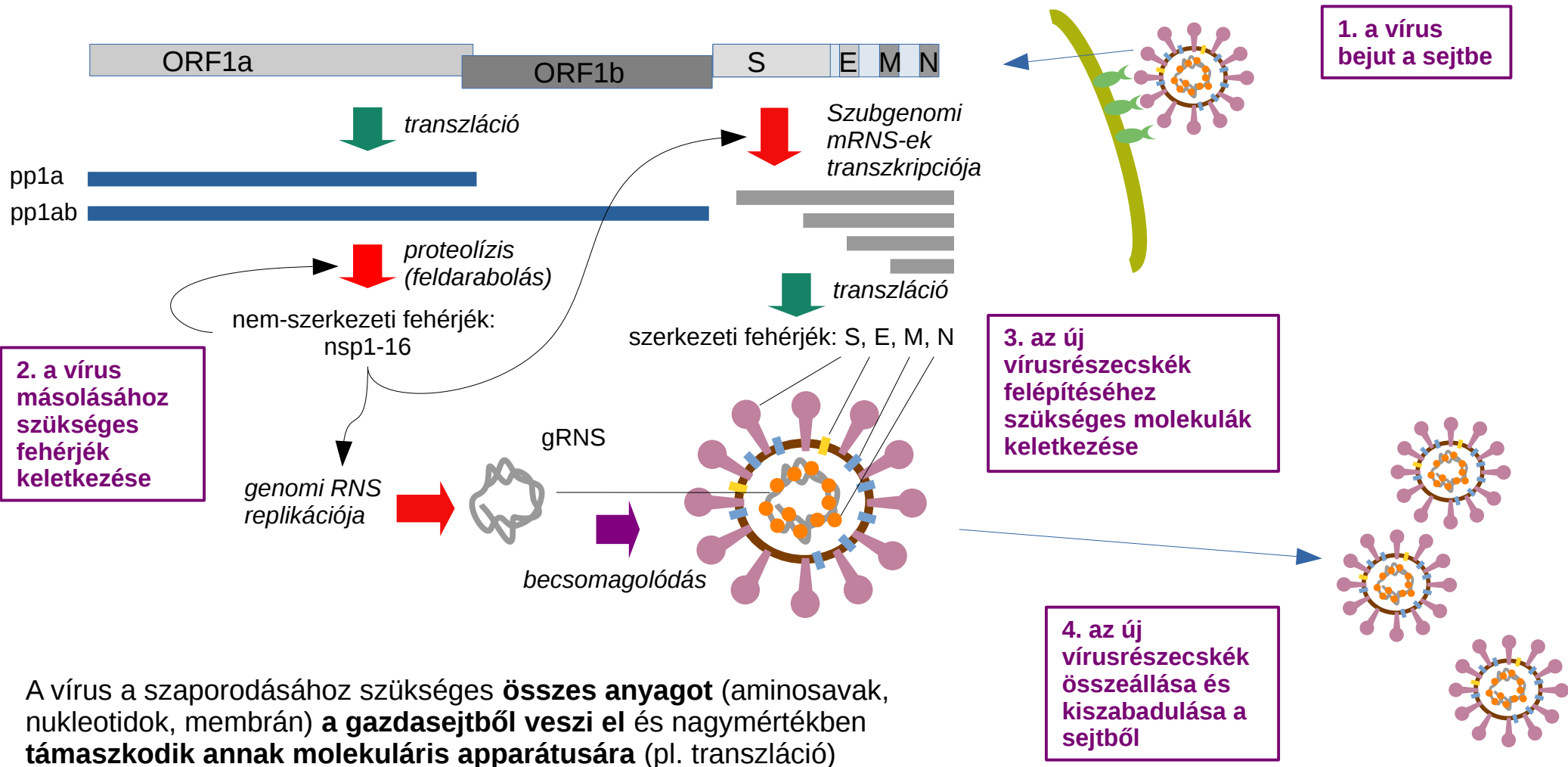


A koronavírusokban **RNS** van, amely egyszerre szolgál a **másolás** és az **átírás** alapjául.

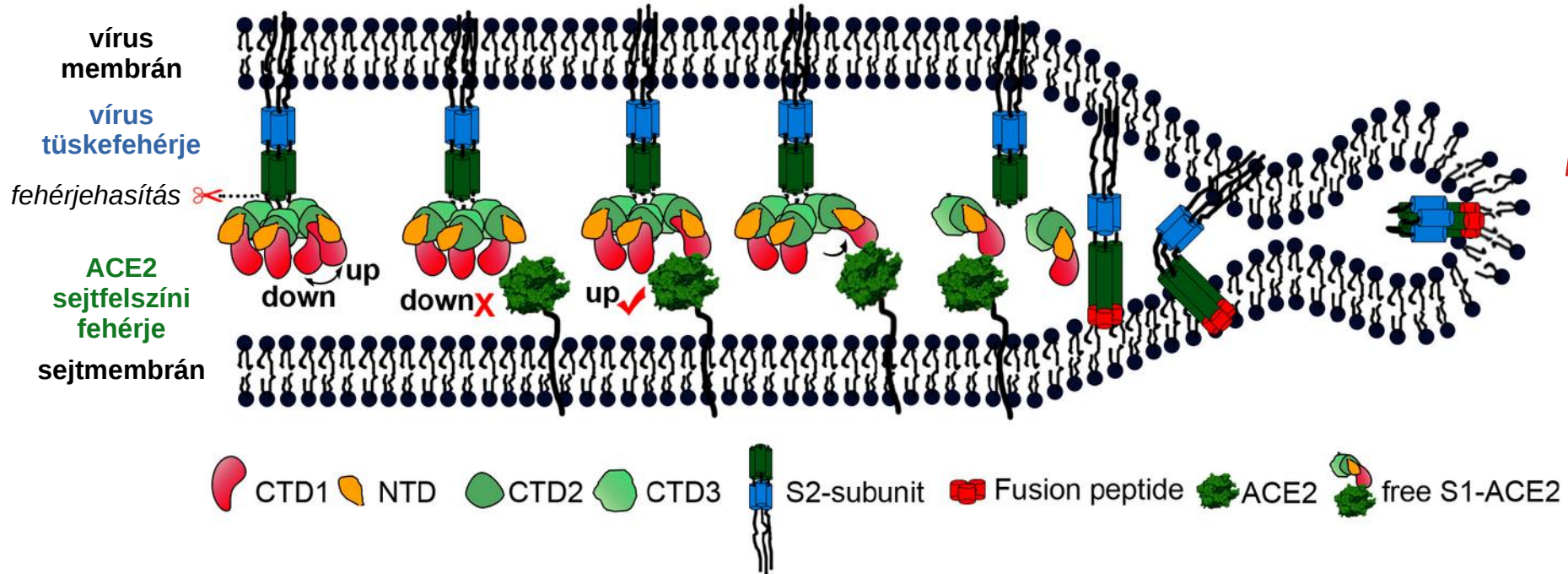
A folyamatban **nem szerepel DNS**, és minden lépése a **sejtmagon kívül** zajlik.

Az információáramlás egy része a sejtben **meglévő rendszerek**, másik része a **vírus által kódolt molekulák** révén játszódik le.

Hogyan működik a koronavírus?



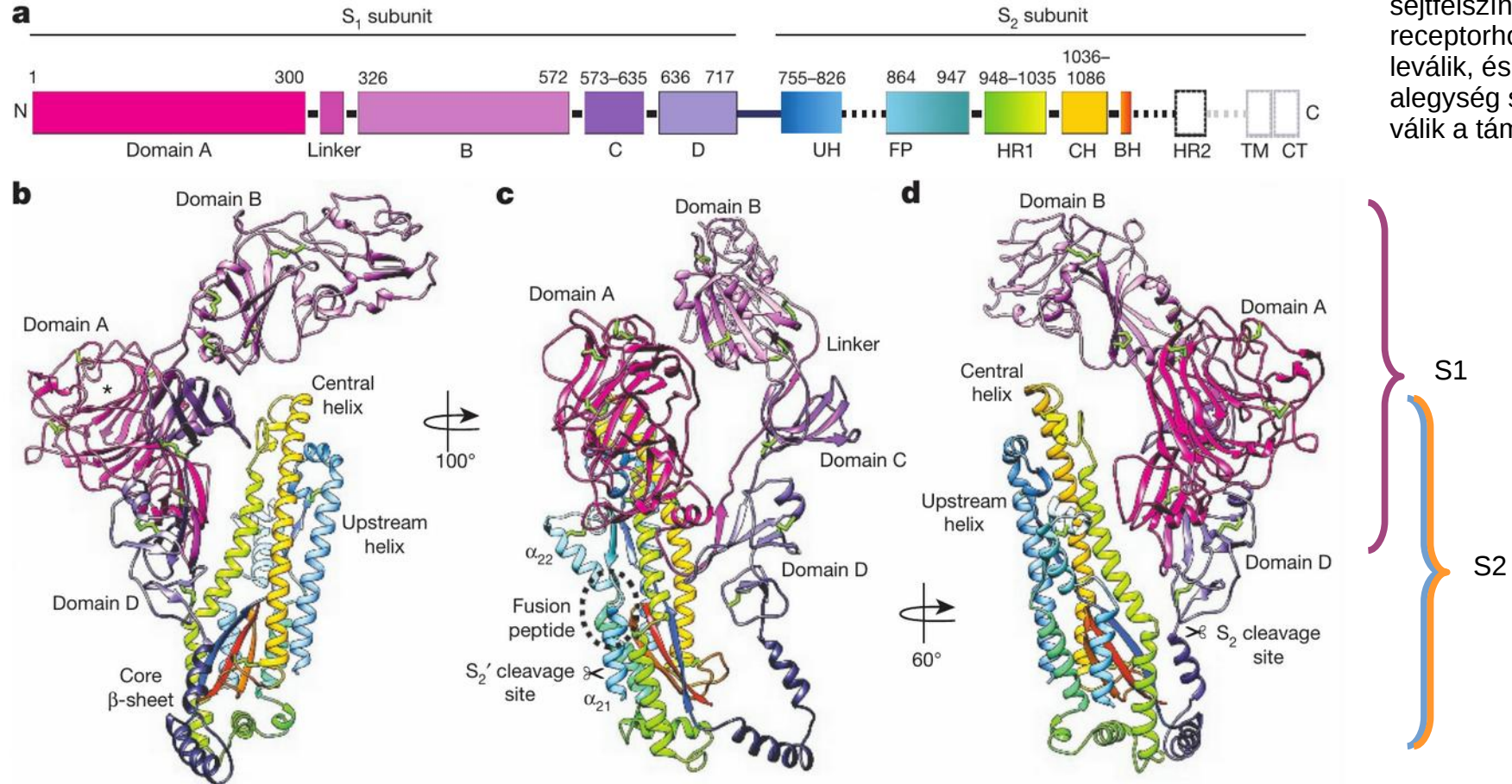
Hogyan jut be a vírus a sejtbe? A tüskefehérje (spike) szerepe



- A tüskefehérje megadott másik fehérjét ismer fel a sejtfelszínen (vírustól függ, mit)
- A felismerés után a tüskefehérje szerkezete megváltozik, és a két membrán összeolvad, így a vírus belsejében lévő molekulák bejutnak a sejtbe

A tüskefehérje részletes szerkezete

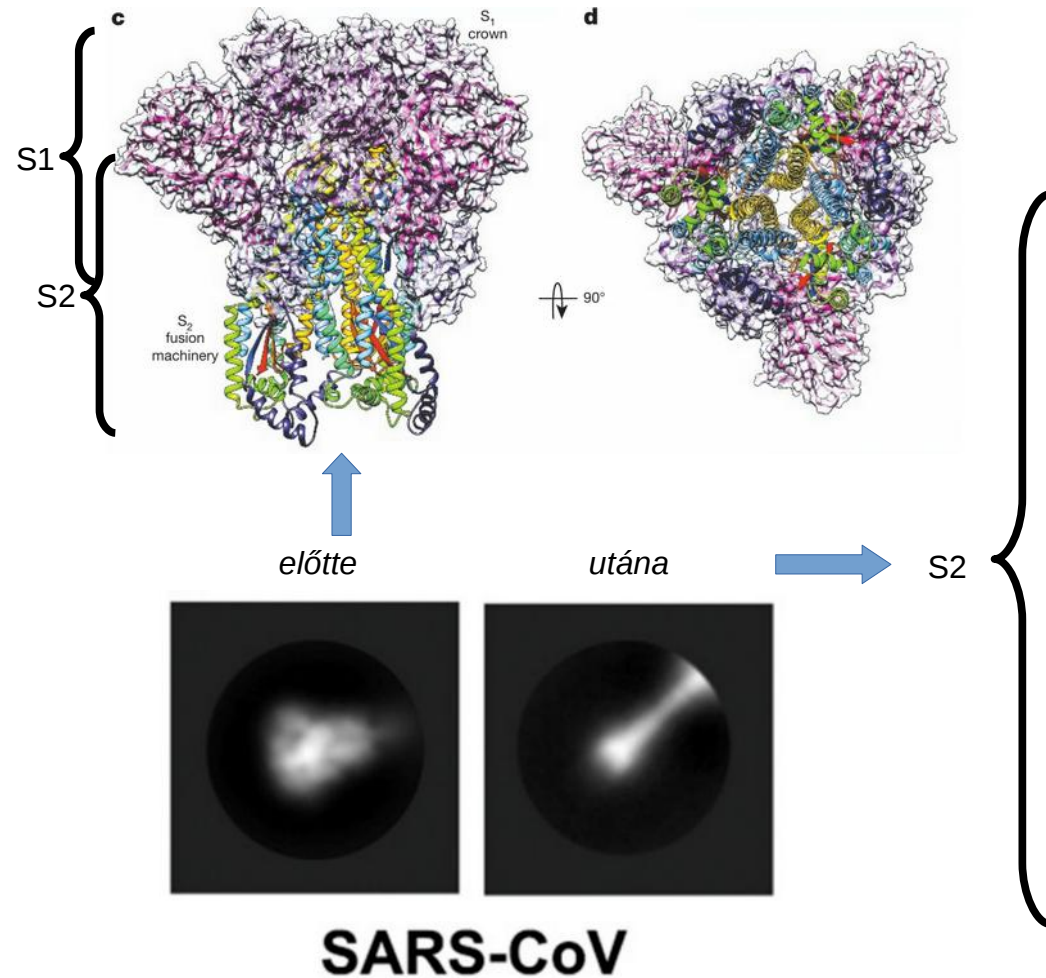
Receptor binding domain (RBD)



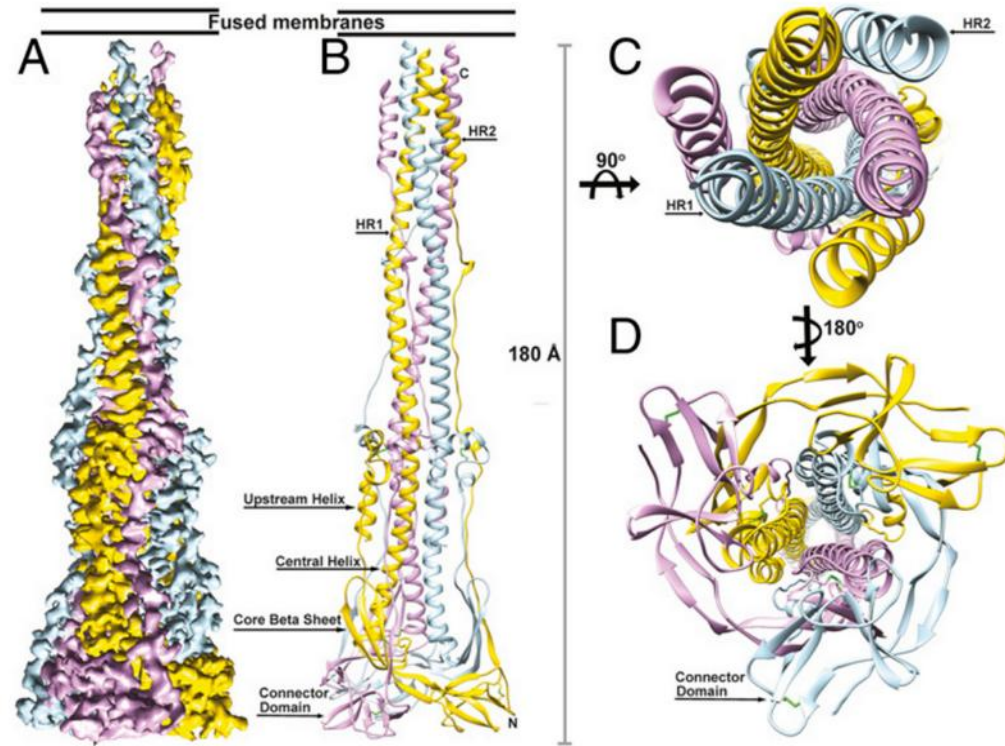
Az S1 kapcsolódik a sejtfelszíni receptorhoz, majd leválik, és az S2 alegység szabaddá válik a támadáshoz.

Ez a SARS-CoV vírus fehérjéjének szerkezete

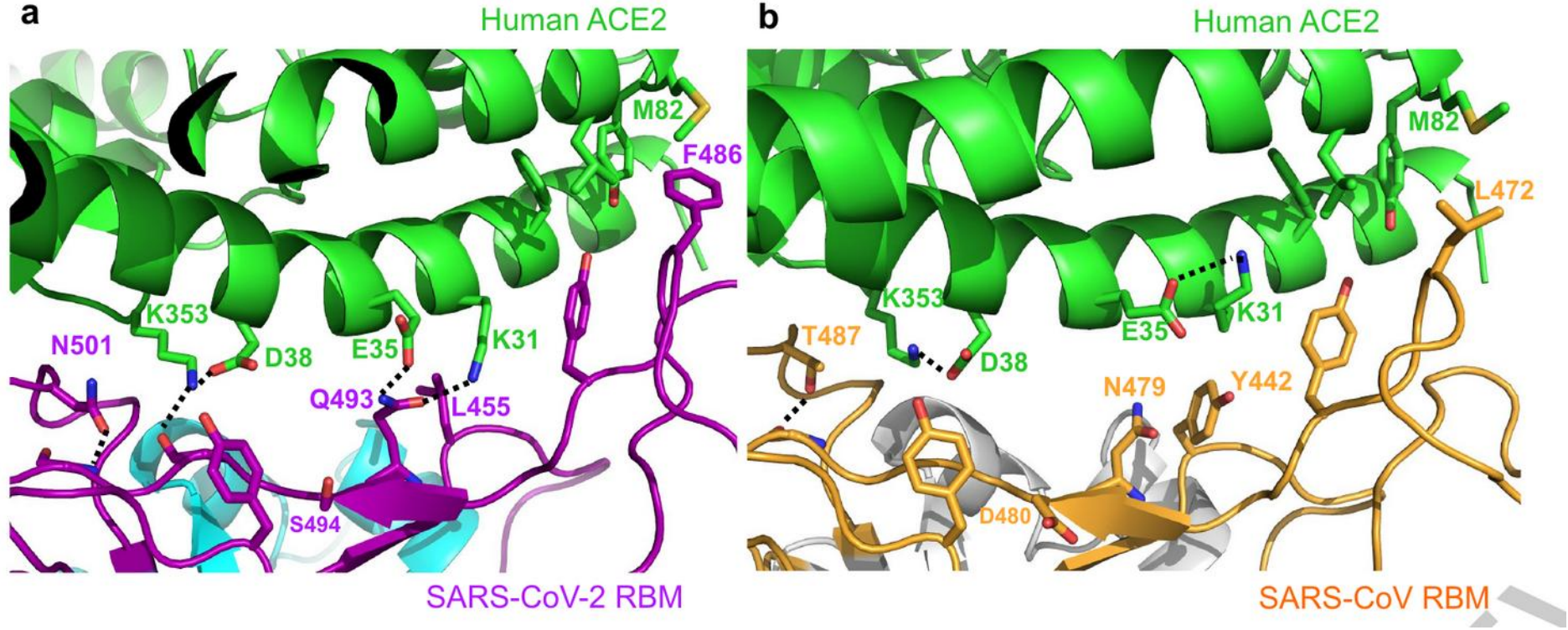
A membránösszeolvadáskor bekövetkező szerkezetváltozás



Az S1 rész „leesik”, az S2 rész pedig **kinyílik**, mint egy (pontosabban három) bicska



Az új vírus erősebben köt az ACE2-höz, mint a SARS-CoV



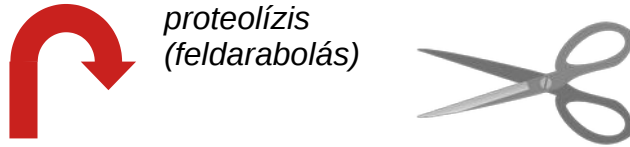
- A két vírus esetében a kötőfelszín általánosságban nagyon **hasonló**
- DE az új vírus **több kedvező kapcsolatot** tud kialakítani az ACE2 fehérjével, a **kötés erősebb**. Ez is növeli a vírusfertőzés hatékonyságát

Hogyan működik a koronavírus?

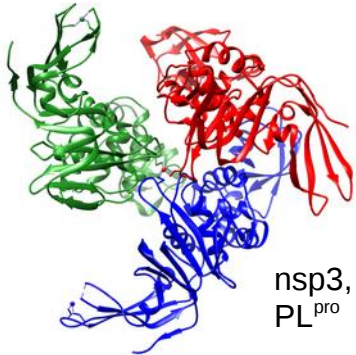
A vírus másolásához szükséges fehérjék keletkezése



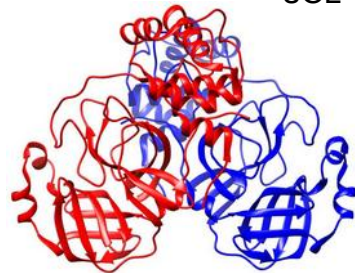
transzláció



nem-szerkezeti fehérjék:
nsp1-16

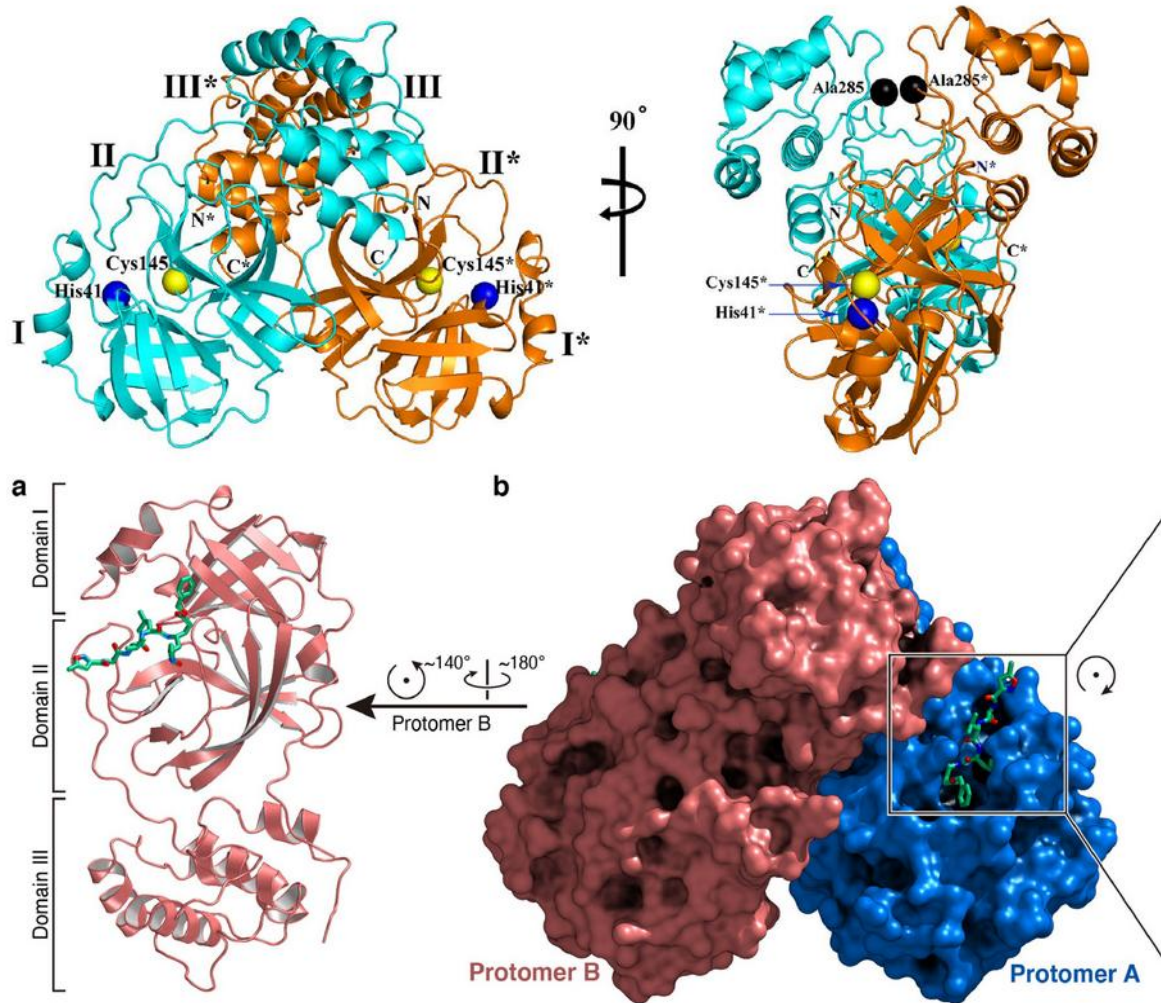


nsp5, 3CL^{pro}



- A sejt lefordítja a vírus RNS első felét, kétféle ún. polipeptid keletkezik, melyek számos vírusfehérjét tartalmaznak „összefűzve”
- PL^{pro}, 3CL^{pro}: *fehérjéket daraboló enzimek*
- Az első lépésben képződött hosszú polipeptidláncot darabolják fel a vírus sokszorozásához szükséges fehérjékre
- A 3CL^{pro} képes önmagát kivágni, utána tovább darabolni a polipeptidláncot

Az új vírus fő „daraboló” enzime

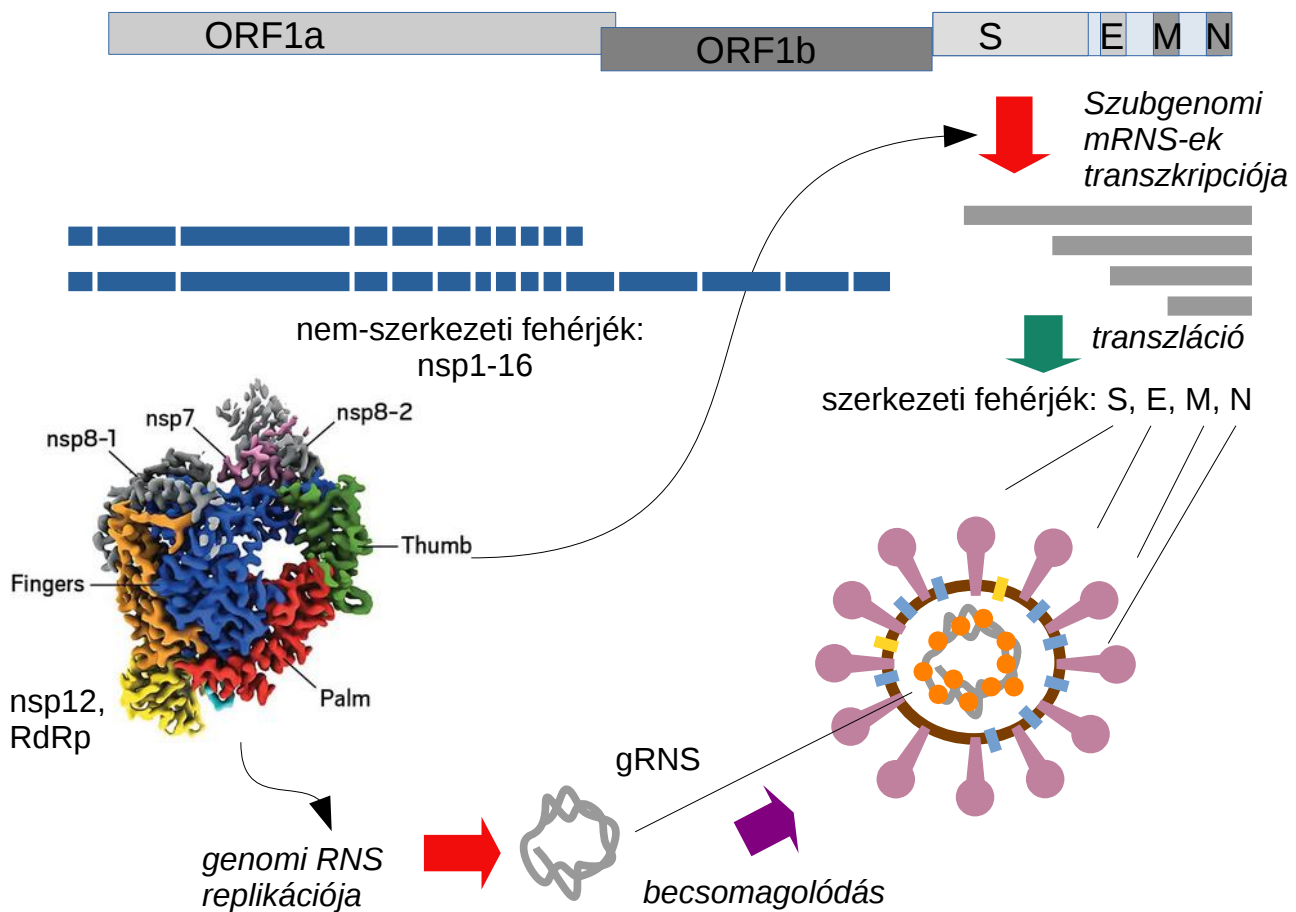


- M^{pro} , vagy $3CL^{\text{pro}}$ az a fő fehérje, amelyik a vírus hosszú fehérjeláncát feldarabolja funkcionális fehérjékre
- Ideális gyógyszercélpont, hasonló fehérje emberben nincs (→ a gyógyszer várhatóan nem okoz kárt más folyamatokban)

Yin et al. 2020, Nature doi:10.1038/s41467-019-10280-3

Zhang et al. 2020, Science doi:10.1126/science.abb3405

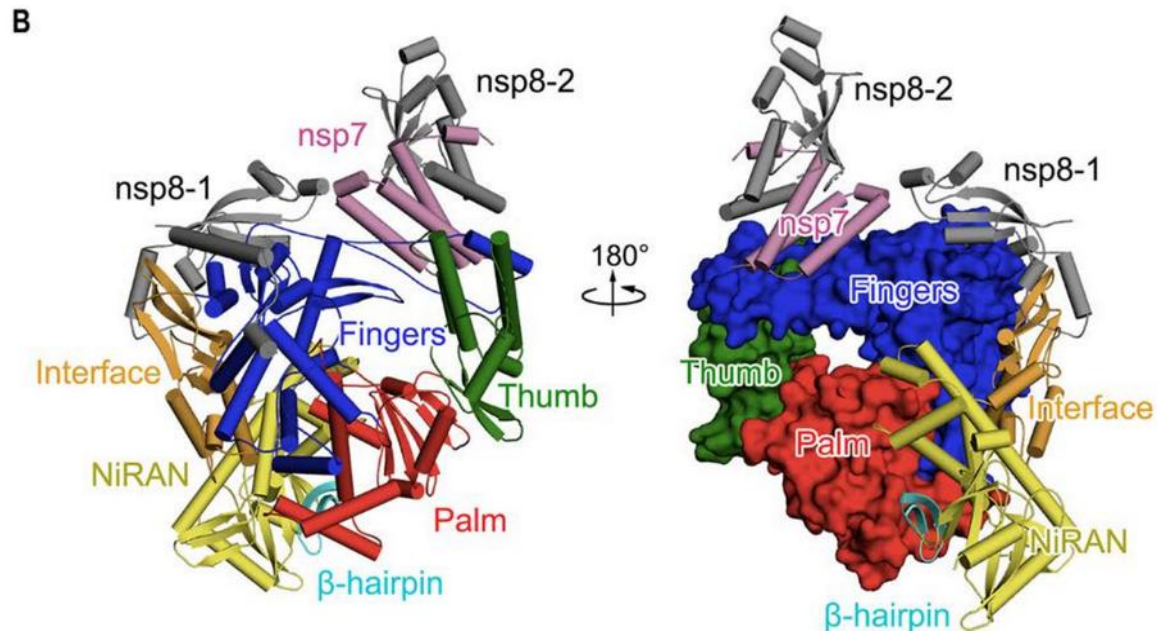
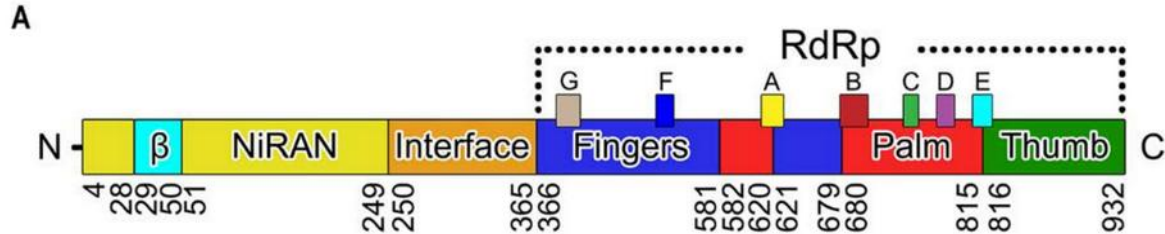
Hogyan működik a koronavírus?



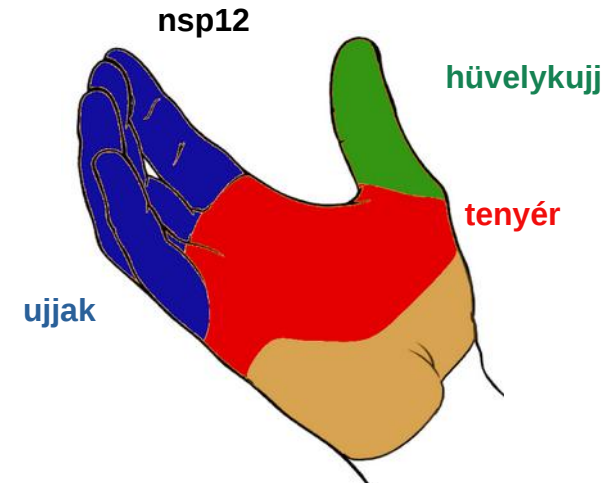
A vírusrészecskék felépítéséhez szükséges fehérjék keletkezése

- RdRp: RNS-másoló enzim (RNS-dependens RNS-polimeráz)
- Lemásolja a **teljes vírus RNS-t** (replikáció), ez bekerül majd az új vírusrészecskékbe
- A genom második feléről **rövid RNS-eket** készít (transzkripció), melyek a szerkezeti fehérjéket kódolják (a sejt végzi a lefordítást)

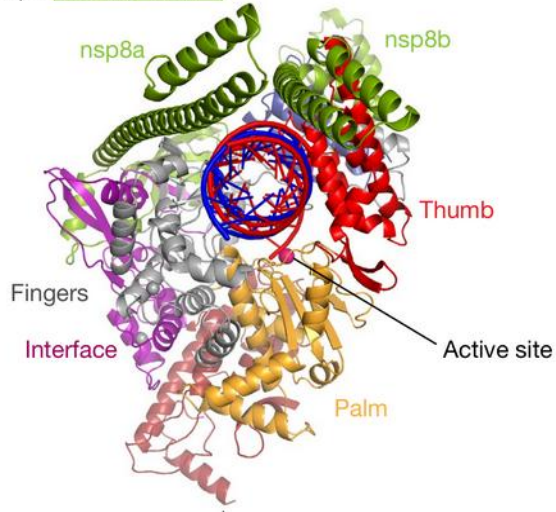
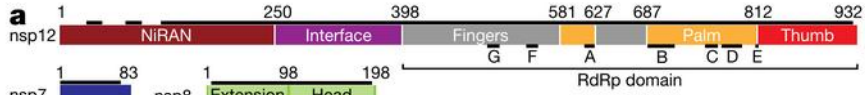
Az új vírus RNS-másoló enzime



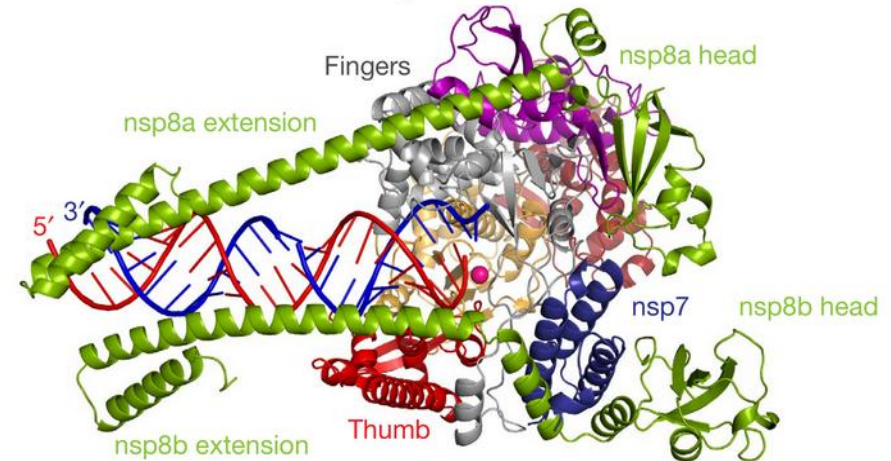
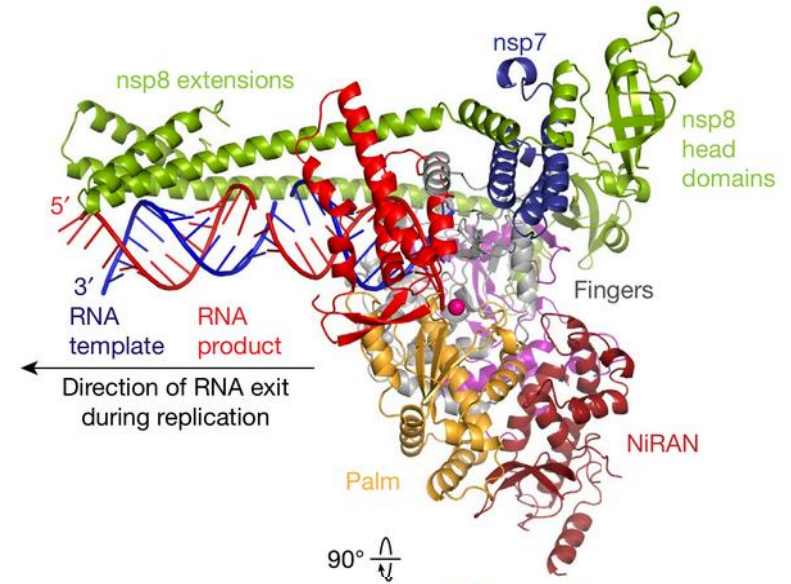
- A vírus RNS-ről képes RNS-másolatot készíteni
- Bonyolult szerkezetű fehérje, segítő fehérjékkel együtt dolgozik
- A vírus RNS hosszú, ezért olyan enzim kell, ami viszonylag keveset hibázik(!)
- A polimeráz egy jobb kézfejhez hasonlít



Az új vírus RNS-másoló enzime

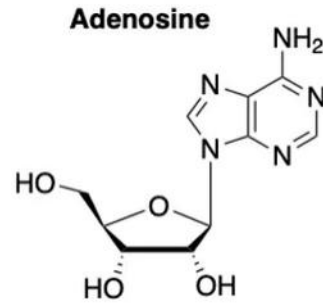
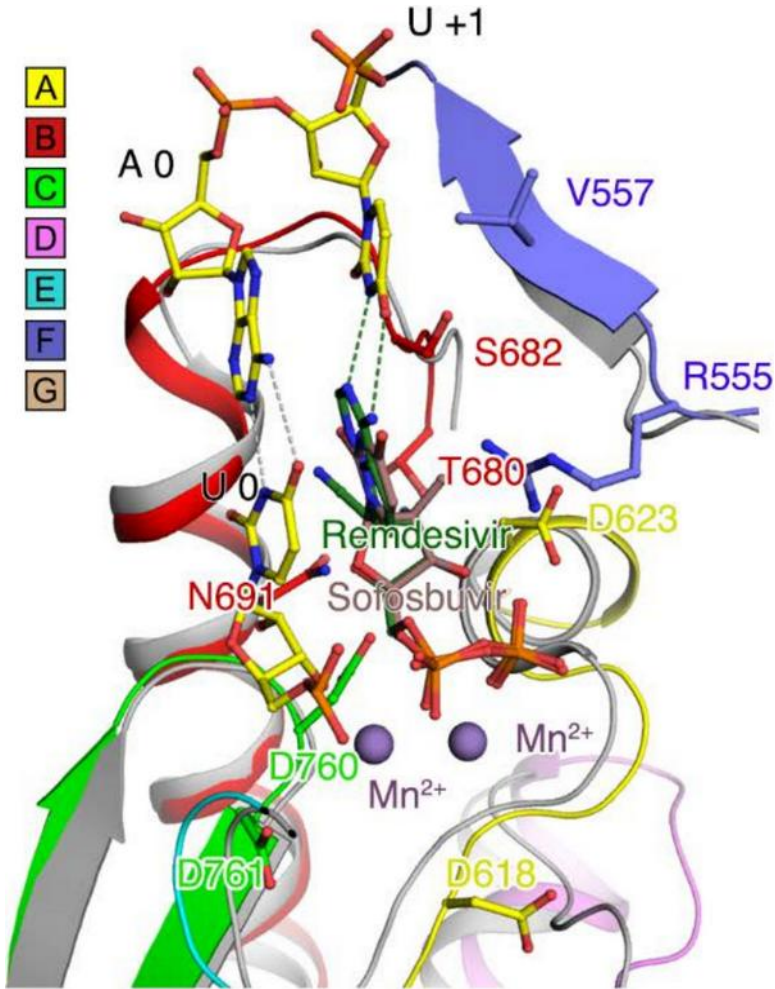


↕
90°

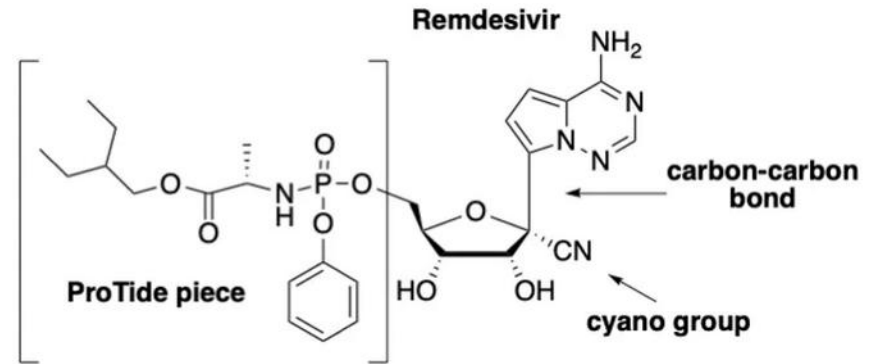


- A másoló RNS-sel együtt készült szerkezetben látszik a **kétszálú RNS** és a két, hosszú hélixet alkotó **nsp8** fehérje, melyek azt biztosítják, hogy a polimeráz az RNS-hez kötve maradjon (processzivitás)

Az új vírus RNS-másoló enzime



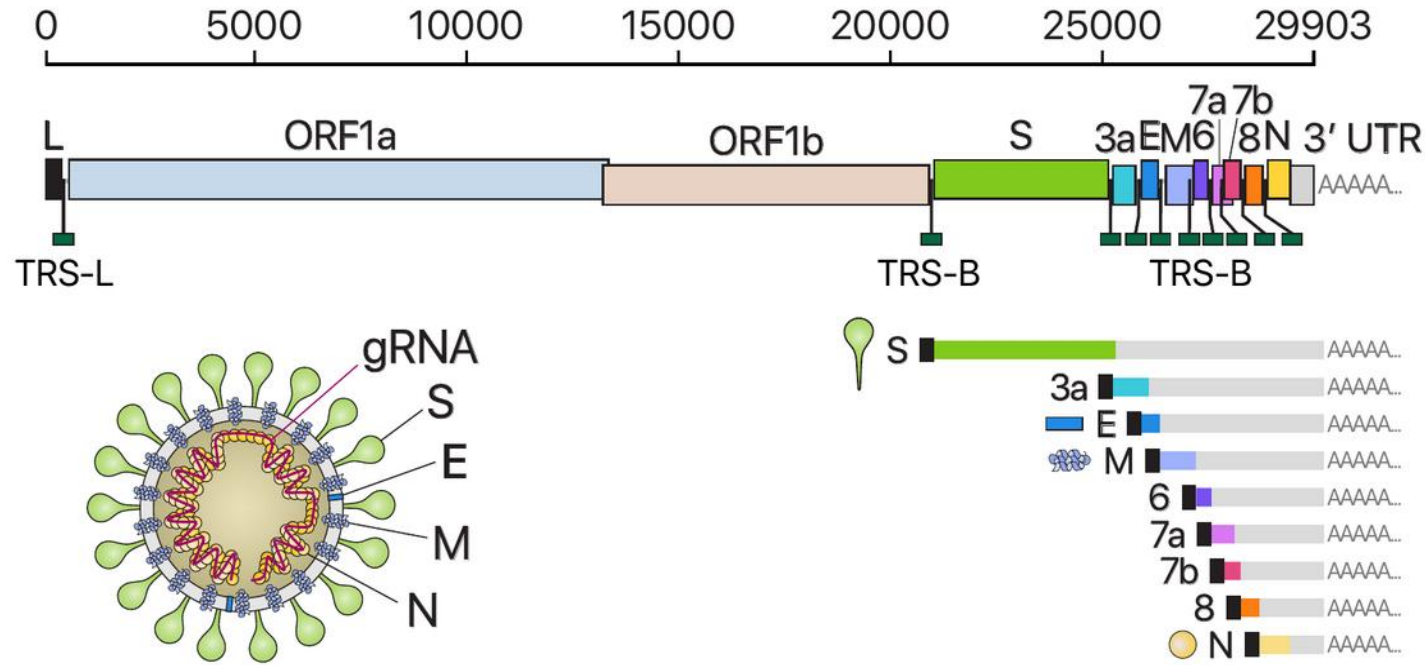
Adenozin
(RNS-építőelem)



Remdesivir
(RNS-építőelem
analóg)

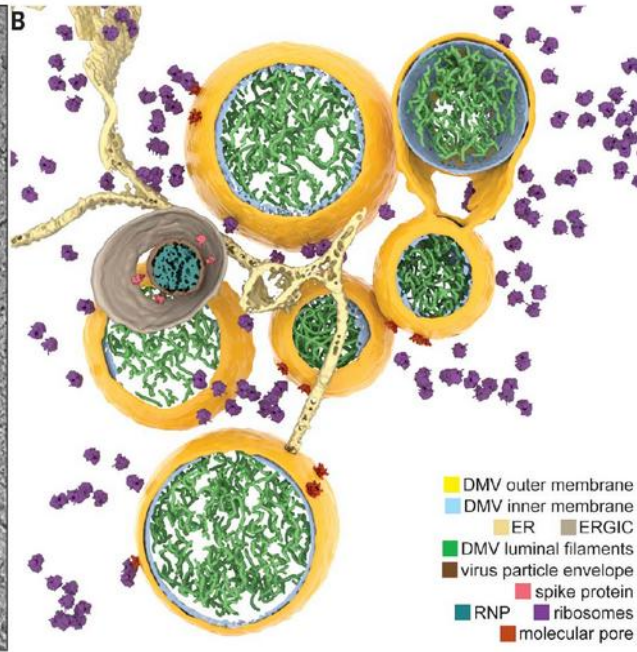
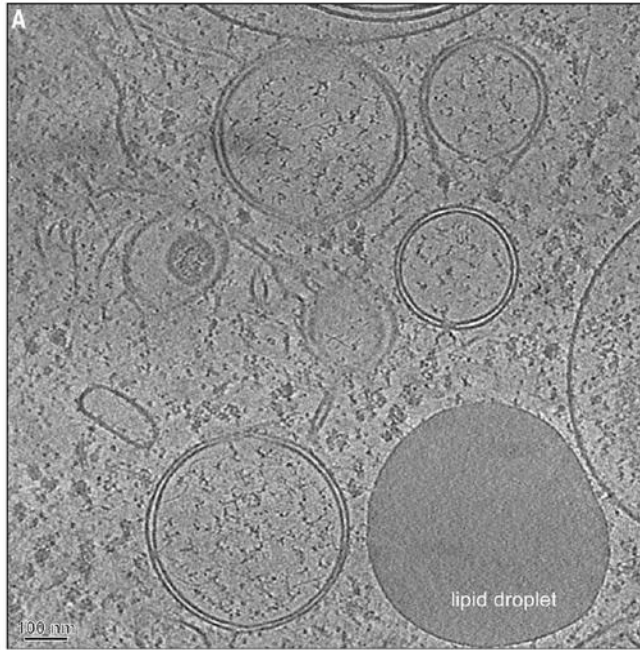
- A **remdesivir** nevű gyógyszermolekula az RNS-lánc továbbépülését akadályozza meg. Más vírusok hasonló fehérjéit tudja gátolni, így feltehetően ebben az esetben is hatásos, klinikai tesztekben is ígéretesen szerepel (DE ezzel önmagában még nem lehet a járványt felszámolni!)

A lemásolt RNS-ek sokfélesége



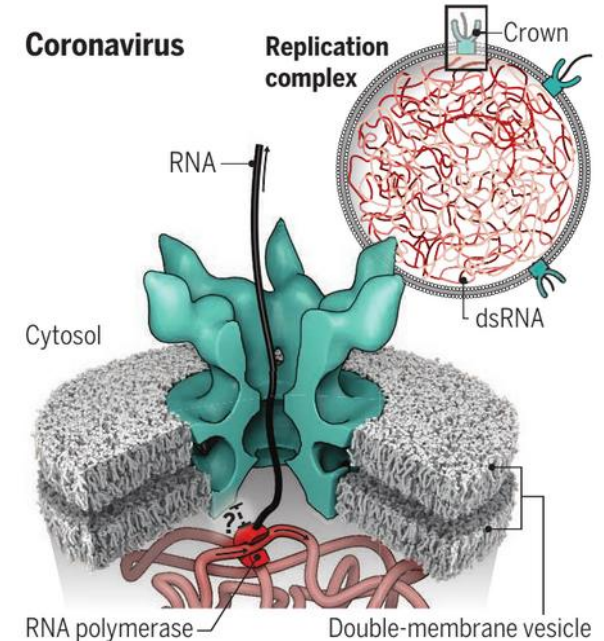
- A vírus RNS-ről számos rövid, ún. **szubgenomikus RNS** képződik, melyek a **szerkezeti** (a vírusrészecskékbe beépülő) fehérjéket kódolják.
- A nagy mennyiségű rövid RNS teljesen **átállítja a sejtet** a vírusfehérjék gyártására

Hogyan kerül el a vírus RNS a „lebukást”? 1. rész

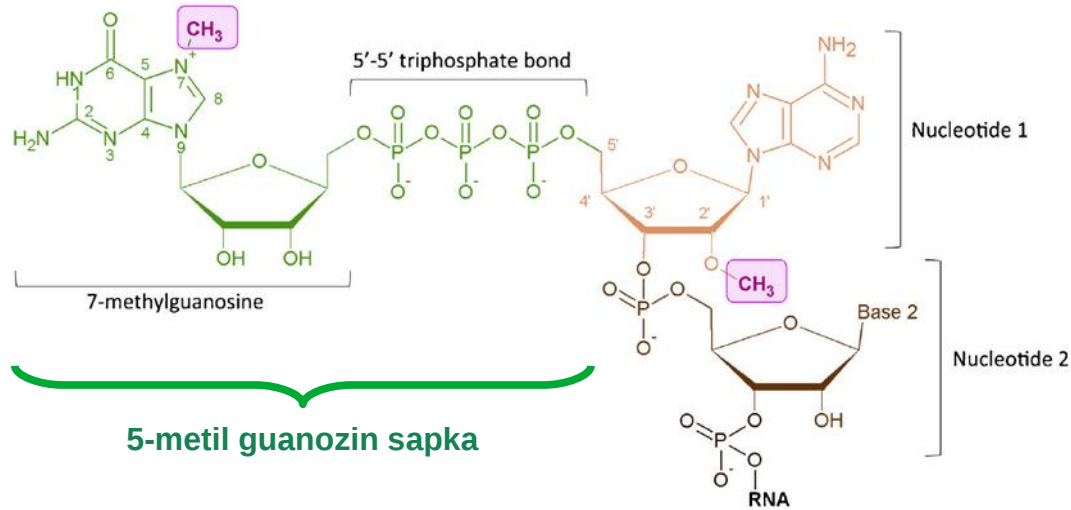


- A sejtben normálisan nincs **kétszálú RNS**, annak jelenléte **antivirális választ** indukál
- A koronavírusok ezért **„elbújtatják”** az RNS-polimerázt membrángömböcskékbe (dupla membrános vezikulák, DMV-k)

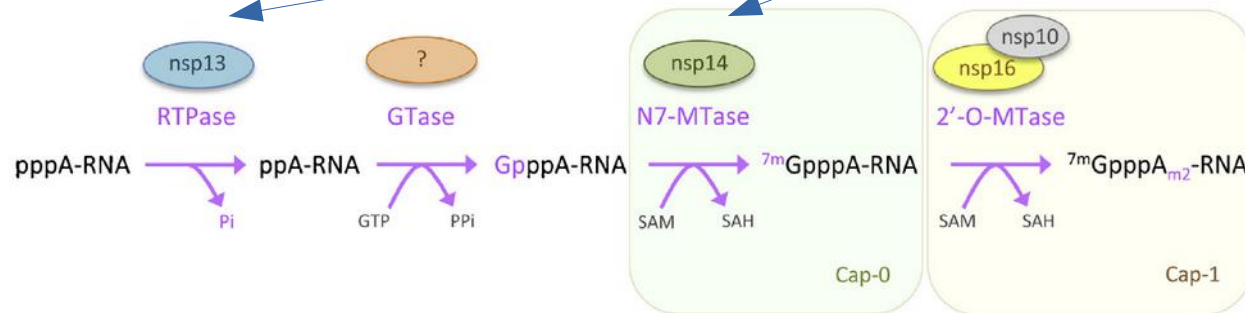
- Ezekből persze ki kell jutnia a kész RNS-eknek, erre szolgálnak az újonnan felfedezett **membránpórusok**



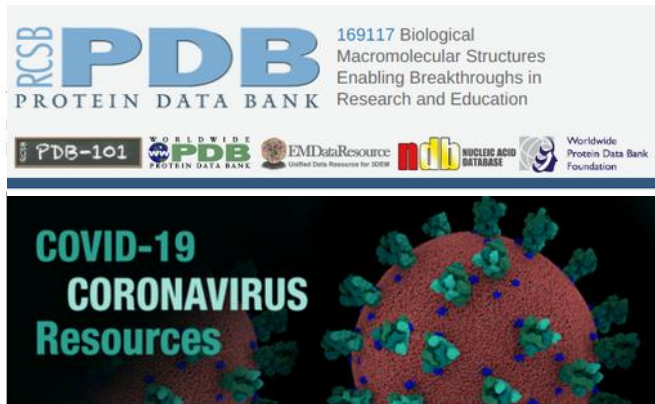
Hogyan kerül el a vírus RNS a „lebukást”? 2. rész



- A sejt saját RNS-molekuláin található egy „sapka” („záróelem”), ez szükséges ahhoz, hogy a sejt ezeket lefordítsa fehérjére. Az ezzel nem rendelkező RNS-eket a sejt lebontja
- Ez a „sapka” a sejtmagban kerül rá a „saját” RNS-ekre
- A koronavírusok RNS-e viszont **soha nem jár a sejtmagban!**
- A vírus úgy kerül el a „lebukást”, hogy olyan fehérjéket is kódol, amelyek ezt a „sapkát” a **sejtmagon kívül** is rá tudják tenni az újonnan készített vírus RNS-ekre



Ahonnán mindezeket tudjuk: ismert SARS-CoV-2 fehérjeszerkezetek száma



COVID-19/SARS-CoV-2 Resources

03/25

PDB Structures (as of September 23, 2020)

[Access all SARS-CoV-2 PDB structures](#)

[Table of PDB structures complexed with Ligands of Interest \(LOI\); LOI Molecular Weight; LOI InChIKey \(TSV\)](#)

- New this week
- Main protease PDB structures
- Spike protein and spike receptors
- Papain-like SARS-CoV-2 structures
- Other SARS-CoV-2 structures
- PanDDA analysis structures and main protease with unliganded active site
- Contains SARS-CoV-2-reactive human antibody

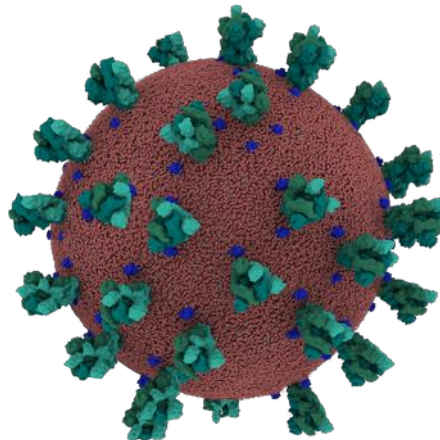
Educational Resources and Images (all free for use)

- Educational resources at PDB-101
- *Molecule of the Month* features: Coronavirus Proteases | SARS-CoV-2 Spike | SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA Polymerase
- Resources to Fight the COVID-19 Pandemic: Passive Immunization with Convalescent Antibodies
The Search for Drugs to Fight COVID-19
- Boot Camp: COVID-19 Evolution and Structural Biology Week-long experience with undergraduates to study sequence and structure changes during the first six months of the pandemic (see also BAMbed (2020) doi: 10.1002/bmb.21428)
- Curriculum Modules: COVID-19 in Molecular Detail

2020. szeptember 23.:

406 szerkezet
308 röntgendiffrakció
97 krio-EM
1 NMR

A nagy szám úgy jön ki, hogy ugyanazon fehérje szerkezetét többször is meghatározták, pl. más inhibitorokkal stb.

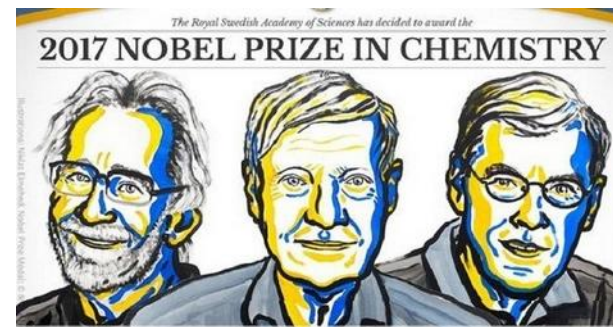


Credit: Maria Voigt/RCSB PDB

Miért lehet már most ilyen sok?

Rokon vírusokon végzett évtizedes kutatások során szerzett tapasztalatok tették lehetővé, hogy most gyorsan lehessen szerkezeti adatokhoz jutni.

A krio-elektronmikroszkópia csak a 2010-es években érte el mai teljesítőképességét, 2017-ben adtak ezért Nobel-díjat.



The image consists of a 3x3 grid of electron micrographs showing the complex, multi-colored structure of a coronavirus. The central panel contains the text "Köszönöm a figyelmet!". The surrounding panels show the virus's surface, which is covered in a dense network of proteins, with various colors (pink, blue, green, yellow) highlighting different components. The overall appearance is highly detailed and textured.

Köszönöm a figyelmet!

Ábra forrása: David S. Goodsell
(<http://pdb101.rcsb.org/sci-art/goodsell-gallery/coronavirus>)

Készült az Eötvös Loránd Tudományegyetem,
EFOP-3.4.4-16-2017-00006 számú, „Belépő a tudás közösségébe,
MTMI szakok és pályák népszerűsítése a középiskolások körében”
című projektje keretében.

SZÉCHENYI 



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE