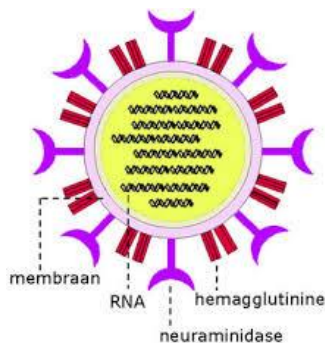


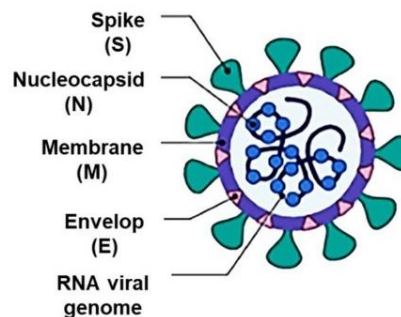
CORONA ONDER DE LOEP (12)

We verdiepten ons de afgelopen maanden in de cellulaire mechanismen die een rol spelen bij de infectie van het influenzavirus type A (IVA). De opgedane kennis geeft ons een zekere voorsprong bij het bestuderen van de processen die in gang worden gezet als het *coronavirus* zich aan de celmembraan van het longweefsel vastklampt. Er zijn echter, naast overeenkomsten, ook duidelijke verschillen tussen de route die het IVA aflegt en het pad dat het coronavirus volgt. De materie is - geloof me - interessant genoeg om erover te lezen. Ter vergelijking heb ik voor de overzichtelijkheid beide virussen naast elkaar gezet.

influenzavirus



coronavirus (SARS-CoV-2)



De opbouw van SARS-CoV-2

De samenstelling en bouw van het coronavirus verschilt op essentiële punten met die van het influenzavirus. Dit had tot gevolg dat beide virussen bij verschillende virusfamilies werden ingedeeld.¹ Maar er zijn wel degelijk overeenkomsten.

Evenals bij het IVA, bevindt zich in het centrum van het virusdeeltje (nucleocapside) het genetische materiaal. Ook het coronavirus behoort tot de RNA-virussen. Het bevat evenals het IVA enkelstrengs RNA. Het zijn allebei envelopvirussen. Uit de envelop steken ook bij het coronavirus *spikes* naar buiten. Het virusdeeltje heeft zodoende het uiterlijk van een kroon of krans (*Lat. corona*).

Toch zijn er saillante verschillen:

- Het RNA van SARS-CoV-2 is positief! We hebben dus te maken met (+)RNA; het IVA bezit zoals we weten (-)RNA;
- In het coronavirus treffen we één RNA-streng aan en geen acht losse segmenten, zoals bij het IVA;
- De spijkereiwitten (spikes) van het coronavirus zijn weliswaar ook glycoproteïnen², maar ze hebben een andere structuur en afwijkende eigenschappen.

We onderscheiden bij coronavirussen drie typen *glycoproteïnen*: het envelop-glycoproteïne (E-spike), het spike-glycoproteïne (S-spike) en het membraanglycoproteïne (M). Over de functie van de S-spikes en E-spikes gaan we in deze aflevering lezen. Het membraaneiwit laten we verder buiten beschouwing: het dient hoofdzakelijk om het virusdeeltje vorm te geven.

De aanhechting.

Gezien de overeenkomst met het 'gedrag' van het IVA bij de gastheercel, kan dit verhaal betrekkelijk kort zijn. Niettemin zijn er enige interessante verschillen die de aandacht trekken. We herinneren ons dat het IVA met de hemagglutinine-spike (HA) hecht aan de receptor³ op de celmembraan van het

¹ Voor de liefhebbers: de influenzavirussen behoren tot de familie van de *Orthomyxoviridae*, de coronavirussen tot de familie van de *Orthocoronaviridae*.

² Je weet wel: dat zijn eiwitten met daaraan gebonden suikermoleculen.

³ Specifieker: aan het sialzuur als onderdeel van de receptor.

weefsel in onze luchtwegen en dat die binding de infectie van de betreffende cel inleidt. Bij het coronavirus gaat dat iets anders.

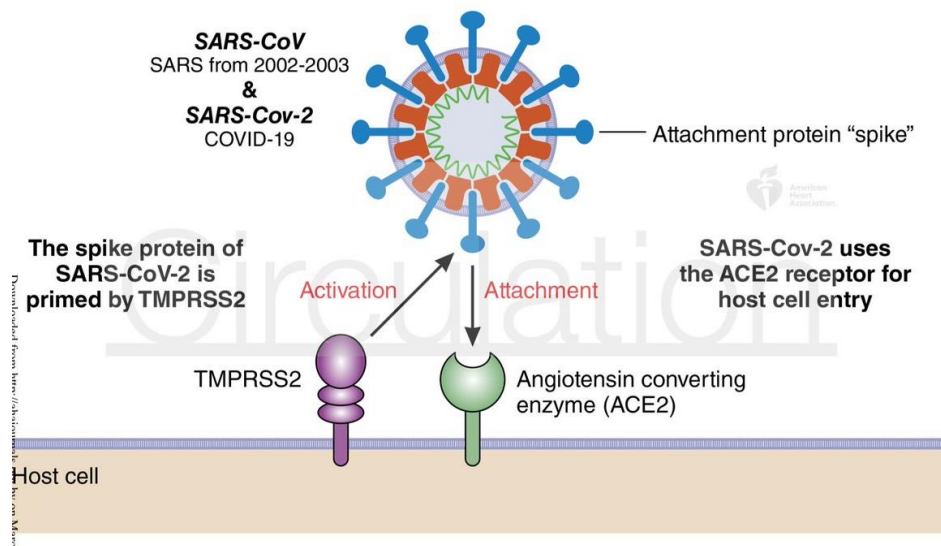
De ACE2 receptor

Het coronavirus richt zich op een ander doel dan het IVA. De *target* is namelijk het deel van de celmembraan waar zich het zogenaamde *Angiotensine-converting-enzyme* (ACE) bevindt, in het bijzonder type 2. Dit ACE2 is een membraaneiwit met de functie van een enzym. Laten we onderstaande afbeelding bestuderen.

We zien dat de S-spike (het S-glycoproteïne) na een besmetting het ACE2 op de celmembraan opzoekt en zich daaraan vasthecht. Het is de eerste stap in het penetratieproces.

De binding verloopt nog iets soepeler door de medewerking van een tweede membraaneiwit met de codenaam TMPRSS2. Dit eiwit (enzym) – op te vatten als een *primer* - activeert een bepaald deel van het S-glycoproteïne met als resultaat dat de aanhechting nu vlotter kan verlopen. Onderstaande afbeelding laat dit proces zien.

Het coronavirus dat SARS veroorzaakte, gedraagt zich op gelijke wijze.



De S-spike (blauw) richt zich op het ACE2 in de celmembraan van de gastheer; het naburige TMPRSS2 activeert de aanhechting. Als dit proces zich heeft voltrokken, staat niets meer het virusdeeltje in de weg om naar binnen te dringen.

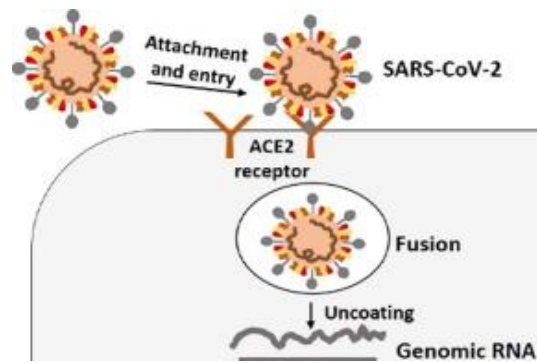
Nog een paar bijzonderheden:

- ✓ SARS-CoV-2 heeft het gemunt op een speciale groep epitheelcellen (pneumocyten) van het longslijmvlies, en wel op *type-2- pneumocyten*. Hoe dat komt? Wel, type-1- pneumocyten missen ACE2 in hun celmembraan zodat het aangrijpingspunt ontbreekt. Het zijn dus niet *alle* cellen van het longepitheel die door het virus worden getroffen.
- ✓ Onderzoek heeft aangetoond dat de affiniteit van SARS-CoV-2 voor ACE2 tien tot twintig keer groter is dan die van SARS-CoV-1, het virus dat verantwoordelijk was voor de corona-uitbraak van 2002-2003. Volgens sommigen zou de grotere besmettelijkheid van het huidige coronavirus hiermee te verklaren zijn.

De penetratie.

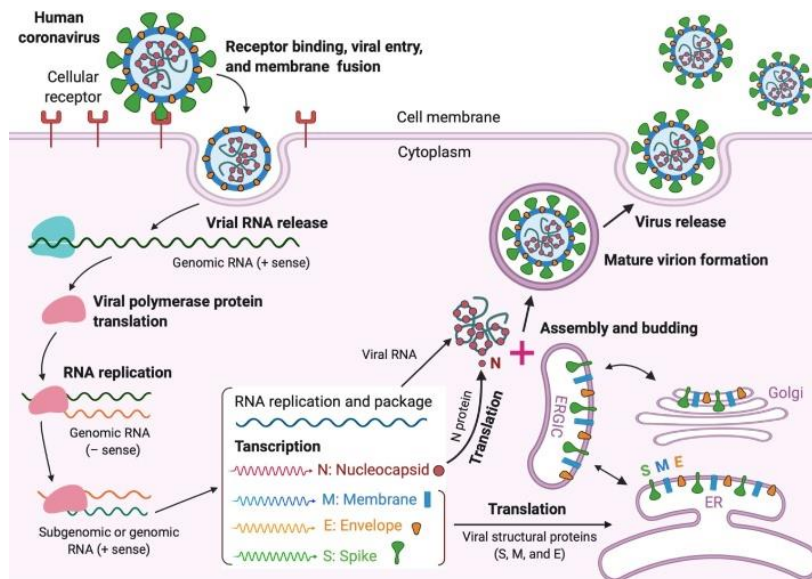
Het S-glycoproteïne (S-spike) is dus van groot belang voor aanhechting aan én penetratie van het coronavirus in de cel. Het bestaat uit twee sub-eenheden: S1 en S2. Het domein S1 faciliteert de *aanhechting* aan de cel en het domein S2 is het deel van het eiwit dat verantwoordelijk is voor de *fusie* met de celmembraan.

Na de binding bereikt het virusdeeltje, zoals dit ook het geval is met het IVA, het interne van de cel volgens het proces van *endocytose*: het deeltje fuseert met de celmembraan en vormt daarna een endosoom. Vervolgens laat het endosoom het genetische materiaal (het +RNA) in het cytoplasma vrijkomen ('uncoating'), zoals ook gebeurt bij het influenzavirus. Het plaatje laat het verloop van het proces zien. Interessant detail: Het genoom (dit omvat dus de gezamenlijke genen op het RNA van SARS-CoV-2) bevat meer dan 29.500 nucleotiden!⁴



De verdere gang van zaken

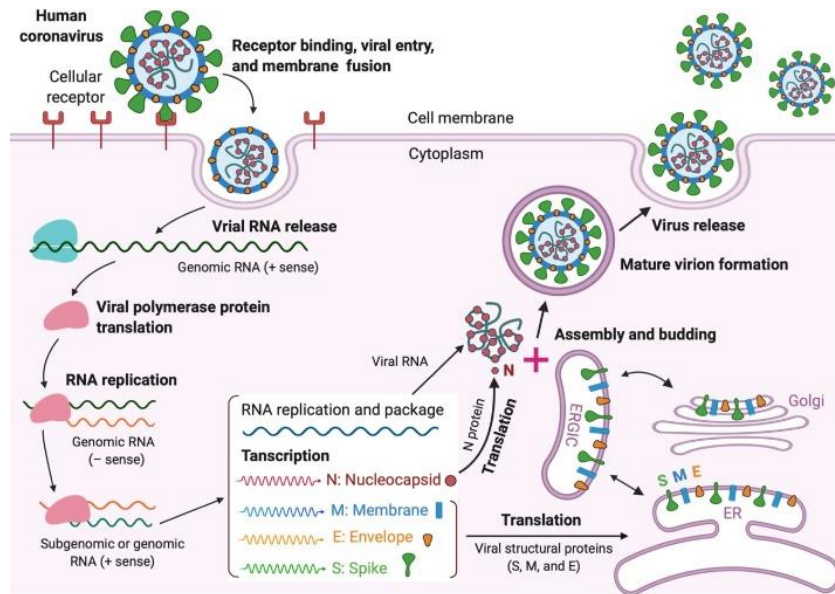
Op onderstaande afbeelding is duidelijk te zien wat er vervolgens allemaal te gebeuren staat. Ik zal de processen stap voor stap bespreken, zij het dat ik sommige details achterwege laat. De materie is al complex genoeg. Het accent ligt op de gebeurtenissen die zich voordoen, nadat het (+)RNA van het coronavirus in het cytoplasma vrij aanwezig is. Allereerst een belangrijke constatering: het enkelstrengs RNA van het coronavirus is *positief*. Dat betekent dat het al direct als messenger RNA (mRNA) kan fungeren! Moest het (-)RNA van het IVA eerst in de celkern worden gebracht om daar omgezet te worden tot bruikbaar (+)mRNA, dat is hier helemaal niet nodig. Het (+)RNA van het coronavirus grijpt onmiddellijk zijn kans en bindt aan (vrije) ribosomen. Hierop volgt de synthese van de virale eiwitten (translatie) en nieuw (+)RNA (de route links op het plaatje).



Het virale RNA (de groengekleurde streng) codeert terstond voor de vorming van een *enzym-complex* waarvan RNA-polymerase deel uitmaakt. We weten dat een polymerase nodig is voor de vorming van méér RNA. Dat speelt zich linksonder op de afbeelding af: het polymerase zorgt voor de synthese van het *complement* van (+)RNA (de geelgekleurde streng). Dat is per definitie *negatief* (dus -sense). Uit dit (-)RNA wordt weer (+)RNA gevormd

enz. enz. Zo ontstaat door RNA-replicatie een voorraad (+)RNA, nodig voor de opbouw van de virusdeeltjes. Dit RNA staat op het plaatje aangegeven boven aan de lijst met de accolade: *RNA replication and package*. Het rolt zich vervolgens tot de juiste vorm op (zie de rechte pijl) om zich gereed te maken voor de latere assemblage tot een nieuw virusdeeltje. Maar allereerst moeten nog de verschillende virale eiwitten worden aangemaakt. Op de volgende bladzijde is nogmaals deze tekening afgebeeld.

⁴ Weet je dit nog? Nucleotiden zijn de bouwstenen van RNA en DNA. RNA bevat de basen A,T,G en U + een fosforgroep + de suiker ribose.



De spijkereiwitten worden gefabriceerd door de ribosomen die gebonden zijn aan het endoplasmatisch reticulum (ER),⁵ evenals dat het geval is bij het influenzavirus.

Deze processen verlopen bij het coronavirus als volgt:

Het gesynthetiseerde (+)RNA (helemaal linksonder, de groene streng) maakt *sub-genomen*, dat zijn stukjes *messenger RNA* (mRNA) die coderen voor specifieke viruseiwitten. We zien ze in vier kleuren op de afbeelding staan. Het betreft het mRNA voor de synthese van de **S**-spike (lichtgroen), het mRNA voor de synthese van de **E**-spike (geel), het mRNA voor de synthese van het **M**embraaneiwit (blauw) en ten slotte het mRNA voor de vorming van de **N**-eiwitten (N) van het capsid (roodbruin). Dit laatste subgenoom zet de in het cytoplasma vrij bewegende ribosomen aan tot productie.

De eerstgenoemde drie stukjes RNA (mRNAs) bewegen zich naar de ribosomen die gebonden zijn aan het ER. Daar vindt de translatie plaats van de envelop-eiwitten (rechtsonder). Op de afbeelding zien we ze reeds geïmplant in de membranen van het ER en het ERGIC. Ook zien we de overdracht aan het Golgi-apparaat (Golgi).

De assemblage kan nu een aanvang nemen. Immers, alle ingrediënten voor de vorming van een nieuw virus zijn aanwezig. Het vers bereide capsid ondergaat nu in het Golgi-apparaat het proces van *budding*, dat wil in dit geval zeggen dat het zojuist opgebouwde capsid zich omgeeft met de membraan van het Golgi-apparaat (!). Vervolgens verlaat het coronavirus via het proces van exocytose de geïnfecteerde cel met de bedoeling om nog ongeschonden cellen verderop te bestoken. Rest me nog de functie van de E-spike te onthullen. Het E-glycoproteïne faciliteert zowel het proces van assemblage als de ontsnapping van het virus uit de cel waarin het ontstond.

Een samenvatting

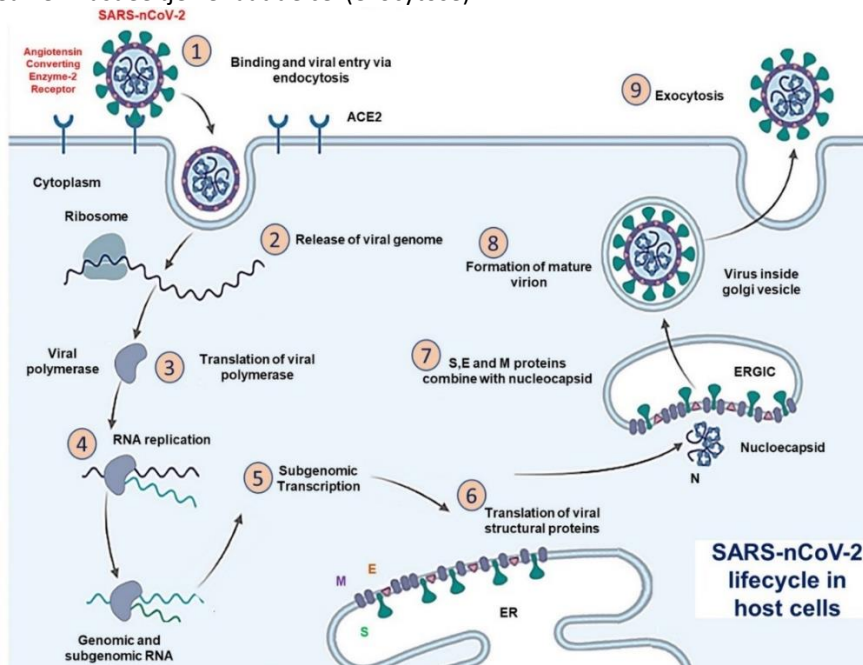
De gebeurtenissen in chronologische volgorde:⁶

1. Het coronavirus bindt met de S-spike aan ACE2 in de celmembran, waarop fusie met de membraan mogelijk wordt;
2. Het (+)RNA komt vrij in het cytoplasma;
3. Nu volgt de translatie: het enzymcomplex met RNA-polymerase wordt gevormd;
4. Dit complex maakt transcriptie en replicatie mogelijk: er wordt niet alleen via het proces van replicatie nieuw (+)RNA gevormd, maar ook via transcriptie 'subgenomen', dat zijn speciale stukjes RNA;
5. Deze stukjes RNA coderen specifiek voor de synthese van de envelop-eiwitten en capsid-eiwitten;
6. De geëigende subgenomen zetten de aan het ER gebonden ribosomen aan tot de vorming van de S-, E- en

⁵ ERGIC, zoals te zien op het plaatje, is een partikel dat is op te vatten als een versmelting van een deel van het endoplasmatisch reticulum en een deel van het Golgi-apparaat.

⁶ Zie ook de volgende afbeelding.

- M-glycoproteïnen (dit zijn de gekleurde figuurtjes in de membraan van het ER);
- 7. Deze verhuizen naar het Colgi-apparaat;
- 8. Vervolgens vindt de algehele assemblage plaats tot een nieuw virusdeeltje, waarbij het nucleocapside omgeven wordt door de membraan van het Colgi-apparaat (*budding*) en de S-spike, de E-spike en het membraan-glycoproteïne in de envelop worden geïmplanteerd;
- 9. Het nieuwe virusdeeltje verlaat de cel (exocytose).



In onderstaande tabel staan eigenschappen van het influenza-A-virus naast die van SARS-Co-2. Mogelijk geeft dit vergelijkend overzicht je enige ruggensteun bij de (geestelijke) verwerking van deze toch tamelijk ingewikkelde kost. 😊

	Influenza-A- virus	Coronavirus (SARS-Co-2)
familie	Orthomyxoviridae	Orthocoronaviridae
envelopvirus	ja	ja
spijkereiwitten	Hemagglutinine (HA) Neuraminidase	S-glycoproteïne, E-glycoproteïne, M-glycoproteïne
centrum van het virus	nucleocapside	idem
nucleïnezuur	enkelstrengs (-)RNA,	enkelstrengs (+)RNA,
vorm RNA	acht segmenten	één enkele streng
aanhechting	binding van HA aan saaazuur in celmembraan	binding van S-spike aan ACE2 in celmembraan
penetratiemechanisme	via fusie en endosoom	idem
eerste actie vrije RNA	m.b.v. transporters naar celkern	direct als mRNA naar ribosomen
in de celkern	Synthese van m(+)RNA	celkern doet niet mee; replicatie (+)RNA in cytoplasma
eiwitsynthese	door vrije ribosomen én de aan ER gebonden ribosomen	idem
assemblage	omhulling met celmembraan	omhulling met membraan Colgi-apparaat

In de volgende aflevering verschijnt een uiteenzetting over de *mogelijke* invloed van een belangrijke groep geneesmiddelen tegen hoge bloeddruk (hypertensie) op het oplopen van Covid-19 en op de ernst van het ziekteverloop. Een interessant en relevant aspect, vind ikzelf. Kijk er naar uit!

Arijan Porsius
22 juli 2020