

## CORONA ONDER DE LOEP (8)

Het is je niet ontgaan: we zijn bezig de stappen te volgen die het influenzavirus neemt om - eenmaal in de luchtweg - zich te vermenigvuldigen. *En passant* wordt de gastheer ongewild getraakteerd op een infectieziekte: de griep (influenza).

Het volgen van die route heeft je inmiddels wellicht enig hoofdbrekens bezorgd.

Misschien dat je de details die je tegenkomt allemaal wil begrijpen. Dat valt te prijzen. Niettemin is het niet rampzalig als je een bepaalde detaillering ontgaat of deze zelfs overslaat, omdat de uitleg 'te chemisch', te ingewikkeld voor je is, of omdat het je te veel tijd en moeite zou kosten om de bewuste passage te doorgronden. Niks aan de hand!



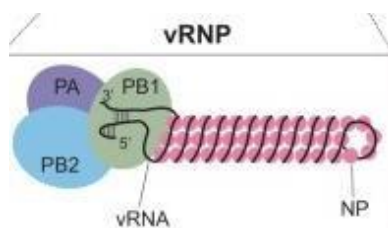
Vergelijk het maar met een bustocht door een land als Italië. Er zijn vakantiegangers die bij elke stad de musea induiken en met reisgidsen in de hand de historische gebouwen, pleinen en standbeelden bestuderen. Mogelijk hebben zij de betreffende informatie al voor een deel thuis doorgenomen. Andere passagiers zullen zich mogelijk wat meer op de vlakke houden. Zij verkiezen het om door de oude stad te banjeren en zich op terrassen te goed te doen aan de *vin*o rosso met een bord pasta of een schotel ossobuco. Ze mijden de details, maar hebben bij thuiskomst toch een redelijke indruk van de historische steden die zij op hun tocht tegen kwamen. *Wij* maken een reis door virusland.

Ik zal proberen de komende gebeurtenissen duidelijk op te schrijven en een acceptabel tempo aan te houden. Onze tocht is nog niet ten einde. We hebben geen enkele haast.

We zijn gestart met de binnenkomst van het virus in het longweefsel en zullen in de nabije toekomst een explosie van vers gefabriceerde virusdeeltjes tegenkomen. Hierna komt dan nog de wirwar van immunologische ontstekingsreacties die daarmee gepaard gaan. Maar deze komen pas later aan bod, nadat het coronavirus onder de loep is genomen.

### De RNPs willen de celkern in

In dit stadium weten we dat na penetratie van een virusdeeltje in de cel het virale RNA zich in een paar stappen heeft losgemaakt van het capsid. Wat uiteindelijk in het cytoplasma van één virusdeeltje overblijft zijn *acht* segmenten genetisch materiaal ([-]RNA), gebonden aan de virale kerneiwitten (NP) en een enzymcomplex met de naam viraal RNA-polymerase.



Dit RNA-polymerase bevindt zich aan de kop van het geheel. We zien daar een structuur bestaande uit een drietal onderscheidene eiwitten:

- PB1, dat staat voor *polymerase basic 1* ('basic' is basisch)
- PB2, dat staat voor *polymerase basic 2*
- PA, dat staat voor *polymerase acid* ('acid' is zuur)

Deze drie eiwitten (PA, PB1 en PB2) zijn dus domeinen op het vRNA-polymerase. Ze hebben elk een eigen, specifieke enzymactiviteit. We weten dat enzymen tot de eiwitten behoren en biochemische

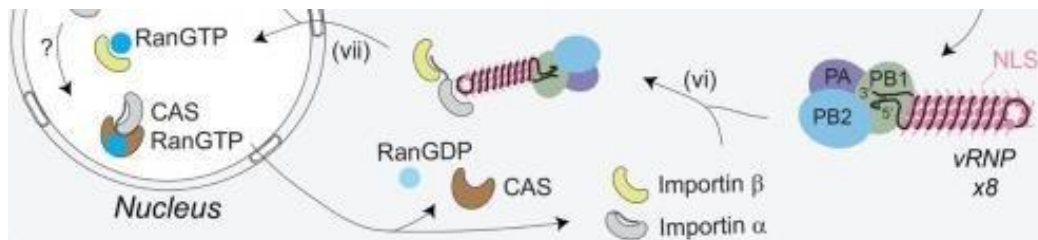
reacties op gang brengen en onderhouden (katalyseren). Het drietal zit daar dus niet voor niets. We zullen aanstands lezen wat zij voor het oorspronkelijke virusdeeltje te betekenen hebben. Het gaat nu in eerste instantie om deze vraag:

Hoe bereikt het genetische materiaal van het virus - dat zich nu nog *buiten* de celkern in het cytoplasma bevindt - het *binnenste* van de celkern, zodat de processen die moeten leiden tot de vorming van nieuwe virussen een aanvang kunnen nemen?

Hiertoe moet allereerst het vRNP een zetje krijgen om zich naar de celkern te bewegen. Bovendien moet het zich – aldaar aangekomen - nog door de poriën aan de buitenkant van de kern naar binnen zien te wurmen. En dat gaat zo maar niet.

## De importines

Uit experimenteel onderzoek is gebleken dat de *acht* vRNPs de kern met grote efficiency weten te bereiken. Ze maken namelijk op effectieve wijze gebruik van bepaalde stofjes in het cytoplasma om hun weg naar de celkern te vinden. Sterker nog: de humane cel komt het achtal hierbij welwillend te hulp! Niet echt slim, zou je zo zeggen.



Verschillende onderzoekers konden vaststellen dat een onderdeel van het kerneiwit (roze gekleurd) aantrekkingskracht uitoefent op twee essentiële eiwitten in het cytoplasma: **importine- $\alpha$**  en **importine- $\beta$** . De acht vRNPs krijgen in eerste instantie bezoek van het eiwit **importine- $\alpha$**  (het grijze partikeltje op de tekening)<sup>1</sup>. Dit leidt vervolgens tot de komst van het tweede eiwit: het **importine- $\beta$**  (het lichtgroene partikeltje op de tekening). Deze twee ‘importeurs’ binden aan de andere kant van de acht vRNPs (route vi). Na deze binding worden de vRNPs door de twee gidsen naar de poriën van de celkern geleid, als gevolg waarvan de penetratie kan plaatsvinden (route vii). Importine- $\alpha$  en importine- $\beta$  doen hun naam eer aan: vanuit de optiek van de celkern immers importeren ze de vRNPs. Wonderlijk, die behulpzaamheid, maar zo gaat het nu eenmaal in de geïnfecteerde cel.

Er moeten nu voor het zojuist binnengekomen vRNA twee belangrijke wegen worden bewandeld. Elk van beide wegen afzonderlijk zal uiteindelijk leiden tot de synthese van *alle* bestanddelen van het virusdeeltje in wording. Want dit staat er te gebeuren:

1. De synthese van de positieve vorm van viraal messenger RNA, dus (+)mRNA uit (-)RNA; deze productie zal leiden tot de synthese van *alle* virale eiwitten;
2. De synthese van het complete genetische materiaal van het influenza-A-virus, d.w.z. de acht strengen (-)vRNPs; deze worden in het nieuw te vormen capside opgeborgen.

Ik zal beide routes achtereenvolgens bespreken.

<sup>1</sup> Voor de fijnproevers: het kerneiwit (NP) van vRNP laat aan het begin van het molecuul een *speciale rangschikking* zien van de eerste twintig aminozuren in de aminozuurketen. Deze specifieke volgorde wordt door het importine- $\alpha$  herkend; het voelt zich ertoe aangetrokken en bindt zich zodoende aan de staart van de vRNPs.

## A. De productie van (+) viraal messenger RNA

In dit stadium van het verhaal bevinden zich dus in de celkern de acht segmenten (-)vRNA die in gezamenlijkheid verantwoordelijk zijn voor de synthese van tien eiwitten.

We leerden in aflevering 7 dat het RNA van het influenza-A-virus ongeschikt is om de functie van mRNA te vervullen, omdat dit RNA *negatief* is. Dit is precies de reden waarom dit (-)vRNA zo graag de celkern in wil: het *moet* aldaar de verandering naar (+)mRNA ondergaan. Deze metamorfose verloopt alweer op zeer eigenaardige wijze.

Alvorens hierover uit te wijden, dient deze metafoor als inleiding.

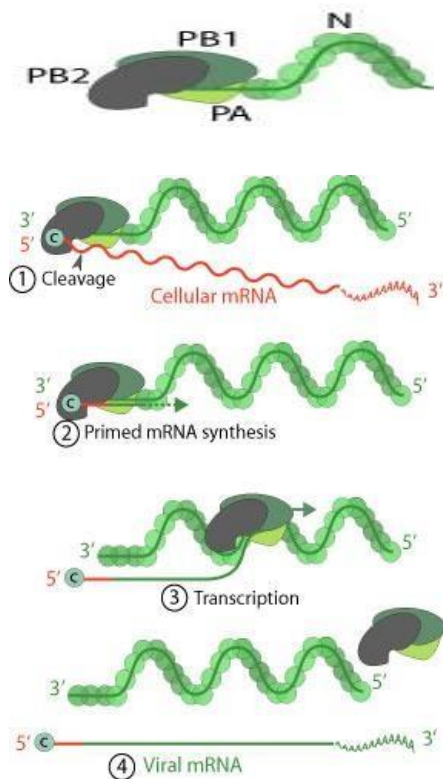
Jantje zit in zijn zandbak en kijkt naar zijn fraaie luchtballon die hij aan een touwtje vast heeft. Daar springt opeens een voor hem vreemd jongetje naast hem in het zand. Het is Pietje. Deze ziet er wat neerslachtig uit. Hij heeft niets te doen. Pietje wil zich heel graag de ballon van Jantje toe eigenen; de ballon zou hem weer helemaal oppeppen. En wat doet Pietje? Hij gebruikt zijn scherpe tandjes en bijt op een afstand van zo'n 20 cm onder de ballon het touw doormidden, drukt ballon met touwtje tegen zich aan en verdwijnt geheel opgevrolijk uit zicht.

Foei Pietje! Foei influenzavirus, want tot iets dergelijks ben jij ook in staat!

We richten ons gemakshalve op één willekeurig vRNP segment en beseffen dat het verhaal eveneens opgaat voor de overige zeven segmenten.

Het proces, dat begint als het (-)vRNP het interne van in onze cellen heeft bereikt, is in zekere zin vergelijkbaar met het handelen van de brutale indringer in Jantjes zandbak.

Bovenaan onderstaande tekening zien we het (-)vRNP dat weliswaar tot de celkern is doorgedrongen, maar er in feite niets kan beginnen.



We zien aan de kop de drie componenten PB1, PB2 en PA van het enzym RNA-polymerase en daaraan vast de 'staart' van kerneiwitten (N) én het vRNA (de gebogen lijn).

Het vRNA is vanwege zijn negatieve karakter machteloos. Er *moet* nu iets gaan gebeuren wil dit hele verhaal in deze fase niet als een nachtkaaars uitgaan. En zie waartoe dit virale genetische materiaal in staat is: het gaat op rooftocht uit! (-)vRNP wordt hierbij geen strobreed in de weg gelegd: zijn slachtoffer biedt zich reeds aan: het is ons eigen mRNA (de rode streng)<sup>2</sup>. Het wordt door het (-)vRNP stevig vastgegrepen. De kaping onttaardt in brutaal knip- en plakwerk. Let maar op!

Het virale (-)vRNP confisqueert namelijk de kop ('cap' = ©) van *ons* mRNA dat aan het PB2-enzym van het virale enzymcomplex wordt gebonden. Tegelijkertijd knipt het PA een stuk van de 'staart' van *ons* mRNA af ('cleavage'). Hierdoor blijft dat deel (het zijn 10-13 nucleotiden) aan de 'cap' vastzitten. Vervolgens wordt dat 'staartje' gekoppeld aan het virale RNA. Het afpikken van dit stuk humaan mRNA door het (-)vRNP heet in de Engelse literatuur 'cap snatching'.

<sup>2</sup> We weten nog dat messenger-RNA (mRNA) in onze cellen de eiwitsynthese in de ribosomen tot stand brengt.

<sup>3</sup> Je weet wel: **U** tegenover **A** en **G** tegenover **C**, ofwel codon  $\leftrightarrow$  anticodon (zie afl. 5)

De 'cap' is niets anders dan *ons* RNA-polymerase, het enzym dat onder normale omstandigheden ons eigen mRNA doet ontstaan. Op afbeelding (2) is de nieuwe situatie geschetst: de 'cap' + het staartje van ons mRNA (als rood gekleurd lijntje zichtbaar) zijn verbonden met de kop van het (-)vRNP.

Het is de aanhechting van *ons* RNA-polymerase aan het virale RNA-polymerase die het virale RNA-polymerase (PA + PB1 + PB2) aanzet tot verdere actie. Het geactiveerde enzymcomplex is nu in staat de transcriptie van het (-)vRNA tot de *complementaire* streng<sup>3</sup> te verzorgen, en die streng is *per definitie* positief! Tekening 3 laat zien dat het virale RNA-polymerase bezig is met het *overschrijven* van het (-)vRNA naar (+)vRNA.

---

Na gedane arbeid is het (+) vRNA geproduceerd (tekening 4), met de gekaapte 'cap' aan zijn einde. Het geheel verlaat vervolgens de celkern om onze ribosomen te bewegen de eiwitten te produceren die nodig zijn voor de opbouw van virusdeeltjes.

*Cap snatching* is te beschouwen als de *eerste aanzet* tot dit alles. Het mechanisme wordt aangeduid met de Engelstalige term *priming*. Dus door de aanhechting van de 'cap' (de *primer*) wordt de synthese van het werkzame virale mRNA *geprimed*.

Deze procedure geldt uiteraard voor alle acht typen (-)vRNPs die het influenza-A-virus herbergt!

Haak nu niet af, houd vol!

## B. De synthese van de acht vRNPs

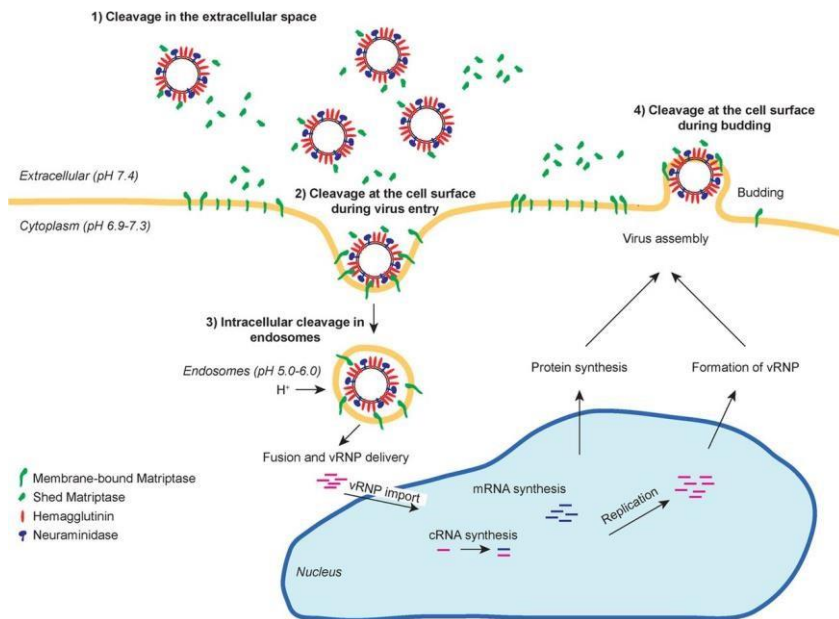
Niet alleen dienen voor de vorming van compleet nieuwe virusdeeltjes de benodigde virale eiwitten te worden gemaakt, ook zullen acht nieuwe (-)vRNPs moeten worden geproduceerd. Met andere woorden, het ingekomen (-)vRNP dient er óók voor te zorgen dat de synthese van die acht segmenten op gang komt! In een later stadium zullen de nieuwe virale eiwitten én de acht nieuwe (-)vRNAs worden samengevoegd tot een virusdeeltje. Deze assemblage is nu nog niet aan de orde. Eerst is het tijd om aan de synthese van de acht (-)vRNAs aandacht te besteden.

Eigenlijk gaat de productie van (-)vRNA iets eenvoudiger. We hebben dus te maken met de situatie dat (-)vRNP de cel binnenkomt, het virale (+)mRNA maakt (zie boven) en vervolgens ook de *eigen* productie in gang zet. Hiervoor is géén *primer* nodig. Van het (-)vRNA wordt eenvoudigweg het complement gemaakt, waardoor de positieve tegenhanger (+)vRNA wordt gevormd. Dit RNA wordt logischerwijze 'complementair RNA' genoemd, afgekort (+)cRNA.

Deze acht (!) (+)cRNAs zijn vervolgens weer onderhevig aan replicatie. Dat moet wel, daar het echte virus negatief RNA bevat! Om kort te gaan: uit deze acht (+)cRNA strengen worden in de celkern weer acht (-)vRNAs (de complementaire strengen) gemaakt die aanstonds bij de assemblage betrokken zijn. Hoe deze omzetting van (-) naar (+) naar (-) wordt gestimuleerd, lezen we zo dadelijk. Samenvattend:

(-)vRNA → 1. synthese van (+)mRNA (in kern) → synthese virale eiwitten (in ribosomen)  
2. synthese van c(+)RNA (in kern) → synthese van (-)vRNA (in kern)

Wellicht aardig om even het overzicht te hebben.



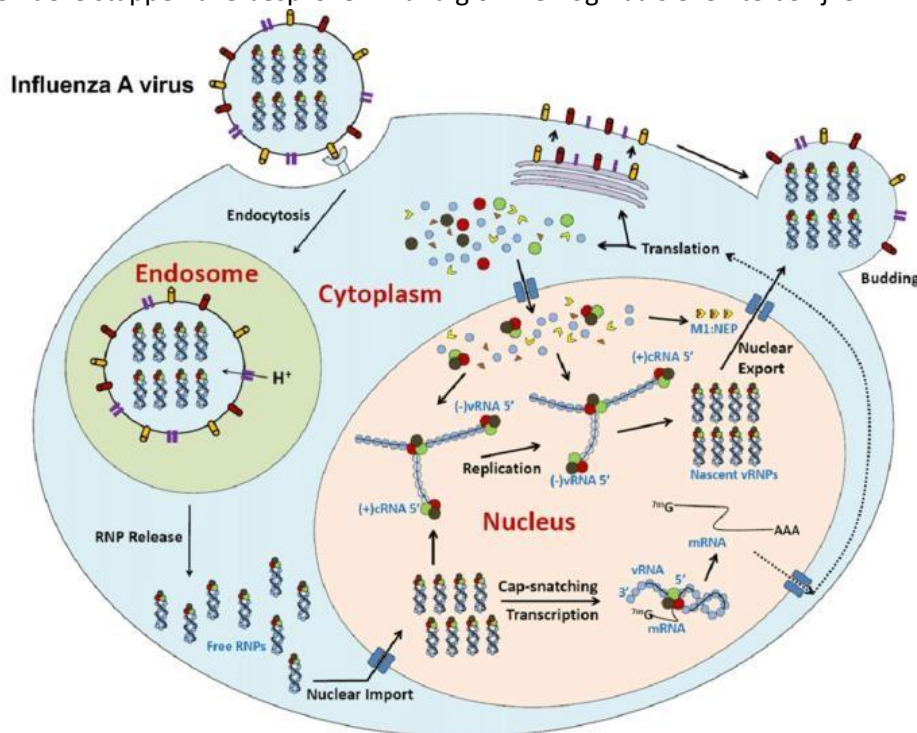
Je ziet hier een globale schets van de gebeurtenissen. Je kunt waarschijnlijk elke stap al thuisbrengen: de aankomst van het virus, de fusie met de celmembraan, de ontmanteling in het endosoom, de import van vRNP, de synthese van viraal mRNA en cRNA, de synthese van viruseiwitten, de omzetting van cRNA in de eigenlijke (-)vRNAs en (wat nog komt) de vorming van een nieuw virusdeeltje (rechtsboven). Veel van dit alles weet je dus al. We gaan nog even door 😊!  
**De synthese van de virale eiwitten**

Lijkt je dit een heel

ingewikkelde tekening waarmee je liever niet geconfronteerd wil worden? Als je de moeite neemt, valt het reuze mee; ik neem je bij de hand. Achteraf zou het je misschien wel een goed gevoel kunnen geven dat je het helemaal door blijkt te hebben.

Trouwens, er is weinig verschil met de vorige afbeelding. Er zijn iets meer details, maar veel komt overeen: de entree van een virusdeeltje, de ontmanteling in het endosoom, het vrijkomen van (-) vRNP, de penetratie van (-)vRNP in de celkern, de *cap-snatching* met daaraan verbonden de synthese van het virale (+)mRNA, de synthese van (+)cRNA, de replicatie tot de oorspronkelijke acht (-)vRNPs, op de tekening aangeduid als 'nascent vRNPs'.

We hebben deze stappen alle besproken. Handig om ze nogmaals even te bekijken.



Maar toch nog even aandacht voor het volgende. Helemaal rechts op de tekening zie je een kromme stippelijntje. Deze begint bij de plek waar het virale mRNA is ontstaan en eindigt bij het woord 'translatie'. Dit begrip kennen we: de volgorde van de codons op het mRNA wordt op de ribosomen

vertaald in de rekrutering van aminozuren en vervolgens de synthese van eiwitten. We zien op de afbeelding bij het woord 'translation' twee (zwarte) pijlen getekend.

De pijl naar links (←) wijst naar de reeds gevormde eiwitten (de gekleurde bolletjes). Dit zijn de eiwitten die straks deel gaan uitmaken van de te vormen capside en virusenvelop. We volgen de zwarte pijlen vanaf die bolletjes richting de kern en zien dat deze nieuwgevormde eiwitmoleculen zich door de poriën naar van de celkern bewegen. Het verrassende is (en dat laten we onverklaard) dat ze daar de vorming van het (-)cRNA en daardoor van de acht (-)vRNPs ('nascent vRNPs') fors aanwakkeren. Zodoende wordt een grote hoeveelheid genetisch materiaal gevormd ten behoeve van de vorming van nieuwe virusdeeltjes.

De pijl naar boven wijst naar een intercellulaire structuur die we nog niet kennen. We zullen de volgende aflevering daarmee beginnen en de rest van het verhaal over de vermenigvuldiging van het influenza-A-virus afsluiten. Het zal nog een paar bladzijden in beslag nemen.

En dan? Dan nemen we het coronavirus bij de kop. Omdat we al zoveel weten van het gedrag van het influenzavirus na infectie, zal dat geen erg lange geschiedenis worden.

Arijan Porsius  
16 juni 2020