

CORONA ONDER DE LOEP (29)

Tegenslagen

De laatste weken horen we virologen hun grote zorg uitspreken over het toenemend aantal corona-varianten dat de mensheid nu al geruime tijd bedreigt en ook ons in de toekomst parten zal gaan spelen. Met zichtbaar betrokken gezichten laten Mark Rutte en Hugo de Jonge zich tijdens persconferenties in gelijke termen uit. Wij horen hun boodschap aan en worden er niet vrolijk van. We begrijpen eruit dat het coronavirus voortdurend aan verandering onderhevig is, dat er dientengevolge veel varianten rondgaan en dat die óók besmettelijk of zelfs nog besmettelijker kunnen zijn dan het oude, vertrouwde virus.

Maar over de achtergrond van het ontstaan van dergelijke veranderingen én over de mogelijke extra gevaren die deze met zich meebrengen laten de boodschappers zich niet of tamelijk oppervlakkig uit.

Eerlijk gezegd verwachten we ook niet anders. Het is ingewikkelde kost. De ministers zouden mogelijk wetenschappelijke onzin kunnen gaan uitkramen en dat moeten we niet hebben.

Als je hier wat meer over zou willen weten, moet je internet raadplegen of achtergrondartikelen in de wetenschappelijke katernen van kranten lezen. Als je dat tot nu toe niet hebt gedaan en tóch nog wat meer informatie wilt hebben over deze materie, raad ik je aan déze en de komende aflevering te lezen.

De kans is groot dat we in de komende maanden veel zullen horen over de gevaren van nieuwe *mutanten* en hoe zeer deze het reproductiegetal (R) omhoog kunnen jagen. Hun haast onvermijdelijke aanwezigheid kan voor het kabinet aanleiding zijn de vigerende maatregelen aan te houden of zelfs nog aan te scherpen. Dat zal in ieder geval gebeuren als wij de opgelegde vrijheidsbeperkingen grotendeels in de wind slaan. Immers, naast vaccinatie is contactmijding de beste aanpak van deze zo ingrijpende coronacrisis.

Ik kan me voorstellen dat als je over dit thema leest en hoort, de nodige detailvragen bij je opkomen. Ik kan ze min of meer raden en zal daar antwoorden op proberen te geven.

Wat zijn mutanten nu eigenlijk precies voor dingen? Hoe ontstaan ze? En hoezo gevaarlijker dan het virusdeeltje waaruit ze zijn voortgekomen? Maar we kunnen ze toch zeker wel aan? Nog even en we zijn allen gevaccineerd! Dat betekent toch licht aan het einde van een lange coronatunnel? Persoonlijke bescherming + groepsimmunitet, dat was toch de oplossing die ons werd beloofd? Er zit roet in het eten.

Mutanten

Foutjes

Als wetenschappers op radio en tv aan hun publiek uitleggen wat mutanten zijn, hebben ze het meestal over *foutjes* die tijdens de vermenigvuldiging (replicatie) van een bekend virus optreden, zodat er nieuwe virussen ontstaan met andere eigenschappen. Dat is waar, maar hier houdt veelal de uitleg op. Jij wilt méér weten.

Daarom zal ik je stapsgewijze proberen uit te leggen wat er zoal tijdens de replicatie van virussen in onze cellen kan gebeuren, waardoor nieuwe mutanten (varianten) het licht zien. Hier en daar neem ik voor het goede begrip een omweggetje.

Je hebt in de afleveringen 5, 6 en 7 kunnen lezen volgens welke intracellulaire processen eiwitten (peptiden in het algemeen) worden gesynthetiseerd. Hierbij zijn de volgende structuren betrokken:

1. Het DNA in de celkern; onze genen maken hier deel van uit en een aantal van die genen bevatten de codes voor de vorming van specifieke eiwitten; veranderingen in de moleculaire opbouw van zo'n gen kan tot gevolg hebben dat er een verkeerd eiwit wordt aangemaakt.



Wat is een mutatie?

2. Het *messenger* RNA (mRNA); dit molecuul wordt gemaakt d.m.v. het proces van transcriptie: mRNA wordt gevormd tijdens het kopiëren van het gen waarvan de code als boodschap moet worden overgebracht naar de ribosomen, dus naar de biologische fabriekjes die het recept gaan bereiden.
3. Het ribosoom, dat nauwkeurig volgens het aangeboden recept aminozuren als een kralenketting aan elkaar rijgt tot het gewenste eiwit (enzym).

Wijzigingen (foutjes) in de normale eiwitsynthese kunnen zich zeker voordoen. Dat gebeurt:

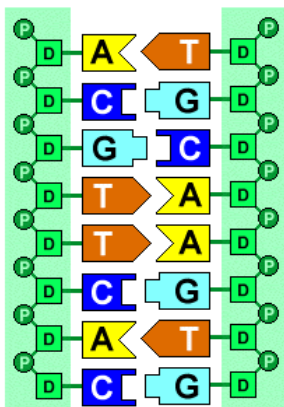
1. indien tijdens het vermenigvuldigingsproces van DNA door foutief kopiëren de structuur ervan onverhoopt wordt gewijzigd; hierbij zal ook het overeenkomstige RNA van structuur veranderen; in dat geval zullen de ribosomen de verkeerde boodschap ontvangen;
2. indien er tijdens de vorming van mRNA bij het kopiëren van het (correcte) DNA fouten insluipen; in dat geval wordt óók een onjuist recept bij het ribosoom afgeleverd;
3. indien het ribosoom per abuis op een bepaalde plek in de ketting, ondanks de correcte boodschap van het mRNA, niet het juiste aminozuur op de juiste plaats aanrijgt.

Ik zal deze defecten enigszins uitwerken.

Variaties in het DNA en RNA

In de loop van de evolutie is het genetische materiaal van organismen voortdurend aan veranderingen onderhevig. Allereerst denken we hierbij aan wijzigingen in de samenstelling van het soort-specifieke DNA in de celkernen van organismen. Daar kan soms iets grondig misgaan. Hoe zit dat precies?

We herinneren ons misschien nog dat het grote DNA-molecuul uit twee strengen bestaat, opgevouwen in de vorm van een soort wenteltrap. Een korte samenvatting.



Elke streng is opgebouwd uit nucleotiden, dat zijn structuren met een fosfaatgroep, een suiker (deoxyribose) en een (stikstof)base. De base van de ene streng is gebonden aan de base van de andere streng. Zij vormen een basenpaar.

We onderscheiden in het DNA vier verschillende soorten basen: adenine, thymine, cytosine en guanine, meestal afgekort als **A**, **T**, **C** en **G**.

A kan alleen maar binden aan **T** (en omgekeerd) en **C** aan **G** (en omgekeerd). De afbeelding laat een stukje van een DNA-molecuul zien. De letter D stelt het suikermolecuul (deoxyribose) voor en de letter P de fosfaatgroep (afl. 4 en 5).

Soms sluipt er bij de synthese van nieuwe DNA-moleculen een fout in: er wordt dan DNA gevormd waarvan de nucleotidenvolgorde afwijkt van de oorspronkelijke structuur. Op die manier kan een gen plotseling een andere structuur krijgen, met daaraan verbonden een afwijkende (of geen) codering. Dat noemen we muteren, met als gevolg de geboorte van een mutant. Dit kan op verschillende manieren gebeuren.

We maken onderscheid tussen mutaties in de volgorde (sequentie) van de nucleotiden van reeds aanwezige genen én de inbouw van genen die van buiten de eigen cel binnendringen.

Bacteriën en virussen

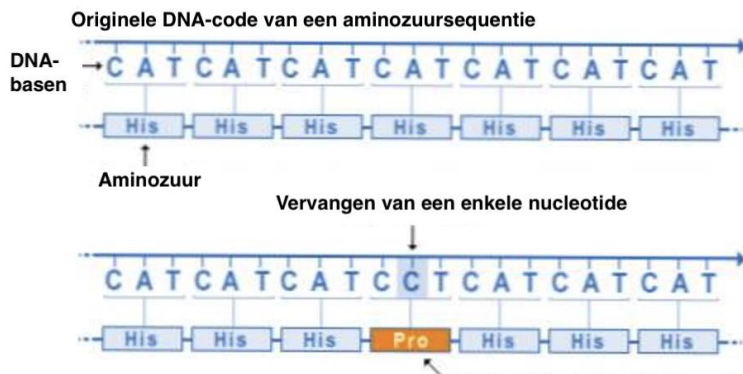
Mutaties in micro-organismen (bijvoorbeeld in bacteriën) doen zich voor als de eigen nucleotiden-sequentie wijzigt óf als er een overdracht plaatsvindt van genetische informatie van het ene organisme naar het andere. Dit geldt trouwens ook voor virussen.

We gaan nu even uit van bacteriën. Mutaties van genen in deze micro-organismen treden in de natuur vrijwel altijd spontaan op. Het muteren kan op een aantal manieren gebeuren.

Dit zijn de belangrijkste:

We gaan nu even uit van bacteriën. Mutaties van genen in deze micro-organismen treden in de natuur vrijwel altijd spontaan op. Het muteren kan op een aantal manieren gebeuren. Dit zijn de belangrijkste:

1. de vervanging van een nucleotide door een ander (= *substitutie*) óf
2. het verlies van een of meer nucleotiden in een gen (= *deletie*) óf
3. toevoegingen van een of meer nucleotiden (*inserties*).



We zien dat in het oorspronkelijke DNA (gen) het codon (de triplet) **C-A-T** (cystine, adenine, thymine) codeert voor het aminozuur histidine.

Door mutatie (cystine neemt de plaats van adenine in) verschijnt na translatie in het ribosoom i.p.v. histidine (His) het aminozuur proline (Pro) in de peptideketen, waardoor er uiteindelijk een eiwit ontstaat met afwijkende structuur.

Mutaties in een gen hebben niet *per definitie* gevolgen voor het functioneren van de door het gen gecodeerde eiwit. In dat geval spreekt men van 'silent mutation'. Maar een verandering van slechts één nucleotide in een gen (men noemt dat een *puntmutatie*) kan wel degelijk leiden tot een verandering in de eiwitstructuur met als gevolg verandering van functie of functieverlies. Naarmate er grotere delen van het gen muteren wordt de kans op afwijkingen in de gesynthetiseerde eiwitten groter. Er ontstaan dan kortere of juist langere eiwitten, of er treden veranderingen op in de ruimtelijke structuur van het eiwit. Het kan vóórkomen dat het aflezen van het gen (tijdens het proces van transcriptie, dus de vorming van mRNA) door de mutatie zodanig wordt belemmerd dat eiwitten in het geheel niet meer worden aangemaakt. Dán leiden dergelijke mutaties vrijwel zeker tot veranderingen in de eigenschappen van micro-organismen. Bacteriële resistentie tegen van oorsprong effectieve antibiotica kan het gevolg zijn van dergelijke mutaties.

Het DNA van DNA-virussen en het RNA van RNA-virussen zijn evenzo onderhevig aan veranderingen ten gevolge van mutaties. De wijziging doet zich voor tijdens de vermeerdering in de gastheercel. Zowel DNA-virussen (bijv. adenovirussen) als RNA-virussen kunnen tijdens de replicatiecyclus dergelijke *spontane* mutaties ondergaan. De ons bekende voorbeelden van RNA-virussen zijn coronavirussen en influenzavirussen.

Dit is een belangrijk feit: de mutatiefrequentie bij RNA-virussen is vele malen hoger dan bij DNA-virussen. Dat scheelt - afhankelijk van het type virus - een factor duizend tot een miljoen!

De belangrijkste oorzaak voor dit verschil berust op de manier waarop DNA- en RNA-virussen zich vermenigvuldigen. Veel DNA-virussen gebruiken ten behoeve van de replicatie van hun genoom een mechanisme dat lijkt op dat van de gastheercel.

Tijdens het replicatieproces in onze lichaamscellen (dus zonder virusinfectie) wordt het eigen nieuwgevormde DNA op juistheid gecontroleerd (!) en worden eventuele fouten gecorrigeerd. Er vindt in feite in de celkern een kwaliteitscontrole plaats (de Engelse term is: *proof-reading mechanism*). Dit gebeurt óók in belangrijke mate bij de replicatie van binnengedrongen DNA-virussen.

Een dergelijk controlemechanisme ontbreekt echter bij de intracellulaire vermenigvuldiging van het RNA van RNA-virussen, zodat de mutatiefrequentie bij RNA-virussen veel hoger is. Ook is aangetoond

dat de kans op spontane fouten groter is in de enkelstrengse RNA moleculen (coronavirus, influenzavirus) dan in het dubbelstrengs DNA.

Het gevolg van dit alles is dat er tijdens een pandemie met een RNA-virus een grote diversiteit aan virusvarianten kan ontstaan.

We moeten ons realiseren dat de replicatie van virussen in de regel zeer snel verloopt. In één gastheercel waar bijvoorbeeld adenovirus binnendringt (nota bene een DNA-virus!), ontstaan binnen 48 uur honderdduizenden nieuwe virusdeeltjes.¹ Geen wonder dat er bij zulke aantallen wel eens iets mis kan gaan.

Permutanten

Stel je bent in een casino. Je wordt aan een speeltafel uitgedaagd je geluk te beproeven met een bepaald gokspel. De spelleider legt uit: je dient zes balletjes van zes verschillende kleuren in een bepaalde, maar jou onbekende, volgorde in zes bakjes te leggen. Deze zijn genummerd 1-6. Als je de juiste rangschikking vindt, is de beloning 100.000 euro. Voor deelname betaal je 100 euro. Zou jij in de verleiding komen dit spelletje te spelen? Wiskundestudente Machteld Wortel wees de uitnodiging resoluut af. Met haar rekenmachine had zij snel uitgerekend wat haar kansen waren. De berekening kun je ook met potlood en papier maken.

Stel je pakt een bal en legt deze in één van de zes lege bakjes. Hierbij heb je de keuze uit zes mogelijkheden. Nu pak je de tweede bal en dan moet je bepalen in welk van de overige vijf bakjes deze zal leggen. Op het moment dat je de volgende bal in je hand hebt zijn er nog vier, en zo gaat het door, totdat je het zesde balletje in het nog enige overgebleven bakje plaatst.

De vraag die Machteld Wortel zich stelde was: hoeveel mogelijke rangschikkingen waren er toen je aan het spel begon? Dit is het antwoord: dat waren er $6 \times 5 \times 4 \times 3 \times 2 \times 1 = 720$ rangschikkingen. In de wiskunde spreekt men van *720 permutaties*. Machteld wist dus dat de kans dat zij de in het vooruitzicht gestelde 100.000 euro zou winnen gelijk was aan 1 op 720. Ze begon er wijselijk niet aan.

Waarom deze *Spielerei*? De gevolgde redenering is min of meer van toepassing op het gebeuren in onze lichaamscellen, waar een van tevoren bepaald aantal aminozuren van bepaalde identiteit in een specifieke volgorde aan elkaar moeten worden geregen, wil het betrokken individu (gezond) verder kunnen leven.

Ten behoeve van de synthese worden de benodigde aminozuren uit het cytoplasma van de cel opgepikt; ze liggen daar namelijk voor het oprapen. Ten behoeve van de eiwitsynthese dient de cel uitdrukkelijk aan de voorwaarde te voldoen deze bouwstenen op de juiste positie te zetten. Daarbij mag er niets fout gaan! Mocht dit toch het geval zijn, dan zou dat behoorlijke gevolgen kunnen hebben voor de biologische functie van het eiwit. Bij een infectie met het coronavirus (of andere virussen) werkt onze geïnfecteerde cel doorgaans welwillend mee de eiwitten te maken die nodig zijn om een nieuw virusdeeltje op te bouwen.

We nemen de fabricage van het spijkereiwit (S-eiwit) van het coronavirus als voorbeeld.

We richten onze blik op een minuscuul stukje ergens in het midden van dat grote spijkereiwit en doen net alsof daar twaalf verschillende aminozuren in deze volgorde zijn gerangschikt.²

De *volgorde* van de 12 aminozuren in dit stukje spijkereiwit is dus cruciaal.³

| | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ala | arg | cys | ser | leu | gly | val | thr | tyr | lys | pro | asp |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

¹ Literatuur: 'Microbiologie en infectieziekten', onder redactie van A.I.M. Hoepelman c.s., Bohn Stafleu van Loghum, 3^{de} druk 2011.

² Dit is dus geen realiteit, het is slechts een rekenvoorbeeld.

³ Voor de liefhebbers: de afkortingen staan respectievelijk voor: alanine, arginine, cysteïne, serine, leucine, glycine, valine, threonine, tyrosine, lysine, proline en asparaginezuur.

Het is nu aan de cel om tijdens de synthese uit een pool van deze 12 aminozuren één voor één de getoonde aminozuren te selecteren en deze steeds in de juiste positie te plaatsen, zodat de uiteindelijke *rangschikking* klopt.

De vraag is nu: op hoeveel manieren zijn deze 12 aminozuren op de open plaatsen te rangschikken? Met andere woorden: hoeveel permutaties tellen we?

Met in gedachte het voorbeeld van de zes gekleurde ballen stellen we vast dat het aantal mogelijkheden zo groot is als $12 \times 11 \times 10 \times 9 \times 8 \times 7 \times 6 \times 5 \times 4 \times 3 \times 2 \times 1 = 479.001.600$.⁴

Met andere woorden onze cel (of beter: iets in onze cel) wordt geacht alleen al voor dit kleine stukje peptide uit de 479.001.600 rangschikkingen die ene juiste permutatie te realiseren. Zou dat 'iets' dit peptide van 20 aminozuren in elkaar moeten flansen (waarbij de volgorde er natuurlijk toe doet), dan is het aantal permutaties 2.432.902.008.176.640.000.⁵

En dan te bedenken dat er aan weerszijden van het getoonde peptide nog heel veel lege posities voor aminozuren zijn die moeten worden opgevuld alvorens het karwei geklaard is.⁶ Weet dat het hele spijkereiwit 1273 aminozuren bevat! Hoeveel mogelijke rangschikkingen (permutaties) zijn dat er dan wel niet? Met andere woorden, de cellulaire machinerie die het spijkereiwit maakt is in staat die ene permutatie uit triljoen x triljoen x etc. mogelijke rangschikkingen te verwezenlijken. Het is goed om dat (wonder) in gedachte te houden.

We weten echter dat in de ribosomen de synthese van de virale eiwitten plaatsvindt en dat de ribosomen door het genetische materiaal van het betreffende virusdeeltje een recept krijgt voorgehouden en dat bij coronavirussen het virale mRNA hiervoor zorgt. De aminozuurvolgorde in het S-eiwit is dus een directe vertaling van het patroon van de nucleotiden in het virale mRNA. Kortom, de identiteit van de nucleotiden en hun rangschikking in de betreffende genen (in het bijzonder in de betreffende codons) zijn van cruciaal belang voor de uiteindelijke samenstelling van de gevormde eiwitten.

We doen nu even een stapje terug. We dienen het dus niet in eerste instantie te hebben over de uiterst kleine kans dat alle aminozuren in het spijker eiwit door onze cellen op de juiste plaats worden gezet, we zouden ons allereerst moeten richten op de nucleotiden-volgorde in het genetisch materiaal van het coronavirus! Het is de juiste volgorde van de juiste nucleotiden in het virale RNA die bepalend is. En dit RNA bestaat uit bijna 30.000 nucleotiden (!), waarvan de genen die voor het spijkerwit coderen deel uitmaken. Hoe kan het zijn dat juist dit RNA op die wijze voor het eerst in elkaar is gezet? Natuurlijk, ten gevolge van een evolutionair proces.

Waar zit de fout?

Desondanks kunnen we ons voorstellen dat tijdens de synthese van al die spijkereiwitmoleculen het ribosoom één op heel veel keren de plank mislaat. Mocht zo'n misvormde glycoproteïne als spijkereiwit op een nieuw virusdeeltje worden gezet, dan is er nog niet veel aan de hand, er worden er genoeg gemaakt die het foutje niet in zich hebben. Bovendien beschikt de cel over een mechanisme om vers gevormde, foute eiwitten te herkennen als 'vreemd' en deze vervolgens in de cel af te breken en op te ruimen. Als het ribosoom dus de synthese bij toeval verknalt, terwijl toch het juiste RNA de boodschap overdroeg, dan is het misbaksel een incidentele gebeurtenis en wordt het rigoureus verwijderd. Maar als er structureel iets mis is, ja dán krijgen we een andere situatie.

Het is het mRNA dat de volgorde van de aminozuren bepaalt. Je kunt dus verwachten dat als in het nucleotiden-patroon van het RNA voor altijd een fout is ingebouwd, het ribosoom voortdurend het

⁴ Voor de liefhebbers: in de wiskunde noteert men voor zo'n typische vermenigvuldiging 12! (spreek uit: twaalf faculteit)

⁵ Dit getal komt uit de berekening van 20! (twintig faculteit)

⁶ Opgemerkt moet worden dat in werkelijkheid er een aantal gelijke aminozuren in de keten naast elkaar zijn gerangschikt en dát gegeven zou tot een berekening leiden die iets lager uitvalt.

verkeerde recept gebruikt. Door de continue productie van misvormde eiwitstructuren, zal het opruimingsmechanisme van de cel tekortschieten. Op die wijze verschijnen mutanten in het milieu die, als ze pathogeen zijn, ons kunnen belagen.

Het spijkereiwit in retrospectief

Om goed te kunnen begrijpen welke mutaties zich voordoen en wat hun uitwerkingen zijn op de nieuwgevormde virusdeeltjes (varianten, mutanten), is het van belang goed voor ogen te hebben volgens welke mechanismen het coronavirus onze cellen binnenkomt. Wetenschappers hebben dít aspect speciaal in het vizier, omdat het muteren van het ‘oude, vertrouwde’ virus belangrijke consequenties kan hebben voor de penetratie-mechanismen van de nieuwe virusdeeltjes. Het is immers zo dat het coronavirus met behulp van het spijkereiwit (S-eiwit) - en uitsluitend met dít eiwit - onze cellen kan binnendringen.

Dus geldt:

Als een mutatie in het genetische materiaal van het coronavirus (het RNA dus) tot gevolg heeft dat de aminozuurvolgorde in een bepaald domein / bepaalde domeinen op het S-eiwit voortaan één of meer afwijkingen vertoont, dan zijn er in theorie acht verschillende mutanten denkbaar ten aanzien van besmettelijkheid en ziekmakend vermogen (= virulentie). De tabel geeft dit weer.

Tabel: Theoretische voorstelling van het aantal mogelijke varianten van het coronavirus als twee eigenschappen (besmettelijkheid en virulentie) in beschouwing worden genomen. — = ongewijzigd; ↑ = toegenomen; ↓ = afgenomen.

| | besmettelijkheid | ziekmakend vermogen |
|----------|------------------|---------------------|
| mutant 1 | — | — |
| mutant 2 | ↑ | — |
| mutant 3 | — | ↑ |
| mutant 4 | ↓ | — |
| mutant 5 | — | ↓ |
| mutant 6 | ↑ | ↓ |
| mutant 7 | ↓ | ↑ |
| mutant 6 | ↓ | ↓ |
| mutant 8 | ↑ | ↑ |

Een vraag als: *“Waarom is de ene variant besmettelijker of virulenter dan de ander?”* zou je mogelijke graag beantwoord zien. Een betrouwbaar antwoord is nog niet te geven. Ik zal ik in een van de volgende afleveringen hier iets over schrijven.

Wetenschappers over de hele wereld zijn bezig door middel van onderzoek op deze vraag het antwoord te vinden.

Wat we in aflevering 30 gaan doen is het spijkereiwit nader analyseren en de gebieden (domeinen) aanwijzen die in hoofdzaak bepalend zijn voor het (relatieve) gemak waarmee het coronavirus onze cellen kan binnenkomen. We gaan als het ware een wandeling maken over het spijkereiwit en benoemen onderweg wat we tegenkomen. Maar er is nog veel meer. Zo willen we ook weten op welke punten de zogenaamde Engelse mutant afwijkt van het oorspronkelijke coronavirus. Daarvoor bekijken we de structuur van het RNA van beide virussen.

Al met al boeiende materie!

Arijan Porsius

18-02-21