

CORONA ONDER DE LOEP (32)

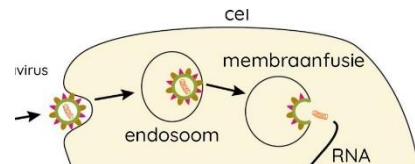
Een infectie met SARS-CoV-2 kan kwalijke gevolgen hebben voor onze gezondheid. Dat weten we al langer dan een jaar. Het coronavirus is voor de mens pathogeen omdat het na besmetting de cellen van onze luchtwegen kan binnendringen, met als gevolg virusvermenigvuldiging en verspreiding. Zou het vermogen tot penetratie ontbreken, dan zou dit coronavirus een totaal onschuldig partikeltje voor ons zijn geweest en hadden we er geen aandacht voor gehad.

Hoe komt SARS-CoV-2 onze cellen binnen?

De processen die aan cel-penetratie ten grondslag liggen hebben dan ook de volle aandacht van virologen en van wetenschappers op verwante onderzoeksterreinen. Zij willen niet alleen hun fundamentele kennis van dit onderwerp verdiepen, ook willen ze met het oog op de ontwikkeling van antivirale medicamenten weten hoe deze processen verlopen. We gaan daar later meer over lezen. Om deze materie als niet-viroloog enigszins te kunnen begrijpen is het noodzakelijk kennis te hebben van de biologische mechanismen die het binnendringen van deze virussen in onze cellen mogelijk maken. Want stel je voor dat men op termijn in staat zouden zijn die toegang te blokkeren.....

Voor het binnendringen van het coronavirus in onze cellen staan twee processen centraal:

1. de **binding** van het virusdeeltje aan de celmembran van de gastheer, dat wil dus zeggen de binding van de spike aan de ACE2-receptor, én
2. de **fusie** van de membraan van het virus met die van de gastheercel en aansluitend de vorming van het virus-bevattende endosoom.

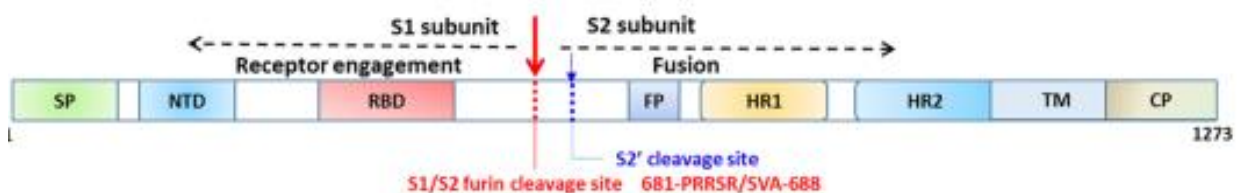


In de vorige aflevering lazen we over het receptor-bindend domein (RBD), met als speciaal onderdeel het receptor-bindend motief (RBM). We weten inmiddels dat het RBD, en met name het RBM, bindt aan de ACE-2 receptor op de celmembran. We kregen de volgorde van de verschillende aminozuren in deze domeinen te zien. Dit gaf ons een beeld van de moleculaire opbouw van het RBD en RBM. In deze aflevering gaan we het hebben over de mechanismen die betrokken zijn bij de fusie van het virusdeeltje en de lichaamscel.

Enzymatische splitsingen.

Onderstaande schets geeft het S-eiwit (glycoproteïne) nogmaals schematisch weer, zij het met hier en daar een aanvulling op de afbeelding in de vorige aflevering.

We onderscheiden van links naar rechts de diverse gebieden, waaronder de domeinen die betrokken zijn bij het fusieproces.



We letten op een aantal specifieke gebieden.

1. De rode pijl wijst op het verbindingsstuk tussen de S1 en de S2 subunit, het witte blokje.
2. Links daarvan zien we, als onderdeel van de S1 subunit, het receptor-bindings-domein (RBD) van het S-eiwit, dat dus hecht aan de ACE2 receptor op de celmembran.
3. Rechts van het verbindingsstuk treffen we in de S2 subunit de voor dit verhaal belangrijke domeinen: FP, dat staat voor fusiepeptide, HR1 en HR2.

Op het moment dat de spike zich door middel van het RBD bindt aan de lichaamscel, start de voorbereiding van het fusieproces. Voordat fusie mogelijk is moet allereerst S1 van S2 worden losgemaakt. Die splitsing vindt plaats op het punt waar S1 en S2 aan elkaar gekoppeld zijn, dat wil zeggen in het verbindingsstuk tussen S1 en S2 (rode pijl). De biologische schaar wordt gezet in de keten van aminozuren die zich *daar* bevindt.

Inmiddels weten we dat dergelijke biochemische reacties worden gekatalyseerd door enzymen. Ook bij deze loskoppeling is een enzym betrokken. Het behoort tot de groep van de **proteasen**.¹ De protease die de splitsing initieert, bevindt zich in de nabijheid van de celmembraan. Het is daar in overvloed aanwezig, dus ook op het moment dat het RBD (RBM) zich bindt aan de ACE2 receptor. Dit enzym draagt de naam furine. Het knipt na binding van het virusdeeltje aan de celmembraan de aminozuurketen in tweeën (bij de rode pijl dus)!



Je hebt aan het uitgerolde S-eiwit al gezien dat het hele glycoproteïne uit 1273 aminozuren bestaat. Het verbindingsstukje tussen S1 en S2 loopt van aminozuur 673 tot aminozuur 694. Ergens in dit domein zet het enzym furine dus zijn schaar. Dit is de aminozuurvolgorde in dat gebied:²

SYQTQTNSPRRARSVASQSIIA
673694

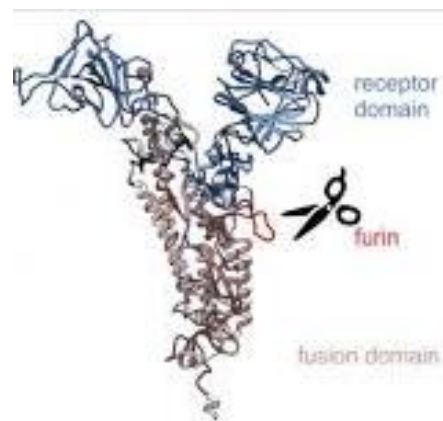
Maar net zoals de ACE2-receptor op onze celmembranen het receptor-bindend motief in de subunit S1 herkent en alleen daarmee een binding wil aangaan, herkent ook het enzym furine een specifiek patroon. Dit enzym krijgt in de loop van het proces bovenstaande sequentie in het vizier en zal pas tot actie (splitsing) overgaan op het moment dat hij een bepaald motief (= een *specifieke* aminozuurvolgorde) herkent, want dat daagt hem uit tot activiteit. Blijft de herkenning uit dan zal de keten niet worden doorgeknipt. Zo simpel is het!

Hoe vernuftig werkt dit alles toch! Want komt het enzym bijvoorbeeld de volgorde (het motief) SYQT (de aminozuren 673-676) tegen, dan zal furine dat motief links laten liggen: het wordt niet herkend als 'een lekker hapje'. Hetzelfde geldt voor de sequentie VASQ (de aminozuren 687 tot 690): furine wordt er niet warm of koud van. Maar... wordt het enzym geconfronteerd met de volgorde **RRAR** (de aminozuurvolgorde 682-685) dan gaat meteen het aan de slag en deelt het de keten (en daarmee het hele S-eiwit) in twee stukken: S1 en S2!

SYQTQTNSPRRARSVASQSIIA
673682685694

Op het plaatje (rechts) is dit in beeld gebracht. We zien hier naast het RBD (rechtsboven) het fusie-domein (aan de onderkant). Furine gaat op 'het lusje' (bij de schaarpunten) af, omdat dit sliertje de sequentie **RRAR** bevat, een patroon dat nergens anders in dit grote molecuul voorkomt!

Saillant detail: de spike van het coronavirus dat in 2002 / 2003 in grote delen van de wereld mensen infecteerde (SARS-CoV-1) bevat dit patroon niet! Hierover in een volgende aflevering meer.



¹ De term *proteasen* (het zijn zogenaamde proteolytische enzymen) is de verzamelnaam voor enzymen met als specialiteit de splitsing van aminozuurketens zoals die voorkomen in peptiden en eiwitten.

² Elke letter stelt dus een aminozuur voor; de verklaring van de letters kun je terugvinden in de vorige aflevering.

De tweedeling is voor het verdere verloop van de fusie belangrijk. Door de breuk wordt namelijk het S-eiwit geschikt gemaakt ("geprimed") voor een tweede splijting. Nogmaals kijken we naar het uitgerolde S-eiwit. Dat doen we omdat er na de loskoppeling een splitsing in de (nu vrijgemaakte) S2 subunit moet plaatshebben, wil fusie überhaupt mogelijk zijn. Het gaat om de plek in de aminozuurketen aangegeven met S2'.



Er scheidt zich dus in tweede instantie een klein gedeelte af van de losse peptideketen S2.



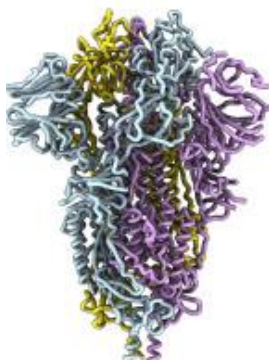
En alweer geldt dat een dergelijk proces niet zondermeer mogelijk is. Aangezien het gaat om de verbreking van een keten van aminozuren is ook hier een protease vereist. Deze protease bevindt zich op de membraan van onze cellen en is daar te allen tijde paraat om zijn werk te doen. Het draagt de ingewikkelde naam: *transmembraan protease serine2*, afgekort TMPRSS2.

Dit is wat er te gebeuren staat:

Als gevolg van de loskoppeling van het rijtje aminozuren dat links van FP (het fusiepeptide) ligt (tussen de pijlen), komt het fusiepeptide nu vrijwel bloot te liggen. Was het oorspronkelijk afgeschermd door het linkerdeel van het S-eiwit, nu steekt het als een kop naar buiten en kan het zijn steentje bijdragen aan de fusie.

Er zijn nog drie belangrijke aspecten die in verband met het hele fusieproces onze aandacht verdienen.

1. Het S-eiwit klapt open.

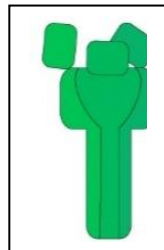
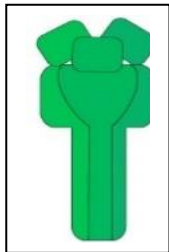


Zoals we weten hebben de spikes op het coronavirus een ruimtelijke structuur. De tekening (links) laat dat zien. Dit is niet geheel in het belang van het virusdeeltje. Het in elkaar gedraaide vlechtwerk is er de oorzaak van dat de domeinen die voor de binding (RBD/RBM) en de fusie (S1-S2 gebied én FP) essentieel zijn, grotendeels schuilgaan achter de wirwar van aminozuurketens. Het gevolg is dat deze voor de penetratie uiterst belangrijke domeinen in zekere mate worden afgeschermd van 'de buitenwereld'. Dit is niet in het voordeel van het virusdeeltje dat op weg is om een van onze cellen te infecteren. Mocht de binding aan de ACE2 receptor niettemin tot stand komen, dan is de slechte bereikbaarheid een hinderlijk obstakel voor de enzymen furine en TMPSS2. Het komt erop neer dat de relatief verborgen posities van deze domeinen een vlotte penetratie van het virus in de cel in de weg staan. Hiervoor moest dus tijdens de evolutionaire processen een oplossing worden gevonden, wat kennelijk ook gebeurde. De spike heeft namelijk de eigenschap ontwikkelt om twee ruimtelijke vormen (= conformaties) aan te nemen: een gesloten en een open vorm.

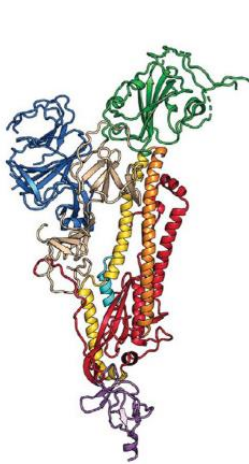
De gesloten vorm kan overgaan in de open vorm en omgekeerd. Deze conformatie-veranderingen doen zich 'van nature' voor.

Voor de binding van het RBD (RBM) aan de ACE2-receptor is het belangrijk dat de open conformatie zich voordoet, want die vorm faciliteert deze interactie.

En dit geldt eveneens: als de binding met de ACE2-receptor tot stand komt, blijft de open vorm gehandhaafd en dit geeft de open spike weer een grotere stabiliteit.



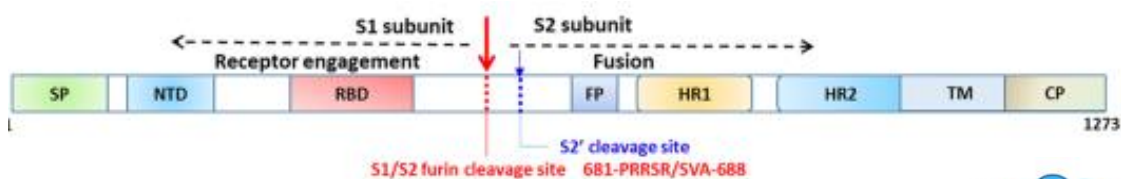
Deze afbeeldingen tonen schematisch de twee conformaties. Links zien we de gesloten vorm van de rechtopstaande spike. Aan de kop onderscheiden we drie min of meer tegen elkaar liggende uiteinden. Hiertussen liggen dus van elk van de drie S-eiwitten enigszins verborgen het RBD en het fusiedomein. Het rechter plaatje laat de open vorm zien: één uiteinde is omgeklapt. Als deze open vorm zich voordoet, wordt het fusiedomein beter bereikbaar voor de werking van furine.



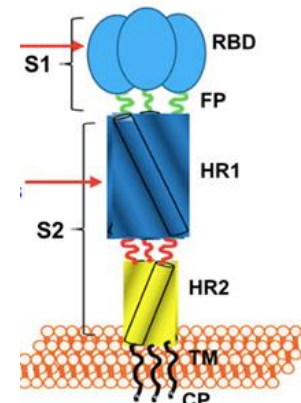
In een wetenschappelijke publicatie over deze conformatieverandering tijdens het fusieproces publiceerden twee biologen deze plaatjes van het S-eiwit.³ Beide tekeningen tonen het eiwit in een ruimtelijke structuur, compleet met de diverse domeinen. We kijken naar de verschillen. In beide tekeningen stelt het domein helemaal aan de bovenkant het RBD voor. Het is getekend als een groene slinger. Op het linker plaatje is het S-eiwit als een gesloten vorm afgebeeld, te herkennen aan de in elkaar gedoken groene slinger (het RBD). Op het rechter plaatje is dit domein opengeklapt, waardoor een vorm is ontstaan, die de inwerking van het enzym furine sterk bevordert.

2. Nog twee domeinen dragen bij aan het fusieproces.

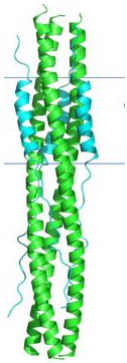
Het gaat hier om de domeinen HR1 en HR2, in het schema rechts van het fusiepeptide (FP) ingetekend.



Waarvoor de letters HR precies staan laat ik in het midden. Het zijn onderdelen van de S2 subunit en bestaan uiteraard ieder uit een afgebakende serie aminozuren die op specifieke wijze zijn gerangschikt. Deze twee naast elkaar liggende peptiden lopen in werkelijkheid als licht gekronkelde slierten tussen de rest van de spike. Maar op een gegeven moment gebeurt er met HR1 en HR2 iets merkwaardigs. Als namelijk de binding tussen het receptor-bindend domein (RBD) met de ACE2-receptor van de beoogde gastheercel eenmaal een feit is en de proteasen hun werk aan het doen zijn, verandert hun vorm: ze kruipen als het ware naar elkaar toe en vormen een soort spiraal (een helix).



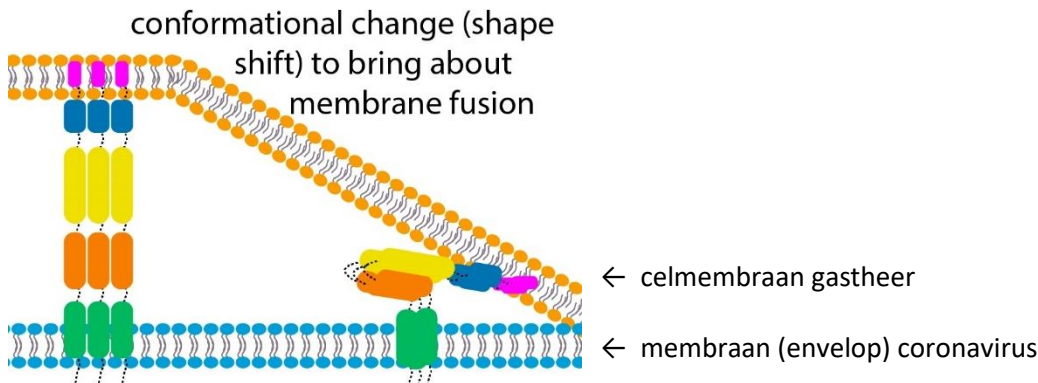
³ Hun namen: Ariane Stemberg en Cord Naujokat, verbonden aan de Universiteit van Heidelberg, Duitsland.



Deze gedaantewisseling (conformatieverandering) is links in beeld gebracht. Daar de spike een trimeer is zie je ook driemaal H1 (groene strengen) en driemaal H2 (blauwe strengen), dat zijn dus in totaal zes in elkaar gedraaid slierten (zie het gebied tussen de parallelle lijnen).

Je vraagt je misschien af wat hier de zin van is? Dit is het antwoord:

Door de aldus ontstane nieuwe ruimtelijke structuur van het gebied HR1 <> HR2 wordt de membraan van het virusdeeltje dichter naar de celmembraan getrokken. Dit fysieke contact maakt, zoals te verwachten is, het fusieproces een stuk gemakkelijker. De nieuwe situatie is schematisch afgebeeld op het volgende plaatje.



Deze voorstelling van zaken brengt de voorlaatste stap in het fusieproces in beeld. De membraan van een gastheercel (oranje bolletjes) bevat het enzym ACE2 (roze). De membraan van het coronavirus (blauwe bolletjes) draagt de spike: drie S-eiwitten die er als trimeer recht op uitsteken (links). De drie subunits S1 zijn met hun RBDs (donkerblauw) gebonden aan de ACE2-receptor. Daaronder bevinden zich HR1 (geel) en HR2 (oranje); het groengekleurde deel vormt het begin van de S-eiwit en is ten dele verankerd in de virusmembraan. Aan de rechterkant van de figuur is uitgebeeld wat er gebeurt na de interactie van het RBD met ACE2: de domeinen HR1 en HR2 ondergaan dus de eerdergenoemde conformatieverandering en de nieuwe structuur trekt de celmembraan en de virusmembraan naar elkaar toe, zodat het inmiddels blootgelegde fusiepeptide beter zijn werk kan doen. Na de werking van het fusiepeptide kan pas volledige opname van het virusdeeltje in de cel werkelijkheid worden. Het is de laatste stap in het penetratieproces.

Het fusiepeptide (FP): hoe gaat dat te werk?

Er werd al heel wat werk verricht:

1. het RBD hechtte zich aan de ACE2-receptor,
2. het enzym furine splitste de beide subunits S1 en S2,
3. het enzym TMPRSS2 veroorzaakte een breuk bij S2'
4. de domeinen HR1 en HR2 ondergingen een conformatieverandering met als gevolg een nauw contact tussen beide membranen.

De beide membranen zijn na deze voorbereidende processen met elkaar in contact gebracht. Maar hoe de fusie uiteindelijk tot stand komt, blijft nog even verborgen. Je verwacht natuurlijk wel al dat in de laatste stap het fusiepeptide de hoofdrol speelt. Dat is inderdaad het geval. Hoe wonderlijk de samensmelting verloopt, is niettemin met een pen te beschrijven. Je leest het in aflevering 33.

Arijan Porsius
29 maart 2020