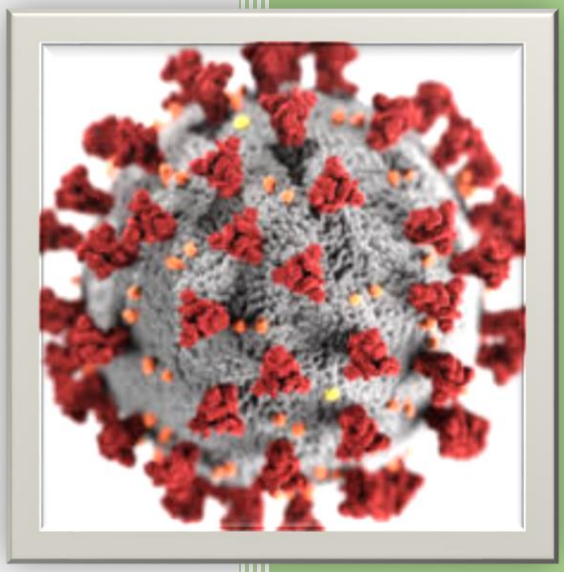
دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی
معاونت پژوهشی و فناوری

دیده‌بانی علمی بیماری کووید ۱۹



شماره بیست و هفتم:

زیست‌شناسی مولکولی کووید-۱۹

دکتر سیدجواد مولا[۱]، دکتر مروارید ساعی‌نسب[۲]، علیرضا اشرفی[۳]، مهشید مشکانی[۱]، الهام سلحشور[۴]

۱. گروه ژنتیک‌مولکولی، دانشکده علوم‌زیستی، دانشگاه تربیت‌مدرس
۲. دانشگاه فردوسی مشهد، ۳. دانشگاه ملایر، ۴. انجمن ژنتیک ایران

sjmowla@modares.ac.ir

فضای مجازی آمیخته از اطلاعات علمی و شبه علمی است که ممکن است باعث سردرگمی استفاده کنندگان شود. هدف از این سلسله مباحث علمی، ارائه اطلاعات معتبر، دارای شناسنامه و تهیه شده توسط اساتید درباره کووید ۱۹ می‌باشد.

برای مشاهده سری کامل یادداشت‌ها به لینک زیر مراجعه فرمایید:
HTTP://WWW.MODARES.AC.IR/~COVID

۳ خرداد ۱۳۹۹

زیست‌شناسی مولکولی کووید-۱۹

دکتر سیدجواد مولا[۱]، دکتر مروارید ساعی‌نسب[۲]، علیرضا اشرفی[۳]،
مهشید مشکانی[۱]، الهام سلحشور[۴]

۱. گروه ژنتیک‌مولکولی، دانشکده علوم‌زیستی، دانشگاه تربیت‌مدرس
۲. دانشگاه فردوسی مشهد، ۳ .دانشگاه ملایر، ۴. انجمن ژنتیک ایران
sjmowla@modares.ac.ir

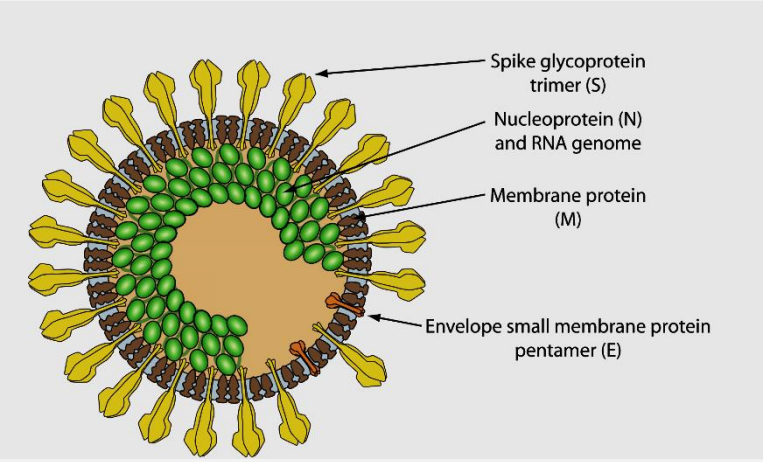
مقدمه

پاندمی‌شدن بیماری کووید-۱۹در نتیجه آلودگی با کروناویروس‌جدید(SARS-CoV2) باعث مرگ هزاران نفر در سراسر جهان شده است. کروناویروس‌جدید عضوی از زیرخانواده Coronavirinae، از خانواده Coronaviridae می‌باشد. کرونا در زبان اسپانیایی و لاتین به معنی تاج می‌باشد و دلیل نامگذاری آن‌ها پوشش میله‌ای تاج‌مانند بر روی سطح ویروس می‌باشد. بر اساس ارتباطات فیلوژنی و ساختار ژنومی، این ویروس شباهت زیادی به توالی مرتبط با سندرم حاد تنفسی (SARS-CoV) دارد و از گیرنده‌های مشابه با SARS-CoV برای ورود به سلول استفاده می‌کند[۱, ۲].

کروناویروس دارای یک RNA ژنومی شامل ۲۹۸۹۱ نوکلئوتید بوده که پروتئین‌های Spike (S)، Envelop (E)، Membrane (M) و Nucleocapsid (N) را کد می‌نماید. این چهار پروتئین، پروتئین‌های ساختاری بوده و برای ساختن ذرات ویروسی مورد نیاز هستند.

گلیکوپروتئین‌های S، تشکیل زائده‌های گرزی یا گلبرگی شکل ۲۰ نانومتری به‌نام Peplomer را داده که ساختار تاج مانندی را بر روی سطح بیرونی ویروس ایجاد می‌کنند. پروتئینS در اتصال کروناویروس به سلول‌های هدف و ادغام سلولی نقش اساسی دارد؛ از این رو می‌توان گفت که این پروتئین و ژن کدکننده‌ی آن مهم‌ترین مولکول حاضر در کروناویروس می‌باشد. این پروتئین دارای دو زیر واحد عملکردی، یکی در انتهای آمینی(S1) و دیگری در انتهای کربوکسیلی(S2) است. زیرواحدS1، یک پروتئین محیطی بوده که دارای دمین اتصال به گیرنده است و مسئول تشخیص و اتصال به گیرنده‌های سطح سلول میزبان می‌باشد. زیر واحدS2، یک پروتئین درون غشایی است که سبب ادغام غشای ویروس با غشای سلولی میزبان می‌گردد. پروتئین E کوچک‌ترین پروتئین ساختاری کروناویروس می‌با شد که در طول چرخه همانندسازی در سلول‌های آلوده بیان بالایی دارد و در تشکیل پوشش ویروس شرکت می‌نماید. پروتئین M نقش ا صلی را در تبدیل غشاءهای سلولی به کارخانه‌هایی برای ادغام عوامل ویرو سی و میزبان جهت ساخت ذرات ویرو سی جد ید ایفا می‌کنند. پروتئین M از طریق برهم‌کنش با ریبونوکلئوپروتئین های ویروسی و گلیکوپروتئینS و ایجاد شبکه‌ای از برهم‌کنش‌های M-M، سبب حذف پروتئین‌های غشایی میزبان از پوشش ویروسی شده و در نهایت منجر به فراهم‌آوردن ساختارهای ویرو سی می‌گردد. پروتئین N تنها پروتئینی ا ست که نوکلئوکپسید را تشکیل داده و عملکرد

آن اتصال به RNA ژنومی کروناویروس است؛ در نتیجه این پروتئین در همانندسازی RNAی ویروس و پاسخ سلول میزبان به آلودگی ویروسی نقش دارد. بیان پروتئین N سبب افزایش معناداری در تولید ذرات شبه‌ویروسی می‌گردد. [۳, ۴-۶]



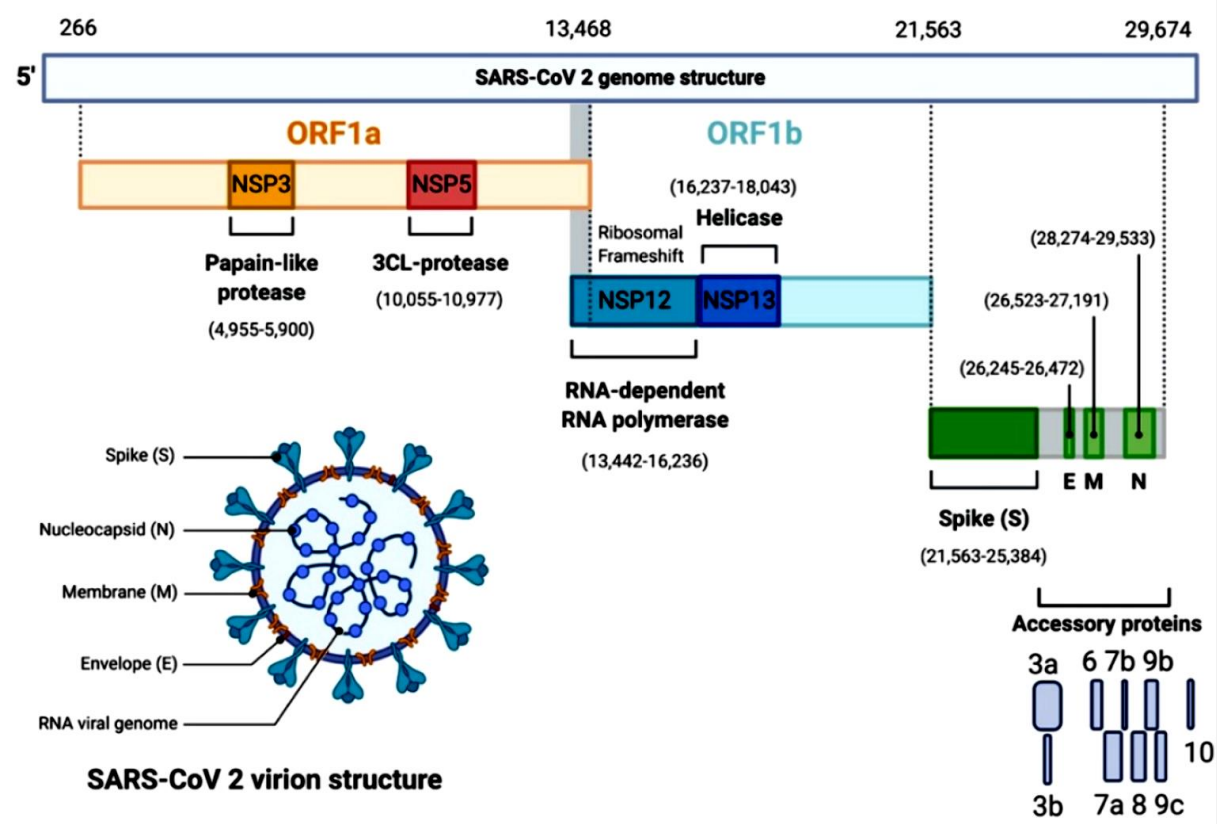
شکل ۱: شکل شماتیک کرو ناویروس و پروتئین‌های تشکیل دهنده آن[۳]

ساختار ژنوم کروناویروس

در میان تمام ویروس‌های RNAدار، کروناویروس‌ها دارای بزرگ‌ترین ساختار ژنومی (بین ۲۶ تا ۳۲ کیلوباز) با محتوای G+C متفاوتی از ۳۲درصدتا ۴۳درصد می‌باشند. تعداد قالب خوانش باز آن‌ها (*ORF*) بین ۶ تا ۱۱ می‌باشد. اولین *ORF* (*ORF1a/b*) که حدود ۶۷ در صد کل ژنوم را فرا گرفته ا ست، در انتهای ’5 ژنوم قراردارد و شانزده پروتئین غیرساختاری را کد می‌کند. این پروتئین‌ها مسئول شکل‌گیری کمپلکس همانندسازی/نسخه برداری (RTC) می‌باشند. *ORF1a*، دو پلی‌پپتید (nsp1-19) و (PP1a,PP1ab) را تولید می‌کنندکه توسط پروتئازی مشابه با کموتریپسین (3CLpro) یا پروتئاز ا صلی (Mpro) پردازش می شوند. سایر*ORF* ها در انتهای ’3 ژنوم قرار دارند و چهار پروتئین ساختاری (S ، E ،M و N) را کد می‌کنند. در کنار این چهار پروتئین ساختاری ا صلی، ژن‌های کدکننده دیگری پروتئین‌های فرعی و ساختاری خاص مانند پروتئین HE، پروتئین 3a/b، پروتئین 4a/b را کد می‌کنند، که کنترل‌کننده چندین عملکرد مهم در حفظ ژنوم و همانندسازی ویروس می‌باشند[۷].

کروناویروس‌ها از ماشین همانندسازی/ نسخه‌برداری چند زیرواحدی استفاده می‌کند. در نتیجه برش پلی‌پروتئین‌های ویرو سی *ORF1ab* و *ORF1a*، مجموعه‌ای از پروتئین‌های غیر ساختاری ایجاد می شود که برای تسهیل همانند سازی و نسخه‌برداری ویروس گرد هم می‌آیند. ترکیب ا صلی ما شین همانند سازی/ نسخه‌برداری کروناویروس، RNA پلیمراز وابسته به RNA(nsp12یا RdRp) با کمک کوفاکتورهای nsp7 وnsp8 می‌با شد که سنتز RNA ویروس را کاتالیز می‌کند و به نظر می‌ر سد هدف اولیه برای طراحی داروهای ضد ویرو سی آنالوگ نوکلئوتید مانند Remdesivir می‌باشند که پتانسیل درمان عفونت‌های کروناویروس را دارند[۸].

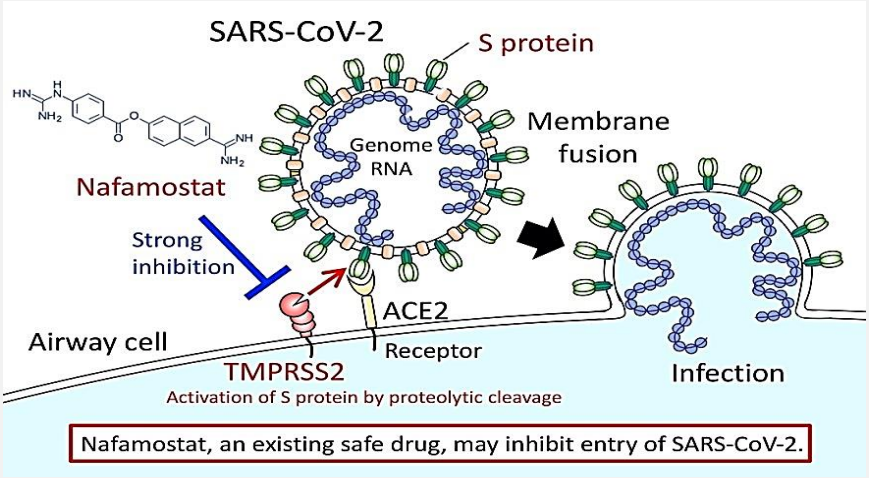
ژن رپلیکاز که دو پلی‌پروتئین pp1a و pp1ab را کد می‌کند نیز برای همانند سازی/ نسخه‌برداری ویروس لازم می‌باشد. پلی‌پروتئین‌ها توسط پروتئاز اصلی Mpro و پروتئاز 3C-like در حداقل یازده جایگاه حفاظت‌شده برش می‌خورند و پلی‌پپتیدهای عملکردی را ایجاد می‌نمایند. با توجه به نقش مهم Mpro در چرخه‌ی زندگی ویروس و نبود ارتباط نزدیک همولوگ در انسان، Mpro را به عنوان هدف جایگزین برای طراحی داروهای ضد ویروس معرفی می‌کند[۸, ۹].



شکل۲: ژنوم SARS-CoV2 از دو ژن بزرگ *ORF1a* (زرد رنگ) و *ORF1b* (آبی رنگ) تشکیل شده است که شانزده پروتئین غیر ساختاری (NSP16-NSP1) را کد می‌کنند. این NSPها کمپلکس همانند سازی/ نسخه برداری (RTC) را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در همانند سازی و نسخه برداری ژنوم ایفا می‌کنند. به عنوان مثال NSP3 و NSP5 به ترتیب پروتئاز مشابه Papain (PLP) و پروتئاز 3CL را کد می‌کنند که در برش پلی‌پپتیدها و بلاک‌کردن پاسخ سیستم ایمنی نقش عملکردی دارند. ژن‌های ساختاری، پروتئین‌های S، E، M و N را کد می‌کنند که در شکل به رنگ سبز نشان داده شده‌اند. پروتئین‌های فرعی(خاکستری رنگ) در SARS-CoV2 از نظر تعداد، سازماندهی ژنومی، توالی و عملکرد، منحصر به فرد می‌باشند[۷].

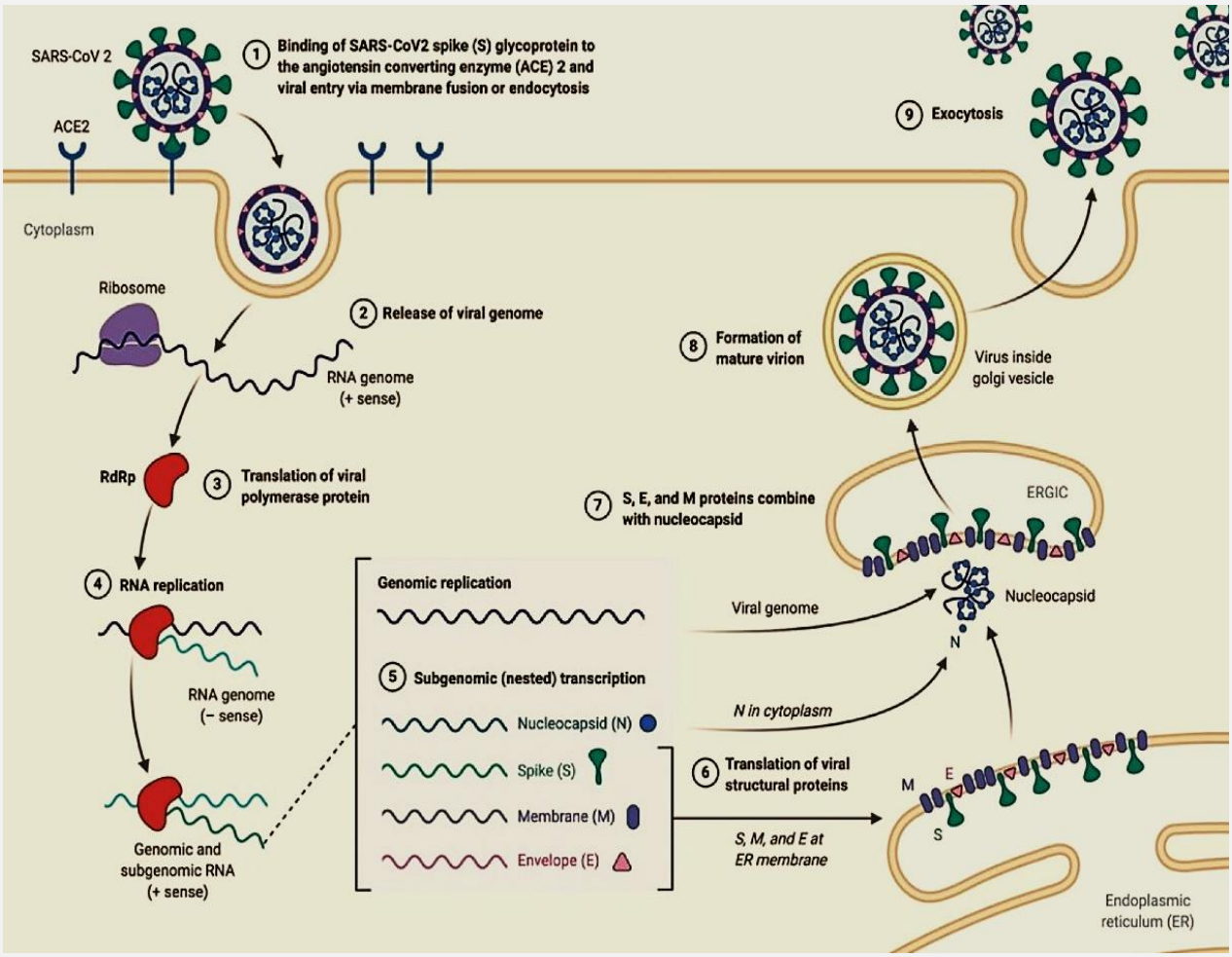
چرخه زندگی ویروس SARS-CoV-2 در سلول میزبان

ویروس SARS-CoV-2 تو سط پروتئین میله‌ای خود به گیرنده ACE2 در سطح سلول میزبان متصل شده و به ویروس اجازه می‌دهد تا وارد سلول میزبان شود و آن‌را آلوده سازد. ACE و همولوگ آن ACE2 متعلق به خانواده دی‌پپتیدیل‌کربوکسی‌پپتیداز می‌باشند و در سطح سلول‌های اپیتلیال ریه، قلب، کلیه و روده یافت می‌شوند. برای تکمیل فرآیند ورود ویروس به سلول میزبان، فعال سازی پروتئینS تو سط سرین پروتئاز مرتبط با سطح غ شاء (TMPRSS2) صورت می‌گیرد تا این پروتئین بتواند به گیرنده ACE2 در سطح سلول میزبان متصل شود. از آن‌جایی‌که دمین متصل شونده به گیرنده(S1) در SARS-CoV2 تمایل بالایی برای اتصال با ACE2 دارد، براین‌اساس، دانشمندان پیشنهاد داده‌اند که می‌توان از بلاکرهای گیرنده آنژیوتانسی۱ (AT_1R) مانند Losartan و یا از بلاکرهای پروتئاز TMPRSS2 مانند Nafamostat برای کاهش عفونت‌های کووید-۱۹ استفاده نمود؛ اگرچه تحقیقات بیشتری برای تأیید این داروها مورد نیاز است(شکل۳)[۱۰].



شکل ۳: ورود ویروس SARS-CoV2 به سلول میزبان ازطریق اتصال پروتئینS در سطح ویروس با گیرنده‌یACE2 در سطح سلول میزبان می‌باشد[۱۱]

بعد از ورود ویروس به سلول میزبان و حذف پو شش ویروس، ژنوم آن نسخه‌برداری و سپس ترجمه می شود. همانندسازی/ نسخه‌برداری ژنوم کروناویروس در غشاءهای سیتوپلاسمی رخ می‌دهد و با فرآیندهای سنتز مداوم و ناپیوسته RNA هماهنگ می‌باشد. یک کمپلکس پروتئین بزرگ متشکل از شانزده زیر واحد ویروسی و تعدادی پروتئین‌های سلولی توسط ژن رپلیکاز کد می‌شود. علاوه بر فعالیت‌های RNAپلیمراز وابسته به RNA، RNA هلیکاز و پروتئازها نیز در ویروس‌های RNAدار متداول هستند. رپلیکاز کروناویروس، انواع آنزیم‌های پردازش RNA را مانند اندوریبونوکلئاز توالی خاص، اگزوریبونوکلئاز ’3 به ’5، متیل ترانسفراز ’2-o-ribose، ADP ریبوز۱فسفاتاز را به‌کار می‌گیرد که این آنزیم‌ها در دیگر ویروس‌های RNA دار مشاهده نشده‌اند. شکل شماره ۴ چرخه زندگی کروناویروس‌جدید را نشان می‌دهد[۷].



شکل ۴: چرخه زندگی SARS-CoV2 در سلول‌های میزبان. گلیکوپروتئین‌های S ویروسی به گیرنده‌ی ACE2 سلول میزبان متصل شده و از طریق مسیر اندوزومی وارد سلول می‌شود. بعد از ورود ویروس به سلول میزبان، RNAی ویروس در سیتوپلاسم سلول میزبان رها می‌گردد. *ORF1a* و *ORF1ab* برای تولید پلی پروتئین‌های PP1a و PP1ab ترجمه می شوند و توسط پروتئازهای RTC برش می‌خورند. در طول همانندسازی، RTC تولید کپی‌های RNA منفی با طول کامل را تحریک می‌کند و از آن به عنوان الگو برای ژنوم RNA مثبت با طول کامل استفاده می‌نماید. در طول نسخه‌برداری، مجموعه‌ای از RNAهای Sub-genomic (sgRNAs) با روش ناسخه‌برداری متناوب تولید می شوند. این sgRNAها دارای چندین قالب باز خوانش(*ORF*) می‌باشند ولی تنها نزدیک‌ترین *ORF* به انتهای ’5 ترجمه می‌شود. بعد از تولید و ساخت پروتئین‌های ساختاری SARS-Cov2،نوکلئوکپسیدها در سیتوپلاسم سرهم بندی می شوند و به درون لومن شبکه اندوپلاسمی- گلژی جوانه می‌زنند. در نهایت ویریون‌ها از طریق اگزوسیتوز از سلول آلوده به بیرون از سلول رها می‌شوند[۷].

پیام به عموم: کروناویروس‌جدید بعد از آلوده‌کردن سلول میزبان با استفاده از ماشین همانندسازی آن، سلول میزبان را به کارخانه ویروس‌سازی تبدیل می‌کند. در همین زمان است که گلبول‌های سفید و سایر سلول‌های سیستم ایمنی بدن بر علیه ویروس وارد عمل می‌شوند. اما در افراد با سن ۶۵ سال به بالا و افرادی که شرایط سلامتی مناسبی ندارند، تعداد کم گلبول‌های سفید و سایر سلول‌های سیستم ایمنی باعث می‌شود این افراد راحت‌تر بیمار شوند؛ لیکن افراد جامعه می‌توانند با رعایت فاصله اجتماعی و پروتکل‌های بهداشتی ارائه شده توسط ستاد مقابله با کرونا، هم خود را از آلودگی با کروناویروس محفوظ بدارند هم احتمال ابتلای افراد آسیب‌پذیر را به کروناویروس‌جدید کاهش دهند.

پیام به محققان: ژنوم انسان از بیش از سه میلیارد جفت باز تشکیل شده است و توالی ژنومی افراد جامعه ۹۹,۹ درصد شباهت دارند و تنها در ۰,۱ درصد متفاوت می‌باشند که همین تفاوت اندک ژنتیکی در افراد جامعه همان فاکتوری است که تفاوت مشاهده شده در میزان آلودگی ویروسی و مقاومت به ویروس را در افراد جامعه توضیح می‌دهد. بنابراین با بررسی و شناسایی ژنتیک افراد مستعد به بیماری می‌توان افراد مستعدتر را شناسایی و با مراقبت‌های ویژه از ابتلای آن‌ها به بیماری جلوگیری نمود.

منابع

1. Sigrist, C.J., A. Bridge, and P. Le Mercier, *A potential role for integrins in host cell entry by SARS-CoV-2.* Antiviral Research, 2020. **177**: p. 104759.
2. Bojkova, D., et al., *SARS-CoV-2 and SARS-CoV differ in their cell tropism and drug sensitivity profiles.* bioRxiv, 2020.
3. Alanagreh, L.a., F. Alzoughool, and M. Atoum, *The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms.* Pathogens, 2020. **9**(5): p. 331.
4. Gao, Y., et al., *Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus.* Science, 2020.
5. Mousavizadeh, L. and S. Ghasemi, *Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis.* Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 2020.
6. Han, Q., et al., *Coronavirus 2019-nCoV: A brief perspective from the front line.* Journal of Infection, 2020. **80**(4): p. 373-377.
7. HASÖKSÜZ, M., S. KILIÇ, and F. SARAÇ, *Coronaviruses and SARS-COV-2.* Turkish Journal of Medical Sciences, 2020. **50**(SI-1): p. 549-556.
8. Kumar, S ,.et al., *Structural, glycosylation and antigenic variation between 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) and SARS coronavirus (SARS-CoV).* Virusdisease, 2020: p. 1-9.
9. Jin, Z., et al., *Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors* .bioRxiv, 2020.
10. Sah, R., et al., *Complete genome sequence of a 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) strain isolated in Nepal.* Microbiology Resource Announcements, 2020. **9**.(۱۱)
11. Naskalska, A., et al., *Membrane Protein of Human Coronavirus NL63 Is Responsible for Interaction with the Adhesion Receptor.* Journal of virology, 2019. **93**(19): p. e00355-19.