

Біологічні науки

УДК 577

Бабенко Віталій Олегович

асистент кафедри біомедичної кібернетики

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Бабенко Виталий Олегович

ассистент кафедры биомедицинской кибернетики

Национальный технический университет Украины

«Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского»

Babenko Vitalii

Assistant of the Department of Biomedical Cybernetics

National Technical University of Ukraine

"Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Грініх Катерина Андріївна

студентка кафедри біомедичної кібернетики

Національного технічного університету України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Гриних Екатерина Андреевна

студентка кафедры биомедицинской кибернетики

Национального технического университета Украины

«Киевский политехнический институт имени Игоря Сикорского»

Hrinikh Kateryna

Student of the Department of Biomedical Cybernetics of the

National Technical University of Ukraine

"Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

**БУДОВА S-БІЛКУ SARS-CoV-2 ТА ОСОБЛИВОСТІ ЙОГО
ЗВ'ЯЗУВАННЯ ІЗ РЕЦЕПТОРОМ ACE2
СТРОЕНИЕ S-БЕЛКА SARS-CoV-2 И ОСОБЕННОСТИ ЕГО
СВЯЗАНИЯ С РЕЦЕПТОРОМ ACE2
STRUCTURE OF SARS-CoV-2 S-PROTEIN AND FEATURES OF ITS
BINDING WITH ACE2 RECEPTOR**

Анотація. У роботі проаналізовано будову S-білку SARS-CoV-2 та особливості його зв'язування із рецептором ACE2, досліджено взаємозв'язок із рецептор-зв'язуючим доменом та проаналізовано основні блокатори ферменту ACE2.

Ключові слова: коронавірус, S-білок, рецептор-зв'язуючий домен, ACE2, SARS-CoV-2, геном, блокатор, фермент, реплікація вірусу.

Аннотация. В работе проанализировано строение S-белка SARS-CoV-2 и особенности его связывания с рецептором ACE2, исследована взаимосвязь с рецептор-связывающим доменом и проанализированы основные блокаторы фермента ACE2.

Ключевые слова: коронавирус, S-белок, рецептор-связывающий домен, ACE2, SARS-CoV-2, геном, блокатор, фермент, репликация вируса.

Summary. The structure of S-protein SARS-CoV-2 and features of its binding to the ACE2 receptor were analyzed, the relationship with the receptor-binding domain was investigated and the main ACE2 enzyme blockers were analyzed.

Key words: coronavirus, S-protein, receptor-binding domain, ACE2, SARS-CoV-2, genome, blocker, enzyme, virus replication.

Вступ. Короновіруси – це сімейство респіраторних вірусів, що здебільшого вражають органи дихання. Однак вони також можуть впливати

на роботу печінки, нирок, кишечника, нервової та зорової сенсорної системи і серця. Перебіг хвороби індивідуальний, у когось вона проявляється у якості застуди, а у когось у вигляді тяжкого респіраторного синдрому із необхідністю підключення до апарату штучної вентиляції легень.

Прийнято вважати, що вірус передається лише респіраторним шляхом, однак досліді показали, що SARS-CoV-2 має додаткові способи проникнення в організм людини і може вражати плаценту [1, с. 16].

Коронавіруси мають надзвичайно великі геноми РНК. Додаткові білки коронавірусу — це дуже варіабельні набори специфічних для вірусу білків, які демонструють обмежене збереження навіть у окремих видів, але в основному вважають, що вони сприяють модуляції відповідей господаря на інфекцію і є детермінантами вірусної патогенності. Тим не менш, молекулярні функції багатьох додаткових білків залишаються значною мірою невідомими через відсутність гомології з допоміжними білками інших коронавірусів або з іншими відомими білками.

Основними структурними білками SARS-CoV-2 є спайкові (S), мембранні (M), оболонка (E) та нуклеокапсидні (N) білки. Вірус використовує механізми організму, у якому знаходиться для виробництва своєї ліпідної оболонки, яка усяяна кількома S-білками, що надає вірусу короноподібний вигляд (рис.1).

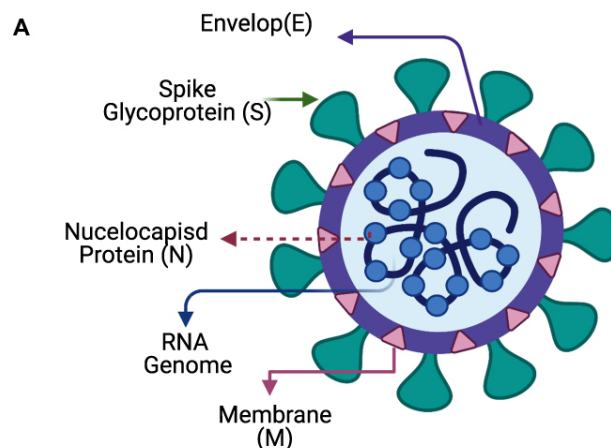


Рис. 1. Структурна будова SARS-CoV-2

Постановка задачі. S-білок відіграє вирішальну роль у сприянні приєднанню клітин і злиттю вірусу з мембраною-господарем; він тримерний і містить два різних домени, RBD на аміно-кінці субодиниці S1 і карбокси-кінцевий домен (CTD) субодиниці S2, який відповідає за злиття мембран. Початкові етапи зараження коронавірусом включають специфічне зв’язування білка коронавірусу spike (S) з рецепторами входу в клітину, які були ідентифіковані для кількох коронавірусів і включають людську амінопептидазу N (APN; HCoV-229E), ангіотензин-перетворюючий фермент 2 (ACE2; HCoV-NL63, SARS-CoV і SARS-CoV-2) і дипептидилпептидазу (DPP4; MERS-CoV). Отже, експресія та розподіл тканин вхідних рецепторів впливають на тропізм і патогенність вірусу. Під час внутрішньоклітинного життєвого циклу (рис.) коронавіруси експресують і реплікують свою геномну РНК, щоб отримати повнорозмірні копії, які вбудовуються в новостворені вірусні частинки

Особливість будови S-білку. З розміром 180–200 кДа S-білок складається з позаклітинного N-кінця, трансмембранного (ТМ) домену, закріпленого у вірусній мембрані, та короткого внутрішньоклітинного С-кінцевого сегмента. S-білок зазвичай існує в метастабільній, попередньо злитій конформації; після того, як вірус взаємодіє з клітиною-хазяїном, відбувається обширна структурна перебудова S-білка, що дозволяє вірусу зливатися з мембраною клітини-хазяїна. Шипи покриті молекулами полісахариду, щоб замаскувати їх, уникаючи спостереження за імунною системою господаря під час входу.

Загальна довжина S-білка становить 1273 аа і складається з сигнального пептиду (амінокислоти 1–13), розташованого на N-кінці, субодиниці S1 (14–685 залишків) та субодиниці S2 (686–1273 залишки); останні дві області відповідають за зв’язування рецепторів і злиття мембран відповідно.

Тримери S-білків візуально утворюють характерний цибулинний, схожий на корону ореол, що оточує вірусну частинку (рис.2).

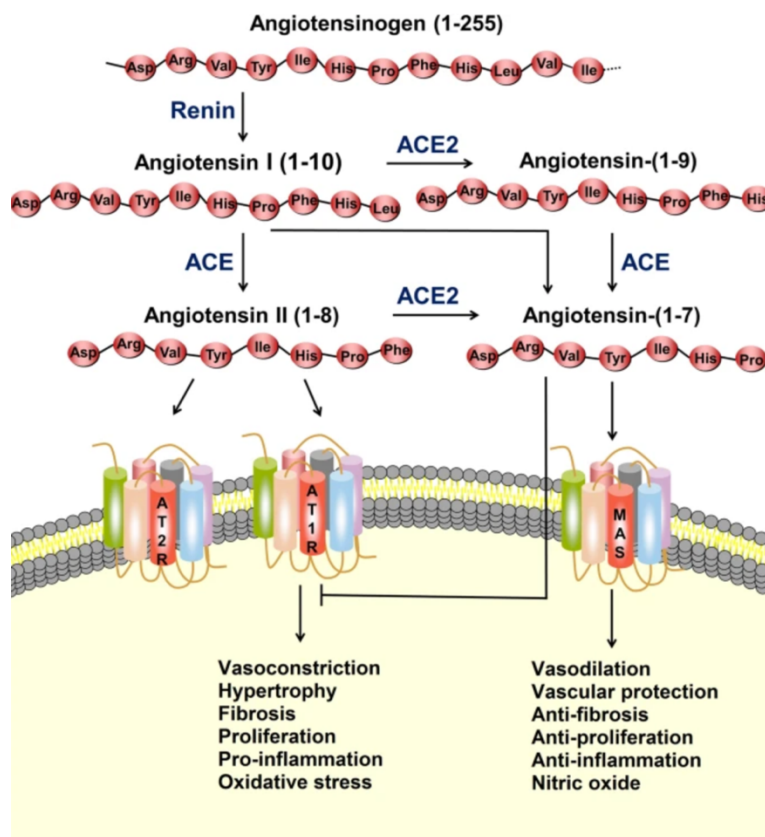


Рис. 2. Структура S-білка SARS-CoV-2

Виходячи зі структури мономерів білка коронавірусу S, субодиниці S1 і S2 утворюють цибулинні області голови та стебла [2]. Структура тримерного білка S SARS-CoV-2 була визначена за допомогою кріо-електронної мікроскопії на атомному рівні, виявивши різні конформації домену S RBD у відкритому та закритому станах та його відповідні функції.

Домен, що зв'язує рецептори. Рецептор-зв'язуючий домен (RBD) – це короткий імуногенний фрагмент вірусу, який зв'язується зі специфічною послідовністю ендogenous рецептора для проникнення в клітини-господарі. Зокрема, вони відносяться до частини «колосового» глікопротеїну (S-домен), який необхідний для взаємодії з ендogenous рецепторами для полегшення злиття мембран і доставки до цитоплазми. Як правило, S-домен також є місцем нейтралізуючих антитіл. Всього в RBD

виявлено дев'ять залишків цистеїну, вісім з яких утворюють чотири пари дисульфідних зв'язків, які розщеплюються в кінцевій моделі. Серед цих чотирьох пар три є в ядрі (Cys336 – Cys361, Cys379 – Cys432 та Cys391 – Cys525), які допомагають стабілізувати структуру β листа (рис. 1в); пара, що залишилася (Cys480–Cys488) з'єднує петлі в дистальному кінці RBM. N-кінцевий пептидазний домен ACE2 має дві частки, утворюючи між ними сайт зв'язування пептидного субстрату [5, с. 22].

Зв'язування S-білку з ACE2. Велика кількість глікозильованих S-білків покриває поверхню SARS-CoV-2 і зв'язується з рецептором клітини-хазяїна, ангіотензин-перетворюючого ферменту 2 (ACE2), опосередковуючи проникнення вірусної клітини.

ACE2 є життєво важливим елементом біохімічного шляху, який має вирішальне значення для регулювання таких процесів, як артеріальний тиск, загоєння ран та запалення, що називається шляхом ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС).

Коли білок S зв'язується з рецептором, серинова протеаза типу 2 ТМ, розташована на мембрані клітини-господаря, сприяє проникненню вірусу в клітину шляхом активації S-білка. Після того, як вірус потрапляє в клітину, вірусна РНК вивільняється, поліпротеїни переводяться з геному РНК, а реплікація та транскрипція геному вірусної РНК відбувається шляхом розщеплення білка та збірки комплексу репліказа - транскриптаза. Вірусна РНК реплікується, а структурні білки синтезуються, збираються і упаковуються в клітину-господаря, після чого вільні частинки виділяються.

Спайковий глікопротеїн на вірусній оболонці коронавірусу може зв'язуватися зі специфічними рецепторами на мембрані клітин-господарів. Попередні дослідження показали, що ACE2 є специфічним функціональним рецептором для SARS-CoV. Доведено, що SARS-CoV-2 може проникати в клітини, що експресують ACE2, але не в клітини без ACE2 або клітини, що експресують інші рецептори коронавірусу, такі як амінопептидаза N і

дипептидилпептидаза 4 (DPP4), підтверджуючи, що ACE2 є клітинним рецептором SARS-CoV-2. Подальші дослідження показали, що спорідненість зв'язування глікопротеїну спайку SARS-CoV-2 з ACE2 у 10–20 разів вища, ніж у SARS-CoV з ACE2.

Вважається, що механізм потрапляння вірусу в організм наступний: рецептор-зв'язуючий домен спайкового глікопротеїну зв'язується з кінчиком субдомену I ACE2. Мембранне злиття вірусу і клітини-господаря активується після зв'язування, і вірусна РНК згодом вивільняється в цитоплазму, встановлюючи інфекцію. Для інфекції SARS-CoV інтактний ACE2 або його трансмембранний домен інтерналізується разом з вірусом. Каталітично активний сайт ACE2 не закупорюється глікопротеїном-спайком, а процес зв'язування не залежить від активності ACE2 пептидази. Деякі трансмембранні протеїнази (такі як домен дезінтегрину та металопептидази 17 [ADAM17], трансмембранна протеаза серин 2 [TMPRSS2] та фермент, що перетворює TNF) та білки (такі як віментин та клатрин) можуть бути залучені до процесів зв'язування та злиття мембран. Наприклад, ADAM17 може розщеплювати ACE2, щоб викликати викид ектодомену, а TMPRSS2 може розщеплювати ACE2, щоб сприяти поглинанню вірусу.

Висновки. Було розглянуто будову S-білка SARS-CoV-2 та особливості його зв'язування із рецептором ACE2 за допомогою домену, що зв'язує рецептори. Також було проаналізовано механізм потрапляння вірусу в організм. Зокрема, реплікація вірусного генома ініціюється синтезом повнорозмірних геномних копій негативного сенсу, які функціонують як матриці для генерації нової позитивної геномної РНК.

Як результат, SARS-CoV насамперед спрямований на пневмоцити та макрофаги легенів у тканинах нижніх дихальних шляхів, де переважно експресується ACE2, що узгоджується із захворюванням нижніх дихальних шляхів, що виникає внаслідок інфекції SARS-CoV та обмеженого

поширення вірусу. І навпаки, SARS-CoV-2 активно реплікується в епітелії верхніх дихальних шляхів, де також експресується ACE2 і ефективно передається.

Література

1. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? / Yeo C, Kaushal S, Yeo D. 2020. С. 16-29.
2. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19 / Wentao Ni, Xiuwen Yang, Deqing Yang, 2020. [Електронний ресурс].
3. Профилактика и контроль инфекционных заболеваний в первичном звене здравоохранения / А.Г. Румянцев. 2007. С. 48–55.
4. Академическая наука в борьбе с коронавирусной инфекцией / В.П. Чехонин. 2020.
5. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis / A.M. Kotlyar, O. Grechukhina, A. Chen, S. Popkhadze, A. Grimshaw, O. Tal, H.S. Taylor, R. Tal. 2020. P. 72-89.
6. Provisional Mortality Data / F.B. Ahmad, J.A. Cisewski, A. Miniño, R.N. Anderson. 2020. P. 17-40.
7. Study on global AGEing and adult health (SAGE) // World Health Organization (WHO). 2015. [Електронний ресурс].
8. Coronavirus Disease / E.K. Stokes, L.D. Zambrano, K.N. Anderson, E.P. Marder, K.M. Raz, S. El Burai Felix, Y. Tie, K.E. Fullerton. 2019. P. 285.
9. Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe / C. Gebhard, V. Regitz-Zagrosek, H.K. Neuhauser, R. Morgan, S.L. Klein. 2020. P. 28.
10. Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. Front Public Health / J.M. Jin, P. Bai, W. He, F. Wu, X.F. Liu, D.M. Han, S. Liu, J.K. Yang. 2020. P. 288.