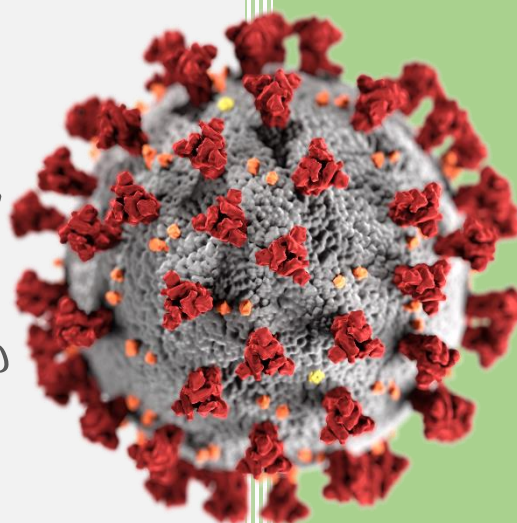


# دانشگاه تربیت مدرس



## دیدهبانی علمی بیماری کووید ۱۹

گزارش علمی



Scientific Report

### پروتئین‌ها و عملکرد آن‌ها در بیماری کووید ۱۹

دکتر پریسا نصرالهی<sup>۱</sup>، دکتر بهاره دبیرمنش<sup>۲</sup>، دکتر حسن جلیلی<sup>۳</sup>، دکتر خسرو خواجه<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>محقق پسادکتری، <sup>۲</sup>استادیار، <sup>۳</sup>استاد، گروه بیوشیمی دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس

[khajeh@modares.ac.ir](mailto:khajeh@modares.ac.ir)

<sup>۴</sup>استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فنون نوین دانشگاه تهران

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

۱۴ اردیبهشت ۱۳۹۹

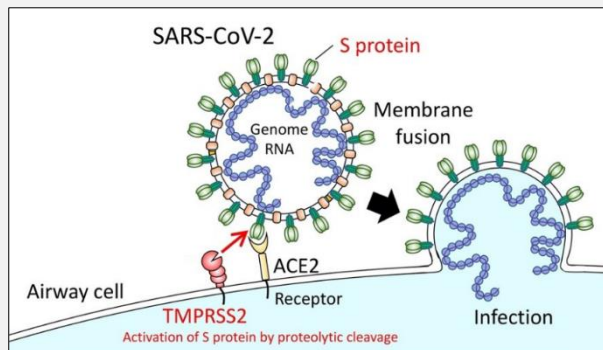
گروه مطالعات علم و فناوری - ۱۸

## مقدمه

شیوع یک بیماری تنفسی مشابه با بیماری ویروسی سارس در چین در اوایل دسامبر ۲۰۱۹ آغازگر تحقیقات گسترده برای شناسایی ویروس عامل این بیماری بود. پس از نمونه‌گیری از یکی از افراد مبتلا، ژنوم این ویروس توسط محققان تعیین توالی شد و به عنوان هفتمین عضو خانواده کروناویروس‌هایی که انسان را آلوده می‌کند SARS-CoV-2 یا ۲۰۱۹-nCoV نام‌گذاری شد. این ویروس مانند SARS-CoV و MERS-CoV، که به ترتیب عامل بیماری سارس و مرس هستند متعلق به جنس بتاکروناویروس‌ها می‌باشد [۱].

## ژنوم و پروتئین‌های گذشته ویروس

ویروس‌ها باید از سلول‌های زنده برای تکثیر و شیوع استفاده کنند. ویروس SARS-CoV-2 پس از ورود به بدن به گیرنده اختصاصی خود به نام ACE2 متصل می‌شود. این اتصال آغازگر یکسری از واکنش‌های برشی است که توسط آنزیم‌های موجود در سطح سلول میزبان انجام می‌شود. در نتیجه آن غشای ویروس با سلول میزبان ادغام می‌گردد و ژنوم ویروس به درون سلول میزبان وارد می‌شود (شکل ۱).



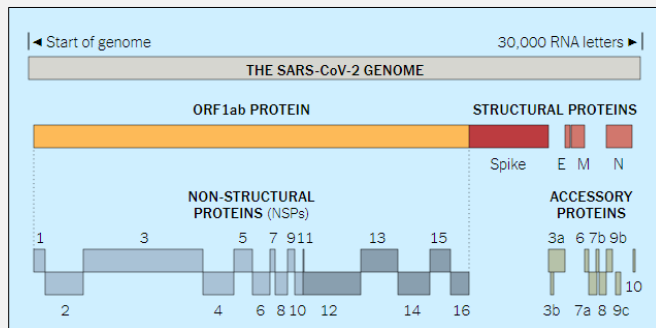
شکل ۱. تصویر شماتیک درباره نحوه ورود ویروس SARS-CoV-2.

ویروس از طریق یکی از پروتئین‌های سطحی خود به نام پروتئین S به گیرنده پروتئینی ACE2 متصل می‌شود. این اتصال باعث برش پروتئین S توسط آنزیم‌های سطح سلولی مانند آنزیم TMPRSS2 می‌گردد. در نتیجه این برش، ادغام غشایی بین ویروس و سلول صورت می‌گیرد و ژنوم ویروسی درون سیتوپلاسم سلول آزاد می‌شود.

ژنوم این ویروس یک RNA تک‌رشته‌ای با طول کمتر از ۳۰ Kb است. دانشمندان ژن‌های این ویروس را برای حدود ۲۹ پروتئین شناسایی کرده‌اند که این پروتئین‌ها مسئول انجام بسیاری از کارها از جمله ساخت نسخه‌های جدید کروناویروس تا سرکوب پاسخ‌های ایمنی بدن می‌باشند. اولین بخش از RNA ژنومی ویروس، دستگاه‌های داخل سلول میزبان را به کار می‌گیرد تا از روی ژنوم ویروس، پروتئین‌های کروناویروس را بسازند [۲]. اولین پروتئین ویروسی ایجادشده در سلول‌های آلوده است این پروتئین در واقع زنجیره‌ای از ۱۶ پروتئین مختلف غیرساختاری<sup>۱</sup> ویروس است که به هم پیوسته‌اند. ژن مربوط به این زنجیره پروتئینی حدود دوسوم از ژنوم ویروس را تشکیل می‌دهد. دو عدد از این ۱۶ پروتئین

<sup>۱</sup> Nonstructural protein

مانند قیچی عمل می‌کنند و ارتباط بین پروتئین‌های مختلف زنجیره پلی‌پپتیدی را قطع می‌کنند و بدین ترتیب آن‌ها آزاد می‌شوند تا وظایف خودشان را به عنوان پروتئین‌های غیرساختاری (NSP) ویروس انجام دهند. یک سوم دیگر ژنوم، حاوی ژن‌های مربوط به پروتئین‌های ساختاری ویروس به ترتیب پروتئین سنبله<sup>۲</sup> (S)، E، M و N می‌باشد. علاوه بر این چندین ژن مربوط به پروتئین‌های جانبی ویروس در فواصل ژن‌های پروتئین‌های ساختاری قرار دارند (شکل ۲).



شکل ۲. تصویر شماتیک از ژنوم خطی کروناویروس SARS-

CoV-2 و ژن‌های کدکننده پروتئین‌های ویروسی. از روی دوسوم ابتدایی ژنوم، پروتئین ORF1ab ساخته می‌شود که بعد از برش آن، ۱۶ پروتئین غیرساختاری ویروس ایجاد می‌گردد. یک سوم انتهای ژنوم، کدکننده پروتئین‌های ساختاری و پروتئین‌های کمکی ویروس است.

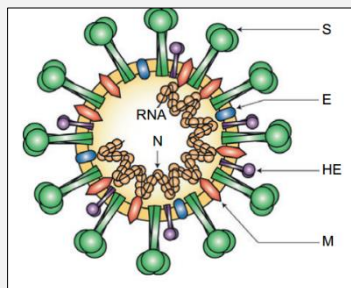
تحقیقات در مورد سایر کروناویروس‌ها درک خوبی از آنچه برخی از پروتئین‌های SARS-CoV-2 انجام می‌دهند به دانشمندان داده‌است. اما هنوز پروتئین‌هایی با عملکرد ناشناخته وجود دارند. در ادامه، عملکرد ۱۶ پروتئین غیرساختاری کروناویروس به اختصار گفته می‌شود [۳].

پروتئین NSP1 باعث کاهش تولید پروتئین‌های خاص سلول‌های میزبان از طریق از بین بردن mRNA‌های مربوط به آن‌ها می‌شود. ویروس از این طریق از سیستم پروتئین‌سازی سلول میزبان برای ساخت پروتئین‌های خاص خودش استفاده می‌کند. از سوی دیگر این پروتئین در توقف سیستم ایمنی ذاتی سلول نقش دارد. عملکرد پروتئین NSP2 ناشناخته است. NSP3 پروتئینی بزرگ است که دو وظیفه مهم دارد. یکی بریدن دیگر پروتئین‌های ویروسی تا بتوانند وظایف خود را انجام دهند و کار دیگر آن متوقف کردن سیستم ایمنی ذاتی سلول میزبان و افزایش بیان سایتوکاین‌هاست. NSP5 پروتئینی با عملکرد برشی مانند NSP3 است. داروی ضدویروسی Kaletra (مهارکننده پروتئازی برای ویروس HIV) از جمله داروهایی است که عملکرد مهاری آن بر روی NSP5 ویروس SARS-CoV-2 بررسی می‌شود. NSP6 همراه با NSP3 و NSP4 از طریق بازآرایی غشایی سلول میزبان وزیکول‌هایی را می‌سازد که بر روی آن ماشین همانندسازی-رونویسی ویروس مونتاژ و محکم می‌شود. NSP7 و NSP8 به NSP12 کمک می‌کند تا نسخه‌های جدیدی از ژنوم RNA تولید کند، که در نهایت می‌تواند به ویروس‌های جدید ختم شوند. NSP9 کانال‌های کوچکی را در هسته سلول‌های آلوده ایجاد می‌کند. این امر ممکن است بتواند بر حرکت مولکول‌ها در داخل و خارج از هسته تأثیر بگذارد، اما برای چه هدفی هنوز

<sup>2</sup> Spike

مشخص نیست. سلول‌های انسانی پروتئین‌های ضدویروسی دارند که RNA ویروسی را پیدا می‌کنند و آن را خرد می‌کنند. NSP10 با NSP16 برای استتار ژن‌های ویروس کار می‌کند تا به آن‌ها از طرف سیستم ایمنی ذاتی سلول حمله نشود. NSP12 با عملکرد RNA پلیمرازی رونوشت‌های ژنوم ویروسی را آماده می‌کند و در واقع دستگاه کپی ویروس است. محققان دریافته‌اند که داروی ضدویروسی Remdesivir در عملکرد NSP12 در سایر کروناویروس‌ها تداخل ایجاد می‌کند، و اکنون آزمایشات در حال انجام است تا ببیند آیا این دارو می‌تواند کووید ۱۹ را درمان کند یا خیر. علاوه بر این، داروی Favipiravir که به عنوان مهارکننده RNA پلیمرازی برای ویروس آنفلانزا در ژاپن استفاده می‌شود در حال حاضر در مورد درمان بیماری کووید ۱۹ مطرح است. عملکرد پروتئین NSP11 به عنوان یکی از کوچکترین پروتئین‌ها، مشخص نیست. به طور معمول، ویروس RNA پیچ و تاب پیچیده‌ای دارد. دانشمندان گمان می‌کنند NSP13 ژنوم پیچ و تاب‌خورده ویروس را باز می‌کند تا پروتئین‌های دیگر بتوانند توالی آن را بخوانند و نسخه‌های جدیدی از روی آن بسازند. NSP14 با فعالیت ریبونوکلازی، تصحیح‌کننده خوانش توالی ویروسی است و خطاهای احتمالی NSP12 را در هنگام خواندن ژنوم ویروس و همانندسازی آن کاهش می‌دهد. محققان گمان می‌کنند که NSP15، RNA باقیمانده ویروس را با فعالیت اندوریبونوکلازی به عنوان روشی برای پنهان شدن از دفاع ضد ویروسی سلول خرد می‌کند [۳،۴]. در جدول شماره ۱ عملکرد پروتئین‌های غیرساختاری NSP‌های مختلف بطور خلاصه آورده شده است.

پروتئین سنبله (S) یکی از چهار پروتئین ساختاری یعنی پروتئین‌های S، E، M و N است که این پروتئین‌ها با هم لایه بیرونی کروناویروس را تشکیل می‌دهند و از RNA ژنومی ویروس محافظت می‌کنند. علاوه بر این پروتئین‌های ساختاری به مونتاژ و رهایش نسخه‌های جدید ویروس کمک می‌کنند [۵]. پروتئین‌های S با آرایش خود در گروه‌های سه‌تایی، برجستگی‌هایی را روی سطح ویروس تشکیل می‌دهند. این سنبله‌های تاج‌مانند علت نام‌گذاری کروناویروس‌ها هستند (شکل ۳). در جدول شماره ۲ عملکرد پروتئین‌های ساختاری بطور خلاصه آورده شده است.



شکل ۳. تصویر شماتیک از کروناویروس SARS-CoV-2 و پروتئین‌های ساختاری آن

ویروس SARS-CoV-2 از طریق پروتئین سنبله (spike) به گیرنده پروتئینی ACE2 سلول هدف متصل می‌شود که این گیرنده روی سلول‌های خاص در مجاری هوایی انسان ظاهر می‌شود. علاوه بر این پروتئین S در فرآیند ادغام غشایی ویروس با غشای سلول هدف و در نتیجه ورود ژنوم ویروس نقش کلیدی دارد. مطالعات نشان می‌دهد که ژن پروتئین سنبله در ویروس SARS-CoV-2 دارای یک تغییر ۱۲ نوکلئوتیدی CCUCGGCGGGCA است. این جهش ممکن است باعث شود که سنبله‌های این ویروس به گیرنده ACE2 سلول‌های انسانی محکم متصل شوند. هم‌اکنون تعدادی از تیم‌های علمی به دنبال طراحی داروها و واکسن‌هایی هستند تا مانع از اتصال سنبله ویروس SARS-CoV-2 به سلول‌های انسانی شوند [۶،۷].

جدول ۱. عملکرد پروتئین‌های غیرساختاری

عملکرد	پروتئین‌های غیرساختاری
تخریب mRNAهای سلول میزبان و مهار مسیر علامت‌دهی اینترفرونی <sup>۳</sup>	NSP1
ناشناخته	NSP2
پروتئاز PLP (آنزیم برش‌دهنده)، متوقف کردن پاسخ ایمنی ذاتی سلول میزبان، افزایش بیان سایتوکاین	NP3
تشکیل وزیکول‌های DMV <sup>۴</sup>	NSP4
پروتئاز M <sup>pro</sup> ، 3CL <sup>pro</sup> (آنزیم‌های برش‌دهنده) و مهار مسیر علامت‌دهی اینترفرونی	NSP5
محدود کردن بزرگ شدن اتوفاگوزوم <sup>۵</sup> ، تشکیل DMV	NSP6
کوفاکتور با NSP8 و NSP12	NSP7
کوفاکتور با NSP7 و NSP12، پرایمیز <sup>۶</sup>	NSP8
دایمری کردن و اتصال به RNA	NSP9
پروتئین داربست برای NSP14 و NSP16	NSP10
ناشناخته	NSP11
RNA پلیمرز وابسته به RNA (RdRp)	NSP12
RNA هلیکاز، 5' تری فسفاتاز	NSP13
اگزوریبونوکلئاز، N7-متیل ترانسفراز <sup>۷</sup>	NSP14
اندوریبونوکلئاز، فرار از حسگرهای تشخیص RNA دو رشته‌ای	NSP15
تنظیم سیستم ایمنی ذاتی به طور منفی و جلوگیری از تشخیص ویروس توسط MDA5	NSP16

<sup>3</sup> IFN signaling

<sup>4</sup> Double-membrane vesicle

<sup>5</sup> Autophagosomes

<sup>6</sup> Primase

<sup>7</sup> N7-MTase

جدول ۲. عملکرد پروتئین‌های ساختاری

عملکرد	پروتئین‌های ساختاری
شناسایی و اتصال به گیرنده سطح سلول و ادغام غشایی	پروتئین سنبله (S)
مونتاز و جوانه زدن ویروس	پروتئین E
سازمان‌دهی فرآیند مونتاز، جوانه زدن ویروسی و مهار مسیر علامت‌دهی اینترفرونی	پروتئین M
فشرده کردن ژنوم ویروسی، مونتاز ویروس، جلوگیری از شناسایی RNA ژنومی توسط سیستم ایمنی ذاتی سلول و مهار مسیر علامت‌دهی اینترفرونی	پروتئین N

### پیام برای مردم

نظر به اهمیت بیماری کووید ۱۹، شناخت ساختار و فعالیت پروتئین‌های ویروسی اهمیت فراوانی می‌یابد. معمولا طراحی داروها و ساخت انواع واکسن، زمانی ممکن است که شناخت مولکولی تمام اجزاء ویروس میسر گردد. این موجود ساده، چنان پیچیدگی یافته که می‌تواند بیماری مرموزی در سطح جهان ایجاد کند. اما اطمینان داریم مخلوق هوشمند، حتما راهی برای مبارزه با آن پیدا می‌نماید و دیری نمی‌پاید که مردم عزیز دوباره در آزادی کامل همچون گذشته مراودات اجتماعی را شروع خواهند کرد. دارو ساخته می‌شود و واکسن به بازار می‌آید و این همان پیشرفت علمی‌ست که از تجربه‌ها استفاده بهینه می‌کند.

### پیام برای سیاست‌گذاران

مطالعات ژنومیکس و پروتئومیکس توأمان، کمک شایانی به کشف داروهای جدید بطور عموم و برای کووید ۱۹ بطور اخص می‌نماید. همین امر لزوم تجهیز آزمایشگاه‌های مرتبط در مراکز علمی را دوچندان می‌سازد. امروزه از منظر نرم‌افزاری، محققین کشور اگر از محققین سایر ملل پیشرفته بهتر نباشند قطعاً کمتر نیز نبوده و لذا تأمین تجهیزات می‌تواند توان رقابت ما در مرزهای دانش را دوچندان نماید.

## منابع

- [1] T. Singhal, A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19), *Indian Journal of Pediatrics*. 87 (2020) 281–286.
- [2] E.J. Snijder, E. Decroly, J. Ziebuhr, *The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing*, 1st ed., Elsevier Inc., 2016.
- [3] Y. Chen, Q. Liu, D. Guo, Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis, *Journal of Medical Virology*. 92 (2020) 418–423.
- [4] D.E. Gordon, G.M. Jang, M. Bouhaddou, J. Xu, K. Obernier, M.J. O’meara, J.Z. Guo, D.L. Swaney, T.A. Tummino, R. Huttenhain, A SARS-CoV-2-human protein-protein interaction map reveals drug targets and potential drug-repurposing, *BioRxiv*. (2020).
- [5] E.A. J Alsaadi, I.M. Jones, Membrane binding proteins of coronaviruses, *Future Virology*. 14 (2019) 275–286.
- [6] M. Hoffmann, H. Kleine-Weber, S. Schroeder, N. Krüger, T. Herrler, S. Erichsen, T.S. Schiergens, G. Herrler, N.H. Wu, A. Nitsche, M.A. Müller, C. Drosten, S. Pöhlmann, SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor, *Cell*. (2020) 1–10.
- [7] E. Qing, T. Gallagher, SARS Coronavirus Redux, *Trends in Immunology*. 41 (2020) 271–273.