

## COVID-19 Araştırmalarında Yapısal Biyolojinin Yeri

Dr. Burak V Kabasakal  
Ankara Üniversitesi, Hızlandırıcı Teknolojileri Enstitüsü  
[bvkasakal@ankara.edu.tr](mailto:bvkabasakal@ankara.edu.tr)

Virüsler temel olarak RNA veya DNA gibi küçük nükleik asit içeren paket yapılarıdır. Hücreler DNA parçalarının kopyalarını RNA adı verilen farklı bir nükleik asit formunda yaparlar ve bunu protein üretmek için kullanırlar. COVID-19'a neden olan Sars-CoV-2 virüsünün genetik materyali RNA'dır. Enfekte olduğumuzda, RNA virüsleri hücrelerimizi daha fazla RNA yapmak için konak olarak kullanmanın yanında kendi RNA'sını korumak ve yeni hücreleri enfekte etmek için proteinler üretir. Bu proteinler COVID-19'u engellemek amacıyla geliştirilmeye aday aşı ve ilaçlar için başlıca hedeflerdir.

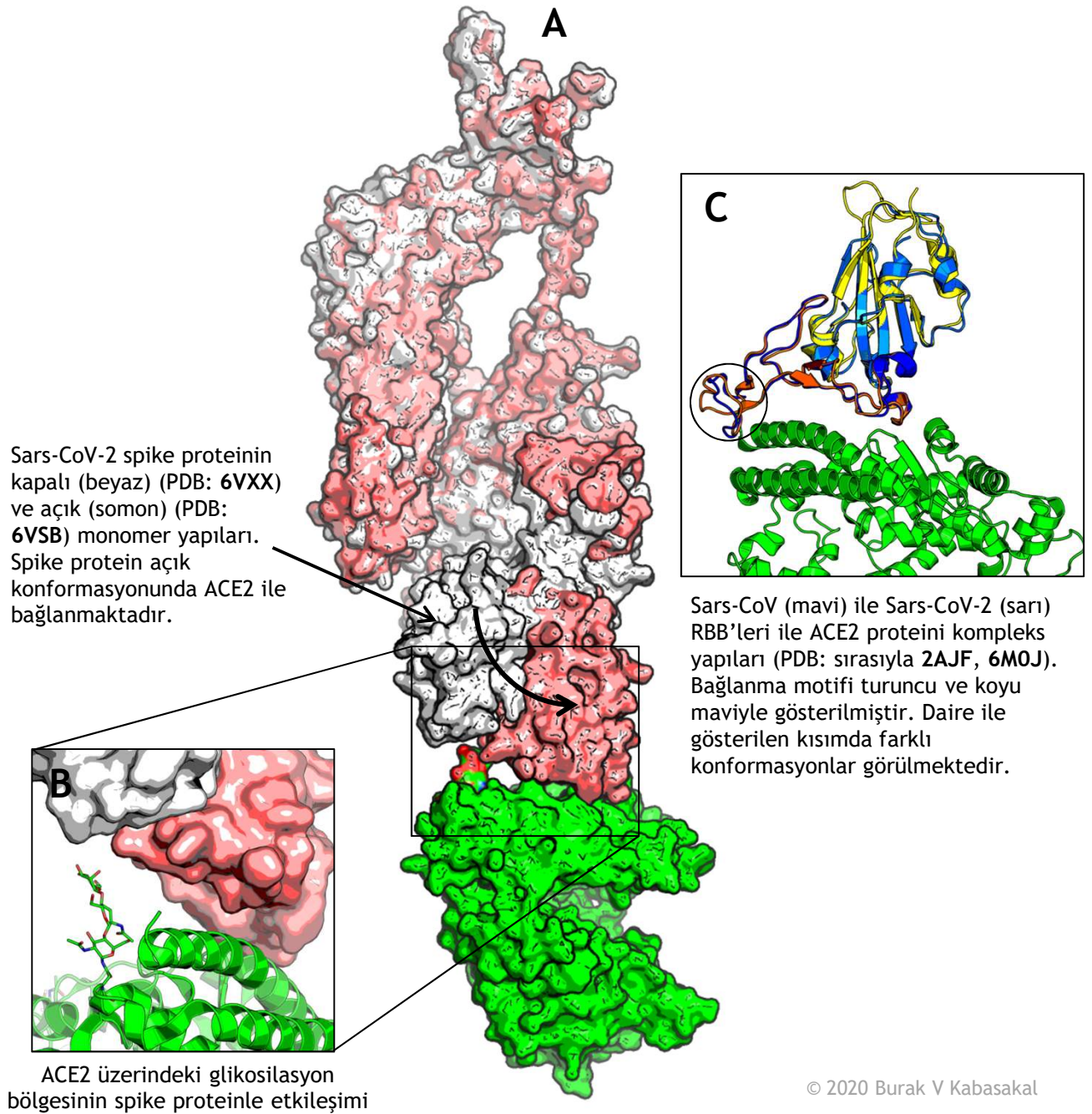
Geldiğimiz noktada, virüsü oluşturan proteinlerin birçoğu, nasıl biraraya geldikleri, enfeksiyon sürecinin nasıl işlediği ve bu süreci nasıl bozabileceğimiz hakkında fikir sahibiyiz. Bunda başta protein kristalografisi, elektron mikroskopisi (EM) ve NMR spektroskopisi olmak üzere, tamamlayıcı teknikleri (kütle spektrometresi gibi) ve hesaplamalı yöntemleri kapsayan yapısal biyolojinin azımsanmayacak bir katkısı vardır.

Protein yapılarının toplandığı veri tabanında ( [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) ) güncel olarak COVID-19 ile ilgili 107 adet protein yapısı bulunmaktadır. Bunların 5'i düşük sıcaklıklarda biyolojik yapıların doğala özdeş durumunda yapısal incelenmesine olanak sağlayan elektron mikroskopi yöntemi olan Cryo-EM ile, diğerleri X-ışını kristalografisi yöntemi ile belirlenmiştir. Örneğin, yeni tip koronavirüse adını veren ve taç (korona Latince taç anlamında) şeklini andıran Sars-CoV-2 (ya da 2019-nCoV) spike proteininin yapıları Cryo-EM ile belirlenmiş ve reseptör bağlanma bölgesinin (RBB) iki farklı (açık ve kapalı) konformasyonu ortaya çıkmıştır (Şekil 1A). Proteinin reseptöre, yani spike proteinin ana hedefi olan ve solunum sistemimizdeki hücrelerde yaygın bulunan ACE2 adı verilen bir proteine bağlanması için konformasyonel bir değişikliğe uğradığı düşünülmektedir (Şekil 1A) [1, 2]. Bu bulgunun yanında bu spike glikoproteininin 22 glikosilasyon noktasından birçoğu doğrulanmıştır [1, 2, 3]. Ayrıca ACE2 ve spike proteinin RBB kısmının kompleks halindeki kristal yapısı ile, ACE2 üzerindeki glikanların da etkileşimde rol aldığı öngörülmektedir (Şekil 1B) [4, 5]. Dolayısıyla ilaç ve aşı geliştirmede glikan etkileşimlerinin etkisi göz ardı edilmemelidir. Sars-CoV ile Sars-CoV-2 (2019-nCoV) RBB'leri karşılaştırıldığında bağlanma motifindeki amino asitler farklılaşsa da yapılarının çok benzer olduğu görülmüştür (Şekil 1C) [4, 5, 6]. Dolayısıyla konformasyonda ve sekanstaki küçük değişiklikler spike proteinlerin ACE2 proteinine olan afinitesinde farklılıklara yol açabilmektedir [5]. Bu yapısal ve biyokimyasal bulgular mutasyon çalışmaları, inhibitör tasarımı, ve aşı araştırmalarında ön bilgi sağlayacaktır. Ayrıca virüsün membran kaynaşması yoluyla insan hücresine girerken protein komplekslerinin konformasyonel değişikliği konusunda edinilecek yapısal bilgi de bunu engellemek için moleküler stratejiler geliştirmede yol gösterici olacaktır.

Enfeksiyonu durdurma stratejilerinden biri de viral proteazların etkisiz hale getirilmesidir. Proteazlar, terapötik moleküler inhibitörler olarak bilinen ilaçların hedefi konumundadır. Sars-CoV-2 ana proteazı olan M<sup>pro</sup> veya 3CL<sup>pro</sup> ile ilgili 84 kristal yapı yayınlanmış ve bunların birçok aday inhibitörle etkileşimi incelenmiştir [7, 8, 9].

Spike protein ve proteazlar gibi hedef proteinlerin yanında yeni tip koronavirüs RNA polimeraz, metiltransferaz, ADP riboz fosfataz, RNA bağlanma proteinleri ve bir antikor bağlı Sars-CoV-2 RBB yapıları da ayrıca son bir ay içinde yayınlanmıştır [10].

Yapısal biyoloji ışığında yapılan bu araştırmaların sonuçları ilerki çalışmalara alt yapı sağlayacak ve virüsle olan savaşta bilim insanlarına yol gösterecektir.



**Şekil 1.** Trimerik Sars-CoV-2 spike proteinin kapalı (beyaz) (PDB: 6VXX) ve açık (somon) (PDB: 6VSB) monomer yapıları ile ACE2 proteini (PDB: 2AJF, 6MOJ) kompleksi modeli

#### Kaynaklar

1. Wrapp et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation, *Science* 13 Mar 2020: Vol. 367, Issue 6483, pp. 1260-1263 DOI: 10.1126/science.abb2507
2. Walls et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein, *Cell* (2020), Vol. 180, pp 1-12 DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058
3. Yan et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2, *Science* 27 Mar 2020: Vol. 367, Issue 6485, pp. 1444-1448 DOI: 10.1126/science.abb2762
4. Lan et al., Crystal structure of the 2019-nCoV spike receptor-binding domain bound with the ACE2 receptor, *BioRxiv*, DOI: 10.1101/2020.02.19.956235
5. Shang, J. . et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*, DOI: 10.1038/s41586-020-2179-y (2020)
6. Li et al., Structure of SARS Coronavirus Spike Receptor-Binding Domain Complexed with Receptor, *Science*, 16 Sep 2005: Vol. 309, Issue 5742, pp. 1864-1868 DOI: 10.1126/science.1116480
7. Zhang et al., Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors, *Science* 20 Mar 2020: eabb3405, DOI: 10.1126/science.abb3405
8. Jin et al., The crystal structure of COVID-19 main protease in complex with an inhibitor N3, Yayınlanmamış, PDB: 6LU7
9. Fearon et al., PanDDA analysis group deposition of ground-state model of SARS-CoV-2 main protease screened against DSI poised (Enamine), Fraglites and Peplites (Newcastle university), Mini Frags (Astex), York 3D (York university), electrophile cysteine covalent (Weizman institute) fragment libraries, Yayınlanmamış, PDB: <http://www.rcsb.org/pdb/results/results.do?tabtoShow=Current&grid=BE58AAA0>
10. 6M71: 2019-nCoV RNA-dependent RNA polymerase in complex with cofactors, 6W41: Crystal structure of SARS-CoV-2 receptor binding domain in complex with human antibody CR3022, 6W61: Crystal Structure of the methyltransferase-stimulatory factor complex of NSP16 and NSP10 from SARS CoV-2, 6W6Y: Crystal Structure of ADP ribose phosphatase of NSP3 from SARS CoV-2 in complex with AMP, 6W75: 1.95 Angstrom Resolution Crystal Structure of NSP10 - NSP16 Complex from SARS-CoV-2, 6M3M: Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein N-terminal RNA binding domain, 6W4B: The crystal structure of Nsp9 RNA binding protein of SARS CoV-2, 6VYO: Crystal structure of RNA binding domain of nucleocapsid phosphoprotein from SARS coronavirus 2, 6LVN: Structure of the 2019-nCoV HR2 Domain
11. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.2r3pre, Schrödinger, LLC.