

Suche nach einer Schwachstelle im Abwehrmechanismus des Coronavirus

Die COVID-19-Pandemie forderte Millionen von Todesopfern. Trotz einer beispiellosen Forschungsk Kooperation, die dazu führte, dass in Rekordzeit wirksame Impfstoffe und Therapien hergestellt werden konnten, fehlt es noch immer an einem vollständigen Verständnis der Struktur und des Lebenszyklus des als SARS-CoV-2 bekannten Coronavirus. Forschende nutzten nun die Biolabore und das SPB/SFX-Instrument am European XFEL, um zu verstehen, wie sich die Hauptprotease (Mpro) des Virus vor Schäden durch Oxidation schützt. Die Ergebnisse liefern wichtige Erkenntnisse über SARS-CoV-2 und über die Virusbiologie im Allgemeinen.

Experimente am European XFEL zeigen, wie sich SARS-CoV-2 vor oxidativen Schäden schützt.

Zwischen Januar 2020 und März 2023 starben über sechs Millionen Menschen an der Atemwegserkrankung COVID-19, und mehrere hundert Millionen Menschen wurden infiziert. Die Krankheit wird durch SARS-CoV-2, ein Coronavirus, verursacht. „Coronaviren sind eine Gruppe von RNA-Viren“, erklärt Richard Bean, Wissenschaftler vom European XFEL. „Trotz ihrer großen Bedeutung für die menschliche Gesundheit gibt es noch viel über die Struktur und Funktion von Coronaviren im Allgemeinen und SARS-CoV-2 im Besonderen zu lernen.“

Als Reaktion auf den Ausbruch der Pandemie konzentrierten sich wissenschaftliche Organisationen auf der ganzen Welt auf die Untersuchung der Struktur, Dynamik und Funktion von SARS-CoV-2, um nach Impfstoffen und Therapien zu suchen. Aufgrund ihrer zentralen Rolle bei der Vervielfältigung des Virus kristallisierte sich die Hauptprotease Mpro bald als ein wichtiges Ziel für Medikamente heraus – Mpro ist ein Enzym, das neu gebildete Virusteile voneinander trennt. Für die Entwicklung von Medikamenten ist es attraktiv, weil es sich ferner von allen menschlichen Proteinen stark unterscheidet. Dadurch können Therapien gezielt zur Bekämpfung des Virus entwickelt werden und schädliche Nebenwirkungen für die Patienten vermindert werden.

Schon frühere Programme zur Entwicklung von Medikamenten gegen andere Viren waren mit viralen Proteaseinhibitoren erfolgreich, die die Aktivitäten der Proteasen unterdrücken. „Der Höhepunkt der COVID-19-Pandemie mag zwar vorbei sein, aber die Untersuchung des SARS-CoV-2-Virus ist nach wie vor von großem Wert“, betont Thomas Lane vom Center for Free-Electron Laser Science (CFEL) in Hamburg. „COVID stellt nach wie vor weltweit eine erhebliche Gesundheitsbedrohung dar. Angesichts der Hartnäckigkeit dieses Virus und des möglichen Auftretens zukünftiger Mutationen ist es unerlässlich, dass wir ein tiefes Verständnis von Mpro und seiner Rolle in der viralen Funktion entwickeln.“

In einem kürzlich durchgeführten Experiment an der SPB/SFX-Experimentierstation am European XFEL nutzten Lane und seine Kolleginnen und Kollegen den intensiven Röntgenstrahl zur Untersuchung von Mpro. Mehrere frühere Strukturstudien, die sich mit Mpro befassten, haben eine Reihe von Besonderheiten aufgezeigt. „Erstens bildet das Protein eine 3D-Struktur, die als Dimer bekannt ist, wenn es in hohen Konzentrationen vorkommt“, erklärt Robin Schubert von European XFEL, der am Experiment beteiligt war. „Dies scheint seine Aktivität direkt zu beeinflussen – aber wir wissen nicht genau, warum dies für das Virus wichtig ist.“

Neben den Erkenntnissen über die 3D-Struktur haben jüngste Studien zudem Hinweise auf die Bedeutung des zellulären Sauerstoffgehalts für die Proteaseaktivität geliefert. „Es scheint, dass selbst eine geringe Sauerstoffeinwirkung die Aktivität von Mpro verringert“, erklärt Patrick Reinke, ebenfalls vom CFEL. Wenn genügend Sauerstoff vorhanden ist, wird der Umsatz sogar ganz eingestellt. Dieser Prozess ist jedoch reversibel – wird der Sauerstoff entfernt, reaktiviert sich das Enzym, was darauf hindeutet, dass das System Schutzmechanismen entwickelt hat, um in einer sauerstoffhaltigen Umgebung zu überleben. „Oxidativer Stress reguliert nachweislich die Funktion anderer Viren, wie z. B. HIV“, so Reinke weiter. „Wir vermuten, dass strukturelle Veränderungen in der Protease es ermöglichen, oxidativen Schäden in sauerstoffreichen Umgebungen zu entgehen. Wir wissen jedoch noch nicht, wie sich diese Schutzmechanismen auf die virale Fitness auswirken.“

Um die Struktur von Mpro aufzudecken und zu verstehen, wie strukturelle Veränderungen das Protein vor Sauerstoffschäden schützen, nutzte das Team den starken Röntgenstrahl des European XFEL. Die Forschenden entdeckten eine strukturelle Umstrukturierung von Mpro, bei der sich eine Bindung zwischen zwei sogenannten Cysteinresten bildet: dem Cystein C145 am aktiven Zentrum und einem weiter außen liegenden Cystein C117. Für die Versuche stellte das Team über mehrere Monate hinweg in den Biolabors des European XFEL große Mengen von Mpro her und verwandelte sie in Mikrokristalle, von denen einige in Gegenwart von Sauerstoff gezüchtet wurden. Solch kleine Kristalle können mit herkömmlichen Lichtquellen nicht untersucht werden, da deren Strahlung diese zerstören würde, bevor genügend Daten gewonnen würden. Die vom European XFEL erzeugten Röntgenlaserpulse sind jedoch so stark und blitzartig, dass sie ein Bild des Proteinkristalls erzeugen können, bevor der Mikrokristall zerfällt.

„Unsere Ergebnisse zeigen, dass sich das Cystein vor oxidativen Schäden verstecken kann“, sagt Schubert. Normalerweise können Cysteine durch Oxidation zerstört werden. Bei einer Oxidation schützt Mpro jedoch sein wichtiges Cystein, indem es eine sogenannte „Disulfidbindung“ bildet, die es im Kern der Proteinstruktur vergräbt. Wenn es dann in eine sichere, sauerstoffarme Umgebung zurückgebracht wird, kann die Disulfidbindung brechen und das Cystein freigeben und seine Funktion wieder aufnehmen. „Die am European XFEL durchgeführten Experimente zeigen ein Bild des Proteins in seinem verborgenen Disulfid-Zustand, bestätigen dessen Existenz und decken seine Funktionsweise auf“, sagt Schubert.

„Mpro weist eine ungewöhnlich reiche Palette von Oxidationsmodifikationen auf“, sagt Lane: „Unser Experiment liefert wichtige Schlüsselerkenntnisse.“ Die Forschenden sind begeistert von den Ergebnissen. „Mpro ist ein Dreh- und Angelpunkt in der Biologie des Coronavirus und das wichtigste Ziel für niedermolekulare Anti-COVID-19-Therapeutika“, so Lane weiter. „Es hat sich gezeigt, dass die Funktion des Enzyms sowohl durch Dimerisierung als auch durch Oxidation reguliert wird und dass diese Regulationsmechanismen biophysikalisch korreliert sind. Unsere Arbeit bietet einen mechanistischen Einblick in die Eigenschaften von Mpro. Nun müssen wir verstehen, wie die Regulierung durch oxidativen Stress oder die Proteinkonzentration die virale Aktivität beeinflusst. Dies wird uns einen tiefen Einblick in die Biologie des Virus geben und hoffentlich neue Möglichkeiten eröffnen, wirksame Medikamente zu entwickeln.“

Originalpublikation:

P. Y. A. Reinke & R. Schubert et al.

“SARS-CoV-2 Mpro responds to oxidation by forming disulfide and NOS/SONOS bonds”

Nature Communication, Volume 15, 3827 (2024).

doi:10.1038/s41467-024-48109-3

<https://www.nature.com/articles/s41467-024-48109-3>