



新冠病毒致病机制及靶点药物设计

Pathogenic mechanism and target drug design of
SARS-CoV-2

汇报人：G7RB-何琼
2024年1月14日





- SARS-CoV-2背景知识
Background knowledge of SARS-CoV-2
- SARS-CoV-2 基因组与蛋白质
Genome and protein of SARS-CoV-2
- 抗原检测与靶点药物设计
Antigen detection and target drug design



1. SARS-CoV-2背景知识

Background knowledge of SARS-CoV-2

病毒种类

巴尔的摩病毒分类系统 (Baltimore classification)



发现逆转录病毒，成为1975年诺贝尔生理学或医学奖获得者之一

遗传物质分类		遗传物质传递过程
DNA病毒	dsDNA	用宿主细胞RNA聚合酶转录翻译得到DNA聚合酶进行半保留复制。dsDNA负链转录翻译病毒蛋白质。最后子代dsDNA与结构蛋白质组装成为子代病毒。
	ssDNA	用宿主的DNA聚合酶生成的±DNA进行复制。 负链DNA 转录翻译生成衣壳蛋白。衣壳蛋白积累，达到一定数量后包裹正链DNA，组装成为子代病毒。
RNA病毒	dsRNA	用自身携带的RNA复制酶 (RdRp)，反义RNA复制出正链RNA。 正链RNA 分别进行转录和翻译。
	ssRNA(+)	直接翻译，蛋白质产物有RdRp及衣壳蛋白。
	ssRNA(-)	自身携带RdRp，亲代负链RNA生成互补正链RNA，形成双链形式的复制型中间体。
逆转录病毒	ssRNA-RT	用逆转录酶将(+)ssRNA转换成DNA，随后整合到宿主的基因组中进行转录翻译
	dsDNA-RT	dsDNA) → (+)ssRNA → (-)ssDNA → (±)dsDNA → mRNA

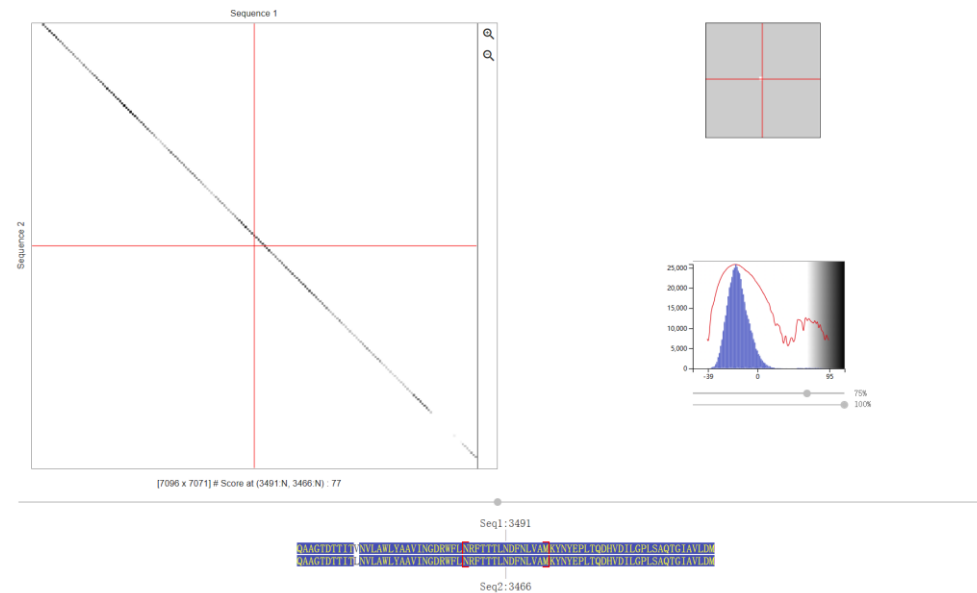
SARS-CoV-2与相关病毒株的系统发生树

冠状病毒亚科下依基因组成序列分为：甲型、乙型、丙型、丁型等四个属，前两者仅感染哺乳动物，后两者则主要感染鸟类，但也有少数感染哺乳动物者。



属于Betacoronavirus属，同属的还有SARS-CoV（与新冠病毒相似度79%）和MERS-CoV。

P0DTD1与P0C6W2（Bat coronavirus HKU3）进行双序列比对之点阵图：



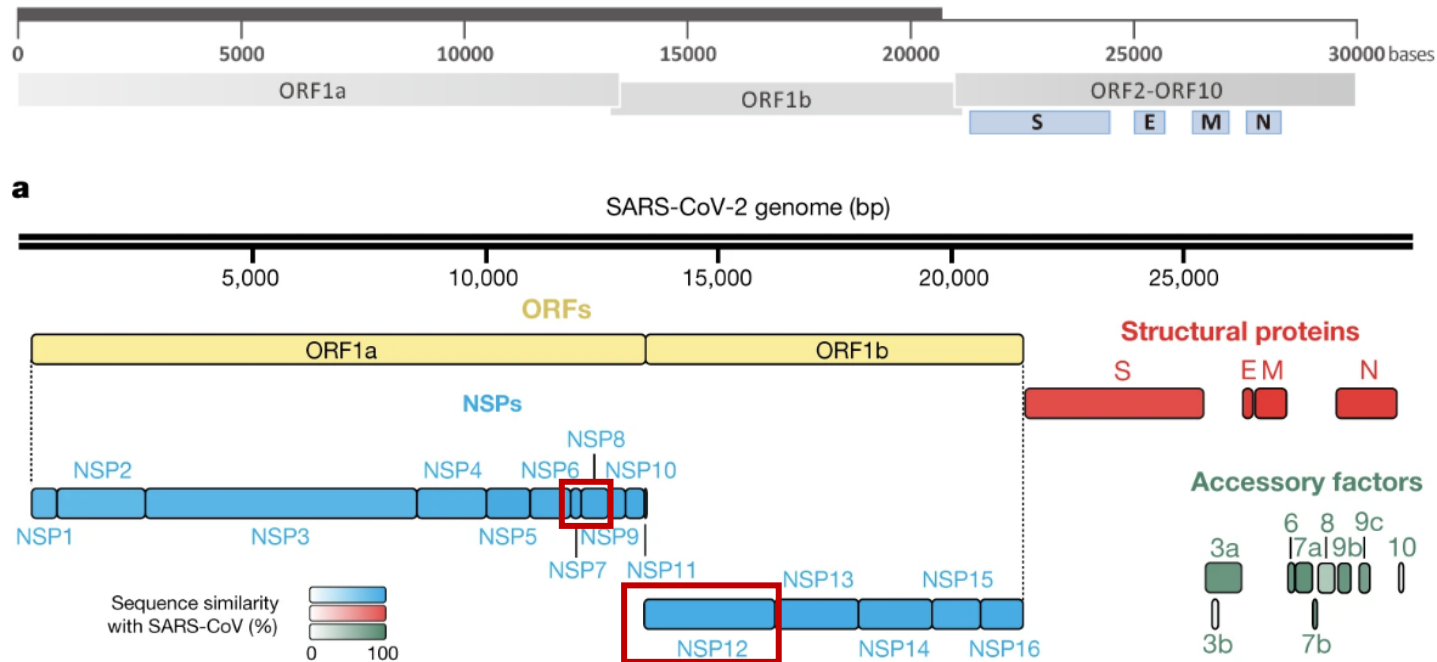
- 蝙蝠病毒
- 穿山甲病毒
- 人类病毒



2. SARS-CoV-2 基因组与蛋白质

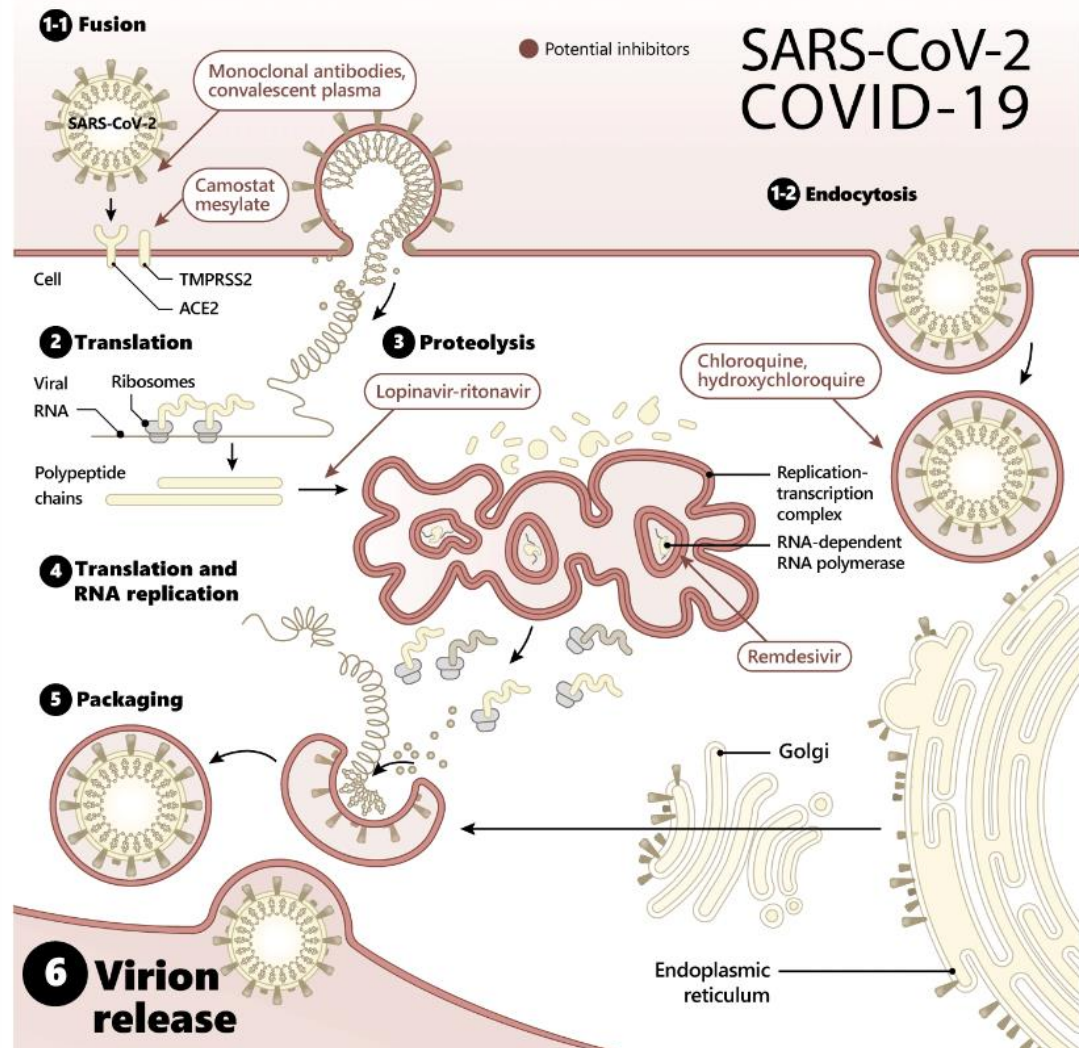
Genome and protein of SARS-CoV-2

SARS-CoV-2基因组



约30000个核苷酸转录翻译为16个非结构蛋白NSPs; 4个结构蛋白; 9个辅助因子。

生命周期

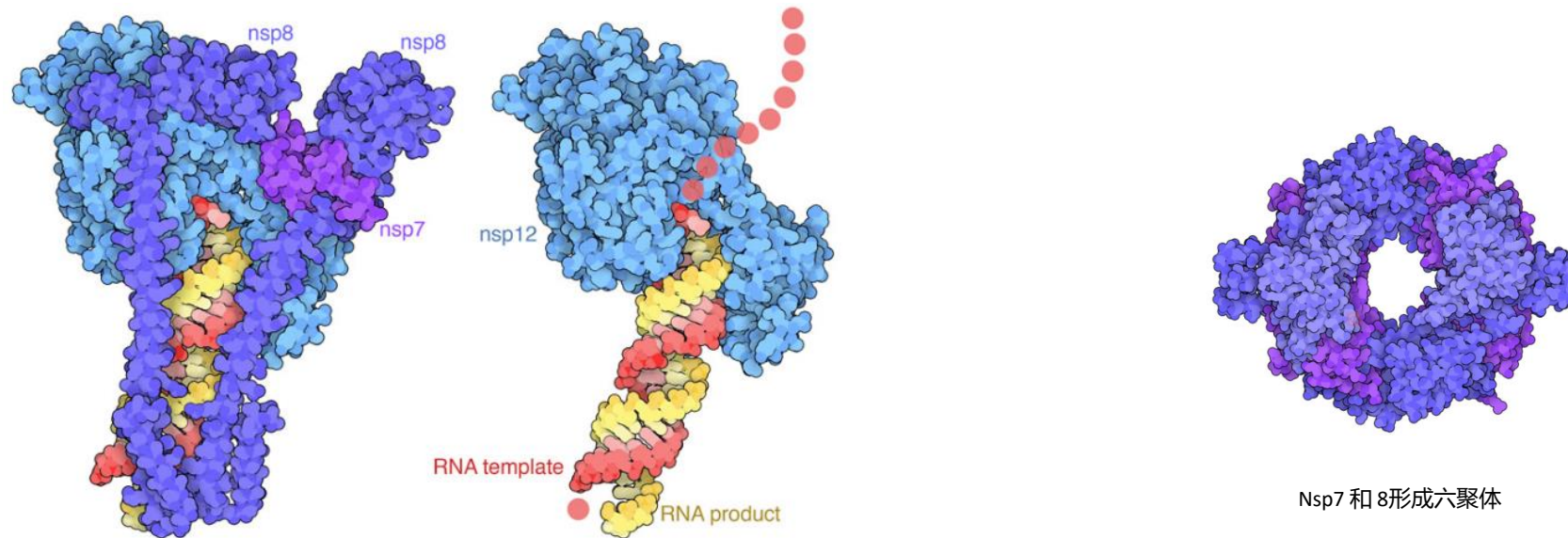


SARS-CoV2生存路径：侵染，内吞，复制，组装，出芽释放。

- 1-1.病毒通过刺突蛋白与受体ACE2结合。
- 1-2.通过胞吞作用病毒进入到人体细胞。
2. 宿主核糖体结合到病毒RNA，转录pp1a, pp1ab多聚蛋白。
3. nsp3 (PLpro), nsp5 (3CLpro)切割多聚蛋白产生nsp1~nsp16。
4. nsp12 RNA依赖RNA聚合酶(RdRp)与nsp7, nsp8等因子形成转录复制复合体(RTC)复制病毒RNA。
- 5.复制后的RNA由核衣壳蛋白包裹与结构蛋白进行病毒组装。
- 6.病毒释出感染下一个细胞。

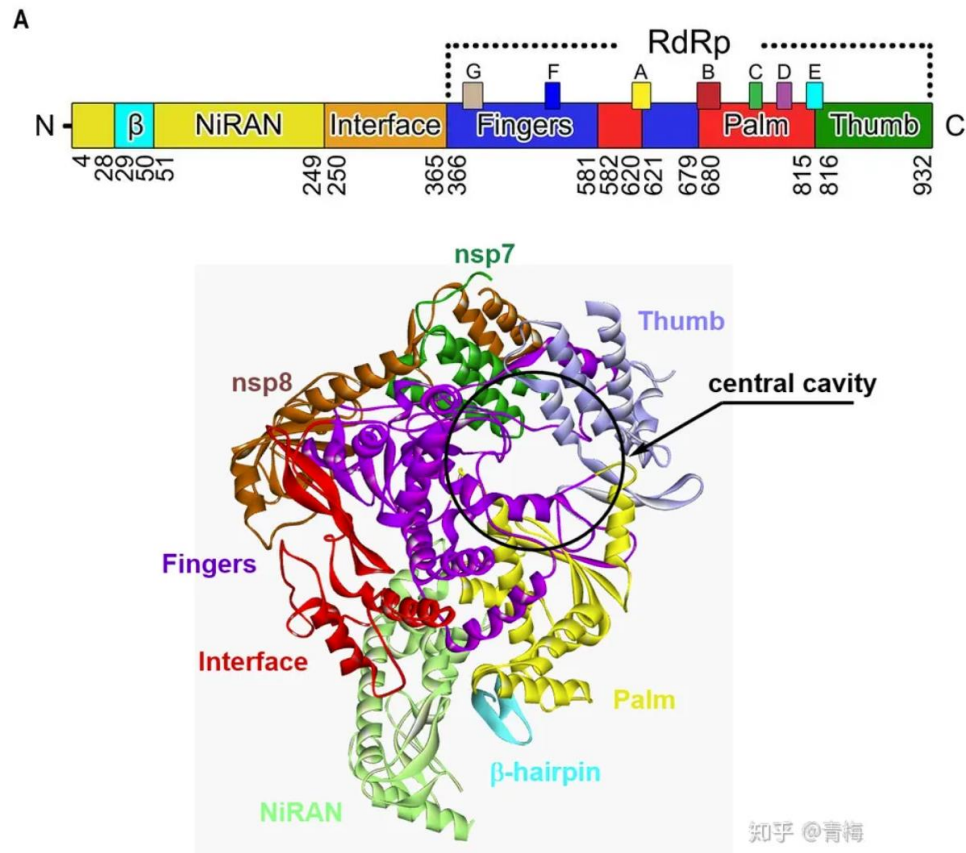
RNA复制酶结构

SARS-CoV-2 RNA-依赖的RNA聚合酶 (RdRp)活性存在于nsp12, 它以引物依赖性的方式催化三磷酸核苷 (NTPs) 之间形成磷酸二酯键。在与nsp7和nsp8形成复合物后, nsp12获得持续性合成大RNAs的能力。此外, nsp8也显示出引物酶活性, 即合成RNA引物的能力, 从而使病毒可以从头合成RNA。



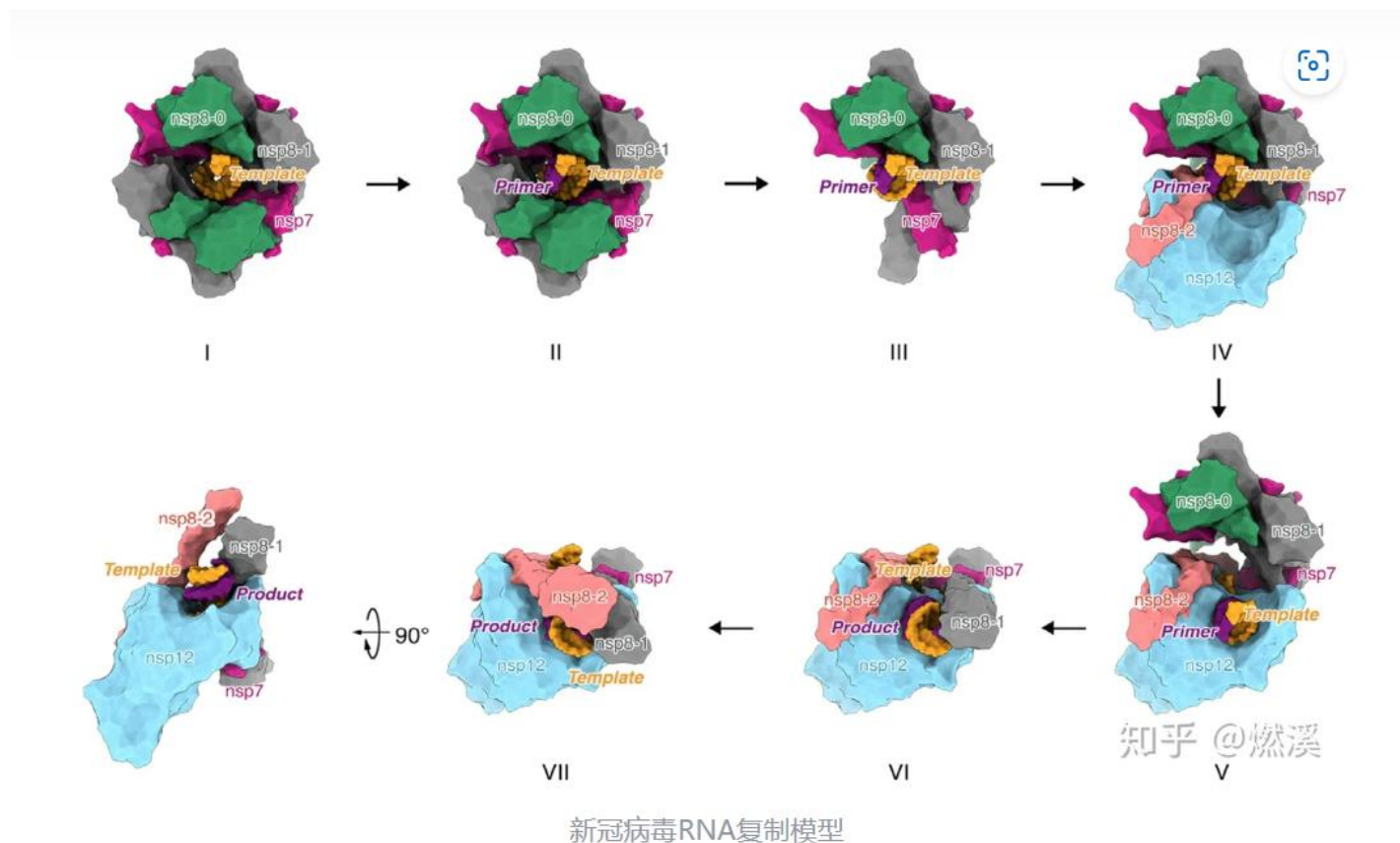
SARS-CoV-2 RNA 引导的 RNA 聚合酶 (nsp12) 与 nsp7 和 nsp8, 以及带有模板链和产物链的 RNA 短双链。右侧去掉了 Nsp7 和 8, 以显示与 RNA 的相互作用

RNA复制酶亚结构



SARS-CoV-2 全长RdRp与其辅因子nsp7和nsp8结合的冷冻电镜 (cryo-EM) 结构 (PDB: 6M71)

RNA复制过程



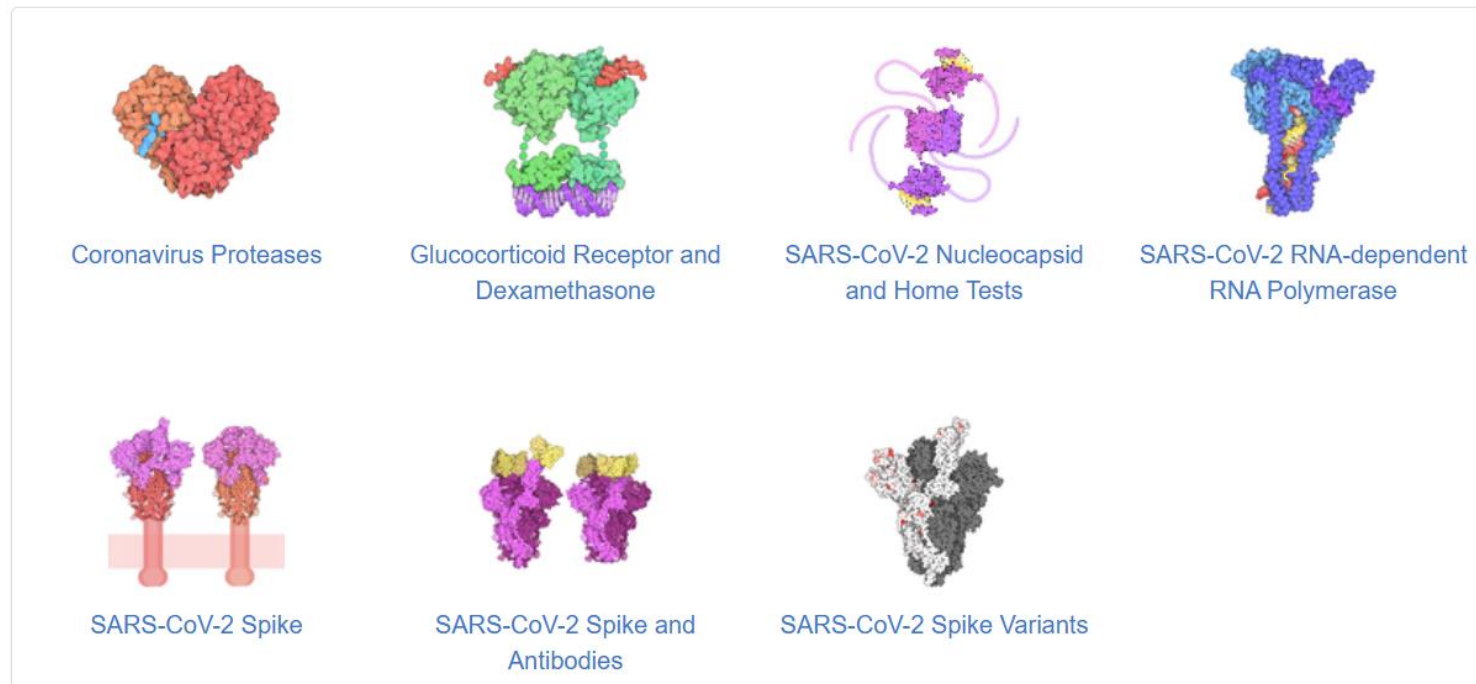
饶子和院士团队在2020年7月份提出新冠病毒基因组复制的模型，在RNA复制之初，由nsp7和nsp8组成的十六聚体首先与RNA模板结合，并利用自身的引物酶活性、根据RNA模板合成RNA引物，并招募nsp12对RNA引物进行延伸，最终合成RNA新链。



3. 抗原检测与靶点药物设计

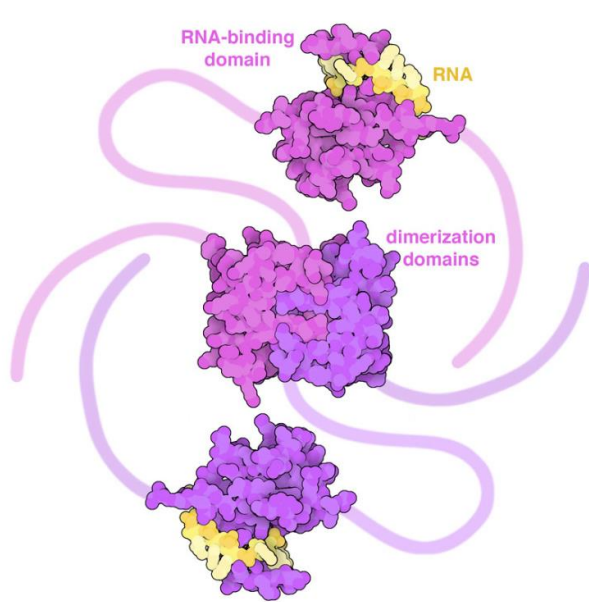
Antigen detection and target drug design

▲ Coronavirus - coronavirus structures and the search for a cure (7)

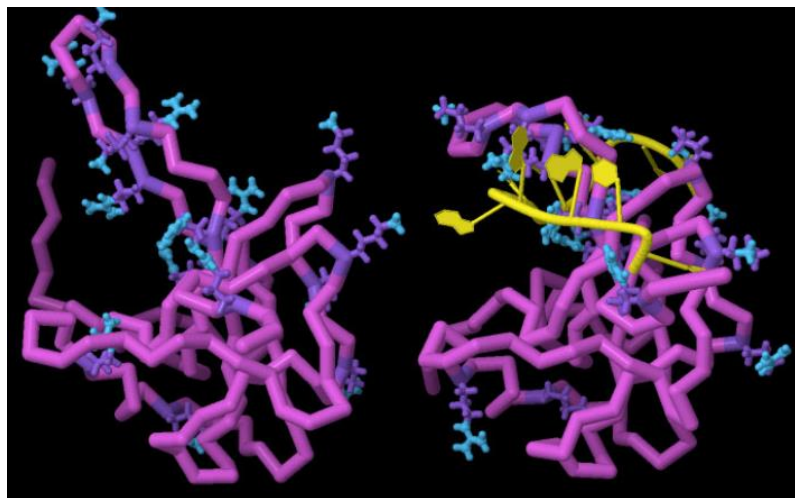


[分子月报\(Molecule of the Month\)](#)

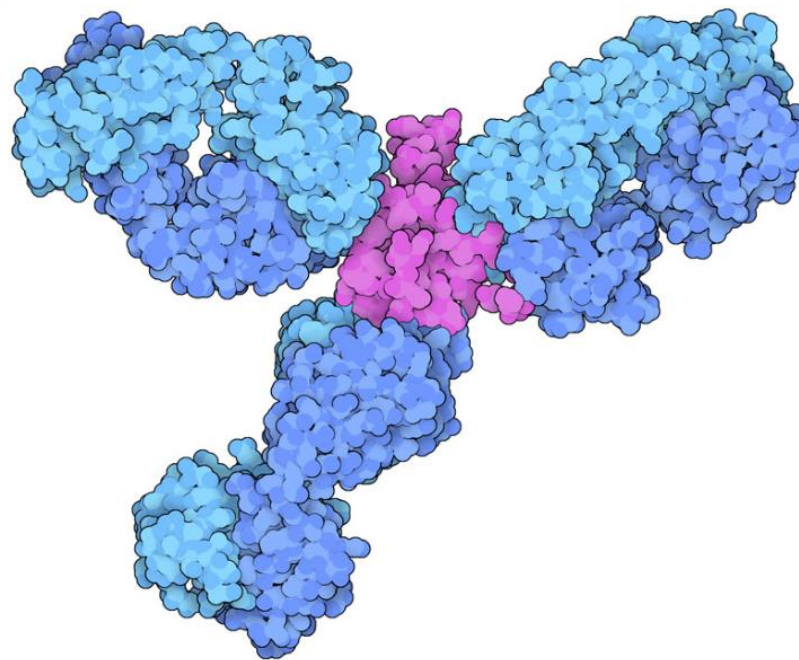
抗原检测



SARS-CoV-2 核衣壳的二聚体



核衣壳一个部分折叠成一个 RNA 结合域，带有一个凹槽，该凹槽可夹住病毒基因组 RNA 的一小段。另一部分折叠成一个二聚化结构域，将两个核衣壳分子聚集在一起。

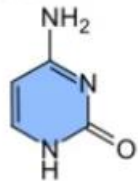


三种抗体结构（蓝色）与 SARS-CoV-2 核衣壳（洋红色）的不同面结合

家用检测试剂盒特异性识别鼻腔样本中生物分子复杂混合物中的核衣壳

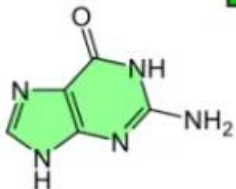
靶点药物设计

Cytosine



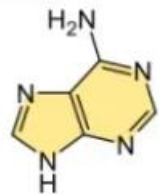
C

Guanine



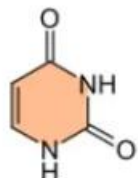
G

Adenine

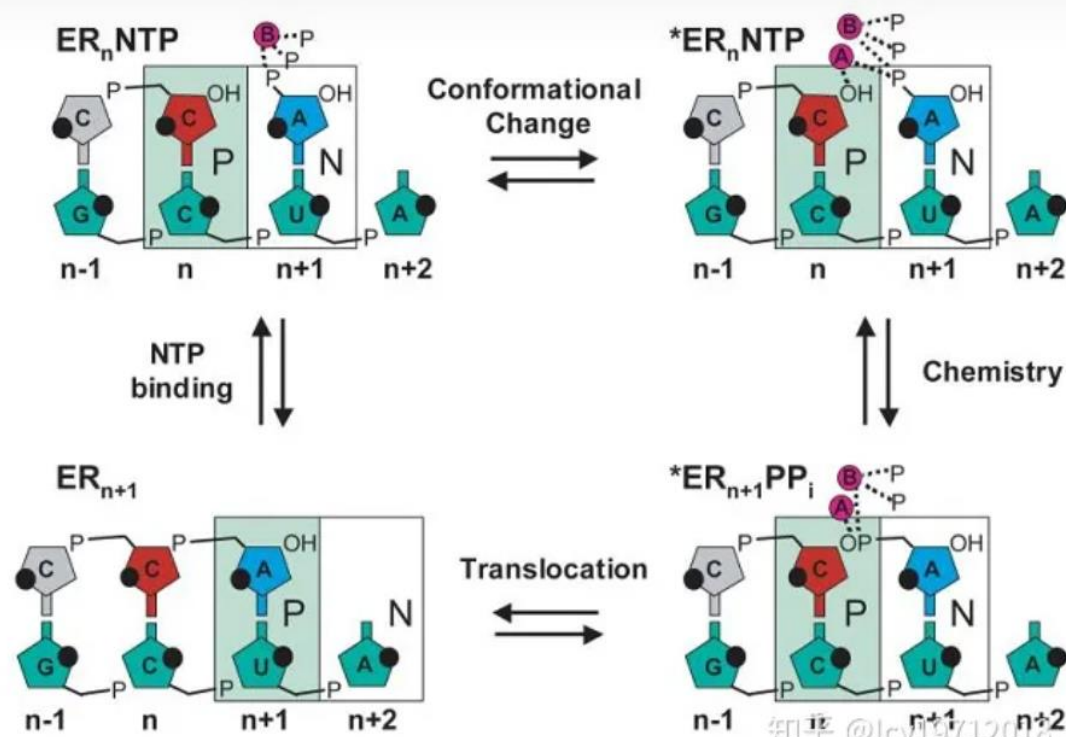
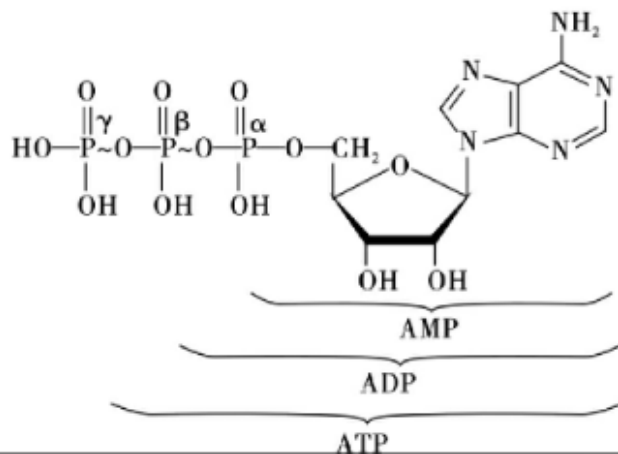
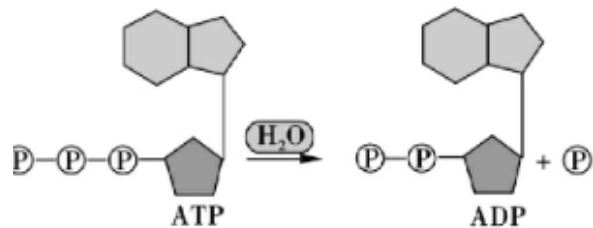
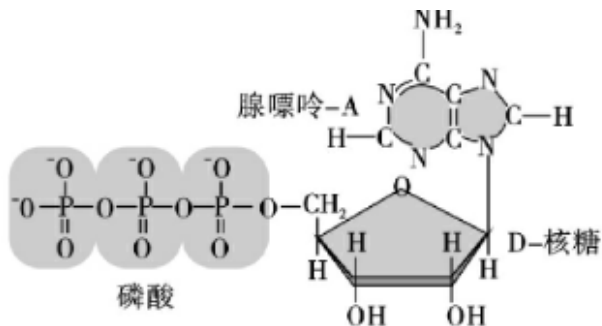


A

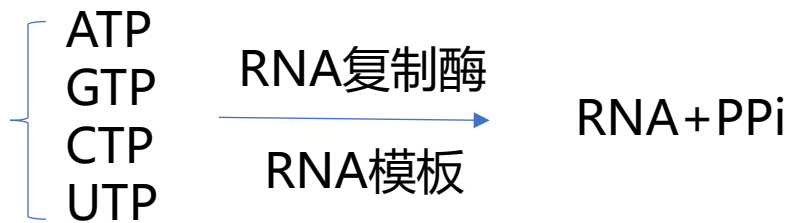
Uracil



U



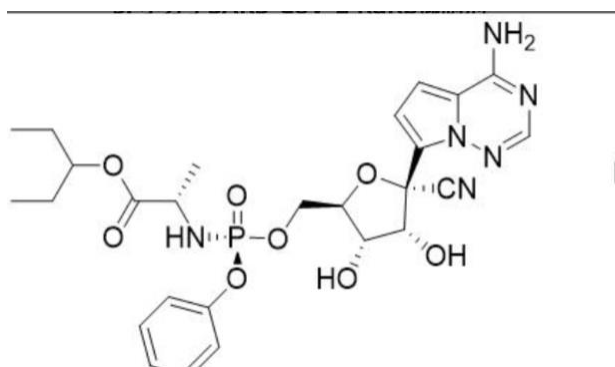
RNA复制的核苷酸添加循环。Curr Top Microbiol Immunol. 2008; 320: 137-156.



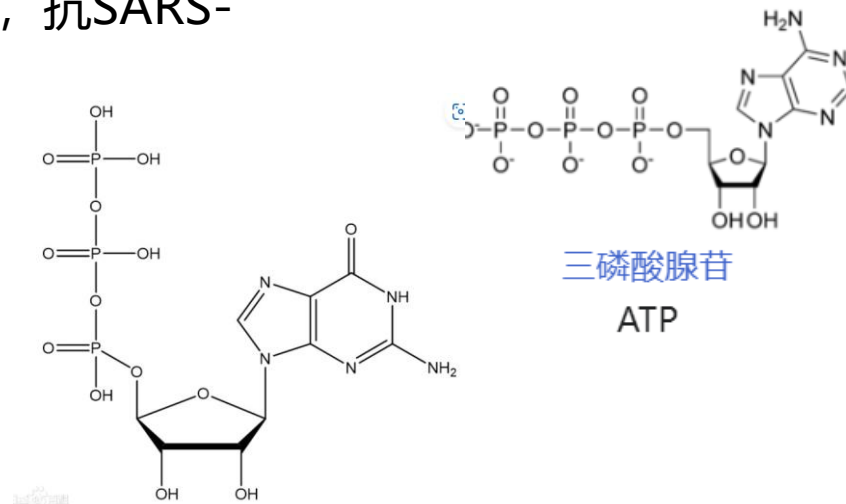
靶点药物设计

每一个机制都可以设计靶点蛋白，体外或者细胞内测试。研究其机制发现，抗SARS-CoV2的重要靶点: **RNA聚合酶**，3CLpro蛋白酶，S蛋白。

瑞德西韦，是一类核苷类似物前体药，在体内代谢为具有生物活性的三磷酸形式。它由吉利德公司研发，最早用于治疗埃博拉病毒和马尔堡病毒感染。

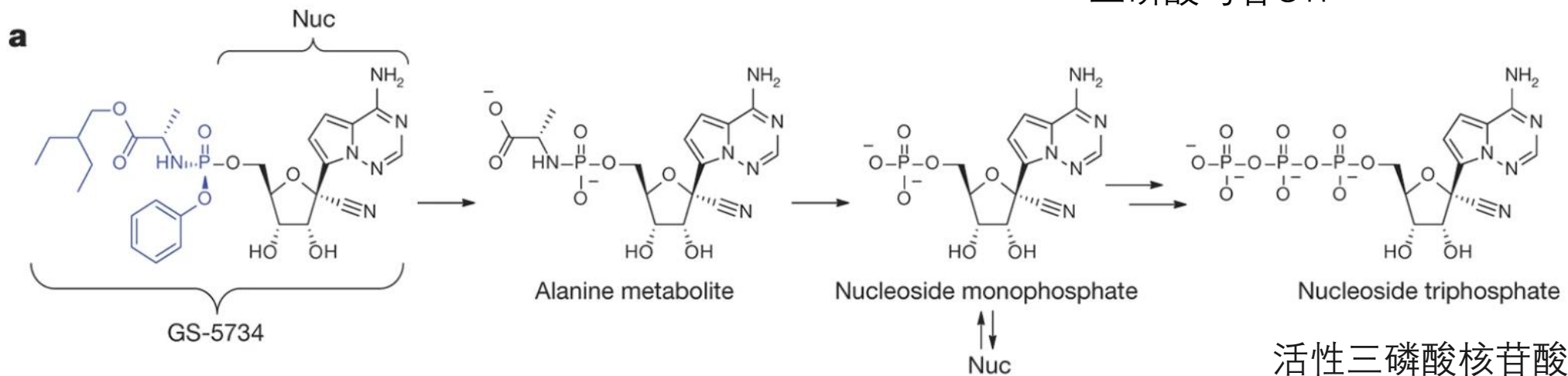


瑞德昔韦 (Remdesivir)



三磷酸腺苷
ATP

三磷酸鸟苷GTP



GS-5734

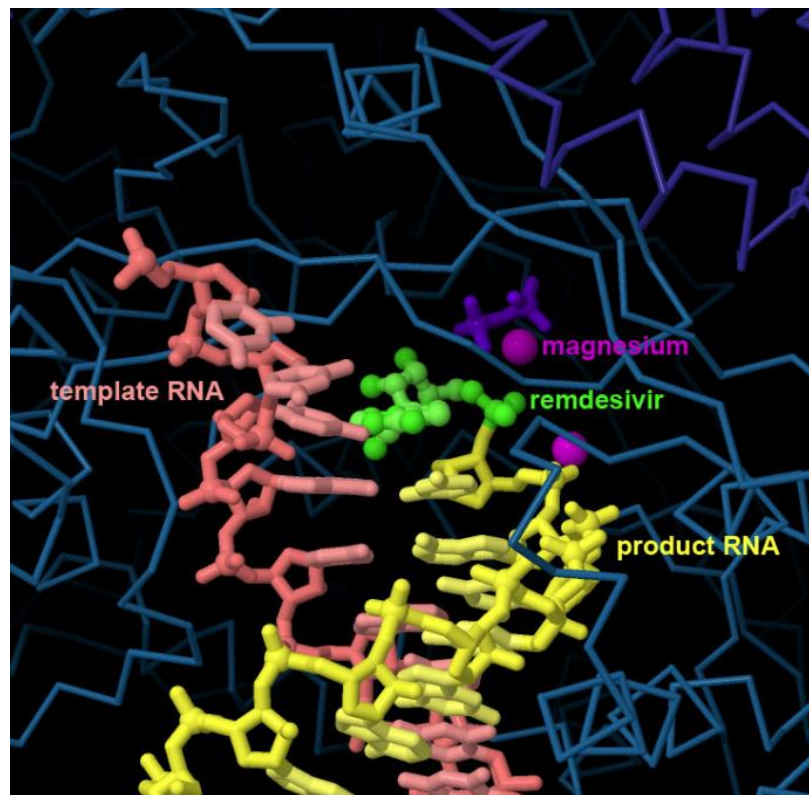
Alanine metabolite

Nucleoside monophosphate

Nucleoside triphosphate

活性三磷酸核苷酸

靶点药物设计



瑞德西韦能够“混入”RNA产物并与上游产物退出通道中861位丝氨酸产生强烈的位阻效应，从而阻碍RNA合成继续进行，发挥其“延迟终止”的抑制效果。

结合模板-引物RNA和瑞德昔韦单磷酸的复合物 (PDB: 7BV2)



谢谢！

