

COVID-19: Attacca la catena 1-Beta dell'emoglobina e cattura la porfirina per inibire il metabolismo dell'eme umano.

Wenzhong Liu 1,2, *, Hualan Li 212*

School of Computer Science and Engineering, Università di Scienze e Ingegneria del Sichuan, Zigong, 643002, Cina;

School of Life Science and Food Engineering, Yibin University, Yibin, 644000, Cina;

Corrispondenza: liuwz@suse.edu.cn;

Astratto

La nuova polmonite da coronavirus (COVID-19) è un'infezione respiratoria acuta infettiva causata dal nuovo coronavirus. Il virus è un *virus* RNA a filamento positivo con elevata omologia dal coronavirus del pipistrello.

In questo studio, sono state conservate analisi di dominio, modelli di omologia e docking molecolare sono stati usati per confrontare i ruoli biologici di alcune proteine del nuovo coronavirus.

Il risultato ha mostrato che l'ORF8 e la glicoproteina di superficie potrebbero legarsi alla porfirina, rispettivamente. Allo stesso tempo, le proteine orf1ab, ORF10 e ORF3a potrebbero coordinare l'attacco dell'eme sulla catena 1-beta di emoglobina per dissociare il ferro per formare la porfirina. L'attacco causerà sempre meno emoglobina che può trasportare ossigeno e anidride carbonica. Le cellule polmonari hanno avvelenamento estremamente intenso e infiammatorio a causa dell'incapacità di scambiare frequentemente anidride carbonica e ossigeno, che alla fine produce immagini polmonari simili a vetro smerigliato. Il meccanismo ha anche interferito con il normale percorso del corpo umano dell'eme anabolico, dovrebbe provocare malattie umane. Secondo la convalida analisi di questi reperti, la cloroquina potrebbe impedire a orf1ab, ORF3a e ORF10 di attaccare l'eme forma la porfirina e inibisce il legame di ORF8 e glicoproteine di superficie alle porfirine a una certa misura, alleviare efficacemente i sintomi dell'angoscia respiratoria. Favipiravir potrebbe inibire le proteine dell'involucro e le proteine ORF7a si legano alla porfirina, impediscono al virus di entrare nelle cellule ospiti e cattura di porfirine gratuite. Poiché il nuovo coronavirus dipende dalle porfirine, può avere origine da un antico virus.

Pertanto, questa ricerca è di grande valore per gli esperimenti biologici contemporanei, prevenzione delle malattie e trattamento clinico.

Parole chiave: nuovo Coronavirus; Problema respiratorio; Polmone simile al vetro smerigliato; Glicoproteina E2;

ORF8; orf1ab; cloroquina; Sangue; Diabetico; Trasferimento di energia di risonanza di fluorescenza; Virus antico;

Tempesta di citochine

1. Introduzione

La nuova polmonite da coronavirus (COVID-19) è una contagiosa malattia respiratoria acuta infettiva . I pazienti con polmonite da coronavirus hanno la febbre e la temperatura supera i 38 gradi con sintomi come tosse secca, affaticamento, dispnea, difficoltà respiratorie e sintomi simili al gelo nei polmoni 1-3. Una grande quantità di muco può essere scoperta nel tessuto sezionato senza virus evidenti inclusioni. Questa polmonite è stata scoperta per la prima volta a dicembre 2019 nel mercato ittico della Cina meridionale.

Provincia di Hubei, Cina 4. La malattia è altamente trasmessa 5,6. Ora ha il numero di persone infette ha raggiunto decine di migliaia di persone in tutto il mondo e le persone infette non sono limitate dalla razza e frontiere.

Astratto

La nuova polmonite da coronavirus (COVID-19) è un'infezione respiratoria acuta infettiva causata dal nuovo coronavirus. Il virus è un virus RNA a filamento positivo con elevata omologia dal coronavirus del pipistrello. In questo studio, sono state conservate analisi di dominio, modelli di omologia e docking molecolare sono stati usati per confrontare i ruoli biologici di alcune proteine del nuovo coronavirus. I risultati hanno mostrato che l'ORF8 e la glicoproteina di superficie potrebbero legarsi alla porfirina, rispettivamente. Allo stesso tempo, le proteine orf1ab, ORF10 e ORF3a potrebbero coordinare l'attacco dell'eme sulla catena 1-beta di emoglobina per dissociare il ferro per formare la porfirina. L'attacco causerà sempre meno emoglobina che può trasportare ossigeno e anidride carbonica. Le cellule polmonari hanno avvelenamento estremamente intenso e infiammatorio a causa dell'incapacità di scambiare frequentemente anidride carbonica e ossigeno, che alla fine produce immagini polmonari simili a vetro smerigliato. Il meccanismo ha anche interferito con il normale eme anabolico percorso del corpo umano, dovrebbe provocare malattie umane. Secondo la convalida analisi di questi reperti, la cloroquina potrebbe impedire a orf1ab, ORF3a e ORF10 di attaccare l'eme, forma la porfirina e inibisce il legame di ORF8 e glicoproteine di superficie alle porfirine a una certa misura, alleviare efficacemente i sintomi dell'angoscia respiratoria. Favipiravir potrebbe inibire le proteine dell'involucro e le proteine ORF7a si legano alla porfirina, impediscono al virus di entrare nelle cellule ospiti e cattura di porfirine gratuite. Poiché il nuovo coronavirus dipende dalle porfirine, può avere origine da un antico virus. Pertanto, questa ricerca è di grande valore per gli esperimenti biologici contemporanei, prevenzione delle malattie e trattamento clinico.

Parole chiave: nuovo Coronavirus; Problema respiratorio; Polmone simile al vetro smerigliato; Glicoproteina E2; ORF8; orf1ab; cloroquina; Sangue; Diabetico; Trasferimento di energia di risonanza di fluorescenza; Virus antico;

Tempesta di citochine

1. Introduzione

La nuova polmonite da coronavirus (COVID-19) è un contagioso respiratorio acuto infettivo malattia. I pazienti con polmonite da coronavirus hanno la febbre e la temperatura supera i 38 gradi con sintomi come tosse secca, affaticamento, dispnea, difficoltà respiratorie e sintomi simili al gelo nei polmoni 1-3. Una grande quantità di muco può essere scoperta nel tessuto sezionato senza virus evidente

inclusioni. Questa polmonite è stata scoperta per la prima volta a dicembre 2019 nel mercato ittico della Cina meridionale

Provincia di Hubei, Cina 4. La malattia è altamente trasmessa 5,6. Ora ha il numero di persone infette ha raggiunto decine di migliaia di persone in tutto il mondo e le persone infette non sono limitate dalla razza e frontiere.

I ricercatori hanno eseguito test di isolamento del virus e sequenziamento dell'acido nucleico per confermare la malattia

è stato causato da un nuovo coronavirus 7,8. Si noti che l'acido nucleico del nuovo coronavirus è a RNA a filamento positivo 8. Le sue proteine strutturali includono: Spike Protein (S), involucro proteico (E),

proteina di membrana (M) e fosfoproteina nucleocapside. Le proteine non strutturali trascritte includono:

orf1ab, ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF10 e ORF8. Il romanzo coronavirus è altamente omologa al coronavirus nei pipistrelli 9,10 e presenta una significativa omologia con il virus SARS 11,12.

I ricercatori hanno studiato la funzione delle nuove proteine strutturali del coronavirus e di alcune proteine non strutturali 13,14. Ma il nuovo coronavirus ha potenziali caratteristiche genomiche, alcune delle quali sono principalmente la causa di focolai nell'uomo

15,16. Ad esempio, CoV EIC (canale ionico della proteina dell'involucro del coronavirus) è stato coinvolto in modulazione del rilascio di virioni e interazione CoV - host 17. Sono le proteine Spike, ORF8 e ORF3a significativamente diversi dagli altri noti coronavirus simili alla SARS e possono causare più gravi patogenicità e differenze di trasmissione rispetto a SARS-CoV 18. Studi precedenti hanno scoperto che il nuovo coronavirus entra nelle cellule epiteliali attraverso la proteina spike interagendo con il recettore ACE2 umano proteina sulla superficie, causando infezione umana. Tuttavia, analisi strutturale della proteina spike (S) la proteina del nuovo coronavirus rivela che la proteina S si lega debolmente al recettore ACE2 rispetto al coronavirus SARS 19. A causa delle limitazioni dei metodi sperimentali esistenti, lo specifico le funzioni delle proteine virali come ORF8 e la glicoproteina di superficie non sono ancora chiare.

Patogenicità

il meccanismo del nuovo coronavirus rimane misterioso 20.

La letteratura 21 ha rivelato indici di esami biochimici di 99 pazienti con nuovo coronavirus polmonite e il rapporto rifletteva anche il fenomeno anormale della biochimica correlata all'emoglobina indici di pazienti.

Questo rapporto dimostra che l'emoglobina e i neutrofili contano di più, i pazienti sono diminuiti e i valori dell'indice di ferritina sierica, la velocità di eritrosedimentazione, la proteina C reattiva, l'albumina e il lattato deidrogenasi di molti pazienti aumentano significativamente.

Questa traccia implica che l'emoglobina del paziente sta diminuendo e che l'eme sta aumentando e il corpo lo farà accumulare troppi ioni di ferro dannosi, che causeranno infiammazione nel corpo e aumenteranno Proteina C-reattiva e albumina. Le cellule reagiscono allo stress a causa dell'infiammazione, producendo grandi quantità di ferritina sierica per legare ioni ferro liberi per ridurre i danni. L'emoglobina è composta da quattro subunità, 2- α e 2- β e ciascuna subunità ha un eme legato al ferro 22,23.

L'eme è un componente importante dell'emoglobina. Esso è una porfirina contenente ferro. La struttura senza ferro si chiama porfirina. Quando il ferro è bivalente, l'emoglobina può rilasciare anidride carbonica e catturare gli atomi di ossigeno nelle cellule alveolari e il ferro viene ossidato a trivalente. Quando l'emoglobina viene resa disponibile ad altre cellule del corpo attraverso il sangue, può farlo rilasciare atomi di ossigeno e catturare l'anidride carbonica e il ferro viene ridotto a bivalente.

Non ci sono farmaci e vaccini particolarmente efficaci per controllare la malattia da nuovi coronavirus 24.

Tuttavia, ci sono diversi vecchi farmaci trovati negli ultimi trattamenti clinici, che può inibire alcune funzioni del virus, ad esempio il fosfato di cloroquina ha un effetto definito sulla nuova polmonite da coronavirus 25.

La cloroquina fosfato è un farmaco antimalarico che è stato utilizzato clinicamente per oltre 70 anni. Gli esperimenti dimostrano che gli eritrociti infetti dalla malaria possono causare in essa accumulo di una grande quantità di cloroquina.

Il farmaco porta alla perdita dell'enzima emoglobina e morte del parassita dovuta a insufficienti aminoacidi nella crescita e nello sviluppo del parassita.

L'effetto terapeutico del cloroquina fosfato sulla polmonite da coronavirus romanzo suggerisce questa nuova polmonite da coronavirus potrebbe essere strettamente correlata al metabolismo anomalo dell'emoglobina nell'uomo.

Nel frattempo, un dettaglio che possiamo notare è che la cloroquina è anche un farmaco comunemente usato per il trattamento porfiria 26,27.

Pertanto, si ritiene che la combinazione di proteine virali e porfirine causerà ad una serie di esseri umani reazioni patologiche, come una diminuzione dell'emoglobina.

A causa della grave epidemia e le condizioni esistenti con metodi sperimentali limitati per le funzioni delle proteine, è eccezionale significato scientifico per analizzare la funzione proteica del nuovo coronavirus da parte del metodo della bioinformatica .

In questo studio, predizione dei domini conservati, modellazione di omologia e docking molecolare sono state utilizzate tecniche per analizzare le funzioni delle proteine correlate ai virus. Questo studio ha scoperto che ORF8 e la glicoproteina di superficie aveva una funzione da combinare con la porfirina per formare un complesso, mentre orf1ab, ORF10, ORF3a attaccano coordinatamente l'eme sulla catena 1-beta dell'emoglobina per dissociare il ferro per formare la porfirina. Questo meccanismo del virus ha inibito la normale via metabolica dell'eme e le persone mostrano i sintomi della malattia. Sulla base dei risultati della ricerca di cui sopra, abbiamo anche verificato il ruolo del cloroquina fosfato e del favipiravir mediante tecnologia di docking molecolare a supporto clinico trattamento.

2. Materiali e metodi

2.1 Set di dati

Le sequenze di proteine sono state scaricate da NCBI: Tutte le proteine del romanzo coronavirus di Wuhan;

Proteine leganti gli eme; Eme ossidasi; Le sequenze proteiche sono state utilizzate per analizzare il dominio conservato.

Tutte le proteine del nuovo coronavirus di Wuhan sono state usate anche per costruire strutture tridimensionali di omologia modellistica .

Allo stesso tempo, i file PDB sono stati scaricati dal database PDB: Crystal struttura di Complesso MERS-CoV nsp10_nsp16 - 5yn5; ORLARE; Ossigeno-emoglobina umana 6bb5; DEOXY HUMAN

EMOGLOBINA 1a3n; 0TX; RP. Complesso MERS-CoV nsp10_nsp16 - 5yn5 è stato usato per la modellazione dell'omologia . HEM, 0TX e 1RP sono stati usati per l'aggancio molecolare. Erano abituati due ossi-emoglobina attracco proteico

2.2 Visualizzazione del flusso dell'analisi bioinformatica

Una serie di analisi bioinformatiche sono state eseguite sulla base di proteine biologiche pubblicate sequenze in questo studio. I passaggi sono illustrati nella Figura 1:

1. Domini conservati delle proteine virali vengono analizzati dal server online MEME 28-30. I domini conservati sono stati usati per prevedere la funzione differenze di proteine virali e proteine umane. 2. La struttura tridimensionale delle proteine virali è stato costruito con la modellazione omologica del modello svizzero 31,32. Quando la lunghezza della sequenza ha superato 5000nt, è stato adottato lo strumento di modellazione dell'omologia di Discovery-Studio 2016. 3. Uso molecolare tecnologia docking (strumento LibDock) di Discovery-Studio 2016 33, il docking recettore-ligando di virus sono state simulate proteine con eme umano (o porfirine). A seconda dei risultati della bioinformatica analisi, è stato costruito un modello del ciclo di vita del virus e il relativo molecolare della malattia era proposto.

Il flusso di lavoro si basa su principi evolutivi. Sebbene la caratteristica sequenza biologica

di forme di vita avanzate e virale è diverso, le molecole con strutture simili possono sempre raggiungere ruoli biologici simili. Il metodo di modellazione dell'omologia utilizza il principio primario simile la struttura delle sequenze proteiche ha una struttura spaziale simile. La tecnologia di docking molecolare è integrata modellazione di omologia o molecolare tridimensionale.

2.3 Analisi del dominio conservato

MEME Suite è un sito Web online che integra molti strumenti per la previsione e il motivo delle annotazioni.

L'algoritmo di massima aspettativa (EM) è la base per l'identificazione di MEM del motivo. il motivo è un dominio conservato di una piccola sequenza in una proteina. I modelli basati su motivi potrebbero valutare l'affidabilità dell'analisi filogenetica. Dopo aver aperto lo strumento online MEME, le sequenze proteiche di interesse viene unito in un file di testo e il formato del file rimane veloce. Quindi selezionare il numero di motivi vuoi trovare e fai clic sul pulsante "Vai". Alla fine dell'analisi, i domini conservati sono visualizzati dopo aver fatto clic sul collegamento.

2.4 Modellazione di omologia

SWISS-MODEL è un server di modellazione omologica completamente automatico per la struttura delle proteine, che può essere accessibile tramite un server web. Il primo passo è quello di inserire il modello svizzero, inserire la sequenza e fai clic su "Cerca modello" per eseguire una semplice ricerca di modello. Al termine della ricerca, è possibile scegliere un modello per la modellazione. Verrà eseguita una ricerca del modello facendo clic su "Crea modello" e da modello a modello viene scelto automaticamente. Come si può vedere, sono stati cercati diversi modelli e quindi furono costruiti numerosi modelli. Qui viene scelto solo un modello. Il modello in formato PDB viene scaricato e visualizzato in VMD. SWISS-MODEL modella solo modelli di proteine con lunghezze di sequenza inferiori a 5000NT. È possibile utilizzare lo strumento di modellazione dell'omologia di Discovery-Studio per modellare la sequenza proteica supera 5000nt.

Prima di utilizzare Discovery-Studio per modellare l'omologia di una proteina sconosciuta (come orf1ab), il file di struttura pdb della proteina modello, come il complesso 5yn5 MERS CoVnsp10_nsp16, dovrebbe essere scaricato dal database PDB. Successivamente, viene utilizzato lo strumento di allineamento della sequenza di Discovery-Studio per allineare sequenze omologhe tra 5yn5 e orf1ab. Quindi il file di struttura spaziale di orf1ab era costruito sulla base della proteina modello 5yn5.

2.5 Tecnologia di docking molecolare

L'attracco molecolare è il processo per trovare il miglior modello di corrispondenza tra due o più molecole attraverso la corrispondenza geometrica e la corrispondenza dell'energia. I passaggi per l'utilizzo di LibDock molecular le docking con Discovery-Studio sono le seguenti:

1. Preparazione di un modello di ligando.

Apri un file ligando come HEM e fai clic su "Prepara ligandi" in sottomenu "Dock Ligands" del menu "Receptor-Ligand Interactions" per generare un eme ligando

modello per docking. Prima elimina FE (atomo di ferro) in HEM, quindi fai clic sul pulsante "Prepara ligandi", quindi verrà generato il modello di ligando di porfirina. Con 0 XT aperto, fai di nuovo clic su "Prepara ligandi" per ottenere il modello di ligando cloroquina.

2. Preparare un modello di recettore proteico.

Apri il file pdb della proteina (generato dall'omologia modellistica) e fai clic su "Prepara proteine" nel sottomenu "Dock Ligands" del "Receptor-Ligand Interazioni" per generare un modello di recettore proteico per l'attracco.

3. Impostare i parametri di docking per ottenere l'attracco.

Seleziona il modello di recettore proteico generato. A partire dal sottomenu "Definisci e modifica sito vincolante" nel menu "Interazioni recettore-legante", fai clic su "Da cavità del recettore". Una sfera rossa appare sul diagramma del modello del recettore proteico. Dopo aver fatto clic con il tasto destro la palla rossa, è possibile modificare il raggio della palla rossa. Quindi, nelle "Interazioni recettore-ligando" menu, selezionare "Dock Ligands (LibDock)" nel sottomenu "Dock Ligands". Nella casella pop-up, selezionare il ligando come modello di ligando di nuova costituzione-ALL, e selezionare il recettore come il nuovo istituito recettore modello-ALL, e la sfera dei siti come le coordinate della sfera appena stabilite. Infine, fai clic su ESEGUI per iniziare l'attracco.

4. Calcola l'energia di legame e scegli la posa con la più grande energia di legame.

Dopo l'attracco è completo, verranno visualizzate molte posizioni del ligando. Apri la vista ancorata e fai clic su "Calculate Binding Energies" nel sottomenu "Dock Ligands" del menu "Receptor-Ligand Interactions". Nella casella pop-up, seleziona il recettore come valore predefinito, seleziona ligando come modello ancorato -ALL e quindi iniziare a calcolare l'energia di legame. Infine, confronta l'energia di legame e scegli la posa con la più grande energia di legame. Migliore è la stabilità del complesso, maggiore è l'energia di legame.

5. Esportare la vista in sezione comune.

Per la vista ancorata, dopo aver impostato lo stile di visualizzazione della rilegatura area, fai clic sul pulsante "Mostra mappa 2D" nel sottomenu "Visualizza interazione" del "Lettore-recettore Interazione" per visualizzare la vista della sezione di rilegatura. Questa vista può essere salvata come file immagine.

2.6 Tecnologia di docking proteico

ZDOCK di Discovery-Studio è un altro strumento di docking molecolare per lo studio delle interazioni proteiche.

Lo abbiamo usato per studiare l'attacco dell'emoglobina da parte di proteine non strutturali virali.

Quanto segue è il

docking di orf1ab ed emoglobina e altri metodi di docking con proteine non strutturali virali

lo stesso. Dopo aver aperto i file PBD della proteina Human Oxy-Hemoglobin 6bb5 e orf1ab, fare clic su

Pulsante "Dock proteins (ZDOCK)" di "Dock and Analyse Protein Complexes" sotto il menu "macromolecole". Nell'interfaccia pop-up, seleziona Human Oxy-Hemoglobin 6bb5 come recettore, orf1a come ligando, quindi fare clic sul pulsante "Esegui". Al termine dell'elaborazione del computer, fare clic su l'interfaccia "proteinpose" e selezionare la posa e il cluster con il punteggio ZDOCK più alto. Potrebbe ottenere la posizione di orf1ab su Human Oxy-Hemoglobin 6bb5. Deloxy EMOGLOBINA UMANA 1a3n ha un modello docking simile con la proteina orf1ab.

3. RISULTATI

3.1 Proteine strutturali virali che legano la porfirina

Nell'uomo, l'emoglobina può essere degradata in globina ed eme. Heme è composto da una porfirina e uno ione ferro e lo ione ferro si trova nel mezzo della porfirina. Heme è insolubile in acqua e lattina essere combinato con proteine leganti l'eme per formare un complesso ed essere trasportato al fegato. Il la porfirina viene degradata in bilirubina ed escreta dal dotto biliare e il ferro nella molecola può essere riutilizzato dal corpo. Se le proteine del virus possono legarsi alla porfirina dell'eme, dovrebbero avere la stessa capacità di legame alle proteine umane che legano l'eme, cioè alle proteine virali e all'eme- legame le proteine dovrebbero avere domini conservati simili. Per esaminare il legame delle proteine della struttura del virus e porfirina, i seguenti metodi bioinformatici sono stati applicati in questo documento.

Innanzitutto, il server online di MEME è stato impiegato per cercare domini conservati in ogni virale struttura proteica e proteina legante l'eme umana (ID: NP_057071.2 proteina 1 legante l'eme, ID: EAW47917.1 proteina legante 2). La figura 2 mostra che tre proteine virali (glicoproteina di superficie, sono state conservate le proteine dell'involucro e la fosfoproteina nucleocapside) e le proteine leganti gli eme domini, ma la glicoproteina di membrana non ha domini conservati. i valori del valore p sono piccoli, c'erano statisticamente significativi. I domini in tre proteine virali sono diversi, suggerendo che La capacità delle proteine strutturali di legare la porfirina può essere leggermente diversa. La glicoproteina a membrana potrebbe non legare alla teforfirina.



Figura 2.

Domini conservati tra proteine di struttura e proteine leganti l'eme umano UN.

Domini conservati della glicoproteina di superficie. B. Domini conservati della proteina dell'involucro.

C. Conservato

domini di glicoproteina di membrana. D. Domini conservati della fosfoproteina nucleocapside.

Successivamente, il server online modello svizzero ha modellato le glicoproteine di superficie per produrre un struttura tridimensionale e due tipi di file basati sui modelli Spike ed E2 sono stati selezionati.

Il file strutturale 3D di eme è stato scaricato dal database PDB.

Alla fine, Discovery-Studio ha realizzato l'attracco molecolare delle glicoproteine di superficie e del porfirina. Il docking della proteina Spike con eme (e porfirina) fallì per primo. Glicoproteina E2 (Figura 3.A) è derivato dai modelli 1zva.1.A. Anche l'attracco di glicoproteina E2 e eme era anche infruttuosa. Quando lo ione ferro fu rimosso, l'eme divenne una porfirina, molti tipi di attracco erano

finalizzato tra la glicoproteina E2 e la porfirina. Calcolo dell'energia di legame, attracco è stata accettata la posa con la massima energia legante (7.530.186.265,80 kcal / mol). Il risultato dell'attracco è esposto in Figura 4.A-1, che è il modello molecolare della glicoproteina E2 si lega alla porfirina.

La Figura 4.A-2 fornisce una vista bidimensionale della sezione di legame, in cui 18 aminoacidi dell'E2 la glicoproteina interagisce con la porfirina.

L'analisi della proteina dell'involucro ha adottato gli stessi metodi. Il modello 5x29.1.A è stato selezionato come il modello di struttura 3D della proteina dell'involucro (Figura 3.B). Discovery-Studio ha trovato diversi tipi di attracco della proteina dell'involucro e della porfirina, dove l'attracco pone con il più alto legame è stata scelta l'energia (219.317,76 kcal / mol). La Figura 4.B-1 mostra il risultato di docking, che è il modello molecolare del legame proteico dell'involucro alla porfirina. La figura 4.B-2 è bidimensionale vista della sezione di legame, in cui 18 aminoacidi della proteina dell'involucro interagiscono con la porfirina.

Stessi metodi sono stati utilizzati per analizzare la fosfoproteina nucleocapside. Il modello di la fosfoproteina nucleocapside era 1ssk.1.A (Figura 3.C). Discovery-Studio fornisce l'attracco tra la fosfoproteina nucleocapside e la porfirina con la più alta energia legante (/ Mol 15,532,506.53kcal). La Figura 4.C-1 mostra il risultato di docking, che è il modello molecolare della fosfoproteina nucleocapside si lega alla porfirina. La Figura 4.C-2 è la vista bidimensionale di sezione legante, in cui i 22 aminoacidi della fosfoproteina thenucleocapsid sono legati alla porfirina. Le proteine di membrana sono derivate dai modelli 1zva.1.A.

L'attracco delle proteine di membrana con l'eme (e porfirina) fallito. Questi risultati segnalano la glicoproteina di superficie, la proteina dell'involucro e il nucleocapside la fosfoproteina potrebbe legarsi alla porfirina per formare un complesso.

È stato riscontrato che l'energia di legame della proteina dell'involucro era la più bassa, l'energia di legame dell'E2

la glicoproteina era la più alta e l'energia di legame della fosfoproteina nucleocapside era media. esso significa che il legame della glicoproteina E2 con la porfirina è il più stabile, il legame del nucleocapside la fosfoproteina alla porfirina è instabile e la proteina di involuppo della porfirina è la più elevata instabile.

Successivamente, è stata effettuata la seguente analisi per scoprire se le proteine strutturali attaccavano l'eme e dissociare l'atomo di ferro per formare porfirine. L'eme ha un'ossidasi chiamata eme ossidasi, che ossida l'eme e dissocia lo ione ferro. Se le proteine strutturali potrebbero attaccare eme e dissociazione degli ioni ferro, dovrebbe avere un dominio conservato simile a quello dell'eme ossidasi. MEME è online il server è stato manipolato per cercare domini conservati di proteine strutturali e eme ossidasi

proteine (NP_002124.1: eme ossigenasi 1; BAA04789.1: eme ossigenasi-2; AAB22110.2: eme ossigenasi-2). Di conseguenza, non sono stati trovati domini conservati di proteine strutturali (Figura 5).

Combinando i risultati dell'analisi precedente, cioè le proteine strutturali potevano combinarsi solo con il porfirina. Può essere possibile inferire che le proteine strutturali non hanno attaccato l'eme e dissociano il ferro atomo per formare la porfirina.

Figura 3.3 Schemi di struttura della nuova proteina coronavirus mediante la modellazione omologica. A. E2 glicoproteina della glicoproteina di superficie. B. Proteina busta. Fosfoproteina C.nucleocapsid. D. proteina orf1ab. E. Proteina ORF8. F. Proteina ORF7a

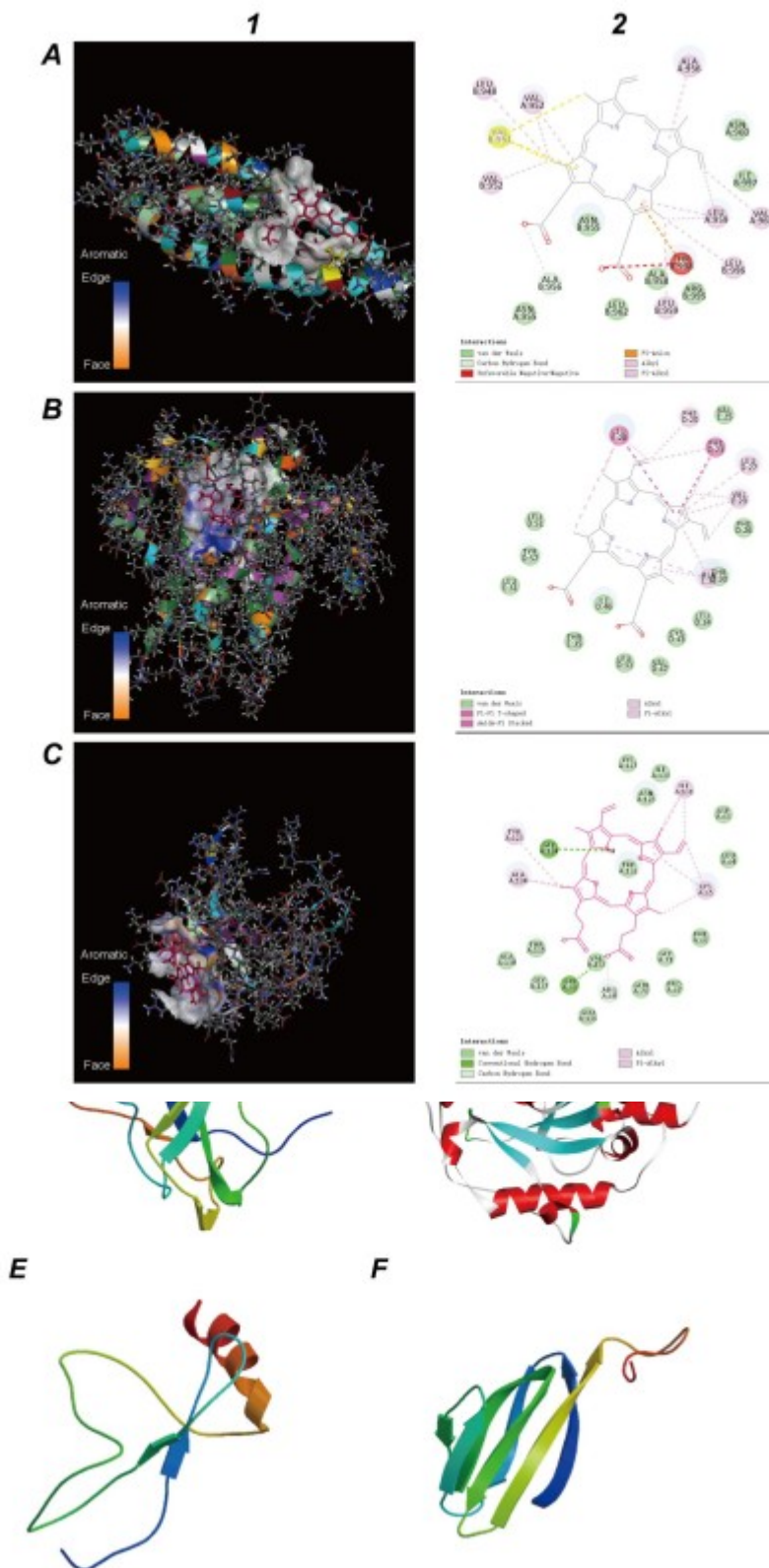


Figura 4. Risultati dell'aggancio molecolare delle proteine della struttura virale e della porfirina (struttura rossa).

A. Risultati dell'aggancio molecolare della glicoproteina E2 e della porfirina. B. Risultati dell'attracco molecolare del proteine dell'involucro e porfirina. C. Risultati dell'aggancio molecolare della fosfoproteina nucleocapside e la porfirina. 1. Proteine della struttura virale. 2. Vista delle sezioni di rilegatura

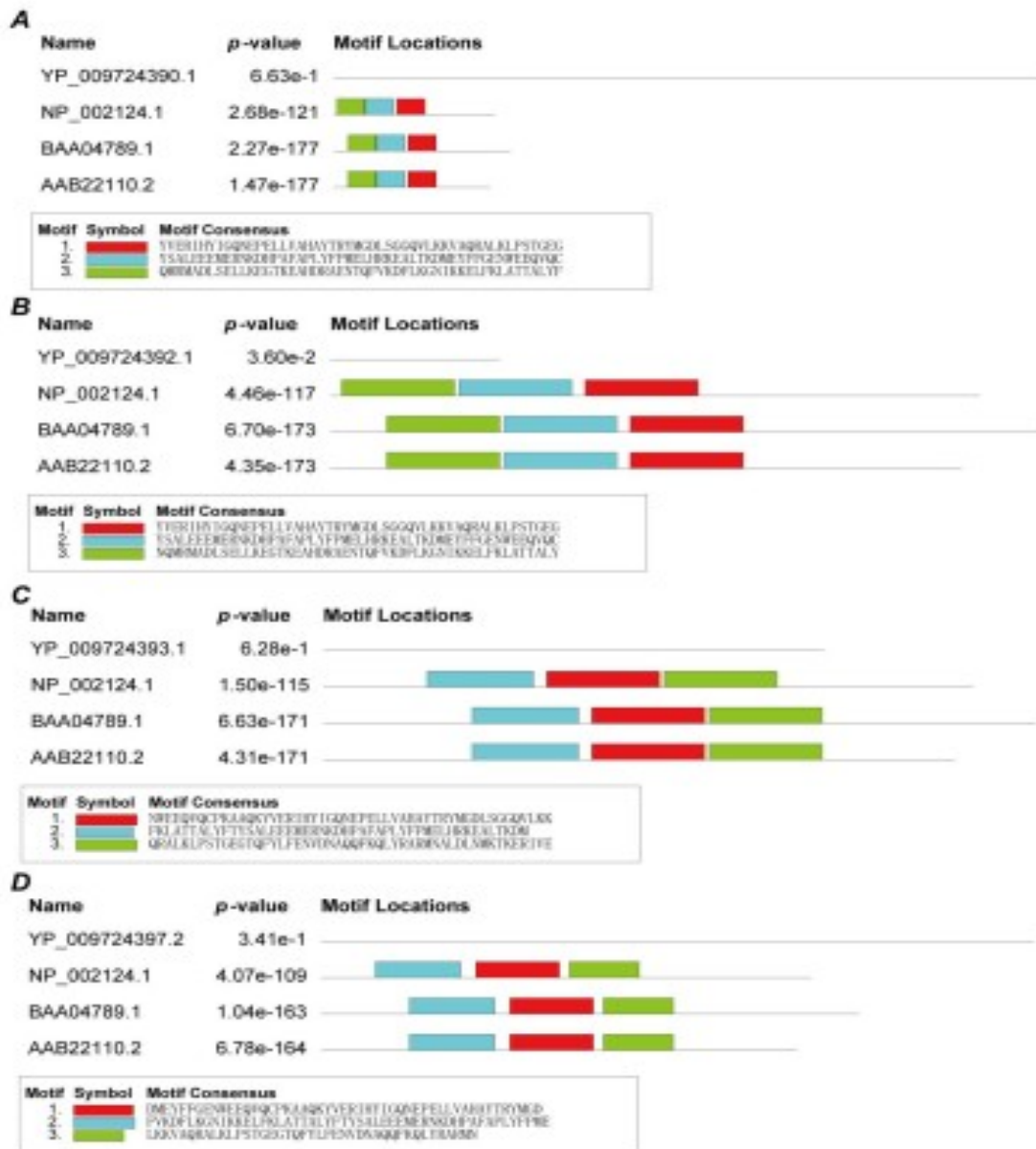


Figura 5. Domini conservati tra le proteine della struttura e le proteine dell'eme ossigenasi umana.

A. Domini conservati della glicoproteina di superficie. B. Domini conservati della proteina dell'involucro. C.

Domini di membrana conservati. D. Domini conservati della fosfoproteina nucleocapside.

3.2 Le proteine non strutturali del virus si legano alla porfirina

Se le proteine non strutturali (ID: YP_009724396.1) possono legarsi alla porfirina dell'eme, dovrebbe avere la capacità di legame simile alla proteina umana che si lega all'eme. Quindi, il server online di HEME era utilizzato per la ricerca di domini conservati tra le proteine non strutturali e il legame dell'eme delle proteine umane. La Figura 6 mostra che cinque proteine virali (orf1ab, ORF3a, ORF7a, ORF8 e ORF10) e le proteine che legano l'eme hanno conservato domini funzionali, ma lo fanno anche ORF6 e le proteine che legano l'eme non ha domini funzionali conservati. I valori di p sono piccoli, c'erano anche statisticamente significativo. I domini nelle cinque proteine virali sono diversi, suggerendo che le proteine non strutturali la capacità di legare la porfirina può essere leggermente diversa. La dose di proteine ORF6 non si lega alla porfirina.

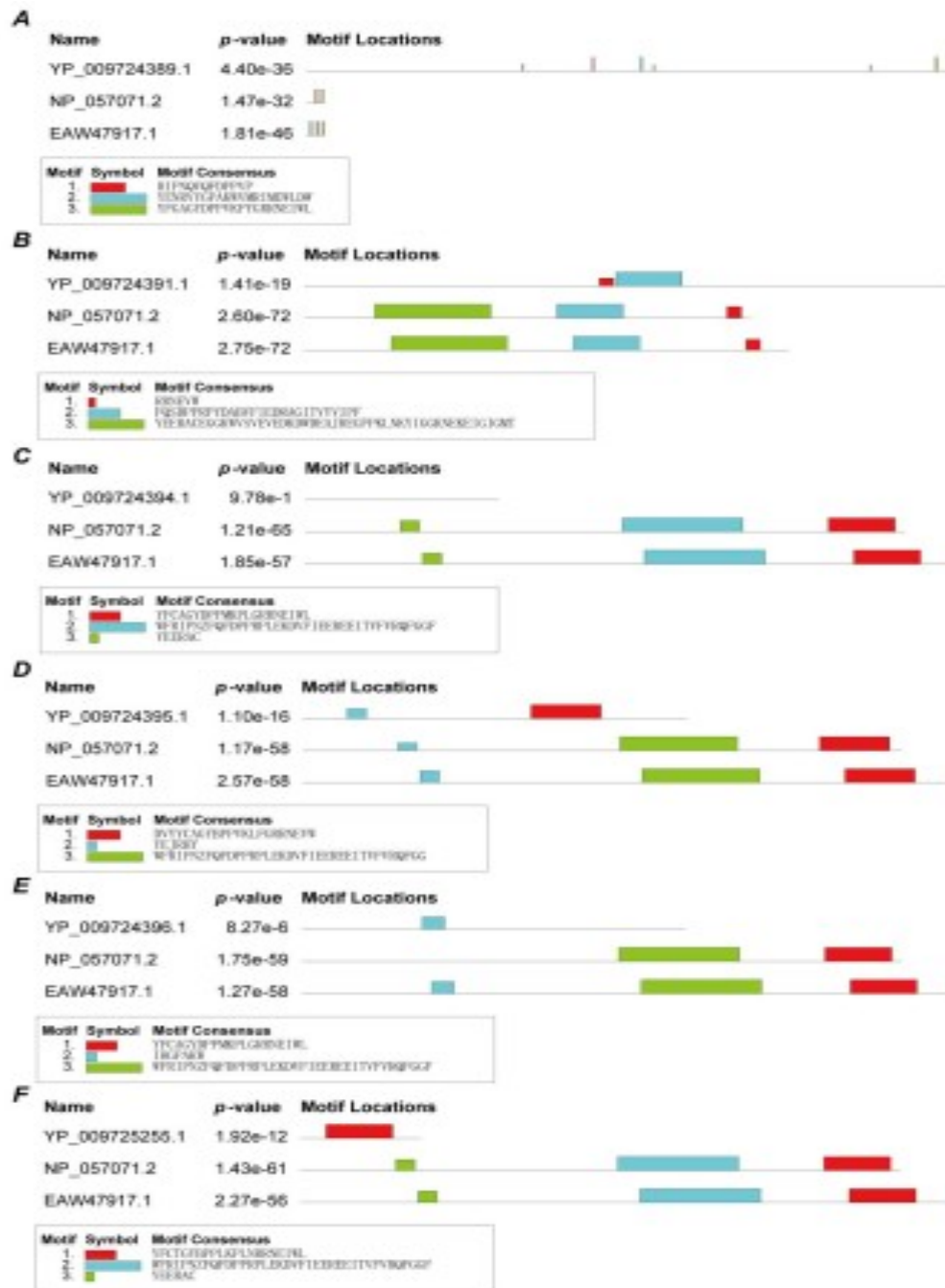


Figura 6. Domini conservati tra proteine non strutturali e proteine leganti gli eme umane.
A. Domini conservati di orf1ab. B. Domini conservati di ORF3a. C. Domini conservati di ORF6. D.

Domini conservati di ORF7a. E. Domini conservati di ORF8. F. Domini conservati di ORF10.

La modellazione di omologia e la tecnologia di docking molecolare sono state applicate per studiare le caratteristiche della capacità della proteina orf1ab di legare l'eme. Perché swiss-model non può modellare la struttura 3D di orf1ab sequenza di proteine con una lunghezza di sequenza superiore a 5000nt, Discovery-Studio è stato utilizzato per l'omologia modellazione. La struttura cristallina di MERS-CoV nsp10_nsp16 complesso 5yn5 e eme erano scaricate dal database PDB. In questo studio, la struttura cristallina di MERS-CoV nsp10_nsp16 il complesso 5yn5 è stato impostato come modello per creare una struttura omologa della proteina orf1ab. Predefinita la struttura omologa è stata selezionata come struttura 3D della proteina orf1ab (Figura 3.D). Quindi l'attracco molecolare di orf1ab proteina e porfirina è stato completato da Discovery-Studio. orf1ab proteine ed eme non è stato possibile completare l'esperimento di attracco, ma rimuovendo gli ioni di ferro per trasformare l'eme in una porfirina, e il raggio d'azione aumentò, quindi furono completati diversi tipi di attracco. Calcolando il energia di legame, è stato selezionato un modello di aggancio con la massima energia di legame (561.571,10 kcal / mol).

Il risultato di docking è mostrato nella Figura 7.A-1, dove si trova il modello molecolare della proteina orf1ab vincolante per la porfirina. La parte legante della proteina orf1ab si comporta come una clip. Era questa clip quella afferra la porfirina senza lo ione ferro. La Figura 7.A-2 mostra una vista bidimensionale della rilegatura sezione. Si può vedere che 18 aminoacidi della proteina orf1ab sono legati alla porfirina.

Per studiare le proprietà di legame della proteina ORF8 all'eme, le stesse fasi dell'analisi della struttura sono stati utilizzati metodi proteici. Il file di struttura è stato creato in base al modello ORF7 (Figura 3.E).

Diversi tipi di docking della proteina ORF8 e della porfirina, dove la docking posa è stata selezionata la massima energia legante (12.804.859,25 kcal / mol). Il risultato docking (Figura 7.B-1)

rappresenta il modello molecolare del legame proteico ORF8 alla porfirina.

La Figura 7.B-2 è la vista bidimensionale della sezione di legame, in cui 18 aminoacidi dell'ORF8 sono legati alla porfirina.

Gli stessi metodi della proteina ORF8 sono stati usati per analizzare la proteina ORF7a. Il modello di ORF7a è 1yo4.1.A (Figura 3.F). La proteina ORF7a e la porfirina avevano la più alta energia legante (37.123,79 kcal / mol). La Figura 7.C-1 mostra il modello molecolare dell'ORF7a si lega alla porfirina. Quindici aminoacidi dell'ORF7a sono legati alla porfirina (Figura 7.C-2). La parte vincolante della proteina ORF7a agisce anche come una clip.

Il modello svizzero non è in grado di fornire il modello per ORF10. ORF6a e ORF3a sono derivati da modelli 3h08.1.A e 2m6n.1.A, rispettivamente, ma docking di ORF6a (ORF3a) con eme (e porfirina) fallita.

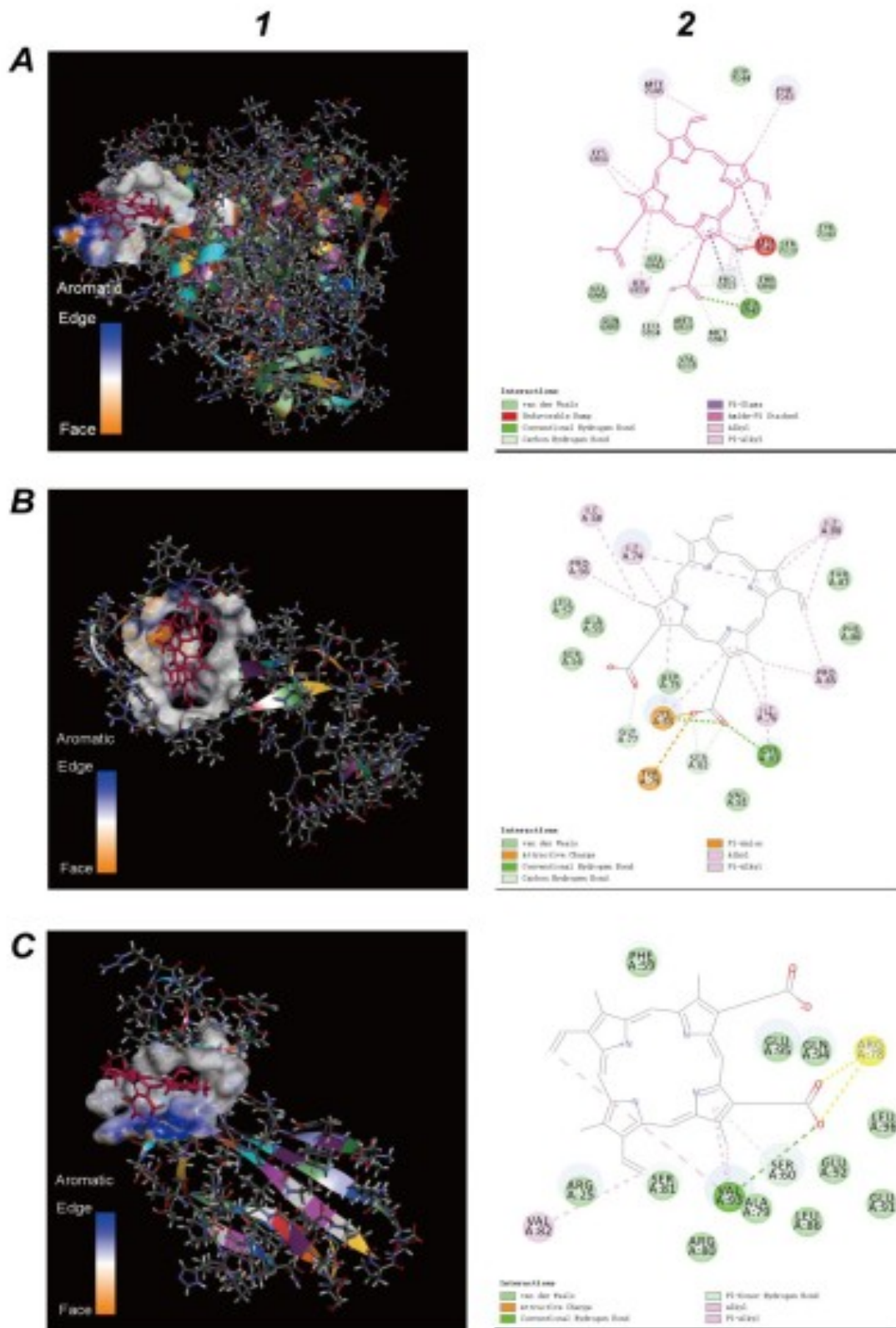


Figura 7. Risultati dell'aggancio molecolare delle proteine non strutturali virali e della porfirina (rosso).
 A. Risultati dell'attracco molecolare della proteina orf1ab e della porfirina.

B. Risultati dell'attracco molecolare di la proteina ORF8 e la porfirina.

C. Risultati del docking molecolare della proteina ORF7a e della porfirina.

1. Proteine non strutturali virali.

2. Vista delle sezioni di rilegatura

Infine, è stata eseguita la seguente analisi per scoprire se le proteine non strutturali attaccavano l'eme e dissociato l'atomo di ferro per formare porfirine. Qui, gli stessi metodi del precedente le proteine strutturali, il server online di MEME, sono state utilizzate per analizzare i domini conservati di proteine non strutturali e proteine dell'eme ossidasi (NP_002124.1: eme ossigenasi 1; BAA04789.

1:eme ossigenasi-2; AAB22110.

2: eme ossigenasi-2). Come mostrato nella Figura 8, ORF10, orf1ab e ORF3a ha domini conservati.

Combinando i risultati dell'analisi precedente, viene mostrato, proteine non strutturali: ORF10, orf1ab e ORF3a potrebbero attaccare l'eme e dissociare l'atomo di ferro per formare la porfirina. Tuttavia, il valore p di orf1ab e ORF3a è maggiore dello 0,1%. Pertanto ORF10 può essere la proteina principale per attaccare l'eme, orf1ab e ORF3a catturano l'eme o la porfirina.

I risultati hanno indicato che orf1ab, ORF7a e ORF8 potrebbero legarsi alla porfirina, mentre ORF10, ORF3a e ORF6 non potevano legarsi all'eme (e alla porfirina). ORF10, ORF1ab e ORF3a hanno anche la capacità di attaccare l'eme per formare una porfirina. Le energie di legame di orf1ab, ORF7a, ORF8 e la porfirina è stata confrontata rispettivamente. Si è riscontrato che l'energia di legame di ORF7a era la più bassa, l'energia di legame di ORF8 era la più alta e l'energia di legame di orf1ab era media.

Questo significa che il legame ORF8 con la porfirina è il più stabile, il legame di orf1ab con la porfirina è instabile, e il legame ORF7a alla porfirina è il più instabile. Le sequenze di ORF10 e ORF6 sono brevi, quindi dovrebbero essere peptidi a segnale corto. Pertanto, il meccanismo mediante il quale l'attracco delle proteine non strutturali ad eme potrebbe essere: ORF10, ORF1ab e ORF3a attaccano eme e generano la porfirina; ORF6

e ORF7a ha inviato la porfirina a ORF8; e ORF8 e la porfirina formavano un complesso stabile.

Figura 8. Domini conservati tra proteine non strutturali e eme ossigenasi proteine umane.

A. Domini conservati di orf1ab.

B. Domini conservati di ORF3a.

C. Domini conservati di ORF6.

D. Domini conservati di ORF7a.

E. Domini conservati di ORF8. F. Domini conservati di ORF10.

3.3 La proteina virale non strutturale attacca l'eme sulla catena beta del emoglobina

Le porfirine nel corpo umano sono per lo più porfirine di ferro, cioè eme. E molto eme non lo è libero, ma legato all'emoglobina. C'era una forte richiesta di porfirine per la sopravvivenza dei virus. Pertanto, il nuovo coronavirus ha preso di mira l'emoglobina, ha attaccato l'eme e cacciato le porfirine. I risultati dell'analisi precedente hanno mostrato che ORF1ab, ORF3a e ORF10 hanno domini simili all'eme ossigenasi, ma solo ORF1ab potrebbe legarsi alla porfirina. Per studiare il comportamento dell'attacco di orf1ab, ORF3a, e le proteine ORF10, abbiamo usato la tecnologia di docking molecolare ZDOCK per esaminare queste tre proteine. La tecnologia di docking molecolare ZDOCK può analizzare le interazioni tra proteine e trovare le posizioni approssimative di queste tre proteine.

Innanzitutto, abbiamo scaricato eme ossigenasi 2 (5UC8) dal PDB e l'abbiamo usato come modello, quindi ha utilizzato lo strumento di modellazione dell'omologia di Discovery-Studio per generare la struttura 3D di ORF10

(Figura 9). Poiché l'emoglobina ha due forme di ossidazione e disossigenazione, la seguente analisi esegue anche l'attracco molecolare proteico in questi due casi, assumendo la postura con il massimo Punteggio ZDOCK.

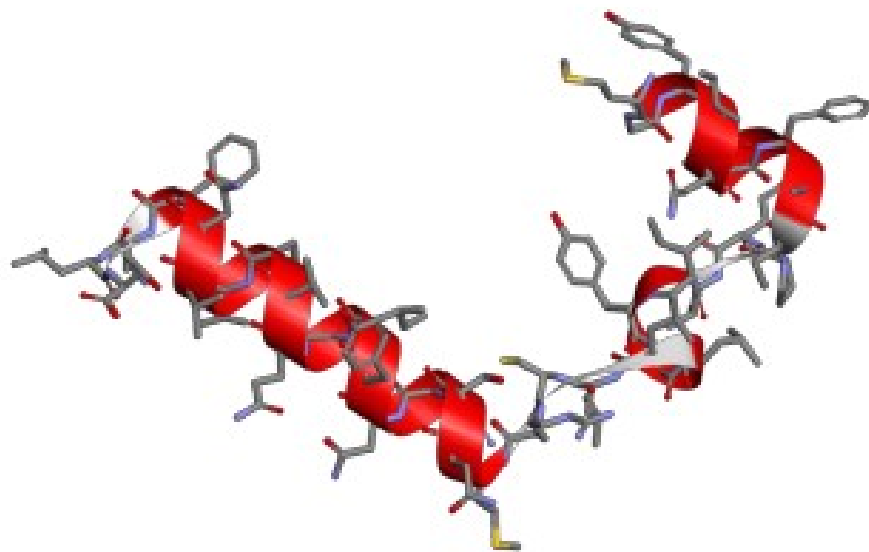


Figura 9. Modellazione omologica di ORF10

Per il deossiemoglobina, orf1ab parcheggiato nella parte inferiore centrale della catena 1-alfa e 2-alfa vicino la catena alfa-2 (Figura 10.A). ORF3a parcheggiata nella parte inferiore centrale della catena 1-alpha e 2-alpha vicino alla catena alfa-2 (Figura 10.B). ORF10 ormeggiato sul fondo centrale dell'1beta e 2-beta catena vicino alla catena 1-beta (Figura 10.C). Il possibile meccanismo era che orf1ab colpisse

la catena 2-alfa, causando cambiamenti di conformazione nella proteina globina. ORF3A costretto alla catena alfa-2 ad attaccare la catena 1-beta ed esposto il suo eme. ORF10 rapidamente collegato alla catena 1-beta e direttamente ha influito sull'eme della catena 1-beta. Quando l'atomo di ferro si è dissociato, l'eme si è trasformato in porfirina, e orf1ab ha finalmente catturato la porfirina. orf1ab ha svolto un ruolo vitale durante l'attacco.

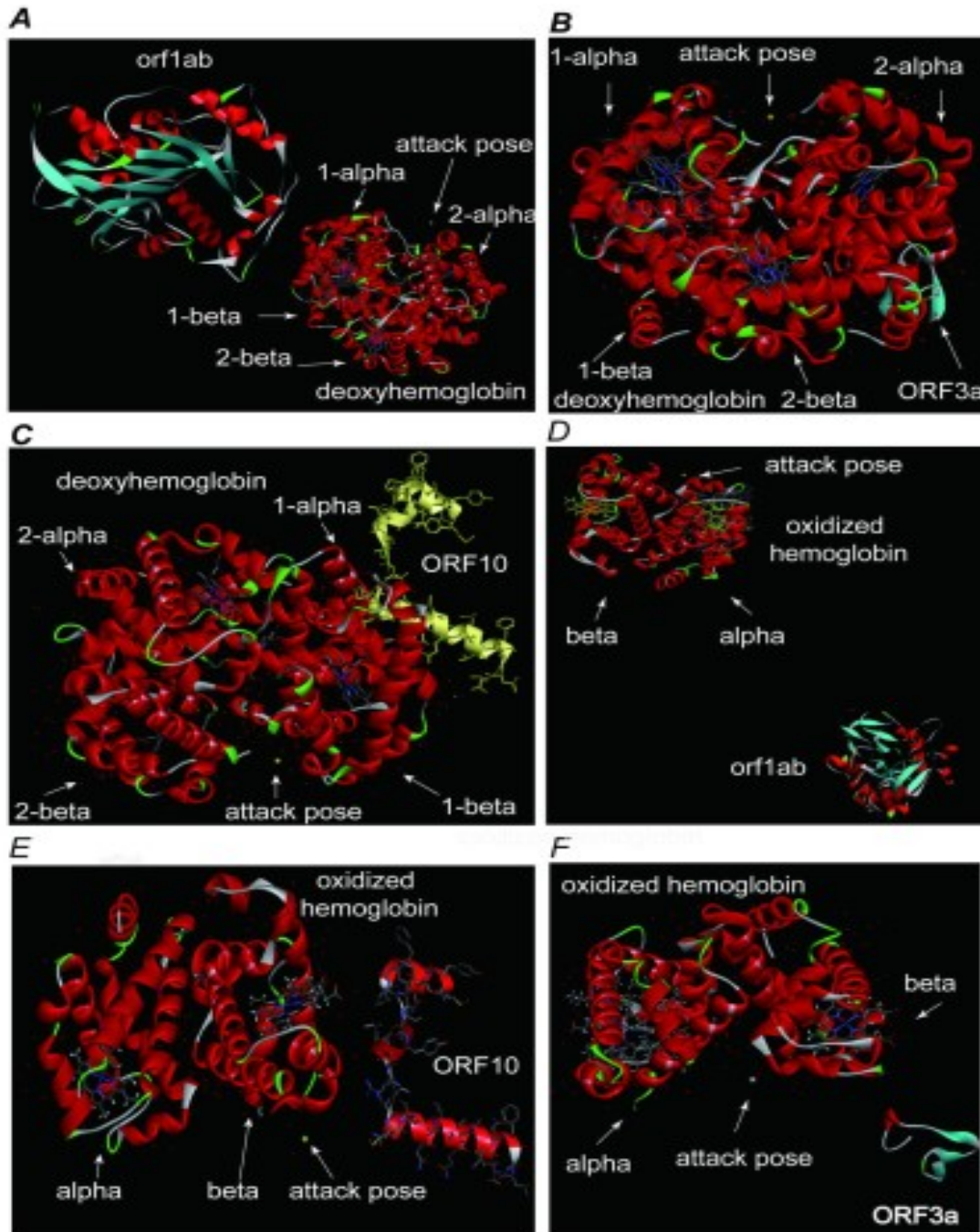


Figura 10. Emoglobina virale non strutturale di attacco proteico.

- A. orf1ab attacca il deossiemoglobina.
- B. ORF3a attacca il deossiemoglobina.
- C. ORF10 attacca il deossiemoglobina.

D. orf1ab attacca l' emoglobina ossidata.

E. ORF10 attacca l'emoglobina ossidata.

F. ORF3a attacca l'emoglobina ossidata.

Per l'emoglobina ossidata, orf1ab parcheggiato nella parte inferiore centrale della catena alfa e beta e chiuso alla catena alfa (Figura 10.A). ORF10 parcheggiato al di sotto della catena beta e si è avvicinato all'esterno (Figura 10.B).

ORF3a ha parcheggiato nella parte inferiore centrale della catena alfa e beta e si è avvicinato alla beta catena (Figura 10.C). Il possibile meccanismo era che orf1ab si legava alla catena alfa e attaccava il beta chain, causando cambiamenti di configurazione nelle catene alpha e beta; ORF3 ha attaccato la catena beta ed eme esposto. ORF10 attaccò rapidamente la catena beta influenzò direttamente gli atomi di ferro sull'eme della catena beta. L'eme fu dissociato in porfirina e orf1ab alla fine fu catturato porfirina. orf1ab ha svolto un ruolo vitale durante l'attacco.

L'attacco dell'emoglobina ossidata da parte delle proteine virali porterà sempre meno emoglobina a trasportare ossigeno. L'invasione di proteine virali nell'emoglobina disossidata causerà sempre meno emoglobina che può trasportare anidride carbonica e zucchero nel sangue. Le persone con diabete possono avere instabilità glicemia. Il paziente è aggravato dall'avvelenamento da anidride carbonica. Le cellule polmonari hanno estreme infiammazioni intense a causa dell'incapacità di scambiare frequentemente anidride carbonica e ossigeno, che alla fine si traduce in immagini polmonari simili a vetro smerigliato. Saranno effettuati i pazienti con difficoltà respiratorie peggio.

3.4 Convalida per l'effetto del cloroquina fosfato

I componenti chimici in cloroquina fosfato competono con la porfirina e si legano al proteina virale, inibendo in tal modo l'attacco della proteina virale all'eme o legandosi alla porfirina. Verificare

l'effetto del cloroquina fosfato sul meccanismo d'azione molecolare virale, docking molecolare la tecnologia è stata accettata. Il file di struttura di OTX (cloroquina) è stato scaricato dal PDB Banca dati. Quindi la tecnologia di docking molecolare di Discovery-Studio 2016 è stata utilizzata per testare gli effetti di proteine virali e cloroquina.

La Figura 11.A-1 è un diagramma schematico di legame della cloroquina a una glicoproteina di superficie virale.

Figura 11.A-2 è la regione di legame della glicoproteina di superficie del virus. 13 aminoacidi impegnati nel rilegatura. L'energia di legame della cloroquina alla glicoproteina E2 del virus è 3.325.322.829,64 kcal / mol, che è circa la metà dell'energia di legame della glicoproteina E2 e della porfirina. Secondo i risultati della Figura 4.A-2, ulteriori analisi hanno mostrato che alcuni aminoacidi (ad esempio VAL A: 952, ALA A: 956, ALA B: 956, ASN A: 955 ecc.) Della glicoproteina E2 potrebbero legarsi non solo al fosfato di cloroquina, ma anche le porfirine. In altre parole, la cloroquina ha un terzo delle possibilità di inibizione di glicoproteina virale E2 e riduzione dei sintomi del paziente. La vista di legame della cloroquina e della proteina dell'involucro è mostrata nella Figura 11.B-1.

La rilegatura dell'energia della cloroquina e della proteina dell'involucro 7.852,58 kcal / mol, che equivale solo al 4% dell'energia legante delle proteine dell'involucro e della porfirina.

La regione di rilegatura è mostrata nella Figura 11.B-2.

La Figura 4.B-2 e la Figura 11.B-2 rappresentano alcuni aminoacidi (come LEV E: 28, PHE: D: 20, VAL E: 25) della proteina dell'involucro non è solo legato al fosfato di cloroquina, ma anche al porfirina.

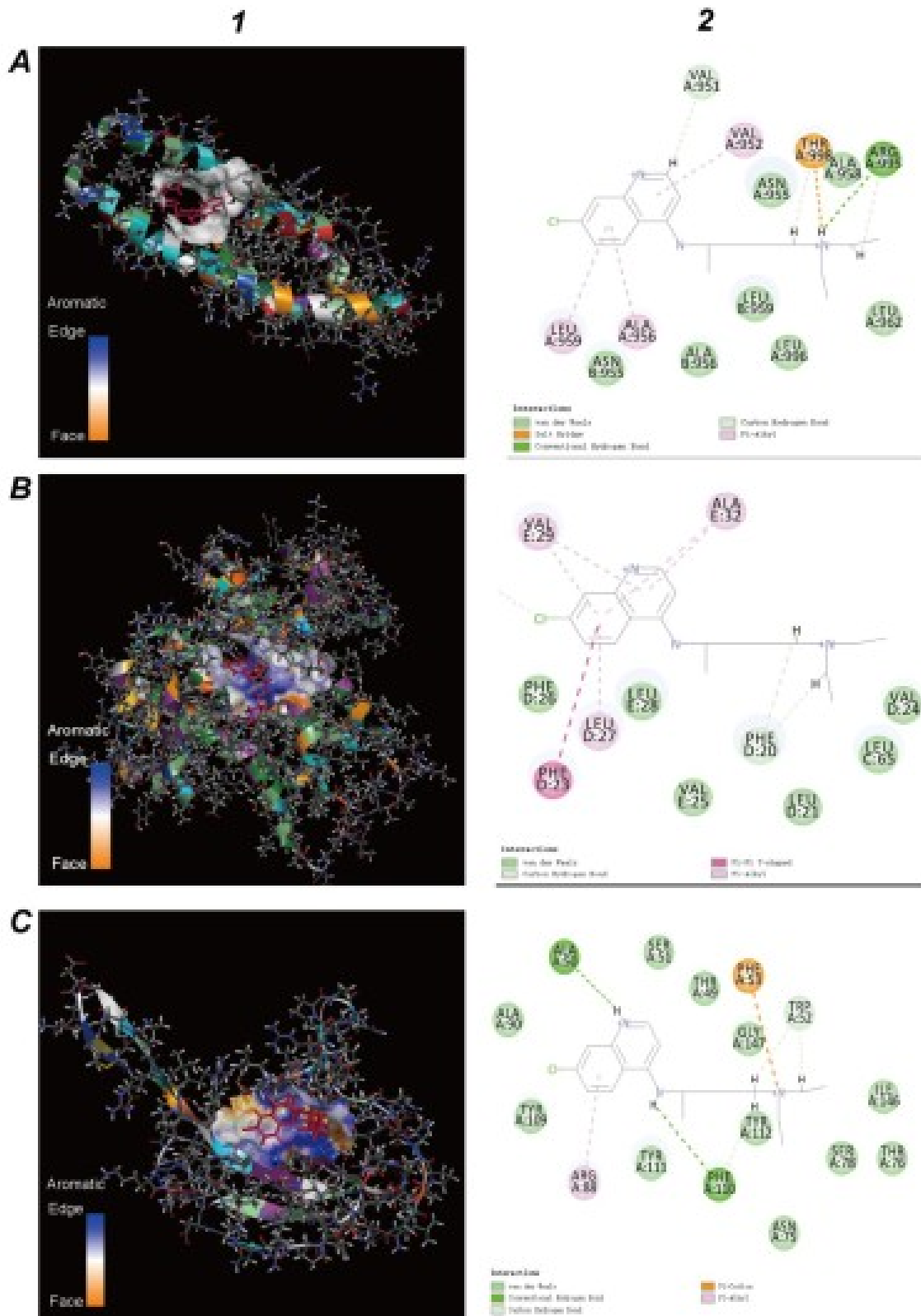
La Figura 11.C-1 è un diagramma schematico di legame della cloroquina al nucleocapside fosfoproteina. L'energia di legame della cloroquina alla fosfoproteina nucleocapside è 198.815,22 kcal / mol, che equivale solo all'1,4% dell'energia di legame del nucleocapside fosfoproteina e porfirina. ALA A: sono coinvolti 50 ecc.

Di fosfoproteina nucleocapside rilegatura (Figura 12.C-2).

Le figure 4.C-2 e le figure 11.C-2 hanno dichiarato che gli aminoacidi del nucleocapside la fosfoproteina potrebbe legare la porfirina, ma non potrebbe legare la cloroquina. L'aggancio delle proteine di membrana con cloroquina non è riuscito.

Figura 11. Risultati dell'aggancio molecolare delle proteine della struttura virale e della cloroquina (rosso).

A. Risultati dell'aggancio molecolare della glicoproteina E2 e della porfirina.



- B. Risultati dell'attracco molecolare di la proteina dell'involucro e la porfirina.
- C. Risultati dell'attracco molecolare del nucleocapside fosfoproteina e porfirina.
 - 1. Proteine della struttura virale.
 - 2. Vista delle sezioni di rilegatura

Un diagramma schematico di legame della cloroquina alla proteina orf1ab è mostrato nella Figura 12.A-1.

La sezione di legame della proteina orf1ab è rappresentata nella Figura 12.A-2. L'energia di legame della cloroquina e la proteina orf1ab è 4.584.302,64 kcal / mol, che equivale a 8 volte l'energia di legame tra l'orf1ab e la porfirina. Secondo i risultati della Figura 7.A-2, è stato dimostrato che alcuni aminoacidi come MET 7045, PHE 7043, LYS 6836 della proteina orf1ab potrebbero non essere solo legati al fosfato di cloroquina, ma anche porfirina.

Un diagramma schematico di legame della cloroquina alla proteina ORF8 è mostrato nella Figura 12.B1.

La Figura 12.B-2 mostra la sezione di rilegatura dell'ORF8. L'energia di legame della cloroquina all'ORF8 la proteina è 4.707.657,39 kcal / mol, che equivale solo al 37% dell'energia di legame dell'ORF8 proteina alla porfirina. Secondo il risultato della Figura 7.B-2, mostrava gli aminoacidi come ILE A: 74, ASP A: 75, LYS A: 53 di ORF8 potrebbero non solo legarsi al fosfato di cloroquina, ma anche al porfirina.

Un diagramma schematico di legame della cloroquina alla proteina ORF7a è mostrato nella Figura 12.C-1.

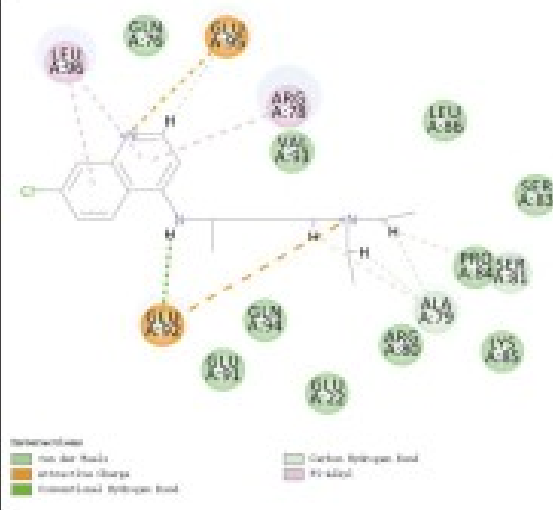
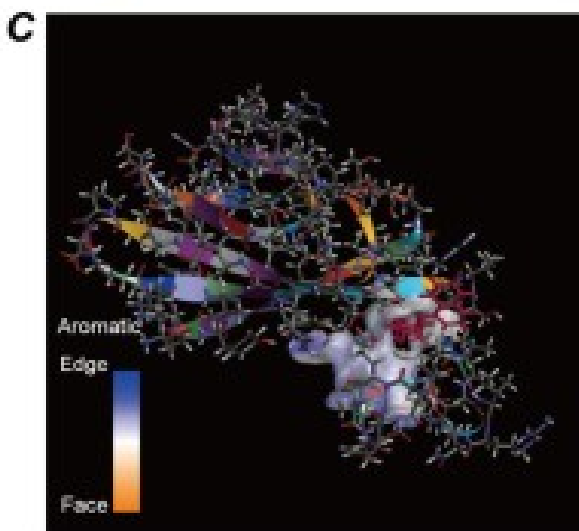
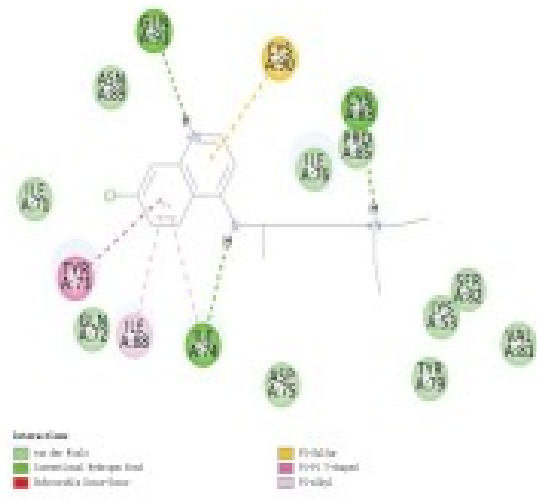
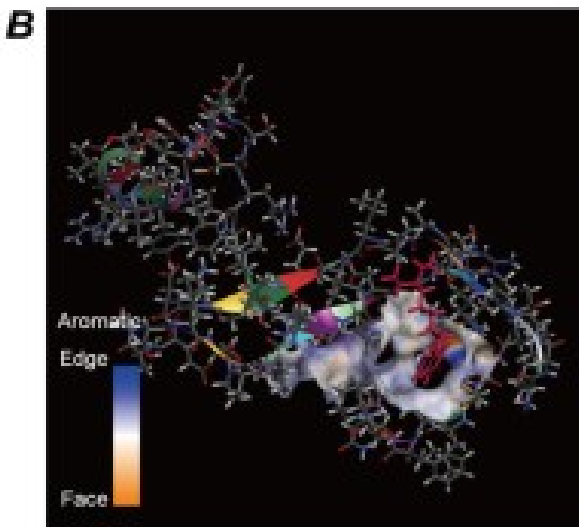
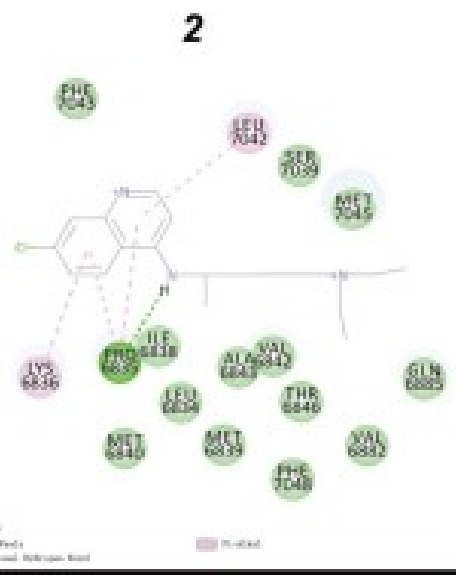
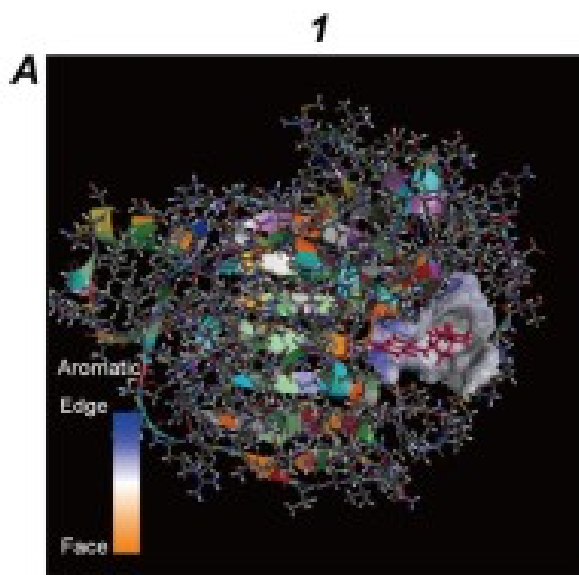
La Figura 12.C-2 è la vista della sezione di rilegatura. L'energia di legame della cloroquina all'ORF7a la proteina è 497.154,45 kcal / mol, che equivale a 13 volte dell'energia di legame della proteina ORF7a a la porfirina. Secondo i risultati della Figura 7.C-2, sono stati mostrati gli aminoacidi come GLN A: 94, ARG A: 78 e LEU A: 96 di ORF7aprotein potrebbero non essere solo legati al fosfato di cloroquina, ma anche alla porfirina.

L'aggancio delle proteine ORF3a, ORF6 e ORF10 con cloroquina non è riuscito.

Questi risultati hanno indicato che la cloroquina potrebbe inibire il legame di E2 e ORF8 con la porfirina per formare un complesso rispettivamente in una certa misura. Nel frattempo, la cloroquina potrebbe prevenire orf1ab, ORF3a e ORF10 per attaccare l'eme per formare la porfirina.

Figura 12. Risultati dell'aggancio molecolare delle proteine non strutturali virali e della cloroquina (struttura rossa).

- A. Risultati dell'aggancio molecolare della proteina orf1ab e della cloroquina.
- B. Docking molecolare risultati della proteina ORF8 e della cloroquina.
- C. Risultati del docking molecolare della proteina ORF7a e la cloroquina.
 - 1. Proteine non strutturali virali.
 - 2. Vista delle sezioni di rilegatura.



3.5 Convalida per l'effetto di Favipiravir

Favipiravir è l'ultimo farmaco anti-romanzo per coronavirus con specifici effetti terapeutici. In Favipiravir, il ligando più critico è 1RP, che è 6 - fluoro - 3 - oxo - 4 - (5 - O - fosfono - beta - D - ribofuranosil) - 3, 4 - diidropirazina - 2 - carbossammide. Seguendo lo stesso metodo usato per esaminare la cloroquina, abbiamo studiato l'efficacia di Favipiravir. Come si può vedere dalla tabella 1, Favipiravir non può essere legato alla glicoproteina E2 e al nucleocapside e la sua energia di legame a Envelope la proteina, ORF7a o orf1ab è superiore a quella della porfirina. È utile notare che l'energia di legame della proteina della busta e il favipiravir sono oltre 2700 volte l'energia legante della porfirina. La funzione principale della proteina Envelope è di aiutare il virus a entrare nelle cellule ospiti, il che dimostra che Favipiravir può impedire efficacemente al virus di infettare le cellule umane. L'energia di legame di ORF7a a Favipiravir è 450 volte più alto di quello della porfirina, indicando che può effettivamente evitare la proteina non strutturale del virus che cattura la porfirina. L'energia di legame di orf1ab e Favipiravir è 1,8 volte superiore a quello della porfirina, il che dimostra che Favipiravir può prevenire il virus non strutturato proteina dall'attacco dell'eme sull'emoglobina. Secondo studi precedenti, l'energia di legame di orf1ab e Favipiravir è molto più piccolo di quello della cloroquina, quindi la capacità di Favipiravir di migliorare l'angoscia respiratoria è inferiore. In sintesi, il ruolo principale di Favipiravir è prevenire il virus entrare nelle cellule ospiti e catturare porfirine libere.

Table 1. Effect of Favipiravir

Virus proteic	Porphyrin (kcal/mol)	Favipiravir (kcal/mol)	Has Identical residues	Target	Target Rate (Favipiravir /Porphyrin)
E2 glycoprotein	7,530,186,265.80	-	-	-	-
Envelope protein	219,317.76	597,814,480.55	Yes	Yes	2,725.79
Nucleocapsid	15,532,506.53	-	-	-	-
orf1ab	561,571.10	1,052,489.88	Yes	Yes	1.87
ORF8	12,804,859.25	348,589.80	Yes	-	-
ORF7a	37,123.79	17,034,560.60	Yes	Yes	458.86

4. Discussione

4.1 Il nuovo coronavirus ha origine da un antico virus

Per i virus della vita più primitiva, non è molto facile vedere il loro ruolo nel legare la porfirina. I composti di porfirina sono ampiamente presenti negli organismi fotosintetici o non fotosintetici e loro sono associati a processi fisiologici critici come catalisi, trasferimento di ossigeno ed energia trasferimento. La porfirina è anche un antico composto ampiamente presente sulla terra. La porfirina è stata trovata la prima volta nel petrolio greggio e nella roccia asfaltata nel 1934. La porfirina ha proprietà fotoelettroniche uniche e eccellente stabilità termica e ha ampie prospettive applicative in chimica dei materiali, medicina, biochimica e chimica analitica. È prestazione eccellente

nell'assorbimento di due fotoni, effetto di fluorescenza, trasferimento di energia e altri aspetti. Trasferimento di energia a risonanza di fluorescenza (FRET) è un processo non radiativo in cui un donatore in uno stato eccitato trasferisce energia a un recettore nello stato fondamentale attraverso un effetto dipolo a lungo raggio.

Le caratteristiche FRET della porfirina possono essere le modalità di sopravvivenza primaria su cui si basava il virus originale. Esistono numerose teorie sull'origine dei virus, una delle quali si chiama teoria della coevoluzione, quali virus possono evolversi dai complessi della proteina e dell'acido nucleico. Vari metodi non spiegano che un virus è sopravvissuto indipendentemente dalle cellule non comparse all'inizio della vita, quindi l'origine di un virus rimane un mistero. Questo documento propone che un virus potrebbe essere legato alla porfirina, che potrebbe spiegare il problema di sopravvivenza di un virus originale. Perché la porfirina ha l'energia caratteristica di trasferimento della risonanza di fluorescenza, i virus che si legano alle porfirine potrebbero ottenere energia attraverso questo metodo indotto dalla luce. Un virus che ha guadagnato potere potrebbe raggiungere uno spostamento minimo movimenti o svegliarsi dal letargo o entrare in letargo da uno stato attivo. A seconda dei risultati della ricerca in questo studio, il nuovo coronavirus era una forma di vita dipendente dalla porfirina. Pertanto, potremmo credere che il nuovo coronavirus abbia avuto origine da un antico virus che potrebbe essersi evoluto nel corso di innumerevoli generazioni di pipistrelli.

4.2 Una maggiore permeabilità delle porfirine nelle membrane cellulari porta infezioni a livelli elevati.

L'evoluzione del nuovo coronavirus mostra anche alcune caratteristiche paradossali.

L'attuale teoria suggerisce che il nuovo coronavirus si lega al recettore ACE2 umano attraverso un piccolo proteina. Entra nelle cellule umane sotto forma di fagocitosi. I modelli di malattie infettive hanno indicato che la nuova polmonite da coronavirus è altamente contagiosa. Pertanto, la proteina spike e l'ACE2 umano le proteine dovrebbero avere una forte capacità di legame, ma ci sono rapporti in letteratura che l'abilità di questo legame è debole. Cosa causa l'alta infettività del nuovo coronavirus? Noi crediamo che in aggiunta al metodo invasivo di spike-ACE2, dovrebbe mantenere il modello invasivo originale.

Gli operatori sanitari hanno rilevato il nuovo coronavirus da urina, saliva, feci e sangue. Il virus può anche vivere nei fluidi corporei. In tali media, la porfirina è una sostanza prevalente. I composti porfirina sono una classe di polimeri contenenti azoto e studi esistenti hanno scoperto che hanno una forte capacità di localizzare e penetrare le membrane cellulari. All'inizio della vita, molecole di virus con le porfirine si sono spostate direttamente nella struttura della membrana originale per permeabilità alla porfirina. Questo studio ha mostrato che la glicoproteina E2 e la proteina Envelope del nuovo coronavirus potrebbero legare bene alle porfirine. Pertanto, il coronavirus può anche penetrare direttamente attraverso la membrana cellulare umana porfirina, quindi l'infezione è robusta. La nostra analisi di validazione ha mostrato che Favipiravir poteva solo prevenire il legame di proteina e porfirina. Nel frattempo, la cloroquina potrebbe effettivamente prevenire il legame della glicoproteina E2 alla porfirina in una certa misura. Pertanto, l'infettività della nuova polmonite da coronavirus non è stata completamente prevenuta dai farmaci, a causa del legame. La glicoproteina E2 e la porfirina non sono state inibite.

4.3 L'emoglobina più elevata ha causato una maggiore morbilità

L'effetto terapeutico del fosfato di cloroquina sulla nuova polmonite da coronavirus lo dimostra la nuova polmonite da coronavirus potrebbe essere strettamente correlata al metabolismo anomalo dell'emoglobina nell'uomo.

Il numero di emoglobina è un importante indicatore biochimico del sangue e il contenuto è diverso

in generi diversi. Il numero di uomini normali è significativamente superiore a quello delle donne normali, che potrebbe anche essere un motivo per cui gli uomini hanno maggiori probabilità di essere infettati dalla nuova polmonite da coronavirus delle donne. Inoltre, i pazienti con nuova polmonite da coronavirus sono la maggior parte delle persone di mezza età e più anziani adulti. Molti di questi pazienti hanno patologie di base come il diabete. I pazienti diabetici hanno più alto tasso di emoglobina glicata. L'emoglobina glicata è desossi-emoglobina. L'emoglobina glicata è la combinazione di emoglobina e glucosio nel sangue, che è un'altra ragione per l'alto tasso di infezione per le persone anziane.

Questo studio ha confermato che orf1ab, ORF3a e ORF10 potrebbero attaccare in modo coordinato eme su catena beta dell'emoglobina. Sia l'emoglobina ossigenata che deossigenata vengono attaccate. Durante l'attacco, le posizioni di orf1ab, ORF3 e ORF10 sono leggermente diverse. Ha dimostrato che maggiore è il contenuto di emoglobina, maggiore è il rischio di malattia. Tuttavia, non è sicuro che il tasso di malattia causato da un'emoglobina anormale (strutturale) è relativamente bassa. L'emoglobina di pazienti e guariti dovrebbe essere rilevato per ulteriori ricerche e trattamenti.

4.4 Inibizione della via anabolica dell'eme e causa della malattia

Questo articolo ha considerato che il virus ha interferito direttamente con l'assemblaggio dell'emoglobina umana. Il motivo principale era che il normale eme era troppo basso. Heme si unisce ad attività biologiche critiche come regolazione dell'espressione genica e traduzione proteica. La porfirina è un materiale importante per la sintesi di eme. Poiché le tracce esistenti mostrano che c'è troppo ferro libero nel corpo, dovrebbe essere che la molecola produttrice di virus compete con il ferro per la porfirina. Inibendola via dell'eme anabolico e causando sintomi nell'uomo.

Non è chiaro se la struttura molecolare spaziale di eme e porfirina nei pazienti con la porfiria è la stessa di quella nelle persone sane. Se esiste una struttura anormale, non è chiaro se questa porfirina può legarsi a una proteina virale per formare un complesso, o se una proteina virale può attaccare questo eme. Esso dovrebbe essere dimostrato dalla ricerca clinica e sperimentale.

4.5 La complessità dell'immunità individuale

Alcune teorie suggeriscono che una risposta immunitaria si verifica nel corpo dopo che un paziente si ammala.

Alcuni pazienti sviluppano anticorpi immunitari dopo il recupero. Secondo questo studio, glicoproteina E2, le proteine dell'involucro, la fosfoproteina nucleocapside, orf1ab, ORF7a e ORF8 del virus potrebbero legarsi alla porfirina. Ma dalla ricerca attuale, non è chiaro quali anticorpi immunitari siano stati aumentati contro le proteine virali.

Inoltre, alcuni pazienti potrebbero essere uccisi dalla loro tempesta di citochine. Rispetto ai pazienti con SAR, le caratteristiche anatomiche dei morti sono diverse. Il complesso delle proteine virali e il virus la porfirina può essere poco solubile. La causa era troppo muco nei tessuti dei pazienti deceduti di troppe proteine di mucina. Mucin potrebbe trasformare cellule vagamente connesse in cellule strettamente aderenti e aumenta la lubrificazione tra le cellule. Suggerisce che il composto porta a una ridotta connettività cellulare e le cellule hanno bisogno della mucina per consolidare la connettività e la lubrificazione tessuto-cellula. Inoltre, quando un paziente entra nel periodo di infezione grave, le proteine strutturali virali sono state utilizzate principalmente per l'assemblaggio del virus. Pertanto, non è possibile trovare inclusioni di virus evidenti nelle cellule del tessuto del paziente sezionato.

5. Conclusioni

Dall'epidemia di emergenza, è estremamente scientifico utilizzare l'analisi bioinformatica

i ruoli di nuove proteine del coronavirus (come ORF8 e glicoproteine di superficie). In questo studio, i metodi di previsione sono stati applicati per la ricerca di domini conservati. La struttura delle molecole proteiche come ORF8 e glicoproteine di superficie sono stati ottenuti usando metodi di modellazione omologica.

La tecnologia docking è stata utilizzata per analizzare la parte legante delle proteine virali con l'eme e la porfirina. I risultati dello studio mostrano che ORF8 e glicoproteine di superficie potrebbero combinarsi con la porfirina per formare un complesso, rispettivamente. Allo stesso tempo, le proteine orf1ab, ORF10 e ORF3a potrebbero coordinare l'attacco dell'eme sulla catena 1-beta dell'emoglobina per dissociare il ferro per formare la porfirina. L'attacco porterà a una riduzione dell'emoglobina per trasportare ossigeno e anidride carbonica. Le cellule polmonari hanno un'inflammation estremamente intensa a causa, spesso, dell'incapacità di scambiare anidride carbonica e ossigeno, che alla fine si traduce in immagini polmonari simili a vetro smerigliato. Nei pazienti con difficoltà respiratorie sarà peggiorato. I pazienti diabetici e le persone anziane hanno emoglobina glicata più elevata.

L'emoglobina glicata è stata ridotta dall'attacco, il che ha reso instabile lo zucchero nel sangue dei pazienti. Dal momento che la porfirina nei complessi del virus prodotto nel corpo umano hanno inibito la via anabolica dell'eme, che hanno causato una vasta gamma di infezioni e malattie.

Tenendo conto di questi risultati, ulteriori analisi hanno rivelato che la cloroquina potrebbe prevenire orf1ab, ORF3a e ORF10 dall'attacco dell'eme per formare la porfirina e inibire il legame di ORF8 e le glicoproteine di superficie alle porfirine in una certa misura, alleviano efficacemente i sintomi di problema respiratorio. Favipiravir potrebbe inibire la proteina dell'involucro e la proteina ORF7a legarsi alla porfirina, impedire al virus di entrare nelle cellule ospiti e catturare porfirine libere. Perché il nuovo coronavirus dipende dalle porfirine, può provenire da un antico virus. Data l'attuale epidemia, lo è e si ritiene che i risultati di questo studio siano di grande valore nel prevenire la diffusione di nuovi coronavirus polmonite, sviluppo di farmaci e vaccini e trattamento clinico.

Dichiarazioni

Approvazione etica e consenso alla partecipazione

Non applicabile.

Consenso per la pubblicazione

Non applicabile.

Disponibilità di dati e materiali

I set di dati e i risultati a supporto delle conclusioni di questo articolo sono disponibili all'indirizzo <https://pan.baidu.com/s/1YQNGoN6L9rPU8K5Bnh3EuQ>, codice: ry25.

Interessi conflittuali

Gli autori dichiarano di non avere interessi in gioco.

Contributi dell'autore:

Progettazione, analisi, scrittura: Wenzhong Liu. Cura dei dati, controllare il manoscritto: Hualan Li.

Tutti

gli autori hanno letto e accettato la versione pubblicata del manoscritto.

finanziamento

Questo lavoro è stato parzialmente supportato dalla Natural Science Foundation per Talent

Introduction

Progetto dell'Università di Scienza e Ingegneria del Sichuan (n. 2018 RCL20).

Ringraziamenti

Non applicabile.