

ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция 1

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

Вирусология (в 3- томах), под ред. Б.Филдса, Д.Найпа при участии Р.Ченока и др. ; перевод с англ. А.В.Гудкова и др; под ред. Н.В.Каверина, Л.Л.Киселёва. - Москва : Мир, 1989.

Агол В.И., Богданов А.А., Гвоздев В.А. и др.; под ред..
А.С.Спирина. Молекулярная биология: Структура и биосинтез нуклеиновых кислот. Москва, Высшая школа, 1990.

Alan Cann, Principles of Molecular Virology, Fourth Edition,
ELSEVIER, Academic Press, 2005.

Карпова О.В., Градова Н.Б. Основы вирусологии для биотехнологов, Москва, ДeЛи плюс, 2012.

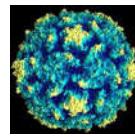
История вирусологии



Мемфис 3700 до н.э.



Долина царей
1200 до н.э.



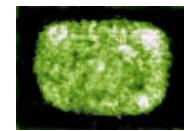
Вирус
полиомиелита
ПОЛИОВИРУС

3

История вирусологии



фараон Рамзес V умер в 1196 до н.э.
от заражения вирусом оспы



ВИРУС ОСПЫ



4

История вирусологии

Месопотамия

1000 до н.э. – существовали законы о штрафах, налагаемых на людей, держащих бешеных собак



ВИРУС БЕШЕНСТВА

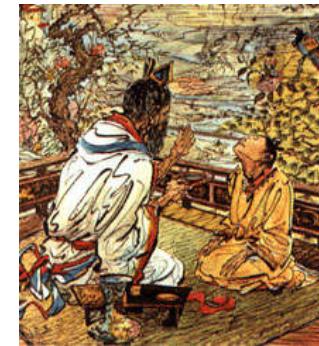
4a

История вирусологии

Китай

1000 до н.э. – зафиксирована эпидемия оспы

Вариоляция



Variola (лат.) - оспа

4b

История вирусологии

Голландия

1636-1637 гг



Тюльпаномания

Тюльпан
«Вечный август».



ПОТИВИРУСЫ

Вирус пестрой полосатости тюльпанов -*Tulip breaking virus*

4c

История вирусологии



14 мая 1796 года Edward Jenner провел первую вакцинацию против оспы

Вакцинация – vacca (лат) - корова

5

История вирусологии



Robert Koch
(1843-1910)



Louis Pasteur
(1822-1895)

**В 1880-х сформулирована
«Теория микробного происхождения болезней».**

6

Постулаты Коха

- микроорганизм должен регулярно выявляться при определенном заболевании;
- этот микроорганизм должен быть выделен в чистой культуре;
- инокуляция чистой культуры микроорганизма в организм хозяина должна вызывать ту же самую болезнь;
- этот микроорганизм снова должен быть обнаружен в организме

Вирус – *virus* – яд (лат)

7

История вирусологии

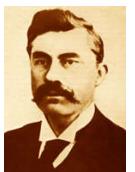


Дмитрий Ивановский
(1864-1920)

В 1892 году показал, что экстракт из зараженного растения табака остается инфекционным после того, как его пропустили через бактериальный фильтр.



Заряжённый лист Здоровый лист



Martinus Beijerinck
(1851-1931)

В 1898 году впервые сформулировал мысль о существовании инфекционных агентов, по размеру меньших, чем бактерии («фильтрующийся агент»). Он назвал его *«contagium vivum fluidum»*, т.е. «заразным жидким началом»

8

История вирусологии

- Freidrich Loeffler & Paul Frosch (1898) открыли первый вирус животных – вирус ящура.
- Walter Reed (1900) – обнаружен первый вирус человека – вирус желтой лихорадки – и показана возможность его передачи комарами.
- Landsteiner & Popper (1909) показали, что полиомиелит вызывается «фильтрующимися агентами».
- Peyton Rous (1911) обнаружил «фильтрующийся агент», вызывающий опухоли у кур – вирус саркомы Райса.
- Frederick Twort (1915) & Felix d'Herelle (1917) независимо один от другого открыли возможность заражения бактерий «фильтрующимися агентами» (бактериофаги).

9

История вирусологии Вирусы бактерий - бактериофаги

Frederick Twort (1915)

- Первым выделил вирусы, инфицирующие бактерии (бактериофаги)

Felix d'Herelle (1917)

- Установил существование бактериофагов
- Разработал метод определения числа фагов в растворе
- Продемонстрировал, что фаги способны репродуцироваться в живых бактериях
- Предположил, что бактериофаги могут быть использованы для лечения заболеваний



зоны лизиса бактерий — бляшки

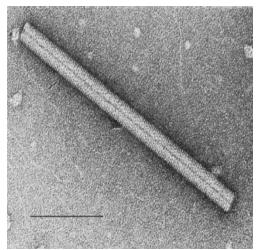
9a

Вирус табачной мозаики - ВТМ



10

История вирусологии



Wendell Stanley (1935) получил очищенный препарат ВТМ - вируса табачной мозаики.

Постулаты Коха выполнены: инфекционный агент выделялся из больного организма, вызывал заражение здорового организма и выделялся из новорожденного организма.

ВТМ —макромолекулярный комплекс, состоящий из белка и нуклеиновой кислоты

10a

История вирусологии



Alfred Day Hershey & Martha Chase (1952) показали, что в клетки бактерий проникает только нуклеиновая кислота бактериофага T2, и, следовательно, информация необходимая для инфекции и воспроизведения фаговых частиц, закодирована в нуклеиновой кислоте вируса – фаговой ДНК.



Heinz Ludwig Fraenkel-Conrat (1956) получил очищенный препарат РНК ВТМ и показал его инфекционность для растений в отсутствие вирусного белка.



Таким образом, окончательно установлена роль нуклеиновой кислоты в инфекционности вирусных частиц

11

История вирусологии



- Вирусы - представители отдельного царства живого.
- Вирусы являются возбудителями многих заболеваний человека (оспа, желтая лихорадка, полиомиелит, корь, свинка, простуда и др.)
- Установлена химическая природа вирусов как нуклеопротеидов определенной структуры, характерной для каждого вида вирусов.
- Доказано, что свойства вирусов определяются их нуклеиновой кислотой.

12

Происхождение вирусов

- **Регрессивная эволюция**
дегенеративная форма жизни, потерявшая в ходе эволюции многие функции, оставив лишь генетическую информацию, необходимую для паразитической формы существования.
- **Клеточное происхождение**
субклеточный комплекс макромолекул, который смог стать автономным в определенной степени от клетки и покинул её.
- **Доклеточные генетические элементы
Независимый путь эволюции**
вирусы развивались параллельным курсом с клеточными организмами из самореплицирующихся молекул (древний РНК-мир).

13

Происхождение вирусов

Доклеточные генетические элементы

• Разнообразие способов хранения, репликации и экспрессии генетической информации у вирусов отсутствующее у клеточных организмов, – серьезный довод против гипотезы о происхождении вирусов путем упрощения генетических систем клетки.

• У большинства вирусов есть вирусспецифические гены, отсутствующие у клеточных организмов

“The tree of life and its root are immersed in a viral ocean”



(Bamford, 2003)

13a

Вирусология

изучает вирусы – комплексы, состоящие из нуклеиновых кислот и белка, обладающих способностью реплицироваться в клетках животных, растений и бактерий.

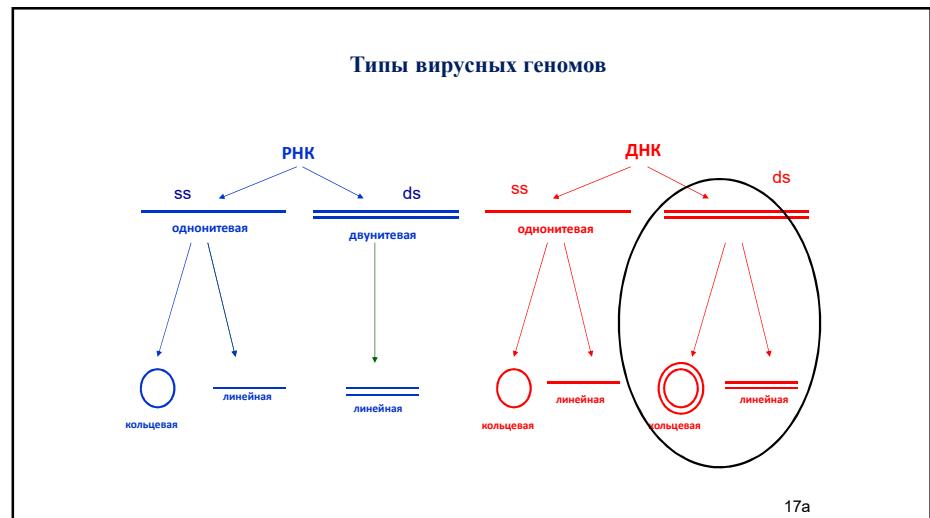
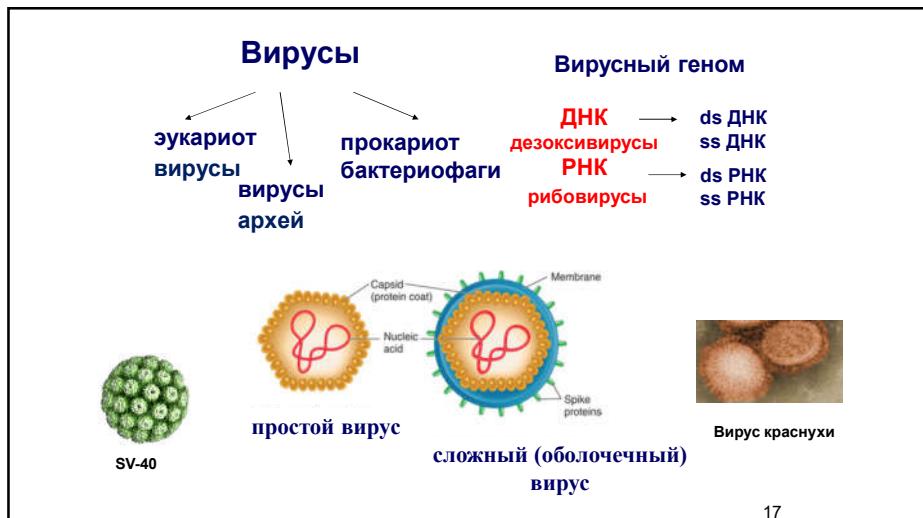
14



	Рост на искусственных средах	Размножение простым делением	Имеют и ДНК, и РНК	Имеют рибосомы	Чувствительность к антибиотикам
МИКОПЛАЗМЫ	да	да	да	да	да
риккетсии, хламидии	нет	да	да	да	да
вирусы	нет	нет	нет	нет *	нет

* аренавирусы

16



РАЗНООБРАЗИЕ РАЗМЕРОВ ГЕНОМОВ.

Дезоксивирусы - ДНК-ВИРУСЫ.

двунигитевые ДНК (ds ДНК)

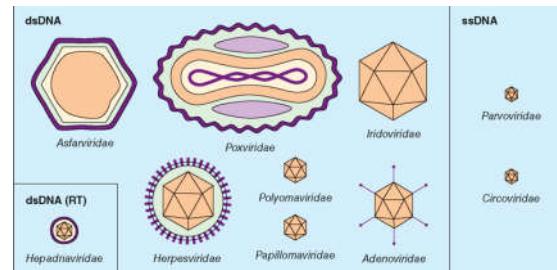
Мимивирус	~1000 генов;	500 млн. Да, 1182 kbp .
Вирус оспы	150- 300 генов;	160 млн. Да, 150-300 kbp.
Бактериофаг T4	300 генов;	120 млн. Да, 169 kbp.
Вирус герпеса	70 генов;	100 млн. Да, 120 kbp.
Аденовирус	40 генов;	25 млн. Да, 26-46 kbp.
Папилломавирус	8 генов;	3.2 млн. Да, 7.0-8.4 kbp.
Вирус гепатита В	4 гена;	3.2 kbp.

однонитевые ДНК (ss ДНК)

Бактериофаг M13	10 генов;	8 kb.
Парвовирус	6 генов;	1.5 млн. Да; 5 kb.
Aerovirum coil-shaped virus	~ 50 генов;	24,9 kb

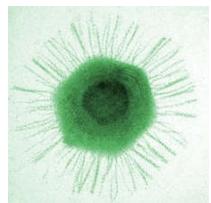
18

Сравнение размеров ДНК-содержащих вирусов

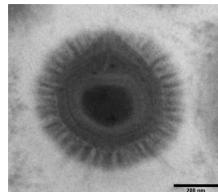


19

ГИГАНТСКИЕ ВИРУСЫ



Mimivirus (mimicring microbes)
 Ø 400 нм (800)
 dsДНК
 1 182000 п.нт
 979 белков
 Claverie J-M. and Raoult D. (2003).



Megavirus
 Ø 440 нм (~600)
 dsДНК
 1 259000 п.нт
 1120 белков
 Claverie J-M and Abergel Ch.(2010)

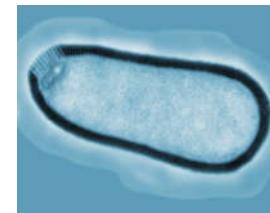
20

ГИГАНТСКИЕ ВИРУСЫ

Pandoravirus
 1000нм x 500нм
 dsДНК
 1900000- 2500000 п.нт
 Потенциально 2556 белков
 Philippe et al.,(2013)

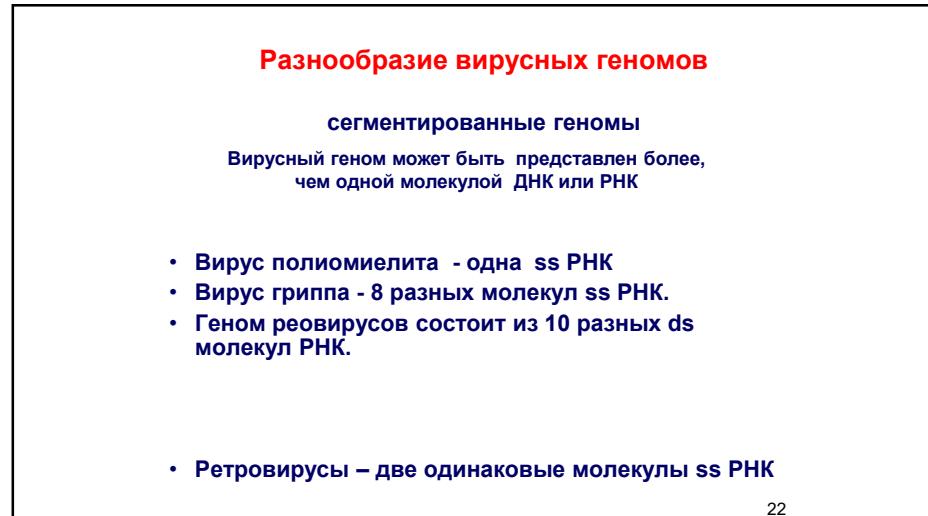
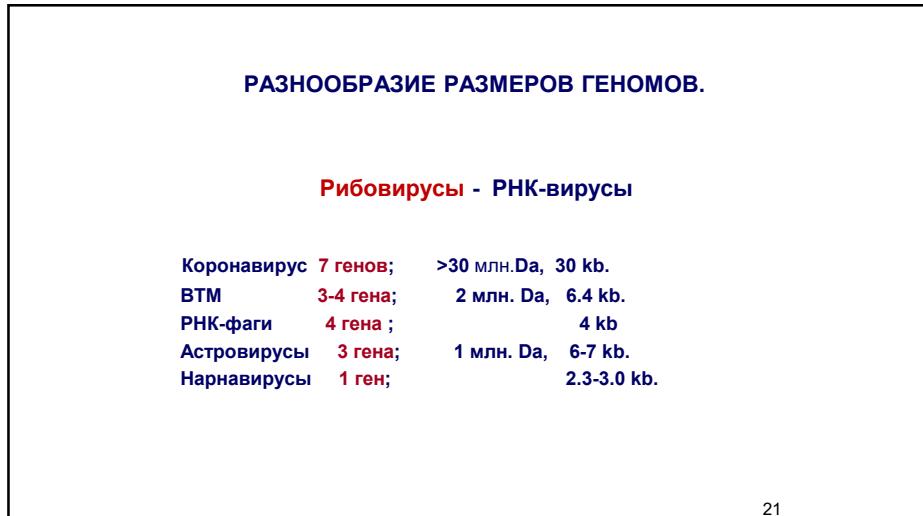
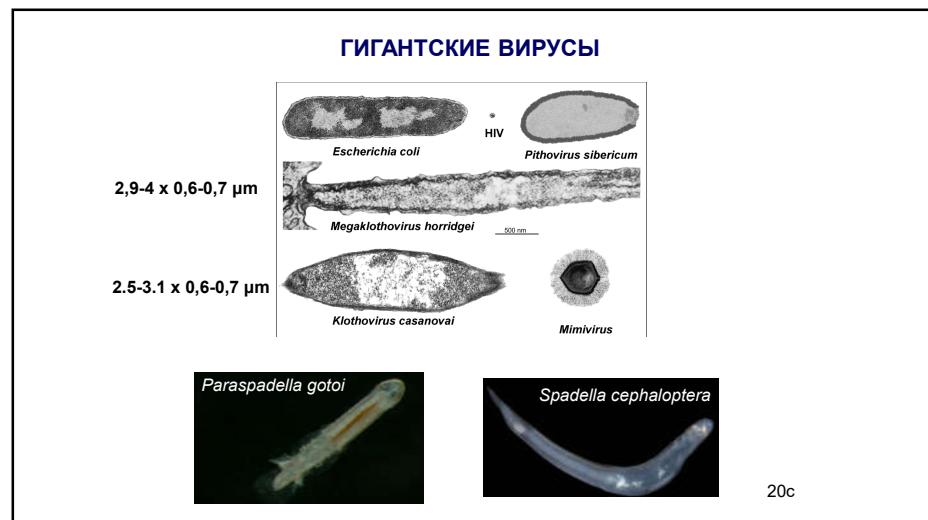
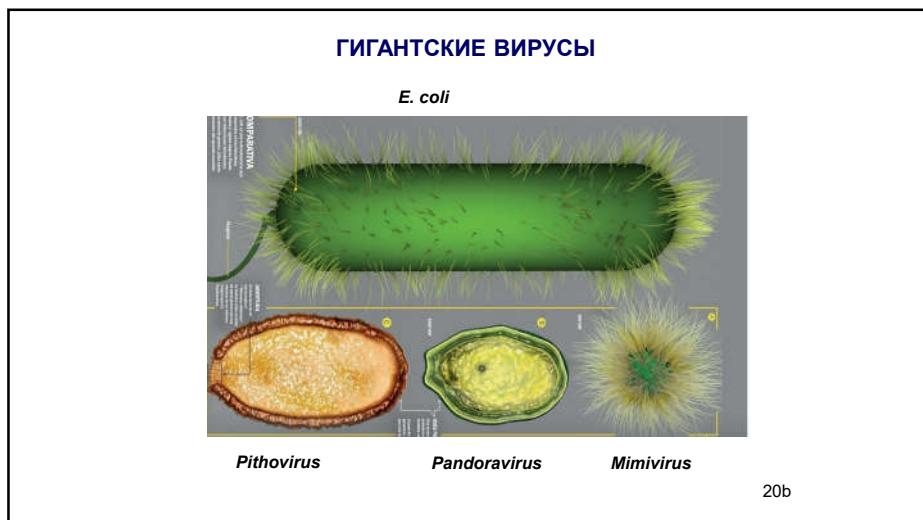


Pandora – подарок (греч.)



Pithovirus
 1500нм x 500нм
 dsДНК
 610 000 п.нт
 467 белков
 Claverie J-M and Abergel Ch.(2014)

Pithoi – пифос (др.греч -кувшин), 20a

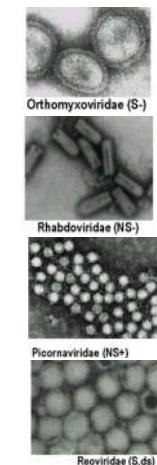
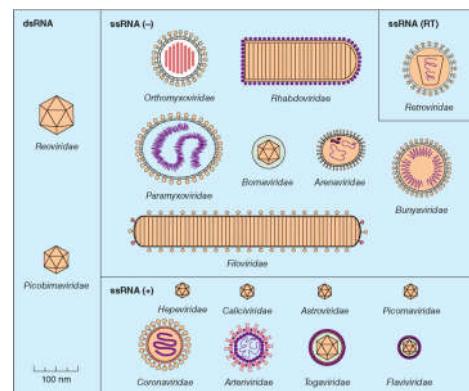


Разнообразие вирусных геномов

- Сегментированный (фрагментированный) геном.
- Разделенный геном.
- У РНК-содержащих вирусов геном может быть представлен нитями РНК различной полярности (+ и – РНК, или позитивные и негативные РНК).
- Двусмысленная (ambisense) РНК.

23-24

Сравнение размеров РНК-содержащих вирусов



25

РАЗМЕРЫ ВИРУСНЫХ ГЕНОМОВ

РНК		ДНК	
нуклеотиды (или пары нуклеотидов)	гены	нуклеотиды (или пары нуклеотидов)	гены
1700 - ~32000	1 - ~14	1750 - ~2,5x10 ⁶	2 - ~2500

Клеточных организмов с
РНК-геномами не существует

	нуклеотиды	гены
Бактерия <i>Buchnera aphidicola</i>	~0.42x10 ⁶	~400
Эукариот <i>Guillardia theta nucleomorph</i>	~0.55x10 ⁶	~450
Археон <i>Nanoarchaeon equitans</i>	~0.49x10 ⁶	~580

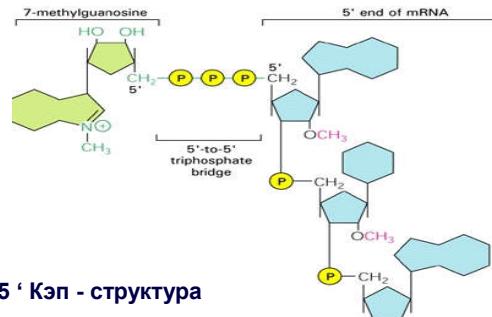
25a

Концевые структуры вирусных нуклеиновых кислот

- 5'-терминальные белки ;
- 5'-концы модифицированы присоединением «кэпа» (РНК-вирусы);

26

Концевые структуры вирусных нуклеиновых кислот



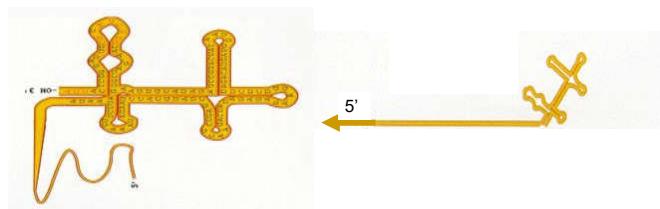
26a

Концевые структуры вирусных нуклеиновых кислот

- 5'-терминальные белки ;
- 5'-концы модифицированы присоединением «кэпа» (РНК-вирусы);
- 3'-конец РНК (РНК-вирусы):
 - полиA
 - тРНК-подобная структура.

26b

Концевые структуры вирусных нуклеиновых кислот



тРНК-подобная структура.

26c

Концевые структуры вирусных нуклеиновых кислот

- 5'-терминальные белки ;
- 5'-концы модифицированы присоединением «кэпа» (РНК-вирусы);
- 3'-конец РНК (РНК-вирусы):
 - полиA
 - тРНК-подобная структура.
- прямые и инвертированные концевые повторы;

26d

Концевые структуры вирусных нуклеиновых кислот

ПРЯМОЙ ПОВТОР

3'TTCCGGAATA-----TTCCGGAATA5'
5'AAGGCCTTAT-----AAGGCCTTAT3'

ИНВЕРТИРОВАННЫЙ ПОВТОР

3'TTCCGGAATA-----TATTCCGGAA5'
5'AAGGCCTTAT-----ATAAGGCCTT3'

26e

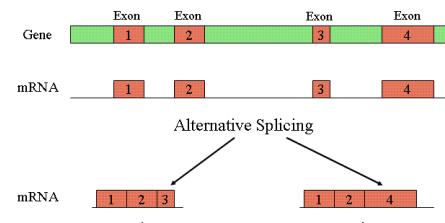
Кодирующая емкость вирусного генома.

- отсутствие протяженных межгенных промежутков из некодирующих нуклеотидных последовательностей
- перекрывание кодирующих и(или) регуляторных последовательностей разных генов, со сдвигом рамки считываания или без него
- использование механизма альтернативного сплайсинга

27

Кодирующая емкость вирусного генома.

Механизм альтернативного сплайсинга



27a

Кодирующая емкость вирусного генома.

- отсутствие протяженных межгенных промежутков из некодирующих нуклеотидных последовательностей ;
- перекрывание кодирующих и(или) регуляторных последовательностей разных генов, со сдвигом рамки считываания или без него
- использование механизма альтернативного сплайсинга
- Транскрипция с обеих цепей dsДНК (аденовирусы)

27b

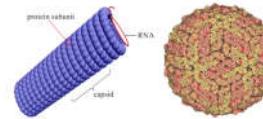
ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция 2

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

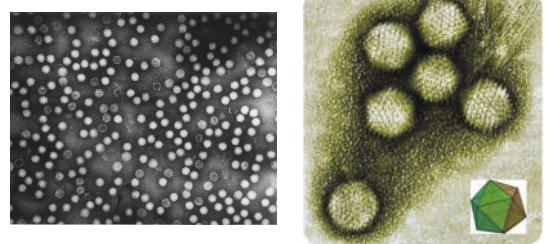
Капсид- белковая оболочка вируса

- Capsa (лат)-ящик
- Капсид защищает вирусный геном от воздействия внешних факторов и обеспечивает его проникновение в клетку
- Построен из идентичных повторяющихся субъединиц (капсомеры)
- Капсомер может быть образован одной или несколькими молекулами белка.
- Капсомеры образуют структуры с высокой степенью симметрии
- Капсиды бывают сферической и палочкообразной формы



28

Икосаэдрические капсиды

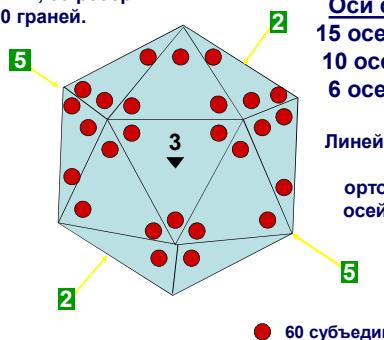


Капсиды многих вирусов практически идентичны сфере (правильные многогранники)

29

Изометрические (квазисферические) капсиды

ПРОСТЕЙШИЙ ИКОСАЭДР –
(икосадельтаэдр)
12 вершин, 30 ребер
20 граней.



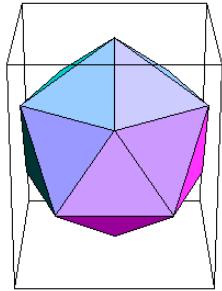
Оси симметрии:
15 осей 2 порядка,
10 осей 3 порядка,
6 осей 5 порядка.

Линейные размеры
вдоль
ортогональных
осей идентичны

● 60 субъединиц

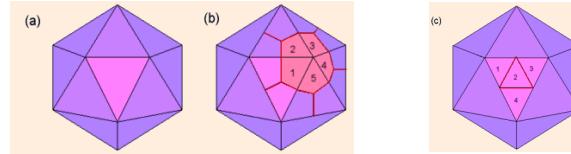
30

**Икосаэдрические капсиды
2:3:5 - симметрия**



31

Икосаэдрические капсиды



икосаэдр

a) 20 субъединиц

икосадельтаэдр

b) 60 субъединиц

c) более 60 субъединиц

Число новых треугольников-
ТРИАНГУЛЯЦИОННОЕ
число (T)

32

Икосаэдрические капсиды

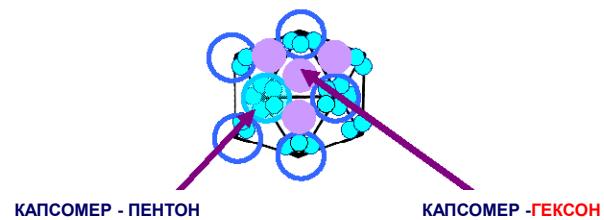


КАПСОМЕРЫ - ПЕНТОНЫ

Капсомеры на 12 вершинах взаимодействуют с 5 соседними капсомерами и называются **пентоны** (или пентамеры).

33

Икосаэдрические капсиды



Капсомеры которые располагаются на гранях икосаэдра, соседствуют с шестью другими капсомерами и называются **гексоны**. Вирусы больших размеров содержат на гранях икосадельтаэдра больше 20 капсомеров.

34

Икосаэдрические капсиды



Футбольный мяч «состоит» из пентонов (черный цвет) и гексонов (белый цвет)

35

Икосаэдрические капсиды

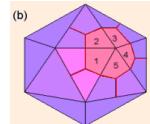
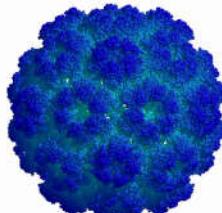


36

Икосаэдрические капсиды

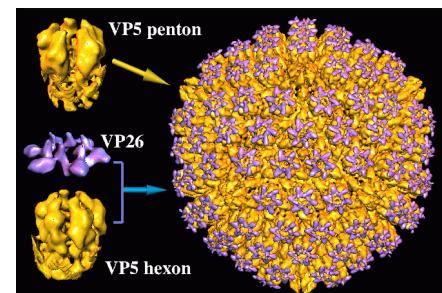
- Сем.Bromoviridae
- диаметр 30 нм
- 180 субъединиц белка оболочки (20kD)
- ss (+) РНК (3 геномных)
- T(треугольное число)=3

Вирус мозаики костра



37

Икосаэдрические капсиды

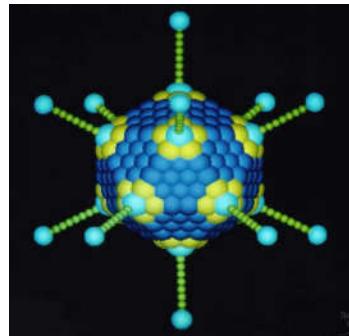


Вирус герпеса (HSV-1)

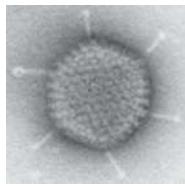
- dsДНК линейная
- Диаметр 100 нм
- T=16
- 162 капсомера
- Плеоморфная липопротеидная оболочка

38

Икосаэдрические капсиды



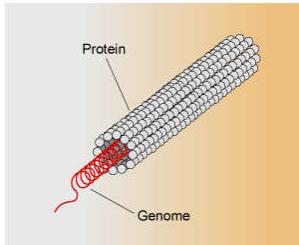
сем. Adenoviridae
Диаметр частицы 80-100 нм,
на каждой из 12 вершин - отростки
(20-30нм), играют важную роль в
инициации инфекции.



Аденовирус человека А
1500 белковых субъединиц, 252 капсомера –
12 пентонов и 240 гексонов
dsДНК

39

Сpirальные капсиды

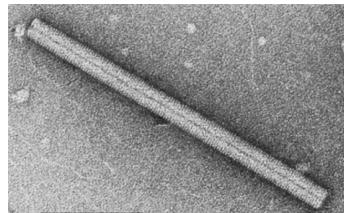


- Один типа белковых субъединиц
- Нуклеиновая кислота располагается в центре белковой спирали
- Размер нуклеиновой кислоты определяет размер капсида

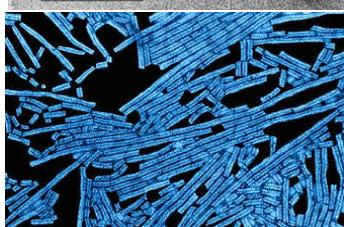
40

Сpirальные капсиды

41

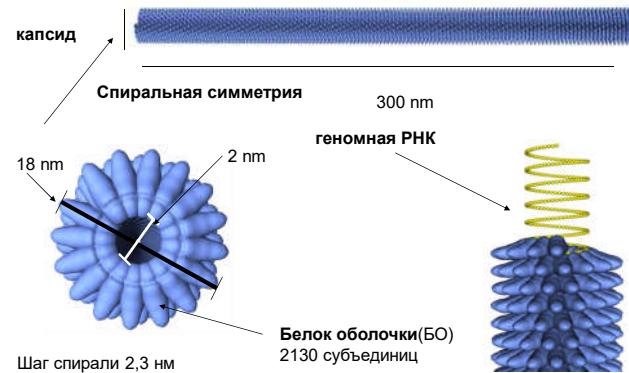


Вирус табачной мозаики
(ВТМ)
l - 300нм
d - 18 нм
ss +РНК



Сpirальные капсиды

Структура частицы ВТМ



42

Сpirальные капсиды

X вирус картофеля (XBK); I - 500 нм; d - около 13 нм; ss +РНК

43

Сpirальные капсиды

Бактериофаг M13

I - 900нм; d - 9нм
ss ДНК

44

Капсиды простых вирусов
сем. *Reoviridae*

- Геномом сегментирован (10-12) ds РНК
- Капсид вириона реовирусов может быть образован одним, двумя или тремя икосаэдрическими белковыми слоями

44-1

Капсиды простых вирусов

БАКТЕРИОФАГ Т4

Порядок *Caudovirales*

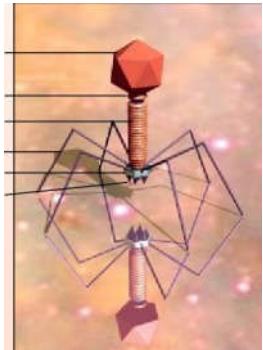
БАКТЕРИОФАГ Т4
E. coli (в рамке)
Геном
dsДНК

и «ТЕНЬ» ФАГА ПОСЛЕ
ОСМОТИЧЕСКОГО ШОКА И
ОСВОБОЖДЕНИЯ ДНК.

45

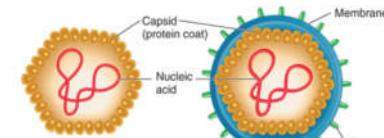
Капсиды простых вирусов

Бактериофаг T4
 головка
 воротник
 сокращающийся чехол
 хвостовые фибрillы
 базальная пластинка
 шипы или короткие
 хвостовые фибрillы



46

Сложные (оболочечные) вирусы



простой вирус

сложный (оболочечный)
вирус

SV-40



Вирус краснухи

46 а

Сложные (оболочечные) вирусы

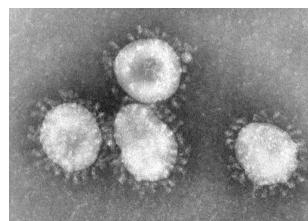
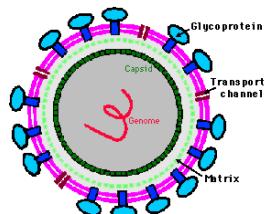
Липопротеидная оболочка

- образована из мембраны клетки-хозяина

• Содержит только вирусспецифические белки, но не клеточные

• гликопroteины

• матриксный белок



Coronavirus

47

Сложные (оболочечные) вирусы

Липопротеидная оболочка

Функции гликопroteинов:

- являются вирусными рецепторами, определяющими присоединение вириона к клетке
- обеспечивают проникновение капсида или всего вириона в клетку
- гликопroteины некоторых семейств вирусов обладают нейраминидазной активностью
- гликопroteины являются антигенами

48

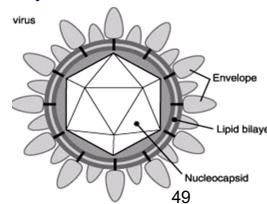
Сложные (оболочечные) вирусы



Вирус гепатита С

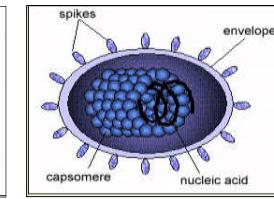
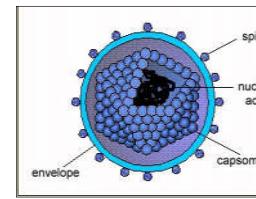
Белок E (гликопротеин)

- Семейство Flaviviridae род Hepacivirus
- (+) ssРНК
- диаметр 50 нм
- Липопротеидная оболочка сферический нуклеокапсид



49

Сложные (оболочечные) вирусы



Нуклеокапсид (кор – “core” – сердцевина)

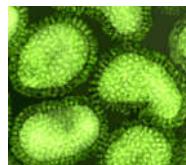
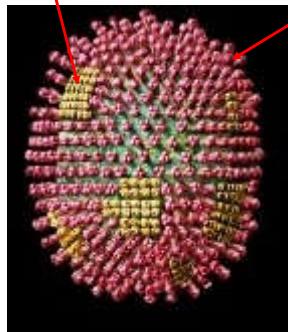
50

Сложные (оболочечные) вирусы

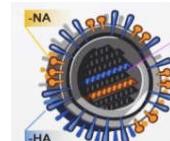
Вирус гриппа А

Нейраминидаза (NA)

Гемагглютинин (HA)



- Сем. Orthomyxoviridae
Частицы полиморфны;
Диаметр 80-120нм
Матриксный белок
Нуклеокапсид спиральный.
(-)ssРНК -8сегментов

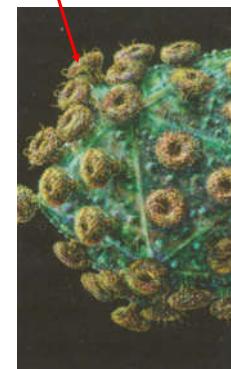


51

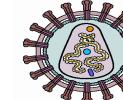
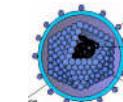
Сложные (оболочечные) вирусы

Вирус иммунодефицита человека

гликопротеины



- Human Immunodeficiency Virus (HIV).
- семейство Retroviridae
- (+) ss РНК
- диаметр 80-100 нм
- Липопротеидная оболочка сферическая, реже плеоморфная
- Матриксный белок
- Икосаэдрический нуклеокапсид



52

Сложные (оболочечные) вирусы

Вирус бешенства

G гликопротеин
белок М (матриксный)

Семейство Rhabdoviridae
Диаметр 45-100 нм
Длина 120-450 нм
ss(-) РНК; спиральный нуклеокапсид

53

Сложные (оболочечные) вирусы

Вирус Эбола

сем. Filoviridae
Лихорадка Эбола
нитевидная форма,
липопротеидная оболочка,
 $d = 80$ нм,
 $l = 1400$ нм
нуклеокапсид спиральный
(-ss РНК)

54

Сложные (оболочечные) вирусы

Betalipothrixvirus

Core
Envelope
Terminal tails

© 2010 Sains Institute of Biotechnology

$l = 2000$ нм
 $d = 24$ нм

ds ДНК

54-1

Пять основных структурных форм вирусов

ICOSAHEDRAL
HELICAL
COMPLEX
ENVELOPED ICOSAHEDRAL
ENVELOPED HELICAL

nudeocapsid
lipid bilayer
glycoprotein spikes = peplomers

55

бактериофаг Т4

поксвирусы

Комплексная симметрия

56

Aeropyrum coil-shaped virus (ACV)

ssДНК - 24 893 нт

d 28nm
l 210-230 nm

56a

**ПЕРВЫЕ ЭТАПЫ ИНФЕКЦИИ.
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ**

Адсорбция
специфическое взаимодействие вирусного белка, экспонированного на поверхности вириона, с клеточными рецепторами.

Проникновение вируса в клетку

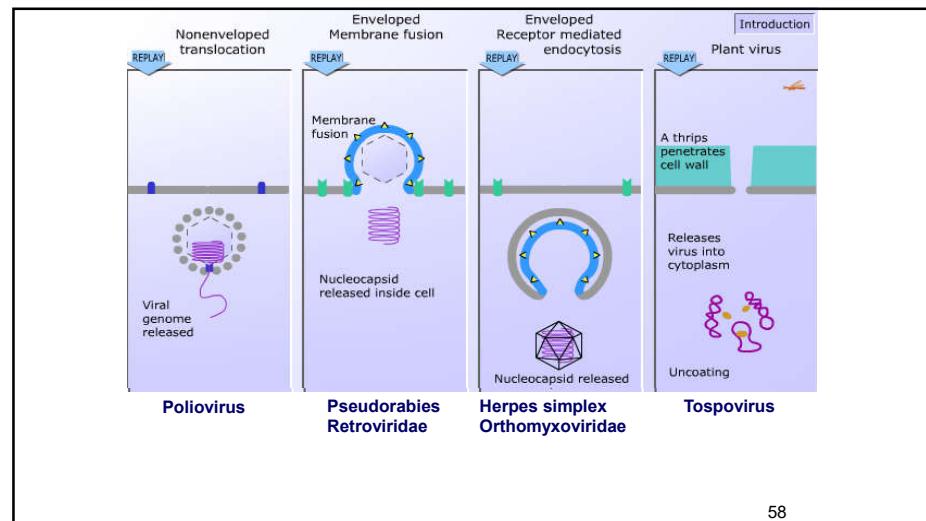
- эндоцитоз и образование внутриклеточной вакуоли.
- слияние липидной оболочки вируса с клеточной мембраной.

57

**ПЕРВЫЕ ЭТАПЫ ИНФЕКЦИИ.
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ**

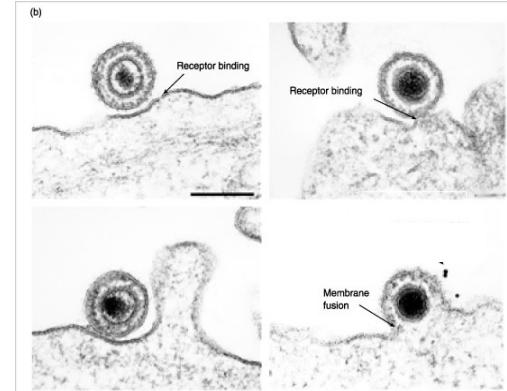
- Клетки растений, грибов и бактерий обладают клеточной стенкой, являющейся дополнительным барьером для проникновения вирусов.
- Вирусы растени не имеют рецепторов для проникновения в растительную клетку.
Для проникновения вируса участок клеточной стенки должен быть нарушен (механические повреждения, вирофорные насекомые).

57a



58

ПЕРВЫЕ ЭТАПЫ ИНФЕКЦИИ. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ



59

ПЕРВЫЕ ЭТАПЫ ИНФЕКЦИИ. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ

Вирус иммунодефицита человека (HIV)



60

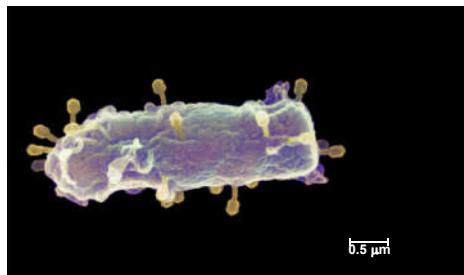
Проникновение вируса в клетку

- является энергозависимым процессом, поэтому вирусы проникают только в метаболически активные клетки.
- во время проникновения происходит структурная перестройка вириона, которая начинается после взаимодействия вируса с клеточным рецептором.
- радикальное изменение структуры вириона у многих вирусов происходит в эндолизосоме в результате воздействия кислых pH и(или) протеиназ эндолизосомы.

61

Проникновение вируса в клетку

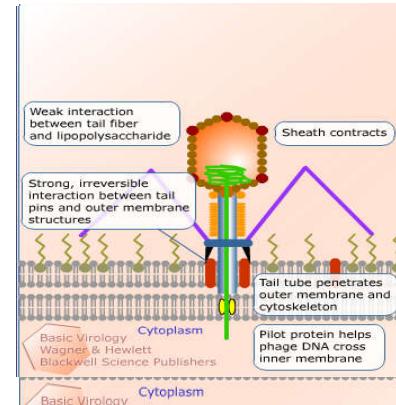
Бактериофаг T4 атакует клетки *E. coli*



62

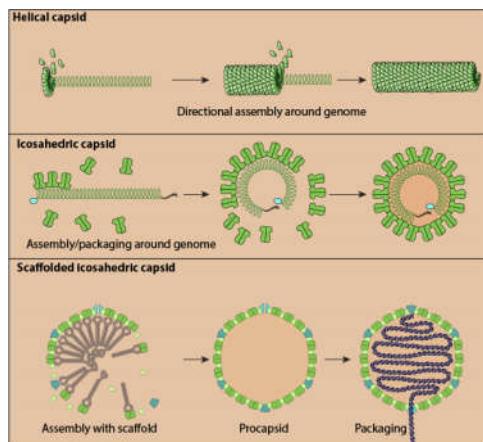
Проникновение вируса в клетку

БАКТЕРИОФАГ Т4:
ПЕРВЫЕ ФАЗЫ ИНФЕКЦИИ



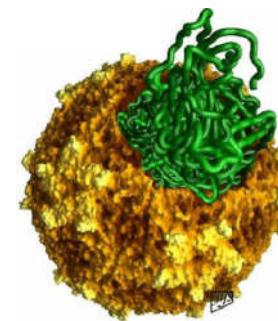
63

Сборка вирусных капсидов



64

Сборка вирусных капсидов



Нуклеиновая кислота упаковывается внутри икосаэдрического капсида

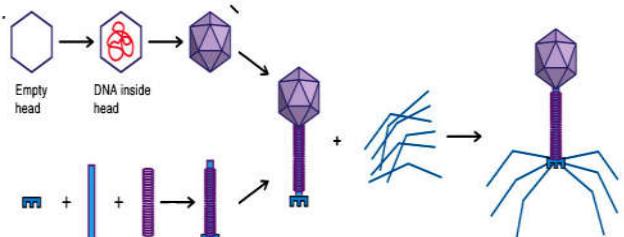
Независимо от степени сложности устройства вирусной частицы, структура вириона стабилизирована главным образом электростатическими и гидрофобными связями между ее компонентами.

65

Сборка вирусных капсидов

Сборка T4 бактериофага

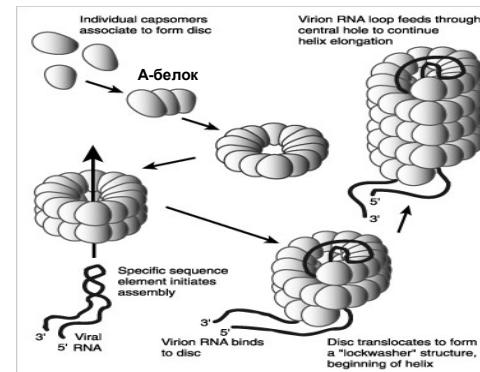
- Вновь образованные части бактериофага самопроизвольно собираются в частицу



66

Сборка вирусных капсидов

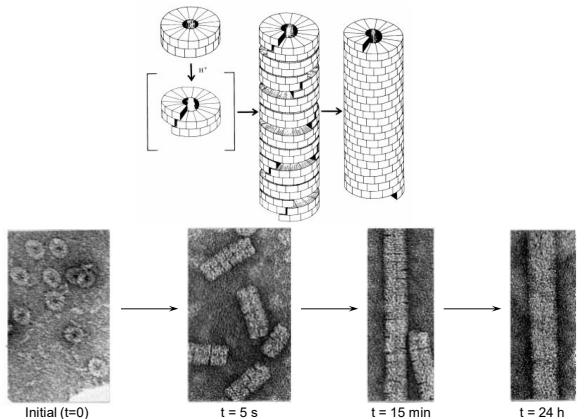
Сборка вируса табачной мозаики (ВТМ).



67

Сборка вирусных капсидов

Сборка капсида ВТМ *in vitro*



67a

ВИРУСОЛОГИЯ

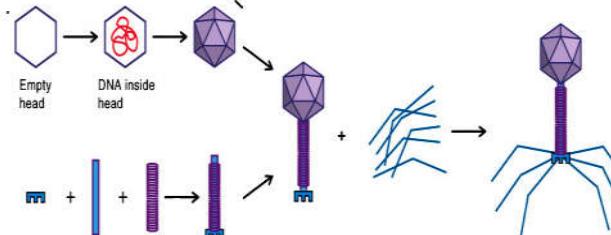
Лекция 3

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

Сборка вирусных капсидов

Сборка T4 бактериофага

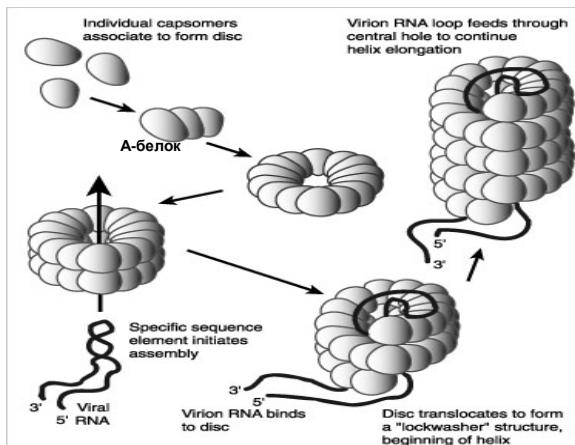
- Вновь образованные части бактериофага самопроизвольно собираются в частицу



66

Сборка вирусных капсидов

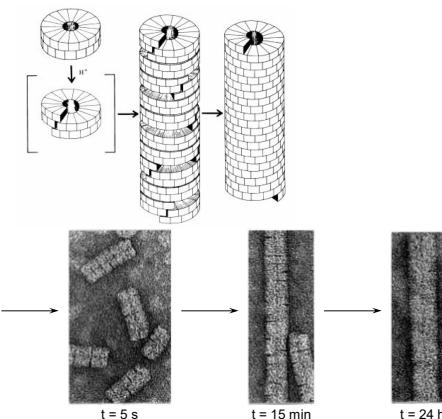
Сборка вируса табачной мозаики (ВТМ)



67

Сборка вирусных капсидов

Сборка капсида ВТМ *in vitro*

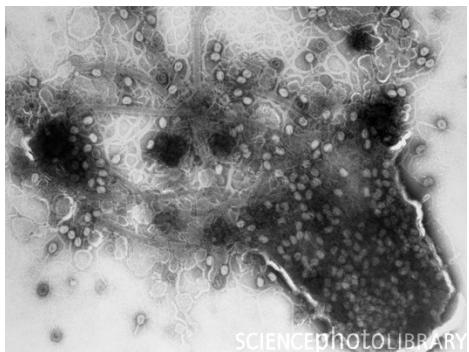


67a

Типы вирусных инфекций.

Выход вирусного потомства из зараженной клетки

- Продуктивная инфекция
 - лизическая



Выход дочерних частиц бактериофага при лизисе бактериальной клетки

68

Типы вирусных инфекций.

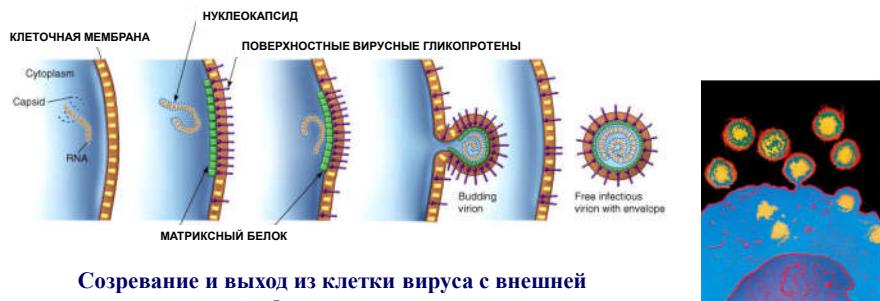
Выход вирусного потомства из зараженной клетки

- Продуктивная инфекция
 - лизическая
 - персистирующая

68a

Типы вирусных инфекций.

Выход вирусного потомства из зараженной клетки



Созревание и выход из клетки вируса с внешней липопротеидной оболочкой - покровование

69

Типы вирусных инфекций.

Выход вирусного потомства из зараженной клетки

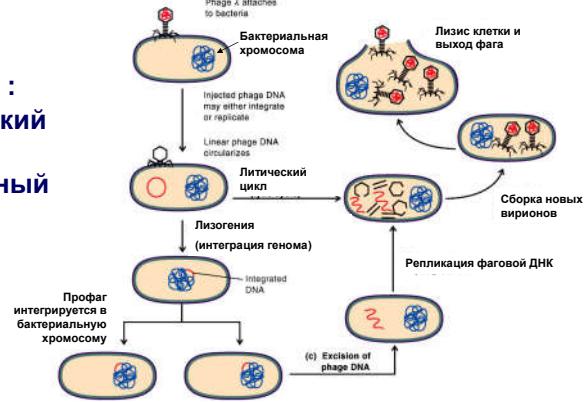
- Продуктивная инфекция
 - лизическая
 - персистирующая
- Абортивная инфекция
- Интегративная форма
 - лизогения

70

Типы вирусных инфекций.

Выход вирусного потомства из зараженной клетки

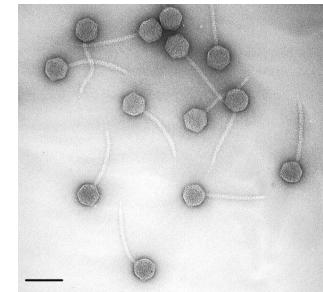
**фаг λ :
литический
или
лизогенный
цикл**



71

Типы вирусных инфекций.

Выход вирусного потомства из зараженной клетки



бактериофаг λ

71 а

Типы вирусных инфекций.

Выход вирусного потомства из зараженной клетки

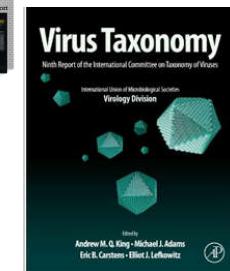
- Продуктивная инфекция
 - литическая
 - персистирующая
- Абортная инфекция
- Интегративная форма
 - лизогения
- Интегративно-продуктивная форма
 - трансформация клетки

• Вирусы растений
проникают в соседние клетки по плазмодесмам и по сосудам флоэмы, постепенно распространяясь по всему растению.

72

Классификация вирусов

- Международный Комитет по таксономии вирусов – МКТВ (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV).
<http://www.ictvonline.org>
- IX доклад опубликован в 2011 году.
- Определено более 2200 видов, 349 родов, 19 подсемейств, 87 семействам и 6 порядкам.



73

Классификация вирусов

2016 год

Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses
The Online (10th) Report of the ICTV

Определено 4404 вида,
125 семейств и 8 порядков.

73a

Классификация вирусов

Нуклеиновая кислота	<ul style="list-style-type: none"> ДНК или РНК одно- или двуцепочечная нуклеиновая кислота сегментированный геном или нет линейный или кольцевой если РНК – какой полярности диплоидный геном (ретровирусы)
Структура вириона	<ul style="list-style-type: none"> икосаэдрическая, спиральная или комплексная симметрия наличие липопротеидной оболочки число капсомеров

Вирусный вид является политипической категорией (классом) вирусов, которая составляет реплицирующуюся линию и занимает особую экологическую нишу

74

Классификация вирусов

- Вирусы классифицируют по тирам, классам, порядкам, семействам, родам и видам.
- Тип имеет латинское название с суффиксом - **viricota**; класс – **viricetes**; порядок – с суффиксом - **virales** семейства и подсемейства – с суффиксами, соответственно, **-viridae** и **-virinae**; названия родов оканчиваются суффиксом **-virus**.
- в порядки (типы, классы) сгруппированы далеко не все вирусы.

75

Классификация вирусов

Наименование вирусов

обычно базируется на данных, полученных в момент открытия вируса

- Заболевание, вызываемое вирусом:**
Вирус оспы, Вирус гепатита, ВИЧ, Вирус кори.
- Патология клетки, возникающая при протекании инфекции:**
Респираторный синцитиальный вирус человека, Цитомегаловирус
- Местоположение инфекции:**
Аденовирусы, Энтеровирусы, Риновирусы.
- Место открытия, имя ученого, открывшего вирус и т.д.:**
Вирус Эпштейна-Барр, Вирус саркомы Райса, Вирус лихорадки долины Рифт
- Биохимические, морфологические свойства:**
Ретровирусы, Пикорновирусы

Respiratory Syncytial Virus (RSV)

75a

Классификация вирусов

в зависимости от типа генетического материала:

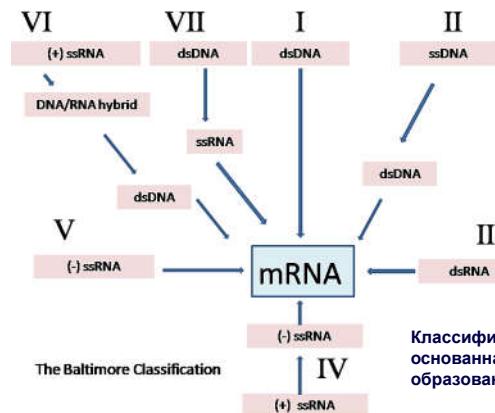
- (I) вирусы, содержащие двунитевую - dsДНК;
- (II) вирусы, содержащие однонитевую - ssДНК;
- (III) вирусы, содержащие двунитевую - dsРНК;
- (IV) вирусы, содержащие однонитевую ss(+) РНК;
- (V) вирусы, содержащие однонитевую ss(-) РНК;
- (VI) РНК-содержащие вирусы, жизненный цикл которых включает стадию обратной транскрипции;
- (VII) ДНК-содержащие вирусы, жизненный цикл которых включает стадию обратной транскрипции ;
- (VIII) субвирусные агенты
(вироиды, вирусы-сателлиты, сателлитные нуклеиновые кислоты и прионы).



David Baltimore, 1971

76

Классификация вирусов



Классификация Балтимора,
основанная на способе
образования вирусной мРНК.

76a

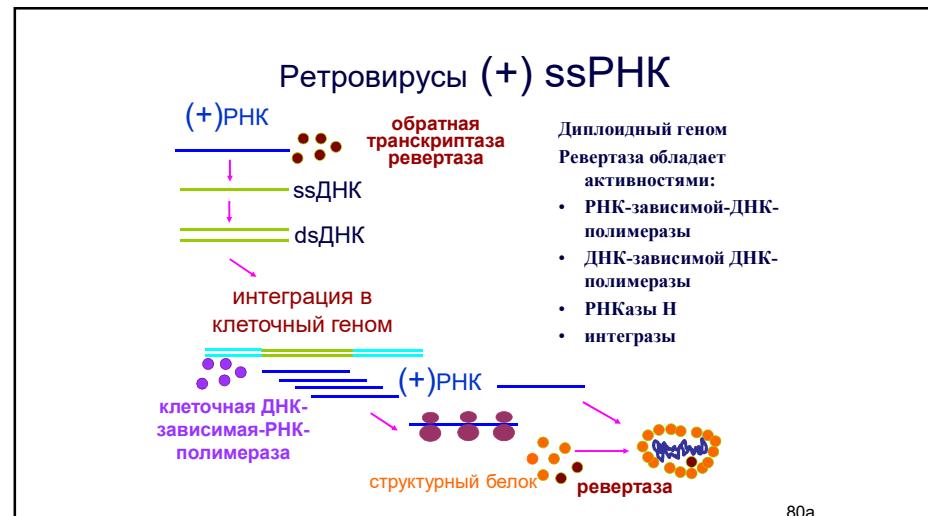
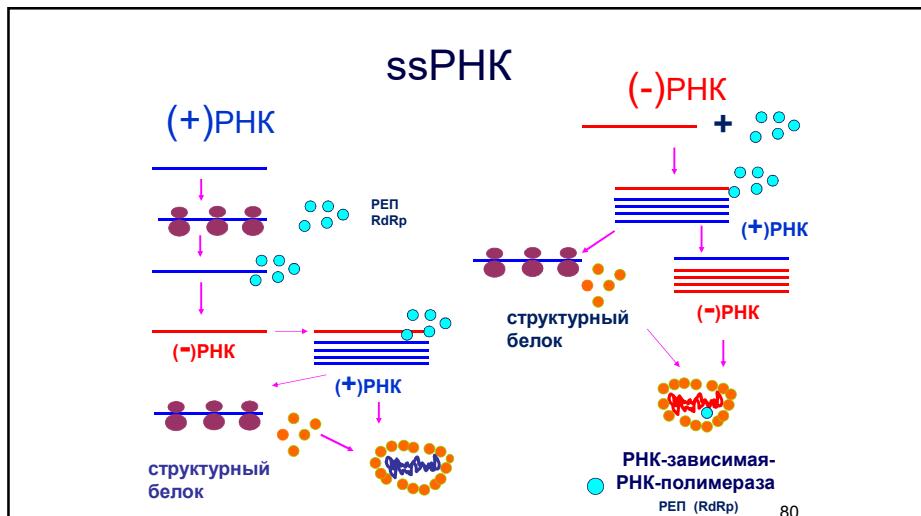
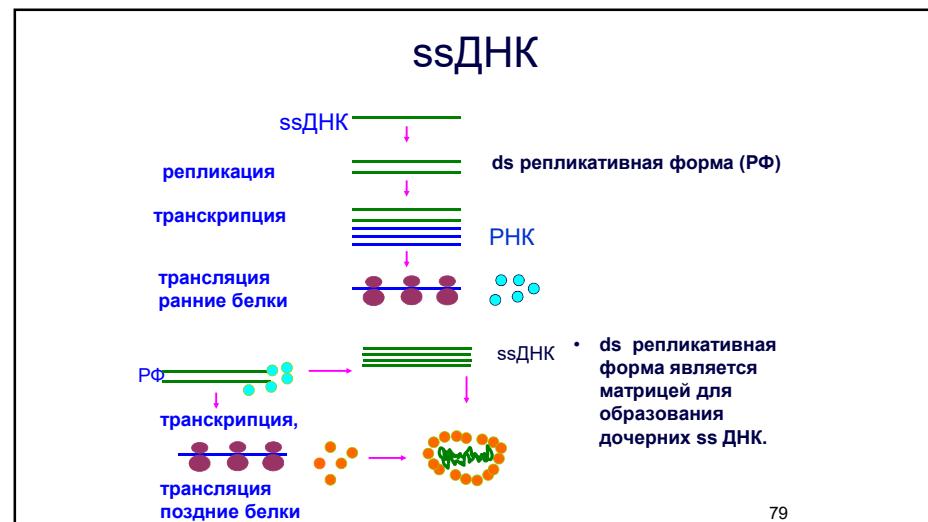
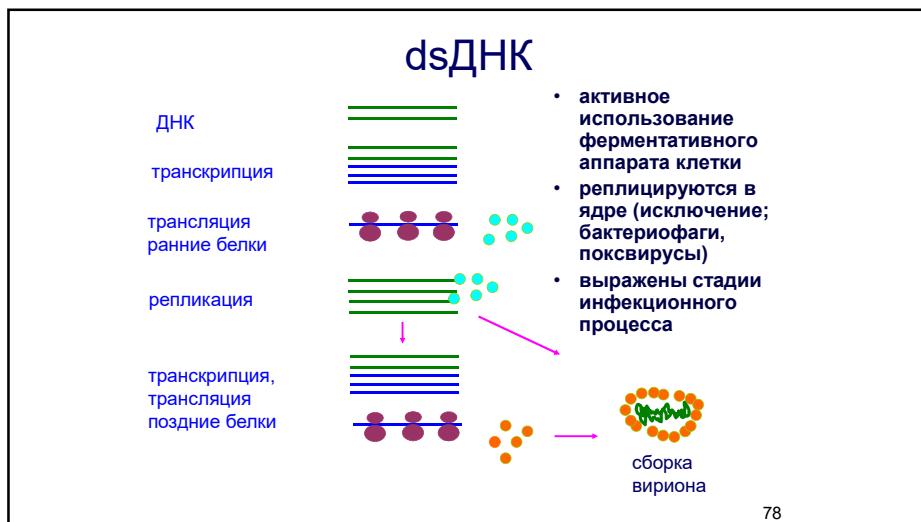
Общие схемы репликации вирусов

77

НЕКОТОРЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПОЛИМЕРАЗНОГО ТИПА

- **ДНК-зависимая ДНК-полимераза** – осуществляет синтез ДНК на матрице ДНК (нужна затравка)- **DNApol**.
- **ДНК-зависимая РНК-полимераза** – осуществляет синтез мРНК на матрице ДНК - **RNApol**.
- **РНК-зависимая РНК-полимераза** – осуществляет синтез РНК на матрице РНК. Выполняет функции транскриптазы и репликазы - **RdRp, REP**.
- **РНК-зависимая ДНК-полимераза** (обратная транскриптаза, ревертаза) – осуществляет синтез ДНК на матрице РНК .

77a



Ретроидные (Пара-ретро) вирусы - dsДНК.
(содержат обратную транскриптазу)

РЕТРОИДНЫЕ ВИРУСЫ:

(\pm dsДНК) —> (+РНК) —> (\pm dsДНК)

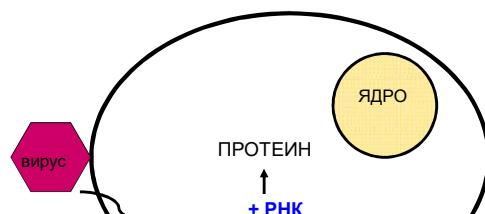
РЕТРОВИРУСЫ:

(+ ssРНК) —> (\pm ДНК) —> (+ ssРНК)

80b

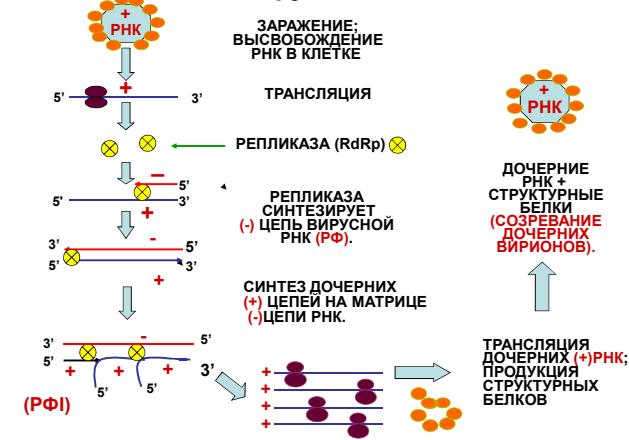
**(+) РНК-содержащие
ВИРУСЫ**

**Геномная РНК с позитивной полярностью
(+ РНК)**

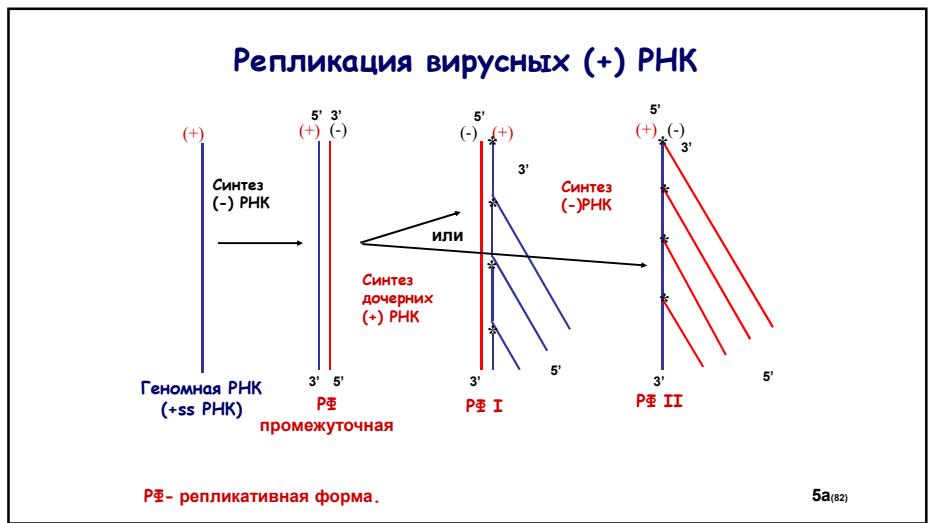


2

**Общие принципы репликации (+) РНК
содержащих вирусов. 1. (+) —> (\pm) —> (+)**



3-4



ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция 4

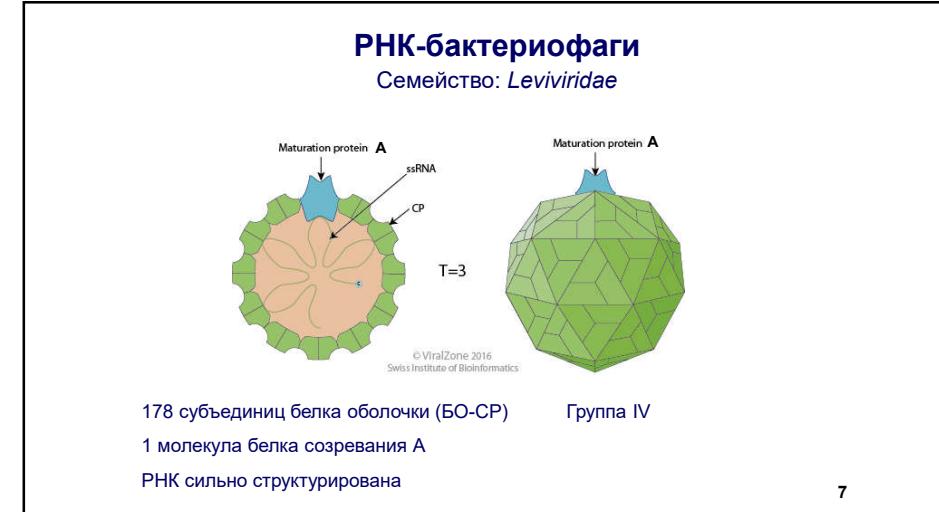
Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

РНК-содержащие бактериофаги

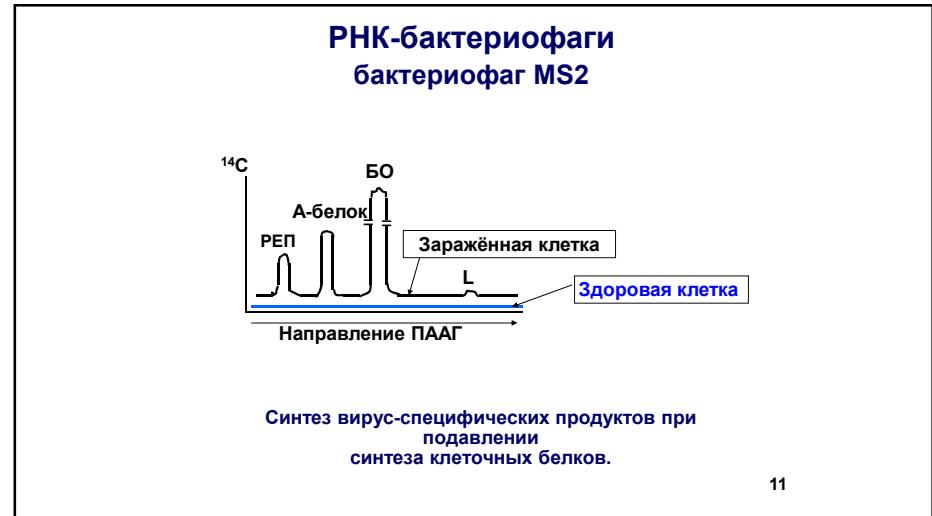
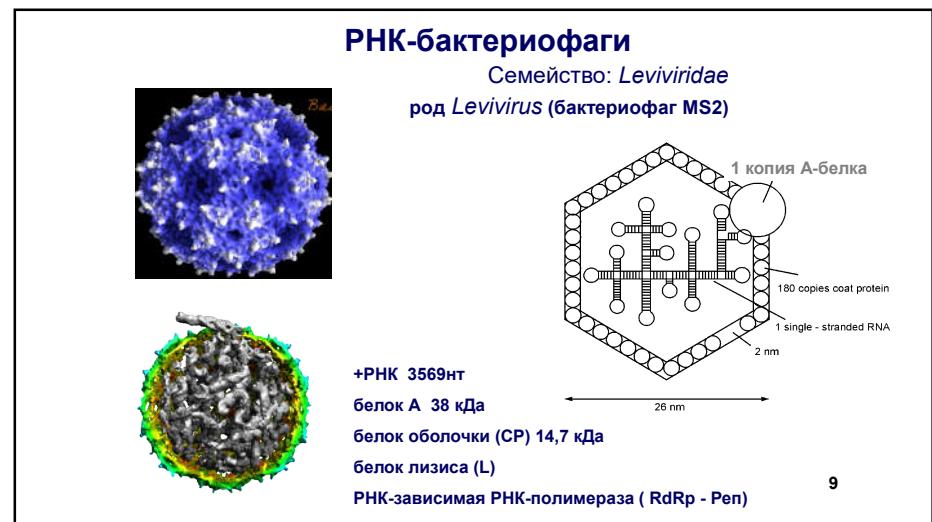
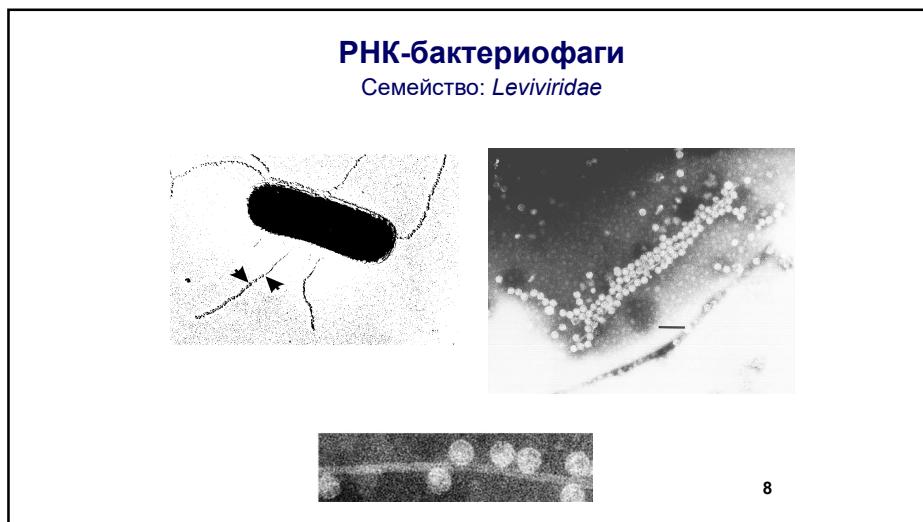
РНК-содержащие бактериофаги

- Семейство: *Leviviridae*
- Группа IV
- (+) ss РНК (3600-4200 нт)
- Род *Levivirus* (бактериофаг MS2)
- Род *Allolevivirus* (бактериофаг Q β)

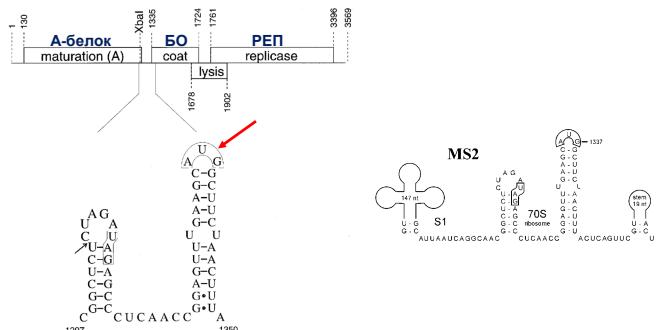
6



1



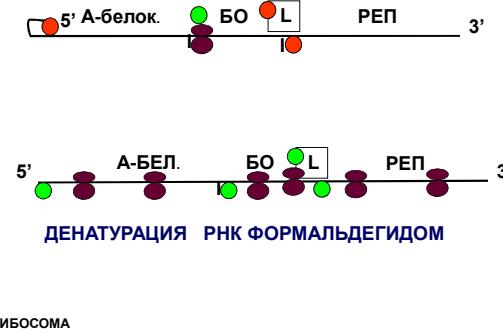
РНК-бактериофаги бактериофаг MS2



Исходно в фаговой РНК для рибосом доступен только ген белок оболочки, инициаторный кодон которого расположен на вершине шпильки.

12

РНК-бактериофаги бактериофаг MS2



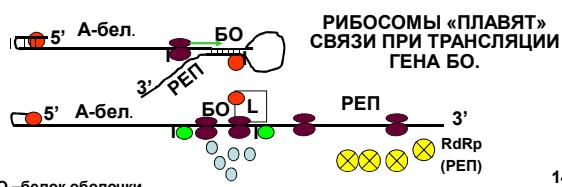
13

РНК-бактериофаги. Репликация бактериофага MS2

Только ген БО доступен для рибосом



ТРАНСЛЯЦИЯ ГЕНА БО «ОТКРЫВАЕТ» ГЕН РЕПЛИКАЗЫ.



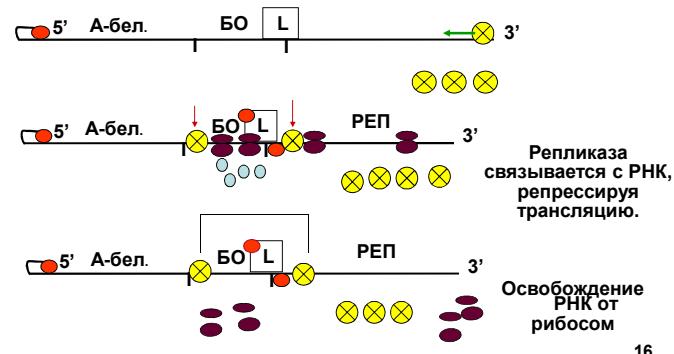
14

РНК-бактериофаги. Репликация бактериофага MS2

- БО обладает средством к инициаторному участку гена РЕП, специфически связывается с ним и блокирует считывание гена рибосомой.
- Вскоре после начала инфекции трансляция гена РЕП оказывается подавленной.
- БО фага выполняет две функции: он является структурным белком и репрессором трансляции.

15

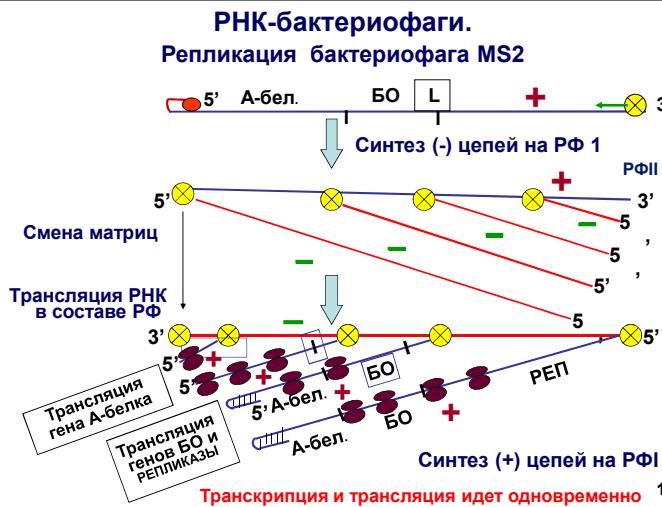
РНК-бактериофаги. Репликация бактериофага MS2



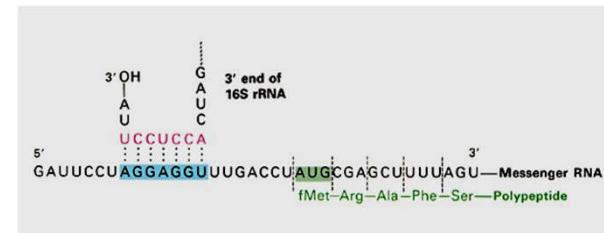
РНК-бактериофаги. Репликация бактериофага MS2

- Репликаза (RdRp, Rep) фага выполняет две функции: она является собственно репликазой и репрессором трансляции BO и Rep.
- Репликаза убирает конкуренцию между трансляцией и транскрипцией.
- Для образования активного РНК –полимеразного комплекса Репликаза должна связаться с белками клетки-хозяина (рибосомальный белок S1, факторы элонгации трансляции EF-Tu и EF-Ts).

16a



Последовательность Шайна-Дальгарно

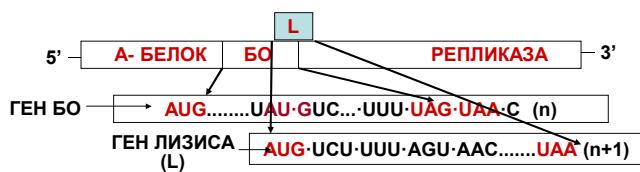


17a

РНК-бактериофаги.

Репликация бактериофага MS2

ПЕРЕКРЫВАНИЕ РАМОК ТРАНСЛЯЦИИ; ГЕН ЛИЗИСА



Лизин накапливается только на самых поздних стадиях инфекции.

18

РНК-бактериофаги.

Репликация бактериофага MS2.

Сборка вирионов

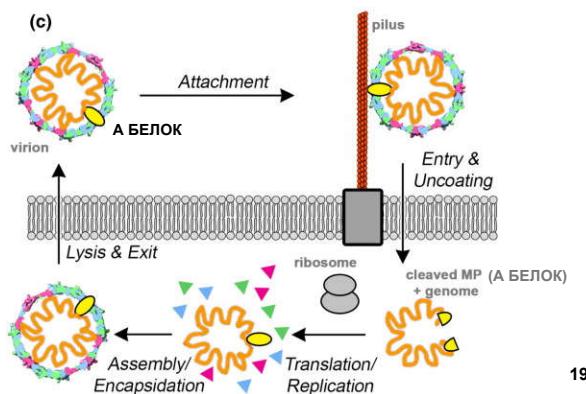
- После накопления (+)РНК, БО и А-белка начинается образование дочерних частиц.
- Белок А образует комплекс с РНК фага.
- БО связывается с регуляторной шпилькой на РНК.
- Вокруг РНК происходит формирование (сборка) капсида из белка оболочки.
- Лизис клетки, реализация дочерних вирусных частиц.



19

РНК-бактериофаги.

Жизненный цикл бактериофага MS2.



19-1

РНК-бактериофаги



- У фага РНК-содержащих бактериофагов наблюдается четкая времененная регуляция экспрессии генов.
- Определяющую роль играет вторичная структуры РНК.
- Процесс транскрипции сопряжен с процессом трансляции.
- БО – ингибитор трансляции гена РЕП.
- РЕП – ингибитор трансляции гена БО и гена РЕП.

20

(+) РНК-содержащие вирусы эукариот

21

Трансляция вирусных мРНК в эукариотических клетках

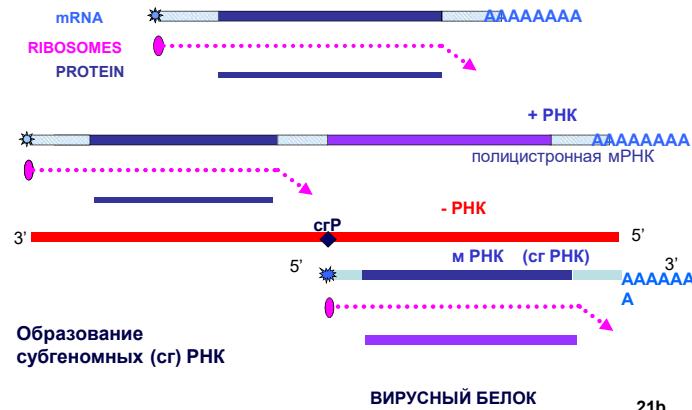


Как можно обеспечить выражение 3'-концевых генов?

- Транскрибировать специальные РНК для трансляции вирусных белков (субгеномные РНК – сг РНК);
- Транслировать большой белок –предшественник и разрезать его на меньшие протеины;
- Создать сайт внутренней посадки рибосомы;

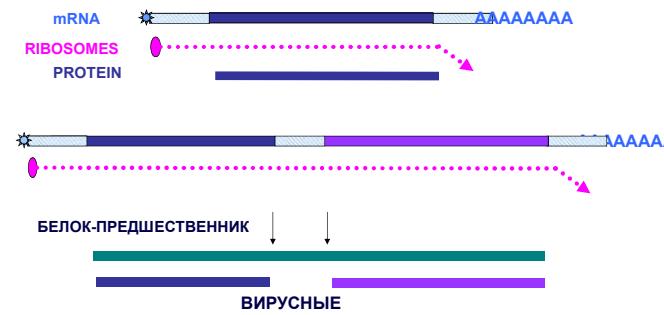
21a

Трансляция вирусных мРНК в эукариотических клетках



21b

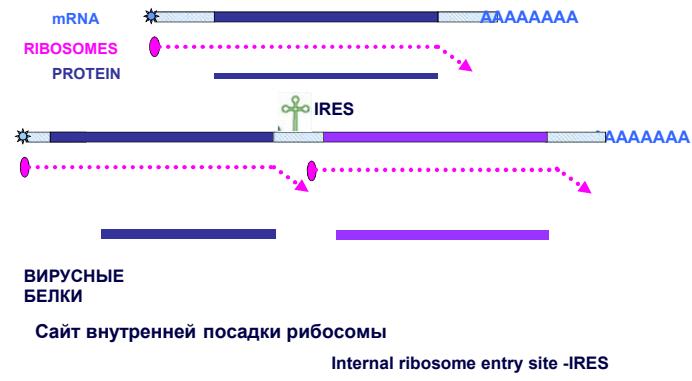
Трансляция вирусных мРНК в эукариотических клетках



Трансляция белка - предшественника с последующим его разрезанием.

21c

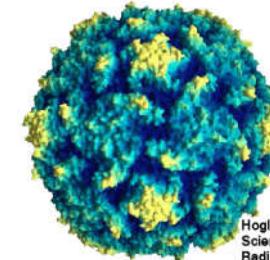
Трансляция вирусных мРНК в эукариотических клетках



Порядок *Picornavirales* Семейство *Picornaviridae* Пикорнавирусы

47 родов, в том числе:

Aphtovirus
Cardiovirus
Enterovirus
Hepadnavirus

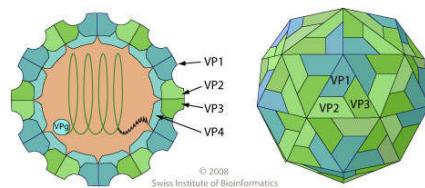


Poliovirus type 1
Hogle, Chow and Filman
Science 229:1358
Radial depth cue rendering
J.Y.Sgro

Группа IV

22

Семейство *Picornaviridae* Пикорнавирусы

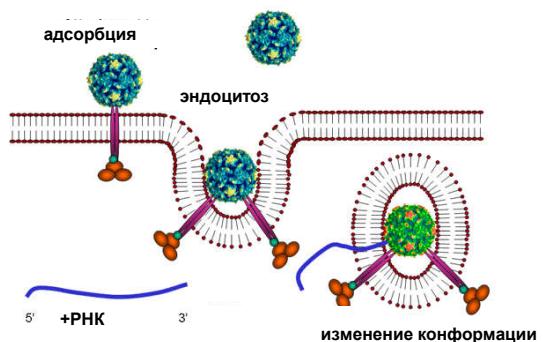


T = 3

- Икосаэдрический белковый капсид, липидной оболочки нет.
 - d вириона ~ 30 нм
 - + ss РНК (7200- 8500 нт),
 - пентамеры (VP1)
 - грани – гексамеры, (VP2 и VP3)
 - VP4 – скрыт в глубине вириона.
 - VPg ковалентно связан с РНК
- viral protein - VP

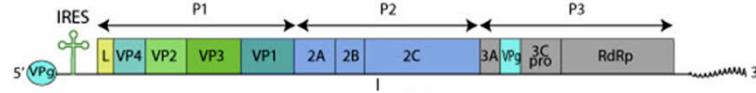
23

Семейство *Picornaviridae*, проникновение в клетку



24

Семейство Picornaviridae, структура генома

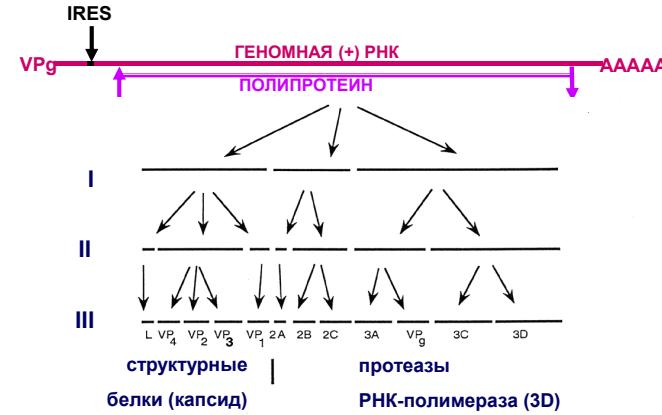


- на 5' -конце - VPg (репликация)
- на 3' -конце - polyA (участует в инициации трансляции)
- IRES - Internal Ribosome Entry Site

Viral protein genome -VPg

25

Семейство Picornaviridae, трансляция



26

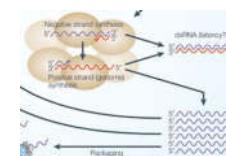
Семейство Picornaviridae, цитопатогенный эффект.

- подавление синтеза клеточных белков**
 - протеолиз клеточных факторов инициации транскрипции и трансляции вирусспецифическими протеазами:
 - протеаза 3C пикорнавирусов инактивирует фактор инициации транскрипции мРНК;
 - вирусная протеаза 2A расщепляет фактор инициации трансляции eIF4G;
 - вирусные протеазы расщепляют клеточный поли(A)-связывающий белок, необходимый для инициации трансляции клеточных мРНК.

27

Семейство Picornaviridae, репликация генома

- Вирусная РНК полимераза (репликаза)
- Белки клетки (хозяйские факторы) также вовлечены в процесс репликации
- VPg

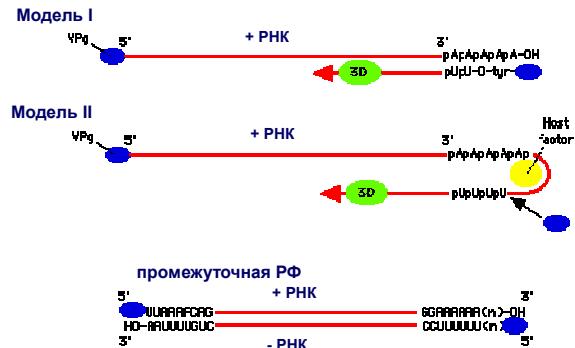


дочерние (+) РНК

- упаковываются в капсид
- матрица для репликации
- матрица для трансляции

28

Семейство Picornaviridae, инициация репликации генома



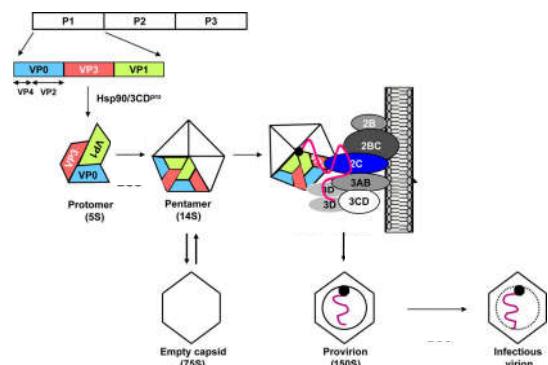
29

Семейство Picornaviridae, сборка вириона



30

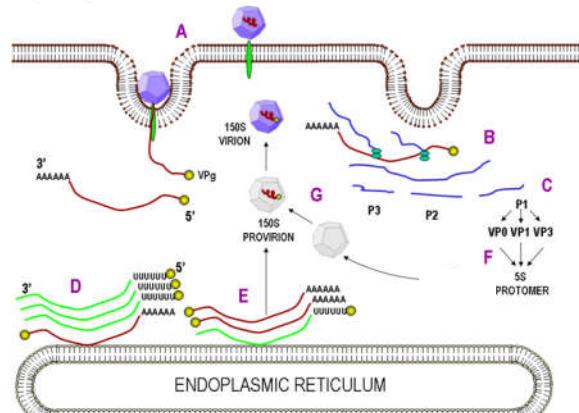
Семейство Picornaviridae, сборка вириона



Дочерние вирусные частицы высвобождаются в результате лизиса хозяйской клетки

30-1

Семейство Picornaviridae, цикл репликации.



32

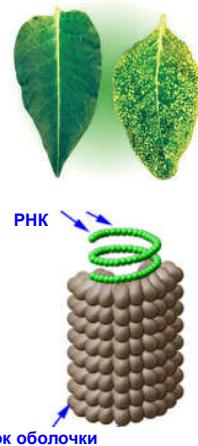


- Жизненный цикл происходит в цитоплазме
- Нет деления на раннюю и позднюю стадию инфекции
- Регуляция экспрессии генома на уровне трансляции
- Единый полипептид- предшественник; разрезание протеазой на функциональные белки (автокаталитический)
- Модификация 5' – VPg и 3' – конца - poly(A)
- IRES – внутренний сайт посадки рибосом

33

(+)РНК-содержащие вирусы растений

33a

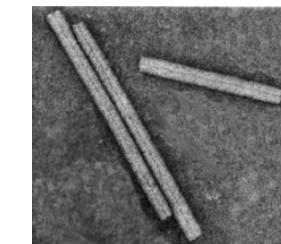
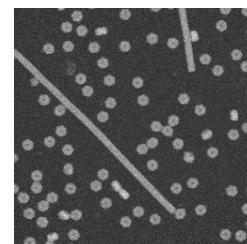


**Вирус табачной мозаики
ВТМ**

- семейство *Virgaviridae*
- род *Tobamovirus*
 - +РНК несегментированный геном (~ 7000 нм)
 - по форме - жесткая палочка, оболочки нет
 - $d - 18 \text{ nm}$, $l - 300 \text{ nm}$

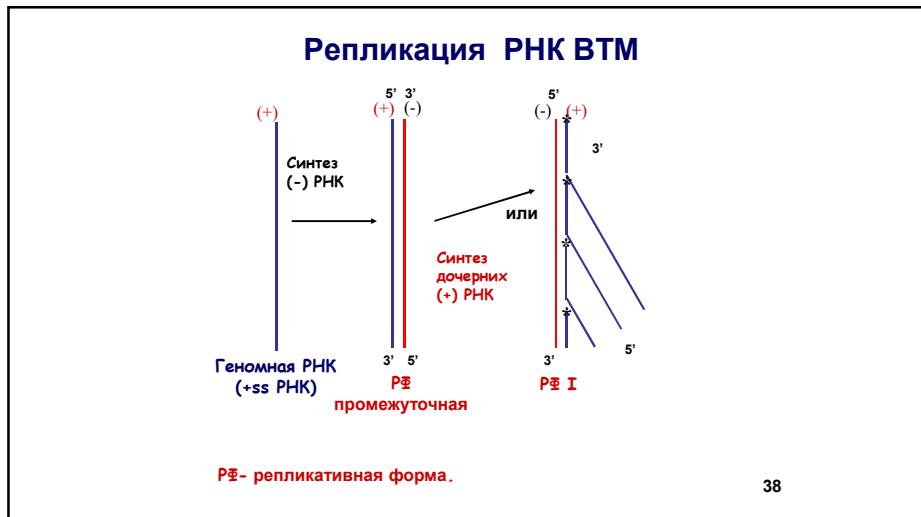
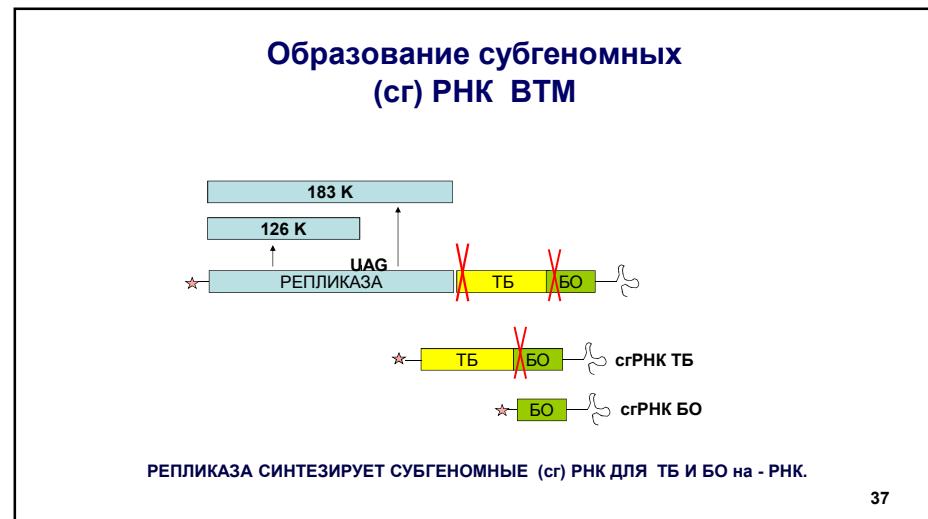
IV группа

34

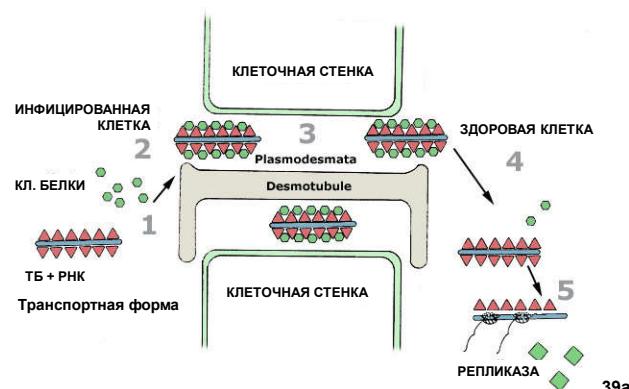


**Вирус табачной мозаики
ВТМ**

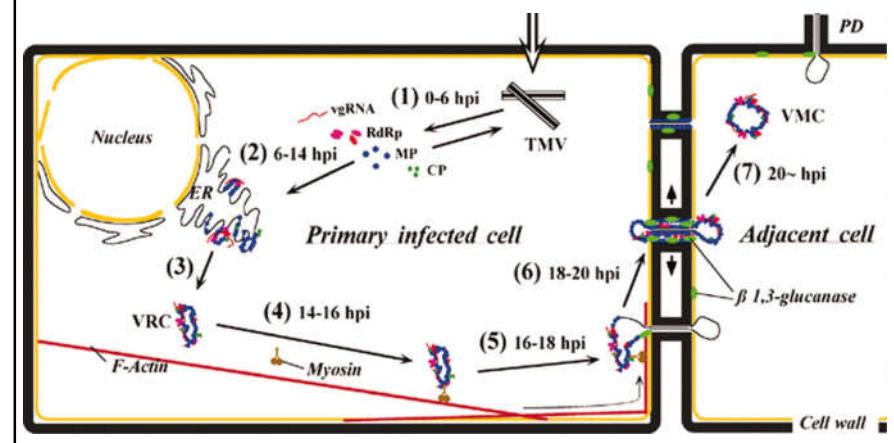
35



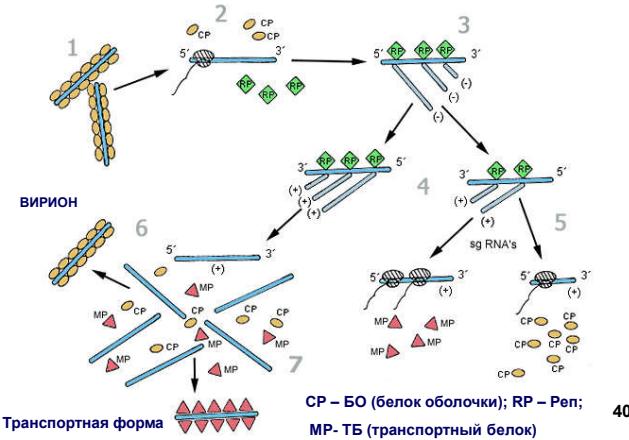
Близкий транспорт ВТМ



Близкий транспорт ВТМ



Цикл репликации ВТМ

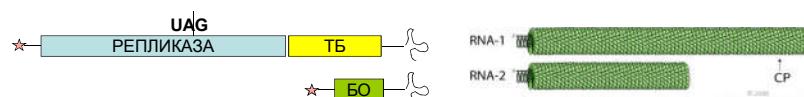


(+) РНК геномы вирусов растений

ТОБАМОВИРУС (tobacco mosaic virus)



ТОБРАВИРУС (tobacco rattle virus)

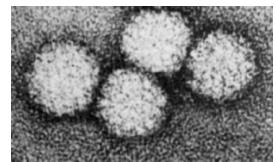


★ - КЭП

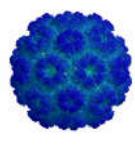
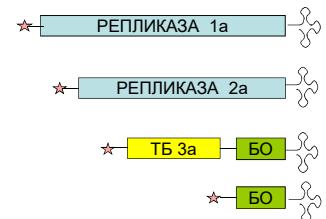
- тРНК-подобная структура

41

(+) РНК геномы вирусов растений



БРОМОВИРУС (*Brome mosaic virus*)



Вирус мозаики костра

42

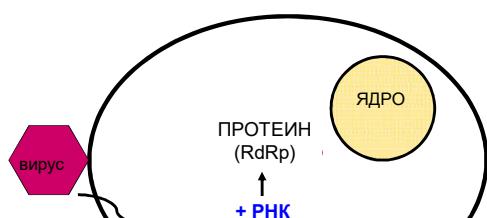
ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция 5

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

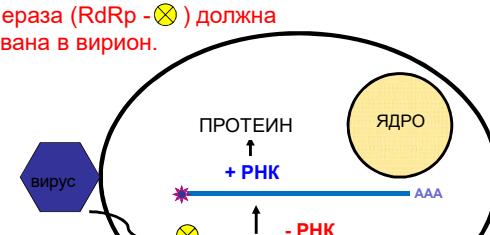
(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

Геномная РНК с позитивной полярностью (+ РНК)



2

Геномная РНК с негативной полярностью (-) РНК



3

РНК-полимераза (RdRp -) должна быть упакована в вирион.

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

РНК - геном с отрицательной полярностью:
геномная РНК не транслируется

Вирионная РНК транскрибируется с образованием (+) мРНК

Вирион содержит РНК-зависимую РНК-полимеразу (RNA dependent RNA polymerase –RdRp)

РНК неинфекционна в отсутствие RdRp

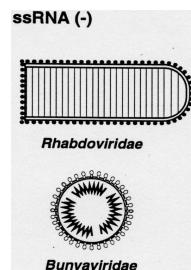
Липопротеидная оболочка

Группа V

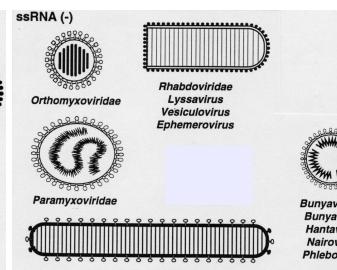
4

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

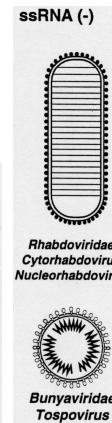
Беспозвоночные



Позвоночные



Растения



6

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

НЕПРЕРЫВНЫЙ (-) РНК ГЕНОМ

Порядок *Mononegavirales* - 11 семейств

RABDOVIRIDAE - вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита, вирусы растений.

PARAMYXOVIRIDAE – вирус свинки, кори, вирусы парагриппа.

FILOVIRIDAE - вирус Эбола, вирус Марбурга

BORNAVIRIDAE – вирус болезни Борна и другие вирусы, вызывающие неврологические заболевания человека и животных.

СЕГМЕНТИРОВАННЫЙ (-) РНК ГЕНОМ

Порядок *Articulavirales* - 2 семейства

сем. **ORTHOMYXOVIRIDAE** – вирус гриппа

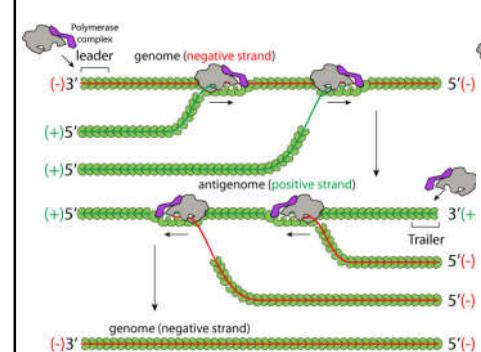
сем. **AMNOONVIRIDAE**, род *Tilapinevirus* - заражают рыб

BUNYAVIRALES

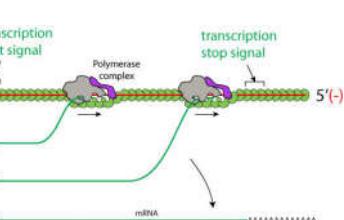
5

Mononegavirales

РЕПЛИКАЦИЯ



ТРАНСКРИПЦИЯ



7

Семейство RHABDOVIRIDAE

- 45-100 X 100-430 нм, бацилло- или пулеподобная форма
- билипидная мембрана содержит один вид гликопротеинов (G)
- спиральный нуклеокапсид (в раскрученном виде 20 X 700 нм)
- геномная РНК -1 сегмент, 10-14kb
- 5-10 генов кодируют 5-10 белков
- в семейство входит около 150 видов
- заражают позвоночных, беспозвоночных и растения
- распространяются среди растений и позвоночных с помощью векторов – насекомых, в организме которых способны размножаться

Группа V

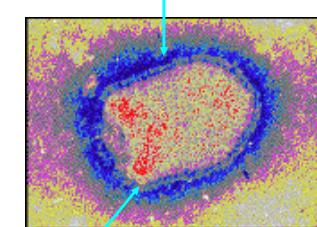
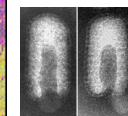
Rabdos – стержень

8

RHABDOVIRIDAE

Вирус бешенства

G гликопротеин

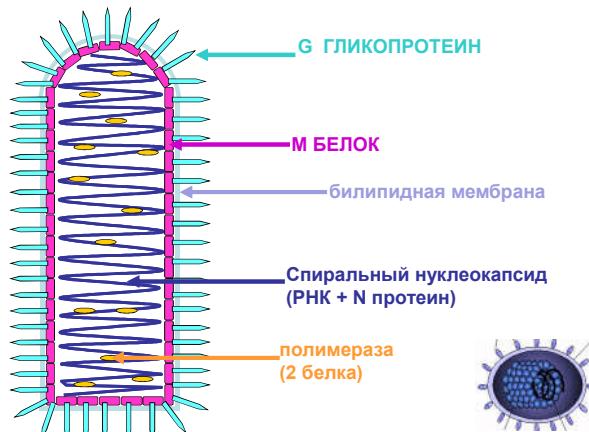
белок M
(матриксный)

Вирус бешенства инфицирует ЦНС теплокровных животных, передается через укусы зараженных особей (слюна). Другие пути передачи крайне редки.

ss(-) РНК; спиральный нуклеокапсид

9

РАБДОВИРУСЫ



10

RHABDOVIRIDAE

Вирус везикулярного стоматита (BBC)

L- 180 нм d- 70нм

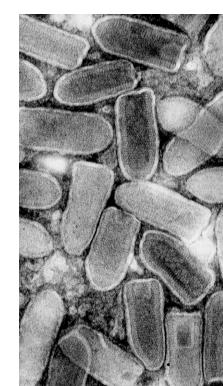
Липопротеидная оболочка

Группа V

Матриксный белок

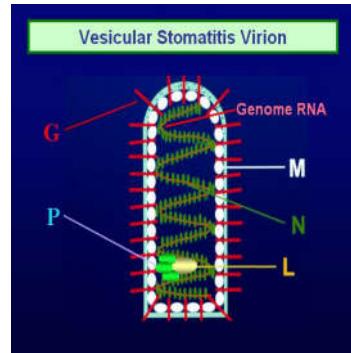
bullet-shaped – «пулевидная» форма

Репликация в цитоплазме



11

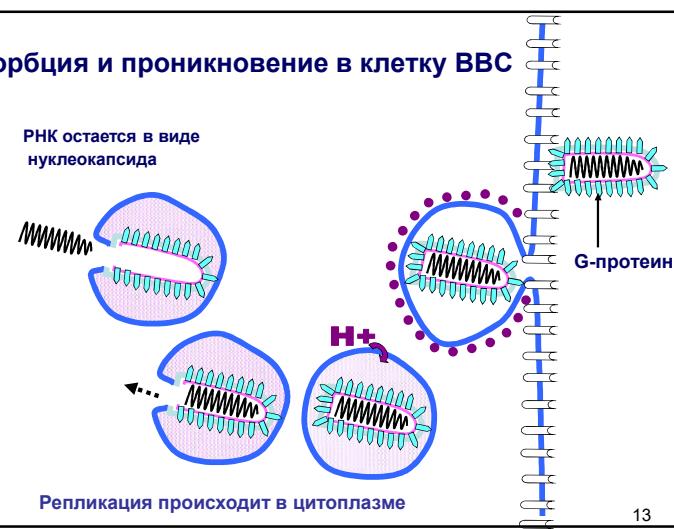
Структура вириона вируса везикулярного стоматита (BBC)



- Гликопротеин **G** обладает гемагглютинирующими активностью, распознает рецепторы клетки
- **M** – матриксный белок
- Нуклеокапсид, уложенный в спираль, состоит из геномной РНК 15 kb, покрытой белком **N**
- В состав нуклеокапсида в качестве структурного компонента входят белки **L** и **P** (компоненты транскриптазы)

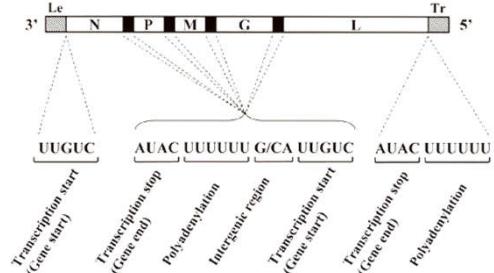
12

Адсорбция и проникновение в клетку BBC



13

Структура генома BBC



- N** - нуклеопротеин, **P** - фосфопротеин, **M** - матриксный белок, **G** - гликопротеин и **L** – полимераза.
- Le- лидерная последовательность (50 нт) – промотор транскрипции и сигнал для одевания РНК белком **N**.
- Tr-(trailer) - промотор репликации геномной РНК
- Межгенные регуляторные последовательности, содержащие «старт» и «стоп» - сигналы транскрипции и сигналы полиаденилирования мРНК.

14

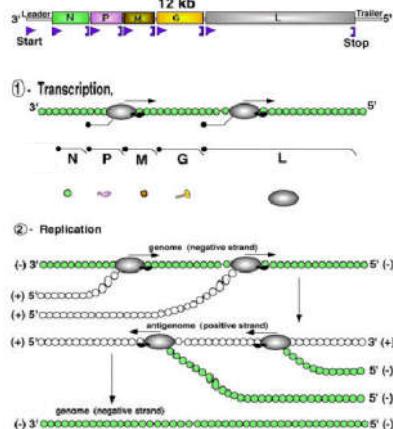
Транскрипция и репликация рабдовирусов

На примере BBC

Гены транскрибируются последовательно, по принципу «старт - стоп»

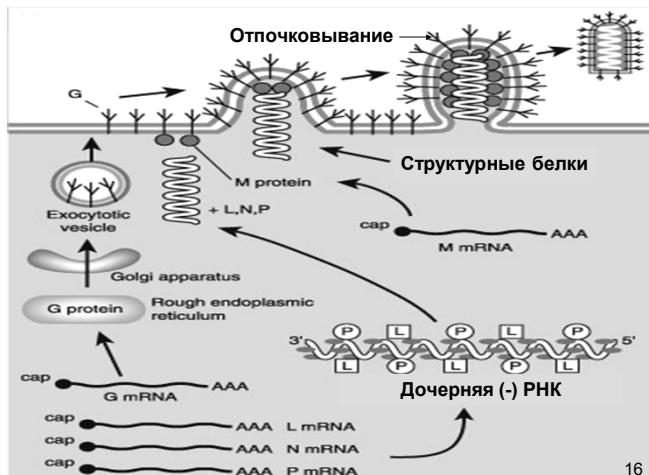
После аккумуляции N-белка и изменения уровня фосфорилирования Р-белка происходит переключение с процесса транскрипции на процесс репликации

Полноразмерная антигеномная (+ РНК) является матрицей для репликации геномной (-) РНК

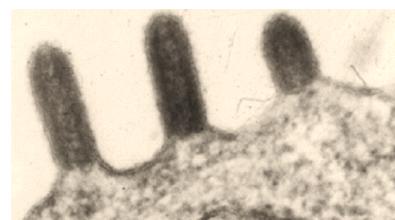


15

Созревание и выход вирионов ВВС из клетки.



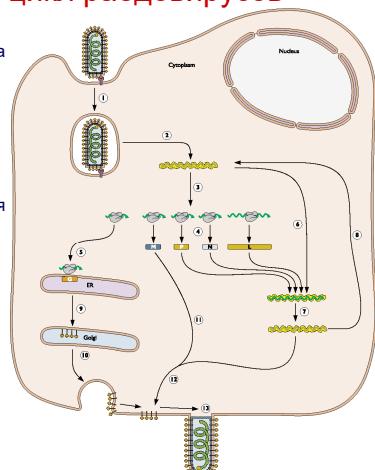
Выход вирионов ВВС из клетки.



16a

Инфекционный цикл рабдovирусов

- Связывание с рецепторами, проникновение путем эндоцитоза
- 3. Слияние мембран и освобождение нуклеокапсида
- 4-6. Транскрипция и трансляция мРНК
- 7-8. Накопление нуклеокапсидного белка (N) и переключение с транскрипции на репликацию
- 5,9,10. Гликопротеин (G) встраивается в плазматическую мембрану
- 11,12. Нуклеокапсид, ассоциированный с фосфопротеином (P) и РНК-полимеразой (L) собирается с помощью M белка
13. Частица отпочковывается, захватывая мембрну, модифицированную белком G



17

RABDOVIRIDAE



- Жизненный цикл происходит в цитоплазме.
- Полимеразный комплекс (белки L и P) входит в состав вириона.
- Гены транскрибируются последовательно, по принципу «старт - стоп».
- Образуются моноцистронные субгеномные РНК, кэпированные и полиаденилированные.
- Переключение с транскрипции на репликацию происходит в результате изменения уровня фосфорилирования белка Р и накопления белка N.
- Дочерние частицы отпочковываются, захватывая клеточную мембрану, модифицированную белком G.

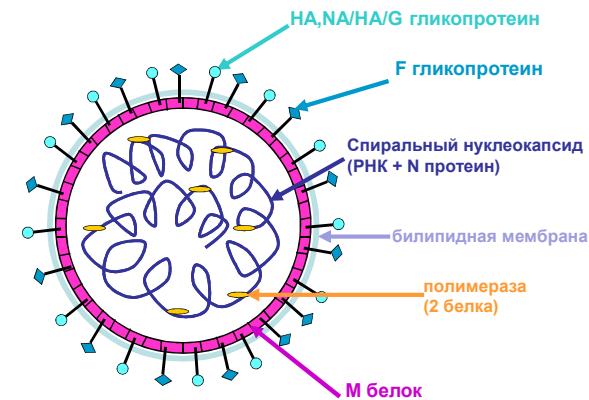
17-a

семейство *PARAMYXOVIRIDAE*

- Плеоморфная или сферическая форма, d=150-250nm
- Два типа вирусных белков, модифицирующих липопротеидную мембрану
- Спиральный (нитевидный) нуклеокапсид
- 15-16 kb геномная (-)ssRNA ; 6-8 генов кодируют 6-12 полипептидов
- Обнаружены только у позвоночных, передается воздушно-капельным путем (горизонтальная трансмиссия)
- Вызывают серьезные заболевания человека и животных (корь, свинка, чумка собак и др.)
- Организация генома и репликация похожа с организацией генома и репликацией рабдovирусов
- Структура и биология сходна с ортомиксовирусами (вирус гриппа)

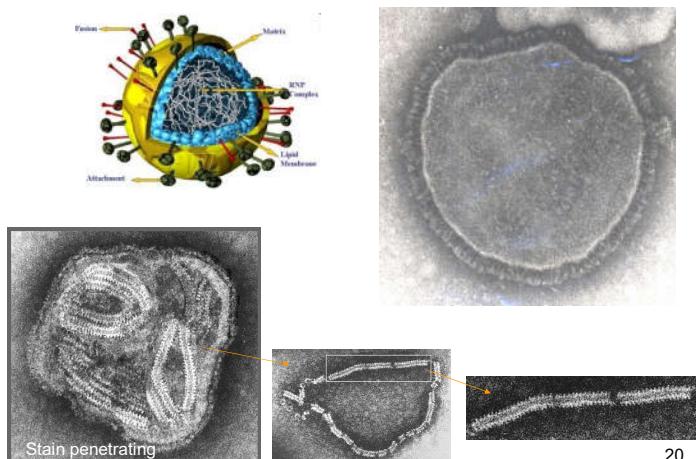
18

Парамиксовирусы



19

Вирус Кори

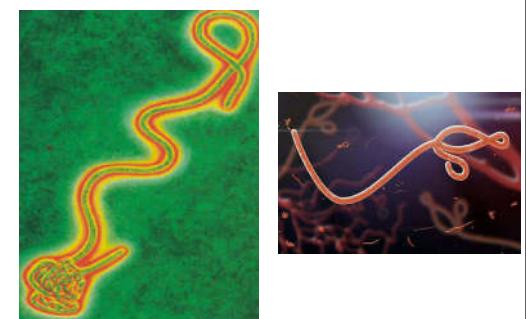


20

семейство *Filoviridae*

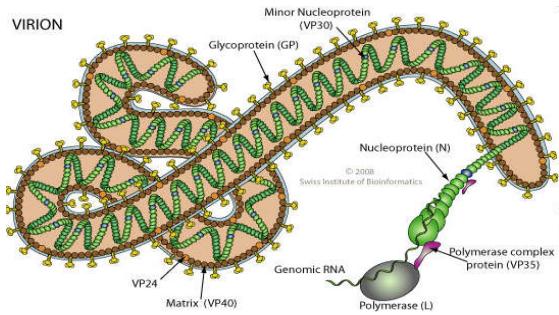
вирус Эбола и вирус Марбурга
частицы 6-, U-подобной или нитевидной формы

- Вирус Эбола (лихорадка Эбола)
- Нитевидная форма
- Липопротеидная оболочка диаметр 80 nm, длина 1400 nm
- реплицируются в цитоплазме
- нуклеокапсид спиральный (-) ss РНК – 19kb кодирует 7 белков



21

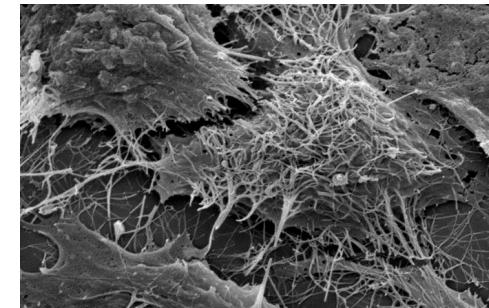
Структура вируса Эбола



Белки нуклеокапсида – N и VP30 (минорный)
Матриксные белки – M (VP40) и минорный VP24
Полимеразный комплекс – белок L и VP35 (фосфопротеин)
Поверхностный гликопротеин – G (GP)

22

Изображение вируса Эбола (spaghetti-like filaments) на поверхности клеток, секретирующих белок CD317, полученного с помощью сканирующего микроскопа.

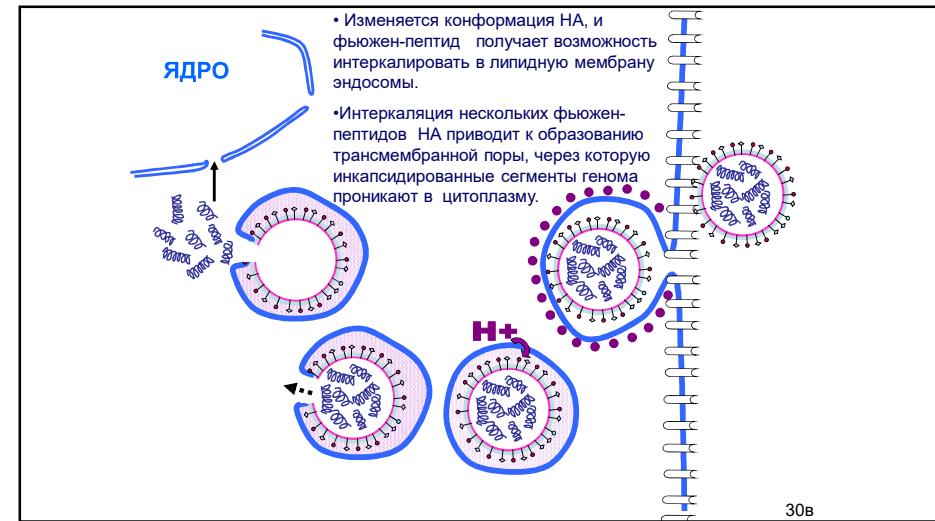


23

ВИРУСОЛОГИЯ

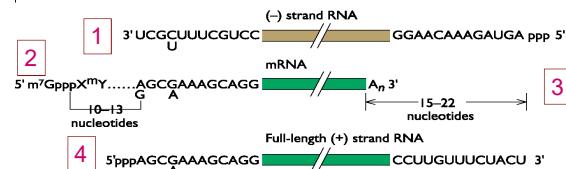
Лекция 6

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019



Структура вирионной РНК, мРНК и (+)-РНК-матрицы для синтеза дочерних (-)-нитей геномной РНК

- 1. Все восемь вирионных РНК содержат на 3'- и 5'-концах одинаковые нуклеотидные последовательности длиной 12 и 13 нуклеотидов. 3'- и 5'- концы вирионной РНК частично взаимокомplementарны
- 2. Вирусспецифические мРНК содержат на 5'-конце КЭП и еще 10 – 13 нуклеотидов клеточного происхождения.
- 3. На 3'-конце вирусные мРНК содержат полиаденилатную последовательность, которая присоединяется к растущей нити мРНК после сигнала полиаденилирования, локализованного за 15 – 22 нуклеотида до 5'-конца вирионной РНК
- 4. Полноразмерная (+)-нить РНК комплементарна (-)-нити вирионной РНК .



31

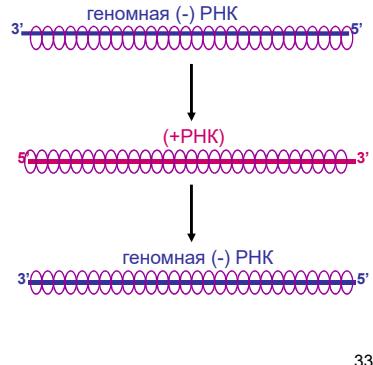
Транскрипция (синтез мРНК)



32

Репликация РНК

- Происходит в ядре
- Механизм переключения с одного вида синтеза на другой нясын (NP, NS2, вирусиндукр. кл. белки).
- Образуется полная копия геномной РНК.
- Репликантную и транскриптазную функции выполняют одни и те же вирусные белки.
- Вновь синтезированные (+) и (-) нити РНК сразу же связываются с белком NP (в отличие от мРНК).
- Нет четко выраженных ранней и поздней стадии инфекции.



33

«Судьба» синтезированных вирусных белков

M1, PB1, PB2, PA, NP, NS1 и NS2-транспортируются в ядро для формирования вирусных рибонуклеопротеидов

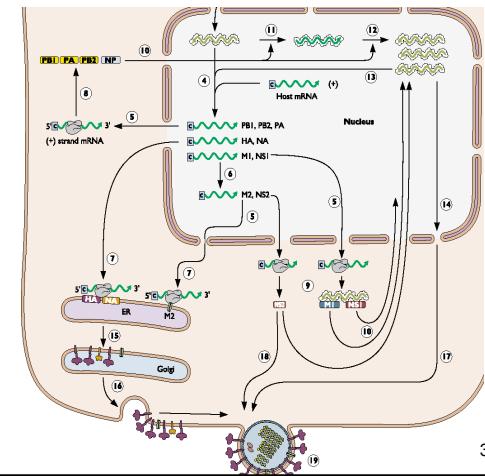
HA, NA и M2 синтезируются на ЭР и встраиваются в мембрану.

NP связываясь с новыми вирусспецифическими РНК и переправляет их в цитоплазму.

M1 и NS2 (NEP) также связываются с дочерними геномными РНК, прекращают синтез РНК.

РНП в комплексе с **PB1, PB2, PA** транспортируются в цитоплазму

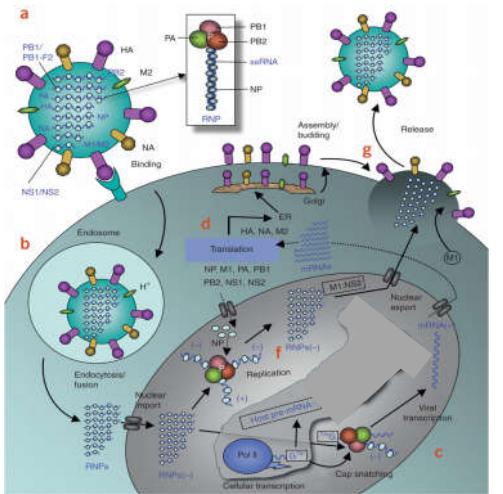
NS1 в состав вирусной частицы не входит, регулирует экспрессию хозяевских генов, репрессор синтеза интерферона (связывает ds РНК).



34

Инфекционный цикл вируса гриппа А

- HA связывает кл. рецепторы.
- Эндоцитоз, освобождение нуклеокапсида, который мигрирует в ядро
- Синтез м РНК и их экспорт в цитоплазму
- Трансляция мембранных белков на ЭР Трансляция других вирусных белков и их импорт в ядро.
- Репликация геномной РНК в ядре М1 и NS2 белки связываются с дочерними геномными РНК. Прекращают синтез РНК. РНП транспортируется в цитоплазму.
- Структурные белки вируса и нуклеокапсид собираются на плазматической мембране. Полностью собранный вирион отпочковывается от клеточной мембраны (важная роль NA).

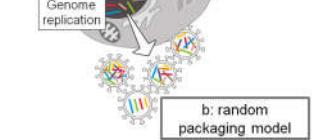


35

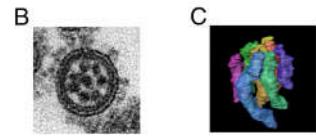
Упаковка генома вируса гриппа А



- Упаковываются одна копия каждого сегмента или 8 случайных сегментов?



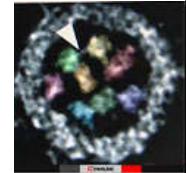
- Одна копия каждого сегмента в одном вирионе.



- Селекции фрагментов нет – полноценные вирионы образуются статистически.

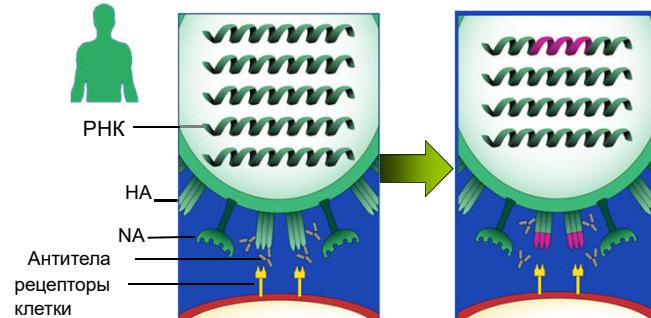
• Селективная упаковка

РНК/РНК взаимодействие *in trans*



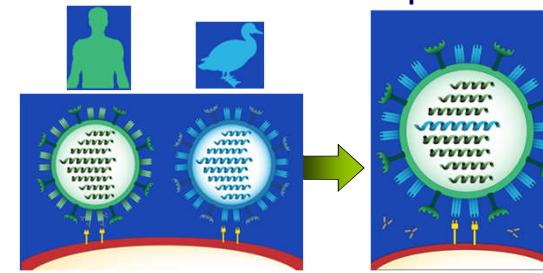
36

Изменчивость вируса гриппа А Антигенный дрейф



37

Изменчивость вируса гриппа А Антигенный шифт



Антигенный шифт – это внезапное появление нового патогенного штамма (субтипа) вируса. При размножении разных штаммов в одном хозяине могут образовываться новые варианты путем упаковки в один вирион фрагментов вирусного генома, принадлежащим разным штаммам вируса (реассортация).

38

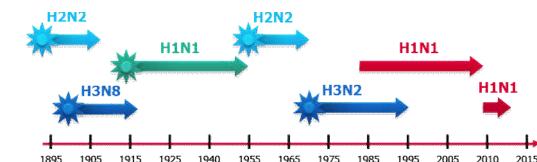
Эпидемиология гриппа

- Вирус гриппа А широко распространен
 - Птицы, морские млекопитающие, лошади, свиньи, человек
- Штаммы характеризуются по антигенным свойствам НА и НА, которые обозначаются номерами (H1N1, H2N3, H5N1)
- В настоящее время у вируса гриппа А известно 18 вариантов НА (H1-18) и 9 НА (N1-9)
- Пандемии типичны для вирусов гриппа А, но не В и С. Вирусы В и С поражают только человека.
- У вируса гриппа В - один вариант НА и НА, у вируса гриппа С нет гена НА

39

Эпидемиология гриппа

- 1889 – 1890гг. . («Русский грипп», вызванная вирусом H2N2).
- 1918–1920гг. ("Испанка", вызванная вирусом H1N1).
- 1957–1958гг. ("Азиатский грипп", вызванный вирусом H2N2).
- 1968–1969гг. ("Гонконгский грипп", вызванный вирусом H3N2).
- 1977–1978гг. ("Русский грипп", вызванный вирусом гриппа H1N1)
- 1990–1991гг. . ("Гонконгский грипп", вызванный вирусом H3N8).
- 1999 («Птичий грипп», вызванный вирусом H5N1)
- с 2009г («Свиной грипп», вызванный вирусом H1N1)



39a

Эпидемиология гриппа Грипп Калифорния 04/2009 или Мексиканский свиной грипп H1N1

- Ежегодно в мире сезонным гриппом заболевает около миллиарда человек. Умирает 3 миллион (по другим данным: 500 тыс – 2 млн).
- В США за год с сезонным гриппом госпитализируют 226 тысяч человек. Умирает 36 тысяч.
- По данным ВОЗ, за 5 месяцев свиным гриппом в мире заболели 285 138 человек. Умерли 3635.



39в

Противогриппозные вакцины

- Используются живая (аттенуированная) и инактивированная вакцины
- Вакцины: 1) целые вирионы; 2) сплит-вакцины; 3) **субъединичные вакцины** (поверхностные антигены)
- Вирусоподобные частицы.
- Возможность предсказать штамм или штаммы, которые могут вызвать эпидемию в текущем году является критически важной для производства вакцин
 - ВОЗ дважды в год дает рекомендации о том, какой штамм (штаммы) ожидается.

40

РЕТРОВИРУСЫ

РНК-содержащие вирусы, которые синтезируют ДНК на матрице РНК.

18

Ретровирусы

- пор. Ortervirales, сем. Retroviridae.*
- ss (+) RNA, липопротеидная оболочка.
- В жизненном цикле присутствует стадия транскрипции ДНК на матрице геномной вирусной РНК с помощью вирусного фермента обратной транскриптазы (ревертазы).
- Большое уникальное семейство, включающее вирусы, вызывающие онкологические заболевания, заболевания, поражающие иммунную систему и связанные с дегенеративными и неврологическими синдромами.
- Группа VI

Reverse transcription

18а

Семейство Retroviridae

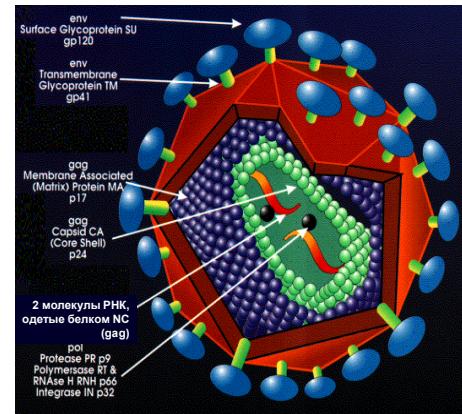
Подсемейство <i>Orthoretrovirinae</i>	Виды
1. род <i>Alpharetrovirus</i>	Вирус лейкоза птиц, вирус саркомы Payca (RSV)
2. род <i>Betaretrovirus</i>	Вирус опухоли молочных желез мышей
3. род <i>Gammaretrovirus</i>	Вирус лейкоза мышей (Moloney, Harvey)
4. род <i>Deltaretrovirus</i>	Вирус лейкоза крупного рогатого скота, вирус Т-клеточного лейкоза человека (HTLV)
5. род <i>Epsilonretrovirus</i>	Вирус дермальной саркомы
6. род <i>Lentivirusus</i>	Вирус иммунодефицита человека I (HIV), вирус висна, вирус инфекционной анемии лошадей
Подсемейство <i>Spumaretrovirinae</i> (5 родов)	Обезьяний пенистый вирус, спумавирус человека

19

Структура вириона ретровируса.

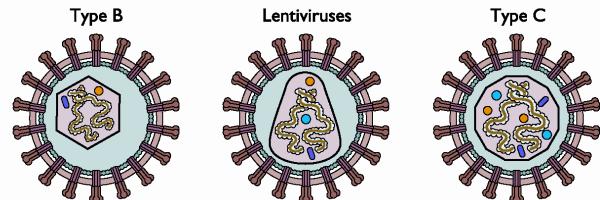
Сферический вирион ($d \sim 100$ нм) покрыт липидной мембраной с трансмембранным гликопротеином (TM) и гликопротеином SU, с помощью которого вирус распознает клеточный рецептор.

MA –матриксный белок.
CA – капсидный белок.
NC – нуклеокапсидный белок.



20-21

Структура ретровирусов



Нуклеокапсид (белок CA) ретровирусов может иметь различную форму и занимать разное положение внутри вирусной частицы.

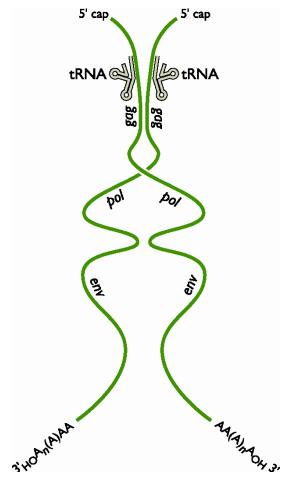
- Тип В- нецентрированный икосаэдрический капсид (вирус лейкоза мышей)
- Лентивирусы – капсид в виде конуса (ВИЧ)
- Тип С – капсид занимает центральное положение(вирус лейкоза птиц, вирус саркомы Payca)

22

Геном ретровирусов

• содержит две копии геномной РНК (диплоидный геном), около 10 000 нт

- РНК комплекс включает две молекулы тРНК - праймеры для обратной транскрипции PBS - primer binding site



23

ГЕНОМ РЕТРОВИРУСОВ (вирус саркомы Payса).



R – прямой повтор (12-235нт);

U₅-的独特ная последовательность (80 – 200 нт),
играющая важную роль в инициации обратной
транскрипции и в интеграции провиральной ДНК в хромосому.

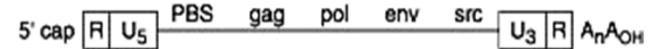
PBS (PB) – primer binding site(18 нт);

PP -Полипуриновый тракт ~9 нт А и G -затравка для синтеза (+) ДНК

U₃-的独特ная последовательность

24

ГЕНОМ РЕТРОВИРУСОВ (вирус саркомы Payса).



Gag (белки капсида):

MA, матричный; CA, капсидный; NC, нуклеокапсидный.

Pol (катализитические белки):

RT, pol (обратная транскриптаза); Prot, протеаза; Int, интеграза.

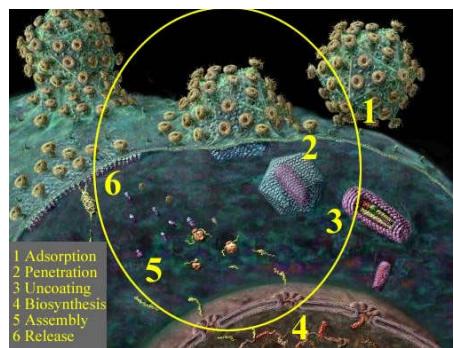
Env (белки, гликопротеиды внешней мембраны):

белок, связывающий рецепторы SU; трансмембранный
белок TM.

Src (онкоген).

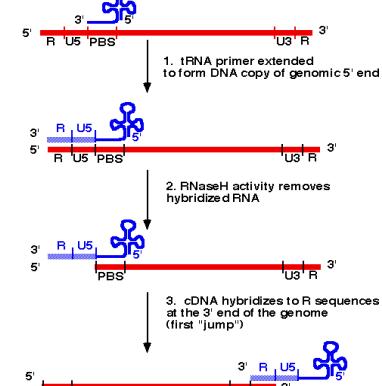
25

АДСОРБЦИЯ РЕТРОВИРУСОВ



25 а

Обратная транскрипция геномной РНК



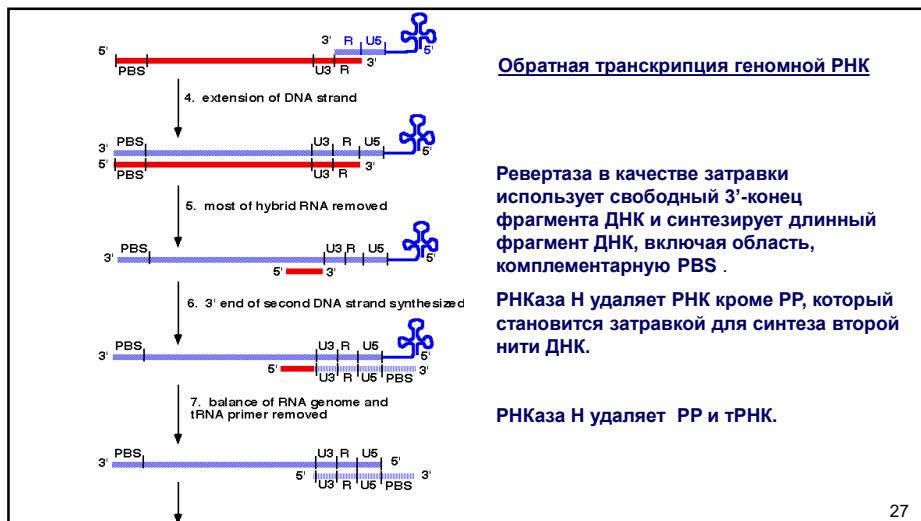
• Затравкой для ревертазы служит тРНК, которая, комплементарно связана восемнадцатью 3'-концевыми нт с участком PBS геномной РНК

• Наращивая 3'-конец затравки, ревертаза доходит до 5'-конца матрицы РНК, синтезируя фрагмент ДНК длиной около сотни нуклеотидов

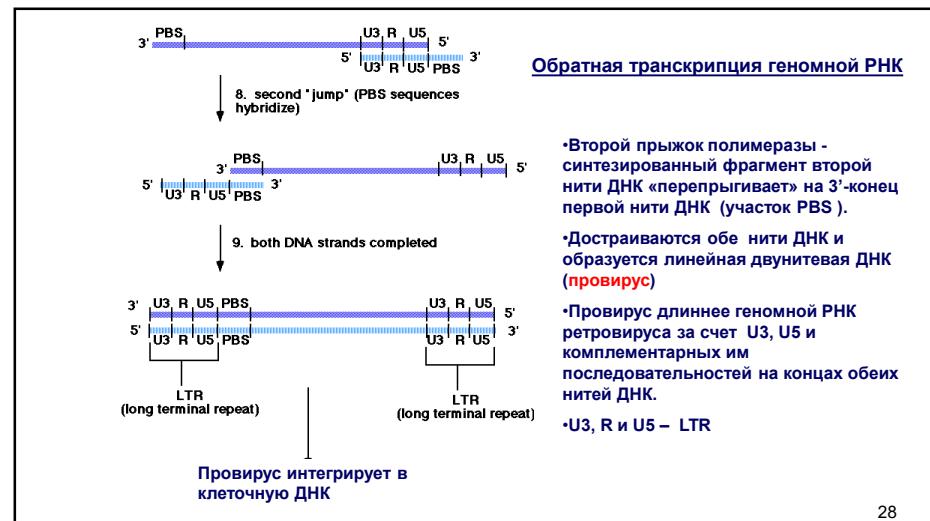
• РНКаза Н удаляет РНК в составе гетеродуплекса с ДНК, кроме участка связывания тРНК

• 3'-конец фрагмента ДНК (R) комплементарен другому концу молекулы РНК, происходит гибридизация этих участков, называемая первым прыжком полимеразы

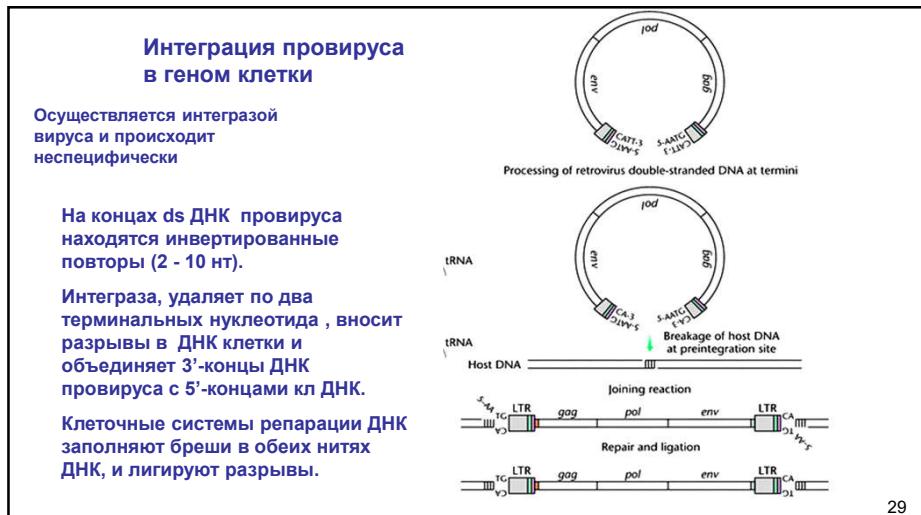
26



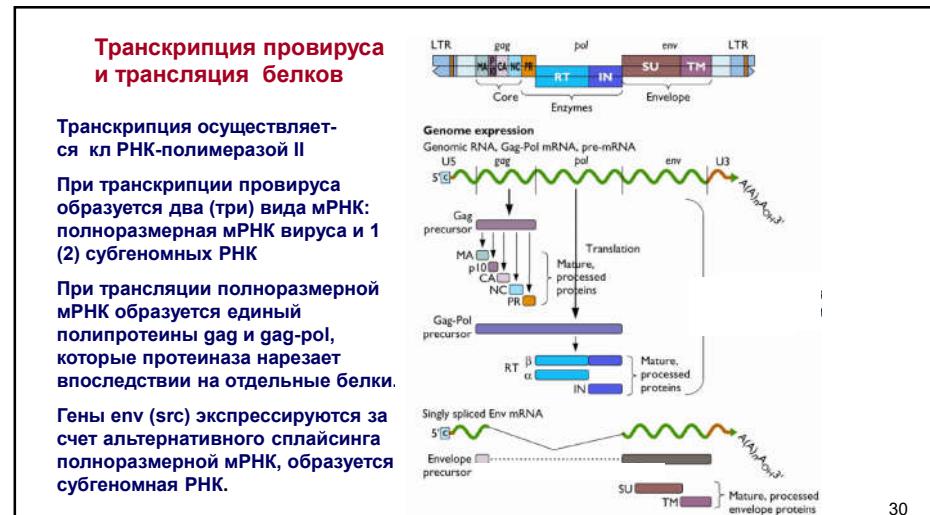
27



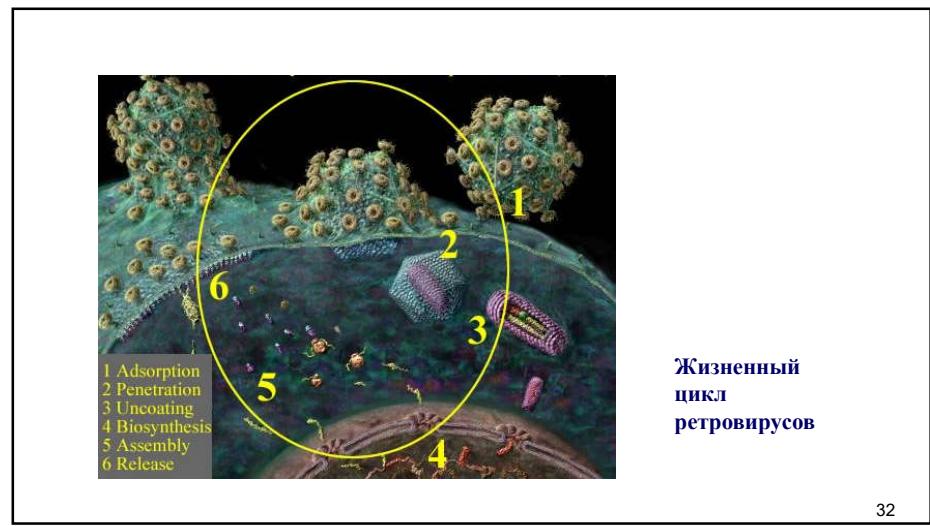
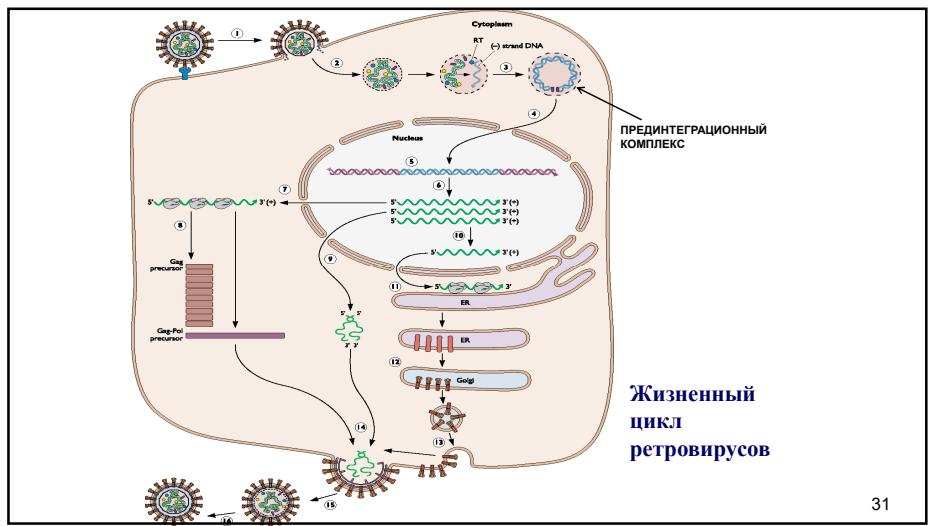
28



29



30



ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция 7

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

РЕТРОИДНЫЕ (ПАРАРЕТРО) ВИРУСЫ.

(СОДЕРЖАТ ДНК, НО КОДИРУЮТ ОБРАТНУЮ ТРАНСКРИПТАЗУ).

РЕТРОИДНЫЕ ВИРУСЫ:

Группа VII

ds(± ДНК) → (+РНК) → ds(± ДНК)
прегеномная РНК

РЕТРОВИРУСЫ:

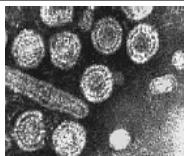
Группа VI

(+ РНК) → ds(± ДНК) → (+ РНК)

У ретроидных вирусов РНК транскрибируется на ДНК не только для синтеза белков , но и для репликации самого генома

33

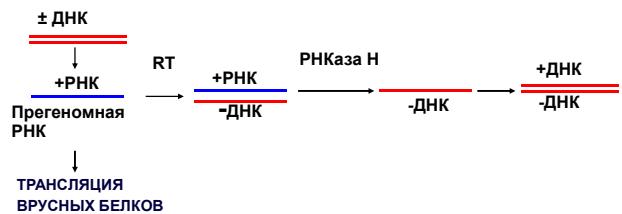
ПРЕГЕНОМНАЯ РНК.



Вирус гепатита В

ФУНКЦИИ ПРЕГЕНОМНОЙ РНК:

1. ПРИ ТРАНСЛЯЦИИ ПРОДУЦИРУЕТ ВИРУССПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ;
2. СЛУЖИТ МАТРИЦЕЙ ДЛЯ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ ПРИ СИНТЕЗЕ ДНК:



34

Онкогенные вирусы Вирусный канцерогенез

1

Онкогенные вирусы

- способны вызывать в организме животного особый вид клеточной пролиферации, ведущей к развитию опухолей.

Вирусный канцерогенез

- 1) Вирусные инфекции ответственны за развитие 15-20% опухолей у людей и большинства новообразований у сельскохозяйственных животных;
- 2) Исследование экспериментального вирусного канцерогенеза внесло огромный вклад в понимание молекулярных механизмов неопластической трансформации (*открытие вирусных и клеточных онкогенов и т.д.*)

2-3

Существует два типа генов , изменения экспрессии в которых приводят к нарушению контроля над делением клеток.

- (а) гены , которые стимулируют рост и являются причиной появления опухолей при их суперэкспрессии (**ОНКОГЕНЫ**)
- (в) гены, способные ингибировать неконтролируемое деление клеток. Могут быть причиной возникновения опухоли с случае отключения их экспрессии (**АНТИОНКОГЕНЫ** или **СУПРЕССОРЫ ОПУХОЛЕЙ**); p53, pRb

4

ОНКОГЕНЫ

- Гены, экспрессия которого приводит к неконтролируемой пролиферации (трансформации) клеток .
- Участок вирусного генома (ДНК или РНК), который является причиной опухоли, называется **онкоген** .
- Первый онкоген **src**.

Вирус может вносить онкоген или активировать клеточный гомолог (protoонкоген)

ПРОТООНКОГЕНЫ

- Гомологичны вирусным онкогенам.
- В норме не экспрессируются в нормальных здоровых клетках или экспрессируются на очень низком уровне.
- Контролируют нормальную пролиферацию клеток и способны в результате соматической мутации или транспозиции превращаться в клеточный онкоген.

5-6

Супрессоры опухолей (Антионкогены)

- Осуществляют негативный контроль клеточной пролиферации.
- Подавляют активность онкогенов и контролируют активностьprotoонкогенов
- **p53**
«Страж генома», участвует в системе, контролирующей любые повреждения и нарушения хромосом, фактор транскрипции, регулирует экспрессию белков, ответственных за активацию различных супрессорных систем.
- **pRb**

Протоонкогены и антионкогены образуют сложную систему позитивно-негативного контроля клеточной пролиферации и дифференцировки, а злокачественная трансформация реализуется через нарушение этой системы.

7

Вирусная трансформация клеток

- Изменение биологических функций клетки, которое связано с тем, что вирусные гены участвуют в регуляции процессов в клетке, то есть придает инфицированной клетке определенные свойства, характеризующие неоплазию, т.е. опухоль.
- Эти изменения часто (но не всегда) являются результатом интеграции вирусного генома в геном клетки-хозяина.

Трансформация может быть индуцирована другими факторами помимо вируса.

Истинные вирусные онкогены

8

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

36

- ДНК-содержащие онкогенные вирусы являются **модельной системой для исследования молекулярной биологии эукариотической клетки:**

репликация генома и экспрессия генов ДНК-содержащих вирусов идет с использованием механизмов и ферментативного аппарата клетки.

37

Polyomaviridae *Adenoviridae*

- Хорошо изученные ДНК-содержащие вирусы, индуцирующие опухоли.
- В природных хозяевах, в пермиссивных клетках, инфекционный процесс приводит к репликации вируса, лизису зараженных клеток и освобождению вирусного потомства
- Используют один и тот же механизм трансформации клеток и являются экспериментальными моделями для изучения причин образования опухолей
- Аденовирусы не связанны с онкологическими заболеваниями человека. Полиомавирусы – *Human polyomavirus 5*.

Группа I

38

сем. *Polyomaviridae*
род *Betapolyomavirus*
Simian Virus (SV40)

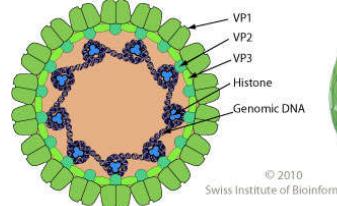
<i>Alphapolyomavirus</i> (42 вида) <i>Betapolyomavirus</i> (34 вида) <i>Deltapolyomavirus</i> (4 вида) <i>Gammopolyomavirus</i> (9 видов) <i>Не включены</i> (9 видов)	 Macaca mulatta polyomavirus 1	 Обезьяний вирус -40 Simian Vacuolating Agent 40
---	---	--

Реплицируются в ядре

42

Обезьяний вирус - 40 (SV-40)

- Икосаэдр, 72 капсомера (12 пентомеров, 60 гексамеров)
- Три структурных белка VP1 (40 kD), VP2 (38kD), VP3 (27kD);
- Замкнутая кольцевая ds ДНК 5243 пн связана с клеточными гистонами H2a и b, H3, H4 (минихромосома)


© 2010
Swiss Institute of Bioinformatics

T=7

• Неструктурные регуляторные белки большой **T-антител** (82 kD) и малый **t-антител** (17kD)

43

Ответ клетки на заражение SV40

```

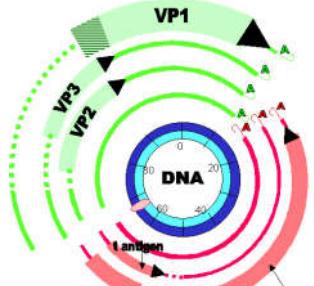
    graph TD
      A[Инфекция] --> B[продуктивная  
(пермиссивные клетки)]
      A --> C[непродуктивная  
(непермиссивные клетки)]
      
      B --> D[Клетки обезьяны]
      C --> E[Клетки грызунов]
      
      D --> F[лизис клеток]
      E --> G[трансформация  
клеток]
    
```

44

Структура генома SV-40

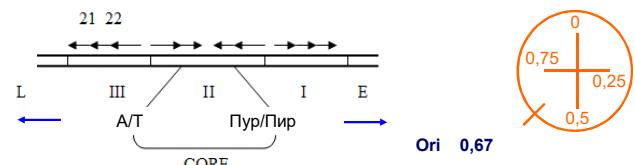
Процесс экспрессии вирусных белков делится на две фазы: раннюю и позднюю

- **РАННИЕ** гены кодируют ферменты и регуляторные белки, необходимые для начала репликации
- **ПОЗДНИЕ** гены кодируют структурные белки, необходимые для сборки и созревания вируса.



45-46

Структура Ori SV40



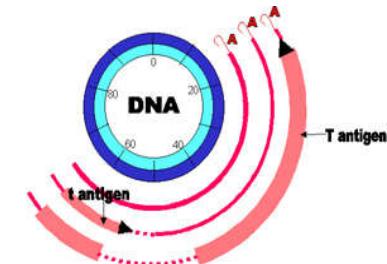
- (I) пентануклеотидные последовательности **GAGGC**, организованные как инвертированный повтор и узнаваемые Т-антителом.

(II) **CORE** длиной 64 пн (Core Ori Recognition Element) состоит из центрального участка, с которым связывается Т-антитело, и фланкирован с одной стороны А/Т богатым участком, с другой - Пур/Пир последовательностью.

(III) участке находятся повторы 21,22 п.н. – участок переключения с ранней на позднюю стадию транскрипции

47

Ранняя транскрипция генов



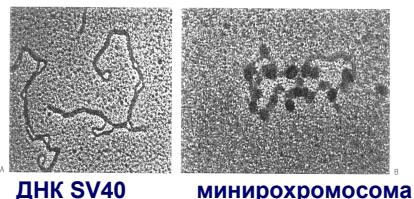
Клеточная РНК-полимераза I Посттранскрипционная модификация

Образуется первичный транскрипт и подвергается альтернативному сплайсингу, в результате которого образуются мРНК для малого t- и большого T-антитела (белки имеют общий N-конец и различные C- концы полипептидной цепи). мРНК транслируется в цитоплазме.

48

Поздняя фаза литического цикла начинается с репликации вирусного генома

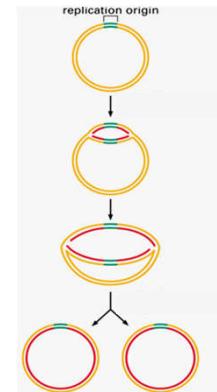
- Вирусный геном образует комплекс с клеточными гистонами – минихромосому, неотличимую от клеточного хроматина.
 - Вирус использует клеточный аппарат репликации ДНК.



- Механизм репликации ДНК SV40 сходен с репликацией клеточной ДНК

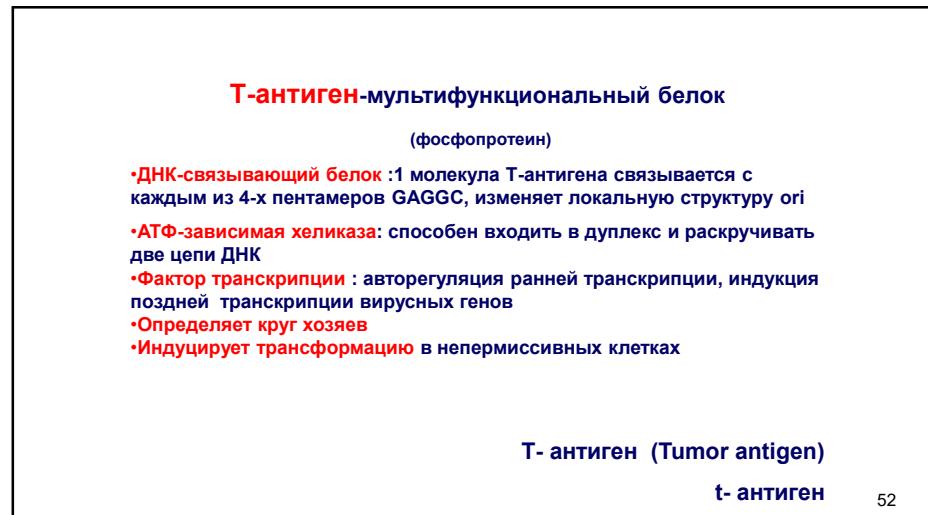
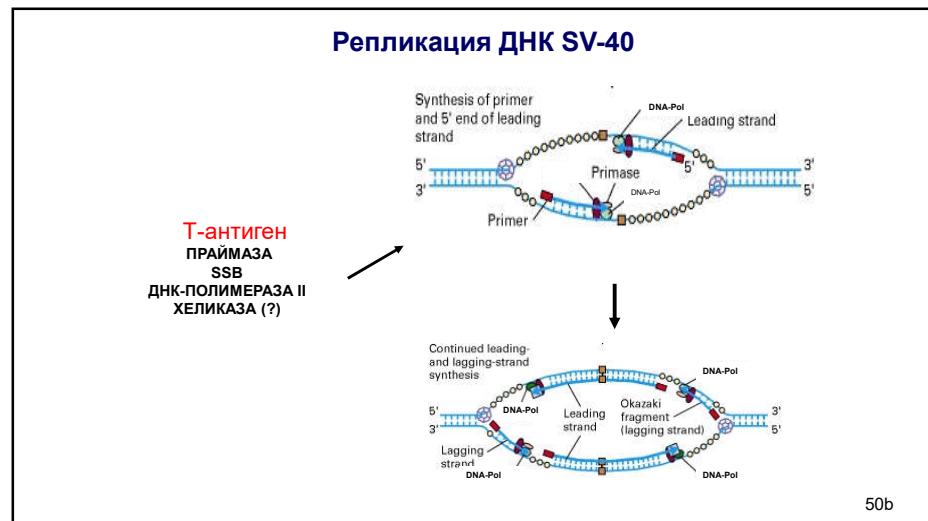
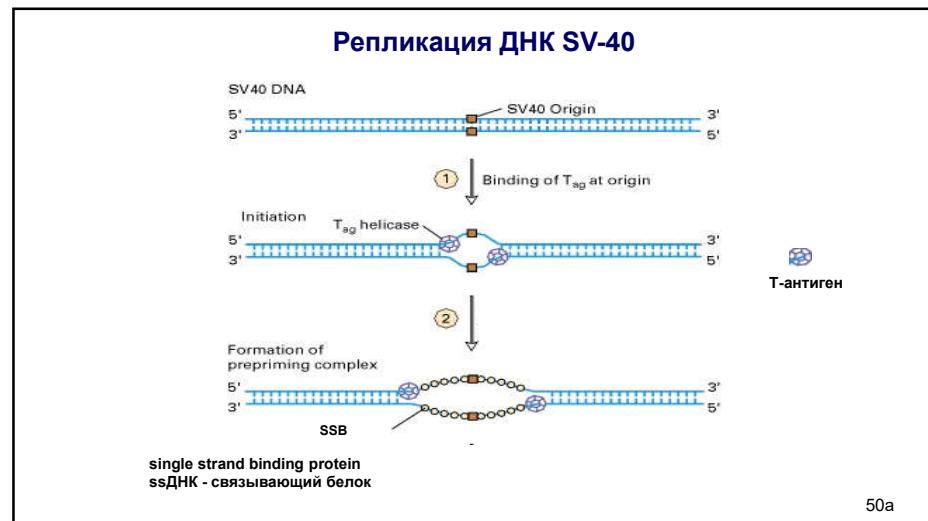
49

Репликация ДНК SV-40



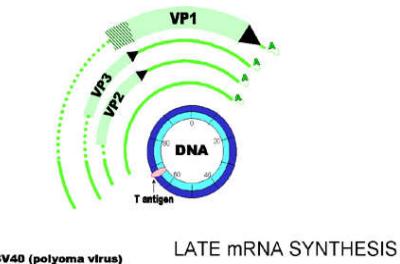
- Репликация ДНК по схеме Кернса происходит в ядре
 - Т-антиген необходим
 - Т-антиген изменяет локальную структуру Ori
 - Т-антиген взаимодействует с праймазой, образуется нуклеотидная затравка
 - Клеточная ДНК-полимераза узнает Ori – участок начала репликации, только, если с ним связан Т-антиген

50



Поздняя транскрипция генов

- Поздняя фаза транскрипции происходит после репликации ДНК, вновь образованные молекулы используются.



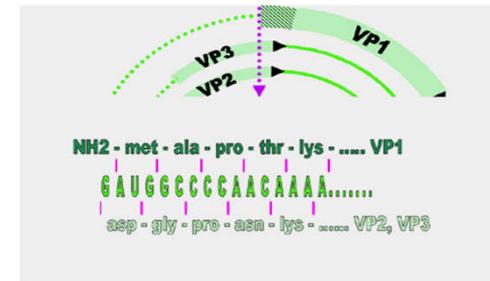
- Ранняя транскрипция продолжается, но на низком уровне.

- Т-антigen регулирует возрастание транскрипции с поздних промоторов и понижение уровня транскрипции с ранних промоторов

mRNK для VP1,2 и 3 образуются из первичного транскрипта, который подвергается альтернативному сплайсингу

53

Рамка считывания для VP1 отличается от рамок считывания VP2 и VP3.



Один участок ДНК может кодировать белки с различной аминокислотной последовательностью, используя различные открытые рамки считывания белков

54

Сборка вирионов

- VP1,2 и 3 образуются в цитоплазме, белки транспортируются к ядру.
- Вирусная частица, состоящая из капсида и вирусной ДНК, ассоциированной с клеточными гистонами, собирается в ядре.
- Большое количество частиц аккумулируется в ядре и формируют тельца включений. Вирионы освобождаются в результате лизиса клетки.

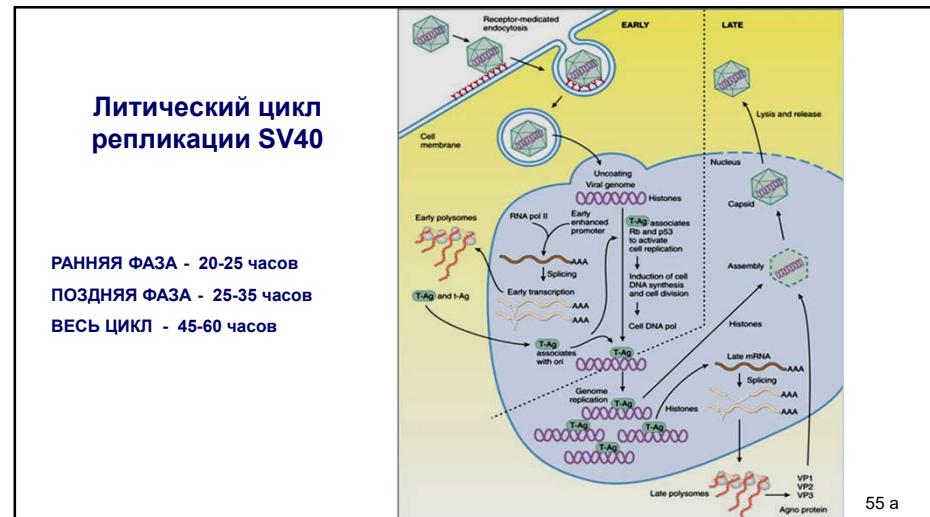
55

Литический цикл репликации SV40

РАННЯЯ ФАЗА - 20-25 часов

ПОЗДНЯЯ ФАЗА - 25-35 часов

ВЕСЬ ЦИКЛ - 45-60 часов





- Ранние и поздние этапы инфекционного процесса.
- Небольшой геном – кодирует ограниченное число белков
- Множественное использование одной и той же последовательности ДНК (альтернативный сплайсинг, перекрывающиеся открытые рамки считываания)
- Мультифункциональный белок Т-антителен
- Используются клеточные механизмы синтеза и посттранскрипционной модификации РНК, клеточный аппарат синтеза ДНК, клеточные гистоны для упаковки вирусной ДНК.

56

АДЕНОВИРУСЫ

сем. *Adenoviridae*

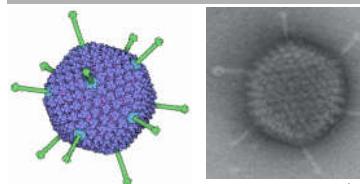
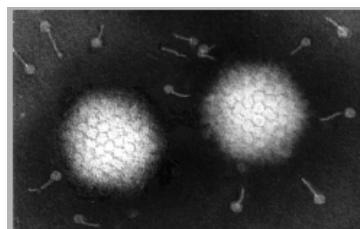
1

АДЕНОВИРУСЫ сем. *Adenoviridae*

- Диаметр 80-100 нм
- Нет внешней оболочки
- Икосаэдрический вирус с отростками (20-30 нм), которые расположены на каждой из 12 вершин икосаэдра; играют важную роль в инициации инфекции.

Группа I

- Геном линейная ds ДНК, связанная с вирусными основными белками, около 40 000 пн



1a

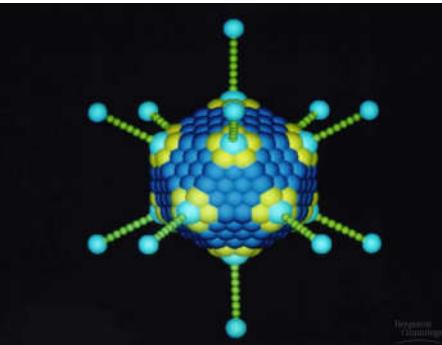
сем. *Adenoviridae*

- род *Mastadenovirus* – заражают млекопитающих , 6 видов (A-F) – человек.
- Human mastadenovirus C
- род *Aviadenovirus* — адено-вирус птиц (A-E)
- Fowl aviadenovirus A
- род *Atadenovirus* — адено-вирус овец
- Ovine atadenovirus D
- род *Siadenovirus* – адено-вирус лягушек
- Frog siadenovirus A
- род *Ictadenovirus* – адено-вирус рыб
- Sturgeon ictadenovirus A

2

- сем. *Adenoviridae*

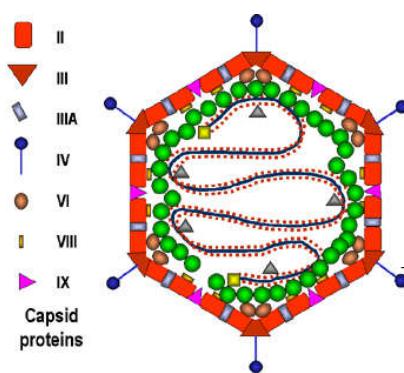
• 1500 белковых субъединиц,
• 252 капсомера:
12 пентонов
240 гексонов
• Пентон состоит из пентона основания, узелка и стебля (отросток)



Белки , входящие в вирион, можно разделить на белки капсида и белки кора (сердцевины)

3

БЕЛКИ КАПСИДА

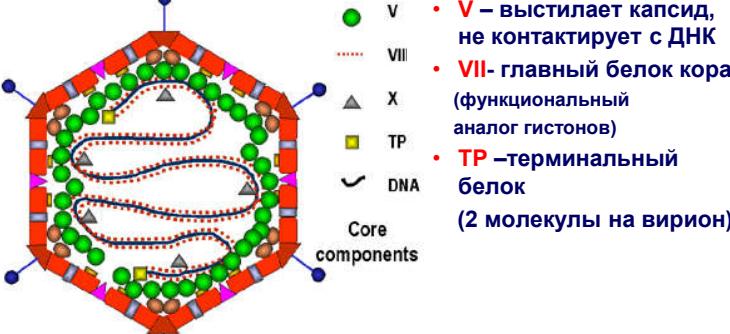


- II-образует гексоны
- III-пентоны
- IIIa –входит в состав гексона, окружающего пентон основания
- IV –отросток (тример)

• VI, VIII, IX - белки ассоциированные с гексонами

4

БЕЛКИ КОРА

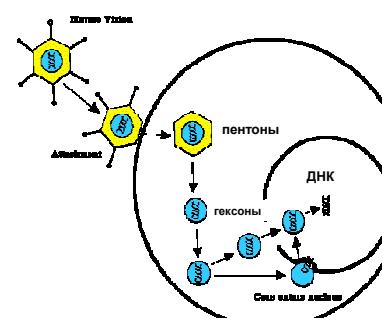


- V – выстилает капсид, не контактирует с ДНК
- VII- главный белок коры (функциональный аналог гистонов)
- TP –терминальный белок
- (2 молекулы на вирион)

• X – минорный белок, связанный с ДНК

5

Первые этапы лизитического цикла



- Отростки взаимодействуют с клеточными рецепторами
- Эндоцитоз
- Раздевание в несколько этапов

• ДНК полностью освобождается в ядре (возможно около ядерных пор)

6

Литический цикл репликации аденоовирусов делится на раннюю и позднюю фазу

- 24 часа
 - РАННЯЯ ФАЗА (6-8 часов)

Ранняя транскрипция

Условно делят на : истинно раннюю
отсрочено раннюю
замедленно раннюю

Образуются неструктурные регуляторные белки

- **ПОЗДНЯЯ ФАЗА**
 - Начинается с репликации ДНК
 - Поздняя транскрипция и образование структурных белков
 - Заканчивается с появлением вирусного потомства
 - Ранняя и поздняя транскрипции происходят с помощью клеточной РНК-полимеразы II.

ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция 8

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

РАННЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

The diagram illustrates the CRI-1 gene structure across a genomic scale from 0 kb to 36 kb. The gene features several exons: E1B (55K), E1A (125K and 138K), E3 (147K, RID-beta, RID-alpha, CRI1-beta p6), E2B (IVa2, pol, p1P), E2A (DBP, ORF6.7), and E4 (ORF4.1, ORF4.2, ORF4.3, ORF4.4). The IVa2 exon is shown with alternative splicing paths leading to p1P and p1P' variants.

ИСТИННО
РАННИЕ ГЕНЫ

E1A кодирует два полифункциональных белка. Контролируют транскрипцию всех реплицирующихся клеточных и вирусных генов . Не связываются непосредственно с ДНК, но связываются с большим числом транскрипционных факторов

8

**Литический цикл репликации адено-вирусов
делится на раннюю и позднюю фазу**

- 24 часа
 - РАННЯЯ ФАЗА (6-8 часов)

Ранняя транскрипция

Условно делят на : истинно раннюю
отсрочено раннюю
замедленно раннюю

Образуются неструктурные регуляторные белки

- ПОЗДНЯЯ ФАЗА
 - Начинается с репликации ДНК
 - Поздняя транскрипция и образование структурных белков
 - Заканчивается с появлением вирусного потомства
 - Ранняя и поздняя транскрипции происходят с помощью клеточной РНК-полимеразы II.

1

РАННЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

ОТСРОЧЕННО
РАННИЕ
ГЕНЫ

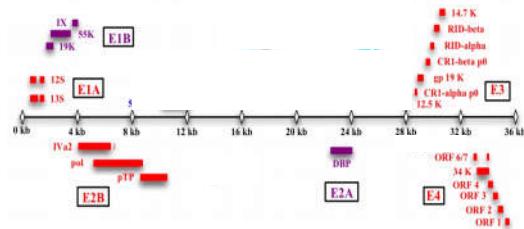
E1B
две мРНК
два белка , влияют на
продвижение клетки по
циклу и подавляют апоптоз

E1A и **E1B** вирусные онкогены , функция трансформации в непермиссивных клетках

E2A, 2B – общий промотор , мРНК образуются в результате альтернативного сплайсинга. Образуются DBP – ДНК-связывающий белок , ДНК-полимераза и предшественник TP (80 kD превращается в 55 kD в процессе сборки)

9

РАННЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ



E4 - 6 мРНК и 6 полипептидов. Функции: влияют на сплайсинг вирусных РНК, транспорт вирусных м РНК в цитоплазму, защита от апоптоза.

ЗАМЕДЛЕННО РАННИЕ ГЕНЫ IX и IVa2 (E1B, E2B) - активаторы поздней транскрипции.

10

Продукты трансляции ранних транскриптов

E1A

Контролируют транскрипцию всех реплицирующихся клеточных и вирусных генов.

E1A+E1B

онкогены

E2A

DBP – ДНК-связывающий белок

E2B

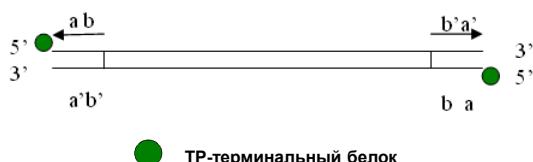
вирусная ДНК-полимераза

предшественник белка - ТР

11

ПОЗДНЯЯ СТАДИЯ ЛИТИЧЕСКОГО ЦИКЛА начинается с репликации вирусной ДНК

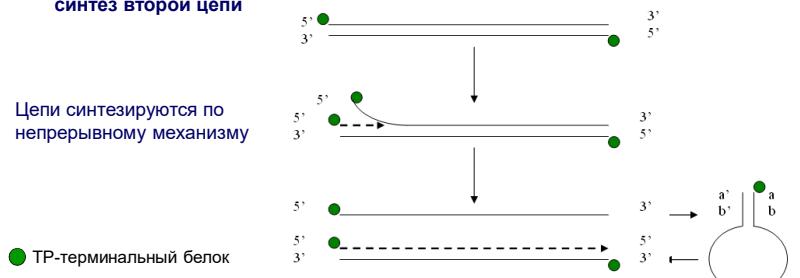
- Репликация проходит в ядре. Необходимо, чтобы клетка находилась в S-фазе клеточного цикла.
- Собственная ДНК-полимераза (E2B)
- На концах ДНК имеются инвертированные повторы длиной 100-200 пн
- С 5'-концами цепи ковалентно связан ТР.



12

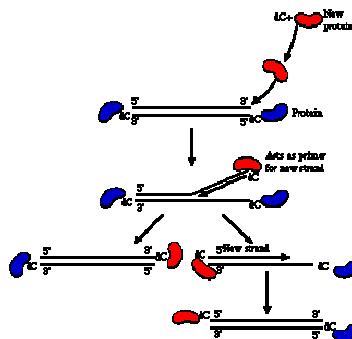
Общая схема репликации ДНК аденоовирусов

- На дуплексе ДНК синтезируется дочерняя цепь с вытеснением материнской цепи.
- Вытесненная цепь за счет инвертированных повторов образует структуру типа «сковородки с ручкой». На этой структуре также может происходить синтез второй цепи



13

Инициация синтеза ДНК происходит с участием нуклеотид-белковой затравки



Необходимы вирусная ДНК-полимераза, TP, dCTP, клеточные ядерные факторы, DBP - ДНК связывающий белок (E2A)

Праймер TP+dCTP

TP остается связанным с вновь образовавшейся цепью
Элонгация репликации.
Осуществляется вирусной ДНК-полимеразой с вытеснением цепи.
Процесс не требует участия хеликазы.
Нужен вирусный ДНК-связывающий белок.
Терминация репликации.
Достигнув конца матрицы, полимераза «уходит» с матрицы (run-off)

14

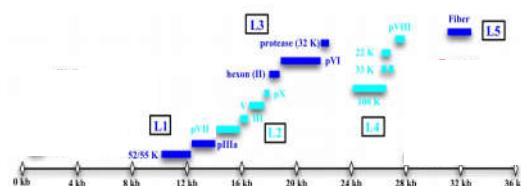
Поздняя транскрипция; образование поздних белков

- Для включения поздней транскрипции обязательна репликация ДНК.
- Один общий сильный промотор (MLP) для всех поздних транскриптов.
- Механизм, в результате которого происходит переключение на позднюю транскрипцию, ясен не до конца.
- MLP активируется E1A, также нужны замедленно ранние гены IX и IVa2, клеточные транскриptionные факторы и продукт «раннего» позднего гена L1
- Поздние м РНК – транскрипты кодируют преимущественно структурные белки
- Образуется один первичный транскрипт, который подвергается процессингу (моноцистронные м РНК)

15

ПОЗДНЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Поздние м РНК – транскрипты кодируют преимущественно структурные белки.



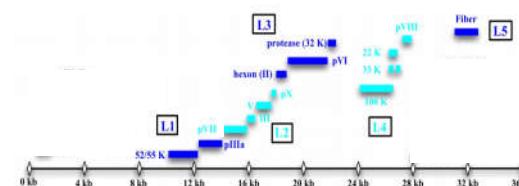
L1 - первый поздний ген, кодирует структурный белок **IIIa** – входит в состав гексона, окружающего пентон и неструктурный **52/55K** – активатор поздней транскрипции .

L2 - белок **V** – выстилает капсид, **VII**-гл. белок кора, **III**-пентоны, **X** – минорный белок, связанный с ДНК.

16-17

ПОЗДНЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Поздние м РНК – транскрипты кодируют преимущественно структурные белки.



L3 - II- гексоны, **VI** – белок, ассоциированный с гексонами, **протеаза (32K)**

L4 – **VIII** – белок, ассоциированный с гексонами, **110K** белок – усиление транспорта вирусных мРНК.

L5 - **IV** – отросток

18

СБОРКА ВИРИОНА

- Синтез структурных белков происходит в цитоплазме
- В цитоплазме образуются капсомеры: гексоны и пентоны и переходят в ядро
- Сборка частиц аденоовирусов происходит в ядре. ДНК входит в сформированный не до конца белковый капсид
- Происходит дальнейшее созревание капсида
- После лизиса клетки вирионы выходят наружу

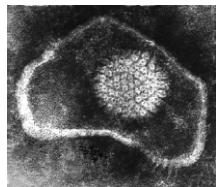
19



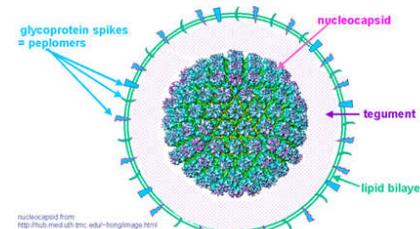
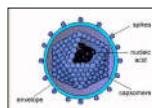
- Аденовирусы больше по размерам и устроены сложнее, чем полиомавирусы**
- Ранние и поздние этапы инфекционного процесса**
- Кодируют свою собственную ДНК-полимеразу, ДНК - связывающий белок и белки, участвующие в упаковке ДНК
- Остальные белки, необходимые для репликации ДНК - клеточные**
- Используются клеточные механизмы синтеза и посттранскрипционной модификации РНК

20

пор. *Herpesvirales*
сем. *Herpesviridae*



- Диаметр 180-200 нм
- Липопротеидная оболочка
- Икосаэдрический капсид
- Тегумент
- Геном линейная ds ДНК, 120-300 тыс п.н., концевые повторы.



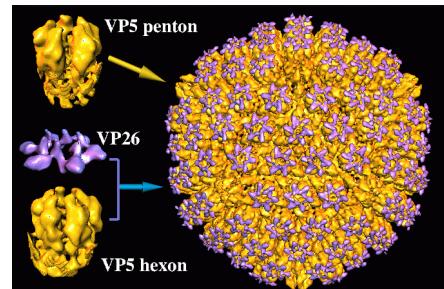
Herpes – ползучий (греч)

Группа I

21

сем. *Herpesviridae*

Нуклеокапсид

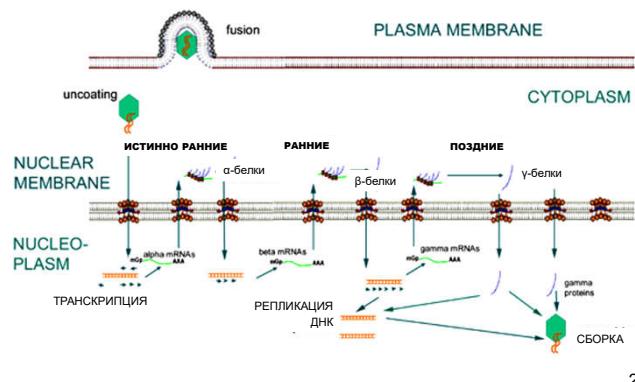


Вирус герпеса (HSV-1)

- Диаметр ~ 100 нм
- T=16
- 162 капсомера

21-1

Литический цикл репликации.
Экспрессия истинно ранних, ранних и поздних генов герпесвирусов



22



23

Клетки ,зараженные вирусом Герпеса

- Герпесвирусы больше по размерам и устроены сложнее, чем полиома- и адено вирусы
- Ранние и поздние этапы инфекционного процесса.**
- Кодируют больший набор вирусспецифических ферментов(ДНК-полимеразу, ДНК - связывающий белок, тимидин киназу, рибонуклеотидредуктазу и др.) Более независимы от клеточных механизмов , чем полиома- и адено вирусы
- VP16 (кл. РНК-полимераза II)
- Не обнаружен факт подавления транскрипции ранних генов.**
- Кодирует ряд истинных вирусных онкогенов (гены группы EBNA, LMP)



24

ВИРУСОЛОГИЯ

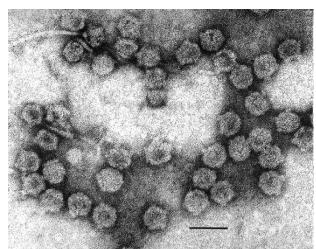
Лекция 9

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

Бактериофаги с кольцевой однонитевой (ss) ДНК

1

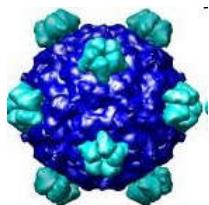
семейство *Microviridae*



•фаги фX174, S13, G4.
икосаэдрический белковый
капсид ($d \sim 30$ нм)

ssДНК ~ 6 000 нт

лизируют бактериальную клетку



Группа II

2

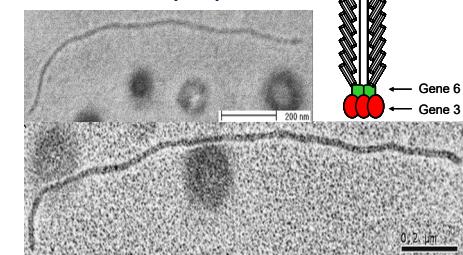
семейство *Inoviridae*

Бактериофаги M13, fd.

нитевидный капсид, спиральная симметрия
($l \sim 1000$ нм; $d - 6-9$ нм)

ssДНК ~ 6 500 нт

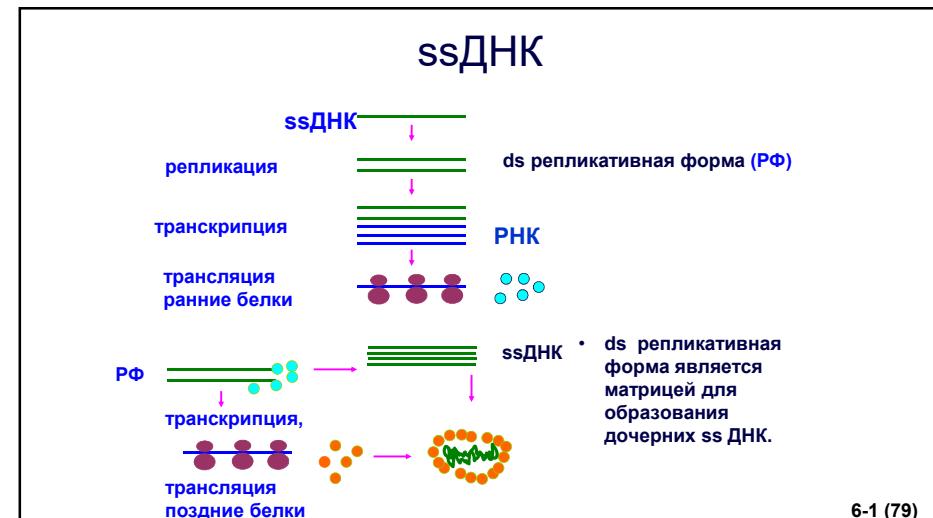
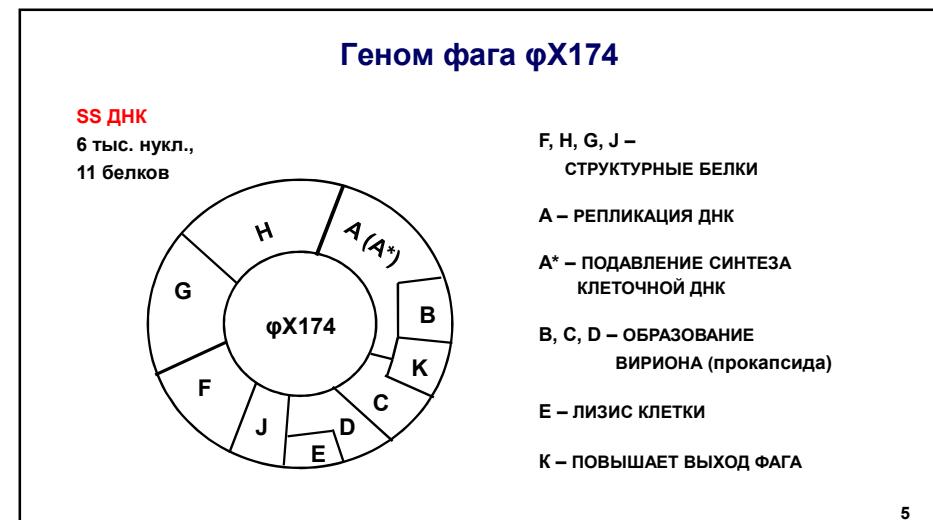
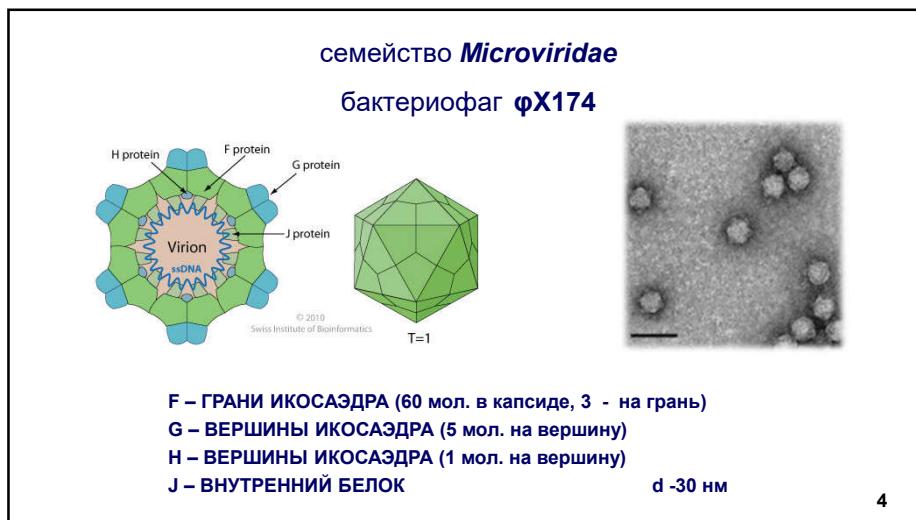
Не лизируют
бактериальную клетку

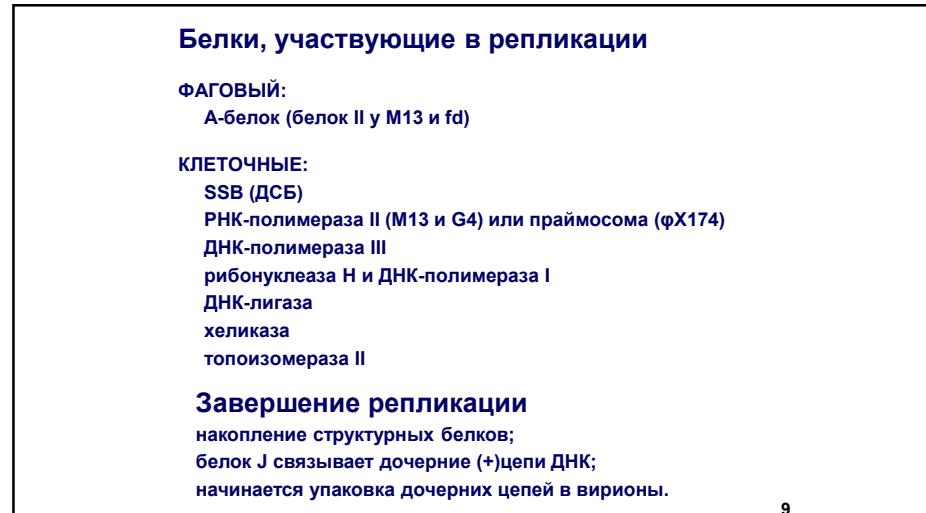
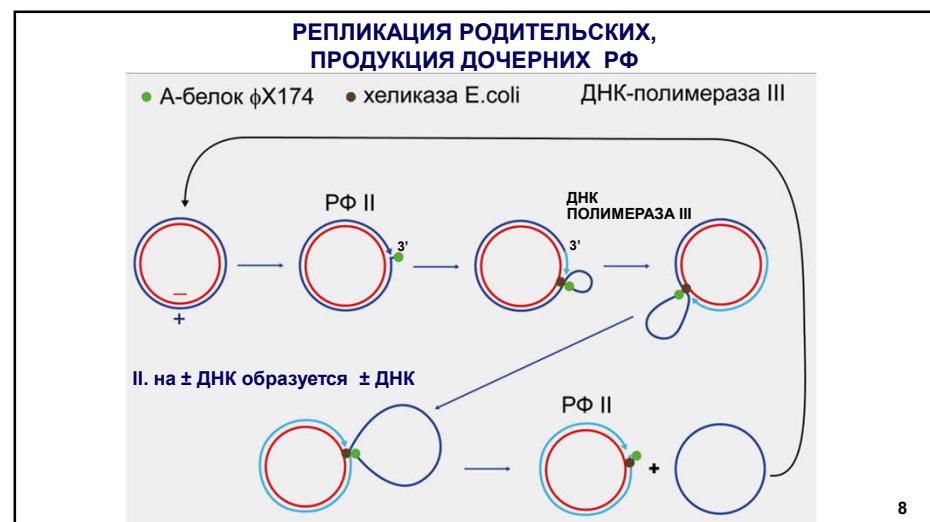
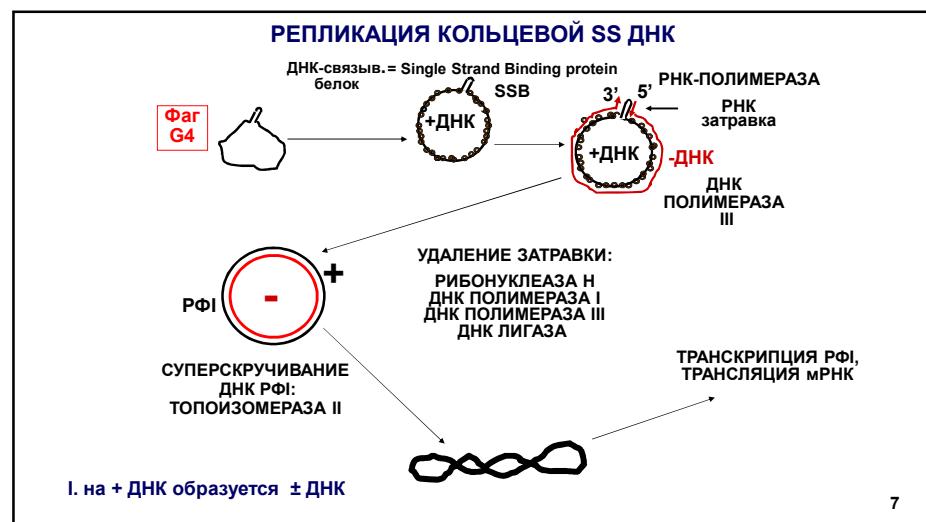


Группа II

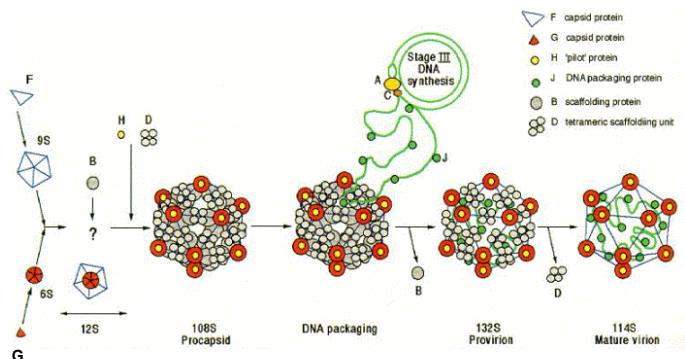
3

1



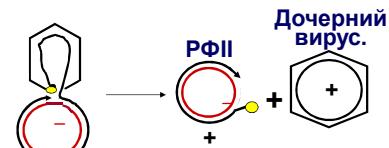


Сборка вириона фХ174



11

Сборка вириона фХ174



III. на - ДНК образуется + ДНК

Этапы репликации фага

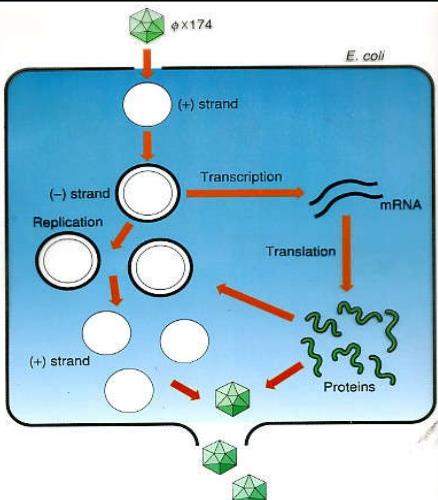
I. на + ДНК образуется ± ДНК

II. на ± ДНК образуется ± ДНК

III. на - ДНК образуется + ДНК

12

ЦИКЛ РЕПЛИКАЦИИ фХ174



13

Бактериофаги, содержащие двунитевую (ds) ДНК

13

Порядок Caudovirales

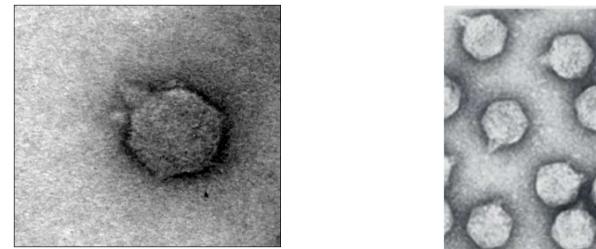
- Сем. *Podoviridae* (от греч. "podus", нога).
T7, T3- подобные бактериофаги;
N4- подобные бактериофаги и др.
- Сем. *Myoviridae* (от греч."myos", мышца-аналогия с сокращающимся хвостовым отростком фага).
T4-подобные бактериофаги и др.
- Сем. *Siphoviridae*
бактериофаг λ

Группа I

cauda (лат.) - «хвост»

13a

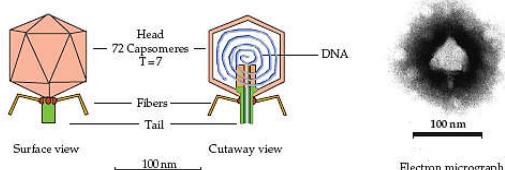
Сем. *Podoviridae*



Электронные микрофотографии бактериофага T7

14

БАКТЕРИОФАГ Т7



вирион T7: - икосаэдрическая головка Ø 50 нм,

- полый отросток 15 нм
(не способный к сокращению)
- фибрillы

геном T7: - двунитевая линейная ДНК (~40 тыс. нукл. пар)

- прямые концевые повторы 160 пар нукл.

проникновение в клетку – по внутреннему каналу отростка

15

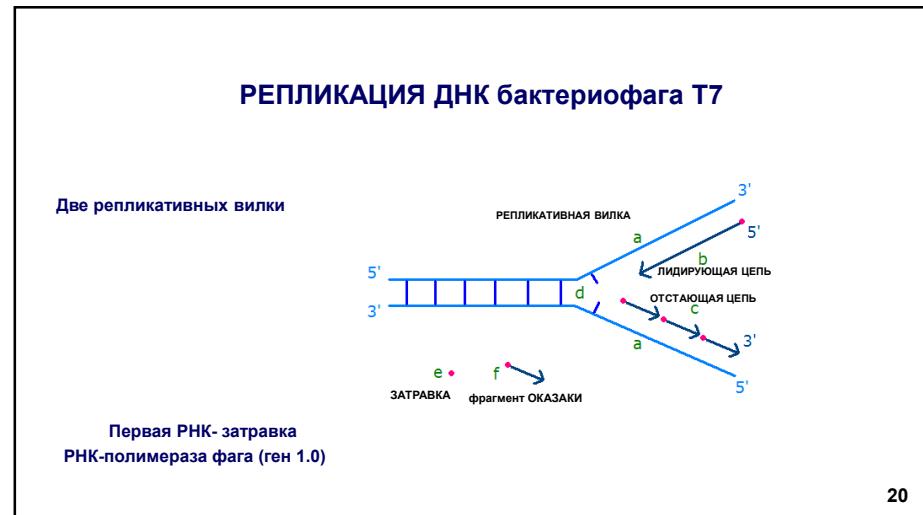
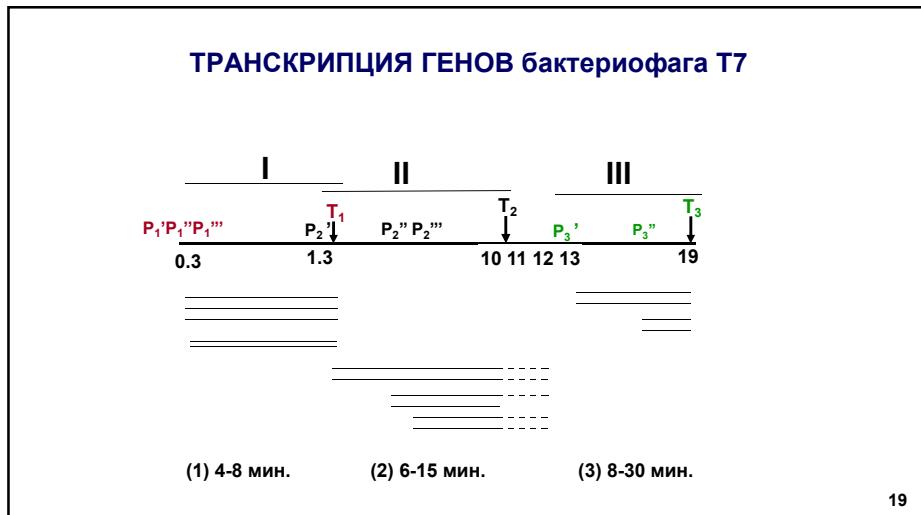
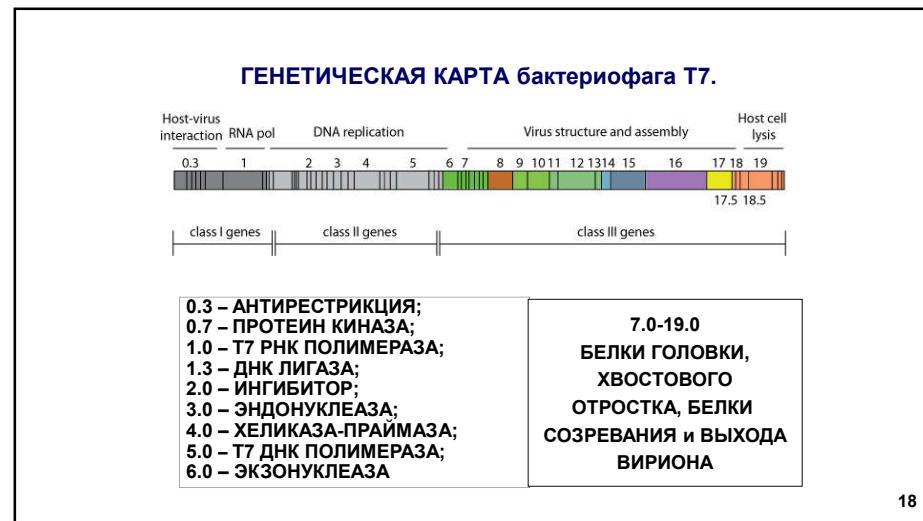
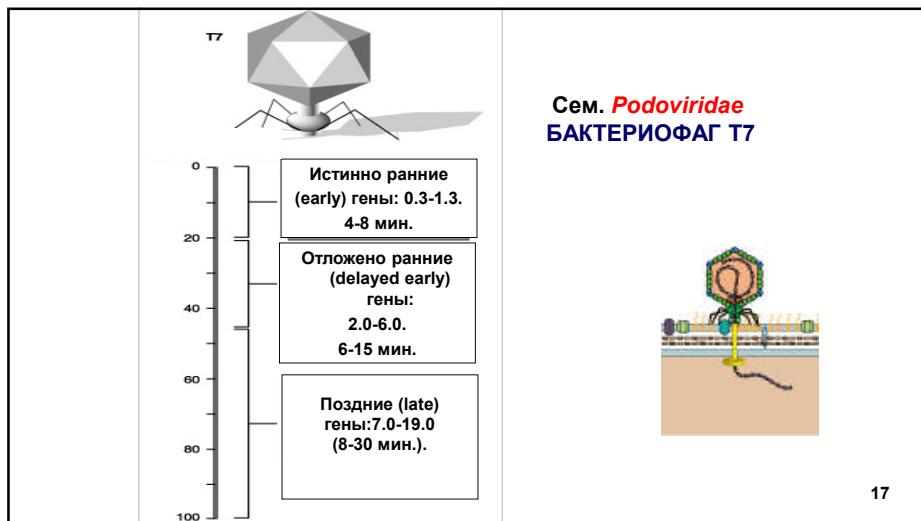
Модификация и рестрикция ДНК

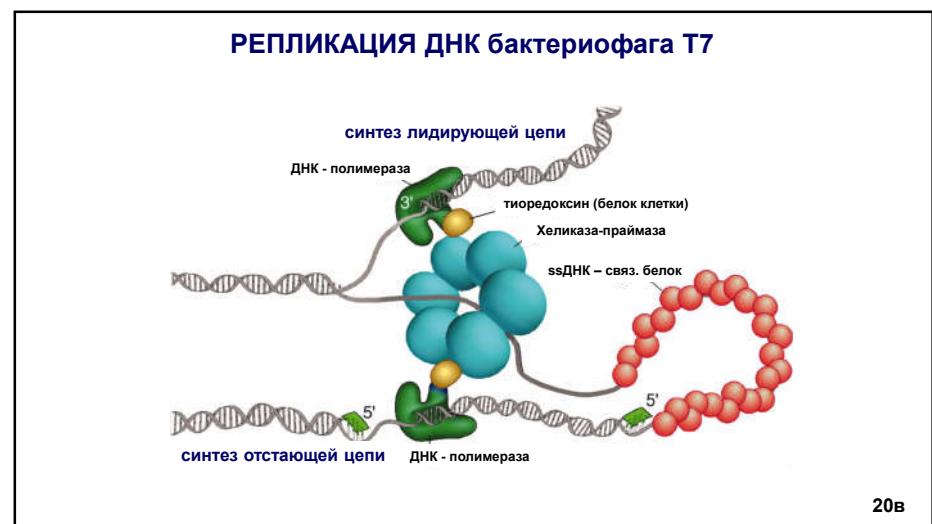
- фаговая ДНК в клетке может быть разрушена нуклеазами
- геномы бактерий кодируют набор эндонуклеаз и соответствующих им метилаз

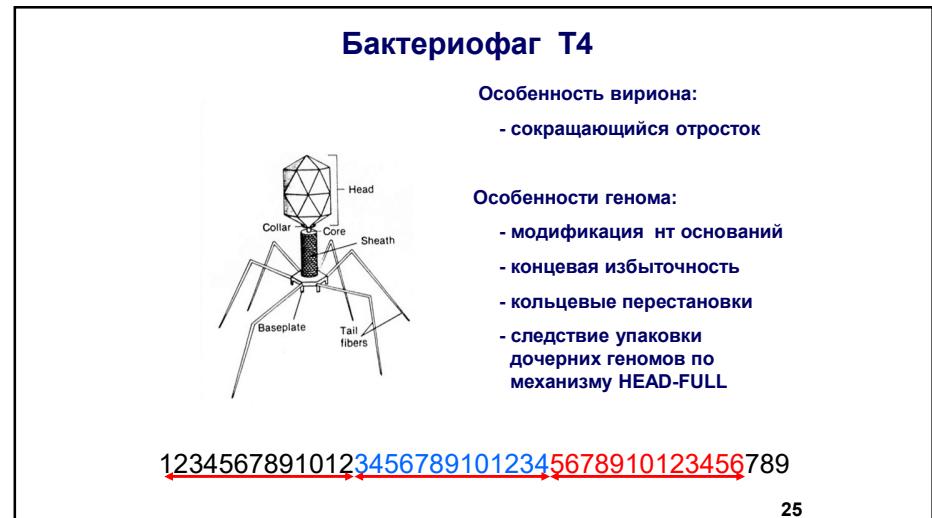
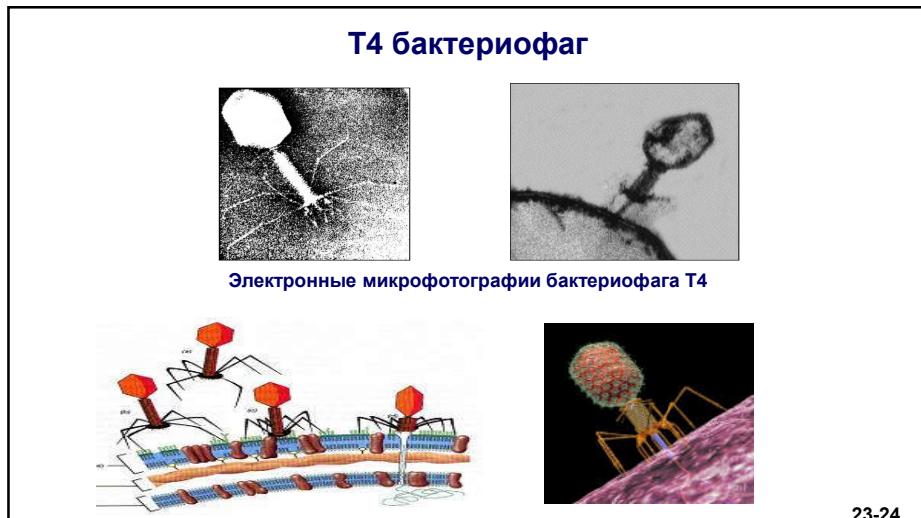
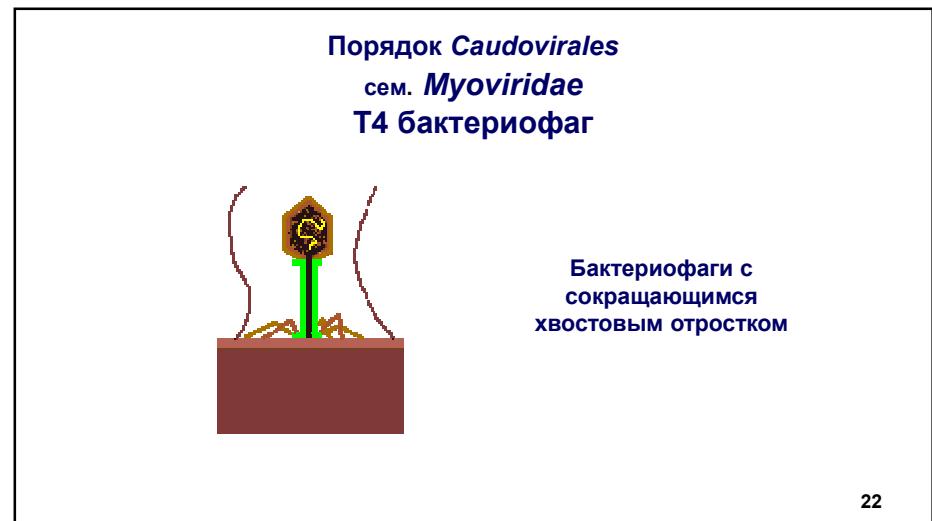
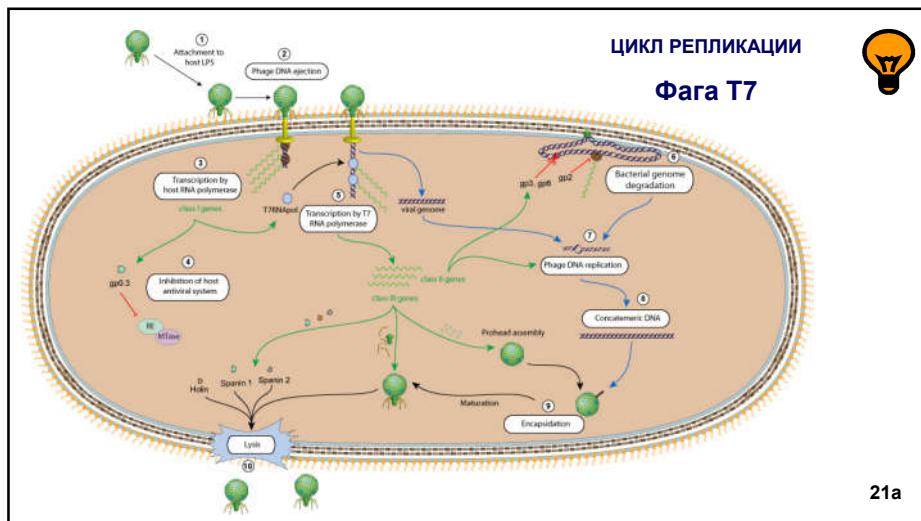


- существует >400 рестриктаз, узнают >100 сайтов
- основа для генетической инженерии

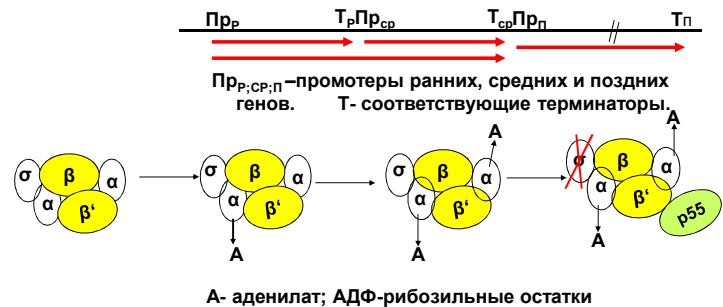
16





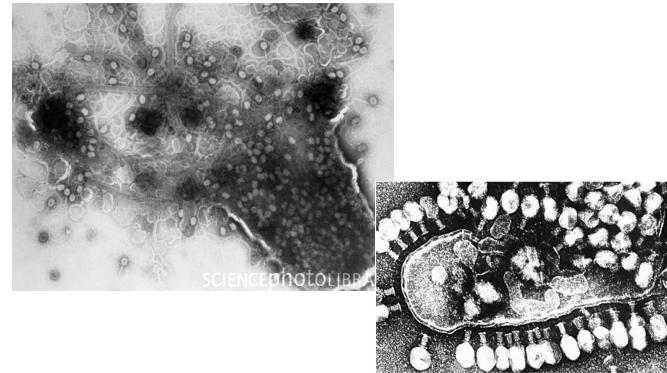


**СХЕМА ТРАНСКРИПЦИИ ГЕНОВ
И МОДИФИКАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ РНК ПОЛИМЕРАЗЫ
ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ФАГОМ Т4**



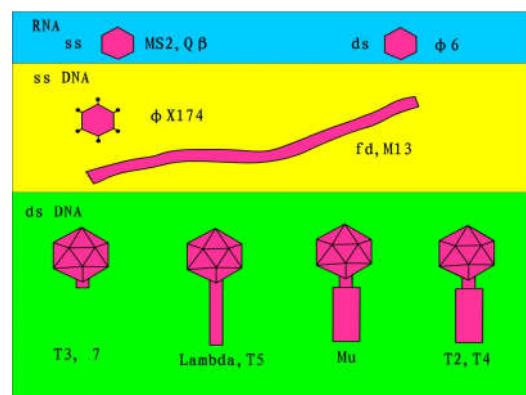
26

Лизис клетки *E. coli* бактериофагом Т4



27

Схематическое изображение основных видов вирусов, заражающих бактерии - бактериофагов



28

Вирусология

Лекция № 10

Курс лекций для студентов IV курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
2019

Субвирусные инфекционные агенты

ВИРОИДЫ, САТЕЛЛИТЫ

(вирусы-сателлиты, сателлитные нуклеиновые
кислоты)
ПРИОНЫ.

Группа VIII

25

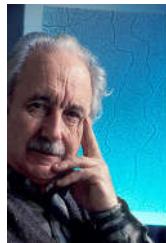
Вироиды



ssРНК



240-400 нт

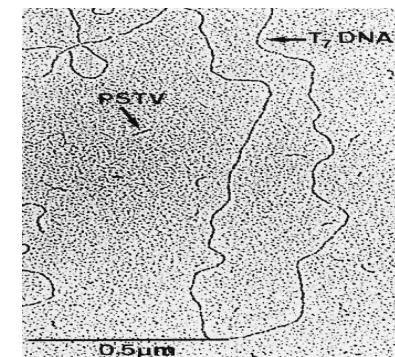


Dr. Th. Diener;

- Первый вироид открыт в 1971 г.
- Не кодируют белки
- Заражают высшие растения
- Не нужен вирус помощник
- Реплицируется в ядре (хлоропластах)
- кл.ДНК-зависимая РНК полимераза

26

Электронная микрофотография смеси
очищенных препаратов РНК Potato spindle
tuber viroid (PSTVd) ДНК бактериофага T7



27

Вириоиды

Вириоид веретеновидности клубней картофеля

Potato spindle tuber viroid
(PSTVd)



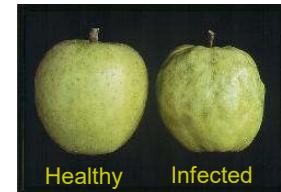
PSTVd клубни картофеля



PSTVd томаты

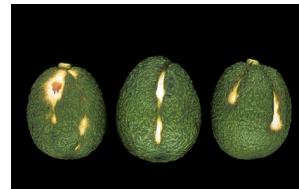
28

Вириоиды



Healthy Infected

Apple crinkle fruit viroid



Avocado sun blotch viroid



Citrus exocortis viroid

29

Вириоиды

Вириоид хлоротической пятнистости (крапчатости) хризантем

Chrysanthemum chlorotic mottle viroid (CChMVd)



30

Вириоиды

Вириоид задержки роста хмеля (HSVd)
Вириоид каданг-каданг кокосовых пальм (CCCVd)



Plum Dapple by HSVd



Hop stunt viroid (HSVd)



Coconut cadang-cadang viroid (CCCVd)

31

**Семейство Pospiviroidae -28 вириодов
(вириод веретеновидности клубней картофеля
potato spindle tuber viroid)**

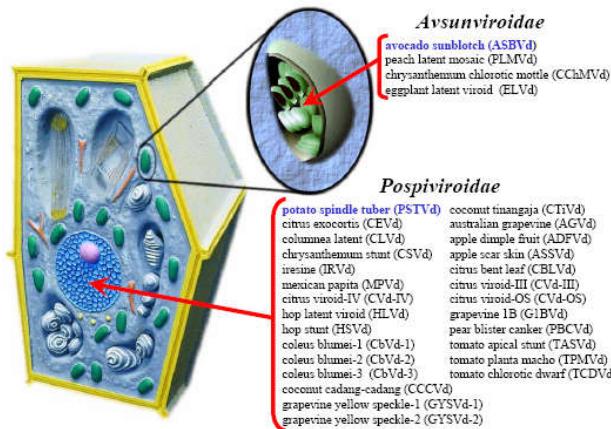
**Семейство Avsunviroidae - 4 вириода
(вириод солнечной пятнистости авокадо
avocado sunblotch viroid)**

CLASSIFICATION OF VIROID	Family	Genus	Example
	Pospiviroidae	Pospiviroid	<u>Potato spindle tuber viroid</u>
	Hostuviroid		<u>Hop stunt viroid</u>
	Cocadviroid		<u>Coconut cadang-cadang viroid</u>
	Apscaviroid		<u>Apple scar skin viroid</u>
	Coleviroid		<u>Coleus blumei viroid 1</u>

Avsunviroidae	Avsunviroid	Avocado sunblotch viroid
	Pelamoviroid	<u>Peach latent mosaic viroid</u>
	Elaviroid	<u>Eggplant latent viroid</u>

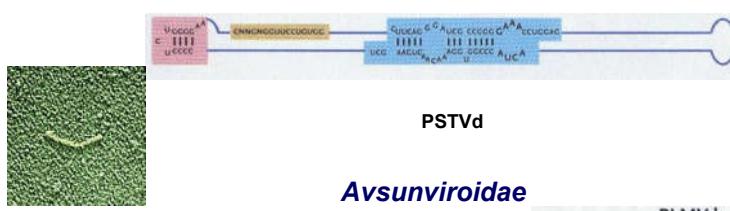
32

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ВИРОИДОВ В КЛЕТКЕ



33

Pospiviroidae

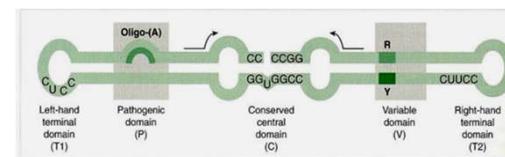


Avsunviroidae



34

Вириод веретеновидности клубней картофеля Potato spindle tuber viroid (PSTVd)



«C» - центральный консервативный домен- 95 нт.

Большинство мутаций летально.

«P» - изменения приводят к изменению симптомов.

«V»- менее 50% гомологии между доменами близкородственных вириодов

«T» - терминальные слабоконсервативные домены, образуют выпячивания, играют роль в транспорте.

35

РНК вироидов не кодирует белки

- Не обнаружено никаких вироид-специфичных полипептидов в зараженных тканях.
- Большинство вироидных РНК не содержат ни одного инициаторного AUG-кодона.
- Не обнаружена трансляционная активность различных вироидных РНК *in vitro*
- НО: вироидные РНК способны к репликации, которая осуществляется ферментами клетки-хозяина (клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза II).

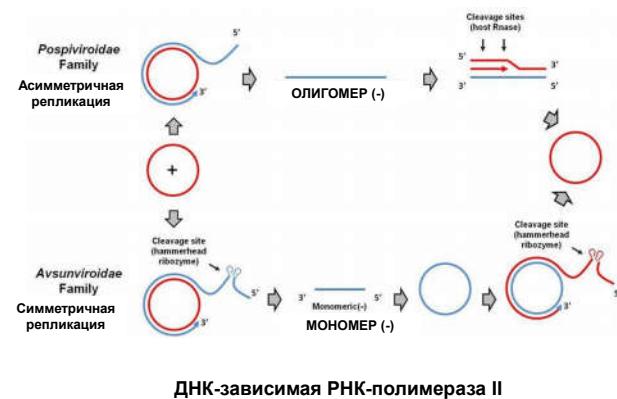
36

РЕПЛИКАЦИЯ ВИРОИДОВ

- ДНК-зависимая РНК-полимераза II
- Инициация репликации вироидной РНК сайт-специфична.
- Репликация вироидной РНК осуществляется по механизму «разматывающегося рулона».
- Термином «плюс»-цепь принято обозначать исходную вироидную РНК; соответственно, комплементарную ей РНК называют «минус»-цепью.

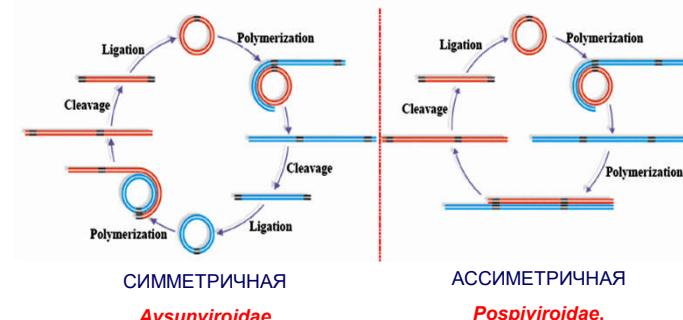
37

РЕПЛИКАЦИЯ ВИРОИДОВ



38

Сравнение асимметричной и симметричной схем репликации вироидов



39

Распространение виридов

- близкий транспорт – через плазмодесмы
- дальний транспорт – по флоэме
- транспорт – активный процесс
- от растения к растению :
 - вегетативным путем;
 - при механических повреждениях;
 - пыльца, семена

40-43

Происхождение виридов.

- Остатки древнего РНК-мира.
- «Одичавшие» интроны.
- Латентное состояние в природных хозяевах.

44-45

Причина патогенности виридов

- Негативное влияние на процесс сплайсинга.
- Нарушение синтеза рибосомной РНК.
- Изменение структуры хроматина.
- Нарушение котрансляционного транспорта белков.

46

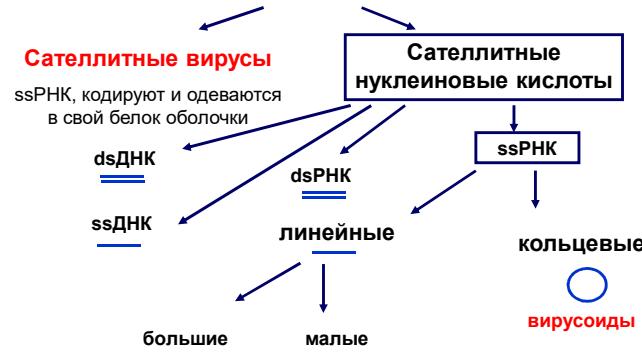
Сателлиты

- Субвирусные агенты, неспособные заражать хозяйственные клетки без вируса-помощника.
- Реплицируются на матрице собственной нуклеиновой кислоты.
- Зависят от размножения вируса-помощника.
- Способы инкапсидации нуклеиновой кислоты сателлита:
 - в белок оболочки вируса-помощника вместе с вирусным геномом;
 - в свой собственный белок (вирусы-сателлиты)
 - вирус гепатита Д

1-2

Сателлиты-

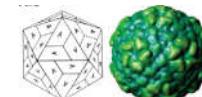
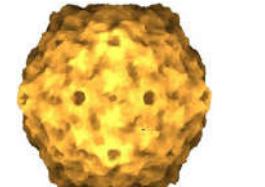
субвирусные агенты, неспособные заражать хозяйственные клетки без вируса – помощника.



3

Сателлитные вирусы

Вирус некроза табака (ВНТ) и
Вирус-сателлит некроза табака (ВСНТ)



ВСНТ, d 17 нм; +РНК 1239 нт
Белок оболочки – 21 кД

ВНТ, Сем.Tombusviridae
d 30 нм
+РНК 3762 нт
Белок оболочки – 30 кД

РНК ВСНТ обладает выраженной
вторичной структурой;
Репликация с помощью репликазы
вируса помощника;

Сателлит вируса табачной мозаики

Сателлит вируса мозаики маиса

4

Одноцепочечные линейные сателлитные РНК (большие)

- ss(+) РНК 700-1500 нт,
- кодируют белки (неструктурные)
- ассоциированы с непо- и потексвирусами.
- как правило ослабляют симптомы вируса-хозяина

Сателлитная РНК черной кольцевой пятнистости томатов.
РНК 1498 нт, кодирует белок - 48 кД (репликация).
Структурное сходство концевых нетранслируемых участков
РНК сателлита и вируса-помощника .

Сателлитная РНК вируса желтой пятнистости цикория

Сателлитная РНК вируса мозаики бамбука

Сателлитная РНК латентного вируса болгарского винограда

5

Одноцепочечные линейные сателлитные РНК (малые)

- ss РНК менее 700 нт,
- не кодируют белки
- ассоциированы с кукумо-, томбус- и кармовирусами.
- как правило, ослабляют симптомы вируса-хозяина

Сателлитная РНК вируса мозаики огурца, 330-390 нт,
компллементарна 5'-нетранслируемой лидерной
последовательности геномных РНК 1 и 2 вируса
помощника.

Сателлитная РНК вируса морщинистости турнепса

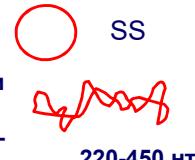
Сателлитная РНК вируса задержки роста арахиса

Сателлитная РНК вируса задержки роста томатов.

6

Одноцепочные кольцевые сателлитные РНК (Вирусоиды)

- Не могут реплицироваться без вируса-помощника
- Обладают выраженной вторичной структурой и рибозимной активностью
- Одеваются в белок вируса-помощника (собемо- и неповирусы)
- Реплицируются в цитоплазме с помощью РНК-зависимой-РНК-полимеразы вируса-помощника (по механизму разматывающегося рулона)



вирусоид желтой карликовости ячменя
вирусоид кратковременной штриховатости люцерны
вирусоид бархатистой крапчатости табака

7

Все сателлиты обладают рядом общих свойств:



- Генетический материал представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты (200-2000 нт).
- Нуклеиновая кислота сателлита не является частью генома вируса-помощника, не гомологична ему.
- Вирусы-сателлиты и сателлитные нуклеиновые кислоты не могут автономно реплицироваться и поэтому сами по себе неинфекционны.
- Сателлитная РНК высокоструктурирована, что повышает ее устойчивость к рибонуклеазам и обеспечивает выживание в отсутствие вируса-помощника.

8

	Вироиды	Сателлитные вирусы	Сателлитные РНК	Вирусоиды
вирус-помощник	нет	да	да	да
собственные белки	нет	да	малые- нет большие- да	нет
место репликации	ядро, протопласти	в зависимости от вируса-помощника	цитоплазма	цитоплазма

9

Вирус гепатита дельта

- (-) О ssРНК 1700 нт
- Необходим вирус помощник – вирус гепатита В
- Оболочка – продукты, кодируемые геномом вируса гепатита В - **HBSAg**
- РНК кодирует белок –антитело вируса гепатита дельта **HDAg** (hepatitis delta antigen) – 27 kD.



•Реплицируется в ядре с помощью клеточной ДНК-зависимой-РНК-полимеразы
•d=22нм

10-14

Прионы

Prions- Proteinaceous Infectious Particles
PrP^C vs. PrP^{SC}

вызывают

Губчатые (спонгиформные) энцефалопатии

Transmissible Spongiform Encephalopathy

TSE

15

Губчатые (спонгиформные) энцефалопатии ЧЕЛОВЕКА

Куру –aborигены Новой Гвинеи

Болезнь Крейтцфельдта-Якоба (CJD)
 (vCJD) – атипичная форма;

Болезнь Герстмана-Штрауслера-Шенкера
 (GSS)

Фатальная семейная инсомния (FFI)

16

Губчатые (спонгиформные) энцефалопатии (TSE) ЖИВОТНЫХ

Скрейпи (scrapie) – овцы

Коровье бешенство (BSE-bovine spongiforme enzephalopathie) - крупный рогатый скот

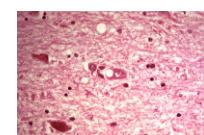
Хроническая истощающая болезнь – лоси, олени

Механизм действия прионов на клеточном уровне
 – вакуолизация и гибель нейронов

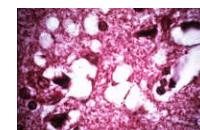
17

Губчатые (губкообразные) энцефалопатии

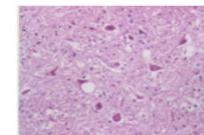
Болезнь Крейтцфельдта-Якоба
 (человек)



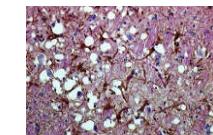
Куру (человек)



Коровье бешенство



Скрейпи (овцы)



19-20

Прионы

(история вопроса)

1732г:

описано заболевание овец **Скрейпи (scrapie)**

Середина 1950-х гг:

D. Gajdusek описал редкое заболевание человека – **Куру –«смеющаяся смерть»** у жителей Новой Гвинеи

1963:

D. Gajdusek (Нобелевская премия 1976 г)- куру удалось заразить шимпанзе, причем первые признаки заболевания проявились только через два года .

21-22

• Гипотеза «инфекционное начало – белок»

(1982)

• Выделен белок **PrP^{Sc}**

• Прион – **proteinaceous infectious particle**

• В 1985 г. открыт ген **PRNP**

(обнаружен у всех млекопитающих)

• Определена аминокислотная последовательность **PrP^C**.

Нобелевская премия 1997 «за открытие прионов –нового биологического типа инфекций»



Stanley Prusiner

24

- Инфекционный белок **PrP^{Sc}** возникает путем модификации пространственной структуры из обычного клеточного белка **PrP^C** (автокаталитический процесс)

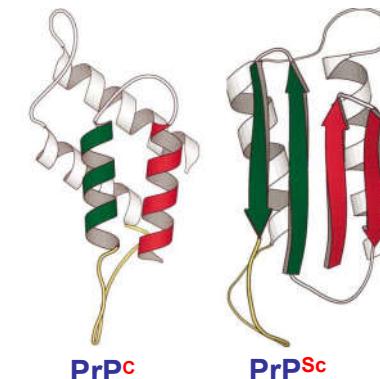
- PrP^{Sc}** высокомолекулярные агрегаты, устойчивые к протеазам
- PrP^C** растворимый белок
- Имеют одинаковую аминокислотную последовательность (254 ак), но различаются по вторичной и третичной структуре

Сиалогликоопротеин (гликозилфосфатидил инозитол (GPI)-связанный гликопротеид), 33-35 kD, 254 ак

Функция в клетке – стабилизация миелиновой оболочки нервных волокон

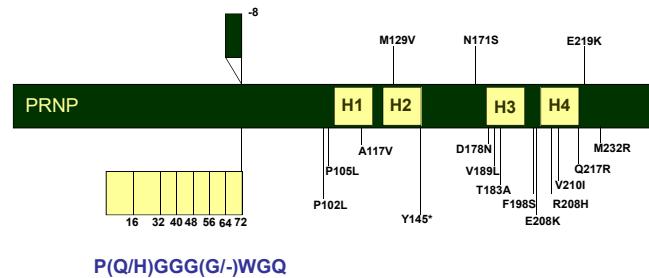
25

Изменение характера укладки полипептидной цепи при превращении белка **PrP^C** в прион **PrP^{Sc}**



26

Схематическое изображение гена PRNP человека



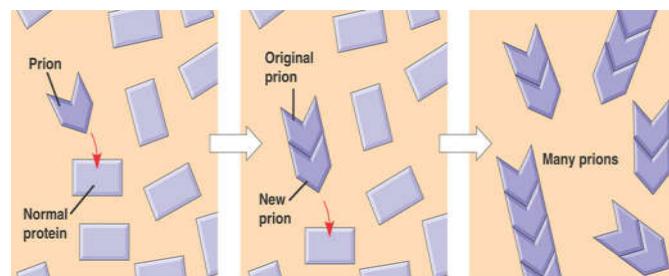
Сверху - известные варианты нормального полиморфизма белка **PrP^c**. Внизу - мутационные замены, приводящие к нейродегенеративным заболеваниям .

27

Превращение нормального белка **PrP^c** в патогенный, судя по всему, происходит путем белок-белковых взаимодействий, при этом не имеет значения, попадает **PrP^{Sc}** в организм извне или возникает в нем спонтанно (в случае спонтанных и наследственных прионных болезней)

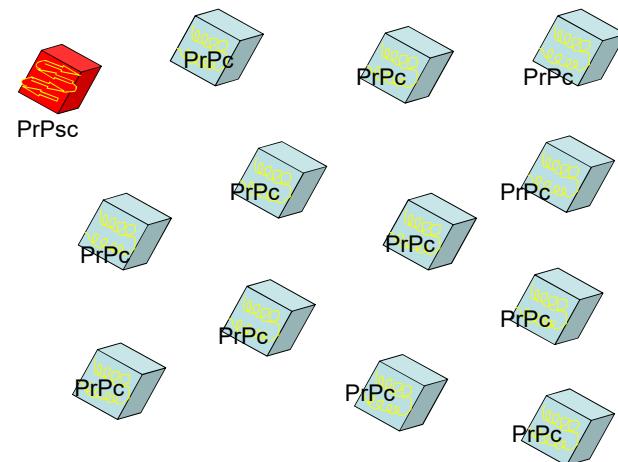
Механизм копирования конформации

30

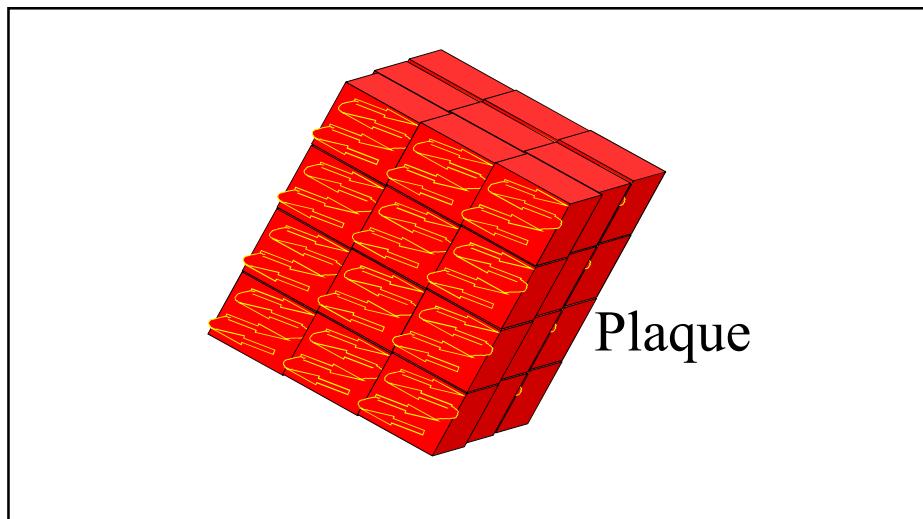
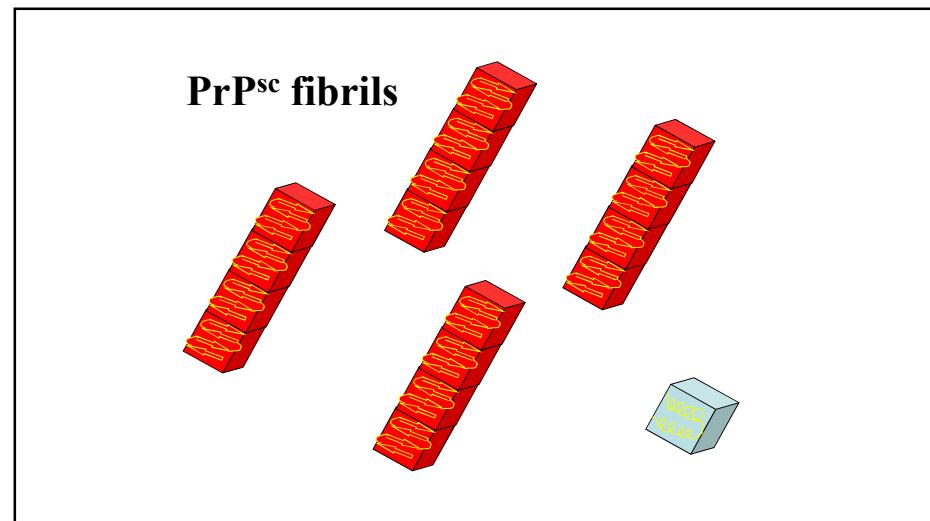
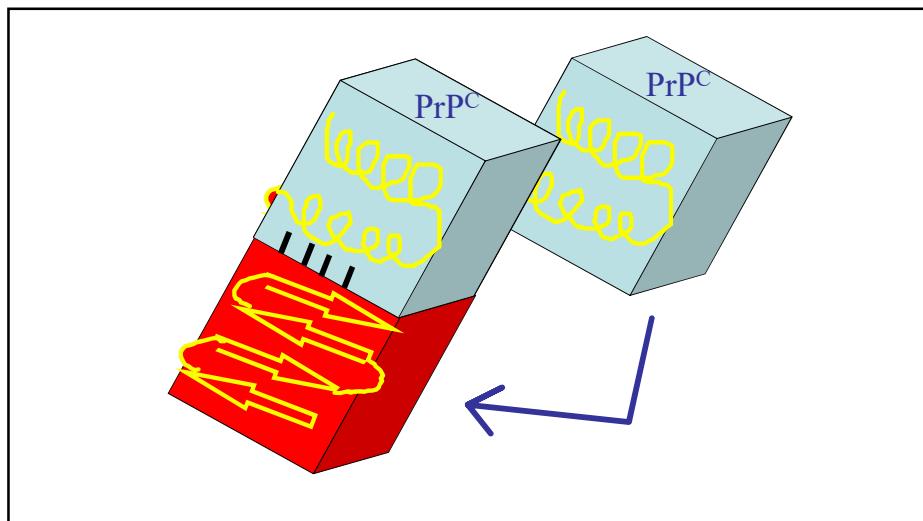


Спонтанно возникший или привнесенный в клетку прион **PrP^{Sc}** превращает все вновь синтезируемые полипептиды с идентичной или очень близкой ему первичной структурой в свое подобие в клетке. Достаточно образования одного такого комплекса, чтобы все оставшиеся в мемbrane молекулы превратить в патогенные.

31



32



Прионные заболевания человека могут быть:

Наследственными
(Болезнь Крейтцфельдта-Якоба (CJD), Фатальная семейная инсомия (FFI), Синдром Герстмана-Штрауслера-Шэнкера-GSS)

Инфекционными
(CJD, Куру, Скрейпи, Коровье бешенство (BSE) и др.)

Спорадическими
(BSE, CJD ?)

36-40

Прионы грибов

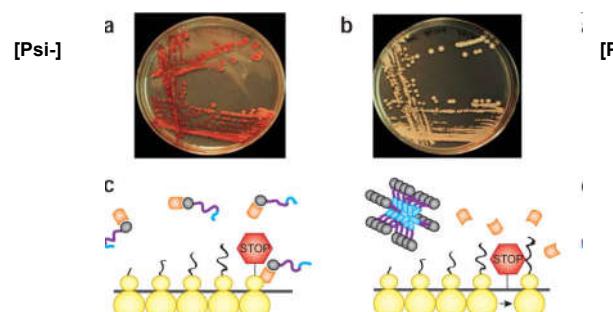
- 1994- Wickner R.B. использовал концепцию прионов для объяснения природы двух цитоплазматических наследуемых детерминант дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [URE3] и [PSI⁺]
- «белки, проявляющие свойства генов» - способны хранить и передавать конформационную информацию

44

Прионы грибов

- Подобно прионам млекопитающих прионы грибов представляют собой конформационные варианты обычных клеточных белков.
- При прионизации белка клетка или организм становятся дефектными по функции белка-предшественника приона.
- Клеточные белки могут спонтанно претерпевать конформационные перестройки, после чего они приобретают ряд новых свойств, прежде всего способность к агрегации (амилоиды)
- В отличие от прионов млекопитающих, прионы дрожжей не приводят к гибели клеток. Они могут повышать их выживаемость в неблагоприятных условиях.

45



Растворимые формы Sup 35 - регуляция терминации трансляции белков, влияющих на метаболизм азота. Прионные формы нефункциональны (дрожжи растут на среде без аденина).

46