

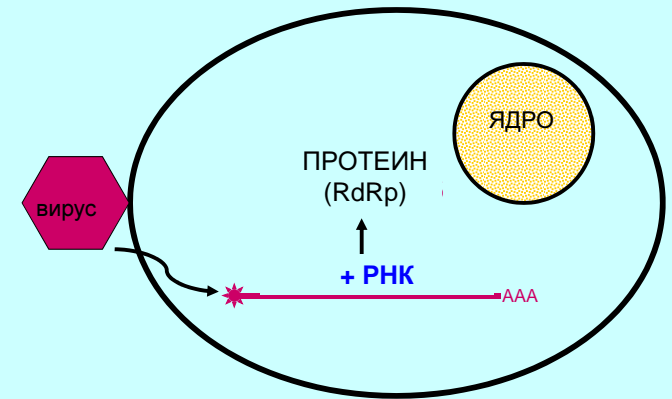
ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция № 4

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

Лекции для студентов III курса
Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

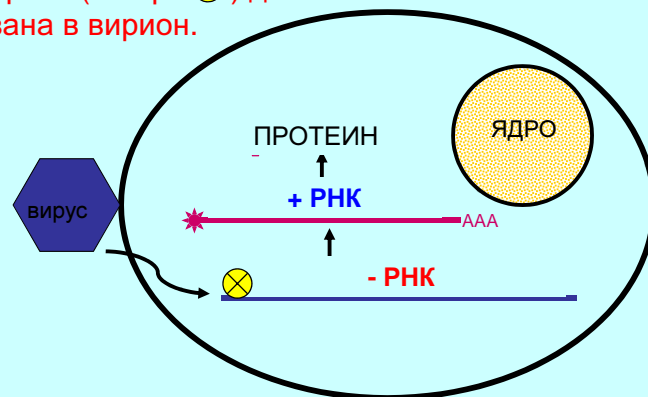
Геномная РНК с положительной полярностью (+ РНК)



2

Геномная РНК с отрицательной полярностью (-) РНК

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



3

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

РНК - геном с отрицательной полярностью:
геномная РНК не транскрибируется

Вирионная РНК транскрибируется с образованием
(+) мРНК

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

РНК не инфекционна в отсутствие RdRp

Липопротеидная оболочка

Группа V

4

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

НЕПРЕРЫВНЫЙ (-) РНК ГЕНОМ

Порядок *Mononegavirales*

RHABDOVIRIDAE - 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

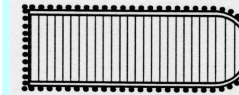
ORTHOMYXOVIRIDAE – вирус гриппа

BUNYAVIRIDAE

5

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

Беспозвоночные ssRNA (-)



Rhabdoviridae



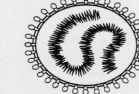
Bunyaviridae

Позвоночные

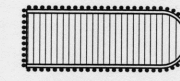
ssRNA (-)



Orthomyxoviridae



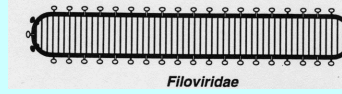
Paramyxoviridae



Rhabdoviridae
Lyssavirus
Vesiculovirus
Ephemerovirus

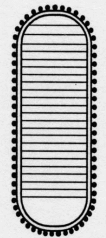


Bunyaviridae
Bunyavirus
Hantavirus
Nairovirus
Phlebovirus

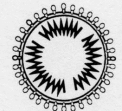


Filoviridae

Растения ssRNA (-)



Rhabdoviridae
Cytorhabdovirus
Nucleorhabdovirus



Bunyaviridae
Tospovirus

6

Mononegavirales

Геномная (-) РНК

3' ————— 5'

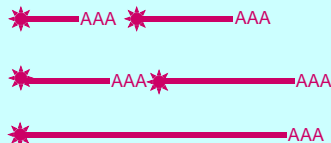
транскрипция

репликация

(необходимое условие - синтез вирусных белков)

полноразмерная копия

мРНК



* = cap

(+)РНК

5' ————— 3'

(-)РНК

3' ————— 5'

7

Семейство *RHABDOVIRIDAE*

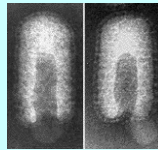
- 45-100 X 100-430 nm, бацилло- или пулеподобная форма
- билипидная мембрана содержит один вид гликопротеинов (G)
- спиральный нуклеокапсид (в раскрученном виде 20 X 700 nm)
- геномная РНК -1 сегмент, 10-14kb
- 5-10 генов кодируют 5-10 белков
- в семейство входит более 200 видов
- заражают позвоночных, беспозвоночных и растения
- распространяются среди растений и позвоночных с помощью векторов – насекомых, в организме которых способны размножаться.

Rabdos – стержень

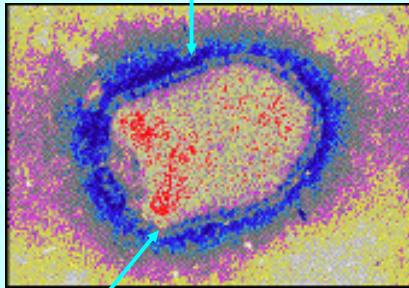
8

RHABDOVIRIDAE

Вирус бешенства



G гликопротеин



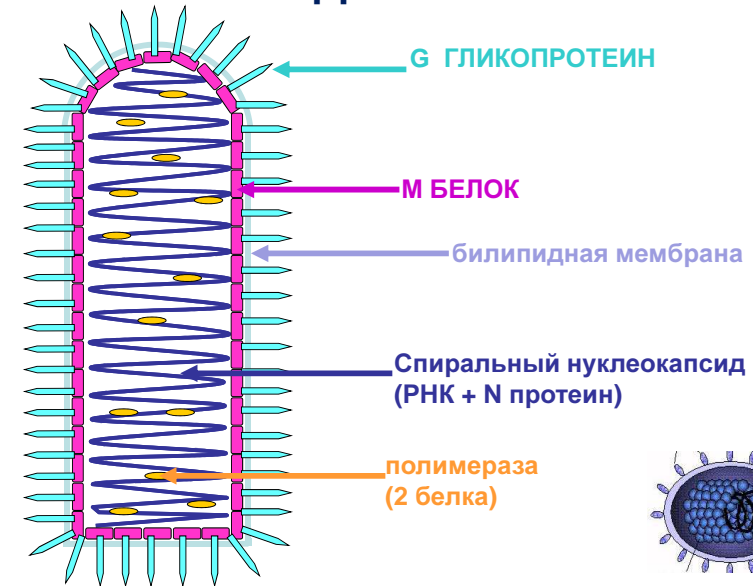
белок M
(матриксный)

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

ss(-) РНК; спиральный нуклеокапсид

9

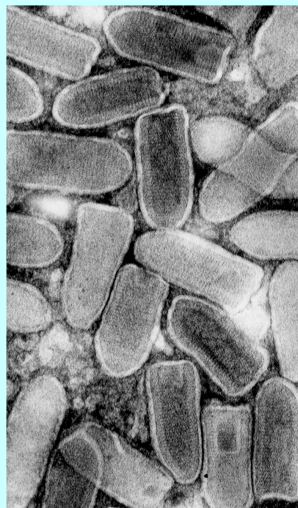
РАБДОВИРУСЫ



10

RHABDOVIRIDAE

Вирус везикулярного стоматита (ВВС)



L- 180 нм d- 70нм

Липопропротеидная оболочка

Группа V

Матриксный белок

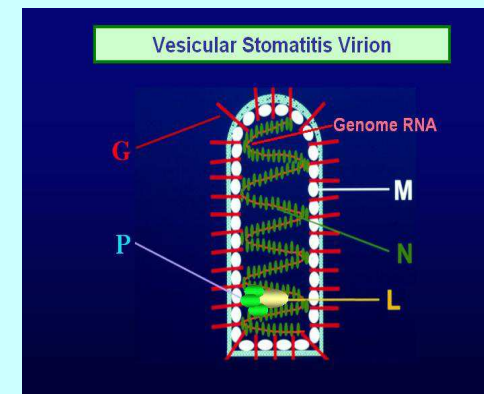
bullet-shaped – «пулевидная» форма

Репликация в цитоплазме



11

Структура вириона вируса везикулярного стоматита (ВВС)



•Гликопротеин **G** обладает гемагглютинирующей активностью, распознает рецепторы клетки

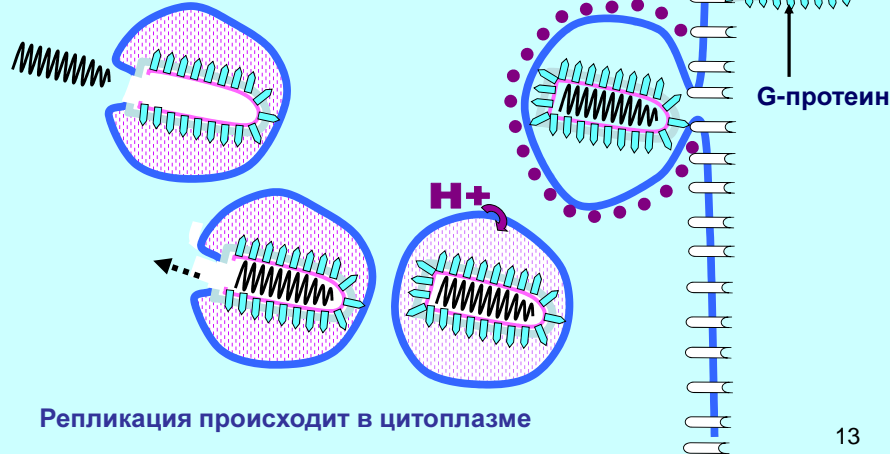
•Нуклеокапсид, уложенный в спираль, состоит из геномной РНК 15 kb, покрытой белком **N**

•В состав нуклеокапсида в качестве структурного компонента входят белки **L** и **P** (компоненты транскриптазы)

12

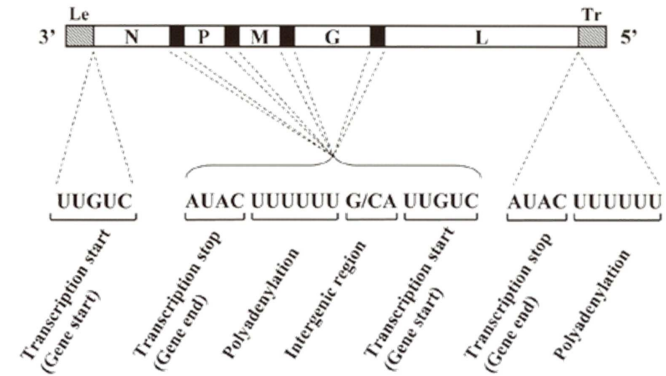
Адсорбция и проникновение в клетку

РНК остается в виде нуклеокапсида



13

Структура генома ВВС



N - нуклеопротеин, **P** - фосфопротеин, **M** - матриксный белок, **G** - гликопротеин и **L** – полимеразы.

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

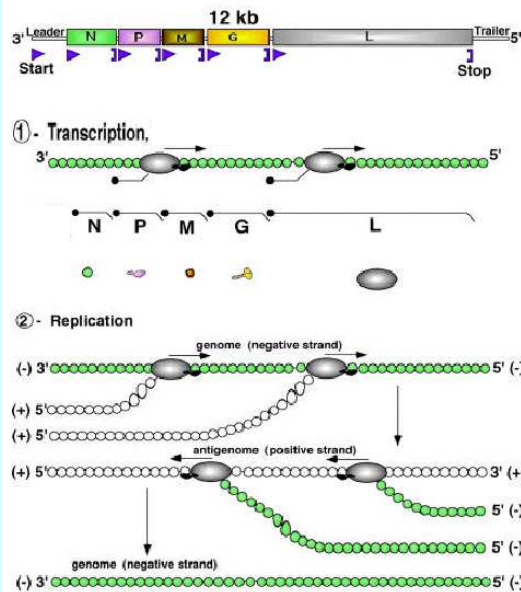
Транскрипция и репликация рабдовирусов

На примере ВВС

Гены транскрибируются последовательно, по принципу «старт - стоп»

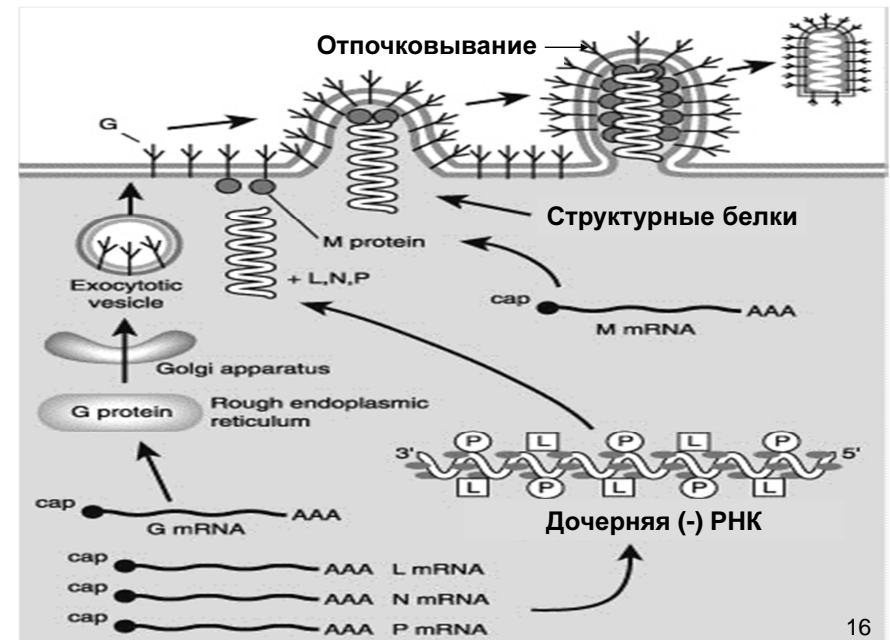
После аккумуляции N-белка и изменения уровня фосфорилирования Р-белка происходит переключение с процесса транскрипции на процесс репликации

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



15

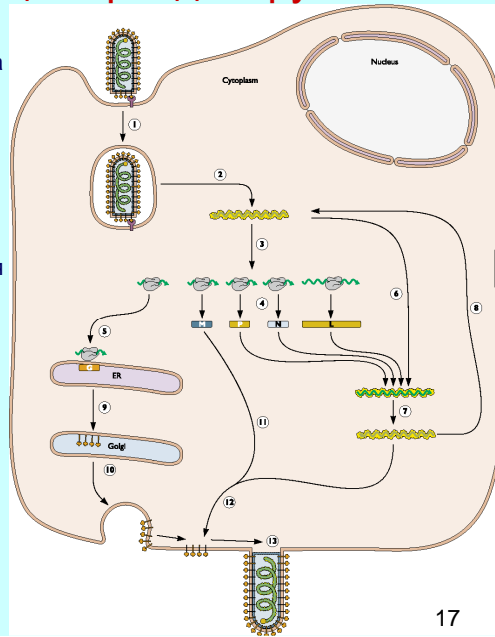
Созревание и выход вирионов ВВС из клетки.



16

Инфекционный цикл рабдовирусов

1. Связывание с рецепторами, проникновение путем эндоцитоза
- 2-3. 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 М белка
13. Частица отпочковывается, захватывая мембрану, модифицированную белком G



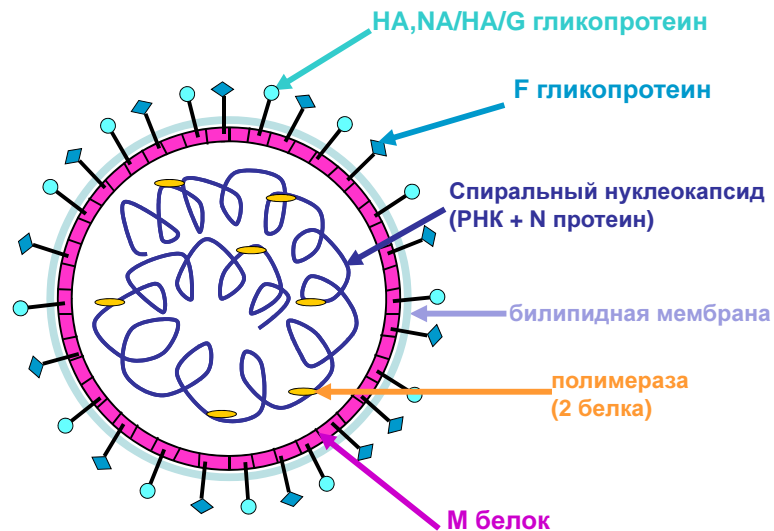
17

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 рабдовирусов
- Структура и биология – с ортомиксовирусами (вирус гриппа)

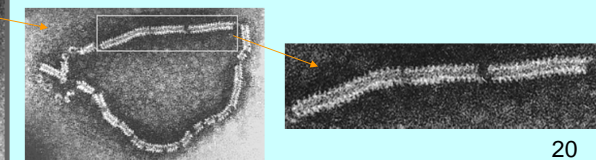
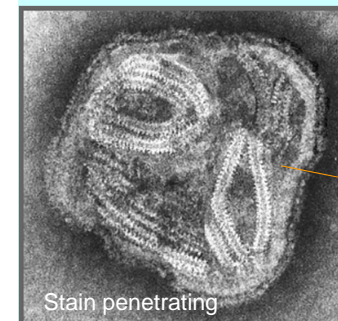
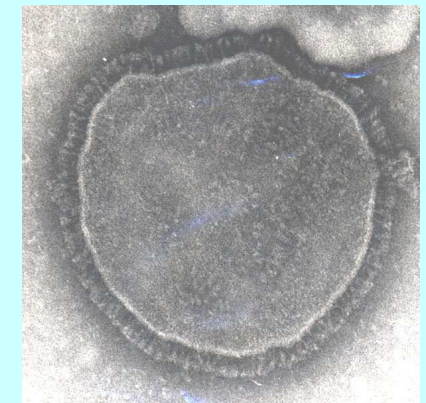
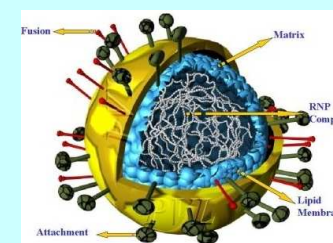
18

Парамиксовирусы



19

Вирус Кори

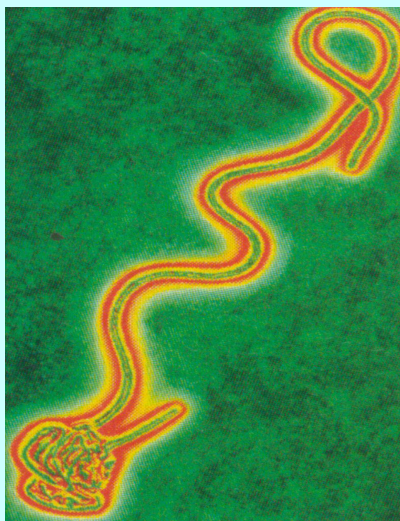


20

семейство *Filoviridae*

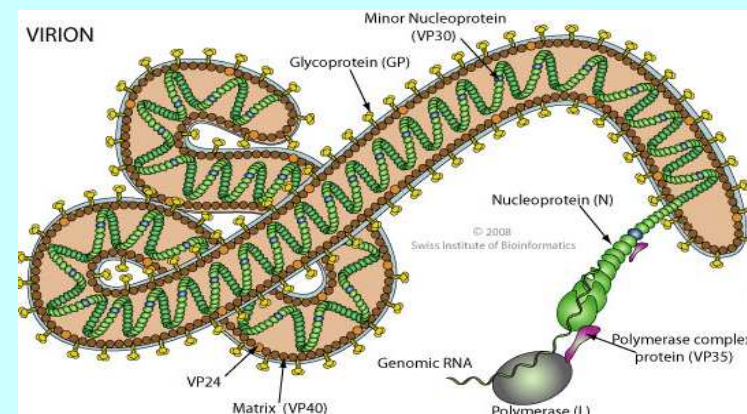
два вируса – вирус Эбола и вирус Марбурга
частицы 6-, U- подобной или нитевидной формы

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



21

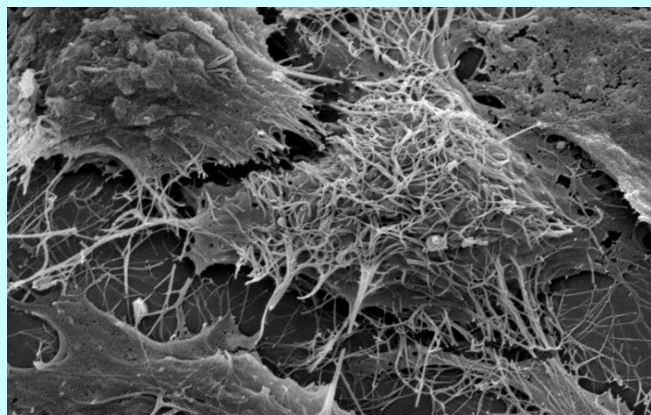
Структура вируса Эбола



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

22

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



23

(-) РНК-содержащие ВИРУСЫ

НЕПРЕРЫВНЫЙ (-) РНК ГЕНОМ

Группа V

Порядок *Mononegavirales*

RHABDOVIRIDAE вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита, вирусы растений.

FILOVIRIDAE - вирус Эбола, вирус Марбурга

PARAMYXOVIRIDAE – вирус свинки, кори, парагрипп

BORNAVIRIDAE – неврологические заболевания человека и животных – болезнь Борна

СЕГМЕНТИРОВАННЫЙ (-) РНК ГЕНОМ

ORTHOMYXOVIRIDAE – вирус гриппа

BUNYAVIRIDAE

24

(-) РНК-содержащие вирусы с сегментированным геномом

• *Orthomyxoviridae*

- Вирусы гриппа
 - Род *Influenzavirus A* – 8 геномных сегментов
 - Род *Influenzavirus B* - 8 геномных сегментов
 - Род *Influenzavirus C* - 7 геномных сегментов, нет нейраминидазы
- Вирусы, передаваемые насекомыми
 - Род *Thogotovirus* - 6 геномных сегментов
 - *Thogoto virus* – клещи
 - *Dhori virus* – клещи
 - *Batken virus* – комары
- Род *Isavirus*- 8 геномных сегментов
 - Вирус инфекционной анемии лосося

“*orthos*” - настоящий

Группа V

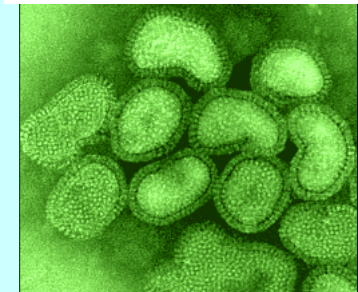
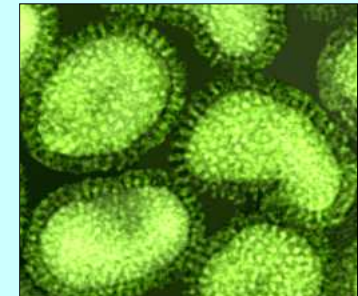
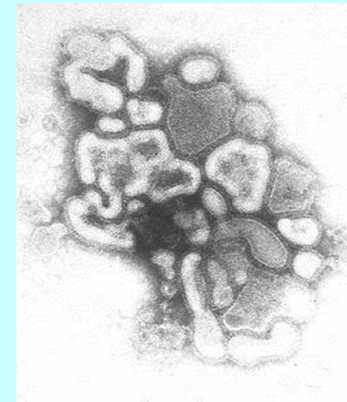
Вирус гриппа А

“*мухо*” - слизь

25

ORTHOMYXOVIRUSES

ПЛЕОМОРФНЫЕ ЧАСТИЦЫ

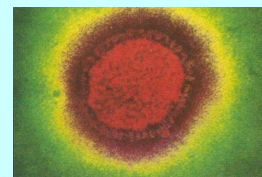
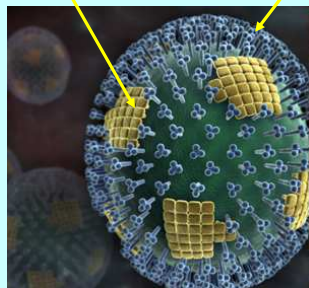


26

Вирус гриппа А

Нейраминидаза
NA

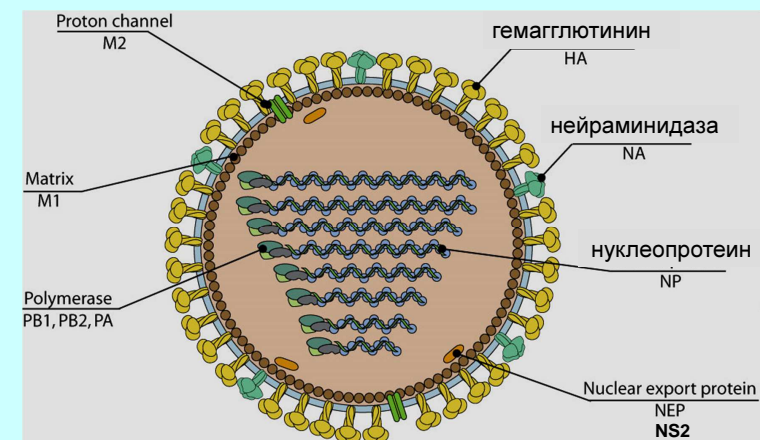
Гемагглютинин
HA



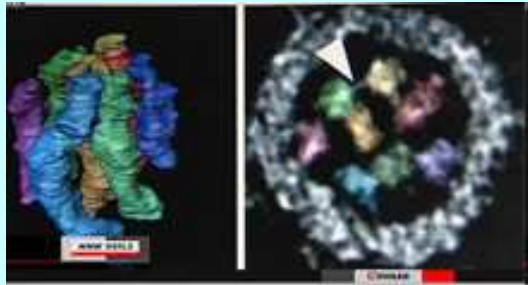
- Сем. *Orthomyxoviridae*
- Частицы плеоморфны
- Диаметр 80-120нм
- Матриксный белок
- Нуклеокапсид спиральный.
- (-)ssРНК -8 сегментов, всего 13kb
- Репликация в ядре, сборка в цитоплазме

27

Структура ортомиксовирусов. Вирус гриппа А.

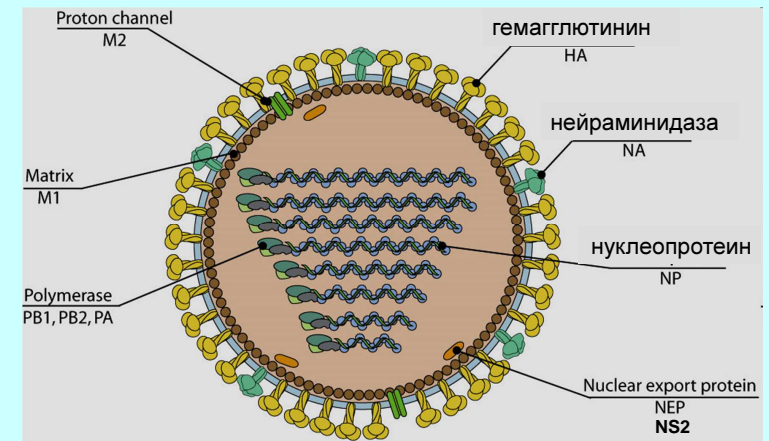


28



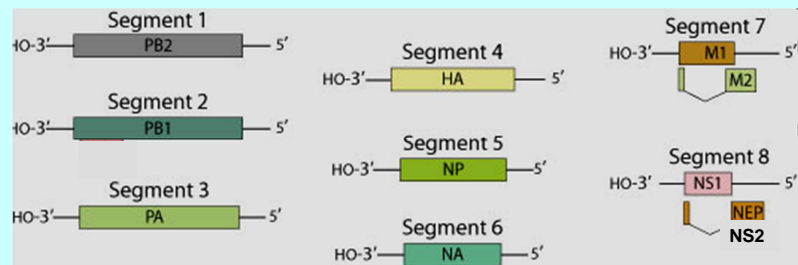
28a

Структура ортомиксовирусов. Вирус гриппа А.



28

Структура генома вируса гриппа А

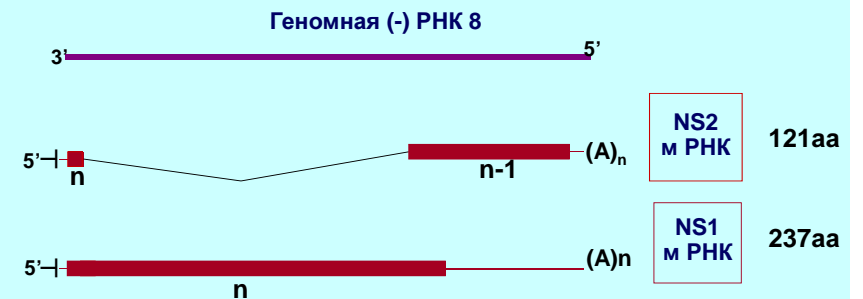


•8 вирусных РНК (от 890 до 2341 нт) обеспечивают синтез 10 вирусных белков.

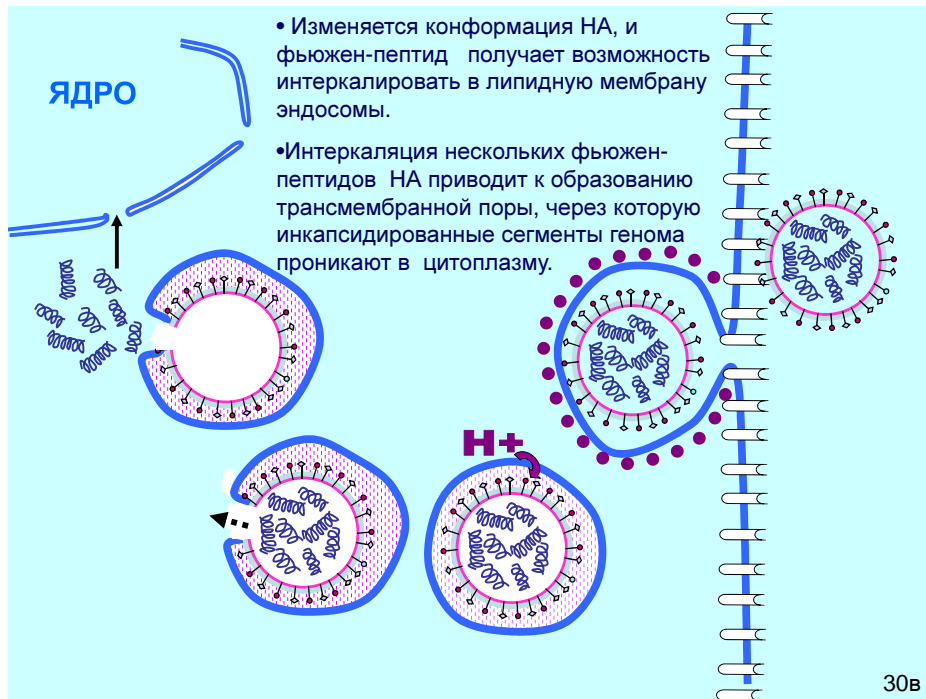
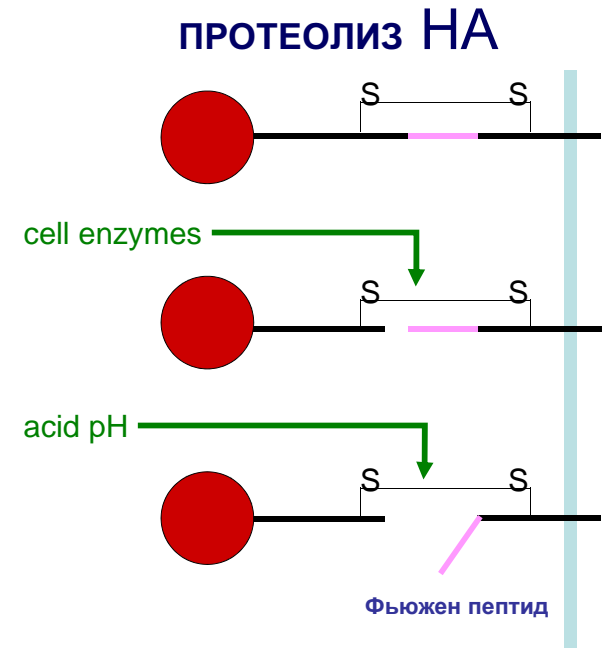
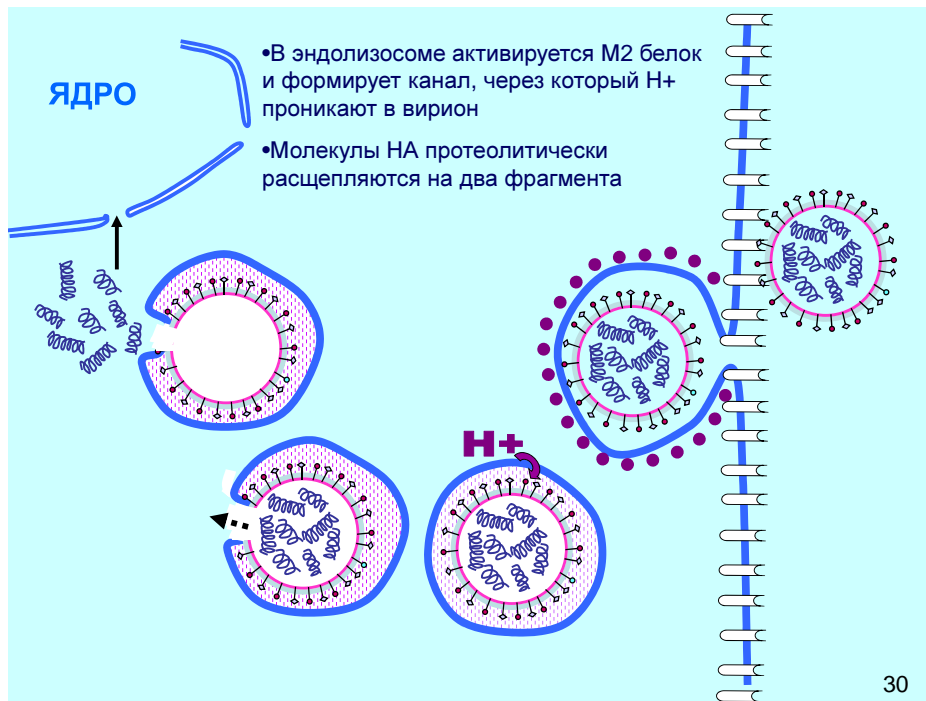
•При транскрипции сегментов 7 и 8 образуются по 2 мРНК за счет альтернативного сплайсинга.

29

РНК 8 КОДИРУЕТ БЕЛКИ NS1 и NS2 (NEP)

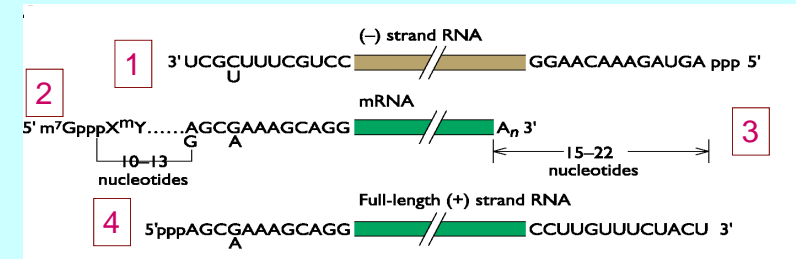


29a



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 взаимодополнительны
- 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.

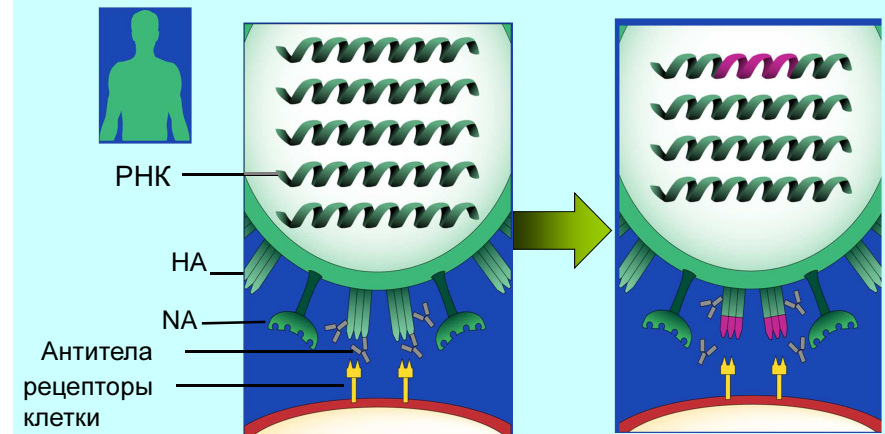


Упаковка генома вируса гриппа А

- Упаковываются одна копия каждого сегмента или 8 случайных сегментов?
- Одна копия каждого сегмента в одном вирионе.
- Механизм неизвестен
- Селекции фрагментов нет – полноценные вирионы образуются статистически.
- Селективная упаковка
 - РНК/РНК взаимодействие *in trans*

36

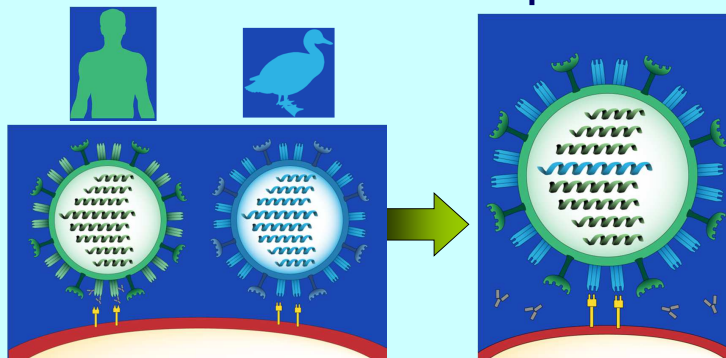
Изменчивость вируса гриппа А Антигенный дрейф



Непрерывные частичные изменения антигенной структуры HA и NA, называемые **антигенным дрейфом**, приводят к появлению новых эпитопов в этих молекулах.

37

Изменчивость вируса гриппа А Антигенный шифт



Новый субтип может вызвать возникновение пандемии

Антигенный шифт – это внезапное появление нового патогенного штамма (субтипа) вируса. При размножении разных штаммов вируса 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 HA и NA, которые обозначаются номерами (H1N1, H2N3, H5N1)
- В настоящее время у вируса гриппа А известно 16 вариантов HA (H1-16) и 9 NA (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 HA и NA, у вируса гриппа С нет гена NA

39

Эпидемиология гриппа

- 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)
- 1999 («Птичий грипп», вызванный вирусом H5N1)

39а

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

- По данным ВОЗ, за 5 месяцев свиным гриппом в мире заболели 285 138 человек. Умерли 3635.
- Ежегодно в мире сезонным гриппом болеет 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.



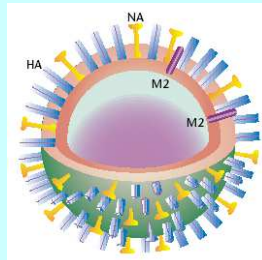
39в

Противогриппозные вакцины

- Используются живая (аттенуированная) и **инактивированная** вакцины
- 70-80% эффективность (инактивированная вакцина)
- Инактивированные вакцины: 1) целые вирионы; 2) сплит-вакцины; 3) субвирусные частицы; 3) субъединичные вакцины (поверхностные антигены)
- Возможность предсказать штамм или штаммы, которые могут вызвать эпидемию в текущем году является критически важной для производства вакцин
 - ВОЗ дважды в год дает рекомендации
- Каждый год делается более 250 млн доз

40

Структура M2 белка вируса гриппа



20-60 M2 белков на вирион



Консенсусная последовательность M2E на основе анализа 55 изолятов вируса гриппа человека А типа, выделенных начиная с 1933 г.

	PARAMYXOVIRIDAE	ORTHOMYXOVIRIDAE
Геном	несегментированный	сегментированный
Синтез РНК	в цитоплазме	в ядре
Использует РНК-праймер	нет	да
НА NA	один белок	два белка