

Вирусология

Лекция № 10

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

Субвирусные инфекционные агенты.

САТЕЛЛИТЫ (вирусы-сателлиты,
сателлитные нуклеиновые кислоты)
ПРИОНЫ

Сателлиты

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

1-2

Сателлиты-

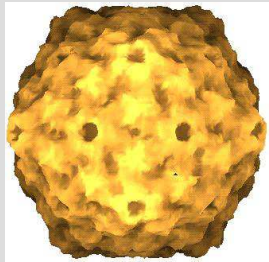
субвирусные агенты неспособные заражать хозяйские клетки без вируса – помощника.



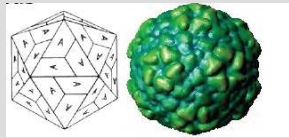
3

Сателлитные вирусы

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



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



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

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.
- ослабляют симптомы вируса-хозяина

Сателлитная РНК черной кольцевой пятнистости томатов.
РНК 1498 нт, кодирует белок - 48 kD (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,
комплементарна 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

Одноцепочечные 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)



220-450 нт

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

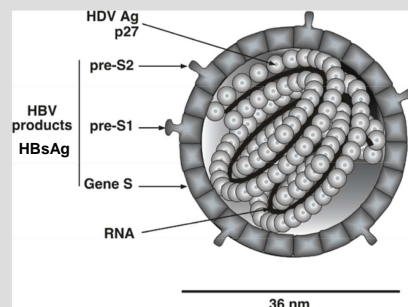
	Вироиды	Сателлитные вирусы	Сателлитные РНК	Вирусоиды
вирус-помощник	нет	да	да	да
собственные белки	нет	да	некотор.	нет

9

Вирус гепатита дельта

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

•Реплицируется в ядре с помощью клеточной ДНК-зависимой-РНК-полимеразы



10-13

Дефектные интерферирующие частицы (DI-частицы)

- Делеционные формы вирусных геномов. Они образуются при репликации практически любых вирусов, особенно при высокой множественности заражения.
- Не могут реплицироваться самостоятельно.
- Одеваются в белок вируса-помощника.
- DI-частицы мешают размножению вируса, так как конкурируют с ним (за репликазу).
- Образование DI-частиц – одна из причин формирования персистентной вирусной инфекции.

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 – аборигены Новой Гвинеи

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

Болезнь Герстмана-Штрауслера-Шенкера
(GSS)

Фатальная семейная инсомия (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

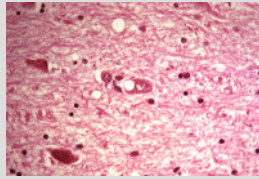
Свойства, отличающие прионные болезни от других инфекционных заболеваний

- Устойчивость возбудителя к формальдегиду, нагреванию, протеазам, нуклеазам, УФ-излучению.
- Длительный инкубационный период.
- Отсутствие **воспалительных** изменений. Возникает энцефалопатия, а не энцефалит.
- Отсутствие изменений в крови (нет антител).
- Отсутствие ремиссии и выздоровления.
- Характерная гистопатология – губчатость мозга.

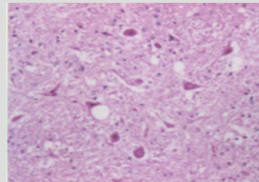
18

Губчатые (губкообразные) энцефалопатии

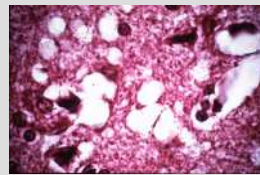
Болезнь Крейтцфельда-Якоба
(человек)



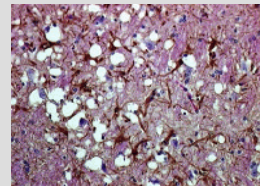
Коровье бешенство



Куру (человек)



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

1959г:

W. Hadlow обратил внимание на сходство симптомов Скрейпи и Куру

21-22

Прионы

(история вопроса)

1963:

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

1967:

D. Griffith предполагает, что возникновение TSE связано с изменением конформации белковых молекул

1981:

K. Mertz – фибриллы, обнаруживаемые в организме овец при заболевании скрейпи могут инфицировать мозг мышей.

23

•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

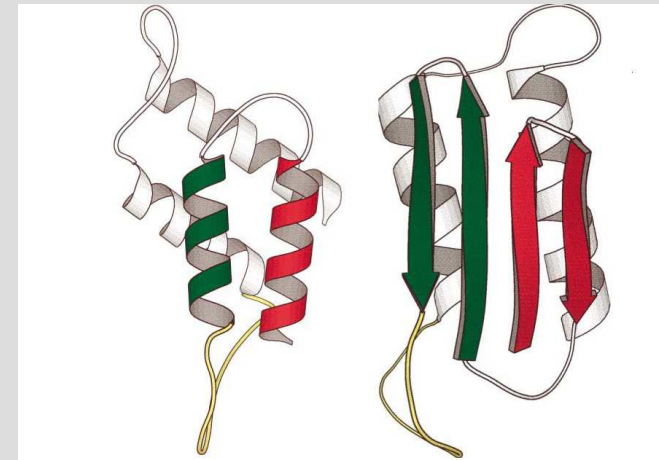
24

- Инфекционный белок PrP^{Sc} возникает путем модификации пространственной структуры из обычного клеточного белка PrP^C (АВТОКАТАЛИТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС)
- PrP^{Sc} высокомолекулярные агрегаты
- PrP^C растворимый белок
- Имеют одинаковую аминокислотную последовательность (254ак), но различаются по вторичной и третичной структуре

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

25

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

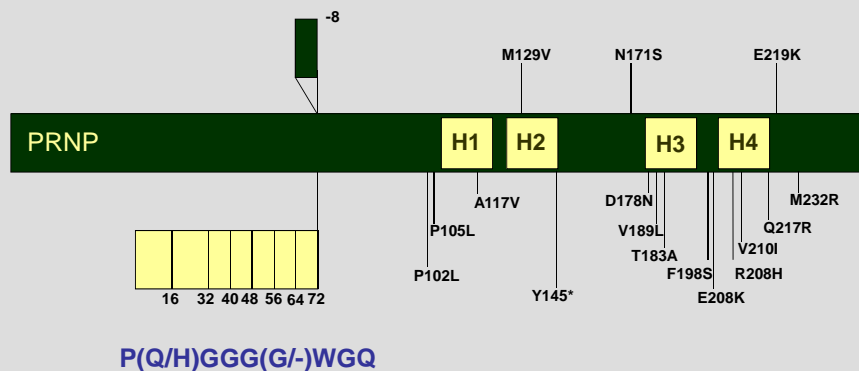


PrP^C

PrP^{Sc}

26

Схематическое изображение гена PRNP человека



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

27

Роль белка PrP^C в организме

- Играет важную роль в регуляции циркадианных (суточных) ритмов. Регуляции сна.
- Имеет значение для реализации нормальной функции синапсов , регуляции содержания Ca²⁺ в нейронах.
- Нужен для сохранения резистентности нейронов к окислительному стрессу.
- Участвует в метаболизме меди в головном мозге.
- Участвует в активации лимфоцитов

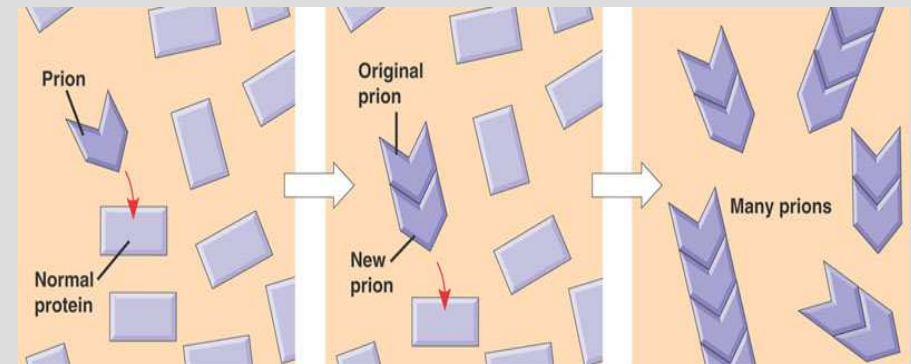
! СТАБИЛИЗАЦИЯ МИЕЛИНОВОЙ ОБОЛОЧКИ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

28-29

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)

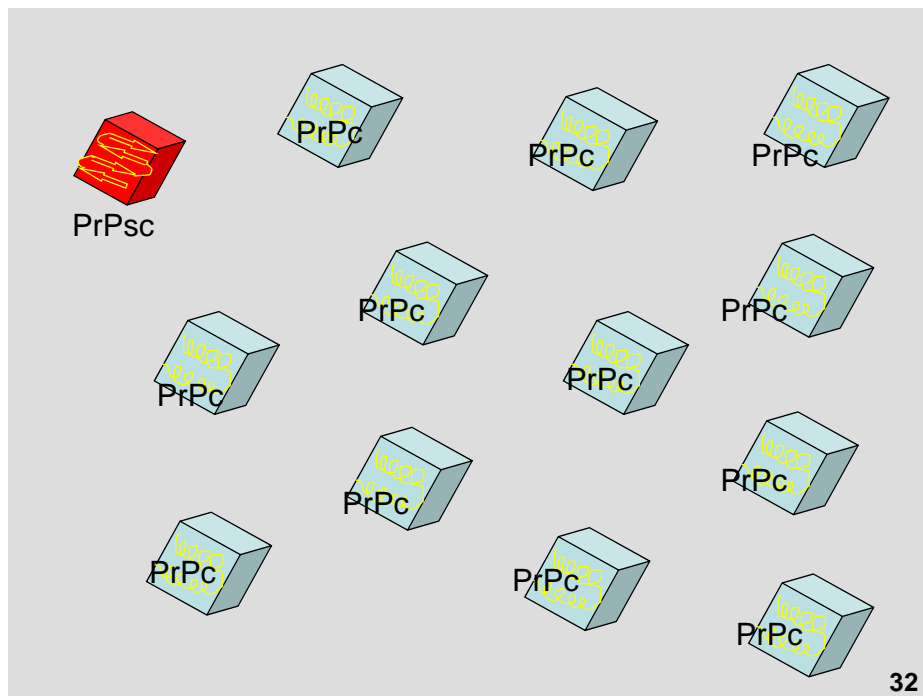
Механизм копирования конформации

30

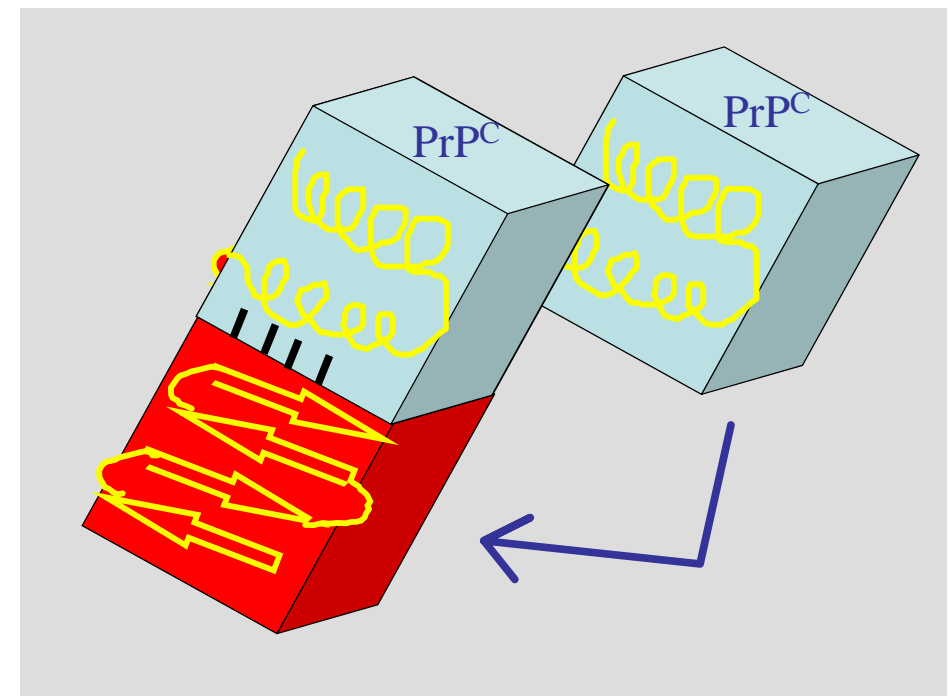


Спонтанно возникший или привнесенный в клетку прион PrP^{Sc} превращает все вновь синтезируемые полипептиды с идентичной или очень близкой ему первичной структурой в свое подобие в клетке. Достаточно образования одного такого комплекса, чтобы все оставшиеся в мембране молекулы превратить в патогенные.

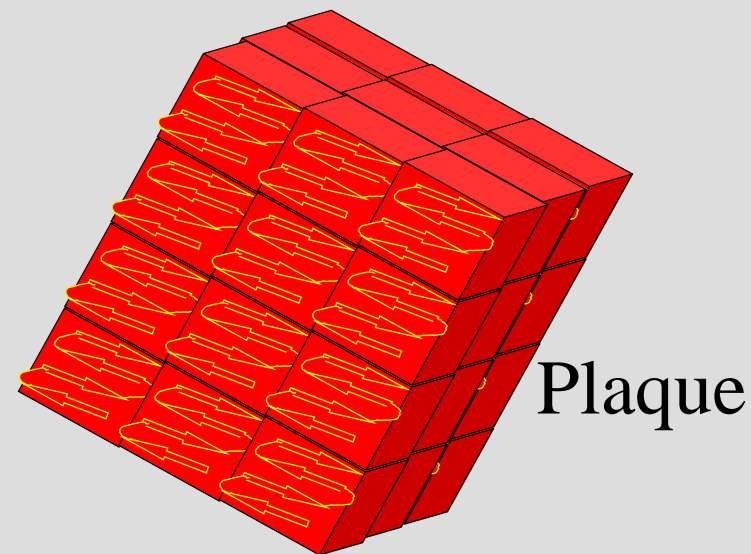
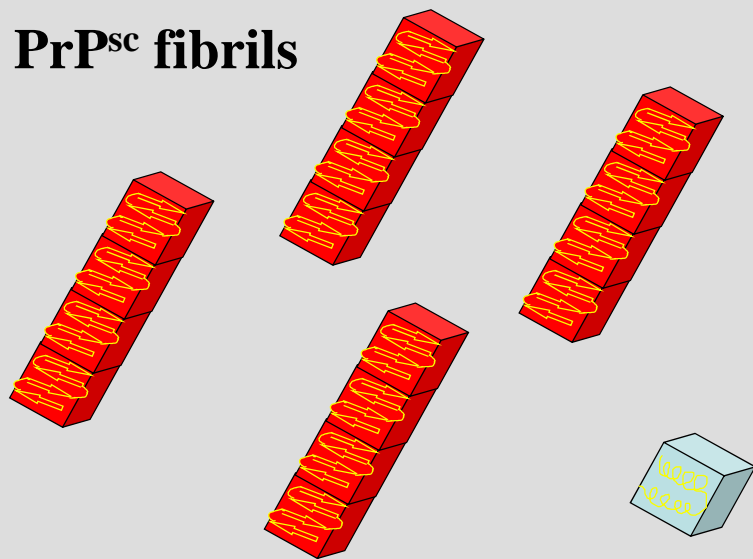
31



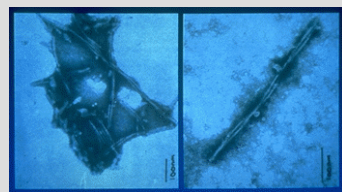
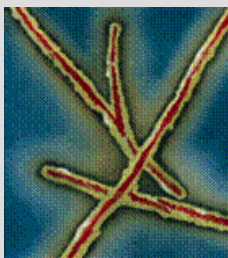
32



PrP^{sc} fibrils



После специальной обработки патогенный белок
виден на препаратах в виде тяжей и палочек.



Выделенные в чистом виде прионы способны
самопроизвольно соединяться вместе, образуя
вытянутые палочки диаметром около 10 нм.

Прионные заболевания человека могут быть:

Наследственными

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

Инфекционными

(СJD, Куру, Скрейпи, Коровье бешенство (BSE) и
др.)

Спорадическими

(BSE, СJD ?)

Межвидовой барьер

- зависимость степени восприимчивости реципиента от видового происхождения инфицирующего агента.
- Видовой барьер существует, и заключается в ухудшении взаимодействия между нормальным и прионным белками**
- не является абсолютным (большая или меньшая резистентность организма)
- первичные структуры прионного PrP^{Sc} и клеточного PrP^C белков должны сильно отличаться друг от друга – тогда невозможен инфекционный путь передачи заболевания.

41



«Троянская корова»
Могут ли люди заразиться коровьим бешенством употребляя в пищу говядину и молоко ?

Инфекционность (для животных)	Категория	Органы и ткани
Максимум ↓ минимум	I	Головной и спинной мозг, глаза
	II	Селезенка, миндалины, лимфатические узлы
	III	Тимус, периферические нервы, печень
Не инфекционны	IV	Мышцы, молоко

42-43

Прионы грибов

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

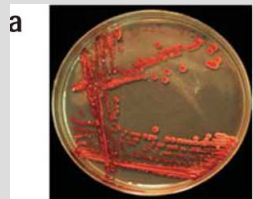
44

Прионы грибов

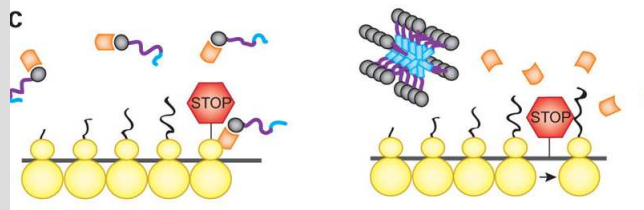
- Подобно прионам млекопитающих прионы грибов представляют собой конформационные варианты обычных клеточных белков.
- При прионизации белка клетка или организм становятся дефектными по функции белка-предшественника приона.
- Клеточные белки могут спонтанно претерпевать конформационные перестройки, после 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

[Psi-]



[Psi+]



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