

ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция № 6

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

ДНК-содержащие вирусы

РЕТРОИДНЫЕ (ПАРАРЕТРО) ВИРУСЫ. (СОДЕРЖАТ ДНК, НО КОДИРУЮТ ОБРАТНУЮ ТРАНСКРИПТАЗУ).

РЕТРОИДНЫЕ ВИРУСЫ:

(± ДНК) → (+РНК) → (± ДНК)

РЕТРОВИРУСЫ:

(+ РНК) → (± ДНК) → (+ РНК)

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

РЕТРОИДНЫЕ (ПАРАРЕТРО) ВИРУСЫ.

- Кольцевая частично двунитевая геномная ДНК.
- Небольшой размер генома – примерно 3000-8000 нуклеотидов.
- Обратная транскриптаза (RT) присутствует в составе вирионов.
- Нет необходимости встраиваться в хозяйскую хромосому для успешной репликации.
- Группа VII

РЕТРОИДНЫЕ (ПАРАРЕТРО) ВИРУСЫ.

- Семейство **Hepadnaviridae**,
род *Orthohepadnavirus* (млекопитающие) и
род *Avihepadnavirus* (птицы).
HBV - «hepatitis B virus»
HBV, вирус гепатита В.

Вирионы – икосаэдр, покрытый липидной оболочкой.

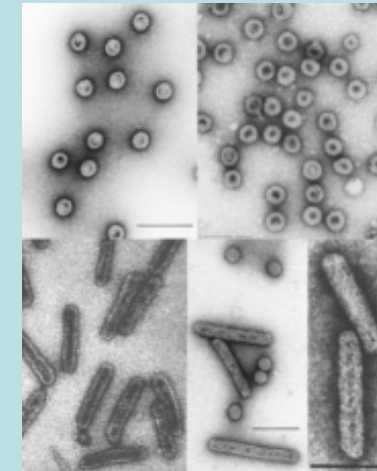
- Семейство **Caulimoviridae**, 7 родов.
CaMV, cauliflower mosaic virus, вирус мозаики
цветной капусты.
Икосаэдрической или бациллоидной формы,
липидная оболочка отсутствует,
род *Badnavirus*

hepar – печень, *dna* – ДНК

3

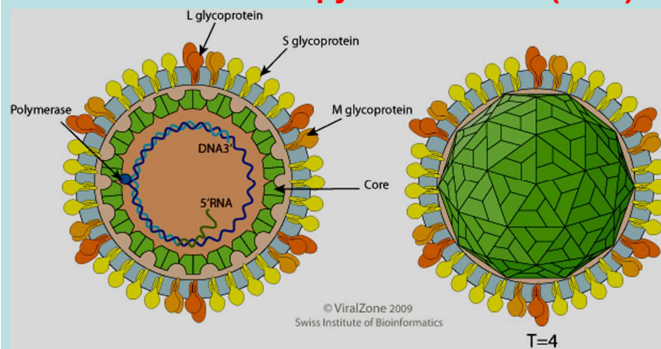
РЕТРОИДНЫЕ (ПАРАРЕТРО) ВИРУСЫ

сем. **Caulimoviridae**



4

Hepadnaviridae Вирус гепатита В (HBV)

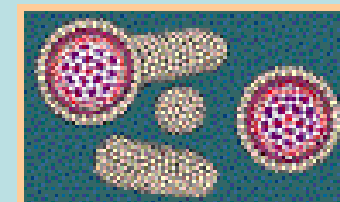
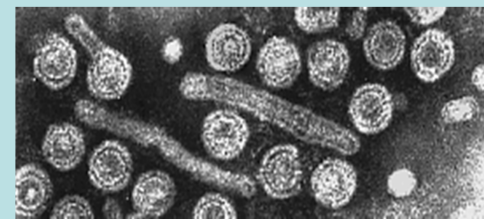


- частица Дейна
d ~ 42 нм
- состоит из
внешней
липидной
оболочки
- HBsAg – Hepatitis
B surface Antigen:
большой L
(«large»), средний
M («middle») и
малый S
(«small»).

- из кора (икосаэдр -28нм) С –белок (HBcAg)
- кольцевая частично ds ДНК - полноразмерный геном 3200 нт;
- одна из цепей (плюс цепь) короче другой (минус цепи);
- к 5' концу минус цепи ковалентно присоединена молекула белка Р (полимеразы), на 5' конце (+) цепи – «хвостик» РНК

5

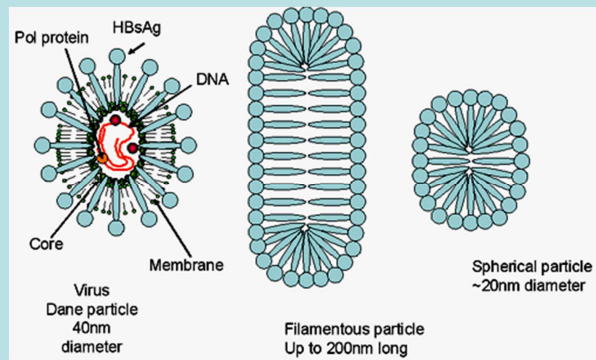
Hepadnaviridae Вирус гепатита В (HBV)



- 3 варианта вирусных частиц.
- 1 – инфекционные частицы Дейна, ~42 нм;
- 2 – неинфекционные сферические 20нм и
- 3 – нитевидные различной длины диаметром 20нм.
- Вирионы 2 и 3 содержат только поверхностный антиген HBsAg (S-белок) без геномной ДНК и белка сердцевин (core) и присутствуют в большом избытке

6

Непадnaviridae Вирус гепатита В (HBV)



6a

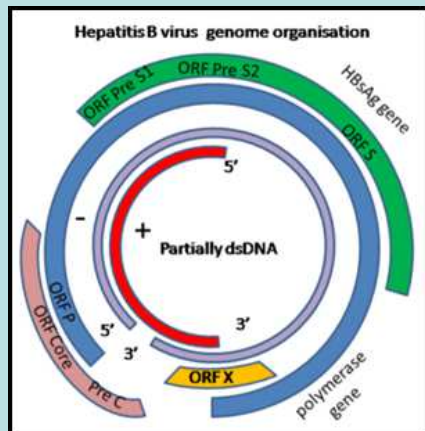
Непадnaviridae Вирус гепатита В (HBV) HBsAg

- 3 поверхностных антигена – L(39кДа), M(31кДа), S(24кДа).
- Антиген S – основной компонент оболочки: L и M составляют 2% и 5-10% от общего количества.
- Антиген L необходим для связывания с клеточным рецептором и для созревания вирусных частиц. Взаимодействует с коровой частью вириона и приводит к его переносу через мембрану эндоплазматической сети.

6b

Непадnaviridae Вирус гепатита В (HBV)

структура генома



Размер генома 3,0 – 3,3 тысячи пар нт.

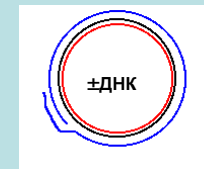
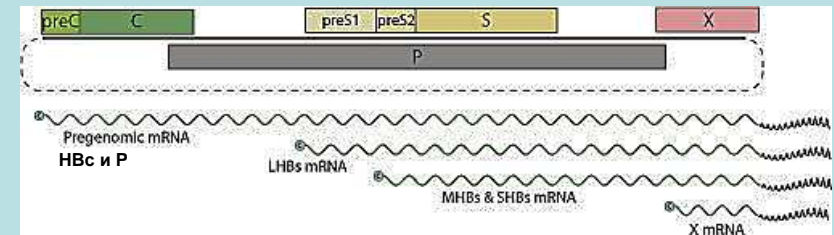
ORF P – РНК-зависимая ДНК полимераз (обратная транскриптаза)
 • ORF S/preS - гликопротеиды оболочки вириона
 • ORF C - белок нуклеокапсид HBcAg
 • ORF X - белок HBx (17 kDa), трансактивирует экспрессию генов, взаимодействуя с широким спектром вирусных и клеточных регуляторных элементов.

ORF - OPEN READING FRAME

7

Вирус гепатита В (HBV)

транскрипция генома



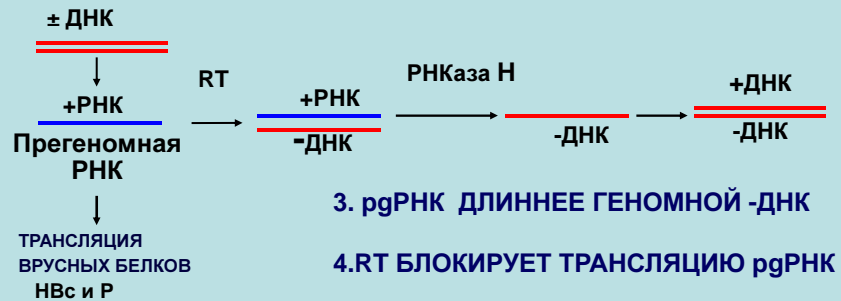
образование прегеномной РНК - pgRNA

8

ПРЕГЕНОМНАЯ РНК (pgРНК)

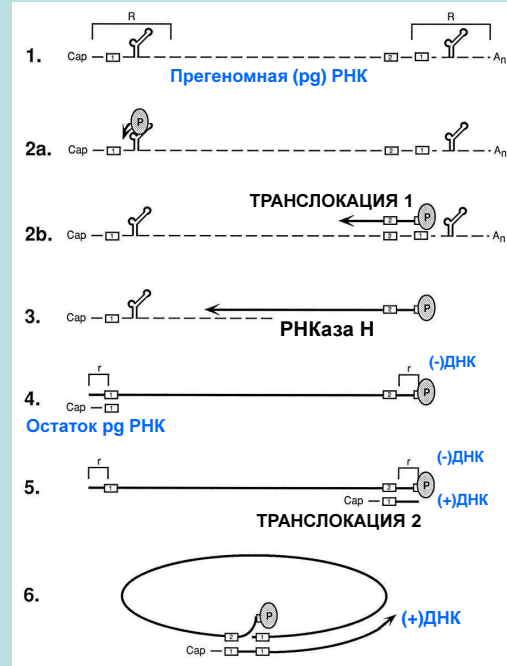
1. pgРНК ПРИ ТРАНЛЯЦИИ ПРОДУЦИРУЕТ ВИРУСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ;

2. pgРНК СЛУЖИТ МАТРИЦЕЙ ДЛЯ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ ПРИ СИНТЕЗЕ ДНК:



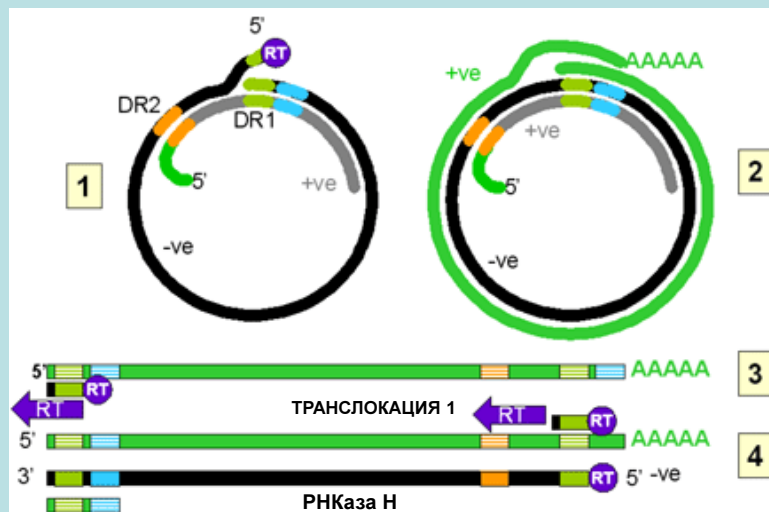
9

Вирус гепатита В (HBV) репликация генома обратная транскрипция



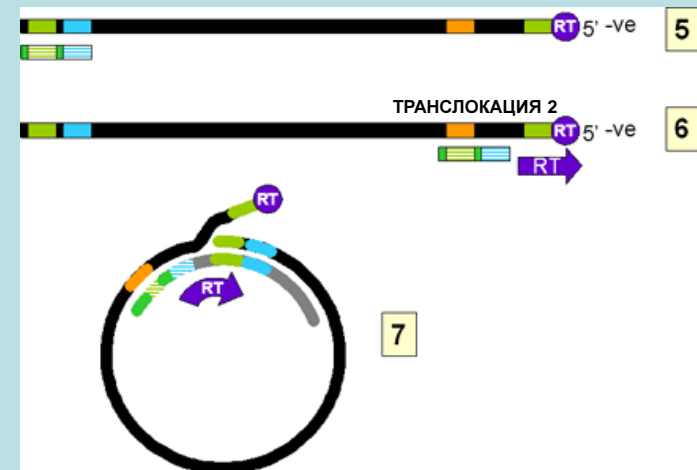
10

Вирус гепатита В (HBV) репликация генома обратная транскрипция



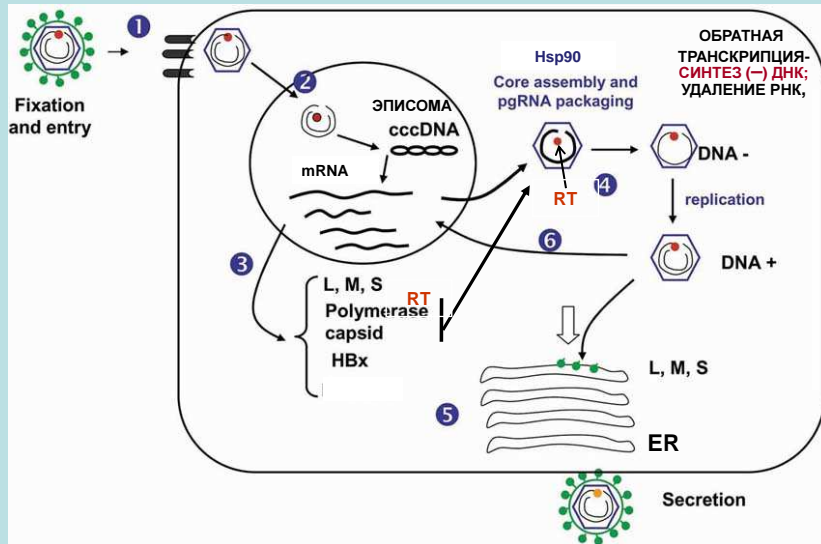
11

Вирус гепатита В (HBV) репликация генома обратная транскрипция



12

Жизненный цикл Вирус гепатита В (HBV)



13

ГЕПАТИТ В КАК ПАТОГЕН

- Передается через кровь, плаценту и половым путем.
- Высокая специфичность инфекции – заражаются только гепатоциты.
- В 95% случаев ответ иммунной системы достаточен для полного освобождения от вируса.
- В мире насчитывается до 300 миллионов хронически больных. Клиническая картина – от бессимптомного носительства до острого цирроза.

14

ГЕПАТИТ В И РАК ПЕЧЕНИ

- Гепатокарцинома – один из самых распространенных видов рака, развивается у 2-10% носителей вируса гепатита В. Наличие в крови HBsAg означает, что риск возникновения опухоли повысился в 100 раз.
- Случайная интеграция дефектных вирусных ДНК в геном хозяина, до 10-12 копий на 1 клеточное ядро.
- Высокий уровень экспрессии белка Х и его действие как транскрипционного трансаактиватора. Показательно, что при интеграции его рамка считывания никогда не нарушается.

15

ДНК-содержащие вирусы

Семейство *Parvoviridae*

- Геном – линейная ssДНК
- Около 50 представителей, образуют 2 подсемейства: *Parvovirinae* (позвоночные) и *Densovirinae* (насекомые).
- Группа II
- Различают автономные и дефектные или ассоциированные парвовирусы

parvus (лат) - мелкий

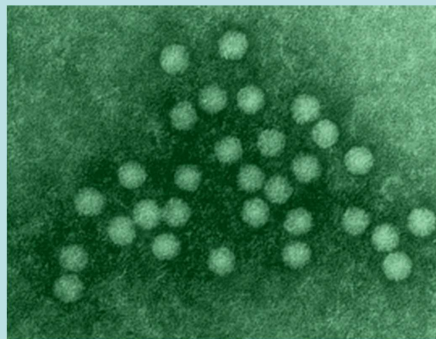
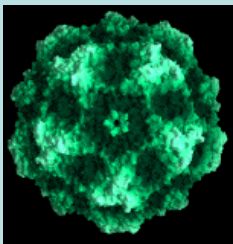
16

Семейство *Parvoviridae*

- Автономные парвовирусы размножаются в S-фазе клеточного цикла, но не способны стимулировать деление зараженной клетки.
- Ассоциированным (дефектными) парвовирусам необходим помощник – адено- или герпесвирус, в его отсутствие способны встраиваться в геном клетки-хозяина (провирус).
- Дефектные вирусы выделены в отдельный род *Dependovirus* (аденосателлит AAV2).

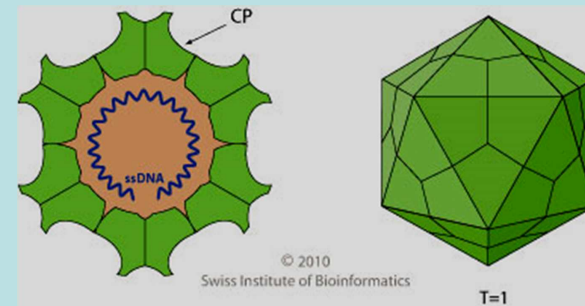
17

Семейство *Parvoviridae*



17a

Семейство *Parvoviridae*



- Вирионы: белковый икосаэдрический капсид d18-26nm, линейная ss геномная ДНК ~ 5000 нт с инвертированными концевыми повторами (100 - 300нт).
- 60 молекул структурных белков 3-х видов – VP1, VP2, VP3, отличаются по N-концевым последовательностям; VP3 - мажор до 90%.
- Частицы ассоциированных парвовирусов содержат (+) или (-) цепи геномной ДНК; автономные, как правило, только (-).

18

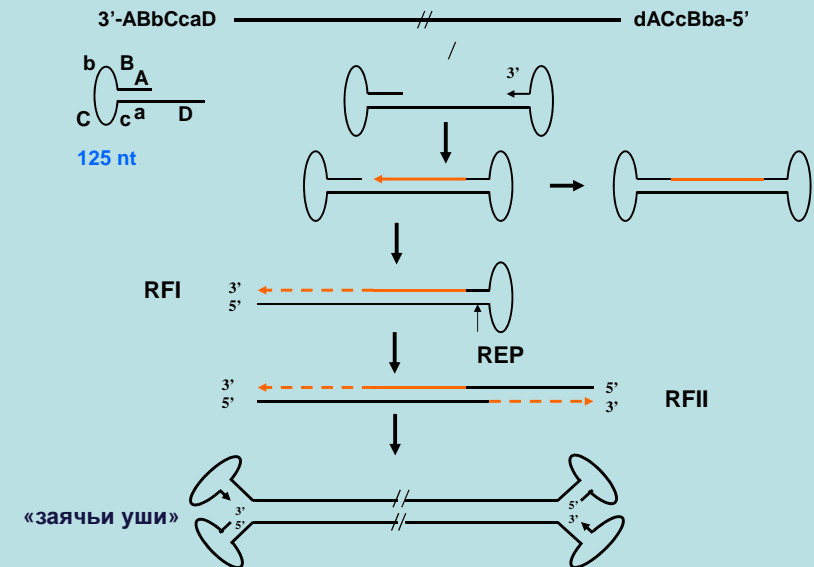
Структура генома Парвовирусов Род *Dependovirus* (AAV2)



REP – неструктурные регуляторные белки
CAP – структурные белки
Инvertированные концевые повторы у парвовирусов от 100 до 300 нт (AAV2 -125 нт).

19

СХЕМА РЕПЛИКАЦИИ ДНК ПАРВОВИРУСА (AAV-2).



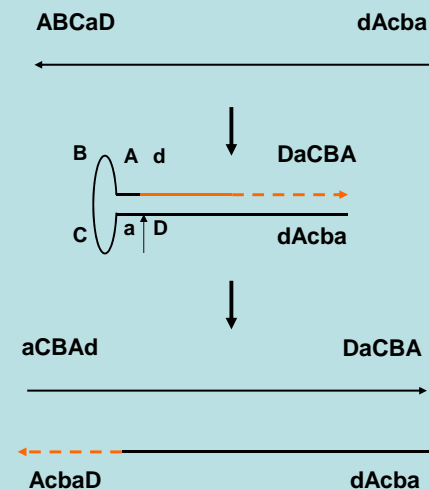
20

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК ПАРВОВИРУСА (AAV-2).

- Половина дочерних нитей ДНК аденосателлита имеет положительную, а другая – отрицательную полярность.
- Часть материнской молекулы входит в состав дочерней молекулы ДНК.
- Нуклеотидная последовательность концевых повторов у дочерних молекул ДНК отличается от последовательности родительской ДНК.
- Происходит инверсия нуклеотидной последовательности внутри концевого повтора.
- Структура концевой последовательности (инvertированный повтор) сохраняется
- Изменения не затрагивают смысловых нуклеотидных последовательностей (как кодирующих, так и регуляторных) и не влияют на репликацию вируса.

21

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК ПАРВОВИРУСА (AAV-2).



Инверсия нуклеотидной последовательности внутри концевого повтора при репликации аденоассоциированных вирусов.

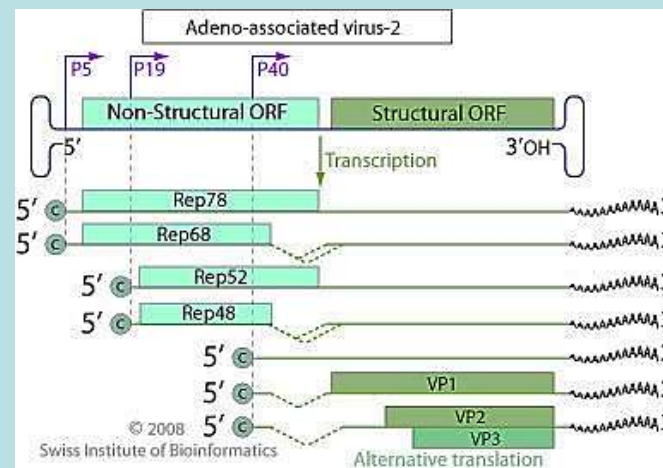
22

ОСОБЕННОСТИ РЕПЛИКАЦИИ ДНК ПАРВОВИРУСОВ

- Самозатравочный механизм.
- Начинается сразу со стадии элонгации.
- Нет синтеза фрагментов Оказаки и «отстающей» цепи ДНК.
- Инверсии последовательности геномной ДНК в районе концевых повторов, часть исходной ДНК входит в состав дочерней молекулы.
- Весь процесс репликации генома и сборки вирионов происходит в ядре.
- Репликативная форма служит матрицей для транскрипции.

23

Семейство *Parvoviridae* Род *Dependovirus* (AAV2) (ТРАНСКРИПЦИЯ ГЕНОМА)



P5, P19, P40: ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ПРОМОТЕРЫ

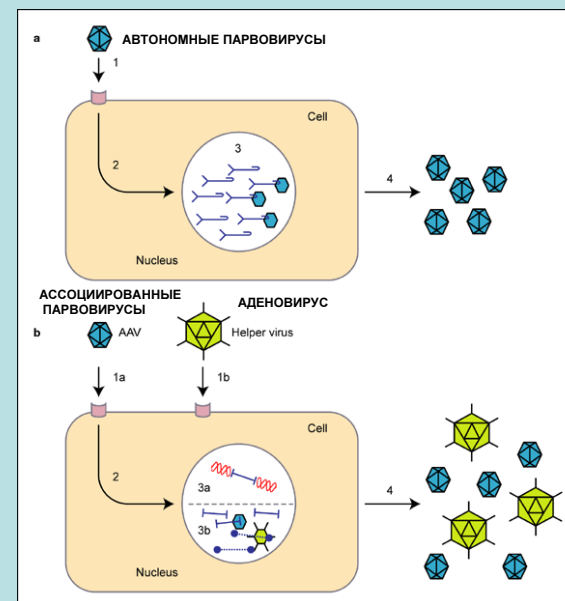
24

АССОЦИИРОВАННЫЕ ПАРВОВИРУСЫ

- Собственный белок Rep в отсутствие помощника ингибирует транскрипцию со всех вирусных промоторов.
- Rep участвует в интеграции провируса.
- Белок E1A и другие белки аденовируса активируют провирус, но не взаимодействуют с ДНК сателлита.
- Парвовирусы не онкогенны, даже снижают частоту трансформации клеток при совместной инфекции.
- Ассоциированные парвовирусы могут использоваться как вектор.

25

Жизненный цикл автономных и ассоциированных парвовирусов



26