

# Вирусология

## Лекция № 8

### Онкогенные вирусы

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

## Онкогенные вирусы

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

2

## Вирусный канцерогенез

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

3

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

- (a) 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**)

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 (протоонкоген)

5

## ПРОТООНКОГЕНЫ:

- Гомологичны вирусным онкогенам.
- В норме не экспрессируются в нормальных здоровых клетках или экспрессируется на очень низком уровне.
- Контролируют нормальную пролиферацию клеток и способны в результате соматической мутации или транспозиции превращаться в клеточный онкоген.
- **c-onc** или **v-onc** (c-src, c-mos в отличие от v-src, v-mos)

6

## Супрессоры опухолей (Антионкогены)

- Осуществляют негативный контроль клеточной пролиферации.
- Подавляют активность онкогенов и контролируют активность протоонкогенов

- **p53**

«Страж генома», участвует в системе, контролирующей любые повреждения и нарушения хромосом, фактор транскрипции, регулирует экспрессию белков, ответственных за активацию различных супрессорных систем.

- **pRb**

7

ПРОТООНКОГЕН(Ы)

АНТИОНКОГЕН(Ы)  
(СУПРЕССОРЫ ОПУХОЛЕЙ)



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

8-9

## Онкогенные вирусы

### 1. РНК-содержащие

(подсемейство *Oncovirinae* сем. *Retroviridae*)

- $\alpha$ -*Retrovirus* (вирусы лейкоза/саркомы птиц)
- $\beta$ -*Retrovirus* (вирус рака молочной железы мышей и др.)
- $\gamma$ -*Retrovirus* (вирусы лейкоза/саркомы мышей, кошек, обезьян)
- $\delta$ -*Retrovirus* (вирус Т-клеточного лейкоза людей, вирус бычьего лейкоза)

Вирус гепатита С (семейство *Flaviviridae*)

### 2. ДНК-содержащие

- сем. *Polyomaviridae* (SV40 и др.)
- сем. *Papillomaviridae* (вирусы папиллом человека и др.)
- сем. *Adenoviridae* (аденовирусы человека, обезьян, быка, птиц)
- сем. *Herpesviridae* (вирусы Эпштейна-Барр, саркомы Капоши и др.)
- сем. *Hepadnaviridae* (вирус гепатита В, гепатита утки и др.)

10

## Онкогенные вирусы человека

### РНК-содержащие

- HTLV-1
- Вирус гепатита С (HCV)

### Новообразования

Т-клеточный лейкоз взрослых  
Рак печени

### ДНК-содержащие

- Вирус гепатита В (HBV)
- Вирус папилломы (HPV)
- Вирус Эпштейна-Барр (EBV)
- Герпесвирус-8 (HHV-8)

### Новообразования

Рак печени  
Рак шейки матки  
Лимфома Беркитта, рак носоглотки, лимфогранулематоз  
Саркома Капоши и др.

11

## 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, то есть опухоль. Эти изменения часто (но не всегда) являются результатом интеграции вирусного генома в геном клетки-хозяина.

Трансформация может быть индуцирована другими факторами помимо вируса.

13

## Онкогенные РНК-содержащие вирусы

(РНК-содержащие вирусы, способные индуцировать опухоли)

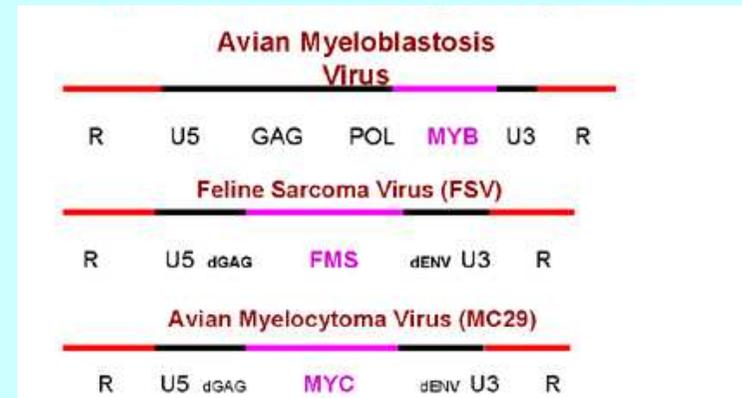
14

Некоторые ретровирусы имеют дополнительный ген **SRC**



15

У некоторых ретровирусов онкоген занимает положение других генов



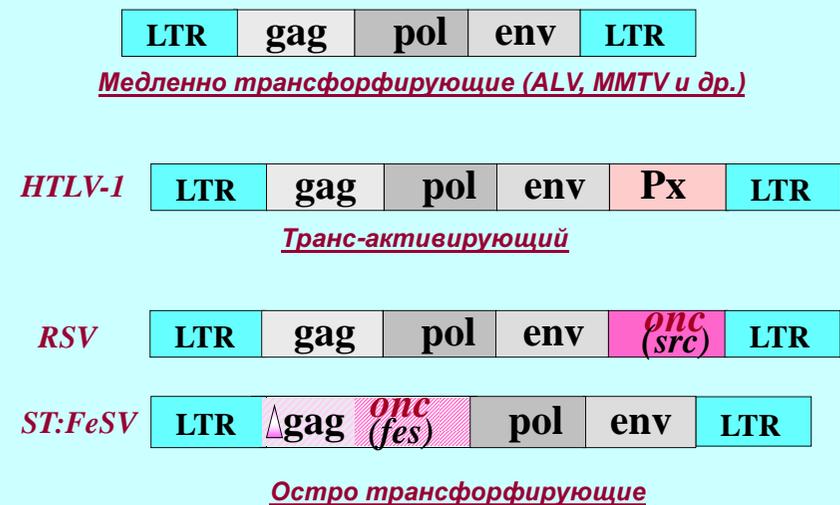
16

### Ретровирусы:

Группы	Присутствие онкогена
Медленно трансформирующие (длительный латентный период: у мышей и кур – до 12 мес.)	–
Транс-активирующие (HTLV-1) (длительный латентный период: у человека от года до нескольких лет)	+
Остро трансформирующие (короткий латентный период: у мышей и птиц – 2-3 недели)	+

18

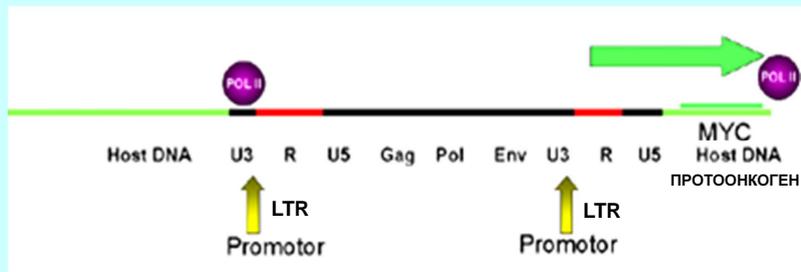
### Типы структурной организации генома ретровирусов



19

## Онкогенез в результате вставки промотора

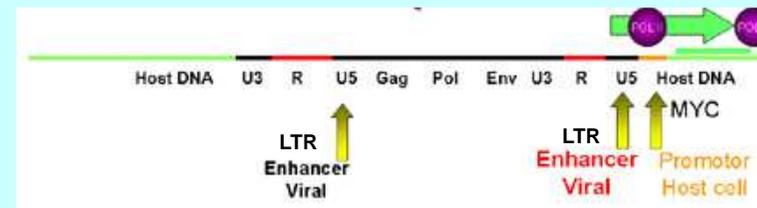
C-MYC - ПРОТООНКОГЕН



Вирусная последовательность может стимулировать транскрипцию протоонкогена с использованием вирусного промотора.

20

## Онкогенез в результате вставки энхансера



Вирусная последовательность (энхансер) может стимулировать транскрипцию протоонкогена с использованием промотора протоонкогена

21

## Ретровирусы с онкогеном вирусного происхождения:

HTLV-1 (Human T-cell Leukemia Virus-1) – вирус Т-клеточного лейкоза взрослых людей



Транс-активация клеточного генома

### Ген Tax:



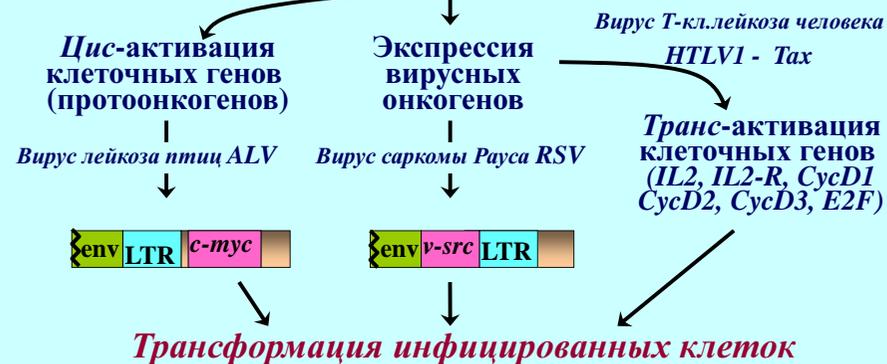
22

## Ретровирус

Обратная транскрипция

Неинтегрированный ДНК-провирус

Интеграция ДНК-провируса в геном клетки



23

## Онкогенные ДНК-содержащие вирусы

### ДНК-содержащие вирусы , способные индуцировать опухоли

24

## Онкогенные ДНК-содержащие вирусы

- Группа вирусов с различными структурой, организацией генома и стратегией репликации.
- Индуцируют опухоли у природных хозяев
  - Вирусы папилломы
  - Вирус Эпштейна-Барр,
  - Герпесвирус ассоциированный с саркомой Капоши
  - Гепатит В
- Индуцируют опухоли в экспериментальных системах:
  - Аденовирусы
  - Полиомавирусы ,Обезьяний вирус -40 (SV40)

**Онкогены ДНК-содержащих вирусов - истинные вирусные онкогены.**

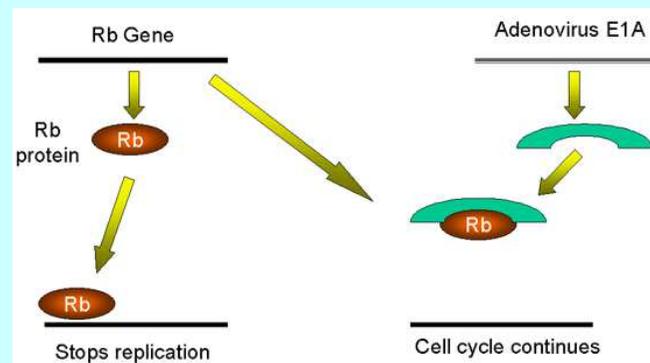
25

## ДНК-содержащие онкогенные вирусы

Тип вируса	Окогенность у животных	Онкогенность у человека
Аденовирусы	Да. Через ранние гены E1A и E1B	Нет
Герпесвирусы	Да. Механизм неизвестен	Да. Возможно через гены группы EBNA и LMP
Вирус гепатита В	Да. Через трансактивирующий ген X	Да. Через трансактивирующий ген X
Вирус группы полиомы	Да. Через гены, кодирующие Т-антиген	Нет
Вирусы папиллом	Да. Механизм сходен с вирусом папилломы человека	Да. Через трансформирующие механизмы E6 и E7

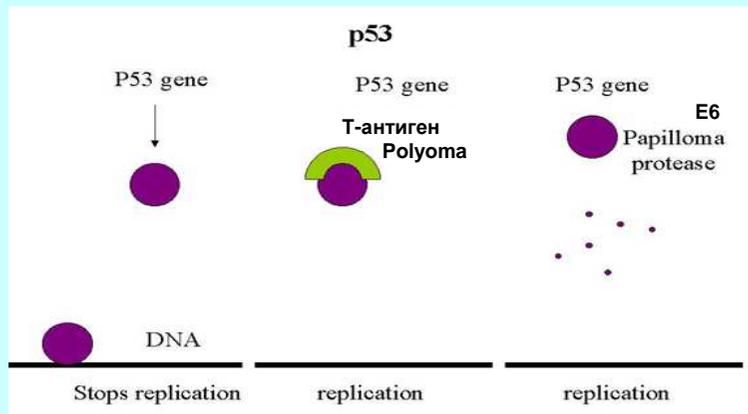
26

## Онкоген аденовируса инактивирует супрессор опухоли.



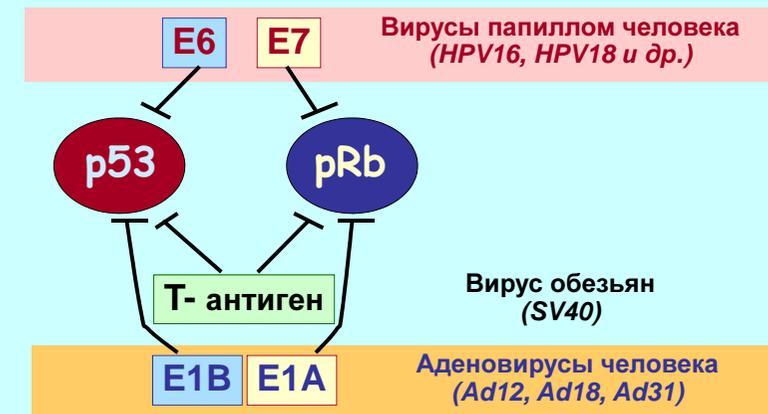
27

## Онкоген инактивирует супрессор опухоли.

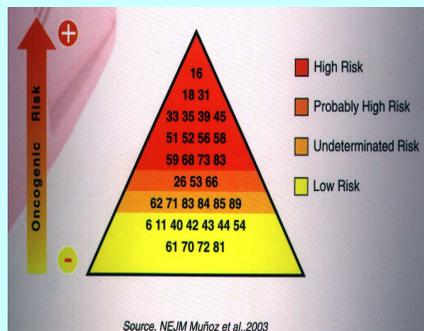


28

## Одновременная инактивация p53 и pRb продуктами ранних генов – стратегия ряда ДНК-содержащих онкогенных вирусов



29



## PAPILLOMAVIRUS

- Вирус папилломы кроликов (Шоупа)
- Вирус папилломы человека (HPV)
- Вирус папилломы крупного рогатого скота

Всего более 50 видов

Онкогены - белки E6 и E7

Интегрируется весь геном

Все представители рода вызывают доброкачественные опухоли у естественных хозяев; иногда эти опухоли могут переродиться в злокачественные

Рак шейки матки

30

Трансформируют клетки путем интеграции ранних регуляторных генов (Т- антигены) в хромосомы клетки-хозяина и их экспрессии без продукции вирусных структурных белков. Т-антиген связывается с p53 и pRb

## POLYOMAVIRUS

- Обезьяний вирус 40 Simian Vacuolating Agent (SV-40)
  - вирус ВК (человек)
  - вирус JC (человек)
  - Вирус полиомы мышей
- Всего около 12 видов

Т-антиген является истинным вирусным онкогеном. В неинфицированной клетке не присутствуют гомологичные гены и белки; Т- антиген необходим для продуктивной инфекции;

31

## Adenoviridae

- У животных высокая онкогенность
- Трансформируют клетки путем интеграции ранних регуляторных генов E1A и E1B в хромосомы клетки-хозяина и экспрессия этих контрольных генов без продукции вирусных структурных белков.
- Не обнаружено онкологических заболеваний человека, которые определенно связывались бы с аденовирусами.
- Описаны случаи, когда патогенный вирус человека 12 индуцировал злокачественные опухоли у грызунов

**E1A – pRb**  
**E1B – p53**

32

## Herpesviridae

- Вирус Эпштейна-Барр (EBV/HHV-8)- Лимфогрануломатоз, Лимфома Беркитта, Лимфома мозга, рак носоглотки.
- Герпесвирус человека, ассоциированный с саркомой Капоши (KSHV/HHV-8)
- Онкогены - белки, кодируемые группами генов EBNA и LMP

Играет роль в образовании опухолей у людей, с большой вероятностью вызывает опухоли у животных. Герпесвирус интегрируется в геном клетки по специфическим сайтам и приводит к нарушению целостности хромосом и возможным переносом их участков.

33

## Неpadnaviridae

### Вирус гепатита В (HBV)

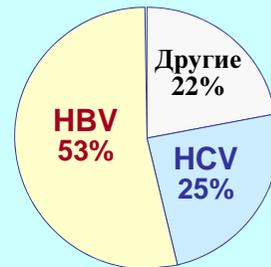
•РНК транскрибируется на ДНК не только для синтеза белков, но и для репликации самого генома

•Вирионы содержат обратную транскриптазу

•Гепатоцеллюлярная карцинома является одним из самых распространенных онкологических заболеваний

• Продукт гена X -белок HBx трансактивирует экспрессию генов, взаимодействуя с широким спектром вирусных и клеточных регуляторных элементов (p53).

% случаев рака печени, ассоциированных с HBV, HCV и другими причинами



34



35

## 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

## ПАПОВАВИРУСЫ АДЕНОВИРУСЫ

- Наиболее хорошо изученные ДНК-содержащие вирусы, индуцирующие опухоли.
- В природных хозяевах, в перmissive 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
- Не связаны с онкологическими заболеваниями человека.

Группа I

38

## ПАПОВАВИРУСЫ

**PA**pillomavirus

**PO**lyomavirus

Simian **V**acuolating **A**gent  
(SV-40 - Polyomavirus genus)

**PAPOVA**VIRIDAE

39

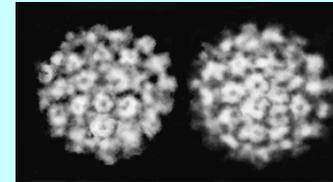
## Паповавирусы

- Небольшие частицы с диаметром 40-60 нм
- Икосаэдрический капсид состоит из 72 капсомеров
- Нет внешней оболочки
- Генетический материал представлен кольцевой ds ДНК

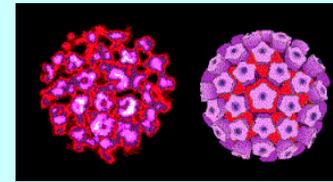
40

## Вирус папилломы человека

сем. *Papillomaviridae*



диаметр 55 нм  
72 капсомера



 dsДНК, 8000 п.нт  
Кодирует 9 белков, в том числе 2 белка оболочки

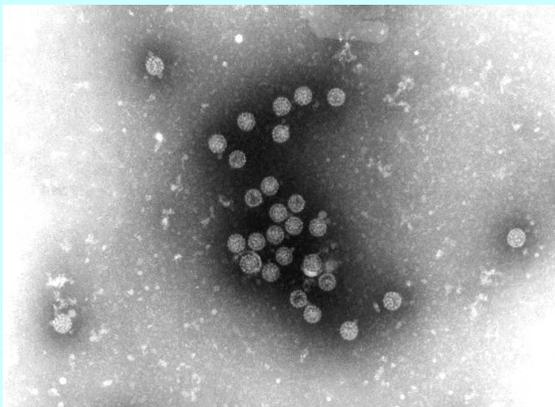
L1 и L2.

E1-E7 контролируют репродукцию вируса.

E6, E7 – онкогены.

41

## Обезьяний вирус -40 Simian Vacuolating Agent (SV40)

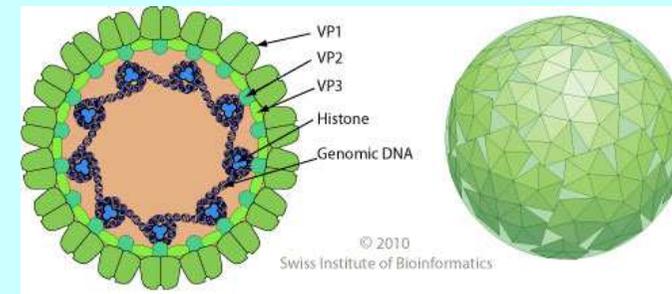


Реплицируются в ядре

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)



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

43

## Ответ клетки на заражение SV40



44

## Литический цикл репликации SV40

РАННЯЯ ФАЗА

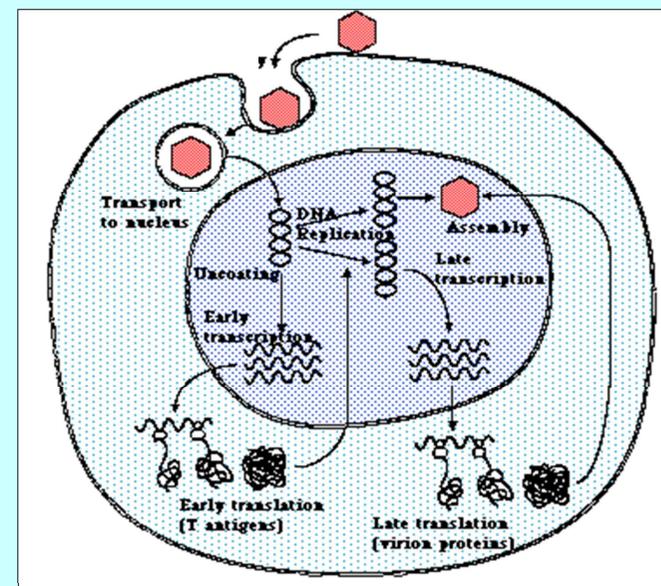
20-25 часов

ПОЗДНЯЯ ФАЗА

25-35 часов

ВСЬ ЦИКЛ

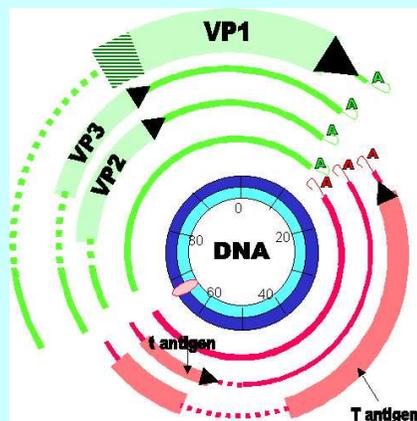
45-60 часов



45

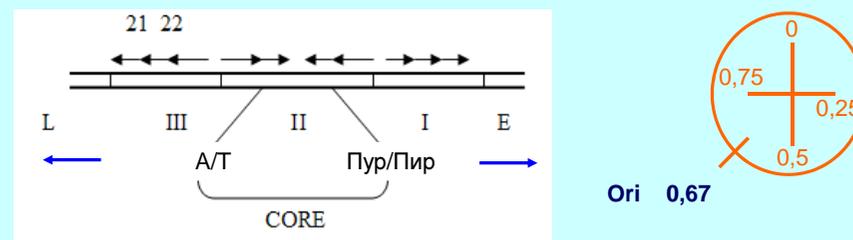
## Процесс экспрессии вирусных белков делится на две фазы: раннюю и позднюю

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



46

## Структура Ori SV40

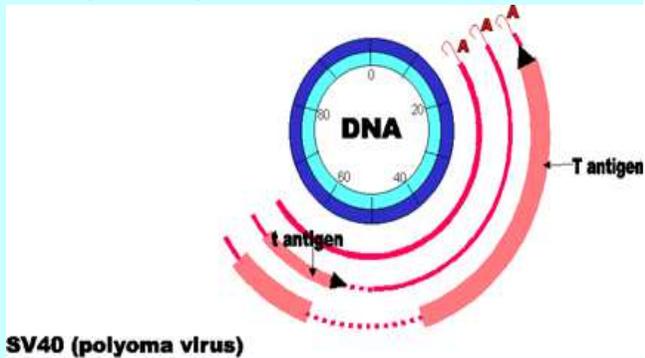


- (I) пентануклеотидные последовательности **GAGGC**, организованные как инвертированный повтор и узнаваемые Т-антигеном.
  - (II) **CORE** длиной 64 пн (Core Ori Recognition Element) состоит из центрального участка, с которым связывается Т-антиген, и фланкирован с одной стороны А/Т богатым участком, с другой - Пур/Пир последовательностью.
  - (III) участке находятся повторы 21,22 п.н. –участок переключения с ранней на позднюю стадию транскрипции
- Общая длина **Ori** со всеми прилегающими участками – 170 п.н.

47

## Ранняя транскрипция генов

Клеточная РНК-полимераза II  
Посттранскрипционная модификация



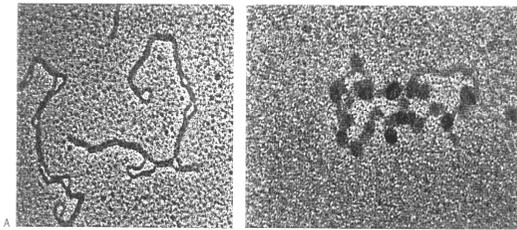
SV40 (polyoma virus)

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



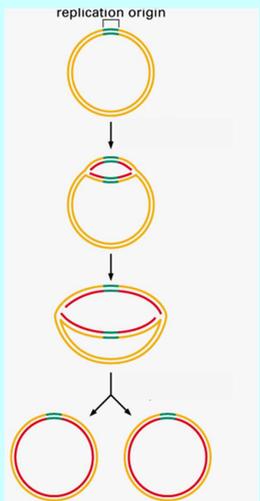
ДНК SV40

минихромосома

- Механизм репликации ДНК SV40 сходен с репликацией клеточной ДНК

49

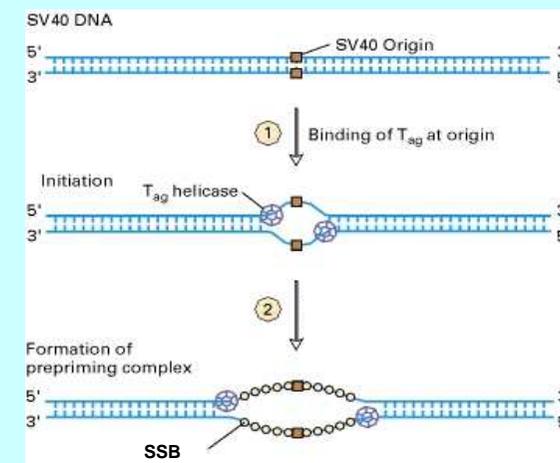
## Репликация ДНК SV-40



- 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

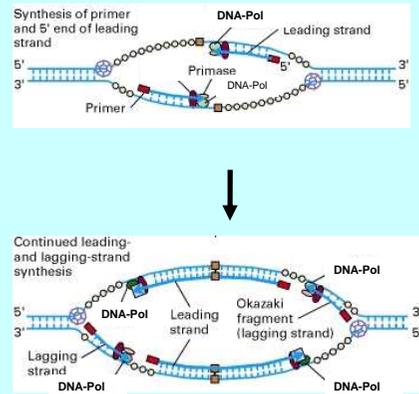
## Репликация ДНК SV-40



50a

## Репликация ДНК SV-40

**Т-антиген**  
ПРАЙМАЗА  
SSB  
ДНК-ПОЛИМЕРАЗА II  
ХЕЛИКАЗА (?)

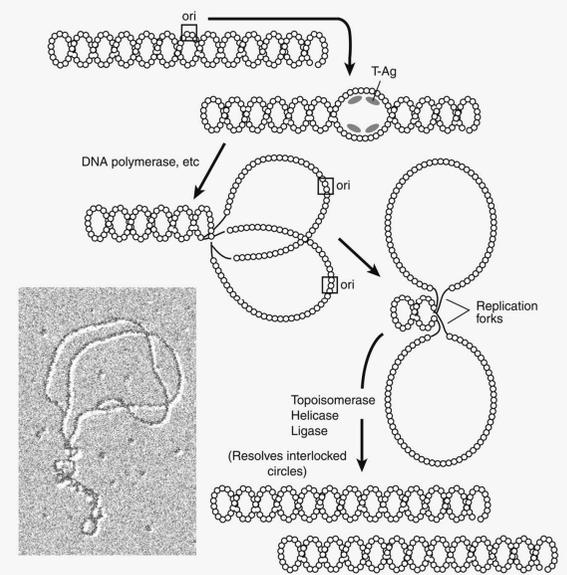


50b

## Репликация ДНК SV-40

Репликация ДНК проходит в **двух направлениях**: циркулярный геном образует **две репликативных вилки**. Образуется лидирующая и отстающая цепи по принципу образования фрагментов Оказаки с последующими сшиванием ДНК-лигазой этих фрагментов.

Клеточные белки:  
ss-ДНК-связывающий белок, топоизомераза, хеликаза, лигаза



51

## Т-антиген-мультифункциональный белок

(фосфопротеин)

• **ДНК-связывающий белок**: 1 молекула Т-антигена связывается с каждым из 4-х пентамеров GAGGC, изменяет локальную структуру ori.

• **АТФ-зависимая хеликаза**: способен входить в дуплекс и раскручивать две цепи ДНК.

• **Фактор транскрипции**: авторегуляция ранней транскрипции, индукция поздней транскрипции вирусных генов

• **Определяет круг хозяев**

• **Индуктирует трансформацию** в непермиссивных клетках

Т-антиген (Tumor antigen)

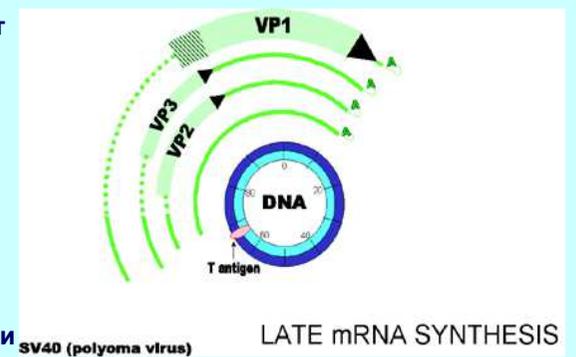
52

## Поздняя транскрипция генов

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

• Ранняя транскрипция продолжается, но на низком уровне.

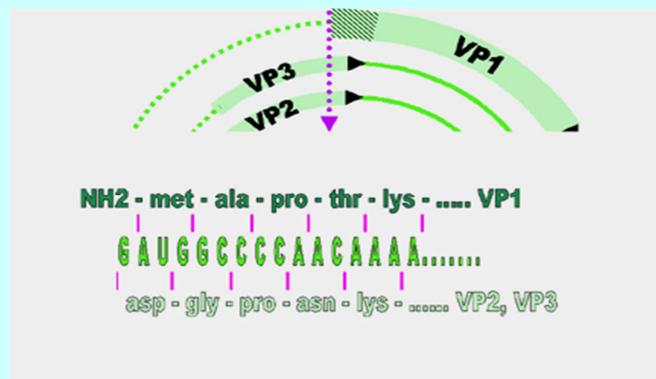
• Т-антиген регулирует возрастание транскрипции с поздних промоторов и понижение уровня транскрипции с ранних промоторов



• мРНК 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

- 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 считывания)
- **Мультифункциональный белок Т-антиген**
- Используются клеточные механизмы синтеза и посттранскрипционной модификации РНК, клеточный аппарат синтеза ДНК, клеточные гистоны для упаковки вирусной ДНК.



56