

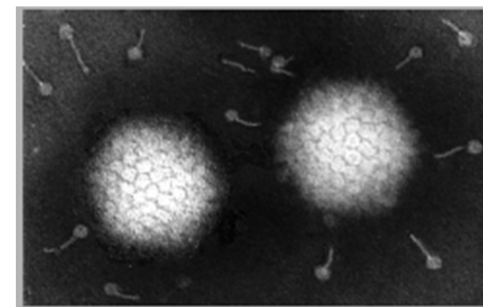
# Вирусология

## Лекция № 9

### АДЕНОВИРУСЫ сем. *Adenoviridae*

- Диаметр 80-100 нм
- Нет внешней оболочки

•Икосаэдрический вирус с отростками (20-30нм), которые расположены на каждой из 12 вершин икосаэдра; играют важную роль в инициации инфекции.



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

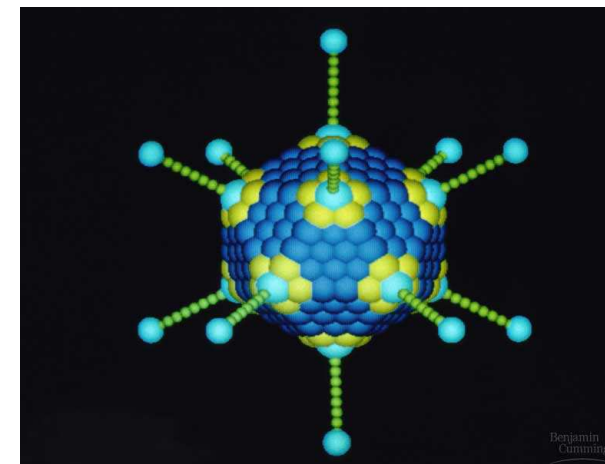
Группа I

1

### сем. *Adenoviridae*

- род *Mastadenovirus*- заражают млекопитающих , 6 видов (A-F) –человека.
- род *Aviadenovirus* — аденовирус птиц (A-E)
- род *Atadenovirus* — аденовирус овец
- род *Siadenovirus* – аденовирус лягушек
- род *Ichtadenovirus* – аденовирус рыб

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

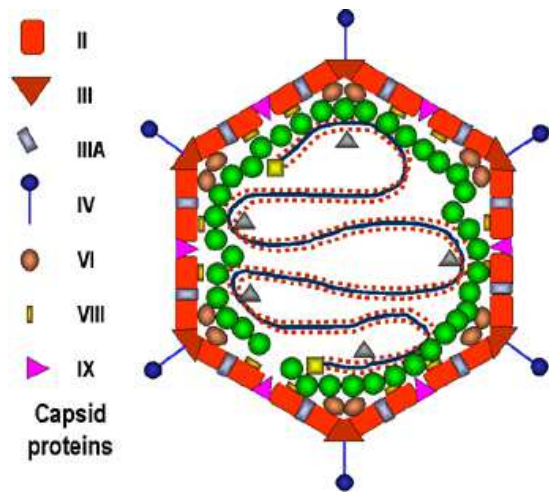


Белки , входящие в вирион, можно разделить на **белки капсида** и **белки кора** (сердцевины)

2

3

## БЕЛКИ КАПСИДА

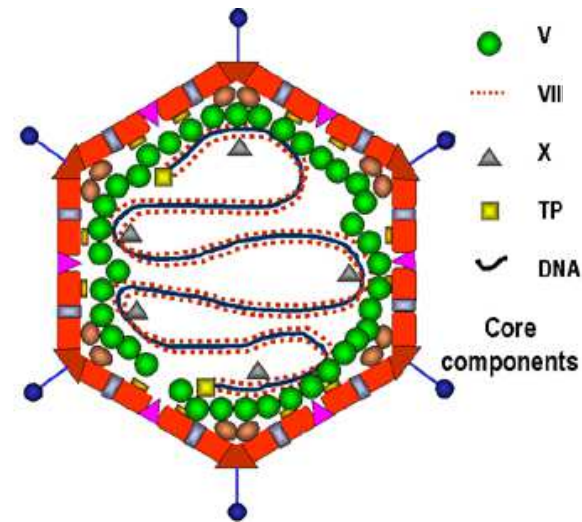


- II-образует гексоны
- III-пентоны
- IIIa –входит в состав гексона, окружающего пентон основания
- IV –отросток (тример)

•VI,VIII, IX - белки ассоциированные с гексонами

4

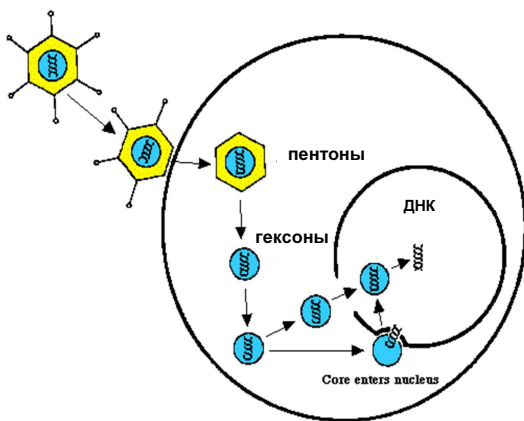
## БЕЛКИ КОРА



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

•X – минорный белок, связанный с ДНК

5



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

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

6

## Литический цикл репликации аденовирусов

делится на раннюю и позднюю фазу

- 24 часа
- **РАННЯЯ ФАЗА** ( 6-8 часов)

Ранняя транскрипция

Условно делят на :

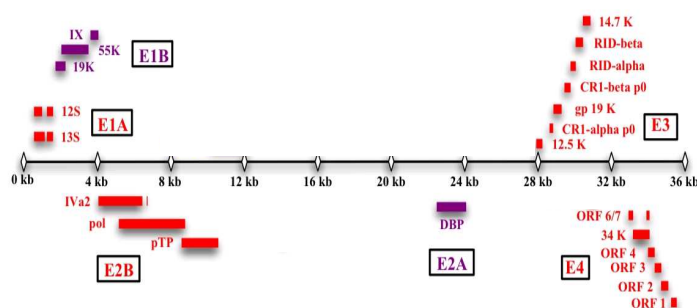
истинно раннюю  
отсрочено раннюю  
замедленно раннюю

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 .

7

## РАННЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ



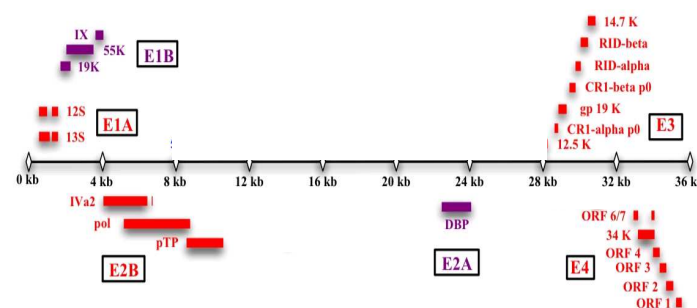
### ИСТИННО РАННИЕ ГЕНЫ

**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

Происходит одновременно с двух цепей вирусной ДНК, с удаленных друг от друга районов.

8

## РАННЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ



### ОТСРОЧЕННО РАННИЕ ГЕНЫ

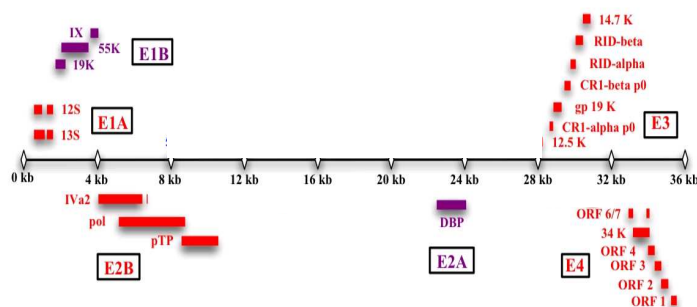
**E1B** две мРНК два белка, влияют на продвижение клетки по циклу и подавляют апоптоз

**E1A и E1B** Т-антигены (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 мРНК в цитоплазму, защита от апоптоза.

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

**E3** Несколько видов мРНК, несколько белков, Располагаются на поверхности клетки и участвуют в защите зараженных клеток от лимфоцитов

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 - TP

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.



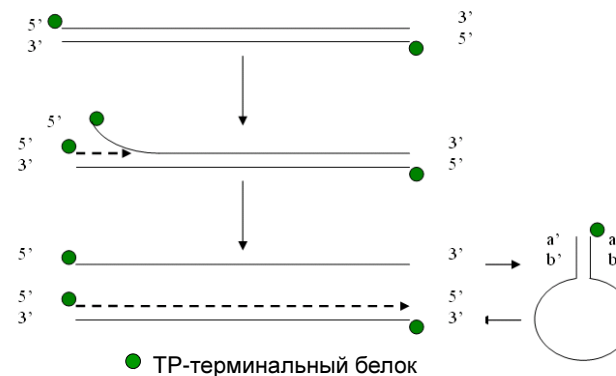
● ТР-терминальный белок

12

## Общая схема репликации ДНК аденовирусов

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

Цепи синтезируются по непрерывному механизму



● ТР-терминальный белок

13

## Инициация синтеза ДНК происходит с участием нуклеотид-белковой затравки

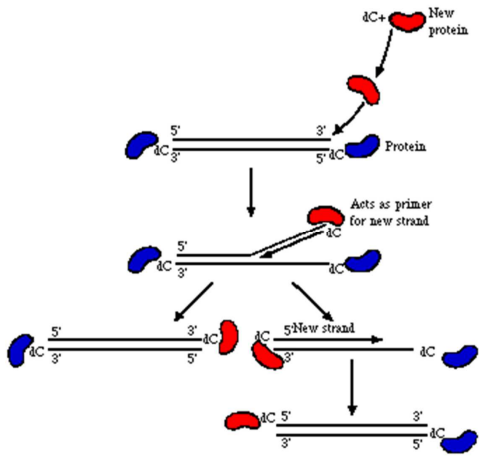
Необходимы вирусная ДНК-полимераза, ТР, dСТР, клеточные ядерные факторы, DBP - ДНК связывающий белок (E2A)

### Праймер ТР+dСТР

ТР 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.

Особых механизмов нет, достигнув конца матрицы, полимеразы «уходит» с матрицы (run-off)



14

## Поздняя транскрипция; образование поздних белков

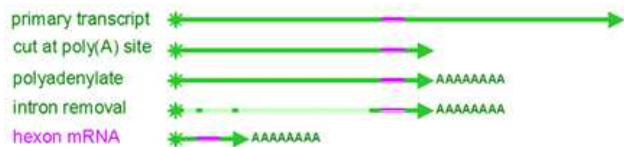
- Для включения поздней транскрипции обязательна репликация ДНК.
- Один общий сильный промотор (MLP) для всех поздних транскриптов.
- Механизм, в результате которого происходит переключение на позднюю транскрипцию, ясен не до конца.
- MLP активируется E1A, также нужны замедленно ранние гены IX и IVa2, клеточные транскрипционные 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

При поздней транскрипции с MLP-промотора образуется один первичный транскрипт, который подвергается процессингу, в результате образуются моноцистронные м РНК



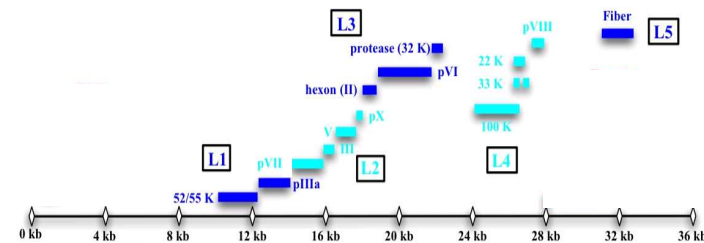
AN EXAMPLE OF PROCESSING:



мРНК, кодирующая белок II (гексоны капсида вируса)

## ПОЗДНЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Поздние м РНК – транскрипты кодируют преимущественно структурные белки.

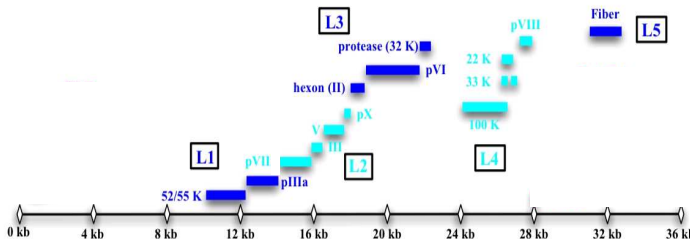


**L1**- первый поздний ген, кодирует структурный белок **IIIa** – входит в состав гексона, окружающего пентон и неструктурный **52/55K** – активатор поздней транскрипции .

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

## 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

## СБОРКА ВИРУСА

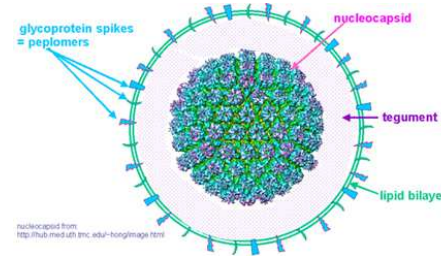
- Синтез структурных белков происходит в цитоплазме
- В цитоплазме образуются капсомеры: гексоны и пентоны и переходят в ядро.
- Сборка частиц аденовирусов происходит в ядре. ДНК входит в сформированный не до конца белковый капсид.
- Происходит дальнейшее созревание капсида.
- После лизиса клетки вирионы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

- Аденовирусы больше по размерам и устроены сложнее, чем паповавирусы
- 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

## Herpesviridae

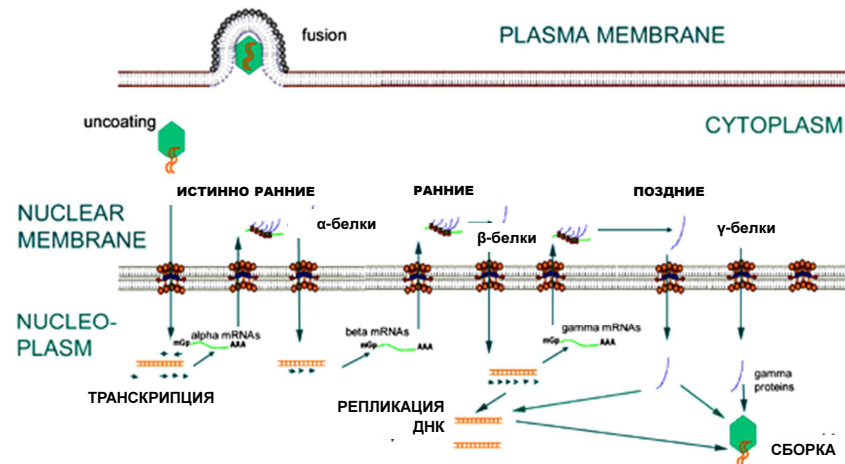


- Диаметр 180-200 нм
- Липопротеидная оболочка
- Икосаэдрический капсид
- Тегумент
- Геном линейная ds ДНК, 120-240 тыс п.н., концевые повторы.

Группа I

21

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



22

### Клетки ,зараженные вирусом Герпеса



23

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



24

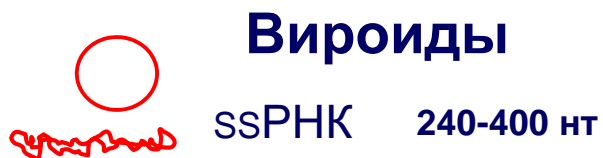
## Субвирусные инфекционные агенты

### **ВИРОИДЫ, САТЕЛЛИТЫ**

(вирусы-сателлиты, сателлитные нуклеиновые кислоты)

### **ПРИОНЫ.**

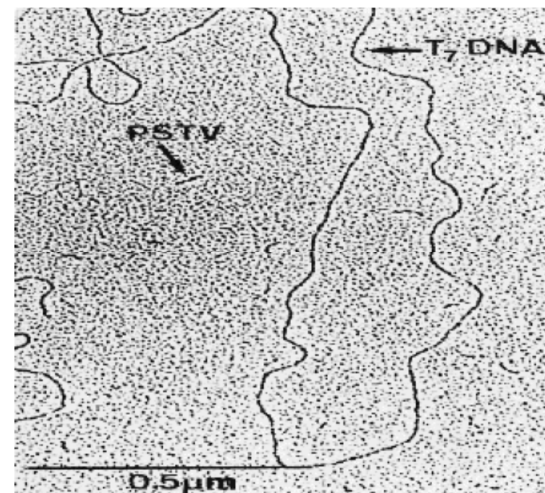
25



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

26

Электронная микрофотография смеси очищенных препаратов РНК ВВКК (PSTVd) ДНК бактериофага T7



27

# Вироид веретеновидности клубней картофеля

Potato spindle tuber viroid (PSTVd)

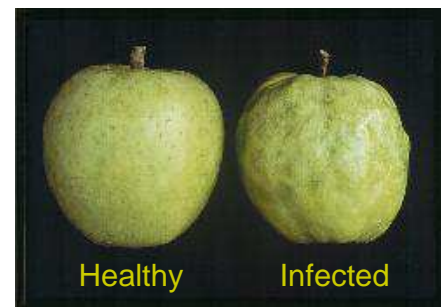


PSTVd клубни картофеля

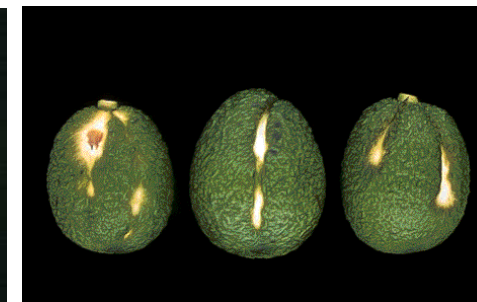


PSTVd томаты

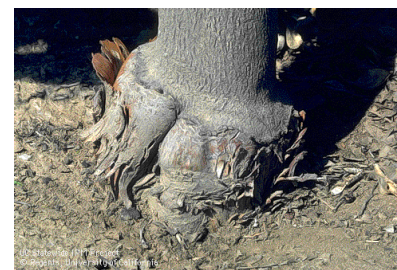
# Вироид хлоротической пятнистости (крапчатости) хризантем Chrysanthemum chlorotic mottle viroid (CChMVd)



Apple crinkle fruit viroid



Avocado sun blotch viroid



Citrus exocortis viroid

# Вироид задержки роста хмеля (HSVd) Вироид латентной мозаики персиков (PLMVd)

Hop Stunt Viroid (HSVd) and Peach latent mosaic viroid (PLMVd)



Plum Dapple by HSVd



Peach infected with PLMVd



Семейство *Pospiviroidae* -27 виридов  
(вириод веретеновидности клубней картофеля  
*potato spindle tuber viroid*)

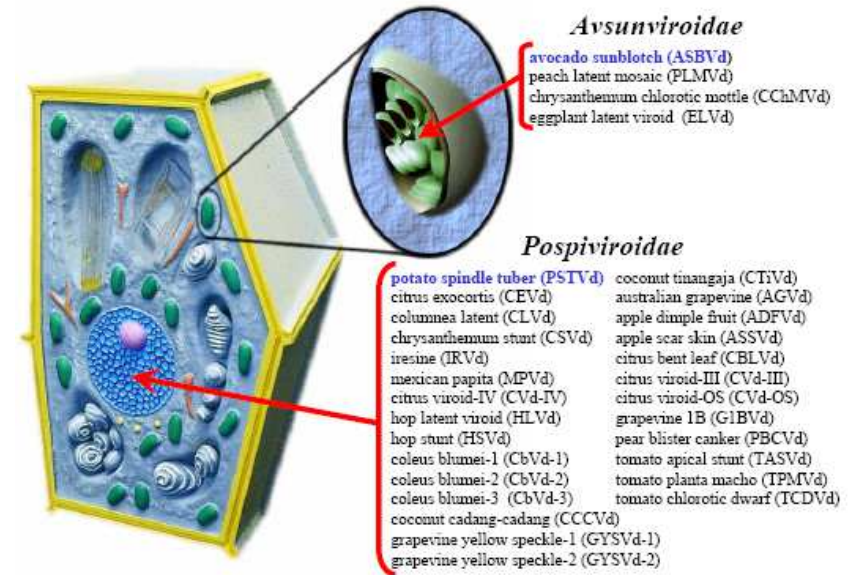
Семейство *Avsunviroidae* - 4 вирида  
(вириод солнечной пятнистости авокадо  
*avocado sunblotch viroid*)

**CLASSIFICATION OF VIROID**

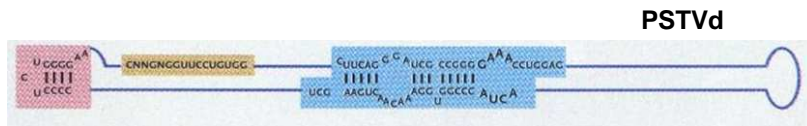
Family	Genus	Example
<u>Pospiviroidae</u>	<u>Pospiviroid</u>	<u>Potato spindle tuber viroid</u>
	<u>Hostuviroid</u>	<u>Hop stunt viroid</u>
	<u>Cocadviroid</u>	<u>Coconut cadang-cadang viroid</u>
	<u>Apscaviroid</u>	<u>Apple scar skin viroid</u>
	<u>Coleviroid</u>	<u>Coleus blumei viroid 1</u>

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

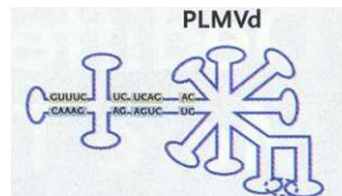
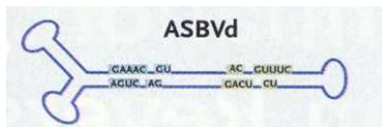
**ЛОКАЛИЗАЦИЯ ВИРОИДОВ В КЛЕТКЕ**



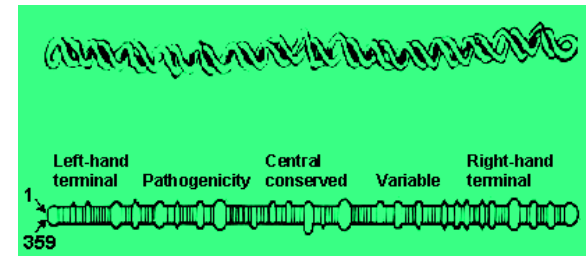
**Pospiviroidae**



**Avsunviroidae**



**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 виридов
- «T» - терминальные слабоконсервативные домены, образуют выпетливания, играют роль в транспорте.

## РНК виридов не кодирует белки

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

36

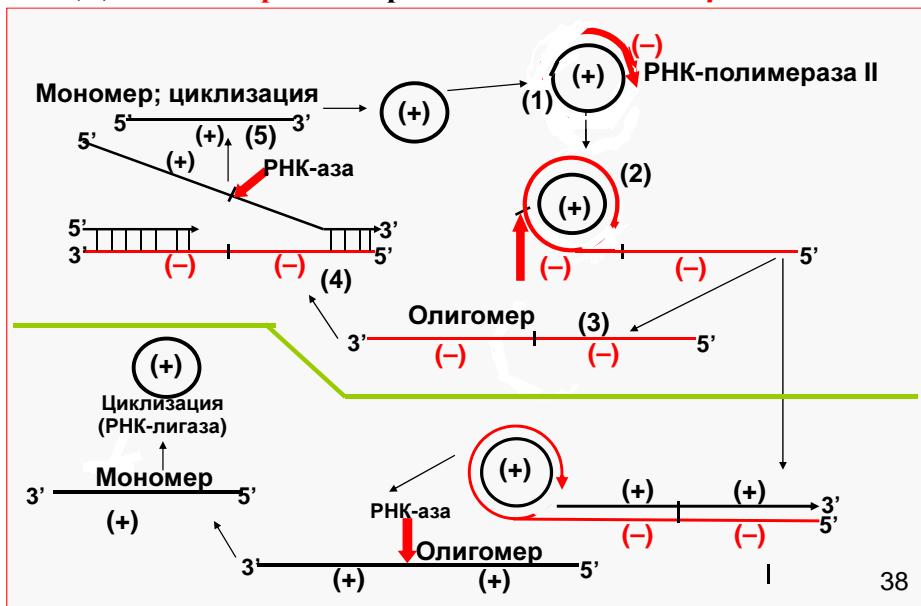
## РЕПЛИКАЦИЯ ВИРОИДОВ

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

37

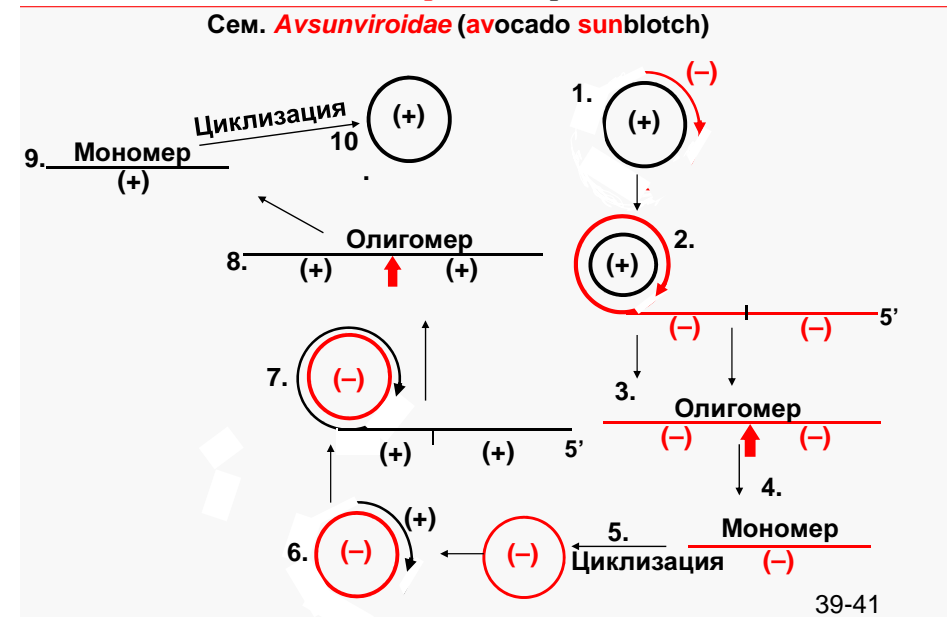
### Схемы репликации вириодных РНК

#### (А) «Асимметричная» репликация Сем. *Pospiviroidae*

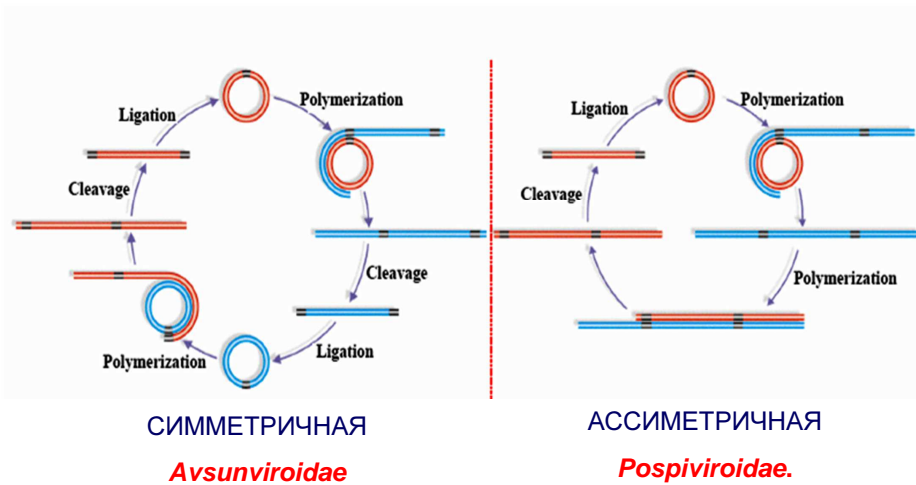


### Схемы репликации вириодных РНК

#### (Б) «Симметричная» репликация Сем. *Avsunviroidae* (avocado sunblotch)



## Сравнение ассиметричной и симметричной схем репликации виридов



42

## Распространение виридов

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

43

## Ретровириод

- Обнаружен в гвоздике (275 нт)
- Типичная для виридов структура, «симметричная» репликация.
- Передается только вертикально
- Обнаружена ДНК-копия
- Связан с параретровирусом кольцевой гравировки гвоздики

44

## Происхождение виридов.

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

45

## **Причина патогенности виридов**

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