

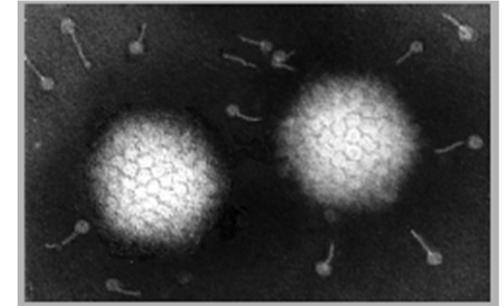
Вирусология

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

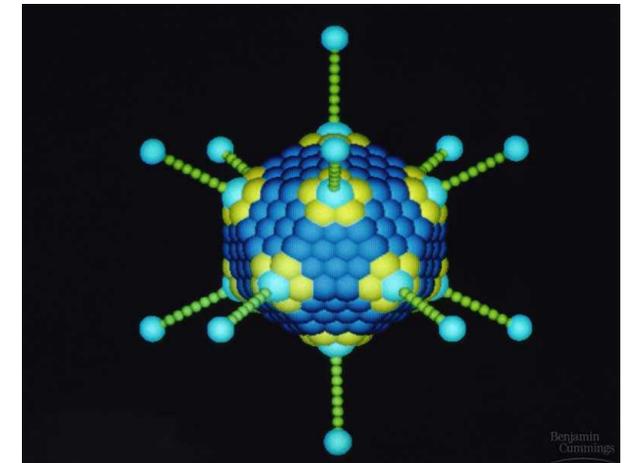
Группа I

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)

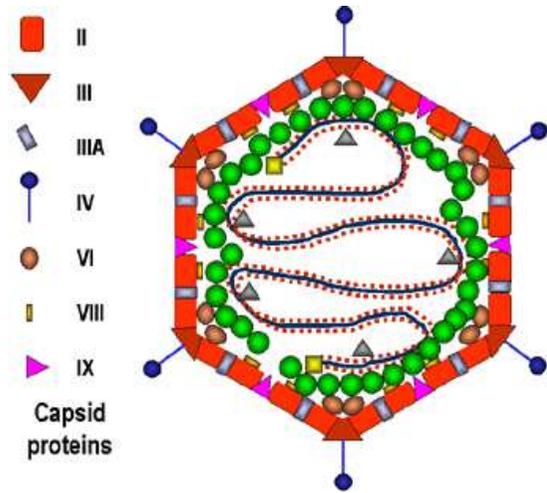


Белки , входящие в вирион, можно разделить на **белки капсида** и **белки кора** (сердцевины)

2

3

БЕЛКИ КАПСИДА

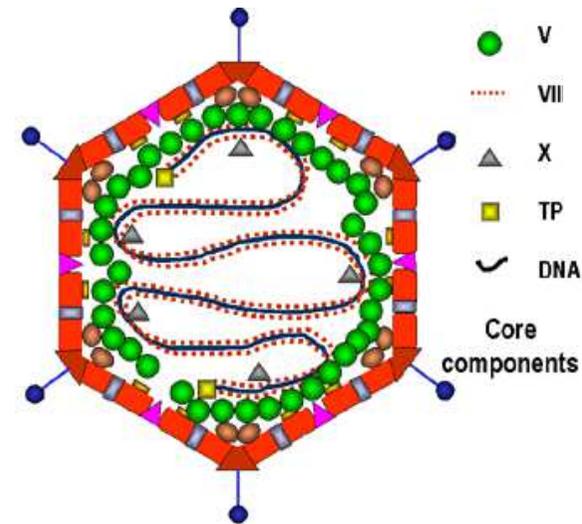


- II-образует гексоны
- III-пентоны
- IIIa –входит в состав гексона, окружающего пентон основания
- IV –отросток (тример)

•VI,VIII, IX - белки ассоциированные с гексонами

4

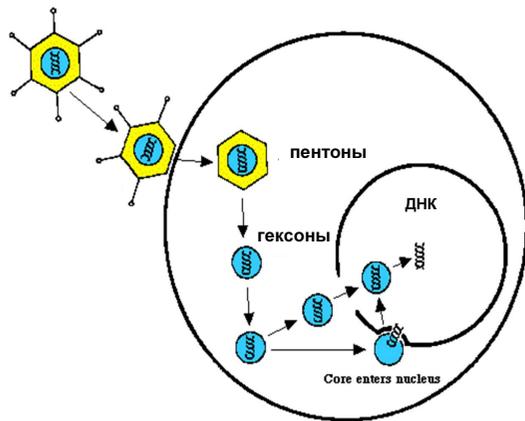
БЕЛКИ КОРА



- 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

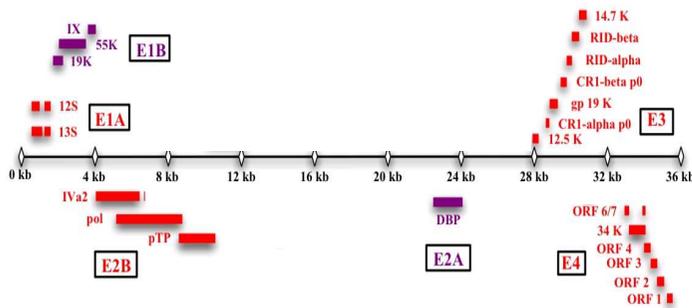
Условно делят на : истинно раннюю
отсрочено раннюю
замедленно раннюю

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



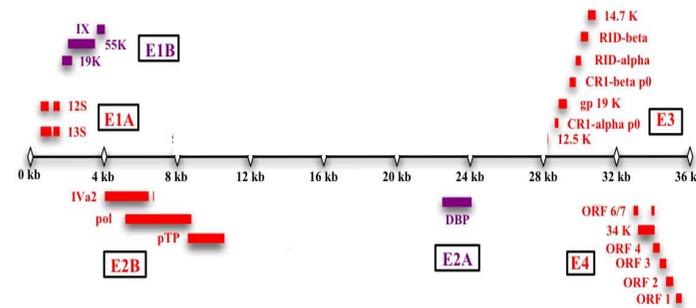
ИСТИННО РАННИЕ ГЕНЫ

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

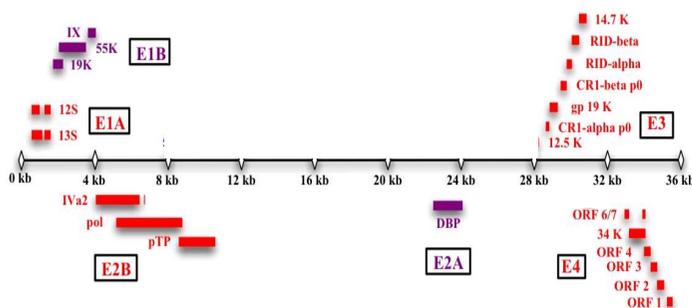
E1B две мРНК два белка, влияют на продвижение клетки по циклу и подавляют апоптоз

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.



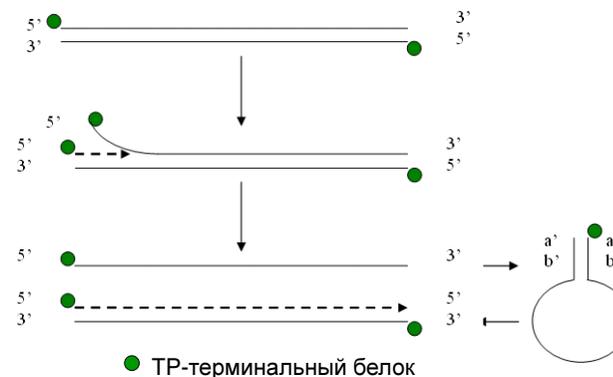
● ТР-терминальный белок

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



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.

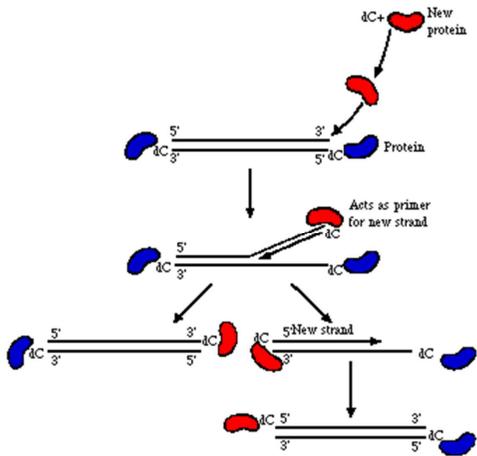
Особых механизмов нет, достигнув конца матрицы, полимеразы «уходит» с матрицы (run-off)

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 мРНК



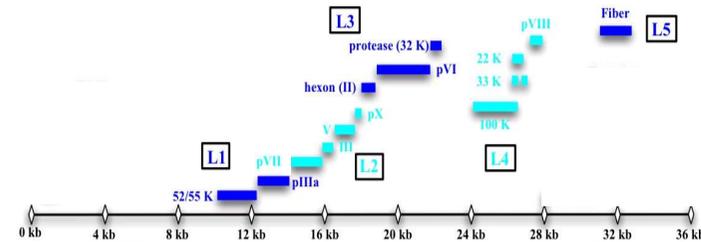
AN EXAMPLE OF PROCESSING:



мРНК, кодирующая белок II (гексоны капсида вируса)

ПОЗДНЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Поздние мРНК – транскрипты кодируют преимущественно структурные белки.

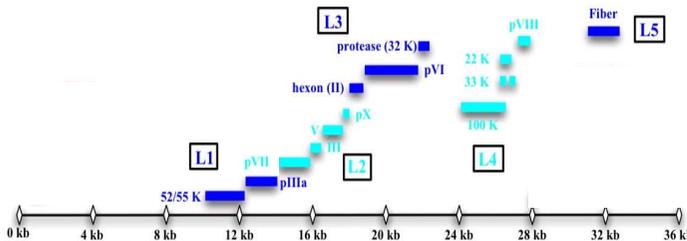


L1- первый поздний ген, кодирует структурный белок **IIIa** – входит в состав гексона, окружающего пентон и неструктурный **52/55K** – активатор поздней транскрипции .

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

ПОЗДНЯЯ ТРАНСКРИПЦИЯ

Поздние мРНК – 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

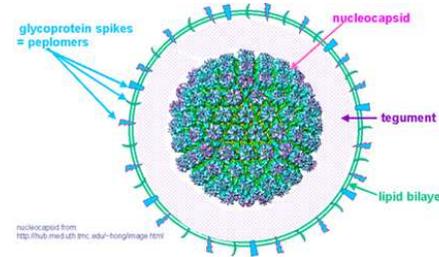
СБОРКА ВИРУСА

- 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

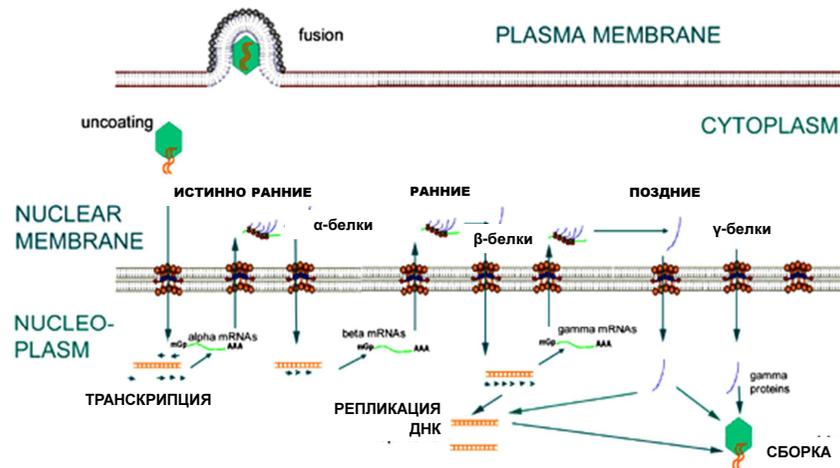


- Диаметр 180-200 нм
- Липопротеидная оболочка
- Икосаэдрический капсид
- Тегумент
- Геном линейная ds ДНК, 120-240 тыс п.н., концевые повторы.

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

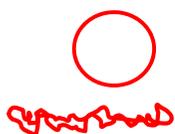
ВИРОИДЫ, САТЕЛЛИТЫ

(вирусы-сателлиты, сателлитные нуклеиновые кислоты)

ПРИОНЫ.

25

Вироиды

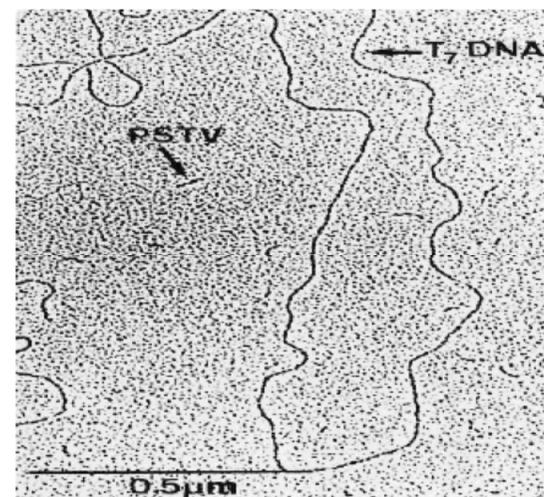


ssPHK 240-400 нт

- 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)

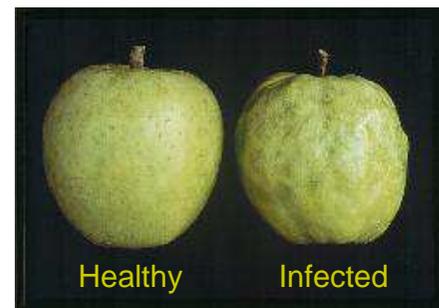


PSTVd клубни картофеля

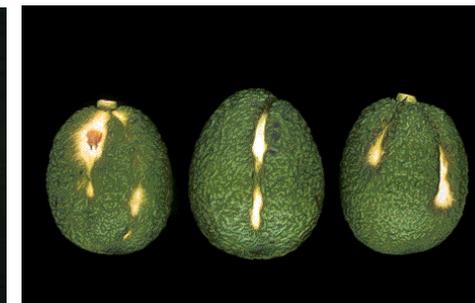


PSTVd томаты

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)

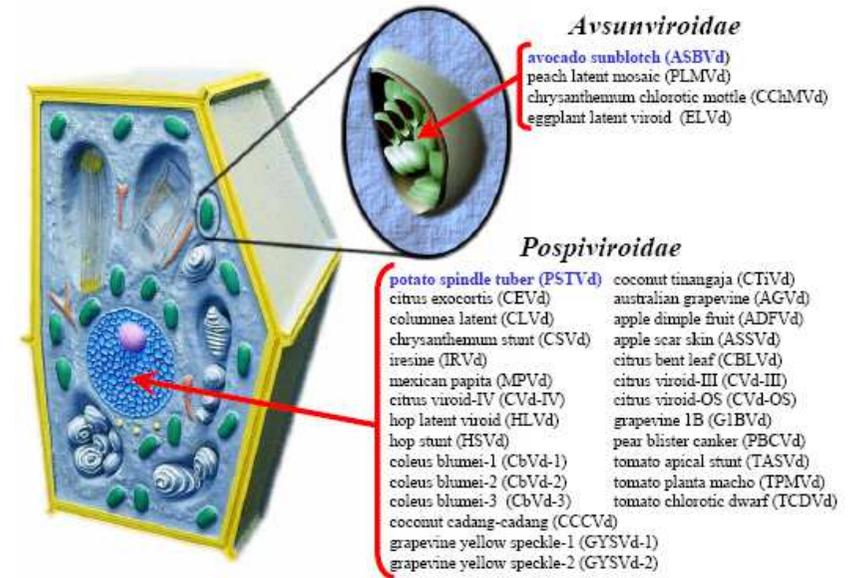
Семейство *Avsunviroidae* - 4 вирида
(вириод солнечной пятнистости авокадо
avocado sunblotch viroid)

CLASSIFICATION OF VIROID

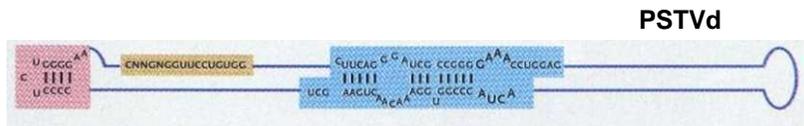
Family	Genus	Example
<u>Pospiviroidae</u>	<u>Pospiviroid</u>	<u>Potato spindle tuber viroid</u>
	<u>Hostuviroid</u>	<u>Hop stunt viroid</u>
	<u>Cocadviroid</u>	<u>Coconut cadang-cadang viroid</u>
	<u>Apscaviroid</u>	<u>Apple scar skin viroid</u>
	<u>Coleviroid</u>	<u>Coleus blumei viroid 1</u>

<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>

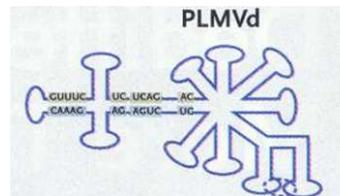
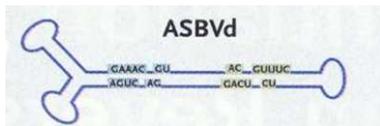
ЛОКАЛИЗАЦИЯ ВИРОИДОВ В КЛЕТКЕ



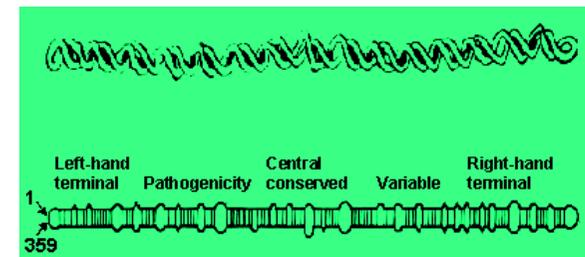
Pospiviroidae



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

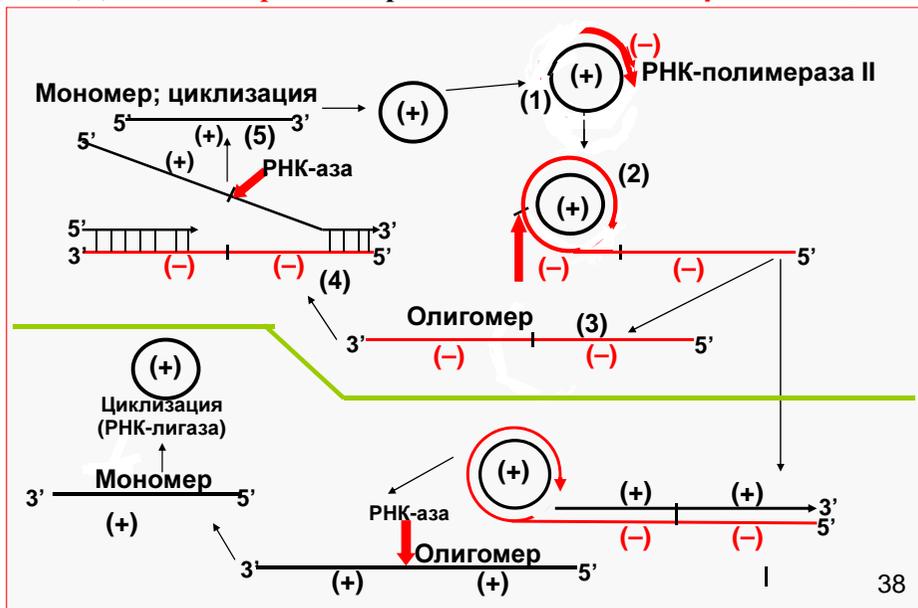
РЕПЛИКАЦИЯ ВИРОИДОВ

- 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

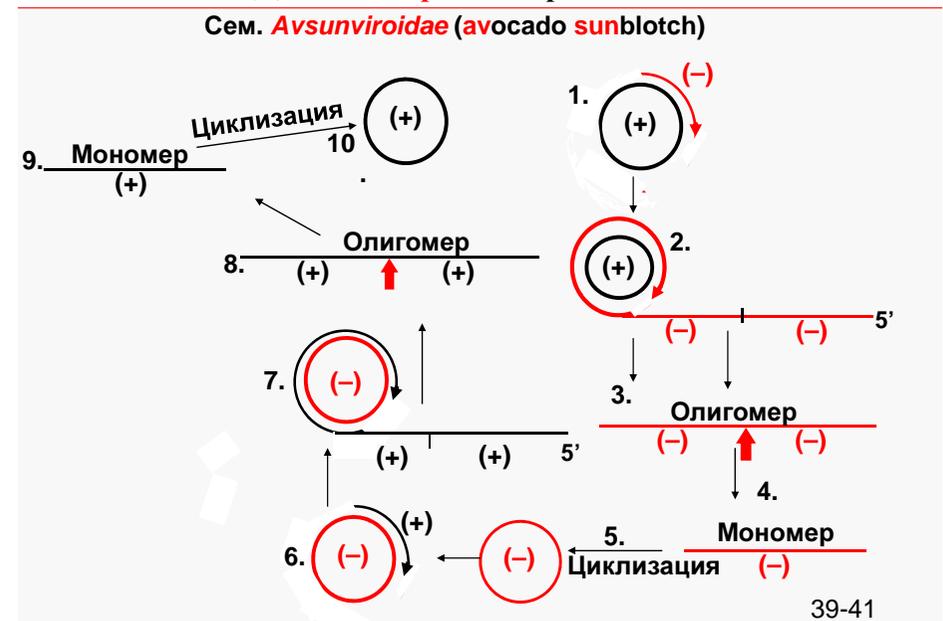
Схемы репликации вириодных РНК

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

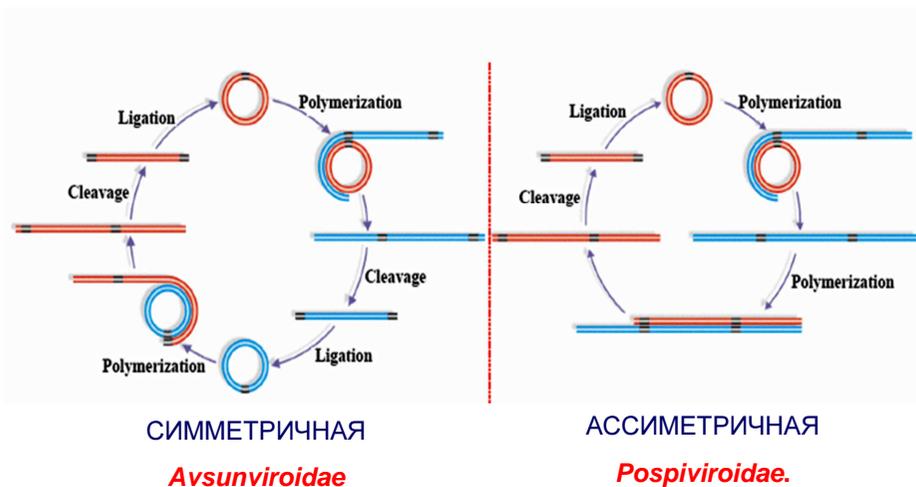


Схемы репликации вириодных РНК

(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.**