

# РЕПЛІКАЦІЯ ВІРУСІВ У КЛІТИНІ ХАЗЯЇНА. 1.

Професор,  
доктор біологічних наук  
Олександр Ходосовцев

Херсон - 2020

# План лекції

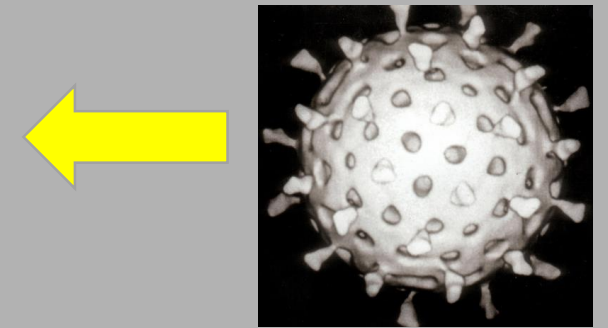
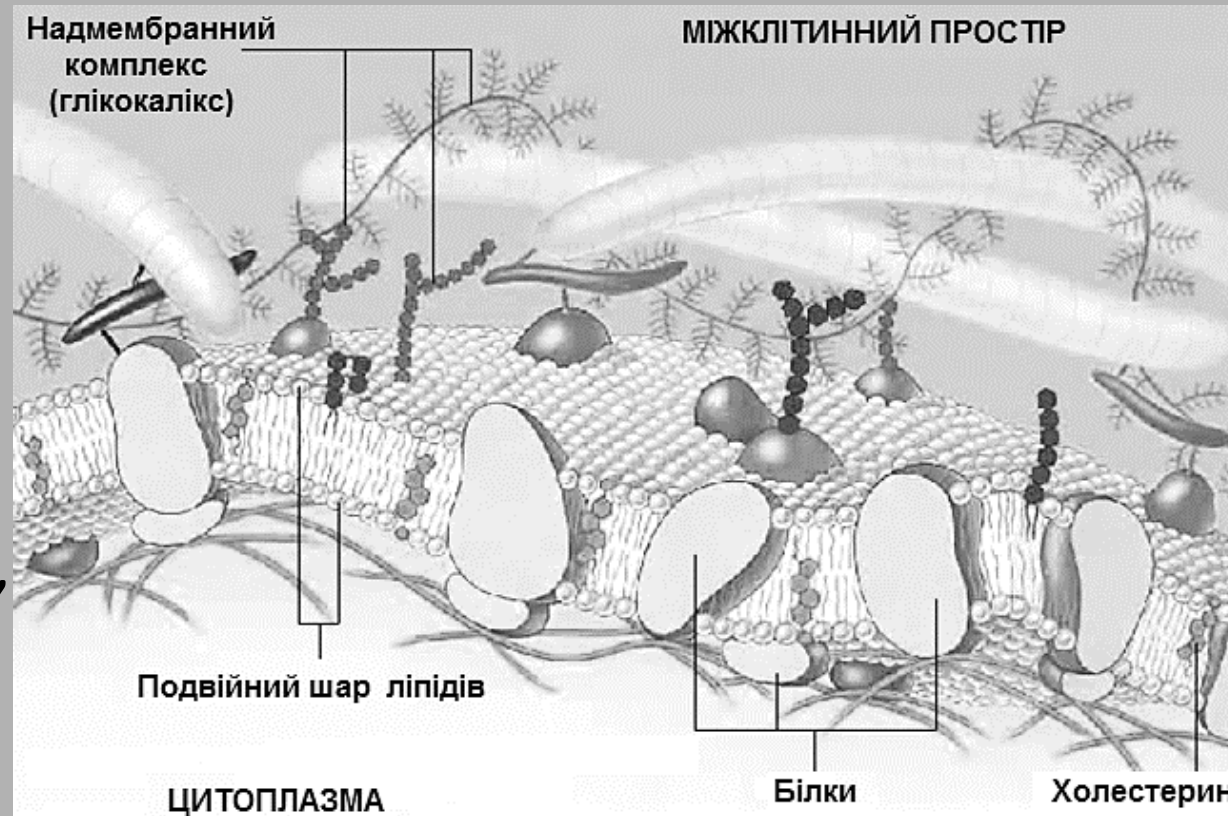
1. Вхід до клітини і внутрішньоклітинний транспорт
2. Експресія генів вірусів

# 1. Вхід до клітини і внутрішньоклітинний транспорт

# Віруси тварин: прикріплення.

## 1) Зв'язуванням вірусної частки зі специфічним рецептором

Рецептори на мембрані або клітинній оболонці:  
а) поверхневі білки,  
б) вуглеводи,  
в) ліпіди.



Білки прикріплення на вірусній частці.

Білки прикріплення, що виступають над поверхнею віріона: гемаглютинін вірусу грипу (Orthomyxoviridae), VP4 ротавірусу (Reoviridae), фімбрії аденовірусів (Adenoviridae). У ентеровірусів (Picornaviridae) антирецептор знаходиться на дні так званих каньйонів – поглиблень на поверхні капсиду.

**Тропізм вірусу** – здатність вірусів заражати клітини певного виду або типу.

Віруси: гепатотропні, нейротропні тощо.

**Послідовне зв'язування з кількома рецепторами клітини**

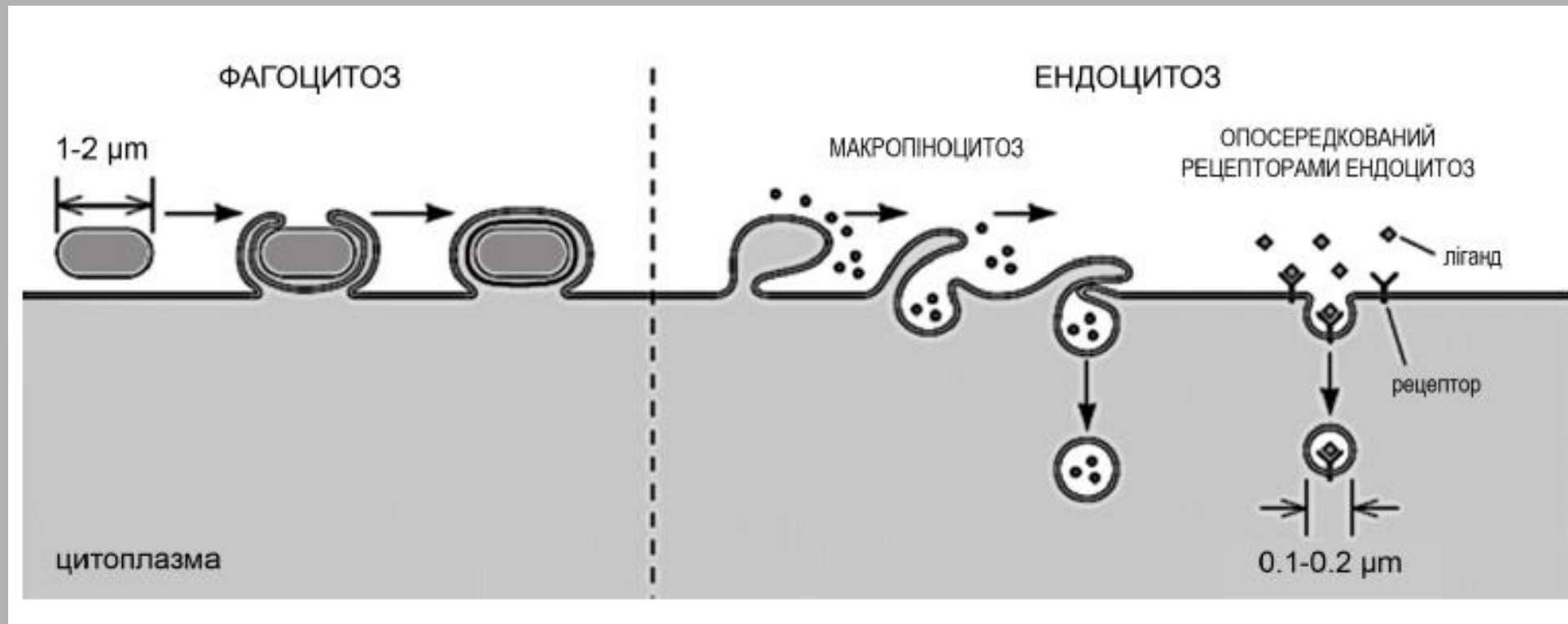
Вторинні рецептори: гепарини, *N*-ацетилнейрамінова кислота.

# Первинні рецептори та корецептори

Молекула	Нормальна функція	Вірус	Тип рецептора
ICAM-1	Зчеплення з іншими клітинами через CD54	Більшість риновірусів	Первинний
CAR (рецептор Коксакі-аденовірусів)	Унікальний білок з невідомою функцією	Багато аденовірусів, віруси Коксакі	Первинний
$\alpha_v\beta_x$ інтегрин	Зчеплення з іншими клітинами через вітронектин	Аденовіруси	Корецептор
$\alpha_v\beta_6$ інтегрин	Зчеплення з іншими клітинами через вітронектин	Вірус ящура	Первинний
CD4	Ліганди для МНС* II Т-хелперних клітин	ВІЛ-1, ВІЛ-2, SIV**	Первинний
CCR5	Білок з 7 трансмембранними доменами, який зв'язує С-С хемокіни	ВІЛ-1, ВІЛ-2, SIV	Корецептор
CXCR4	Білок з 7 трансмембранними доменами, який зв'язує С-Х-С хемокіни	ВІЛ-1, ВІЛ-2, SIV	Корецептор
Вірус-специфічний IgG	Зв'язується з вірусом	Вірус лихоманки Денге	Первинний
N-ацетилнейрамінова кислота (термінальний залишок)	Залишок у вуглеводному ланцюзі глікопротеїнів і гліколіпідів	Віруси грипу А, В, С і віруси деяких інших родин	Первинний
Фосфатидилсерин	Компонент ліпідної мембрани	Вірус везикулярного стоматиту	Первинний

# Віруси тварин: вхід до клітини

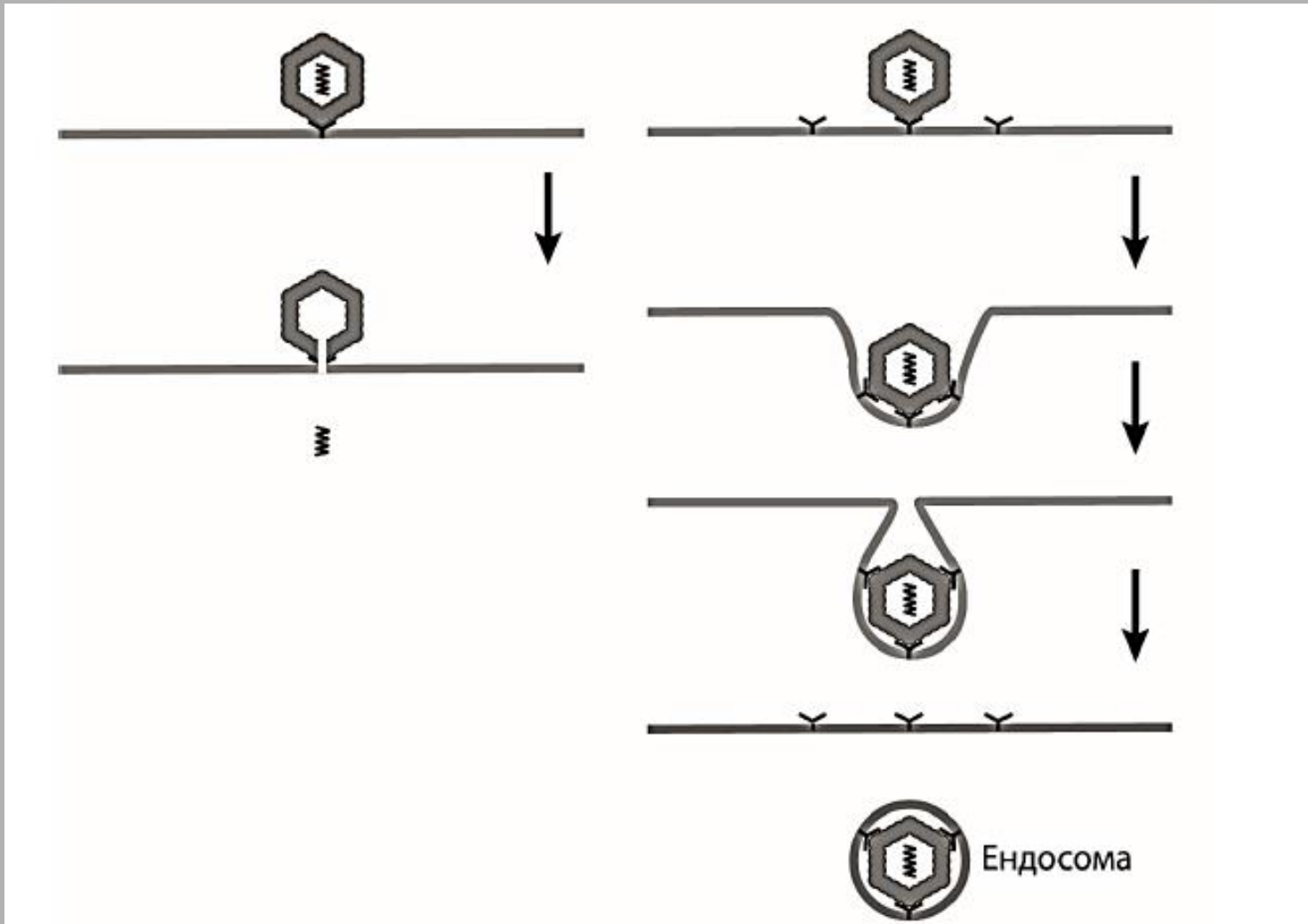
*Процеси енергозалежні*



*(за Enquest et al., 2015)*

Ендоцитоз залежить від білка клатрина та кавеоліна (інвагінація мембран та утворення ендосом).

# Проникнення вірусів, що не мають ліпопротеїнової оболонки



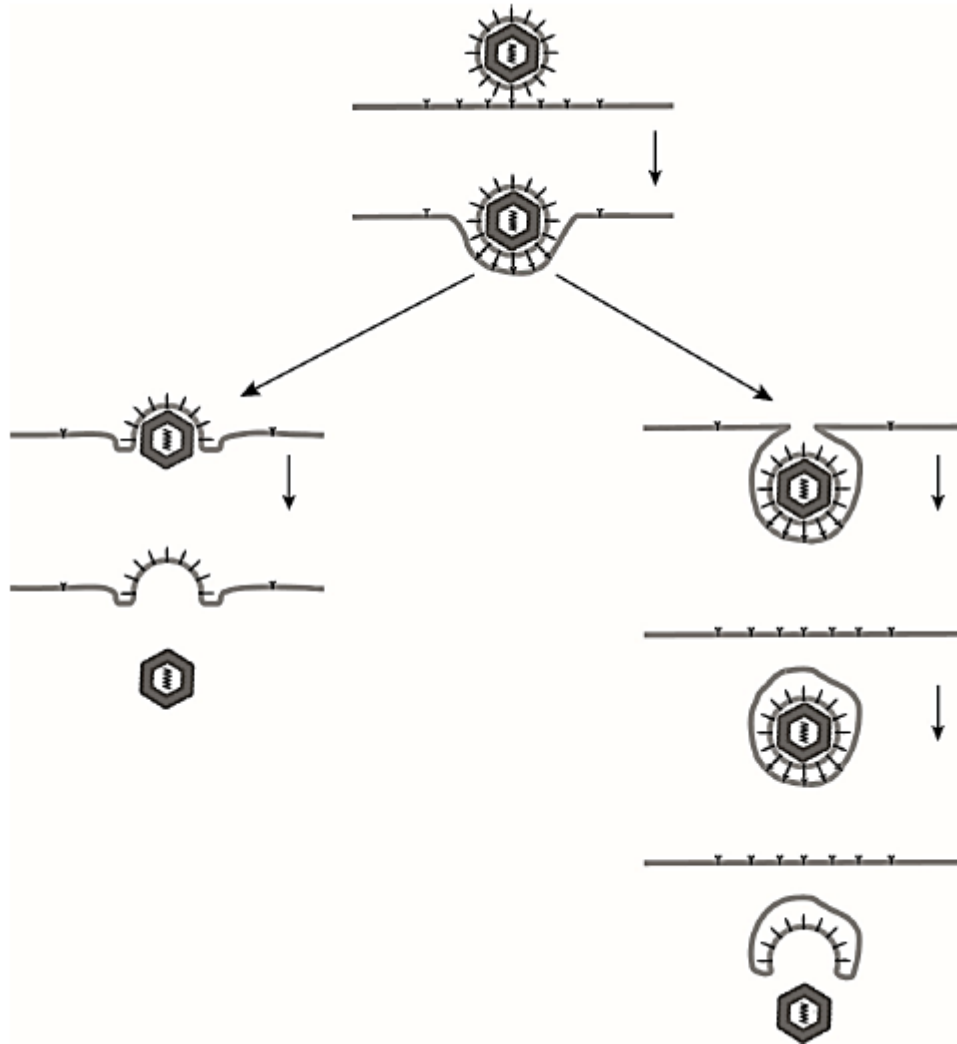
Через пору: пікорнавіруси.

Лізіс мембран ендосом:  
аденовіруси.

(за Шамрай, Леонтьев, 2020)



# Проникнення вірусів, які мають ліпопротеїнову оболонку

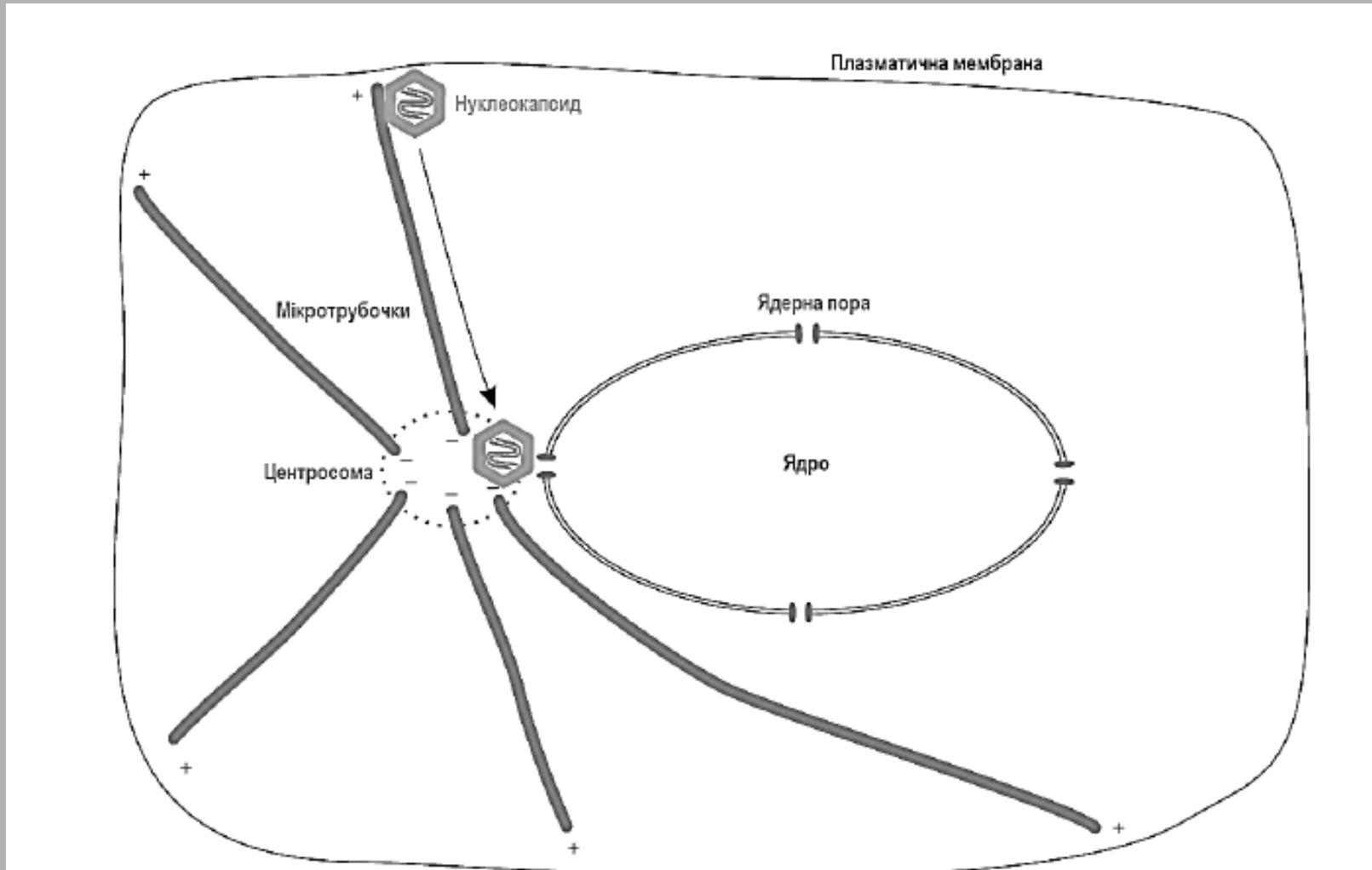


Злиття плазматичних мембран.

Найбільше відомостей для ВІЛ-1.

(за Шамрай, Леонтьев, 2020)

# Віруси тварин: внутрішньоклітинний транспорт



Моторні білки:  
дінеїни,  
кінезини,  
актин.

Транспортуються:

герпесвіруси,  
аденовіруси,  
парвовіруси,  
ретровіруси.

Швидкість: 1-2 м/с.

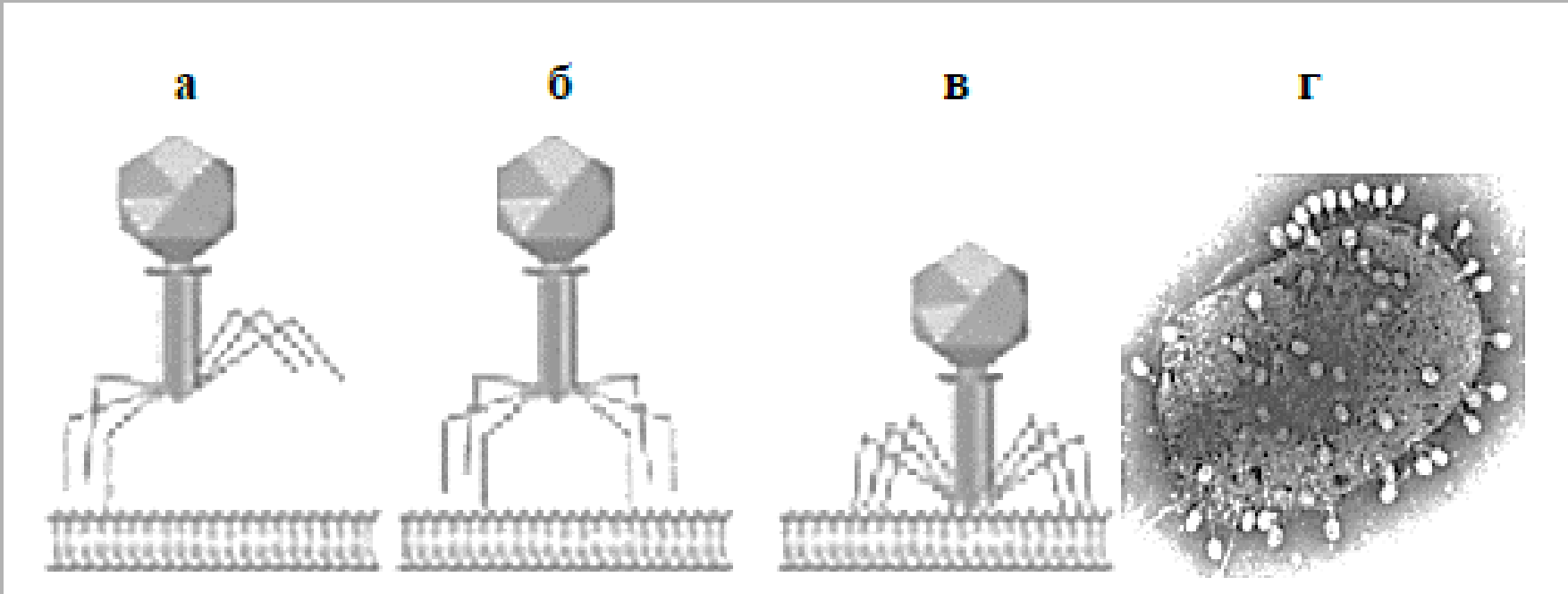
(за Carter, Saunders, 2007)

**Роздягання вірусу** або **декапсидація** можна визначити як повне або часткове видалення капсиду з вивільненням генома вірусу.

Цей процес може відбуватися:

- на поверхні клітини; капсид залишається на зовнішній поверхні клітини;
- у ендосомі;
- у цитоплазмі;
- біля ядерної пори;
- усередині ядра.

# Бактеріофаги: прикріплення



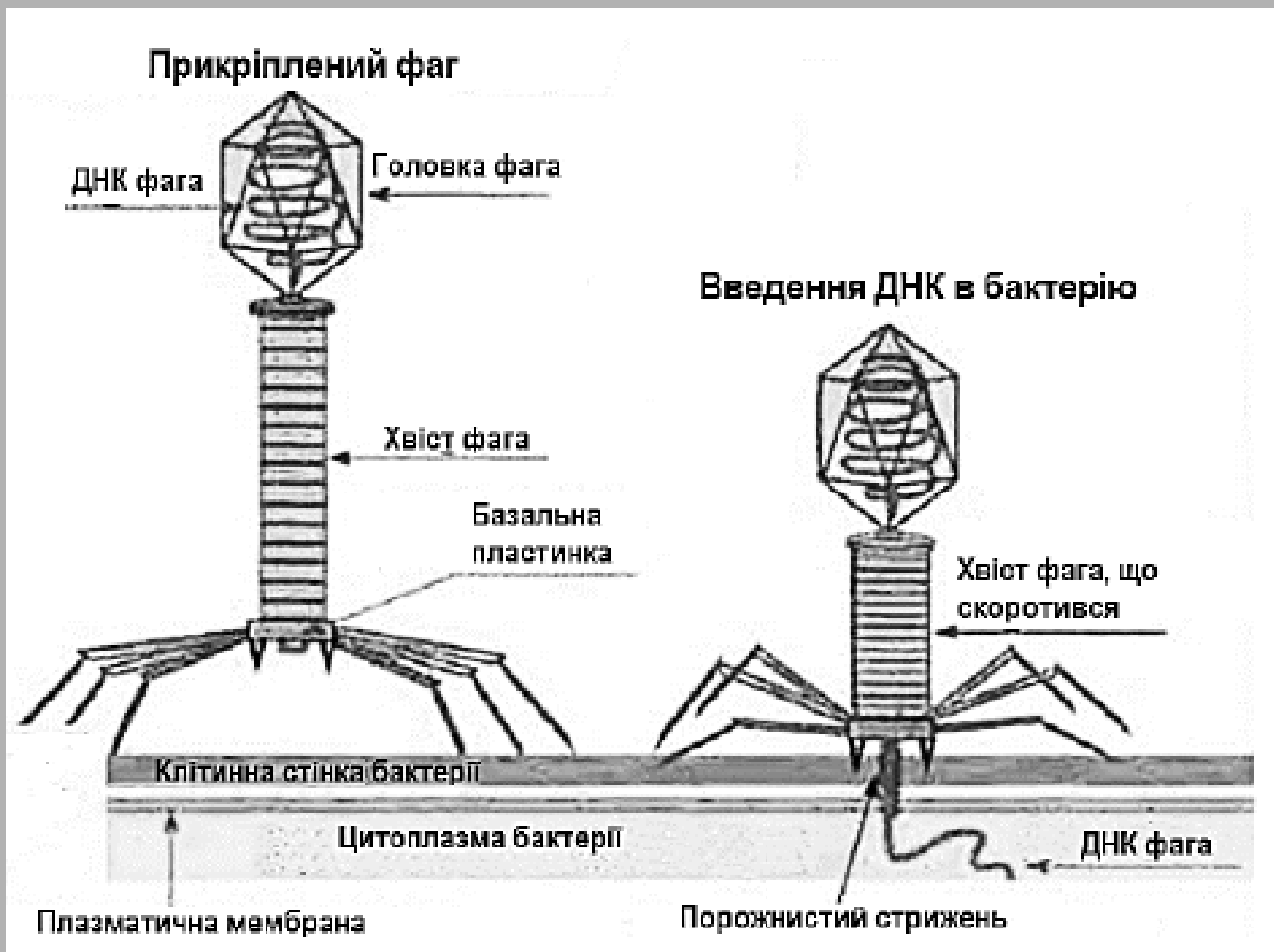
*(за Шамрай, Леонтьев, 2020)*

Плазматична мембрана (поетапно)

Джгутик бактерій



# Вхід генома інших бактеріофагів



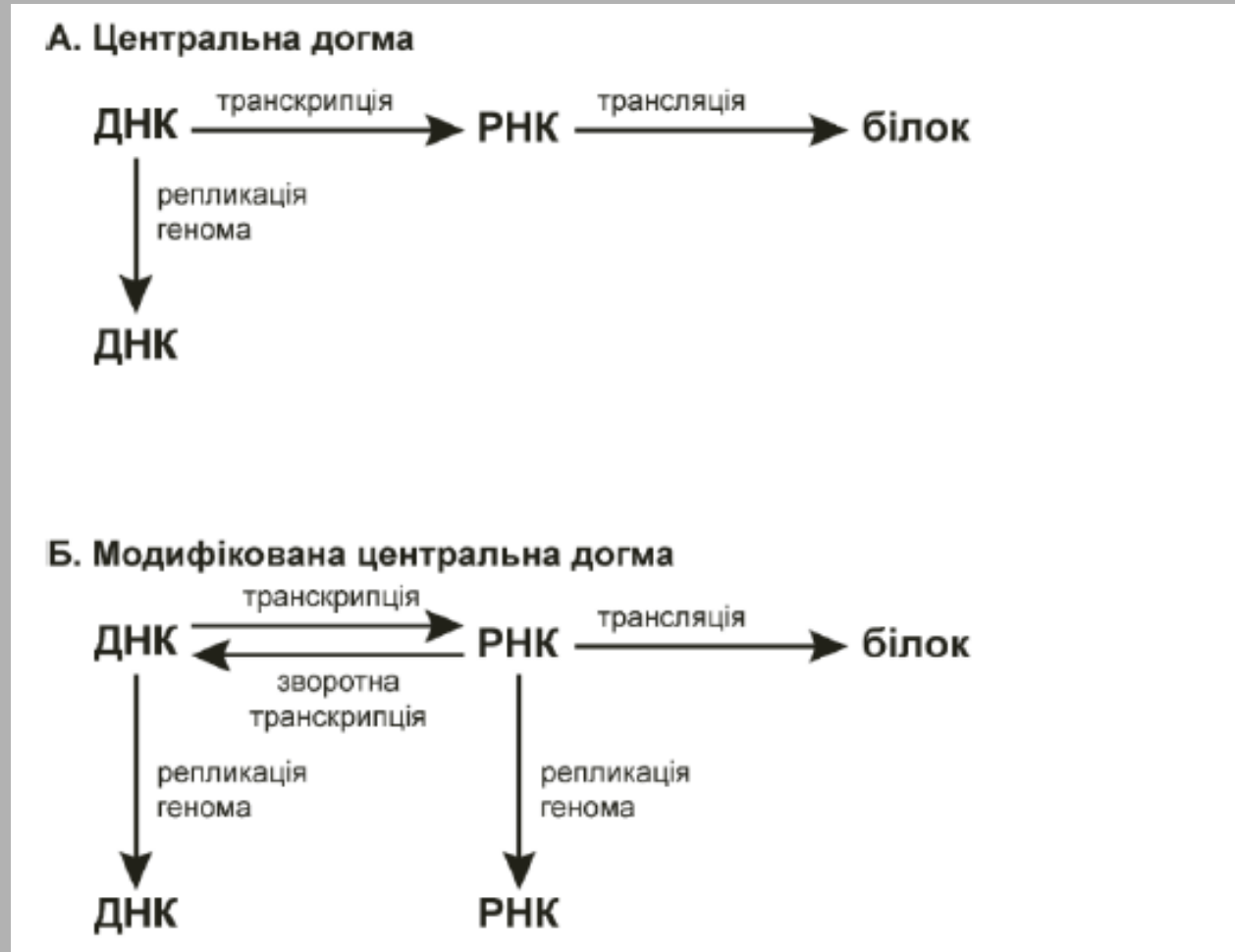
## Фаг T4

144 АТФ, що з'єднані з фагом забезпечують енергетику процесу

(за Шамрай, Леонтьев, 2020)

## 2. Експресія генів

**Експресія генів** – це процес, в ході якого спадкова інформація, представлена в геномі у вигляді послідовності нуклеотидів, перетворюється у функціональний продукт – білок або РНК.



## **Транскрипція у вірусів, які мають ДНК-геноми, і провірусної ДНК ретровірусів в еукаріотичній клітині.**

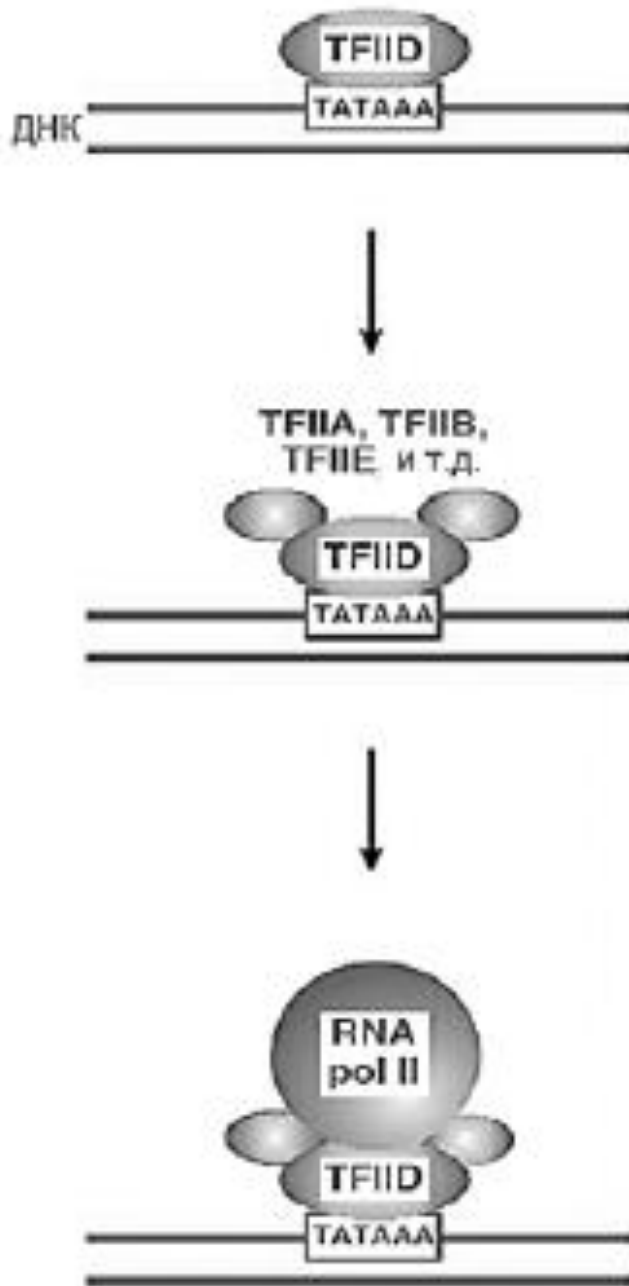
**Енхансери** – послідовності, які містять ділянки зв'язування для *факторів транскрипції*, які впливають на інтенсивність транскрипції.

**Промотори** – зазвичай передуючі гену послідовності нуклеотидів, які розпізнає фермент РНК-полімераза; «вмикачі» транскрипції.

**ТАТА-бокси** (консенсусні послідовності ДНК) розташовані за 25–30 пар нуклеотидів від ділянки початку транскрипції.

**Термінатори** – послідовності, які примушують фермент припинити транскрипцію.





TFIID є комплексом (фактором транскрипції), що складається з 13 поліпептидів, один з яких є білком, що зв'язує ТАТА-бокс (в промоторі).

До клітинних факторів транскрипції, які зв'язуються з **енхансерами**, належать зокрема такі:

- AP-1 і AP-2 (activator proteins 1 and 2)
- Sp1 (stimulatory protein 1)
- NF-κB (nuclear factor κB).

## ДНК-залежна РНК-полімераза



Використовується клітинна,  
якщо транскрипція в ядрі



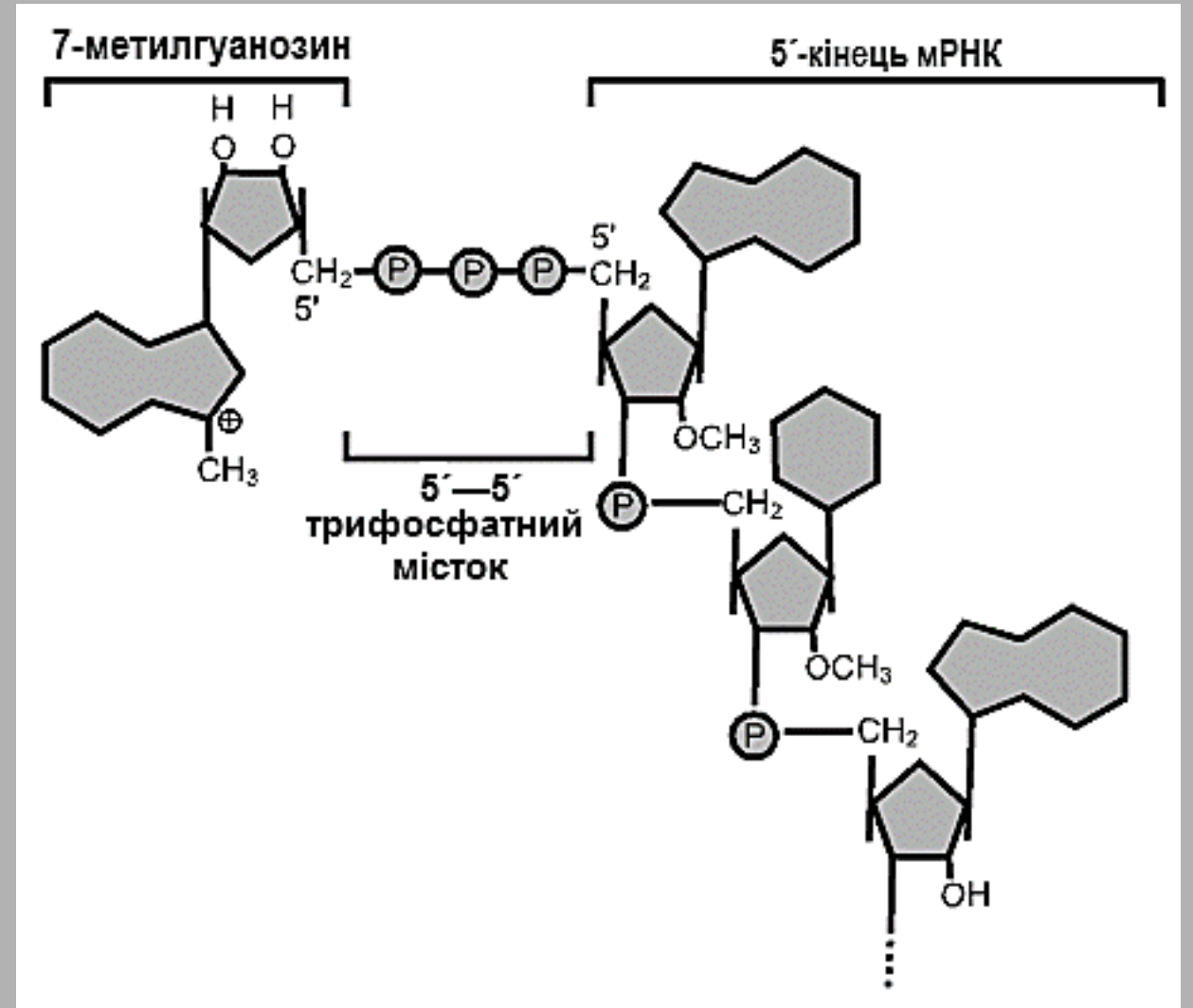
Використовується вірусна (закодована),  
якщо транскрипція в цитоплазмі

# Кепування і поліаденілювання

Кеп є 7-метилгуанозинтрифосфатом, приєднаним до кінцевого нуклеотиду мРНК 5'–5' зв'язком (але не звичайним для зв'язування нуклеотидів 5'–3' зв'язком).

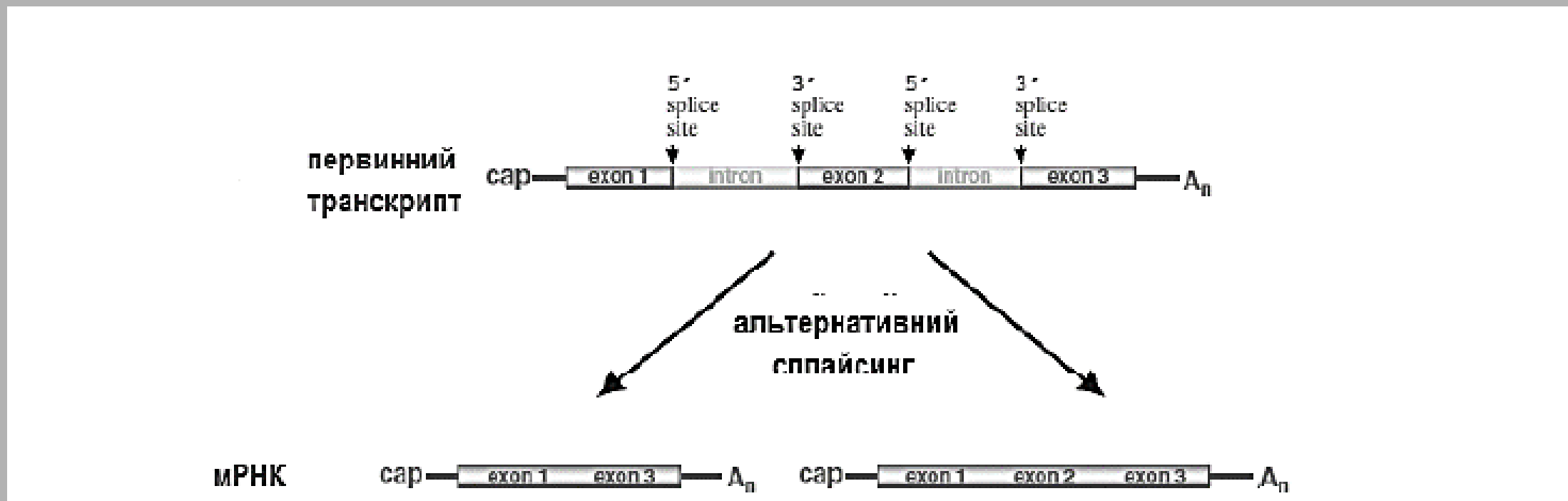
Функції:

- допомагає транспорту мРНК з ядра в цитоплазму;
- захищає мРНК від руйнування екзонуклеазами;
- потрібен для ініціації трансляції.



Поліаденілювання (на 3' кінці) ймовірно збільшує стабільність мРНК, і полі(А) хвіст грає роль в ініціації трансляції.

# Сплайсинг транскриптів



Гени, які містять екзони та інтрони, називають «розщепленими генами».

**Альтернативний сплайсинг** означає, що єдиний ген може кодувати більше за один вид білка.

*Геном ВІЛ-1 (Retroviridae) має низку донорних і акцепторних сайтів сплайсингу; в результаті сплайсингу первинного транскрипту утворюється більше 30 різних мРНК.*

## Транскрипція у вірусів, які мають РНК-геноми (крім ретровірусів)

Віруси класу III використовують (-)РНК ланцюг свого дволанцюгового генома.

Віруси класу IV на своєму (+)РНК геномі синтезують спочатку проміжну форму (-)РНК, яка надалі буде матрицею.

Віруси класу V можуть безпосередньо використовувати свій (-)РНК .

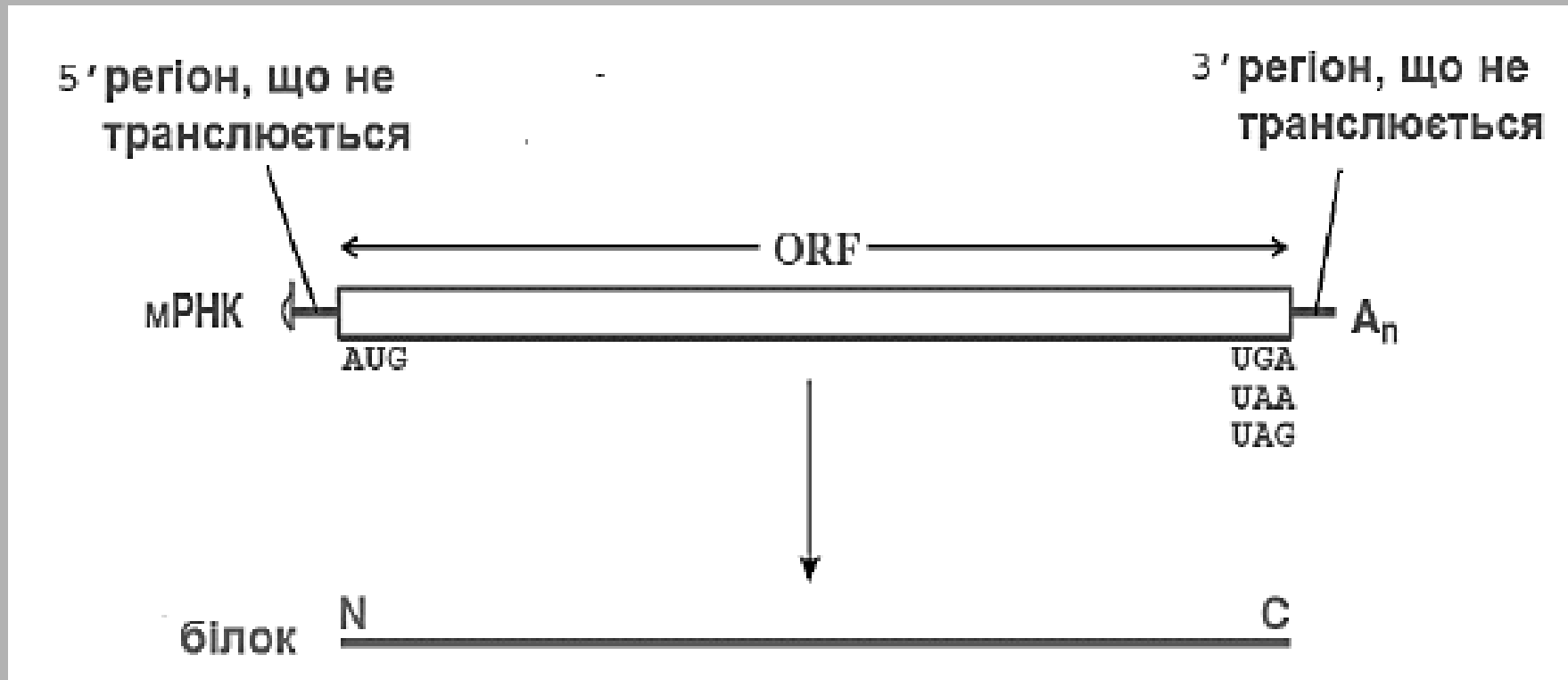
Віруси кодують РНК-залежну РНК-полімеразу і вона входить до складу віріона (для (-)РНК-вірусів.

(+)РНК вірус відразу синтезує в клітині РНК-залежну РНК-полімеразу, яка потім синтезує м(-)РНК.

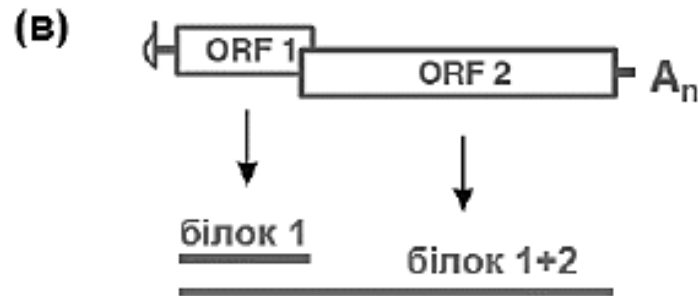
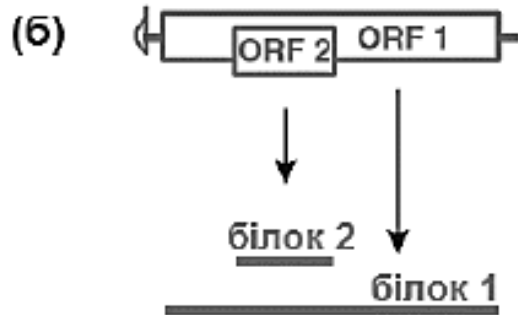
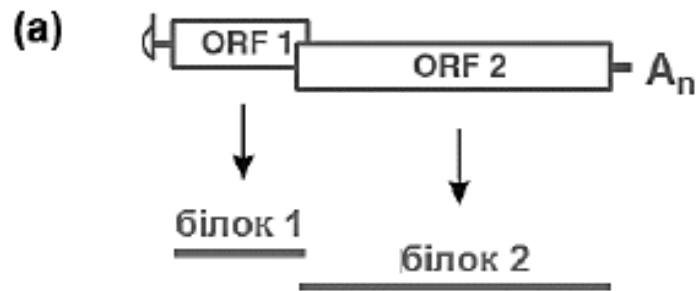
Транскрипція (більшість в цитоплазмі), деякі (вірус грипу) в ядрі.

# Трансляція

Типова мРНК еукаріотів є моноцистронною: має одну так звану відкриту рамку зчитування (**open reading frame, ORF**), з якої відбувається трансляція (біосинтез) білка.



## Трансляція біцистронних мРНК



(а), (б) Рибосома може почати трансляцію із стартового кодону *ORF 1*, або сканування мРНК рибосомою може бути «послабленим», і трансляція може розпочатися зі стартового кодону *ORF 2*. Два стартові кодони знаходяться в різних рамках зчитування, і два білки не пов'язані. (в) *ORF 2* транслюється завдяки зсуву рамки зчитування, що призводить до синтезу збільшеної версії білка 1

## До- і посттрансляційні модифікації білків

**Глікозилювання** включає приєднання до поліпептидного ланцюга олігоцукрових груп.

*N-гликозилюваний білок gp120 ВІЛ-1.*

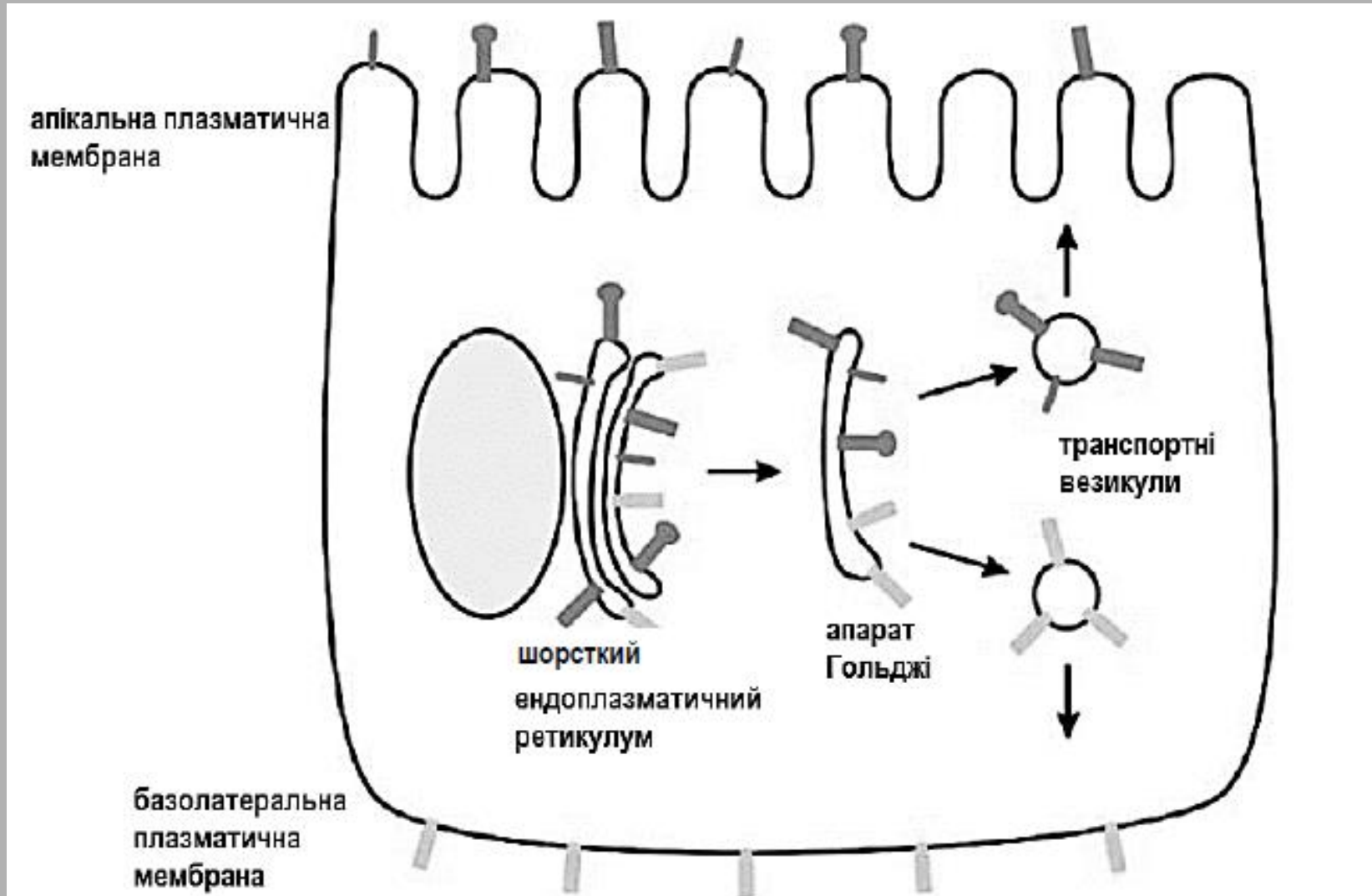
**Ацилювання** – це додавання ацильної групи ( $R-CO-$ ) до молекули білка.

**Фосфорилування** означає перенесення фосфатної групи з нуклеотиду, зазвичай АТФ, на кисень  $-OH$  групи залишків серину, треоніну або тирозину.

*фосфопротеїни рабдовирусів*



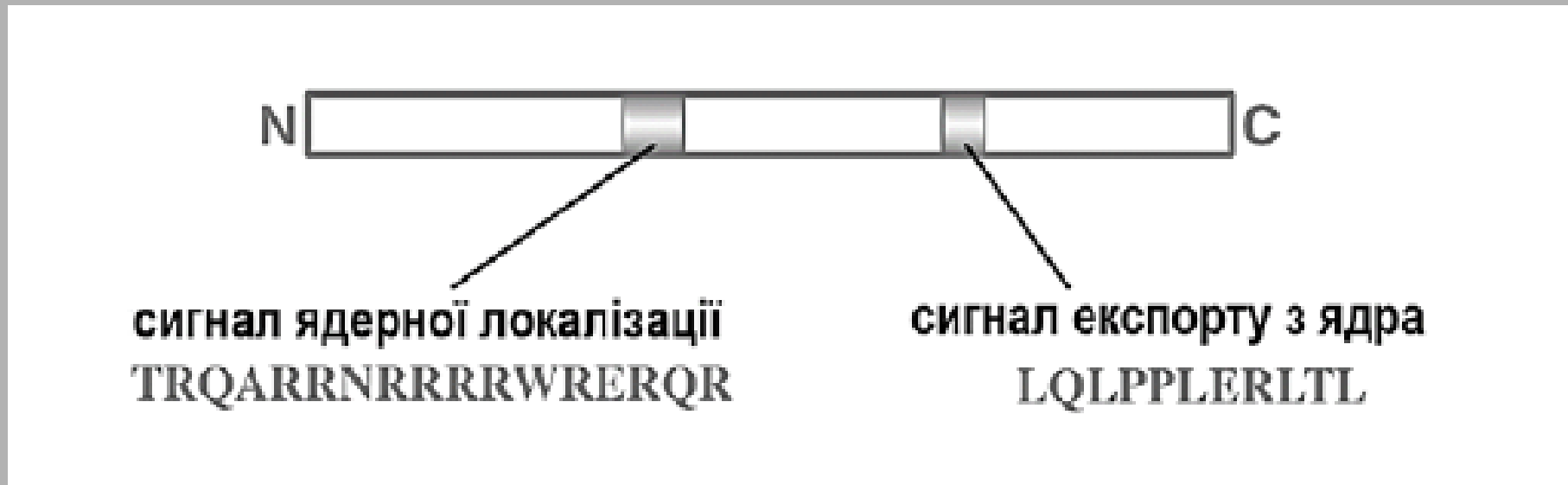
# Транспорт усередині клітин еукаріотів



Е. Родріге-Боулан і Д. Сабатіні виявили в 1978 році, що глікопротеїни кожного вірусу спрямовуються до відповідної поверхні клітини

Наприклад: вірус везикулярного стоматиту брунькується скрізь базолатеральну поверхню, а вірус грипу брунькується скрізь апікальну поверхню.

РНК доставляється в потрібні місця білками, які з нею зв'язуються.



*Білок Rev ВІЛ-1 має як сигнал ядерної локалізації, так і сигнал експорту з ядра*

# Транскрипція і трансляція в клітинах бактерій

Використовується ДНК-за-лежні РНК-полімерази хазяїна, або кодують власні.

мРНК еукаріотів в типовому випадку моноцистронні, а у бактерій – поліцистронні, тобто кожна мРНК має декілька відкритих рамок.

мРНК бактерій і їх вірусів ніколи не бувають кепованими на 5'-кінці і лише деколи мають полі(А) хвіст на 3'-кінці.

Трансляція у бактерій відрізняється від трансляції у еукаріотів низкою особливостей:

- відсутність ядра дозволяє одночасному перебігу транскрипції і трансляції;
- рибосоми прокаріотичного типу;
- субодиниця 30S рибосом зв'язується безпосередньо з регіоном ініціації трансляції на мРНК;
- метіонін в ініціаторній метіоніл-тРНК зазвичай є формілованим (містить групу – СНО);
- у ініціації трансляції бере участь значно менше факторів ініціації в порівнянні з еукаріотами.
- транслюються усі ORF в межах мРНК;
- декілька фагів містять гени, що перекриваються, і їх трансляція відбувається за допомогою читання через стоп-кодон.

# Список рекомендованих джерел

## *Основна:*

Шамрай С.М., Леонтьєв Д.В. Вірусологія. – Х.: Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди, 2020. – 244 с.

## *Додаткова:*

den Boon J.A., Diaz A., Ahlquist P. Cytoplasmic viral replication complexes // Cell Host Microbe. 2010. Vol. 8, N. 1. P. 77–85.

Marsh M., Helenius A. Virus entry: open sesame // Cell. 2006. Vol.124, N. 4. P. 729–740.

Mercer J., Schelhaas M., Helenius A. Virus entry by endocytosis // Annu. Rev. Biochem. – 2010. Vol.79. P. 803–833.

Smith A.E., Helenius A. How viruses enter animal cells // Science. 2004. Vol. 304, №5668. P. 237–242.

Tsai B. Penetration of nonenveloped viruses into the cytoplasm // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2007. Vol. 23. P. 23–43.

## Питання для самостійної роботи:

1. Особливості зв'язування вірусної частки з клітинними оболонками та мембранами тварин.
2. Наведіть приклади білків прікріплення (антирецепторів) та рецепторів.
3. Що таке тропізм вірусів?
4. Вторинні та первинні рецептори. Приклади.
5. Загальні риси проникнення до клітин вірусних часток.
6. Особливості проникнення до клітин вірусів з ліпопротеїновими оболонками.
7. Особливості проникнення до клітин вірусів, що не мають ліпопротеїнових оболонок.
8. Механізм транспорту вірусних часток в клітині.
9. Де відбувається декапсизація вірусних часток.
10. Особливості прикріплення бактеріофагів до клітини.
11. Відхилення від центральної догми біології.
12. Структурні елементи, які беруть участь у процесах транскрипції.
13. Приклади і механізми дії факторів транскрипції.
14. Транскриптази і їх значення для вірусів.
15. Кепи та полі(А)-хвости і їх значення.

## Питання для самостійної роботи:

16. Особливості сплайсинга у вірусів.
17. Особливості транскрипції у РНК вірусів.
18. Моноцистронні та поліцистронні мРНК.
19. Особливості читування інформації з поліцистронних мРНК.
20. Варіанти посттрансляційної модифікації вірусних білків.
21. Особливості транспорту нуклеїнових кислот та білків в клітинах еукаріот.
22. Особливості транскрипції вірусних геномів в прокаріотичних клітинах.
23. Особливості трансляції вірусних білків в прокаріотичних клітинах.