

Лекція 7. Морфологія, ультраструктура, репродукція вірусів

План

1. Історичний огляд.
2. Морфологія, розміри, типи симетрії вірусів.
3. Ультраструктура вірусів.
4. Типи взаємодії «вірус - клітина».
5. Репродуктивний цикл вірусів.

1. Історичний огляд

Віруси (от лат. *virus*, отрута) – найменші за розмірами агенти, що мають геном, оточений білковою оболонкою. Віруси не відтворюються самостійно, вони – облигатні внутріклітинні паразити, які розмножуються тільки в живих клітинах. У наш час відомі віруси бактерій (бактеріофаги), грибів, рослин та тварин.

Усі віруси існують у двох формах. Позаклітинна форма – **віріон** – включає в себе всі складові елементи (капсид, нуклеїнову кислоту, структурні білки, ферменти та ін.). Внутрішньоклітинна форма – **вірус** – може бути представлена лише однією молекулою **нуклеїнової кислоти**, адже проникаючи в клітину, віріон розпадається на складові частини.

Віруси не можна віднести ні до рослин, ні до тварин. Поза клітиною вони інертні, а деякі віруси навіть утворюють кристали. Вірусну частинку можна роздивлятися не як живий організм, а як відносно великий **нуклеопротеїд**, що проникає в клітину та «тиражується» в ній.

Першу противірусну (противіспяну) вакцину **Е. Дженнер** отримав ще наприкінці XVIII ст., а вакцину проти вірусу сказу розробили **Е. Шамберлан**, **Е. Ру** та **Л. Пастер** у 1885 р. Проте, першовідкривачем вірусів та засновником вірусології вважають відомого вітчизняного вченого **Д.Й. Івановського**.

Свою історію вірусологія починає з 12 лютого 1892 р., коли **Д.Й. Івановський** зробив доповідь в Академії наук про відкриття збудника «тютюнової мозаїки» на Одеській бактеріологічній станції, якою тоді завідував **Н.Ф. Гамалія**. Пізніше **М. Бейерінк** встановив здатність збудника тютюнової мозаїки дифундувати крізь агар та зробив висновок, що агент Івановського являється живим рідким контагієм.

З самого початку багато дослідників дотримувались думки, що віруси – це дрібні, здатні до фільтрації (тобто проходять через бактеріологічні фільтри) форми мікроорганізмів, які втратили здатність рости на звичайних субстратах.

1898 р. – **Леффлер** і **Фрод** показали, що таке поширене захворювання як **ящур**, може також передаватись за допомогою агентів, що проходять крізь бактеріологічні фільтри. Таким чином були відкриті віруси тварин.

1899 р. – вітчизняний бактеріолог **М.Ф. Гамалія** описав явище лізису бацил сибірки під впливом невідомого агента, названого бактеріолізином.

1915 р. – англійський бактеріолог **Ф. Туорт**, а в 1917 р. – канадієць **Ф. д'Ерель**, незалежно один від одного встановили, що самі бактерії можуть бути інфіковані агентами, що фільтруються – **бактеріофагами**. У ході дослідів **Ф. Туорт** звернув увагу на незвичне «скловидне переродження» колоній стафілококів, що забруднювали його посіви. Він відмітив, що подібні колонії втрачали здатність до пересівів, а занесення їх вмісту в здорові колонії викликало переродження останніх. У своїй статті він зробив висновок, що причиною переродження може бути фермент, який руйнує самі клітини-продуценти, або **агент, який уражує бактерії** (бактеріофаг, фаг).

У 1901 р. – **Раус** відкрив віруси, що викликають онкологічні захворювання.

Досліди Руа (1911), Гудпасчера, Вудраффа (1931), Бернета (1933) та інших вчених заклало основи культивування вірусів у ембріонах курей, що дозволило пізніше перейти до використання й інших тканинних моделей.

Вдосконалення електронної мікроскопії дозволило детально вивчити морфологію та організацію вірусних частинок. У 1956 р. було встановлено, що нуклеїнові кислоти вірусів можуть проявляти інфекційні властивості. Цей факт став основою відкриття механізму розмноження вірусів.

Завдяки успіхам в розробці вакцин проти багатьох вірусів – *віспи, сказу, поліомієліту, кору, жовтої лихоманки* та багатьох інших – стала можлива ефективна боротьба з вірусними інфекціями людини.

Інтерес до вірусології пояснюється, по-перше, тим, що вірусам належить провідна роль в інфекційній патології людини. По-друге, на моделях вірусів вирішують багато фундаментальних питань біології. Одним з найбільших внесків вірусології в сучасну науку вважають відкриття ферменту *зворотної транскриптази*, використання якої лежить в основі генної інженерії.

Віруси виділені в **царство VIRA**

2 підцарства – ДНК-ові віруси і РНК-ові віруси

родини: VIRIDAE

підродини: VIRINAE

роди: VIRUS

вид – тип – варіант – субваріанти.

Головний критерій поділу вірусів на родини:

- 1) наявність ліпопротеїдної оболонки;
- 2) тип нуклеїнової кислоти.

Відмінності вірусів від інших живих об'єктів:

1. субмікроскопічні розміри;
2. неклітинна будова;
3. містять тільки один тип нуклеїнових кислот – або ДНК, або РНК;
4. не мають власних енергосинтезуючих систем – мітохондрій;
5. не мають власних метаболічних систем – рибосом;
6. віруси – облигатні внутрішньоклітинні паразити;
7. віруси нездатні до культивування на штучних синтетичних середовищах.

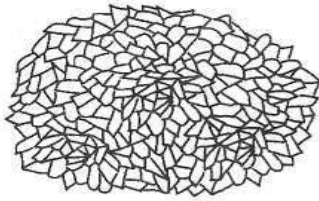
Форми існування вірусів

1. Позаклітинна форма – *віріон*;
2. Внутрішньоклітинна форма – *вегетативний вірус*;
3. Інтегративний вірус. Вірус існує у формі про вірусу – геном вірусу входить до складу геному клітини-хазяїна. Характерні для бактеріофагів, деяких ДНК-ових вірусів, ретровірусів.

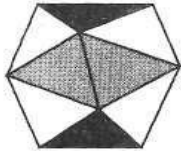
2. Морфологія, розміри, типи симетрії вірусів

Не дивлячись на внутрішньоклітинний паразитизм, серед вірусів можна знайти і великі види. Наприклад, вірус натуральної віспи досягає 400 нм і може бути порівняний з рикетсіями (300 – 500 нм) та хламідіями (300 – 400 нм). За морфологією виділяють віруси **паличкоподібні** (збудник лихоманки Ебола), **кулеподібні** (пулевидные) (вірус сказу), **сферичні** (герпесвіруси), **овальні** (вірус віспи), а також бактеріофаги, які мають складну форму (рис. 1).

ДНК-содержащие вирусы



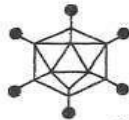
Поксвирусы (300 нм)



Иридовирусы (250 нм)



Герпесвирусы (250–300 нм)



Аденовирусы (75 нм)



Паповавирусы (50 нм)

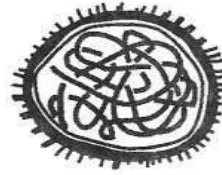


Гепаднавирусы (42 нм)

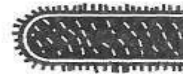


Парвовирусы (20 нм)

РНК-содержащие вирусы



Парамиксовирусы (150–300 нм)



Рабдовирусы (180 нм)



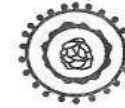
Ареновирусы (50–300 нм)



Ортомиксовирусы (80–120 нм)



Буньявирусы (100 нм)



Ретровирусы (80–100 нм)



Коронавирусы (60–220 нм)



Реовирусы (60–80 нм)



Тогавирусы (60–70 нм)
Флаовирусы (40–50 нм)



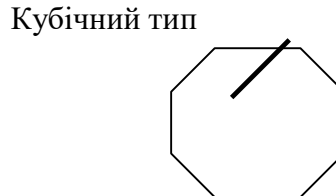
Пикорнавирусы (25–30 нм)
Кальцивирусы (35–40 нм)

Рисунок 1 – Розміри та морфологія основних збудників вірусних інфекцій людини

У загальному вигляді зріла вірусна частинка (*віріон*) складається з нуклеїнової кислоти, білків та ліпідів, або до його складу входять тільки нуклеїнові кислоти та білки.

Типи симетрії.

Розрізняють *спіральний* і *кубічний* (ікосаедричний) тип укладки капсомерів навколо НК.



Подвійна симетрія. Деякі бактеріофаги мають подвійну симетрію: головка організована по принципу кубічної симетрії, відросток – по принципу спіральної симетрії.

Відсутність постійної симетрії. Для вірусів великих розмірів (поксвірусів) характерна відсутність постійної симетрії

3. Ультроструктура вірусів.

Нуклеїнові кислоти.

Віруси містять тільки один тип нуклеїнової кислоти (ДНК, або РНК), але не обидва відразу. Наприклад, віруси віспи, простого герпесу, Епштейна-Барр – віруси, що містять ДНК, а тогавіруси, пікорнавіруси – віруси, що містять РНК. Геном вірусної частинки гаплоїдний. Найбільш простий вірусний геном кодує 3–4 білка, найбільш складний – більш ніж 50 поліпептидів. Нуклеїнові кислоти представлені однією молекулою РНК (виняток ретровіруси, геном яких утворений двома нитками РНК) або двохнитковими молекулами ДНК (виняток паровіруси, у яких геном утворений тільки однією молекулою ДНК). У вірусу гепатиту **В** дволанцюгова ДНК має ланцюги не однакові за розмірами.

Вірусні ДНК утворюють циркулярні (кільцеві), ковалентно-зчеплені суперспіралізовані (паровіруси) або лінійні двониткові структури (герпес- та аденовірус). Їх молекулярна маса в 10–100 разів менше маси бактеріальних ДНК. Транскрипція вірусної ДНК (синтез мРНК) відбувається в ядрі зараженої вірусом клітини. У вірусній ДНК на кінцях молекули знаходяться прямі та інвертовані (повернуті на 180°) нуклеотидні послідовності, що повторюються. Вони дозволяють молекулі ДНК замикатися в кільце. Ці послідовності являються своєрідними маркерами вірусної ДНК.

Вірусні РНК представлені одно- та дволанцюговими молекулами. Одноланцюгові молекули можуть бути сегментованими – від 2 сегментів у ареновірусів до 11 – у ротавірусів. Наявність сегментів призводить до збільшення кодуєчої ємності генома. Вірусні РНК поділяють на наступні групи: плюс-нитки РНК (+РНК) або –РНК, а також подвійні нитки, одна з яких –РНК, інша (комплементарна їй) – +РНК.

+РНК представлені одинарними ланцюжками, які мають характерне закінчення („шапочки”) для розпізнання рибосом. До цієї групи відносяться РНК, які здатні безпосередньо транслювати генетичну інформацію на рибосомах зараженої вірусом клітини, тобто виконувати функцію мРНК. **+РНК** виконують наступні функції: слугують мРНК для синтезу структурних білків, матрицею для реплікації РНК, пакуються в капсид з утворенням дочірньої популяції.

–РНК не здатні транслювати генетичну інформацію безпосередньо на рибосомах, тобто вони не можуть функціонувати як мРНК. Однак такі РНК слугують матрицею для синтезу мРНК.

До складу нуклеокапсиду також входять **внутрішні білки**, які забезпечують правильну упаковку геному, а також виконують структурну та ферментативну функції. Вірусні ферменти поділяють на **віріонні** та **вірусіндуковані**.

Віріонні ферменти входять до складу віріонів та приймають участь у транскрипції та реплікації (зворотна транскриптаза). Віріонні ферменти також підрозділяються на дві функціональні групи: ферменти першої групи забезпечують проникнення вірусних нуклеїнових кислот у клітину та вихід дочірніх популяцій; ферменти другої групи приймають участь в процесах реплікації та транскрипції вірусного геному.

Вірусіндуковані ферменти закодовані у вірусному геномі (РНК-полімераза орто- та параміксовірусів).

У капсидах можуть знаходитись ферменти обох груп.

Суперкапсид.

«**Одягнені**» **віруси**. Деякі віруси можуть мати на поверхні капсиду особливу оболонку – **суперкапсид**, утворену подвійним шаром ліпідів та специфічними вірусними білками, які часто утворюють вирости-шипи, які пронизують ліпідний бішар. Такі віруси називаються «одягненими». Утворення капсиду відбувається на пізній фазі репродуктивного циклу, звичайно при відбрунькуванні дочірніх популяцій.

Ліпіди. Основна функція ліпідів – стабілізація структурних компонентів мембрани. Втрата ліпідів призводить до зникнення інфекційних властивостей, адже такі вірусні частинки втрачають стабільність свого складу і, відповідно, здатність до зараження клітин. Склад ліпідів залежить від характеру «брунькування» вірусної частинки. Наприклад, у вірусу грипу склад ліпідного бішару подібний бішару клітинних мембран. У вірусів, що брунькуються через ядерну мембрану, склад ліпідів суперкапсиду відображує склад ліпідів ядерної мембрани.

Глікопротеїни входять до складу поверхневих структур суперкапсиду. Більшість „одягнених” вірусів мають поверхневі спеціальні **F-білки**, які забезпечують злиття вірусних суперкапсидів та клітинних мембран. Поверхневі білки – важливий компонент, який полегшує проникнення вірусів у чутливі клітини. Їх характерна властивість – здатність зв'язуватись з рецепторами на поверхні еритроцитів та аглютинувати їх. *Здатність до гемаглютинації широко використовують для визначення кількості вірусів.*

«**Голі**» **віруси**. Віруси, які не мають суперкапсиду, називаються «голими». Як правило, вони резистентні до дії ефіру та більш стійкі до денатурації.

M-білки. Негліколізовані матричні білки (M-білки) формують структурний шар на внутрішній поверхні суперкапсиду та сприяють його взаємодії з білками нуклеокапсиду, що дуже важливо на заключних етапах самозбірки віріонів.

Бактеріофаги – група вірусів, які паразитують у бактеріальних клітинах. Віруси, які викликають загибель інфікованих бактерій, відомі як **літичні бактеріофаги**. Розмноження та вихід дочірніх популяцій вірусу із бактерії супроводжується її загибеллю та руйнуванням (лізисом). Бактеріофаги досить поширені в природі – їх виділяють з води, ґрунту, організмів різних тварин та людини. Принципи класифікації бактеріофагів подібні підходам до систематики вірусів взагалі. В основу класифікації покладені антигенна структура, морфологія фагів, спектр дії, хімічний склад та ін. Більшість фагів відноситься до ДНК-вірусів з нуклеокапсидом, організованим за принципом змішаної симетрії.

За спектром дії виділяють:

- 1) **типові фаги (Т-фаги)**, які викликають лізис бактерій окремих типів у середині виду,
- 2) **моновалентні фаги**, які викликають лізис бактерій одного виду,
- 3) **полівалентні фаги**, які викликають лізис бактерій кількох видів.

Бактеріофаги стійкі до дії різних фізичних та хімічних чинників. Більшість з них легко переносять високі температури, (50–70 °С), дію дезинфікантів (за винятком кислот

та формаліну), пряме сонячне світло, УФ-випромінення в низьких дозах. Бактеріофаги проявляють імуногенні властивості, викликаючи синтез специфічних антитіл.

Морфологія.

Будова бактеріофагів найбільш повно охарактеризовано на прикладі Т-фагів кишкової палички (рис. 2).

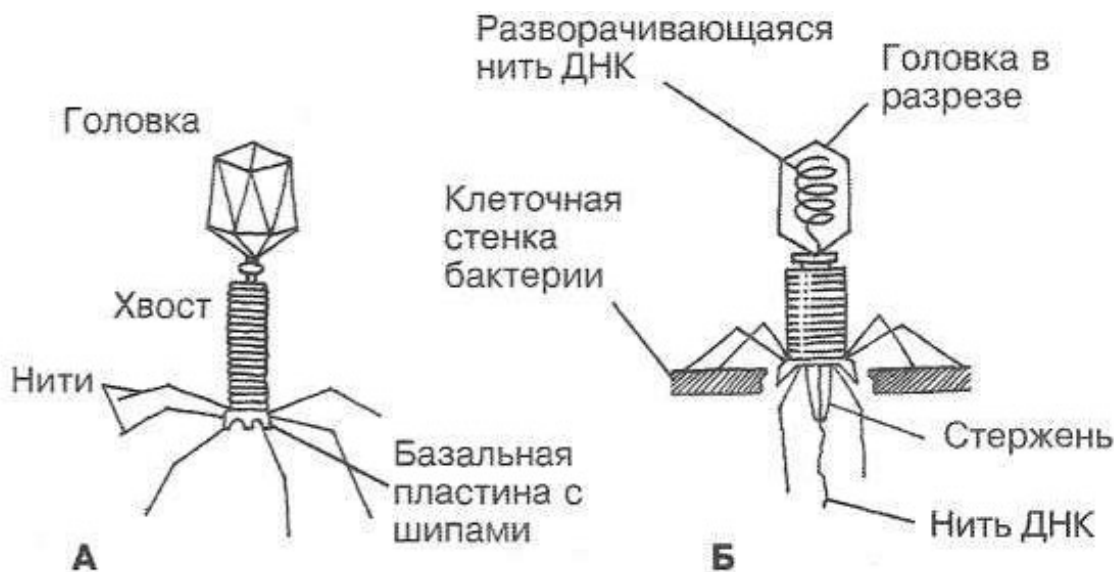


Рисунок 2. – Фаг Т4 кишкової палички до контакту з бактерією (А) та в момент введення фагової ДНК (Б)

Головка Т-фагів.

Голівка Т-фагів утворена однотипними субодинамиціями, організованими за принципом кубічної симетрії, і може досягати розмірів 100 нм. Капсомери голівки складаються з білкових молекул, побудованих в основному з аспарагінової та глутамінової кислот, а також лізину. Вміст білка та ДНК в голівці приблизно однаковий. **Геном** більшості фагів утворює спірально запакований *подвійний ланцюг ДНК*. Кількість фагів, що містять один ланцюг молекули ДНК або РНК, незначна. У деяких фагів (наприклад, Т2) в голівці знаходиться внутрішній білок, що містить поліаміни (спермін та путресцин) та забезпечують суперспіралізацію великої молекули ДНК. У такому вигляді вона може упакуватися в порівняно невеликий об'єм. У складі фагової ДНК знайдені незвичайні азотні основи (наприклад, оксиметилцитозин).

Відросток Т-фагів.

Відросток Т-фагів може досягати 250 нм у довжину та 25 нм у ширину. Він містить **полий стрижень** (побудований за принципом спіральної симетрії) та **скорочувальний чохол**, який приєднується до комірця, що оточує стрижень біля голівки. Чохол утворений 120–140 білковими молекулами, кожна з яких зв'язує одну молекулу АТФ та іони Ca^{2+} . У дистальному відділі стрижня розташована шестигранна **базальна пластинка** з шістьма зубцями та шістьма нитками (фібрилами). У парних фагів (Т2) закінчення фібрил опущені вниз, а в непарних – загнуті вгору. У деяких Т-фагів у дистальній частині хвоста знаходиться лізоцим (ендолізін).

4. Типи взаємодії «вірус – клітина»

Віруси не здатні до самостійного розмноження. Синтез вірусних білків та відтворення копій вірусного геному – необхідні умови для появи дочірніх популяцій –

забезпечують біосинтетичні процеси клітини-хазяїна. При цьому білкові макромолекули та нуклеїнові кислоти утворюються роздільно, після чого відбувається збірка дочірніх популяцій. Іншими словами, для вірусів характерний **диз'юнктивний** (розрізнений) **тип репродукції**, який відбувається за рахунок взаємодії вірусу та інфікованої клітини.

Характер взаємодії «вірус–клітина».

Відомі наступні типи взаємодії «вірус – клітина»: **продуктивний** (утворюється дочірня популяція), **інтегративний** (вірогенія), **абортивний** (дочірня популяція не утворюється) та **інтерференція вірусів** (інфікування чутливої клітини різними вірусами).

Продуктивна взаємодія «вірус–клітина» найчастіше носить **літичний характер**, тобто закінчується загибеллю та лізисом інфікованої клітини, що відбувається після повної зборки дочірньої популяції.

Загибель клітини викликають наступні **фактори**:

- 1) раннє пригноблення синтезу клітинних білків;
- 2) накопичення токсичних вірусних компонентів, що пошкоджують клітину,
- 3) пошкоджених лізисом та звільнення їх ферментів у цитоплазму.

Інтегративна взаємодія або **вірогенія**, не призводить до загибелі клітини. Нуклеїнова кислота вірусу вбудовується в геном клітини-хазяїна і в подальшому функціонує як його складова частина. Найбільш яскраві приклади подібної взаємодії – **лізогенія бактерій та вірусна трансформація клітин**.

Абортивна взаємодія не призводить до появи дочірніх популяцій і відбувається при взаємодії вірусу з клітиною, що знаходиться в стані спокою (стадія клітинного циклу G₀) або при інфікуванні клітини вірусом зі зміненими (дефектними) властивостями. Слід розрізняти **дефектні віруси та дефектні віріони**. Перші існують як самостійні види та функціонально неповноцінні, адже для їх реплікації необхідна наявність «вірус-помічника» (наприклад, для реплікації аденоасоційованого вірусу необхідна наявність аденовірусів). Другі являють собою дефектну групу, формуються при утворенні великих дочірніх популяцій (наприклад, можуть утворювати порожні капсиди або безоболонкові нуклеокапсиди). Особлива форма дефектних віріонів – **псевдовіріони**, які включають у капсид нуклеїнову кислоту клітини-хазяїна.

Інтерференція вірусів відбувається при інфікуванні клітини двома вірусами. Розрізняють гомологічну (при інфікуванні клітини спорідненими вірусами) та гетерологічну (якщо інтерферують неспоріднені види) інтерференцію. Це явище виникає не при кожній комбінації збудників, інколи два різні віруси можуть репродукувати одночасно (наприклад, віруси кору та поліомієліту). Інтерференція реалізується або за рахунок індукції одним вірусом клітинних інгібіторів, що репресують репродукцію іншого, або за рахунок пошкодження рецепторного апарату або метаболізму клітини першим вірусом, що виключає можливість репродукції другого.

Типи інфікування клітин.

За **характером взаємодії генома** вірусу з геномом клітини виділяють **автономне** (геном вірусу не інтегрований у геном клітини) та **інтеграційне** (геном вірусу інтегрований у геном клітини) інфікування. Особливу форму складають **латентне та персистуюче** інфікування.

Латентне інфікування. ДНК деяких вірусів (герпесвіруси, ретровіруси) може знаходитися в клітині поза хромосомою, або вірусна ДНК інтегрується в ядерний геном, але вірусспецифічні синтези не відбуваються. Така вірусна ДНК утворює латентний **провірус**, який реплікується разом із хромосомою. Подібні стани вірусної ДНК нестабільні, можливі періодичні реактивації з переходом до продуктивної взаємодії «вірус–клітина», або клітина трансформується, даючи початок злоякісному росту.

Персистуюче інфікування. Деякі РНК-віруси можуть викликати персистуючі інфекції, які проявляються утворенням дочірніх популяцій збудника після завершення гострої фази захворювання. При цьому відбувається поступове виділення вірусних частинок, але інфікована клітина не лізується. Часто дочірні популяції віріонів дефектні (часто спостерігається у людей з імунodefіцитами). Інколи такі хронічні захворювання протікають без клінічних проявів. Вірус гепатиту **В** здатен викликати персистуюче ураження гепатоцитів з розвитком хронічного гепатиту.

5. Репродуктивний цикл вірусів.

Репродуктивний цикл вірусів.

Етапи репродукції (від адсорбції віріонів до вивільнення дочірніх популяцій) відбуваються при продуктивній взаємодії вірусу із клітиною (рис. 3.).

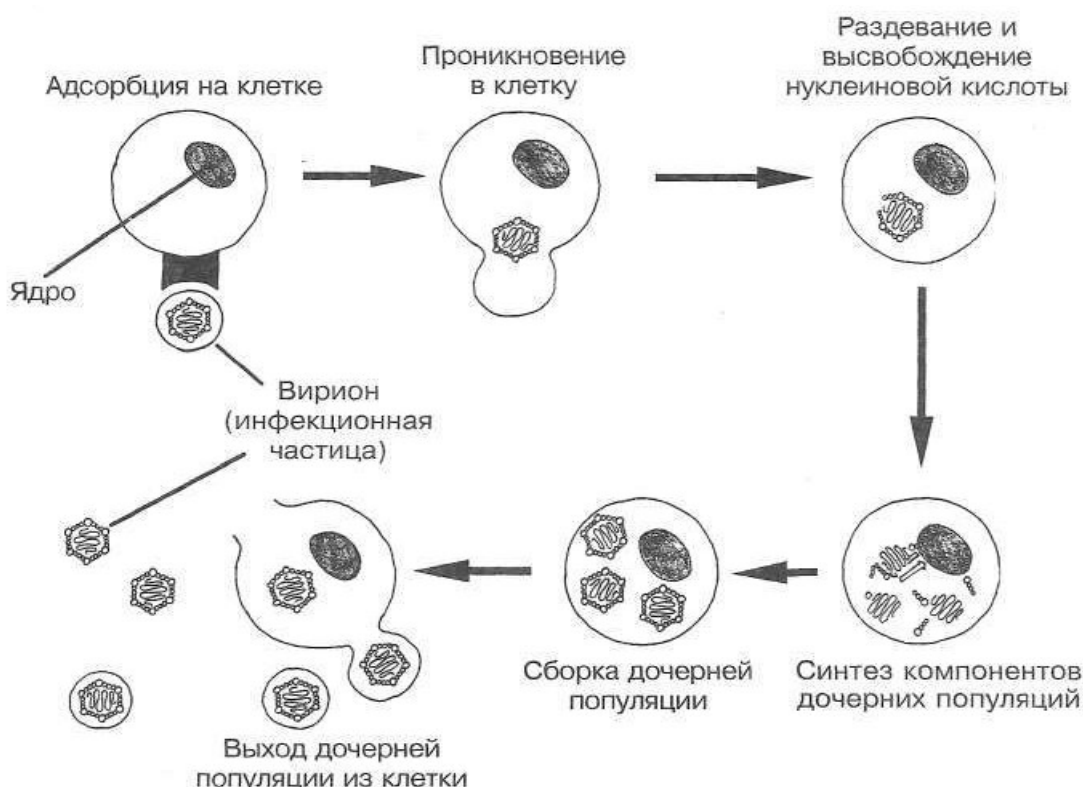


Рисунок 3. – Основні етапи репродукції вірусів

Адсорбція. Перша стадія репродуктивного циклу – адсорбція віріону на поверхні інфікованої клітини. Адсорбція відбувається шляхом взаємодії віріону зі специфічними клітинними рецепторами. За розпізнання рецепторів відповідальні білки, що входять до складу капсиду або суперкапсиду. Таким чином, поняття «тропізм вірусів» пояснюється специфічною взаємодією вірусних білків з поверхневими рецепторами клітини, що інфікується. Наприклад, поліовірус проникає в клітини нервової системи (ЦНС) і ЖКТ і розмножується в них, так як у людини та приматів тільки ці клітини мають рецептори до білків поліовірусів.

- Процес адсорбції не залежить від температури (тобто не потребує енергетичних затрат) і протікає у дві фази: фаза іонного тяжіння обумовлена неспецифічною взаємодією, фаза прикріплення відбувається завдяки структурній гомології або компліментарності взаємодіючих молекул.

- Кількість інфекційних вірусних частинок, адсорбованих на клітині, визначає термін «множинне зараження» (інфікування). Зазвичай тваринна клітина містить біля

50 000 рецепторів, і її зараження носить множинний характер, тобто на клітині може сорбуватися велика кількість віріонів. Однак, *інфікована вірусом клітина зазвичай толерантна до поверхневого зараження гомологічним вірусом.*

Проникнення та депротейнізація оболонки. «Голі» віруси проникають у клітину шляхом *ендоцитозу* – занурення частини клітинної мембрани в місці їх адсорбції. Інакше цей процес відомий як **віропексис** (вірус + гр. *pexis*, прикріплення). «Одягнуті» віруси проникають у клітину шляхом *злиття суперкапсиду з клітинною мембраною* при участі специфічних **F-білків** (білків злиття). Кислі значення рН сприяють злиттю вірусної оболонки та клітинної мембрани. При проникненні «голих» вірусів у клітину утворюються вакуолі (ендосоми). Після проникнення «одягнених» вірусів у цитоплазму відбувається часткова депротейнізація вібріонів (*роздягання*) та модифікація їх нуклеопротеїду. «Роздягання» вірусів відбувається за допомогою ферментів у спеціалізованих органелах клітини (лізосомах), перинуклеарному просторі або на ядерній мембрані. Модифіковані частинки втрачають інфекційні властивості, у ряді випадків змінюють чутливість відносно РНКаз, нейтралізуючої дії антитіл (АТ) та інші риси, специфічні для окремих груп вірусів.

Тіньова фаза. Після депротейнізації віруси неможливо виділити із культури клітин. Цей етап репродукції відомий як тіньова фаза, або **фаза екліпсу** (від англ. *eclipse*, затемнення). Вона вмикає реплікацію нуклеїнових кислот вірусу та синтез вірусних білків. Тіньова фаза не відбувається при температурі 0–4 °С (за виключенням вірусу грипу). Різниця в енергетичних затратах для тіньової фази різних груп вірусів вказує на можливу участь в цьому процесі різних клітинних реакцій. Тіньова фаза закінчується після утворення складових компонентів вірусу, необхідних для збірки дочірніх популяцій.

Утворення дочірніх вірусних частинок у зараженій клітині відбувається за рахунок трьох процесів:

- 1) Експресія генетичного матеріалу у вигляді його транскрипції та наступної трансляції, що призводить до появи вірусних білків;
- 2) Синтез генетичного матеріалу вірусу (реплікація);
- 3) Збірка із генетичного матеріалу та вірусних білків дочірніх популяцій.

Слід пам'ятати, що генетичним матеріалом віріонів може бути або ДНК, або РНК.

Транскрипція.

+РНК-віруси. Функції мРНК виконує геном (+РНК), тому у таких вірусів для синтезу вірусних білків (трансляція) нема необхідності в процесі транскрипції. Іншими словами, у *+РНК-вірусів транскрипція відсутня.*

-РНК-віруси та віруси, що містять два ланцюга РНК. Функції мРНК виконують транскрипти, комплементарні –РНК віріону. Тому у цих вірусів транскрипція існує як самостійний етап репродуктивного циклу. Для утворення транскриптів у складі віріонів знаходиться власна РНК-полімераза (транскриптаза).

ДНК-віруси. Транскрипція – самостійний етап репродуктивного циклу, так як геном ДНК-вірусів повинен транскрибуватися для утворення мРНК. Віруси, що репродукуються в ядрі (наприклад, герпес- та аденовіруси) для цієї мети використовують клітинну ДНК-залежну РНК-полімеразу (транскриптазу). Віруси, що репродукуються в цитоплазмі (наприклад, поксивіруси) не мають такої можливості та містять (як і –РНК-віруси) власну транскриптазу.

Трансляція. Терміном «трансляція» називають механізми, за допомогою яких послідовність нуклеотидних основ мРНК переводиться в специфічну послідовність амінокислот з яких синтезується поліпептид. Цьому процесу передують зв'язування мРНК з рибосомами. При цьому (зв'язування мРНК та ініціація трансляції) відбувається «дискримінація» клітинних мРНК, і синтетичні процеси на рибосомах переходять під вірусний контроль. Вірусні геноми кодують синтез двох класів білків: *структурні* білки входять до складу дочірніх популяцій, а *неструктурні* білки обслуговують процеси

репродукції, але не входять до складу дочірніх популяцій (інгібітори синтезу клітинних РНК та білків, протеази та ін.).

РНК-віруси. Оскільки вірусний геном кодується кількома білками, то можливо два варіанти трансляції:

- 1) кожний поліпептид синтезується окремо від інших (тога- та ретровіруси);
- 2) спочатку утворюється великий поліпептид-попередник, який в подальшому «нарізується» на окремі поліпептиди (пара- та ортоміксовіруси, а також рабдо-, арено- та бун'явіруси).

Деякі віруси використовують обидва ці механізми. Поліпептиди, що утворюються при обох варіантах трансляції, можуть зазнавати впливу посттрансляційної модифікації (глюкозолірування, фосфорилування або сульфатування).

ДНК-віруси. В трансляційних процесах домінує трансляція окремих мРНК, що кодують індивідуальні поліпептиди. В окремих випадках (наприклад, у аденовірусів) не менш трьох білків утворюються шляхом нарізування загального поліпептиду-попередника.

Реплікація. В залежності від типу генетичного матеріалу (ДНК або РНК), утворення дочірніх копій геномів відбувається по-різному. У ДНК-вірусів реплікація вірусних ДНК принципово подібна з реплікацією клітинних ДНК. Реплікацію РНК-вірусів здійснюють вірусні РНК-залежні РНК-полімерази (реплікази). Виключення складають ретровіруси, їх +РНК слугує матрицею для синтезу ДНК. Синтез ДНК на матриці РНК відбувається за рахунок вірусної РНК-залежної ДНК-полімерази (зворотня транскриптіза), яка необхідна для переписування інформації з РНК на ДНК. Вірусна ДНК, яка синтезується інтегрується в клітинний геном в формі ДНК-провірусу.

Одноланцюгові РНК. Реплікація протікає в два етапи: перший включає утворення матриці, яка комплементарна геному; другий – утворення копій РНК з цієї матриці. При реплікації +РНК-вірусів кількість копій –РНК (на матриці батьківського ланцюга +РНК) строго контролюється, а кількість копій +РНК (з матриці синтезованого ланцюга –РНК) неконтролюється.

Дволанцюгові РНК. В якості матриці для синтезу +РНК вірусні реплікази використовують –РНК і навпаки. Частина молекул –РНК з'єднується з +РНК і утворює дволанцюгову молекулу РНК, а інша частина молекул –РНК функціонує як матриця для синтезу мРНК.

У ДНКових-вірусів і-РНК синтезується на одній з ланцюгів:
ДНК $\xrightarrow{\text{транскрипція}}$ і-РНК $\xrightarrow{\text{трансляція}}$ Білок.

У РНКових-вірусів
У «+» ниткових вірусів і-РНК $\xrightarrow{\text{трансляція}}$ Білок.

У «-» ниткових вірусів -РНК $\xrightarrow{\text{транскрипція}}$ і-РНК $\xrightarrow{\text{трансляція}}$ Білок.

У ретровірусів

РНК $\xrightarrow{\text{зворотня транскрипція}}$ в ДНК $\xrightarrow{\text{інтеграція в геном клітини}}$ ДНК $\xrightarrow{\text{транскрипція}}$ РНК $\xrightarrow{\text{трансляція}}$ Білок

Трансляція – процес перекладу генетичної інформації, яка міститься в РНК на специфічну послідовність АК. Процес трансляції складається з 3 фаз: ініціації – елонгації – термінації.

Реплікація – процес синтезу нуклеїнових кислот (НК).

Зборка. У простих вірусів, які складаються з нуклеїнової кислоти та декількох білків, зборка полягає у взаємодії цих молекул. У складно побудованих вірусів зборка

дочірніх популяцій протікає в декілька етапів. Взаємодія нуклеїнових кислот з внутрішніми та оболонковими білками призводить до утворення нуклеокапсидів, або серцевин. У процесі утворення «одягнених» вірусів повні нуклеокапсиди впорядковано розташовуються з внутрішньої поверхні клітинної мембрани під ділянками, що були модифікованими оболонковими вірусними білками (М-білками). При порушенні процесу самозбірки можуть утворюватися порожні капсида або комплекси нуклеїнових кислот з внутрішніми білками.

Вивільнення дочірніх віріонів – кінцева стадія репродуктивного циклу. Віруси, у яких відсутній суперкапсид, та поксивіруси зазвичай вивільняються швидко; вихід дочірніх популяцій супроводжується руйнуванням цитоплазматичної мембрани (ЦПМ) та лізисом клітини. Віруси, що мають суперкапсид, вивільняються повільніше. Модифіковані відрізки мембрани з включеними в них віріонами випинаються назовні й потім відбруньковуються. Принцип вивільнення дочірніх популяцій брунькуванням дуже подібний процесам, що направлені на відторгнення зайвого для клітини матеріалу або відновлення клітинних мембран. При вивільненні брунькуванням змінена клітина інколи може зберігати життєздатність.

Розмноження бактеріофагів

Взаємодія бактеріофагів з бактеріальною клітиною специфічна, адже вони, як правило, інфікують бактерій тільки певного виду (рис. 4). Подібно вірусам тварин, репродуктивний цикл літичних бактеріофагів включає **адсорбцію** вільного фага на клітині, **ін'єкцію ДНК**, **репродукцію** фага, **вихід дочірніх популяцій**.

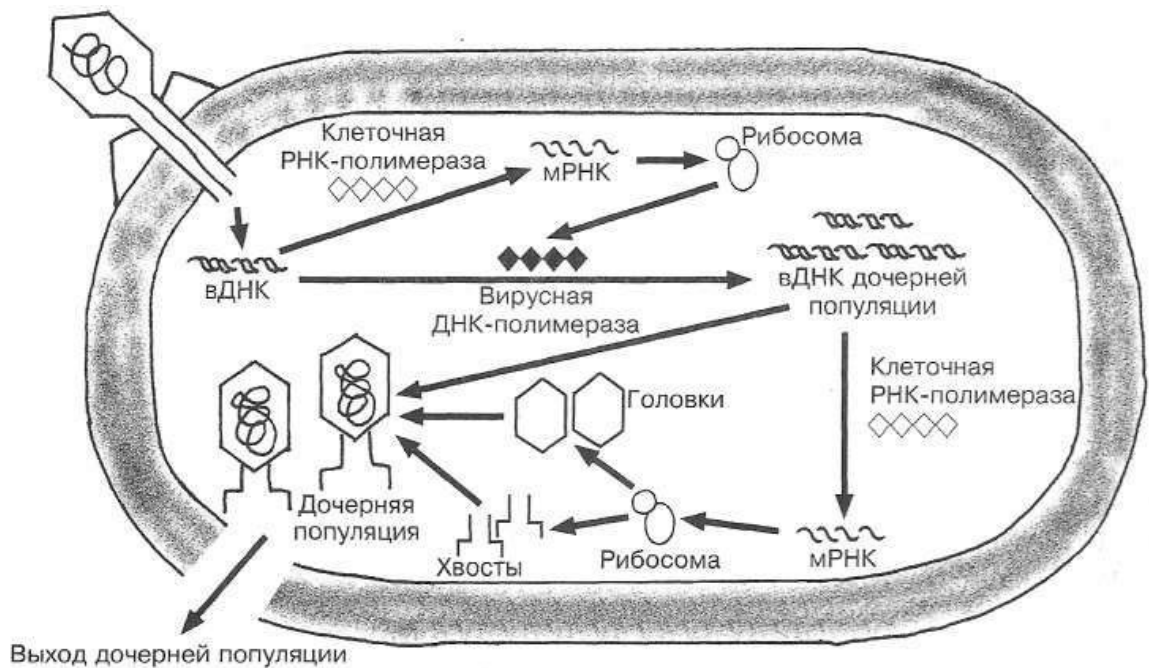


Рисунок 4. – Літична взаємодія фага з бактеріальною клітиною.

Бактеріофаг вводить вірусну ДНК (вДНК) в цитоплазму бактеріальної клітини. Клітинні РНК-полімерази транскрибують ДНК в мРНК, яка транслюється на рибосомах. В результаті відбувається синтез вірусної полімерази та інших ранніх вірусних білків. Вірусна полімераза приймає участь в утворенні вДНК дочірніх популяцій. Частина вДНК, яка утворилася використовується як матриця для синтезу білків голівок та відростків. Після з'єднання останніх з вДНК утворюються дочірні популяції фагів.

Адсорбція

Прикріплення фага до бактерії відбувається за допомогою поверхневих структур бактеріальної стінки, що служать рецепторами для вірусів. На бактеріях без клітинної оболонки (протопласти, L-форми) бактеріофаги адсорбуються. Деякі фаги в якості рецепторів використовують **F-пілі**. Окрім рецепторів, адсорбція фага залежить від рН середовища, температури, присутності певних катіонів та деяких сполук (наприклад, триптофану для T2).

Ін'єкція фагів

Після адсорбції відбувається ферментативне розщеплення клітинної стінки бактерії лізоцимом, який знаходиться в дистальній частині відростка. Базальна пластинка відростка хвоста викликає лізис фрагменту клітинної стінки, виділяючи наявний у відростку лізоцим. Одночасно в чохлі вивільняються іони Ca^{2+} , які активують АТФазу, що, у свою чергу, викликає скорочення чохла та вдавлювання стрижня хвоста через ЦПМ в клітину. Потім вірусна ДНК «вприскується» в цитоплазму. Так як діаметр каналу лише трохи перевищує діаметр молекули ДНК (біля 20 нм), то ДНК здатна проникати в цитоплазму тільки в формі ланцюга.

Репродукція фагів

Проникнувши в клітину, ДНК фага «зникає»: вже через декілька хвилин виявити вірус неможливо. В цей, так званий **прихований період** (екліпс) вірус бере на себе генетичне керування клітиною; відбувається повний цикл репродукції фага. До його закінчення складові фага з'єднуються у зрілий віріон.

Синтез фагових білків. В першу чергу синтезуються ферменти, необхідні для утворення копій фагової ДНК. До них відносяться ДНК-полімераза, кінази (для утворення нуклеозидтрифосфатів) та тимідилатсинтетеза. Вони з'являються в клітині через 5–7 хвилин після її зараження. Клітинна РНК-полімераза транскрибує вірусну ДНК в мРНК, яка транслюється бактеріальними рибосомами в «ранні» білки фага, вмикаючи вірусну РНК-полімеразу та білки, які здатні за рахунок різних механізмів обмежувати експресію бактеріальних генів. Вірусна РНК-полімераза здійснює транскрипцію «пізніх» білків (наприклад, білків оболонки та ендолізіну), необхідних для збирання фагових частинок дочірньої популяції. Деякі віруси розщеплюють ДНК клітини-хазяїна до нуклеотидів, щоб використовувати їх для синтезу власних нуклеїнових кислот.

Реплікація нуклеїнових кислот реалізується за рахунок активності знов синтезованих вірусних ДНК-полімераз, які утворюють численні копії вірусних нуклеїнових кислот.

Вихід дочірніх популяцій

Синтезовані пізні білки формують в цитоплазмі пул (комплекс) попередників, що входять до складу голівок та хвостів дочірніх вірусних частинок. Інший пул містить ДНК нащадків. Спеціальні афінні області у вірусній ДНК індукують об'єднання попередників головок навколо агрегатів нуклеїнової кислоти та утворення головок, що містять ДНК. Заповнена головка потім взаємодіє з відростком, утворюючи функціональний фаг. Весь процес (від адсорбції до появи нових вірусних частинок) займає близько 40 хвилин. Після утворення нащадків («врожай» або **вихід фага**, складає 10–200 з однієї інфікованої клітини) клітина хазяїна піддається лізису, вивільняючи дочірні популяції. У руйнації клітинної стінки беруть участь різні фактори: фаговий лізоцим, збільшений внутрішньоклітинний тиск. Вірус також стимулює утворення аутолізину або блокує механізми, які регулюють їх синтез.

Лізогенія

У деяких випадках вірулентних властивостей фага стає недостатньо для зруйнування бактерії. Подібні віруси – **помірні фаги** – зазнають цікавих перетворень, що

відомі як **редукція фага**. При цьому процесі ДНК вірусу не викликає утворення вірусспецифічних білків та нуклеїнових кислот, але інтегрується в бактеріальну хромосому. З практичної точки зору бактерія набуває новий набір генів (вбудованого вірусу), а також стає «імунною» до повторного зараження (інтерференція вірусів). Подібний феномен відомий як **лізогенія**, а популяція бактерій – як **лізогенна культура**. ДНК помірного вірусу реплікується синхронно з розмноженням лізогенної бактерії, але інколи (приблизно у однієї з 10^2 – 10^5 подібних бактерій) фаг починає спонтанно розмножуватися, а клітина піддається лізису. Деякі помірні фаги (наприклад, які приймають участь у процесах трансдукції бактерій) не здатні утворювати дочірні популяції, тобто являються дефектними вірусами. *Дефектних фагів використовують в генній інженерії.*

Вірусна ДНК може довгий час зберігатися у бактеріальних нащадках. Такі **латентні бактеріофаги** відомі як *провіруси*, або *профаги*.

Практичне значення бактеріофагів.

Властивість специфічності бактеріофагів використовують на практиці, утворюючи спеціалізовані імунобіологічні препарати – **фаги**. Їх використовують для ідентифікації виділених бактерій, їх виявлення в об'єктах навколишнього середовища, також для лікування та профілактики деяких інфекційних захворювань.

Так як бактерії одного виду часто розрізняються за набором рецепторів для суворо визначених (типових) вірусів, то їх поділяють на **фаговари** (фаготипи). Набори фаготипів використовують при епідеміологічних дослідженнях, які виявляють резервуар інфекції, шляхи передачі збудника та його хазяїв.

За вмістом бактеріофагів у об'єктах навколишнього середовища (наприклад, у воді) говорять про наявність у них патогенних бактерій, у яких вони розмножуються. Аналогічні підходи використовуються при епідеміологічному аналізі спалахів інфекційних захворювань. Виділення бактерій одного фаговару від різних хворих вказує на одне джерело зараження, інакше слід шукати кілька джерел.

Використання бактеріофагів з терапевтичною метою обмежує їх сувора специфічність, так як вірогідність наявності патогенів, чутливих до літичної дії фага, порівняно низька. Однак до сих пір продовжують використовувати дизентерійні, сальмонельозні, стафілококові та деякі інші препарати бактеріофагів.