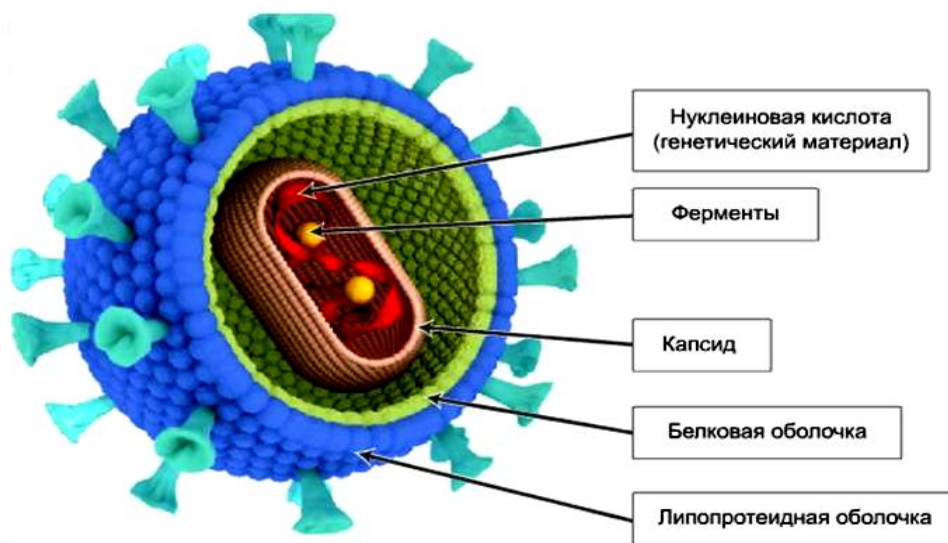


## ВИРУСЫ И МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИХ МУТАЦИЙ

Вирусология занимает важное место среди биологических дисциплин. Современный медицинский или ветеринарный специалист должен знать не только клинико–патологическую сторону заболевания, но и иметь четкое представление о вирусах, их свойствах, методах лабораторной диагностики и свойствах постинфекционного и поствакцинального иммунитета.

Вирус (от лат. *virus* — яд) является простейшей неклеточной формой жизни в виде микроскопической биологической частицы, представляющей собой молекулы нуклеиновых кислот (ДНК или РНК), заключённых в защитную белковую оболочку (капсид) и способные инфицировать живые организмы (рис. 1). \*Вне организма хозяина – вирион.



\*Вне организма хозяина – вирион

- Каждая вирусная частица состоит из РНК или ДНК, заключенной в белковую оболочку, которую называют капсидом. Сложно организованные вирусы имеют дополнительную оболочку — белковую или липопротеиновую.

Рис. 1. Строение вируса

Вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами человека, животных, растений, насекомых, бактерий, грибов, простейших и других живых существ и изменяют свои свойства как в естественных условиях размножения, так и в экспериментах.

Наследственные изменения свойств вирусов могут быть основаны на двух процессах:

1) мутации, то есть изменениям последовательности нуклеотидов в определенной области генома вируса, что приводит к фенотипически выраженному изменению свойства;

2) рекомбинации, то есть обменом генетическим материалом между двумя вирусами, близкими, но различными по наследственным свойствам.

Значительная часть известных человеку вирусов имеют свои особые морфофункциональные и патогенные свойства, чем и вызывают вирусные заболевания у животных и людей. Среди таковых выделяют ДНК- и РНК-содержащие вирусы (рис. 2 и рис. 3).

ДНК-содержащие вирусы		РНК-содержащие вирусы	
Герпесвирусы 	Простой герпес, ветряная оспа, опоясывающий лишай, цитомегалия	Ортомиксовирусы 	грипп
Аденовирусы 	Вирусный конъюнктивит, фарингит	Парамиксовирусы 	Корь, эпидемический паротит, парагрипп, подострый склерозирующий панэнцефалит
Вирус папилломы человека 	Бородавки, остроконечные кондиломы, плоская кондилома	Коронавирусы 	ОРИ

Рис. 2. Патогенные вирусы, вызывающие острые вирусные заболевания у человека.

### Китайские вирусы, угрожавшие человечеству вымиранием

LIFE

#### “Испанский грипп”

Год: 1918  
Тип вируса: H1N1



#### “Азиатский грипп”

Год: 1958  
Тип вируса: H2N2



#### “Гонконгский грипп”

Год: 1968  
Тип вируса: H3N2



#### “Атипичная пневмония”

Год: 2002  
Тип вируса: SARS



#### “Птичий грипп”

Год: 2003  
Тип вируса: H5N1



#### “Свиной грипп”

Год: 2009  
Тип вируса: H1N1



#### “Китайский коронавирус” \*

Год: 2020  
Тип вируса: SARS



#### Смертность от обычного гриппа



Рис. 3. Угрожающие человечеству вирусы.

### Мутации у вирусов.

Мутация - это изменчивость, связанная с изменениями в самих генах. Она может быть прерывистой, скачкообразной и приводит к стойким изменениям наследственных свойств вирусов. Все вирусные мутации делятся на две группы:

\* спонтанные;

\* индуцированные (вызванные).

По своей протяженности они делятся на точечные и абберационные (изменения, затрагивающие значительную часть генома). Точечные мутации вызываются замещением од-

ного нуклеотида (для РНК-содержащих вирусов). Такие мутации иногда можно обратить вспять с восстановлением первоначальной структуры генома.

Однако мутационные изменения могут захватывать большие части молекул нуклеиновых кислот, то есть несколько нуклеотидов. Также в этом случае может происходить выпадения, вставки и перемещения (транслокация) целых участков и даже повороты участков на 180° (так называемая инверсия), смещения каркаса считывания – более крупные перестройки в структуре нуклеиновых кислот, а следовательно, нарушение генетической информации.

Но точечные мутации не всегда приводят к изменению фенотипа. Существует целый ряд причин, по которым такие мутации не могут проявляться. Одна из них - вырождение генетического кода. Код синтеза белка вырождается, что означает, что некоторые аминокислоты могут быть закодированы несколькими триплетами (кодонами). Например, аминокислота лейцин может быть закодирована шестью триплетами. Поэтому, если молекула РНК заменяет триплет ЦУУ на ЦУЦ, ЦУА на ЦУГ, то синтезированная молекула белка все еще бу-



дет содержать аминокислоту лейцин. Поэтому ни структура белка, ни его биологические свойства не нарушаются.

Природа использует своего рода синонимичный язык и, заменяя один кодон другим, закладывает в них одно и то же понятие (аминокислоту), тем самым сохраняя естественную структуру и функцию синтезируемого белка (рис.4).

## Мутация вируса птичьего гриппа

Новый смертельно опасный вирус птичьего гриппа, возникший в Китае, сейчас проходит эволюционный процесс приобретения генетической стабильности, что делает его трудной мишенью для ученых, пытающихся оценить его потенциальную опасность

### ПРОЦЕСС ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ

Каким образом две разновидности вируса могут соединиться и создать новый вирус

#### ВИРУС ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ГРИППА

Гемагглютинин – поверхностный белок вируса гриппа (H). Позволяет вирусу заражать клетки эпителия дыхательных путей

Поверхностный белок нейраминидаза (N). Помогает инфекции распространяться, «отсекая» части инфицированных клеток

Восемь генетических сегментов РНК содержат информацию, необходимую для создания новых вирусных частиц

#### ВИРУС ПТИЧЬЕГО ГРИППА

1 Оба вируса гриппа попадают в клетку-хозяина

КЛЕТКА-ХОЗЯИН

3 Сформировавшиеся вирионы гриппа отделяются от клетки-хозяина. Пандемия возможна, если вирус получит новые поверхностные белки H или N, поскольку организм человека не смог бы сопротивляться новым подтипам вируса

2 Вирусные частицы создаются клеткой-хозяином

ЯДРО КЛЕТКИ

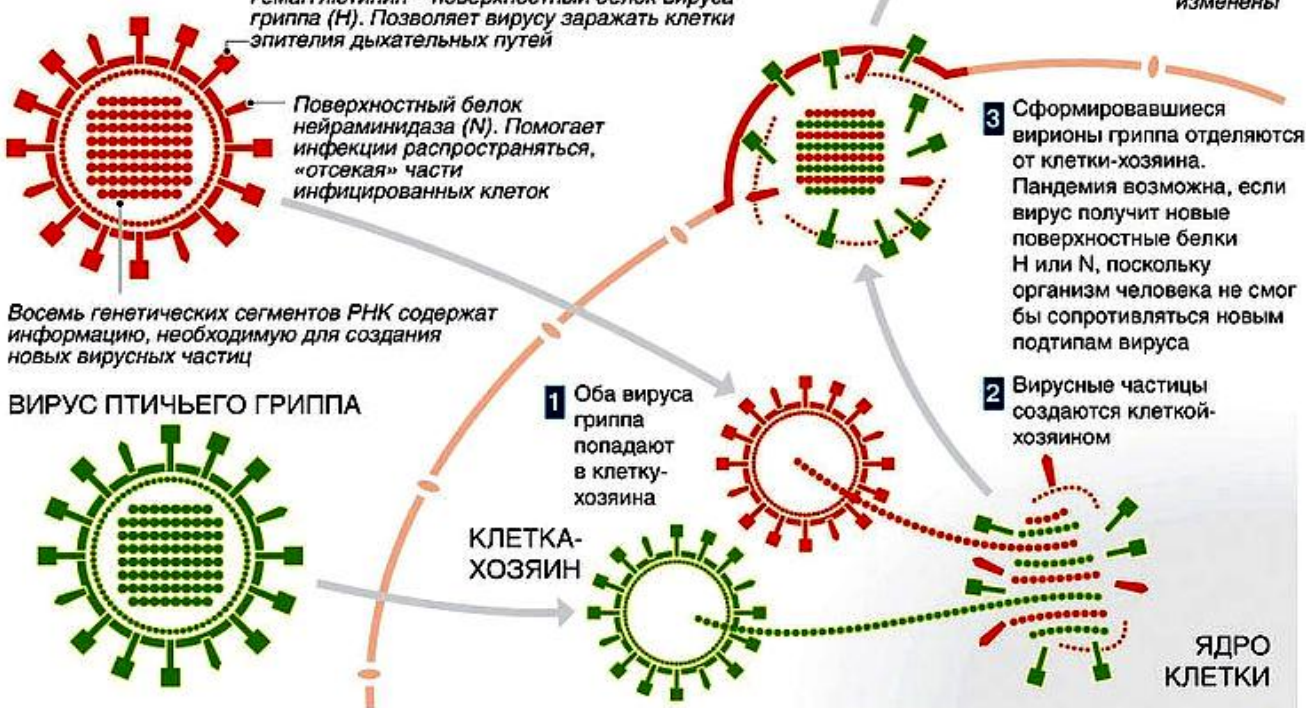
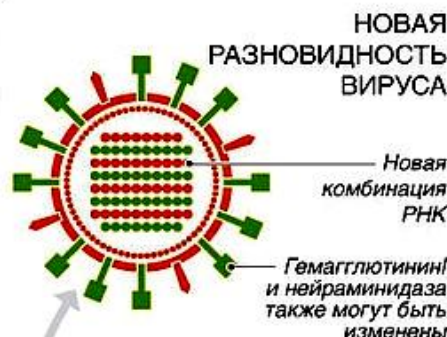


Рис. 4. Мутация вирусов человеческого гриппа и птичьего гриппа через хозяина способна вызвать новый тип заболевания при допущениях.

Другое дело, если аминокислота кодируется только одним триплетом, например, синтез триптофана кодируется и заменяется только триплетом УГГ, то есть синонимом, который отсутствует. В этом случае в белок включается еще одна какая-либо аминокислота, которая может привести к появлению мутантного признака.

Аберрация в фагах вызвана делециями (потерями) различного числа нуклеотидов, от одной пары до последовательности, вызывающей одну или несколько функций вируса. Как спонтанные, так и индуцированные мутации также делятся на прямые и обратные мутации.

Мутации могут иметь разные последствия. В некоторых случаях они приводят к изменению фенотипических проявлений в нормальных условиях. Например, увеличивается или уменьшается размер бляшек под агарным покрытием; увеличивается или ослабевает вирулентность для определенного вида животных; вирус становится более чувствительным к действию химиотерапевтического агента и т. д. (рис. 5).

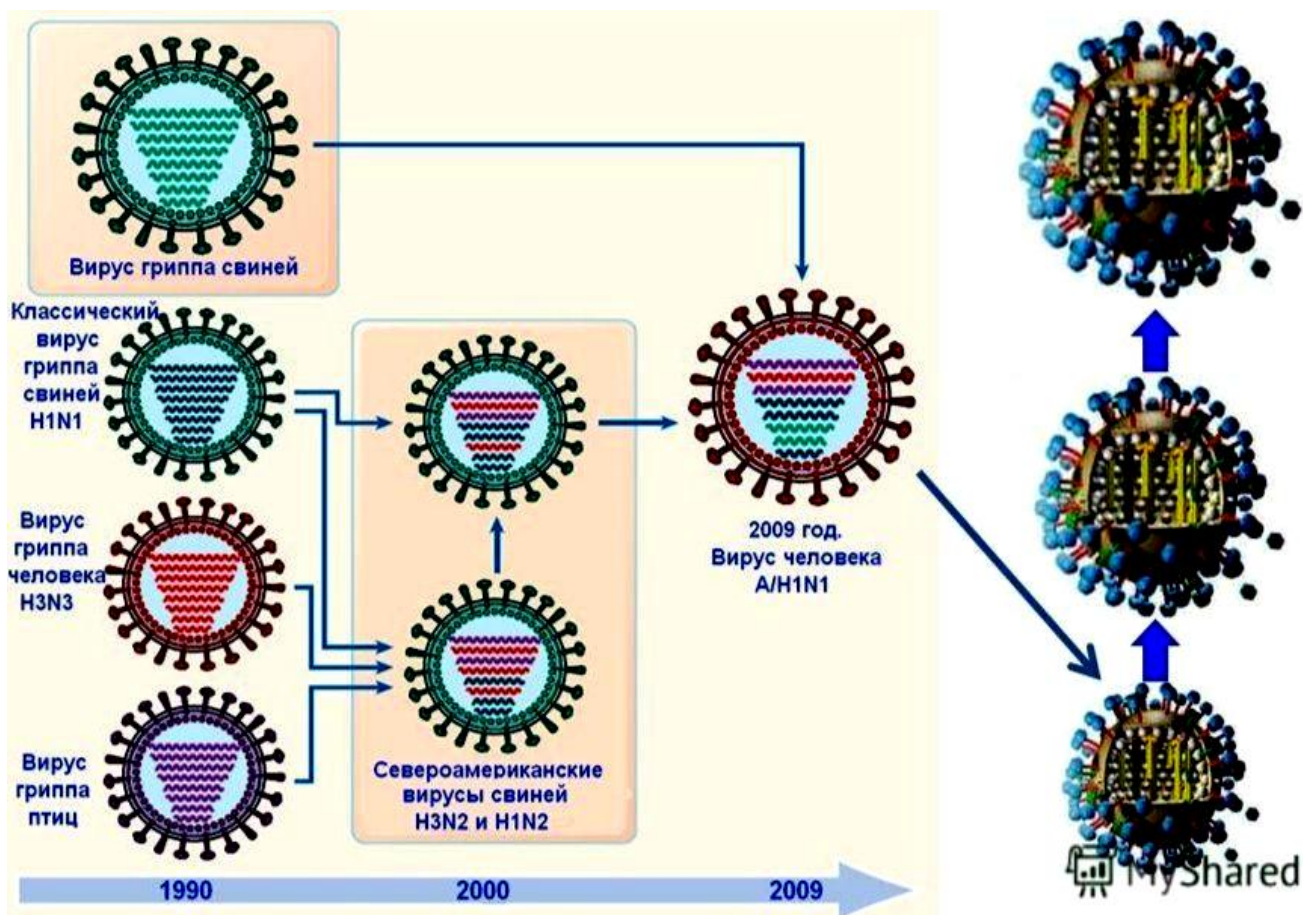


Рис. 5. Мутации нескольких штаммов вирусов человека и животных и их значение в возникновении нового вирусного заболевания человека.

В других случаях мутация является фатальной, поскольку она нарушает синтез или функцию жизненно важного вирусного белка, например, такого как вирусная полимеразы.

В некоторых случаях мутации являются условно летальными, так как вирус-специфический белок сохраняет свои функции при определенных условиях и теряет эту способность в неразрешающих (непермиссивных) условиях. Типичным примером таких мутаций являются термочувствительные – TS-мутации, при которых вирус теряет способность к размножению при повышенных температурах (+39-42°C), сохраняя эту способность при нормальных температурах роста (+36-37°C).

Морфологические или структурные мутации могут влиять на размер вириона, первичную структуру вирусных белков и изменения в генах, определяющих ранние и поздние вирусные ферменты, обеспечивающие размножение вируса.

Мутации также могут быть различными по своему механизму. В одних случаях происходит делеция, то есть потеря одного или нескольких нуклеотидов, в других - встраивание одного или нескольких нуклеотидов, а в некоторых случаях один нуклеотид заменяется другим.

Мутации могут быть прямыми или обратными. Прямые мутации меняют фенотип, а обратные мутации – реверсии) - восстанавливаются. Реальная реверсия возможна, когда обратная мутация происходит вместе с первичным повреждением, и псевдо-реверсия, когда мутация происходит в другой области дефектного гена (инtragenное торможение мутации) или в другом гене (экстрагенное подавление мутации). Реверсия - не редкое явление, потому что ревертанты обычно лучше приспособлены к данной клеточной системе. Поэтому при создании мутантов с определенными свой-

ствами, например, вакцинных штаммов, следует ожидать возможного превращения их в дикий тип.

Вирусы отличаются не только своими небольшими размерами, селективной способностью к размножению в живых клетках, особенностями строения наследственного вещества, но и значительной изменчивостью от других представителей живого мира. Изменения могут влиять на размер, форму, патогенность, антигенную структуру, тканевую тропность, устойчивость к физико-химическим воздействиям и на другие свойства вирусов. Значение причин, механизмов и характера изменений имеет большое значение при получении необходимых вакцин для вирусных штаммов, а также для разработки эффективных мер борьбы с вирусными эпизодами, в ходе которых, как известно, свойства вирусов могут существенно изменяться.

Мутация вирусов может происходить в результате химических изменений цистронов или нарушения последовательности их расположения в структуре молекулы вирусной нуклеиновой кислоты.

В зависимости от условий различают естественную изменчивость вирусов, наблюдаемую в нормальных условиях размножения, и искусственную изменчивость, получаемую в результате многочисленных специальных пассажей или воздействия на вирусы определенных физических или химических факторов (мутагенов).

В обычных природных условиях изменчивость проявляется не во всех вирусах одинаково. Этот признак наиболее заметен у вируса гриппа и вирус ящера. Значительная изменчивость отмечается у вируса гриппа. Об этом свидетельствует большое количество вариантов у разных типов этих вирусов, а также значительные изменения его антигенных свойств в конце почти каждой эпизоотии.

### **Частота мутаций и механизмы их возникновения**

Мутации бактериофагов изучались очень интенсивно не только с целью генетического анализа, но и с целью получения информации о свойствах самих фагов. Частота появления мутантов в потомстве фагов варьируется очень сильно: например, одни мутанты образуются с частотой не более 10, а другие - с частотой 10 и выше. Неблагоприятное воздействие высокочастотных мутаций обычно компенсируется эффектом отбора. Например, мутантный фаг может быть заменен диким типом, что дает более высокий выход фага.

Высокая частота вспышек обычно характерна для таких мутаций, которые могут происходить как во многих локусах, так в одном и том же локусе. В тех случаях, когда нормальный признак соответствует функциональной форме гена, а мутант появляется в результате изменения в любой точке локуса, частота прямых мутаций окажется выше, чем частота обратных мутаций, так как обратные мутации должны приводить к восстановлению нормального состояния. Иногда ревертанты на самом деле являются псевдоревертантами: это происходит либо из-за изменений в другом гене (мутации-супрессоры), либо из-за изменений в том же гене, которые вызывают другую, но также активную форму продукта.

У зрелых фагов частота спонтанных мутаций очень мала, но они могут быть индуцированы под влиянием таких мутагенных факторов, как рентгеновские или ультрафиолетовые лучи, азотистая кислота, гидроксилламин или алкилирующие агенты. Азотистая кислота дезаминирует основания нуклеотидов, а этилметилсульфат их этилирует. Гидроксилламин превращает шитозин в урацил. В результате ошибок, допущенных при репликации химически модифицированной нуклеиновой кислоты, происходят мутации, и потомство фагов, полученное из бактерии, содержит как нормальные, так и мутантные частицы. Однако, как и при обработке мутагенного фага, содержащего одноцепочную ДНК, образуется чистый мутантный клон.

Изучение мутационного процесса, происходящего при размножении фагов, непосредственно связано с анализом развития фагов. Давайте рассмотрим процесс спонтанной мутации. В бактериальной клетке, в которой произошла мутация фага,



образуются как нормальный, так и мутировавший фаги. Количество мутантных фаговых частиц, содержащихся в популяции фагов, происходящих из этой отдельной бактериальной клетки, очевидно, определяется характером размножения фагов, поскольку новые гены могут быть сформированы только путем репликации уже существующих. Если вероятность мутации одинакова для каждой репликации, то число мутантов зависит от механизма репликации. Например, если каждая новая копия гена формируется независимо от других, то распределение мутантных копий в потомках фагов от разных инфицированных бактерий будет случайным. Если же, наоборот, каждая из полученных копий воспроизводится, то в свою очередь мутантные копии будут разделены на группы или клоны, состоящие из мутантных "сибсов".

### **Индукцированные хозяином модификации бактериофагов**

Помимо мутаций, бактериофаги подвержены негенетическим изменениям, в которых главная роль принадлежит клетке-хозяину. Это явление было названо модификациями, вызванными хозяином. Значение этих модификаций для молекулярной биологии состоит в том, что они показали способность внутриклеточной среды вызывать такие изменения в химической структуре генетического материала, которые могут быть использованы для идентификации клеточных линий, синтезирующих ДНК. Подобные явления были впервые обнаружены на фаговой ДНК, но они также справедливы и для каждой бактериальной клеточной ДНК. Есть также наблюдения, при которых это явление относится и к эукариотическим клеткам. В особых случаях могут возникнуть более сложные ситуации. Двустороннее ограничение фага двумя хозяевами иногда наблюдается, но оно не обязательно.

Фаги, отторгнутые клетками, способны адсорбироваться на них и проникать в их ДНК добавляя часть собственной ДНК. Однако последняя часть быстро разрушается, и репликация не происходит. Деградация ДНК вызывается специфическими эндонуклеазами (рестриктазами или R-нуклеазами), которые могут обнаруживать и расщеплять определенные участки ДНК, если они не были модифицированы под влиянием M-ферментов. После этого ДНК расщепляется экзонуклеазами на отдельные нуклеотиды. Бактериальный штамм может иметь одну или несколько R-нуклеаз и в то же время M-ферменты, которые защищают собственную ДНК клетки. Предложена удобная номенклатура этих ферментов. Согласно ряду данных, области детекции R-нуклеазы не всегда совпадают с областями расщепления ДНК; возможно, что фермент может мигрировать по цепочке до того, как найдет область, где происходит расщепление ДНК.

Функциональная роль индуцированных хозяином модификаций неясна. Они способны защитить этот штамм бактерий от массового уничтожения фагами, растущими на различных бактериях. В более общем плане роль модификаций можно определить как защиту от проникновения неприемлемой чужеродной ДНК в бактериальную клетку и ее последующего «приживания». Бактерия А, которая отвергает фаги, размноженные на штамме В, также отвергает ДНК бактерии В, когда она вводится путем конъюгации или трансдукции.

Как видим, мутирование вирусов проходит достаточно сложный и тернистый путь в приобретении новых вирулентных свойств. Эти свойства могут быть как ослабляющими для развития инфекционного процесса, так и крайне агрессивными в своём новом виде.

*Составил: докт. мед. наук, профессор Писаренко Л.В.*