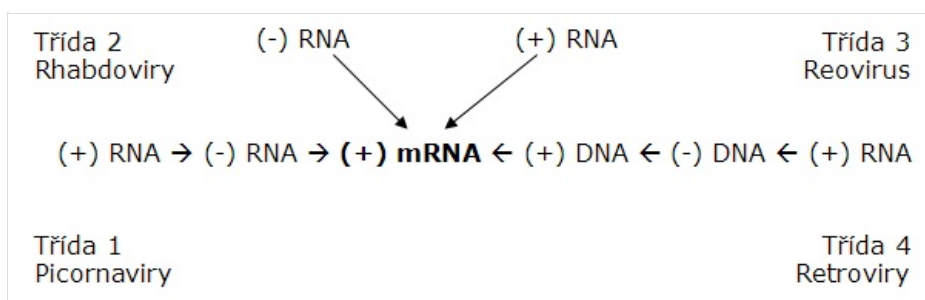


Reprodukce RNA virů

Hostitelská buňka nemá enzymy pro syntézu polynukleotidového řetězce na matrici RNA. Proto RNA viry musí obsahovat informaci pro syntézu zvláštní polymerázy, buď RNA-dependentní RNA-polymerázy nebo RNA-dependentní DNA-polymerázy. Virion někdy musí být vybaven již hotovou takovou polymerázou.

Genová exprese virové RNA má různou strategii, podle které lze viry rozdělit do několika tříd:



První třída RNA virů

Do **první třídy** RNA virů patří picornaviry (*pico* = malý), včetně polioviru, původce dětské přenosné obrny, a arbovirů (arthropode borne = přenášený členovci) včetně původce klíšťové encefalitidy. Virion této třídy obsahuje **(+)ssRNA**. Nejdříve se na hostitelských ribosomech podél této mRNA syntetizuje obrovský proteinový prekurzor (řetězec asi o 2000 aminokyselinových zbytků), který se pak rozštěpí na 7 proteinů. Některé z nich jsou kapsidové bílkoviny a jeden štěp je **RNA-dependentní RNA-polymeráza** (RNA replikáza). Tento enzym na templátu virionové (+)RNA katalyzuje syntézu řetězce (-)RNA a ten použije jako templát k pomnožení (+)RNA, tedy genomů, jež se vestaví do nových virových částic.

Na rozdíl od bakterií eukaryotická hostitelská buňka je schopna překládat mRNA (i polygenovou!) pouze do **jediného** polypeptidového řetězce. Proto virus využívá k tvorbě svých jednotlivých proteinů eukaryotickou posttranslační proteolýzu. S podobným mechanismem se setkáváme např. při biosyntéze některých peptidových hormonů (ACTH, endorfiny).

Druhá třída RNA virů

Druhá třída zahrnuje viry, obsahující v částici (-)ssRNA. Patří sem rhabdoviry (*rhabdos* = hůl, tyčka), jako je původce vztekliny, chřipkové viry, virus příušnic a virus spalniček. Tentokrát je při expresi viru řešena skutečnost, že genomová RNA je řetězec (-), nepoužitelný jako mRNA, a že hostitelská buňka nemá enzym replikující (-)RNA. Virion však obsahuje **RNA-dependentní RNA-polymerázu** (replikázu), která nejdříve na virové genomové matrici syntetizuje pět krátkých mRNA. Ty pak na ribosomech řídí syntézu 5 proteinů (včetně kapsidového, plášťového a včetně nové replikázy, která katalyzuje vznik nové úplné (dlouhé) virové (+)RNA a virionové (+)RNA). Tak je vše připraveno k sestavování virionů. U této druhé třídy RNA virů je problém, jak získat z polygenové informace jednotlivé peptidy, řešení na úrovni transkripce. Syntetizují se krátké mRNA, nevzniká proteinový prekurzor, který by bylo nutno posttranslačně upravovat jako při reprodukci virů I. třídy.

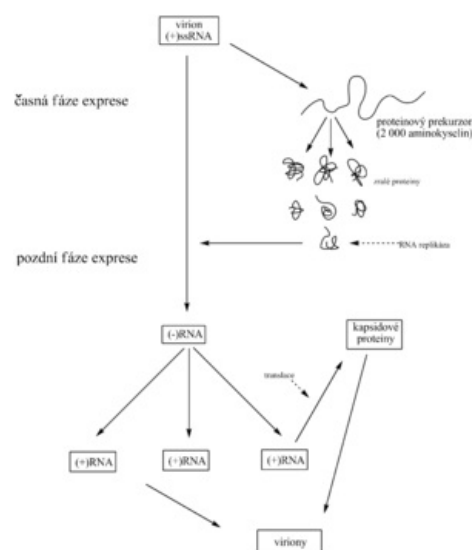


Schéma exprese virových genomů Picornavirů (dětská obrna) a Arbovirů (klíšťová encefalitis)

Třetí třída RNA virů

Třetí třídu tvoří reovirus. Byl nalezen v lidském respiračním a zažívacím traktu, i když nezpůsobil zjevné onemocnění (respiration and enteric orphans). V jeho virionu se nachází deset **(±)dsRNA** a **RNA-dependentní RNA-polymeráza**, která v hostitelské buňce použije (-) řetězce virové RNA jako matrici k syntéze deseti mRNA. Jejich translací vzniká 10 virových proteinů včetně nové replikázy. Replikací se posléze rozmnoží a vytvoří též genomové (±)dsRNA. Jednotlivé složky se sestavují v nové viriony. Genom reoviru tedy obsahuje 10 monogenových mRNA.

Čtvrtá třída RNA virů

Do **čtvrté třídy** se řadí retroviry (např. virus Rousova sarkomu – původce ptačího sarkomu nebo virus HIV – původce AIDS). Název vyjadřuje zvláštní strategii replikace těchto virů, t.j. reverzního převodu informace z RNA do DNA. Virion viru Rousova sarkomu (RSV) obsahuje 2 molekuly **(+)ssRNA**, **RNA-dependentní DNA-polymerázu** (reverzní transkriptázu) a tRNA^{Trp}. Tyto složky jsou obaleny kapsidovými proteiny a lipidovou membránou obsahující virový glykoprotein.

Po vniknutí viru do buňky RNA-dependentní DNA-polymeráza v cytosolu přepíše virový genom do řetězce (-)DNA a hned ho doplní na (±)dsDNA zvanou **provirus**. Jako primer při syntéze DNA slouží virionová tRNA^{Trp}, která byla v předešlém cyklu převzata od hostitelské buňky a asociovala se na krátký komplementární úsek virové RNA. Templátová (virionová) RNA je během syntézy proviru rozložena.

Retrovirová DNA je transkribována jedině tehdy, je-li začleněna (integrována) do hostitelského genomu. K tomu slouží dlouhé koncové repetice (LTR, long terminal repeats) na obou koncích provirové DNA. Zahrnují úsek U3, R a U5. U5 a U3 jsou rozdílné sekvence, R je repetice. V LTR jsou signální sekvence pro integraci a transkripci (enhancery, promotory).

(±)dsDNA RSV se nejdříve cyklizuje a pak se přemísť z cytosolu do jádra. Začlenění se (integruje) na zcela určité místo ptačího genomu (je schopna se integrovat i do savčího genomu, a to na různá místa).

Genom RSV obsahuje čtyři geny. Gen **gag** kóduje velký proteinový prekurzor (polyprotein), ze kterého se pak proteolyticky oddělí několik virových proteinů. Gen **pol** nese informace pro syntézu reverzní transkriptázy a gen **env** pro vznik virového obalového glykoproteinu. Z lékařského hlediska je zajímavý gen **src**, který není pro reprodukci viru nutný, avšak jeho produkt vyvolává malignizaci buňky (fibroblast mění v sarkomovou buňku). Proto je řazen do skupiny tzv. **onkogenů**. Kóduje proteinkinázu, která katalyzuje fosforylaci tyrosinového zbytku jiných proteinů. Mechanismus, jakým tento enzym vyvolá maligní zvrát, není zcela objasněn.

Při expresi genomu RSV se alternativním sestřihem syntetizují tři různé mRNA. Nesestřižená mRNA se stane genomovou, je asociována s virovými proteiny a tRNA. Hotový virion „vypučí“ z cytoplazmatické membrány hostitelské buňky, přičemž si odejme část této membrány, aniž by buňku lyzoval. Tím se retroviry liší od DNA virů. Retrovirová DNA se replikuje s hostitelským genomem, takže virus se přenese do dceřiných buněk.

Na chromosomech zdravého kuřete byl nalezen gen, lišící se strukturou jen nepatrně od virového *src*. Ukázalo se, že je to normální buněčný gen odpovědný za diferenciaci buňky. Obecně se nazývá **protoonkogen** a je označován jako *c-src* na rozdíl od virového onkogenu *v-src*. Byly již objeveny desítky takovýchto protoonkogenů. Podle názoru vědců byl onkogen přenesen do virového genomu sekundárně a je jím přenášen z buňky na buňku (**transdukce**). Jeho exprese je pak řízena virovým promotorem, který nepodléhá normálním regulacím, takže není zaručena fyziologická hladina jeho produktu. Některé virové promotory jsou velice výkonné. Virové onkogeny nemají introny, na rozdíl od buněčných protoonkogenů.

Retrovirové onkogeny

Retrovirové onkogeny lze podle jejich produktů rozdělit do pěti skupin:

1. Onkogeny, které kódují tyrosinovou proteinkinázu (např. *src*).
2. Onkogeny kódující bílkovinu s funkcí růstového faktoru (např. onkogen *sis* kóduje protein téměř identický s růstovým faktorem PDGF).
3. Onkogeny s informací pro syntézu receptorů růstových faktorů (např. onkogen *erb-B*).
4. Onkogeny řídící vznik proteinů vázajících guanylnukleotidy, tj. G-proteiny (např. onkogen *Ha-ras*). Takové produkty pak nejsou schopny štěpit GTP, což poruší regulační vlastnosti G-proteinu a způsobí malignizaci buněk.
5. Onkogeny kódující jaderné regulační proteiny (např. onkogen *myb*).

Z rozmanitosti produktů onkogenů vyplývá, že mechanismy onkogeneze jsou různé, neboť tyto proteiny zasahují do různých stupňů regulace buněčné diferenciace a proliferace. Onkogen *Erb-B* např. produkuje pouze tyrosinkinázovou část membránového receptoru pro epidermální růstový faktor EGF. Na normálním receptoru je tyrosinkináza aktivní pouze po navázání EGF na receptor. Produkt onkogenu *Erb-B* však tuto vazebnou část postrádá a kinázová aktivita je konstitutivně odblokována.

Virus Rousova sarkomu byl příkladem tzv. **akutně transformujícího viru**. Patří sem též akutní leukemické viry. *In vitro* jsou takovými viry buňky transformovány během 2–3 týdnů. Onkogen je v tomto případě vložen do virového genomu a jeho transkripce je řízena virovým promotorem. Existuje ještě skupina **pomalů transformujících virů** (např. chronické leukemické viry), které transformaci buněk navodí až po 4–12 měsících. Genomy těchto virů neobsahují onkogen. Buňku malignizují až tehdy, jsou-li integrovány v sousedství normálního buněčného protoonkogenu, který je pak řízen výkonným provirovým promotorem.

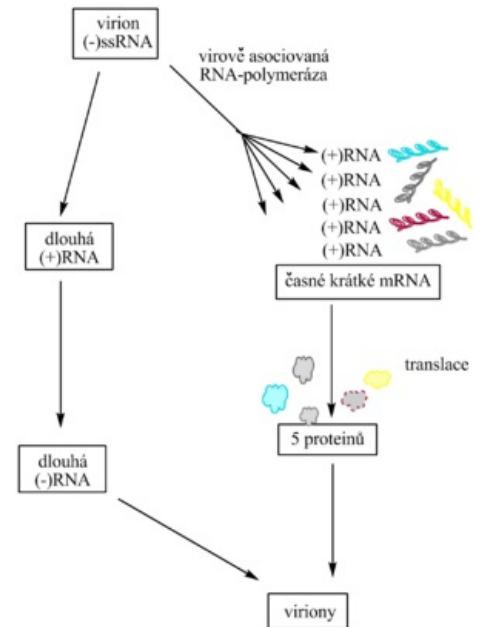


Schéma exprese virových genomů Rhabdovirů (vezikulární stomatitis, vzteklna)

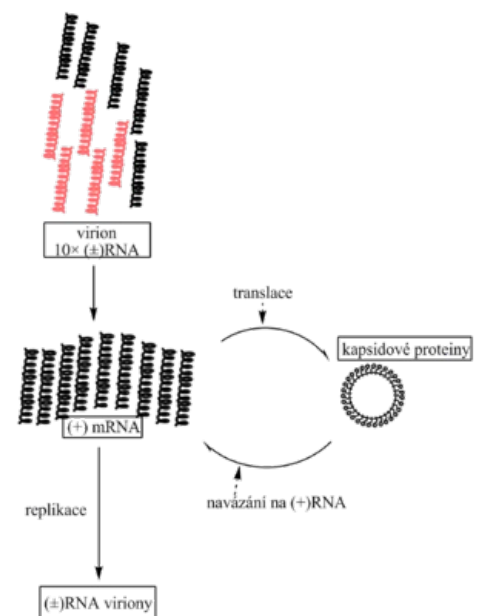


Schéma exprese virových genomů Reoviru

Některé retroviry jsou nebezpečné, aniž by navozovaly maligní zvrát. Virus lidské imunodeficiency (HIV, human immunodeficiency virus) vyvolává syndrom získané imunitní nedostatečnosti (AIDS, acquired immune deficiency syndrome). Virus je příbuzný lymfotropnímu viru, který u člověka vyvolává vzácně leukémii (HTLV-I). Virus HIV infikuje lymfocyty T4 a lyzuje je. Tím organismus ztrácí důležitou složku imunitní obrany. Lymfocyty T4 jsou totiž potřebné k uchování paměti pro sekundární imunitní odpověď, mají význam při zrání B-buněk v plazmatické buňky, produkující protilátky a pro zrání lymfocytů T8, potřebných k odstraňování infikovaných buněk. Člověk umírá na běžnou infekci nebo na maligní nádor.

Intenzivní studie tohoto viru zatím nepřinesly výsledky, umožňující účinnou terapii. **Thymidinazid** je reverzní transkriptázou zařazen do provirové DNA a ukončuje prodlužování řetězce, který postrádá volnou 3'-OH skupinu. Lék zpomaluje onemocnění.

Odkazy

Související články

- Viry
- Biochemie virů
- DNA viry
- RNA viry
- Reprodukce DNA virů
- Interferony

*Další kapitoly z knihy **ŠTÍPEK, S.: Stručná biochemie uchování a exprese genetické informace:***

Struktura nukleových kyselin: Základní složky nukleových kyselin • Primární struktura nukleových kyselin • Řetězec nukleové kyseliny lze štěpit neenzymovou nebo enzymovou hydrolýzou • Metody sekvencování • **Sekundární a vyšší struktura nukleových kyselin:** Sekundární struktura DNA • Denaturace a reasociace řetězců nukleových kyselin, molekulární hybridizace • Sekundární struktura RNA • Topologie DNA; • Interakce DNA s proteiny, struktura chromosomu • Bakteriální chromosom • Eukaryotické chromosomy • DNA mitochondrií

Biosyntéza nukleových kyselin: Replikace DNA • Transkripce

Biosyntéza polypeptidového řetězce - translace: Transferové RNA (tRNA) • Aktivace aminokyselin, syntéza aminoacyl-tRNA • Funkce ribozómů v translaci • Translace u prokaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace translace • Elongace peptidů • Terminace translace • Inhibitory bakteriální translace • Translace u eukaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace eukaryotické translace • Elongace eukaryotické translace • Terminace eukaryotické translace • Inhibitory eukaryotické translace

Genetický kód

Biosyntéza nukleových kyselin a proteosyntéza v mitochondriích: Replikace mitochondriální DNA • Mitochondriální transkripce • Mitochondriální translace

Řízení genové exprese a proteosyntézy: Řízení genové exprese a proteosyntézy u prokaryot • Regulace na úrovni transkripce • Regulace sigma-faktory • Jacobův-Monodův operonový model • Regulační význam cAMP u bakterií • Variace operonového řízení genů • Tryptofanový a arabinosový operon • Řízení terminace transkripce • Regulace bakteriální proteosyntézy na úrovni translace • Řízení genové exprese a proteosyntézy u eukaryot • Regulace na úrovni uspořádání genů • Regulace na úrovni transkripce • Regulace posttranskripčních úprav pre-mRNA • Regulace na úrovni translace • Řízení rychlosti degradace mRNA • Regulace funkce proteinu kotranslačními a posttranslačními úpravami

Posttranslační úpravy a targeting proteinů: Signální sekvence polypeptidu, volné a vázané ribozómy • Posttranslační glykosylace proteinů • Targeting nezávislý na glykosylaci proteinů • Targeting mitochondriálních proteinů • Targeting jaderných proteinů • Rozhodovací mechanismus k destrukci nefunkčních proteinů • Receptorem zprostředkovaná endocytóza

Biochemie virů: Reprodukce DNA virů • Reprodukce RNA virů • Interferony

Biochemie genového inženýrství: Štěpení DNA na definovaném místě řetězce • Účinné dělení fragmentů DNA elektroforézou • Identifikace restričních fragmentů • Syntéza umělé DNA • Pomnožení a exprese izolovaného nebo umělého genu v hostitelské buňce

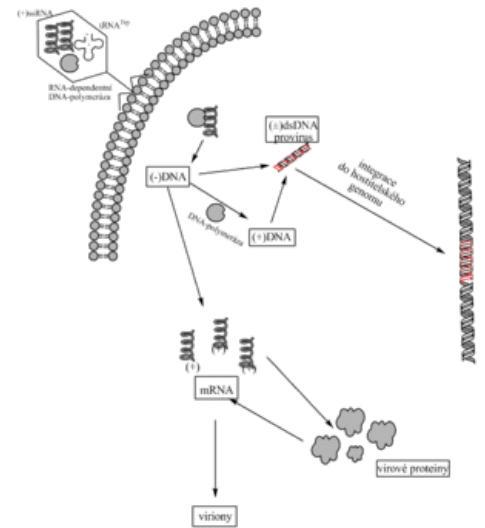
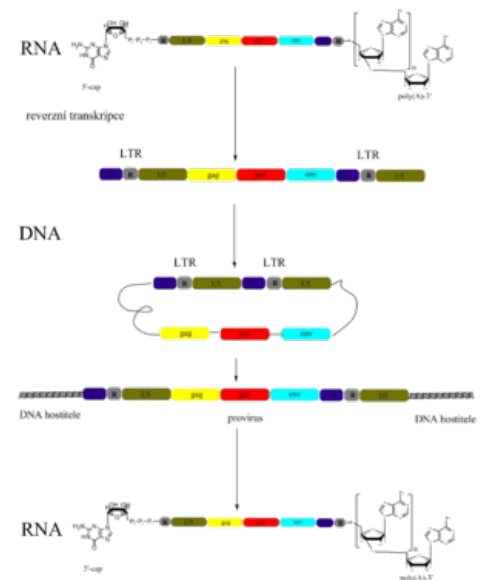


Schéma exprese virových genomů Retrovirů (leukémie, sarkomy, AIDS)



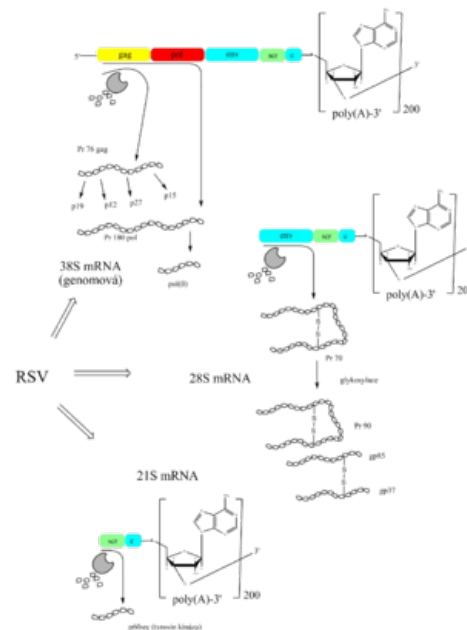
Reprodukce retroviru

Zdroj

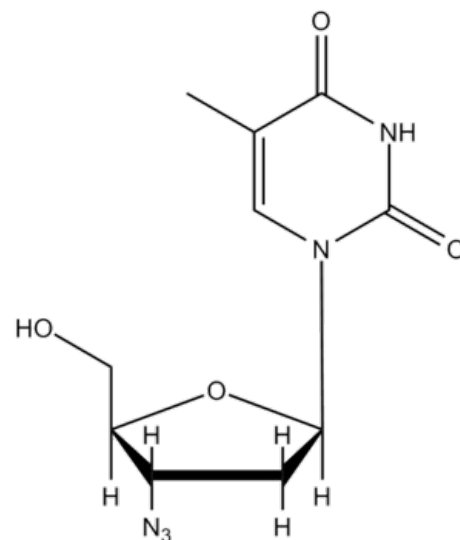
- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Praha : Medprint, 1998. ISBN 80-902036-2-0.

Použitá literatura

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Praha : Medprint, 1998. ISBN 80-902036-2-0.



Genom RSV, syntéza virových mRNA a proteinů



Vzorec thymidinazidu