ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

Էքսպեր. և կլինիկ. բժշկ. հանդես

XIV, № 4, 1974

Журн. экспер. и клинич. медицины

УДК 616.988:612.015.348

А. С. АГАБАЛЯН, С. М. АКОПЯН

БИОСИНТЕЗ ВИРУСНЫХ БЕЛКОВ

Работа посвящена анализу и современной трактовке данных, имеющихся в литературе в отношении биосинтеза вирусспецифических белков. Особое внимание уделено РНК-полимеразе, ферменту, индуцированному в инфицированной вирусами клетке, без которого невозможна репликация вирусных нуклеиновых кислот. Обсуждаются вопросы синтеза структурных белков различных групп вирусов, их количества, роли в организации вирусной частицы, молекулярного веса и аминокислотного состава.

Белки, образуемые в ходе вирусной инфекции под контролем генома вируса, можно разделить на три группы: белки, катализирующие репликацию вирусной нуклеиновой кислоты; структурные белки, включающиеся в состав новых вирусных частиц, и белки, изменяющие некоторые функции или структуру клетки хозяина.

К первой группе белков относятся так называемые «ранние» белки, осуществляющие перестройку метаболизма клетки и синтез компонентов вируса. Одни из них представляют собой белки типа гистонов и играют роль депрессоров ДНК, другие являются энзимами, обеспечивающими биосинтез вирусного потомства (дезоксицитидилатоксиметилаза, тимидинкиназа, РНК-полимераза и т. д.) [16].

На модели бактериофагов было показано, что ранние белки формируются сразу же после проникновения в клетку вирусной нуклеиновой кислоты и появление их всегда предшествует синтезу компонентов вируса. Уже в течение первых двух минут после заражения в инфицированной клетке образуется до 25 ферментов, большая часть которых являются новыми, не встречающимися в незараженной клетке.

Одним из вновь обнаруживаемых белков является фермент, ответственный за репликацию вирусных РНК. Этот фермент до настоящего времени не имеет общепринятого названия. Различные исследователи предлагают самые разнообразные названия: РНК-синтетаза, РНК-репликаза, вирусная РНК-полимераза [10].

Впервые вирусная РНК-полимераза была описана Балтимором и Франклином [8], которые обнаружили ее в клетках, инфицированных вирусом Менго. С тех пор появилось большое количество сообщений об обнаружении этого фермента в клетках, инфицированных РНК-содержащими вирусами.

РНК-полимеразу удается выявить спустя определенный промежуток времени, и в большинстве случаев она обнаруживается в цитоплазме инфицированных клеток [6, 9].

Продуктами синтеза этого фермента в зараженных клетках являются однонитчатая вирусная РНК, двунитчатая, репликативная форма РНК, устойчивая к действию рибонуклеазы, и, возможно, репликативная промежуточная форма РНК. Другими словами, при помощи РНК-полимеразы происходит репликация вирусных РНК. В свете этих данных первостепенное значение приобретает вопрос о количестве РНК-полимераз, участвующих в процессе репликации вирусных РНК. Имеющиеся данные очень дискутабельны и предполагают наличие как одного, так и двух ферментов [20, 21]. Открытия, сделанные в последние годы, которые по праву можно считать одним из наиболее значительных достижений современной вирусологии, привели к довольно определенным выводам о численности ферментов, участвующих в репликации вирусных нуклеиновых кислот. Было показано, что в составе вирионов целого ряда вирусов имеется РНК-зависимая, РНК-полимераза, вирус везикулярного стоматита, реовирус, вирус болезни Ньюкасла, различные штаммы вируса гриппа и т. д. [4]. Фермент этот был обнаружен также в составе всех изученных в этом отношении онкорнавирусов [7]. В составе вируса оспавакцины (ДНК-содержащий вирус) была найдена ДНК-полимераза [18], что позволило объяснить факт репродукции этого вируса в цитоплазме, где такой фермент отсутствует.

По-видимому, наличие вирионных полимераз является более или менее общей закономерностью для сложно устроенных вирусов с липидной оболочкой, хотя в составе таких больших групп вирусов, как арбовирусы и пикорнавирусы, этот фермент не обнаружен.

С этим обстоятельством, очевидно, связано выделение инфекционной РНК у этих групп вирусов.

Исходя из сказанного, можно предположить, что в ряде, если не в большинстве, случаев в репликации вирусных нуклеиновых кислот принимают участие два фермента. Первый из них—вирионная полимераза, осуществляет процесс транскрипции, в связи с чем ее называют «транскриптазой», а второй участвует в синтезе репликативной формы, на которой и происходит репликация «плюс» нитей РНК. В случае же с арбовирусами и пикорнавирусами синтез вирусных РНК осуществляется, вероятно, одним ферментом, синтезируемым в клетке после ее инфицирования.

Становится ясно, что на ранних этапах инфекционного процесса образуются, главным образом, неструктурные белки, участвующие в синтезе нуклеиновых кислот вирусов. Синтез структурных белков вируса начинается на более позднем этапе вирусной инфекции, причем в это время прекращается образование многих белков, синтезированных вначале. Однако использование более точных методов биохимического исследования позволило предположить, что такое разделение синтеза белков на «ранние» и «поздние» является более чем условным. Так, на примере фаговых белков было показано, что существуют большие различия в сроках начала и окончания синтеза различных белков [15]. Подобное образование разных вируспецифических белков на различ-

ных этапах инфекционного процесса описано также и для некоторых ДНК-содержащих вирусов.

Можно предположить о существовании специальных механизмов, регулирующих образование различных вирусных белков. В отношении ДНК-содержащих вирусов можно представить два вида регуляторных механизмов. В одном случае на разных этапах инфекционного процесса могут функционировать разные гены, т. е. регуляция синтеза белков идет на уровне транскрипции. В другом случае по мере развития инфекционного процесса может изменяться эффективность синтеза белка, направляемого различными информационными РНК. В этом случае говорят о регуляции на уровне трансляции.

На примере РНК-содержащих фагов было показано, что на различных стадиях инфекции разные белки образуются в неодинаковых пропорциях [23, 25]. При выяснении возможного механизма регуляции синтеза белков в этом случае необходимо исходить из того, что все вируспецифические белки у РНК-содержащих вирусов кодируются одной молекулой вирусной РНК. В настоящее время отсутствуют данные о существовании каких-либо ранних или поздних информационных РНК, ответственных за синтез индивидуальных белков, вследствие чего можно заключить, что регуляция синтеза белков у этих вирусов происходит на уровне трансляции.

Значительный интерес представляет проблема локализации синтеза вирусных белков. Значение этой проблемы усугубляется еще и тем, что выяснение локализации синтеза вирусных белков является весьма сложной задачей. Имеющиеся на сегодняшний день методы позволяют определить не место синтеза белков, а место их накопления в клетке, в то время как вирусные белки могут синтезироваться в одном месте, а накапливаться в другом. Исследования, проведенные с вирусами группы герпеса, аденовирусами, миксовирусами [1, 2], говорят о возможной локализации синтеза белков всех вирусов в цитоплазме. Однако это положение требует дальнейшего изучения.

Следующей группой белков, синтезируемых при вирусной инфекции, являются структурные белки, участвующие в организации новых вирусных частиц. Вопрос о количестве структурных белков, входящих в состав различных вирусов, до настоящего времени не решен окончательно. Так, например, в составе арбовирусов большинством исследователей констатируется наличие двух-трех белков. При помощи электрофореза в полиакриламидном геле Страуссу [24] удалось показать, что в состав вируса Синдбис входят, по крайней мере, два белка, один из которых связан с вирусным нуклеопротеидом.

Такое же количество белков было обнаружено в составе вируса западного энцефалита лошадей. Три белка были также показаны в составе вириона вируса лесов Семлики, причем с вирусным нуклеопротеидом было связано два белка, а один был связан с оболочкой [13]. Изучая состав этих трех белков, Ачесон и Тамм показали [5], что они отличаются друг от друга не только молекулярным весом (32000—белок РНП и 51000—белок оболочки, молекулярный вес выражен в дальтонах), но

и составом входящих в них аминокислот. Белок рибонуклеопротеида содержал в избыточном количестве лизин, в то время как в белке, связанном с вирусной оболочкой, доминировали лейцин и валин. Три белка были обнаружены и в составе вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей [3].

Разницу в количестве структурных белков арбовирусов одной группы (группа А) с практически одинаковыми антигенными свойствами, по-видимому, можно объяснить не только структурными особенностями арбовирусов, но и различием методов, использованных при получении вирусных компонентов.

У представителя рабдовирусов—вируса везикулярного стоматита—было обнаружено пять индивидуальных белков с различным молекулярным весом (180000, 67000, 52000, 40000, 25000 дальтон). Основную массу нуклеокапсида составляли три белка, а два других составляли минорные компоненты. При анализе состава полипептидов субвирусных частиц вируса везикулярного стоматита при помощи электрофореза в полиакриламидном геле были получены следующие результаты: 1) оболочка вириона содержит минимум два типа полипептидных цепей: гликопротеид VP2 и белок VP4, 2) нуклеопротеид, получаемый при обработке вируса везикулярного стоматита дезоксихолатом натрия, содержит один белок. Отмечается, что вирионы вируса везикулярного стоматита имеют по крайней мере еще два белка, один из которых связан с нуклеокапсидом и, возможно, фиксирует структуру нуклеопротеидного тяжа [17].

Созревание парамиксовирусов и ортомиксовирусов происходит на клеточных мембранах, что могло бы привести к включению части клеточных белков в состав формируемого на мембране вируса. Однако этого не происходит, т. к. внешняя мембрана миксовирусов не содержит белков, кодируемых клеточным геномом [11]. Количество структурных белков в составе вирионов этих вирусов также различно. Так, в составе вирусов болезни Ньюкасла было обнаружено три основных и пять минорных компонентов. Из них удалось идентифицировать только три компонента: два основных (гемагглютинин и белок внутреннего РНП), и белок нейраминидазы, являющийся одним из минорных компонентов [12].

В составе очищенного вируса гриппа путем электрофореза в геле было обнаружено два белка и два гликопротеина. Полипептиды и гликопротеины отличались друг от друга аминокислотным составом. Полипептиды содержали избыточное количество аргинина и метионина, а гликопротеины были богаты цистеином. Гликопротеины отличались высокой лабильностью и деградировались в определенных условиях. Стабильность и электрофоретическая подвижность гликопротеинов зависят от клеток хозяина в отличие от белка, который является продуктом вирусной инфекции. Это обстоятельство предполагает клеточное происхождение карбогидратов [14].

Подобные данные и близкие величины нуклеокапсидального белка были приведены также в работах других авторов [19, 22].

Резюмируя, остается отметить, что, несмотря на значительные достижения в области молекулярной биологии вирусных белков, все же еще многое продолжает оставаться нерешенным. Разрешению подлежат такие вопросы, как: причина различий в числе вирусспецифических белков, кодируемых разными вирусами; почему одним вирусам для репликации достаточно три белка, когда другие используют для этой цели значительно большее количество белков; является ли это выражением принципиальных различий в механизмах репликации и ряд других.

Институт экспериментальной биологии
АН Арм. ССР

Поступила 29/VI 1973 г.

Ա. Մ. ԱՂԱԲԱԲՅԱՆ, Ս. Մ. ՀԱԿՈԲՅԱՆ

ՎԻՐՈՒՍԱՅԻՆ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԲԻՈՍԻՆԹԵԶ

Ամփոփում

Տվյալ աշխատանքը նվիրված է գրականության մեջ գոյություն ունեցող վիրուսային սպիտակուցների բիոսինթեզին վերաբերվող տվյալների քննարկմանը և մեկնաբանմանը։

Առանձնահատուկ ուշադրություն է հատկացված կարևորագույն ֆերմենտներից մեկին (ՌՆԹ-պոլիմերազային), որն արտադրվում է վիրուսով վարակված բջջում, առանց որի անհնարին է վիրուսային նուկլեինաթթուների ռեպլիկացիան։

Քննարկվում են տարբեր խմբի վիրուսների կառուցվածքային սպիտակուցների սինթեզի հարցերը, նրանց քանակությունը և դերը վիրուսային մասնիկի կազմավորման հարցում, մոլեկուլյար կշիռը և ամինաթթվային կազմը։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Жданов В. М., Букринская А. Г.* Репродукция миксовирусов. М., 1969.
2. *Жданов В. М., Гайдамович С. Я.* В кн.: Вирусология. М., 1966.
3. *Урываев Л. В., Деркач Ю. С., Жданов М. В., Ершов Ф. И.* Биохимия, 1971, 36, 92.
4. *Aaslestad H., Clarke H., Bishop D., Korzovski H.* T. 1971, 7, 726.
5. *Acheson N., Tamm I.* J. Virol., 1970, 5, 714.
6. *Baltimore D.* Proc. Nat. Acad. Scien., 1964, 51, 450.
7. *Baltimore D.* Nature, 1970, 226, 1209.
8. *Baltimore D., Franklin R.* J. Biol. Cgem., 1963, 238, 3395.
9. *Chow S., Simpson R.* Proc. Nat. Acad. Scien., 1971, 68, 752.
10. *Dalgarno L., Martin E.* Virology, 1965, 26, 450.
11. *Etchison J., Doyle M., Penhoet E., Holland J.* J. Virol., 1971, 7, 155.
12. *Evans M., Kingsbury D.* Virology, 1969, 37, 597.
13. *Friedman R.* J. Virol., 1968, 2, 1076.
14. *Haslam E., Hampson A., Egan J., White D.* Virology, 1970, 42, 555.
15. *Hosoda F., Levintal C.* Virology, 1968, 34, 709.
16. *Joklik W.* Progr. Med. Virol., 1965, 7, 44.

17. *Kang C., Preves L.* J. Virol., 1970, 6, 20.
18. *Kates J., McAuslan B.* Pros. Nat. Acad. Scien., 1967, 58, 134.
19. *Klen K., Caliguri L., Choppin P.* Virology, 1970, 42, 473.
20. *Lodish H., Zinder N.* Science, 1966, 152, 372.
21. *Mills D., Pace N., Spiegelman S.* Proc. Nat. Acad. Scien., 1966, 56, 1778.
22. *Mountcaltle W., Compans R., Caliguri L., Choppin P.* J. Virol., 1970, 6, 677.
23. *Oeschger M., Nathans D.* J. Mol. Biol., 1966, 22, 235.
24. *Strauss J., Burge B., Pfeffercorn E., Darnell J.* Proc. Nat. Acad. Scien., 1968, 50, 533.
25. *Vinuela E., Simon L., Ochoa S.* Europ. J. Biochem., 1967, 1, 1.