

# **ВИРУСЫ ГРИППА**

**классификация, морфология, строение вириона, репродукция**

**Татьяна Николаевна Ильичева**

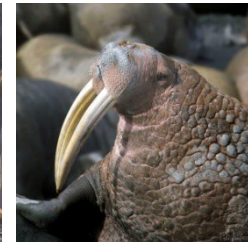
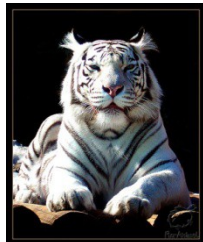
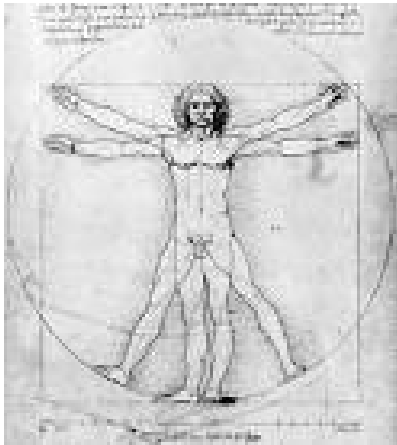
**д.б.н., доцент, зав. лабораторией  
серодиагностики гриппа**

**Вирусы гриппа относятся к семейству  
Ортомиксовирусы**

*(Orthomyxoviridae)*

- Муховирусы от греческого '*муха*' = слизь
- Пандемии гриппа (Influenza) известны уже несколько столетий.
- В начале 20 века причиной этой болезни называли *H. influenzae* и другие бактерии.
- В 1933 Смит, Эндрюс и Лэйдлоу изолировали из хорьков вирус гриппа и доказали, что он является причиной заболевания людей.
- В 1940-е годы, когда еще не применялись культуры клеток для выращивания вирусов, иммунология была примитивна и мало вирусов было известно, были исследованы свойства гемагглютинаина, открыта способность вируса размножаться в развивающихся куриных эмбрионах (после адаптации). Все это позволило стать вирусу гриппа самым изученным вирусом этого времени и наиболее удобной моделью для изучения патогенеза.

# Основные носители вируса гриппа в природе



## Вирусы гриппа делятся на 3 рода

- **Род вирусов гриппа А** инфицируют широкий спектр млекопитающих, включая человека, лошадей, свиней, хорьков, и птиц. Этот патоген вызывает эпидемии и пандемии. Известны 16 серотипов гемагглютинаина (H) и 9 серотипов нейраминидазы (N). Свиньи и птицы – наиболее важный резервуар разных генетических (антигенных) вариантов вируса, которые могут вернуться обратно в человеческую популяцию через тесный контакт между человеком и животными.
- **Род вирусов гриппа В** инфицируют только млекопитающих и вызывают заболевание, но, как правило, не такое острое, как вирусы типа А. В отличие от вирусов гриппа А не имеют серотипов.
- **Род вирусов гриппа С** также инфицируют только млекопитающих, но не вызывают заболевания (?). Генетически и морфологически отличаются от А и В типов.

# Классификация вирусов гриппа А

- Вирусы гриппа А классифицируют на основании антигенных свойств двух поверхностных гликопротеинов вирусной частицы – гемагглютинаина (НА) и нейраминидазы (НА).
- К настоящему моменту выделены вирусы гриппа А 18-ти подтипов НА (Н1-Н16) и 11-ти подтипов НА (N1 – N9)
- От человека выделены вирусы А трех подтипов гемагглютинаина (Н1, Н2, Н3) и двух подтипов нейраминидазы(N1, N2).

# Обозначение штамма вируса гриппа

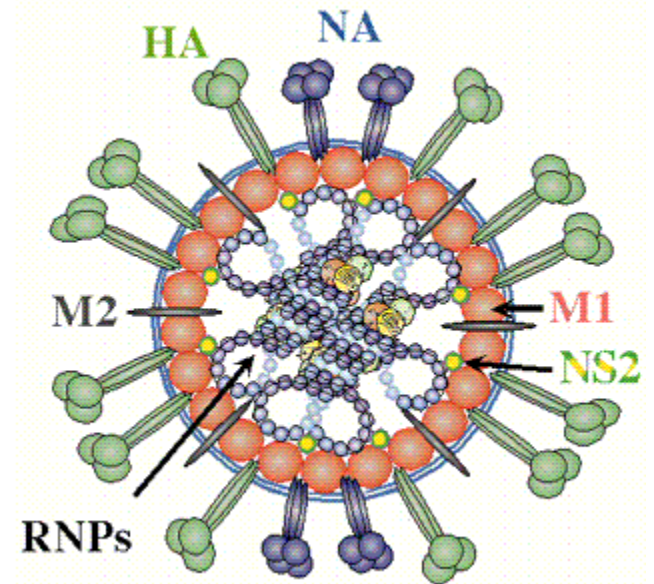
- Согласно Международной номенклатуре штаммы вируса гриппа обозначаются по следующей схеме:
- род/источник изоляции/место изоляции/собственный номер изолята/год изоляции.
- Антигенное описание подтипов НА и NA для вирусов гриппа рода А дается далее в скобках.
- **Пример: A/Chicken/Pennsylvania/1370/83 (H5N2).**
- Если штамм выделен от человека, источник изоляции опускается.
- **Пример: A/Hong Kong/156/97 (H5N1)**

# Вирусы гриппа человека

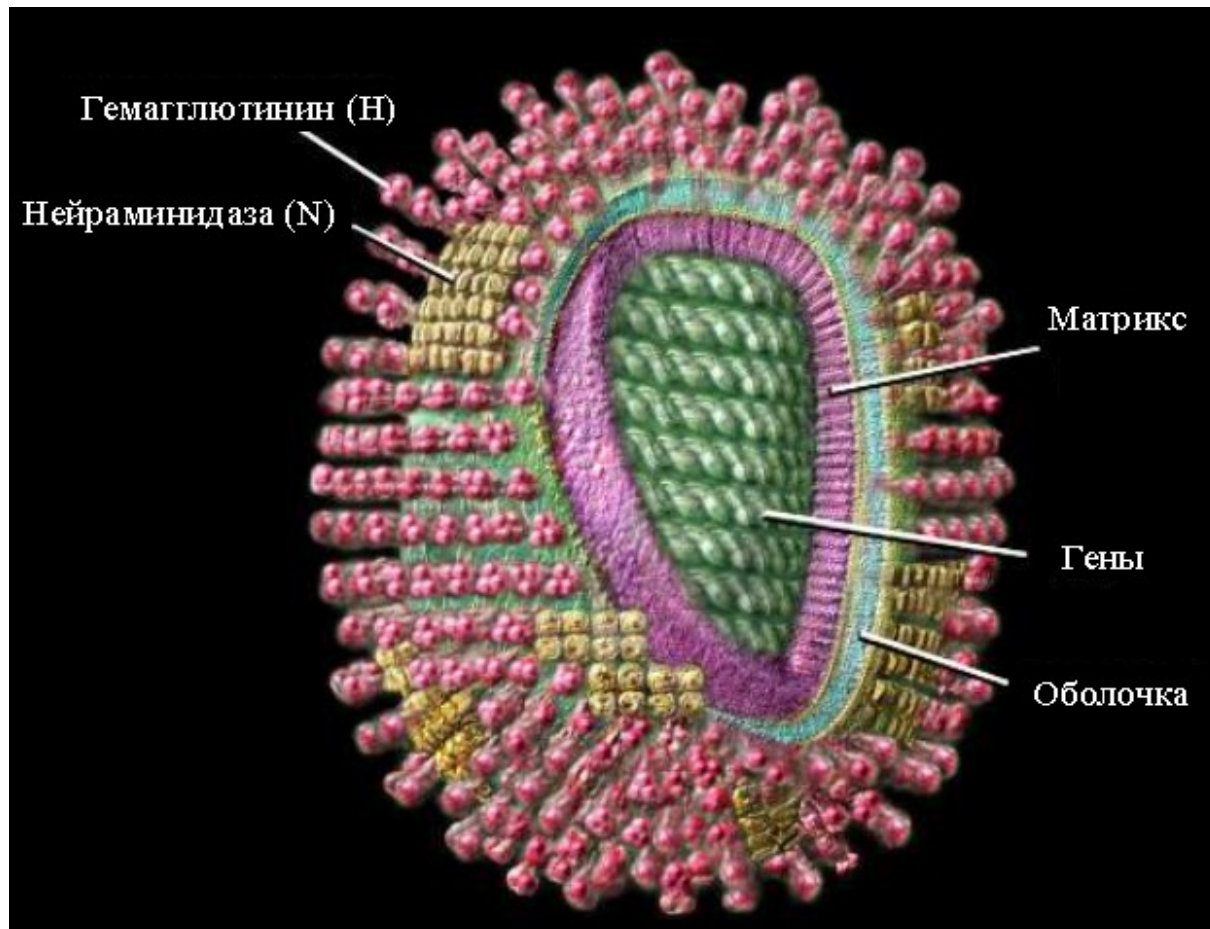
Род	Субтип	Годы выделения	Референс штаммы
А	H1N1	1918-1957	A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) A/FM/1/47 (H1N1)
	H2N2	1957-1967	A/Singapore/1/57 (H2N2)
	H3N2	1968-	A/Hong Kong/1/68 (H3N2) A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)
	H1N1	1977-2008	A/USSR/90/77 (H1N1) A/Brisbane/59/2007 (H1N1)
	H1N1	2009-	A/California/07/09 (H1N1pdm09)
В	нет	1940-	B/Brisbane/60/2008
С	нет	1949-	C/JHB/2/66



- **Морфология вирусов гриппа:**
- Вирусные частицы высоко плеоморфны (вариабельны), большинство сферические, 80-120nm в диаметре, но могут образовывать другие формы, включая длинные филаментозные частицы (до 2000nm длиной и 80-120nm диаметром). Разные штаммы вируса отличаются по их тенденции формировать филаменты – это свойство связано с матриксным белком.
- Внешняя поверхность частицы состоит из липидной оболочки, из которой выступают гликопротеиновые шипы двух типов:
  - **гемагглютинин (HA)**, тример 135Å
  - **нейраминидаза (NA)**, тетрамер 60Å
- Внутренняя сторона оболочки выстлана матриксным белком (**M1**).
- Частицы относительно нестабильны, чувствительны к высыханию, высокой температуре (свыше 50С), ультрафиолету, ко всем детергентам, разрушающим липиды, формалину.



# Схематическое изображение вирусной частицы



# Геном вируса гриппа

- Геном состоит из 8 (у вируса гриппа С семь) сегментов односпиральной цепи РНК отрицательной полярности (минус цепь РНК).
- 5' и 3' концы последовательностей всех геномных сегментов высоко консервативны
- Каждый сегмент кодирует как минимум один белок
- Сегменты РНК нумеруются от 1 до 8 в зависимости от размера (самый крупный сегмент - первый)

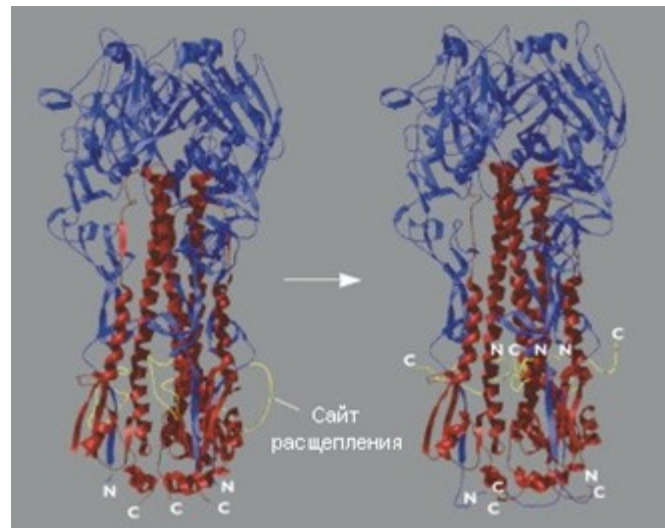
# Белки вируса гриппа А

Сегмент РНК:	Размер (пар нуклеот.)	Белок	Функция
1	2341	РВ2	Связывается с 5' кЭП-структурой клеточных мРНК
2	2341	РВ1	РНК-зависимая РНК-полимераза
		РВ1-F2	Вызывает апоптоз через нарушение структуры митохондрий
3	2233	РА	Эндонуклеаза
4	1778	НА	Гемагглютинин: прикрепление к поверхности клетки, проникновение внутрь клетки
5	1565	NP	Нуклеопротеин: связывание РНК; часть транскриптазного комплекса; ядерный/цитоплазматический транспорт вирусной РНК

## Белки вируса гриппа (продолжение)

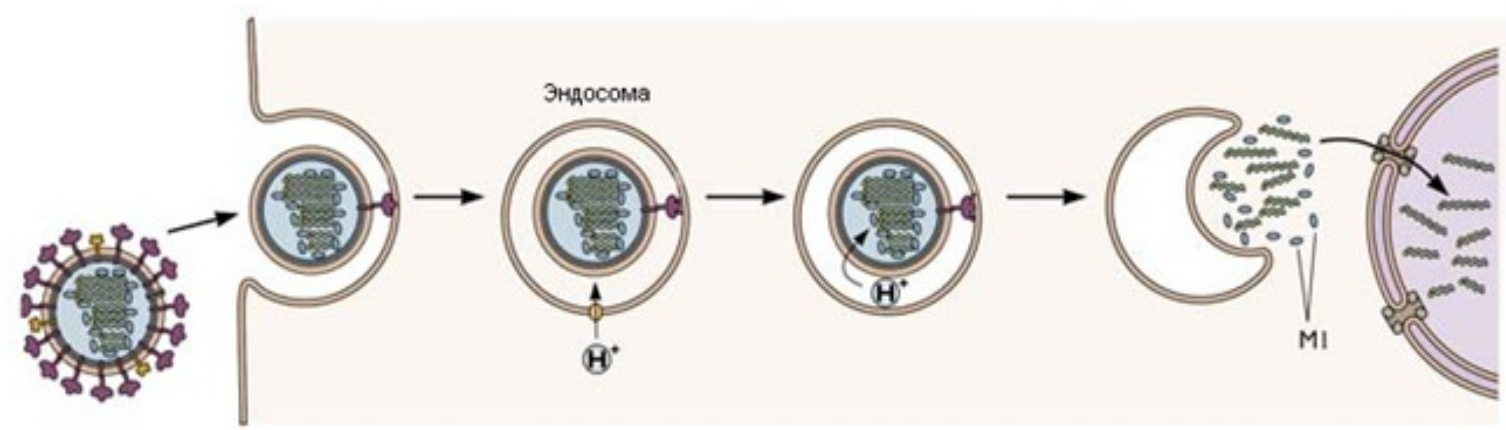
Сегмент РНК:	Размер (пар нуклеот.)	Белок	Функция
6	1413	NA	Нейраминидаза: освобождение вируса (выход из клетки)
7	1027	M1	Матриксный белок: оболочка капсида
		M2	Интегральный мембранный белок, выстилающий ионные каналы
8	890	NS1	Влияет на транспорт клеточных РНК, сплайсинг, трансляция. Анти-интерфероновая активность
		NS2 (NEP)	Участвует в транспорте рибонуклеопротеиновых комплексов в ядро инфицированной клетки.

На вирионе гриппа гемагглютинин располагается в виде тримера из трех копий полипептида HA. Сайт расщепления для клеточных протеаз расположен рядом с вирусной мембраной. Нерасщепленная форма белка обозначается как HA0; после расщепления клеточным ферментом образуются два белка, HA1 (синий) и HA2 (красный). Две субъединицы остаются вместе на поверхности вирусной частицы. Новая амино(N)-концевая область HA2, образовавшегося при расщеплении, содержит последовательность гидрофобных аминокислот, называемых пептидом слияния.



# Проникновение вируса в клетку

• После прикрепления вириона к сиаловой кислоте вирус-рецепторный комплекс входит в клетки посредством эндоцитоза. Пока эндосомальные везикулы движутся к ядру клетки, их рН понижается благодаря закачиванию протонов ( $H^+$ ) в везикулу. Когда эндосомальный рН достигает 5,0, вирусный белок НА подвергается конформационной перестройке. Это изменение производит пептид слияния, встраиваясь в эндосомальную мембрану, которая в результате этого процесса сливается с вирусной оболочкой. Если белок НА не расщеплен на НА1 и НА2, то слияния не происходит. Поэтому вирусы гриппа с нерасщепленным НА неинфекционны. В результате слияния вирусные РНП выходят в цитоплазму.



Пока вирусные РНК прикреплены к белку М1, они не могут достичь ядра. Для решения этой проблемы вирион гриппа имеет в своей мембране несколько копий белка М2. Этот вирусный белок образует в мембране канал, который активно закачивает протоны из эндосомы во внутреннюю часть вириона. Протоны понижают рН внутри вириона, освобождая вирусные рибонуклеопротеидные комплексы (РНП) от белка М1.



# Транскрипция и трансляция

- После проникновения в ядро фрагментов РНП вирусная РНК-полимераза осуществляет транскрипцию фрагментов родительского генома
- вирусные мРНК выходят из ядра в цитоплазму, где при участии клеточных рибосом происходит их трансляция в вирусные белки. Скорость инициации трансляции зависит от NS1-белка
- Вновь синтезированные вирусные белки PB1, PB2, PA, NS1 и NP транспортируются в ядро
- Белки NA, NA и M2 остаются в цитоплазме, мигрируют к клеточной поверхности и встраиваются в мембрану клетки,
- Белок M1 распределяется по всей клетке, NS2 накапливается в основном в ядре

# Синтез РНК

- Синтез (+) копий РНК и образование кРНП происходят в ядре с участием двух вирусных белков РВ1 и NР
- Образовавшиеся в ядре фрагменты кРНП используются в качестве матриц для синтеза вирусной РНК, который осуществляется белками РВ1 и РА

# Причина высокой изменчивости вируса гриппа

- РНК-полимеразы РНК-содержащих вирусов совершают одну ошибку на каждые 1000 – 100000 нуклеотидов и, в отличие от ДНК-зависимой ДНК-полимеразы, не могут исправить их.

- Геном РНК вируса гриппа насчитывает около 10000 оснований, частота ошибок соответствует в среднем одной мутации на каждый воспроизведенный геном. Если единичная клетка, инфицированная вирусом гриппа, производит 10000 новых вирусных частиц, то клеткой будет произведено 10000 новых вирусных мутантов.

# Поздняя фаза инфекции

- Через 4 часа после начала инфекции, на внутренней поверхности клеточной мембраны концентрируется белок М, белки НА и NA встраиваются с наружной стороны мембраны. Нуклеопротеидные сегменты встраиваются в частицу, взаимодействуя с белком М1.
- Нейраминидаза играет важную роль при выходе частицы из клетки, отрезая остатки сиаловой кислоты от клеточных рецепторов (эта стадия ингибируется анти-NA антителами и химиопрепаратами).

# Заключительная фаза инфекции

- Механизм сборки, ответственный за упаковку всех 8 сегментов в каждую вирусную частицу, не известен. Полагают, что сортировка геномных фрагментов – не случайный процесс, и последние структурные исследования подтверждают эту точку зрения.
- Вирусные частицы отпочковываются с поверхности клетки в течение нескольких часов. Клетка не лизируется, но все равно погибает (вероятно, в следствие истощения)