

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского»
Минздрава России

Научный совет по вирусологии

РУКОВОДСТВО ПО ВИРУСОЛОГИИ

ВИРУСЫ И ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Под редакцией академика РАН
Д.К. Львова

Медицинское информационное агентство
Москва
2013

- and Ebola (Zaire) viruses // *J. Virol.* – 2000. – V. 74. – № 10. – P. 4933–4937.
9. *Colebunders R., Sleurs H., Pirard P. et al.* Organization of health care during an outbreak of Marburg haemorrhagic fever in the Democratic Republic of Congo, 1999 // *J. Infect.* – 2004. – V. 48. – № 4. – P. 347–353.
 10. *Emond R.T., Evans B., Bowen E.T. et al.* A case of Ebola virus infection // *Brit. Med. J.* – 1977. – V. 2. – P. 541–544.
 11. *Gear J.S., Cassel G.A., Gear A.J. et al.* Outbreak of Marburg virus disease in Johannesburg // *Brit. Med. J.* – 1975. – V. 4. – P. 489–493.
 12. *Geisbert T.W., Jahrling P.B.* Use of immunoelectron microscopy to show Ebola virus during the 1989 United States epizootic // *J. Clin. Pathol.* – 1990. – V. 43. – P. 813–816.
 13. *Jeffs B.A.* A clinical guide to viral haemorrhagic fevers: Ebola, Marburg and Lassa // *Trop. Doct.* – 2006. – V. 36. – № 1. – P. 1–4.
 14. *Johnson E.D., Johnson B.K., Siberstein D. et al.* Characterization of a new Marburg virus isolated from a 1987 fatal case in Kenya // *Arch. Virol. Suppl.* – 1996. – V. 11. – P. 101–114.
 15. *Johnson B.K., Ocheng D., Gitau L.G. et al.* Viral haemorrhagic fever surveillance in Kenya, 1980–1981 // *Trop. Geogr. Med.* – 1983. – V. 35. – № 1. – P. 43–47.
 16. *Koelhof J.F., Malashkevich V.N., Harrison J.S. et al.* Crystal Structure of the Marburg Virus GP2 Core Domain in Its Postfusion Conformation // *Biochemistry.* – 2012. – V. 51. – № 39. – P. 7665–7675.
 17. *Kuhn J.H., Bao Y., Basiri S. et al.* Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for natural variants of viruses assigned to the family Filoviridae // *Arch. Virol.* – 2013. – V. 158. – № 1. – P. 301–311.
 18. *Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H. et al.* Family Filoviridae // In: *Virus Taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses* / Eds. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz. – Elsevier Science, 2011. – P. 665–671.
 19. *Malherbe H., Strickland-Chalmley M.* Human disease from monkeys (Marburg virus) // *Lancet.* – 1968. – V. 1. – P. 1434.
 20. *McCormick J.B., Bauer S.P., Elliott L.H. et al.* Biologic differences between strains of Ebola virus from Zaire and Sudan // *J. Infect. Dis.* – 1983. – V. 147. – № 2. – P. 264–267.
 21. *Peterson A.T., Holder M.T.* Phylogenetic assessment of filoviruses: how many lineages of Marburg virus? // *Ecol. Evol.* – 2012. – V. 2. – № 8. – P. 1826–1833.
 22. *Sanchez A., Kiley M.P., Hollings B.P. et al.* Sequence analysis of the Ebola virus genome: organization, genetic elements, and comparison with the genome of Marburg virus // *Virus Res.* – 1993. – V. 29. – № 3. – P. 215–240.
 23. *Sanchez A., Rollin P.E.* Complete genome sequence of an Ebola virus (Sudan species) responsible for a 2000 outbreak of human disease in Uganda // *Virus Res.* – 2005. – V. 113. – № 1. – P. 16–25.
 24. *Volchkov V., Volchkova V., Eckel C. et al.* Emergence of subtype Zaire Ebola virus in Gabon // *Virology.* – 1997. – V. 232. – № 1. – P. 139–144.
 25. *Volchkov V.E., Becker S., Volchkova V.A. et al.* GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases // *Virology.* – 1995. – V. 214. – № 2. – P. 421–430.

1.2.2.2. Отряд *Nidovirales* (Львов Д.К., Щелканов М.Ю.)

Отряд *Nidovirales* объединяет три семейства, включающих в себя оболочечные вирусы с инфекционной односегментной линейной оцРНК^{5'}, 5'-m⁷G-капированной и 3'-полиаденилированной, хозяевами которых являются млекопитающие, птицы, рыбы, ракообразные и насекомые (табл. 1.2.7). К отличительным особенностям этого отряда относятся: 1) общий план строения генома и схемы репликации [3, 11]; 2) экспрессия 3'-проксимальных генов происходит через синтез «гнездовых» стмРНК с общими 5'-LS и 3'-концами [5, 8] (отсюда и название отряда: от лат. *nidus* – гнездо); 3) RdRp и Hel всех представителей отряда гомологичны, что позволяет предполагать наличие общего предшественника [2, 4]; 4) репликация происходит в цитоплазматических везикулах, двухслойные мембраны которых формируются в сети ЭР инфицированной клетки [8, 11].

Представители отряда *Nidovirales* имеют самые крупные РНКовые геномы: *Coronaviridae* – 26–32 тыс. н.о.; *Roniviridae* – 26–27 тыс. н.о.; *Arteriviridae* – 12–16 тыс. н.о. Структура генома: 5'-m⁷G-кп – LS (15–90 н.о.), включающая TRS (5–10 н.о.) и представляющая собой 5'-фрагмент более протяженной 5'-UTR, – ORF1a/1b – группа ORF 3'-проксимальных генов, каждый из которых 5'-праймирован TRS, – 3'-UTR – poly(A) (рис. 1.2.27). Последовательности 5'-UTR длиной 150–200 н.о. (*Arteriviridae*), 200–600 н.о. (*Coronaviridae*), 800–900 н.о. (*Torovirus*), 70–200 н.о. (*Roniviridae*) и 3'-UTR длиной 60–150 н.о. (*Arteriviridae*), 200–500 н.о. (*Coronaviridae*), 200–300 н.о. (*Roniviridae*) со-

Таблица 1.2.7

Таксономическая структура отряда *Nidovirales*

Семейство	Подсемейство	Род	Хозяина	Прототипный вирус
<i>Arteriviridae</i>		<i>Arterivirus</i>	Млекопитающие	EAV (equine arteritis virus – вирус артерита лошадей)
<i>Coronaviridae</i>	<i>Coronavirinae</i>	<i>Alphacoronavirus</i>	Млекопитающие (исключая человека)	AlphaCoV 1 (alphacoronavirus 1 – альфа-коронавирус 1)
		<i>Betacoronavirus</i>	Млекопитающие (исключая человека)	MCoV (murine coronavirus – коронавирус мышиных)
		<i>Gammacoronavirus</i>	Птицы, млекопитающие	ACoV (avian coronavirus – коронавирус птиц)
		<i>Deltacoronavirus</i>	Птицы, млекопитающие	BuCoV HKU11 (bulbul coronavirus HKU11 – коронавирус соловья HKU11)
	<i>Torovirinae</i>	<i>Torovirus</i>	Млекопитающие (исключая человека)	EToV (equine torovirus – торовирус лошадей)
	<i>Bafinivirus</i>	Рыбы	WBV (white beam virus – вирус густер)	
<i>Roniviridae</i>		<i>Okavirus</i>	Ракообразные, насекомые	GAV (gill-associated virus – вирус, поражающий жабры креветок)

держат регуляторные элементы, способные влиять на биологические свойства (в том числе вирулентность) нидовирусов [6, 9, 11].

Вирионная РНК нидовирусов выступает в качестве мРНК для крупных полипептидов pp1a и pp1ab, которые считываются рибосомами инфицированной клетки с ORF1a и ORF1a/1b соответственно. Большинство рибосом считывают ORF1a, однако 20–30% рибосом пропускают стоп-сигнал ORF1a, достигнув расположенного перед ним и образующего шпильку RFS, смещают рамку считывания на –1 н.о. относительно ORF1a и продолжают считывать ORF1a/1b, синтезируя pp1ab [1]. ORF1a/1b охватывает порядка 60% генома, и полипротеины pp1a и pp1ab имеют гигантские размеры – более 2000 и 7000 а.о. соответственно. Однако pp1a и pp1ab никогда не наблюдаются в инфицированной клетке в интактном виде и подвергаются котрансляционному протеолизу с образованием от 12 (*Arteriviridae*) до 16 (*Coronaviridae*) неструктурных белков, обозначаемых как nsp1, nsp2, ... и т.д., считая с N-конца (однако по-прежнему допускаются и индивидуальные исторически сложившиеся названия). Консервативными для всех нидовирусов являются CL^{pro}, RdRp и Hel [6, 12]. Некоторые белки – продукты процессинга pp1a

и pp1ab – связываются с ЭР и видоизменяют его мембрану, формируя двухслойные везикулы, в которых протекают поздние этапы репликации вируса [7, 11].

Используя вРНК* в качестве матрицы, RdRp синтезирует комплементарную ей полноразмерную гРНК-, с которой, в свою очередь, синтезируются новые копии гРНК* (см. рис. 1.2.27, Б). Кроме того, используя 3'-конец гРНК* в качестве матрицы, RdRp синтезирует сгРНК- с разрывом цепи: всякий раз достигая TRS, полимеразы может проследовать дальше или же скачкообразно переместиться к 5'-проксимальному TRS с последующим синтезом последовательности комплементарной LS. Такие сгРНК- используются затем в качестве матрицы для непрерывного синтеза сгмРНК-, все из которых содержат одинаковые 5'-LS и 3'-концы (см. рис. 1.2.27, В). Синтез сгРНК- с переносом цепи на 5'-LS отсутствует у *Roniviridae*: вместо TRS на 5'-концах ORF, следующих за ORF1a/1b, присутствуют IGS-последовательности, служащие сигналами терминации синтеза сгРНК- и промоторами синтеза комплементарных сгмРНК+ (см. рис. 1.2.27, Г). Вирусы рода *Torovirus* используют смешанную стратегию (см. рис. 1.2.32): ORF2, которая содержит на 5'-конце комбинацию DTE и TP, функционально аналогичную TRS, транс-

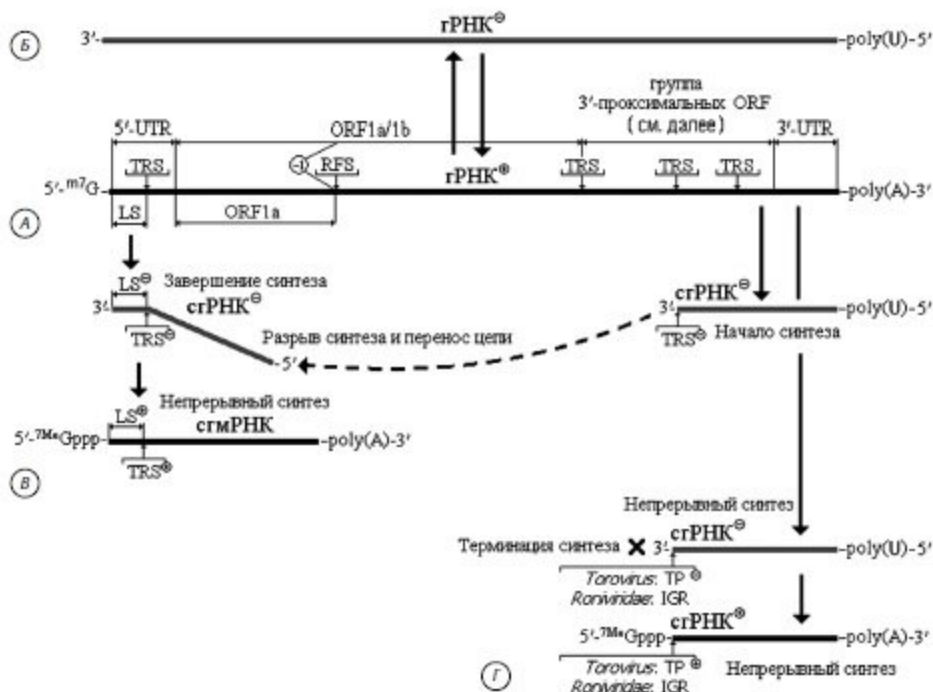


Рис. 1.2.27. Функционирование генома вирусов из отряда *Nidovirales*:

А — общий план строения генома; Б — репликация $rPHK^+ \rightarrow rPHK^+ \rightarrow rPHK^+$; В — синтез «гнездовых» $sgPHK^+$ на матрице $rPHK^+$, синтезируемых с разрывом и переносом цепи под контролем TRS (для *Arteriviridae*, *Coronavirinae* и *Bafiniviridae*); Г — синтез «гнездовых» $sgPHK^+$ на матрице $rPHK^+$, синтезируемых без разрыва и переноса цепи под контролем TP (для *Torovirus* и *Roniviridae*)

крибируется с разрывом цепи (см. рис. 1.2.27, В); остальные $sgPHK^+$ синтезируются без разрыва цепи (см. рис. 1.2.27, Г), имея на 5'-концах ORF TP-последовательности, функционально аналогичные IGS рониивирусов [3, 8]. Как правило, $sgPHK^+$ моноцистронны, хотя возможны и бицистронные $sgPHK^+$ (см. рис. 1.2.29; 1.2.31; 1.2.33). Синтез РНК асимметричен: и $rPHK^+$, и $sgPHK^+$ намного превосходят содержание комплементарных РНК- [10].

Литература

1. Baranov P.V., Henderson C.M., Anderson C.B. et al. Programmed ribosomal frameshifting in decoding the

SARS-CoV genome // *Virology*. — 2005. — V. 332. — № 2. — P. 498–510.

2. Cowley J.A., Dimmock C.M., Spann K.M. et al. Gill-associated virus of *Penaeus monodon* prawns: an invertebrate virus with ORF1a and ORF1b genes related to arteri- and coronaviruses // *J. Gen. Virol.* — 2000. — V. 81. — P. 1473–1484.
3. de Groot R.J., Cowley J.A., Enjuanes I. et al. Order Nidovirales // In: *Virus Taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses* / Eds. A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz. — Elsevier Science, 2011. — P. 785–795.
4. den Boon J.A., Snijder E.J., Chirnside E.D. et al. Equine arteritis virus is not a togavirus but belongs to the coronaviruslike superfamily // *J. Virol.* — 1991. — V. 65. — P. 2910–2920.

5. Dufour D., Mateos-Gomez P.A., Enjuanes L. et al. Structure and functional relevance of a transcription-regulating sequence involved in coronavirus discontinuous RNA synthesis // *J. Virol.* – 2011. – V. 85. – № 10. – P. 4963–4973.
6. Corbalanya A.E., Enjuanes L., Ziebuhr J. et al. Nidovirales: evolving the largest RNA virus genome // *Virus Res.* – 2006. – V. 117. – № 1. – P. 17–37.
7. Knoops K., Barceña M., Limpens R.W. et al. Ultrastructural characterization of arterivirus replication structures: reshaping the endoplasmic reticulum to accommodate viral RNA synthesis // *J. Virol.* – 2012. – V. 86. – № 5. – P. 2474–2487.
8. Pasternak A.O., Spaan W.J., Snijder E.J. Nidovirus transcription: how to make sense? // *J. Gen. Virol.* – 2006. – V. 87. – P. 1403–1421.
9. Sawicki S.G. Coronavirus Genome Replication // In: *Viral genome replication* / Eds. C.E. Cameron, M. Gotte, K.D. Raney. – Springer Science, 2009. – P. 25–39.
10. Sidell S.G., Ziebuhr J., Snijder E.J. Coronaviruses, toroviruses, and arteriviruses // In: *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Virology Volume* / Eds. B.W. Mahy and V. ter Meulen. – London: Hodder Arnold, 2005. – P. 823–856.
11. Snijder E.J., Sidell S.G., Corbalanya A.E. The order Nidovirales // In: *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Virology Volume* / Eds. B.W. Mahy and V. ter Meulen. – London: Hodder Arnold, 2005. – P. 390–404.
12. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S. et al. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus // *J. Virol.* – 2009. – V. 83. – № 2. – P. 908–917.

1.2.2.2.1. Артеривирусы (*Arteriviridae*)

(Львов Д.К., Щелкалов М.Ю.)

Название семейства происходит от названия прототипного вируса и включает единственный род *Arterivirus*, в состав которого входят вирус артериита лошадей (EAV – equine arteritis virus) (прототипный); вирус повышения уровня лактатдегидрогеназы мышей (LDV – lactate dehydrogenase-elevating virus); вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PRRSV – porcine reproductive and respiratory syndrome virus); вирус геморрагической лихорадки обезьян (SHFV – simian hemorrhagic fever virus). Серологическая кросс-реактивность между различными вирусами рода *Arterivirus* отсутствует, а межштаммовые серологические отличия незначительны. Для PRRSV описаны

два серотипа (европейский и североамериканский [16]).

Для вирионов артеривирусов $s_{20,w} = 200\text{--}300\text{ S}$; $\rho_{\text{сac}} = 1,13\text{--}1,17\text{ г/см}^3$. Артеривирусы устойчивы при pH 6,0–7,5. Инактивируются жирорастворяющими агентами и неионными детергентами [11, 17].

Вирионы артеривирусов сферической формы (45–60 нм; незначительная доля вирионов имеет размеры 60–75 нм) и снабжены липидной оболочкой без выраженных на ЭМ-фотографиях пепломеров (рис. 1.2.28, А, Б). В состав вириона входят мажорный поверхностный гликопротеин GP5 (199–278 а.о.); три минорных поверхностных гликопротеина GP2 (227–256 а.о.), GP3 (163–265 а.о.) и GP4 (152–183 а.о.), образующие гетеротример GP2×GP3×GP4; мажорный трансмембранный белок М (162–174 а.о.), формирующий комплекс М-GP5 посредством ковалентной дисульфидной связи; минорный трансмембранный белок Е (67–80 а.о.), который мириеллирован и способен формировать ионные каналы. Нуклеокапсид имеет икосаэдрическую симметрию и формируется фосфорилированным белком N (110–128 а.о.), взаимодействующим с оц вРНК* (12,7–15,7 тыс. н.о.), структура которой описана в пар. 1.2.2.2 (см. рис. 1.2.27, А; 1.2.29) [10, 11, 16–19, 21]. Белок GP5 содержит основные нейтрализующие эпитопы. Менее «сильные» нейтрализующие эпитопы содержатся в белке GP4 [4].

Начальной стадией взаимодействия артеривирусов с клеткой-мишенью является связывание гетеродимера М-GP5 сначала с клеточным рецептором – гепарансульфатпротеогликаном, а затем с корецептором – сиалоадгезином. Необходимым условием связывания является наличие сиаловой кислоты в составе полисахаридных цепочек, гликозилирующих GP5 (причем $\alpha 2\text{-}3\text{-сиалоиды}$ приводят к более эффективному связыванию с клеточным рецептором по сравнению с $\alpha 2\text{-}6\text{-сиалоидами}$) [9, 20]. Связывание с рецептором приводит к клатринопосредованному эндоцитозу, после чего внутренняя среда эндосомы закисляется под действием клеточного катепсина Е и нуклеокапсид попадает в цитоплазму [14]. Последующие стадии реп-