

## **Вирусы и эукариотические клетки: стадии взаимодействия, стратегии экспрессии геномов, репродукция и исходы вирусной инфекции**

*Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии*

Данный обзор литературы посвящен фундаментальным вопросам взаимодействия вирусов с эукариотическими клетками. Рассматриваются механизмы молекулярно-клеточных взаимодействий разнообразных вирусов – ДНК-и РНК-геномных, имеющих разные стратегии репродукции, с отдельными структурами и компартментами клетки, влияние репродукции вирусов на функцию ядра, цитоплазматической мембраны, а также типы и исходы вирусной инфекции клетки.

Ключевые слова: вирусы, эукариотические клетки.

Вирусы являются самостоятельными биологическими единицами жизни, носителями специфической генетической информации, закодированной в молекулах ДНК или РНК. Очень малые размеры относительно простое строение позволяют рассматривать их в качестве органических наночастиц. Отличительным свойством вирусов является то, что они метаболически инертны и самостоятельно не могут трансформировать генетическую информацию в новые инфекционные частицы, однако способны эффективно репродуцироваться в чувствительных клетках. На своей поверхности они имеют специальные молекулярные структуры (инструменты) для преодоления естественных барьеров клеток-мишеней. Проникая внутрь клеток они приобретают возможность транскрибировать, экспрессировать и/или транслировать собственную генетическую информацию в виде макромолекул белков и нуклеиновых кислот и, собственно, образовывать потомство. Основными этапами взаимодействия вирусов с клеткой является адсорбция вирионов на рецепторах, проникновение, депротенинизация, репликация нуклеиновых кислот, биосинтез вирусспецифических белков, сборка и выход вирусных частиц из клетки в окружающую среду-межклеточное пространство, лимфу или кровь. Несмотря на существенный прогресс в области понимания молекулярной биологии вирусов, физиологических и патологических изменений в клетках, многие аспекты взаимодействия и взаимовлияния геномов и генных продуктов вирусов на мембрану и ядро клеток, а также внутриклеточные процессы все еще остаются недостаточно исследованными (1, 2, 5, 6, 7, 13, 26, 37). Организация и жизненный цикл клеток эукариот. Принципиальным отличием эукариотических клеток от прокариотических является то, что они более сложно организованы, имеют окруженное мембраной ядро, отделенное от цитоплазмы и митохондрии, обеспечивающие генерацию энергии. Ядро клетки является наиболее заметной и главной органеллой, занимает около 1/3 объема. Главной его функцией является хранение информации, закодированной в ДНК хромосом и обеспечение возможностей ее реализации. Соматические клетки млекопитающих обычно несут две копии геномной ДНК. Одна из них наследуется по женской, а вторая – по мужской линии родителей. У человека имеется 46 хромосом, по две копии каждой из 22 аутосом и двух половых хромосом – XY у мужчин и XX – у женщин. Ядро клеток обладает всеми механизмами необходимыми для

репликации генетического кода, его восстановления при возникновении повреждений (репарации) и обеспечения селективного декодирования информации, так что необходимые гены экспрессируются во многих типах клеток, составляющих организм многоклеточных эукариот. Программы активации экспрессии генов являются весьма сложными и базируются на балансе между активационными транскрипционными факторами, биосинтетическими механизмами и функциональным состоянием хроматина, которое меняется в зависимости от воздействия на мембрану клетки различных внешних стимулов, способных remodelировать хроматин (4, 8, 9, 12, 15, 22, 23).

Хотя ядро клетки рассматривается в качестве центрального командного пункта, однако трансляция его генетического содержания постоянно модулируется сигналами, образующимися на поверхности мембраны клетки. Разнообразные молекулы, при воздействии на клетку или высвобождении из ее поверхности, могут регулировать их распознавание другими клетками, а иногда влияют на гомеостаз всего организма. Плазматическая мембрана является сложной молекулярной поверхностью, состоящей из холестерольных участков и глико-сфинголипидных микродоменов, называемых рафт (raft). Липидные рафты содержат вкрапленные молекулы мембранных белков (G-белков, разнообразных рецепторов, ферментов, ростовых факторов, интегринов, кавеолинов). Возможно, что имеется несколько вариантов рафтов, образованных комбинациями различных видов сфинголипидов с холестерином и специализированными белками. Рафты характеризуются малыми размерами, мобильны и нестабильны, обладают вращательной подвижностью, что позволяет их рассматривать в качестве мобильных биоплатформ, несущих на своей поверхности специфические белки. Поэтому не удивительно, что вирусы как внутриклеточные микроорганизмы используют их при внедрении, сборке и выходе из клетки. Изучение взаимодействия вирусов с мембраной клетки обеспечивает колоссальные возможности познания таких фундаментальных процессов, как функционирование мембран, слияние, эндоцитоз, транспорт белков и нуклеиновых кислот, проведение внутриклеточных сигналов, реализации стратегии генома вирусов, презентации антигенов и др. (8, 9, 10, 15, 24, 25, 27).

Адсорбция. Присутствие или отсутствие на мембране клеток мишеней определенных молекул определяет цитотропизм вирусов – т.е. способность определенного вируса инфицировать только определенный спектр специализированных клеток. Начальные этапы адсорбции носят неспецифический характер, являются результатом электростатического взаимодействия положительно и отрицательно заряженных структур вирионов и мембраны клетки. Она обратима и зависит от исхода случайных столкновений с клеткой, количественного соотношения вирусных частиц и чувствительных клеток. Примерно одно на  $10^3 - 10^4$  таких столкновений приводит к тесному взаимодействию вирионов с мембраной клетки. Процесс требует определенных условий-ионной силы, содержания ионов  $Ca^{2+}$  (нейтрализуют избыточные анионные заряды вируса и поверхности клетки, уменьшают электростатическое отталкивание), рН окружающей среды, не зависит от температуры и не требует затрат энергии (1, 5, 6, 7). Основные стадии взаимодействия вирусов с клеткой представлены на рисунке 1.

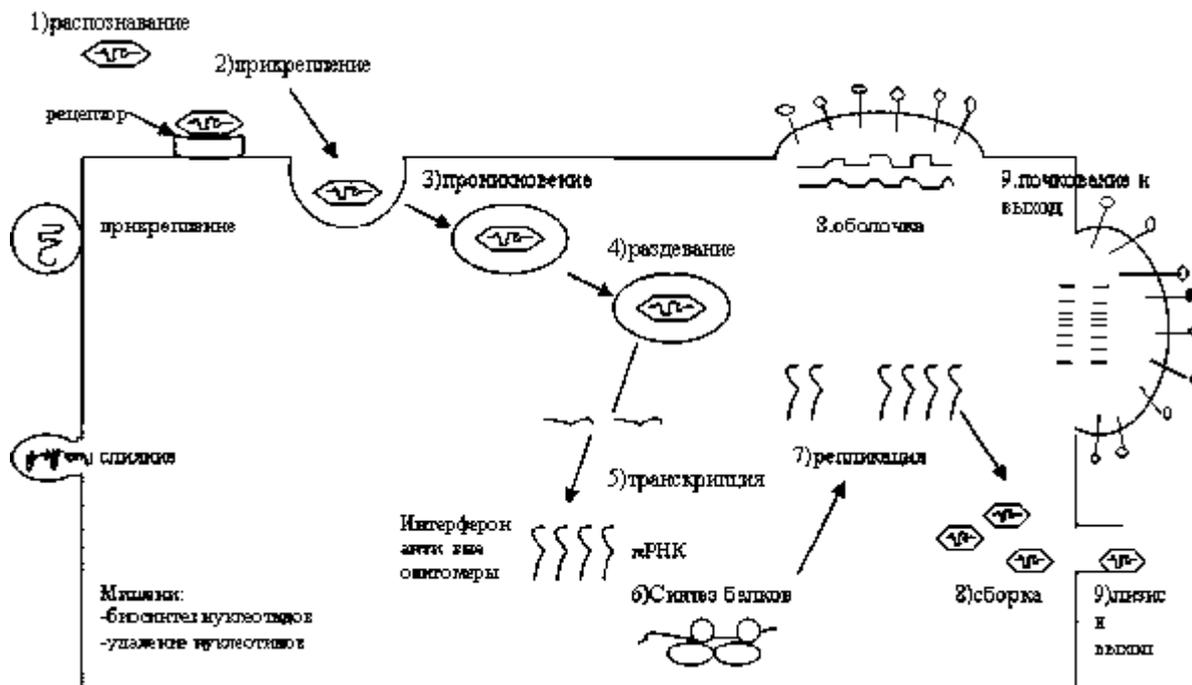


Рис. 1. Общая схема репродукции простых и сложных вирусов. Цикл сложных вирусов отличается этапами 3,8,9. Все этапы репродукции вирусов являются мишенями для противовирусных препаратов.

Рецепторы. Вхождение вирусов в клетку происходит посредством их специфического взаимодействия с рецепторными белками, иммобилизованными в липидном рафте мембраны клетки. У сложных вирусов с рецепторами клетки взаимодействуют поверхностные гликопротеины перикапсида – например, гемагглютинин вируса гриппа, gp120 белок ВИЧ (7, 12).

У простых вирусов данную функцию выполняют пептиды поверхностных белков капсида (например, белок фибр аденовирусов). Природа рецепторов клеток комплементарна белкам вирионов установлена для относительно небольшого их числа (табл. 1), но информация постоянно накапливается, а знания о них обогащаются.

Таблица 1

Характеристика мембранных рецепторов наиболее распространенных вирусов

Семейство, тип	Тип рецепторов	
	Высокоаффинный (основной)	Низкоаффинный (дополнительный)
<b>ДНК- геномные вирусы</b>		
Adenoviridae	интегрины альфа-у/бета 3	альфа у/бета 5
Hepadnaviridae	рецептор IgA	
Herpesviridae		
alpha	CD155 (IgR) – суперсемейство Ig HVEM – семейство рецепторов ФНО	гепарин сульфаты гепарин сульфаты
beta	- белок ?	гепарин сульфаты
gamma	CD21(CR2); – CD36 рецептор В-клеток CD4 молекула Т-клеток	
Parvoviridae	FGFR1 рецептор фактора роста фибробластов человека P - антиген эритроцитов	гепариноподобные глюкозаминогликаны
Poxviridae	FCFR – рецептор фактора роста эпидермиса <b>РНК – геномные вирусы</b>	-
Coronaviridae	HLA молекулы I класса. аминопептидаза N	
Picornaviridae	альфа / бета 3 – интегрин. рецептор иммуноглобулинов - IgSF	гепариноподобные глюкозаминогликаны
Rhinovirus	молекула внутриклеточной адгезии 1 типа ICAM-1	липопротеин низкой плотности
Enterovirus	молекулы гликофурина А	
Orthomyxoviridae	сialовые (N-ацетилнейраминовые) кислоты гликолипидов и протеинов	гликопротеин А молекулы
Paramyxoviridae	CDw150 мол. ак. ции В и Т клеток CD46- регулятор. белок комплемента	
Retroviridae	CD4 – молекулы, суперсемейство Ig CCR5 – рецептор бета хемокинов CCR4 - рецептор альфа хемокинов	-
Reovirus type 3	рецептор надпочечнич. гормона	
Togaviridae	рецептор ламинина	
Lysavirus	рецептор ацетилхолина нейронов	

На клеточной мембране экспрессируется, примерно, 104-106 молекул рецепторов (т.е. участков связывания). Различают высокоаффинные рецепторы (первичные) и ко-рецепторы (вторичные) или низкоаффинные. Вначале происходит связывание единичных участков вириона с первичным рецептором, но оно не прочно. Необратимая адсорбция наблюдается при множественных связях вириона с рецепторами клеток (стабильное мультивалентное связывание). Сила связывания вирусов с рецепторами и ко-рецепторами варьирует и составляет примерно нМ. В эффективности их взаимодействий важную роль играет полиморфизм молекул рецепторов. Кроме того, рецепторы, как и ко-рецепторы, могут на поверхности клеточной мембраны могут формировать мультимолекулярные ассоциации при взаимодействии с вирусной частицей. Концепция рецептор-рецепторного взаимодействия между вирусами и восприимчивыми клетками определяет важные закономерности инфекционного процесса: 1) спектр экспрессируемых вирусспецифических рецепторов клетками определенного вида животных предполагает их разную степень чувствительности; 2) цито- и органотропизм вирусов детерминируется уровнем экспрессии рецепторов; 3) экспрессия вирусспецифических рецепторов на клетках разных групп животных и насекомых определяет круг хозяев и, соответственно, распространенность вирусов в природе; 4) клетки животных, не экспрессирующие рецепторов к вирусам резистентны (14, 17, 30, 33).

Рецепторы для некоторых из них (арбовирусов) экспрессированы на клетках, как позвоночных, так и беспозвоночных. Для других вирусов (ВИЧ, вирусы полиомиелита) они имеются только на клетках одного или нескольких видов животных. Вирусы одного вида, но разных серотипов могут конкурировать за рецепторы одного типа (полиовирусы 1, 2, 3) или использовать рецепторы разных

типов (риновирусы 2 и 14 серотипов). Вирусы из разных семейств также могут конкурировать за один и тот же тип рецепторов клеток.

Пенетрация (проникновение) вирионов в клетку еще до конца не изученный процесс. После адсорбции цельный вирион или его субструктуры, содержащие геном и полимеразы, проникают внутрь клетки через цитоплазматическую мембрану. Интенсивность проникновения зависит от природы вируса, типа клеток хозяина, факторов окружающей среды (температуры). Пенетрация начинается сразу после адсорбции, требует затрат энергии, не происходит при 0°C. Простые вирусы (полиовирусы) подвергаются процессу рецептор-зависимого эндоцитоза (виропексиса) и появляются в цитоплазме в виде везикул (эндосом). Другие безоболочечные вирусы, возможно, проникают прямо через мембрану клетки или захватываются углублениями мембраны и затем обнаруживаются в цитоплазме в виде свободных вирусных частиц. Т.е. для вхождения в клетку многие вирусы используют специфические мембранные микродомены в виде инвагинаций-кавеолы. Как правило, это 50-70 нм фрагменты мембраны, образованные холестерином и белком кавеолином молекулярной массой 22кДа. Различают три типа таких микродоменов – мембраны, обогащенные гликофинголипидами, обогащенные фосфоинозитолом и, собственно, кавеолы. Кавеолы принимают участие в выполнении ряда функций – транспорте холестерина, эндоцитозе частиц, проведении мембранных сигналов в ядро. Оболочечные вирусы для проникновения в клетку используют два способа. Первый: арбовирусы – после связывания со специфическими рецепторами вызывают их агрегацию и образуют инвагинацию в мембране (ямку погружения). Протоновый насос снижает в эндосоме рН до 5,0. При этом изменяются гидрофобные компоненты полипептидов вируса, что способствует их слиянию с мембраной эндосомы и проникновению в цитоплазму рецептор-зависимым эндоцитозом. Вирионы проникают в цитоплазму в виде везикул, которые называются кавеолами. Оболочка вируса затем сливается с мембраной эндосом, высвобождая нуклеокапсид вируса в цитоплазму. Эндосомы впоследствии могут сливаться с лизосомами. Во втором механизме (парамиксовирусы) липидная оболочка перикапсида сливается с цитоплазматической мембраной клетки и нуклеокапсид сразу оказывается в цитоплазме. В противоположность этому, ряд вирусов (вирус кори) имеют F белок (белок слияния), облегчающий этот процесс. Его функция активируется после взаимодействия гемагглютинина с рецепторами клетки. Белки слияния имеют структуру, напоминающую гарпун. Их заостренная гидрофобная верхушка взаимодействует с гидрофобным участком мембраны клетки, что и облегчает слияние мембран. Клетки, инфицированные ретровирусами, кроме того, образуют специальные выросты – филоподии (вытянутые актинсодержащие филаменты) посредством которых они общаются друг с другом и могут передавать (транспортировать) вирус внутриклеточно от одной клетки к другой. У бактериофагов обнаружен молекулярный мотор мощностью 60 пиконьютон, обеспечивающий проникновение в клетку и транспортировку. Показано, что аденоассоциированный вирус преодолевает мембрану примерно за 64 миллисекунды, а через 15 минут оказывается в ядре клетки. В цитоплазме вирусные частицы свободно диффундируют, с постоянной скоростью в направлении ядра, что позволяет полагать наличие определенных внутриклеточных механизмов их транспорта (1, 2, 5, 6, 7, 8, 16, 31, 32, 34).

Депротейназация (раздевание). Депротейназация – процесс удаления или дезинтеграции части или всей белковой оболочки вируса с целью обеспечения доступности генома клеточным механизмам транскрипции и трансляции. Когда оболочки, окружающие нуклеиновую кислоту, удалены, инфекционность вирусной частицы необратимо утрачивается. В результате начинается последняя фаза – фаза ЭКЛИПСА, продолжающаяся до момента образования новой вирусной частицы. У многих вирусов пенетрация и депротейнизация происходят параллельно. Некоторые из вирусов подвергаются изменениям структуры вириона, ведущим к утрате внутреннего белка при прохождении мембраны клетки, что ускоряет проникновение нуклеиновой кислоты в цитоплазму. Безоболочечные вирусы индуцируют слияние лизосом с эндосомами, что приводит к разрушению капсида лизосомальными ферментами. У ряда реовирусов протеазы эндосом разрушают капсид вириона с образованием “субвирионных частиц”. Депротейназация поксвирусов протекает в две стадии: а) разрушение белков внешней оболочки ферментами эндосом; б) деградация нуклеокапсида и высвобождение вирусной ДНК. Депротейназация герпесвирусов частично может протекать и при прохождении пор мембраны ядра, а реовирусы никогда полностью не освобождаются от белковой оболочки (16, 19, 27).

Стратегия геномов вирусов и биосинтез макромолекул. Синтетическая фаза репродукции вирусов включает этапы транскрипции, трансляции, репликации НК, сопровождается биосинтезом и накоплением в клетке всех компонентов вириона. Для биосинтеза макромолекул вируса всех типов в первую очередь необходима трансляция вирусной РНК мессенджера (мРНК) в вирусспецифические белки. Вирусы, относящиеся к разным семействам, используют разные типы стратегии генома для достижения конечной цели – образования зрелого потомства. Вирусы, содержащие двуцепочечную ДНК, синтезируют мРНК также как и клетка-хозяин, с помощью ДНК-зависимой РНК полимеразы. РНК-вирусы генерируют мРНК из собственной РНК различными механизмами. При этом используется множество стратегий при транскрипции генома и трансляции мРНК в соответствующие белки (1, 5, 6, 7, 8, 10, 22, 35).

Стратегия одноцепочечных + РНК геномных вирусов. Это простейшая модель стратегии, заключающаяся в функционировании нуклеиновой кислоты вириона (т.е. РНК) в качестве мРНК. Примером таких вирусов являются пикорна- (полиовирусы) и тогавирусы (вирус энцефалита лошадей). Эти вирусы имеют геном позитивной полярности +РНК. После вхождения в клетку геномная РНК (мРНК) непосредственно связывается с рибосомами и транслируется в различные вирусные белки. У полиовирусов она связывается с крупной полирибосомой и продуцируется одна огромная полипротеиновая молекула белка предшественника (рис. 2)(1, 5, 8, 11).

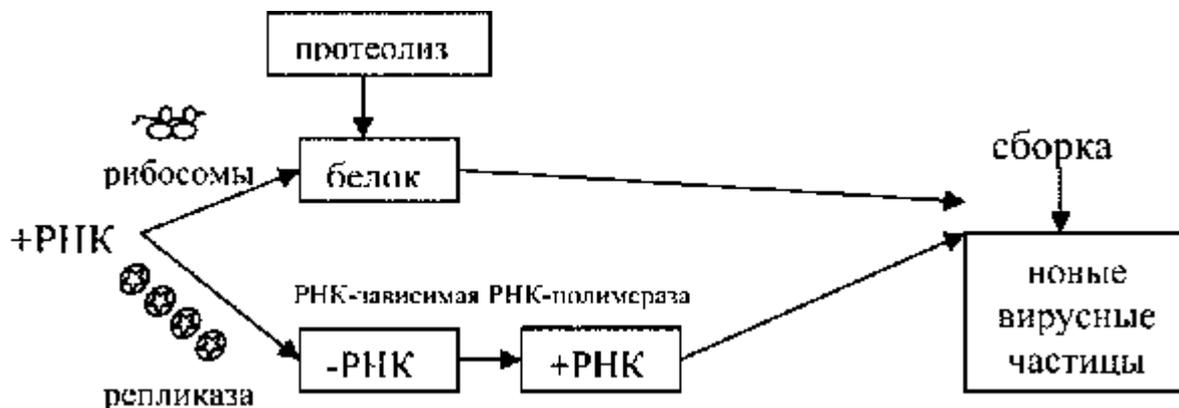


Рис. 2. Схема репродукции полиовирусов

Затем протеазы из нее нарезают структурные белки сердцевин и капсида. Кодированная вирусом РНК полимеразой, известная как РНК-транскриптаза, синтезирует комплементарную (-) цепь РНК, используя геномную РНК в качестве матрицы. В свою очередь, вновь синтезированные молекулы (-) РНК сохраняются в качестве матрицы для дальнейшей наработки необходимого количества геномной (+) нитевой РНК. Вновь образованные молекулы РНК могут сохраняться в цитоплазме как мРНК или использоваться как молекулы предшественники вирионной (геномной) РНК. Процесс завершается самосборкой вирионов и упаковкой геномной +РНК в капсиды.

Стратегия генома одноцепочечных – РНК вирусов. Одноцепочечные-РНК вирусы не несут сиквенсы, кодирующие белки, а содержат только комплементарную ему цепь. Более того, они могут использовать различные стратегии образования мРНК. Путь реализации стратегии генома наиболее часто следующий: -РНК > мРНК > белок (рис.3). Если геном реплицирован посредством одноцепочечной (+) РНК интермедиата, то он затем сохраняется в качестве матрицы для синтеза последующих (-) одноцепочечных геномных РНК. Клетки животных не имеют ферментов, использующих РНК в качестве матриц для образования РНК. Вирусы, использующие этот тип стратегии, кроме того, должны содержать в вирионе некоторое количество РНК транскриптазы, которая привносится в клетку при ее инфицировании вирусом.

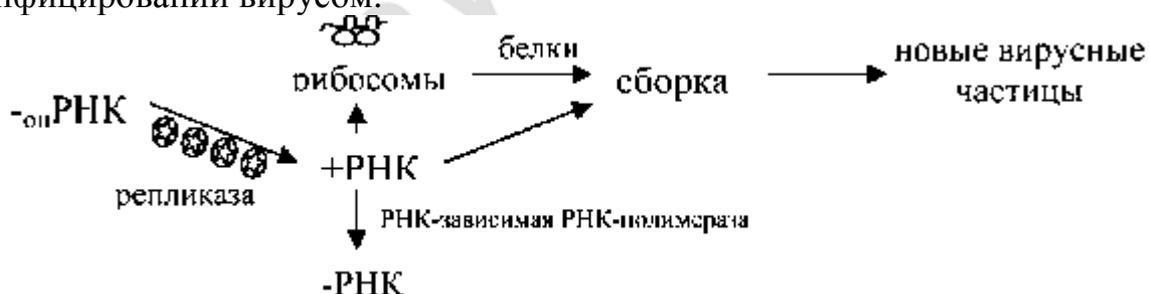


Рис. 3. Схема репродукции ортомиксовирусов

Такие одноцепочечные-РНК вирусы, как вирусы гриппа, имеют сегментированные геномы (несколько фрагментов). Репликация данных фрагментов РНК происходит в ядре и завершается созданием нескольких уникальных мРНК, кодирующих структуру определенного белка. При этом синтез каждого вирусного белка регулируется независимо. Для инициации транскрипции используется кэп-содержащий нуклеотидный сиквенс из 10-13 оснований, локализованный на 5' конце клеточной мРНК. Он отщепляется эндонуклеазой вирусного происхождения. Таким образом, все вирусные мРНК приобретают



сохраняется в качестве матрицы для вирионной РНК-зависимой ОТ. Последняя синтезирует молекулы ДНК из РНК матрицы. РНК-аза Н расщепляет нить РНК гибридной молекулы ДНК-РНК. Двухцепочечные ДНК-ые копии генома транспортируются в ядро и интегрируются в ДНК хромосом. В интегрированном состоянии геном вируса может находиться долгое время, и называются «провирсом», транскрибируются клеточными РНК-полимеразами, создавая молекулы РНК идентичные геному вируса. Молекулы этих РНК транспортируются в цитоплазму в несплайсированном виде или в виде нескольких сплайсированных мРНК. В этом отношении интегрированные ретровирусы (ДНК-провирусы) похожи на профаги лизогенных бактериофагов. Геномная РНК является мессенджером для трансляции серии молекул полипротеинов. Затем протеаза расщепляет полипротеиновую молекулу на полипептиды-предшественники отдельных структурных и неструктурных белков. Стратегия ДНК геномных вирусов. Двухцепочечные ДНК вирусы содержат НК линейной (герпес-, адено-и поксвирусы) и кольцевидной (паповавирусы) формы. ДНК-вирусы образуют мРНК, используя стратегии подобные таковым эукариотических клеток (рис. 6).

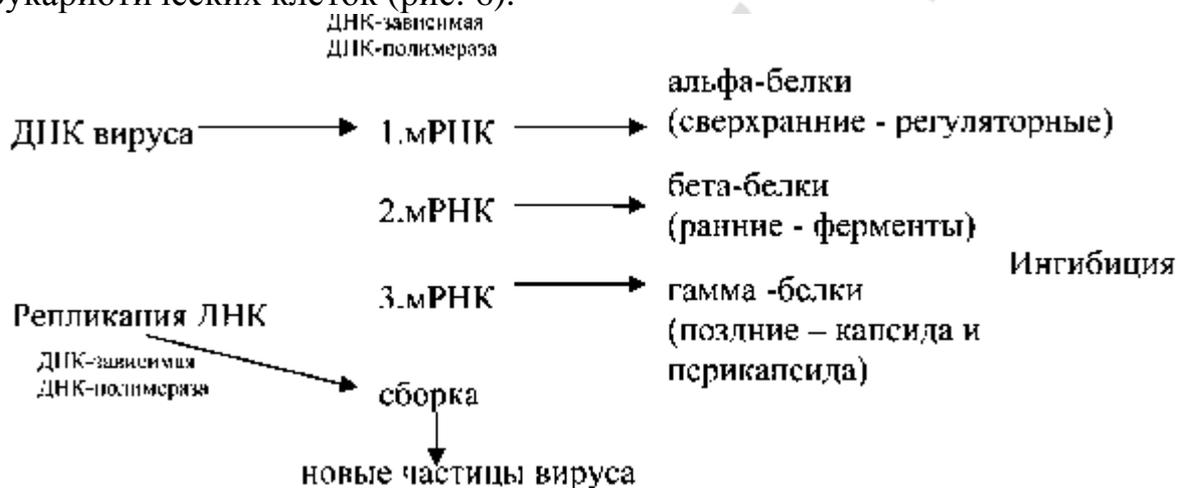


Рис. 6. Схема репродукции двухцепочечных ДНК вирусов

После связывания с рецепторами и пенетрации в клетку первым событием репликации является продукция мРНК из геномной ДНК. У папова-, адено-и герпесвирусов транскрипция вирусной ДНК в мРНК происходит в ядре клетки-хозяина клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразой. У паповавирусов (вирус SV-40) различают раннюю и позднюю транскрипцию. В период транскрипции образуются ранние мРНК, кодирующие регуляторные (ранние) белки – альфа (сверххранние) и бета(ранние), а затем образуются поздние мРНК, кодирующие поздние (гамма) белки(структурные). Геном аденовирусов, также характеризуются наличием ранних и поздних генов (рис. 8). Среди продуктов ранних генов имеется тимидинкиназа и вирус-специфическая ДНК-полимераза. Большинство поздних белков, являются структурными. При их продукции ингибируется биосинтез сверххранних и ранних белков. В промежутке между синтезом бета и гамма белков начинается биосинтез новых молекул геномной ДНК вирусов. Индивидуальные мРНК ранних и поздних генов соответствуют сиквенсу вирусной ДНК, т.е. экзонов, которые отделены участками нетранслируемых последовательностей – интронами. Незрелые молекулы мРНК интенсивно разрезаются и в результате сплайсинга соединяются в одну

молекулу. Синтез мРНК начинается с участков перекрывания вирусной ДНК. Этот избыток снижает количество вирусной ДНК, необходимой для кодирования некоторых вирусных белков и является механизмом геномной экономии. Однако ДНК полимеразы самостоятельно не способны начать синтез полинуклеотидной цепи. Они могут только наращивать ее в соответствии с инструкцией ДНК-матрицы. Образование новой цепи инициируется специфической РНК полимеразой, названной «альфа-примазой» или «короткой примазой». У вируса SV-40 альфа-примаза вначале синтезирует специальный праймер, инициирующий репликацию, а образовавшаяся репликационная вилка наращивается в двух направлениях. В результате образуются две двуцепочечные кольцевидные молекулы ДНК. У герпесвирусов геном является кольцевидным. Репликационная вилка наращивается только в одном направлении, конечным продуктом является одна молекула циркулярной двуцепочечной ДНК. У аденовирусов, в противоположность этому, геном является линейным. Репликационная вилка также наращивается только в одном направлении, а конечным продуктом является молекула двуцепочечной линейной ДНК.

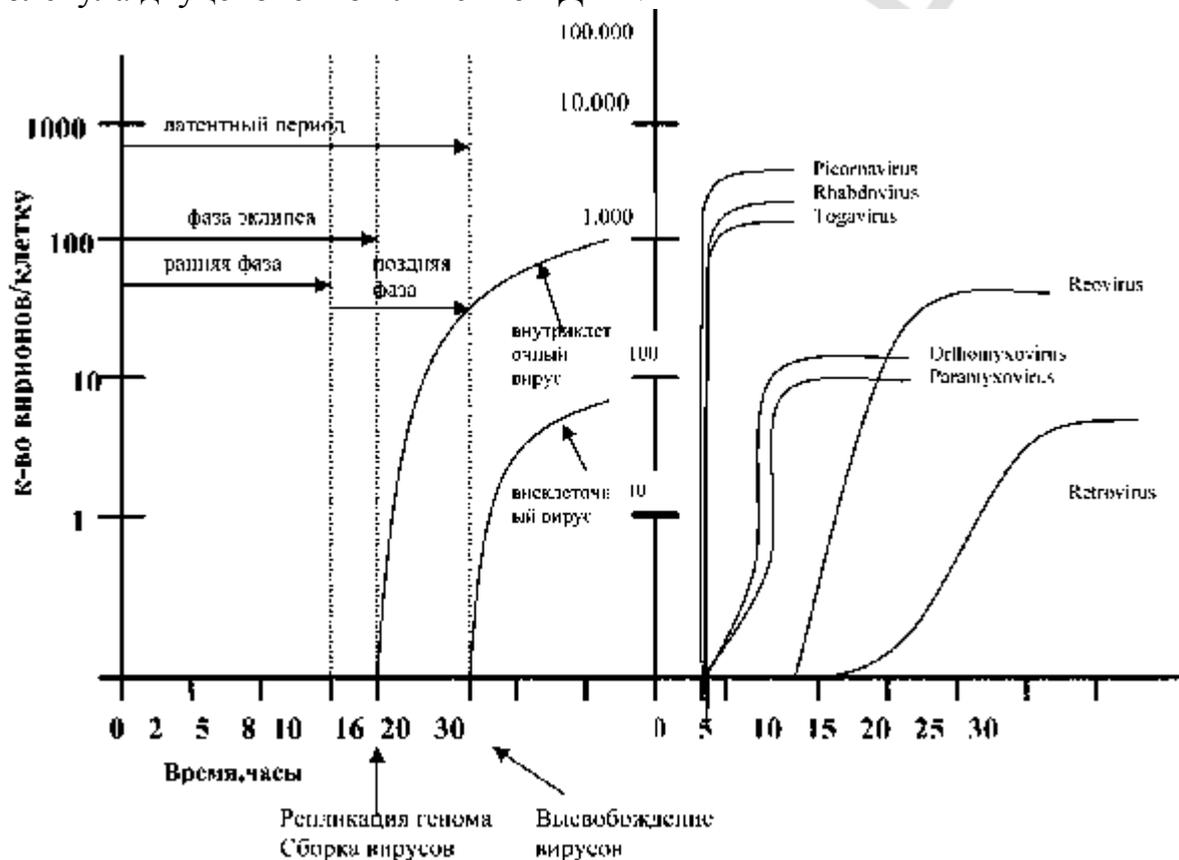


Рис. 8. Динамика репродукции вирусов и биосинтеза белков.

А. Кривая цикла роста (репродукции) вируса в культуре клеток и динамика его высвобождения Б. Характеристика кривых репродукции вирусов, относящихся к разным семействам

Наиболее сложно организованы поксвирусы. Начальные этапы транскрипции и трансляции происходят в цитоплазме клетки. Они не используют клеточные РНК полимеразы, так как их собственные ДНК-зависимые РНК полимеразы, обеспечивают начальные этапы транскрипции. Продукты ранних генов включают ДНК полимеразы, белки, связывающиеся с началом репликации и инициирующие процесс, а также белки стимулирующие клетку к вхождению в S фазу клеточного

цикла и повышающие продукцию материалов необходимых для биосинтеза ДНК, или продуктов необходимых для дальнейшей дезинтеграции субвирионных частиц. Ранние вирусные белки ответственны за вторую фазу депротенизации. Репликация, транскрипция и этапы поздней сборки происходят в специальных участках цитоплазмы, называемых “фабриками“. Ранние белки включают ферменты (ДНК полимеразы, тимидинкиназы), так же как и некоторые структурные белки. Когда инициируется инфекция клетки, репликация ДНК в клетке начинается, синтез ранних неструктурных белков прекращается, а синтез поздних белков еще продолжается. Поздние белки являются структурными, но иные из них также являются ферментами или белками, участвующими в сборке вирионов (1, 5, 6, 7, 11, 21).

Стратегия ДНК геномных вирусов с обратной транскрипцией (гепаднавирусов). Гепаднавирусы являются уникальными оболочечными ДНК вирусами животных с обратной транскрипцией (рис.7). После внедрения в клетку ДНК вируса транспортируется в ядро, где превращается в ковалентно закрытую, полностью кольцевидную двуцепочечную ДНК (кдцДНК)

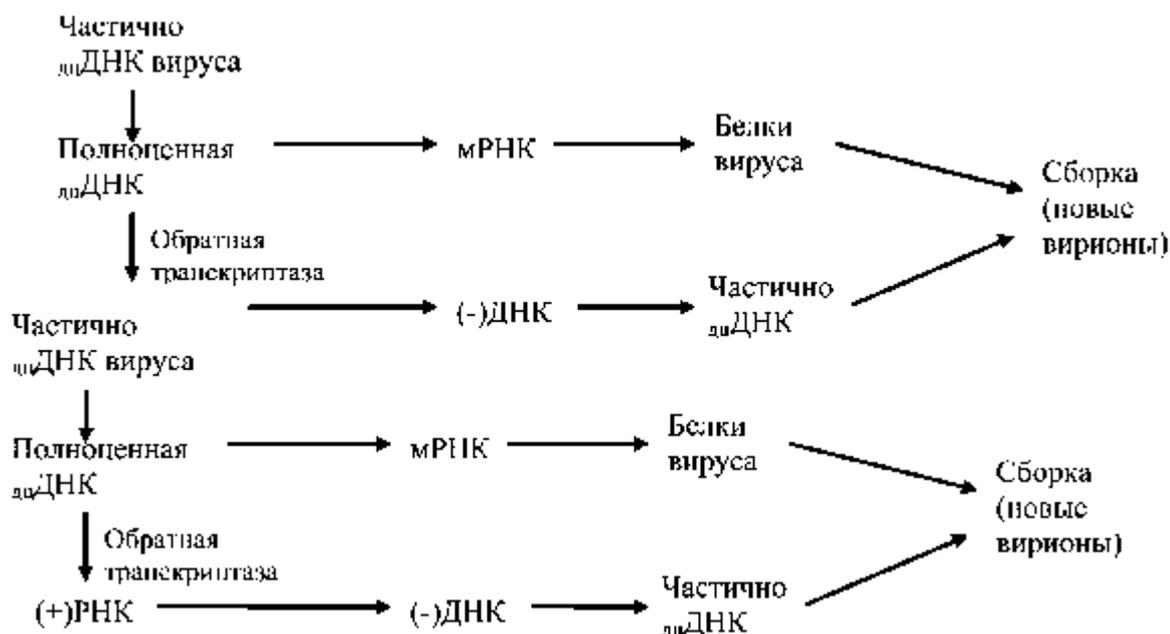


Рис.7. Схема репродукции ДНК вирусов с обратной транскрипцией.

В отличие от ретровирусов ДНК вируса не интегрируется в геном клетки, а персистирует в ядре в виде нереплицирующейся эписомы. Она транскрибируется клеточными РНК полимеразы, используя несколько разных промоторов кдцДНК для образования серии разных типов РНК. Молекулы этих РНК транспортируются в цитоплазму, где и сохраняются в качестве мРНК. Одна из этих РНК, называемая РНК-предшественником несколько длиннее и выполняет функцию матрицы для обратной транскрипции в ДНК.

Обратная транскрипция осуществляется ферментом ОТ с участием РНК-азы Н, транслируемыми из соответствующих вирусных мРНК. Самой первой в результате обратной транскрипции синтезируется полная минус-смысловая ДНК. Синтез второй нити (плюс-смысловой ДНК) начинается позднее, но завершается только частично. В результате этого, сердцевина вириона содержит частично к дц ДНК (т.е. геном вируса). Сердцевина вируса, содержащая ДНК генома, в дальнейшем использует несколько путей реализации. На ранних этапах инфекции

вновь образованные частицы могут усиливать образование кдцДНК в ядре. Они содержат геномную ДНК и не отличаются от аналогичных частиц поступающих в клетку при ее инфицировании. Вновь образованная геномная ДНК может транспортироваться в ядро и там превращаться в кдцДНК. Следует отметить, что амплификация кдцДНК, осуществляется только через промежуточную форму генома в виде молекулы РНК, используя путь описанный ранее. То есть прямая репликация ДНК в ядре отсутствует. На поздних стадиях инфекции клетки происходит созревание сердцевины, собираются полноценные вирионы, которые отпочковываются от ядерной мембраны в эндоплазматический ретикулум. Переключение на процесс отпочковывания регулируется поверхностными белками перикапсида (1, 5, 6, 11, 16, 18, 28).

Стратегия одноцепочечных ДНК геномных вирусов. Семейство парвовирусов является единственным из ДНК вирусов животных относящихся к данной группе. Они имеют очень малый размер генома –  $2 \times 10^6$ . Некоторые из парвовирусов, кроме того, имеют одноцепочечную ДНК ( – ) негативной полярности. Они реплицируются в быстро делящихся клетках. Другие из парвовирусов содержат (+) или (-) ДНК, являются ко-инфицирующими и зависят от репликации основного вируса “помощника”. Для создания двуцепочечного ДНК – генома вируса они используют кольцевидную ДНК полимеразу, называемого репликативной формой. При этом для прайминга используется собственная нуклеиновая кислота, образующая петлю с 3’ конца. Это следует за смещением цепи родительской ДНК и синтезом комплементарных молекул к цепи-матрице. Молекулы мРНК синтезируются с использованием соответствующей цепи ДНК в качестве матрицы, которые затем транслируются в виде белков.

Трансляция и биосинтез белков вируса. Трансляция вирусных мРНК осуществляется клеточными системами. Большинство мРНК вирусов животных имеют шапочку (кэп) на 5’ и полиаденилированы на 3’ концах. При этом используются те же самые пути, что и при трансляции клеточных мРНК. Хотя трансляция многих вирусных мРНК сопряжена с интерференцией с процессами трансляции клеточных мРНК с целью обеспечения первоочередности. Кроме того, имеются механизмы, используемые некоторыми вирусами, которые не свойственны клеточным: 1) «кэп» независимая трансляция; 2) рибосомный сдвиг рамки считывания. Наличие на 5’ конце молекулы мРНК шапочки является необходимым условием трансляции. Началом процесса трансляции является взаимодействие клеточных «кэп»-связывающих белков с мРНК. мРНК затем сканируется комплексом инициации, стартующим в участке кэп. Трансляция начинается со стартового кодона AUG. Однако мРНК некоторых вирусов (полиовирусы, гепатита С) лишены шапочки и используют другой механизм инициации трансляции. 5’ нетранслируемая область РНК полиовирусов является длиной – более 700 нуклеотидов. Последовательности этой области длиной около 400 нуклеотидов с 5’ конца называется внутренним участком (элементом) входа рибосом (ВУВР). Рибосомы связываются с ВУВР и иницируют трансляцию мРНК кэп-независимым способом. У различных вирусов структура этого фрагмента разная, но всегда выявляется в 5’ нетранслируемой области РНК. У полицистронных мРНК имеются множественные ВУВР. Более того, вирусы способны блокировать кэп-зависимый механизм трансляции клеточных мРНК, разрушая кэп-связывающие белки. Этим же механизмом блокируются и

многие защитные противовирусные механизмы организма хозяина, а близкородственные вирусы могут обмениваться этими элементами. Эффективность варьирует между 5-20% (1, 2, 3, 6, 9, 11).

Ретровирусы и большинство +РНК вирусов, как и некоторые другие, продуцируют полипротеиновые молекулы благодаря наличию длинной открытой рамки считывания, прерываемой стоп-кодонами. Терминация полипротеина в участке стоп-кодона приводит к синтезу белковых молекул с определенными функциями, образованию длинной молекулы с дополнительными функциями. Для игнорирования стоп-кодонов используются два механизма: 1) считывание стоп-кодона как смыслового, в этом случае, когда верхний (вышележащий) сиквенс некоторых рамок считывания является нижним (нижележащим) сиквенсом других.; 2) сдвиг рамки считывания на рибосомах на +1 или -1 верхнего стоп-кодона. Эффективность сдвига рамки считывания варьирует от 2 до 20% и зависит от вида вирусов.

Полипротеиновые молекулы с помощью протеаз вирусов разрушаются на индивидуальные белки, за исключением белков-предшественников. Последние расщепляются ферментами клетки, расположенными в субклеточных компартментах. Некоторые протеазы вирусов разрушают молекулы полипротеинов в «cis»-мономолекулярной реакции (полипротеиновая молекула сама себя расщепляет), другие – в «trans»-бимолекулярном типе реакций (протеазы разрушают молекулы полипротеина другого типа). Серии этих реакций регулируют жизненный цикл вирусов. Вирусы используют три типа протеаз – сериновые (риновирусы), папаин подобные (+РНК вирусов) и металлопротеазы (вирус гепатита С). По своему строению и функции они подобны ферментам животных – химотрипсину, пепсину, ренину, катепсину Д и др. (1, 3, 5, 8, 11).

Сборка предшественников вирионов. Важной стадией цикла репродукции вирусов в клетке является сборка компонентов в вирионы и созревание инфекционных частиц. Когда репликация генома вируса и синтез вирусных белков завершены, то интактные вирионы из отдельных компонентов собираются на липидных платформах мембранной сети аппарата Гольджи. Безоболочечные вирусы и нуклеокапсиды оболочечных вирусов образуются путем самосборки из капсомеров в кристалло-подобном стиле. Процесс самосборки вирионов называется морфогенезом. Стабильность вирионов зависит от соотношения отрицательных и положительных зарядов их образующих компонентов. Молекулы ДНК и РНК вирусов обладают сильным отрицательным зарядом. Для успешной сборки вириона заряд необходимо нейтрализовать. С этой целью в вирион включаются положительно заряженные полимеры. ДНК полиомавирусов комплексируется с гистонами клетки, образуя микрохромосомы. Аденовирусы кодируют основной белок, окружающий ДНК-геном. Герпесвирусы с этой целью включают полиамины (70 000 молекул спермидина и 40 000 молекул спермина), нейтрализующие до 40%. Белки нуклеокапсида РНК-вирусов также нейтрализуют до 40% отрицательного заряда вириона. По завершения сборки капсида он заполняется вирусной нуклеиновой кислотой и превращается в зрелый жизнеспособный вирион(1, 2, 5, 8, 11).

Выход из клетки. Простые вирусы выходят из клетки путем лизиса. К разрушению клеток приводит ингибция биосинтеза жизненно важных биомолекул, дезорганизация цитоскелета клетки и изменение структуры мембраны.

Лизосомальные протеолитические ферменты повышают ее проницаемость. Развивается структурно-функциональная недостаточность, не позволяющая восполнять потребности клетки богатыми энергией субстратами. В свою очередь нарушаются мембранные процессы-транспорт ионов, питательных веществ, удаление продуктов обмена. Оболочечные вирусы высвобождаются из клетки почкованием. Для клетки это может быть или не быть летальным исходом. Во всех случаях вирусспецифические белки инкорпорируются в липидные рафты мембраны клетки хозяина, замещая некоторые из ее нормальных компонентов, что также ведет к реструктуризации мембраны. Капсид вируса может связываться с вирусспецифическими матриксными белками, выступающими со стороны цитоплазмы места повреждения мембраны (бляшки). У тогавирусов капсиды напрямую связываются с внутрицитоплазматическими доменами вирусных белков вкрапленных в мембране перикапсида. Вирусы рассматриваются и как биологические наномашин, строительство которых происходит в клетках, сборка динамично регулируется по интенсивности и времени из нескольких молекулярных компонентов – нуклеиновых кислот, белков, липидов (15, 16, 19, 25, 27, 30, 36).

Образование дефектных вирионов. Ряд вирусов не могут реплицироваться самостоятельно. Для репликации такие “дефектные” вирусы (дельта вирус гепатита В) нуждаются в вирусе “помощнике”. Дельта инфекция является ко-инфекцией гепатита В и не встречается в его отсутствии, определяет более тяжелое течение болезни (фульминантные формы). Дефектные формы вирусов выявляются и при адено-ассоциированной парвовирусной инфекции. Кроме того, в процессе репликации могут образовываться вирионы, содержащие нестандартные или дефектные геномы. Они, как правило, несколько короче оригинальных геномов, и содержат, по крайней мере, одну делецию и называются дефектными интерферирующими частицами (ДИЧ) (1, 5, 11).

Этапы репродукции вирусов в культуре клеток. Репликативный цикл вируса во многом зависит от метаболических процессов клетки. Задача вируса ингибировать их и обеспечить синтез собственных компонентов. Исходом этого является продукция десятков, сотен или тысяч новых вирионов. Потомство вирионов накапливается в питательной среде и инфицируют новые клетки. цикл репродукции некоторых вирусов представлен на рисунке 8.

Фаза эклипса начинается после инокуляции определенной дозы вируса в культуру клеток. Часть вирионов утрачивает инфекционность, а часть проникает в клетки, новые частицы не образуются. Затем вирус репродуцируется в клетках, формируя потомство новых частиц. Скорость их накопления в культуре клеток описывается в виде логарифмической фазы. В этот период отмечается увеличение числа вирионов в логарифмической прогрессии (фаза экспансии). Эта фаза завершается по достижении пика количества вирионов в 10,0 мл среды. Клетки при этом начинают стремительно погибать. Как видно из рисунка интервалы времени достижения пика репродукции у разных вирусов существенно варьируют (1, 5, 6).  
Типы вирусной инфекции клетки. Основные типы вирусной инфекции клетки и, соответственно, механизмы взаимодействия с клеткой представлены в таблице 2.

Таблица 2

Типы взаимодействий вирусов с клеткой

Тип инфекции	Характер репродукции
Цитолитическая продуктивная	интенсивная
Нецитолитическая продуктивная Нецитолитическая (персистентная)	умеренная
Абортивная	отсутствует
Абортивная персистентная	ограниченная
Латентная	присутствие НК вируса или ограниченная репродукция
Интегративная	НК вируса интегрирована в хромосому клетки, ограниченная
Трансформация	присутствие НК вируса, экспрессия онкогенов
Апоптоз	нецитолитическая и персистентная инфекция

Цитолитическая продуктивная инфекция наблюдается при высокой интенсивности репродукции вируса в клетке с образованием многочисленного потомства (урожая) и выходе вирионов путем взрыва. Мембрана пораженной клетки при этом не успевает закрыться и клетка разрушается. В культуре клеток это проявляется цитопатическим эффектом, характерным для определенного вируса. Такие культуры клеток называются пермиссивными. Типичными примерами литических инфекций являются полиомиелит и грипп.

Нецитолитическая продуктивная инфекция характерна для некоторых вирусов, способных инфицировать клетки продуктивно, но клетки не погибают в результате репликации вируса. При гепатите В гепатоциты остаются жизнеспособными и продолжают продуцировать вирусные частицы с низкой скоростью, отделяясь почкованием. Для развития нелитической продуктивной инфекции значение имеет тип клеток. Ингибиторный эффект репродукции вируса на уровне метаболизма отсутствует, а на мембране клеток могут быть экспрессированы антигены вирусов. Их выявление можно использовать в диагностических целях. Кроме того, экспрессированные на мембране индуцированной клетки антигены (гликопротеины) вируса являются мишенями для гуморальных и клеточных факторов иммунной системы. Этот тип инфекции может привести к формированию “персистентной” инфекции, при которой клетки и, содержащиеся в них вирусы, сосуществуют в течение длительного периода. При обеих формах – литической и персистентной вирус находится в состоянии репликации.

Абортивная (непродуктивна) инфекция имеет место в тех случаях, когда вирус не может инфицировать клетку из-за неспособности прикрепиться к ней. Такие клетки называются резистентными. В других случаях вирусы способны инфицировать клетки, но отсутствует продукция, и нет выхода потомства новых вирионов. В этом случае клетка обычно инфицируется вирусом с неполным циклом репликации. Такая инфекция называется непродуктивной или абортивной, а клетки-мишени-непермиссивными. В основе этого может лежать блок определенной стадии репликативного цикла, обусловленный утратой некоторых клеточных функций, необходимых для этого. Этот тип инфекции имеет место и в случае, если клетка инфицирована дефектным вирусом, который не может начать или завершить процесс репликации по причине отсутствия генов, кодирующих необходимые для репликации белки. Мутации, сопровождающиеся заменой аминокислот в белках, отвечающих за репликацию или литическую инфекцию,

также ведут к abortивной инфекции. В формировании abortивной инфекции важная роль принадлежит интерферонам, воздействующим на окружающие их нормальные клетки и защищающие их от вирусов.

Латентность. Латентность – тип персистенции, при котором вирус присутствует только в форме генома. При этом выявляется ограниченная экспрессия вирусных генов, случайно и только на уровне мРНК. Вирус находится в покоящемся состоянии. Генетический материал вируса может существовать в цитоплазме клетки (герпесвирусы), быть инкорпорированным в хромосому клетки (ретровирусы) или находиться в виде кольцевидной неинтегрированной эписомы (гепаднавирусы). Более свойственна ДНК, нежели РНК вирусам. Вирус Эпштейна-Барр сохраняется в латентном состоянии в В-лимфоцитах в виде эписомальной вирусной ДНК, вирус простого герпеса находится в нейронах. Репликация отсутствует до тех пор, пока какие-либо иницирующие стимулы не выведут его из этого состояния. Ими могут быть стресс, переохлаждение, стимуляция клеток антигенами или митогенами и др. (2, 9, 11, 12, 16, 17, 33).

Интегративная инфекция – это тип инфекции клетки, характеризующийся физическим объединением (интеграцией) геномов клетки и вируса. Интегративная инфекция может быть abortивной и продуктивной. Примерами интегративной инфекции являются ВИЧ-инфекция и гепатит В. Встроенная в хромосому клетки хозяина ДНК вируса называется провирусом.

Вирусная инфекция и клеточный цикл. Эволюционный процесс многоклеточных эукариотических организмов привел к формированию механизмов детерминирующих цикличность развития, как отдельных клеток, так и систем организма. В основе жизнедеятельности организмов лежит клеточный цикл – совокупность контрольных точек и фаз, происходящих в строго определенном порядке, которые необходимы для полноценной репликации ДНК, деления и дифференцировки клеток в соответствии со специфичными только для них функциями. Например, бета-клетки поджелудочной железы функционируют как продуценты инсулина, В-лимфоциты трансформируются в плазматические клетки – продуценты антител, зрелые Т-лимфоциты развивают клеточные иммунологические реакции. Вирусы, инфицируя эукариотические клетки, способны интерферировать с важными событиями клеточного цикла. Клеточный цикл протекает в несколько фаз: а) S фаза – репликации ДНК; б) М-фаза – деление ядра (митоз); в) G-фаза деления клетки, разделенная на два периода G1 и G2 или цитокинеза. Покоящиеся клетки находятся в стадии G0. Активация клеток и переход ее физиологического состояния из одной фазы в другую строго детерминируется. В каждой из фаз имеются свои контрольные точки, которым соответствует определенное состояние биохимических процессов цитоплазмы, хроматина и ядра. Данные процессы чувствительны к внешним воздействиям, особенно при переходе цикла от S в М фазу, когда высок риск образования ошибок, которые могут привести к нестабильности генома и неконтрольному делению ядра клетки. Фазы клеточного цикла регулируются циклин-зависимыми киназами, активность которых зависит от локализации в клетке, интенсивности фосфорилирования, баланса активирующих и ингибирующих сигналов. Вирусная инфекция клетки протекает с существенными влияниями на определенные фазы цикла. Например, репродукция аденовирусов, папилломавирусов, вируса гепатита С оказывает влияние уже в S фазе, вирус кори оказывает влияние на М фазу, а

коронавирусы, вирусы герпеса, ВИЧ, реовирусы, пикорнавирусы – на фазу G1/G2. Большинство ДНК вирусов останавливают клеточный цикл в фазе G1 или S, а также в периоде G2/M. РНК-содержащие вирусы способны интерферировать практически со всеми фазами, а некоторые из них взаимодействуют с несколькими фазами одновременно. Результатом взаимодействия вирусов с клеточным циклом является широкий спектр изменений функций клетки – стимуляция экспрессии одних и угнетение экспрессии других генов, грубые нарушения (прерывание) клеточного цикла. Общей закономерностью при взаимодействии вирусных частиц с рецепторами клетки является стимуляция их перехода в G1 фазу, посредством активации ядерного фактора AP-1, с последующим арестом их на различных стадиях. Это происходит в результате интенсивных процессов репликации генома вирусов, биосинтеза вирусных белков в цитоплазматических образованиях и сборки вирионов, которые дезорганизуют уникальные механизмы и процессы деления клеток. Использование метода молекулярных чипов позволяет во времени проследить экспрессию генов клеток на разных этапах вирусной инфекции, глубже понять происходящие явления и использовать новые знания в разработке методов борьбы (21, 22, 23, 34, 35).

Трансформация характерна для непродуктивной инфекции клетки. Нуклеиновая кислота может находиться в интегрированном и в не интегрированном с геномом клетки состоянии или в обоих. При этом свойства клеток изменяются драматически и их называют трансформированными. Вирусы, способные вызывать трансформацию клеток разных органов в опухолевые или раковые клетки, относятся к семействам ДНК (герпес-, адено-, гепадна-папова-и поксвирусов) и РНК (ретровирусов) вирусов. При этом значение играет тип клеток и вид животных. Трансформированные клетки претерпевают морфологические, биохимические, поведенческие изменения и обладают свойствами присущими опухолевым. Они утрачивают механизмы, контролирующие дифференцировку, рост и контактную ингибицию, не экспрессируют фибронектин, не зависят от регуляторных сывороточных факторов, агглютинируются растительными лектинами, экспрессируют антигены эмбриональной стадии развития и антигены вируса. В результате приобретает способность к неопределенному количеству циклов деления, образованию агрегатов, повышается их инвазивность и склонность к метастазированию (1, 5, 12, 18, 28).

Апоптоз. Изменения, имеющие место в течение вирусной инфекции клетки, способны стимулировать процесс апоптоза или запрограммированной гибели. Апоптоз является центральным элементом физиологической гибели клеток, а также важным звеном развития иммунопатологии. Компоненты вириона являются индукторами апоптоза клеток, вызывают разрывы ДНК хромосом, активируют каспазы, разрушающие ДНК на фрагменты 50 – 300 п.н. Признаками апоптоза является уменьшение размеров клетки, уплотнение хроматина, скопление его возле ядерной мембраны, уменьшение объема цитоплазмы. Однако, гибель клетки при этом не сопровождается воспалением и повреждением тканей. Сигнал апоптоза клетки реализуют при взаимодействии индукторов (компонентов вирионов) с рецептором APO-1/Fas (CD95), относящимся к семейству рецепторов ФНО. Комплементарная ему молекула – Fas-L (лиганд) экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах (CD8+ и CD4+ Т-клетках). Взаимодействие клеток, несущих Fas-L с клетками мишенями, экспрессирующими Fas рецептор

индуцирует апоптоз. Активация Fas обуславливает его взаимодействие с Fas-ассоциированным белком, содержащим домен, запускающий гибель клетки. При этом гранулы перфорина, гранзимов и гранулизинов из цитоплазмы CD8+ ЦТЛ, НК-и НК-Т-клеток проникают в цитоплазму клеток-мишеней и завершают процесс апоптоза (8, 12, 18, 28).

Практическое использование вирусов в медицине. В последние годы установлены новые закономерности репродукции литических вирусов в различных клеточных моделях, которые могут быть полезны для практической медицины. Ряд вирусов – вирус осповакцины, некоторые герпес вирусы, а также их мутантные варианты проявляют цитопатогенный литический эффект в отношении быстро делящихся опухолевых клеток, но не лизируют нормальные клетки. Проведенные экспериментальные исследования показали, что введение таких вирусов в опухоль за короткое время обеспечивает 6-8 кратное уменьшение ее размеров. Эти многообещающие данные послужили основой разработки новых методов терапии злокачественных новообразований и, соответственно, нового класса терапевтических вирусных противоопухолевых препаратов.

Перспективным также представляется возможность использования в клинике иммуносупрессивных вирусов (например, вакцинного вируса кори) для терапии аутоиммунных и аллергических заболеваний.

#### Литература

1. Букринская, А. Г. Вирусология. М.: Медицина, 1986. 336 с.
2. Вотяков, В. И. Клещевые энцефалиты Евразии / В. И. Вотяков, В. И. Злобин, Н. П. Мишаева. Новосибирск: Наука, 2002. 438 с.
3. Дунаева, Н. В., Эсауленко Е. В. Структурно-функциональная организация генома вируса гепатита С. Вопросы вирусологии. 2006. Т. 51. № 2. С. 10-14.
4. Железнякова, Г. Ф. Воздействие вирусов на систему цитокинов. 2007.
5. Жданов, В. М. Вирусология / В. М. Жданов, С. Я. Гайдамович. медицина. М. 1996. 480с.
6. Зинченко, А. И., Паруль, Д. А. Основы молекулярной биологии вирусов и антивирусной терапии. / А. И. Зинченко, Д. А. Паруль. Минск: Выш. шк., 2005. 208с.
7. Красільнікаў, А. П. Слоўнік па агульнай і медыцынскай вірусалогіі / А. П. Красільнікаў, Н. Ф. Казак, Л. П. Цітоў. Мінск: Выш. шк., 1995. 63 с.
8. Лидский, П. В., Агол, В. И. Как полиовирус изменяет клетку. Вопросы вирусологии. 2006. т. 51. Т. 1. С. 4-11.
9. Мишаева, Н. П. Бешенство и другие лиссавирусные инфекции человека / Н. П. Мишаева, В. И. Вотяков, Л. П. Титов. Минск. «Хата». 2002. 281 с.
10. Субботина, Е. Л., Чепурнов, А. А. Молекулярные механизмы репродукции вируса Эбола. Вопросы вирусологии. 2007. Т. 52. № 1. С. 10-15.
11. Титов, Л. П., Казак, Н. Ф., Канашкова, Т. А. и др. Вирусология (характеристика возбудителей, патогенез и диагностика вирусных инфекций). Минск: БГМУ, 2003г. 76 с.
12. Титов, Л. П. Иммунология. Терминологический словарь. Белорусская наука. Минск. 2004. 351 с.
13. Титов, Л. П., Полещук, Н. Н., Протас, И. И., Недзведь, М. К., Капитулец, С. П. Прионные заболевания – болезнь Крейтцфельдта – Якоба в Республике Беларусь. Медицина. 2006. № 2. С. 19-22.

14. Baranowski, E., Ruiz-Jarobo, C.M., Domingo, E. Evolution of cell Recognition by Viruses. *Science*. 2001. V. 292. P. 1102-1105.
15. Cary, L.A., Cooper, J.A. Molecular switches in lipid rafts. *Nature*. 2000. Vol. 404. P. 945-947.
16. Chazal, N., Gerliez, P. Viruses entry, assembly, budding and membrane rafts. *Microbiol and Mol Biol Reviews*. 2003. V. 67. P. 226-237.
17. Cleaveland, S., Laurenson, M.K. and Taylor, L.H. 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and risk of emergence. *Philos. Trans.R. Soc. London Ser. B* 356:991-999.
18. Cuconati, A., White, E. Viral homologs of BCL-2: role of apoptosis in the regulation of virus infection. *Genes and development*. 2002. Vol. 16. P. 2465-2478.
19. Doms, R.W., Trono, D. The plasma membrane as a combat zone in the HIV battlefield. *Genes and Development*. 2000. Vol. 14. N21. P. 2677-2688.
20. Espagne, E., Dupuy, C, Huguet, E. Genome sequence of a polydnavirus: insights into symbiotic virus evolution. *Science*. 2004. Vol. 306. P. 286-289.
21. Gutierrez, C., Dove, B., Hiscox, J.A. Viruses and the cell cycle. In book. *Viruses and Nucleus*. Ed. J.Hiscox. Wiley. 2006. P. 247-262.
22. Harper, J.V., Brooks, G. The eucariotic cell cycle. *Ibid*. P. 25-54.
23. Jackson, D.A. The nucleus – An Overview. *Ibid*. P. 1-20.
24. Jacobson, K., Dietrich, C. Looking at lipid rafts. *Trends cell boil*. 1999. Vol. 9. P. 87-91.
25. Kurzchalia, T.V., Parton, R.G. Membrane microdomeins and caveolae. *Curr Op. Cell Biol*. 1999. Vol. 11.P. 424-431.
26. La Scola, B., Audic, S., Robert, C. A giant virus in Amoebae. *Science*. 2003. Vol. 299. P. 233-243.
27. Matthews, D.A., Hiscox, J.A. Viruses and nucleous. *Ibid*. P. 185-202.
28. Liu, X., Marmorstein, R. When viral oncoproteins meet tumor suppressor: a structural view. *Genes and Development*. 2006. V. 20. P. 2332-2337.
29. Primrose, S.B., Twyman, R.M. *Principles of genome Analysis and Genomics*. Blackwell Publishing, Oxford. 2003. 263 p.
30. Riley, L.W. *Molecular Epidemiology of Infectious Diseases*. 2004. ASM Press. 348 p.
31. Shin, J.S., Guo, Z., Abraham, S.N. Involvement of cellulat caveolae in bacterial entry into mast cells. *Science*. 2000. Vol. 289. P. 785-788.
32. Sternberg, P.W., Schmid, S.L.. Caveolin, cholesterol and Ras signaling. *Nature cell*. 1999. E35-37.
33. Strauss, J.H., Strauss, E.G. *Viruses and Human Disease*. 2002. Acad.Press. 383 p.
34. Suzuki, T., Suzuk, Y. Virus infection and lipid rafts. *Biol. Pharm Bull*. 2006. V. 2. P. 1538-1541.
35. Whittakez, G.R. Intracellular trafficking of influenzae virus: clinical implications for molecular medicine. *Exp. Reviews in Molecular Medicine*. 2001. N8. P. 1-13.
36. Zajchowski, L.D., Robbins, S.M. Lipid rafts. *Eur. J.Biochem*. 2002. Vol. 269. P. 737-752.
37. Zhou, J., Thompson, D.K., Tiede, J.M. Genomics: Toward a genome-level Understanding of the Structure, Functions, and Evolution of Biological Systems. In book “*Microbial Functional Genomics*”. 2004. Wiley. P. 1-21.