

ХIII МЕЖДУНАРОДНАЯ СТУДЕНЧЕСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ 2021»

Биологические науки

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ГЕНОМА ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА. РОЛЬ НЕТРАНСЛИРУЕМЫХ ФРАГМЕНТОВ В ГЕНОМЕ

Алексеева И.С., Сиволобова А.С.,
Атешев Д.М., Лыков К.А.

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России – ФГБОУ ВО
«Волгоградский государственный медицинский»
университет Министерства здравоохранения
Российской Федерации, направление
подготовки «Биология», Волгоград,
e-mail: alekseeva99irina@yandex.ru

Флавивирuses – это вирусы, переносимые членистоногими, с одноцепочечным положительным РНК-геномом, которые могут вызывать серьезные заболевания у людей и животных. Геном вируса Западного Нила состоит из одной открытой рамки считывания (ОРС) и окружен 5' и 3' непереуведенными областями (НТО). ОРС – это полипротеин, который перерабатывается в три структурных и семь неструктурных белков. Было доказано, что 5' и 3'-НТО важны для вирусной репликации и иммунной модуляции. Обе эти области состоят из элементов, необходимых для циклизации генома, что приводит к инициации синтеза РНК. Высокоструктурированный 3'НТО отвечает за генерацию субгеномной РНК флавивируса (sfRNA), которая помогает вирусу уклоняться от иммунного ответа хозяина, тем самым влияя на вирусный патогенез.

Вирус ЛЗН, в соответствии с классификацией микроорганизмов, несущих угрозу здоровью и жизни человека, относится к особо опасным вирусам II группы патогенности. Он имеет очень высокую генетическую изменчивость [1], а также огромный ареал распространения, связанный, в основном, с перелетными птицами. Туристы также могут переносить лихорадку Западного Нила между различными регионами, если возбудитель попал в их организм, например, в субтропических странах, где он более распространен, нежели в странах с умеренным климатом. Все эти факторы являются основополагающими для интереса вирусологов к данному возбудителю, в целях его исследования и попытках создания вакцины от большей части штаммов вируса Западного Нила.

Лихорадка Западного Нила – природно-очаговая инфекция, которая переносится комарами рода *Culex* и *Aedes*. Имеет трансмиссивный механизм передачи возбудителя. Комары инфицируются во время питания зараженными птицами. Возбудителем ЛЗН является вирус

Западного Нила (ВЗН). Он относится к вирусам с положительным РНК-геномом и принадлежит к представителям рода *Flavivirus*, семейства *Flaviviridae*.

Наибольшее распространение вирус получил в странах Африки, Западной Азии и Ближнего Востока, однако там он не способен вызывать крупные вспышки заболевания среди местного населения. На протяжении последних двух десятилетий вспышки ЛЗН регистрировались в РФ (в особенности Волгоградская, Астраханская области и Краснодарский край), а также на территории Северной Америки, Южной Америки, Австралии и в некоторых частях Евразии [2, 3].

Особенности строения генома ВЗН

ВЗН относится к флавивирусам, его размеры составляют около 45 нм. ВЗН – содержит положительную РНК и имеет липидную оболочку. Размер нуклеокапсида возбудителя составляет около 30 нм и состоит из РНК и вирусного капсидного белка, а также билипидного слоя, в который погружены структурные белки М (мембранный) и Е (оболочечный) [4].

Длина однонитиевой вирусной РНК достигает 11000 нуклеотидов и кодирует одну рамку считывания, которая находится между 5' и 3' нетранслируемыми областями. В клетке организма эта РНК и выполняет функцию мРНК. 5'-нетранслируемая область кэпирована и включает в себя около 90-130 нуклеотидов. 3'-нетранслируемая область неполиаденилирована и состоит из 430-760 нуклеотидов. Данные нетранслируемые области играют важнейшую роль в процессе репликации генома вируса Западного Нила, так как в них находятся консервативные элементы, отвечающие за первичную и пространственную структуру вируса для различных серологических комплексов [4].

Неструктурные белки (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5), входящие в состав РНК вируса Западного Нила имеют много функций. Они играют значительную роль в синтезе и сборке вирусной РНК и модулируют иммунные реакции и сигналы клеток.

NS1 – мономер, который димеризуется после посттрансляционной модификации в просвете эндоплазматического ретикулума инфицированной клетки, а также накапливается в виде гексамера во внеклеточной жидкости. Он способен ингибировать активацию фактора регуляции интерферона (ИФН), что приводит к подавлению ИФН в инфицированной клетке.

При недостаточном гликозилировании белка NS1, вирулентность возбудителя снижается, репродукция вируса становится неустойчивой, возникают дополнительные мутации.

NS2A – **небольшой гидрофобный трансмембранный белок**, который также снижает выработку ИФН. Есть предположения, что данный белок помогает в сборке вирусных частиц, но данный процесс изучен не до конца. Также известно, что ген, кодирующий NS2A, содержит в себе шпильку, необходимую для производства белка NS1. При нарушении этой структуры происходит сдвиг рамки считывания, при котором синтез белка NS1 становится невозможным.

NS2B – **кофактор каталитической активности сериновой протеазы**, которую, в свою очередь, кодирует белок NS3. Большая часть фрагмента NS2B является гидрофильным участком, который состоит из 40 аминокислотных остатков. Располагающиеся рядом с ним гидрофобные домены помогают связыванию комплекса NS2B-NS3 с мембраной клетки-хозяина. Если гидрофильность этих участков повысится, то вирулентность возбудителя снизится.

NS3 является необходимым белком для разделения вирусного полипротеина на отдельные белки. N-концевой домен этого белка кодирует трипсино-подобную сериновую протеазу, необходимую для высщепления неструктурных белков вируса Западного Нила. С-концевой домен этого белка тоже обладает биологической активностью и кодирует такие ферменты как: геликаза, РНК 5'-трифосфатаза и нуклеотидтрифосфатаза.

Высокая смертность ворон во время эпидемии 1999 года в Америке привлекла внимание исследователей, и они установили, что аминокислота пролин, находящаяся в положении 249 неструктурного белка NS3 является фактором изменения фенотипа вируса с низковирулентного на высоковирулентный [2]. Всего лишь одна замена в этом положении S→P приводила к повышению смертности птиц до 94% при изначальной 31%. Но при этом, обратная замена 249 пролина на треонин снижала смертность со 100% до 12,5% [2].

NS4A находится в ассоциации с белком NS1 и вирусной РНК, которая находится в двухцепочечной репликативной форме. Благодаря этому клетка-организма хозяина снижает выработку интерферона.

NS4B также подавляет выработку ИФН клеткой организма-хозяина, но находится в ассоциации с NS3 и репликативной двухцепочечной РНК. С-конец этого белка находится в эндоплазматическом ретикулуме. Также ген, кодирующий данный белок содержит в себе участок WARF4, который обеспечивает альтернативное прочтение рамки считывания ВЗН I генотипа. Теоретически данный ген может быть использован как инструмент для создания вакцины от ЛЗН.

Белок NS5 содержит N-участок, представленный метилтрансферазным доменом и РНК зависимой РНК-полимеразой, являющейся С-концевым доменом.

ВЗН, как и другие вирусы семейства *Flavivirus* способен вызывать апоптоз в различных клетках организма-хозяина, в том числе и в нейронах. Сигнал, индуцирующий апоптоз располагается С-концевом участке капсидного белка, в связи с этим, мутанты с заменами в данном участке могут обладать сниженной патогенностью.

Роль нетранслируемых фрагментов генома ВЗН

Геном флавивирусов разделен на 5'-нетранслируемую область (НТО), открытую рамку считывания (ОРС) и 3'-НТО. Некодирующая 5'-НТО флавивирусов охватывает около 100 нуклеотидов в длину, в то время как 3'-НТО колеблется от 400 до 800 нуклеотидов в длину, в зависимости от вида вируса. Взаимодействие между 5' и 3'-НТО имеет решающее значение для репликации вирусной РНК. Эти взаимодействия необходимы для рекрутирования и правильного позиционирования РНК-полимеразы NS5 для инициации синтеза минус-нитевой РНК [5].

НТО представляют собой сложные структуры, включающие консервативные последовательности РНК, которые играют множество ролей в различных аспектах жизненного цикла вируса, таких как вирусная трансляция, репликация, передача и патогенез. ОРС кодирует полипротеин, который может быть преобразован в три структурных и семь неструктурных белков для образования и репликации вирусных частиц соответственно. Эта область имеет решающее значение для циклизации генома, синтеза вирусной РНК и трансляции [5].

3'-НТО флавивирусов можно последовательно разделить на три домена: домен стебель-петля (SL), домен гантели (DB) и домен 3'-стебель-петля (sHP-3'-SL). Помимо этих вторичных и третичных структур, геномы флавивирусов также содержат несколько коротких прямых повторов (ПП) в 3'-НТО [6]. Первоначально короткие прямые повторы были идентифицированы как консервативные последовательности (CS3 и CS2) и повторяющиеся консервативные последовательности (RCS3 и RCS2). Было высказано предположение, что ПП представляют собой эволюционные остатки длинных повторяющихся последовательностей, которые могут функционировать во время репликации и передачи вируса [6]. Однако биологические функции этих древних первичных последовательностей в геноме флавивируса остаются в значительной степени неизвестными. Однако отчет группы Kieft показал, что RCS3 может участвовать в продукции субгеномной флавивирусной РНК (sfRNA1). sfRNAs участвуют в вирусной

патогенности, иммунном ускользании и адаптации хозяина [6].

Заключение

Совокупность современных знаний о вирусе Западного Нила свидетельствует о том, что данный возбудитель имеет огромный ареал распространения, включающий в себя практически все континенты. Обращает на себя внимание тот факт, что особо тяжелые случаи, с развитием менингоэнцефалита и летальным исходом регистрировались в регионах, далеких от изначальной локализации ВЗН, в том числе и на территории Российской Федерации. Именно поэтому последние два десятилетия за возбудителем лихорадки Западного Нила интенсивно наблюдают во всех вирусологических лабораториях мира.

Также актуальной проблемой является то, что на данный момент до сих пор не существует полноценной официально зарегистрированной вакцины от ЛЗН. К тому же данный вирус генетически разнообразен и способен быстро мутировать, что представляет особую опасность для здоровья населения по всему миру.

Список литературы

1. Галимзянов Х.М., Василькова В.В., Кантемирова Б.И., Акмаева Л.Р. Арбовирусные комариные инфекции. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2016. № 4. С. 29-37.
2. Fall G., Di Paola N., Faye M., Dia M., Freire C.C. de M., Loucoubar, Sall, A. A. (2017). Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. PLOS Neglected Tropical Diseases, 11(11).
3. Rossi S.L., Ross T.M., Evans J.D. West Nile Virus. Clin Lab Med. 2010; 30: 47–65.
4. Методические указания «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». МУ 1.3.2569–09. М., 2009.
5. Wy Ching Ng, Ruben Soto-Acosta, Shelton S. Bradrick, Mariano A. Garcia-Blanco, Eng Eong Ooi The 5' and 3' Untranslated Regions of the Flaviviral Genome // Viruses. – 06.06.2017. DOI: 10.3390/v9060137. PMID: 28587300.
6. Zhang Q.Y., Li X.F., Niu X., Li N., Wang H.J., Deng C.L., Ye H.Q., Huang X.Y., Chen Q., Xu Y.P., Dong H.L., Li X.D., Zhao H., Shi P.Y., Yuan Z.M., Gong P., Fang X., Qin C.F., Zhang B. Short Direct Repeats in the 3' Untranslated Region Are Involved in Subgenomic Flaviviral RNA Production. J Virol. 2020 Feb 28; 94(6):e01175-19. DOI: 10.1128/JVI.01175-19. PMID: 31896596; PMID: PMC7158718.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕХАНИЗМОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Аликова А.В., Золотарёва Л.Ю., Бакаушина В.С., Захарчук А.Ю.

ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России – ФГБОУ ВО Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки «Биология», Волгоград, e-mail: AlikovaAV1504@yandex.ru

Многие грамотрицательные бактерии являются условно-патогенными организмами, вы-

зывающими серьезные заболевания человека. Резистентность организмов к антибиотикам приводит к снижению эффективности лекарственной терапии при лечении различных инфекций. Описаны основные механизмы устойчивости грамотрицательных бактерий, связанные с модификацией мишени действия антибиотиков, изменениями структуры клеточной оболочки, ферментативной защитой клетки. Понимание механизмов возникновения резистентности у бактерий поможет в разработке новых лекарственных препаратов, способных подавлять патологическое действие данных организмов, и повысит качество лечения заболеваний.

Известно, что многие грамотрицательные бактерии являются условно-патогенными микроорганизмами, вызывающими серьезные заболевания человека. Грамотрицательные бактерии считаются метаболически разнообразными организмами, благодаря чему они легко приспосабливаются к различным условиям среды. Инфекции, возбудителями которых являются данные микроорганизмы, трудно поддаются лечению из-за значительной множественной лекарственной устойчивости. Резистентность к антибиотикам приводит к снижению эффективности лекарственной терапии. Изучение устойчивости грамотрицательных бактерий к лекарственным средствам способствует пониманию механизмов возникновения резистентности к антибиотикам и позволяет разрабатывать новые лекарственные средства, которые будут обладать свойствами, нарушающими данные механизмы устойчивости или обходить их.

Механизмы устойчивости грамотрицательных бактерий

Как известно, резистентность микроорганизмов к антибиотикам может быть достигнута с помощью разнообразных внутренних и приобретенных механизмов. Сохранение детерминант устойчивости в геноме на протяжении сотен поколений возможно благодаря пластичности генетического аппарата и способности бактерий обмениваться генами [1].

Внутренняя резистентность грамотрицательных бактерий контролируется естественными генами, расположенными в бактериальной хромосоме, и вызывается физико-химическими свойствами клеток микроорганизма. Устойчивость к антибиотикам возникает вследствие непроницаемости клеточной оболочки лекарственными средствами благодаря входящим в состав внешней мембраны клетки липополисахаридных и пориновых компонентов. Низкая проницаемость мембраны приводит к недоступности или ограничению мишени действия антибиотика у микроорганизмов, что и вызывает резистентность к действию препаратов [1].

Приобретенная резистентность грамотрицательных бактерий вызывается при возникно-