

# Virus

## Inledning

Virus har en mellanställning mellan levande organismer och dött material. De har ingen egen ämnesomsättning och kan inte dela sig som vanliga celler. Däremot har de ärftlighetsmaterial i form av en nukleinsyra. De är alltid parasiter, och förökas inuti en värdcell med hjälp av värdcellens energi- och syntesmetabolism. Deras replikation och förökning sker emellertid under kontroll av viruset snarare än värdcellen.

Spridningen sker som en extracellulär form (viruspartikel eller virion). Denna består av minst två delar, en nukleinsyra och en proteinkapsel (kapsid) som skyddar denna. Vissa har också ett yttre membran, kallat hölje. I virusets ytterskikt finns alltid receptorer som gör att viruset kan känna igen och infektera rätt värdcell. Virus är i allmänhet mycket specifika. Eftersom ett virus måste kunna ta över och kontrollera sin värdcell, är det viktigt att det finns mekanismer för att kunna känna igen en lämplig värdcell bland alla andra celler.

Det finns virus mot alla typer av organismer, och det antas allmänt att varje art har minst ett virus som går mot den. För de arter där man närmare har undersökt virusfloran har man emellertid alltid hittat flera olika virus. Virus som infekterar djur kallas animalvirus, och de som infekterar bakterier kallas ofta för bakteriofager (=bakterieätare) eller bara fager.

Virionen saknar metabolism och väntar bara på att passivt stöta på rätt värdcell. När detta sker, infekteras värdcellen och förr eller senare tillverkas nya virus. Hur snabbt virusproduktionen sker beror på värdcellens tillväxthastighet, eftersom det är värdcellens metabolism som viruset använder.

## Virus genetiska material

Celler har endast dubbelsträngat (ds) DNA som genetiskt material, men virus kan, beroende på vilken virustyp det är, ha antingen DNA eller RNA, och detta kan vara antingen dubbelsträngat eller enkelsträngat (ss). Hos vissa virus är också nukleinsyran i den extracellulära och intracellulära fasen olika (Fig. M9.1). Dessutom kan virusgenomen kan vara antingen linjära eller cirkulära.

Ett antal exempel på virusgenoms typ och storlek kan ses i tabell 9.1.

## Kapsid

En virus kapsid har en av två grundstrukturer, helikal eller sfärisk. Ett typiskt exempel på ett virus med helikal struktur är tobaksmosaikviruset (fig. 9.2). Sfäriska virus har en nästan sfärisk form, en ikosaeder (fig. 9.4), som har 20 st likformiga trianglar som sidor. Kapsidens proteiner sätts ofta samman genom att de spontant arrangerar sig runt nukleinsyran. Hos ett höljeförsett virus finns alltid en kapsid innanför höljet, men höljet kan göra att virusets form i ett mikroskop ser oregelbundet ut (se t.ex. influensavirus, fig. 9.5a). Vissa virus, fr.a. bakterievirus, har ytterligare strukturer, för att sätta sig fast på värdcellen och föra in nukleinsyran. Ett välundersökt exempel är bakterieviruset T4, som angriper *E. coli* (fig. 9.5b). Detta har en komplicerad struktur med svans och svansfibrer.

## Virusspecifika enzymer

Alla virus har gener som kodar för specifika enzymer och andra proteiner som verkar inuti värdcellen. Några virus har också med sig enzymer i virionen. Detta kan t.ex. vara enzym för att underlätta frisläppandet av nya viruspartiklar från värdcellen, t.ex. neuraminidaser hos animalvirus. De flesta sådana enzym är emellertid inte aktiva förrän virionen träffat på en värdcell. Exempel på sådana enzym är:

- reverst transkriptas ( som används av retrovirus för att omvandla enkelsträngat RNA till dubbelsträngat DNA vid infektionen).
- enzym för att ta sig igenom värdcellens cellvägg, t.ex. lysozym hos bakterievirus

## Att räkna virus

Eftersom virus är så små, är det inte så lätt att räkna dem, men det finns några olika metoder.

- Elektronmikroskop. Ger antalet virioner och en grov bild av hur de ser ut, men säger inte om de är infektiösa och inte heller vilken värdcell de har.
- Plackräkning. När ett lager av värdcellskultur

utsätts för virus, så infekterar ett viruset en cell, förökar sig och många nya virus släpps ut. Dessa infekterar de omkringliggande cellerna, och ännu fler nya virus bildas. Till slut har så många celler dött att man med blotta ögat kan se en uppklärningszon som beror på att de virusinfekterade cellerna dött (fig. 9.6 och 9.7). Detta ger en antalsbestämning av infektiösa virus som är specifika mot den värdcell man använt.

### **Baltimores klassificeringssystem för virus.**

Eftersom virus inte förökar sig som levande organismer, så passar inte heller den vanliga biologiska taxomonin. Det finns flera sätt att dela in virus, och ett av dessa är Baltimore-systemet, som baseras på vilken nukleinsyratyp viruset har, och hur denna replikeras. Tabell 9.2 listar de 7 klasser som finns. Figur 9.11 visar i mer detalj vad som används vid klassificeringen, dvs vilka karakteristika som finns för varje klass. Enkelsträngade nukleinsyror karakteriseras med - och +, där + refererar till ett mRNA. En RNA-sträng som är + kan alltså användas direkt som mRNA. En minussträng är komplementär med en plussträng och fungerar alltså inte som mRNA..

Klasserna I, II och VII är DNA-virus, medan klasserna III—VI är RNA-virus.

- Klass I har dubbelsträngat DNA och replikerar sitt DNA och läser av det till mRNA och proteiner på precis samma sätt som levande celler gör.
- Klass VII går den krångliga omvägen att göra ett ssRNA som används som mRNA för avläsningen till proteiner. Detta ssRNA används sedan också för att göra nya DNA-kopior med s.k. revers transkription.
- Klass II är enkelsträngat DNA (+). Detta kan inte läsas av i ribosomerna eftersom det inte är RNA, och det kan heller inte användas för att göra en mRNA-sträng, eftersom det dels är enkelsträngat, dels har en pluspolaritet, vilket skulle göra att en transkription till RNA skulle ge en minus-RNA-sträng. Detta löses genom att i värdcellen göra DNAt dubbelsträngat. Detta kan då dels läsas av till mRNA, dels replikeras på vanligt sätt, varefter den ena strängen (-) bryts ned.
- Klass III är dsRNA, som replikeras som ds DNA.
- Klass IV har enkelsträngat RNA av pluspola-

ritet, vilket alltså kan fungera som mRNA direkt. För replikationen så görs en enkelsträngad RNA-sträng av minuspolaritet från den första strängen. Denna används därefter för att göra många nya ssRNA av plustyp, som sätts in i de nya virionerna.

- Klass V är enkelsträngat RNA av minuspolaritet. Detta måste först användas som mall för att göra ssRNA (+) som kan användas som mRNA. Detta kan sedan användas som mall för att göra nya ssRNA (-) som sätts in i virionerna.
- Klass VI (retrovirus) har ssRNA (+) i virionen, men vid infektion av en värdcell görs det dsDNA-kopior av detta. Dessa kan sedan dels läsas av för att göra mRNA med värdcellens egen mekanism, dels kan DNA:t sättas in i värdcellens genom. När nya viruspartiklar ska göras läses DNA:t av till ssRNA(+) på vanligt sätt.

### **Lytisk replikationscykel hos bakterievirus**

Det enklaste fallet av virusinfektion är vad man kallar för en lytisk cykel, dvs att en infektion leder till att värdcellen dör och nya virus släpps ut. Detta visas i fig. 9.8. En sådan infektion leder till en plötslig ökning av antalet fria viruspartiklar vid infektionsperiodens slut (fig 9.9).

Infektionen börjar med att viruset fäster vid receptorer på värdcellens yta. Receptorerna är normala värdcellsstrukturer, t.ex. upptagsproteiner. Därefter skickas nukleinsyran in i värdcellen, medan kapseln nästan alltid lämnas på utsidan av cellen hos bakterievirus (se t.ex. bakteriofag T4, fig 9.10). När nukleinsyran kommit in, börjar den att läsas av, detta sker helt eller delvis med hjälp av värdcellens avläsningssystem. Avläsningen av virusgenomet brukar alltid vara reglerat i en bestämd tidsföljd mellan generna. Först bildas proteiner som används för att styra den senare avläsningen av proteiner och ta kontrollen över värdcellen genom att hindra dess egen proteinsyntes. Därefter replikeras virusgenomet. Sedan bildas kapselproteiner och slutligen de enzym som behövs för frisläppandet av de nybildade virusen. Ett specifikt exempel på detta visas i fig. 9.15 där man kan se förloppet under en infektion av bakteriofagen T4. I den inledande fasen tar fagen kontroll över värdcellen genom att bilda både nukleaser för att bryta ner värdcellens kromosom och nya sigmafaktorer för att styra genavläsningen till virusgener. I slutet bildas lysozym

för att bryta ned bakteriecellväggen så att de nya virionerna kan komma ut.

### Lysogen infektion hos bakterievirus

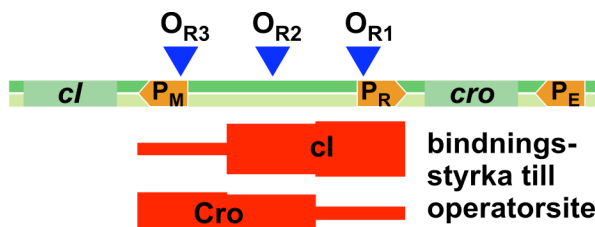
Vid en lysogen infektion inkorporeras virusgenomet i bakteriekromosomen och den lytiska cykeln stoppas genom en repressor som kodas av virusgenomet själv. Den infekterade cellen överlever alltså, men med virusgenomet i sig. En sådan cell kallas lysogen. En lysogen cell är immun mot en senare infektion av samma virus, eftersom represorn kommer att hämma den lytiska cykeln även i det nytillkomna virusgenomet. En lysogen cell kan leva som vanligt och föröka sig i princip hur många generationer som helst. Alla avkommor får då också med sig virusgenomet eftersom det sitter i bakteriekromosomen och replikeras med denna. Omvärldsfaktorer, t.ex. UV-strålning eller mutagena ämnen kan inducera en lytisk cykel igen. En bakteriofag som ger en lysogen infektion kallas temperat. Ett virusgenom som ska kunna inkorporeras i bakteriegenomet måste bestå av dsDNA.

En generell bild av livscykeln hos en temperat fag visas i fig. 9.16. Om det blir ett lytiskt eller ett lysogent infektionsförlopp kan t.ex. bero på värdcellens tillväxthastighet. Styrningen av detta är väl undersökt hos några bakteriofager, t.ex. fag lambda, men är inte så väl känt hos animalvirus.

### Exemplet bakteriofag lambda

Bakteriofagen lambda är en svansförsedd fag (fig. 9.17), som vid infektion injicerar sitt linjära dsDNA in i värdcellen (*E. coli*). Detta DNA har komplementära enkelsträngade ändrar vilka kommer att para ihop efter infektionen, och leda till att virusgenomet blir cirkulärt inne i bakterien.

Lambda kan ge antingen en lytisk eller en ly-



Figur 1. De tre bindningsställena i operatorregion  $O_R$ . Båda regleringsproteinerna *cI* (lambdarepressor) och Cro binder till  $O_R$ , men med olika preferens för de tre ställena. Bilden visar också de promotorer som påverkas. Bilden är omritad efter figur 9.19 i Madigan.

sogen infektion. Regleringen av vilket det blir är väl studerad, och är ett gott exempel på hur ett virus kan reglera avläsningen av sina gener, dels så att olika gener avläses vid olika tider, dels så att det sker ett val om det ska bli en lytisk eller lysogen infektion. Det är ett ganska komplext system, och flera regleringsmekanismer är inblandade.

Lambdagenomet visas i fig. 9.18, och i nedanstående beskrivning hänvisas till beteckningar i denna figur vad avser promotorer ( $P$ ), operatorregioner ( $O$ ) och gener (kursiv beteckning). En beskrivning av vad som händer när genomet läses av kan se ut så här:

1. I början sker avläsning bara från promotorerna  $P_R$  (åt höger) och  $P_L$  (åt vänster). Avläsningen stoppar vid de blå linjerna (som innebär terminatorsekvenser). Detta ger alltså bara en produktion av Cro och N. Dessa är båda regleringsproteiner, Cro gynnar en lytisk cykel (mer om detta senare), medan N fungerar som en antiterminator, dvs gör att avläsningen kan fortsätta förbi de första (blå) terminatorsekvenserna.
2. När tillräckligt med N-protein har bildats, kan avläsningen alltså fortsätta förbi de första terminatorsekvenserna, och nu kommer avläsningen att motsvara  $L1$  (från  $P_L$ ) och  $R1$  (från  $P_L$ ) i figuren. Det innebär att en rad nya proteiner nu bildas. Transkriptet  $L1$  innehåller, förutom N, också *int* (som sköter om integreringen av virusgenomet i bakteriekromosomen) och *cIII*. Transkriptet  $R1$  innehåller, förutom Cro, också *cII* och Q. N:s antiterminatorfunktion är mindre effektiv vid terminatorsekvensen innan Q, och endast en mindre mängd Q tillverkas.
3. Nu börjar en tävling mellan de olika regleringsproteinerna. Cro kan binda till  $O_L$  och  $O_R$ , med olika resultat. Den hämmar avläsningen från  $P_L$ , men tillåter avläsning från  $P_R$ , utom om den finns i mycket hög koncentration (Figur 1 och fig. 9.19). Det leder till att produktionen av *cIII* och *int* stoppas. Den hämmar också avläsningen från  $P_M$  som ger *cI* som genprodukt.
4. *cII* är också ett regleringsprotein som kan binda till dessa två operatorregioner, och hämmar avläsningen från både  $P_R$  och  $P_L$ . Däremot aktiverar den avläsningen (åt vänster) från  $P_E$ , vilket ger dels proteinet *cI*, vilket även kallas lambdarepressor, dels ger ett RNA som är komp-

lementärt med mRNA för Cro, vilket gör att bildningen av Cro stoppas. Om lambda-repressorn bildas i tillräcklig mängd, så hämmar den också avläsningen av *Cro*-genen (se fig. 1) och alla övriga gener som läses av från promotorn  $P_R$ , innefattande de proteiner som hör till en lytisk infektion och syntes av nya virus. Lambda-repressorn kommer att leda till att virusgenomet integreras i bakteriegenomet, och sedan stängs avläsningen av alla virusgener av, förutom bildningen av lambda-repressorn, som ju måste finnas för att bakterien ska kunna förbli lysogen.

5. Vad avgör då om infektionen blir lytisk eller lysogen? Regleringsproteinet cII är känsligt för nedbrytning av de proteaser som finns i bakterien. Det stabiliseras av proteinet cIII, men är inte helt skyddat mot nedbrytning. Om cellen har gott om näring, så är proteasaktivitetshög, cII bryts ned effektivt, bildningen av lambda-repressor hindras, och Cro ökar i koncentration, hämmar bildningen av lambda-repressor (cI, se fig 1.) och leder till en lytisk cykel. Om tillväxthastigheten är låg, når cII istället en tillräckligt hög halt i cellen för att kunna inducera bildningen av tillräcklig mängd av lambda-repressorn och det blir en lysogen infektion.

### Animalvirus

Många animalvirus har hölje, förutom genom och kapsel, och höljet är en viktig karaktär för att klassificera viruset. Till skillnad från bakterievirus så går hela virionen in i värdcellen. Virusets genom måste dessutom ofta transporteras till kärnan för att replikeras, eftersom värdcellens maskineri för nukleinsyrareplikation finns där.

Flera exempel på animalvirus ges i fig. 9.23. Bland DNA-virusen finns poxvirus som ger smittkoppor, och Herpesvirus som ger munsår, genital herpes och för vissa typer, cancer. RNA-virusen innefattar bl.a. Rhabdovirus (rabies), Orthomyxovirus (influenza) och Coronavirus (SARS, hepatit A, mul- och klövsjuka).

Precis som inom bakterievirusen, så finns det inom animalvirus flera möjliga infektionsförlopp. En generell bild av dessa visas i fig. 9.24. Pilen rakt till höger visar ett lytiskt förlopp, infektionen leder till en massproduktion av nya virus, varefter värdcellen dör och virusen släpps ut. Ett typiskt exempel på detta är influensa. Men det finns flera andra varianter, beroende på virustyp. I

några fall kan värdcellen transformeras (förändras varaktigt) till en cancercell. I andra fall kan viruset finnas som en persistent infektion i värdcellen. Detta innebär att viruset förökas långsamt varvid det släpps ut viruspartiklar i långsam takt utan att värdcellen dör. Detta är möjligt, eftersom animalceller inte har en cellvägg, utan nya viruspartiklar kan släppas fria genom avknoppning genom cellmembranet. Det som kallas en latent infektion i figuren motsvarar en lysogen infektion hos en bakterie — viruset ligger kvar i värdcellen under lång tid utan att producera nya virus, men en lytisk cykel kan triggas senare.

### Retrovirus

Retrovirus har ssRNA i virionen men dsDNA i värdcellen. Eftersom det innebär en avläsning av RNA till DNA, så måste virionen ha med sig enzymer för detta, eftersom värdcellen inte har ett sådant system. Virionen innehåller därför ett enzym, revertstranskriptas, som gör en dsDNA-kopia från RNA-tråden. Virionen innehåller dessutom proteas och ett DNA-endonukleas (integreras). Efter att genomet gjorts om till dsDNA förflyttas det till kärnan och inkorporeras i värdcellens genom. Härifrån kan det läsas av och bilda virus-mRNA som ger en produktion av nya viruspartiklar (se fig 9.26).

### Transduktion

Detta innebär att genetiskt material förs över mellan olika celler m.h.a. virus, genom att en del av värdcellsgenomet förljer med i kapsiden. Detta har studerats mest hos bakterier. I och med att värdcells-DNA ska få plats i kapsiden, så får i allmänhet inte hela virusgenomet plats också. Detta gör att när dessa viruspartiklar injicerar sitt DNA i nästa värdcell, lyckas de oftast inte följa en infektion, eftersom viktiga gener saknas. Transduktion kan vara av två typer, generell eller specialiserad.

Vid generell transduktion (fig. 10.15) finns ingen selektion av vilka gener som överförs. Om infektionen medför att värdcellens DNA klipps upp av nukleaser, så kan en slumpvis vald bit DNA som är lagom stor packas in i en kapsid. Den färdiga virionen innehåller i det fallet oftast enbart värdcells-DNA. Detta sker med låg frekvens—de flesta virioner blir normala virus.

En specialiserad transduktion (fig. 10.16) kan

ske när en lysogen bakterie induceras till en lytisk cykel. När virusgenomet klipps ut ur bakteriens genom kan det hända att enzymet klipper på fel ställe, så att en bit värdcells-DNA kommer med. De värdcellsgener som då kommer med i viruset är inte alls slumpvis utvalda, utan är de som funnits närmast den plats på kromosomen där virusgenomet suttit inorporerat. Detta kan ge en hög effektivitet vid överföringen.

### **Fagkonversion**

Om en bakterie är lysogen så kan man i allmänhet inte se detta genom att undersöka bakteriens egenskaper, eftersom alla virusgener (utom repressorn) normalt är avstängda. Det finns dock några fall där någon gen hos fagen läses av och bildar en genprodukt som förändrar den lysogena bakterien. Några kända exempel är:

- *Corynebacterium diphtheriae*, som bara kan bilda difteritoxin om den lysogeniserats med fag  $\beta$ .
- *Salmonella anatum* som får en förändring i sina ytpolysackarider.

### **Viroider**

Viroider är små, nakna (dvs utan kapsel) RNA-molekyler som förekommer som patogener hos växter (inga kända hos djur). De har en hög grad av intern komplementaritet, och får därmed en hög grad av intern basparning, vilket ger en hög stabilitet (fig 9.27). De saknar identifierbara gener, och är helt beroende av värdcellen för sin replikation. Varför viroider orsakar symptom hos växter är oklart, men det kan bero på att de interfererar i cellens regleringssystem.

### **Prioner**

Prioner innehåller inte någon nukleinsyra, utan är istället infektiösa proteiner. Hur kan då ett protein leda till en infektion när det inte innehåller en genetisk information för något som kan förökas? Den allmänna förklaringen för hur detta fungerar är att ett prion är en förändrad form av ett protein ( $\text{PrP}^c$ ) som bildas naturligt i värdorganismen. Prionformen ( $\text{PrP}^{\text{sc}}$ ) av proteinet har ändrat konformation så att det blivit motståndskraftigt mot nedbrytning av proteaser, och fått lägre löslighet så att det tenderar att aggregera. Det har ytterligare en egenskap — det katalyserar en omvand-

ling av den normala formen av proteinet till prionformen. Om man får in prionformen så kommer en accelererande omvandling av normala  $\text{PrP}^c$  till  $\text{PrP}^{\text{sc}}$  att ske. Detta leder till att man får aggregeringar av prionproteiner i nervsystemet, vilket så småningom leder till döden. Prionformen är dessutom mycket värmeterolerant, och bryts inte ned förrän vid c:a 135 °C, vilket gör att det t.ex. inte förstörs vid autoklavering.

Fred Sörensson 2008