

**Министерство Общего и Профессионального Образования  
Российской Федерации  
Иркутский Государственный Университет  
Биолого-почвенный факультет**

**кафедра ботаники и генетики  
зав. кафедрой \_\_\_\_\_  
Чемерилова В.И.**

**Курсовая работа  
Изучение гена SLAM CD150**

**Выполнила:  
студентка гр. 4312  
Лопатовская К.В.  
Научный руководитель:  
д.б.н.  
Беликов С.И.**

**Иркутск 2005**

## СОДЕРЖАНИЕ

стр.

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
Глава 1. Род Morbillivirus.....	
1.1. Таксономия рода Morbillivirus.....	
1.2. Структура и состав вириона.....	
1.3. Идентификация морбилливируса байкальской нерпы.....	
Глава 2. Вирусные рецепторы.....	
2.1. Подсемейство CD2 суперсемейства иммуноглобулинов.....	
2.2. Роль тирозин киназы LYN в сигнальных функциях CD150.....	
2.3.Рецептор CD150морбилливирусов.....	
2.4. Двойная функция подсемейства рецептора CD150.....	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

CDV	- <i>canine distemper virus</i> – вирус чумы плотоядных
MV	- <i>measle virus</i> – вирус кори
RPV	- <i>rinderpest virus</i> – вирус чумы крупных жвачных
PPRV	- <i>peste des petits ruminants</i> – вирус чумы мелких жвачных
PDV	- <i>phocine distemper virus</i> – вирус чумы тюленей
PDV1	- вирус чумы обыкновенных тюленей ( <i>Phoca vitulina</i> )
PDV2	- вирус чумы байкальских тюленей ( <i>Phoca sibirica</i> )
PMV	- <i>porpoise morbillivirus</i> - морбилливирус морских свиной
DMV	- <i>dolphin morbillivirus</i> - морбилливирус дельфинов
SV5	- <i>simian virus 5</i> - парамиксовирус обезьян 5
MCV	- <i>Molluscum contagiosum</i> вирус
N-ген	- ген белка нуклеокапсида
P-ген	- ген фосфопротеина
M-ген	- ген матриксного белка
H-ген	- ген гемагглютинирина
F-ген	- ген белка слияния
L-ген	- ген большого белка РНК-зависимой РНК-полимеразы
АТФ	- аденозин 5'-трифосфат
DMSO	- диметилсульфоксид
dNTP	- дезоксинуклеозид 5'-трифосфат
Taq-pol	- ДНК-полимераза <i>Thermus aquaticus</i>
Tris	- трис(гидроксиметил)аминометан
X-gal	- 5-бромо-4-хлоро-3-индолил- $\beta$ -D-галактозид
вРНК	- вирионная РНК
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
<b>ДНК-аза</b>	- <b>дезоксирибонуклеаза</b>
дцДНК	- двухцепочечная ДНК

ИФА	- иммуноферментный анализ (ELISA)
МКАТ	- моноклональные антитела
НК	- нуклеокапсид
н.о.	- нуклеотидное основание
нп	- нуклеотидная последовательность
кДНК	- комплементарная ДНК
мРНК	- матричная РНК
ОП <sub>660</sub>	- оптическая плотность при длине волны 660нм
оцДНК	- одноцепочечная ДНК
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКаза	- рибонуклеаза
РНП	- рибонуклеопротеид
SLAM	- выравненные нуклеотидные и белковые последовательности (signaling lymphocyte-activation molecule)
CD150	- клеточный поверхностный рецептор, который принадлежит к подсемейству CD2 суперсемейства иммуноглобулинов
SH2D1A	-адапторный белок
ITSM	-иммунорецептор тирозин-зависимых мотивов выключения

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что вирус чумы плотоядных может не только поражать представителей отряда ластоногих, в частности, байкальскую нерпу (*Phoca sibirica*), но и являться причиной массовой гибели этих животных в других регионах. Вирусы чумы используют CD150 рецептор подсемейства CD2 суперсемейства иммуноглобулинов, чтобы создать благоприятную окружающую среду для своего существования и чтобы уклониться от обнаружения и разрушения. Так, рецептор CD150 имеет свою специфику взаимодействия с клеткой хозяина, что недостаточно изучено. Поэтому мы поставили *целью* наших исследований собрать и систематизировать теоретический материал по проблеме изучения гена SLAM CD150 на основе иностранных литературных источников.

Для выполнения поставленной цели были решены следующие *задачи*:

1. Изучить род Morbillivirus, его молекулярную биологию и идентификацию.
2. Изучить вирусные рецепторы, а именно рецептор CD150 и механизм его взаимодействия с клетками хозяина.

*Актуальность* проблемы определяется тем, что внедрение вируса PDV2, в восприимчивые к нему клетки животных, специфичного только к байкальской нерпе, приводит к их массовой гибели. Особый интерес представляет механизм возникновения морбилливирусов, их мутагенность и воздействие на живой организм.

Изучение специфики воздействия вируса даст возможность прогнозировать его дальнейшую судьбу. Следует отметить, что исследование гена (SLAM) CD150 может привести к новым стратегиям для дальнейшего изучения этого вируса, получения вакцины и проведения противовирусной терапии.

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### Глава 1. Род *Morbillivirus*

#### 1.1. Таксономия рода *Morbillivirus*

Род *Morbillivirus* представляет собой небольшую, антигенно связанную группу внутри подсемейства *Paramyxovirinae* (Franki *et al.*, 1991). Подсемейство *Paramyxovirinae* выделено недавно и в него, кроме рода *Morbillivirus*, входят еще две группы вирусов: род *Rubularvirus* и род *Paramyxovirus*, ранее составлявшие один род *Paramyxovirus*. К рабулавирусам относятся вирусы парагриппа человека типов 2, 4, вирус болезни Ньюкастла, вирус свинки и др., к парамиксовирусам – вирусы парагриппа человека типов 1, 3, бычий вирус парагриппа, Сендай вирус и др. Подсемейство *Paramyxovirinae* вместе с другим подсемейством *Pneumovirinae* входят в свою очередь в семейство *Paramyxoviridae*. По более ранней классификации в состав семейства *Paramyxoviridae* входил род *Pneumovirus*. Таким образом, семейство Парамиксовирусов включало 3 рода вирусов: *Paramyxovirus*, *Pneumovirus* и *Morbillivirus* (Сиссонс и др., 1989).

До недавнего времени (вплоть до 1988 г.) было известно всего 4 вируса, принадлежащих к роду *Morbillivirus*: вирус кори MV, инфицирующий человека и других приматов, вирус чумы крупного рогатого скота RPV (вирус крупных парнокопытных), вирус чумы мелких жвачных PPRV, вызывающий заболевание у овец, коз, и вирус чумы плотоядных CDV (классический вирус “чумки” собак), поражающий большинство семейств отряда хищных (*Carnivora*). Наиболее древними из этих вирусов являются вирус кори и вирус крупного рогатого скота, известные ещё со 2-4 века н.э. (McNeill, 1976, Wilkinson, 1984). Вирус чумы плотоядных - более молодой, возраст его составляет примерно 200 лет (Jenner, 1809). Сравнительно недавно (в 1942 г.) был впервые описан и включен в этот род вирус чумы мелких жвачных (Gargadennec and Lalanne, 1942).

За последнее десятилетие (начиная с 1988 г.) список морбилливирусов расширился, и в состав рода *Morbillivirus* вошло ещё несколько вирусов: вирус европейских тюленей PDV (от phocid distemper virus), вирус дельфинов DMV (от dolphin morbillivirus) и вирус морских свинок PMV (от porpoise morbillivirus). Вместе с тем, расширился и круг животных-хозяев для уже известных вирусов. Например, вирус чумы плотоядных ранее инфицировал многие виды животных из отряда хищных, но до настоящего времени в число его жертв не входили представители семейства кошачьих (*Felidae*). Кроме того, теперь, как стало известно, CDV способен инфицировать не только наземных, но и водных млекопитающих, в частности байкальских тюленей (*Phoca sibirica*) (Grachev *et al.*, 1989).

Все вирусы, принадлежащие к роду *Morbillivirus*, вызывают у перечисленных животных острое контагиозное системное заболевание, часто с летальным исходом. Кроме острой формы заболевания два члена этой группы – вирусы кори и чумы плотоядных – способны вызывать хроническое неврологическое заболевание у их естественных хозяев (Vandeveldt and Zurbriggen, 1995). Механизм, с помощью которого устанавливается и поддерживается длительная персистентная инфекция, пока не ясен на молекулярном уровне, но активно исследуется. Кроме своих хозяев морбилливирусы могут инфицировать и животных – хозяев других морбилливирусов, правда при этом у этих животных чаще всего возникает довольно легкая форма болезни. Так, например, вирус крупного рогатого скота обычно поражает крупных жвачных, но может и вызвать субклиническую инфекцию у мелких жвачных. Следует также отметить, что, как и в случае других вирусов, несмотря на то, что каждый морбилливирус антигенно стабилен, различают отдельные штаммы одного и того же вируса. Таким образом, клиническая и патоморфологическая картина любой морбилливирусной инфекции может отличаться в зависимости от различия в вирулентности разных штаммов и различной чувствительности восприимчивых животных (Barrett *et al.*, 1991).

Классификация вирусов постоянно меняется, что связано как с идентификацией новых вирусов, так и с более углубленным изучением уже известных вирусов: исследованием не только их морфологических, физико-химических, биологических свойств, но и анализом их **генетического**

клеточно-связанный вирус от телят с катаральной лихорадкой и “вирус 107” во время случая спорадического бычьего менингоэнцефалита (Martin, 1986). За последнее десятилетие выделено несколько новых изолятов морбилливирусов от морских и наземных млекопитающих. Большинство из них являются новыми штаммами CDV (Appel *et al.*, 1991; Appel *et al.*, 1994; Morell, 1994; Harder *et al.*, 1995; Haas *et al.*, 1996; Roelke *et al.*, 1996). Но морбилливирусы обыкновенных тюленей (*Phoca vitulina*), дельфинов и морских свиней являются, по-видимому, самостоятельными представителями рода Morbillivirus (Barrett *et al.*, 1993; Visser *et al.*, 1993a; Visser *et al.*, 1993b; Osterhaus *et al.*, 1995).

## 1.2. Структура и состав вириона

Вирионы парамиксовирусов и морбилливирусов в частности имеют преимущественно сферическую форму с диаметром 150-200 нм леокапсида и вирусной оболочки. Липопротеидная оболочка толщиной 15-20 нм образует характерные поверхностные выступы длиной до 8 нм (Филдс и др., 1989). Внутренний компонент вириона - нуклеокапсид (НК) - содержит рибонуклеиновую кислоту и белки в соотношении 1:20 (Букринская, Зайдес, 1978), имеет жёстко упорядоченную структуру со спиральным типом симметрии и шагом между витками 5-6 нм.

Нуклеокапсид морбилливирусов обладает спиральной симметрией, закручен в спираль, напоминающую по форме винтовую лестницу. Длина НК в среднем составляет до 1 мкм, диаметр - 12-17 нм, количество витков - около 204 (Juneau, 1991), плавучая плотность - около 1,30-1,31 г/см<sup>3</sup> (Appel, 1987).

В состав вирионов морбилливирусов входят шесть структурных белков: нуклеокапсидный N (60Kd), фосфобелок P (66-70Kd), матриксный M (34-37Kd), белок слияния F (55-60Kd), гемагглютинин H (78-80Kd) и большой белок L (120-200Kd) РНК-зависимой РНК-полимеразы. Кроме того, в

вирионах был обнаружен актин, являющийся, по-видимому, продуктом жизнедеятельности хозяйской клетки (Orvell, 1980; Rima, 1983; Norrby, Ohman, 1990; Barrett *et al.*, 1991).

Основным белковым компонентом нуклеокапсида является фосфорилированный нуклеопротеин N (Robbins, Bussel, 1980; Bohn *et al.*, 1990). Субъединицы капсида, представляющие собой мономеры N-белка, покрывают спираль РНК под углом  $60^{\circ}$ , подобно рыбьей чешуе (Finch, 1970), что придаёт НК большую гибкость. Это качество обеспечивает сохранение целостности вытянутой спирали НК, находящейся внутри вирусной оболочки. Белок N является наиболее обильным структурным белком. Он выполняет некоторые регуляторные функции в вирусной транскрипции и репликации. Благодаря его способности претерпевать конформационные изменения белок N облегчает растягивание спирали в процессе считывания матрицы РНК-полимеразой (Stettler, Zurbriggen, 1995). Этот белок также играет важную роль в развитии персистентной инфекции у CDV (Stettler, Zurbriggen, 1995). Анализ первичной структуры белка N различных морбилливирусов показал, что он содержит вариабельную N-концевую область, гипервариабельный С-конец и крайне консервативный промежуточный участок (Barrett *et al.*, 1991; Kamata *et al.*, 1991; Vlixenkrone-Moller *et al.*, 1992;). По всей видимости эта консервативная область крайне важна для жизнедеятельности самого вируса и любые изменения в ней приводят его к гибели. N-конец выполняет важную роль в N-N и N-РНК взаимодействиях (Buchhold *et al.*, 1993), а гипервариабельный С-конец взаимодействует с М-белком, формируя нуклеокапсидную оболочку (Peeples, 1991).

Другие компоненты нуклеокапсида – Р-белки (от polymerase-associated) и L-белки (от large) - представлены в небольшом количестве и распределены менее равномерно по длине спирали (Lamb *et al.*, 1976; Cattaneo *et al.*, 1987; Oglesbee *et al.*, 1989). Они являются непосредственными частями вирусного транскрипционного комплекса (Deshpande, Portner, 1985; Pringles, 1987;

Norrby, Oхman, 1990). L-белок – самый большой из белков - имеет достаточные размеры, чтобы выполнять функцию РНК-полимеразы и, возможно, содержит активный центр этого фермента. Нельзя исключить также наличия в нем активных центров копирования и метилирования (Сиссонс и др., 1989). Белок Р фосфорилирован и наряду с L-белком принимает непосредственное участие в вирусном транскрипционном комплексе (Deshpande, Portner, 1985). Белки L и Р находятся в составе нуклеокапсида вместе с другим структурным белком - нуклеокапсидным белком N (от nucleoprotein), и формируют рибонуклеопротеиновый комплекс, находящийся в цитоплазме инфицированных клеток или внутри оболочки вирионов.

Негликозилированный матриксный белок М взаимодействует и с цитоплазматическими доменами оболочечных гликопротеинов, и с нуклеокапсидами, сформировавшимися внутри хозяйской клетки в процессе геномной репликации. Матриксный белок М, по-видимому, играет существенную роль в процессах вирусного морфогенеза и почкования, так как дефектный М белок связан с персистенцией вируса кори в клетках мозга при подостром склерозирующем панэнцефалите (Cattaneo *et al.*, 1986) .

В состав вирусной оболочки входят два гликопротеина: F (белок слияния) и Н (гемагглютинин), инкрустирующие липидную мембрану. Белок F отвечает за слияние клеток и гемолиз, а Н - за гемадсорбцию, гемагглютинацию и нейтрализацию. При этом их наружные домены образуют шипы на поверхности оболочки (Н - конические, состоящие из двух одинаковых копий белка, а F - гантелеобразные с концами разной величины, образованные гликозилированной и негликозилированной копиями белка, соединенными дисульфидным мостиком) и являются мишенью для иммунной защиты хозяина (Norrby *et al.*, 1986, Norrby, Oхman, 1990), а внутренние взаимодействуют с матриксным белком М. Состав липидов вирусной оболочки в большей степени зависит от среды на которой

культивировался вирус (Феннер и др., 1977). Возможна также селекция липидов клеточных мембран в процессе почкования вирусов, которая, по видимому, регулируется вирусным геномом и осуществляется при участии вирусных белков (Букринская, Зайдес, 1978) .

Поскольку генетическая информация парамиксовирусов закодирована в негативном РНК-геноме в форме, комплементарной таковой для вирусной информационной РНК (мРНК), геном должен транскрибироваться РНК-полимеразой с образованием позитивной мРНК. Следовательно, вирусные гены должны кодировать особые белковые молекулы, способные транскрибировать негативные геномные РНК-матрицы.

Анализ нуклеотидного состава вирусов MV, CDV и RPV позволил установить последовательность генов в геноме: 3' N-P-M-F-H-L 5' (Barrett *et al.*, 1986). Причем до начала гена N и в конце вирусного генома лежат небольшие лидерные участки (рис.1). Предполагается, что лидерная РНК включает единственный промотор на 3'-конце генома, необходимый для вирусной репликации и транскрипции. Межгенная область весьма консервативна для всех морбилливирусов и включает последовательность тринуклеотидов GAA, которая не транскрибируется в процессе синтеза мРНК. Ей предшествует последовательность, богатая уридином (AAUA(U)<sub>6</sub>), которая, вероятно, действует как сигнал полиаденилирования 3'-конца мРНК. Эта богатая уридином область отсутствует на конце лидерного участка вирусной РНК и, таким образом любая лидерная РНК, транскрибированная в инфицируемой клетке не может быть полиаденилированной. Каждый ген начинается с последовательности UCCU, которая может отвечать за стоп-стартовый механизм вирусной транскрипции. В целом длина генома для разных морбилливирусов варьирует и примерно составляет 15,5Кб.

AAUA(U)<sub>6</sub>GAAUCCU

ACGUGAAUCCU

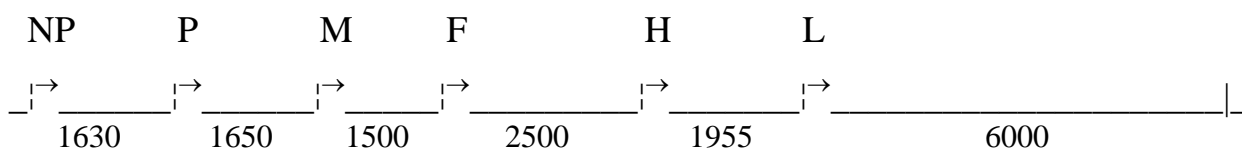


Рис. 1. Структура генома морбилливирусов. Отмечены положения лидерной последовательности, а также регуляторные элементы транскрипции на границах генов: концы (включая сигнал полиаденилирования), межгенные области и стартовые последовательности. Кроме расположения генов в геноме указан их приблизительный размер (в нуклеотидах).

### 1.3. Идентификация морбилливируса байкальской нерпы

Осенью 1987 г. на Байкале была зарегистрирована массовая гибель байкальской нерпы (*Phoca sibirica*). Ретроспективный анализ показал, что первые больные и погибшие животные стали появляться в сентябре. Во время штормов большое число животных было выброшено западными ветрами на восточное побережье Байкала, особенно в районе дельты р. Селенги, Чивыркуйского и Баргузинского заливов, где они концентрируются в октябре – ноябре (в самом начале ледостава), когда льдом покрываются заливы и мелководья.

Часть оказавшихся на берегу животных в момент их обнаружения местными жителями и членами экспедиции была мертва, многие из найденных тюленей оставались живыми. Больные животные, в отличие от здоровых, обычно не подпускающих человека близко, были малоподвижны и не уходили в воду. По данным экспертов заболевание нерпы характеризовалось следующей клинической симптоматикой: парез конечностей (преимущественно задних), общая дрожь, конъюнктивит (чаще гнойный), ринит (серозный, гемморагический, гнойный), диаррея. Среди погибших животных преобладали молодые особи.

Официальное расследование показало, что с сентября по ноябрь на Байкале не отмечалось разовых поступлений больших количеств токсических веществ в виде залповых выбросов на промышленных объектах или по

причине аварий на флоте. В органах погибших нерп методами химического анализа не обнаружено токсических концентраций пестицидов. Многие животные, как показали вскрытия, были инвазированы разнообразными гельминтами, но уровень инвазии достоверно не превышал нормы. Сообщения о якобы наблюдавшихся одновременно случаях массовой гибели рыбы не подтвердились. Не было отмечено и других необычных явлений, например массового цветения водорослей.

Наиболее точная информация о размере бедствия была дана В.Д. Пастуховым, известным исследователем байкальской нерпы: в осенне-зимний сезон 1987/1988 г. погибло до 6,5 тысяч животных из общего числа 70 тысяч.

По ряду признаков (быстрое распространение болезни, клинические симптомы) можно было предполагать, что популяция байкальской нерпы была поражена инфекционной болезнью. В декабре 1987 г. во время экспедиции на Ушканий остров В.С. Колесник, сотрудник Иркутского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, высказал предположение, что причиной болезни стал вирус чумы плотоядных (“чумка” собак). Опрос метеорологов показал, что из пяти живших там собак, которые употребляли в пищу мясо павших нерп, три погибли с симптомами, характерными, по мнению В.С. Колесника, для вирус чумы плотоядных. До этого времени о подобном заболевании ластоногих сообщений не поступало, так же как не были отмечены и случаи массовой гибели байкальского эндемика.

Вместе с тем клинические признаки и патологические изменения органов тканей животных не всегда являются достоверными критериями диагностики вирусных болезней, так как они могут быть следствием других этиологических факторов; однозначная оценка возможна лишь при выявлении вирусных антигенов в тканях или антител в крови у больных животных. Сотрудниками Лимнологического института г. Иркутска совместно с другими учреждениями были выполнены исследования,

позволившие подтвердить предположение В.С. Колесника и однозначно установить, что болезнь байкальских тюленей вызвана морбилливирусом, очень близким к вирусу чумы плотоядных (Grachev *et al.*, 1989). Доводы в пользу гипотезы В.С. Колесника прежде всего были получены титрованием сывороток крови, взятых от погибших, больных и клинически здоровых животных весной 1988 г., с помощью корового эритроцитарного диагностикума. Сыворотки крови больных нерп давали слабоположительный ответ (в титрах от 1:10 до 1:40) с диагностикумом на антитела к вирусу кори. Эти же сыворотки нейтрализовали вакцинный штамм вируса чумы плотоядных ЭРМ. Антитела к вирусу чумы плотоядных обнаруживались также при радиоиммунометрии и иммуноферментном анализе у 60–80% животных.

Однако наиболее убедительные доказательства были получены с помощью гибридизации олигонуклеотидов (зондов) с вирусной РНК. На основе опубликованных комплементарных последовательностей геномов вируса чумы плотоядных и вируса кори (Rozenblatt *et al.*, 1985; Barrett *et al.*, 1985) были выбраны последовательности, как наиболее совпадающие, так и наиболее различающиеся у этих вирусов, и синтезированы олигонуклеотиды, комплементарные как вирионной так и матричной РНК для поиска вирусспецифичных РНК в тканях павших и больных животных (Мамаев и др., 1992). В качестве зондируемых последовательностей были взяты участки следующих генов: белка фосфопротеина Р и белка нуклеокапсида N. С помощью зондирования РНК, выделенной из тканей пяти погибших нерп и одной собаки, обнаружена не только геномная РНК вируса чумы плотоядных, но и комплементарная ей информационная РНК, что свидетельствовало об активном функционировании вируса. Кроме того, результаты зондирования показали наличие не только консервативных “морбилливирусных” последовательностей, но и специфичных последовательностей собственно вируса чумы плотоядных. Из 83 образцов тканей животных, изъятых из популяции во время осенней охоты 1988 г.,

положительная реакция в олигонуклеотидном зондировании с использованием большого набора зондов имела место у 53% животных, сильно положительная – у 8% животных. Кроме того, исследование РНК из печени и селезенки животных, полученных во время весеннего промысла 1988 г., указывало на то, что около 70% животных на Байкале могут быть носителями данного вируса (Мамаев и др., 1992).

Одновременно были проведены клинические, анатомические, гистологические, серологические исследования, не оставившие сомнения в том, что байкальская нерпа имела контакт с вирусом, близким к вирусу чумы плотоядных, и что вирус в организме нерп может размножаться.

Летом 1988 г. были обработаны данные анализа крови и тканей 300 нерп, добытых при весеннем промысловом отстреле. Оказалось, что вирусная РНК и антитела к вирусу чумы плотоядных присутствовали у 70 – 90% внешне здоровых животных (Grachev *et al.*, 1989). Еще один важный результат заключался в том, что в клетках многих тканей больных нерп методами электронной и иммуноэлектронной микроскопии, главным образом путем “иммуно-золотого” окрашивания с применением противокоревых моноклональных антител, был обнаружен в массовых количествах морбилливирусный антиген, что свидетельствовало о “системном” вирусном поражении, характерном для вируса чумы плотоядных (Likhoshway *et al.*, 1989; Belykh *et al.*, 1997).

В ходе исследований заболевания байкальской нерпы двумя группами ученых - в России и в Голландии – было получено два изолята: первый (МБН – морбилливирус байкальской нерпы) от нерпы, погибшей в декабре 1987 г. в период максимальной заболеваемости животных (Титенко и др., 1991а), а второй (PDV-2 или SEAL88) – в ноябре 1988 г. от больной нерпы с выраженными клиническими симптомами, характерными для вируса чумы плотоядных (Osterhaus *et al.*, 1989).

Поскольку распространение заболевания трудно объяснить только непосредственными контактами животных в связи с их низкой плотностью и,

практически, отсутствием мест массового скопления, возник закономерный вопрос о естественных резервуарах, в которых вирус мог бы переживать и накапливаться достаточно продолжительное время. Для решения этой проблемы были протестированы на присутствие морбилливируса представители бентосных беспозвоночных животных оз. Байкал, как живые, так и собранные в разные годы и хранившиеся под спиртом в коллекциях Лимнологического института. Анализ проводили методом RT-PCR с использованием в качестве матрицы суммарной РНК, выделенной из исследуемых животных и системы универсальных морбилливирусных праймеров. Положительные результаты были получены для представителей брюхоногих моллюсков (семейства *Lymnaeidae* и *Baicaliidae*) и планарий (*Baicalobia* sp.). Были определены нуклеотидные последовательности PCR-фрагментов длиной 380 п.н. гена фосфопротеина морбилливируса от двух экземпляров байкалиид. Полученные последовательности совпали со структурой одного из вариантов морбилливируса байкальской нерпы, определенной ранее.

В мировой литературе есть данные о присутствии вирусов в моллюсках. Но необходимо отметить, что эти исследования касались только представителей класса *Bivalvia* (двустворчатых), употребляемых в пищу человеком. Разными авторами в разное время показано, что эти моллюски могут содержать энтеровирусы (*Picornaviridae*), аденовирусы (*Adenoviridae*) и вирус герпеса (*Herpesviridae*). Никаких данных о присутствии миксовирусов в нетеплокровных животных в доступной литературе нет. Исходя из этих данных необходимо проводить дальнейшие детальные исследования возможных путей переноса вируса внутри экосистемы оз. Байкал по пищевым цепям (Деникина Н.Н. и др., 2000).

## Глава 2. Вирусные рецепторы

### 2.1. Подсемейство CD2 суперсемейства иммуноглобулинов

**CD2 подсемейство рецепторов** - часть иммуноглобулина (Ig) суперсемейства, которое в настоящее время включает 11 клеток поверхности молекул (рис.2а): CD58 (LFA-3), CD2 (E рецептор эритроцита овец, LFA-2, Сезам), BLAME (активация В лимфоцитов выраженная специальным макрофагом, ВСМ-подобный мембранный белок), SF2001 (CD2F-10), NTB-A (SF2000, Ly108), CD84 (Ly9B), CD150 (IPO-3, SLAM), CD48 (BCM1), CS1 (19A24, CRACC), CD229 (Ly9) и CD244 (2B4).

Гены CD2 семейства наносятся на карту в два кластера: CD2 и CD58 находятся на коротком плече хромосомы (рис.2b, Ipl3), отделенном от других членов, которые группируются близко друг к другу на длинном плече хромосомы в 1q21-241518-20. Геномная локализация и ряд подобий поддерживают гипотезу, что появление CD2 семейства явилось результатом предкового гена через последовательные дупликации.

Структура гена для всех CD2 рецепторов семейства подобна, сигнальные пептиды и каждая из Ig областей кодируются отдельным экзоном. Все эти рецепторы, трансмембранные белки за исключением glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) - связанных CD58 форм и CD48. Все члены семейства CD2, которые обладают цитоплазматическими хвостами, имеют потенциал, сигнализирующей функции кроме BLAME и SF2001 (еще не изучены).

Все члены семейства CD2 - гликопротеиды с внеклеточной N-linked гликозилатной локализацией, но не с предполагаемыми O-гликозилатными локализациями. Эти посттрансляционные модификации могут внести вклад в гомо- и гетеротипическое присоединение CD2 рецепторов семейства. CD2 рецепторы семейства преобладают в кровеносных сосудах, включая Т и В клетки, НК клетки, моноциты, макрофаги ткани, зрелые дендритные клетки, миелоидные клетки и тромбоциты. Несколько пар рецепторного лиганда были идентифицированы в пределах CD2 семейства. Человеческий CD2 имеет два

противорецептора: CD48 (н

увеличивает NO производство в макрофаге. Эти результаты могут иметь существенные значения для ролей CD46 во врожденной устойчивости к MV патогенам (AKIKO HIRANO, 1999).

Моноциты CD46 значительно стойкие к MV. Иногда моноциты дифференцируют в незрелые миелоидные клетки дендритов (iDC) (GM-CSF IL-4-treated), клетки становятся восприимчивыми к MV. Были идентифицированы CD46-приспособленные и CDw150-приспособленные к роду MV, и динамику CD46, CDw150. В ходе работы моноцит-iDC преобразования был исследован вместе с MV восприимчивостью. Поразительно, CDw150 не был обнаружен в моноцитах, а лишь умеренно вызван в iDC, в то время как CD46 постоянно выражался в моноцитах-iDC дифференцировки. Таким образом iDC стал высоко разрешающим к CDw150-приспособленному MV роду через выражение CDw150. Фактически, поликлональные и моноклональные антитела, которые определенно блокировали MV функцию рецептора CD46 или CDw150, отменили MV ответ в iDCs согласно предпочтительному использованию или CD46 или CDw150 в каждом роде MV. Более высокие уровни MV увеличения наблюдались в смешанной культуре лимфоцитов чем в iDCs без TLR2/4 стимулов. Следовательно, увеличение CDw150-зависимых рода MV шло параллельно с уровнями CDw150 в присутствии лимфоцитов. TLR-установленный функциональный потенциал DCs может затрагивать степень MV увеличения через отличное использование рецептора CDw150 или CD46 (Murabayashi N, 1999).

## **2.2. Роль тирозин киназы LYN в сигнальных функциях CD150**

CD150 - клеточный поверхностный рецептор, который экспрессирован на периферических T лимфоцитах крови, незрелых тимоцитах, на B клетках крови и миндалин, а также дендритных клетках, принадлежащий к подсемейству CD2 суперсемейства иммуноглобулинов. Функции CD150 связаны с наличием двойного мотива TxYxxV/I в цитоплазматической части

CD150. Этот мотив может связывать разные молекулы, которые принимают участие в передаче сигналов и содержат SH2 домены, а именно тирозин и инозитол фосфатазы, киназы семейства Src, а также адапторные молекулы SH2D1A и EAT-2. Трансфекция адапторного белка SH2D1A в клетки DT40, которые экспрессируют CD150 приводит к: 1) BCR-инициируемому увеличению фосфорилированию внутриклеточных субстратов тирозина и мобилизации  $Ca^{2+}$ ; 2) фосфорилированию по тирозину белка весом 52-55кДа в ответ на лигацию CD150; 3) CD150-опосредованной активации Akt/PKB. Эти данные имеют большое значение для понимания молекулярных основ регуляции путей передачи сигналов через рецептор мотива T<sub>x</sub>Y<sub>xx</sub>V/I в нормальных и злокачественнотрансформированных лимфоцитах, так как SH2D1A является продуктом гена, мутированного при лимфопролиферативном заболевании сцепленным с X хромосомой (Юрченко М.Ю. и др., 1998).

CD150 играет важную роль как регулятор зрелых В лимфоцитов. Известно также, что он является рецептором вируса кори (рис.6). Предполагается, что для активации различных сигнальных путей через CD150 рецептор необходимо фосфорилирование трех тирозинов в цитоплазматической части рецептора -Y281, Y307, Y327 (входят в три функциональных ITSM мотива). С фосфорилированным CD150 могут связываться молекулы, содержащие SH2-домены и вовлеченные в различные сигнальные пути (SHP-2, SHIP, SH2D1A). Недавно были идентифицированы тирозин киназы, которые отвечают за фосфорилирование CD150 в Т клетках (Т-специфические Fyn и Lsk). Были созданы две модельные системы: 1) DT40 линии клеток цыплят, дефицитные по различным тирозин киназам (Btk, Syk, Lyn), которые были трансфецированы CD150; 2) *in vitro* реакции тирозин киназ Lyn, Fgr, Syk и Btk с GST-химерным белком цитоплазматической части CD150 рецептора. И было показано, что в DT40 CD150 линиях, дефицитных по Syk и Btk, CD150 связывался с SHP-2, то есть фосфорилировался, поскольку только фосфорилированный CD150 может связывать SHP-2. В то

же время, CD150 из Lyn дефицитной линии не связывал SHP-2. Чтобы подтвердить полученные данные о возможной роли Lyn в фосфорилировании CD150, использовались *in vitro* киназные реакции, которые показали, что из четырех киназ - Lyn, Fgr, Syk, Btk, - только Lyn может непосредственно фосфорилировать CD150. Таким образом, было установлено, что в В клетках Lyn киназа связывает CD150 с сигнальными каскадами.

Исследована экспрессия растворимой (sCD150) и полной трансмембранной (mCD150) сплайсинг-изоформы CD150-рецептора, а также SH2D1A-адапторного белка на уровне мРНК в 9 случаях классической ЛХ (клеточные линии лимфомы Ходжкина) и в трех линиях клеток ЛХ В-клеточного происхождения - L428, KM-H2 и L1236. Несмотря на то, что CD150 и SH2D1A экспрессированы во всех изученных линиях клеток ЛХ, CD150 и SH2D1A совместно локализуются только в L1236-клетках. В то же время, связывание CD150 приводило к дефосфорилированию ERK1/2 в клеточной линии L1236 и никак не влияло на ERK-сигнальный каскад в линиях KM-H2 и L428. Akt-сигнальный каскад активировался через CD150-рецептор только в L1236-клетках. Злокачественные клетки при ЛХ экспрессируют sCD150 и mCD150 сплайсинг-изоформы и SH2D1A. Взаимодействие между CD150 и SH2D1A зависит от их локализации в клетке. В клеточных линиях ЛХ CD150 связан с ERK и Akt-сигнальными каскадами. Можно предположить, что CD150-SH2D1A-взаимодействие играет решающую роль в CD150-опосредованной активации Akt-сигнального каскада в клеточных линиях ЛХ. Как и в системе модели DT40, активация Akt через CD150-рецептор в клеточных линиях ЛХ не зависит от SHIP-фосфатазы (Л. Шлапацкая, С. Сидоренко, 1996).

CD150 может связываться с SH2-содержащим инозин фосфатазу белком (SHIP), SH2-содержащим белок тирозин фосфатазу (SHP-2), и белок адаптера SH2 домена 1A (SH2D1A/DSHP/SAP, также называемый болезнью Дункана SH2-белок (DSHP) или SLAM белок (SAP)). Используя белки GST с

отдельными заменами тирозина в Y269F, Y281F, Y307F, или Y327F в CD150 цитоплазматического хвоста, обнаружено, что тот же самый фосфорелирующий Y281 и Y327 основной белок подходит и для связывания SHIP-2 и SHP-2. Присутствие SH2D1A облегчает связывание SHIP к CD150. Очевидно, SH2D1A может функционировать как регулятор альтернативных взаимодействий CD150 с SHP-2 или взаимодействовать через неизвестный T<sub>x</sub>Y<sub>xx</sub>V/I мотив (иммунорецептор (ITSM)). Многократные выравнивания последовательности показали присутствие этого T<sub>x</sub>Y<sub>xx</sub>V/I мотива не только в CD2 членах подсемейства, но также и в цитоплазматических доменах членов SHP-2 субстрата 1 (J.Immunol, 2001). Пациенты с X-linked lymphoproliferative болезнью имеют мутации в кодировании гена белком, DSHP/SAP, который взаимодействует с CDw150 и выражен в В клетках. Fgr и SHIP взаимодействуют с phosphorylated tyrosines в CDw150 цитоплазматическом хвосте. Способность CDw150 регулировать смерть клетки не коррелирует с serine phosphorylation Akt kinase, но коррелирует с SHIP tyrosine dephosphorylation. Таким образом, CDw150 рецептор может функционировать, чтобы регулировать судьбу активизированных В клеток через SHIP также как через DSHP/SAP белок, дефектный в X-linked (Mikhalap S.V., Shlapatska L.M., 1999).

Главный путь передачи сигналов через прототипный рецептор в этом подсемействе, CD150, ведет к активации интерферон-гаммы для вирусной устойчивости. В результате, многие вирусы разработали стратегии изменять функции CD150. Использование вируса кори CD150 как рецептора и Molluscum contagiosum они кодируют белки, которые являются соответственными к CD150.

Лимфоциты и лабораторные штаммы вируса кори CDw150 могут твердо придерживаться человека или мартышки, но гомология с мышью слабая. Эти заболевания не зависят от присутствия CD46 на поверхности клетки. Взаимодействие вируса кори (рис. 3) с CDw150 (SLAM) объясняется иммуносупрессорными свойствами этого вируса.

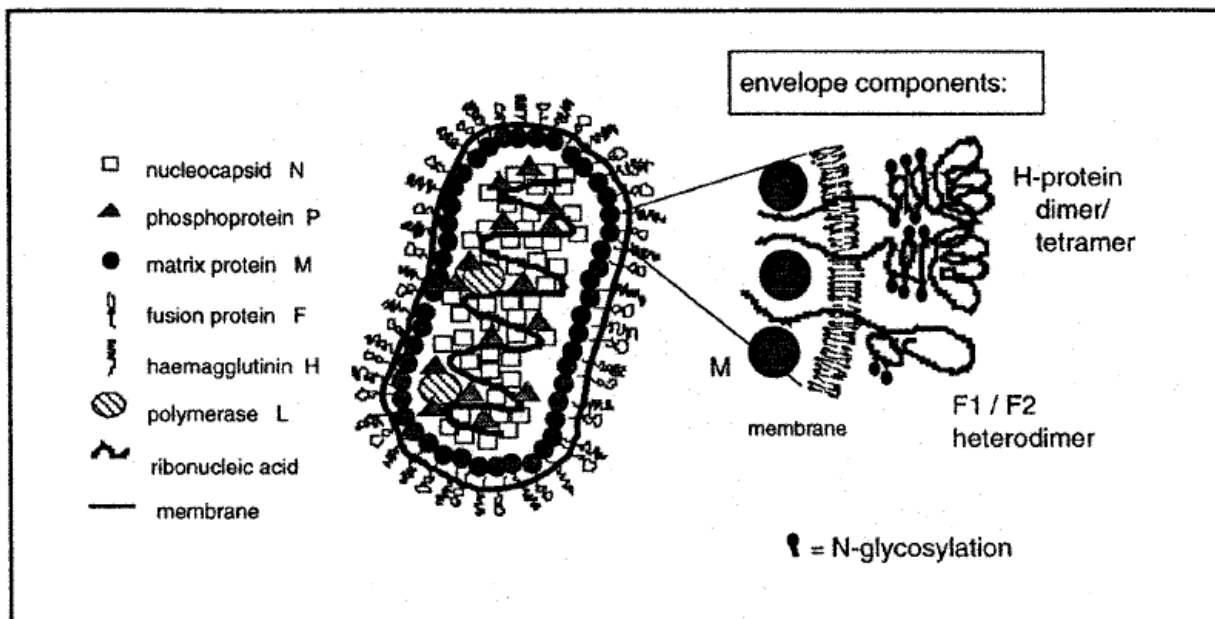


Рис. 3. Частица вируса кори и ее гликопротеиновая оболочка.

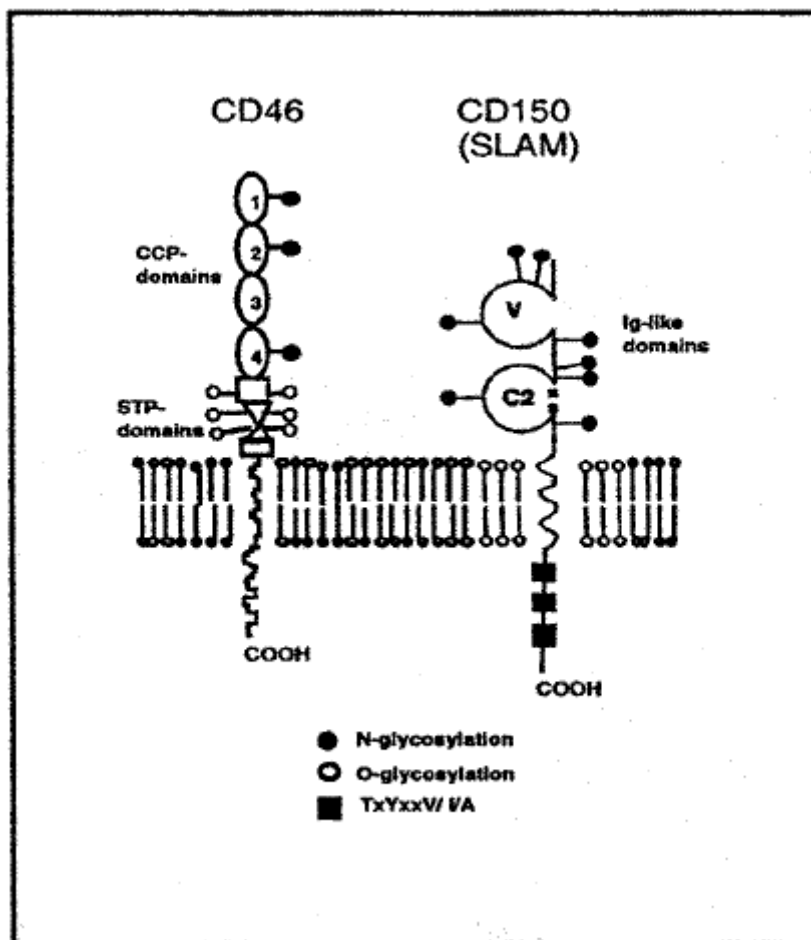


Рис. 4. Структура рецептора вируса кори CD46 и CD150 (SLAM).

### **2.3. Рецептор CD150 Морбилливирусов**

Морбилливирусы - высоко инфекционные патогены, которые вызывают некоторые из наиболее разрушительных вирусных болезней у людей и животных - это вирус кори (MV), собачий вирус чумы (CDV) и вирус (RPV). Они копируются главным образом в лимфоцитах по всему телу и причиняют серьезную иммуносупрессию (подавление иммунного ответа), сопровождающуюся лимфопенией. Было показано, что у человека, собаки, и рогатого скота передача сигналов активации молекул лимфоцитов (SLAM; также известный как CD150) действует соответственно, как клеточные рецепторы для MV, CDV, и RPV. Человеческий SLAM – гликопротеиновая мембрана, выборочно выраженная на клетках иммунной системы (незрелые лимфоциты, активизированные лимфоциты, активизированные моноциты, и зрелые клетки дендритов) и может достигать лимфоцитной активации и управлять производством контрольных интерферонов. Разрушение и/или ухудшение инфицированных SLAM клеток может быть механизмом для

иммуносупрессии, вызванной morbilliviruses (рис.5), но другие механизмы могут быть также вовлечены (Hironobu Tasuo, Yusyke yanagi, 2001).

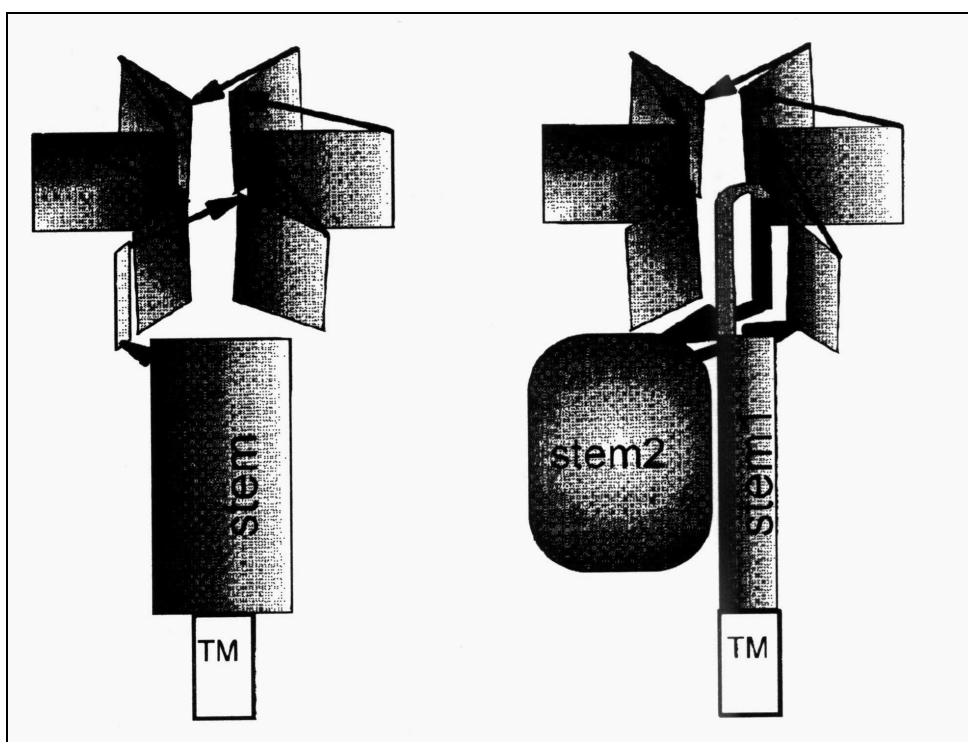
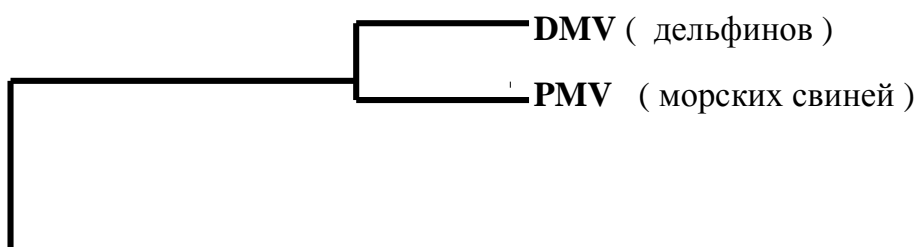


Рис. 5. Диаграмма глобулообразных структур парамиксовируса HN (а) и morbillivirus H (b). Главная секция указывает  $\beta$ -винт, в которых эти шесть пластин показаны как прямоугольники. Обозначены стебель, трансмембранные (TM) области и направление полипептидной цепи.



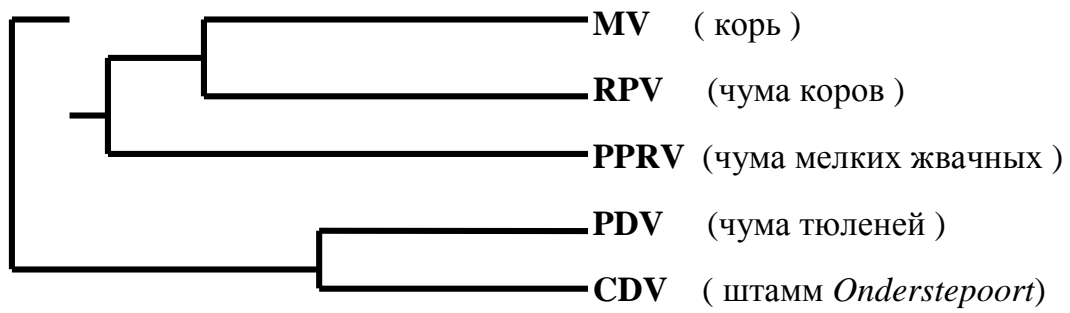
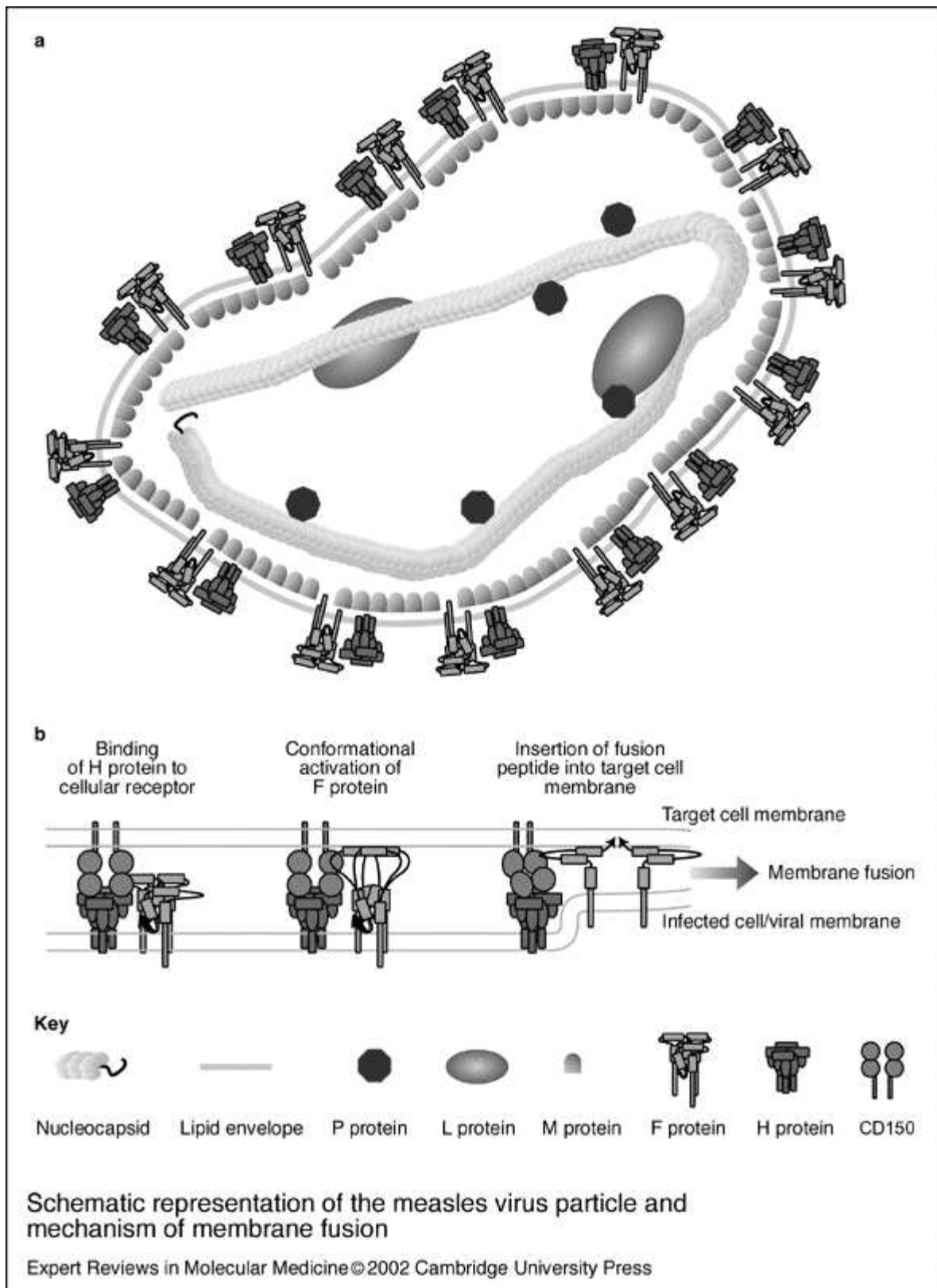


Рис.9. Филогенетическое древо рода Morbillivirus, построенное на основании анализа последовательностей фрагмента гена Р.



**Рис. 6. Схематическое представление частицы вируса кори и механизма мембранного синтеза.** (а) основная структура вируса кори (MV) - плеоморфная рибонуклеиновая частица (RNP), состоящая из RNA генома сильно инкапсидирована нуклеокапсидными белками и вирусным полимеразным комплексом [последний, состоящий из большого белка (L) и фосфопротеина (P)]. RNA внутри RNP, так же изображенного схематично

здесь, по крайней мере частично подвергнутый вирусному Im, был не определен пока еще для MV. Матрица (M) белок связывает RNP с липидной оболочкой, от которого два вирусных гликопротеида - (F) и гемагглютинин (H) белки - проектируются. M белок взаимодействует с цитоплазматическими доменами вирусного гликопротеина. (b) Модель MV-индукции мембранного синтеза и конформационного изменения в пределах F белка. H белок добивается присоединения вирионов к клеточным поверхностным белкам и также обеспечивает вспомогательную функцию для мембранного синтеза. Синтез требует MV гликопротеиновый комплекс, состоящий из H белка тетрамера и более протеолитический активизированного F белка (F1-F2). F белок синтезируется как белок предшественник (F0), протеолитический, расщепленный и активизированный в дисульфид-соединенный F1-F2 гетеродимер в отделении trans-Golgi. Взаимодействие MV H белка с его клеточным рецептором вызывает конформационную замену в пределах F1-F2 гетеродимера, которая ведет к вставке гидрофобного домена (N-конечная-остановка F1 подмодуля; представленный размерными стрелками) в мембрану клетками-мишенями. Происходят интрамолекулярные перестановки, ведущие к формированию структуры свернутого кольца в пределах этой субъединицы, вызванное взаимодействием двух  $\alpha$  - магнитных доменов. Таким образом, мембраны, которые сближены, будут являться предпосылкой для смешивания внешних клапанов (hemifusion) и последующего синтеза.

#### **2.4. Двойная функция подсемейства рецептора CD150**

Подсемейство CD150 относится к семейству CD2, которые являются группой рецепторов двойной функции, имеющие в пределах их цитоплазматических хвостов сигнальный мотив. ITSM (иммунорецепторный мотив выключения на основе тирозина) позволяет этим рецепторам связываться и регулироваться с небольшими SH2 белками адаптерной области, включая SH2DIA (SH2-содержащий белок адаптера SH2 области I A) и EAT-2 (EWS-активирующий транскрипт 2). Основной способ передачи сигналов через рецептор в этом подсемействе, CD150, ведет к активации интерферона, ключевого цитокина для вирусной устойчивости. В результате, многие вирусы разработали стратегии захватывать или изменять функции CD150. Вирус кори использует CD150 как рецептор и *Molluscum contagiosum* вирус кодирующий белки, которые являются ответственными к CD150.

Функциональная иерархия корецепторных молекул регулирует иммунные реакции Т, В и естественной клетки-убийцы (NK), введенные через рецепторы антигена на Т и В клетках или через NK рецепторы клетки. Некоторые корецепторы подобно CD154 (CD40L), CD28 или индуцируемый костимулятор (ICOS) передают главным образом положительный костимулирующий сигнал, тогда как другие - типа CD152 (CTLA-4), FcγRIIb, клетки-убийцы задерживающие рецепторы (KIRs) или иммуноглобулин лейкоцита (Ig) подобные рецепторы (LIRs) - функционируют преимущественно как задерживающий рецептор. Однако более гибкая форма иммунного регулирования вовлекает рецепторы, которые могут функционировать или как положительные или отрицательные регуляторы. Чтобы использовать больше чем одну функцию, CD80 и CD86 рецепторы используют различные противорецепторы: активизирующий CD28 или задерживающий CD152.

Другая группа двойной функции корецепторной молекулы, CD 150 подсемейства в пределах CD2 семейства рецепторов, является причиной различных функций в зависимости от готовности молекул в пределах направления их пути трансдукции сигнала. Эта группа рецепторов привлекла интерес из-за открытия небольшого SH2-содержащего белка адаптера SH2 белок области 1A (SH2D1A, также известный как SAP или DSHP). Критические мутации в SH2D1A гене найдены в пациентах с X-linked лимфопролиферативным нарушением (XLP), В клетки non-Hodgkin's лимфома, обнаружены некоторые случаи обычного синдрома иммунодефицита и гемофагоцитоза lymphohistiocytosis-иммунодефицита с противовирусным обладающим иммунитетом. SH2D1A связывается с сохраненным иммунорецепторным мотивом выключателя на основе тирозина (ITSM), T<sub>x</sub>Y<sub>xx</sub>V/I, в цитоплазматическом хвосте CD150 молекул. Связывание с ITSM, SH2D1A регулирует ассоциацию этих рецепторов с SH2-содержанием молекул и, таким способом, служит передачей сигналов 'выключение'. Самая типичная особенность CD150 субпопуляции рецепторов - присутствие двух или больше

ITSMs в их цитоплазматических хвостах (С. П. Сидоренко и Эдвард А. Кларк, 2003).

CD150 подсемейство состоит из CD150 наряду с CD84, CD229, CD244, NTB-A и CS1. Критерии для того, чтобы определять это подсемейство в пределах CD2 семейства - присутствие по крайней мере двух ITSM в цитоплазматических отделах рецептора и закрепления белка адаптера SH2D1A и/или связанного адаптера SH2-области, EWS-активизированный транскрипт 2 (EAT- 2), к этим ITSM (рис.7). CD244 и NTB-A могут формировать ингибирующие действия на NK клетки. Передача сигналов через CD150 может увеличить TCR-установленную цитотоксичность и непосредственно вызвать цитотоксичность в *saimiri* -инфицированном Herpesvirus T клеток. Функции других CD150 членов семейства остаются неизвестными, хотя CD84 выражен в высоких количествах на некоторых В клетках селезенки, который предлагает возможную роль в регулировании дифференциации В клеток.

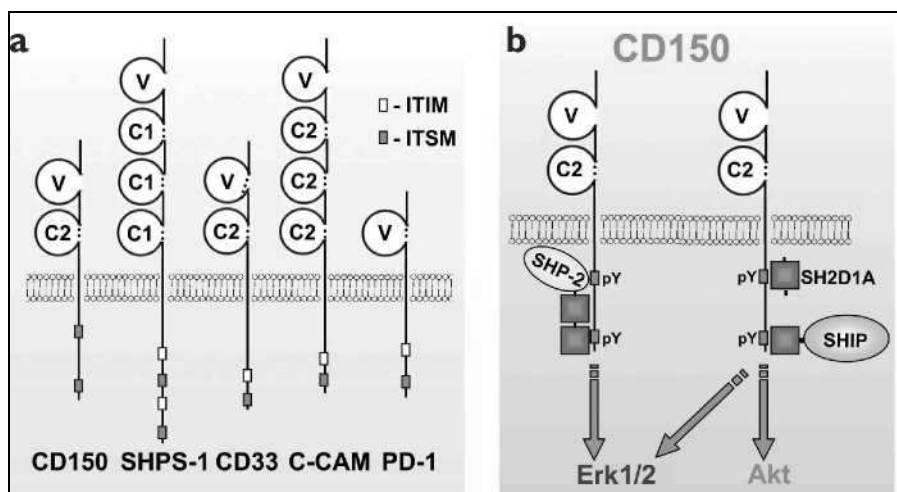


Рис. 7. Структура и пути трансдукции сигнала через CD 150 рецептор (a) структура CD150 по сравнению с другими ITSM-содержащими рецепторами, которые также содержат ITIMs. (b) SH2D1A-независимые и SH2D1A-зависимые пути, через CD150. Если SH2D1A is не агрегирующий CD150, то SHP-2 связывает и продвигает активацию только Erk1 и Erk2 троп. SH2D1A связывает CD150, а не SHP-2 связывает и продвигает активацию и Erk и Akt киназ.

**CD150 - рецептор для вируса кори.** Коэволюция хозяев и вирусов формировала не только иммунную систему, но также и контрмеры, используемые вирусами. Различные вирусы развили множество разнообразных стратегий иммуноуклонений. Они включают модуляцию рецептора поверхности клетки и выражения цитокина, присутствие гена помогло найти пути трансдукции сигнала клетки вирусами, так что они могут делиться, противостоять и использовать молекулы поверхности клетки как вирусный рецептор. Множество вирусов выбрало CD150 рецепторы подсемейства, чтобы поддерживать равновесие с хозяином и/или избежать иммунологического контроля.

Многие вирусы используют гликопротеиды поверхности клетки, которые обладают Ig областями суперсемейства, или дополнительно управляют белковыми областями, также названные SCR рецепторы. Эти вирусы имеют тенденцию связываться с N-терминальными (наиболее мембранно-отдалённые от центра) областями. Некоторые вирусы например, ВИЧ (связываются с CD4), риновирусы (связываются с CD54), и полиовирус (связываются с CD155) - связываются с N-терминалом Ig-like области. MV принадлежит к очень инфекционному семейству Morbillivirus, который обладает разрушительными свойствами при болезни людей и животных. Другие Morbilliviruses, типа собачьего вируса чумы и rinderpest вируса, также используют CD150 как рецептор, что объясняет, почему это семейство - лимфотропное. Урон причиняемый MV - почти 1 миллион смертных случаев в год во всем мире, главным образом из-за его иммунодепрессивного потенциала.

CD46 регулирует промежуточные компоненты распада, CD150 рецептор служит для вакцины и лабораторного приспособления штамма MV, так же как для дикого штамма MV в клинической изоляции. CD150 способствует вирусному поглощению и syncytium формированию, ключевая молекула является посредником внедрения MV в моноциты. Однако могут быть

дополнительные рецепторы MV, потому что не весь MV тропизм можно объяснить при помощи CD46 или CD 150 рецепторов.

Гемоглутениновый (ХА) белок MV добивается взаимодействий и с CD46 и с CD150. Закрепление с CD46, но не с CD150, зависит от аминокислоты в положении 481 в MV-ХА. Предполагается, что агрегирующие местоположения для CD150 и CD46 на MV-ХА отличны, демонстрируют адаптацию, где вирус развил различные агрегирующие местоположения для отличного рецептора. V область человеческого CD150 существенна для его функции, необходима и достаточна, чтобы взаимодействовать с MV-ХА белком и позволить вирусу внедриться. Если V область мыши заменяет V область человеческого CD150, то CD150 больше не может действовать как рецептор для MV, объясняя неспособность MV заразить мышью.

Как это ни парадоксально, лимфопения и многочисленные отклонения иммунных реакций сопровождают иммунную активацию в течение инфекции кори. Повышенная чувствительность - ответы кожи, антигены типа tuberculin исчезают и сопровождаются увеличением в восприимчивости к инфекциям. Приведенные MV lymphopenia и иммуносупрессия могли быть приписаны вирусному разрушению лимфоцитов, выражающих CD150. Немногие свободные T клетки выражают поверхность CD150, но их число CD150 увеличивается после T активации. Разрушение или ущерб субпопуляции изменяют характеристику для кори. Альтернативное закрепление MV может регулировать выражение CD150, подобно регуляции CD46, так, чтобы продвинуть IFN-у в производство и получить ответы.

Кроме того, MV подавляет клеточный иммунитет, сталкиваясь с борьбой и функцией DCs. Возможно, CD150 может внести вклад во взаимодействия MV с DCs. CD40 сшивание на DCs, также увеличивает накопление MV в инфицированной культуре DCs. Зараженные MV культуры DCs не стимулируют ответы T клетки или даже запрещают пролиферацию T клеток. Этот результат мог быть последствием апоптозиса CD95 в DCs MV и также

вероятно вовлечь CD150, поскольку сшивание антитела CD150 одобряет CD95-установленный апоптоз в некоторых В и Т клетках. Таким образом, факт, что CD150 является главным рецептором MV, мог объяснить некоторые из иммунодепрессивных последствий MV.

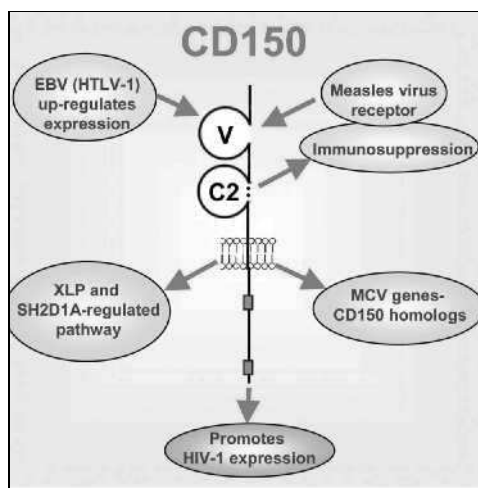


Рис. 8. вирусные связи CD 150 подсемейства. Различные вирусы регулируют выражение рецептора, сигнализируют функцию или замещают рецептор, как иллюстрировано для CD150 рецепторов.

Пациенты с корью и установленной контактом иммуносупрессией уменьшили lymphoproliferative ответ. Ни CD 150, ни CD46 не вовлечен в MV установленное контактом запрещение пролиферации. Таким образом, MV использует CD150 как обычный рецептор поверхности клетки для вирусного закрепления и вступления в клетку. Закрепление с CD150 может объяснить много, но не все иммунодепрессивные последствия MV. Однако, определение функции и пути трансдукции сигнала, начатые через CD150 помогут улучшать стратегии для контроля кори и устранения ее.

Другой пример иммунодепрессивного результата - ВИЧ 1 (рис. 8). Пациенты с острым HTV-1 показанием инфекций уменьшили CD150 проявление на Т клетках, которое коррелирует с установленным клеткой (ТН1) ответом.

***Molluscum contagiosum* вирус и CD150.** Вирусы часто маскируются самостоятельно на мембраной клетки хозяина. *Molluscum contagiosum* вирус

(MCV), семейства *rho*virus, подражает CD150 рецептору. MCV причиняет небольшие опухоли кожи прежде всего у детей и подростков, которые борются в течение многих месяцев с незначительным воспалением. Семейство CD150 включает три гена, которые кодируют *mc002L*, *mc161R* и *mc162R* и являются трансмембранными белками, являющимися гомологами CD150. *Mc002L* и *mc161R* mRNA выражены в MCV, заражают человеческие ткани. Эти гены расшифрованы в течение жизненного цикла MCV. Важно найти модели животного, чтобы анализировать роль генов в MCV инфекции. Экспериментальные модели клеточных культур с вирусными гомологами CD150 помогут разъяснить их роль в иммунных реакциях хозяина к MCV. Эти CD150 гомологи могут действовать как 'заместители' и конкурировать с CD150 для его естественного лиганда. Они могут также связаться с трансмембранными или растворимыми формами CD150, которые вводят пути трансдукции сигнала и таким образом блокируют или изменяют противовирусные функции передачи сигналов CD150.

XLP - иммунодефицит, связанный с T, B и NK клетками. Хотя ясно, что мутации в *SH2D1A* являются ответственными за большинство случаев XLP, точная роль EBV в патогенезе этой болезни неясна. Таким образом, EBV может быть общим катализатором XLP, однако, другие все еще неопознанные факторы или гены модификатора важны. EBV действительно регулирует выражение CD150 и их лиганды. Сшивание CD150 на T клетках человека или мыши вызывает производство IFN- $\gamma$ . Дефекты в передаче сигналов *SH2DLA* подсемейства CD150 в B клетках, так же как других клетках, вносят вклад в патогенез XLP.

Рецепторы подсемейства CD150 вовлечены в противовирусные иммунные реакции и многие вирусы выбрали CD150 рецепторы как цели для иммунного уклонения и регулирования (рис. 8). В течение коэволюции с их хозяевами, вирусы приобрели окультуренные механизмы, позволяющие им отклонять или изменять иммунный контроль.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате анализа имеющихся литературных источников был изучен род *Morbillivirus*, его молекулярная биология и воздействия на организмы. Также изучены вирусные рецепторы, а именно рецептор CD150 и механизм его взаимодействия с клетками хозяина. Вирусы используют CD 150 рецептор подсемейства, чтобы создать благоприятную окружающую среду для уклонения от обнаружения и разрушения. Дальнейшее изучение CD150 может привести к новым стратегиям для развития вакцины и противовирусной терапии. Идентификация гена SLAM CD150 как клеточного рецептора для MV помогла разъяснить некоторые аспекты иммунобиологии MV заболеваний.

MV принадлежит к очень инфекционному семейству *Morbillivirus*, который обладает разрушительными свойствами при болезнях людей и животных, главным образом из-за его иммунодепрессивного потенциала. Другие *Morbilliviruses*, типа собачего вируса чумы и *rinderpest* вируса, также используют CD150 как рецептор.

Идентификация вируса, вызвавшего массовую гибель байкальской нерпы, определение его видовой принадлежности, проверка гипотез о живых анти-CDV вакцинах, изучение механизмов взаимодействия рецептора CD150 с клетками хозяина важны для предотвращения массовых эпизоотий, получения путей борьбы с вирусом и прогнозирование дальнейшей судьбы и мутагенности объекта изучения.

Большое внимание международной научной общественности к проблеме морбилливирусных инфекций подтверждает актуальность и важность вышеизложенной работы.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Букринская А.Г., Зайдес В.М. Молекулярная биология парамиксовирусов. - М.: Медицина, - 1978. - 183 с.

Деникина Н. Н. Молекулярно-генетическая идентификация вируса, вызвавшего эпизоотию у байкальской нерпы (PHOSA SIBIRICA) в 1987-1988гг. Дисс. На соиск. Канд. Биол. наук. Иркутск, 2000. – 108 с. (рукопись)

Солодун Ю.В., Гольдберг О.А., Дмитриев Б.В. Морфологические проявления морбилливирусной инфекции в байкальской нерпе // Первая Верещагинская байкальская международная конференция (2-7 октября 1988 г.). – Иркутск, 1988. – С. 81.

Юрченко М.Ю., Михалап С.В., Сидоренко С.П. Роль тирозин киназы LYN в сигнальных функциях CD150 // Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Кавецкого НАНУ, - Киев (Украина), 1998. – С. 79.

AKIKO HIRANO, ZIPING YANG, YUKO KATAYAMA, JENNIFER KORTESARFATY AND TIMOTHY C. WONG. Human CD46 Enhances Nitric Oxide Production in Mouse Macrophages in Response to Measles Virus Infection in the Presence of Gamma Interferon: Dependence on the CD46 Cytoplasmic Domains// Journal of virology, June 1999. – С. 73.

Appel M.L.G., Yates R.A., Foley A.L. *et al.* Canine distemper virus epizootic in lions, tigers, and leopards in North America // J.Vet.Diagn. Invest. – 1994. – V.6. – P. 277-288.

Diane Waku Kouomou and T. Fabian Wild. Adaptation of Wild-Type Measles Virus to Tissue Culture // Journal of virology (France), 2001. - С. 79.

Duncan Howie, M.Simarro, Joan Sayos, Maria Guirado, Jaime Sancho, and Cox Terhorst. Molecular dissection of the signaling and costimulatory functions of CD150 (SLAM): CD150/SAP binding and CD150-mediated costimulation// IMMUNOBIOLOGY, 2002. – С. 957-959.

Fields S., Winter G., Brownlee G.G. Structure of neuraminidase gene in human influenza virus A/PR/8/34 // Nature. – 1981. – V.290. – P. 213-217.

Grachev M.A. Distemper virus in Baikal seals // New Scientist. - 1988. – 22. 04.

Hironobu Tatsuo and Yusuke Yanagi. The Morbillivirus Receptor SLAM (CD150)// *Microbiol. Immunol.*, 46(3), 2002. - C. 135—142.

Juneau M.L. Famille des Paramyxoviridae // *Can. J. Med. Technol.* - 1991. - V.53. - P. - 169-173.

Jose. M.Casasnovas, Mykol Larvie<sup>1</sup> and Thilo Stehle. Crystal structure of two CD46 domains reveals an extended measles virus-binding surface// *The EMBO Journal*, 1999. -C. 18.

Jurgen Schneider-Schaulies, Volker ter Meulen, and Sibylle Schneider-Schaulies. Measles virus interactions with cellular receptors: Consequences for viral pathogenesis// *Journal of NeuroVirology* (Wurzburg, Germany), 2001. -C. 391.

Martin S.J. The structure and composition of morbillivirus: a brief review // *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz.* - 1986. - V.5. - P. 389-393.

Mikhael S.V., L.M. Slapatska, A.G. Berdova. ERK and AKT activation VIA CD150: signal transduction studies on DT40 cell line model system// *Experimental Oncology*, 2002. - C. 13-18.

Osterhaus A.D.M.E., Vedder E.J. Identification of a virus causing recent seal death // *Nature.* - 1988. - V.335. - P. 20.

Svetlana R. Sidorenko and Edward A. Clark. The dual-function CD150 receptor subfamily: the viral attraction// *Nature Publishing Group*, 2003. – C. 19-23.

Svitlana V. Mikhalap, Larisa M. Shlapatska, Anna G. Berdova, Che-Leung Law, Edward A. Clark and Svetlana P. Sidorenko. CDw150 Associates with Src-Homology 2-Containing Inositol Phosphatase and Modulates CD95-Mediated Apoptosis // *The Journal of Immunology*, 1999. -C. 162.

Wong T.C., Wipf G., Hirano A. The measles virus matrix gene and gene product defined by *in vitro* and *in vivo* expression // *Virology.* – 1987. – V.157. – P. 497-508.