



## المحاضرة الخامسة

### تضاعف الفيروسات

## Replication of viruses

## تضاعف الفيروسات Viral Replication

لا تخضع الفيروسات للانقسام الثنائي binary fission (الذي يحدث في البكتيريا)، ولكنها تخضع لعملية معقدة تسمى التضاعف replication. يجب أن يخضع الفيروس لعملية التضاعف replication لإنتاج فيروسات معدية جديدة infectious virions قادرة على إصابة خلايا أخرى في الجسم أو مضائف جديدة. بعد دخوله إلى الجسم، يقوم الفيروس بالاتصال الجسدي أو الاندماج مع الغشاء البلازمي plasma membrane للخلية المستهدفة ويعبره. في داخل الخلية، يقوم بإطلاق الحامض النووي الخاص به ويقوم بمضاعفته وبواسطة ريبوسومات الخلية المضيفة يقوم بتصنيع بروتيناته. لاحقاً يتم تجميع جزيئات الفيروس من المكونات الفيروسية الجديدة التي تم تكوينها لتصبح فيروسات معدية جديدة. وأخيراً، يتم إطلاق الفيروسات من الخلية لمواصلة عملية إصابة خلايا جديدة.

ويمر تضاعف الفيروسات عبر سبع خطوات أو مراحل مهمة متتالية هي كالاتي:

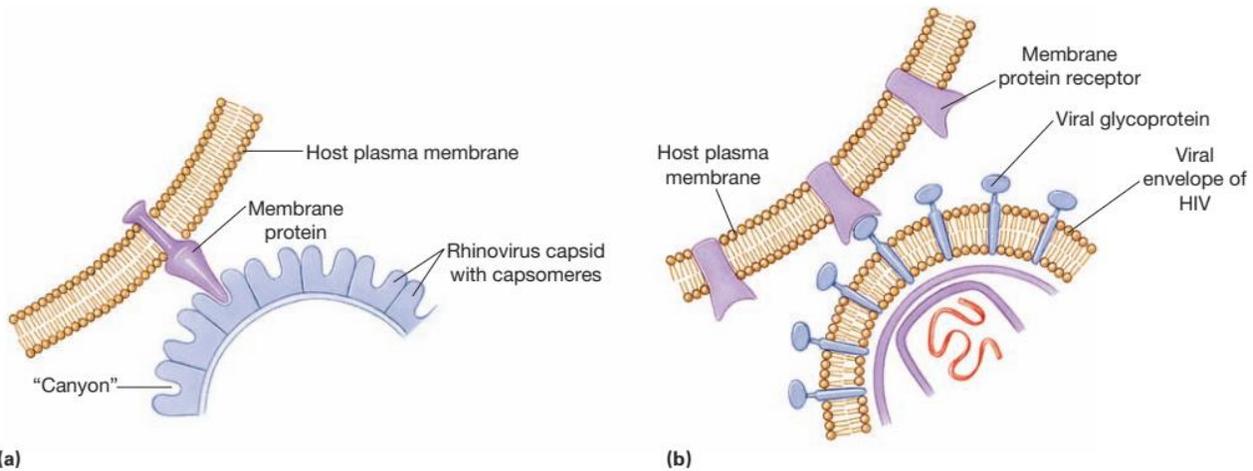
1. Attachment
2. Penetration
3. Uncoating
4. Replication or Biosynthesis
5. Assembly
6. Maturation
7. Release

إحدى وسائل التذكير التي يجب تذكرها لمرحل تضاعف الفيروس هي الجملة "A **PUR**ple **A**pple **M**ight **R**edden". الحروف بالخط العريض هي الحروف الأولى من أسماء المراحل السبع بالترتيب.

**أولاً : Attachment أو Adsorption :**

من أجل بدء حدوث العدوى أو الإصابة الفيروسية infection، يجب أن ترتبط الفيروسات أولاً بالخلايا. يحدث الارتباط بين الروابط **ligands** الموجودة على سطح الفيرون virion (بروتينات الارتباط الفيروسي viral attachment proteins) والمستقبلات **receptors** الموجودة على الغشاء البلازمي للخلية من خلال روابط ضعيفة وغير تساهمية. إذ تحتوي الفيروسات

على مواقع ارتباط على الغلاف envelopes في حالة الفيروسات المغلفة أو (سطح الكابسد capsid او البروزات projections الموجودة على سطح الكابسد) في حالة الفيروسات العارية ترتبط بمواقع المستقبلات المتممة complementary receptor لها الموجودة على سطح الخلية المضيفة. في حالة فيروس الأنفلونزا influenza ، يرتبط البروتين السكري السطحي (hemagglutinin) بشكل خاص بمستقبلات البروتين السكري glycoprotein receptor الموجودة على سطح الخلايا الثلاثية للجهاز التنفسي. في حالة فيروس نقص المناعة البشرية -1 (HIV1)، يعمل البروتين السكري السطحي gp120 بمثابة رابط ligand يرتبط بالبروتين السكري CD4 الموجود على سطح الخلايا الليمفاوية التائية T lymphocytes الناضجة.

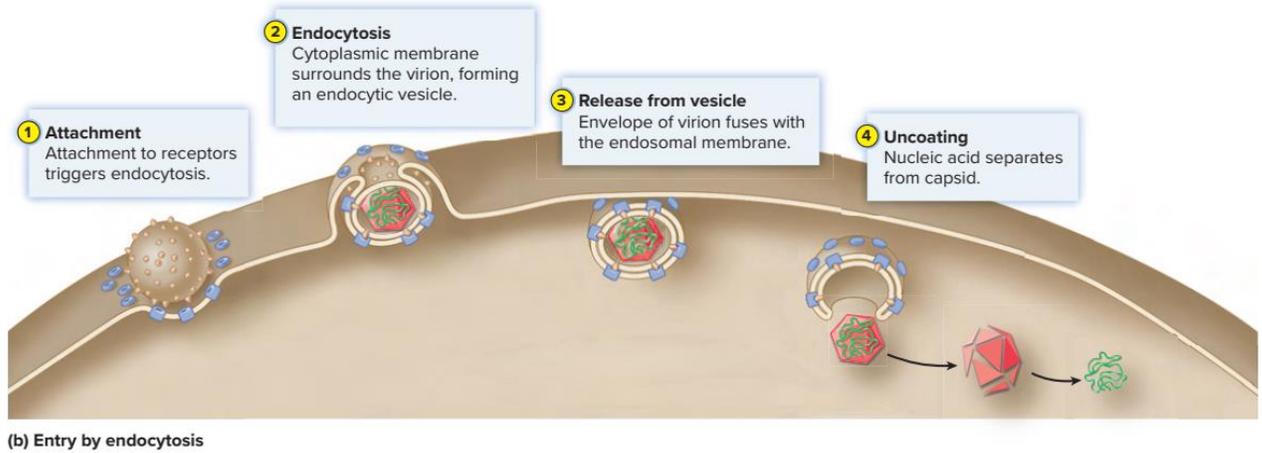


**FIGURE 10.18** Viral recognition of an animal host cell. (a) Rhinoviruses have "canyons," or depressions, in the capsid that attach to specific membrane proteins on the host cell membrane. (b) HIV has specific envelope spikes (viral glycoproteins) that attach to a membrane protein receptor on the surface of specific host immune defense cells.

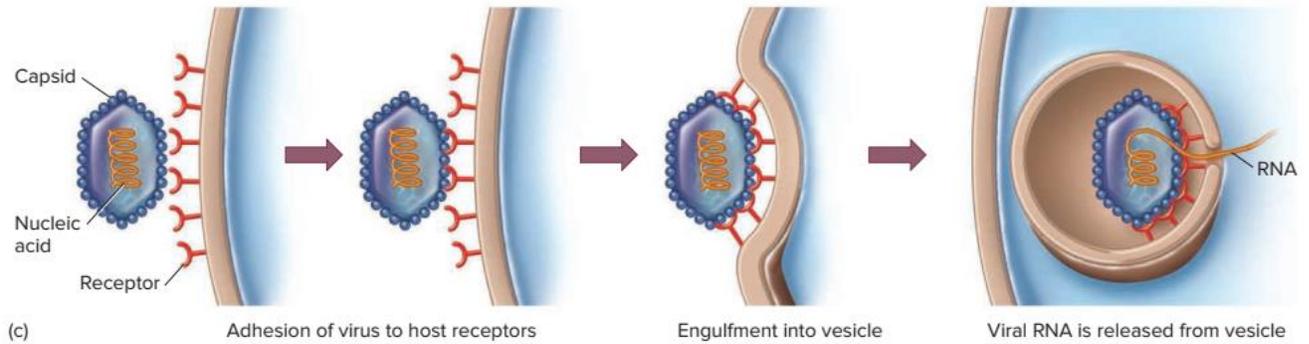
## ثانياً : penetration :

بعد الالتصاق attachment، تخترق penetrate جزيئات الفيروس الخلايا المضيفة بسرعة كبيرة ، على عكس العاثيات البكتيرية bacteriophages، لا تملك الفيروسات الحيوانية آلية لحقن حمضها النووي في الخلايا المضيفة. وهكذا، يخترق كل من الحامض النووي والكابسد عادة الخلايا المضيفة الحيوانية . وتحدث عملية الاختراق penetration إما عن طريق:

- **البلعمة Phagocytosis (أو viropexis):** تحدث من خلال الالتقام الخلوي بواسطة المستقبلات مما يؤدي إلى اخذ جزيئات الفيروس داخل إندوسومات endosomes السيتوبلازم المضيف. في نسخة الالتقام الخلوي من penetration، يمكن أن يكون الفيروس إما مغلفاً (الشكل -1) أو عاريًا (الشكل -2)، ويتم ابتلاعه بالكامل في حويصلة تسمى الجسيم الداخلي endosome.

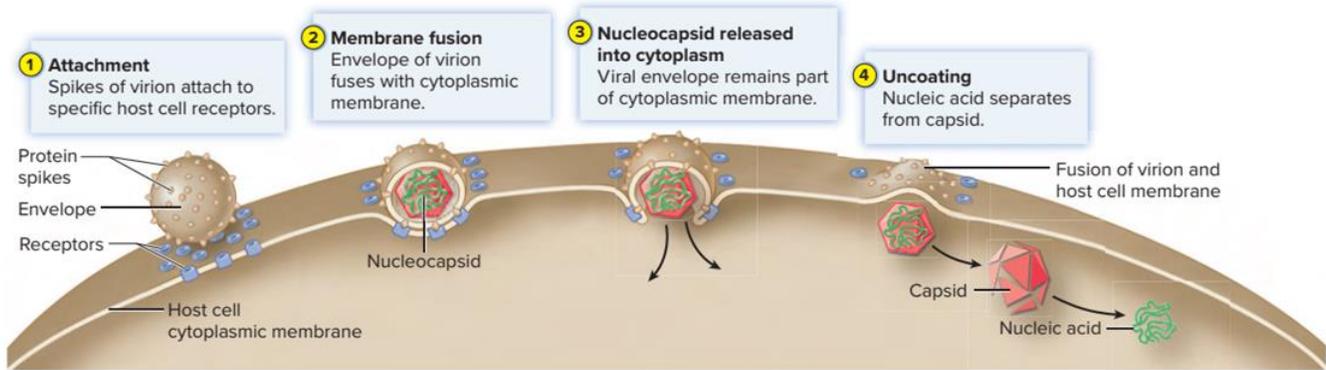


شكل-1: اختراق فيروس مغلف بعملية Phagocytosis

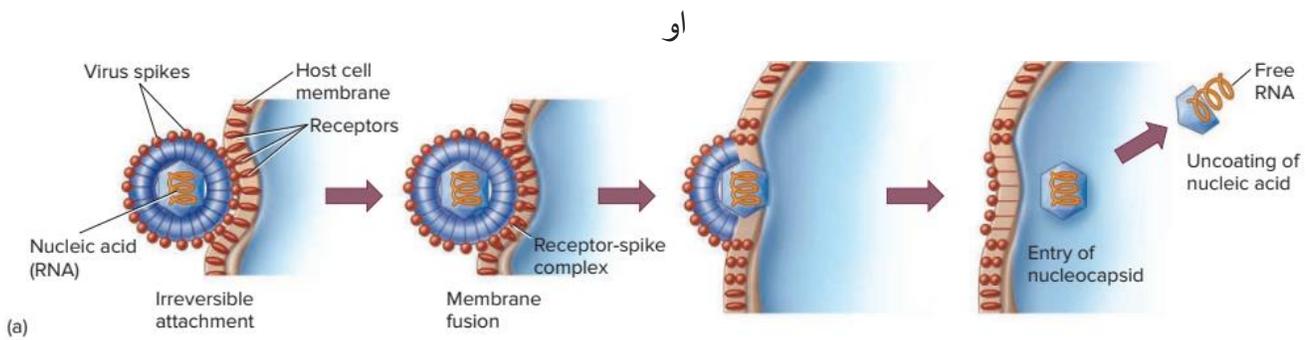


شكل-2: اختراق فيروس عاري بعملية Phagocytosis

- **اندماج الغشاء Membrane fusion:** تدخل بعض الفيروسات المغلفة enveloped viruses (مثل فيروس نقص المناعة البشرية human immunodeficiency virus أو HIV) عن طريق اندماج بروتينات غلافها مع الغشاء البلازمي للخلية المضيفة بحيث يدخل فقط nucleocapsid إلى السيتوبلازم، بينما يظل الغلاف الفيروسي ملتصقًا بغشاء الخلية المضيفة (شكل -3).

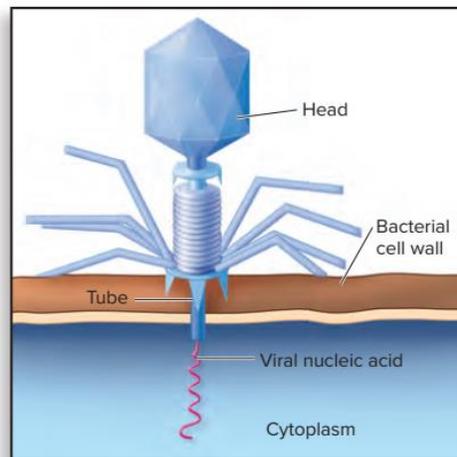


(a) Entry by membrane fusion



شكل-3: اختراق فيروس مغلف بعملية Membrane fusion

- **حقن الحمض النووي Injection of nucleic acid:** لا تستطيع العاثيات Bacteriophages (الفيروسات التي تصيب البكتيريا) اختراق جدار الخلية البكتيرية الصلبة، وبالتالي يتم حقن الحمض النووي فقط ؛ بينما يبقى capsid ملتصق بجدار الخلية.



**Figure 6.17** Penetration of a bacterial cell by a bacteriophage. After adsorption, the phage plate becomes embedded in the cell wall, and the sheath contracts, pushing the tube through the cell wall and membrane and releasing the nucleic acid into the interior of the cell.

**ثالثا : Uncoating :**

هي عملية فصل الحامض النووي الفيروسي عن غطائه البروتيني الأساسي بمجرد دخول الفيروس إلى سيتوبلازم الخلية المضيفة. وتحدث تلك العملية من خلال عمل الإنزيمات الحالة lysosomal enzymes للخلايا المضيفة، إذ يتم فصل الكابسد capsid و إطلاق الحامض النووي في السيتوبلازم. هذه الخطوة غير موجودة في العاثيات.

**رابعا : Replication or Biosynthesis :**

يعتمد تصنيع أو تكوين المادة الوراثية (RNA or DNA) genetic material والبروتينات الجديدة proteins على طبيعة

الفيروس الذي يصيب الخلية المضيفة. في هذه الخطوة، يتم تصنيع المكونات الفيروسية التالية:

- الحامض النووي Nucleic acid
- بروتين الكابسد Capsid protein
- الإنزيمات اللازمة لمختلف مراحل تضاعف الفيروس

Enzymes required for various stages of viral replication.

- البروتينات التنظيمية لإيقاف عملية الأيض للخلية المضيفة

Regulatory proteins to shut down the host cell metabolism.

**Site of Nucleic Acid Replication**

- ❑ In DNA viruses, the DNA replication occurs in the nucleus except in poxviruses, which synthesize DNA in the cytoplasm
- ❑ In RNA viruses, the RNA replication occurs in the cytoplasm except in retroviruses and orthomyxoviruses, which synthesize RNA in the nucleus.

## أولا : فيروسات DNA

يتضمن التخليق الحيوي biosynthesis او تضاعف replication لفيروسات الحامض النووي DNA الخطوات الأساسية التالية (الشكل 1):

- يتم نسخ **transcription** الحامض النووي DNA الأبوي لتكوين messenger RNA (mRNA) المبكر
- يخضع mRNA المبكر للترجمة **translation** لإنتاج بروتينات غير بنيوية non-structural proteins مبكرة
- تضاعف الحامض النووي الفيروسي **replication** Viral DNA: تعمل البروتينات غير البنيوية المبكرة - early non-structural proteins على إيقاف shutdown عملية الايض metabolism للخلية المضيف وتساعد في تضاعف الحامض النووي الأبوي parental DNA لتشكيل نسخ جديدة من DNA البنيوي.
- يستسخ **transcription** الحامض النووي DNA البنيوي (Progeny DNA) المتكون لتكوين mRNA متأخر (late mRNA)، والذي يتم ترجمته translated أيضًا لتكوين بروتينات هيكلية متأخرة late structural proteins (وتمثل البروتينات الهيكلية كل من capsid proteins وبروتينات الغلاف envelope proteins).

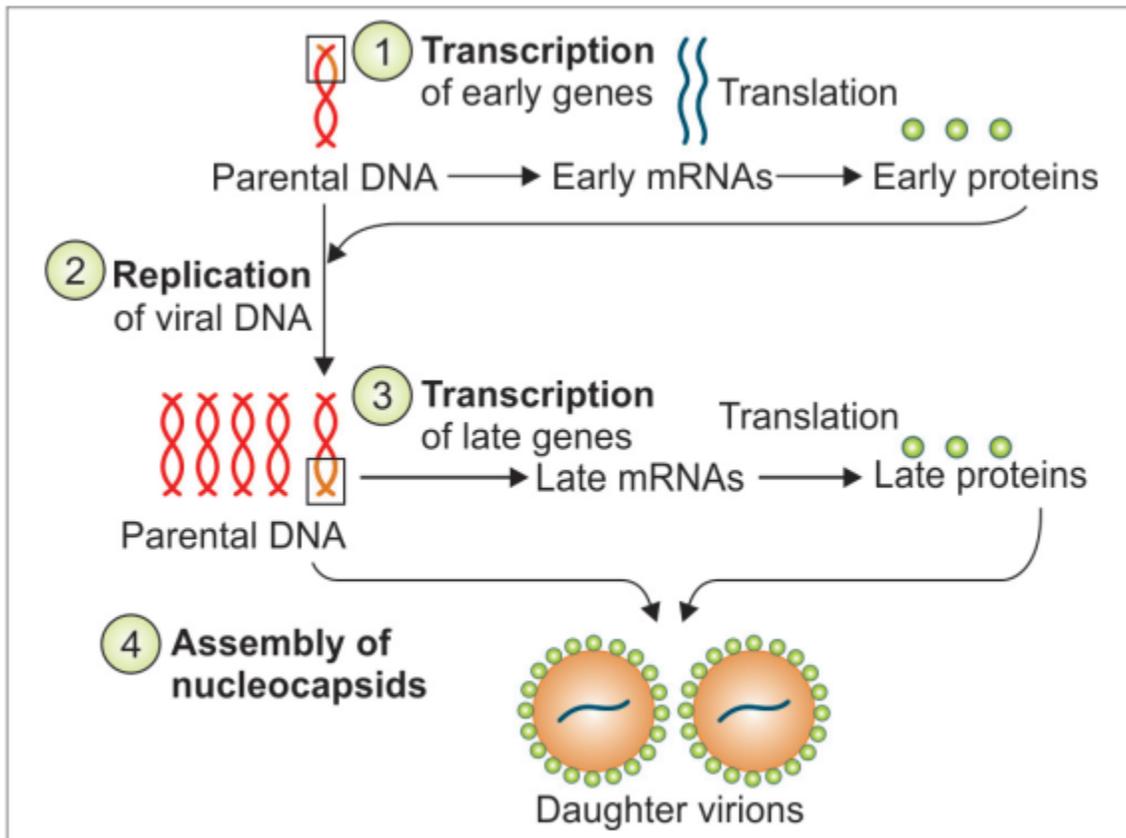


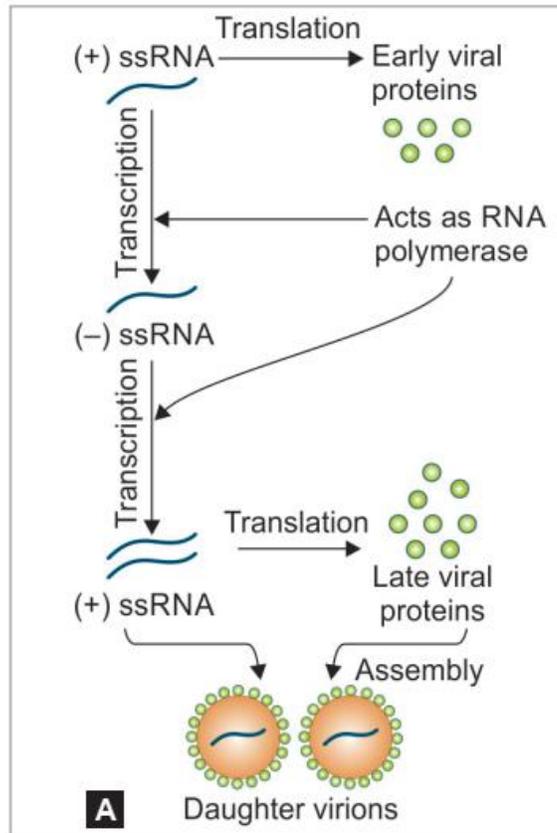
Fig. 4.3: Steps of DNA virus biosynthesis.

## ثانياً : فيروسات RNA

تختلف عملية التخليق الحيوي biosynthesis بين فيروسات الحامض النووي الريبوزي (RNA) اعتماداً على ما إذا كان جينوم الحامض النووي RNA (موجب الاتجاه او القطبية positive) او (سالب الاتجاه او القطبية negative) و(مفرداً single او مزدوجاً double الشريط).

## 1. النوع الاول: فيروسات مفردة الشريط موجبة الاتجاه (type I positive-sense ss RNA Viruses)

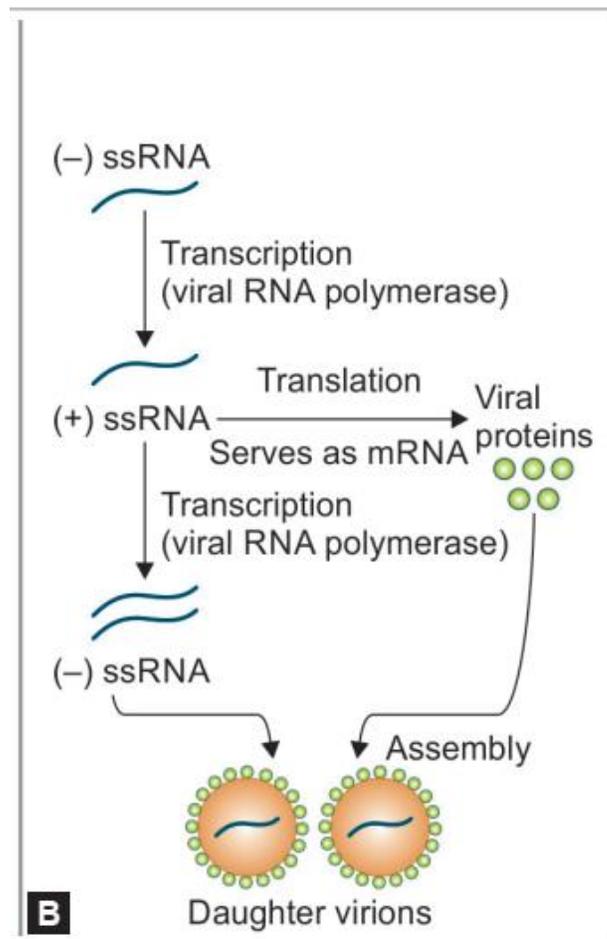
- في معظم فيروسات الحامض النووي الريبوزي (RNA)، يكون الحمض النووي (RNA) الخاص بها له نفس قطبية mRNA، وبالتالي، يمكن ترجمته مباشرة لتكوين بروتينات مبكرة (الشكل A).
- يتم تخليق الحامض النووي (RNA) البنوي progeny RNA : تحتوي البروتينات المبكرة على RNA فعالية انزيم البلمرة RNA polymerase الذي يوجه بتضاعف replication (استنساخ transcription) لـ (+) ssRNA ← (-) ssRNA ← (+) ssRNA
- تتشكل البروتينات المتأخرة Late proteins عن طريق ترجمة (+) ssRNA translation لتكون البروتينات التركيبية المسؤولة عن تكوين capsid.



## II. النوع الثاني: فيروسات مفردة الشريط سالبة الاتجاه (type II (negative-sense ssRNA Viruses)

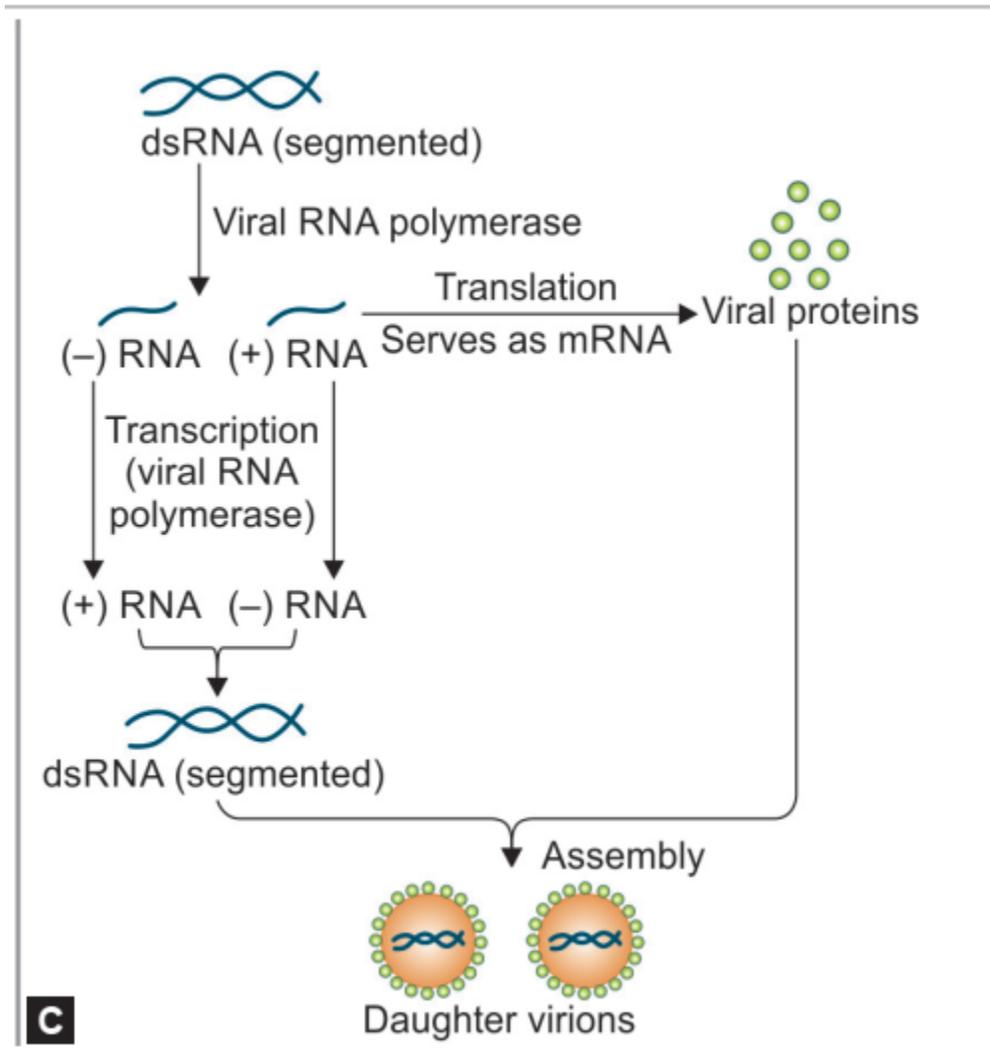
الفيروسات المخاطية Myxoviruses وفيروس داء الكلب rabies virus لها شريط RNA مفرد سالب الاتجاه. إن قطبية الحامض النووي (RNA) لدى تلك الفيروسات معاكسة لقطبية mRNA ، وبالتالي، لا يمكنهم الترجمة translate مباشرة إلى بروتينات (الشكل B).

- في هذه الحالة يُنتسخ شريط ssRNA (-) إلى شريط (+) ssRNA أولاً، باستخدام انزيمات viral RNA polymerases
- ثم تتم ترجمة الشريط (+) ssRNA لتكوين البروتينات ويعمل أيضاً كقالب ويخضع للتضاعف لتكوين نسخ من شريط (-) ssRNA.



## .III النوع الثالث: فيروسات مزدوجة الشريط (type III (Double-stranded RNA Viruses)

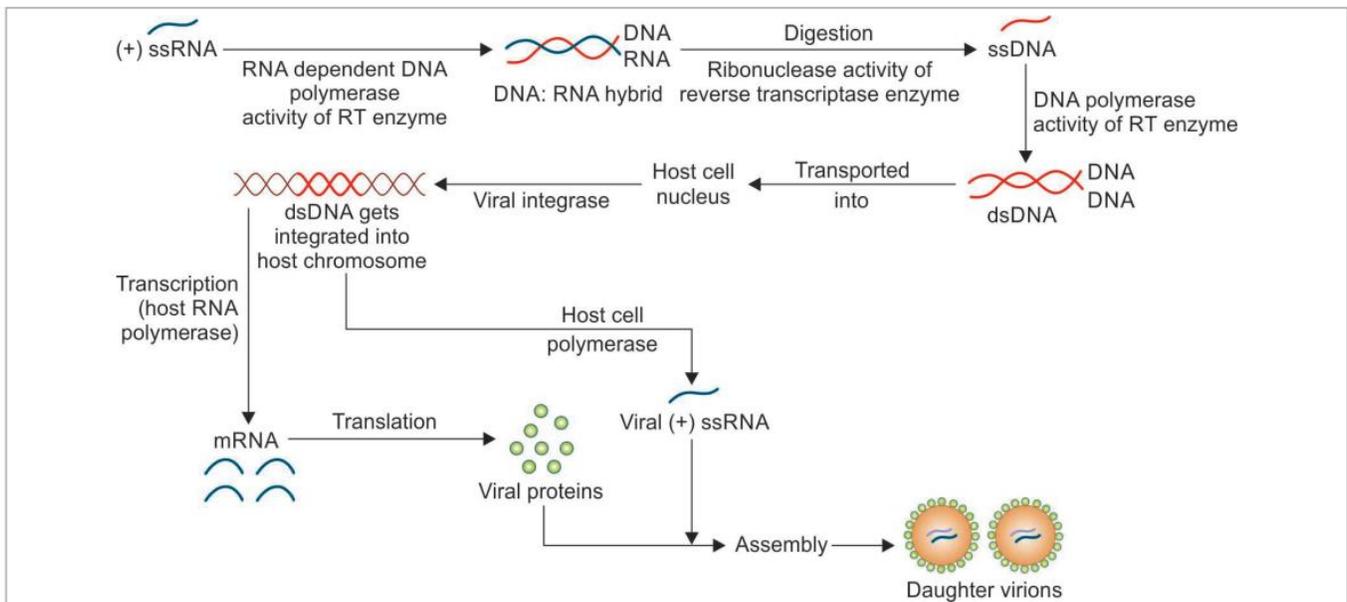
- تحتوي فيروسات Reovirus مثل (فيروس العجلي rotavirus) على شريط dsRNA الذي عادةً يكون مجزأ إلى عدة قطع و كل قطعة تشفر لسلسلة ببتيدية واحدة polypeptide (الشكل C)
- يمكن لشريط الحامض النووي (+) RNA أن يعمل بمثابة mRNA ويخضع للترجمة translation لتكوين بروتينات باستخدام الإنزيمات الفيروسية viral enzymes
  - يعمل كلا الشريطين (+) و (-) كقوالب لتركيب الخيوط التكميلية لتكوين الحامض النووي الفيروسي المزدوج .



#### IV. النوع الرابع: الفيروسات الرجعية ذات الاستنساخ العكسي (type IV (retroviruses)

يمتلك فيروس نقص المناعة البشرية HIV والفيروسات القهقرية retroviruses الأخرى **نسختين من ssRNA الخطي linear** غير المجزأ **non-segmented الموجب الاتجاه (+)** والإنزيمات مثل **انزيم النسخ العكسي reverse transcriptase (RT) وانزيم integrase** (الشكل 4.5).

- بعد دخول الفيروس إلى الخلية المضيفة، يتم نسخ شريط **ssRNA** بشكل عكسي ليكون شريط **ssDNA** بواسطة انزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase الفيروسي الذي يعمل كـ RNA dependent DNA polymerase ليكون **DNA: RNA الهجين**
- يمتلك إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase أيضًا نشاط انزيمي محلل للحوامض النووية يسمى ribonuclease activity الذي من خلاله يهضم الحامض النووي (RNA) من **DNA: RNA الهجين**
- يتم تحويل **الشريط المفرد ssDNA** الناتج إلى **شريط مزدوج dsDNA** بواسطة نشاط DNA polymerase activity لنفس إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase
- يتم نقل **الشريط المزدوج dsDNA إلى النواة nucleus** حيث يتم دمجها في **الكروموسوم المضيف** عن طريق انزيم **integrase الفيروسي**.
- يعمل الحامض النووي المدمج integrated DNA الفيروسي مع كروموسوم الخلية المضيفة كقالب لإنتاج شريط mRNA (الذي يتم ترجمته إلى بروتينات يحتاجها الفيروس) باستخدام انزيم polymerase للخلية المضيف و إنتاج الجينوم RNA البنوي الجديد باستخدام انزيم polymerase للخلية المضيف أيضا



**خامسا : Assembly**

يتم تجميع الحامض النووي الفيروسي Viral nucleic acid والبروتينات proteins معًا لتكوين الفيروسات البنوية الجديدة (الذرية progeny viruses) والذي هو (nucleocapsids). قد يتم التجميع Assembly في \*نواة الخلية المضيفة host cell nucleus أو \*السيتوبلازم cytoplasm.

- يتم تجميع فيروسات DNA viruses في النواة باستثناء (فيروسات الكبد hepadnaviruses وفيروسات الجدري poxviruses) التي يتم في السيتوبلازم
- يتم تجميع فيروسات RNA في السيتوبلازم
- بينما يتم تجميع الفيروسات مثل فيروس نقص المناعة البشرية HIV على السطح الداخلي للغشاء البلازمي plasma membrane للخلية المضيفة

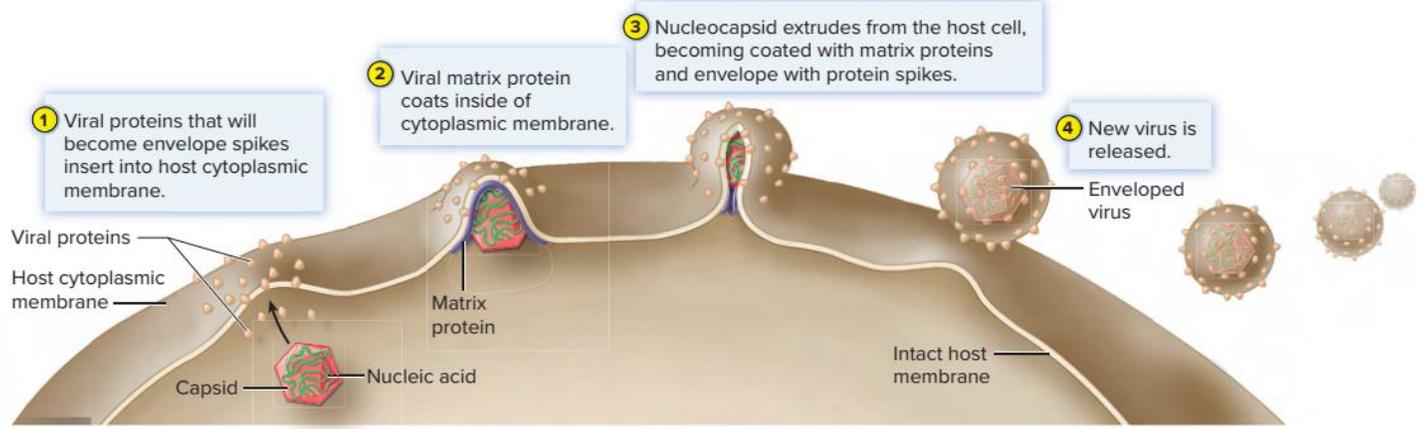
**خامسا : Maturation**

بعد التجميع، يتم نضوج الفيروسات البنوية الوليدة daughter virions إما في نواة الخلية المضيفة أو السيتوبلازم أو الأغشية (جهاز جولجي أو الشبكة الإندوبلازمية أو غشاء البلازما). إذا كان للفيروس غلاف envelope، فإن الفيريون لا يكتمل حتى يتبرعم buds عبر غشاء الخلية المضيف — إما النووي، أو الشبكة الإندوبلازمية، أو غشاء جولجي، أو الغشاء البلازمي — اعتمادًا على الفيروس المحدد.

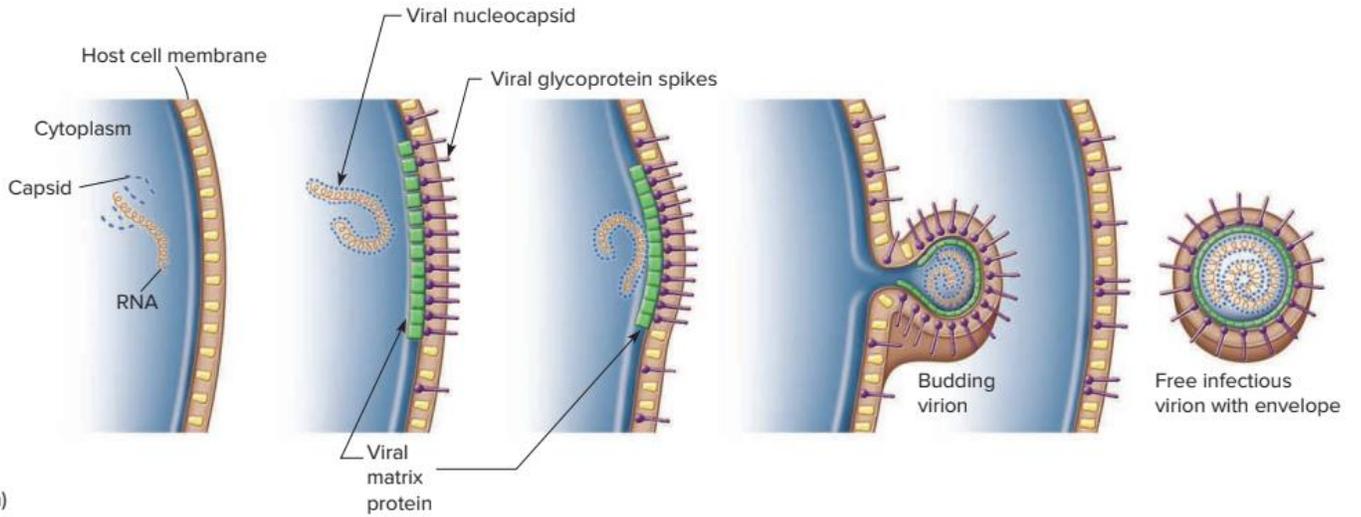
**خامسا : Release**

يحدث إطلاق Release الفيروسات البنوية daughter virions إما عن طريق:

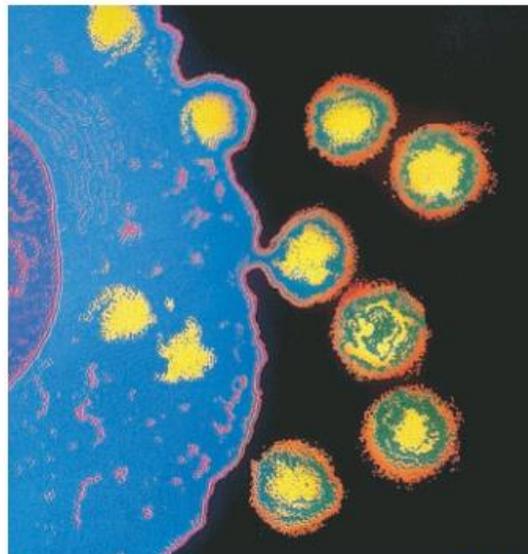
- **تحلل الخلايا المضيفة Lysis of the host cells**: كما هو الحال في الفيروسات غير المغلفة non-enveloped viruses والعائيات bacteriophages، إن تحلل الخلية هذا ليس نتيجة الموت الطبيعي للخلية ولكنه بسبب العدد الكبير من الفيروسات في المضيف.
- **التبرعم Budding**: ويحدث في الفيروسات المغلفة enveloped viruses. أثناء التبرعم، تكتسب الفيروسات البنوية جزءًا من غشاء الخلية المضيفة لتشكل الجزء الدهني من غلافها؛ وبعد ذلك يتم إدخال البروتينات السكرية الفيروسية viral glycoproteins.



(a)

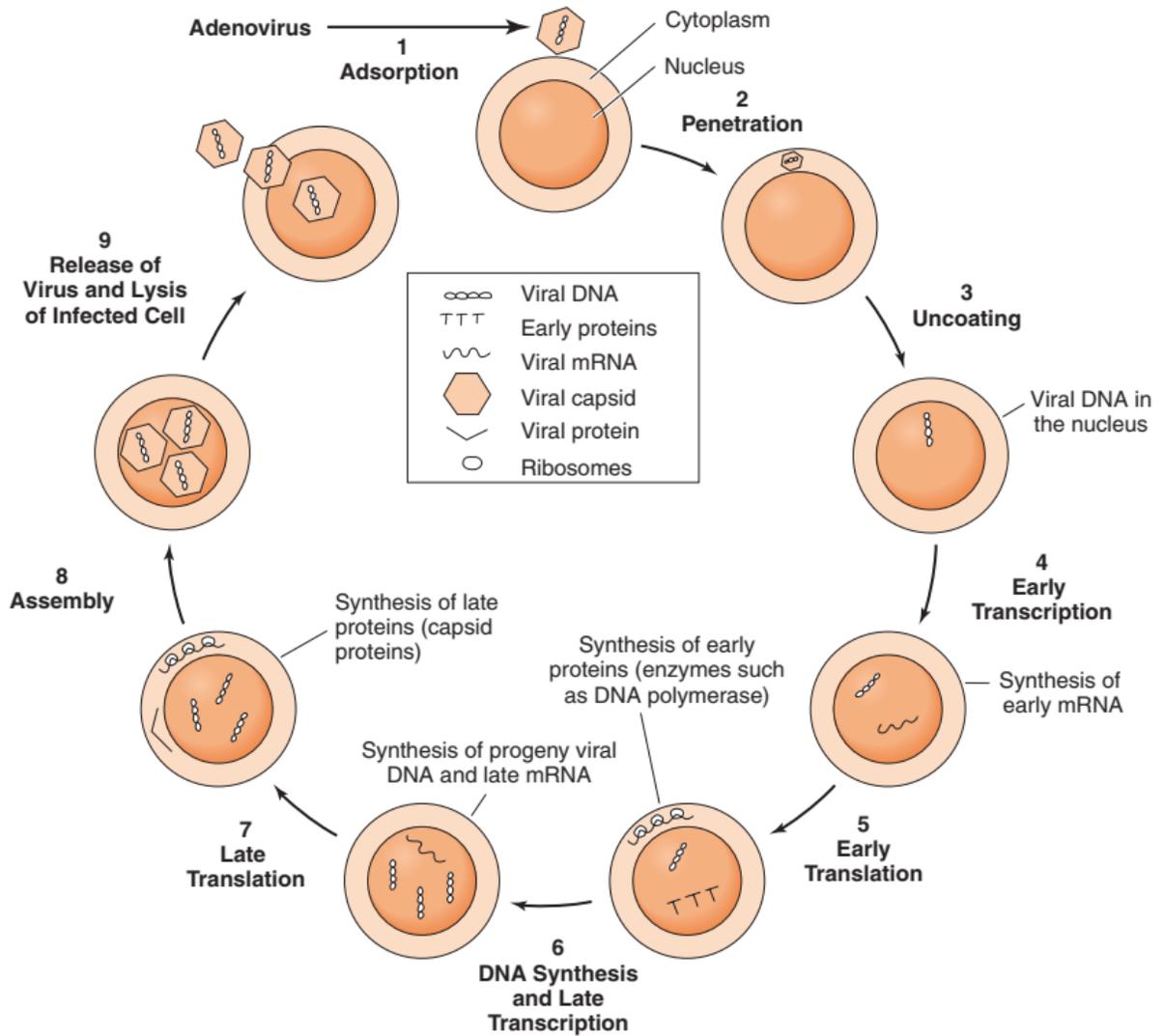


(a)



(c)

TEM



**FIGURE 29-2** Viral growth cycle. The growth cycle of adenovirus, a nonenveloped DNA virus, is shown. (Reproduced with permission from Jaw

Nonenveloped viruses, because they have no lipid membrane and cannot fuse with the cell membrane, always enter the cell via endocytosis.

