

1.2. Welche 6 Infektionsschritte haben alle Viren gemeinsam?

Alle 6 Schritte zusammen nennt man den Infektionszyklus oder die Virusreplikation. Die 6 Schritte sind nahe an die Zelle gekoppelt. Das Virus manipuliert die Zelle, so dass sie ihm hilft, sich zu replizieren.

1. Attachment und Zelleintritt

Die Plasmamembran ist auch für kleine Virusteile eine Barriere. Das Attachment ist ein zufälliger Prozess und dass ein Virus in eine Zelle eindringen kann, ist auch von der Konzentration der Viren abhängig. Als Rezeptoren für das Attachment dienen oft Glykoproteine, die in der Membran verankert sind. Zusätzlich müssen sie an einen Ko-Rezeptor binden. Dies führt zur Fusion oder zur Endozytose.

Behüllte Viren:

Fusion mit der Plasmamembran: Das unbehüllte Viruskapsid befindet sich danach im Zytoplasma und wird über die Mikrotubuli transportiert.

Endozytose: Das Virus befindet sich in einem Endosom, wird auf dem Mikrotubuli-Zytoskelett transportiert. Währenddessen kommt es zur Fusion der Virusmembran und der Endosomenmembran, so wird ein unbehülltes Virus freigesetzt.

Unbehüllte Viren gelangen ebenfalls durch Endozytose oder durch Porenbildung in die Zelle.

2. Uncoating

Als Uncoating bezeichnet man die Freisetzung der viralen Nukleinsäure aus dem Kapsid nach Eindringen eines Virus in die Wirtszelle. Es ist notwendig, um es für die zellulären oder viralen Enzyme zugänglich zu machen, wodurch die Replikation bzw. die Transkription und die Translation stattfinden können. Das Kapsid muss sich also einerseits in der Wirtszelle auflösen, andererseits ausserhalb der Zelle relativ stabil sein zum Schutz des Genoms. Man bezeichnet Viren deshalb als metastabil.

Das Uncoating findet bei den meisten Viren schrittweise statt. Bei behüllten Viren wird das Kapsid bzw. Nukleokapsid bei der Fusion mit einer Membran freigesetzt, entweder mit der Zytoplasmamembran oder mit der Membran eines Transportvesikels im Zellinnern. Dort wird im zweiten Schritt auch das Genom aus dem Kapsid entlassen. Unbehüllte Viren gelangen meist durch Endozytose in die Zelle und setzen ihr Genom entweder aus dem Transportvesikel oder nach dem Andocken an den nuclear pore complex frei.

3. Genomreplikation

Die Nukleinsäure des Virus hat 2 Aufgaben. Einerseits muss sie in funktionsfähige Proteine umgesetzt werden, andererseits muss das Genom selbst repliziert werden, damit die am Ende des Infektionszyklus neu entstandenen Virionen wieder einen Bauplan für ihre Proteine haben. Es gibt viele unterschiedliche Replikationsstrategien, die sich grundlegend unterscheiden zwischen DNA- & RNA-Viren:

1) Bei DNA-Viren unterscheiden sich die Replikationsstrategien wiederum je nach Genomgröße. Grosse DNA-Viren können für ihre eigenen DNA-abhängigen DNA-Polymerasen sowie weitere am Nukleotidstoffwechsel beteiligte Enzyme kodieren. Die Genome kleiner DNA-Viren haben dagegen eine limitierte Kodierungskapazität, wodurch sie auf die Polymerase der Wirtszelle angewiesen sind und nur replizieren können, wenn die

Wirtszelle sich in der S-Phase des Zellzyklus befindet.

Man unterscheidet 2 Arten viraler DNA-Synthese. Viele Viren bilden Replikationsgabeln, bei denen am Leitstrang eine kontinuierliche Synthese und am sogenannten lagging strand eine diskontinuierliche Synthese stattfindet mit Bildung von Okasaki-Fragmenten. Bei der anderen Variante findet eine Strangverdrängung statt. Der neu gebildete Strang bleibt am Vorlagestrang und verdrängt somit den nicht-Vorlagestrang. Dieser wird dann auch noch repliziert. 2) RNA-Viren haben den Nachteil, dass die Wirtszelle keine RNA-abhängige RNA-Polymerase besitzt, das heisst, sie müssen ihre Nukleinsäuresyntheseenzyme im Virion selbst mitbringen. Zudem sind RNA-Sekundärstrukturen wie Pseudoknoten und Haarnadelschleifen wichtig, um Transkription, Replikation und Verpackung des Genoms zu regulieren. Einen Sonderfall stellen die Retroviren dar, die ihr (+)-RNA-Genom zuerst durch das Enzym Reverse Transkriptase, eine RNA-abhängige DNA-Polymerase, in dsDNA umschreiben und diese im Zellkern ins Wirtsgenom einfügen.

4. Transkription und Translation

Bei der viralen Transkription wird das Virusgenom abgelesen und mRNA hergestellt. Je nach Strategie werden die Viren anhand der Baltimore-Klassifizierung eingeteilt.

DNA-Viren können entweder die zellulären DNA-abhängigen RNA-Polymerasen verwenden oder ihre eigenen mitbringen. Letzteres hat den Vorteil, dass sie unabhängig vom Zellzyklus der Wirtszelle repliziert werden können. Ausserdem weist die virale DdR-Polymerase eine erhöhte Fehlerquote auf, wodurch mehr Mutationen entstehen.

Bei RNA-Viren ist die mRNA-Bildung eng mit der Replikation verbunden. In manchen Fällen werden für die beiden RNA-Arten dieselben Enzyme verwendet, bei einigen Viren sind die genomische RNA und die mRNA sogar identisch. Da Wirtszellen keine RdR-Polymerasen exprimieren, müssen alle RNA-Viren ihre Syntheseenzyme im Virion mitbringen.

Nach der Transkription finden posttranskriptionelle Modifikationen statt. Dazu gehören das Capping am 5'-Ende, das Poly-Adenylieren am 3'-Ende und das Spleissen.

Bei der Translation wird die mRNA abgelesen, wobei jeweils ein Basentriplett für eine Aminosäure codiert. Der Prozess findet an zellulären Ribosomen statt, das bedeutet, Viren, die im Zellkern transkribiert werden, müssen zuerst ins Zytoplasma transportiert werden. Die Translation wird also initiiert durch das Binden des Ribosoms an die abzulesende mRNA und durch eukaryotische Translationsfaktoren. Nach der Elongation, die durch eukaryotische Elongationsfaktoren reguliert wird, beenden schliesslich eukaryotische Terminationsfaktoren die Synthese des Proteins.

5. Assembly

Die verschiedenen Viruskomponenten werden meist an unterschiedlichen Orten in der Zelle hergestellt. Wichtig für das Assembly sind intrazelluläre Transportmechanismen, es müssen Proteine, Nukleinsäuren, Kapside und Virionen transportiert werden. Meist ist der Zusammenbau eines Virus auf ein Kompartiment der Zelle begrenzt. Je nachdem wohin die Virenkomponenten müssen, gibt es verschiedene zusammenspiele der Transportmechanismen.

Proteine werden im Zytoplasma hergestellt und müssen entweder in den Zellkern (durch Zellkernlokalisierungssignal und so durch Kernporen) oder an die Membran (durch Signalpeptide werden die Proteine während der Translation ins ER transloziert, von dort

gelangen sie in Transportvesikeln zum Golgiapparat und von dort werden sie dann an die Zytoplasmamembran transportiert und fusioniert dort mit dieser) transportiert werden. Nukleinsäuren werden abhängig vom Ort der Replikation und vom Ort des Assembly, aus dem Zellkern, durch das Zytoplasma und in das Kapsid transportiert.

Das Kapsid muss durch verschiedene Membranen transportiert werden, dies passiert durch Knospung oder Fusion mit zellulären Membranen. Durch das Zytoplasma muss das Kapsid oder auch das Virion auf dem Zytoskelett transportiert werden, mit Hilfe von Motorproteinen.

Alle Viren bestehen mindestens aus einem Kapsid, einem Nukleokapsid und einer Nukleinsäure. Zum Teil kommt noch eine Membranhülle dazu.

Einige der Viren sind direkt nach dem Assembly noch nicht infektiös und brauchen noch vor/während oder nach dem Zellaustritt einen Reifungsprozess. (HIV)

6. Zellaustritt

Die Art des Zellaustritts wird durch den Assembly-Ort und durch das Vorhandensein einer Membranhülle bestimmt.

Behüllte Viren: Einig erwerben die Membranhülle erst an der Zytoplasmamembran, somit ist das Assembly mit dem Zellaustritt bei diesen Viren gekoppelt. (Rhabdovirus) Dort findet der Zellaustritt durch Knospung statt. Das Virus wird von der Membran umgeben und bildet ein Vesikel, welches von der Zytoplasmamembran abgeschnürt wird. Andere erwerben die Membranhülle von einer inneren Membran und werden dadurch bereits im Zellinnern in Vesikel verpackt. Anschliessend werden sie über das Mikrotubuli Zytoskelett zur Zellmembran gebracht. Sie fusionieren dort mit dieser und werden entlassen.

Unbehüllte Viren: Bei einigen Viren wird die Zelle bei der Virusreplikation lysiert und so gelangen die Viren in den extrazellulären Raum. Andere Viren induzieren die Bildung eines Vesikels im Zellinnern, sie treten durch Fusion der Vesikelmembran mit der Zellmembran aus der Zelle aus.

Einzelne Viren können auch direkt von Zelle zu Zelle gelangen. Durch Kontakt einer infizierten Zelle mit einer nicht infizierten bildet sich eine virologische Synapse, dadurch können die Viren in die anderen Zellen übertreten, ohne den extrazellulären Raum zu durchqueren.