

Viral Genomik, Çeşitlilik ve Ekoloji

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Mikrobiyoloji

Bölüm 10

Zika'nın Beklenmedik Yükselişı

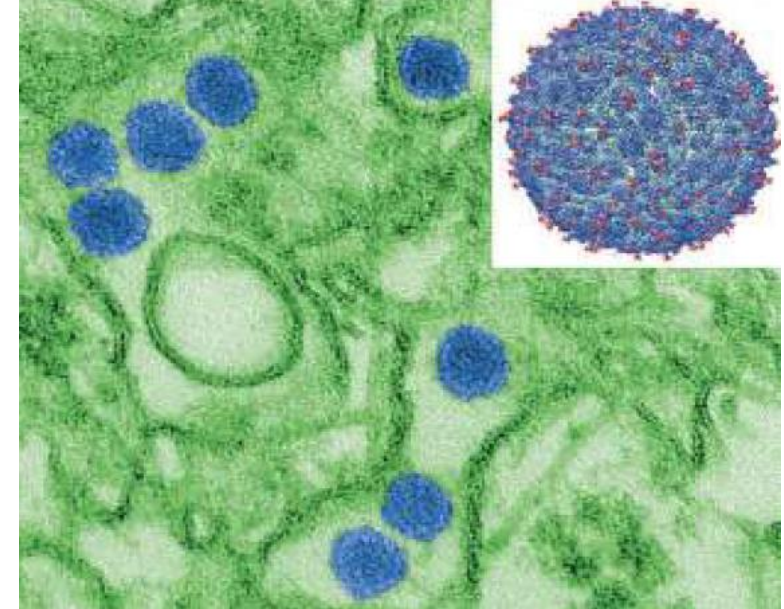
- 2016 öncesinde Zika, sivrisineklerle bulaşan ve çoğu kişide hafif grip benzeri belirtiler oluşturan nispeten iyi huylu bir hastalık olarak biliniyordu.
- Güney Amerika, Orta Amerika ve Meksika'daki son salgınlarda Zika enfeksiyonlarının hamile kadınlarda mikrosefali ile ilişkilendirilmesi, virüsü küresel bir endişe haline getirdi.
- Cinsel yolla bulaşma bildirimlerinin de ortaya çıkmasıyla, Dünya Sağlık Örgütü Zika'yı "uluslararası düzeyde halk sağlığı acil durumu" ilan etti.

Zika Virüsünün Yapısal Özellikleri

- Zika, zarlı bir kapside sahip, tek iplikli pozitif polariteli RNA genomu bulunduran ikozahedral bir virüstür.
- Flaviviridae ailesinin bir üyesi olarak dengue (Dang ateşi), sarı humma ve Batı Nil virüsleriyle benzerlik taşır.
- Zika'nın merkezi sinir sistemine girebilmesi ve plasentayı geçebilme potansiyeli, bu virüsü akraba virüslerden ayıran kritik özelliklerdir.

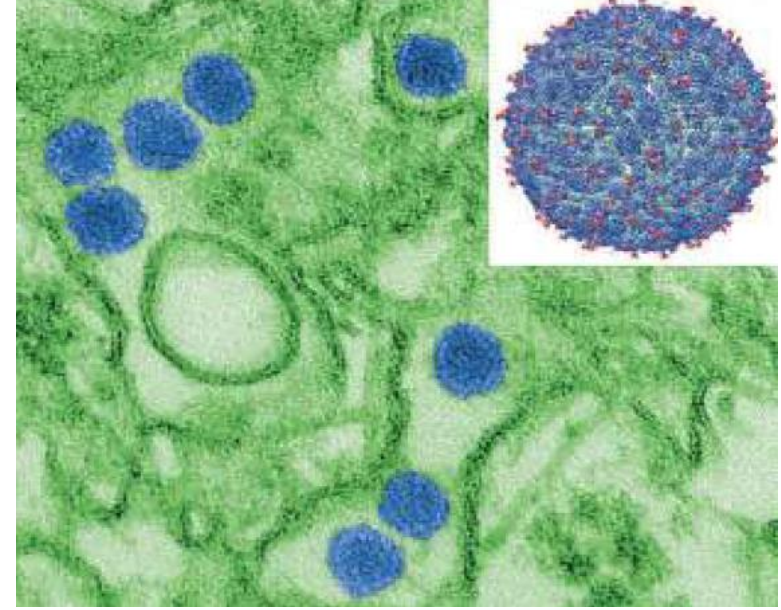
Gelişmiş Görüntüleme Teknikleri ile Zika'nın İncelenmesi

- Araştırmacılar, Zika virionunun yapısını çözümlmek için ileri düzey görüntüleme yöntemlerine yönelmiştir.
- Yandaki görüntüde, 40 nm çapındaki Zika virionlarını gösteren renklendirilmiş bir transmisyon elektron mikrografı ve olgun bir Zika virionunun atomik düzeye yakın çözünürlükte 3 boyutlu cryo-elektron mikrografı yer almaktadır.
- Yapılan 3D analizde, kapsidi oluşturan 180 proteinin her biriyle ilişkili benzersiz bir karbonhidrat grubunun varlığı ortaya çıkarılmıştır.



Zika'nın Hücre Tropizmini Açıklayan Yapısal İpuçları

- Araştırmacılar bu benzersiz karbonhidrat grubunun Zika'nın sinir hücrelerine bağlanma kapasitesinin anahtarı olabileceğini düşünmektedir.
- Bu yapının doğrulanması halinde, söz konusu bölge hem tedavi hem de koruyucu ilaç geliştirilmesi için umut verici bir antiviral hedef olarak değerlendirilebilir.
- Aynı zamanda bu yapısal çözümleme, virüsün saldırı mekanizmasını anlamaya yönelik önemli bir temel sağlamaktadır.



Yapısal Haritanın Sağlığa Katkıları

- Elde edilen yapısal verilerin gelecekte aşı geliştirme süreçlerinde kritik bir rol oynayabileceği belirtilmektedir.
- Şimdilik ise bu çalışmalar, tanı ve tespit süreçlerinde kullanılabilecek ayırt edici bir “Zika parmak izi” oluşturmıştır.
- Araştırma bulguları, temel bilim çalışmalarının insan sağlığını iyileştirme potansiyelini bir kez daha gözler önüne sermektedir.

Virüslerin Çeşitliliği ve Evrensel Önemi

- Virüsler tüm organizmaları enfekte eder ve yeryüzündeki en büyük genetik çeşitlilik deposunu oluşturur.
- Bu bölümde viral çeşitlilik hem genomik hem de ekolojik açıdan ele alınmaktadır.
- Bölüm aynı zamanda bölüm 8'de tanıtılan temel viroloji kavramlarının yeniden pekiştirilmesini amaçlamaktadır.

Viral Genomlar ve Evrimsel Bağlam

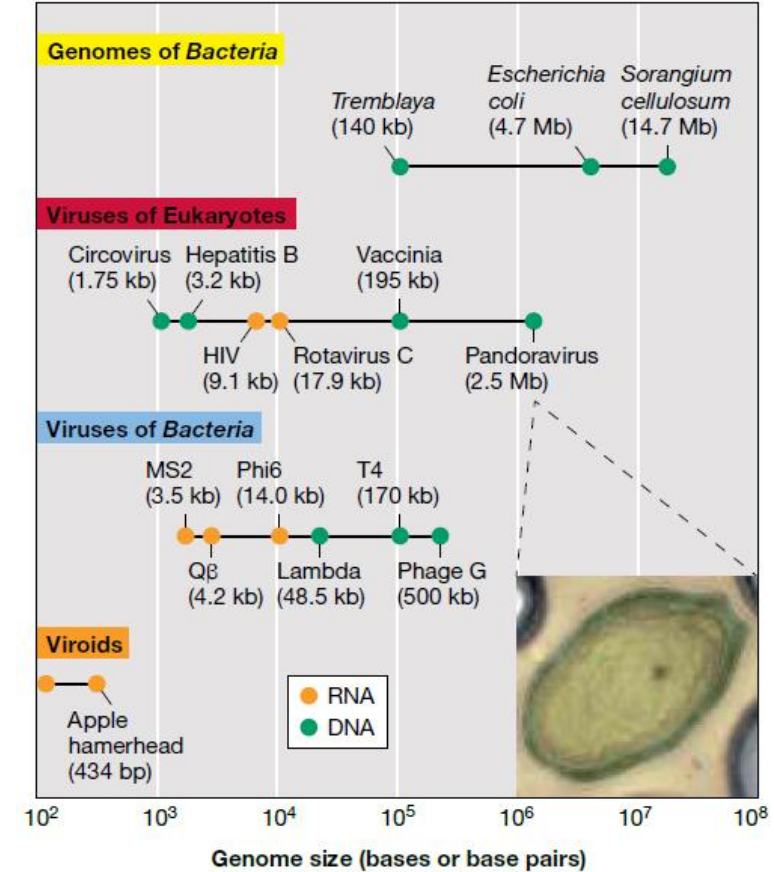
- Virüslerin genomları DNA veya RNA olabilir ve bu genomlar tek ya da çift iplikli olabilir.
- Viral genomlar, hücresel organizmalara kıyasla genetik bilgi akışında alışılmadık zorluklar yaratabilmektedir.
- Bu nedenle virüsler, enfekte ettikleri canlılara göre değil, genom yapılarına göre sınıflandırılarak ele alınmaktadır.

Konak Yelpazesi ve Viral Kökenler

- Aynı genom yapısına sahip virüslerin genetik bilgi akışında benzer problemlerle karşılaşması, onları bu şekilde sınıflandırmayı anlamlı kılmaktadır.
- Bölümde virüslerin yaşamın tüm alanlarındaki hücreleri nasıl enfekte ettiği ele alınmaktadır.
- Ayrıca virüslerin ortaya çıkışına ve yaşam ağacındaki yerine ilişkin varsayımlar özetlenmektedir.

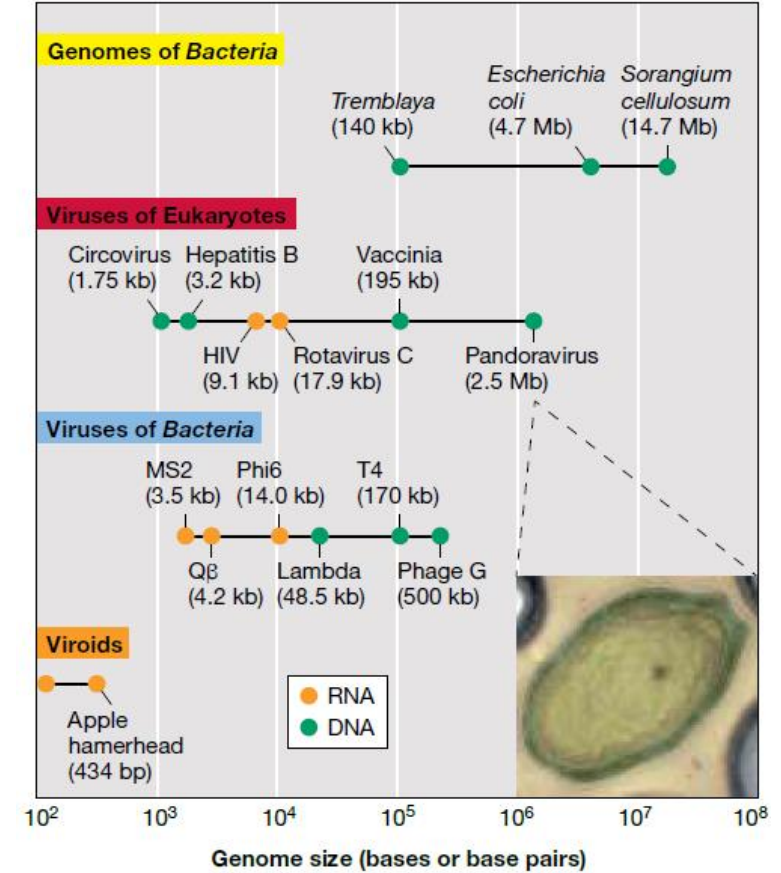
Viral Genomların Boyutu ve Yapısı

- Viral genom boyutları en küçükten en büyüğe doğru yaklaşık bin katlık bir değişim göstermektedir.
- DNA virüsleri bu aralığın tamamında yer alırken, en küçük tek iplikli circovirus genomu 1.75 kilobaz olup, Pandoravirus'un 2.5 megabazlık çift iplikli DNA genomuyla kıyaslandığında son derece küçüktür.



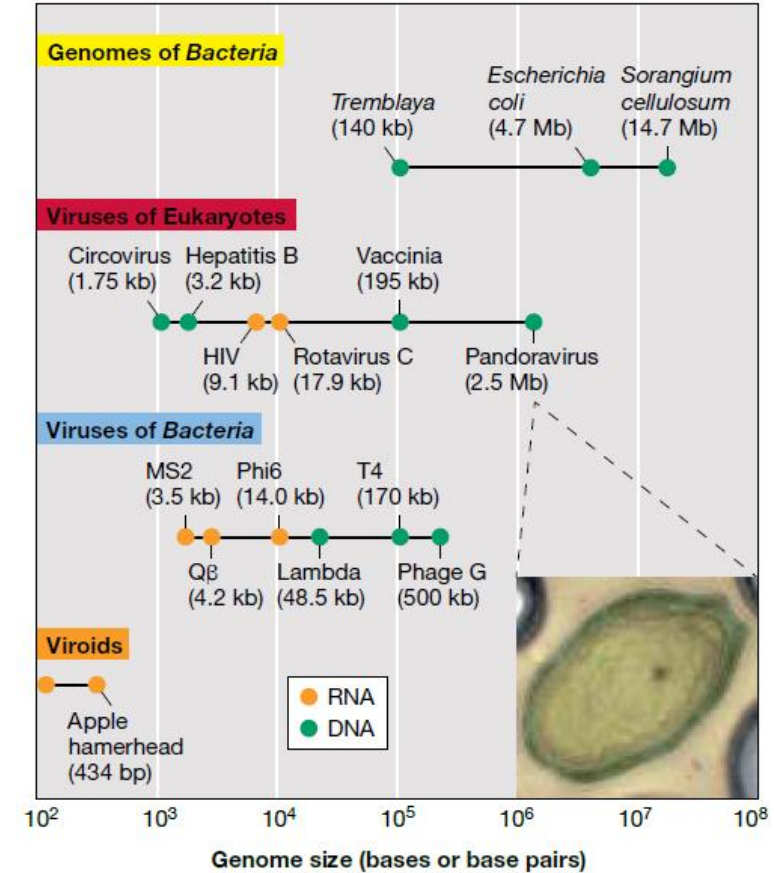
Viral Genomların Boyutu ve Yapısı

- Pandoravirus'un genomu önceki en büyük virüs olarak bilinen Mimivirus'un genomundan bile büyüktür ve bazı Bakteri ve Arkea türlerinin genomlarını aşmaktadır.
- Pandoravirus'un $1\ \mu\text{m} \times 0.5\ \mu\text{m}$ boyutları, onu bazı bakteriyel hücrelerden bile daha büyük hale getirmektedir.



RNA Genomları ve Viroidler

- RNA genomları, tek ya da çift iplikli olmalarına bakılmaksızın genellikle DNA virüslerinin genomlarından daha küçüktür.
- Bazı viral genomlar prokaryotik hücre genomlarından büyük olsa da, Bakteri ve Archaea'nın genomları çoğu virüsten çok daha geniştir.
- Ökaryotların genomları tüm canlılar içinde en büyük genomlara sahiptir.
- Bitkilerde hastalık yapan çıplak enfeksiyöz RNA molekülleri olan viroidler, tüm mikrobiyal varlıklar içinde en küçük genomlara sahiptir.



Genomun Rolü ve Viral Replikasyon Süreci

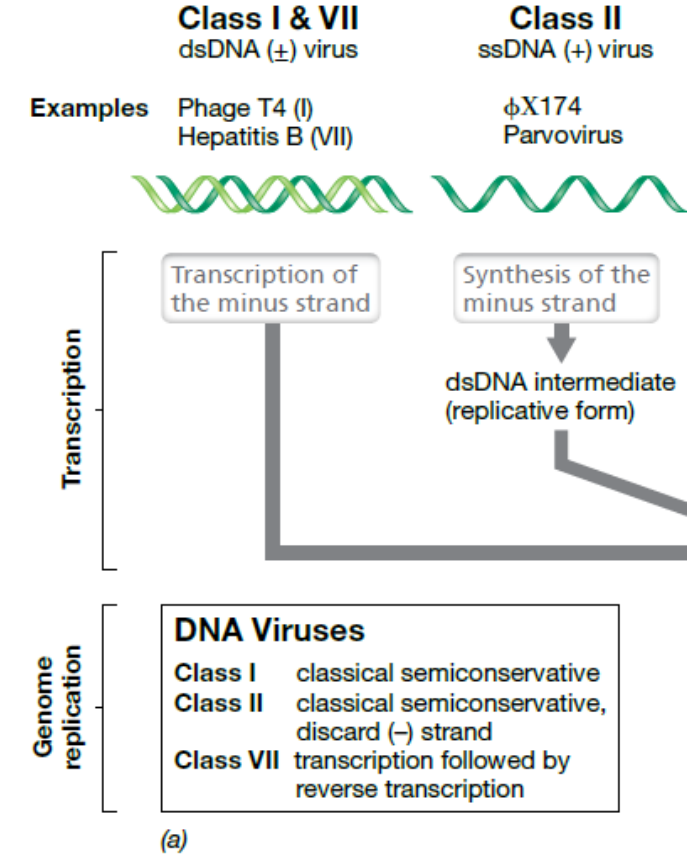
- Bir virüsün genomu büyük ya da küçük olsun, enfeksiyon sonrası önce viral genlerin transkripsiyonu ve genomun yeni kopyalarının üretilmesi gerekir.
- Viral transkriptlerin çevrilmesiyle viral proteinler ortaya çıktığında, virionların bir araya gelme süreci başlar.
- Bazı RNA virüslerinde genom aynı zamanda mRNA olarak görev yaparken, çoğu virüste mRNA'nın DNA veya RNA genomundan uygun biçimde transkripsiyonla üretilmesi gerekir.
- Bu nedenle bölümün devamında, farklı virüslerin mRNA üretim yollarındaki çeşitlilikler ele alınacaktır.

Baltimore Şemasının Temeli

- David Baltimore, viral genom ile mRNA arasındaki ilişkiyi esas alan bir sınıflandırma geliştirmiş ve bu şemada yedi farklı virüs sınıfını tanımlamıştır.
- Virolojide geçerli olan bir kurala göre viral mRNA daima artı konfigürasyonda kabul edilir ve bu nedenle her bir virüs sınıfının mRNA üretim adımlarını anlamak için genom yapısının bilinmesi gerekir.
- Bu sınıflandırma, bir virüsün artı anlamlı mRNA'yı nasıl ürettiğini belirleyen genom tipine ve bu süreçte gerekli moleküler adımlara dayanır.

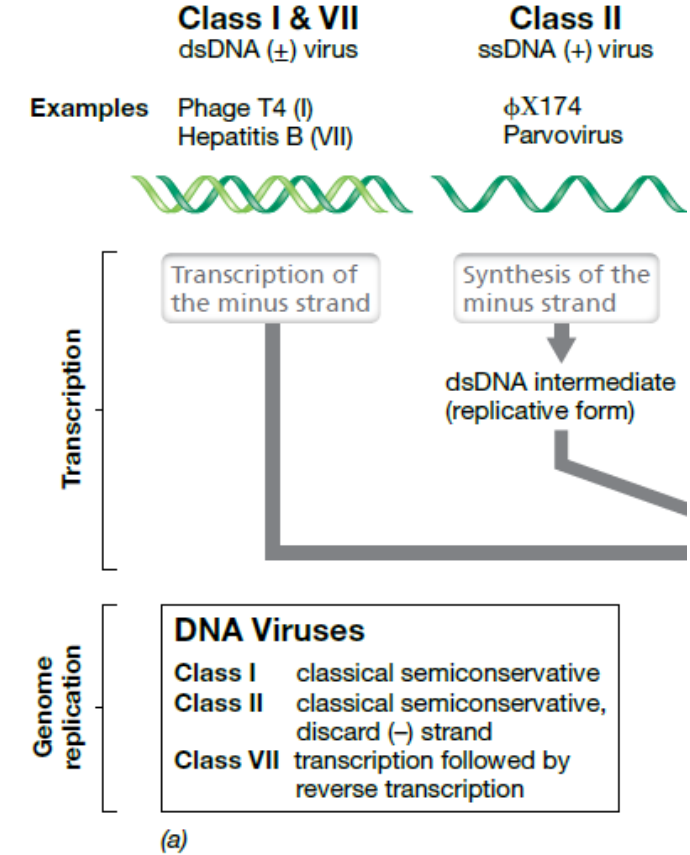
Çift Sarmallı DNA Virüsleri: Sınıf I

- Çift sarmallı DNA virüsleri Baltimore sınıf I içinde yer alır ve mRNA üretimi ile genom replikasyonu konak hücrenin mekanizmaları ile aynıdır.
- Bakteriyofaj T4, bu sınıfa ait tipik bir örnektir ve bu virüslerde mRNA sentezi için özel bir mekanizma kullanılmaz.
- Bu sınıfta genom organizasyonu çift sarmallı olduğu için transkripsiyon, konak hücrenin kullandığı düzenin doğal bir devamı niteliğindedir.



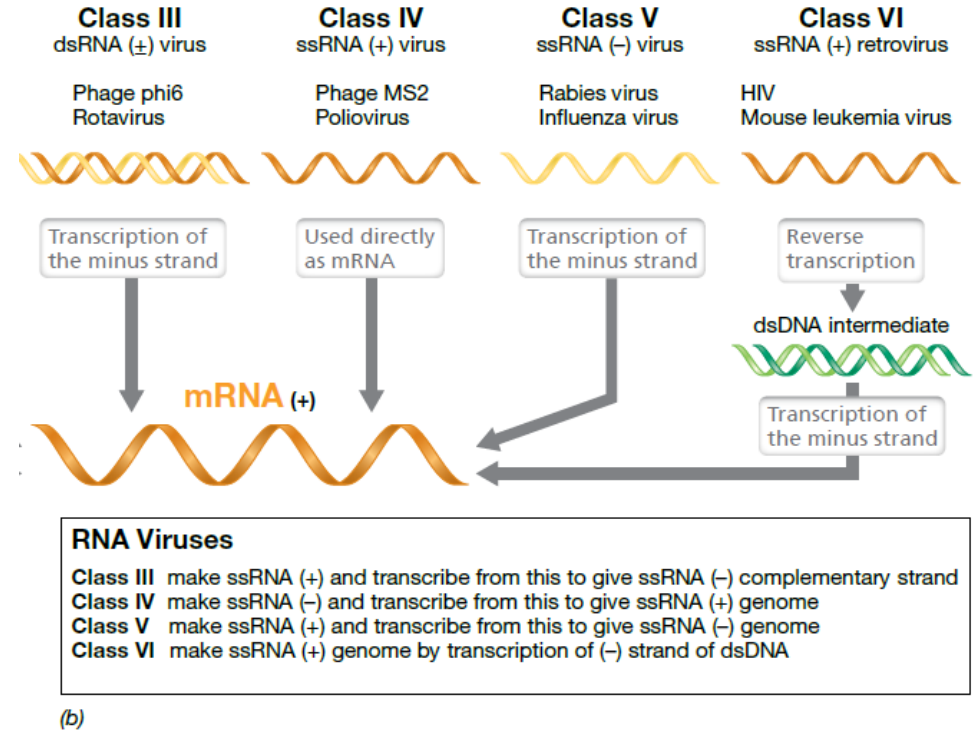
Tek Sarmallı DNA Virüsleri: Sınıf II

- Tek sarmallı DNA virüsleri ya artı anlamlı ya da eksi anlamlı olabilir, ancak bilinen hemen tüm tek sarmallı DNA virüsleri artı anlamlıdır.
- Sınıf II virüslerinde genom artı anlamlı tek bir DNA zinciridir ve bunun doğrudan transkripsiyonu eksi anlamlı bir mesaj üretir.
- Bu nedenle mRNA sentezinden önce genomun çift sarmallı bir “replikatif form”a dönüştürülmesi gerekir ve yeni genom kopyaları bu çift sarmallı ara yapıdan üretilir.
- Yeni kopyalarda artı zincir genom haline gelirken eksi zincir atılır.



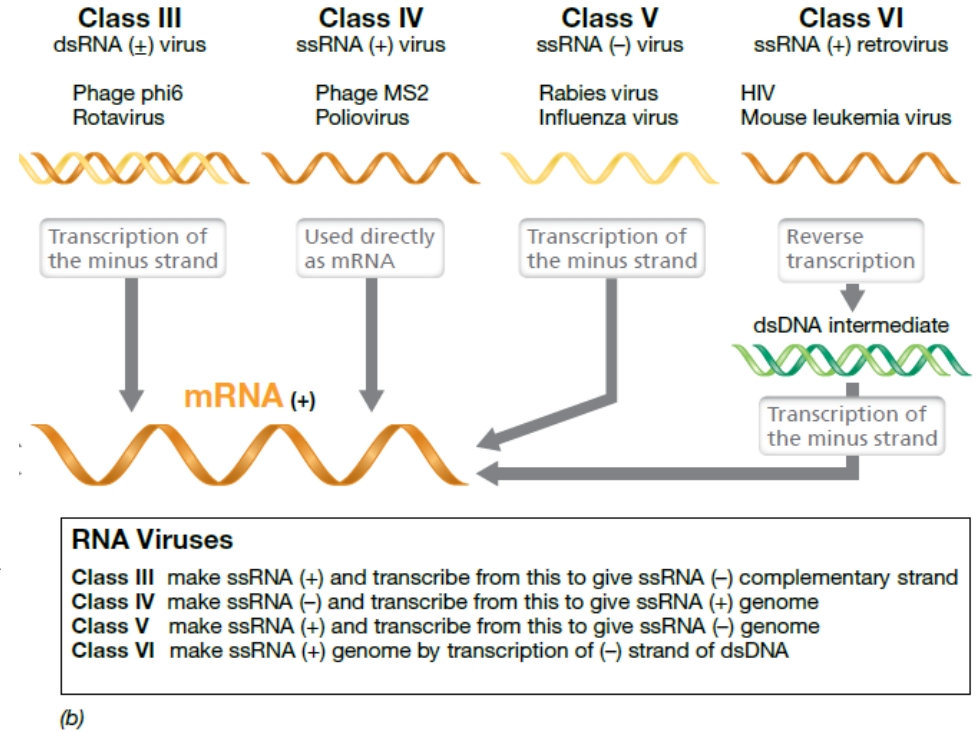
RNA Virüslerinin Temel Zorluğu

- RNA virüslerinde mRNA üretimi ve genom eşlenmesi DNA virüslerinden farklıdır çünkü hücresel RNA polimerazlar RNA'dan RNA sentezleyemez.
- Bu nedenle RNA virüsleri, genomlarında kodlanmış veya virion içinde taşınan bir RNA-bağımlı RNA polimeraza, yani RNA replikaza ihtiyaç duyar.
- RNA virüslerinin kullandığı RNA replikaz, hem mRNA üretimi hem de genom çoğaltımı için zorunlu bir enzimdir.



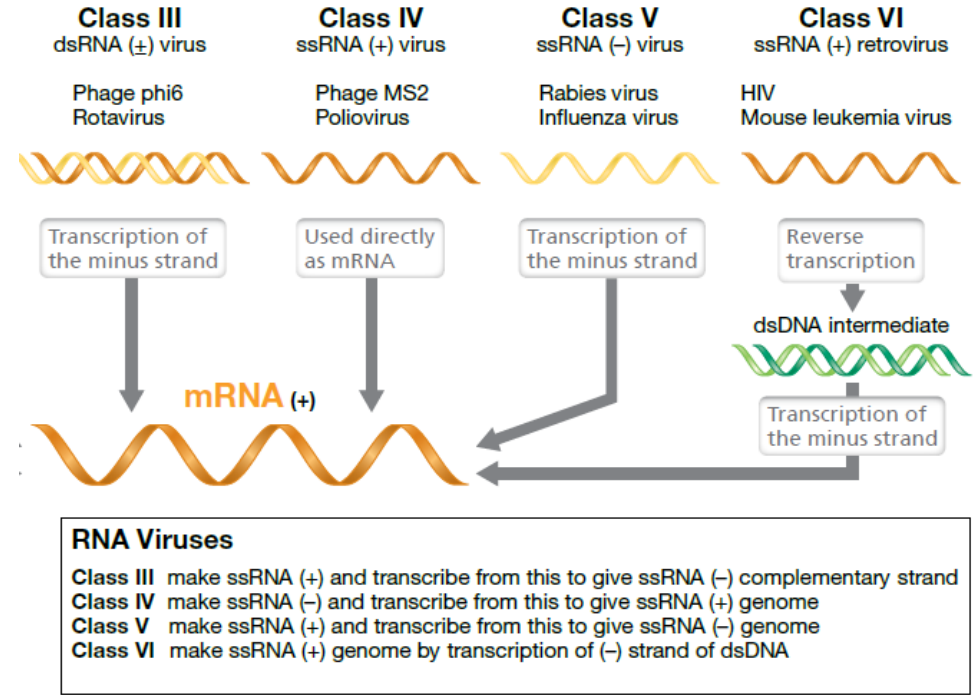
Artı ve Eksi Anlamalı RNA Virüsleri

- Artı anlamalı RNA virüslerinde (sınıf IV) genom aynı zamanda mRNA görevi görebilir ve doğrudan translasyona katılabilir.
- Eksi anlamalı RNA virüslerinde (sınıf V) RNA replikaz, eksi anlamalı genomdan artı anlamalı RNA sentezler ve bu artı zincir hem mRNA hem de yeni genom üretiminde kullanılır.
- Çift sarmallı RNA virüsleri (sınıf III) ise artı veya eksi zincirden değil, çift sarmallı RNA yapısından yola çıkarak benzer bir sorunla karşılaşır.



Retrovirüsler ve Sınıf VI

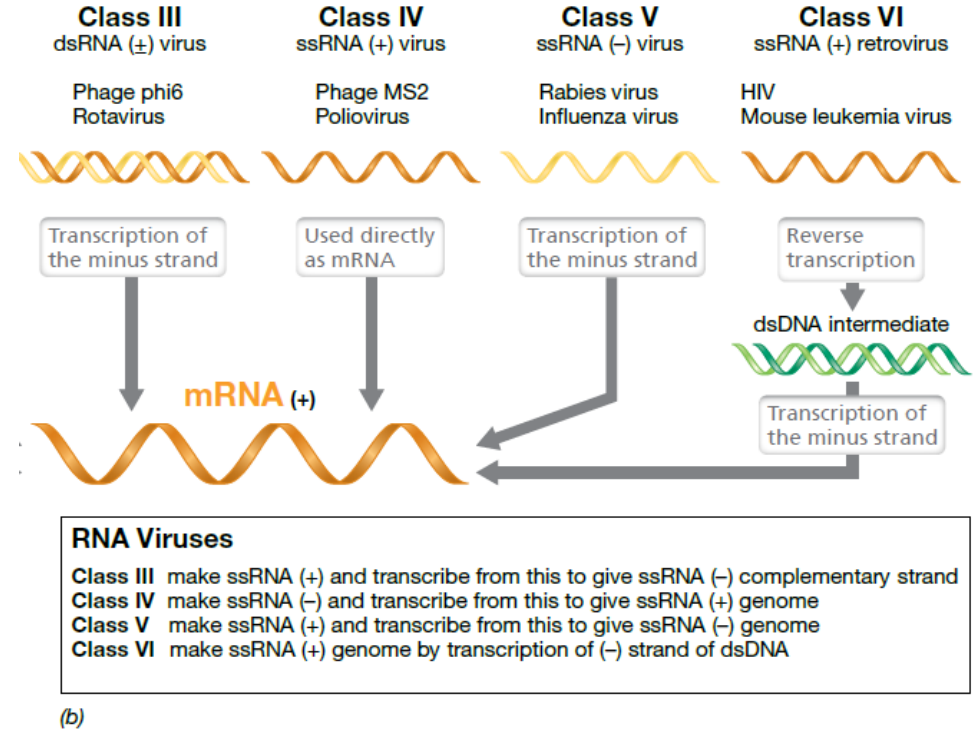
- Retrovirüsler, artı anlamlı tek sarmallı RNA genomuna sahiptir ancak replikasyonları çift sarmallı bir DNA ara formu üzerinden gerçekleşir (sınıf VI).
- RNA'daki bilginin DNA'ya kopyalanması "ters transkripsiyon" olarak adlandırılır ve bu süreci revers transkriptaz enzimi katalizler.
- İnsan immün yetmezlik virüsü HIV, bu sınıfa ait iyi bilinen bir örnektir.



(b)

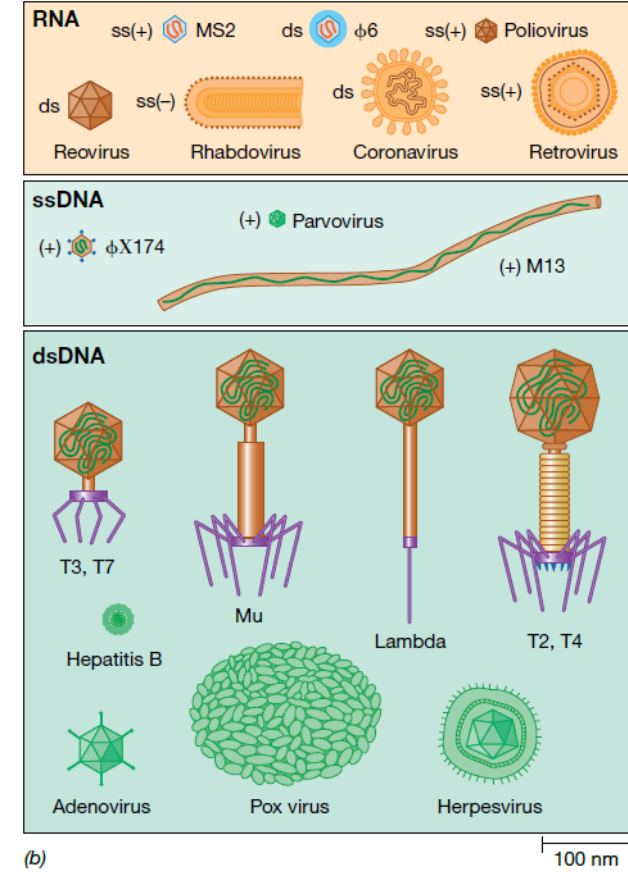
Sınıf VII Virüsleri

- Sınıf VII virüslerinin genomu çift sarmallı DNA'dır ancak replikasyonları bir RNA ara formu üzerinden ilerler.
- Bu virüsler de tıpkı retrovirüsler gibi revers transkriptaz kullanır.
- Hepatit B virüsü, bu sınıfa ait tipik bir örnektir.



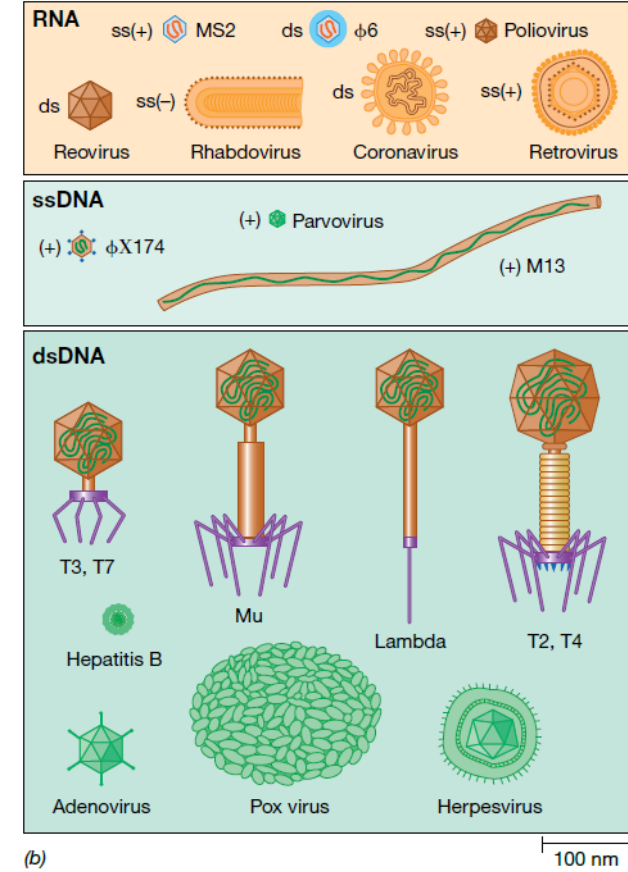
Baltimore Sınıflarının Konak Alanları

- Her Baltimore sınıfındaki virüsler belirli hücresel domainlerde görülür ve her domain tüm sınıflara ev sahipliği yapmaz.
- Archaea sadece iki Baltimore sınıfına, Bacteria ise yalnızca dört sınıfa ev sahipliği yaparken, hayvanlarda tüm yedi sınıfa ait virüsler bulunur.
- Yandaki figürde her sınıftan virüs örnekleri ölçekli şekilde gösterilmiştir.



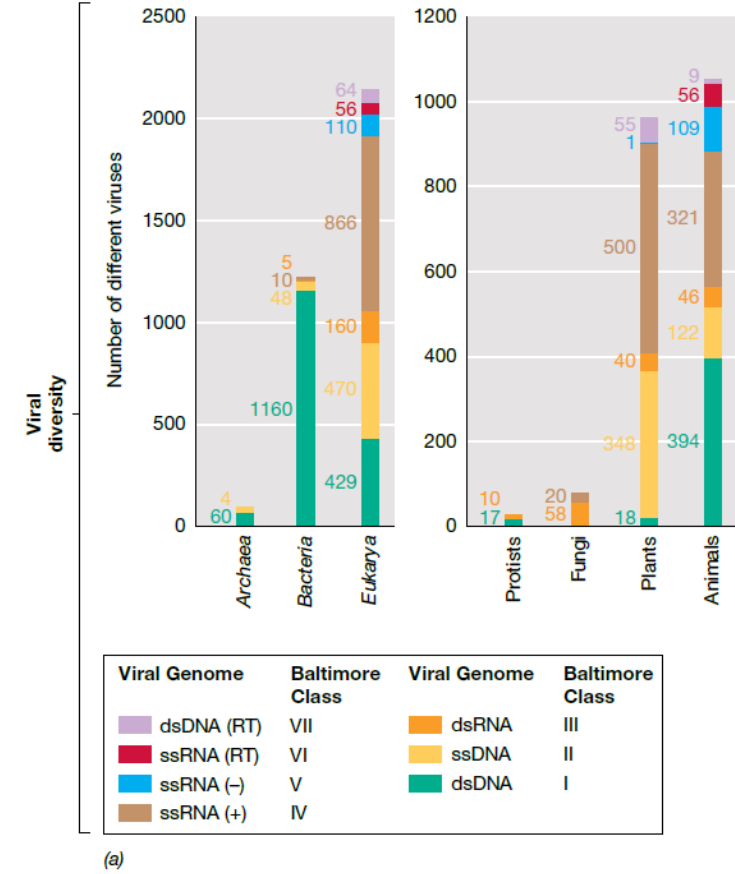
Konak Tercihlerindeki Çeşitlilik

- Çift sarmallı DNA virüsleri (sınıf I) prokaryotlarda baskınken, artı anlamlı RNA virüsleri (sınıf IV) ökaryotların başlıca viral predatörleridir.
- Bilinen verilere göre mantarlar yalnızca sınıf III ve IV'e ait RNA virüsleri tarafından enfekte edilir.
- Sınıf I virüslerinin çoğu hayvanları, sınıf II virüslerinin ise büyük bir bölümü bitkileri enfekte eder.



Konak Tercihlerindeki Çeşitlilik

- Eksi anlamlı RNA virüsleri (sınıf V) esas olarak hayvanlarda görülürken retrovirüsler sadece hayvan konaklarda bulunur ve sınıf VII virüsleri bitkilerde hayvanlara göre çok daha yaygındır.



Viral Kökenler ve Evrimsel Notlar

- Viral sınıfların konak tercihlerinin nedenleri açık olmasa da bazı sınıfların daha geç ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir.
- Ancak hesaplamalı analizler, özellikle RNA virüslerinin çok eski bir kökene sahip olduğunu desteklemekte ve bu hipotezin olası olmadığını göstermektedir.
- Bu bulgular, viral çeşitliliğin yaşam tarihinin erken dönemlerine kadar uzandığını düşündürmektedir.

Viral Protein Sentezinin Başlangıcı

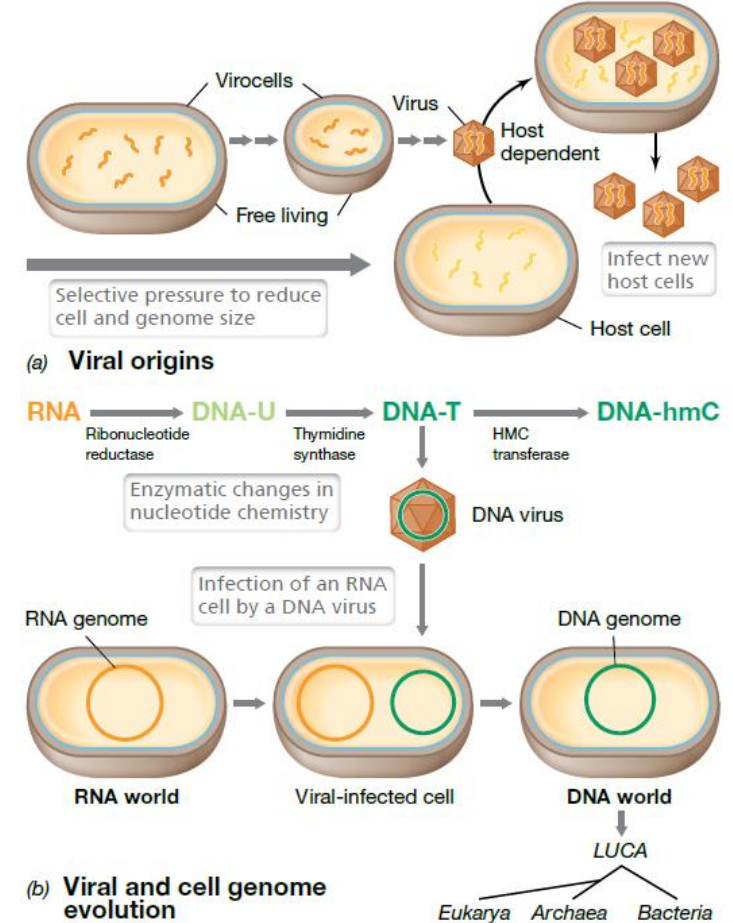
- Viral mRNA üretildikten sonra, virüsün proteinleri sentezlenmeye başlar ve bu proteinler erken ve geç proteinler olmak üzere iki gruba ayrılır.
- Erken proteinler enfeksiyondan kısa süre sonra üretilen ve genellikle enzimlerden oluşan küçük miktarlardaki proteinlerdir.
- Bu erken proteinler arasında nükleik asit polimerazlar ve konak hücrenin transkripsiyon ve translasyonunu durduran proteinler yer alır.

Geç Proteinler ve Virion Oluşumu

- Geç proteinler, virionun yapısal bileşenlerini oluşturan ve yüksek miktarda sentezlenen proteinlerdir.
- Viral enfeksiyon, konak hücrenin düzenleyici mekanizmalarını bozarak viral nükleik asit ve proteinlerin aşırı üretimine yol açar.
- Uygun oranda genom ve yapısal bileşen biriktiğinde yeni virionlar genellikle spontan şekilde bir araya gelir.
- Virionlar hücreyi parçalayarak ya da tomurcuklanma ile hücreyi öldürmeden dışarı çıkarak hücreyi terk eder.

Virüslerin Kökeni Üzerine Temel Sorular

- Virüslerin Dünya’da ilk ne zaman ortaya çıktığı ve hücrelerle olan ilişkilerinin nasıl başladığı henüz kesin olarak bilinmemektedir.
- Tüm bilinen virüslerin çoğalmak için bir konak hücreye ihtiyaç duyması, onların hücrelerden sonra evrimleştiğini düşündürmektedir.
- Bu görüşe göre virüsler, hücresel bileşenlerin zaman içinde hücrenin yardımıyla çoğalabilme yeteneği kazanmış kalıntıları olabilir.
- Ancak virüslerin kökeni için “RNA Dünyası” kalıntıları olma veya hücre öncesi dönemin ilk yaşam formları olma gibi alternatif hipotezler de vardır.



Virüslerin Ortaya Çıkışına Yön Veren Olası Etmenler

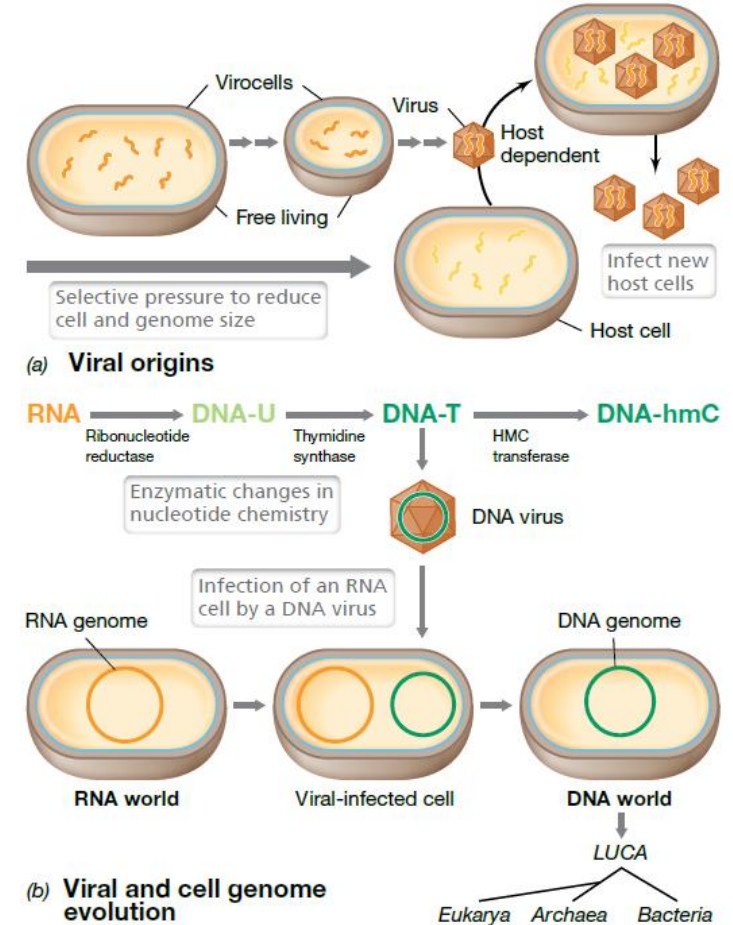
- Virüslerin neden ortaya çıktığı sorusu da belirsizdir, ancak genlerin doğada hızlı taşınmasını sağlayan bir mekanizma olarak seçilmiş olabilecekleri düşünülmektedir.
- Virüslerin nükleik asidi koruyan hücre dışı forma sahip olmaları, konaklar arası gen aktarımını kolaylaştırarak onların genetik çeşitliliğini ve uyum başarısını artırmış olabilir.
- Bu fonksiyon özellikle prokaryotlarda önem taşır çünkü yatay gen aktarımı onların hızlı evriminde büyük bir rol oynamaktadır.
- Erken dönemdeki virüslerin çoğunun latent olabileceği ve lizis yeteneklerinin daha sonra yeni konaklara hızlı erişim için geliştiği düşünülmektedir.

Proteomik Analizler ve Virüslerin Evrimsel Konumuna Dair Zorluk

- Virüsler ribozom içermediğinden, rRNA dizilerine dayalı evrensel yaşam ağacında konumlandırılammışlardır.
- Geniş bir virüs grubunun proteomlarının hücrel organizmalarla karşılaştırılması için güçlü hesaplama yöntemleri geliştirilmiştir.
- Proteomik veriler ve protein katlanma desenleri, virüslerin nasıl ortaya çıktığına ve çeşitlendiğine dair yeni bilgiler sunmaktadır.
- Bu yaklaşımlar, virüslerin kökenine ilişkin klasik filogenetik yöntemlerin açıklayamadığı noktaları aydınlatmaktadır.

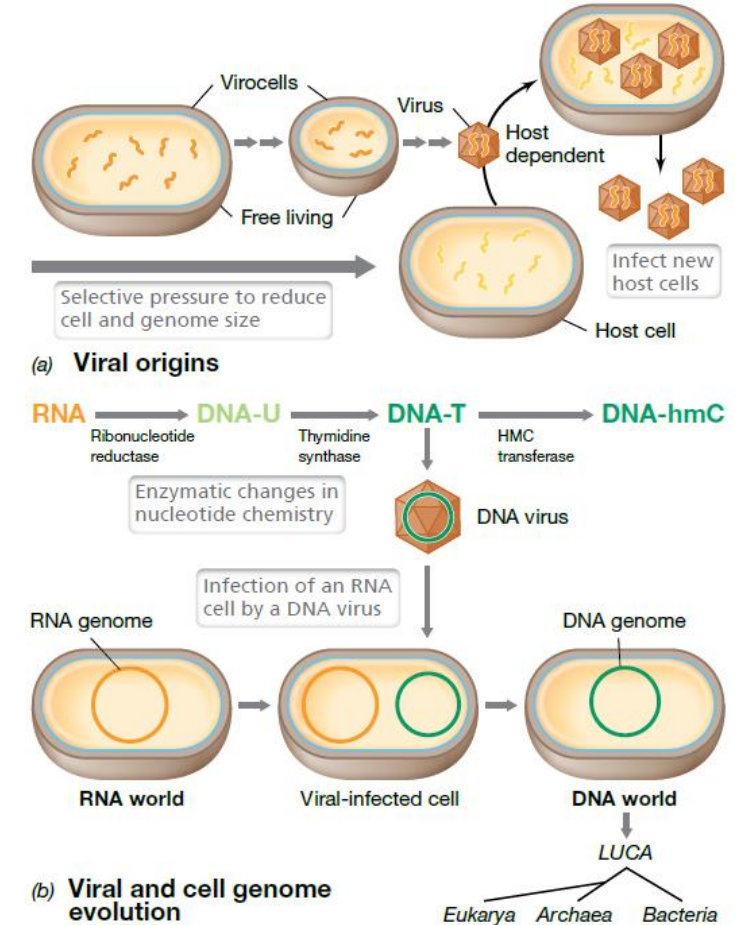
Viral Köken Hipotezi ve RNA Dünyası ile Bağlantı

- Proteomik bulgular, virüslerin LUCA'dan önce yaşamış, segmentli RNA genomlarına sahip antik hücre benzeri yapılardan türemiş olabileceğini göstermektedir (Figür a).
- Bu “virüs” soyunda genom ve bölme boyutunun küçülmesi yönündeki güçlü baskılar, zamanla hücresel yapının tamamen ortadan kalkmasına yol açmış olabilir.
- Bu küçülme süreci, bu yapıların replikasyon için Archaea, bakteri veya ökaryot hücrelere bağımlı hale gelmesini sağlamıştır.
- Analizler, RNA virüslerinin DNA virüslerinden daha eski olduğunu ve özellikle çift sarmallı RNA virüslerinin (Baltimore sınıf III) en eski virüsler olduğunu düşündürmektedir.



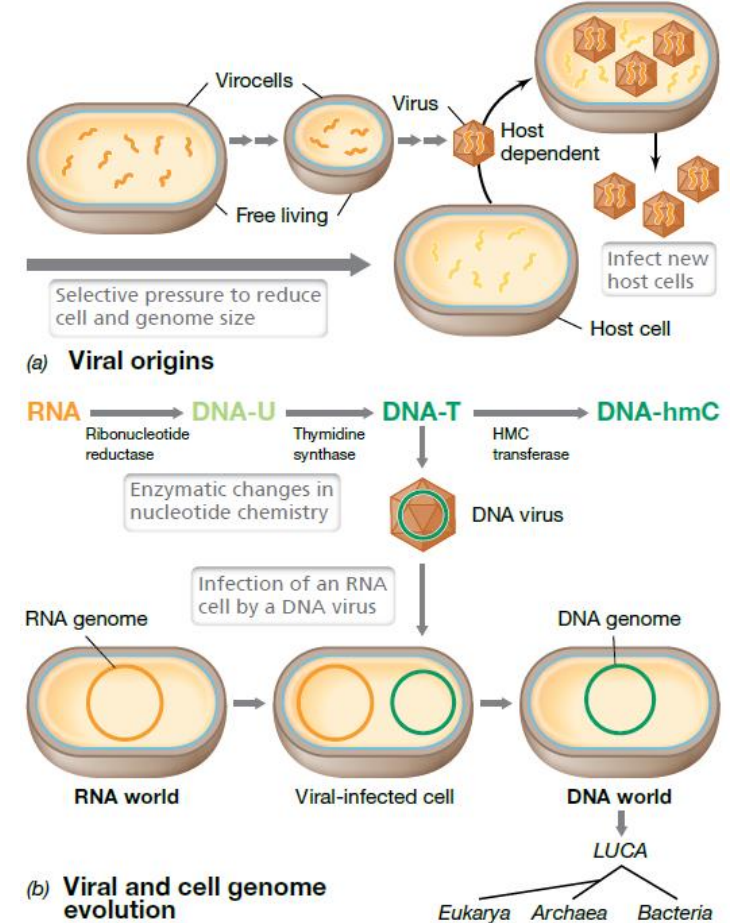
RNA Virüslerinden DNA Virüslerine Geçişin Olası Mekanizması

- Bazı RNA virüslerinin, genomlarını hücresel ribonükleazlardan korumak için DNA'ya geçiş yaptığı düşünülmektedir.
- RNA'dan DNA'ya geçişte günümüzde retrovirüslerde görülen revers transkriptaz benzeri bir enzimin kritik rol oynamış olabileceği öne sürülmektedir (Baltimore sınıf VI).
- DNA virüslerinin, üç büyük hücresel domainin atalarını enfekte ederek bu hücrelere DNA çoğaltma mekanizmalarını kazandırdığı düşünülmektedir.
- Bu süreç, hücresel genomların RNA temelli kimyadan DNA temelli kimyaya dönüşümünü başlatmış olabilir.



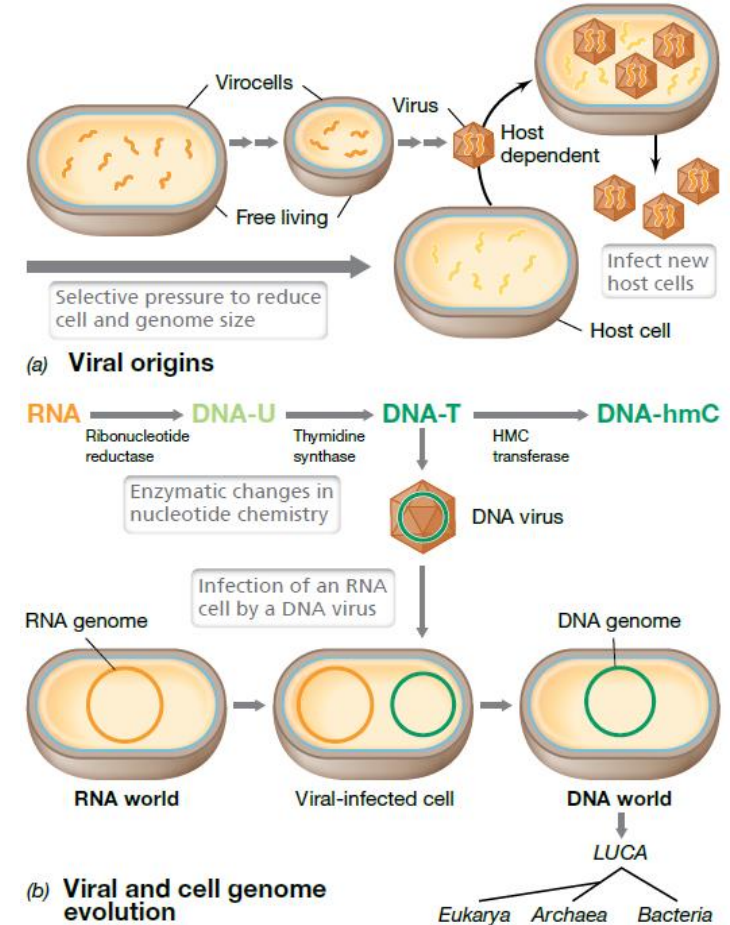
RNA'dan DNA'ya Geçişi Seçen Evrimsel Avantajlar

- DNA, RNA'ya kıyasla daha kararlı bir molekül olduğundan, düşük mutasyon oranı ve hidrolize daha az duyarlılığı nedeniyle genom materyali olarak seçilmiş olabilir.
- Bu kararlılık, zaman içinde doğal seçimle DNA'nın hücrelerde baskın hale geldiği bir "DNA dünyası"nın oluşmasına yol açmıştır (Figür b).
- RNA genomlu hücrelerin yokluğu, bu hücrelerin DNA virüsleri tarafından hiç enfekte edilmemiş ve böylece DNA genomu kazanamamış olmalarına bağlanabilir.
- RNA virüslerinin günümüze dek varlığını sürdürmesi ise yüksek mutasyon oranlarının, evrimleşen konak savunmalarından kaçınmalarını kolaylaştırmasına bağlanmaktadır.



Virüslerin Evrensel Soy Ağacındaki Yeri

- Yeni proteomik analizler, virüslerin ribozomal RNA'ya değil, protein dizilerine ve yapısal özelliklere dayalı evrensel bir soy ağacına yerleştirilmesini mümkün kılar.
- Bu analizlere göre virüsler, RNA virüsleri DNA virüslerinden önce gelecek şekilde ağacın en dibinde konumlanır.
- Ağaçta, üç hücresel yaşam domainine uzanan uzun bir dal bulunur ve bu dallanma ribozomal RNA temelli ağaçlarla büyük ölçüde uyumludur.
- RNA virüslerinin DNA virüslerine göre daha bazal konumda yer alması, DNA'nın hücresel genomlarda RNA'nın yerini nasıl aldığına dair mevcut hipotezlerle uyumludur.

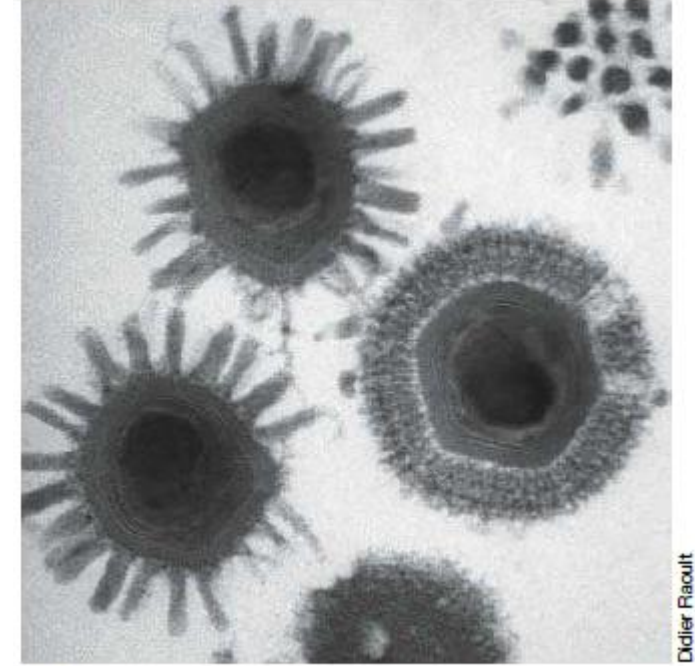


Viral Soy Ağacı ve Gruplar Arası Belirsizlikler

- Proteomik ağacında virüslerin dallanma sıralaması hâlâ tam olarak netleşmemiş olsa da, RNA virüslerinin DNA virüslerinden önce geldiği açıkça görülür.
- Sadece bazı viral gruplarda filogenetik ilişkiler daha güvenilir şekilde izlenebilmiştir.
- Bu gruplarda, ortak genlere veya proteinlere ait diziler kullanılarak daha kesin filogenetik ağaçlar oluşturulur.
- Bu yaklaşım, yalnızca belirli ortak özellikleri paylaştığı bilinen gruplar için uygulanabilir.

Dev Virüsler: Mimivirus Örneği

- Mimivirus ve akrabaları, bilinen en büyük virüslerden biridir ve çok katmanlı, ikozahedral kapsidlere sahiptir.
- Virion, etrafı çıkıntılarla çevrili olup yaklaşık 0.75 μm çapındadır ve bazı prokaryot hücrelerden bile daha büyüktür.

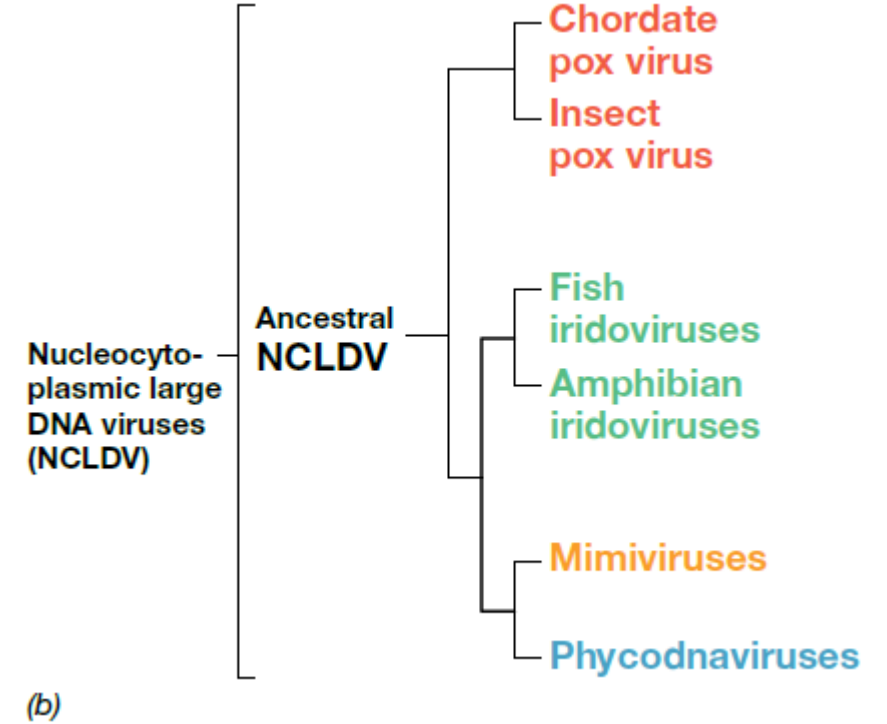


(a)

Didier Raoult

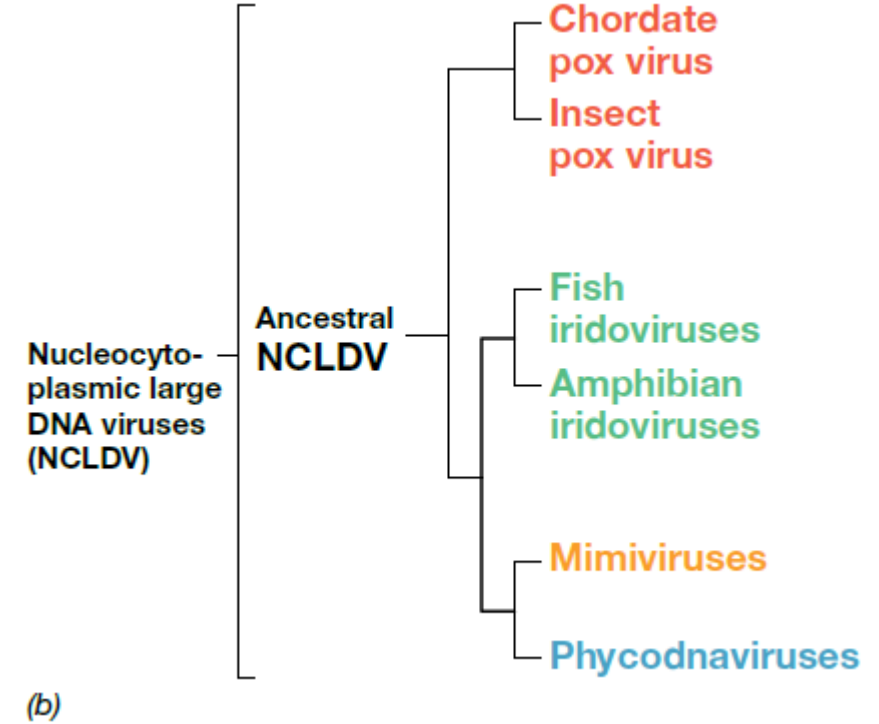
Dev Virüsler: Mimivirus Örneği

- Mimivirus, çift zincirli DNA'dan oluşan 1.2 megabaz uzunluğunda bir genom taşır.
- Bu virüs, *Acanthamoeba* adlı protozoonu enfekte eder ve NCLDV olarak adlandırılan büyük genomlu dev DNA virüsleri grubuna aittir.



NCLDV Grubu ve Ortak Özellikleri

- NCLDV grubu; pox virüsleri, iridovirüsler ve bazı bitki virüslerini de içeren geniş bir aile topluluğudur.
- Bu virüsler, çoğu DNA metabolizmasında görev alan yüksek derecede homolog protein dizilerini paylaşır.
- Bu ortak proteinlere ait DNA dizilerinden oluşturulan filogenetik ağaçlar, grubun ortak bir atadan nasıl ayrıldığını gösterir.
- Bu nedenle, belirli viral grupların soyları güvenle izlenebilir; ancak bu, başlangıçta grupların ortak özellikler taşımasına bağlıdır.



Viral Dünyadaki Uçsuz Bucaksız Çeşitlilik

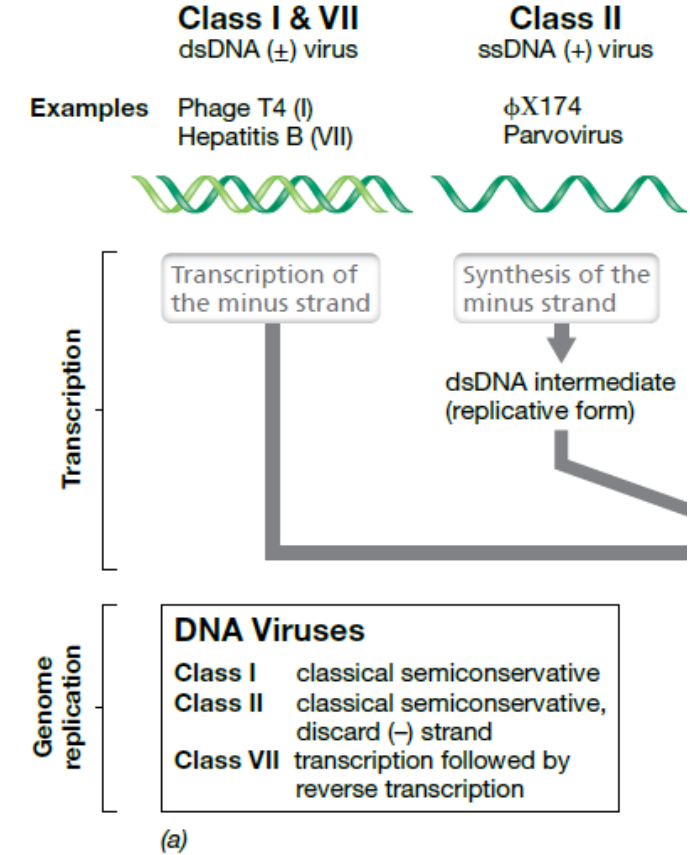
- Viral çeşitliliğin olağanüstü yüksek olması, tüm virüsleri kapsayan ayrıntılı bir filogenetik ağacın oluşturulmasını zorlaştırır.
- Sürekli olarak keşfedilen sıra dışı virüsler, bu filogenetik çalışmaları daha da güç hâle getirir.
- Örneğin Pandoravirus genomundaki genlerin yalnızca yaklaşık %7'si mevcut veri tabanlarında bir homolog içerir.
- Bu durum, genomun %90'ından fazlasının bilime tamamen yeni olduğunu ve viral dünyanın keşif potansiyelinin çok geniş olduğunu gösterir.

DNA Virüslerinin Evrimsel ve Ekolojik Önemi

- DNA virüsleri, evrimsel zaman açısından RNA virüslerinden daha sonra ortaya çıkmış görünse de bugün çok geniş bir canlı yelpazesini enfekte eder.
- Özellikle Bacteria ve Archaea türlerini enfekte eden virüslerin büyük çoğunluğu çift zincirli DNA virüsleridir.
- Bu kısımda çeşitli DNA virüsleri incelenirken, özellikle transkripsiyon ve genom replikasyonu süreçlerine odaklanacağız.
- Farklı genom yapılarına sahip DNA virüslerinde bu süreçlerin nasıl işlendiği karşılaştırmalı olarak ele alınacaktır.

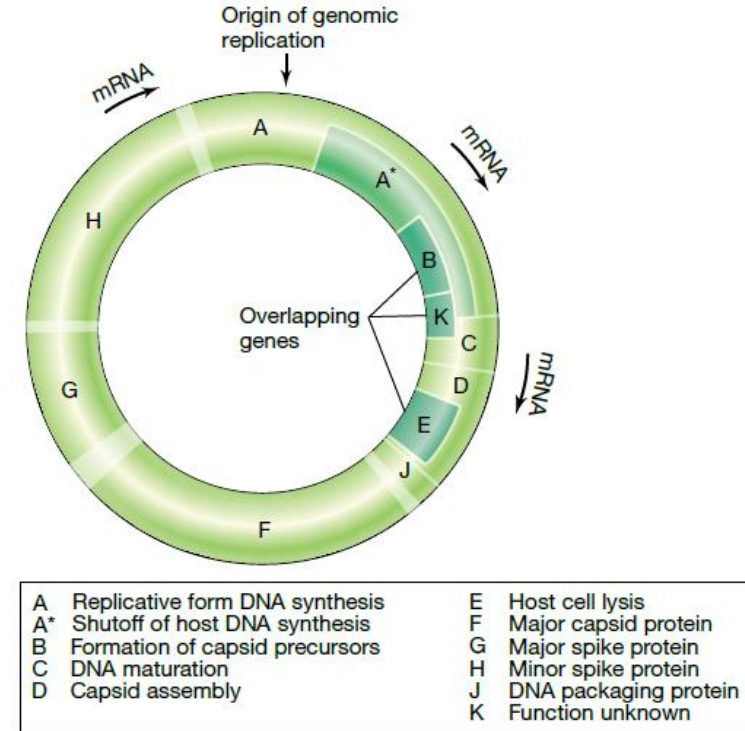
Tek Zincirli DNA Bakteriyofajları: ϕ X174 ve M13

- Bu kısımda, tek zincirli DNA'ya sahip iki bakteriyofaj olan ϕ X174 ve M13 ele alınacaktır.
- Bitki ve hayvanlarda da benzer tek zincirli DNA virüsleri bilinmekte olup, bu virüslerin çoğu pozitif polariteli genom yapısını paylaşır.
- Bu ortaklık nedeniyle birçok moleküler olay bakteriyofajlarda olduğu gibi işler.
- Bu nedenle bu kısmın odağında bakteriyel fajlar bulunmaktadır.



ϕ X174 Genomunun Yapısı ve Örtüşen Genler

- ϕ X174, yaklaşık 25 nm çapında ikozahedral bir virion içinde 5386 nükleotidlik dairesel bir genom taşır.
- Genomunda, sınırlı DNA miktarı nedeniyle “overlapping genes” olarak bilinen örtüşen gen yapıları görülür.
- Örneğin gen B, gen A’nın içinde yer alır; gen K ise A ve C genlerinin her ikisinin içinde bulunur.
- Ayrıca gen D ile gen E örtüşür ve gen D’nin son kodonu gen J’nin başlangıç kodonuyla örtüşür.



(a) Genetic map of ϕ X174

Overlapping Genlerin Ürünleri ve A Proteini*

- Örtüşen genlerden farklı ürünler, aynı DNA bölgesinin farklı okuma çerçevelerinden transkripsiyon yeniden başlatılarak oluşturulur.
- A* adı verilen küçük bir ϕ X174 proteini, konakçı DNA sentezini durdurur ve gen A mRNA'sı üzerinde alternatif bir başlama kodonundan sentezlenir.
- A* proteini, A proteiniyle aynı okuma çerçevesinde ilerler ancak daha kısa bir formdadır.
- Bu mekanizma, sınırlı genom alanının işlevsel çeşitlilik yaratmak için nasıl kullanıldığını gösterir.

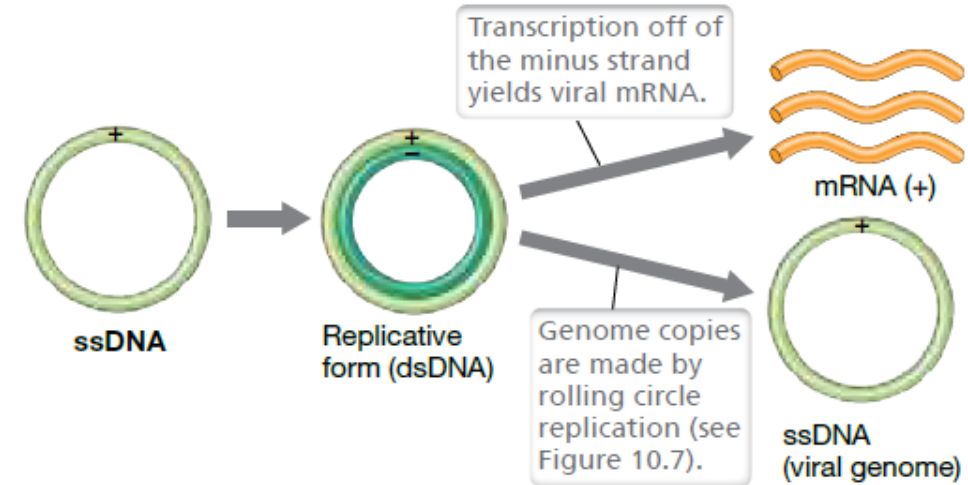


Replikatif Form ve Transkripsiyonun Başlaması

- Tek zincirli DNA'nın transkripsiyona başlaması için önce tamamlayıcı DNA zinciri sentezlenir ve “replikatif form” adı verilen çift zincirli yapı oluşturulur.
- Bu yapı hem mRNA sentezi hem de genom kopyalarının üretimi için bir kaynak görevi görür.
- ϕ X174 *E. coli*'ye girdikten sonra genom, konakçı enzimlerce replikatif form hâline dönüştürülür.
- Ardından hem semikonservatif replikasyonla yeni kopyalar üretilir hem de negatif zincir üzerinden transkripsiyon gerçekleşir.

A	Replicative form DNA synthesis	E	Host cell lysis
A*	Shutoff of host DNA synthesis	F	Major capsid protein
B	Formation of capsid precursors	G	Major spike protein
C	DNA maturation	H	Minor spike protein
D	Capsid assembly	J	DNA packaging protein
		K	Function unknown

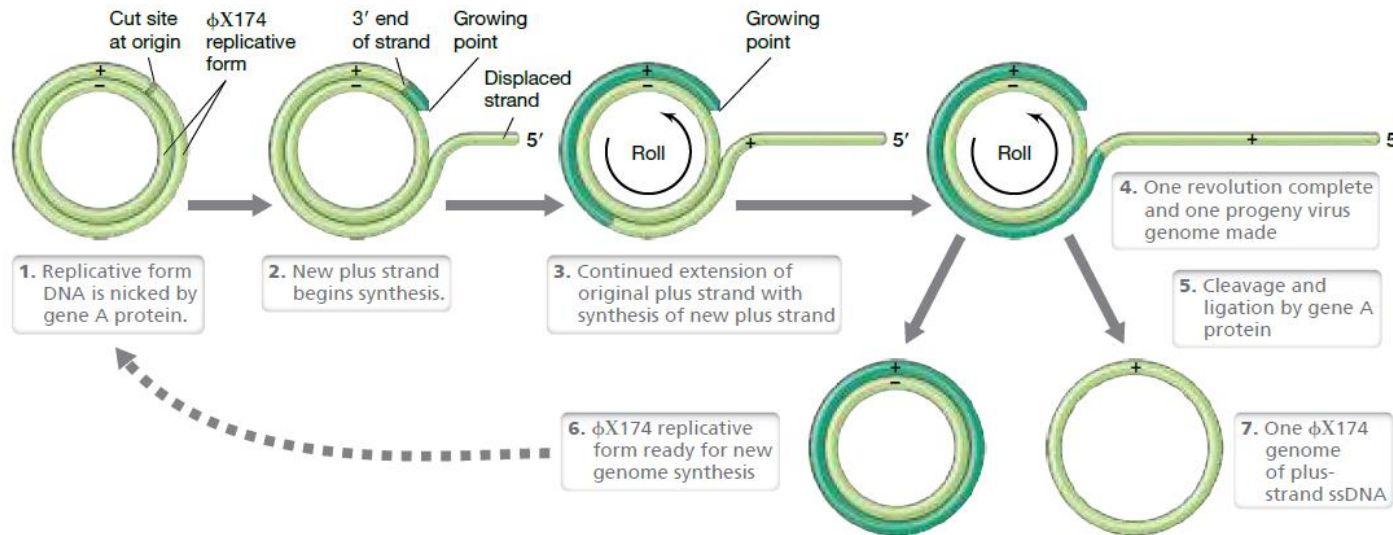
(a) Genetic map of ϕ X174



(b) Flow of events during ϕ X174 replication

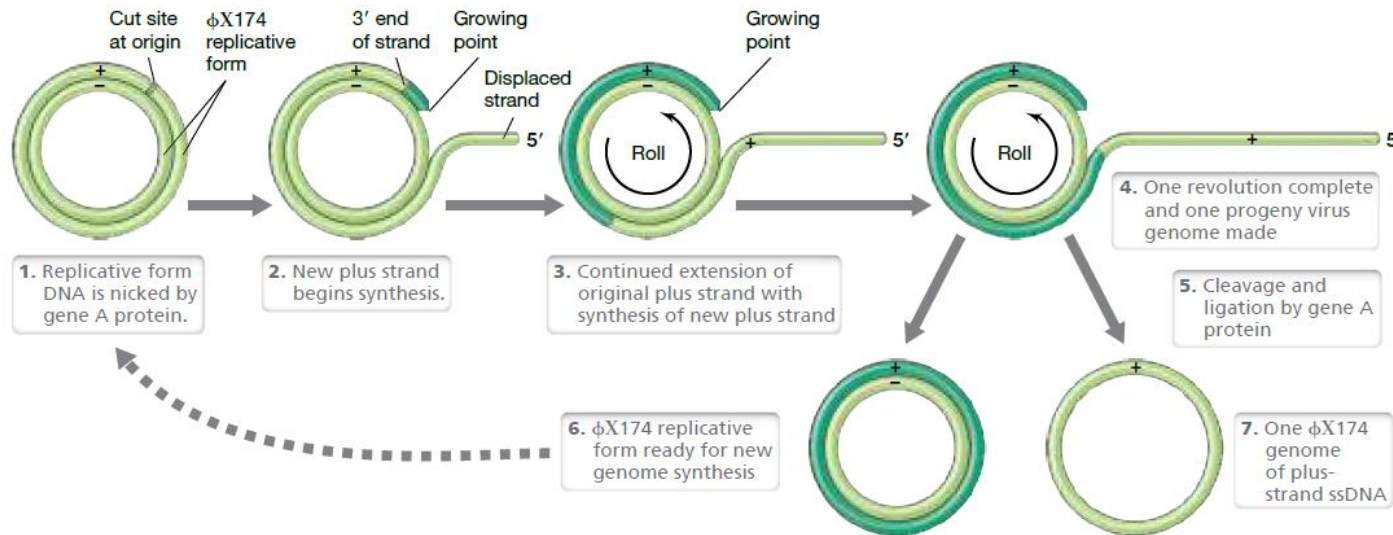
Rolling Circle (Yuvarlanan Çember) Replikasyonu ve A Proteininin Rolü

- Replikatif form, ϕ X174 genomunun kopyalanmasında rolling circle mekanizmasının kullanılmasına olanak tanır.
- Bu süreçte, pozitif zincir kesilir ve açığa çıkan 3' ucu yeni zincir sentezi için bir başlangıç noktası oluşturur.



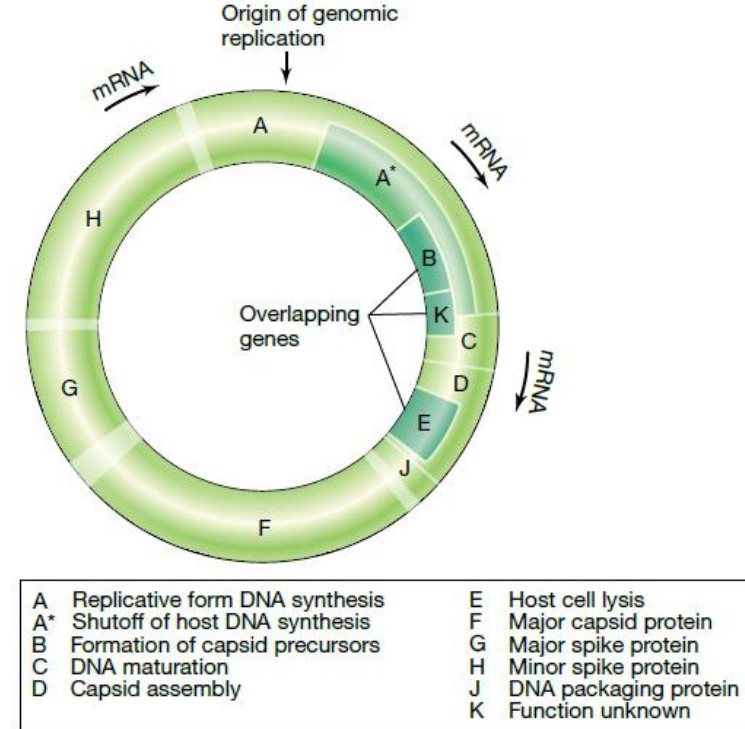
Rolling Circle (Yuvarlanan Çember) Replikasyonu ve A Proteininin Rolü

- A proteini bu kesme işlemi gerçekleştirir ve döngüsel yapının dönmesiyle uzun pozitif zincirler sentezlenir.
- Yeni zincir birim uzunluğa ulaştığında A proteini zinciri keser ve uçları birleştirirerek yeni tek zincirli DNA halkasını oluşturur.



Faj Montajı ve Hücre Lizisi

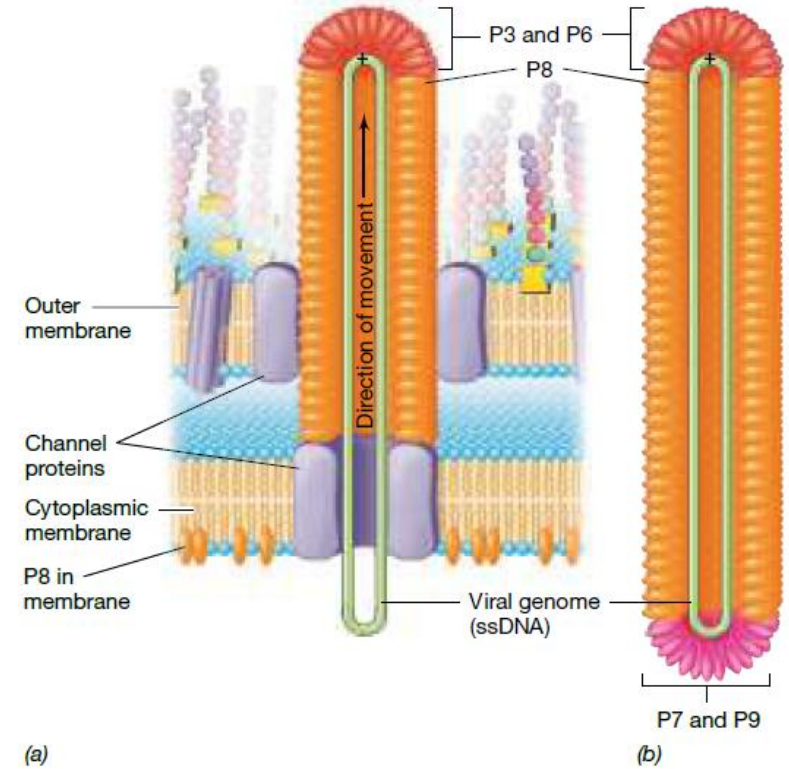
- Tek zincirli genomlar üretildikten sonra olgun ϕ X174 virionlarının montajı gerçekleşir.
- Son aşamada, E proteini konak hücrede peptidoglikan sentezinde görev yapan bir enzimi inhibe ederek hücre duvarını zayıflatır.
- Zayıflayan hücre duvarı, yeni virionların dışarı çıkmasını sağlayan lizise yol açar.
- Bu süreç, fajın yaşam döngüsünün tamamlanması ve yeni enfeksiyonların başlaması için kritik öneme sahiptir.



(a) Genetic map of ϕ X174

Filamentöz Bir Faj Olarak M13'ün Genel Özellikleri

- Bakteriyofaj M13, helikal simetriye sahip ince ve uzun bir filamentöz viriondur ve konak hücrenin pilusuna bağlanarak enfeksiyonu başlatır.
- Filamentöz fajlar olan M13 gibi virüsler, konak hücreyi lizise uğratmadan salındıkları için enfekte hücreler büyümeye devam eder ve tipik viral plaklar görülmez.
- Hücreden çıkış sırasında M13 DNA'sı, zarf boyunca geçerken kılıf proteinleriyle kaplanır ve bu proteinlerden dördü virionun uçlarında, majör protein ise yan yüzeyde yer alır.
- Bu nedenle M13 enfeksiyonlarında olgun virionlar hücre içinde birikmez ve bu fajlar lizis yerine kronik enfeksiyonlara yol açar.



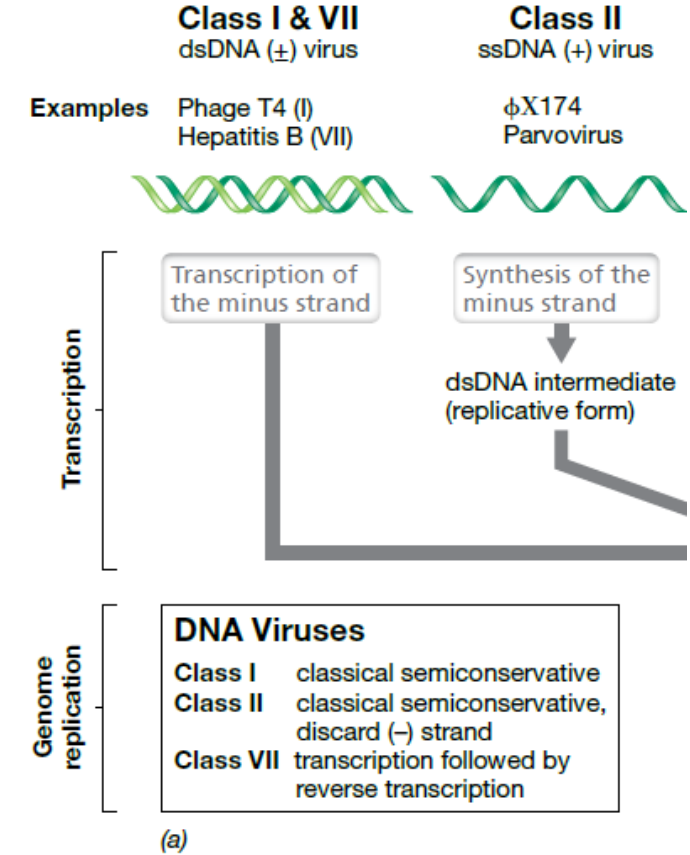
M13'ün Genetik Mühendislikte Kullanımını Sağlayan Özellikleri

- M13'ün küçük genomu ve ϕ X174'e benzeyen DNA replikasyon özellikleri, geçmişte bu fajı sekanslama çalışmalarında değerli bir araç haline getirmiştir.
- M13 enfeksiyonlarında doğal olarak oluşan çift iplikli replikatif form, klonlama çalışmalarında zorunlu olan DNA yapısını sağlar.
- Enfekte hücreler büyümeye devam ettikçe M13 sürekli üretildiğinden, klonlanan DNA için kesintisiz bir kaynak elde edilir.
- Bu ve diğer özellikleri sayesinde M13 uzun yıllar genetik mühendislikte temel bir araç olarak kullanılmış olsa da günümüzde yerini daha elverişli yöntemlere bırakmıştır.



Çift İplikli DNA Bakteriyofajlarına Genel Bakış

- Çift iplikli DNA'ya sahip Baltimore sınıf I fajları, tüm virüsler içinde en kapsamlı şekilde çalışılmış gruplardan biridir.
- T4 ve lambda fajlarına ek olarak, moleküler biyoloji ve gen düzenlemesi açısından önemli olan T7 ve Mu fajları da bu sınıfta incelenir.
- Bu iki faj, T4 ve lambda'dan farklı özellikler taşıdıkları için ayrıca ele alınmaktadır.
- İlerleyen slaytlarda T7 ve Mu fajlarının kendine özgü biyolojik mekanizmaları incelenmektedir.



Bakteriyofaj T7'nin Yapısı ve Enfeksiyonun İlk Aşamaları

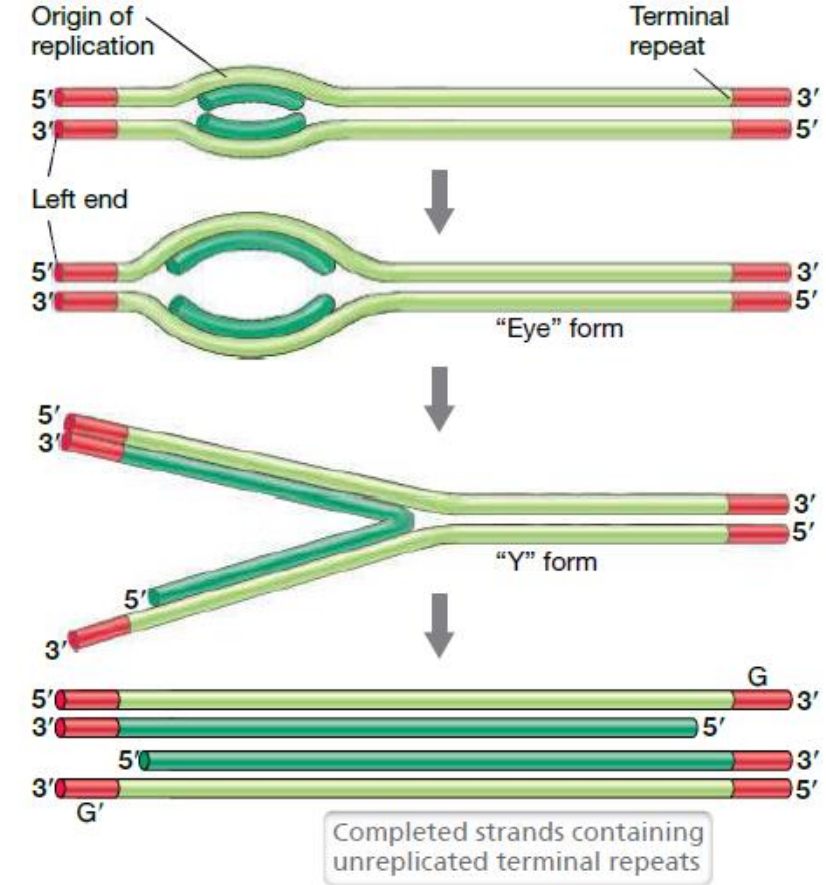
- T7, *E. coli* ve bazı enterik bakterileri enfekte eden, ikozahedral başlı ve kısa kuyruklu küçük bir DNA fajıdır.
- T7 genomu yaklaşık 40 kilobaz çifti uzunluğunda lineer bir çift iplikli DNA molekülüdür.
- Faj DNA'sı hücre içine girdikten sonra erken genler hızlıca konak RNA polimerazı tarafından transkribe edilir.
- Erken proteinlerden biri, T7 genomu tamamen içeri girmeden önce konak restriksiyon sistemini inhibe ederek yabancı DNA'ya karşı savunmayı etkisiz hâle getirir.

T7'nin Transkripsiyon Stratejisi ve Konak Polimerazın Düzenlenmesi

- T7 tarafından üretilen erken proteinler arasında, yalnızca T7 promotörlerini tanıyan özgün bir T7 RNA polimerazı bulunur.
- Bazı erken proteinler konak RNA polimerazının aktivitesini baskılayarak transkripsiyonun yönünü T7 genlerine doğru kaydırır.
- Bu strateji, T4'ün konak polimerazını modifiye ederek kullanımından farklıdır ve T7'ye özgü bir düzenleme biçimi oluşturur.
- Böylece T7 genomu boyunca dağılan T7 promotörleri ardışık transkripsiyonun temelini oluşturur.

T7 Genom Replikasyonu ve Konkatermer Oluşumu

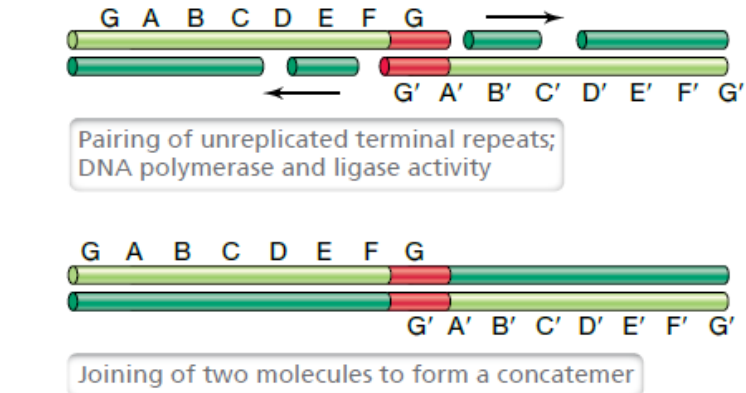
- T7 genom replikasyonu, DNA molekülü üzerindeki bir orijinden başlar ve bu noktadan iki yönlü olarak ilerler.
- Replikasyonda kullanılan T7 DNA polimeraz, faj tarafından kodlanan bir polipeptit ile konak tarafından sağlanan bir polipeptitten oluşan bir bileşimdir.



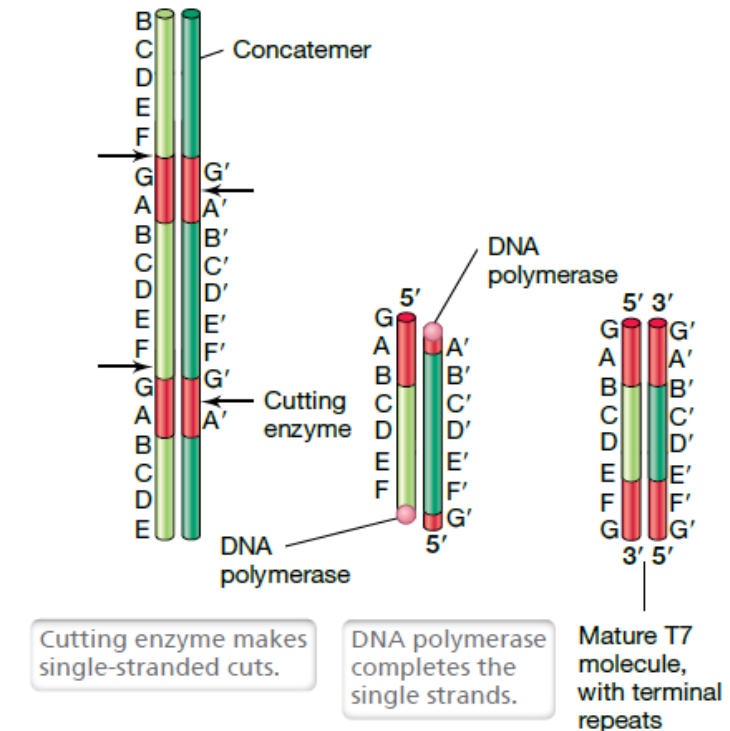
(a)

T7 Genom Replikasyonu ve Konkatermer Oluşumu

- T7 DNA'sındaki uç tekrarları, T4'te olduğu gibi konkatemer oluşumunu mümkün kılar ve replikasyon ile rekombinasyon süreci sonunda uzun konkatemer zincirleri ortaya çıkar (Figür b).
- Faja ait bir endonükleaz, konkatemerleri belirli dizilerden keserek uç tekrarları taşıyan lineer DNA moleküllerinin faj başlarına paketlenmesini sağlar (Figür c).



(b)



(c)

T7 ve T4 Arasındaki Genom Paketleme Farkı

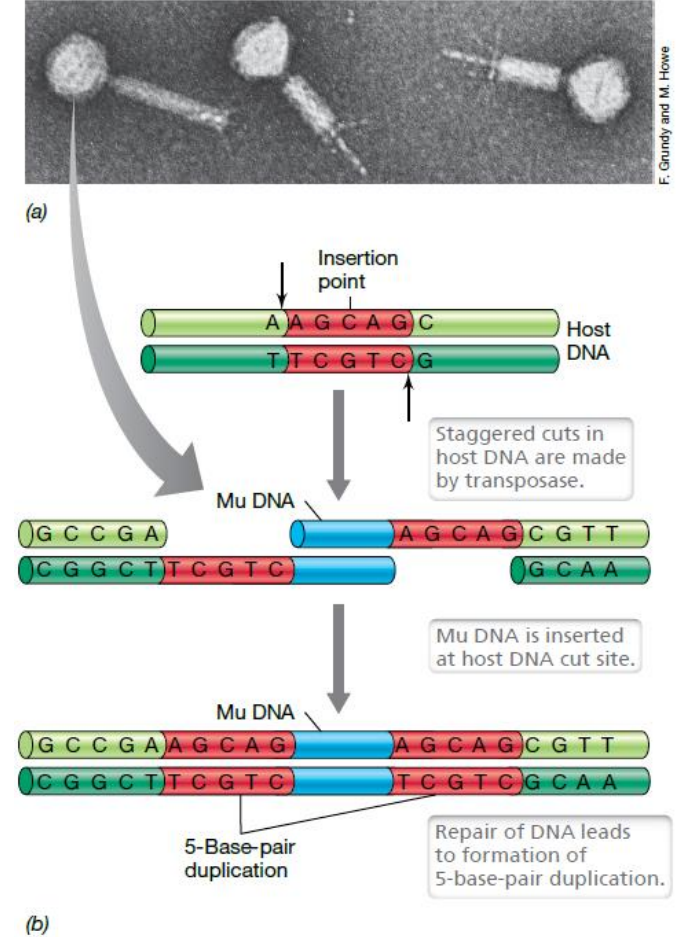
- T7 endonükleazı konkatemeri özgül dizilerden kestiği için her T7 virionunda DNA dizisi tamamen aynıdır.
- Bu durum, “headful mekanizması” ile rastlantısal konumdan kesim yapan ve halkasal permütasyon üreten T4’ten farklıdır.
- Böylece T7, genom paketleme sürecinde daha yüksek dizisel tutarlılık sergiler.
- Bu özellik T7’yi genom kararlılığı açısından ayırt edici kılar.

Bakteriyofaj Mu'nun Genel Özellikleri

- Bakteriyofaj Mu, lambda fajı gibi bir temperate (ılımlı) fajdır ancak replikasyonunu transpozisyon yoluyla gerçekleştirmesiyle diğer fajlardan ayrılır.
- Transpozon benzeri DNA dizileri konak genomunda bir yerden başka bir yere hareket eder ve bu süreç transpozaz enzimi tarafından yürütülür.
- Mu, konak genomuna entegre olduğunda mutasyonlara neden olduğu için “Mutator” kavramından türetilen Mu adıyla anılır.
- Bu özelliği sayesinde Mu, bakteri genetiğinde mutant elde etmek için uzun yıllar boyunca değerli bir araç olmuştur.

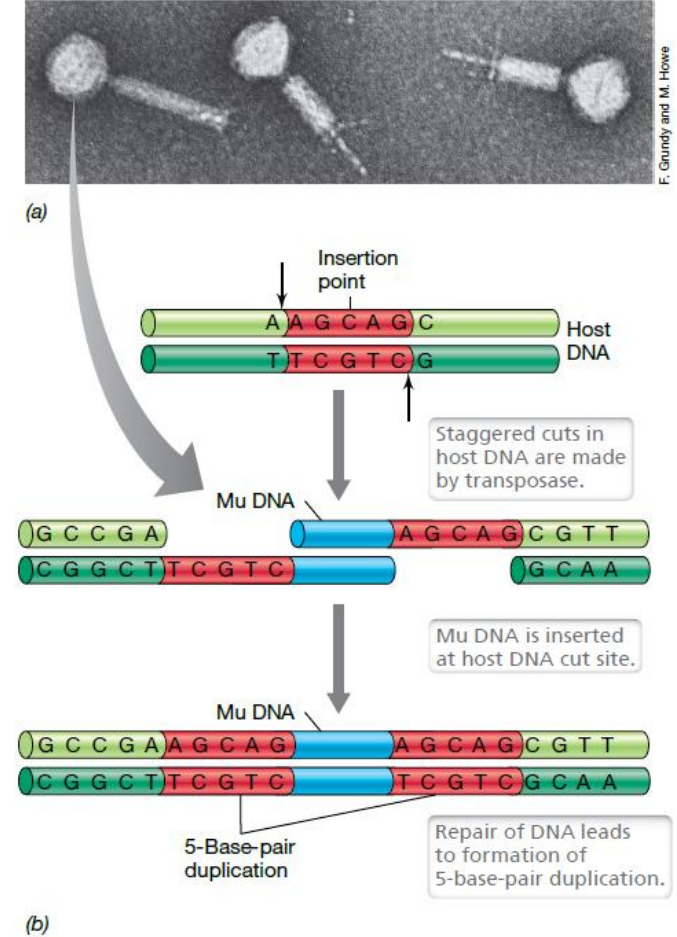
Mu Virionunun Yapısı ve Genom Organizasyonu

- Mu virionu ikozahedral bir baş, helikal bir kuyruk ve birkaç kuyruk lifinden oluşan tipik bir faj morfolojisine sahiptir (Figür a).
- Mu genomu lineer çift iplikli DNA'dan oluşur ve pek çok geni baş ve kuyruk proteinleri ile replikasyon faktörlerini kodlar.
- Bunlar arasında Mu transpozazı ve konak aralığını belirleyen faktörler yer alır.
- Kuyruk liflerinin tipi, Mu'nun yalnızca *E. coli*'yi mi yoksa daha geniş bir enterik bakteri grubunu mu enfekte edeceğini belirler.



Mu'nun Transpozisyona Dayalı Replikasyon Mekanizması

- Mu fajı, genomunu konak genomunun bir parçası olarak çoğaltmasıyla diğer tüm fajlardan tamamen farklı bir replikasyon stratejisi izler (Figür b).
- Mu DNA'sının hem lizogenik hem de litik gelişimde konak kromozomuna entegrasyonu zorunludur.
- Entegrasyon sırasında Mu transpozazı hedef bölgede çentikli kesikler oluşturur ve bu noktadaki 5 bazlık konak DNA'sı çoğaltılır.
- Ortaya çıkan tek iplikçikler, Mu'nun entegrasyon sürecinin bir parçası olarak çift iplikli hale getirilir (Figür b).



Mu'nun Litik ve Lizojenik Yolları

- Mu enfeksiyonunda represör proteinin üretilmemesi litik döngüyü tetiklerken, represörün varlığı lizojenik döngünün kurulmasını sağlar.
- Her iki durumda da Mu DNA'sı, konak genomunda farklı bölgelere tekrar tekrar transpoze olarak çoğaltılır.
- Litik döngüde önce erken genler transkribe edilir, ardından bir transkripsiyon aktivatörünün etkisiyle baş ve kuyruk proteinleri sentezlenir.
- Fajın kendini birleştirmesini takiben hücre lizise uğrar ve olgun Mu virionları serbest kalır; lizojenik durumda ise yeterli represör varlığı entegre Mu DNA'sının transkripsiyonunu engeller.

Archaea Virüslerinin Genel Özellikleri

- Bakteriyofajlar ve Archaea virüsleri şimdiye kadar geniş ölçüde izole edilmiş ve karakterize edilmiş olup Archaea'yı enfekte eden tüm virüslerin DNA genomuna sahip olduğu bilinmektedir.
- Karakterize edilen Archaea virüslerinin büyük çoğunluğu çift iplikli ve genellikle halkasal DNA genomu taşır.
- Buna karşılık, Bacteria'yı enfekte eden fajlar hem DNA hem RNA içerebilir ve genom yapıları tek ya da çift iplikli olabilmektedir.

Euryarchaeota ve Crenarchaeota Virüsleri

- Hem Euryarchaeota hem Crenarchaeota üyelerini enfekte eden çeşitli DNA virüsleri tanımlanmıştır.
- Euryarchaeota türlerini enfekte eden virüslerin çoğu, enterik bakterileri enfekte eden T4 benzeri karmaşık “baş-kuyruk” tipinde yapılar gösterir.
- Halofili bir Archaea’yı enfekte eden yeni bir virüs ise zarla çevrili yapıda olup tek iplikli DNA genomu taşımasıyla diğerlerinden ayrılır.
- Bunun dışındaki tüm bilinen arkea DNA virüsleri çift iplikli ve çoğunlukla halkasal genom yapısına sahiptir.

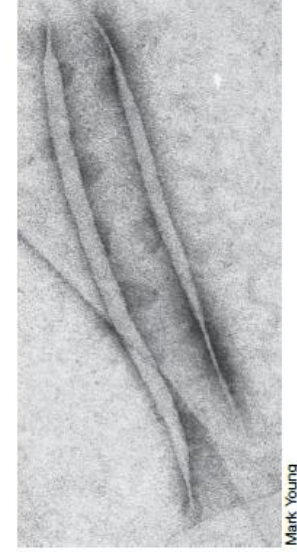


Hipertermofilik Crenarchaeota Virüsleri

- Hipertermofilik Crenarchaeota üyeleri, özellikle de *Sulfolobus*, oldukça sıra dışı görünümlere sahip birçok virüsün konakçısıdır.
- *Sulfolobus* virüsü SSV, rozet benzeri kümelenme eğiliminde olan iğ şekilli virionlar oluşturur ve 15 kb civarında halkasal bir DNA genomu taşır (Figür a).
- *Sulfolobus*'u enfekte eden ikinci bir virüs tipi SIFV, sert ve helikal çubuk yapısında virionlar üretir (Figür b).
- Crenarchaeota'nın bazı türleri, bu iğ ve çubuk biçimlerinin yanında filamentöz virüslerle de enfekte olabilmektedir.



(a)



(b)



(c)



(d)

ATV: Konak Hücre Dışında Gelişebilen Arkea Virüsü

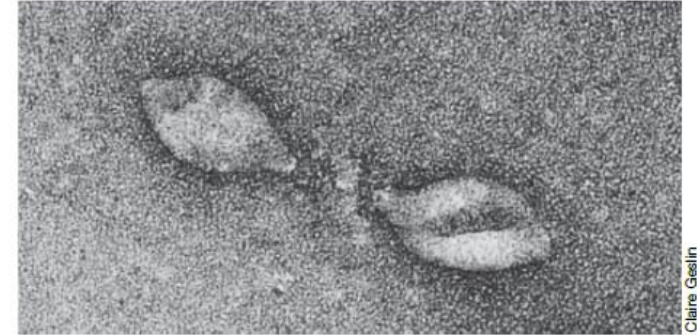
- Hipertermofil *Acidianus*'u enfekte eden ATV virionu, ilk serbest bırakıldığında limon şeklindedir ve yaklaşık 68 kb'lik dairesel bir genom taşır.
- Konak hücreden çıktıktan kısa süre sonra virion, her iki ucundan ince tüp şeklinde uzun kuyruklar oluşturarak belirgin biçimde şekil değiştirir (Figür d).
- Bu olağanüstü süreç, virüs gelişiminin konak hücreyle hiçbir temas olmadan gerçekleştiği ilk örnek olarak dikkat çeker.
- ATV ayrıca sıcak (85°C) ve asidik (pH 1.5) ortamlarda yaşamaya yardımcı olduğu düşünülen bu kuyruk yapılarıyla birlikte, nadir görülen bir özellik olarak lizogenik karakter de gösterir.



(a)



(b)



(c)



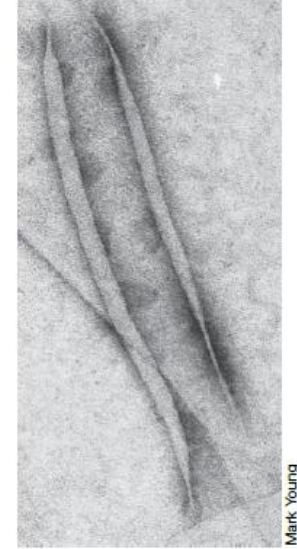
(d)

PAV1: *Pyrococcus* Virüsü

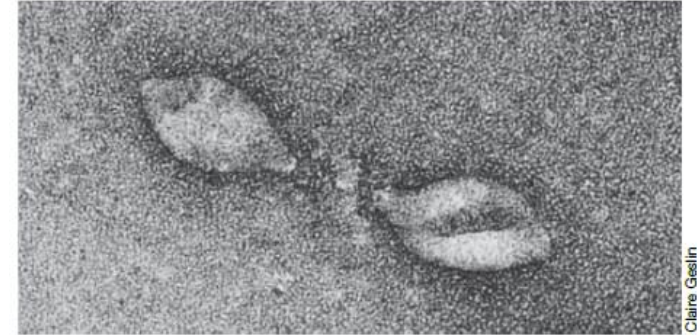
- Hipertermofil *Pyrococcus*'u enfekte eden PAV1, SSV'ye benzeyen ancak daha büyük olan ve kısa bir kuyruğa sahip iğ şekilli bir virüstür (Figür c).
- PAV1, küçük ve halkasal bir DNA genomu taşır ve konak hücreyi lizise uğratmadan, muhtemelen M13 fajında olduğu gibi tomurcuklanma ile serbest bırakılır.
- *Pyrococcus*'un 100°C optimumunda büyümesi nedeniyle PAV1 virionları ısıya son derece dayanıklıdır.
- Benzer morfolojiye rağmen PAV1 ile SSV tipi virüsler arasında genom dizisi bakımından belirgin bir benzerlik bulunmaz.



(a)



(b)



(c)



(d)

Archaea RNA Virüslerinin Yokluğu ve Çevresel Kanıtlar

- Laboratuvar ortamında Archaea konaklarında çoğalabilen RNA virüsleri henüz tanımlanmamıştır, oysa birçok RNA virüsü Bacteria ve ökaryotları enfekte edebilir.
- Yellowstone'un asidik sıcak kaynaklarından izole edilen ve kültürde çoğaltılabilen Archaea virüslerinin tümünün DNA genomlu olduğu bilinmektedir.
- Metagenomik çalışmalar, sıcak kaynaklarda bilinen hiçbir bakteri RNA virüsüne benzemeyen RNA dizilerinin varlığını göstermiştir.
- Bu ortamlarda ökaryot yaşamaması ve bakteri sayısının çok düşük olması, bu RNA'ların muhtemel Archaea RNA virüslerine ait olduğunu düşündürmektedir.



Mark Young

Olası Arkea RNA Virüslerinin Genomik Özellikleri

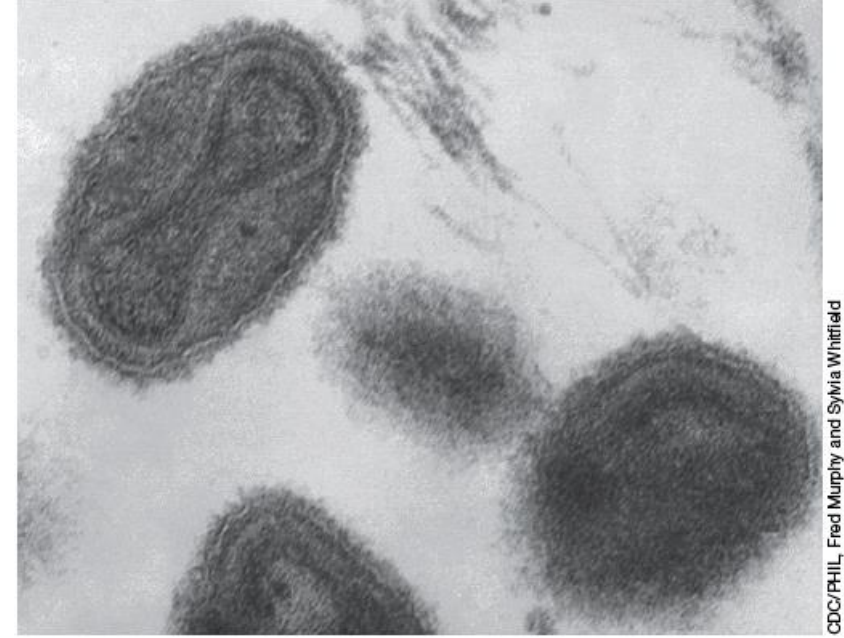
- Sıcak kaynaklardan elde edilen viral RNA dizileri, pozitif polariteli tek iplikli RNA virüslerine (Baltimore sınıf IV) işaret etmektedir.
- Bu genomlar, RNA virüslerinin karakteristik bir özelliği olan RNA replikaz enzimini kodlar.
- Olası Archaea RNA virüslerinin, bazı ökaryotik sınıf IV virüslerinde olduğu gibi poliprotein sentezi yoluyla replike olabileceği öngörülmektedir.
- Replikasyon süreçlerinin ayrıntıları, özellikle viral ve konak polimerazlarının katkısının derecesi, ancak bu virüslerin kültürde çoğaltılabilmesiyle netleşecektir.

Baltimore Sınıf I Hayvan DNA Virüslerine Giriş

- Çift iplikli DNA genomuna sahip iki önemli hayvan virüsü grubu—pox virüsleri ve adenovirüsler—alışılmadık çoğalma stratejileri gösterir.
- Pox virüsleri, tüm replikasyon süreçlerinin konak hücrenin çekirdeği yerine sitoplazmada gerçekleşmesiyle dikkat çeker.
- Adenovirüslerde ise iki DNA kalıp zinciri üzerinde “kesintisiz” tarzda ilerleyen sıra dışı bir replikasyon mekanizması gözlenir.

Pox Virüslerinin Tarihsel ve Yapısal Özellikleri

- Pox virüsü, tarihte detaylı incelenen ilk virüs olmuş ve 200 yıldan uzun süre önce benzer ancak daha az virülan olan cowpox virüsü kullanılarak ilk aşı geliştirilmiştir.
- Pox virüsleri, yaklaşık 400 nm boyutundaki tuğla şeklindeki vaccinia virionu gibi en büyük virion yapılarından bazılarını içerir.
- Vaccinia, smallpox virüsüne benzemesi ancak patojen olmaması nedeniyle hem aşı olarak hem de moleküler biyoloji çalışmalarında model olarak kullanılmaktadır.



CDC/PHIL, Fred Murphy and Sylvia Whitfield

Vaccinia Virüsünün Genom ve Replikasyon Özellikleri

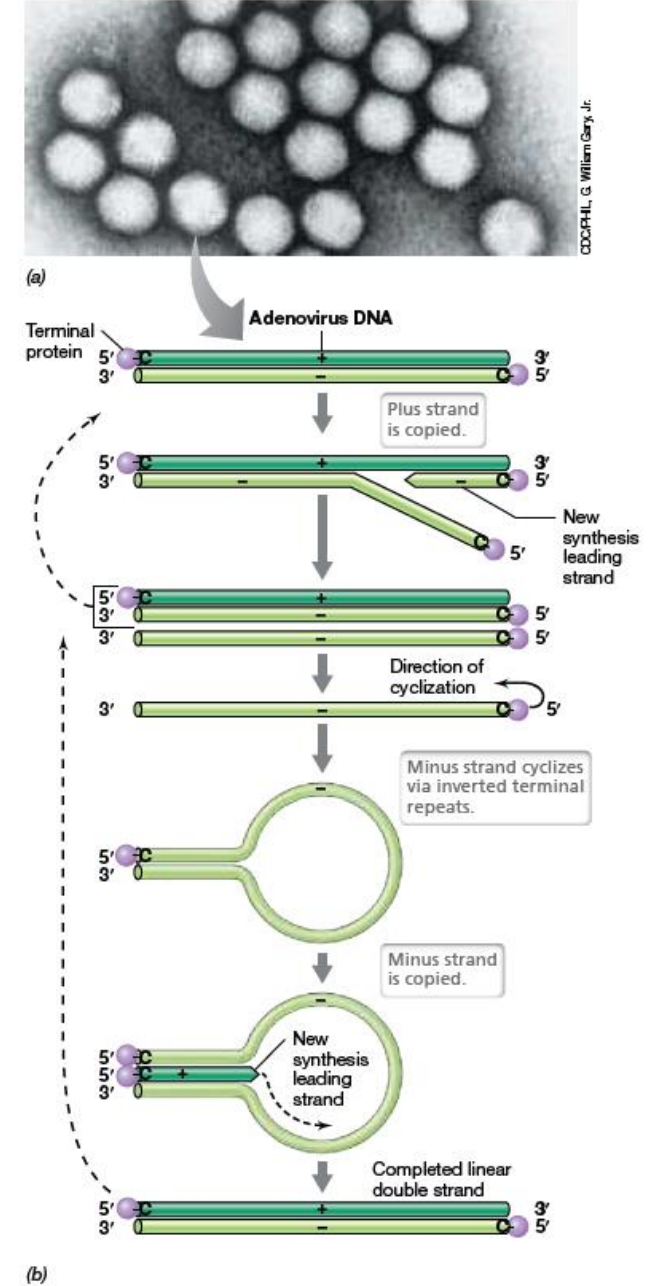
- Vaccinia genomu yaklaşık 190 kb uzunluğunda çift iplikli doğrusal DNA'dan oluşur ve yaklaşık 250 gen kodlar.
- Virion hücreye bağlandıktan sonra endositoz benzeri bir süreçle sitoplazmaya alınır ve nükleokapsitler burada serbestleşir.
- Viral genomun açılması, enfeksiyondan sonra sentezlenen ve virion içerisinde bulunan viral RNA polimeraz tarafından transkribe edilen bir protein tarafından gerçekleştirilir.
- Ardından viral DNA polimeraz dahil birçok viral gen transkribe edilir, yeni genom kopyaları sitoplazmada virionlara paketlenir ve hücre lizisiyle serbest bırakılır.

Rekombinant Aşılarda Vaccinia Virüsünün Kullanımı

- Vaccinia virüsü, patojen olmaması fakat güçlü bir bağışıklık yanıtı oluşturması nedeniyle rekombinant aşılarda taşıyıcı olarak kullanılmaktadır.
- Bu virüs, hedef patojenlere ait proteinlerin bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını sağlayacak şekilde genetik olarak düzenlenebilir.
- Vaccinia tabanlı aşılarla influenza, kuduz, herpes simplex tip 1 ve hepatit B virüslerine karşı başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

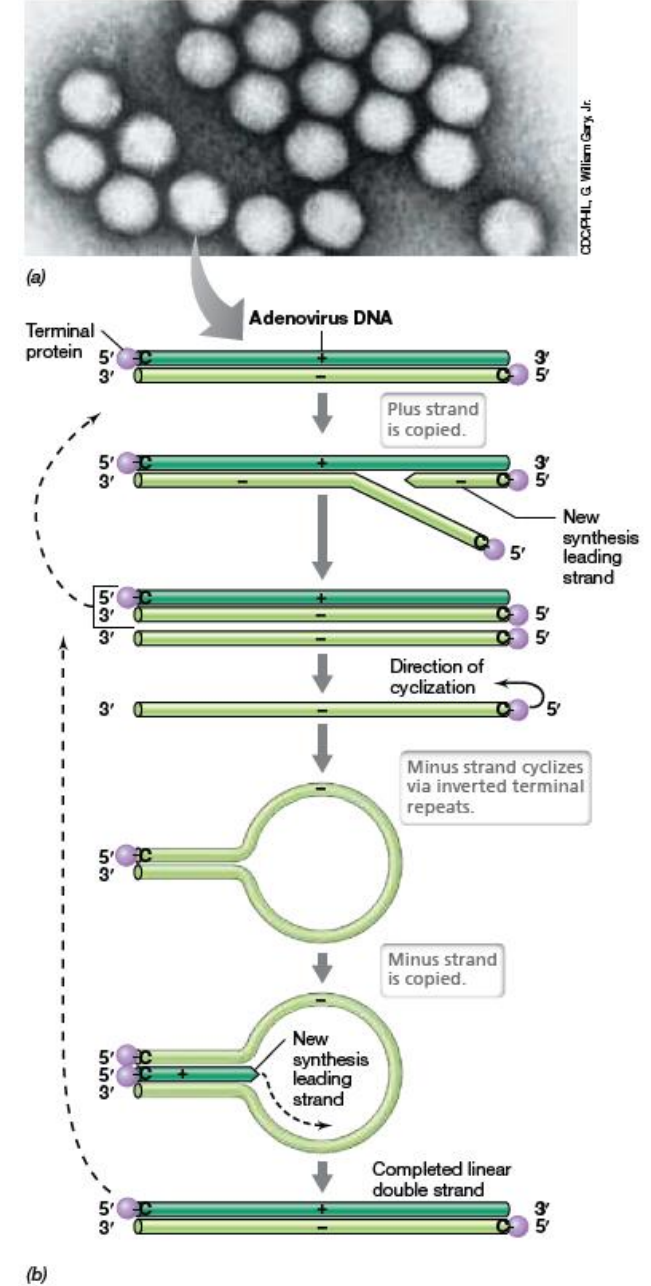
Adenovirüslerin Temel Özellikleri

- Adenovirüsler küçük, zarsız ve ikozahedral yapıda virüslerdir (Figür a).
- Bu virüsler doğrusal çift sarmallı DNA genomları taşır ve genomun 5' ucuna bağlı adenoviral terminal protein bulunur.
- Genomun her iki ucunda yer alan ters terminal tekrarlar, replikasyon sürecinde önemli rol oynar (Figür b).
- İnsanlarda genellikle hafif solunum yolu enfeksiyonlarına yol açsalar da, replikasyon mekanizmalarının özgünlüğü nedeniyle virolojide özel bir öneme sahiptirler.



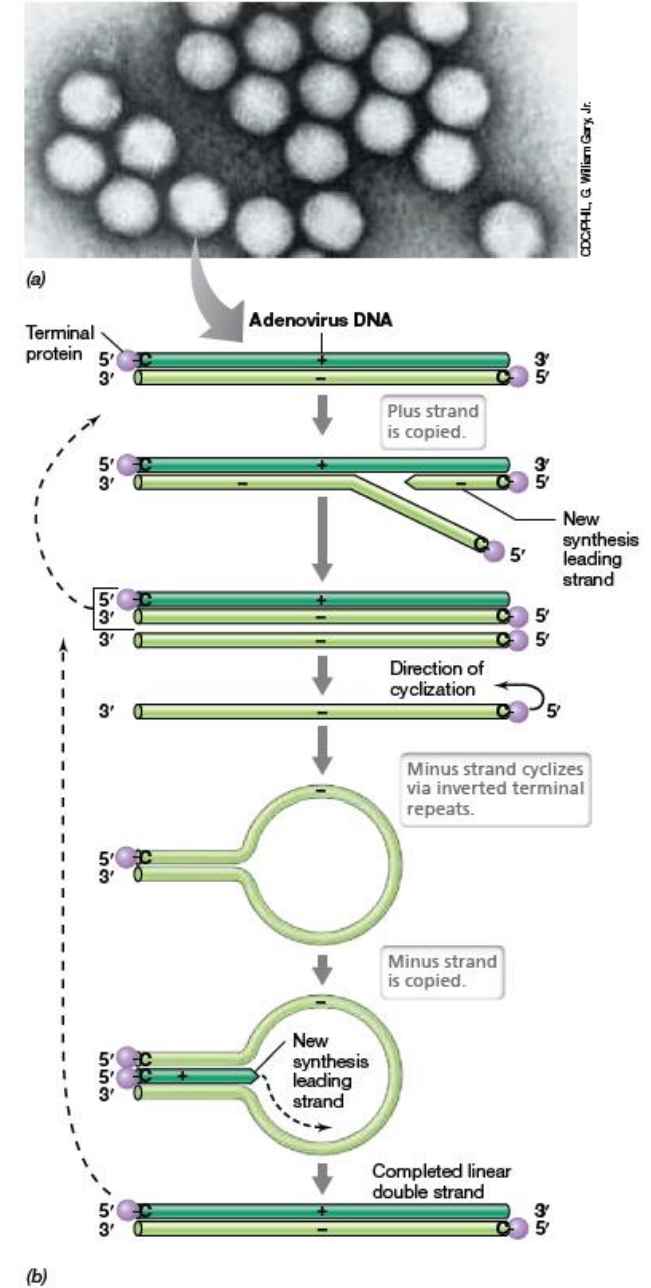
Adenovirüslerde Erken Gen İfadesi ve Replikasyonun Başlangıcı

- Enfeksiyon sonrası adenoviral nükleokapsid hücre çekirdeğine taşınır ve erken genlerin transkripsiyonu konak RNA polimerazı tarafından başlatılır.
- Erken dönemde sentezlenen mRNA'lar, terminal protein ve viral DNA polimeraz gibi replikasyon için gerekli proteinleri kodlar.
- Genomun her iki ucundan başlayan DNA replikasyonu sırasında terminal protein, bağlı bulunduğu sitozin üzerinden DNA polimeraz için primer görevi görür (Figür b).
- Bu ilk replikasyon sonucunda çift sarmallı tam bir genom ve tek sarmallı eksi anlamlı DNA molekülü oluşur.



Adenovirüslerde Benzersiz Replikasyon Döngüsü

- Oluşan tek sarmallı DNA, ters terminal tekrarlar sayesinde kendi üzerine katlanarak halkasal bir yapı oluşturur (Figür b).
- Bu halkalaşma sonrası genomun 5' ucundan başlayarak artı anlamlı tamamlayıcı DNA sentezi gerçekleştirilir.
- Bu mekanizma, klasik yarı-korunumlu replikasyondan farklıdır çünkü burada bir kesintili iplik oluşumuna gerek duyulmaz.
- Çekirdek içinde yeterli genom kopyaları ve yapısal bileşenler biriktiğinde olgun adenovirüs partikülleri bir araya getirilir ve hücre lizisiyle serbest kalır.

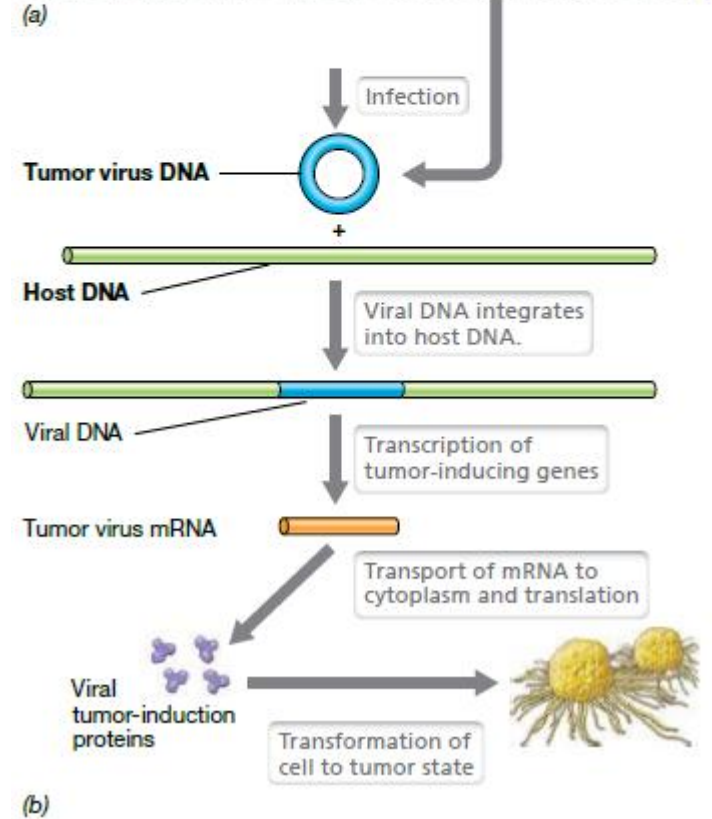
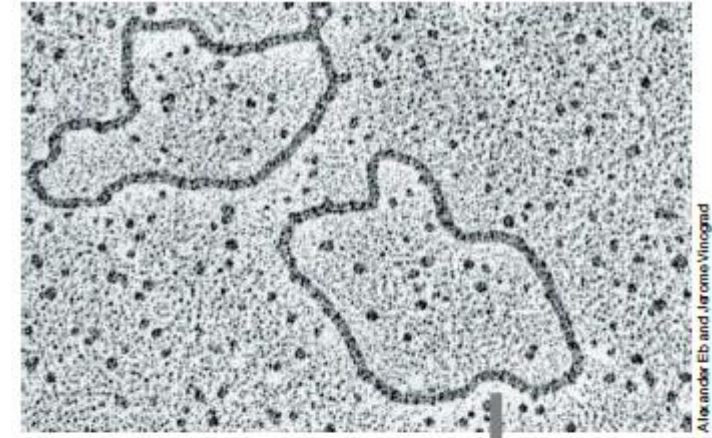


DNA Tumor Virüslerine Genel Bakış

- Bazı hayvan DNA virüsleri litik döngüyü tetiklemenin veya latent olarak genomda bulunmanın yanında hücresel transformasyona da neden olabilir.
- Bu gruba poliomavirüsler ve bazı herpesvirüsler dâhildir ve her ikisi de çift sarmallı DNA genomları taşır.
- Transformasyon oluşturan bu virüsler, konak hücre bölünmesini kontrol eden proteinlerle etkileşerek tumor gelişimini tetikleyebilir.
- Bu nedenle DNA tumor virüsleri, hem temel viroloji hem de kanser biyolojisi açısından önemli çalışma modelleridir.

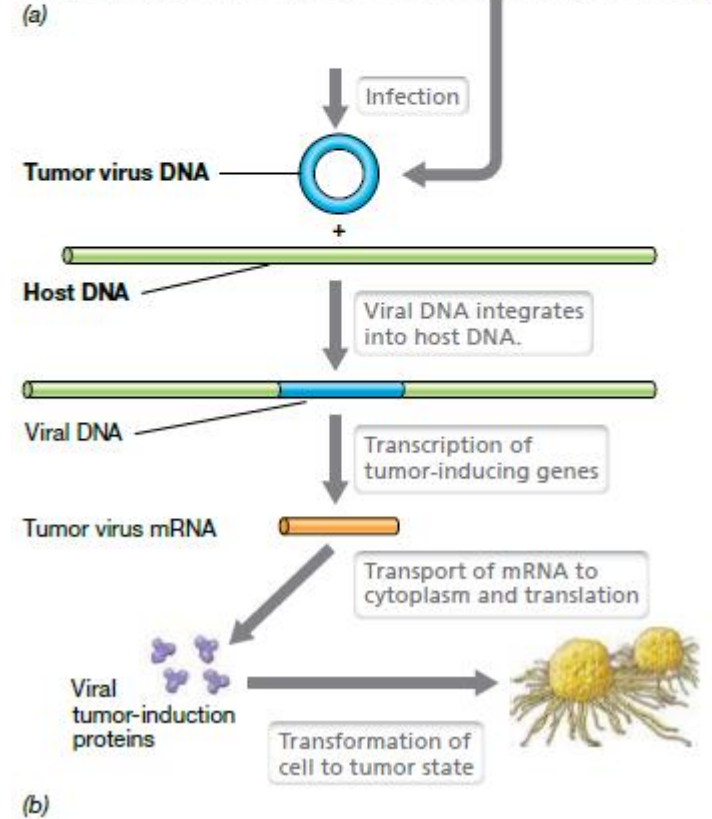
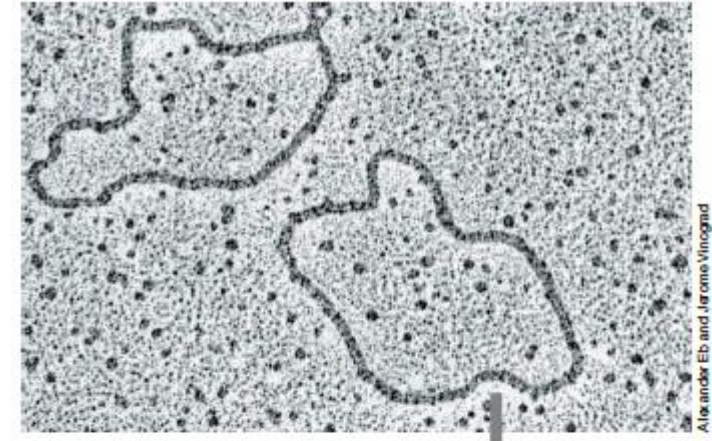
Poliomavirüs SV40'ın Genetik ve Çoğalma Özellikleri

- SV40, zarsız ikozahedral bir virüstür ve halkasal çift sarmallı DNA genoma sahiptir (Figür a).
- Genomun küçük olması nedeniyle kendi DNA polimerazını kodlayamaz ve çoğalmak için konak hücrenin DNA polimerazını kullanır.
- Replikasyon tek bir başlangıç bölgesinden iki yönlü şekilde ilerler ve küçük genomlu virüslerde yaygın olan genlerin örtüşmesi stratejisi burada da görülür.
- Transkripsiyon çekirdekte gerçekleşir, mRNA'lar sitoplazmaya taşınır ve yeni SV40 virüsleri çekirdekte birleştirilerek hücre lizisiyle dışarı salınır.



SV40 Enfeksiyonunda Permissive ve Nonpermissive Hücreler

- SV40 enfeksiyonu iki farklı sonuç doğurabilir ve bu sonuçlar tamamen konak hücrenin özelliklerine bağlıdır.
- Permissive hücrelerde virüs çoğalır, yeni virionlar oluşur ve süreç hücre lizisi ile tamamlanır.
- Non-permissive hücrelerde ise litik döngü gerçekleşmez; viral DNA konak genomuna entegre olur (Figür b).
- Bu hücrelerde büyüme inhibisyonunun kaybı ve malign dönüşüm görülebilir ve bu dönüşümde viral tümör-indükleyici proteinlerin rolü kritiktir.

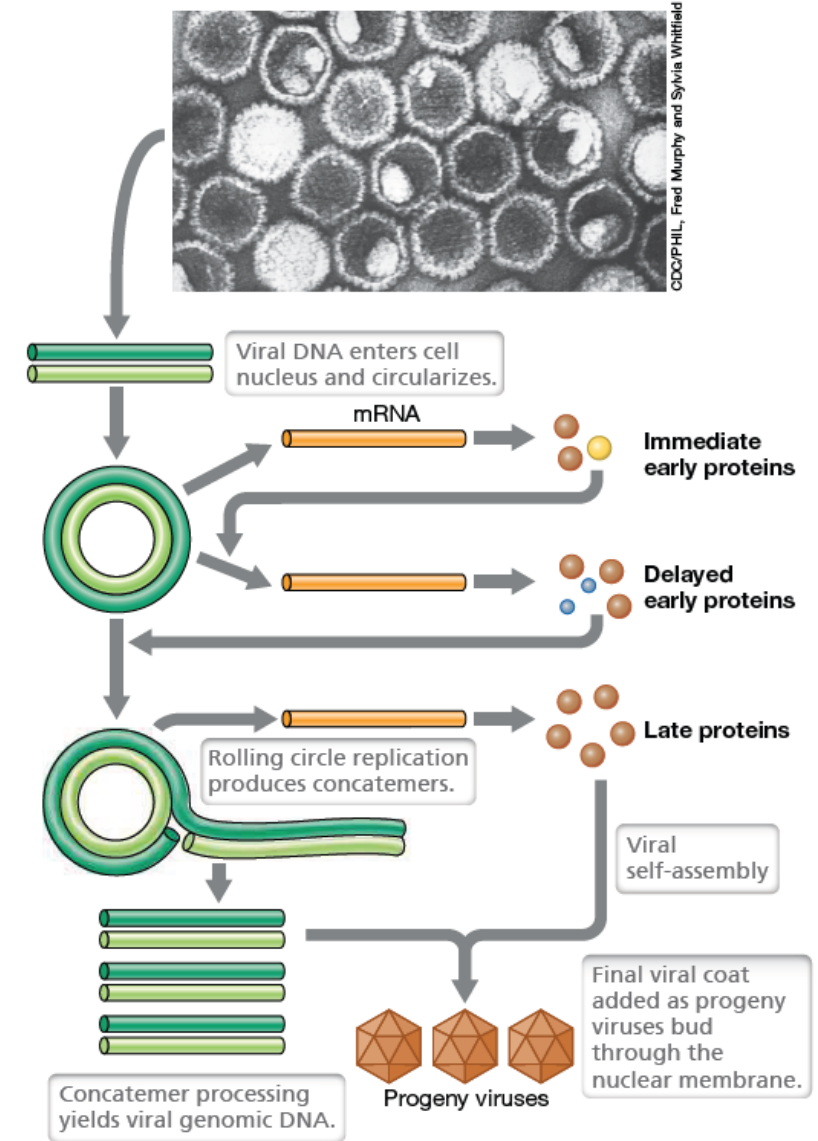


Herpesvirüslerin Hastalık Spektrumu ve Yaygınlığı

- Herpesvirüsler çift sarmallı DNA taşıyan büyük bir virüs grubudur ve uçuk, genital herpes, su çiçeği, zona ve enfeksiyöz mononükleoz gibi birçok hastalığa neden olur.
- Bazı herpesvirüsler kanser gelişiminde rol oynar; örneğin Epstein–Barr virüsü Burkitt lenfomasının etkenidir.
- Sitomegalovirüs (CMV), yetişkin nüfusun büyük kısmında sessiz enfeksiyonlar oluşturmalarına rağmen bağışıklığı baskılanmış bireylerde ciddi hastalıklara yol açabilir.
- Bu geniş hastalık yelpazesi, herpesvirüsleri tıbbi virolojinin en önemli gruplarından biri haline getirir.

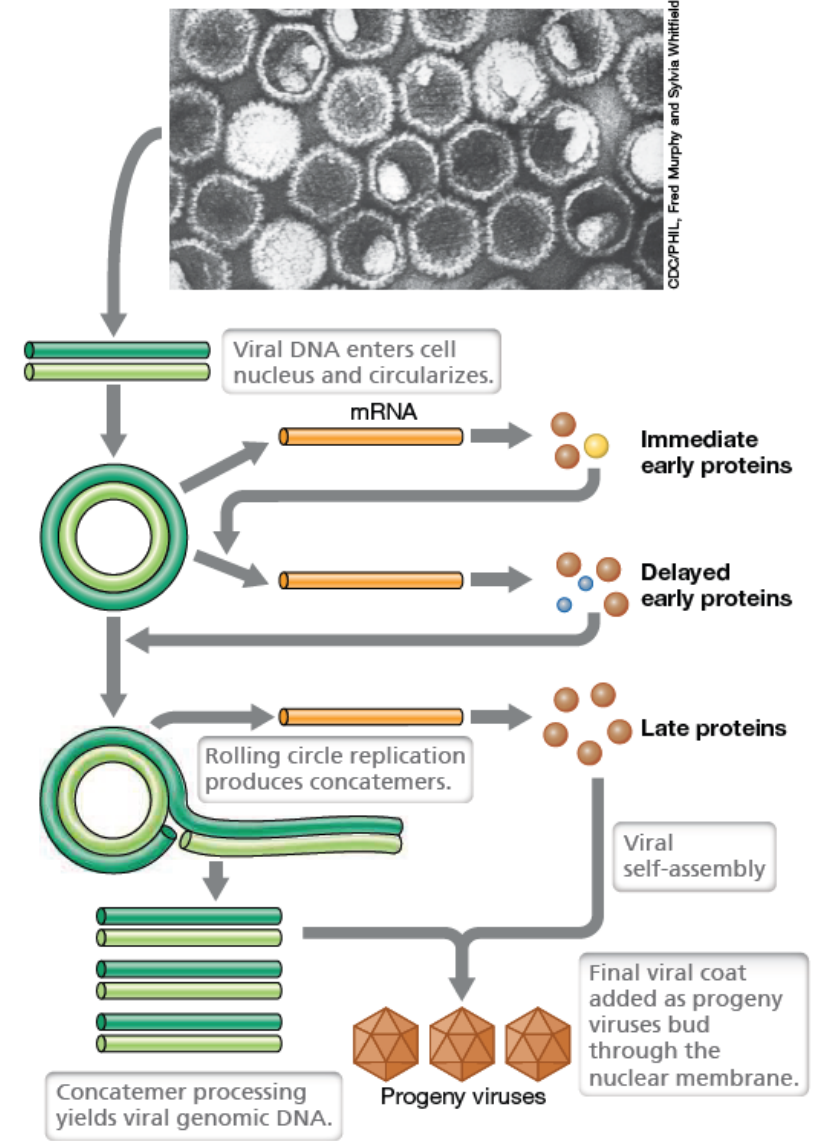
Herpesvirüslerde Latentlik ve Gen İfadesi Aşamaları

- Herpesvirüsler vücutta uzun süre latent halde kalabilir ve stres ya da bağışıklığın zayıflamasıyla yeniden aktive olabilir.
- Virionlar zarlı olup ikozahedral nükleokapsidi çevreleyen çok katmanlı yapılara sahiptir.
- Konak hücreye giriş sonrasında çekirdekte üç sınıf mRNA üretilir: immediate early (hemen erken), delayed early (gecikmeli erken) ve late (geç) sınıfları.
- Immediate early gen ürünleri, delayed early proteinlerin sentezini uyarırken, delayed early evrede viral DNA polimeraz ve DNA bağlayıcı protein gibi replikasyon için gerekli proteinler sentezlenir.



Herpesvirüslerde DNA Replikasyonu ve Virion Oluşumu

- Herpesvirüs DNA'sı enfeksiyon sonrası çekirdekte halkalaşır ve DNA replikasyonu rolling circle mekanizmasıyla gerçekleşir.
- Rolling circle replikasyonu sonucunda uzun konkatemerik DNA zincirleri oluşur ve bunlar montaj sırasında virüs uzunluğunda parçalara ayrılır.
- Nükleokapsidlerin montajı çekirdekte gerçekleşir ve virüs zarfı, nükleer membran üzerinden tomurcuklanma sırasında elde edilir.
- Olgun virionlar daha sonra endoplazmik retikulum aracılığıyla hücre dışına taşınarak serbest bırakılır.



RNA Genomlu Virüslerin Genel Özellikleri

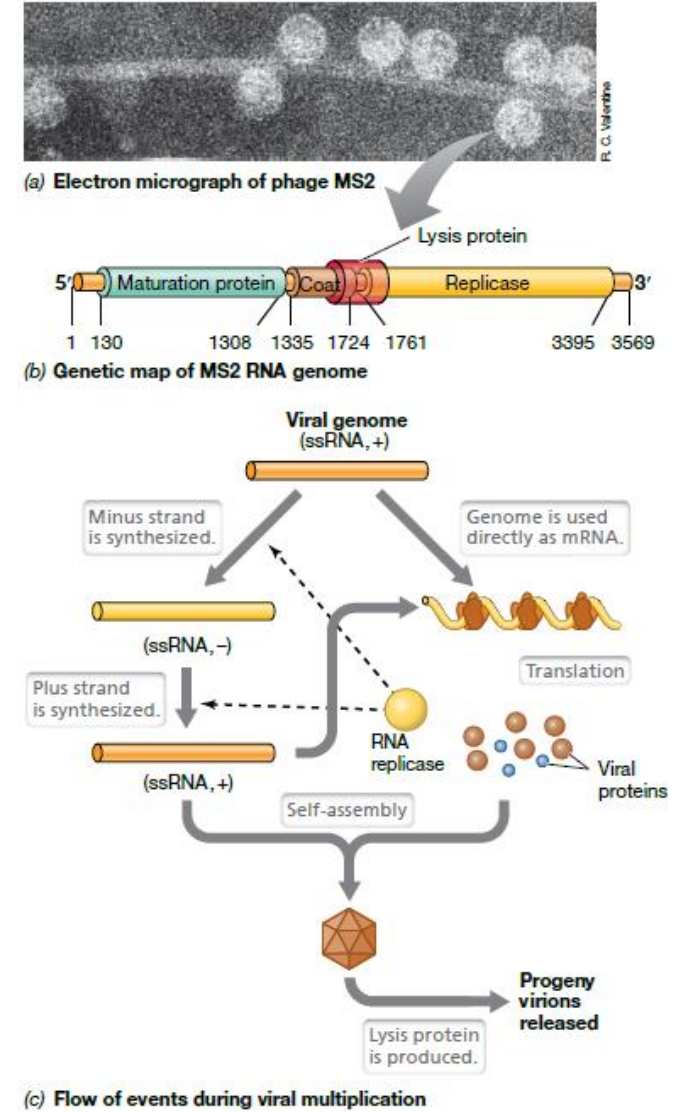
- RNA virüslerinin çok çeşitli konakları enfekte ettiği ve muhtemelen Dünya’da ortaya çıkan ilk virüsler olduğu belirtilmektedir.
- RNA virüsleri, Baltimore sınıflandırmasında III–VI gruplarında yer alır.
- Bu kısımda RNA virüsleri, DNA virüslerinde olduğu gibi genomik özelliklerine göre incelenecektir.

Pozitif-Zincir RNA Virüslerine Giriş

- Pozitif-zincir RNA virüslerinde genom dizisi ile mRNA dizisi aynıdır.
- Hem hayvan hem de bakteriyel pozitif-zincir RNA virüsleri bulunmasına rağmen burada yalnızca iyi çalışılmış bazı örnekler ele alınacaktır.
- Bu virüslerin çoğu tek iplikli RNA genomlarına sahiptir.
- İlk örnek küçük bir RNA fajı olan MS2'dir.

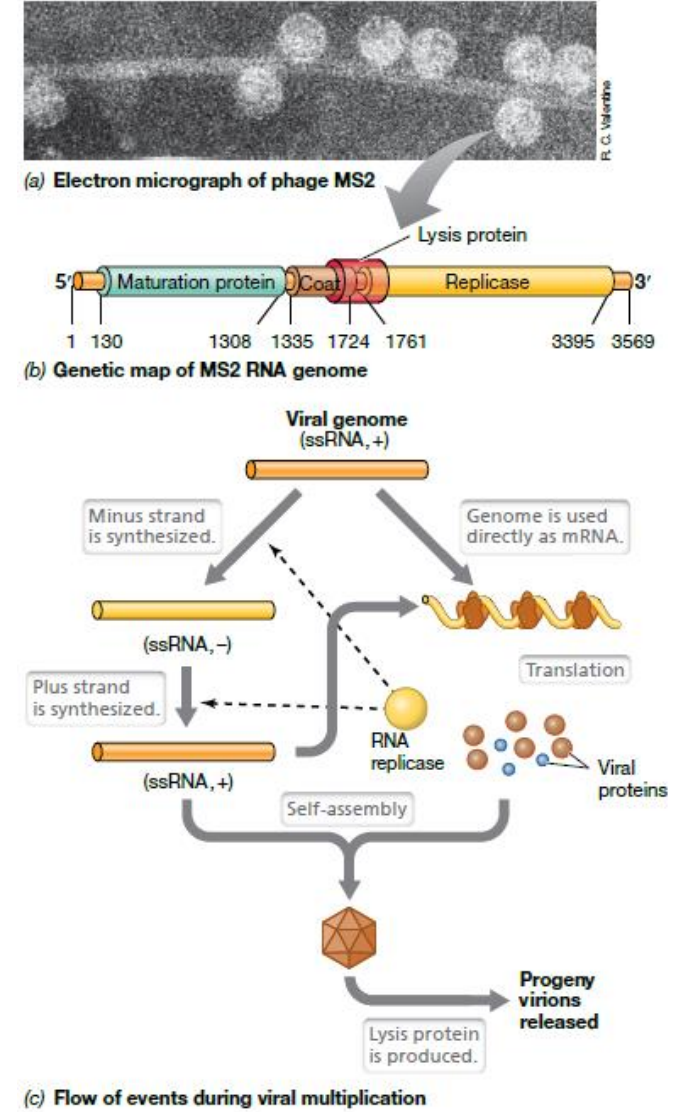
Bakteriyofaj MS2'nin Yapısı ve Konak Etkileşimi

- MS2 yaklaşık 25 nm çapında, ikozahedral kapside sahip çok küçük bir fajdır.
- Virüs, normalde konjugasyonda görev yapan pilusa bağlanarak *E. coli* hücrelerini enfekte eder (Figür a).
- Viral RNA'nın pilustan hücre içine nasıl geçtiği bilinmemektedir, ancak girişten hemen sonra replikasyon olayları başlar.
- MS2'nin genetik haritası ve temel aktiviteleri Figür b ve c'de gösterilmiştir.



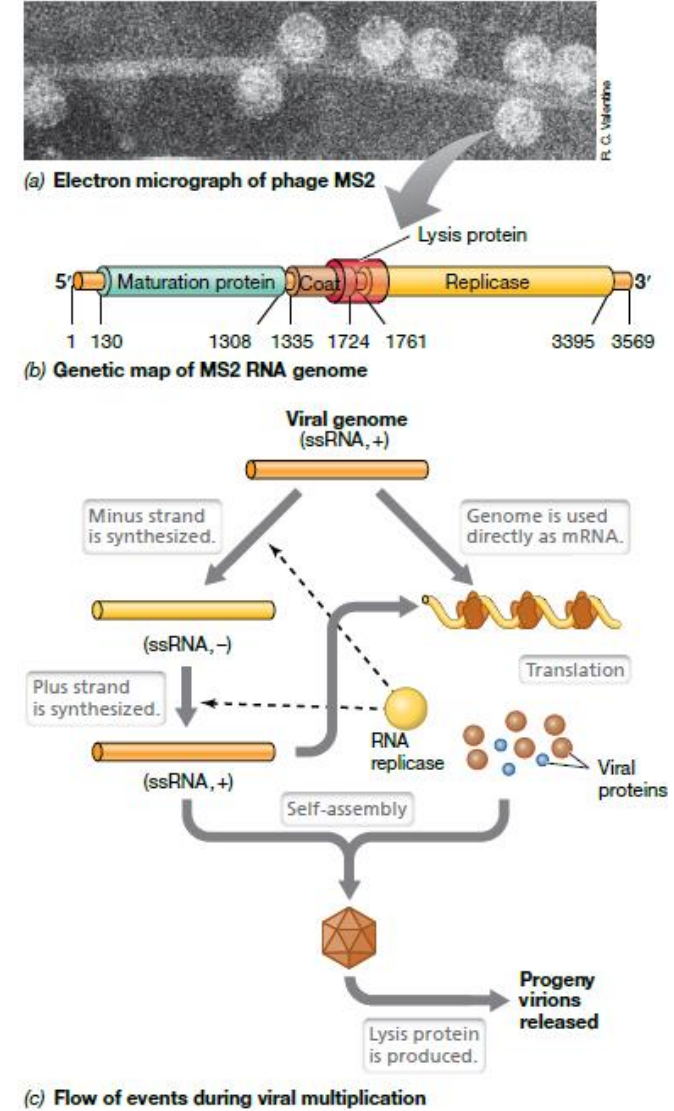
MS2 Genomunun Küçüklüğü ve Protein Kodlaması

- 3.5 kb büyüklüğündeki MS2 genomunun, maturasyon (olgunlaşma) proteini, kılıf proteini, lizis proteini ve replikazın bir alt birimi dâhil yalnızca dört proteini kodlar.
- MS2 RNA replikazının üç alt birimi konağa, bir alt birimi ise virüse aittir.
- Lizis proteini geni, kılıf proteini ve replikaz alt birimini kodlayan genlerle örtüşerek küçük genomların daha fazla protein kodlamasını sağlar.
- Bu genom organizasyonu küçük virüslerin bilgi kapasitesini artırmak için geliştirdiği bir stratejidir.



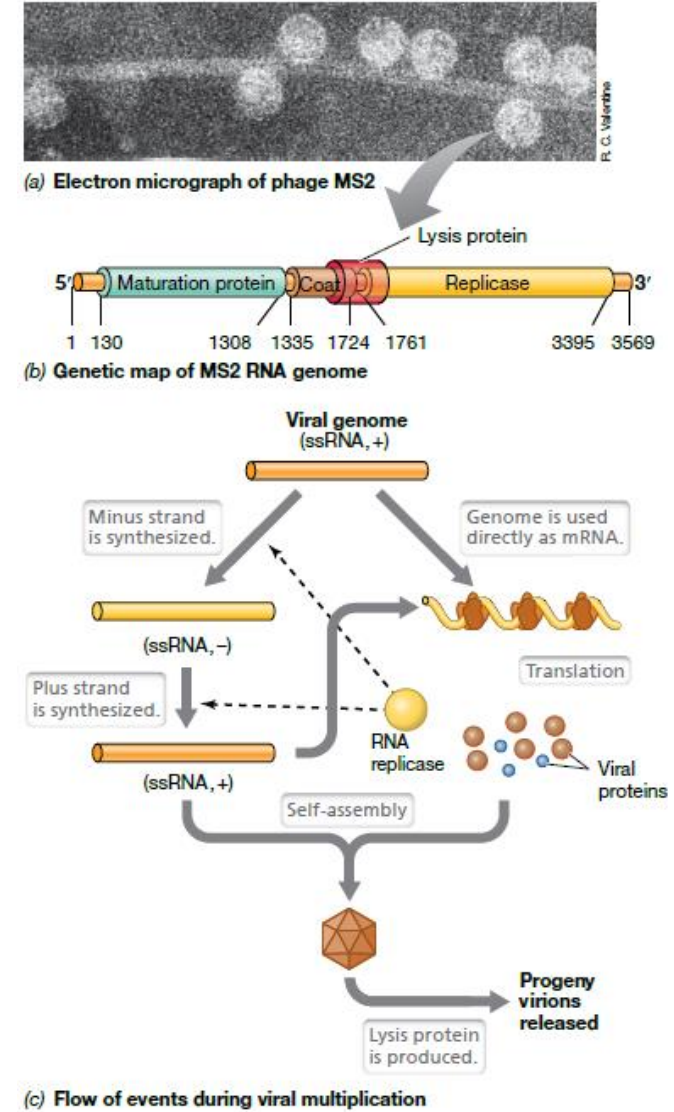
MS2 RNA'sının Doğrudan Translasyonu ve Replikasyonu

- MS2 genomu, pozitif-anlamalı RNA olduğu için hücreye girdikten sonra doğrudan konak ribozomları tarafından transle edilir.
- Replikaz sentezlendikten sonra pozitif iplikçiği kalıp olarak kullanarak negatif-sense RNA sentezine başlar.
- Negatif iplikçikler biriktikçe bu kalıplardan yeni pozitif iplikçikler üretilir ve bir kısmı da yapısal protein sentezi için transle edilir.
- Bu döngü, hem yeni genomların hem de yeni viral proteinlerin üretilmesini sağlar.



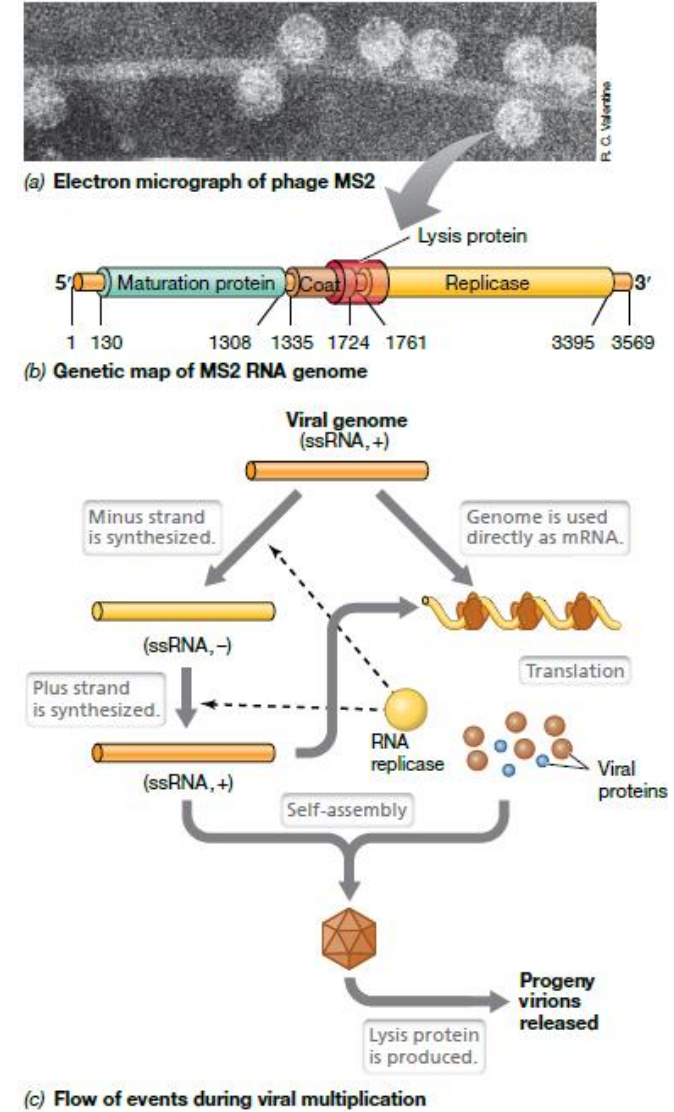
MS2'de Translasyonun Düzenlenmesi

- MS2 genomik RNA'sı karmaşık bir ikincil yapı oluşturur ve dört adet AUG başlangıç kodonu bu yapının içinde yer alır.
- Kılıf proteini ve replikazın translasyon başlangıç bölgeleri ribozomlar için en erişilebilir bölgelerdir ve enfeksiyonun erken döneminde bunlar öncelikle transle edilir.
- Kılıf proteini biriktikçe, replikaz proteini AUG bölgesine bağlanarak replikaz sentezi durdurulur.
- Maturasyon proteini geni 5' uçta olmasına rağmen RNA'nın katlanması nedeniyle translasyon sınırlıdır ve bu nedenle yalnızca az sayıda kopya üretilir.



MS2 Virionlarının Oluşumu ve Salınımı

- Proteinlerin doğru miktarlarda sentezlenmesiyle birlikte MS2 virionları kendiliğinden bir araya gelmeye başlar.
- Lizis proteininin görev yapmasıyla enfekte hücre parçalanır ve yeni virionlar salınır.
- Bu süreç, gerekli protein oranlarının doğru şekilde ayarlanması sayesinde verimli biçimde tamamlanır.
- MS2'nin basit fakat etkili yaşam döngüsü küçük RNA virüslerinin stratejilerini iyi yansıtır.

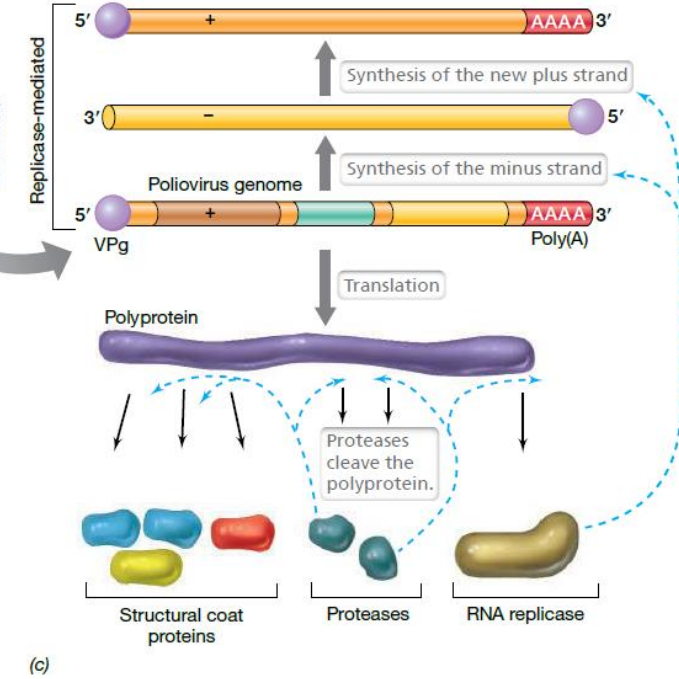
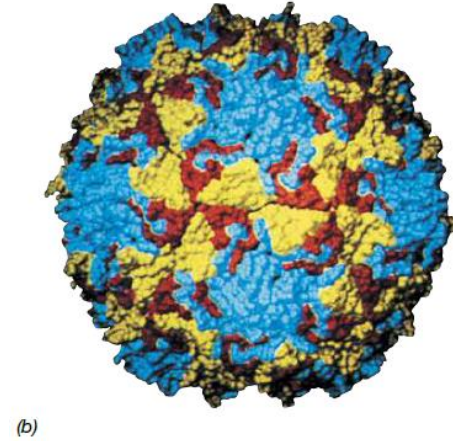
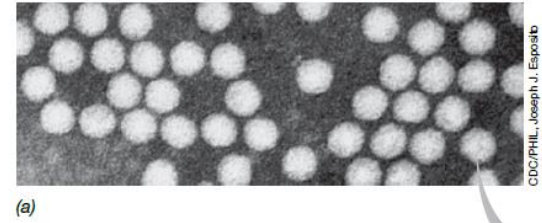


Pozitif-Zincir Hayvan RNA Virüslerine Giriş

- Poliovirüs, rinovirüs, koronavirüs ve hepatit A virüsü gibi birçok pozitif-zincir RNA virüsü insanlarda hastalıklara yol açar.
- Bu gruptan özellikle poliovirüs ve koronavirüsler incelenecektir, her ikisi de lineer RNA genomlarına sahiptir.
- Poliovirüs, pozitif-anlamalı RNA virüslerinin işleyişini anlamak için iyi çalışılmış bir modeldir.
- Bu kısımda ilk olarak poliovirüs ele alınacaktır.

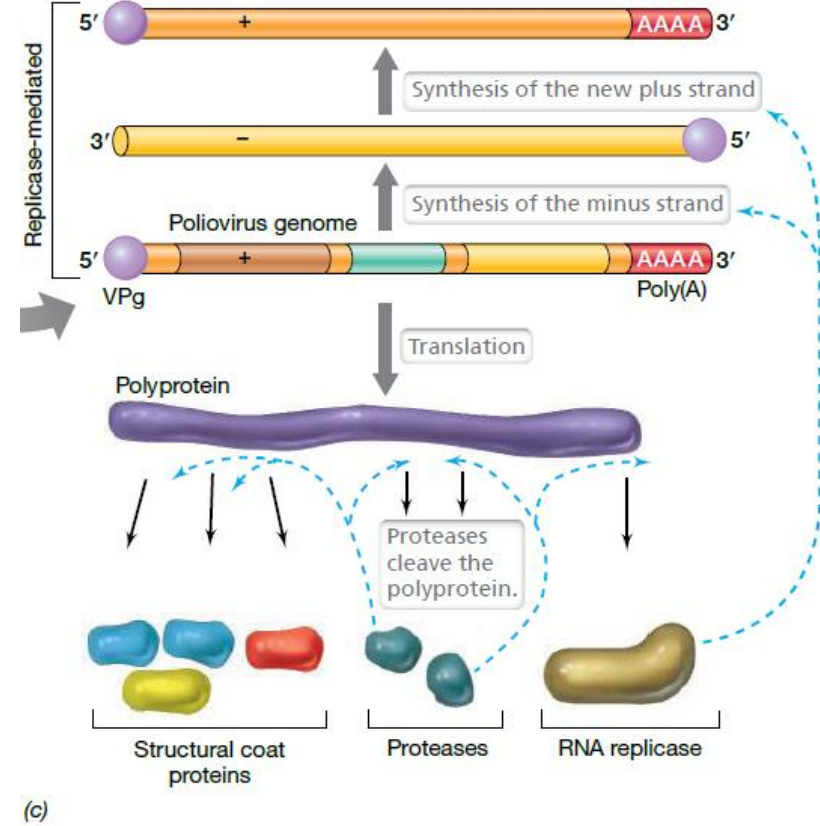
Poliovirüsün Yapısı ve Genom Organizasyonu

- Poliovirüs yaklaşık 30 nm çapında, 60 morfolojik alt birim içeren ikozahedral bir yapıya sahiptir (Figür a, b).
- Viral RNA'nın 5' ucunda VPg adı verilen kovalent bağlı bir protein, 3' ucunda ise poli(A) kuyruğu bulunur (Figür c).
- Poliovirüs genomu yaklaşık 7.4 kb büyüklüğündedir ve doğrudan mRNA görevi görür.
- VPg proteini, viral RNA'nın konak ribozomlarına bağlanmasını kolaylaştırır.



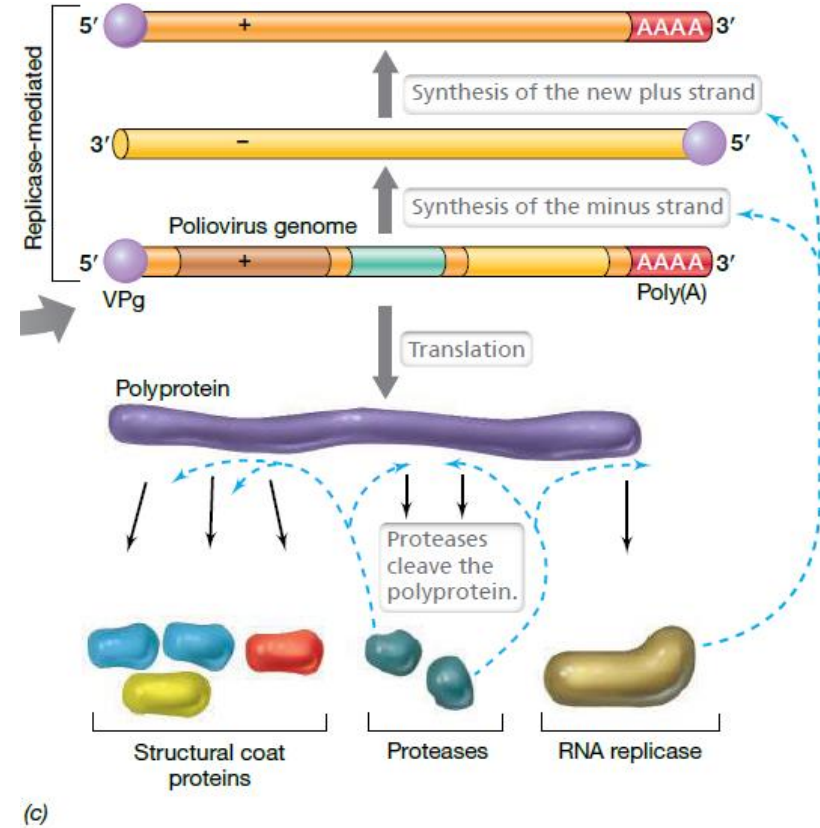
Poliovirüste Poliprotein ve Post-Translasyonel İşlenme

- Poliovirüs RNA'sı translasyonu sonucunda tek bir poliprotein üretilir ve bu protein kendini keserek daha küçük proteinlere dönüşür.
- Elde edilen proteinlerin arasında virionun yapısal proteinleri, VPg proteini, bir RNA replikazı ve poliprotein kesiminden sorumlu virüs kaynaklı bir proteaz yer alır.
- Yandaki figürde gösterilen bu mekanizma, post-translasyonel klevaj olarak adlandırılır.
- Post-translasyonel klevaj birçok hayvan virüsünde ve hayvan hücresinde yaygın bir mekanizmadır.



Poliovirüsün Hücreye Girişi ve Replikasyonu

- Poliovirüs enfeksiyona, duyarlı hücrelerin yüzeyindeki belirli bir reseptöre bağlanarak başlar ve ardından hücre içine alınır.
- Virion uncoating (kılıfın açılması) işlemi sonrasında genomik RNA ribozomlara bağlanarak poliprotein sentezine başlar.
- Replikasyon erken başlar ve hem pozitif hem negatif RNA zincirleri VPg proteini eşliğinde sentezlenir.
- Enfeksiyondan yaklaşık 5 saat sonra hücre lizisiyle çok sayıda yeni poliovirüs serbest kalır.

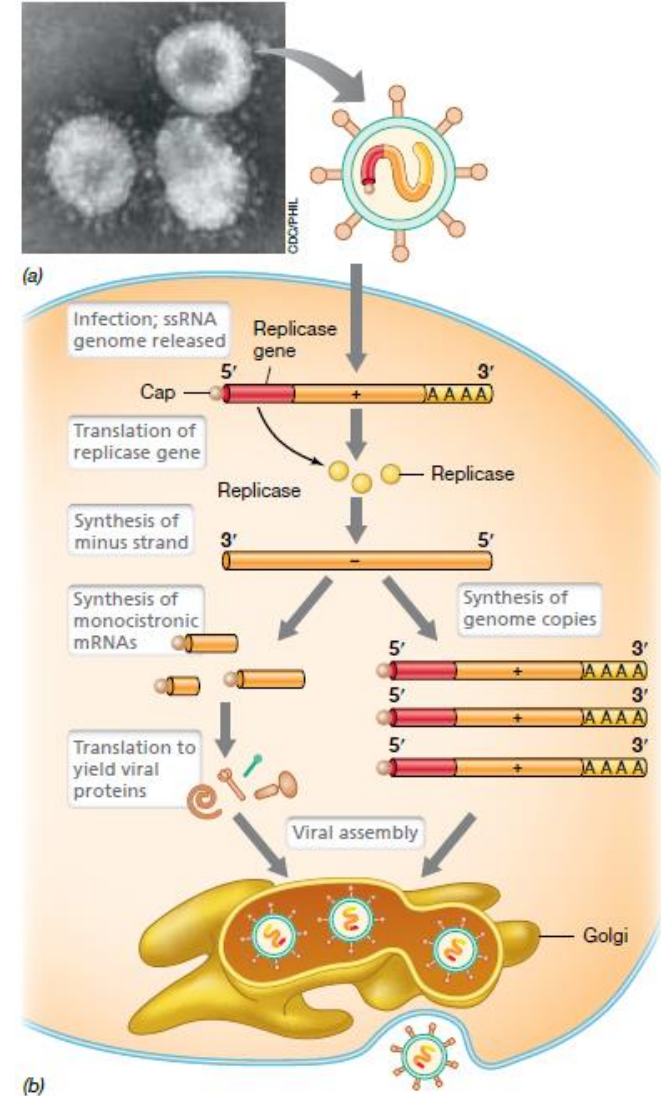


Coronavirüslerin Genel Özellikleri

- Coronavirüsler, poliovirüse benzer şekilde sitoplazmada çoğalan tek iplikli pozitif RNA virüsleridir.
- Bu virüsler, insanlarda ve diğer hayvanlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur ve soğuk algınlıklarının yaklaşık yüzde 15'inden sorumludur.
- İnsanlarda zaman zaman ölümcül olabilen alt solunum yolu enfeksiyonu SARS'a da yol açabilir.

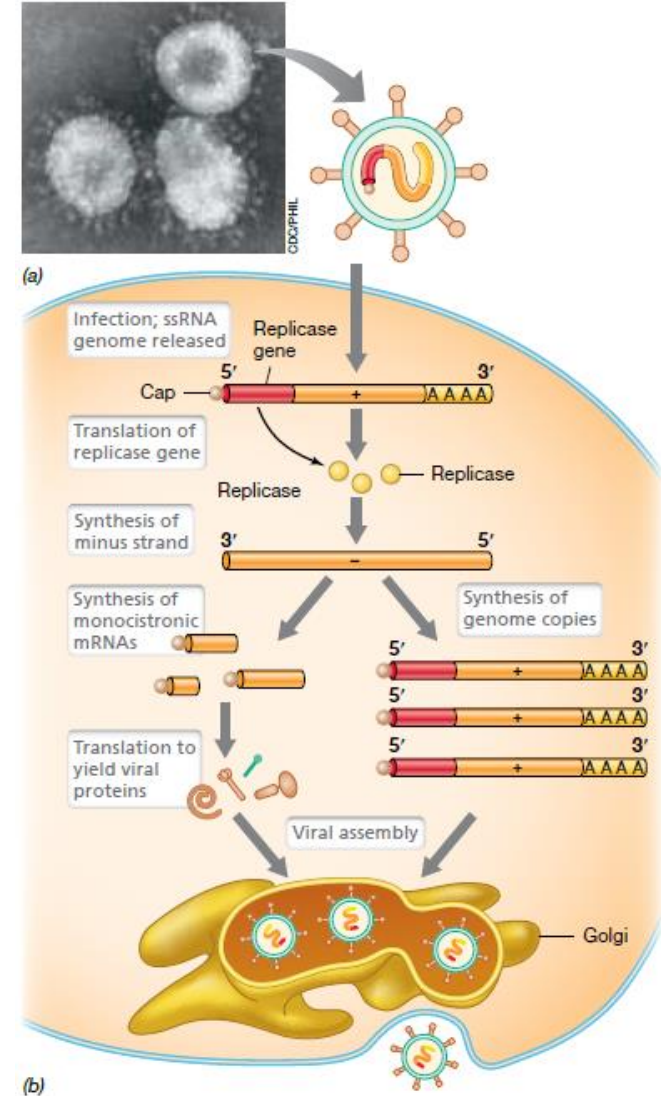
Coronavirus Virion Yapısı

- Coronavirüs virionları zarlı bir yapıya sahiptir ve yüzeylerinde çomak biçimli glikoprotein çıkıntıları bulunur.
- Bu çıkıntılar virüse taç benzeri bir görünüm verir (Figür a).
- Coronavirüs genomları, yaklaşık 30 kb büyüklüğüyle bilinen RNA virüsleri arasında en geniş genomlardan birine sahiptir.



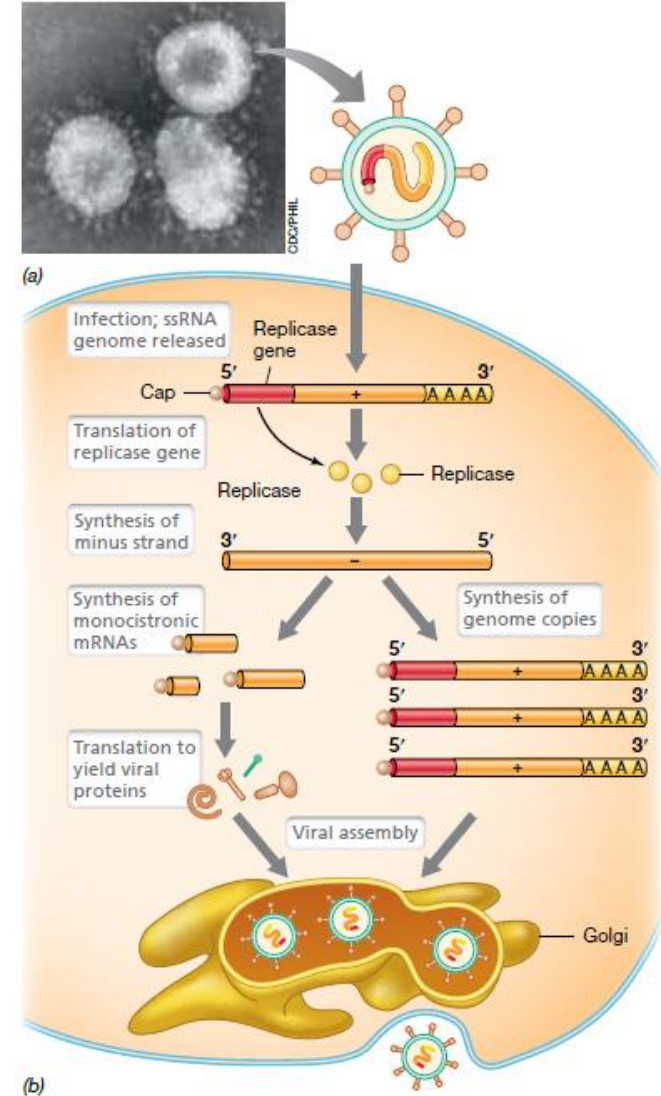
Coronavirus Genomunun Protein Üretimi

- Pozitif polariteli genom RNA'sı doğrudan mRNA gibi işlev görebilir ancak genomun büyük kısmı doğrudan transkribe edilmez.
- Genomun yalnızca RNA replikazını kodlayan bölgesi transkribe edilir (Figür b).
- Replikaz enzimi, genomik RNA'yı kalıp olarak kullanarak önce tamamlayıcı negatif iplikleri oluşturur ve bu negatif ipliklerden çeşitli mRNA'lar sentezlenir.



Yeni Coronavirus Virionlarının Oluşumu

- Negatif ipliklerden hem viral proteinlerin üretildiği mRNA'lar hem de tam uzunlukta genomik RNA sentezlenir.
- Yeni virionların montajı ökaryot hücrelerdeki önemli bir salgı organeli olan Golgi kompleksinde gerçekleşir.
- Tam olarak oluşmuş virionlar daha sonra hücre yüzeyinden salınarak çevredeki hücreleri enfekte edebilir.



Coronavirus ile Poliovirus Arasındaki Farklar

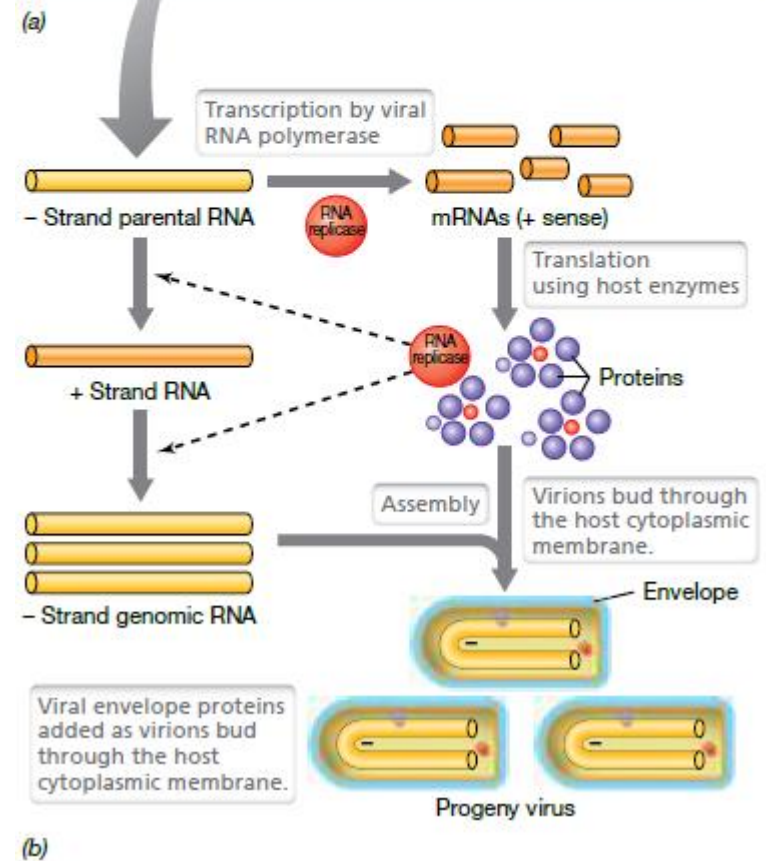
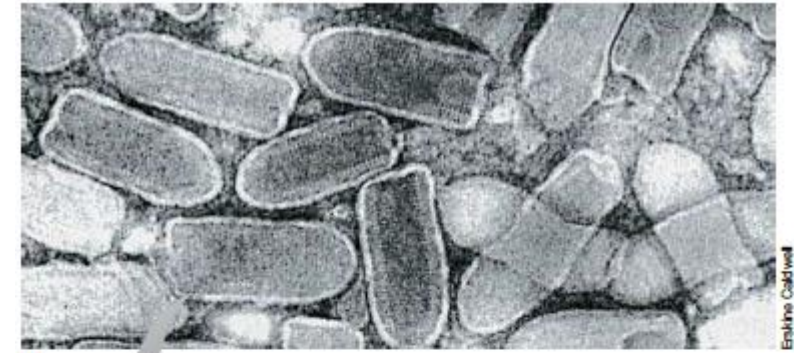
- Coronavirus, poliovirüse göre daha büyük bir virion ve genom yapısına sahiptir.
- Coronavirüslerde VPg proteini bulunmaz ve poliovirüste görülen poliprotein oluşumu ile onun parçalanması gerçekleşmez.
- Buna rağmen, her ikisinin de tek iplikli pozitif polariteli RNA genomuna sahip olması nedeniyle bazı moleküler süreçler benzer şekilde ilerler.

Negatif İplikli RNA Virüslerine Giriş

- Bazı hayvan virüsleri negatif polariteli RNA genomlarına sahiptir ve bu virüsler Baltimore sınıflandırmasında sınıf V olarak belirtilir.
- Bu virüslerin genom dizisi, oluşacak mRNA'nın komplementeridir ve bu yönleriyle pozitif iplikli virüslerden ayrılırlar.
- Kuduz ve influenza virüsü bu grup içerisinde ele alınacak iki önemli gruptur.

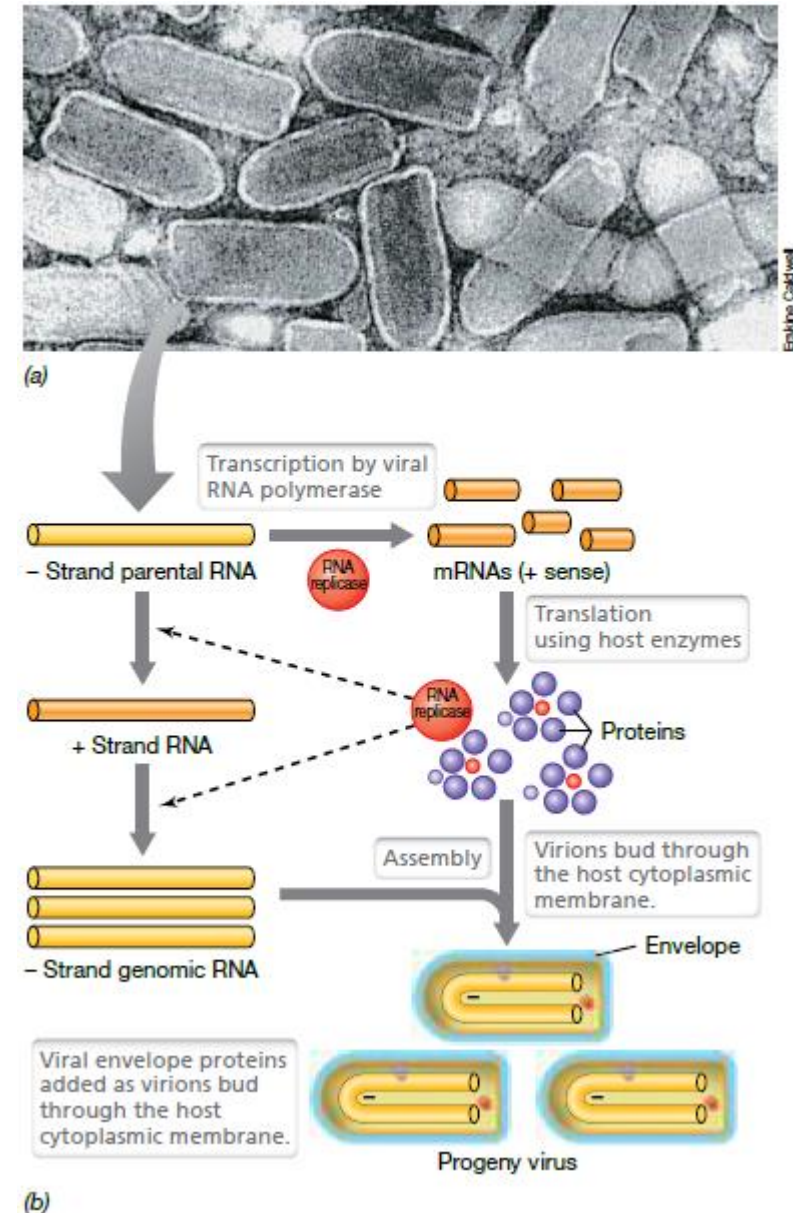
Rabies Virüs'ün Temel Özellikleri

- Kuduz hastalığına neden olan rabies virüsü, karakteristik çubuk biçimli görünümü nedeniyle rhabdovirus olarak adlandırılır.
- Rhabdovirus virionları genellikle mermi şeklindedir (Figür a).
- Virion, helikal nükleokapsidi çevreleyen karmaşık bir lipid zarf taşır ve enfeksiyon için gerekli olan birkaç enzimi içerir.



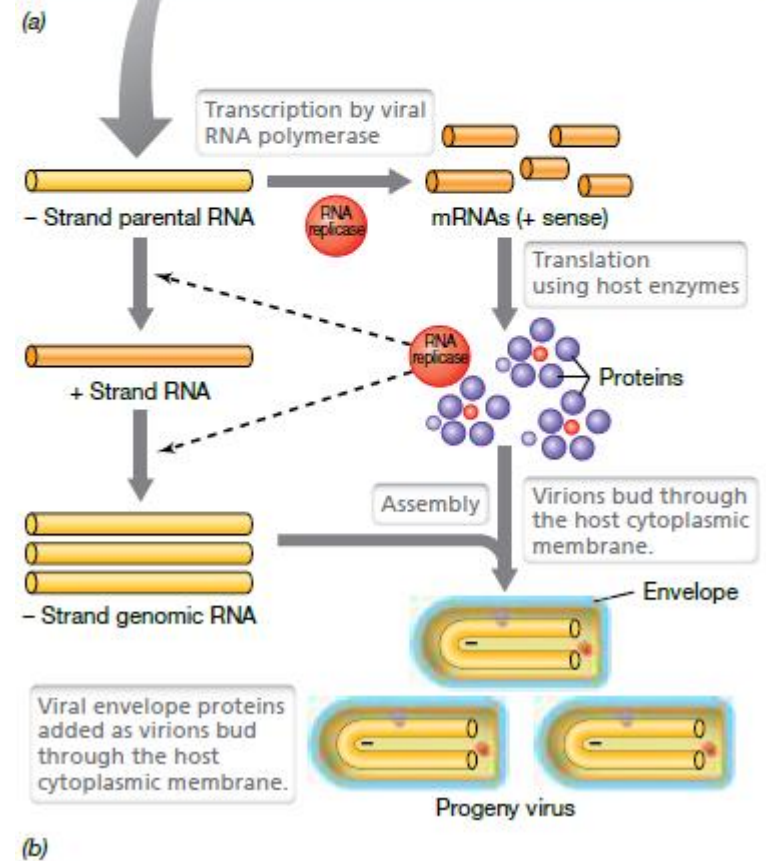
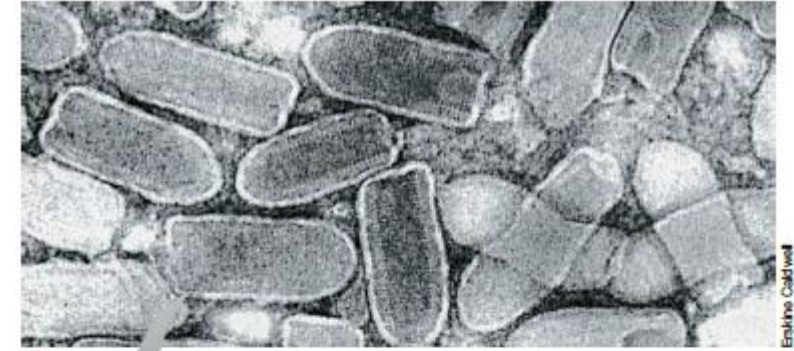
Rabies Virüsün Genom Kullanımı

- Rabies virüs genomu negatif polariteli olduğundan doğrudan transkribe edilemez ve önce replikaz enzimi tarafından transkripsiyona uğraması gerekir.
- Bu süreç sitoplazmada gerçekleşir ve iki sınıf RNA oluşturur.
- Bu RNA'lerden biri viral proteinleri kodlayan mRNA serisi iken diğeri tüm genomun tamamlayıcı bir kopyasıdır ve yeni genomik RNA sentezi için kalıp görevi görür (Figür b).



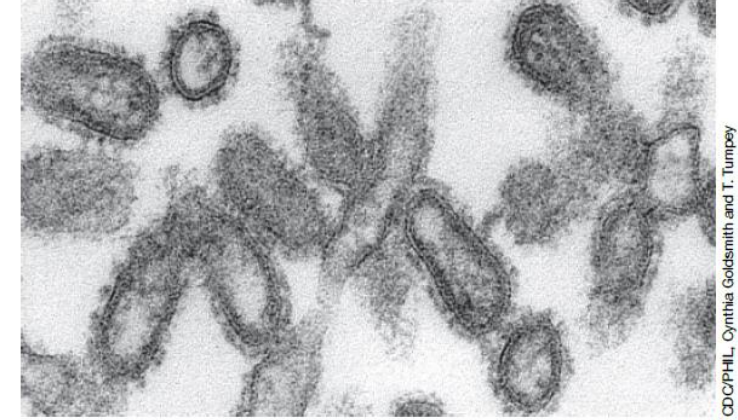
Rabies Virüsün Montajı ve Salınımı

- Virionun montajı sırasında önce nükleokapsid proteini viral genom etrafında birleşerek nükleokapsidi oluşturur.
- Zarf proteinleri ise glikoprotein yapısındadır ve sitoplazmik membrana taşınarak buraya yerleşir.
- Nükleokapsidler, glikoprotein içeren membran bölgelerine doğru ilerleyerek bu noktalardan tomurcuklanır ve böylece yeni virionlar oluşarak hücre dışına salınır.

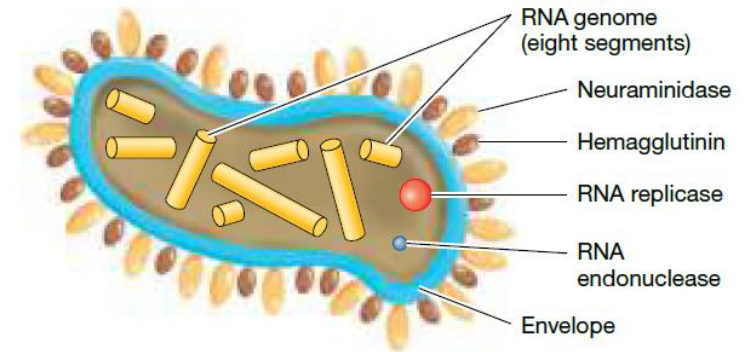


Influenza Virüsünün Genel Özellikleri

- Influenza virüsü, 1918 pandemisinden beri yoğun şekilde araştırılan ve önemli insan patojenleri arasında yer alan zarflı bir virüstür.
- Viral genom, birden fazla parçaya ayrılmış şekilde bulunur ve bu durum segmentli genom olarak adlandırılır.
- Influenza A virüsünde genom, 890 ile 2341 nükleotid uzunluklarında sekiz adet doğrusal tek sarmallı RNA parçasından oluşur.
- Virüsün nükleokapsidi helikal simetri gösterir ve pleomorfik virion yapısına sahiptir (Figür a).



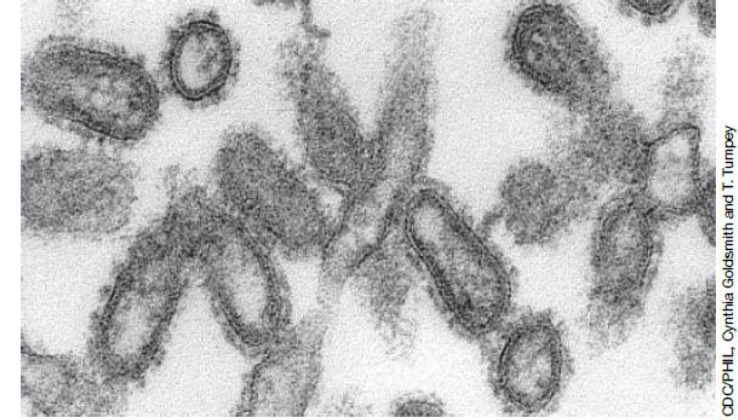
(a)



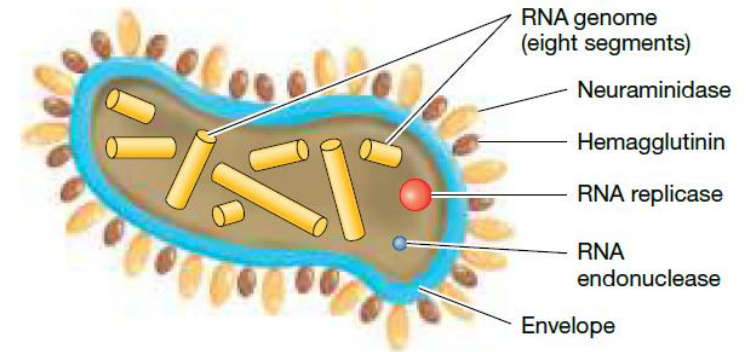
(b)

Influenza Virüsünün Yapısı ve Enfeksiyonla İlişkili Proteinleri

- Influenza virüsü zarfında, hem konak zarından türeyen lipitler hem de virüse özgü yüzey proteinleri bulunur.
- Hemagglutinin proteini, yüksek düzeyde immünojeniktir ve ona karşı oluşan antikorlar virüsün hücreyi enfekte etmesini engeller (Figür b).
- Nöraminidaz enzimi, konak hücre zarındaki sialik asidi parçalayarak virüs montajının kesintiye uğramasını önler.
- Virion ayrıca RNA replikaz ve viral mRNA'ları konağın translasyon için kullanabilmesi amacıyla “cap” yapısını kesip kullanan bir RNA endonükleaz taşır.



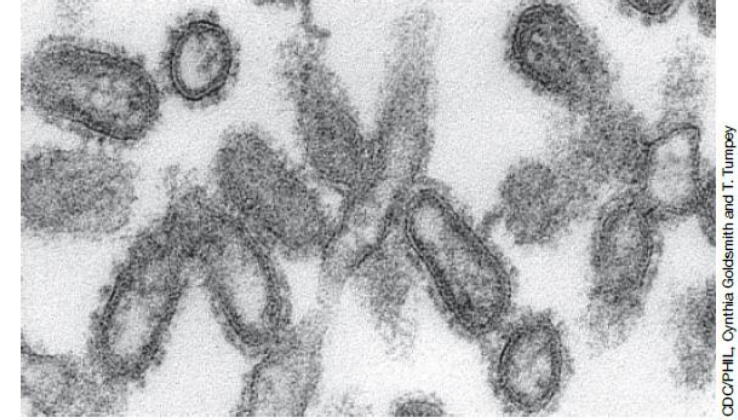
(a)



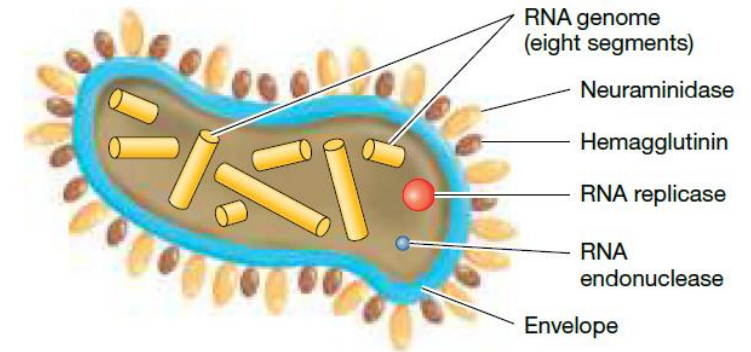
(b)

Influenza Virüsünde Genom Ekspresyonu ve Replikasyon

- Virion hücreye girdikten sonra nükleokapsid zarftan ayrılır ve çekirdeğe taşınarak RNA replikaz aktive olur.
- Sekiz genom segmentinden altısı tek bir protein, ikisi ise ikiye protein kodlayarak toplam on viral proteinin sentezlenmesini sağlar.
- Genomik RNA sentezi, rhabdovirüslerdeki modele benzer şekilde ilerler ve (Figür b).
- Olgun virion, konak hücrelerinden tomurcuklanarak zarını alır ve böylece enfeksiyöz hale gelir.



(a)



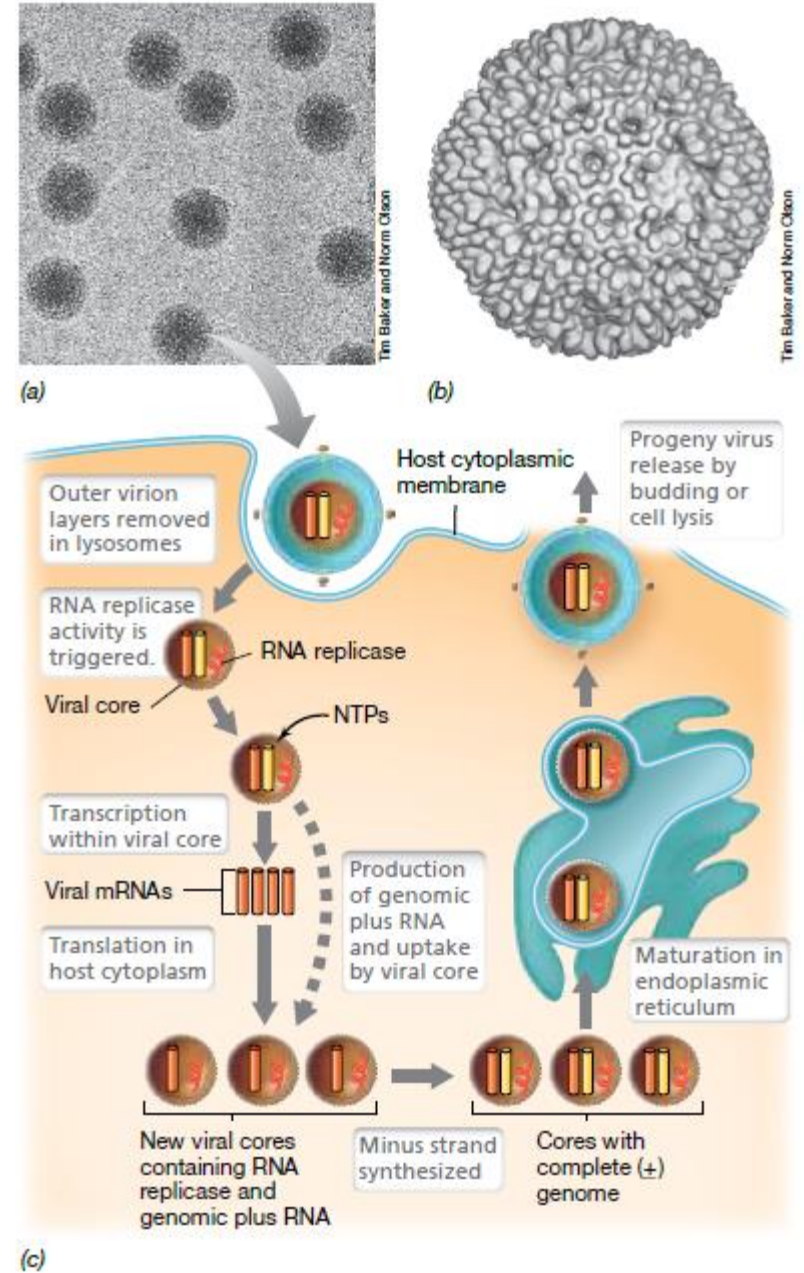
(b)

Influenza Virüsünde Antijenik Shiftin Önemi

- Segmentli genom yapısı, influenza virüsünde iki farklı suş aynı hücreyi enfekte ettiğinde genom parçalarının yeniden düzenlenmesine imkân verir.
- Bu yeniden düzenlenme olayı antijenik shift olarak adlandırılır ve virüsün yüzey proteinlerini tamamen farklı hale getirebilir.
- Yeni yüzey proteinleri bağışıklık sistemi tarafından tanınmadığı için toplumda yaygın bir bağışıklık bulunmaz.
- Bu nedenle antijenik shift, büyük influenza salgınlarının başlıca tetikleyicisi olarak kabul edilir.

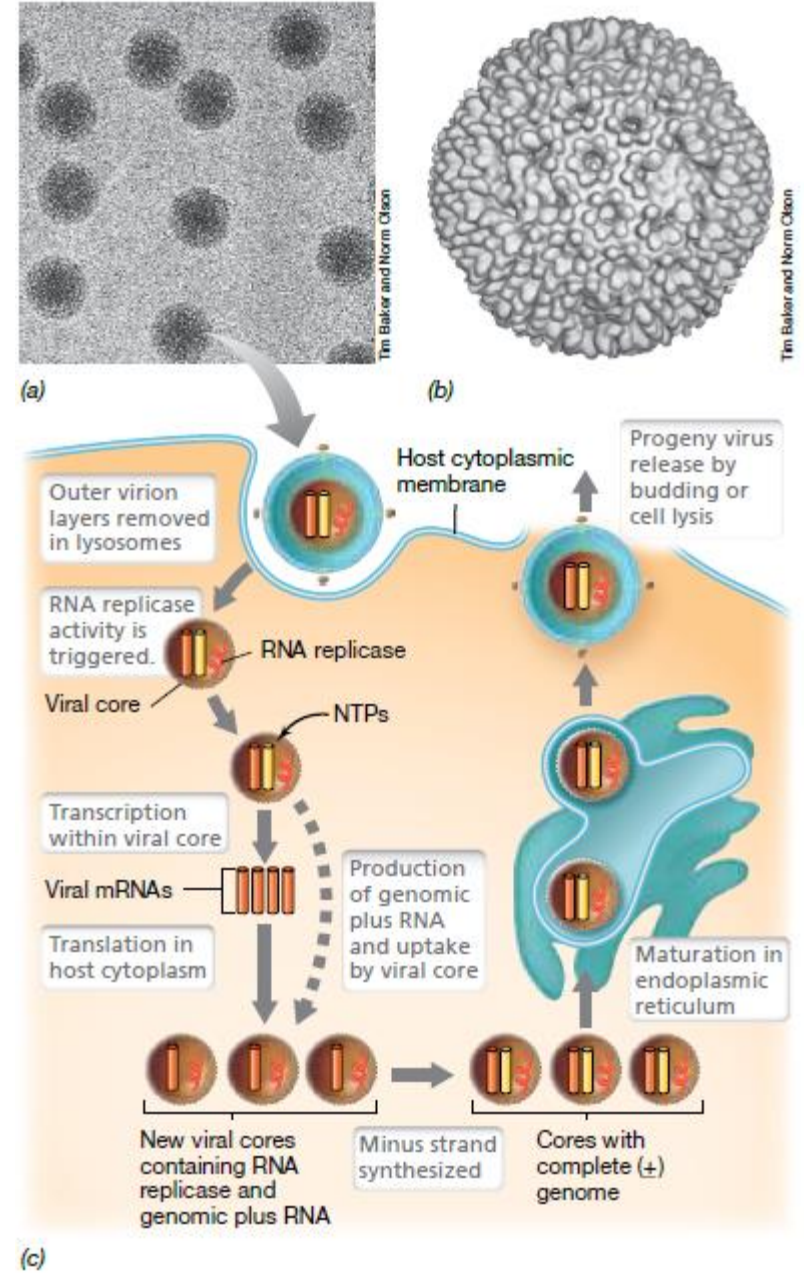
Çift Sarmallı RNA Virüslerine Genel Bakış

- Reovirüsler, çift sarmallı RNA genomuna sahip virüslerin önemli bir ailesidir ve hayvanlar, bitkiler, mantarlar ve bazı bakterileri enfekte edebilir.
- Rotavirüs, altı ay ile iki yaş arasındaki çocuklarda en yaygın ishal etkenidir.
- Reovirüs virionları, 60–80 nm çapında bir nükleokapsidi çevreleyen çift katmanlı ikozahedral bir kapside sahiptir (Figür a, b).
- Reovirüs genomu segmentlidir ve 10–12 parçadan oluşan doğrusal çift sarmallı RNA toplamda 18 kb uzunluğundadır.



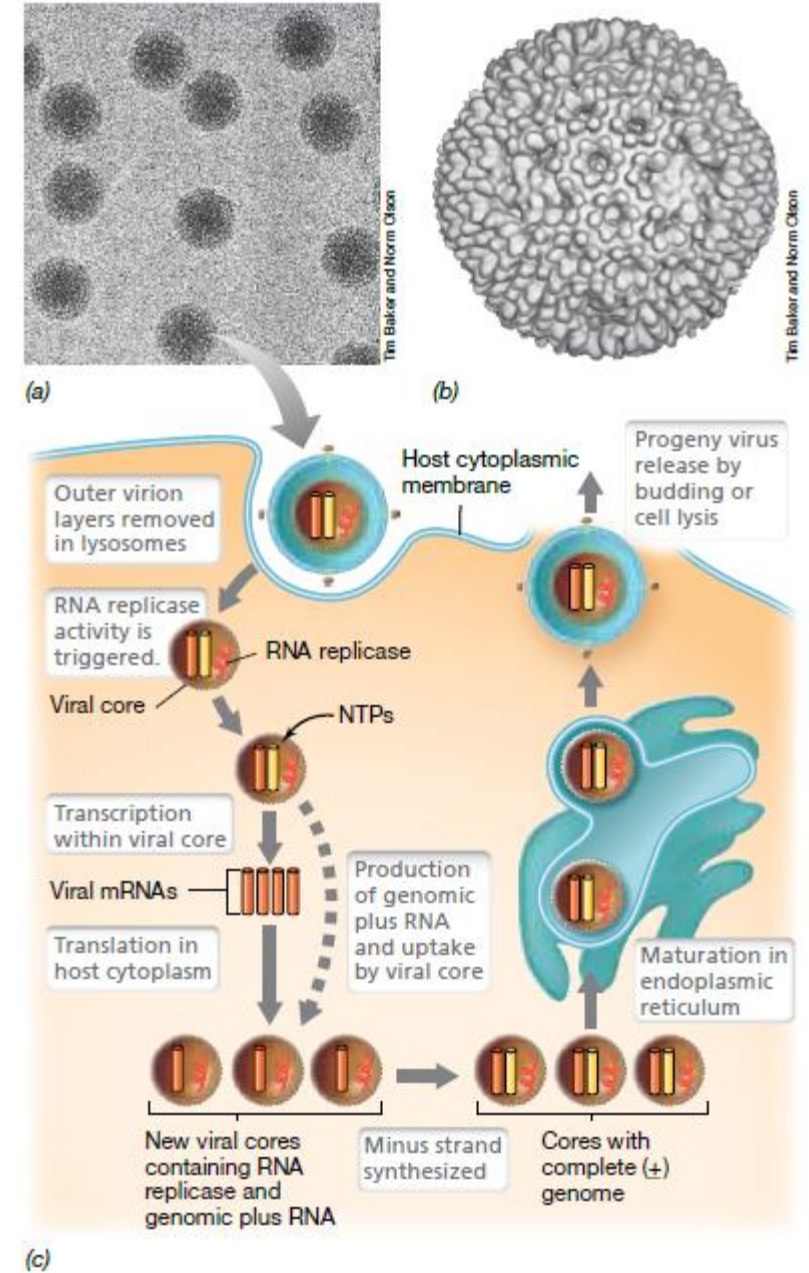
Reovirüs Enfeksiyonunun Başlangıcı

- Reovirüsler hücre yüzeyindeki özgül bir reseptöre bağlanarak enfeksiyonu başlatır.
- Hücre içerisine alınan virion lizozomlara taşınır fakat yalnızca dış kapsid tabakaları uzaklaştırılır.
- Lizozomal işlem sonucunda açığa çıkan nükleokapsid sitoplazmaya salınır ve viral RNA replikaz bu sırada aktive olur.
- Bu erken replikasyon aşaması Figür c'de gösterilmiştir.



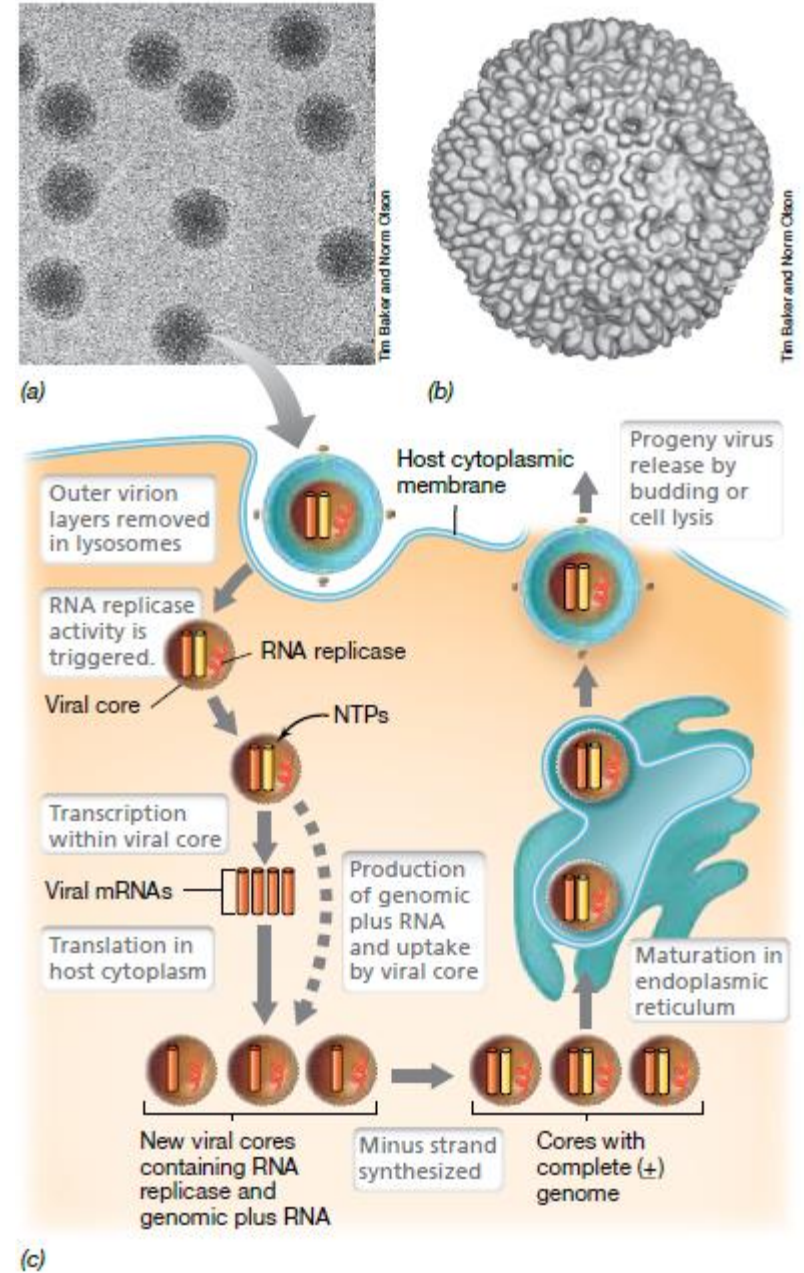
Reovirüs Replikasyon Döngüsü

- Reovirüs replikasyonu tamamen sitoplazmada ve nükleokapsidin içinde gerçekleşir çünkü konak hücre çift sarmallı RNA'yı yok edecek enzimlere sahiptir.
- İlk aşamada, viral RNA replikaz negatif sarmal RNA'yı kalıp alarak pozitif-sarmallı mRNA sentezler.
- Bu mRNA'lar viral enzimlerle kaplanır ve metillenerek konak ribozomları tarafından tanınabilir hale getirilir.



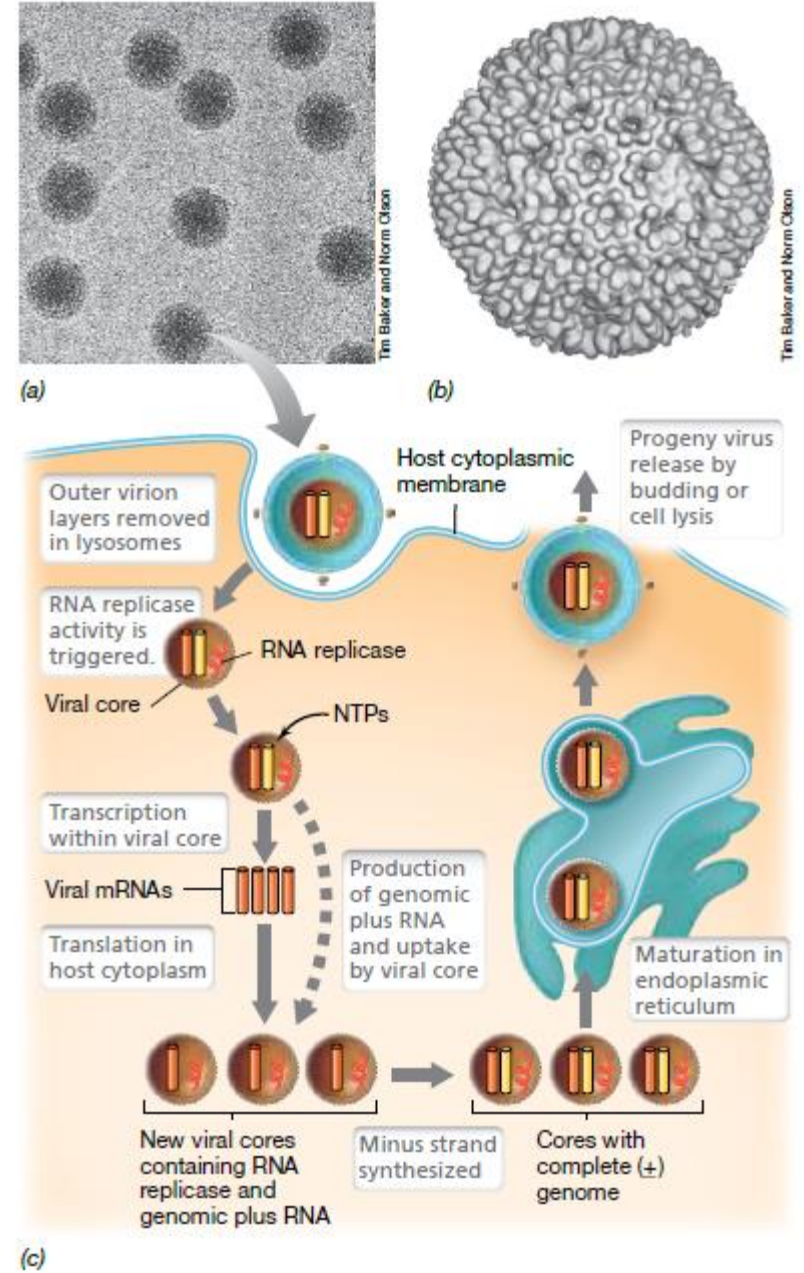
Reovirüslerde Translasyon ve Protein Üretiminin Düzenlenmesi

- Reovirüs genomundaki çoğu RNA segmenti tek bir proteini kodlarken bazı proteinler sentezlendikten sonra parçalanarak son hâline ulaşır.
- Bir RNA segmenti ise iki farklı proteini kodlar ve ribozomun ilk başlangıç kodonunu “kaçırması” ikinci proteinin düşük miktarda üretilmesini sağlar.
- Bu ribozomal “hata”, viral proteinlerin doğru oranda üretilmesine katkı sağlayan ilkel bir translasyon kontrolü olarak yorumlanabilir.
- Üretilen viral proteinler sitoplazmada bir araya gelerek yeni nükleokapsidleri oluşturur.



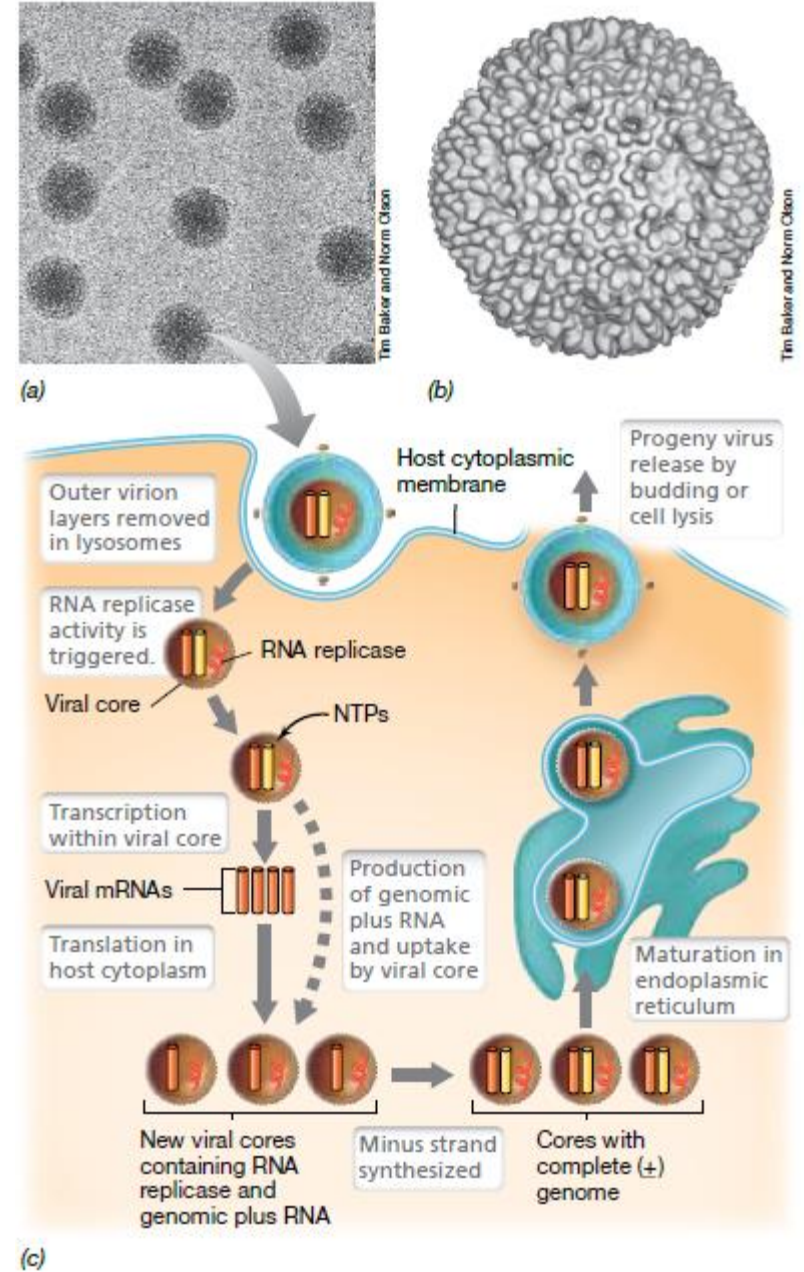
Yeni Reovirüs Virionlarının Oluşumu ve Salınımı

- Oluşan yeni nükleokapsidler, içlerine RNA replikazı da alarak pozitif sarmallı genom parçalarını özgül dizilerle tanır ve kabul eder.
- Her pozitif sarmallı RNA nükleokapside girdikten sonra RNA replikaz tarafından çift sarmallı hâle dönüştürülür.
- Genom sentezinin tamamlanmasının ardından, virüsün dış kapsid proteinleri konak hücrenin endoplazmik retikulumunda eklenir.
- Olgun reovirüs virionları, Figür c'de gösterildiği gibi tomurcuklanma veya hücre lizisiyle dışarı salınır.



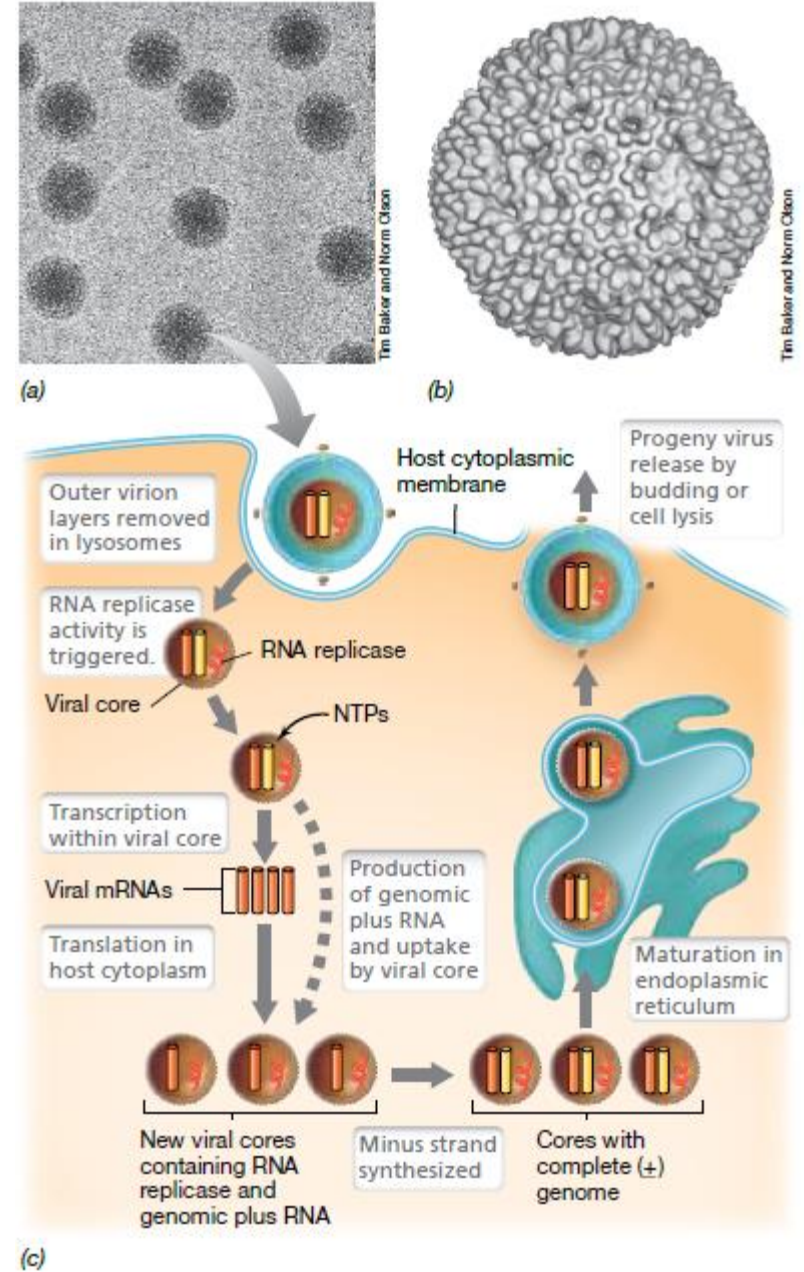
Reovirüslerde Çift Sarmallı RNA ve Korunma Mekanizması

- Reovirüslerin alışılmadık genom yapısı, çift sarmallı RNA'yı konak ribonükleazlarından korumak için özel mekanizmalar gerektirir.
- Bu benzersiz yapı, genomun hücre içinde zarar görmeden işlevini sürdürebilmesini sağlayan temel bir strateji oluşturur.
- Bu nedenle reovirüsler, daha en baştan itibaren diğer RNA virüslerinden farklı işleyen moleküler süreçlere sahiptir.



Reovirüslerde Korunumlu Replikasyonun Temelleri

- Reovirüs genomu çift sarmallı olduğundan, onların replikasyonunun çift sarmallı DNA içeren organizmalarla paralellik göstermesi beklenebilir, ancak süreç tamamen farklı işler.
- Reovirüslerde RNA replikasyonu, hücresel DNA replikasyonunda tipik olan yarı-korunumlu mekanizmanın aksine korunumlu bir mekanizma izler.
- Bu farklılığın temel nedeni, mRNA sentezinin yalnızca enfekte eden nükleokapsidlerdeki eksi iplik üzerinden gerçekleşmesi, buna karşılık yeni genomik çift sarmallı RNA'nın ise yalnızca artı iplik üzerinden sentezlenmesidir.
- Böylece reovirüsler, ne yarı-korunumlu ne de "rolling circle" mekanizmasını kullanan bir replikasyon stratejisi sergiler.

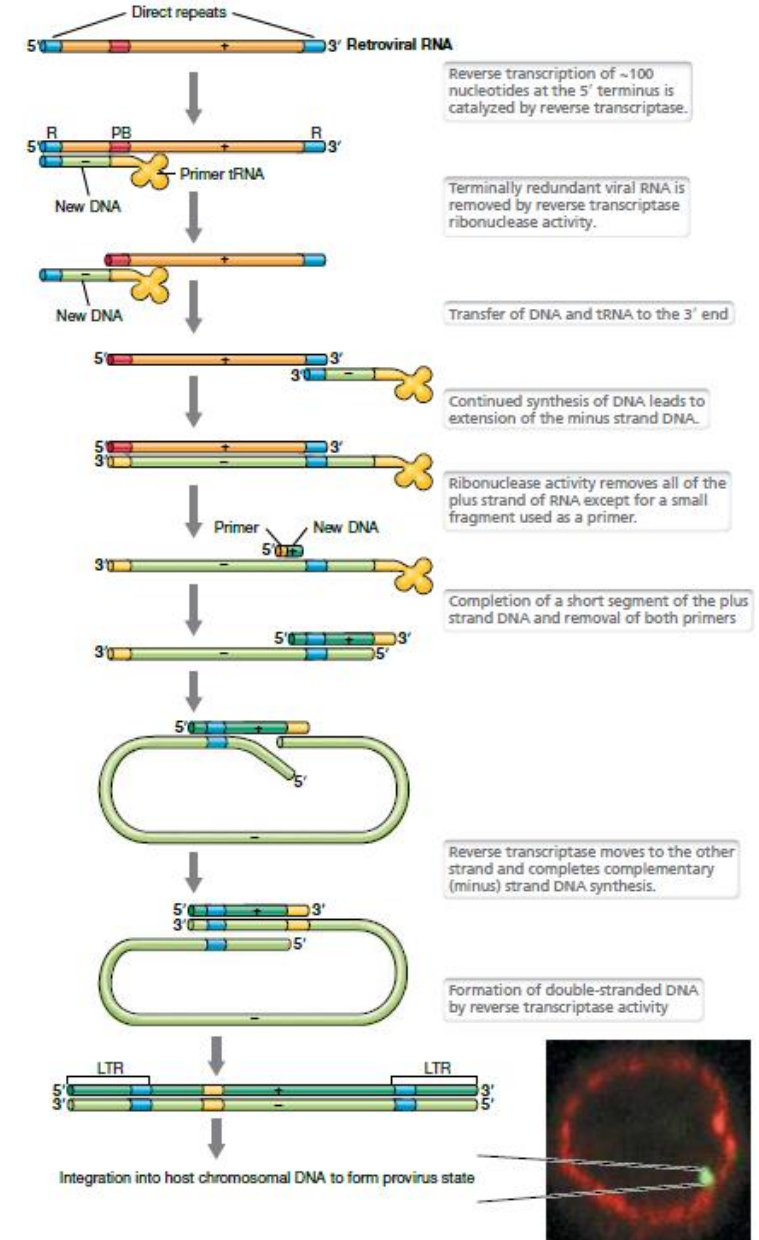


Revers Transkriptaz Kullanan Virüslerin Genel Özellikleri

- İki farklı virüs sınıfı revers transkriptaz kullanır; retrovirüsler RNA genomuna, hepadnavirüsler ise DNA genomuna sahiptir.
- Her iki sınıf da HIV ve hepatit B gibi insan sağlığı açısından önemli patojenleri içerir.
- Bu virüslerin ayırt edici özelliği, genom yapılarına bağlı olarak RNA'dan DNA'ya bilgi akışının tersine çevrilmesidir.

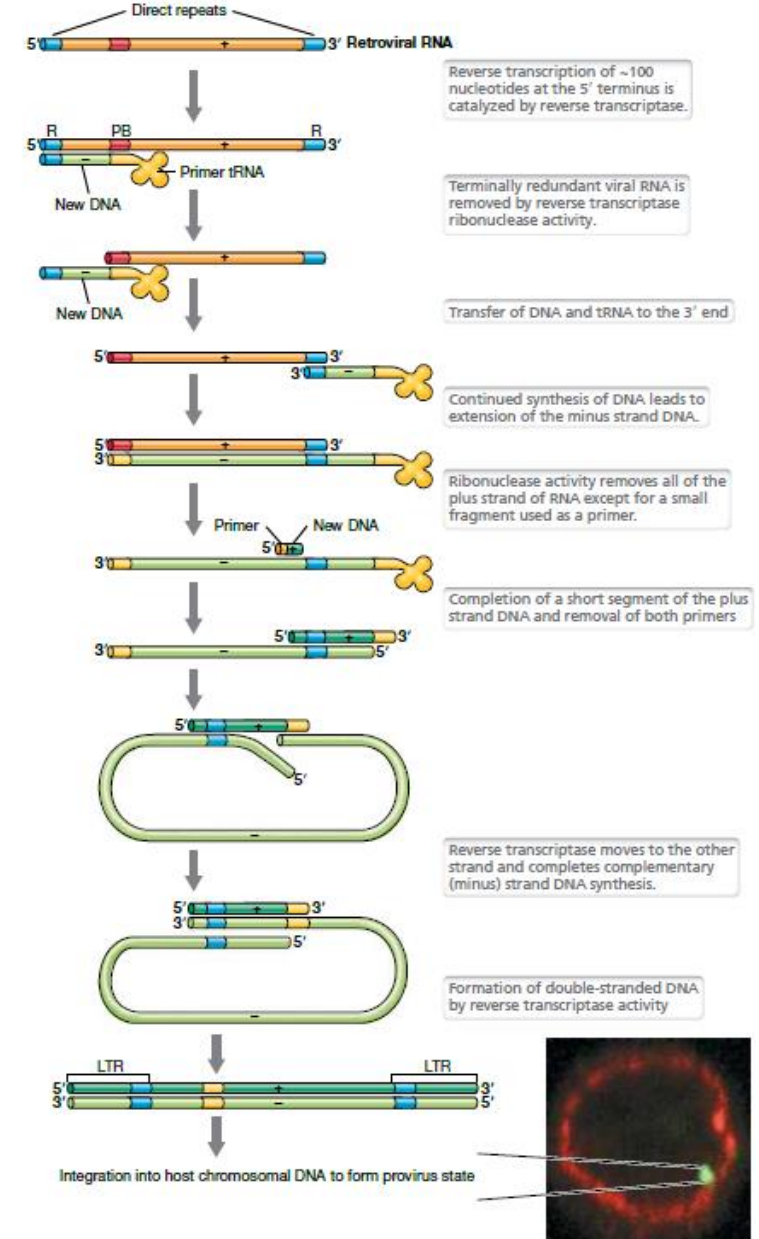
Retrovirüslerin Genom Yapısı ve Virion İçeriği

- Retrovirüsler, iki özdeş RNA kopyası içeren zarflı virionlara sahiptir.
- Virion içinde revers transkriptaz dahil birçok enzim ve viral tRNA bulunur; çünkü retroviral RNA pozitif polariteli olmasına rağmen doğrudan mRNA olarak kullanılmaz.
- Genom, revers transkriptaz tarafından DNA'ya dönüştürülür ve bu DNA daha sonra konak genomuna entegre edilir.
- Revers transkripsiyon basamakları ayrıntılı olarak yandaki figürde gösterilmiştir.



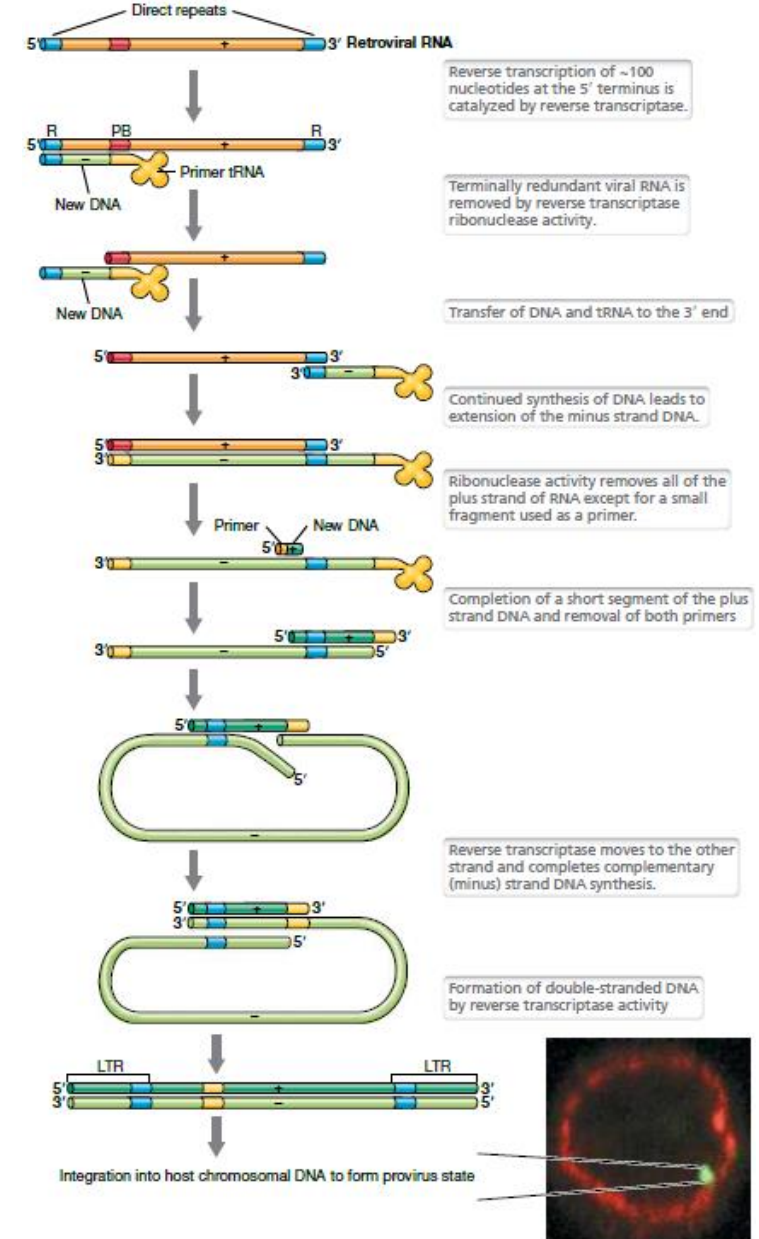
Revers Transkriptazın Çoklu Enzimatik Aktiviteleri

- Revers transkriptaz, RNA'dan DNA sentezi yapan bir aktiviteye, RNA:DNA hibritlerindeki RNA zincirini parçalayan ribonükleaz aktivitesine ve tek iplikli DNA'dan çift iplikli DNA oluşturan DNA polimeraz aktivitesine sahiptir.
- DNA sentezi için bir primere ihtiyaç duyar ve bu görevi virion içindeki viral tRNA üstlenir.
- 5' ucuna yakın bölgeden başlayan revers transkripsiyon, RNA'nın bu ucuna gelindiğinde durur ve süreç farklı bir mekanizma ile devam eder.



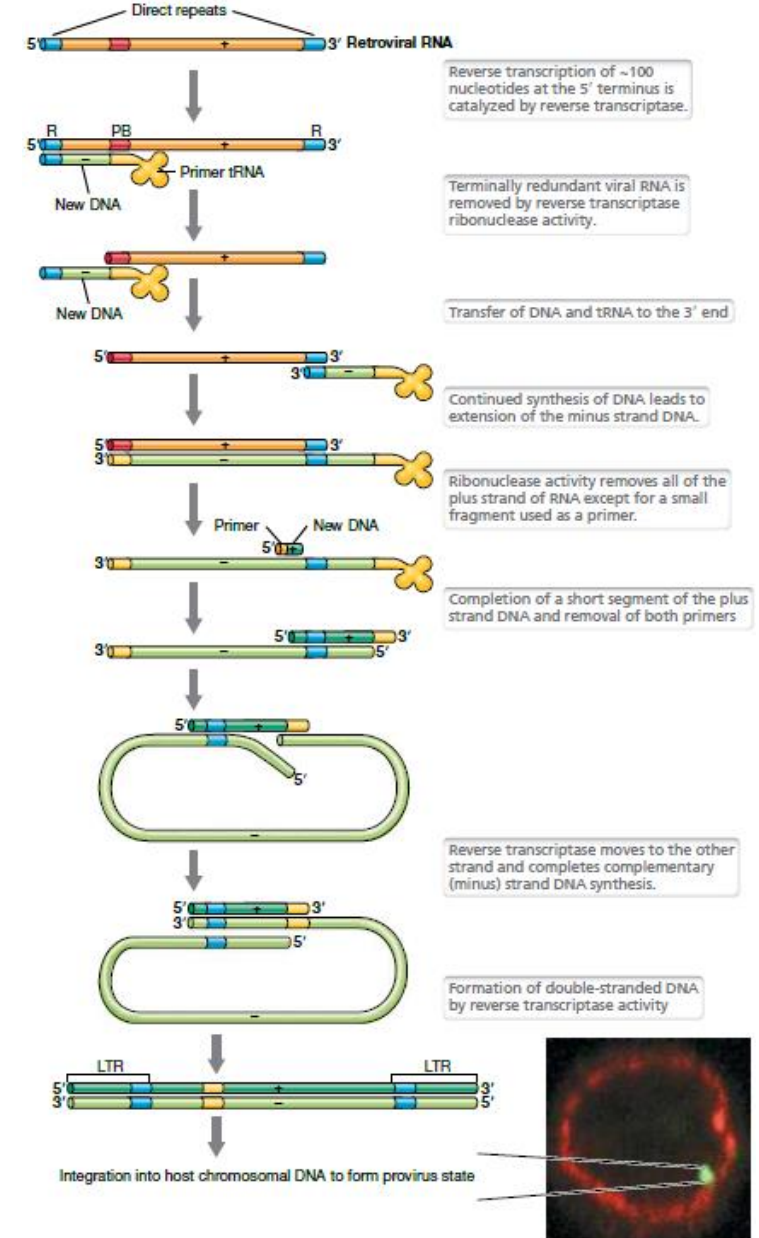
Retroviral DNA'nın Oluşumu ve Entegrasyona Hazırlanması

- Revers transkriptaz, RNA'nın 5' ucundaki terminal tekrar dizilerini uzaklaştırarak diğer uca tamamlayıcı kısa bir tek iplikli DNA oluşturur.
- Bu kısa DNA parçası, viral RNA'nın karşı ucuyla eşleşir ve DNA sentezi yeniden başlar.
- Sürecin devamı, uzun terminal tekrarlar içeren çift sarmallı bir DNA'nın oluşmasına yol açar; bu yapılar entegrasyona yardımcı olur.
- HIV'de entegrasyon bölgesi rastgele değildir ve yanda gösterildiği gibi nükleer zarın yakınlarındaki kromozomal bölgeler tercih edilir.



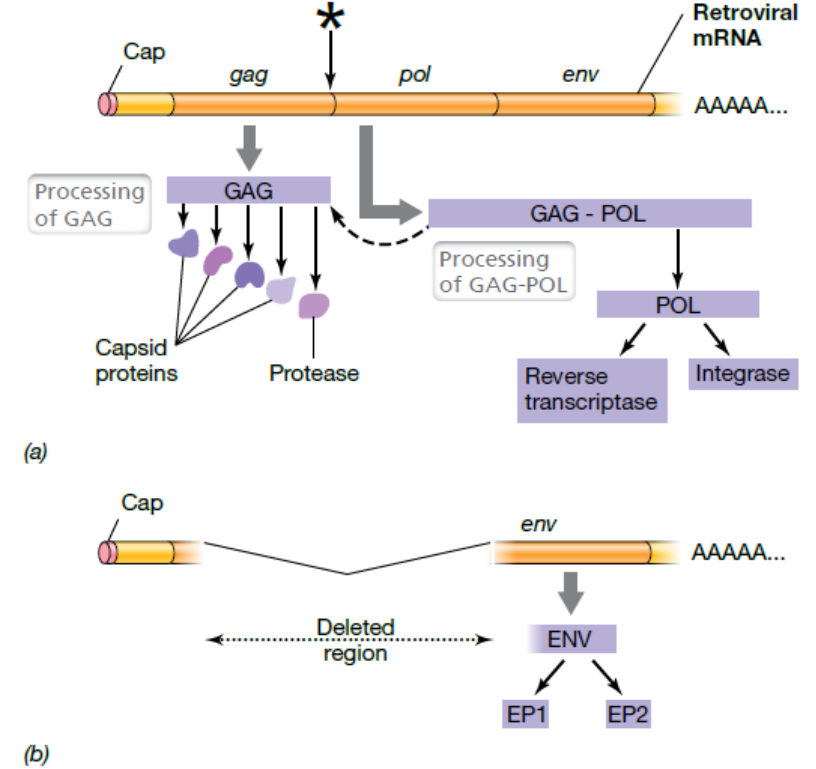
Retroviral Genomun Konak Genomuna Entegrasyonu

- Retroviral DNA, nükleusa girişin hemen ardından konak kromozomuna entegre olur; bu hızlı entegrasyon, viral integraz'ın kısa ömrüyle ilişkilidir.
- Revers transkripsiyon nükleokapsid içinde gerçekleştiğinden, DNA'nın zaman kaybetmeden genom içine yerleştirilmesi gerekir.
- Entegre olduktan sonra retroviral DNA, konak genomunun kalıcı bir parçası hâline gelir ve aktif ya da latent bir durumda kalabilir.



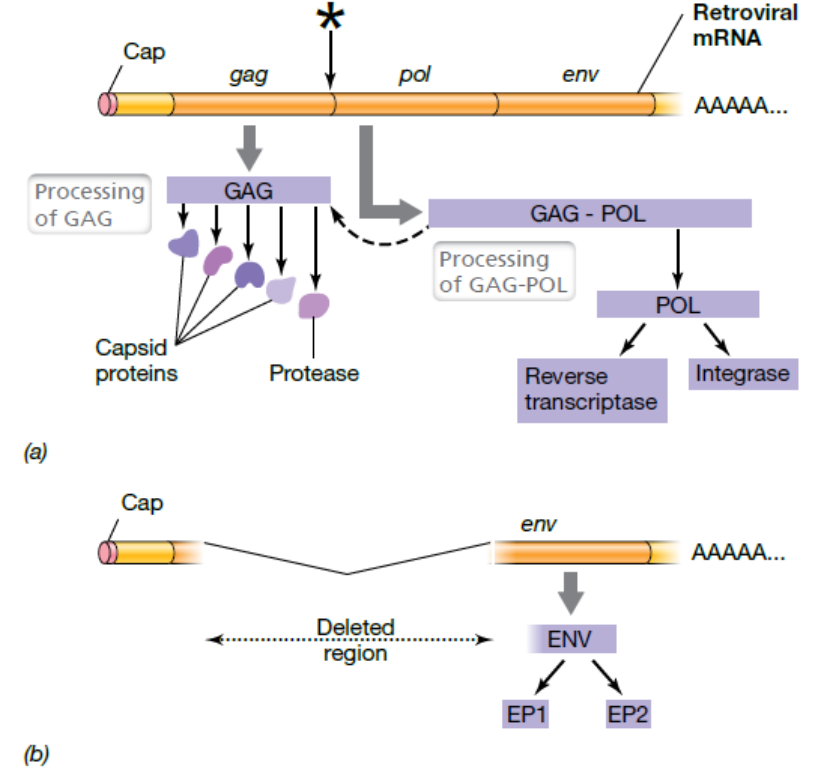
Yeni Retrovirüs Oluşumu İçin Gen Ekspresyonu

- Retroviral DNA aktive edildiğinde, konak hücrenin RNA polimerazı tarafından transkribe edilerek genomik RNA veya viral proteinlere dönüşecek mRNA'lar oluşur.
- Retroviral mRNA'ların translasyonu ve işlenme basamakları yanda gösterilmiştir.
- Tüm retrovirüslerde gag, pol ve env genleri aynı sırayla bulunur.



gag, pol ve env Genlerinin Ürünleri

- gag geni, önce tek bir poliprotein olarak sentezlenen ve daha sonra viral proteaz tarafından parçalanarak kapsid yapısını oluşturan bir dizi yapısal proteini kodlar.
- pol geninin ürünü, gag proteinlerini de içeren büyük bir poliproteindir ve nadir gerçekleşen “stop kodon okuma” veya “okuma çerçevesi kayması” olaylarıyla düşük miktarda üretilir.
- pol ürünü, gag proteinlerinin yanı sıra ters transkriptaz ve integraz’ı da içerir; integraz, viral DNA’nın konak genomuna yerleştirilmesi için gereklidir.
- env gen ürünü, mRNA’dan gag ve pol bölgeleri çıkarıldıktan sonra sentezlenir ve iki zarf proteinine ayrılır (Figür b).



Retrovirüslerin Montajı ve Evrimsel Önemi

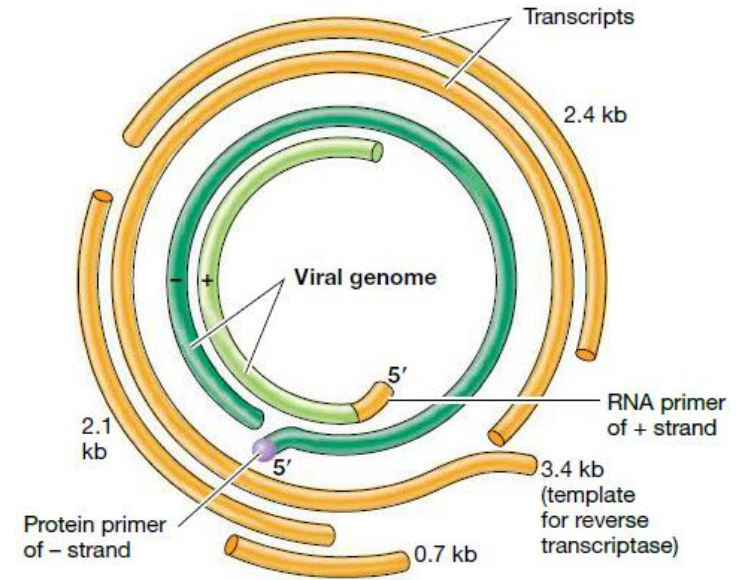
- Retroviral montaj, konak hücrenin sitoplazmik zarının iç yüzeyinde gerçekleşir ve virionlar zardan tomurcuklanarak hücreyi terk eder.
- Retrovirüsler, tüm virüsler içinde en karmaşık replikasyon şemalarından birini sergiler.
- Moleküler veriler, retrovirüslerin çok eski bir kökene sahip olduğunu ve RNA dünyasından DNA dünyasına geçişte önemli bir rol üstlenmiş olabileceğini düşündürür.
- Bu bağlamda, RNA'dan DNA sentezleyebilen tek enzim olan revers transkriptaz, yaşamın evrimi açısından merkezi bir konumda değerlendirilir.

Hepadnavirüslerin Genel Özellikleri

- Hepadnavirüsler, retrovirüslerde olduğu gibi revers transkriptaz enzimi kullanan ikinci bir virüs sınıfıdır ve buna hepatit B virüsü örnek verilebilir (Figür a).
- Bu virüslerin küçük DNA genomları alışılmadık şekilde ne tamamen tek iplikli ne de tamamen çift ipliklidir, kısmen çift iplikli bir yapı gösterir.
- Genom boyutları oldukça küçük olmasına rağmen (3–4 kb), örtüşen genler kullanarak birden fazla proteini kodlarlar.
- Bu genetik strateji, çok küçük virüslerde daha önce karşılaştığımız bir genom kullanım biçimine benzer.



(a)



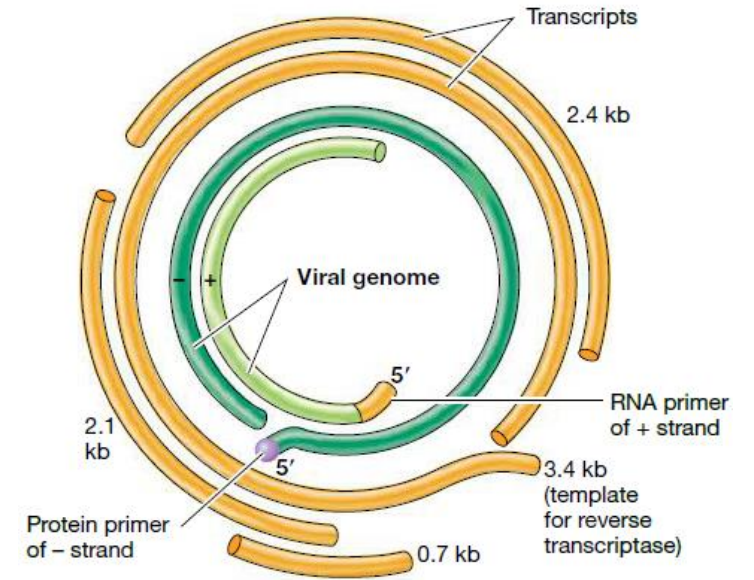
(b)

Hepadnaviral Revers Transkriptazın Rolü

- Hepadnaviral revers transkriptaz, daha önce gördüğümüz klasik fonksiyonlarına ek olarak, kendi DNA ipliklerinden birinin sentezinde primer protein olarak görev yapar.
- Retrovirüslerle karşılaştırıldığında revers transkriptaz, genom çoğalmasında hepadnavirüslerde tamamen farklı roller üstlenir.
- Hepadnavirüslerde DNA genomu bir RNA ara ürünü üzerinden çoğalırken; retrovirüslerde RNA genomu bir DNA ara ürünü üzerinden çoğalır.
- Bu farklı mekanizmalar, iki virüs grubunun replikasyon stratejilerinin birbirinden ayrılmasına neden olur.



(a)



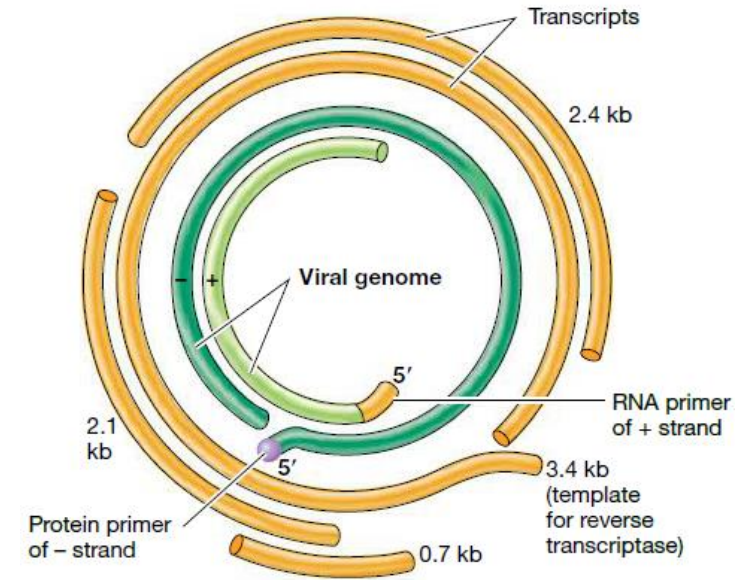
(b)

Hepadnavirüs Replikasyonunun Başlaması

- Enfeksiyon sonrası nükleokapsid, konak hücre çekirdeğine girer ve eksik olan DNA ipliği viral polimeraz tarafından tamamlanarak tam çift iplikli hale getirilir.
- Ardından, konak RNA polimerazı tarafından dört farklı uzunlukta viral mRNA sentezlenir (Figür b).
- Bu mRNA'lar sitoplazmada viral proteinlere çevrilerek yeni virüs yapılarının temeli oluşturulur.
- En uzun transkript, genomdan biraz daha büyüktür ve revers transkriptaz ile birlikte yeni virion genomlarının oluşacağı yapıları bir araya getirir.



(a)



(b)

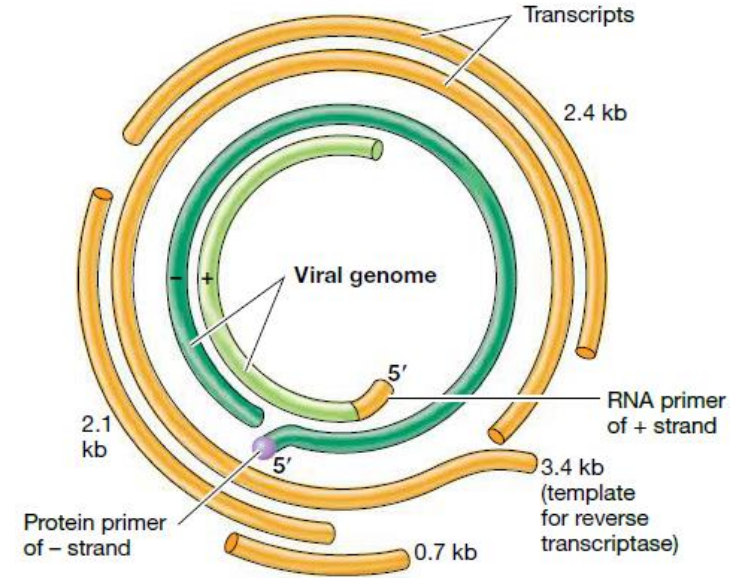


Yeni Virionların Genom Oluşumu

- Revers transkriptaz, virion içinde bu büyük transkriptten tek iplikli DNA sentezleyerek genomun eksi (–) ipliğini oluşturur (Figür b).
- Daha sonra bu eksi ipliği kısmen kalıp olarak kullanarak genomun artı (+) ipliğinin bir kısmını sentezler.
- Böylece hepadnavirüslerin karakteristik olan kısmen çift iplikli genom yapısı meydana gelir.
- Olgunlaşan virionlar endoplazmik retikulum ve Golgi zarlarıyla etkileşerek zardan tomurcuklanma yoluyla hücreyi terk eder.



(a)



(b)

Viral Ekolojiye Giriş

- Virüsler, yaşamın bulunduğu her ortamda bulunur ve sayı bakımından çoğu ekosistemde hücresel canlılardan çok daha fazladır.
- Dünya üzerindeki prokaryot hücre sayısının yaklaşık 10^{30} olduğu tahmin edilirken, virüs sayısı bunun da üzerinde olup yaklaşık 10^{31} düzeyindedir.
- Bu kadar fazla sayıda olmaları, virüslerin ekosistemlerde önemli roller üstlendiğine işaret eder.
- Bu kısımda bakterileri ve arkeleri viral yıkımdan koruyan mekanizmalar ile virüslerin geliştirdiği karşı stratejiler incelenecektir.

Bakteri ve Archaea Virosferi: Genel Bakış

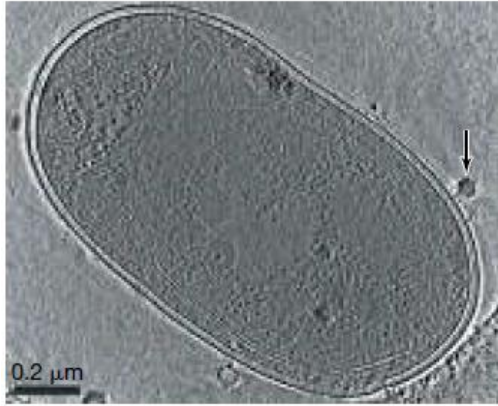
- Prokaryot hücrelerin ve onları enfekte eden virüslerin toplam sayıları en iyi şekilde deniz suyu çalışmalarından elde edilmiştir.
- Toprak, tatlı su, yer altı ve mikrobiyal mat gibi birçok ortamda da yoğun mikrobiyal ve viral topluluklar bulunur.
- Burada deniz suyuna odaklanılarak virüs–konak ilişkilerinin büyüklüğü ve etkileri daha net ortaya konulabilmektedir.
- Bu veriler, prokaryotik dünyadaki virüs bolluğunun ve çeşitliliğinin ekolojik açıdan önemini göstermektedir.

Deniz Suyunda Bakteri ve Archaea Virüsleri

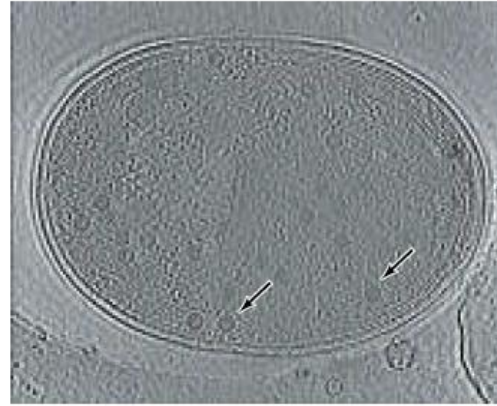
- Deniz suyunda yaklaşık 10^6 prokaryot hücre/ml bulunur ve virüs sayısı bunun yaklaşık 10 katıdır.
- Her gün deniz bakterilerinin %5 ile %50'sinin bakteriyofajlar tarafından öldürüldüğü tahmin edilmektedir.

Deniz Suyunda Bakteri ve Archaea Virüsleri

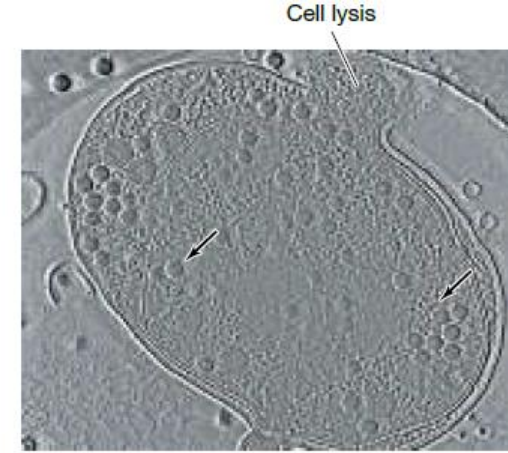
- *Synechococcus* ve *Prochlorococcus* gibi fotosentetik bakterilere saldıran Syn5 fajı, okyanuslarda küresel CO₂ fiksasyonunun büyük bölümünü gerçekleştiren bu canlıların hücrelerini parçalayabilir.
- Viral lizis sonucu açığa çıkan sitoplazma, okyanustaki diğer mikroorganizmalar için önemli bir organik madde kaynağı sağlar.



(a)



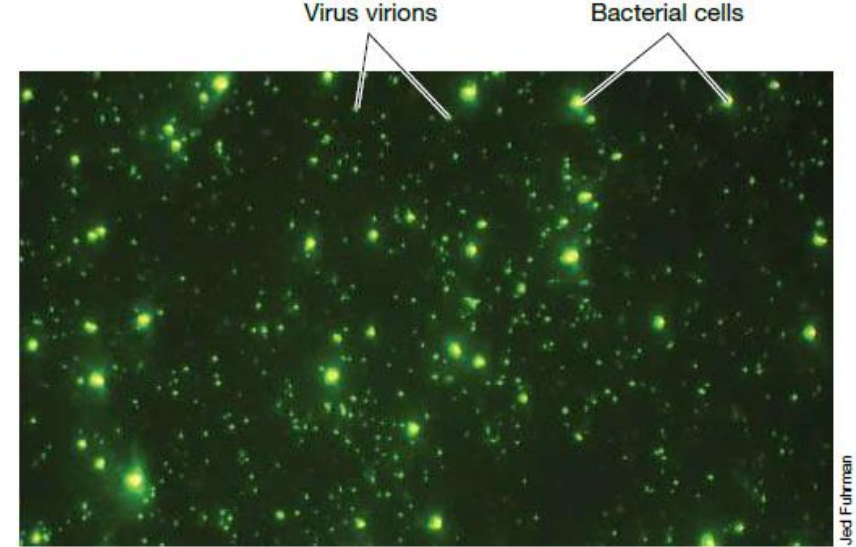
(b)



(c)

Okyanuslardaki Viral Çeşitlilik ve Etkileri

- Sayısal olarak baskın olmalarına rağmen virüsler, çok küçük olmaları nedeniyle toplam mikrobiyal biyokütlenin yalnızca yaklaşık %5'ini oluşturur.
- Okyanuslarda en yaygın bakteriyofaj tipleri, başkuyruk yapısına sahip çift iplikli DNA fajlarıdır (Baltimore Sınıf I).
- RNA içeren fajlar deniz ortamında daha az bulunur ve çeşitlilik açısından daha sınırlıdır.
- Lizogenik fajlar konak genomuna entegre olarak hücrelere yeni özellikler kazandırabilir ve mikrobiyal evrime katkı sağlayabilir.



Bakteriyofajlar ve Gen Transferi

- Bazı fajlar, transdüksiyon yoluyla bakteri genlerini bir hücreden diğerine taşıyarak yatay gen transferine aracılık eder.
- Bu süreç, bakterilerin yeni metabolik özellikler kazanmasını ve farklı ortamları kolonize edebilmesini mümkün kılabilir.
- Siyanofitirajlar, *Synechococcus* ve *Prochlorococcus* türlerine fotosistem II genlerini taşıyarak bu hücrelerde modifiye bir PSII sistemi sağlayabilir.
- Bu çeşitlilik, hem konağın hem de virüsün çevresel değişimlere uyumunu artırarak daha fazla virüs üretimini destekler.

Deniz Archaea'ları ve Onları Enfekte Eden Virüsler

- Okyanuslarda birçok Archaea bulunmakta olup, ekolojik açıdan önemli bir grup olan Thaumarchaeota düşük amonyak düzeylerini kullanabilen kemolitotrof canlılardır).
- Bu gruba ait bazı *Nitrosopumilus* türlerinin kromozomlarında proviral dizilerin bulunduğu gösterilmiştir.
- Bu provirusların gen yapıları, enfekte eden virüslerin baş-kuyruklu dsDNA fajlarına ya da herpesvirüslere benzer ikozahedral yapılara sahip olabileceğini düşündürür.
- Okyanustaki çok sayıdaki virüsün en azından bir kısmının bakteriler yerine deniz Archaea'larını enfekte ettiği anlaşılmaktadır; bu durum, okyanus virosferinin büyük bölümünü çift iplikli DNA virüslerinin oluşturduğu verisiyle uyumludur.



Virüslerin Doğadaki Yaşam Stratejileri

- Doğada konakların bol olduğu durumlarda bakteriyofajların litik yaşam döngüsünü tercih ettiği düşünülür ve bu süreçte çok sayıda konak hücresi ölür.
- Konak sayısının düşük olduğu ortamlarda yeni bir konak bulmak zorlaştığından, virüs lizogenik özellik taşıyorsa bu koşullarda lizogeniyi tercih ederek konak içinde profaj halinde varlığını sürdürür.
- Derin okyanuslarda bakteri yoğunluğu daha düşük olduğu için incelenen bakterilerin yaklaşık yarısında fazlasında lizogenik virüs bulunmuştur.
- Tek zincirli DNA virüslerinin ve RNA virüslerinin lizogenik duruma geçemediği bilinmekte olup, bu virüslerin düşük konak yoğunluklarında nasıl hayatta kaldığı henüz açıklanamamıştır.

Viral Metagenom ve Yeryüzündeki Genetik Çeşitlilik

- Dünyadaki genetik çeşitliliğin büyük bölümü virüslerde, özellikle bakteriyofajlarda bulunur.
- Viral metagenom, belirli bir çevredeki tüm virüs genlerinin toplamını ifade eder ve yapılan çalışmalar bu metagenomun son derece zengin olduğunu göstermiştir.
- Viral metagenomik çalışmalarda bulunan gen dizilerinin yaklaşık yüzde 75'inin bilinen viral ya da hücresel genlerle benzerlik göstermediği saptanmıştır.
- Buna karşılık bakteriyel metagenomlarda genlerin yaklaşık yüzde 10'u bilinmeyen özellikler taşır ve bu durum virosferin hâlâ büyük ölçüde keşfedilmemiş olduğunu gösterir.



Bakteri ve Archaea'ların Virüslere Karşı Genel Savunma Yaklaşımı

- Bakteri ve Archaea'ların virüslerle ilişkisi hem öldürücü bir avcı-besin ilişkisi hem de çeşitliliği artıran gen aktarımı yönüyle ele alınabilir.
- Virüsler prokaryotik konakları yaklaşık 10 kat aşan bollukta bulunduğu için bu canlılar güçlü savunma stratejileri geliştirmiştir.
- Savunma sistemlerinin gelişmesiyle birlikte virüsler de karşı önlemler geliştirerek sürekli bir karşılıklı uyum savaşını tetiklemiştir.
- Bu dinamik süreç, hücresel hayatta kalma ile viral çoğalma arasında süregelen bir mikrobiyal rekabeti yansıtır.

Mikrobiyal Silahlanma Yarışı

- Bakteriler yabancı DNA'yı tanıyıp parçalayan restriksiyon endonükleazlar üretirken, T4 fajı ise, genomundaki sitozini 5-hidroksimetilsitozin ile değiştirerek bu savunmadan kaçabilir.
- Buna karşılık bazı *E. coli* suşları bu modifiye bazları tanıyabilen yeni restriksiyon sistemleri geliştirerek T4 DNA'sını yine parçalayabilir.
- T4 fajı da bu kez DNA bazlarını glikozilleyerek (şeker ekleyerek) yeni bir kaçış stratejisi geliştirir ve bakteriler de glikozillenmiş DNA'yı tanıyabilen enzimler geliştirir.
- Bu karşılıklı adaptasyon döngüsünde T4'ün bazı suşları, bu enzimleri inhibe eden proteinler üretirken, bakteriler de bu inhibisyona dirençli endonükleazlar geliştirerek rekabeti sürdürür.



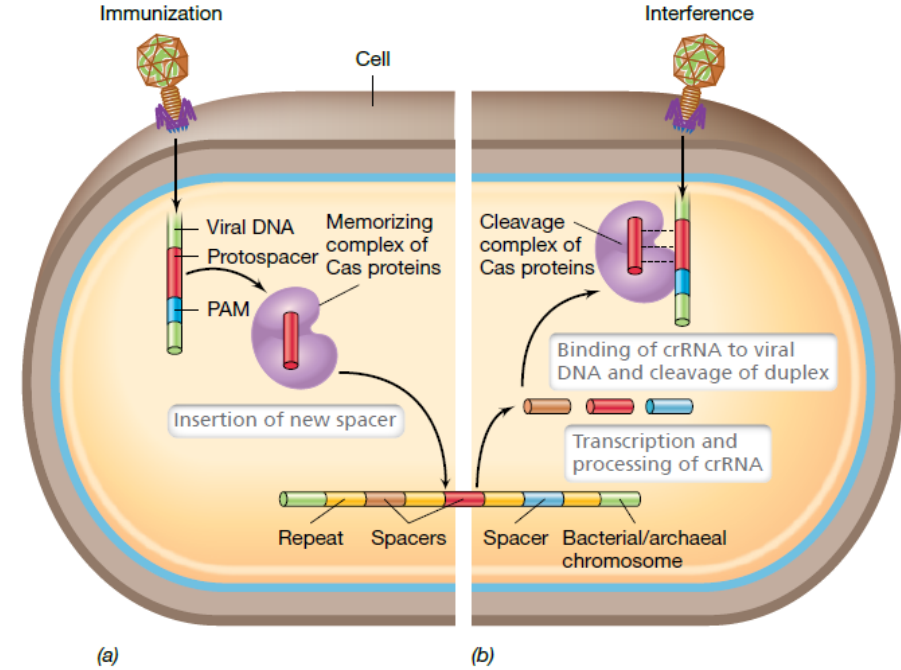
Viral Reseptör Değişimleri ve Koruyucu Hücre Yapıları

- Bir virüsün konağa tutunabilmesi için hücre yüzeyindeki reseptörü tanınması gerekir ve konak hücreler reseptör yapılarını değiştirerek bulaşmayı engelleyebilir.
- Hücreler ayrıca reseptörü kapsülle örterek virüslerin erişimini zorlaştırabilir ve bu yapı bazı bakterilerde önemli bir savunma unsuru oluşturur.
- Virüsler ise reseptöre bağlanabilen mutasyonlu proteinler geliştirerek ya da kapsülü parçalayan enzimleri kapsid içinde taşıyarak bu savunmayı aşabilir.
- Bazı ılıman bakteriyofajlar, konak toksin–antitoksin sistemine müdahale ederek hücreyi profajı taşımaya zorlayıp kendilerini güvence altına alabilir.



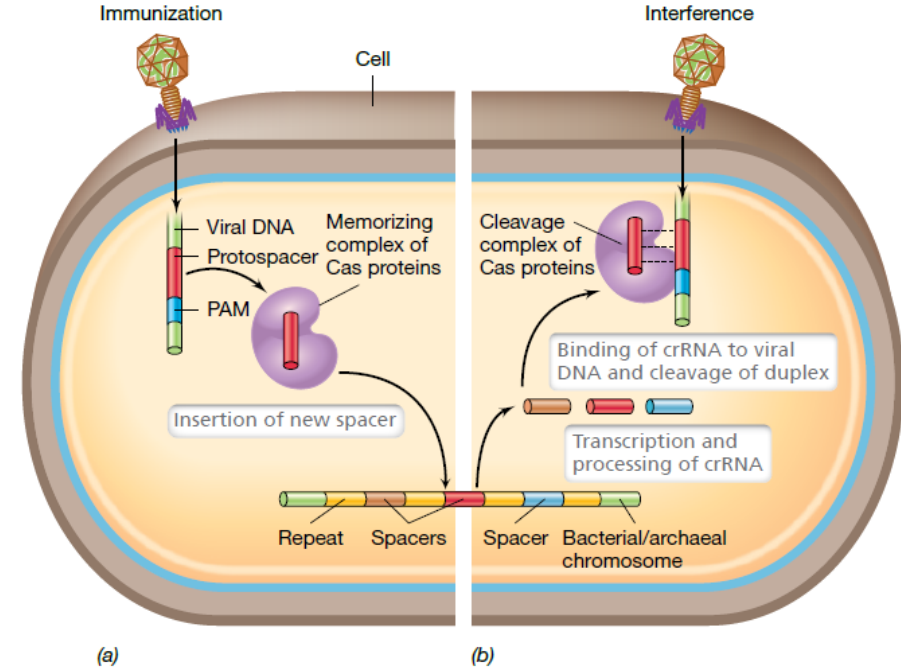
CRISPR: Prokaryotların Antiviral Hafıza Sistemi

- CRISPR, bakteri ve Archaea'larda önemli bir antiviral savunma sistemi olup, birçok türün kromozomunda bulunan tekrarlayan diziler ve bunlar arasında yer alan değişken spacer dizilerinden oluşur.
- Spacer dizileri, hücrenin geçmiş viral saldırılardan elde ettiği kısa DNA parçalarıdır ve bu yönüyle bir “genetik hafıza bankası” işlevi görür.



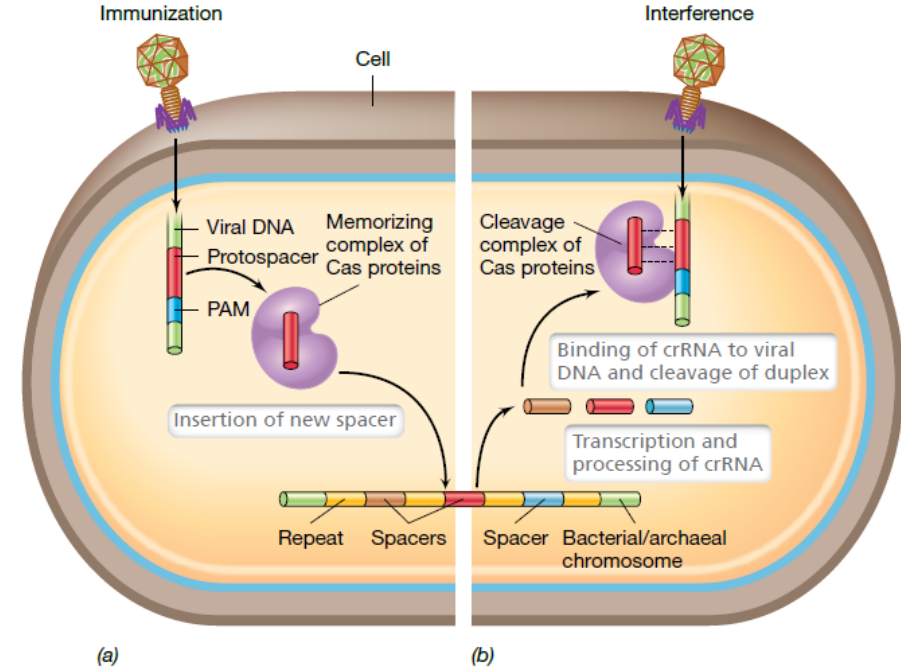
CRISPR: Prokaryotların Antiviral Hafıza Sistemi

- CRISPR sisteminin kritik bileşenlerinden Cas proteinleri, hem yabancı DNA'yı tanıyıp keser hem de yeni spacer dizilerinin CRISPR bölgesine eklenmesini sağlar.
- Virüs hücreye DNA'sını aktardığında Cas proteinleri PAM adı verilen belirli dizileri tanır, DNA'yı bu bölgelerin yakınından keserek proto-spacer bölgesini CRISPR'a ekler ve böylece hücre bağışıklık kazanır (Figür a).



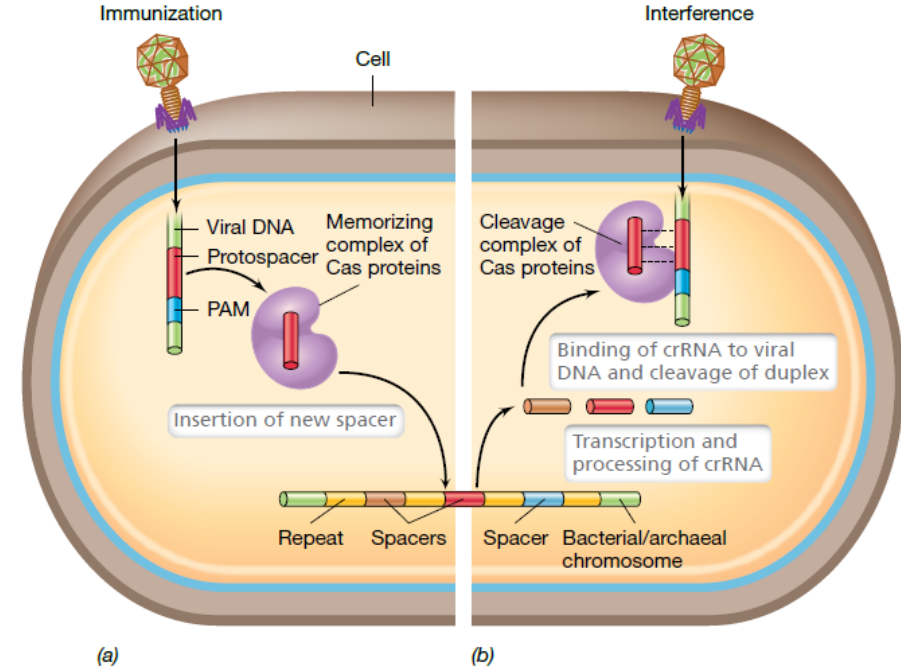
CRISPR'da Bağışıklık Hafızası ve Yeniden Karşılaşma

- İmmünize olmuş bir hücre aynı virüsle tekrar karşılaştığında, Cas proteinleri RNA'ya bağımlı bir süreçle gelen viral DNA'yı hızla yok eder.
- CRISPR bölgesi protein kodlamasa da bir promotöre sahiptir ve buradan pre-crRNA olarak adlandırılan uzun bir transkript oluşur.
- Pre-crRNA hem tekrar hem de aralık (spacer) bölgelerine tamamlayıcı diziler içeren bir RNA dizisi şeklindedir.
- Cas proteinleri bu transkriptin tekrar bölgelerini hedefleyerek tek tek spacer RNA'larına ayırır (Figür b).



crRNA Oluşumu ve Viral DNA'nın Tanınması

- Oluşan crRNA'lar Cas proteinleri ile birleşerek bir "kesim kompleksi" oluşturur ve tamamlayıcı viral DNA'yı taramaya başlar (Figür b).
- Viral DNA ile crRNA arasında bir çift sarmal oluştuğunda Cas proteinlerinin endonükleaz aktivitesi devreye girer.
- Bu süreçte viral DNA parçalanır ve interferens olarak adlandırılan bu mekanizma saldırıyı etkisiz hâle getirir (Figür b).
- Genomunun bir kısmı yok edilen virüs çoğalamaz ve enfeksiyonun ilerlemesi engellenir.

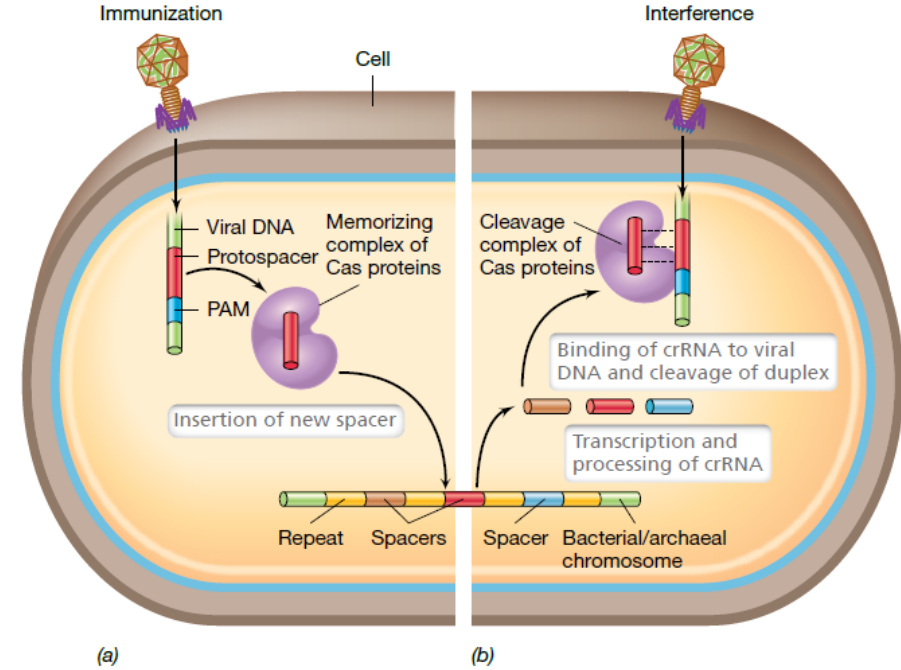


CRISPR'da İmmünizasyonun İlk Aşaması

- CRISPR sisteminin nasıl olup da ilk saldırıdan sağ çıkabildiği önemli bir soru olarak karşımıza çıkar.
- Sistem ancak hedef virüse ait bir spacer'ın CRISPR lokusunda bulunması hâlinde enfeksiyonu önleyebilir.
- İmmünizasyonun, çevresel etkenlerle inaktive olmuş virüslerden ya da kısıtlama enzimlerinin DNA'yı enfeksiyon başlamadan önce kesmesinden kaynaklandığı düşünülür.
- Böylece hücre, ilk saldırıyı bir şekilde atlatıp virüsün genomundan bir bölgeyi spacer olarak kazanabilir.

Virüslerin CRISPR'dan Kaçış Stratejileri

- Dinamik konak–faj etkileşimi nedeniyle virüsler CRISPR denetiminden kaçmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir.
- Bunlara, hafıza oluşturan Cas kompleksinin tanıdığı PAM bölgelerindeki mutasyonlar ve kesim kompleksini inhibe eden proteinlerin üretimi dahildir (Figür b).
- *Vibrio cholerae*'yi enfekte eden bir faj genomunda hücresel değil faj kaynaklı bir CRISPR sistemi bulunmuştur.
- Bu faj-kodlu crRNA'lar, *V. cholerae*'nin faj çoğalmasını engelleyen savunma genlerini hedefleyerek hücresel savunmayı devre dışı bırakır.



CRISPR'ın Diğer Hücresel Rollerine Kısa Bakış

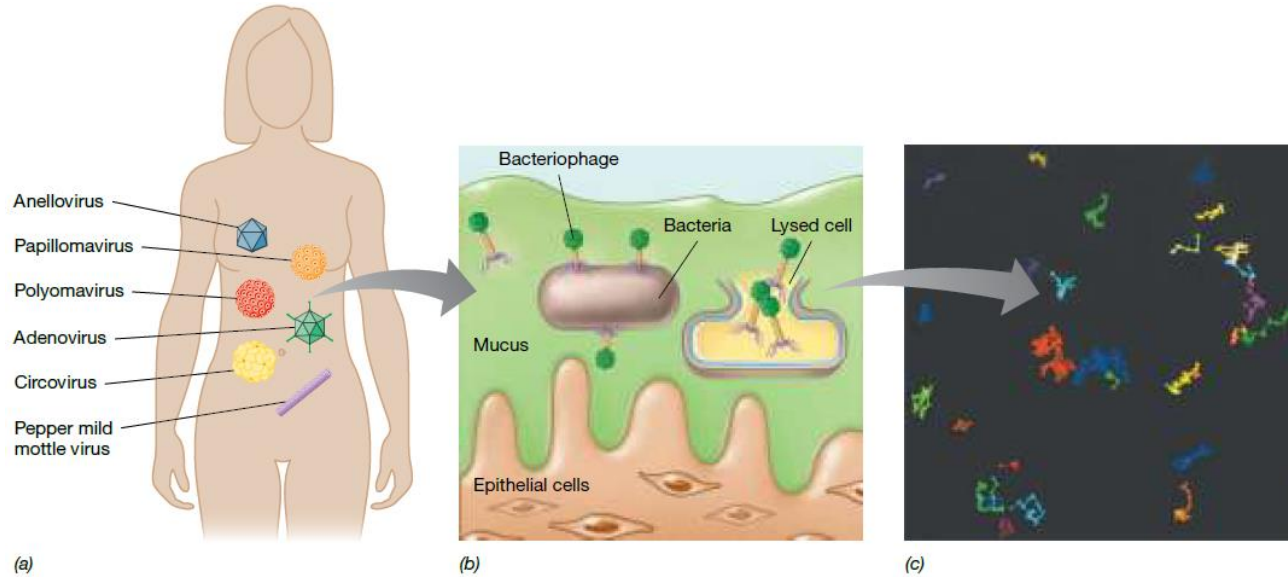
- CRISPR sistemleri yalnızca virüs denetiminde değil, hücresel genom bütünlüğünün korunmasında da rol oynar.
- Ayrıca CRISPR/Cas sistemi, modern biyoteknoloji ve sentetik biyolojide güçlü bir araç olarak geliştirilmiştir.
- Bu çok yönlü kullanım, CRISPR sisteminin doğal bağışıklık fonksiyonlarının ötesine geçtiğini gösterir.
- İlerleyen bölümlerde bu biyoteknolojik uygulamalar daha ayrıntılı şekilde ele alınacaktır.

İnsan Viriomuna Giriş

- Hayvan virüsleri, bakteriyofajlar ve hatta bazı bitki virüsleri sağlıklı bir insanın vücudunda sürekli olarak bulunabilir.
- Hayvan hücreleri fajlardan farklı olarak yalnızca viral genomu değil, tüm virionu içeri alır.
- Hayvan virüslerinin virulent, latent, persistan ve hücresel transformasyon gibi birden fazla yaşam döngüsü vardır.
- Bu kısımda, insan vücudu ile birlikte yaşayan bu geniş viral topluluk incelenmektedir.

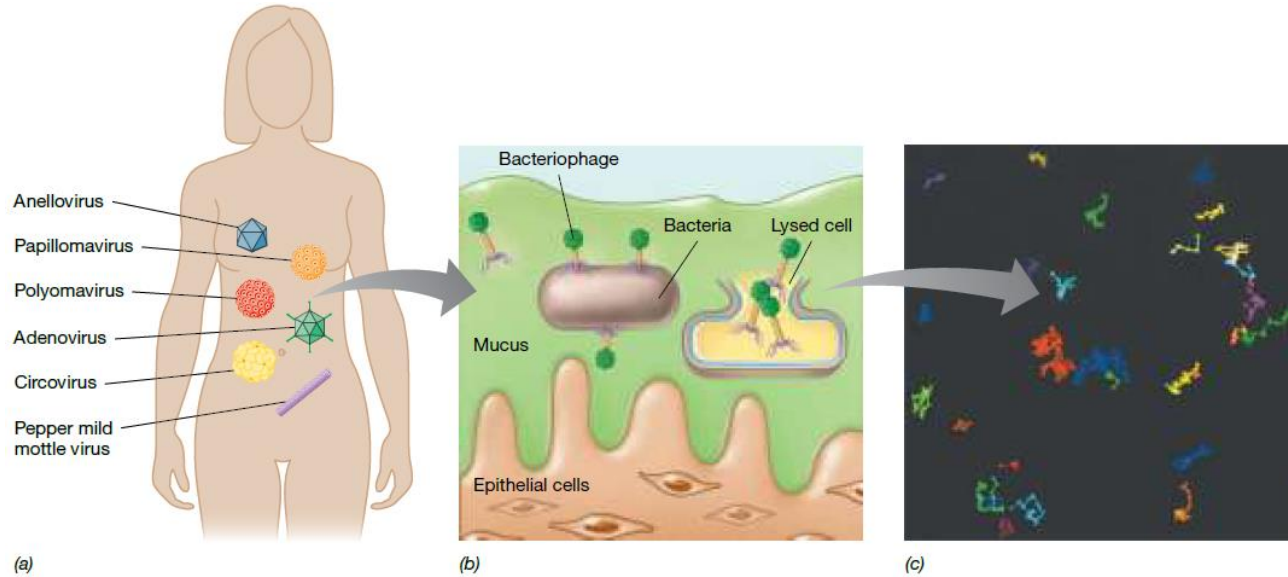
Metagenomik ve İnsan Viriominun Tanımlanması

- Hücre kültürü sınırlamaları viriom çalışmalarını zorlaştırırsa da, metagenomik analizler hem insan mikrobiyomunu (Bölüm 24) hem de viriomi ortaya koymuştur.
- İnsan viriomi, vücudun içinde ve üzerinde bulunan tüm virüslerin toplamını ifade eder.



Metagenomik ve İnsan Viriominun Tanımlanması

- Mikrobiyom gibi, viriom da kişiden kişiye değişir ancak zaman içinde nispeten stabildir.
- Bu yaklaşım, sağlıklı bireylerdeki viral çeşitliliği anlamamızı sağlamıştır.



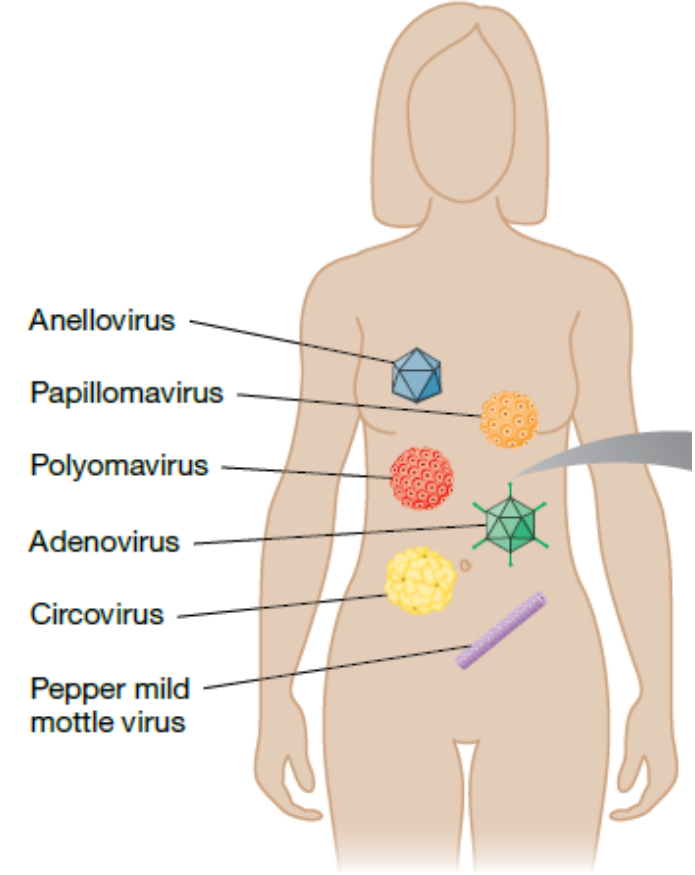
İnsan Viriomundaki Hayvan Virüsleri

- İnsan viriому, hepatit virüsleri ve SARS koronavirüsü gibi ciddi hastalıklara neden olan virüsleri içerebilir.
- Ayrıca influenza ve soğuk algınlığı virüsleri gibi daha hafif enfeksiyonlara neden olan virüsler de bulunur.
- Bazı hayvan virüsleri latent enfeksiyon oluşturur; özellikle insan sitomegalovirüsü çoğu yetişkinde bulunur.
- Bu çeşitlilik, insan vücudunda farklı enfeksiyon stratejilerine sahip virüslerin bir arada bulunduğunu gösterir.



İnsan Viriomunda Baskın Olan DNA Virüsleri

- Sağlıklı insan viriimleri çoğunlukla DNA genomuna sahip virüslerden oluşur.
- Viriimin araştırıldığı bölgeler arasında burun, deri, ağız ve gastrointestinal kanal yer alır.
- Bu bölgelerde sık tespit edilen virüsler arasında tek sarmallı DNA anellovirüsleri ve circovirüsler ile çift sarmallı adenovirüsler, polyomavirüsler ve papillomavirüsler bulunur.
- Anellovirüsler erken yaşta kalıcı enfeksiyon oluşturan ve hastalıkla ilişkilendirilmeyen zarfsız virüslerdir.



(a)

Circovirüsler, Adenovirüsler ve Polyomavirüsler

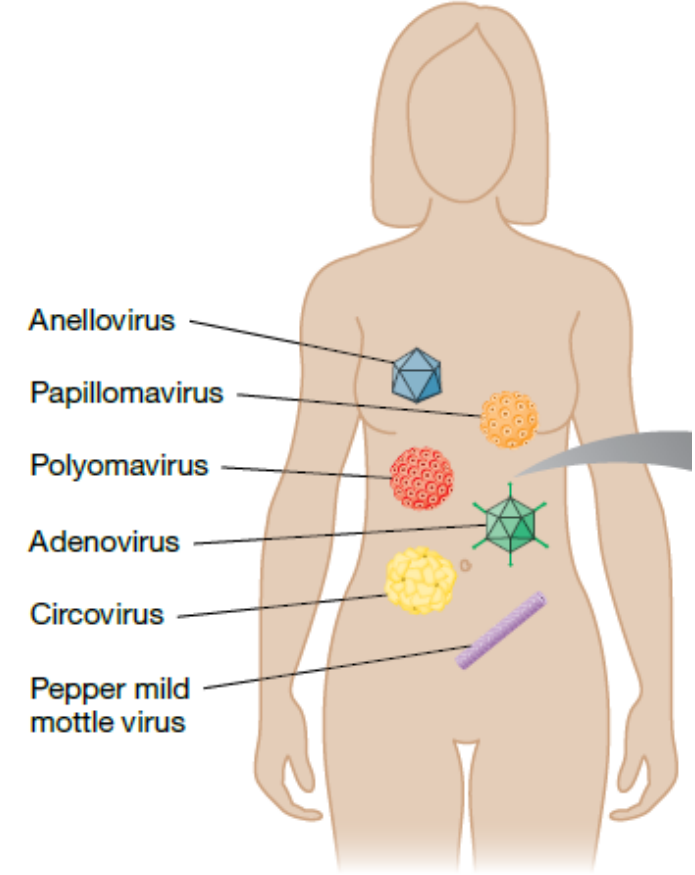
- Circovirüsler, en küçük viral genomlardan bazılarına sahiptir ve insanlar tarafından çoğunlukla hayvansal gıdalar yoluyla alınabilir.
- Adenovirüsler solunum yolu enfeksiyonlarıyla ilişkilidir ancak sağlıklı bireylerin üst solunum yollarında da bulunabilir.
- Polyomavirüsler çoğu insanda bulunmasına rağmen bağışıklığı baskılanmış bireylerde beyin bozuklukları veya idrar yolu enfeksiyonlarına yol açabilir.
- Bu virüslerin varlığı, sağlıklı bireylerin bile çok çeşitli DNA virüslerini taşıyabildiğini gösterir.

Papillomavirüsler ve İnsan Sağlığı

- Papillomavirüsler zarfsız çift sarmallı DNA virüsleridir ve deri ile mukozal yüzeylerde çoğalırlar.
- Çoğu papillomavirüs enfeksiyonu belirtisizdir ancak HPV bazı durumlarda deri siğillerine yol açabilir.
- HPV'nin belirli suşları kalıcı enfeksiyon oluşturur ve kadın üreme sisteminde pre-malign lezyonlara neden olabilir.
- Bu lezyonlar ilerleyen yıllarda rahim ağzı kanseri riskini artırabilir.

İnsanlarda Bitki Virüsleri ve Olası Etkileşimler

- İnsan viriromlarında bitki virüsleri de tespit edilmiştir; buna pepper mild mottle virus örnek verilebilir.
- Bu virüsler muhtemelen gıdalar aracılığıyla alınır ve gastrointestinal sistemden geçerken taşınır.
- Konak özgüllükleri bitkilere yöneliktir fakat insanlarda enflamasyon tetikleyebilecekleri düşünülmektedir.
- Bu durum, bazı kişilerin belirli bitkisel ürünlere ya da baharatlara duyarlılığını açıklayabilir.



(a)



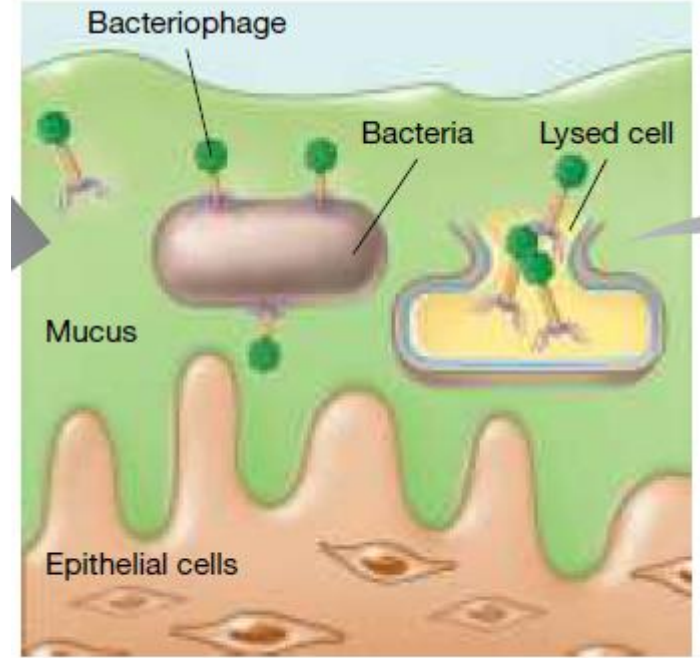
Endojen Retrovirüsler ve Bağışıklık Sistemiyle Etkileşim

- İnsan genomunda yer alan endojen retrovirüsler (HERV), eski retroviral genlerin kalıntılarıdır ve genomun %5–8'ini oluşturur.
- Çoğu HERV zararsız kabul edilse de bazıları otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.
- Bu hastalıklar arasında romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus yer alır.
- Ayrıca Crohn hastalığı ve multipl skleroz gibi diğer rahatsızlıklarla da bağlantılar önerilmiştir.



İnsan Viriomunda Baskın Olan Bakteriyofajlar

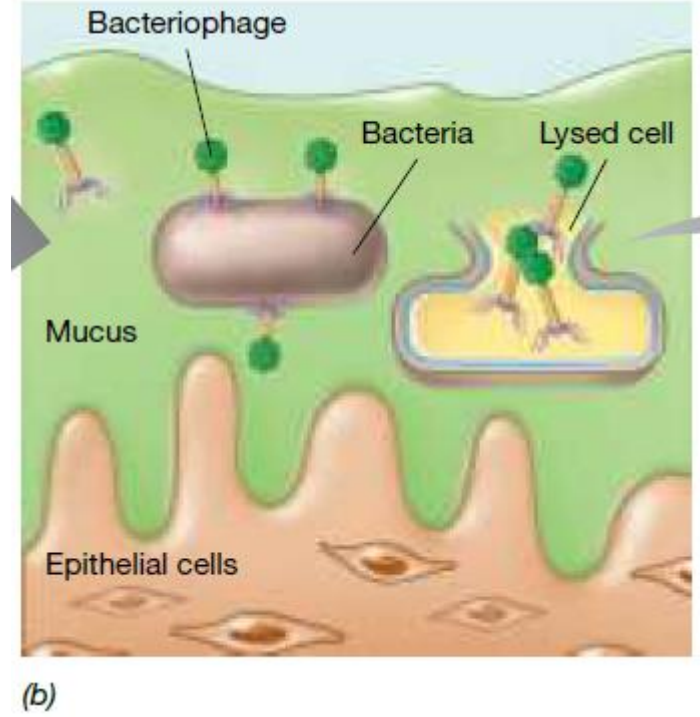
- İnsan vücudunda çeşitli hayvan virüsleri bulunsa da, tüm vücut bölgelerinde en bol bulunan virüsler hayvan virüsleri değil, bakteriyofajlardır.
- Özellikle kalın bağırsak, gram dışkıda hem prokaryot hücrelerin hem de virüslerin yaklaşık 10^9 düzeyine ulaştığı, fajların adeta yoğunlaştığı bir bölgedir.
- İnsan viriomundaki hayvan virüslerinde olduğu gibi burada da DNA bakteriyofajları baskındır ve bu fajların çoğu, transdüksiyon ve lizogeni süreçleriyle antibiyotik direnci veya özel metabolik enzimleri bakterilere aktararak bakterilere yarar sağlar.
- Bağırsak bakteriyofajlarının bakterilere gen aktarımı, mikrobiyotanın değişen besin koşullarına uyum sağlamasına ve antibiyotiklere karşı dirençli yapısını korumasına katkı sunar.



(b)

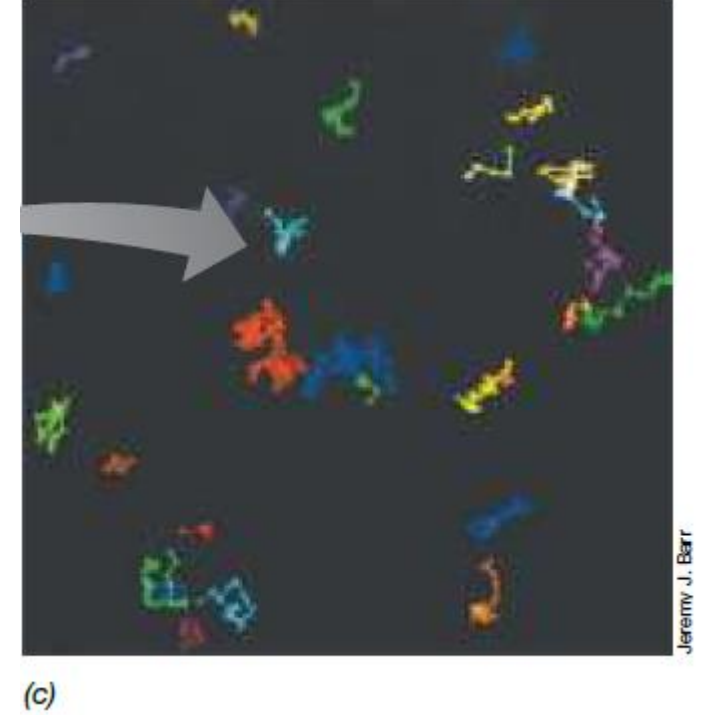
Bakteriyofajların Konak Savunmasındaki Rolü

- İnsan viriomundaki bakteriyofajlar, özellikle mukozal yüzeylerde biriken yüksek yoğunlukları sayesinde bazı patojenlere karşı ilk savunma hattı olarak görev yapar.
- Akciğer ve bağırsak mukozasında bakterilerden 20 kat daha fazla faj bulunduğu tahmin edilmektedir.
- Mukus tabakasında bulunan fajlar, mukozal hücrelerce üretilen şeker kalıntılarına bağlanarak burada birikir.
- Bu bölgede fajlar istilacı patojenleri adeta “avlayarak” mukus bariyerini geçmelerini engeller ve böylece konağa konak-bağımsız bir bağışıklık biçimi sağlar.



Mukus Tabakasında Faj Hareketliliği

- Mukus tabakasındaki fajların hareketi, floresanla işaretlenmiş T4 fajları kullanılarak laboratuvarında mikroskopik olarak izlenebilmektedir.
- Fajların mukus içerisinde serbestçe dolaşabilmesi, patojenlerle karşılaşma olasılığını artırarak savunma etkinliğini güçlendirir.
- Bu hareketlilik, faj–konak simbiyozunun önemli bir bileşeni olarak değerlendirilir.
- Böylece fajlar, hem mikrobiyotayı hem de konak dokularını dış tehditlere karşı koruyan dinamik bir savunma tabakası oluşturur.



Fajların Patojeniteyi Artıran Etkileri

- Fajlar çoğu zaman bakterilere yarar sağlarken, bazı durumlarda bakterilerin patojenitesini artıran genleri de taşıyabilir.
- Örneğin *Vibrio cholerae*'nin hastalık oluşturmalarını sağlayan kolera toksini, bakterinin değil, onunla ilişkili ılımlı faj CTX ϕ 'nin genomunda kodlanır.
- CTX ϕ içermeyen *V. cholerae* hücreleri patojen değildir, bu da fajın hastalık oluşumundaki kritik rolünü gösterir.
- Ayrıca, bağırsak epiteline tutunmak için gerekli olan toksin-coregulated pilus da bakterinin genomuna entegre olmuş bir profajın parçasıdır ve yalnızca patojen suşlarda bulunur.

İnsan Viriomunun İncelenmesindeki Zorluklar

- İnsan mikrobiyomu kapsamlı biçimde karakterize edilmiş olsa da (Bölüm 24), bu çalışmalar ribozomal RNA genlerini hedeflediğinden esasen hücresel organizmalar incelenebilmiştir.
- Virüslerin evrensel bir gen belirteci bulunmadığından, viriomin sistematik olarak tanımlanması mikrobiyotaya kıyasla daha geriden gelmiştir.
- Buna rağmen viriomin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerinin büyüklüğü giderek daha fazla fark edilmiştir.
- Metagenomik tekniklerdeki hızlı ilerlemeler sayesinde insan viriominun yakın gelecekte çok daha ayrıntılı şekilde anlaşılması beklenmektedir.

Subviral Ajanlara Giriş

- Viral dünyanın genetik çeşitliliğini incelerken iki özel subviral ajan da dikkati çeker: viroidler ve prionlar.
- Bu ajanlar virüslere benzer özellikler taşımakla birlikte nükleik asit veya protein bileşeni bakımından eksiktirler.
- Prionlar nükleik asit içermez, viroidler ise protein içermez.
- Bu ayırt edici özellikler, onların klasik virüs tanımına girmemesine rağmen enfeksiyöz olmalarını sağlar.

Viroidlerin Genel Özellikleri

- Viroidler, protein bileşeni olmayan enfeksiyöz RNA molekülleri olup bilinen en küçük patojenlerdir.
- Çember şeklinde, tek iplikli, küçük RNA moleküllerinden oluşurlar ve boyutları 246–399 nükleotid arasında değişir.
- Birbirlerine yüksek oranda benzerlik göstermeleri, ortak bir evrimsel kökene sahip olduklarını düşündürür.
- Viroidler yalnızca bitkileri enfekte eder ve önemli tarımsal hastalıklara yol açabilir.



Yijun Qi and Biao Ding

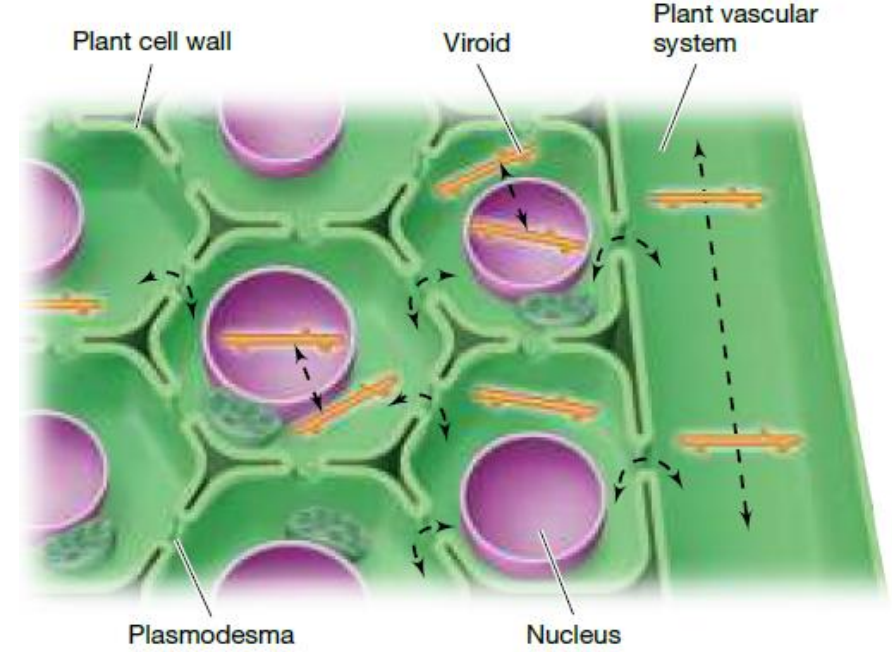
Viroidlerin Yapısı ve Hücre Dışı Formu

- Hücre dışındaki viroid formu tamamen çıplak bir RNA'dır ve herhangi bir protein kapside sahip değildir.
- Viroid RNA'sı tek iplikli ve kovalent olarak kapalı bir halkadır ancak geniş ikincil yapıları sayesinde uçları kapalı, saç tokası benzeri çift iplikli bir yapı oluşturur.
- Bu kompakt yapı, viroidin hücre dışında yeterli stabiliteye sahip olmasına imkân verir.
- Protein kapsidi olmadığından, viroidler hücrelere reseptör aracılığıyla değil, genellikle böcek veya mekanik hasar sonucu oluşan yaralardan girer.



Viroidlerin Bitki İçindeki Hareketi ve Replikasyonu

- Viroidler bitki hücresine girdikten sonra, bitkisel hücreleri birbirine bağlayan ince sitoplazma köprüleri olan plazmodezmata yoluyla hücreden hücreye taşınır.
- Viroid RNA'ları herhangi bir protein kodlamaz ve tamamen konak bitkinin enzimlerine bağımlıdır.
- Bitkilerde RNA replikaz aktivitesi gösteren RNA polimerazlardan biri viroidleri çoğaltır.
- Replikasyon mekanizması, bazı küçük virüslerde kullanılan rolling-circle benzeri bir süreçle çoklu viroid birimleri içeren uzun bir RNA oluşturur.



Ribonükleaz Aktivitesi ve Olgun Viroidlerin Oluşumu

- Rolling-circle replikasyonundan çıkan uzun RNA zinciri, birçok viroid kopyasının uç uca eklenmiş hâlini içerir.
- Viroidlerin sahip olduğu riboenzim aktivitesi, bu uzun molekülü kendi kendine keserek bireysel viroidlerin serbest kalmasını sağlar.
- Böylece viroid, tamamen konak enzimleri ve kendi RNA yapısına gömülü katalitik aktiviteyle çoğalır.
- Bu işlem, viroidlerin minimal genetik organizasyona rağmen enfeksiyöz olabilmesinin temel açıklamalarından biridir.

Viroid Hastalıkları ve Moleküler Etki Mekanizmaları

- Viroid enfeksiyonu bitkilerde hiçbir belirti oluşturmada hafif veya öldürücü şiddette semptomlara kadar geniş bir yelpazede etkiler gösterebilir.
- Viroidlerin çoğu büyüme ile ilişkili bozukluklara neden olur ve bunun bitkideki küçük düzenleyici RNA'ları taklit etmeleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.
- Viroidlerin replikasyonu sırasında ortaya çıkan küçük interferans RNA'lar (siRNA'lar), RNA-interferans yoluyla bitki genlerinin susturulmasına yol açabilir.
- Bu mekanizma, bazı bakteri ve Archaea küçük düzenleyici RNA'larının mRNA'ları hedef olarak bozmasına benzeyen bir süreçtir.



Yijun Qi and Biao Ding

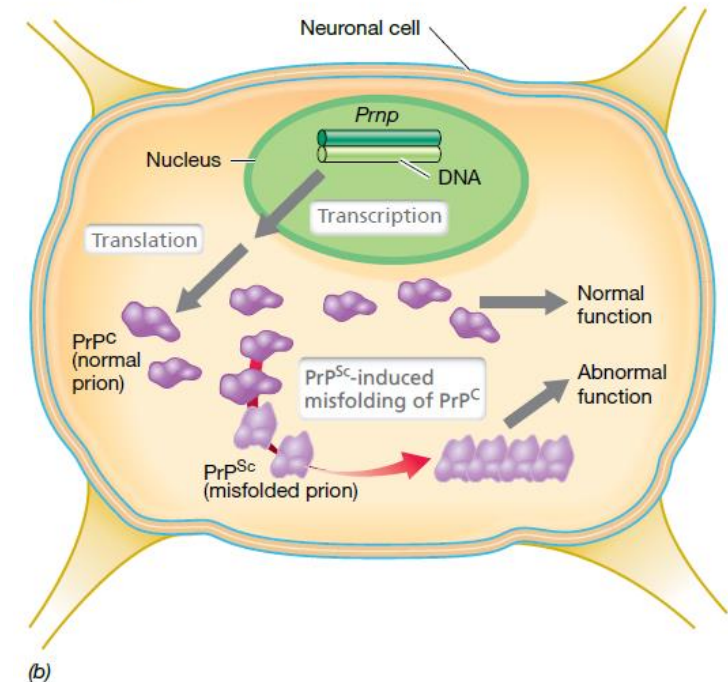
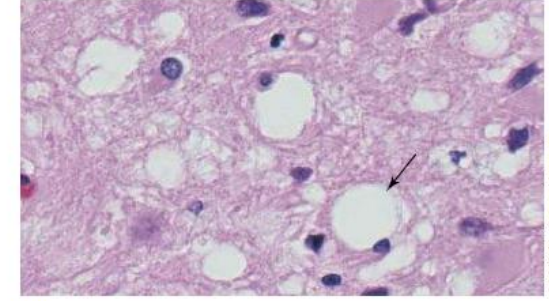
Prionların Temel Özellikleri ve Enfeksiyöz Yapısı

- Prionlar, viroidlerin tam karşıtı sayılabilecek şekilde yalnızca proteinden oluşan ve DNA ya da RNA içermeyen enfeksiyöz yapılardır.
- Bu protein yapılar, konformasyon değışikliklerini tetikleyerek birikim ve kümelenmeye yol açar ve bu durum çeşitli nörolojik hastalıkların gelişmesine neden olur.
- Scrapie, (koyun-keçi süngerimsi ensefalopatisi), BSE, chronic wasting disease (kronik zayıflama hastalığı) ve Creutzfeldt–Jakob sendromu gibi hastalıklar prion kaynaklı olup sinir dokusunda süngerimsi bir yapı oluşturur.
- Hayvan prion hastalıklarının tümü bir arada transmissible spongiform encephalopathies (bulaşıcı süngerimsi ensefalopatiler) olarak adlandırılır.



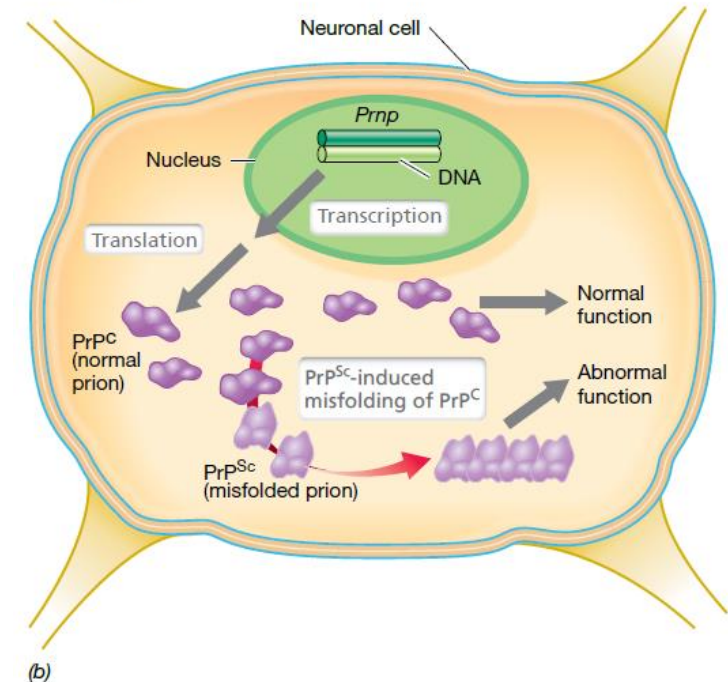
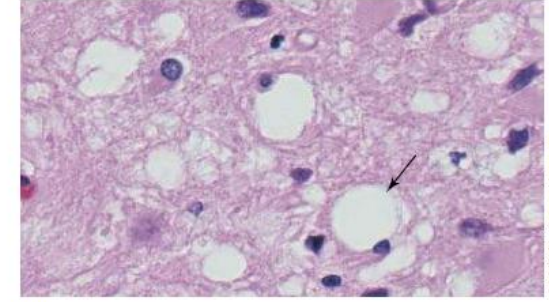
Prionların Kökeni ve PrPC'nin Rolü

- Prion proteininin kaynağı patojenin kendisi değil, konak hücrenin Prnp adlı geni tarafından kodlanan PrPC proteinidir (Figür a).
- PrPC, sağlıklı hayvanlarda özellikle nöronlarda bulunan normal konformasyona sahip bir hücresel proteindir.
- Patojen form olan PrP^{Sc}, PrPC ile aynı amino asit dizisine sahip olmasına rağmen farklı bir üç boyutlu yapıya sahiptir.
- Prionların türler arası geçişi, farklı memeli türlerinde amino asit dizilerinin benzer fakat birebir aynı olmaması nedeniyle sınırlanır.



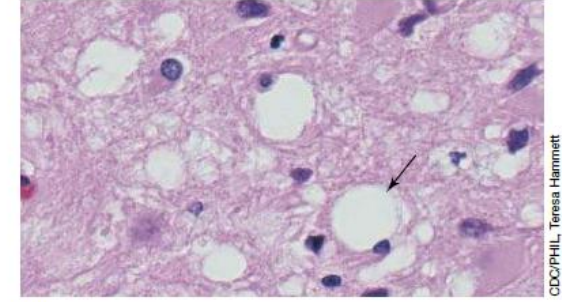
PrPSc'nin Yapısal Farklılığı ve Türler Arası Enfektivite

- PrPC büyük oranda alfa heliks yapı içerirken, PrPSc daha az alfa heliks ve daha fazla beta tabaka yapısı barındırır.
- BSE kaynaklı PrPSc'nin insanlara bulaşabilmesine karşın scrapie (koyun-keçi süngerimsi ensefalopatisi) kaynaklı PrPSc'nin insanlar için enfektif olmaması, dizilim ve yapı farklılıklarının önemini gösterir.
- Prionların konak aralığı, proteinin amino asit dizisi ile yakından ilişkilidir.
- Bu yapısal farklılıklar, prion proteinlerinin belirli türlerde hastalık oluşturup diğerlerinde oluşturamamasını açıklar.

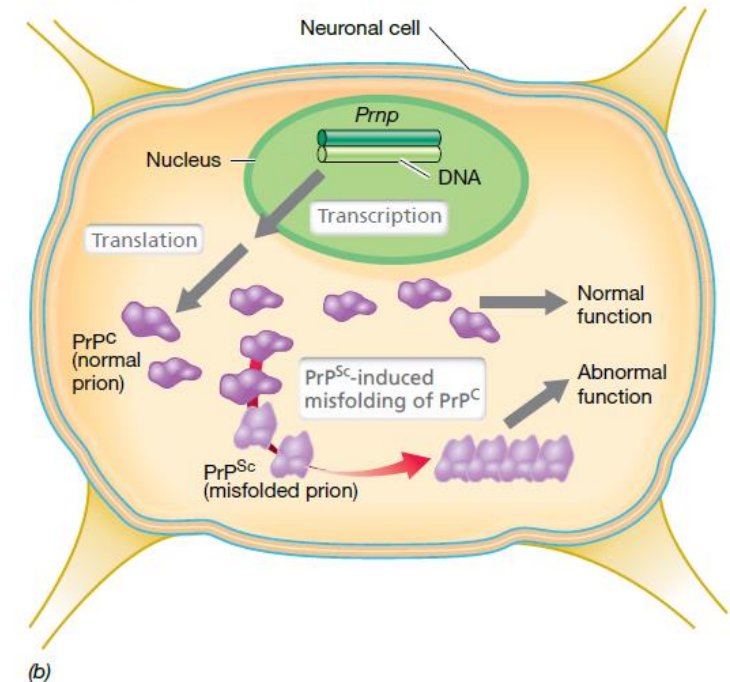


Prionların Çoğalma Mekanizması ve Hastalık Gelişimi

- PrPSc, konak hücrede bulunan PrPC proteinlerini kendi patojen formuna dönüştürerek yayılım gösterir (Figür b).
- Bu dönüşüm süreci sonunda patojen prionlar birikir ve sinir hücrelerinde amiloid adı verilen çözünmeyen lifsi yapılar oluşur.
- Amiloid birikimi nöronlarda hasara ve Figür a'da gösterilen doku yıkımına neden olur.
- PrPC'nin normalde zarla ilişkili bir glikoprotein olarak işlev gördüğü bilinmekte olup, PrPSc'nin hastalık yapması için bu membran bağlantısının gerekli olduğu gösterilmiştir.



(a)



(b)

Prion Birikimi ve Hastalık ile İlişkili Yapısal Özellikler

- Hastalık yapıcı prionlar zarla bağlantı kuramadığında yine agregasyon oluşturur fakat hastalık belirtileri ortaya çıkmaz.
- Bu durum, prionların yalnızca yapısal olarak değil, hücrel konumlarıyla da hastalık mekanizmasında belirleyici olduğunu gösterir.
- Prion kaynaklı amiloid birikimi Alzheimer, Huntington, Parkinson ve tip 2 diyabet gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.
- Bu hastalıkların tümünün gerçek anlamda prion hastalığı olup olmadığı kesin olmamakla birlikte, protein agregasyonunun kritik rol oynadığı bilinmektedir.

Fungal Prionlar ve Çevresel Uyum

- Bazı mantarlarda, yapısal değişimi kalıtım yoluyla devam eden fakat hastalık oluşturmeyen prion benzeri proteinler bulunur.
- Bu prionlar mantar hücrelerinin değişken çevre koşullarına uyum sağlamasına yardımcı olur ve örneğin besin kullanımında farklılıklar yaratabilir.
- Maya hücrelerindeki [URE3] prionu, belirli azot metabolizması genlerini baskılayan bir proteinin prion formudur.
- [URE3] biriktiğinde bu protein agregasyon gösterir ve normalde baskılanan genler açılarak alternatif azot kaynaklarının kullanılmasına izin verir.

İnsanlarda Yarar Sağlayan Prion-Benzeri Proteinler

- İnsanlarda da hücresel işlevleri destekleyen prion-benzeri proteinler bulunur ve bunlardan biri bağışıklık yanıtında yer alan MAVS proteindir.
- MAVS, virüsle enfekte olan hücrelerde kendi kendini sürdüren bir prion-benzeri forma dönüşerek interferon üretimini başlatır.
- Üretilen interferonlar, makrofajlar ve diğer bağışıklık bileşenlerini enfekte hücreye yönlendirir ve hücrenin yok edilmesini sağlar.
- MAVS'in prion-benzeri dönüşümü hücrenin ölümüne yol açsa da virüsün hücresel mekanizmaları ele geçirip yayılmasını engelleyerek organizmayı korur.

Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

