

Virüsler ve Replikasyonları

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Mikrobiyoloji

Bölüm 8

Virofajların Keşfi ve Dev Virüsler

- Virüsler genellikle bakterilerden çok daha küçük olsa da, bazı dev virüsler 0,75 μm 'ye ulaşan çaplarıyla ışık mikroskobunda bile görülebilir.
- Bu megavirüsler, özellikle *Amoeba* gibi protozoonları çeşitli sucul ortamlarda enfekte eder.
- Dev virüslerin keşfi, hücre ile virüs arasındaki sınırın boyut bakımından belirsizleşmesine yol açar.
- Megavirüsler, araştırmacıların virüs biyolojisine bakışını değiştiren yeni özellikler sergiler.

Megavirüslerin Hücre İçindeki “Fabrika” Yapıları

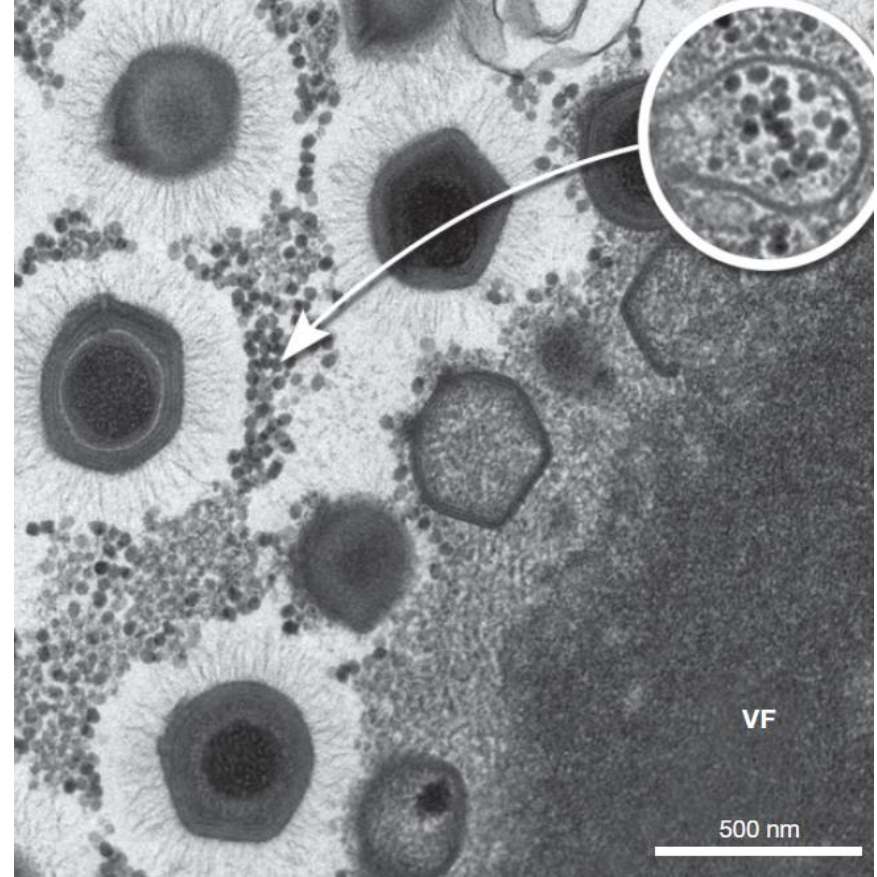
- Enfekte olmuş amip hücreleri, megavirüslerin çoğalması için sitoplazmada çekirdek büyüklüğüne ulaşabilen özel “viral fabrikalar” oluşturur.
- Bu fabrikalar, virüsün çoğalması ve yeni parçacıkların montajı için ayrılmış metabolik alanlardır.
- İlginç bir başka bulgu, bu fabrikaların çevresinde gözlenen küçük virüs benzeri yapılardır.
- Bu küçük yapılar DNA ve kapsid içerir; ancak kendi kendilerine çoğalma için gerekli proteinleri kodlamazlar.

Virofajların Ortaya Çıkışı

- Küçük virüs benzeri yapılar, kendi çoğalmalarını sağlayabilmek için megavirüsün viral fabrikalarını “ele geçirir”.
- Bu durum, aynı kaynaklara yönelen rekabet nedeniyle hatalı megavirüslerin oluşmasına yol açar.
- Bu hatalı megavirüsler, yeni hücreleri enfekte edemeyecek durumda olduğundan biyolojik döngüde işlevsiz kalır.
- Megavirüsleri parazitleyen bu küçük yapılar, özellikleri nedeniyle “virofaj” olarak adlandırılır.

Virofaj Etkileşimlerinin Biyolojik Sonuçları

- Yandaki transmisyon elektron mikrografında, Amazon'daki bir nehirden izole edilen Samba megavirüsleri ve onlara eşlik eden virofajlar birlikte görülmektedir.
- Görüntünün sağ alt kısmındaki koyu yapı, büyük bir viral fabrikanın varlığını göstermektedir.
- Ayrıca, küçük görselde yeni amip hücrelerini enfekte edemeyen kusurlu bir Samba virüsünün oluşumu gösterilmiştir.
- Virofajın yaşam döngüsü tamamen megavirüsün çoğalmasını parazitlemesine bağlıdır.



Üçlü Mikroorganizma İlişkisi

- Virofajların amip hücresindeki rolü tam olarak bilinmese de, yaşamlarını sürdürmeleri megavirüsü inaktive etme yeteneklerine bağlıdır.
- Megavirüs çoğalmasını sekteye uğratmaları, konak hücreyi ölümden koruyarak virofaja seçim avantajı sağlayabilir.
- Bu durum, amip–megavirüs–virofaj arasında ilginç bir üçlü ilişki ortaya çıkarır.
- Virofajların varlığı, mikrobiyal ekolojide beklenenden daha karmaşık etkileşimlerin olduğunu gösterir.

Virüslerin “Büyümesi” Kavramına Giriş

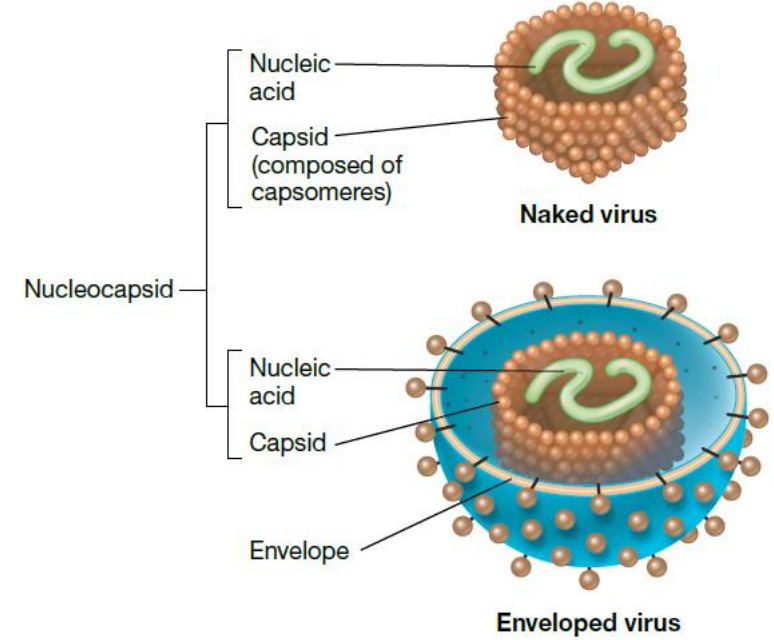
- Virüsler canlı kabul edilmez; ancak çoğalmaları için canlı bir hücreye ihtiyaç duyarlar.
- Bir virüs yalnızca uygun bir konak hücreye girdikten sonra çoğalabilir.
- Virüslerin bu bağımlılığı, onları “zorunlu hücre içi parazitler” olarak tanımlar.

Virüslerin Temel Özellikleri

- Virüsler enerji, metabolik ara ürünler ve protein sentezi için konağa bağımlıdır.
- Buna karşılık, kendi genomlarına sahip olmaları onları genetik açıdan bağımsız kılar.
- Hem prokaryot hem ökaryot hücreleri enfekte edebilirler ve birçok hastalığın etkenidir.
- Virüsleri inceleyen bilim dalı virolojidir; virüs genomları ve çeşitlilikleri ise ileriki bölümlerde ayrıntılı incelenecektir.

Virion ve Viral Bileşenler

- Virüslerin konak dışında bulunan yapısına virion adı verilir ve bu yapı viral genomu korur.
- Her virion, genomu saran protein yapıda bir kapside sahiptir.
- Birçok hayvan virüsünde buna ek olarak, konak hücre zarından türemiş bir fosfolipit tabakasından oluşan bir zarf bulunur.
- Zarflı virüslerde genom + kapsid birleşimine nükleokapsid adı verilir.



Virionun İşlevleri ve Enzimleri

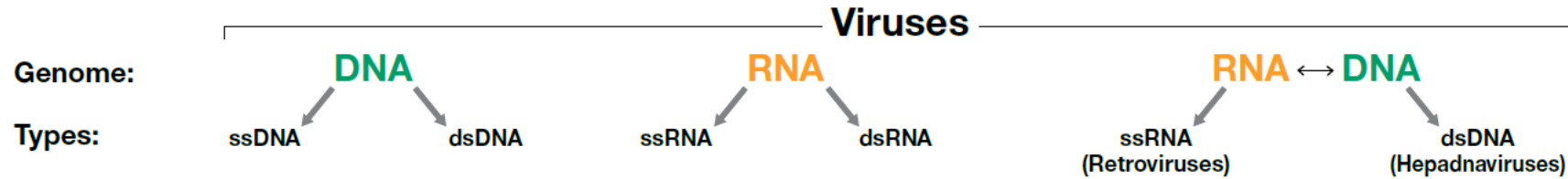
- Virion yüzeyindeki proteinler, uygun konak hücreye bağlanmada kritik rol oynar.
- Bazı virionlar, enfeksiyon ve çoğalma sürecinde görev yapan özel enzimler taşır.
- Virion, konağın dışında genomu fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı korur.
- Enfeksiyon ancak virion ya da genom uygun bir konak hücre içine girdiğinde başlar.

Litik ve Lizojenik Enfeksiyonların Temelleri

- Konak hücreye girdikten sonra viral genom iki farklı süreci başlatabilir.
- Litik enfeksiyonda virüs, hücrenin büyümesini durdurarak tüm metabolizmayı kendi çoğalmasına yönlendirir.
- Hücre parçalanır ve yeni virionlar çevreye salınarak döngü devam eder.
- Lizojenik enfeksiyonda ise hücre ölmez; viral genom konak genomuna entegre olur ve hücre genetik açıdan değişmiş hâlde yaşamını sürdürür.

Viral Genomların Temel Özelliği

- Tüm hücrelerde çift sarmallı DNA genomları bulunurken virüslerde genom yapısı çok daha çeşitlidir.
- Viral genomlar DNA ya da RNA şeklinde olabilir ve her iki form da tek sarmallı veya çift sarmallı olarak görülebilir.
- Çok az sayıdaki bazı sıra dışı virüsler yaşam döngülerinin farklı evrelerinde hem DNA hem RNA kullanır.



Viral Genomların Fiziksel Yapısı ve Polaritesi

- Viral genomlar doğrusal veya halkasal olabilir ve tek sarmallı genomlar baz dizilimlerine göre plus veya minus yapıda sınıflandırılır.
- Plus yapıda genom, viral proteinlerin sentezleneceği mRNA ile aynı baz dizisine sahiptir.
- Minus yapıdaki genom ise viral mRNA'ya tamamlayıcı bir dizilim taşır ve bu nedenle genetik bilgi akışında özel mekanizmalar gerektirir.

Viral Genomların Büyüklüğü

- Viral genomlar, hücresel canlıların genomlarına kıyasla çok daha küçüktür.
- Bilinen en küçük bakteriyel genom yaklaşık 139 kilobaz çiftidir ve yaklaşık 110 gen kodlar.
- Çoğu virüs yalnızca birkaç gen ile 350 gen arasında değişen sayıda gen taşır; en küçük RNA virüslerinde genom büyüklüğü 2000 nükleotidin altındadır ve yalnızca iki gen içerir.
- Buna karşılık bazı çok büyük DNA virüsleri de vardır; örneğin protozoonları enfekte eden Megavirus'un genomu 1.25 Mbp büyüklüğündedir.

Genom Büyüklüğü ve Virüs Tipleri

- RNA virüsleri tipik olarak en küçük genomlara sahiptir.
- Buna karşılık 40 genin üzerinde gen taşıyan genomlara yalnızca DNA virüslerinde rastlanır.
- Viral çeşitlilik bu genomik farklılıklar sayesinde oldukça geniştir.

Virüslerin Sınıflandırılması

- Virüsler hem enfekte ettikleri konak tipine hem de genom yapılarına göre sınıflandırılabilir.
- Bu nedenle bakteriyel, arkeobakteriyel, hayvansal, bitkisel ve protozoan virüsleri gibi farklı gruplar bulunur.
- Bakteriyel virüsler “bakteriyofaj” olarak adlandırılır ve virüs çoğalmasının moleküler biyolojisi için model sistemler olarak yoğun şekilde çalışılmıştır.
- Birçok temel viroloji ilkesi, bakteriyofaj çalışmalarından elde edilmiş ve daha karmaşık organizma virüslerine uyarlanmıştır.

Konak Çeşitliliğinin Araştırma Yoğunluğu ile İlişkisi

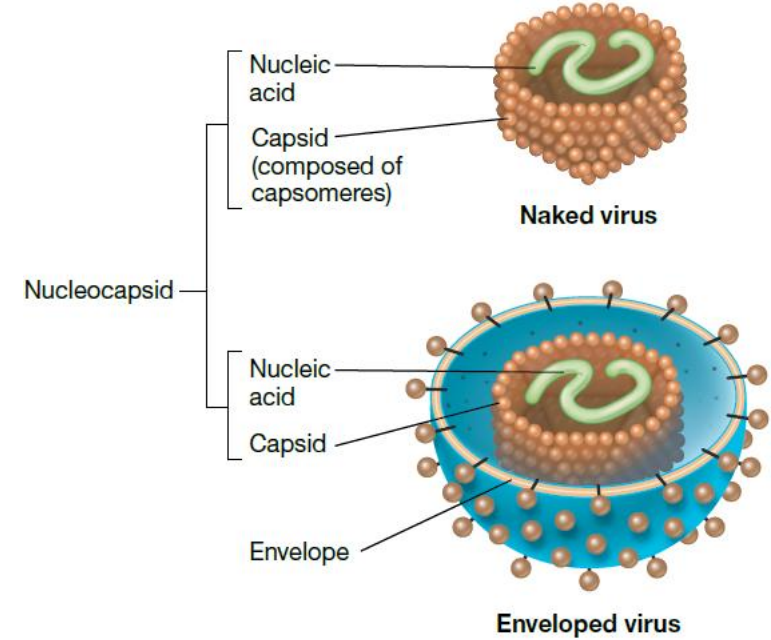
- Tıbbi açıdan kritik oldukları için hayvan virüsleri üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır.
- Bitki virüsleri modern tarım için büyük öneme sahip olmalarına rağmen daha az çalışılmıştır.
- Bu farklılık, viroloji bilgisinin gelişiminde konak türlerinin önemini yansıtır.

Virionların Boyutları

- Virionlar çok çeşitli şekil ve boyutlara sahiptir ve çoğu prokaryot hücrelerden çok daha küçüktür.
- Genellikle 0.02–0.3 μm arasında değişen boyutlara sahiptirler.
- Örneğin çiçek hastalığı virüsü yaklaşık 200 nm çapındadır; bu, bilinen en küçük bakteriyel hücrelerin boyutuna yakındır.
- Buna karşın poliovirüs yalnızca 28 nm çapındadır ve bir ribozom büyüklüğündedir.

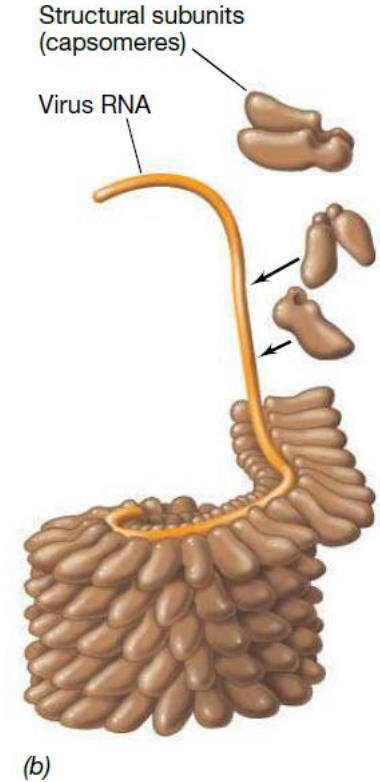
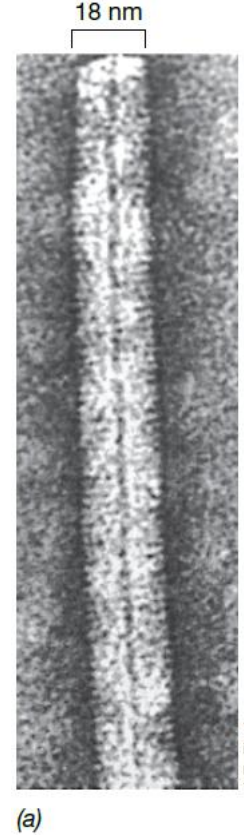
Virion Yapısının Temel Unsurları

- Virionların yapıları boyut, şekil ve kimyasal bileşim açısından oldukça çeşitlidir.
- Her virionun nükleik asidi mutlaka kapsid adı verilen bir protein kılıfla çevrilidir.
- Kapsid, kapsomer adı verilen tekrarlayıcı protein alt birimlerinin çok düzenli bir dizilimiyle oluşur.



Genom Küçükliğünün Yapısal Sonuçları

- Viral genomların küçük olması, virüsün kodlayabileceği protein çeşitliliğini sınırlar.
- Bu nedenle bazı virüslerde kapsid yalnızca tek tip bir proteinle oluşturulur.
- Örneğin, tütün mozaik virüsü (TMV) tek sarmallı RNA yapısına sahiptir ve 2130 adet kapsomer proteinini helikal bir düzen içinde yer alır.



Kapsid Oluşumu ve Kendiliğinden Birleşme

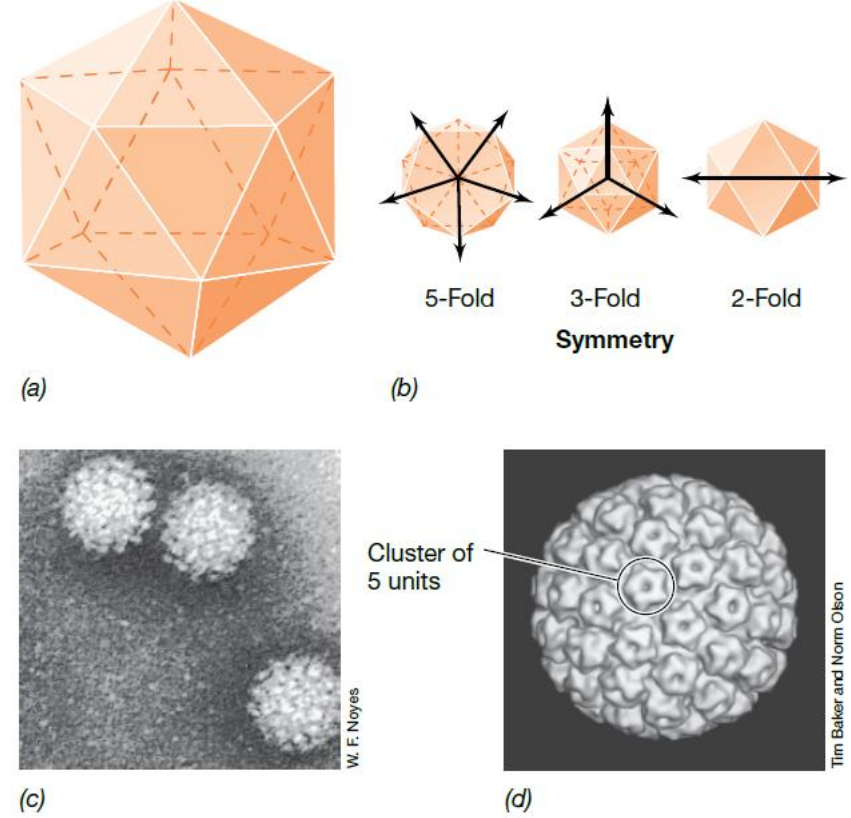
- Birçok virüste kapsomerlerin doğru katlanması ve kapsid ile düzenli şekilde birleşmesi, viral proteinlerin amino asit diziliminde gömülü olan bilgiden kaynaklanır.
- Bu durumda virion bir araya gelme süreci kendiliğinden gerçekleşir ve “self-assembly” olarak adlandırılır.
- Ancak bazı virüs proteinlerinin doğru katlanması konak hücreye ait yardımcı proteinleri gerektirir.
- Örneğin bakteriyofaj lambda’nın kapsid proteini, aktif hâline katlanabilmek için *E. coli*’ye ait GroE şaperonuna ihtiyaç duyar.

Virionlarda Simetrinin Temel Özellikleri

- Virionlar yüksek derecede simetrik yapılardır ve belirli açılarla döndürüldüğünde aynı görünümü yeniden sergiler.
- Virüslerde iki ana simetri tipi bulunur ve bunlar temel viral şekillere, yani çubuk ve küresel formlara karşılık gelir.
- Çubuk şeklindeki virüsler helikal simetri, küresel virüsler ise ikozahedral simetri taşır.

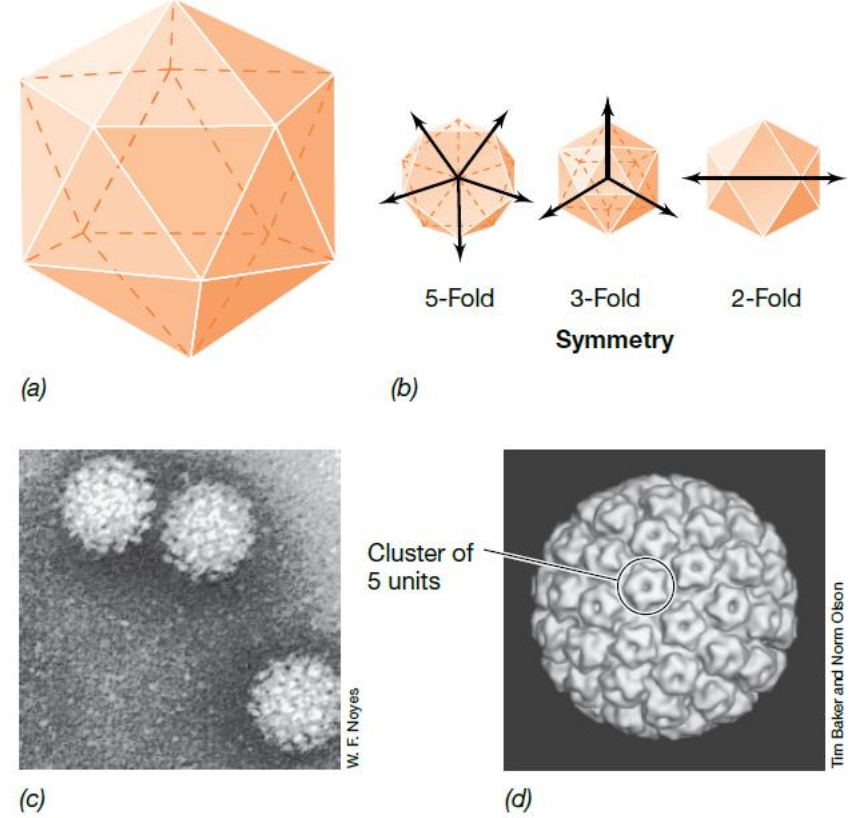
Helikal Simetri ve TMV Örneği

- TMV, helikal simetriye sahip tipik bir virüstür.
- Bu tip virüslerde uzunluk, nükleik asidin uzunluğu tarafından belirlenir.
- Virionun genişliği ise kapsomerlerin boyutu ve paketlenme düzenine bağlıdır.



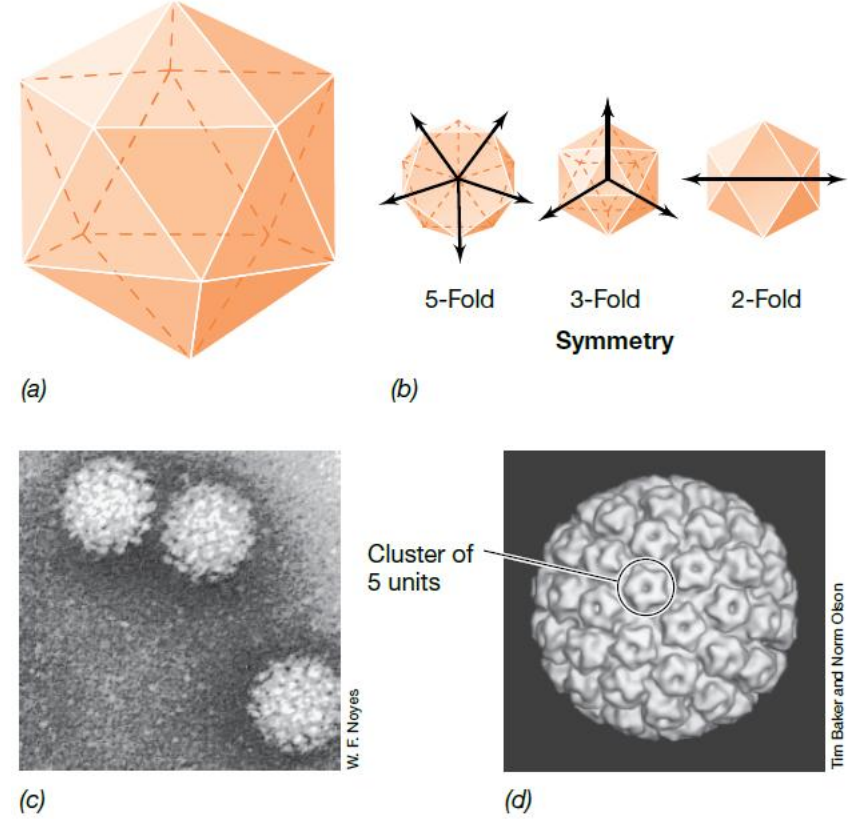
İkozahedral Simetrinin Genel Yapısı

- İkozahedral virüslerde 20 üçgensel yüzey ve 12 köşe bulunur; bu yapı virionu neredeyse küresel bir forma getirir (Figür a).
- Simetri eksenleri ikozahedronu 5, 3 veya 2 eş segment hâline ayırır (Figür b).
- Bu simetri, kapalı bir kılıf oluşturmak için gereken kapsomer sayısını en aza indirdiği için oldukça verimlidir.



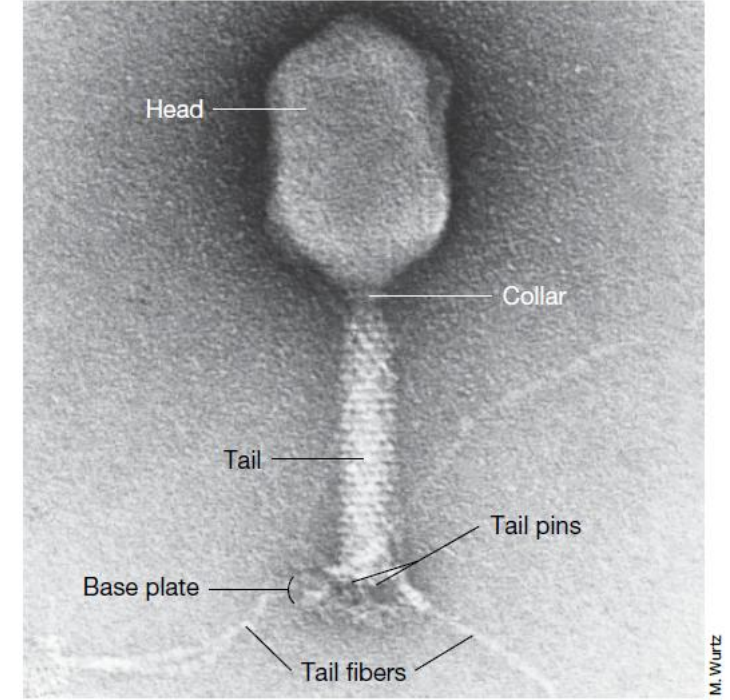
Kapsomer Düzeni ve Örnek Bir Virüs

- En basit ikozahedral düzen, üçgensel yüz başına 3 kapsomer içerir ve toplam 60 kapsomer oluşur.
- Ancak çoğu virüs, yalnızca 60 kapsomerlik bir kılıfa sığamayacak kadar fazla nükleik aside sahiptir.
- Bu nedenle 180, 240 veya 360 kapsomer içeren virüsler daha yaygındır.
- Örneğin, insan papillomavirüsünün kapsidi 360 kapsomerden oluşur ve kapsomerler 5'li kümeler hâlinde 72 grup oluşturur (Figür c, d).



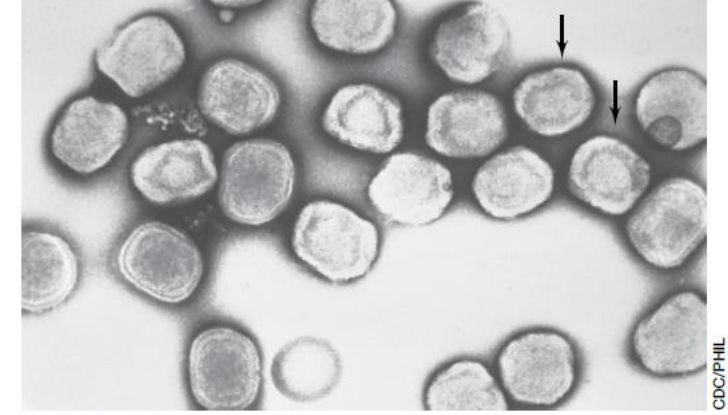
Kompleks Viral Yapılar

- Bazı virüsler birden fazla bölüme sahip olup her bölüm kendi simetrisini gösterebilir.
- En kompleks yapılardan biri, *E. coli*'yi enfekte eden baş-artı-kuyruk bakteriyofajlarıdır.
- T4 fajı, ikozahedral bir baş ile helikal bir kuyruktan oluşur.



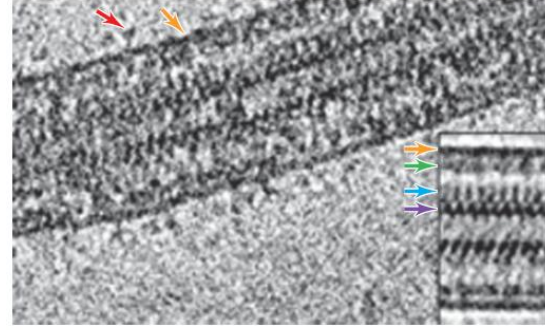
Ökaryot Virüslerinde Komplekslik

- Büyük bazı ökaryot virüsleri de kompleks yapılar sergiler.
- Mimivirus ve vaccinia virüsü buna örnektir ve vaccinia virüsünün bir görseli yanda verilmiştir.

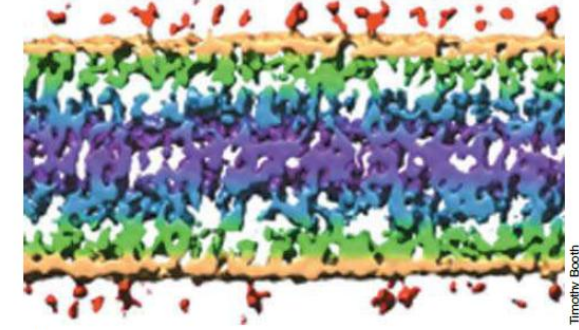


Zarflı Virüslerin Genel Özellikleri

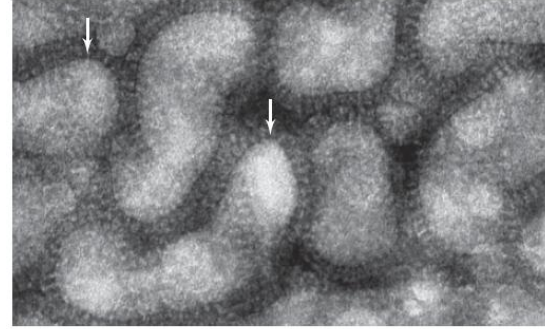
- Zarflı virüslerde nükleokapsidi çevreleyen bir lipoprotein membran bulunur.
- Bu virüsler hem RNA hem DNA genomu taşıyabilir.
- Ebola gibi birçok zarflı virüs, zarf üzerindeki proteinleri kullanarak konak hayvan hücrelerine bağlanır (Figür a, b).



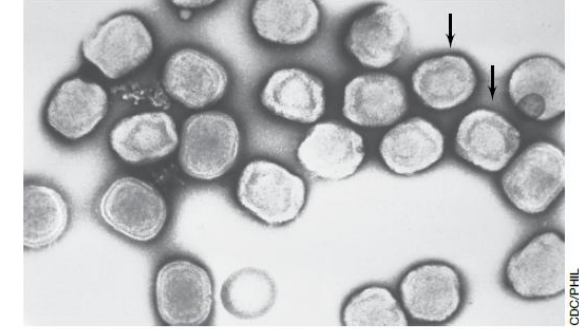
(a)



(b)



(c)



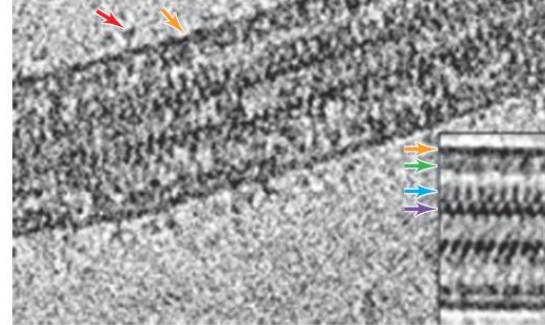
(d)

Zarflı Virüslerin Konak Etkileşimi

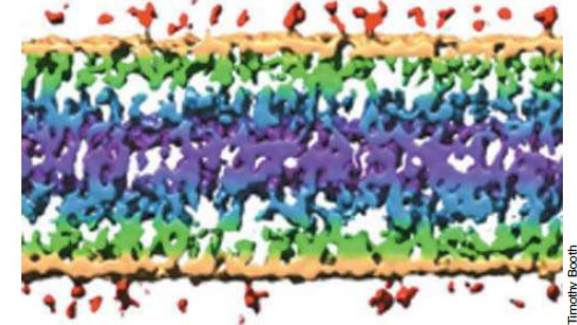
- Hayvan hücrelerinin dış ortamla doğrudan temas eden sitoplazmik membranları, zarflı virüslerin girişini kolaylaştırır.
- Buna karşılık bitki ve bakteri hücrelerinde hücre duvarı bulunduğundan zarflı virüs örnekleri bu organizmalarda oldukça azdır.
- Enfeksiyon sırasında, eğer zarf varsa, virionun tamamı hücre içine girer ve zarf konak zarıyla kaynaşarak girişe katkı sağlar.

Zarflı Virüslerin Hücreden Çıkışı

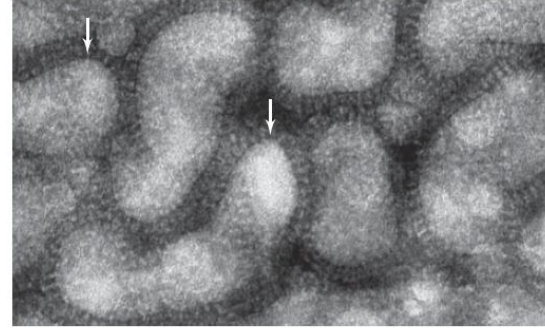
- Zarflı virüsler hayvan hücrelerinden daha kolay çıkar; çıkış sırasında virüs, hücre membranından zarf materyali alır.
- Zarf esas olarak konak membranından oluşur ancak virüse özgü yüzey proteinleri de zarfa yerleşir (Figür a, b).
- Zarf, virüsün konak hücreye tutunmasında ve hücreden ayrılmasında kritik rol oynar.



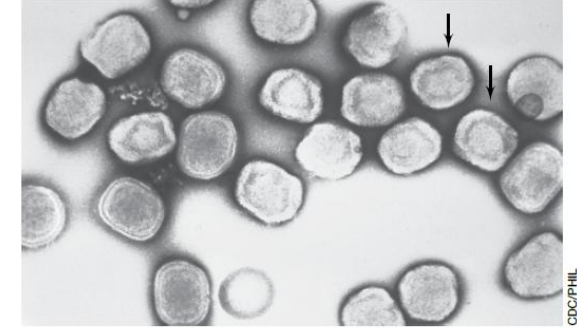
(a)



(b)



(c)



(d)

Enfeksiyon Spesifikliğinde Zarfın Rolü

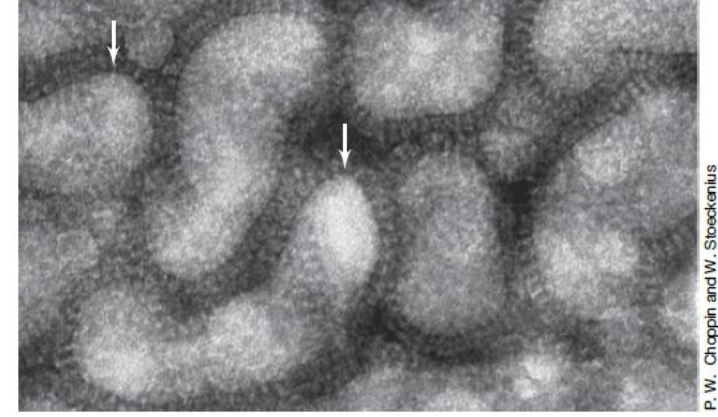
- Zarflı virüslerin konak seçiciliği, zarfın biyokimyasal özelliklerinden önemli ölçüde etkilenir.
- Bu zarf proteinleri, hem virionun konak hücreye bağlanmasını hem de çoğalma sonrası virionların hücreden ayrılmasını kontrol eder.

Virion İçindeki Enzimler

- Virüsler metabolik reaksiyonları gerçekleştirmez ve metabolik olarak inert yapılardır.
- Ancak bazı virüsler, enfeksiyon sürecinde gerekli olan enzimleri virionun içinde taşır.
- Bazı bakteriyofajlar, peptidoglikan tabakasında delik açarak nükleik asidin hücre içine girmesini sağlayan lizozim benzeri bir enzim içerir.

Enzimlerin oęalma ve Salınımındaki Rolü

- Bakteriyofajlar, enfeksiyonun geç evrelerinde hücreyi parçalayarak yeni virionları serbest bırakmak için benzer bir protein üretir.
- Bazı hayvan virüsleri de konaktan ayrılmayı kolaylaştıran enzimler taşır; örneğin influenza virüsü, konak dokudaki glikoprotein ve glikolipidleri parçalayan nöraminidaz enzimlerine sahiptir.



P. W. Choppin and W. Stoekenius

RNA Virüslerinde Polimerazlar

- RNA virüsleri, RNA genomlarını çoğaltmak ve virüs-spesifik mRNA üretmek için RNA'ya bağımlı RNA polimerazlar taşır.
- Bu enzimler gereklidir çünkü DNA polimeraz RNA sentezleyemez ve hücrelerde RNA'yı RNA'dan yapabilen herhangi bir enzim bulunmaz.

Retrovirüslerin Özgün Replikasyon Mekanizması

- Retrovirüsler, RNA genomlarını DNA aracılığıyla kopyalayan hayvan virüsleridir.
- Hücreler RNA'dan DNA sentezleme kapasitesine sahip olmadığından, retrovirüsler virionlarında revers transkriptaz taşır.
- Bazı virüsler için bu özel enzimler, başarılı enfeksiyon ve çoğalma için kesinlikle gereklidir.

Virüs Yaşam Döngüsüne Giriş

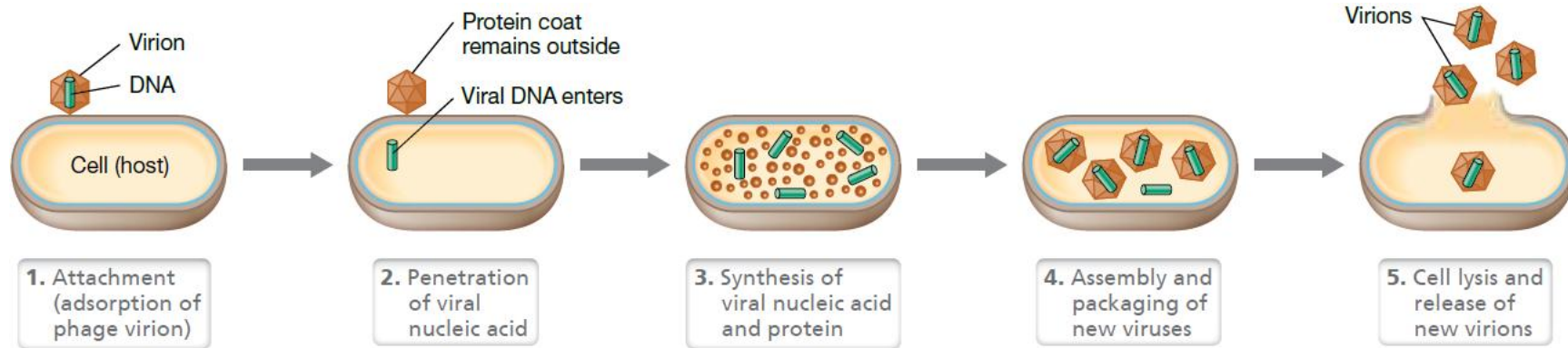
- Virüslerin çoğalabilmesi için canlı bir konak hücrenin, yeni virionların yapımı için gerekli tüm bileşenleri sentezlemesi gerekir.
- Ölü hücreler enerji ve biyosentetik kapasiteye sahip olmadığından virüs çoğaltamaz.
- Aktif bir enfeksiyon sırasında viral bileşenler bir araya getirilerek yeni virionlar oluşturulur ve hücreden salınır.
- Replikasyon süreçleri çoğu virüste benzer olsa da enfeksiyonun ilk adımı prokaryot ve ökaryot hücrelerde belirgin şekilde farklıdır.

Prokaryot ve Ökaryot Enfeksiyon Farkları

- Bakteri ve Archaea hücrelerinde enfeksiyon çoğunlukla yalnızca viral nükleik asidin hücre içine girmesiyle başlar.
- Bitki ve hayvan hücrelerinde bunun aksine tüm virion hücre tarafından içeri alınır.
- Bu farklara rağmen bakteriyel virüslerin yaşam döngüsü çok iyi çalışılmıştır.
- Bu nedenle viral çoğalma basamakları genel bir model olarak bakteriyel virüsler üzerinden açıklanmaktadır.

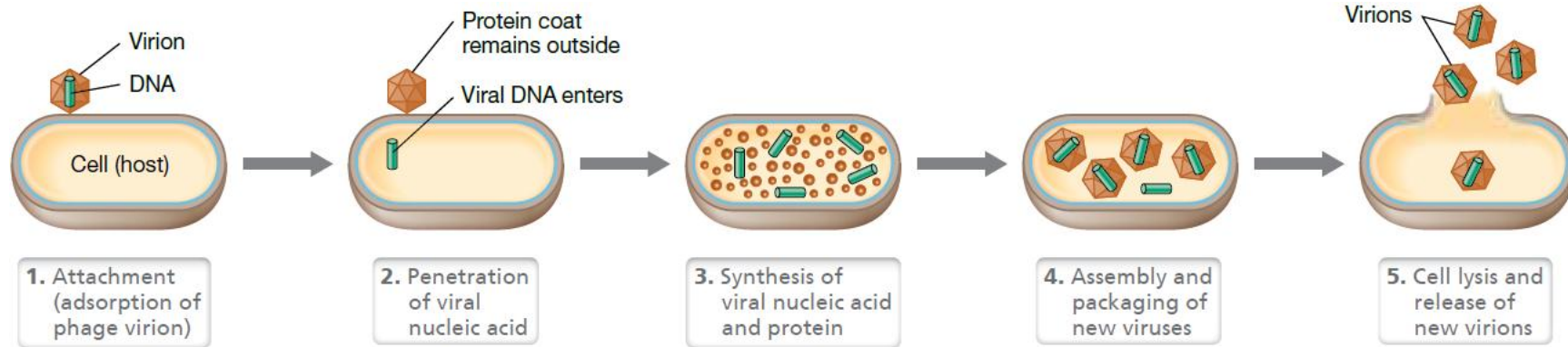
Permissive Hücre ve Replikasyon Basamakları

- Tam bir viral çoğalma döngüsünü destekleyen konak hücreye “permissive” hücre denir.
- Permissive bir konakta viral yaşam döngüsü beş temel adımdan oluşur.



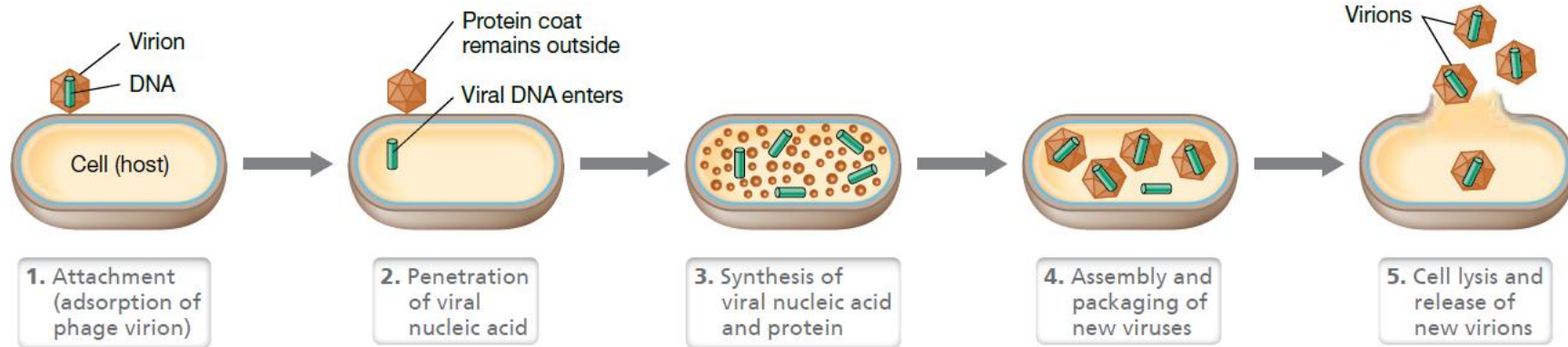
Permissive Hücre ve Replikasyon Basamakları

- İlk basamak virionun konak hücreye tutunmasıdır.
- İkinci basamak virion nükleik asidinin hücre içine girmesi, yani penetrasyondur.



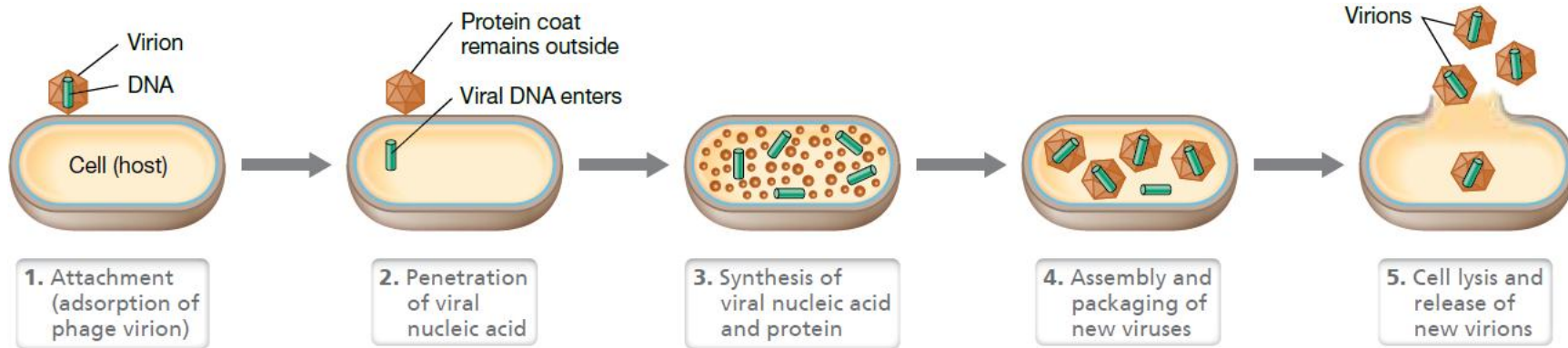
Replikasyonun Devam Eden Basamakları

- Üçüncü basamakta hücre makinası, virüs tarafından yönlendirilerek viral nükleik asit ve proteinleri sentezler.
- Dördüncü basamakta kapsitler oluşturulur ve viral genomlar bu kapsitlere paketlenir.



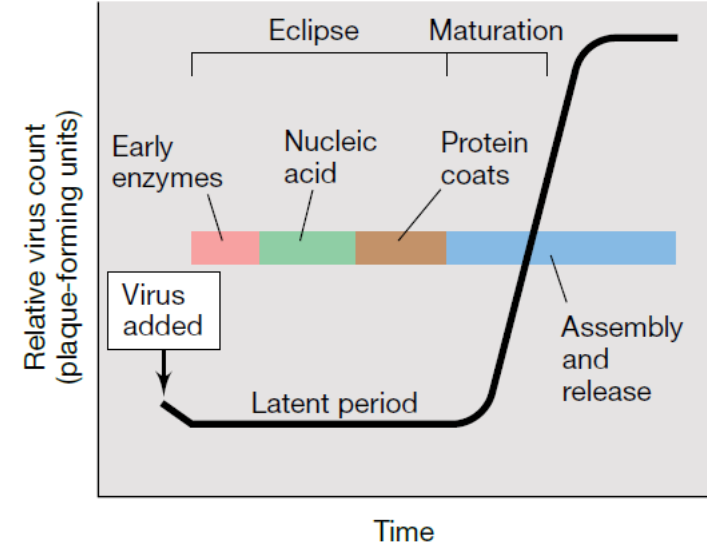
Replikasyonun Devam Eden Basamakları

- Beşinci basamakta yeni virionlar hücreden serbest hale geçer.
- Bu beş basamak, virüsün konak içinde çoğalmasını sağlayan temel döngüyü oluşturur.



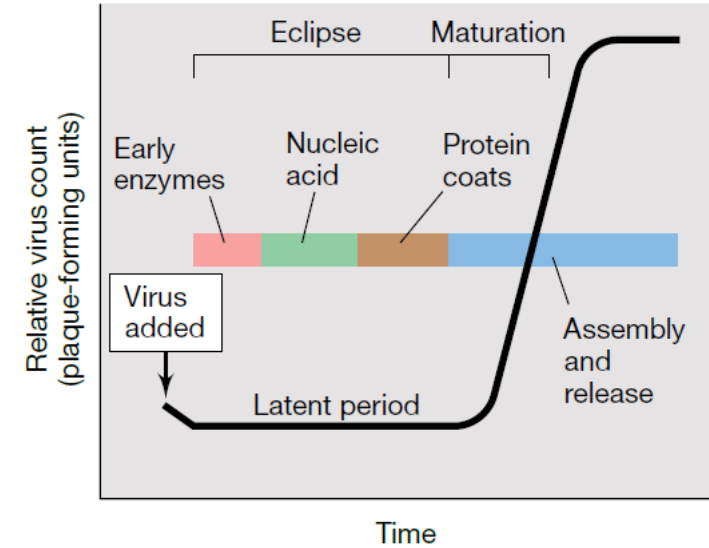
Tek Adımlı Büyüme Eğrisi

- Viral çoğalma sırasındaki büyüme tepkisi tek adımlı büyüme eğrisi ile ifade edilir.
- Replikasyon boyunca ortamda virion sayısı hücreler parçalanana dek artmadan sabit kalır.
- Enfeksiyonun ilk dakikalarında virüs, genom kopyalanması ve protein sentezinin başladığı “eclipse dönemi”ne girer.
- Bu sırada hücre dışındaki virion sayısı azalır çünkü bağlı virion artık yeni bir hücreyi enfekte edemez.



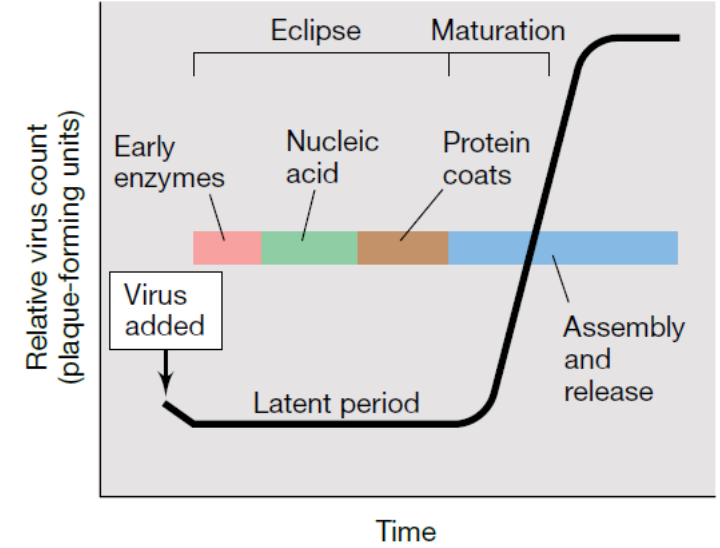
Eclipse Dönemi ve Enfekte Hücrenin Durumu

- Eclipse döneminde viral genom kapsit içinde değildir, bu yüzden hücre parçalanırsa virion enfektif özelliğini kaybeder.
- Virüsün nükleik asidi hücreye girdikten sonra kapsitsiz bir formda bulunduğu için tespit edilemez.
- Bu dönem hem replikasyonun hem de protein sentezinin başladığı kritik aşamadır.



Maturation (Olgunlaşma) Aşaması ve Latent Dönem

- Maturation aşaması, sentezlenen viral genomların kapsit içine paketlenmesiyle başlar.
- Bu aşamada hücre içindeki enfektif virion sayısı hızla artar fakat ortamda henüz görünmez.
- Eclipse ve maturation dönemlerinin toplamı latent dönemi oluşturur.
- Latent dönem, yeni virionlar dış ortama çıkana kadar devam eder.



Virionların Salınımı ve Replikasyon Süresi

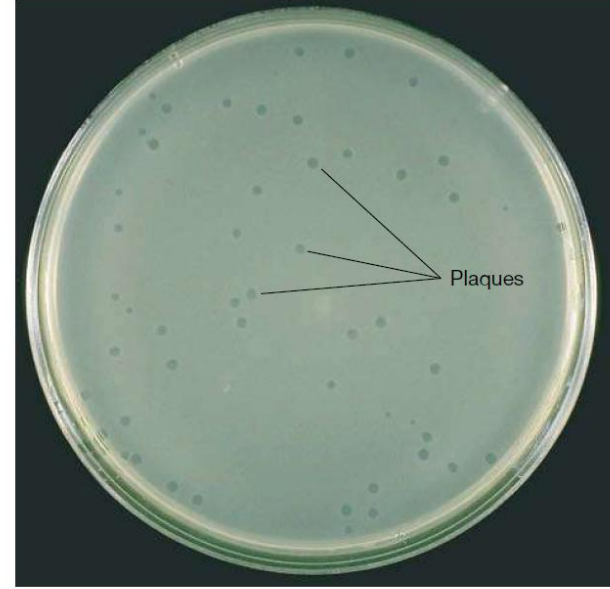
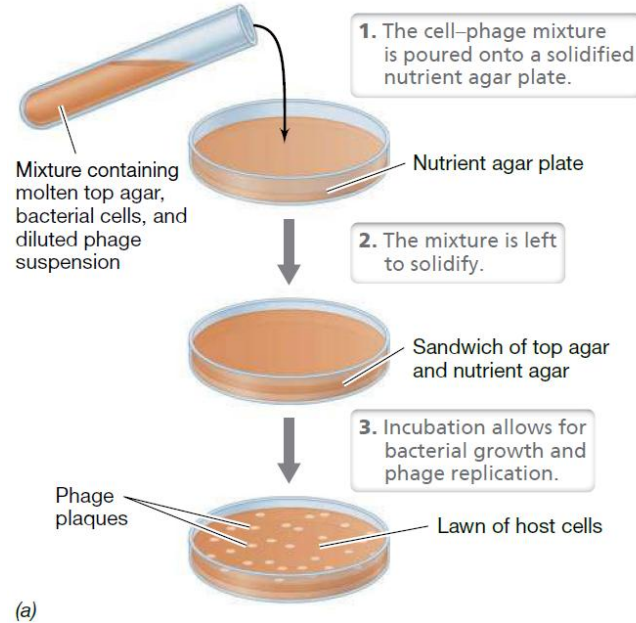
- Maturation (olgunlaşma) sonunda virionlar hücreden lizis, tomurcuklanma veya ekzositoz yoluyla serbest kalır.
- Hücre başına üretilen virion sayısı, ilgili virüse ve konak hücreye bağlı olarak çok değişkenlik gösterir.
- Replikasyon döngüsünün süresi bakteriyel virüslerde 20–60 dakika, hayvan virüslerinde 8–40 saat arasında olabilir.
- Bu süreler virüsün biyolojik özelliklerine ve konak tipine göre belirlenir.

Virüslerin Kültüre Edilmesi

- Virüslerin çoğalabilmesi için konak hücrelerin büyüyebilir halde olması gerekir.
- Bakteriyel konaklar sıvı kültürlerde veya agar yüzeyinde “lawn (homojen bakteri tabakası-bakteri çimi)” oluşturarak yetiştirilir.
- Hayvan virüsleri ise uygun besin içeren steril doku kültürlerinde çoğaltılır.
- Bu kültür ortamları genellikle serum ve zengin besleyiciler içerir.

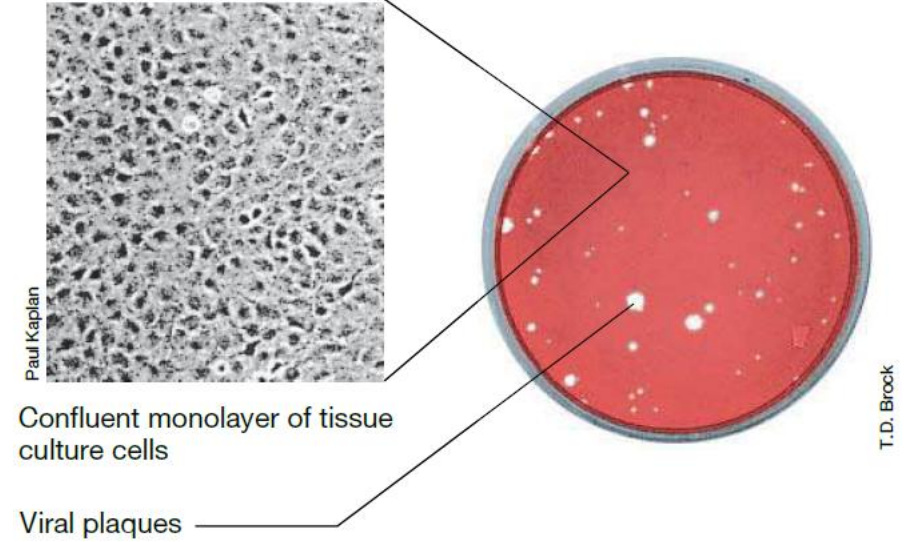
Virüslerin Tespiti ve Sayımı: Plak Testi

- Bir virüs süspansiyonundaki enfektif virion sayısı “titer” olarak adlandırılır ve plak testi ile ölçülür.
- Bakteriyofajlarda, virionlar bakteri içeren erimiş agar ile karıştırılıp yüzeye yayılır ve enfekte bölgelerde plaklar oluşur.



Virüslerin Tespiti ve Sayımı: Plak Deneyi

- Her plak, hücre lizisinin gerçekleştiği tek bir enfeksiyon olayını temsil eder ve bu sayım titer hesaplamasında kullanılır.
- Hayvan virüslerinde de benzer bir şekilde doku kültürü üzerinde plak oluşumu izlenir ve titer bu verilere göre hesaplanır.



Plak Oluşum Verimliliği (Plating Efficiency) Kavramı

- Plak oluşum verimliliği, tüm virüs tiplerinde virüs titrelerinin nicel olarak değerlendirilmesinde önemli bir kavramdır.
- Elektron mikroskopuyla sayılan toplam virüs partikülleri, plak oluşturan birim sayısından her zaman daha yüksektir.
- Bunun nedeni, virionların konak hücreyi enfekte etme verimliliğinin hiçbir zaman tam (%100) olmamasıdır.
- Bu nedenle, birçok virion konağa bağlanamaz, uygun şekilde çoğalamaz veya enfektif bir genom içermez.

Düşük Plak Verimliliğinin Nedenleri

- Bazı virionlar olgunlaşma sırasında tam olarak bağlanamadığı için konak hücreyi enfekte edemez.
- Virionlar, genomundaki bir kusur veya mutasyon nedeniyle bağlanma ya da replikasyon aşamalarını gerçekleştiremeyebilir.
- Uygun olmayan büyütme koşulları plak verimliliğini düşürebilir.
- Taşıma veya depolama sırasında virionlar hasar görebilir ve enfektifliklerini kaybedebilir.

Plak Verimliliğinin Nicel Virolojideki Önemi

- Bakteriyel virüslerde plak verimliliği genellikle %50'nin üzerinde olabilirken, birçok hayvan virüsünde bu oran %0.1 veya %1 düzeyindedir.
- Plak verimliliğini bilmek, araştırmacının hedeflenen plak sayısı için gerekli titreyi tahmin etmesine yardımcı olur.
- Titre çok düşükse, viral süspansiyonun konsantrasyonu santrifüjleme veya filtrasyonla artırılabilir.
- Özellikle hayvan virüslerinde hücre kültürü maliyetleri yüksek olduğundan bu bilgi kritik öneme sahiptir.

Viral Replikasyon Döngüsüne Genel Bakış

- Litik replikasyon döngüsüne ilişkin bilgilerimizin büyük kısmı *E. coli*'yi enfekte eden bakteriyofajlardan gelir.
- Hem RNA hem DNA yapısındaki birçok faj, *E. coli* içinde çoğalabilir.
- Bu süreçte bakteriyofaj T4, yaşam döngüsünün aşamalarını detaylı incelemek için model olarak seçilmiştir.

Some bacteriophages of <i>Escherichia coli</i>				
Bacteriophage	Virion structure	Genome composition ^a	Genome structure	Size of genome ^b
MS2	Icosahedral	ssRNA	Linear	3,600
φX174	Icosahedral	ssDNA	Circular	5,400
M13, f1, and fd	Filamentous	ssDNA	Circular	6,400
Lambda	Head & tail	dsDNA	Linear	48,500
T7 and T3	Head & tail	dsDNA	Linear	40,000
T4	Head & tail	dsDNA	Linear	169,000
Mu	Head & tail	dsDNA	Linear	39,000

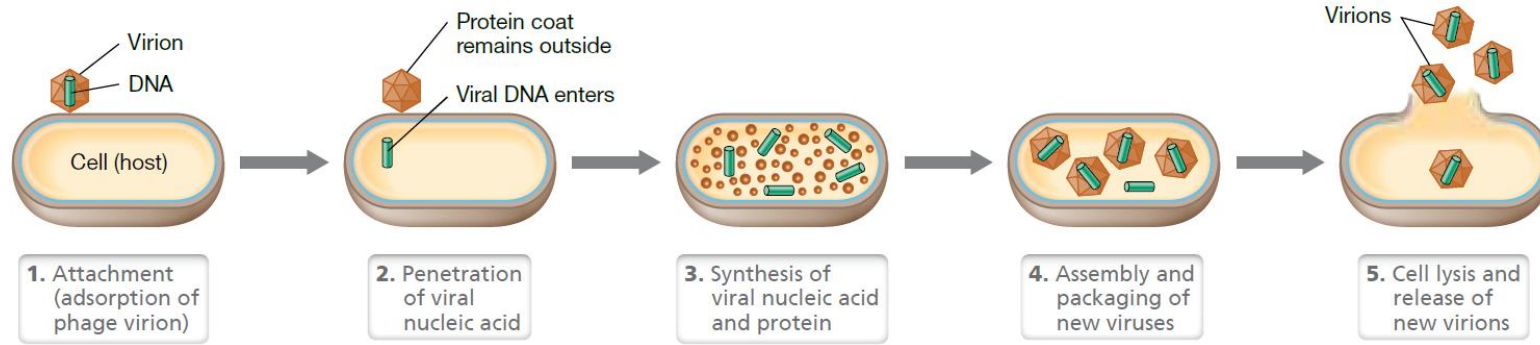
^ass, single-stranded; ds, double-stranded.

^bIn bases (ss genomes) or base pairs (ds genomes). These viral genomes have been sequenced and thus their lengths are known precisely. However, the sequence and length often vary slightly among different isolates of the same virus. Hence, the genome sizes listed here have been rounded off in all cases.



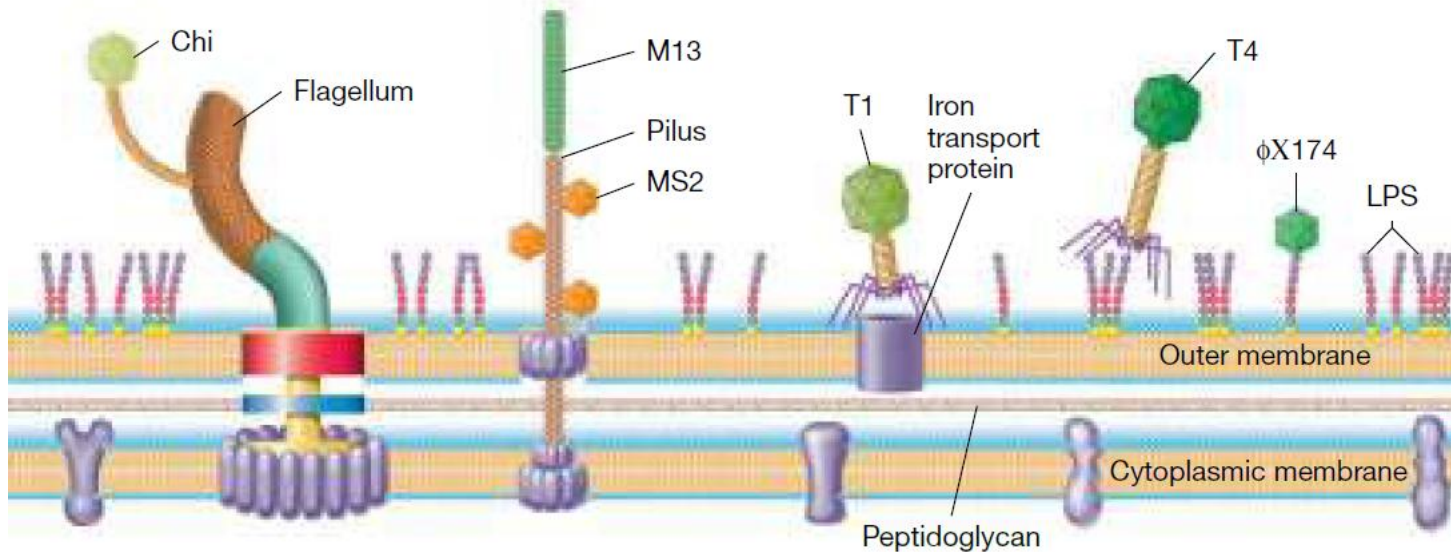
Faj T4'te İlk Aşamalar: Tutunma ve Giriş

- Her bakteriyofajda ilk adım, konağın yüzeyine tutunma ve ardından genomun hücre içine girişidir.
- Tutunma, virion yüzeyindeki özgül proteinlerin konak hücredeki reseptör molekülleriyle etkileşmesiyle gerçekleşir.
- Uygun reseptör yoksa virüs hücreye bağlanamaz ve enfeksiyon gerçekleşmez.
- Reseptördeki bir mutasyon konak hücreyi o virüse karşı dirençli hâle getirebilir.



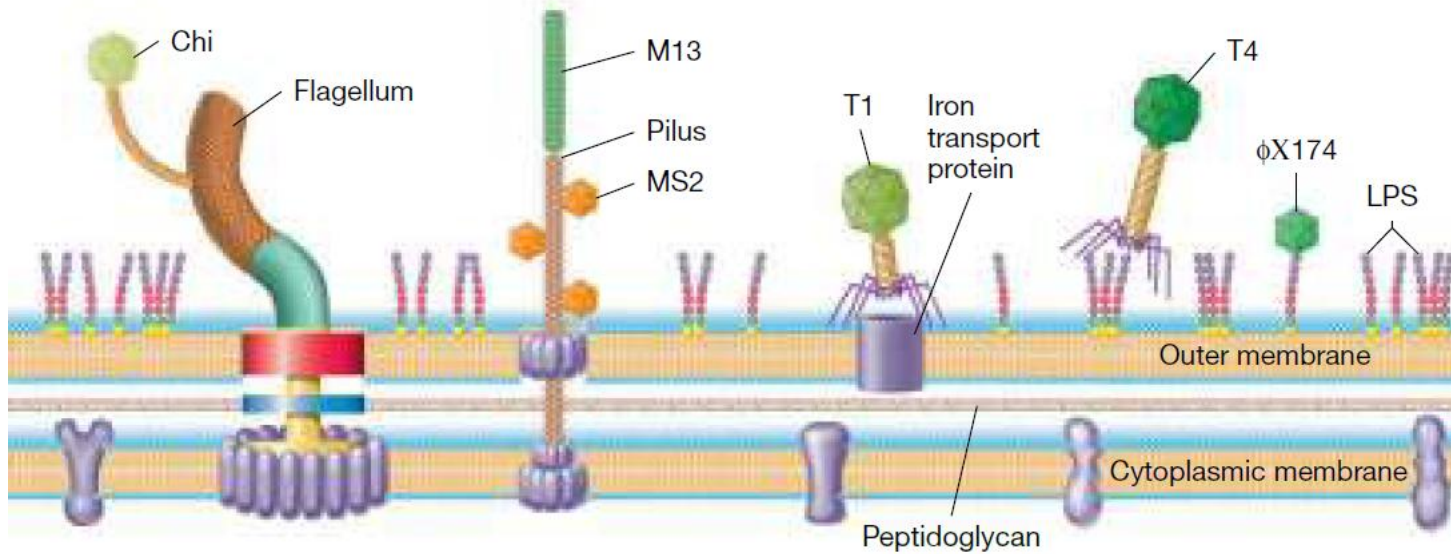
Viral Reseptörlerin Doğası

- Viral reseptörler protein, karbonhidrat, glikoprotein, lipid veya lipoprotein gibi yüzey bileşenleridir.
- Bu reseptörler hücrenin kendi biyolojik işlevlerini taşırlar örneğin, faj T1'in reseptörü bir demir-alım proteinidir.



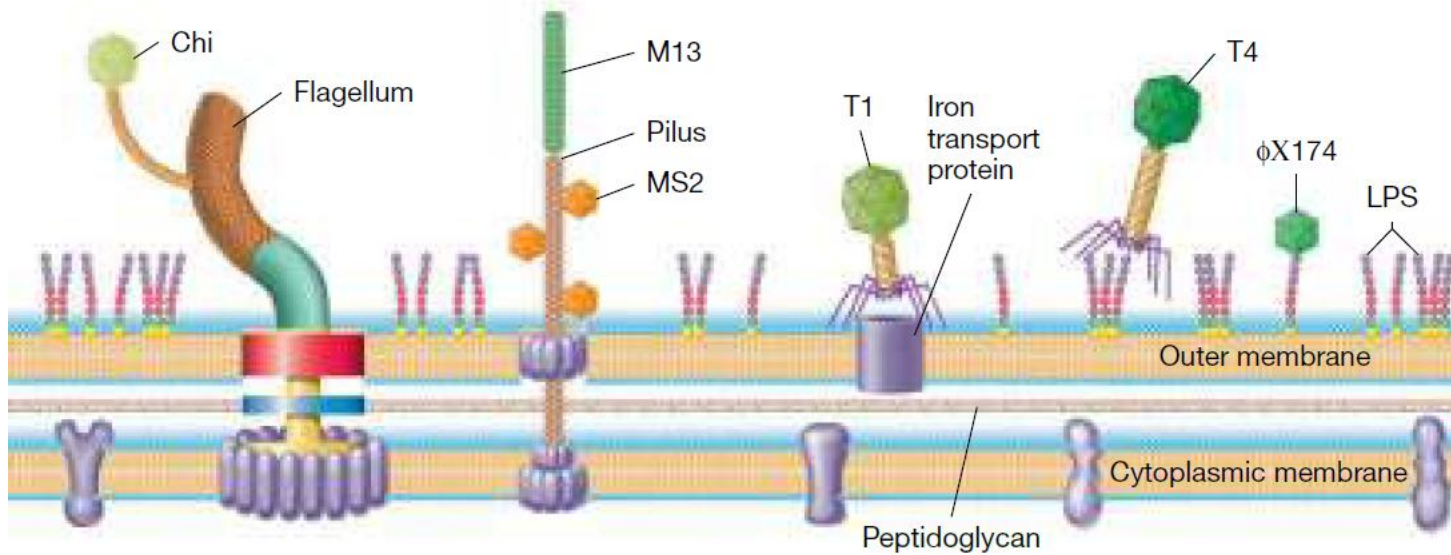
Viral Reseptörlerin Doğası

- Bakteriyofaj lambda, maltoz alımıyla ilişkili bir reseptörü tanır.
- Bakteriyofaj T4, gram-negatif bakterilerin LPS tabakasındaki karbonhidratları reseptör olarak kullanır.



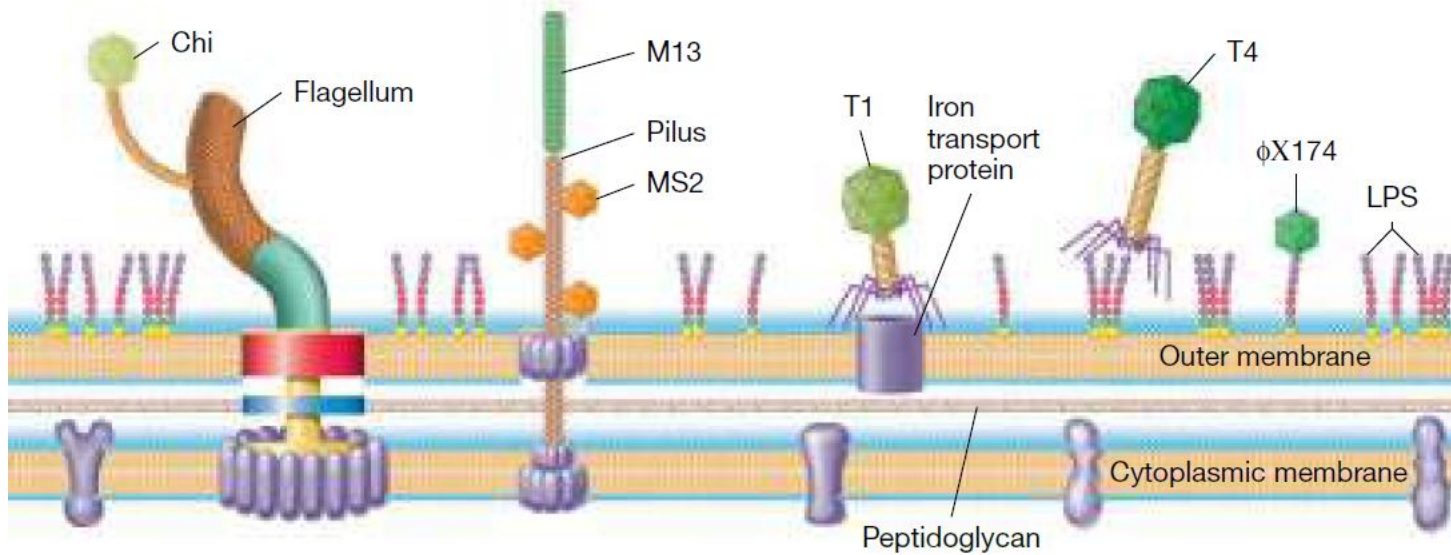
Yüzey Çıkıntıları ve Reseptör Etkileşimleri

- Flagellum ve pilus gibi yüzey çıkıntıları da birçok bakteriyofaj için reseptör görevi görür.
- Küçük ikozahedral virüsler genellikle bu yapılara yandan bağlanır.



Yüzey Çıkıntıları ve Reseptör Etkileşimleri

- Filamentöz fajlar ise çoğunlukla pilusun ucuna tutunur.
- Doğru reseptöre bağlanma gerçekleştiğinde enfeksiyon için gerekli zemin hazırlanmış olur.

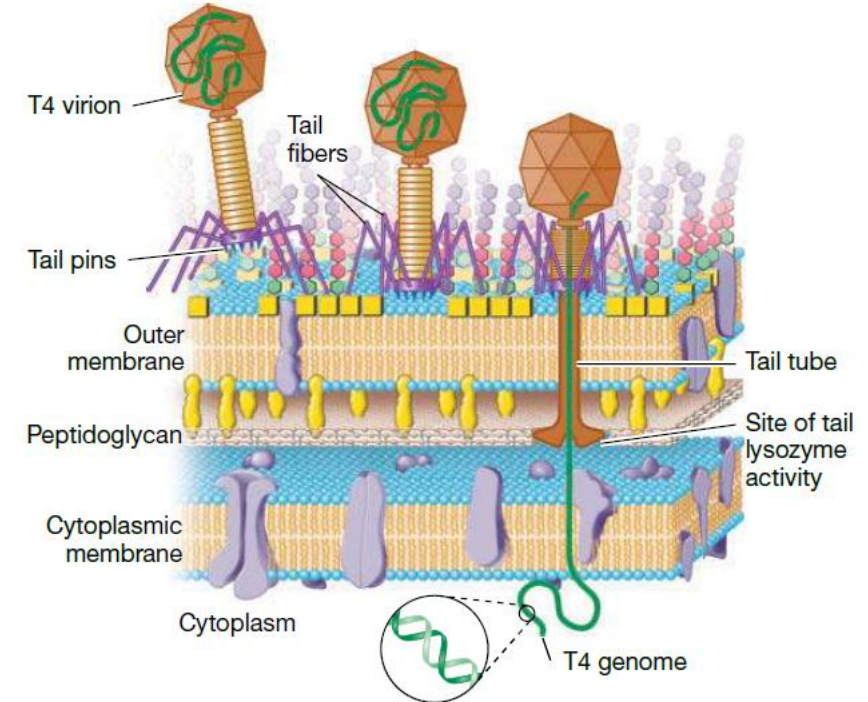


Penetrasyon Aşaması

- Virüsün hücreye bağlanması hem virüste hem de hücre yüzeyinde değişikliklere yol açar.
- Bakteriyofajlarda kapsid genellikle hücre dışında kalır yalnızca viral genom hücre içine girer.
- Bazı RNA virüslerinde genomun okunabilmesi için belirli viral proteinlerin de hücreye giriş yapması gerekir.
- Genom hücre içine girse bile, verimli bir enfeksiyon ancak genomun okunabilir olmasıyla mümkündür.

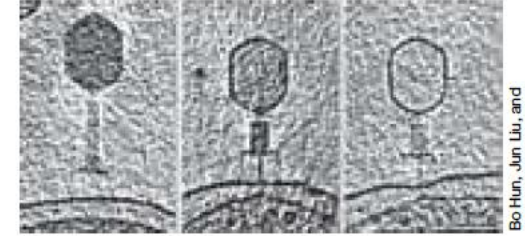
Faj T4'te Penetrasyonun Mekanizması

- Faj T4'ün uzun kuyruğu, uç kısımdaki lifler ve iğne benzeri yapılarla konağın yüzeyine temas eder.
- İlk temas, kuyruk lif uçlarının *E. coli* LPS tabakasındaki polisakkaritlerle etkileşmesiyle gerçekleşir.
- Ardından kuyruk lifleri geri çekilir ve kuyruğun kendisi hücre duvarına kuyruk pimleri aracılığıyla temas eder.
- T4 lizozimi, peptidoglikan tabakasında küçük bir por oluşturur ve kuyruğun kılıfı büzülerek DNA'yı hücre içine enjekte eder.

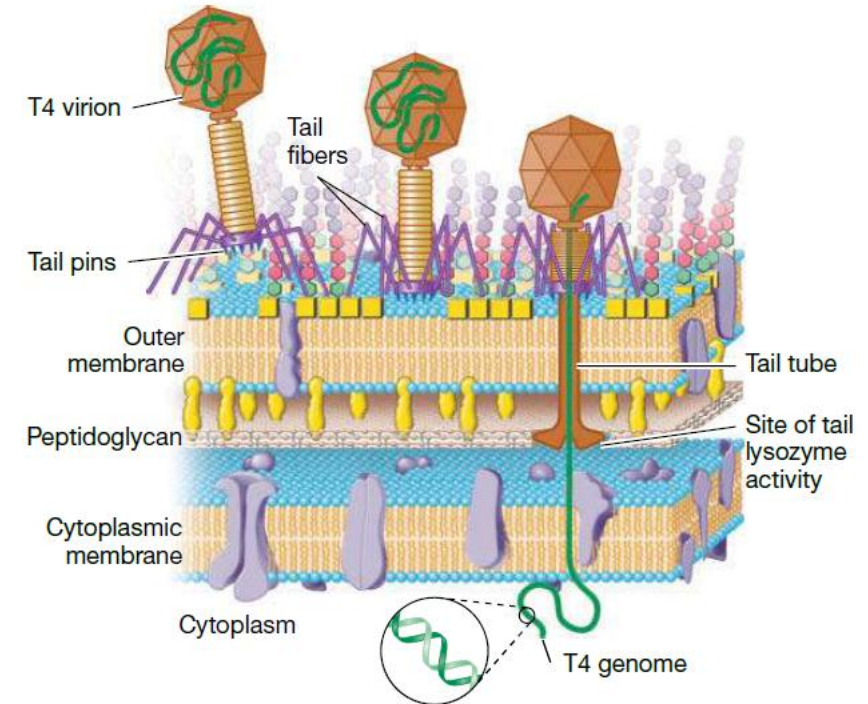


DNA Enjeksiyon Sürecinin Özellikleri

- Faj T4 DNA'sı kuyruk tüpü üzerinden hücre sitoplazmasına, bir şırınganın çalışma şeklini andıran bir mekanizmayla aktarılır.
- Bu sırada faj kapsidi hücrenin dışında kalır.
- Faj DNA'sı kapsid içinde yüksek basınç altındadır, hücre içindeki ozmotik basınç nedeniyle enjeksiyon işlemi birkaç dakika sürer.
- DNA hücre içine girse bile enfeksiyonun başarılı olması garanti değildir; bazı hücreler viral saldırıya karşı koruyucu mekanizmalara sahiptir.



Bo Hun, Jun Lu, and Ian Molloy



Konak Savunması ve Fajların Kaçış Stratejilerine Giriş

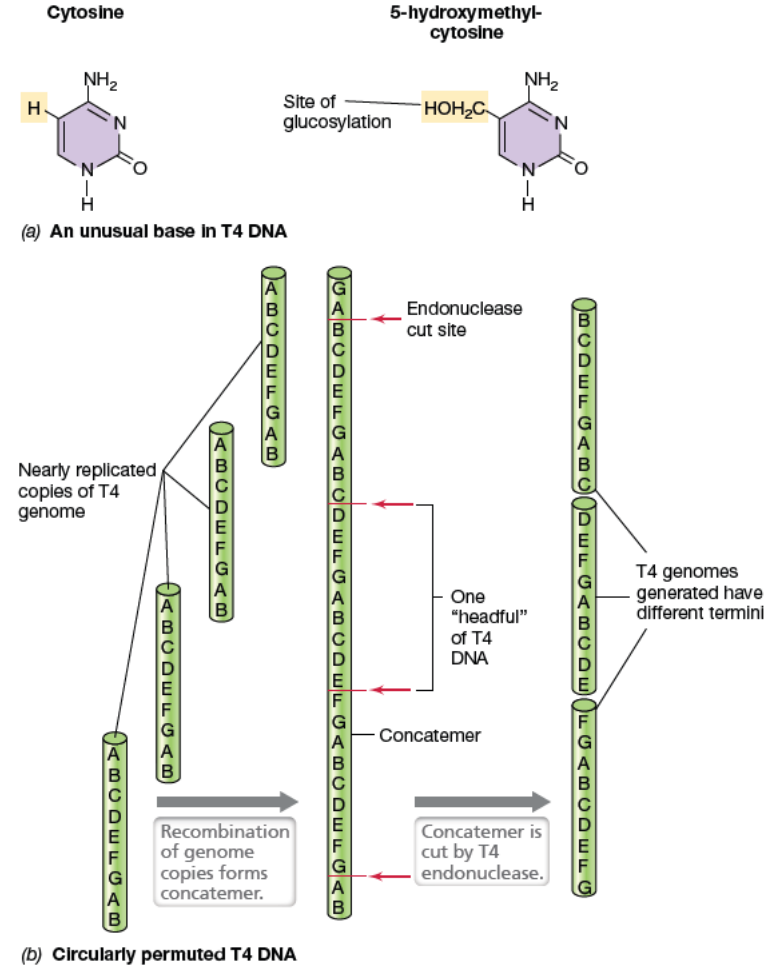
- Bakteriyofaj genomu hücre içine girdikten sonra bile enfeksiyonun başarılı olup olmayacağı kesin değildir.
- Prokaryotlar, viral saldırıyı önlemek için çeşitli savunma stratejilerine sahiptir.
- Fajlar, bu savunmaları aşmak için zaman içinde çeşitli kaçış mekanizmaları geliştirmiştir.

Bakteri ve Archaea'da Viral Saldırlara Karşı Savunma

- Bakteri ve Archaea, hayvanlardaki gibi gelişmiş bağışıklık sistemlerine sahip olmasalar da virüslere karşı çeşitli savunma mekanizmaları kullanır.
- Toksin–antitoksin modülleri ve CRISPR sistemi, hücrelerin viral saldırıları sınırlandırmasına yardımcı olan önemli araçlardır.
- Bu hücreler ayrıca çift sarmallı viral DNA'yı, belirli dizileri kesen restriksiyon endonükleazlarla parçalayarak yok eder.
- Bu süreç “restriksiyon” olarak adlandırılır ve hücreye giren yabancı DNA'nın çoğalmasını engelleyen genel bir savunma mekanizmasıdır.

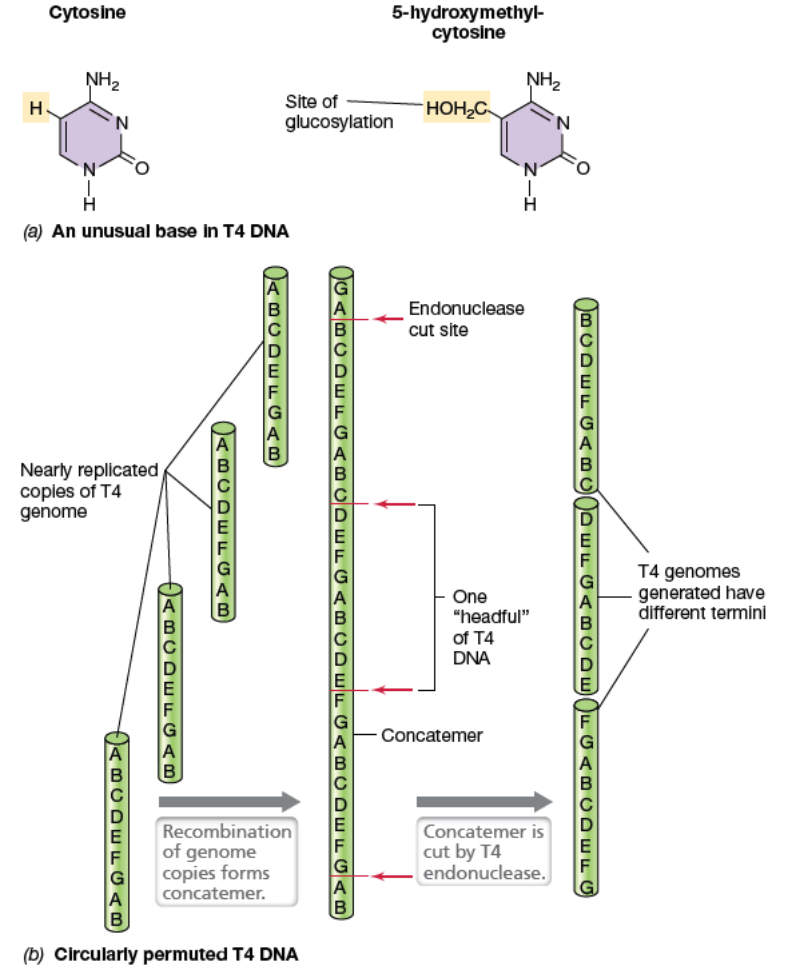
Restriksiyonun Etkinliđi ve DNA Modifikasyonu

- Restriksiyon sistemlerinin iŖe yarayabilmesi için hücrenin kendi DNA'sını kesilmekten koruması gerekir.
- Hücre, bunu genellikle kesim bölgelerindeki nükleotitleri metilleyerek baŖarır; böylece restriksiyon enzimleri kendi DNA'sını tanıyamaz.
- Restriksiyon enzimleri sadece çift sarmallı DNA üzerinde etkilidir, bu nedenle tek sarmallı DNA virüsleri ve tüm RNA virüsleri bu enzimlerden etkilenmez.
- Bazı ift sarmallı DNA virüsleri, restriksiyondan kaçmak için kendi DNA'larını modifiye ederek bu korumayı aŖmanın yollarını geliŖirmiŖtir (Figür a).



T4 Fajının Restriksiyondan Kaçma Stratejisi

- *E. coli* fajı T4, viral DNA'daki sitozinin yerine 5-hidroksimetilsitozin kullanarak restriksiyon enzimlerine karşı korunur.
- Bu modifiye bazın hidroksil grubu glukoz eklenerek glikozile edilir ve DNA, bilinen tüm *E. coli* restriksiyon enzimlerine karşı dirençli hale gelir (Figür a).
- Bu koruma sayesinde T4 genomunun kopyaları, replikasyon döngüsünün ilerleyen aşamalarına kadar bozulmadan kalır.
- Genomlar daha sonra kapsidlere paketlenir ve hücre lizisiyle salınarak yeni *E. coli* hücrelerini enfekte eder.



T4 Fajı Replikasyon Döngüsüne Giriş

- T4'ün konakçıya bağlanma ve penetrasyon adımlarının ardından, bu fajın genom yapısına ve replikasyon basamaklarına özgü bazı özellikler ortaya çıkar.
- Virüs hücreyi enfekte ettikten sonra ilk olay yeni genom kopyalarının sentezlenmesidir.
- Farklı viral genom türlerinin bulunması nedeniyle virüslerde birden fazla replikasyon stratejisi vardır.
- Küçük DNA virüslerinde konak hücrenin DNA polimerazı kullanılırken, T4 gibi kompleks virüsler kendi DNA polimerazlarını kodlar.

T4 Genomunun Kendi Replikasyon Makinesi

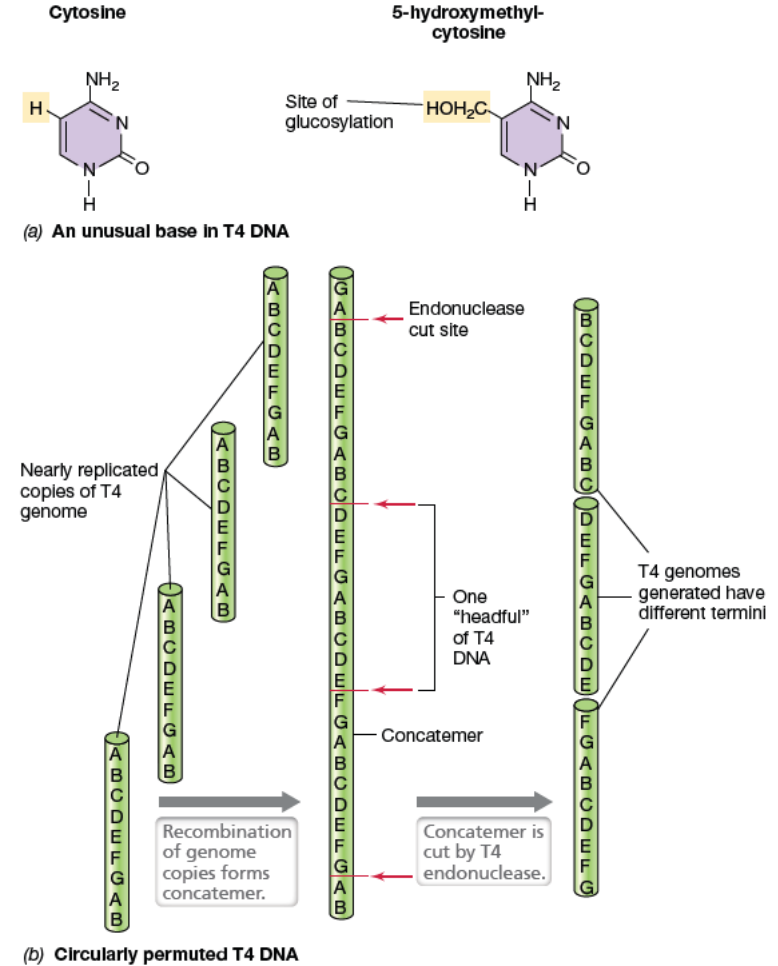
- T4 genomu; primerazlar, helikazlar ve diğer replikasyon proteinlerini de kendi DNA'sında kodlar.
- Bu faj, genomun kopyalanmasını kolaylaştırmak için sekiz proteinden oluşan kendi DNA replizom kompleksini üretir.
- T4'ün kendi enzim setine sahip olması, konak hücreye bağımlılığı azaltır ve hızlı replikasyon sağlar.
- Bu özellik, T4'ün kısa sürede yüksek sayıda virion üretebilmesini destekler.

T4 Genomunda Dairesel Permütasyon

- T4 genomları aynı gen setine sahip olmasına rağmen, genomlardaki genlerin dizilimi viriondan viriona farklılık gösterir.
- Bu durum “halkasal permütasyon” olarak bilinir ve birçok virüs genomunda görülen bir özelliktir.
- Halkasal olarak permüte edilmiş DNA, aynı halkasal genomun farklı noktalardan kesilerek lineer hale getirilmiş gibi görünmesine neden olur.
- Bu genomlar ayrıca “uçlardan tekrarlı” olup, DNA uçlarında tekrarlayan dizilere sahiptir.

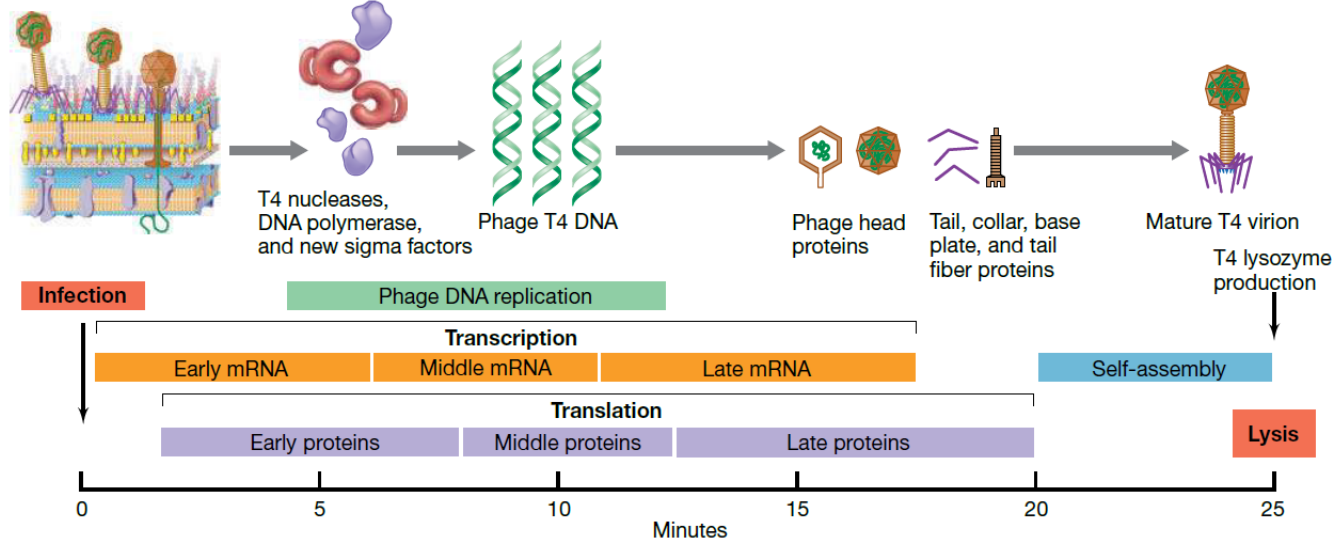
Konkater Oluşumu ve Headful Paketleme

- T4 genomu önce tek bir birim olarak kopyalanır ve ardından birden fazla genom birimi uç uca eklenerek “konkater” adı verilen uzun bir DNA zinciri oluşur (Figür b).
- DNA kapside paketlenirken belirli bir diziye göre kesim yapılmaz; kapsidin alabileceği uzunluk kadar DNA kesilerek paketlenir.
- Bu paketleme stratejisine “headful paketleme” denir ve birçok fajda görülür.
- T4 kapsidi bir genomdan biraz daha fazla DNA alabildiği için 3–6 kbp uzunluğunda terminal (uç) tekrarlar oluşur (Figür b).



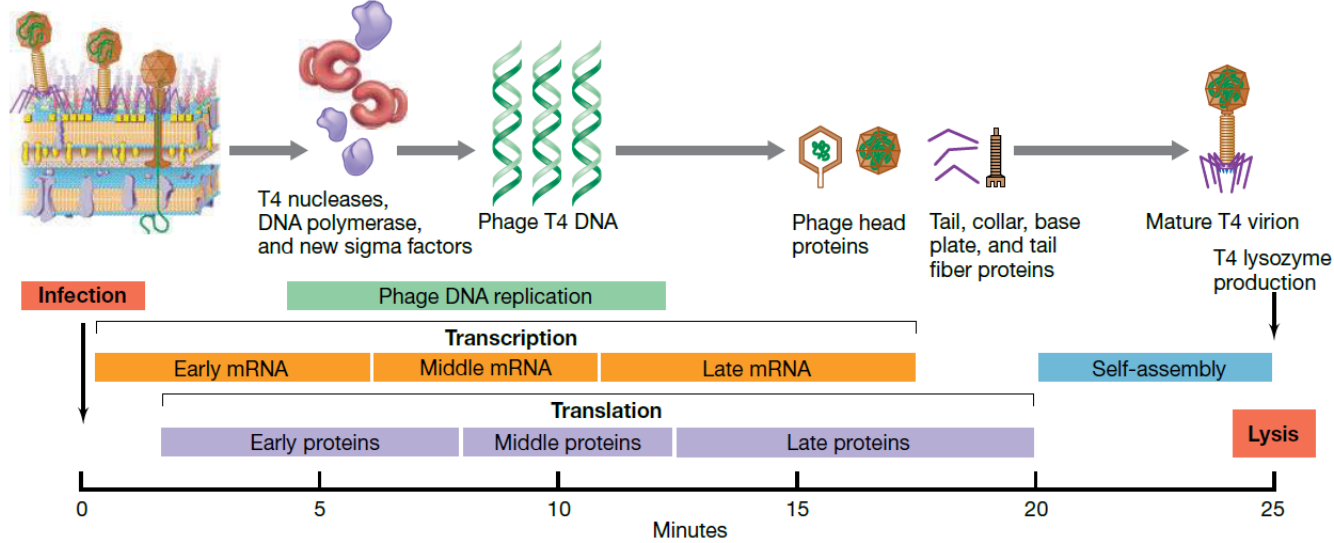
T4'te Transkripsiyon ve Translasyonun Başlaması

- Enfeksiyondan kısa süre sonra T4 DNA'sı transkribe ve transle edilmeye başlar ve yeni virion sentezi tetiklenir.
- Birkaç dakika içinde konak hücrede DNA ve RNA sentezi durur; bunun yerine T4'e özgü genlerin transkripsiyonu başlar.



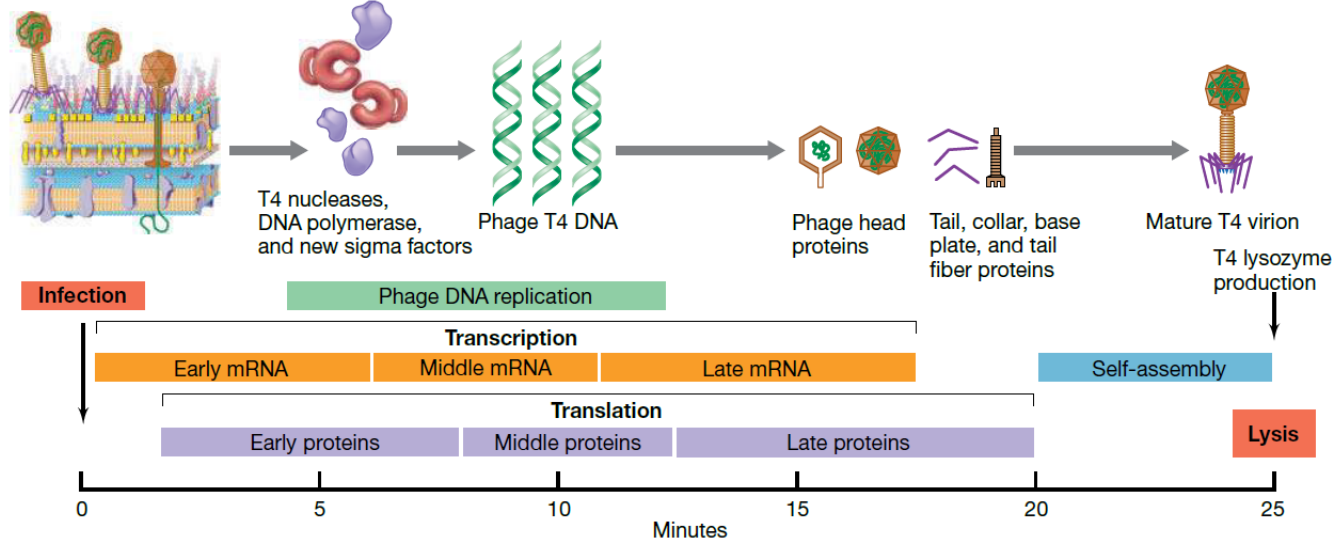
T4'te Transkripsiyon ve Translasyonun Başlaması

- Viral mRNA'nın translasyonu hemen devreye girer ve daha 4. dakikada T4 DNA replikasyonu başlamış olur.
- Enfeksiyon yaklaşık 30 dakika içinde yeni virionların hücrenin lizisiyle serbest bırakılmasıyla tamamlanır.



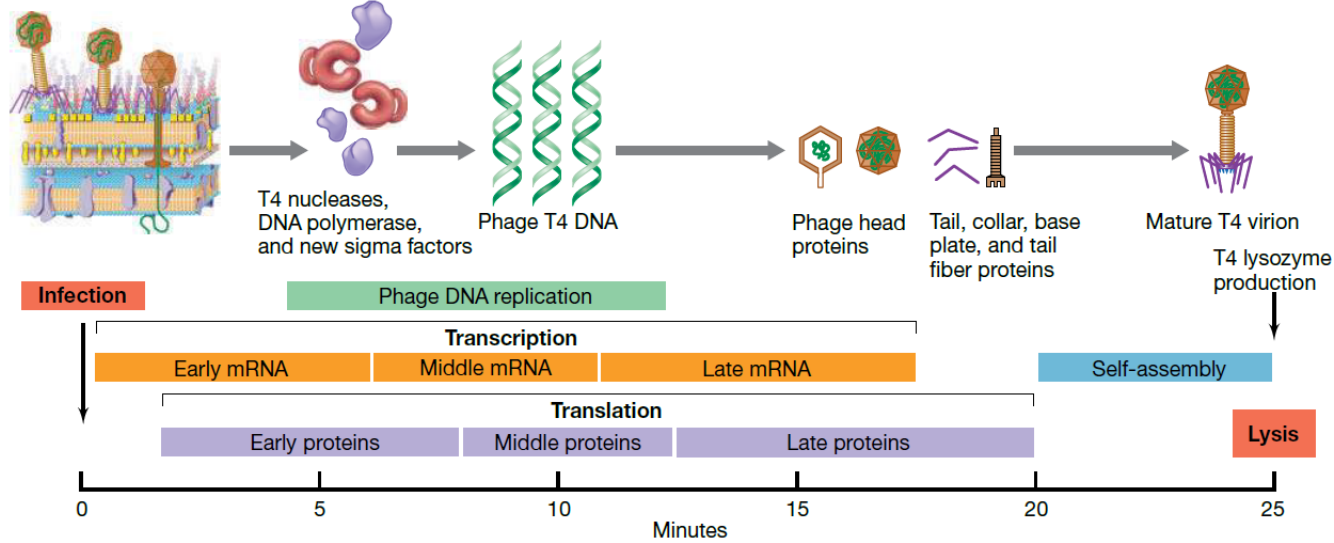
Erken, Orta ve Geç Proteinler

- T4 genomu, zamanlamaya bağlı olarak erken, orta ve geç proteinler olmak üzere üç set protein üretir.
- Erken proteinler arasında 5-hidroksimetilsitozinin sentezi ve glikozilasyonu için gerekli enzimler ile T4 replizomunda görev alan enzimler bulunur.



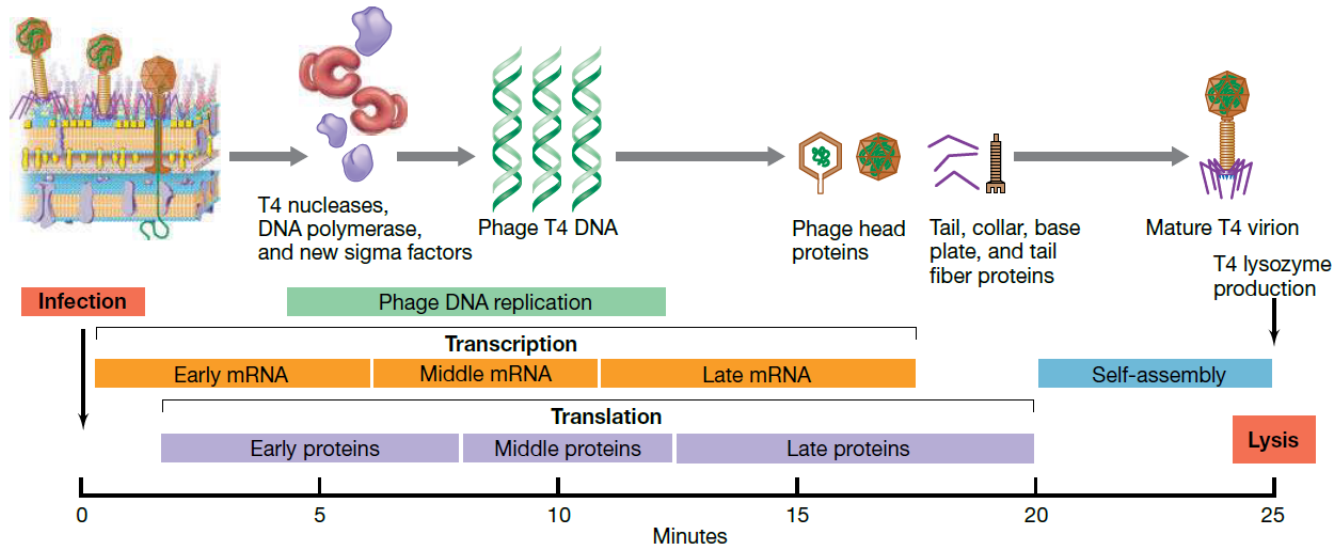
Erken, Orta ve Geç Proteinler

- Orta ve geç proteinler; RNA polimeraz modifikasyon proteinleri, baş ve kuyruk yapısal proteinleri ve hücre lizisinde görevli enzimleri içerir.
- Bu zamanlamalı üretim, virüsün aşamalı olarak yapı taşlarını oluşturmasını sağlar.



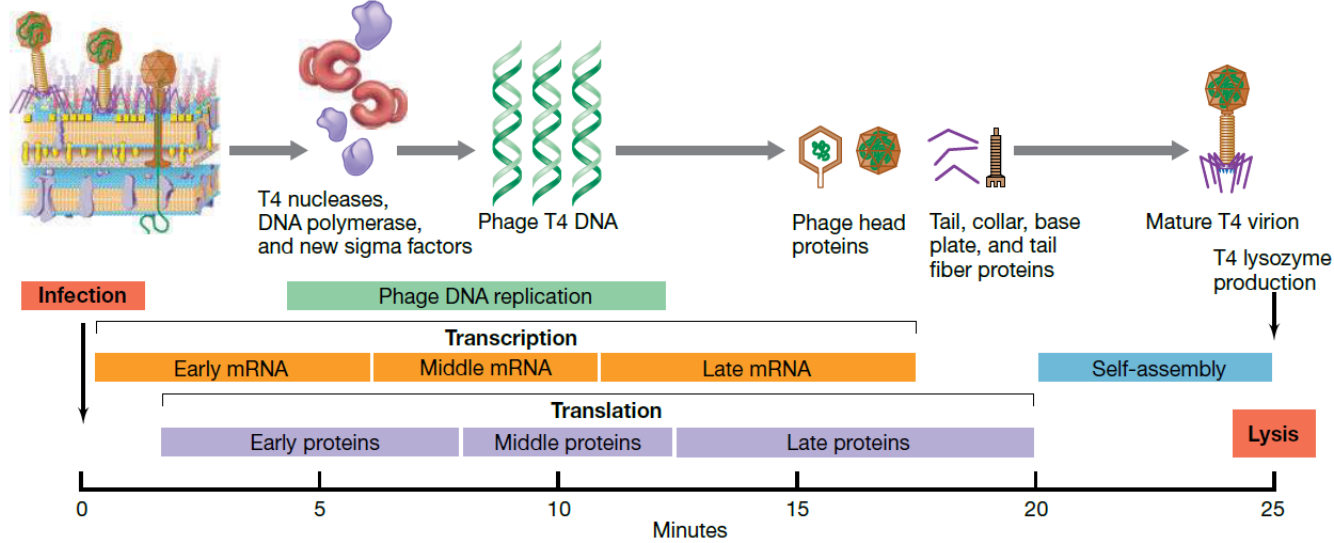
T4'ün Konak RNA Polimerazını Yönlendirmesi

- T4 kendi RNA polimerazını kodlamaz; bunun yerine konak RNA polimerazının özgülüğünü değiştiren proteinler üretir.
- Bu erken proteinler, RNA polimerazın artık sadece faj promotörlerini tanımasını sağlayarak konak gen transkripsiyonunu durdurur.



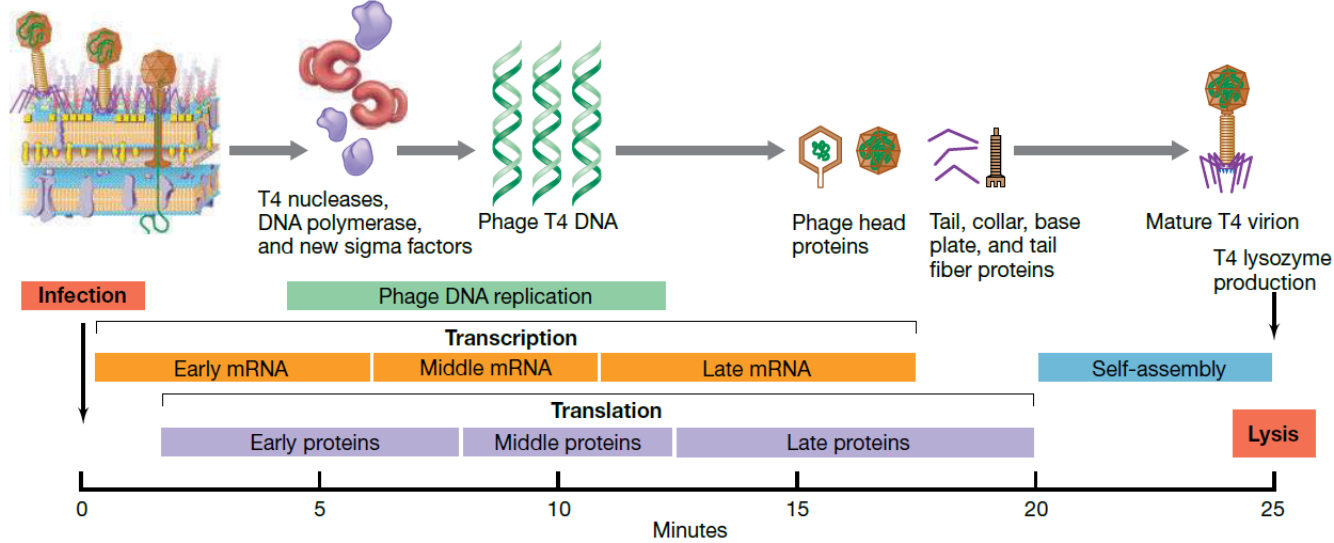
T4'ün Konak RNA Polimerazını Yönlendirmesi

- Ayrıca faj tarafından kodlanan bir anti-sigma faktörü, konak sigma faktörüne bağlanarak konak promotörlerinin tanınmasını engeller.
- Enfeksiyon ilerledikçe, T4'ün ürettiği ek modifikasyon proteinleri polimerazı orta ve geç gen promotörlerini tanıyacak şekilde yönlendirir.



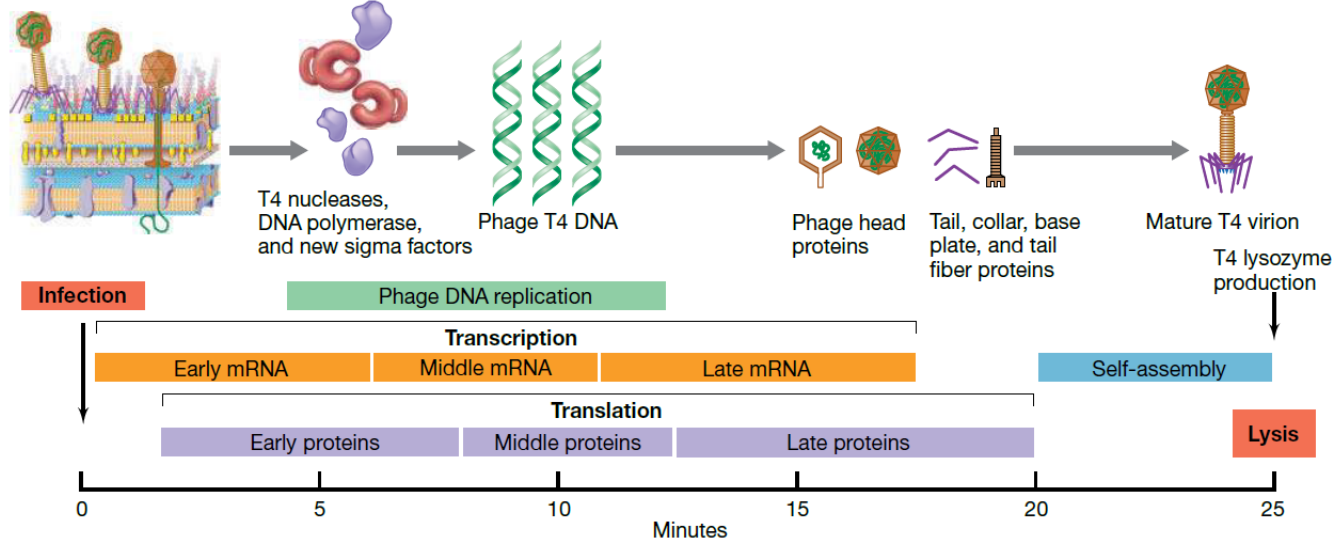
Geç Genlerin Ekspresyonu ve Virüsün Montaj Aşaması

- Geç genlerin transkripsiyonu için T4 tarafından kodlanan özel bir sigma faktörü gerekir; bu faktör konak RNA polimerazını yalnızca bu genlerin promotörlerine yönlendirir.
- Bu noktadan sonra virionun baş, kuyruk ve diğer yapı proteinlerinin üretimi tamamlanır.



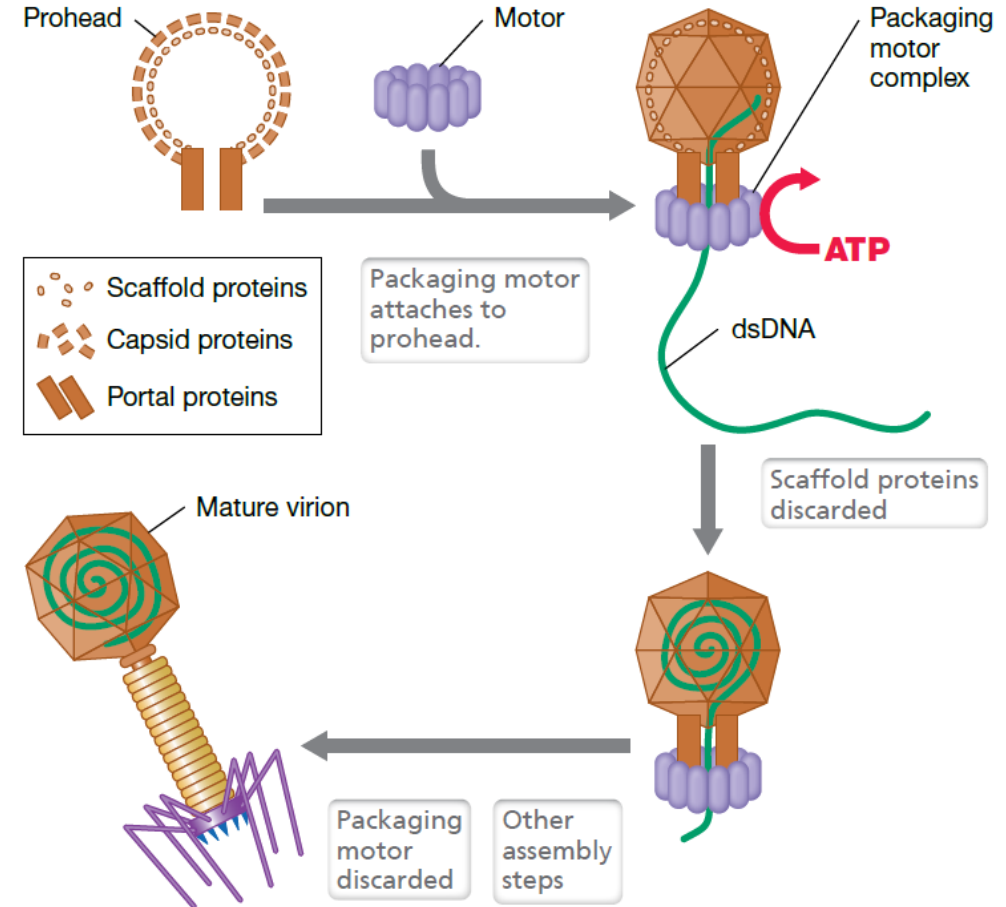
Geç Genlerin Ekspresyonu ve Virüsün Montaj Aşaması

- Ardından montaj süreci başlar ve genomun kapsidlere yerleştirilmesi gerçekleşir.
- Son aşamada hücre lizise uğrar ve olgun T4 virionları çevreye salınır.



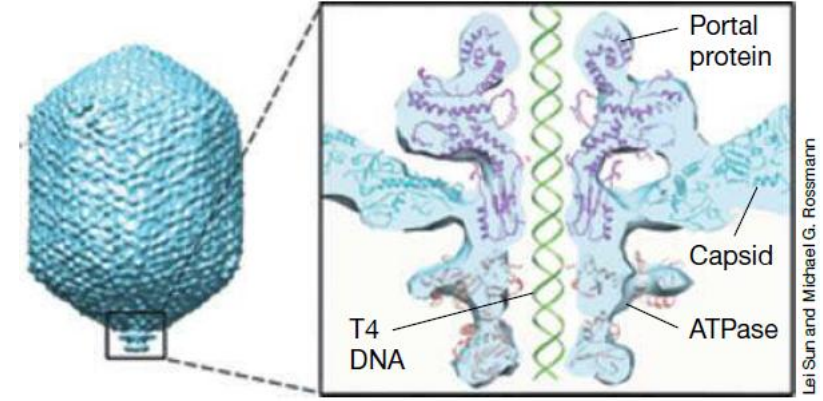
T4 Genom Paketlenmesinin Genel Çerçevesi

- T4 fajının DNA'sı, önceden oluşturulmuş bir kapside enerjiye bağlı bir paketleme motoru tarafından zorlayıcı bir biçimde aktarılır.
- Motorun bileşenleri viral genlerce kodlanır ancak hem protein sentezi hem de ATP üretimi için konak metabolizmasına ihtiyaç duyulur.
- Paketleme süreci üç temel aşamadan oluşur ve bu aşamalar yanda gösterilmiştir.
- Bu süreç, DNA'nın kapside dolması ve sonrasında virionun tamamlanması için gerekli temel mekanizmayı oluşturur.



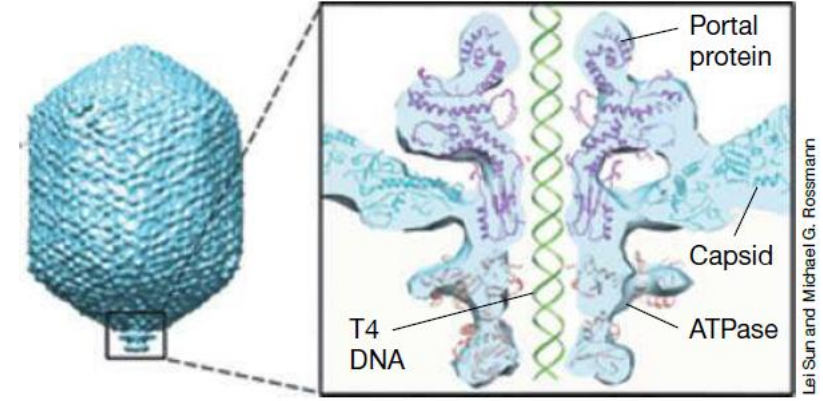
Prohead (Baş Öncülleri) Oluşumu ve Paketleme Motorunun Kurulumu

- İlk aşamada, “prohead” adı verilen baş öncülleri oluşturulur ve bu yapılar geçici iskelet proteinleriyle birlikte boş hâlde bulunur.
- Bu prohead’lerin içinde hem yapısal baş proteinleri hem de sökülecek geçici iskelet proteinleri yer alır.
- İkinci aşamada, paketleme motoru prohead’in açıklığına kurulur.
- Ardından çift iplikli doğrusal T4 DNA’sı ATP enerjisi kullanılarak prohead içine basınçla pompalanmaya başlanır.



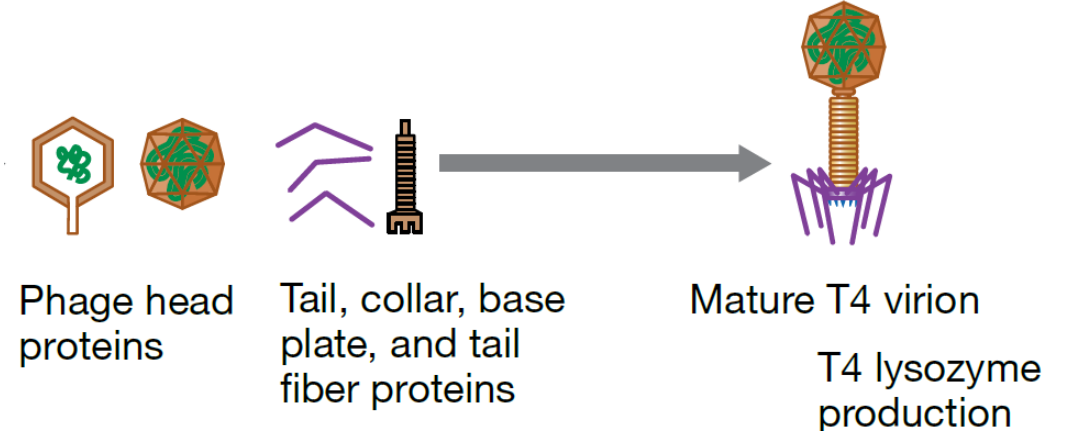
DNA Giriş Sırasında Prohead Genişlemesi ve Kapsidin Kapanması

- DNA girişinin oluşturduğu basınçla prohead genişler ve aynı anda geçici iskelet proteinleri yapıyı terk eder.
- DNA tamamen dolduğunda paketleme motoru işlevini tamamlayarak prohead'den ayrılır.
- Motorun ayrılmasıyla kapsid başı mühürlenir ve T4 virionunun baş kısmı tamamen oluşmuş olur.
- Bu işlem, paketleme sürecinin üçüncü ve son aşamasını tamamlar.



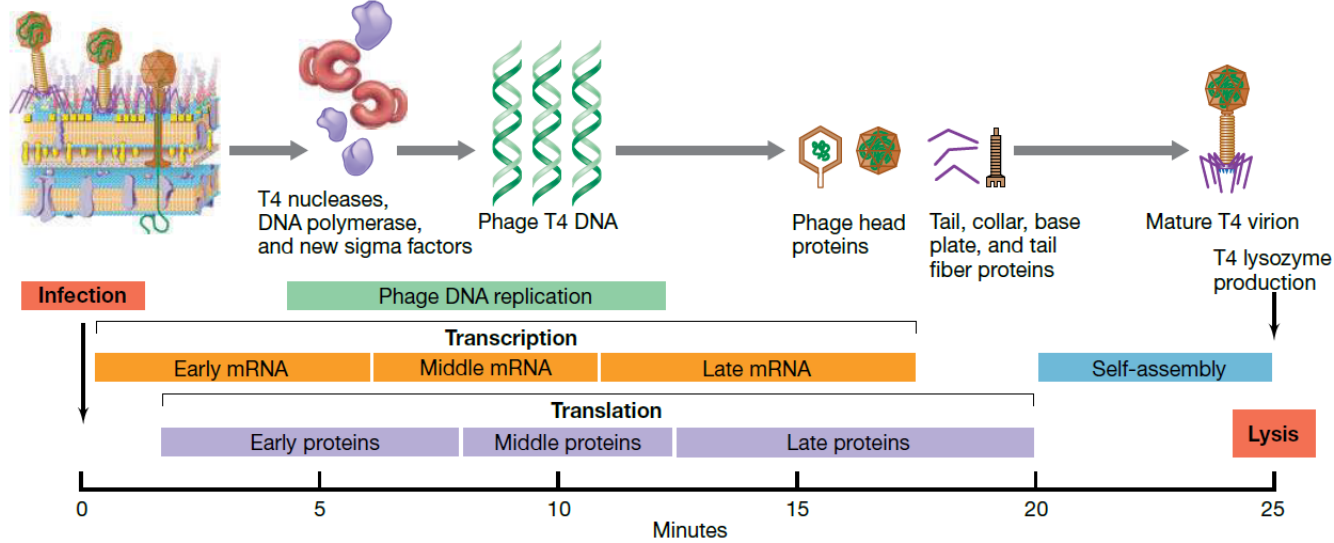
T4 Kuyruk ve Aksesuar Yapılarının Eklenmesi

- Kapsid dolduktan sonra kuyruk, kuyruk lifleri ve diğer virion bileşenleri kapside eklenir.
- Bu eklemeler çoğunlukla kendiliğinden gerçekleşen öz-düzenlenme reaksiyonlarıyla tamamlanır.
- Faj genomu, konak hücrenin zar ve peptidoglikan tabakasını aşındıran enzimleri kodlar.
- Bu yapıların bozulmasıyla hücre ozmotik lizis ile parçalanır ve yeni virionlar dışarı salınır.



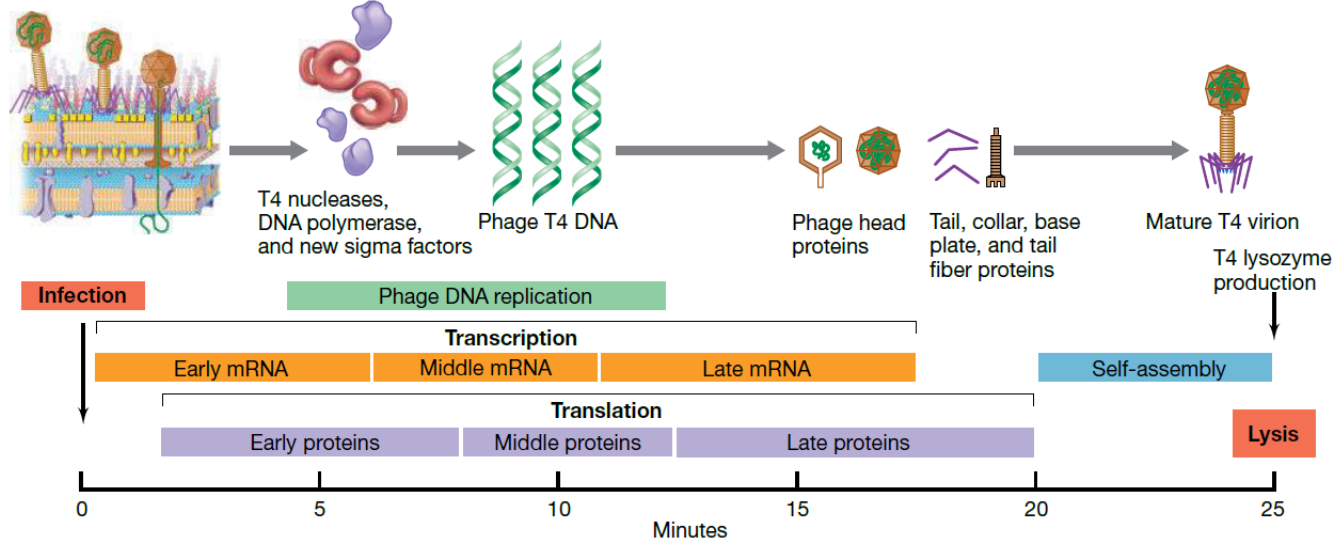
T4'ün Çıkışı ve Patlama Büyüklüğü

- Her replikasyon döngüsü yaklaşık 25 dakika sürer.
- Her bir konak hücre lizis sonrası 100'den fazla yeni virion serbest bırakır ve bu sayı “patlama büyüklüğü” olarak adlandırılır.



T4'ün Çıkışı ve Patlama Büyüklüğü

- Serbest kalan bu virionlar çevredeki diğer konak hücreleri enfekte etmeye hazır hâle gelir.
- Böylece T4'ün hızlı yayılımını destekleyen ardışık enfeksiyon döngüleri oluşur.



Virölant ve Temperate (ılımlı) Fajların Karşılaştırılması

- T4 fajı her zaman litik döngüye girer ve konağını öldüren virölant bir virüstür.
- Buna karşın bazı çift iplikli DNA fajları, virölant döngüye girebilseler bile uzun süreli stabil bir ilişki de kurabilir.
- Bu tür fajlara “temperate (ılımlı) virüsler” denir.
- Temperate fajlar, konağa zarar vermeden uzun süre birlikte var olabildikleri bir enfeksiyon modu geliştirebilir.

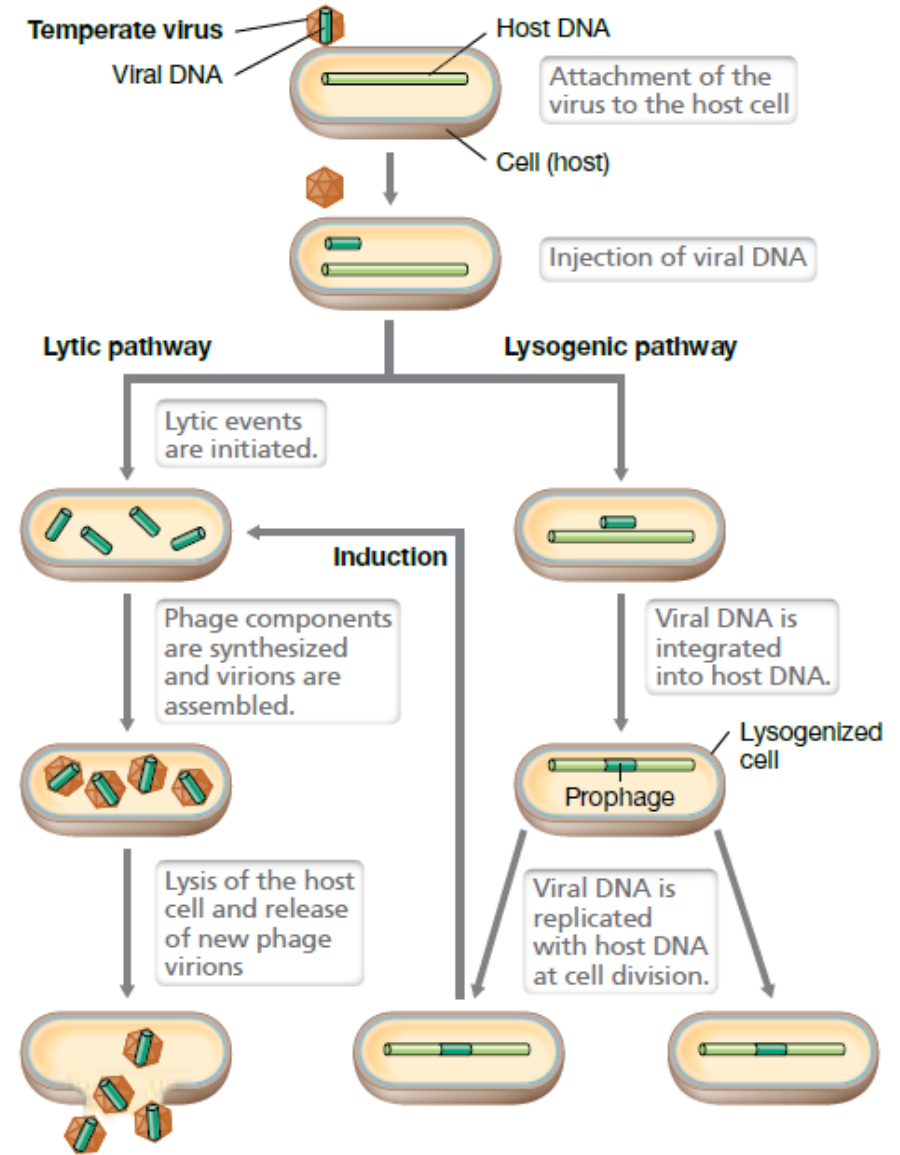


Lizogeni Kavramı ve Lizogen Oluşumu

- Temperate virüsler gerektiğinde lizogeni adı verilen bir duruma geçebilir.
- Lizogenide virüs genlerinin çoğu aktif değildir ve viral genom, konak kromozomuyla eşzamanlı bir biçimde çoğalır.
- Bu durumda virüsü taşıyan hücreye “lizogen” adı verilir.
- Lizogenik durum, konağa yeni genetik özellikler kazandırabilir ve bu dönüşüm “lizogenik konversiyon (dönüşüm)” olarak bilinir.

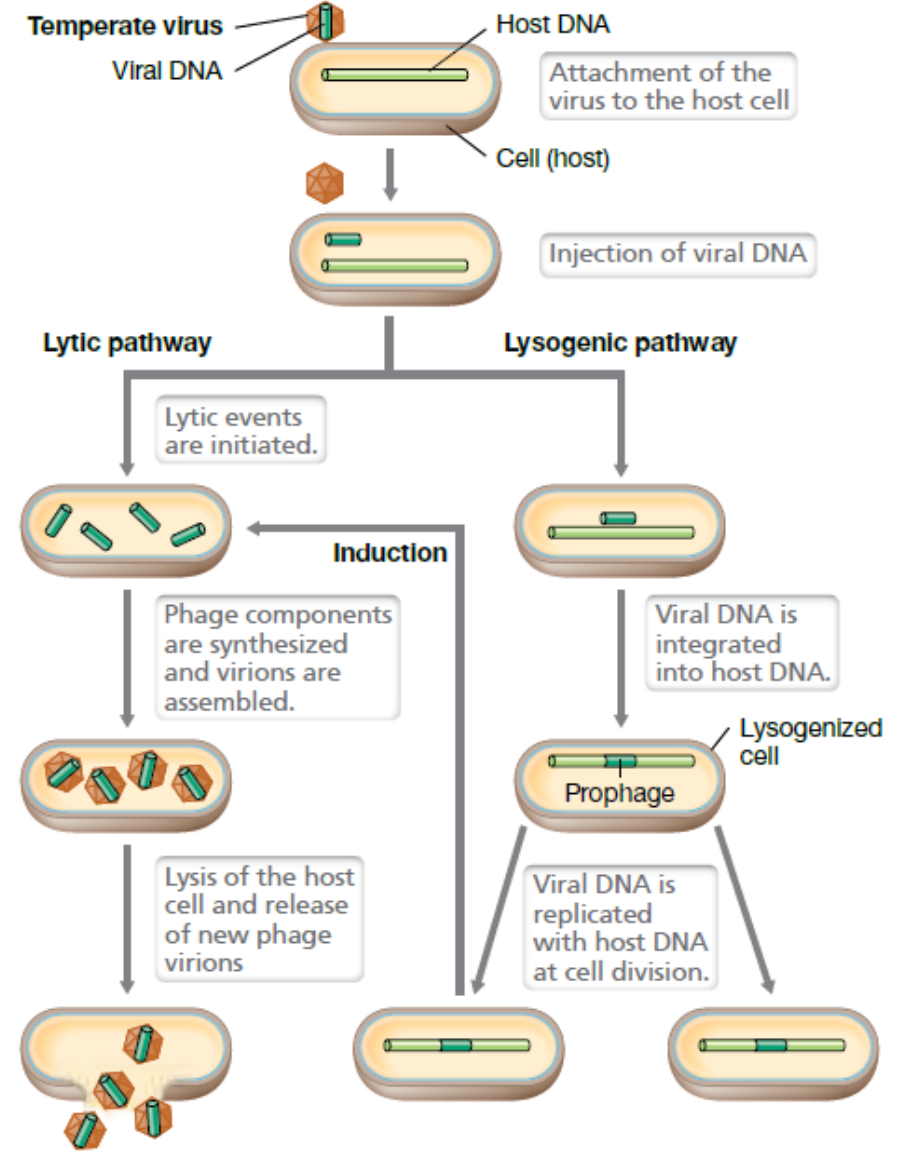
Temperate Fajların Replikasyon Döngüsü

- Lambda ve P1 en iyi çalışılmış temperat fajlardır ve yaşam döngüleri yanda gösterilmiştir.
- Lizogeni sırasında viral DNA, ya konak kromozomuna entegre olur (lambda) ya da sitoplazmada plazmid olarak bulunur (P1).
- Entegre edilmiş ya da plazmid formundaki viral DNA'ya bu aşamada "profaj" adı verilir.
- Profaj, litik yolun aktive edici genleri baskılandığı sürece konakla birlikte çoğalmaya devam eder.



Lizogeninin Sürdürülmesi ve İndüksiyon

- Lizogenik durumun korunması faj kaynaklı bir baskılayıcı proteinin varlığıyla sağlanır.
- Baskılayıcı proteinin düşük seviyede sürekli sentezi, virülant yolu başlatan genlerin kapalı tutulmasını sağlar.
- Ancak baskılayıcı protein inaktif olursa veya sentezi durursa profaj litik evreye geçebilir.
- Bu durumda viral DNA kromozomdan çıkar, faj genleri yeniden aktifleşir ve yeni virionlar oluşturularak hücre lizise uğrar.

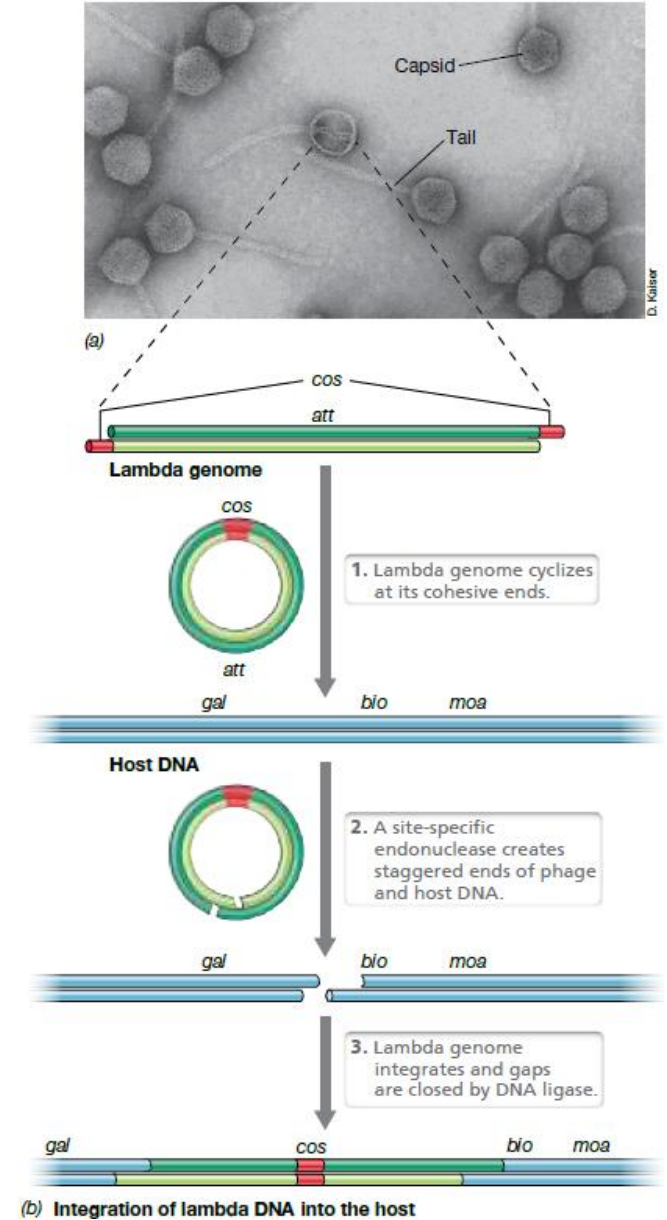


Lizogeniden Litiğe Geçişı Tetikleyen Etmenler

- Hücre stresleri, özellikle konak DNA'sında oluşan hasar, lizogenik durumdaki bir profajın litiğe geçmesini tetikleyebilir.
- Lizogeniden litiğe geçiş indüksiyon olarak adlandırılır ve viral döngünün yeniden başlamasını sağlar.
- Bu süreçte profaj, konak genomundan hassas bir biçimde kesilerek ayrılır.
- Ayrılan viral DNA'nın transkripsiyonu başlar ve litik evre olayları ardışık şekilde gerçekleşir.

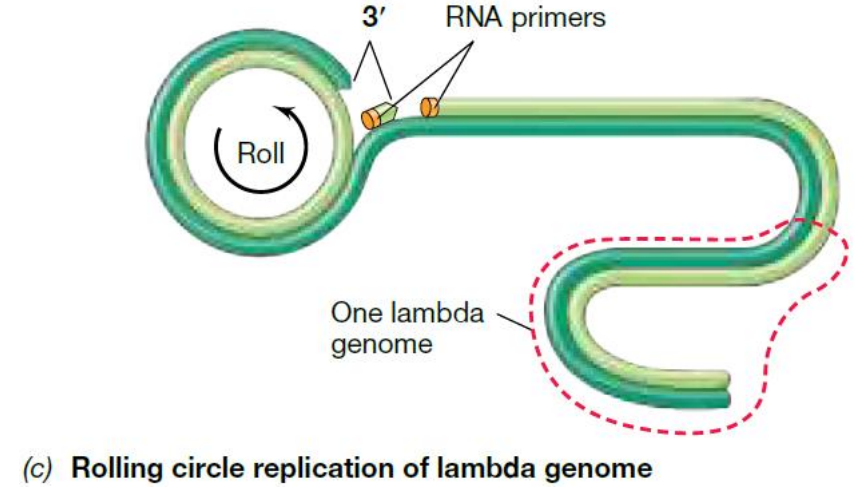
Lambda Fajı

- Lambda fajı, *E. coli*'yi enfekte eden çift iplikli DNA içeren baş ve kuyruktan oluşan bir virüstür (Figür a).
- Lambda genomunun her iki 5' ucunda 12 nükleotid uzunluğunda tek iplikli "koheziv (yapışkan)" uçlar bulunur.
- Bu uçlar birbirine tamamlayıcıdır ve hücreye girişte eşleşerek cos bölgesini oluşturur (Figür b).
- Böylece doğrusal genom halkasal forma dönüşür ve replikasyon için hazırlanır.



Lambda'nın Litik Yola Girmesi ve Rolling Circle (Dönen Halkasal) Replikasyon

- Lambda litik yola girerse genomunun uzun doğrusal konkatemerleri rolling circle replikasyonu ile üretilir.
- Bu mekanizmada halka biçimli genomda bir iplik kesilir ve tamamlayıcı iplik sentezi için kalıp olarak dışa doğru “açılır”.
- Üretilen çift iplikli konkatemer, cos bölgelerinde genom uzunluğunda parçalara ayrılır.
- Bu parçalar faj başlarına paketlenir ve kuyruk eklenerek olgun virionlar oluşturulur.

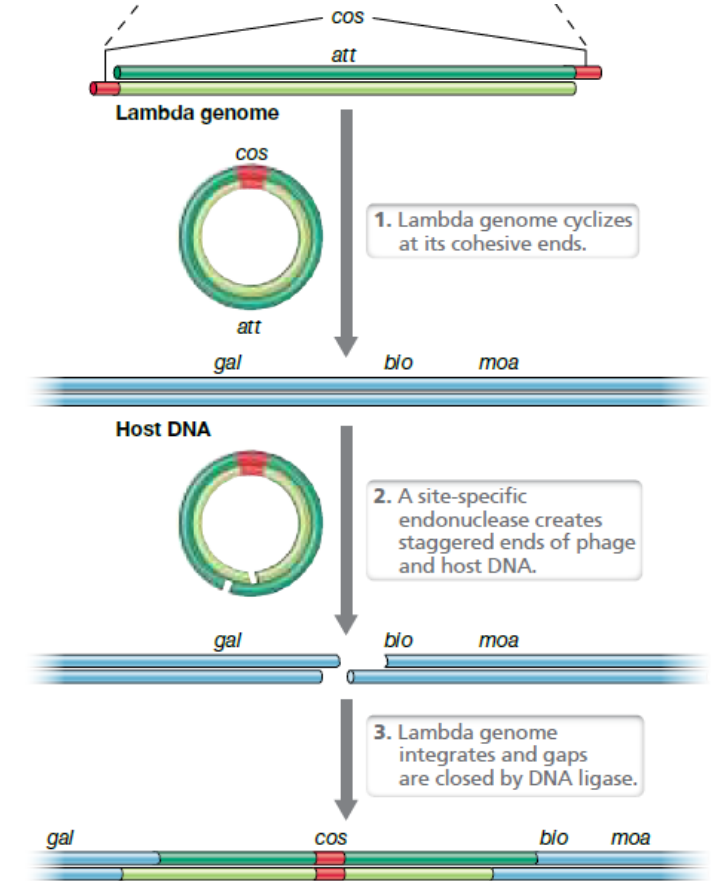


Lambda'nın Litik Döngüde Transdüksiyon Rolü

- Litik döngü sırasında lambda, konağın bazı kromozomal genlerini yanlışlıkla yeni virionlara paketleyebilir.
- Bu genler ikinci bir konağa aktarılabilir ve bu süreç transdüksiyon olarak adlandırılır.
- Transdüksiyon doğada önemli bir yatay gen transferi mekanizmasıdır.
- Aynı zamanda bakteriyel genetikte kullanılan temel tekniklerden biridir.

Lambda'nın Lizogenik Yola Girmesi

- Lambda lizogenik yolu seçerse genomunu *E. coli* kromozomuna entegre eder.
- Bu entegrasyon, faj kaynaklı lambda integraz enziminin att bölgelerini tanımasıyla gerçekleşir.
- Entegrasyon virüse konak içinde kararlı bir varlık sağlar.
- Ancak konak DNA'sına zarar veren koşullar litiğe geçişi yeniden tetikleyebilir.



(b) Integration of lambda DNA into the host

Entegrasyondan Litige Geri Dönüş

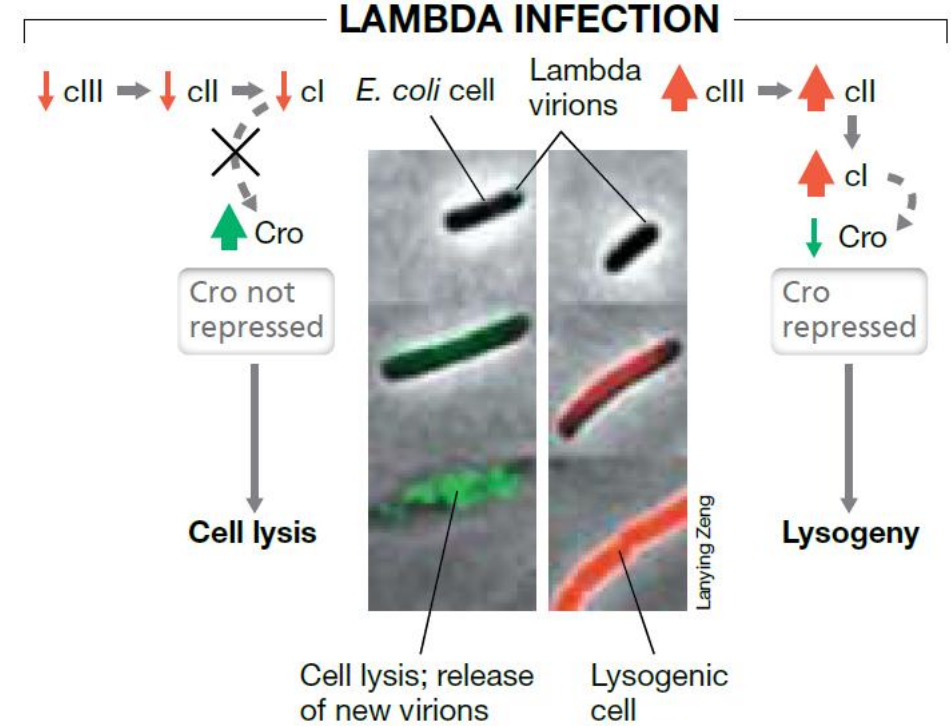
- Litige dönüş tetiklendiğinde lambda genomu integrasyondan sorumlu enzimlerin tersine çalışan eksizyon proteiniyle kromozomdan ayrılır.
- Ayrılan viral DNA'nın transkripsiyonu başlar ve litik fazın olayları yeniden işler.
- Böylece yeni virion üretimi için gerekli adımlar ardışık olarak yürütülür.
- Bu durum, lambda fajının iki farklı yaşam stratejisi arasında geçiş yapabilmesini sağlar.

Lizis–Lizogeni Kararının Önemi

- Bir *E. coli* hücresi ilk enfekte olduğunda lambda'nın lizogeni mi yoksa litik yolu mu seçeceği kritik bir biyolojik karardır.
- Bu karar, fajın üretim stratejisini ve konağın kaderini doğrudan belirler.
- Lambda üzerinde yapılan çalışmalar, bu karar mekanizmasının genetik ve hücresel temellerini anlamamızı sağlamıştır.
- Bu nedenle lambda, virüs–konak etkileşimlerinin incelenmesinde model organizma niteliğindedir.

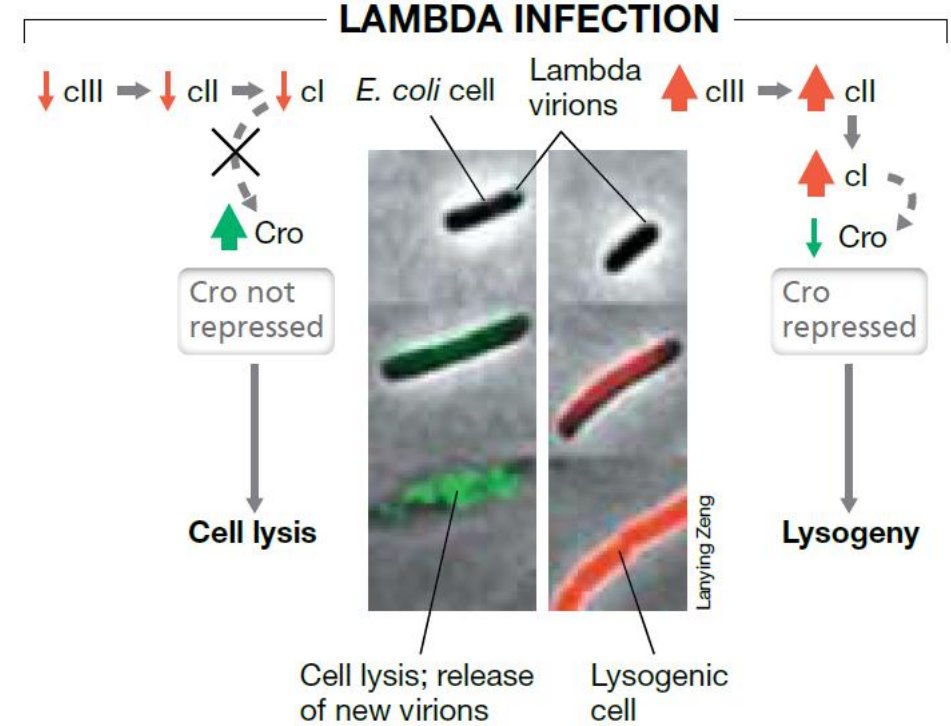
Lambda Enfeksiyonunda Karar Noktası: Lizis mi Lizogeni mi?

- Lambda enfeksiyonunun lizis ya da lizogeni ile sonuçlanması, hücrede biriken cI ve Cro baskılayıcı proteinlerinin düzeylerine bağlıdır.
- Enfeksiyondan sonra hangi baskılayıcı proteinin önce biriktiği, enfeksiyonun gidişatını belirler.
- cI erken ve hızlı birikirse, diğer tüm lambda genlerinin transkripsiyonunu baskılar ve Cro'nun sentezini engeller.
- Bu durumda lambda genomu konağın genomuna entegre olur ve profaj hâline gelir.



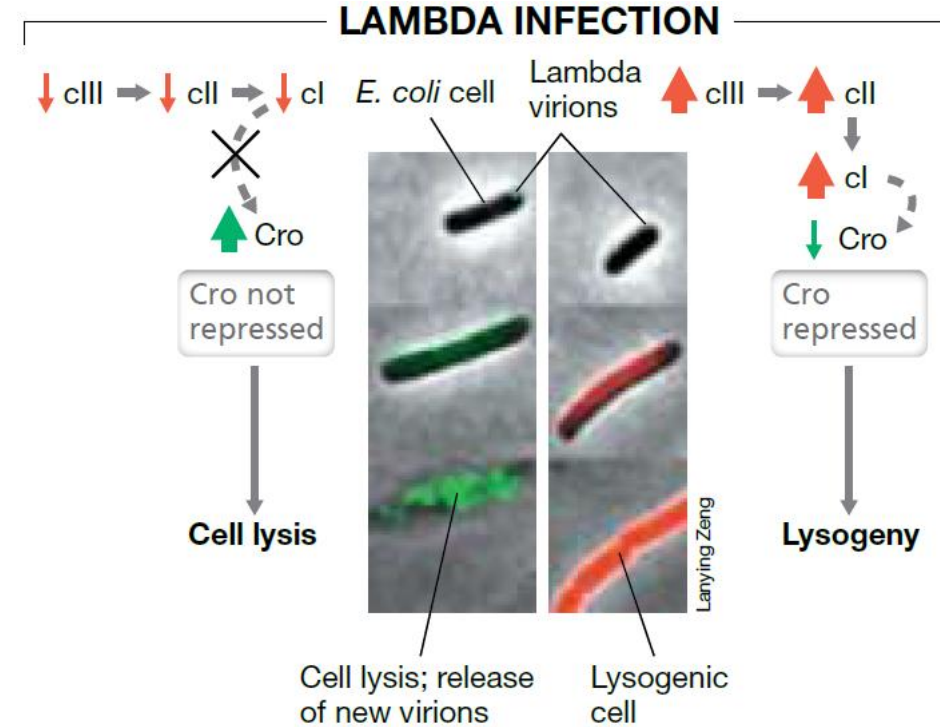
cI Birikimi ve Lizojeniye Geçiş

- cI'nın diğer lambda genlerini baskılamasıyla hücre, normal şekilde büyüyerek yeni lizogenler oluşturur.
- Lizogenler, lizisi tetikleyen bir durumla karşılaşana kadar bu kararlı durumu sürdürür.
- Cro ise cII proteininin üretimini baskılar; cII'nin görevi ise cI sentezini aktifleştirmektir.
- Enfeksiyon sonrası cI düzeyi düşük kalırsa Cro birikir ve süreç litik yola döner.



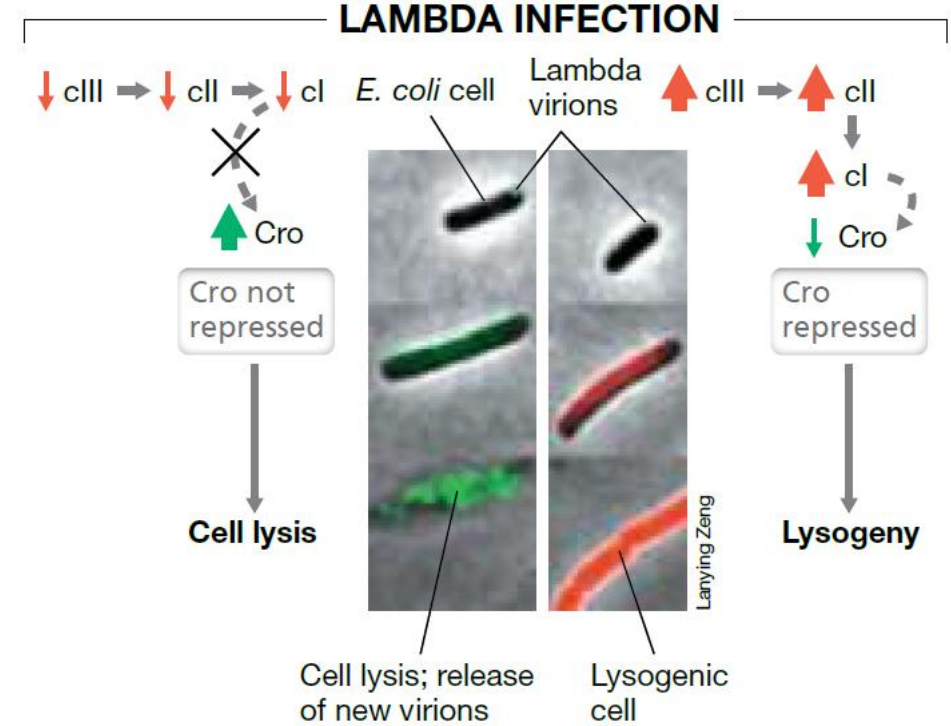
Genetik Anahtar Mekanizması ve Düzenleyici Basamaklar

- Lambda'nın lizis ya da lizogeni seçimi, bir “genetik anahtar” gibi işleyen düzenli olay dizilerine bağlıdır.
- Normalde enfeksiyon lizisle sonuçlanır; ancak yeterli cII birikirse, cI üretimi artar ve lizogenik yol tercih edilir.
- Hücredeki proteaz aktivitesi cII'yi yavaşça parçalar ve bu nedenle cII düzeyleri hassas şekilde düzenlenir.
- cIII proteini, cII'yi stabilize ederek proteazın saldırısından korur.



Lambda Düzenlemesinin Karmaşıklığı

- Düzenleme zinciri şöyle işler: $cIII \rightarrow cII \rightarrow cI$, ancak sürece başka proteinler de katkıda bulunur.
- Bu nedenle lambda enfeksiyonunun ilerleyişi oldukça karmaşık bir olay dizisidir.
- Lizogeni sırasında ifade edilen az sayıdaki lambda proteininden biri, lizogeninin stres koşullarında durağanlığa girmesini engeller.
- Bu mekanizma, karışık popülasyonlarda lambda virüsünün yayılımının devamını sağlar.



Hayvan Virüsü Enfeksiyonlarına Genel Bakış

- Tüm virüslerde ortak olan temel özellikler, genomu taşıyan bir kapsid, konak metabolizmasının ele geçirilmesi ve yeni virionların hücreden çıkışıdır.
- Hayvan virüsleri de bakteri virüsleri gibi genom tiplerine göre sınıflandırılır.
- Önemli insan hastalıklarının çoğu RNA virüsleri tarafından oluşturulur.
- Hayvan virüslerinde iki temel fark vardır: tüm virionun hücre içine girmesi ve ökaryot hücrelerde nükleusun bulunması.

Representative viral diseases of humans			
Disease	Virus	Genome DNA or RNA ^a	Size ^b
Cold sores/genital herpes	Herpes simplex	dsDNA	152,000
Smallpox	Variola major	dsDNA	190,000
Polio	Poliovirus	ssRNA (+)	7,500
Rabies	Rabies virus	ssRNA (–)	12,000
Influenza	Influenza A virus	ssRNA (–)	13,600
Measles	Measles virus	ssRNA (–)	15,900
Ebola hemorrhagic fever	Ebola virus	ssRNA (–)	19,000
Severe acute respiratory syndrome (SARS)	SARS virus	ssRNA (+)	29,800
Infant diarrhea	Rotavirus	dsRNA	18,600
Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)	Human immunodeficiency virus (HIV)	ssRNA/dsDNA (a retrovirus) (+)	9,700

^ass, single-stranded; ds, double-stranded. +, plus-strand virus; –, negative-strand virus (Section 8.1).

^bIn bases (ss genomes) or base pairs (ds genomes). These viral genomes have been sequenced and thus their lengths are known precisely. However, the sequence and length often vary slightly among different isolates of the same virus. Hence, the genome sizes listed here have been rounded off in all cases.



Hayvan Hücrelerinde Viral Enfeksiyonun Başlaması

- Pek çok hayvan virüsü, çalışmalarda hücre kültürlerinde çoğalabilen türlerdir.
- Enfeksiyon, virüsün konak hücre yüzeyindeki özgül reseptörlere bağlanması ile başlar.
- Bu reseptörler normalde hücre–hücre iletişimde veya bağışıklık sisteminde görev yapan proteinlerdir.
- Farklı dokulardaki hücrelerin farklı yüzey proteinleri taşıması, virüslerin doku özgüllüğünü belirler.

Hayvan Virüslerinin Hücreye Girişi ve Uncoating (Zarfin Açılması) Süreci

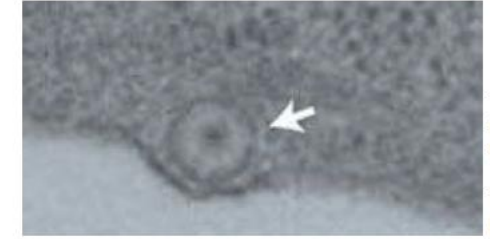
- Virüs bağlandıktan sonra hücreye zarla füzyon ya da endositoz yoluyla girer.
- Girişten sonra virüs, genetik materyalini sitozole serbest bırakmak için dış kılıfını kaybeder (uncoating).
- Zarflı virüsler çoğunlukla sitoplazmik membranda uncoat edilir, endositozla girenler ise sitoplazmada uncoat olur.
- DNA virüslerinin genomu, çoğalma için nükleusa geçer; çoğu RNA virüsü ise genomunu sitoplazmada replike eder.



(a)



(b)



(c)

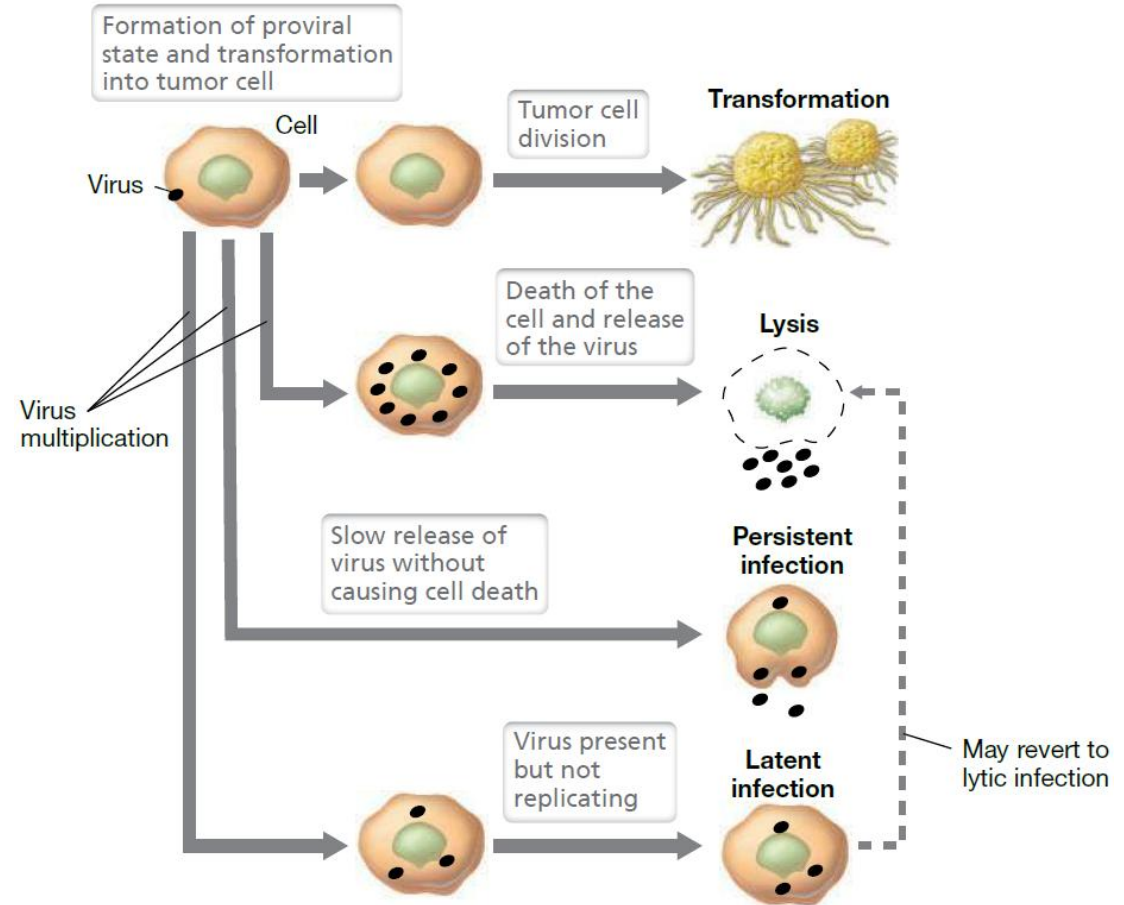
Stephen C. Harrison

Hayvan Virüslerinde Virion Oluşumu

- Virion montajı, nükleokapsid proteinlerini kodlayan viral mRNA'ların konak tarafından çevrilmesiyle başlar.
- Genom kopyaları dış kılıfla birlikte paketlenerek olgun virionlar oluşur.
- Pek çok hayvan virüsü, hücreden çıkarken konak hücre zarının bir kısmını alarak zarflanır.
- Virionlar hem tomurcuklanma hem de hücre lizisiyle dışarı çıkabilir.

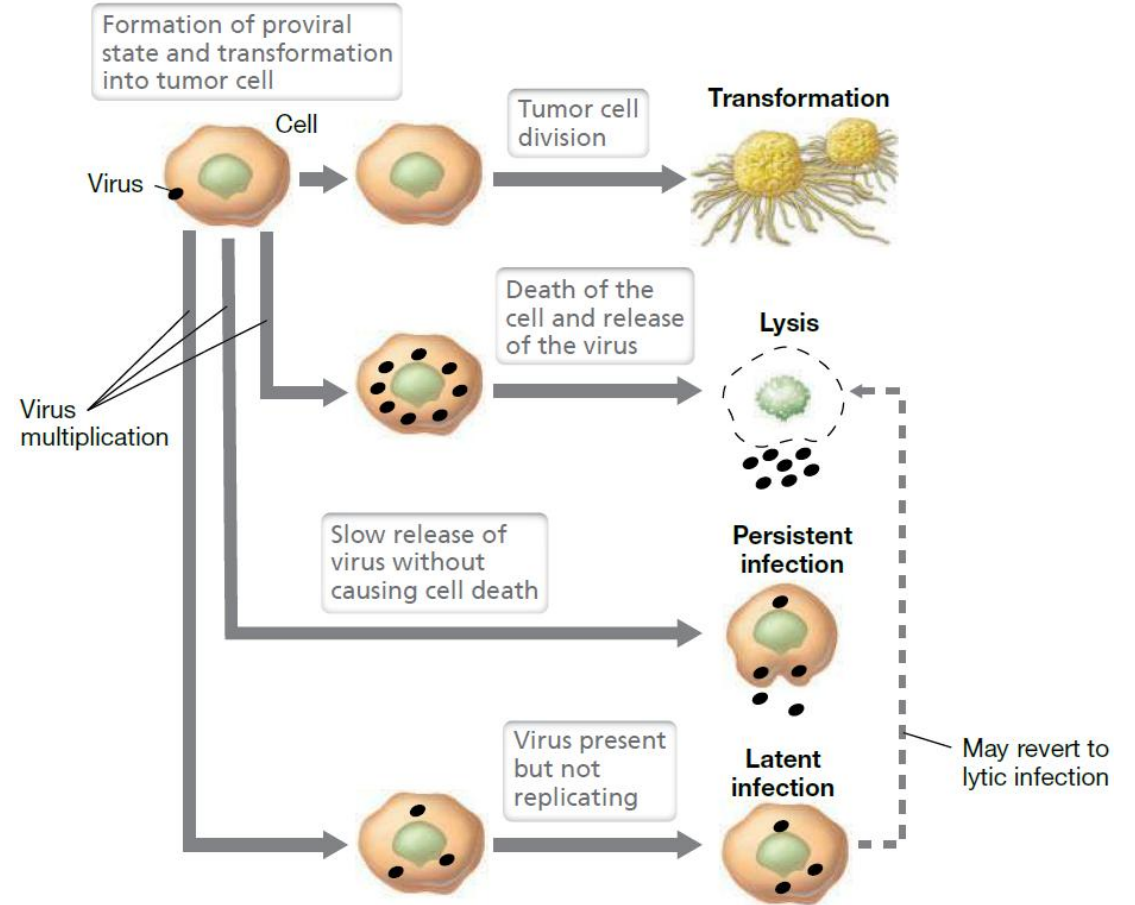
Hayvan Virüsü Enfeksiyonlarında Farklı Sonuçlar

- Bakteriyofajlarda iki sonuç (lizis veya lizogeni) görülürken hayvan virüsleri daha çeşitli sonuçlar doğurabilir.
- Virulent enfeksiyon, konak hücrenin lizisi ile sonuçlanır ve en yaygın enfeksiyon tipidir.
- Latent (gizli/sessiz) enfeksiyonda, viral DNA konak genomunda sessizce bulunur ve virion üretilmez; tetikleyici bir olay olana kadar hücre zarar görmez.
- Bazı zarflı virüsler yavaş tomurcuklanma ile hücreyi öldürmeden sürekli virion üretir; bu durum persistan (kalıcı) enfeksiyon olarak adlandırılır.



Transformasyon ve Tümör Oluşturma

- Bazı hayvan virüsleri, normal bir hücreyi tümör hücresine dönüştürebilir; bu süreç transformasyon olarak tanımlanır.
- Transformasyon, viral enfeksiyonun en dramatik sonuçlarından biridir ve konak hücrenin biyolojik davranışını kökten değiştirir.
- Bu tür enfeksiyonlarda hücre büyümesi düzenlenemez hâle gelir.
- Hayvan virüsü enfeksiyonlarının çeşitliliği, onların konak hücrelerle karmaşık ilişkiler geliştirdiğini gösterir.



Retrovirüslerin Temel Özellikleri

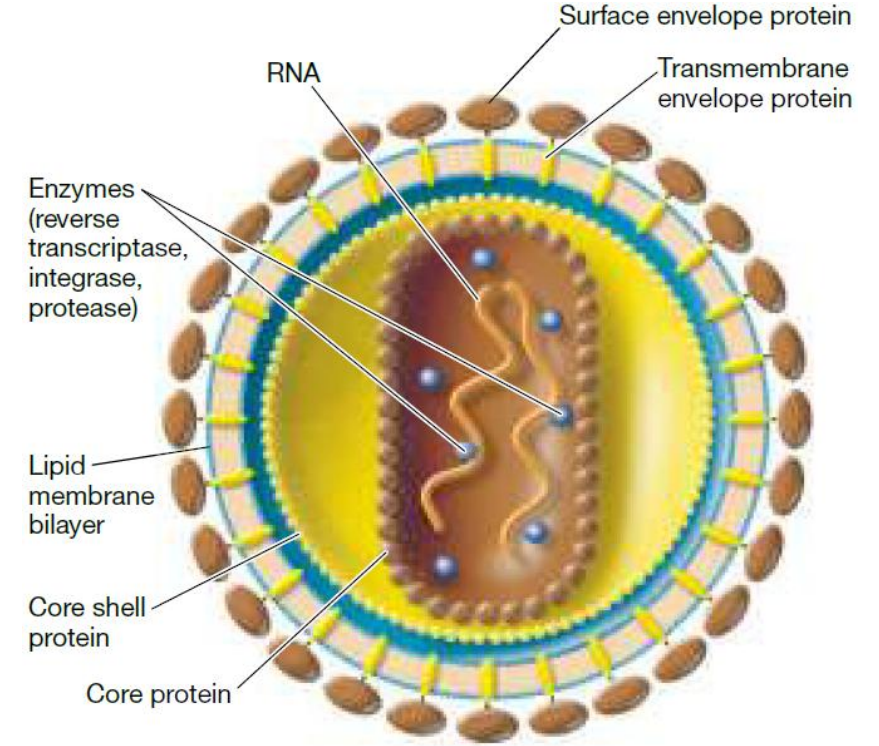
- Retrovirüsler, RNA genomuna sahip ve yapısal olarak kompleks hayvan virüsleridir.
- Bu virüsler, genomlarını konak hücre içinde bir DNA ara ürünü üzerinden çoğaltır.
- Retro ön eki, bu virüslerin genetik bilgiyi RNA'dan DNA'ya aktarması nedeniyle “geriye doğru” anlamını taşır.
- Retrovirüsler, bu sıra dışı süreci gerçekleştirmek için revers transkriptaz enzimini kullanır.

Retrovirüslerin Hastalıklarla İlişkisi

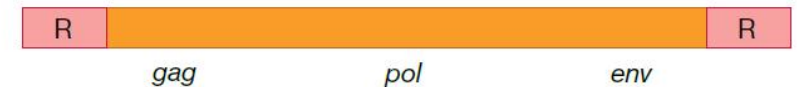
- Retrovirüsler, kansere neden oldukları gösterilen ilk virüs grubu olmuştur.
- İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), bir retrovirüs olup AIDS hastalığına yol açar.
- Retrovirüslerin konak hücrede oluşturduğu DNA ara ürünü, hastalık süreçlerinde kritik rol oynar.

Retrovirüslerin Yapısal Bileşenleri

- Retrovirüsler zarlı yapıya sahiptir ve virion içinde çeşitli enzimler taşır (Figür a).
- Bu enzimler arasında revers transkriptaz, integras ve retrovirüse özgü bir proteaz bulunur.
- Retroviral genom iki özdeş artı polariteli tek iplikli RNA'dan oluşur.
- Genom, gag (yapısal proteinler), pol (revers transkriptaz ve integras) ve env (zar proteinleri) genlerini içerir (Figür b).



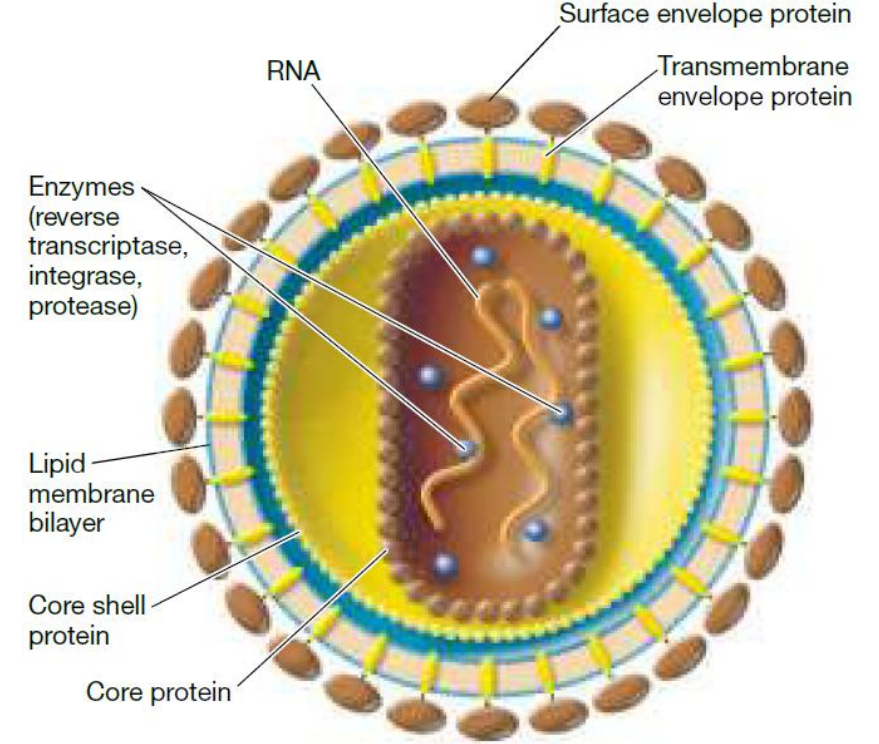
(a)



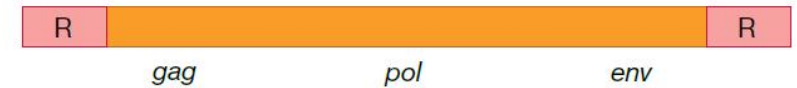
(b)

Retroviral Genomun Özellikleri

- Retroviral genomun her iki ucunda, çoğalma için zorunlu tekrar dizileri bulunur.
- Bu tekrar bölgeleri, DNA'ya dönüşüm ve konak genomuna entegrasyon süreçlerinde kritik görev üstlenir.
- Genomun iki özdeş RNA kopyası, yeni virionların temelini oluşturur.



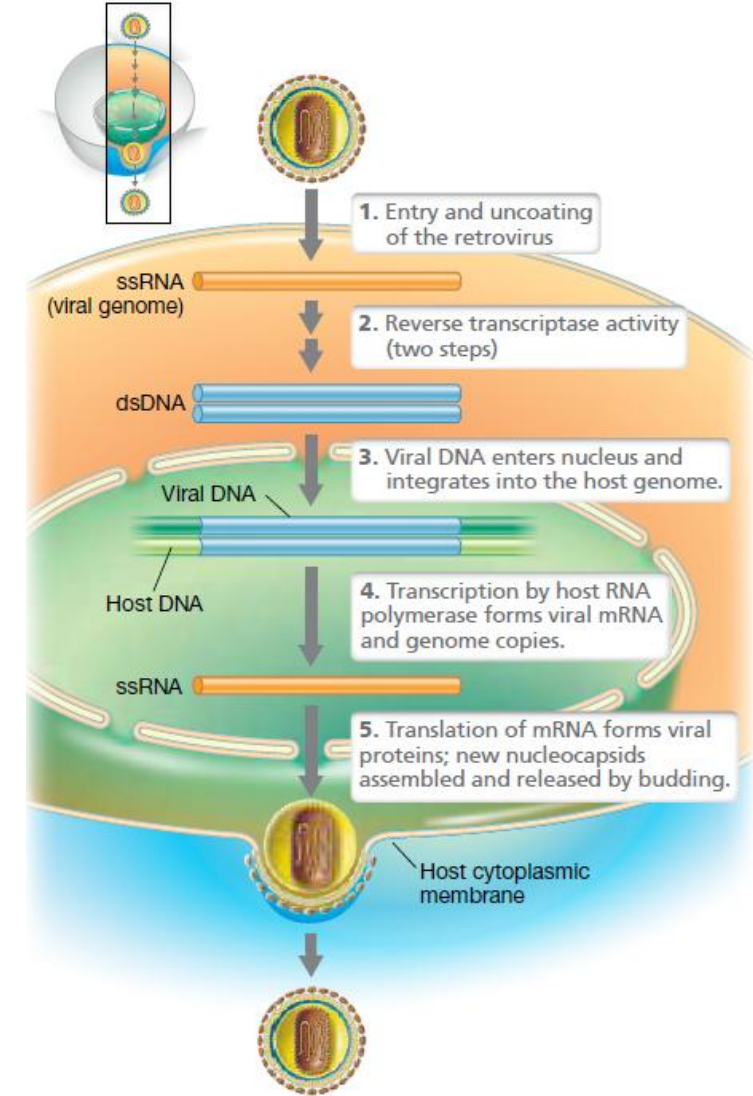
(a)



(b)

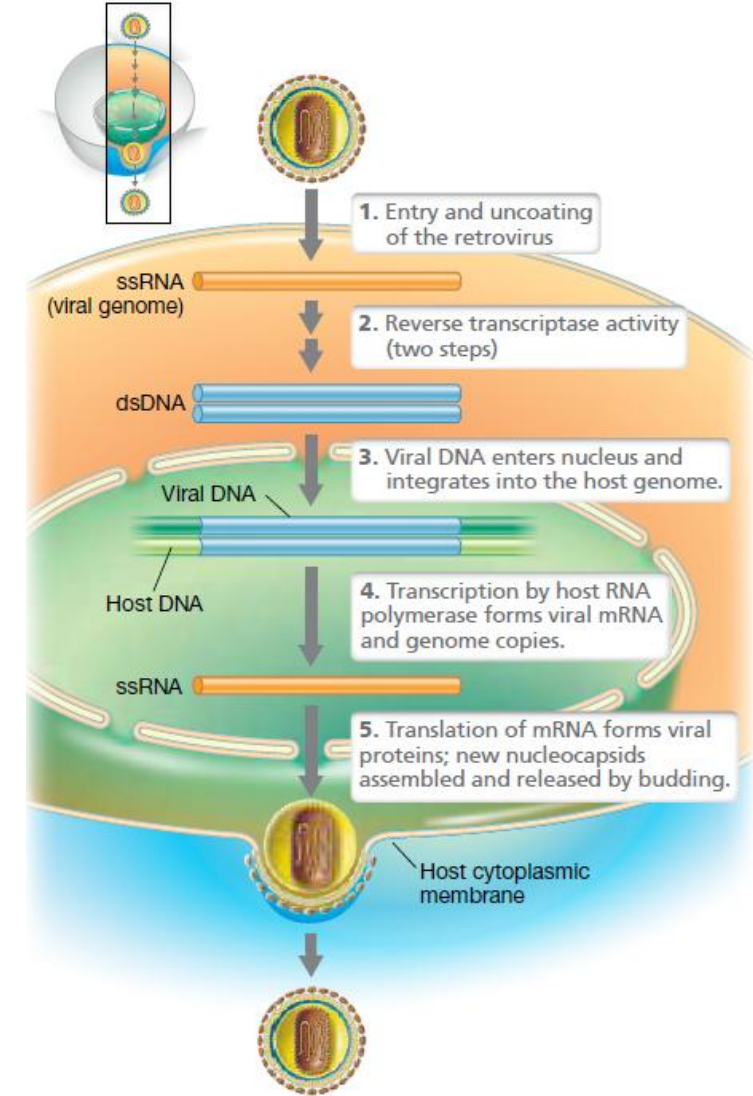
Enfeksiyonun Başlangıcı ve Ters Transkripsiyon

- Retrovirüs çoğalması, virionun konak hücreye giriş yapmasıyla başlar.
- Hücre içinde zar uzaklaştırılır ve revers transkripsiyon süreci nükleokapsid içinde başlar.
- İlk olarak tek iplikli DNA üretilir ve revers transkriptaz bu DNA'yı kalıp olarak kullanarak tamamlayıcı zinciri oluşturur.
- Son ürün çift iplikli DNA'dır ve bu DNA nükleokapsidden ayrılır.



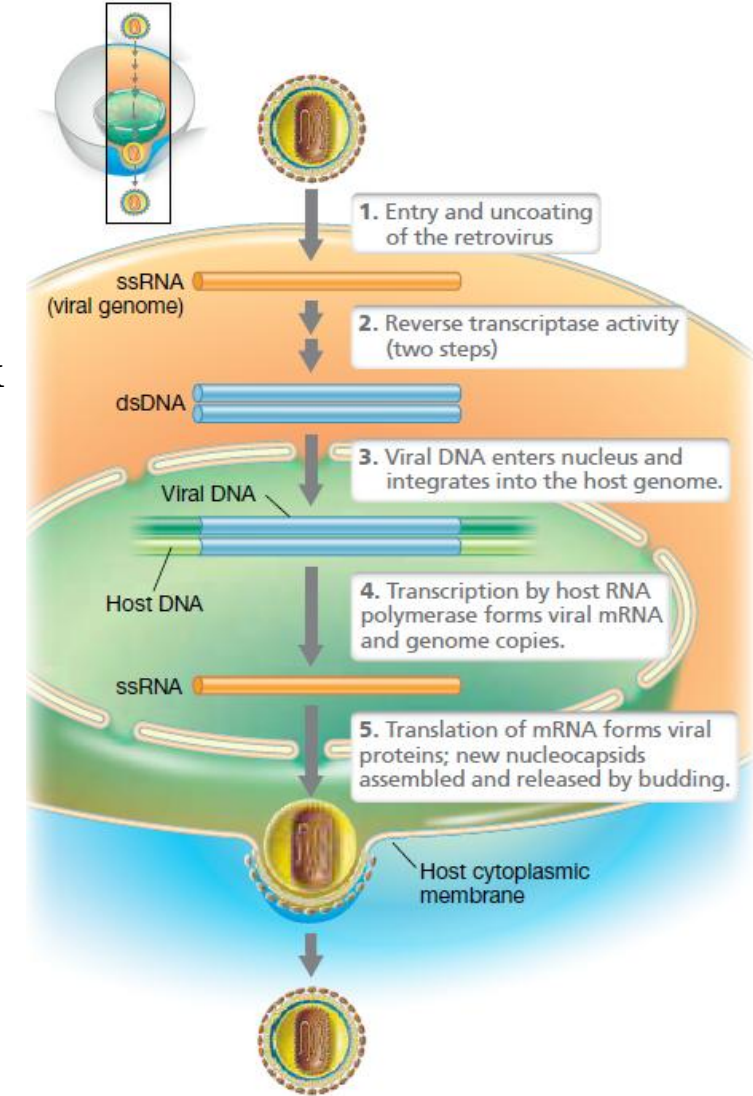
Viral DNA'nın Konak Genomuna Entegrasyonu

- Çift iplikli retroviral DNA, integraz enzimi ile birlikte konak hücre çekirdeğine giriş yapar.
- İntegraz, bu DNA'nın konak genomuna yerleştirilmesini sağlar.
- Bu aşamadan sonra retroviral DNA “provirüs” olarak adlandırılır.



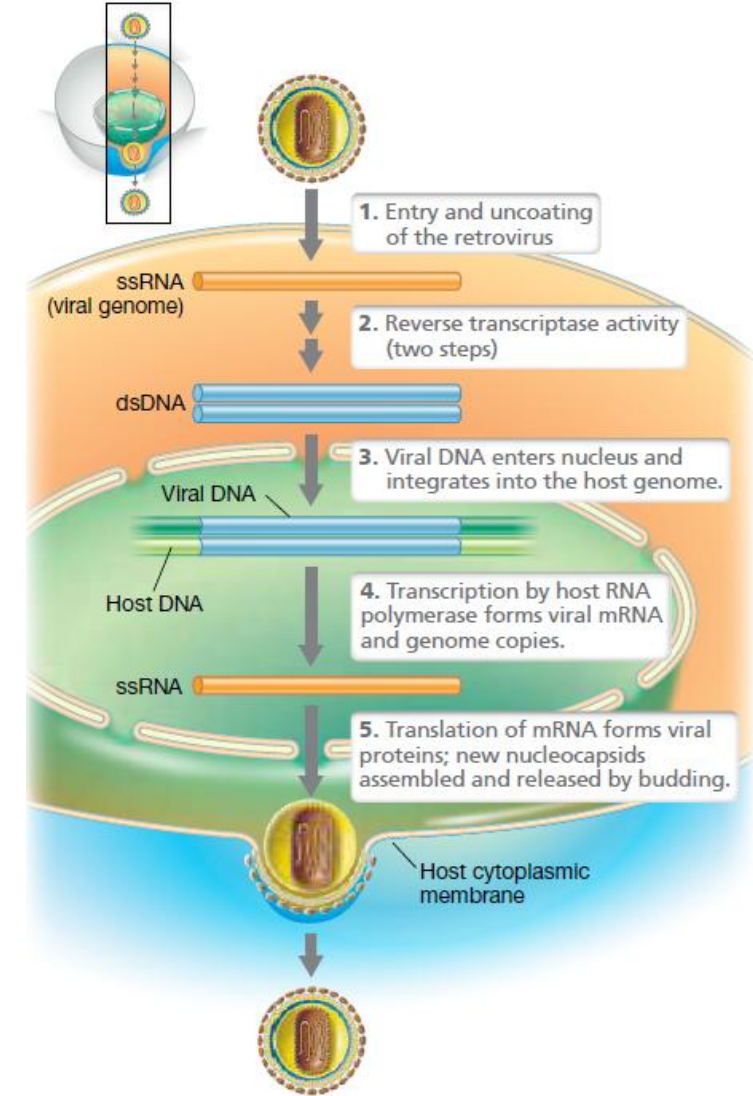
Provirüsün Hücredeki Kalıcılığı

- Provirüs, konak genomunda süresiz olarak kalır.
- Konak RNA polimerazı, provirüs DNA'sını kullanarak retroviral RNA genomu ve mRNA üretir.
- Bu süreç, hem yeni genom kopyalarının hem de proteinlerin sentezlenmesini mümkün kılar.



Yeni Virionların Oluşumu ve Salınması

- Nükleokapsidler, iki RNA kopyasını içerecek şekilde hücre içinde monte edilir.
- Oluşan nükleokapsidler, konak sitoplazma zarından tomurcuklanarak zarlı virionlara dönüşür.
- Olgun virionlar, çevredeki yeni hücreleri enfekte edebilecek duruma gelir.



Virüslerin Konak Hücrelerle Etkileşimleri

- Virüslerin çoğalması tamamen konak hücrenin büyüme ve aktivitelerine bağlıdır.
- Buna rağmen virüsler, konak hücrelerin büyümesini, hayatta kalmasını ve genetik özelliklerini kontrol edebilir.
- Bu bölümde sadece virüslerin olağanüstü bazı özelliklerine değinilmiş, konunun tüm kapsamı henüz açılmamıştır.
- Viral genomu ele alan Bölüm 10'da, bu mikroorganizmaların genetik çeşitliliğinin genişliği yeniden incelenecektir.

Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

