

3. تضاعف الفيروسات Replication of viruses

لا تتضاعف الفيروسات عن طريق الانقسام الخلوي لأنها جسيمات لا خلوية. ويحمل الحامض النووي للفيروسات التعليمات الوراثية، وعند دخوله إلى خلية العائل فإنه يقوم بتوجيه النشاطات الحيوية للخلية والعمل وفق أوامره وتعليماته وبناء المركبات الفيروسية لإنتاج نسخ متعددة له ويقوم بتجميعها داخل الخلية الحية. وتكون النتيجة النهائية لهذه العمليات إنتاج فيروسات جديدة تغادر الخلية العائل لتصيب خلايا أخرى. وتتم دورة تضاعف الفيروسات ب 6 مراحل أساسية:

1.3 المرحلة الأولى: الامتزاز Adsorption او الالتصاق (Attachment)

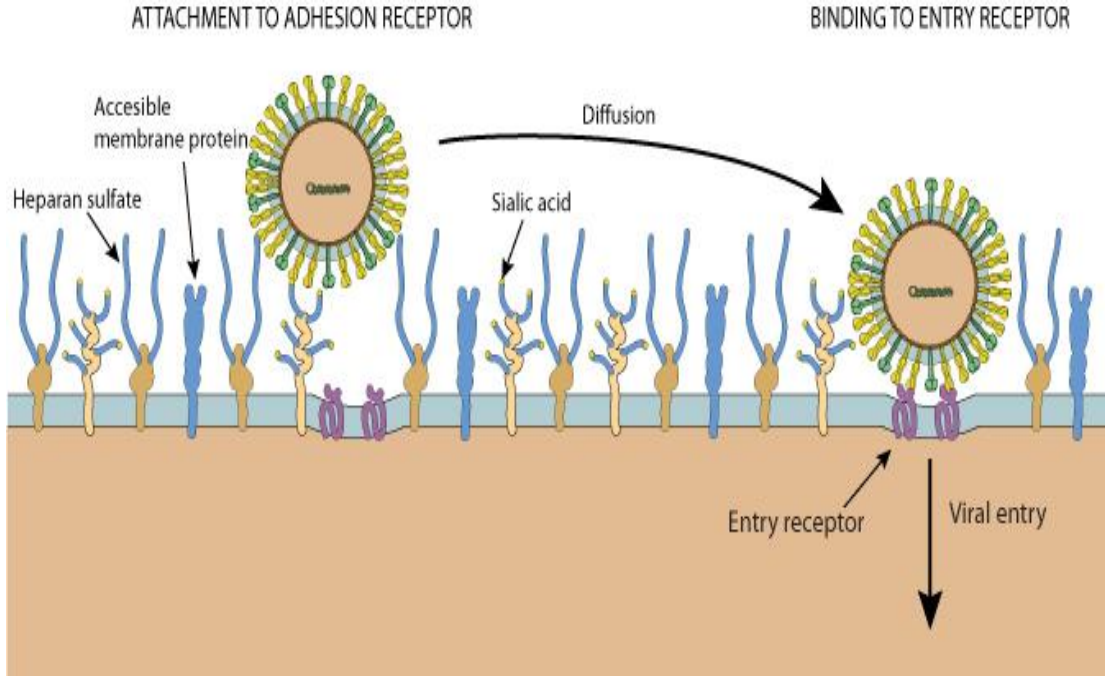
تعد هذه المرحلة من أهم مراحل تكرار الفيروسات وخطوة قاطعة. ولقد تطورت هذه الآلية لتجعل من الفيروسات قادرة على إصابة الخلايا التي يمكنها التضاعف داخلها فقط، كونها عملية تفاعل نوعي تتضمن تثبيت خاص بين رابطات **Ligands** الغطاء البروتيني او البروتينات السنبليّة **Spikes** للغلاف المظروفي للفيروسات مع مستقبلات **Receptors** خاصة على سطح الخلايا الهدف. ولا تحتاج هذه العملية الى طاقة خلوية. وهناك نوعان من المستقبلات، المستقبلات الأولية **Primary** او الالتصاق **Adhesion**، وغالبا الالتصاق بهذه المستقبلات يكون غير ثابتا **Reversible** وغير مجبر لدخول الفيروسات، ووحده لا يحفز دخول الفيروسات. ومع ذلك هذه المستقبلات تحسن تركيز الفيروسات في محيط المستقبلات الأخرى المسماة **مستقبلات الدخول** **Entry receptors** والتي تدعى ايضا **المستقبلات المرافقة Co-receptors**، وغالبا الالتصاق بهذه المستقبلات يكون ثابتا **Irreversible**، ويحفز دخول الفيروسات (الشكل، 3-2). فمثلاً **HIV-1** يصيب الخلايا للمفاوية التائية لأن بروتيناته السطحية **gp120** يمكنها التفاعل مع مستقبلات **CD4** كمستقبل أول ويحتاج الى **Chemokine receptor** كمستقبل مرافق مثل **CXCR-4** او **CCR-5** (الشكل، 3-3).

2.3 المرحلة الثانية: الاختراق Penetration او الدخول Entry

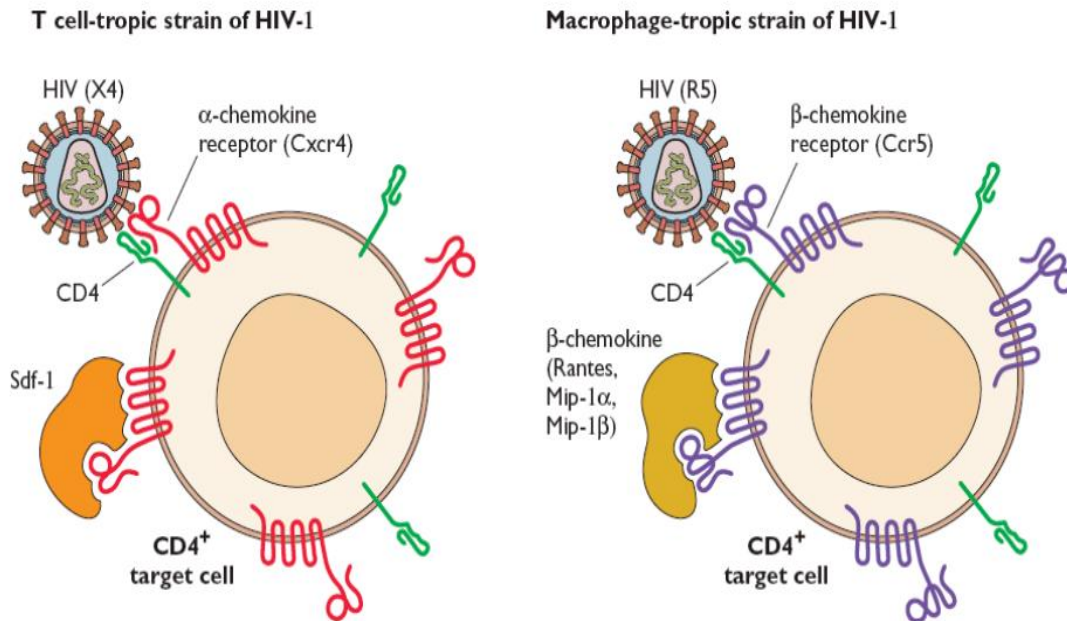
ان الارتباط بالمستقبلات قد يحدث تغيرات في أغلفة الفيروس والذي ينتج عنه اندماج الأغشية الخلوية والفيروسية. وتختلف عدوى الخلايا النباتية عن الخلايا الحيوانية، فلنباتات لها جدار خلوي السليلوزي صلب، لذلك لا يمكن للفيروسات الولوج داخل الخ لايا إلا بعد صدمة لجدار الخلية، كما تستطيع بعض الفيروسات مثل فيروس تبرقش التبغ التنقل مباشرة داخل النباتات من خلال المسام المسماة الخيوط البلازمية. في الفيروسات الحيوانية توجد 4 آليات للدخول، وتعد طريقة الإدخال الخلوي الطريقة الرئيسة لدخول الفيروسات، غير انه قد توجد في بعض الفيروسات طرائق أخرى حسب وجود او عدم وجود الغلاف الخارجي المظروفي.

1.2.3 Receptor-mediated Endocytosis بوساطة المستقبلات

ويسمى ايضا **Viropexis**، وتحدث في الفيروسات المغلفة والعارية عن طريق التصاق **Spikes** او **Ligands** على التوالي مع المستقبلات الخلوية للغشاء البلازمي.



شكل (2-3) يبين انواع المستقبلات الاولية والمرافقة



شكل (3-3) يبين ارتباط فيروس الايدز مع الخلايا المناعية واحتياجه الى المستقبلات المرافقة

2.2.3 طريقة الاحتساء الكلي Macropinocytosis

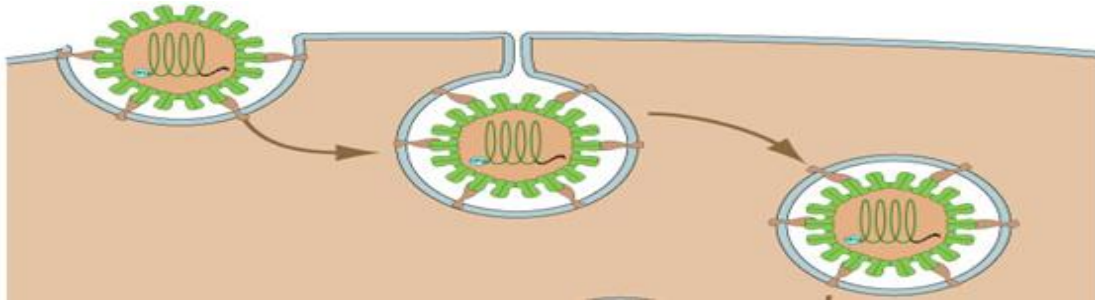
تحدث هذه الطريقة في الفيروسات المغلفة والعارية كما في فيروسات الجدري او الغدانية. ولا تعتمد على المستقبلات، ويحدث بمساعدة خيوط الاكتين لتكوين حويصلات الاحتساء الكبيرة Macropinosomes التي تتحد مع الجسيمات الحالة Lysosomes (الشكل، 3-7).

3.2.3 الاندماج بوساطة المستقبلات Receptor-mediated fusion

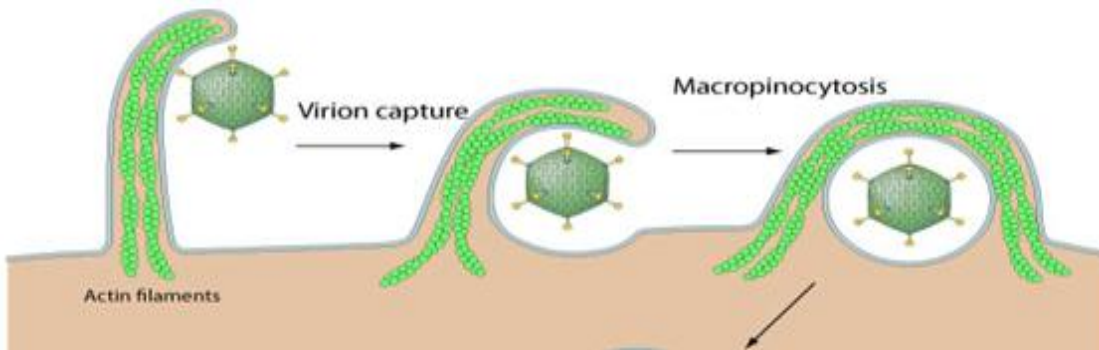
تحدث في الفيروسات المغلفة، وعند الالتصاق مع المستقبلات يدخل فقط Nucleocapsid ويبقى الغلاف الخارجي كبقعة Patch على الغشاء البلازمي (الشكل، 3-8).

4.2.3 الدخول بوساطة الثقوب Pore-mediated penetration

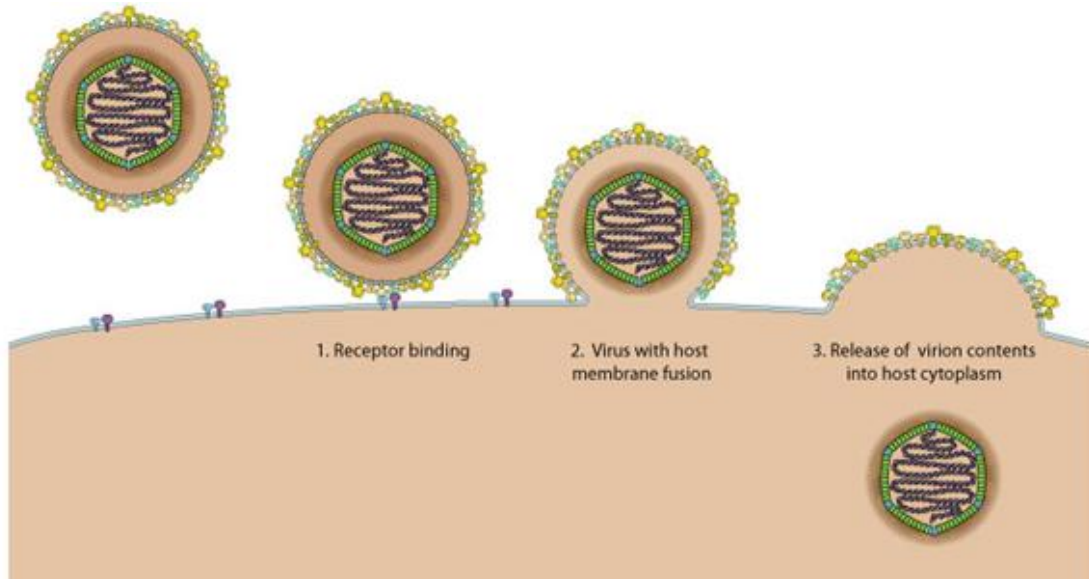
هذه الطريقة تحدث في بعض الفيروسات العارية التي تقوم بحقن جينومها الى داخل خلايا العائل عن طريق احداث ثقب بوساطة ببتيدات الكابسيد، كما في العائلة Picornaviridae (الشكل، 3-9).



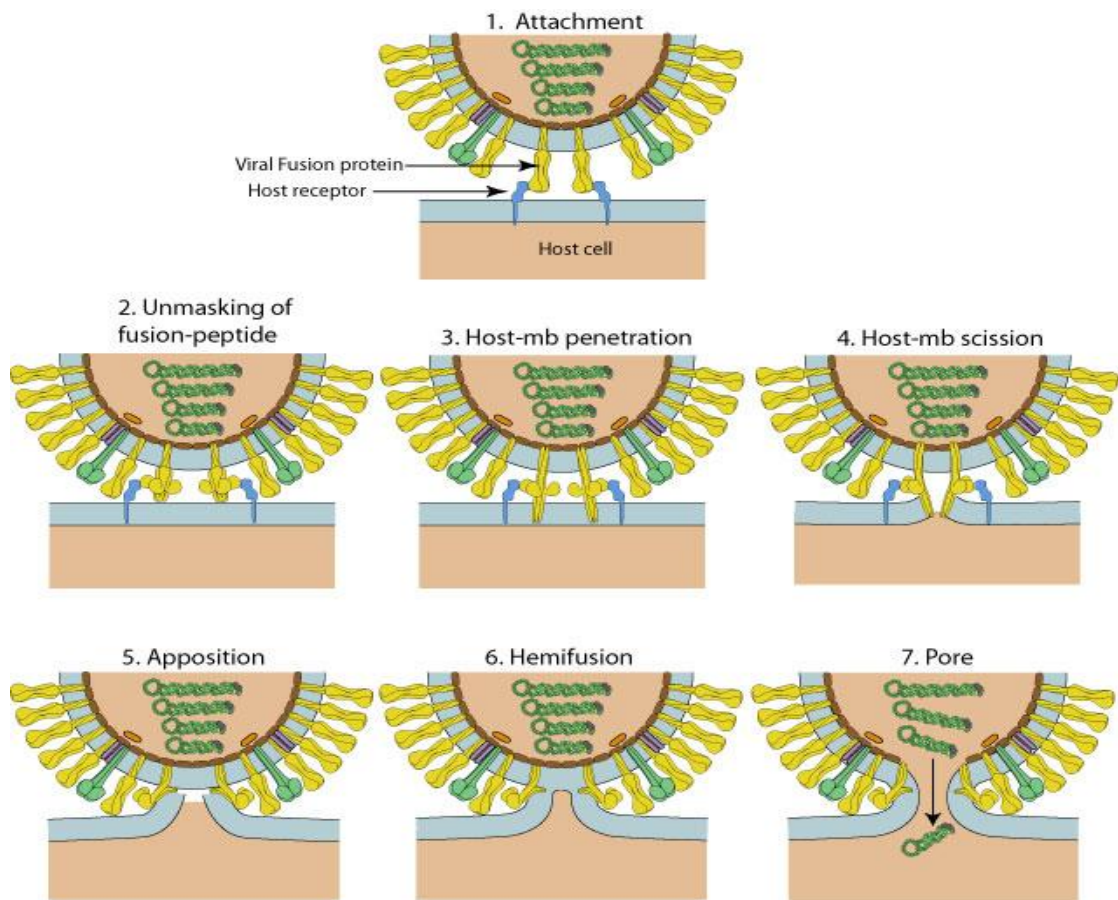
شكل (4-3) الادخال الخلوي



شكل (7-3) طريقة الاحتساء الكلي



شكل (8-3) الاندماج بواسطة المستقبلات



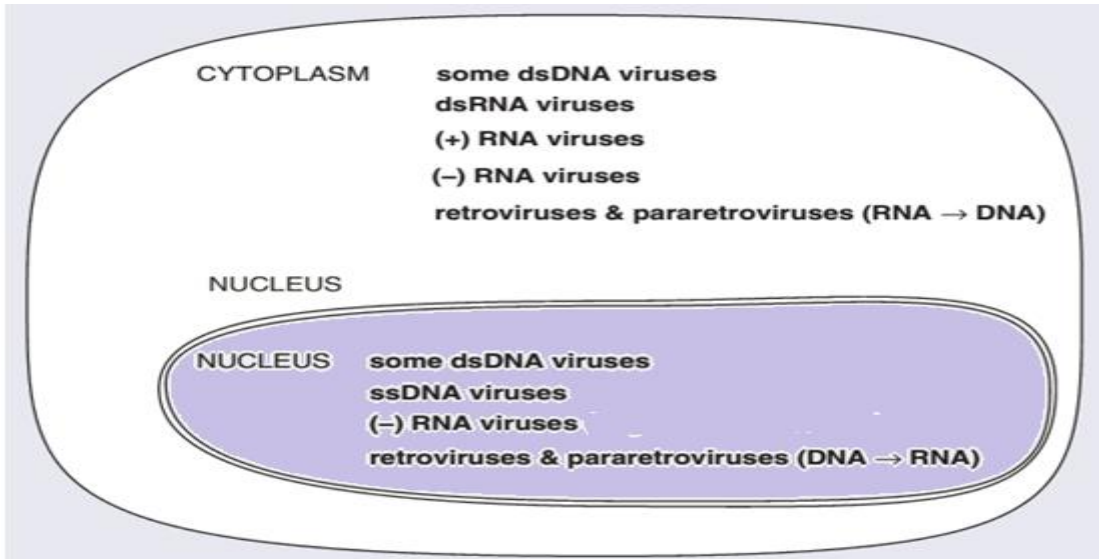
شكل (9-3) الدخول بواسطة الثقوب

3.3 المرحلة الثالثة: نزع الغلاف البروتيني او التعرية Un-coating

هي العملية التي يجري خلالها نزع الغطاء البروتيني للفيروس مما يؤدي الى تحرير الحمض النووي الفيروسي الذي يقوم بمقاومة تأثير الخلية بعملية غير معروفة لحد الان . وبسبب صعوبة الكشف عن الفيروس المزال عنه الغطاء البروتيني فقد سميت هذه الفترة **بمرحلة الخسوف** او **الاختفاء Eclipse period**. في الفيروسات التي تدخل عن طريق الادخال الخلوي او الاحتساء الكلي، تتحد الحويصلات المتكونة مع **الجسيمات** الحالة مكونة **الاندوسوم المبكر Early endosome** ثم **المتأخر Late** المحتوي على الاس الهيدروجيني **pH** الحامضي الذي يسهل انفصال الغطاء البروتيني وخروج الحامض النووي.

4.3 المرحلة الرابعة: تضاعف المكونات الفيروسية Viral components proliferation

بعد دخول الفيروس وتعرض الحامض النووي الفيروسي الى اجهزة الخلية فإنه يوجه بصنع بعض البروتينات التي تؤدي الى منع وظائف الخلية الاعتيادية المتضمنة توقف صناعة البروتينات الخلوية والرايبوسومات والحوامض النووية الخلوية . ثم تحدث عملية **الاستنساخ Transcription** و**الترجمة Translation** وتكرار **Replication** الحامض النووي الفيروسي . وتختلف هذه العمليات بصورة كبيرة ما بين الفيروسات المختلفة حسب نوع الحامض النووي. اذ تحدث عمليتا الاستنساخ وتكرار الحامض النووي في نواة خلية العائل (الشكل، 3-15) في جميع فيروسات **DNA** ماعدا عائلة الجذري **Poxviridae**، وذلك لانها تحتاج انزيمات العائل المتضمنة كلاً من **DNA-dependent RNA polymerase II** في صناعة **mRNA**، و **DNA-dependent DNA polymerase** لتكرار الحامض النووي (الشكل، 3-16). بينما تحدث عمليتا الاستنساخ وتكرار الحامض النووي في جميع فيروسات **RNA** في السايوبلازم، ماعدا العائلتين **Orthomyxoviridae** و **Bornaviridae**، لانها يجب ان تحتوي على انزيم **RNA-dependent RNA polymerase** الخاص للاستنساخ ولتكرار الحامض النووي، وذلك لان خلايا العائل في الانسان والحيوان والنبات لا تحتوي ولا تنتج هذا الانزيم . ويمتلك انزيم **RNA-dependent RNA polymerase** وظيفتين، اذ يسمى **Transcriptase** عند عملية الاستنساخ، ويسمى **Replicase** عند عملية تكرار الحامض النووي. اما في الفيروسات التي تستخدم انزيم الاستنساخ العكسي **Reverse transcriptase (RNA - dependent DNA polymerase)** المتضمنة عائلة الفيروسات القهقرية **Retroviridae** والفيروسات نظائر القهقرية **Pararetroviruses** المتمثلة بعائلة الفيروسات الكبدية **Hepadnaviridae** فهي تتضاعف في السايوبلازم عندما تكون بشكل **RNA**، وتتضاعف في النواة عندما تكون بشكل **DNA**.



شكل (15-3) انواع الفيروسات التي تتكرر في النواة والساييتوبلازم

Virus enzymes

DNA $\xrightarrow{\text{DNA-dependent DNA polymerase}}$ DNA

RNA $\xrightarrow{\text{RNA-dependent RNA polymerase}}$ RNA

RNA $\xrightarrow{\text{RNA-dependent DNA polymerase (reverse transcriptase)}}$ DNA

Cell enzymes

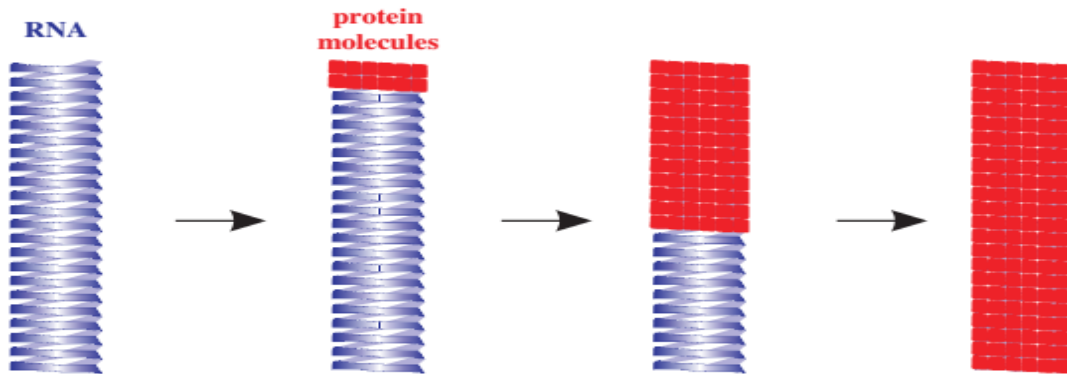
DNA $\xrightarrow{\text{DNA-dependent DNA polymerase}}$ DNA

DNA $\xrightarrow{\text{DNA-dependent RNA polymerase (RNA pol II)}}$ RNA

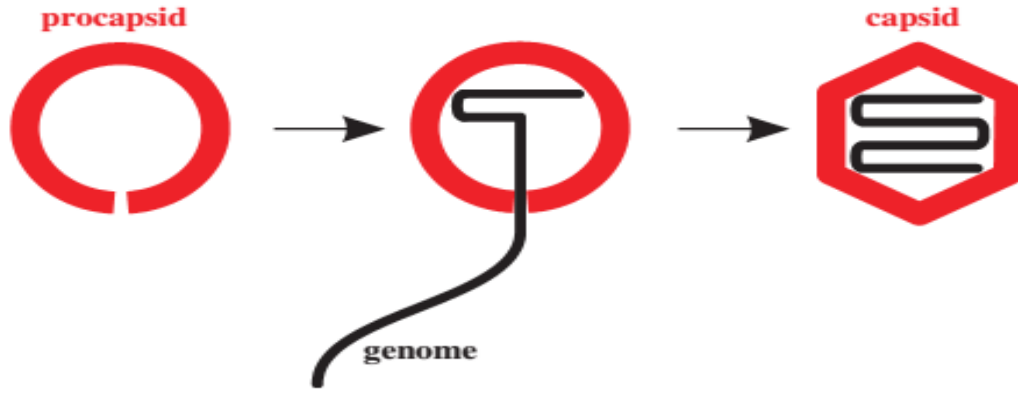
شكل (16-3) انواع الانزيمات المستخدمة في استنساخ وتكرار الحامض النووي الفيروسي

5.3 المرحلة الخامسة: التجميع Assembly والتعبئة Packaging والنضوج Maturation

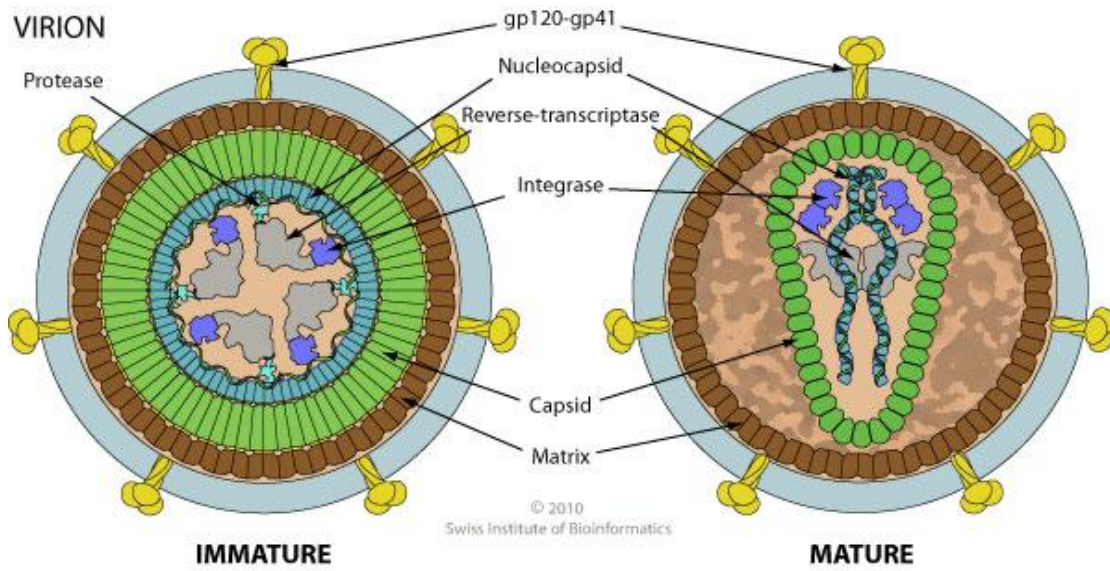
تدعى عملية تجميع البروتينات الفيروسيّة المصنعة لتكوين **الغطاء البروتيني Capsid** للبريونات الجديدة بالتجميع أو التشكل المظهري **Morphogenesis**. اما عملية التعبئة فهي وضع الحامض النووي الفيروسي في داخل الغطاء البروتيني او داخل الغلاف المظروفي الخارجي. وتحدث عملية التجميع اما في نواة الخلية كما في جميع فيروسات **DNA** ماعدا فيروسات الجدري، او في الساييتوبلازم كما في فيروسات **RNA**. ففي الفيروسات ذات **التناظر الحلزوني** تحدث تغطية الجينوم بنسخ متعددة من البروتين بعملية تسمى **التغليف Encapsidation** كما في شكل (3-27). اما في الفيروسات ذات **التناظر عشروني الوجوه** فيتكون اولا غطاء بروتيني فارغ يدعى **الغطاء البروتيني الاولي Procapsid**، فيما بعد يجري دخول الحامض النووي الى الغطاء البروتيني ليتكون الفيروس الكامل. و يجري دخول الحامض النووي من قنوات توجد في اماكن سوف تصبح فيما بعد **السمت vertices** كما في الشكل (3-28). اما في **الفيروسات الهرسية** فمكان دخول الحامض النووي يتحور تركيبيا الى ما يسمى **الهوبة Portal** مكون من نوع أو أكثر من البروتينات. وتوجد مرحلة اخرى تدعى **النضوج Maturation**، وهي عملية تحدث بعد انفصال الجزيئات المعدية التي تدعى **البريونات** من خلايا العائل عن طريق التبرعم او بالانغلاق المحكم للغطاء البروتيني الكروي. وتتضمن هذه العملية اعادة ترتيب ثابتة او انشقاق البروتينات الفيروسيّة التي تنشط البريونات لتصبح كفاءه لاعادة الاصابة. ففي فيروس الايدز هناك بروتينات معينة في الغطاء البروتيني يجب ان تشق بوساطة انزيم **Protease** الفيروسي التي تؤدي الى تغيرات مظهرية في البريونات الجديدة كما في شكل (3-29). اما في **فيروسات الانفلونزا** يكون **Protease** الخلوي ضروري لشق **Hemagglutinin** الفيروسي، وهذا الشق يحصل قبل ان ي صل **Hemagglutinin** الى الغشاء البلازمي وقبل التبرعم، ولكن يمكن أن يحدث في او بعد التبرعم خاصة اذا جرى تجهيز **Protease** خارجيا. مثال ذلك حدوث اصابة متوافقة في الرئة ب**فيروسات الانفلونزا** و **بكتيريا المكورات العنقودية Staphylococcus** او **المكورات المسبحية Streptococcus** اللذان يجهزان انزيم **Protease** لفيروس



شكل(3-27)عملية التغليف في الفيروسات حلزونية التناظر



شكل(3-28)عمليتا التجميع والتعبئة في الفيروسات ذات التناظر عشروني الوجوه



شكل(3-29)عملية النضج في فيروسات الايدز

6.3 المرحلة السادسة: التحرر Release من خلايا العائل

بعد اكتمال تشكيل ونضج الفيروونات قد تبقى في داخل الخلايا من خلال اندماج الحامض النووي الفيروسي مع كروموسوم خلايا المضيف وتصبح **مستترة Latent** مثل **HIV**، او تصبح مستترة من خلال التجوال خلال الاعصاب والاختباء في العقد العصبية كما في فيروسات العائلة **Herpesviridae**. وهناك **3 طرايق رئيسية** لتحرر الفيروونات، هي:

1. الانحلال الخلوي Cytolysis

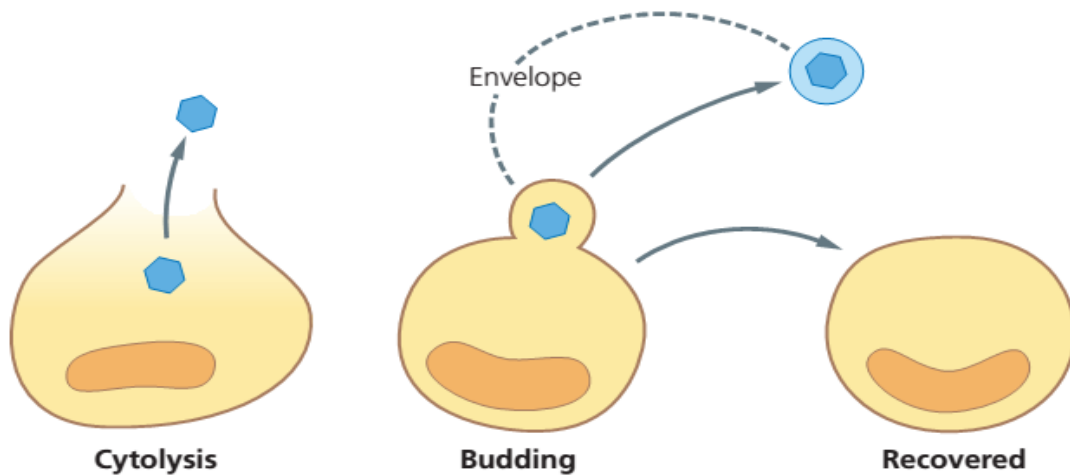
اذ تتحرر معظم الفيروسات الحيوانية العارية وقليل من الفيروسات المغلفة (الشكل، 3-32) من خلال الانحلال الخلوي، بحيث تترك خلية العائل فارغة من اي مكونات وتدعى بالخلية الفارغة Empty cell وتدعى ايضا الشبح. وتحدث هذه العملية من خلال عدة اليات منها انتاج مواد مختلفة خاصة، ففي Adenoviridae و Picornaviridae يجري انتاج Viroporins الذي يساهم في تحطيم غشاء الخلايا . ويمكن ان يحدث تحلل الخلايا بفعل الخلايا المناعية مثل Natural killer cells او Cytotoxic T cells.

2. التبرعم Budding

تتحرر الفيروسات في معظم الفيروسات المغلفة بواسطة التبرعم، وذلك عن طريق ا لمرور عبر غشاء الخلية دون انفجارها بتكوين برعم وتبقى الخلية سليمة بعد خروج الفيروسات. ويهيأهم الغلاف النووي والشبكة الداخلية البلازمية وجهاز كولجي وبقية الاغشية الداخلية في عملية التبرعم وتكوين الغلاف الخارجي فيه . وهناك عدة طرائق ومكونات تساهم في تكوين البرعم (الشكل، 3-33). منها في بعض عوائل الفيروسات يوجد بروتين خاص يدعى Matrix protein، يتحد مع الغشاء البلازمي ويسهل عملية التبرعم.

3. الاخراج الخلوي Exocytosis

تحدث في الفيروسات المغلفة والعارية، وهي عكس عملية الادخال الخلوي وبالطريقة نفسها غير انها تحتاج الى طاقة كما في فيروسات الجدري. ويذكر ان Neuraminidase يسهل ايضا عملية التحرر في فيروسات الانفلونزا.



شكل(3-32) عملية التحرر في الفيروسات