اعداد:
د. نورس عبد الاله الكويتي
قسم وقاية النبات
كلية الزراعة-جامعة بغداد

فايروسات نظري(المحاضرة السابعة/عليا)

الجينوم الفايروسي وتضاعف الفايروسات

الخصائص العامة للجينوم في فايروسات النبات

يتألف جينوم الفايروسات بشكل عام من نوعين من الجينات:

1. مناطق جينية او مناطق تشفير بروتينات coding region تحتوي المعلومات الضرورية لتصنيع البروتينات اللازمة لدورة تضاعف الفايروس واحداث الاصابة والتي تتضمن العدوى الاولية، حركة الفايروس داخل العائل، التداخل مع العائل والانتقال بين العوائل المختلفة.
2. مناطق غير جينية non-coding region وهي مناطق لا تترجم الى بروتين مسؤولة عن السيطرة على عمليات التعبير الجيني للبروتين Gene expression وتضاعف الجينوم التي تتحكم بتتابع النيوكليوتيدات والاحماض الامينية ويمكن ان تقع بين الجينات.

يمكن ان تحتوي الفايروسات النباتية المعلومات الوراثية اللازمة لتصنيع 12 ببتيد متعدد polypeptide في حالة امتلاكها صيغة مفتوحة القراءة open reading frame (ORF). وتعرف ORF بانها سلسلة من القواعد النيتروجينية تبدأ بكودون البداية start codon (AUG) وتحتوي على المعلومات الوراثية الخاصة بتصنيع بروتين بوزن جزيئي لا يقل عن 10 كيلودالتون وتنتهي بكودون التوقف stop codon (UGA, UAA, UAG) . وقد تحتوي على مناطق تسريب leaky مما يؤدي الى انتاج سلاسل ببتيدية متعددة اطول.

يتراوح عدد الجينات في فايروسات النبات من جين مفرد كما في مجموعة الفايروسات المرافقة satellite viruses الى 12 جين كما في مجموعة فايروسات البرسيم closterviruses و reoviruses. كما يحتوي جينوم معضم الفايروسات على المعلومات الوراثية الخاصة بتصنيع 4-7 بروتينات.

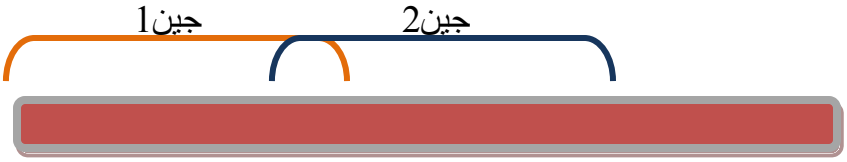
الاستغلال الامثل للحامض النووي الجينومي في الفايروسات:

على الرغم من قلة عدد الجينات ومحدوديتها وصغر حجم الحامض النووي في الفايروسات الا ان الفايروسات تقوم بالاستفادة القصوى من جينومها.تحتوي الكائنات الحية حقيقية النواة على مادة وراثية تعادل المادة الوراثية الموجودة في الفايروسات بعشرات الاضعاف ولا تترجم جميعها الى بروتينات ويقدرحجم المادة الوراثية التي لا تترجم الى بروتين او الانترونات intron بما يعادل 10-30 ضعف في حين لا تحتوي فايروسات النبات على انترونات.

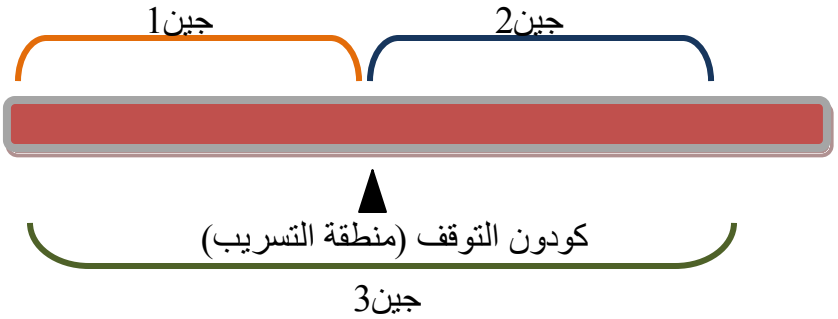
هناك بعض الخصائص المميزة للفايروسات تمكنها من استغلال جينومها بالشكل الامثل:

1. تشكل المناطق التي تترجم الى بروتينات او الجينات معضم حجم الجينوم قياساً بمناطق الجينوم التي لا تترجم الى بروتين.

2. قد يحدث تبديل في صيغة القراءة بين جينين مختلفين على الجينوم الفايروسي مثل فايروسي TYMV و PVX او قد يكون الجين متداخل او متراكب overlap مع جين اخر وبصيغة قراءة مختلفة مثل مجموعة فايروسات الاصفرار luteoviruses وفايروس التقزم الشجيري على الطماطا *Tomato bushy stunt virus*.



3. قراءة الجين خلال مناطق التوقف Read through او التسريب مما يؤدي الى انتاج سلسلة ببتيدية اطول وغالباً ما تحدث هذه الالية في الفايروسات النباتية ذات الشريط الموجب ssRNA . وقد يحدث تبديل في صيغة القراءة frame shift اثناء ترجمة الجين الى بروتين نتيجة تجنب الرايبوسومات قراءة كودونات التوقف مما يؤدي الى انتاج سلسلة ببتيد متعدد ترتبط بالسلسلة الاصلية منتجة سلسلة اطول وهي شبيهة بعملية التسريب.



4. قد يمتلك الجين الواحد اكثر من وظيفة مثل جين الغلاف البروتيني لفايروس تخطط الذرة *Maize streak virus* والذي يؤدي جين الغلاف البروتين فيه اخرى وظائف اخرى علاوة على حماية الحامض النووي وهي النقل بالنواقل، الانتقال والدخول الى الانوية و ظهور الاعراض والسيطرة على التضاعف.
5. قد تحتوي بعض الفايروسات على انترونات قابلة للترجمة الى بروتينات مثل فايروس *Rice tungro bacilliform virus* وغالباً ما تحدث هذه الالية في الفايروسات النباتية ذات الشريط وغالباً ما تحدث هذه الالية في الفايروسات النباتية ذات الشريط DNA وتؤدي الى زيادة في اعداد mRNA المستنسخ وبالتالي زيادة في تنوع نواتج الجين.
6. تستغل بعض الفايروسات بروتينات العوائل التي تصيبها اذ تحتوي هذه الفايروسات على انزيمات تستخدمها في صنع توليفة من البروتينات النباتية والفايروسية لانتاج الببتيدات المتعددة.
7. تنتج بعض الفايروسات حامض نووي تحت جينومي اذ هناك نظام تحكم مؤلف من تسلسل نيوكليوتيدي خاص يؤدي الى تحويله لانتاج تسلسل قابل للترجمة الى بروتين مثل فايروس TMV.

شريط RNA سالب

شريط RNA موجب تحت جينومي

8. تحتوي فايروسات RNAمفردة الشريط على مناطق لاتترجم الى بروتين untranslated region او UTR في طرف `3 او `5 تقوم بعدة وظائف مثل التعرف على الريبوسومات او التعرف على انزيم التضاعف Replicase.

وظائف النواتج الجينية في الفايروس:

هناك نوعين من نواتج الجينات الفايروسية:

أ- نواتج الجين التركيبية structural gene products: تدخل في بناء جسيمة الفايروس و تتألف من بروتينات الغلاف وبروتينات ساندة scaffold protein تقوم بتوجيه تصنيع الغلاف البروتيني للفايروس.

ب- نواتج الجين الوظيفية و هي التي تقوم بوظيفة او فعالية حيوية للفايروس و هي على انواع:

1. بروتينات لاستهلال الاصابة تقوم بمساعدة الفايروس على اختراق الغشاء الخلوي بعد اختراقه للجدار الخلوي عن طريق الجروح او النقل بالنواقل والدخول الى داخل الخلية .
2. بروتينات تضاعف الجينوم الفايروسي: و هي على نوعين انزيمية ومساعدة.

النواتج الانزيمية تكون على عدة انواع:

أ. انزيم تضاعف RNA المعتمد على RNA او RNA dependent RNA polymerase ويختصر (RdRp) يقوم باستنساخ RNA من قالب RNA كما في مجموعة Carlaviruses.

ب. انزيم الاستنساخ الرجعي reverse transcriptase ويختصر (RT) قوم باستنساخ DNA من قالب RNA كما في عائلة *Caulimoviridae*.

ج. انزيم التضاعف Replicase يقوم بنسخ RNA من قالب RNA او بنسخ جزء من RNA وتحويله الى RNA تحت جينومي sub genomic RNA . و يحتوي انزيم التضاعف على مواضع فعالة domain او قد تكون مؤلفة من وحدات بروتينية ثانوية ذات وظائف متعددة مثل قيامها بعمل methyl transferase او بعمل انزيم Helicase (فتح الاشرطة المزدوجة) اثناء تضاعف RNA اضافة الى وظيفته الاصلية.

د. انزيم الاستنساخ Transcriptase: يقوم بنسخ RNA من قالب DNA ويوجد في جسيمات فايروسات *Rhabdoviridae* و *Reoviridae* .

ولم يكتشف لغاية الان فايروس نباتي يحوي انزيم تضاعف DNA من قالب DNA او DNA dependent DNA polymerase.

تقوم بروتينات تضاعف الجينوم الفايروسي المساعدة في مجموعة الفايروسات التوأمية *Geminiviridae* بتكوين توليفة انزيمية مع انزيم تضاعف DNA في نواة الخلية لتساهم في تضاعف جينوم الفايروس.

3. بروتينات تقوم بتفعيل نواتج الجين الفايروسي. بعض الفايروسات تقوم بترجمة جينومها الى بروتين متعدد ذو وزن جزيئي عالي اذ يترجم الجينوم في البداية بكامله الى قطعة مفردة من البروتين المتعدد polyprotein تتضمن انزيمات تقطيع البروتين proteinase تقوم بتجزئة البروتين المتعدد الى قطع بروتينية فاعلة لتأدية الوظائف الخاصة بالفايروس مثل عائلة فايروسات واي البطاطا *Potyviridae* .
4. بروتينات تساعد على حركة الفايروسات داخل عوائلها. تؤدي هذه البروتينات وظيفة نقل الفايروسات بين الخلايا عن طريق الروابط البلازمية plasmodesmata او تعمل على ادخال الحامض النووي الفايروسي داخل النواة في الخلية او تسهل حركة الفايروس في النظام الوعائي للنبات في الاصابة الجهازية.
5. بروتينات تقوم بكبح الانظمة الدفاعية في النبات العائل اذ تنتج الكثير من الفايروسات بروتينات تقوم بتعطيل الانظمة الدفاعية التي تستهدف الحامض النووي الفايروسي اثناء تضاعفه في خلية النبات.
6. بروتينات تسهل انتقال الفايروسات بين العوائل النباتية من خلال نواقلها. اذ تنتج الفايروسات التي تنتقل بالنواقل الحشرية واللاحشرية بروتينات تساهم في نقل الفايروسات بين عائل الى اخر ويعتقد ان الفايروسات التي تنتقل بالفطريات تنتج هذا النوع من البروتينات ايضاً.

تضاعف الفايروسات:

تضاعف الفايروسات ذوات شريط RNA المفرد الموجب ssRNA +ve

تشكل الفايروسات ذات الجينوم من نوع RNA المفرد الموجب معضم الفايروسات النباتية وتتلخص مراحل تضاعف RNA بالاتي:

1. استنساخ شريط RNA سالب (غير معدي) من الشريط الاصلي الموجب (المعدي) عن طريق انزيم التضاعف Replicase.
2. تصنيع عدة نسخ من شريط RNA الموجب المعدي باستخدام الشريط السالب كقالب تصنيع.
3. تتضمن دورة التضاعف تكوين نوعين من الاطوار الوسطية intermediate forms وهي تراكيب اشرطة RNA التي تتكون اثناء التضاعف الاول يدعى الطور التضاعفي replicative form (RF) وهو عبارة عن شريط RNA مزدوج يتكون عند تصنيع الشريط السالب من الشريط الموجب والنوع الثاني يدعى الوسط التضاعفي

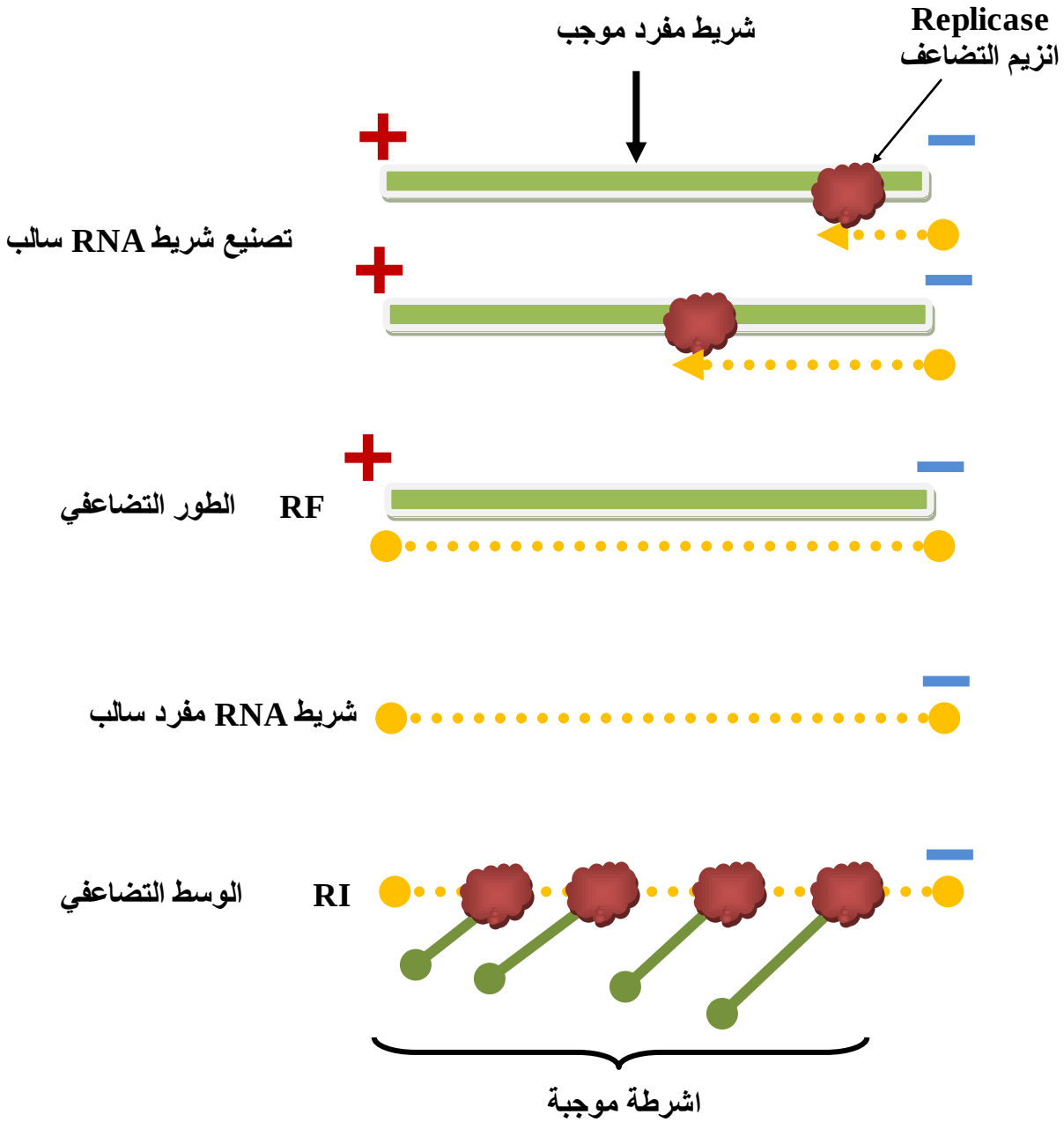
replicative intermediate (RI) وهو عبارة عن شريط RNA مزدوج يتكون نتيجة تصنيع عدة نسخ من الشريط الموجب باستخدام الشريط السالب كقالب.

4. تتضمن عملية التضاعف في فايروسات ذات جينوم RNA موجب الشريط وجود انزيم التضاعف replicase الذي يؤدي الوظائف الانزيمية الاتية:

أ. RNA-dependent RNA polymerase: يقوم بتصنيع شريط RNA باستخدام شريط RNA كقالب.

ب. Helicase: يقوم بفصل اشرطة RNA المزدوجة بعد اكتمال نسخها من الاشرطة الاصلية لانتاج اشرطة مفردة علاوة على ازالة التركيب الثانوي ل RNA القالب للبدء بتصنيع الشريط الجديد.

ج. Methyl transferase: تصنيع القلنسوة Cap في الطرف `5.

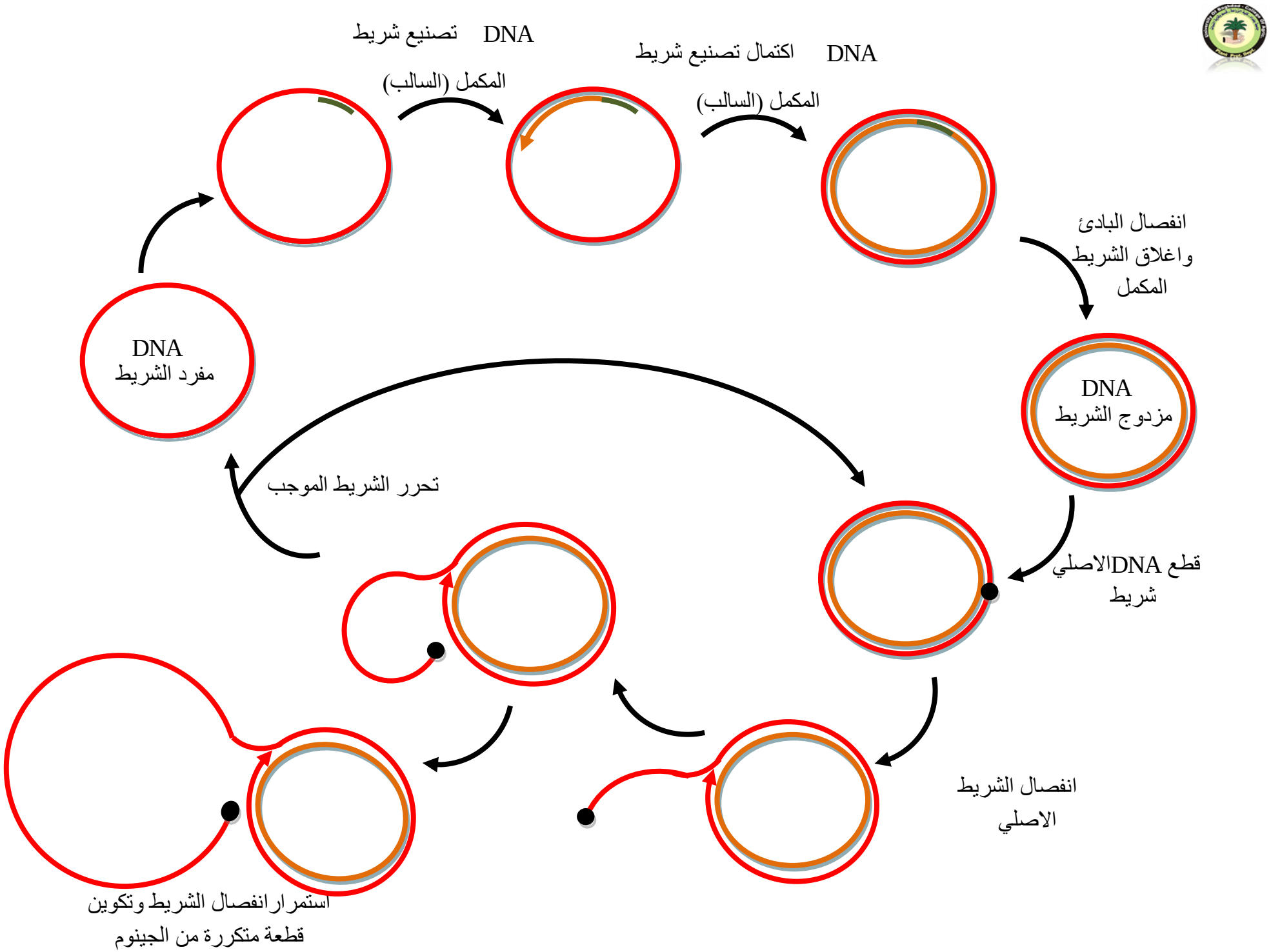


تضاعف الفايروسات ذوات شريط DNA المفرد الموجب +ve ssDNA

مثال عليها مجموعة الفايروسات التوأمية Geminiviruses والتي تتضاعف بالية العجلة الدوارة rolling circle وتتضمن دورة التضاعف الخطوات الاتية:

1. في الطور الاول يتم تصنيع شريط DNA سالب من الشريط DNA الاصلي لتكوين الطور التضاعفي (RE).
2. يؤدي الطور التضاعفي وظيفتين الاولى يعمل كقالب استنساخ اشرطة DNA موجبة اخرى وقالب لغرض تصنيع شريط DNA غير مرتبط لاعادة دورة التضاعف.
3. تتضمن دورة التضاعف تصنيع قطعة RNA صغيرة مؤلفة من عدد قليل من النيوكليوتيدات تعمل كبادئ لتصنيع شريط DNA ويتم تصنيعها بوساطة انزيم تصنيع البادئ DNA primase او يسمى انزيم تصنيع RNA RNA polymerase والذي يقوم يتصنيع شريط RNA باستخدام شريط DNA كقالب.
4. تتضمن عملية التضاعف في فايروسات ذات جينوم DNA موجب الشريط وجود بروتين التضاعف replication protein ويختصر REP والذي يؤدي الوظائف الاتية:

أ. توجيه الحامض النووي الفايروسي لاتخاذ الموقع الملائم داخل نواة الخلية.
ب. يحتوي على مواقع متخصصة للتعرف على DNA.
ج. يحتوي على مواقع متخصصة تقوم بوظائف انزيمية مثل تقطيع او تجزئة DNA endonuclease و لصق وربط DNA موجب الشريط.
د. يقوم بوظائف انزيمي ATPase و GTPase لتحويل ATP و GTP الى ADP و GDP وانتاج طاقة.
ه. يقوم بتشغيل محفز الجين لتصنيع الغلاف البروتيني.
و. يتفاعل مع البروتينات المانعة للاورام للسيطرة على انقسام الخلايا.
ز. ايقاف وتشغيل الجينات في الفايروس والنبات.


تصنيع شريط DNA
المكمل (السالب)
اكتمال تصنيع شريط DNA
المكمل (السالب)
انفصال البادئ
واغلاق الشريط
المكمل
DNA
مفرد الشريط
DNA
مزدوج الشريط
تحرر الشريط الموجب
قطع DNAالاصلي
شريط
انفصال الشريط
الاصلي
استمرار انفصال الشريط وتكوين
قطعة متكررة من الجينوم