

9. Ιοί

Οι ιοί υπάρχουν παντού στον κόσμο και μολύνουν όλα τα είδη ζωής, από τους ανθρώπους και τα ζώα μέχρι τα φυτά και τους πιο απλούς οργανισμούς. Η παρουσία τους είναι τόσο παλιά όσο και η ίδια η ζωή στη Γη, όμως για πολλούς αιώνες οι άνθρωποι αγνοούσαν την ύπαρξή τους, επειδή δεν μπορούσαν να τους δουν ούτε να τους εξηγήσουν. Ο πρώτος ιός ανακαλύφθηκε στα τέλη του 19ου αιώνα, όταν ο Ρώσος ερευνητής Dmitri Ivanovsky μελετούσε μια ασθένεια που προσέβαλλε τα φυτά καπνού, γνωστή ως μωσαϊκή ασθένεια του καπνού. Παρατήρησε ότι όταν ο χυμός από άρρωστα φυτά περνούσε μέσα από φίλτρα που συγκρατούσαν όλα τα γνωστά μικρόβια της εποχής, η ασθένεια συνέχιζε να μεταδίδεται στα υγιή φυτά. Αυτό σήμαινε ότι υπήρχε κάτι πολύ μικρότερο και διαφορετικό από οτιδήποτε είχε βρεθεί μέχρι τότε. Αν και αρχικά δεν μπορούσε να εξηγήσει τι ακριβώς ήταν, η ανακάλυψή του άνοιξε τον δρόμο για να καταλάβουμε ότι υπήρχε μια εντελώς νέα κατηγορία «αόρατων» παραγόντων που προκαλούν ασθένειες.

9.1 Δομή ιϊκών σωματιδίων

Όλοι οι ιοί υφίστανται εκτός του κυττάρου σε μία μορφή αδρανής αλλά παράλληλα μολυσματική. Αυτή η μορφή ονομάζεται **ιόσωμα** ή **βίριο**. Η αρχιτεκτονική του ιόσωματιδίου είναι μια δομή με προσεκτικά ρυθμισμένη σταθερότητα που προστατεύει το γονιδίωμα του ιού στο περιβάλλον, αλλά και αρκετά εύθραυστη ώστε να αποσυναρμολογείται στο σωστό κυτταρικό διαμέρισμα για να ξεκινήσει ο κύκλος αναπαραγωγής. Το εξωτερικό περίβλημα αποτελείται από το **καψίδιο**, που είναι ένα πρωτεϊνικό κέλυφος οργανωμένο σε επαναλαμβανόμενες μονάδες, τα **καψομερίδια**. Το κάθε καψομερίδιο αποτελείται από μία ή περισσότερες πρωτεϊνικές υπομονάδες. Τα καψομερίδια διατάσσονται έτσι ώστε να καλύπτουν όλο το γονιδίωμα (DNA ή RNA) και σε συνδυασμό με αυτό έχουμε το **νουκλεοκαψίδιο**. Σε πολλούς ιούς το καψίδιο περιβάλλεται από έναν **λυτοπρωτεϊνικό φάκελο** που αποκτάται από μεμβράνες του ξενιστή και φέρει ενσωματωμένες **ϊικές γλυκοπρωτεΐνες** (ακίδες). Στον ενδιάμεσο χώρο μεταξύ της μεμβράνης και του καψιδίου, συναντάμε συχνά ένα πρωτεϊνικό στρώμα την **μήτρα** που γεφυρώνει το νουκλεοκαψίδιο με τον φάκελο και οργανώνει την εκβλάστηση από τη μεμβράνη των νέων ιοσωμάτων.

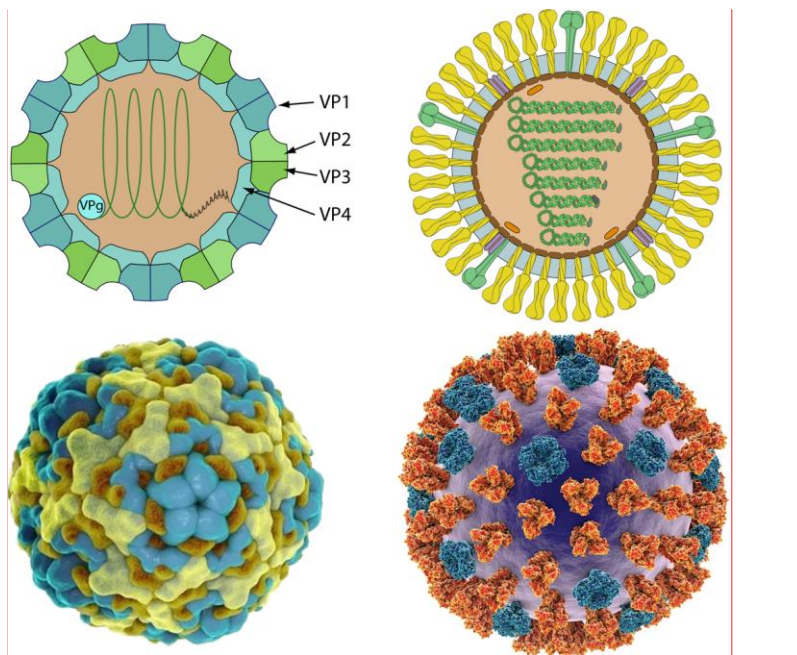
Δύο είναι τα βασικά μοτίβα δόμησης των καψιδίων στους ιούς:

- **Ελικοειδής συμμετρία** : το RNA ή το DNA ντύνεται με ένα πρωτεϊνικό κομπολόι, σχηματίζοντας **νουκλεοκαψίδιο** με δομή ράβδου/νήματος. Κλασικό παράδειγμα τα ραβδόμορφα ιόσωματιδια των ραβδοϊών (π.χ. ιός της λύσσας) όπου ένα εσωτερικό ελικοειδές νουκλεοκαψίδιο περιβάλλεται από φάκελο με γλυκοπρωτεΐνες.
- **Εικοσαεδρική συμμετρία**: η πιο αποδοτική λύση για μία κλειστή κάψα μεγάλης σταθερότητας. Ένα εικοσάεδρο έχει 20 τριγωνικές επιφάνειες. Από εξελικτικής άποψης, η εικοσαεδρική λύση έχει προτιμηθεί ως η ελάχιστη που μπορεί να προστατέψει αποτελεσματικά ένα ιικό γονιδίωμα, ενώ ένα εικοσάεδρο σχηματίζουν και αρκετές μη-ϊικές πρωτεΐνες ως απόδειξη της ιδιαίτερης σταθερότητας της δομής του. Κλασικό παράδειγμα τα εικοσαεδρικά ιόσωματιδια των εντεροϊών (π.χ. ο ιός της πολιομυελίτιδας)

Η ελικοειδής και η εικοσαεδρική αρχιτεκτονική είναι ιδιαίτερα επιτυχημένες στους ιούς καθώς επιτρέπουν τη δημιουργία μεγάλων σωματιδίων με μία ή λίγες επαναλαμβανόμενες καψιδιακές πρωτεΐνες. Αυτό επιτρέπει τη δημιουργία ενός καψιδίου με ένα ή και λίγα γονίδια εξοικονομώντας χώρο στο μικρό γονιδίωμα των ιών.

Ο **φάκελος** προέρχεται από κυτταρικές μεμβράνες είτε από την κυτταρική μεμβράνη είτε από εσωτερικές μεμβράνες όπως του ενδοπλασματικού δικτύου και του Golgi. Ο φάκελος ενσωματώνει ιικές γλυκοπρωτεΐνες που μεσολαβούν στην **πρόσδεση** των ιών στους υποδοχείς, ενώ συχνά περιέχει και μεμβρανικές πρωτεΐνες του ξενιστή. Η λιπιδική φύση του τον καθιστά ευαίσθητο σε απορρυπαντικά, διαλύτες και αφυδάτωση· γι' αυτό οι **μεμβρανικοί** ιοί συχνά απαιτούν σταγονίδια για τη μετάδοσή τους η οποία πρέπει να είναι σε μικρή απόσταση. Αντιθέτως, οι **γυμνοί** ιοί, όπως λέγονται αυτοί που στερούνται φακέλου, διαθέτουν καψίδια ανθεκτικά στην αφυδάτωση και σε μεταβολές της θερμοκρασίας και του pH, με συνέπειες στη σταθερότητα στο περιβάλλον και στην οδό μετάδοσης (π.χ. κοπρανοστοματική¹). Οι ακίδες του φακέλου είναι **αντιγονικά ισχυρές** και αποτελούν κεντρικούς στόχους **εξουδετερωτικών αντισωμάτων** και **εμβολίων**. Εξουδετερωτικά είναι τα αντισώματα που αναστέλλουν την μόλυνση αλληλοεπιδρώντας με την εξωτερική επιφάνεια ενός ιού.

Τα ισώματα είναι μεταβολικά μη ενεργές μορφές των ιών, ωστόσο κάποιοι ιοί διαθέτουν ένζυμο τα οποία τις περισσότερες φορές είναι ενεργά όταν το ιόσωμα μπει μέσα στο κύτταρο ξενιστή. Για παράδειγμα κάποια γονιδιώματα **δεν μπορούν** να γίνουν αμέσως mRNA μετά την είσοδο. Αυτοί οι ιοί **πακετάρουν πολυμεράσες** μέσα στο βίριο, ώστε να ξεκινήσει η αντιγραφή/μεταγραφή χωρίς να εξαρτώνται από το κύτταρο για ένα ένζυμο που αυτό δεν διαθέτει.



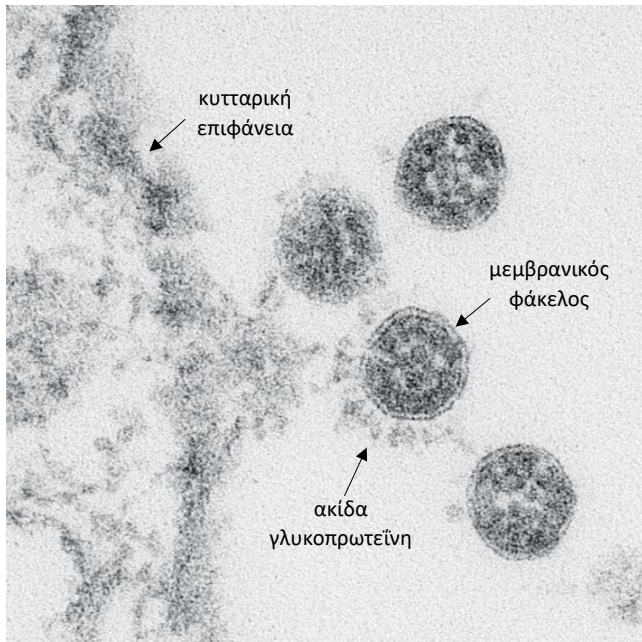
Με σχόλια [IK1]: Viral zone

<https://www.news-medical.net/life-sciences/Enterovirus-71-Structure.aspx>

<https://cen.acs.org/biological-chemistry/infectious-disease/Tracking-individual-flu-viruses-reveals/97/web/2019/02>

¹ Η κοπρανοστοματική οδός είναι ο τρόπος μετάδοσης ασθενειών, όπως η ηπατίτιδα Α και Ε, κατά τον οποίο μολυσμένα κόπρανα ενός ατόμου εισέρχονται στο στόμα άλλου ατόμου, οδηγώντας στη μόλυνση. Αυτό συμβαίνει συνηθέστερα λόγω κακής υγιεινής, όπως το ακατάλληλο πλύσιμο των χεριών μετά την τουαλέτα, και μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων τροφίμων, νερού ή της επαφής με μολυσμένες επιφάνειες

Εικόνα 9.X Παραδείγματα ιοσωμάτων ευκαρυωτικών ιών. Στα αριστερά (πάνω και κάτω) απεικονίζεται το εικοσαεδρικό ιόσωμα ενός εντεροϊού με γονιδίωμα RNA το οποίο περιβάλλεται από ένα καψίδιο που αποτελείται από 4 πρωτεΐνες (VP1-4). Στα δεξιά (πάνω και κάτω) απεικονίζεται το ιόσωμα του ιού της γρίπης Α με γονιδίωμα RNA σε τμήματα. Το κάθε τμήμα περιβάλλεται από πρωτεΐνες με ελικοειδή συμμετρία. Το ιόσωμα περιβάλλεται από λιποπρωτεϊνικό φάκελο με τις γλυκοπρωτεΐνες να εξέχουν στο εξωτερικό του.

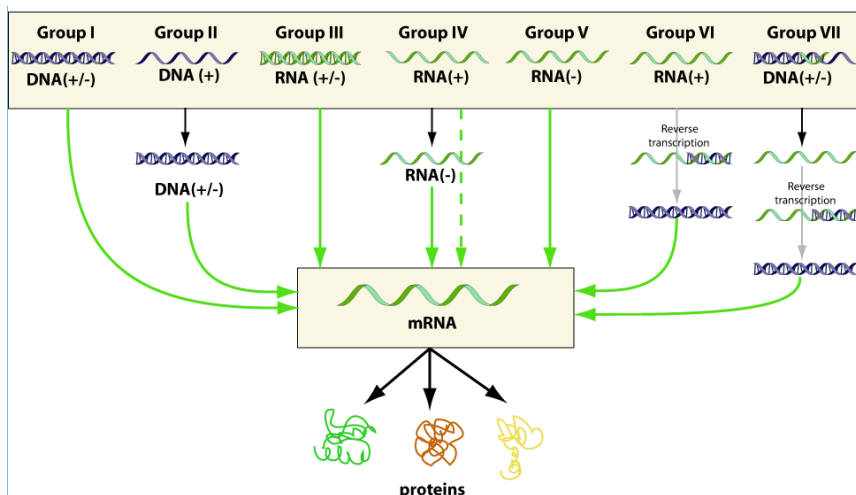


Εικόνα 9.X Ηλεκτρονική μικρογραφία διέλευσης τεσσάρων σωματιδίων του SARS-CoV-2. Τα ιικά σωματίδια απεικονίζονται σε στενή εγγύτητα με την επιφάνεια του κυττάρου, η οποία είναι ορατή στο αριστερό τμήμα της εικόνας. Είναι εμφανής ο ιικός μεμβρανικός φάκελος και οι γλυκοπρωτεΐνες (ακίδες) στην επιφάνεια των ιοσωμάτων.

Με σχόλια [IK2]: <https://www.nature.com/articles/s41597-024-04182-3>

9.2 Ιικά γονιδιώματα

Μέσα στο καψίδιο βρίσκεται το γενετικό υλικό του ιού. Η αρχική διάκριση σε DNA και RNA δεν ήταν ικανή να διαχωρίσει τους ιούς σε ομάδες, καθώς η πολυπλοκότητα και η ποικιλία τους ξεπερνάει αυτόν το απλοϊκό διαχωρισμό. Ο τρόπος αντιγραφής και έκφρασης της γενετικής πληροφορίας οδήγησε τον David Baltimore οργανώσει τους ιούς με βάση τον τρόπο με τον οποίο προκύπτει το **mRNA**. Η διαχείριση της γενετικής πληροφορίας μέχρι αυτή να δώσει το mRNA αποτελεί πια τη θεμελιώδη κατηγοριοποίηση των ιών σε 7 ομάδες.



Εικόνα 9.X Ταξινόμηση κατά Baltimore ιών με βάση τη στρατηγική παραγωγής mRNA. Το σχήμα απεικονίζει την ταξινόμηση των ιών σε επτά ομάδες με βάση τον τύπο του γονιδιώματός τους (DNA ή RNA, μονόκλωνο ή δίκλωνο, θετικής ή αρνητικής πολικότητας) και τη στρατηγική παραγωγής mRNA. Κάθε ομάδα ακολουθεί διαφορετική πορεία για τη σύνθεση mRNA, το οποίο αποτελεί το κοινό ενδιάμεσο μόριο για τη μετάφραση όλων των ιικών πρωτεϊνών. Οι ομάδες I και II περιλαμβάνουν DNA ιούς, οι ομάδες III, IV και V RNA ιούς, η ομάδα VI RNA ιούς με αντίστροφη μεταγραφική και η ομάδα VII DNA ιούς με ενδιάμεσο στάδιο RNA. Τα πράσινα βέλη δείχνουν τις επιμέρους οδούς που συγκλίνουν στην παραγωγή mRNA.

Πίνακας 9.1 Κατηγορίες ιών κατά Baltimore

Κλάση	Τύπος Γονιδιώματος	Τόπος Μεταγραφής / Αντιγραφής	Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά	Παραδείγματα Οικογενειών / Ιών
I	dsDNA (δίκλωνο DNA)	Πυρήνας <i>Εξάιρεση: Poxviridae – στο κυτταρόπλασμα</i>	Κλασική ροή DNA → RNA → Πρωτεΐνη	<i>Adenoviridae, Herpesviridae, Polyomaviridae, Papillomaviridae, Poxviridae</i>
II	ssDNA (μονόκλωνο DNA)	Πυρήνας	Πολύ μικρά γονιδιώματα, εκτεταμένο μάτισμα του mRNA	<i>Parvoviridae, Circoviridae, Anelloviridae</i>
III	dsRNA (δίκλωνο RNA)	Κυτταρόπλασμα	Απαιτείται ιική πολυμεράση στο ιόσωμα	<i>Reoviridae (Rotavirus), Birnaviridae</i>

The sevenfold way

The Baltimore classification of virus

Group one

Double-stranded DNA
Path to protein product transcribed from DNA



Group two

Single-stranded DNA
Viral genes transcribed



Group three

Double-stranded RNA
Viral genes transcribed



Group four

Single-stranded RNA
Viral genome acts as mRNA



Group five

Single-stranded RNA
Viral genes transcribed



Group six

Single-stranded RNA
Viral genes transcribed then from DNA into mRNA



Group seven

Double-stranded DNA
Viral genes transcribed back into DNA, then into mRNA



IV	(+)ssRNA (θετικής πολικότητας RNA)	Κυτταρόπλασμα	Το γονιδίωμα λειτουργεί άμεσα ως mRNA, παραγωγή πολυπρωτεϊνών	<i>Picornaviridae</i> , <i>Flaviviridae</i> , <i>Togaviridae</i> , <i>Coronaviridae</i>
V	(-)ssRNA (αρνητικής πολικότητας RNA)	Κυτταρόπλασμα	Αντίστροφο και συμπληρωματικό του mRNA σε ένα ή περισσότερα τμήματα, το ιόσωμα περιέχει πολυμεράση	<i>Paramyxoviridae</i> , <i>Rhabdoviridae</i> , <i>Orthomyxoviridae</i> , <i>Filoviridae</i>
VI	ssRNA-RT (+)RNA με RT)	Κυτταρόπλασμα και πυρήνας (προϊός)	Το RNA δεν λειτουργεί ως mRNA, απαιτείται αντίστροφη μεταγραφάση	<i>Retroviridae</i>
VII	dsDNA-RT (μερικώς δίκλωνο DNA)	Κυτταρόπλασμα και πυρήνας (cccDNA)	Αντίστροφη μεταγραφή όψιμα στον κύκλο ζωής με RNA ενδιάμεσο	<i>Hepadnaviridae</i>

Στην **Κλάση I**, οι ιοί διαθέτουν **δίκλωνο DNA (dsDNA)**, μια μορφή γονιδιώματος που προσομοιάζει λειτουργικά το ευκαρυωτικό DNA. Η μεταγραφή πραγματοποιείται στον πυρήνα, με μοναδική εξαίρεση την οικογένεια *Poxviridae*, που φέρει όλα τα απαραίτητα ένζυμα ώστε να ολοκληρώνει τις διεργασίες στο κυτταρόπλασμα. Το γονιδίωμα οργανώνεται συνήθως σε πολλά γονίδια με κλασική ροή πληροφορίας **DNA → RNA → πρωτεΐνη**, και συχνά είναι μεγάλο και δομικά πολύπλοκο. Τυπικές οικογένειες περιλαμβάνουν *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Polyomaviridae*, *Papillomaviridae* και *Poxviridae*. Η **Κλάση II** περιλαμβάνει ιούς με **μονόκλωνο DNA (ssDNA)**, οι οποίοι φέρουν εξαιρετικά μικρά γονιδιώματα, συχνά με εκτεταμένο μάτισμα των μεταγράφων ώστε να μεγιστοποιείται η ποικιλία στην απόδοση της γενετικής πληροφορίας. Η μεταγραφή γίνεται στον πυρήνα και οι οικογένειες *Parvoviridae*, *Circoviridae* και *Anelloviridae* αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα. Η **Κλάση III** αφορά ιούς με **δίκλωνο RNA (dsRNA)**. Το γονιδιόμα τους δεν μπορεί να μεταφραστεί άμεσα με αποτέλεσμα το ιόσωμα να φέρει υποχρεωτικά δική του RNA πολυμεράση. Η μεταγραφή πραγματοποιείται στο κυτταρόπλασμα, με κλασικούς εκπροσώπους τους *Reoviridae* (όπως ο Rotavirus) και *Birnaviridae*. Στην **Κλάση IV** συναντώνται οι **μονόκλωνοι θετικής πολικότητας RNA ιοί**, των οποίων το RNA λειτουργεί άμεσα ως mRNA. Η θετική πολικότητα δεν αφορά σε κάποια φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του RNA αλλά αφορά στον ορισμό του θετικής πολικότητας κλώνου ως αυτού που περιέχει την κωδική αλληλουχία των πρωτεϊνών. Όλα τα στάδια αντιγραφής των μονόκλωνων θετικής πολικότητας RNA ιών λαμβάνουν χώρα στο κυτταρόπλασμα. Ενδεικτικές οικογένειες είναι οι *Picornaviridae*, *Flaviviridae*, *Togaviridae* και *Coronaviridae*. Η **Κλάση V** αντιπροσωπεύει τους **μονόκλωνους αρνητικής πολικότητας RNA ιούς**, στους οποίους το RNA είναι αντισυμπληρωματικό με το mRNA και δεν είναι άμεσα μεταφράσιμο. έτσι το ιόσωμα πρέπει να περιέχει δική του πολυμεράση. Το γονιδίωμα μπορεί να είναι τμηματοποιημένο ή μη, δηλαδή να αποτελείται από ένα ή περισσότερα μόρια RNA που εκφράζουν διαφορετικές πρωτεΐνες του ιού. Η αντιγραφή τους γίνεται στο κυτταρόπλασμα με εξαίρεση τους ιούς της γρίπης που η αντιγραφή τους γίνεται εξολοκλήρου στον πυρήνα (*Orthomyxoviridae*). Παραδείγματα αποτελούν οι *Paramyxoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Orthomyxoviridae* και *Filoviridae*. Η **Κλάση VI** περιλαμβάνει ιούς με

μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας μέσω ενδιάμεσου DNA (ssRNA-RT). Το RNA τους, παρότι θετικής πολικότητας, δεν λειτουργεί ως mRNA, καθώς πρώτα υφίσταται αντίστροφη μεταγραφή προς cDNA και στη συνέχεια ενσωματώνεται στον πυρήνα. Χαρακτηριστικοί ιοί αυτής της ομάδας είναι οι *Retroviridae*. Τέλος, η **Κλάση VII** περιλαμβάνει ιούς με **μερικώς δίκλωνο DNA μέσω ενδιάμεσου RNA (dsDNA-RT)**, οι οποίοι γίνονται πλήρως δίκλωνοι μέσα στον πυρήνα, ενώ η αντιγραφή ολοκληρώνεται στο κυτταρόπλασμα με τη βοήθεια ενός ενδιάμεσου RNA. Η μόνη οικογένεια που αντιπροσωπεύει αυτή την ομάδα είναι οι *Hepadnaviridae*.

Οι στρατηγικές αντιγραφής και γονιδιακής έκφρασης της κάθε κλάσης θα αναλυθούν αργότερα σε αυτό το Κεφάλαιο.

9.3 Ιϊκοί υποδοχείς

Η δυνατότητα ενός ιού να μολύνει ένα είδος κυττάρου ή ένα είδος οργανισμού καθορίζεται πρωτίστως από την παρουσία, την πυκνότητα και τη βιοχημική κατάσταση των **κυτταρικών υποδοχέων** στην επιφάνεια των κυττάρων στόχων. Η δυνατότητα αυτή που ονομάζεται τροπισμός, είναι καθοριστική για την παθογένεια του ιού. Η πρόσδεση του ιού στο κύτταρο σπάνια είναι ένα απλό γεγονός εφαρμογής «κλειδιού-κλειδαριάς». Αντιθέτως, στις περισσότερες περιπτώσεις είναι μια πολυβηματική διαδικασία αναγνώρισης και ενεργοποίησης, που σε αρκετές περιπτώσεις μπορεί να χρειαστεί και άλλους υποδοχείς ή συμπαραγοντες, όπως είναι οι **συνυποδοχείς**. Η φύση του υποδοχέα είναι συνήθως γλυκοπρωτεϊνικής σύστασης, δηλαδή συνήθως αποτελεί μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη. Ωστόσο υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες ο υποδοχέας είναι μόνο ένα σάκχαρο ή κάποιο γλυκολιπίδιο.

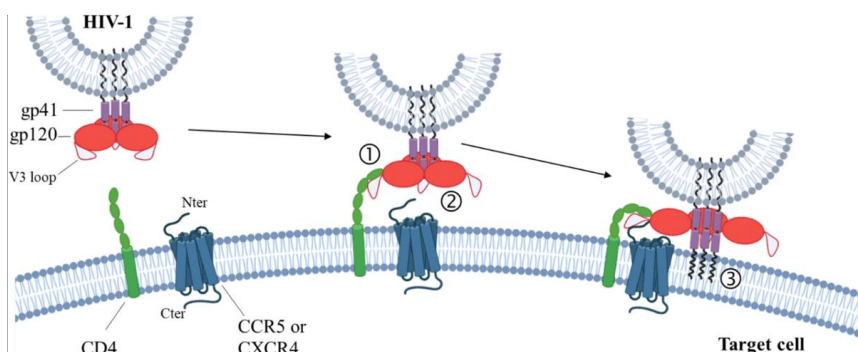
Για παράδειγμα, στον ιό της γρίπης, η πρόσδεση βασίζεται κυρίως στην αναγνώριση σιαλικών οξέων². Οι αδενοϊοί αποτελούν ένα από τα κλασικότερα παραδείγματα «δι-υποδοχικού» μηχανισμού εισόδου. Η πρωτεΐνη fiber του ιοσώματος των αδενοϊών αναγνωρίζει μόρια όπως το CAR (Coxsackie adenovirus receptor) επιτρέποντας μια χαλαρή πρόσδεση στο κύτταρο, ενώ ακολουθεί δεύτερη αλληλεπίδραση με ιντεγκρίνες με τις οποίες και ολοκληρώνεται η πρόσδεση. Στον HIV, η πολυπλοκότητα είναι ακόμη πιο έντονη. Ο πρωτεύων υποδοχέας είναι το μόριο CD4, αλλά αυτό δεν αρκεί για τη μόλυνση. Απαιτείται επιπλέον ένας συνυποδοχέας χημειοκίνης, συνήθως ο CCR5 ή ο CXCR4. Η κατανομή αυτών των συνυποδοχέων στα T-λεμφοκύτταρα, στα μακροφάγα και στα δενδριτικά κύτταρα καθορίζει όχι μόνο τον ιστικό τροπισμό αλλά και τη φυσική πορεία της νόσου. Ενδεικτικά, άτομα ομόζυγα για τη μετάλλαξη CCR5Δ32³ εμφανίζουν σημαντική αντίσταση σε στελέχη HIV που χρησιμοποιούν τον CCR5, αποδεικνύοντας ότι ένας και μόνο υποδοχέας ή συνυποδοχέας μπορεί να είναι δεσπόζων παράγοντας παθογένειας (**Εικόνα 9.Χ**)

Οι υποδοχείς που χρησιμοποιούν οι ιοί για την είσοδό τους στα κύτταρα δεν αποτελούν εξειδικευμένες δομές που έχουν εξελιχθεί για την εξυπηρέτηση των ιών, αλλά κυτταρικά βιομόρια με σαφώς καθορισμένες φυσιολογικές λειτουργίες. Οι υποδοχείς των ιών για

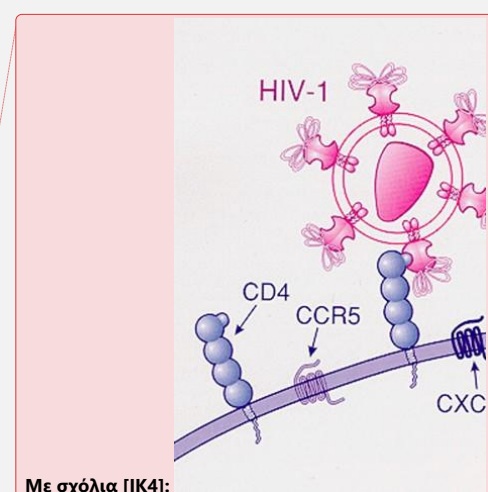
² Τα σιαλικά οξέα είναι μια ομάδα σακχάρων με εννέα άτομα άνθρακα που παίζουν κρίσιμους ρόλους σε κυτταρικές λειτουργίες, όπως η κυτταρική επικοινωνία, η κυτταρική προσκόλληση και οι ανοσολογικές αποκρίσεις.

³ Η μετάλλαξη CCR5Δ32 αποτελεί διαγραφή 32 βάσεων DNA που προκαλεί μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης, με αποτέλεσμα να αλλάζει όλη η αλληλουχία των αμινοξέων μετά το σημείο της μετάλλαξης και η πρωτεΐνη να κόβεται πρόωρα και να είναι μη λειτουργική.

παράδειγμα μπορεί να συμμετέχουν σε θεμελιώδεις κυτταρικές διεργασίες, όπως η κυτταρική επικοινωνία, η προσκόλληση μεταξύ κυττάρων, η μεταφορά μορίων μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, η ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης και η μεταγωγή σημάτων. Οι ιοί, μέσω εξελικτικών μηχανισμών και φυσικής επιλογής, έχουν προσαρμοστεί ώστε να αναγνωρίζουν και να δεσμεύονται σε αυτές τις προϋπάρχουσες κυτταρικές δομές, εκμεταλλευόμενοι τις φυσιολογικές τους ιδιότητες για την προσκόλληση και τη διείσδυσή τους στο κύτταρο-ξενιστή. Ο SARS-CoV-2 χρησιμοποιεί τον υποδοχέα ACE2, που κανονικά ρυθμίζει την αρτηριακή πίεση, ο HIV χρησιμοποιεί τον CD4, που είναι βασικός στην ανοσιακή απάντηση, ενώ ο ιός της λύσσας χρησιμοποιεί υποδοχείς νευροδιαβίβασης. Η κατανομή των υποδοχέων, και των άλλων συστατικών τους, υπαγορεύει στον ιό τον τροπισμό του και οδηγεί στην αντίστοιχη παθογένεια του συστήματος το οποίο μολύνθηκε (Πίνακας 9.2)



Εικόνα 9.X Ο μηχανισμός εισόδου του HIV-1 σε κύτταρο-στόχο. Αρχικά, η γλυκοπρωτεΐνη gp120 του φακέλου του ιού συνδέεται ειδικά με τον υποδοχέα CD4 στην επιφάνεια του κυττάρου. Η σύνδεση αυτή προκαλεί διαμόρφωση της gp120, η οποία επιτρέπει την αλληλεπίδρασή της με έναν από τους συνυποδοχείς, είτε τον CCR5 είτε τον CXCR4. Στη συνέχεια, ενεργοποιείται η gp41, η οποία εκτείνει το υδρόφοβο τμήμα της προς τη μεμβράνη του κυττάρου-στόχου και μεσολαβεί στη σύντηξη της ιικής με την κυτταρική μεμβράνη. Ως αποτέλεσμα της σύντηξης, το ιικό καψίδιο εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα, επιτρέποντας την απελευθέρωση του γενετικού υλικού του ιού και την έναρξη του κύκλου μόλυνσης.



Με σχόλια ΠΙΚ41:

Πίνακας 9.2 Παραδείγματα ιών του ανθρώπου με τους υποδοχείς τους, τον τροπισμό και την παθολογία τους.

Ιός	Κύριος υποδοχέας	κυτταρικός στόχος	Κύρια νόσος / νόσοι
Ιός του σοβαρού οξέος αναπνευστικού συνδρόμου τύπου 2 (SARS-CoV-2)	Υποδοχέας μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2)	Αναπνευστικό επιθήλιο, έντερο, ενδοθήλιο, καρδιά, νεφροί	Νόσος COVID-19
Ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV1)	CD4 και CCR5 / CXCR4	CD4 ⁺ Τ-λεμφοκύτταρα, μακροφάγα	Σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας
Ιός της γρίπης τύπου Α	Σιαλικό οξύ	Επιθήλιο αναπνευστικού	Γρίπη
Ιός της ηπατίτιδας Β (HBV)	Μεταφορέας χολικών αλάτων NTCP	Ηπατοκύτταρα	Οξεία και χρόνια ηπατίτιδα, κίρρωση,

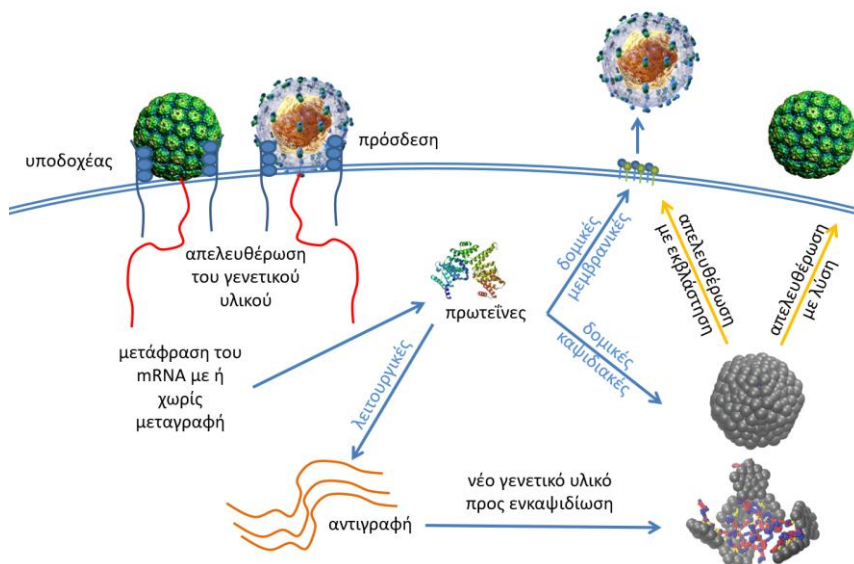
			ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα
Ιός της ηπατίτιδας C (HCV)	CD81, SR-BI, κλοντίνη 1, σκλουντίνη	Ηπατοκύτταρα	Ηπατίτιδα, κίρρωση, καρκίνος ήπατος
Ιός της λύσσας	Υποδοχέας ακετυλοχολίνης, NCAM	Νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος	Λύσσα
Ιός Epstein-Barr (EBV)	CD21 (CR2, μόριο ενεργοποίησης των B- λεμφοκυττάρων)	B-λεμφοκύτταρα	Λοιμώδης μονοπυρήνωση, λέμφωμα Burkitt
Αδενοϊοί του ανθρώπου	CAR και ιντεγκρίνες (μόρια προσκόλλησης μεταξύ κυττάρων και με την εξωκυττάρια μήτρα)	Αναπνευστικό, οφθαλμοί, έντερο	Φαρυγγίτιδα, επιπεφυκίτιδα, γαστρεντερίτιδα
Ιός της πολιομυελίτιδας	CD155 (μόριο προσκόλλησης μεταξύ κυττάρων)	Νευρικό σύστημα, έντερο	Πολιομυελίτιδα
Ιός απλού έρπητα τύπου 1 (HSV-1)	Nectin-1, HVEM	Επιθήλιο και νευρώνες	Στοματικός και γεννητικός έρπης, εγκεφαλίτιδα
Ιός ανθρώπινων θήλων (HPV)	Heparan sulfate proteoglycans	Δέρμα και βλεννογόνοι	Κονδυλώματα, καρκίνος τραχήλου μήτρας
Ιός του δάγκειου πυρετού	DC-SIGN (μόριο αναγνώρισης κυττάρων και παθογόνων)	Μονοκύτταρα, ενδοθήλιο	Δάγκειος πυρετός, αιμορραγικός δάγκειος πυρετός
Ροταϊός	Γλυκοπρωτεΐνες εντέρου	Εντεροκύτταρα	Οξεία γαστρεντερίτιδα σε βρέφη

9.4 Ο κύκλος ζωής

Κάθε ιός πρέπει να περάσει από ένα σύνολο διαδοχικών σταδίων με τα οποία ένα ιικό σωματίδιο προσβάλλει ένα κύτταρο, αξιοποιεί τους κυτταρικούς μηχανισμούς και τελικά παράγει νέους μολυσματικούς απογόνους. Η κύκλος από τη μόλυνση μέχρι την παραγωγή νέων ιών ονομάζεται κύκλος ζωής ενός ιού. Παρότι οι ιοί διαφέρουν σημαντικά ως προς το γονιδίωμα, τη μορφολογία και τον τρόπο μετάδοσης, ο βασικός πυρήνας του κύκλου ζωής είναι κοινός: πρόσδεση, είσοδος, γονιδιακή έκφραση και αντιγραφή, συναρμολόγηση και έξοδος.

Η **πρόσδεση** αποτελεί το πρώτο βήμα κατά το οποίο ο ιός προσκολλάται σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης ή της επιφάνειας του κυττάρου μέσω πρωτεϊνών του καψιδίου ή του φακέλου του. Η πρόσδεση απαιτεί την αλληλεπίδραση του ιού με πολλαπλά αντίγραφα του ίδιου υποδοχέα μέχρι να δημιουργηθεί μια σταθερή πρόσδεση στην επιφάνεια του κυττάρου. Ακολουθεί η **είσοδος του ιού** στο κύτταρο, η οποία γίνεται συνήθως με τη βοήθεια ενδοκυττάρωσης η οποία οδηγεί σε εσωτερικοποίηση του ιοσώματος. Στους ιούς που διαθέτουν μεμβρανικό φάκελο ακολουθεί σύντηξη του ιϊκού φακέλου με την κυτταρική μεμβράνη ώστε να απελευθερωθεί το ιϊκό γενετικό υλικό στο κυτταρόπλασμα. Εναλλακτικά, στους γυμνούς ιούς, το ιϊκό καψίδιο αποσυναρμολογείται έτσι απελευθερώνεται το γενετικό υλικό. Το καψίδιο μπορεί να εισέλθει ακέραιο ή να αποδομηθεί σταδιακά αμέσως μετά την είσοδο. Στόχος του ιού σε αυτό το στάδιο είναι να μεταφέρει το γονιδιώμα του στο εσωτερικό του κυττάρου. Όταν το ιϊκό γονιδίωμα μπει στο κύτταρο αρχίζει η **έκφραση των ιικών γονιδίων** και η αντιγραφή του γονιδιώματος. Οι ιοί δεν διαθέτουν πλήρεις μηχανισμούς βιοσύνθεσης, συνεπώς χρησιμοποιούν τα ριβοσώματα, τα ένζυμα και τους ενεργειακούς πόρους του κυττάρου. Ωστόσο κάποιες ομάδες ιών είναι αναγκασμένες να φέρουν και δικά τους ένζυμα μέσα στο ιόσωμα όταν η γονιδιακή έκφραση δεν είναι επιτρεπτή από τη φύση του γενετικού τους υλικού. Κατά τη γονιδιακή έκφραση παράγονται

οι **δομικές πρωτεΐνες**, δηλαδή οι πρωτεΐνες που θα δώσουν τα νέα ιοσώματα, αλλά και **μη-δομικές** ή αλλιώς **λειτουργικές πρωτεΐνες** που θα χρησιμεύσουν ως παράγοντες του μηχανισμού αντιγραφής. Η **αντιγραφή** του ιϊκού γονιδιώματος πάντα ακολουθεί τη γονιδιακή έκφραση και οδηγεί στο σχηματισμό πολλών πανομοιότυπων αντιγράφων του αρχικού ιϊκού γονιδιώματος. Τα νέα ιικά γονιδιώματα συμμετέχουν στη συναρμολόγηση των νέων ιοσωμάτων μαζί με τις δομικές πρωτεΐνες, τα **νουκλεοκαψίδια**. Η διαδικασία εγκλεισμού του ιϊκού γονιδιώματος μέσα στο καψίδιο ονομάζεται **ενκαψιδίωση**. Τέλος, ο ιός βγαίνει από το κύτταρο είτε με **λύση του κυττάρου** όταν ο ιός δεν έχει μεμβρανικό φάκελο είτε με **εκβλάστηση**, παίρνοντας δηλαδή μέρος της μεμβράνης του κυττάρου, στους ιούς με μεμβρανικό φάκελο.

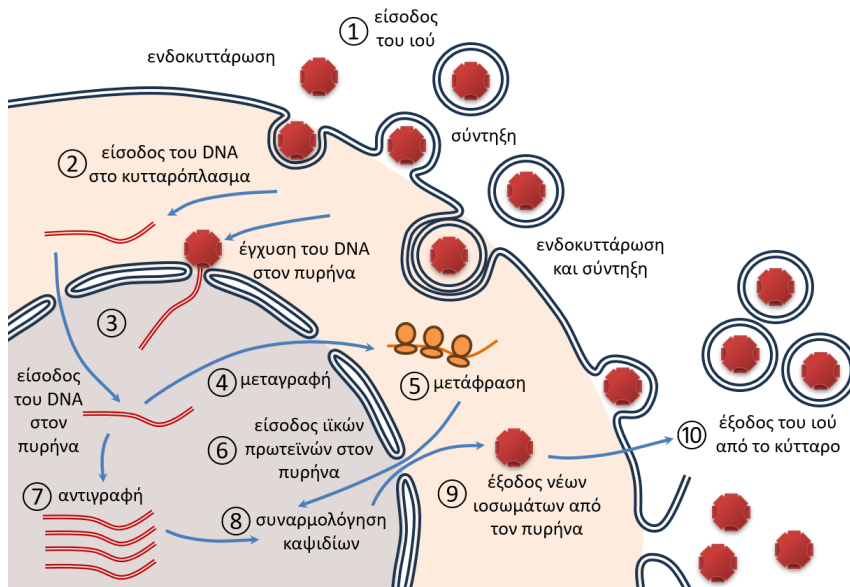


Εικόνα 9.Χ Γενικός κύκλος ζωής των ιών. Το ιόσωμα προσδένεται σε ειδικό υποδοχέα του κυττάρου-ξενιστή, εισέρχεται στο κύτταρο με αποτέλεσμα την απελευθέρωση του γενετικού του υλικού. Ακολουθεί η έκφραση των ιϊκών γονιδίων μετά από μετάφραση του RNA με ή χωρίς προηγούμενη μεταγραφή οδηγώντας στην παραγωγή λειτουργικών και δομικών πρωτεϊνών. Οι λειτουργικές πρωτεΐνες βοηθούν στην αντιγραφή του γενετικού υλικού και έτσι παράγονται τα νέα γονιδιώματα. Νέα γονιδιώματα εγκλείονται σε καψίδια κατά τη συναρμολόγηση και τα νέα ιοσώματα βγαίνουν από το κύτταρο με λύση ή εκβλάστηση, ολοκληρώνοντας τον κύκλο και επιτρέποντας τη μόλυνση νέων κυττάρων.

9.4 Ο κύκλος ζωής των DNA ιών

Οι ιοί που φέρουν γονιδίωμα **δίκλωνο DNA** αποτελούν μια ετερογενή ομάδα, αλλά ο κύκλος ζωής τους ακολουθεί έναν κοινό λειτουργικό κορμό, ο οποίος βασίζεται στη χρήση του DNA ως γενετικού υλικού και στη μεταγραφή του σε mRNA για την παραγωγή πρωτεϊνών. Οι

περισσότεροι DNA ιοί ολοκληρώνουν τον κύκλο ζωής τους στον πυρήνα του κυττάρου, καθώς εκεί βρίσκονται τα ένζυμα που απαιτούνται για τη μεταγραφή και την αντιγραφή του DNA, με χαρακτηριστική εξαίρεση ορισμένους μεγάλους ιούς που φέρουν δικά τους ένζυμα (ιοί της ευλογίας ή αλλιώς ιοί ροχ). Το πρώτο στάδιο είναι η πρόσδεση του ιού σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας. Μετά την πρόσδεση, ακολουθεί η είσοδος του ιού στο κύτταρο μέσω **ενδοκυττάρωσης ή σύντηξης** με την κυτταρική μεμβράνη, εάν ο ιός διαθέτει φάκελο. Συχνά ιοί με φάκελο μπορούν να ενδοκυτταρωθούν και η σύντηξη να συμβεί μεταξύ της μεμβράνης τους και της μεμβράνης του ενδοσώματος. Μόλις βρεθεί στο κυτταρόπλασμα, το καψίδιο υφίσταται αποσυναρμολόγηση και το **DNA απελευθερώνεται**. Στους περισσότερους DNA ιούς, το γονιδίωμα μεταφέρεται στη συνέχεια στον πυρήνα μέσω των πυρηνικών πόρων. Ωστόσο σε αρκετούς DNA ιούς το καψίδιο δεν αποσυναρμολογείται στο κυτταρόπλασμα αλλά συναντά τον **πυρηνικό πόρο** και εκεί εγχέει το DNA κατευθείαν μέσα στον πυρήνα. Στον πυρήνα αρχίζει η μεταγραφή των **πρώιμων γονιδίων** από την κυτταρική RNA πολυμεράση. Η έννοια πρώιμη και όψιμη πρωτεΐνη καθορίζεται από το χρονικό σημείο του κύκλου ζωής του ιού στο οποίο παράγεται. Οι πρώιμες πρωτεΐνες είναι κυρίως ρυθμιστικές και ενζυμικές και προετοιμάζουν το κύτταρο για την αποτελεσματική αντιγραφή του ιικού DNA, συχνά τροποποιώντας τον κυτταρικό κύκλο και καταστέλλοντας τις αμυντικές αντιδράσεις του ξενιστή. Αφού παραχθούν τα απαραίτητα ένζυμα, ξεκινά η αντιγραφή του ιικού DNA. Ορισμένοι DNA ιοί χρησιμοποιούν αποκλειστικά τις **κυτταρικές DNA πολυμεράσες**, ενώ άλλοι κωδικοποιούν δικές τους. Το γονιδίωμα αντιγράφεται μαζικά, δημιουργώντας πολλά νέα αντίγραφα για συσκευασία στα νέα ιικά σωματίδια. Στο επόμενο στάδιο εκφράζονται τα **όψιμα γονίδια**, τα οποία κωδικοποιούν κυρίως δομικές πρωτεΐνες του καψιδίου και του περιβλήματος. Οι πρωτεΐνες αυτές μεταφράζονται στο κυτταρόπλασμα και στη συνέχεια μεταφέρονται στον πυρήνα ή σε ειδικές περιοχές του κυττάρου στην περίπτωση των ροχ, όπου θα πραγματοποιηθεί η συναρμολόγηση των νέων ιοσωμάτων. Η συναρμολόγηση περιλαμβάνει τον σχηματισμό του καψιδίου και την εγκλεισμό του DNA στο εσωτερικό του, με τη μορφή του **νουκλεοκαψιδίου**. Το τελικό στάδιο είναι η απελευθέρωση των νέων ιών. Οι περισσότεροι DNA ιοί προκαλούν λύση του κυττάρου, οδηγώντας στον θάνατό του και στην ταυτόχρονη απελευθέρωση πολλών νέων ιοσωμάτων. Άλλοι απελευθερώνονται σταδιακά με εκβλάστηση, χωρίς άμεση καταστροφή του κυττάρου. Σε αυτούς του ιούς, ο φάκελος αποκτάται συνήθως κατά την έξοδο, όταν το καψίδιο εξέρχεται διαμέσου κυτταρικών μεμβρανών που περιέχουν ιικές γλυκοπρωτεΐνες. Οι γλυκοπρωτεΐνες αυτές έχουν τοποθετηθεί από τον ιό σε συγκεκριμένους σχηματισμούς της μεμβράνης στους οποίους και συμβαίνει η εκβλάστηση. Σε ορισμένους DNA ιούς παρατηρείται **λανθάνουσα κατάσταση**. Κατά τη λανθάνουσα κατάσταση το ιικό DNA παραμένει στον πυρήνα χωρίς ενεργή παραγωγή νέων ιών. Το γονιδίωμα που βρίσκεται σε λανθάνουσα φάση μπορεί να **ενεργοποιηθεί** αργότερα, συνήθως όταν οι συνθήκες, όπως για παράδειγμα η άρση της ανοσολογικής επιτήρησης, το επιτρέψουν.



Εικόνα 9.Χ Τα βήματα του κύκλου ζωής ενός δίκλωνου DNA ιού. (1) Ο ιός, μετά την πρόσδεση στον ειδικό υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης, εισέρχεται στο κύτταρο είτε μέσω άμεσης σύντηξης με την κυτταρική μεμβράνη είτε μέσω ενδοκυττάρωσης, ή σε ορισμένες περιπτώσεις με συνδυασμό των δύο μηχανισμών. Στη συνέχεια, (2) το ιικό DNA απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα έπειτα από αποσυναρμολόγηση του καψιδίου, διαδικασία που επιτρέπει στο γενετικό υλικό να καταστεί λειτουργικά διαθέσιμο. Ακολούθως, (3) το DNA μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου ή, σε ορισμένους ιούς, εγχέεται απευθείας στον πυρήνα από το καψίδιο μέσω των πυρηνικών πόρων. Εντός του πυρήνα, (4) πραγματοποιείται η μεταγραφή του ιικού DNA σε mRNA με τη δράση των ενζύμων του ξενιστή, τα οποία επιστρατεύονται από τον ιό για τη σύνθεση των απαραίτητων μορίων RNA. Τα παραγόμενα μόρια mRNA μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα, όπου (5) μεταφράζονται από τα ριβοσώματα, οδηγώντας στην παραγωγή των ιικών πρωτεϊνών. Στη συνέχεια, (6) οι νεοσυντιθέμενες ιικές πρωτεΐνες εισέρχονται εκ νέου στον πυρήνα, όπου συμμετέχουν στις επόμενες φάσεις του κύκλου ζωής. Παράλληλα, (7) λαμβάνει χώρα η αντιγραφή του ιικού DNA με αποτέλεσμα την παραγωγή πολλαπλών αντιγράφων του γονιδιώματος, τα οποία είναι απαραίτητα για τον σχηματισμό νέων ιικών σωματιδίων. Ακολούθως, (8) τα καψίδια συναρμολογούνται και περιβάλλουν τα νέα μόρια DNA, σχηματίζοντας πλήρη ιικά σωματίδια. Τα νεοσχηματισθέντα ιοσώματα (9) εξέρχονται από τον πυρήνα προς το κυτταρόπλασμα, όπου υφίστανται περαιτέρω ωρίμανση όταν απαιτείται. Τέλος, (10) τα ώριμα ιοσώματα απελευθερώνονται από το κύτταρο είτε με εκβλάστηση είτε με λύση του κυττάρου, διαδικασία που ολοκληρώνει τον κύκλο ζωής και επιτρέπει τη μόλυνση νέων κυττάρων.

Οι DNA ιοί με **μονόκλωνο DNA** γονιδίωμα έχουν ίδιο κύκλο ζωής με εκείνους που έχουν δίκλωνο DNA με μόνη σημαντική διαφοροποίηση την ανάγκη να γίνουν **δίκλωνοι** με τη βοήθεια DNA πολυμερασών από το κύτταρο. Η διαδικασία της μετατροπής σε δίκλωνο DNA γίνεται στον πυρήνα πριν τη μεταγραφή και την αντιγραφή. Αυτό εξυπηρετεί ταυτόχρονα και

τα δύο στάδια του κύκλου ζωής, καθώς οι RNA πολυμεράσες χρειάζονται δίκλωνο DNA για να παράγουν mRNA αλλά και η αντιγραφή χρειάζεται τον άλλο κλώνο ως καλούπι.

9.5 Ο κύκλος ζωής των ιών RNA θετικής πολικότητας

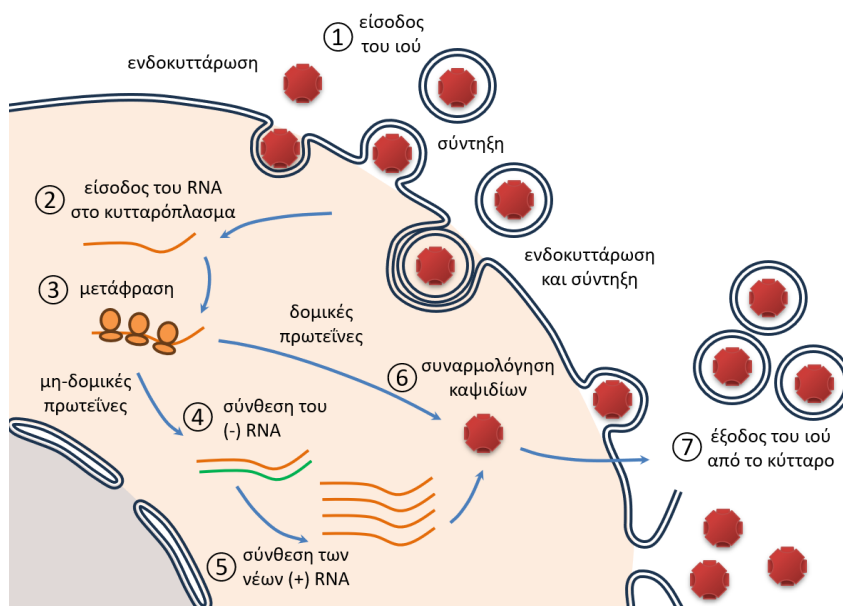
Οι ιοί **RNA θετικής πολικότητας**, **RNA(+)**, αποτελούν μία από τις σημαντικότερες και πιο εκτεταμένες ομάδες ιών, καθώς περιλαμβάνουν πολλούς παθογόνους για τον άνθρωπο. Το θεμελιώδες χαρακτηριστικό τους είναι ότι το γονιδιώμά τους αποτελείται από μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας, το οποίο μπορεί να λειτουργήσει άμεσα ως mRNA μόλις εισέλθει στο κύτταρο. Αυτό το γνώρισμα προσδίδει στους RNA(+) ιούς ένα ουσιώδες πλεονέκτημα: δεν απαιτείται ενδιάμεσο στάδιο μεταγραφής για την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης, γεγονός που καθιστά τον κύκλο ζωής τους ιδιαίτερα ταχύ και αποδοτικό. Αρκετά προκλητικά οι Jeronimo Cello, Aniko V. Paul και Eckard Wimmer σε μια πρωτοποριακή δημοσίευση του 2002 απέδειξαν ότι ένα πλήρως **χημικά συνθετικό μόριο RNA** με μοριακό τύπο $C_{332,652}H_{492,388}N_{98,245}O_{131,196}P_{7,501}S_{2,340}$ διαθέτει τη δυνατότητα, μετά τη διαμόλυνσή⁴ του σε κατάλληλα κύτταρα, να οδηγήσει στην παραγωγή πλήρως λειτουργικών και μολυσματικών ικών σωματιδίων πολιομυελίτιδας. Το εύρημα αυτό κατέρριψε την παραδοσιακή αντίληψη ότι ένας ιός μπορεί να προκύψει μόνο από προϋπάρχον βιολογικό πρότυπο και κατέδειξε ότι το γενετικό υλικό από μόνο του, εφόσον διαθέτει τη σωστή αλληλουχία, επαρκεί για την έναρξη ολόκληρου του κύκλου ζωής ενός ιού θετικής πολικότητας. Η μελέτη αυτή σηματοδότησε μια νέα εποχή στη συνθετική βιολογία, θέτοντας παράλληλα σοβαρά ερωτήματα βιοασφάλειας και αναδεικνύοντας τον δυνητικό κίνδυνο κατάχρησης της τεχνολογίας για σκοπούς βιοτρομοκρατίας.

Ο κύκλος ζωής αρχίζει με την αναγνώριση και πρόσδεση του ιού σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας με παρόμοιους τρόπους με αυτούς που είδαμε και στους DNA ιούς. Οι RNA(+) ιοί που φέρουν φάκελο μπορούν να εισέλθουν με σύντηξη του ιικού περιβλήματος με την κυτταρική μεμβράνη ή μέσω ενδοκυττάρωσης και στη συνέχεια σύντηξης με τη μεμβράνη του ενδοσώματος. Οι ιοί που δεν περιέχουν μεμβρανικό φάκελο συνήθως εισέρχονται αποκλειστικά με ενδοκυττάρωση. Μετά την είσοδο, λαμβάνει χώρα η αποδόμηση του καψιδίου και η απελευθέρωση του ιικού RNA στο κυτταρόπλασμα. Το RNA θετικής πολικότητας μεταφέρεται στη συνέχεια στα ριβοσώματα του κυττάρου και μεταφράζεται άμεσα, χωρίς να απαιτείται προηγούμενη μεταγραφή. Στους RNA(+) ιούς, το γονιδιώμα οδηγεί στη σύνθεση μεγάλων **πολυπρωτεϊνών**, οι οποίες υφίστανται εν συνεχεία **πρωτεολυτική διάσπαση** σε επιμέρους **δομικές** και **μη δομικές** πρωτεΐνες. Ανάμεσά τους περιλαμβάνονται ένζυμα κρίσιμα για τον πολλαπλασιασμό του ιού, όπως η RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση, η οποία και καταλύει τον πολυμερισμό του RNA. Η ωρίμανση της RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης από την πολύπρωτεϊνη αποτελεί σημείο καμπής στον κύκλο ζωής, διότι ενεργοποιεί τη διαδικασία της αντιγραφής του ιικού γονιδιώματος. Σε αντίθεση με τους DNA ιούς, οι RNA(+) ιοί δεν χρησιμοποιούν τα ένζυμα του πυρήνα, αλλά ολοκληρώνουν ολόκληρο τον κύκλο τους στο κυτταρόπλασμα. Η αντιγραφή αρχίζει με τη σύνθεση ενός συμπληρωματικού **RNA αρνητικής πολικότητας**, το οποίο δρα ως καλούπι για τη δημιουργία νέων μορίων RNA θετικής πολικότητας. Έτσι, δημιουργούνται πολλαπλά αντίγραφα του γονιδιώματος που θα χρησιμοποιηθούν είτε ως mRNA για περαιτέρω πρωτεϊνοσύνθεση είτε ως γονιδιώματα για νέους ιούς. Η πρωτεϊνοσύνθεση και η αντιγραφή δεν λαμβάνουν χώρα διάσπαρτα στο κυτταρόπλασμα, αλλά οργανώνονται σε εξειδικευμένες δομές που σχηματίζονται εξαιτίας της δράσης των ιικών πρωτεϊνών. Οι δομές αυτές

⁴ Διαμόλυνση (transfection) είναι η εργαστηριακή εισαγωγή ξένου γενετικού υλικού (DNA ή RNA) σε κύτταρα καλλιέργειας.

λειτουργούν ως **εργοστάσια αντιγραφής** και παρέχουν προστασία από τις κυτταρικές αμυντικές διεργασίες, ενώ αυξάνουν την αποδοτικότητα της σύνθεσης RNA και των πρωτεϊνών. Όταν έχει παραχθεί επαρκής ποσότητα δομικών πρωτεϊνών και νέων γονιδιωμάτων, αρχίζει η συναρμολόγηση των ισωμάτων. Οι πρωτεΐνες του καψιδίου αυτοσυναρμολογούνται γύρω από το RNA και σχηματίζουν **νουκλεοκαψίδια**. Στους ιούς χωρίς φάκελο, η συναρμολόγηση ολοκληρώνεται στο κυτταρόπλασμα και τα νέα ιοσώματα απελευθερώνονται με λύση του κυττάρου. Στους ιούς που περιβάλλονται από φάκελο ακολουθεί επιπλέον στάδιο απόκτησης λιπιδικού περιβλήματος. Οι μεμβράνες αυτές έχουν ήδη ενσωματώσει ιικές γλυκοπρωτεΐνες, οι οποίες καθορίζουν τις ιδιότητες του νέου ιοσώματος. Κατά τη διαδικασία της **εκβλάστησης**, το καψίδιο περιβάλλεται από μεμβράνη και αποκόπτεται ως πλήρες ιόσωμα χωρίς τη λύση του κυττάρου.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η υψηλή μεταλλακτικότητα των RNA(+) ιών. Η RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση στερείται μηχανισμών διόρθωσης λαθών, γεγονός που οδηγεί στη συσσώρευση μεταλλάξεων. Αυτό καθιστά τους RNA(+) ιούς εξαιρετικά προσαρμοστικούς, αλλά ταυτόχρονα ασταθείς γενετικά. Η ταχεία εξέλιξή τους ευθύνεται για την εμφάνιση νέων στελεχών, την αντοχή σε φάρμακα και τη δυσκολία παρασκευής αποτελεσματικών εμβολίων σε ορισμένες περιπτώσεις.



Εικόνα 9.Χ Κύκλος ζωής ενός RNA ιού θετικής πολικότητας. Ο κύκλος ζωής του RNA ιού θετικής πολικότητας ξεκινά όταν (1) ο ιός εισέρχεται στο κύτταρο μέσω σύντηξης με την κυτταρική μεμβράνη ή με ενδοκυττάρωση μετά από πρόσδεση σε ειδικούς υποδοχείς. Στη συνέχεια (2) το ιικό RNA απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα μετά την αποπρωτεϊνοποίηση του καψιδίου. Ακολούθως (3) το RNA θετικής πολικότητας μεταφράζεται άμεσα από τα ριβοσώματα του κυττάρου, οδηγώντας στην παραγωγή τόσο μη δομικών όσο και δομικών ιικών πρωτεϊνών. Με την παραγωγή της RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης,

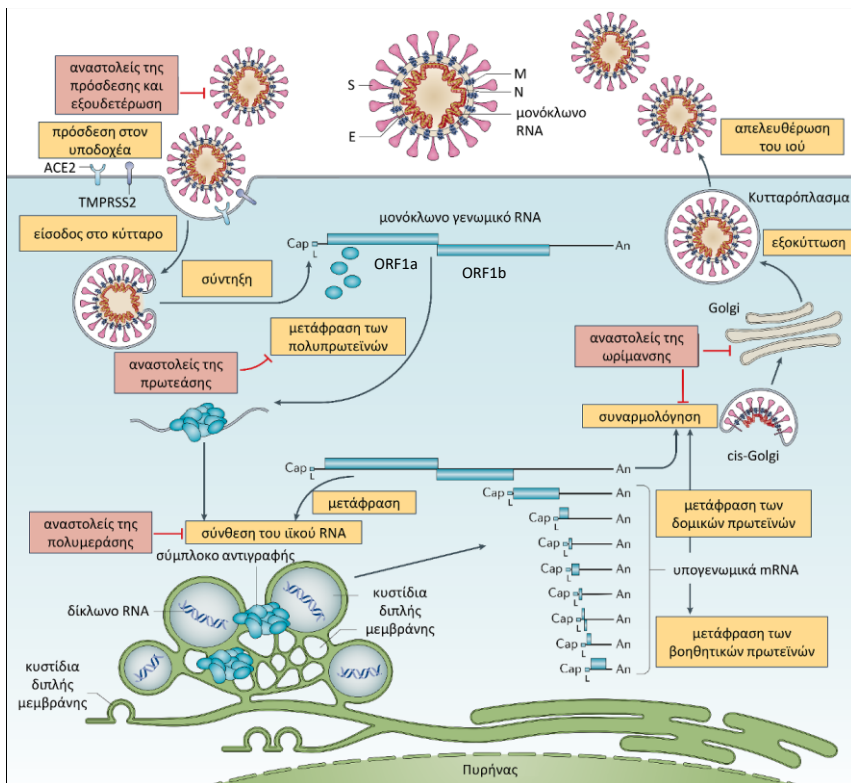
και άλλων μη-δομικών πρωτεϊνών, (4) συντίθεται συμπληρωματικό RNA αρνητικής (-) πολικότητας, το οποίο λειτουργεί ως καλούπι για την αντιγραφή του γονιδιώματος. Κατόπιν (5) παράγονται πολλαπλά νέα μόρια RNA θετικής (+) πολικότητας, τα οποία χρησιμοποιούνται είτε για περαιτέρω μετάφραση είτε ως γονιδιώματα για τον σχηματισμό νέων ιικών σωματιδίων. Στη συνέχεια (6) οι δομικές πρωτεΐνες αυτοσυναρμολογούνται στο κυτταρόπλασμα σχηματίζοντας καψίδια, στα οποία εγκλείονται τα νέα μόρια RNA (+). Τέλος (7) τα νεοσχηματισθέντα ιοσώματα απελευθερώνονται από το κύτταρο είτε με εκβλάστηση είτε με λύση της κυτταρικής μεμβράνης, ολοκληρώνοντας τον κύκλο ζωής του RNA ιού θετικής πολικότητας.

Ο SARS-CoV-2 και ο κύκλος ζωής του

Ο SARS-CoV-2 είναι ένας RNA ιός από την οικογένεια των κορονοϊών και ευθύνεται για τη νόσο COVID-19. Ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά τον Δεκέμβριο του 2019 στην πόλη Wuhan στην Κίνα, με αρχικά κρούσματα άτυπης πνευμονίας συνδεδεμένα με την τοπική αγορά ζώων. Η γενετική ανάλυση έδειξε στενή συγγένεια με κορονοϊούς των νυχτερίδων, που θεωρούνται δεξαμενή αυτών των ιών, αν και ο ακριβής μηχανισμός μετάδοσης στον άνθρωπο και ο ενδιάμεσος ξενιστής δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Τον Μάρτιο του 2020, η ραγδαία εξάπλωσή του οδήγησε τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) στην κήρυξη πανδημίας. Από το 2020 έως το 2025 εμφανίστηκαν εκατοντάδες παραλλαγές του ιού, με την παραλλαγή Όμικρον να αποτελεί σημείο καμπής, καθώς συνδυάζει ιδιαίτερα υψηλή μεταδοτικότητα με στατιστικά χαμηλότερη παθογένεια σε σύγκριση με προηγούμενα στελέχη.

Σε παθολογικό επίπεδο, ο SARS-CoV-2 προσβάλλει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα, μέσω σύνδεσης της πρωτεΐνης ακίδας (S) με τον υποδοχέα ACE2, ο οποίος εκφράζεται σε κύτταρα του επιθηλίου των αεραγωγών, των κυψελίδων των πνευμόνων, αλλά και σε όργανα όπως η καρδιά, οι νεφροί και το έντερο. Η είσοδος του ιού στα κύτταρα προκαλεί άμεση κυτταρική βλάβη και ενεργοποιεί ισχυρή φλεγμονώδη απόκριση. Σε ήπιες περιπτώσεις, η νόσος εκδηλώνεται με πυρετό, βήχα, μυαλγίες, κόπωση, ανοσμία και αγευσία, ενώ σε πιο σοβαρές περιπτώσεις εξελίσσεται σε ιογενή πνευμονία και οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια. Σε ένα ποσοστό ασθενών, παρατηρείται υπερβολική ανοσολογική αντίδραση, γνωστή ως «καταιγίδα κυτταροκινών», η οποία οδηγεί σε εκτεταμένες βλάβες στους πνεύμονες, διαταραχή της ανταλλαγής αερίων και ανάπτυξη συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS). Ταυτόχρονα, ενεργοποιούνται μηχανισμοί πήξης, προκαλώντας μικροθρομβώσεις σε πνευμονικά και συστηματικά αγγεία, γεγονός που εξηγεί την εμφάνιση επιπλοκών όπως πνευμονική εμβολή, εγκεφαλικές θρομβώσεις και καρδιακά επεισόδια.

Η ταχεία αλληλούχιση του γονιδιώματός του και η πρωτοφανής συνεργασία χιλιάδων εργαστηρίων παγκοσμίως οδήγησαν σε βαθιά κατανόηση των μηχανισμών αντιγραφής, παθογένειας και εξέλιξης του ιού, αλλά και στην ταχεία ανάπτυξη εμβολίων και θεραπειών, γεγονός που αποτελεί μοναδικό παράδειγμα παγκόσμιας επιστημονικής κινητοποίησης στην ιστορία της Ιατρικής.



Εικόνα 9.X Ο κύκλος ζωής του SARS-CoV-2. Ο κύκλος ζωής του κορωνοϊού ξεκινά από την προσκόλληση του ιικού σωματιδίου στην επιφάνεια του κυττάρου-ξενιστή και ολοκληρώνεται με την απελευθέρωση νέων ώριμων ιών. Το ιικό σωματίδιο αποτελείται από τις δομικές πρωτεΐνες ακίδα (S), μεμβράνη (M), έλυτρο (E) και νουκλεοκαψίδιο (N), οι οποίες περιβάλλουν και προστατεύουν το θετικής πολικότητας μονόκλωνο RNA γονιδίωμα. Αρχικά, οι πρωτεΐνες S στην επιφάνεια του ιού αναγνωρίζουν και δεσμεύονται ειδικά στον υποδοχέα ACE2 του κυττάρου. Η κυτταρική επιφανειακή πρωτεάση TMPRSS2 συμμετέχει στη διάσπαση της πρωτεΐνης S, γεγονός που διευκολύνει τη σύντηξη του ιικού φακέλου με τη μεμβράνη του ενδοσώματος. Μετά τη σύντηξη, το ιικό RNA απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα, όπου αρχίζει άμεσα η μετάφρασή του. Το πρώτο στάδιο της έκφρασης του γονιδιώματος περιλαμβάνει τη μετάφραση δύο μεγάλων ανοιχτών πλαισίων ανάγνωσης, των ORF1a και ORF1b. Αυτά παράγουν δύο μακριές πολυπρωτεΐνες οι οποίες ωριμάζουν από ικές πρωτεάσες σε επιμέρους μη δομικές πρωτεΐνες. Οι μη δομικές πρωτεΐνες συναρμολογούνται σε λειτουργικά σύμπλοκα που σχηματίζουν το σύμπλοκο αντιγραφής του ιού. Παράλληλα, το κύτταρο υφίσταται δομικές αλλαγές με τη δημιουργία ειδικών κυστιδίων, όπως κυστίδια διπλής μεμβράνης, που παρέχουν προστατευμένο μικροπεριβάλλον για την αντιγραφή του RNA. Εκεί παράγεται το αρνητικής πολικότητας RNA καλούπι ευρισκόμενο ως δίκλωνο RNA. Από αυτό παράγονται τα νέα γενωμικά RNA, αλλά και υπογενωμικά mRNA, από τα οποία μεταφράζονται οι δομικές και βοηθητικές πρωτεΐνες του ιού. Οι δομικές πρωτεΐνες S, E και M εισέρχονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στη συνέχεια μεταφέρονται μέσω του

Με σχόλια [IK5]: Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2

συμπλέγματος Golgi. Η πρωτεΐνη N συνδέεται με το νεοσυντεθέν γνεωμικό RNA σχηματίζοντας το νουκλεοκαψίδιο. Στην περιοχή του cis Golgi, το νουκλεοκαψίδιο αλληλεπιδρά με τις μεμβρανικές πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα τη συναρμολόγηση των νέων ισψωμάτων και την έγκλεισή τους μέσα σε κυστίδια. Το τελευταίο στάδιο είναι η απελευθέρωση. Τα κυστίδια που περιέχουν τους νέους ιούς μετακινούνται προς την κυτταρική μεμβράνη και συντηκονται με αυτή, απελευθερώνοντας τους ώριμους κορωνοϊούς στο εξωτερικό περιβάλλον με τη διαδικασία της εξωκύτωσης. Σε κρίσιμα σημεία αυτού του κύκλου δρουν αντιικά φάρμακα, όπως αναστολείς εισόδου, πρωτεάσης ή πολυμεράσης, στοχεύοντας στην παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού του ιού.

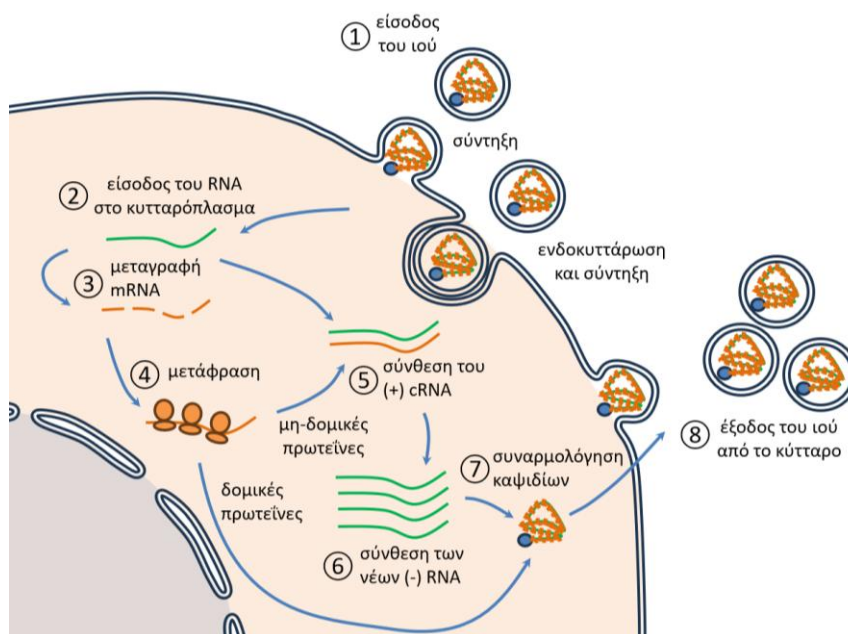
9.6 Ο κύκλος ζωής των ιών RNA αρνητικής πολικότητας

Οι ιοί **RNA αρνητικής πολικότητας**, **RNA(-)**, περιλαμβάνει μερικούς από τους πιο επικίνδυνους παθογόνους ιούς για τον άνθρωπο όπως ο ιός της γρίπης. Το βασικό τους χαρακτηριστικό είναι ότι το γονιδίωμά τους αποτελείται από μονόκλωνο RNA αρνητικής πολικότητας, το οποίο **δεν μπορεί να μεταφραστεί άμεσα** από τα ριβοσώματα του κυττάρου. Σε αντίθεση με τους RNA(+) ιούς, το RNA τους είναι συμπληρωματικό προς το mRNA και επομένως πρέπει πρώτα να μεταγραφεί σε RNA θετικής πολικότητας για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί ως μήτρα πρωτεϊνοσύνθεσης. Αυτό το γεγονός καθιστά τον κύκλο ζωής των RNA(-) ιών βιολογικά πιο σύνθετο και απόλυτα εξαρτημένο από ειδικά ένζυμα που φέρει ο ίδιος ο ιός.

Το πλέον κρίσιμο στοιχείο που διακρίνει τους RNA(-) ιούς από όλους τους άλλους RNA ιούς είναι ότι οφείλουν να μεταφέρουν μέσα στο ισώματιο τη **δική τους RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση**. Εάν το ένζυμο αυτό δεν εισέλθει μαζί με το γονιδίωμα στο κύτταρο, ο κύκλος ζωής σταματά πριν καν αρχίσει, επειδή το κύτταρο δεν διαθέτει μηχανισμό μεταγραφής RNA σε RNA. Η είσοδος των RNA(-) ιών στο κύτταρο ξεκινά με την ειδική πρόσδεση σε επιφανειακούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, διαδικασία παρόμοια με αυτήν των RNA(+) και DNA ιών. Όλοι οι RNA(-) ιοί φέρουν **λιπιδικό φάκελο** και εισέρχονται είτε με σύντηξη του ιϊκού φακέλου με την κυτταρική μεμβράνη είτε μετά από ενδοκυττάρωση και σύντηξη με τη μεμβράνη των ενδοσωμάτων. Το νουκλεοκαψίδιο όλων των ιών αρνητικής πολικότητας έχει **ελικοειδή συμμετρία** και το RNA δεν είναι ποτέ γυμνό όπως στους RNA (+). Με την είσοδο του νουκλεοκαψιδίου στο κύτταρο ενεργοποιείται η ενσωματωμένη στο νουκλεοκαψίδιο RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση, η οποία **μεταγράφει** το RNA αρνητικής πολικότητας σε **mRNA** θετικής πολικότητας. Τα παραγόμενα mRNA μεταφέρονται στα ριβοσώματα του κυττάρου και μεταφράζονται σε ιϊκές πρωτεΐνες. Οι πρώτες πρωτεΐνες που παράγονται είναι οι μη δομικές, θυμίζοντας τον όρο των πρώιμων πρωτεϊνών των DNA ιών. Το mRNA που παράγεται παρότι θετικής πολικότητας δεν μπορεί να δράσει σαν καλούπι για την αντιγραφή του ιού και την παραγωγή των νέων γονιδιωμάτων αρνητικής πολικότητας. Άλλωστε σε όλους τους RNA(-) ιούς η **γενετική πληροφορία χωρίζεται** κατά τη μεταγραφή σε επιμέρους mRNA για την κάθε πρωτεΐνη. Κατά την αντιγραφή συντίθεται ένα **πλήρως συμπληρωματικό μόριο RNA θετικής πολικότητας**, το **crRNA(+)**, το οποίο λειτουργεί ως καλούπι για την παραγωγή νέων μορίων RNA αρνητικής πολικότητας. Έτσι, δημιουργούνται νέα γονιδιώματα που θα συσκευαστούν σε νεοσχηματιζόμενα ισώματα. Όλες αυτές οι διεργασίες λαμβάνουν χώρα στο κυτταρόπλασμα, αν και σε ορισμένους RNA(-) ιούς όπως της γρίπης ένα μεγάλο μέρος του κύκλου ζωής εδράζεται στον πυρήνα. Η συναρμολόγηση των ισωμάτων ξεκινά με τη σύμπραξη του RNA αρνητικής πολικότητας με πρωτεΐνες του καψιδίου, σχηματίζοντας νέα νουκλεοκαψίδια. Στη συνέχεια, τα νουκλεοκαψίδια

μεταφέρονται στις κυτταρικές μεμβράνες που έχουν ήδη ενσωματώσει ιϊκές γλυκοπρωτεΐνες. Κατά την εκβλάστηση, το νουκλεοκαψίδιο αποκτά φάκελο και απελευθερώνεται από το κύτταρο ως ώριμο λοιμογόνο ιόσωμα. Συνήθως δεν παρατηρείται άμεση λύση του κυττάρου, γεγονός που επιτρέπει παρατεταμένη παραγωγή ιών.

Όπως και στους RNA(+) ιούς, η RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση στερείται διορθωτικών μηχανισμών. Η συνέπεια είναι υψηλή μεταλλακτικότητα και γενετική αστάθεια, που ευνοεί τη γρήγορη εξέλιξη, την προσαρμογή σε νέους ξενιστές και την εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών. Αυτή η ιδιότητα εξηγεί γιατί πολλοί RNA(-) ιοί προκαλούν επαναλαμβανόμενες επιδημίες, εμφανίζουν μεγάλη αντιγονική ποικιλότητα και δυσχεραίνουν τη διαχρονική αποτελεσματικότητα των εμβολίων.



Εικόνα 9.X Κύκλος ζωής ενός RNA ιού αρνητικής πολικότητας. Ο κύκλος ζωής ενός RNA ιού αρνητικής πολικότητας αρχίζει όταν (1) ο ιός προσδένεται σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας και εισέρχεται στο κύτταρο μέσω σύντηξης του ιϊκού περιβλήματος με την κυτταρική μεμβράνη ή μέσω ενδοκυττάρωσης ακολουθούμενης από σύντηξη με τη μεμβράνη του ενδοσώματος. Στη συνέχεια (2) λαμβάνει χώρα η απελευθέρωση του νουκλεοκαψιδίου στο κυτταρόπλασμα. Κατόπιν (3) η RNA-εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (μπλε κύκλος), η οποία μεταφέρεται υποχρεωτικά μέσα στο ιόσωμα, μεταγράφει το RNA αρνητικής (-) πολικότητας σε mRNA θετικής (+) πολικότητας. Τα παραγόμενα mRNA (4) μεταφράζονται από τα ριβοσώματα του κυττάρου, οδηγώντας στη σύνθεση μη δομικών πρωτεϊνών καθώς και δομικών πρωτεϊνών του ιού. Ακολούθως (5) συντίθεται ένα πλήρες συμπληρωματικό RNA θετικής πολικότητας cRNA(+), το οποίο λειτουργεί ως καλούπι για την παραγωγή νέων γονιδιωμάτων αρνητικής πολικότητας. Στη συνέχεια (6) συντίθενται πολλαπλά νέα μόρια RNA (-), τα οποία δεσμεύονται από πρωτεΐνες του καψιδίου. Έπειτα (7) πραγματοποιείται η συναρμολόγηση των νουκλεοκαψιδίων στο κυτταρόπλασμα και η μεταφορά τους προς περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης που φέρουν ιϊκές γλυκοπρωτεΐνες.

Τέλος (8) τα ώριμα ιοσώματα εξέρχονται από το κύτταρο με εκβλάστηση, αποκτώντας λιπιδικό φάκελο, και καθίστανται ικανά να μολύνουν νέα κύτταρα.

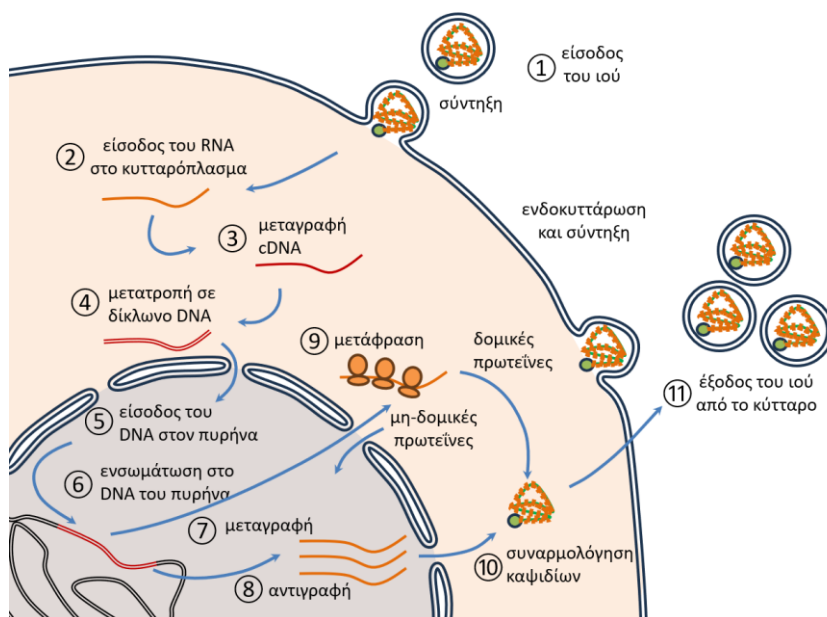
9.7 Ο κύκλος ζωής των ιών RNA με αντίστροφη μεταγραφάση - ρετροϊοί

Οι ιοί RNA με αντίστροφη μεταγραφάση (RT) εντάσσονται όλοι σε μία ομάδα με κοινά χαρακτηριστικά, τους ρετροϊούς. Το καθοριστικό τους χαρακτηριστικό είναι ότι, παρότι διαθέτουν γονιδίωμα RNA, **δεν το χρησιμοποιούν άμεσα ούτε ως mRNA ούτε ως καλούπι για αντιγραφή RNA**. Αντίθετα, μετατρέπουν το RNA τους σε **DNA** μέσω ενός ειδικού ενζύμου, της **αντίστροφης μεταγραφάσης** (Reverse Transcriptase), και στη συνέχεια εκμεταλλεύονται για τη γονιδιακή έκφραση τους μηχανισμούς του κυττάρου όπως ακριβώς οι DNA ιοί. Το γονιδίωμα των ιών αυτών είναι μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας, το οποίο παρότι αποτελεί τον κωδικοποιό κλωνο δεν λειτουργεί άμεσα ως mRNA. Αντί της άμεσης μετάφρασης, το πρώτο και απολύτως αναγκαίο βήμα μετά την είσοδο του ιού στο κύτταρο είναι η σύνθεση **συμπληρωματικού DNA (cDNA)**. Για τον λόγο αυτό, οι ρετροϊοί φέρουν **ενσωματωμένη στο ιόσωμα την αντίστροφη μεταγραφάση**.

Ο κύκλος ζωής ξεκινά με την πρόσδεση του ιού σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας, διαδικασία που καθορίζει απόλυτα την εκλεκτικότητα ως προς τον τύπο των κυττάρων που θα μολυνθούν. Ακολουθεί είσοδος στο κύτταρο μέσω σύντηξης του ιϊκού περιβλήματος με την κυτταρική μεμβράνη. Μετά την είσοδο, λαμβάνει χώρα η αποδόμηση του καψιδίου και απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα το ιϊκό RNA μαζί με την αντίστροφη μεταγραφάση και άλλα απαραίτητα ένζυμα. Στο κυτταρόπλασμα πραγματοποιείται η **αντίστροφη μεταγραφάση**. Το RNA μετατρέπεται αρχικά σε μονόκλωνο DNA και στη συνέχεια σε δίκλωνο DNA. Το παραγόμενο δίκλωνο ιϊκό DNA μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου — σε πλήρη αντίθεση με τους άλλους ιούς — **ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του κυττάρου** μέσω ενός δεύτερου ενζύμου, της **ιντεγκράσης**. Από το σημείο αυτό και μετά, το ιϊκό DNA ονομάζεται **προϊός** και αποτελεί πλέον μόνιμο τμήμα του γενετικού υλικού του ξενιστή. Αφού ενσωματωθεί, το ιϊκό DNA μεταγράφεται από την κυτταρική RNA πολυμεράση όπως οποιοδήποτε γονίδιο του οργανισμού. Από τον προϊό παράγονται νέα μόρια RNA που λειτουργούν είτε ως mRNA για τη σύνθεση ιϊκών πρωτεϊνών είτε ως νέα γονιδιώματα που θα συσκευαστούν σε ιοσώματα. Τα mRNA μεταφράζονται σε **πολυπρωτεΐνες**, οι οποίες στη συνέχεια υφίστανται **πρωτεολυτική ωρίμανση** από την **πρωτεάση του ιού**, ώστε να παραχθούν οι δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες. Η συναρμολόγηση των νέων ιοσωμάτων πραγματοποιείται στο κυτταρόπλασμα, συνήθως κοντά στην κυτταρική μεμβράνη. Το RNA του νέου ιϊκού γονιδιώματος συνδέεται με τις πρωτεΐνες του καψιδίου και σχηματίζεται νουκλεοκαψίδιο. Κατά την εκβλάστηση, το ιόσωμα αποκτά φάκελο από την κυτταρική μεμβράνη, στην οποία έχουν ήδη ενσωματωθεί οι ιϊκές γλυκοπρωτεΐνες. Ωστόσο, το ιόσωμα κατά το στάδιο αυτό είναι ακόμη ανώριμο. Η τελική **ωρίμανση** επέρχεται μετά την έξοδο του από το κύτταρο και εξαρτάται από τη δράση της ιϊκής πρωτεάσης, η οποία διασπά τις πολυπρωτεΐνες και επιτρέπει τον πλήρη σχηματισμό του λοιμογόνου σωματιδίου. Χωρίς αυτή τη διαδικασία, ο ιός παραμένει μη μολυσματικός.

Οι ρετροϊοί παρουσιάζουν εξαιρετικά υψηλό ρυθμό μεταλλάξεων. Η αντίστροφη μεταγραφάση στερείται μηχανισμών διόρθωσης λαθών, γεγονός που οδηγεί σε ραγδαία γενετική διαφοροποίηση. Το πιο ανησυχητικό χαρακτηριστικό αυτών των ιών είναι ότι οδηγούν σε **χρόνια λοίμωξη** ενσωματωμένοι στο DNA του ξενιστή και παραμένουν σε **λανθάνουσα κατάσταση** για μεγάλα χρονικά διαστήματα και **ενεργοποιούνται απρόβλεπτα**.

πολλά χρόνια μετά. Αυτό καθιστά τους ρετροϊούς τους πιο δύσκολα εκριζώσιμους παθογόνους μικροοργανισμούς.

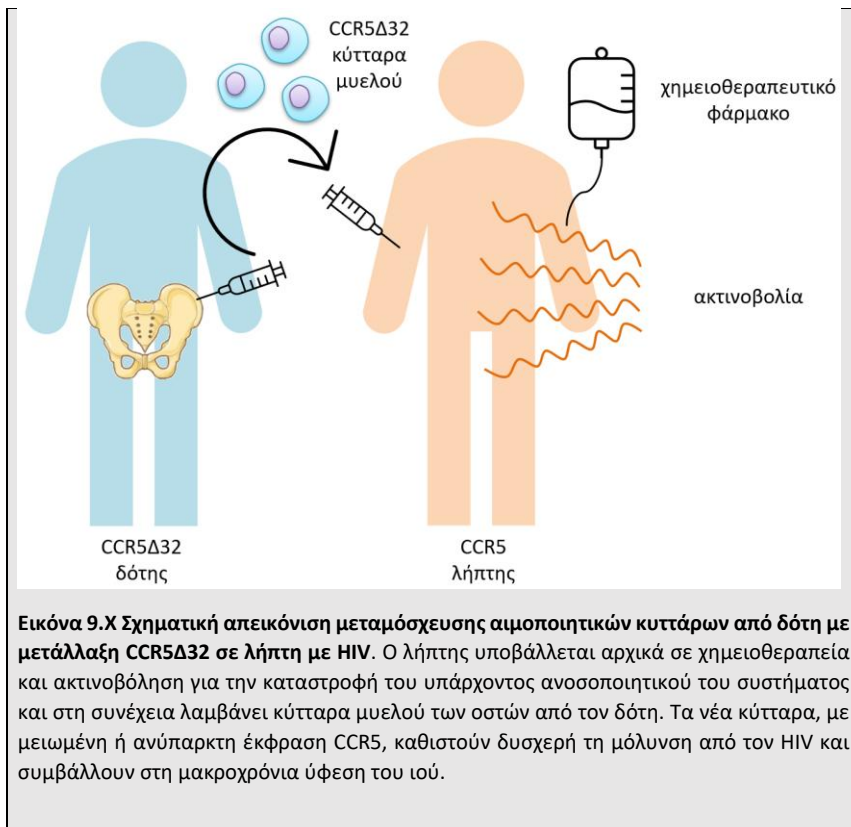


Σχήμα 9.X Κύκλος ζωής ιών RNA με αντίστροφη μεταγραφάση. Ο ιός εισέρχεται στο κύτταρο μέσω σύντηξης με την κυτταρική μεμβράνη (1) και το RNA του απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα (2). Ακολουθεί σύνθεση συμπληρωματικού DNA (cDNA) από την αντίστροφη μεταγραφάση (3) και μετατροπή του σε δίκλωνο DNA (4). Το ιϊκό DNA μεταφέρεται στον πυρήνα (5) και ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του ξενιστή μέσω της ιντεγκράσης, σχηματίζοντας τον προϊό (6). Από το σημείο αυτό το ιϊκό DNA μεταγράφεται από τους κυτταρικούς μηχανισμούς (7) και παράγονται νέα RNA μόρια, τόσο ως mRNA όσο και ως γονιδιώματα νέων ιών (8). Τα mRNA μεταφράζονται σε δομικές και μη δομικές πρωτεΐνες (9), ακολουθεί συναρμολόγηση των καψιδίων με το γονιδίωμα (10) και τελικά τα νέα ώριμα ιοσωμάτια εξέρχονται με εκβλάστηση από την κυτταρική μεμβράνη (11).

Οι άνθρωποι που θεραπεύτηκαν από τον HIV

Η θεραπεία του HIV υπήρξε για δεκαετίες ένας από τους μεγαλύτερους στόχους της σύγχρονης ιατρικής. Αν και η αντιρετροϊκή αγωγή (ART) έχει μετατρέψει τη λοίμωξη HIV από θανατηφόρα νόσο σε χρόνια, ελεγχόμενη κατάσταση, δεν εξαλείφει πλήρως τον ιό από τον οργανισμό. Ο HIV παραμένει σε δεξαμενές **λανθάνουσας λοίμωξης**, κυρίως σε κύτταρα του ανοσοποιητικού, και επανεμφανίζεται όταν διακοπεί η φαρμακευτική αγωγή. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν καταγραφεί σπάνιες αλλά τεκμηριωμένες περιπτώσεις πλήρους ίασης μετά από **μεταμόσχευση μυελού των οστών** από δότες με τη γενετική μετάλλαξη **CCR5Δ32**, οι οποίες άλλαξαν ριζικά την αντίληψή μας για το τι είναι θεωρητικά δυνατό.

Η μετάλλαξη CCR5Δ32 είναι μια διαγραφή 32 βάσεων στο γονίδιο CCR5, το οποίο κωδικοποιεί έναν υποδοχέα στην επιφάνεια των Τ-λεμφοκυττάρων. Ο συγκεκριμένος υποδοχέας αποτελεί βασική «πύλη εισόδου» για τα περισσότερα στελέχη του HIV. Άτομα που είναι ομόζυγα για αυτή τη μετάλλαξη (δηλαδή έχουν δύο αντίγραφα) δεν εκφράζουν λειτουργικό CCR5, με αποτέλεσμα ο ιός να αδυνατεί να εισέλθει στα κύτταρά τους. Αυτό τους προσδίδει πρακτικά φυσική ανοσία έναντι των πιο διαδεδομένων μορφών του HIV. Η πρώτη και πιο εμβληματική περίπτωση είναι αυτή του Timothy Ray Brown, γνωστού ως «ασθενή του Βερολίνου». Ο Brown έπασχε τόσο από HIV όσο και από οξεία μυελογενή λευχαιμία. Το 2007 υποβλήθηκε σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων από δότη με **ομόζυγη μετάλλαξη CCR5Δ32**, στο πλαίσιο της θεραπείας του για τη λευχαιμία. Μετά τη μεταμόσχευση και την πλήρη αντικατάσταση του ανοσοποιητικού του συστήματος, ο HIV κατέστη μη ανιχνεύσιμος χωρίς την ανάγκη αντιρετροϊκής αγωγής. Πέρασαν χρόνια εντατικής παρακολούθησης χωρίς επανεμφάνιση του ιού, οδηγώντας την ιατρική κοινότητα στο συμπέρασμα ότι επρόκειτο για πραγματική ίαση. Ακολούθησαν και άλλες περιπτώσεις, όπως του «ασθενή του Λονδίνου», Adam Castillejo, καθώς και μεταγενέστερες αναφορές από ασθενείς στο Ντίσελντορφ και στις Ηνωμένες Πολιτείες. Όλοι αυτοί είχαν ένα κοινό χαρακτηριστικό: υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση μυελού των οστών για αιματολογικό καρκίνο και οι δότες τους είχαν τη μετάλλαξη CCR5Δ32. Σε όλες τις περιπτώσεις, μετά από επιτυχή μεταμόσχευση και διακοπή της αντιρετροϊκής θεραπείας, δεν παρατηρήθηκε υποτροπή του HIV για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ο μηχανισμός πίσω από αυτή τη θεραπεία δεν είναι απλός. Κατ' αρχάς, η ίδια η μεταμόσχευση μυελού των οστών απαιτεί επιθετική χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία που καταστρέφει το υπάρχον ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς. Αυτή η διαδικασία μειώνει δραστικά τα κύτταρα που φιλοξενούν λανθάνοντα τον HIV. Στη συνέχεια, ο νέος μυελός δημιουργεί ένα ανοσοποιητικό σύστημα που αποτελείται από κύτταρα ανθεκτικά στον ιό λόγω της έλλειψης λειτουργικού CCR5. Έτσι, ακόμη κι αν παραμείνουν ίχνη HIV στο σώμα, ο ιός δεν μπορεί πλέον να μολύνει αποτελεσματικά νέα κύτταρα και τελικά εξαφανίζεται. Παρά τη θεαματική φύση αυτών των επιτυχιών, η μέθοδος δεν αποτελεί ρεαλιστική θεραπεία για τη γενική κοινότητα των ανθρώπων με HIV. Η μεταμόσχευση μυελού των οστών είναι εξαιρετικά επικίνδυνη διαδικασία, με ποσοστά θνησιμότητας που μπορούν να φτάσουν ή και να ξεπεράσουν το 10–20% σε ορισμένες περιπτώσεις, ανάλογα με την κατάσταση του ασθενούς. Περιλαμβάνει σοβαρούς κινδύνους όπως λοιμώξεις, απόρριψη μοσχεύματος και νόσο μοσχεύματος κατά του λήπτη. Επιπλέον, η μετάλλαξη CCR5Δ32 είναι σπάνια. Εμφανίζεται σε σημαντικό ποσοστό μόνο σε πληθυσμούς βόρειας ευρωπαϊκής καταγωγής και ακόμη πιο σπάνια σε ομόζυγη μορφή. Η εύρεση συμβατού δότη μυελού που να φέρει αυτή τη σπάνια γενετική ιδιότητα αποτελεί εξαιρετικά δύσκολο εγχείρημα. Το Δεκέμβριο του 2025 η ανακοίνωση της ύφεσης του HIV σε ασθενή που υποβλήθηκε σε μεταμόσχευση από δότη μυελού των οστών με **ετεροζυγωτία στο CCR5Δ32** αναθέρμανε τις ελπίδες για ευκολότερη εύρεση κατάλληλων μοσχευμάτων



9.8 Ενδογενείς ρετροϊοί και μεταθετά στοιχεία

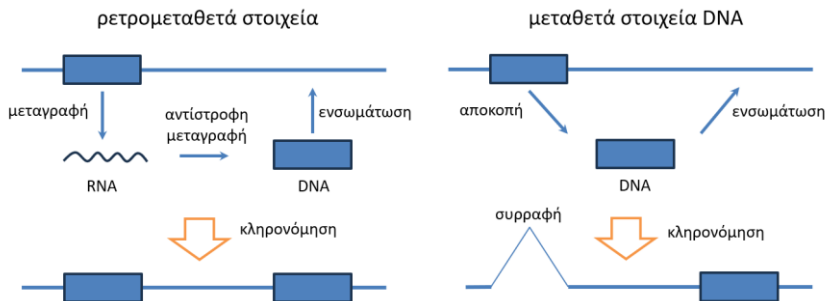
Οι ενδογενείς ρετροϊοί και τα ρετρομεταθετά στοιχεία αποτελούν δύο από τις πιο εντυπωσιακές κατηγορίες κινητών γενετικών στοιχείων στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Αν και προέρχονται από διαφορετικές εξελικτικές διαδρομές, μοιράζονται κοινούς μηχανισμούς δράσης. Και οι δύο ομάδες συγκλίνουν στην αντιγραφή μέσω RNA και την αντίστροφη μεταγραφή σε DNA, που επιτρέπει την ενσωμάτωσή τους στο γονιδίωμα του ξενιστή.

Οι **ενδογενείς ρετροϊοί (ERVs)** είναι απομεινάρια αρχαίων ρετροϊκών λοιμώξεων που ενσωματώθηκαν στο γονιδίωμα των προγόνων των σημερινών οργανισμών πολλά εκατομμύρια χρόνια πριν και μεταβιβάζονται σήμερα **κληρονομικά**. Όταν ένας ρετροϊός μολύνει ένα γαμετικό κύτταρο ή ένα πρόδρομο γεννητικό κύτταρο μπορεί εφόσον από αυτό προκύψει ένας γόνιμο απόγονος να μεταβιβαστεί ως προϊόν στις επόμενες γενιές, καθιστώντας τον ιό μέρος του γονιδιώματος του είδους. Στον άνθρωπο, οι ERVs αντιστοιχούν περίπου στο **8% του συνολικού γονιδιώματος**, ποσοστό που υπερβαίνει κατά πολύ εκείνο των λειτουργικών γονιδίων του. Οι περισσότερες από αυτές τις αλληλουχίες είναι πλέον εκτεταμένα μεταλλαγμένες και δεν μπορούν να παράγουν λειτουργικούς ιούς. Παρ' όλα αυτά, διατηρούνται αναγνωρίσιμα στοιχεία της ρετροϊκής τους προέλευσης. Αρχικά, οι ενδογενείς ρετροϊοί θεωρούνταν απλώς «γενετικά σκουπίδια» στο πλαίσιο της παρωχημένης θεώρησης του **junk DNA**. Ωστόσο, σύγχρονες μελέτες αποκάλυψαν ότι πολλές από τις

αλληλουχίες τους έχουν ενσωματωθεί λειτουργικά στη βιολογία του ανθρώπου, επηρεάζοντας το πότε και πού εκφράζονται ορισμένα γονίδια. Οι ενδογενείς ρετροϊοί από εισβολείς κατέληξαν να γίνουν καθοριστές της εξελικτικής πορείας πολλών ειδών και ιδιαίτερως των θηλαστικών. Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η πρωτεΐνη **συνκυτίνη**, η οποία προέρχεται από ιικό γονίδιο **env** (γλυκοπρωτεΐνη του φακέλου) και παίζει καθοριστικό ρόλο στη δημιουργία του ανθρώπινου πλακούντα μέσω κυτταρικών συντήξεων. Χωρίς αυτήν την ιογενούς προέλευσης πρωτεΐνη, η αναπαραγωγή των θηλαστικών με πλακούντα όπως τα γνωρίζουμε σήμερα θα ήταν αδύνατη.

Τα **ρετρομεταθετά στοιχεία**, ή **ρετροτρανσποζόνια**, είναι κινητά γενετικά στοιχεία που πολλαπλασιάζονται εντός του γονιδιώματος μέσω μηχανισμού «**αντιγραφής και επικόλλησης**». Τα στοιχεία αυτά μεταγράφονται πρώτα σε RNA και στη συνέχεια μετατρέπονται σε DNA μέσω αντίστροφης μεταγραφής πριν ενσωματωθούν σε νέα θέση του γονιδιώματος. Τα ρετρομεταθετά στοιχεία, όπως οι οικογένειες LINEs και SINEs, καταλαμβάνουν πολύ μεγαλύτερο μέρος του ανθρώπινου γονιδιώματος. Τα LINE-1 στοιχεία, για παράδειγμα, αποτελούν περίπου το 17% του ανθρώπινου DNA και παραμένουν σε μικρό ποσοστό ενεργά μέχρι σήμερα. Η παρουσία και η δραστηριότητα των ρετρομεταθετών έχουν διττή επίδραση. Από τη μία πλευρά, αποτελούν ισχυρούς μηχανισμούς γονιδιωματικής καινοτομίας, καθώς μπορούν να δημιουργήσουν νέους γενετικούς συνδυασμούς, να παράγουν νέα εξόνια και να επηρεάσουν τη ρύθμιση των γονιδίων. Από την άλλη πλευρά, η ανεξέλεγκτη κινητικότητα τους μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις, διακοπή γονιδίων και αστάθεια του γονιδιώματος.

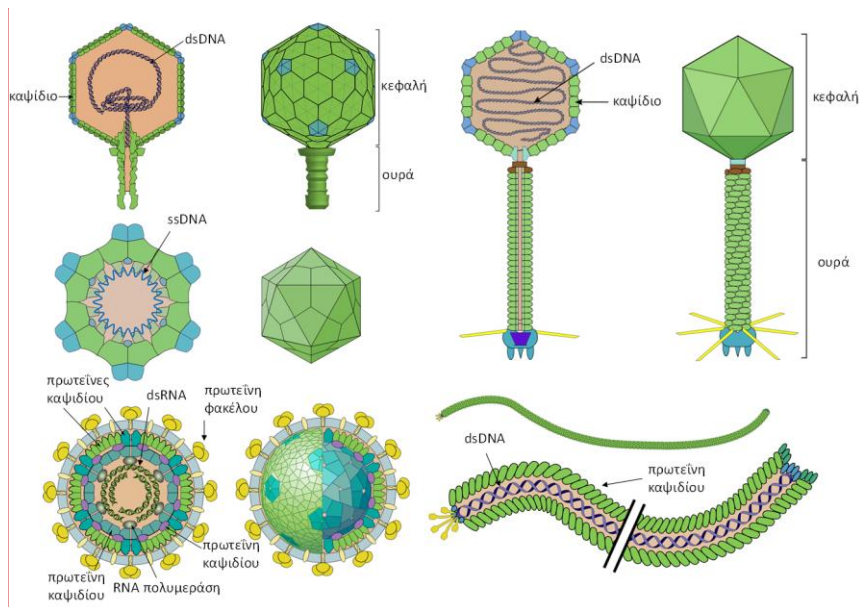
Τα **μεταθετά στοιχεία DNA**, ή **τρανσποζόνια DNA**, σε αντίθεση με τα ρετρομεταθετά στοιχεία που μετακινούνται με μηχανισμό «αντιγραφής και επικόλλησης», μετακινούνται με τον μηχανισμό «**αποκοπής και επικόλλησης**». Δηλαδή δεν χρησιμοποιούν την αντίστροφη μεταγραφάση αλλά ένα άλλο ένζυμο την **τρασποζάση**, το οποίο αναγνωρίζει συγκεκριμένες αλληλουχίες στα άκρα του στοιχείου και καταλύει τόσο την αποκοπή όσο και την ένθεση. Σε κάποιες περιπτώσεις, παρατηρείται και ο μηχανισμός «αντιγραφής και επικόλλησης», όπου το στοιχείο αντιγράφεται και το αντίγραφο ενσωματώνεται αλλού, αυξάνοντας τον αριθμό των αντιγράφων του. Τα μεταθετά στοιχεία DNA είναι διαδεδομένα σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, από τα βακτήρια έως τον άνθρωπο. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, αν και τα περισσότερα DNA μεταθετά στοιχεία είναι πλέον ανενεργά, καταλαμβάνουν το 3% του συνολικού DNA και μαρτυρούν παλαιότερες ιστορικές φάσεις έντονης μεταθετικής δραστηριότητας. Κατά την εξέλιξη, πολλά από αυτά συσσωρεύσαν μεταλλάξεις που τα κατέστησαν αδρανή, αλλά εξακολουθούν να αποτελούν δομικά και ρυθμιστικά στοιχεία του γονιδιώματος. Γι' αυτό παρότι θεωρείται ότι εξελικτικά έχουν παρόμοια αφετηρία με τα ρετρομεταθετά στοιχεία ίσως αποτελούν την πιο πρόδρομη μορφή «ιού».



Εικόνα 9.Χ Σύγκριση του μηχανισμού κινητικότητας των ρετρομεταθετών στοιχείων και των μεταθετών στοιχείων DNA. Αριστερά απεικονίζονται τα ρετρομεταθετά στοιχεία, τα οποία μεταγράφονται αρχικά σε RNA, στη συνέχεια υφίστανται αντίστροφη μεταγραφή σε DNA και το νέο αντίγραφο ενσωματώνεται σε διαφορετική θέση του γονιδιώματος μέσω μηχανισμού «αντιγραφής και επικόλλησης», αυξάνοντας τον αριθμό των αντιγράφων τους που κληρονομούνται στους απογόνους. Δεξιά παρουσιάζονται τα μεταθετά στοιχεία DNA, τα οποία μετακινούνται απευθείας ως DNA μέσω μηχανισμού «αποκοπής και επικόλλησης», με αποδέσμευση από την αρχική θέση, ένθεση σε νέα περιοχή του γονιδιώματος και δημιουργία επιδιορθωτικής συρραφής στο σημείο αποκοπής. Και στις δύο περιπτώσεις, τα κινητά αυτά γενετικά στοιχεία κληρονομούνται μέσω της κυτταρικής διαίρεσης, συμβάλλοντας στη γενετική ποικιλότητα και στη διαμόρφωση του γονιδιώματος.

9.9 Ιοί των βακτηρίων - βακτηριοφάγοι

Οι ιοί των βακτηρίων, γνωστοί ως **βακτηριοφάγοι** ή απλώς **φάγοι**, αποτελούν τη μεγαλύτερη και πιο άφθονη κατηγορία βιολογικών οντοτήτων στη βιόσφαιρα. Υπολογίζεται ότι ο αριθμός τους υπερβαίνει τα 10^{31} σωματίδια παγκοσμίως, καθιστώντας τους βασικό ρυθμιστή των μικροβιακών πληθυσμών σε όλα τα οικοσυστήματα της Γης, από τους ωκεανούς μέχρι το εσωτερικό του ανθρώπινου οργανισμού. Οι βακτηριοφάγοι εμφανίζουν εξαιρετικά μεγάλη ποικιλία μορφών και δομικών χαρακτηριστικών, ωστόσο μικρότερη από την ποικιλία των ευκαρυωτικών ιών. Η μορφολογία του ιοσώματός τους περιλαμβάνει είτε ένα πολυεδρικό καψίδιο (**κεφαλή**) μαζί με μια **ουρά** που λειτουργεί ως σύστημα προσκόλλησης είτε ένα **ινώδες** και **ελικοειδές** καψίδιο. Το καψίδιο αποτελείται από επαναλαμβανόμενες πρωτεϊνικές υπομονάδες, οι οποίες σχηματίζουν μια ανθεκτική δομή ικανή να προστατεύει το γονιδίωμα σε εξαιρετικά δυσμενείς συνθήκες. Το γενετικό υλικό των φάγων μπορεί να είναι **δίκλωνο** ή **μονόκλωνο DNA** και σπανιότερα **RNA**. Το μέγεθος του γονιδιώματος ποικίλλει σημαντικά: από μερικές χιλιάδες βάσεις έως εκατοντάδες χιλιάδες, ανάλογα με την πολυπλοκότητα του ιού. Κάποιοι γιγαντιαίοι φάγοι φέρουν γονίδια που κωδικοποιούν δικά τους ένζυμα μεταγραφής και αντιγραφής, γεγονός που τους καθιστά λιγότερο εξαρτημένους από τα βακτηριακά ένζυμα.



Με σχόλια [IK6]: Viral zone

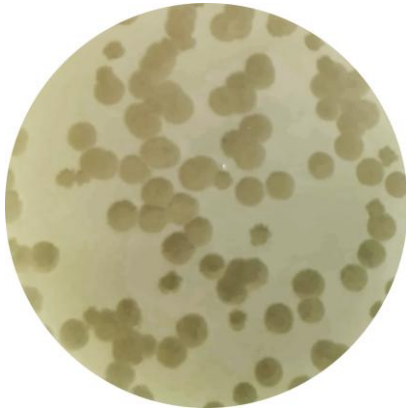
Εικόνα 9.Χ Ενδεικτική απεικόνιση της δομικής και γενετικής ποικιλίας των βακτηριοφάγων.

Παρουσιάζονται διαφορετικοί μορφολογικοί τύποι φάγων, όπως εικοσαεδρικές κεφαλές με ουρά, σφαιρικοί και ελικοειδείς ιοί, καθώς και φάγοι με λιπιδικό φάκελο ή χωρίς. Διακρίνονται επίσης διαφορετικοί τύποι γονιδιώματος (dsDNA, ssDNA, dsRNA) και εσωτερικά ένζυμα, όπως RNA πολυμεράσες, υπογραμμίζοντας την ποικιλία τόσο στη δομή του καψιδίου όσο και στη μοριακή οργάνωση των φάγων. Η μορφολογική αυτή ετερογένεια αντανακλά διαφορετικούς μηχανισμούς μόλυνσης, αντιγραφής και αλληλεπίδρασης με τον βακτηριακό ξενιστή.

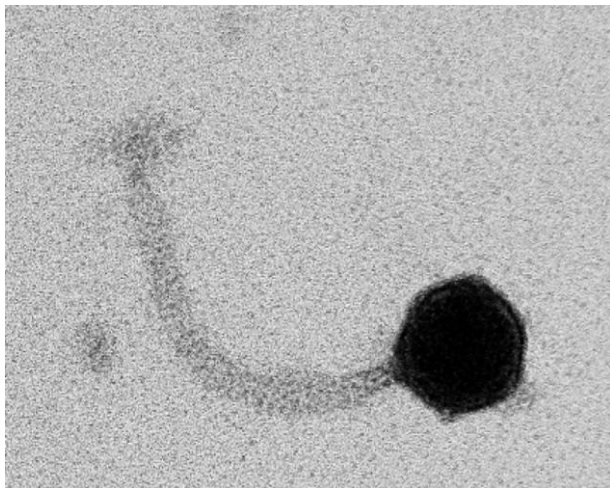
Οι βακτηριοφάγοι παρουσιάζουν δύο βασικούς κύκλους ζωής: τον λυτικό και τον λυσογόνο. Στον **λυτικό κύκλο**, ο φάγος προσδένεται στην επιφάνεια του βακτηρίου μέσω ειδικών υποδοχών (συνήθως πρωτεΐνες, λιποπολυσακχαρίτες ή τείχοϊκά οξέα). Μέσω της ουράς του διαπερνά το κυτταρικό τοίχωμα και εισάγει το γονιδίωμά του στο κυτταρόπλασμα. Στη συνέχεια, το βακτήριο αναλαμβάνει την έκφραση και αντιγραφή όταν αυτό είναι δυνατόν (DNA φάγοι) ή ιικά ένζυμα δρουν αποκλειστικά (RNA φάγοι) ή συμπληρωματικά στην αντιγραφή (μεγάλοι DNA φάγοι). Ακολουθεί η συναρμολόγηση νέων ιοσωμάτων και τελικά η **λύση** του βακτηριακού τοιχώματος με τη βοήθεια ικών **λυτικών ενζύμων**. Το κύτταρο διαρρηγνύεται και απελευθερώνονται δεκάδες ή εκατοντάδες νέοι φάγοι. Στον λυσογόνο κύκλο, το ικό γονιδίωμα δεν προκαλεί άμεση καταστροφή του ξενιστή. Αντίθετα, ενσωματώνεται στο βακτηριακό χρωμόσωμα και παραμένει ανενεργό ως **προφάγος**. Το βακτήριο διαίρεται φυσιολογικά, αντιγράφοντας ταυτόχρονα και το ικό DNA. Υπό συγκεκριμένες συνθήκες στρες (ακτινοβολία, φάρμακα, έλλειψη θρεπτικών), ο προφάγος μπορεί να ενεργοποιηθεί και να εισέλθει στον λυτικό κύκλο.

Κάποια παθογόνα βακτήρια οφείλουν την επικινδυνότητά τους σε γονίδια που αποκτήθηκαν μέσω φάγων. Κλασικό παράδειγμα αποτελεί η **τοξίνη της διφθερίτιδας**, η οποία δεν παράγεται από όλα τα βακτήρια του είδους, αλλά μόνο από εκείνα που φέρουν συγκεκριμένο προφάγο. Παρόμοια, γονίδια τοξινών και μηχανισμών προσκόλλησης έχουν ενσωματωθεί

στο βακτηριακό DNA άλλων βακτηρίων μέσω **ιογενούς μεταφοράς**. Ενώ υπάρχουν φορές που οι φάγοι συμβάλουν στην παθογένεια των βακτηρίων, στον αντίποδα, μπορούν να αποτελέσουν εργαλείο στην αντιμετώπιση σοβαρών βακτηριακών λοιμώξεων. Με την αύξηση των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά βακτηρίων, οι βακτηριοφάγοι επανήλθαν στο προσκήνιο ως εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση. Η **φαγοθεραπεία** βασίζεται στη χορήγηση φάγων που στοχεύουν ειδικά το παθογόνο βακτήριο χωρίς να επηρεάζουν τη φυσιολογική χλωρίδα. Σε αντίθεση με τα αντιβιοτικά, οι φάγοι έχουν εξαιρετική ειδικότητα, καταστρέφοντας συνήθως μόνο ένα είδος ή και συγκεκριμένο στέλεχος βακτηρίου. Επιπλέον, πολλαπλασιάζονται στο σημείο της λοίμωξης, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητά τους όσο υπάρχει ο στόχος. Ωστόσο, οι προκλήσεις γύρω από τη χρήση τους δεν τους έχουν εντάξει ακόμα εκτεταμένα στα πρωτόκολλα αντιμετώπισης των βακτηριακών λοιμώξεων.



Εικόνα 9.Χ Πλάκες λύσης βακτηριοφάγων σε καλλιέργεια *Klebsiella pneumoniae*. Οι κυκλικές περιοχές αντιστοιχούν σε ζώνες λύσης του βακτηρίου εξαιτίας της λυτικής δράσης του φάγου, όπου η κάθε πλάκα προέρχεται από έναν αρχικό μολυσματικό ιόσωμα και αντικατοπτρίζει τον κλωνικό πολλαπλασιασμό του φάγου και τη διαδοχική λύση των βακτηριακών κυττάρων στον τάπητα πάνω σε καλλιεργητικό σε πήκτωμα άγαρ.



Εικόνα 9.X Μικροσκοπική εικόνα βακτηριοφάγου έναντι της *Escherichia coli* όπως απεικονίζεται με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. Διακρίνεται το εικοσαεδρικό καψίδιο της κεφαλής που περιέχει το ιικό γονιδίωμα, η μακριά εύκαμπτη ουρά και τα λεπτά τριχίδια προσκόλλησης, τα οποία επιτρέπουν την αναγνώριση και πρόσδεση στο βακτηριακό κύτταρο-ξενιστή. Οι διαδοχικές δομικές υπομονάδες της ουράς γίνονται ασθενώς ορατές αναδεικνύοντας τη σύνθετη αρχιτεκτονική του ιού.

9.10 Ιϊκοί φορείς

Η ικανότητα που έχουν ιοί να μολύνουν κύτταρα και εκεί να εκφράζουν τα γονιδιά τους ενέπνευσε από πολύ νωρίς την επιστημονική κοινότητα να τους χρησιμοποιήσει ως μέσα, ως εργαλεία για την **μεταγωγή εξωγενών γονιδίων** στα κύτταρα στόχους. Η μεταγωγή είναι η ικανότητα που έχουν οι ιοί να μεταφέρουν στον ξενιστή γονίδια από άλλη πηγή. Οι **ϊϊκοί φορείς** αναδείχθηκαν σε ένα από τα ισχυρότερα εργαλεία της σύγχρονης μοριακής βιολογίας, της γενετικής μηχανικής και της γονιδιακής θεραπείας. Πρόκειται για **γενετικά τροποποιημένους ιούς** που έχουν σχεδιαστεί ώστε να μεταφέρουν επιλεγμένο γενετικό υλικό σε κύτταρα-στόχους, χωρίς να προκαλούν νόσο. Η βασική αρχή λειτουργίας ενός ιϊκού φορέα βασίζεται στην επιλεκτική αφαίρεση τμημάτων του φυσικού ιϊκού γονιδιώματος, τα οποία ευθύνονται για την **παθογένεια** και την **αντιγραφή**, και την αντικατάστασή τους από ένα επιθυμητό γονίδιο. Το αποτέλεσμα είναι ένας μη παθογόνος ιός που διατηρεί την ικανότητα εισόδου στο κύτταρο αλλά δεν μπορεί να πολλαπλασιαστεί ή να προκαλέσει ασθένεια. Έτσι λειτουργεί ως όχημα μεταφοράς γενετικής πληροφορίας.

Οι ιϊκοί φορείς διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες, ανάλογα με το είδος του ιού από το οποίο προέρχονται. Οι σημαντικότεροι τύποι είναι οι αδενοϊκοί φορείς, οι ρετροϊκοί φορείς, οι αδενοσχετιζόμενοι φορείς (AAV), καθώς και οι φορείς που βασίζονται σε ιούς του έρπητα. Κάθε κατηγορία διαθέτει διαφορετικά χαρακτηριστικά όσον αφορά την αποδοτικότητα εισόδου στα κύτταρα, τη διάρκεια έκφρασης του γονιδίου και την ασφάλεια. Οι **αδενοϊκοί φορείς** χαρακτηρίζονται από υψηλή απόδοση μεταφοράς και μπορούν να μολύνουν τόσο διαιρούμενα όσο και μη διαιρούμενα κύτταρα. Ωστόσο, το γενετικό τους υλικό δεν ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του ξενιστή, με αποτέλεσμα η έκφραση του γονιδίου να είναι

παροδική. Αυτό τους καθιστά κατάλληλους για εφαρμογές όπου απαιτείται βραχυπρόθεσμη παραγωγή πρωτεΐνης, αλλά όχι για μόνιμη γονιδιακή διόρθωση. Οι **ρετροϊκοί φορείς** ενσωματώνονται στο DNA του ξενιστή, εξασφαλίζοντας μακροχρόνια έκφραση του γονιδίου. Αυτό τους καθιστά ιδανικούς για θεραπείες που απαιτούν μόνιμη γενετική τροποποίηση, όπως σε κληρονομικά νοσήματα ή σε τροποποιήσεις ανοσοκυττάρων. Κάποιοι ρετροϊκοί φορείς δεν μπορούν να μολύνουν μη διαιρούμενα κύτταρα, ωστόσο άλλοι, όπως οι **λεντιϊοί** έχουν τη δυνατότητα να μολύνουν και διαιρούμενα και μη διαιρούμενα κύτταρα. Παράλληλα όμως, η τυχαία ένθεση στο γονιδίωμα εγκυμονεί κινδύνους, καθώς μπορεί να διαταράξει κρίσιμα γονίδια και να προκαλέσει ανεπιθύμητες μεταλλάξεις. Οι **αδενοσχετιζόμενοι ιϊκοί φορείς** έχουν αναδειχθεί ως από τους ασφαλέστερους. Διαθέτουν μικρό γονιδίωμα, χαμηλή ανοσογονικότητα και σπάνια ενσωματώνονται στο DNA του ξενιστή. Η κύρια αδυναμία τους είναι η περιορισμένη χωρητικότητα γενετικού υλικού, γεγονός που τους καθιστά ακατάλληλους για μεγάλα γονίδια.

Η χρήση ιϊκών φορέων έχει φέρει επανάσταση στη **γονιδιακή θεραπεία**. Ασθένειες που μέχρι πρότινος θεωρούνταν ανίατες, όπως ορισμένες μορφές μυϊκής δυστροφίας, ανοσοανεπάρκειες και εκφυλιστικές παθήσεις του αμφιβληστροειδούς, αντιμετωπίζονται σήμερα με τη μεταφορά υγιών γονιδίων σε ασθενή κύτταρα. Επιπλέον, οι ιϊκοί φορείς παίζουν καθοριστικό ρόλο στη θεραπεία του καρκίνου, ιδίως μέσω γενετικά τροποποιημένων T-λεμφοκυττάρων, τα οποία προγραμματίζονται ώστε να αναγνωρίζουν και να καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα.

Λεντιϊκοί φορείς στη γονιδιακή θεραπεία

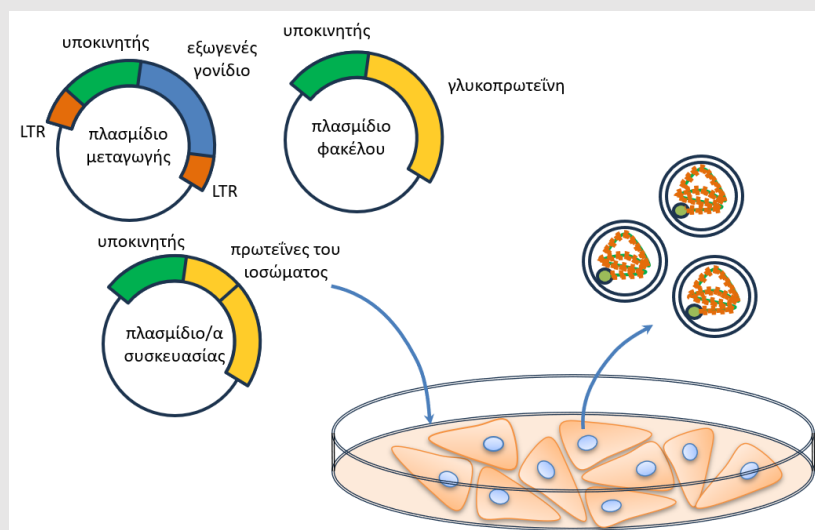
Οι λεντιϊκοί φορείς αποτελούν ένα από τα πιο ισχυρά και ευέλικτα εργαλεία της σύγχρονης μοριακής και κυτταρικής βιολογίας για τη μεταφορά γενετικού υλικού σε ευκαρυωτικά κύτταρα. Βασίζονται στους λεντιϊούς, μια υποομάδα των ρετροϊών της οικογένειας *Retroviridae*, με πιο γνωστό εκπρόσωπο τον **ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV)**. Σε αντίθεση με άλλους ρετροϊούς, οι λεντιϊοί έχουν την ικανότητα να μολύνουν όχι μόνο διαιρούμενα αλλά και μη διαιρούμενα κύτταρα. Αυτό τους καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλους για εφαρμογές σε πρωτογενή κύτταρα, νευρώνες, βλαστοκύτταρα και άλλα κύτταρα με χαμηλή μιτωτική δραστηριότητα. Επιπλέον, η ενσωμάτωση του ιϊκού γονιδιώματος στο DNA του κυττάρου οδηγεί σε σταθερή και μακροχρόνια έκφραση του μεταφερόμενου γονιδίου, σε αντίθεση με άλλες μεθόδους που προσφέρουν παροδική έκφραση.

Ένα τυπικό σύστημα παραγωγής βασίζεται σε τρία ή τέσσερα πλασμίδια. Το **πλασμίδιο μεταγωγής** περιέχει το γονίδιο-στόχο, το οποίο περιβάλλεται από τις **αλληλουχίες LTR** που είναι απαραίτητες για την ενσωμάτωση στο γονιδίωμα. Τα πλασμίδια συσκευασίας παρέχουν σε *trans* τα ιϊκά γονίδια *gag* και *pol* (και σε ορισμένες γενιές το *rev* και το *tat*), τα οποία κωδικοποιούν τις δομικές πρωτεΐνες και τα ένζυμα του ιού. Το πλασμίδιο περιβλήματος παρέχει το γονίδιο *env*, της γλυκοπρωτεΐνης του φακέλου, το οποίο συνήθως αντικαθίσταται από αντίστοιχο γονίδιο του ιού της κυστικής στοματίτιδας (VSV-G), προκειμένου να αυξηθεί το φάσμα των κυττάρων που μπορούν να μολυνθούν. Δηλαδή η πρωτεΐνη VDV-G αυξάνει πολύ το εύρος του τροπισμού του φορέα.

Με την πάροδο των ετών, οι λεντιϊκοί φορείς εξελίχθηκαν σε τρεις γενιές με συνεχώς αυξανόμενη ασφάλεια. Η πρώτη γενιά διατηρούσε τα περισσότερα ιϊκά γονίδια, γεγονός που ενείχε τον κίνδυνο δημιουργίας αναπαραγωγικά ικανών ιών. Στη δεύτερη γενιά

αφαιρέθηκαν τα περισσότερα βοηθητικά γονίδια, περιορίζοντας σημαντικά τον κίνδυνο αυτό. Η τρίτη γενιά πηγαίνει ακόμη πιο μακριά, διαχωρίζοντας περαιτέρω τα ιικά συστατικά σε περισσότερα πλασμίδια, ενώ παράλληλα εισάγει τις αυτο-απενεργοποιούμενες LTR, δηλαδή τα άκρα με τα οποία ο ιός ενσωματώνεται στο γονιδίωμα, που μειώνουν δραστικά την πιθανότητα ανεπιθύμητης ικής ενεργοποίησης μετά την ενσωμάτωση.

Η παραγωγή των λεντικών φορέων πραγματοποιείται σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα σε καλλιέργεια, τα οποία έχουν τροποποιηθεί έτσι ώστε να επιτρέπουν υψηλή απόδοση παραγωγής ικών σωματιδίων. Τα κύτταρα διαμολύνονται με όλα τα απαραίτητα πλασμίδια σε αυτά τα κύτταρα και, μέσα σε 48–72 ώρες, τα κύτταρα αρχίζουν να απελευθερώνουν τους λεντιϊκούς φορείς στο υπερκείμενο μέσο καλλιέργειας. Το υπερκείμενο είτε χρησιμοποιείται απευθείας είτε συμπυκνώνεται, και στη συνέχεια εφαρμόζεται στα κύτταρα-στόχους.



Εικόνα 9.Χ Σχηματική απεικόνιση παραγωγής λεντικών φορέων. Για την παραγωγή των φορέων παρασκευάζονται τρία πλασμίδια. Ένα πλασμίδιο μεταγωγής που περιέχει το εξωγενές γονίδιο το οποίο πλαϊσιώνεται από δύο περιοχές LTR που είναι απαραίτητες για την ενσωμάτωση, το πλασμίδιο της γλυκοπρωτεΐνης του φακέλου και το/τα πλασμίδια συσκευασίας που δίνουν τις απαραίτητες πρωτεΐνες που συμπεριλαμβάνονται στο ιόσωμα (δομικές πρωτεΐνες και ενζύμα του ιού). Μετά τη διαμόλυνση των κυττάρων παραγωγής, συναρμολογούνται τα ανενεργά ιοσώματα τα οποία απελευθερώνονται στο υπερκείμενο καλλιεργητικό διάλυμα. Τα ιοσώματα είναι έτοιμα για τη μεταγωγή κυττάρων-στόχων.

10.1126/science.1072266

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38069353/>

<https://www.nature.com/articles/s41573-019-0012-9>

Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2

<https://www.nature.com/articles/s41579-020-00468-6>

www.nature.com/articles/s41573-019-0012-9

<https://www.nature.com/articles/s41586-025-09893-0>