

15. Avian influenza virus wild bird surveillance in the Azov and Black Sea regions of Ukraine (2010–2011) [Text] / D. Muzyka, M. Pantin-Jackwood, E. Spackman, B. Stegnyy, O. Rula, P. Shutchenko // Avian Diseases. — 2012. — Vol. 56, suppl. 4. — P. 1010–1016.
16. Wild bird surveillance for avian paramyxoviruses in the Azov-Black Sea Regions of Ukraine (2006–2011) reveals epidemiological connections with Europe and Africa [Text] / D. Muzyka, M. Pantin-Jackwood, B. Stegnyy, O. Rula, V. Bolotin, A. Stegnyy, A. Gerilovych, P. Shutchenko, M. Stegnyy, V. Koshelev, K. Maiorova, S. Tkachenko, N. Muzyka, L. Usova, C. L. Afonso // Appl. Environ. Microbiol. — 2014. — Vol. 80, № 17. — P. 5427–5438.
17. Global patterns of influenza a virus in wild birds [Text] / B. Olsen, V. Munster, A. Wallensten [et al.] // Science. — 2006. — V. 312. — P. 384–388.
18. Morbillivirus infections of aquatic mammals: newly identified members of the genus [Text] / A.D. Osterhaus, R.L. de Swart, H.W. Vos [et al.] // Vet. Microbiol. — 1995. — V. 44. — P. 219–227.
19. An apparently new virus (family Paramyxoviridae) infectious for pigs, humans, and fruit bats [Text] / A.W. Philbey, P.D. Kirkland, A.D. Ross [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 1998. — V. 4 / 2. — P. 269–271.
20. Identification and phylogenetic comparison of Salem virus, a novel paramyxovirus of horses [Text] / R.W. Renshaw, A.L. Glaser, C.H. Van [et al.] // Virology. — 2000. — V. 270 / 2. — P. 417–429.
21. Diseases of poultry [Text] / Y.M. Saif, A.M. Fadly, J.R. Glisson [et al.] — [12<sup>th</sup> edition] — Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2003. — 1324 p.
22. Spackman E. Avian influenza virus [Text] / E. Spackman // Totowa : Humana Press, 2008. — V. 436. — 141 p.
23. Influenza virus subtypes in aquatic birds of eastern Germany [Text] / J. Suss, J. Schafer, H. Sinnecker [et al.] // Arch. Virol. — 1994. — V. 135. — P. 101–114.
24. Avian influenza [Text] / [edited by D.E. Swayne] — Ames, Iowa : Blackwell Publishing, 2008. — 605 p.
25. Wild birds and avian influenza: an introduction to applied field research and disease sampling techniques [Text] / Whitworth D., Newman S.H., Mundkur T., and Harris P. // FAO Animal Production and Health Manual. -2007.- 125 p.
26. Wild T.F. Henipaviruses: a new family of emerging Paramyxoviruses [Text] / T.F. Wild // Pathol. Biol. (Paris). — 2009. — V. 57 / 2. — P. 188–196.
27. Yamamoto E. Characterization of novel avian paramyxovirus strain APMV/Shimane67 isolated from migratory wild geese in Japan [Text] / Yamamoto, E., H. Ito, Y. Tomioka, and T. Ito. // J Vet Med Sci. — Vol 77. — P.1079-1085.

#### SENTINEL BIRDS AS AN IMPLEMENT OF INFLUENZA AND PARAMYXOVIRUSES PATHOGENS IN WILD BIRDS POPULATIONS

**Muzyka D. V., Stegnyy B. T.**

*National Scientific Center "Institute of experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

**Pantin-Jackwood M.**

*Southeast Poultry Research Laboratory. USDA/ARS. Athens, Georgia, USA*

*Using of sentinel birds is the one of the methods of monitoring and influenza virus circulation studies in natural reservoir. This method is rather complicated and expensive, but it allows to identify viruses, capable for active reproduction and transmission from bird to bird, which has a great epizootic importance. Five sentinel stations have been located in places of mass wild birds' accumulation in Azov and Black Sea region of Ukraine. Ducks, geese, mallards and ruddy shelducks have been used as sentinel birds. As a result of conducted investigations, ortho- and paramyxoviruses have been isolated only from mallards and domestic ducks during the autumn migration and the beginning of winter.*

**Keywords:** *influenza, paramyxoviruses, wild birds, sentinel-birds*

**УДК: 575.82:578.2'21:575.224.4**

#### КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ГИПЕРМУТАГЕНЕЗА ЭМЕРДЖЕНТНЫХ ВИРУСОВ

**Попов Н. Н., Скляр Н. И., Колотова Т. Ю.**

*ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины»,  
г. Харьков, Украина, e-mail: specradaD6461801@ukr.net*

*Для РНК вирусов и ретровирусов, в том числе, характерна очень высокая скорость мутагенеза, которая достигается за счет неточного репликативного синтеза, осуществляемого РНК, а в некоторых случаях и ДНК полимеразами. В результате обычно приходится иметь дело не с геномом дикого типа вируса, а с набором субпопуляций – квазивидов, образующих «мутантное облако». Однако оказалось, что мутации вирусов возникают не только в результате неточного репликативного синтеза. Вирусы являются субстратами для таких ферментов редактирования клеточных молекул РНК и ДНК как цитозиновые дезаминазы AID/APOBEC суперсемейства и аденозиновые дезаминазы ADAR семейства. В результате активности ферментов редактирования может происходить как летальный гипермутагенез вирусов, так и нелетальный гипермутагенез, который увеличивает размеры «мутантного облака», что способствует эволюции вирусов. Механизмы клеточного редактирования*

играют роль в эволюции таких эмерджентных вирусов как вирус иммунодефицита человека ВИЧ-1, вирус гриппа А и вирус Эбола. Процессы редактирования клеточных ДНК и РНК часто локализованы регион-специфически или сайт-специфически. Не исключено, что эти свойства сохраняются и при редактировании вирусных геномов. Локализация редактирования в гипервариабельных районах генома может ускорять приобретение вирусом адаптивных мутаций. Следовательно, недостаточная степень гипермутагенеза по крайней мере в некоторых случаях способствует развитию заболеваний, что показано, например, для иммунодефицита, вызываемого вирусом ВИЧ-1. Поэтому, в настоящее время перспективным представляется поиск препаратов, усиливающих гипермутагенез вирусов при действии клеточных дезаминаз AID/APOBEC и ADAR семейств.

**Ключевые слова:** квазивиды, скорость мутаций, гипермутагенез, цитозиновые дезаминазы, AID/APOBEC, аденозиновые дезаминазы, ADAR. ВИЧ-1, вирус гриппа А, вирус Эбола.

Генетический полиморфизм вирусов образуется с помощью репликативной и нерепликативной рекомбинаций, реассортации и мутагенеза. Вирусный геном также приобретает новые локусы с помощью горизонтального переноса генов из хозяйского генома. В результате действия этих механизмов образуется генетически гетерогенные популяции вирусных геномов, с повышенной вероятностью приспособления к разнообразным, непредсказуемым новым условиям, в том числе и к новому хозяину.

Способность вирусов мутировать значительно выше, чем прокариот и эукариот. Так скорость (частота появления мутаций в течение процесса копирования генома) РНК вирусов и ретровирусов составляет  $10^4$ – $10^6$  мутации на нуклеотид, что эквивалентно приблизительно одной мутации на геном, на один цикл репликации [1]. Это в миллион раз больше, чем скорость мутаций клеточного генома [2]. Высокая скорость мутагенеза обусловлена тем, что РНК-зависимые РНК-полимеразы и РНК-зависимые ДНК-полимеразы или обратные транскриптазы не обладают функцией исправления ошибок при репликации, поэтому синтез происходит недостаточно точно.

За счет высокой скорости мутагенеза вирусов фактически постоянно идущий процесс. Поэтому понятие геном дикого типа не применим к специфической последовательности нуклеиновых кислот вирусов. В результате мутагенеза формируется коллекция не одинаковых мутантных геномов, называемых квазивидами [3]. Сумма квазивидов образует «мутантное облако». Формируется «мутантное облако» до попадания вирусов в организм нового хозяина. В организме нового хозяина процесс продолжается.

«Облако» включает в себя варианты, способные ускользать от гуморального и клеточного иммунных ответов, устойчивые к действию противовирусных препаратов, варианты, с изменившимся тропизмом к клеткам, способные взаимодействовать с новыми клеточными рецепторами. Поэтому, по крайней мере в некоторых, случаях скорость образования мутаций является фактором вирулентности. Например, полиовирусы, кодирующие точную полимеразу, обладают меньшей способностью формировать лекарственную устойчивость и варианты, ускользающие от иммунного ответа. Соответственно их вирулентность снижена [4, 5]. Сходные результаты получены и для энтеровирусов [6].

«Мутантное облако» может действовать не просто как набор независимых мутантных геномов, но дополнять действия друг друга или наоборот подавлять. Комплементация между вирусами квазивидов показана для полиовирусов, инфицировавших мышей [7]. При внутримышечном введении вируса в популяции, состоящей из вирусов дикого типа, одни генетические варианты помогают другим достигнуть мозга. Однако при введении мутантных вирусов, кодирующих точную РНК полимеразу и соответственно содержащих небольшое количество мутантов, комплементация отсутствует и вирус не инфицирует мозг [7].

Однако не только вирусные полимеразы являются источником мутаций. Вирусы «научились» использовать для создания новых вариантов клеточные механизмы, которые по крайней мере в некоторых случаях гораздо более эффективны, чем вирусные.

Индуктируемая активацией В лимфоцитов цитозиновая дезаминаза (AID) и ферменты семейства дезаминаз APOBEC (семейство названо по названию фермента катализирующего редактирование мРНК аполипопротеина В) играют огромную роль в неспецифическом и адаптивном иммунном ответе. AID/APOBEC семейство произошло от большого семейства генов, кодирующих цинк-зависимые дезаминазы, вовлеченные в метаболизм пуриновых и пиримидиновых оснований [8]. Дезаминазы удаляют аминокетильную группу цитозина, и в результате их прямого действия образуется уридин. При последующей репликации ДНК происходит замена цитозина на тимин. Помимо этого наличие дезоксиуридина в ДНК активирует репаративный синтез, в результате которого цитозин заменяется на гуанин, а также возможна замена цитозина на аденозин. У ретровирусов на вирусной РНК синтезируется ДНК, на которую действуют дезаминазы, поэтому в итоге у них гуанин РНК генома заменяется на аденозин. Обычно такие процессы называются процессами редактирования молекул ДНК или РНК.

Редактирование ДНК происходит при гипермутагенезе иммуноглобулиновых генов. Также редактированию подвергаются молекулы ДНК и РНК вирусов. APOBEC3 семейство включает несколько белков: А–С, DE и F–H, которые осуществляют мутагенез ретровирусов, в том числе таких как вирус иммунодефицита ВИЧ-1 и Т-лимфотропного вируса человека, а также вирусов гепатита С (HCV) и В (HBV), вируса Эпштейна-Барр, герпесвируса 1 типа, папилломавирусов и адено-ассоциированного вируса (AAV) [9]. Однако совсем недавно было экспериментально доказано, что APOBEC3A дезаминаза редактирует клеточную РНК в моноцитах и макрофагах. Редактирование активируется гипоксией и интерферонами [10]. Таким образом, можно предположить, что APOBEC3 дезаминазы способны редактировать не только ДНК содержащие вирусы и ретровирусы, но и РНК вирусы.

В организме человека ВИЧ-1 быстро изменяется. Скорость мутаций вируса в мононуклеарных клетках периферической крови достигает  $4.1 \pm 1.7 \times 10^{-3}$  на основание на клетку. Однако скорость мутагенеза, полученная на основании секвенирования геномов вирусов, выделенных из плазмы, в 44 раза ниже. Следовательно, большинство вирусов подвергается летальному гипермутагенезу, поэтому в клетке образуются дефектные вирусы, не способные выделяться в плазму [11].

Ранее предполагалось, что обратная транскриптаза является основным источником мутагенеза вирусов, поскольку она не обладает функцией исправления ошибок при синтезе ДНК на РНК-матрице. Однако исследования показывают, что основным фактором быстрой эволюции ВИЧ-1 в организме человека является не низкая точность полимеразы, а активность цитозинового дезаминаза АРОВЕС3 семейства [11, 12]. Дезаминазы АРОВЕС3 семейства упаковываются вместе с РНК в вирионы и редактируют геном при инфицировании вирусами новых клеток. Согласно оценкам благодаря активности обратной транскриптазы образуется 2 % мутаций, в то время как благодаря активности дезаминаза АРОВЕС3 семейства – 98 % [11].

Важная роль цитозинового дезаминаза в эволюции ВИЧ-1 вирусов подтверждается и следующими данными. В организме человека АРОВЕС3 не индуцирует гипермутагенез ВИЧ-2 в отличие от ВИЧ-1. У вирусов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 одинаковая скорость и спектр мутагенеза в отсутствие гипермутагенеза, вызываемого АРОВЕС3 [12]. А это означает, что именно активностью АРОВЕС3 можно объяснить способность ВИЧ-1 в отличие от ВИЧ-2 быстро приспосабливаться к иммунной системе и противовирусным препаратам.

Гипермутагенез ВИЧ-1 вирусов препятствует их размножению и способствует уничтожению. Однако ВИЧ-1 выработал механизм подавления активности дезаминаза. С АРОВЕС3G взаимодействует Vif белок ВИЧ-1 вируса, который способствует деградации дезаминаза протеасомами. Результатом взаимодействия является снижение, но не полная отмена гипермутагенеза [13]. Установившийся при подавлении активности АРОВЕС3 уровень мутагенеза наоборот усиливает изменчивость вируса, приводя к возникновению новых генетических вариантов. Экспериментально доказано, что сублетальный уровень АРОВЕС3 мутагенеза вызывает диверсификацию ВИЧ-1 в организме человека [14]. В организме больных СПИД обнаружены вирусы, у которых в результате действия дезаминаза возникло умеренное количество мутаций [11]. Именно у таких больных заболевание прогрессирует быстрыми темпами.

AID дезаминаза при переключении классов иммуноглобулинов индуцирует образование необходимых для рекомбинации двойных разрывов ДНК. Недавно показано, что способностью образования двойных разрывов обладают и АРОВЕС3 дезаминазы [15]. Поэтому не исключено, что помимо гипермутагенеза АРОВЕС3 дезаминазы индуцируют образование двойных разрывов и нерепликативную рекомбинацию вирусов, что является дополнительным источником изменчивости вирусов.

Еще одним классом клеточных ферментов, редактирующих клеточную РНК и способных осуществлять как летальный, так и нелетальный гипермутагенез вирусных РНК, являются аденозиновые дезаминазы ADAR. ADAR дезаминазы редактируют двухцепочечную РНК, а также двухцепочечные районы одноцепочечной РНК. ADAR дезаминируют аденозин (A), превращая его в инозин, который считывается как гуанин (G) при трансляции. В результате редактирования клеточных РНК образуются различные изоформы белка, но при редактировании вирусной РНК могут возникать мутантные вирусы. Так, при репликации вирусной РНК инозин связывается с цитозином, а во время следующего раунда репликации, в результате которого образуется вирусный геном, с цитозином связывается гуанин. Таким образом, в геноме РНК вируса происходит замена аденозина гуанином (A–G).

У млекопитающих обнаружено три ADAR фермента, из них только ADAR1 и ADAR2 обладают дезаминазной активностью. Поскольку ADAR1 находится в цитоплазме, где обычно находятся и вирусы, то именно этот фермент играет ключевую роль в редактировании вирусов, хотя ADAR2 также может участвовать в этом процессе.

Существует два типа ADAR зависимого редактирования РНК: сайт-специфическое редактирование и гиперредактирование.

При сайт-специфическом редактировании один или несколько аденозиновых нуклеотидов, расположены в определенных позициях мРНК, формирующих двухцепочечные петли, подвергаются дезаминированию. Например, в мРНК, кодирующей серотониновый рецептор нейронов HTR2C, редактируется пять аденозинов, находящихся поблизости друг от друга. [16]. В результате редактирования образуется 28 различных мРНК и 20 белковых изоформ [17]. Эффективность редактирования низкая на ранних стадиях развития и повышается с возрастом до периода зрелости [16].

В настоящее время не понятно каким образом ADAR ферменты избирательно редактируют аденозиновые остатки в определенных положениях, при этом не затрагивая в других. Однако показано, что специфичность действия и эффективность ADAR регулируется помимо вторичной структуры РНК особыми нуклеотидными последовательностями, называемыми цис-элементами, расположенными на больших расстояниях от редактируемого сайта [18]. Согласно некоторым данным с цис-элементами могут специфически связываться регулирующие редактирование белки [19].

Как в течение нормального развития, так и при нейропатологических заболеваниях и раке степень редактирования РНК точно не коррелирует с уровнем соответствующих мРНК и уровнем экспрессии ADAR ферментов. [20], что означает наличие клеточных факторов, регулирующих процесс редактирования. Уровень сайт-специфического редактирования зависит от генотипа, возраста, регулируется клеточным контекстом, а также внешними факторами, в том числе питанием [21]. Таким образом, редактирование регулируется внутренними факторами и условиями внешней среды.

Гиперредактирование происходит в длинных последовательностях двухцепочечной РНК и редактируется множество аденозинов [22]. Обычно длинные сайты, образующие дуплексы, находятся в нетранслируемых регионах.

Впервые редактирование РНК вирусов было обнаружено в 1984 при изучении вируса везикулярного стоматита [23]. На данный момент известно, что редактируются герпесвирусы, вирус гепатита С, вирус лихорадки Денге, вирус диареи крупного рогатого скота, ретровирусы, в том числе ВИЧ-1, аренавирусы, вирус гепатита дельта, парамиксовирусы и ортомиксовирусы др. [24]. ADAR дезаминаза может модифицировать вирусную РНК сайт-специфически, как это происходит например у вируса гепатита дельта, а может вызывать летальное гиперредактирование, редактируя множество аденозинов.

Сайт-специфические A-G мутации найдены вокруг RRE региона env гена, кодирующего белок оболочки ВИЧ-1 вируса [25]. Значение редактирования env было выявлено при помощи создания генома ВИЧ-1 с тремя отредактированными сайтами.

Мутанти експрессировались лучше, чем вирусы дикого типа [25]. Таким образом, в результате локализованного сайт-специфического мутагенеза возникают адаптивные варианты вируса ВИЧ-1.

Редактируются также специфические позиции в генах, кодирующих Rev и Tat белки [26]. Мутации rev гена происходят в шести позициях, мутации в tat - в одной позиции [26]. Пять из шести мутаций в последовательности rev гена приводят к заменам аминокислот в важных для активности Rev белка позициях. Следовательно, эти мутации могут быть адаптивными [26].

У вирусов гриппа AADAR зависимые множественные замены нуклеотида на G нуклеотид обнаружены в сегментах, кодирующих M1 белок матрикса, а также HA гемагглютинин [27, 28]. У одного из мутантов вируса птичьего гриппа H9N2, который приобрел способность избегать иммунный ответ, было обнаружено восемь A→G замен в сегменте РНК, кодирующем гемагглютинин, что привело к замене 4-х аминокислот белка, 2 из которых играли важную роль в ускользании от связывающихся с гемагглютинином антител [29]. Предполагается, что мутации возникли в результате редактирования вирусной РНК ADAR1 дезаминазой.

Секвенирование геномов вирусов Эбола, полученных от 232 больных показало, что человеческий организм вносит изменения в геном вируса [30]. Ряд данных указывает на то, что мутации вируса Эбола в течение последней эпидемии возникли в результате активности ферментов редактирования РНК аденозиновой дезаминазы ADAR и, не исключено даже, цитозиновой дезаминазы APOBEC семейства [30–32].

Мутагенез, осуществляемый AID дезаминазой, обладает очень важными свойствами. Во-первых, образующиеся мутации распределяются в геноме неслучайно. Они локализованы в гипервариабельных районах иммуноглобулиновых генов. Во-вторых, AID зависимый гипермутагенез иммуноглобулиновых генов индуцирует активация В-лимфоцитов встречей с антигеном. Следовательно, гипермутагенез локализован во времени и в пространстве. Достигается локализация за счет энхансерных и промоторных последовательностей ДНК и связывающихся с ними регуляторных белков и эпигенетических модификаций гистонов.

Пока не ясно, насколько локализованной является активность APOBEC3 дезаминаз. Однако показано, что они способны вызывать множественные локализованные мутации, наблюдаемые в геномах раковых клеток и называемые катагегисом [33]. Более того, последние данные свидетельствуют о том, что мутагенная активность APOBEC может быть сосредоточена в начале активно транскрибируемых генов [34].

О возможной локализации APOBEC3 мутагенеза у вирусов свидетельствуют данные, полученные при изучении папилломавируса HPV16. У HPV16 гипермутагенезу, вызываемому дезаминазами APOBEC3 семейства, как в организме человека, так и в культуре клеток подвергается E2 ген, а также контролирующий регион, содержащий ориджин репликации и промотор, регулирующий экспрессию ключевых генов онкогенеза E6 и E7 [35, 36].

Действие ADAR дезаминаз на клеточную РНК еще более локализовано: они могут действовать сайт-специфически в отличие от регион-специфического действия дезаминаз AID/APOBEC семейства.

Выше уже были приведены примеры локализации ADAR мутагенеза у вируса ВИЧ-1 и вируса гриппа А. При персистирующей инфекции вируса кори в центральной нервной системе в некоторых случаях развивается подострый склеротический панэнцефалит – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с летальным исходом. РНК вирусного генома, выделенная из клеток мозга больных, содержит 2% мутировавших нуклеотидов по сравнению с контрольным геномом вируса. Кластеры мутаций, вызываемых ADAR дезаминазами, в основном обнаружены в последовательности гена, кодирующего белок матрикса М, в меньшей степени встречаются в гене, кодирующем белок слияния F и гене гемагглютинина Н [37]. По крайней мере мутации в М и F белках необходимы для приобретения вирусом способности вызывать заболевание и персистировать в нейронах. То есть являются для вируса адаптивными. При острой инфекции такие мутации не обнаружены.

В настоящее время считается, что гипервариабельность определенных вирусных генов является результатом положительного отбора. ADAR и APOBEC дезаминазы вызывают образование мутаций случайно, редактируя с одинаковой вероятностью любые доступные аденозиновые и цитозиновые нуклеотиды вирусного генома. Затем в результате отбора закрепляются адаптивные мутации и сопутствующие им нейтральные мутации.

Однако приведенные выше данные позволяют предположить, что ADAR и APOBEC3 мутагенез может локализоваться в гипервариабельных, наиболее часто изменяющихся районах генома не в результате отбора, а в результате направленного образования мутаций первичными, вторичными и третичными особенностями структуры вирусов, т.е. архитектурой вирусов, а возможно и другими пока не установленными факторами. Это означает, что гипервариабельности на уровне белков будет соответствовать гипервариабельность на уровне генома, возникающая в результате локализованного гипермутагенеза. То есть гипермутагенез вирусов подобен гипермутагенезу иммуноглобулиновых генов, который сосредоточен в гипервариабельных участках иммуноглобулиновых генов не за счет отбора, а за счет локализованной активности AID дезаминазы, что увеличивает вероятность появления адаптивных вариантов. Сходным образом могут действовать ADAR дезаминазы, которые обладают способностью редактировать молекулы РНК сайт-специфически. Если это предположение верно, то активность клеточных дезаминаз может значительно ускорить адаптацию вирусов к новым клеточным условиям, а также к противовирусным препаратам и вакцинам.

Поэтому в настоящее время проводится поиск препаратов, действующих на активность вирусных белков, модулирующих активность APOBEC и ADAR дезаминаз. Как отмечалось выше, белок Vif ВИЧ-1 вируса связывается с APOBEC дезаминазами и стимулирует их деградацию. Это в свою очередь приводит к тому, что APOBEC дезаминазы вместо летального гипермутагенеза увеличивают изменчивость вируса и способствуют развитию заболевания.

К настоящему времени проведен скрининг 307520 веществ с целью поиска препаратов, способных ингибировать взаимодействие между APOBEC3G дезаминазой и Vif белком ВИЧ-1 вируса [38]. На втором этапе скрининга отобранные

вещества тестировались в клеточных системах. Было найдено одно вещество N.41, которое подавляет взаимодействие между Vif и APOBEC3G, а также увеличивает как уровень APOBEC3G в клетках, так и включение дезаминаз в вирусные частицы. Это вещество является перспективным для дальнейшего поиска препаратов, обладающих антивирусным эффектом.

#### Список литературы

1. Sanjuan, R. Viral mutation rates [Text] / R. Sanjuan, M. R. Nebot, N. Chirico, L. M. Mansky, R. Belshaw // *J. Virol.* – 2010. – V. 84. – P. 9733–9748.
2. Holland, J. Rapid evolution of RNA genomes [Text] / J. Holland, K. Spindler, F. Horodyski, [et al.] // *Science.* – 1982. – V. 215. – P.1577–1585
3. Domingo, E. Viral Quasispecies Evolution [Text] / E. Domingo, J. Sheldon, C. Perales // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – V. 76. – P. 159-216.
4. Pfeiffer, J. K. Increased fidelity reduces poliovirus fitness and virulence under selective pressure in mice [Text] / J. K. Pfeiffer, K. Kirkegaard // *PLoS Pathog.* – 2005. – V. 1. – e11.
5. Vignuzzi, M. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population [Text] / M. Vignuzzi, J. K. Stone, J. J. Arnold, C. E. Cameron, R. Andino // *Nature.* – 2006. – V. 439. – P. 344–348.
6. Meng, T. Attenuation of human enterovirus 71 high-replication-fidelity variants in AG129 mice [Text] / T. Meng, J. Kwang // *J. Virol.* – 2014. – V. 88. – P. 5803–5815.
7. Pfeiffer, J.K. Bottleneck-mediated quasispecies restriction during spread of an RNA virus from inoculation site to brain [Text] / J. K. Pfeiffer, K. Kirkegaard // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2006. – V. 103. – P. 5520-5525.
8. Conticello, S. G. The AID/APOBEC family of nucleic acid mutators [Text] / S. G. Conticello // *Genome Biol.* – 2008. – V.9. – P.229.
9. Willems, L. APOBEC3 Interference during Replication of Viral Genomes [Text] / L. Willems, N. A. Gillet // *Viruses.* – 2015. – V. 7. – P.2999-3018.
10. Sharma, S. APOBEC3A cytidine deaminase induces RNA editing in monocytes and macrophages [Text] / S. Sharma, S. K. Patnaik, R. T. Taggart, [et al.] // *Nat. Commun.* – 2015. – V. 6. – P. 6881.
11. Cuevas, J. M. Extremely High Mutation Rate of HIV-1 In Vivo [Text] / J. M. Cuevas, R. Geller, R. Garijo, [et al.] // *PLoS Biol.* – 2015. – V.13. – N.9. – e1002251.
12. Rawson, J. M. HIV-1 and HIV-2 exhibit similar mutation frequencies and spectra in the absence of G-to-A hypermutation [Text] / J. M. Rawson, S. R. Landman, C. S. Reilly, L. M. Mansky // *Retrovirology.* – 2015. – V.12. – P.60.
13. Sheehy AM. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein [Text] / A. M. Sheehy, N. C. Gaddis, J. D. Choi, M. H. Malim // *Nature.* – 2002. – V. 418. – P. 646–650.
14. Kim, E-Y. Human APOBEC3 Induced Mutation of Human Immunodeficiency Virus Type- 1 Contributes to Adaptation and Evolution in Natural Infection [Text] / E-Y. Kim, R. Lorenzo-Redondo, S. J. Little, [et al.] // *PLoS Pathog* – 2014. – V. 10. – N.7. – e1004281.
15. Mussil, B. Human APOBEC3A isoforms translocate to the nucleus and induce DNA double strand breaks leading to cell stress and death [Text] / B. Mussil, R. Suspene, M. M. Aynaud, [et al.] // *PLoS One* – 2013. – V.8. – e73641.
16. Wahlstedt, H. Large-scale mRNA sequencing determines global regulation of RNA editing during brain development [Text] / H. Wahlstedt, C. Daniel, M. Enstero, M. Ohman // *Genome Res.* – 2009. – V. 19. – P. 978-986.
17. Du, Y. A-to-I pre-mRNA editing of the serotonin 2C receptor: comparisons among inbred mouse strains [Text] / Y. Du, M. T. Davisson, K. Kafadar, K. Gardiner // *Gene.* – 2006. – V. 382. – P. 39-46.
18. Daniel, C. A. distant cis acting intronic element induces site-selective RNA editing [Text] / C. Daniel, M.T. Venø, Y. Ekdahl, [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2012. – V. 40. – P. 9876–9886.
19. Graveley, B. R. The developmental transcriptome of *Drosophila melanogaster* [Text] / B. R. Graveley, A. N. Brooks, J.W. Carlson, [et al.] // *Nature.* – 2011. – V. 471. – P. 473–479.
20. Deffit, S. N. To edit or not to edit: regulation of ADAR editing specificity and efficiency [Text] / S. N. Deffit, H. A. Hundley // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* – 2016. – V.7—N.1. – P.113-127.
21. Roux, P. F. The Extent of mRNA Editing Is Limited in Chicken Liver and Adipose, but Impacted by Tissue Context, Genotype, Age, and Feeding as Exemplified with a Conserved Edited Site in COG3 [Text] / P. F. Roux, L. Frésard, M. Boutin, [et al.] // *G3 (Bethesda).* – 2015. – V.6. – N.2. – P.321-335.
22. Wahlstedt, H. Site-selective versus promiscuous A-to-I editing [Text] / H. Wahlstedt, M. Ohman // *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* – 2011. – V. 2. – P.761-771.
23. O'Hara, P. J. Vesicular stomatitis virus defective interfering particles can contain extensive genomic sequence rearrangements and base substitutions [Text] / P. J. O'Hara, S. T. Nichol, F. M. Horodyski, J. J. Holland // *Cell.* – 1984. – V.36. – P.915– 924.
24. Tomaselli, S. ADARs and the Balance Game between Virus Infection and Innate Immune Cell [Text] / S. Tomaselli, F. Galeano, F. Locatelli, A. Gallo // *Curr. Issues Mol. Biol.* – 2015. – V.17. – P.37-51.
25. Phuphuakrat, A. Doublestranded RNA adenosine deaminases enhance expression of human immunodeficiency virus type 1 proteins [Text] / A. Phuphuakrat, R. Kraiwong, Boonarkart, [et al.] // *J. Virol.* – 2008. – V. 82. – P. 10864–10872.
26. Doria, M. Editing of HIV-1 RNA by the double-stranded RNA deaminase ADAR1 stimulates viral infection [Text] / M. Doria, F. Neri, A. Gallo, M.G. Farace, A. Michienzi // *Nucleic Acids Res.* – 2009. – V.37. – P. 5848–5858.
27. Tenoever, B. R. Multiple functions of the IKK-related kinase IKKepsilon in interferon-mediated antiviral immunity [Text] / B. R. Tenoever, S. L. Ng, M. A. Chua, [et al.] // *Science.* – 2007. – V. 315. – P.1274–1278.
28. Suspene, R. Double-stranded RNA adenosine deaminase ADAR-1-induced hypermutated genomes among inactivated seasonal influenza and live attenuated measles virus vaccines [Text] / R. Suspène, V. Petit, D. Puyraimond-Zemmour, [et al.] // *J. Virol.* – 2011. – V. 85. – P. 2458–2462.
29. Peacock, T. Antigenic mapping of an H9N2 avian influenza virus reveals two discrete antigenic sites and a novel mechanism of immune escape [Text] / T. Peacock, K. Reddy, J. James, [et al.] // *Sci. Rep.*—2016. – V.7. – N.6. – P. 18745.
30. Park, D. J. Ebola Virus Epidemiology, Transmission, and Evolution during Seven Months in Sierra Leone [Text] / D. J. Park, G. Dudas, S. Wohl, [et al.] // *Cell.* – 2015. – V. 161. – P. 1516-1526.

31. Shabman, R. S. Deep sequencing identifies noncanonical editing of Ebola and Marburg virus RNAs in infected cells [Text] / R. S. Shabman, O. J. Jabado, C. E. Mire, [et al.] // *mBio*. – 2014. – V. 5. – e02011.
32. Tong, Y.-G. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone [Text] / Y.-G. Tong, W.-F. Shi, Di Liu, [et al.] China Mobile Laboratory Testing Team in Sierra Leone // *Nature*. – 2015. – V. 524. – P. 93-96.
33. Burns, M. B. Evidence for APOBEC3B mutagenesis in multiple human cancers [Text] / M. B. Burns, N. A. Temiz, R. S. Harris // *Nat. Genet.* – 2013. – V. 45. – P. 977–983.
34. Lada, A. G. Disruption of Transcriptional Coactivator Sub1 Leads to GenomeWide Re-distribution of Clustered Mutations Induced by APOBEC in Active Yeast Genes [Text] / A. G. Lada, S. F. Kliver, A. Dhar, [et al.] // *PLoS Genet.* – 2015. – V. 11. – N. 5. – e1005217
35. Wang, Z. APOBEC3 deaminases induce hypermutation in human papillomavirus 16 DNA upon beta interferon stimulation [Text] / Z. Wang, K. Wakae, K. Kitamura, [et al.] // *J. Virol.* – 2014. – V. 88. – P. 1308–1317.
36. Vartanian, J.-P. Evidence for editing of human papillomavirus DNA by APOBEC3 in benign and precancerous lesions [Text] / J.-P. Vartanian, D. Guetard, M. Henry, S. Wain-Hobson // *Science*. – 2008. – V. 320. – P. 230–233.
37. Cattaneo, R. Biased hypermutation and other genetic changes in defective measles viruses in human brain infections [Text] / R. Cattaneo, A. Schmid, D. Eschle, [et al.] // *Cell*. – 1988. – V. 55. – P. 255–265.
38. Pery, E. Identification of a novel HIV-1 inhibitor targeting Vif-dependent degradation of human APOBEC3G protein [Text] / E. Pery, A. Sheehy, N. M. Nebane, [et al.] // *J Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 10504-10517.

### **CELLULAR FACTORS OF EMERGING VIRUS HYPERMUTATIONS**

**Popov N. N., Sklyar N. I., Kolotova T. Yu.**

*SI “Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkov, Ukraine*

*When RNA viruses replicate, they do so with a high rate of error; orders of magnitude greater than those of the most cell life forms. The molecular basis for high mutation rates is the absence of a proofreading-repair activity in the viral RNA-dependent RNA polymerases and reverse transcriptases. Hence, virus populations are not composed of a single genotype, but of different mutant genomes that have been determined as the viral quasispecies. The collections of all quasispecies form the mutant clouds that have important consequences for virus evolution and adaptation.*

*Beside polymerases dependent mutagenesis it is now well established that viruses require host cellular machineries for genome changes. RNA and DNA editing by cytosine deaminases of the AID/APOBEC3 family and adenosine deaminases acting on dsRNA (ADAR) family are the mechanisms of cell dependent virus lethal and non-lethal hypermutagenesis. A number of DNA and probably RNA viruses are a substrate for APOBEC3-mediated editing. APOBEC3 dependent hypermutagenesis is often lethal to virus replication, but APOBEC3 proteins can in some cases promote genetic diversification that fuel virus evolution. All viruses that have dsRNA structures at any stage of their life cycle may potentially undergo RNA editing events mediated by ADAR enzymes. These modifications can appear as either hyperediting or site-specific RNA editing in viral dsRNAs. RNA and DNA editing has shaped the evolution of such emergent virus as HIV-1, virus Ebola and influenza virus A.*

*The outcome of infection resulted from the balance between lethal hypermutagenesis and non-lethal APOBEC3 or ADAR mutagenesis that leads to expanding of the mutation clouds by generating new quasispecies. This balance is achieved by viral factors regulation of the cellular deaminases. Now the new therapeutic strategies that interfere with APOBEC3 and ADAR editing are investigated.*

**Keywords:** *quasispecies, mutation rate, cytosine deaminases, hypermutagenesis, AID/APOBEC3, adenosine deaminases ADAR, HIV-1, virus Ebola, influenza virus A*