

Cykl infekcyjny wirusa pryszczycy

GRAŻYNA PAPROCKA

Zakład Pryszczycy Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
ul. Wodna 7, 98-220 Zduńska Wola

Paprocka G.

Infectious cycle of foot-and mouth disease virus

Summary

Foot-and-mouth disease virus (FMDV) is a single-stranded, positive-sense RNA virus belonging to the genus *Aphthovirus* in the family *Picornaviridae*. FMDV enters cells via the mechanism of receptor-mediated endocytosis in which the low pH of the endosomal compartment triggers uncoating of the viral genome. FMDV enters cells by attaching itself to cellular receptor molecules of the integrin family. For FMDV the receptor has been identified as the Arg-Gly-Asp (RGD) binding integrin. The integrin-binding RGD is located in the G-H loop of VP1 and it is highly conserved among all seven serotypes.

The FMDV genome organization is similar to that of other picornaviruses. The genome is composed of three parts, the 5' non-translated region (5'NTR), the coding region and the 3' non-translated region (3'NTR) containing a heteropolymeric segment and poly(A) tail, which is required for viral replication. The 5'NTR plays important roles in cap-independent translation initiation of the viral polyprotein and in viral genome replication. After translation, the polyprotein is cleaved into four primary cleavage products: the amino terminal L protease; P1-2A, the precursor of the capsid proteins; 2BC and P3 which are cleaved into nonstructural proteins.

Keywords: FMDV, endocytosis, translation, replication

Wirus pryszczycy (foot-and-mouth disease virus, FMDV) jest typowym przedstawicielem rodziny *Picornaviridae*, rodzaj *Aphthovirus*. Materiałem genetycznym FMDV jest pojedyncza nić RNA o dodatniej polarności. Genom, którego organizacja jest podobna do innych pikornawirusów, składa się z niekodującego rejonu 5' (non translated region – 5'NTR) z dołączonym białkiem VPg, rejonu kodującego i niekodującego rejonu 3' (non translated region – 3'NTR) zawierającego poli(A). Genom koduje w pojedynczej ramce odczytu białka strukturalne VP1, VP2, VP3, P4, będące produktami obróbki proteolitycznej prekursora P1-2A, białka niestrukturalne powstają w wyniku przemian enzymatycznych prekursorów 2BC i P3 (ryc. 1). Organizację genomu wirusa pryszczycy omówiono szczegółowo w innym artykule (25).

Etapy namnażania się wirusów w zainfekowanej komórce zostały po raz pierwszy opisane pod koniec lat 30. ubiegłego wieku przez E. L. Ellisa i Maxa Delbrücka na przykładzie bakteriofagów. Późniejsze doświadczenia z użyciem wirusów zwierzęcych wykazały podobny jak u bakterii przebieg infekcji i umożliwiły jego poznanie na poziomie molekularnym. Wirus pryszczycy, podobnie jak inni przedstawiciele rodziny *Picornaviridae* ma relatywnie krótki cykl infekcji w hodowli komórkowej, zakaźne wiriony pojawiają się po 4-6 godzinach po zakażeniu. FMDV powo-

duje zmiany morfologiczne komórek, powszechnie nazywane efektem cytopatycznym, takie jak przybieranie kształtu kulistego, a następnie odłączanie się od podłoża w wyniku uszkodzenia cytoszkieletu komórek prowadzącego do zaniku adhezji. Wirus powoduje również zmiany biochemiczne, w tym zahamowanie translacji i transkrypcji komórek gospodarza (8).

Etapy wczesne: adsorpcja, penetracja i odplaszczanie

Wywołanie infekcji przez wirusa jest uzależnione od jego zdolności do połączenia z wrażliwą komórką. Wczesne etapy namnażania patogenu nie są procesami wyraźnie od siebie oddzielonymi. Rozpoczynają się od rozpoznania i przyłączenia (adsorpcji) cząstki wirusowej do receptorów komórkowych, a kończą na uwolnieniu genomu wirusowego. Wirus pryszczycy zakaża wrażliwe komórki za pośrednictwem endocytozy poprzedzanej związaniem wirusa ze swoistym receptorem obecnym w błonie komórkowej. FMDV wiąże się błyskawicznie z komórkami w hodowli, zarówno w temperaturze 4°C, jak i 37°C, wykorzystując receptory, których liczbę określono na 10³-10⁴ na komórkę (4). Trawienie trypsyną powodowało utratę infekcyjności wirusa spowodowaną jego ograniczoną zdolnością do wiązania się z komórkami w hodowli. Analiza wirusa potraktowanego trypsyną ujawniła

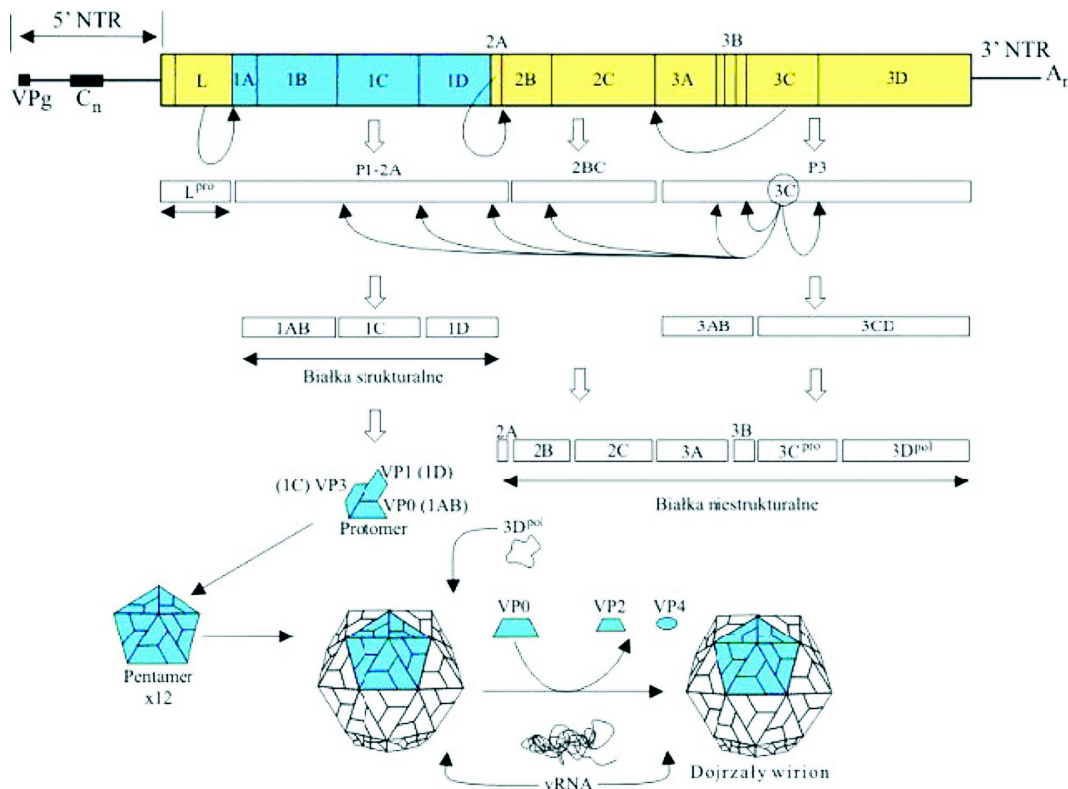
pojedyncze rozszczepienie białka VP1 w obszarze Arg144, zlokalizowanym w pętli G-H, co wskazywało na wzajemne oddziaływanie tego regionu z receptorem na powierzchni komórki (5).

Pierschbacher i Ruoslahti, badając w 1984 r. proces wiązania się fibronektyny (FN) z komórkami, donosili, że obecna w tym białku sekwencja Arg-Gly-Asp (RGD) jest rozpoznawana przez komórkę i że występuje również w białku VP1 wirusa pryszczycy.

Fibronektyna jest aktywnym składnikiem macierzy pozakomórkowej, makromolekularnej sieci otaczającej komórki w różnych tkankach. Jednocześnie stwierdzono, że cząsteczki FN są

swoiście związane do komórek poprzez obecne na ich powierzchni receptory integrynowe. Integryny są glikoproteinami zbudowanymi z dwóch podjednostek (α i β) związanymi niekowalencyjnie z powierzchnią komórki (27). Wyniki doświadczeń szeregu grup badawczych potwierdziły, że sekwencje RGD, wysoce konserwatywne dla wszystkich serotypów FMDV, zlokalizowane w najbardziej zróżnicowanej części białka VP1, uczestniczą w interakcji wirusów pryszczycy i receptorów integrynowych, takich jak $\alpha v \beta_1$, $\alpha v \beta_3$, $\alpha v \beta_6$, $\alpha v \beta_8$. Wirusy ze zmutowaną lub usuniętą sekwencją RGD traciły zdolność do namnażania się w hodowli komórkowej i nie wywoływały choroby u zwierząt podatnych. Późniejsze badania wykazały, że wnikiwanie wirusa do komórki jest procesem kompleksowym, a wstępny kontakt FMDV z komórką odbywa się za pośrednictwem siarczanu heparyny występującego na jej powierzchni (25).

Chociaż etapy penetracji i odplaszczania wirusa pryszczycy nie zostały zbadane zbyt szczegółowo, to jednak z poczynionych obserwacji wynika, że po przyłączeniu się do powierzchni komórki dojrzały wirion o wskaźniku sedymentacji 140S rozpada się na pentameryczne podjednostki 12S, uwalniając RNA. Rozkład wirusa następuje prawdopodobnie w momencie wnikięcia do wnętrza endosomu charakteryzującego się odczynem kwaśnym (3). Po uwolnieniu genomu rozpoczynają się procesy tworzenia potomnych cząstek wirusowych, a więc: translacja, replikacja wirusowego materiału genetycznego oraz składanie i dojrzewanie wirionów.



Ryc. 1. Organizacja genomu FMDV (wg Clavijo i wsp., 8)

Translacja wirusowa

Genom (+) RNA wirusów ulega translacji przez komórkowy system translacyjny, który przestawia się na syntezę białek wirusa. Po odplaszczeniu RNA jest uwalniany do cytoplazmy przez nieznaną dotychczas mechanizm i rozpoczyna się translacja. Proces składa się z trzech etapów: inicjacji translacji, podczas której tworzony jest kompleks rybosomowy 80S i powstaje pierwsze wiązanie peptydowe, elongacji czyli syntezy łańcucha białkowego w wyniku przesuwania się rybosomów wzdłuż mRNA i terminacji, w czasie której następuje uwolnienie utworzonego polipeptydu. Istotną rolę w mechanizmie regulacji translacji odgrywa specyficzna struktura końców genomowego RNA. mRNA pikornawirusów nie zawiera na końcu 5' struktury o nazwie czapeczki lub kap, którą posiada mRNA gospodarza. Koniec 5' mRNA łączący się z polirybosomami jest zakończony resztą pUp, do której dołączone jest białko wirusowe VPg, co uniemożliwia rozpoznanie wirusowego końca 5' przez białko e1-4F wchodzące w skład zależnego od obecności kap komórkowego aparatu translacyjnego. Wirusowy mRNA inicjuje syntezę białka przez mechanizm niezależny od czapeczki, z udziałem struktury IRES (internal ribosome entry). 48S preinicjacyjny kompleks wiąże się z sekwencjami IRES w wyniku oddziaływania z drugo- i trzeciorzędowymi strukturami wirusowego RNA i przy udziale czynników komórkowych (16). W komórkach zakażonych FMDV translacja mRNA zależna od kap zostaje zablokowana w wyniku proteoli-

tycznego cięcia czynnika inicjacji translacji białka eIF-4G, który jest podjednostką czynnika eIF-4F przez wirusową proteazę L^{pro} (15). To cięcie powoduje zatrzymanie syntezy białek komórkowych, natomiast translacja wirusowego mRNA zachodzi bez przeszkód. Inicjacja translacji mRNA wirusa pryszczycy wymaga tylko produktu powstającego w wyniku cięcia eIF-4G na końcu C przez L^{pro}, który wiąże się z elementem IRES i współdziała ze związanymi z rybosomalną podjednostką 40S białkami eIF4A i eIF-3 (17, 29). Proces kap-niezależnej inicjacji translacji z udziałem sekwencji IRES jest przeprowadzany przez białka komórkowe, zanim zostaną zsyntetyzowane niestrukturalne białka wirusowe. W procesie translacji RNA pikornawirusów wymagana jest obecność standardowych komórkowych czynników inicjacji translacji (eIF) – białek dołączających się do rybosomów, jak również IRES-specyficznych komórkowych czynników działających *in trans* (ITAF). Z elementem IRES wirusa pryszczycy łączy się białko eIF-4B, które zostało zidentyfikowane zarówno w preinicjacyjnych kompleksach 48S, jak i w rybosomach 80S (17). Ponadto wykazano, że czynnik gospodarza, o masie 57 kDa, rozpoznany następnie jako białko wiążące szlak polipirydynowy (PTBP, polypyrimidine tract-binding protein) współdziała z co najmniej dwoma regionami elementu IRES. Ich usunięcie hamowało wiązanie białka oraz translację *in vitro* (18, 22). Niedawno zidentyfikowano białko o masie 45 kDa, swoisty dla IRES czynnik działający *in trans* (ITAF₄₅), który wraz z PTBP uczestniczy w powstaniu kompleksu transkrypcyjno-inicjacyjnego 48S (19). Dotychczas nie wykazano, aby kolejny czynnik gospodarza, PCBP (poly(C) binding protein), aktywny u wirusa polio brał udział w translacji mRNA wirusa pryszczycy. Jednak obecność poli(C) powyżej elementu IRES może świadczyć o jego wykorzystaniu w translacji, replikacji genomu albo w obu tych procesach. Jednocześnie stwierdzono, że PCBP przyczynia się do utrzymania odpowiedniej równowagi między translacją a replikacją RNA wirusa polio (7). Inne, interesujące badania sugerują, że także koniec 3' genomu FMDV może być wymagany do translacji. Usunięcie poli(A) albo pętli 3' i poli(A) powodowało zmniejszenie intensywności reakcji translacji *in vitro*, natomiast dodanie wymienionych elementów stymulowało ten proces sterowany przez IRES (17).

Powstający w wyniku translacji genomu wirusa pryszczycy pojedynczy polipeptyd podlega obróbce proteolitycznej, prowadzącej do powstania białek strukturalnych i niestrukturalnych (ryc. 1). Reakcje pierwotnego rozszczepienia poliproteiny są wynikiem działania proteaz L^{pro} i 3C^{pro} oraz peptydu 2A. Proteaza L^{pro} katalizuje własne odcinanie od cząsteczki poliproteiny. Oddzielenie białka P1-2A jest przeprowadzane przez 2A. Pozostałe cięcia poliprotein dokonuje 3C^{pro}, spokrewniona z rodziną trypsyn należąca do grupy proteaz serynowych (6, 25).

Replikacja genomowego RNA

Replikacja genomowego RNA została poznana najlepiej u enterowirusów, podczas gdy bardzo mało badań poświęcono temu procesowi u wirusa pryszczycy. Zakłada się, że przebieg replikacji RNA wirusa pryszczycy jest podobny do modelu opracowanego dla wirusa polio. Pierwszym etapem replikacji genomu jest synteza komplementarnej nici o ujemnej polarności. W procesie biorą udział niestrukturalne białka wirusowe, wśród których najważniejsza jest RNA-zależna polimeraza RNA (3D^{pro}) oraz białka komórek gospodarza. Do rozpoczęcia replikacji genomu niezbędna jest represja procesu translacji (11). W komórkach zakażonych wirusem polio prekursor polimerazy (3CD) wiąże się ze strukturą 5' „liścia koniczyny”, modyfikując powinowactwo białka PCBP, uczestniczącego w inicjacji translacji, do IRES. Struktura „liścia koniczyny” występująca na końcu 5' RNA wirusa polio ma dwa niezależne miejsca wiązania białek PCBP i 3CD. Oddziaływanie PCBP ze strukturą „liścia koniczyny” stymuluje proces translacji kierowanej przez struktury IRES, natomiast oddziaływanie z białkiem 3CD hamuje ten proces. Sugeruje się, że wzajemna relacja pomiędzy PCBP i 3CD odnośnie do wiązania z odpowiednimi motywami w wirusowym RNA określa, czy proces translacji będzie stymulowany, czy hamowany. Mechanizm kontroli procesów translacji i replikacji u FMDV, u którego nie występuje struktura „liścia koniczyny”, nie został poznany. Nie wiadomo, czy 3CD odgrywa podobną rolę w replikacji RNA wirusa pryszczycy, ale jednak wykazano, że w komórkach zakażonych FMDV białko to rozszczepia się gwałtownie na 3C^{pro} i 3D^{pol} (14).

Nadal istnieją kontrowersje na temat inicjacji syntezy ujemnej nici RNA pikornawirusów. Jeden z proponowanych modeli zakłada, że inicjacja zaczyna się od cyrkularyzacji genomu wspomaganą przez proces wiązania białka PABP (poli A binding protein) z poli(A) i PCBP-3CD-5' ze strukturą „liścia koniczyny”. W genomie wirusa pryszczycy interakcje 5' zachodzą prawdopodobnie w obrębie fragmentu S i mogą obejmować poli(C) (25). Ponieważ proces zachodzi w cytoplazmie, w obecności komórkowych mRNA, które też zawierają poli(A), pikornawirusy wytworzyły mechanizmy umożliwiające polimerazie rozpoznanie wirusowego RNA. W komórkach zakażonych pikornawirusem, RNA zarówno o dodatniej, jak i ujemnej nici jest połączony z VPg. Białko to jest urydylowane przez polimerazę, a powstające w tej reakcji białko VPgUpU staje się starterem do inicjacji syntezy RNA przeprowadzanej również przez 3D^{pol} (23). Odkrycie elementu cre o strukturze szpilki do włosów umożliwiło wyjaśnienie mechanizmu urydylacji VPg i zdolności polimerazy do odróżnienia RNA wirusowego od komórkowych. Reszta adenozy w cre stanowi matrycę do przyłączenia reszty urydylowej w białku VPg. Warunkiem niezbędnym do zajścia urydylacji jest

obecność 3' końcowej sekwencji poli(A) oraz odpowiednie stężenie UTP. Stwierdzono, że struktura *cre* znajdująca się w niekodującym rejonie 5' genu wirusa pryszczycy zawiera konserwatywny motyw AAACA w obrębie pętli, który jest wymagany do syntezy ujemnej nici polio- i rinowirusa (12). Ponadto mutacje w tym motywie w poważnym stopniu ograniczały replikację wirusa pryszczycy w hodowli komórkowej, jednak element *cre* w genomach pikornawirusów jest pozycyjnie niezależny (20). Obecnie nie jest jasne, czy białko VPg jest wykorzystywane na etapie inicjacji. Drugi model replikacji zakłada, że synteza nici ujemnej zaczyna się na końcu poli(A).

Zaraz po reakcji inicjacji rozpoczyna się proces wydłużania nici ujemnej katalizowany przez 3D^{pol}, który prowadzi do powstania formy replikacyjnej (RF) o dwuniciowej strukturze RNA. W przypadku pikornawirusów nigdy nie stwierdzono *in vivo* wolnych nici o ujemnej polarności. Po powstaniu RF może się rozpocząć synteza nowej nici dodatniej. W komórkach zakażonych wirusem polio proporcja nici dodatnich do ujemnych wynosi około 50 : 1, co wskazuje na to, że pojedyncza nić o ujemnej polarności może być matrycą dla wielokrotnej inicjacji syntezy nici dodatniej (1).

Inicjacja syntezy nici dodatniej z RF nie jest jasna, sugeruje się istnienie dwóch mechanizmów powstawania białka VPgUp. Pierwszy z udziałem już istniejącego urydylowanego VPg otrzymanego w dużej ilości podczas syntezy nici ujemnej, albo otrzymanego poprzez urydylację VPg na końcu 3' nici ujemnej. Druga hipoteza, która rozważa również wspomniany powyżej mechanizm inicjacji syntezy nici ujemnej, zakłada, że VPgUpU powstaje na końcu 3' poli(A) nici dodatniej i jest wykorzystywany do syntezy nici ujemnej, a wytworzone przy udziale elementu *cre*, VPgUpU służy do syntezy nici dodatniej. Ponieważ wszystkie dane stanowiące podstawę tej drugiej hipotezy pochodzą z systemu bezkomórkowego, nadal nie ma pewności, czy te mechanizmy występują w zakażonych komórkach (21). Do syntezy nici dodatniej konieczne jest rozwinięcie dwuniciowej cząsteczki RF. Mechanizm tego procesu jest również niewyjaśniony. Białko 2C pikornawirusów zawiera aktywną ATP-azę (26), a także motywy helikazy, ale aktywność helikazy nie została udokumentowana (10). Wiadomo, że 2C i białko komórkowe p38 łączą się z pętlą końca 3' nici ujemnej, co może prowadzić do destabilizacji cząsteczki RF (1). Wydłużanie nici dodatniej przez 3D^{pol} odbywa się przez nieznaną dotąd mechanizm.

Pełna replikacja RNA pikornawirusów w systemie bezkomórkowym, włącznie z syntezą białek *de novo*, replikacją genomu i pakowaniem do kapsydu w celu utworzenia infekcyjnej cząstki wirusa, została przeprowadzona dla wirusa polio i wirusa zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (EMCV). Synteza RNA odbywa się w obrębie kompleksu replikacyjno-błonowego powstającego z błon siateczki endoplazmatycznej oraz

aparatu Golgiego, zawierającego wirusowe białka nie-strukturalne kodowane przez regiony P2 (2B, 2BC i 2C) oraz P3 (3A i jego prekursorzy, 3C^{pro}, 3D^{pol}) (31). Struktury podobne do tych kompleksów replikacyjnych, zawierające RNA i 3D^{pol} zostały wykryte w komórkach zakażonych FMDV (28). Ponadto stwierdzono, że białko 2C jest bezpośrednio zaangażowane w ten proces, natomiast białko 2B bierze udział w tworzeniu odpowiedniej dla replikacji struktury błonowej, ale jego rola w syntezie RNA nie została wyjaśniona (8).

W wyniku zakażenia przez pikornawirusy następuje gwałtowna represja transkrypcji komórek gospodarza, która nie wydaje się związana z hamowaniem ich translacji. Okazało się, że w komórkach zainfekowanych wirusem pryszczycy następuje rozszczepienie histonu H3 przez 3C^{pro}, nie stwierdzone ani w komórkach zakażonych wirusem polio, ani EMCV (13). Należy więc sądzić, że FMDV może hamować transkrypcję komórek gospodarza przez mechanizm różniący się od występującego u entero- i kardiowirusów.

Składanie i dojrzewanie cząstek wirusowych

Po wytworzeniu w zainfekowanej komórce odpowiedniej ilości genomowego kwasu nukleinowego i białek następuje składanie nowych cząstek wirusowych. Proces składania i dojrzewania wirionów FMDV jest mało poznany. Podobnie jak poprzednio, najczęściej przeprowadzonych badań dotyczyło enterowirusów, a w odniesieniu do wirusa pryszczycy większość informacji musi być przyjmowana przez analogię. Formowanie cząstek wirusowych następuje w cytoplazmie. Produkty obróbki proteolitycznej prekursora P1, dokonywanej przez 3C^{pro}, tworzą razem strukturę protomerów, zawierającą pojedynczą kopię każdego z białek VP0, VP1 i VP3. Pięć protomerów może tworzyć pentamer, a 12 pentamerów ostateczną skorupę kapsydu. W czasie dojrzewania cząstek wirusowych, po zapakowaniu genomowego RNA do kapsydu następuje przecięcie VP0 przez 3C^{pro} na VP2 i VP4. W zainfekowanych komórkach zidentyfikowano wiele form pośrednich, w tym: protomery, pentamery, cząsteczki z nierozszczepionym białkiem VP0 zawierające RNA (prowirion) oraz pozbawione RNA (pusty kapsyd) (33). Zastosowanie techniki znakowania radioaktywnego pozwoliło na monitorowanie etapów składania FMDV, począwszy od białek strukturalnych do protomerów, pentamerów, pustych kapsydów i końcowych wirionów. W zakażonych komórkach nie udokumentowano naturalnego występowania prowirionów, chociaż wykazano ich obecność podczas namnażania innych pikornawirusów. Do kapsydu pikornawirusów, zawierających jako genom RNA o dodatniej polarności, pakowane są tylko takie nici, z wyłączeniem wszystkich innych wirusowych i komórkowych RNA, które są obecne w zainfekowanej komórce. Wykorzystywane są wyłącznie nowo syntetyzowane nici potomne, co wskazuje na powiązanie tego procesu z aktywną replikacją RNA (24).

Wiele przeprowadzonych badań dostarczyło dowodów przemawiających za obecnością w genomie pikornawirusów elementu odpowiedzialnego za specyficzność wbudowywania ich genomowego kwasu nukleinowego do kapsydu (8). Niedawno został stwierdzony w obrębie pętli końca 5' genomu, nowo odkrytego pikornawirusa Aichi element odpowiedzialny za prawidłowe pakowanie. Jest to pierwsze doniesienie o obecności takiego elementu w rodzinie *Picornaviridae* (30). Ukazało się również jedno, nie potwierdzone doniesienie informujące o włączeniu genomu wirusa pryszczycy w kapsyd enterowirusa bydłęcego (32). Obecnie istnieją dwa modele montażu pikornawirusów. Jeden z nich przewiduje, że pentamery organizują się w puste kapsydy, po czym następuje insercja RNA, natomiast drugi zakłada, że pentamery bezpośrednio współdziałają z RNA, tworząc prowirion. W obu przypadkach wiadomo, że do utworzenia kapsydu konieczna jest merystylacja końca aminowego VP0 (2). Końcowym etapem montażu wirionu, po zapakowaniu genomowego kwasu nukleinowego jest rozszczepienie VP0 pomiędzy resztami Asp-Ser, do dwóch końcowych białek VP4 oraz VP2 (25). Podczas odtwarzania tego procesu z udziałem pustych kapsydów FMDV wykazano, że dla właściwego podziału VP0 konieczna jest obecność wirusowego RNA. Przymuszczenie, cięcie VP0 zachodzi w sposób autokatalityczny i jest niezbędne do powstania infekcyjnej formy dojrzałego wirionu uwalnianego w wyniku lizy komórki (9) (ryc. 1).

Przedstawione badania wykazują, jak złożony jest proces namnażania pikornawirusów w zainfekowanych komórkach. Wykorzystanie metod hodowli komórkowych oraz nowych technik badawczych umożliwiło zdobycie fascynującej wiedzy, chociaż wiele informacji jest jeszcze niekompletnych, a w odniesieniu do wirusa pryszczycy często pozyskanych od innych członków rodziny *Picornaviridae*. Można więc oczekiwać dalszego postępu badań w tym zakresie.

Piśmiennictwo

1. Agol V. I., Paul A. V., Wimmer E.: Paradoxes of the replication of picornaviral genomes. *Virus Res.* 1999, 62, 129-147.
2. Ansardi D. C., Porter D. C., Morrow C. D.: Myristylation of poliovirus capsid precursor P1 is required for assembly of subviral particles. *J. Virol.* 1992, 66, 4556-4563.
3. Baxt B.: Effect of lysosomotropic compounds on early events in foot-and-mouth disease virus replication. *Virus Res.* 1987, 7, 257-271.
4. Baxt B., Bachrach H. J.: Early interactions of foot-and-mouth disease virus with cultured cells. *Virology* 1980, 104, 42-55.
5. Baxt B., Bachrach H. J.: The adsorption and degradation of foot-and-mouth disease virus by isolated BHK-21 cell plasma membranes. *Virology* 1982, 116, 391-405.
6. Bazan J. F., Fletterick R. J.: Viral cysteine proteases are homologous to the trypsin-like family of serine proteases: structural and functional implications. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1988, 85, 7872-7876.
7. Blyn L. B., Towner J. S., Semler B. L., Ehrenfeld E.: Requirement of poly(rC) binding protein 2 for translation of poliovirus RNA. *J. Virol.* 1997, 71, 6243-6246.
8. Clavijo A., Wright P., Kitching P.: Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease. *Vet. J.* 2004, 1, 9-22.
9. Curry S., Fry E., Blakemore W., Abu-Ghazaleh R., Jackson T., King A., Lea S., Newman J., Stuart D.: Dissecting the roles of VP0 cleavage and RNA packaging in picornavirus capsid stabilization: the structure of empty capsids of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol.* 1997, 71, 9743-9752.
10. Dmitrieva T. M., Norkina K. B., Agol V. I.: Encephalomyocarditis virus RNA polymerase preparations, with and without RNA helicase activity. *J. Virol.* 1991, 65, 2714-2717.
11. Gamarnik A. V., Andino R.: Switch from translation to RNA replication in a positive-stranded RNA virus. *Genes Dev.* 1998, 12, 2293-2304.
12. Goodfellow I. Y., Chaudhry Y., Richardson A., Meredith J., Almond J. W., Barclay W., Evans D. J.: Identification of a cis-acting replication element within the poliovirus coding region. *J. Virol.* 2000, 74, 4590-4600.
13. Grigera P. R., Tisminetzky S. G.: Histone H3 modification in BHK cells infected with foot-and-mouth disease virus. *Virology* 1984, 136, 10-19.
14. Grubman M. J., Zellner M., Bablanian G., Mason P. W., Piccone M. E.: Identification of the active-site residues of the 3C proteinase of foot-and-mouth disease virus. *Virology* 1995, 213, 581-589.
15. Kirchwegger R., Ziegler E., Lamphear B. J., Waters D., Liebig H. D., Sommergruber W., Sobrino F., Hohenadl C., Blaas D., Rhoads R. E., Skern T.: Foot-and-mouth disease virus leader proteinase: purification of the Lb form and determination of its cleavage site on eIF-4 gamma. *J. Virol.* 1994, 68, 5677-5684.
16. Kuhn R., Luz N., Beck E.: Functional analysis of the internal translation initiation site of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol.* 1990, 64, 4625-4631.
17. Lopez de Quinto S., Martinez-Salas E.: Interaction of the eIF4G initiation factor with the aphthovirus IRES is essential for internal translation initiation in vivo. *RNA* 2000, 6, 1380-1392.
18. Luz N., Beck E.: Interaction of a cellular 57-kilodalton protein with the internal translation initiation site of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol.* 1991, 65, 6486-6494.
19. Martinez-Salas E., Ramos R., Lafuente E., Lopez de Quinto S.: Functional interactions in internal translation initiation directed by viral and cellular IRES elements. *J. Gen. Virol.* 2001, 82, 973-984.
20. Mason P. W., Bezborodova S. V., Henry T. M.: Identification and characterization of a cis-acting replication element (cre) adjacent to the internal ribosome entry site of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol.* 2002, 76, 9686-9694.
21. Murray K. E., Barton D. J.: Poliovirus CRE-dependent VPg uridylylation is required for positive-strand RNA synthesis but not for negative-strand RNA synthesis. *J. Virol.* 2003, 77, 4739-4750.
22. Niepmann M., Petersen A., Meyer K., Beck E.: Functional involvement of polypyrimidine tract-binding protein in translation initiation complexes with the internal ribosome entry site of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol.* 1997, 71, 8330-8339.
23. Nomoto A., Kitamura N., Golini F., Wimmer E.: The 5'-terminal structures of poliovirus RNA and poliovirus mRNA differ only in the genome-linked protein VPg. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1977, 74, 5345-5349.
24. Nugent C. I., Johnson K. L., Sarnow P., Kirkegaard K.: Functional coupling between replication and packaging of poliovirus replicon RNA. *J. Virol.* 1999, 73, 427-435.
25. Paprocka G.: Wirus pryszczycy i jego budowa molekularna. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 753-756.
26. Pfister T., Jones K. W., Wimmer E.: A cysteine-rich motif in poliovirus protein 2C(ATPase) is involved in RNA replication and binds zinc in vitro. *J. Virol.* 2000, 74, 334-343.
27. Pierschbacher M. D., Ruoslahti E.: Cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small synthetic fragments of the molecule. *Nature* 1984, 309, 30-33.
28. Polatnick J., Wool S. H.: Correlation of surface and internal ultrastructural changes in cells infected with foot-and-mouth disease virus. *Can. J. Comp. Med.* 1983, 47, 440-444.
29. Saleh L., Rust R. C., Fullkrug R., Beck E., Bassili G., Ochs K., Niepmann M.: Functional interaction of translation initiation factor eIF4G with the foot-and-mouth disease virus internal ribosome entry site. *J. Gen. Virol.* 2001, 82, 757-763.
30. Sasaki J., Taniguchi K.: The 5'-end sequence of the genome of Aichi virus, a picornavirus, contains an element critical for viral RNA encapsidation. *J. Virol.* 2003, 77, 3542-3548.
31. Suhly D. A., Giddings Jr. T. H., Kirkegaard K.: Remodeling the endoplasmic reticulum by poliovirus infection and by individual viral proteins: an autophagy-like origin for virus-induced vesicles. *J. Virol.* 2000, 74, 8953-8965.
32. Trautman R., Suttmoller P.: Detection and properties of a genomic masked viral particle consisting of foot-and-mouth disease virus nucleic acid in bovine enterovirus protein capsid. *Virology* 1971, 44, 537-543.
33. Yafal A. G., Palma E. L.: Morphogenesis of foot-and-mouth disease virus. I. Role of procapsids as virion precursors. *J. Virol.* 1979, 30, 643-649.

Adres autora: doc. dr hab. Grażyna Paprocka, ul. Wodna 7, 98-220 Zduńska Wola; e-mail: grazyna@piwzp.invar.net.pl