

УДК 578.233.3:578.247

*П.С. Усольцева^{1,2}, А.В. Новоселов², А.В. Резайкин², А.Г. Сергеев¹, А.В. Алимов²***МЕХАНИЗМЫ ИНТЕРНАЛИЗАЦИИ ЭНТЕРОВИРУСОВ ВИДА В**¹ Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Российская Федерация;² Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций,
г. Екатеринбург, Российская Федерация*P.S. Usoltseva^{1,2}, A.V. Novoselov², A.V. Rezaykin², A.G. Sergeev¹, A.V. Alimov²***INTERNALIZATION MECHANISMS OF ENTEROVIRUS B SPECIES**¹ Urals State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;² Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме. В обзоре рассмотрены механизмы интернализации и внутриклеточной маршрутизации вирус-рецепторных комплексов на примере представителей энтеровирусов вида В: эховирусов 1, 6, 7, 11 серотипов, вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3. Общей характеристикой рассмотренных энтеровирусов является использование различных первичных клеточных рецепторов близкородственными вариантами вирусов, относящимися к одному серотипу. В качестве первичных рецепторов могут использоваться некоторые интегрины; фактор, ускоряющий распад комплемента (DAF); коксакивирусный-аденовирусный рецептор (CAR); гепарансульфаты и другие молекулы. После прикрепления к первичному рецептору и проникновения в клетку последующие события освобождения геномной РНК и ее транслокация через мембрану эндосомы в цитоплазму клетки могут быть разобщены во времени. Формирование А-частиц (промежуточной конформации вирионов перед освобождением геномной РНК) у вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3 может быть опосредовано только рецептором CAR. Если CAR не экспрессируется на поверхности клеток, то он выполняет роль вторичного рецептора внутри клеток или в области плотных контактов между поляризованными клетками. Молекулярные механизмы интернализации вирус-рецепторных комплексов определяются как типом первичного рецептора, так и особенностями маршрутизации и дифференцировки эндосом с энтеровирусами в различных видах культур клеток. Типичным для рассмотренных энтеровирусов является завершение внутриклеточного трафика в мультивезикулярных структурах, не подвергающихся закислению внутренней среды. Изучение путей интернализации и внутриклеточного трафика энтеровирусов вида В, сопряженных с депроотеинизацией вирусной РНК и транслокацией вирусного генома в цитоплазму клеток, обеспечивает понимание молекулярных механизмов энтеровирусной инфекции на субклеточном уровне и способствует расширению теоретических основ для разработки таргетированных лекарственных средств с использованием наноносителей.

Abstract. This review focuses on the entry mechanisms and intracellular traffic of several members of the human Enterovirus B species in the Enterovirus genus of the family Picornaviridae: echoviruses 1, 6, 7, 11, coxsackieviruses A9 and B3. A common trait of these enteroviruses is the ability to use different primary cellular receptors by closely related viruses of the same serotype. Certain integrins, decay accelerating factor (DAF), coxsackievirus-adenovirus receptor (CAR), heparan sulfates and some other molecules may act as primary receptors for the enteroviruses. Following attachment to the primary receptor and entry into a cell, the subsequent events of RNA uncoating and its translocation from the endosome to the cytosol may have a delay in time. The formation of A-particles, considered as the intermediate virion conformation before release of the genomic RNA, in case of coxsackieviruses A9 and B3 is catalyzed by CAR only. If CAR is not expressed on the cell surface, it acts as a secondary receptor inside the cells or within the tight junctions of polarized cells. Molecular components of entry pathways for virus-receptor complexes are determined both by the type of a primary receptor and by the peculiarities of signal transduction, internalization and endosomal maturation in different cultured cells. The typical endpoint of traffic for the considered enteroviruses is located in nonacidic multivesicular endosomes that are not identical to late endosomes or lysosomes. The study of entry pathways and intracellular traffic of species B enteroviruses provides insights on the molecular mechanisms of viral life cycle at the subcellular level and contributes to the new theoretical basics for the development of targeted drugs using nanocarriers.

Keywords: enteroviruses, echoviruses, coxsackievirus A9, coxsackievirus B3, entry pathways, internalization

Ключевые слова: энтеровирусы, эховирусы, Коксаки А9, Коксаки В3, пути проникновения, интернализация

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Усольцева Полина Сергеевна
savina_polina@mail.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:

Polina S. Usoltseva
savina_polina@mail.ru

Дата поступления 03.05.2018

Received 03.05.2018

Образец цитирования:

Усольцева П.С., Новоселов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г., Алимов А.В. Механизмы интернализации энтеровирусов вида В. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №3, с. 455–469, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-455-469

For citation:

Usoltseva P.S., Novoselov A.V., Rezaykin A.V., Sergeev A.G., Alimov A.V. Internalization mechanisms of enterovirus B species. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 3, pp. 455–469. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-455-469 (In Russ)

Введение

В соответствии с действующей классификацией, энтеровирусы вида В (*Enterovirus B species*) относятся к роду *Enterovirus* семейства *Picornaviridae* порядка *Picornavirales* [1]. Вид *Enterovirus B* объединяет 63 серотипа энтеровирусов: шесть серотипов вирусов Коксаки В (с CV-B1 по CV-B6), один серотип вирусов Коксаки А (CV-A9), все серотипы эховирусов (с E-1 по E-7, E-9, с E-11 по E-21, с E-24 по E-27, с E-29 по E-33), а также ряд энтеровирусов человека (например, EV-B69, EV-B73) и животных (например, EV-B113), обозначаемых номерами [2].

За последние 15 лет в области исследований пикорнавирусов, в том числе — энтеровирусов вида В (EV-B), был достигнут существенный прогресс в понимании структурно-функциональных аспектов взаимодействия вирусов с различными клеточными рецепторами в процессе связывания, интернализации и внутриклеточного трафика [3, 4] за счет применения новых высокоспецифичных методов блокирования отдельных путей эндоцитоза короткими интерферирующими РНК (киРНК (siRNAs (small interfering RNAs) — короткие интерферирующие РНК (киРНК)), экзогенной экспрессии доминантно-негативных мутантных вариантов клеточных белков, а также за счет применения лазерной сканирующей конфокальной микроскопии для установления ко-локализации флуоресцентно меченных клеточных и вирусных белков. Прогресс вирусологических исследований базировался на новых фундаментальных представлениях о путях и молекулярных механизмах эндоцитоза [5, 6, 7], внутриклеточного трафика эндосом и их дифференцировки [8, 9]. Теоретические концепции, разработанные в результате изучения механизмов эндоцитоза и

трафика эндосом, получили прикладное значение при создании наноносителей для таргетированных лекарственных препаратов [10, 11].

Репликация пикорнавирусов происходит в цитоплазме клеток и для ее запуска достаточно трансфекции вирусной РНК. В естественных условиях доставка вирусного генома в цитоплазму клетки является критически важным процессом в инфекционном цикле пикорнавирусов. Вирусная РНК заключена в белковый капсид, который должен быть как достаточно устойчивым к факторам внешней среды, включая кислотную среду желудка и протеазы кишечника, так и обеспечивать освобождение (депротеинизацию) вирусного генома внутри клетки при наличии условий для перемещения (транслокации) РНК через мембрану эндосом в цитоплазму клеток. Многие аспекты процессов интернализации и депротенизации EV-B остаются недостаточно изученными и являются предметом текущих исследований.

В настоящем обзоре рассмотрены особенности интернализации отдельных представителей EV-B во взаимосвязи с их клеточными рецепторами, маркерами путей эндоцитоза, механизмами передачи сигнала от рецептора внутрь клетки и интернализации вирус-рецепторных комплексов.

Эховирус 1 (E-1)

На поверхности клеток E-1 избирательно связывается с коллаген-связывающим интегрином $\alpha 2\beta 1$, также известным как VLA-2. Методом криоэлектронной микроскопии было показано, что $\alpha 2I$ домен интегрин $\alpha 2\beta 1$ взаимодействовал с поверхностью E-1 в области каньона, однако взаимодействие E-1 с растворимой формой этого домена не приводило к депро-

теинизации *in vitro* [12]. Другими естественными лигандами для VLA-2 являются эпителиальный кадгерин (E-cadherin) [13] и ламинин [14]. В качестве возможного ко-рецептора для VLA-2 рассматривался β 2-микроглобулин (B2M), поскольку моноклональные антитела к B2M блокировали репродукцию E-1 в генетически модифицированной культуре клеток остеосаркомы человека SAOS- α 2 β 1 (с экзогенной экспрессией интегрин α 2 β 1) [15], а также в культуре клеток RD [16]. Однако, экспрессия B2M в отсутствие интегрин α 2 β 1 в культуре клеток SAOS не обеспечивала эффективную репродукцию E-1.

Интегрины β 1 используют ранние (сортировочные) эндосомы либо для быстрой рециркуляции непосредственно к плазматической мембране, либо для медленной рециркуляции – через перинуклеарные рециркуляционные эндосомы [17]. В отличие от обычного маршрута внутриклеточного трафика, индуцированные E-1 эндосомы, содержащие интегрин α 2 β 1, не рециркулируют обратно к плазматической мембране [18]. Имуноизоляция E-1 аффинной очисткой из гомогената клеток SAOS- α 2 β 1 на бусах с антителами против кавеолина-1 [15], а также ко-локализация E-1 с флуоресцентно меченным кавеוליном-1 и частичная ко-локализация с субъединицей В холерного токсина в клетках CV-1, позволили предположить интернализацию E-1 через кавеоларные структуры [19]. В дальнейших исследованиях было показано, что кавеоларный эндцитоз являлся минорным маршрутом интернализации E-1, а более эффективную интернализацию обеспечивало прямое поглощение E-1 из микродоменов липидных плотов плазматической мембраны, обогащенных GPI-APs (GPI-APs (glycosyl phosphatidyl inositol-anchored proteins) — гликозилфосфатидилинозитол-заякоренные белки) [4].

В поляризованных клетках Caco-2 E-1 связывался с VLA-2 на апикальной поверхности клеток и быстро перемещался в ранние эндосомы [20]. С помощью блокирования отдельных путей интернализации химическими ингибиторами, доминантно-негативными мутантными вариантами клеточных белков и кДНК, было показано, что для интернализации E-1 требовалась гуанозинтрифосфатаза (ГТФаза) дайнамин 2, холестерин липидных плотов и факторы, ассоциированные с макропиноцитозом: чувствительный к амилораиду натрий-протонный ионообменный белок-транспортер, протеинкиназа C и белок CtBP1/BARS (CtBP1/BARS (C-terminal-binding protein-1/Brefeldin A-ADP-ribosylated substrate) – С-терминально-связанный белок-1 / Брефелдин А-АДФ-рибозилированный субстрат), являющийся фактором PAK1 (PAK1 (p21-activated kinase 1) — p21-активируемая киназа 1). Кроме того, E-1 быстро накапливался в эндосомах вместе с декстраном – маркером внеклеточной жидкой среды, что также харак-

терно для макропиноцитоза. В клетках Caco-2 интернализация E-1 не зависела ни от клатрин-зависимого, ни от кавеолин-зависимого путей эндцитоза. Эти результаты указывают на роль макропиноцитоза в качестве основного пути интернализации E-1 в поляризованных клетках.

Предположение о том, что эндосомы вдоль пути интернализации и трафика E-1 не имеют кислой среды, было получено с помощью ко-интернализованного декстрана, меченного с помощью флуоресцеина изотиоцианата (ФИТЦ), который эффективно захватывался в эндосомы, инициированные E-1 [21]. Кислото-чувствительный ФИТЦ не проявлял никакого снижения флуоресценции даже через 2 часа после интернализации, тогда как в контрольных клетках, не содержащих E-1, уровень флуоресценции ФИТЦ-декстрана снижался быстрее. Применение нокодазола показало, что зависимость от микротрубочек перинуклеарная маршрутизация эндосом с E-1 (с вероятным закислением среды в перинуклеарной зоне) не являлась необходимой для инфицирования клеток [19]. Окончательное доказательство нейтральности среды эндосом с E-1 было получено методом внутриэндосомных измерений pH по соотношению кислоточувствительных и кислотоустойчивых вторичных антител, специфичных к эндосомам [22].

Предполагается, что для транслокации генома E-1 через мембрану эндосом в цитоплазму клеток необходима протеолитическая деградация вирус-индуцированных эндосом — мультивезикулярных телец, поскольку кальпептин (ингибитор кальпаинов – внутриклеточных кальций-зависимых цистеиновых протеаз) приводил к накоплению E-1 в цитоплазматических эндосомах и эффективно блокировал репликацию вируса [18]. Вместе с тем, изучение кинетики депротенизации E-1 в культуре клеток SAOS- α 2 β 1 с использованием вируса, фотосенсибилизированного нейтральным красным [23], показало, что вирусная РНК приобретала устойчивость к свету уже через 30 минут после начала инфекционного цикла, через 1 час достигала промежуточного уровня устойчивости к свету, а максимальная устойчивость наблюдалась через 4 часа. Проницаемость вирус-индуцированных мультивезикулярных эндосом увеличивалась лишь через 1-3 часа после начала инфекции, причем при электронной микроскопии клеток нарушение целостности внутрипросветных везикул и пограничной мембраны мультивезикулярных телец наблюдалась через 2 часа после начала инфекции и достигало максимума через 3,5 часа. Наблюдавшееся различие кинетики депротенизации фотосенсибилизированного вируса и кинетики деградации вирус-индуцированных мультивезикулярных эндосом позволило авторам предположить существование вирусной РНК в свободном состоянии в мультивезикулярных структурах.

Несмотря на значительный объем данных, накопленных в отношении интернализации E-1, до настоящего времени неизвестно, какие клеточные белки или факторы обеспечивают депротенинизацию E-1, какие структурные изменения капсида E-1 необходимы для освобождения вирусной РНК и как происходит ее транслокация в цитоплазму клеток.

Эховирус 6 (E-6)

Пути интернализации E-6 различались у гемагглютинирующего (HAEV6) и близкородственного негемагглютинирующего (NHAEV6) штаммов, селекционированных на культурах клеток гепатоклеточной карциномы и HeLa соответственно [24]. Гемагглютинирующие свойства энтеровирусов обусловлены их взаимодействием с гликопротеином DAF (CD55) (DAF (decay accelerating factor) – фактор, ускоряющий распад комплемента) на эритроцитах. Данный (ко)рецептор, относящийся к GPI-APs, экспрессируется на многих видах культивируемых клеток, но не вызывает депротенинизацию энтеровирусов. Для блокирования отдельных путей интернализации E-6 были использованы химические ингибиторы нистатин и хлорпромазин, а также доминантно-негативные мутантные варианты белков Eps15, кавеолина 1 и дайнамина 2 в культурах клеток Dev и A549. Было показано, что при низкой множественности заражения гемагглютинирующий штамм HAEV6 использовал для интернализации преимущественно кавеолярный эндоцитоз с участием липидных плотов (в которых находится DAF), а негемагглютинирующий штамм NHAEV6 проникал в клетки с помощью клатрин-зависимого эндоцитоза. К настоящему времени остается не идентифицированным как клеточный рецептор, обеспечивающий прикрепление к клеткам негемагглютинирующего штамма E-6, так и белок или клеточный фактор, обеспечивающий депротенинизацию E-6.

Ряд энтеровирусов, относящихся к виду В, включая E-6, способны прикрепляться к клеткам RD за счет взаимодействия с протеогликаном — гепарансульфатом [25, 26]. Это взаимодействие блокировалось гепарином и наблюдалось у негемагглютинирующих вариантов E-6, не взаимодействовавших с DAF. Связывание E-6 с гепарансульфатом не приводило к депротенинизации вирусной РНК, что предполагало функциональную роль гепарансульфата лишь на этапе прикрепления E-6 к клеткам.

Эховирус 7 (E-7)

Исследование интернализации гемагглютинирующего E-7 в поляризованной культуре клеток Caco-2 показало [27], что вирус использует для прикрепления рецептор DAF, так как моноклональные антитела к DAF и соответствующие кИРНК ингибировали инфекцию. Также было установлено, что инфекци-

онный цикл E-7 ингибируют кИРНК против клатрина и дайнамина, доминантно-негативные мутантные формы дайнамина 2 и клатринового адаптерного белка Eps15, а также химический ингибитор клатринового пути хлорпромазин. Дайнасор, ингибитор ГТФазной активности дайнамина, также оказывал ингибирующее действие на инфекцию E-7. Ингибиторы кавеолярного пути эндоцитоза (кИРНК против кавеолина 1, экспрессия доминантно-негативного кавеолина 1 и химический ингибитор метил-бета-циклодекстрин, интерферирующий с холестерином липидных плотов) не проявили ингибирующего действия при инфицировании E-7. Использование фотосенсибилизированного E-7 показало, что вирус был чувствителен к свету через 30 и 60 минут после начала инфекционного цикла, но через 1,5 часа более 50% вирусных частиц становилось устойчивыми к засвечиванию.

Вещества, поступающие в клетку клатрин-зависимым путем, после интернализации попадают в ранние периферические эндосомы, несущие маркеры EEA1 и Rab5, затем перемещаются в поздние перинуклеарные эндосомы и лизосомы, несущие маркеры Rab7 и LAMP-2. После интернализации E-7 перемещался в перинуклеарные эндосомы. Доминантно-негативные мутантные формы ГТФаз Rab5 и Rab7, а также кИРНК против Rab5 и Rab7 ингибировали инфекцию E-7. Ко-локализация E-7 с антигеном ранних эндосом EEA1 достигала максимума через 60 минут, затем уменьшалась. Ко-локализация с антигеном поздних эндосом LAMP-2 возрастала медленнее и достигала максимума через 90 минут. В экспериментах по депротенинизации фотосенсибилизированного E-7 не было выявлено ингибирующего влияния кИРНК против Rab5 или Rab7 на депротенинизацию незасвеченного вируса, в отличие от засвеченного. По мнению авторов, совокупность полученных данных свидетельствует о том, что внутриклеточный трафик E-7 в поздние эндосомы происходит до его депротенинизации. С помощью хлорида аммония и бафиломицина А было показано, что закисление среды не является необходимым условием депротенинизации E-7. Ингибиторы катепсинов В и L, а также ингибитор цистинных протеаз E64, не оказывали ингибирующего влияния на E-7 в клетках Caco-2.

В дальнейших экспериментах было обнаружено, что в интернализации E-7 в культуре клеток Caco-2 участвует один из компонентов механизма аутофагии — Atg16L1 [28]. Авторы предположили, что, по причине конститутивно активной аутофагии в данных клетках быстрый захват плазматической мембраны для формирования предшественников аутофagosом мог способствовать интернализации ассоциированного с плазматической мембраной E-7 в дополнение к клатрину и дайнамину. Это предположение подтвердилось данными другой группы исследователей о

том, что Atg16L связывается с фузогенным эффекторным белком снэпином (snapin), который обеспечивает созревание эндосом в процессе их внутриклеточного трафика [29].

Остается неизвестным, какие клеточные белки или факторы обеспечивают депротенинизацию E-7 и как происходит транслокация вирусной РНК в цитоплазму клеток.

Эховирус 11 (E-11)

Пути интернализации E-11, так же как у E-6, отличались у близкородственных штаммов, различавшихся по способности к взаимодействию с DAF [30]. В культурах клеток RD и HT29 был выявлен ингибирующий эффект нистатина и нокодазола на интернализацию гемагглютинирующего штамма E-11 (EV11-207), что указывало на участие холестерина липидных плотов в интернализации вируса и на необходимость трафика эндосом с участием микротрубочек. Блокирование трафика эндосом, содержащих E-11, с помощью нокодазола приводило к накоплению вируса в цитоплазматических везикулах. В культуре клеток HT29 дополнительно был выявлен ингибирующий эффект цитохалазина D в отношении гемагглютинирующего штамма E-11, отсутствовавший в культуре клеток RD, что указывало на возможное различие путей эндоцитоза комплекса E-11 с DAF в клетках HT29 и RD. В частности, известно, что в клетках HT29 не экспрессируется кавеолин 1. Интернализация штамма EV11-207R, не взаимодействовавшего с DAF, частично (на 50%) ингибировалась хлорпромазином, а нистатин, нокодазол и цитохалазин D не проявляли ингибирующего действия, что позволило предположить клатрин-зависимый путь интернализации негемагглютинирующего штамма E-11.

В дальнейшей работе, выполненной с этими же двумя штаммами в поляризованной культуре клеток Caco-2 [31], было показано, что связывание гемагглютинирующего штамма EV11-207 с DAF на апикальной поверхности клеток приводило к быстрому перемещению вируса (в течение первых 10 минут после начала инфекционного цикла) в зону плотных межклеточных контактов и к интернализации вируса с латеральной поверхности клеток в зоне плотных контактов, ограничивающая функция которых временно нарушалась. Штамм EV11-207R, не взаимодействовавший с DAF, оставался на апикальной поверхности клеток, откуда происходила его интернализация без нарушения функции плотных контактов. Через 30 минут после начала инфекционного цикла оба штамма обнаруживались в перинуклеарных эндосомах. Также было установлено, что обработка клеток Caco-2 метил-бета-циклодекстрином приводила к агрегации DAF на плазматической мембране, интернализации и трафику DAF в перинуклеарную область, что при-

водило к 5-кратному уменьшению связывания гемагглютинирующего штамма E-11 с клетками в присутствии метил-бета-циклодекстрина. В процессе интернализации гемагглютинирующий штамм оставался ассоциированным с DAF и интактным. Это позволило авторам высказать предположение о возможной депротенинизации E-11 в перинуклеарных рециркуляционных эндосомах.

Другой группой исследователей, изучавших поверхностные молекулы, участвующие в ранних этапах взаимодействия E-11 с клетками RD [32], была показана роль B2M и молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) I класса в интернализации E-11 с помощью моноклональных антител к B2M, панспецифичных моноклональных антител B9.12.1 к молекулам ГКГ I класса и растворимой рекомбинантной моноцепи HLA-A*2 с ковалентно присоединенным B2M (B2M-HLA-A*2), которая показала ингибирующий эффект в отношении интернализации E-11. Однако, экзогенная экспрессия DAF и B2M-HLA-A*2 на поверхности непермиссивных для E-11 клеток CHO не обеспечила восприимчивость этих клеток к E-11 (клетки CHO поддерживали репродукцию E-11 только после трансфекции вирусной РНК). Кроме того, авторам настоящего обзора не удалось подтвердить протективный эффект панспецифичных к молекулам ГКГ I класса моноклональных антител B9.12.1 в отношении близкородственного гемагглютинирующего и негемагглютинирующего клонов E-11, полученных из другого штамма E-11 в культуре клеток RD [33].

Поликлональные антитела к рецептору витронектина (интегрину $\alpha V\beta 3$), проявляли ингибирующий эффект в отношении прототипного штамма E-11 в первичной культуре клеток островков поджелудочной железы человека и в культуре клеток GMK обезьяньего происхождения [34]. По замечанию авторов данной работы, использованные поликлональные антитела были специфичны только к αV субъединице интегрин и не позволяли дифференцировать протективный эффект от блокирования других гетеродимеров, включавших данную субъединицу ($\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 5$ и $\alpha V\beta 6$), в случае их присутствия на поверхности клеток. Хлорпромазин не оказывал ингибирующего эффекта на использовавшийся штамм E-11 в культуре клеток GMK, что предполагало отсутствие роли клатрин-зависимого пути в интернализации, в то время как нистатин оказывал выраженный ингибирующий эффект, что указывало на необходимость интактных липидных плотов для интернализации E-11 в клетках GMK.

Таким образом, в отношении E-11 также остается неизвестным, какие клеточные белки или факторы обеспечивают депротенинизацию вирусной РНК и как происходит ее транслокация в цитоплазму клеток.

Вирус Коксаки А9 (CV-A9)

Взаимодействие CV-A9 с интегрином $\alpha V\beta 3$ на поверхности клеток RD и GMK, наряду с использованием B2M в качестве ко-рецептора, было установлено в одном из ранних исследований [35]. Однако, антитела к интегину $\alpha V\beta 3$ подавляли связывание CV-A9 с клетками не более чем на 50-70%, а экспрессия этого интегина на непермиссивной культуре клеток СНО не делала данную культуру восприимчивой к CV-A9. Антитела к B2M подавляли интернализацию CV-A9 на 90%, но не блокировали связывание вируса с клеткой. Репродукция CV-A9 полностью подавлялась лишь совместным использованием моноклональных панспецифичных антител W6/32 к молекулам ГКГ I класса и моноклональных антител MCA1115 к B2M, что указывало на роль интегина $\alpha V\beta 3$ в качестве рецептора, обеспечивавшего прикрепление к клеткам, но интернализация вируса требовала участия молекул ГКГ I класса, содержащих B2M в структуре гетеродимера.

В дальнейших экспериментах была установлена роль белка GRP78 в качестве ко-рецептора, участвующего, наряду с интегрином $\alpha V\beta 3$, в связывании и интернализации CV-A9 в культуре клеток GMK [36]. Белок GRP78 (современное название — HSPA5 (HSPA5 (heat shock protein family A (hsp70) member 5) — белок A5 из семейства белков теплового шока Hsp70 (ранее также обозначался BiP)), является шапероном, участвующим в фолдинге белков, который типично локализован в просвете эндоплазматической сети, однако, при интернализации CV-A9 методом FRET (FRET (fluorescence resonance energy transfer) — флуоресцентно-резонансный перенос энергии) была показана его ко-локализация с молекулами ГКГ I класса на поверхности клеток GMK.

Клинические изоляты CV-A9 часто содержат последовательность аминокислот аргинин-глицин-аспартат (RGD) на C-терминале капсидного белка VP1, что обеспечивает репродукцию таких штаммов CV-A9 в клетках эпителиальной легочной карциномы A549, экспрессирующих как интегрин $\alpha V\beta 3$, так и интегрин $\alpha V\beta 6$, в отличие от клеток RD, которые не экспрессируют интегрин $\alpha V\beta 6$ и поддерживают репродукцию штаммов CV-A9, не содержащих RGD-последовательность [37]. Авторами было показано, что только растворимый интегрин $\alpha V\beta 6$ блокировал инфекционную активность CV-A9, связываясь с вирусом с высокой аффинностью.

Структурно-функциональный анализ комплекса CV-A9 с интегрином $\alpha V\beta 6$ [38] методами криоэлектронной микроскопии, реконструкции изображений и поверхностного плазмонного резонанса показал, что связывание растворимого интегина $\alpha V\beta 6$ с CV-A9 происходит в предсказанной области RGD-последовательности капсидного белка VP1, но это

взаимодействие не приводит к депротеинизации вирусной РНК, подразумевая необходимость других взаимодействий после интернализации вируса в клетки.

Связывание и интернализация CV-A9 в культуре клеток A549 ингибировались с помощью кРНК против $\beta 6$ субъединицы интегина, химического ингибитора дайнамина — дайназора; кРНК против B2M; кРНК и доминантно-негативных мутантных форм малой ГТФазы Arf6 [39]. В некоторой степени неожиданным было отсутствие ингибирующего эффекта кРНК против сигнальных молекул, ассоциированных с эндцитозом интегринов: протеинкиназ Src, Fyn, Akt1, ГТФазы RhoA и фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). Также интернализация не зависела от клатрина и квеолина 1. Подавление экспрессии B2M с помощью кРНК приводило к накоплению вируса на поверхности клеток.

В дальнейшей работе по исследованию интернализации CV-A9 в культуре клеток A549 [40] было показано, что через 2 часа после начала инфекционного цикла вирус обнаруживался в мультивезикулярных эндосомах с нейтральной кислотностью. С помощью фотосенсибилизирующей метки вируса нейтральным красным было установлено, что депротеинизация происходила через 2 часа после начала инфекции, когда 60% вируса приобретало устойчивость к засвечиванию, а вирусная РНК обнаруживалась цитоплазме клеток через 3 часа и позже от начала инфекции. Ранние этапы инфекции зависели от фосфолипазы C, а функция Rac1 ГТФазы была необходима в интервале между первым и третьим часом после начала инфекции, когда вирус находился в эндосомах. Закисление среды эндосом не играло роли в инфекционном цикле CV-A9, что было показано с использованием бафиломицина А, причем внутриклеточный трафик вируса не приводил его в кислые поздние эндосомы или лизосомы. Инфекция CV-A9 подавлялась ингибиторами фосфолипазы C (U-73122) в начале инфекционного цикла, ингибитор ГТФазы Rac1 (NSC23766) действовал через 1–3 часа после начала инфекционного цикла, когда вирус находился в эндосомах, а ингибитор натрий-протонного ионообменного белка-транспортера (дериват амилораида — EIPA (EIPA (5-(N-ethyl-N-isopropyl) amiloride) — 5-(N-этил-N-изопропил)-амилораид)) действовал на различных стадиях инфекционного цикла. Таким образом, CV-A9 в культуре клеток A549, аналогично E-1 в культуре клеток SAOS- $\alpha 2\beta 1$, индуцировал формирование мультивезикулярных эндосом с нейтральной кислотностью и использовал при интернализации и созревании эндосом клеточные компоненты, участвующие в макропиноцитозе.

В отличие от культуры клеток A549, в культуре клеток эпителиальной аденокарциномы толстой кишки человека SW480 интегрин $\alpha V\beta 6$ не требовался для на-

чала инфекционного цикла CV-A9 [41]. Подавление экспрессии $\beta 6$ субъединицы интегрина с помощью кИРНК, а также использование антител к αV субъединице интегрина не оказывали влияния на связывание и интернализацию CV-A9 в клетках SW480, однако подавление экспрессии B2M ингибировало инфекцию. Методом скрининга библиотеки последовательностей в фаговом дисплее был идентифицирован пептид, соответствующий N-терминальной аминокислотной последовательности белка HSPA5, который блокировал инфекцию CV-A9 как в культуре клеток A549, так и в культуре клеток SW480. Также методом конфокальной микроскопии была показана ко-локализация HSPA5 с CV-A9 на периферии клеток SW480 на ранних стадиях инфекции. Таким образом, белок HSPA5 может играть роль единственного рецептора для CV-A9 на поверхности клеток и обеспечивать интернализацию вируса, взаимодействуя с B2M в качестве ко-рецептора.

Клеточные белки или факторы, обеспечивающие депротенинизацию CV-A9 и транслокацию вирусной РНК из эндосом в цитоплазму клеток, остаются неизвестными.

Вирус Коксаки В3 (CV-B3)

Известны варианты CV-B3, которые могут взаимодействовать с различными первичными рецепторами на поверхности клеток: с DAF, гепарансульфатами, нуклеолином и коксакивирусным-аденовирусным рецептором (CAR) (CAR (coxsackievirus-adenovirus receptor) — коксакивирусный-аденовирусный рецептор). Однако, лишь взаимодействие с CAR приводит к образованию А-частиц, которые считаются промежуточной формой вирионов в процессе депротенинизации РНК [42, 43, 44, 45].

В поляризованных эпителиальных клетках CAR обычно находится в области плотных контактов на латеральной стороне клеток, поэтому на апикальной поверхности клеток рецептор недоступен для CV-B3. На модели поляризованных клеток Caco-2 и штамма CVB3-RD, способного к взаимодействию с DAF [46], было показано, что на апикальной поверхности клеток вирус связывался с DAF, через 20–30 минут от начала инфекционного цикла концентрировался в области плотных контактов, через 60 минут обнаруживался в цитоплазматических везикулах, а через 90 минут был ко-локализован с маркерами эндоплазматического ретикулума в перинуклеарной зоне. Синтез новой вирусной РНК и белков в данной культуре клеток регистрировался через 4–5 часов от начала инфекционного цикла. DAF и CAR не входили внутрь клеток, оставаясь в области плотных контактов в течение 90 минут. Использование кИРНК против CAR приводило к подавлению экспрессии CAR, к накоплению вируса в области плотных контактов без перехода в ци-

топлазматические везикулы в течение 8 часов, а также к отсутствию А-частиц через 90 минут после начала инфекционного цикла в клетках, обработанных кИРНК против CAR, (в контрольных клетках, в отсутствие кИРНК, А-частицы формировались). Таким образом, хотя CAR не участвовал в прикреплении CV-B3 к апикальной поверхности клеток Caco-2 и в перемещении вируса в область плотных контактов, зависимое от CAR формирование А-частиц было необходимо для интернализации вирионов и последующей депротенинизации.

Известно, что DAF на поверхности клеток ассоциирован с липидными плотями, поэтому неудивительно, что холестерин-модулирующие агенты, такие как филиппин и метил-бета-циклодекстрин, ингибировали инфекцию CV-B3 [46, 47]. Перемещение DAF на латеральную поверхность клеток требует интактных доменов холестерина, а воздействие ингибиторов на холестерин препятствовало перемещению кластеризованного (за счет взаимодействия с вирионами) DAF с апикальной поверхности клетки в область плотных контактов. Перемещение CV-B3 в область плотных контактов требовало участия актинового цитоскелета и передачи сигнала от рецептора с участием малых ГТФаз из семейства Rho. Было установлено [46], что кластеризация DAF при взаимодействии с CV-B3 активировала тирозинкиназу Abl, участвующую в ремоделировании актина за счет активации малой ГТФазы Rac1, в течение 10-20 минут от начала инфекционного цикла. Химические ингибиторы (например, EIPA), влияющие на динамику актина и активацию Rac1, тормозили перемещение CV-B3 в область плотных контактов. В дополнение к Rac1, в ранней стадии интернализации происходила активация малых ГТФаз RhoA и Cdc42, что также предполагало вовлечение актина в инфекционный цикл CV-B3 в поляризованных клетках. Применение доминантно-негативных мутантных вариантов белков показало, что для интернализации CV-B3 в везикулярные структуры требовался кавеолин-1, но не адаптерный белок клатрин-зависимого пути эндоцитоза Eps15, и не дайнамин 2, участвующий в отпочковании везикул в клатрин-зависимом и в кавеолярном путях эндоцитоза. Таким образом, клеточные компоненты, требовавшиеся для интернализации CV-B3 в культуре клеток Caco-2, были сходны с компонентами, обеспечивавшими интернализацию E-1 в этой же культуре клеток [20]. Аналогично E-1, на интернализацию CV-B3 не влияли мутантные варианты малой ГТФазы Rab7 (маркера поздних эндосом), но интернализация ингибировалась доминантно-негативным вариантом и конститутивно активной Rab5 [48], а также требовала участия малых ГТФаз Rab34 и Ras, регулирующих макропиноцитоз. EIPA и роттлерин (неспецифический ингибитор протеинкиназы C), ингибировали интернализа-

цию CV-B3, подтверждая участие компонентов регуляции макропиноцитоза: натрий-протонного ионообменного транспортера и протеинкиназы С.

Предварительная обработка клеток Сасо-2 дженистеином (неспецифическим ингибитором тирозинкиназ), либо протеинфосфатазой 2 (PP2) (PP2 (protein phosphatase 2) – протеинфосфатаза 2) (специфическим ингибитором протеинкиназ семейства Src), значительно ингибировала инфекцию CV-B3 [46]. Ингибиторы Src киназ приводили к накоплению вируса в области плотных контактов, причем формирование А-частиц в клетках не блокировалось, но снижалось количество пустых вирионов. Это наблюдение позволило сделать вывод, что депротеинизация CV-B3 в клетках Сасо-2 происходит только в эндосомах. Также было показано, что взаимодействие вируса с DAF активировало протеинкиназу Fyn (представителя семейства Src киназ), которая фосфорилирует кавеолин, а накопление фосфорилированного кавеолина в плотных контактах требуется для интернализации DAF.

В культуре поляризованных эндотелиальных клеток эндотелия микрососудов мозга человека (НВМЕС) и в первичных эндотелиальных клетках аорты человека (НАЕС) сигнальная трансдукция, обеспечивающая интернализацию штамма CVB3-RD, отличается от таковой в поляризованных эпителиальных клетках Сасо-2 [49]. В эндотелиальных клетках DAF также обеспечивал движимую актином транслокацию вируса с апикальной поверхности клетки в область плотных контактов к рецептору CAR. Хотя интернализация зависела от кавеолина и дайнамина, участие клатрина не требовалось. Более того, в эндотелиальных клетках интернализация зависела от внутриклеточного высвобождения ионов кальция и последующей активации кальпаинов. Взаимодействие CV-B3 с DAF индуцировало активность тирозинкиназы Src и фосфолипазы С и изоформы 3 рецептора инозитол-1,4,5-трифосфата, что сопровождалось немедленным высвобождением кальция и быстрым истощением его внутриклеточных резервуаров, что активировало цистеиновую протеазу кальпаин-2. Если активность кальпаина была ингибирована, то вирусы задерживались в течение длительного времени в больших (>500 нм) везикулах, которые не имели эндосомных маркеров, но были ассоциированы с кальпаин-2 и маркером кавеолярного эндоцитоза – субъединицей В холерного токсина. Активность кальпаина и его связь с эндосомами, содержащими вирус, были аналогичны событиям, которые наблюдались при интернализации E-1. Это позволило предположить, что кальпаины могут иметь универсальную роль в ходе энтеровирусной инфекции [4].

На апикальной поверхности неполяризованных клеток HeLa, где рецепторы CAR и DAF свободно доступны для вирусов, связывание с DAF не играет ве-

дущей роли при интернализации CV-B3. При интернализации в клетки HeLa [47], как взаимодействовавший с DAF вариант CVB3-RD, так и не связывавшийся с DAF вариант CVB3-Nancy, использовали липидные плоты и дайнамин 2, оба варианта ингибировались одними и теми же ингибиторами, что подразумевало отсутствие специфической функции DAF при связывании с вирусом. В отличие от клеток Сасо-2, в клетках HeLa интернализацию обеспечивал рецептор CAR, а участия кавеолина не требовалось. Ингибитор клатрин-зависимого эндоцитоза хлорпромазин оказывал небольшой ингибирующий эффект на оба варианта (снижение на 25% доли инфицированных клеток, более выраженное для CVB3-Nancy), однако четкой зависимости эффекта от дозы выявлено не было. Результаты использования кИРНК против тяжелой цепи клатрина и кИРНК против альфа-адаптина привели авторов исследования к выводу об отсутствии роли клатрина в интернализации CV-B3 в клетках HeLa. Так же, как в клетках Сасо-2, предотвращение эндосомального закисления с помощью хлорида аммония и бафиломицина А не влияло на вирусную инфекцию, следовательно, эндосомальное закисление не требовалось для CAR-опосредованного инфицирования клеток. В клетках HeLa подавляющая часть вирионов оказывалась внутри клеток вместе с CAR уже через 60 минут после начала инфекционного цикла. Ингибирование тирозинкиназ блокировало ранние события в инфекционном цикле, но не предотвращало вход вируса в клетку. Неспецифический ингибитор тирозинкиназ дженистеин оказывал ингибирующее действие на оба варианта CV-B3 только если присутствовал в начале инфекционного цикла, а при внесении через 60 минут эффект не наблюдался.

Другими исследователями было показано [50], что в клетках HeLa взаимодействующий с DAF штамм CV-B3 Kandolf и молекулярный клон вируса CVB3-Woodruff в составе кассеты генов eGFP-CVB3-Woodruff попадали в эндосомы, не поддерживающие репликацию вируса. Внутриклеточная маршрутизация CV-B3 в непродуктивные компартменты была связана с Arf6-зависимой интернализацией вируса. Arf6 относится к семейству малых ГТФаз и маркирует один из четырех клатрин-независимых путей эндоцитоза, который ассоциирован с эндоцитозом DAF, ГКГ I класса, CD59 и других молекул [5]. Гиперэкспрессия и конститутивная экспрессия Arf6 в клетках HeLa приводила к снижению инфекционности CV-B3 (определявшейся по уровню флуоресценции eGFP (eGFP (enhanced green fluorescent protein) — усиленный зеленый флуоресцентный белок)), соответственно, в 2,3 и в 3,6 раза. Фракция CV-B3, локализованного с DAF, через 10 минут после начала инфекционного цикла попадала в эндосомы клеток HeLa, удаленные от клеточного ядра и характере-

ризовавшиеся гиперэкспрессией Argf6. В клетках с обычным уровнем экспрессии Argf6 вирус в этот момент времени обнаруживался в перинуклеарной области. Взаимодействие CV-B3 с CAR на поверхности клеток активировало другой (клатрин-зависимый) путь интернализации, маршрут которого проходил через ранние эндосомы и приводил к более продуктивной инфекции. Таким образом, взаимодействие с DAF и маршрутизация в непродуктивные эндосомы в культуре клеток HeLa может играть роль фактора негативной селекции вариантов CV-B3, не взаимодействующих с DAF.

Интернализация штамма CBV3-RD в поляризованные плацентарные трофобласты человека (в первичной культуре клеток и в перевиваемой культуре BeWo) на начальном этапе происходила аналогично интернализации в эпителиальные клетки Caco-2: с участием DAF и с перемещением комплекса вируса и DAF с апикальной поверхности клеток в область плотных контактов [51]. В отличие от клеток Caco-2, интернализация в трофобласты не зависела от кавеолина-1, дайнамина 2 и клатрина. Однако, при использовании ингибиторов макропиноцитоза EIPA и роттлерина, а также препаратов, влияющих на захват декстрана, не было выявлено участия клеточных компонентов регуляции макропиноцитоза в интернализации CBV3-RD. Интернализация ингибировалась дженистеином (>60%), PP2 (на 70%) и нокодазолом (>65%). В первичной культуре трофобластов также было показано ингибирующее действие метил-бета-циклодекстрина. Таким образом, для интернализации CBV3-RD требовались активация тирозинкиназ из семейства Src, интактные липидные плоты и микротрубочки. Не взаимодействовавший с DAF штамм CBV3-Nancy характеризовался низкой эффективностью заражения трофобластов BeWo (<10% клеток), поэтому в цитируемом исследовании эксперименты проводились со штаммом CBV3-RD, что не позволило детально изучить альтернативный путь интернализации штамма CBV3-Nancy, не требовавший участия DAF.

Заключение

К настоящему времени процесс интернализации детально изучен на модельных экспериментальных системах *in vitro* в отношении некоторых серотипов энтеровирусов, относящихся к виду В: эховирусов 1, 6, 7 и 11 серотипов, вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3. Последовательность ранних событий, происходящих в инфекционном цикле энтеровирусов вида В представлена на Рисунке 1.

Общей характеристикой рассмотренных в данном обзоре энтеровирусов является возможность использования вариантами вируса, относящимися к одному серотипу, нескольких первичных рецепторов для прикрепления к плазматической мембране клеток. Кла-

стеризация первичных рецепторов на плазматической мембране, обусловленная поливалентностью вирионов при взаимодействии с рецепторами, запускает внутриклеточные сигнальные события, которые в различных культурах клеток могут отличаться, несмотря на использование вирусом одного и того же первичного рецептора. Молекулярные механизмы интернализации вирус-рецепторных комплексов определяются как типом первичного рецептора, так и особенностями маршрутизации и дифференцировки эндосом с энтеровирусами в различных видах культур клеток.

Ранние события в инфекционном цикле энтеровирусов вида В

Early events in the infectious cycle of Enterovirus B species

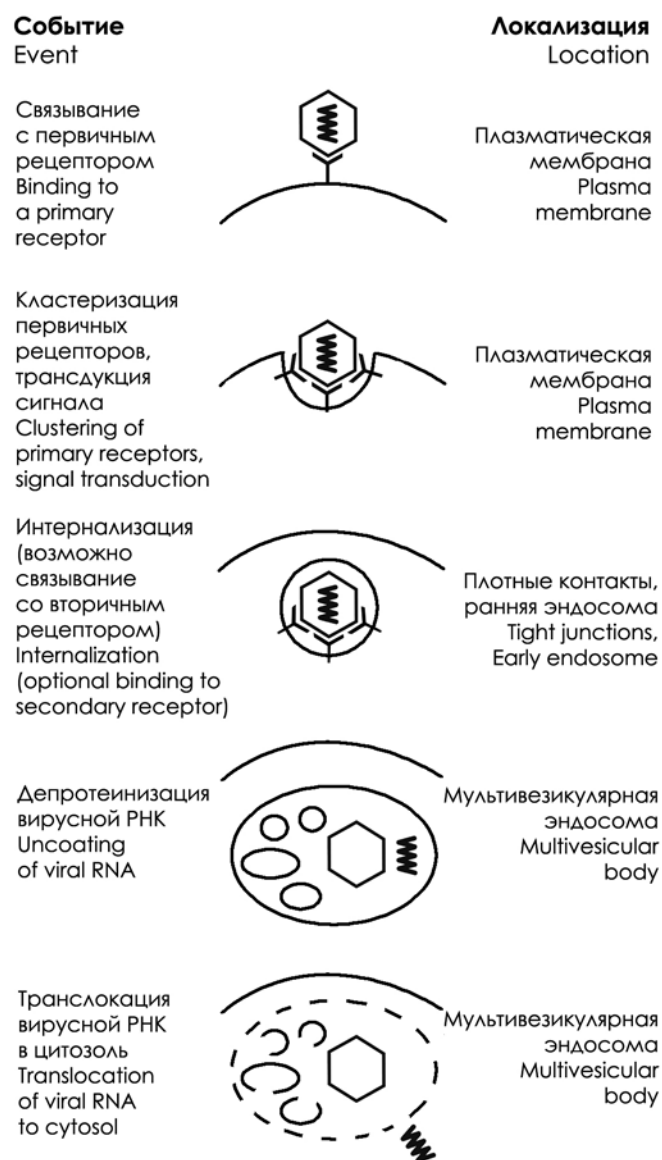


Рис. 1. Схема ранних событий в инфекционном цикле энтеровирусов вида В.

Большинство рассмотренных в данном обзоре представителей энтеровирусов вида В используют при ин-

тернализации лишь отдельные компоненты конститутивных путей эндоцитоза (за исключением клатрин-зависимого пути). Тем не менее, при использовании DAF в качестве первичного рецептора, общими особенностями интернализации энтеровирусов являются участие интактных липидных плотов и маршрутизация по клатрин-независимому пути интернализации, зависящему от ГТФазы Arf6. При использовании интегринов в качестве первичного рецептора для рассмотренных энтеровирусов, интернализация требует участия компонентов, обеспечивающих макропиноцитоз. CAR в случае вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3, также как не идентифицированный клеточный рецептор (или рецепторы) для негемагглютинирующих эховирусов, не взаимодействующих с DAF, направляют интернализацию по клатрин-зависимому пути. Все рассмотренные энтеровирусы вида В заканчивают свой внутриклеточный трафик в мультивезикулярных эндосомах, не подвергающихся закислению внутренней среды, что отличает их от обычных поздних эндосом и лизосом.

Формирование А-частиц — промежуточной конформации вирионов перед освобождением геномной РНК — у вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3 опосредовано только рецептором CAR, с которым вирусы взаимодействуют либо на поверхности клеток (например, клеток HeLa), либо в области плотных контактов между поляризованными эпителиальными и эндотелиальными клетками (например, клетками Caco-2 и НВМЕС), либо внутри клеток (RD), куда вирусы Коксаки попадают после взаимодействия с первичным рецептором на плазматической мембране. Если CAR не используется в качестве первичного рецептора, то

варианты вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3 проявляют двойной рецепторный тропизм, а выбор первичного рецептора определяется уровнем его экспрессии на различных культурах клеток. К настоящему времени не идентифицирован клеточный рецептор функционально аналогичный CAR в отношении формирования А-частиц эховирусами.

Если CAR экспрессируется на плазматической мембране клеток и является первичным рецептором, то формирование А-частиц и освобождение вирусной РНК происходит быстрее, чем при взаимодействии с данным рецептором внутри клеток, когда в качестве первичного рецептора на плазматической мембране используется другая молекула. Несмотря на то, что только CAR опосредует формирование А-частиц у вирусов Коксаки А9 и Коксаки В3, транслокация вирусной РНК из эндосом в цитоплазму клеток требует участия дополнительных клеточных факторов (в частности — кальпаинов). События депротенинизации РНК и транслокации вирусного генома через мембрану эндосом в цитоплазму клеток могут быть разобщены во времени.

Таким образом, дальнейшее изучение структурно-функциональных аспектов интернализации и внутриклеточного трафика энтеровирусов вида В, депротенинизации вирусной РНК и транслокации вирусного генома в цитоплазму клеток обеспечивает понимание молекулярных механизмов энтеровирусной инфекции на субклеточном уровне и способствует расширению теоретических основ для разработки таргетированных лекарственных средств различного назначения и их наноносителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J. et al. and ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. *J. Gen. Virol.* 2017; 98 (10): 2421–2422. doi: 10.1099/jgv.0.000911.
2. Enterovirus B. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.picornaviridae.com/enterovirus/ev-b/ev-b.htm> (дата обращения 19.01.2018).
3. Bergelson J.M., Coyne C.B. Picornavirus entry. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 790: 24–41. doi:10.1007/978-1-4614-7651-1_2.
4. Marjomaki V., Turkki P., Huttunen M. Infectious entry pathway of Enterovirus B species. *Viruses* 2015; 7: 6387–6399; doi:10.3390/v7122945.
5. Elkin S.R., Lakoduk A.M., Schmid S.L. Endocytic pathways and endosomal trafficking: a primer. *Wien Med. Wochenschr.* 2016; 166 (7-8): 196–204; doi:10.1007/s10354-016-0432-7.
6. Donaldson J.G., Porat-Shliom N., Cohen L.A. Clathrin-independent endocytosis: a unique platform for

REFERENCES

1. Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J. et al. and ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. *J. Gen. Virol.* 2017; 98 (10): 2421–2422. doi: 10.1099/jgv.0.000911.
2. Enterovirus B. URL: <http://www.picornaviridae.com/enterovirus/ev-b/ev-b.htm> (2018.01.19).
3. Bergelson J.M., Coyne C.B. Picornavirus entry. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 790: 24–41. doi:10.1007/978-1-4614-7651-1_2.
4. Marjomaki V., Turkki P., Huttunen M. Infectious entry pathway of Enterovirus B species. *Viruses* 2015; 7: 6387–6399; doi:10.3390/v7122945.
5. Elkin S.R., Lakoduk A.M., Schmid S.L. Endocytic pathways and endosomal trafficking: a primer. *Wien Med. Wochenschr.* 2016; 166 (7-8): 196–204; doi:10.1007/s10354-016-0432-7.
6. Donaldson J.G., Porat-Shliom N., Cohen L.A. Clathrin-independent endocytosis: a unique platform for cell signaling and PM remodeling. *Cell Signal.* 2009; 21

- cell signaling and PM remodeling. *Cell Signal.* 2009; 21 (1): 1–6; doi:10.1016/j.cellsig.2008.06.020.
7. Maldonado-Baez L., Williamson C., Donaldson J.G. Clathrin-independent endocytosis: a cargo-centric view. *Exp. Cell Res.* 2013; 319 (18): 2759–2769; doi:10.1016/j.yexcr.2013.08.008.
8. Huotari J., Helenius A. Endosome maturation. *EMBO J.* 2011; 30: 3481–3500; doi:10.1038/emboj.2011.286.
9. Agola J.O., Jim P.A., Ward H.H., BasuRay S., Wandinger-Ness A. Rab GTPases as regulators of endocytosis, targets of disease and therapeutic opportunities. *Clin. Genet.* 2011; 80: 305–318; doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01724.x.
10. Munsell E.V., Ross N.L., Sullivan M.O. Journey to the center of the cell: current nanocarrier design strategies targeting biopharmaceuticals to the cytoplasm and nucleus. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22 (9): 1227–1244.
11. El-Sayed A., Harashima H. Endocytosis of gene delivery vectors: from clathrin-dependent to lipid raft-mediated endocytosis. *Mol. Ther.* 2013; 21(6): 1118–1130; doi: 10.1038/mt.2013.54.
12. Xing L., Huhtala M., Pietiainen V., Kapyla J., Vuorinen K., Marjomaki V. et al. Structural and functional analysis of integrin alpha2I domain interaction with echovirus 1. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (12): 11632–11638; doi: 10.1074/jbc.M312441200.
13. Whittard J.D., Craig S.E., Mould A.P., Koch A., Pertz O., Engel J. et al. E-cadherin is a ligand for integrin alpha2beta1. *Matrix Biol.* 2002; 21 (6): 525–532.
14. Elices M.J., Hemler M.E. The human integrin VLA-2 is a collagen receptor on some cells and a collagen/laminin receptor on others. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989; 86 (24): 9906–9910.
15. Marjomaki V., Pietiainen V., Matilainen H., Upla P., Ivaska J., Nissinen L. et al. Internalization of Echovirus 1 in caveolae. *J. Virol.* 2002; 76 (4): 1856–1865; doi: 10.1128/JVI.76.4.1856–1865.2002.
16. Ward T., Powell R.M., Pipkin P.A., Evans D.J., Minor P.D., Almond J.W. Role for beta2-microglobulin in echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells. *J. Virol.* 1998; 72 (7): 5360–5365.
17. Pellinen T., Ivaska J. Integrin traffic. *J. Cell Sci.* 2006; 119 (Pt 18): 3723–3731; doi: 10.1242/jcs.03216.
18. Rintanen N., Karjalainen M., Alanko J., Paavolainen L., Maki A., Nissinen L. et al. Calpains promote integrin turnover in nonrecycling integrin pathway. *Mol. Biol. Cell.* 2012; 23 (3): 448–463; doi 10.1091/mbc.E11-06-0548.
19. Pietiainen V., Marjomaki V., Upla P., Pelkmans L., Helenius A., Hyypia T. Echovirus 1 endocytosis into caveosomes requires lipid rafts, dynamin II, and signaling events. *Mol. Biol. Cell.* 2004; 15 (11): 4911–4925; doi: 10.1091/mbc.E04-01-0070.
20. Krieger S.E., Kim C., Zhang L., Marjomaki V., Bergelson J.M. Echovirus 1 entry into polarized Caco-2 (1): 1–6; doi:10.1016/j.cellsig.2008.06.020.
7. Maldonado-Baez L., Williamson C., Donaldson J.G. Clathrin-independent endocytosis: a cargo-centric view. *Exp. Cell Res.* 2013; 319 (18): 2759–2769; doi:10.1016/j.yexcr.2013.08.008.
8. Huotari J., Helenius A. Endosome maturation. *EMBO J.* 2011; 30: 3481–3500; doi:10.1038/emboj.2011.286.
9. Agola J.O., Jim P.A., Ward H.H., BasuRay S., Wandinger-Ness A. Rab GTPases as regulators of endocytosis, targets of disease and therapeutic opportunities. *Clin. Genet.* 2011; 80: 305–318; doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01724.x.
10. Munsell E.V., Ross N.L., Sullivan M.O. Journey to the center of the cell: current nanocarrier design strategies targeting biopharmaceuticals to the cytoplasm and nucleus. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22 (9): 1227–1244.
11. El-Sayed A., Harashima H. Endocytosis of gene delivery vectors: from clathrin-dependent to lipid raft-mediated endocytosis. *Mol. Ther.* 2013; 21(6): 1118–1130; doi: 10.1038/mt.2013.54.
12. Xing L., Huhtala M., Pietiainen V., Kapyla J., Vuorinen K., Marjomaki V. et al. Structural and functional analysis of integrin alpha2I domain interaction with echovirus 1. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (12): 11632–11638; doi: 10.1074/jbc.M312441200.
13. Whittard J.D., Craig S.E., Mould A.P., Koch A., Pertz O., Engel J. et al. E-cadherin is a ligand for integrin alpha2beta1. *Matrix Biol.* 2002; 21 (6): 525–532.
14. Elices M.J., Hemler M.E. The human integrin VLA-2 is a collagen receptor on some cells and a collagen/laminin receptor on others. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989; 86 (24): 9906–9910.
15. Marjomaki V., Pietiainen V., Matilainen H., Upla P., Ivaska J., Nissinen L. et al. Internalization of Echovirus 1 in caveolae. *J. Virol.* 2002; 76 (4): 1856–1865; doi: 10.1128/JVI.76.4.1856–1865.2002.
16. Ward T., Powell R.M., Pipkin P.A., Evans D.J., Minor P.D., Almond J.W. Role for beta2-microglobulin in echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells. *J. Virol.* 1998; 72 (7): 5360–5365.
17. Pellinen T., Ivaska J. Integrin traffic. *J. Cell Sci.* 2006; 119 (Pt 18): 3723–3731; doi: 10.1242/jcs.03216.
18. Rintanen N., Karjalainen M., Alanko J., Paavolainen L., Maki A., Nissinen L. et al. Calpains promote integrin turnover in nonrecycling integrin pathway. *Mol. Biol. Cell.* 2012; 23 (3): 448–463; doi 10.1091/mbc.E11-06-0548.
19. Pietiainen V., Marjomaki V., Upla P., Pelkmans L., Helenius A., Hyypia T. Echovirus 1 endocytosis into caveosomes requires lipid rafts, dynamin II, and signaling events. *Mol. Biol. Cell.* 2004; 15 (11): 4911–4925; doi: 10.1091/mbc.E04-01-0070.
20. Krieger S.E., Kim C., Zhang L., Marjomaki V., Bergelson J.M. Echovirus 1 entry into polarized Caco-2

Bergelson J.M. Echovirus 1 entry into polarized Caco-2 cells depends on dynamin, cholesterol, and cellular factors associated with micropinocytosis. *J. Virol.* 2013; 87 (16): 8884-8895; doi:10.1128/JVI.03415-12.

21. Karjalainen M., Kakkonen E., Upla P., Paloranta H., Kankaanpaa P., Liberali P. et al. A raft-derived, Pak1-regulated entry participates in alpha2beta1 integrin-dependent sorting to caveosomes. *Mol. Biol. Cell* 2008; 19 (7): 2857-2869; doi: 10.1091/mbc.E07-10-1094.

22. Karjalainen M., Rintanen N., Lehkonen M., Kallio K., Maki A., Hellstrom K. et al. Echovirus 1 infection depends on biogenesis of novel multivesicular bodies. *Cell Microbiol.* 2011; 13 (12): 1975-1995; doi: 10.1111/j.1462-5822.2011.01685.x.

23. Soonsawad P., Paavolainen L., Upla P., Weerachatanukul W., Rintanen N., Espinoza J. et al. Permeability changes of integrin-containing multivesicular structures triggered by picornavirus entry. *PLoS ONE* 2014; 9 (10): e108948. doi:10.1371/journal.pone.0108948.

24. Leveque N., Norder H., Zreik Y., Cartet G., Falcon D., Rivat N. et al. Echovirus 6 strains derived from a clinical isolate show differences in haemagglutination ability and cell entry pathway. *Virus Res.* 2007; 130 (1-2): 1-9; doi:10.1016/j.virusres.2007.05.006.

25. Goodfellow I.G., Sioofy A.B., Powell R.M., Evans D.J. Echoviruses bind heparan sulfate at the cell surface. *J. Virol.* 2001; 75 (10): 4918-4921; doi: 10.1128/JVI.75.10.4918-4921.2001.

26. McLeish N.J., Williams C.H., Kaloudas D., Roivainen M.M., Stanway G. Symmetry-related clustering of positive charges is a common mechanism for heparan sulfate binding in enteroviruses. *J. Virol.* 2012; 86 (20): 11163-11170; doi:10.1128/JVI.00640-12.

27. Kim C., Bergelson J.M. Echovirus 7 entry into polarized intestinal epithelial cells requires clathrin and Rab7. *mBio* 2012; 3 (2): e00304-11; doi:10.1128/mBio.00304-11.

28. Kim C., Bergelson J.M. Echovirus 7 entry into polarized Caco-2 intestinal epithelial cells involves core components of the autophagy machinery. *J. Virol.* 2014; 88 (1): 434-443; doi: 10.1128/JVI.02706-13.

29. Kim H.J., Zhong Q., Sheng Z.-H., Yoshimori T., Liang C., Jung J.U. Beclin-1-interacting autophagy protein Atg14L targets the SNARE-associated protein Snapin to coordinate endocytic trafficking. 2012; *J. Cell Sci.* 125 (20), 4740-4750; doi: 10.1242/jcs.100339.

30. Stuart A.D., Eustace H.E., McKee T.A., Brown T. D. K. A novel cell entry pathway for a DAF-using human enterovirus is dependent on lipid rafts. *J. Virol.* 2002, 76 (18): 9307-9322.

31. Sobo K., Rubbia-Brandt L., Brown T.D.K., Stuart A.D., McKee T.A. Decay-accelerating factor binding determines the entry route of echovirus 11 in polarized epithelial cells. *J. Virol.* 2011, 85 (23): 12376-12386;

cells depends on dynamin, cholesterol, and cellular factors associated with micropinocytosis. *J. Virol.* 2013; 87 (16): 8884-8895; doi:10.1128/JVI.03415-12.

21. Karjalainen M., Kakkonen E., Upla P., Paloranta H., Kankaanpaa P., Liberali P. et al. A raft-derived, Pak1-regulated entry participates in alpha2beta1 integrin-dependent sorting to caveosomes. *Mol. Biol. Cell* 2008; 19 (7): 2857-2869; doi: 10.1091/mbc.E07-10-1094.

22. Karjalainen M., Rintanen N., Lehkonen M., Kallio K., Maki A., Hellstrom K. et al. Echovirus 1 infection depends on biogenesis of novel multivesicular bodies. *Cell Microbiol.* 2011; 13 (12): 1975-1995; doi: 10.1111/j.1462-5822.2011.01685.x.

23. Soonsawad P., Paavolainen L., Upla P., Weerachatanukul W., Rintanen N., Espinoza J. et al. Permeability changes of integrin-containing multivesicular structures triggered by picornavirus entry. *PLoS ONE* 2014; 9 (10): e108948. doi:10.1371/journal.pone.0108948.

24. Leveque N., Norder H., Zreik Y., Cartet G., Falcon D., Rivat N. et al. Echovirus 6 strains derived from a clinical isolate show differences in haemagglutination ability and cell entry pathway. *Virus Res.* 2007; 130 (1-2): 1-9; doi:10.1016/j.virusres.2007.05.006.

25. Goodfellow I.G., Sioofy A.B., Powell R.M., Evans D.J. Echoviruses bind heparan sulfate at the cell surface. *J. Virol.* 2001; 75 (10): 4918-4921; doi: 10.1128/JVI.75.10.4918-4921.2001.

26. McLeish N.J., Williams C.H., Kaloudas D., Roivainen M.M., Stanway G. Symmetry-related clustering of positive charges is a common mechanism for heparan sulfate binding in enteroviruses. *J. Virol.* 2012; 86 (20): 11163-11170; doi:10.1128/JVI.00640-12.

27. Kim C., Bergelson J.M. Echovirus 7 entry into polarized intestinal epithelial cells requires clathrin and Rab7. *mBio* 2012; 3 (2): e00304-11; doi:10.1128/mBio.00304-11.

28. Kim C., Bergelson J.M. Echovirus 7 entry into polarized Caco-2 intestinal epithelial cells involves core components of the autophagy machinery. *J. Virol.* 2014; 88 (1): 434-443; doi: 10.1128/JVI.02706-13.

29. Kim H.J., Zhong Q., Sheng Z.-H., Yoshimori T., Liang C., Jung J.U. Beclin-1-interacting autophagy protein Atg14L targets the SNARE-associated protein Snapin to coordinate endocytic trafficking. 2012; *J. Cell Sci.* 125 (20), 4740-4750; doi: 10.1242/jcs.100339.

30. Stuart A.D., Eustace H.E., McKee T.A., Brown T. D. K. A novel cell entry pathway for a DAF-using human enterovirus is dependent on lipid rafts. *J. Virol.* 2002, 76 (18): 9307-9322.

31. Sobo K., Rubbia-Brandt L., Brown T.D.K., Stuart A.D., McKee T.A. Decay-accelerating factor binding determines the entry route of echovirus 11 in polarized epithelial cells. *J. Virol.* 2011, 85 (23): 12376-12386; doi:10.1128/JVI.00016-11.

doi:10.1128/JVI.00016-11.

32. Chevaliez S., Balanant J., Maillard P., Lone Y.-C., Lemonnier F.A., Delpyroux F. Role of class I human leukocyte antigen molecules in early steps of echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells. *Virology*, 2008; 381 (2): 203–214; doi: 10.1016/j.virol.2008.08.006.

33. Novoselov A.V., Rezaykin A.V., Sergeev A.G., Fadeyev F.A., Grigoryeva J.V., Sokolova Z.I. A single amino acid substitution controls DAF-dependent phenotype of echovirus 11 in rhabdomyosarcoma cells. *Virus Res.* 2012; 166 (1-2): 87-96; doi:10.1016/j.virusres.2012.03.007.

34. Ylipaasto P., Eskelinen M., Salmela K., Hovi T., Roivainen M. Vitronectin receptors, alphaV integrins, are recognized by several non-RGD-containing echoviruses in a continuous laboratory cell line and also in primary human Langerhans' islets and endothelial cells. *J. Gen. Virol.* 2010; 91 (Pt 1): 155-165; doi: 10.1099/vir.0.012450-0.

35. Triantafilou M., Triantafilou K., Wilson K.M., Takada Y., Fernandez N., Stanway G. Involvement of beta2-microglobulin and integrin alphaVbeta3 molecules in the coxsackievirus A9 infectious cycle. *J. Gen. Virol.* 1999; 80 (10): 2591-2600; doi: 10.1099/0022-1317-80-10-2591.

36. Triantafilou K., Fradelizi D., Wilson K., Triantafilou M. GRP78, a coreceptor for coxsackievirus A9, interacts with major histocompatibility complex class I molecules which mediate virus internalization. *J. Virol.* 2002; 76 (2): 633-643.

37. Heikkila O., Susi P., Stanway G., Hyypia T. Integrin alphaVbeta6 is a high-affinity receptor for coxsackievirus A9. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (1): 197–204; doi 10.1099/vir.0.004838-0.

38. Shakeel S., Seitsonen J.J., Kajander T., Laurinmaki P., Hyypia T., Susi P. et al. Structural and functional analysis of coxsackievirus A9 integrin $\alpha\beta 6$ binding and uncoating. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3943-3951; doi: 10.1128/JVI.02989-12.

39. Heikkila O., Susi P., Tevaluoto T., Harma H., Marjomaki V., Hyypia T. et al. Internalization of coxsackievirus A9 is mediated by beta2-microglobulin, dynamin, and Arf6 but not by caveolin-1 or clathrin. *J. Virol.* 2010; 84 (7): 3666-3681; doi: 10.1128/JVI.01340-09.

40. Huttunen M., Waris M., Kajander R., Hyypia T., Marjomaki V. Coxsackievirus A9 infects cells via nonacidic multivesicular bodies. *J. Virol.* 2014; 88 (9): 5138-5151. doi: 10.1128/JVI.03275-13.

41. Heikkila O., Merilahti P., Hakanen M., Karelehto E., Alanko J., Sukki M. et al. Integrins are not essential for entry of coxsackievirus A9 into SW480 human colon adenocarcinoma cells. *Virol. J.* 2016; 13 (1): 171; doi 10.1186/s12985-016-0619-y.

42. Milstone A.M., Petrella J., Sanchez M.D.,

32. Chevaliez S., Balanant J., Maillard P., Lone Y.-C., Lemonnier F.A., Delpyroux F. Role of class I human leukocyte antigen molecules in early steps of echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells. *Virology*, 2008; 381 (2): 203–214; doi: 10.1016/j.virol.2008.08.006.

33. Novoselov A.V., Rezaykin A.V., Sergeev A.G., Fadeyev F.A., Grigoryeva J.V., Sokolova Z.I. A single amino acid substitution controls DAF-dependent phenotype of echovirus 11 in rhabdomyosarcoma cells. *Virus Res.* 2012; 166 (1-2): 87-96; doi:10.1016/j.virusres.2012.03.007.

34. Ylipaasto P., Eskelinen M., Salmela K., Hovi T., Roivainen M. Vitronectin receptors, alphaV integrins, are recognized by several non-RGD-containing echoviruses in a continuous laboratory cell line and also in primary human Langerhans' islets and endothelial cells. *J. Gen. Virol.* 2010; 91 (Pt 1): 155-165; doi: 10.1099/vir.0.012450-0.

35. Triantafilou M., Triantafilou K., Wilson K.M., Takada Y., Fernandez N., Stanway G. Involvement of beta2-microglobulin and integrin alphaVbeta3 molecules in the coxsackievirus A9 infectious cycle. *J. Gen. Virol.* 1999; 80 (10): 2591-2600; doi: 10.1099/0022-1317-80-10-2591.

36. Triantafilou K., Fradelizi D., Wilson K., Triantafilou M. GRP78, a coreceptor for coxsackievirus A9, interacts with major histocompatibility complex class I molecules which mediate virus internalization. *J. Virol.* 2002; 76 (2): 633-643.

37. Heikkila O., Susi P., Stanway G., Hyypia T. Integrin alphaVbeta6 is a high-affinity receptor for coxsackievirus A9. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (1): 197–204; doi 10.1099/vir.0.004838-0.

38. Shakeel S., Seitsonen J.J., Kajander T., Laurinmaki P., Hyypia T., Susi P. et al. Structural and functional analysis of coxsackievirus A9 integrin $\alpha\beta 6$ binding and uncoating. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3943-3951; doi: 10.1128/JVI.02989-12.

39. Heikkila O., Susi P., Tevaluoto T., Harma H., Marjomaki V., Hyypia T. et al. Internalization of coxsackievirus A9 is mediated by beta2-microglobulin, dynamin, and Arf6 but not by caveolin-1 or clathrin. *J. Virol.* 2010; 84 (7): 3666-3681; doi: 10.1128/JVI.01340-09.

40. Huttunen M., Waris M., Kajander R., Hyypia T., Marjomaki V. Coxsackievirus A9 infects cells via nonacidic multivesicular bodies. *J. Virol.* 2014; 88 (9): 5138-5151. doi: 10.1128/JVI.03275-13.

41. Heikkila O., Merilahti P., Hakanen M., Karelehto E., Alanko J., Sukki M. et al. Integrins are not essential for entry of coxsackievirus A9 into SW480 human colon adenocarcinoma cells. *Virol. J.* 2016; 13 (1): 171; doi 10.1186/s12985-016-0619-y.

42. Milstone A.M., Petrella J., Sanchez M.D., Mahmud M., Whitbeck J.C., Bergelson J.M. Interaction

Mahmud M., Whitbeck J.C., Bergelson J.M. Interaction with coxsackievirus and adenovirus receptor, but not with decay-accelerating factor (DAF), induces A-particle formation in a DAF-binding coxsackievirus B3 isolate. *J. Virol.* 2005; 79 (1): 655-660; doi: 10.1128/JVI.79.1.655-660.2005.

43. Zautner A.E., Korner U., Henke A., Badorff C., Schmidtke M. Heparan sulfates and coxsackievirus-adenovirus receptor: each one mediates coxsackievirus B3 PD infection. *J. Virol.* 2003; 77 (18): 10071-10077.

44. de Verdugo U.R., Selinka H.C., Huber M., Kramer B., Kellermann J., Hofschneider P.H. et al. Characterization of a 100-kilodalton binding protein for the six serotypes of coxsackie B viruses. *J. Virol.* 1995; 69 (11): 6751-6757.

45. Carson S.D., Chapman N.M., Hafenstein S., Tracy S. Variations of coxsackievirus B3 capsid primary structure, ligands, and stability are selected for in a coxsackievirus and adenovirus receptor-limited environment. *J. Virol.* 2011; 85 (7): 3306-33014; doi: 10.1128/JVI.01827-10.

46. Coyne C.B., Bergelson J.M. Virus-induced Abl and Fyn kinase signals permit coxsackievirus entry through epithelial tight junctions. *Cell* 2006; 124 (1): 119-131; doi: 10.1016/j.cell.2005.10.035.

47. Patel K.P., Coyne C.B., Bergelson J.M. Dynamin- and lipid raft-dependent entry of decay-accelerating factor (DAF)-binding and non-DAF-binding coxsackieviruses into nonpolarized cells. *J. Virol.* 2009; 83 (21): 11064-11077; doi: 10.1128/JVI.01016-09.

48. Coyne C.B., Shen L., Turner J.R., Bergelson J.M. Coxsackievirus entry across epithelial tight junctions requires occludin and the small GTPases Rab34 and Rab5. *Cell Host Microbe* 2007; 2 (3): 181-192; doi: 10.1016/j.chom.2007.07.003.

49. Bozym R.A., Morosky S.A., Kim K.S., Cherry S., Coyne C.B. Release of intracellular calcium stores facilitates coxsackievirus entry into polarized endothelial cells. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (10): e1001135; doi: 10.1371/journal.ppat.1001135.

50. Marchant D., Sall A., Si X., Abraham T., Wu W., Luo Z. et al. ERK MAP kinase-activated Arf6 trafficking directs coxsackievirus type B3 into an unproductive compartment during virus host-cell entry. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (Pt 4): 854-862. doi: 10.1099/vir.0.005868-0.

51. Delorme-Axford E., Sadovsky Y., Coyne C.B. Lipid raft- and SRC family kinase-dependent entry of coxsackievirus B into human placental trophoblasts. *J. Virol.* 2013; 87 (15): 8569-8581; doi: 10.1128/JVI.00708-13.

with coxsackievirus and adenovirus receptor, but not with decay-accelerating factor (DAF), induces A-particle formation in a DAF-binding coxsackievirus B3 isolate. *J. Virol.* 2005; 79 (1): 655-660; doi: 10.1128/JVI.79.1.655-660.2005.

43. Zautner A.E., Korner U., Henke A., Badorff C., Schmidtke M. Heparan sulfates and coxsackievirus-adenovirus receptor: each one mediates coxsackievirus B3 PD infection. *J. Virol.* 2003; 77 (18): 10071-10077.

44. de Verdugo U.R., Selinka H.C., Huber M., Kramer B., Kellermann J., Hofschneider P.H. et al. Characterization of a 100-kilodalton binding protein for the six serotypes of coxsackie B viruses. *J. Virol.* 1995; 69 (11): 6751-6757.

45. Carson S.D., Chapman N.M., Hafenstein S., Tracy S. Variations of coxsackievirus B3 capsid primary structure, ligands, and stability are selected for in a coxsackievirus and adenovirus receptor-limited environment. *J. Virol.* 2011; 85 (7): 3306-33014; doi: 10.1128/JVI.01827-10.

46. Coyne C.B., Bergelson J.M. Virus-induced Abl and Fyn kinase signals permit coxsackievirus entry through epithelial tight junctions. *Cell* 2006; 124 (1): 119-131; doi: 10.1016/j.cell.2005.10.035.

47. Patel K.P., Coyne C.B., Bergelson J.M. Dynamin- and lipid raft-dependent entry of decay-accelerating factor (DAF)-binding and non-DAF-binding coxsackieviruses into nonpolarized cells. *J. Virol.* 2009; 83 (21): 11064-11077; doi: 10.1128/JVI.01016-09.

48. Coyne C.B., Shen L., Turner J.R., Bergelson J.M. Coxsackievirus entry across epithelial tight junctions requires occludin and the small GTPases Rab34 and Rab5. *Cell Host Microbe* 2007; 2 (3): 181-192; doi: 10.1016/j.chom.2007.07.003.

49. Bozym R.A., Morosky S.A., Kim K.S., Cherry S., Coyne C.B. Release of intracellular calcium stores facilitates coxsackievirus entry into polarized endothelial cells. *PLoS Pathog.* 2010; 6 (10): e1001135; doi: 10.1371/journal.ppat.1001135.

50. Marchant D., Sall A., Si X., Abraham T., Wu W., Luo Z. et al. ERK MAP kinase-activated Arf6 trafficking directs coxsackievirus type B3 into an unproductive compartment during virus host-cell entry. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (Pt 4): 854-862. doi: 10.1099/vir.0.005868-0.

51. Delorme-Axford E., Sadovsky Y., Coyne C.B. Lipid raft- and SRC family kinase-dependent entry of coxsackievirus B into human placental trophoblasts. *J. Virol.* 2013; 87 (15): 8569-8581; doi: 10.1128/JVI.00708-13.

Авторы

Усольтцева Полина Сергеевна
Уральский государственный медицинский университет
Аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д.3
ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Научный сотрудник лаборатории энтеральных вирусных инфекций
Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, д. 23
savina_polina@mail.ru.

Новоселов Алексей Владимирович
ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
К.м.н., руководитель научно-методического отдела
Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, д. 23
virus_science@mail.ru.

Резайкин Алексей Васильевич
Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
К.м.н., заведующий лабораторией энтеральных вирусных инфекций
Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, д. 23
alexrez@yandex.ru.

Сергеев Александр Григорьевич
Уральский государственный медицинский университет
Д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д.3
aldr131250@yandex.ru.

Алимов Александр Викторович
Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
К.м.н., директор ФБУН «ЕНИИВИ» Роспотребнадзора
Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, д. 23
virus@eniivi.ru

Authors

Polina S. Usoltseva
Urals State Medical University
Post-graduate student of the Department of Microbiology, Virology and Immunology
Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, ul. Repina, 3
Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being
Researcher at the Laboratory of enteric viral infections
Russian Federation, 620030, Yekaterinburg, ul. Letniaya, 23
savina_polina@mail.ru

Alexey V. Novoselov
Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being
Cand. Sci. (Med.); Head of the Research Methodology Department
Russian Federation, 620030, Yekaterinburg, ul. Letniaya, 23
virus_science@mail.ru.

Alexey V. Rezaykin
Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being
Cand. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of enteric viral infections
Russian Federation, 620030, Yekaterinburg, ul. Letniaya, 23
e-mail: alexrez@yandex.ru.

Alexander G. Sergeev
Urals State Medical University
Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology
Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, ul. Repina, 3
aldr131250@yandex.ru.

Alexandr V. Alimov
Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being
Cand. Sci. (Med.), Director of FBIS "Yekaterinburg Scientific Research Institute of Viral Infections"
Russian Federation, 620030, Yekaterinburg, ul. Letniaya, 23
virus@eniivi.ru