



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Virusten hyödyntämät endosytoosireitit

Miten virukset pääsevät eukaryoottisoluuun

Ellen Viertola

Biologia, fysiologia ja genetiikka

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

10.1.2026

Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin

OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Biologia

Tekijä(t): Ellen Viertola

Otsikko: Virusten hyödyntämät endosytoosireitit – Miten virukset pääsevät eukaryoottisoluun

Ohjaaja(t): Tiina Henttinen

Sivumäärä: 29 sivua

Päivämäärä: 10.1.2026

Virukset ovat maapallolla äärimmäisen monimuotoisena esiintyvä ryhmä ja ne aiheuttavat vuosittain suuren määrän erilaisia infektioita niin ihmisille, eläimille kuin kasveillekin. Virukset eivät omaa aineenvaihduntaa tai soluelimiä ja ne toimivatkin eukaryoottisoluissa loisten kaltaisesti kaapaten isäntäsolun aineenvaihdunnan käyttöönsä. Tämä prosessi ei kuitenkaan ole yksinkertainen, vaan koostuu useista eri vaiheista. Yhtenä tärkeimmistä vaiheista voidaan pitää viruksen pääsyä solun sisään. Tämän mahdollistavia tapoja on monia ja tämä tutkielma keskittyy niistä endosytoottisiin menetelmiin. Endosytoottisilla menetelmillä tarkoitetaan sellaisia soluunottomekanismeja, jotka perustuvat solukalvosta kuroutuviin vesikkeleihin.

Tutkielmassa tarkastellaan endosytoosimenetelmiä klatriinista riippuaisten ja riippumattomien menetelmien näkökulmasta. Endosytoosireittejä käsitellään niin niiden yksityiskohtaisen toiminnan, kuin esimerkkipirustenkin kautta. Esimerkkiviruksina tutkielmassa käytetään hyvin tunnettuja viruksia, jotka infektoivat usein myös ihmisiä.

1. JOHDANTO.....	1
2. VIRUSTEN KÄYTTÄMÄ KLATRIINISTA RIIPPUVAINEN ENDOSYTOOSI, CME	2
2.1 Klatriinin rakenne	3
2.2 Klatriinivesikkelien muodostuminen	4
2.3. Virukset ja klatriinivälitteinen endosytoosi.....	6
2.3.1. SARS-CoV-2:n soluunoton mekanismi	7
2.3.2. Influenssavirus A:n soluunoton mekanismi	9
3. VIRUSTEN KÄYTTÄMÄ KLATRIINISTA RIIPPUMATON ENDOSYTOOSI, CIE	12
3.1. CIE:n eri toimintamekanismeja.....	12
3.1.1. Dynamiinista riippuvaiset mekanismit.....	13
3.1.2. Dynamiinista riippumattomat mekanismit	15
3.2. CIE virusten käytössä.....	17
3.2.1. ECHO-virus 1:n soluunoton mekanismi	18
3.2.2. HIV1:n soluunoton mekanismi.....	19
4. YHTEENVETO	21
5. LÄHTEET	

1. JOHDANTO

Eukaryoottisoluja ympäröi fosfolipideistä koostuva solukalvo, joka toimii solujen rajapintana niiden ympäristöön. Solukalvo on puoliläpäisevä ja päästää läpi aineita äärimmäisen valikoivasti. Sen valikoiva läpäisevyys on tärkeää esimerkiksi solun immuunipuolustukselle ja muille suoja mekanismeille. Solukalvon poikkeuksellinen rakenne on kuitenkin edellyttänyt erilaisten kuljetusmekanismien kehittymistä, sillä solu tarvitsee ympäristöstään erilaisia molekyylejä, kuten ravintoaineita. Endosytoosi on keskeisimpiä näistä mekanismeista.

Endosytoosi perustuu solukalvosta kuroutuviin pieniin solukalvovesikkeleihin, jotka kulkeutuvat solunsisäisen kalvoliikenteen avulla kohteisiin, joissa solu niiden kuljettamaa molekyylejä tarvitsee. Vesikkelit voivat sisältää kiinteitä kappaleita, kuten ravintoaineita tai bakteereita, jolloin puhutaan fagosytoosista. Nestemäisten tai liukoisten aineiden kulkeutumista endosytoottisesti taas kutsutaan pinosytoosiksi.

Ravintoaineiden, signaalimolekyylien ja muiden tarpeellisten aineiden lisäksi myös jotkin virukset kulkeutuvat soluihin endosytoosilla. Koska virukset ovat oman aineenvaihduntansa puutteen vuoksi täysin riippuvaisia isäntäsoluistaan, on solujen ensimmäisen esteen, solukalvon, ohittaminen viruksille äärimmäisen tärkeää. Soluun päästyään virukset valjastavat solun replikaatiokoneistokseen. Jotkin virukset kulkeutuvat soluun klatriinipeitteisissä vesikkeleissä, toiset taas klatriinista riippumattomilla endosytoosimekanismeilla, kuten kaveoliinivälitteisellä endosytoosilla.

Virusten ja solujen vuorovaikutus on dynaaminen prosessi, jossa molemmat osapuolet sopeutuvat jatkuvasti toisiinsa. Virukset kehittyvät nopeasti ohittaakseen solujen puolustusmekanismit, ja solut puolestaan kehittävät uusia puolustuskeinoja viruksia vastaan. Jatkuvan evolutiivisen kilpajuoksun vuoksi virusten käyttämien endosytoosireittien tutkiminen ja kartoittaminen on erittäin tärkeää erityisesti lääkekehityksen ja uusien hoitomuotojen kannalta. Tutkielmassa käynkin läpi endosytoosin peruseriaatteet sekä tarkastelen virusten sisäänottomekanismia esimerkkivirusten avulla.

2. VIRUSTEN KÄYTTÄMÄ KLATRIINISTA RIIPPUVAINEN ENDOSYTOOSI ELI CME

Endosytoosireitit voidaan jakaa karkeasti klatriinista riippuvaisiin (engl. clathrin-mediated endocytosis, CME) ja klatriinista riippumattomiin (engl. clathrin-independent endocytosis, CIE) reitteihin. Solut voivat lähtökohtaisesti hyödyntää endosytoosisaan kumpaakin reittiä. Bitsikas ym. (2014) kuitenkin osoittivat, että useissa soluissa jopa 95 % endosytoosista tapahtuu klatriinivälitteisesti. Tämän tutkimuksen mukaan klatriinista riippumattomien reittien vaikutus endosytoosin kokonaismäärään on vähäinen. Isäntäsolua kaapatessaan myös virukset voivat hyödyntää sekä klatriinivälitteistä että klatriinista riippumatonta endosytoosia.

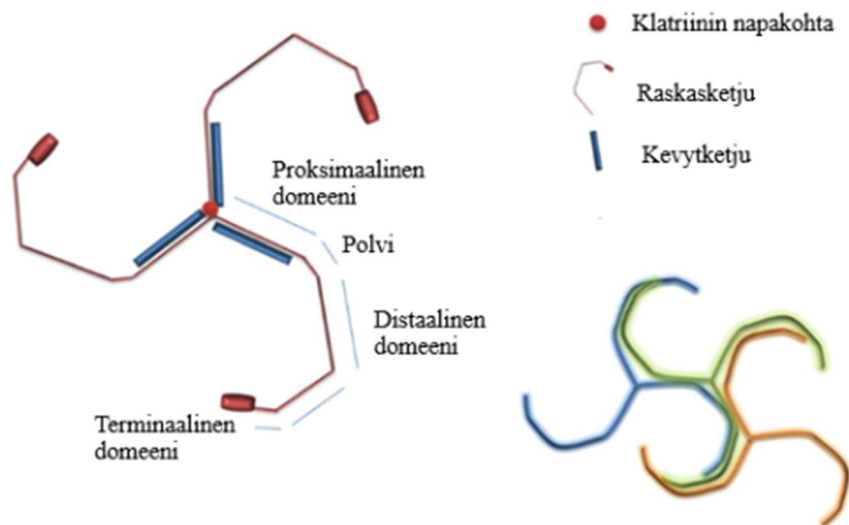
Klatriinista riippuvaista endosytoosia on tutkittu melko pitkään ja sen mekanismit tunnetaankin tarkkaan. Klatriinitutkimus sai alkunsa vuonna 1964 Thomas F. Rothin ja Keith R. Porterin tutkimuksista, joissa selvitettiin elektronimikroskopialla erityisesti solukalvon endosytoosia ja kalvorakkuloiden muodostumista (Roth & Porter, 1964). Rothin ja Porterin havainnolla oli ratkaiseva merkitys solubiologialle, sillä se muutti käsityksen siitä, miten solut ottavat aineita sisään ja kuljettavat niitä solussa. Klatriinista riippumattomia reittejä puolestaan on tutkittu vähemmän, ja niiden mekanismit ovat toistaiseksi tuntemattomampia.

Klatriinivälitteinen endosytoosi on evolutiivisesti hyvin konservoitunut. Nimensä mukaisesti se perustuu solukalvon sytoplasmiselle puolelle kerääntyvään klatriiniproteiiniin. Klatriinin kertymisen solukalvolle saavat aikaan proteiineja sitovat reseptorit, joita tietyt molekyylit aktivoivat. Reseptorien aktivoituminen ja klatriinin kerääntyminen saavat solukalvon kaareutumaan ja muodostamaan kuopakkeen, jonka sisälle kertyy kuljetettavaa molekyyliä. Kuoppa kuroutuu lopulta vesikkeliksi, jota suojaaa klatriinin muodostama vankka tukirakenne. Klatriinin lisäksi prosessiin tarvitaan yli 50:tä proteiinia, jotka aktivoituvat ja inaktivoituvat tarkassa järjestyksessä. Klatriinivälitteinen endosytoosi onkin monivaiheinen prosessi eikä sen kaikkia yksityiskohtia vielä tunneta pitkään jatkuneesta tutkimuksesta huolimatta. (Kaksonen & Roux, 2018.)

2.1 Klatriinin rakenne

Klatriiniproteiini koostuu kolmesta suuresta, noin 190 kilodaltonin (kDa) ja kolmesta pienestä, noin 25 kDa kokoisesta alayksiköstä. Alayksiköistä käytetään myös termejä raskas- ja kevytketju. Ketjut voivat liittyä toisiinsa muodostaen kolmijalkaisia tai -sakaraisia triseklioni – rakenteita. Triskelionien jokainen sakara koostuu yhdestä raskas- ja kevytketjusta. Klatriiniverkon synty ja vesikkelin muodostuminen perustuu yksittäisten klatriinitriskelionien kykyyn sitoutua toisiinsa ja muodostaa näin kolmiulotteisia verkkoja.

Kolme raskasketjua muodostavat klatriiniristikon rakenteellisen perustan. Elektronimikroskooppitutkimuksilla raskasketjujen on havaittu muodostuvan proksimaalisesta, distaalista sekä terminaalista rakenneosasta eli domeenista (kuva 1). Proksimaaliset domeenit liittyvät klatriinin napakohtaan, joka toimii jalkojen yhtymiskohtana. Terminaaliset domeenit taas mahdollistavat klatriinin interaktiot erilaisten proteiinien kanssa. Raskasketjun “polvi” muodostuu puolestaan proksimaalisen ja distaalisen osan välillä olevaan taitekohtaan (Kirchhausen & Harrison, 1984).



Kuva 1: Klatriinin rakenne. Kuvassa klatriinin napakohta, raskasketjut domeeneineen, kevytketjut sekä triskelionien yhteenliittymän muodostama rakenne (muokattu Shi ym., 2021).

Myös kevytketjut muodostuvat kolmesta osasta; C- ja N-terminaalista domeenista sekä keskellä olevasta kierteisestä alueesta. Kevytketjut liittyvät raskasketjujen proksimaalisiin domeeneihin (Ungewickell, 1983). Kevytketjujen uskotaan säätelevän klatriiniristikon muodostumista ja hajoamista.

Solussa triskelionit muodostavat viisi- ja kuusikulmaisia rakenteita. Kuusikulmaisissa rakenteissa geometria on pääasiassa tasomainen ja viisikulmaisten rakenteiden lisäämisen verkkorakenteeseen mahdollistaa kaarevien rakenteiden muodostumisen.

Endosytoosin lisäksi klatriinilla on soluissa myös muita tehtäviä. Se muun muassa osallistuu mitoosissa tapahtuvaan sisarkromatidien järjestäytymiseen, kun klatriinin raskasketju sitoutuu tumasukkulaan ja stabiloi sen rakennetta (Royle ym., 2005).

2.2 Klatriinivesikkelien muodostuminen

Klatriinivesikkeleiden muodostuminen on vaiheittainen tapahtuma, joka jaetaan initiaatio- eli aloitusvaiheeseen, stabilisaatovaiheeseen, kypsymis- eli maturaatiovaiheeseen ja kalvon kuroutumisvaiheeseen (kuva 2) (Mettlen ym., 2018). Jokaiseen vaiheeseen vaikuttavat lukuisat eri proteiinit.

Vesikkelien muodostuminen alkaa, kun solukalvon pinnalla olevat reseptorit sitovat ja konsentroivat kuljetettavaa rahtia, esimerkiksi viruksia. Tämän seurauksena reseptorien sytoplasmisten osien konformaatio muuttuu (Boulant ym., 2015). Näissä sytoplasmisissa osissa on lyhyt, usein tyrosiinia sisältävä, lajittelusekvenssi, johon vesikkelin muodostumisen kannalta keskeinen adaptoriproteiinikompleksi sitoutuu (Mettlen ym., 2018). Adaptorikomplekseja on useita erilaisia (Lakadamyali ym., 2006). Yleisimmin klatriinivesikkeleiden muodostumisessa on mukana AP2 adaptorikompleksi, joka koostuu α , β_2 , μ_2 , ja σ_2 alayksiköistä (Mettlen ym., 2018).

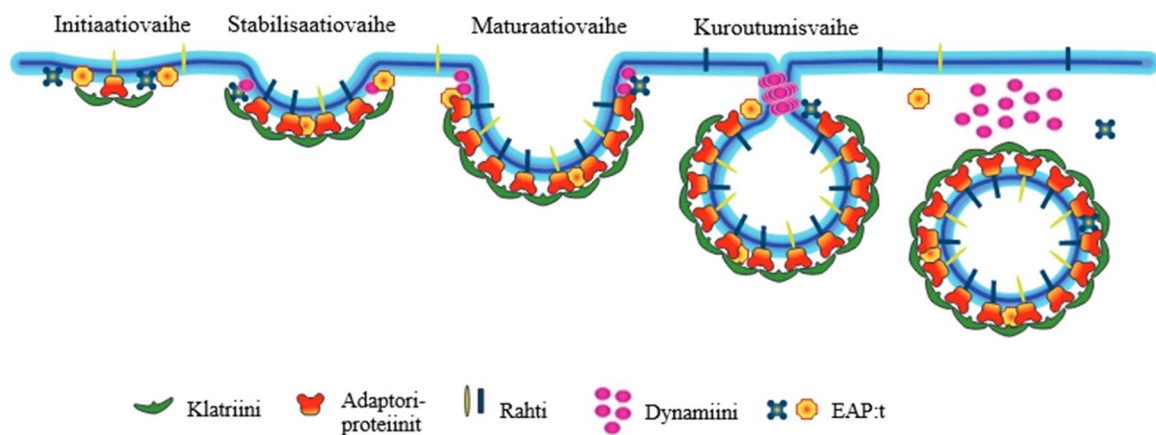
AP2 sitoutuu paljon fosfatidyylinoosi-4,5-bisfosfaattia (PtdIns4,5P₂ tai PIP₂) sisältäville solukalvoalueille. Sitouduttuaan PIP₂:een, AP2 fosforyloituu ja sen konformaatio muuttuu suljetusta avoimeksi. Tämän seurauksena AP2 alkaa rekrytoida niin klatriinia kuin muitakin endosytoosin apuproteiineja (engl. endocytic accessory proteins, EAPs). Klatriini sitoutuu L ϕ x ϕ [DE] klatriiniboksiin, joka sijaistaa AP2:n β_2 saranassa. (Höning ym., 2005.)

EAP:t tehostavat, säätävät ja ajoittavat klatriiniverkon muodostumista ja vesikkelin irtoamista. Erilaisia apuproteiineja on noin 60. Tietyt apuproteiinit säätävät esimerkiksi AP2 konformaatiota ja avustavat AP2:n ja klatriinin kerääntymisessä sytosolista solukalvolle. Klatriini ei liity suoraan solukalvon sytosoliselle puolelle vaan siinä kiinni oleviin adaptoriproteiineihin. Klatriinin kertyminen sekä EAP:t saavat yhdessä solukalvon kaartumaan.

Mitä enemmän klatriinia kertyy, sitä syvemmäksi kuoppa uurtuu ja sitä enemmän rahtia siihen kertyy.

Kun kuoppa on syventynyt tarpeeksi ja kerännyt tarpeeksi rahtia, vesikkelin muodostumisessa siirrytään kuroutumisvaiheeseen. Kuroutumisvaiheessa yksi tärkeimmistä proteiineista on dynamiini. Dynamiini on pieni GTP-aasi, joka käyttää GTP:n pilkkomisesta saatua energiaa vesikkelin irrottamiseen solukalvosta. Kuroutumisvaiheen alussa dynamiini sitoutuu solukalvon PIP₂:een, joka ankkuroi dynamiinin oikeaan kohtaan solukalvoa.

Dynamiini kerääntyy solukalvokalvopullistuman tyveen ja sen GTPaasi-aktiivisuus saa aikaan konformaatiomuutoksen, joka lopulta saa aikaan vesikkelin kuroutumisen solukalvolta. Joskus dynamiini voi myös rekrytoida muita entsyymejä, jotka hajottavat lipidirakenteita ja edistävät vesikkelin irtoamista.



Kuva 2: Klatriinivesikkelin muodostumisen vaiheet. Kuvassa eroteltuna vesikkelin muodostumisen eri vaiheet, initaatio, stabilisaatio, maturaatio, kuroutuminen, sekä osa vaiheisiin osallistuvista tekijöistä, klatriini, adaptoriproteiinit, rahti, dynamiini ja EAP:t. (muokattu Mettlen ym., 2018).

Kun vesikkeli on muodostunut, klatriinikuori hajotetaan nopeasti. Tämän seurauksena muodostuneet varhaiset endosomit kehittyvät myöhäisiksi endosomeiksi ja ohjautuvat esimerkiksi lysosomeihin tai Golgin laitteeseen. Koska vesikkeli, endosomit, lysosomit, Golgin laite sekä muut solun sisäiset kalvorakenteet muodostuvat samanlaisista lipidimolekyyleistä, ne pystyvät sulautumaan toisiinsa.

Vesikkelien kalvoliikenne kuitenkin vaatii myös spesifisiä fuusioproteiineja, jotka varmistavat, että vesikkeli fuusioituu juuri sille kalvolle, jossa vesikkelien sisältöä tarvitaan. Fuusioitumisessa avustavat rab-proteiinit ovat dynamiinin tapaan monomeerisiä GTPaaseja. Eri kalvoilla sekä vesikkeleissä on erilaisia rab-proteiiniperheen proteiineja ja niiden monimuotoisuus tekeekin niistä ihanteellisia tunnistusproteiineja. Rabit aktivoituvat, kun ne sitoutuvat GTP:hen niin sanottujen GEF-proteiinien katalysoimana ja saavat näin telakoitua vesikkelin oikealle kohdekalvolle. Toiset tärkeät fuusioproteiinit, SNAREt (engl. soluble NSF attachment receptor), esiintyvät komplementaarisesti aina vesikkeli- (engl. vesicle SNARE, vSNARE) ja kohdekalvolla (engl. target SNARE, tSNARE). Kun v- ja tSNARE:t kietoutuvat toisiinsa coiled coil -sidoksilla, muodostuu trans-SNARE kompleksi, joka vetää kalvot lähekkäin. Tämä johtaa lopulta vesikkelin ja kohdekalvon lipidikerrosten fuusioitumiseen ja rahdin vapautumiseen. Fuusioproteiineista Rabit siis toimivat tunnistamisessa ja SNAREt auttavat membraanifuusiota.

2.3. Virukset ja klatriinivälitteinen endosytoosi

Monet virukset, mukaan lukien SARS-CoV-2 ja influenssavirus, kaappaavat isäntäsolun luonnollisen klatriinivälitteisen endosytoosireitin (CME) päästäkseen solun sisälle ja aiheuttaakseen infektion (Bayati ym., 2021; Rust ym., 2004). Vaikka useimmat virukset voivat läpäistä solukalvon muillakin keinoilla, kuten suoralla fuusiolla, klatriinivälitteinen endosytoosi on viruksille hyödyllinen mekanismi monestakin syystä. Käyttämällä solun luonnollista endosytoosireittiä virus esimerkiksi mahdollistaa tarkan kohdentamisen tiettyntyyppisiin soluihin ja välttää isäntäsolun puolustusmekanismit.

Yksi CME:n merkittävimmistä hyödyistä viruksille onkin sen tarjoama suoja immuunipuolustusta vastaan. Jos virukset läpäisevät solukalvon suoraan, jättävät ne isäntäsolun solukalvolle molekyylijä, jotka aktivoivat isäntäsolun immuunijärjestelmän. Tämän seurauksena virusten lisääntyminen sekä leviäminen estyy. Endosytoosissa virus kuitenkin kulkeutuu soluun vesikkelin sisällä. Näin ollen virus on myös suojassa solun immuunivasteen mekanismeilta, kuten tiettyntyyppisiltä vasta-aineilta, jotka neutraloisivat viruksen ennen sisäänpääsyä. (Mercer ym., 2010.)

Virusten pinnoilla on erilaisia molekyylijä, usein esimerkiksi glykoproteiineja, jotka ovat välttämättömiä viruksen kiinnittymiselle isäntäsolun pintaan (Mercer ym., 2010).

Kiinnittyminen tapahtuu, kun viruksen pintamolekyylit tunnistavat ja kiinnittyvät spesifisesti isäntäsolun solukalvolla oleviin reseptoreihin. Tämä reseptoriin sitoutuminen laukaisee signaalikaskadin, joka johtaa klatriinien kerääntymiseen solukalvon sisäpinnalle, kuopan syvenemiseen ja lopulta vesikkelin kuroutumiseen irti solukalvosta. Viruksen sitoutuminen reseptoriinsa on kriittisin vaihe viruksen lisääntymissyklissä, sillä se mahdollistaa viruksen pääsyn solun sisään ja infektion etenemisen.

Solussa virusta sisältävät vesikkelit fuusioituvat varhaisiin endosomeihin ja näiden kypsyessä virukset päätyvät endosomijärjestelmään. Endosomien sisällön happamoituminen (pH:n lasku) aiheuttaa viruksen pintaproteiineissa konformaatiomuutoksia, jotka mahdollistavat viruksen ja endosomin kalvojen fuusioitumisen ja viruksen genomin vapautumisen sytosoliin (Alberts ym., 2022).

2.3.1. SARS-CoV-2:n soluunoton mekanismi

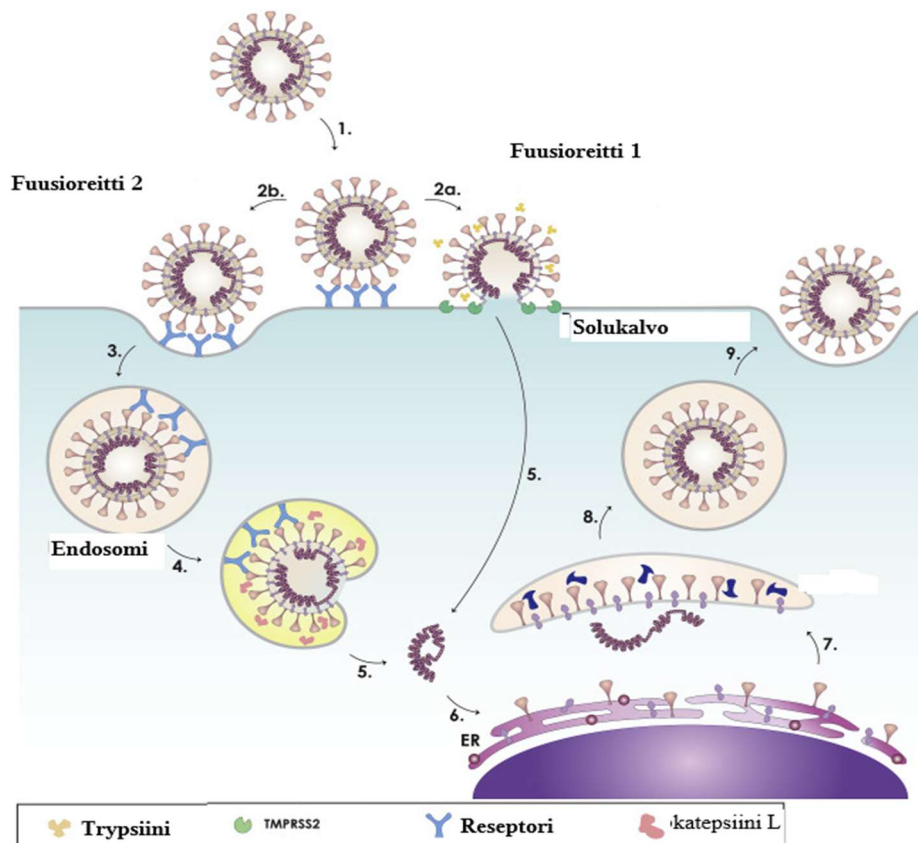
Vakava akuutti hengitystieoireyhtymä -koronavirus 2 eli SARS-CoV-2 (engl. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) on koronaviruksiin kuuluva beetakoronavirus, joka infektoi ihmisiä sekä eläimiä. Virustartunnasta aiheutuva COVID-19-tauti voi olla ihmisillä täysin oireeton tai vaihdella lievästä nuhakuumeesta vakaviin hengitysongelmiin. Pääsääntöisesti tartunta kuitenkin aiheuttaa hengitystieinfektion, jonka oireina on yskää, nuhaa ja usein hajua- tai makuaistin menetys. (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, 2025). Vuonna 2019 Kiinan Whuanista levinnyt SARS-CoV-2 aiheutti maailmanlaajuisen pandemian.

SARS-CoV-2 on RNA-virus ja sen genomi on noin 30 kiloemäsparia pitkä yksijuosteinen RNA-molekyylä. Koronaviruksen genomi onkin suurin tunnettu RNA-virusgenomi (Hovi, 2020). Suuren genominsa vuoksi viruksessa tapahtuu myös paljon mutaatioita, jotka puolestaan mahdollistavat viruksen nopean evoluution. RNA-genomia sekä genomiin kietoutunutta proteiinikapsidia ympäröi lipidikalvo, joka mahdollistaa viruksen fuusioitumisen isäntäsolun kalvoille (Bayati ym., 2021).

Vuonna 2020 alkanut koronapandemia vauhditti koronavirustutkimusta, ja myös SARS-CoV-2:n reittejä soluun tutkittiin intensiivisesti. Tutkimukset ovatkin osoittaneet, että SARS-CoV-2 hyödyntää CME:n ja CIE:n, lisäksi muitakin reittejä soluun päästäkseen. On kuitenkin havaittu, että klatriinivälitteinen endosytoosi on tärkeä tekijä SARS-CoV-2:n infektiivisyydelle (Bayati ym., 2021).

SARS-CoV-2:n klatriinivälitteinen endosytoosi käynnistyy sen transmembraanisten piikkiproteiinien tarttuessa isäntäsolun solukalvon reseptoreihin. Piikkiproteiinit ovat viruksen lipidikalvolla runsaslukuisina esiintyviä S1 ja S2 osista koostuvia glykoproteiineja. S1 osa sisältää reseptoriin liittyvän osan (engl. receptor-binding domain, RBD), kun taas transmembraaninen S2 osa vastaa viruksen ja isäntäsolun solukalvojen fuusiosta (Bayati ym., 2021). Piikkiproteiini sitoutuu angiotensiinikonvertaasi 2 reseptoriin (engl. angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) (Li ym., 2003). Nisäkkäillä ACE2:n toiminta liittyy verenpaineen entsyymaattiseen säätelyyn.

Kun virus on sitoutunut isäntäsolun ACE2 reseptoriin, viruksella on kaksi vaihtoehtoista reittiä solun sisälle (kuva 3). Viruksen membraani voi fuusioitua suoraan isäntäsolun ulkokalvon kanssa, jolloin RNA vapautuu suoraan isäntäsolun sytosoliin. Tämä reitti vaatii usein tiettyjen proteaasien, kuten trypsiinin tai TMPRSS2:n (engl. transmembrane protease serine 2) läsnäolon ja aktiivisuuden. Nämä entsyymit pilkkovat viruksen piikkiproteiinin ja aiheuttavat konformaatiomuutoksen, joka aktivoi piikkiproteiinin S2-osan. Vaihtoehtoisesti ACE2 aktivoituu piikkiproteiinin sitoutumisen myötä, mikä käynnistää endosytoosin. Endosomin sisällä tapahtuu happamoituminen. pH:n laskun seurauksena kysteiiniproteaasi katepsiini L aktivoi piikkiproteiinien fuusioituvat osat niin, että virus fuusioituu endosomin solukalvolle ja vapauttaa virus-RNA:n solun sisään sytoplasmaan. (Hillary & Ceasar, 2023; Tang ym., 2020.)



Kuva 3. SARS-CoV-2 vaihtoehtoiset fuusioreitit soluun. 1. SARS-CoV-2 tarttuu piikkiproteiineillaan isäntäsolun solukalvon reseptoriin. 2a. Virus fuusioituu suoraan solukalvoon TMPRSS2 indusoimana. 2b. Reseptoriin tarttuminen laukaisee endosytoosireitin. 3. (Klatriinipeitteinen) endosomi kurotaan solukalvolta. 4. Endosomi kypsyy ja sen sisäinen pH laskee aktivoiden katepsiini L:n. 5. Viruksen sisällä ollut RNA vapautuu solulimaan. 6. RNA kulkeutuu replikoitavaksi muun muassa ER:lle. 7-8. Replikoiduista viruspartikkeleista kootaan kokonaisia viruksia, jotka vapautuvat isäntäsolusta eksosytoosilla. (Muokattu Tang ym., 2020).

Isäntäsolussa koronavirusen RNA transloidaan ja sen avulla muodostetaan uusien virusten rakenneproteiineja. Muodostetuista rakenneproteiineista kootaan kokonaisia viruksia, jotka lopulta vapautuvat solusta eksosytoosilla.

2.3.2. Influenssavirus A:n solunoton mekanismi

Influenssavirusten kirjo on niiden nopean evoluution seurauksena laaja. Ihmisten influenssavirukset jaetaan A, B ja C -tyyppeihin, joista tyypillisimmin A- ja B-tyypit aiheuttavat ihmisille influenssatartunnan (Duodecim, 2011). Tässä tutkielmassa keskitytään influenssa A -virukseen, joka aiheuttaa suurimman osan vuosittaisista influenssatartunnoista. Alun perin influenssa A on ollut lintujen virus ja siirtynyt ihmisille satoja tai tuhansia vuosia sitten.

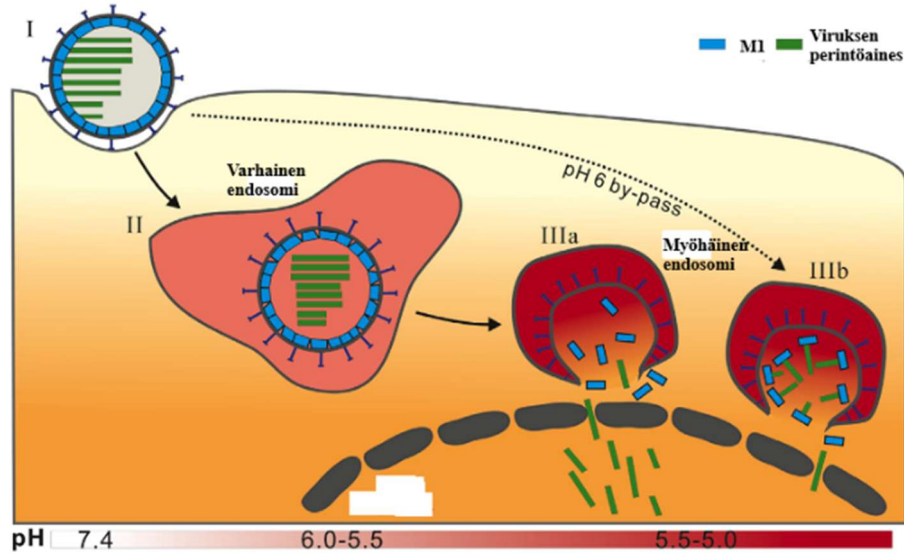
Influenssatartunta aiheuttaa ihmiselle akuutin hengitystietulehduksen, jonka oireina on yleensä kuume, lihassärky, pahoinvointi, kurkkukipu sekä muut niin kutsutun flunssan oireet. Usein taudin oireet helpottavat muutaman viikon kuluessa ja aiheuttaa hengenvaaraa ainoastaan muuten heikkokuntoisilla tai esimerkiksi vanhoilla ihmisillä. Tartunnat kuitenkin aiheuttavat vuosittain suuriakin tartunta-aaltoja ja ovat pahimmillaan aiheuttaneet esimerkiksi miljoonittain ihmisiä tappaneen Espanjantaudiksi kutsutun pandemian 1900-luvun alkupuolella.

Influenssa on negatiivissäikeinen RNA virus, jonka perintöainesta ympäröi kapsidin lisäksi sen entisen isännän solukalvosta muodostunut glykoproteiinipeitteinen lipidikerros (Li ym., 2014). Influenssa A viruksen pinnan proteiineista suurin osa on hemagglutiniinia (HA) sekä neuraminidaasia (NA). Influenssavirus A -alaryhmät (alatyypit) nimetään hemagglutiniinin ja neuraminidaasin mukaan. Nimeämisessä käytetään H- ja N-kirjaimia sekä niiden numeroita, esimerkiksi vuoden 2009 pandemian aiheuttanut virus oli H1N1 alatyyppeä. Koronaviruksen tapaan, myös Influenssavirus A käyttää soluun päästäkseen klatriinivälitteistä endosytoosireittiä sekä myös muita reittejä, kuten klatriinista riippumatonta endosytoosia (Rust ym., 2004).

Influenssa A:n reseptorina toimii mGluR2 (metabotrooppinen glutamaattireseptori 2). Viruksen sitoutuminen mGluR2:een aktivoi KCa1.1 ionikanavan avautumisen, mikä johtaa CME:n kannalta välttämättömään F-aktiinin polymerisaatioon. Muun muassa nämä proteiinit mahdollistavat klatriinin sekä muiden apuproteiinien kerääntymisen solukalvolle. Tämä on kuitenkin vain yksi mahdollinen reitti ja IVA:n CME:n ymmärtäminen on vielä vajavaista. (Ni ym., 2024; Rust ym., 2004.)

Reseptoriin tarttumisen, ionikanavan avautumisen ja F-aktiinin polymerisaation ansiosta solukalvo alkaa kaareutua. Kaareutuminen houkuttelee paikalle muun muassa BAR-domeeneita, sekä muita proteiineja (Rust ym., 2004), jotka puolestaan edistävät klatriinin rekrytointia ja vesikkelin muodostumista. Lopulta muodostuneen klatriinipeitteisen vesikkelin kuroutuminen tapahtuu dynamiinin avulla. Ennen vesikkelin fuusioitumista kohdekalvolle, klatriinikuori purkautuu. Kun influenssaviruksen sisältämä vesikkeli fuusioituu varhaisen endosomin kanssa, ja endosomi alkaa kehittyä, endosomin pH laskee. Sen seurauksena influenssaviruksen rakenne muuttuu. Li ym. (2014) osoittivat, että pH:n lasku ja sitä seuraavat muutokset voidaan jakaa kahteen vaiheeseen. Ensimmäisessä vaiheessa pH laskee seitsemästä noin kuuteen, minkä seurauksena viruksen kuoriproteiini M1:n sekä pintaproteiini HA:n rakenne muuttuu. Tässä vaiheessa virus kuitenkin pysyy ehjänä. Lopullinen rakennemuutos tapahtuu seuraavassa vaiheessa, jossa pH laskee noin 5.5:een, jolloin M1 irtoaa lipidivaipasta,

mikä hajottaa viruksen proteiiniuoren. Samaan aikaan HA:n konformaatio muuttuu niin, että viruksen lipidivaipan ja endosomin kalvon sulautuminen toisiinsa on mahdollista. Nämä vaiheet johtavat viruksen perimäaineksen vapautumiseen solulimaan (kuva 4).



Kuva 4. pH:n indusoima IVA:n perimäaineksen vapautuminen. I. virus pääsee isäntäsolun sisään ja fuusioituu varhaisen endosomin sisään. II. Varhaisen endosomin sisällä pH laskee noin kuuteen, jolloin viruksen rakenne heikkenee, muttei hajoa. IIIa. pH laskee entisestään noin 5.5:een, jolloin viruksen kuori hajoaa ja virus fuusioituu endosomiin vapauttaen perimäaineksen, joka lopulta kulkeutuu tumaan. IIIb. Mikäli pH:n aleneminen ei tapahdu järjestyksessä vaan laskee suoraan lähelle viittä, kuorirakenne hajoaa vajavaisesti. Tämän vuoksi vaiheittainen eteneminen on tärkeää. (Muokattu S. Li ym., 2014).

3. VIRUSTEN KÄYTTÄMÄ KLATRIINISTA RIIPPUMATON ENDOSYTOOSI ELI CIE

1990-luvun alkupuolelle asti solujen endosytoosin ajateltiin olevan klatriiniriippuvaista. Noin 30 vuotta sitten kuitenkin karakterisoitiin toinen, klatriinista riippumaton endosytoosi, CIE. Klatriinista riippumaton endosytoosi on kattokäsite monille erilaisille endosytoosimekanismeille, joiden toiminta ei vaadi klatriinia. Nykyään klatriinista riippumattomat endosytoosireitit ovat klatriinivälitteisen endosytoosin tavoin yleisesti hyväksytyjä vaihtoehtoisia endosytoosireittejä.

CIE on hyvin tärkeä tutkimuskohde, sillä se on yhdistetty useisiin solun tärkeisiin toimintoihin (Nik ym., 2023). CIE-reittien ymmärtäminen on tärkeää myös siksi, että useat patogeenit hyödyntävät näitä endosytoosireittejä tunkeutuessaan soluihin. Reittien tarkempi tunteminen avaa uusia mahdollisuuksia esimerkiksi patogeenien vastaiselle lääkekehitykselle. Seuraavaksi tutkielmassa tarkastellaankin klatriinista riippumattoman endosytoosin mekanismeja sekä esimerkkivirusten tapoja hyödyntää näitä endosytoosireittejä.

3.1. CIE:n eri toimintamekanismeja

Klatriinista riippumattomat reitit voidaan jakaa dynamiinista riippuvaisiin ja dynamiinista riippumattomiin reitteihin (Goldmann & Medina, 2025a). Tieteellisissä julkaisuissa reittejä kuitenkin saatetaan ryhmitellä myös esimerkiksi sen mukaan, mitkä reiteistä ovat kaveoliineista tai kolesterolista riippuvaisia. Vaikka eri CIE -reitit esitellään toisistaan erillisinä, reiteissä on myös paljon samankaltaisuuksia, sillä niissä voidaan kuljettaa samanlaista rahtia. Usein reittejä yhdistää myös riippuvuus lipideistä. Tässä tutkielmassa eri CIE:n reittejä käsitellään dynamiinista riippuvaisina ja riippumattomina reitteinä.

Endosytoosireitin riippuvuus tai riippumattomuus dynamiinista perustuu endosytoottisen rakkulan kuroutumisvaiheeseen. Jos rakkulan kurominen vaatii dynamiinia, luokitellaan reitti dynamiiniriippuvaiseksi. Jos kuroutuminen taas tapahtuu muilla keinoilla, voidaan reitin katsoa olevan dynamiinista riippumaton.

Dynamiinista riippuvaisia, klatriinista riippumattomia endosytoosireittejä ovat kaveoliinivälitteinen endosytoosi, nopea endofiliinivälitteinen endosytoosi (engl. fast endophilin-mediated endocytosis, FEME), pienten GTP-aasien säätelemä endosytoosi sekä epidermaalisen kasvutekijäreseptorin (engl. epidermal growth factor receptor, EGFR) solunotto.

Dynamiinista ja klatriinista riippumattomia endosytoosireittejä ovat CLIC/GEEC -reitti (engl. Clathrin-Independent Carriers/GPI-Enriched Endocytic Compartments), flotiinivälitteinen endosytoosi (engl. flotillin-mediated endocytosis, FME), arf6:n säätelemä endosytoosi sekä makropinosytoosi. (Goldmann & Medina, 2025a.)

3.1.1. Dynamiinista riippuvaiset mekanismit

Dynamiinista riippuvaiset, klatriinista riippumattomat mekanismit muodostavat vesikkeleitä ainoastaan, mikäli dynamiini osallistuu niiden kuromiseen irti solukalvolta. Seuraavaksi käsitellään neljää erilaista dynamiinista riippuvaista CIE-reittiä.

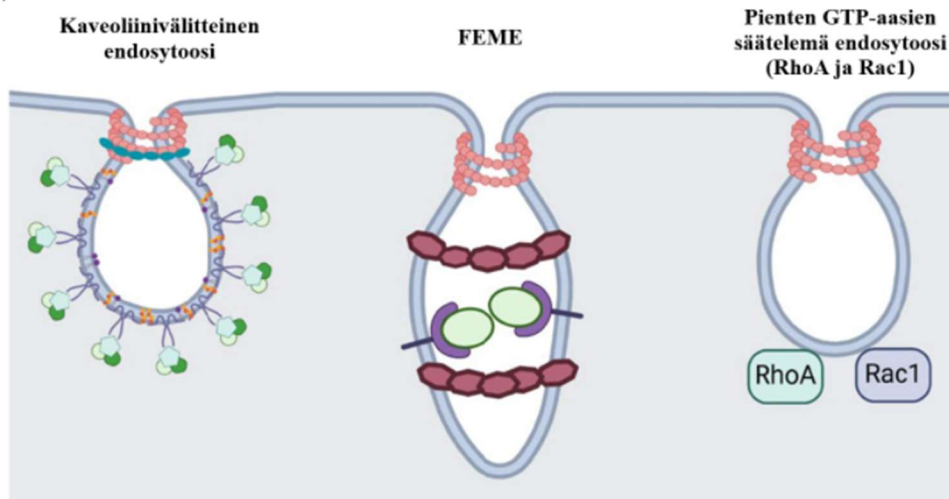
Kaveolivälitteinen endosytoosi on virusten solunoton kannalta oleellisin klatriinista riippumaton endosytoosireitti. Kaveolit ovat solukalvoilla esiintyviä dynaamisia, pieniä solukalvopainauksia, joita muodostuu solukalvolle kohtiin, missä kolesteroli- ja sfingolipidikonsentraatio on suuri (Parton ym., 2021). Painaumat eivät kuitenkaan muodostu itsestään, vaan muodostumiseen vaikuttaa kaveolien omanlainen ja ainutlaatuinen proteiiniukuori, joka eroaa muista tunnetuista solunsisäisistä proteiiniukuorista, kuten klatriinikuoresta. Kaveolivesikkeliin proteiiniukuori muodostuu muun muassa transmembraanisista kaveoliiniproteiineista, joista etenkin kaveoliini-1 on tärkeä. Kaveoliineilla on muitakin tehtäviä ja ne osallistuvat muun muassa solusignointiin ja kolesterolin kuljetukseen sekä homeostasian ylläpitoon. Kaveolien endosytoosi käynnistyy, kun spesifinen rahti sitoutuu kaveoliineihin vaikuttavaan reseptoriin. Tämän seurauksena dynamiini aktivoituu ja kuroo kaveoliinipäällystetyn vesikkelin irti solukalvolta (kuva 5). Kun vesikkeli on kuroutunut irti, se fuusioituu joko suoraan endosomin kanssa tai muodostaa muiden solukalvolta irronneiden kaveolivesikkeliin kanssa isomman niin kutsutun kaveosomin, jossa pH on neutraali.

Toinen dynamiinista riippuvainen, mutta klatriinista riippumaton mekanismi on nopea endofiliinivälitteinen endosytoosi eli FEME. FEME:n nopeus perustuu endofiliiniklustereihin,

joita lamellipodit keräävät solukalvon eri kohtiin silloinkin, kun solu ei aktiivisesti ota aineita sisäänsä (Boucrot ym., 2015; Casamento & Boucrot, 2020). Ilman reseptoriin liittyvää ligandia endofiliiniklusterit hajoavat noin 10 sekunnin kuluessa (Casamento & Boucrot, 2020). Jos ligandi, esimerkiksi virus kiinnittyy solukalvon reseptoriin, aktivoituneet reseptorit kerääntyvät nopeasti jo olemassa oleviin endofiliiniklustereihin (Goldmann & Medina, 2025a). Tämän seurauksena ligandi sekä reseptori internalisoidaan nopeasti, sillä endofiliiniproteiini sisältää endosytoosin kannalta merkittävät tekijät, eikä sen tarvitse rekrytoida suurta proteiinekoneistoa ympärilleen. Kalvon kaareutumista ohjaa endofiliinin BAR-domeeni ja sen SH3-domeeni sitoo aktivoituneet reseptorit osaksi vesikkeliä. (Boucrot ym., 2015) Endofiliinin toiminnallisten osien sekä dynamiinin avulla solukalvolta kuroutuu rahtia sisältävä vesikkeli (kuva 5), joka fuusioituu solussa varhaisten endosomien kanssa.

Kolmas mielenkiintoinen CIE:n muoto on epidermaalisen kasvutekijäreseptorin (engl. epidermal growth factor receptor, EGFR) sisäänottoreitti. EGFR on transmembraaninen proteiini, joka koostuu glykoproteiineista sekä useasta eri alayksiköstä (Murphrey ym., 2025). Reseptoriin sitoutuva EGF on solujen kasvuun osallistuva kasvutekijä, joka on usein yhdistetty myös syöpään. Kun EGF:n konsentraatio on suuri, reseptorin endosytoosi on klatriinista riippumaton, mutta jos EGF:n konsentraatio on pieni, reseptorin endosytoosi tapahtuu klatriinivälitteisesti. Riippuen endosytoositavasta reseptori joko ubikinoidaan ja hajotetaan tai kierrätetään takaisin solukalvolle. Kun EGF:n konsentraatio solun ympäristössä on suuri, reseptorin aktivoimaa signaalintietä pyritään heikentämään internalisoimalla reseptori CIE:llä ja ohjaamalla se edelleen lysosomiin hajotettavaksi. Jos EGF:n konsentraatio on alhainen, reseptori ohjataan CME:llä varhaisen endosomin kautta takaisin solukalvolle. EGFR:n CIE on riippuvainen ER:llä sijaitsevasta RTN3 proteiinista. RTN3 muodostaa ER:n ja solukalvon välille yhteyksiä, joiden ansiosta solukalvo kaartuu sisäänpäin. Solukalvon kuoppa kehittyy itsenäiseksi vesikkeliksi EGFR:n aktivoiman IP3R -proteiinin vapauttaman kalsiumin sekä dynamiinin avulla. EGFR ei osallistu ainoastaan EGF:n sisäänottoon, vaan sillä on tärkeä rooli myös esimerkiksi CD147:n sisäänotossa. (Tito ym., 2025.)

Myös pienten GTP-aasiin säätelemät endosytoosireitit ovat klatriinista riippumattomia, mutta dynamiinista riippuvaisia. Toisin kuin edellä käsitellyt endosytoosimekanismit, GTP-aasiin säätelemät reitit, eivät perustu yhteen tiettyyn mekanismiin, vaan ovat pikemminkin joukko erilaisia endosytoosireittejä, joita yhdistää pienten GTP-aasiin toiminta prosessissa. Erilaisia GTPaaseja on paljon ja ne toimivat lukuisissa solun prosesseissa. Esimerkiksi Rho perheen GTP-aasit osallistuvat endosytoosissa aktiinin toiminnan säätelyyn (kuva 5).



Kuva 5. Kaveoliinivälitteinen endosytoosi, FEME ja pienten GTP-aasien säätelemä endosytoosi. (muokattu Goldmann & Medina, 2025b)

3.1.2. Dynamiinista riippumattomat mekanismit

Dynamiinista sekä klatriinista riippumattomat endosytoosimekanismit (kuva 6) eivät vaadi toimiakseen klatriinia tai dynamiinia. Tämä ei kuitenkaan tarkoita sitä, että mekanismit olisivat täysin riippumattomia solukalvoa kurovista proteiineista tai erilaisista kuoriproteiineista. Mekanismin hyödyntämät proteiinit vain poikkeavat klatriinista ja dynamiinista. Seuraavaksi käsitellään neljää erilaista dynamiinista riippumatonta CIE-reittiä.

CLIC/GEEC -reitti on hyvin tärkeä endosytoosireitti etenkin GPI-ankkuroiduille proteiineille (engl. glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins, GPI-AP) sekä erilaisille reseptoreille. Reitin nimi tulee siinä toimivista tubulaarisista vesikkeleistä eli CLIC:eistä sekä paljon GPI-AP:tä sisältävistä varhaisista endosomeista, GEEC:eistä (Goldmann & Medina, 2025a; Kalia ym., 2006). Tämä endosytoosireitti vaatii tarkan proteiinijärjestelmän aktivoinnin. Reitti aktivoituu, kun GPI-AP:hin sitoutuu rahtimolekyyli. GBF1:n (engl. guanine nucleotide exchange factor, GBF1) aktivoima ARF1-GTP (engl. ADP ribosylation factor 1) säätelee vesikkelin muodostusta ja kuroutumista solukalvosta sytoplasmaan dynamiini-riippumattomalla tavalla. ARF1:n aktivaatio ja kalvolle sitoutumien määrittelee vesikkelin muodostumispaikan. Tähän kalvokohtaan kerääntyy myös muita vesikkelin sisäänottoon vaadittavia proteiineja. Vesikkelin muodostumisen alkuvaiheet ovat hitaita ja PICK1 (engl. Protein Interacting with C-kinase 1, PICK1) proteiini varmistaa, että prosessi etenee tarkassa järjestyksessä. PICK1 ei niinkään tee prosessista hidasta, vaan se varmistaa sen tarkan ajallisen koordinaation eri proteiinien välillä, mikä on olennaista oikeanlaisen vesikkelin muodostuksen

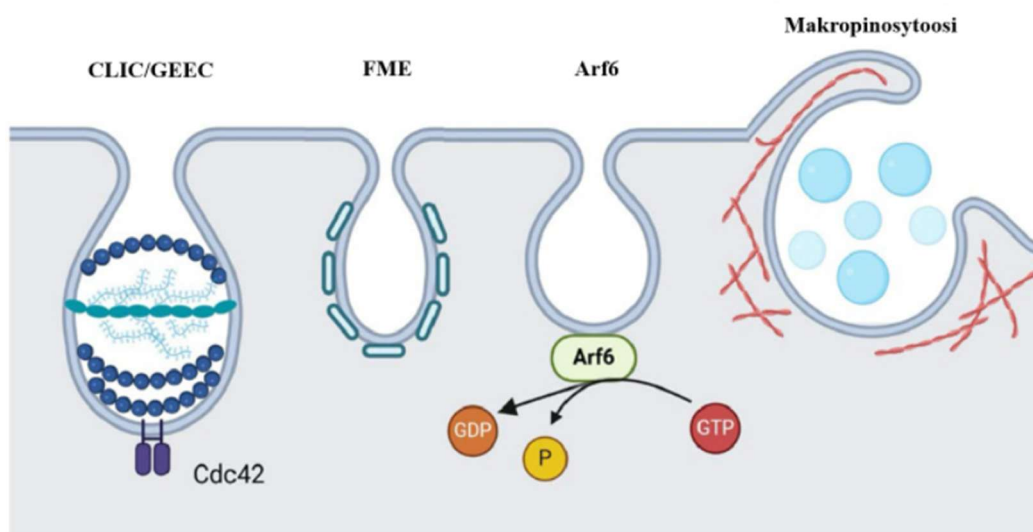
kannalta. PICK1 poistuu solukalvolta ja dissoituu sitoutumiskumppaneistaan, jolloin ARF1 sekä GRAF1:n rekrytoima cdc42 pääsevät nopeuttamaan reaktion etenemistä. Yhdessä IRSp53:n kanssa cdc42 lopulta rekrytoi ARP2/3:n, jolloin aktiinia polymerisoituu muodostuvan kalvorakkulan läheisyyteen. Dynamiinin ja klatriinin puuttuessa aktiini mahdollistaa kalvon kaareutumisen sekä IRSp53:n sekä GRAF1:n kanssa kalvon irtikuroutumisen. Solukalvolta kuroutuneet CLIC vesikkelit siirtävät lopulta rahtinsa GEEC:hin, jotka fuusioituvat endosomien kanssa (Goldmann & Medina, 2025a; Kalia ym., 2006; Sathe ym., 2018.)

Flotilliinivälitteinen endosytoosi perustuu dynamiinin ja klatriinin sijasta flotilliiniproteiineihin, jotka muodostavat lipidilauttoja sisältävälle solukalvolle endosytoosin mahdollistavia mikrodomeeneja. Mikrodomeenit muodostuvat flotiini-1 sekä flotiini-2 proteiineista, joiden yhteistyö on mikrodomeenien muodostumisen kannalta äärimmäisen tärkeää. Mikrodomeenit indusoivat solukalvon kaareutumista ja muodostavat kalvolle kaveolien kaltaisia kuoppia, joiden kautta solun ulkoisia aineita on mahdollista kuljettaa soluun. Kuoppien kuromiseen intrasellulaarisiksi vesikkeleiksi osallistuu ainakin fyn kinaasi, jonka fosforylaatio mahdollistaa follitiinien sisäänoton (Riento ym., 2009). (Frick ym., 2007.)

Myös Arf6 GTP-aasi (engl. ADP-ribosylation factor 6) on yhdistetty klatriinista ja dynamiinista riippumattomaan endosytoosiin. Arf6:n indusoidman endosytoosin kohteena ovat esimerkiksi sellaiset kalvoproteiinit, joilla ei ole tarvittavia tunnistusekvensejä muille adaptoriproteiineille. Arf6:n on todettu, yhdessä solukalvon kolesterolin kanssa, osallistuvan muun muassa GPI-AP:ten sekä immuunipuolustukseen liittyvien MHC-I:n soluun sisäänottoon (Naslavsky ym., 2004). Koska Arf6 on GTP-aasi, sen muoto voi vaihdella inaktiivisesta GDP:hen sitoutuneesta muodosta aktiiviseen GTP:tä sitovaan muotoon. Ainoastaan aktiivinen muoto edistää endosytoosia (Naslavsky ym., 2004). Aktiivisessa muodossa oleva Arf6 myös konsentroituu indusoimansa endosytoosin seurauksena muodostuneisiin kalvorakkuloihin. Kalvorakkuloissa Arf6 kuitenkin inaktivoidaan nopeasti, jotta se ei häiritseisi rahdin oikeanlaista jaottelua (Goldmann & Medina, 2025a). Arf6 indusoiman endosytoosin seurauksena muodostuneet vesikkelit kohdennetaan usein lajitteluendosomeihin, jotka voivat tarvittaessa kuljettaa proteiinit myös takaisin solukalvolle.

Makropinosytoosi on endosytoosireiteistä tutkituin ja ehkä sen vuoksi myös yhdistetty monen eri molekyylin endosytoosiin. Makropinosytoosi on kuvattu ensimmäistä kertaa jo 1930-luvulla. Makropinosiossa soluun otetaan suuria nestemääriä, minkä vuoksi se on myös helppo havaita solukalvolta. Toisin kun monet muut endosytoosireitit, makropinosytoosi ei toimi

spesifisesti ja voi ottaa soluun hyvin moninaisia aineita kuten ravintomolekyylejä ja viruksia. Makropinosytoosin toiminta perustuu aktiinin dynamiikan muutoksiin ja uudelleenjärjestäytymiseen. Tämä tapahtuu useiden eri proteiinien, kuten Arp2/3:n, PI3K:n ja Ras:n välityksellä. Nämä proteiinit mahdollistavat aktiinin uudelleenjärjestäytymisen niin, että se muodostaa solukalvosta lähteviä pitkulaisia ulokkeita. Ulokkeet sulkeutuvat keskenään PI3 kinaasin indusoimana (Araki ym., 1996). Näin muodostuu taskumainen rakenne, jonka sisään rahti jää. Tasku kuroutuu irti solukalvolta ja muodostuu makropinosomiksi kutsuttu vesikkelirakenne. Makropinosomien sisäosa happamoituu ja ne fuusioituvat endosomien kanssa.



Kuva 6. CLIC/GEEC -reitti, FME, Arf6:n säätelemä endosytoosi sekä makropinosytoosi.. (Muokattu Goldmann & Medina, 2025b).

3.2. CIE virusten käytössä

Useat eri patogeenit hyödyntävät klatriinista riippumattomia endosytoosireittejä ja esimerkiksi kaveoliinivälitteinen endosytoosi toimii monen viruksen endosytoosireittinä. Usein virukset saattavatkin hyödyntää klatriinista riippumatonta reittiä klatriinivälitteisen endosytoosin sijasta, sillä CIE tarjoaa tiettyjä etuja klatriinivälitteiseen endosytoosiin nähden (Goldmann & Medina, 2025a).

Virusten kannalta äärimmäisen tärkeä CIE:n tarjoama etu liittyy isäntäsolun immuunijärjestelmään. Klatriinivälitteinen endosytoosi on CIE:tä herkemmin fagolysosomien kohteena, jolloin myös virus altistuu tätä reittiä hyödyntäessään helpommin solun immuunipuolustukselle. Näin ollen viruksen on turvallisinta hyödyntää CIE:tä. Myös CIE:n

moninaisuus on viruksille suuri etu, sillä mitä enemmän mahdollisia pääsyreittejä soluun on, sitä todennäköisemmin virus infektoi solun. (Goldmann & Medina, 2025a.)

Virukset voivat hyödyntää eri reittejä rinnakkain niin, että joskus ne hyödyntävät klatriinista riippuvaista, joskus klatriinista riippumatonta reittiä. Lisääntyvä tieto CIE:n eri reiteistä myös varmasti lisää ymmärrystä siitä miten, milloin ja missä tilanteissa virukset hyödyntävät klatriinista riippumattomia reittejä. Seuraavaksi käydäänkin läpi kahden esimerkkiviruksen avulla sitä, miten virukset hyödyntävät klatriinista riippumattomia reittejä isäntäsolun infektoinnissa.

3.2.1. ECHO-virus 1:n soluunoton mekanismi

ECHO-virus 1 (engl. enteric cytopathic human orphan virus, EV1) kuuluu pikoronaviruksiin, tarkemmin enteroviruksiin. Enterovirukset ovat maailmanlaajuisesti eniten ihmisille infektiota aiheuttavia viruksia (Terveystieteiden tutkimuskeskus [THL], 2023).

Enterovirukset lisääntyvät pääasiassa suoliston soluissa, ja niiden nimi "entero" (suoli) juontaa juurensa juuri tähän ominaisuuteen. Enterovirusinfektiot eivät kuitenkaan lähtökohtaisesti aiheuta suolisto-oireita, vaan oireet määräytyvät sen mukaan, mihin virukset siirtyvät toissijaisesti lisääntymään. Enterovirukset siirtyvät lisääntymään suolistosta elimistön muihin osiin, kuten imusolmukkeisiin ja verenkiertoon, josta ne voivat levitä edelleen toissijaisiin kohteisiin. Enterovirusinfektiot ovat usein oireettomia tai vähäoireisia. Pahimmillaan virusinfektio voi kuitenkin aiheuttaa jopa aivokalvon tai sydänlihaksen tulehduksen (Terveystieteiden tutkimuskeskus [THL], 2023).

EV1 on vaipaton, positiivisjuosteinen RNA-virus ja kaveolivälitteinen endosytoosi on yksi sen pääsyreitti soluun. Viruksen endosytoosi on siis riippumaton klatriinista sekä aktiinista. Sen endosytoosi kuitenkin vaatii kaveoliini-1:tä, solukalvon kolesterolia sekä dynamiinia. (Pietiäinen ym., 2004.)

ECHO-virus 1:n reseptori isäntäsolun solukalvolla on $\alpha 2\beta 1$ -integriini. Samaa integriiniä käyttävät myös muut molekyylit, kuten kollageeni. ECHO-virus 1 on kuitenkin sopeutunut hyödyntämään muista molekyyleistä poiketen reseptorin inaktiivista muotoa endosytoosissaan, mikä antaa sille muihin molekyyleihin nähden kilpailuedun. EV1 sitoutuu reseptoriin kapsidinsa rakenneosilla, joita kutsutaan protomeereiksi. Viruksen kapsidi koostuu 60 protomeerista, joissa on $\alpha 2\beta 1$ -integriinille oma sitoutumiskohtansa. (Marjomäki ym., 2008.)

Viruksen sitoutumista seuraa sen nopea siirtyminen kaveoleihin ja kaveolien sisäänotto dynamiinin avulla. Kaveolien yhdistyessä ne muodostavat kaveosomin, jonka sisään myös EV1 jää. Toisin kuin yleensä viruksien tapauksessa, ECHO-virus 1:tä ei kuitenkaan siirretä kaveosomeista eteenpäin esimerkiksi Golgin laitteeseen tai ER:lle replikoitumaan, vaan ECHO-virus 1 on kaveosomeissa aina sen replikaation alkamiseen asti. (Pietiäinen ym., 2004.)

3.2.2. HIV1:n soluunoton mekanismi

Ihmisen immuunikatovirus 1:n (engl. human immunodeficiency virus type 1, HIV-1) on maailmanlaajuisesti levinnyt virus, joka aiheuttaa nimensä mukaisesti immuunipuolustuksen heikkenemistä. Virus tarttuu sukupuoli- ja veriteitse sekä äidistä lapseen raskauden ja synnytyksen yhteydessä. Lukuun ottamatta tartunnasta muutamien viikkojen kuluessa ilmaantuvia ensioireita, HIV-infektio on usein hyvin pitkään, jopa vuosikymmenen, oireeton. Hoitamattomana infektio etenee AIDS-vaiheeseen, jolloin immuunipuolustus on niin heikko, että potilas sairastuu herkästi erilaisiin infektioihin ja virusten aiheuttamiin syöpiin. Potilaiden oireet eivät ole AIDS-vaiheessa samanlaisia vaan riippuvat siitä, mikä taudinaiheuttaja infektion aiheuttaa. HI-virukseen on nykyisin saatavilla tehokasta lääkehoitoa, joka pitää virusmäärät matalina ja näin suojaa immuunipuolustusta. (Kivelä, 2025.)

HI-virus on positiivisjuosteinen retroviruksiin kuuluva RNA-virus ja integroi RNA:staan käänteiskopioidun DNA:n osaksi isäntäsolunsa perimää (Salminen & Leinikki, 1996). HI-viruksille geneettinen muuntelu on ominaista ja suuren muuntelun sekä sen aiheuttamien biologisten ominaisuuksien vuoksi HI-viruksia jaotellaankin moneen erilaiseen ryhmään (Salminen & Leinikki, 1996). Usein jako tapahtuu tyyppin 1 ja 2 HI-viruksiin. HIV-1 aiheuttaa suurimman osan maailmanlaajuisista AIDS-tapauksista (Rossi ym., 2021).

HI-1 virusta ympäröi kalvorakenne, johon viruksen GP41 ja GP120 pintaproteiinit ovat kiinnittyneet (Rossi ym., 2021). Kalvon alla on matriksirakenne, joka ympäröi geneettistä materiaalia ja transkription kannalta tärkeitä entsyymejä suojaavaa kapsidia (Rossi ym., 2021).

HI-1 viruksen kohteena on immuunipuolustuksen CD4⁺ auttaja-T-solut. CD4⁺ solut ovat immuunipuolustukselle äärimmäisen tärkeitä, sillä ne vapauttavat sytokiineja, jotka aktivoivat muita immuunijärjestelmän soluja. Sitä, miten HIV-1 pääsee näihin soluihin, ei vielä täysin tunneta. Kiistanalaista on esimerkiksi se, tapahtuuko viruksen sisäänotto soluun

endosytoottisesti, vai fuusioituuko virukset suoraan isäntäsolun ulkokalvolle. Murakamin ym. (2025) tutkimus kuitenkin osoitti, että yksi mahdollinen reitti HIV-1:n CD4⁺ T-soluihin olisi makropinosytoosi.

Makropinosytoosissa aktiinin uudelleenjärjestäytymisen ja solukalvon kaartumisen seurauksena muodostuvat makropinosomit ottavat sisälleen ei-spesifisesti erilaisia solunulkoisia aineita. CD4⁺ T-solujen muodostamien makropinosomien on havaittu sisältävän HIV-1:n tarvitsemia CD4 reseptoreja sekä CCR5 ja mahdollisesti CXCR4 koreseptorieja. Tämä mahdollistaa sen, että kun HIV-1 otetaan makropinosomien sisään, se voi reseptorien avulla fuusioitua makropinosomin kanssa, vapauttaa perintöaineksensa soluun ja näin infektoida solun. (Murakami ym., 2025.)

Virusinfektion kannalta on tärkeää, että HIV-1 vapauttaa soluun käänteiskopioitavan RNA:n lisäksi myös tarvittavat kopioijaentsyymit sekä entsyymit, jotka ovat välttämättömiä viruksen geneettisen materiaalin liittämiseksi osaksi isäntäsolun genomia (Rossi ym., 2021). Vasta integroiduttuaan isäntäsolun genomiin virus-DNA:sta tulee pysyvä osa solun geneettistä materiaalia, ja solu alkaa tuottaa uusia viruspartikkeleita.

4. YHTEENVETO

Endosytoosi on niin eukaryoottisoluille kuin useille viruksillekin elintärkeä prosessi. Ilman endosytoosia solujen ravintoaineiden saanti olisi puutteellista ja useiden virusten infektointikyky heikkoa ja joustamatonta. Endosytoosin mekanismit ovat monimuotoisia, ja ne jaotellaan erilaisiin toiminnallisiin ryhmiin. Ylimmän tason jako klatriinista riippuvaisiin ja riippumattomiin reitteihin on mekanismien ymmärtämisen kannalta tärkeää. Klatriinista riippuvaisia mekanismeja on tutkittu paljon ja ne ovat tarkkaan tunnettuja. Klatriinista riippumattomat reitit taas ovat tuntemattomampia. Etenkin viruksiin liittyvässä tutkimuksessa klatriinista riippumattomiin reitteihin liittyvää tietoa on rajoitetusti ja se on usein kiistanalaista.

Tutkielmassa käsitellyt esimerkkivirukset osoittavat toisaalta niin virusten kuin endosytoosireittienkin moninaisuuden. Vaikka HIV-1, ECHO-virus 1, SARS-CoV-2 ja influenssa A ovat ihmisillä hyvin yleisiä viruksia ja jakavat useita samankaltaisuuksia, käyttävät ne endosytoosireittejä hyvin eri tavoin.

Virusten endosytoosireittien tutkimus on kehittynyt vuosien saatossa paljon - peruseriaatteiden ymmärtämisestä kohti yksityiskohtaisempaa tutkimusta. Tämän ovat osiltaan mahdollistaneet myös kehittyneet tutkimusmenetelmät. Viruksiin ja niiden endosytoosiin liittyvä tutkimus kuitenkin lienee jatkossakin aktiivista, sillä endosytoosireitit tarjoavat mahdollisuuksia esimerkiksi lääkekehitykseen. Toisaalta tutkimusta hankaloittaa virusten jatkuva geneettinen muuntelu sekä virusten kyky hyödyntää useita eri endosytoosireittejä.

LÄHTEET

Alberts, B., Heald, R., Johnson, A., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Peter, W. (2022). Chapter 13. Teoksessa *Molecular Biology of the Cell, 7th edition* (7th p., Vol. 2022, s. 756, 764, figure 13-14).

Araki, N., Johnson, M. T., & Swanson, J. A. (1996). A role for phosphoinositide 3-kinase in the completion of macropinocytosis and phagocytosis by macrophages. *The Journal of Cell Biology*, *135*(5), 1249–1260. <https://doi.org/10.1083/jcb.135.5.1249>

Bayati, A., Kumar, R., Francis, V., & McPherson, P. S. (2021). SARS-CoV-2 infects cells after viral entry via clathrin-mediated endocytosis. *Journal of Biological Chemistry*, *296*, 100306. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100306>

Bitsikas, V., Corrêa, I. R., & Nichols, B. J. (2014). Clathrin-independent pathways do not contribute significantly to endocytic flux. *eLife*, *3*, e03970. <https://doi.org/10.7554/eLife.03970>

Boucrot, E., Ferreira, A. P. A., Almeida-Souza, L., Debard, S., Vallis, Y., Howard, G., Bertot, L., Sauvonnet, N., & McMahon, H. T. (2015). Endophilin marks and controls a clathrin-independent endocytic pathway. *Nature*, *517*(7535), 460–465. <https://doi.org/10.1038/nature14067>

Boulant, S., Stanifer, M., & Lozach, P.-Y. (2015). Dynamics of Virus-Receptor Interactions in Virus Binding, Signaling, and Endocytosis. *Viruses*, *7*(6), 2794–2815. <https://doi.org/10.3390/v7062747>

Casamento, A., & Boucrot, E. (2020). Molecular mechanism of Fast Endophilin-Mediated Endocytosis. *Biochemical Journal*, *477*(12), 2327–2345. <https://doi.org/10.1042/BCJ20190342>

Duodecim. (2011). Influenssa. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim 2011, Ajankohtaista Lääkäriin käsikirjasta*, *127*(20), 2173–2175. Luettu 6.11.2025

Frick, M., Bright, N. A., Riento, K., Bray, A., Merrified, C., & Nichols, B. J. (2007). Coassembly of Flotillins Induces Formation of Membrane Microdomains, Membrane Curvature, and Vesicle Budding. *Current Biology*, *17*(13), 1151–1156. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.05.078>

- Goldmann, O., & Medina, E. (2025a). Revisiting Pathogen Exploitation of Clathrin-Independent Endocytosis: Mechanisms and Implications. *Cells*, 14(10), 731. <https://doi.org/10.3390/cells14100731>
- Goldmann, O., & Medina, E. (2025b). *Revisiting Pathogen Exploitation of Clathrin-Independent Endocytosis: Mechanisms and Implications*. Biology and Life Sciences. <https://doi.org/10.20944/preprints202504.0392.v1>
- Hillary, V. E., & Ceasar, S. A. (2023). An update on COVID-19: SARS-CoV-2 variants, antiviral drugs, and vaccines. *Heliyon*, 9(3), e13952. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13952>
- Hovi, T. (2020). Koronavirus SARS-CoV-2—Yllätyksellinen vuoden tulokas. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 2020, 136(24), 2759–2764.
- Höning, S., Ricotta, D., Krauss, M., Späte, K., Spolaore, B., Motley, A., Robinson, M., Robinson, C., Haucke, V., & Owen, D. J. (2005). Phosphatidylinositol-(4,5)-Bisphosphate Regulates Sorting Signal Recognition by the Clathrin-Associated Adaptor Complex AP2. *Molecular Cell*, 18(5), 519–531. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.04.019>
- Kaksonen, M., & Roux, A. (2018). Mechanisms of clathrin-mediated endocytosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(5), 313–326. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.132>
- Kalia, M., Kumari, S., Chadda, R., Hill, M. M., Parton, R. G., & Mayor, S. (2006). Arf6-independent GPI-anchored Protein-enriched Early Endosomal Compartments Fuse with Sorting Endosomes via a Rab5/Phosphatidylinositol-3'-Kinase-dependent Machinery. *Molecular Biology of the Cell*, 17(8), 3689–3704. <https://doi.org/10.1091/mbc.e05-10-0980>
- Kirchhausen, T., & Harrison, S. C. (1984). Structural domains of clathrin heavy chains. *The Journal of Cell Biology*, 99(5), 1725–1734. <https://doi.org/10.1083/jcb.99.5.1725>
- Kivelä, P. (2025, syyskuuta 9). *HIV-infektio ja AIDS*. Duodecim Terveyskirjasto. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk01190> Luettu 28.11.2025
- Lakadamyali, M., Rust, M. J., & Zhuang, X. (2006). Ligands for Clathrin-Mediated Endocytosis Are Differentially Sorted into Distinct Populations of Early Endosomes. *Cell*, 124(5), 997–1009. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.12.038>

- Li, S., Sieben, C., Ludwig, K., Höfer, C. T., Chiantia, S., Herrmann, A., Eghiaian, F., & Schaap, I. A. T. (2014). pH-Controlled Two-Step Uncoating of Influenza Virus. *Biophysical Journal*, *106*(7), 1447–1456. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.02.018>
- Li, W., Moore, M. J., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M. A., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., Greenough, T. C., Choe, H., & Farzan, M. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, *426*(6965), 450–454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>
- Marjomäki, V., Huhtala, M., Karjalainen, M., Hyypiä, T., & Heino, J. (2008). Functions of Integrin $\alpha 2\beta 1$, A Collagen Receptor, in the Internalization of Echovirus 1. Teoksessa R. H. Cheng & T. Miyamura, *Structure-Based Study of Viral Replication* (s. 63–75). WORLD SCIENTIFIC. https://doi.org/10.1142/9789812790859_0003
- Mercer, J., Schelhaas, M., & Helenius, A. (2010). Virus Entry by Endocytosis. *Annual Review of Biochemistry*, *79*(1), 803–833. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060208-104626>
- Mettlen, M., Chen, P.-H., Srinivasan, S., Danuser, G., & Schmid, S. L. (2018). Regulation of Clathrin-Mediated Endocytosis. *Annual Review of Biochemistry*, *87*(1), 871–896. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012644>
- Murakami, T., Cardoso, R. D. S., Manivannan, P., Chang, Y.-T., Rentchler, E., Chou, K.-N., Tang, Y., Swanson, J. A., King, P. D., & Ono, A. (2025). Macropinosomes are a site of HIV-1 entry into primary CD4⁺ T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *122*(23), e2417676122. <https://doi.org/10.1073/pnas.2417676122>
- Murphrey, M. B., Quaim, L., Rahimi, N., & Varacallo, M. A. (2025). Biochemistry, Epidermal Growth Factor Receptor. Teoksessa *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482459/>
- Naslavsky, N., Weigert, R., & Donaldson, J. G. (2004). Characterization of a nonclathrin endocytic pathway: Membrane cargo and lipid requirements. *Molecular Biology of the Cell*, *15*(8), 3542–3552. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-02-0151>
- Ni, Z., Wang, Jinliang, Yu, X., Wang, Y., Wang, Jingfei, He, X., Li, C., Deng, G., Shi, J., Kong, H., Jiang, Y., Chen, P., Zeng, X., Tian, G., Chen, H., & Bu, Z. (2024). Influenza virus uses

mGluR2 as an endocytic receptor to enter cells. *Nature Microbiology*, 9(7), 1764–1777. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01713-x>

Parton, R. G., Tillu, V., McMahon, K.-A., & Collins, B. M. (2021). Key phases in the formation of caveolae. *Current Opinion in Cell Biology, Membrane Trafficking*, 71, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2021.01.009>

Pathak, C., Vaidya, F. U., Waghela, B. N., Jaiswara, P. K., Gupta, V. K., Kumar, A., Rajendran, B. K., & Ranjan, K. (2023). Insights of Endocytosis Signaling in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2971. <https://doi.org/10.3390/ijms24032971>

Pietiäinen, V., Marjomäki, V., Upla, P., Pelkmans, L., Helenius, A., & Hyypiä, T. (2004). Echovirus 1 Endocytosis into Caveosomes Requires Lipid Rafts, Dynamin II, and Signaling Events. *Molecular Biology of the Cell*, 15(11), 4911–4925. <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-01-0070>

Riento, K., Frick, M., Schafer, I., & Nichols, B. J. (2009). Endocytosis of flotillin-1 and flotillin-2 is regulated by Fyn kinase. *Journal of Cell Science*, 122(7), 912–918. <https://doi.org/10.1242/jcs.039024>

Rossi, E., Meuser, M. E., Cunanan, C. J., & Cocklin, S. (2021). Structure, Function, and Interactions of the HIV-1 Capsid Protein. *Life*, 11(2), 100. <https://doi.org/10.3390/life11020100>

Roth, T. F., & Porter, K. R. (1964). YOLK PROTEIN UPTAKE IN THE OOCYTE OF THE MOSQUITO *AEDES AEGYPTI*. L. *The Journal of Cell Biology*, 20(2), 313–332. <https://doi.org/10.1083/jcb.20.2.313>

Royle, S. J., Bright, N. A., & Lagnado, L. (2005). Clathrin is required for the function of the mitotic spindle. *Nature*, 434(7037), 1152–1157. <https://doi.org/10.1038/nature03502>

Rust, M. J., Lakadamyali, M., Zhang, F., & Zhuang, X. (2004). Assembly of endocytic machinery around individual influenza viruses during viral entry. *Nature Structural & Molecular Biology*, 11(6), 567–573. <https://doi.org/10.1038/nsmb769>

Salminen, M., & Leinikki, P. (1996). HI-viruksen evoluutio. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 1996, 112(2), 130-.

Sathe, M., Muthukrishnan, G., Rae, J., Disanza, A., Thattai, M., Scita, G., Parton, R. G., & Mayor, S. (2018). Small GTPases and BAR domain proteins regulate branched actin polymerisation for clathrin and dynamin-independent endocytosis. *Nature Communications*, 9(1), 1835. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03955-w>

Shi, R., Hou, L., Wei, L., & Liu, J. (2021). Involvement of adaptor proteins in clathrin-mediated endocytosis of virus entry. *Microbial Pathogenesis*, 161, 105278. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105278>

Tang, T., Bidon, M., Jaimes, J. A., Whittaker, G. R., & Daniel, S. (2020). Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development. *Antiviral Research*, 178, 104792. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104792>

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [THL]. (2023, joulukuuta 7). *Enterovirus*. THL. <https://thl.fi/aiheet/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/enterovirus> Luettu 27.11.2025

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos [THL]. (2025, maaliskuuta 25). *Koronavirus SARS-CoV-2*. <https://thl.fi/aiheet/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/koronavirus-sars-cov-2> Luettu 1.11.2025

Tito, C., Masciarelli, S., Colotti, G., & Fazi, F. (2025). EGF receptor in organ development, tissue homeostasis and regeneration. *Journal of Biomedical Science*, 32(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12929-025-01119-9>

Ungewickell, E. (1983). Biochemical and immunological studies on clathrin light chains and their binding sites on clathrin triskelions. *The EMBO Journal*, 2(8), 1401–1408. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1983.tb01598.x>