

ВИРУСЫ

Вирусы - м е л ь ч а й ш и е микробы, не имеющие клеточного строения, белоксинтезирующей системы, содержащие только ДНК или РНК. Относятся к царству **Vira**.

Являясь **облигатными внутриклеточными паразитами**, вирусы размножаются в цитоплазме или ядре клетки. Они - автономные генетические структуры. Отличаются особым - разобщенным (дисъюнктивным) способом размножения (репродукции): в клетке отдельно синтезируются нуклеиновые кислоты вирусов и их белки, затем происходит их сборка в вирусные частицы. **Сформированная вирусная частица называется вирионом.**

Классификация вирусов.

Классификация включает 4 иерархических уровня: порядок, семейство (иногда и подсемейство), род и вид.

На сегодняшний день принято 3 порядка, 64 семейства, 9 подсемейств, 233 рода и более 1559 видов.

Порядок, семейство, подсемейство, род обозначаются с окончаниями – virales, -viridae, -virinae, -virus , соответственно, пишутся с большой буквы. В основу классификации положены такие основные критерии, как:

- 1. Тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК), ее структура (количество нитей)**
- 2. Наличие липопротеиновой оболочки**
- 3. Стратегия вирусного генома**
- 4. Размер и морфология вириона, тип симметрии, число капсомеров**
- 5. Феномены генетических взаимодействий**
- 6. Круг восприимчивых хозяев**
- 7. Патогенность, в том числе патологические изменения в клетках и образование внутриклеточных включений**
- 8. Географическое распространений**
- 9. Антигенные свойства**

Морфология вирусов

- Морфологию вирусов изучают с помощью электронной микроскопии, так как их размеры малы (18-400 нм) и сравнимы с толщиной оболочки бактерий.
- Форма вирионов может быть различной: палочковидной (вирус табачной мозаики), пулевидной (вирус бешенства), сферической (вирусы полиомиелита, ВИЧ), нитевидной (филовirusы), в виде сперматозоида (многие бактериофаги).

СТРОЕНИЕ ВИРУСОВ

- **Простые вирусы** состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки, называемой **капсидом** (от лат. capsula - футляр).

Капсид состоит из повторяющихся морфологических субъединиц - **капсомеров**. Нуклеиновая кислота и капсид взаимодействуют друг с другом, образуя **нуклеокапсид**.

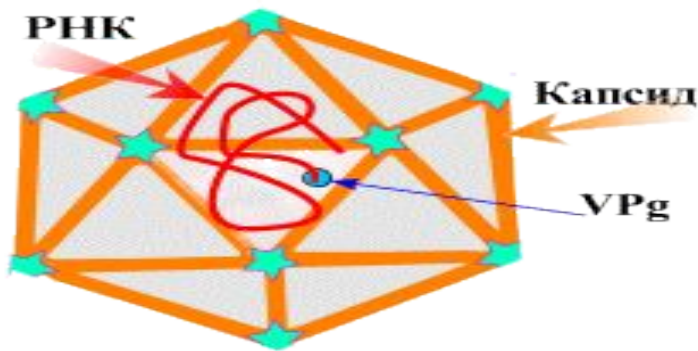
- **Сложные вирусы** снаружи окружены **липопротеиновой оболочкой** (суперкапсидом, или пеплосом). На оболочке вируса расположены **гликопротеиновые "шипы"**, или **"шипики"** (пепломеры). Под оболочкой некоторых вирусов находится матриксный **М-белок**.

СТРОЕНИЕ ВИРУСОВ

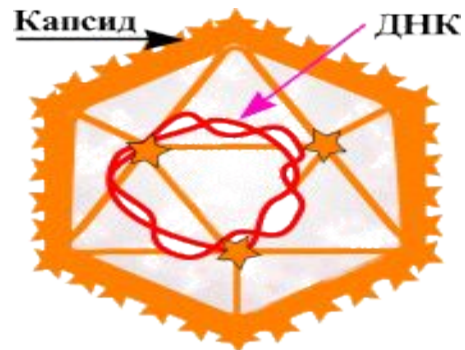
- **Капсид** или **нуклеокапсид** могут иметь спиральный, икосаэдрический (кубический) или сложный тип симметрии.
- **Икосаэдрический** тип симметрии обусловлен образованием изометрически полого тела из капсида, содержащего вирусную нуклеиновую кислоту (например, у вирусов гепатита А, герпеса, полиомиелита).
- **Спиральный** тип симметрии обусловлен винтообразной структурой нуклеокапсида (например, у вируса гриппа).

Просто устроенные вирусы (без оболочки)

- Пример просто устроенных вирусов - вирус гепатита А и паповавирус с икосаэдрическим типом симметрии. Нуклеиновая кислота вирусов связана с белковой оболочкой-**капсидом**, состоящим из капсомеров
- Схема строения вируса гепатита А (вирус имеет однонитевую +РНК)



- Схема строения паповавируса (вирус имеет двунитевую кольцевую ДНК)



Сложно устроенные вирусы (с оболочкой)

- У сложно устроенных вирусов (например, у вирусов герпеса, гриппа, флавивирусов) снаружи капсида имеется липопротеиновая оболочка (суперкапсид, или пеплос). Эта оболочка является производной структурой от мембран вирус-инфицированной клетки. От оболочки отходят **гликопротеиновые "шипы"**, например, гемагглютинины, участвующие в реакциях гемагглютинации и гемадсорбции.

Схема строения вируса гриппа
(вирус с однонитевой из 8 фрагментов минус РНК)

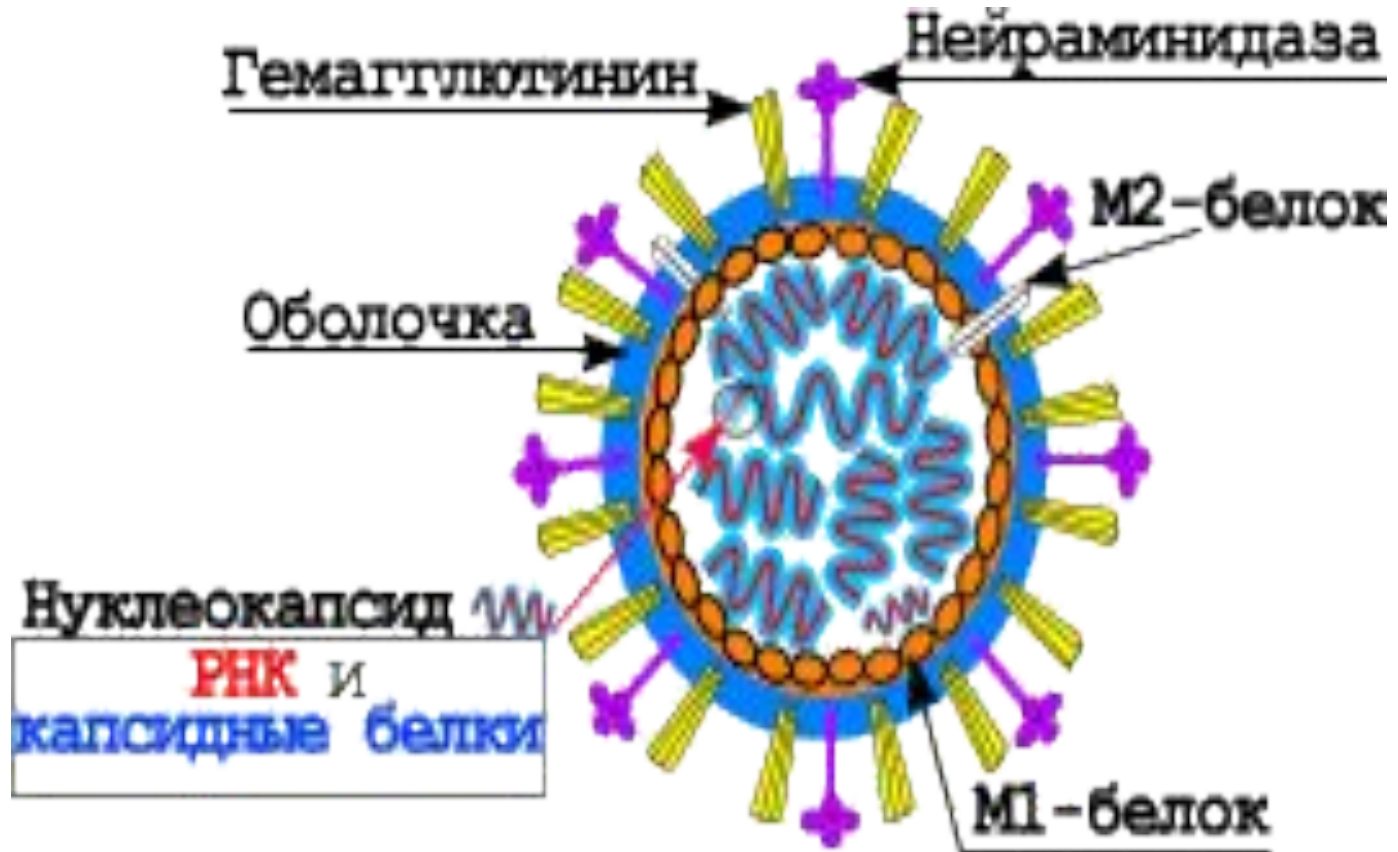


Схема строения вируса герпеса (вирус с линейной двухнитевой ДНК)



Репродукция вирусов

- Различают три типа взаимодействия вируса с клеткой:
 1. **продуктивный тип**, при котором образуются новые вирионы, по разному выходящие из клетки: при ее лизисе, т.е. “взрывным” механизмом (безоболочечные вирусы); путем “почкования” через мембраны клетки (оболочечные вирусы), в результате экзоцитоза.
 2. **абортивный тип**, характеризующийся прерыванием инфекционного процесса в клетке, поэтому новые вирионы не образуются;
 3. **интегративный тип**, или вирогения, заключающийся в интеграции, т.е. встраивании вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместном сосуществовании (совместная репликация).

Репродукция вирусов

Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой - репродукция вируса проходит несколько стадий:

- 1) адсорбция вирионов на клетке;
- 2) проникновение вируса в клетку;
- 3) “раздевание” и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса);
- 4) синтез вирусных компонентов;
- 5) формирование вирусов;
- 6) выход вирионов из клетки.

Репродукция вирусов

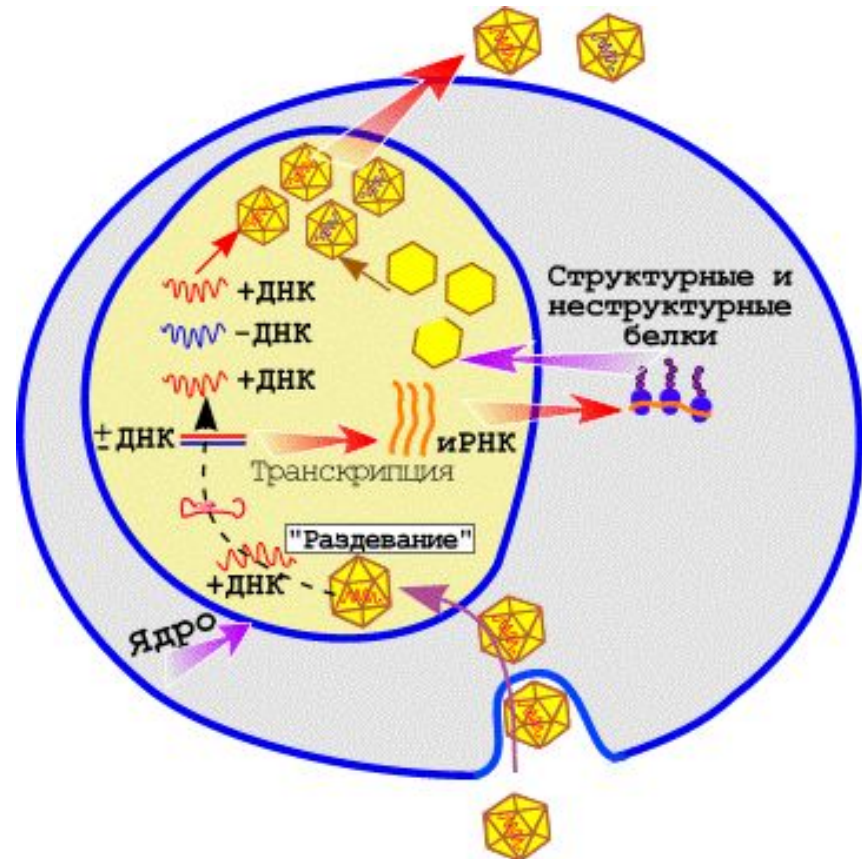
- **Механизм репродукции** отличается у вирусов, имеющих: 1) двунитевую ДНК; 2) однонитевую ДНК; 3) плюс однонитевую РНК; 4) минус однонитевую РНК; 5) двунитевую РНК; 6) идентичные плюс нитевые РНК (ретровирусы).
- **Двунитевые ДНК-вирусы** – вирусы, содержащие двунитевую ДНК в линейной (например, герпесвирусы, аденовирусы и поксвирусы) или в кольцевой форме (как паповавирусы). Репликация двунитевых вирусных ДНК проходит обычным полуконсервативным механизмом: после расплетения нитей ДНК к ним комплементарно достраиваются новые нити. У всех вирусов, кроме поксвирусов транскрипция вирусного генома происходит в ядре.

Репродукция вирусов

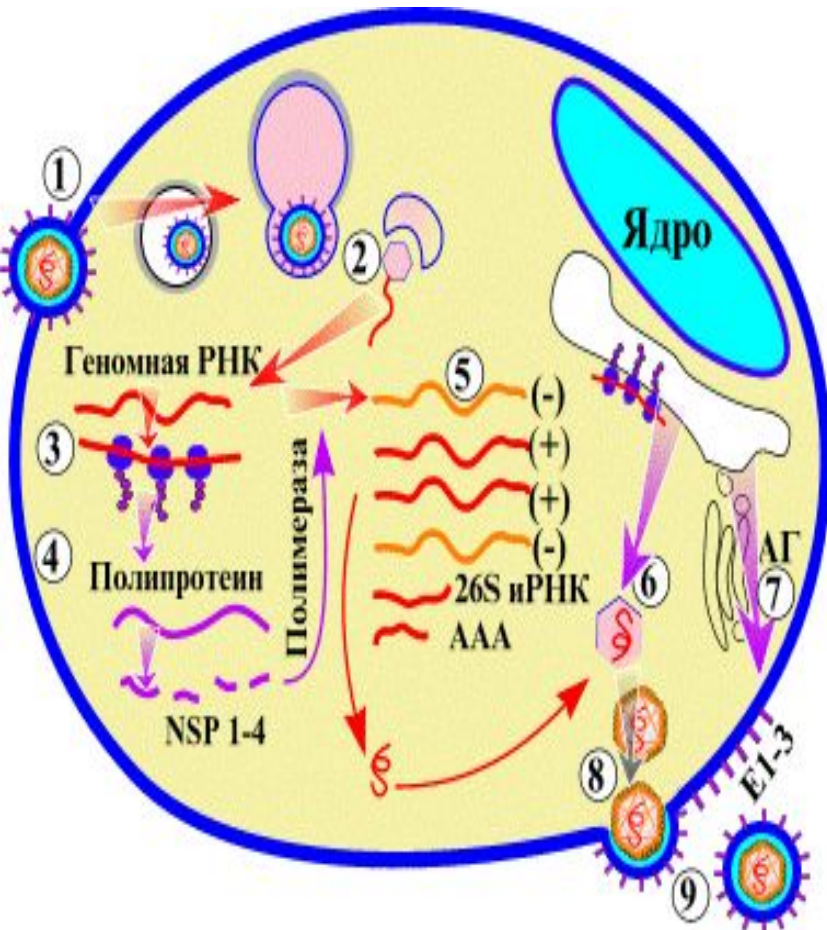
- **Плюс однонитевые РНК-вирусы.** Эти вирусы включают большую группу вирусов (пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы), у которых геномная плюс-нить РНК выполняет функцию иРНК.
- **Минус однонитевые РНК-вирусы** (рабдовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы) имеют в своем составе РНК-зависимую РНК-полимеразу. Проникшая в клетку геномная минус нить РНК трансформируется вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой в неполные и полные плюс нити РНК. Неполные копии выполняют роль иРНК для синтеза вирусных белков. Полные копии являются матрицей (промежуточная стадия) для синтеза минус-нитей геномной РНК потомства.

Однонитевые ДНК-вирусы. Единственными представителями однонитевых ДНК-вирусов являются парвовирусы

Поглощенный вирус поставляет геном в ядро клетки. Парвовирусы используют клеточные ДНК-полимеразы для создания двунитевого вирусного генома, так называемой репликативной формы последнего. При этом на исходной вирусной ДНК (плюс нить) комплементарно синтезируется минус нить ДНК, служащая матрицей в синтезе плюс нити ДНК для новых поколений вирусов. Параллельно синтезируется иРНК, происходит трансляция вирусных белков, которые возвращаются в ядро, где собираются вирионы.

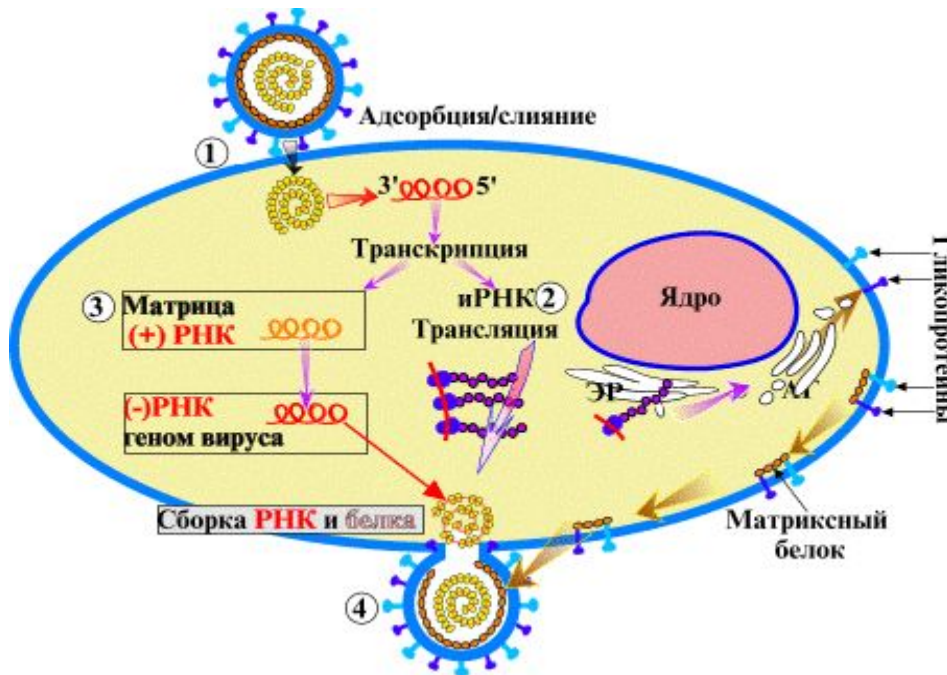


Плюс однонитевые РНК-вирусы. Эти вирусы включают большую группу вирусов (пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы), у которых геномная плюс-нить РНК выполняет функцию иРНК.



Вирус (1), после эндоцитоза, освобождает в цитоплазме (2) геномную плюс РНК, которая как иРНК, связывается с рибосомами (3): транслируется полипротеин (4), который расщепляется на 4 структурных белка (NSP 1-4), включая РНК-зависимую РНК-полимеразу. Эта полимеразу транскрибирует геномную плюс РНК в минус нить РНК (матрицу), на которой (5) синтезируются копии РНК двух размеров: полная плюс нить геномной РНК; неполная нить иРНК, кодирующая С-белок капсида (6) и гликопротеины оболочки Е1-3. Гликопротеины синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума, затем включаются в мембрану и гликозилируются. Дополнительно гликозилируясь в аппарате Гольджи (7), они встраиваются в плазмалемму. С-белок образует с геномной РНК нуклеокапсид, который взаимодействует с модифицированной плазмалеммой (8). Вирусы выходят из клетки почкованием (9).

Минус однонитевые РНК–вирусы (рабдовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы) имеют в своем составе РНК-зависимую РНК-полимеразу.
Схема репродукции парамиксовирусов

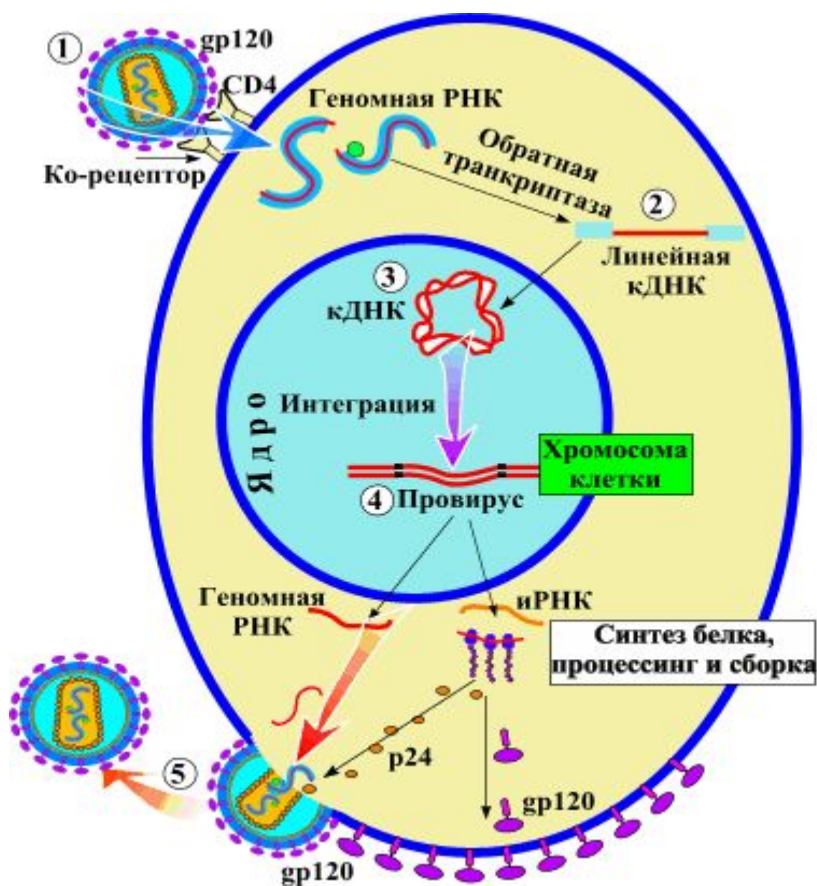


Вирус связывается гликопротеинами оболочки с поверхностью клетки и сливается с плазмалеммой (1). С геномной минус нити РНК вируса транскрибируются неполные плюс нити РНК, являющиеся иРНК (2) для отдельных белков и полная минус нить РНК – матрица для синтеза геномной минус РНК вируса (3). Нуклеокапсид связывается с матричным белком и гликопротеин-модифицированной плазмалеммой. Выход вирионов – почкованием (4).

Ретровирусы (плюс-нитевые диплоидные РНК-вирусы).

Схема репродукции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ)

ВИЧ связывается гликопротеином gp120 (1) с рецептором CD4 Т-хелперов и других клеток. После слияния оболочки ВИЧ с плазмалеммой клетки в цитоплазме освобождается геномная РНК и обратная транскриптаза вируса, которая на матрице геномной РНК синтезирует комплементарную минус нить ДНК (линейная кДНК). С последней копируется плюс нить с образованием двойной нити кольцевой кДНК (3), которая интегрирует с хромосомной ДНК клетки. С рекомбинантной ДНК-провируса (4) синтезируются геномная РНК и иРНК, которые обеспечивают синтез компонентов и сборку вирионов. Вирионы выходят из клетки почкованием (5): сердцевина вируса “одевается” в модифицированную плазмалемму клетки.



Культивирование и индикация вирусов

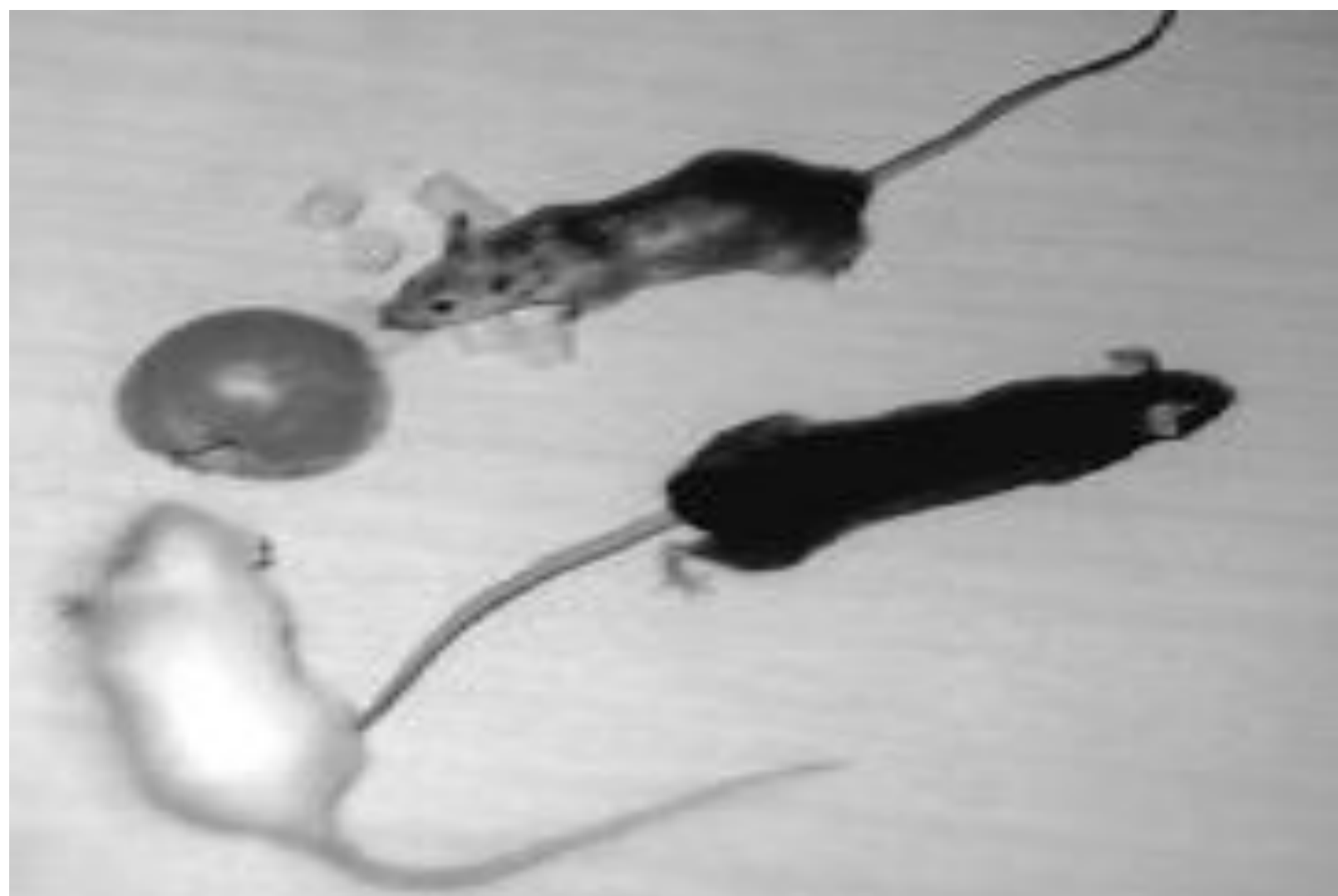
- Вирусы **культивируют** в организме лабораторных животных, в развивающихся куриных эмбрионах и культурах клеток (тканей).
- **Индикацию** вирусов проводят на основе следующих феноменов: цитопатогенного действия (ЦПД) вирусов, образования внутриклеточных включений, образования “бляшек”, реакции гемагглютинации, гемадсорбции или “цветной” реакции



**Основоположник
вирусологии**

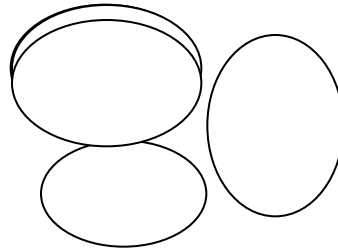
**профессор
Д.И. Ивановский
(1864 - 1920)**





Куриные эмбрионы.

В середине 30-х годов австралийский вирусолог Ф. Вернет «открыл» новое для вирусологии экспериментальное животное — куриные эмбрионы.





**Академик АМН СССР
А.А. Смородинцев
(1901-1986)**



Академик АМН СССР

М.П. Чумаков

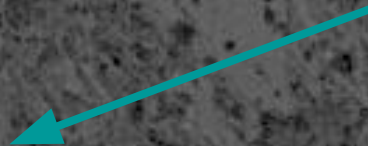
(1909-1993)

Не инфицированы

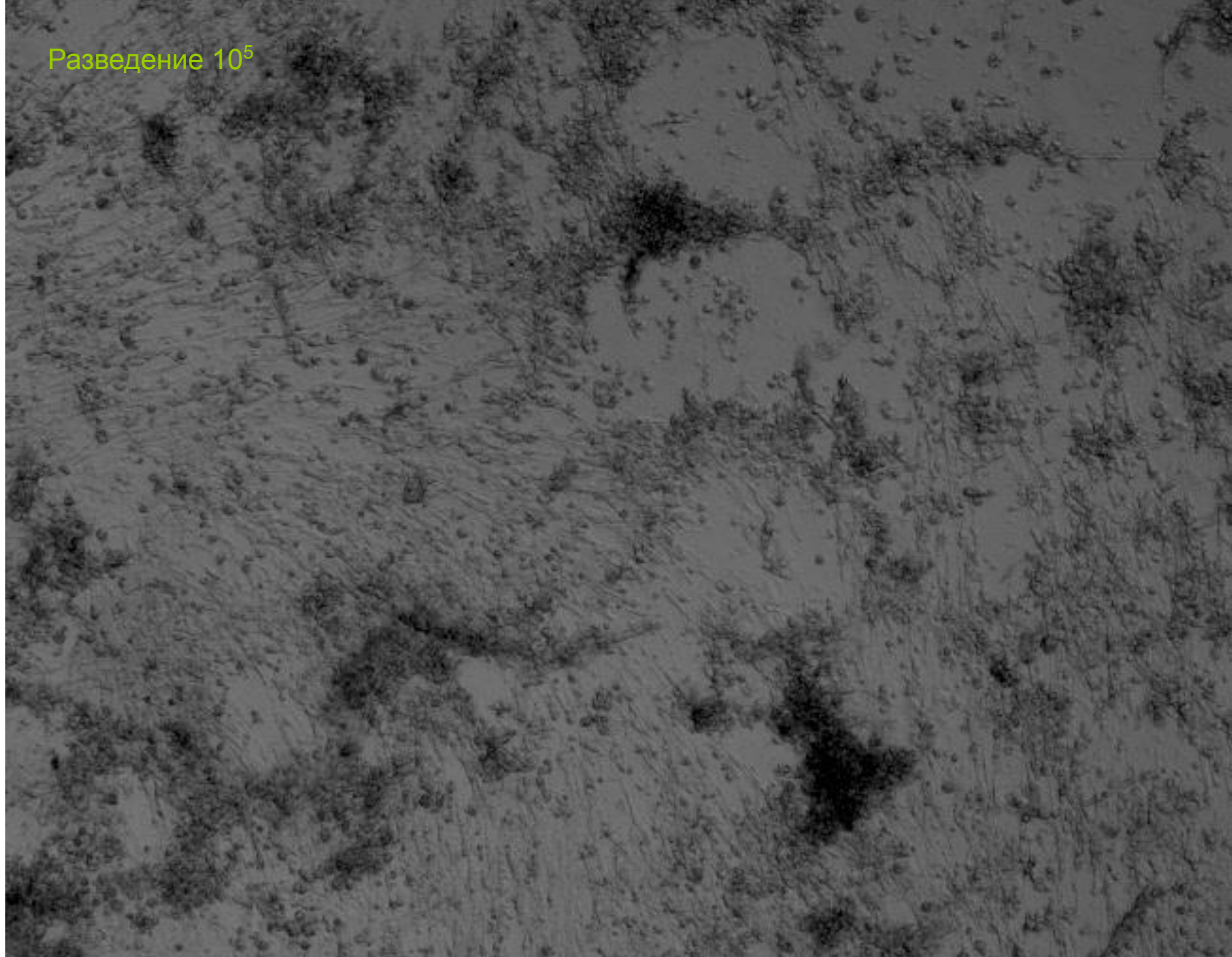
ЛИНИЯ КЛЕТОК ПОЧКИ СИРИЙСКОГО ХОМЯЧКА – ВНК-21

Разведение 10^6

Typical CPE



Разведение 10^5



Разведение 10^4

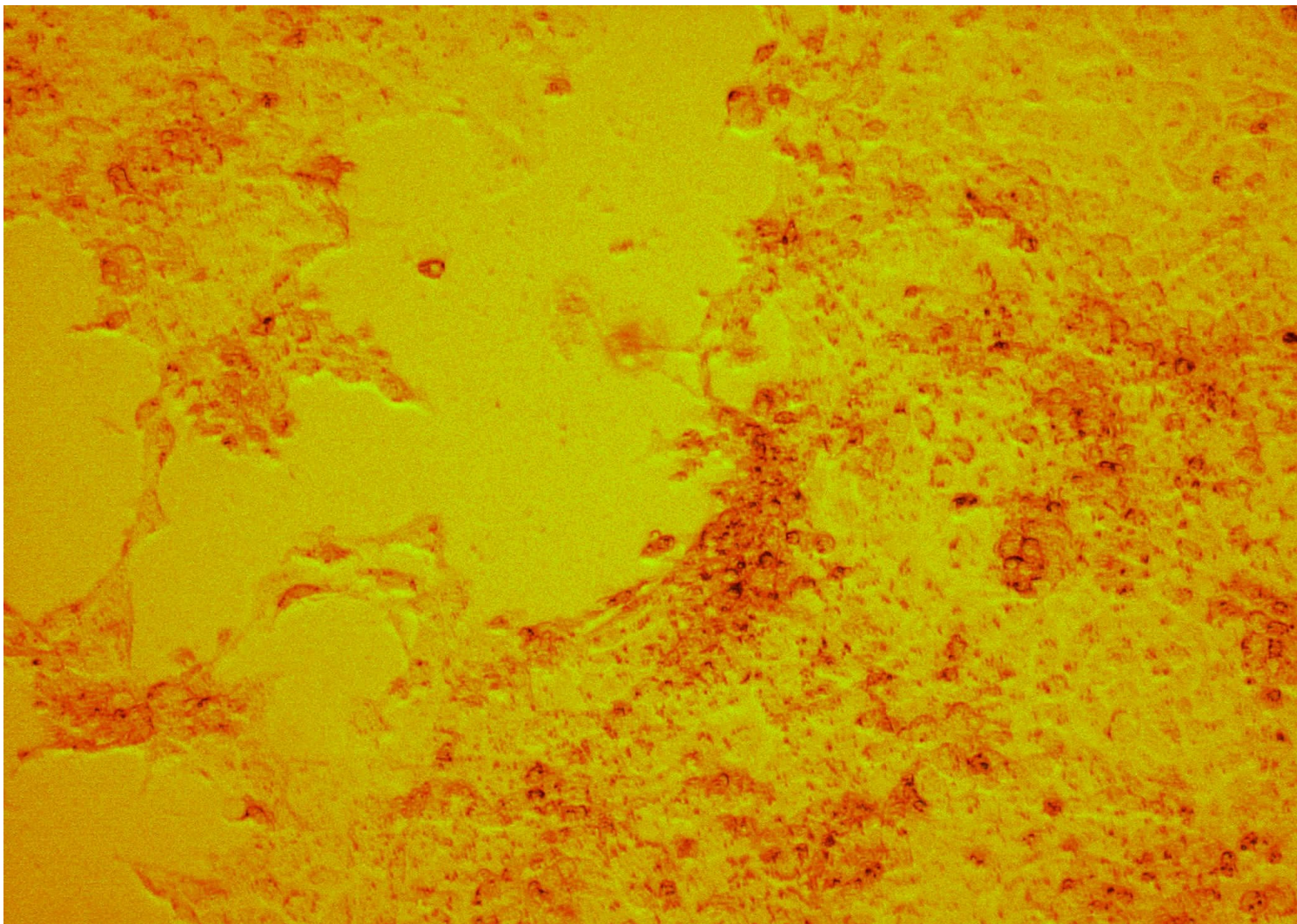
4

In concentration higher than 10^4 , all cells were detached from the plate

ПЕРЕВИВАЕМАЯ ЛИНИЯ КЛЕТОК ПОЧКИ ЭМБРИОНА ТЕЛЯТ

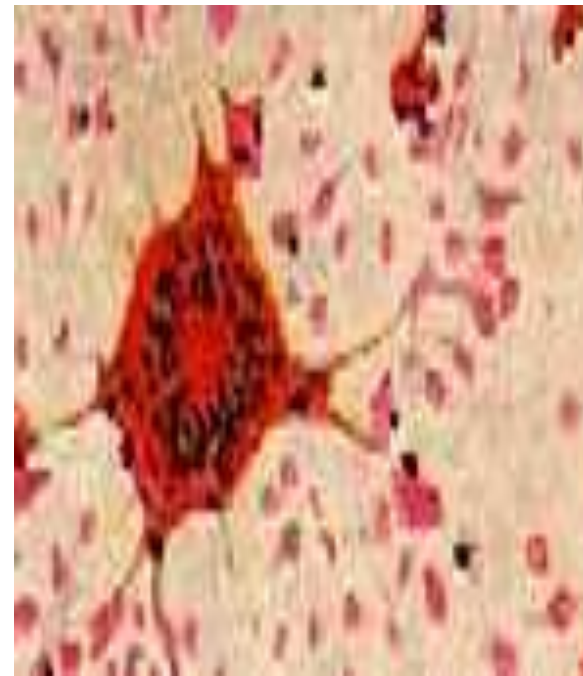


MDBK клеточные культуры на 7-й день после заражения



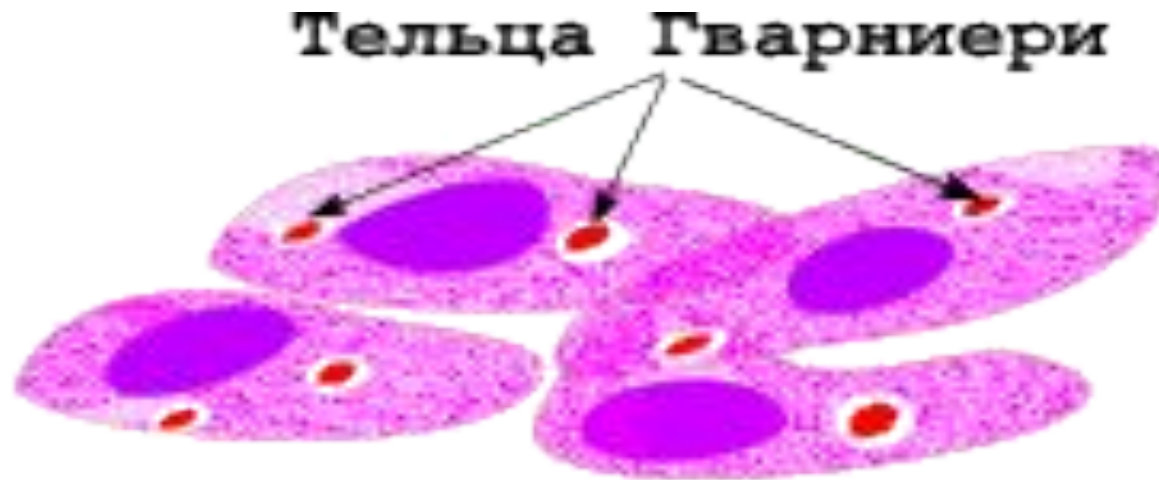
ЦПД - видимые под микроскопом морфологические изменения клеток (вплоть до их отторжения от стекла), возникающие в результате внутриклеточной репродукции вирусов

- **Культура клеток**



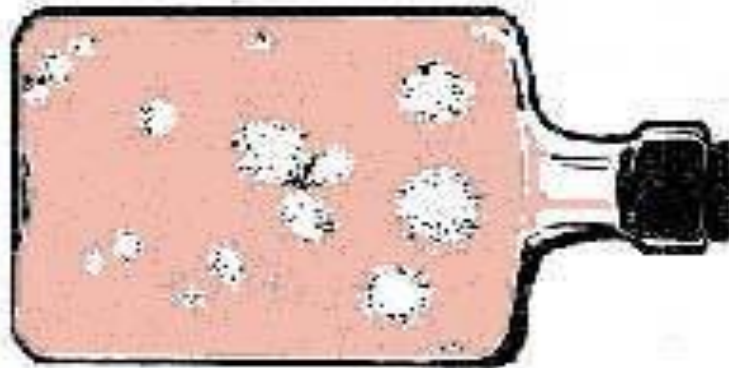
ЦПД вируса

Включения — скопление вирионов или отдельных их компонентов в цитоплазме или ядре клеток, выявляемые под микроскопом при специальном окрашивании. Вирус натуральной оспы образует цитоплазматические включения - тельца Гварниери; вирусы герпеса и аденовирусы - внутриядерные включения



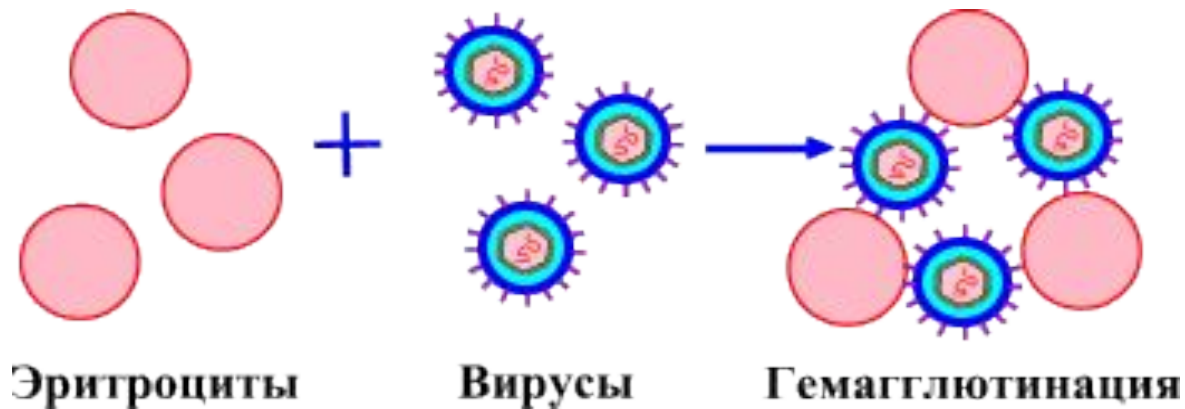
Бляшки, или **“негативные” колонии** — ограниченные участки разрушенных вирусами клеток, культивируемых на питательной среде под агаровым покрытием, видимые как светлые пятна на фоне окрашенных живых клеток. Один вирион образует потомство в виде одной бляшки. “Негативные” колонии разных вирусов отличаются по размеру, форме, поэтому метод бляшек используют для дифференциации вирусов, а также для определения их концентрации.

- Образование бляшек



РГА(реакция гемагглютинации) основана на способности некоторых вирусов вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов за счет вирусных гликопротеиновых шипов – гемагглютининов.

РГА



Реакция гемадсорбции — способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты.

