

Морфо - структурная организация и физиология вирусов, особенности их репродукции, методы культивирования и индикации.

д.м.н., проф. Шаркова В.

А.

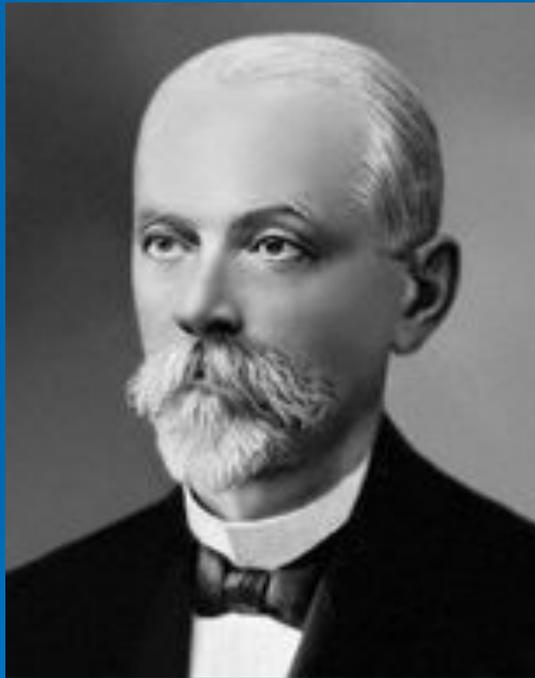


Ивановский Дмитрий Иосифович
(28.10 (09.11).1864, с. Низы, ныне
Ленинградской области - 20.04.1920,
Ростов-на-Дону) - русский физиолог
растений и микробиолог,
основоположник вирусологии

Открыл (1892 г.) новый тип
патогенов, названных позднее
вирусами (М. Бейеринк, 1899 г.)



Рождение вирусологии: научное описание инфекционных заболеваний растений, животных и человека



Д.И. Ивановский

1892

растения:

вирус табачной мозаики

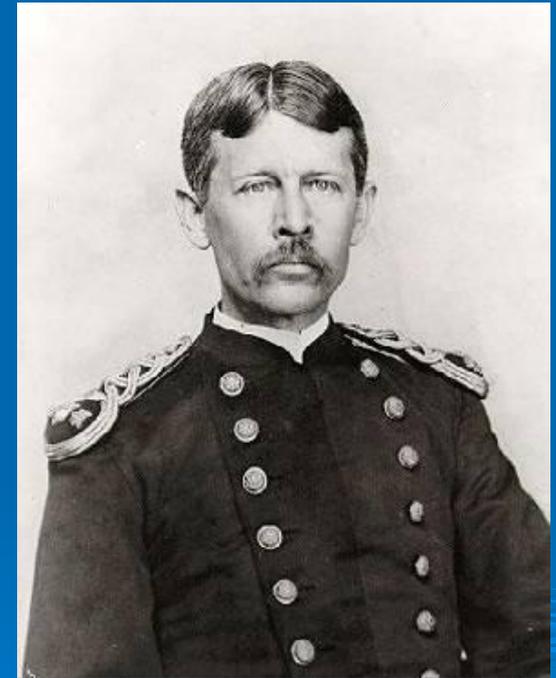


Ф. Лёффлер

1897

животные:

вирус ящура



В. Рид

1901

люди:

вирус жёлтой лихорадки



Академик АМН СССР

Л.А. Зильбер

(1894-1966)



Три концепции происхождения вирусов:

1. вирусы – потомки бактерий или других одноклеточных организмов, появившиеся в результате дегенеративной эволюции;
2. вирусы – потомки древних доклеточных форм жизни, перешедшие к паразитическому способу существования;
3. вирусы – дериваты клеточных генетических автономных структур, сохранивших зависимость от клеток

Вирусы (от лат. *virus* - яд)

– облигатные внутриклеточные паразиты, у которых имеется самостоятельный геном и отсутствует собственный обмен веществ, и поступление энергии происходит за счет обмена веществ клетки-хозяина

**Вирусы относятся к
неклеточным формам жизни,
являясь автономными
генетическими, способными к
эволюции, структурами**

The background features several sets of concentric circles in a lighter shade of blue, resembling ripples in water, positioned in the lower right and bottom center areas of the slide.

Вирусы существуют в двух формах:

- **ВИРИОН** – внеклеточная форма – включает в себя все составные (капсид, нуклеиновую кислоту, структурные белки)
- **ВИРУС** – внутриклеточная форма – представлен одной молекулой нуклеиновой кислоты

МКТВ выделяет следующие таксономические уровни при классификации вирусов:

- Царство (*Regnum*)
- Отдел (*Division*)
- Класс (*Classis*)
- Порядок, или отряд (*Order*)
- Семейство (*Family*)
- Род (*Genus*)
- Вид (*Specie*)

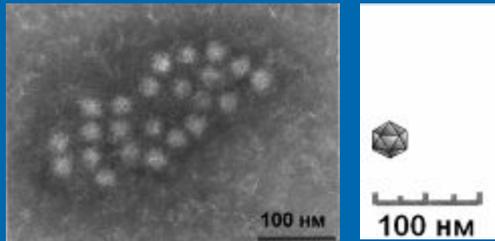
По морфологии выделяют вирусы:

- палочковидные (возбудитель лихорадки Эбола)
- пулевидные (вирус бешенства)
- сферические (герпесвирусы)
- овальные (вирус оспы)
- бактериофаги (имеют сложную

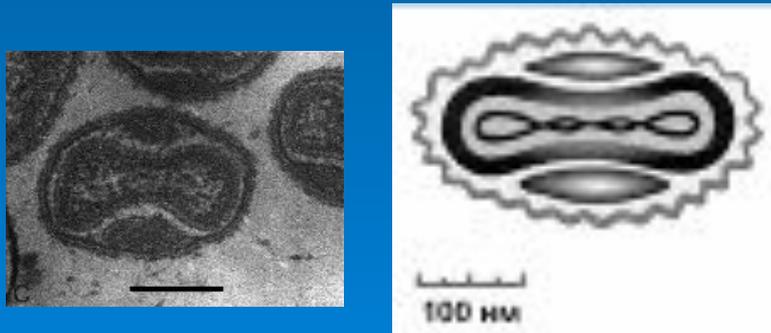
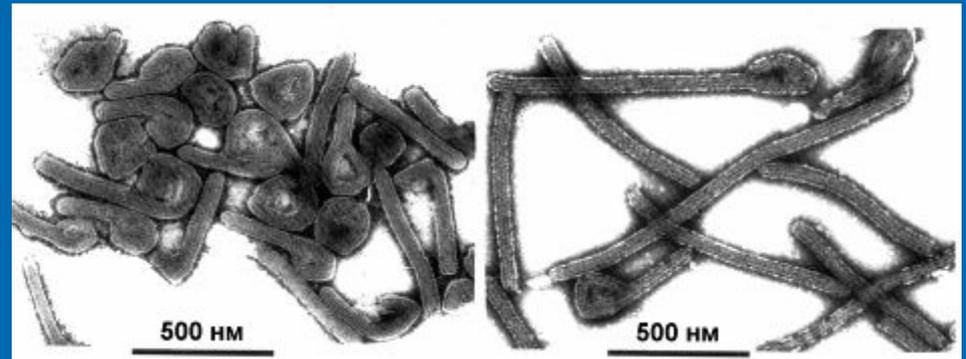


Параметры, используемые при классификации вирусов

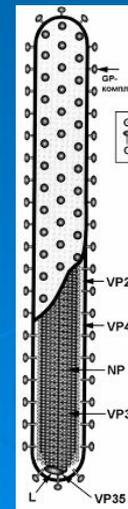
1.1-2. Размер и форма вириона:
Характерный размер вириона ~ 100 нм.



Anellovirus ~30 нм



Poxviridae ~ 200 × 400 нм



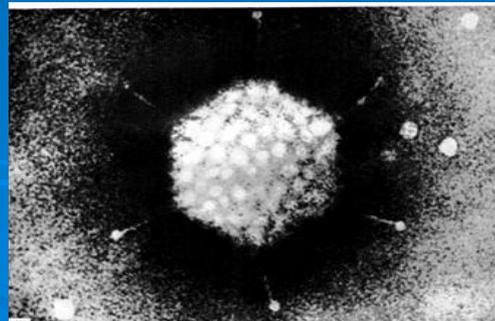
Filoviridae
~50 × 800 нм

1.4. Симметрия капсида и его структура:

Капсид (capsa - футляр) – белковая оболочка, закрывающая или упаковывающая вирусный геном

капсид образуют капсомеры, организованные в 1 или 2 слоя по двум типам симметрии:

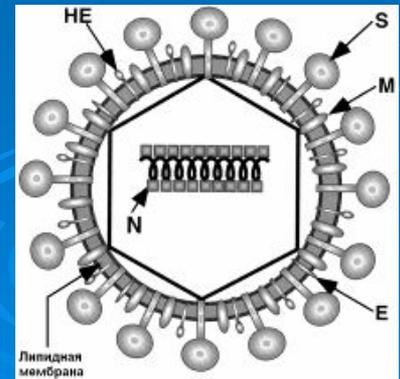
- кубический
- спиральный



Капсомер – морфологическая единица капсида, выявляемая с помощью электронной микроскопии (~ 0.14 нм).

Число капсомеров строго специфично для каждого вида и зависит от размеров и морфологии вирионов

Капсомеры образуют молекулы белка - протомеры



Нуклеокапсид – комплекс капсида и вирусного генома

Функции капсида

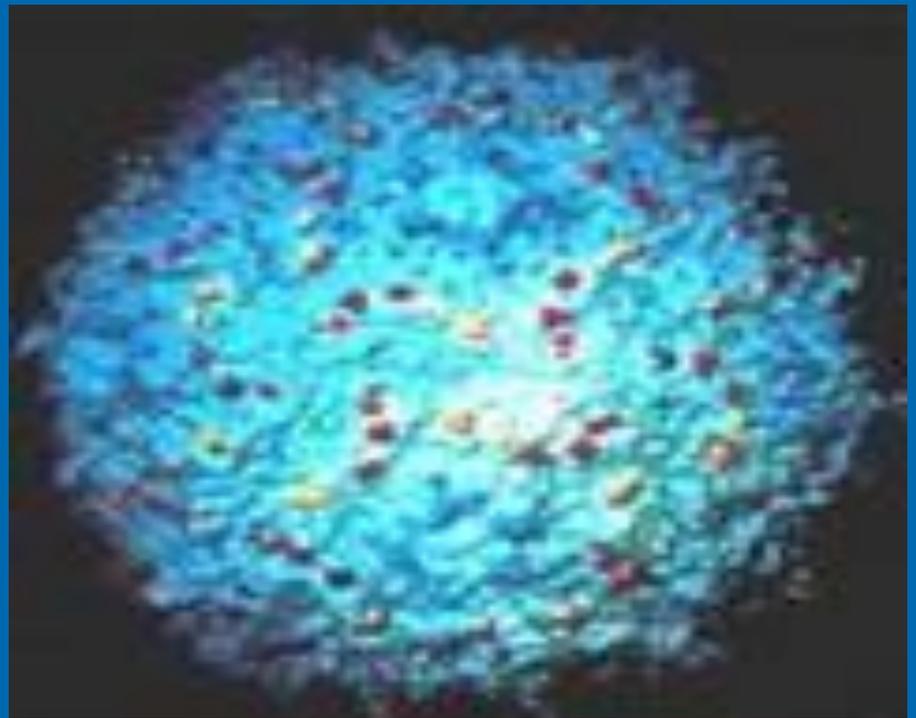
- защита вирусного генома
- адсорбция вириона к клетке
- проникновение в клетку путем взаимодействия с клеточными рецепторами

У сложноорганизованных вирусов капсид окружен дополнительной липопротеиновой оболочкой – суперкапсидом



Он представлен липидным бислоем и суперкапсидными белками (пепломерами) – «шипики»

Это «одетые вирусы»
(вирус гриппа)



Голые – вирусы, не
имеющие суперкапсид
(Папилломавирус – Human
papillomavirus (ДНК вирус,
0,045-0,055 мкм)

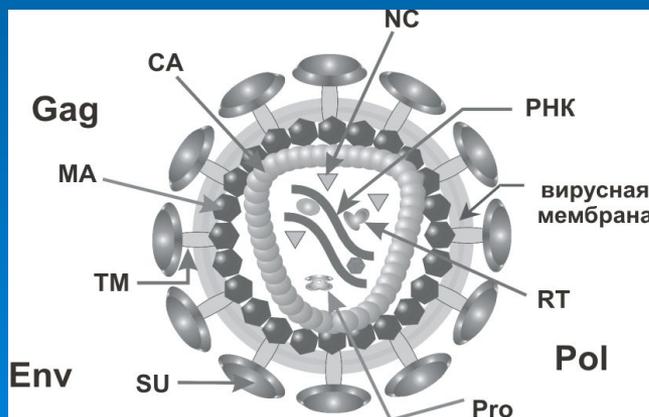
Параметры, используемые при классификации вирусов

1.4. Симметрия капсида и его структура:

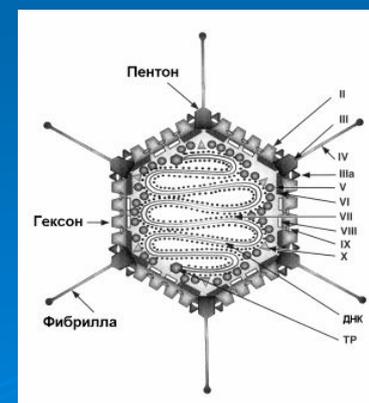
Вирусы

оболочечные

безоболочечные



Retroviridae



Adenoviridae

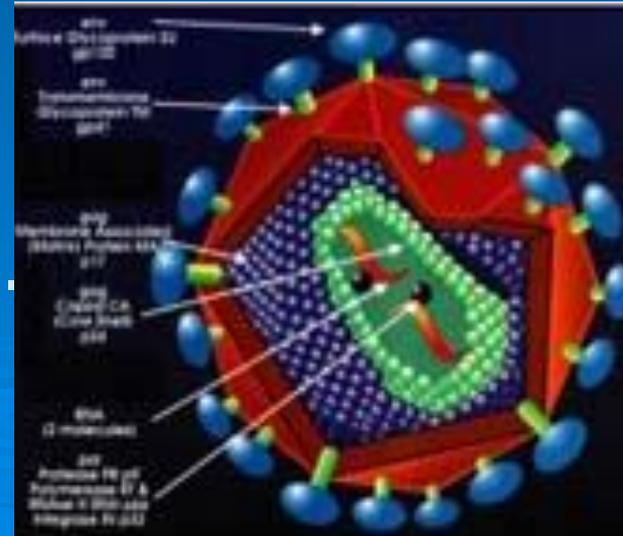
РНК вирусов представлены одно- или двунитевыми молекулами.

М. б. септированными (от 2х до 11 у ротавирусов), что ведет к увеличению кодирующей емкости генома.

Вирусные РНК подразделяются на:

+РНК

- РНК однонитевые и двойные нити (-РНК и +РНК).
- Линейные или кольцевые.



+РНК – позитивный геном – способны непосредственно транслировать генетическую информацию на рибосомах зараженной клетки, т.е. выполнять функцию мРНК.

-РНК – негативный геном – не способны транслировать генетическую информацию непосредственно на рибосомах, т.е. не могут функционировать как мРНК.

Такие РНК служат матрицей для образования иРНК, т.е. при репликации первоначально синтезируется матрица (+РНК) для синтеза -РНК

ДНК вирусов образуют линейную или кольцевую форму.

Транскрипция ДНК вирусов в матричную РНК (синтез мРНК) осуществляется в ядре зараженной клетки и регулируется ее ферментными системами



КЛАССИФИКАЦИЯ И МОРФОЛОГИЯ ВИРУСОВ

ВИРУСЫ С ОБОЛОЧКОЙ

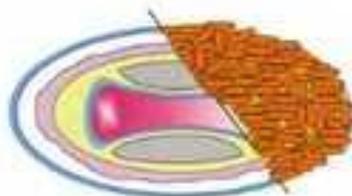
ДНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Herpesviridae



Hepadnaviridae



Poxviridae

РНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



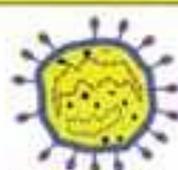
Coronaviridae



Paramyxoviridae



Bunyaviridae



Arenaviridae



Orthomyxoviridae



Retroviridae



Rhabdoviridae



Togaviridae



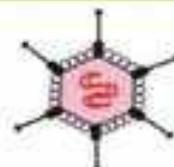
Flaviviridae



Filoviridae

ВИРУСЫ БЕЗ ОБОЛОЧКИ

ДНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Adenoviridae



Polyomaviridae
Papillomaviridae

ДНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Parvoviridae



Circinoviridae

РНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Reoviridae

РНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Picornaviridae



Caliciviridae

FireAiD - все по
медицине.

Рис. 4.6. Классификация и морфология вирусов

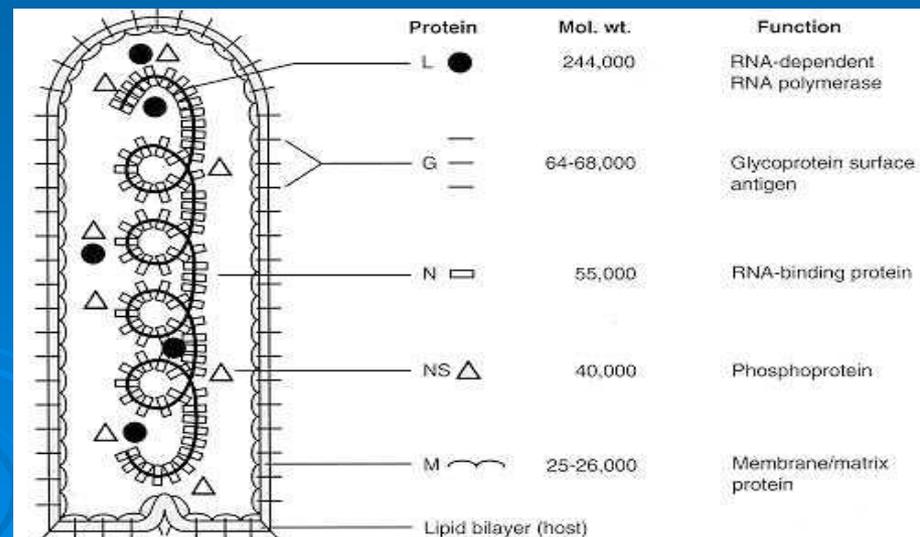
Белки вирусные

Структурные

- Образуют капсид
- компонент оболочки

Функциональные

Ферменты,
участвующие в
репродукции



Нет ферментов, участвующих в метаболических реакциях

ферменты

```
graph TD; A[ферменты] --> B[Репликации и транскрипции:  
ДНК- и РНК-полимеразы]; A --> C[Проникновения и выхода:  
нейроминидаза, лизоцим, АТФ-аза];
```

Репликации и
транскрипции:
ДНК- и
РНК-полимеразы

Проникновения и
выхода:
нейроминидаза,
лизоцим, АТФ-аза

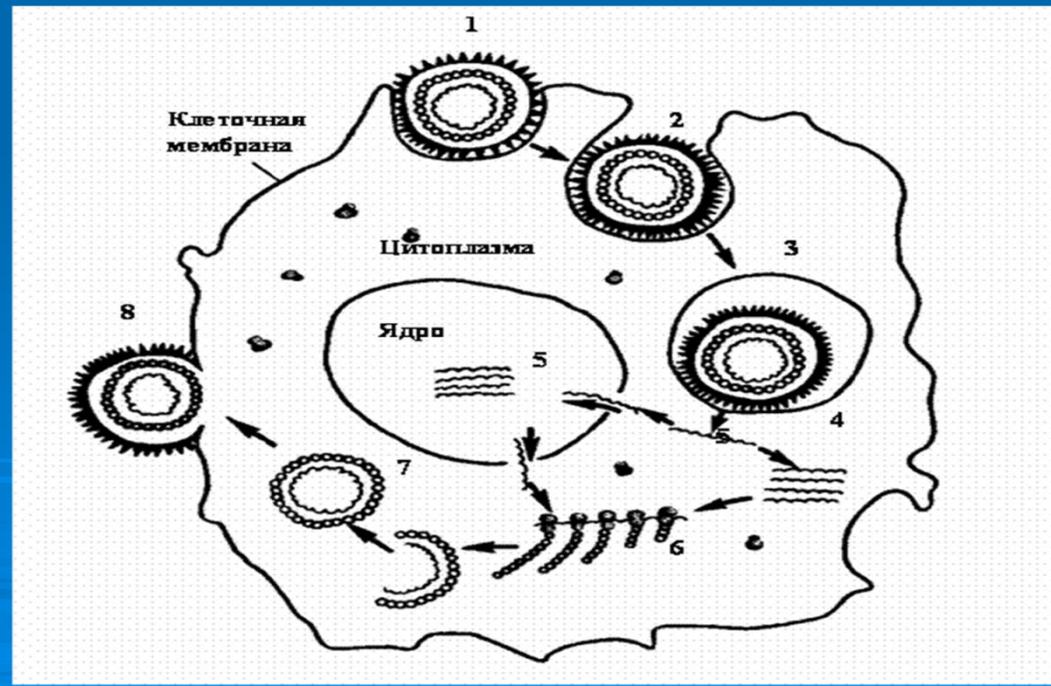
Процесс репродукции

происходит в разных частях клетки (ядре или цитоплазме) – дизъюнктивный (разобщенный) тип репродукции

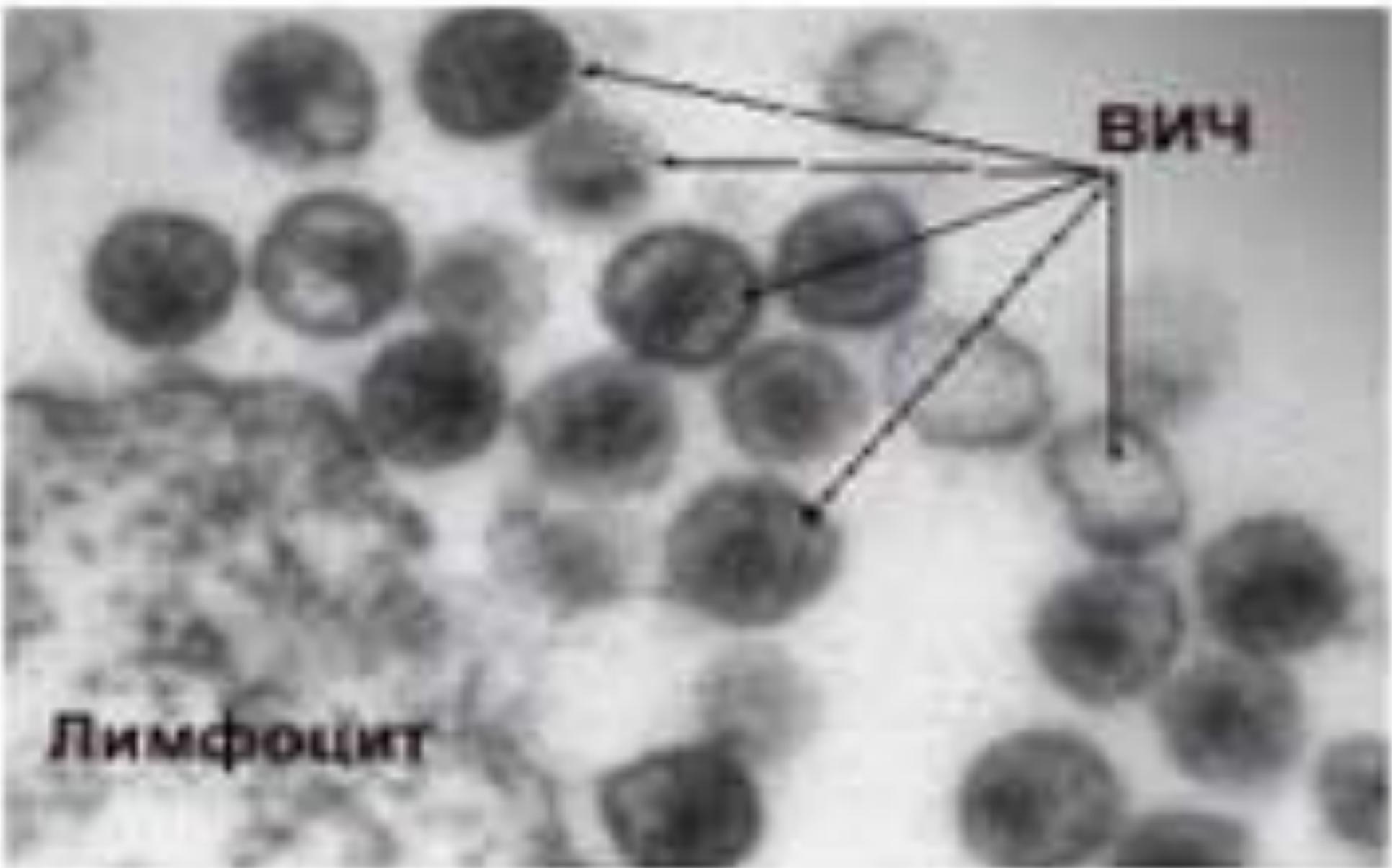


стадии репродукции

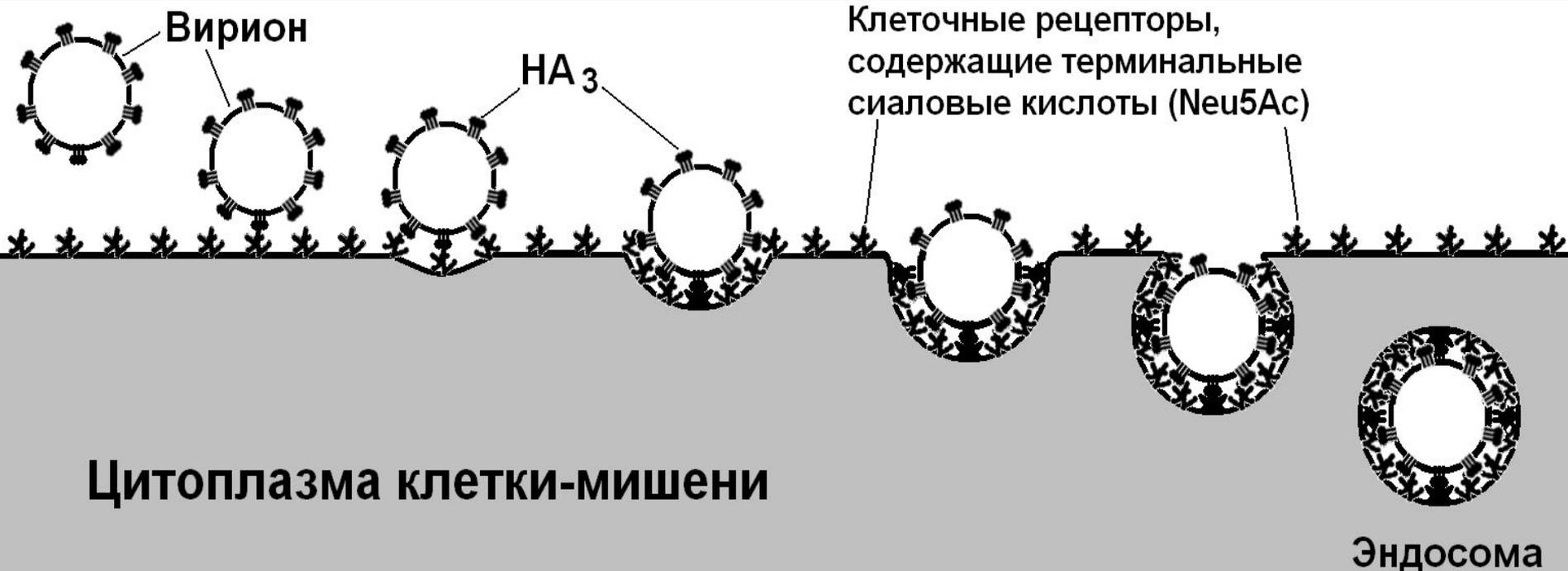
- 1 – адсорбция вирионов на клетке
- 2 – проникновение вирусов в клетку
- 3 – «раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса)
- 4 – биосинтез компонентов вируса
- 5 – формирование вирусов («сборка»)
- 6 – выход вирионов из клетки



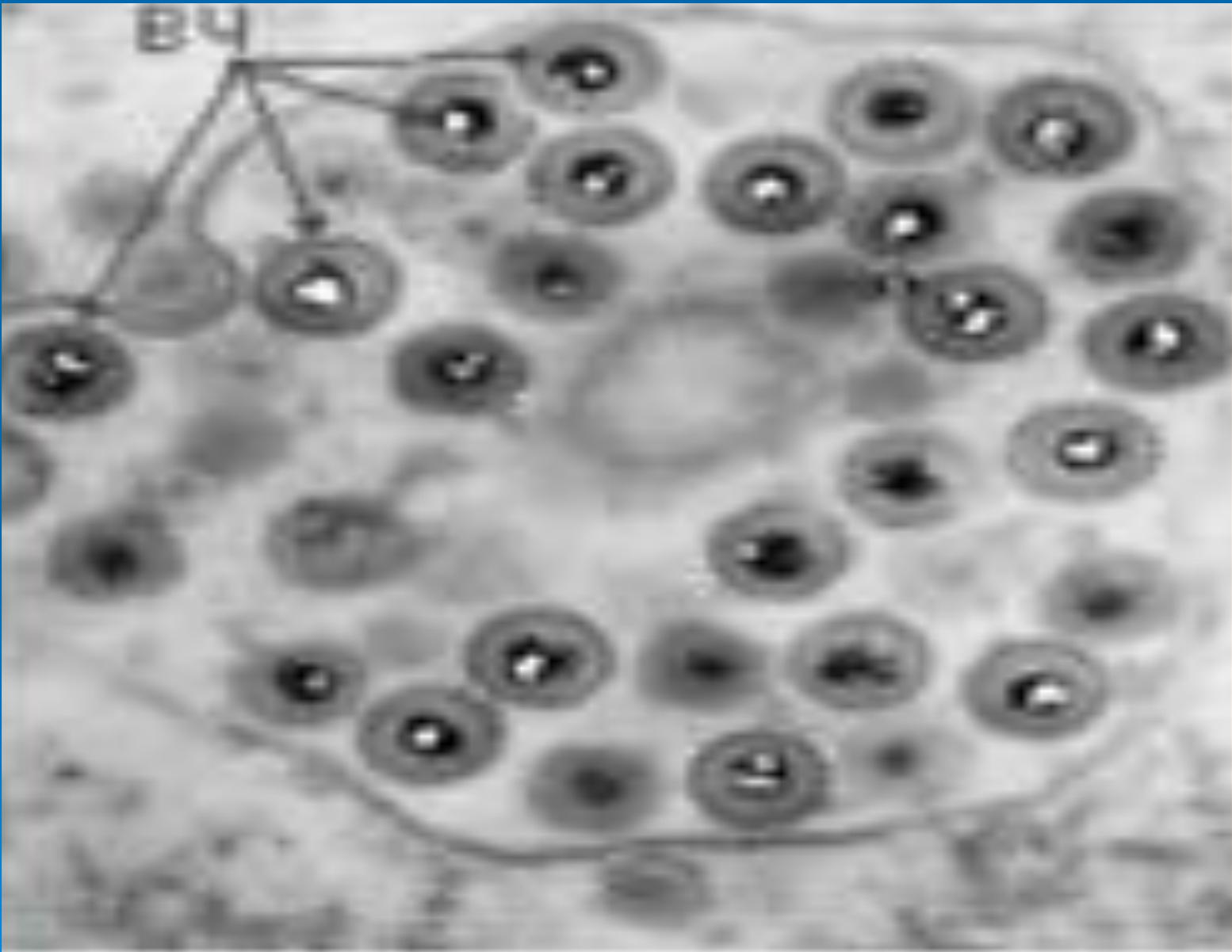
ВИЧ инфицирует лимфоциты – клетки иммунной системы (стадия адсорбции)



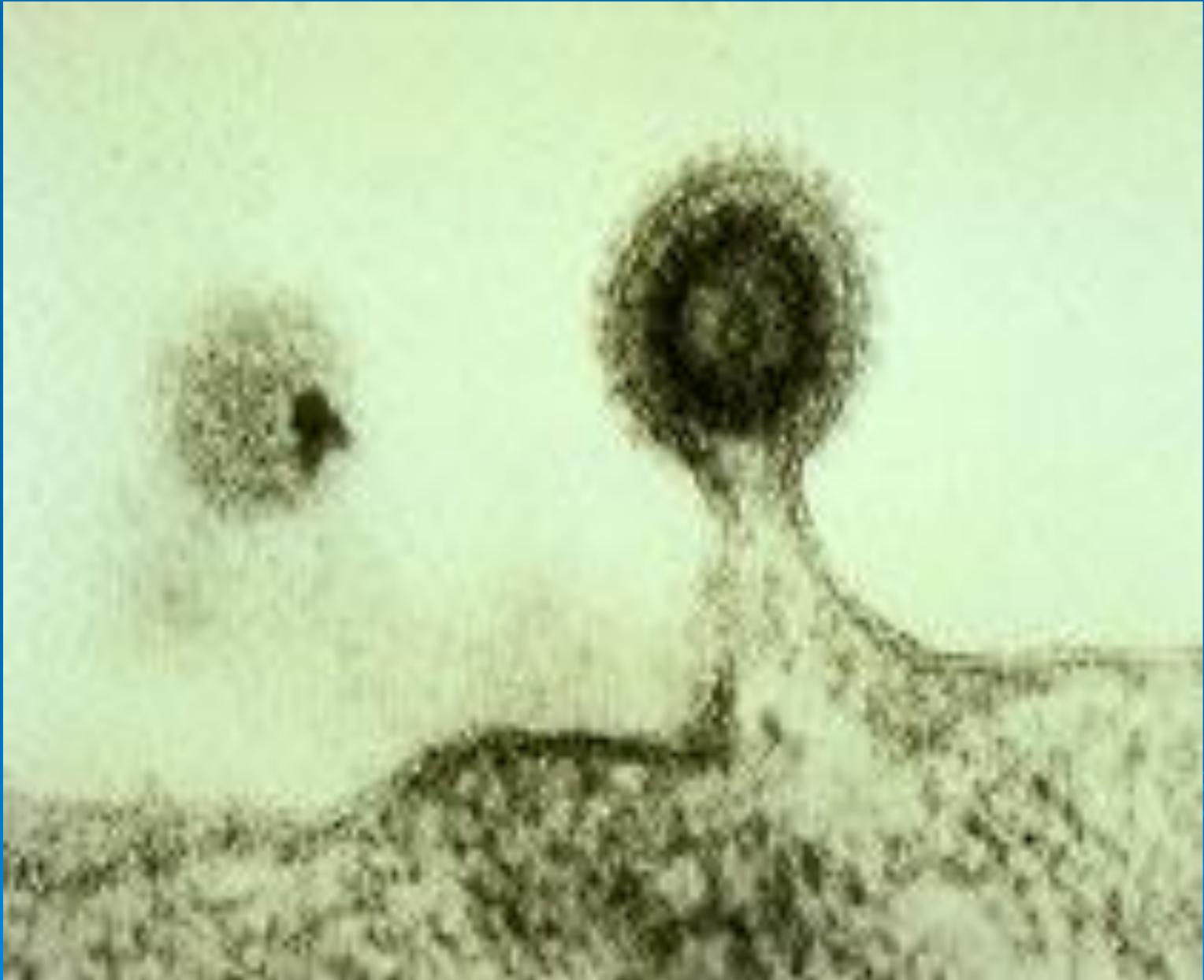
Рецепторный эндоцитоз вириона вируса гриппа А:



Herpes simplex. Вирусные частицы покидают ядро инфицированной клетки (x 40000)



ВИЧ



ЭМ-фотография клеточной линии МДСК через 10 ч после инокуляции вирусом гриппа А



ТИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА С

КЛЕТКОЙ

- продуктивный (чаще литического характера) – в зараженных кл-ках образуется новое поколение вирионов

Гибель кл-ки вызывают факторы:

- раннее подавление синтеза клеточных белков
- накопление токсических и повреждающих клетку вирусных компонентов
- повреждение лизосом и высвобождение их ферментов в цитоплазму

ТИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ

• **абортивный** – прерывание инфекционного процесса в клетке, новые вирионы не образуются

причины:

- при взаимодействии вируса с покоящейся клеткой
- при инфицировании вириона с измененными дефектными свойствами

Дефектные вирусы (1) и дефектные вирионы (2)

1 - самостоятельный вид, функционально неполноценны (для репликации необходим вирус-помощник)

2 - при образовании больших дочерних популяций



ТИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ

- интегративный (виrogenия) – интеграция (встраивание) вирусного ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместное существование

Пример:

- лизогения бактерий
- вирусная трансформация клеток
- обеспечивает латентное инфицирование, персистирующее инфицирование (продукция в. идет постепенно, после завершения острой фазы)

ТИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ

- интерференция вирусов – при инфицировании кл-ки двумя вирусами, когда один вирус подавляет репродукцию другого
 - за счет индукции ИНФ
 - за счет повреждения рецепторного аппарата
 - за счет повреждения метаболизма кл-ки



культивирование вирусов

- «золотой стандарт»
- сложность
- риск инфицирования
- материал исследования (в зависимости от клинических проявлений)
- образцы отбирают с учетом ритма циркуляции возбудителя



материал исследования (в зависимости от клинических проявлений)

- образцы отбирают с учетом ритма циркуляции возбудителя
- при транспортировке помещать в р-р Хенкса, на льду сохраняют до 5 сут, при более длительной – при -50 град.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСОВ

Биологически
е
модели

Орг-зм чувтвит.
жив-х

Развивающиес
я
куриные
эмбрионы

Культура клеток
или ткани

Биологический метод

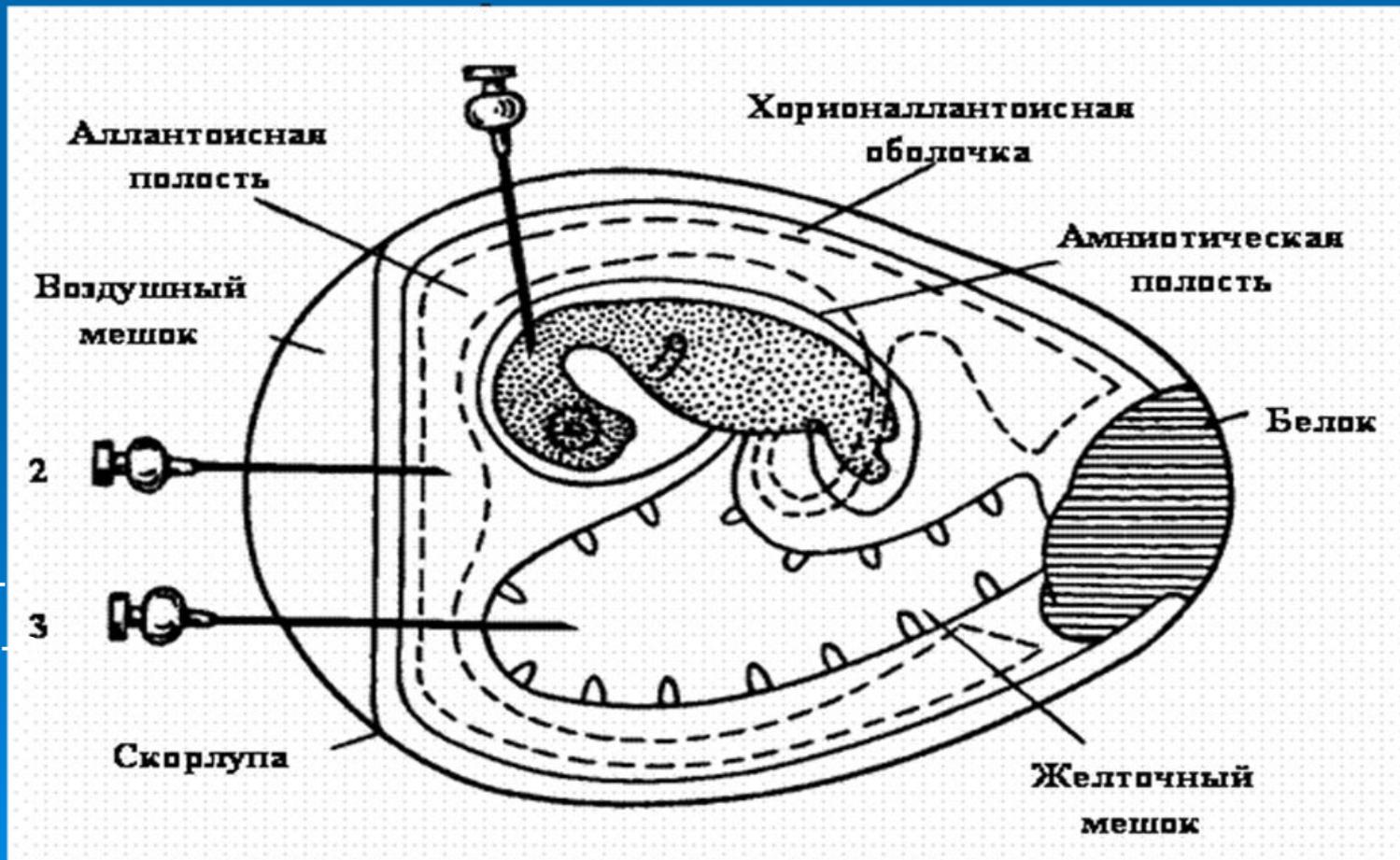
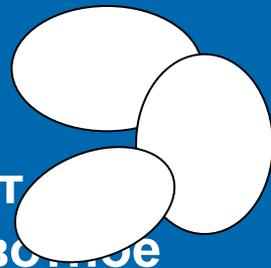


Организм чувствительных животных:

- белые мыши, хомяки, кролики, обезьяны и др.
- способ заражения зависит от тропности вируса

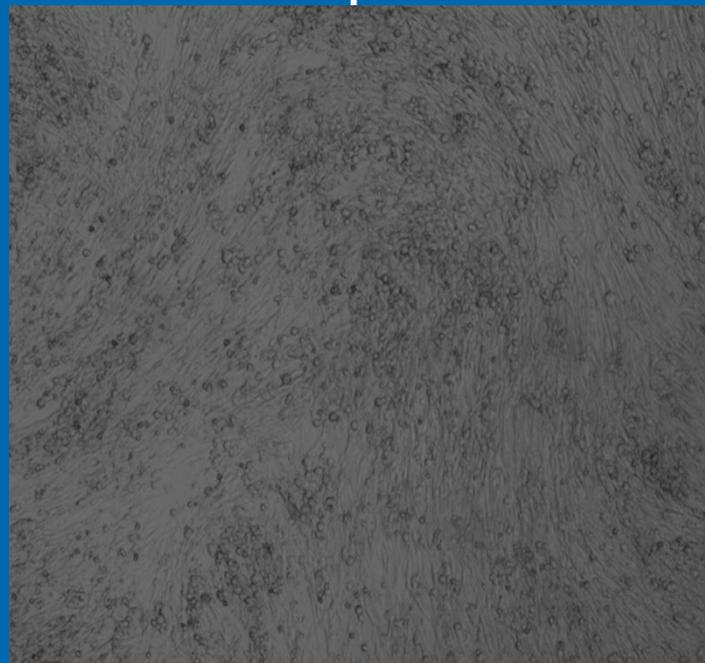
Куриные эмбрионы.

В середине 30-х годов австралийский вирусолог Ф. Вернет «открыл» новое для вирусологии экспериментальное животное — куриные эмбрионы (7-12 дневные, инкубирование при t 37 град.)

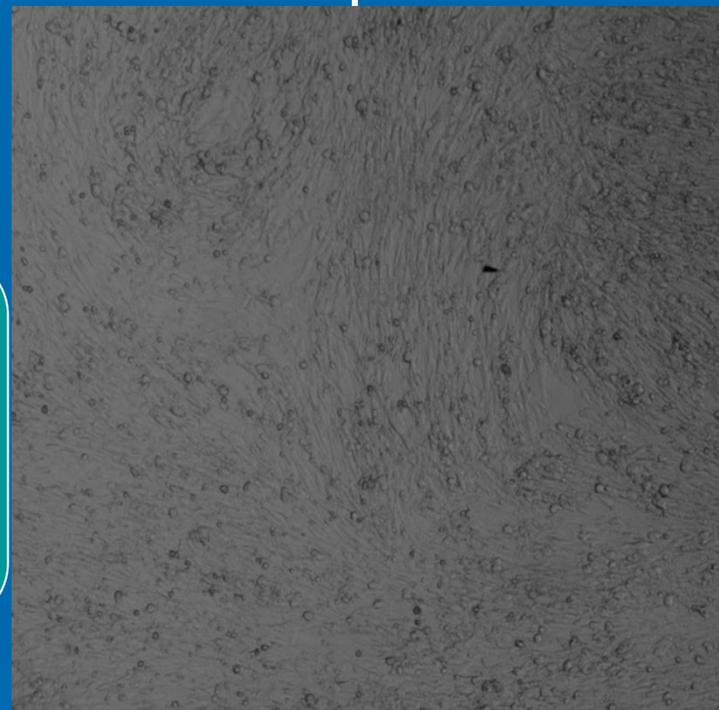


t -рный режим и длительность инкубации зав. от биологических св-в вируса

В зависимости от техники приготовления



Культура кл-к

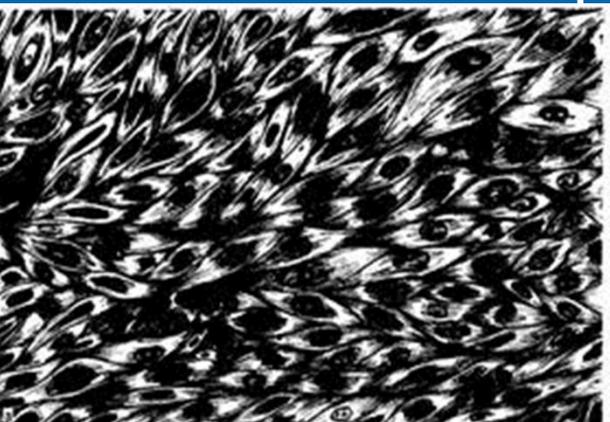


однослойные

суспензионные

органные

По числу жизнеспособных поколений



Культура кл-
к

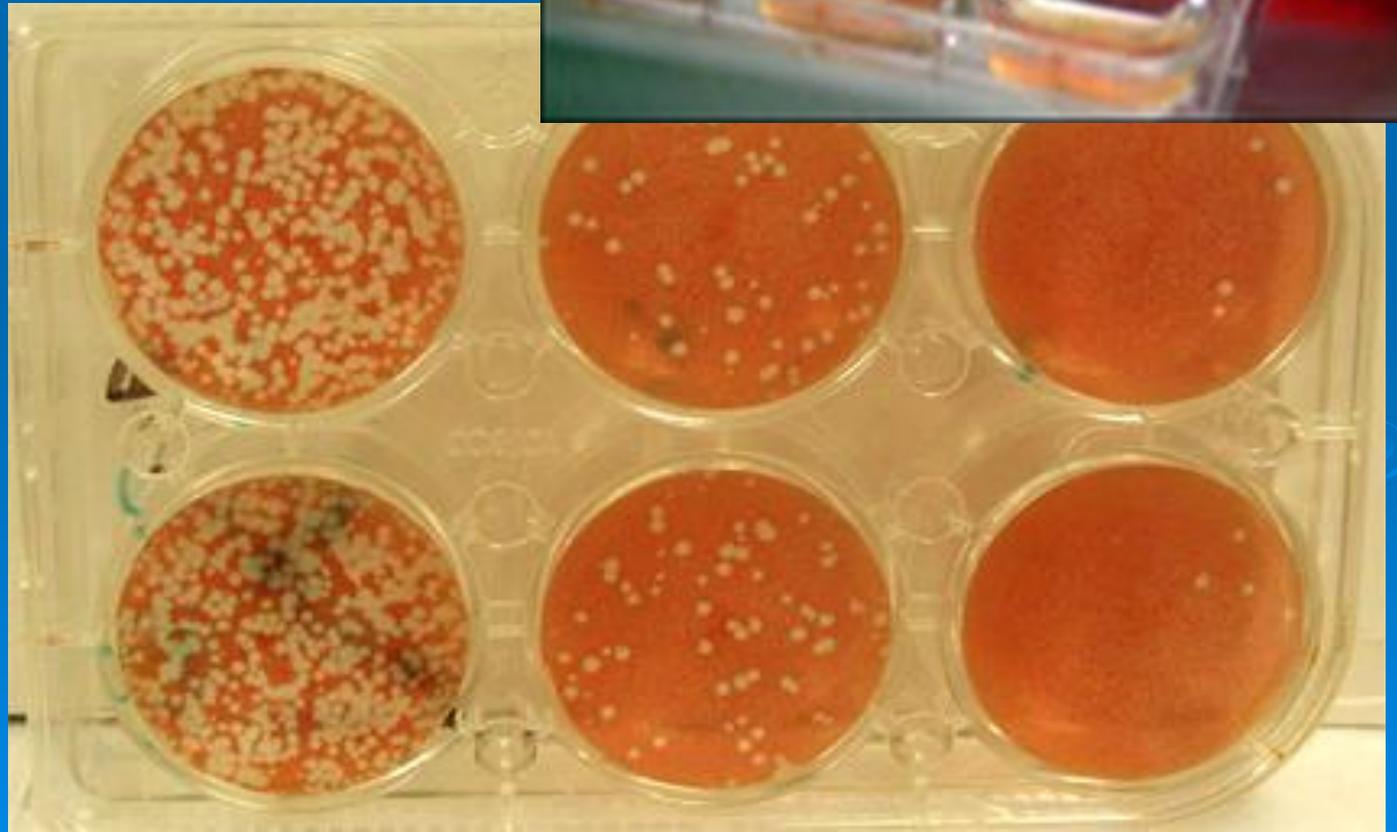
первичные

перевиваемы
е
или
стабильные
(Hela, Hep-2)

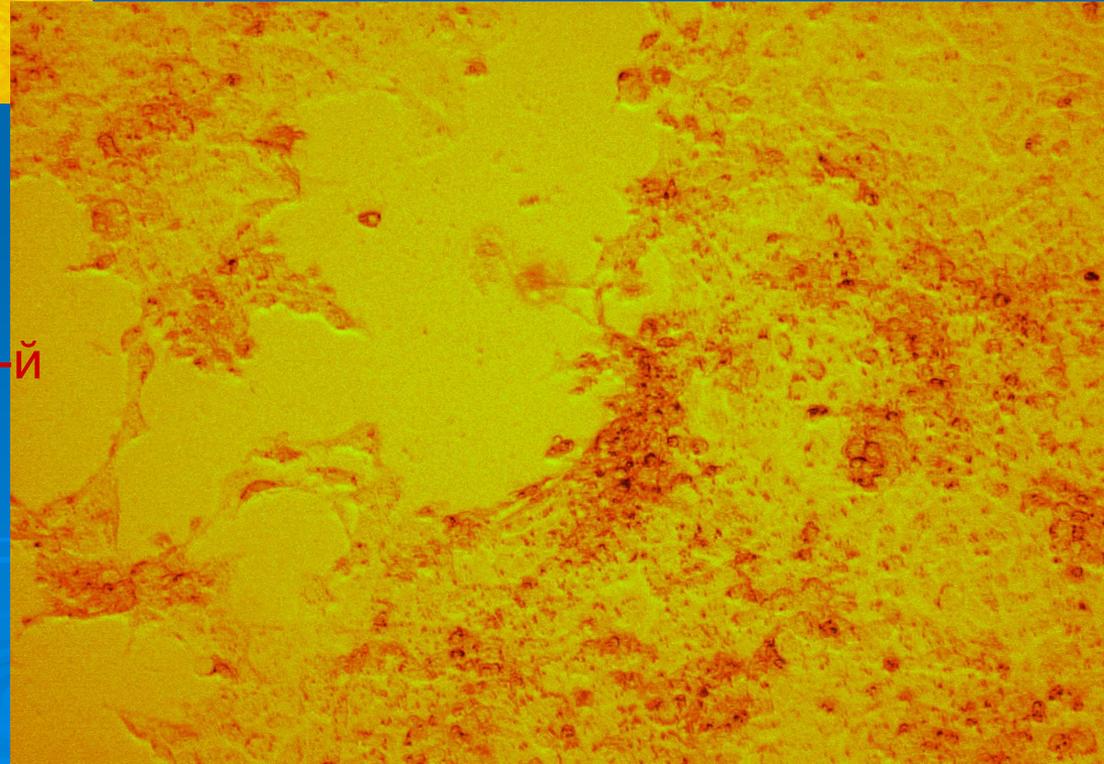
полуперивива
емые

МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ

- цитопатическое действие
- цветная проба
- метод бляшек
- РГА и РГАдс



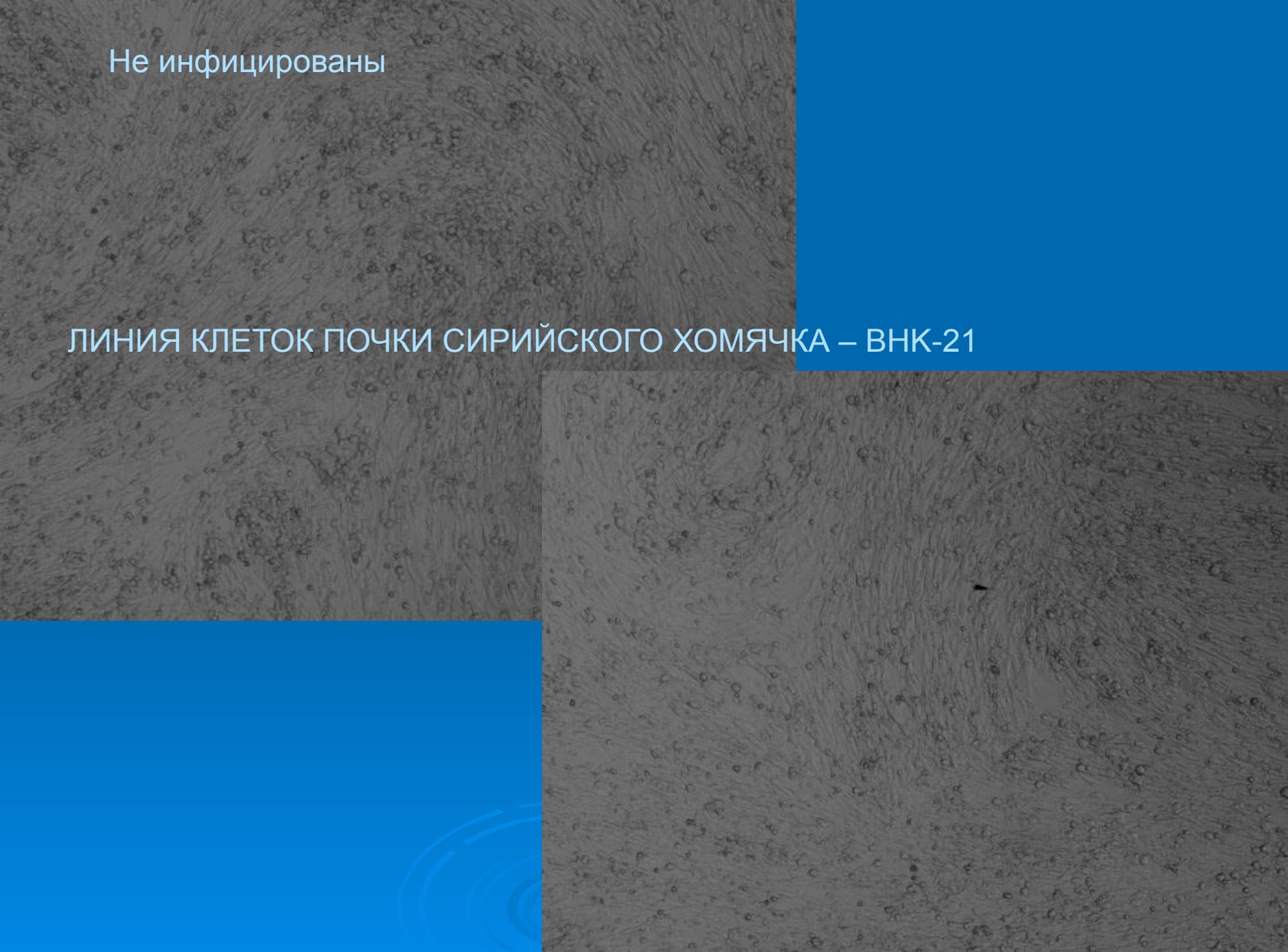
ПЕРЕВИВАЕМАЯ ЛИНИЯ КЛЕТОК ПОЧКИ ЭМБРИОНА ТЕЛЯТ



MDBK клеточные культуры на 7-й
день после заражения

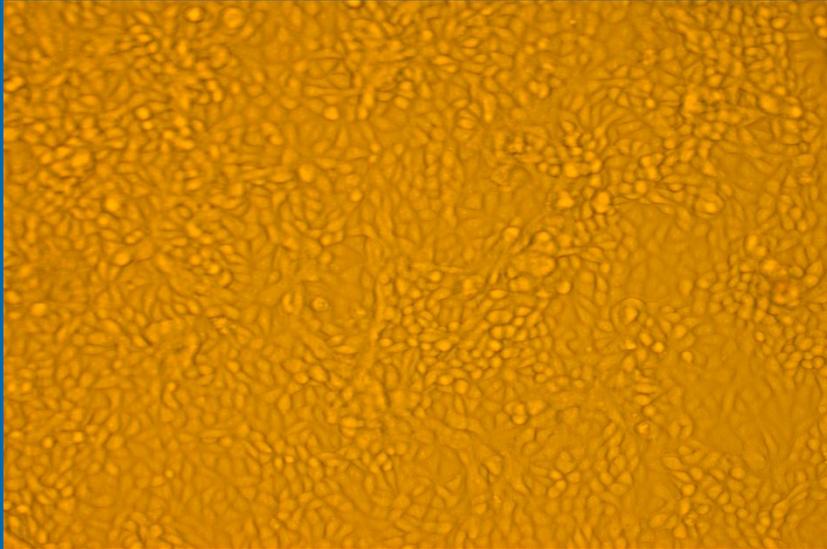
Не инфицированы

ЛИНИЯ КЛЕТОК ПОЧКИ СИРИЙСКОГО ХОМЯЧКА – ВНК-21

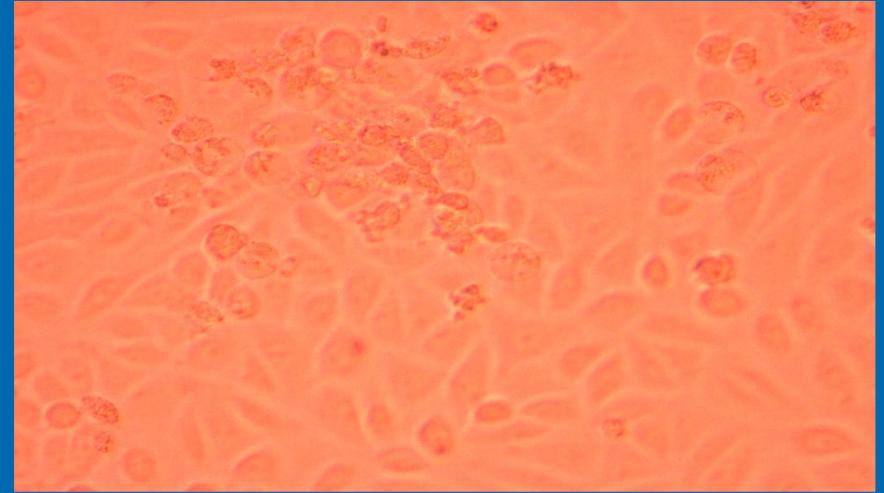


ЛИНИЯ КЛЕТОК ПОЧКИ ЭМБРИОНА СВИНЬИ (СПЭВ)

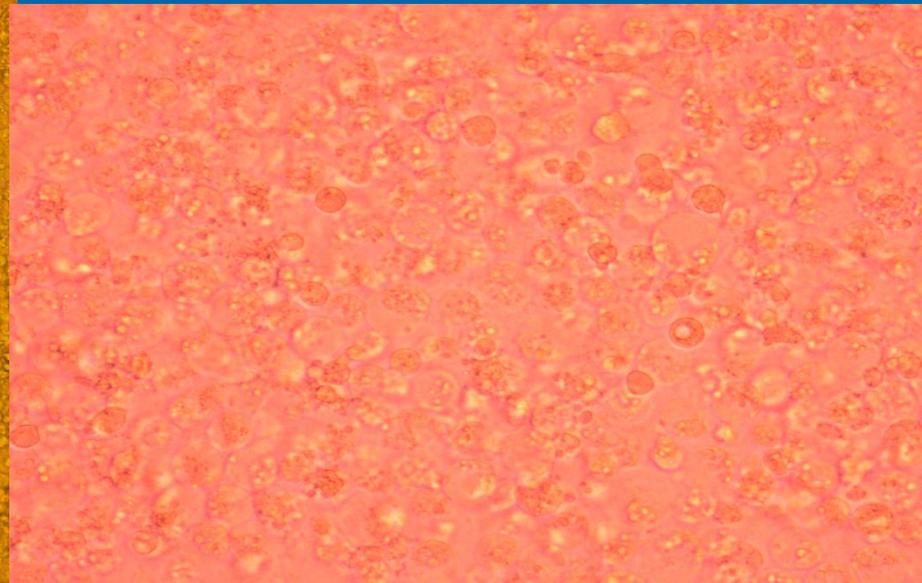
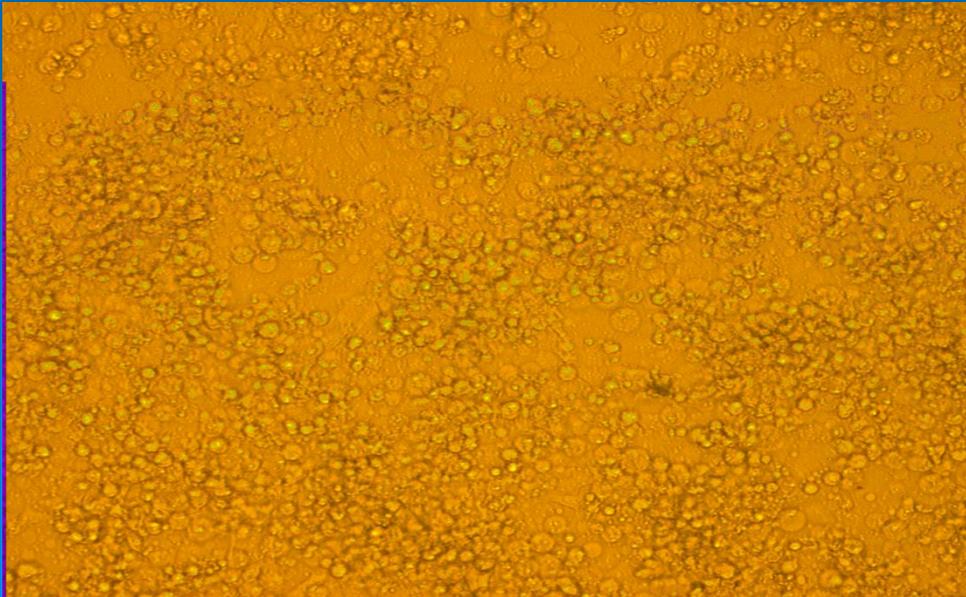
КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК СПЭВ,
ИНФИЦИРОВАННЫЕ ВИРУСОМ H5N1
(8 ЧАСОВ ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ)



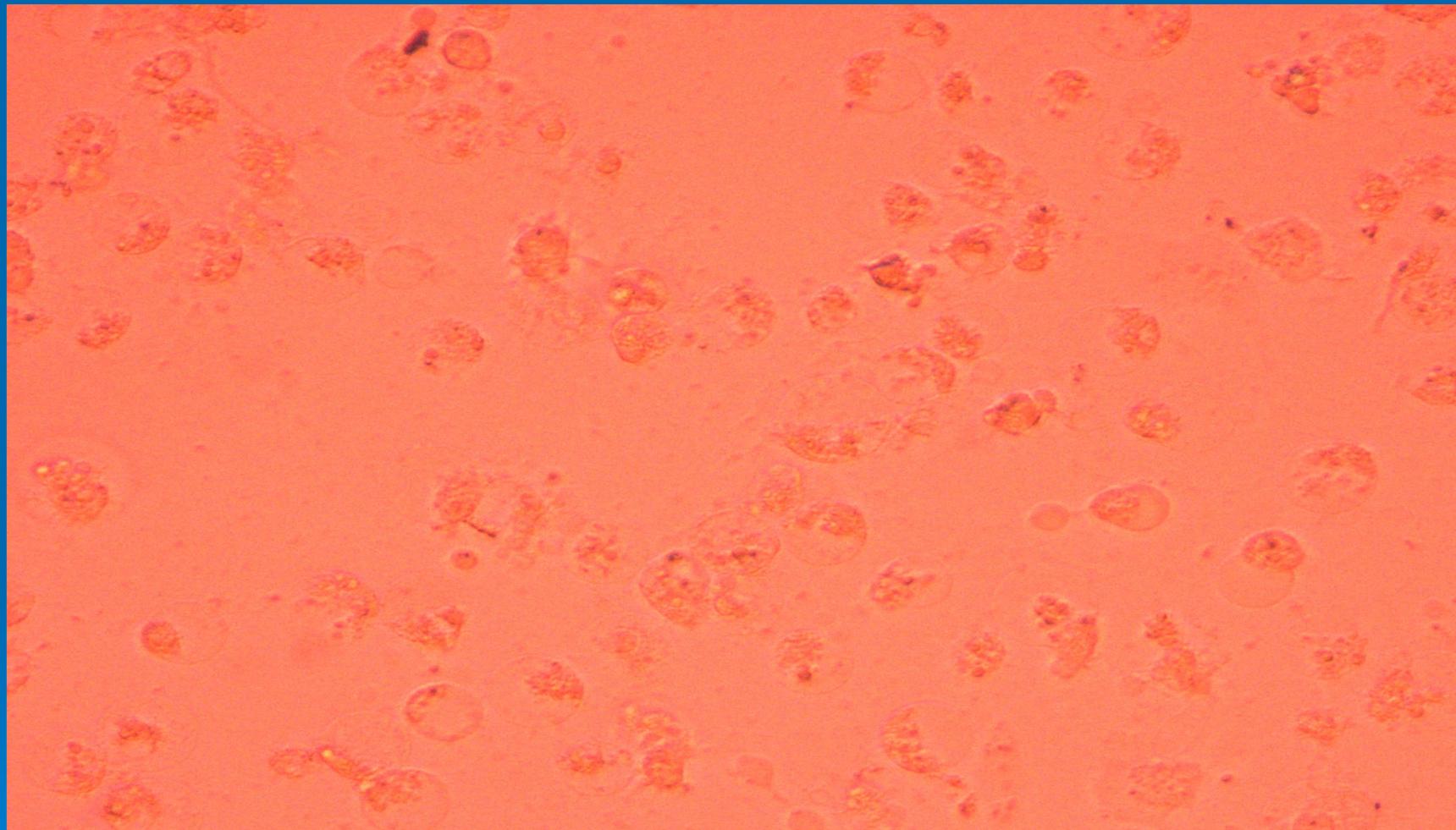
18 ЧАСОВ ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ)



24 ЧАСА ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ



КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК СПЭВ, ИНФИЦИРОВАННЫЕ ВИРУСОМ Н5N1 (48 ЧАСОВ ПОСЛЕ ЗАРАЖЕНИЯ)



Закономерности, установленные Г.К. Хёрстом (1941)

Титрование вируса →



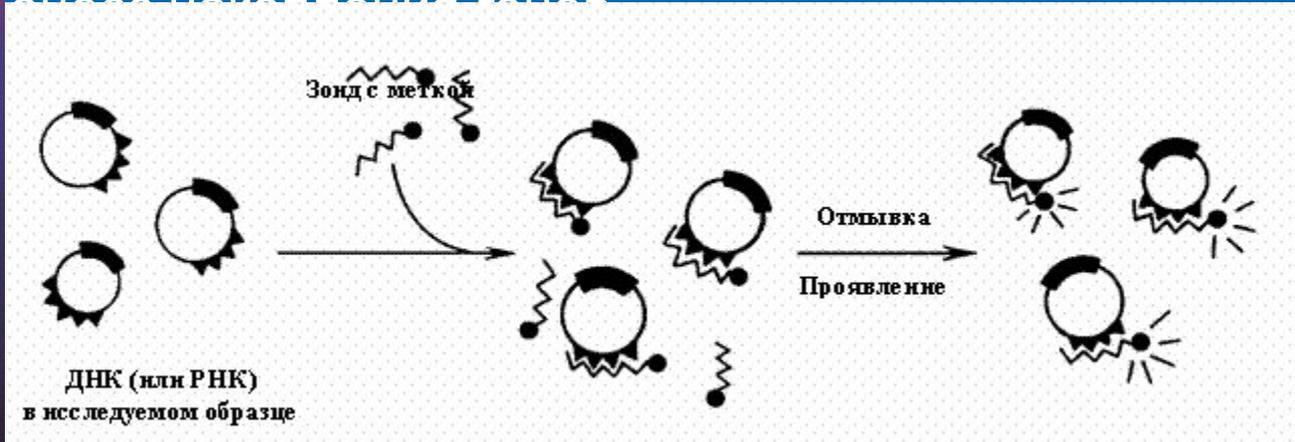
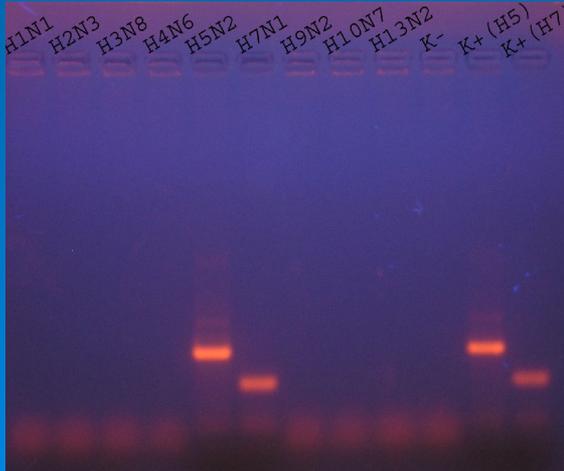
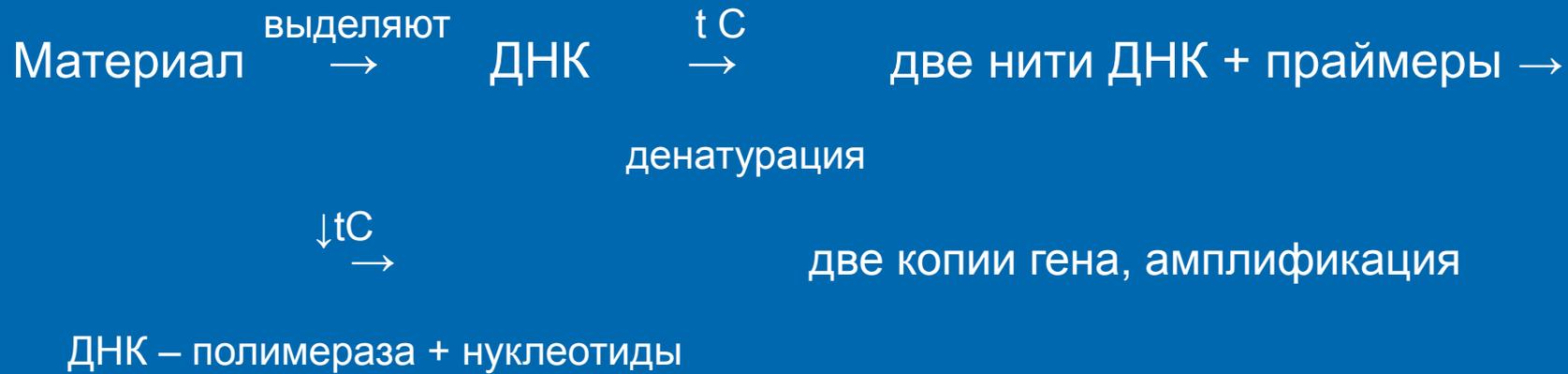
Титрование антисыворотки →

ИФА



Полимеразная цепная реакция ПЦР

ПЦР позволяет обнаружить МКО в исследуемом материале по наличию в нем ДНК микроба (без его выделения в чистую культуру), а точнее – специфичного гена.



Благодарю за внимание

