

**Классификация, структура
вирусов. Культивирование.
Методы изучения**

Лекция № 13.

- 
- Открытие вирусов Д.И.Ивановским в 1892г. положило начало развитию науки вирусологии. Более быстрому ее развитию способствовали: изобретение электронного микроскопа, разработка метода культивирования микроорганизмов в культурах клеток.

- **Слово “вирус” в переводе с латинского- яд (животного происхождения). Этот термин применяют для обозначения уникальных представителей живой природы, не имеющих клеточного (эукариотического или прокариотического) строения и обладающих облигатным внутриклеточным паразитизмом, т.е. которые не могут жить без клетки**

Основные свойства вирусов (и плазмид),

- 1. Ультрамикроскопические размеры (измеряются в нанометрах). Крупные вирусы (вирус оспы) могут достигать размеров 300 нм, мелкие - от 20 до 40 нм. $1\text{мм}=1000\text{мкм}$, $1\text{мкм}=1000\text{нм}$.
- 2. Вирусы содержат нуклеиновую кислоту только одного типа - или ДНК (ДНК-вирусы) или РНК (РНК-вирусы).
- 3. Вирусы не способны к росту и бинарному делению.
- 4. Вирусы размножаются путем воспроизводства себя в инфицированной клетке хозяина за счет собственной геномной нуклеиновой кислоты.

- 5. У вирусов нет собственных систем мобилизации энергии и белок-синтезирующих систем, в связи с чем вирусы являются **абсолютными внутриклеточными паразитами**.
- 6. Средой обитания вирусов являются живые клетки- бактерии (это вирусы бактерий или бактериофаги), клетки растений, животных и человека.

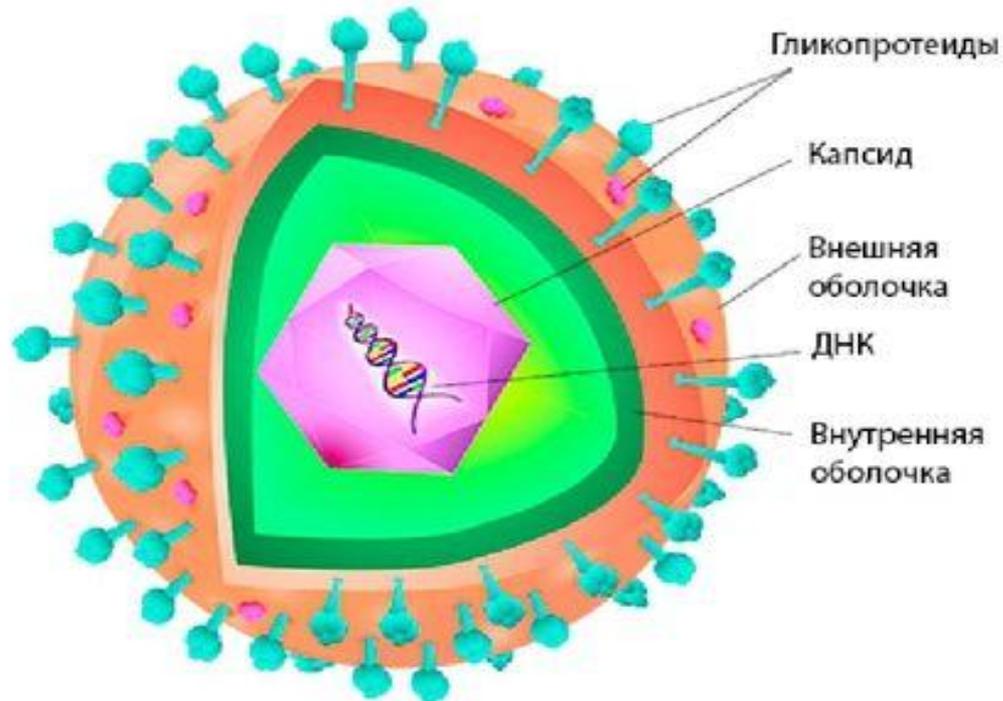
- Все вирусы существуют в двух качественно разных формах: внеклеточной- **вирион** и внутриклеточной- **вирус**. Таксономия этих представителей микромира основана на характеристике вирионов-конечной фазы развития вирусов.

Строение (морфология) вирусов.

- **1. Геном вирусов образуют нуклеиновые кислоты**, представленные одноцепочечными молекулами РНК или двухцепочечными молекулами ДНК
- **2. Капсид** - белковая оболочка, в которую упакована геномная нуклеиновая кислота.
- Существуют два способа упаковки капсомеров в капсид- **спиральный** (спиральные вирусы) и **кубический** (сферические вирусы).

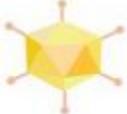
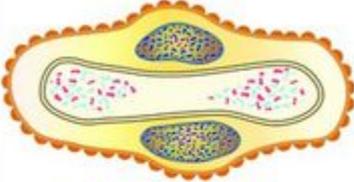
Строение (морфология) вирусов.

Строение вируса



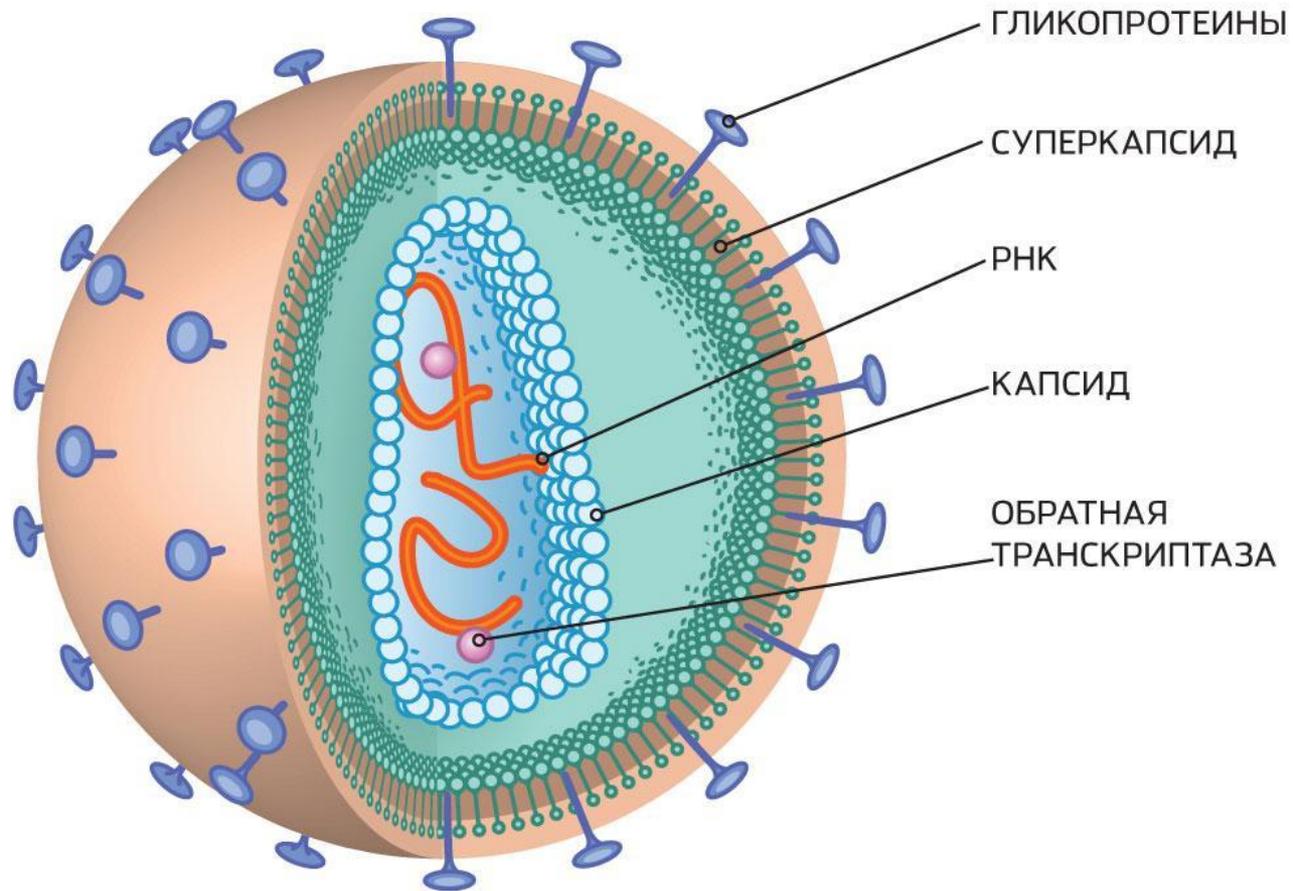
- *При спиральной симметрии* белковые субъединицы располагаются по спирали, а между ними, также по спирали, уложена геномная нуклеиновая кислота (нитевидные вирусы). *При кубическом типе симметрии* вирионы могут быть в виде многогранников, чаще всего - двадцатигранники - *икосаэдры*.

Строение вирусов

БЕЗОБОЛОЧЕЧНЫЕ		ОБОЛОЧЕЧНЫЕ		
ДВУНИТЧАТАЯ ДНК		ОДНОНИТЧАТАЯ ДНК		
				
Иридовирусы	Аденовирусы	Вирусы оспы	Герпес-вирусы	Гепадна- вирусы
ДВУНИТЧАТАЯ РНК		ОДНОНИТЧАТАЯ РНК		
				
Реовирусы	Ареновирусы	Парамиксо- вирусы	Ортомиксо- вирусы	Рабдо- вирусы
ОДНОНИТЧАТАЯ ДНК	ОДНОНИТЧАТАЯ РНК			
Калици- вирусы	Пикорна- вирусы	Ретро- вирусы	Корона- вирусы	Бунья- вирусы

- 3. Просто устроенные вирусы имеют только *нуклеокапсид*, т.е. комплекс генома с капсидом и называются “голыми”.
- 4. У других вирусов поверх капсида есть дополнительная мембраноподобная оболочка, приобретаемая вирусом в момент выхода из клетки хозяина- *суперкапсид*. Такие вирусы называют “одетыми”.

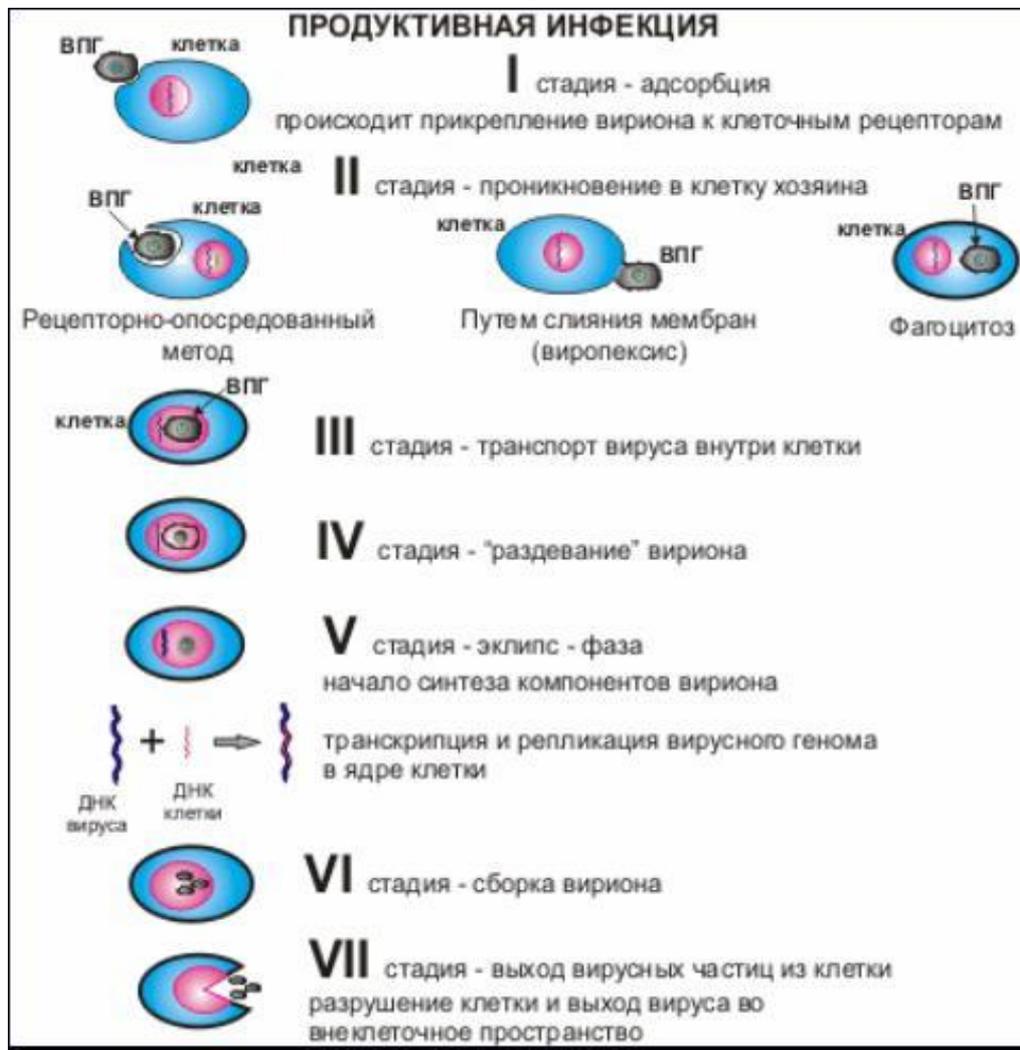
Строение (морфология) вирусов.



Основные этапы взаимодействия вируса с клеткой хозяина.

- 1. **Адсорбция**- пусковой механизм, связанный со взаимодействием *специфических* рецепторов вируса и хозяина
- 2. **Проникновение**- путем слияния суперкапсида с мембраной клетки или путем эндоцитоза (пиноцитоза).
- 3. **Освобождение нуклеиновых кислот**- “раздевание” нуклеокапсида и активация нуклеиновой кислоты.
- 4. **Синтез нуклеиновых кислот и вирусных белков**, т.е. подчинение систем клетки хозяина и их работа на воспроизводство вируса.
- 5. **Сборка вирионов**- ассоциация реплицированных копий вирусной нуклеиновой кислоты с капсидным белком.
- 6. **Выход вирусных частиц из клетки**, приобретения суперкапсида оболочечными вирусами.

Основные этапы взаимодействия вируса с клеткой хозяина.



Основные этапы взаимодействия вируса с клеткой хозяина.

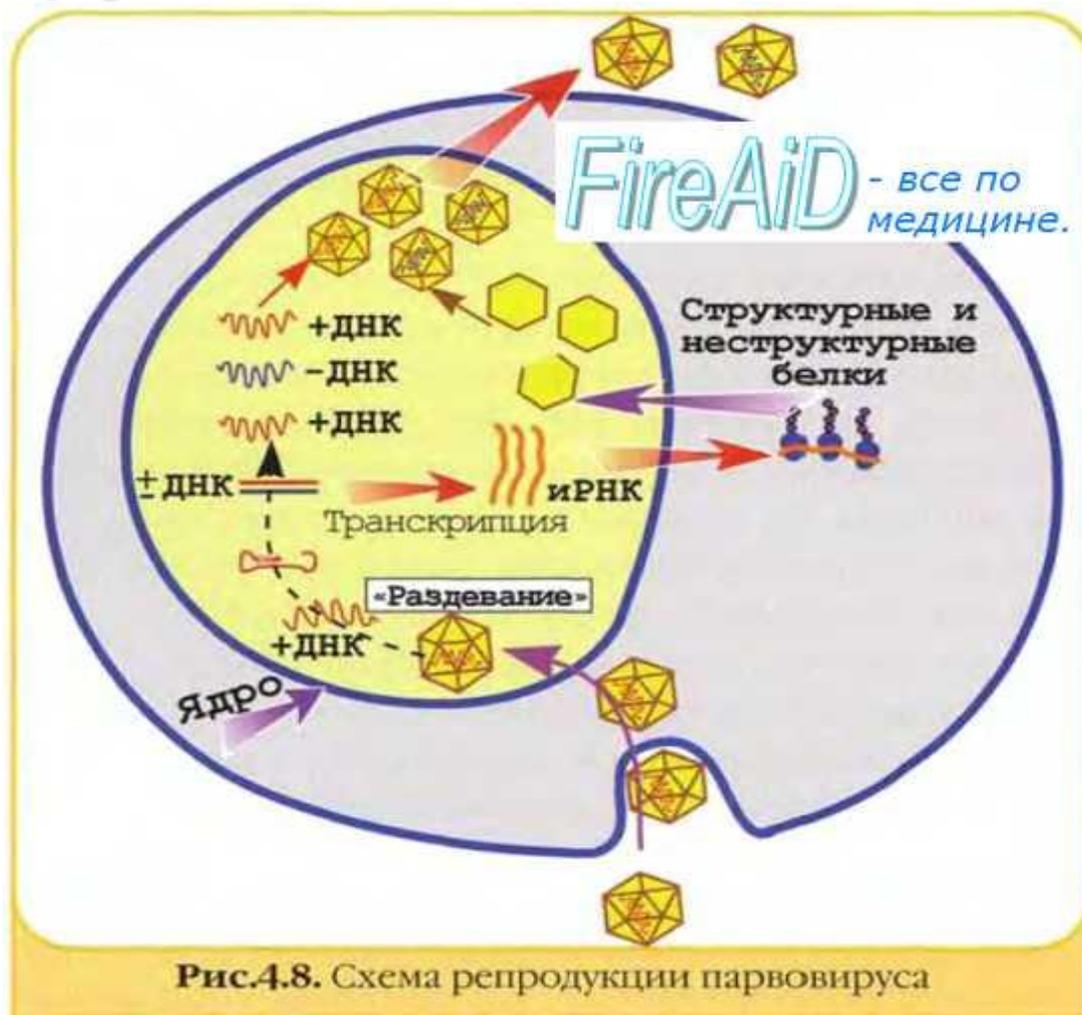
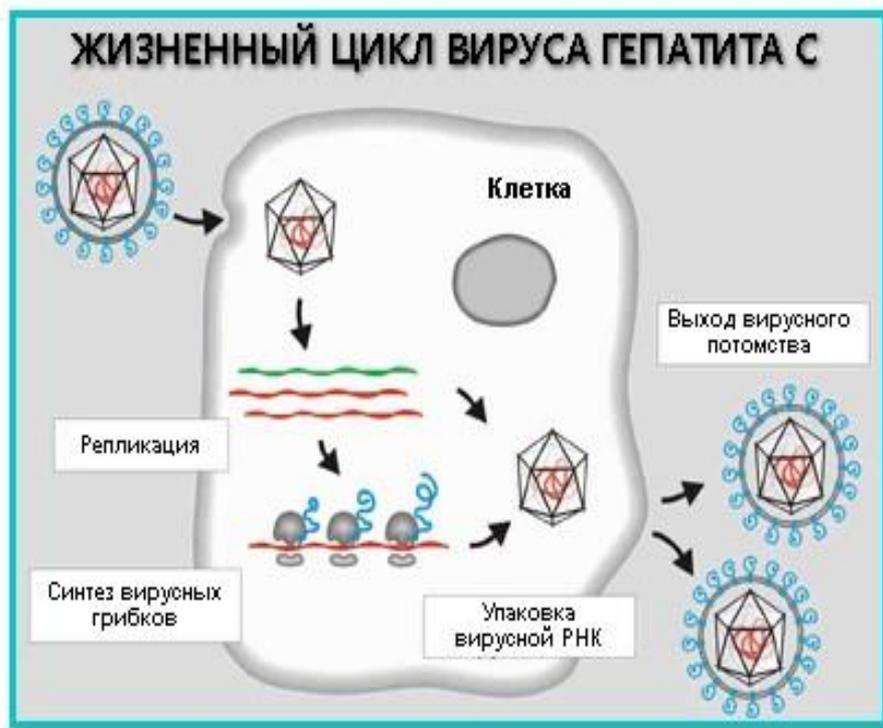


Рис.4.8. Схема репродукции парвовируса

Основные этапы взаимодействия вируса с клеткой хозяина.



Исходы взаимодействия вирусов с клеткой хозяина.

- **1.Абортивный процесс-** когда клетки освобождаются от вируса:
- - при инфицировании *дефектным* вирусом, для репликации которого нужен вирус-помощник, самостоятельная репликация этих вирусов невозможна (так называемые вирусоиды). Например, вирус дельта (D) гепатита может реплицироваться только при наличии вируса гепатита В, его Hbs - антигена, аденоассоциированный вирус- в присутствии аденовируса);
- - при инфицировании вирусом генетически нечувствительных к нему клеток;
- - при заражении чувствительных клеток вирусом в неразрешающих условиях.

Исходы взаимодействия вирусов с клеткой хозяина.

- **2. Продуктивный процесс- репликация (продукция) вирусов:**
- - **гибель (лизис) клеток (цитопатический эффект)**- результат интенсивного размножения и формирования большого количества вирусных частиц - вызванного вирусами с высокой цитопатогенностью.
- - **стабильное взаимодействие**, не приводящее к гибели клетки (персистирующие и латентные инфекции) - так называемая **вирусная трансформация клетки**.

Исходы взаимодействия вирусов с клеткой хозяина.

- *3. Интегративный процесс*- интеграция вирусного генома с геномом клетки хозяина. Это особый вариант продуктивного процесса по типу стабильного взаимодействия. Вирус реплицируется вместе с геномом клетки хозяина и может длительно находиться в латентном состоянии.

Основные методы культивирования вирусов.

- 1. В организме лабораторных животных.
- 2. В куриных эмбрионах.
- 3. В клеточных культурах - основной метод.

Типы клеточных культур.

- 1. *Первичные (трипсинизированные) культуры*- фибробласты эмбриона курицы (ФЭК), человека (ФЭЧ), клетки почки различных животных и т.д. 2. *Линии диплоидных клеток* пригодны к повторному диспергированию и росту, как правило не более 20 пассажей (теряют исходные свойства).
- 3. *Перевиваемые линии* (гетероплоидные культуры), способны к многократному диспергированию и перевиванию, т.е. к многократным пассажам, наиболее удобны в вирусологической работе- например, линии опухолевых клеток HeLa, Hep и др.

Специальные питательные среды для культур клеток.

- синтетические вирусологические питательные среды сложного состава, включающие большой набор различных факторов роста- среда 199, Игла, раствор Хэнкса, гидролизат лактальбумина. сыворотку), L-цистеин и L-глутамин.

Выявляемые проявления вирусной инфекции клеточных культур.

- 1. Цитопатический эффект.
- 2. Выявление телец включений.
- 3. Выявление вирусов методом флуоресцирующих антител (МФА), электронной микроскопией, автордиографией.
- 4. Цветная проба. Обычный цвет используемых культуральных сред, содержащих в качестве индикатора рН феноловый красный, при оптимальных для клеток условиях культивирования (рН около 7,2) - красный. Размножение клеток меняет рН и соответственно - цвет среды с красного на желтый за счет смещения рН в кислую сторону. При размножении в клеточных культурах вирусов происходит лизис клеток, изменения рН и цвета среды не происходит.
- 5. Выявление гемагглютинаина вирусов - гемадсорбция, гемагглютинация.
- 6. Метод бляшек (бляшкообразования). В результате цитолитического действия многих вирусов на клеточные культуры образуются зоны массовой гибели клеток. Выявляют бляшки - вирусные "клеточно-негативные" колонии.

Номенклатура вирусов

- ÷
- Название семейства вирусов заканчивается на “viridae”, рода- “virus”, для вида обычно используют специальные названия, например - вирус краснухи, вирус иммунодефицита человека- ВИЧ, вирус парагриппа человека типа 1 и т.д.
-

