ВИРУСОЛОГИЯ

Лекция профессора Бойченко М.Н.

Эдвард Дженнер

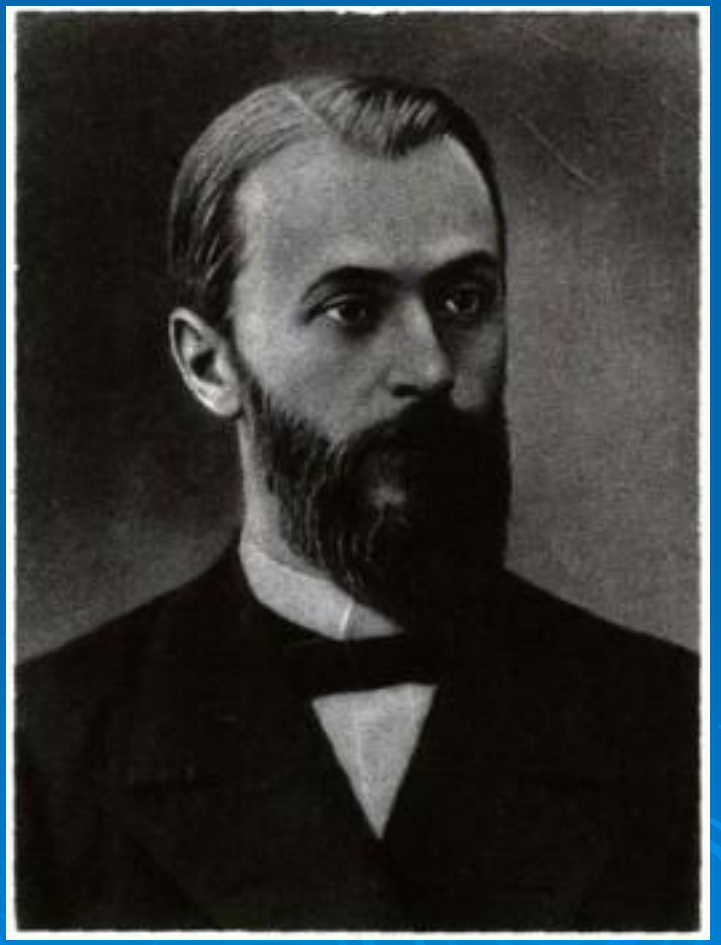
1796г

MyShared

История вирусологии

- 1892 Д.И.Ивановский представил работу, в которой показал, что экстракт из зараженного растения табака после того, как его пропустили через бактериальные фильтры (свечи Шамберлена), может передавать инфекционное начало другому растению

Ивановский Д.И.



История вирусологии

- 1898г. Ф. Лефлер и П.Фрош был открыт вирус ящера, первый вирус животного
- 1915г. ФредерикТуорт и ФеликсД Эрель открыли возможность заражения бактерий фильтрующими агентами, которые Д Эрель назвал бактериофагами

История вирусологии

- 1935 Уэндел Стенли получил очищенный препарат ВТМ, предположив, что он является глобулярным белком
- 1937 Боуден и Пири обнаружили, что очищенный препарат ВТМ содержит 5% РНК
- 1939 с помощью электронного микроскопа получены первые изображения ВТМ

История вирусологии

- 1940г Бернет вводит экспериментальную модель - куриный эмбрион.
- 1949г. Эндерс, Роббинс – разработали модель культуры клеток

Вирусы

- Вирусы – неклеточная форма существования живой материи, обладающая собственным геномом, которые являются абсолютными паразитами на генном уровне

- Вирус =«яд» название дано Пастером

Вирусы

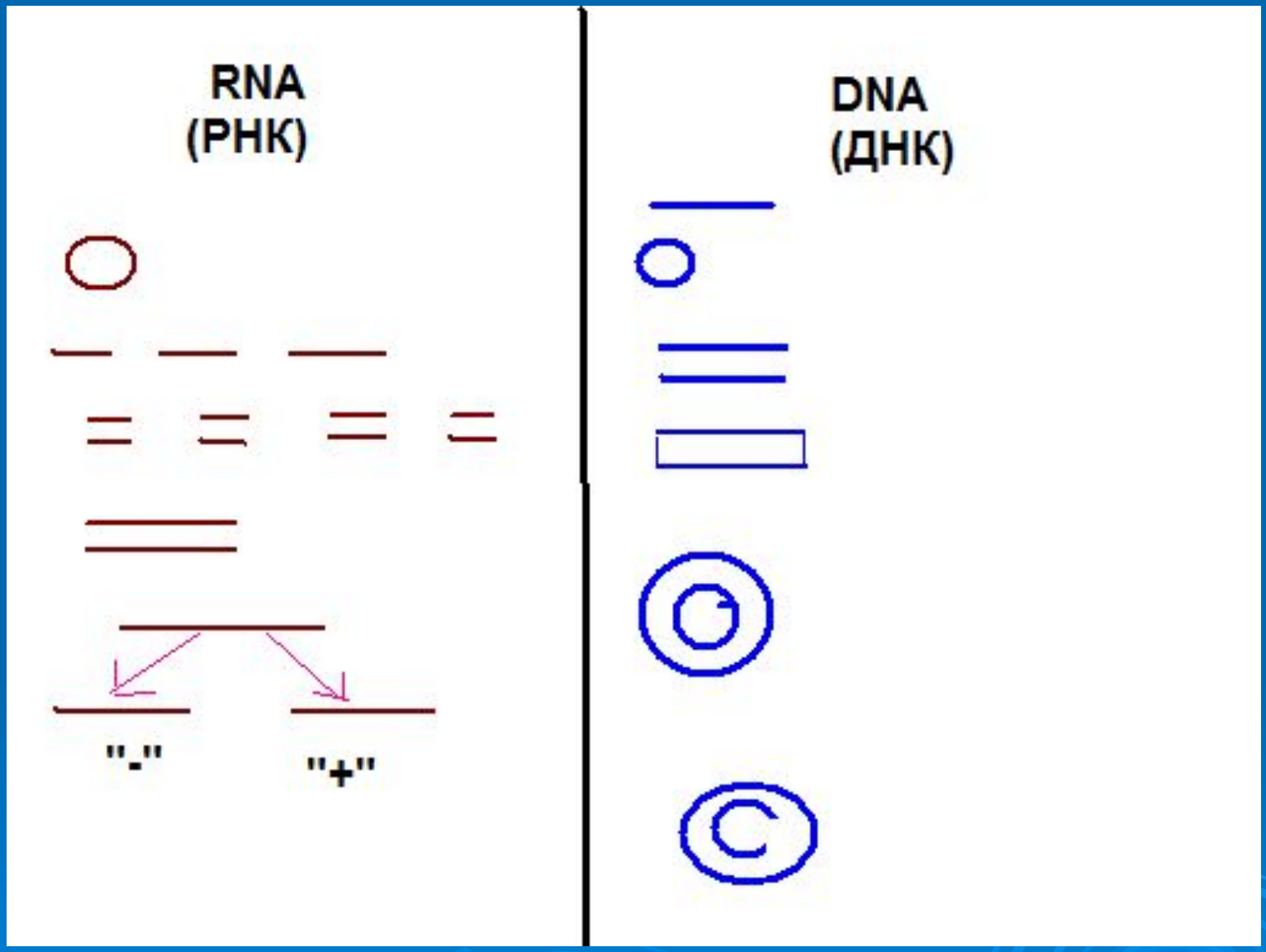
- 1. Отсутствие клеточного строения
- 2. Отсутствие собственной белок синтезирующей системы
- 3. Один тип нуклеиновой кислоты
- 4. Дисъюнктивный способ размножения

Формы существования

- 1. Внутри клетки - вегетативная
- 2. Вне клетки - форма ВИРИОНА

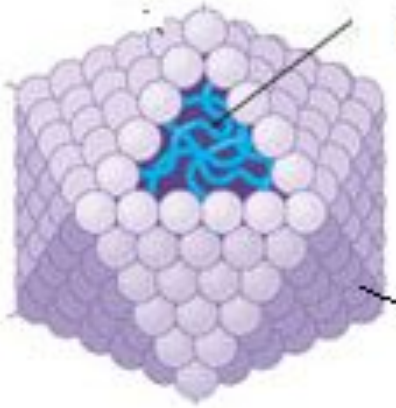
Строение вириона

- 1. ПРОСТООРГАНИЗОВАНЫЕ:
  - а. нуклеиновая кислота
  - б. капсид
- 2. СЛОЖНООРГАНИЗОВАННЫЕ
  - а. нуклеиновая кислота
  - б. капсид
  - в. Внешняя оболочка(суперкапсид)


RNA
(РНК)
"-"
"+"
DNA
(ДНК)

нуклеиновая кислота

капсид со спиральным типом симметрии



нуклеиновая кислота

капсид с кубическим типом

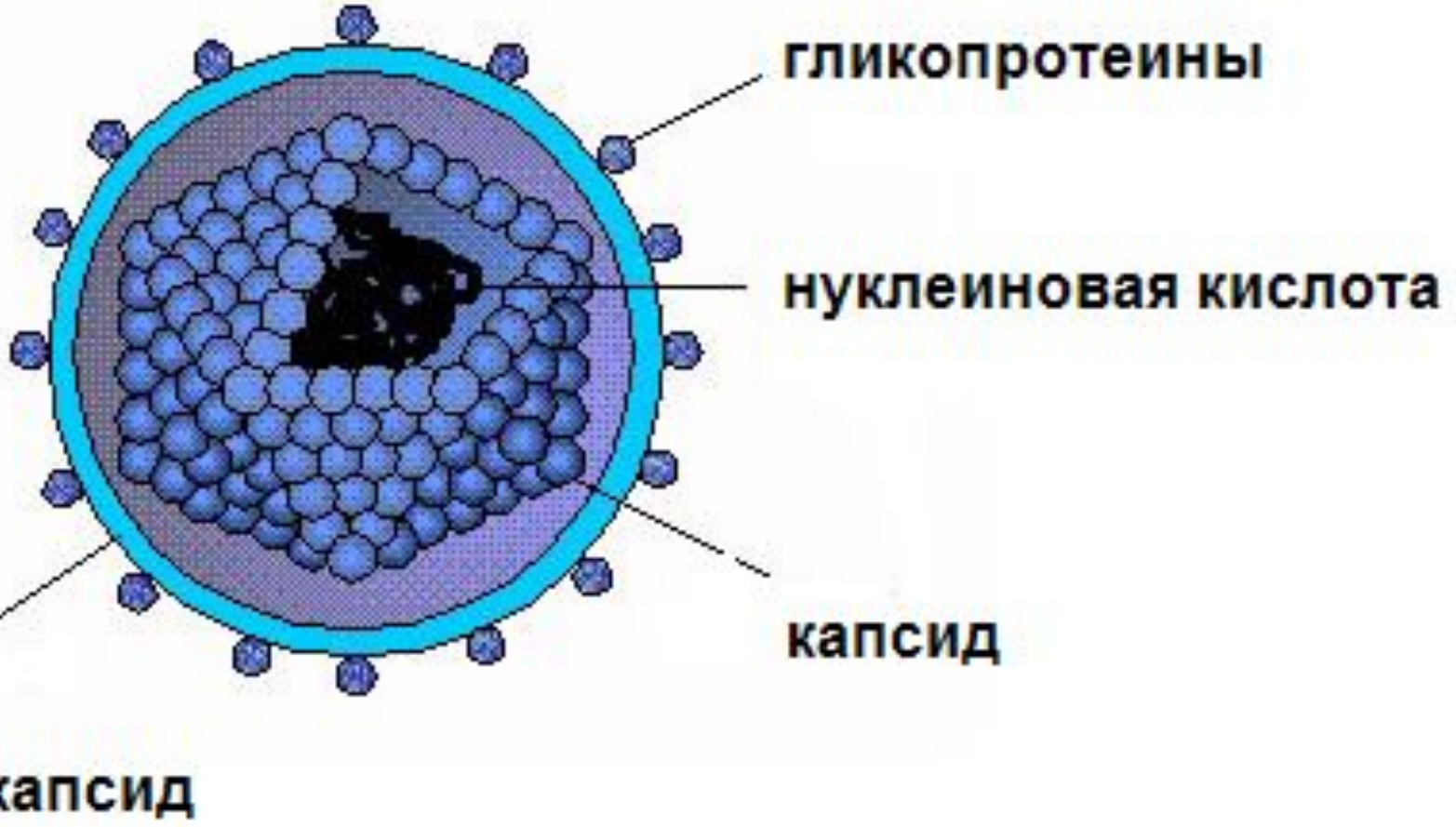
Капсид

- 1.Устойчивость к протеолитическим ферментам (особенность укладки)
- 2.Защита от нуклеаз
- 3. Способность к самосборке

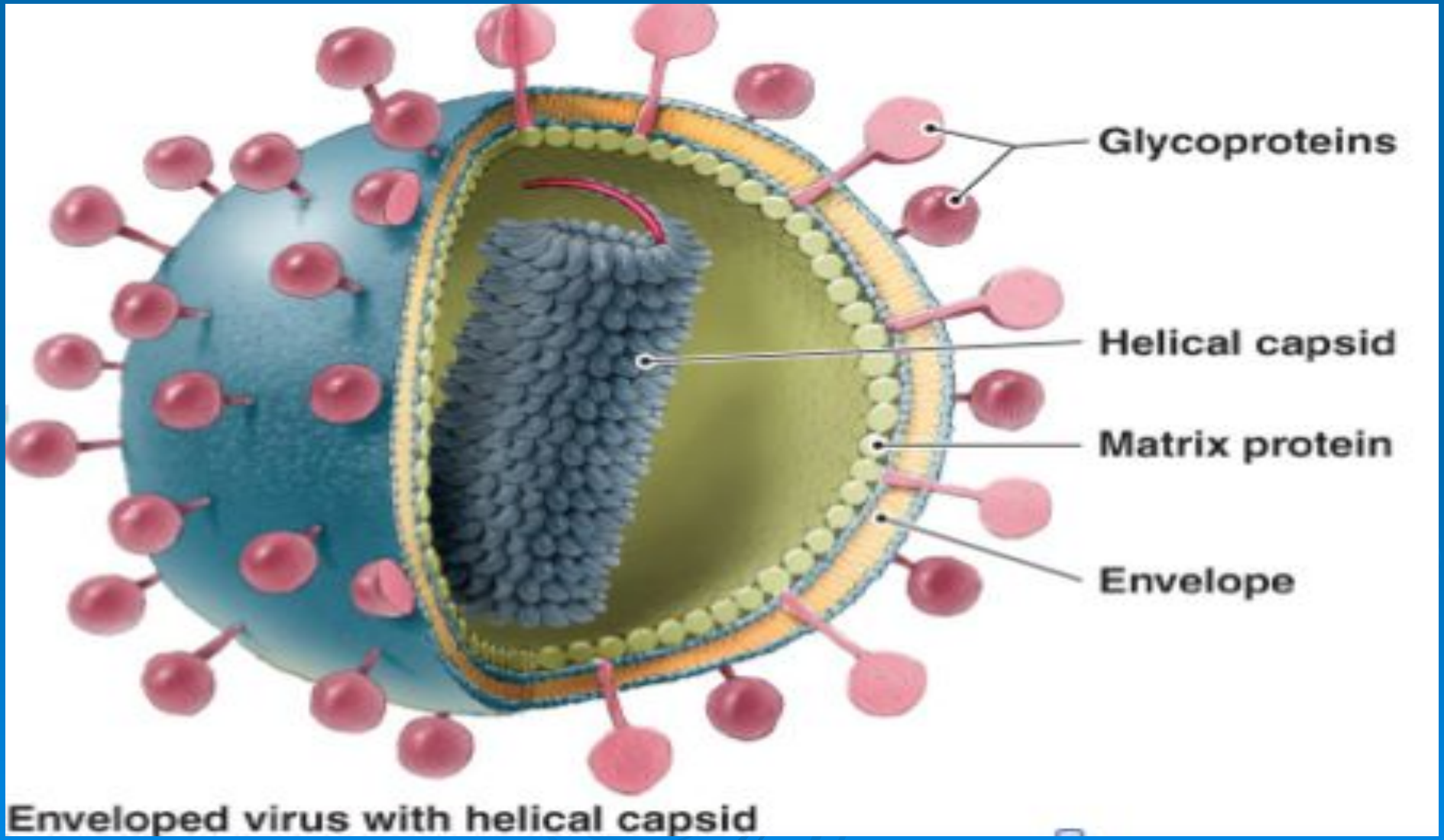
- В состав капсида могут входить ***неструктурные белки*** - ферменты, необходимые для репликации вируса в клетке

Оболочка (суперкапсид) структура

- 1. Двойной фосфолипидный слой, являющейся производным ядерной или цитоплазматической мембраны клетки
- 2. Вируспецифические белки в гликозилированной форме, которые погружены в фосфолипидный слой (пепломеры, «шипы»)


гликопротеины
нуклеиновая кислота
капсид
суперкапсид

Сложноорганизованный вирион



Функции гликопротеидов

- 1. белки прикрепления к клеточным рецепторам
- 2. ферментативная активность (лецитиназа, нейраминидаза) принимают участие в процессе слияния мембран
- 3. антигены
- 4. гемагглютинины

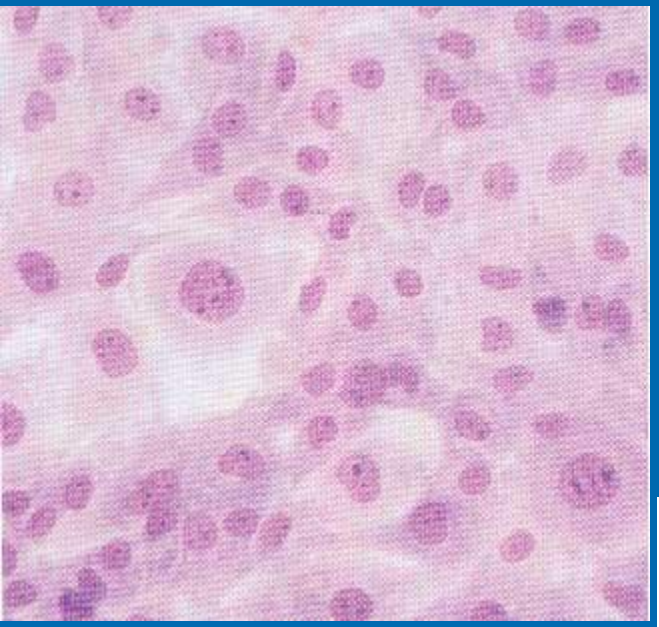
Резистентность вирусов

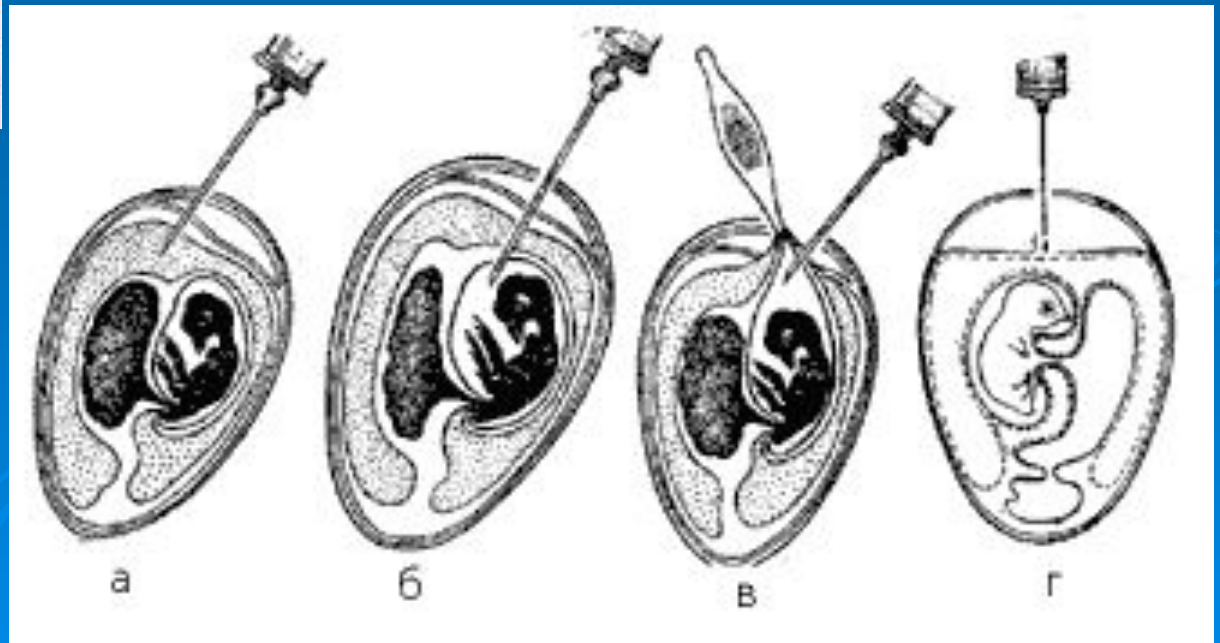
- Степень устойчивости вирусов к факторам окружающей среды зависит от типа вирионов
- Наименее устойчивы сложноорганизованные вирусы
- Наиболее устойчивы простоорганизованные вирусы с икосаэдрическим капсидом

Резистентность вирусов

- 1. Хорошо переносят низкие температуры. Сохраняются в замороженном состоянии
- 2. Большинство вирусов чувствительны к нагреванию уже до 50-60С
- 3. Оболочечные вирусы чувствительны к детергентам, эфиру, хлороформу которые нарушают целостность оболочки, в результате чего вирус теряет инфекционность

Культивирование вирусов





Классификация вирусов

- Вирусы классифицируются в соответстствии строения их генома и структурой вириона
- Царство Vira
- Семейство viridae *Hepadnaviridae*
- Род virus *Orthohepadnavirus*
- *Вид HBV (ВГВ)*

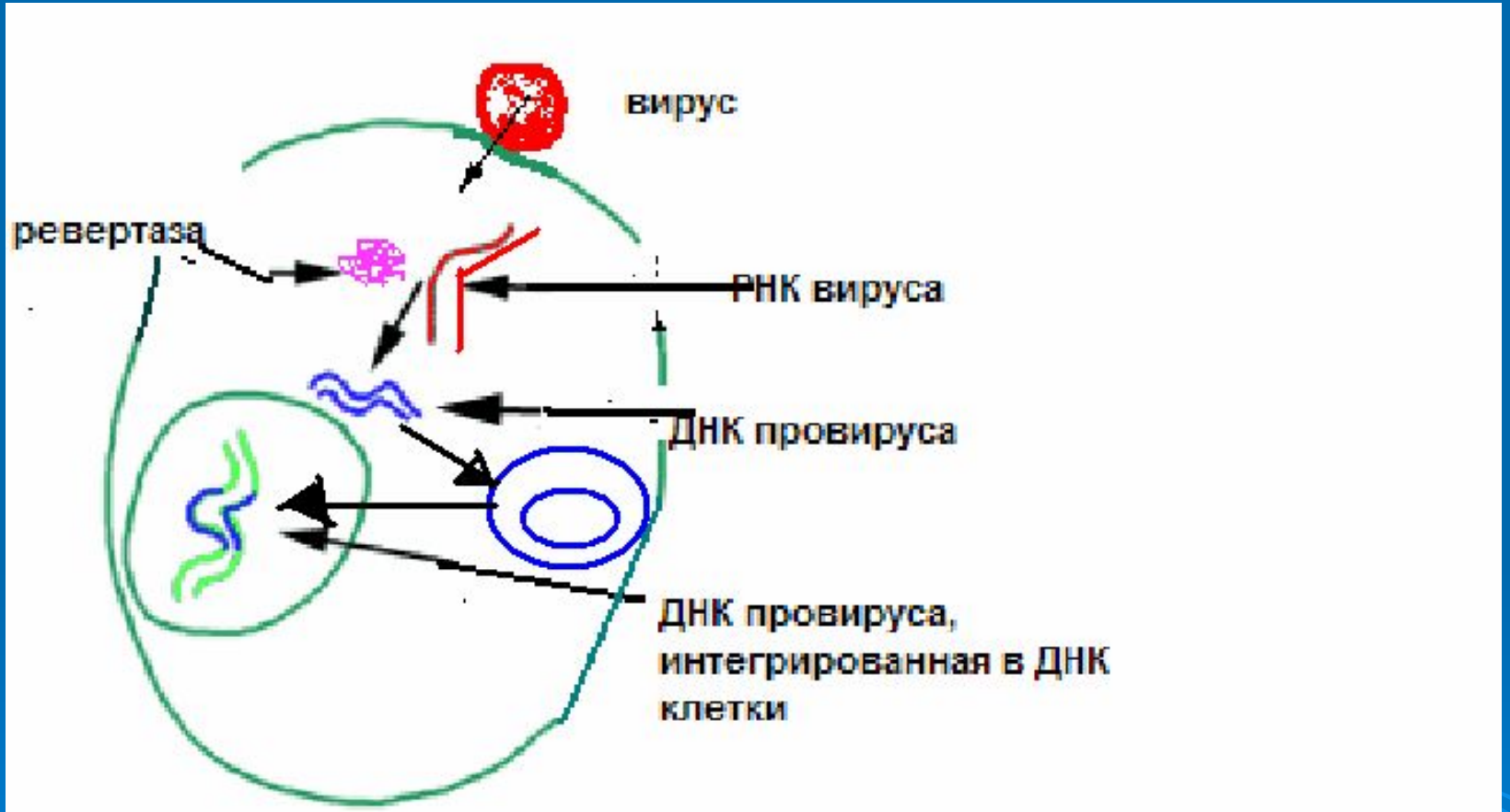
Взаимодействие вируса и клетки

- 1. Интегративная инфекция
- 2. Продуктивная инфекция
- 3. Абортивная инфекция

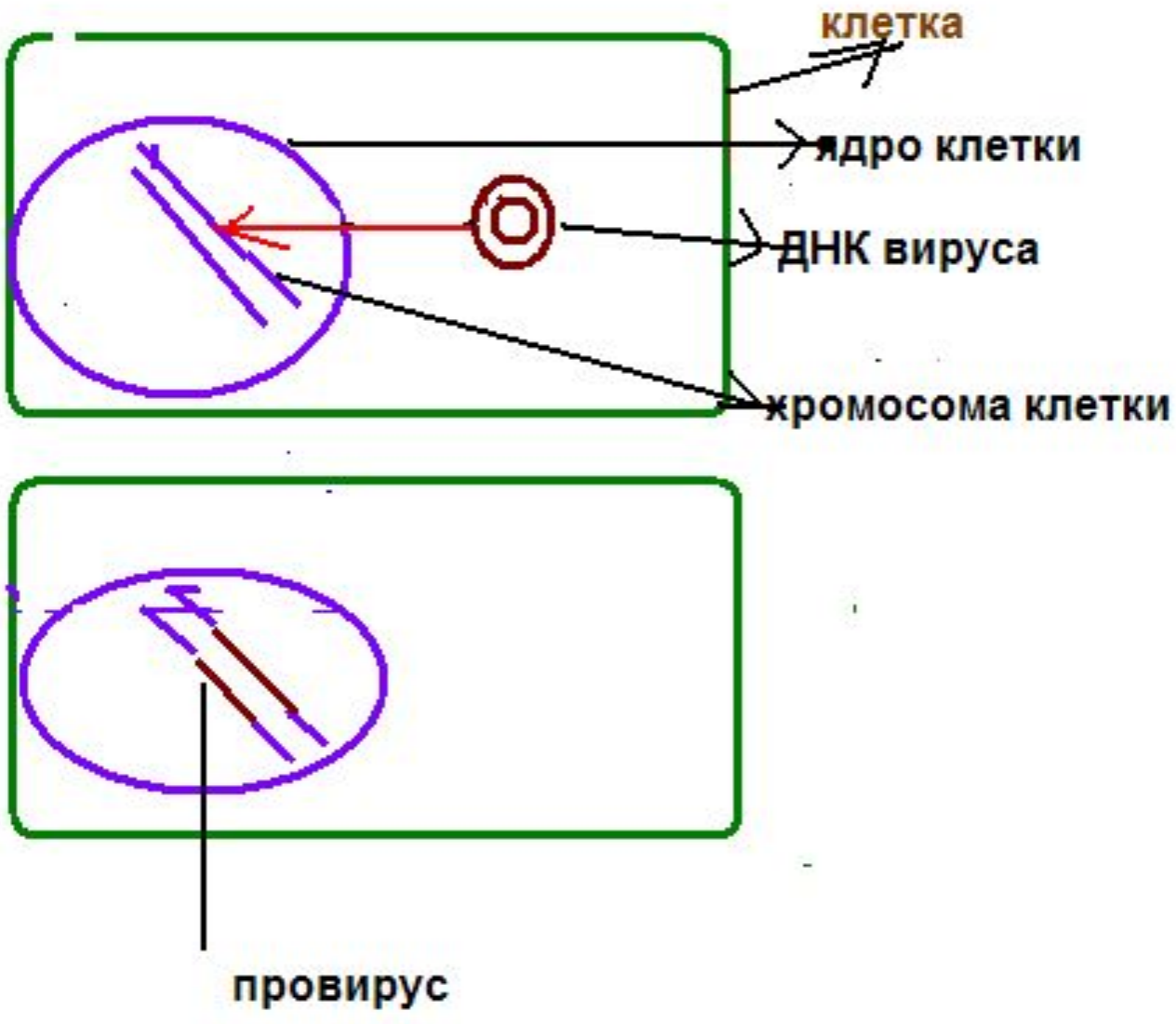
Интегративная инфекция

- 1. Вирусы , обладающие двуцепочечной ДНК кольцевой формы (*Papillomaviridae*, *Polyomaviridae)*
- *2.* Вирусы, обладающие двуцепочечной ДНК с укороченной одной цепью Hepadnaviridae
- *3. Вирусы, обладающие d+ РНК Retroviridae*

Интегративная инфекция



Интегративная инфекция



Интегративная инфекция

- 1. Вирус переходит в состояние провируса
- 2. Новое поколение вирионов не формируется
- 3. Происходит экспрессия определенных вирусных генов
- 4. Происходит трансформация клетки

Продуктивная инфекция

- 1. Прикрепление и пенетрация
- 2. Раздевание
- 3. Реализация вирусного генома:
  - а. образование иРНК
  - б. синтез ранних белков
  - в. Репликация вирусных н.к.
  - г. синтез поздних белков
- 4. Сборка вирионов
- 5. Выход вирионов из клетки

Продуктивная инфекция

- Проникновение вируса в клетку является энергозависимым процессом, поэтому вирусы проникают только в метаболически активные клетки
-

Продуктивная инфекция

- ПРОНИКНОВЕНИЕ:
- 1. Эндоцитоз с образованием внутриклеточной вакуоли
- 2. Слияние липидной оболочки вируса с цитоплазматической мембраной
- 3. Перемещение всей вирусной частицы через цитоплазматическую мембрану клетки

Продуктивная инфекция

- Раздевание вируса (декапсидация):
- 1. Удаление вирусного капсида
- 2. Освобождение вирусного генома
- Происходит непосредственно в цитоплазме клетки или в эндолизосоме
- У ДНК-содержащих вирусов полная декапсидация происходит у ядерной мембраны, ДНК с оставшимися неструктурными белками перемещается в ядро

Продуктивная инфекция

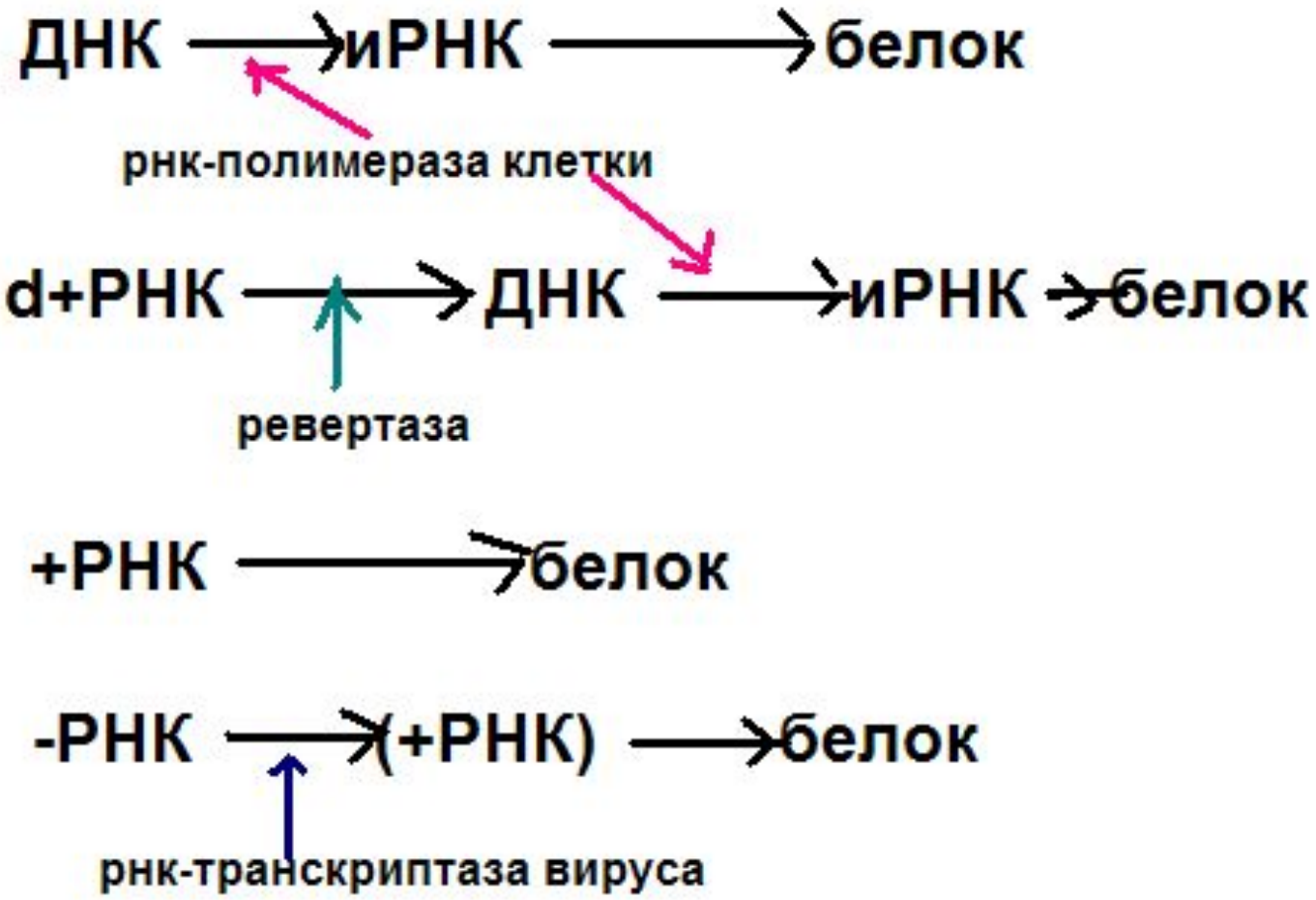
- После проникновения в клетку вирусу необходимо:
- 1. синтезировать иРНК, которые смогут транслироваться с образованием вирусспецифических белков с использованием аппарата трансляции клетки-хозяина
- 2. обеспечить репликацию вирусного генома

Продуктивная инфекция

- 3. Обеспечить упаковку вирусного генома в вирион и выход из клетки дочерних вирусных частиц
- 4. оказать влияние на структуру и функцию клетки - хозяина

Стратегия репликации ДНК-содержащих вирусов

- ДНК - содержащие вирусы (за исключением вируса натуральной оспы) размножаются в ядре, используя клеточный аппарат репликации ДНК, транскрипции иРНК


ДНК
иРНК
белок
рнк-полимераза клетки
d+РНК
ДНК
иРНК
белок
ревертаза
+РНК
белок
-РНК
(+РНК)
белок
рнк-транскриптаза вируса

Двуцепочечная ДНК (ds)

- ДНК → иРНК → белок
- *ДНК-зависимая РНК полимераза*

Двуцепочечная ДНК (ds)

- Образовавшиеся иРНК транспортируется в цитоплазму и транслируется с образованием ранних и вирусных белков
- Ранние вирусные белки обеспечивают репликацию вирусного генома
- После репликации вирусной ДНК происходит образование поздних транскриптов и синтез структурных белков

Одноцепочечная ДНК (ss)

- 1. ДНК(+) → ДНК(-)
- *Синтез комплементарной нити*
- *2. ДНК(-) → иРНК → белок*
- *ДНК-зависимая РНК полимераза*
- *Матрица для синтеза геномной ДНК*

Однонитевые ДНК

- Репликация происходит в ядре
- Вначале происходит синтез комплементарной нити ДНК и образование двунитевой комплементарной формы, которая используется как матрица для транскрипции и для синтеза однонитевой ДНК

РНК-содержащие вирусы

- Не используют аппарат клетки для репликации генома
- В состав вириона входят их собственные РНК-зависимая РНК полимераза (РНК-транскриптаза) или РНК-зависимая ДНК-полимераза (ревертаза)

РНК (+)

- РНК(+) → белок
- *РНК-зависимая РНК полимераза*
- РНК(-)
- *Репликативная форма +/- РНК*
- РНК(+)

РНК(-)

- РНК(-) → РНК(+) → белок
- *вирусная РНК транскриптаза*
- *(матрица для образования*
- *дочерних геномных РНК(-))*
- *Вирусы с сегментированным геномом реплицируются в ядре. РНК(+) образуются при транскрипции каждого сегмента генома*

Двуцепочечные РНК (ds)

- Двуцепочечная РНК (ds) не может функционировать как иРНК, поэтому нуждается в упаковке в вирион РНК транскриптазы.
- Все эти вирусы имеют сегментированный геном, каждый сегмент которого транскрибируется отдельно. В качестве матрицы для транскрипции используется «-» нить РНК

Двуцепочечные РНК (ds)

- (ds) РНК → иРНК → белок
- *РНК транскриптаза вируса*

- *Эти вирусы (Reoviridae) имеют сегментированный геном, каждый сегмент которого транскрибируется отдельно*
- *В качестве матрицы для транскрипции используется (-) нить геномной РНК*

d+(диплоидные)РНК

- 1. РНК(+) → ДНК
- ***ревертаза***
- ДНК встраивается в геном → провирус

- *2. ДНК → иРНК → белок*
- *ДНК-зависимая РНК полимераза*

Ретроидные вирусы ДНК +/-
(ДНК-полимераза с ревертазной активностью)

- ДНК(-) → прегеномная РНК +
- субгеномные РНК
- *ДНК-зависимая РНК полимераза клетки*
- прегеномная РНК → ДНК(-)
- *ревертаза*
- ДНК(-) → ДНК(+)
- ***ДНК -полимераза***
- Прегеномная + субгеномная РНК → белок

Сборка вирионов

- Участок сборки вириона зависит от места репликации вирусного генома и способа выхода из клетки
- Вирусы, покрытые липидной оболочкой, собираются на определенных участках цитоплазматической мембраны, в которую предварительно встраиваются вирусные белки

Выход вируса из клетки

- Простоорганизованные вирусы выходят из клетки путем лизиса
- Вирусы, покрытые липидной оболочкой, покидают клетку путем почкования. При этом клетка может погибнуть (вирусы кори, бешенства), но может и не гибнуть

ЦПД в культуре клеток

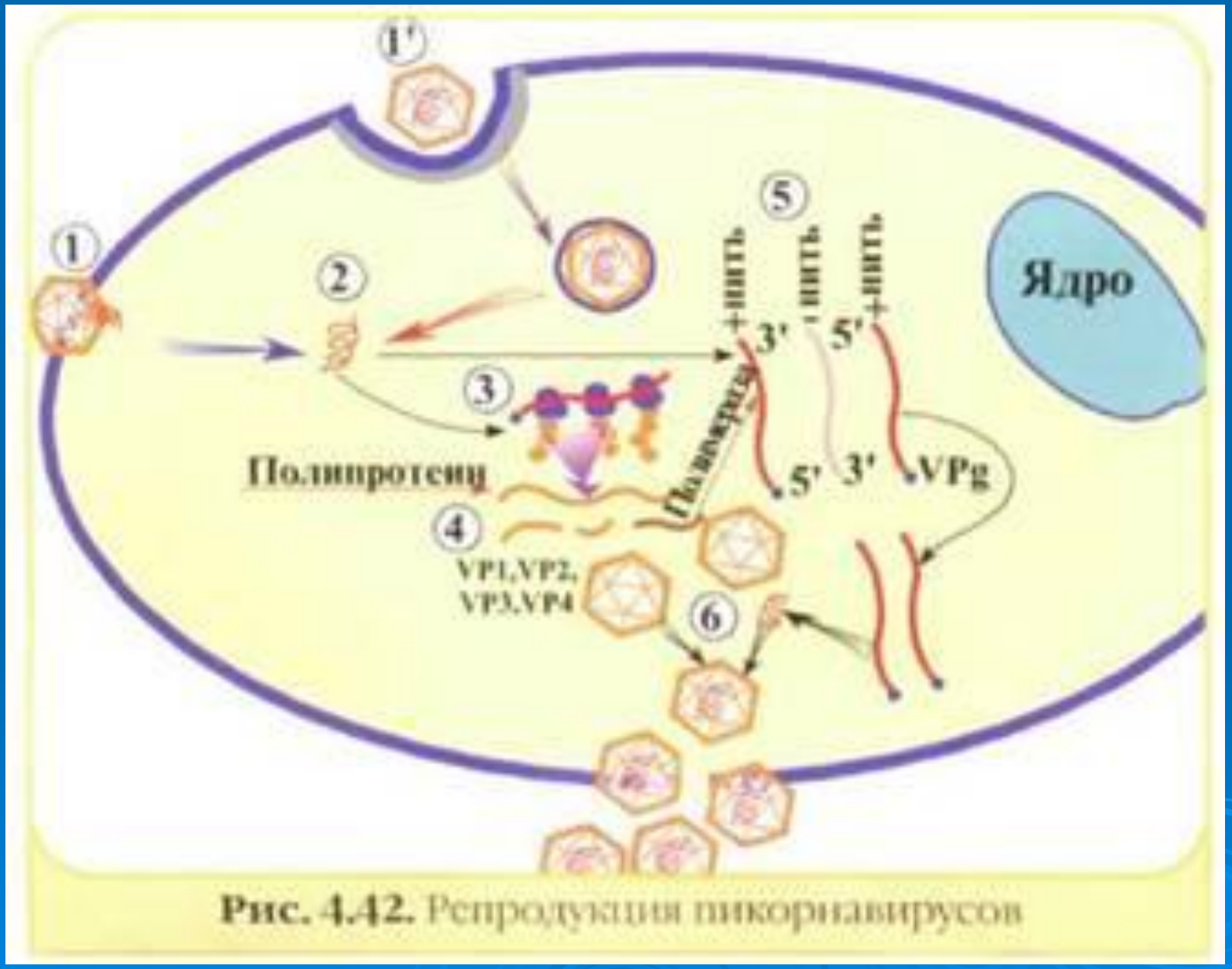
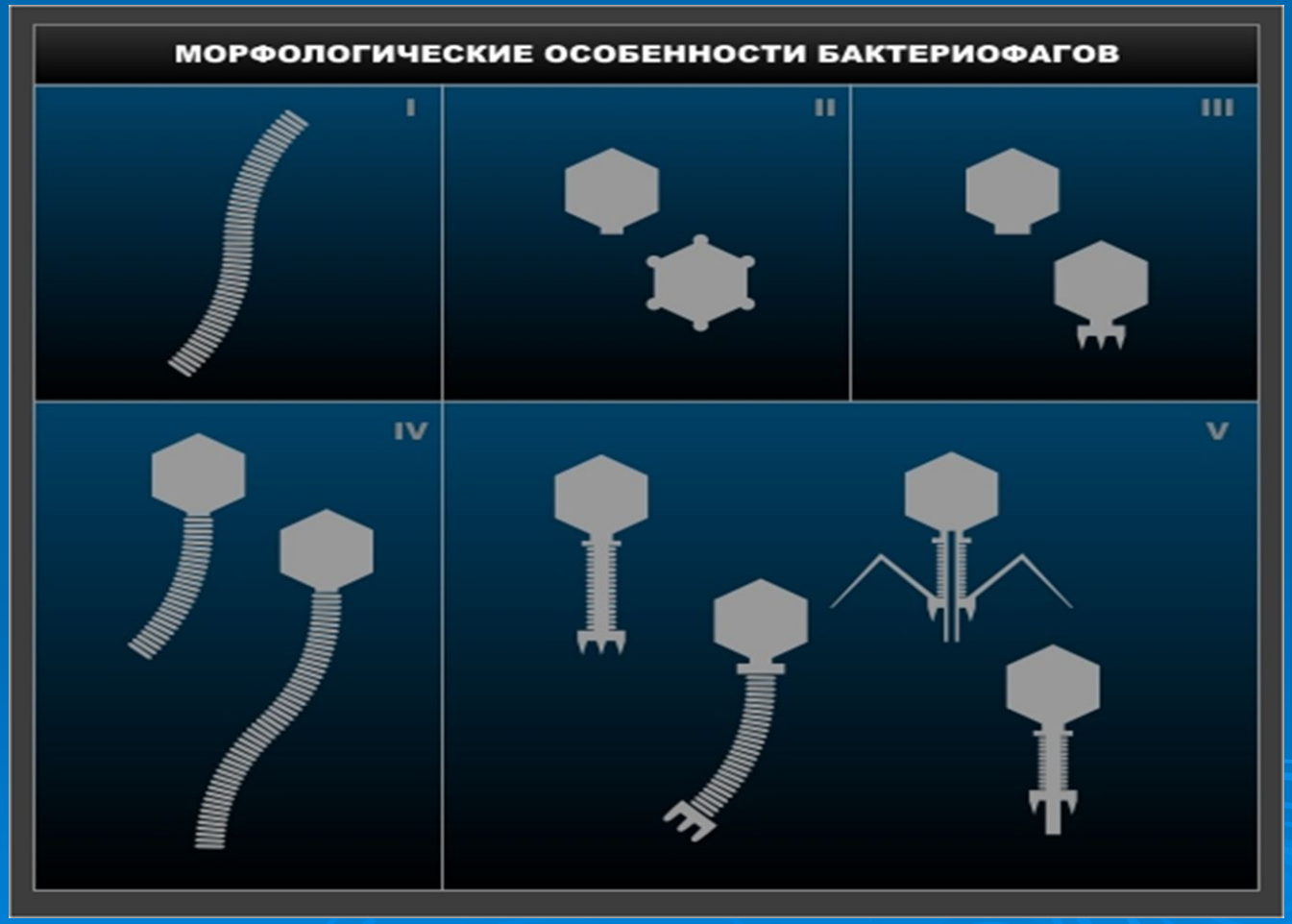
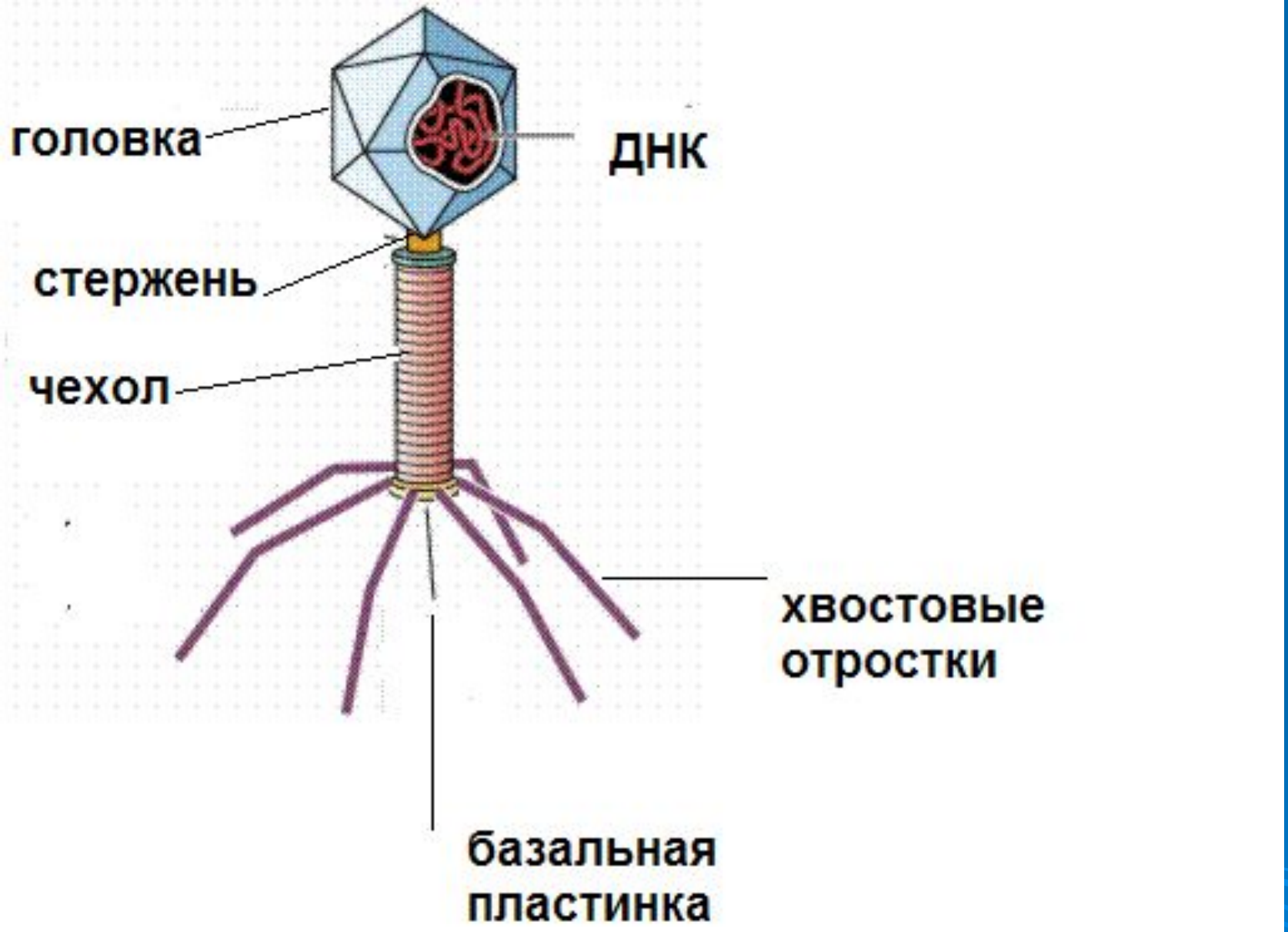


Рис. 4.42. Репродукция пикорнавирусов

Бактериофаги



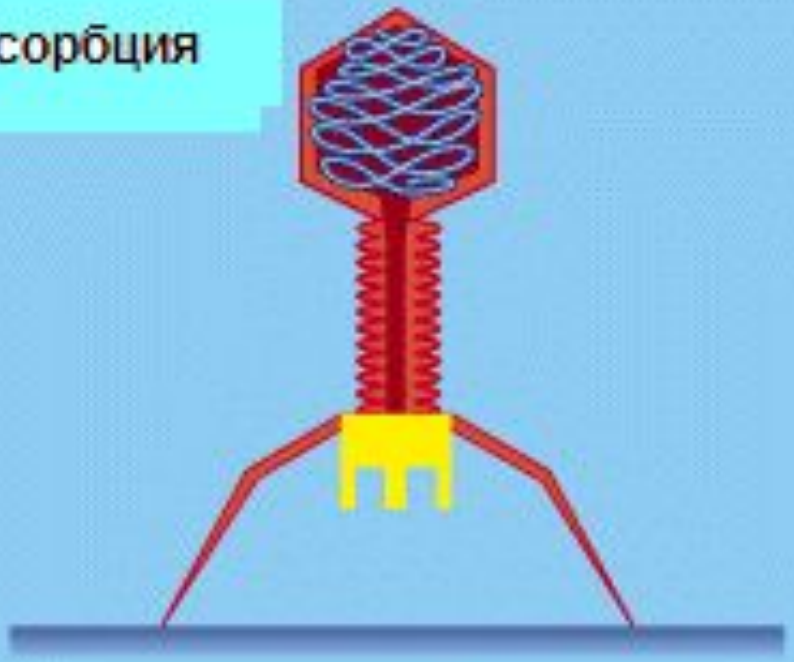

головка
ДНК
стержень
чехол
хвостовые отростки
базальная пластинка

Бактериофаги

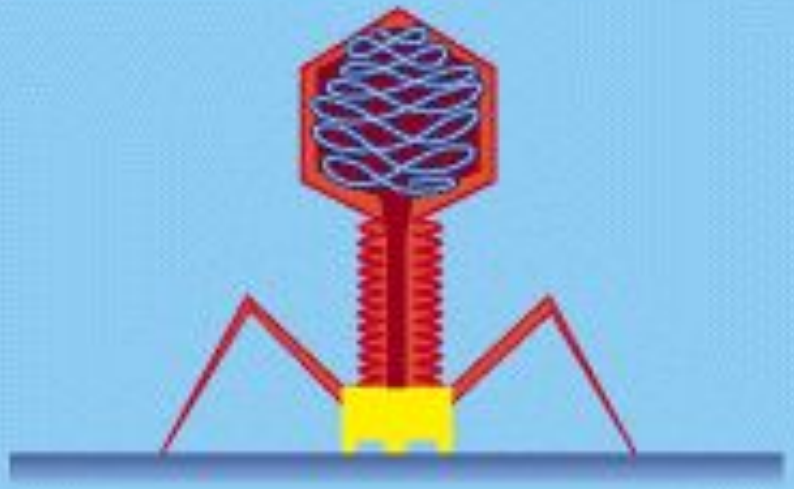
Проникновение в клетку

- ***Хвост фага*** с помощью ферментов, находящихся на его конце (в основном ***лизоцима***), локально ***растворяет оболочку клетки***, сокращается и содержащаяся в головке ДНК *инъецируется в клетку*, при этом белковая оболочка бактериофага остается снаружи.
- *У нитевидных фагов в клетку проникает весь фаг*. Белок остается на ЦПМ

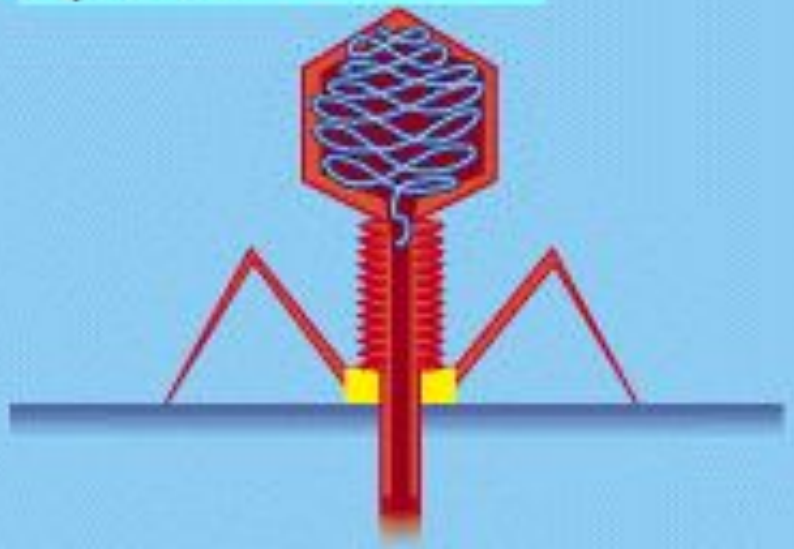
адсорбция



прикрепление



сокращение отростка

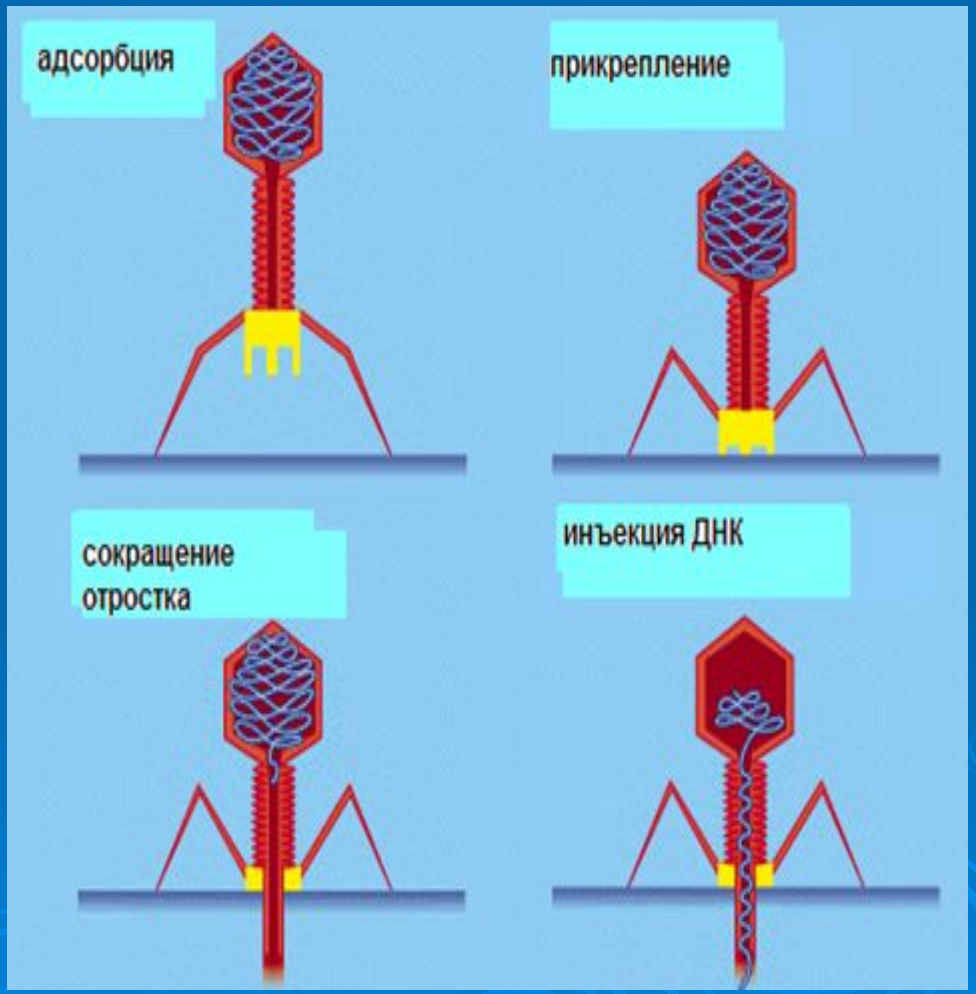


инъекция ДНК

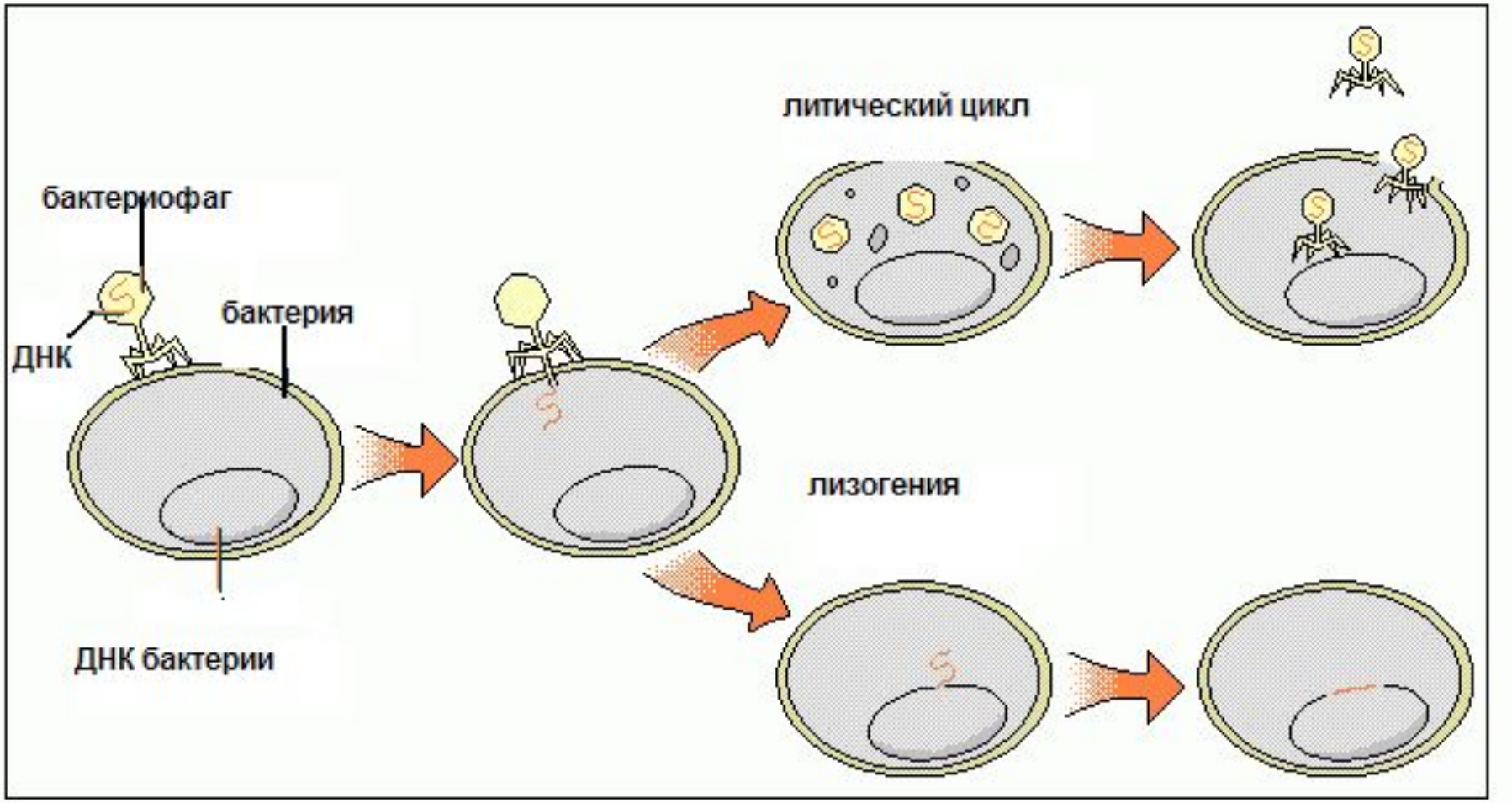
Бактериофаги

Проникновение в клетку

- ***Хвост фага*** с помощью ферментов, находящихся на его конце (в основном ***лизоцима***), локально ***растворяет оболочку клетки***, сокращается и содержащаяся в головке ДНК *инъецируется в клетку*, при этом белковая оболочка бактериофага остается снаружи.
- *У нитевидных фагов в клетку проникает весь фаг*. Белок остается на ЦПМ

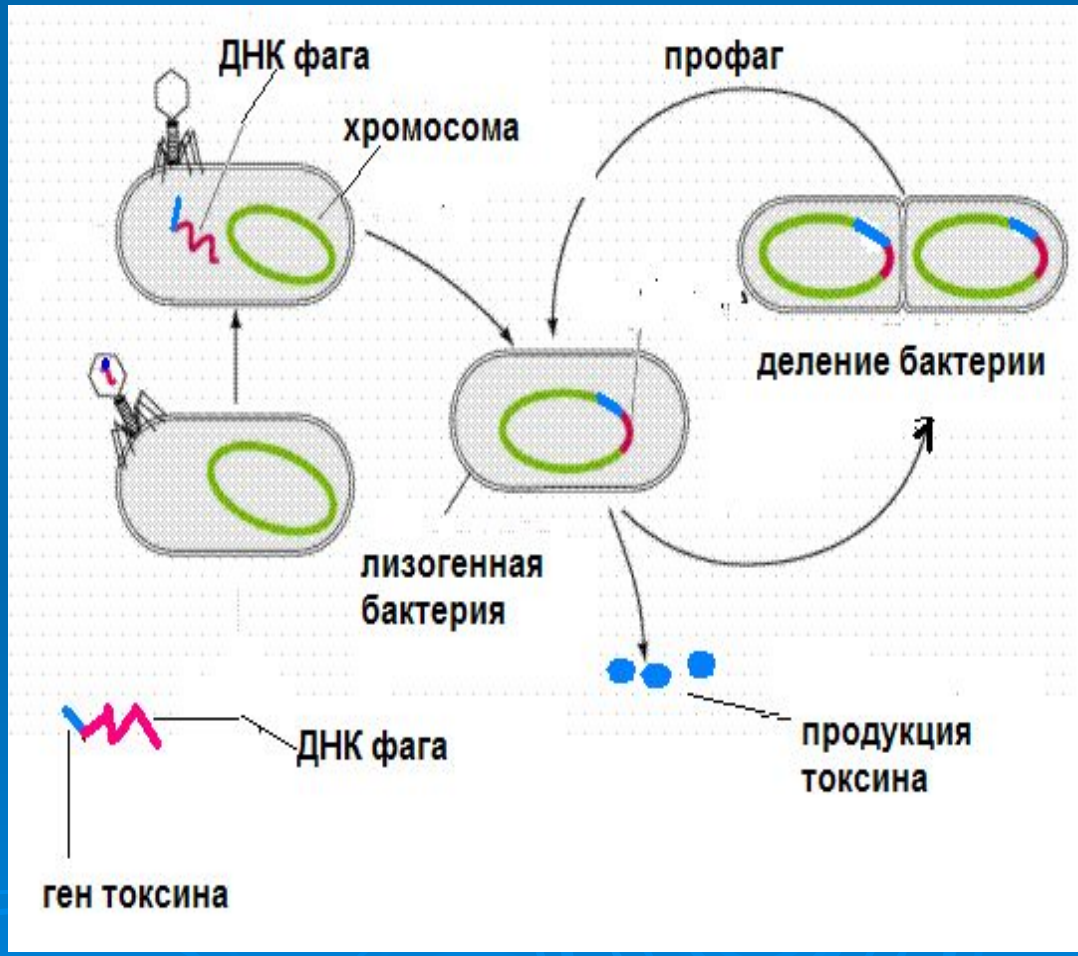


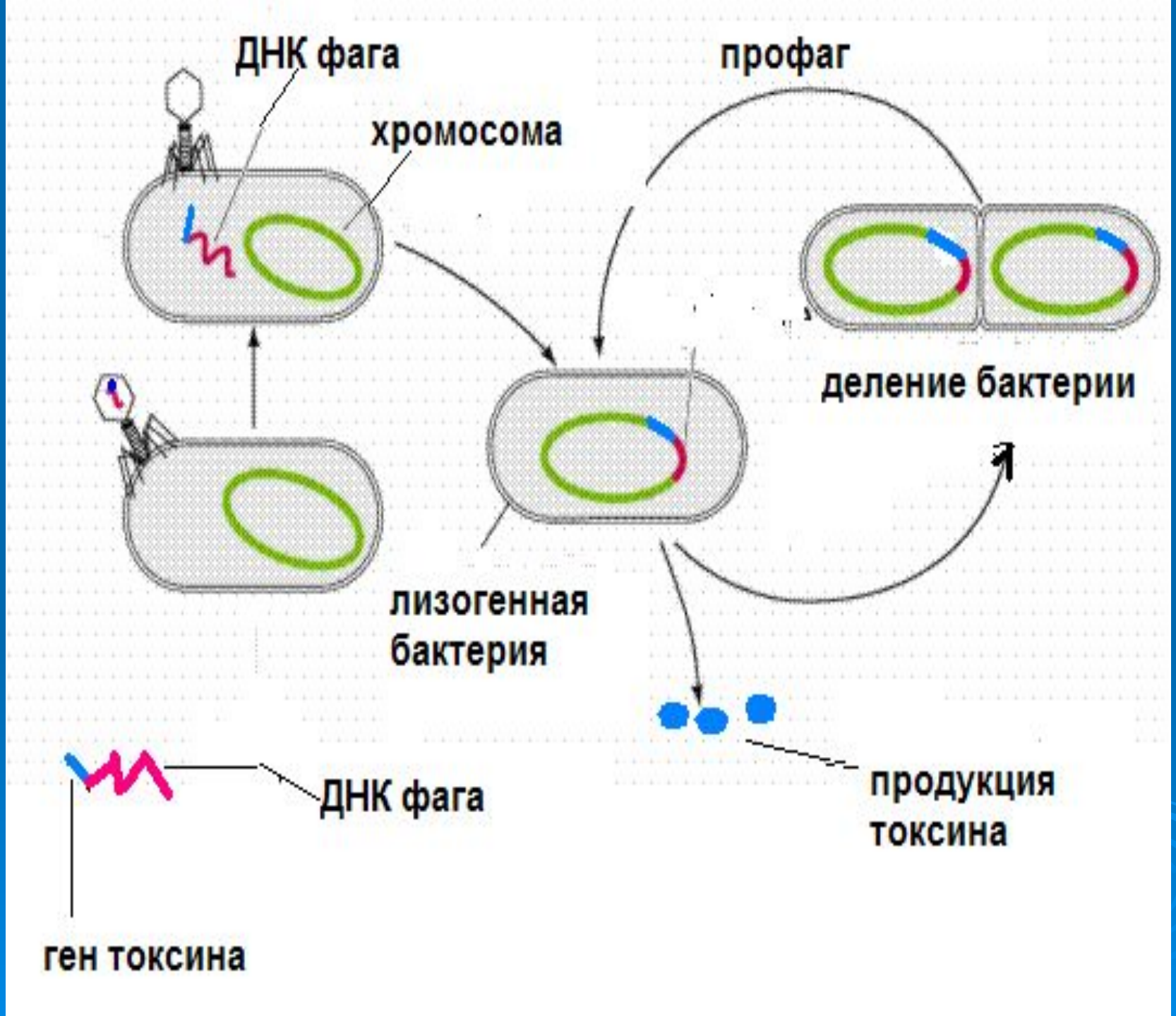
Взаимодействие фага и бактерии



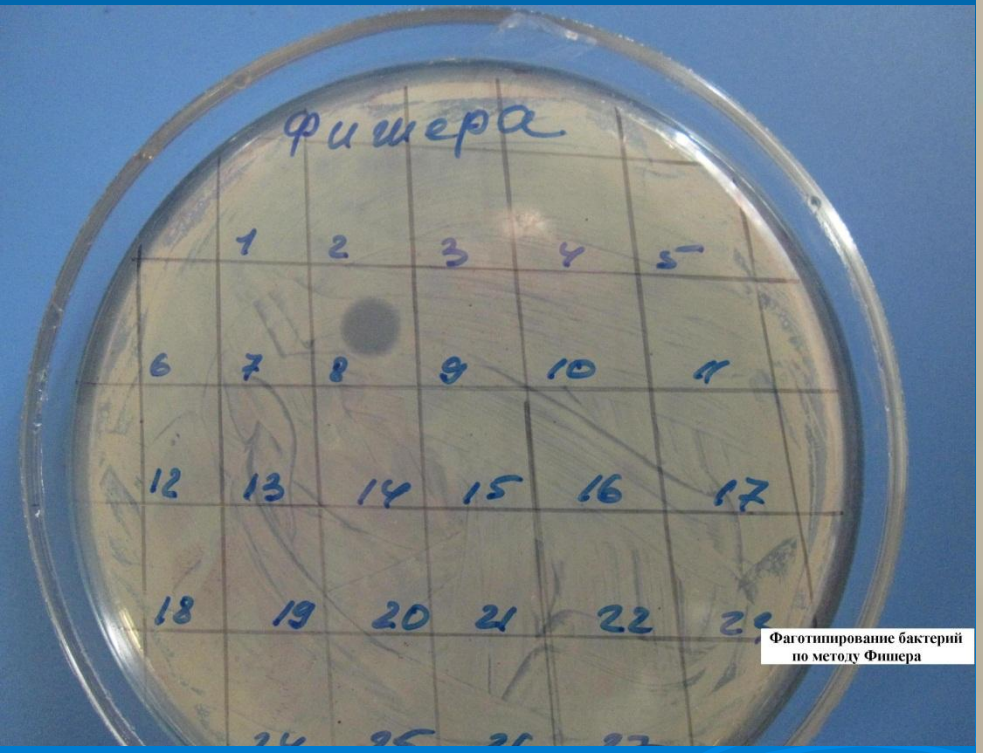
Фаговая конверсия

- Приобретение бактериями новых свойств в результате инфекции умеренным фагом



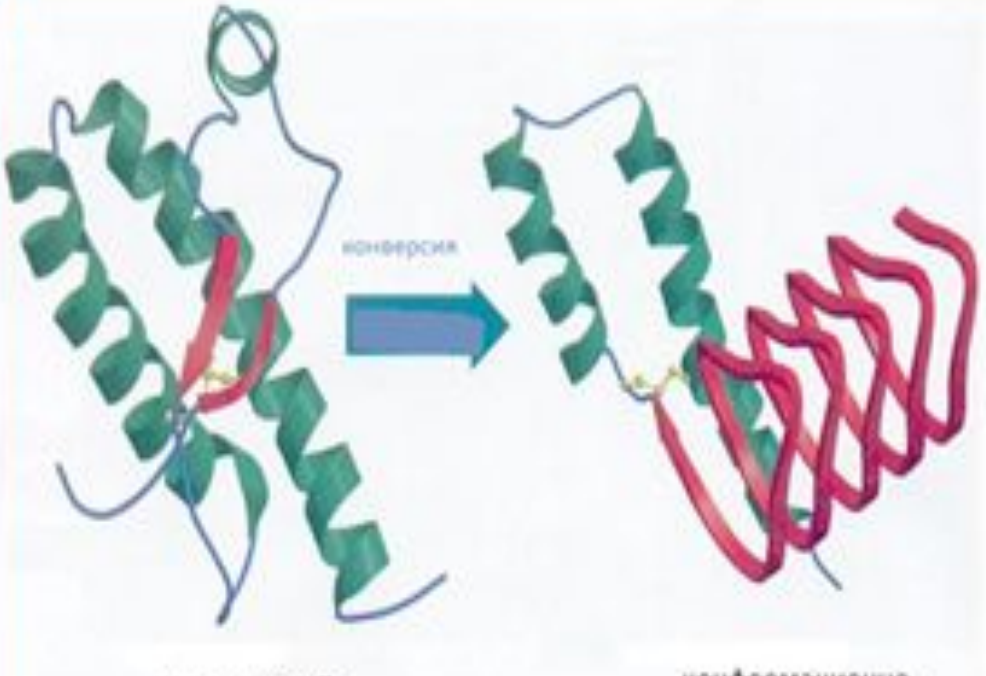

ДНК фага
хромосома
профаг
деление бактерии
лизогенная бактерия
ДНК фага
продукция токсина
ген токсина

Применение бактериофагов



Фаготипирование бактерий по методу Фишера

ПРИОНЫ



нормальный прион

конформационно измененный инфекционный прион