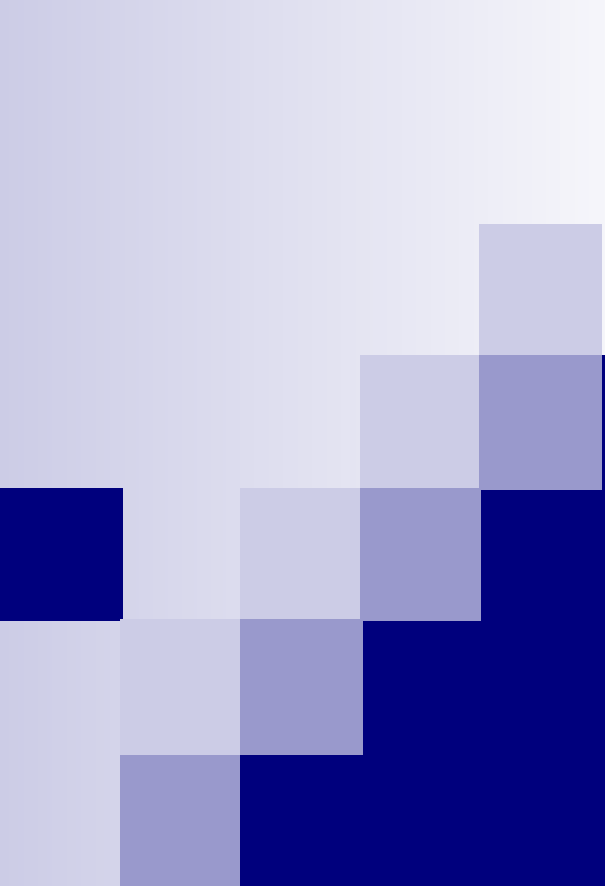




Классификация, морфология и биология вирусов

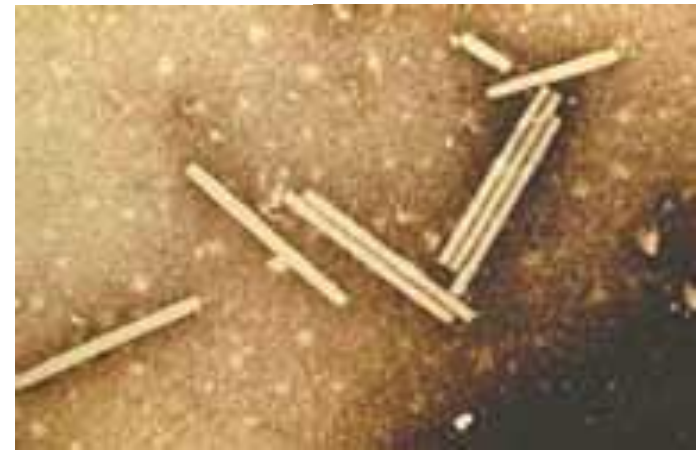
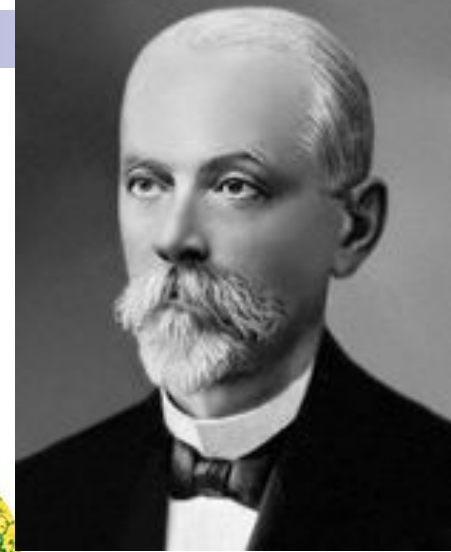
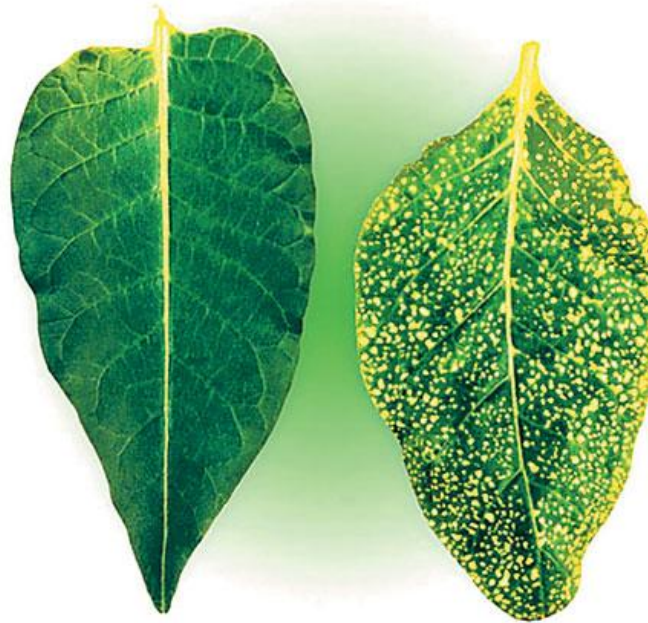
ОТКРЫТИЕ ВИРУСОВ

- 80-е годы XIX века: **Луи Пастер** – термин **вирус** (от лат. virus – яд).
- 12 февраля 1892 г. **Д.И. Ивановский** – вирус «табачной мозаики».
- В 1898 **Мартин Бейеринк** установил, что этот агент размножается в больных растениях, и предположил принципиальное отличие его от бактерий.
- 1898 – **Фредерик Лёффлер и Пауль Фрош** выделили первый вирус животных – **вирус ящура**.
- В 1901 **Вальтер Рид** открыл первый вирус, поражающий человека – **вирус жёлтой лихорадки**.



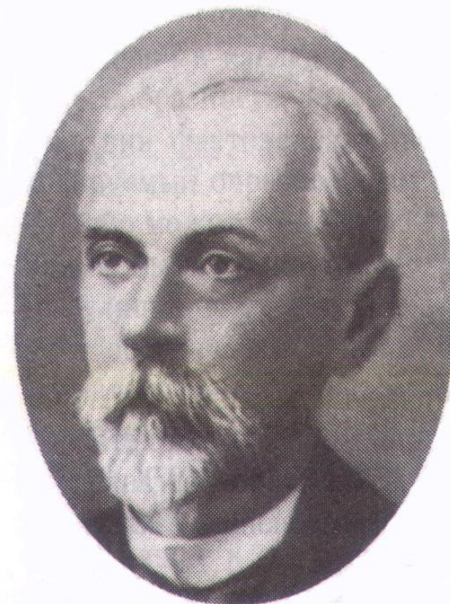
Открытие вирусов

- 1892 – **Дмитрий Иосифович Ивановский** выделил возбудитель мозаичной болезни табака (фильтрующийся агент).



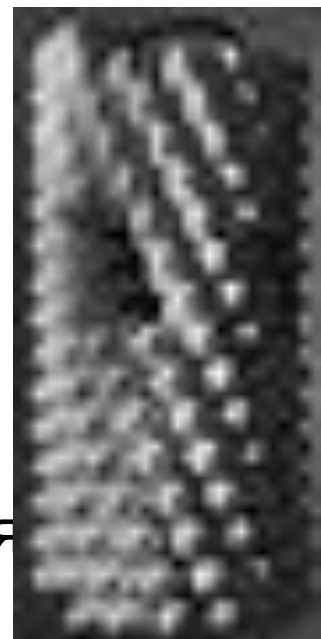
ПРИОРИТЕТ

- **Дмитрий Иосифович Ивановский**: 1892 — открыл «фильтрующийся вирус», но не опубликовал результатов исследований).
- **Мартинус Виллем Бейеринк** (голландский микробиолог и ботаник): 1898г. — повторил эксперименты Д.И. Ивановского и опубликовал их, считал, что вирус является жидкостью. *«Я подтверждаю, что, как я теперь вижу, приоритет опыта с фильтрованием через свечу принадлежит господину Д.И. Ивановскому».*



ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ВИРУСОЛОГИИ

- До **1930** методы изучения вирусов основывались на фильтруемости и заражении различных чувствительных организмов (животных, растений, бактерий).
- В **1930-50-е** гг.: использование лабораторных мышей и куриных эмбрионов для культивирования вирусов; электронная микроскопия; количественные методы изучения вирусов. Вирусология – самостоятельная наука.
- В **1950-80-е** гг.: культуры клеток (Дж. Эндерс с сотрудниками), методы молекулярной биологии, рентгеноструктурный анализ.
- **После 1980:** методы генетической инженерии и иммунохимии, компьютерный анализ.



Достижения вирусологии

- Роль нуклеиновых кислот в наследственности (А. Д. Херши и М. Чейз, 1952; А. Гирер и Г. Шрамм, 1956).
- В 1970 Х. М. Темин и Д. Балтимор – обратная транскрипция (ретровирусы).
- Роль вирусов в возникновении опухолей у животных (Ф. Раус, 1911, **Нобелевская премия 1966 г.**) и человека (Х. цур Хаузен, 1980-е гг.).
- В 1961 Л. А. Зильбер – вирусогенетическая теория рака. Были описаны онкогены (Г. Мартин, 1970; Д. Стелен; Х. Вармус и Дж. М. Бишоп, 1976, **Нобелевская премия, 1989**).
- Выявлена возможность объединения (интеграции) вирусного и клеточного генома (А. М. Львов, 1950-е гг., **Нобелевская премия, 1965**; Р. Дульбекко, 1966).
- Создание первой гибридной (рекомбинантной) ДНК, ознаменовавшее рождение генетической инженерии (П. Берг, 1972).
- Открытие прионов (Д. К. Гайдучек, 1950-60-е гг., **Нобелевская премия, 1976**; С. Прузинер, 1980-90-е гг. **Нобелевская премия, 1997**).

Достижения вирусологии

- К началу XXI века описано 6 000 вирусов, изучена их структура, биология, химический состав и механизмы репродукции.
- Созданы вакцины против основных вирусных заболеваний (**полиомиелита, оспы**, бешенства, гепатита В, кори, жёлтой лихорадки, энцефалитов, гриппа, паротита, краснухи).
- Благодаря вакцинации полностью ликвидирована натуральная оспа. Осуществляются международные программы полной ликвидации полиомиелита и кори.



«... Сумеречная зона жизни,
на полпути между живым и
неживым, и есть зона вируса.

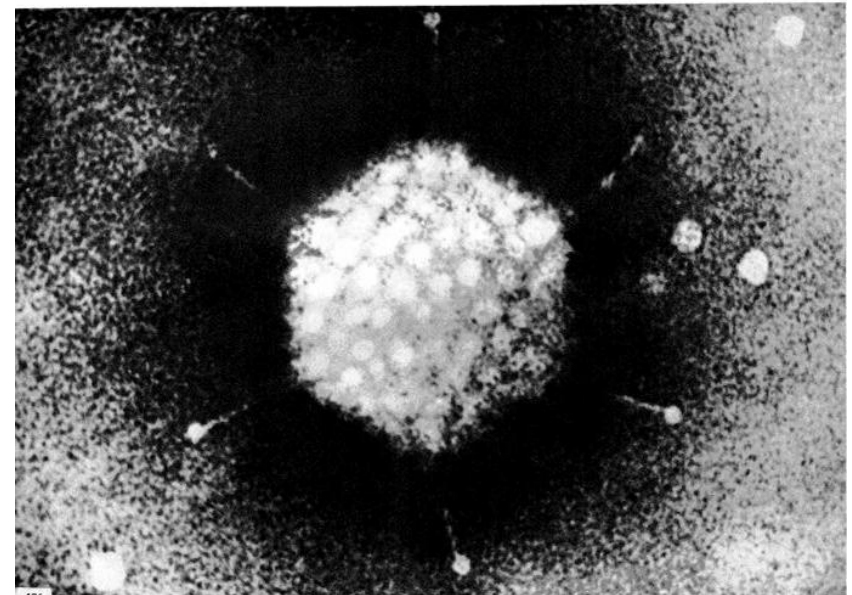
**Если бы вирус имел
возможность высказаться...
он бы, вероятно, предпочел,
чтобы его считали
молекулой, а не живым
организмом... Среди
организмов вирус – это
задержавшийся в своем
развитии карлик и паразит-
кровопийца; среди молекул –
это гигант, наделенный
замечательными
свойствами».**

У.Стенли



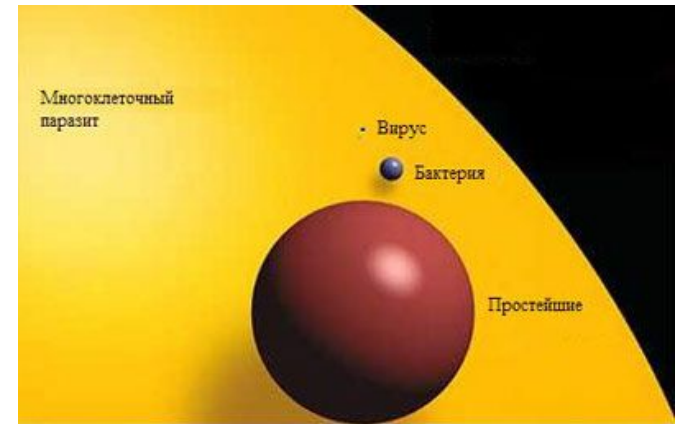
**Уэнделл
Мередит
Стэнли**

- **Вирус** – неклеточная форма жизни, обладающая геномом (РНК или ДНК), но лишенная собственного синтезирующего аппарата и поэтому способная к воспроизведению лишь в клетках более высоко-организованных существ.

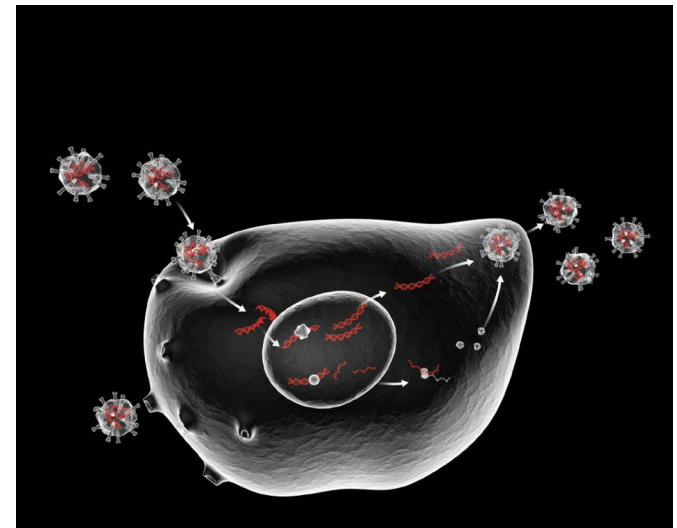


СВОЙСТВА ВИРУСОВ

- **Размеры вириона:** от 20–30 нм (пикорна-, парвовирусы) до 150–250 нм (герпес-, рабдовирусы) и даже 350–400 нм (поксвирусы).
- **Инфекционные нуклеопротеиды.**
- **Две формы существования:** **внеклеточная** (покоящаяся) и **внутриклеточная** (репродуцирующаяся, вегетативная). Внеклеточная форма – вирусная частица или **вирион**.

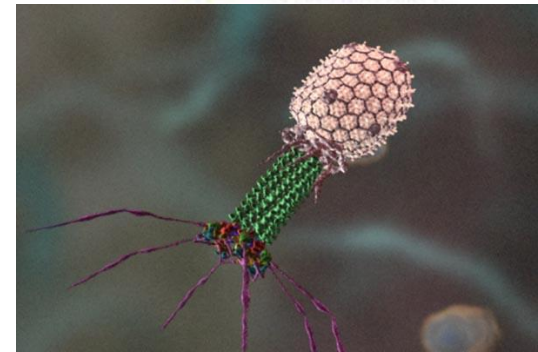
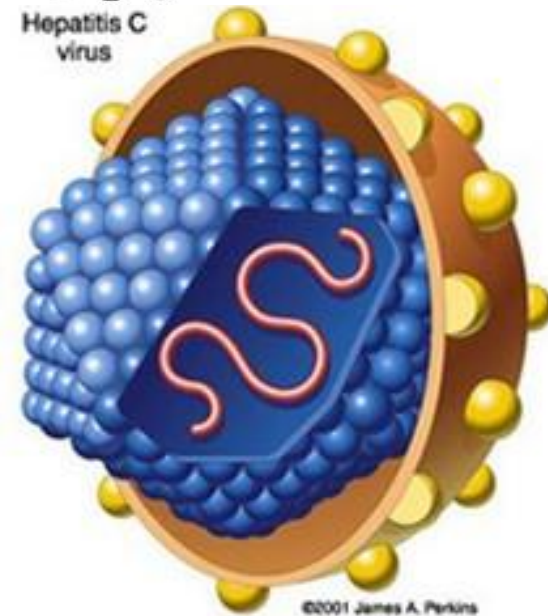
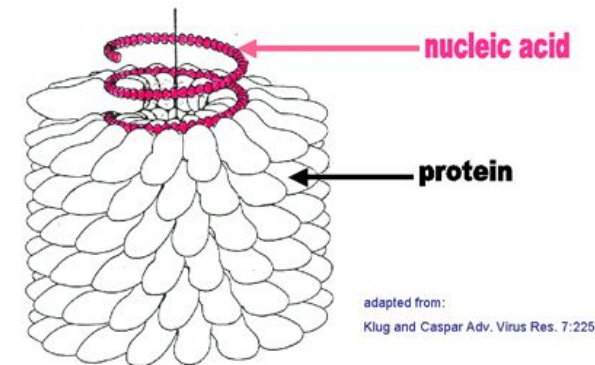


Диаграмма, характеризующая сравнительные размеры микроорганизмов

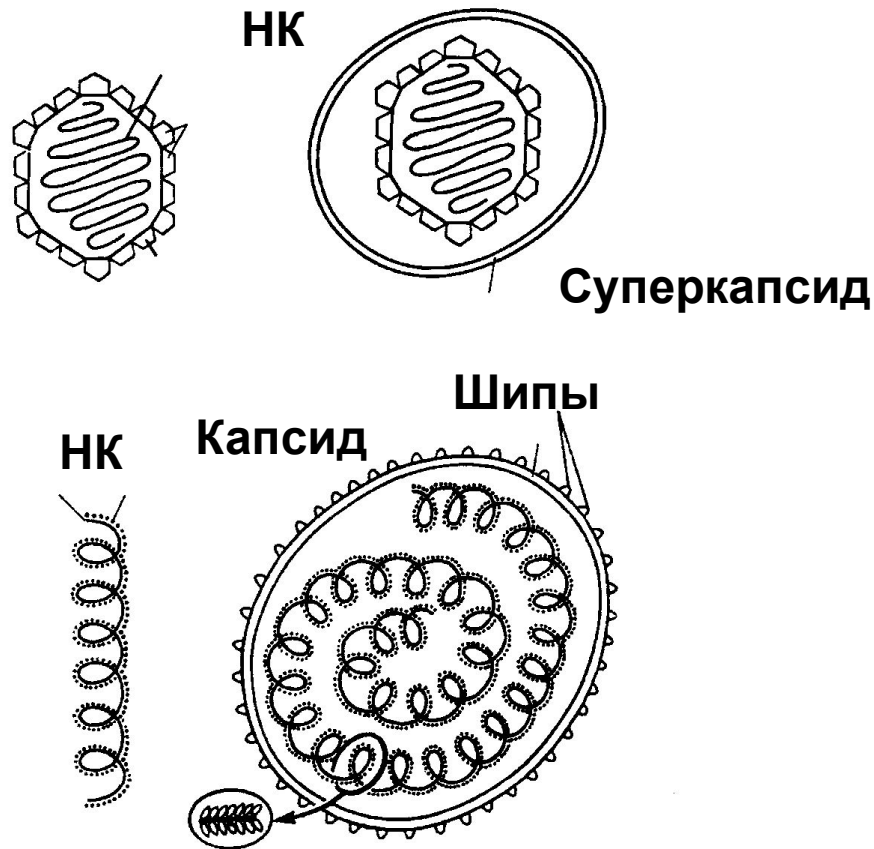


СТРОЕНИЕ ВИРИОНА

- Белковая оболочка – **капсид** (от греч. *capsa* – футляр).
Нуклеокапсид, капсомеры.
- Типы симметрии:
 - **спиральная симметрия;**
 - **кубическая** или **икосаэдрическая симметрия;**
 - **смешенная симметрия** (бактериофаги).
- Сложные вирусы – **суперкапсид** или **пеплос** (от греч. *накидка*).
Пепломеры – шипы.



СТРОЕНИЕ ВИРИОНА



- безоболочечный вирус с икосаэдрическим типом симметрии;
- оболочечный вирус с икосаэдрическим типом симметрии;
- безоболочечный вирус со спиральным типом симметрии;
- оболочечный вирус со спиральным типом симметрии.

КЛАССИФИКАЦИЯ И МОРФОЛОГИЯ ВИРУСОВ

ВИРУСЫ С ОБОЛОЧКОЙ

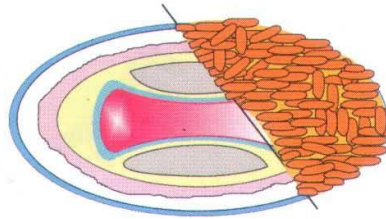
ДНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Herpesviridae



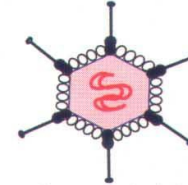
Гепаднавирidae



Poxviridae

ВИРУСЫ БЕЗ ОБОЛОЧКИ

ДНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Adenoviridae



Polyomaviridae
Papillomaviridae

ДНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ

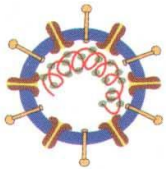


Parvoviridae

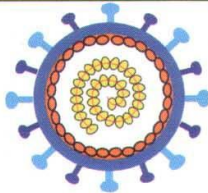


Circinoviridae

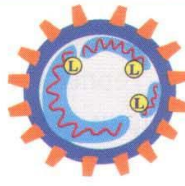
РНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



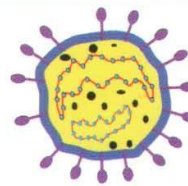
Coronaviridae



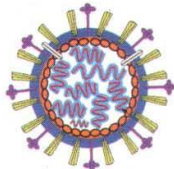
Paramyxoviridae



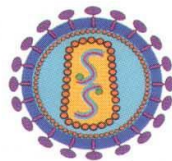
Bunyaviridae



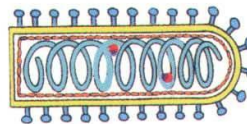
Arenaviridae



Orthomyxoviridae



Retroviridae



Rhabdoviridae



Togaviridae

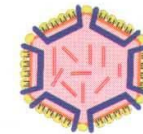


Flaviviridae



Filoviridae

РНК - ДВУНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Reoviridae

РНК - ОДНОНИТЕВЫЕ ВИРУСЫ



Picornaviridae



Caliciviridae

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРИОНА

■ ДНК вирусов:

НК

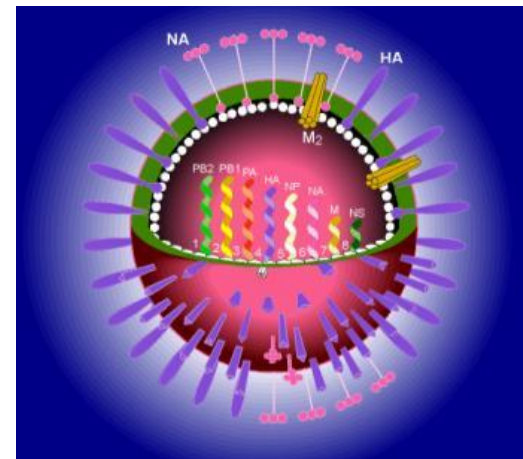
- одноцепочечная линейная ДНК (парвовирусы: «+» и «-» нити находится в разных вирионах, но транскрибируется только «-» нить);
 - одноцепочечная кольцевая ДНК (фаги);
 - двухцепочечная линейная ДНК (вирусы герпеса);
 - двухцепочечная кольцевая ДНК (вирусы гепатита В).
- ДНК большинства ДНК-вирусов инфекционна.



ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРИОНА

НК

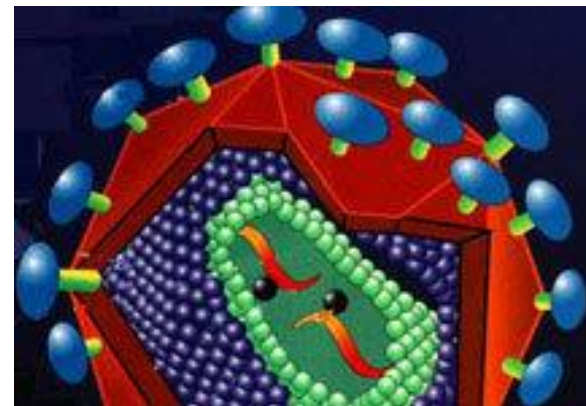
- **РНК вирусов** – одноцепочечные молекулы (исключая реовирусы, обладающие двуцепочечной РНК), могут быть сегментированные – от 2 сегментов у ареновирусов до 11 сегментов у ротавирусов.
- Вирусные РНК :
 - **плюс-нитевые РНК** (+РНК, позитивный геном) – обладают матричной активностью, инфекционны;
 - **минус-нитевые РНК** (–РНК, негативный геном) не обладают матричной активностью, неинфекционны. Вирион имеет в составе фермент РНК-зависимую РНК-полимеразу (транскриптазу).
- Транскриптазу имеют также вирионы с сегментированной и двуцепочечной РНК.
- Ретровирусы имеют две идентичные нити +РНК и **обратную транскриптазу**.



ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРИОНА

Белки

- Структурные и неструктурные белки.
- Капсидные белки:
 - NP-белки (нуклеокапсидные);
 - собственно капсидные (коровские) белки;
 - у простых вирусов – поверхностные рецепторные белки, формирующие шипы;
 - вирусспецифические ферменты, участвующие в транскрипции, репликации.
- Суперкапсидные белки:
 - наружный белок (рецепторный);
 - мембранный белок;
 - матриксный белок;
 - вирусспецифические ферменты.
- Клеточные белки (циклофилин А составляет более 30% белков ВИЧ).



ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРИОНА

- **Вирусные ферменты:** Ферменты
 - ферменты, участвующие в репликации и транскрипции;
 - ферменты, обеспечивающие проникновение вирусных нуклеиновых кислот в клетку и выход дочерних популяций.
- **Вирусные ферменты:**
 - *вирионные* (входят в состав вириона и участвуют в транскрипции и репликации);
 - *вирусиндуцированные* (закодированы в вирусном геноме).
- **Вирусные ферменты:** нейроминидаза; полимеразы; обратная транскриптаза; протеазы; эндонуклеазы, лигазы.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВИРИОНА

Липиды

- Фосфо- и гликолипиды клеточного происхождения (суперкапсид). Стабилизация вириона; суперкапсидных белков; защита; участвуют в интернализации вирусов.

Углеводы

- Гликозидные остатки в структуре гликопротеинов. Глюкоза, галактоза, манноза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, фукоза, N-ацетилнейраминовая (сиаловая) кислота. Защита от протеаз, от противовирусных АТ, упаковка поверхностных белков.

НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ

- **Вироиды** – небольшие молекулы кольцевой, суперспирализованной РНК, не содержащей белка и вызывающие заболевание растений.
- **Прионы** – это белковые инфекционные частицы, имеющие вид фибрилл размером 10-20x200 нм, вызывают у животных и человека трансмиссивные губкообразные энцефалопатии в условиях медленной вирусной инфекции (болезнь Крейтцфельда – Якобы, куру и др.).



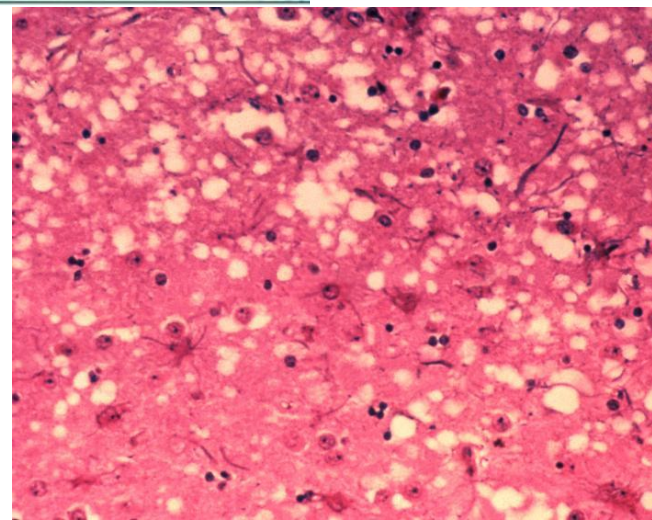
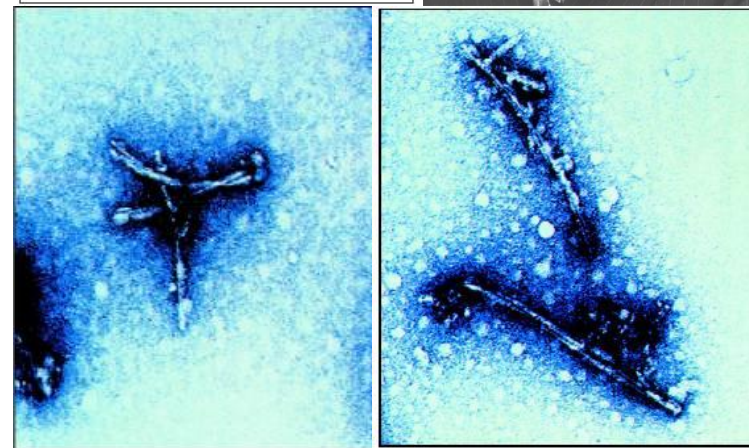
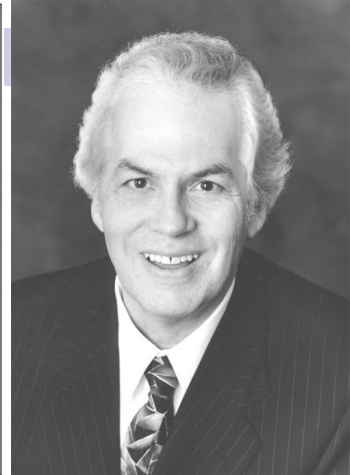
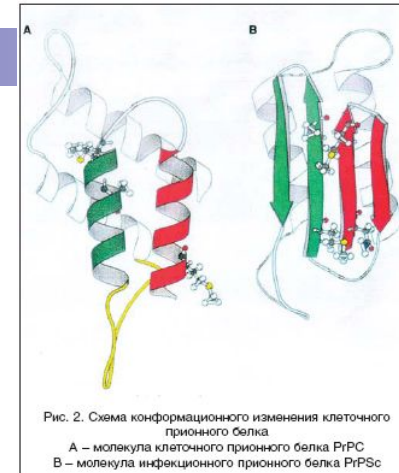
Прионовые болезни

- **Карлтон Гайдучек** – американский педиатр.
- 1953г.: **Куру** – «хохочущая смерть».
- Экзотическое заболевание среди аборигенов Новой Гвинеи с симптомами поражения ЦНС - нарушениями в двигательной сфере (парезы, параличи), прогрессирующим слабоумием, приводящим к смерти в течение 3-9 мес.
- **Нобелевская премия 1976 г.**



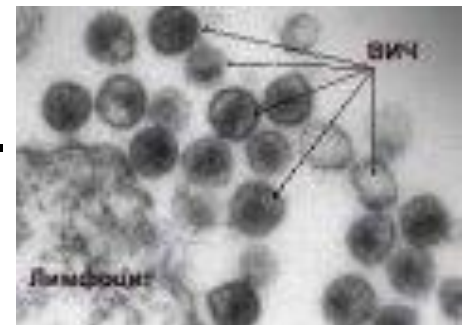
Прионовые болезни

- Стенли Прусинен – теория инфекционных белков «прионов».
- **Нобелевская премия 1997 г.**
- Болезнь Крейтцфельдта-Якоба, синдром Гёрстмана-Штраусслера-Шайнкера, фатальная семейная бессонница.
- Скрепи, хроническая болезнь истощения лосей, трансмиссивная энцефалопатия норок и др.



ПРОИСХОЖДЕНИЕ ВИРУСОВ

- **I гипотеза:** вирусы – это потомки бактерий или других одноклеточных микроорганизмов, появившиеся в результате дегенеративной эволюции.
- **II гипотеза:** вирусы – потомки древних доклеточных форм жизни, перешедшие к паразитическому способу существования.
- **III гипотеза:** вирусы – дериваты клеточных генетических автономных структур, сохранивших зависимость от клетки.



СИСТЕМАТИКА ВИРУСОВ

- 1966 г. – создан Международный комитет по номенклатуре вирусов.
- 1971 г. опубликован первый его доклад (P. Wildy, Classification and Nomenclature of Viruses, Monographs in Virology, vol. 5).
- Каждые пять лет обновляется номенклатура по решению Международного комитета по номенклатуре вирусов.

Критерии таксономической классификации вирусов

- гомология нуклеиновых кислот;
- морфология, размеры, форма;
- наличие или отсутствие суперкапсида;
- тип симметрии нуклеокапсида;
- характеристика нуклеиновых кислот:
 - тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК);
 - молекулярная масса;
 - идентичность мРНК или смысловой нити ДНК (плюс или минус нить);
 - количество цепочек в молекуле либо наличие сегментов;
 - наличие ферментов.

КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ

- Царство *Vira* делится на два подцарства: дезоксивирусы (**ДНК-вирусы**) и рибовирусы (**РНК-вирусы**).
- Подцарства подразделяются на семейства (**–viridae**).
- Семейства подразделяются на роды, (**–virus**).
- Виды определены не для всех вирусов.

Классификация вирусов, патогенных для человека

Семейство	Тип симметрии	Наличие супер-капсида	Размер вириона нм	Представители
Группа I: ДНК (двунитевые) вирусы				
<i>Parova-viridae</i>	Икосаэдральный	—	45-55	Папиллома- и полиомавирусы человека
<i>Adeno-viridae</i>	Икосаэдральный	—	70-90	Аденовирусы человека
<i>Herpes-viridae</i>	Икосаэдральный	+	200	ВПГ, ВОГ, ЦМВ, ВЭБ
<i>Poxviridae</i>	Смешанный	+	130-350	Вирус оспы

Классификация вирусов, патогенных для человека

Семейство	Тип симметрии	Наличие супер-капсида	Размер вириона нм	Представители
Группа II: ДНК (однонитевые) вирусы				
<i>Parvo-viridae</i>	Икосаэдральный	—	18-26	Аденоассоциированный вирус
<i>Circino-viridae</i>	Икосаэдральный	—	30-50	Вирус гепатита ТТ
Группа III: РНК (двунитевые) вирусы				
<i>Reoviridae</i>	Икосаэдральный	—	60-80	Реовирусы, ротавирусы

Классификация вирусов, патогенных для человека

Семейств о	Тип симметрии	Наличие супер- капсида	Размер вириона, нм	Представители
Группа IV: РНК (плюс-однонитевые) вирусы				
<i>Picornaviridae</i>	Икосаэдральный	—	20-30	Вирусы полиомиелита, ЕСНО, Коксаки, гепатита А.
<i>Togaviridae</i>	Икосаэдральный	+	30-90	Вирус краснухи
<i>Flaviviridae</i>	Икосаэдральный	+	40-60	Вирусы желтой лихорадки, клещевого энцефалита, гепатита С
Гепатит Е-подобные вирусы	Икосаэдральный	—	27-34	Вирус гепатита Е

Классификация вирусов, патогенных для человека

Семейство	Тип симметрии	Наличие суперкапсида	Размер вириона, нм	Представители
Группа V: РНК (минус-однонитевые) вирусы				
<i>Orthomyxoviridae</i>	Спиральный	+	80-120	Вирусы гриппа
<i>Paramyxoviridae</i>	Спиральный	+	150-300	Вирусы парагриппа, кори, паротита , РС
<i>Rhabdoviridae</i>	Спиральный	+	70-175	Вирус бешенства
Неклассифицируемые вирусы		—	36	Вирус гепатита D

Классификация вирусов, патогенных для человека

Семейств о	Тип симметрии	Наличие супер- капсида	Размер вириона, нм	Представители
Группа VI: РНК вирусы (обратно транскрибирующиеся)				
<i>Retro-viridae</i>	Спиральный или икосаэдральный в за-висимости от подсемейств а	+	80-100	ВИЧ
Группа VII: ДНК вирусы (обратно транскрибирующиеся)				
<i>Hepadnaviridae</i>	Спиральный	+	45-50	Вирус гепатита В

Таксономия вирусов и новые вирусы

(Международный таксономический комитет)

1999 год

**3 порядка,
56 семейств,
9 субсемейств,
233 рода,
1550 видов.**

2002 год

**3 порядка,
73 семейства,
9 субсемейств,
287 рода,
1938 видов.**

2008 год

**5 порядков,
82 семейства,
11 субсемейств,
307 родов,
2083 видов.**

Физиология вирусов

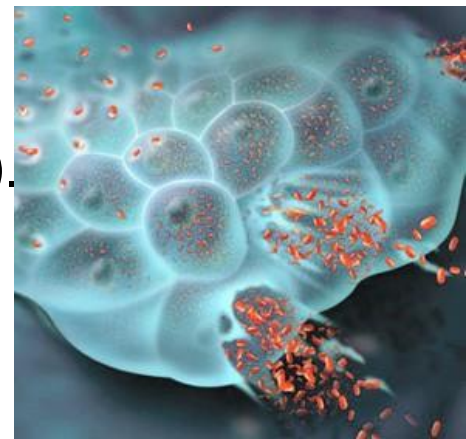
Вирус является **облигатным внутриклеточным паразитом** и для размножения ему требуется живая клетка. Размножение вируса обеспечивает чувствительная или пермиссивная клетка.

Типы взаимодействия вируса с клеткой

- **продуктивный**, или цитоцидный тип — в зараженных клетках образуется новое поколение вирионов;
- **абортивный тип** — прерывание инфекционного процесса в клетке, новые вирионы не образуются;
- **интегративный тип**, или вирогения, — интеграция (встраивание) вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместное сосуществование.

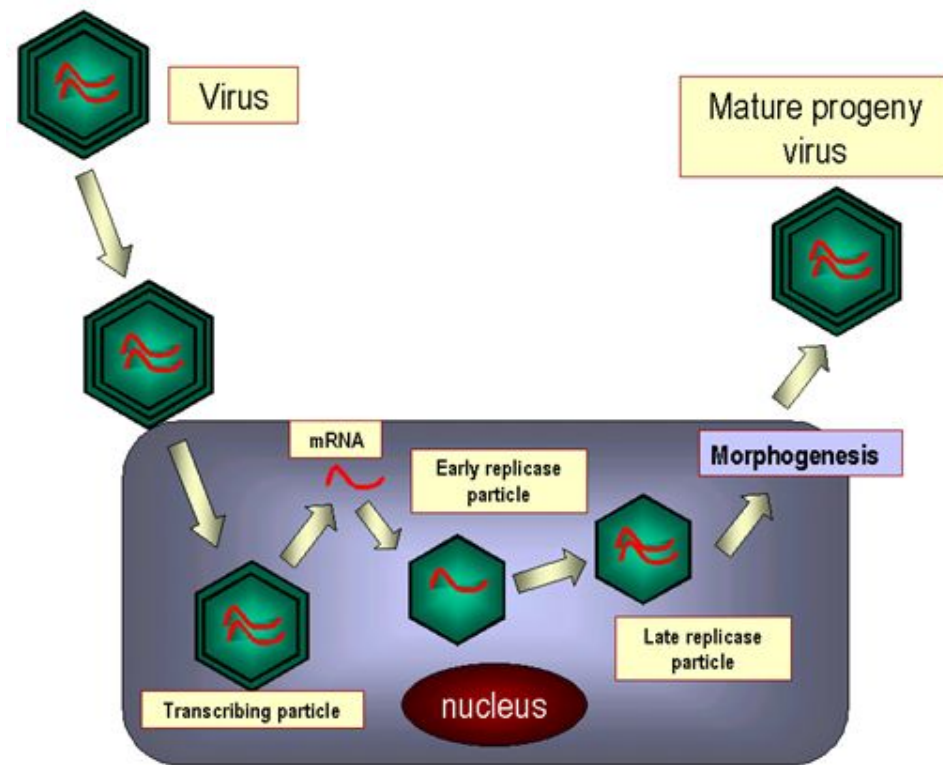
Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой

- осуществляется в результате размножения, т.е. **репродукции** вируса (от англ. *reproduce* – воспроизводить). Чаще взаимодействие «клетка-вирус» имеет **литический** характер и заканчивается гибелью клетки.
- **Гибель клетки** обуславливают следующие факторы:
 - ранее подавление синтеза клеточных белков;
 - накопление токсических и повреждающих вирусных компонентов;
 - повреждение клеточных лизосом с высвобождением их содержимого в цитоплазму;
 - образование синцития;
 - апоптоз;
 - иммуноопосредованная гибель клетки (in vivo).



Стадии репродукции вируса

- адсорбция вирионов на клетке;
- проникновение вирусов в клетку;
- депротеинизация или «раздевание» вирусов и высвобождение вирусного генома;
- биосинтез компонентов вируса;
- формирование вирусной частицы;
- выход вирионов из клетки.

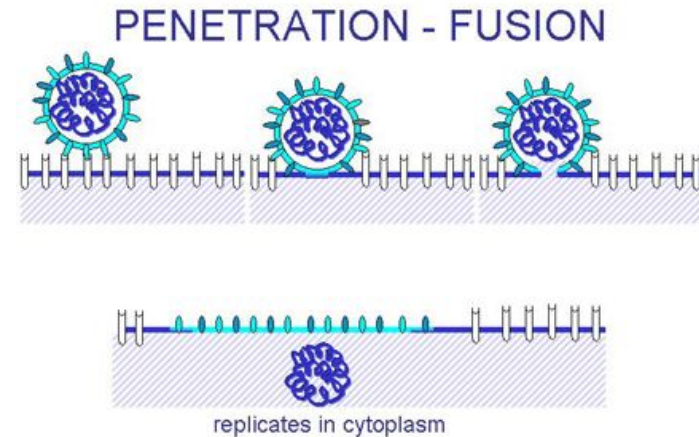
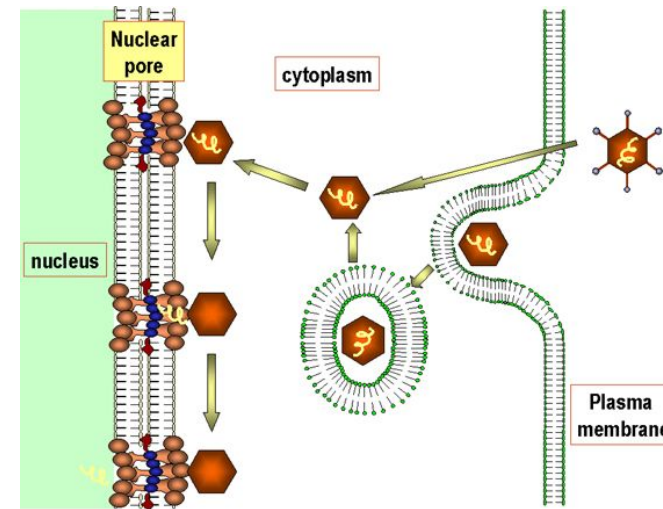


Адсорбция вируса на клетке

- Взаимодействие поверхностных белков вируса со специфическими **рецепторами** чувствительных клеток. **Тропизм** вируса (греч. *tropos* – поворот, направление) – способность избирательно поражать определенные клетки.
- Процесс адсорбции не требует энергетических затрат и протекает в две фазы:
 - **ионное притяжение** между вирусом и клеткой, взаимодействие носит неспецифический характер;
 - **физическое прикрепление** вирусной частицы к соответствующему поверхностному рецептору (структурная гомология, комплементарность специфических рецепторов).
- **Множественность заражения:** клетка содержит около 500 000 рецепторов → на клетке могут сорбироваться множество вирионов.

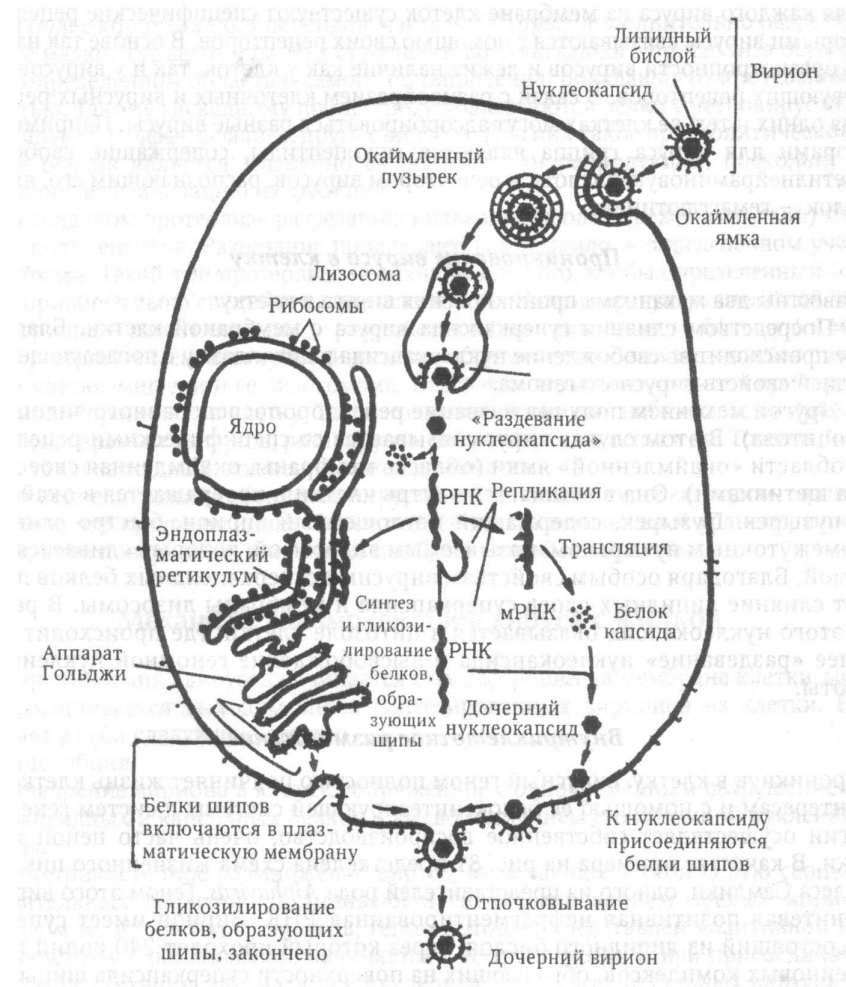
Проникновение вируса в клетку

- **Виропексис** (рецепторный эндоцитоз).
- **Слияние** оболочки вируса с клеточной мембраной (при наличии белка слияния).
- Сочетание этих двух механизмов.
- Вирусы, лишённые суперкапсида, проникают в клетку непосредственно через цитоплазматическую мембрану (**трансмембранная пенетрация**).



Депротейнизация

- При участии клеточных ферментов происходит **депротейнизация** вириона (удаление поверхностных структур, высвобождение внутреннего компонента).
- После депротейнизации — теневая фаза (фаза **эклипса**) → вирус невозможно выделить из культуры ткани; заканчивается одновременно с процессом сборки.



Биосинтез вирусных компонентов

- Биосинтез вирусных компонентов – **дизъюнктивный** (от лат. *disjunctus* – разобщенный).
- **Транскрипция** → **трансляция** → белки вируса.
- **Структурные белки** входят в состав вириона, а **неструктурные** – являются ферментами и обеспечивают репродукцию вируса.
- Одновременно происходит **репликация** (от лат. *replicatio* – повторение) вирусных нуклеиновых кислот (невозможна в покоящейся клетке, ее переход в фазу деления активирует экспрессию вирусных генов).

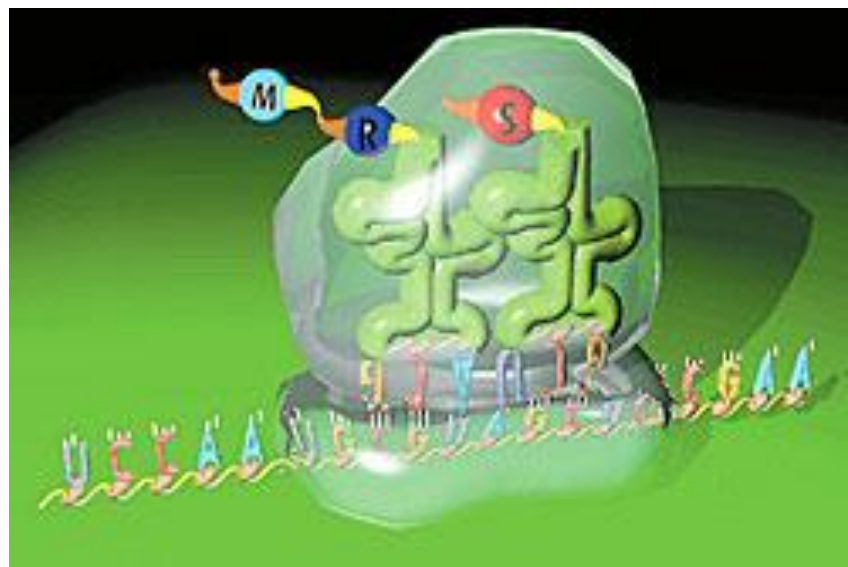
Стратегия генома и репродукция вирусов

- 1 компонент:

ДНК → транскрипция → мРНК →
трансляция → белок

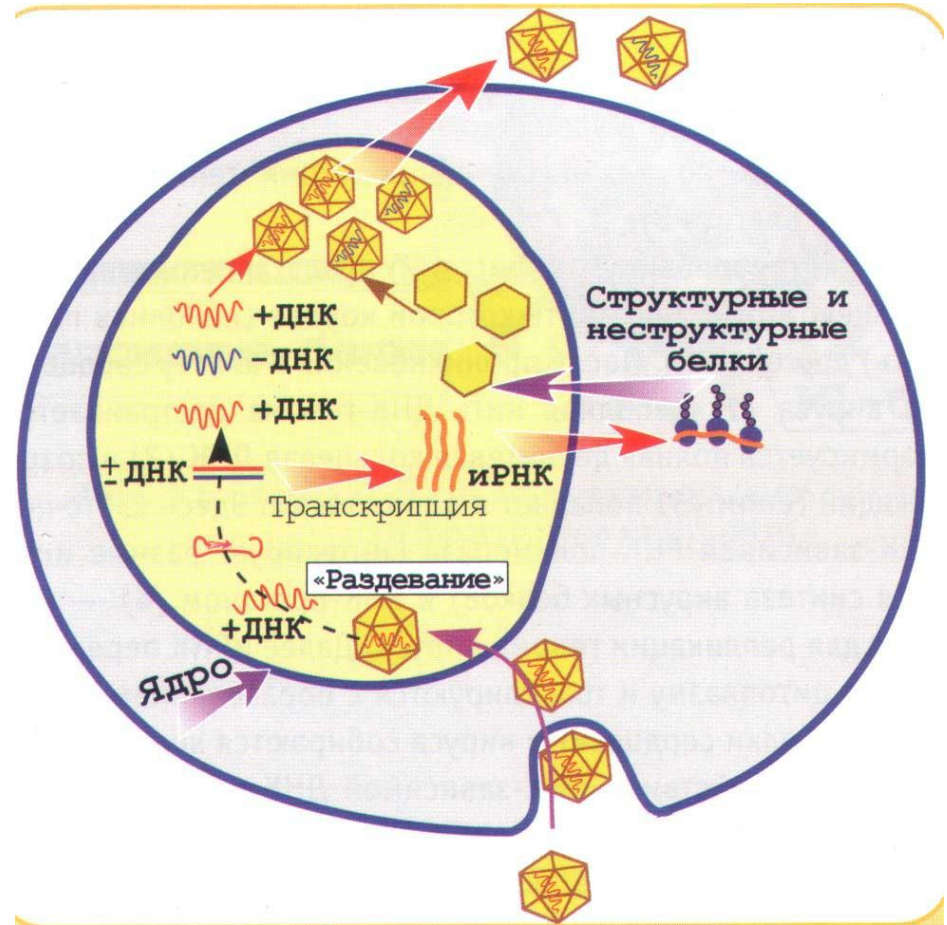
- 2 компонент:

ДНК → репликация → ДНК



Репликация вирусных геномов

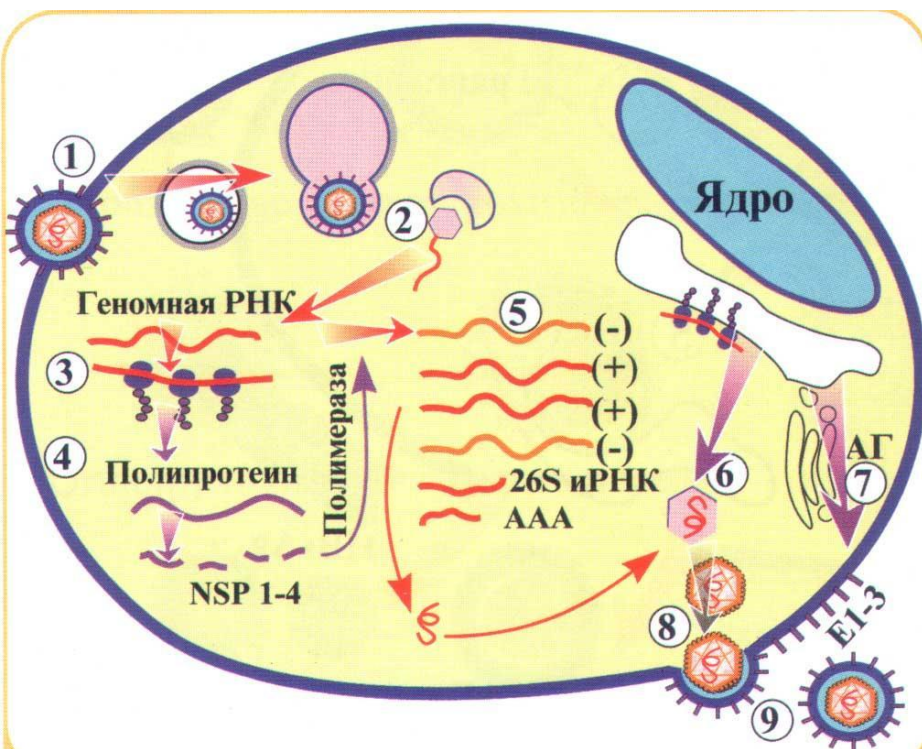
- **Двунитевая ДНК** – полуконсервативная репликация.
- **Однонитевая ДНК:** вначале образуется репликативная форма («-» нить которой служит матрицей для синтеза «+» нити, идентичной исходной вирионной ДНК).



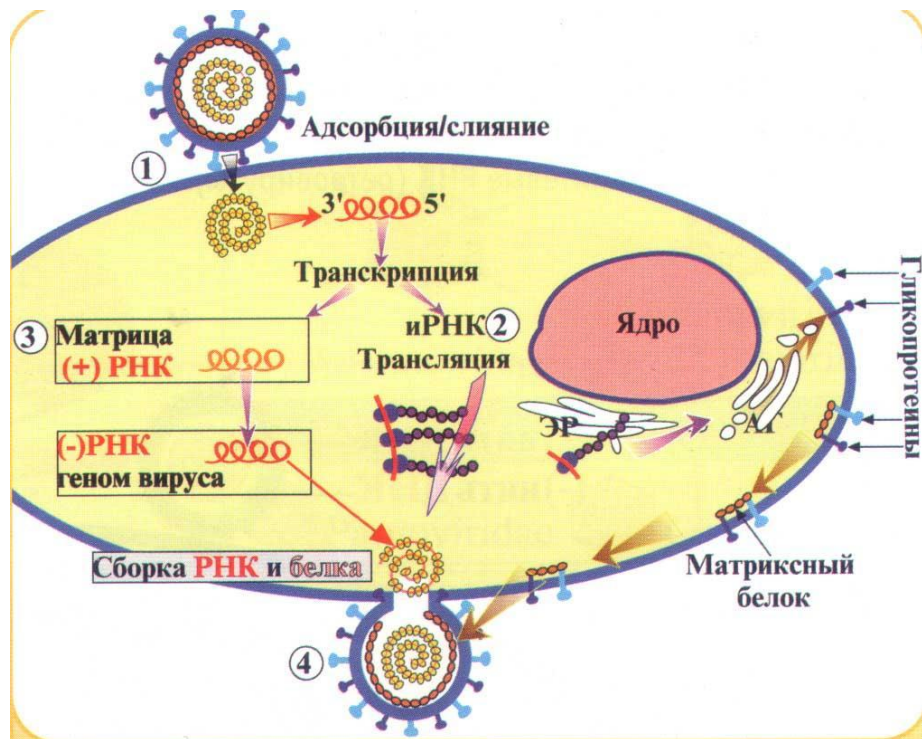
Репликация вирусных геномов

Однонитевая РНК: $\text{вРНК} \rightarrow \text{кРНК} \rightarrow \text{вРНК}$,
катализируется репликазой.

+РНК

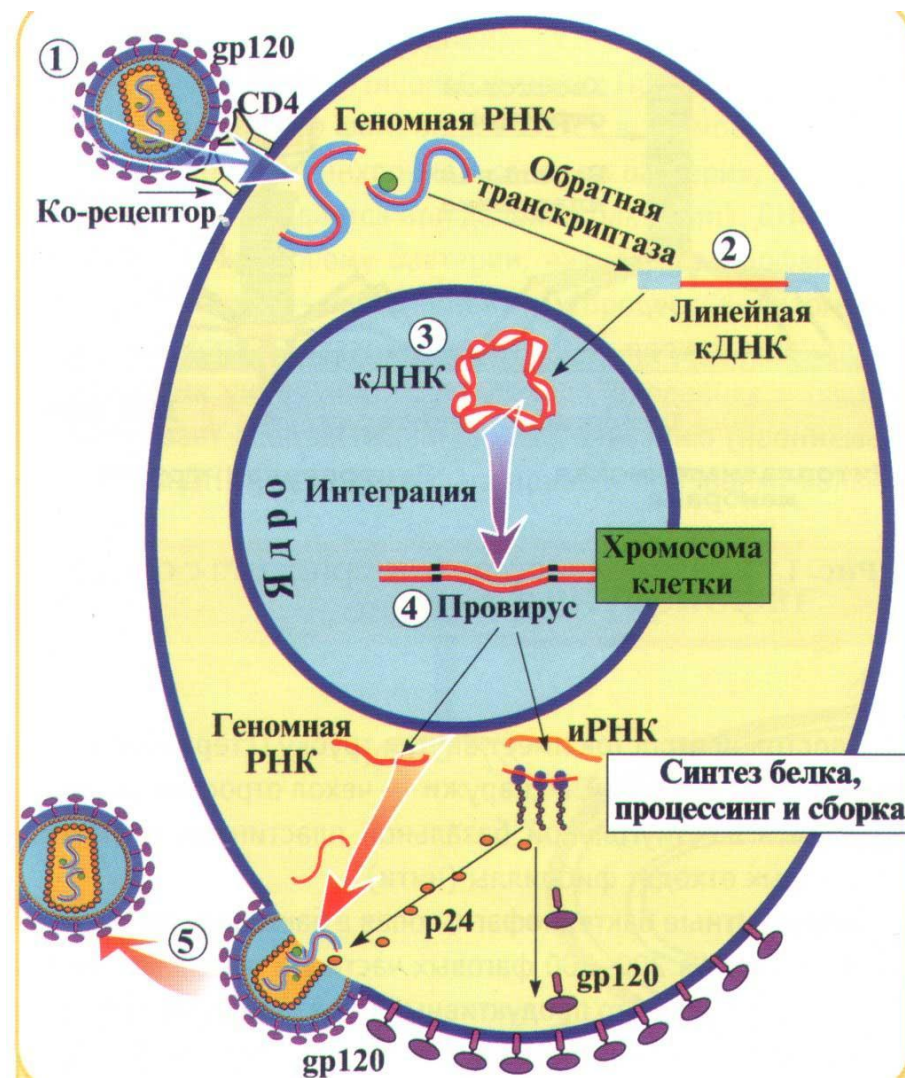


-РНК



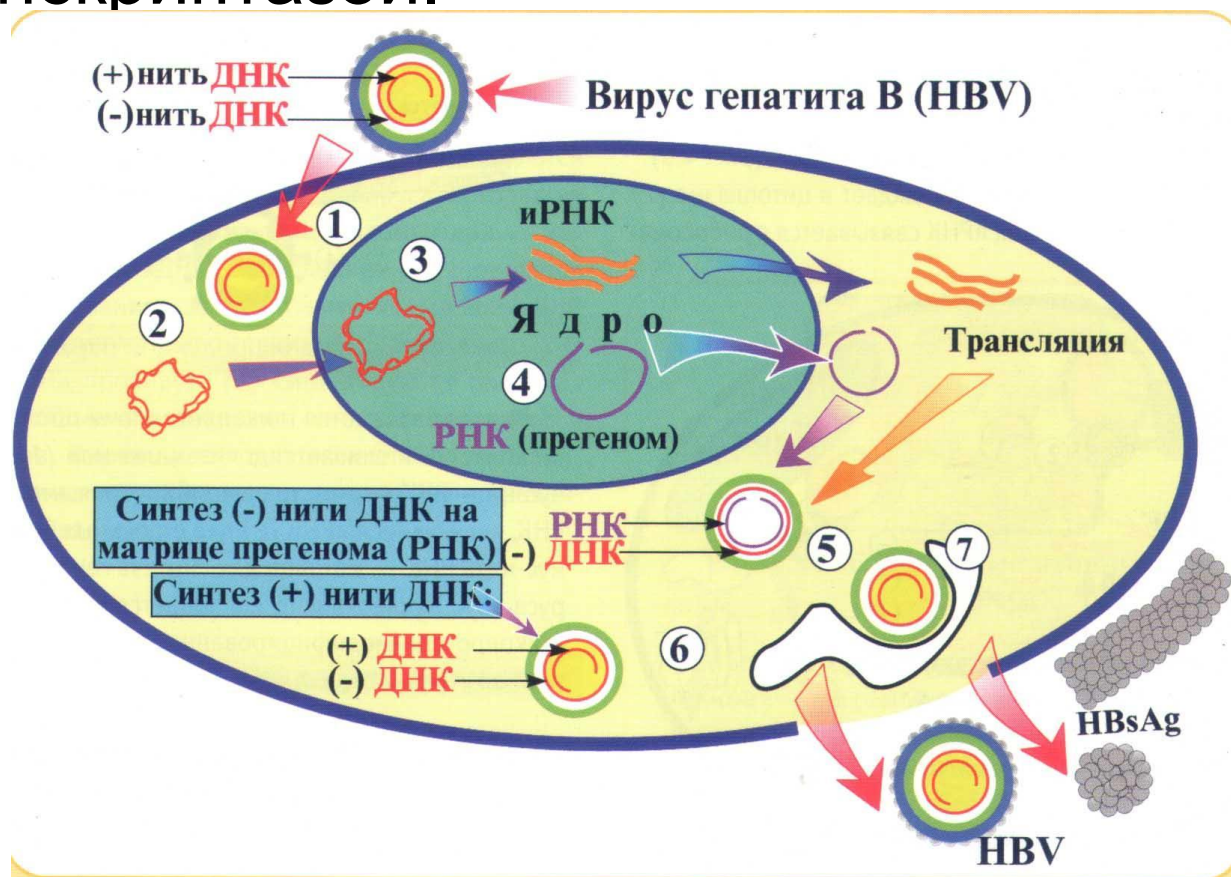
Репликация вирусных геномов

Однонитевая РНК ретровирусов:
РНК → ДНК → РНК,
катализируется обратной
транскриптазой.



Репликация вирусных геномов

Двунитевая ДНК вируса гепатита В:
ДНК→РНК→ДНК→РНК, катализируется
клеточной РНК-полимеразой и обратной
транскриптазой.



Особенности репродукции вирусов

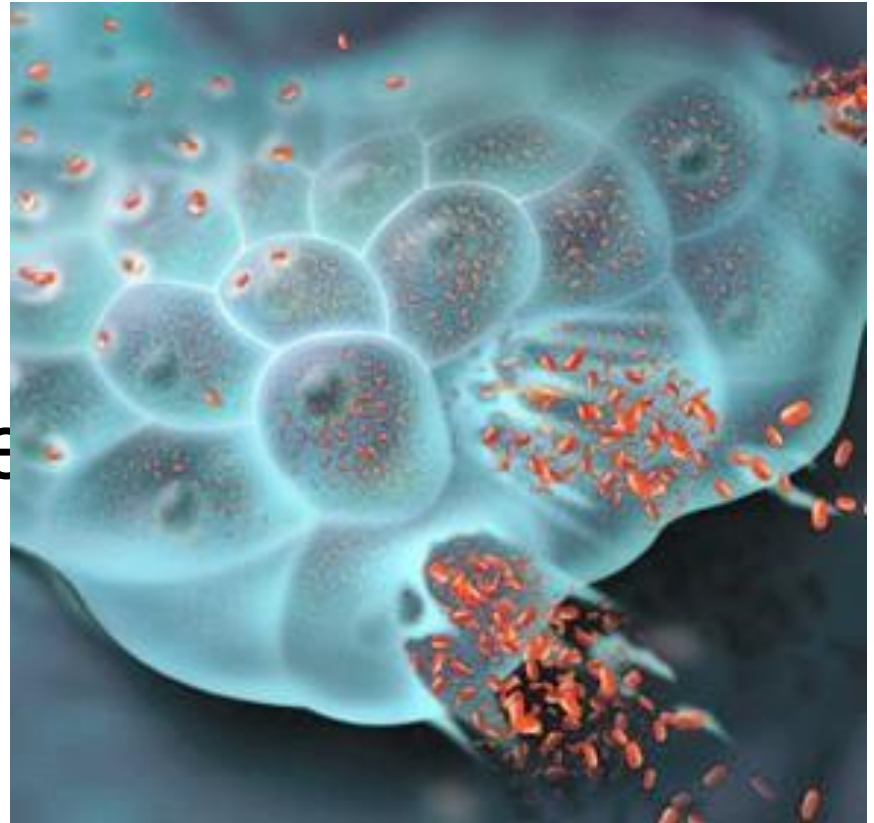
- +РНК вирусы: трансляция → репликация → сборка вириона.
- Остальные вирусы: транскрипция → трансляция → репликация генома → сборка вириона.
- РНК вирусы (кроме вирусов гриппа и ретровирусов) репродуцируются в цитоплазме.
- ДНК вирусы репродуцируются в ядре (транскрипция и репликация), и в цитоплазме (трансляция вирусных белков, их процессинг и сборка вирионов). Вирус оспы размножается в цитоплазме (собственные системы транскрипции).
- Нуклеокапсидные белки вирусов синтезируются на свободных полирибосомах, а суперкапсидные белки – на рибосомах, связанных с мембранами.
- Белки некоторых вирусов подвергаются протеолитическому процессингу и гликозилированию.

Формирование вирионов

- **Самосборка:** составные части вириона транспортируются в места сборки вируса в ядре или цитоплазме. Сборка происходит за счет гидрофобных, ионных, водородных связей и стерического соответствия.
- В результате самосборки капсомеров из вирусных полипептидов и взаимодействия их с нуклеиновыми кислотами вируса образуются **нуклеокапсиды**.

Выход вирионов из клетки

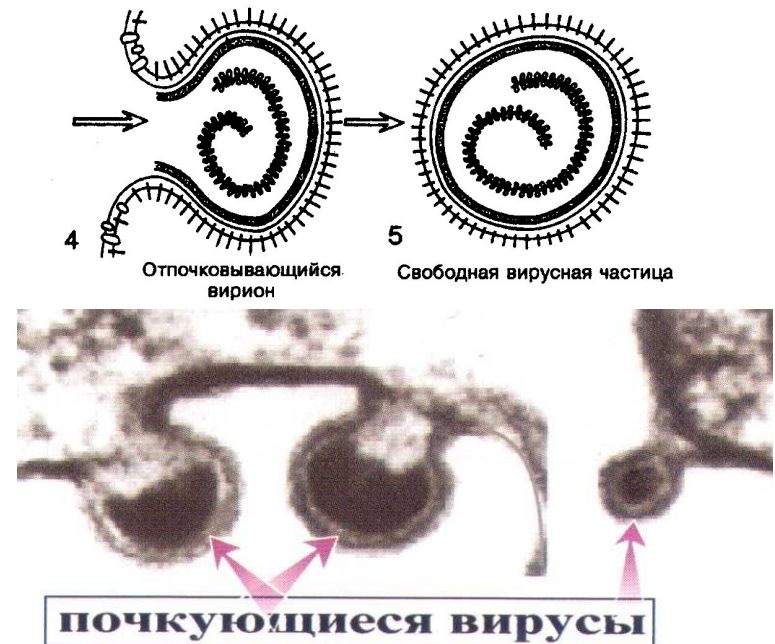
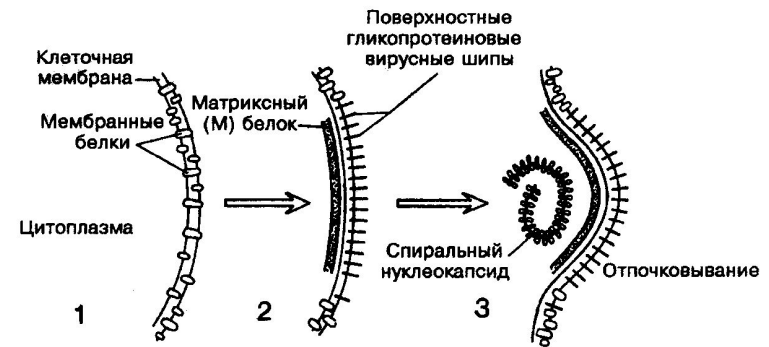
- **Взрывной:** из погибающей клетки одновременно выходит большое количество вирионов.

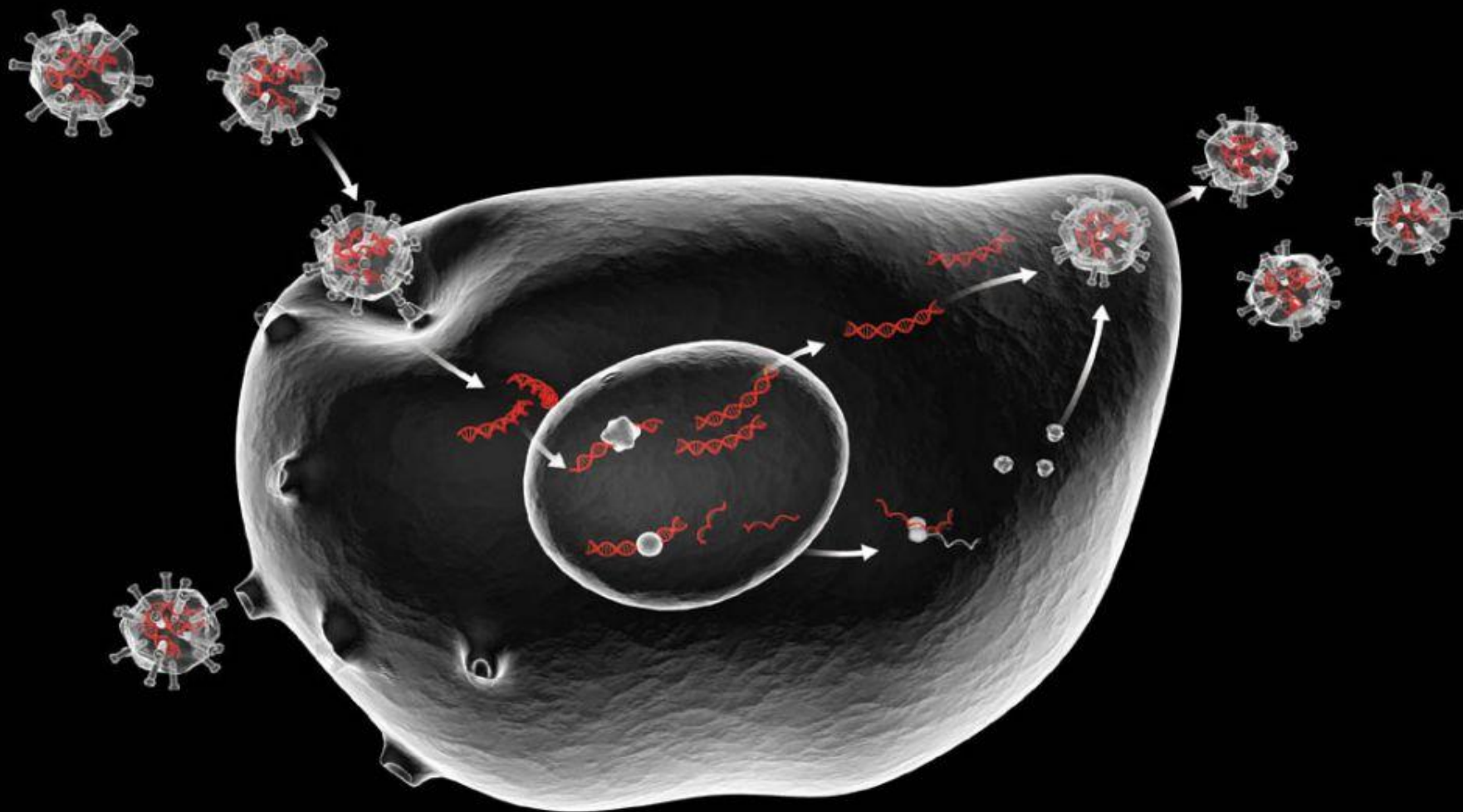


- **Простые вирусы.**

Выход вирионов из клетки

- **Почкование:** нуклеокапсид транспортируется к клеточным мембранам, в которые уже встроены вирусные белки → выпячивание этих участков → отделение почки от клетки в виде сложно устроенного вируса.
- Клетка длительно сохраняет жизнеспособность и продуцирует вирусное потомство.
- **Сложные вирусы.**





Интегративный тип взаимодействия вируса с клеткой

- **Вирогения** – интеграция (встраивание) нуклеиновой кислоты вируса в геном клетки, репликация и функционирование вирусного генома как составной части генома клетки. Состояние вирогении наследуется
- Для интеграции с клеточным геномом необходимо возникновение кольцевой формы двунитевой ДНК вируса.
- Встроенная в состав хромосомы клетки вирусная ДНК называется **провирусом**.

Интегративный тип взаимодействия вируса с клеткой

- Физические или химические факторы→провирус→ автономное состояние→продуктивный тип взаимодействия с клеткой→**латентные инфекции** с периодическими реактивациями.
- **Вирусная трансформация** клеток→ развитие опухолей, аутоиммунных и хронических заболеваний.
- **Персистенция** (от лат. *persisto* – постоянно пребывать, оставаться) вирусов в организме → персистентные вирусные инфекции. Часто развиваются у больных с иммунодефицитами и не сопровождаются клинически выраженными явлениями.

Основные положения концепции происхождения опухолей Л.А.Зильбера

- *«...роль вируса в развитии опухолевого процесса сводится к тому, что он изменяет наследственные свойства клетки, превращая ее из нормальной в опухолевую, а образовавшаяся таким образом опухолевая клетка служит источником роста опухоли; вирус же, вызвавший это превращение, или элиминируется из опухоли благодаря тому, что измененная клетка является неподходящей средой для его развития, или теряет свою болезнетворность и поэтому не может быть обнаружен при дальнейшем росте опухоли... »*



ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА

Семейство	Вид	Тип опухоли
Papovaviridae	Вирус папилломы человека	Опухоли шейки матки и вульвы; плоскоклеточная карцинома
Herpesviridae	Вирусы герпеса 1-го и 2-го типов Вирус герпеса 4-го типа (Эпштейна-Барр)	Рак шейки матки Носоглоточная карцинома, лимфома Беркита, В-клеточная лимфома.
Hepadnaviridae	Вирус гепатита В	Гепатоцеллюлярная карцинома
Retroviridae	Лимфотропные вирусы человека (HTLV) 1-го и 2-го типов	Т-клеточный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз

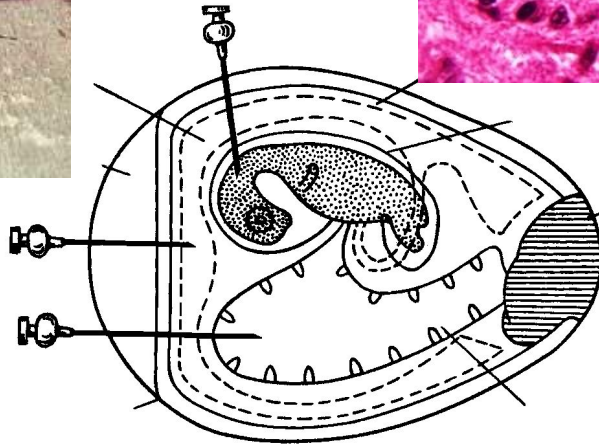
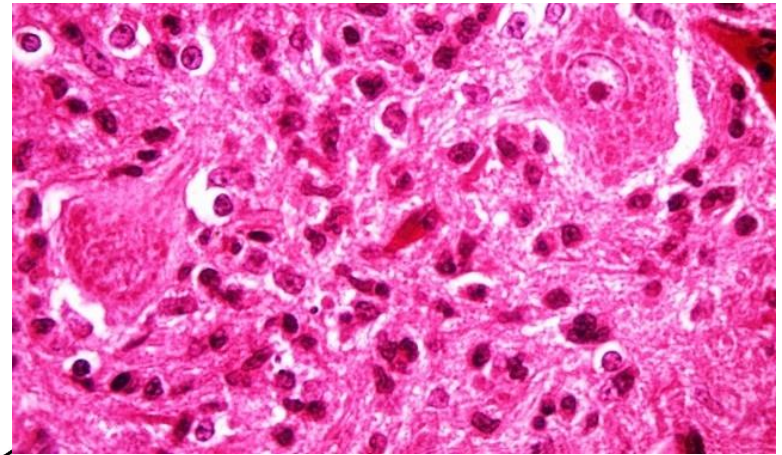
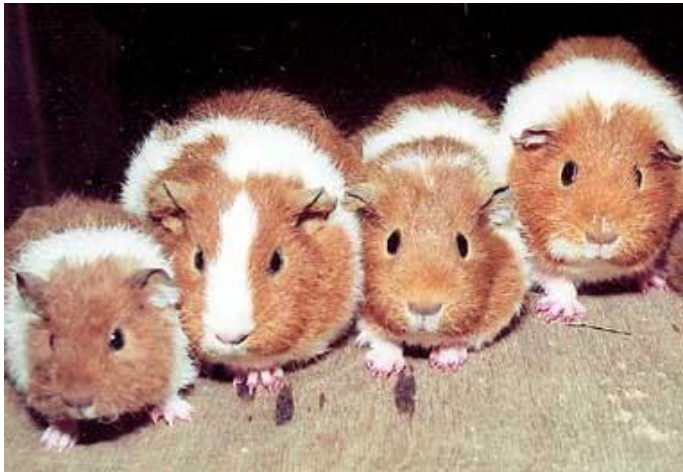
Вакцинация против папилломавируса

- В июне 2006 года в США была одобрена вакцина **Гардасил**. Помимо онкогенных типов вируса она защищает женщин от папилломавируса 6 и 11, которые наиболее часто вызывают развитие генитальных папиллом.
- Применение этой вакцины разрешено только для девочек и женщин в возрасте от 11 до 26 лет, препарат не способен защитить от уже имеющегося в организме вируса.
- Окончательные данные об эффективности метода станут ясны только через несколько десятилетий, когда будут проанализированы результаты массового применения.



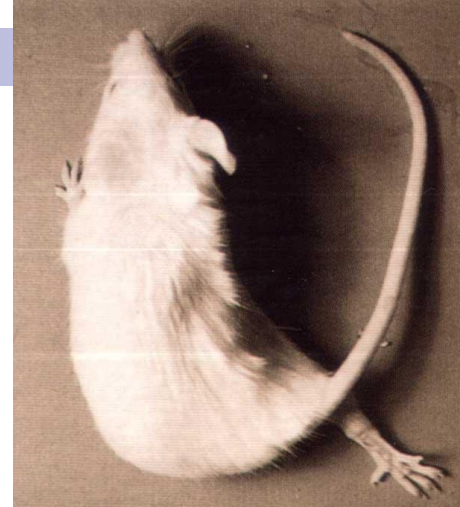
Методы культивирования вирусов

- в организме лабораторных животных;
- в развивающихся куриных эмбрионах;
- в культурах клеток.



Культивирование вирусов в организме лабораторных животных

- Выбор экспериментальных животных определяется целью работы и видовой **чувствительностью** к изучаемому вирусу. Для заражения используют обезьян, кроликов, морских свинок, хомячков, белых крыс и мышей.
- Способ заражения зависит от тропизма вируса к определенным тканям: **нейротропные, респираторные, дерматотропные** вирусы и т.д. Наиболее часто используются накожное, внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное и внутримозговое заражение.

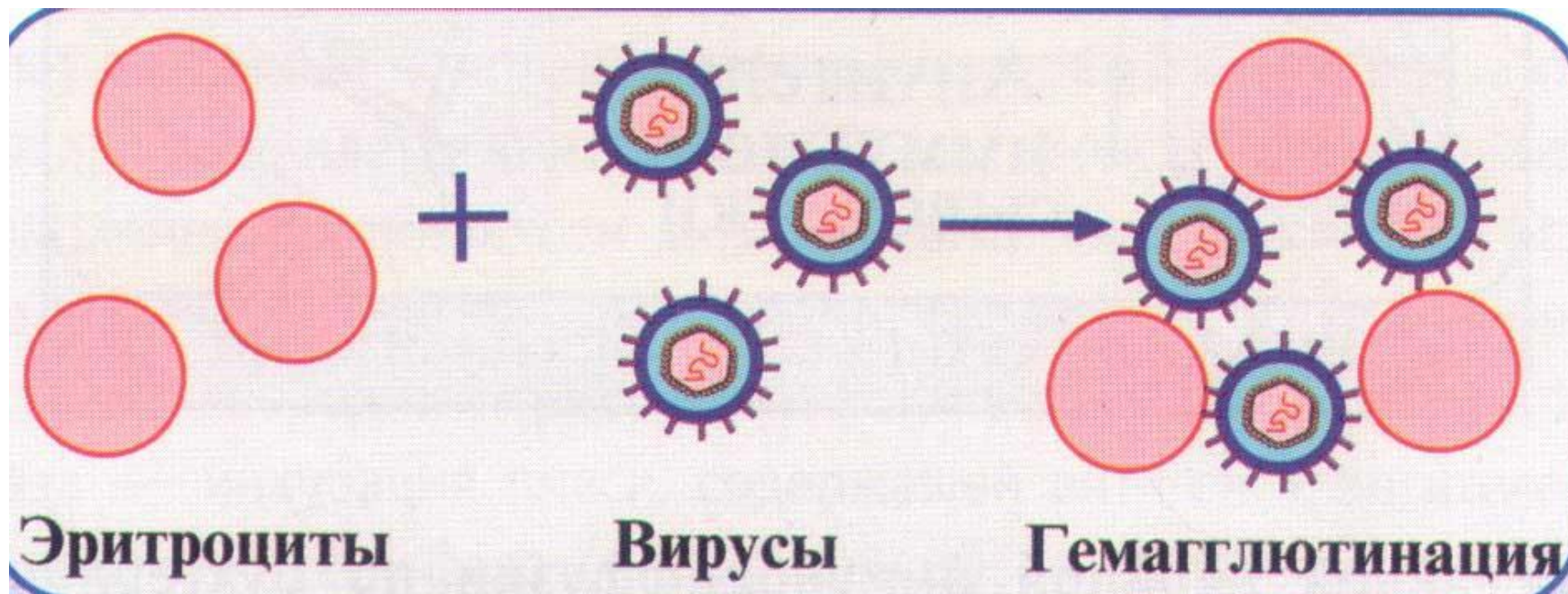


Культивирование вирусов в организме лабораторных животных

- Если при первичном заражении животные не заболевают → последовательные **«пассажи»**.
- **Индикация:** развитие типичных признаков заболевания, патоморфологические изменения органов и тканей животных или положительная **реакция гемагглютинации (РГА)**.



Реакция вирусной гемагглютинации (РГА)

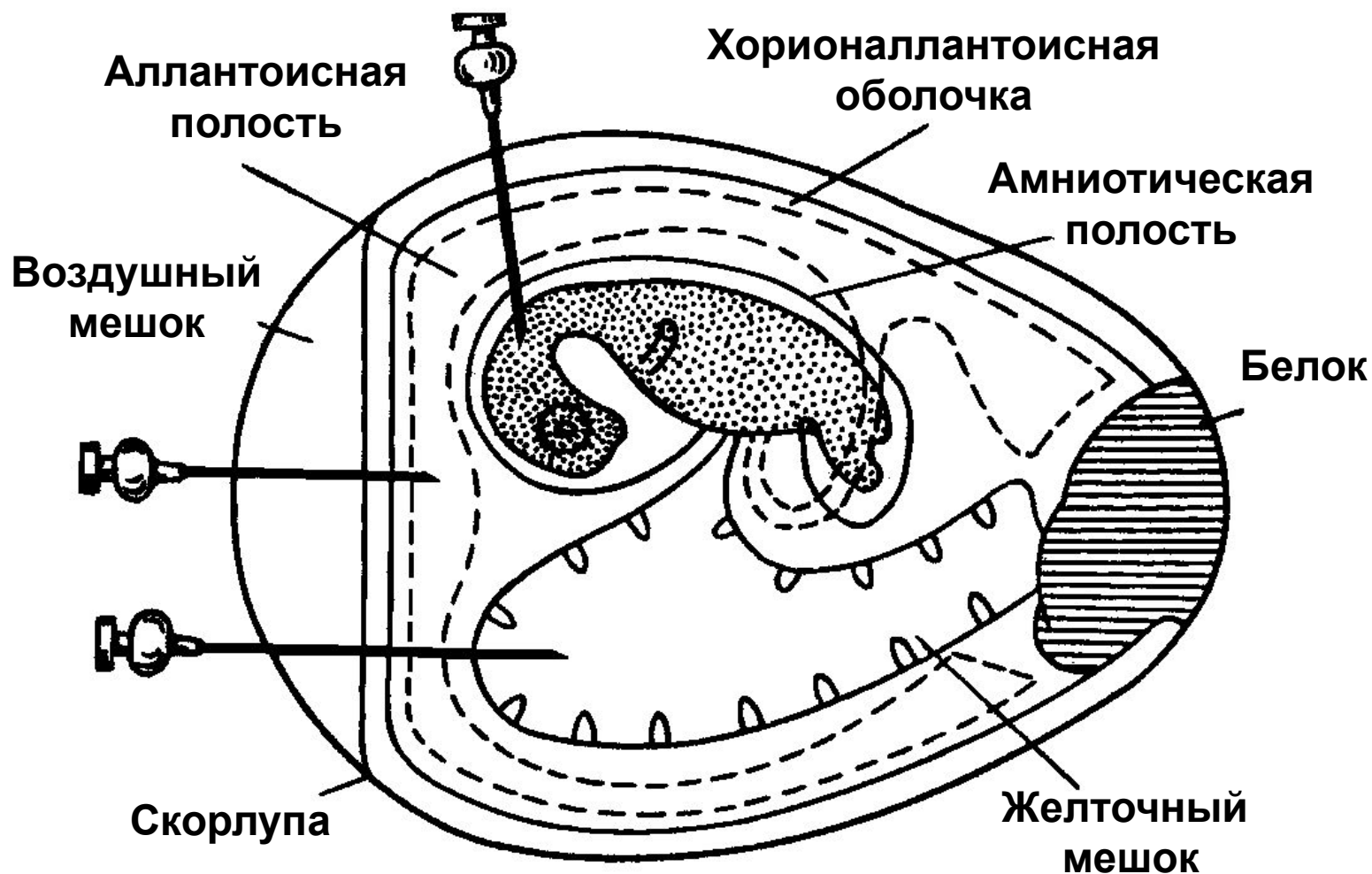


Культивирование вирусов в куриных эмбрионах

- Используют эмбрионы в возрасте от 8 до 14 дней в зависимости от вида вируса, способа заражения и задач исследования. Вирусы гриппа культивируются в 9–10, осповакцины – в 12, паротита – в 7-дневных куриных эмбрионах.
- Размножение вируса в куриных эмбрионах происходит в разных частях зародыша, что связано с особенностями тропизма вируса.
- Культивирование вируса в курином эмбрионе используют при промышленном к



Строение куриного эмбриона

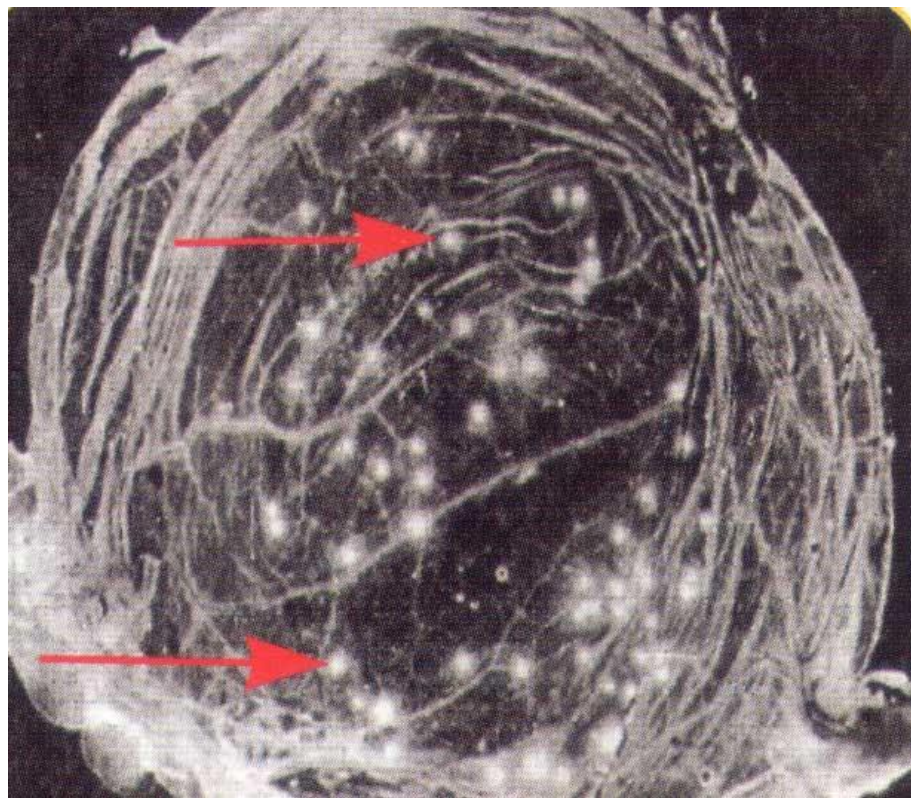


Способы заражения куриного эмбриона



Способы заражения куриного эмбриона

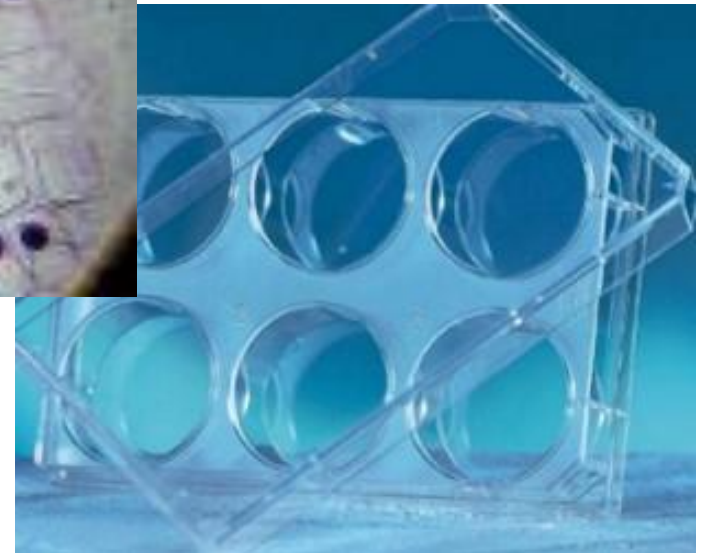
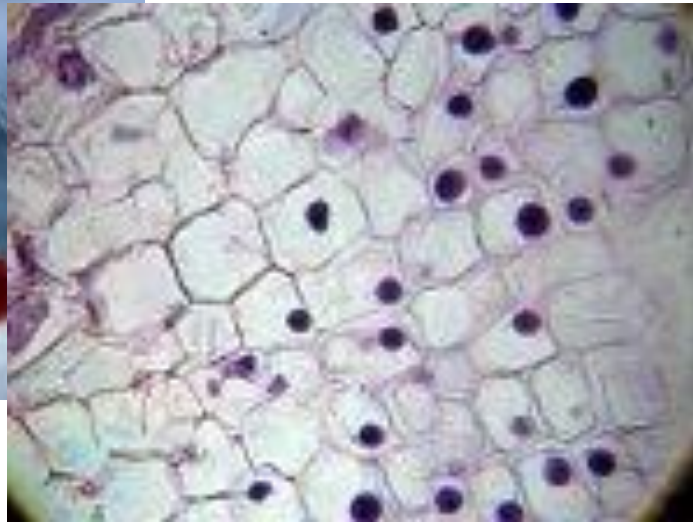
- Заражение на хорионаллантоисную оболочку (вирусы вакцины, натуральной оспы, простого герпеса). На зараженной оболочке обнаруживаются беловатые непрозрачные пятна разной формы (**бляшки**).



Способы заражения куриного эмбриона

- **Заражение в аллантоисную полость.** Вирус размножается в эндодермальных клетках, переходит затем в аллантоисную жидкость.
- **Заражение в желточный мешок.** С этой целью используют эмбрионы 5–10-дневного возраста.
- **Индикацию** вирусов в курином эмбрионе осуществляют на основании специфических поражений оболочек и тела эмбриона (бляшки, кровоизлияния), в РГА.

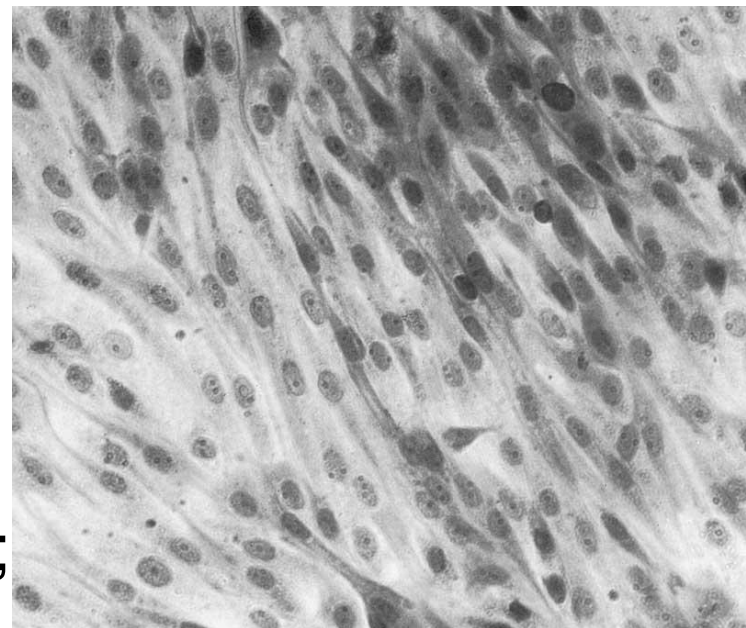
Культивирование вирусов в культуре ткани



Классификация клеточных культур

В зависимости от техники приготовления:

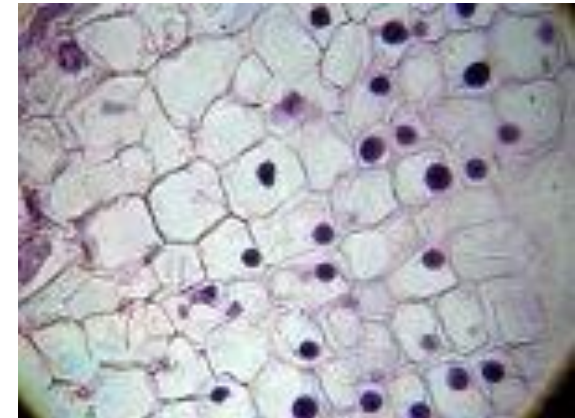
- **однослойные** — клетки, способные прикрепляться и размножаться на поверхности лабораторной посуды в виде монослоя;
- **суспензионные** — клетки размножаются во всем объеме питательной среды при постоянном ее перемешивании;
- **органные** — цельные кусочки органов и тканей, сохраняющие исходную структуру вне организма.



Классификация клеточных культур

По числу жизнеспособных генераций:

- **первичные**, способные размножаться только на первых генерациях, т.е. в нескольких (1-2) пассажах;
- **перевиваемые**, или *стабильные*, способные размножаться в лабораторных условиях неопределенно длительный срок (неограниченное число пассажей);
- **полуперевиваемые**, или диплоидные, имеющие ограниченную продолжительность жизни (40-50 пассажей).

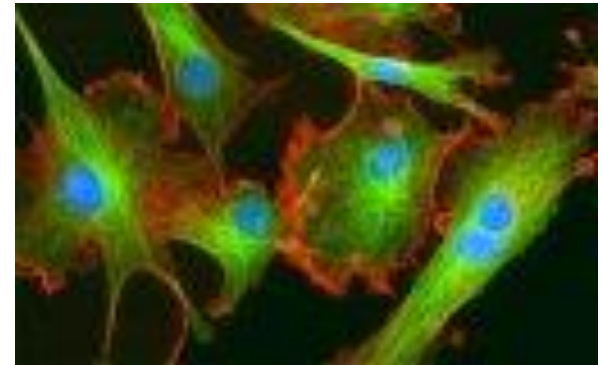
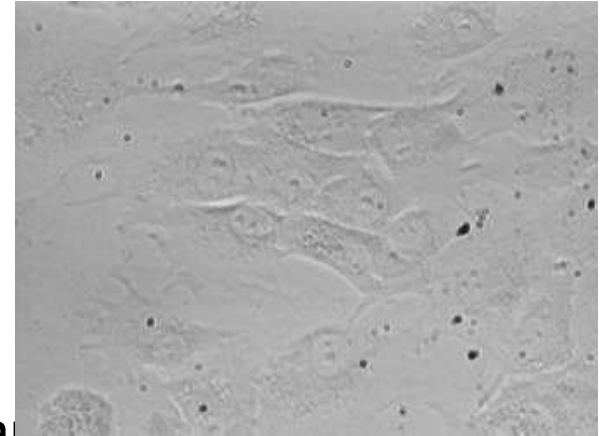


Культуральная посуда



Приготовление клеточных культур

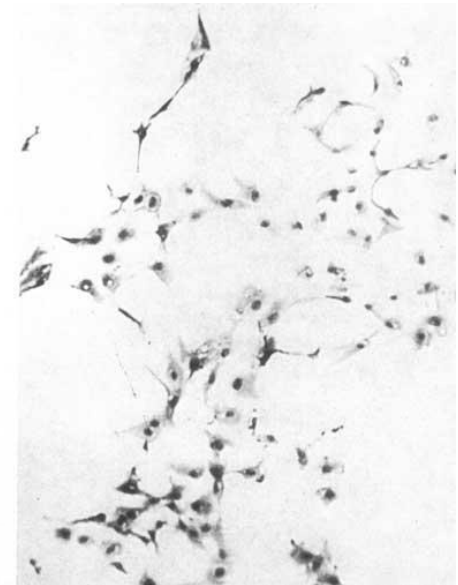
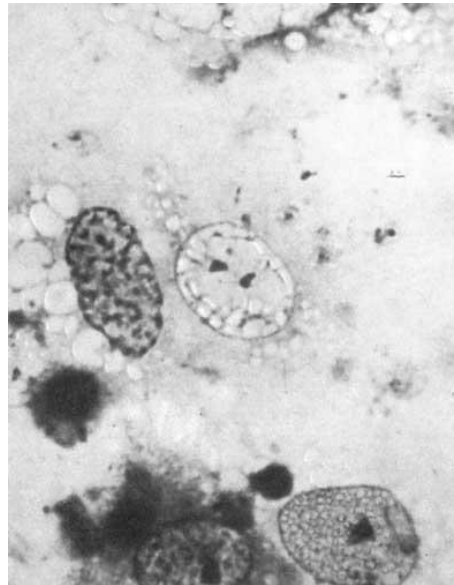
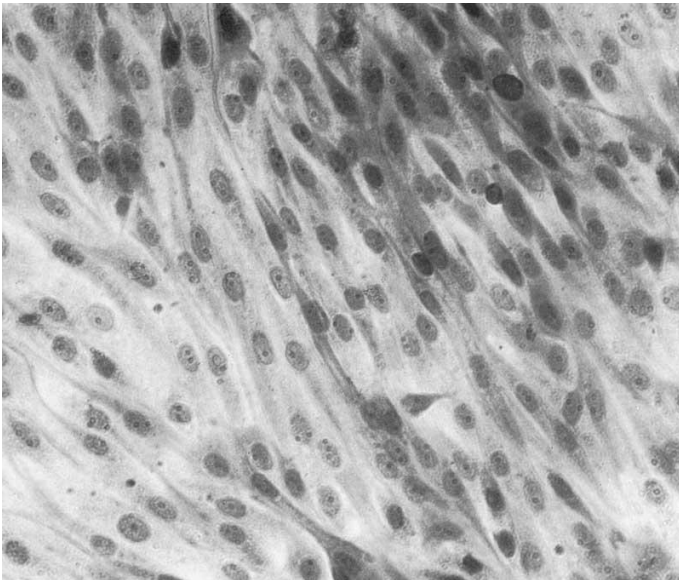
- Чаще используют ткани **эмбрионов** или **почечную ткань** взрослых животных.
- **Трипсинизирование**: разрушение межклеточных связей в тканях протеолитическими ферментами и разобщение клеток.
- Готовят суспензию органа в трипсине, центрифугируют, отмывают, подсчитывают содержание клеток в камере Горяева, определяют их жизнеспособность и готовят рабочее разведение.
- Клетки культивируют в культуральной среде с антибиотиками, сывороткой и др. в специальной посуде в термостате.



Индикация вирусов в культуре клеток

Цитопатическое действие (ЦПД) – видимые под микроскопом морфологические изменения клеток в результате внутриклеточной репродукции вирусов:

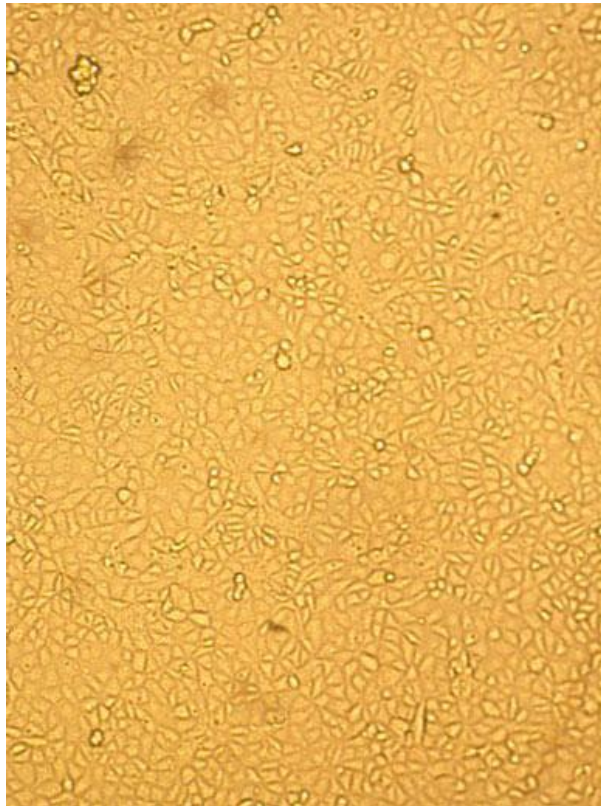
- слияние клеток с образованием синцития (парамиксовирусы, герпесвирусы);
- сморщивание и деструкция клеток (энтеровирусы, реовирусы);
- агрегация клеток (аденовирусы);
- зоны лизиса в монослое (ЦМВ).



Образование симпластов

ЦПД вируса кори на клетки Vero: образование гигантских многоядерных клеток - **симпластов**, с последующей деструкцией и формированием крупных полостей типа "**мыльных пузырей**".

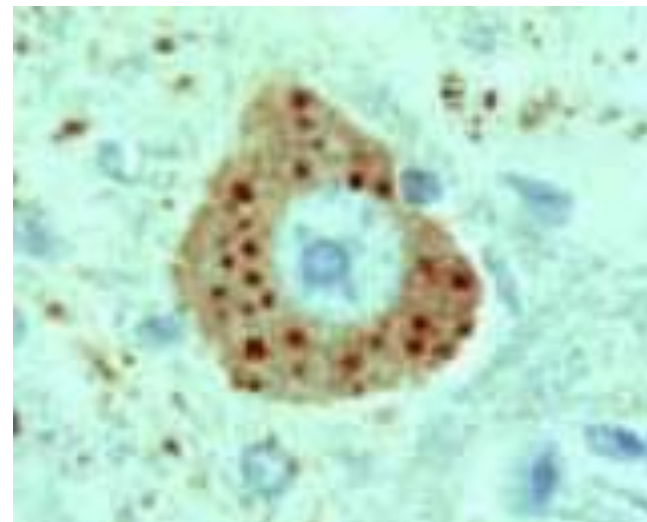
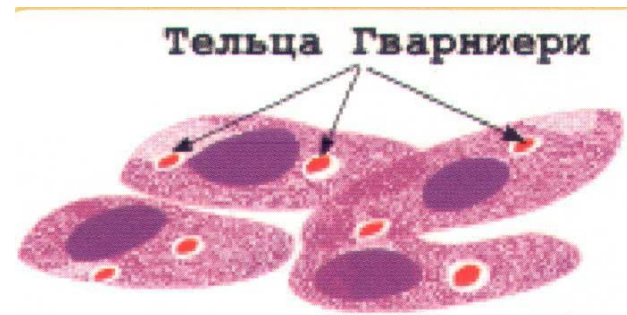
Интактные
клетки
линии
Vero



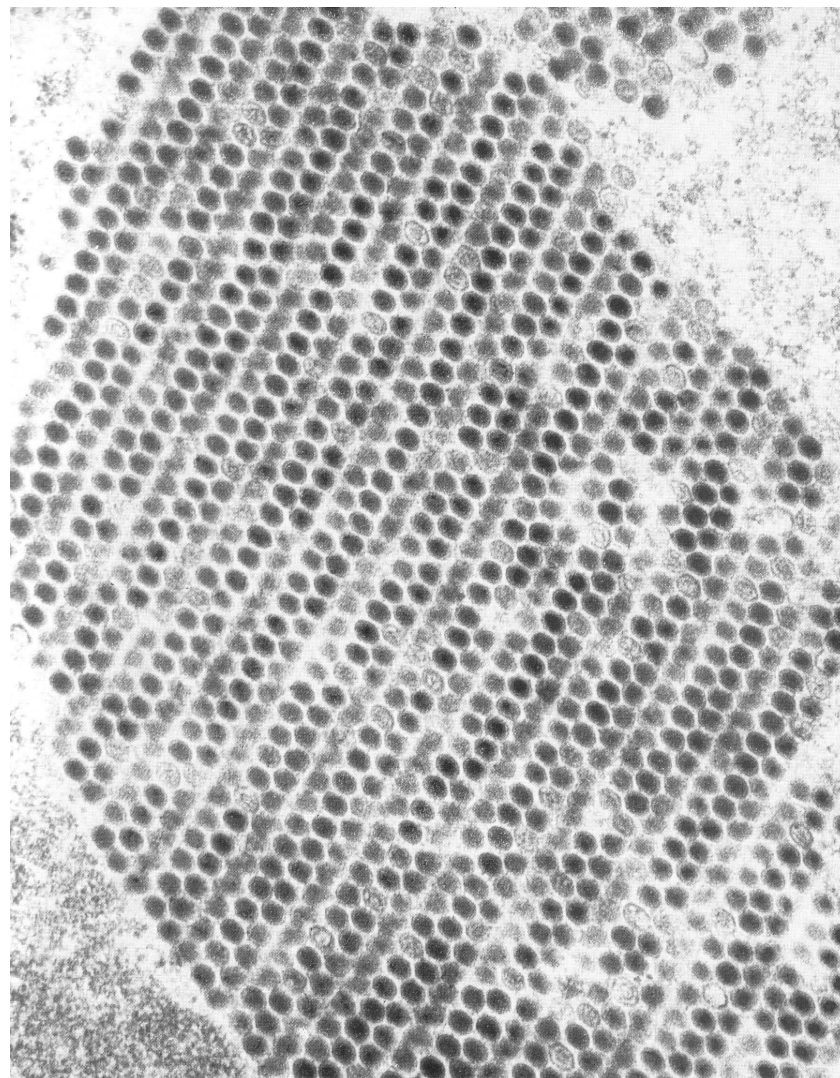
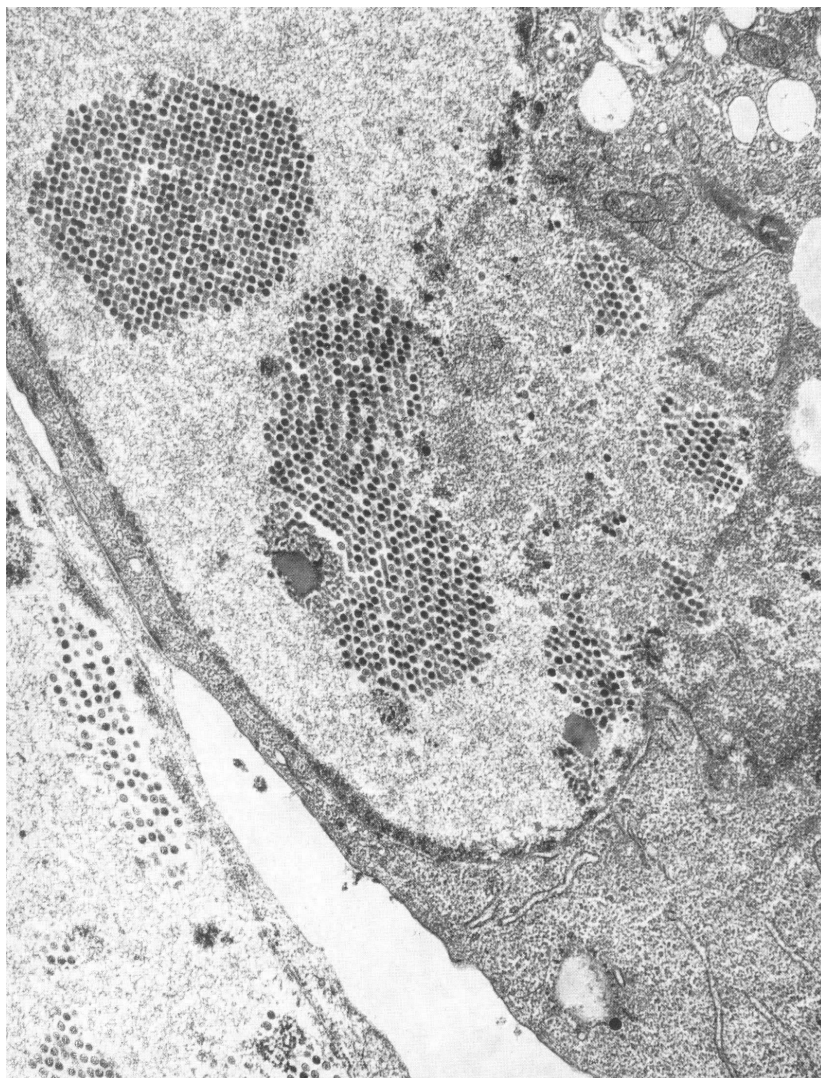
ЦПД
вируса
кори в
культуре
клеток
Vero

Индикация вирусов в культуре клеток

- **Вирусные включения** — скопление вирусных частиц или отдельных компонентов вирусов в цитоплазме или ядре клеток, выявляемые под микроскопом при специальном окрашивании.
- Характерные ядерные включения формируются в клетках, зараженных вирусами герпеса, аденовирусами, гриппа, бешенства, оспы и др.

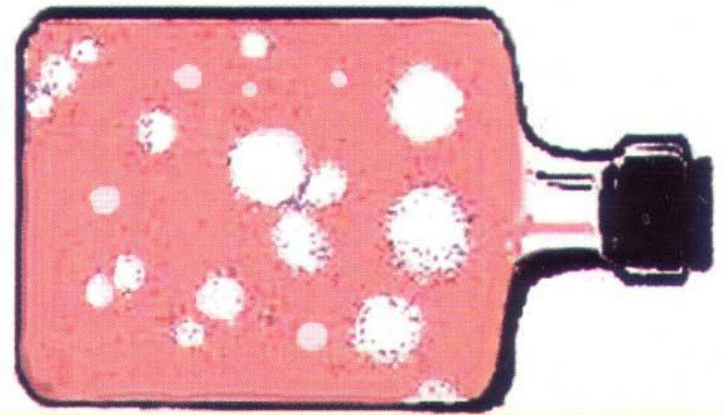


Вирусные включения



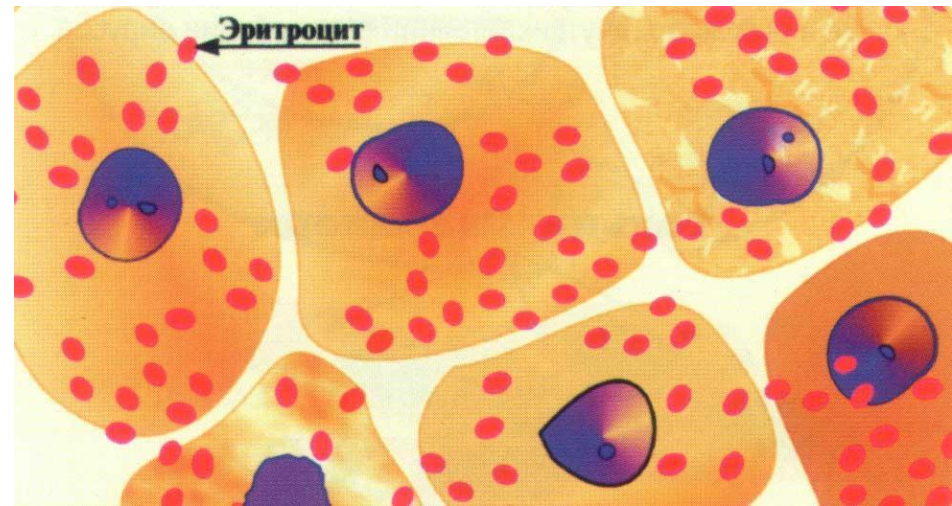
Индикация вирусов в культуре клеток

- **Бляшки**, или *негативные колонии* – ограниченные участки, состоящие из дегенеративных клеток, которые вирусы способны образовывать в монослое клеток под агаровым покрытием.
- Одна бляшка соответствует потомству одного вириона.
- Титр вируса выражают числом бляшкообразующих единиц **(БОЕ) в 1 мл.**



Индикация вирусов в культуре клеток

- **Гемадсорбция** – способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты определенных видов животных и птиц.



Индикация вирусов в культуре клеток

- **«Цветная» проба.** Если вирусы не размножаются в культуре клеток, то живые клетки в процессе своего метаболизма выделяют кислые продукты, что ведет к изменению рН среды и цвета индикатора фенолового красного на желтый. При продукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается, клетки гибнут, и среда сохраняет свой первоначальный (красный) цвет.
- **Интерференция** – конкуренция между вирусами за клетку.

Бактериофаги



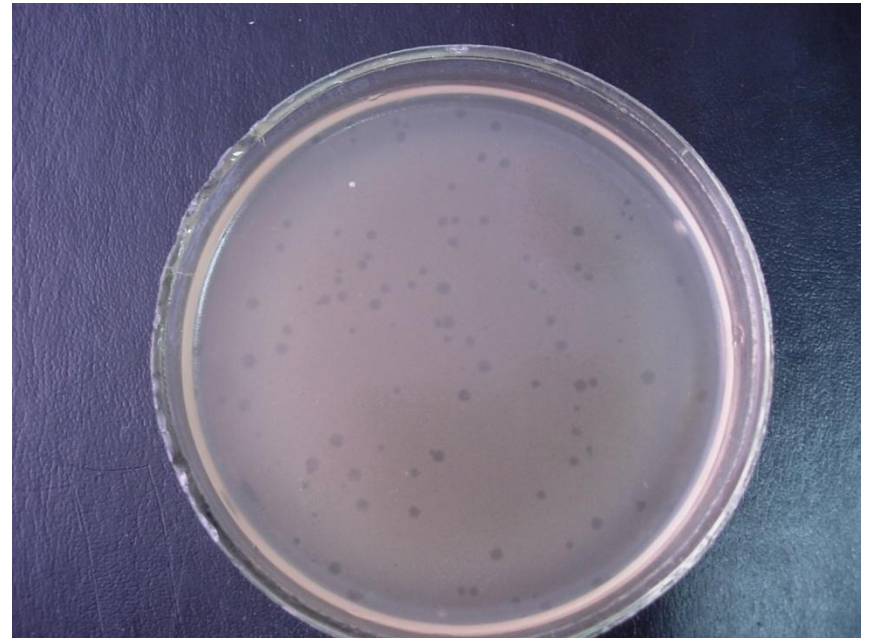
История открытия бактериофагов

- 1898 – **Н.Ф. Гамалея** обнаружил спонтанное разрушение палочек сибирской язвы.
- 1915 – **Фредерик Туорт** обратил внимание на необычное «стекловидное перерождение» колоний стафилококков.
- 1917 – канадский бактериолог **Ф. д'Эрёлль** выделил из кишечника больного дизентерией **бактериофаг** (фаг).



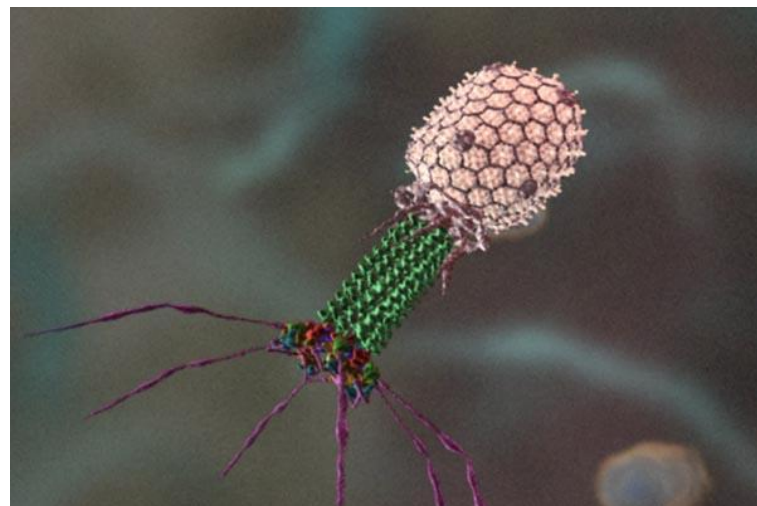
Выделение бактериофагов

- Выделить бактериофаг можно из естественного места обитания бактерии-хозяина.
- Фаги можно увидеть и на плотной среде по стерильным пятнам (бляшкам или негативным колониям).

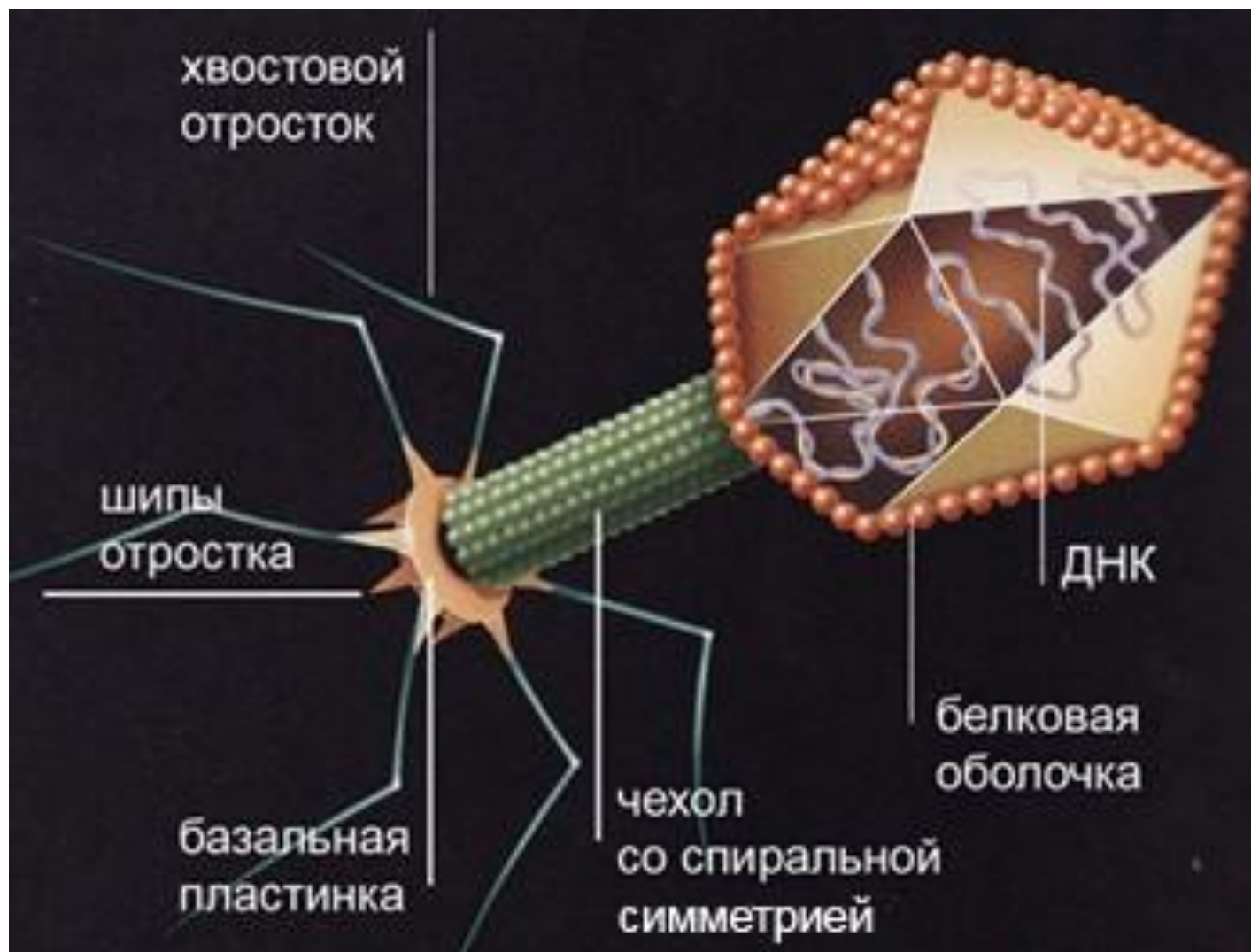


Классификация бактериофагов

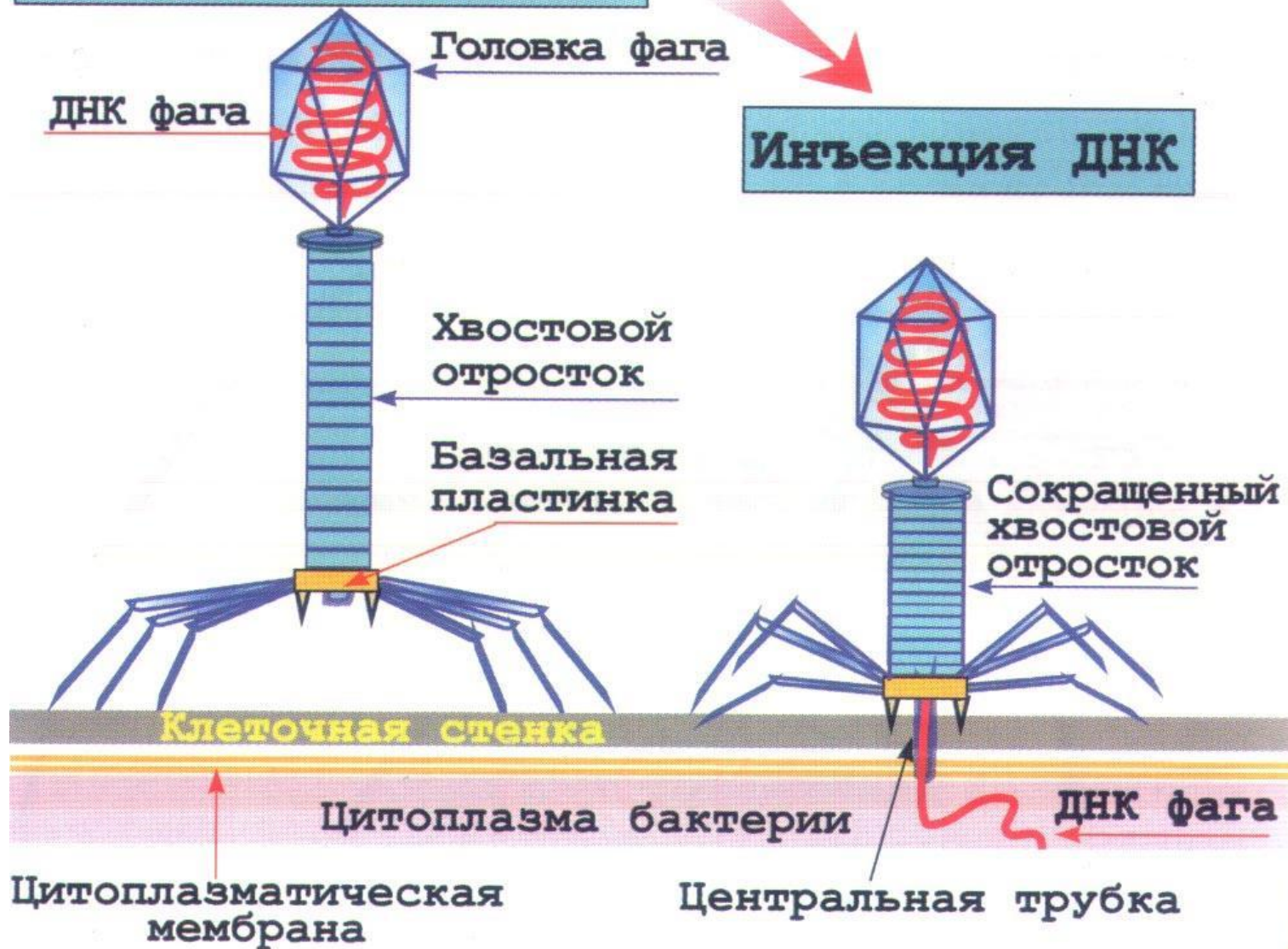
- Нитевидные фаги;
- фаги с длинным отростком и сокращающимся чехлом;
- фаги с длинным отростком без сокращающегося чехла;
- фаги с коротким отростком;
- фаги с аналогом отростка;
- фаги без отростка.



Строение бактериофага



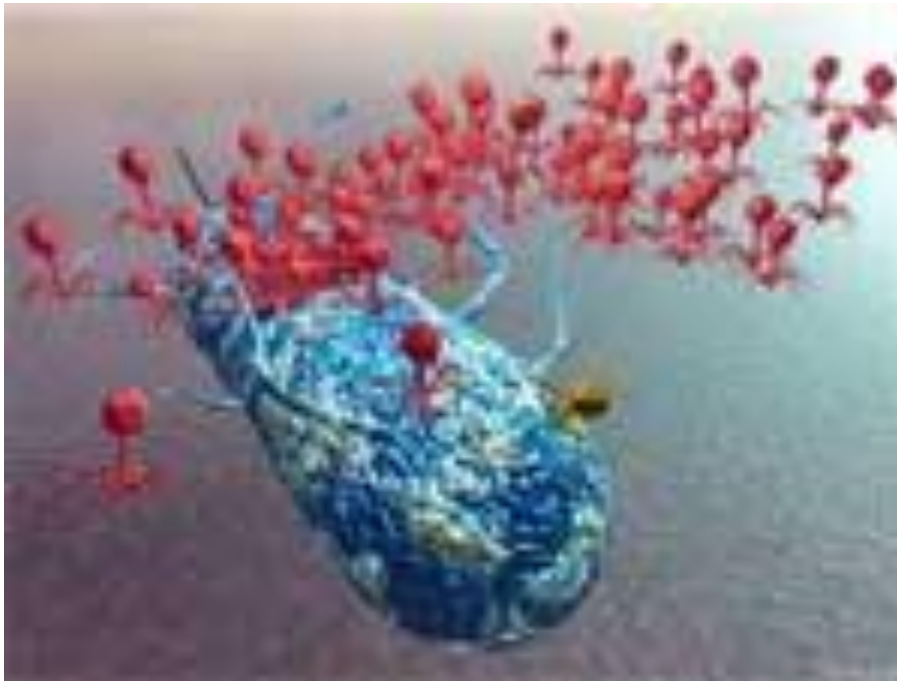
Прикрепление фага



Взаимодействие фага с бактериальной клеткой

Вирулентные бактериофаги

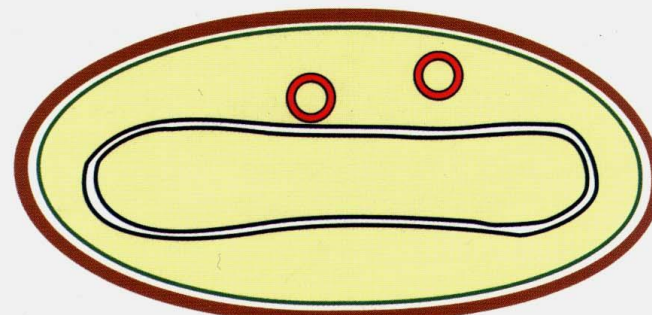
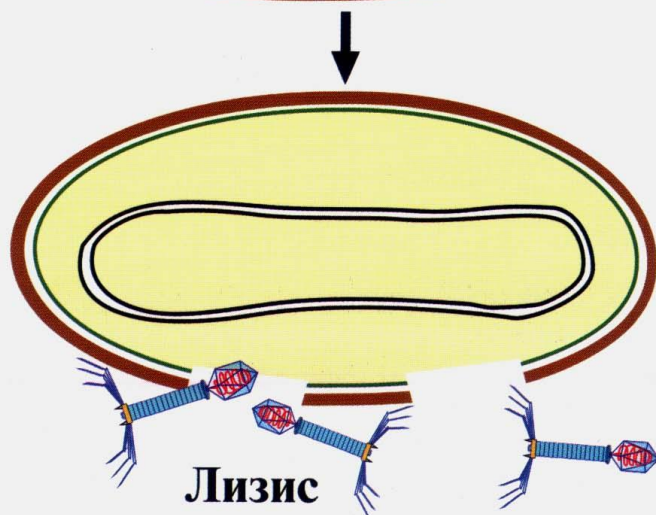
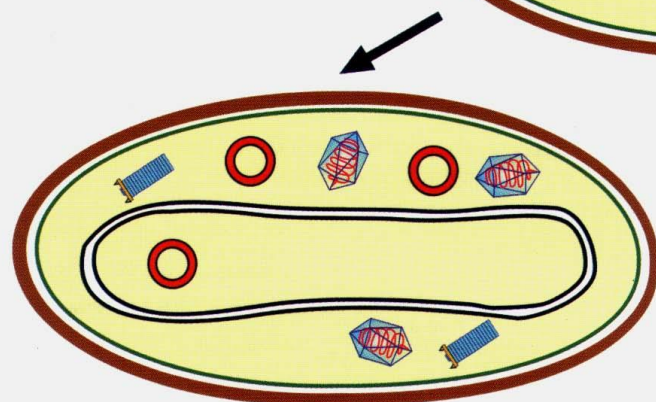
- Продуктивный тип. Литический цикл.



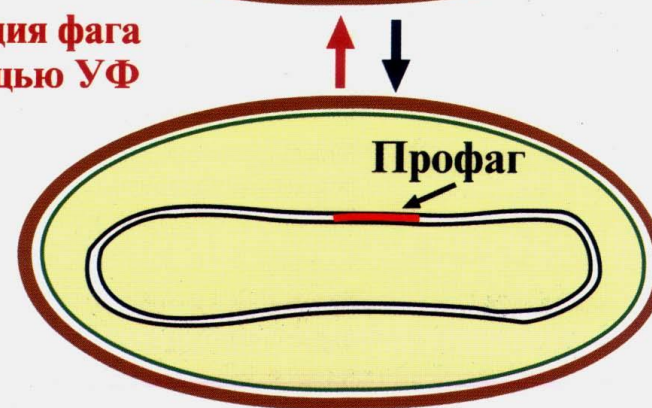
Умеренные бактериофаги

- Интегративный тип. Лизогения. Профаг. Лизогенная (фаговая) конверсия.





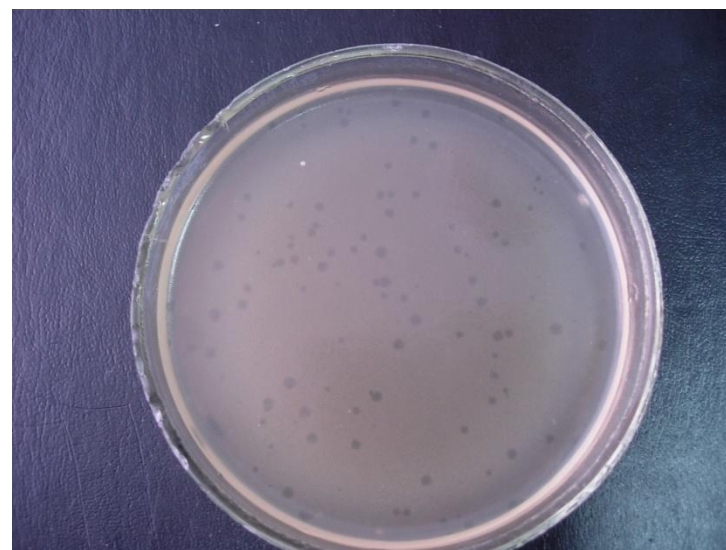
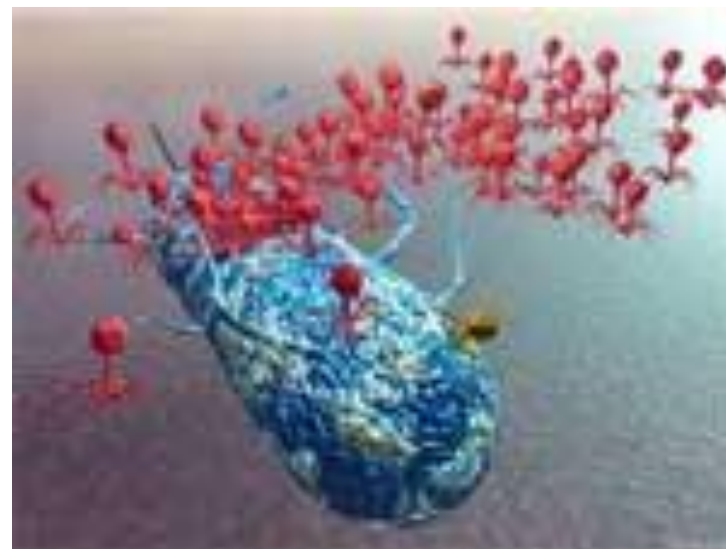
Индукция фага
с помощью УФ



Лизогения

Применение бактериофагов

- Лечебные бактериофаги: моновалентные, поливалентные (пиобактериофаг, интестифаг)
- Диагностические бактериофаги: видовые, типовые.



Лечебные бактериофаги

- Препарат бактериофага: фильтрат бульонной культуры, зараженной соответствующим фагом.
- Препараты назначаются с целью лечения и экстренной профилактики инфекционных заболеваний.
- Назначаются местно или введением в полости.



Диагностические бактериофаги

- Бактериофаги применяют в лабораторной диагностике:
 - для идентификации бактерий (**реакция фаголизиса**)
 - с целью выявления источника инфекции — эпидемическое маркирование (**реакция фаготипирования**).

