

Полтавський державний медичний університет
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Лекція:

Загальна вірусологія.

Морфологія і

ультраструктура вірусів.

Культивування вірусів

Історія вивчення вірусів

- У 1892 році ботанік
- **Дмитро Йосипович Івановський**
- отримав інфекційний екстракт з рослин табаку, вражених мозаїчною хворобою



В стінах університету святого Володимира (нині Київський національний університет імені Тараса Шевченка) **основположник вірусології – наш співвітчизник Д.Й. Івановський** в 1903 році успішно захистив докторську дисертацію на тему “Мозаїчна хвороба тютюну”, чим офіційно підтвердив своє відкриття патогену тютюнової мозаїки, яке він зробив в 1892 році.

В 1962 році в Київському університеті імені Тараса Шевченка, **вперше в тодішньому СРСР**, відкрито кафедру вірусології, яка розпочала підготовку спеціалістів-вірусологів.

Історія вивчення вірусів

У 1898 році

голандець

**Мартінус Віллем
Беєрінк**

першим використав
термін «вірус», хоча і
вважав, що вірус є
рідкою хімічною
сполукою.



Історія вивчення вірусів



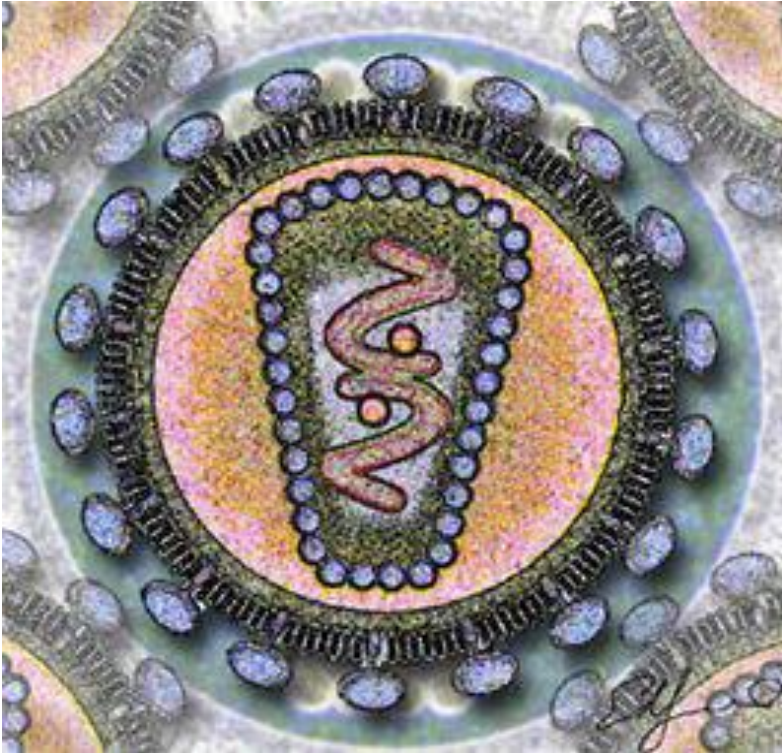
- У 1921 году Гудпастур (Goodpasture) і Толберт (Talbert) запропонували гіпотезу, що цитомегалія має вірусну природу. У 1950 році Маргарет Сміт і Велліос (Vellios) довели, що інфекція може уражати матку. У 1956 році одночасно Маргарет Гледіс Сміт (Margaret Gladys Smith, 1896-1970 гг.) і Рове вдалося виділити цитомегаловірус з сечі дитини, хворої на цитомегалію. У 1960 році Веллер ввели назву ЦИТОМЕГАЛОВІРУС.

Історія вивчення вірусів



- До 1977 року ефективних засобів для лікування герпеса практично не було, поки Гертруда Белл Елайон у співавторстві винайшла в Америці ацикловір.

Історія вивчення вірусів



- Вірус імунodefіциту людини незалежно відкрили у 1983 році у двох лабораторіях:
- в Інституті Пастера у Франції під керівництвом Люка Монтаньє.
- у Національному інституті рака в США під керівництвом Роберта Галло.

Загальна характеристика вірусів

- **Віруси є особливою групою неклітинних форм життя, яким властивий паразитизм на молекулярному, а також і на молекулярно-генетичному рівні**
- **Позаклітинна форма — віріон — містить всі основні структурні елементи (капсид, нуклеїнову кислоту, структурні білки, ферменти).
Внутрішньоклітинна форма — вірус — може бути представлена тільки однією молекулою нуклеїнової кислоти.**

Загальна характеристика вірусів

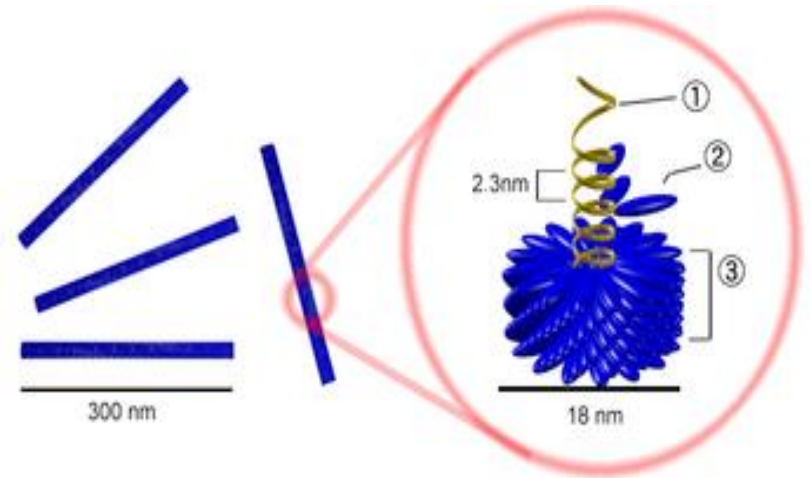
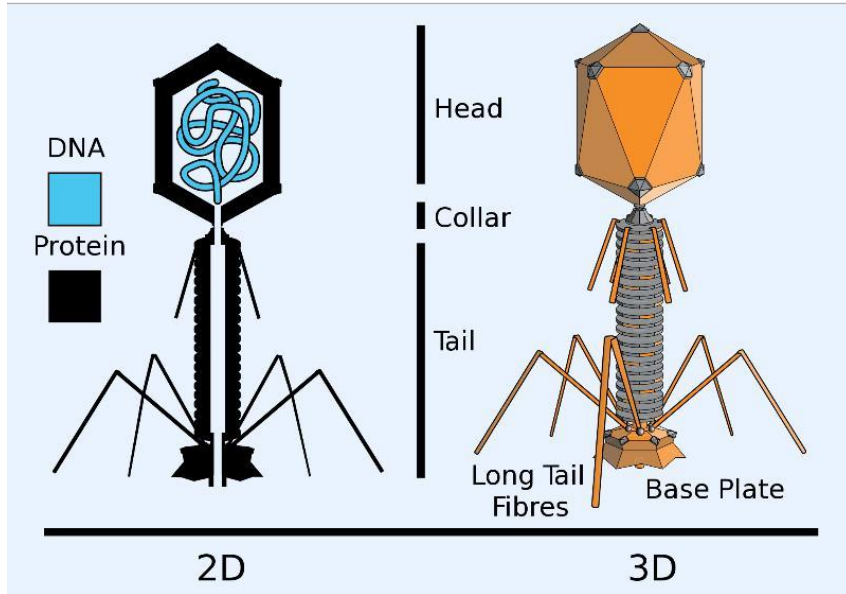
Віруси характеризуються такими основними ознаками:

- 1) дуже малими розмірами тіла (вимірюються нанометрами);**
- 2) відсутністю клітинної будови;**
- 3) відносно простим хімічним складом (найпростіші віруси складаються з білка і нуклеїнової кислоти);**

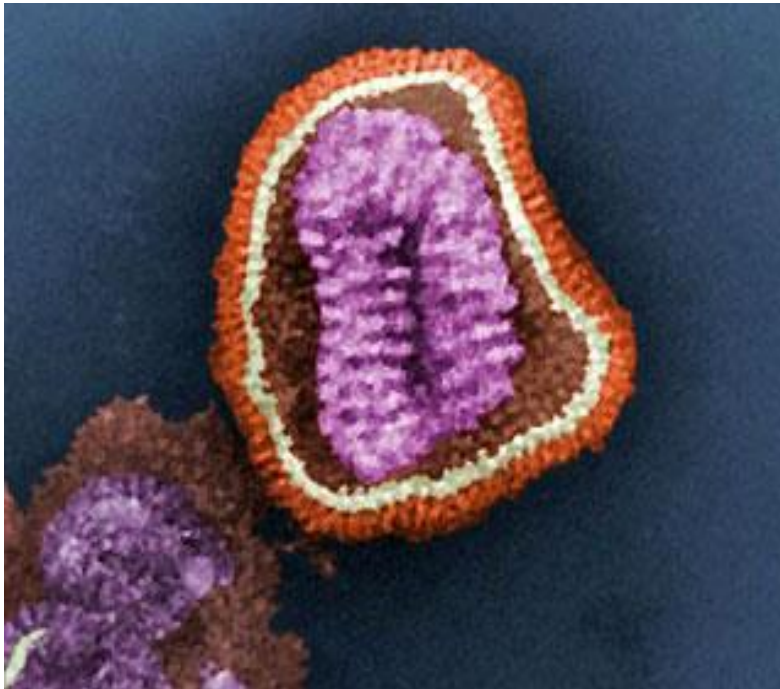
Загальна характеристика вірусів

- **4) нездатністю до культивування на штучних синтетичних середовищах;**
- **5) особливим циклом розвитку в організмі сприйнятливого хазяїна**
- **6) здатністю деяких із них кристалізуватися за певних умов довкілля.**
- **Суттєвими ознаками, що відрізняють віруси від усіх інших відомих організмів, є відсутність власних систем білка (це визначає характер паразитизму вірусів — паразитизм на генетичному рівні) і те, що віруси є неклітинними формами життя.**

Віруси уражають бактерії (бактеріофаги), гриби, рослини, тварин і людей.

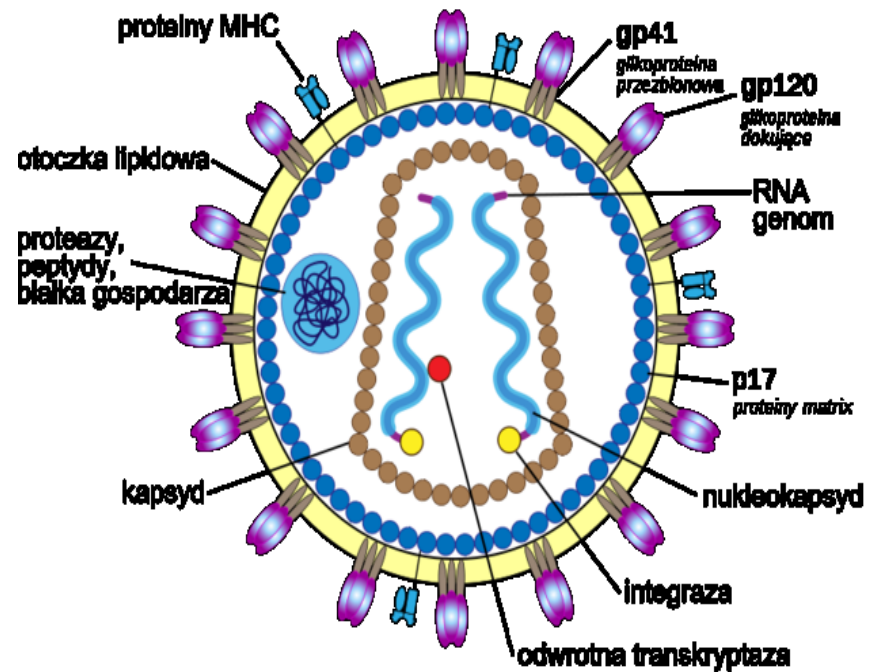


Віруси людини



Знімок віріона родини
ортоміксовірусів.

Фото: CDC/ Dr. Erskine. L. Palmer; Dr.
M. L. Martin.



Структура віріону вірусу на прикладі ВІЛ.

Класифікація вірусів

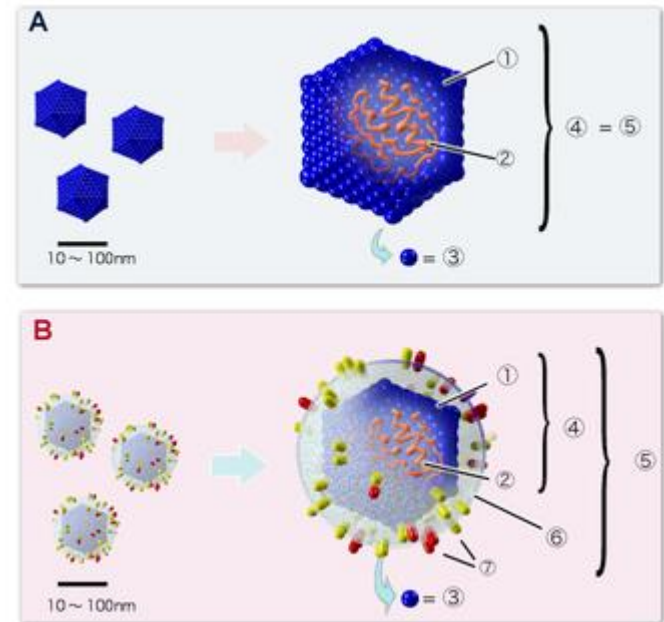
- Віруси відносяться до царства VIRA, яке поділяється на 2 підцарства: рибовіруси і дезоксирибовіруси. Підцарства поділяються на родини (закінчення - viridae), підродини (закінчення - virinae), роди (закінчення - virus), види.
- Таксономічними характеристиками є:
- 1. Особливості нуклеїнової кислоти: тип, число ниток, молекулярна маса, вміст гуаніну і цитозину.
- 2. Морфологічні властивості: тип симетрії, число капсомерів, форма, розміри.

Класифікація вірусів

- 3. Особливості структурних білків.
- 4. Коло господарів, патогенез інфекційного процесу, онкогенез.
- 5. Резистентність віруса.
- 6. Антигенна характеристика
- Віруси людини входять до складу 6 родин – ДНК-геномних та 11 родин – РНК-геномних

Будова вірусу

- Генетичний матеріал вірусів упакований у спеціальний симетричний футляр — капсид [від лат. capsula, футляр]. Капсид представлений білковою оболонкою.
- Основні функції капсида — захист вірусного геному від зовнішніх чинників, забезпечення адсорбції віріона, проникнення його у клітину шляхом взаємодії з клітинними рецепторами.



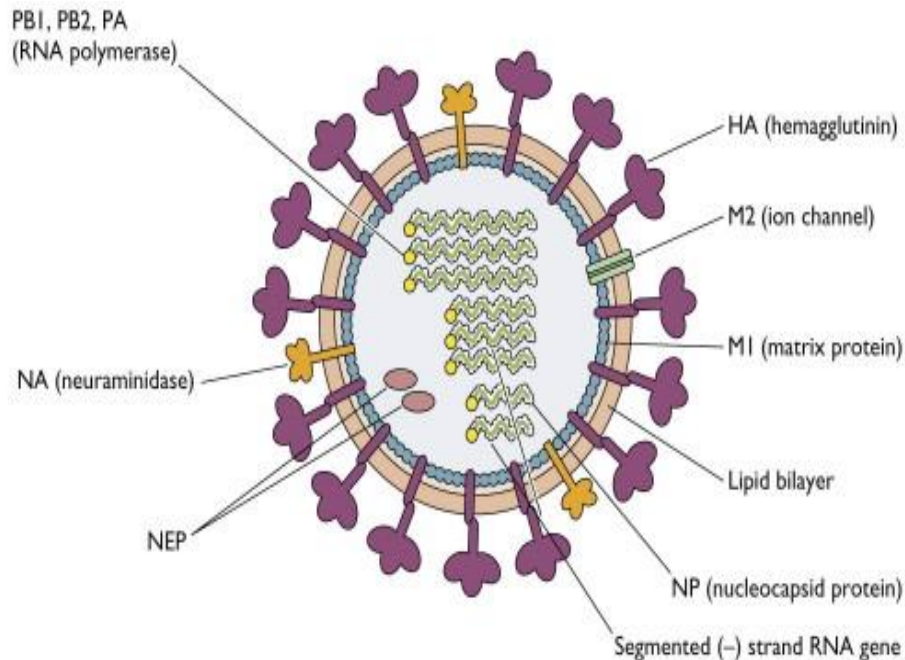
А. Простий вірус

В. Складний вірус

Будова вірусу

- Капсид утворюють однакові за будовою субодиниці — капсомери, організовані в один або два шари за двома типами симетрії — кубічному або спіральному. Число капсомерів суворо специфічне для кожного виду і залежить від розмірів і морфології віріонів. Капсомери утворюють молекули білка— протомери. Протомери представлені мономерами (містять один поліпептид) або полімерами (включають декілька поліпептидів).

Хімічний склад вірусу



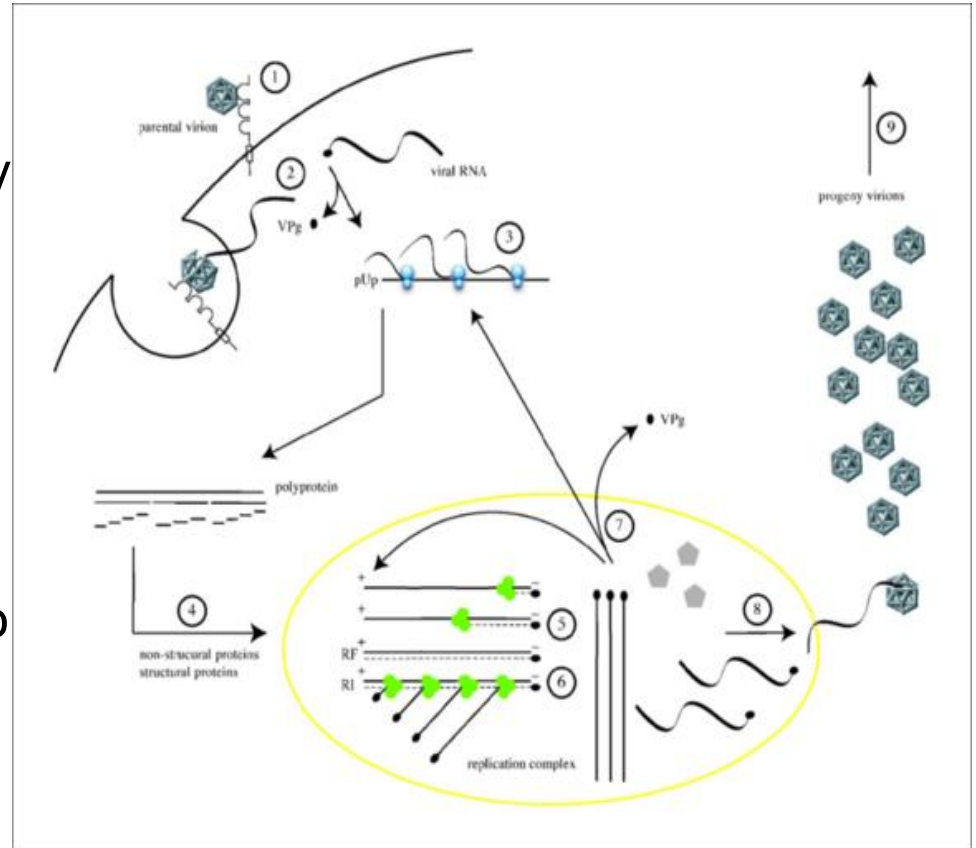
- **Вірусна ДНК.** У геномі міститься кілька сотень генів. Може бути одониткова або двохниткова, фрагментована, лінійна або кільцева.
- **Вірусна РНК** (має полярність)
- **Вірусні білки.** Підрозділяються на структурні і функціональні.
- Ферменти вірусів за походженням підрозділяються на віріонні та вірусіндуковані.
- **Ліпіди і вуглеводи.**

Форми взаємодії вірусу з клітиною господаря.

- **Продуктивний тип** взаємодії, при якому відбувається репродукція вірусу, з утворенням дочірніх часточок збудника.
- **Абортивний тип** взаємодії, при якому відбувається порушення репродукції на одному з етапів, або утворення дефектних часточок.
- **Інтегративний тип** взаємодії, при якому відбувається інтеграція вірусної нуклеїнової кислоти в клітинний геном господаря.

Репродукція вірусів

- Адсорбція - приєднання віріона до клітинної мембрани.
- Для реалізації цього процесу клітина повинна мати у складі цитоплазматичної мембрани білок (часто глікопротеїн) — рецептор, специфічний для даного вірусу. Наявність рецептора визначає коло хазяїв даного вірусу, а також його тканинспецифічність.

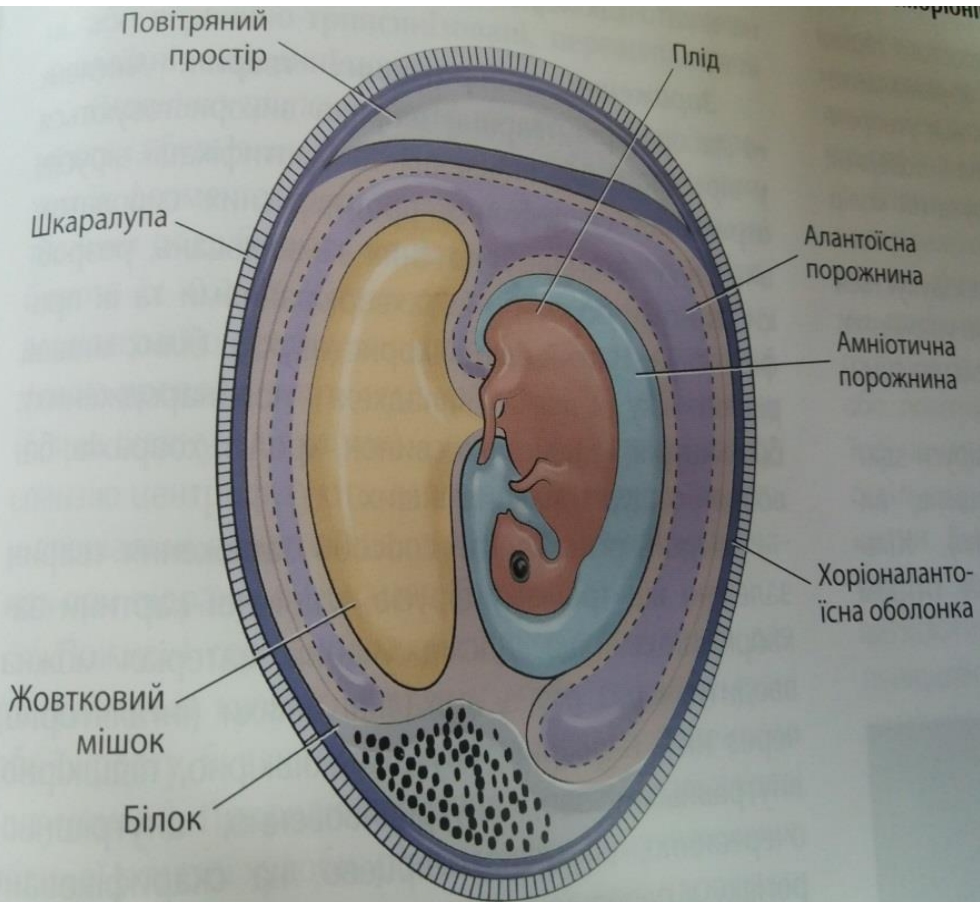


Життєвий цикл поліовірусу

Репродукція вірусів

- **Проникнення у клітину** відбувається шляхом віропексису або шляхом злиття мембран.
- Віропексис – це окремий випадок рецепторного ендозитозу, який полягає в інвагінації ділянки плазматичної мембрани, на якій адсорбувався вірус.
- Проникнення вірусу шляхом злиття мембран відбувається при об'єднанні оболонки віруса з плазматичною мембраною клітини господаря, внаслідок чого внутрішні структури віріону виявляються у цитоплазмі ураженої клітини, а при злитті з ядерною мембраною – в клітинному ядрі.
- **Роздягання віріонів.** Полягає у депротеїнізації і звільненні від суперкапсиду і капсиду.
- **Реплікація нуклеїнової кислоти.**
- **Синтез вірусних білків.**
- **Складання віріону.**
- **Вихід віріонів.**

Методи культивування вірусів

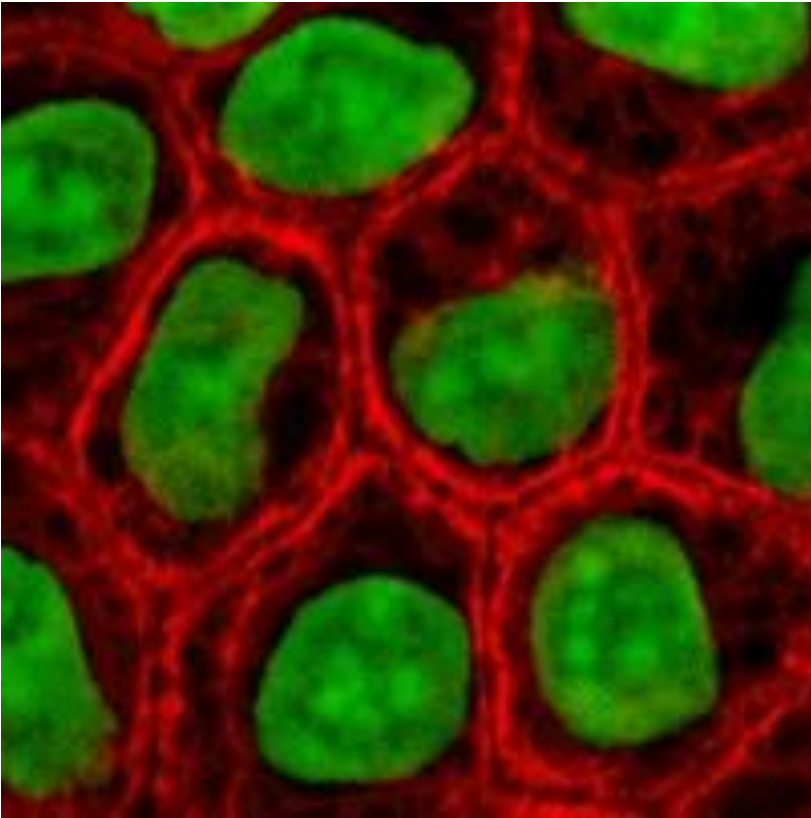


З 1931 року у вірусологічній практиці стали використовувати курячі ембріони

Для виділення вірусів застосовують курячі ембріони віком від 5 до 14 днів

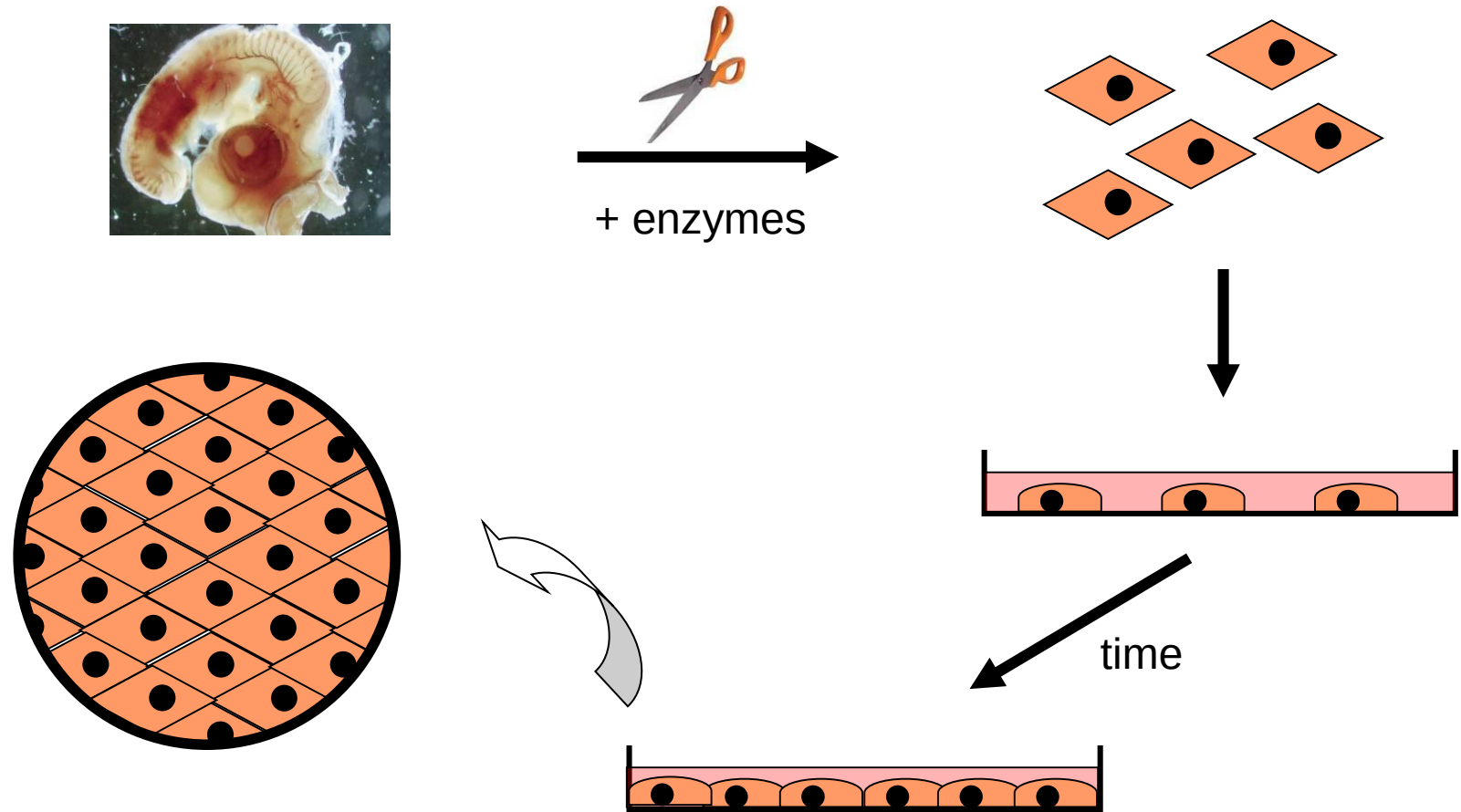
Будова курячого ембріона і способи його зараження:
1 - в амніон; 2 - в аллантоїсну порожнину; 3 - в жовтковий мішок ; 4 – на хоріоналлантоїсну оболонку

Культури клітин

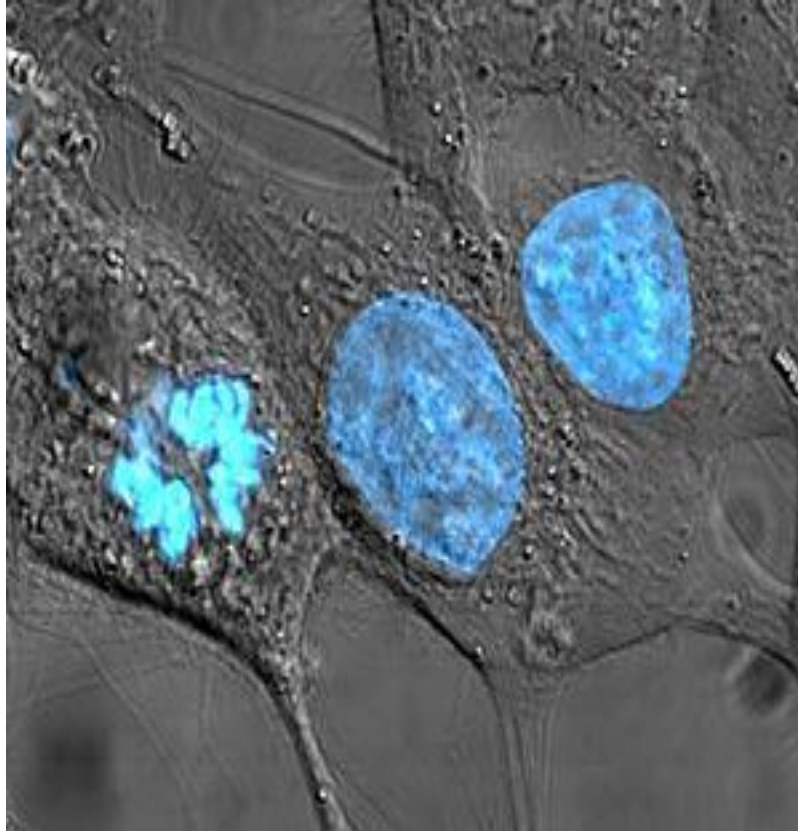


- Первинна культура клітин.
- Здатні зазнавати близько 10 поділів, їх одержують шляхом ферментативної дезінтеграції (використовують трипсин)

Схема отримання первинної культури клітин



Культури клітин



- Перещеплювані культури клітин – це культури клітин одного типу, що набули здатність до необмежуваного росту. (HeLa, Нер-2)

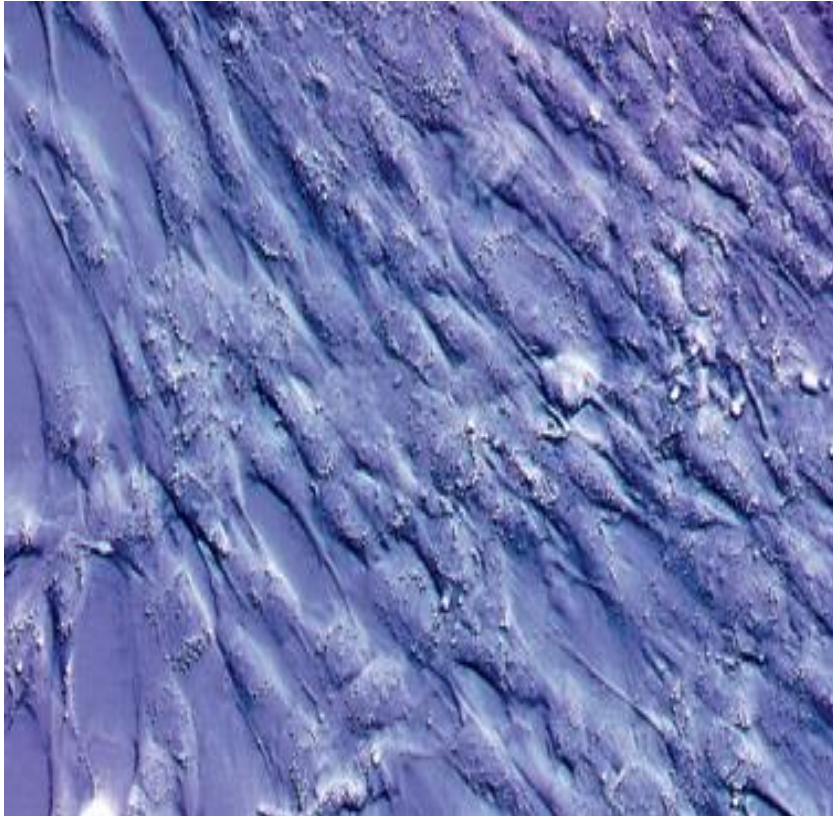
Одна из самых ранних культур клеток человека, полученная от Генриетты Лакс, которая умерла от рака шейки матки. Культура клеток HeLa окрашена по Хойсту. Измененные ядра окрашены в синий цвет.

Культури клітин

Перещеплювані - культури пухлинних клітин; не мають ліміту поділу за Хейфліком (HeLa, HEP2, KB, Vero та ін.)



Культури клітин

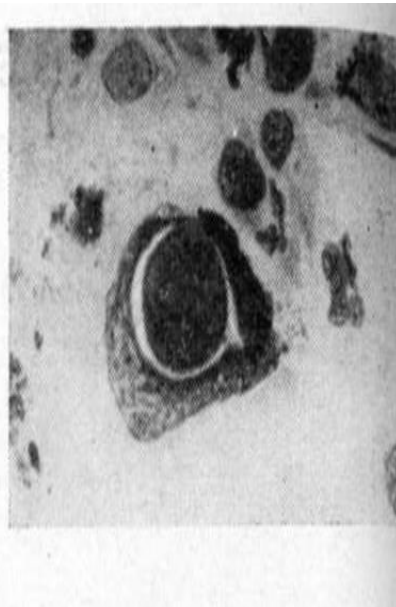
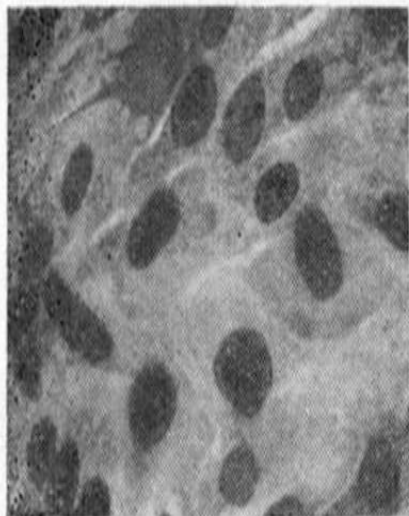


- Диплоїдні клітини – це культури клітин одного типу, здатні витримувати близько 100 поділів.



Флакони для культивування вірусів на культурі клітин

Методи індикації вірусів

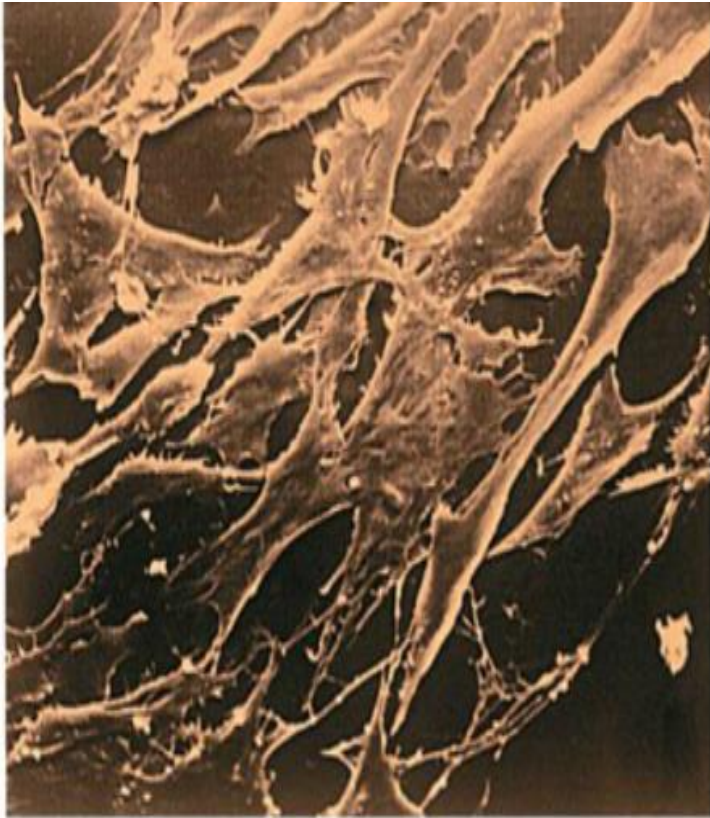


- Методи індикації вірусів.
- За цитопатичною дією
- За утворенням бляшок
- Реакцією гемадсорбції.
- Реакцією
гемаглютинації
- За утворенням
внутрішньоклітинних
включень

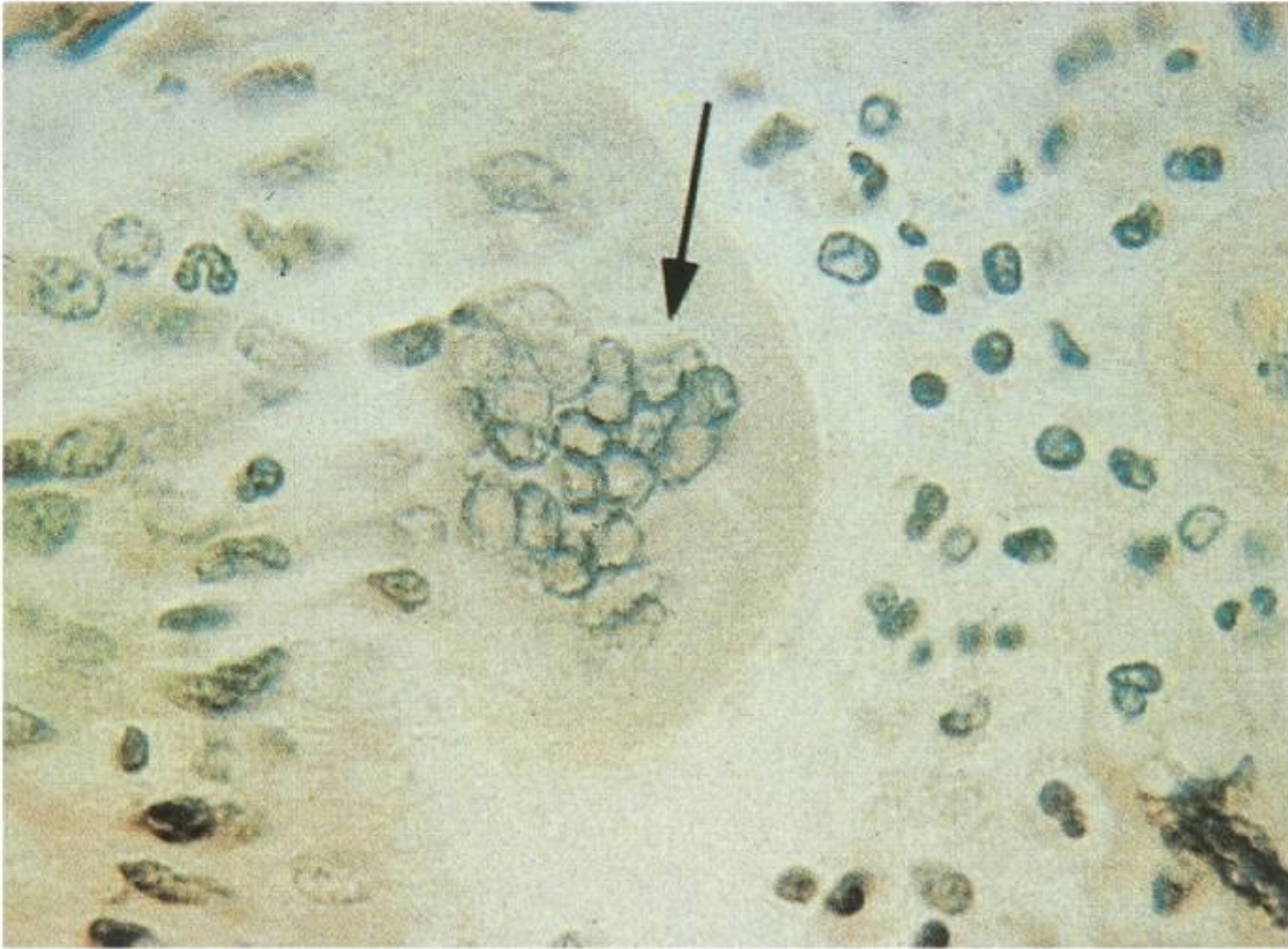
Основні прояви цитопатичної дії вірусів:

- 1) розмноження вірусу може супроводжуватися загибеллю клітин або морфологічними змінами в них;**
- 2) деякі віруси викликають злиття клітин і утворення многоядерного синцитія;**
- 3) клітини можуть рости, але ділитися, в результаті чого утворюються гігантські клітини;**
- 4) в клітинах з'являються включення (ядерні, цитоплазматичні, змішані). Включення можуть фарбуватися в рожевий колір (еозинофільні включення) або в блакитний (базофільні включення);**
- 5) якщо в культурі тканини розмножуються віруси, що мають гемаглютиніни, то в процесі розмноження клітина набуває здатності адсорбувати еритроцити (гемадсорбція).**

Цитопатична дія аденовірусу в культурі клітин - гроноутворення



Цитопатична дія вірусів



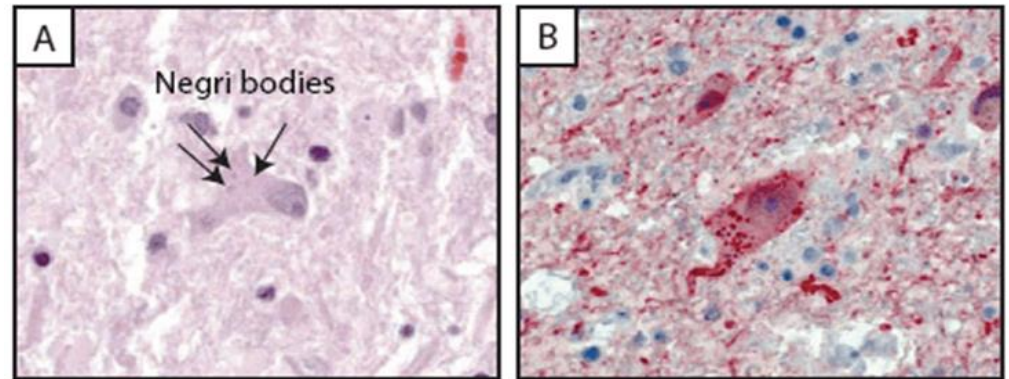
Формування многоядерного синцитія вірусом кору

Внутрішньоклітинні включення



Photo/CDC

**Аутопсія геморагічних ділянок
мозку, ураженого вірусом сказу**



Photo/CDC

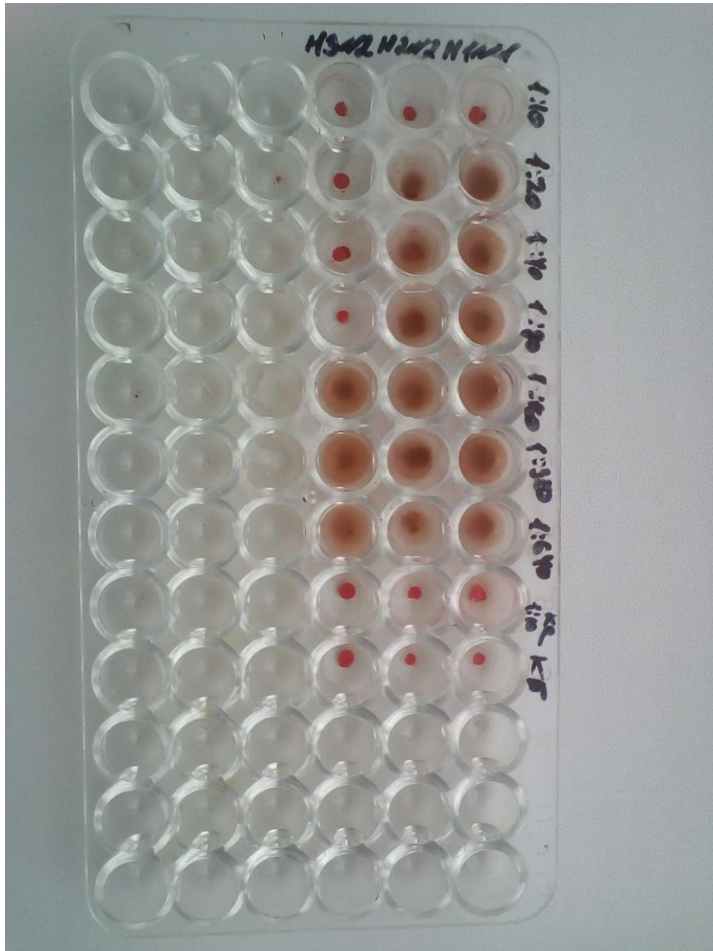
**Виявлення включень – тілець Бабеша-Негрі, забарвлених гематоксилином (А)
та за Маном (В)**

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5913a3.htm>

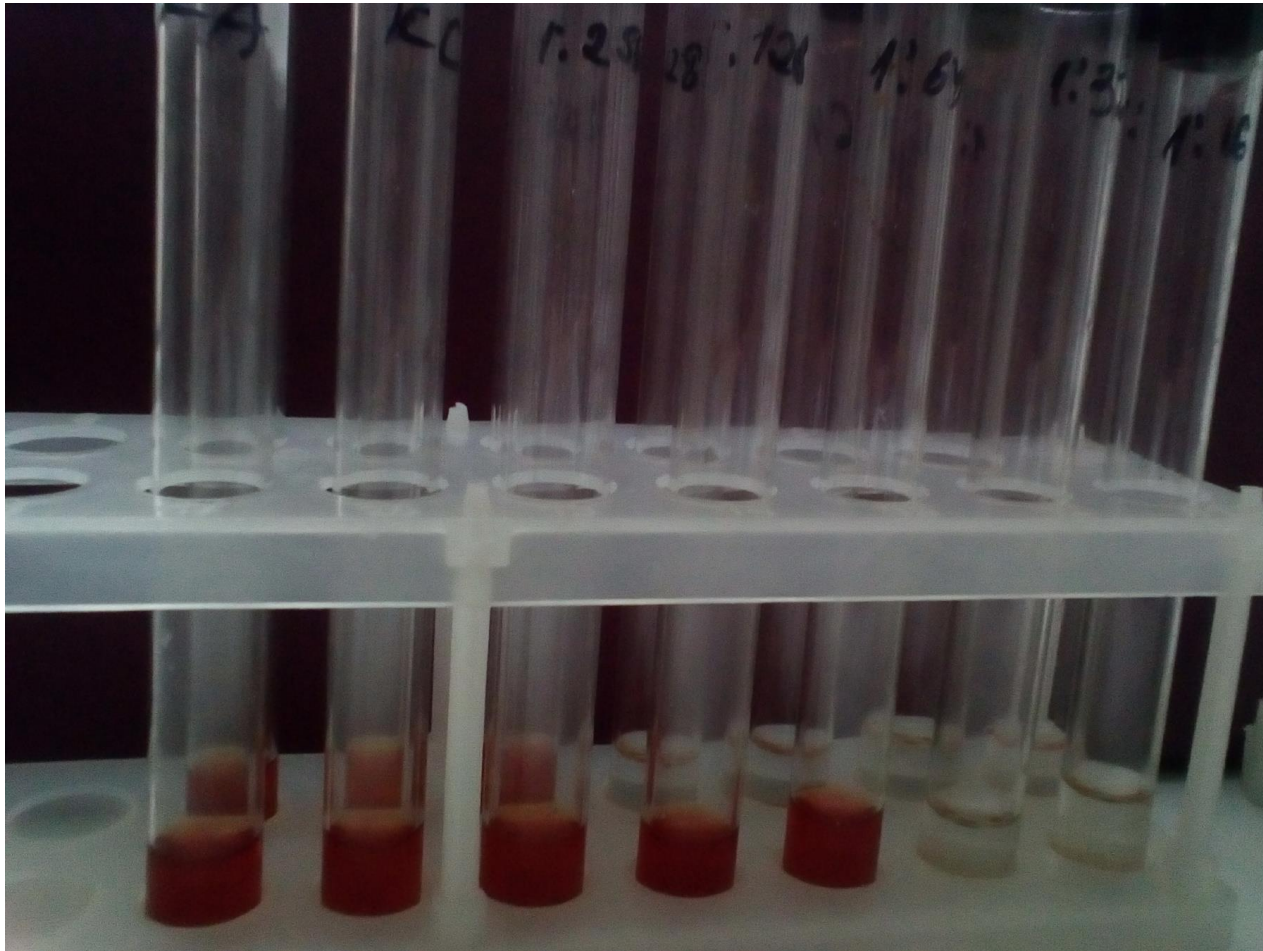
Методи ідентифікації вірусів

- 1. РГГА
- 2. РЗК
- 3. РН
- 4. Реакція імунодифузії
- 5. РІФ
- 6. Метод імунної електронної мікроскопії
- 7. Реакції радіального гемолізу

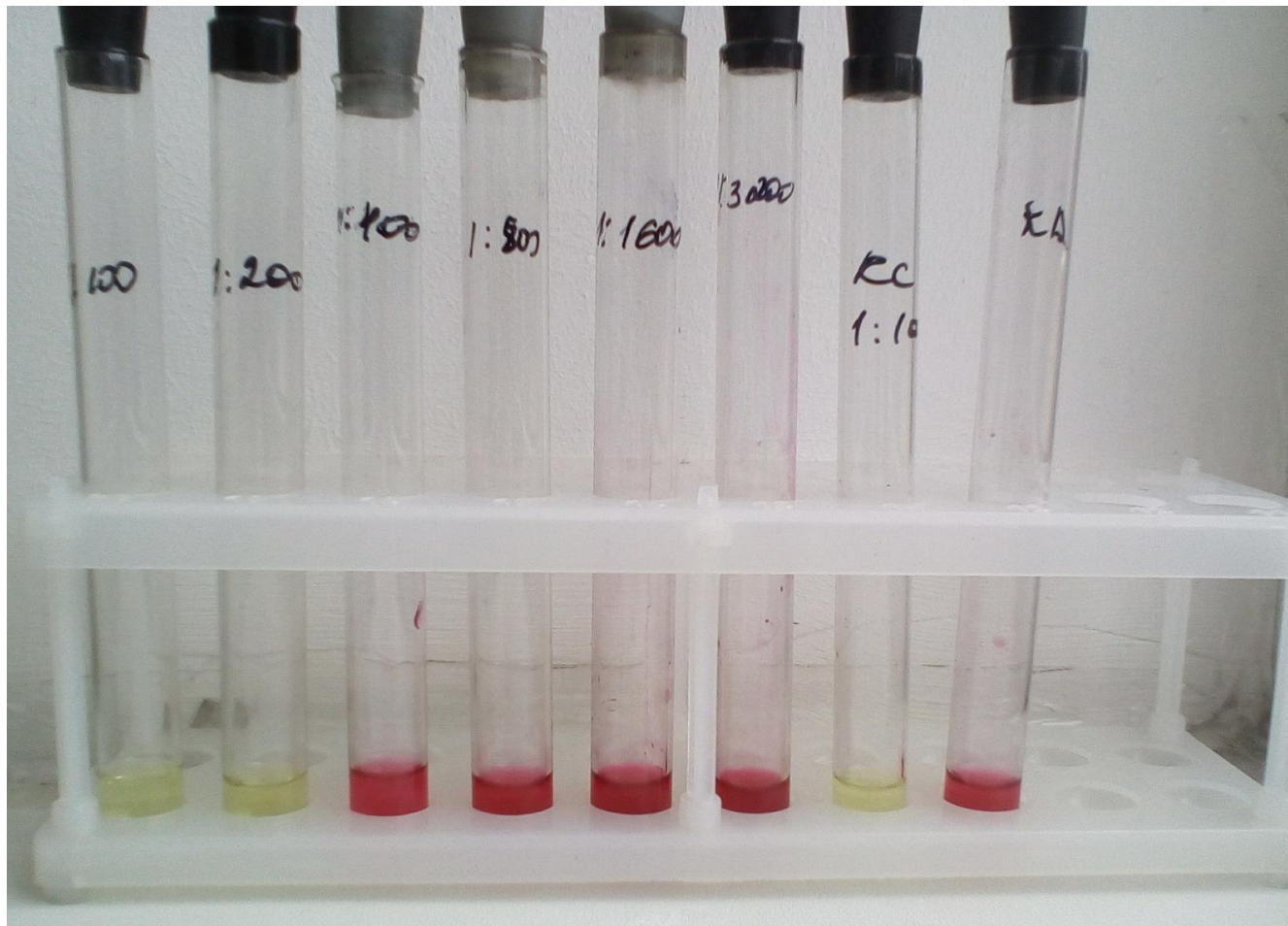
РГГА



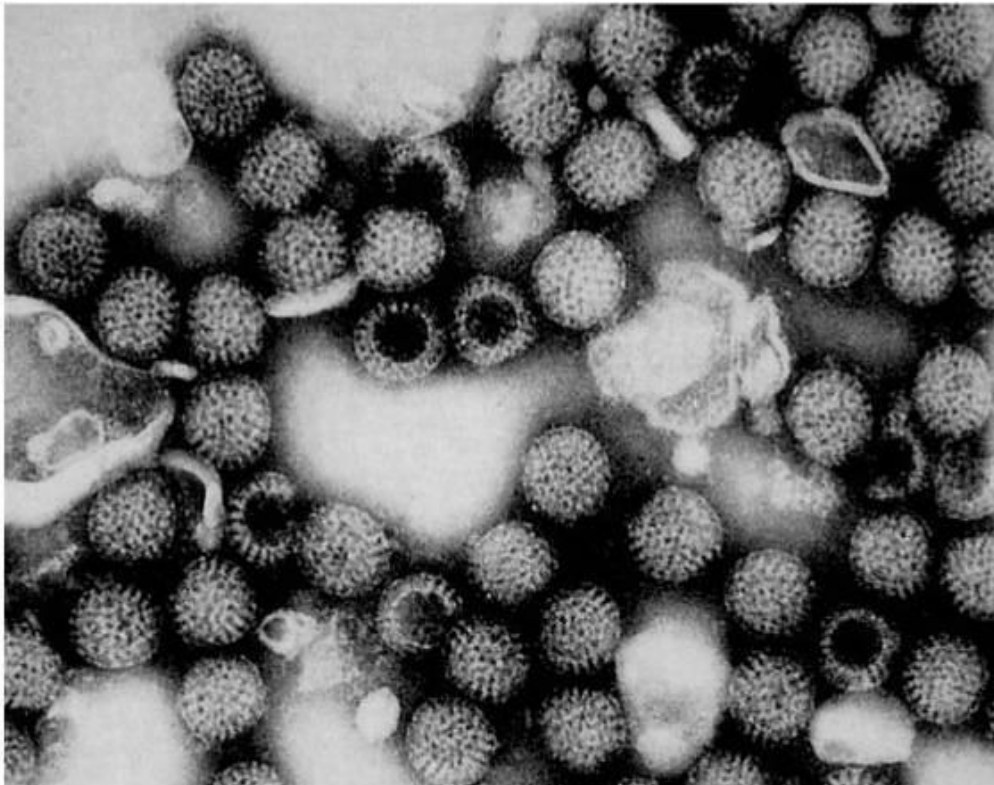
P3K



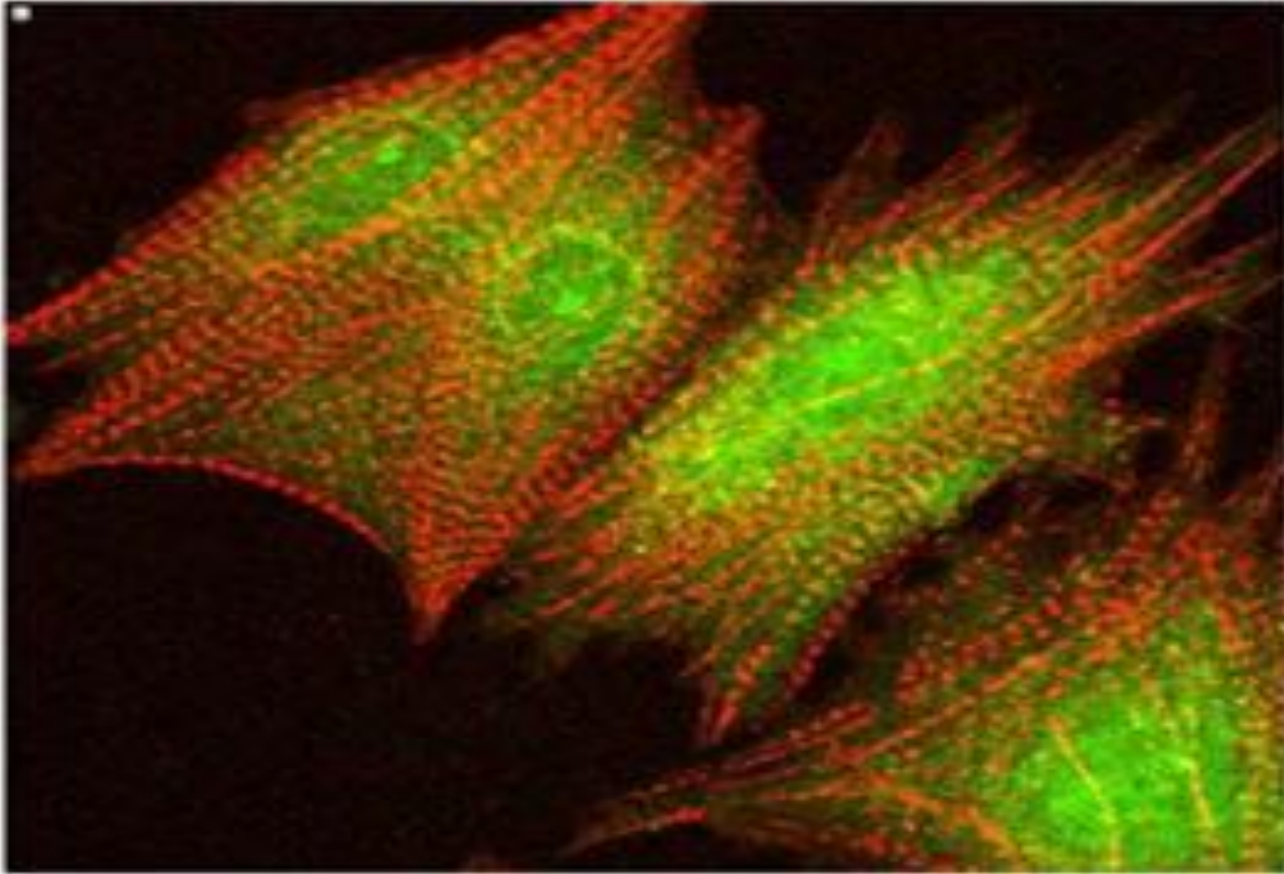
PH



IEM



$\rho|\Phi$



$I\Phi A$

