

# ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

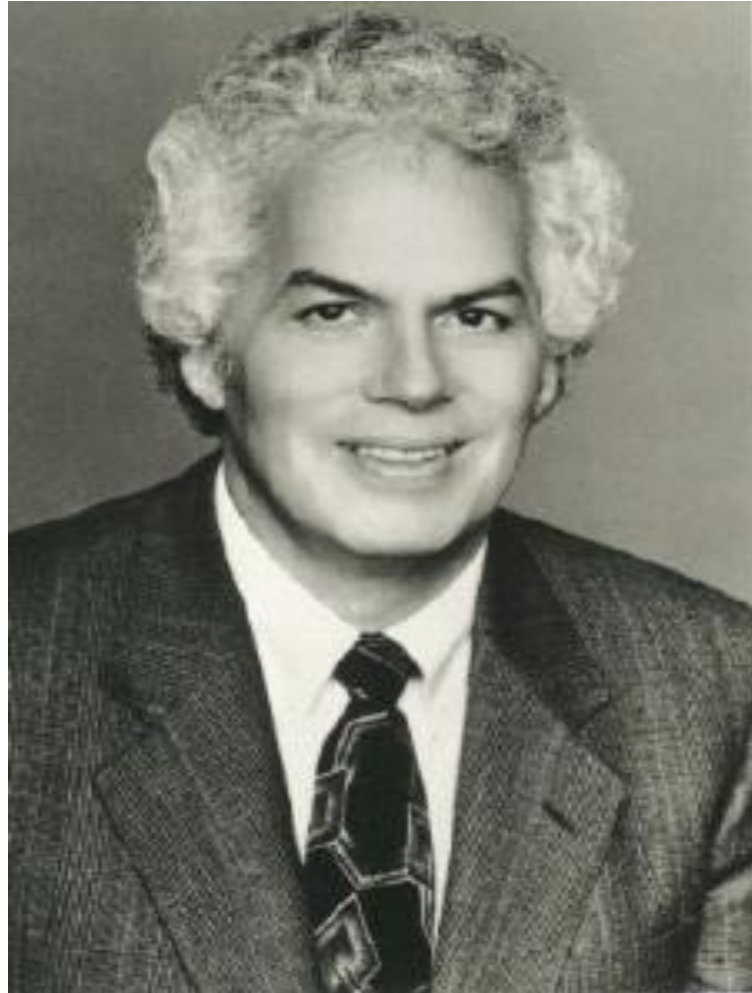
# История открытия первых вирусов

1. Вирус табачной мозаики - Д.И.Ивановский – 1892 г.
2. Бактериофаг - д'Эррель – 1917 г.
3. Прион - Стэнли Прузинер – начало 80 годов 20 века, нобелевская премия 1997 г.

# Д.И.Ивановский (1864 – 1920)



# Стэнли Прузинер (1942)



# Основные отличия вирусов от других форм жизни

- ⇒ **ОДИН ТИП НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ**
- ⇒ **ОТСУТСТВИЕ**
  - ✓ клеточного строения
  - ✓ белоксинтезирующих систем
  - ✓ энергозапасающих систем
- ⇒ **ВОЗМОЖНОСТЬ ИНТЕГРАЦИИ В КЛЕТОЧНЫЙ ГЕНОМ и синхронной с ним репликации**
- ⇒ **разобщённый (дизъюнктивный) способ размножения (репликации)**

# Основные признаки, используемые для классификации вирусов

- ✓ тип нуклеиновой кислоты (ДНК/РНК)
- ✓ структура генома – количество нитей (цепочек) НК
- ✓ целостность или фрагментированность генома
- ✓ наличие суперкапсида
- ✓ наличие обратной транскриптазы (для отнесения к семейству ретровирусов)

# Иерархическая система таксонов, применяемых в вирусологии

1. Царство: **Vira**

2. Подцарства: **ДНК-геномные вирусы**  
**РНК-геномные вирусы**

3. Семейство

Название таксона заканчивается на **-viridae**

4. Подсемейство

Название таксона заканчивается на **-virinae** (существует у некоторых семейств)

5. Род

Название таксона заканчивается на **-virus**. Основной таксон в классификации вирусов

6. Вирус

7. Серовары

По антигенной структуре

# КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ

## ДНК -геномные вирусы

1цепь	2цепи	
простые	простые	сложные
<b>Parvo-v iridae</b>	<b>Adenoviridae</b> <b>Паповавиридае</b>	<b>Poxviridae</b> <b>Herpesviridae</b> <b>Hepadnaviridae</b>



# КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ

## РНК- геномные вирусы (-viridae)

1цепь		2цепи		
простые	сложные			простые
+(НИТЬ)	+(НИТЬ)	-(НИТЬ)		+/- (НИТЬ )
Picorna- Calici-	Retro- Toga- Flavi- Corona-	целая	фрагм.	фраг.
		Paramyxo- Rhabdo- Filo-	Orthomyxo- Bunya- Arena-	Reo-

# Формы существования вирусов

▣ **внеклеточная** = **вирион** (структура) :

✓ НК

✓ капсид

✓ [суперкапсид]

*. Н-р, вирион имеет форму...*

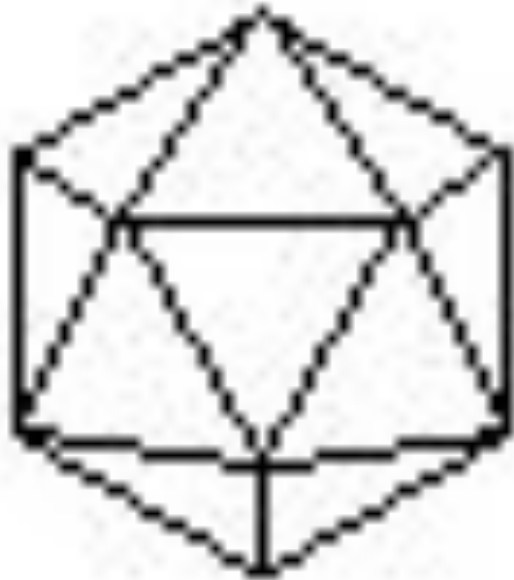
▣ **внутриклеточная** – **вирус**: размножение,  
заболевания:

- НК

*Н-р, вирус размножается.....*

*Вирус гриппа....*

# Принцип строения вириона



**Простой:**

**НК+ капсид =  
нуклеокапсид**

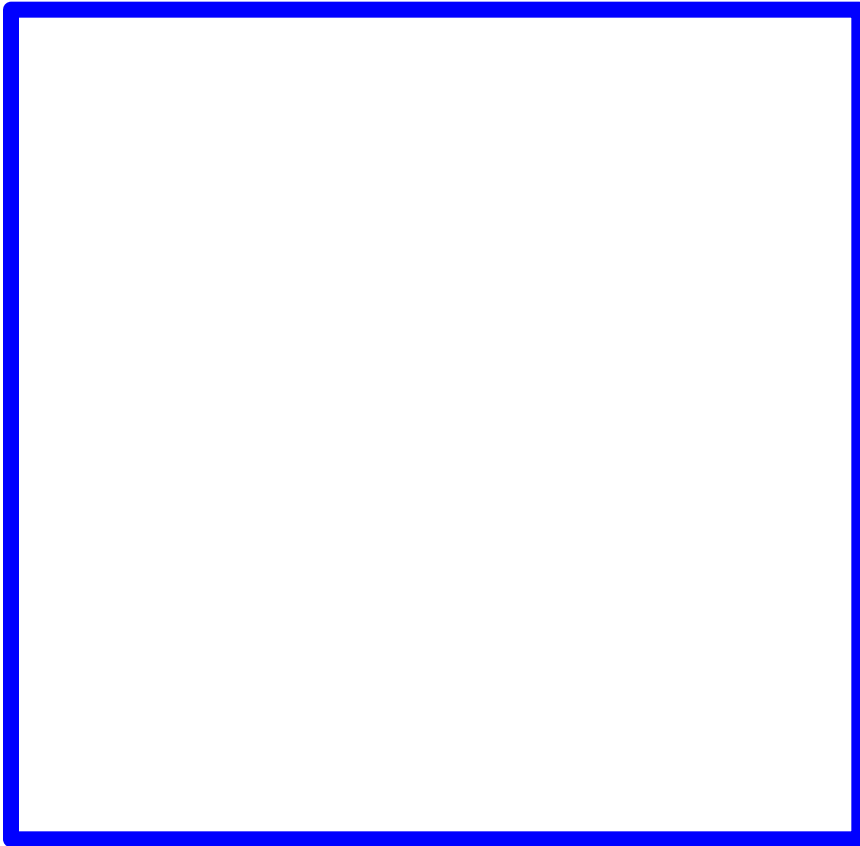


**Сложный:**

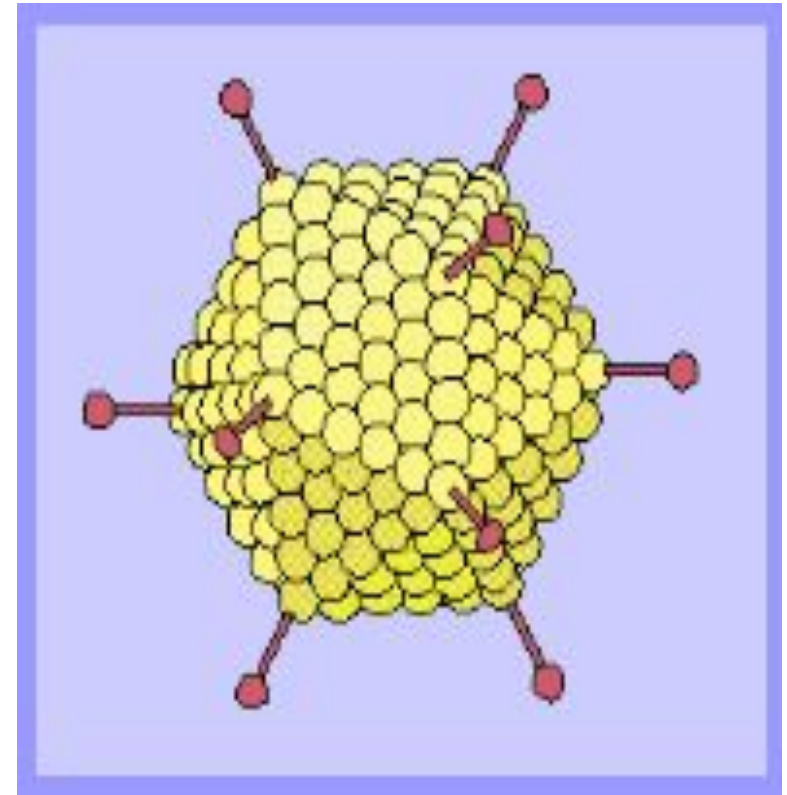
**нуклеокапсид +  
суперкапсид**

# Типы симметрии капсида

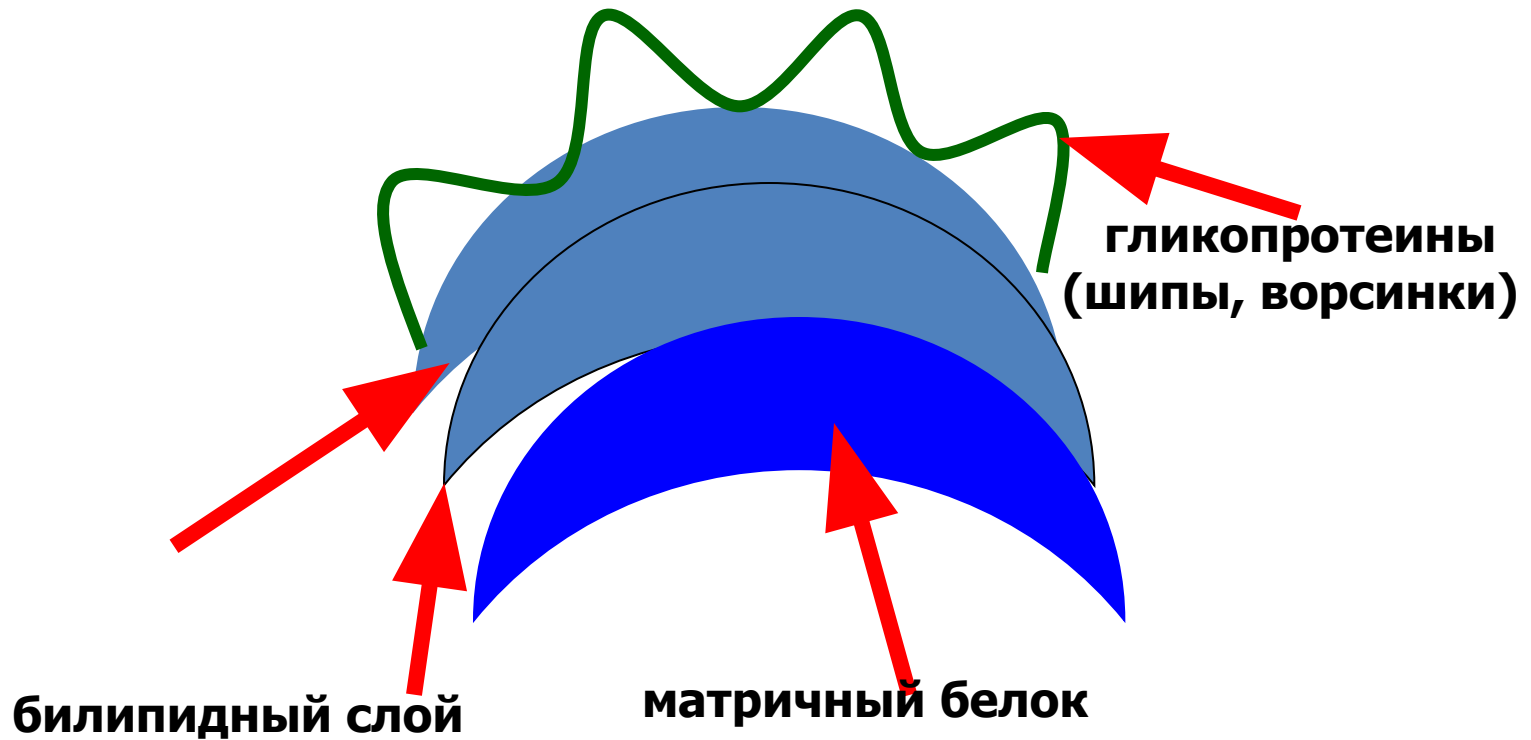
спиральная

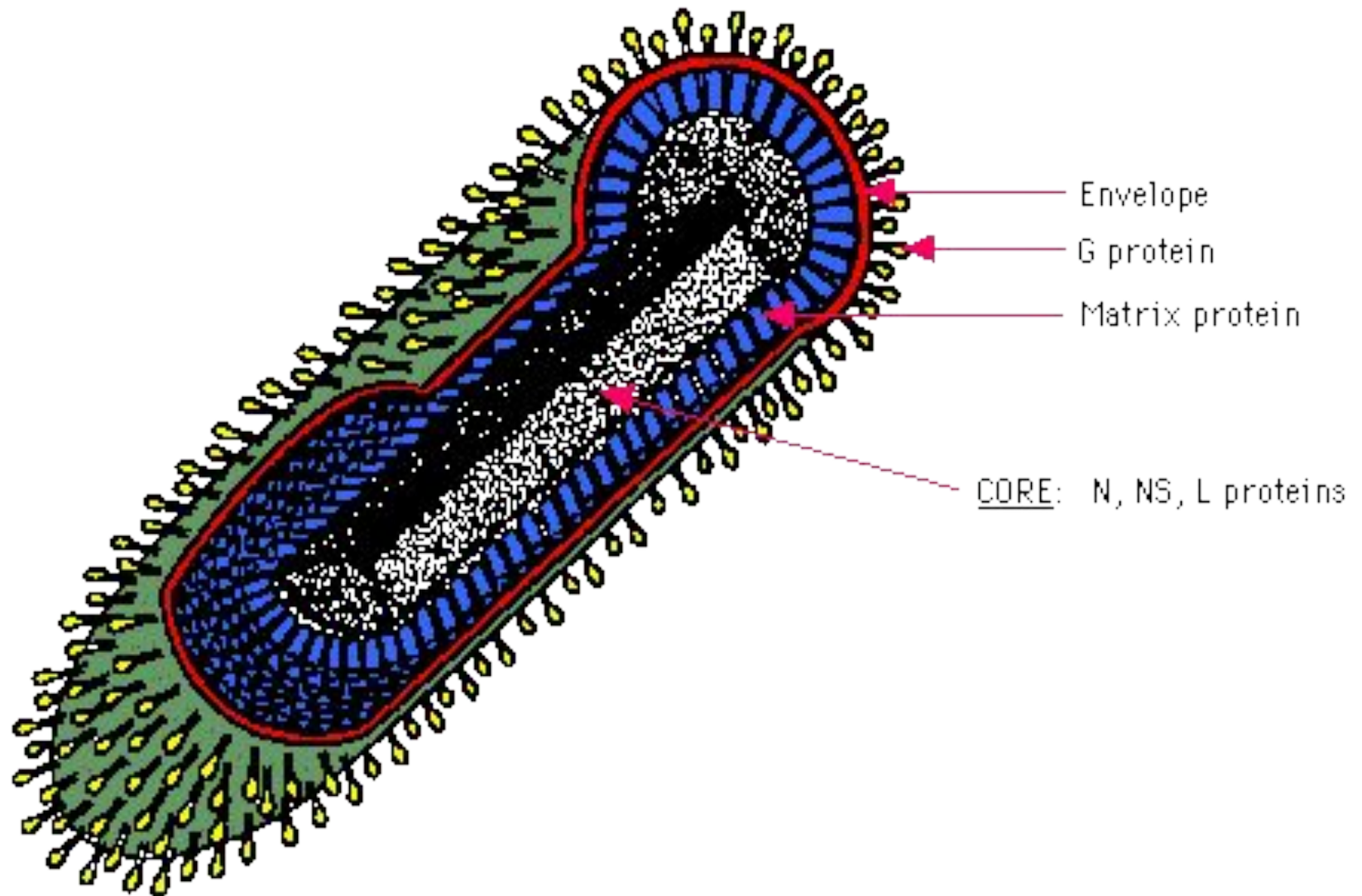


кубическая

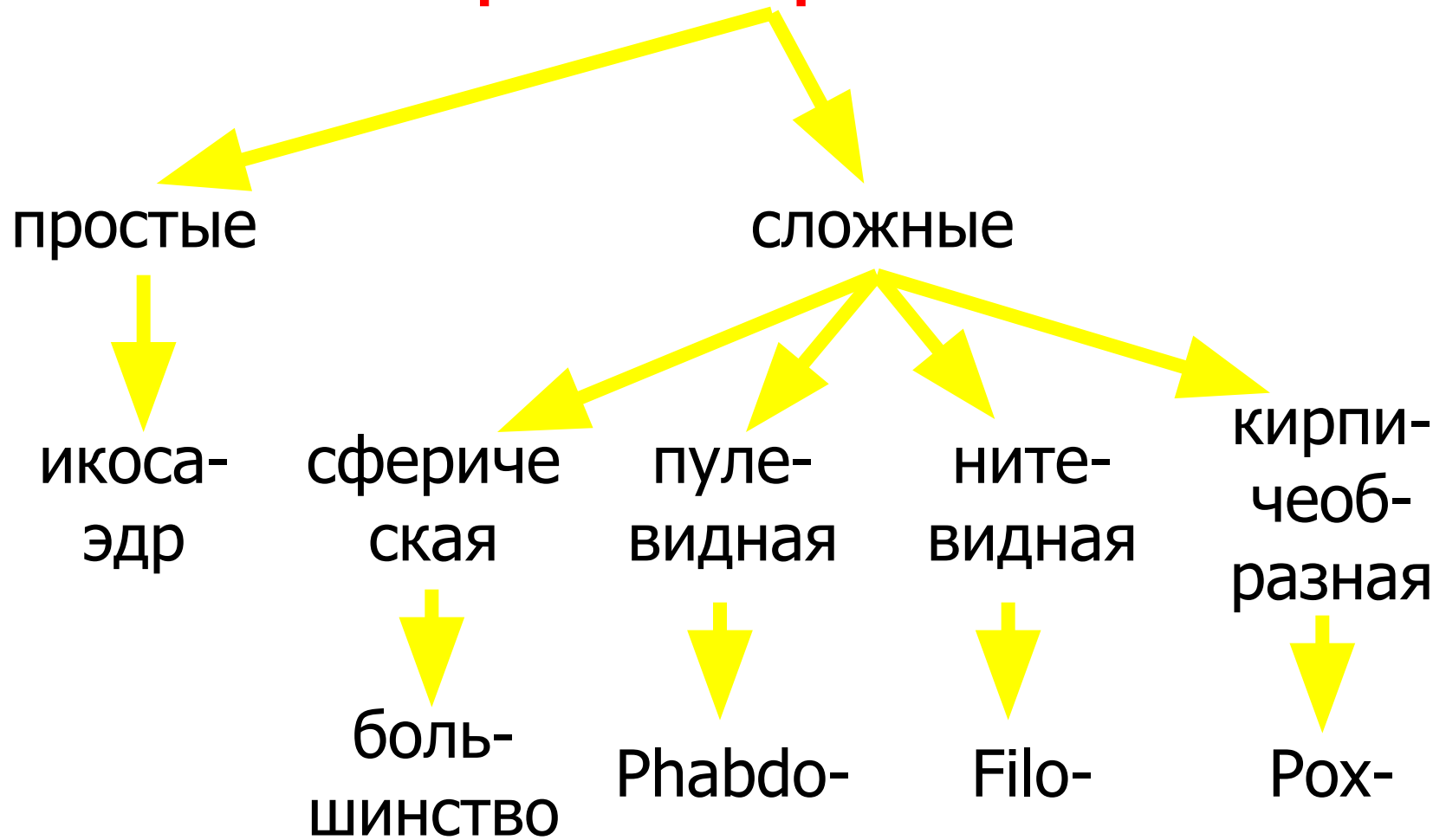


# Принцип строения суперкапсида





# Форма вирионов



# Общая характеристика ДНК вирионов

- форма:
  - линейная
  - кольцевая
- на концах – идентичные повторы:
  - маркеры вирусной (не клеточной) ДНК
  - способны замыкать ДНК в кольцо
    - репликация
    - транскрипция
    - устойчивость к клеточным эндонуклеазам
    - интеграция в клеточный геном



# Общая характеристика РНК вирусов

- **форма:**
  - линейная
  - кольцевая
- **структура:**
  - цельная
  - фрагментированная
- **информационная функция:**
  - +нить (позитивный геном) = иРНК
  - -нить (негативный геном)  $\neq$  иРНК

# Общая характеристика белков вирусов

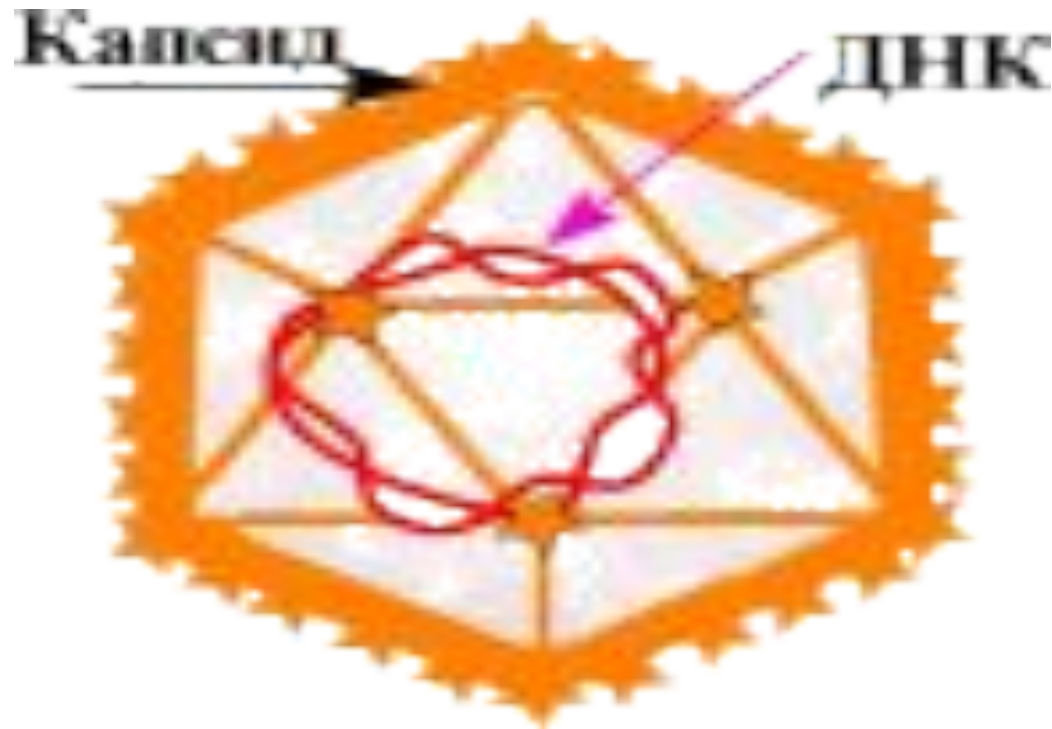
## 1. Структурные

- капсидные
- «внутренние», гистоноподобные (НК ⇒ рибо/дезоксирибонуклеопротеин)

## 2. Функциональные (ферменты)

- вирионные
- вирусиндуцированные
- вирус может модифицировать клеточные ферменты

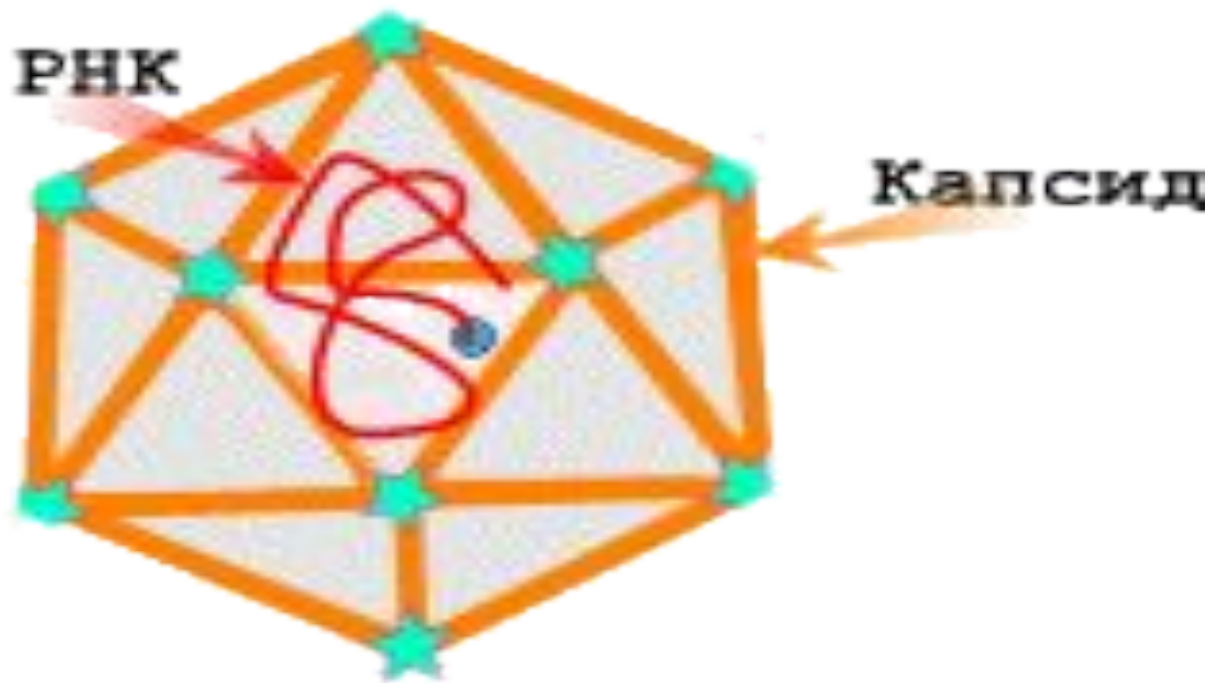
Схема строения паповавируса  
(вирус имеет двунитевую  
кольцевую ДНК)  
просто-устроенный вирион



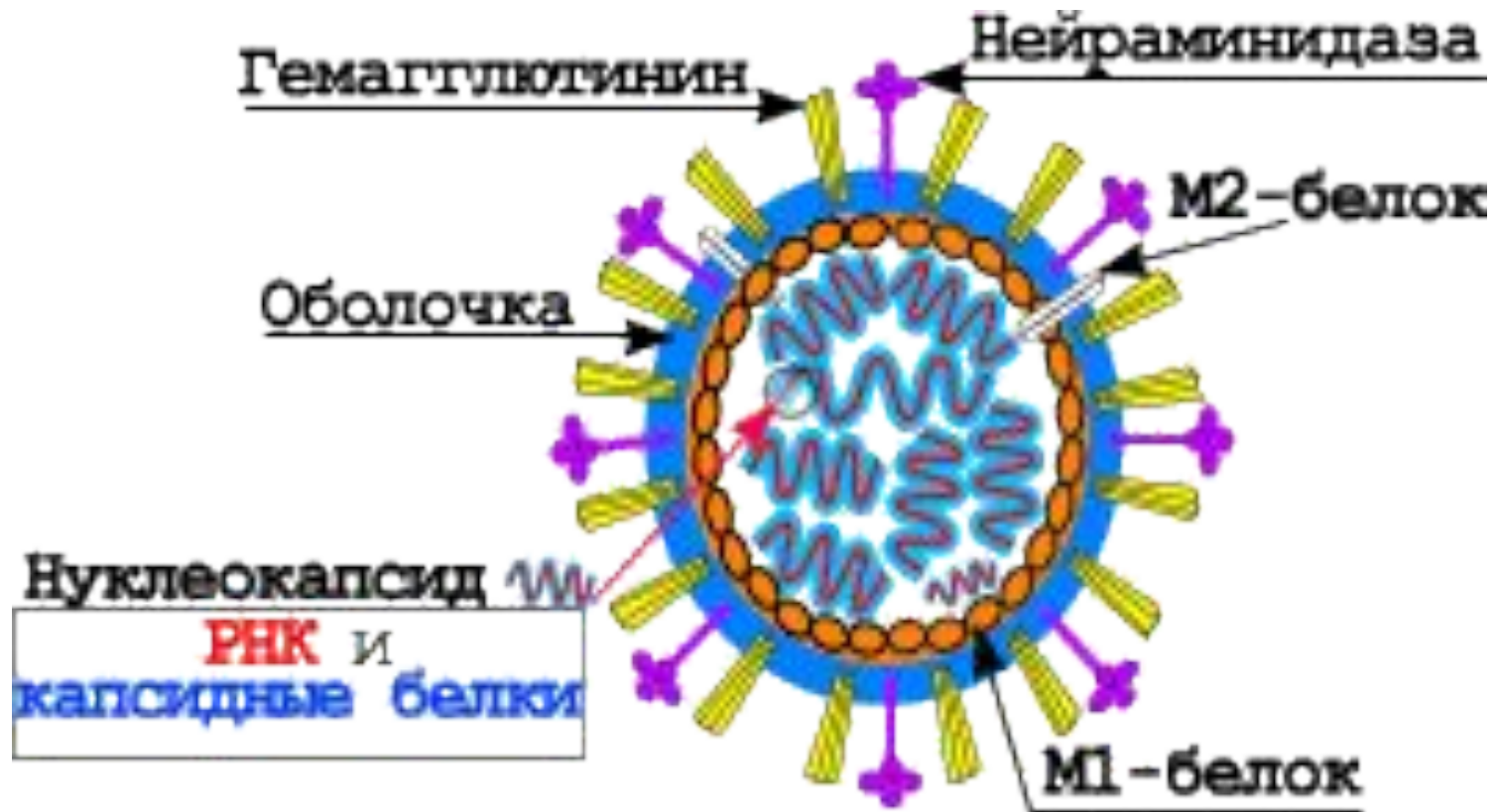
# Схема строения вируса герпеса (вирус с линейной двухнитевой ДНК) сложно-устроенный вирион



# Схема строения вируса гепатита А (вирус имеет однонитевую +РНК)



# Схема строения вируса гриппа (вирус с однонитевой из 8 фрагментов минус РНК )



# Строгий цитотропизм вирусов

- = Способность вирусов к репликации только в строго определённых клетках и органах
- поражаемая клетка должна иметь соответствующие данному вирусу:
  - рецепторы для адсорбции
  - ферменты депротенинизации

# Патологические процессы, вызываемые вирусами

1. инфекционные (микробные) болезни = вирусные инфекции
2. опухоли



# Репродукция вирусов

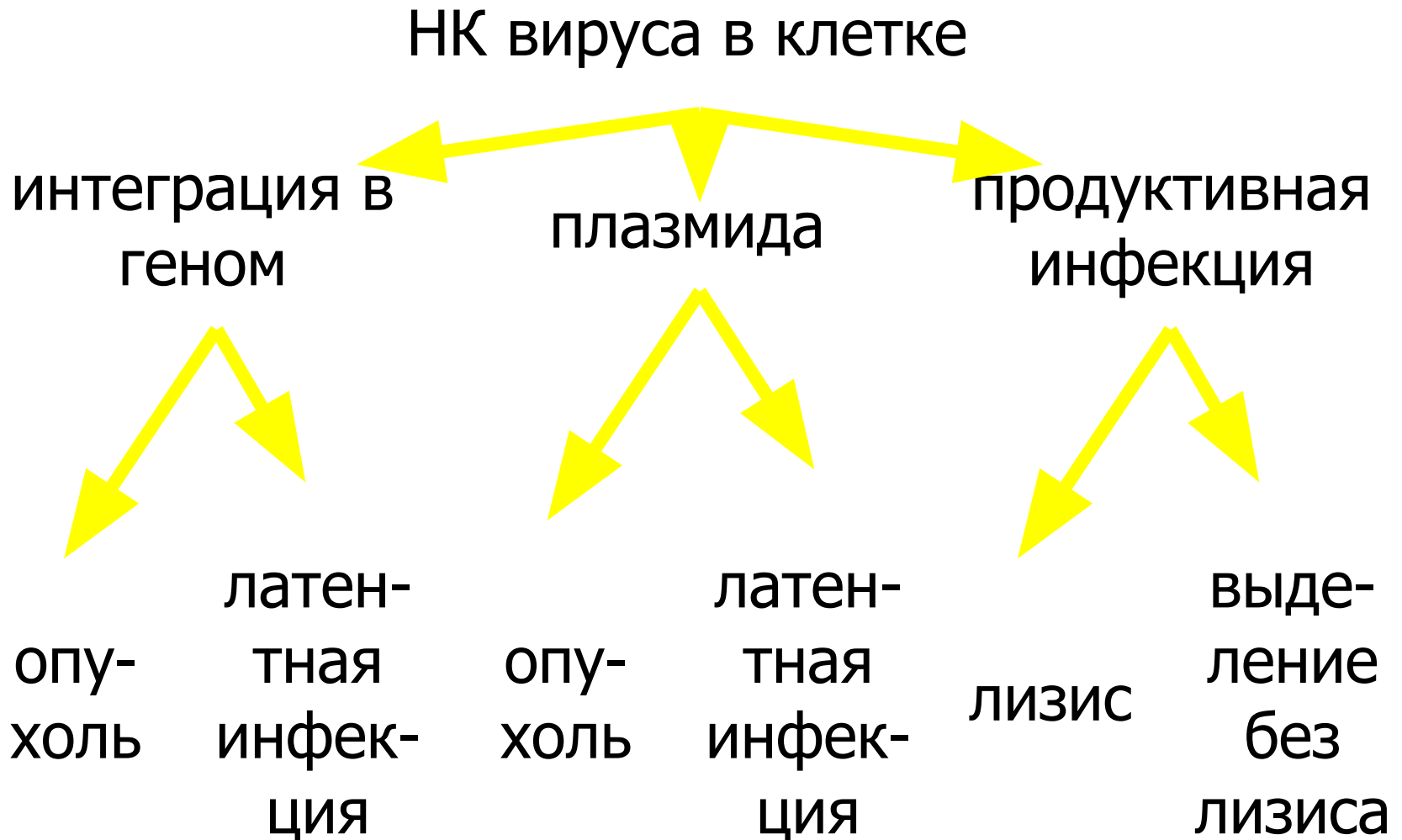
Различают три типа взаимодействия вируса с клеткой:

- **1. продуктивный тип**, при котором образуются новые вирионы,

выходящие из клетки:

- при ее лизисе, т.е. “взрывным” механизмом (безоболочечные вирусы);
  - путем “почкования” через мембраны клетки (оболочечные вирусы),
  - в результате экзоцитоза.
- 
- **абортивный тип**, характеризующийся прерыванием инфекционного процесса в клетке, поэтому новые вирионы не образуются;
  
  - **интегративный тип = вирогения**, заключающийся в интеграции, т.е. встраивании вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместном сосуществовании (совместная репликация).

# Исходы вирусной инфекции клетки



# Продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой

Этапы размножения вирусов в чувствительной клетке:

1. адсорбция вирионов на клетке = прикрепление
2. проникновение и депротеинизация
3. синтез компонентов вируса
  - ранних и поздних белков
  - множественная репликация генома
4. сборка вирионов
5. выход вирионов из клетки

# Адсорбция вирионов на клетке

= прикрепление вириона к поверхности клетки:

- 2 фазы:

- **неспецифическая** – ионное притяжение между вирусом и клеткой

- **специфическая** – обусловлена комплементарностью рецепторов чувствительных клеток и вирусов:

- Белки на поверхности вирусов наз-ся **прикрепительными**, чаще всего это *гликопротеины*.

- *У просто устроенных вирионов они располагаются в капсиде, у сложноустроенных – в суперкапсиде.*

# Адсорбция вирионов на клетке

Рецепторами клеток м.б. белки, липиды, гликопротеины, гликолипиды и др.

- Н-р, сиаловая кислота в составе гликопротеидов и гликолипидов клеток дыхательных путей – рецептор для вируса гриппа,
- Ацетилхолиновые рецепторы нервных клеток – для вируса бешенства.
- **Избирательность поражения вирусами определенных клеток называется тропизм:**
- клетки печени – гепатотропные,
- нервные клетки – нейротропные.

# Проникновение вируса в клетку

3 пути:

- Рецептор-зависимый эндоцитоз,
- слияние оболочки вириона с клеточной мембраной,
- смешанный.

# Проникновение вируса в клетку

## 1. Рецептор-зависимый эндоцитоз –

захватывание и поглощение вириона клеткой:

- Клеточная мембрана с вирионом впячивается и образуется внутриклеточная вакуоль (эндосома),
- Содержимое эндосомы закисляется за счет АТФ-зависимого протонного насоса,
- Слияние липопротеиновой оболочки сложно-устроенных вирусов с мембраной эндосомы (у простоустроенных процесс не изучен),
- Выход вирусного нуклеокапсида в цитозоль клетки,
- Эндосомы объединяются с лизосомами, которые разрушают оставшиеся вирусные компоненты

# Проникновение вируса в клетку

**2. Слияние оболочки вириона с клеточной мембраной = виропексис –** характерно для оболочечных вирусов, имеющих белки слияния (парамиксовирусы, герпесвирусы, ретровирусы)

- происходит:
  - точечное взаимодействие вирусного белка слияния с липидами клеточной мембраны,
  - интеграция липопротеиновой оболочки вируса с клеточной мембраной,



# Депротейнизация вирусов

= Освобождение нуклеиновой кислоты путём сброса вирусом белковой (-ых) оболочки (-чек)

1. При виropексисе – в эндоцитозном пузырьке (у сложных – может завершаться при проникновении в ядро клетки)
2. При слиянии мембран – одновременно с проникновением

# «Раздевание» = депротеинизация вирусов

- начинается сразу после прикрепления к рецепторам и проникновения в клетку,
- продолжается в процессе транспорта,
- завершается в специализированных участках:
  - для пикорнавирусов – в **цитоплазме** с участием лизосом и аппарата Гольджи,
  - для герпесвирусов – **околоядерное пространство** или поры ядерной мембраны,
  - для аденовирусов – сначала структуры цитоплазмы, затем **ядро**.
- **Конечными продуктами** раздевания являются:
  - **нуклеиновая кислота** - пикорнавирусы,
  - **нуклеокапсид** – оболочечные РНК-содержащие,
  - **сердцевина вириона**.

# **Синтез вирусных компонентов**

**= дизъюнктивная репродукция**

= синтез вирусных белков и нуклеиновых кислот,

= происходит в разных частях клетки и в разное время,

= 2 параллельных процесса:

- **1. Синтез вирусных белков**
- **2. Репликация вирусных геномов**

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 1. Синтез вирусных белков

- В зараженной клетке вирусный геном кодирует синтез **2-х групп белков:**

Структурные = входят в состав вириона (геномные, капсидные и суперкапсидные).

Неструктурные = обслуживают внутриклеточную репродукцию вируса на разных этапах:

- А) ферменты синтеза РНК или ДНК (РНК- ДНК-полимеразы) обеспечивают транскрипцию и репликацию вирусного генома
- Б) белки-регуляторы
- В) предшественники вирусных белков – нестабильные, быстро нарезаются на структурные
- Г) ферменты, модифицирующие вирусные белки (протеиназы, протеинкиназы).

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 1. Синтез вирусных белков

- 2 процесса составляют синтез белков:

**Транскрипция** – переписывание генетической информации с нуклеиновой кислоты вируса в нуклеотидную последовательность иРНК,

**Трансляция** – считывание иРНК на рибосомах с образованием белков.

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

1. Синтез вирусных белков – варианты:

- ДНК-содержащие вирусы:

*Геномная ДНК вируса → транскрипция иРНК → трансляция белка вируса.*

- Ферменты:
  - клеточная полимераза – если вирусы транскрибируются в ядре клетки (аденовирусы, паповавирусы, герпесвирусы)
  - собственная РНК-полимераза – если вирус транскрибируется в цитоплазме (поксвирусы).

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 1. Синтез вирусных белков - варианты:

- **Плюс-нитевые РНК-содержащие вирусы** = вирусный геном выполняет функцию иРНК (пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы):  
***геномная РНК вируса → трансляция белка вируса***
- **Минус-нитевые РНК-содержащие вирусы** (ортомиксовирусы, парамиксовирусы, рабдовирусы) и **двунитевые** (реовирусы):  
***Геномная РНК вируса → транскрипция иРНК (РНК-полимераза, связанная с нуклеиновой кислотой вируса) → трансляция белка вируса***

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

1. Синтез вирусных белков - варианты:

## Ретровирусы:

- геном состоит из 2-х одинаковых молекул РНК = диплоидный,
- имеют фермент **обратную транскриптазу или ревертазу**
- происходит **обратная транскрипция** = на матрице геномной РНК транскрибируется комплементарная ДНК → копируется в двунитевую ДНК → интегрируется в клеточный геном и в его составе транскрибируется в иРНК (клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза):
  - **Геномная РНК вируса → комплементарная ДНК → транскрипция иРНК → трансляция белка вируса.**



# **Синтез вирусных компонентов** **= дизъюнктивная репродукция**

## **2. Репликация вирусных геномов**

- зависит от типа нуклеиновой кислоты,
- наличия вирусоспецифических или клеточных полимераз,
- от способности вирусов индуцировать образование полимераз в клетке.

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 2. Репликация вирусных геномов

- **1. Двунитевые ДНК-вирусы** (аденовирусы, герпесвирусы, поксвирусы) = **полуконсервативный механизм**, происходит в ядре (исключение – поксвирусы):
  - нити расплетаются,
  - каждая комплементарно достраивает 2-ю нить,
- **Особенность: гепаднавирусы** → геном (кольцо) состоит из 2-х нитей: одна (неполная плюс-нить) короче другой:
  - вначале достраивается неполная плюс-нить,
  - вторая = полная нить ДНК с помощью **клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы** транскрибируется с образованием небольших молекул **иРНК** и полной однонитевой плюсРНК = **прогеномная** = матрица для репликации генома вируса,
  - **иРНК** участвуют в процессе трансляции белков, в т.ч. вирусной РНК-зависимой ДНК-полимеразы (=обратной транскриптазы),
  - **прогеномная РНК** мигрирует в цитоплазму и транскрибируется с помощью обратной транскриптазы в минус-ДНК
  - минус-ДНК служит матрицей для синтеза плюс-нити ДНК → двунитевая кольцевая ДНК с разрывом одной нити.

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 2.Репликация вирусных геномов

**2.2. Однонитевые ДНК-вирусы(парвовирусы) –**  
используют клеточные ДНК-полимеразы:

- на исходной вирусной ДНК (+нить)  
синтезируется минус-нить,
- минус нить = матрица для синтеза плюс-нити  
ДНК нового вириона,
- на исходной вирусной ДНК (+нить)  
синтезируется иРНК→трансляция вирусных  
пептидов.

•

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 2. Репликация вирусных геномов

- **2.3. Плюс-однонитевые РНК-вирусы**  
(пикорнавирусы, флавивирусы, тогавирусы, полиовирусы)
- = геномная нить РНК выполняет функцию иРНК:
- РНК вируса → рибосомы → полипептид →  
расщепляется фрагменты:
  - РНК-зависимая РНК-полимераза,
  - вирусные протеазы,
  - капсидные белки.
- Полимераза на основе **+нити** синтезирует минус нить → **временная двойная РНК** = промежуточное репликативное звено (содержит много минус нитей) = шаблоны для синтеза плюснитей РНК и белков.

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 2.Репликация вирусных геномов

- **2.4. Минус-однонитевые РНК-вирусы**  
(Рабдовирусы, парамиксовирусы, ортомиксовирусы) – имеют РНК-зависимую РНК-полимеразу:
- Минус-нитевая РНК + РНК-полимераза  
→неполные и полные плюс-нити РНК:
  - неполные → иРНК для синтеза вирусных белков,
  - полные → матрица для синтеза минус РНК.

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 2.Репликация вирусных геномов

2.5. Двунитевые РНК-вирусы (реовирусы, ротавирусы) – как у минус нитевых, но в цитоплазме клеток.

- Отличие:
- плюс нити функционируют и как иРНК и являются матрицами для синтеза минус-нитей РНК,
- минус РНК + плюс РНК → двунитевая РНК вирионов.

# Синтез вирусных компонентов = дизъюнктивная репродукция

## 2.Репликация вирусных геномов

- **2.6. Ретровирусы** = плюс-нитевые диплоидные РНК-содержащие вирусы, имеют обратную транскриптазу:
  - - обратная транскриптаза на матрице РНК-вируса синтезирует минус нить ДНК,
  - - с минус нити ДНК копируется плюс-нить ДНК →двойная нить ДНК, замкнутая в кольцо.
  - - кольцевая ДНК встраивается в геном клетки → провирус,
  - -вирионные РНК образуются при транскрипции одной из нитей провируса при участии клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

# Формирование вирусов

Происходит путем **самосборки** = составные части вируса транспортируются в определенный участок цитоплазмы или ядра и объединяются:

- процесс многоступенчатый с образованием промежуточных продуктов,
- сборка простоустроенных вирусов = образование нуклеокапсидов – нуклеиновая кислота + капсидные белки,
- сборка сложноустроенных вирусов:
  - = сначала формируется нуклеокапсид, который взаимодействует с мембранами клетки:
  - = вирусы, реплицирующиеся в ядре - с участием мембраны ядра,
  - = вирусы, реплицирующиеся в цитоплазме – мембран ЭПС;
  - = у миксовирусов в сборку вовлекается М-белок = посредник между нуклеокапсидом и липопротеиновой оболочкой,
  - = в состав оболочки включаются компоненты клетки хозяина: липиды и углеводы.



# Выход вирусов из клетки

- **1. взрывной путь:** клетка погибает и вирусы выходят наружу = **простеустроенные вирусы,**

- **2. почкование, экзоцитоз:** = **сложноустроенные вирусы:**

= нуклеокапсид транспортируется к клеточным мембранам,

= в области контакта мембрана выпячивается → почка,

= почка отделяется, клетка остается живой,

= при формировании в цитоплазме:

- вирус проходит через плазматическую мембрану (парамиксовирусы, тогавирусы),
- мембраны ЭПС;

= при формировании в ядре – ядерную мембрану, затем цитоплазматические везикулы и наружу.

# Абортивный тип взаимодействия вируса с клеткой

= прерывание инфекционного процесса в клетке на одном из этапов,

= новые вирионы не образуются;

- **Происходит когда:**

1. **чувствительные клетки заражаются дефектными вирусами или дефектными вирионами**

**Дефектные вирусы** = самостоятельные виды, но для репродукции нуждаются в вирусо-помощнике.

(Н-р, вирус гепатита Д и гепатита В).

**Дефектные вирионы** – лишены части генетического материала и накапливаются в популяции при множественном заражении клеток.

# Абортивный тип взаимодействия вируса с клеткой

- **2. стандартным вирусом заражаются генетически резистентные к нему клетки:**

Механизм резистентности может быть связан:

- с отсутствием специфических рецепторов для вирусов на мембране клеток,
- с неспособностью данных клеток инициировать трансляцию вирусной иРНК,
- с отсутствием специфических протеаз или нуклеаз, необходимых для синтеза вирусных молекул.

- **3. стандартным вирусом заражаются чувствительные клетки в неразрешающих (непермиссивных) условиях:**

- повышение температуры тела,
- изменение рН в очаге воспаления,
- введение в организм противовирусных препаратов.

# Интегративный тип взаимодействия вируса с клеткой = вирогения

= нуклеиновая кислота вируса встраивается в хромосому клетки хозяина, встроенный в хромосому клетки вирус = **провирус**

= наблюдается у онкогенных вирусов, инфекционных ДНК- и РНК-содержащих:

- **ДНК-содержащие вирусы:**

Вирусная ДНК в кольцевой форме прикрепляется к клеточной ДНК в месте гомологии нуклеотидных последовательностей и встраивается в определенный участок хромосомы при участии ферментов (рестриктазы, эндонуклеазы, лигазы)

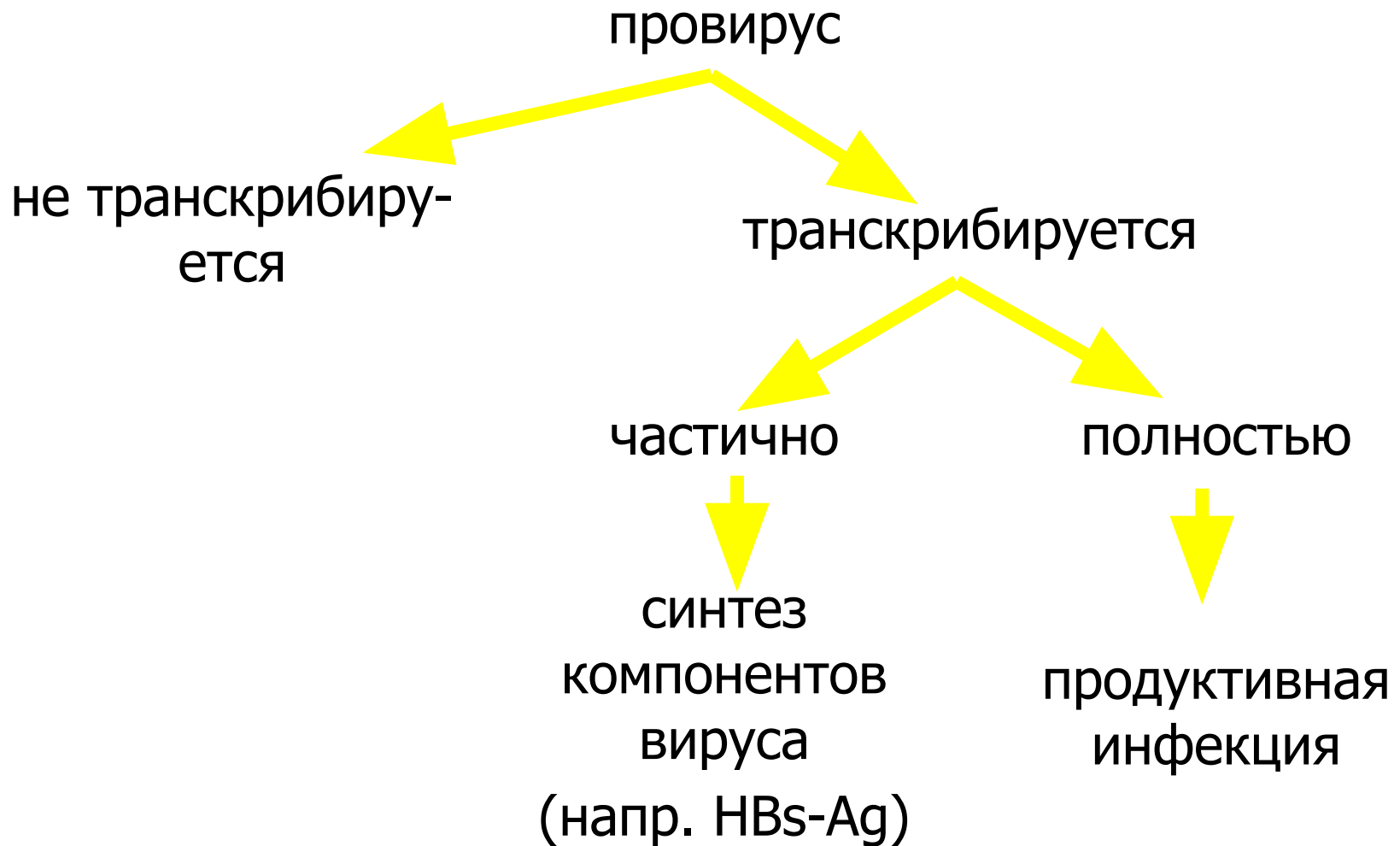
- **РНК-содержащие вирусы:**

- синтез комплементарной нити ДНК на матрице РНК – фермент обратная транскриптаза,
- образование двунитевой ДНК и замыкание ее в кольцо,
- встраивание кольцевой ДНК в хромосому клетки

# Значение вирогении

- 1. Сохранение вирусной информации в составе клеточного генома = **персистенция** → клетка при этом получает новые свойства:
  - А) без изменения,
  - Б) расстройство регуляции синтеза белка,
  - В) неконтролируемое деление клетки
- 2. **эволюция вирусов**: при выщеплении из генома клетки вирус может захватить отдельные гены.

# Исходы интегративной вирусной инфекции



# Исходы активации персистирующего вируса

1. рецидив того же заболевания
2. развитие другого заболевания, вызываемого тем же самым вирусом
3. развитие другого заболевания, вызванного вирусом, который активизировался в организме хозяина под влиянием персистирующего вируса

# Способы культивирования вирусов

- куриный эмбрион
- культура клеток
- организм лабораторного животного



обнаружение наличия вируса  
(индикация)

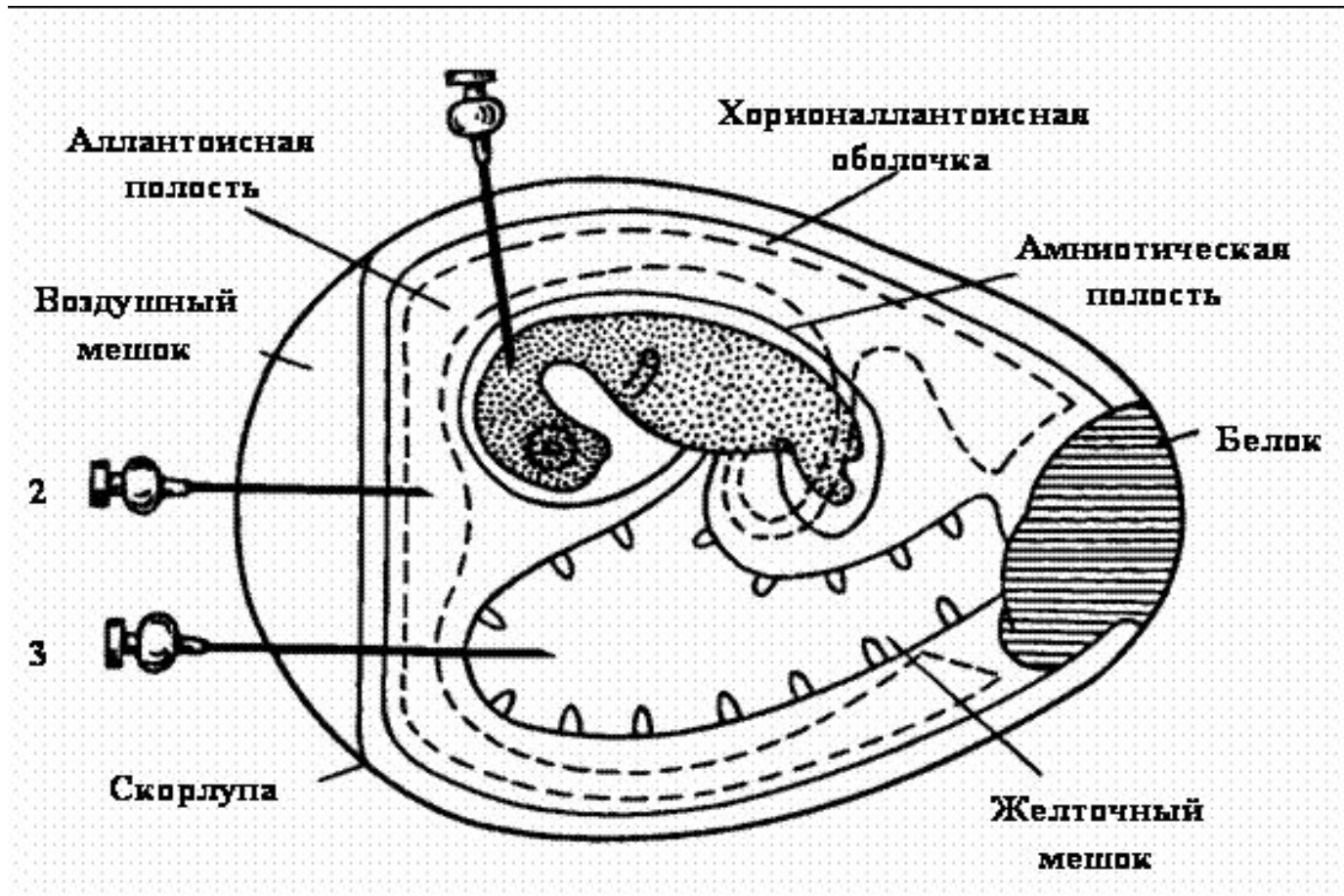


определение типа вируса  
(идентификация)



# Использование для вирусологического метода куриного эмбриона

5-7-дневные, реже – 10-11-дневные



# Основные способы заражения куриных эмбрионов

- на хорион-аллантаисную оболочку
- в хорион-аллантаисную полость
- в полость желточного мешка
- в полость амниона
- в тело эмбриона

# Обнаружение вирусов в курином эмбрионе

- **индикация:**
  - гибель эмбриона
  - морфологические изменения эмбриона/оболочек
  - РГА с жидкостью из полостей куриного эмбриона
- **идентификация:**
  - РН (в т.ч. РТГА)
  - РСК

# Использование культур клеток

- ▣ **Культуры клеток** = соматические или эмбриональные клетки человека или животных, культивируемые в лабораторных условиях.
- ▣ **Подразделяют по числу жизнеспособных генераций на:**
  - первичные,
  - перевиваемые,
  - полуперевиваемые.

# Использование культур клеток

Чаще – перевиваемые монослойные

- индикация:
  - ЦПД (цитопатическое действие вирусов – любое изменение клеток монослоя, включая бляшкообразование и цветную пробу)
  - гемадсорбирующая активность монослоя (РГАдс)
  - РИФ (= идентификация)
- идентификация:
  - РН (в т.ч. РТГАдс)
  - РСК
  - РИФ

# Первичные культуры клеток

- получают из тканей (**эмбриональных или нормальных**) многоклеточных организмов. Такие клетки не способны к делению – используются однократно.
- В основе получения **лежит обработка протеолитическими ферментами** (трипсином) = первично-трипсинизированные.
- Н-р, эмбриональная ткань человека, почечная ткань эмбрионов человека и обезьян.

# Перевиваемые культуры клеток

- **Перевиваемые** = стабильные = готовят из опухолевых клеток, способных длительно размножаться in vitro не меняя своих свойств.
- 
- Н-р, HeLa – выделены из карциномы шейки матки,
- Нер-2 – из карциномы гортани,
- Нер-3 – лимфокарцинома,
- KB – эпидермоидная карцинома полости рта,
- Детройт-6 – костный мозг больного раком легкого.
-

# Преимущества перевиваемых культур клеток перед первичными:

- продолжительность культивирования – десятки лет,
- высокая скорость размножения,
- меньшая трудоемкость,
- сохраняют свои свойства в замороженном состоянии много лет,
- возможность использования международных линий культур.
- **Но:** злокачественный характер и возможность мутаций ограничивает применение для производства вакцин.



# *Полуперевиваемые культуры клеток*

- – диплоидные клетки различных тканей и органов, способные к ограниченному размножению *in vitro*.
- Они сохраняют свои свойства в течение 20-50 пассажей (пересевов) = до года.
- При культивировании не претерпевают злокачественного перерождения – преимущество перед перевиваемыми → могут использоваться в производстве вакцин.

# Условия культивирования клеток:

- Питательные среды сложного **состава** (среда 199, Игла), сод-т источники энергии (глюкозу), минеральные вещества, аминокислоты, витамины, сыворотку крови, факторы роста.
- Клетки чувствительны к изменениям **pH** – для контроля pH добавляют индикатор и буферные растворы.
- Соблюдение правил **асептики**
- Использование лабораторной **посуды из нейтрального стекла** – пробирки, флаконы, матрасы (=флакон 4-х гранной формы)
- Добавление **антибиотиков** к питательной среде для подавления роста бактерий
- Соблюдение **оптимальной температуры** культивирования (36-38,5°).

# Обнаружение = индикация вирусов в культуре клеток

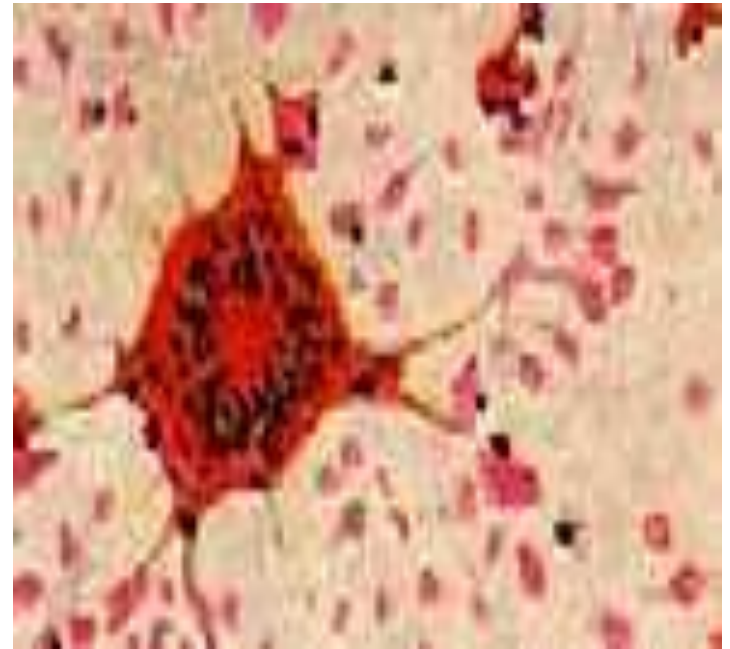
- проводят на основе следующих феноменов:
  - цитопатогенного действия (ЦПД) вирусов или цитопатического эффекта,
  - образования внутриклеточных включений,
  - образования “бляшек”,
  - реакции гемагглютинации, гемадсорбции или “цветной” реакции.

**ЦПД** - видимые под микроскопом морфологические изменения клеток (вплоть до их отторжения от стекла), возникающие в результате внутриклеточной репродукции вирусов

**Культура клеток**



**ЦПД вируса**



# Виды ЦПД

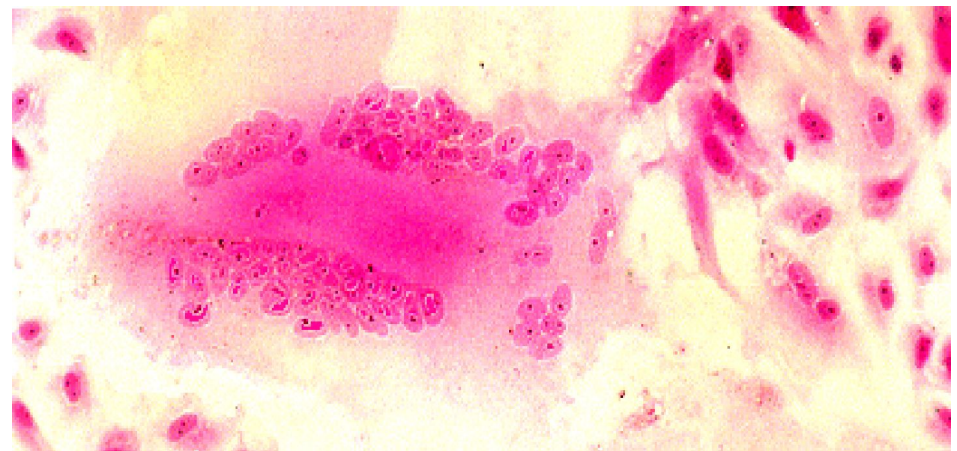
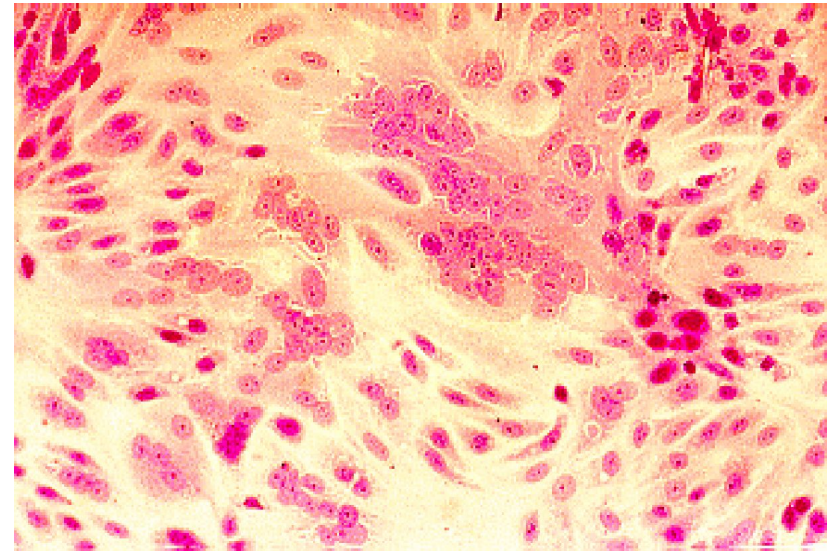
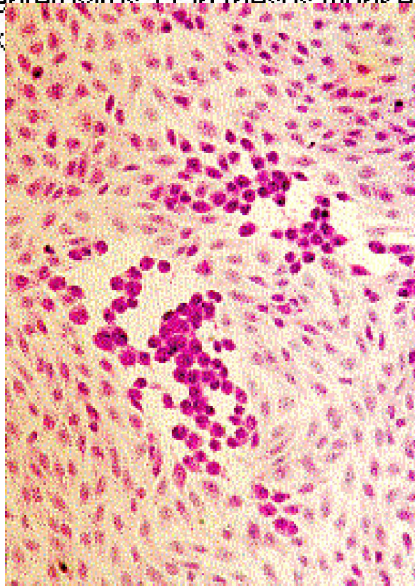
- округление и сморщивание клеток – пикорнавирусы,
- нарастающая деструкция – герпесвирусы,
- пролиферация (образование дырок) – поксвирусы,
- образование гигантских многоядерных клеток = симпласты – парамиксовирусы.



# ЦПД вирусов



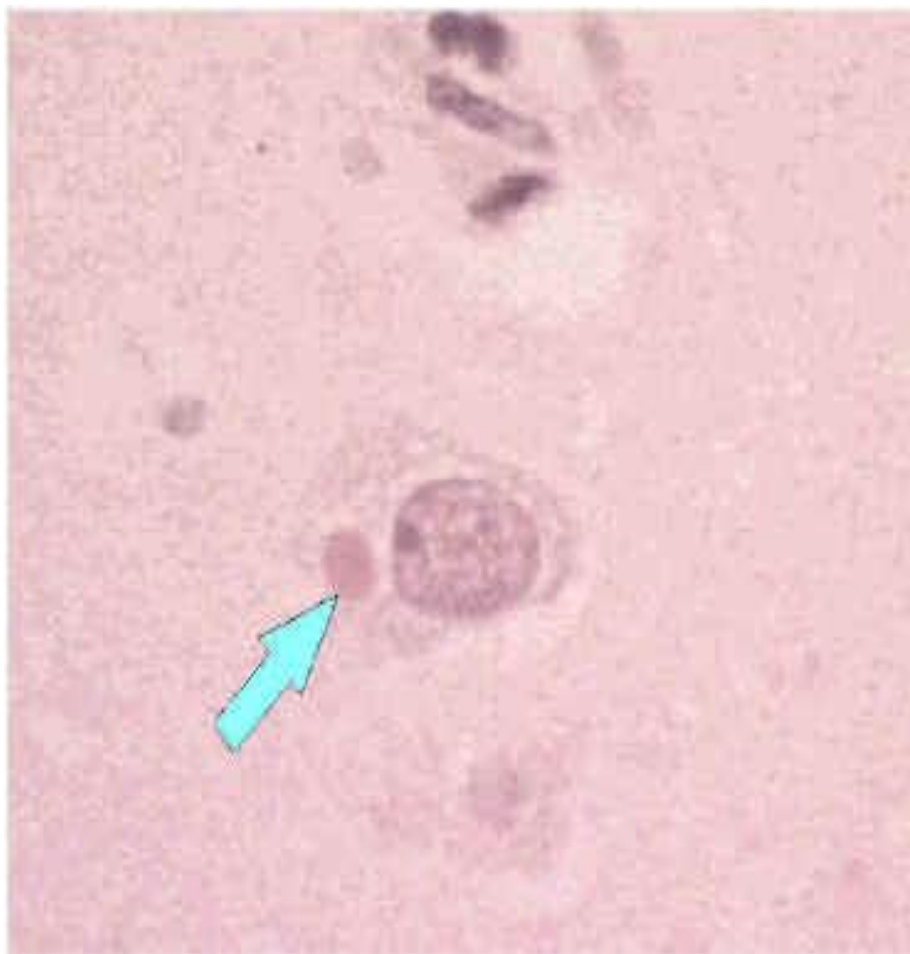
Fig. 1. Cytopathic effects of enterovirus 71 in rhesus monkey kidney



# Включения

- = скопление вирионов или отдельных их компонентов в цитоплазме или ядре клеток, выявляемые под микроскопом при специальном окрашивании.
- Н-р, вирус натуральной оспы образует цитоплазматические включения - **тельца Гварниери**;
  - вирус бешенства в цитоплазме образует **тельца Бабеша-Негри**,
  - вирусы герпеса и аденовирусы - **внутриядерные включения**.

# Тельца Бабеша-Негри





# Бляшки, или “негативные” КОЛОНИИ

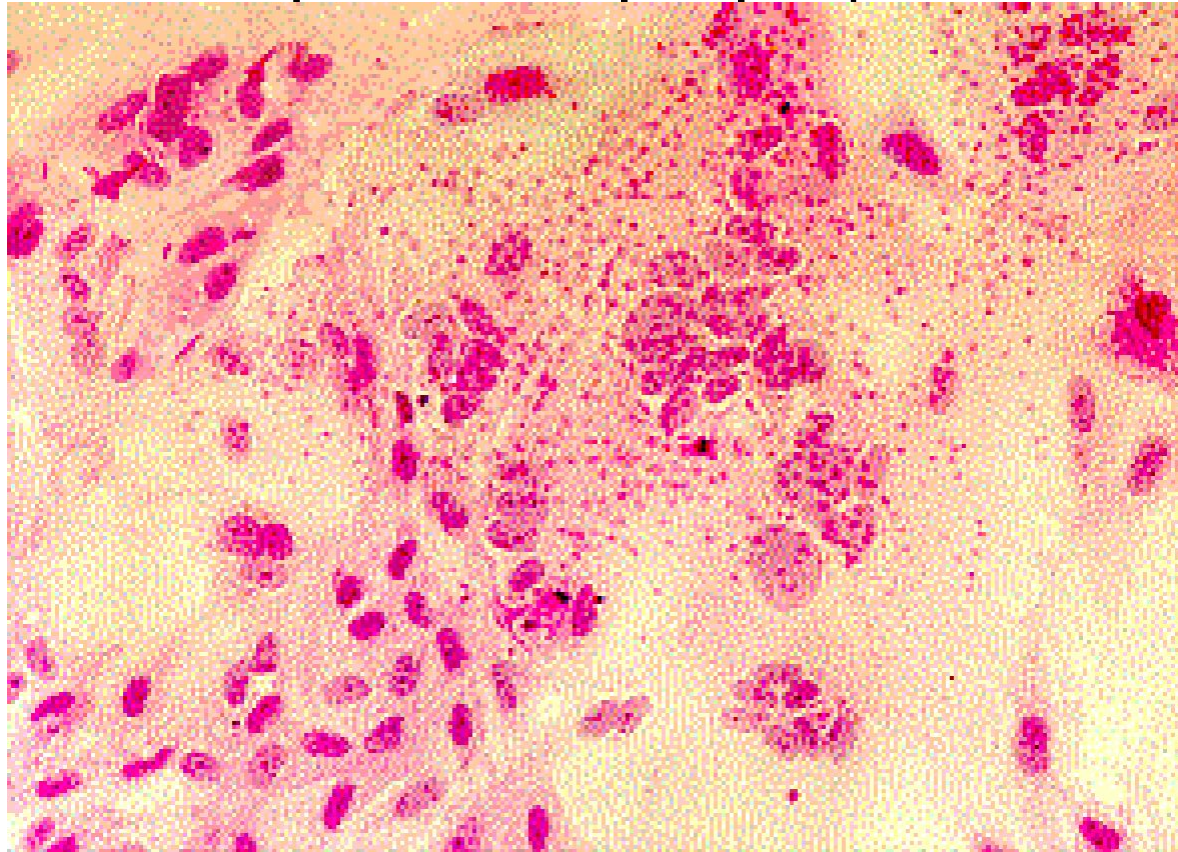
- = ограниченные участки разрушенных вирусами клеток, культивируемых на питательной среде под агаровым покрытием, видимые как светлые пятна на фоне окрашенных живых клеток.
- Один вирион образует потомство в виде одной бляшки.
  - “Негативные” колонии разных вирусов отличаются по размеру, форме, поэтому метод бляшек используют для дифференциации вирусов, а также для определения их концентрации.

# Реакция гемагглютинации (РГА)

- основана на способности некоторых вирусов вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов за счет вирусных гликопротеиновых шипов – гемагглютининов.

# Реакция гемадсорбции

**=РГАдс** = способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты.



# Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)

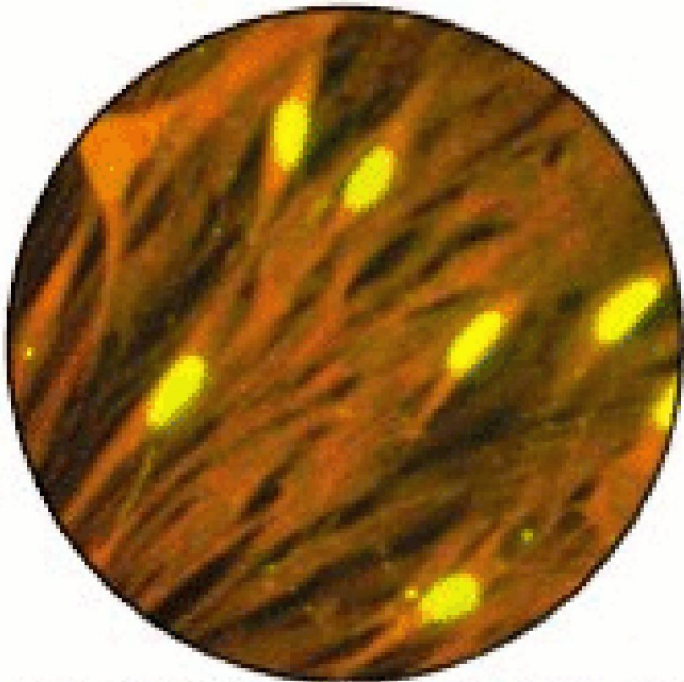


Fig. 2, CMV centrifugation culture fixed and stained 16 hrs after inoculation showing viral proteins in nuclei of infected human fibroblast cells

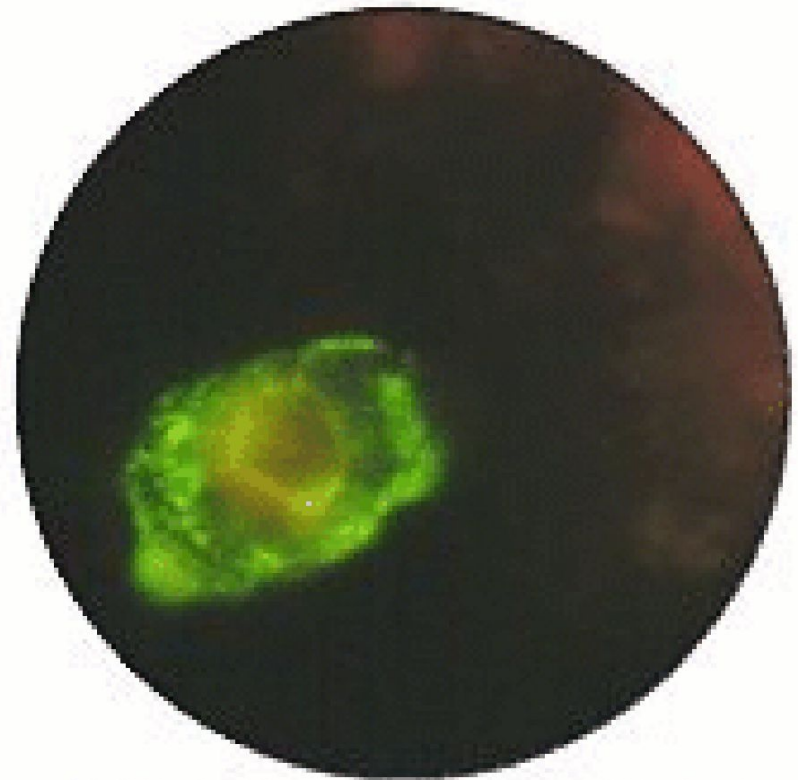


Fig. 3, HSV-infected epithelial cell from skin lesion (DFA)

# Использование лабораторных животных

**взрослые или новорожденные белые мыши, хомяки, кролики, обезьяны**

применяется для выделения тех вирусов, которые плохо репродуцируются в культуре клеток или курином эмбрионе,

Вид и способ заражения – от вируса

- ▣ индикация:
  - заболевание животного
  - его гибель
- ▣ идентификация:
  - РН

# Способы заражения лабораторных животных

- интраназально,
- подкожно,
- внутримышечно,
- внутрибрюшинно,
- интрацеребрально,



# Обнаружение вируса при заражении лабораторных ЖИВОТНЫХ

## ■ **обнаруживают** вирус по:

- развитию видимых клинических проявлений – параличи – рабдовирусы,
- патоморфологическим изменениям органов и тканей – пикорна-, тогавирусы
- в реакции гемагглютинации с суспензией из органов,

## ■ **недостаток:**

- высокая вероятность контаминации организма животных посторонними микробами,
- необходимость заражения культуры клеток для выделения чистой культуры вируса.

# Прионы

- – белковые молекулы, способные вызывать разрушение клеток организма человека и животных.
- Они характеризуются устойчивостью:
  - к высоким температурам,
  - ионизирующей радиации,
  - ультрафиолету.
-



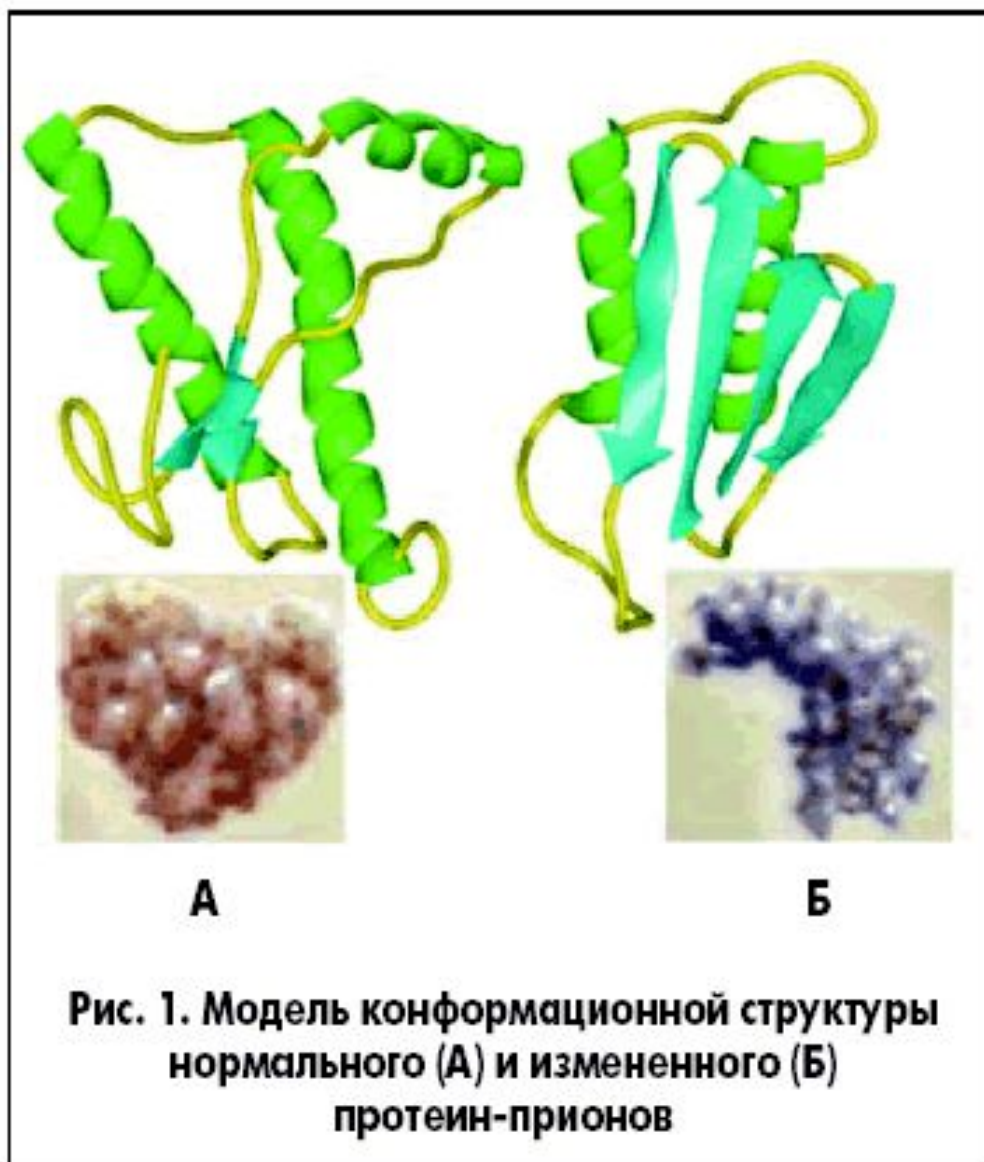
# Прионы

Прионный белок может существовать **в двух формах:**

- нормальная клеточная форма(PrP<sup>c</sup>) - обнаруживается в организме всех млекопитающих.
- Ген, кодирующий этот белок, расположен **в коротком плече 20 хромосомы.**
- PrP<sup>c</sup> участвует в передаче нервных импульсов, в поддержании циркадных ритмов клетки,

# Прионы

- инфекционная форма (PrP<sup>Sc</sup>) – характеризуется:
  - измененной вторичной и третичной структурой молекулы,
  - высокой устойчивостью к нагреванию, ультрафиолетовому свету, проникающей радиации и переваривающему действию протеаз.



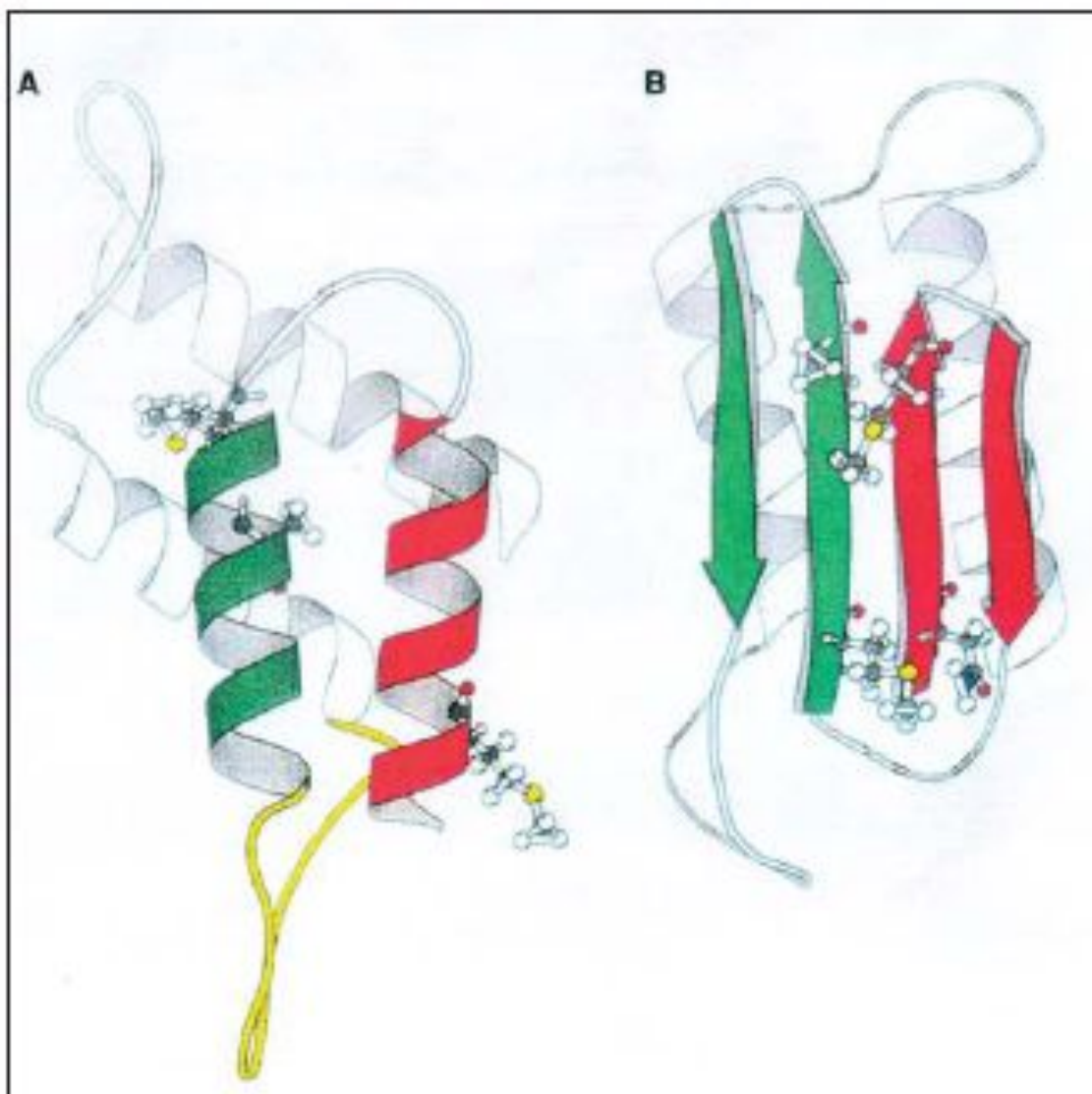
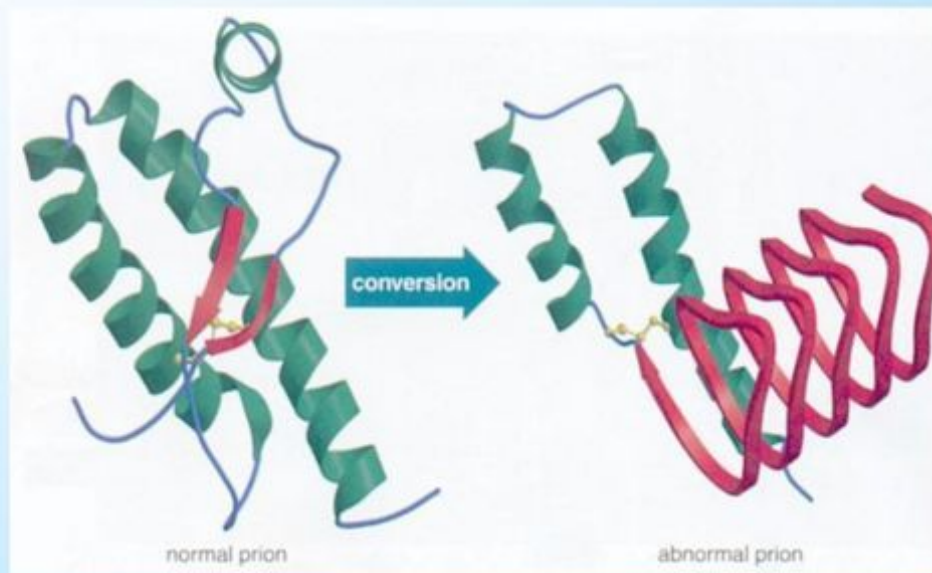


Рис. 2. Схема конформационного изменения клеточного прионного белка

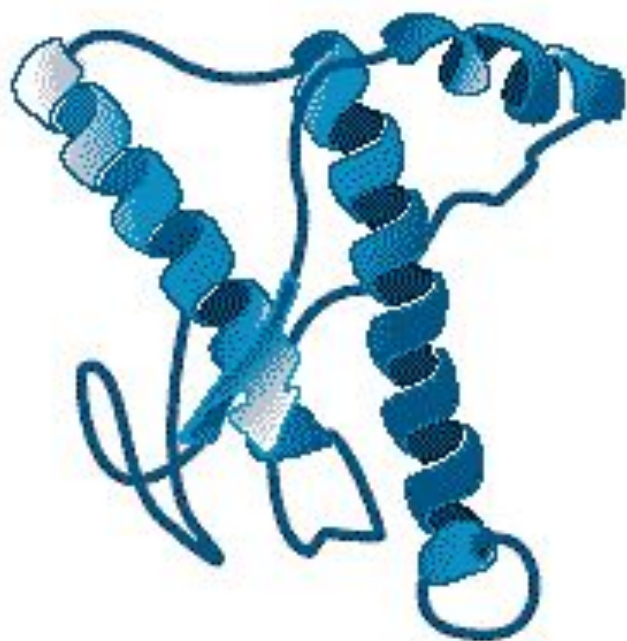
А – молекула клеточного прионного белка PrPC

В – молекула инфекционного прионного белка PrPSc

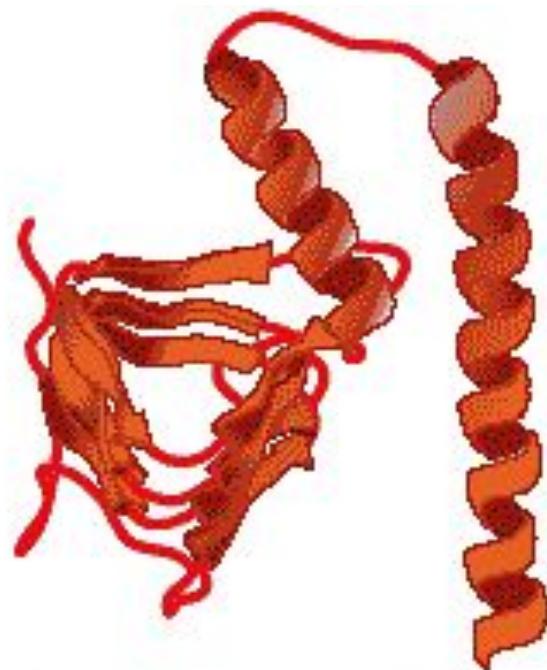
## Переход приона из нормальной формы в аномальную



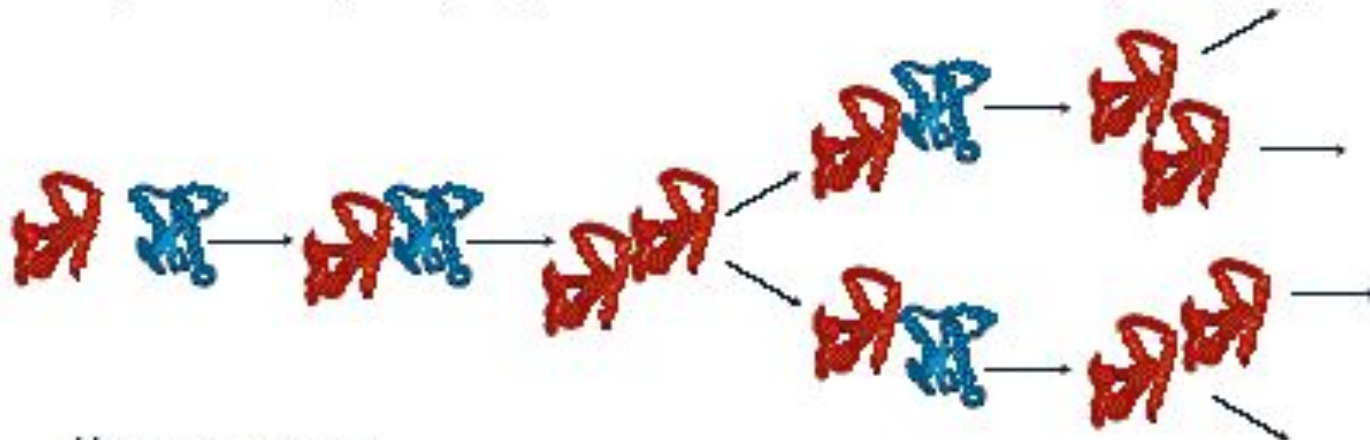
Прионы не структурированы и сильно обогащены аминокислотными остатками глутаматом и аспарагином. Это свойство позволяет прионным доменам полимеризоваться с образованием амилоидных фибрилл



Нормальный прион ( $PrP^C$ )



Патогенный прион ( $PrP^{Sc}$ )



Цепная реакция



# Схема «размножения» прионов

