ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. СКРЯБИНА»

Кафедра радиобиологии и вирусологии имени академиков А.Д. Белова и В.Н. Сюрина

РЕФЕРАТ

по дисциплине «Вирусология и биотехнология»

«репродукция вирусов. противовирусный иммунитет»

Исполнитель: 3 курс, ФВМ(очно-заочная), 3 группа, Кузнецова А.В.

Преподаватель к.б.н, доцент Калмыкова М.С.\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Москва, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

1. Репродукция вирусов

.1 Понятие о репродукции

.2 Первая фаза репродукции. Адсорбция вириона на поверхности клетки

.3 Инъекция(проникновение вируса в клетку)

.4 «Раздевание» -депротеинизация вируса

.5 Вторая фаза. Транскрипция

.6 Трансляция

.7 Репликация

.8 Формирование зрелых вирионов

.9 Выход зрелых вирионов из клетки

. Противовирусный иммунитет

Список используемой литературы

1. Репродукция вирусов

1.1 Понятие о репродукции вирусов

РЕПРОДУКЦИЯ [от лат. re вновь и producere производство, произведение]- явление при котором вирусы воспроизводят себе подобные частицы в таком огромном количестве и столь своеобразным способом, так как здесь копируются молекулы нуклеиновых кислот и, согласно заключенной в них генетической информации, синтезируются вирусные белки.

При большом разнообразии механизмов репродукции вирусов общим для всех видов является:

1. источником мономеров для синтеза нуклеиновых кислот служат нуклеотиды клетки;

2. источником мономеров для синтеза вирусных белков служат аминокислоты (аминоацил тРНК) клетки;

. синтез белков всех вирусов осуществляется на клеточных рибосомах;

. источник энергии для биосинтетических процессов при репродукции всех вирусов - аденазинтрифосфорная кислота (АТФ), вырабатываемая в митохондриях клетки;

. дисъюнктивный (разобщенный во времени и в пространстве) биосинтез структурных компонентов вирусов. Так, нуклеиновая кислота вируса может реплицироваться, например, в ядре клетки, вирусный белок синтезируется в цитоплазме, а сборка цельных вирионов или нуклеокапсидов может происходить на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны. Наконец, сложный липопротеиновый суперкапсид может приобретаться вирусами в процессе почкования;

. репликацию нуклеиновых кислот вирусов осуществляют ферменты - полимеразы (ДНК-полимеразы и РНК-синтетазы), которые могут быть клеточными полимеразами, присутствующими в клетке до ее заражения вирусом, либо вирусспецифическими, появляющимися после заражения клетки вирусом, так как биосинтез их закодирован в структуре нуклеиновых кислот самих вирусов или они находятся в вирионе вируса;

. точность копирования молекул нуклеиновых кислот при их репликации обеспечивается матричным механизмом и принципом комплементарности.

Взаимодействие вируса с клеткой хозяина - сложный и многостадийный процесс. Типы взаимодействия вируса с клеткой. Различают три типа взаимодействия вируса с клеткой: продуктивный, абортивный и интегративный.

. Продуктивный тип - завершается образованием нового поколения вирионов и гибелью (лизисом) зараженных клеток (цитолитическая форма). Гибель клетки могут вызвать следующие факторы: раннее подавление синтеза клеточных белков, накопление повреждающих клетку вирусных компонентов, повреждение лизосом и высвобождение их ферментов в цитоплазму. Такая форма инфекции наблюдается у многих вирусов. Некоторые вирусы выходят из клеток, не разрушая их (нецитолитическая форма).

. Абортивный тип - не завершается образованием новых вирионов, поскольку инфекционный процесс в клетке прерывается на одном из этапов. Абортивная инфекция может возникать при следующих обстоятельствах: заражение чувствительных клеток дефектным вирусом(не способный проявить все генетические функции),заражение чувствительных клеток в неразрешающих условиях, т.е. при резком изменении условий, при которых происходит инфекционный процесс, заражение нечувствительных клеток стандартным вирусом. В результате клетка либо погибает без продукции инфекционного вируса, либо инфекция прерывается на определенном этапе.

. Интегративный тип, или вирогения - характеризуется встраиванием (интеграцией) вирусной ДНК в виде провируса в хромосому клетки и их совместным сосуществованием (совместная репликация). Клетка может сохранить нормальные функции и при ее делении вирусные последовательности могут переходить в геном дочерних клеток. Интеграция может привести к неопластической трансформации клеток. Такие клетки приобретают способность к неограниченному делению. Интегративная форма инфекции возможна для нескольких семейств: аденовирусов, ретровирусов, вирусов герпеса, паповавирусов и др.

Репродукция вирусов осуществляется в несколько фаз и стадий, последовательно сменяющих друг друга: адсорбция вируса на клетке; проникновение вируса в клетку; «раздевание» вируса; биосинтез вирусных компонентов в клетке; формирование вирусов; выход вирусов из клетки.

Первые три стадии: адсорбция вируса на клетках, проникновение вируса в клетки, раздевание вируса в клетке-направлены на то, чтобы вирус был доставлен в соответствующие клеточные структуры и его внутренний компонент был освобожден от защитных оболочек. Как только эта цель достигнута, начинается вторая фаза репродукции, в течение которой происходит экспрессия вирусного генома. Эта фаза включает в себя пять стадий:. Транскрипция.. Трансляция иРНК.. Репликация генома.. Сборка вирусных компонентов.. Выход вируса из клетки.

1.2 Первая фаза репродукции. Адсорбция вирионов на поверхности клетки

Взаимодействие вируса с клеткой начинается с процесса адсорбции, т.е. прикрепления вирусов к поверхности клетки. Это высокоспецифический процесс. Начальный контакт вируса с клеткой происходит в результате случайного столкновения по типу броуновского движения. Каждый вирус строго специфичен в отношении хозяина. Например, вирусы полиомиелита адсорбируются только на клетках приматов. Рецепторы для других вирусов, напротив, широко представлены на поверхности клеток различных видов, как, например, рецепторы для ортомиксо - и ларамиксовирусов, представляющие собой сиалилсодержащие соединения, имеют относительно широкий диапазон клеток, на которых может происходить адсорбция вирусных частиц. Рецепторами для ряда тогавирусов обладают клетки широкого круга хозяев: эти вирусы могут адсорбироваться и инфицировать клетки как позвоночных, так и беспозвоночных. Вирусные ДНК и РНК обладают способностью заражать более широкий круг хозяев, чем вирусы. Максимальная скорость адсорбции вируса наблюдается лишь при определенном соотношении концентрации вируса и клеток, влиянии pH, температуры, ионного состава среды.

Вирус адсорбируется на определенных участках клеточной мембраны - так называемых рецепторах. Клеточные рецепторы могут иметь разную химическую природу, представляя собой белки, углеводные компоненты белков и липидов, липиды. Число специфических рецепторов на поверхности одной клетки колеблется от 104 до 105. Следовательно, на клетке могут адсорбироваться десятки и даже сотни вирусных частиц. Специфические клеточные рецепторы играют роль не только в прикреплении вирусной частицы к клеточной поверхности. Они определяют дальнейшую судьбу вирусной частицы, ее внутриклеточный транспорт и доставку в определенные участки цитоплазмы и ядра, где вирус способен инициировать инфекционный процесс. Вирус может прикрепиться и к неспецифическим рецепторам и даже проникнуть в клетку, однако только прикрепление к специфическому рецептору приведет к возникновению инфекции. Описанный выше процесс лежит в основе специфического механизма адсорбции.

Второй механизм адсорбции- неспецифический. Определяется силами электростатического взаимодействия, возникающими между разнозаряженными группами, расположенными на поверхности клетки и вируса. В этом процессе участвуют заряженные положительно аминные группы вирусного белка и кислые фосфатные, сульфатные и карбоксильные группы клеточной поверхности, имеющие отрицательный заряд.

Адсорбция вируса на клетках происходит в широком диапазоне температур. Она протекает нормально в присутствии катионов и подавляется веществами, несущими высокий отрицательный заряд (сульфатированные полисахариды, гепарин). Для ряда оболочечных вирусов известна обратная закономерность.

Процесс адсорбции состоит из двух быстро следующих друг за другом периодов: обратимого и необратимого. Период обратимого прикрепления может закончиться десорбцией. При длительном контакте вируса с клеткой никакие воздействия не позволяют освободить адсорбированный вирус, наступает стадия необратимой адсорбции. Вирус ящура, например, адсорбируется клетками культуры почки свиней при 2-4 и 37 °С, однако при низкой температуре адсорбция вируса обратима и инфицирования клеток не происходит, так как вирус находится на поверхности клеток и легко может быть десорбирован раствором версена без нарушения целостности клеток, тогда как при 37 °С через 80-90 мин наступала полная необратимая адсорбция вируса. Количество адсорбированного вируса и число инфицированных клеток в основном зависят от множественности заражения и продолжительности адсорбции.

Адсорбированные вирусные частицы могут иметь различную судьбу: большая часть их элюируется, при этом они повреждаются, так как теряют способность к реадсорбции другими клетками и не инфицируют их; другая часть вирусных частиц проникает в клетку и подвергается дезинтеграции; небольшая часть инфекционных вирусных частиц, связанных с клеткой, остается интактной.

Прикрепительные белки могут находиться в составе уникальных органелл, таких, как структуры отростка у Т-бактериофагов или фибры у аденовирусов, которые хорошо видны в электронном микроскопе; могут формировать морфологически менее выраженные, но не менее уникальные структуры белковых субъединиц на поверхности вирусных мембран, как, например, шипы у оболочечных вирусов, «корону» у коронавирусов.

Спектр чувствительности клеток к вирусам в значительной степени определяется наличием соответствующих рецепторов. Прикрепление вируса к клетке - непременное, но недостаточное условие для инфицирования, которое определяется прохождением последующих стадий репродукции вируса.

1.3 Инъекция (проникновение вируса в клетку)

Существует два способа проникновения вирусов животных в клетку: виропексис(рецепторный эндоцитоз) и слияние вирусной оболочки с клеточной мембраной. При виропексисе после адсорбции вирусов происходят инвагинация (впячивание) участка клеточной мембраны и образование внутриклеточной вакуоли, которая содержит вирусную частицу. Вакуоль с вирусом может транспортироваться в любом направлении в разные участки цитоплазмы или ядро клетки. Процесс слияния осуществляется одним из поверхностных вирусных белков капсидной или суперкапсидной оболочки. По-видимому, оба механизма проникновения вируса в клетку не исключают, а дополняют друг друга.

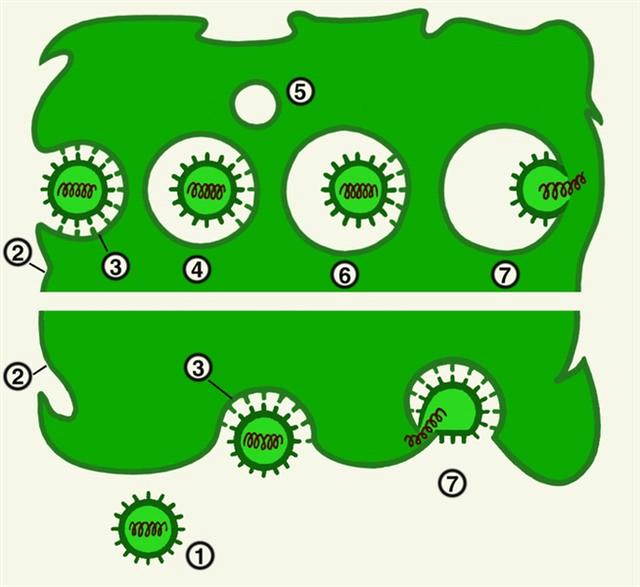


Рис. 1. Схема проникновения вирусов в клетку путем рецепторного эндоцитоза (вверху) и через плазматическую мембрану клетки (внизу): 1 - вирусная частица; 2 - плазматическая мембрана клетки; 3 - ямка на поверхности клетки, содержащая рецепторы; 4 - образующаяся клеточная вакуоль; 5 - сливающаяся клеточная вакуоль; 6 - клеточная вакуоль, образующаяся после слияния (рецептосома); 7 - выход генетического материала вируса в цитоплазму.

1.4 «Раздевание» - депротеинизация вируса

вирус ингибитор клетка вирион

Процесс «раздевания» заключается в удалении защитных вирусных оболочек и освобождении внутреннего компонента вируса, способного вызвать инфекционный процесс. «Раздевание» вирусов происходит постепенно, в несколько этапов, в определенных участках цитоплазмы или ядра клетки, для чего клетка использует набор специальных ферментов. В случае проникновения вируса путем слияния вирусной оболочки с клеточной мембраной процесс проникновения вируса в клетку сочетается с первым этапом его «раздевания». Конечными продуктами «раздевания» являются сердцевина, нуклеокапсид или нуклеиновая кислота вируса.

Раздевание сопровождается рядом характерных особенностей:

1. в результате распада вирусной частицы исчезает инфекционная активность;

2. в ряде случаев появляется чувствительность к нуклеазам;

3. возникает устойчивость к нейтрализующему действию антител;

4. теряется фоточувствительность при использовании ряда препаратов;

В ряде случаев способность вирусов вызвать инфекционный процесс определяется возможностью их раздевания в клетке данной системы. Тем самым эта стадия является одной из ограничивающих инфекцию.

Раздевание ряда вирусов происходит в специализированных участках внутри клетки (лизосомах, структурах аппарата Гольджи, околоядерном пространстве, ядерных порах на ядерной мембране). При слиянии вирусной и клеточной мембран проникновение в клетку сочетается с раздеванием.

Раздевание и внутриклеточный транспорт - взаимосвязанные процессы: при нарушении правильного внутриклеточного транспорта к местам раздевания вирусная частица попадает в лизосому и разрушается лизосомальными ферментами.

1.5 Вторая фаза репродукции. Транскрипция

Проникшая в клетку вирусная нуклеиновая кислота несет генетическую информацию, которая успешно конкурирует с генетической информацией клетки. Она дезорганизует работу клеточных систем, подавляет собственный метаболизм клетки и заставляет ее синтезировать новые вирусные белки и нуклеиновые кислоты, идущие на построение вирусного потомства.

Реализация генетической информации вируса осуществляется в соответствии с процессами транскрипции, трансляции и репликации.

Транскрипция-это переписывание информации с ДНК на РНК по законам генетического кода.

Осуществляется с помощью специального фермента (РНК-полимеразы), который связывает нуклеотиды путем образования 3’-5′-фосфодиэфирных мостиков. При инициации транскрипции РНК-полимераза связывается со специальным участком ДНК (промотором), удвоенные спирали ДНК разъединяются и функционируют как матрицы, к которым присоединяются комплементарные нуклеотиды благодаря спариванию комплементарных оснований (аденин с тимином, урацил с аденином, гуанин с цитазином и цитазин с гуанином). Таким образом, происходит постепенное удлинение (элонгация) цепи НИК. Терминация (прекращение роста) цепи ГПК происходит на специфических участках ДНК, называемых терминаторами. При этом процессе принимают участие и специальные белки.

Стратегия вирусного генома в отношении синтеза иРНК у разных вирусов различна. У ДНК -содержащих вирусов иРНК синтезируется на матрице одной из нитей ДНК. Формула переноса генетической информации у них такая же, как и в клетке:

ДНК-содержащие (ДНК -> иРНК ->белок):

. Репродукция происходит в ядре: аденовирусы, герпес, паповавирусы. Используют ДНК-зависимую РНК - полимеразу клетки.

. Репродукция происходит в цитоплазме: вирусы имеют свою ДНК-зависимую РНК полимеразу,которая проникает в клетку в составе вириона. К этим вирусам относятся вирусы оспы и иридовирусы.

РНК-содержащие вирусы:

. Рибовирусы с позитивным геномом (плюс-нитиевые): пикорна-, тога-, коронавирусы. Транскрипции нет. Функции иРНК выполняет сам геном, передача генетической информации осуществляется по наиболее простой формуле:

РНК ->белок

. Рибовирусы с негативным геномом (минус- нитевые). У данных вирусов, геном не может выполнять функцию иРНК. В клетке синтезируется комплементарная геному РНК, которая и является информационной. Передача генетической информации у этих вирусов осуществляется по формуле:

(-)РНК -> иРНК -> белок (иРНК комплементарная (-)РНК).

В клетке нет фермента,который может полимеризовать нуклеотиды на матрице РНК. Этот процесс идет при участии специального вирусного фермента - вирионная РНК-зависимая PHK-полимераза ( в клетке такого фермента быть не может), или транскриптаза,которая находится в составе вирионов и вместе с ними проникает в клетку. У этих вирусов транскрипция выделена как самостоятельный процесс в инфекционном цикле. К ним относят 2 группы вирусов животных:

a) Вирусы,геном которых представлен односпиральной РНК: ортомиксо-, парамиксо-,рабдо-,буньявирусы;) Вирусы,геном которых представлен двуспиральной РНК:среди вирусов животных к ним относятся реовирусы.

. Ретровирусы

Имеют уникальный путь передачи генетической информации . РНК этих вирусов переписывается на ДНК, ДНК интегрирует с клеточным геномом и в его составе переписываеся на РНК, которая обладает информационными функциями. Осуществляется по сложной формуле:

(-)РНК -> ДНК -> иРНК ->белок (и РНК гомологична РНК).

В этом случае процесс образования ДНК на базе (-)РНК возможен при участии фермента - РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы или ревертазы). Этот же фермент синтезирует нить ДНК на матрице ДНК. Двуспиральная ДНК после замыкания в кольцо интегрирует с клеточным геномом, и транскрипцию интегрированной ДНК в составе клеточных геномов осуществляет клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза.

Транскрипция вирусного генома строго регулируется на протяжении инфекционного цикла. Регуляция осуществляется как клеточными, так и вирусспецифическими механизмами. У некоторых вирусов, в основном ДНК-содержащих, существует три периода транскрипции: сверхранний, ранний и поздний. К ним относятся вирусы оспы, герпеса, папова-, адено - и иридовирусы. В результате сверхранней и ранней транскрипции избирательно считываются сверхранние и ранние гены с образованием сверхранних или ранних иРНК. При поздней транскрипции считывается другая часть вирусного генома - поздние гены с образованием поздних и PHК. Количество поздних генов обычно превышает количество ранних генов. Многие сверхранние гены являются генами для неструктурных белков (ферментов и регуляторов транскрипции) и репликации вирусного генома. Напротив, поздние гены обычно являются генами для структурных белков. Обычно при поздней транскрипции считывается весь геном, но с преобладанием транскрипции поздних генов.

1.6 Трансляция

Эго - процесс перевода генетической информации, содержащейся в иРНК на специфическую последовательность аминокислот в синтезируемых вирусспецифических белках. Синтез белка в клетке происходит в результате трансляции иРНК на рибосомах. В рибосомах идет слияние потока информации (в иРНК) с потоком аминокислот, которые приносят транспортные РНК (тРНК). В клетке существует большое количество разнообразных тРНК. Для каждой аминокислоты должна быть своя тРНК.

Молекула тРНК представляет собой односпиральную РНК со сложной структурой в виде кленового листа.

Связывание конкретной тРНК и аминокислоты осуществляет фермент аминоацилсинтетаза. Один конец тРНК связывается с аминокислотой, а другой - с нуклеотидами иРНК, которым они комплементарны. Три нуклеотида на иРНК кодируют одну аминокислоту и называются «триплет» или «кодон», а комплементарные кодону три нуклеотида на тРНК называются «антикодоном».

Процесс транскрипции состоит из трех фаз: инициации элонгации, терминации.

Инициация трансляции - наиболее ответственный этап в процессе трансляции, основанный на узнавании рибосомой иРНК и связывании с ее особыми участками. Рибосома узнает иРНК благодаря «шапочке» (кэп) на 5′-конце и скользит к 3′-концу, пока не достигнет инициаторного кодона, с которого начинается трансляция. В эукариотической клетке инициаторными кодонами являются кодоны АУГ (аденин, урацил, гуанин), кодирующие метионин. С метионина начинается синтез всех полипептидных цепей. Специфическое узнавание рибосомой вирусной и РНК осуществляется за счет вирусспецифических инициаторных факторов.

Вначале с иРНК связывается малая рибосомальная субъединица. К комплексу иРНК с малой рибосомальной субъединицей присоединяются другие компоненты, необходимые для начала трансляции. Это - несколько молекул белка, которые называются «инициаторные факторы». Их, по крайней мере, три в прокариотической клетке и более девяти в эукариотической клетке. Инициаторные факторы определяют узнавание рибосомой специфических иРНК. В результате формируется комплекс, необходимый для инициации трансляции, который называется «инициаторным комплексом». В инициаторный комплекс входят: иРНК; малая рибосомальная субъединица; аминоацил-тРНК, несущая инициаторную аминокислоту; инициаторные факторы; несколько молекул ГТФ (гуанозинтрифосфат).

В рибосоме осуществляется слияние потока информации с потоком аминокислот. Вхождение аминоацил-тРНК в А-центр большой рибосомальной субъединицы является следствием узнавания, а ее антикодон взаимодействует с кодоном иРНК, находящейся в малой рибосомальной субъединице. При продвижении иРНК на один кодон тРНК перебрасывается в пептидильный центр (П-центр), и ее аминокислота присоединяется к инициаторной аминокислоте с образованием первой пептидной связи. Свободная от аминокислоты тРНК выходит из рибосомы и может опять функционировать в транспорте специфических аминокислот. На ее место из A-центра в П-центр перебрасывается новая тРНК, и образуется новая пептидная связь. В A-центре появляется вакантный кодон иРНК, к которому немедленно присоединяется соответствующая тРНК, и происходит присоединение новых аминокислот к растущей полипептидной цепи.

Элонгация трансляции - процесс удлинения, наращивания полипептидной цепи, основанный на присоединении новых аминокислот с помощью пептидной связи. Происходит постоянное протягивание нити иРНК через рибосому и «декодирование» заложенной в ней генетической информации. Часто иРНК функционирует одновременно на нескольких рибосомах, каждая из которых синтезирует одну и ту же полипептидную нить, кодируемую данной иРНК.

Терминация трансляции происходит в тот момент, когда рибосома доходит до терминирующего кодона в составе иРНК (УАА, УГА, УАГ). Трансляция прекращается, и полипептидная цепь освобождается из полирибосомы. После окончания трансляции полирибосомы распадаются на субъединицы, которые могут войти в состав новых полирибосом.

Каждая и PHК функционирует на нескольких рибосомах. Группу рибосом, работающих на одной молекуле иРНК, называют полирибосомой или полисомой. Полисомы могут состоять от 4-6 до 20 и более рибосом.

Вирусспецифические полисомы могут быть как свободными, так и связанными с мембранами. Внутренние белки обычно синтезируются на свободных полисомах, гликопротеиды всегда синтезируются на полисомах, связанных с мембранами.

Поскольку геном вируса животных представлен молекулой, кодирующей более чем один белок, вирусы поставлены перед необходимостью синтеза либо длинной иРНК, кодирующей один гигантский полипептид-предшественник, который затем должен быть нарезан в специфических точках на функционально активные белки, либо коротких моноцистронных иРНК, каждая из которых кодирует один белок. Таким образом, существуют два способа формирования вирусных белков:

первый - иРНК транслируется в гигантский полипептид-предшественник, который после синтеза последовательно нарезается на зрелые функционально активные белки;

второй - иРНК транслируется с образованием зрелых белков или белков, которые лишь незначительно модифицируются после синтеза.

Первый способ трансляции характерен для РНК-содержащих плюс-нитевых вирусов - пикорнавирусов и тогавирусов. Их иРНК транслируется в гигантскую полипептидную цепь, так называемый полипротеид, который сползает в виде непрерывной ленты с рибосомного «конвейера» и нарезается на индивидуальные белки нужного размера. Нарезание вирусных белков - многоступенчатый процесс, осуществляемый как вирусспецифическими, так и клеточными протеазами.

Второй способ формирования белков характерен для ДНК-содержащих вирусов и большинства РНК-содержащих вирусов. При этом способе синтезируются короткие моноцистронные иРНК в результате избирательной транскрипции одного участка генома (гена). Однако эти вирусы широко используют механизм посттрансляционного нарезания белка.

В эукариотической клетке многие белки, в том числе вирусные, подвергаются посттрансляционным модификациям, зрелые функционально активные белки часто неидентичны их вновь синтезированным предшественникам. Широко распространены такие посттрансляционные ковалентные модификации, как гликозилирование, ацилирование, метилирование, сульфирование (образование дисульфидных связей), протеолитическое нарезание и, наконец, фосфорилирование. В результате вместо 20 генетически закодированных аминокислот из различных клеток разных органов эукариотов выделено около 140 дериватов аминокислот.

Гликозилирование. В составе сложно устроенных PHК - и ДНК-содержащих вирусов имеются белки, содержащие ковалентно присоединенные боковые цепочки углеводов, - гликопротеиды. Гликопротеиды расположены в составе вирусных оболочек и находятся на поверхности вирусных частиц.

Гликозилирование полипептидов - сложный многоступенчатый процесс, первые этапы которого начинаются уже в процессе синтеза полипептидов, и первый углеводный остаток присоединяется к полипептидной цепи, еще не сошедшей с рибосомы. Последующие этапы гликозилирования происходят путем последовательного присоединения углеводных остатков к углеводной цепочке в процессе транспорта полипептида к плазматической мембране. Углеводные остатки присоединяются по одному, и только при инициации синтеза олигосахаридной цепи переносится «блок». Окончательное формирование углеводной цепочки может завершаться на плазматической мембране перед сборкой вирусной частицы.

Гликозилирование влияет на транспорт, более того, транспорт неразрывно связан для гликопротеидов со стадийным гликозилированием. Убедительным доказательством этого служит влияние на вирусную репродукцию ингибиторов гликозилирования; они полностью подавляют транспорт полипептидов, не нарушая и не ингибируя их синтеза.

При подавлении гликозилирования соответствующими ингибиторами (аналоги сахаров типа 2-дезоксиглкжозы, антибиотик туникамицин) блокируется сборка вирионов миксо-, рабдо-, α-вирусов или образуются неинфекционные вирионы вирусов герпеса и онковирусов.

Сульфирование. Некоторые белки сложно устроенных РНК - и ДНК-содержащих вирусов сульфируются после трансляции. Чаще всего сульфированию подвергаются гликопротеиды, при этом сульфатная группа связывается с углеводными остатками гликопротеида.

Ацилирование. Ряд гликопротеидов сложно устроенных РНК-содержащих вирусов (НА2 вируса гриппа, белок G вируса везикулярного стоматита, белок HN вируса ньюкаслской болезни и др.) содержат ковалентно связанные 1-2 молекулы жирных кислот.

Нарезание. Многие вирусные белки, и в первую очередь гликопротеиды, приобретают функциональную активность лишь после того, как произойдет их нарезание в специфических точках протеолитическими ферментами. Нарезание происходит либо с образованием двух функциональных белковых субъединиц (например, большая и малая субъединицы гемагглютинина вируса гриппа, два гликопротеида (Е2 и ЕЗ) вируса леса Семлики), либо с образованием одного функционально активного белка и неактивного фермента, например белки F и HN парамиксовирусов. Нарезание обычно осуществляется клеточными ферментами. У многих сложно устроенных вирусов животных, имеющих гликопротеиды, нарезание необходимо для формирования активных прикрепительных белков и белков слияния и, следовательно, для приобретения вирусами способности инфицировать клетку. Лишь после нарезания этих белков вирусная частица приобретает инфекционную активность. Таким образом, можно говорить о протеолитической активации ряда вирусов, осуществляемой с помощью клеточных ферментов.

Фосфорилирование. Фосфопротеиды содержатся практически в составе всех вирусов животных - РНК - и ДНК-содержащих, просто и сложно устроенных. В составе большинства вирусов обнаружены протеинкиназы, однако фосфорилирование может осуществляться как вирусными, так и клеточными ферментами. Обычно фосфорилируются белки, связанные с вирусным геномом и осуществляющие регулирующую роль в его экспрессии. С процессом фосфорилирирования связан механизм активного действия интерферона.

Фосфорилирование белков играет регулирующую роль в транскрипции и трансляции вирусных и PHК, специфическом узнавании вирусных иРНК рибосомой, белок-нуклеиновом и белок-белковом узнавании на стадии сборки вирусных частиц.

.7 Репликация

Это - синтез молекул нуклеиновой кислоты, гомологичных геному.

Различные вирусы имеют разные типы вирусного генома. Так, у ДНК-содержащих вирусов различают: двуспиральную линейную ДНК (адено-, герпес-, поксвирусы; ), двуспиральную кольцевую ДНК (паповавирусы); односпиральная линейная ДНК (парвовирусы). У РНК-содержащих вирусов различают: двуспиральную сегментированную РНК (реовирусы); односпиральную плюсРНК (пикорна-, кальци-, тога-, флави-, коронавирусы); односпиральную минусРНК (ортомиксо-, парамиксо-, рабдо-, фило-, бунья - вирусы); односпиральную плюсРНК-матрицу для синтеза ДНК-провируса (ретровирусы). Особенности механизма репликации вирусов зависят от типа вирусного генома.

Репликация вирусов в двуспиральной ДНК сходна с репликацией клеточной ДНК. Репликация происходит на расплетенных участках ДНК и идет одновременно на обеих нитях от 5′-конца к 3′-концу. Репликацию осуществляют ДНК-полимеразы. Каждая вновь синтезированная молекула ДНК состоит из одной родительской и одной вновь синтезированной нити.

При репликации вирусов с односпиральной ДНК происходит образование двуспиральных форм, которые представляют собой промежуточные репликативные формы, на минус-нитях которых синтезируются дочерние плюс-нити ДНК.

У вирусов, геном которых представлен односпиральной РНК, ее репликация происходит по следующей схеме: на вирионной РНК синтезируется комплементарная ей РНК (образуется репликативная форма РНК), затем на комплементарной РНК синтезируется комплементарная ей, но идентичная исходной вирусная РНК.

В клетках нет ферментов, способных осуществлять репликацию РНК, поэтому ферменты, участвующие в репликации, всегда вирусспецифические.

Репликация двуспиральных вирусных РНК происходит следующим образом: на минус-нити геномной двуспиральной РНК синтезируются односпиральные плюс-нити, которые являются и PH К и матрицей для синтеза минус-нитей, в результате образуются двуспиральные вирусные РНК.

Репликация односпиральной РНК ретровирусов происходит с участием фермента обратной транскриптазы. Вначале на вирусной РНК синтезируется комплементарная ей минус-нить ДНК, а затем (после разрушения РНК) на ней синтезируется плюс-нить ДНК. Двуспиральная ДНК интегрирует в хромосому клетки. Вирусспецифическая ДНК, встроенная в клеточный геном, транскрибируется с образованием вирусной РНК, которая вначале выполняет функции иРНК, направляя синтез вирусспецифических белков, а затем соединяется с ними, формируя новое поколение вирионов.

Синтез РНК может осуществляться по одному из двух механизмов: 1) консервативному, при котором полинуклеотидные цепи, входящие в состав репликативной формы РНК, сохраняются (консервируются) и не переходят в односпиральную форму; 2) образование плюс-нитей может происходить асимметрическим полуконсервативным путем, когда вновь строящаяся плюс-нить вытесняет ранее синтезированную плюс-нить из репликативной формы РНК.

.8 Формирование зрелых вирионов

Процесс «сборки» вируса осуществляется в результате соединения компонентов вирусной частицы. У сложных вирусов в этом процессе принимают участие клеточные структуры и происходит включение в вирусную частицу липидпых, углеводных, белковых компонентов клетки хозяина.

Процесс формирования вирионов начинается спустя определенное время после того, как начал осуществляться синтез составляющих их компонентов. Продолжительность этого периода довольно вариабельна и предопределяется природой вируса - для РНК-содержащих обычно короче, чем для ДНК-вирусов. Например, продукция полных вирусных частиц осповакцины начинается приблизительно спустя 5-6 ч после инфицирования клеток и продолжается в течение последующих 7-8 ч, т. е. после того как синтез вирусной ДНК уже завершен.

Между нуклеиновой кислотой и соответствующим белковыми субъединицами образуются очень прочные связи, о чем свидетельствуют трудности отделения белка от вирусной нуклеиновой кислоты. Большую прочность вирусной частице придают входящие в ее состав углеводы и особенно липиды.

Формирование вирионов, так же как и синтез компонентов вируса, происходит в разных местах клетки, при участии различных клеточных структур. После завершения процесса формирования образуется зрелая дочерняя вирусная частица, обладающая всеми свойствами родительского вириона. Но иногда наблюдается образование так называемых неполных вирусов, которые состоят или только из нуклеиновой кислоты, или из белка, или из вирусных частиц, формирование которых остановилось в какой-то промежуточной стадии.

1.9 Выход зрелых вирионов из клетки

Существуют два основных механизма выхода зрелых вирионов из клетки:

) выход вириона с помощью почкования. В этом случае наружная оболочка вириона происходит из клеточной мембраны, она содержит как материал клетки хозяина, так и вирусный материал;

) выход зрелых вирионов из клетки через бреши в мембране. Эти вирусы не имеют наружной оболочки. При таком механизме выхода вирусов клетка, как правило, погибает и в среде появляется большое количество вирусных частиц.

Причиной гибели зараженной клетки могут быть три механизма:

.работа вируса, «истощающая» клетку;

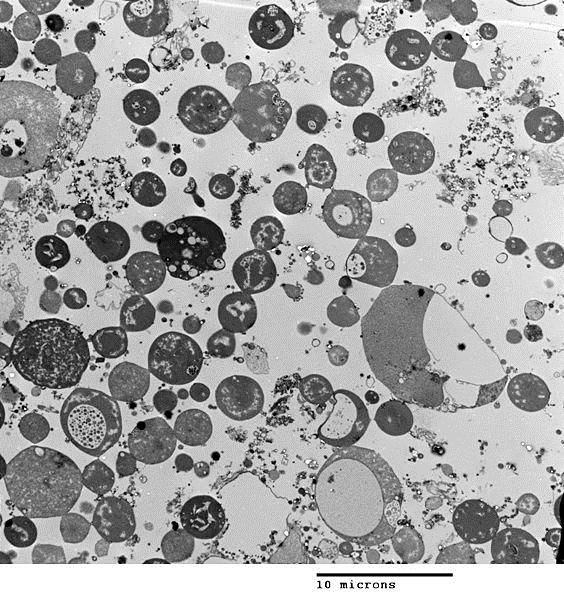
.защитная реакция клетки, запускающая генетическую программу ее гибели (апоптоз);

. иммунная система организма, уничтожающая зараженную клетку.

2. Противовирусный иммунитет

Основой противовирусного иммунитета является клеточный иммунитет. Клетки-мишени, инфицированные вирусом, уничтожаются цитотоксическими лимфоцитами, а также NK-клетками и фагоцитами, взаимодействующими с Fc-фрагментами антител, прикрепленных к вирусспецифическим белкам инфицированной клетки. Противовирусные антитела способны нейтрализовать только внеклеточно расположенные вирусы, как и факторы неспецифического иммунитета - сывороточные противовирусные ингибиторы. Такие вирусы, окруженные и блокированные белками организма, поглощаются фагоцитами или выводятся с мочой, потом и др. (так называемый «выделительный иммунитет»). Интерфероны усиливают противовирусную резистентность, индуцируя в клетках синтез ферментов, подавляющих образование нуклеиновых кислот и белков вирусов. Кроме этого, интерфероны оказывают иммуномодулирующее действие, усиливают в клетках экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Противовирусная защита слизистых оболочек обусловлена секреторными IgA, которые, взаимодействуя с вирусами, препятствуют их адгезии на эпителиоцитах.

Принципиальных различий между иммунитетом противобактериальным и противовирусным нет, однако в защите организма от вирусов имеются некоторые особенности, обусловленные своеобразием их существования - внутриклеточной и внеклеточной формами жизни. Защитные механизмы организма направлены на обе формы существования вирусов. Механизмы обезвреживания внеклеточной (покоящейся) формы вирионов имеют большое сходство с реакциями на бактерии: вирионы, как и бактерии, подвергаются действию специфических и неспецифических клеточных и гуморальных факторов иммунитета.



Естественный противовирусный иммунитет, связанный с биологическими особенностями вирусов, характеризуется:

) отсутствием чувствительных к вирусам клеток в организме определенного вида животного;

) повышением устойчивости клеток к вирусам;

) инактивацией вирусов при действии неспецифических ингибиторов;

) действием некоторых физиологических факторов организма (например, повышение температуры, участие фагоцитарных факторов и др.).

Приобретенный иммунитет против вирусов характеризуется действием как специфических, так и неспецифических факторов защиты. К неспецифическим факторам относятся вирусные ингибиторы и интерферон.

Ингибиторы, способные нейтрализовать активность вирусов, содержатся в плазме крови, секретах, тканях животных и человека; они действуют как на ДНК, так и на РНК-содержащие вирусы. Наряду с качественными и количественными различиями в содержании сывороточных ингибиторов у различных видов животных существуют индивидуальные, а также колебания в количестве ингибиторов у одного и того же животного в разные периоды жизни. Ингибиторы делятся на:

) термолабильные (рингибиторы), разрушающиеся при температуре 62-65 °С в течение часа,

) термостабильные: умеренно термостабильные (аингибиторы), разрушающиеся при температуре 75 °С, и высокотермостабильные (уингибиторы), выдерживающие нагревание до 100 °С.

Термолабильные рингибиторы, являющиеся липопротеинами, обычно очень активны и способны нейтрализовать инфекционную активность ряда вирусов: гриппа (типов А и В), парагриппозных, аденовирусов, энтеровирусов, вируса кори и др.

Умеренно термостабильные «ингибиторы (ингибитор Френсиса) являются мукопротеинами. Высокотермостабильный уингибитор обнаружен в сыворотке крови многих животных и человека. Активность его очень велика: он способен нейтрализовать сотни и тысячи инфекционных доз вируса гриппа. По химическому составу ингибитор является нерастворимым эйглобулином, соединенным с белком. Количество ингибиторов в организме животных при заболевании или иммунизации изменяется.

Механизм действия вирусных ингибиторов и антител сходен. При взаимодействии с вирусами ингибиторы оседают на поверхности вириона, блокируя его, в результате чего вирус теряет способность адсорбироваться чувствительной клеткой, не может в нее проникнуть и репродуцироваться. Поскольку ингибиторы обладают довольно широким спектром активности в отношении различных вирусов, их можно считать факторами неспецифического иммунитета. Однако некоторая специфичность действия ингибиторов все же имеется. Она связана с общими химическими группами у вирусных частиц, которые и взаимодействуют с ингибиторами. Так, ингибиторы, относящиеся к категории мукополисахаридов и имеющие в составе нейраминовую кислоту, нейтрализуют миксовирусы, а ингибиторы, относящиеся к категории липопротеинов, подавляют активность вирусов полиомиелита, клещевого энцефалита и др.

Одним из основных факторов неспецифического иммунитета является интерферон, открытый в 1957 г. Айзексом и Линдеманом, которые обнаружили его в клетках хорион-аллантоисной оболочки (ХАО) куриного эмбриона, зараженного вирусом гриппа. Интерферон - низкомолекулярный белок, продуцируемый клетками в ответ на введение вирусов или нуклеиновых кислот невирусного происхождения. Действие интерферона в отношении вирусов неспецифично, однако большое значение имеет тканевая видоспецифичность. Интерферон, полученный на клетках человеческого происхождения, проявляет свое действие только на этих же клетках. Интерферон куриного происхождения активен только в клетках, полученных от куриных эмбрионов. Все клетки организма способны вырабатывать интерферон, но у лейкоцитов и клеток ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) эта способность наиболее выражена.

Основными свойствами интерферона являются видовая специфичность, нечувствительность к действию вируснейтрализующих антител, устойчивость к действию кислой среды, относительная термостабильность (разрушается при 56 °С), чувствительность к протеолитическим ферментам, способность подавлять размножение разнообразных вирусов в тканевых культурах, т. е. отсутствие вирусной специфичности.

Образование интерферона у человека происходит как при естественной вирусной инфекции, так и при искусственном введении в организм вирусных и невирусных агентов.

Человеческий интерферон выделяют из лейкоцитов (ИФа) или из клеток соединительной ткани - фибробластов (ИФр) и используют его для лечения и профилактики ряда вирусных инфекций.

Очищенные препараты человеческого интерферона значительно активнее многих биологических препаратов.

Роль температуры.

В защите организма от некоторых вирусов имеет значение температурный фактор. На месте внедрения вирусов в воспалительном очаге повышается температура, наблюдаются ацидоз и гипоксия, губительно влияющая на вирусы. По мнению некоторых зарубежных и отечественных вирусологов, лихорадка - один из факторов, благоприятствующих выздоровлению от вирусной инфекции. Повышенная температура тела человека способствует более активной продукции интерферона, усилению специфических реакций иммунитета. Однако некоторые вирусы, например вирус герпеса, могут вызвать обострение у больных с гипертермической реакцией.

В освобождении организма животного от вирусов большую роль играет непосредственное выделение вирусов с мочой, фекалиями, слюной, секретом дыхательных органов, молоком. Эти реакции, направленные на освобождение организма от вирусов, можно рассматривать как один из общефизиологических механизмов противовирусного иммунитета.

Особенностью противовирусного иммунитета является и то, что фагоцитарная реакция в защите от вирусной инфекции не играет такой роли, как при защите макроорганизма от бактериальных инфекций. Неспособность фагоцитов справиться с вирусами объясняется прежде всего биологическими особенностями последних. Вирусы - внутриклеточные паразиты; клетка является естественной средой их обитания. Вирионы легко захватываются лейкоцитами, но дальнейшее их разрушение там не происходит, т. е. наблюдается явление незавершенного фагоцитоза. Незавершенный фагоцитоз наблюдается и при некоторых бактериальных инфекциях, например при гонорее, туберкулезе. Но при бактериальных инфекциях это явление рассматривается как исключение. Значение фагоцитоза в захватывании и разрушении вирусов изучено еще недостаточно. Однако следует признать, что фагоцитарная реакция макрофагов играет защитную роль против вирусных инфекций. Установлено, что вирусы, циркулирующие в крови животных, извлекаются оттуда макрофагами. Кроме того, эти клетки синтезируют интерферон, иммуноглобулины. Вируснейтрализующие антитела, Т-лимфоциты и макрофаги играют значительную роль в противовирусном иммунитете. При взаимодействии вируса со специфическими антителами происходит адсорбция антител на поверхности вируса, что приводит к блокированию вирусных рецепторов. В результате такой вирус не может адсорбироваться на чувствительной клетке и проникать в нее, - он оказывается нейтрализованным.

Роль иммуноглобулинов в противовирусном иммунитете

Иммуноглобулины классов G, М, А являются главными факторами специфического гуморального противовирусного иммунитета. Большое значение принадлежит секреторным иммуноглобулинам - IgA, обеспечивающим местный иммунитет. Особенно велика роль IgA при гриппе, полиомиелите и других вирусных инфекциях, локализованных в дыхательных путях, кишечном тракте. Сывороточные иммуноглобулины имеют большое значение в защите организма при генерализованных вирусных инфекциях (арбовирусные, корь, и др.).

В противовирусном приобретенном иммунитете определенную роль играет специфический клеточный иммунитет: сенсибилизированные Т-лимфоциты способны разрушать клетки, зараженные вирусами. Сенсибилизированные лимфоциты при взаимодействии с вирусом выделяют особое вещество - лимфотоксин, который и разрушает клетки, зараженные вирусом, а сенсибилизированные макрофаги поглощают зараженные клетки и разрушают их. Специфические клеточные факторы защиты играют важную роль в предупреждении рецидивов при таких вирусных заболеваниях, когда сывороточные антитела не могут контактировать с вирионом, который локализуется в чувствительных нервных клетках, например при опоясывающем герпесе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоусова, Р.В. Ветеринарная вирусология / Р.В.Белоусова, Э.А.Преображенская, И.В.Третьякова; под ред. Р.В.Белоусовой.-М.: Ко-лосС, 2007.-423 с.

. Белоусова, Р.В. Ветеринарная вирусология: метод. реком. вузов/Р.В.Белоусова, Э.А.Преображенская, Н.И.Троценко -М.: МГАВМиБ, 2001. -60 с.

. Белоусова, Р.В. Практикум по ветеринарной вирусологии:/ Р.В.Белоусова, Н.И.Троценко, Э.А.Преображенская.-3-е изд., перераб и доп.-М.:КолосС.-2006.-248 с.

. Классификация и номенклатура вирусов позвоночных : пер. с англ. и ред.В.Ю.Луговцева, Д.А.Васильева. -Ульяновск, 2002. -268 с.

. Ройт, А. Иммунология : пер. с англ. / А.Ройт, Дж. Бростофф, Д.Мейл. -М.: Мир, 2000.-582 с.

. Сюрин, В.Н. Вирусные болезни животных / В.Н.Сюрин, А.Я.Самуйленко, Б.В.Соловьёв, Н.В.Фомина. М.:ВНИТИБП, 1998. -928 с.

. H. В. Прозоркина, П. А. Рубашкина. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии, 2002

. Пиневич А. В., Сироткин А. К., Гаврилова О. В., Потехин А. А. Вирусология:учебник. СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2012. - 432

. Сергеев В.А., Непоклонов Е.А., Алипер Т.И. Вирусы и вирусные вакцины:учебник. 524 стр., 2007 г.

. Б. Филдс, Д. Найп. Вирусология: учебник-1440 стр., 1989 г.

. Интернет ресурсы