**Общее представление о вирусах и бактериофагах**

*Вирусы, их морфология, структура, химический состав, влияние внешних факторов, размножение и их значение*

До 1891 г. считали, что именно бактерии стоят на грани живого и неживого. Ученные в то время полагали, что в вопросах изучения организации жизни они дошли до крайних ее пределов, минимальных размеров и простоты строения.

Первым вирусом, для которого были получены бесспорные данные был вирус табачной мозаики BTM, впервые открытый русским учёным Д.И. Ивановским в 1892 г. Он показал, что болезнь табака - так называемую табачную мозаику можно перенести на здоровое растение, воспользовавшись соком больных растений, даже если сок профильтровать через бактерицидные фильтры (фарфоровые). Однако при посеве на питательные среды никаких живых организмов не развивалось, не было их видно и в световой микроскоп.

Крупный микробиолог Бейеринк предполагал, что сама жидкость является живой. Он назвал её contagium vivum feuidum - «живое жидкое заразное начало». Это представление нашло свое выражение в самом слове вирус происходящего от латинского корня, означающего слизистую ядовитую жидкость, нечто вроде «живого змеиного яда». Теперь известно, что эту болезнь переносили вирусы. Вирус, в переводе означает яд.

В 1898 г. немецкие учёные Лёфлер и Форш открыли первую вирусную болезнь животных - ящур рогатого скота.

В 1900 г. Рид с сотрудниками выделил вирус желтой лихорадки - вирусную болезнь человека.

В дальнейшем была установлена вирусная природа некоторых заболеваний членистоногих - желтуха шелковичных червей (описанная ещё Пастером), полиэдроз у гусениц совки, мешотчатая детка пчел. Выявление вирусной природы этих болезней имело большое значение для медицины и сельского хозяйства.

Несколько позже в 1915 г. были описаны вирусы, поражающие бактерии, английским учёным Туортом, а более подробно изучены французским ученым Д’ Эрелем и названы им бактериофагами (от греч. фагейн - пожирать). Он считал, что фаги пожирают бактерии изнутри. Обычно в бактериологии пользуются кратким словом фаг. С совершенствованием методов вычисления вирусов, число вирусов постоянно растет.

В настоящее время не существует полной и обоснованной классификации вирусов. По классификации Берджи вирусы отнесены к отряду Virales, которые вместе с отрядом риккетсий включены в класс Microfabiac

Наиболее удачное определение вируса дал Стенли:

Вирус - это нечто ... имеющее ничтожно малые размеры, способные проникать в организм и вызывать заболевание у всех живых существ и размножающееся только в живых клетках.

Существуют и другие определения вирусов:

Вирусы - неклеточные формы жизни, способные проникать в определённые живые клетки и размножаться только внутри этих клеток;

Вирусы - это внутриклеточные паразиты на генетическом уровне.

Описано около 500 вирусов, поражающих теплокровных позвоночных и более 300 видов, поражающих высшие растения.

Отличительные признаки вирусов.

Имеют более мелкие размеры по сравнению с микробами и не задерживаются бактериофильтрами. Вирусы невидимы в простой оптический микроскоп и оседают только при ультрацентрифугировании;

Содержат только РНК или ДНК;

Для их репродукции необходима только нуклеиновая кислота;

Растут и размножаются только в клетках хозяина;

Имеют неклеточную форму строения.

В организм вирусы могут попадать разными путями:

через воздух;

грязные руки;

с пищевыми продуктами;

через членистоногих (переносчиков - комаров, москитов, клещей).

Из организма они выводятся с мочой, слюной. В растения вирусы попадают через поранения.

Детальное изучение вирусов было проведено с помощью электронного микроскопа. Размеры вирусов колеблются от 10-15 до 200-400 нм. Вирусы оспы человека - 250-300 нм; бешенства 100-150 нм; BTM - 15 нм; ящура - 10-12 нм.

Форма вирусов может быть различной:

Палочковидная или слегка изогнутая - у растений;

Сферическая, шаровидная - вирус гриппа;

Кубовидная - вирус оспы;

Головчатая, сперматозойдоподобная - бактериофоги, вирус азиатской чумы;

Нитевидная - вирус гриппа.

вирусы

простые

НК + Б

сложные

НК + Б + липопротеидная мембр. + ферменты

Рис. 1

Вирусная частица не имеет клеточного строения и её назвали вирионом. Она состоит из генетического материала к ДНК или РНК, окруженного белковой оболочкой - капсидом (греч. ящик). Заключенная в ней нуклеиновая кислота называется нуклеокапсидом. У одних вирусов она непосредственно соприкасается с оболочкой, у других - отделяется от неё мембраной. Капсид состоит из частиц - субъединиц, называемых капсомерами. Капсомер может быть образован одной полипептидной цепью как BTM или может быть построен из многих идентичных мономеров, которые в свою очередь состоят из многих полипептидных цепей.

Вирусы имеют два типа строения капсида: кубовидный и спиральный. При спиральной симметрии (у BTM) капсомеры располагаются как ступени винтовой лестницы. У кубовидного вируса они закручены в клубок, который окружен оболочкой. Некоторые вирусы (BTM) при большом накоплении в пораженной клетке образуют правильные кристаллические формы.

Химический состав вирусов.

H2O - 60%;

сухое вещество - 40%:

C - 55%;

O - 24%;

H - 8%;

N - 11%;

зола - 3%;

липиды - до 34%;

углеводы - до 3,5% (полисахариды);

белки - 65%.

В вирусах обнаружены рибофлавин и биотин. В некоторых вирусах обнаружены собственные ферменты. Например,в вирусе гриппа находится нейромининаза, которая отцепляет нейраминовую кислоту от эритроцитов.

Влияние физических и химических факторов.

Температура оказывает наиболее губительное действие на вирусы. Большинство их гибнет при температуре 50-60 C° через 30 минут. Бактериофаги и вирусы растений более устойчивы к повышению температуры.

Вирусы хорошо переносят обезвоживание и долго могут оставаться в высушенном состоянии. Это используют при их консервировании.

[Н+] - существенно влияет на их выживаемость. Так, вирус оспы теряет активность при pH 5-3.

Инактивация вирусов происходит при облучении их ультрафиолетовыми лучами. Рентгеновские лучи не влияют на вирусы.

Многие химические вещества разрушают вирусы: фенол, формалин, KMnO4, HCl, ацетон, хлороформ, эфир и другие.

В свободном состоянии вирусы не проявляют активности, но, встретившись с чувствительными к ним клетками, они активируются и вступают с ними во взаимодействие. В зависимости от свойств вируса и поражаемой клетки, а также условий внешней среды можно наблюдать три основных типа последствий взаимодействия вируса с клеткой хозяином:

Размножение вируса приводит к гибели клетку - продуктивная инфекция;

Клетка выживает, а зрелые вирусы не образуются - абортивная инфекция;

Геном вируса объединяется с геномом клетки и передаётся дочерней клетке. В последующих поколениях, в клетках может начаться размножение вируса, приводящее их к гибели - вирогения.

Самые простые взаимодействия вируса с клеткой происходят в несколько фаз, протекающих последовательно:

адсорбция вируса на поверхности клетки;

проникновение вируса в клетку;

скрытый период (эклипс);

репродукция вируса;

освобождение зрелого вирусного потомства из клетки.

Адсорбция: происходит благодаря взаимодействию клеточных и вирусных рецепторов. Капсид разрушается под действием клеточных протеаз и НК освобождается. У животных освобождение НК происходит в клетке, после проникновения вируса путём пиноцитоза.

Фитопатогенные вирусы проникают через повреждения в клеточной стенке, после чего адсорбируются на внутренних клеточных рецепторах и высвобождают НК.

Проникновение вируса в клетку

В клетки вирусы могут проникать разными путями. Так, у вируса гриппа этот проникновение связано с явлением пиноцитоза (вироренсиса). Возможно и прямое проникновение этого вируса. В случае пиноцитоза происходит образование вакуоли, которая погружает вирус в цитоплазму, где он расцепляется на НК и белок. Во втором случае, после адсорбции на поверхности клеточной стенки, под влиянием ее ферментов происходит расщепление вирусной частицы на НК и белок. Внутрь клетки поступает только НК.

Скрытый период - эклипс ( греч. исчезновение).

На этой стадии вирус как бы исчезает из клетки. Предпологают, что НК вируса проникает в ядро и встраивается в НК клетки. Механизм не изучен. Длительность фазы: грипп 5-9 часов; E. coli - 15 минут.

Репродукция вируса. Компоненты вируса синтезируются в различных частях клетки - поэтому сам процесс размножения получил название репродукции. Этот сложный процесс условно делят на 3 стадии:

подготовительная;

синтез компонентов вибриона;

формирование полноценного инфекционного вибриона;

освобождения вирусного потомства.

1. Подготовительная стадия.

НК вируса встраивается в НК клетки и нарушается нормальное функционирование ее генетического аппарата. На этой стадии вирус максимально использует компоненты клетки и энергетические ресурсы.

У разных вирусов этот процесс имеет свои особенности. У вирусов, содержащих РНК, в подготовительной стадии происходит синтез белков самой клеткой. РНК вируса, освободившись от белка, соединяется с рибосомами клетки и образует рибосомальные комплексы, которые выполняют роль и-РНК.

РНК вируса полиомелита выполняет роль особого фермента вирусной полимеразы и одновременно является матрицей для новых молекул РНК вируса.

У вирусов человека и животных, которые содержат ДНК, в меньшей степени выражен признак блокирования клеточного метаболизма и более длительно идет процесс накопления ферментов, участвующих в подготовке и репликации ДНК. Используя РНК - полимеразу клетки, на вирусной ДНК строится и - РНК которая и осуществляет синтез вирусных белков..

2. Синтез компонентов вириона.

Синтез НК и белков происходит в различных частях клетки, но эти процессы тесно связаны и протекают в определенной последовательности.

У вирусов, содержащих РНК или ДНК эти процессы имеют свои особенности. Синтез вирусных ДНК происходит по принципу комлементарности. Субстратом для синтеза служат те же 4 нуклеотида, которые имеются в клетке. Ферменты, необходимые для синтеза формируются на и-РНК, как на матрице. В синтезе могут участвовать ферменты самой клетки. Синтез вирусной ДНК может осуществляться в цитоплазме и ядре. Синтез вирусной РНК в РНК - содержащих вирусах происходит на самой вирусной РНК в качестве матрицы (при участии РНК- полимеразы). Субстратом синтеза являются нуклеотиды пораженной клетки. Синтез РНК осуществляется как в цитоплазме, так и ядре. Субстратом для синтеза вирусных белков являются аминокислоты белков пораженной клетки. Полагают, что синтез вирусных белков происходит в цитоплазме клетки.

Формирование зрелых частиц.

В процессе сборки вируса из НК и белка принимает участие сама клетка. У более сложных вирусов, которые имеют оболочки, происходит включение в вирусную частицу кроме белков липидных и углеводных компонентов самой клетки.

Пример: Компоненты вируса Герпеса в основном формируется и объединяются в ядре, но при выходе через ядерную оболочку клетки он как бы «одевается» ею. Вторичную оболочку он приобретает, проходя через клеточную мембрану.

Освобождения вирусного потомства.

Выход вирусного потомства из клетки проходит неодинаково у разных вирусов. Так, при входе наружу вирусы Герпеса, полиомелита полностью разрушают пораженную клетку.

Скорость размножения вирусов может быть велика: через несколько минут может образовываться 50-100 вирусных частиц.

В настоящее время вирусы культивируют и в лабораторных условиях, главным образом в курином эмбрионе или однослойной тканевой культуре. В 1955 г. американские учёные Х. Френкель - Конрат и Р. Уильямс произвели реконструкцию табачной вируса мозаики из белка и НК. В СССР реконструирован вирус желтухи дубового шелкопряда. Сейчас реконструируют смешанные вирусы. Белок от штамма А, а НК от штампа В. Изучение вирусов имеет большое практическое значение, так как 2/3 инфекционных заболеваний являются вирусными.

*Бактериофаги, морфология, строение, химический состав, размножение и значение*

Бактериофаги − это вирусы, поражающие бактерии.

В 1896 г. Н.Ф. Гамалей обработал дистиллированной водой культуру бактерий сибирской язвы и получил вещество, которое при добавлении к свежей культуре этих микроорганизмов растворяло их за 6−12 часов. В 1915 г. американский ученый Туорт описал инфекционную болезнь стафилококков. Он выдвинул гипотезу о фильтрующем вирусе, аналогичном вирусам животных и человека.

В 1917 г. Д. Эрелль (французский ученый), работавший в институте Пастера сделал в печати сообщение об открытии бактериофага. Работая с дезинтерийной палочкой, он обнаружил, что некоторые культуры оказывались стерильными. Этими опытами он доказывал наличие ультравируса бактерий, то есть фага.

Бактериофаги являются наиболее изученными вирусами. Они обнаружены почти у всех бактерий. Фаг состоит из головки 60-100 нм и отростка или хвоста 100-120 нм. Головка имеет кубический тип симметрии и состоит из белковой оболочки (состоящей из ) и заключенной в ней DNK. Отросток состоит из полого стержня, на который нанизан сократительный чехол. На конце стержня имеется базальная пластинка с шипами и нитями (от них зависит адсорбция на клетке хозяина).

Некоторые фаги имеют более простое строение. По своей форме зрелые фаги разделяются на несколько типов:

нитевидные;

гексогональные;

октаэдрические и т.д.

Химический состав:

40-50% DNK и 50-60% - белки. DNK большинства фагов двухцепочечная. Однако обнаружены и одноцепочечные DNK и двухцепочечная РНК. DNK фагов отличаются от DNK бактерий наличием 5- оксиметилцитозина.

Белки фагов мало изучены, существенных различий в аминокислотном составе не обнаружено. В концевой части отростка обнаружено наличие лизоцима и аденозинтрифосфатазы, вызывающей сокращение отростка. Бактериофаг может существовать в трех состояниях: профаг, вегетативный фаг и зрелый фаг.

Зрелые фаги существуют вне клетки хозяина, они инертны, не активны и напоминают споры бактерий. После адсорбции часть фаговой частицы проникает во внутрь бактерии и начинает усиленно размножаться. Такая, размножающаяся внутри клетки фаговая частица называется вегетативным фагом. Этот процесс всегда сопровождается гибелью клетки хозяина.

Некоторые фаги после проникновения внутрь бактериальной клетки вступают с ней в «симбиотические» взаимоотношения и могут находиться в клетке неограниченно долгое время. Такое состояние называется профагом, а бактерии в таком состоянии называются лизогенными. Лизогенные бактерии в природе представляют основной резервуар бактериофагов.

Различают фаги умеренные и вирулентные. В «симбиотические» отношения вступают умеренные фаги. Большинство фагов специфичны, однако есть и поливалентные, которые могут поражать и близкородственные бактерии.

Цикл взаимодействия фага с клеткой разделяться на 4 этапа:

адсорбция;

внедрение;

внутриклеточное размножение;

освобождение фага из клетки.

Фаг прикрепляется к клетке хвостовым концом. При этом положительно заряженные аминогруппы фагового белка соединяются с карбоксильными группами белка клеточной стенки. Под действием литического фермента хвостовой части растворяется клеточная стенка, сокращается хвостовой участок и DNK с некоторым количеством белка вливается во внутрь клетки. На поверхности клетки остаются пустые белковые оболочки - тени фагов.

Внутреклеточное размножение начинается с того, что под действием DNK фага изменяется клеточный обмен, начинается синтез фагового материала. Многократно удваиваются нити фаговой DNK . Длительность внутриклеточного размножения от 15 минут до 2 часов. Большое накопление фаговых частиц приводит к разрыву бактериальной клетки и освобождению зрелых фагов.

Значение фагов.

Фаги являются хорошим материалом для изучения наследственности и изменчивости, фаготерапии, фагопрофилактики инфекционных заболеваний, вопросов экспериментальной онкологии.

Приносят вред производствам, основанным на жидкости микроорганизмов (производство вакцин, молочных продуктов, антибиотиков, бактериальных удобрений). Фаги широко применялись во время Великой отечественной войны для лечения газовой гангрены (затем их заменили антибиотиками). На основе специфичности фагов определяют вид бактерий, чистоту водоёмов. Так, наличие в воде фага кишечной палочки сигнализирует о загрязнении источника. С помощью фага можно определить культуру бактерий от больного.

*Вирусные болезни растений, животных и человека и их возбудители*

Как уже отмечалось, 2/3 инфекционных заболеваний являются вирусными. Пути их распространения различны:

корь, ветрянка, грипп − распространяются путём непосредственного контакта или капельной инфекцией через воздух;

передача мелкими животными − комарами, москитами, клещами, блохами;

Передача через воду − ящур, чума свиней. Бешенство передаётся через слюну больного животного.

Примеры заболеваний.

Оспа - одно из древнейших заболеваний сельскохозяйственных животных и человека. С момента заражения до появления признаков проходит 4-12 дней. Предшественником заболевания является лихорадочное состояние. Болезнь характеризуется появлением оспенных пузырьков. Источники инфекции - больные животные и люди. Вирус оспы устойчив к высыханию, низким температурам, глицерину.

Обычно тяжелой формой оспы болеют овцы. По течению оспа овец стоит ближе к оспе человека. Через 4-12 дней наступает озноб, повышается температура до 42°, начинается гнойное течение у глаз, носа, дыхание затруднено. Далее на бесшерстных местах появляется оспенная сыпь, которая превращается в пузырьки, заполненные жидкостью, кожа вокруг пузырьков отёкшая. Затем содержимое пузырьков становиться гнойным. Пузырьки могут сливаться, или, в случае чёрной оспы, во время высыпания появляются кровоподтёки, кровоизлияние в дыхательные органы, в желудочно-кишечный тракт. Заболевание протекает тяжело, нередко осложняется гангреной участков кожи, иногда с омертвлением частей тела (век, ушей, губ). Вирус содержится в оспенных пузырьках кожи и слизистых оболочках. В зараженных овчарнях вирус сохраняется до 6 месяцев, в шерсти больных овец до 2 месяцев.

Хорошим дезинфицирующим средством является 3% раствор карболовой кислоты, 0,5 - 1% раствор формалина , 2,5% раствор H2SO44 или HCl.

Не меньшую опасность хранят в себе вируса чумы свиней, птиц; бешенства, ящура и т.д.

Если в патологических явлениях вызванных бактериями первичными являются воспалительные процессы, то при вирусных заболеваниях первичными изменениями следует считать перерождение клеток, их некробиоз и лизис, а воспаление - вторично.

Вирусные болезни растений также широко распространены. Попав в растение, вирусы могут или вызывать его гибель или распространяться по растению, оставаться в нем длительное время, в результате чего происходит снижение урожайности.

Из плодовых растений наибольший вред причиняется персикам, которые страдают от болезни - желтуха персиков. Вирусы являются причиной гибели огромного количества ценных сортов малины, земляники и особенно картофеля. 10% урожая картофеля гибнет от таких вирусных заболеваний как мозаика и скручивание листьев.

Не меньше потери причиняются табаководству от ВТМ, желтуха свеклы снижает выработку сахара.

Источником заражения служат сами больные растения. Борьба сводится к уничтожению больных растений и выведению устойчивых сортов.

Человек и животные обладают естественным иммунитетом к некоторым вирусам.

Для предупреждения вирусных болезней чаще всего применяют сыворотку вакцин с готовыми антителами. У человека переболевшего оспой остается прочный иммунитет (было установлено, что оспа коровы вызывает у человека легкую картину болезни).

В практике человек впервые познакомился со способами предохранения от инфекционных заболеваний на оспопрививании. Сейчас материалом для прививания оспы используют ослабленный вирус, культивируемый на коровах и телятах.

В нашей стране в 1919 г. был подписан декрет об обязательном вакцинации против оспы на территории СССР всех родившихся. В настоящие время случая оспы у нас не встречаются.

Определенный интерес представляет явление вирусной интерференции - угнетение жезнедеятельности вируса на поверхности или внутри клетки уже присутствующим здесь вирусом. Однако это явление можно наблюдать только на определенных видах вирусов. Так, если обезьянам ввести определенный вирус чумы, а затем вирус полимиелита, то они не заболевают, а если наоборот, то погибают.

Даже инактивированные вирусы сохранят способность интерферировать. На основе этого явления возникла перспектива получения активных противовирусных веществ. Так в 1957 г. Айзекс и Лендельман установили, что после заражения оболочки куриного эмбриона инактивированным (ультрафиолетовыми лучами) вирусом гриппа она выделяют в окружающею среду вещество, которое защищает ее от последующего заражения активной формой вируса гриппа. Это вещество было названо интерфероном. Это белок с молекулярным весом 13000 - 80000, содержащий 1%углеводов и незначительное количество НК. Сохраняет активность в течение месяца, инактивируется при нагревании в течение часа. Он адсорбируется клетками организма и культуры тканей и по мере адсорбции вырабатывается устойчивость клетки к заражению вирусом.

Механизм действия интерферона пока не ясен. Однако уже выяснено, что он не имеет токсического действия и не обладает антигенными свойствоми. Интерферон образуется при взаимодействии клеток с одним видом вируса, он подавляет действия других видов вирусов гриппа, полимиелита, оспы и т.д. Полагают, что в будущем интерферон будет надежным профилактическим средствам против вирусных болезней.

Вирус (яд) - относят к царству протист, в котором они стоят отдельной группой. Выделение этих организмов в особую группу обусловлено их уникальностью. Эта уникальность, прежде всего, состоит в том, что в свободном виде вирусы не проявляют признаков живых организмов. Более того, некоторые вирусы могут образовывать кристаллы. Процесс кристаллизации характерен лишь для неживой материи. По этим причинам вирус иногда называют частицей.

Вторая специфическая особенность вирусов в том, что это не клеточная форма организмов.

Третья - это единственные организмы, паразитирующие на генетическом уровне.

Вирусы являются ультрапаразитами на генетическом уровне. Они встраивают свою DNK или RNK в клетку хозяина и подавляют ее функционирование. С этого момента метаболический аппарат клетки начинает полностью работать на вирус. Биологический смысл такого паразитизма состоит в том, что вирус не имеет всех необходимых свойств характерных для живого и поэтому пользуется недостающими свойствами более совершенных организмов. В тоже время его простата строения позволяет переносить длительные неблагоприятные условия.

Гипотезы об эволюции вируса

Вирусы возникли из микроорганизмов в результате их поразитической дегенирации по схеме: бактерии → риккетсии → хламидозоо → вирусы

Вирусы развились из органоидов клеток - митохондрий, хлоропластов, эписом.

Вирусы - часть генома нормальных клеток.