

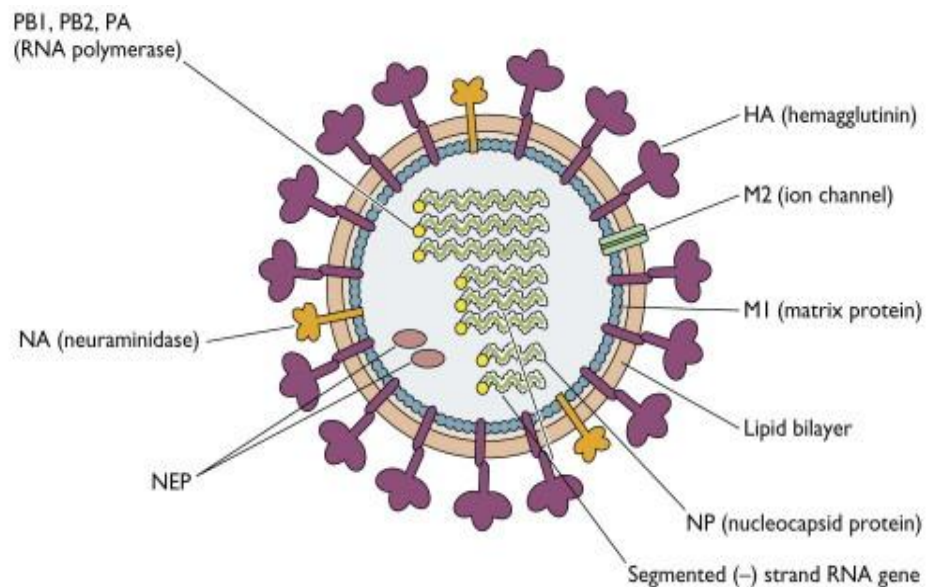
«به نام او»



نام استاد: دکتر حاکمی والا

شماره جلسه: اول

تمپه و تنظیم: نسیم نعمتی (بیاده ریکوردو تاپ)، شیوا فریدی (ویرایش)





در این جلسه اصطلاحات علم ویروس شناسی، خصوصیات کلی ویروس ها و عوامل شبه ویروس بررسی خواهد شد.

**ویروس:** ریشه آن از venom و به معنای سم یا زهر می باشد. (بیشتر به معنای زهر، toxin بیشتر برای سم استفاده می شود).

**تاریخچه:**

**1880:** متوجه شدند ویروس ها عواملی هستند با قابلیت عبور از فیلترهای میکروب شناسی. یعنی filterable هستند. برای میکروب ها اندازه ای بین 0/2 تا 200 میکرون بیان شد. یکی از راه هایی که برای کم کردن بار میکروبی استفاده می شود، این است که از یک سری فیلترهایی استفاده کنیم که قطر آن میکروب ها بزرگتر از فیلتر مورد نظر باشد. به این ترتیب این ذرات روی سطح فیلتری می مانند و ذرات کوچکتر عبور می کنند. در میکروب شناسی از دو فیلتر 0/4 و 0/22 استفاده می شود. اندازه باکتری ها معمولا به گونه ایست که روی فیلترهای 0/22 به دام می افتند. ولی ویروس ها اندازه ای کوچکتر از باکتری ها دارند و در نتیجه از فیلترهای میکروب شناسی در دسترس در آن زمان عبور می کردند. با پیشرفت میکروب شناسی مشخص شد مایکوپلازماها که باکتری هستند نیز قابل فیلتر هستند. در حال حاضر برای جدا کردن مایکوپلازما، از فیلترهای 0/22 استفاده می شود. در نتیجه این خصوصیت کلی برای ویروس ها نیست.

اولین ویروسی که با این خصوصیت شناخته شد، ویروس مربوط به عامل بیماری دهان و پا (Foot & Mouth Disease virus) بود. Loeffler و همکارش حدود سال 1898 این ویروس filterable که می توانست بیماری خاصی در حیوانات به نام Foot & Mouth Disease ایجاد کند را شناسایی کردند.

اولین ویروس با خاصیت filterable که می توانست در انسان ایجاد بیماری کند، ویروس تب زرد بود که حدود سال 1901 توسط Reed شناسایی شد.

پیشرفت تکنیک های ملکولی به حدود 1980 به بعد باز می گردد، زمانی که PCR پیشرفت کرد و امکان تحقیق در سطح جزئی تری فراهم شد. ارتباط ویروس ها تا قبل از 1980، با بیماری های عفونی viral در انسان ها یا حیوانات در نظر گرفته می شد؛ اما بعد از این تاریخ متوجه شدند عفونت با بعضی ویروس ها می تواند منجر به بروز سرطان شود. مثلا EBV (Epstein-Barr Virus) که باعث لنفوم Burkitt می شود. (این بیماری بیشتر در کشورهای آفریقایی رایج بوده و در ایران نداریم).

در سال های بعد، باکتریوفاژ (ویروس باکتریایی) شناسایی شد. ویروس هایی که می توانند به سلول های باکتریایی خاصی که برای آن ویروس گیرنده دارد، حمله کنند و باکتری را آلوده سازند. از این طریق حتی جابجایی ژن ها نیز می تواند اتفاق بیفتد؛ مثلا سویه های مقاوم باکتری ها می توانند به وجود آیند. مثال دیگر عامل بیماری دیفتری است. سویه هایی از این باکتری می توانند ایجاد بیماری کنند که به وسیله باکتریوفاژ، ژن توانایی تولید toxin را داشته باشند.

چند سال بعد، توانستند شکل ویروس ها را زیر میکروسکوپ الکترونی ببینند. یکی از تفاوت های عمده باکتری ها و ویروس ها، بزرگتر بودن اندازه باکتری هاست. در نتیجه وقتی از میکروسکوپ نوری استفاده می کنیم (حداکثر بزرگنمایی 1000×) ویروس ها قابل رویت نیستند و باید از میکروسکوپ الکترونی استفاده کنیم.



حدود 2 سال بعد ، X – Ray Crystallography به وجود آمد که به کمک استفاده از اشعه X که توانایی عبور از اجسام را دارد( البته با طول موج و فاصله مشخص) توانستند شکل سه بعدی ویروس ها را نیز تشخیص دهند.

ویروس ها مانند باکتری ها با استفاده از محیط های ساده آزمایشگاهی قابلیت کشت ندارند. کشت ویروس ها با سیستم های کشت سلولی یا بافتی ( Cell or Tissue Culture ) ممکن می شود. ویروس ها برای تکثیر اجزای خود و ازدیاد نسل، وابسته به ماشین های تکثیر سلولی هستند و به سلول میزبان وابسته اند.

اولین ویروسی که به صورت بافتی کشت داده شد، Polio virus (فلج اطفال) بود.

با پیشرفت تکنیک های ملکولی ژن هایی که می توانستند توانایی هایی مانند **invasive** بودن را به ویروس بدهند شناسایی شدند.

ویروس ها از نظر ژنوم تفاوتی عمده با سلول های باکتریایی و یوکاریوتی دارند. در سلول های باکتریایی و یوکاریوتی به طور همزمان ممکن است DNA و RNA را داشته باشیم، ولی ژنوم ویروس ها یا از جنس RNA است، و یا از جنس DNA . پس ویروسی که هم DNA و هم RNA داشته باشد، وجود ندارد.

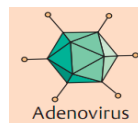
پوششی پروتئینی در اطراف ژنوم ویروس ها، به نام کپسید وجود دارد. در اطراف برخی از ویروس ها یک لایه اضافی خارجی از جنس لیپید، به نام **envelope** وجود دارد ( همانند کپسول در باکتری ها ).

کپسید از واحد های کپسومری تشکیل شده است که با آرایش های مختلف در کنار هم قرار گرفته اند. این قرار گرفتن یا به صورت **icosahedral** است، یا **helical** ، یا **complex** . در ویروس شناسی بیشتر از کلمه تقارن ( **symmetry** ) استفاده می شود. ( در باکتری ها از کلمه آرایش ( **arrangement** ) استفاده می کنیم. )

پس می گوئیم : تقارن کپسومر های کپسید یا به صورت **icosahedral** است ، یا **helical** ، یا **complex** ( پیچیده ، حد واسط بین دو تقارن **icosahedral** و **helical** )

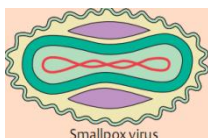
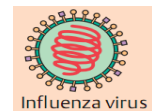
✓ در تقارن **icosahedral** ، 20 سطح و 12 محور عمود وجود دارد و محور های **flexible** به صورت 5 ، 3 و 2 ممکن است قرار

گرفته باشند. مثلا : ویروس با تقارن متشکل از آرایش پنتون ( **penton** ) یا هگزون ( **Hexon** )



✓ Adenovirus ها تقارن **icosahedral** دارند.

✓ تقارن مارپیچی : واحد های کپسومری به صورت مارپیچ در اطراف اسید نوکلئیک قرار می گیرند. مثال : ویروس آنفلوانزا



✓ **Complex** : منظره ای شبیه به آجر به ویروس می دهد ، مثل ویروس آبله ( **pox virus** )



✓ گاهی به جای کلمه virus ، کلمات viroid و nucleocapsid نیز استفاده می شود. ( گاهی این سه کلمه معادل هم هستند )  
**Nucleocapsid** شامل مجموع نوکلئیک اسید و پروتئین است. viroid شکل فعال ویروس و یک واحد عفونی کامل است .

✓ **satellite / defective viruses** : **اصلاحیه کاربران:** اصطلاح ویروئید اشتباه بکار رفته است؛ ویرون صحیح می باشد.

بعضی ویروس ها وجود دارند که تا ویروس دیگری با توانایی های کامل تر در کنار آنها نباشد، نمی توانند بارز شده و تکثیر گردند؛ و اگر بیماری زا هستند نمی توانند ایجاد بیماری کنند.

چنین حالتی در زمان ابتلا به هپاتیت ممکن است دیده شود. بین ویروس Hepatitis B و ویروس Hepatitis D /delta . هپاتیت B شرایط را برای رشد و بیماری زایی هپاتیت D فراهم می کند. اگر در سرم کسی آنتی بادی هپاتیت D شناسایی شود، حتما باید از نظر آلودگی به هپاتیت B نیز چک شود. هپاتیت D فقط در حضور هپاتیت B می تواند بیماری زا باشد، ولی هپاتیت B به تنهایی نیز بیماری زا است.

**Viroid** : شبه ویروس ها هستند. اندازه کوچکی شبیه ویروس ها دارند، اما ملکول هایی هستند که می توانند تکثیر با کنترل ژن های خود را داشته باشند. ژنوم آنها معمولا RNA حلقوی و تک رشته است که طولی به اندازه 375 – 240 باز دارد. مهم ترین نقش آنها بیماری زایی در گیاهان است.

**Prion** : عوامل بیماری زای بسیار کوچک و پروتئینی هستند که جز ویروس ها محسوب نمی شوند چون هیچ گونه اسید نوکلئیکی ندارند. یکی از بیماری های مربوط به آنها ، انسفالیت اسفنجی فامیلیال یا ارثی (Transmissible and Familial Spongiform Encephalopathy) است. و بیماری دیگری به نام : Creutzfeldt – Jakob Disease ( بیماری کم خوابی یا بی خوابی ارثی؟ ) و انسفالوپاتی گاوی اسفنجی شکل (BSE=mad cow d.) .

مثال شکل نوشتن بیماری های مربوط به prion ها : PrP<sup>Sc</sup> ( بر اساس بیماری که ایجاد می کنند، توانی به P می دهند که علامت اختصاری مرتبط با آن بیماری است).

ممکن است منشا این پروتئین ها ، از پروتئین های میزبان باشد که در شرایط خاصی دچار تغییراتی شده اند؛ مثل تغییرات پس از ترجمه یا posttranslational .

**از خصوصیات دیگر ویروس ها :** عوامل بیماری زای درون سلولی اجباری هستند. یعنی در خارج از سلول نمی توانند بیماری زا باشند. نیاز شدید ویروس ها به سلول میزبان به دلیل فقدان ریبوزوم است. ولی در یک خانواده ویروسی به نام Arenaviruses بقایایی غیرفعال از ریبوزوم وجود دارد .

**طبقه بندی هایی برای ویروس ها :**

طبقه بندی های قدیمی برای ویروس ها بر اساس : host (میزبان) ، بافت هدف آنها، vector آنها ( مثلا : arthropod viruses ) و

...



اما در روش های جدید طبقه بندی، ویژگی های دیگری را در نظر می گیرند؛ مانند :

- ویژگی های ژنوم : DNA یا RNA / به صورت Single Stranded (ss) یا Double Stranded (ds) یا Linear یا Circular
- سایز ژنوم : اگر ds باشند ← بر حسب جفت باز یا kbp و اگر ss باشند ← بر حسب kb
- Polarity : بعضی ویروس ها polarity مثبت یا منفی دارند.
- Segmented یا Non – Segmented بودن ژنوم ویروس
- GC %

DNA viruses:

Parvoviridae ,Papillomaviridae,Polyomaviridae,Adenoviridae,Hepadnaviridae,Herpesviridae,Poxviridae

RNA viruses :

Picornaviridae,Astroviridae,Caliciviridae,Reoviridae,Togaviridae,Flaviviridae,Coronaviridae, Orthomyxoviridae,Paramyxoviridae,Rhabdoviridae,Filoviridae,Bunyaviridae,Arenaviridae,Retroviidae

- ✓ RNA Virus : Polarity : RNA Virus هایی که به صورت تک رشته و Segmented هستند، اصطلاحاً می گوئیم polarity مثبت دارند. یعنی به آنها این اجازه را می دهد که وقتی در شرایط مساعد تکثیر قرار گرفت ، بلافاصله مانند mRNA عمل کرده ، ترجمه شوند و ایجاد بیماری کنند.
- ✓ در ویروس های با polarity منفی ، ترجمه از روی رشته مکمل آن ها صورت می گیرد(پس از رونویسی )به همین دلیل نمی توانند به سرعت ایجاد بیماری کنند. این مسئله روی دوره کمون بیماری نیز اثر دارد.
- ✓ ویروس های با polarity مثبت ، زودتر به فرم عفونی تبدیل می شوند.
- خصوصیت دیگری که در طبقه بندی جدید استفاده می شود ،مورفولوژی ویروس است،از جمله تقارن کپسیدی ، داشتن یا نداشتن envelope لیپیدی و اندازه ویروس.

عامل دیگر در طبقه بندی ویروس ها خصوصیات Physicochemical است. مثلاً :

- وزن ویروس ( MW=molecular weight )
- pH
- دمایی که می توانند تحمل کنند ( بیشتر ویروس هایی که در انسانها و حیوانات خونگرم بیماری ایجاد می کنند، دمای مطلوب  $37\pm 2$  دارند)
- وزن مخصوص ( Specific Gravity ) که براساس میزان و محل رسوب تعیین می شود .
- مقاومت یا حساسیت به عوامل فیزیکی و شیمیایی : ( مثلاً ویروس های envelope دار را می توان با الکل از بین برد. چون envelope از جنس لیپید بوده و در الکل حل می شود).

بعضی نکات :



- ✓ MW ، واحدی برای اندازه گیری پروتئین های ویروس است.
- ✓ از خصوصیات ویروس ها ، تعداد و سایز پروتئین هایشان و هم چنین پروتئین های structural ( مثل کپسومر ) و non-structural ( مثل آنزیم ها : DNA/RNA Polymerase ) آنهاست.
- ✓ ویروس هایی که تقارن icosahedral دارند، مقاومت بیشتری در دمای 37 درجه می توانند داشته باشند. مثلا چند ساعت این دما را تحمل کنند.
- ✓ ویروس های دارای envelope نسبت به بقیه ویروس ها حساسیت بیشتری به دما دارند ( می توانیم بگوییم چربی در اثر گرما آب می شود).
- ✓ تغییرات پس از ترجمه را در بیشتر سلول های یوکاریوتی داریم. در باکتری ها این امر دیده نمی شود. ولی ممکن است در ویروس ها به صورت محدودتری وجود داشته باشد.
- استراتژی تکثیر : اینکه ویروس ها بعد از پیدا کردن میزبان و شرایط مناسب ، از چه روشی برای تکثیر استفاده می کنند می تواند در ویروس های مختلف متفاوت باشد و ملاک طبقه بندی آنها قرار گیرد.
- وابستگی های بیولوژیک یا زیستی : راه انتقال ویروس ها می تواند در طبقه بندی آنها نقش داشته باشد. مثلا ویروس هاری از سگ و سگ سانان منتقل می شود، ویروس polio توسط آب آشامیدنی آلوده منتقل می گردد.
- Vector – Born Viral Disease** : بیماری های ویروسی منتقله از طریق وکتور هایی که منظور بند پایان است، می باشند.
- Tropism** یا تمایل بافتی : polio نهایتا در دستگاه عصبی ایجاد بیماری می کند، اما ویروس از طریق دستگاه گوارشی وارد شده بود. چرا این ویروس می تواند در دستگاه عصبی ایجاد بیماری کند؟ چون سلول عصبی برای این ویروس گیرنده دارد. اصطلاحا گفته می شود که این بافت ، بافت هدف ویروس است، چون برای آن گیرنده دارد.
- Pathogenesis** یا بیماری زاایی : هر گروه از ویروس ها باید مجهز به چه فاکتور هایی باشند تا بتوانند ایجاد بیماری کنند؟
- نمک ها : اضافه کردن بعضی ترکیبات نمکی به ویروس ها ، می تواند گاهی پایداری آنها را افزایش دهد. معمولا غلظت نمک برای افزایش پایداری ویروس 1 mol per lit است. کاربرد : محلول یا سوسپانسیونی از ویروس ها داشته باشیم که بخواهیم آنها را پایدار تر کنیم؛ مثل : واکسن ها.  $MgCl_2$  برای خانواده Picornaviridae و Reovirus ،  $MgSO_4$  خانواده Orthomyxoviridae و Paramyxoviridae ،  $Na_2SO_4$  برای Herpes virus ،
- ✓ بهترین pH مورد پسند ویروس ها 5 – 7 است. ولی یک گروه از ویروس ها مثل enteroviruses ( ویروس های بیماری زا در لوله گوارشی ) ، تحمل بیشتری نسبت به pH اسیدی دارند ( چون از معده می گذرند ) .
- تاثیر نور UV : با تاباندن نور UV بر موجودات میکروسکوپی مثل باکتری ها و ویروس ها، یک اتفاق مشترک می افتد. دایمر T-(thymine-thymine) ایجاد و باعث غیر فعال گردیدن ژنوم ویروس و باکتری می شود. ( به جز UV ، از اشعه گاما هم برای ضد عفونی کردن استفاده می شود )



**Photodynamic Inactivity** : بعضی ویروس ها نسبت به رنگ های حیاتی مانند Perflavin و Neutral red ، Toluidine blue حساسیت دارند. اگر این رنگ ها به اسید نوکلئیک اتصال یابند، باعث افزایش حساسیت اسید نوکلئیک به نور می گردند ( حتی نور معمولی ).

**حساسیت به اتر** : ویروس های envelope دار ، در مقایسه با ویروس های فاقد envelope به اتر حساس تر هستند. ( اتر یک حلال بسیار خوب چربی است )

**Detergents** ( شوینده ها ) : انواع مختلف ionic ، non – ionic ، و حتی cationic دارند. مثل : یک ترکیب ionic مانند SDS ، یا یک ترکیب non – ionic مانند triton x 100 ( کاربرد : به عنوان مثال بخواهند یک کرم را از نظر میکروبی آزمایش کنند ) . این ترکیبات قابلیت حل کردن envelope ویروس را دارند. پس ویروس های envelope دار به این ترکیبات حساسیت بیشتری دارند.

**فرمالدهید** : ویروس های ss ، نسبت به ویروس های ds ، به فرمالدهید حساسیت بیشتری دارند و باعث غیر فعال شدن ژنوم ویروس می شود.

**استریلیزاسیون ویروسی** : توسط روش های autoclave ، ETO ، و gamma radiation صورت می گیرد ، که بهترین روش Autoclave است. در کارخانه های سرنگ سازی برای استریل کردن سرنگ ها از ETO ( اتیلن اکساید ) استفاده می شود .

✓ آنتی بیوتیک ها روی باکتری ها اثر دارند و روی ویروس ها بی تاثیرند. برای ویروس ها از Anti Viral ها استفاده می کنند.

**ضد عفونی کردن بر ضد ویروس ها** : در این روش از وایتکس یا هیپوکلریت سدیم ( در آزمایشگاه های تشخیص طبی هنگام دور انداختن وسیله ها ) ، گلوترآلدهید ، فرمالدهید استفاده می شود . اتانول 70 % ، کلر هگزیدین ، ترکیبات یدوفور نیز از آنتی سپتیک های موثر هستند .

**Tegument** ( تکمه ) : در حد فاصل بین envelope لیپیدی و کپسید قرار گرفته است و مثال بارز آن در Herpes Virus ( عامل تبخال ) است که به اتصال ویروس کمک می کند.

**Life Cycle ویروس** : اول ویروس باید بافت هدف خود را پیدا کند ( تروپیسزم به کدام بافت دارد ) . سپس :

1) اتصال سلولی ( attachment )

2) ورود به سلول ( penetrating = engulfment , viropexis )

3) Uncoating ( پوشش خود را از دست بدهد تا اسید نوکلئیک آن تکثیر شود )

4) Multiplication: تکثیر ویروس در سلول میزبان

5) Assembly ( ایجاد ویروس کامل ) ( 6) Release شدن ویروس های جدید