جامعة ديالى

كلية التربية الاساسية

قسم العلوم

محاضرة الفيروسات

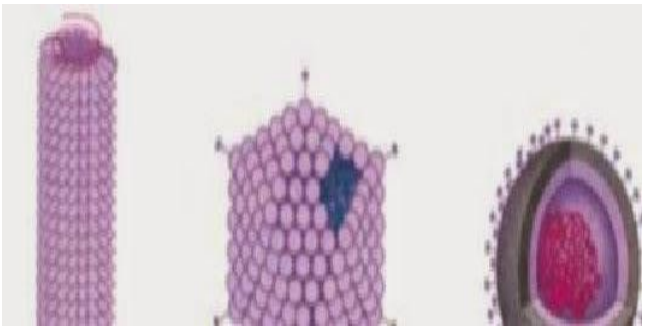
اعداد المدرس

اوس زامل عبد الكريم

2018م 1439ه

صفات الفيروسات

1- تعتبر الفيروسات جسيمات عضوية دقيقة يقل قطرها عن 200 نانومتر ,لذلك لايمكن رؤيتها بالمجهر الضوئي , بل يمكن رؤيتها بواسطة المجهر الإلكتروني , وتتباين الفيروسات في الشكل تباينا كبيرا فبعضها بيضاوي والبعض الأخر كروي الشكل أو شبة كروي , وهناك مايتخذ شكل القضيب الصلب أو شكل الخيوط المرنة , لاحظ الشكل التالي.:



2- الفيروسات غير خلوية أي انها لم تصل إلى مستوى الخلية حيث إنها لا تحتوي على نواة وسيتوبلازم .

3- الفيروسات متطفلة خلوية إجبارية أي أنها لا تستطيع العيش بدون عائل ولاتبقى حية خارج خلايا العائل بل تعيش داخل الخلية الحية وتتكاثرفيها

4- الفيروسات متطفلات متخصصة حيث تمتاز الفيروسات بخصوصية نوع العائل الذي تصيبة أي أن كل فيروس له عائل خاص بة , فمثلا الفيروس الذي يصيب النبات لايمكن أن يصب الحيوان والعكس صحيح .

5- ومن أوضح الأمثلة على ذلك الفيروسات البكتيرية أو البكتيريوفاج ويختصر الاسم إلى فاج ليدل على فيروس لاقم أو يبتلع البكتيريا , وقد أكتشفت هذه الفيروسات عام 1915م وهي صغيرة لاترى بالمجهر الضوئي وتستطيع المرور عبر الثقوب القيقة للمرشحات التي تحتجز البكتيريا .

تركيب الفيروسات:

يتركب الفيروس بشكل عام من حمض نووي محاط بغلاف بروتيني يعرف بالكابسيد بالإضافة إلى قليل من مواد دهنية وكربوهيدراتية , ويمكن تقسيم الفيروسات حسب نوعية الحمض النووي الموجود بها إلى :

أ- الفيروسات ذات الحمض النووي الرايبوزي منقوص الأكسجينDNA

مثل فيروسات البكتيريا ومعظم فيروسات الحيوان .

ب- الفيروسات ذات الحمض النووي الرايبوزيRNA

مثل فيروسات النبات وبعض فيروسات الحيوان ولايمكن أن يوجد النوعان من الأحماض النووية معا في الفيروس نفسة , وفي بعض أنواع الفيروسات يحاط الغلاف البروتيني بغلاف خارجي وهذا الغلاف عبارة عن جزء من الغلاف البلازمي .

طريقة تكاثر الفيروسات

تلتصق الفيروسات على الغلاف الخارجي لخلية العائل (الحيوان الذي تعيش علية) , وبعد التصاقها فإنها تقوم بحقن الحمض النووي إلى داخل الخلية الحية , وما إن يدخل الحمض النووي حتى تعمل الجينات الموجودة في الفيروس بالتعاون مع الجينات الموجودة في العائل على تكاثر الفيروس وتأمين بقائة , أي أن الفيروس بمجرد دخولة إلى الخلية الحية فإنة يتمكن منها ويدبر جميع العمليات الحيوية التي تحدث في الخلية لنموة وتكاثرة , ويعتبر فيروس البكتيروفاج أفضل مثال لدراسة طريقة التكاثر في الفيروسات والتي يمكن توضيحها بالخطوات التالية :

-يلتصق الفيروس بالخلية البكتيرية .
-تقوم أنزيمات ذيل الفيروس بتحليل جدران الخلية البكتيرية محدثة بها ثقبا , ويتم بعد ذلك حقن DNA الفيروس إلى داخل الخلية البكتيرية .
-يضاعف حمض DNA للفيروس نفسة داخل الخلية وذلك باستخدام المادة النووية للخلية البكتيرية , كما

يفرز الفيروس أنزيمات تحول بروتينات الخلية البكتيرية إلى أغلفة تحيط بحمض . DNA
-تصبح الخية البكتيرية مصنعا خاصا للفيروس .
-تنفجرالخلية البكتيرية وتنطلق فيروسات جديدة لتهاجم بكتيريا أخرى .

الأمراض الفيروسية

تعرف الفيروسات بقدرتها على التسبب في إصابة النبات والحيوان والإنسان بالأمراض , ويمكن للفيروسات أن تتطفل إجباريا على العديد من الكائنات الحية , وتسبب خللا فيها مسببة الكثير من الأمراض .

الأمراض الفيروسية في النبات:

بعض الفيروسات تتطفل على النبات مسببة مرض التبقع في التبغ ومرض التفاف أوراق البطاطس وقصب السكر .

الأمراض الفيروسية في الحيوان:

يتطفل البعض الأخر من الفيروسات على الحيوان ويسبب مرض داء الكلب والتهاب فم وأرجل الماشية .

الأمراض الفيروسية في الإنسان:

بعض الفيروسات تصيب الإنسان وتسبب له الإنفلونزا والإيدز وشلل الأطفال والجدري .

طرق زراعة الفيروسات

تعتبر الفيروسات) الحمات) طفيليات اجبارية لأنها لا تكاثر إلا داخل خلايا حية.(هذا بالرغم من نجاح بعض التجارب باستخدام أوساط غذائية وعوامل مستمدة من الخلية الحية في تكثير الحامض النووي لبعض العاثيات أو ترجمة الحامض النووي للفيروس إلى البروتين في أنبوبة اختبار). ولهذا السبب يجب

للأغراض التجريبية تكثير الفيروس المطلوب في كائنات حية تجريبية أو في خلايا حية تنمو على وسط عذائي غير حي. ونذكر فيما يلي بعض الطرق المستخدمة لزرع وتكثير الفيروس في المختبر:

أولا: الخلايا الحيوانية المزروعةAnimal Cellular Culture

1- زراعة الأعضاء]Organ culture

يؤخذ عضو بكامله من الجنين في مراحل نموه الأولى وبدقة كبيرة مثل العين أو السن أو أحد الغدد ويوضع في محلول ملائم ويترك للنمو والتكامل وحدوث التخصص كما يحصل في الحيوان بصورة طبيعية. وبهذه الطريقة يمكن مراقبة تطور العضو من قبل الباحث لعدة أيام وربما لعدة أسابيع ويمكن أن تستخدم هذه المزرعة لتكثير بعض الفيروسات ودراسة تأثيرها على العضو المدروس والتي يصعب دراستها في مزارع أخرى.

2- زراعة الأنسجة]Tissue culture

تؤخذ قطع صغيرة من أنسجة معينة من أحد أعضاء الحيوان الكامل أو الجنين وتوضع في وسط ملائم للنمو فتكون مستعمرات نسيجية نامية وقد تستمر الخلايا فيها أداء وظيفتها الطبيعية الأساسية والاحتفاظ بشكلها لعدة أيام أو أسابيع. ويمكن مشاهدتها ومراقبتها من قبل الباحث. وقد بدأت زراعة الأنسجة الحيوانية بهذه الطريقة وأصبح مفهوم الزراعة النسيجية Tissue culture في بعض المصادر يعني كل أنواع وطرق زراعة الخلايا دون تمييز. ولذلك يجب الإشارة إلى الطريقة المستخدمة لإنماء الخلايا الحية.

3- مزرعة خلوية]Cell culture

تفتت قطع الأنسجة الصغيرة المعزولة من الحيوان إلى خلايا منفردة أو تجمعات صغيرة لخلايا منفردة بواسطة التقطيع الميكانيكي ثم بواسطة الأنزيمات المحللة للبروتين مثل أنزيم (خميرة) التربسين تربسن بعد ذلك تغسل وتجمع وتحسب عدد الخلايا في المحلول ثم تخفف في محلول وتترك لتسكن فوق سطح مستوي مثل قاعدة صحن بتري أو أواني بلاستيكية خاصة. تلتصق هذه الخلايا بالسطح وتحت ظروف ملائمة تنقسم بحوالي مرة واحدة يوميا إلى أن تكون طبقة واحدة من الخلايا تغطي السطح وتسمى مزرعة خلوية أحادية الطبقة Monolayer cell cultureيمكن تلقيح هذه الطبقة من الخلايا بالفيروسات التي تصيبها ومشاهدة التأثيرات المرضية فيها وكذلك تقدير تركيز الفيروس في المحلول. إضافة إلى هذه الطريقة يمكن جعل الخلايا المنفردة تنمو وتتكاثر داخل المحلول بدون تكوين طبقة وتسمى في هذه الحالة مزرعة خلايا معلقة Suspended cell culture وتستخدم لتكثير الفيروس أو لدراسات كيمياء حيوية لمراحل تكاثر الفيروس في الخلية. ومن حيث نوع الخلايا النامية في طبقة واحدة يمكن تمييز نوعين أولهما ظهاري Epithelial والثاني أرومة ليفية خلية ليفية يافعة أما من حيث مرحلة العزل

والزرع وتجانس الخلايا في المزرعة وتخصصها وقابليتها على الانقسام يمكن تمييز الأنواع التالية من المزارع الخلوية.

أ - مزرعة مبتدئة للخلايا[Primary cell culture

وهي المزرعة الخلوية الناتجة من نمو خلايا مستمدة مباشرة من الحيوان الحي. وبعد نموها تستخدم خلايا هذه المزرعة لتكوين مزارع خلوية ثانوية أو مزارع خلوية مستمرة النمو. وتتألف هذه المزرعة من عدة أنواع من الخلايا ولكنها تحتفظ بشكلها الطبيعي وفعاليتها الفسلجية الطبيعية وعدد الكروموسومات للخلية وتستطيع معظمها أن تولد عددا محدودا من الخلايا الجديدة قد يصل إلى عشرة أجيال . تستطيع هذه الخلايا أن تعيق نمو وتكاثر عدد كبير من الفيروسات وكذلك تستخدم لتحضير اللقاحات ضد الفيروسات. تستمد خلايا هذه المزرعة من كلية القرود ومن كلية أجنة الإنسان ومن أجنة الدجاج والفئران وغيرها من الأعضاء والحيوانات.

ب- المزرعة (الثانوية) للخلايا الاعتيادية[Diploid cell strain

تتألف هذه المزرعة من نوع واحد تقريبا من الخلايا وتحتفظ ٧٥٪ منها على الأقل بنفس العدد الزوجي من الكروموسومات الموجودة أصلا في خلايا الحيوان المستخدم. وتستطيع هذه الخلايا أن تنقسم بحوالي مئة مرة قبل أن تموت. تستخدم هذه المزرعة أيضا لتشخيص الفيروسات وتحضير اللقاحات المختلفة.

ج- مزرعة الخلايا مستمرة النمو[Continuous cell line

تتألف هذه المزرعة من نوع واحد من الخلايا التي تستطيع أن تتكاثر وتجدد زرعها باستمرار دون أن تموت. تنشأ مثل هذه الخلايا من الأنسجة السرطانية أو بنتيجة تحول Transformationتحدث في الخلايا المزروعة تفقدها شكلها الطبيعي والقابليات كيمياء حيوية المتخصصة فيها وبذلك تفقد تخصصها الأصلي وتكتسب تخصصا جديدا أو تعيد تخصصها Dedifferentiationفي مزايا أخرى مثل قابلية الاستمرار في الانقسام والنمو في وسط غذائي ملائم. الخلايا المستمرة التكاثر المعروفة مثل هيلا Hela cell lineمشتقة أصلا من أنسجة سرطانية في الإنسان وهنالك خلايا شائعة أخرى من هذا النوع ومستمدة من الحيوانات. يمكن الحصول على مثل هذه الخلايا (ثم تجديدها في المختبر) من مصادر متنوعة وموثوقة مثل American type culture collection التي تحفظ هذه الخلايا في مجمدات خاصة وتفحصها للتأكد من خلوها من الفيروسات والمايكوبلازما. ومن المزايا المهمة لهذا النوع من الخلايا هو إمكان تكثيرها بصورة مستمرة وذلك بإعادة زرعها في فترات منتظمة. تحتفظ هذه الخلايا بحيويتها عدة سنوات بعدما تعلق في الجليسرول glycerol أو في دايمثيل سولفوكساید Dimethylsulfoxideوتحفظ في درجات حرارة ١٩٦-٧٠ تحت الصفر المئوي. ونظرا لحدوث بعض التغييرات أثناء استمرار تجديدها يصبح من الضروري لغرض الدراسات الطويلة الأمد أن تخزن عينات من الخلايا الأصلية وتستخدم كلما دعت الحاجة إلى مزارع جديدة وإتلاف المزرعة القديمة وعدم تجديدها.
ومن المهم أن يلائم نوع الخلية نمو الفيروس والغرض من التجربة. تتكاثر بعض الفيروسات في أي نوع

كان من الخلايا بينما تحتاج بعض الفيروسات إلى أنواع معينة من الخلايا. وتخدم المزارع الخلوية ثلاثة أهداف رئيسية:

1. دراسة التأثيرات المرضية الخلوية الظاهرية التي يسببها الفيروس تأثير الاعتلال الخلوي وكذلك تقدير تركيز الفيروس. وعادة تستخدم الخلايا النامية بشكل طبقة واحدة من النمو طبقة أحادية.

2- إنتاج اللقاحات وهنا توضح الأهمية على كمية الفيروس التي تنتج في المزرعة الخلوية.
3- دراسات كيمياء حيوية بحته ولهذه الغاية يستخدم معظم الباحثون الخلايا المستمرة النمو بشكل خلايا معلقة في محلول Suspended cell culture وقد تستخدم نفس هذه الخلايا في مزرعة أحادية الطبقة لغرض تقدير تركيز فعالية الفيروس في مراحل معينة من الدراسة.

التأثيرات المرضية في المزرعة الخلوية]Cyto pathogenic effects

يؤدي تكاثر الفيروس في الخلية أما إلى موتها أو إلى تغييرات فسلجية أو شكلية ظاهرة بالعين المجردة أو بوسائل فحص أخرى. وتنتشر الجسيمات الفيروسية المتكونة من خلية مصابة إلى خلية مجاورة لها وبهذا يتوضح تأثيرها في المزرعة الخلوية أحادية الطبقة Monolayer cell culture وتسمى هذه بالتأثيرات المرضية الخلوية تأثير الاعتلال الخلوي ويوصف الفيروس بكونه مسببا مرضيا خلويا Cytopathogenicويمكن ملاحظة معظم التأثيرات المرضية الخلوية في المزارع أحادية الطبقة بواسطة المجهر الضوئي بعد صبغ هذه الخلايا أو بدون صبغها وتثبيتها.

ثانيا : الفيروسات النباتية -Plant viruses ا

1- النباتات الكاملة أو أجزاء منها]Apart on whole

أن تكثير وأنماء النباتات للأغراض التجريبية أسهل بكثير من إنماء الحيوانات. وعادة تستخدم الغرف الزجاجية المكيفة الهواء والأضاءة لتربية النباتات الكاملة واستخدامها لدراسة الفيروسات وهناك غرف إنماء خاصة . Phytotrons and growing chambers يمكن التحكم فيها بدقة على درجات الحرارة والإضاءة ولفترات تحدد أوتوماتيكيا. يتم تلقيح النباتات بالفيروس بإحدى الطرق الكفيلة بأحداث الإصابة وأبسطها مسح عصارة نبات مصاب على أوراق نبات سليم ثم يترك النبات لتطور المرض وظهور الأعراض المرضية فيها أو حسب رغبة الباحث.

2- المزارع الخلوية النباتية]Phyto-cellular culture

تتوفر في الوقت الحاضر مزارع خلوية نباتية أحادية الطبقة كما تمكن الباحثون من الحصول على خلايا نباتية منفردة بدون جدار نامية في محلول محضر لهذا الغرض حيث يمكن استخدامها لدراسة الفيروسات وطرقة الحصول على مثل هذه المزارع تتلخص فيما يلي: تؤخذ ورقة النبات ثم تغسل ويعقم سطحها الخارجي وتزال البشرة ميكانيكيا ثم تحلل في محلول مشبع بالأنزيم) الخميرة Macerozyme (لتفتيت النسيج إلى خلايا منفردة ثم تعامل هذه الخلايا بالإنزيمسيليوليز Cellulase المكسر للسيلولوز لجدار الخلية وبذلك يزال الجدار الخلوي ويبقى البروتوبلاست بشكل كرات منفردة في المحلول ومن الضروري الحفاظ على تركيز المحلول الخارجي على أن يساوي التركيز الإسموزي للخليةذلك لأن نقصان تركيز المحلول قد يؤدي إلى انفجار الخلية وزيادة التركيز يؤدي إلى انكماشها. تبقح هذه الخلايا بالفيروس وذلك بمزج محلول الفيروس الكامل أو محلول الحامض النووي المعزول منه مع المحلول الحاوي على البروتوبلاست . ويمكن متابعة نمو الفيروس في الخلية باللجوء إلى إحدى الطرق المستخدمة لتقدير تركيز الفيروس في المحلول بعد كسر البروتوبلاست أو بواسطة استخدام الأجسام المضادة الملونة بالفلوروسين.

3- المزارع الخلوية من الحشرات الناقلة للفيروس Cellular cultures from Insect vectors[

لقد أظهرت دراسات متعددة أن عددا من الفيروسات التي تسبب أمراضا في النبات تصيب وتتكاثر في الحشرات الناقلة لهذه الفيروسات.

ثالثا: العاثياتBacteriophages

تنمو البكتيريا)الجراثيم) اعتياديا بشكل خلايا منفردة أو تجمعات صغيرة للخلايا في محلول أو على وسط متصلب مغذي. يؤدي تكاثر الفيروس في الخلية الجرثومية في معظم الأحيان إلى تفتت الخلية وفي حالات أخرى تبقى الخلية سليمة وتنتج الفيروس الذي يخرج إلى خارج الخلية. ولاظهار تكاثر الفيروس في الخلية البكتيرية تتبع احدى الطرق التالية:

1- إحداث الثغرات[Plaques enhancement

يوضع حوالي ثلاثة مللتر من محلول الأكر المغذي السائل في أنبوبة اختبار وتمزج معه عدة قطرات من محلول الفيروس والسائل الحاوي على عدد كبير من خلايا السلالة النقية من البكتيريا القابلة للإصابة بالفيروس وبعمر حوالي 24 ساعة بعد ذلك مباشرة تصب محتويات الأنبوبة على وسط غذائي متصلب بالأكر في طبق بيتري .تنمر الجراثيم بغزارة فوق سطح الأكر مشكلا طبقة كثيفة من النمو عدا المواقع التي حدثت فيها إصابة الجرثومة بالفيروس. حيث تظهر بوضوح للعين المجردة خلو النمو الجرثومي فيها بسبب تحلل الخلايا الجرثومية المصابة بالفيروس. هذه البقع الخالية تسمى بالثغرات. Plagues

2- تصفية النمو العكر في محلول[Clearing of turbidity

يضاف محلول الفيروس إلى مزرعة جرثومية عكرة في محلول مغذي (بروث (وللمقارنة يضاف المحلول المغذي بدون الفيروس إلى مزرعة مشابهة وتحضن. وبعد يوم أو يومين يلاحظ أن الفيروس أدى إلى تقليل عدد الخلايا البكتيرية في المزرعة بليل صفاء أو قلة العكورة في المحلول مقارنة بزيادة العكورة والنمو البكتيري في المزرعة التي أضيف إليها الماء. ويمكن ملاحظة زيادة تركيز الفيروس في المزرعة البكتيرية الملقحة باتباع طرق خاصة لتقدير تركيز الفيروس