

Акылбаева К.К., Исабек А.У., Зайцев В.Л., Садикалиева С., Шыныбекова Г.О., Сандыбаев Н.Т., Матраимов М.Б., Султанкулова К.Т.

**МАЙДА КЕПШӨӨЧҮ ЖАНЫБАРЛАРДЫН КАРА ТУМОО ВИРУСУНУН ТҮЗҮМҮ
ЖАНА КЭЭ БИР ФИЗИКАЛЫК МҮНӨЗДӨМӨСҮ**

Акылбаева К.К., Исабек А.У., Зайцев В.Л., Садикалиева С.О., Шыныбекова Г.О., Сандыбаев Н.Т., Матраимов М.Б., Султанкулова К.Т.

**СТРУКТУРА И НЕКОТОРЫЕ ФИЗИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ВИРУСА ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

*K.K. Akylbaeva, A.U. Isabek, V.L. Zaitsev, S.O. Sadikalieva, G.O. Shynybekova,
N.T. Sandybaev, M.B. Matraimov, K.T. Sultankulova*

**STRUCTURE AND SOME PHYSICAL CHARACTERISTICS
OF THE PESTE DES PETITS RUMINANTS VIRUS**

УДК: 619:578.32

Көптөгөн Азия жана Африка өлкөлөрүнүн негизги маселеси болуп майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоо дартынын (КЖКТД) таралуу чөлкөмүнүн кеңейиши. Ушуга байланыштуу бул вирустун түзүмүн жана кээ бир физикалык мүнөздөмөлөрүн изилдөө актуалдуу болуп саналат.

Негизги сөздөр: майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу, ионоалмашуу хроматографиясы, седиментация константасы, тазалоо, топтоо.

Основной проблемой во многих странах Азии и Африки является широкое распространение ареала чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ). В связи с этим изучение тонкой структуры и некоторых физических характеристик вируса этой болезни является актуальным.

Ключевые слова: чума мелких жвачных животных, вирус, ионообменная хроматография, константа седиментации, очистка, концентрирование.

The main problem in many countries of Asia and Africa is the widespread distribution of the area Peste des Petits Ruminants. In this regard, the study of the fine structure and some physical characteristics of the virus of this disease is relevant.

Key words: peste des Petits Ruminants, virus, ion exchange chromatography, sedimentation constant, purification, concentration.

Введение.

Вирус чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) является возбудителем высоко контагиозного заболевания мелкого рогатого скота, овец, коз и других жвачных животных. Болезнь характеризуется высокой лихорадкой, поражением слизистой дыхательных путей и пищеварительного тракта и сильной диареей. Смертность заболевших животных при данной инфекции достигает 80-100% [1, 2-6].

Широкое распространение этой болезни является основной проблемой во многих странах Азии и Африки [7, 8]. В прошлом десятилетии FAO выделил чуму МЖЖ как одну из основных болезней, причиняющих большой экономический ущерб животноводству [8, 9].

Чума МЖЖ впервые была зарегистрирована в 1942 г. Гаргаденником и Лаланной, и была установлена идентичность морфологических характеристик с вирусом чумы КРС. В 1956 г. Mornet и его коллеги доказали, что вирус чумы МЖЖ и вирус чумы КРС имеют близкое антигенное родство. В 1979 г. вирус чумы МЖЖ был отнесен к роду Morbillivirus семейства Paramyxoviridae. В 1967 г. морфология и структура вируса чумы МЖЖ была впервые изучена электронным микроскопом [3].

Целью работы являлось изучение структуры и некоторых физических характеристик вируса чумы мелких жвачных животных.

Материалы и методы.

Для проведения данной работы был использован штамм вируса чумы МЖЖ «G-45 МК», депонированной в музее коллекции микроорганизмов в НИИПББ.

В качестве основных этапов схемы очистки вируса чумы МЖЖ, нами были использованы преципитация полиэтиленгликолем 6000 и ионообменная хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе. Метод очистки и концентрирования вируса чумы МЖЖ из культуральной вирусосодержащей жидкости: 1) низкоскоростное центрифугирование 10-15 мин. при 2100 G; 2) Осаждение вируса из суспензии 6% ПЭГ – 6000 в присутствии 1 М NaCl. Контакт 12 часов при 4°C, центрифугирование при 12100 G 20-30мин.; 3) Центрифугирование суспензии через ступенчатый градиент сахарозы (30-45-60)% при 60000 G 60 мин; 4) Ресуспендирование осадка в 0,05М ФБР, рН 7,2; 5) Центрифугирование суспензии через линейный градиент сахарозы (20-60)% при 60000G 60 мин.

Для очистки и концентрирования штамма "G-45 МК" вируса чумы МЖЖ мы использовали ионообменную хроматографию на волокнистой ДЭАЭ-целлюлозе и растворы 0,25, 0,5 и 1,0 М концентрации NaCl в качестве элюентов. Структурные белки были анализированы методом электрофореза в полиакриламидном геле.

Результаты и обсуждение

В результате очистки удалось получить препараты вируса, лишённые каких-либо примесей, о чем свидетельствовали электронно-микроскопические исследования и электрофоретический анализ (рис.1).

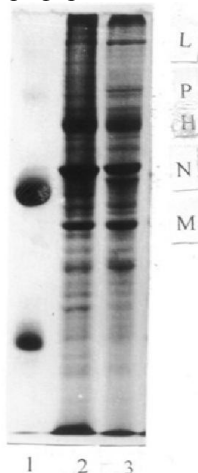


Рис. 1. Электрофореграмма в полиакриламидном геле белков вируса чумы МЖЖ, очищенного хроматографией на волокнистой ДЭАЭ-целлюлозе (1-белковый маркер, 2, 3-вирус чумы МЖЖ, L,P,N - белки нуклеокапсида, H и M - полипептиды суперкапсидной оболочки)

При хроматографии вирусосодержащего материала на волокнистой ДЭАЭ-целлюлозе выделяется основная масса вирусных белков и сохраняется целостность выделяемых вирусных частиц. Степень чистоты получаемых препаратов вируса чумы МЖЖ достигает 96% (рис. 2).

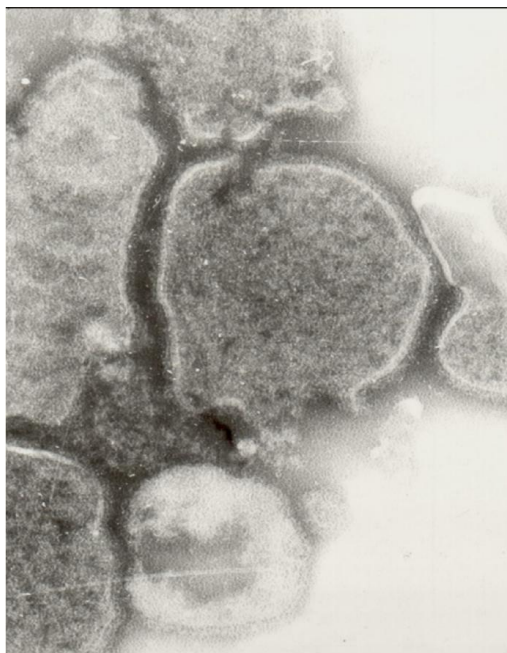


Рис. 2. Электронная микрофотография очищенных препаратов вируса чумы МЖЖ, штамм "G-45 МК", x100000.

Полученные нами результаты и данные литературы свидетельствуют о том, что вирус обладает выраженным полиморфизмом. Размер вирионов варьирует в широких пределах. Диаметр округлых вирионов достигает 500-700 и более нм. 80% популяции составляют вирионы размером 130-390 нм. Поверхность суперкапсидной оболочки содержит шипики длиной 8-15 нм. Толщина суперкапсидной оболочки около 10-15 нм.

Плавучая плотность вируса в градиенте сахаразы 1,18 -1,25 г/см³ и CsCl -1,283 г/см³. Нуклеокапсид вируса имеет спиральный тип симметрии. Представляет собой полый тяж диаметром 18-19 нм, содержащий РНК. Диаметр внутреннего канала составляет 5 нм. Капсомеры нуклеокапсида уложены под углом к оси тяжа. Шаг спирали в пределах 5-6 нм. Максимальная длина выделенных нуклеокапсидных тяжей составляет 0,8-1,2 мкм (рис. 3).

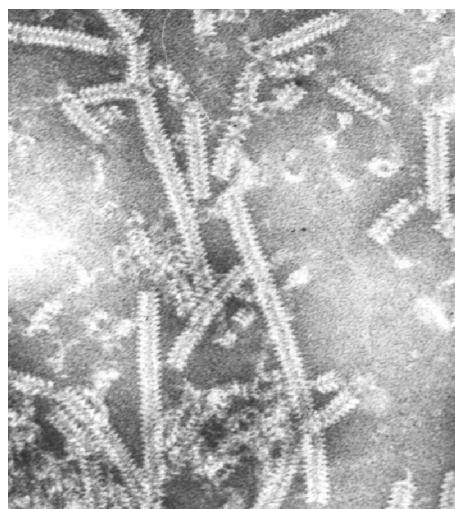


Рис. 3. Ультраструктура нуклеокапсида вируса чумы мелких жвачных животных из градиента сахаразы. Негативное контрастирование 2% раствором ФВК. x 250000.

В литературных источниках имеются данные о размерах вирусных частиц чумы МЖЖ и чумы КРС. В одних работах показано, что в популяции вируса чумы МЖЖ преобладают вирионы диаметром 500-700 нм, тогда как по данным других работ размер вирионов в популяциях этих вирусов не превышает 300 нм [8, 10, 11-13]. В наших экспериментах установлена идентичность морфологии и тонкой структуры вируса чумы МЖЖ с морфологией и структурой вируса чумы крупного рогатого скота. При морфометрии вирусных частиц этих вирусов существенной разницы в размерах не установлено.

Литература:

1. Munir M. Peste des petits Ruminant virus.//M.Munir//CAB International 2013, V.1.P.65-98.
2. Закутский Н.И. Чума мелких жвачных животных. (Современное состояние, эпизоотология, специфическая профилактика и меры борьбы). // Н.И. Закутский, В.М.

- Балышев, А.В. Кнize, А.Г. Гузалова, С.Г. Юрков // Научный журнал КубГАУ, 2012, №83(09). - С.1-15.
3. Gibbs E.J.P. Classification of peste des petits ruminants as the fourth member of the genus morbillivirus.// E.J.P. Gibbs, W.P.Taylor, M.L.P. Lawman, J.Bruanr // Intervirology. 1979. 11. P. 268-274.
 4. Anees.M. Genetic analysis of Peste des Petits Ruminants virus from Pakistan.//M. Anees, M.Z.Shabbir, Khushi Muhammad, J.Nazir, Muhammad Abu Bakar Shabbir, J.J. Wensman, Muhammad Munir//BMC Veterinary Research, 2013.V.9/60.P.1-5.
 5. Diallo A. Goat immune response to capripox vaccine expressing the hemagglutinin protein of Peste des Petits Ruminants.//A. Diallo, C.Minet, G.Berhe et al.//Ann.N.Y. Acad.Sci.2002.V.969.P.89-91.
 6. Dhar P. Recent epidemiology of peste des petits ruminants virus (PPRV).//P. Dhar, B.P.Sreenivasa, T.Barrett, M. Corteyn, R.P.Singh, S.K.Bandyopadhyay.// Vet. Microbiol. 2002.V. 88.N 2. P. 153-159.
 7. Diallo A. Morbillivirus group: genome organization and proteins.//Vet.Microbiology.1990. V.23(1-4). P.155-163.
 8. Underwood B., Physico-Chemical Characterisation of Rinderpest Virus. / B. Underwood and F. Brown, // Med. Microbiol. Immunol. - 1974.-V.-160. - P.-125-132.
 9. Martin S.J. The structure and composition of Morbillivirus: a brief review. // Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 1986. 5(2). P.389 -393.
 10. Зайцев В.Л. Род Morbillivirus. В книге «Атлас электронной микроскопии некоторых представителей вирусных, бактериальных и грибковых инфекций животных». // В.Л. Зайцев, А.Р. Сансызбай, Н.Т. Сандыбаев, К.Т. Султанкулова // Атлас, 2013. - С.129-161. ПК «Экожан», Алматы.
 11. Plowright W. Physico-chemical and biological characterisation of the PPR virus.//W. Plowright // OIE, 1976-1977. Report of the Director General on Scientific and Technical Activities.Paris.
 12. Kumar N. Peste Des Petits Ruminant virus infection of small ruminants: A Comprehensive Review. // N. Kumar, S. Maherchandani, S.K. Kasbyap, S,V. Singh, S.Sharma, K.K. Chaubey, H.Ly//Viruses.2014.6.P.2287-2237.
 13. Vinograd J. Equilibrium sedimentation of macromolecules and viruses in a desity gradient.//J. Vinograd., J.E.Hearst // Fortschr Chem. Org. Naturst.1962,20. - C. 373-422.

Рецензент: к.биол.н. Наханов А.К.