

Цілі уроку: ознайомити учнів із пріонами; розглянути особливості будови та механізми виникнення пріонів; порівняти пріони з вірусами.

Обладнання й матеріали: таблиці або слайди презентації «Будова клітини тварин», «Будова віріона», «Різноманіття вірусів», «Пріони».

Базові поняття й терміни: неклітинні форми життя, віруси, віріон, капсид, нуклеїнова кислота, ДНК, РНК, білок, пріон, шаперон, конформація,  $\alpha$ -спіраль, ( $\beta$ -складчаста структура).

## ХІД УРОКУ

I. Організаційний етап

II. Актуалізація опорних знань і мотивація навчальної діяльності учнів

Питання для бесіди

1. Чим віруси відрізняються від прокариотичних та еукариотичних організмів?
2. Яку будову мають віріони?
3. Які форми життєвих циклів є у вірусів?

### III. Вивчення нового матеріалу

Розповідь учителя з елементами бесіди

Одним з визначних наукових досягнень ХХ ст. в галузі біології та медицини стало відкриття 1982 р. американським молекулярним біологом, професором Стенлі Прузінером нового типу інфекційних агентів — пріонів. Це відкриття ознаменувало початок нової ери розвитку біології та медицини, оскільки було виявлено принципово новий тип збудників інфекційних захворювань.

Пріони (від англ. proteinaceous infectious particles, PrP — інфекційні білкові частки) є особливим класом інфекційних агентів, що викликають невиліковні захворювання ЦНС людини та тварин — губкоподібні енцефалопатії. Нині не виявлено жодної нуклеїнової кислоти, яка б була асоційована з пріонами. Інфекційний пріонний білок з аномальною тривимірною структурою здатний каталізувати структурне перетворення гомологічного йому нормального клітинного білка на подібний до себе — пріонний.

Детальне дослідження показало, що пріони, як збудники інфекційних хвороб, мають низку унікальних властивостей:

- відсутність жодної нуклеїнової кислоти;

- схильність до агрегації;
- виникають не лише в результаті зараження (відомі спорадичні та спадкові форми губчатих енцефалопатій);
- незалежно від походження захворювання воно може бути передано далі інфекційним шляхом;
- передача збудника між різними біологічними видами ускладнена через різницю в первинній структурі PrP. Проте, це не перешкоджає, а лише утруднює передачу інфекції від особин одного виду особинам іншого. Тому існує можливість зараження людини пріонними хворобами тварин. Підтвердженням цього може бути ідентичність ліній пріонів, виділених від хворих з новим варіантом хвороби Крейтцфельдта — Якоба та від корів із трансмісивною губкоподібною енцефалопатією.

На відміну від більшості інших збудників інфекційних захворювань, зокрема вірусів, пріони дуже стійкі до різноманітних фізико-хімічних факторів.

Основним компонентом фібрил, які виявляються в мозку хворих на губчаті енцефалопатії, є білок з молекулярною масою 27-30 кДа (PrP 27-30). За фізико-хімічною характеристикою це сіалопротеїн (олігосахаридовмісний мембранний білок із залишками сілової кислоти). Він складається з 254 амінокислот, включаючи 22-членний N-кінцевий сигнальний пептид.

Пріонні білки формують стрижнеподібні частки діаметром 10-20 нм і довжиною 100-200 нм. За структурою вони нагадують амілоїд (аномальний білок, який зазвичай утворюється під час хронічних захворювань, наприклад туберкульозу легенів, кісток та ін.) та є полімерною формою пріону: кожен містить близько тисячі молекул пріону.

Клітинним аналогом інфекційного пріонного PrP<sup>Sc</sup> (від англ. scrapie) є нормальний білок PrP<sup>C</sup> (від англ. cell).

Різниця між ними полягає у високій резистентності

PrP

Sc

до дії протеаз, нерозчинності після екстракції, здатності накопичуватися у вторинних лізосомах і посттрансляційній модифікації.

Встановлено, що перетворення (конверсія) нормального пріонного білка на його інфекційну форму — посттрансляційний процес. Аналіз вторинної структури PrP<sup>Sc</sup> показав, що цей перехід характеризується значними структурними змінами самого пріону.

Незважаючи на однакову первинну-структуру (амінокислотну послідовність), клітинна форма P

r

P

c

містить 42 %

α

-спіралей і майже не містить

β

-ланцюгів (лише 3 %), а інфекційна

PrP

Sc

— 30 %

α

-спіралей і 43 %

β

-ланцюгів.

Для пояснення перетворення білка PrP<sup>c</sup> на PrP<sup>Sc</sup> запропоновано дві моделі.

«Гетеродимерна» модель. Пріонний стан притаманний мономеру білка PrP, а конформаційне перетворення молекули P

r

P

c

на форму

PrP

Sc

відбувається під час її зв'язування з мономером

PrP

Sc

Після того як білок PrP<sup>sc</sup>

набуває пріонних властивостей, димер дисоціює, і дві звільнені молекули PrP<sup>c</sup>

можуть брати участь у нових конформаційних переходах. Процес нагадує ланцюгову реакцію та потенційно може забезпечувати швидке перетворення більшості молекул PrP<sup>c</sup>

на пріонну форму. Агрегація молекул PrP<sup>c</sup>

при цьому розглядається як вторинне явище, не пов'язане з конформаційною перебудовою як такою.

«Полімеризаційна» модель. Процеси конформаційної перебудови білка PrP та його агрегація нерозривно пов'язані, і перетворення білка PrP<sup>c</sup>

на форму PrP<sup>sc</sup>

відбувається під час його приєднання до олігомеру, що складається з молекул PrP<sup>c</sup>

Отже, цей процес нагадує кристалізацію. Олігомери PrP<sup>c</sup>

є «зародками» кристалізації. Агрегація білка PrP<sup>c</sup>

(бляшки) у тканинах мозку хворих на пріонні захворювання зазвичай містять ниткоподібні чи паличкоподібні скупчення цього білка, що свідчить про його впорядковану полімеризацію. «Полімеризаційна» модель була підтверджена дослідженнями

in vivo з перетворення PrP<sup>c</sup>

на PrP<sup>sc</sup>

PrP

Sc

У цих дослідях показано, що пріоноутворюючі властивості мають лише високомолекулярні агрегати

PrP

Sc

,  
а не мономерні форми.

Нині ідентифіковано шість основних пріонних захворювань тварин. З них найбільше економічне значення мають скрепі та губкоподібна енцефалопатія корів.

Скрепі. Підгостре неврологічне захворювання овець, що супроводжується інвалідизацією та загибеллю тварин.

Це захворювання було відоме в Англії ще в 1732 р. 1755 р. воно настільки поширилося, що стало предметом петиції, поданої до британського парламенту фермерами-вівцєводами графства Лінкольншир.

У першій половині ХХ ст. хвороба розглядалася винятково як сільськогосподарська проблема, хоча ще до 1899 р. було доведено її інфекційну природу. 1936 р. французькі вчені Кюї та Шелле довели, що збудник скрепі здатний проходити крізь бактеріальні фільтри, і визначили інкубаційний період, що становить п'ять років. Ураження виявляються лише в головному мозку. Мозкова тканина при цьому нагадує губку. Саме тому скрепі віднесено до губкоподібних енцефалопатій.

Симптоми захворювання. У хворих овець з'являються ознаки різкого подразнення шкіри, вони труться об огорожу, дерева, стовбури та інші нерухомі предмети (звідси й назва хвороби від англ. to scrape — «скоблити», «чесатися»). Сильна сверблячка призводить до того, що тварини починають кусати одна одну, при цьому навіть скушують окремі ділянки шкіри. Вівці легко збуджуються — приближення до них викликає сильне тремтіння, але в інших випадках, навпаки, може розвиватися кволість і навіть сонливість. Ще однією ознакою хвороби є порушення координації руху, найбільш яскраво виражене на початку захворювання з появою ненормальної ходи (вівці спотикаються), а пізніше хвора тварина вже не може стояти.

Губчата енцефалопатія корів (синонім — губкоподібна енцефалопатія ВРХ, спонгіоморфна енцефалопатія ВРХ, хвороба сказу корів, коров'ячий сказ).

Офіційно губчата енцефалопатія корів (ГЕК) почала реєструватися в 1988 р. у Великій Британії. З жовтня 1986 р. до 1996 р. у Великій Британії було зареєстровано більш ніж 180 тис. випадків ГЕК на 33 628 фермах. Окрім того було забито близько 25 тис. корів з підозрою на захворювання. У липні 1988 р. було заборонено годування жуйних тварин білковими кормами з нутрощів тварин того самого або споріднених видів. У вересні 1991 р. остаточно заборонені білкові корми, виготовлені з бичачого потруху (мозок, спинний мозок, мигдалики, тимус, нутрощі). Відповідно до розпорядження уряду Англії, вже із серпня 1988 р. худоба з ознаками ГЕК забивалася й одночасно проводилися виплати фінансових компенсацій її власникам.

Окрім Великої Британії, за даними Міжнародного епізоотичного бюро, захворювання були виявлені в Ірландії, Франції, Португалії, Нідерландах, Німеччині, Італії, Данії, а також Канаді й на Фолклендських островах.

1986 р. в СІЛА вжито ряд жорстких заходів як у тваринництві, так і у використанні медичних препаратів. Саме тому вдалося запобігти поширенню інфекції у зв'язку з використанням бичачого та людського гормонів росту. У жовтні 1998 р. Європейське Співтовариство визнало потрібним зняти ембарго з експорту британської яловичини за умови дотримання обмежень. 2001 р. ембарго знову було введено, проте вже на експорт ВРХ з Іспанії та Німеччини.

На ГЕК хворіє доросла рогата худоба, а також домашні коти (72 випадки в Англії й один у Норвегії), пуми, оцелоти, антилопи, чорнохвості олені, гепарди, у лабораторних умовах — білі миші. Основною причиною виникнення хвороби є використання для годівлі м'ясо-кісткового борошна, виготовленого із загиблих від скрепі овець. Контактно від тварини до тварини хвороба не передається.

Діагностика пріонних захворювань здійснюється специфічними імунологічними тестами. Більшість діагностичних тестів для виявлення пріонів базується на відносній стійкості PrP<sub>Sc</sub>

до дії протеїнази К, що дозволяє відрізнити його від PrP

с

у поєднанні з такими методами: імунофлуоресцентним, імуноферментним та імуноблотингом. Ряд таких тестів затверджено до застосування Європейським Співтовариством.

Надійних методів лікування пріонних захворювань поки що не існує, хоча їх пошук проводиться досить ефективно.

Відкриття пріонів у нижчих еукаріотів розширило уявлення про їх природу. Виявилося, що пріони є не лише інфекційними агентами, але й загальнобіологічним явищем. Згідно із сучасними уявленнями, пріони є носіями біологічної інформації нового типу, зашифрованої в конформації білкової молекули.

IV. Узагальнення, систематизація й контроль знань і вмінь учнів

Дати відповіді на питання:

1. Хто такі пріони?
2. Коли були відкриті пріони?
3. Як утворюються пріони?
4. Чи можна вважати пріони живими організмами?

V. Домашнє завдання



Підготувати доповіді «Вірус тютюнової мозаїки», «Вірус сказу», «Вірус грипу».