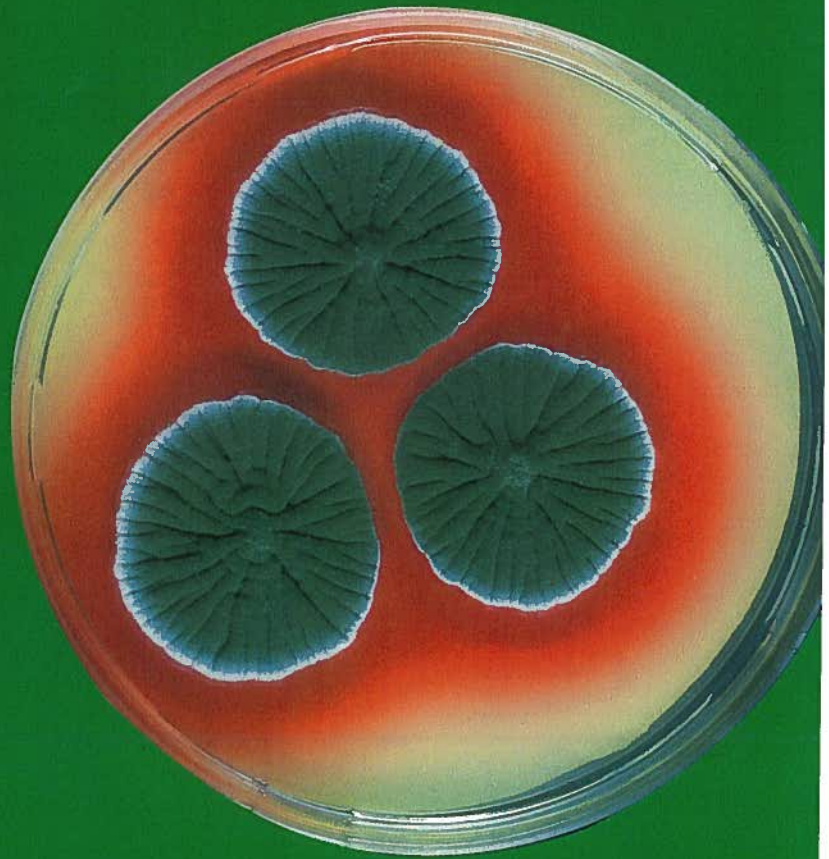
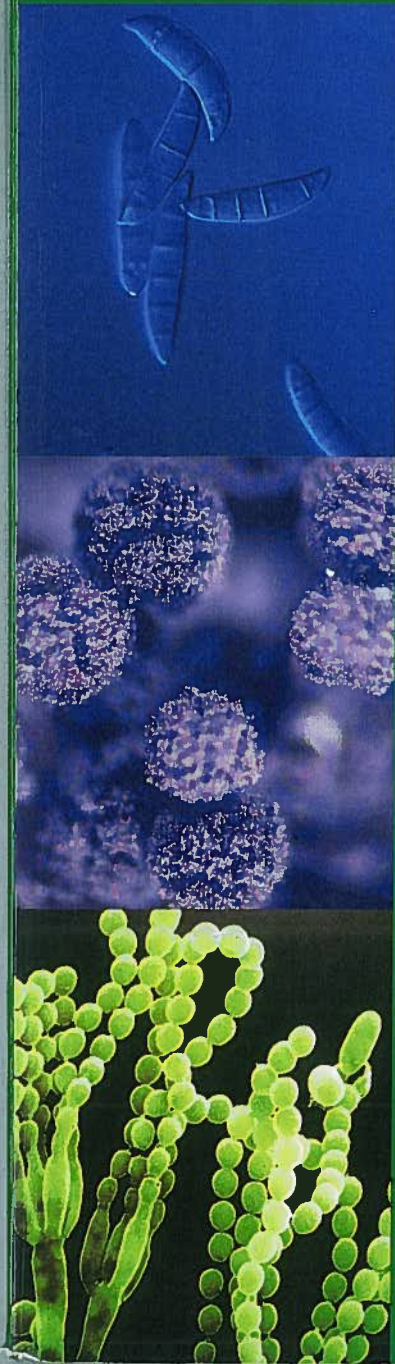


Torben Skou • Gunnar Søgaard Jensen

# MIKROBIOLOGI

TEORI OG PRAKSIS



SYSTIME >

Det var først i slutningen af 1800-tallet, man erkendte, at der findes organismer, som er mindre end bakterier, nemlig virus. Mange af de mest almindelige sygdomme som fx forkølelse og influenza skyldes virus (se tabel 3.1). Det er ikke kun mennesker, der kan blive inficeret af virus, det gælder også bakterier, dyr og planter. Egentlig er ordet "organisme" lidt misvisende, da der her ikke tale om en organisme i sin fulde betydning. Virus har nemlig ikke noget selvstændigt stofskifte og kan kun formere sig, når de optræder som parasitter i celler. Derfor omtales virus undertiden som partikler. Virus, der befinder sig uden for cellen, kaldes ofte virioner. I dette kapitel anvendes termerne virion, viruspartikel og virus synonymt. Kapitlet omhandler primært virus, men sidst i kapitlet vil de mere simple prioner og viroider blive omtalt.



*Rabies virus. En membranklædt virus, der er årsag til hundegalskab. Et foto taget med elektronmikroskop. Venligst udlånt af Jens Blom, Statens Serum Institut.*

## VIRUS

### Opbygning

Der indgår tre basisstrukturer i beskrivelsen af en virus:

- genom
- capsid
- membran (envelope)

findes organismer mest almindeligt (tabel 3.1). Dette gælder også for virusvisende, da de har nemlig deres egne partikler. I dette kapitel omhandler vi prioner og

Sygdom	Virus	Arvemateriale
Influenza	Orthomyxovirus	ss RNA
Diarré	Rotavirus	ds RNA
Hundegalskab	Rabies virus	ss RNA
Mæslinger	Morbilli virus	ss RNA
Fåresyge	Parotitis virus	ss RNA
Polio	Poliovirus	ss RNA
Forkølelse	Rhinovirus	ss RNA
Røde hunde	Rubella virus	ss RNA
Vortedannelser	Humant papillomavirus	ds DNA
Let feber. Vidt udbredt	Humant parovirus	ss DNA
Forkølelssår og infektioner på kønsorganer	Herpes simplexvirus 1 og 2	ds DNA
Skoldkopper og helvedesild	Varicella-Zoster virus	ds DNA
Mononukleosis (kysseysge)	Epstein-Barr virus	ds DNA

Tabel 3.1: Eksempler på nogle kendte sygdomme, der er forårsaget af virus. Dobbeltstrengt betegnes ds og enkeltstrengt betegnes ss.

en mbranklædt virus, legalskab. Et foto af mikroskop. Venligst, Statens Serum

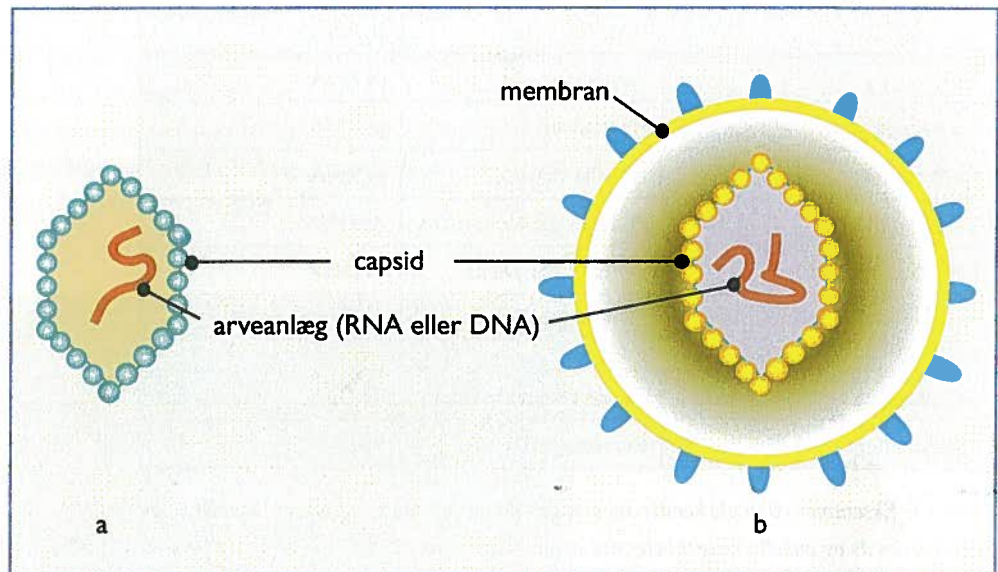
Ud over disse strukturer kan der indgå andre elementer i virioner fx en proteinskal uden om capsidet.

### Genomet

Arveanlæggene (genomet) hos virus består enten af RNA eller DNA. Man inddeler virus efter, om de har RNA eller DNA som arveanlæg. Både RNA'et og DNA'et kan forekomme enkeltstrengt eller dobbeltstrengt. Formålet med arveanlæggene er at få dannet de proteiner, der er nødvendige i opformeringen af viruspartiklerne inde i cellerne. Hvis det enkeltstrengede virale RNA i en viruspartikel ikke kan bruges som mRNA betegnes det som  $-RNA$ . I så fald skal den transkriberes gennem baseparringsprincippet (se Appendiks A) til det komplementære RNA, som derefter kan fungere som mRNA. Hvis det virale RNA umiddelbart kan fungere som mRNA betegnes det som  $+RNA$ . Antallet af gener i et viralt genom er meget lille. Eksempelvis har genomet i HIV kun ni gener – i bakterier er der som minimum flere hundrede gener.

### Capsidet

Arveanlæggene befinder sig inde i et beskyttende hylster, capsidet (fig. 3.1). Capsidet er opbygget af proteiner, som forekommer i mange kopier af et eller nogle få proteiner. Capsidet indeholder ofte ikke kun arveanlæggene, men også enzymer, som er vigtige i opformeringen af virusset inde i cellen.



Figur 3.1: Virusopbygning. En nøgen virus (a) og en membranklædt virus (b).

### Membranen

Membranen, som også benævnes envelope, danner den yderste del af viruspartiklen. Men ikke alle virus er i besiddelse af en ydre membran. Virus uden membran kaldes "nøgne" (fig. 3.1). De fleste vira, der angriber dyreceller, er beklædt med en membran, mens membranen ikke findes hos virus, der angriber planteceller eller bakterier. Membranen stammer fra den celle, hvori virusset er blevet opformet og membranen kan stamme fra cellens plasmamembran eller fra en indre membran i cellen fx kernemembranen.

### Formering

Som nævnt kan virus ikke formere sig uden for en celle, men er afhængig af en celleds organeller og stofskifte. Formeringen af en virus begynder med, at viruspartiklen tømmer sit capsid-indhold ind i cellen efterfulgt af en fase,

sidet (fig. 3.1).  
r af et  
reanlæggene,  
t inde i cellen.



ste del af  
membran.  
der angriber  
ke findes hos  
ammer fra den  
stamme fra  
x kernemem-

er afhængig  
begynder med,  
fulgt af en fase,

hvor virusmaterialer bliver opbygget. Til sidst forlader de nydannede vira cellen. For at forstå hvordan virus opformerer, er et kendskab til proteinsyntesen nødvendigt. Læs evt. appendiks A.

Formeringen af virus kan opdeles i fire faser:

- indtrængning
- syntese
- pakning
- frigørelse

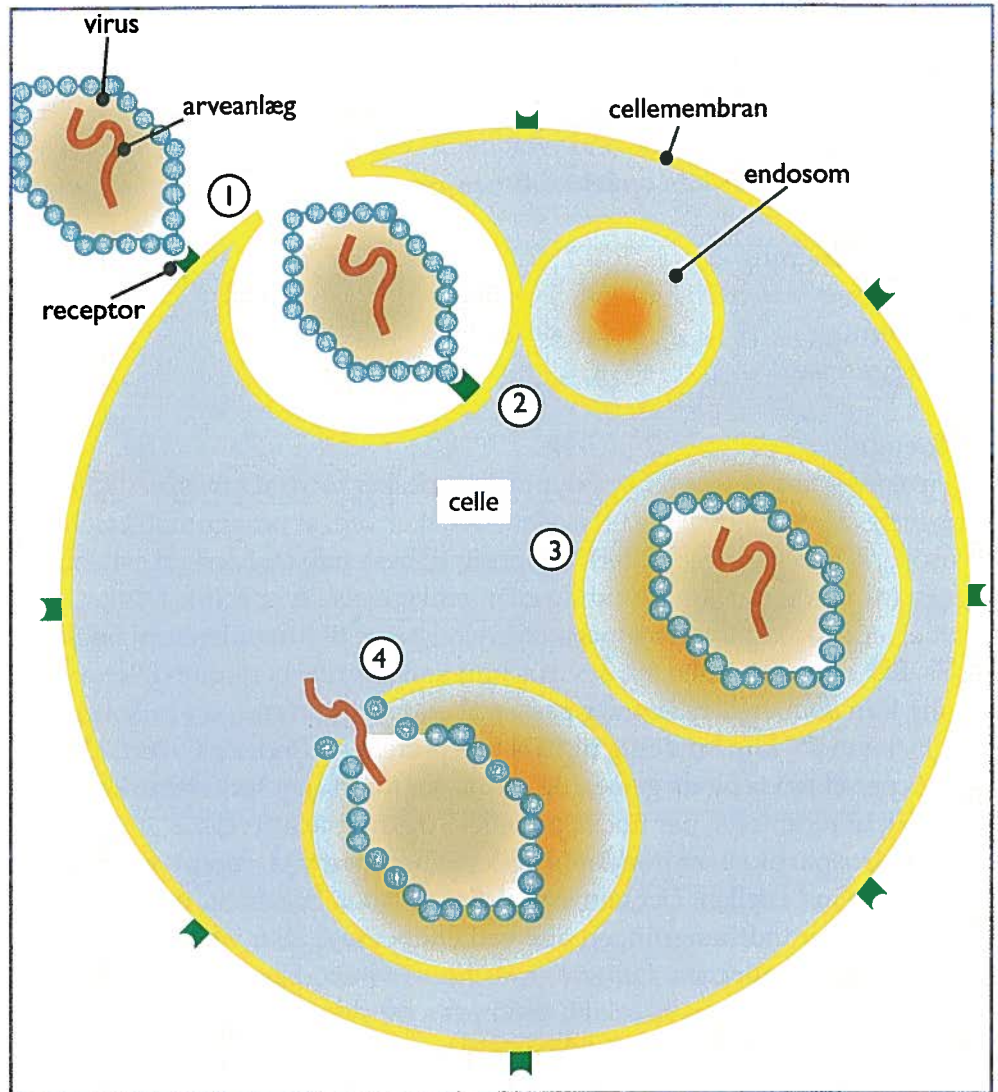
### Indtrængning

En virusinfektion begynder hos dyr og mennesker med, at viruspartiklen klæber sig til overfladen af værtscellen. Det sker ved, at proteinmolekyler på virusoverfladen (antireceptorer) binder sig til bestemte molekyler i cellemembranen (receptorer). Denne binding eller genkendelse er specifik, hvilket betyder, at antireceptoren og receptoren skal passe til hinanden som nøgle i en lås. Det er baggrunden for, at virus kun kan angribe bestemte cellyper, nemlig kun dem, hvis receptorer passer til antireceptorerne på virusoverfladen. Fx kan HIV kun binde sig til CD4 receptorer, der findes på overfladen af visse typer af hvide blodlegemer, og virus, der forårsager forkølelse, kan kun binde sig til receptorer, der findes på celler i de øverste luftveje.

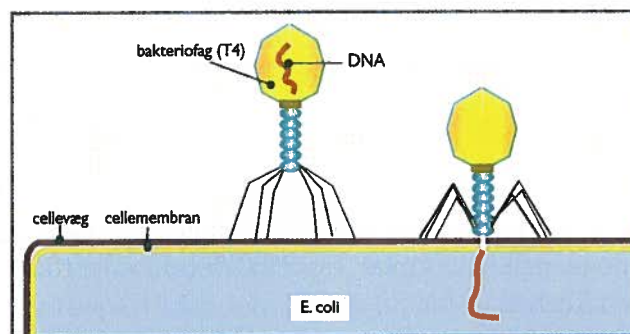
Når viruspartiklen er bundet til cellemembranen vha. receptorerne, kan den trænge ind i cellen. Det kan ske på flere måder. For virus, der angriber dyreceller, sker indtrængningen ofte ved endocytose eller ved sammen-smeltning af membraner.

Endocytose er den mest almindelige måde og kan benyttes af alle virustyper (fig. 3.2). Det foregår ved at viruspartiklen sætter sig på receptormolekyler i cellemembranen (fig. 3.2-1). Efterfølgende omsluttet viruspartiklen af cellemembranen og trækkes ind i cellen (fig. 3.2-2). Den dannede vesikel med viruspartiklen smelter nu sammen med et særligt organel i cellen kaldet et endosom. Som et resultat af denne sammensmeltning falder pH-værdien i vesiklen (fig. 3.2-3). Dette medfører, at proteinerne i virusoverfladen ændrer form og egenskaber – de bliver lipofile. Det resulterer i, at proteinerne binder sig til vesikelmembranen og capsidet åbnes, så indholdet frigøres i cellens cytoplasma (fig. 3.2-4).

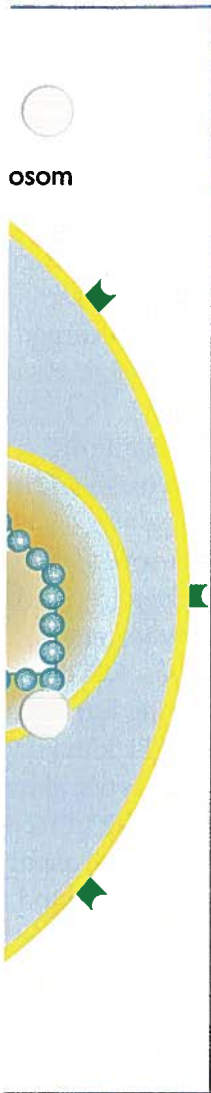
Hos visse typer af virus, som fx HIV, foregår infektionen ved, at virusmembranen og cellemembranen smelter sammen (fig. 3.5). Herefter overføres indholdet i viruspartiklen til cellen.



Figur 3.2: Endocytose. Optagelse af virus i en celle. Se tekst.



Figur 3.3: Bakteriofag T4. Til venstre hæfter bakteriofagen sig på cellevæggen. Til højre bliver cellevæggen perforeret og arve-materialet kan bevæge sig over i bakteriecellen.



Virus, der inficerer celler med en cellevæg, benytter en anden metode. Figur 3.3 viser hvordan en virus angiber en bakteriecelle. Virus, der inficerer bakterier, kaldes bakteriofager. Figuren viser en bakteriofag, kaldet T4, der inficerer *E. coli*. Viruspartiklen sætter sig på cellevæggen og vha. nogle enzymer dannes der en pore gennem cellevæggen. Herigennem kan arveanlægget (DNA) trænge ind i bakteriecellen.

Når det virale RNA eller DNA samt eventuelle enzymer er frigjort i cellens cytoplasma, kan den næste fase begynde. Det vil sige produktionen af nye virusproteiner og kopiering af arvematerialet

### Syntese

I denne fase udnytter viruspartiklen værtscellens proteinsyntese-apparat til at danne mange nye viruspartikler. Virusgenomet (RNA/DNA) bærer koden for, hvilke proteiner cellen skal danne, og genomet bliver kopieret i mange kopier.

Viruset sørger normalt for, at cellens replikationsproces ophører, og stopper cellens produktion af egne proteiner. Dette kan fx opnås ved nedbrydning af cellens eget mRNA, som det er tilfældet, når herpesviruset inficerer celler.

Hvordan genomet bliver kopieret afhænger af, hvilken type det tilhører. Dvs. om det er en DNA virus eller en RNA virus. Fx kan en +RNA fungere som mRNA og kan transkriberes til den komplementære -RNA, som videre kan fungere som skabelon til dannelse af nye virale +RNA.

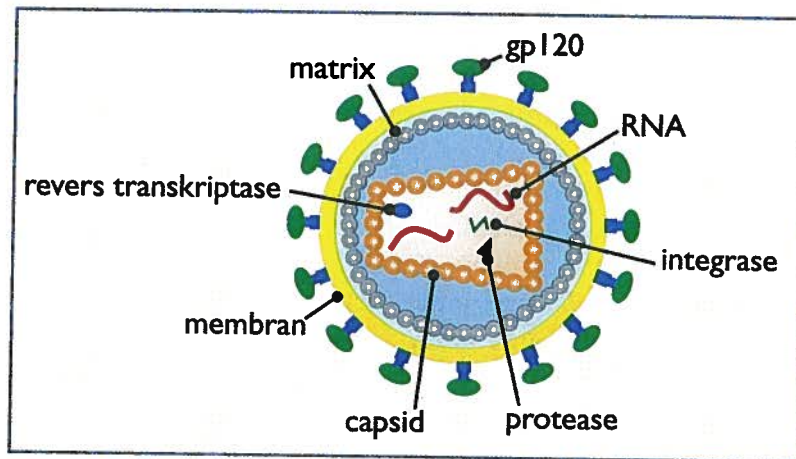
### Pakning

Når capsidproteinerne og genomkopierne er dannet, skal de samles (pakkes) til nye viruspartikler (virioner). Det kan foregå flere steder i cellen. For herpesvirusets vedkommende sker det i cellekernen, og for HIV's vedkommende sker det ved cellemembranen. Pakningen begynder, når koncentrationen af genomkopier og virusproteiner har nået et vist niveau i bestemte områder, hvor fx nogle virusproteiner på forhånd har hæftet sig fast i cellens membran.

### Frigørelse

Der er to måder, hvormed de ny viruspartikler kan forlade cellen. Virus uden membran gør det ved at producere så mange viruspartikler i cellen, at den til sidst sprænger, og viruspartiklerne frigøres. De membranklædte vira kan forlade celle ved en slags exocytose, hvor capsidet trænger ud af cellen og tager en del af cellens membran med. Ved denne metode kan cellen afgive mange virioner, før den dør.

Bakteriofag T4. Til venstre ses bakteriofagen sig selv. Til højre bliver cellen perforeret og arveanlægget bevæget sig over i cellen.



Figur 3.4: Strukturen af HIV. HIV er en membranklædt virus med RNA som arvemateriale.

## HIV – et eksempel på en virusinfektion

HIV (Human Immunodefekt Virus) er årsagen til AIDS og tilhører en gruppe af virus, der kaldes for retrovirus (fig. 3.4). De inficerer immunforsvarets T-hjælpeceller og enkelte andre celletyper. Diameteren for HIV er ca.  $1 \times 10^{-7}$  m (0,1 $\mu$ m) svarende til én tyvendedel af længden af *E. coli*. Arveanlæggene består af to identiske enkeltstrengede RNA molekyler, som ligger inde i capsidet sammen med 3 enzymer: en integrase, en protease og enzymet revers transkriptase. Mellem membran og capsidet er der et proteinlag, der kaldes matrix. I membranen sidder der nogle virusproteiner (gp120) der har betydning for indtrængning af viruspartiklen i værtscellen. På side 160 (influenza) ses beskrivelsen af en anden virusinfektion.

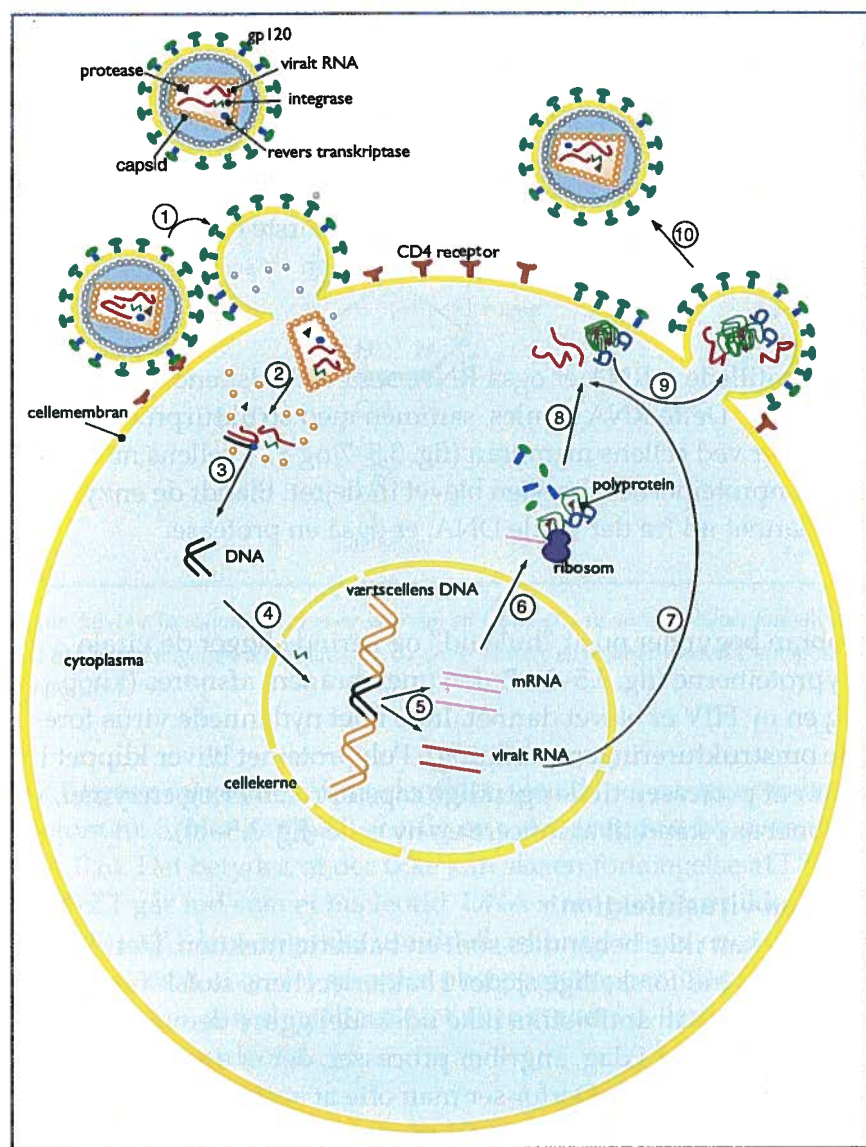
### Indtrængning

HIV hæfter sig til CD4 proteinet, der sidder i membranen på T-hjælpecellerne (fig. 3.5 -1). Herved smelter virusmembranen sammen med cellemembranen lige som to dråber olie og viruspartiklens indhold tømmes ind i cellen. Capsidproteinerne blive derpå spaltet af enzymer i cellen og det virale RNA samt enzymer frigøres i cellen (fig. 3.5-2).

emateriale.

ilhører en gruppe af forsvarers IV er ca.  $1 \times 10^{-7}$  rveanlæggene igger inde i og enzymet proteinlag, der (gp120) der har På side 160 (in-

i T-hjælpecel- med cellemem- ommes ind i cel- n og det virale



Figur 3.5. HIVs livscyklus. Se tekst som forklaring til figuren.

### Syntese

Det ene af de to virale RNA bliver nu transkriberet til dobbeltstrengt DNA ved hjælp af enzymet revers transkriptase (Fig. 3.5–3). Man mener, at transkriptionen af RNA'et bliver igangsat allerede før viruspartiklen inficerer cellen. Revers transkriptase nedbryder RNA'et, så snart det er blevet transkriberet (se også fig. 3.7a). Det dobbeltstrengede DNA bliver dernæst ved hjælp af integrase-enzymet indsat på et vilkårligt sted i cellens DNA

(fig. 3.5-4). Det indsatte DNA kaldes provirus og kan sidde inaktiv i cellens DNA i mange år.

Når det på et tidspunkt aktiveres, reagerer det på samme måde som cellens DNA. Først dannes mRNA ud fra DNA'et (fig. 3.5-5) og dernæst translateres mRNA'et til de proteiner, som HIV består af, både strukturproteiner og enzymer (fig. 3.5-6). Flere af proteinerne bliver i første omgang fremstillet i større sammenhængende enheder, polyproteiner.

### **Pakning**

Imellem de fremstillede mRNA er også RNA, som er fuldstændige kopier af det virale genom. Dette RNA samles, sammen med strukturproteinerne og enzymerne nær ved cellens membran (fig. 3.5-7 og 8). I cellens membran er virusmembranproteinerne i forvejen blevet indlejret. Blandt de enzymer, som er blevet dannet ud fra det virale DNA, er også en protease.

### **Frigørelse**

Cellens membran begynder nu at "bule ud" og herinde ligger de virale RNA og polyproteinerne (fig. 3.5-9). Bulen (membranen) afsnøres (knop-skydning) og en ny HIV er blevet dannet. Inde i det nydannede virus foregår der nogle omstruktureringer (modning). Polyproteinet bliver klippet i mindre stykker af proteasen til de egentlige capsidproteiner og enzymer, hvorefter virionet er i stand til at inficere en ny celle (fig. 3.5-10).

### **Behandling af en virusinfektion**

En virusinfektion kan ikke behandles som en bakterieinfektion. Det skyldes at antibiotika griber ind forskellige steder i bakteriecellens stofskifte, men da virus ikke er celler kan antibiotika ikke udskadeliggøre dem. De antivirale midler, man anvender i dag, angriber processer, der er en del af virusets opformering inde i cellen. Derfor ser man ofte at antivirale stoffer også er giftige for værtscellen. Som et eksempel på et antiviralt stof behandles her en nucleosid analog, azidothymidin (AZT), der bruges mod HIV.

Når DNA dannes, sker det ved, at nucleotider med baserne, adenin, guanin, cytosin og thymin kædes sammen i en lang kæde og i en bestemt rækkefølge. Sammenkædningen sker mellem OH-gruppen på C-atom nr. 3 på det sidste nucleotid, der er en del af den nye DNA streng og en fosfatgruppe på den næste nucleotid i kæden. Hvilket nucleotid, der skal sættes ind som den næste i kæden, bestemmes ved baseparringsreglen (se appendiks A).

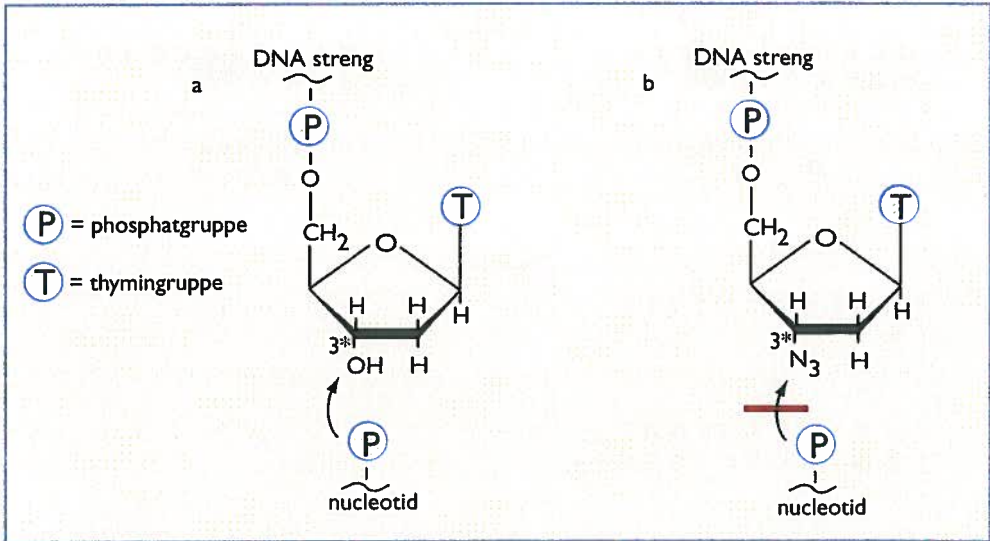
naktiv i cellens

...e som cel- dernæst trans- ukturproteiner ngang fremstil-

...endige kopier turproteinerne ellens membran dt de enzymer, ase.

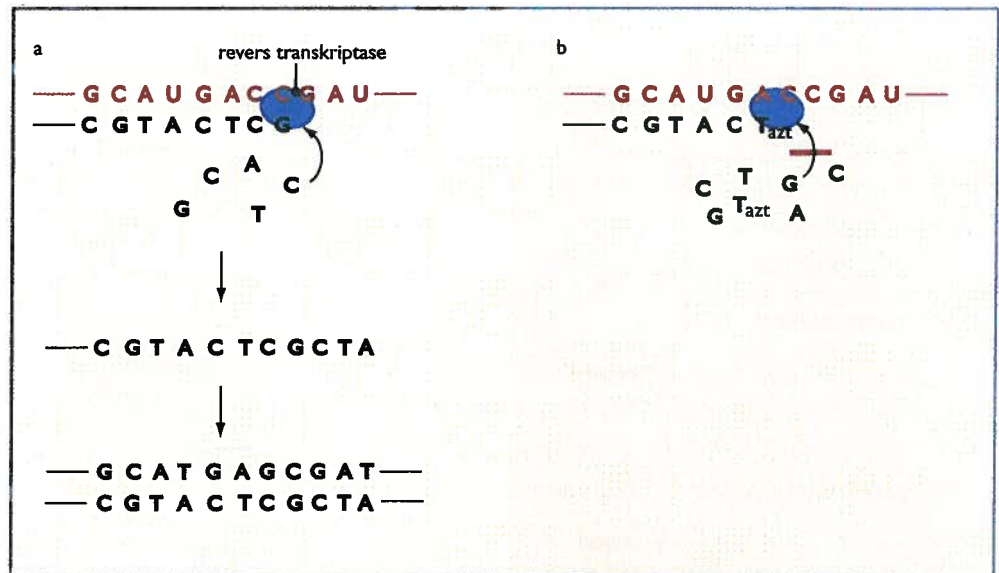
...er de virale snøres (knop- e- irus fore- livet klippet i og enzymer, -10).

...tion. Det skyldes stofskifte, men dem. De antivi- en del af virus- ale stoffer også stof behandles od HIV. ne, adenin, og i en bestemt på C-atom nr. 18 en phos- otid, der skal ringsreglen (se



Figur 3.6: Nucleosidanalogue. a) viser hvordan en DNA-streng normalt bliver forlænget ved C-atom nr. 3. I b) kan forlængelsen ikke finde sted, da der er bundet en azidogruppe til C-atom nr. 3 i stedet for en OH-gruppe.

AZT ligner meget thyminnucleotidet, men der er en afgørende forskel ved C-atom nr. 3. Her har AZT nemlig en azidogruppe (-N<sub>3</sub>) i stedet for -OH (Fig. 3.6). Det betyder, at der ikke kan ske en forlængelse af DNA strengen, når AZT går ind som et nucleotid. DNA strengen bliver ikke færdigdannet (fig. 3.7). AZT kan dog ikke umiddelbart bruges som et nucleotid, da det er et nucleosid, dvs. det mangler fosfatgrupper. Når AZT kommer ind i cellen, bliver den phosphoryleret af enzymer i cellen og kan derefter optræde som et nucleotid.



Figur 3.7: Til venstre (a) ses hvordan revers transkriptase danner DNA ud fra de tilgængelige nucleotider. I b) er der kommet AZT ind i cellen. Når AZT indgår i DNA-syntesen, stopper processen da der ikke kan "hægtes" nucleotider på AZT. Sort symboliserer DNA og rødt symboliserer RNA.

AZT bevirker, at RNA fra HIV ikke kan omdannes fuldt ud til DNA. Man kan sige, at aktiviteten af revers transkriptase bliver hæmmet. Man kan nu forestille sig, at cellers DNA-syntese generelt bliver hæmmet på samme måde. Dvs. der vil optræde en alvorlig bivirkning. Men forsøg har vist at hæmningen af aktiviteten af revers transkriptase er 400–900 gange større end hæmningen af den DNA-polymerase, som sørger for cellens DNA-syntese. Dvs. at AZT primært rammer HIV's formering, og kun i mindre udstrækning hæmmer cellers DNA-syntese.

Der findes lægemiddeltypen rettet mod HIV, som virker på andre måder. For eksempel lægemidler, der hæmmer proteaseenzymet, som er vigtigt i modningen af HIV. Midler mod "influenza-virus" virker på en helt anden måde. Se side 166.

## Prioner

Kuru er en sygdom, som var kendt blandt visse isolerede stammer af kanibaler på Ny Guinea. Det er en sygdom, som forårsager nedbrydning af hjernecellerne med døden til følge. I 1957 blev det foreslået at sygdommen skyldes en særlig type virus, kaldet "slow virus". Langsom fordi det tager