

2.1 Können wir Viren sehen?

Willkommen zurück. Wie Sie wissen, sind die Viren sehr kleine Agenten. Wenn wir sie sehen wollen, müssen wir das Elektronenmikroskop nutzen. Dies ist ein Instrument, das einen Strahl von Elektronen als die Quelle der Ablichtung verwendet. Wie die Wellenlänge eines Elektrons vielleicht 100.000 Mal kleiner als die des sichtbaren Lichts Photonen, Elektronen-Mikroskop hat eine höhere Leistung von optischen Auflösung, und man kann die Struktur von kleineren Objekten sehen.

Das Elektronenmikroskop ermöglichte die erste Identifizierung des Krankheitserregers wichtige virale Prozesse, wie z. B. der Ebola-Krankheit, Atemnotsyndrom (oder SARS) Coronavirus und andere verursacht durch bisher unbekannt Viren. Es wird auch verwendet, um anspruchsvolle Viren identifizieren, die nicht gut in Kultur wachsen, wie zum Beispiel Darm Viren, oder für diejenigen, bei denen gibt es keine spezifischen Reagenzien, oder die verschiedenen Viren in der dual-Infektionen zu unterscheiden.

Das ursprüngliche Elektronenmikroskop in der Diagnose verwendet wird, nennt man "Transmissions-Elektronenmikroskop" oder "TEM. Am häufigsten verwendete Proben sind die Urin oder Kot vom Patienten, aber auch andere Arten von Proben verwendet werden. Ein Nachteil des Elektronenmikroskops ist seine geringe Empfindlichkeit, da muss es mindestens 10 Millionen Viren pro Milliliter haben. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit müssen wir die Virus-Partikel in der Probe konzentrieren, in der Regel durch Zentrifugieren: zuerst bei niedriger Geschwindigkeit zu die schwereren Elemente der Probe zu sedimenten, einschließlich der Zellen und Bakterien, und dann durch Zentrifugieren des Überstands mit hoher Geschwindigkeit, um die Viren zu begleichen. Eine weitere Möglichkeit um die Viren zu konzentrieren ist mit Antikörpern. Sie aggregieren Viren und ermöglichen die Spinnerei in einem langsameren Tempo. Spezifische Antikörper können verwendet werden, wenn wir einem bestimmten Virus vermuten, oder einen Pool von unspezifische Immunglobuline, die Viren wahllos zu gruppieren.

So haben wir schon die Viren in einem kleinen Volumen konzentriert. Um sie anzuzeigen, hinterlegen wir die Probe auf einem speziellen Raster mit Kohlenstoff beschichtet. Negative Färbung wird verwendet, um die Viren zu sehen. Es wird so genannt, weil Reagenzien nicht im Inneren der Strukturen durchdringen können, und sie auf bleiben der Außenseite, markieren die Silhouette, z. B. der Viren.

Wenn die Probe, die wir verwenden Zellen oder Gewebe sind, sind zu dick für den Elektronenstrahl in der Lage sein, sie zu überqueren, und wir müssen Dünnschliffe vorbereiten. Dies ist ein Problem für sich, da, wenn die Infektion fokale, das Gebiet, wo sich die Viren befinden, kann verpasst werden.

All dies scheint kompliziert. Aber mit etwas Übung dauert in der Spezialisierten Labors 2,5 bis 3 Stunden zu vervollständigen. Wenn wir sorgfältig, die Schritte der Technik befolgt haben, haben wir die Belohnung Viren von verschiedenen Morphologien zu sehen, wie wir in diesen Bildern sehen.

Wenn wir wollen welcher Virus es ist zu bestätigen, oder suchen es in die andere Zelle Strukturen, können wir Gold-markierten monoklonalen Antikörpern. Diese reagieren mit spezifischer Proteine des Virus oder Zelle, und wir dessen Position anzuzeigen können. Verschiedene monoklonale Antikörper können auch mit Partikeln von Gold in verschiedenen Größen markiert werden, gleichzeitig mehr als ein Protein identifizieren zu können.

Schauen Sie, wie gut wir die Goldpartikel die diese Rhabdoviruses markiert hier sehen können. Sie können diese Viren leicht durch die Geschossform erkennen, die sie besitzen.

Wie bei allen Techniken, entstanden neue Arten von Elektronenmikroskopen.

Mit dem Rasterelektronenmikroskop (oder SEM) wird die Oberfläche der Probe mit einem konzentrierten Strahl von Elektronen analysiert, um das Bild zu erzeugen. Die Elektronen interagieren mit den Atomen der Probe, produzieren unterschiedliche Signale, die Informationen über die Topographie und die Zusammensetzung der Oberfläche enthalten. Es hat eine Auflösung von Nanometer! Es kombinierbar mit der Elektron-Cryomicroscopy, die die Probe rasch in flüssigem Stickstoff gefriert, so dass die Strukturen nicht verändern werden. Diese Technik ermöglicht viele Fotos in verschiedenen Winkeln, und ein Computerprogramm rekonstruiert die 3D-Struktur. Wie Sie in diesen Bildern sehen können, die resultierenden Bilder dieser beiden Techniken können künstlich gefärbt werden, und sie sind spektakulär.

In diesem Video haben wir Anwendungen des Elektronenmikroskops gesehen, wie man Proben vorbereiten, wie Proteine sich mit Antikörpern lässt und verschiedene Varianten dieses Instruments. Im Internet finden Sie viele Bilder von Viren unter dem Mikroskop betrachtet. Wir empfehlen Ihnen, einige suchen.

Ich danke Ihnen sehr für Ihre Aufmerksamkeit.