

2.1 Possiamo vedere i virus?

Bentornato. Come sapete, i virus sono agenti molto piccoli. Se vogliamo vederli abbiamo bisogno di usare il microscopio elettronico. Si tratta di uno strumento che utilizza un fascio di elettroni come sorgente luminosa. Come la lunghezza d'onda di un elettrone possono essere 100.000 volte più piccolo che i fotoni di luce visibile, il microscopio elettronico ha un' più alta potere di risoluzione ottica, e si può vedere la struttura di oggetti più piccoli.

Il microscopio elettronico ha permesso il primo identificazione dell'agente di importanti processi virali, come la malattia di Ebola, sindrome respiratoria (o SARS) coronavirus, e altri causati da virus finora sconosciuti. Esso viene anche utilizzato per identificare virus fastidioso, che non si sviluppano bene nella cultura, quali, ad esempio, virus intestinale, o per quelli per i quali non ci sono nessun reagenti specifici, o per distinguere i diversi virus nelle infezioni duale.

Il microscopio elettronico originale, che è quello utilizzato nella diagnosi, viene chiamato "microscopio elettronico a trasmissione" o "TEM. I campioni più frequentemente utilizzati sono il urine o nelle feci del paziente, ma possono essere utilizzati anche altri tipi di campioni. Uno svantaggio del microscopio elettronico è la sua bassa sensibilità, dal momento che ci deve essere almeno 10 milione di virus per millilitro. Per aumentare la sensibilità che dobbiamo concentrare le particelle di virus presente nel campione, solitamente per centrifugazione: prima a bassa velocità per risolvere gli elementi più pesanti del campione, comprese le cellule e batteri, e poi mediante centrifugazione il surnatante ad alta velocità, per risolvere il virus. Un altro modo per concentrare i virus è utilizzando anticorpi, Essi aggregano virus e consentire filatura ad un tasso più lento. I anticorpi specifici possono essere usati quando sospettiamo un virus specifico, o un pool di immunoglobuline aspecifiche, quel gruppo virus indiscriminatamente.

Quindi abbiamo già i virus concentrata in un piccolo volume. Per vederli, depositiamo il campione su una griglia speciale ricoperta di carbonio. Macchiatura negativa è usata per vedere i virus. È chiamato in questo modo perché non possono penetrare i reagenti all'interno di strutture e rimangono all'esterno, marcatura la silhouette, ad esempio, dei virus.

Se il campione che usiamo è cellule o tessuti Queste sono troppo spesse per il fascio di elettroni di essere in grado di attraversare loro, e dobbiamo preparare sezioni sottili. Si tratta di un problema in sé, Poiché se l'infezione è focale, la zona dove si trovano i virus potrebbe non essere rilevata.

Tutto questo sembra complicato. Ma con la pratica, nei laboratori specializzati ci vogliono 2,5-3 ore per essere completato. Se abbiamo seguito con attenzione i passaggi della tecnica avremo la ricompensa di vedere virus di morfologie diverse, come si vede in queste immagini.

Se vogliamo confermare quale virus è, o individuarlo nelle strutture differenti delle cellule, possiamo usare anticorpi monoclonali contrassegnati con oro. Questi reagiscono con le proteine specifiche del virus o della cella se vogliamo vedere la sua posizione. Anticorpi monoclonali differenti possono anche essere contrassegnati con particelle d'oro di diverse dimensioni per essere in grado di identificare simultaneamente più di una proteina.

Guarda come ben possiamo vedere qui le particelle d'oro marcatura questi Rhabdovirus. È possibile riconoscere questi virus facilmente dalla forma proiettile che possiedono.

Come con tutte le tecniche, sono stati sviluppati nuovi tipi di microscopi elettronici.

Con il microscopio elettronico a scansione (o SEM) la superficie del campione è analizzata con un fascio concentrato di elettroni per produrre l'immagine. Gli elettroni interagiscono con gli atomi del campione, produzione di diversi segnali che contengono informazioni sulla topografia e la composizione della superficie. Ha una risoluzione di nanometri! Può essere combinato con la criomicroscopia dell'elettrone, L'esempio che si congela rapidamente in azoto liquido modo che le strutture non si modificherà. Questa tecnica permette molte foto in diverse angolazioni, e un programma per computer ricostruisce la struttura 3D. Come si può vedere in queste immagini, le immagini risultanti di queste due tecniche possono essere colorati artificialmente, e sono spettacolari.

In questo video abbiamo visto applicazioni del microscopio elettronico, come preparare i campioni, come è possibile individuare proteine usando gli anticorpi e diverse varianti di questo strumento. Su internet potete trovare molti immagini di virus visto al microscopio. Ti invitiamo a cercare un po.

La ringrazio molto per la vostra attenzione.