

病毒学专题讲座

(上)

江苏省微生物学会

1983.8

(上册)

一、病毒的形态和结构	1~25
二、病毒的繁殖	1~20
三、病毒的分类	1~36
四、噬菌体	1~43
五、基因分析与基因工程在病毒学方面的应用	1~11
六、单克隆抗体及其在病毒学中的应用	1~22
七、EB病毒及鼻咽癌	1~17
八、人类巨细胞病毒：感染与免疫	1~20

(下册)

九、呼吸道合胞病毒	1~13
十、肠道病毒感染及其实验室诊断	1~22
十一、流行性出血热国内外研究进展	1~24
十二、乙型肝炎病毒的分子生物学及其应用	1~16
十三、乙型肝炎的免疫动态研究在临床医学中的实际意义	1~10
十四、脊髓灰质炎病毒的分子生物学	1~9
十五、持续性病毒感染：类型和机理	1~45
十六、宿主对病毒感染后保护性免疫反应	1~26
十七、干扰素研究进展	1~20
十八、NK与抗病毒免疫	1~13

一、病毒的形态和结构

南京农学院 徐为燕

最初病毒学是病理学的一个分枝，19世纪末叶已经了解许多传染病是由各种各样的细菌引起的，当时病理学家认识到人类和家畜中许多常见的传染病其病原既非细菌又非原虫。1898年Loeffler证实口蹄疫的病理材料通过最小细菌都不能通过的细菌滤器。仍能感染健康易感动物。此后这些疾病的病原被称为“超显微滤过性病毒”，随后又称为“超过滤病毒”、“滤过性病毒”，最后称为“病毒”。

1899年植物病理学者Beijerinck发现很多重要的经济作物是由病毒引起的。1915年Twort了解细菌也能被病毒感染，以后d'Herelle称其为噬菌体。昆虫病毒直到20世纪纪的40年代才被发现。而真菌病毒、蓝绿藻病毒和原生动物的病毒发现更晚。

随着基础科学的发展。兽医病毒学在70年代也获得巨大的进展。

单细胞微生物可按其大小次序和复杂程度排列成如下顺序：真核生物的原虫、酵母和其它某些真菌、原核生物的螺旋体、细菌、支原体、立克次氏体和衣原体。然后间断一大截才到病毒。除了病毒以外，其它任何微生物不论它们怎样微小和简单，都是细胞结构。它们的基因组都是双股DNA，都行二分裂繁殖，而病毒只含一种核酸，或为DNA或为RNA；或是单股的或是双股的。没有核糖体、线粒体或其它细胞器。因此病毒既不属于真核生物，也不属于原核生物，它在生物分类中的地位尚待确定。

表1 病毒和其它微生物的区别

	在无生命培 养基中生长	二等 分裂	DNA 和 RNA	核糖体	对抗菌素 的敏感性	对于抗素 的敏感性
细菌	+	+	+	+	+	—
支原体	+	+	+	+	+	—
立克次氏体	—	+	+	+	+	—
衣原体	—	+	+	+	+	+
病毒	—	—	—	—	—	+

病毒的特征

病毒是目前已知的最小微生物。其中最大者为痘病毒。大小为 $300 \times 200\text{nm}$ ，最小者为细小病毒和细小核糖核酸病毒。直径只有 $20 \sim 28\text{nm}$ 。目前已经发现有一种病原体称为类病毒(Viroid)虽然在电镜下尚不能看到其形态结构。但从其核酸的分子量来看，可能比病毒要小得多。它们的生物学特性尚不完全清楚。因此其分类地位未能确定。病毒与其它微生物的基本区别有以下各点：

1. 一个成熟的病毒颗粒称为 Virion，它主要由两个部分组成。中央以核酸为主组成的髓核(Core)或称类核体(Nucleoid)但在不同的病毒中，髓核的组成也有差别。外面包着一层蛋白质组成的外壳称为衣壳(Capsid)。核酸是病毒的遗传物质。它组成病毒的基因组。外面受到衣壳的保护，免遭周围环境中理化因素的侵袭，并能帮助病毒吸附在易感细胞表面和穿透进入宿主细胞内。

2. 病毒的基因组只有一种核酸，或者是RNA或者是DNA，不会两者同时存在。有时在RNA病毒中确实检查到微量DNA，一般认为

这是来源于宿主细胞。大部分病毒的DNA都是双股的，但也有少数是单股的（细小病毒）。大部分病毒的RNA是单股的，但也有少数例外（呼肠孤病毒）。即使是同一种核酸，它的形态和结构也是多种多样的。见图1和图2。

图1 病毒DNA分子的不同类型示意图

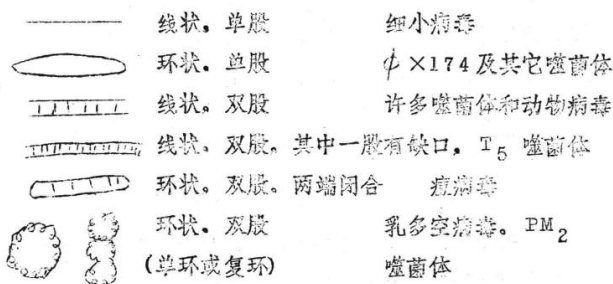
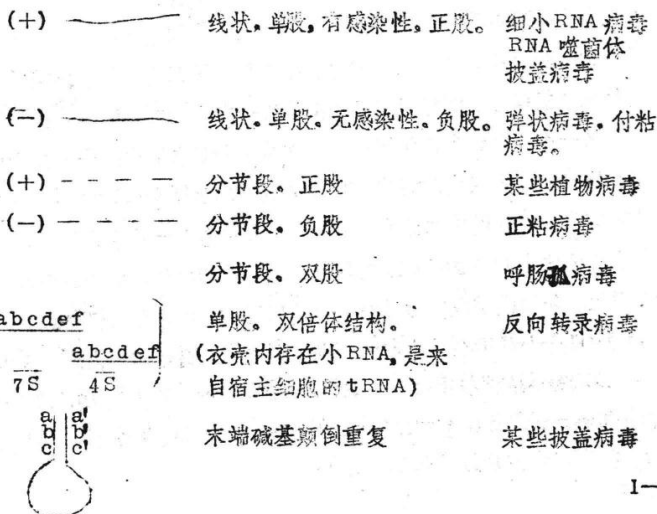


图2 病毒RNA分子的不同类型示意图



3.病毒没有独立的代谢活力，它们没有完整的酶系统，也没有能够进行独立生长和繁殖的其它机构。病毒确实有几种酶，如神经氨酸酶、各种核酸聚合酶、核酸连接酶、蛋白质激酶等。它们中有些与核酸的复制和转录有关。在病毒检验过程中，有时还发现来自宿主细胞的酶。

4.病毒没有核糖体，没有转移RNA(tRNA)，也无合成蛋白质所必需的酶。但是病毒的基因组能够改变感染细胞的代谢，使其从制造正常细胞成分变为合成病毒的成分，装配成新的病毒颗粒。

5.与其它微生物不同，病毒不能长大，也不能进行二分裂，只能由核酸通过复杂的生物合成过程而繁殖。

6.由于病毒在代谢上是不活动的，因而对抗菌素和作用于微生物代谢途径的药物不敏感。

7.大多数病毒对于干扰素敏感。

8.有些病毒的核酸能够整合到宿主细胞的DNA上去，从而诱发了潜伏性感染。

即使有上述特征，大多数学者仍然认为病毒是一类微生物，但是也有一些学者却相信它们不是生物，理由是部分病毒的基因组不是DNA而是RNA；有些病毒能结晶；有些病毒的核酸能进入宿主细胞而与细胞的DNA整合。

病毒的形态

每个病毒颗粒都有一层蛋白质外壳称为衣壳(Capsid)，衣壳紧紧地包围在核酸的外面，两者合称核衣壳(Nucleocapsid)。有些病毒在核衣壳外面还有一层囊膜(Envelope)。根据形态的特征病毒颗粒可以大体分为下列几种类型：

1. 有些病毒颗粒类似细小的圆形结晶。用负染色标本作电镜检查。或用X线衍射法研究，证明它们呈二十面体对称(Icosahedral symmetry)，每一面都是一个等边三角形。如细小核糖核酸病毒、腺病毒等。二十面体对称又称为等轴对称(Isometric)或六角形(hexagonal)，因为从平面上看它们呈六角形。

2. 有些病毒呈长杆状，它们的核衣壳是一个空心的圆柱，在高分辨力的电镜下可以看到衣壳呈螺旋结构，因此称为螺旋状对称(Helical symmetry)，如烟草嵌纹病毒、噬菌体M B等。在动物病毒中迄今尚未发现呈这种形态。

3. 有些病毒的结构较为复杂一些，内部为二十面体或螺旋状的核衣壳，外包一层疏松的外膜称为囊膜。有囊膜的病毒多数大体上呈圆形，但变化较多，这是由于囊膜并不坚硬之故。也有些很坚实，因此使病毒颗粒呈固定而规则的形状，如弹状病毒，它的核酸呈致密的螺旋，紧紧包在囊膜内。外面形似炮弹状。其它的螺旋状病毒，其核衣壳疏松地不规则地蜷曲在囊膜内。外形很不规则。目前所知凡是螺旋状对称的病毒不管有无囊膜均为单股RNA病毒。在二十面体病毒中只有疱疹病毒具有囊膜。

4. 最为复杂的病毒有两类：

a. 痘病毒 它的核酸为双股DNA，位于病毒颗粒的中心，其外是一层9nm厚的膜，两者组成哑铃状的髓核。在凹陷的两边各有一个很大的椭圆形“边体”。髓核和边体一起包在一层厚22nm的蛋白质衣壳内。衣壳是由无数微管组成；或者由微管组成的长线呈8字形盘绕使病毒颗粒形似一毛线团。

b. 噬菌体 这是感染细菌的病毒，它有各种各样的外形，常见的呈精子状。头部为二十面体结构，其中心为核酸。头部连接中空的

尾部。尾部与头部连接处为颈部。尾部的远端为基板。基板与颈部之间还有几根尾丝。当基板吸附于细菌表面时。尾丝游离出来。牢牢地抓住细菌的细胞壁上。

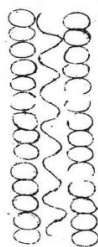
还有一些病毒如红色病毒和反向转录病毒的结构较上述两类病毒简单一些。但较前三类复杂。这里不再介绍。



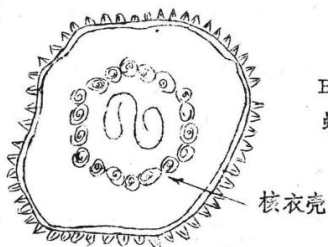
图3 各种病毒的形态示意图

图 4 病毒简单结构示意图

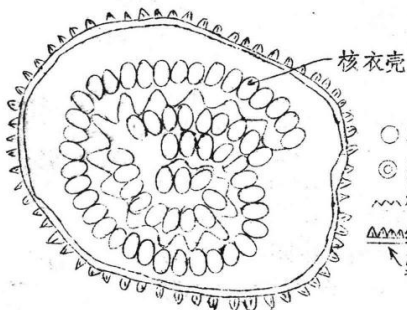
A. 无囊膜的二十面体病毒



B. 无囊膜的螺旋状病毒



C. 有囊膜的二十面体的病毒



- 单位 (蛋白质)
- ◎ 壳粒 (蛋白质)
- ~ 核酸
- △△△ 纤突 (糖蛋白)
- ↖ 囊膜 (蛋白质和类脂)

D. 有囊膜的螺旋状病毒

病毒的核酸

动物病毒的核酸结构形式变化很多。有些是DNA而另一些为RNA；有些为双股而另一些为单股；有些呈线状而另一些为环状；有些RNA本身就可作为mRNA（正股）而另一些则否（负股）。有关上述特性和其它一些特点，在了解病毒繁殖过程是非常重要的。

病毒核酸的大小 动物病毒颗粒中核酸含量差别极大。它的下限例如流感病毒中只含2%的RNA，痘病毒中只含5%的DNA；它的上限如细小核糖核酸病毒的RNA高达25%。然而含量的百分率并不十分重要，而真正重要的是它的绝对量。因为这是确定它的遗传信息多少的主要因素。细小核糖核酸病毒的基因组最小，分子量约为 $(1.5 \sim 3.0) \times 10^6$ 。痘病毒和疱疹病毒的基因组最大，分子量为 $(100 \sim 200) \times 10^6$ 。

病毒核酸的结构：

(1) 股数：双股和单股的DNA和RNA都能作为病毒的基因组。

(2) 末端重复：某些动物病毒的核酸在末端有一大段碱基出现多种形式的重复，有些达几百个（如疱疹病毒），有些达几千个（如痘病毒）。这种重复与核酸的复制和表达有关。

(3) 交叉连接（Cross-linked） 痘病毒的DNA原来是线状的，但在末端形成共价性的交叉连接。这种连接在侵入细胞后不久被特殊核酸酶所破坏。

(4) 与蛋白质共价性连接 几种病毒的核酸与蛋白质分子呈共价性连接。如灰质炎病毒的5'端通过酪氨酸残基而与蛋白质结合；又如腺病毒的双股DNA5'端与蛋白质结合。这些蛋白质在核酸的复制中发挥作用。

(5) 环状和复环状 大多数病毒的核酸呈线状，但乳多空病毒的

DNA呈复环状结构。自然界中大多数环状双股DNA分子都呈复环。如细菌的质粒、植物的叶绿粒、动物细胞的线粒体的DNA等。

DNA的环化与感染没有关系。而是整合到宿主细胞基因组的先决条件。例如腺病毒和疱疹病毒的DNA一般呈线状，有时也可整合到宿主基因组中，但在整合前必须经过环化。

(6) 节段 长期以来通常认为病毒的基因组是一条不断裂的长链。但事实是呼肠弧病毒的双股RNA却分为10~12个长短不同的节段。流感病毒、腮腺病毒和砂粒病毒的单股RNA分别断裂成8、3、2个节段。RNA肿瘤病毒的单股RNA分为两个相同的节段。分为节段的结果是基因重组的机率很高。

病毒核酸的正负股 细小RNA病毒、嵌杯样病毒、披盖病毒、冠状病毒和RNA肿瘤病毒的单股RNA分子能与核糖体结合并作为mRNA。但另外一些病毒如正粘病毒、副粘病毒、弹状病毒、腮腺病毒和砂粒病毒却并不如此。这些病毒必须首先转录成相反极性的RNA，由这些RNA作为mRNA而进行转译。通常把mRNA的核酸称为正股。因此前一类病毒的RNA为正股，后一类为负股。

病毒核酸的分子量 在某些RNA病毒的基因组中，核苷酸的数目可高达40,000，而在某些DNA病毒的基因组中，核苷酸的数目甚至可达500,000。RNA病毒基因组的分子量变化范围较小，约为 $2 \sim 15 \times 10^6$ ，DNA病毒基因组的分子量变化范围较大，约为 $1 \sim 200 \times 10^6$ 。最大的病毒含有几百个基因。最小的病毒所含有的基因仅能转译6种蛋白质，其中大部分为病毒的结构蛋白质。

传染性核酸 病毒的核酸含有形成病毒的全部信息。这从噬菌体感染细菌的事实得到证明。因为噬菌体只把核酸注入菌体，而衣壳蛋白留在菌体外，结果能产生完整的噬菌体。以后从植物病毒获得类

似结果。如烟草嵌纹病毒的RNA提取物具有传染性。

在动物病毒中几类DNA病毒如乳多空病毒、腺病毒和疱疹病毒。几类RNA病毒中的细小RNA病毒、嵌杯样病毒、披盖病毒、冠状病毒也有传染性。所有这些病毒的核酸或者本身能作为mRNA，或者能利用宿主细胞的RNA聚合酶而转录mRNA。如果病毒的核酸必须通过它自己的聚合酶才能转录成mRNA，那末就不具有传染性，因为它们单独进入细胞时不能转录mRNA。这些病毒为负股病毒。如正粘和副粘病毒、弹状病毒、肌杨病毒、砂粒病毒以及双股RNA的呼肠孤病毒。细小病毒中腺联卫星病毒具有感染性而其余则无。总之病毒核酸有无传染性必须具备两个条件，即：核酸不分节段和病毒不携带转录酶。

在所有情况下，提取的核酸的感染力约为提取前的完整病毒的 10^{-3} — 10^{-6} 。主要理由有二：(1)暴露于环境中的核酸很快被细胞外液体中和细胞膜上经常存在的核酸酶所降解；(2)没有衣壳的裸露核酸很难侵入细胞。但用下列方法可以大大提高侵袭力：(1)细胞用浓盐溶液如 1M MgCl_2 稍加处理以促进胞饮作用，有利于核酸的进入；(2)核酸用碱性阳离子处理，如DEAE葡聚糖或精蛋白等；(3)将核酸吸附在磷酸钙上。这种物质是很易被细胞吸取的。从裸露的核酸不易侵入细胞的现象证明病毒衣壳在致病力中的重要性。

裸露核酸感染细胞在范围远远大于含有这种核酸的病毒颗粒。这是由于病毒颗粒的宿主范围受到衣壳和细胞表面受体之间特异性相互作用的限制。对裸露核酸来说这种情况并不存在，事实上核酸只要能侵入细胞并不被降解就能繁殖。例如P.O.110病毒颗粒只有感染灵长类动物的细胞而P.O.110病毒的核酸也能感染鸡细胞和小白鼠细胞。活病毒和灭活病毒的核酸都有传染性。但是对于非易感细胞来说只能完成一个循环，因为后代又是完整的病毒颗粒了。

传染性核酸的验证具有理论上和实验上的重要性。首先它证实了

病毒的核酸就是它的基因组，贮藏着它的全部遗传信息。这一点比任何其它观察都要明确。其次如前所述所谓不易感细胞常常实际上是能够支持病毒的生长。只要病毒的核酸进入细胞，最后传染性核酸提供了一个方便的模式来研究如何把有功能性的核酸引入动物细胞这样一个带普遍性的问题。一个在代谢上有损伤的哺乳动物细胞有可能通过具有传导作用的噬菌体 DNA，引入必要的基因而获得修补。

病毒颗粒中的宿主核酸：通常病毒衣壳中包藏着病毒的核酸，但是有时却藏着宿主的核酸片段。例如在某种乳多空病毒中存在大小差不多的宿主核酸。这种称伪病毒颗粒。一般伪病毒颗粒产生的百分率很低，但在某些传代细胞中产生而大部分病毒颗粒都属这种。另一种情况是在细胞培养中连续传代时接种剂量很大，结果形成的病毒颗粒中核酸的一部分是病毒的，另一部分是宿主的。因为病毒的 DNA 整合到宿主后再切割下来时发生了误差。

表 2 各种病毒核酸的特性

病毒种类	核酸本质	分子量 $\times 10^6$	股数	结构	节段数	极性	核酸的 传染性	囊膜
痘病毒	DNA	125-185	双	线状	1	/	/	-
疱疹病毒	DNA	100(α 群) 150(β 群)}	双	线状	1	/	+	+
腺病毒	DNA	23	双	线状	1	/	+	-
乳多空病毒	DNA	5(乳头状瘤病毒) 3(其它病毒)}	双	复环状	1	/	+	-
细小病毒	DNA	2	单	线状	1	因十或 -E-	+	-
细小 RNA 病毒	RNA	2~3	单	线状	1	+	+	-
嵌杯样病毒	RNA	2~3	单	线状	1	+	+	-
披盖病毒	RNA	4.5	单	线状	1	+	+	+
腊杨病毒	RNA	5	单	线状。粘性末端	3	-	-	+
呼肠孤病毒	RNA	15	双	线状	10~12	/	-	-
正粘病毒	RNA	4	单	线状	8	-	-	+
副粘病毒	RNA	6	单	线状	1	-	-	+
弹状病毒	RNA	3~4	单	线状	1	-	-	+
反永病毒	RNA	5~7	单	线状	2	+	-	+
砂粒病毒	RNA	5	单	线状。粘性末端	2	-	-	+
冠状病毒	RNA	5.5	单	线状	1	+	+	+

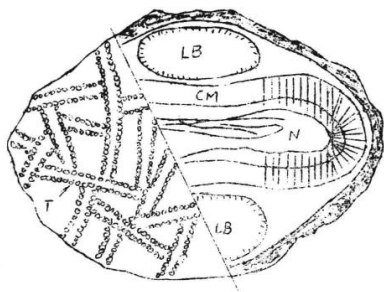


图 2-2 痘病毒的结构示意图 T 为微管；

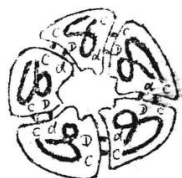
LB 为边体；

CM 为髓核的外膜

N 为髓核。



六邻体壳粒



五邻体壳粒

图 5 两种壳粒的结构示意图。

单体之间由 Aa、Bb、Cc 和 Dd 连结。

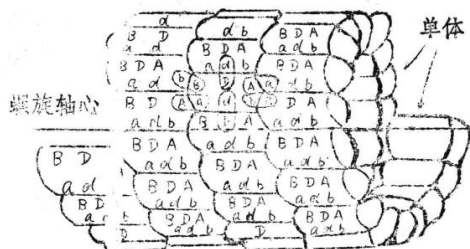


图 6 螺旋状衣壳的结构。

所有单体都相同。它们与
周围的单体以相同的键 Aa 、
 Bb 、 Dd 连结。

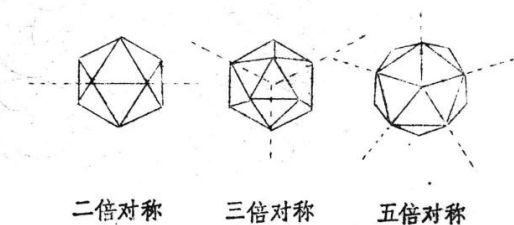


图 7 二十面体病毒的三种对称轴

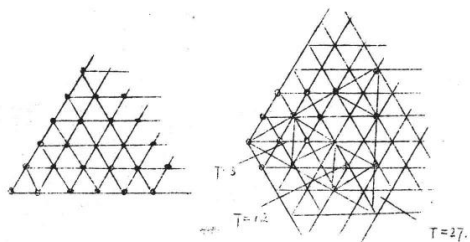


图 8 三角数值

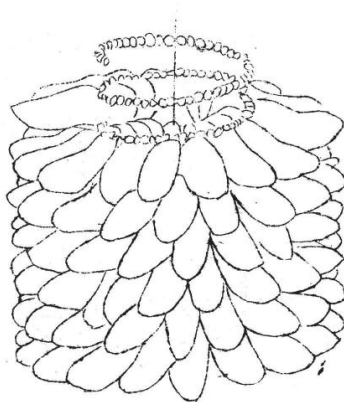


图 9 烟草花叶病病毒。显示螺旋状衣壳。
图的上部为 RNA 核酸，蛋白质单体
被去除。