

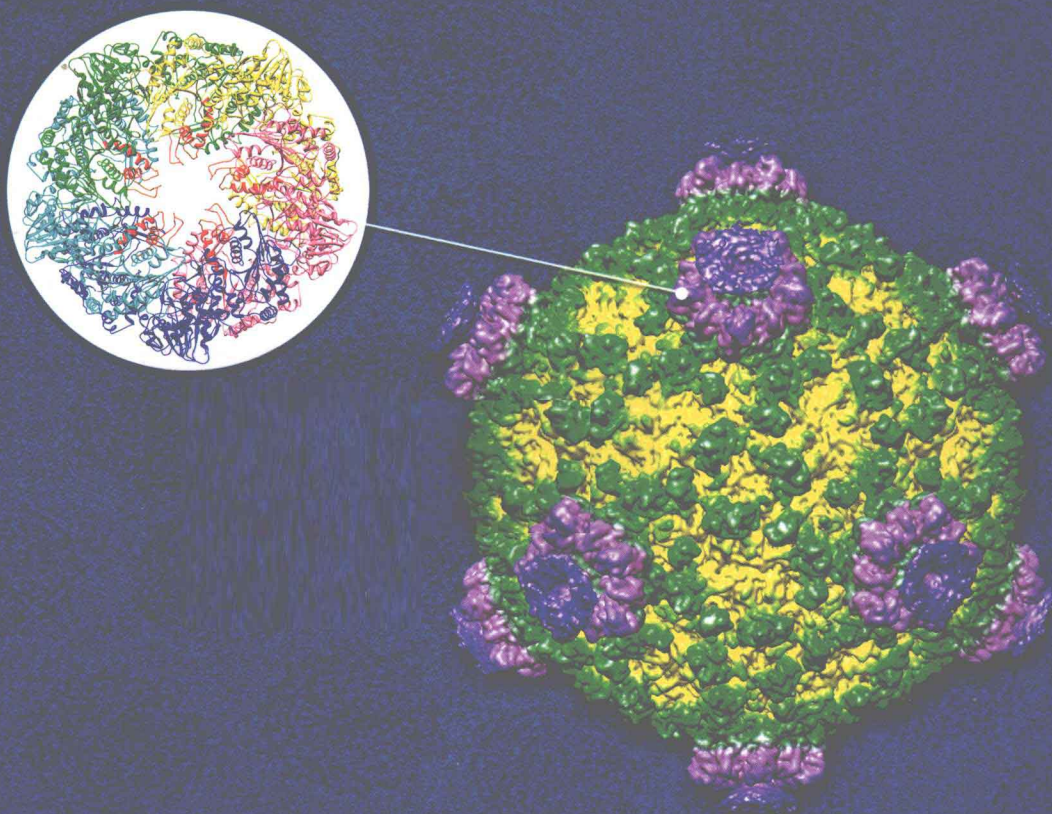
“十一五”国家重点图书出版规划项目



生命科学实验指南系列

病毒的电子显微学研究

张景强 主编



科学出版社

中国科学院微生物研究所
中国科学院微生物研究所
中国科学院微生物研究所

病毒的电镜学研究

中国科学院微生物研究所



中国科学院微生物研究所

“十一五”国家重点图书出版规划项目

生命科学实验指南系列

病毒的电子显微学研究

张景强 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书主要介绍研究病毒的各种电子显微学方法以及最新进展和取得的成果,内容包括:病毒样品的超薄切片技术,病毒的分离、纯化和病毒样颗粒的组装,病毒免疫电镜技术,生物材料的高分辨率电子显微技术,冷冻电镜单颗粒技术和冷冻电镜电子断层成像技术等。理论介绍尽量做到浅显易懂,书中示例也取自经典的或者最近几年的科研成果。此外,在绪论中简略概述病毒的电子显微学研究的进展。

病毒的电子显微学研究在近十多年来有许多理论和技术上的突破,发展迅速、成果斐然,其中也有本书部分作者参与的工作,书中均做了翔实介绍。

本书可供病毒学、结构生物学、流行病学、电镜等领域的科技工作者,以及高等院校有关专业师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

病毒的电子显微学研究/张景强主编. —北京:科学出版社, 2011

(生命科学实验指南系列)

ISBN 978-7-03-031579-3

I. ①病… II. ①张… III. ①病毒-电子显微镜分析 IV. ①Q939.4 ②Q-336

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 113471 号

责任编辑:夏 梁 刘 晶/责任校对:张怡君

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 6 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011 年 6 月第一次印刷 印张:15 1/4 插页:8

印数:1—2 000 字数:362 000

定价:60.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

编者名单

张景强（中山大学）

李鲲鹏（中山大学）

朱 平（中国科学院生物物理研究所）

洪 健（浙江大学）

柳 正（Purdue University）

黄小俊（State University of New York）

何 键（中山大学）

前 言

许多病毒给人类的健康和生命,以及农、林、牧、渔等产业造成了巨大的威胁和灾害,如肝炎病毒、艾滋病病毒、SARS 冠状病毒、流感病毒等。据测算,我国有 10% 人口携带乙肝病毒 (HBV),有 5%~10% 慢性乙肝病患者可能发展为肝硬化和肝癌。艾滋病病毒 (HIV) 引起艾滋病,自 1981 年发现以来全球累计有近 2000 万人死于艾滋病。可以说这些小小的病毒是人类在生物界中最可怕的敌人!同时,病毒存在的范围非常广,几乎所有的生物体都发现会被病毒所感染。因此,人类有可能利用病毒防治一些有害生物,如利用昆虫核多角体病毒 (NPV) 防治农作物害虫等。此外,病毒又是最简单、最小的有机体,它明显地体现出生物物质的特征,如生长增殖、遗传变异及相关的进化过程等。因此,病毒学的研究不单能防治它和利用它防治其他有害生物,而且病毒本身也是研究生命现象和了解生命本质的极好的研究材料。病毒学因而成为当前国际科学研究的前沿和热点。

1892 年 Ivanovski 发现了烟草花叶病病原体具有过滤性之后, Beijerinck 大胆设想这是一种新型的生物因子,病毒就逐渐被人们认识了。然而,在三十多年里,人们只是把它看成为一种过滤性的致病因子,仍未引起科学家们的重视。直至 1939 年, Kausche 首次用电子显微镜直接观察到烟草花叶病毒 (TMV),人们才把病毒看成实在的生物体。此后在相当长的时间内,人们判断是否是病毒时,其中一个标准是:是否只有电镜才能观察到。可见电镜对病毒研究的重要性。

目前,电子显微学方法在病毒学的研究中,无论是病毒形态发生、病理、分类,还是新病毒的发现等研究,都有着非常重要和不可或缺的作用。尤其近二十多年来,生物电子显微学有了飞跃的发展。由于引进了高分辨成像技术和计算机图像处理技术等,以及冷冻技术和生物样品制备技术的快速发展,一个新学科——生物大分子电子显微学出现了。特别是在 20 世纪 90 年代出现了冷冻电镜单颗粒技术和冷冻电镜断层扫描技术,它不仅能够很好保存病毒处于自然状态而不需要结晶,而且不受病毒尺度大小的限制,并能够获得接近原子分辨率的三维结构,在几年之后其分辨率将会达到原子分辨率,从而使电子显微学与 X 射线晶体学和核磁共振一起成为结构生物学研究的三大手段。

但是在很长的时间内,国内很少见到关于病毒电子显微学研究的书籍,就本人的印象,只有 1961 年高尚荫先生编写的《电子显微镜下的病毒》一书以及近年来几本有关病理学或分类学方面的书涉及这方面的一些内容。这与病毒学发展现状很不适应。作者长期从事病毒电子显微学的研究和教学工作,因此决定编写《病毒的电子显微学研究》一书。本书主要介绍研究病毒的电子显微学方法和取得的成果,可供结构生物学、病毒学、流行病学研究者和高等院校有关专业师生参考。

本书于 2006 年由中山大学生命科学学院电镜室的张景强、李鲲鹏、张勤奋、黄小俊、谭玉蓉、崔金明、陈森雄和柳正完成了初稿。由于初稿较粗糙及尚不够完整等原因

未送出版社。2009 年 7 月科学出版社来信征稿，于是我们决定在原来的基础上重新编写《病毒的电子显微学研究》一书。原来的部分作者（张勤奋、崔金明和陈森雄等）因种种原因无法继续参与本书编写，于是另邀请朱平、洪健和何键等同行参与重新编写。在此对张勤奋、崔金明和陈森雄等此前所作的努力和贡献表示衷心的感谢！北京大学丁明孝教授、南方医科大学朴英杰教授大力支持本书出版。同时，本书的出版得到国家自然科学基金（项目号 U0832604）、科技部蛋白质重大专项（项目号 2010CB912404），以及中国科学院百人计划（项目号 KSCX2-YW-R-142）等的资助，在此深表谢意！

本书中所有的图除标明引用出处的外，其余均为作者所有。广东省微生物研究所何能波、中国科学院武汉病毒所张立人等为本书提供了很好的电镜照片，在此表示衷心感谢！

张景强

2010 年 10 月

于中山大学

目 录

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 病毒形态、结构和化学组分	1
1.1.1 电镜下的病毒形态	1
1.1.2 病毒的结构	4
1.1.3 病毒的组分	7
1.2 病毒分类系统	10
1.2.1 病毒的主要类群	11
1.2.2 病毒的分类和命名	12
1.2.3 病毒分类系统	15
1.3 病毒入侵、繁殖及病理变化	16
1.3.1 病毒的入侵	16
1.3.2 病毒的繁殖	18
1.3.3 病毒引起宿主细胞的病理变化	20
1.3.4 病毒的释放	28
1.4 病毒的电镜诊断和鉴定	29
1.4.1 病毒电镜诊断鉴定的依据	29
1.4.2 病毒电镜诊断鉴定的特点	31
第 2 章 病毒样品的超薄切片技术	37
2.1 常温超薄切片技术的取材与固定	38
2.1.1 取材	38
2.1.2 固定	39
2.2 常温超薄切片技术的脱水、渗透和包埋	51
2.2.1 脱水	51
2.2.2 渗透和包埋	53
2.3 常温超薄切片的制作和染色	57
2.3.1 常温超薄切片的制作方法	57
2.3.2 染色液和染色方法	64
2.4 冷冻超薄切片技术	67
2.4.1 取材、醛固定和包封	67
2.4.2 冷冻保护处理与冷冻固定	69
2.4.3 冷冻超薄切片	71
2.5 冷冻置换技术	74

2.5.1	冷冻置换的基本原理	74
2.5.2	冷冻置换介质	74
2.5.3	冷冻置换的方法	75
2.5.4	影响冷冻置换的因素	76
第3章	病毒的分离、纯化与病毒样颗粒的组装	78
3.1	病毒的分离纯化	79
3.1.1	病毒的分离	79
3.1.2	病毒的纯化	82
3.2	病毒纯化的超速离心技术	83
3.2.1	原理与设备	84
3.2.2	病毒离心纯化方法	87
3.3	病毒衣壳蛋白的体外表达与病毒样颗粒的组装	90
3.3.1	病毒样颗粒在大肠杆菌表达系统中的表达与组装	91
3.3.2	病毒样颗粒在昆虫杆状病毒表达系统中的表达与组装	94
3.3.3	病毒样颗粒体外表达研究进展	100
3.4	负染色技术	101
3.4.1	负染色液的制备	102
3.4.2	染色方法	102
3.4.3	操作中的注意事项	103
第4章	病毒免疫电镜技术	106
4.1	概述	106
4.2	抗原-抗体免疫复合物电镜技术	107
4.2.1	吸附法	107
4.2.2	修饰法	107
4.2.3	吸附-修饰法	108
4.2.4	凝集法	109
4.3	免疫标记电镜技术的基本方法	109
4.3.1	取材与固定	109
4.3.2	免疫标记方法	110
4.3.3	样品包埋	112
4.3.4	对照实验	114
4.4	铁蛋白标记电镜技术	114
4.4.1	铁蛋白标记抗体的制备	114
4.4.2	铁蛋白标记电镜技术的应用	115
4.5	酶标记电镜技术	116
4.5.1	酶标记抗体	116
4.5.2	PAP技术	117
4.5.3	酶标记电镜技术的应用	117

4.6	胶体金标记电镜技术	118
4.6.1	胶体金探针的制备技术	119
4.6.2	胶体金标记电镜技术的应用	123
4.7	电镜原位杂交技术	129
4.7.1	同位素标记 cRNA 探针电镜原位杂交	130
4.7.2	生物素标记 DNA 探针电镜原位杂交	131
4.7.3	地高辛标记 rRNA 探针电镜原位杂交	133
4.7.4	电镜原位杂交技术的注意事项	134
第5章	生物样品的高分辨电子显微技术	135
5.1	电子显微镜的发明	135
5.2	磁透镜的光学性质	137
5.2.1	磁透镜的聚焦原理	137
5.2.2	磁透镜的像差	139
5.2.3	磁透镜的分辨本领、景深和焦深	141
5.3	像的反差形成原理	143
5.3.1	散射反差的形成与提高方法	144
5.3.2	提高散射反差的方法	145
5.3.3	相位反差	147
5.3.4	电子衍射	149
5.4	生物样品的高分辨成像技术	152
5.4.1	合轴、消像散和聚焦	153
5.4.2	生物样品的高分辨成像	161
第6章	冷冻电镜单颗粒技术与病毒研究	166
6.1	病毒的冷冻电镜成像	167
6.1.1	如何获得玻璃态的冰	168
6.1.2	冷冻制样与样品传输	169
6.1.3	低剂量成像	172
6.1.4	冷冻电镜图像的复原	174
6.2	病毒三维重构的单颗粒技术	175
6.2.1	单颗粒技术的发展现状	176
6.2.2	病毒的结构特点	178
6.2.3	中央截面定理	181
6.2.4	取向和中心估计	182
6.2.5	重构基本流程	185
6.3	家蚕质多角体病毒 (BmCPV) 的形态与结构研究	189
6.3.1	CPV 在 8Å 分辨率下的结构	190
6.3.2	CSP 蛋白的构象变化及其无缝连接	190
6.3.3	LPP 蛋白的构象变化及其分子铆接作用	193

6.3.4	TP 蛋白的功能结构域及衣壳锚定作用	193
6.3.5	转录酶复合物 (TEC) 及 dsRNA 病毒的内转录机制模型	196
6.3.6	A 球突蛋白及其 MAb 抗体复合物的研究	200
6.4	乙型肝炎病毒的结构研究	202
6.5	戊型肝炎病毒结构研究进展	203
第 7 章	电子断层成像技术与病毒研究	209
7.1	电子断层成像技术简介	209
7.1.1	电子断层成像原理	209
7.1.2	多角度系列电子投影图像的获取	210
7.1.3	投影图像的配准	211
7.1.4	断层图像的三维重构	211
7.1.5	重建结果的去噪、分割和理解	212
7.2	电子断层成像技术在病毒研究中的应用	212
7.2.1	电子断层成像研究的样品制备	212
7.2.2	电子断层成像技术用于病毒颗粒的三维结构研究	213
7.2.3	电子断层成像用于病毒与细胞的相互作用研究	218
7.2.4	电子断层成像技术在其他方面的应用及展望	219
	参考文献	221
	附录 国际病毒分类系统的科与属 (ICTV, 2009 年)	228
	图版	

第 1 章 绪 论

何 键、张景强、洪 健

1886 年德国人 Mayer 首次描述了烟草花叶病，并证明它是通过病株的液汁传播的。1892 年俄国人 Ivanovski 证明烟草花叶病病株的液汁经过细菌过滤器仍具有侵染性。1898 年荷兰人重复了上述实验并获得相同的结论，于是人们把烟草花叶病的病原看成是一种过滤性的致病因子。这是人们通过发病和传染的过程感觉到它的存在，但一直未观察到它，因而对它的认识是非常模糊的。直至几十年之后，1939 年 Kausche 首次用电子显微镜直接观察到烟草花叶病毒（TMV），人们才实实在在地认识病毒。随着电镜的负染色技术、超薄切片技术及免疫电镜技术等出现和完善，使得人类对病毒的认识有了飞速的发展。如果说 1953 年 Watson 和 Crick 应用 X 射线单晶衍射技术阐明了 DNA 的双螺旋结构，从此开创了分子生物学时代，那么 1955 年证明一些病毒可在适当的条件下裂解为蛋白质和核酸，同时病毒的两个组成成分（蛋白质和核酸）也可以重新构成具有感染性的病毒因子，以及又进一步发现一些病毒的核酸本身就可以导致典型的疾病，则使病毒学的研究进入分子病毒学的阶段。而至 20 世纪末，冷冻电镜技术（cryo-electron microscopy）的出现和成熟，使得通过它能获得病毒近原子分辨率的三维结构^[1~3]，病毒学的研究又进入结构病毒学的新阶段。

1.1 病毒形态、结构和化学组分

1.1.1 电镜下的病毒形态

由于只有电子显微镜才能直接观察到病毒，所以病毒的形态结构知识基本上由电子显微技术所提供。形态学知识基本上由电镜的负染色技术、超薄切片技术及免疫电镜技术所提供，而病毒结构的知识则基本由冷冻电镜技术所提供。因此，可以说没有电子显微技术，就没有病毒形态学的今天。自从人类发现了病毒以来，对病毒的形态、大小和结构的研究一直是病毒学工作者的主要工作之一。一种病毒的发现，往往首先是经过形态学鉴定并给予确认，可见病毒形态学研究的重要性。

1. 病毒的大小

病毒的大小差异极大，多数病毒粒子的直径在 100nm 左右。这是个什么概念呢？如果要使人眼勉强看到，起码需要 100 万个病毒粒子排列成 1000×1000 的方阵才有可能。但最长的病毒粒子长度可超过 $1\mu\text{m}$ ，而最小的病毒粒子直径只有十几个纳米。表 1-1 列举出有代表性的病毒粒子的大小。

表 1-1 几种病毒的大小

病毒类型	病毒名称	直径或长度×直径/nm
大的病毒	鸚鵡痘病毒	455×260
	多噬棘变形虫拟菌病毒	400
长的病毒	甜菜黄化病毒	1250×10
	大豆花叶病毒	750×12
	柑橘速衰病毒	2000×10
小的病毒	烟草坏死卫星病毒	16
	香蕉束顶病毒	17~20
	犬细小病毒	20
细长的病毒	大肠杆菌噬菌体 f1	800×7
	假单胞杆菌噬菌体 Pf1	2000×7

这里值得注意的是,样品制备方法的不同会导致测量结果与真实大小产生偏差。用超薄切片技术测量病毒粒子的大小,样品会因为超薄切片制备过程的脱水和包埋聚合而产生一定程度的收缩,因此测得的病毒粒子大小往往会偏小。而用负染色技术观察时,样品制备过程使其体积变化相对较少,因此所测得的病毒粒子大小会较接近真实大小,而较之超薄切片的测量值稍大。真正准确的测量方法则是冷冻电镜技术。

2. 病毒的形态

在电镜下病毒的形态是多种多样的,主要有球状、杆状(丝状)和蝌蚪状三种,其余还有弹状、杆菌状、无定形体、双联体等。球状病毒主要包括动、植物病毒,杆状病毒主要是植物病毒,而蝌蚪状病毒主要是细菌病毒——噬菌体。图 1-1 所示为球状病毒南芥菜花叶病毒(ArMV)的电镜像,它是一种植物病毒。这是一张负染色的病毒照片,图的背景是黑色的,病毒粒子是白色透亮的,这是由于负染色的结果,同负片一样。球状病毒无论使用何种技术制备样品,在电镜下均呈圆形,这是球状病毒二维投影的结果。但细心观察这些病毒粒子,发现颗粒基本上呈六角形而非圆形,这是二十面体

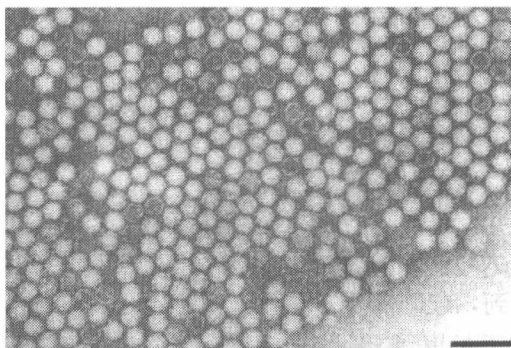


图 1-1 南芥菜花叶病毒(ArMV)的负染色像(标尺=100nm)

投影的结果。球状病毒大多数是二十面体的结构。仔细观察这些病毒粒子，还会发现其中一些粒子中央部分是黑色的，这表明负染色液进入了病毒内部，主要是由于病毒在分离、纯化过程中受到损伤使内部的核酸丢失，而让负染色液进入。也可能是在病毒核衣壳组装过程中，核酸还未进入衣壳内，是成熟病毒的前身；或在人工表达、重组病毒中，用于表达的基因序列中的 C 端或 N 端被截短而重构出的类病毒粒子（VLP）等常会出现这种情况。

一些球状病毒在衣壳之外还有一层包膜（或称囊膜）。囊膜是病毒在宿主细胞内复制、组装成核衣壳之后，穿越膜结构（如核膜、细胞膜及细胞质内的膜结构）的过程中获得的。因此，病毒囊膜的组成成分主要是来自宿主细胞。囊膜的脂质来源于宿主细胞，而囊膜中的蛋白质一般是病毒自己的基因信息编码的。有的囊膜蛋白是非糖基化外膜蛋白，称为基质蛋白（matrix protein）。有些囊膜蛋白是糖蛋白，形成囊膜的纤突，在电镜下呈细小的穗状突起。这些突起的长短、排列方式等都不相同，成为病毒分类的依据。图 1-2 是 SARS 冠状病毒的负染色像，病毒的囊膜突起宛如皇冠。

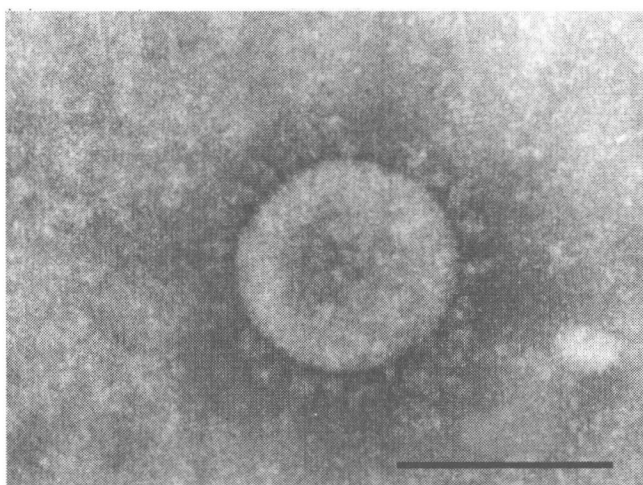


图 1-2 SARS 冠状病毒的负染色像（标尺=100nm）

杆状病毒多为植物病毒，外形很像长的圆柱体。但杆状病毒的长度与其直径的比例变化很大，有的很细长如丝状，故有些时候也称丝状病毒。图 1-3 示负染色的烟草花叶病毒（TMV），仔细观察会发现病毒是由许多小圆盘所组成，中间有个空腔。

蝌蚪状病毒主要是细菌的病毒，称噬菌体。它由一个“头部”和一条“尾部”（或尾鞘）组成。头部呈球状或多角体形状，直径为 20~100nm。尾部的长度和宽度（直径）随着噬菌体的种类不同有很大差异。亦有少数只有头部而没有尾部的噬菌体，如 P22，它是对沙门氏菌属细菌敏感的一种噬菌体。图 1-4 示绿脓杆菌噬菌体 PYO45 的负染色像。其中右上角一颗是具有完整尾部的颗粒，而下面两颗是尾部收缩了的颗粒，这是典型的噬菌体形态。

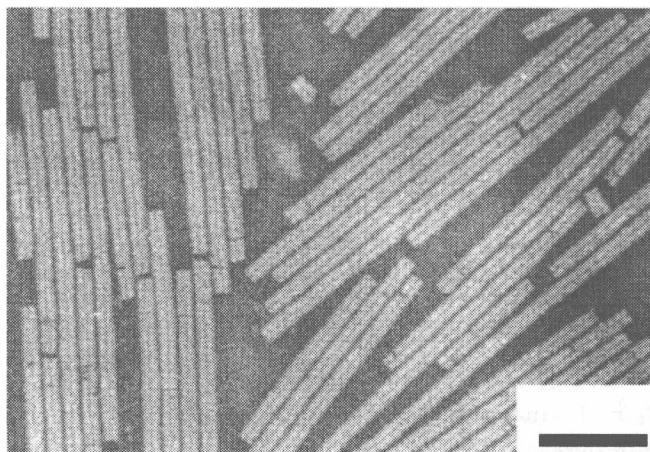


图 1-3 烟草花叶病毒的负染色像（张立人提供）（标尺=100nm）

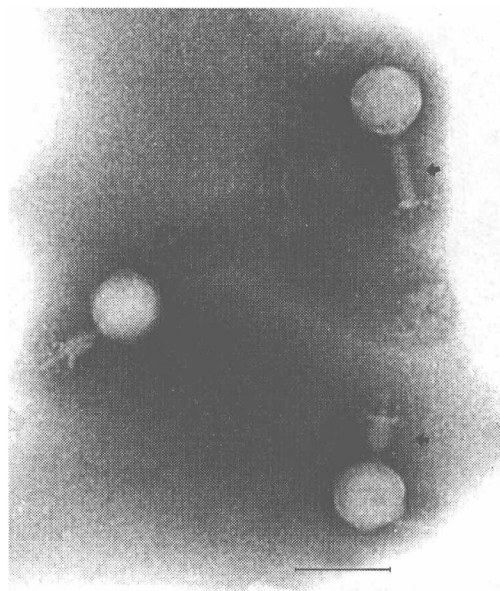


图 1-4 绿脓杆菌噬菌体 PYO45 负染色像（何能波提供）（标尺=100nm）

1.1.2 病毒的结构

病毒的结构研究开始是使用 X 射线衍射技术，如烟草花叶病毒（TMV）就是最早使用该技术获得结构的病毒之一。该技术对蛋白质的研究非常成功，但对于病毒，尤其是较大的病毒的结构解析存在很大的困难。首先是结晶困难，病毒越大结晶越困难。其次是数据处理也存在困难——结构函数的相位难以解决。因此，能被结构解析的病毒数量不多。目前应用 X 射线衍射技术获得结构解析的最大的病毒是蓝舌病毒（*Bluetongue virus*）。其衣壳直径约 69nm，获得的分辨率为 3.5Å。冷冻电镜技术在 20 世纪 90 年代出

现,至21世纪初成熟,大大促进了病毒结构研究的发展。冷冻电镜技术的特点是样品不用结晶,完全处于自然状态;数据处理相对也较简单,因此发展得很快。其缺点是相对于X射线衍射来说分辨率还较低,但提高速度很快,近年已达到近原子级分辨率水平。例如,人腺病毒(HAdV)已获分辨率达 $3.5\text{\AA}^{[4]}$,草鱼出血病毒(GCHV)分辨率达 $3.3\text{\AA}^{[5]}$ 。在技术上能够获得的分辨率主要取决于病毒样品的均一性(因为所得的是平均结构)。随着技术和设备的不断提高及完善,只要样品的均一性允许,达到原子分辨率指日可待。

目前还发展了一种新方法——X射线衍射技术与冷冻电镜结合的方法。其特点是两种技术高效结合:从X射线衍射谱中获得病毒样品结构函数的振幅,而从冷冻电镜重构的病毒三维结构中获得结构函数的相位,两者结合获得病毒原子分辨率的三维结构。作者认为这种方法特别适用于均一性不太好且较小的病毒。原因是较小的病毒结晶相对容易些,所以适用于X射线衍射技术,但相位问题仍然难以解决。而冷冻电镜技术由于病毒均一性不太好,无法获得高分辨的三维结构,仅能获得中等分辨率的结构。但此结构能获得结构函数的相位,两者结合就是获得近原子级分辨率的三维结构。例如,作者就使用该方法获得人戊型肝炎病毒(HEV) $3.5\text{\AA}$ 的三维结构^[6]。

绝大多数的成熟病毒粒子(virion)的结构基本是由蛋白质亚基组成的外壳(capsid)将基因组核酸包围起来,有的在外壳外还有一层脂蛋白外膜——囊膜。蛋白外壳的作用有:①保护病毒的生命线——基因组核酸,使其免受外界环境如紫外线或核酸酶的破坏;②识别和侵入宿主细胞,使基因组核酸进入宿主细胞从而实现侵染的目的。

由于病毒的基因组较小,编码蛋白质能力也较差,一般仅能编码相当于自身约15%的蛋白质。因此,多数病毒的蛋白质亚基由一种或两种蛋白质构成。当然,大的病毒外壳可由多种蛋白质构成,如腺病毒等。蛋白质亚基通常组成两种构型的病毒衣壳:一是开放型的螺旋式排列;二是封闭型的二十面体构型。

1. 杆状螺旋结构

所有的杆状病毒和噬菌体的尾部都是杆状螺旋对称结构。不同的病毒间的差异主要表现在螺旋的长短、粗细和螺距的不同。这是由于核酸与蛋白质亚基的相互作用,使蛋白质亚基按螺旋式叠加而形成杆状的病毒颗粒。以最简单的杆状病毒之一烟草花叶病毒(TMV)为例,电镜下成熟的TMV颗粒呈杆状(图1-3),长约300nm,直径15~18nm,中央有直径4nm的中心空腔。X射线衍射分析结果表明,蛋白质亚基围绕着中心轴做右手螺旋排列(right-hand helical arrangement)。亚基的位置每转三圈重复一次,位置相同的亚基间相距6.9nm,所以螺距(pitch)即每圈亚基间的距离为2.3nm。每三圈包含49个亚基,则每一圈由16.3个亚基组成。每个TMV颗粒由2130个亚基所构成,亚基则由158个氨基酸组成的亚基肽链叠成芒果状,以尖头向外的

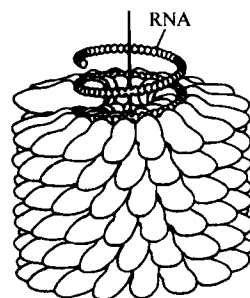


图1-5 烟草花叶病毒(TMV)粒子的螺旋对称结构, RNA嵌入中心空腔中,螺旋式地延伸

方式排列。而其 RNA 就嵌入中心空腔中，螺旋式地延伸（图 1-5）。

2. 二十面体结构

球状病毒其实不是球状的，而是二十面体的结构（icosahedral structure）。一个对称的二十面体是由 20 个完全相同的等边三角形的面所构成，从而形成 12 个顶点和 30 条边线。此对称结构有三条旋转对称轴：二重对称轴、三重对称轴和五重对称轴，即以这三个对称轴为旋转轴，分别旋转 180° 、 120° 和 72° 后，所得结构和未旋转前的结构完全一样。由于蛋白质亚基本身是不对称的，需要在每个三角形的三个顶点附近各有一个亚基，这样三角形就对称。于是在病毒的 12 个顶点就由 60 个亚基构成 12 个五聚体（pentamer），由它们构成的外壳才能使每个亚基与相邻亚基以等价相连，此时外壳就处于自由能最小的稳定状态。在电镜下负染色样品可看到壳粒（capsomer）并非单个蛋白质亚基，而是它们的聚集体，如五聚体等。但是许多病毒外壳是由更多（60 个以上）的亚基构成的。为了使外壳相邻的亚基之间以等价相连，形成自由能最少、最稳定的二十面体结构，必须将 20 个等边三角形分割成更小的等边三角形，如一分为四形成 80 个等边三角形，然后每个小等边三角形放进三个蛋白质亚基，这样就需要 $3 \times 80 = 240$ 个亚基。这样原 12 个顶点仍保持五聚体结构，其余 180 亚基分配到其他三角形中，在原来 20 个三角形的中心形成六聚结构，从而形成六聚体（hexomer）。此时，五聚体和六聚体间的相互作用不可能是完全等价的，只能是准等价。关于病毒二十面体结构，在第 6 章将会详细讨论。图 1-6 示一个二十面体的人戊型肝炎病毒的三维结构。

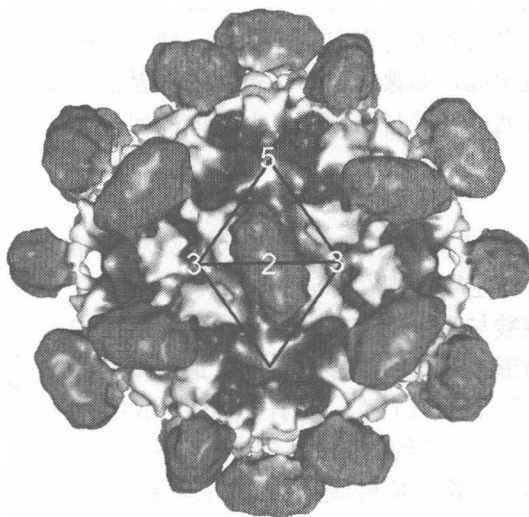


图 1-6 人戊型肝炎病毒的二十面体三维结构（见图版）

关于囊膜结构我们将在第 7 章详细讨论，而更复杂的结构，如噬菌体，则可以用一个二十面体的结构的头部加上螺旋对称结构的尾部构成。尾部可分为三类：短尾、可收缩长尾和不可收缩长尾。