

第 4 章 病毒的基本性状

病毒 主要特点 病毒结构及对称型 病毒复制周期 顿挫感染 缺陷病毒
干扰现象 病毒变异类型和生物学意义 理化因素对病毒影响
分类原则

病毒 (virus) 是一类非细胞型微生物。其主要特点是: 体积非常微小, 一般需用电子显微镜放大千万倍以上方能观察到; 结构简单, 无完整的细胞结构, 只含有一种类型核酸 (DNA 或 RNA); 严格的细胞内寄生, 只能在一定种类的活细胞中增殖; 对抗生素不敏感, 但对干扰素敏感。病毒与其他微生物的比较见表 4-1。

表 4-1 病毒与其他微生物的比较

特 性	病毒	细菌	支原体	立克次体	衣原体	真菌
通过细菌滤器 (0.45 μ m)	+	-	-	-	+	-
结构	非细胞	原核细胞	原核细胞	原核细胞	原核细胞	真核细胞
有无细胞壁	-	+	-	+	+	+
核酸类型	DNA 或 RNA	DNA+RNA	DNA+RNA	DNA+RNA	DNA+RNA	DNA+RNA
在人工培养基上生长	-	+	+	-	-	+
增殖方式	复制	二分裂	二分裂	二分裂	二分裂	有性或无性
抗生素敏感性	-	+	+	+	+	+
干扰素敏感性	+	-	-	-	-	-

病毒种类繁多, 包括动物病毒、植物病毒和细菌病毒 (噬菌体)。动物病毒是引起人类疾病的重要病原。病毒所致的传染病不仅数量多 (约占传染病 80%) 且传染性强, 有的病情严重、病死率高或病后留有后遗症。如流感、病毒性肝炎、艾滋病等可造成世界性大流行, 而狂犬病、病毒性脑炎和出血热等疾病则死亡率很高。除传染病外, 还发现许多病毒与肿瘤、自身免疫病等疾病的发生有密切关系, 因此病毒与临床许多学科的关系亦越来越密切。作为医学生熟悉、掌握病毒学的基础知识及其与人类疾病的关系是很重要的。医学病毒学 (medical virology) 是研究病毒与人类疾病关系的一门科学, 其研究内容主要包括病毒的生物学性状、致病性及机体的免疫应答、微生物学诊断和防治原则。掌握它们以便更有效地预防、控制和消灭病毒性疾病。

第一节 病毒形态学

病毒的形态学包括病毒的大小、形态和结构。病毒虽然体积微小, 但有其典型的形态和

结构。将具有一定形态结构和感染性的完整病毒颗粒 (viral particle), 称为病毒体 (virion)。病毒体的大小、形态和结构可以通过电镜观察 (磷钨酸负染技术)、分级超过滤技术、超速离心沉降法及 X 线晶体衍射技术来研究。

一、病毒的大小和形态

病毒的大小 病毒的大小是指病毒体的大小。测量单位是纳米 (nanometer, nm), 即毫微米 (1/1000 μ m)。各种病毒的大小相差很大, 一般病毒介于 50nm~250nm 之间, 其中绝大多数病毒都在 100nm 左右; 最大的病毒如痘病毒 (poxvirus) 为 300nm, 在普通光学显微镜下勉强可看到; 最小的病毒如小 RNA 病毒和微小 DNA 病毒直径约在 20nm~30nm 之间。

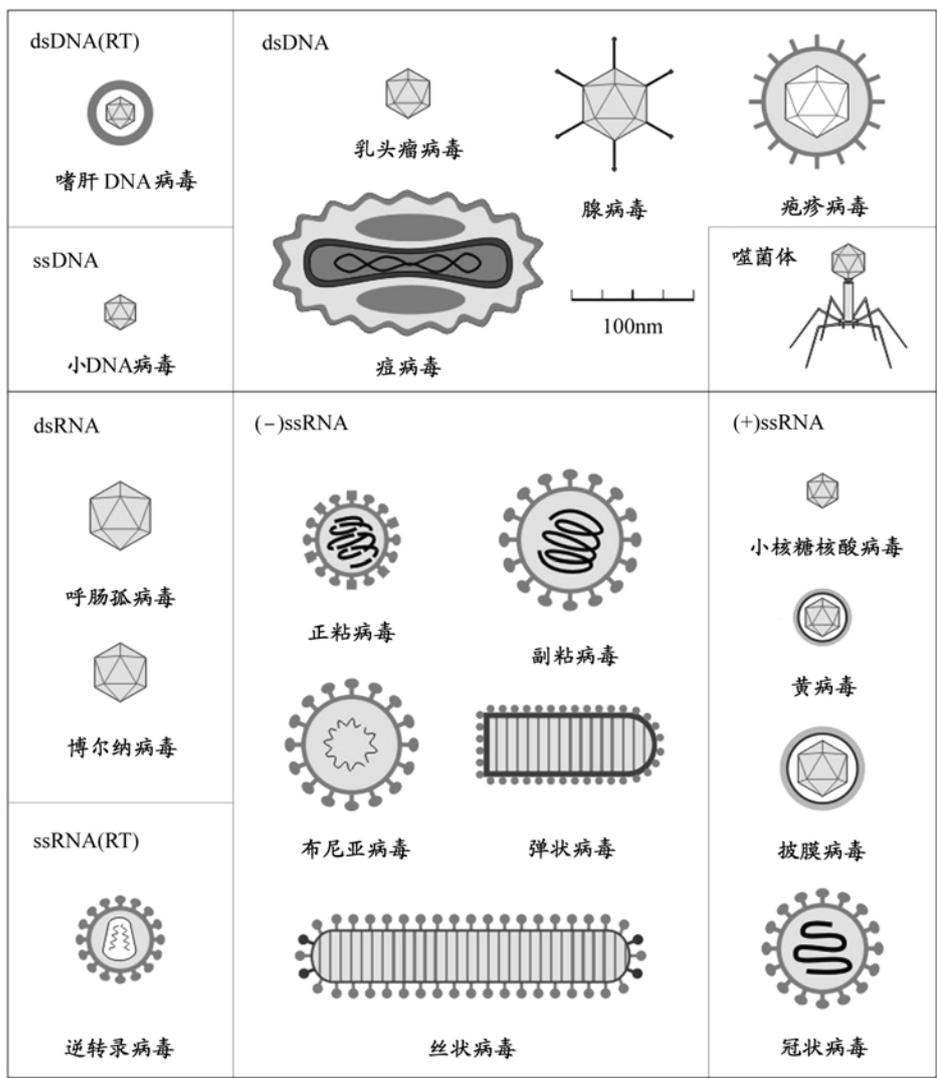


图 4-1 病毒的形态与结构模式图

病毒的形态 病毒的形态多种多样 (图 4-1)。绝大多数动物病毒呈球形或近似球形; 植物病毒多呈杆状或丝状 (某些动物病毒也呈丝状); 此外, 还有呈砖形 (痘病毒)、子弹形

(狂犬病病毒)；而噬菌体 (bacteriophage) 多呈蝌蚪形。有些病毒的形态比较固定，如小 RNA 病毒呈球形；但某些病毒的形态则是多形性的，如粘病毒 (orthomyxoviridae)，有球形、丝状和杆状。

二、病毒的结构及化学组成

病毒在形态和大小方面虽有很大差异，但其结构却有共同之处。病毒的结构可分为基本结构和辅助结构。

基本结构包括两部分，即病毒的核心 (viral core) 和衣壳 (capsid)，二者构成核衣壳 (nucleocapsid)。无包膜病毒的核衣壳就是病毒体 (图 4-2)。

病毒核心 (viral core) 是病毒体的中心结构，其成分主要由一种类型核酸即 DNA 或 RNA 组成。除核酸外还可能有少量病毒基因编码的非结构蛋白，也是病毒增殖中所需要的功能蛋白，如病毒核酸多聚酶、转录酶或逆转录酶等。病毒核酸的存在形式具有多样性。形状上有线状和环状之分。核酸构成可以是单链或双链，但也有分节段的。除微小 DNA 病毒外，DNA 病毒大多是双链；RNA 病毒大多是单链，但呼肠病毒除外。单链 RNA 有正链 (+ssRNA) 与负链 (-ssRNA) 之分。如果是 +ssRNA，可直接作为 mRNA；而 -ssRNA 则需先合成具有 mRNA 功能的互补链。单链 DNA 或为正链 (+ssDNA) 或为负链 (-ssDNA)。双链 DNA 或 RNA 均有正链和负链。病毒核酸大小不一，分子量约 $(16 \sim 160) \times 10^6$ 。核酸大小从 3kb~400kb 不等。如果平均 1kb 为一个基因，小病毒可能仅含 3~4 个基因，大病毒则可含几百个基因。病毒基因的转录与翻译均在细胞内进行，因其基因组组成与真核细胞基因相似，如基因组中有内含子，转录后需加工和剪接，这与细菌不同。

病毒核酸携带有病毒的全部遗传信息，决定了病毒的感染、增殖、遗传、变异等生物学性状，其主要功能有：

1. 病毒复制 病毒进入活细胞内，首先释放出核酸，自行复制，复制出更多同样的子代核酸。由病毒核酸转录生成病毒 mRNA，再以 mRNA 为模板翻译出病毒所需的蛋白质，包括病毒的酶类等非结构蛋白和病毒的结构蛋白。最后再由病毒核酸与蛋白质装配成具有感染性的完整病毒颗粒。

2. 决定病毒的特性 病毒核酸链上的基因密码储存着病毒全部遗传信息。由它复制的子代病毒体均保留着亲代病毒的特性，如形态结构、致病性、抗原性等。若病毒核酸链中发生碱基置换或移码突变等变异，则病毒的性状也发生变异。

3. 具有感染性 实验证实，有些病毒经化学方法除去衣壳蛋白所获得的核酸，仍具有感染性，进入宿主细胞后能引起感染。这种病毒核酸称为感染性核酸 (infectious nucleic acid)。其感染性比完整病毒体低，是因为它不易与细胞吸附，且易被体液中及细胞膜上的核酸酶降解。但因其不受相应受体限制，所以感染宿主范围比完整病毒广，例如脊髓灰质炎病毒不能感染鸡胚与小鼠细胞，但其感染性核酸对它们有感染能力。

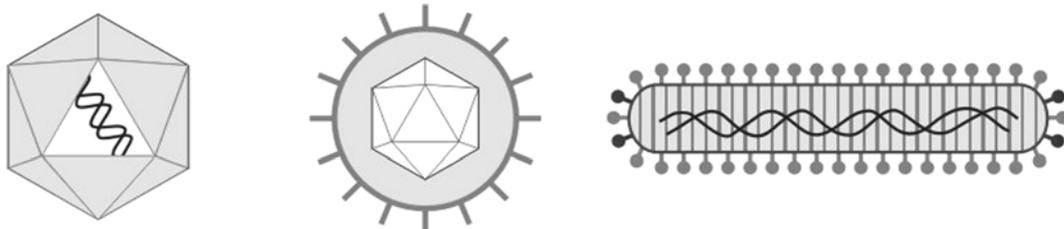
病毒衣壳 (viral capsid) 是包围在病毒核心外面的一层蛋白质结构。它是由一定数量壳粒 (capsomere) 组成的。壳粒是衣壳的形态学亚单位，在电镜下可以观察到壳粒呈对称排列。用 X 线衍射和化学检测，发现壳粒是由 1 个或多个多肽分子组成，因此多肽分子是衣壳的化学亚单位。

不同病毒核酸结构不同，壳粒数目和排列方式也不相同。根据壳粒的排列方式，病毒结构有下列几种对称型：

1. 螺旋对称型 (helical symmetry) 壳粒沿着螺旋形的病毒核酸链对称排列 (图 4-2), 如正粘病毒、副粘病毒及弹状病毒等。

2. 20 面体立体对称型 (icosahedral symmetry) 病毒核酸聚集成团, 其衣壳的壳粒呈立体对称排列, 构成有 20 个等边三角形的面、12 个顶角、30 个棱边的立体结构。在其棱边、三角形面及顶角上皆有对称排列的壳粒。大多数病毒顶角的壳粒由 5 个同样的壳粒包围称为五邻体 (penton); 而在三角形面上的壳粒, 周围都有 6 个相同的壳粒, 称为六邻体 (hexon)。不同病毒其壳粒数目也不相同, 例如腺病毒有 252 个壳粒, 而小 RNA 病毒仅有 32 个壳粒。这可作为病毒鉴别及分类的依据之一 (图 4-2)。

3. 复合对称型 (complex symmetry) 病毒体结构复杂, 既有立体对称又有螺旋对称形式, 如痘病毒和噬菌体。



无包膜二十面体对称型病毒

有包膜二十面体对称型病毒

有包膜螺旋对称型病毒

图 4-2 病毒二十面体立体对称型和螺旋对称型的模式图

衣壳的主要功能有: ①保护病毒核酸: 蛋白质组成的衣壳包绕着核酸, 可使核酸免遭环境中核酸酶和其他理化因素 (如紫外线、射线等) 的破坏; ②参与感染过程: 病毒引起感染首先需要病毒特异地吸附于细胞表面。无包膜病毒依靠衣壳吸附于细胞表面, 构成感染的第一步; ③具有抗原性: 衣壳蛋白具有良好抗原性, 当病毒进入机体后, 能引起特异性体液免疫和细胞免疫, 不仅有免疫防御作用, 有时也可引起免疫病理损伤。

某些种类病毒除具有上述基本结构之外, 还有下列辅助结构。

病毒包膜 (viral envelope) 是包绕在病毒核衣壳外面的双层膜。主要成分是蛋白质、多糖及脂类, 常以糖蛋白或脂蛋白形式存在。蛋白质是由病毒基因编码, 多糖、脂类来自宿主细胞膜、核膜或空泡膜。当有包膜病毒成熟并以“出芽” (budding) 方式释放时, 穿过并获得胞膜此部位的脂类、多糖成分和少许蛋白质而形成包膜。有些病毒其包膜表面有突起, 称为包膜子粒 (peplomer) 或刺突 (spike) (图 4-2), 赋予病毒一些特殊功能。例如, 流感病毒包膜上有血凝素 (hemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 两种刺突。HA 对呼吸道上皮细胞和红细胞有特殊的亲和力; NA 能破坏易感细胞表面受体, 便于病毒从细胞内释放。有包膜病毒对脂溶剂 (如乙醚、氯仿和胆汁) 敏感, 乙醚因其能破坏包膜而灭活病毒, 常被用于鉴定病毒有无包膜。有包膜病毒 (如呼吸道病毒) 因可被胆汁灭活, 故一般不能经消化道感染。

包膜的主要功能是: ①维护病毒体结构的完整性。包膜中脂类的主要成分是磷脂、胆固醇及中性脂肪, 它们能加固病毒体的结构; ②具有与宿主细胞膜亲和及融合的性能。病毒体包膜与细胞膜脂类成分同源, 彼此易于亲和及融合, 因此包膜与病毒入侵细胞及感染性有关; ③具有病毒抗原的特异性。病毒包膜中含有的糖蛋白或脂蛋白均具有抗原性, 如根据甲型流感病毒的 HA 的抗原性不同可划分亚型。

其他辅助结构 如腺病毒在 20 面体的各个顶角上有触须样纤维 (antennal fiber), 亦称纤维刺突或纤突, 能凝集某些动物红细胞并毒害宿主细胞。

三、研究病毒形态学的方法

电子显微镜检查法 透射电镜 (transmission electron microscope) 用于测量病毒大小、观察形态及病毒在细胞内增殖状态; 扫描电镜 (scanning electron microscope) 用于观察感染细胞表面的变化。

制作电镜标本的方法有磷钨酸钾负染色、铁蛋白抗体、免疫电镜及超薄切片等, 酌情选用。

超过滤法 用不同孔径的火棉胶滤膜过滤病毒悬液, 将获得的滤液接种于组织细胞、实验动物或鸡胚, 或用血凝反应来测定病毒是否通过滤膜, 从而估计病毒的大小。最近微孔滤膜被广泛使用。

超速离心法 病毒大小不同, 其沉降速度也不同。可用超速离心法测得病毒的沉降系数 (S), 借以计算病毒的大小。

X 线晶体衍射法 根据 X 线衍射图谱, 用数学方式来研究病毒结构的亚单位和分子结构等。但标本必须为结晶, 可用于无包膜病毒研究。

第二节 病毒的增殖

病毒不具有能独立进行代谢的酶系统, 因此只有进入活的易感宿主细胞内, 由宿主细胞提供合成病毒核酸与蛋白质的原料, 如低分子量前体成分、能量、必要的酶等, 病毒才能增殖。病毒增殖的方式不是二分裂, 而是自我复制。即以病毒核酸为模板, 在 DNA 多聚酶或 RNA 多聚酶及其他必要因素作用下, 合成子代病毒的核酸和蛋白质, 装配成完整病毒颗粒并释放至细胞外。病毒复制 (replication) 一般可分为吸附、穿入、脱壳、生物合成及装配与释放 5 个阶段, 称为复制周期 (replication cycle)。病毒经过复制产生大量的子代病毒, 而此时, 宿主细胞的生物合成则受到不同程度的抑制和破坏。

一、病毒复制周期

吸附 (adsorption) 吸附于宿主细胞表面是病毒感染的第一步。吸附主要是通过病毒体表面的配体蛋白与易感细胞表面特异性受体相结合。不同细胞表面有不同受体, 它决定了病毒的不同嗜组织性和感染宿主的范围, 如小 RNA 病毒衣壳蛋白特定序列能与人及灵长类动物细胞表面脂蛋白受体结合, 而腺病毒衣壳触须样纤维能与细胞表面特异性蛋白相结合。有包膜病毒多通过表面糖蛋白结构与细胞受体结合, 如流感病毒 HA 糖蛋白与细胞表面受体唾液酸结合发生吸附; 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 包膜糖蛋白 gp120 的受体是人 Th 细胞表面 CD4 分子; EB 病毒则能与 B 细胞 CD21 受体结合。常见病毒的宿主细胞受体如表 4-2。无受体细胞不能吸附病毒, 也不能发生感染。细胞含受体数不尽相同, 最敏感细胞可含 10 万个受体。吸附过程可在几分钟到几十分钟内完成。

穿入 (penetration) 病毒与细胞表面结合后, 可通过胞饮、融合、直接穿入等方式进入细胞。胞饮类似吞噬泡, 细胞内陷将病毒包进细胞浆内, 无包膜病毒多以胞饮形式进入易感染动物细胞内。融合是指病毒包膜与细胞膜融合, 包括病毒融合蛋白与细胞第二受体的作用, 如 HIV 与 CCR5 的结合。融合后再将病毒的核衣壳释放至细胞浆内。还有少数无包膜

病毒在吸附时某些蛋白衣壳的多肽成分发生改变，从而可直接穿过细胞膜。

表 4-2 常见病毒的宿主细胞受体

病 毒	病毒配体蛋白	细胞表面受体
脊髓灰质炎病毒	VP1	特异膜受体 (免疫球蛋白超家族成员)
鼻病毒	VP1	粘附因子 I (ICAM-1)
埃可病毒		连接素成员
柯萨奇 A 病毒		连接素成员
甲型流感病毒	HA	唾液酸
单纯疱疹病毒	gB、gC、gD	硫酸乙酰肝素聚糖及 FGF 受体
EB 病毒	gp350	CD21
人巨细胞病毒	CD13 样分子	MHC I 类抗原的 β_2m
人类疱疹病毒 6		CD46
人类免疫缺陷病毒	gp120	CD4、CCR5、CXCR4
狂犬病病毒	糖蛋白 G	乙酰胆碱受体
呼肠病毒	δ_1 蛋白	β -肾上腺素受体

脱壳 (uncoating) 病毒脱去蛋白衣壳后，核酸才能发挥作用。多数病毒穿入细胞后，在细胞溶酶体酶的作用下，脱去衣壳蛋白释放病毒核酸。痘病毒脱壳过程复杂，分为两步。先由溶酶体酶作用脱去外壳蛋白，再经病毒编码产生的脱壳酶脱去内层衣壳，方能使核酸完全释放出来。

生物合成 (biosynthesis) 病毒脱壳后，进入生物合成阶段，即病毒利用宿主细胞提供的环境和物质合成大量病毒核酸和结构蛋白。病毒核酸在细胞内复制的部位因核酸类型不同而不同。除痘病毒外，DNA 病毒都在细胞核内复制；除正粘病毒和逆转录病毒外，RNA 病毒均在细胞浆内复制。

生物合成一般分早期和晚期两个阶段。早期蛋白合成阶段是病毒早期基因组在细胞内进行转录、翻译而产生病毒生物合成中必需的酶类及某些抑制或阻断细胞核酸和蛋白质合成的非结构蛋白，以利于病毒进一步复制、阻断宿主细胞的正常代谢。晚期蛋白合成阶段是根据病毒基因组指令，开始复制病毒核酸，并经过病毒晚期基因的转录、翻译而产生病毒的结构蛋白。生物合成阶段用电镜方法在细胞内查不到完整病毒，用血清学方法也测不到病毒抗原，故被称为隐蔽期 (eclipse)。各病毒隐蔽期长短不一，如脊髓灰质炎病毒为 3~4 小时，而腺病毒为 16~18 小时。

根据病毒核酸类型不同、基因组转录 mRNA 及合成蛋白方式不同，将病毒的生物合成过程分为 6 个类型，即双链 DNA 病毒、单链 DNA 病毒、单正链 RNA 病毒、单负链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒及逆转录病毒。

1. 双链 DNA 病毒 dsDNA 病毒复制过程可分为早期和晚期两个阶段 (图 4-3)。早期阶段是病毒利用宿主细胞核内的依赖 DNA 的 RNA 多聚酶，转录早期 mRNA，再于胞浆内的核糖体翻译出早期蛋白。早期蛋白主要是非结构蛋白，包括 DNA 多聚酶、脱氧胸腺嘧啶激酶及调控基因和抑制细胞代谢的多种酶类，用于子代 DNA 的复制。晚期阶段包括子代

DNA 复制和晚期蛋白的合成。DNA 复制为半保留复制形式，即在解链酶作用下亲代 DNA 的双链解开为正、负两个单链；再分别以这两条单链为模板，利用早期合成的 DNA 多聚酶，复制出子代 DNA。然后以子代 DNA 分子为模板，转录晚期 mRNA，继而在胞浆核糖体内转译出病毒结构蛋白，主要为衣壳蛋白。

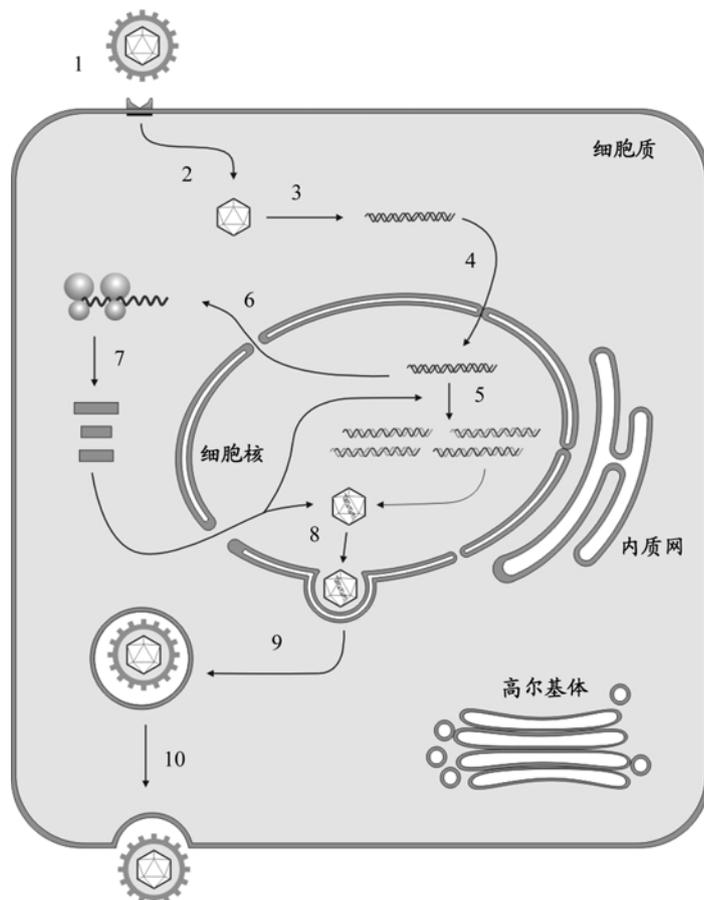


图 4-3 dsDNA 病毒复制示意图

以单纯疱疹病毒为例。(1) 病毒与细胞受体结合；(2) 病毒进入细胞，去包膜；(3) 脱壳；(4) 病毒 DNA 进入细胞核；(5) 病毒基因组复制，合成子代病毒及病毒 mRNA；(6) 以病毒基因转录的 mRNA 进入细胞质；(7) 病毒 mRNA 翻译病毒子代蛋白，包括早期蛋白和晚期蛋白；(8) 装配子代病毒；(9) 出核，同时披上包膜；(10) 释放到胞外

2. 单链 DNA 病毒 ssDNA 病毒种类很少，微小 DNA 病毒属此类。该类病毒生物合成时，首先以亲代 DNA 作模板，合成互补链，并与亲代 DNA 链形成 dsDNA，作为复制中间型 (replicative intermediate, RI)。然后解链，以半保留形式进行复制，并以新合成互补链为模板复制出子代 DNA，转录 mRNA 并翻译合成病毒蛋白质。

3. 单正链 RNA 病毒 人和动物的 RNA 病毒多为单链 RNA 病毒，除正粘病毒外，绝大多数的生物合成在宿主细胞浆内。+ssRNA 病毒如小 RNA 病毒、黄病毒和某些出血热病毒等。+ssRNA 本身具有 mRNA 功能，其 RNA 可直接附着于宿主细胞的核糖体上翻译早期蛋白，首先全基因组翻译出大分子多聚蛋白，在细胞或病毒编码的蛋白酶作用下切割成为功能蛋白及结构蛋白。但风疹病毒、冠状病毒等首先从 5' 端起始部分的 RNA 编码非结构

蛋白，如 RNA 聚合酶。 $+ssRNA$ 在该酶作用下，转录出与亲代互补的负链 RNA，形成双链 RNA ($\pm RNA$)，即复制中间型，其中以正链 RNA 为 mRNA 翻译病毒晚期蛋白，即衣壳蛋白及其他结构蛋白；以负链 RNA 为模板复制子代病毒 RNA，进而再装配与释放 (图 4-4)。

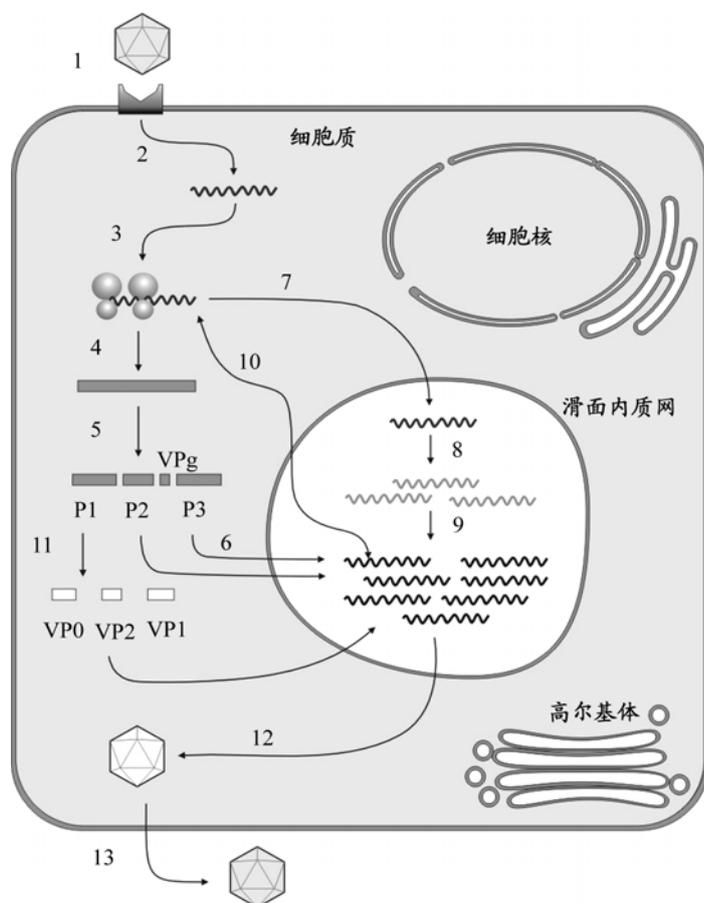


图 4-4 $+ssRNA$ 病毒复制示意图

以脊髓灰质炎为例。(1) 病毒体与细胞受体结合；(2) 脱壳；(3) RNA 与核糖体连接；(4) 合成多聚蛋白前体；(5) 多聚蛋白裂解成 P1 (病毒结构蛋白)、P2 和 P3 (蛋白酶、RNA 聚合酶)；(6) P2、P3 进入滑面内质网；(7) 正链 RNA 转运至滑面内质网；(8) 合成负链 RNA；(9) 以负链 RNA 为模板合成子代正链 RNA；(10) 一些正链 RNA 进入翻译系统；(11) P1 前体部分裂解成结构蛋白；(12) 子代病毒体形成；(13) 细胞溶解释放子代病毒

4. 单负链 RNA 病毒 大多数有包膜病毒属于 $-ssRNA$ 病毒，如流感病毒、狂犬病病毒等。因为这些病毒含有依赖 RNA 的 RNA 多聚酶，故能以病毒 RNA 为模板进行复制，但 $-ssRNA$ 却不能直接作为 mRNA 翻译病毒蛋白质。在生物合成过程中， $-ssRNA$ 首先转录出互补正链 RNA，形成复制中间体 ($\pm RNA$)，产生更多的正链 RNA，以其中部分正链 RNA 为模板复制出子代负链 RNA，部分正链 RNA 起 mRNA 作用，翻译出病毒的结构蛋白和非结构蛋白。

5. 双链 RNA 病毒 病毒的双链 RNA 在病毒自身依赖 RNA 多聚酶作用下转录出 mRNA，然后再翻译出早期蛋白或晚期蛋白。双链 RNA 在复制时，必须先以其原负链为模板

复制出正链 RNA，再由正链 RNA 复制出新的负链，构成子代 RNA。

6. 逆转录病毒 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 和人类 T 淋巴细胞白血病病毒 (HTLV) 是逆转录病毒 (retrovirus)。此类病毒自身携带有逆转录酶，其基因组独特，是由两条相同的正链 RNA 构成，称为单正链双体 RNA。其生物合成过程与其他单链 RNA 不同。首先以病毒 RNA 为模板，在逆转录酶的作用下合成 cDNA，构成 RNA:DNA 中间体。中间体中的 RNA 链由 RNA 酶 H 水解，DNA 链进入细胞核内，在 DNA 多聚酶作用下复制成双链 DNA。该双链 DNA 则整合至宿主细胞的染色体 DNA 上，成为前病毒 (provirus)，并可随宿主细胞的分裂存在于子代细胞内。前病毒在细胞核内逆转录出子代病毒 RNA 和 mRNA。mRNA 在胞浆核糖体上翻译出子代病毒的结构蛋白和非结构蛋白 (图 4-5)。

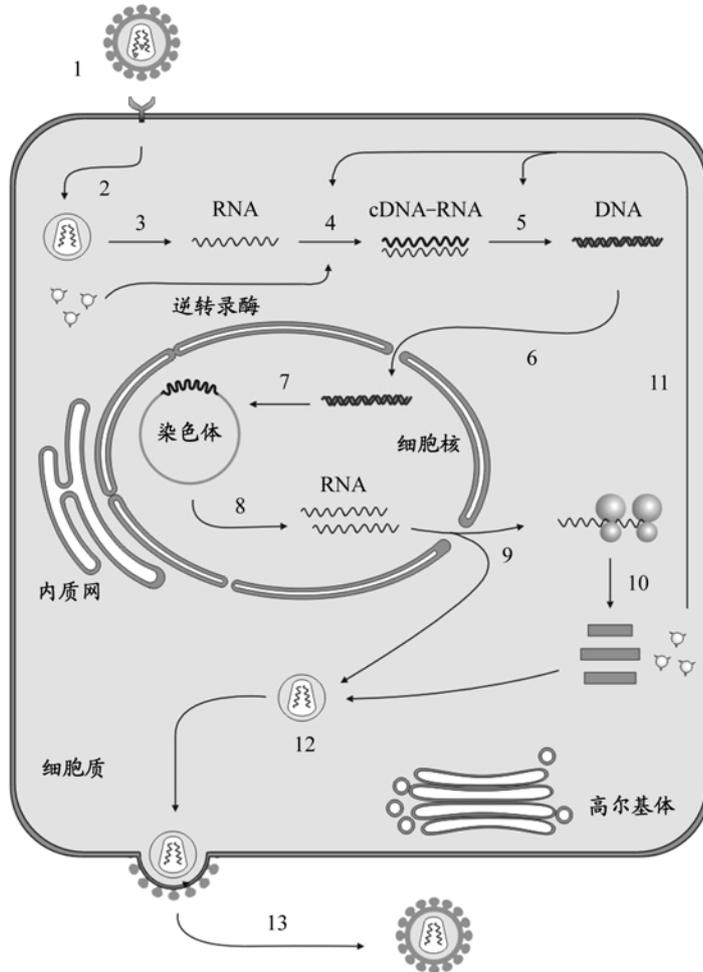


图 4-5 逆转录病毒复制示意图

以人类免疫缺陷病毒 (HIV) 为例。(1) 病毒体与细胞受体 (CD4) 结合；(2) 病毒进入细胞，去包膜；(3) 脱衣壳；(4) 以病毒基因组 (RNA) 为模板，由病毒逆转录酶作用逆转录合成 cDNA，形成中间体；(5) 以 cDNA 为模板合成双链 DNA；(6) 双链 DNA 进入细胞核；(7) 整合到宿主细胞染色体，成为前病毒；(8) 前病毒被激活，转录出子代 RNA；(9) 一部分子代 RNA 与核糖体结合，翻译子代蛋白，另一部分直接装配为子代病毒体；(10) 翻译子代结构蛋白和酶蛋白；(11) 合成的酶蛋白参与逆转录；(12) 子代病毒体形成；(13) 子代病毒获包膜并释放