

## 豚鼠类疱疹病毒的电子显微镜观察

蔡保健

(中国医学科学院流行病学防治研究所, 北京)

豚鼠类疱疹病毒对豚鼠常为隐性感染的病毒。近年来, 在使用豚鼠细胞进行病毒分离和传代时, 这种隐性的潜伏病毒时常出现。有些文献材料中报告了它的生物学、物理化学及血清学的性质, 目前都称它为“豚鼠类疱疹病毒”。<sup>[1-3]</sup>

这种病毒在人源细胞上无致病性, 对乙醚敏感, 不耐酸, 核酸型为 DNA 型。它在兔肾及豚鼠肾细胞上传代培养, 出现典型的疱疹病毒的病变。我们对从豚鼠骨髓细胞中分离出的疱疹病毒, 用超薄切片法进行了电镜观察, 对病毒颗粒的大小和形态, 以及在细胞内繁殖过程和病毒体的结构进行了研究。

### 材料和方法

#### 材料

① 豚鼠骨髓细胞和豚鼠肾细胞。

② 细胞培养液: 含 30% 过滤的新鲜小牛血清 199 培养液, pH7.6。

③ 细胞维持液: 45% 199 培养液, 加 45% 乳蛋白水解物, 及 10% 灭活小牛血清, pH7.4。

#### 方法

① 豚鼠骨髓细胞培养: 选用 150—200 克的豚鼠处死后, 取骨髓于细胞培养液中, 使每毫升含细胞数约为 600—800 万之间, 置 37℃ 温箱中培养。

② 从豚鼠骨髓细胞中分离出的疱疹病毒, 经生物学鉴定后, 在豚鼠肾单层细胞上传 6 代至 9 代, 分别取 24、48、72 小时的培养细胞, 供作电镜标本包埋用。

③ 电镜标本的制备: 用 2% 缓冲戊二醛 1% 缓冲四氧化锇将感染细胞两次固定, 用缓冲液充分漂洗, 经丙酮系列脱水, 以环氧树脂 \*618 包埋, 放 78℃ 烤箱聚合 36 小时后, 进行超薄切片并用电子显微镜进行观察拍照。

### 结 果

#### (一) 豚鼠类疱疹病毒在细胞核内的形态

在电镜下观察, 受感染的豚鼠肾细胞核电子密度明显增高, 并且出现大小为 40—50 毫微米的不规则致密颗粒。这些颗粒披上一层膜, 中心部分为病毒的核酸, 外面的膜为核衣壳, 其直径约为 70—90 毫微米。它的核酸部分有的呈现为空心圆形, 电子密度较低, 这种结构与核衣壳装配起来如同两层膜的同心圆。有的核酸则电子密度较高, 但形态不规则, 分别为“一字形”或“椭圆形”(图版 I-1)。它的第二层外膜大多是在核内形成的, 从电镜图象中可见第二层外膜在细胞核内的包被过程(图版 I-2)。形成第二层外膜的病毒颗粒, 大多数在细胞核的边缘, 靠近核膜附近, 其直径约为 130—150 毫微米。它透过核膜孔进入细胞浆(图版 I-3)。

#### (二) 在细胞浆中的形态

病毒颗粒在细胞核内基本形成后, 它进入到细胞浆的内质网池和隐液空泡中。在电镜下观察这种被感染的病变细胞时, 大多数细胞中的内质网膜和隐液空泡膜发生改变。这些膜状结构在胞浆中逐渐形成一条条电子密度较高的“宽带”。当这种“宽带”比较明显时, 可见到具有双层膜的病毒颗粒与“宽带”靠拢, 使病毒颗粒的第一层膜与第二层外膜之间, 装配上一层厚而致密的蛋白质, 此时形成了成熟的豚鼠类疱疹病毒颗粒。成熟的病毒颗粒, 通过细胞的裂解或透过细胞膜释放到细胞外(图版 I-4、5 图版 II-6)。

#### (三) 细胞外的豚鼠类疱疹病毒

成熟的豚鼠类疱疹病毒释放到细胞外, 形态为椭圆形, 中心部分为电子密度较高的核酸, 它由

本文于 1978 年 2 月 15 日收到。

两层膜包裹着, 两层膜之间比较致密。成熟的病毒颗粒, 其直径为 160—180 毫微米。在电镜下, 还可见到成熟的豚鼠类疱疹病毒通过细胞膜释放到细胞外的图象。细胞外的病毒颗粒表面比较光滑, 是成熟的完全病毒(图版 II-7)。

## 讨 论

用电镜观察豚鼠类疱疹病毒, 可见到它的形态结构与人型疱疹病毒和猴型疱疹病毒基本相同。病毒颗粒开始在细胞核中复制繁殖, 在细胞浆中装配完全。成熟后略为椭圆形。它的中心部分为病毒核酸, 外面由两层膜包裹着, 一层为核衣壳, 外面的一层为囊膜。两层膜之间电子密度较大, 是病毒的蛋白质结构。

Fong, C. K. Y. 等人, 曾对豚鼠类疱疹病毒在培养细胞中的包被与释放, 进行了超微结构的观察研究, 认为成熟了的核内病毒颗粒, 释放到核周围的油槽中, 然后穿过细胞浆内凹缝进入到细胞外空间<sup>[1]</sup>。我们从观察中, 见到在细胞核内具有双层膜的豚鼠类疱疹病毒颗粒, 并没有装配完毕。从图版 I-1、2 及图版 I-3 中, 可见病毒颗粒在细胞核内大多形成两层膜以后, 通过核膜孔进

入到细胞浆中。从图版 II-7 中可以看出, 细胞核内具有双层膜的病毒颗粒与细胞外的成熟病毒颗粒, 不论在大小和结构形态上, 都有明显的不同。通过反复的观察, 我们看到进入到胞浆中的病毒颗粒, 还再继续进行装配, 在病毒的核衣壳和外囊膜的两层之间, 形成一个致密层。这层电子密度较高的蛋白层, 是在细胞的内质网池和隐液空泡中形成。在图版 I-4 和图版 I-5 中, 可以看到它的装配过程, 从而构成了完全的豚鼠类疱疹病毒。因此, 我们认为在细胞核中的病毒颗粒是未完全分化成熟的病毒, 在细胞浆中再装配后才是完全的病毒。

## 参 考 文 献

- [1] Bhatt, P. N. et al.: *J. of Infectious Dis.*, 123: 178—189, 1971.
- [2] Cuendet, J. D. and V. H. Bonifas: *J. Gen. Virology*, 28: 199—206, 1975.
- [3] Hsiung, G. D., L. S. Kaplow and J. Booss: *Amer. J. Epid.*, 93: 298—307, 1971.
- [4] Fong, C. K. Y. et al.: *Virology*, 52: 468—477, 1973.