

某些动物病毒在宿主细胞内的繁殖特点

翟中和 潘维钧 马莱龄 刘素珍

(北京大学生物系, 北京)

王 宇 一

(中国农业科学院兰州兽医研究所, 兰州)

共研究了9种动物病毒在宿主细胞内的繁殖特点。

一、无囊膜的病毒粒子在宿主细胞内常呈晶格排列。经常可观察到A型口蹄疫病毒在胞质内呈晶格排列,但O型口蹄疫病毒却观察不到晶格排列。

二、观察到猪传染性水泡病病毒的特异装配形式。

三、病毒繁殖时,诸如线粒体、粗面内质网与溶酶体等重要细胞器超微结构的变化,似与病毒的分类地位无关。

四、大多数RNA病毒繁殖时,宿主细胞核的超微结构变化明显,而DNA病毒繁殖时,宿主细胞核早期超微结构的变化不显著。

五、动物病毒感染时能引起宿主细胞内出现一些新的结构,除毒浆结构(Viroplast)外,还有层板膜结构,微管与微纤维。

病毒在宿主细胞内繁殖,主要依靠宿主细胞内的结构装置与酶系统,并利用宿主细胞内的“原料”与能量,合成病毒自身的核酸与蛋白质,进行装配与释放。病毒的繁殖过程,是病毒与宿主细胞相互作用的极为复杂的过程。根据以上的认识,我们研究了9种不同类型的脊椎动物病毒在宿主细胞(主要是组织培养细胞)内的繁殖,以及致细胞超微结构的改组与病变,希望能为病毒复制这一有意义的生物学问题提供更多的依据。

9种病毒中7种是RNA病毒,2种是DNA病毒。7种RNA病毒是:A型口蹄疫病毒与O型口蹄疫病毒(小RNA病毒科,鼻病毒属)、科萨奇B₁病毒,人肠道孤儿病毒(ECHO)、猪传染性水泡病病毒(以上属小RNA病毒科,肠道病毒属)、牛流行热病毒(弹状病毒属)、猪瘟病毒(披盖

病毒科)。2种DNA病毒是:人腺病毒(腺病毒属)与火鸡疱疹病毒(疱疹病毒属)。

材 料 与 方 法

(一) 材料

1. A型口蹄疫病毒与O型口蹄疫病毒均为实验室保存的毒种,在猪肾原代组织培养细胞与仓鼠肾原代组织培养细胞传代。当细胞病变率达50%时取材。

2. 科萨奇B₁病毒是由昆明医学生物研究所提供的毒种,先经猴肾原代组织培养细胞传5代,又在仓鼠肾原代细胞传7代的病毒,当细胞病变达50—70%时取材。

3. 肠道孤儿病毒(ECHO)是由昆明医学生物研究所提供的毒种,于猴肾原代组织培养细胞传代,当细胞病变达70%时取材。

本文于1980年2月25日收到。

4. 猪水泡病病毒是实验室保存的毒种, 于仓鼠肾原代组织培养细胞传代, 当细胞病变达 50% 时取材。

5. 牛流行热病毒是由北京兽医院与北京农业大学从牛体分离, 先经乳鼠传代, 再经 BHK21 细胞系传代, 细胞病变约 50% 时取材。

6. 猪瘟病毒是中国猪瘟兔化弱毒, 由农业部兽医药品监察所提供。于仔猪肾原代组织培养细胞传 2—3 代, 猪瘟病毒在细胞内繁殖时, 不引起宿主细胞发生病变 (CPE)。细胞在接毒后 13 天取材。

7. 腺病毒由中国医学科学院病毒学研究所提供毒种。在人胚肾原代组织培养细胞传代, 细胞病变达 50—70% 时取材。

8. 火鸡疱疹病毒是由法国进口的鸡马立克氏病的天然弱毒疫苗, 在鸡胚原代组织培养细胞传代, 细胞病变达 50% 时取材。

(二) 方法

以上病毒在组织培养细胞上繁殖时, 均经过病毒滴度测定, 滴度达到要求后取材。被上述病毒感染组织培养细胞, 用 1—2% 的戊二醛与 1% 锇酸先后固定, 冲洗与脱水后用环氧树脂“618”或“812”包埋, 超薄切片经醋酸双氧铀与柠檬酸铅双重染色后在透射式电子显微镜下观察。生长在盖玻片上的组织培养细胞被病毒感染后, 用 2—4% 戊二醛固定, 脱水干燥后, 用铂喷镀, 在扫描电子显微镜下观察。

结果与讨论

以上 9 种病毒在细胞内繁殖时, 除猪瘟病毒不引起显微镜下可见的致细胞病变 (CPE) 外, 其它 8 种病毒均能引起宿主细胞的明显病变。正常原代组织培养细胞在扫描电子显微镜下的形态均不甚规则, 呈多形态形。无论是原代组织培养细胞或传代组织培养细胞, 一般均可观察到形状与大小不一的细胞表面突起, 而被病毒感染后细胞发生病变的基本特征是变圆, 细胞表面突起消失 (图版 I-1), 最终细胞裂解。

综合多年电子显微镜观察结果, 分别

叙述如下:

(一) 病毒在宿主细胞内繁殖的基本特征

1. 有几种 RNA 病毒, 如猪水泡病病毒、科萨奇病毒与牛流行热病毒等, 在细胞内繁殖时, 可观察到特异的胞质毒浆结构; 而 2 种 DNA 病毒繁殖时, 可观察到胞核内毒浆结构。毒浆结构是由大量微细均一的颗粒组成, 病毒的装配经常在毒浆结构周缘进行。

2. 猪水泡病病毒与科萨奇 B₁ 病毒装配时, 在细胞质内可观察到特异的“装配形态结构”, 与内质网的结构改组有密切的关系。在毒浆结构周缘或附近, 病毒颗粒在内质网泡膜的凹陷处呈串珠状排列 (图版 I-2、3), 这种装配的结构形式, 在文献上尚未见到。

3. A 型口蹄疫病毒、猪水泡病病毒、科萨奇 B₁ 病毒能在细胞质内形成晶格排列 (图版 II-1), 腺病毒能在细胞核内形成晶格排列 (图版 III), 而牛流行热病毒、猪瘟病毒与火鸡疱疹病毒在细胞内未见到形成晶格排列。动物病毒粒子能否在细胞内形成晶格排列似乎与病毒粒子有无囊膜有关, 有囊膜的病毒不易形成晶格排列。

A 型口蹄疫病毒与 O 型口蹄疫病毒虽属同一个种的不同血清型, 均无囊膜, 但从未观察到 O 型口蹄疫病毒晶格排列现象, 而经常可观察到 A 型口蹄疫病毒的晶格排列。

(二) 病毒感染与重要细胞器的超微形态变化

1. 线粒体: 口蹄疫病毒、科萨奇 B₁ 病毒、ECHO 病毒与牛流行热病毒在感染细胞早期, 宿主细胞线粒体就发生明显的形态变化, 尤以口蹄疫病毒引起宿主细胞线粒体的变化极为复杂。被猪水泡病病毒、腺病毒与火鸡疱疹病毒等感染的细胞, 其

线粒体变化开始不明显,甚至在病毒大量繁殖时,线粒体仍保持精细的结构(图版 I-2、3),仅在病毒释放后,线粒体才发生明显变化。从宿主细胞线粒体形态的变化看不出与病毒的分类地位有明显的关系。

2. 粗面内质网: 内质网的膜距离变宽与内质网空泡化是所有病毒感染的细胞的共同特征(图版 II-2)。猪瘟病毒感染的细胞的内质网变化也不例外。但病毒感染引起的内质网膜距变宽或空泡化与一般细胞的病变不一样^[1],不发生核糖体的脱落与消失现象,可能是因为病毒繁殖时必须利用宿主细胞的内质网合成病毒自身的结构蛋白,内质网的形态变化仅仅反映某些功能与结构的改组。当病毒从细胞释放时,内质网空泡膜上的核糖体才逐渐消失。

猪瘟病毒与牛流行热病毒感染细胞后能明显地诱导细胞内产生特异的聚核糖体,与其它病毒诱导宿主细胞产生聚核糖体类似^[2]。

3. 溶酶体: 被病毒感染的细胞,由于吞噬与吞饮作用加强,吞噬泡与吞饮泡不断增多,在细胞病变过程中,大量吞饮细胞内的物质不能及时被消化吸收,而与溶酶体融合,形成大量的、各种形态的二级溶酶体或复合溶酶体。

宿主细胞重要细胞器的形态变化与病毒的分类地位无明显关系。

(三) 病毒感染与宿主细胞核

1. RNA 病毒的繁殖与宿主细胞核的形态变化: RNA 病毒虽然是在细胞质内繁殖,但宿主细胞核的超微形态变化却是很明显的。因此, RNA 病毒对细胞的作用不限于细胞质,而是细胞整体。当 RNA 病毒侵入细胞,并开始繁殖时,核经常发生的变化是: 核仁消失,染色质凝聚在核膜内侧,双层核膜距离变宽,甚至核外膜突起形成泡状。核膜孔的孔径变大(图版 II-2)。

被 A 型口蹄疫病毒感染的细胞核内染色质虽无明显凝聚现象,但经常发生核膜内陷,甚至使核呈多瓣形。因此,可以认为,当 RNA 病毒在细胞质内繁殖时,必然影响到细胞质与核之间关系的变化。

2. DNA 病毒的繁殖与细胞核: 无论是腺病毒还是火鸡疱疹病毒在细胞核内大量繁殖时,核的形态变化反而不象 RNA 病毒那样明显,双层核膜保存相当完整(图版 III),核结构相对的完整性对 DNA 病毒在核内繁殖可能是必要的条件。我们所观察到的一些现象与其它病毒有不少类似之处^[3]。

(四) 病毒繁殖与宿主细胞内某些新结构的形成

病毒在细胞内繁殖的某些阶段,宿主细胞内常常出现一些新的结构,这些结构在正常的细胞内一般比较少见或数量极少。

1. 层板膜结构(或膜螺旋结构): 在很多病毒感染的细胞内经常能观察到相当数量的层板膜结构(图版 IV-1、2),其螺旋层次可由数层到数十层,大小悬殊很大。

2. 微管状结构: A 型口蹄疫病毒感染的细胞内可观察到大量很长的微管状结构(图版 IV-3),这种微管往往成束。而牛流行热病毒与猪水泡病病毒感染的细胞质内仅可观察到较细与短的微管状结构,其它病毒较少见。

3. 微纤维结构: 很多病毒感染的细胞质内均能观察到微纤维结构,一般分布在细胞质的外质部位。牛流行热病毒感染的细胞内产生的微纤维结构的数量很多,经常集中在细胞质的一个区域,有时分布在近核膜外周区,而且很有特异性(图版 IV-4)。

以上这些新结构的发生与形成,在其它病毒感染的细胞内也能见到^[4],但这些

结构在病毒繁殖过程中究竟有什么作用，是值得探索的问题。

参 考 文 献

[1] Ghacchally, F. N.: Ultrastructural Patho-

logy of the Cell, Butterworths, 1975, 222

[2] Rich, A.: The Living Cell, New York, 1975, 167—168.

[3] Heine, U.: The Cell Nucleus, ed. by Busch, H. Vol. III, 1974.

[4] Быковский, А. Ф.: Атлас Вирусной Цитопатологии, Медгиз, Москва, 1975.

STUDIES ON THE MORPHOGENESES OF SEVERAL ANIMAL VIRUSES IN THE HOST CELLS

Zhai Zhonghe Pan Weijun Ma lailing Liu Suzhen

(Department of Biology, Peking University)

Wang Yuyi

(Lanzhou Veterinary Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences)

The morphogeneses of 9 spp. animal viruses in host cells in culture were studied, and the results were summarized as follow:

1. Virions without envelopes usually arranged in crystalline pattern in host cells. FMD(A) virions arranged in the same pattern, but FMD (O) virions did not arranged in that way.

2. The assembled structure of SVDV (Swine vesicle disease virus) was observed. Its pattern and site of formation in the vesiculae of endoplasmic reticulum were noted.

3. When viruses multiplied in the

host cells, changes of important organelles such as mitochondria, rough endoplasmic reticulum and lysosomes were observed. It seemed that there was no direct relation between these structural changes and the taxonomic position of the viruses.

4. The ultrastructural changes in the nucleus of RNA virus-infected cells were still more significant than those taken place in DNA virus-infected cells.

5. Multiplication of the animal viruses stimulated the host cells to produce some new structures such as viroplast, microtubules, fibres and myelinoid bodies.