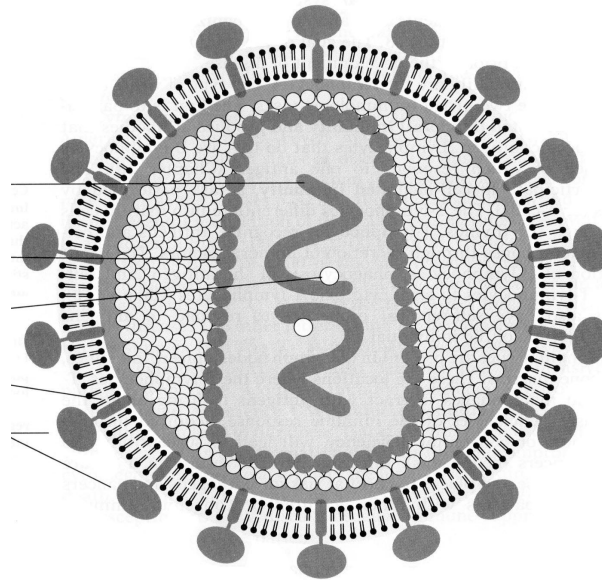


2.4 非细胞型生物--病毒



病毒学发展史

- ❖ 1892年伊万诺夫斯基首次发现烟草花叶病的感染因子能通过细菌滤器
- ❖ 1898年，荷兰生物学家贝哲林克（M.W.Beijerinck）定为病毒
- ❖ 1935年，斯坦莱Stanley分离提纯了TMV结晶
- ❖ Bawden提示了TMV实质是核蛋白
- ❖ 1940年，Kausche用电镜看到了TMV的杆状外形
- ❖ 1952年Kershey 和Chase噬菌体遗传物质是DNA
- ❖ 1955年，Franenkel---conrat 完成病毒拆开实验



病毒学(virulogy)发展史

- 1960年, Anderer弄清了TMV外壳蛋白亚基AA排序
- 1965年, Spiegelma首次在细胞外复制E.coly噬菌体
- 1970年, Baltimore和 Temin发现反转录酶1
- 以后相继发现了亚病毒, 朊病毒, 拟病毒并相继测出各类病毒核酸一级结构
- 完成了几种病毒基因组的测序并将完成所有病毒测序



■ 病毒：是一类没有细胞结构，但有遗传复制等生命特征，主要由核酸和蛋白质组成的大分子生物。

❖ 病毒几乎可以感染所有的细胞生物。病毒的宿主范围是病毒能够感染并在其中复制的宿主种类和组织细胞种类。

❖ 病毒又具有宿主特异性，即就某一种病毒而言，它仅能感染一定种类的微生物、植物或动物。

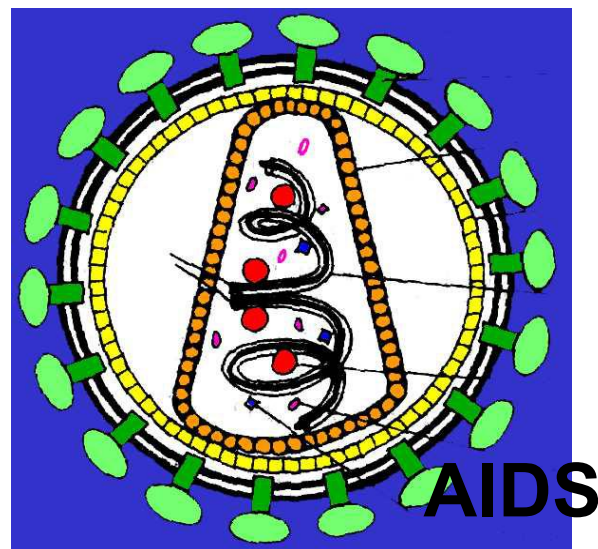
研究病毒的重要意义：

1. 是控制和消灭有害病毒，病毒威胁着人类健康和家养动物养殖业，病毒性疾病对国民经济造成严重的影响，发酵工业中的噬菌体污染会严重影响发酵生产；
2. 是病毒的研究和利用价值，主要表现为改良品种，培育活病毒疫苗株，保护生态环境，利用病毒作为昆虫杀虫剂，基因工程研究的重要载体。

1病毒的形态结构及主要类群

1. 1病毒的基本特点

- 个体微小
- 结构简单
- 高度寄生性
- 繁殖方式独特
- 特殊的抵抗力

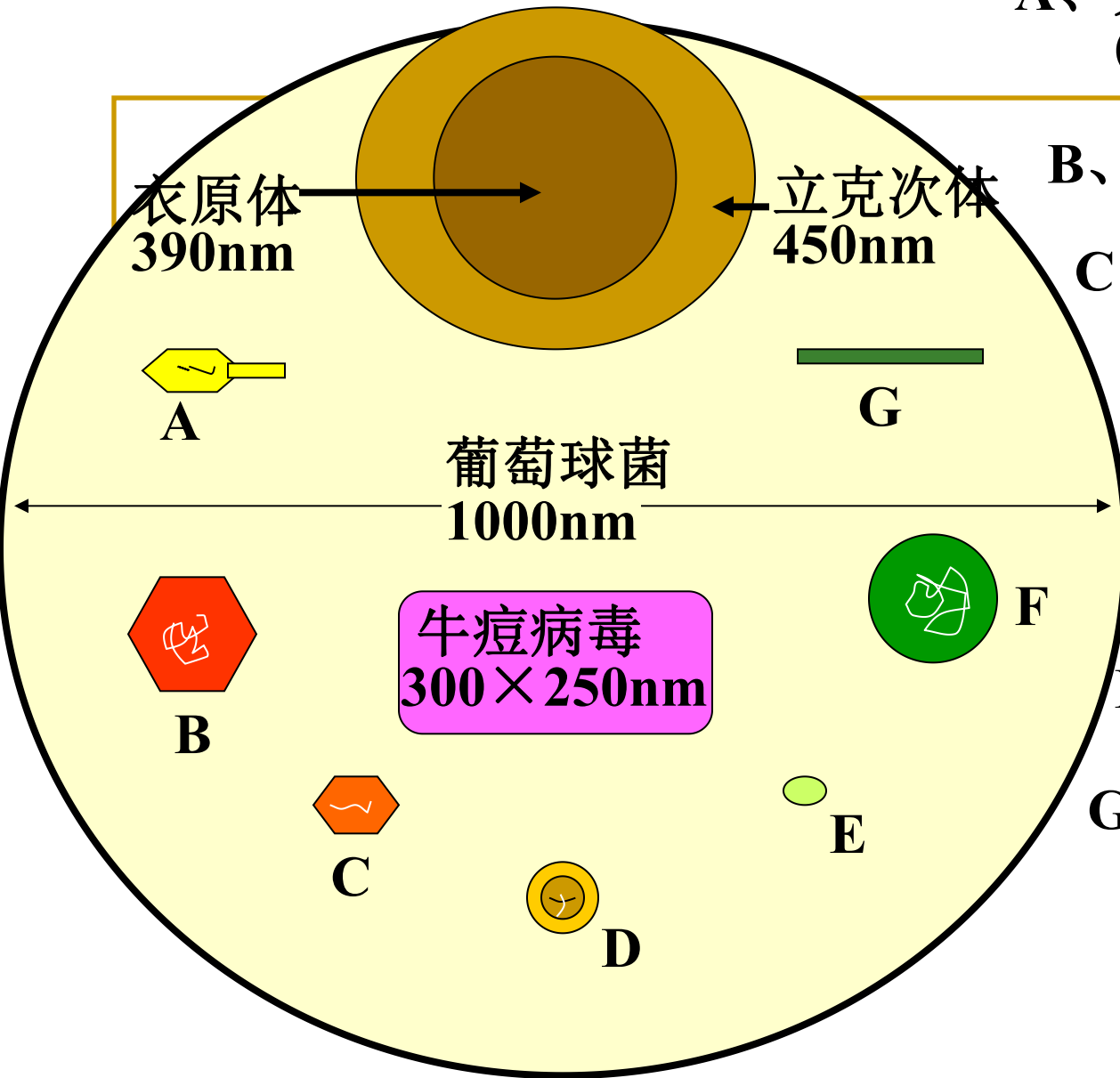


1. 2病毒的大小与形态

病毒的大小：

- 病毒的大小可采用不同方法进行研究。大多数病毒比细菌小得多，但比多数蛋白质分子大，直径在10—300nm之间，通常在100nm左右。

微生物的大小比较



A、大肠杆菌噬菌体
($65 \times 95\text{nm}$)

B、腺病毒 (70nm)

C、脊髓灰质炎病毒
(30nm)

D、乙脑病毒 (40nm)

E、蛋白分子 (10nm)

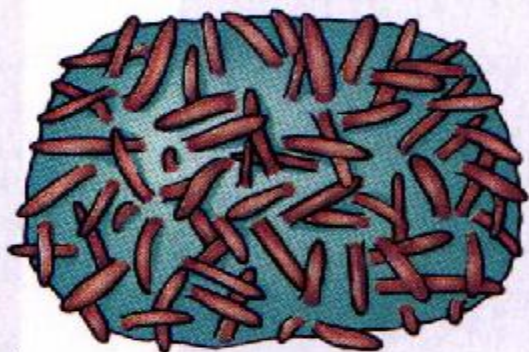
F、流感病毒 (100nm)

G、烟草花叶病毒

病毒的形态

有球状、棒杆状、蝌蚪状和丝状等，但以近似球形的多面体和杆状为主。

- 人、动物、真菌病毒：多呈球形如腺病毒、蘑菇病毒；少数弹状或砖状如弹状病毒；
- 植物病毒和昆虫病毒：多呈丝状或杆状如烟草花叶病毒、家蚕核型多角体病毒，少数呈球状如花椰菜花叶病毒；
- 细菌病毒（噬菌体）多为蝌蚪形（ T_2 、 T_4 ），也有丝状（fd、 M_{13} ）和球状（ MS_2 ）。



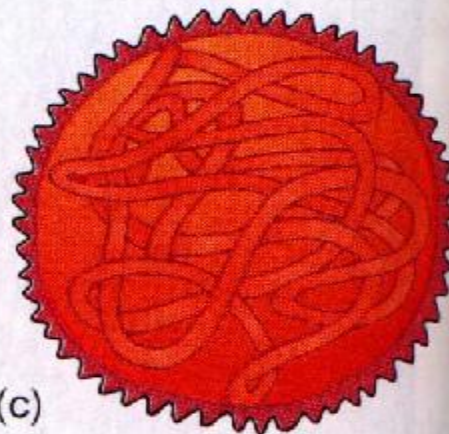
(a)

痘病毒



(b)

弹状病毒

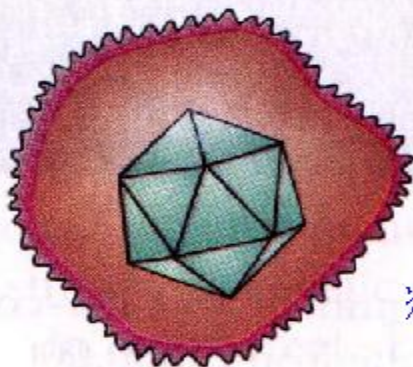


(c)

粘病毒



曲尾噬菌体



(e)

疱疹病毒



(f)

腺病毒



(g)



痘病毒
(卵圆形)



E. coli T₄ 噬菌体
(蝌蚪状)



烟草花叶病毒
(杆状)



天花病毒
(砖形)



狂犬病毒
(弹状)

病毒的形体极其微小，结构简单，但它们的个体形状却是形态各异，丰富多彩。



脊髓灰质炎病毒
(球形)



fd 噬菌体
(丝状)

病毒区别于其他生物的主要特征：

1. 无细胞结构，仅含一种类型的核酸--DNA或RNA，至今尚未发现二者兼有的病毒。
2. 大部分病毒没有酶或酶系统极不完全，不含催化能量代谢的酶，不能进行独立的代谢功能。
3. 严格的活细胞内寄生，没有自身的核糖体，不能生长，无二均分裂，必须依赖宿主细胞进行自身的核酸复制，形成子代。

4. 个体极小，能通过细菌滤器，在电子显微镜下才可看见。

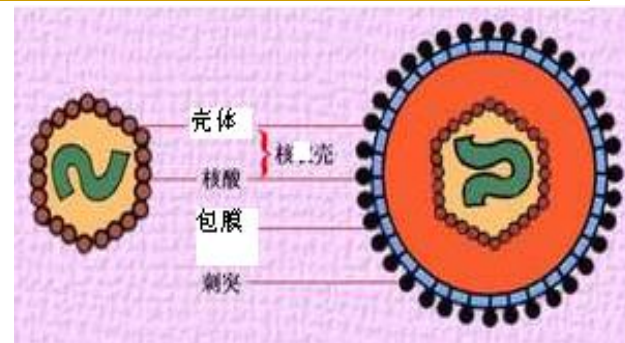
5. 在寄主细胞内的病毒对各种化学药剂和抗菌生素不敏感。

原核微生物与病毒的比较

特征	细菌	支原体	立克次氏体	衣原体	病毒
直径/ μm	0.5-2.0	0.2-0.25	0.2-0.5	0.2-0.3	<0.25
可见性	光学显微镜可见	光学显微镜勉强可见	光学显微镜可见	勉强可见	电镜可见
过滤性	不能	能	不能	能	能
革兰氏染色	阳或阴性	阴性	阴性	阴性	---
细胞壁	有	无	有	有	无
繁殖方式	二均分裂	二均分裂	二均分裂	二均分裂	复制
培养方式	人工培养基	人工培养基	宿主细胞	宿主细胞	宿主细胞
核酸种类	DNA和RNA	DNA和RNA	DNA和RNA	DNA和RNA	DNA或RNA
对抗生素敏感性	敏感	敏感(对青霉素不敏感)	敏感	敏感	不敏感
干扰素敏感性	敏感	不敏感	不敏感	敏感	敏感

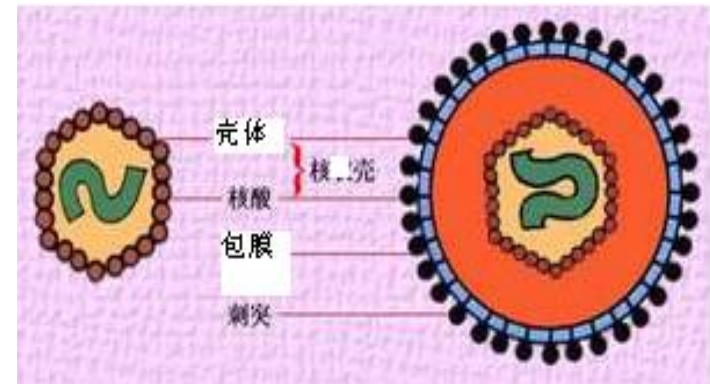
1.3 病毒的结构与化学组成

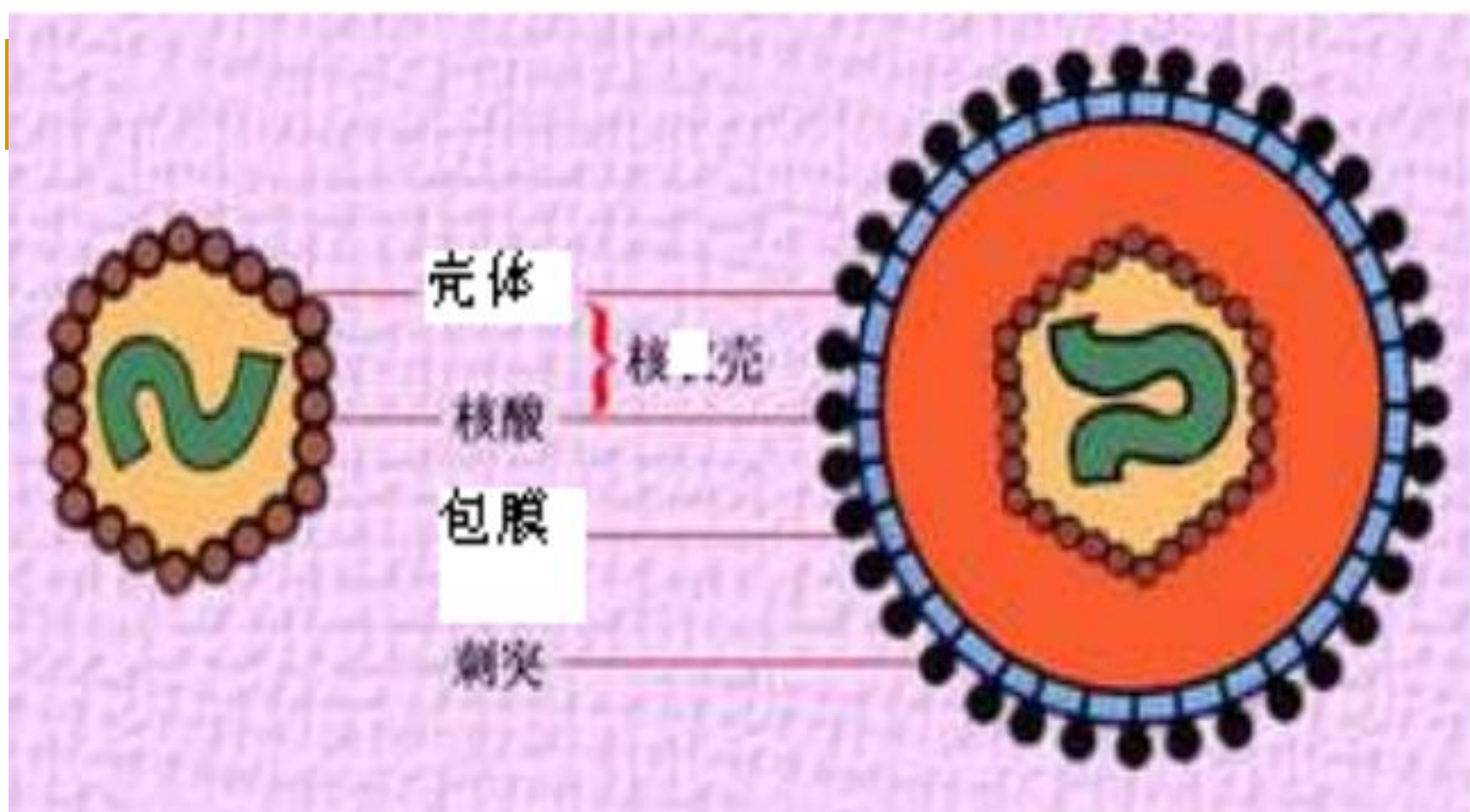
(或)病毒粒子的结构



- 病毒粒子：系指成熟的或结构完整、具有侵染力的病毒颗粒。
- 病毒主要由壳体和核酸组成。壳体和核酸统称为核壳。
- 有包膜（由脂肪或蛋白组成）的病毒和某些无包膜的病毒除核酸和蛋白质外，还含有脂类和碳水化合物。
- 有的病毒还含有聚胺类化合物，无机阳离子等组分。

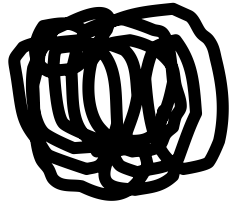
- 壳粒：是构成病毒粒子的最小形态单位，由一种或多种肽链分子折叠缠绕而成的蛋白质亚单位。
- 包膜：有些病毒除核壳外，在其外层还包裹着一层构造比较复杂的包膜即为包膜。它由脂类或蛋白组成。
- 刺突：有些病毒粒子表面，尤其是在有包膜的病毒粒子表面具有突起物，称刺突。



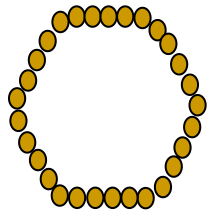


病毒基本结构

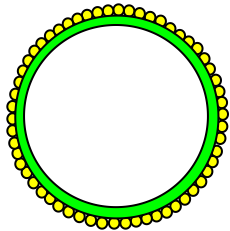
- 核心：核酸 → 基因组genome → 决定病毒遗传、变异和复制



- 壳粒capsomere → 壳体capsid → 保护、介导、抗原性



- 包膜envelope, 包膜子粒peplomere（刺突spike） → 保护、介导、抗原性



病毒粒子

核衣壳
(基本结构)

芯髓
(核酸)

基因组: DNA/RNA
双股/单股
分段/不分段

衣壳

壳粒
(形态亚单位) → 多肽
结构亚单位)

囊膜有刺突
(非基本结构)

病毒粒子的组成及成分

核壳的对称形式

Symmetry of Nucleocapsid

螺旋对称型 (Helical Symmetry) : 单链RNA病毒, 如直杆状 (TMV)、弯杆状 (马铃薯X病毒)、线状 (大肠杆菌噬菌体f1)。

- 二十面体立体对称型 (Icosahedral Symmetry) : 大部分动物病毒和少数植物病毒
- 复合对称型 (Complex Symmetry) : 由头部 (二十面体立体对称) 和尾部 (螺旋对称) 组成。T_{2n}噬菌体

螺旋对称 (helical symmetry) 壳体:

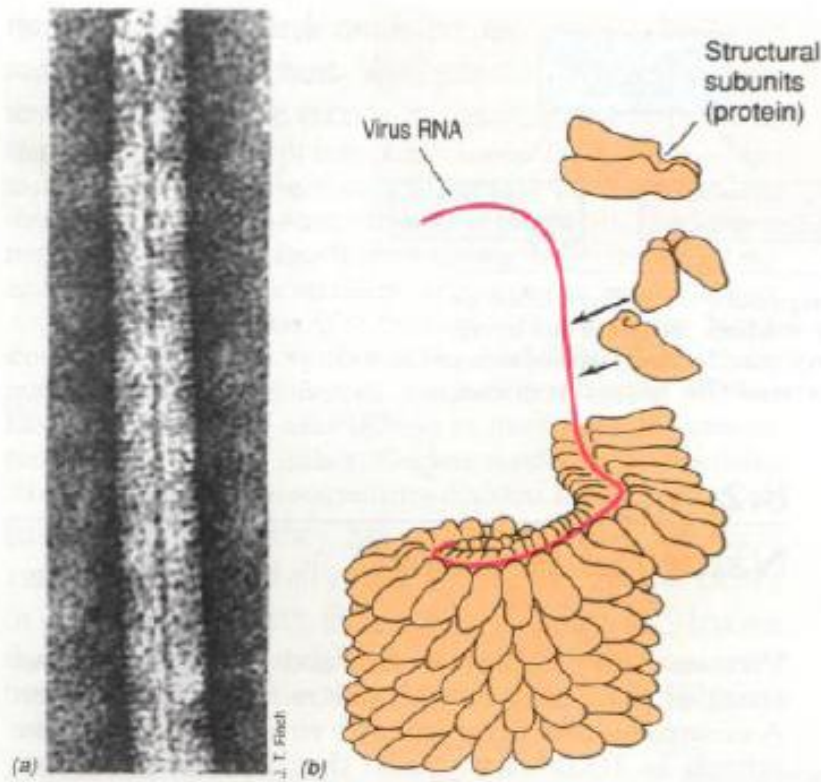
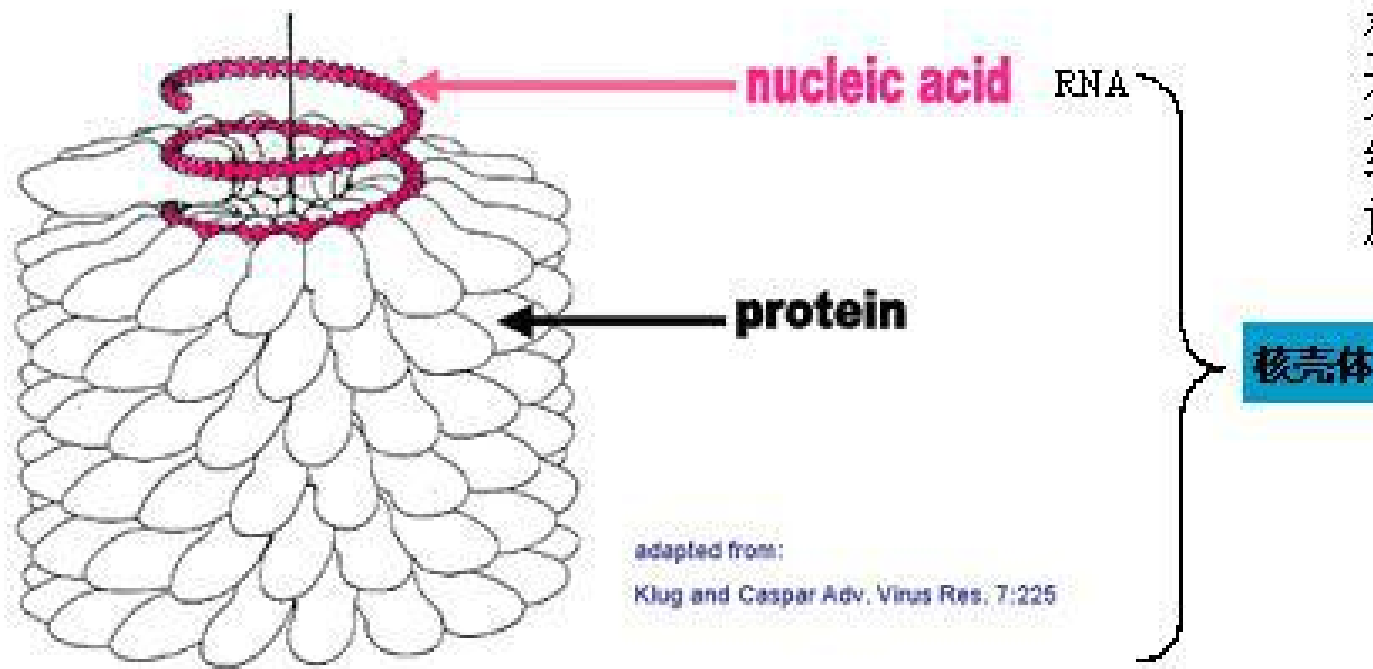


Figure 8.2 An example of the arrangement of virus nucleic acid and protein coat in a simple virus, tobacco mosaic virus. (a) Electron micrograph at high resolution of a portion of the virus particle. (b) Assembly of the tobacco mosaic virion. The RNA assumes a helical configuration surrounded by the protein capsid. The center of the particle is hollow.

亚基有规律地沿着中心轴
(核酸) 呈螺旋排列, 进
而形成高度有序、对称的
稳定结构。

此形状多为RNA病毒,
具螺旋对称的动物病毒
多有包膜。

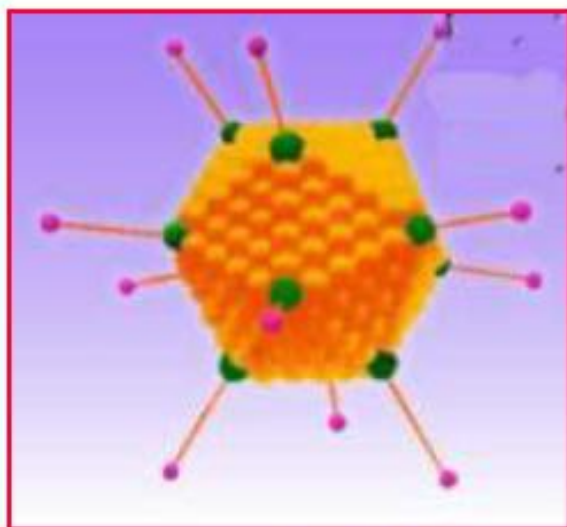
TOBACCO MOSAIC VIRUS



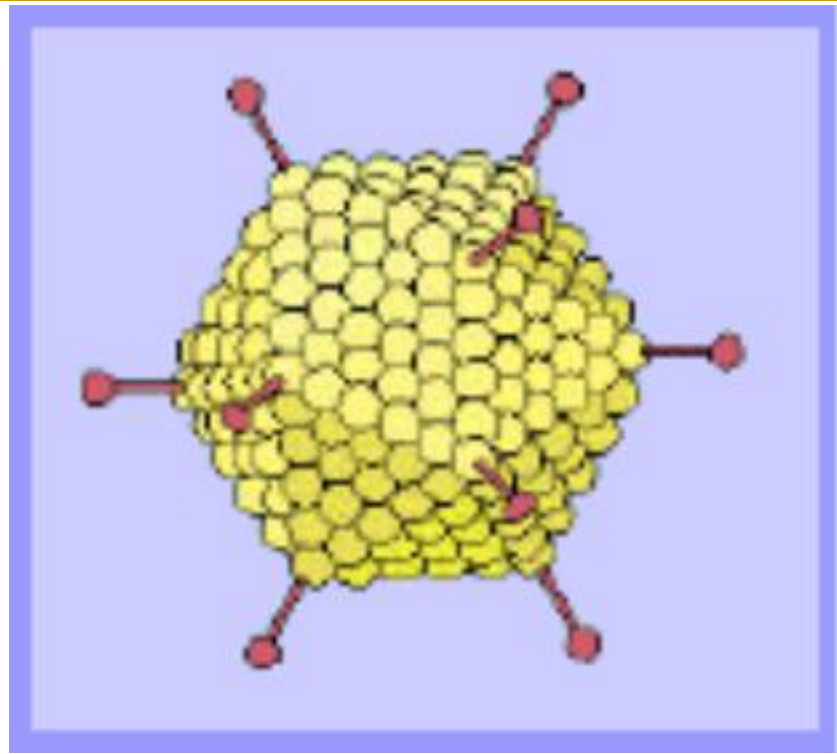
烟草花叶病毒的杆状壳体由2130个壳粒螺旋排列而成，大约有130个螺旋。

螺旋对称的代表——烟草花叶病毒

二十面体对称(icosahedral symmetry)壳体:

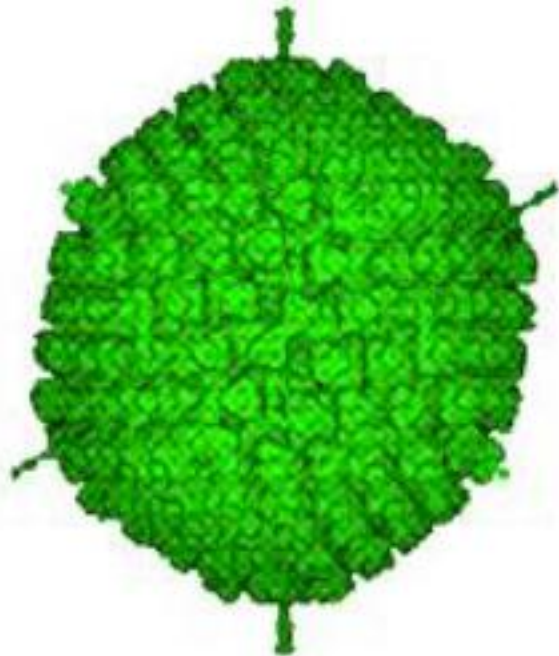


- 1)球或近球形，没有包膜，直径70–80nm。
- 2)高倍电镜下为多面体，它有12个角，20个面，30条棱。呈5（角）：3（面）：2（线）轴对称结构。
- 3)衣壳由252个衣壳粒组成，每个衣壳粒通常是由5个或6个蛋白质亚基聚集形成。有12个称做五邻体（**penton**）的衣壳粒（分子量各为70000Da），位于12个角上。每个五邻体上突出一根末端带有顶球的蛋白纤维，称为触须样纤维（也叫刺突）。有240个六邻体（**hexon**）（分子量各为120000Da）位于均匀分布在20个面上。



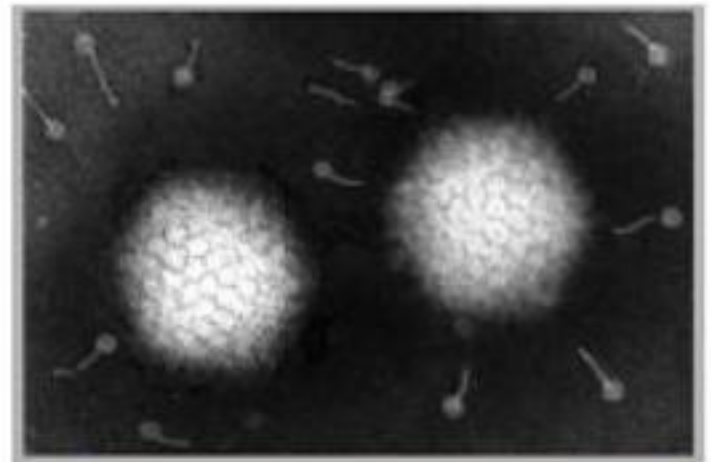
二十面体对称的代表——腺病毒

腺病毒二十面体对称
的模式图及负染显微照片。



P. Stewart, K. Burnett & S.D. Fuller

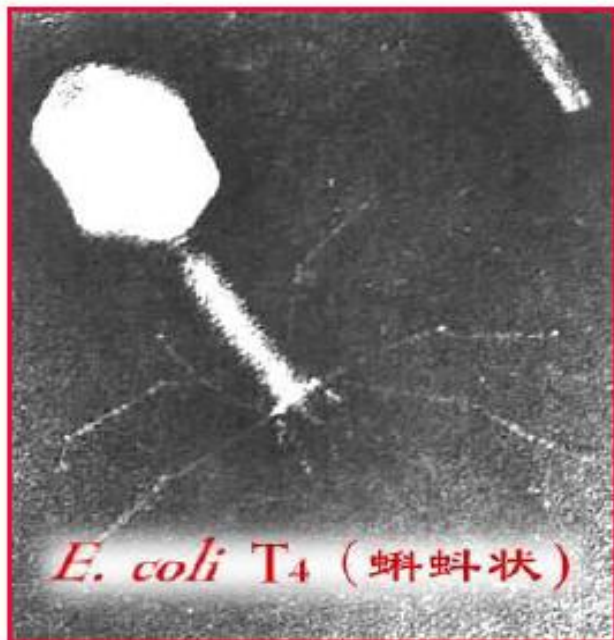
腺病毒粒子的三维结构



人体腺病毒负染照片

图6-6 腺病毒结构（二十面体对称）

复合对称(complex symmetry)

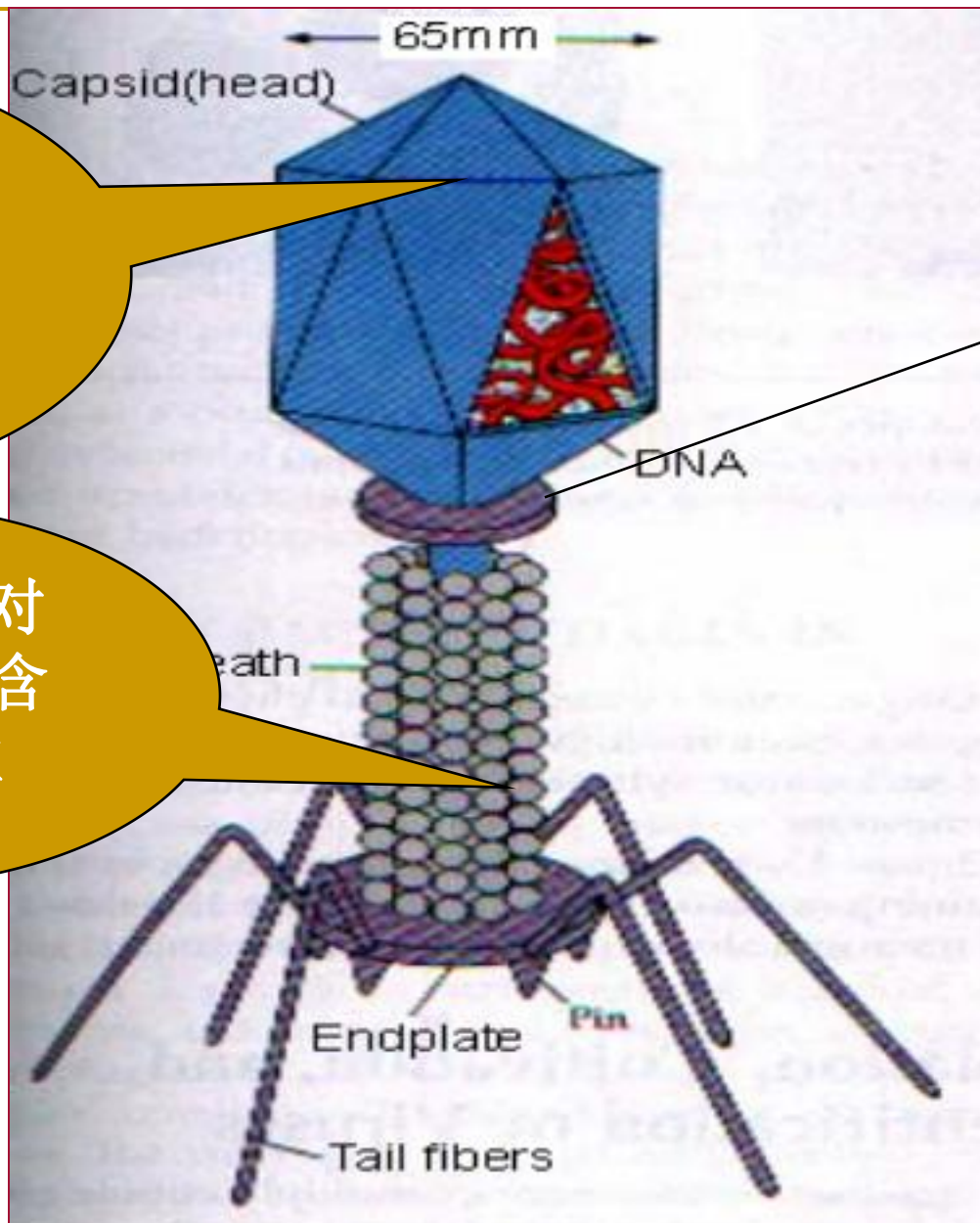


大肠杆菌的T4噬菌体是由椭圆形的二十面体头部和螺旋对称的尾部组合而成，是病毒中复合对称的代表。

头部：椭圆形二十面体,8种蛋白,含212个壳粒

尾部：螺旋对称,6种蛋白,含144个壳粒

复合对称的代表—T
偶数噬菌体

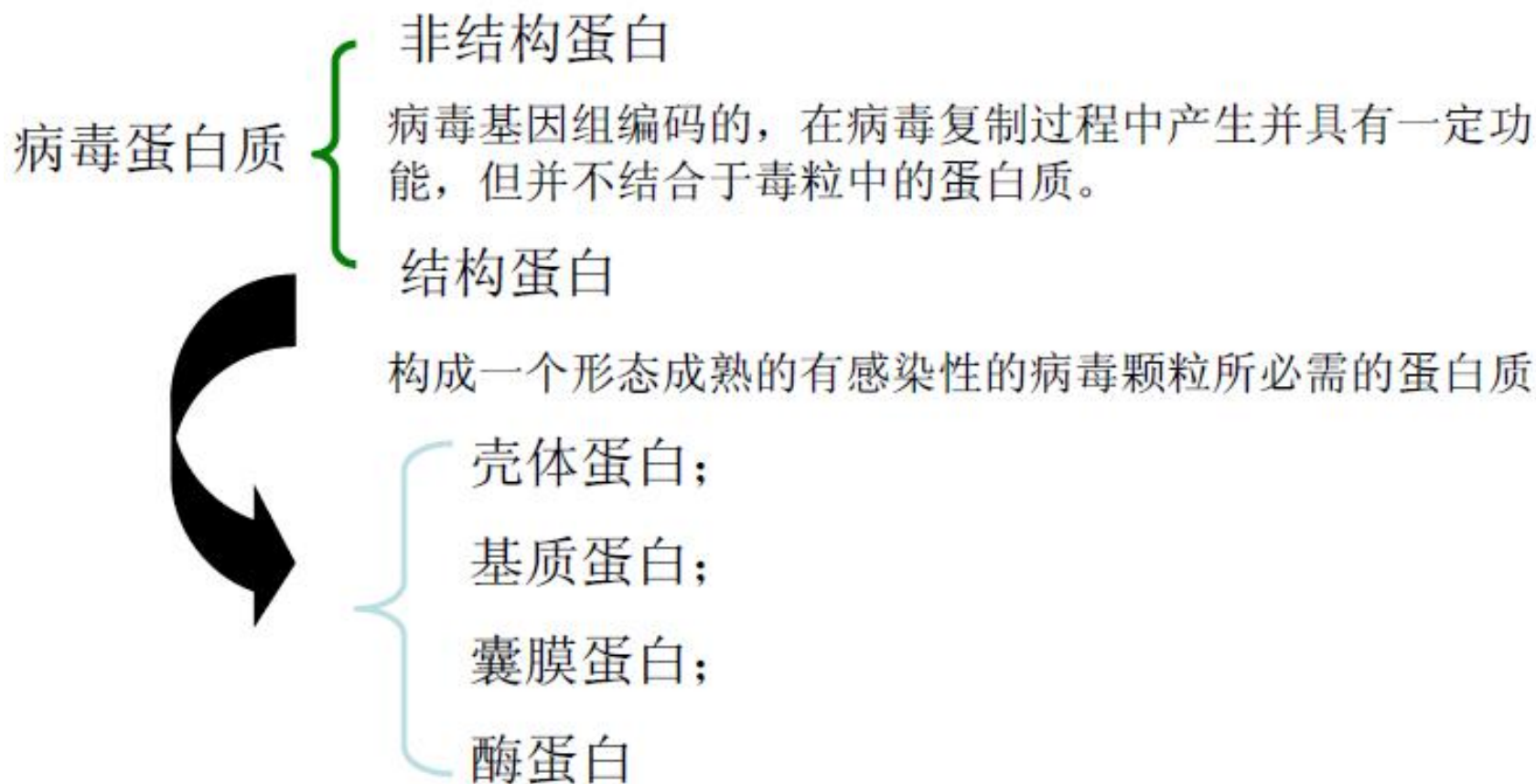


领环

(2)病毒的化学组成

- ①病毒蛋白
- ②病毒核酸
- ③脂类和糖类
- ④病毒的包含体

①病毒的蛋白质



①病毒的蛋白质

1、结构蛋白：指构成一个形态成熟的有感染性的病毒颗粒所必需的蛋白质，包括衣壳蛋白、囊膜蛋白和存在于病毒颗粒中的酶等。约占病毒总量的**70%**，少数低至**30~40%**。

（1）衣壳蛋白：是构成病毒衣壳结构的蛋白质，由一条或多条多肽链折叠形成的蛋白质亚基是构成衣壳蛋白的最小单位。一些简单的病毒的衣壳蛋白仅由一种或少数几种蛋白质构成，而一些复杂病毒则可多达**20**余种。

衣壳蛋白的功能：构成病毒的衣壳，保护病毒的核酸；无囊膜病毒的衣壳蛋白参与病毒的吸附、侵入、决定病毒的宿主嗜性；病毒的表面抗原。

（2）囊膜蛋白或称刺突蛋白：是由囊膜糖蛋白和基质蛋白两类病毒蛋白质构成，位于囊膜表面。

囊膜糖蛋白：病毒的主要表面抗原；囊膜糖蛋白多为病毒吸附蛋白。它们与细胞受体相互作用启动病毒感染发生，有些病毒的囊膜糖蛋白还介导病毒的进入；可能具有凝集脊椎动物红细胞、细胞融合以及酶等活性。

基质蛋白：构成膜脂双层与核衣壳之间的亚膜结构，具有支撑囊膜，维持病毒结构的作用；介导核衣壳与囊膜糖蛋白之间的识别，在病毒芽出成熟过程中发挥重要作用。

(3) 毒粒酶：是存在于病毒壳粒内的酶，根据其功能大致可分为两类：

一类是参与病毒进入、释放等过程的酶，如T₄噬菌体的溶菌酶、流感病毒的神经氨酸酶等；

一类是参与病毒的大分子合成的酶，如反转录病毒、嗜肝**DNA**病毒的反转录酶，所有**dsRNA**病毒、负链**RNA**病毒以及**dsRNA**病毒的病毒颗粒中存在的转录酶等。一些复杂的病毒，如在细胞质内复制的痘病毒还具有许多参与**RNA**转录物加工和**DNA**复制的酶。

2、非结构蛋白：指由病毒基因组编码的，在病毒复制过程中产生并具有一定功能，但不结合于病毒颗粒中的蛋白质。

病毒的非结构蛋白数量和功能依据病毒的种类、病毒基因组的复杂程度和病毒复制时期的不同而不同。许多非结构蛋白具有酶活性，参与和调控病毒的复制(**replication**)与转录(**transcription**)。最近发现，部分非结构蛋白具有抗凋亡、抗细胞因子活性及干扰抗原递呈得功能，如口蹄疫病毒的**3ABC**蛋白已经用来区分野毒感染和弱毒苗免疫。

病毒的蛋白质的主要功能：

- ❖ 构成病毒外壳, 保护病毒核酸免受核酸酶及其他理化因子的破坏
- ❖ 决定病毒感染的特异性, 与易感细胞表面存在的受体具特异亲合力, 促使病毒粒子的吸附
- ❖ 决定病毒的抗原性, 并能刺激机体产生相应的抗体
- ❖ 病毒蛋白还构成了病毒组成的酶
- ❖ 病毒蛋白还构成了病毒组成的酶.



病毒的核酸

▲ 核酸是病毒的遗传物质;

▲ 一种病毒的毒粒只含有一种核酸: DNA或是RNA;



DNA,RAN之分



单双链 (single strands,ss/double strand,ds)

单链DNA (ss DNA)

双链DNA (ds DNA)

单链RNA (ss RNA)

双链RNA (ds RNA)



环状,线状之分(闭合,开放)



正负链之分:



基因组是单分子、双分子、三分子、多分子

正链和负链：

正链（+）： 与mRNA碱基序列相同的单链。

负链（-）： 与mRNA碱基序列互补的单链。

正负链（±）： 互补的双链。

+RNA： 可作为mRNA模板翻译成蛋白质。

-RNA： 与+RNA互补，不能直接用作mRNA模板翻译成蛋白质。

+DNA： 与-DNA互补，不能作为模板直接合成mRNA。

-DNA： mRNA模板链，可作为模板直接合成mRNA。

分节段和不分节段：

个别RNA病毒核酸为不连续、间断的链，RNA部分节段为负链，部分节段为正链，称之为双义链(ambisense)。不分节段可称为单分子，分两个节段称为双分子，分三个节段称为三分子，分多个节段可称为多分子。

病毒的核酸类型

动物病毒	含DNA	双链	牛痘病毒
		单链	小鼠细小病毒
	含RNA	双链	呼肠弧病毒
		单链	脊髓灰质炎病毒
植物病毒	含RNA	双链	水稻矮缩病毒
		单链	烟草花叶病毒
	含DNA	双链	花椰菜花叶病毒
细菌病毒	含DNA	双链	大肠杆菌T系噬菌体
		单链	大肠杆菌 ϕ X174, M13
	含RNA	单链	大肠杆菌 f_2 噬菌体 (5群)

核酸功能：

- 储存病毒的遗传信息
 - 控制病毒的遗传变异
 - 控制病毒的增殖
 - 控制病毒对宿主的感染性
-

其他成分：

较复杂病毒中还含有：

- 脂类：有些病毒包膜中含有来源于宿主细胞的脂类化合物，其中**50-60%**为磷脂，余为胆固醇。
 - 多糖：以糖脂、糖蛋白的形式存在。
 - 有的病毒还含胺类（丁二胺，亚精胺等）、金属离子等，它们是病毒装配时从环境中获得的不恒定成分。
-

（三）病毒的脂类 病毒脂类是病毒在成熟释放过程中从宿主细胞获得的，主要存在于病毒的囊膜。脂类约占其结构成分的**20%-35%**。痘病毒脂类的含量约占**5%**，而狂犬病毒脂类的含量达**50%**。

（四）病毒的糖类 某些病毒含有少量的糖类。糖类主要是以寡糖侧链存在于病毒糖蛋白和糖脂中，或以粘多糖形式存在。除了有囊膜病毒的糖蛋白突起外，某些复杂病毒的病毒颗粒还含有内部糖蛋白或者糖基化的衣壳蛋白。糖蛋白还是重要的免疫原，例如抗流感病毒血凝素的血清具有明显的病毒中和作用。

（五）其他组成 在一些动物病毒、植物病毒和噬菌体的病毒颗粒内，存在一些如丁二胺、亚精胺、精胺等阳离子化合物。在某些植物病毒中还发现有金属阳离子存在。这些含量极微的有机阳离子或无机阳离子与病毒核酸呈无规则的结合，并对核酸的构型产生一定的影响。它们的结合量仅与环境中相关离子浓度有关，是病毒装配时从环境中获得的不恒定成分。

1.4病毒的主要类群

- (1)微生物病毒
- (2)植物病毒
- (3)脊椎动物病毒
- (4)昆虫病毒

病毒的主要类群与分类系统

编号	特征
1	宿主的性质（动物、植物、细菌、昆虫、真菌）
2	核酸的性质（DNA或RNA；单链或双链；分子量；分节段或不分节段，分为几个节段(RNA病毒)；ssRNA病毒中基因组为正链或负链）
3	衣壳对称形式——二十面体对称、螺旋对称、复合型对称
4	有无囊膜及囊膜对乙醚的敏感性
5	病毒颗粒或核衣壳的直径
6	二十面体病毒中的壳粒数目
7	免疫学特性
8	基因数目和基因图谱
9	病毒在细胞内复制的位置
10	有无DNA复制中间体(ssRNA病毒)；有无反转录酶
11	病毒释放的方式
12	导致的疾病或引起疾病的特异性临床症状、传播的途径。

国际病毒分类委员会（ICTV）作为国际公认的病毒分类与命名的权威机构。国际病毒分类系统采用目（**order**）、科(**family**)、亚科(**subfamily**)、属(**genus**)、种(**species**)、分类阶元。

ICTV不负责病毒种以下的分类和命名，病毒种以下的血清型、基因型、毒力株、变异株和分离株的名称由公认的国际专家小组确定。根据ICTV的分类报告，目前把所有已知病毒分为**233**个属，**1550**个种，其中**204**个属归于**64**个科。

从第**6**次分类报告开始，把病毒分为**3**大类：**DNA**病毒、**DNA**反转录与**RNA**反转录病毒、**RNA**病毒。

根据病毒进化发生学的关系，第**7**次分类报告在部分科之上建立了**3**个目：尾病毒目、单负股病毒目和套式病毒目。在同一亚科中不同属的分类依据是其免疫学特性与宿主持异性。病毒的种是一个不确定的分类单位。

1990年ICTV将其定义为具有一定世代关系并占据一定生境（**niche**）的病毒群。也就是在具有科和属的特征的前提下，把某些次要特征大致但又不完全相同的病毒归为同一种病毒。

病毒的命名：采用英文或英文化拉丁文，只用单名，也不用斜体书写。但是目、科、亚科、属分别用拉丁文后缀“-**virales**”、“-**viridae**”、“-**virinae**”、“**virus**”。

例如，痘病毒属于痘病毒科（**Poxviridae**）；
脊椎动物痘病毒亚科（**Chorodopoxviridae**）则包含了各种脊椎动物痘病毒。

1.5 亚病毒的化学组成

■ 依据：

核酸的化学特性

病毒体的结构

特殊的特征



类病毒

马铃薯纺锤块茎病的病原体

长50nm棒状RNA分子



Virus and Viroid
Diseases of Potato

拟病毒(virusoids)

是包裹在动植物病毒粒子中的类病毒, 环状RNA病毒。

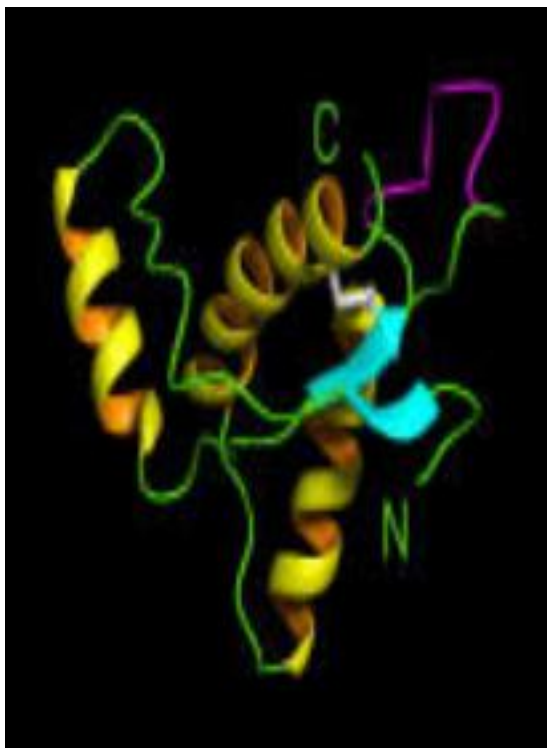
真病毒中的病毒。



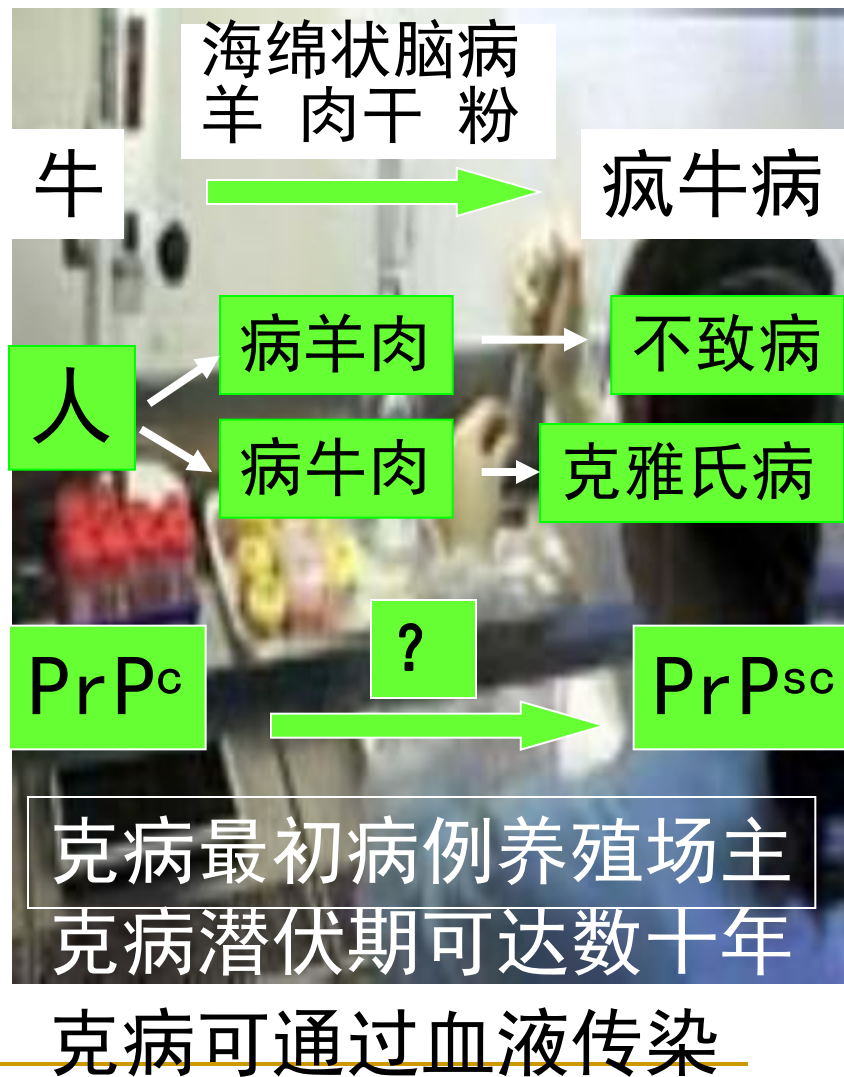
朊病毒 (*prion*, *virino*)



朊病毒 (prion, virino)

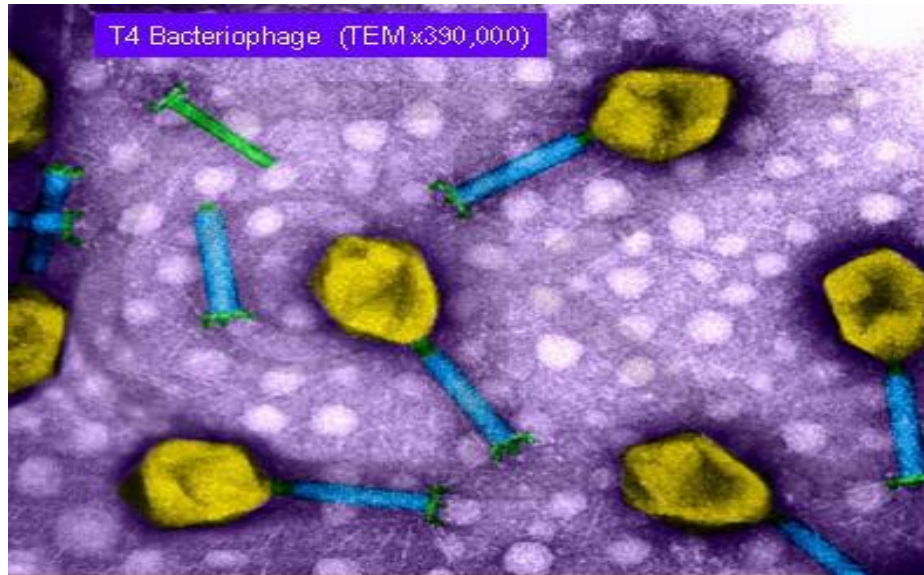


朊病毒的三维结构



2 噬菌体

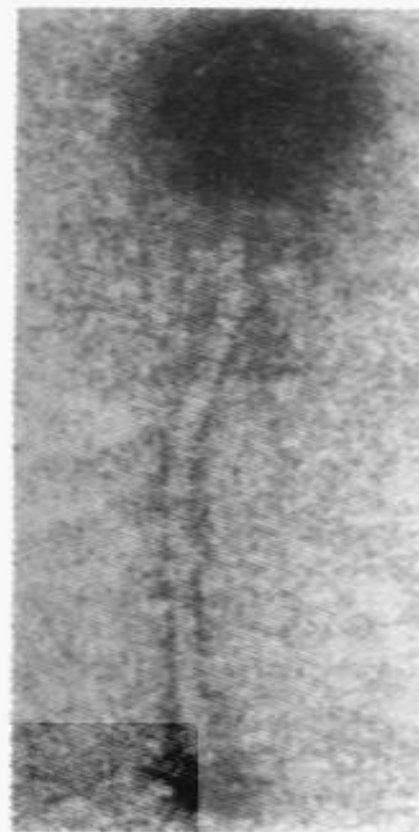
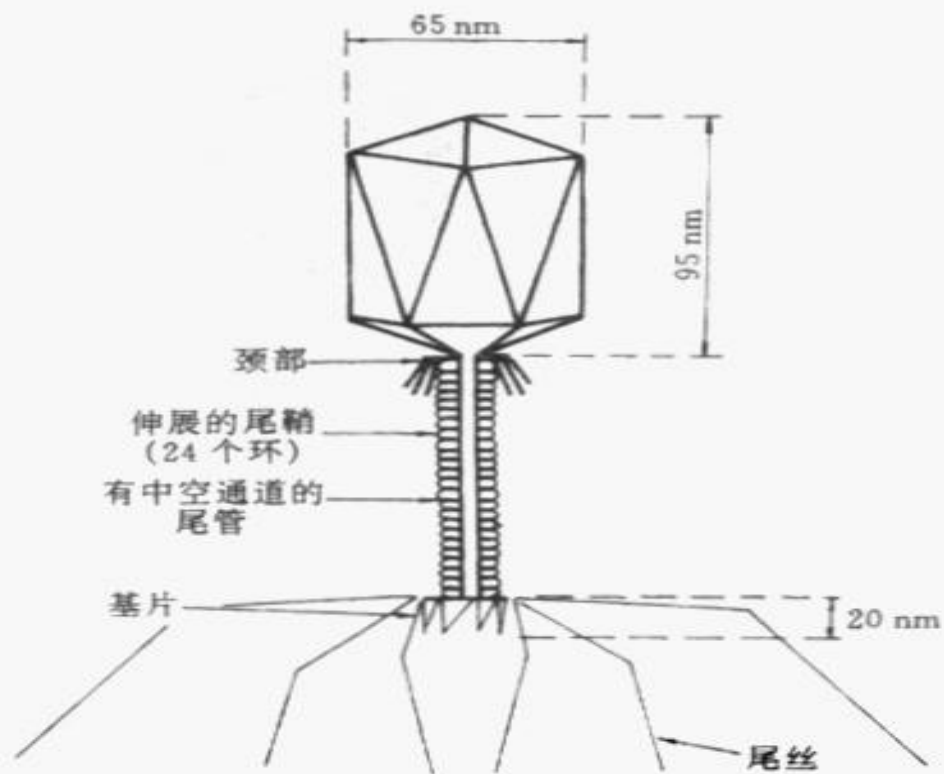
噬菌体 (phage) 是侵染细菌、放线菌、蓝细菌等非细胞型微生物的病毒。



2. 1噬菌体的形态

❖ 基本形态为：

蝌蚪形、微球形和丝状三种



T4 噬菌体的电镜照片及结构模型

噬菌体的分类

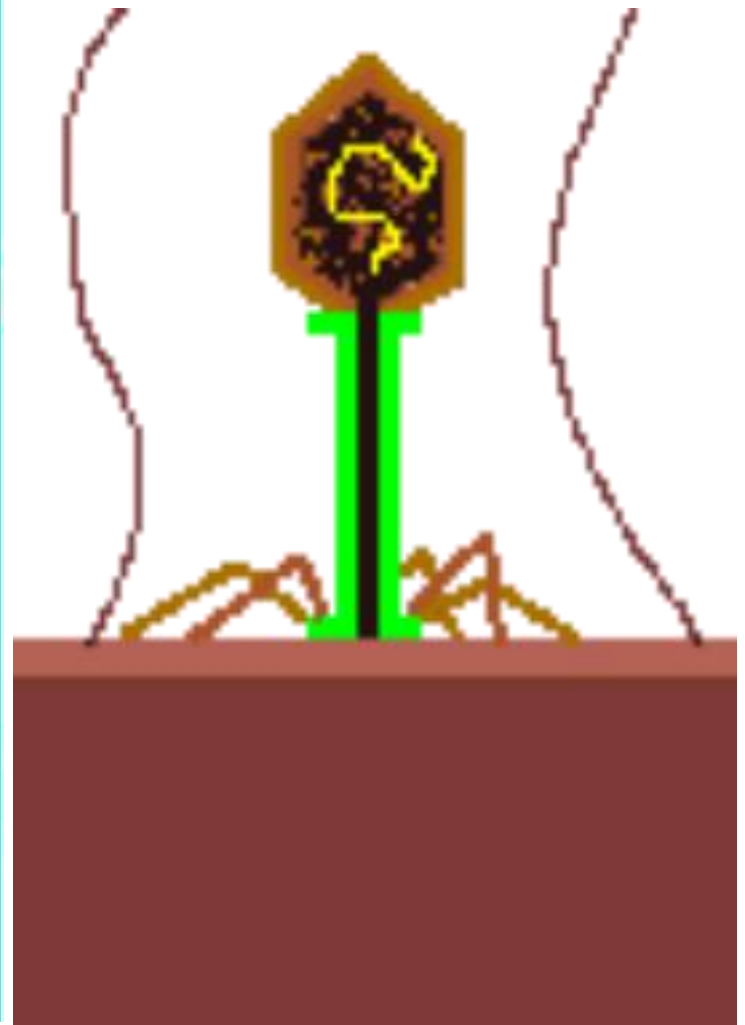
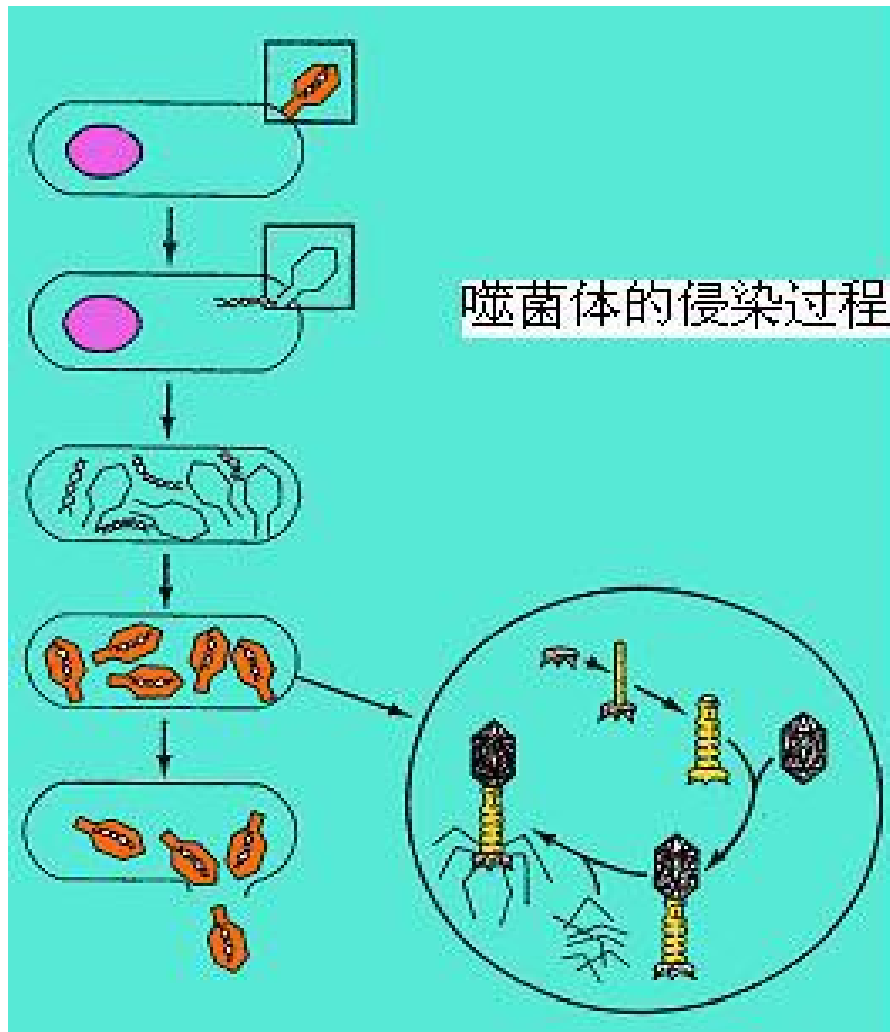
- 根据噬菌体与宿主细胞的关系可分为毒性噬菌体和温和噬菌体两类。
- 毒性噬菌体进入菌体后就会改变宿主的性质，使之成为制造噬菌体的“工厂”，大量产生新的噬菌体，最后导致菌体裂解死亡。
- 温和噬菌体进入菌体后，因生长条件不同，可具有两条截然不同的、可选择的增长途径。一条是与毒性噬菌体相同的生长路线，引起宿主细胞裂解死亡；另一条是将其核整合到细菌染色体上，该细菌细胞继续生长繁殖，并被溶源化。

2. 2噬菌体的生长周期

(1) 毒性噬菌体及其增殖过程

- 病毒的增殖过程大致分为吸附、侵入、脱壳、生物合成及装配与释放五个相互联系阶段，称为病毒的复制周期。

噬菌体的侵染过程



吸附：非特异性吸附；
特异性吸附。

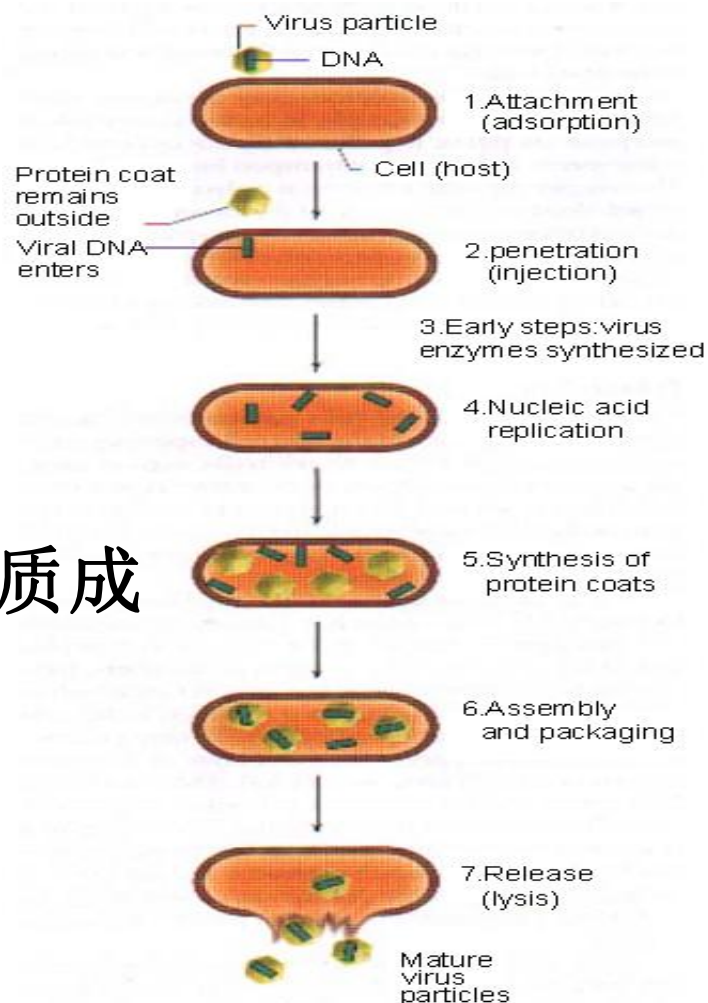
侵入：三种方式：
吞饮、融合和转位。

脱壳：两步。

生物合成：（1）mRNA转录与蛋白质成
（2）核酸复制。

装配与释放：

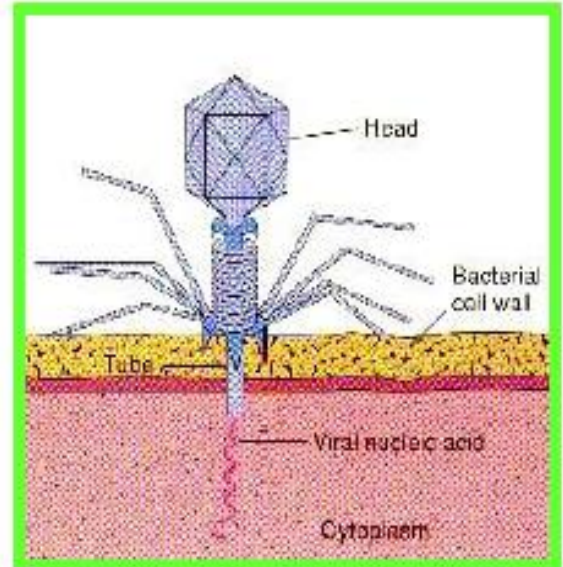
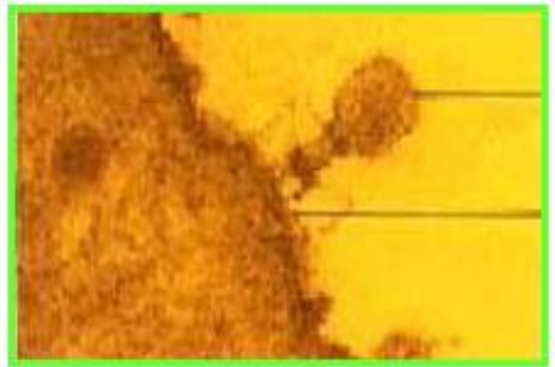
装配；释放方式：
（1）破胞释放；
（2）芽生。



①**吸附**：噬菌体和宿主细胞上的特异性吸附部位进行特异性结合，噬菌体以尾丝牢固吸附在受体上后，靠刺突“钉”在细胞表面上。

②**侵入**：核酸注入细胞的过程。噬菌体尾部所含酶类物质可使细胞壁产生一些小孔，然后尾鞘收缩，尾髓刺入细胞壁，并将核酸注入细胞内，蛋白质外壳留在细胞外。

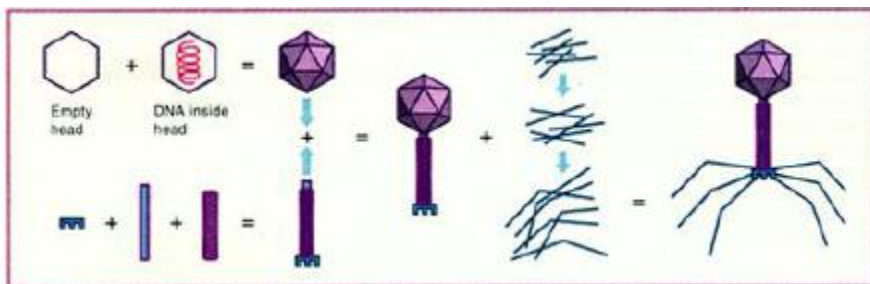
③**复制**：包括核酸的复制和蛋白质合成。噬菌体核酸进入宿主细胞后，会控制宿主细胞的合成系统，然后以噬菌体核酸中的指令合成噬菌体所需的核酸和蛋白质。



④ 装配:

主要步骤有:

DNA分子的缩合——通过衣壳包裹DNA而形成头部——尾丝及尾部的其它部件独立装配完成——头部与尾部相结合——最后装上尾丝,至此,一个个成熟的形状、大小相同的噬菌体装配完成。



⑤ 释放:

方式:

■裂解: 多以裂解细胞的方式释放。

■分泌: 噬菌体穿出细胞, 细胞并不裂解。

通常情况下, 一个噬菌体通过上述五个过程能合成100——300个噬菌体。烈性噬菌体的这种生长繁殖方式也称为一步生长,

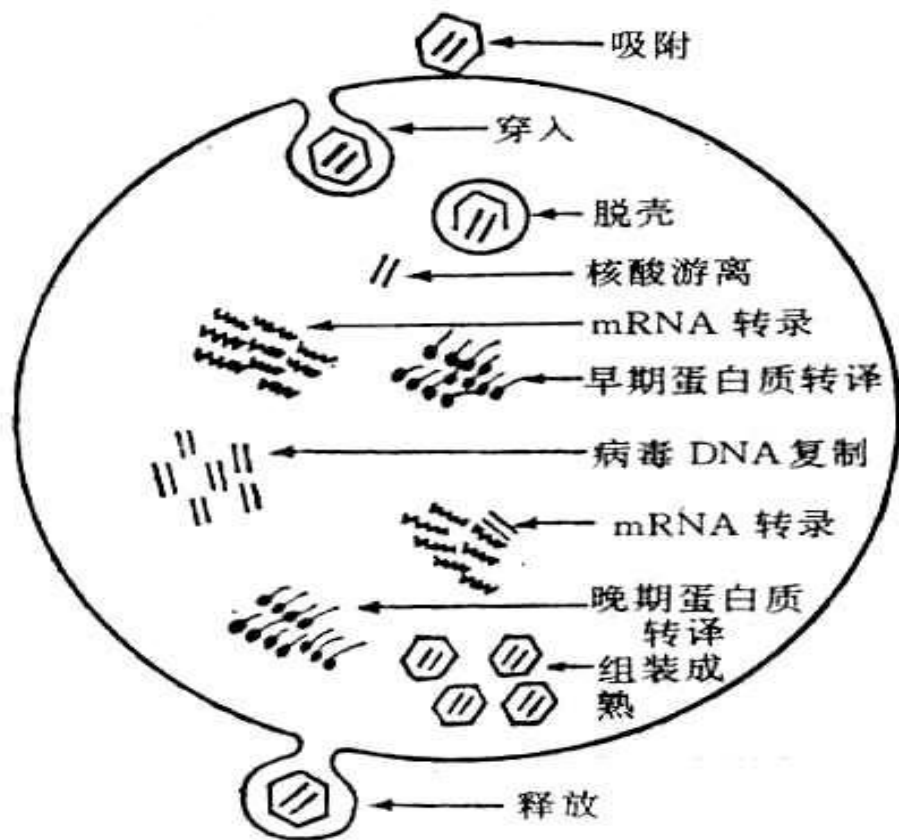


Figure 6.13

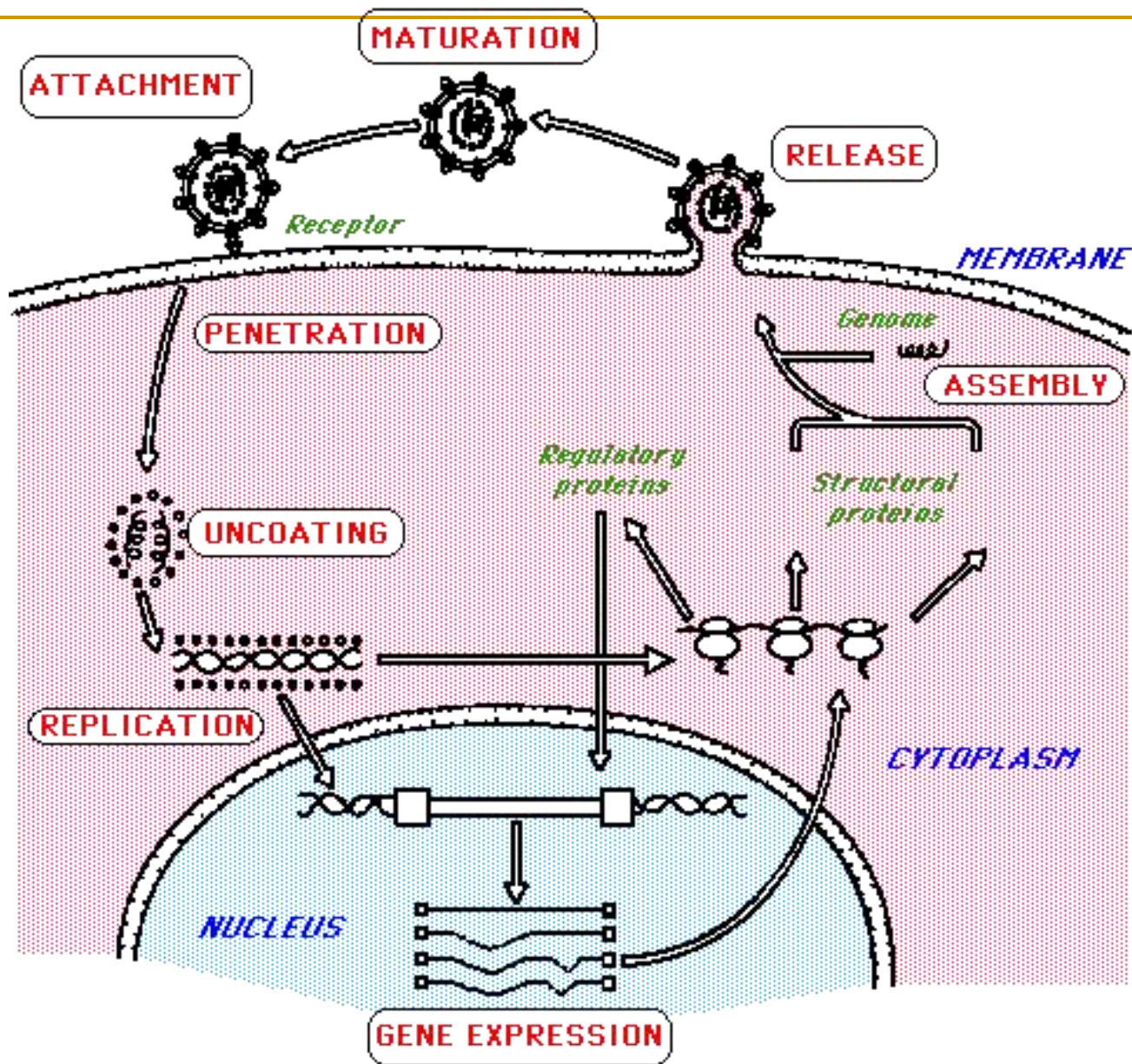


A weakened bacterial cell, crowded with viruses, has ruptured and released numerous virions that can then attack nearby susceptible host cells.

病毒的复制过程

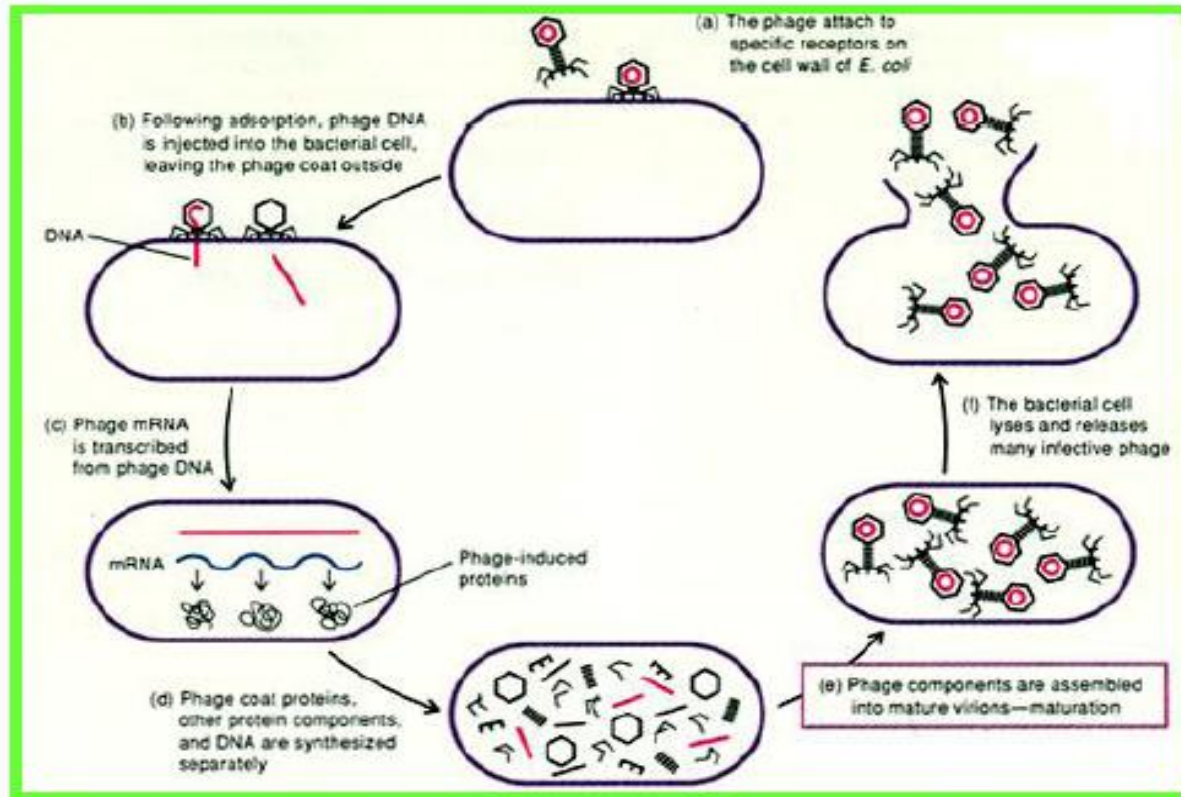


HIV 复制过程



2.2 噬菌体的生长周期

烈性噬菌体(virulent phage):能在宿主细胞内增殖,产生大量子噬菌体并引起细菌裂解的噬菌体



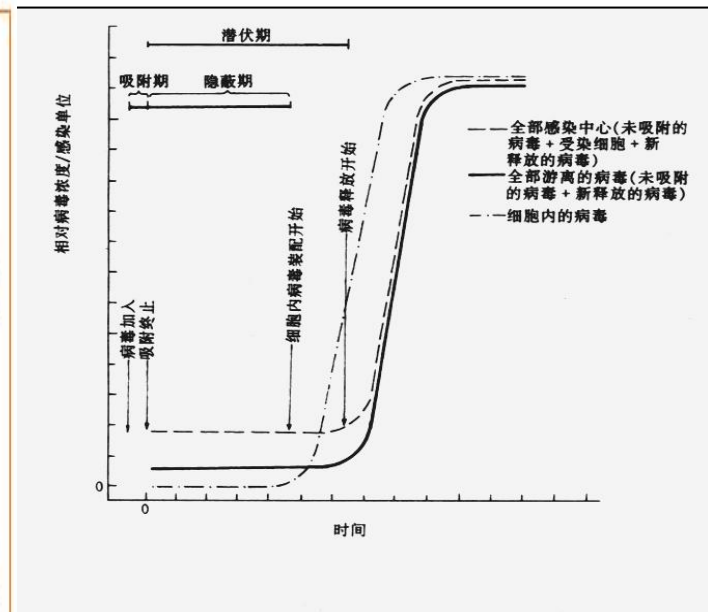
烈性噬菌体的这种生长方式称一步生长。

2.2 噬菌体的生长周期

(2) 噬菌体生长的测定：一步生长曲线

概念：经过一步生长实验后, 得到以培养时间为横坐标, 以噬菌斑数为纵坐标绘制成的有潜伏期、裂解期和稳定期的特征性曲线。

- 1、用噬菌体的稀释液感染高浓度的宿主细胞；
- 2、数分钟后，加入抗噬菌体的抗血清；
- 3、将上述混合物大量稀释，终止抗血清的作用和防止新释放的噬菌体感染其它细胞；
- 4、保温培养并定期检测培养物中的噬菌体效价；
- 5、以感染时间为横坐标，病毒的感染效价为纵坐标，绘制出病毒特征性的繁殖曲线；



实验过程:

人为裂解处理 (每5min)

敏感菌10ml + Phage 1ml

↓
混匀, 5min, 使之吸附

↓
离心或用抗phage血清处理,
去除过量phage

↓
高倍稀释, 吸附phage的菌悬液
(避免多次吸附)

↓
37°C 培养, 定时取样



样品中加入氯仿裂解细胞

↓
裂解液加入敏感菌液中

↓
适当稀释混合液

↓
涂布于琼脂培养基上

↓ 24-48h

↓
计数噬菌斑

一步生长曲线 (one step growth curve)

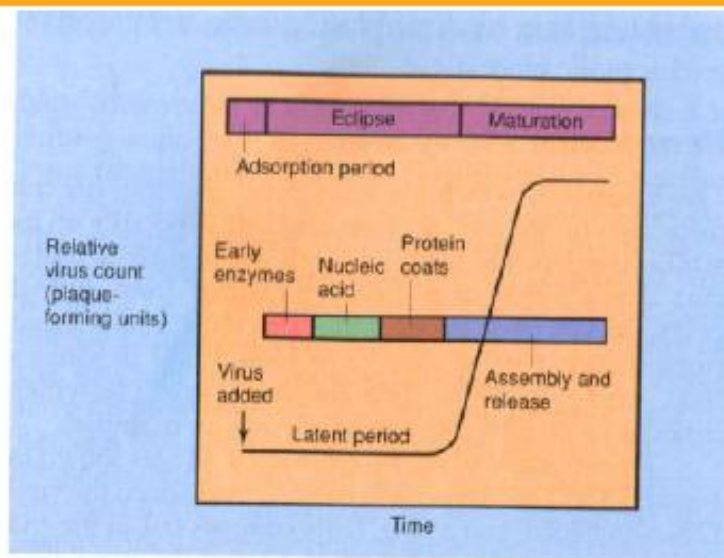


Figure 8.9 The one-step growth curve of virus replication. This graph displays the results of a single round of viral multiplication in a population of cells. Following adsorption, the infectivity of the virus particles disappears, a phenomenon called *eclipse*. This is due to the uncoating of the virus particles. During the *latent period*, replication of viral nucleic acid and protein occurs. The *maturation period* follows, when virus nucleic acid and protein are assembled into mature virus particles. At this time, if the cells are broken up, active virus can be detected. Finally, *release* occurs, either with or without cell lysis. The timing of the one-step growth cycle varies with the virus and host. With many bacterial viruses, the whole cycle may be complete in 30–60 min, whereas with animal viruses 12–24 hr is usually required for a complete cycle. Compare this general picture and color scheme with specific replication events shown for bacteriophage T4 in Figure 8.23.

噬菌体复制（繁殖）
的三个阶段：

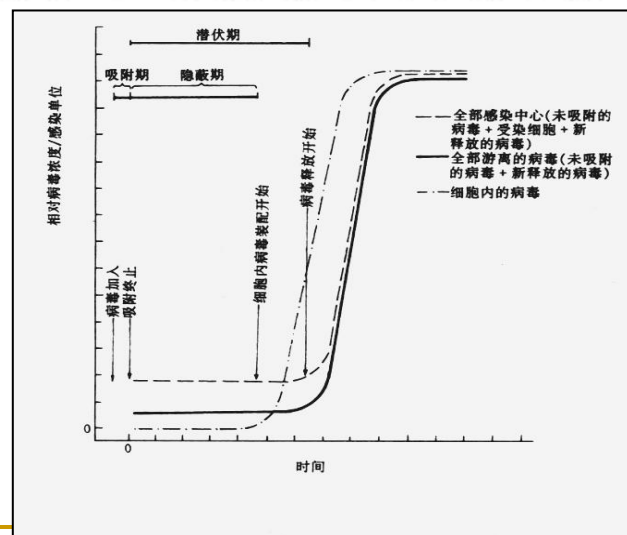
- 1、吸附期(adsorption period);
游离的噬菌体吸附到宿主细胞
- 2、潜伏期(latent period);
从噬菌体吸附到细胞到释放出
新噬菌体的最短时期
- 3、裂解期(lysis period);
随着菌体不断破裂，新噬菌体
数目增加，直到最高值

平稳期 (plateau phase)

一步生长曲线的特征性数据：潜伏期和裂解量。

潜伏期 (latent period)：毒粒吸附于细胞到受染细胞释放出子代毒粒所需要的最短时间。噬菌体几分钟，动物病毒与植物病毒以小时或天计算。

裂解量 (burst size)：每个受染细胞所产生的子代病毒颗粒的平均数目。等于潜伏期受染细胞的数目除以稳定期受染细胞所释放的全部子代病毒的数目，噬菌体的裂解量一般为几十到几百，动植物病毒几百到上万个。



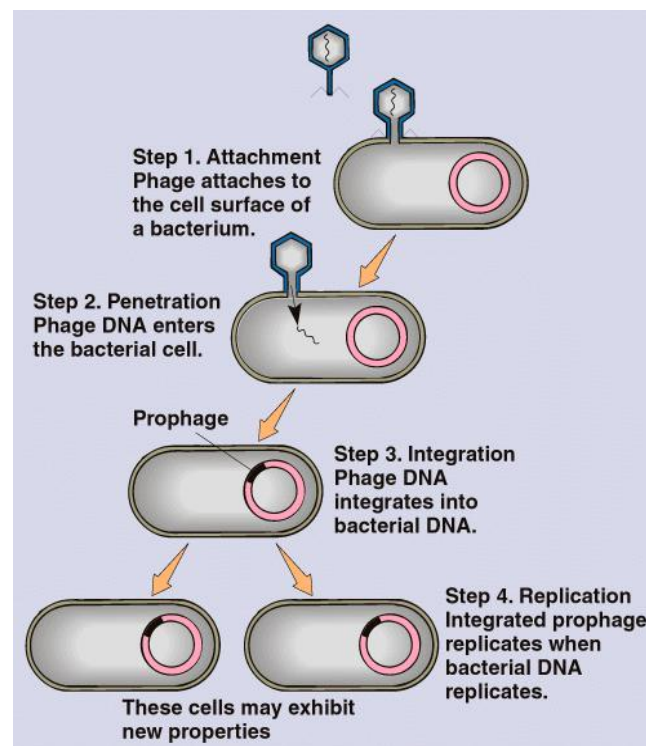
(3)温和噬菌体和溶源性

- 根据噬菌体与宿主细胞的关系可分为毒性噬菌体和温和噬菌体两类。
- 毒性噬菌体进入菌体后就会改变宿主的性质，使之成为制造噬菌体的“工厂”，大量产生新的噬菌体，最后导致菌体裂解死亡。
- 温和噬菌体进入菌体后，因生长条件不同，可具有两条截然不同的、可选择的增长途径。一条是与毒性噬菌体相同的生长路线，引起宿主细胞裂解死亡；另一条是将其核整合到细菌染色体上，该细菌细胞继续生长繁殖，并被溶源化。

噬菌体的溶源性

- 是温和噬菌体侵入宿主细菌细胞后产生的一种特性。

当噬菌体感染细菌时，宿主菌染色体中获得了噬菌体DNA片段，使其成为溶原状态时，而使细菌获得新的性状。



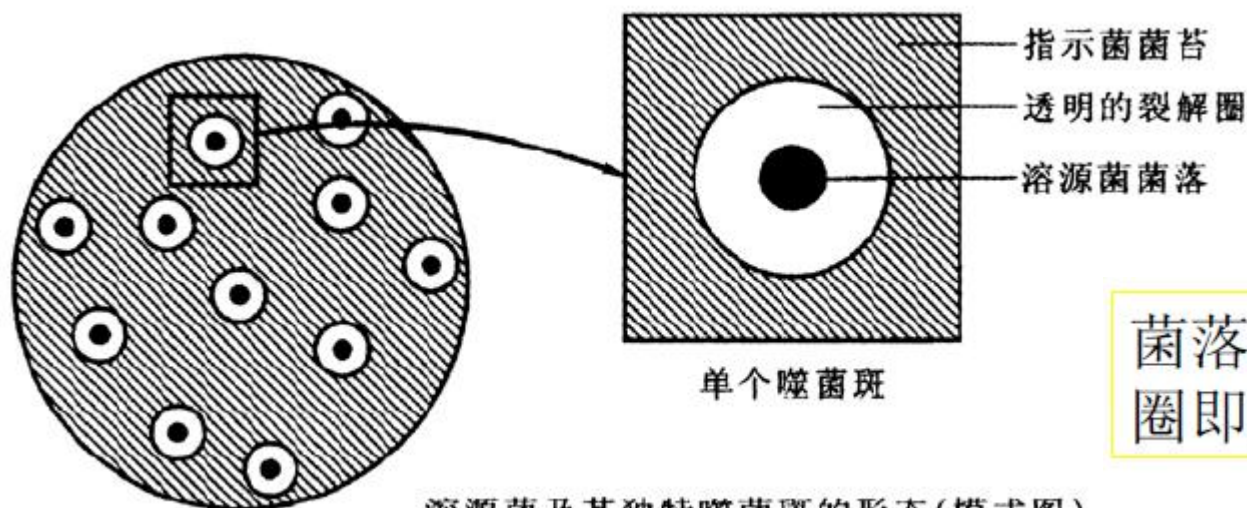
- 含有温和噬菌体的DNA而又找不到形态上可见的噬菌体粒子的宿主细菌叫溶源性细菌或溶源化细胞。

溶源菌的特性：

- (1)具有遗传的、产生前噬菌体的能力；
 - (2)裂解：自发裂解(spontaneous lysis)
诱发裂解(inductive lysis)；
 - (3)复愈；
 - (4)免疫性
 - (5)溶源转变
 - (6)局限性转导
- 附着或整合在溶源性细菌染色体上的温和噬菌体的核酸称为原噬菌体或前噬菌体。

溶源性细菌的检出:

培养 → UV辐射 (诱导裂解) → 复制
→ 培养 (进入裂解周期) →
离心取上清 → 与敏感菌倒平板



溶源菌及其独特噬菌斑的形态(模式图)

菌落周围出现透明
圈即为溶源性细菌

3 病毒的检出与定量

一、直接法 电子显微镜

二、间接法

间接法的基础：细胞病变效应(cytopathic effect,CPE)

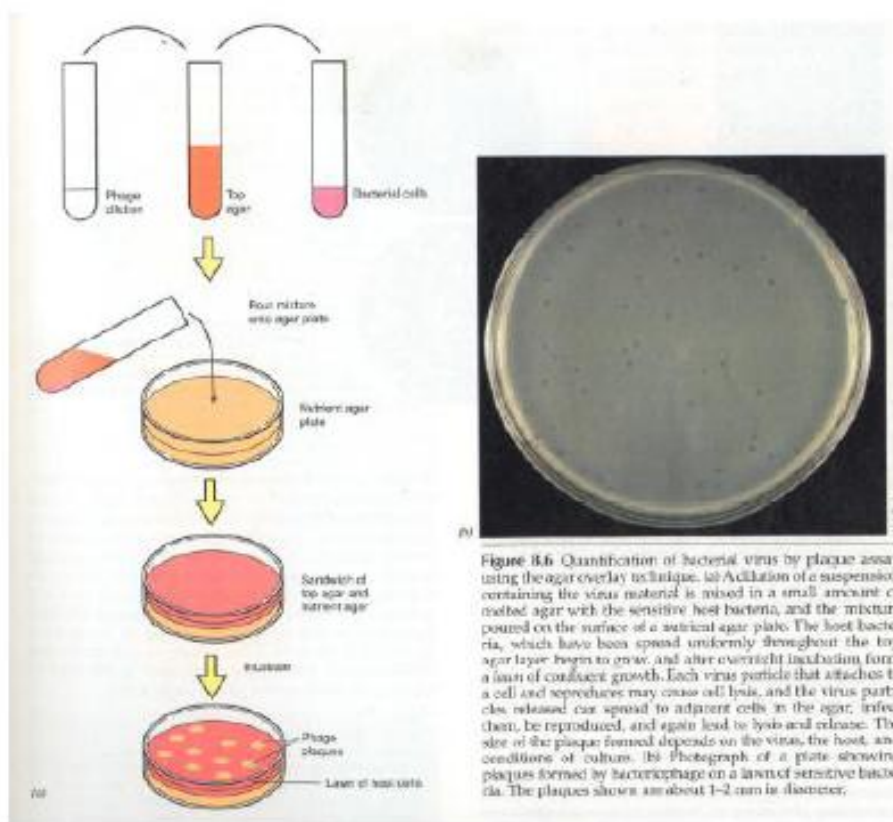
是指由于病毒感染出现的宏观、局部或普遍的退化性病变或异常。

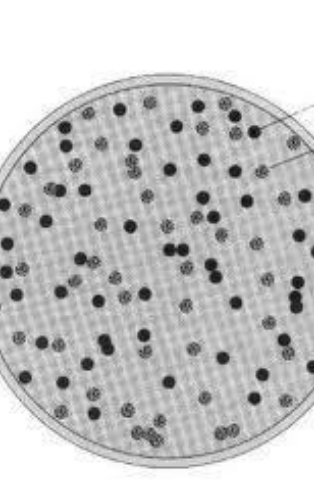
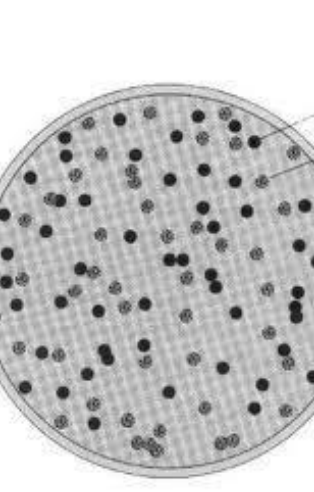
病毒感染单位(virus infection unit): 是指当病毒和敏感宿主混合时能产生可检测的效应的最小单位。

噬菌斑 (plaque)

Quantification of bacterial virus by plaque assay

由于病毒感染引起的敏感细胞层上出现的裂解圈或细胞抑制圈。





- ## 死亡细

坏死斑(病斑) (lesion)

植物病毒



敏感植物叶片



产生坏死斑，或称枯斑

Figure 16.5 Necrotic Lesions on Plant Leaves. (a) Tobacco mosaic virus on *Nicotiana glauca*. (b) Bean common mosaic disease. Infected leaves show yellow mottling and distortion. (c) Tobacco mosaic virus infection of an orchid showing leaf color changes.

(a)



(b)



(c)



4 病毒培养技术

病毒培养技术的主要目的：

- 分离和鉴定病毒；
- 制备病毒作为疫苗用；
- 进一步研究病毒结构、繁殖情况、遗传和对寄主细胞的影响。

4.1 利用活体动物接种

- 利用特殊饲养的小白鼠、大白鼠、田鼠、豚鼠和兔子用于病毒的动物培养，无脊椎动物（如昆虫）和猴子等也用于实验动物。

4.2 用鸡（禽）胚

- 胚胎是细胞早期快速分化的发展阶段，鸟或禽的胚胎是自我封闭发育而成，不受环境的影响。具有丰富的营养，可支持病毒的生长。
- 鸡、鸭和火鸡卵是最常用的接种实体。

4.3 应用细胞（组织）培养技术

- 将动物细胞分离、体外培养的方式称作细胞培养或组织培养。
- 培养的细胞以单层形式生长，一个单层融合性生长细胞才能支持病毒的生长，并能使检测方法检测出病毒感染特征。
- 对感染人的病毒有胚肾细胞，纤维细胞、骨髓细胞、心脏细胞等细胞系进行培养。

5 细菌病毒和发酵工业

5.1 发酵工业中噬菌体的一些性质

在发酵工业中常应用细菌，真菌等菌种作为发酵菌种，这些菌种常受到细菌噬菌体，真菌病毒的损害，是发酵工业的一大公害。酵母菌如酿酒酵母、红酵母中都有类似噬菌体的病毒，其它真菌也有类似病毒的存在，但不如细菌噬菌体普遍。

5.2 发酵工业中噬菌体污染原因和现象

■ 污染原因

①发酵菌种本身，几乎所有的菌种都可能是溶原性的，都有产生噬菌体的可能。一种菌可产生两种以上噬菌体的情况很多，最多的可产生八种之多。

②发酵菌种不纯或混有噬菌体。

■ 在发酵环境生产之前先做噬菌体检测。

■ 污染现象

各种发酵系统在污染噬菌体后，常出现一些明显的异常现象：

如碳源和氮源的消耗减慢； 发酵周期延长；

pH值异常变化； 泡沫骤增；

发酵液色泽和稠度改变； 出现异常臭味；

菌体裂解和减少； 光密度降低和产物锐减等。

■ 污染严重时，无法继续发酵，整个发酵液废弃。

5.3 防范措施

- ❖ 决不使用可疑菌种
- ❖ 严格环境卫生
- ❖ 活菌液严禁排放
- ❖ 通气加料严控
- ❖ 严格执行会客制度
- ❖ 设备灭菌

补救方法：

- ① 尽快提取产品
- ② 加药抑制
- ③ 及时更换菌种

复习思考题

- 1. 简述病毒的一般特性和增殖过程。
- 2. 病毒粒有哪几种对称形式？试各举一例。
- 3. 试解释溶源性、溶源菌、温和噬菌体、毒性噬菌体。
- 4. 何为噬菌体？其侵染繁殖有几个阶段？各有何特点？

原核微生物与病毒的比较

特征	细菌	支原体	立克次氏体	衣原体	病毒	
直径/ μm	0.5-2.0	0.2-0.25	0.2-0.5	0.2-0.3	<0.25	
光学显微镜可见性						可见/不可见
过滤性						能/不能
革兰氏染色						阳/阴
细胞壁						有/无
繁殖方式						二均分裂/复制
培养方式						人工/寄生
核酸种类						DNA/RNA

四大类微生物的细胞形态和菌落特征的比较

<div>微生物类别</div> <div>菌落特征</div>			单细胞微生物		菌丝状微生物	
			细菌	酵母菌	放线菌	霉菌
主要特征	细胞	形态特征	小而均匀、个别有芽孢	大而分化	细而均匀	粗而分化
		相互关系	单个分散或按一定方式排列	单个分散或假丝状	丝状交织	丝状交织
	菌落	含水情况	很湿或较湿	较湿	干燥或较干燥	干燥
		外观特征	小而突起或大而平坦	大而突起	小而紧密	大而疏松或大而致密

四大类微生物的细胞形态和菌落特征的比较

类别 菌落特征		单细胞微生物		菌丝状微生物	
		细菌	酵母菌	放线菌	霉菌
参考特征	菌落透明度	透明或稍透明	稍透明	不透明	不透明
	菌落与培养基结合度				
	菌落的颜色	多样	单调	十分多样	十分多样
	菌落正反面颜色差别				
	生长速度				
	气 味				

四大类微生物的细胞壁形态和繁殖方式的比较

微生物类别 菌落特征			单细胞微生物		菌丝状微生物	
			细菌	酵母菌	放线菌	霉菌
主要特征	细胞	细胞壁组成				
		繁殖方式				