

3P-44

第8卷第1期
1993年3月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol.8 No.1
Mar.1993水痘一带状疱疹病毒分离株
核衣壳的形态特征

⑦

王志玉 王桂亭 韩世杰

(山东医科大学病毒研究室, 济南250012)

王少军 宋伟涛 谢慰杖

(山东省卫生防疫站电镜室, 济南250014)

R373.1

提 要

本文用超薄切片电镜技术对水痘一带状疱疹病毒(VZV)分离株J₁的核衣壳进行了形态学研究。结果表明,在病毒感染后5小时即可观察到细胞核内大量的病毒核心相关颗粒和少量核衣壳。在细胞核内和细胞浆内均可见到病毒基质或毒浆结构。VZVJ₁株具有三种类型的核衣壳,命名为A型、B型、C型核衣壳。A型具有电子致密核心,B型的核心呈颗粒状,C型具有电子透明核心。三种核衣壳大小一致,直径75—100nm,核心为35—55nm。将VZV的核衣壳与疱疹病毒科其它成员作了比较分析,并对各种核衣壳在病毒成熟过程中的作用进行了探讨。

关键词: 水痘一带状疱疹病毒 核衣壳 形态学

水痘一带状疱疹病毒(VZV)又称疱疹病毒3型,除了能引起水痘和带状疱疹外,还能引起脑炎和先天性感染。对VZV地方株核衣壳的形态结构进行细致的研究,有助于VZV的鉴定和阐明VZV的繁殖机理和致病机理,并为VZV感染的诊断、预防、治疗打下基础。

目前,对疱疹病毒科中其它病毒核衣壳的形态结构已有报道^[1,2],但对VZV核衣壳的形态结构未见专门详细报道。我们用超薄切片电子显微镜技术对分离的VZV J₁株进行了观察研究,发现VZV J₁具有三种基本类型的核衣壳。

材 料 和 方 法

- 一、细胞 Hep-2细胞由山东省卫生防疫站提供,按常规培养传代^[3]。
- 二、病毒 VZV J₁株由本室分离^[4],在Hep-2细胞上传代。

本文于1992年3月26日收到,7月14日修回。

三、标本收集 取滴度为 10^6 TCID₅₀/ml的VZV J₁悬液0.5ml,接种于生长旺盛的Hep-2细胞,加足维持液37℃培养,分别于感染后5、10、15、20、30、40、50、60、70、80h取出,弃维持液,加入2%戊二醛固定,4℃保存备用。

四、电镜样品制备及观察 各时间收集的标本用PBS洗涤后用钨酸固定,逐级乙醇脱水,用Epon812树脂包埋,超薄切片,切片厚度为500Å。常规染色,电镜观察,拍照记录。

结 果

在感染VZV 5h后,即可在少数细胞核内见到大量的圆形电子致密颗粒,大小较一致,但致密度有所差别,称为病毒核心相关颗粒。细胞核内和细胞浆内均可见到庞大的圆形或椭圆形、电子致密度较低的结构,其内部由于电子致密度的差异略呈条纹状或网状,称为病毒基质或毒浆结构(图1)。极少数细胞核内和细胞浆内可见到核衣壳,细胞浆内和细胞外可见少数完整的病毒颗粒。10h后大多数细胞核和细胞浆内可见到核衣壳。

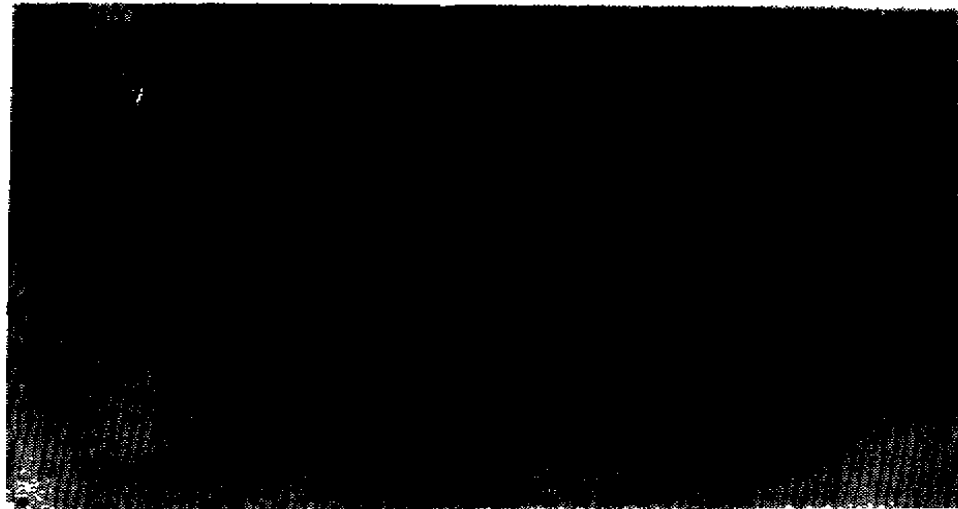


图1 Hep-2细胞感染VZV J₁ 37℃培养5h。细胞核(NU)内大量的病毒核心相关颗粒围绕椭圆形病毒基质或毒浆结构(×40,000)。

Fig 1. Hep-2 cells infected with VZV J₁ for 5h at 37℃. Nucleus (NU) demonstrates a large number of viral core-related particles which were surrounded by an elliptical viromatrix or viroplasm (×40,000).

现将VZV核衣壳的形态结构描述如下。

一、核内核衣壳的形态特征

在感染VZV J₁的细胞内可见到三种核衣壳。

1. 具有电子致密核心的核衣壳(A型核衣壳): 此类核衣壳具有电子致密的核心(图2A),核心的形状有较大差异,大多数呈圆形或椭圆形,少数呈不规则状。核心直径35—55nm,核衣壳75—100nm。这类核衣壳约占全部数量的30%左右,晚期较多见。

2. 具有颗粒状核心的核衣壳(B型核衣壳):此类核衣壳数量多于A型核衣壳,约占45%左右。核心呈颗粒状,大小较均一,常见3—5个颗粒分布在核衣壳的中央(图2B),电子致密度小于A型核衣壳,核衣壳大小同A型核衣壳。B型核衣壳中期较常见。

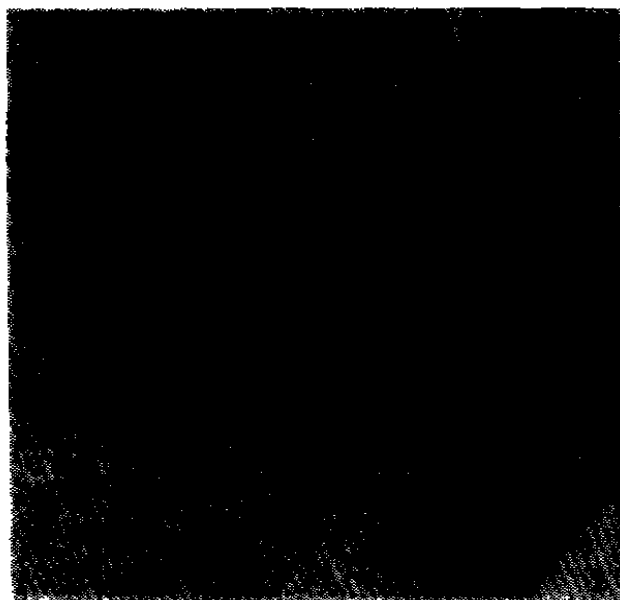


图2 Hep-2细胞感染VZV J1 37℃培养50h。核内可见具有电子致密核心(A)颗粒状核心(B)、电子透明核心(C)的核衣壳和有包膜的A型核衣壳(长箭头)(×40,000)。

Fig 2. Hep-2 cells infected with VZV J1 for 50h at 37℃. Nucleocapsids with dense cores (A), particle-shaped cores (B) and light cores (C) and enveloped dense-cored capsids (long arrow) are seen in the nucleus (×40,000).

3. 具有电子透明核心的核衣壳(C型核衣壳):这类核衣壳相对数量最少,约占全部核衣壳的25%,整个感染期间数量较恒定,晚期稍多。C型核衣壳似无核心结构(图2c),仅由衣壳构成,壳壁厚约10nm,但Perdue等^[2]证明马疱疹病毒(EHV)此类核衣壳仍有少量DNA存在。C型核衣壳大小同A、B两型核衣壳。

二、细胞浆内核衣壳的形态特征

在细胞浆中也可见到大量核衣壳,其大小、形态、种类类似于细胞核中的核衣壳,但有自己的特点:

1. 三种核衣壳在细胞浆中的比例不同于细胞核内的比例:细胞浆内核衣壳A、B、C为60:10:30,即A型占多数,而B型则少见(图3)。

2. 形态上的差异:细胞浆内A型核衣壳的核心大小差异更明显,核心常位于一侧(图3A)。

3. 数量分布上的差异:绝大部分细胞核的切面上可见到核衣壳,而只有少数细胞切面的细胞浆中可见到核衣壳。

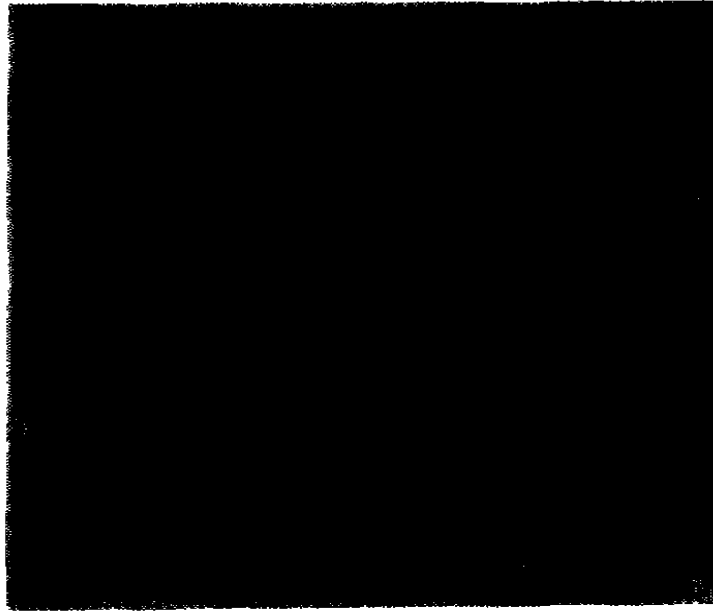


图 3 Hep-2细胞感染VZV J1 37℃培养10h。胞浆(CY)内也可见到A、B、C三种核衣壳和有膜A型核衣壳(长箭头)(×40,000)。

Fig 3. Hep-2 cells infected with VZV J1 for 10h at 37°C. Three species of nucleocapsids (A, B and C) and enveloped dense-core capsids (long arrow) are also seen in the cytoplasm (CY) (×40,000).

讨 论

一、与其它疱疹病毒核衣壳的比较

Michall L Perdue等⁽³⁾根据核衣壳在Renografin-76密度梯度中密度的不同,将E-HV的核衣壳分成三种,即轻型(L)、中间型(I)、重型(H)。Atkinson M.A等⁽⁶⁾根据电镜下形态将单纯疱疹病毒(HSV)核衣壳也分成三种类型,即空心型(E)、部分致密型(P)、致密型(D)。我们观察到的VZV J₁株在Hep-2细胞中产生的核衣壳的类型和特征类似于上述三种核衣壳。A型相当于H(D)型,B型相当于I(P)型,C型相当于L(E)型。但未见到I型中具有四角星状核心的核衣壳,这是否表明两种疱疹病毒在形态上存在着差异,还需进一步研究才能证实。HSV感染的细胞核内L:I:H之比为10:45:45,而VZV J₁株则为25:45:30,此种差异的意义尚不清楚。

在感染VZV J₁株的细胞核内可观察到大量圆形电子致密颗粒,其大小比A型核衣壳中的核心大,但其致密度和形状与核心相似,提示与病毒核心的形成有关。胞核内和胞浆内的毒浆结构,其内部电子致密度不均一,并隐约可见一定的结构,某些毒浆结构可见处于不同阶段的核衣壳,周围常伴有成熟的核衣壳,提示此结构与病毒衣壳形成有关。有人认为,它就是“病毒工厂”,要证明这一点,尚需作免疫学试验,这一现象未见报道。

Atkinson M A 等^[5]认为,不同的疱疹病毒及其变异株在繁殖过程中所产生的核衣壳类型、数量、比例、分布均有所差异,这可以作为鉴别其病毒株的标准之一。

二、在病毒复制过程中不同类型核衣壳之间的关系

Perdue M L 等^[2]对EHV的L、I、H三种核衣壳的生化研究表明,L、I两型具有相同的氨基酸组成,而H型含有更多的赖氨酸、谷氨酸、丝氨酸,和有包膜的病毒颗粒更接近。此类氨基酸以聚体的形式折迭和包裹DNA。三种核衣壳的DNA密度和大小与有膜病毒颗粒的DNA一致。I和H型致排出核外参与病毒成熟过程,而L型在整个感染过程滞留在核内,被认为是病毒装配的副产物。我们的研究表明,在感染的晚期,细胞内A型核衣壳增多,而B型减少,可能与病毒DNA插入B型核衣壳有关,从而导致核心电子密度增大,转变为A型。因此,A型增多,B型减少,B型可能就是A型的前体。成熟的VZV病毒颗粒的核衣壳绝大部分为A型也支持这一观点。C型核衣壳数量相对恒定,这一现象与L(E)型为副产品之说相一致。

通常认为,DNA病毒(痘病毒和虹病毒例外)的核衣壳在核内装配,通过核膜芽生获得包膜。我们发现细胞浆内也存在大量核衣壳,这是否提示VZV存在着细胞浆内装配途径,还需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Cabral G.A. and Schaffer P.A., 1976, *J. Virol.*, 18(2): 727-737.
- [2] Perdue M.L. et al., 1976, *Virology*, 74: 194-208.
- [3] 史英辉, 韩世杰, 1985, *山东医学院学报*, 23(2): 27-29.
- [4] 韩世杰, 1990, *山东医科大学学报*, 28(1): 22-25.
- [5] Atkinson M.A. et al., 1978, *J. Gen. Virol.*, 40(1): 103-119.

Morphological Characteristics of Nucleocapsids of Varicella-Zoster Virus Strain J1

Wang Zhiyu Wang Guiting Han Shijie

(Dept. of Virology, Shandong Medical University, Jinan, 250012)

Wang Shaojun Song Weitao Xei Weizhang

(Health and Anti-Epidemic Centre of Shandong province, Jinan 250014)

The nucleocapsids of varicella-zoster virus (VZV) strain J1 isolated by Dr. Han Shi-jie et al in Jinan in 1990 were studied with electron microscope.

Three distinct species of nucleocapsids of VZV strain J1, designated as either A, B or C on the basis of their electron densities, were characterized. Type A, B and C nucleocapsids possess a densely stained core, particle-shaped core and light or empty core respectively.

The nucleocapsids are 75—100nm and cores are 35—55nm in diameter. All the three species were not only seen in nuclei but also in cytoplasm. At the same time, viromatrices or viroplasts which are possibly made of viral capsomeres, were observed in nuclei and cytoplasm.

All the species appeared at 5h postinfection and the ratio of A : B : C was 30 : 45 : 25 in nuclei and 60 : 10 : 30 in cytoplasm. The relationship among them and their roles in viral maturation process were discussed.

Based on the evidence accumulated in this study and previous data, the nucleocapsids are slightly different from those of other herpesviruses.

Key words, Varicella-Zoster Virus Nucleocapsid Morphology