

Study on Virus Structure and Replication

Yuan Chang

Hebei Kangkang Hospital, Shijiazhuang, Hebei, 050000, China

Abstract

The structure of the virus is introduced, the replication cycle and basic process of the virus are analyzed, and the stage of the virus replication cycle is explained, which provides a reference for the exploration process of the virus.

Keywords

virus; cell; protein

病毒的结构及其复制研究

常远

河北康健医院, 中国·河北 石家庄 050000

摘要

介绍了病毒的结构形式, 分析了病毒的复制周期及基本过程, 阐述了病毒复制循环的阶段, 为病毒的探索过程提供了参考依据。

关键词

病毒; 细胞; 蛋白质

1 引言

病毒的结构简单, 不具备独立进行生物合成的结构和酶系统, 在细胞外处于无活性状态, 只有在活细胞内, 借助宿主细胞的生物合成原料、能量及场所才能进行增殖。同时病毒进入活细胞时还要求该细胞表面具有相应的病毒受体, 这种具有相应受体的细胞称为该病毒的易感细胞。病毒在易感活细胞内, 以其基因为模板, 籍 DNA 聚合酶或 RNA

聚合酶以及其他必要因素, 复制病毒的核酸, 并借助宿主细胞的核糖体翻译病毒的蛋白质, 再经过装配, 最终释放出子代病毒。这种以核酸分子为模板进行增殖的方式, 称为病毒的自我复制 (self replication)。病毒的复制过程可大致分成吸附和穿入 (adsorption, and penetration)、脱壳 (uncoating)、生物合成 (biosynthesis)、装配与释放 (assembly and release) 四个连续步骤, 又称复制周期 (replication cycle)。

2 复制周期

2.1 吸附和穿入

吸附 (adsorption) 是指病毒附着于敏感细胞的表面, 它是感染的起始期。吸附通常可分成两个阶段: 首先是通过随机

碰撞和离子间的电荷吸引, 使病毒与细胞相互接触, 这一阶段是非特异而可逆的, 与环境中的离子浓度有关; 随后通过病毒的包膜或无包膜病毒衣壳表面的配体位点与细胞表面的相应受体结合而发生特异性吸附。穿入 (penetration) 是指病毒核酸或感染性核衣壳穿过细胞进入胞浆, 开始病毒感染的细胞内期。主要有三种方式: ①融合 (fusion), 在细胞膜表面病毒包膜与细胞膜融合, 病毒的核衣壳进入胞浆, 如麻疹病毒、腮腺炎病毒包膜上有融合蛋白, 带有一段疏水氨基酸, 介导细胞膜与病毒包膜的融合; ②胞饮 (virophexis), 当病毒与易感细胞表面受体结合后, 在细胞膜的特殊区域与病毒一起内陷使整个病毒被吞饮入胞内形成吞噬泡, 是病毒穿入细胞的常见方式; ③直接进入, 某些无包膜病毒, 如脊髓灰质炎病毒与受体接触后, 衣壳蛋白的多肽构型发生变化并对蛋白水解酶敏感, 病毒核酸可直接穿越细胞膜进入胞浆中, 而大部分蛋白衣壳仍留在胞膜外, 这种进入的方式较为少见。

2.2 脱壳

病毒在细胞内必须脱去衣壳, 其核酸方可在宿主细胞中发挥指令作用。多数病毒在穿入时已在细胞的溶酶体酶作用下脱壳并释放出病毒的基因组。少数病毒的脱壳过程较复杂。这

些病毒往往是在脱衣壳前,病毒的酶已在起转录 mRNA 的作用。

2.3 生物合成

病毒核酸一旦从衣壳中释放后就进入生物合成阶段。在此阶段,用血清学方法和电镜检查,不能从细胞内检出病毒体,故称隐蔽期(eclipse period)。隐蔽期实际上是在病毒基因控制下进行病毒核酸和蛋白质合成的阶段。母体控制 r 进入内母体收缩虫日顶石成的所汉。病毒生物合成部位因病毒种类而异,多数 DNA 病毒在细胞核内复制其核酸,在细胞质内合成其蛋白质;多数 RNA 病毒的核酸及蛋白质均在胞质中合成。病毒的生物合成包括病毒核酸复制及病毒蛋白质合成两个方面,其中蛋白质合成又可分成早期蛋白质合成与晚期蛋白质合成两个阶段。通常早期蛋白为具有酶活性的非结构蛋白,而晚期蛋白则为结构蛋白。由于病毒基因组类型复杂多样,因而病毒生物合成

的方式也比较复杂,一般根据病毒基因组的类型可分成 6 大类,即 dsDNA 病毒、ssDNA 病毒、dsRNA 病毒、+ssRNA 病毒、-ssRNA 病毒及逆转录 RNA 病毒。不同基因组类型的病毒在生物合成中,除核酸复制方式的差异以外,其 mRNA 的转录亦不相同。

① DNA 病毒复制。

人和动物的 DNA 病毒基因组大多数为双链 DNA,例如疱疹病毒、腺病毒。它们在细胞核内合成 DNA,在胞质内合成病毒蛋白。但痘病毒例外,因其本身携带 DNA 聚合酶, DNA 和蛋白质都在胞质内合成。双链 DNA 病毒的复制一般可分为早期及晚期两个阶段,早期阶段病毒先利用细胞核内依赖 DNA 的 DNA 聚合酶,转录出早期 mRNA,再在细胞质内核糖体翻译成早期蛋白。这些早期蛋白主要为合成病毒子代 DNA 所需要的 DNA 聚合酶和脱氧胸腺嘧啶激酶及多种调控病毒基因组转录和抑制宿主细胞代谢的酶,为病毒核酸的复制提供酶和条件。晚期阶段则为病毒双链 DNA 通过解链后,利用早期转录、翻译的酶等分别以正链 DNA 和负链 DNA 为模板,复制出子代 DNA。同时病毒 DNA 转录的 mRNA 可进入胞质翻译出病毒的结构蛋白,包括衣壳蛋白及其他结构蛋白。单链 DNA 病毒种类很少。其生物合成需先合成另一条互补链,与亲代单链 DNA 形成 DNA 双链的复制中间体后,然后解链而分别转录与翻译。

② RNA 病毒复制。

单链 RNA 病毒分为正单链 RNA 病毒与负单链 RNA 病

毒。正单链 RNA 病毒的 RNA 基因组不仅可作为模板复制子代病毒 RNA,还同时具有 mRNA 的功能,可直接附着于胞质的核糖体,翻译出病毒蛋白,包括酶和衣壳蛋白等。负单链 RNA 病毒的基因组 RNA 也可作为模板复制子代病毒 RNA,但由于负链 RNA 不能直接附着于胞质内的核糖体作为 mRNA 以翻译病毒所需的蛋白质,因此负单链 RNA 病毒体内必须携带有依赖 RNA 的聚合酶,通过自身内部先转录出核苷酸序列与亲代基因组互补的正链后,才能在核糖体上翻译出相应的蛋白质。无论正单链或负单链 RNA 病毒在复制子代病毒 RNA 前都需合成另一互补链,成为复制中间型后,再分别解链进行复制。

③ 逆转录病毒复制。

这一类病毒虽也是单链 RNA 病毒,但其生物合成过程完全不同。因病毒体带有逆转录酶,能以病毒亲代 RNA 为模板合成互补的 DNA 链,从而构成了 RNA:DNA 中间体。其中 RNA 由细胞编码的 RNA 酶 H 水解去除,而 DNA 进入细胞核,经细胞的 DNA 聚合酶作用,以该 DNA 链为模板合成新的互补 DNA 链而成为双链 DNA 分子。这一双链 DNA 分子通过整合入细胞的染色体 DNA 上,成为前病毒(provirus),并可随宿主细胞的分裂而存在于子代细胞内。前病毒还可在核内经细胞的依赖 DNA 的 RNA 聚合酶转录出子代病毒的 RNA 与 mRNA。后者可在胞质核糖体上翻译出子代病毒蛋白质。

3 RNA 病毒复制

单链 RNA 病毒分为正单链 RNA 病毒与负单链 RNA 病毒。正单链 RNA 病毒的 RNA 基因组不仅可作为模板复制子代病毒 RNA,还同时具有 mRNA 的功能,可直接附着于胞质的核糖体,翻译出病毒蛋白,包括酶和衣壳蛋白等。负单链 RNA 病毒的基因组 RNA 也可作为模板复制子代病毒 RNA,但由于负链 RNA 不能直接附着于胞质内的核糖体作为 mRNA 以翻译病毒所需的蛋白质,因此负单链 RNA 病毒体内必须携带有依赖 RNA 的聚合酶,通过自身内部先转录出核苷酸序列与亲代基因组互补的正链后,才能在核糖体上翻译出相应的蛋白质。无论正单链或负单链 RNA 病毒在复制子代病毒 RNA 前都需合成另一互补链,成为复制中间型后,再分别解链进行复制。

4 逆转录病毒复制

这一类病毒虽也是单链 RNA 病毒,但其生物合成过程完

全不同。因病毒体带有逆转录酶,能以病毒亲代 RNA 为模板合成互补的 DNA 链,从而构成了 RNA: DNA 中间体。其中 RNA 由细胞编码的 RNA 酶 H 水解去除,而 DNA 进入细胞核,经细胞的 DNA 聚合酶作用,以该 DNA 链为模板合成新的互补 DNA 链而成为双链 DNA 分子。这一双链 DNA 分子通过整合入细胞的染色体 DNA 上,成为前病毒 (provirus),并可随宿主细胞的分裂而存在于子代细胞内。前病毒还可在核内经细胞的依赖 DNA 的 RNA 聚合酶转录出子代病毒的 RNA 与 mRNA。后者可在胞质核糖体上翻译出子代病毒蛋白质。

5 病毒复制的基本过程:

①吸附,即病毒颗粒与细胞膜的受体发生相互作用后病毒颗粒特异性地吸附于宿主细胞表面;

②穿入,病毒吸附于宿主细胞膜后以各种不同的方式进入细胞,此即穿入;

③脱壳,病毒在宿主细胞内脱去核壳,病毒核酸随后进入细胞的一定部位;

④病毒大分子的生物合成,病毒基因组进入宿主细胞后,一方面表达与合成病毒复制过程中所必需的结构蛋白和非结构蛋白,另一方面进行复制合成子代病毒核酸; 5 装配与释放,病毒核酸与壳体蛋白合成完毕后,在细胞核内或胞浆内装配成熟为病毒颗粒(核衣壳),此即子代病毒体,然后子代病毒体以不同方式从感染细胞中释放到细胞外环境。

6 病毒复制循环的阶段

6.1 吸附 (adsorption): 病毒表面接触蛋白——细胞表面受体

吸附 (Adsorption) 是指病毒附着于敏感细胞的表面,它是感染的起始期。细胞与病毒相互作用最初是偶然碰撞和静电作用,这是可逆的联结。随后的特异性吸附是非常重要的,根据这一点可确定许多病毒的宿主范围,不吸附就不能引起感染。

脊髓灰质炎病毒的细胞表面受体是免疫球蛋白超家族,在非灵长类细胞上没有发现此受体,而猴肾细胞、Hela 细胞和人二倍体纤维母细胞上有它的受体,故脊髓灰质炎病毒能感染人体鼻、咽、肠和脊髓前角细胞,引起脊髓灰质炎(小儿麻痹)。

水磨石病毒的细胞表面受体是含唾液酸(N-乙酰神经氨酸)的糖蛋白,它与流感病毒表面的血凝素刺突(受体连

结蛋白)有特殊的亲和力,如用神经氨酸酶破坏该受体,则流感病毒不再吸附这种细胞。

此外,HIV 受体为 CD4; 鼻病毒的受体为细胞粘附分子-1 (ICAM-1); EB 病毒的受体为补体受体-2 (CR-2)。病毒吸附也受离子强度、pH、温度等环境条件的影响。研究病毒的吸附过程对了解受体组成、功能、致病机理以及探讨抗病毒治疗有重要意义。

6.2 穿入 (penetration): 膜融合; 病毒胞饮等

穿入 (Penetration) 是指病毒核酸或感染性核衣壳穿过细胞进入胞浆,开始病毒感染的细胞内期。

主要有三种方式: ①融合 (Fusion), 在细胞膜表面病毒囊膜与细胞膜融合,病毒的核衣壳进入胞浆。副粘病毒以融合方式进入,如麻疹病毒、腮腺炎病毒囊膜上有融合蛋白,带有一段疏水氨基酸,介导细胞膜与病毒囊膜的融合。②胞饮 (Virophexis), 由于细胞膜内陷整个病毒被吞饮入胞内形成囊泡。胞饮是病毒穿入的常见方式,也是哺乳动物细胞本身具有一种摄取各种营养物质和激素的方式。当病毒与受体结合后,在细胞膜的特殊区域与病毒病毒一起内陷形成膜性囊泡,此时病毒在胞浆中仍被胞膜覆盖。某些囊膜病毒,如流感病毒借助病毒的血凝素 (HA) 完成脂膜间的融合,囊泡内低 Ph 环境使 HA 蛋白的三维结构发生变化,从而介导病毒囊膜与囊泡膜的融合,病毒核衣壳进入胞浆。③直接进入,某些无囊膜病毒,如脊髓灰质炎病毒与受体接角后,衣壳蛋白的多肽构形发生变化并对蛋白水解酶敏感,病毒核酸可直接穿越细胞膜到细胞浆中,而大部分蛋白衣壳仍留在胞膜外,这种进入的方式较为少见。

6.3 脱壳 (uncoating): 细胞溶酶体酶; 病毒脱壳酶

穿入和脱壳是边续的过程,失去病毒体的完整性被称为“脱壳 (Uncoating)”。脱壳到出现新的感染病毒之间叫“隐蔽期”。经胞饮进入细胞的病毒,衣壳可被吞噬体中的溶酶体酶降解而去除。有的病毒,如脊髓灰质炎病毒,在吸附穿入细胞的过程中病毒的 RNA 释放到胞浆中。而痘苗病毒当其复杂的核壳结构进入胞浆中后,随之病毒体多聚酶活化,合成病毒脱壳所需要的酶,完成脱壳。

6.4 生物合成 (biosynthesis): 病毒核酸复制; 病毒蛋白质合成

DNA 病毒和 RNA 病毒在复制机理有区别,但复制的结

果都是合成核酸分子和蛋白质衣壳,然后装配成新的有感染性的病毒。一个复制周期大约需6~8小时。

①双股DNA病毒的复制——多数DNA病毒为双股DNA。

双股DNA病毒,如单纯疱疹病毒和腺病毒在宿主细胞核内的RNA聚合酶作用下,从病毒DNA上转录病毒mRNA,然后转移到胞浆核糖体上,指导合成蛋白质。

病毒基因的mRNA转录(早期转录):病毒本身含有RNA聚合酶,可在胞浆中转录mRNA。mRNA有二种:早期mRNA,主要合成复制病毒DNA所需的酶及调控蛋白等,如依赖DNA的DNA聚合酶,脱氧胸腺嘧啶激酶等,称为早期蛋白;

病毒核酸复制:子代病毒DNA的合成是以亲代DNA为模板,按核酸半保留形式复制子代双股DNA。DNA复制出现在结构蛋白合成之前。

晚期转录:晚期mRNA和晚期翻译:晚期蛋白——衣壳蛋白,包膜蛋白

晚期mRNA,在病毒DNA复制之后出现,主要指导合成病毒的结构蛋白,称为晚期蛋白。

②单股RNA病毒的复制——RNA病毒核酸多为单股,病毒全部遗传信息均含在RNA中。

又可分为:病毒RNA的碱基序列与mRNA完全相同者,称为正链RNA病毒。病毒RNA碱基序列与mRNA互补者,称为负链RNA病毒。逆转录病毒又称RNA肿瘤病毒(Oncornavirus),病毒体含有单股正链RNA、依赖RNA的DNA多聚酶(逆转录酶)和tRNA。

①正链RNA病毒的复制。以脊髓灰质炎病毒为例,侵入的RNA直接附着于宿主细胞核糖体上,翻译出大分子蛋白,并迅速被蛋白水解酶降解为结构蛋白和非结构蛋白,如依赖RNA的RNA聚合酶。在这种酶的作用下,以亲代RNA为模板形成一双链结构,称“复制型(Replicative form)”。再从互补的负链复制出多股子代正链RNA,这种由一条完整的负链和正在生长中的多股正链组成的结构,称“复制中间体(Replicative intermediate)”。新的子代RNA分子在复制环中有三种功能:为进一步合成复制型起模板作用;继续起mRNA作用;构成感染性病毒RNA。

②负链RNA病毒的复制。流感病毒、副流感病毒、狂

犬病毒和腮腺炎病毒等有囊膜病毒属于这一范畴。病毒体中含有RNA的RNA聚合酶,从侵入链转录出mRNA,翻译出病毒结构蛋白和酶,同时又可做为模板,在依赖RNA的RNA聚合酶作用下合成子代负链RNA。

③逆转录病毒(Retrovirus)复制过程。分二个阶段:第一阶段,病毒核时进入胞浆后,以RNA为模板,在依赖RNA的DNA多聚酶和tRNA引物的作用下,合成负链DNA(即RNA:DNA),正链RNA被降解,进而以负链DNA为模板形成双股DNA(即DNA:DNA),转入细胞核内,整合成宿主DNA中,成为前病毒。第二阶段,前病毒DNA转录出病毒mRNA,翻译出病毒蛋白质。同样从前病毒DNA转录出病毒RNA,在胞浆内装配,以出芽方式释放。被感染的细胞仍持续分裂将前病毒传递至子代细胞。

6.5 装配与释放:

DNA病毒(多数核内装配);RNA病毒(多数胞浆内装配)。

包膜病毒(出芽释放);无包膜病毒(破胞释放)。

新合成的病毒核酸和病毒结构蛋白在感染细胞内组合成病毒颗粒的过程称为装配(Assembly),而从细胞内转移到细胞外的过程为释放(Release)。大多数DNA病毒,在核内复制DNA,在胞浆内合成蛋白质,转入核内装配成熟。而痘苗病毒其全部成份及装配均在胞浆内完成。RNA病毒多在胞浆内复制核酸及合成蛋白。感染后6个小时,一个细胞可产生多达10,000个病毒颗粒。

病毒装配成熟后释放的方式有:①宿主细胞裂解,病毒释放到周围环境中,见于无囊膜病毒,如腺病毒、脊髓灰质炎病毒等;②以出芽的方式释放,见于有囊膜病毒,如疱疹病毒在核膜上获得囊膜,流感病毒在细胞膜上获得囊膜而成熟,然后以出芽方式释放出成熟病毒。也可通过细胞间桥或细胞融合邻近的细胞。

参考文献

- [1] 孔凡迪. 宿主因子TMUB1参与流感病毒复制调控的机制研究[D]. 中国农业科学院,2020.
- [2] 牛军伟. 冠状病毒广谱抑制剂体内评价及抗病毒机制探究[D]. 中国疾病预防控制中心,2020.
- [3] 季星好. 鸡RIG-I样受体MDA5及下游接头蛋白MAVS的相关研究[D]. 扬州大学,2020.