

## 病毒學概論



授課教師：楊文仁

任職單位：高雄大學生物科技研究所

日期：2011年3月5日

1

### Q:細菌與病毒有何不同?

#### T細菌

- 屬原核生物。
- 形狀：球菌、桿菌、螺旋菌。
- 構造：
  - 細胞壁：肽聚糖。
  - 細胞膜：膜上具呼吸作用酵素，可合成ATP。
  - 細胞質：具酵素和核糖體，可進行多種生理活動。
  - 染色體：由DNA疊合而成。
  - 纖毛：由蛋白質構成，與遺傳物質轉移有關。
  - 鞭毛：由蛋白質構成，具運動功能。
  - 荚膜：由多醣或多肽構成，具保護作用能增強細菌致病力。
  - 質體：細菌細胞質內染色體以外的DNA。
  - 葉綠素：某些自營性細菌才有，可進行光合作用。
- 生長：大多數細菌適合在攝氏20至45度生長。
- 依獲得營養的方式分為：
  - 異營性：腐生菌、寄生菌。
  - 自營性：光合細菌、硝化細菌。
- 依氧氣利用的方式分為：好氧菌、厭氧菌。
- 繁殖：分裂生殖、接合生殖。



2

## 病毒

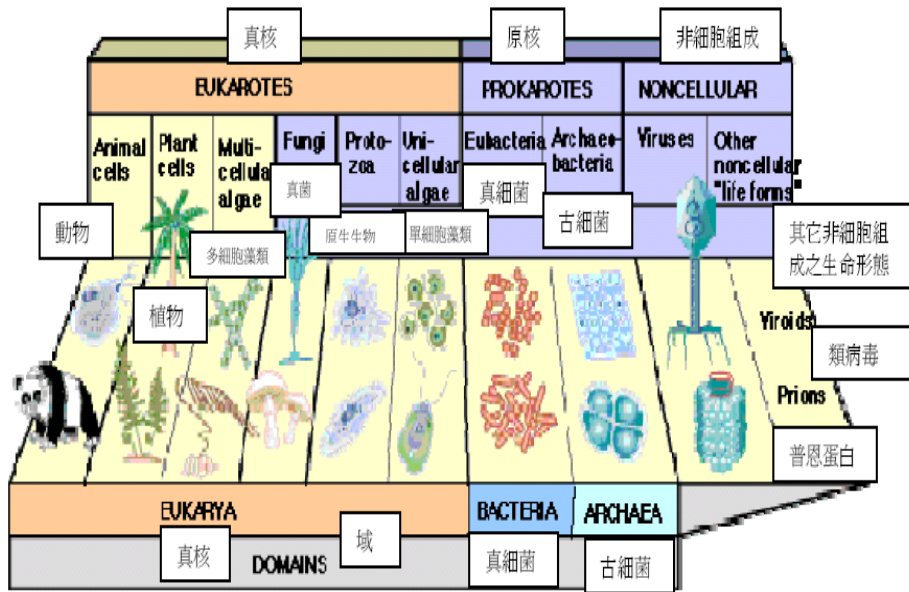
- 極其微小，須藉由電子顯微鏡方能觀察。
- 構造簡單，無細胞的基本構造。
- 形狀：二十面體、螺旋對稱、複雜對稱。
- 構造：蛋白質外殼、核酸中心(以DNA或RNA其中一種做為遺傳物質)。
- 繁殖：缺乏代謝系統，無法獨立生活，絕對寄生。
- 感染宿主：動物、植物、細菌。
- 複製過程：吸附、除殼、合成、組合、釋放。
- 動物病毒的傳播途徑：飛沫散布、蚊蟲媒介、動物咬傷、攝食、輸血、體液。
- 植物病毒的傳播途徑：昆蟲啃咬、播種、授粉、人為傷口、自然摩擦。



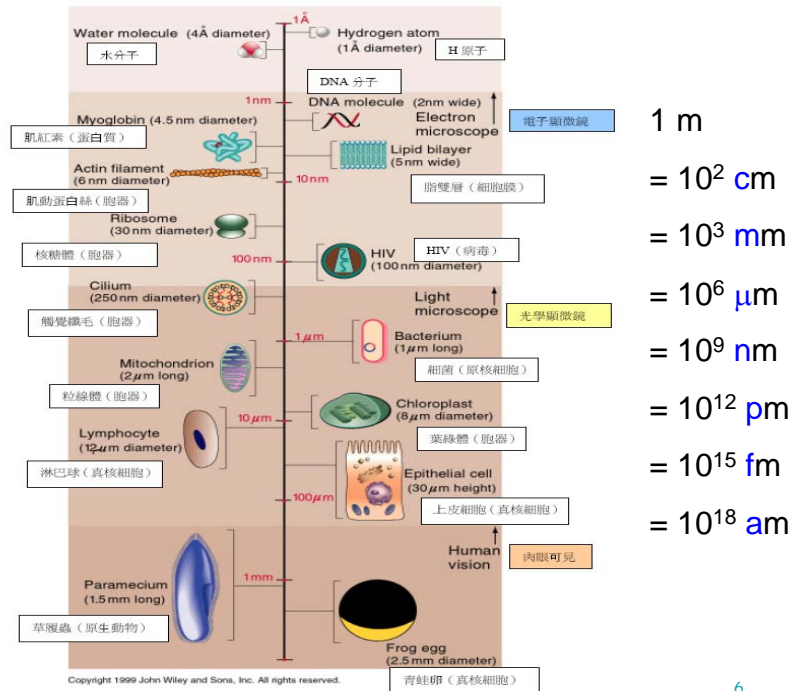
Q:下列疾病是細菌或是病毒所引起的呢?

- 1) 登革熱 (dengue fever)
- 2) 破傷風 (tetanus)
- 3) B型肝炎 (hepatitis B)
- 4) 肺結核 (tuberculosis)
- 5) 流行性感冒 (influenza)
- 6) 愛滋病；後天免疫不全症候群 (Acquired Immunodeficiency Syndrome; AIDS)
- 7) 霍亂 (Cholera)
- 8) 嚴重急性呼吸道症候群 (Severe Acute Respiratory Syndrome; SARS)
- 9) 百日咳 (Pertussis)
- 10) 日本腦炎 (Japanese encephalitis)





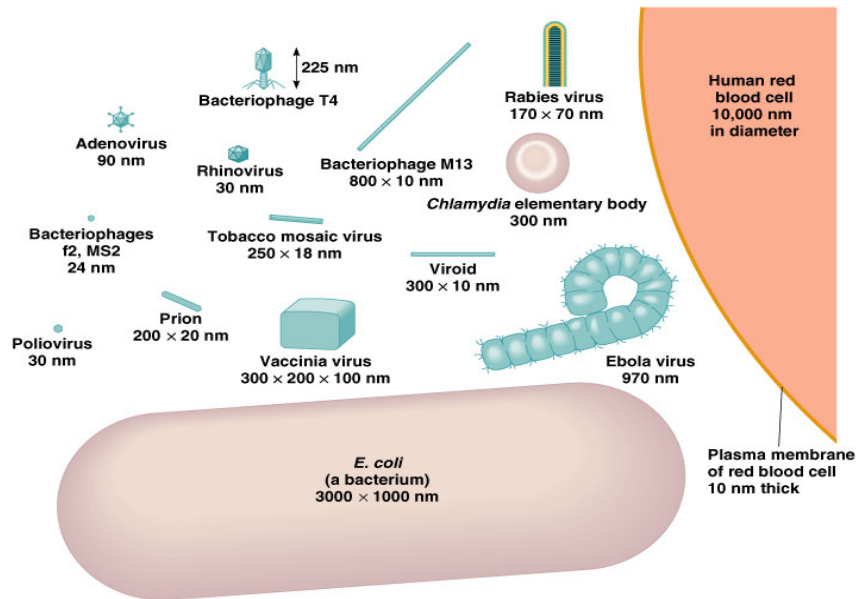
5



(圖 2-8 生物有機體的相對大小)

6

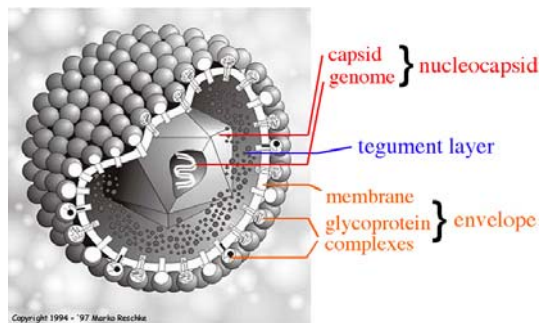
## 病毒大小



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

## Virion (virus particle, 病毒粒)

- Genome 基因組(體)
- Capsid 外殼
- Envelope 鞘膜 (some viruses)



- 📖 病毒的構造非常簡單，介於細胞與分子之間，基本組成有核心 (nucleocapsid core)，其由核酸與蛋白質的外殼(capsid)所構成，有些病毒顆粒外包有鞘膜(envelope)。
- 📖 核心部分由遺傳物質核酸(DNA或RNA)，外殼蛋白部分由多種蛋白質所構成，因此病毒顆粒的形狀、大小隨外殼蛋白種類不同的差異。

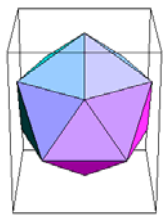
## 病毒基因組(viral genomes)

1. DNA或RNA
2. 單股或雙股
3. 直線形或環狀
4. 為病毒分類的重要依據
5. 病毒基因組中含有製造病毒複製所需蛋白質的基因
6. 也含有修改宿主細胞以利病毒複製所需酵素的基因

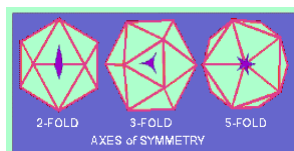


## VIRION NUCLEOCAPSID STRUCTURES

### A) 二十面體對稱 (Icosahedral symmetry)

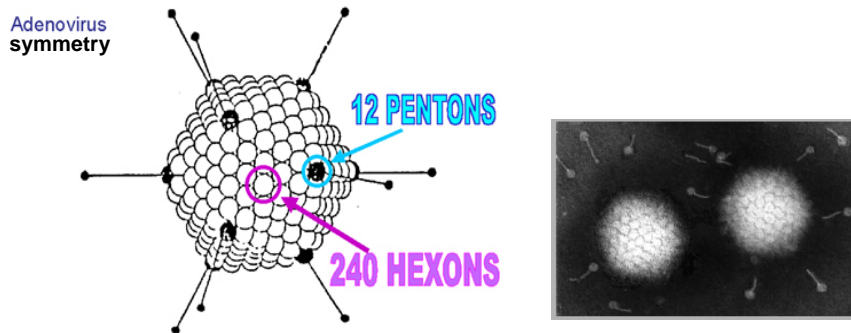


- An icosahedron is composed of 20 facets
- each an equilateral triangle (等邊三角形)
- 12 vertices (頂點)
- the axes (軸) of rotational symmetry is said to have 5:3:2 symmetry



- An axis of **two-fold** rotational symmetry through the centre of each **edge**
- An axis of **three-fold** rotational symmetry through the centre of each **face**
- An axis of **five-fold** rotational symmetry through the centre of each **corner** (vertex)

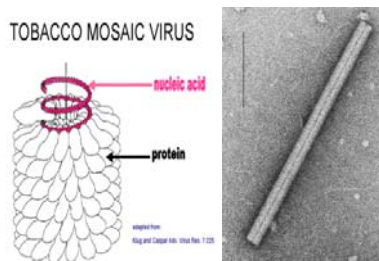
一個二十面體的大小是由殼粒(capsomers)的大小及數目而定，在角落共有12 pentons (因為二十面體有12個頂點)，但是hexons的數目隨病毒的大小而異。例如人類腺病毒 (human adenovirus) 由12 pentons 以及 240 hexons所組成。



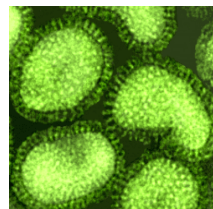
Negative staining of human adenovirus  
(© 1995 Dr Linda Stannard, University of Cape Town.)

## B)螺旋對稱 (Helical symmetry)

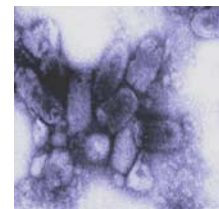
- ☞ 蛋白質次單位間以及核酸能彼此相互作用而形成盤繞似絲帶狀 (coiled, ribbon like)的結構。
- ☞ 研究最透徹的螺旋對稱病毒是無鞘膜的(non-enveloped)菸草鑲嵌病毒(tobacco mosaic virus) 在電子顯微鏡下呈現 rod-like 結構。
- ☞ 在有鞘膜的(enveloped)螺旋對稱病毒中 (例如：流感病毒influenza virus, 狂犬病病毒 rabies virus)其外殼更長、更具flexible，在電子顯微鏡下如 telephone cord一般。



Tobacco mosaic virus (菸草鑲嵌病毒) showing a helical capsid structure



Influenza Virus  
(© 1995 Dr Linda Stannard, University of Cape Town.)

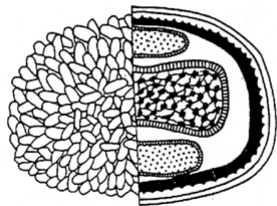


Rabies virus  
(Wadsworth Center, NY Dept of Health)

### C) Complex symmetry 複雜對稱

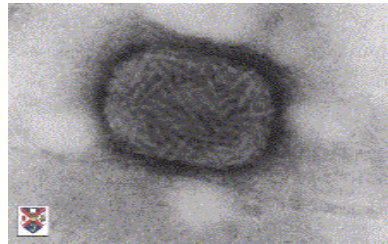
These are regular structures, but the nature of the symmetry is not fully understood. e.g. poxviruses.

#### COMPLEX SYMMETRY



POXVIRUS FAMILY

Complex symmetry of poxviruses  
(Fenner and White Medical Virology  
4th ed. 1994)



Pox virus seen by negative staining  
(© Stewart McNulty, 1994 Veterinary  
Sciences Division, Queen's University  
Belfast )

13

#### FIVE basic structural forms of viruses in nature

##### ➤ Naked icosahedral

e.g. poliovirus (小兒麻痺病毒), adenovirus (腺病毒), hepatitis A virus (A型肝炎病毒).

##### ➤ Naked helical

e.g. tobacco mosaic virus (菸草鑲嵌病毒), so far no human viruses with this structure known.

##### ➤ Enveloped icosahedral

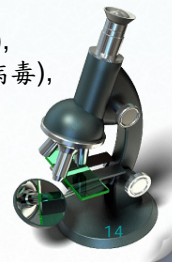
e.g. herpes virus (皰疹病毒), yellow fever virus (黃熱病病毒), rubella virus (德國麻疹病毒).

##### ➤ Enveloped helical

e.g. rabies virus (狂犬病病毒), influenza virus (流感病毒), parainfluenza virus (副流感病毒), mumps virus (腮腺炎病毒), measles virus (麻疹病毒)

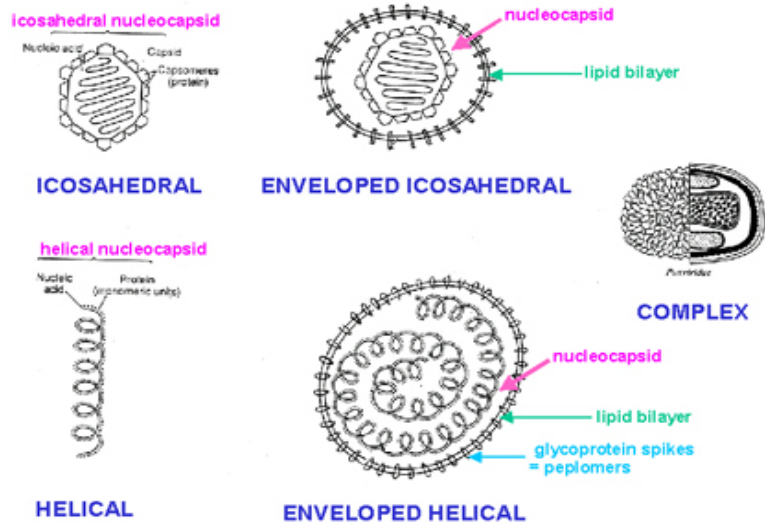
##### ➤ Complex

e.g. poxvirus (痘病毒).



14

## 5 BASIC TYPES OF VIRAL SYMMETRY



Adapted from Schaeter et al., Mechanisms of Microbial Disease

## 病毒的分類

Q: 病毒可依據哪些標準做分類?





## 病毒複製週期

複製過程包括下列步驟:

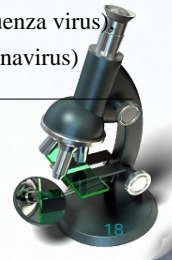
1. 病毒辨識(recognition) 及吸附(attachment; adsorption)
  - 與宿主接受器(receptor)結合
2. 侵入(penetration)細胞
  - (1) 將整個病毒顆粒吞入
  - (2) 將病毒基因組注入宿主細胞
3. 去殼(uncoating)
  - 移除外殼蛋白
4. 病毒基因表現(gene expression)及基因組複製
  - 合成病毒的蛋白及基因組，不同類型的病毒基因組的合成機制不同
5. 組合(assembly)與成熟(maturation)
  - 病毒外殼(capsid)與基因組組合病毒粒，進行成熟作用
  - 鞘膜病毒(enveloped virus)自宿主membrane得到鞘膜
6. 釋放(release)
  - 出芽(budding)或宿主細胞溶解(cytolysis)

17

### 某些可與動物病毒結合的細胞接受器

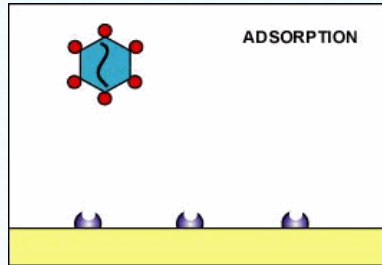
接受器名稱	細胞功用	可結合之病毒
ICAM-1	細胞間吸附作用	小兒麻痺病毒 (poliovirus)
CD4	T-淋巴球功能性標記分子	愛滋病毒 (HIV)
MHC-I	抗原呈現	披膜病毒 (togavirus), SV40
MHC-II	抗原呈現/刺激B淋巴球分化	Visnavirus (慢病毒 lentivirus)
Acetylcholine receptor	神經衝動傳遞者	狂犬病病毒 (rabies virus)
EGF	生長因子	痘病毒 (vaccinia virus)
Sialic acid (唾液酸)	細胞外糖基化(glycosylated)蛋白 普遍存在的成分	流感病毒 (influenza virus) 冠狀病毒 (coronavirus)

ICAM: intercellular adhesion molecule ; CD: Cluster of Differentiation ;  
MHC: major histocompatibility complex ; EGF: epithelial growth factor

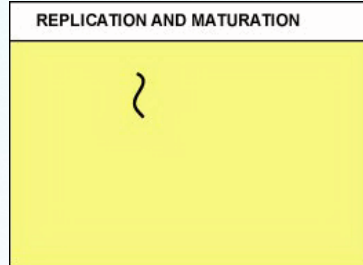


無鞘膜病毒(nonenveloped viruses)的複製

I. 吸附



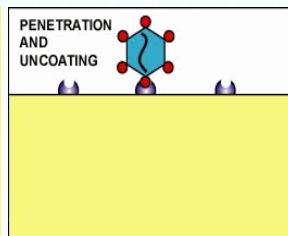
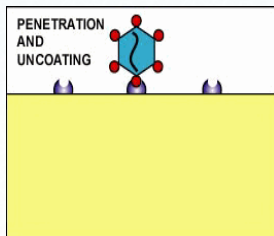
III. 複製與成熟



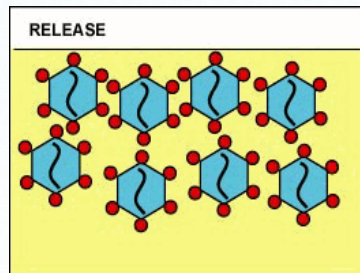
II. 侵入與去殼

經由融合(fusion)方式

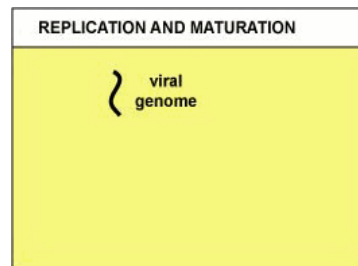
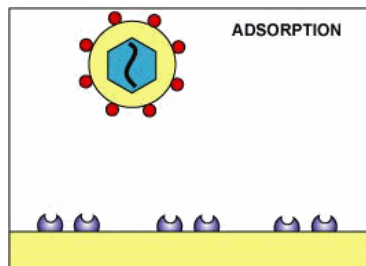
經由內吞作用(endocytosis)



IV. 釋放



鞘膜病毒(enveloped viruses)的複製

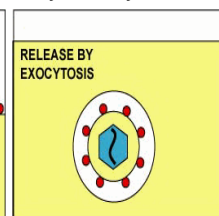
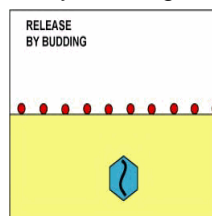
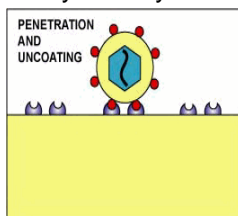
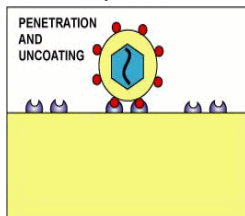


By fusion

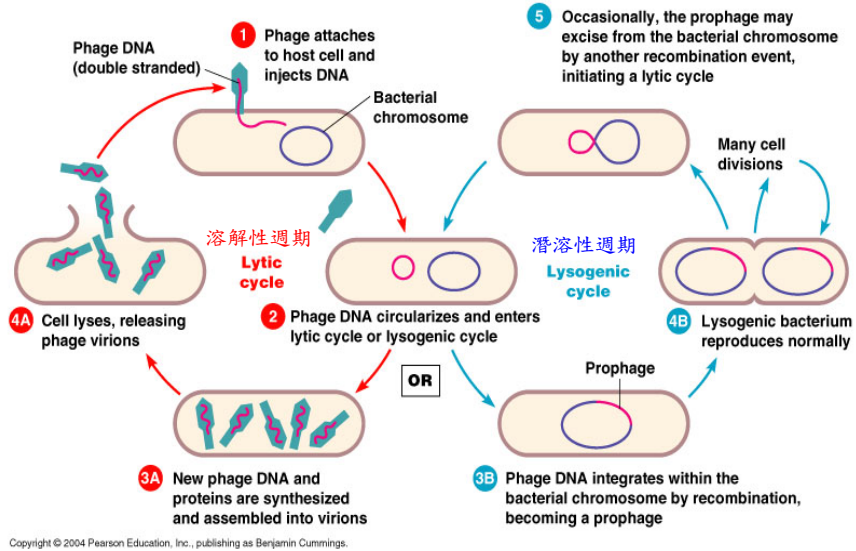
By endocytosis

By budding

By exocytosis



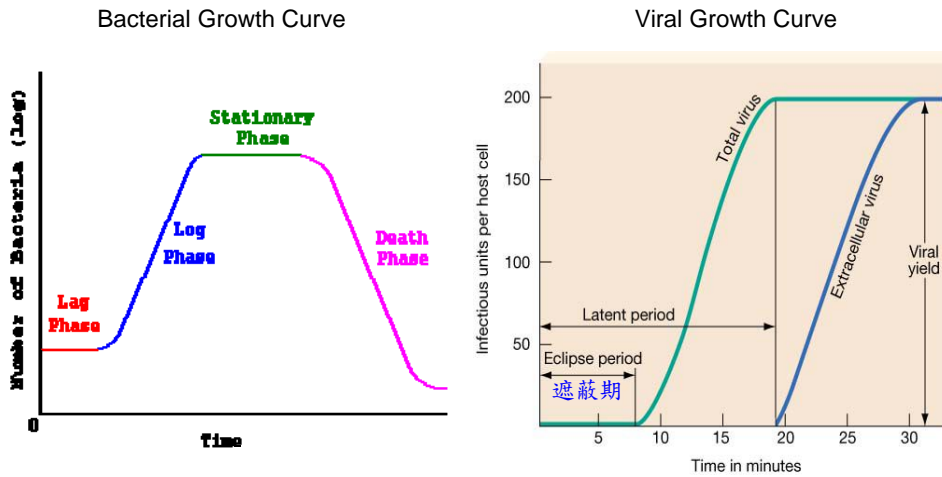
## 噬菌體複製



Virus Lytic Cycle影片(1'15''): <http://www.youtube.com/watch?v=wVkJCyU5aeeU>

21

## 細菌與病毒的生長曲線



在潛伏期的早期，並無法觀測到完整的病毒粒子，此期又特別稱為「遮蔽期」(eclipse period)或黑暗期(dark phase)。

22

## 病毒的研究方法

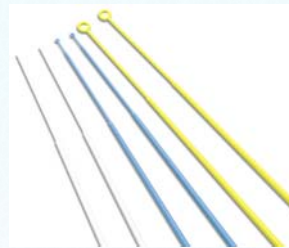
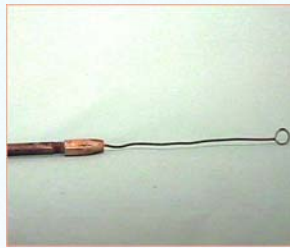
病毒是**絕對寄生**，要研究病毒，就必須提供**宿主細胞**，使病毒進行感染、複製，才能培養出病毒進行研究。

### 細菌細胞(bacterial cells)之培養

- 某些細菌難以培養；某些細菌的生長緩慢，生長世代很長。大腸桿菌 (*Escherichia coli*; *E. coli*) 生長快速，20~30分鐘就進行一次分裂生殖。
- 培養基提供能量來源及碳源(通常來自 glucose)，無機氮、磷、硫...等。
- 細菌培養方式
  - ☒ 液態培養(liquid culture)，在生長的指數期 (exponential phase) 可達到  $\sim 10^8$  cells/ml。
  - ☒ 固體或半固體培養，可形成菌落(colony)。

Clone (無性繁殖系;克隆): 培養得到的所有細胞是源自於單一細胞，均為該單一細胞的子代，所有細胞的遺傳基因組成與該單一細胞相同。

### 接種環 (inoculating loop)



### 三區劃線法

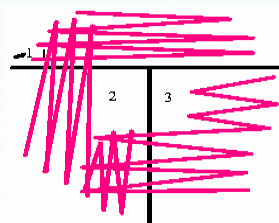
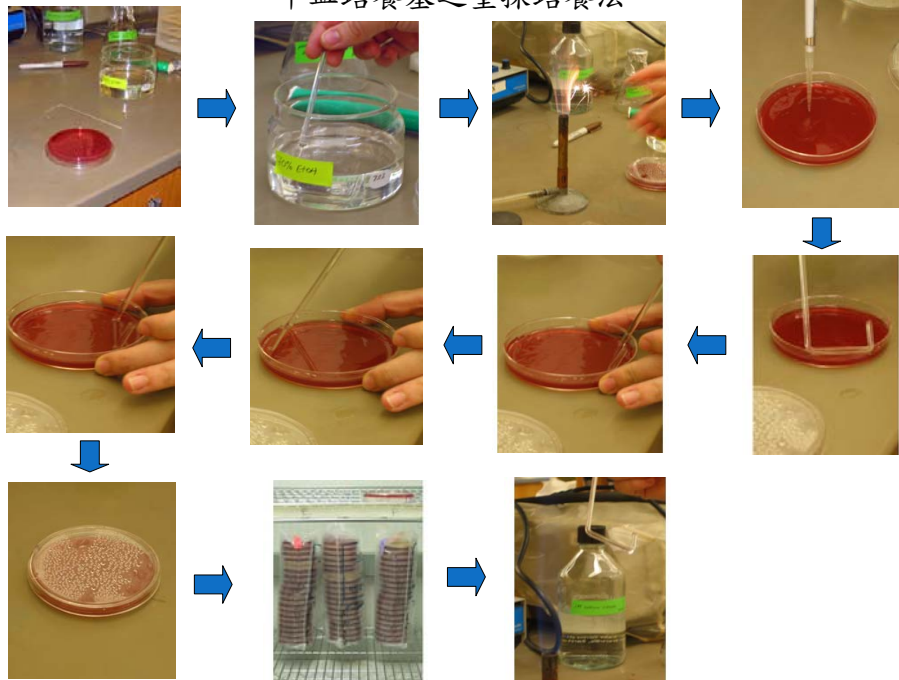


Figure 1

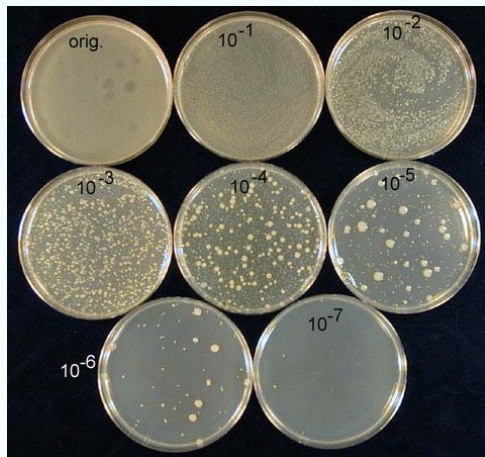


<http://www.wonderhowto.com/how-to/video/how-to-streak-a-plate-and-see-bacterial-culture-growth-259933/view/>

### 平皿培養基之塗抹培養法



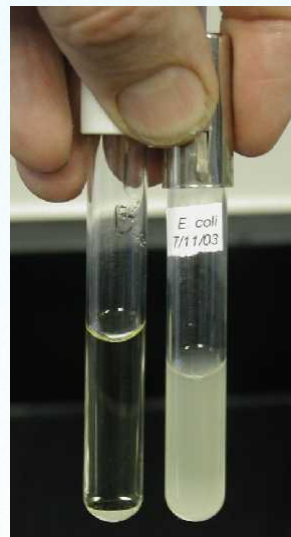
### 平皿培養基稀釋塗抹法 (dilution plating)



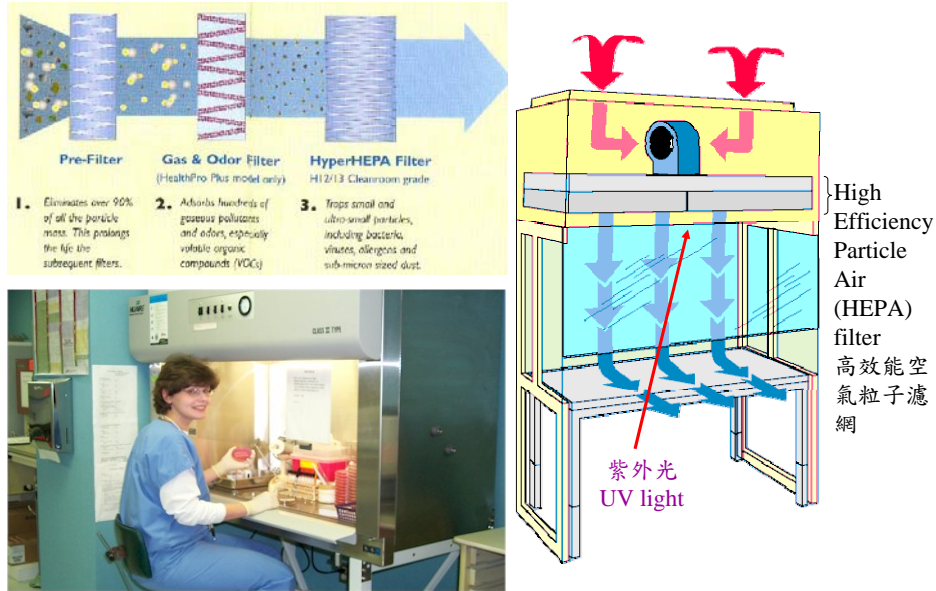
大腸桿菌(*E. coli*)以10倍連續稀釋進行平皿培養的結果，1 ml原液及每一稀釋倍數的樣品加入20 ml液態洋菜膠(agar)中，再倒入培養皿中。可計數的菌落數(30-300 cfu)出現在 $10^{-6}$ 培養皿。菌落大小之差異是由於某些菌落生長在洋菜膠內，有些生長在洋菜膠表面所致。

系列稀釋動畫：[http://education.wichita.edu/saltymicro/ecology\\_interactives/serial\\_dilution.html](http://education.wichita.edu/saltymicro/ecology_interactives/serial_dilution.html)

### 液態培養



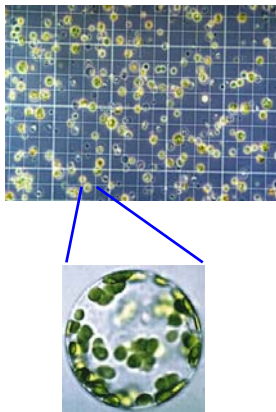
## 無菌操作台 (Laminar flow hood)



## 植物細胞培養

- 大部分植物病毒能藉由感染其完整的宿主來進行研究。
- 植物細胞的先天結構使其細胞培養非常難以操作。
- 植物細胞能以不帶有細胞壁的原生質體(protoplasts)型式加以培養。然而，很少病毒學的研究是以此種系統進行研究。

### 原生質體 (protoplasts)



### 植物從原生質體再生成完整植株

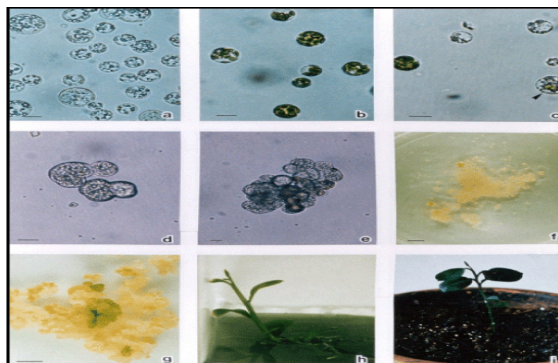


FIG. 1. a. Isolated and purified protoplasts from sweet orange ovule-derived embryogenic callus, in suspension cultures (bar = 10  $\mu$ m); b. isolated and purified protoplasts from leaf mesophyll of seedlings germinated *in vitro* (bar = 10  $\mu$ m); c. protoplasts just after the addition of PEG solution. The arrow shows a fusion between an embryogenic suspension and a leaf mesophyll cell derived protoplast (bar = 10  $\mu$ m); d. initial cell division, approximately 10 days after protoplast fusion and plating (bar = 10  $\mu$ m); e. cell cultures with small colonies (bar = 10  $\mu$ m); f. vigorous colonies after transferring to solidified medium (bar = 5 mm); g. somatic embryo induction (bar = 0.5 cm); h. shoots transferred to rooting medium (bar = 0.5 cm); i. regenerated plant, transferred to commercial potting mixture, in greenhouse (bar = 2.5 cm).

## 動物、人類細胞培養

培養基(culture medium)的組成類似於**血漿(plasma)**成分

- ✘ **胺基酸** (amino acids)
- ✘ **維生素** (vitamins)
- ✘ **葡萄糖** (glucose – 能量來源)
- ✘ **緩衝液** (buffers – 避免培養基太酸)
- ✘ **血清** (blood serum – 通常是胎牛或馬血清，含有許多生長因子(growth factors))
- ✘ **抗生素**(antibiotics – 避免微生物污染)



## 動物細胞培養



## 動物細胞培養

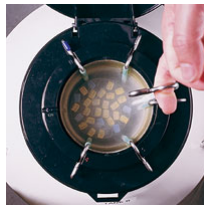
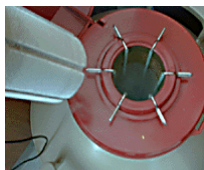
- 氣體是哺乳動物細胞培養生存必需條件之一，所需氣體主要有氧氣和二氧化碳。
- 氧氣參與檸檬酸循環(TCA cycle)，產生供給細胞生長增殖的能量和合成細胞生長所需用的各種成分。
- 培養時一般把細胞置於95%空氣加5%二氧化碳混合氣體環境中。
- 二氧化碳既是細胞代謝產物，也是細胞生長繁殖所需成分，它在細胞培養中的主要作用在於維持培養基的pH值。
- 每種細胞都有其最適合生長的pH值，大多數細胞適宜的pH為7.2~7.4，偏離這一範圍對細胞培養將產生有害的影響。
- 細胞對酸的耐受性比耐鹼性強一些，但有些細胞喜歡在偏鹼環境中生長，例如纖維細胞最適合pH是7.4~7.6。



細胞冷凍管  
含有冷凍保護劑(例如  
DMSO 或 glycerol)



冷凍保護劑含DMSO 或 甘油(glycerol)，將細胞內水份脫水至細胞外，然後直接置入攝氏零下196度的液態氮中，細胞內的物質瞬間變成高黏稠固態的玻璃狀物質，細胞內冰晶來不及形成就被冰凍起來，不破壞細胞本身的生理結構。





## 細胞培養可分為初級細胞及細胞株培養兩大類：

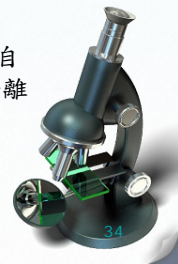
### 1. 初級細胞(primary cells)培養

- ✘ 通常從胚胎(胎兒)組織或新生動物組織分離而得。從較老的動物分離得到的細胞較難培養，培養存活幾代後即死亡。
- ✘ 染色體(chromosome)的數目及形狀正常。
- ✘ 培養基中需含有高濃度的血清及生長因子。
- ✘ 無法分裂(divide)或存活(survive)太久。
- ✘ 細胞生長與移動會有接觸抑制作用(contact inhibition)。
- ✘ 生長壽命有限。例如:纖維組織母細胞(fibroblast)自分離培養後，能分裂20~30次，隨後開始衰老死亡。
- ✘ 呈現已分化細胞(differentiated cells)的特性。
- ✘ 將此細胞送回與其來源相同的物種種類，此細胞能存活但不會產生腫瘤(tumor)。

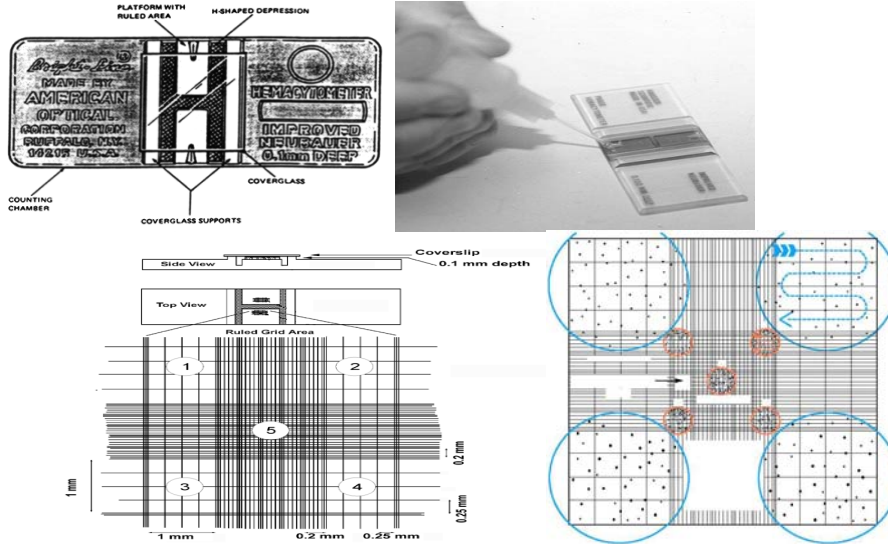


### 2. 細胞株(continuous cell lines)

- ✘ 具有 fragmented 及 reduplicated 染色體，亦即非整倍體 (aneuploid)
- ✘ 能懸浮培養，且能生長在低血清濃度的培養基中。
- ✘ 能生長在其他細胞之上，對鄰近細胞沒有接觸抑制現象。
- ✘ 基本上具有不朽的(immortal)的生長特性
- ✘ 不會呈現已分化細胞(differentiated cells)的特性
- ✘ 對細胞生長調節劑(modulators)沒有反應
- ✘ 若將細胞株接種入其原始分離來源相同種類的動物中，將無法生長而且會被動物免疫系統消滅。
- ✘ 例如 HeLa cells，源自於一位名為HeLa的子宮頸癌病患，自1951年被培養至今已超過50年，已經失去所有與當初被分離出來時組織部位細胞的特性。



## 細胞計數 血球計數盤 (Hemocytometer)



細胞計數影片 (9'42''): <http://www.youtube.com/watch?v=89SB1tAa6kg&feature=related>

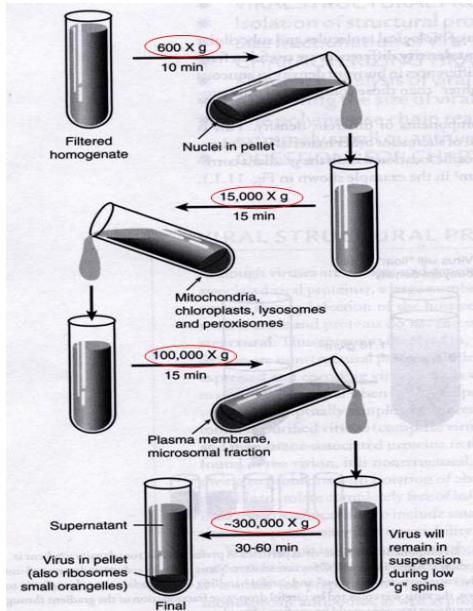
### 病毒之純化

- ☒ 純化病毒，為研究病毒性狀及製造疫苗所必須。
- ☒ 若病毒在繁殖過程未將細胞裂解，則要純化病毒的第一步驟，須先把細胞以下列方法來破壞細胞：
  - ☒ 用消化酵素或化學藥劑
  - ☒ 以超音波振盪 (ultrasonic vibration)
  - ☒ 迅速的凍結與融解 (freezing and thawing)
- ☒ 先用低速離心 (1000 xg) 把病毒和細胞成分分開，因為病毒比絕大多數的細胞碎片小，在低速離心下，病毒仍存在於上清液。
- ☒ 再將上清液進行高速離心 (50,000~100,000 xg)，即可把病毒全濃縮沈澱下來，將沈澱之病毒以培養液懸浮後，再經一次低速後高速離心，即可將大部分的雜質(細胞碎片等)除去，而得半純化的病毒。
- ☒ 再以超高速密度梯度離心，依病毒所在密度位置收集之。

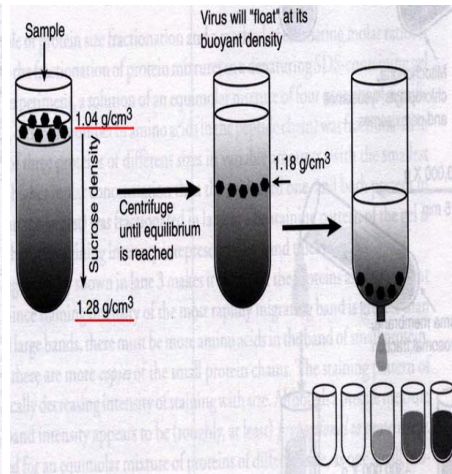


## 進一步純化病毒的方法：

### I. 差異離心 (differential centrifugation)



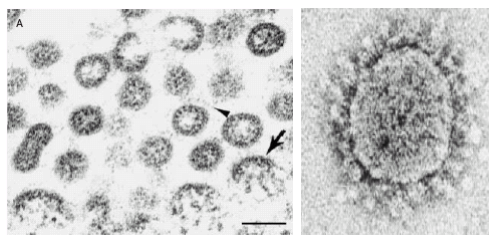
### II. 密度梯度離心 (density gradient centrifugation)



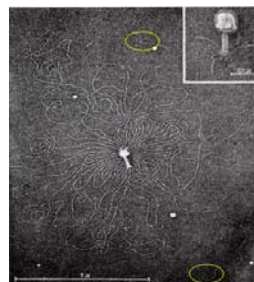
## 以電子顯微鏡觀察病毒



電子顯微鏡下所觀察到的冠狀病毒



以電子顯微鏡觀察噬菌體基因組(viral genome)



## 血液凝集試驗---間接計數病毒的方法

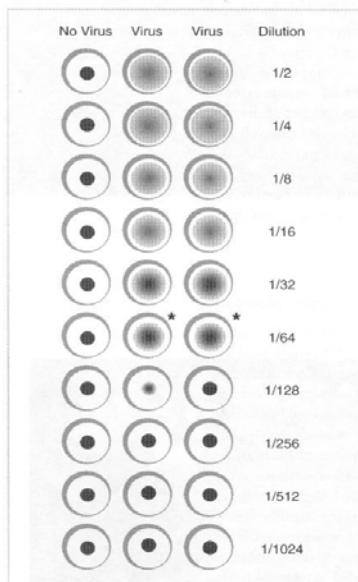
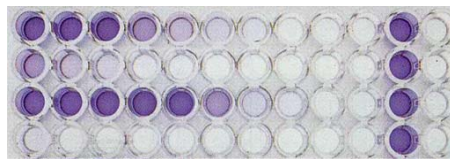
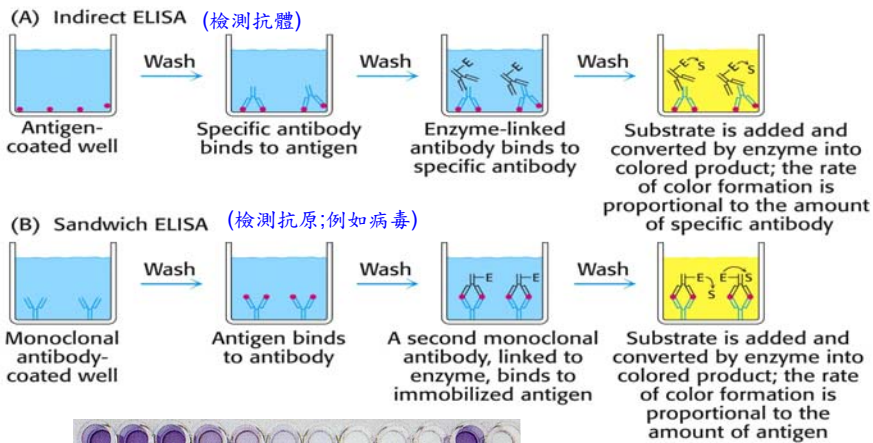


Fig. 9.5 Assay of influenza virus by hemagglutination. The same number of red blood cells was added to each well, and duplicate samples of a virus stock were added to the wells at the indicated dilutions. Two-fold dilution steps are very convenient to handle and require only a small amount of virus sample. The wells in which there is enough virus present to agglutinate red blood cells have a gelatinous suspension of the colored cells. In wells with no virus, or an amount too low to agglutinate the cells, the red blood cells can be pelleted at the well's bottom with low-speed centrifugation. If more virus particles were in the original suspension, more dilution would be required to lower the concentration below the critical level for the hemagglutination measured. This would result in a higher HA titer, which is just the dilution factor required to dilute the agglutination. (Based on fig. 2.5 in Dimmock, N.J., and Primrose, S.B. *Introduction to modern virology*, 4th edn. Boston: Blackwell Science, 1994.)

## 酵素連結免疫吸附分析法

### Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)



<http://www.youtube.com/watch?v=mpzDfTW33Hc&feature=related> 0:23

## 動物病毒的培養

### ↑ 動物接種法 (animal inoculation)

- 於實驗動物的腦部或腹腔、皮下等處接種病毒，待病毒繁殖後再收集純化。

### ↑ 雞胚胎接種培養法 (chicken embryo inoculation)

- 受精11~12天的雞胚胎做為活細胞來源，接種病毒後，培養3~5天，收集純化。

### ↑ 細胞培養法 (cell culture)

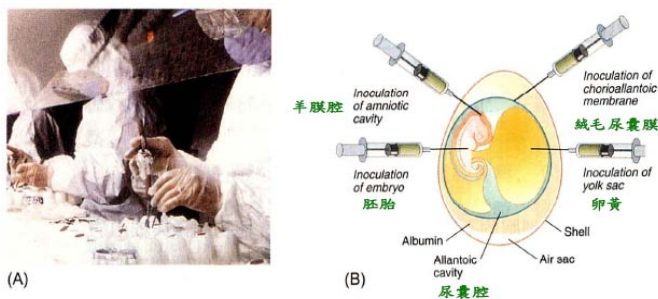


圖 3-10 以雞胚胎培養動物病毒。(A) 不同病毒打入雞胚之不同部位如圖(B)所示，病毒可在其內繁殖。

以雞胚蛋培養流感疫苗影片: <http://www.youtube.com/watch?v=vnPC4ligMxY>

以細胞培養生產流感疫苗動畫: <http://www.youtube.com/watch?v=XeG2C1o2mVg&NR=1>

41

### 斑點形成單位(Plaque forming unit; PFU)

- ：當一病毒顆粒吸附於感受性宿主細胞，而後即穿入細胞內進行複製，繼而溶解宿主，使受破壞之細胞處產生一圓形透明區之斑點，每一透明區即為**斑點形成單位(plaque-forming unit, PFU)**，可用於計數培養液中**具感染力**之病毒顆粒。

### 病毒感染劑量 ( Multiplicity of infection; MOI)

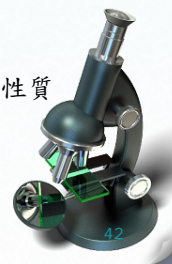
- ：the average number of PFUs per cell.

MOI = 1, means 1 PFU per cell

- 意指細胞數目與感染的病毒數量之比例。

### 細胞病變作用(Cytopathic effect; CPE)

- ：病毒感染細胞，會導致細胞在外觀、代謝過程、生長及其他性質產生明顯的改變，甚至死亡，此種現象稱之細胞病變作用。



42

## 病毒斑點試驗(plaque assays)

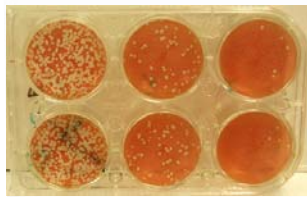


Fig. 10.7 Serial 10-fold dilutions of HSV to determine the titer of virus in a stock solution. The details of the infection are as described in the legend to Fig. 10.5a, and the calculation of the titer is shown in Table 10.1.

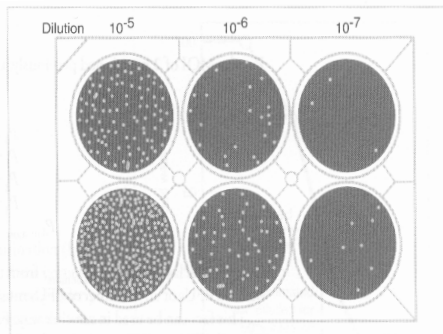


Table 10.1 An example of a set of dilutions for a plaque assay.

Operation	Dilution of stock	Plaques per dish
0.01 ml of stock diluted into 10 ml of buffer	$10^3$	Too many to count
1 ml of above diluted into 10 ml of buffer	$10^4$	Too many to count
1 ml of above diluted into 10 ml of buffer	$10^5$	500-1000 (estimated)
1 ml of above diluted into 10 ml of buffer	$10^6$	$(20 + 100)/2 = 60$
1 ml of above diluted into 10 ml of buffer	$10^7$	$(3 + 8)/2 = 5$
1 ml of above diluted into 10 ml of buffer	$10^8$	0
1 ml of above diluted into 10 ml of buffer	$10^9$	0

→Original stock is  $\sim 6 \times 10^7$  PFU/ml

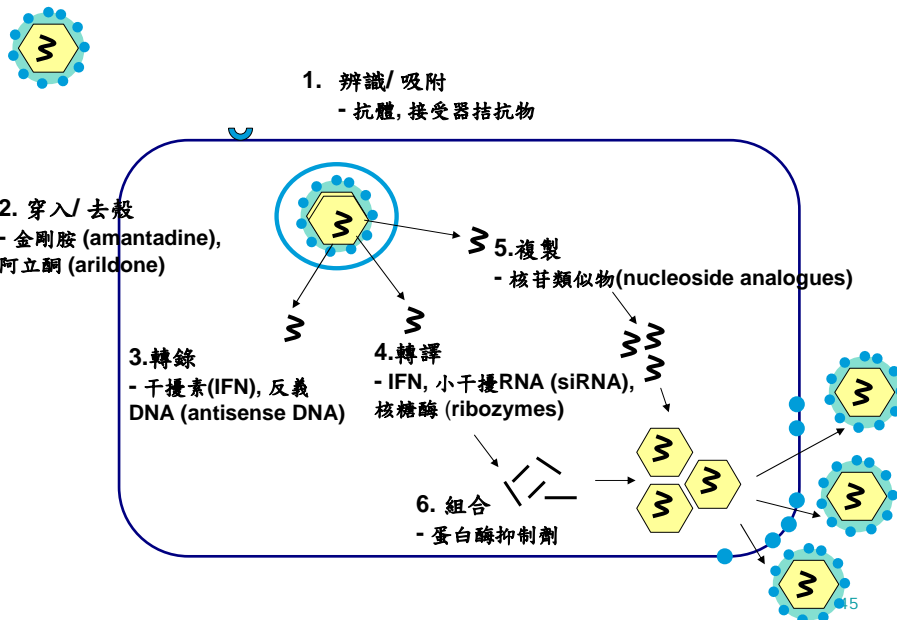
## 抗病毒藥物

### 抗病毒藥物之標的--- 病毒酵素(Viral enzymes)

- 核酸聚合酶(Nucleic acid polymerases)
  - DNA-dependent DNA polymerase - DNA viruses
  - RNA-dependent RNA polymerase - RNA viruses
  - RNA-dependent DNA polymerase (RT) - Retroviruses
- 蛋白酶(Protease) --- 反轉錄病毒(retrovirus)
- 嵌合酶(Integrase) --- 反轉錄病毒(retrovirus)
- 神經胺酸酶(Neuraminidase) --- 副黏病毒(orthomyxovirus)

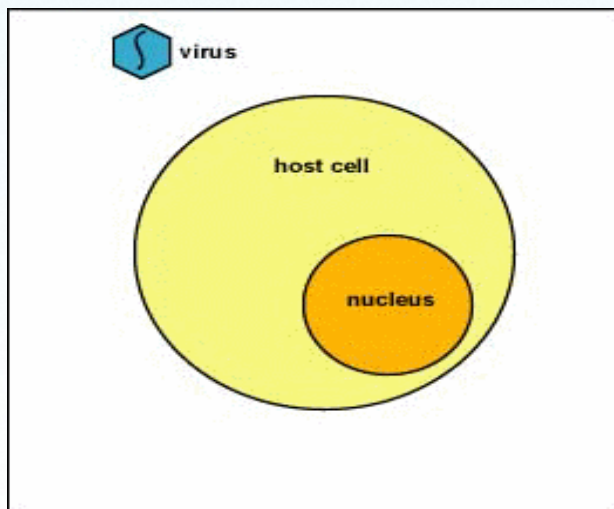


## Antiviral Therapies Directed Against the Virus



### 干擾素 (Interferon) 的抗病毒作用

干擾素誘導未受感染細胞產生可分解病毒mRNA的酵素，這些酵素是以不活化狀態存在，直到此細胞被病毒感染後，此酵素才被活化，進而將病毒及細胞的mRNA降解破壞，不但阻斷病毒蛋白質的合成，最終會將被感染的細胞殺死。



世界衛生組織(WHO)於1980年宣告天花病毒在地球上被滅絕，您認為有哪些因素或條件?為何其他病毒卻無法被滅絕?

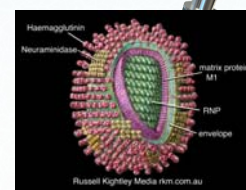
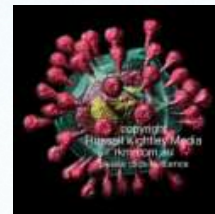
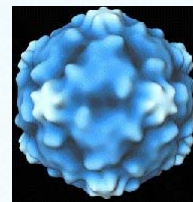
天花可以被滅絕的主要原因：

- 
- 
- 
- 
- 
- 



### 引起感冒的常見病毒

病毒名稱	每年佔率
鼻病毒	30~50%
冠狀病毒	10~15%
流感病毒	5~15%
呼吸融合病毒	5%
副流感病毒	5%
腺病毒	< 5%
腸病毒	< 5%
間質肺病毒	不明
不明	20~30%





## 流感病毒 (Influenza virus)

- ▶ 流感病毒表面的**紅血球凝集素**(Hemagglutinin; H)及**神經胺酸酶**(Neuraminidase; N)是發生突變主要的位置。H共有16種分型(H1~H16)；N共有9種分型(N1~N9)
- ▶ **神經胺酸酶**可切割受感染細胞表面碳水化合物化合物的**末端唾液酸(sialic acid)**殘基，有助於病毒子代從細胞中釋放出來的功能。
- ▶ 神經胺酸酶也可以切割**病毒蛋白質**上的唾液酸殘基，避免病毒產生**凝集**現象。
- ▶ **大突變 (抗原移型; antigenic shift)**
  - 因豬感染人及鳥的流感病毒，病毒發生**基因重組(reassortment)**產生新種病毒，再感染人，造成人與人之間傳染
  - 人同時感染兩種病毒，產生新病毒
- ▶ **小突變 (抗原微變; antigenic drift)**
  - 因病毒基因**複製過程錯誤**產生小的突變
- ▶ **克流感**主要成份是奧司他韋(Osetamivir)，是**神經胺酸酶的抑制劑**，會作用在流感病毒的神經胺酸酶的活性部位，使受感染的宿主細胞所製造出來的新病毒顆粒無法釋放出來，因而阻止了流感病毒的複製與擴散。

49



愛滋病



- ▶ 愛滋病的全名為**後天免疫缺乏症候群(Acquired Immuno-Deficiency Syndrome)**，簡稱為AIDS。是由**人類免疫缺乏病毒(Human Immunodeficiency Virus, HIV)**，俗稱**愛滋病毒**感染所引起的疾病。
- ▶ HIV會經由**血液**帶至全身，並破壞人類免疫系統中稱為**CD4的T細胞**。
  - 當血液中的病毒數量越來越多，CD4細胞的數量則會逐漸減少，因而使身體的免疫力下降。當血液中的CD4淋巴球數**少於200/毫升**，就進入愛滋病期。
  - 人體失去抵抗外界病原體的能力，因而得到各種**伺機性感染**，包括肺囊蟲肺炎、食道念珠菌感染、巨細胞病毒感染、**卡波西氏肉瘤**、沙門氏菌血症、肺外隱球菌感染、弓漿蟲菌感染...等。甚至發生**惡性腫瘤**，進而喪失生命。
- ▶ 愛滋病毒是**RNA反轉錄病毒**，主要分為HIV-1和HIV-2。**HIV-1**是造成全球愛滋病流行的主要病因。
- ▶ HIV外套膜係由表面蛋白(**gp120**)和穿膜蛋白(**gp41**)所組成；核心係由殼蛋白(**p24**)所組成，其內包含有**兩套**病毒遺傳分子**RNA**及**反轉錄酶(reverse transcriptase)**。



## 愛滋病

愛滋病毒的三大傳染途徑：

1. 性行為傳染; 2. 血液傳染; 3. 母子垂直感染。

愛滋病毒感染的空窗期是指從得到病毒感染到血中開始出現抗體的期間，代表在這段期間內，患者若接受抗體檢驗會呈現陰性的結果（意即會被判讀成未感染），但已有傳染他人的能力。空窗期一般約為一至三個月。

治療愛滋病的藥物AZT (azidothymidine; 疊氮胸苷)的分子構造與去氧胸腺嘧啶的結構很相似，作用機制是抑制反轉錄酶的活性。

何種體液可以傳染 HIV?

- 含高濃度 HIV 的體液：血液、精液、陰道液、母乳、含血液之其他體液
- 其他可能 HIV 的體液：CSF (腦脊髓液); 關節腔液; 羊水
- 口水與眼淚中的 HIV 極微量，至今未有因接觸此二者而感染 HIV 者。
- 汗水中沒有發現過 HIV。



## HIV-1之複製過程

1. 吸附：

藉由病毒外殼上的gp120蛋白與宿主細胞上的CD4受體結合。

2. 反轉錄作用：

反轉錄病毒須先經由反轉錄酶的作用，將病毒單股RNA轉變成雙股的DNA，繼而鑲嵌入宿主細胞的染色體。

3. 嵌入：

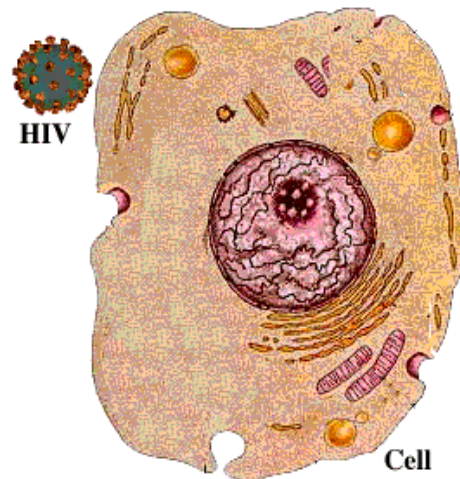
反轉錄作用產生之雙股DNA隨意嵌入宿主細胞的染色體，做為合成病毒子代的模板。

4. 轉錄作用

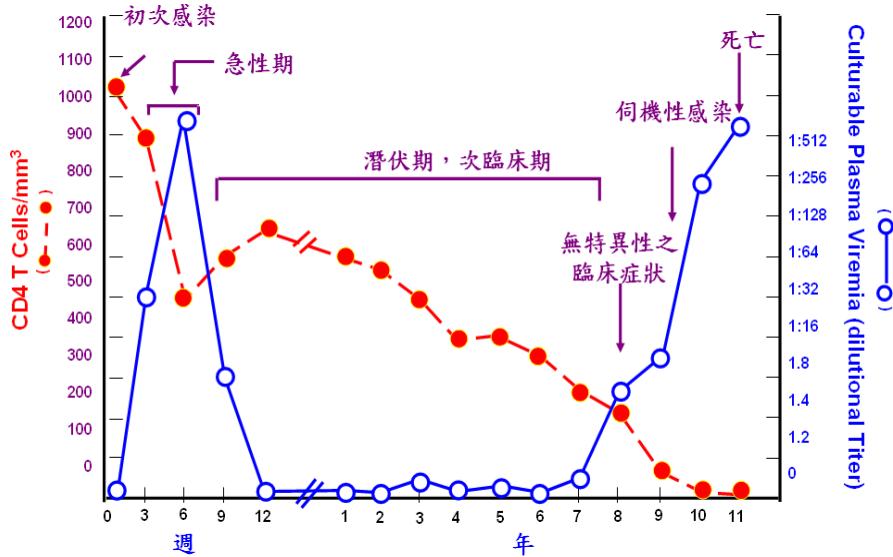
5. 轉譯

6. 組裝

7. 釋放



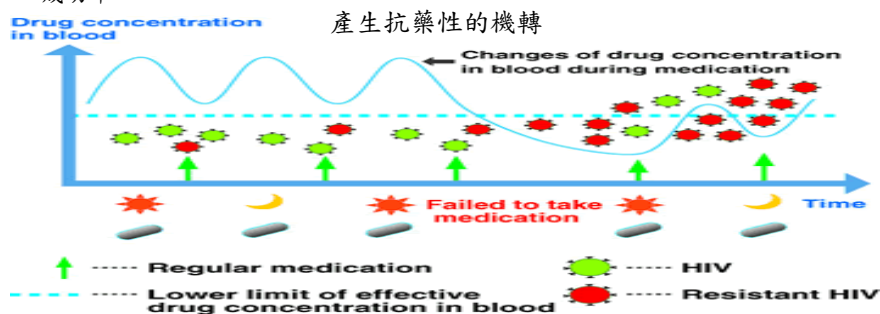
## 愛滋病毒感染之自然病程



## 高效能抗反轉錄病毒治療法 HAART

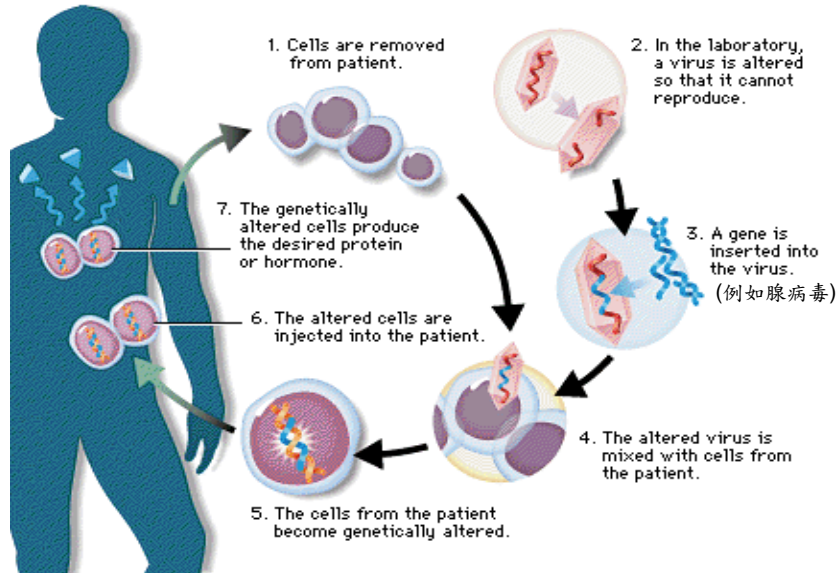


- ▶ 高效能抗反轉錄病毒療法(HAART, Highly Active Anti-retroviral Therapy), 俗稱“雞尾酒療法”是指使用三種以上抗愛滋病毒藥物合併治療的方法, 此療法能降低病毒量, 提高免疫力, 改善存活率和減少抗藥病毒產生。
- ▶ 目前的雞尾酒療法, 是根據感染者的病程、臨床及免疫功能狀況和生活及職業型態等, 將數種同類或不同類的抗病毒藥物加以適當組合, 以達到最大的抗病毒療效及避免愛滋病毒產生抗藥性。
- ▶ 雞尾酒療法的成功與服藥順從性有很大的關係。服藥順從性是指按照醫師囑咐按時服藥, 包括服藥時間和特殊的飲食限制。抗愛滋病毒藥物治療需要達到95%以上的服藥順從性(每20次服藥時間只有失誤或延誤1次), 才能有較高的成功率。



### 病毒載體在基因治療上之應用

基因治療(gene therapy)是利用分子生物學方法將目標基因導入患者體內，使之表達目標基因產物，從而使疾病得到治療，為現代醫學和分子生物學相結合而誕生的新技術。



### 95學年度大學入學考試指定科目【生物科】非選擇題

已知病毒的大小範圍是20~400 nm，且病毒都無法在細胞外生長與繁殖。而大多數的細菌直徑雖約0.2~2.0  $\mu\text{m}$ ，但黴漿菌(0.1~0.25  $\mu\text{m}$ )和立克次體(0.3~0.5  $\mu\text{m}$ )比一般細菌小許多。

小明有意求證某種植物發生病害是否由病毒引起，乃將患病植物的組織攪碎並離心，將上清液以0.45  $\mu\text{m}$  孔徑的濾膜過濾後，取得可能含有病毒的樣本。實驗至此，小明將面對幾個問題待釐清，試回答下列問題：

1. 過濾後，可能含有病毒的樣本是在濾膜上，還是濾液中？為什麼？(2分)
2. 取得的樣本中是否可能還有細菌存在？為什麼？(2分)
3. 小明要如何處理才能在殺死細菌的同時，又能保持病毒的活性？(2分)

解答：

