

## บทที่ 19 ไวรัสหรือไวรัส

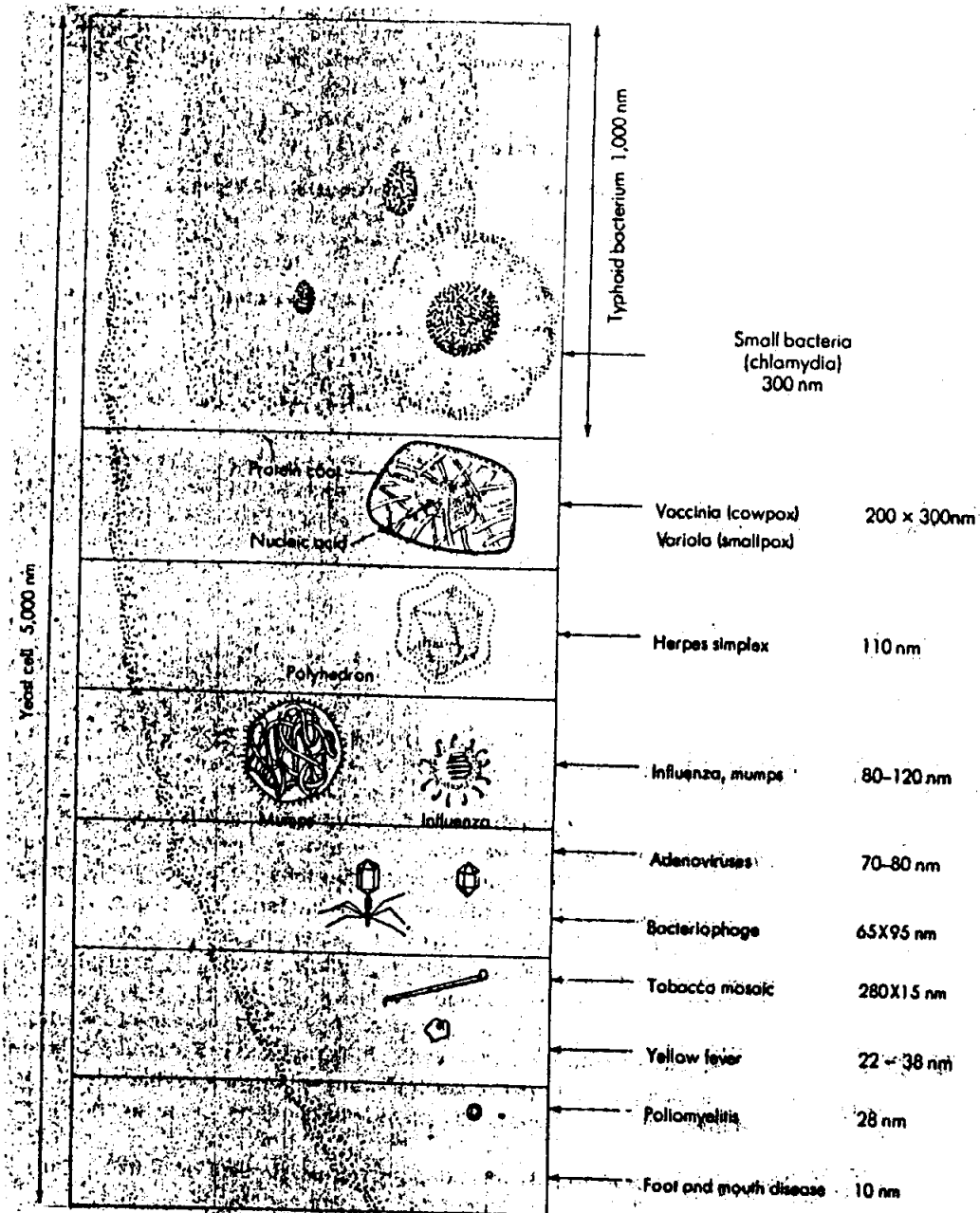
ไวรัส (virus) ประกอบด้วยหมู่ใหญ่แตกต่างกันของปัจจัยหรือสิ่งซึ่งบุกรุกร่างกายได้ (infectious agent) แต่มีความเหมือนกันคือเป็นพาราไซต์อย่างผูกมัดอาศัยอยู่ในเซลล์เจ้าบ้านที่เลือกสรรแล้ว ไวรัสมีขนาดเล็กมากจนไหลลอดผ่านรูแผ่นกรองที่แบคทีเรียไม่สามารถลอดผ่านไปได้ ไวรัสขนาดใหญ่ที่สุดมีขนาดเล็กกว่าเศษหนึ่งส่วนสี่ของไทฟอยด์แบคทีเรีย (typhoid bacterium) ไวรัสขนาดเล็กที่สุดจำนวนหลายพันสามารถบรรจุใส่ในเปลือกเปล่าของแบคทีเรีย staphylococcus ได้ ดังรูปที่ 19-1 ไวรัสสืบพันธุ์ได้ในเซลล์ของพืชและสัตว์เช่นเดียวกับกับในเซลล์ของจุลินทรีย์ ไวรัสทำให้เกิดโรคหรือบุกรุก (infection) ได้ทั้งในแมลง ปลา จุลินทรีย์ พืช คน และสัตว์อื่น ๆ ไวรัสหลายชนิดก็ไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่เจ้าบ้าน (host) มากนักแต่ยังได้รับผลซึ่งมองเห็นได้เช่น ไวรัสที่บุกรุกต้นทูลิปทำให้ออกทูลิปมีสีเปลี่ยนแปลงไป

ไวรัสไม่มีความสามารถในการเมตาโบลิซึมและการเคลื่อนที่โดยอิสระ ไวรัสสืบพันธุ์ได้โดยการจำลองตัวเอง (replication) ในเซลล์เจ้าบ้านและสามารถผ่าเหล่าได้

### ประวัติในการศึกษาเกี่ยวกับไวรัส

โรคฝีดาษและการฉีดวัคซีน : โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสบางชนิดได้เป็นที่รู้จักกันในการแพทย์เป็นเวลาช้านานหลายศตวรรษและก่อให้เกิดการปรับปรุงวิธีการป้องกันซึ่งได้ผลและเหมาะสม ในปี 1776 Jenner ได้เป็นบุคคลแรกที่ฉีดวัคซีนให้แก่เด็กชายอายุแปดขวบ ชื่อ James Phipps ด้วยสารที่ได้จากหนองฝีโรคฝีดาษวัว (cowpox) บนแขนของคนรีดนมวัว แล้วได้พิสูจน์ว่าการถ่ายใส่เชื้อ (inoculation) เช่นนี้ช่วยป้องกันไม่ให้เป็นโรคฝีดาษของคน (smallpox) ได้ภายหลังจาก 6 อาทิตย์ต่อมาโดยถ่ายใส่เชื้อโรคฝีดาษจากหนองฝีของคนที่เป็นโรคฝีดาษเข้าไปในเด็กชายคนนี้ปรากฏว่าไม่มีโรคเกิดขึ้น

Jenner พบว่าบุคคลที่ประสบผลสำเร็จในกวางรูปลูกเชื้อไวรัสที่คัดแยกได้จากแผลโรคฝีดาษวัวไว้ได้ผิวหนังจะมีสะเก็ดแผลเล็ก ๆ ตรงตำแหน่งที่หยดเชื้อลงไปหลังจาก 2 สัปดาห์แล้วก็มีรอยแผลเป็นเล็ก ๆ อันเดียวทิ้งไว้ ก่อนที่เขาจะเขียนรายงานขึ้นในปี 1798 เขาได้ประสบ



รูปที่ 19-1 Comparative sizes of viruses.  
The background is a portion of a yeast cell.  
Approximately  $\times 80,000$  (Suggested by a drawing  
by R. M. Chapin, Jr., Time, Nov. 17, 1961.)

ความสำเร็จในการฉีดวัคซีนให้แก่คนถึง 23 คน เนื่องจากวัตถุที่เขาใช้นั้นมาจากวัวซึ่งภาษาลาตินเรียกว่า vacca ดังนั้น การฉีดวัคซีนหรือปลูกฝีจึงถูกเรียกว่า vaccination เพื่อให้แตกต่างจากคำว่า variolation ซึ่งหมายถึงการทำให้เป็นโรคฝีดาษโดยปลูกใส่เชื้อ variola (smallpox) virus ในสมัยก่อนเพื่อป้องกันการเป็นโรคฝีดาษตามธรรมชาติ ในปัจจุบันวัคซีนป้องกันโรคฝีดาษทำจากไวรัสที่เจริญเติบโตบนผิวหนังของลูกวัวหรือแกะที่สุขภาพดีหรือในตัวอ่อนของลูกไก่ที่ยังอยู่ในไข่ (embryonated egg) เพื่อป้องกันหรือตัดหนทางการถ่ายทอดโรคอย่างอื่นของมนุษย์โดยขบวนการนี้ Jenner ไม่เคยได้เห็นตัวการทำให้เกิดโรคฝีดาษเนื่องจากการค้นพบและวิธีการของเขาเกิดขึ้นก่อนการจัดตั้งทฤษฎีจุลินทรีย์เกี่ยวกับโรค (Germ theory of disease) เป็นระยะเวลาช้านานมากกว่าครึ่งศตวรรษ

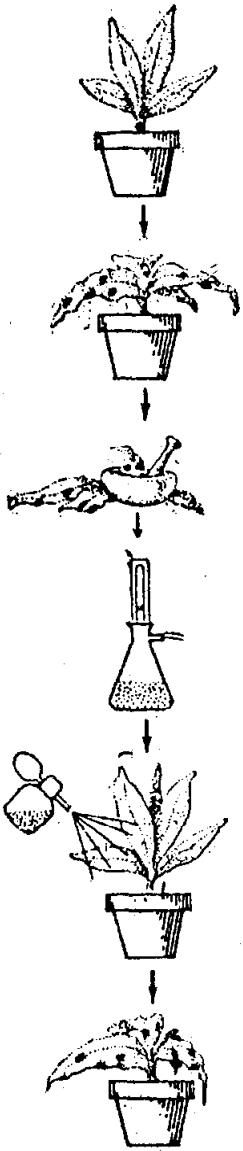
ครึ่งศตวรรษผ่านไป Louis Pasteur ได้สนใจเกี่ยวกับโรคเนื่องจากการติดเชื้อ (infectious disease) และบทบาทของจุลินทรีย์ในแง่ซึ่งทำให้เกิดโรค ความสำเร็จของเขาในการควบคุมจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในปฏิกิริยาการหมักและโรคของหนอนไหมทำให้เขาหันมาสนใจเกี่ยวกับสุขภาพของมนุษย์ ครั้งหนึ่งเขาได้ศึกษาเกี่ยวกับโรคพิษสุนัขบ้า (rabies) เป็นโรคซึ่งถ่ายทอดมายังมนุษย์โดยถูกสุนัขบ้า หมาจิ้งจอก หม่าป่า แมว ค้างคาว และสัตว์อื่น ๆ ที่เป็นบ้ากัด Pasteur ไม่เคยคิดเลยว่าปัจจัยหรือสิ่งซึ่งทำให้เกิดโรคนี้นี้แตกต่างจากจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย ยีสต์ และโปรโตซัว) ที่เขาได้เคยทำงานเกี่ยวข้องมาแล้ว และเขาได้ใช้ความชำนาญคุ้นเคยแต่เก่าก่อนแก้ไขปัญหาที่เขาประสบในเรื่องนี้ โดยการจัดเตรียมในห้องปฏิบัติการ เขาสามารถทำให้เชื้อไวรัสจากสัตว์ที่เป็นบ้าหรือเป็นโรคกลัวน้ำลดความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคลงหรือหมดความสามารถในการทำให้เกิดโรค เมื่อนิดใส่เข้าไปในร่างกายของสัตว์จะทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านโรคนี้นี้ได้ ต่อจากนั้นอีกหลายปีต่อมาธรรมชาติของโรคที่เกิดขึ้นโดยไวรัสจึงเป็นที่รู้จัก วิธีการของ Pasteur ในการผลิตวัคซีนต่อต้านโรคพิษสุนัขบ้าถูกใช้เป็นพื้นฐานในการผลิตวัคซีนต่อต้านโรคเนื่องจากไวรัสอื่น ๆ

ผู้ช่วยคนหนึ่งของ Louis Pasteur ชื่อ Charles Chamberland ในขณะนั้นได้ศึกษาพบว่าเครื่องกรองทำด้วยกระเบื้อง พอร์สิเลนที่ป้องกันไม่ให้แบคทีเรียเล็ดลอดผ่านไปได้กลับยอมให้ตัวการซึ่งทำให้เกิดโรคกลัวน้ำลอดผ่านไปได้ เนื่องจากในสมัยนั้นคำว่าไวรัส (virus) ถูกใช้อย่างไม่รัดกุมหมายถึงสารพิษต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงได้ ดังนั้น ปัจจัยซึ่งมองไม่เห็นที่ทำให้เกิดโรครุนแรงได้และสามารถเล็ดลอดผ่านเครื่องกรองได้จึงถูกเรียกโดยปริยายว่า “ไวรัสซึ่งไหลลอดผ่านเครื่องกรองได้ (filterable viruses)”

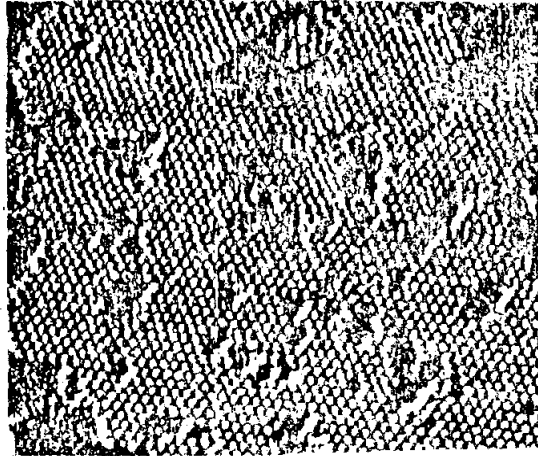
**ไวรัสซึ่งทำให้เกิดโรคใบด่างแก่ต้นยาสูบ (Tobacco Mosaic Virus) :** ในปี 1892 Dmitrii Ivanowski ได้ศึกษาค้นพบว่าตัวการซึ่งทำให้เกิดโรคใบด่างแก่ต้นยาสูบสามารถลัดลอดผ่านเครื่องกรองแบคทีเรียได้ โดยใส่น้ำคั้นปราศจากแบคทีเรียของใบยาสูบที่เป็นโรคใบด่างลงบนใบของต้นยาสูบปกติปรากฏว่าทำให้เกิดโรคเดียวกันนี้แก่ต้นยาสูบปกติได้ ดังรูปที่ 19-2 ต่อมา Beijerinck ในปี 1898 ก็ได้ทำการทดสอบยืนยันผลงานของเขาและในปีเดียวกันนี้ Loeffler และ Frosch ได้สกัดและกรองของเหลวจากตุ่มแผลในปากของวัวควายที่เป็นโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot-and-mouth disease) แล้วถ่ายทอดเชื้อไวรัสของโรคนีกลงในสัตว์ปกติที่สุขภาพสมบูรณ์ได้สำเร็จ การทดลองเหล่านี้เป็นการเริ่มต้นยุคใหม่ของวิชาจุลชีววิทยาอย่างสำคัญในการศึกษาถึงปัจจัยซึ่งมองไม่เห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างกำลังสูงแต่บุกรุกร่างกายได้ ถึงแม้ว่าไวรัสไม่สามารถเจริญเติบโตบนอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่มีชีวิตเนื่องจากไม่มีขบวนการเมตาโบลิซึมของตนเองแต่ไวรัสสามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งในพืชและสัตว์

สิ่งกระตุ้นทางวิทยาศาสตร์ที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งในทางวิชาไวรัสวิทยา (virology) คือการค้นพบว่าไวรัสโรคใบด่างต้นยาสูบ (TMV) สามารถถูกทำให้ตกผลึกได้โดย Wendell Stanley ถึงแม้แต่ก่อนการค้นพบของ Stanley บุคคลหลายท่านได้มีปัญหาว่าไวรัสนั้นเป็นสิ่งมีชีวิตอย่างแท้จริงหรือไม่เมื่อผลึกซึ่งไม่มีชีวิตของ TMV แสดงความสามารถในการทำให้เกิดโรคได้ในต้นพืชปกติสุขภาพสมบูรณ์จึงทำให้มีข้อโต้แย้งเกิดขึ้นมาอีกและรุนแรงยิ่งขึ้น สิ่งหนึ่งที่ผลึกของไวรัส (รูปที่ 19-3) กระทำคือสามารถเพิ่มจำนวนจำลองตัวเองให้มีมากขึ้นได้โดยที่สารประกอบเคมีบริสุทธิ์ซึ่งพืชชนิดอื่นไม่สามารถกระทำได้ ในแง่นี้ไวรัสจึงดูเหมือนว่าเป็นสิ่งมีชีวิตเนื่องจากสิ่งมีชีวิตเท่านั้นที่สามารถสืบพันธุ์และเพิ่มจำนวนได้ แต่ในอีกแง่หนึ่งไวรัสก็ดูเหมือนว่าไม่ใช่สิ่งมีชีวิตเนื่องจากไม่มีขบวนการเมตาโบลิซึมและต้องอาศัยเซลล์ของเจ้าบ้านเพื่อการอยู่รอดและการสืบพันธุ์เพิ่มจำนวนปัญหานี้ไม่เคยยุติลงได้จนเป็นที่พอใจแก่ทุกคนและทำให้โต้แย้งกันอยู่เสมอ แต่ที่สำคัญกว่าก็คือการศึกษาอย่างเข้มข้นของนักจุลชีววิทยา นักเคมี และนักฟิสิกส์ควรได้รับการขอบคุณที่ได้ทำให้ทราบถึงเรื่องราวของรูลีที่เรียกว่า ไวรัสและยังได้ศึกษาค้นคว้าต่อไปเพื่อให้ได้รายละเอียดที่สำคัญเกี่ยวกับขบวนการต่าง ๆ ของชีวิต

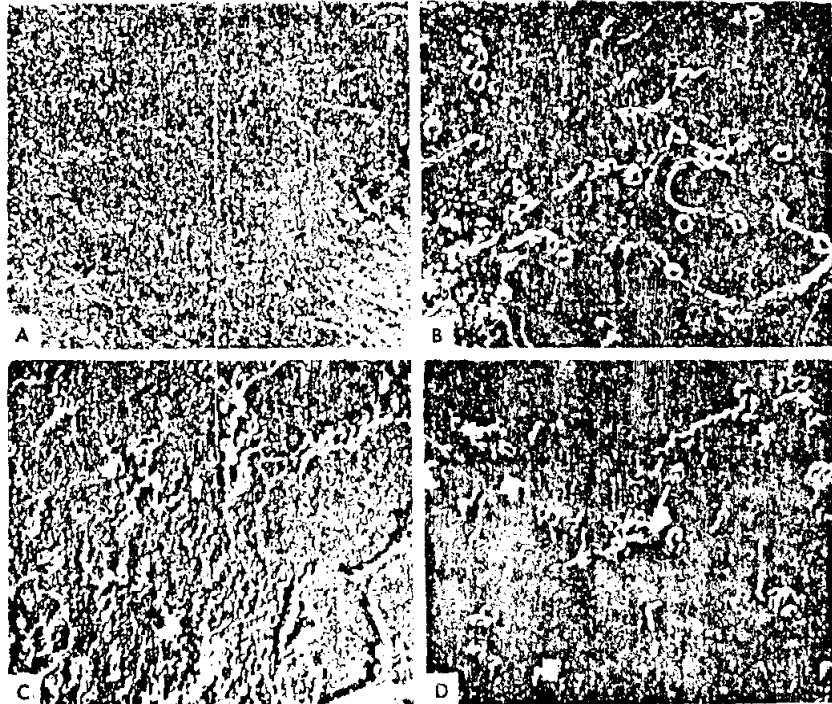
**เชื้อไวรัสโรคไขเหลือง (Yellow Fever Virus) :** ความก้าวหน้าต่อมาในวิชาไวรัสวิทยาเกิดขึ้นเมื่อ Max Theiler ผู้ได้รับรางวัลโนเบลในปี 1951 พบว่าเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคไขเหลืองอย่างรุนแรงสามารถถูกทำให้ลดความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคได้โดยการเพาะเลี้ยงเป็นลำดับต่อเนื่องหลายชั่วอายุในเนื้อเยื่อของไก่อ่อนที่เพาะเลี้ยงไว้ในอกร่างกาย (chickembryo



**รูปที่ 19-2** Transmission of a plant virus. By grinding or macerating leaves from naturally infected plants and passing the fluid through a porcelain filter, Ivanowski demonstrated that a virus causes tobacco mosaic disease. The filtrate containing the virus causes infection when placed on the leaves of healthy plants.



**รูปที่ 19-3** Surface of a crystal of tobacco necrosis virus (x 55,200). (Courtesy of M. K. Corbett)



**รูปที่ 19-4** Tissue culture of rabbit-kidney cells destroyed by vaccinia virus. (A) Uninfected cells appear as smooth flat sheets; 6 h after inoculation, some virus particles are released and lie on the surface of the cells (B). After 24 h of incubation the number of virus particles increases, and the tissue cells are beginning to disintegrate (C). After 48 h the virus appears as clumps dissociated from the cellular material (D) Magnifications are (A) x 5,160, (B) x 6,280, (C) x 3,810, and (D) x 4,940 (Courtesy of John Mathews and the Upjohn Company.)

tissue culture) ต่อมาจัดได้ดัดแปลงกลวิธีการนี้เพาะเลี้ยงไวรัสให้ได้จำนวนมากเพื่อใช้ทำเป็นวัคซีนแต่ไวรัสบางชนิดก็ไม่ได้ถูกทำให้ลดความรุนแรงในการทำให้โรคลงโดยการเพาะเลี้ยงไว้ในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเอาไว้ในอกร่างกายจึงต้องนำมาทำให้ลดความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคลงโดยวิธีการอื่นอีกต่อหนึ่ง เช่น ในกรณีของ Ender, Robbins, และ Weller ผู้ได้รับทุนเพื่อปรับปรุงวัคซีนป้องกันโรคโปลิโอ (poliomyelitis vaccine) โดยเพาะเลี้ยง poliomyelitis virus ลงในเซลล์ไตของลิงที่เพาะเลี้ยงไว้ในอกร่างกายอย่างไรก็ตามกลวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไว้ในอกร่างกาย (tissue culture technique) ช่วยให้สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดในห้องปฏิบัติการดังรูปที่ 19-4 และก็ไม่เป็นที่สงสัยว่าจะเป็นหนทางนำไปสู่การปรับปรุงวิธีการควบคุมโรคที่เกิดขึ้นเนื่องจากไวรัสต่าง ๆ

วัคซีนป้องกันโรคเนื่องจากไวรัสที่ผลิตโดยใช้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้ (tissue culture) เช่น วัคซีนป้องกันโรคไขหัด (measles หรือ rubeola) ได้จากการเพาะเลี้ยงในเซลล์ตัวอ่อนลูกไก่ ในเนื้อเยื่อของสุนัขหรือลิงที่เพาะเลี้ยงไว้ วัคซีนป้องกันโรคคางทูม (mumps หรือ epidemic parotitis) ได้จากการเพาะเลี้ยงไวรัสในไข่ไก่ซึ่งฟักให้มีตัวอ่อนอยู่ภายใน (chick-embryo) หลายครั้ง

**ไวรัสและมะเร็ง (Viruses and Cancer) :** ความคิดที่ว่าไวรัสอาจเป็นสาเหตุหนึ่งซึ่งทำให้เกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ได้อยู่ในจิตใจของนักจุลชีววิทยามากกว่า 70 ปี ในเวลานั้นได้มีการพิสูจน์แล้วว่าไวรัสเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคมะเร็งในสัตว์ได้อย่างแท้จริง ไวรัสเหล่านี้ถูกเรียกว่า oncogenic virus เนื่องจากไวรัสสามารถทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ในสัตว์จึงอาจสรุปได้ว่าไวรัสจะต้องสามารถทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ในมนุษย์ด้วย

ความสนใจเกี่ยวกับ DNA virus ในแง่ซึ่งเป็นปัจจัยทำให้เกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ในขั้นแรกได้มุ่งไปที่พวก adenovirus ต่าง ๆ ซึ่งทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจในมนุษย์ และ papovavirus เช่น SV40 และ polyomavirus เพราะทำให้เกิดเนื้องอก (tumor) ขึ้นได้ในสัตว์ทดลองและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแก่เซลล์สัตว์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในขวดทดลอง แต่จากการรวบรวมหลักฐานต่าง ๆ แสดงให้เห็นเพียงเล็กน้อยว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งในมนุษย์ถึงแม้ว่าไวรัสเหล่านี้ถูกใช้เป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์ในการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงที่มีอันตรายร้ายแรง (malignant transformation) ของเซลล์ในห้องปฏิบัติการ ในช่วงระหว่างปี ค.ศ. 1960 เป็นต้นมาการวิจัยได้แสดงให้เห็นว่า herpesvirus สามชนิดอาจมีส่วนร่วมในการทำให้เกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ นักค้นคว้าส่วนใหญ่คิดว่า DNA virus เช่น herpesvirus

และปัจจัยอื่น ๆ จะต้องมีส่วนร่วมในการกระตุ้นให้เกิดโรคนี้อันตรายต่าง ๆ เหล่านี้อาจทำให้ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) ของร่างกายอ่อนกำลังลง หรือทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อกันของไวรัสตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป ถึงแม้จะมีหลักฐานแสดงว่า DNA virus มีส่วนร่วมในการทำให้เกิดโรคมะเร็งในมนุษย์แต่ก็มีข้อสงสัยมากมายที่ยังไม่มีคำตอบ

นอกจากนี้ยังมีพวก oncogenic RNA virus (oncornavirus) บางพวกได้แสดงให้เห็นแล้วว่าทำให้เกิดโรคโลหิตจาง (leukemia) และเนื้องอกแบบต่าง ๆ แก่สัตว์หลายสปีชีส์ ไวรัสประเภทนี้ที่รู้จักกันดีคือ Rous sarcoma virus ค้นพบในปี 1911 โดยนาย Peyton Rous ผู้ซึ่งได้รับรางวัลโนเบลในการค้นพบนี้ในปี 1955 ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลายมียีน (gene) เป็นสารประกอบพวก DNA และมีการถ่ายทอดรายละเอียดต่าง ๆ ทางพันธุกรรมจาก DNA ไปยัง RNA RNA ถูกคิดว่าเป็นเพียงสารเคมีสื่อกลางหรือสื่อสารที่รับรายละเอียดจาก DNA เท่านั้น จากการศึกษาเกี่ยวกับ Rous sarcoma virus พบว่าไวรัสสามารถถ่ายทอดรายละเอียดทางพันธุกรรมจาก RNA ไปยัง DNA ได้จึงเป็นการกลับกันกับการถ่ายทอดรายละเอียดทางพันธุกรรมตามปกติ ขบวนการนี้ถูกเรียกว่า “reversed transcription” ไวรัสสามารถสังเคราะห์ DNA ขึ้นมาใหม่ในเซลล์ที่ถูกบุกรุก (infected cell) และเซลล์ก็จะมี DNA ทั้งของตนเองและ DNA ของไวรัส ในกรณีของ Rous sarcoma virus, DNA ของไวรัสจะมียีนที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งและเซลล์นั้นก็จะกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (cancer cell)

ดังนั้น ลักษณะที่สำคัญที่สุดของไวรัสพวกที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง หรือ oncornavirus คือมีเอนไซม์ RNA-directed DNA polymerase หรือเรียกว่าเอนไซม์ reverse transcriptase เอนไซม์ reverse transcriptase ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1970 โดย Howard Temin และ David Baltimore แต่ศึกษาแยกกัน นอกจากนี้นักจุลชีววิทยาอีกท่านหนึ่งคือ Renato Dulbecco ได้วางรากฐานเพื่อความเข้าใจถึงกลไกที่ว่าจีโนมของไวรัสสามารถเข้าไปอยู่รวมเป็นอันหนึ่งอันเดียวกันกับจีโนมของเซลล์เจ้าบ้านได้ รูปแบบการทำลายโดยการรวมตัวกันใหม่ของยีนเป็นสมมุติฐานที่ยอมรับสำหรับการเปลี่ยนแปลงโดยไวรัสซึ่งเป็นพื้นฐานของการเกิดโรคมะเร็งเนื่องจากการค้นพบปัญหาพื้นฐานเกี่ยวกับกลไกในการทำให้เกิดโรคมะเร็งเหล่านี้ทำให้นักจุลชีววิทยาทั้งสามท่านได้รับรางวัลโนเบลในปี 1975 ความเข้าใจเกี่ยวกับการทำให้เกิดโรคมะเร็งหรือเนื้องอก (carcinogenesis) โดยไวรัสถึงแม้ว่าเป็นเพียงแบบอย่างที่เกิดขึ้นในสัตว์แต่ก็อาจนำไปสู่การแก้ไขปัญหเกี่ยวกับโรคมะเร็งในมนุษย์ได้

## การจัดแบ่งหมวดหมู่ของไวรัสสัตว์

ไวรัสได้ถูกจัดแบ่งเป็นหมวดหมู่ในหลายวิธีทางระบบเริ่มแรกอย่างหนึ่ง ซึ่งยังคงใช้กันอยู่ในขอบเขตจำกัดคือจัดแบ่งเป็นหมู่ย่อยตามชนิดของเจ้าบ้าน (host) ที่ไวรัสชอบบุกรุกเข้าไปอาศัยอยู่ (infect) ตามปกติ เช่น สัตว์ พืช และจุลินทรีย์ เป็นต้น ถึงแม้ว่าการจัดแบ่งตามชนิดของเจ้าบ้านยังไม่เป็นที่ยอมรับกันในทางวิทยาศาสตร์ แต่ก็มีประโยชน์และสะดวกจนกระทั่งมีวิธีการซึ่งเป็นวิทยาศาสตร์มากกว่า รายชื่อหมู่ย่อยบางส่วนที่จัดแบ่งตามชนิดของเจ้าบ้านได้แสดงไว้ในตารางที่ 19-1

การจัดแบ่งหมวดหมู่ของไวรัสโดยอาศัยความชอบต่อเนื้อเยื่อที่จะเข้าอยู่อาศัยก็เป็นวิธีการเริ่มแรกอย่างหนึ่งในการจัดแบ่งหมวดหมู่ของไวรัสซึ่งก็มีประโยชน์ต่อทางการแพทย์และนักค้นคว้าบางพวก ดังในตารางอย่างคร่าว ๆ ที่ 19-2

วิธีการวัดเปรียบเทียบลักษณะทางฟิสิกส์ ทางเคมีและทางชีววิทยาของไวรัสต่อมาจึงได้ถูกใช้เป็นคุณสมบัติพื้นฐานในการจัดแบ่งหมวดหมู่ของไวรัสดังในตารางที่ 19-3

การจัดแบ่งหมวดหมู่ของไวรัสสัตว์โดยมีพื้นฐานบนกฎเกณฑ์ของตารางที่ 19-3 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 19-4 อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าแนวทางการจัดแบ่งหมวดหมู่ของไวรัสถูกกระทำขึ้นโดยเชิงปฏิบัติไม่ได้พยายามแสดงความสัมพันธ์ต่อกันในแง่ของบรรพบุรุษและวิวัฒนาการ



ตารางที่ 19 - 1 Virus Diseases Classified by Host

HUMANS	OTHER MAMMALS AND BIRDS	FISH	INSECTS	PLANTS	BACTERIA
Smallpox	Hog cholera	Carp pox	Sacbrood (bees)	Mosaic disease:	Lytic disease
Chicken pox	Foot-and-mouth disease	Epithelioma of <i>Barbus</i>	Polyhedral (Witt) disease:	Tobacco	
Herpes simplex	Vesicular exanthema		Gypsy moth caterpillar	Cucumber	
Herpes zoster	Vesicular stomatitis		Tent caterpillar	Tomato	
Molluscum contagiosum	Canine distemper		European moth caterpillar	Lettuce	
Rabies	Rabies		Silkworms (Jaundice)	Cabbage	
Yellow fever	Encephalomyelitis (horses)		California oak worm	Potato	
Mumps	Swine Influenza		Alfalfa caterpillar	Sugercane	
Poliomyelitis	Myxomatosis (rabbits)			Ring spot disease:	
Dengue fever	Rinderpest			Tobacco	
Rubella	Sheep pox			"Breaking" disease	
Rubeola	Louping Ill (sheep)				
Influenza	Rous sarcoma				
Verruca	Fowl plague				
West Nile fever	Newcastle disease				
Coxsackie virus infections	Fowl leukemia				

ตารางที่ 19 - 2 Virus Diseases Classified by Tissue Affinities

NEURO-TROPIC (NERVE CELLS).	DERMATROPIC (SKIN CELLS)	VISCEROTROPIC (INTESTINAL TISSUES AND INTERNAL ORGANS)	PNEUMOTROPIC (RESPIRATORY TRACT AND TISSUES)	PANTROPIC (MANY TYPES OF CELLS AND TISSUES)	ONCOGENIC (PROMOTING TUMOR GROWTH)
Japanese B encephalitis	Molluscum contagiosum	Infectious hepatitis	Influenza	Coxsackie virus infections	Rous sarcoma
St. Louis encephalitis	Rubella (German measles)	Serum hepatitis	Respiratory syncytial virus	Dengue fever	Shope fibroma
Rabies	Rubeola (measles)	Yellow fever	Common cold	Colorado tick fever	Murine leukemia
Poliomyelitis	Varola (smallpox)			Phlebotomus fever	Avian leukemia
	Vaccinia (cowpox)			Lymphocytic chorio-meningitis	
	Herpes simplex (cold sores)				
	Warts				

ตารางที่ 19 - 3 Properties Used for Classification of Animal Viruses

PRIMARY CHARACTERISTICS	SECONDARY CHARACTERISTICS
<b>Nucleic acid:</b> RNA: <b>Single- or double-stranded</b> DNA: <b>Single- or double-stranded</b>	<b>Host range:</b> Species of host Specific host tissues or <b>cell types</b>
<b>Structure of virus particle:</b> <b>Helical capsid:</b> Naked or enveloped <b>Icosahedral capsid:</b> Naked or enveloped <b>Complex</b> structure (e.g., tail)	<b>Mode of transmission</b> (e.g., <b>feces</b> )
Number of <b>capsomeres</b>	<b>Immunological characteristics</b>
Size of <b>virion</b>	
<b>Susceptibility to inactivating agents</b>	
<b>site of replication:</b> Nucleus Cytoplasm	

ตารางที่ 19 - 4 Outline Classification of Animal Viruses

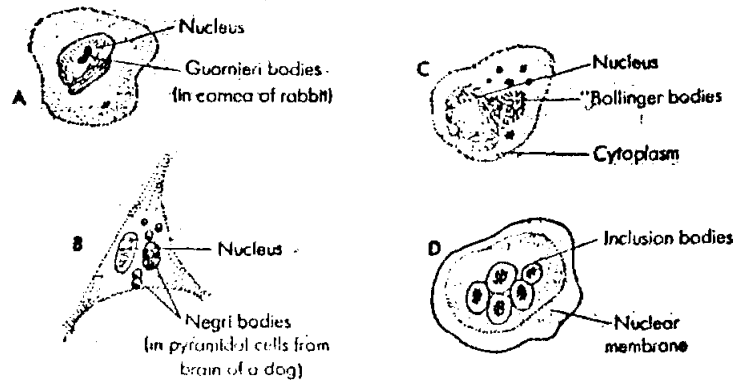
NUCLEIC ACID	SYMMETRY	ENVELOPE	VIRION SIZE. nm*	FAMILY	EXAMPLES OF GENERA
ANA	Icosahedral	No	18-30	Picornaviridae	<i>Enterovirus</i>
		NO	54-75	Reoviridae	<i>Reovirus</i>
		Yes	35-80	Togaviridae	<i>Alphavirus</i>
	Helical	Yes	80-120	Orthomyxoviridae	<i>Influenzavirus</i>
		Yes	100-300	Paramyxoviridae	<i>Paramyxovirus</i>
		Yes	W-250	Rhabdoviridae	<i>Lyssavirus</i>
DNA	Icosahedral	No	19-24	Parvoviridae	<i>Parvovirus</i>
		No	70-80	Adenoviridae	<i>Mastadenovirus</i>
		Yes	110	Herpesviridae	<i>Herpesvirus</i>
	Not defined	Complex coat	200 x 300	Poxviridae	<i>Orthopoxvirus</i>

SOURCE: G. P. Youmans, P. Y. Paterson, and H. M. Sommers, The *Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases*, Saunders, Philadelphia, 1975.

## ลักษณะของไวรัส

**ก้อนตะกอนโครงสร้าง (Inclusion Body) :** ก่อนที่มนุษย์จะสามารถศึกษาถึงลักษณะวิทยาของไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนกำลังขยายสูงได้นั้น ได้มีผู้สังเกตเห็นก้อนโครงสร้างซึ่งปรากฏอยู่ภายในเซลล์ที่ถูกบุกรุกด้วยไวรัสเรียกว่า inclusion body โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างธรรมดา ดังรูปที่ 19-5 ในปี ค.ศ. 1887 Buist ได้สังเกตเห็นก้อนตะกอนเล็ก ๆ ในไซโตพลาสซึมของเซลล์รอบ ๆ รอยแผลโรคฝีดาษและเรียกโครงสร้างนี้ว่า elementary body ต่อมาในปี 1906 Paschen ได้ทำการสังเกตเห็นอย่างเดียวกันโดยไม่ทราบว่าได้มีผู้พบเห็นมาก่อนจึงได้ตั้งชื่อเรียกตามชื่อของเขาว่า Paschen body ปัจจุบันได้เป็นที่ทราบกันแล้วว่า Paschen body ไม่ใช่ก้อนตะกอนโครงสร้าง (inclusion body) อย่างแท้จริงแต่เป็นที่รวมหรือโคโลนีของไวรัสซึ่งเจริญเติบโตอยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์เจ้าบ้าน ในปี ค.ศ. 1892 Guarneri ได้รายงานการสังเกตเห็นก้อนรูเล็ก ๆ ในไซโตพลาสซึมของเซลล์อย่างเดียวกันและเรียกว่า Guarneri body Guarneri body ถูกจัดเป็นก้อนตะกอนโครงสร้างอย่างแท้จริงถึงแม้ว่าจะมีชิ้นส่วนและรูปร่างไวรัสที่สมบูรณ์ประกอบอยู่ด้วย

**รูปที่ 19-5** Inclusion bodies produced by viruses in certain host tissues. (A) Guarneri bodies of variola (smallpox) virus in the cytoplasm of rabbit corneal cells; (B) Negri bodies in the cytoplasm at Purkinje cells (nerve cells of the brain) infected with rabies virus; (C) Bollinger bodies in the cytoplasm of cells infected with fowl pox virus; (D) Intranuclear inclusions in epithelial cells of rabbit cornea inoculated with herpesvirus.



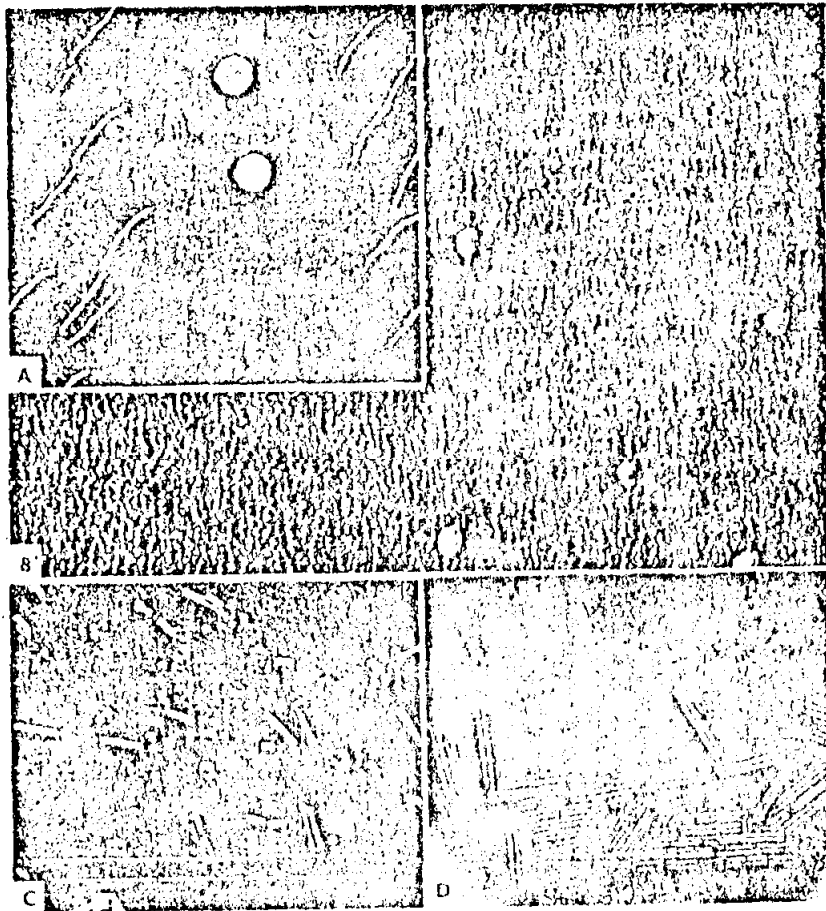
ลักษณะของก้อนตะกอนโครงสร้างที่พบในไซโตพลาสซึมของเซลล์ประสาท และ Purkinje cell ของ cerebellum ในสมองที่ถูกบุกรุกด้วยไวรัสโรคกลัวน้ำ (rabies virus) ถูกเรียกว่า Negri body ตามชื่อของผู้ค้นพบ มีแบบฉบับเฉพาะตัว และถูกใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยโรคนี้

ก้อนตะกอนโครงสร้างถูกพบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับโรคที่เกิดขึ้นเนื่องจากไวรัสหลายชนิด พวกที่ทำให้เกิดโรคฝีดาษส่วนใหญ่ เช่น ฝีดาษคน (smallpox) ฝีดาษแกะ (sheep pox) และฝีดาษไก่ (fowl pox) รวมทั้งพวกที่ทำให้เกิดโรคกลัวน้ำ โรค molluscum contagiosum และอื่น ๆ มักทำให้มีก้อนตะกอน โครงสร้างขึ้นในไซโตพลาสซึมก้อนตะกอนโครงสร้างในนิวเคลียสและในไซโตพลาสซึม อาจเกิดขึ้นได้ในเซลล์เดียวกันโดยเฉพาะเมื่อเซลล์ถูกบุกรุกด้วยไวรัสหลายชนิด ก้อนตะกอนโครงสร้างบางอย่างก็มีประโยชน์ต่อการวินิจฉัยโรค เช่น โรคกลัวน้ำ แต่บางชนิดก็ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

ก้อนตะกอนโครงสร้างอาจถือได้ว่าเป็นลักษณะอย่างหนึ่งที่ไวรัสทำให้เกิดขึ้นในเซลล์ ซึ่งถูกบุกรุกและอาจถือได้เป็นการเปลี่ยนแปลงแสดงอาการโรคของเซลล์ อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปก้อนตะกอนโครงสร้างในเซลล์ที่ถูกบุกรุกด้วยไวรัสมักเกิดจากการสะสมตัวกันของหน่วยย่อยซึ่งยังไม่ได้รวมตัวกันเป็นรูไลไวรัสและรูไลไวรัสที่สมบูรณ์แล้ว ในกรณีเช่นนี้จึงอาจทำการทดลองโดยแยกก้อนตะกอนโครงสร้างออกจากเซลล์ แล้วใช้เป็นแหล่งของเชื้อ (inoculum) เพื่อบุกรุกเซลล์อื่นต่อไปได้

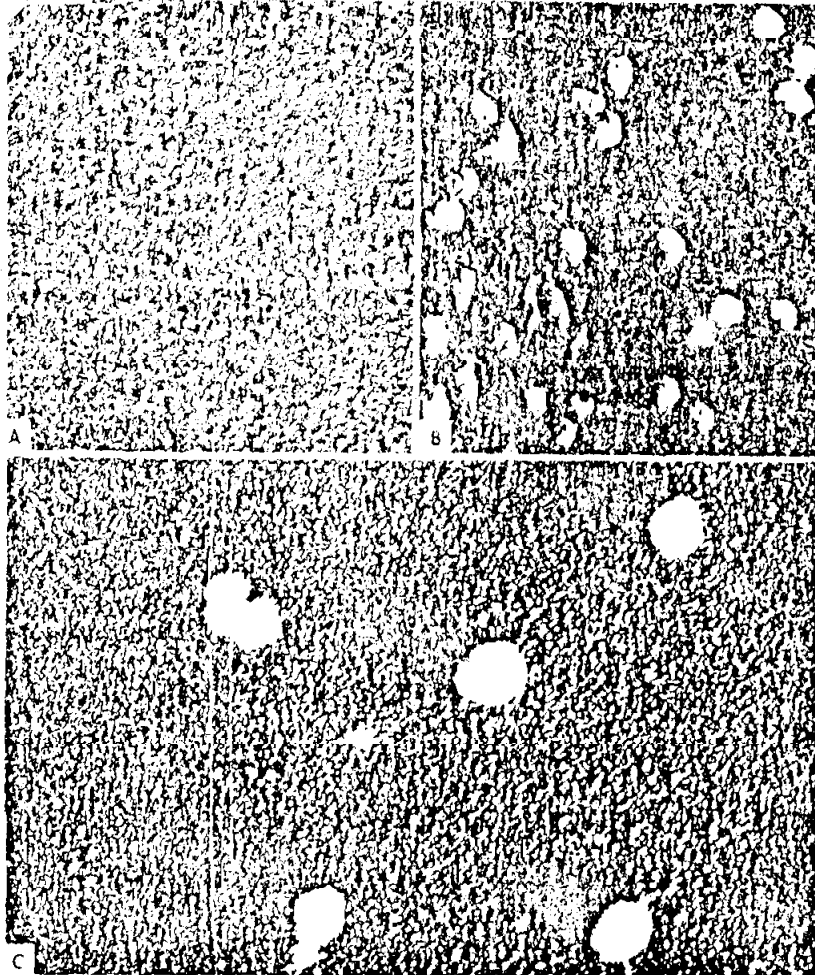
**โครงสร้างและส่วนประกอบของไวรัส :** รูไลไวรัส (virus particle) ที่สมบูรณ์ถูกเรียกว่า ไวริออน (virion) ก่อนที่จะมีการปรับปรุงกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนไม่มีทางเป็นไปได้เลยที่จะมองเห็นไวรัส ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนสามารถขยายภาพของวัตถุตัวอย่างได้หลายหมื่นเท่า ภาพที่ได้จะถูกถ่ายลงบนฟิล์มถ่ายรูปและภาพบนฟิล์มถ่ายรูปลังอาจถูกขยายต่อไปได้อีก

รูปภาพของไวรัสจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนได้แสดงให้เห็นถึงรูปร่างและขนาด เช่นเดียวกันกับโครงสร้างภายในบางอย่าง ดังรูปที่ 19-6 และ 19-7



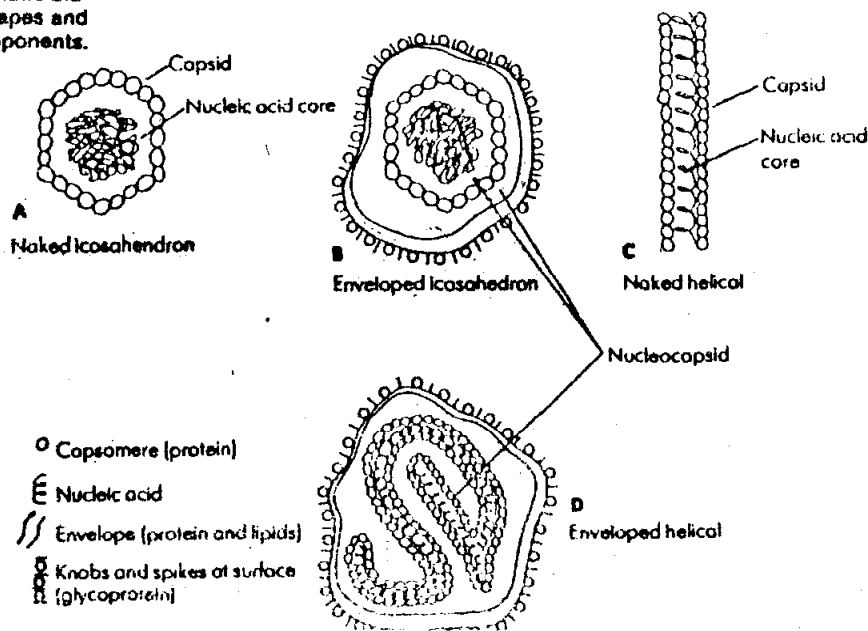
รูปที่ 19-6 Electron micrographs of plant viruses. (A) Potato virus X particles appear as flexuous rods 513 nm long ( $\times 17,000$ ). (Courtesy of M. K. Corbett.) (B) Bushy stunt virus ( $\times 35,000$ ). (Courtesy of P. C. Williams.) (C) and (D) Tobacco rattle virus particles appear as both long and short rods. Both lengths are necessary to establish infection ( $\times 25,500$  and  $25,400$ ). (Courtesy of M. K. Corbett.)

รูปที่ 19-7 Electron micrographs of some animal viruses. (A) Poliovirus ( $\times 20,500$ ). (Courtesy of Edgar Ribi and the Rocky Mountain Laboratory, U.S. Public Health Service) (B) Vaccinia virus ( $\times 68,000$ ). (Courtesy O. D. Gordon Sharp.) (C) Influenza virus ( $\times 77,000$ ). (Hitachi Ltd. Tokyo.)



**แคปซิดและเอนเวลอป (Capsid and Envelope) :** จากการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การหักเหแสงรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction) และวิธีการอื่น ๆ ทำให้ทราบถึงโครงสร้างและส่วนประกอบของไวรัสเป็นอย่างมาก ไวริออนประกอบด้วยกรดนิวคลีอิกซึ่งทำให้ไวรัสสามารถบุกรุกเซลล์ได้ กรดนิวคลีอิกถูกล้อมรอบด้วยเปลือกโปรตีนที่เรียกว่าแคปซิด (capsid) แคปซิดประกอบด้วยหน่วยย่อยของโปรตีนเรียกว่า แคปโซเมอร์ (capsomere) โปรตีนเป็นสิ่งที่กำหนดความเฉพาะเจาะจงของไวรัสต่อเซลล์เจ้าบ้าน ฐูลีไวรัส (virus particle) หรือหน่วยของไวรัสที่สมบูรณ์จะถูกเรียกว่าไวริออน (virion) ดังนั้น ฐูลีของไวรัสดังกล่าวทั้งหมดจึงมีโครงสร้างคล้ายกัน ดังรูปที่ 19-8 และเป็นโครงสร้างซึ่งได้สัดส่วนสมมาตรกันอย่างแท้จริง ไวริออนอาจมีหรือไม่มีเยื่อหุ้มซึ่งเป็นสารประกอบพวกลิปิดหรือไลโปโปรตีน (lipoprotein) เรียกเอนเวลอป (envelope) พวกที่มีเอนเวลอปห่อหุ้มถูกเรียกว่าเอนเวลอปเทดไวริออน (enveloped virion) จึงอ่อนไหวและถูกทำลายได้ง่ายด้วยสารละลายไขมัน เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และสิ่งซึ่งทำให้ไขมันรวมตัวกับน้ำ (emulsifying agent) ได้แก่ น้ำดี (bile salt) และสารซักฟอกต่าง ๆ (detergents) ไวริออนของไวรัสพวกที่ไม่มีเอนเวลอปห่อหุ้มถูกเรียกว่า ไวริออนเปลือยเปล่า (naked virion)

รูปที่ 19-8 Schematic diagram of virion shapes and components.



กรดนิวคลีอิก (Nucleic Acid) : นอกจากกรดนิวคลีอิกและโปรตีนแล้วไวรียอนซึ่งซับซ้อนมากยังมีลิปิด คาร์โบไฮเดรต โลหะธาตุบางอย่างเล็กน้อย และสารประกอบคล้ายวิตามินประกอบอยู่ด้วย ไวรัสมีกรดนิวคลีอิกอาจเป็น DNA หรือ RNA ไม่อย่างใดก็อย่างหนึ่ง แต่จะไม่มีทั้งสองอย่างในไวรียอนเดียวกัน จึงแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตที่มีเซลล์เป็นหน่วยพื้นฐานของชีวิตทุกชนิดซึ่งในเซลล์มีกรดนิวคลีอิกทั้งสองแบบไวรัสมีปริมาณ DNA หรือ RNA แตกต่างกันไป ไวรียอนอาจมีกรดนิวคลีอิกแบบใดแบบหนึ่งในสี่แบบคือ DNA หรือ RNA เป็นเส้นคู่หรือเส้นเดี่ยว (single-or double-stranded DNA or RNA) ไวรัสพืช (Plant virus) มักถูกพบว่า มีเส้นเดี่ยวหรือเส้นคู่ของ RNA เท่านั้น ไวรัสของแบคทีเรีย (Bacterial virus) ได้ถูกพบว่า มีเส้นเดี่ยวหรือเส้นคู่ของ DNA หรือเส้นเดี่ยวของ RNA ไวรัสสัตว์ (Animal virus) มีกรดนิวคลีอิกเกือบทุกแบบยกเว้นแบบเส้นเดี่ยวของ DNA นอกจากนี้โครงสร้างของกรดนิวคลีอิกในรูปลิวรัสอาจมีลักษณะเป็นเส้นยาวหรือต่อกันเป็นวงไม่มีปลายหัวและท้าย

จากที่กล่าวมาข้างต้นอาจจะสรุปได้ว่าแต่ละไวรียอนมีเปลือกโปรตีนเรียกว่า แคปซิดล้อมรอบกรดนิวคลีอิกได้เป็นนิวคลีโอแคปซิด (nucleocapsid) นิวคลีโอแคปซิด อาจเปลือยเปล่าหรือถูกห่อหุ้มด้วยเอนเวลอป ไวรียอนมีรูปร่างอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้

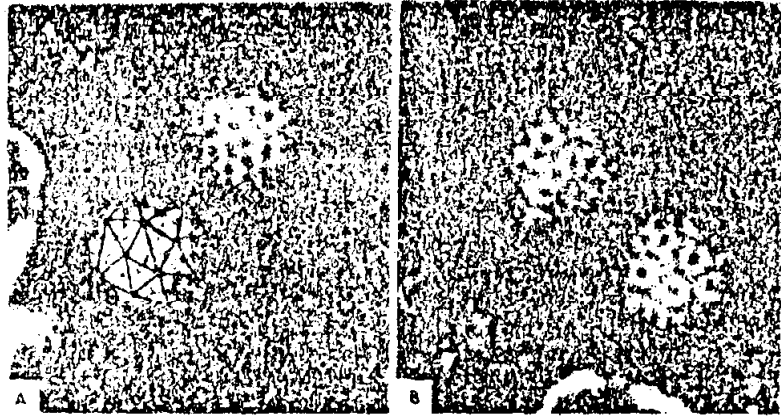
1. ICOSAHEDRAL เป็นผลึกรูปร่างหลายเหลี่ยม ปกติประกอบด้วยด้านหน้าสามเหลี่ยม 20 หน้า และมุม 12 มุมประกอบกันเป็นรูปทรงเกือบกลม รูปร่างแบบนี้ถูกกำหนดโดยแคปซิด ดังรูปที่ 19-8 ตัวอย่างของไวรัสรูปร่างแบบ icosahedral คือ polio virus, adenovirus (รูปที่ 19-9) และ bluetongue virus (รูปที่ 19-10)

รูปที่ 19-9 A simian adenovirus, W-15. In an electron micrograph and with a model of an icosahedral particle. The bar equals 103 nm. (Courtesy of Kendall O. Smith and Melvin O. Trousdale.)





รูปที่ 19-10 Bluetongue virus particles (A) and (B). Part of the icosahedral surface lattice has been drawn on one of the particles (x 312,000). (from H. J. Ehis and D. W. Verwoerd, *Virology*, 38:213-219, 1969.)



2. HELICAL ไวริออนแบบนี้คล้ายกับเป็นท่อนยาวมีแคปซิดเป็นท่อกว้างประกอบขึ้นด้วยแคปไซเมอร์ต่อกันเป็นเส้นขดพันเป็นเกลียว ดังรูปที่ 19-8 ตัวอย่างของ helical virion คือไวรัสโรคใบด่างของต้นยาสูบ (tobacco mosaic virus) ดังรูปที่ 19-11



รูปที่ 19-11. Tobacco mosaic virus particles partially degraded by phenol, showing protein coat and RNA strand (x 120,000) (From M. K. Corbett, *Virology*, 22:539-543, 1964.)

3. ENVELOPED นิวคลีโอแคปซิดภายในของไวรัสอาจมีรูปร่างแบบ icosahedral หรือ helical แล้วถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อเอนเวลอพ Enveloped virion มีรูปร่างเปลี่ยนแปลงได้ (pleomorphic) เนื่องจากเอนเวลอพเป็นโครงสร้างซึ่งไม่แข็งจึงไม่คงตัว แต่โดยทั่วไปมักปรากฏรูปร่างเป็นทรงกลม Herpes simplex virus เป็นตัวอย่างของ enveloped icosahedral virus และ

influenza virus เป็นตัวอย่างของ enveloped helical virus มีนิวคลีโอแคปซิดห่อหุ้มเป็นเกลียวสปริงอยู่ภายในเอนเวลอพ

4. COMPLEX ฐลีของไวรัสบางชนิดมีโครงสร้างซับซ้อนมาก ตัวอย่างเช่น vaccinia หรือ poxvirus มีแคปซิดซึ่งยังไม่ได้ชั้นสูตรแน่ชัดแต่มีเปลือกห่อหุ้มกรดนิวคลีอิกหลายชั้น

#### การจำลองตัวเอง (REPLICATION)

ฐลีของไวรัสที่อยู่นอกเซลล์ไม่มีกิจกรรมทางเมตาโบลิซึมโดยอิสระและไม่สามารถสืบพันธุ์ได้โดยการแตกตัว (fission) แตกหน่อ (budding) หรือขบวนการอื่นใดที่คล้ายกันกับที่พบในแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์อื่น แต่ไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนทวีคูณ (multiplication) ได้โดยการจำลองตัวเอง (replication) โดยที่ส่วนซึ่งเป็นโปรตีนและกรดนิวคลีอิกของไวรัสถูกทำให้เพิ่มขึ้นภายในเซลล์ของเจ้าบ้านที่ไวรัสเข้าไปอาศัยอยู่ เมื่อเซลล์ถูกบุกรุกเข้าไปด้วยกรดนิวคลีอิกของไวรัส ฐลีไวรัสที่สมบูรณ์จำนวนมากจะถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์นั้น

ขบวนการเพิ่มจำนวนทวีคูณของไวรัสได้ถูกศึกษากันมากในไวรัสของแบคทีเรีย (bacteriophage) ซึ่งจะได้กล่าวถึงในบทต่อไป รายละเอียดที่ได้จากการศึกษากลไกการจำลองตัวเองของไวรัสแบคทีเรียโดยทั่วไปช่วยเป็นแบบอย่างพื้นฐานในการศึกษาเกี่ยวกับไวรัสของพวุกยูคาริโอติกเซลล์ (eucaryotic virus) อย่างไรก็ตามแบบอย่างที่ได้จากการศึกษาไวรัสของแบคทีเรียนั้นไม่เพียงพอที่จะใช้บรรยายเกี่ยวกับพยาธิวิทยาและความพิกลพิการของยูคาริโอติกเซลล์ที่ถูกบุกรุก นอกจากนี้ไวรัสสัตว์ที่มีอยู่ในธรรมชาติยังมีหลายประเภทแตกต่างกัน มีโครงสร้างซับซ้อนแตกต่างกัน มีตำแหน่งที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนทวีคูณแตกต่างกันเช่น บางพวกก็เพิ่มจำนวนทวีคูณในนิวเคลียสและบางพวกก็เพิ่มจำนวนทวีคูณในไซโตพลาสซึม ดังนั้น ไวรัสของสัตว์จึงจะต้องมีรายละเอียดในกลไกการจำลองตัวเองแตกต่างกัน

ถึงกระนั้นก็ตามการบุกรุกโดยไวรัสสัตว์ทุกชนิดที่ระดับเซลล์ก็มีหลายขั้นตอนซึ่งคล้ายคลึงกัน ขั้นตอนการบุกรุกโดยไวรัสสัตว์ที่ระดับเซลล์อาจสรุปได้ดังต่อไปนี้ คือ

1. การเกาะติดกับเซลล์ (Attachment)
2. การผ่าเข้าไปในเซลล์และการลอกเอาเปลือกออก (Penetration and uncoating)
3. การจำลองตัวทางชีวเคมี (Biochemical replication)
4. การประกอบตัวเป็นฐลีหรือการแก่สุก (Assembly or maturation)
5. การถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (Release)

**การเกาะติดกับเซลล์ (Attachment)** การเกาะติดของไวรัสขึ้นอยู่กับส่วนที่ใช้รับสัมผัส โดยเฉพาะ (specific receptor) บนผิวของเซลล์เจ้าบ้านและสารประกอบโมเลกุลใหญ่ของไวริออนเอง ขบวนการเกาะติดมักปรากฏเป็นสองขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการเกาะติดโดยไอออนิควงแหวนซึ่งเกาะติดและหลุดออกกลับไปมาได้ง่าย โดยเปลี่ยนพีเอช (pH) หรือความเข้มข้นของเกลือ ขั้นตอนที่สองเป็นการเกาะติดที่แน่นหนาขึ้นซึ่งหลุดออกและเกาะติดกันใหม่ได้ยาก

**การฝ่าเข้าไปในเซลล์และการลอกเอาเปลือกออก (Penetration and Uncoating)** การฝ่าเข้าไปในเซลล์โดยไวรัสครั้งหนึ่งเคยถูกคิดว่าเข้าไปโดยขบวนการกลืนกิน (phagocytosis) ของเซลล์เท่านั้น ต่อมาเมื่อเร็ว ๆ นี้จึงได้พบว่าไวรัสพวกที่มีเอนเวลอพห่อหุ้มจะเข้าไปในเซลล์โดยการรวมตัวกันของเอนเวลอพซึ่งเป็นสารประกอบพวกไลโปโปรตีนกับผิวของเยื่อหุ้มเซลล์เจ้าบ้าน การรวมตัวกันนี้มีผลทำให้นิวคลีโอแคปซิดของไวรัสหลุดออกจากเอนเวลอพเข้าไปอยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์เจ้าบ้าน อย่างไรก็ตามสำหรับพวกไวรัสเปลือยเปล่ายังคงปรากฏว่าเข้าไปในเซลล์โดยขบวนการกลืนกินของเซลล์ ระยะซึ่งมีการลอกเอาเปลือกออกหรือกำจัดแคปซิดออกจากนี้โนมของไวรัสทั้งหมดจะเกิดขึ้นภายในเซลล์เจ้าบ้าน

**การจำลองตัวทางชีวเคมี (Biochemical Replication)** การจำลองกรดนิวคลีอิกและการสังเคราะห์โปรตีนของไวรัสอย่างว่องไวจะเริ่มขึ้นหลังจากที่โปรตีนซึ่งเป็นแคปซิดหลุดออกจากจีโนมของไวรัสแล้ว สิ่งที่ไวรัสต้องการเพื่อการจำลองตัวเอง นอกจาก ATP ของเซลล์แล้วยังต้องการใช้การทำงานของ ribosome, transfer RNA, เอนไซม์ และขบวนการสังเคราะห์ทางชีววิทยาบางอย่างของเซลล์อีกด้วย

**การประกอบตัวเป็นรูหรือการแก่สุก (Assembly or Maturation)** ไวรัสสามารถกำหนดการสังเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อลูกหลานของตน และสามารถกำหนดให้องค์ประกอบต่าง ๆ เหล่านั้นมารวมตัวประกอบกันเป็นไวริออน ซึ่งแก่สุกในนิวเคลียสและหรือในไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่ถูกบุกรุก ความเป็นจริงและกลไกควบคุมต่าง ๆ ของขบวนการสังเคราะห์ทางชีววิทยาและการประกอบกันเป็นรูไวรัสมีความเฉพาะต่อไวรัสแต่ละชนิด

**การถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (Release)** กลไกการถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ของไวรัสก็เปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของไวรัส ไวรัสบางชนิดก็ทำให้เซลล์แตกแล้วปลดปล่อยรูไวรัสออกมาอย่างทันทีทันใด แต่ไวรัสบางชนิดขบวนการแก่สุกและการถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ก็เป็นไปอย่างช้า ๆ และไม่ทำลายเซลล์เจ้าบ้าน

รูปที่ 19-12 แสดงการจำลองตัวเองของ herpes simplex virus (รูปที่ 19-13) และเป็นตัวอย่างของขบวนการจำลองตัวเองของไวรัสในยูคาริโอติกเซลล์ ตัวอย่างนี้ได้ถูกแสดงขึ้นเนื่องจากมีองค์การของเซลล์หลายระดับที่เกี่ยวข้องกับขบวนการจำลองตัวเองของไวรัส ในรูปที่ 19-12 จะเห็นได้ว่าปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการจำลองตัวทางชีวเคมีเกิดขึ้นทั้งในนิวเคลียสและในไซโตพลาสซึม ส่วนการรวมตัวประกอบกันเป็นไวริออนนั้นเริ่มต้นในนิวเคลียส นิวคลีโอแคปซิดของไวรัสเมื่อถูกประกอบขึ้นในนิวเคลียสแล้วจะถูกส่งต้นเยื่อหุ้มนิวเคลียสให้ปูดออก (bud off) ปกคลุมนิวคลีโอแคปซิดกลายเป็นเอนเวลอพของไวริออน ขบวนการปูดออกมา (budding off) เช่นนี้เป็นขบวนการซึ่งกลับกันกับขบวนการผ่าเข้าไปในเซลล์ของไวริออนหรือการกลืนกิน (phagocytosis) ของเซลล์ ต่อจากนั้นรูปลิวไวรัสจึงถูกส่งออกนอกเซลล์ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยกลไกซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัด ไวรัสบางชนิดก็มีขบวนการปูดออกมานอกเซลล์โดยผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และได้ขึ้นส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ห่อหุ้มเป็นของตน

#### การคัดแยกและการชันสูตรไวรัส (Isolation and Identification of viruses)

การคัดแยกและการชันสูตรไวรัสจากตัวอย่างทางการแพทย์หรือวัตถุต่าง ๆ เพื่อการวิจัยสามารถจัดทำได้โดยวิธีการซึ่งแตกต่างกันหลายอย่าง แต่กลวิธีการอย่างหนึ่งอย่างเดียวนั้นก็ไม่ได้เหมาะสมต่อไวรัสทุกชนิดหรือตัวอย่างทุกชนิด ขั้นตอนแรกของการชันสูตรไวรัสในห้องปฏิบัติการคือการระมัดระวังรักษาและรวบรวมตัวอย่างไว้อย่างเหมาะสมจนกระทั่งถึงระยะเวลาที่ใส่เชื้อลงไปในสัตว์ทดลอง เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้ (tissue culture) ไข่ซึ่งถูกฟักให้มีตัวอ่อนอยู่ภายใน (embryonated egg) หรือสิ่งอื่นที่เหมาะสม ทั้งนี้รวมทั้งการทำให้วัตถุตัวอย่างปราศจากเชื้อแบคทีเรียโดยการกรอง โดยการเหวี่ยงให้ตกตะกอน (centrifugation) หรือโดยการเติมสารยับยั้งแบคทีเรีย (bactericidal agent)

ถ้าปรากฏว่ามีไวรัสอยู่ต่อมาจึงจะถูกจำแนกด้วยแอนติบอดีที่บ่งบอกลักษณะ เช่น hemagglutination-inhibiting antibody, complement-fixing antibody หรือ neutralizing viral antibody เป็นต้น กลวิธีการเกี่ยวกับการทดสอบด้วยแอนติบอดีนี้จะได้กล่าวถึงในตอนต่อไป

#### การเพาะเลี้ยงไวรัส (Cultivation of viruses)

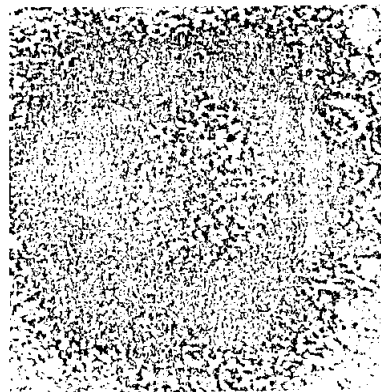
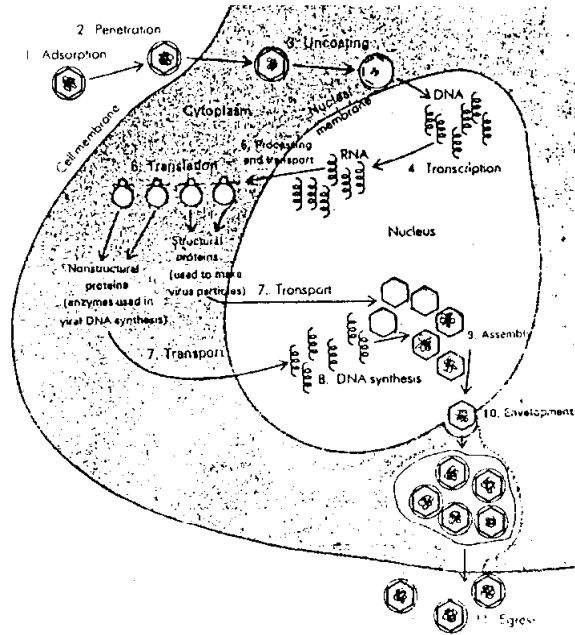
การเพาะเลี้ยงในตัวอ่อนลูกไก่ (chick embryo) : ในการศึกษาไวรัสเมื่อเริ่มแรกนั้นส่วนใหญ่ก็เพาะเลี้ยงไวรัสไว้ในเจ้าบ้านซึ่งมีชีวิต วิธีการแรกและได้ผลดีที่สุดอย่างหนึ่งในการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสในห้องทดลองและเป็นเชื้อบริสุทธิ์ คือการเพาะเลี้ยงในตัวอ่อนลูกไก่

**รูปที่ 19-12** Replication of herpes simplex virus

After attachment (adsorption step 1) the virus particles are taken into the cell (penetration step 2) either by engulfment or possibly by fusion of the viral envelope with the cell membrane.

After the virus enters the cell, the envelope and protein coat are removed by cellular enzymes (uncoating step 3) and the DNA of the virus is released into the nucleus. One strand of the viral DNA is transcribed into an RNA copy (transcription step 4). Suitable transcripts (now considered to be viral messenger RNA molecules) are processed and transported (step 5) into the cytoplasm where the RNA code is translated into an amino acid code (translation step 6). During this process both proteins which will subsequently be used to construct new virus particles (structural proteins) and proteins which act as enzymes involved in DNA metabolism (nonstructural proteins) are synthesized and transported (step 7) from the cytoplasm into the nucleus. New viral DNA is now synthesized in the nucleus (DNA synthesis step 8) by the nonstructural proteins and possibly some cellular enzymes. Assembly (step 9) of the structural protein subunits around the viral DNA results in the formation of a noninfectious virus particle lacking an outer coat or envelope. The final envelope, which enables the particle to be infectious, is acquired from the nuclear membrane by a budding-off process (envelopment step 10). The virus particles are now transported from the vicinity of the nucleus to the periphery of the cell (egress step 11).

The exact mechanism by which this is accomplished is unclear. (Drawing by C. Shipman, Jr. and S. Marty-Everhardus. From "An Age-old Problem: The Control of Viruses." University of Michigan, Research News, 26:1-7, 1975.)

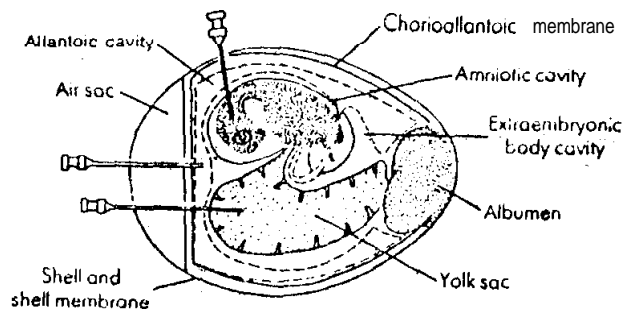


**รูปที่ 19-13**

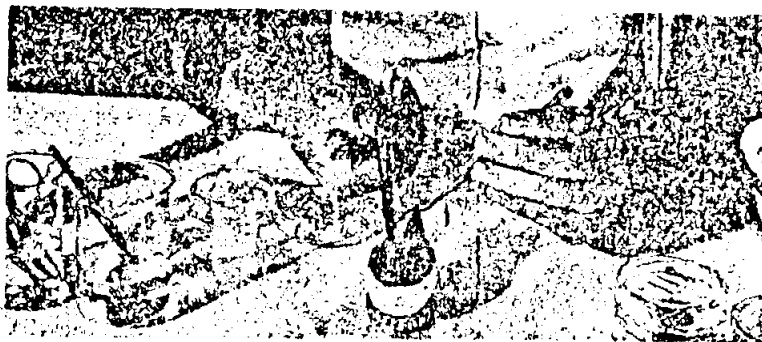
Figure 19-14. Herpes simplex virus (without envelope) showing individual capsomeres ( $\times 340,000$ ). (Courtesy of Dr. Peter Gill, McGill University.)

(chick embryo technique) ดังรูปที่ 19-14 ไข่ไก่ที่มีเชื้อตัวผู้ผสมจะถูกฟักให้มีตัวอ่อนอยู่ภายใน เป็นระยะเวลา 5 ถึง 12 วันแล้วนำมาใส่ด้วยเชื้อไวรัสที่ต้องการเพาะเลี้ยงโดยเจาะเปลือกไข่ให้มีรูเปิดด้วยกลวิธีซึ่งปราศจากเชื้อแล้วใส่สารซึ่งมีเชื้อไวรัสปนอยู่ผ่านรูเปิดนั้น รูเปิดบนเปลือกไข่ต่อมาจะถูกปิดด้วยขี้ผึ้งพาราฟินปราศจากเชื้อแล้วบ่มไข่ต่อไปที่ 36 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตามต้องการเพื่อการเจริญเติบโตของไวรัส ตัวอ่อนของลูกไก่อาจถูกใส่เชื้อไวรัสลงบน chorioallantoic membrane ซึ่งไวรัสบางชนิด เช่น vaccinia จะเจริญเติบโตและทำให้เกิดรอยแผลเป็นแห่ง ๆ ถุงไข่แดง (yolk sac) ของตัวอ่อนลูกไก่ก็สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสได้ การเพาะเลี้ยงไวรัสในตัวอ่อนลูกไก่ถูกใช้ในการผลิตไวรัสจำนวนมากเพื่อทำเป็นวัคซีนต่อต้านโรคฝีดาษ (smallpox) โรคไข้เหลือง (yellow fever) โรคไข้หวัดใหญ่ (Influenza) และโรคอื่น ๆ และเพื่อใช้ตรวจสอบทางภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunology) และการศึกษาอย่างอื่น ดังรูปที่ 19-15

**รูปที่ 19-14** Diagrammatic representation in sagittal section of the embryonated hen's egg 10 to 12 days old. The hypodermic needles show the routes of inoculation of the yolk sac, allantoic cavity, and embryo (head). The chorioallantoic membrane is inoculated after it has been dropped by removing the air from the air sac.



**รูปที่ 19-15** Embryonated hen's egg is used for the cultivation of many mammalian viruses.



**การเพาะเลี้ยงในก้อนน้ำเลือด (Plasma Clot) :** กลวิธีการนี้ น้ำเลือด (blood plasma) ถูกปล่อยให้แข็งตัว (clot) ปกคลุมเนื้อเยื่อที่ตัดออกมาปลูกไว้บนกร่างกาย (tissue explant) และเชื้อไวรัสถูกใส่ไว้ในน้ำเลือดซึ่งมีชั้นของเนื้อเยื่อที่มีชีวิตแทรกอยู่ นั่น นอกจากนี้ ยังได้มีการปรับปรุงวิธีการโดยบรรจุ น้ำเลือด ซึ่งมีชั้นของเนื้อเยื่อแทรกอยู่ นั้นไว้ในถุงบางซึ่งมีรูพรุนเล็ก ๆ พอให้วัสดุไวรัสลอดผ่านไปได้ เซลล์เนื้อเยื่อในน้ำเลือดจะได้รับอาหารจากน้ำเลือด และทำหน้าที่เป็นเจ้าบ้านเพื่อการเจริญเติบโตของไวรัส เมื่อไวรัสถูกปลดปล่อยออกมาจะซึมผ่านถุงเยื่อหุ้มออกมาอยู่ในช่องเหลวปราศจากเซลล์ที่แช่ถุงน้ำเลือดนี้ โดยวิธีการอันนี้ จะทำให้ได้วัสดุไวรัสที่ปราศจากเซลล์เจ้าบ้านปะปนอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์มีขนาดโตกว่ารูพรุนของถุงเยื่อหุ้มจึงไม่อาจผ่านออกมาได้

#### **การเพาะเลี้ยงในเซลล์ของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้ (Tissue culture)**

เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง (Tissue culture) ของไวรัสเริ่มต้นด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากการขยี้ตัวอ่อนของลูกไก่จากไข่ซึ่งฟักให้เป็นตัวในน้ำเหลือง (serum) หรือใน Tyrode's หรือ Hank's complete salt solution วิธีการนี้ นำไปสู่การใช้เนื้อเยื่อบริสุทธิ์ของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้เพื่อการเจริญเติบโตของไวรัสและทำให้สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสได้หลายชนิดในลักษณะเป็นเชื้อบริสุทธิ์ปริมาณมากได้เพื่อการศึกษาและเพื่อการผลิตวัคซีนเป็นการค้า

กลวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในปัจจุบันได้ถูกใช้กันอย่างกว้างขวางเพื่อการคัดแยกและเพิ่มจำนวนไวรัสจากวัตถุตัวอย่างทางการแพทย์ เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้ไม่เพียงแต่สนับสนุนการเจริญเติบโตของไวรัสที่มันยังแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในเนื้อเยื่อโดยการบุกรุกของไวรัสอีกด้วย

วัคซีนที่ผลิตจากเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้มีข้อดีกว่าที่ผลิตจากการเพาะเลี้ยงในตัวอ่อนลูกไก่คือลดปัญหาการแพ้ (hypersensitivity) ของคนไข้ต่อโปรตีนแอลบูมิน (albumin) ในไข่ขาว เช่น วัคซีนป้องกันโรคโปลิโอ (Salk poliomyelitis vaccine) ซึ่งผลิตขึ้นในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้ วัคซีนนี้ได้ถูกปรับปรุงขึ้นหลังจากที่พบว่า poliovirus เจริญเติบโตได้ในเซลล์ไตที่เพาะเลี้ยงไว้ (kidney-cell culture) HeLa cell culture ได้เริ่มต้นคัดแยกมาจากเนื้องอก (tumor) ของคนไข้คนหนึ่งแล้วเพาะเลี้ยงกันต่อ ๆ มามีประโยชน์อย่างมากในการเพาะเลี้ยงไวรัสหลายชนิดซึ่งแต่ก่อนไม่อาจเพาะเลี้ยงได้หรือเพาะเลี้ยงได้ยาก การเจริญเติบโตของไวรัสในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้ได้แสดงในรูปที่ 19-4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าโครงสร้างของเนื้อเยื่อเสื่อมทรามลงในขณะที่ไวรัสเจริญเติบโตการเปลี่ยนแปลงทำให้เนื้อเยื่อเสื่อมทรามลงถูกเรียกว่า cytopathic effect (CPE)

ไวรัสไม่ทุกชนิดที่ทำให้เกิด CPE ตัวอย่างเช่น influenza virus สามารถตรวจสอบได้โดยกลวิธี hemadsorption technique ซึ่งเม็ดเลือดแดงจะถูกเติมลงในเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงที่ถูกบุกรุก ถ้าเซลล์ถูกบุกรุกด้วย influenza ไวรัสเม็ดเลือดแดงก็จะเกาะติดที่ผิวของเซลล์เหล่านั้น การวินิจฉัยทดลองเช่นนี้ถูกเรียกว่า hemadsorption การชั้นสูตรไวรัสที่คัดแยกได้อาจทำได้โดยใช้แอนติซีรั่มที่เฉพาะต่อชนิด (type-specific antiserum) ซึ่งจะป้องกันไม่ให้ไวรัสจำลองตัวเองได้

### ไวรัสเป็นสิ่งมีชีวิตหรือไม่

สิ่งมีชีวิตแตกต่างจากสิ่งไม่มีชีวิตในแง่ที่ว่าสิ่งมีชีวิตมีลักษณะดังต่อไปนี้

1. มีการจัดระเบียบขององค์กรและวัตถุที่ตนเองมีอยู่
2. มีความสามารถในการเคลื่อนย้ายทางกายภาพอย่างหยาบ
3. มีความสามารถในการตอบสนองต่อการเคลื่อนย้ายทางกายภาพหยาบได้
4. มีความสามารถในการเจริญเติบโตทั้งในด้านขนาดและจำนวน
5. มีความสามารถในการสืบพันธุ์และการผ่าเหล่า

บุคคลผู้ซึ่งโต้แย้งว่าไวรัสเป็นสิ่งไม่มีชีวิตได้ชี้แสดงตัวอย่างของสิ่งไม่มีชีวิตที่มีการจัดระเบียบขององค์กรการเคลื่อนไหว การตอบสนองและการเจริญเติบโตได้ในระดับหนึ่ง ถึงแม้ว่าข้อโต้แย้งต่อต้านการจัดให้ไวรัสเป็นสิ่งมีชีวิตจะเป็นที่คำนึงถึงแต่ก็ไม่เคยกล่าวอ้างได้เลยว่าสิ่งไม่มีชีวิตสามารถสืบพันธุ์และผ่าเหล่าได้ แต่ไวรัสสามารถสืบพันธุ์ได้โดยการจำลองตัวเองภายใต้สภาวะซึ่งเหมาะสม ไวรัสมีสิ่งสำคัญของชีวิตอย่างแท้จริงโดยมียีนที่สมบูรณ์และมีประสิทธิภาพสูงมาก ไวรัสจึงอาจถูกถือได้ว่าเป็นสิ่งซึ่งอยู่ก้ำกึ่งกันระหว่างสิ่งมีชีวิตกับสิ่งไม่มีชีวิต ถ้ายอมรับว่าไวรัสเป็นโมเลกุลซึ่งแตกต่างจากโมเลกุลทางเคมีอย่างอื่นในแง่ที่ว่าสามารถจำลองตัวเองโดยใช้ของเดิมเป็นแบบอย่าง (duplicate) ได้ก็将会เห็นข้อแตกต่างอย่างมีเหตุผลและชัดเจนซึ่งอาจช่วยให้เข้าใจถึงธรรมชาติและจุดเริ่มต้นของชีวิต Stanley และ Valens ได้เสนอว่าบางที่ข้อแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างไวรัสกับโมเลกุลอื่นก็คือไวรัสสามารถกลายเป็นสิ่งมีชีวิตได้เมื่อเข้าไปอยู่ในเซลล์