

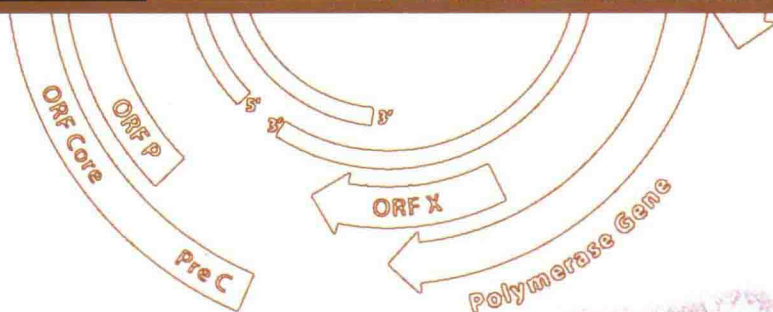



XIANDAI  
DONGWU BINGDUXUE

# 现代动物病毒学

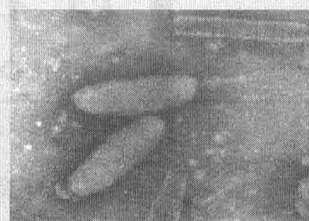
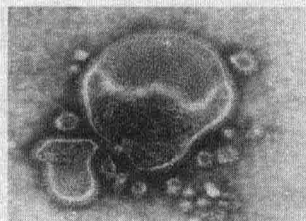


扈荣良 主编



 中国农业出版社

国家科学技术学术著作出版基金资助出版



XIANDAI DONGWU BINGDUXUE

# 现代动物病毒学

扈荣良 主编



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

现代动物病毒学 / 扈荣良主编. —北京: 中国农业出版社, 2014. 12

ISBN 978-7-109-19743-5

I. ①现… II. ①扈… III. ①动物病毒 IV.  
①S852.65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 273039 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码 100125)

责任编辑 黄向阳 刘 玮 王森鹤

北京通州皇家印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行  
2014 年 12 月第 1 版 2014 年 12 月北京第 1 次印刷

开本: 889mm×1194mm 1/16 印张: 90.5

字数: 2783 千字

定价: 380.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

# 内 容 提 要

## Neirong Tiyao

本书由动物病毒学基础和技术总论与动物病毒学各论两篇组成。

第一篇动物病毒学基础和技术总论，介绍病毒的基本概念和动物病毒学简史，病毒的本质、起源和演化，病毒的形态、结构和化学组成，病毒的分类和命名，病毒的增殖和培养，病毒的遗传和变异，理化因素对病毒的作用及病毒消毒法，病毒对细胞的作用和对机体的感染，病毒和病毒感染的蛋白质组学，病毒感染与免疫的分子生态学，病毒感染的流行病学，病毒感染的分子流行病学，动物病毒病诊断，病毒的分离和鉴定，机体针对病毒的固有免疫，机体针对病毒的适应性免疫和免疫预防，动物病毒的反向遗传学，抗病毒药物和抗病毒感染治疗，新发和新出现的病毒病，以及病毒病的监测、控制与消灭。

第二篇动物病毒学各论，按照病毒核酸的类型，依次介绍双股 DNA 病毒，包括痘病毒科、非洲猪瘟病毒科、虹彩病毒科、疱疹病毒科、腺病毒科、多瘤病毒科、乳头状瘤病毒科等；单股 DNA 病毒，包括圆环病毒科、细小病毒科、细小环病毒科；DNA 和 RNA 逆转录病毒，包括逆转录病毒科、嗜肝 DNA 病毒科等；双股 RNA 病毒，包括呼肠孤病毒科、双 RNA 病毒科、小双 RNA 病毒科；单股负链 RNA 病毒，包括波纳病毒科、弹状病毒科、丝状病毒科、副黏病毒科、正黏病毒科、布尼病毒科、沙粒病毒科；单股正链 RNA 病毒，包括小 RNA 病毒科、双顺反子病毒科、杯状病毒科、星状病毒科、冠状病毒科、动脉炎病毒科、披膜病毒科、黄病毒科、杆套病毒科等，以及亚病毒因子和未分类病毒，同时扼要介绍了一些虽和动物传染病不直接相关，但有着间接或可能联系的昆虫和植物病毒种类。

本书内容较为全面、系统，既有系统的理论阐述，也有较为详尽的技术介绍，既有重要动物病毒的全面论述，也有非常见病毒的简要概括。适合广大病毒学研究人员、教学人员甚至基层兽医参考，也可供兽医专业本科生和预防兽医学研究生使用。

# 编纂委员会

Bianzuan Weiyuanhui

---

主任委员 钱 军

委 员 (按姓氏汉语拼音顺序排列)

房德兴 顾万钧 韩文瑜

胡桂学 孔宪刚 李红卫

刘维全 刘文森 毛春生

米献森 钱爱东 孙 明

童光志 王笑梅 夏志平

章金刚 朱国强

主 编 扈荣良

副主编 张守峰 刘 晔 连 海 高玉伟

编写人员 (按姓氏汉语拼音顺序排列)

安同庆 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

丁 壮 吉林大学农学部

冯书章 军事医学科学院军事兽医研究所

高玉伟 军事医学科学院军事兽医研究所

宫 婷 军事医学科学院军事兽医研究所

郭 鑫 中国农业大学

郝林琳 吉林大学生物技术学院

扈荣良 军事医学科学院军事兽医研究所

冷 雪 中国农业科学院特产研究所

李 成 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

李 楠 军事医学科学院军事兽医研究所

李乾学 军事医学科学院军事兽医研究所

连 海 军事医学科学院军事兽医研究所

刘胜旺 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

刘晓丽 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

刘 晔 军事医学科学院军事兽医研究所

吕宗吉 佛山科学技术学院

邱 薇 成都军区疾病预防控制中心

仇华吉 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

孙相鑫 军事医学科学院军事兽医研究所

王述超 军事医学科学院军事兽医研究所

王晓钧 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

王永志 吉林省农业科学院

印春生 中国兽药监察所

张 菲 军事医学科学院军事兽医研究所

张锦霞 军事医学科学院军事兽医研究所

张茂林 吉林大学人兽共患病研究所

张守峰 军事医学科学院军事兽医研究所

张学东 吉林大学《中国兽医学报》编辑部

章金刚 军事医学科学院野战输血研究所

朱国强 扬州大学

邹啸环 军事医学科学院军事兽医研究所

主 审 陆承平

# 前 言

我的导师，已故中国工程院院士殷震教授生前先后主编了两版《动物病毒学》（1985年和1997年），向工作在不同领域的病毒学工作者展示了前人在动物病毒学方面取得的成果、积累的经验和发展趋势，其内容得到了国内同行和相关专业领域专家的普遍认可，在我国动物病毒学知识的普及、教学和研究中发挥了积极作用，为我国动物病毒学的进步做出了重要贡献。

近17年多来，动物病毒学和其他生命学科一样，取得了飞速的发展和进步：传统的病毒学技术在我国动物病毒病研究领域中得到深入应用，新的技术不断充实病毒学研究领域，病毒分类日趋合理和完整，病毒免疫学理论日臻完善，分子病毒学得到广泛应用，基因组学、蛋白质组学等相关技术逐渐渗透于病毒学研究；与此同时，新的病毒不断出现或被发现，病毒学新的亚类学科逐步形成，等等。所有这些，都极大丰富了当今动物病毒学的范畴。为了能够向本领域相关人员提供一部较为系统的、内容进一步更新的动物病毒学参考书，我和我的实验室人员，联合国内一些同行，经过近4年多的共同努力，在借鉴前人病毒学研究成果和有关病毒学著作的基础上，完成了现在的《现代动物病毒学》一书。为了保证本书的系统性和实用性，书中涉及的与病毒有关的经典理论和技术方法，均来自于病毒学领域前辈科学家的经典著作，并在书中注明了引用来源；书中的其他部分内容都是编著者们辛勤劳动、归纳和综合的结果；更需要提到的是，书中的一部分内容是作者工作成果的积累和经验总结。希望本书既是对过去动物病毒学经验和知识的传承，又是对现代和未来动物病毒学发展成果的开拓。

动物病毒学的知识浩如烟海，理论和技术发展日新月异。尽管本书作者力图全面、完整地呈现当今动物病毒学的现状和发展趋势，但限于我们的水平和能力，遗漏和错误之处在所难免，诚恳希望读者提出批评和建议，以便再版时及时修订。同时，希望本书的年轻编著者将来能在本书的基础上进一步完善和超越。

感谢国家科学技术学术著作出版基金委员会将本书列为2013年度国家科学技术学术著作出版基金资助项目，使本书能够顺利出版；感谢中国农业

# 目 录

## 前言

## 第一篇 动物病毒学基础和技术总论

第 1 章	病毒的基本概念和病毒学简史 .....	3
第 2 章	病毒的本质、起源和演化 .....	9
第 3 章	病毒的形态、结构与化学组成 .....	20
第 4 章	病毒的分类和命名 .....	57
第 5 章	病毒的增殖和培养 .....	78
第 6 章	病毒的遗传和变异 .....	99
第 7 章	理化因素对病毒的作用及病毒消毒法 .....	121
第 8 章	病毒对细胞的作用和对机体的感染 .....	133
第 9 章	病毒和病毒感染的蛋白质组学 .....	196
第 10 章	病毒感染与免疫的分子生态学 .....	207
第 11 章	病毒感染的流行病学 .....	221
第 12 章	病毒感染的分子流行病学 .....	236
第 13 章	动物病毒病诊断 .....	242
第 14 章	病毒的分离和鉴定 .....	322
第 15 章	机体针对病毒的固有免疫 .....	345
第 16 章	机体针对病毒的适应性免疫和免疫预防 .....	382
第 17 章	动物病毒的反向遗传学 .....	429
第 18 章	抗病毒药物和抗病毒感染治疗 .....	441
第 19 章	新发和新出现的病毒病 .....	474
第 20 章	病毒病的监测、控制与消灭 .....	493

## 第二篇 动物病毒学各论

双股 DNA 病毒 .....	523	
第 21 章	痘病毒科 ( <i>Poxviridae</i> ) .....	524
第 22 章	非洲猪瘟病毒科 ( <i>Asfarviridae</i> ) .....	578
第 23 章	虹彩病毒科 ( <i>Iridoviridae</i> ) .....	589
第 24 章	疱疹病毒科 ( <i>Herpesviridae</i> ) .....	608
第 25 章	异疱疹病毒科 ( <i>Alloherpesviridae</i> ) .....	653
第 26 章	贝类疱疹病毒科 ( <i>Malacoherpesviridae</i> ) .....	662



第 27 章	腺病毒科 ( <i>Adenoviridae</i> )	667
第 28 章	多瘤病毒科 ( <i>Polyomaviridae</i> )	691
第 29 章	乳头状瘤病毒科 ( <i>Papillomaviridae</i> )	702
第 30 章	杆状病毒科 ( <i>Baculoviridae</i> )	719
第 31 章	线头病毒科 ( <i>Nimaviridae</i> )	724
第 32 章	多分 DNA 病毒科 ( <i>Polydnviridae</i> )	729
第 33 章	泡囊病毒科 ( <i>Ascoviridae</i> )	731
<b>单股 DNA 病毒</b>		733
第 34 章	圆环病毒科 ( <i>Circoviridae</i> )	734
第 35 章	细小病毒科 ( <i>Parvoviridae</i> )	758
第 36 章	细环病毒科 ( <i>Anelloviridae</i> )	792
<b>DNA 和 RNA 逆转录病毒</b>		803
第 37 章	逆转录病毒科 ( <i>Retroviridae</i> )	804
第 38 章	嗜肝 DNA 病毒科 ( <i>Hepadnaviridae</i> )	890
第 39 章	前(伪)病毒科 ( <i>Pseudoviridae</i> )	905
第 40 章	变位病毒科 ( <i>Metaviridae</i> )	907
<b>双股 RNA 病毒</b>		909
第 41 章	呼肠孤病毒科 ( <i>Reoviridae</i> )	910
第 42 章	双 RNA 病毒科 ( <i>Birnaviridae</i> )	951
第 43 章	小双 RNA 病毒科 ( <i>Picobirnaviridae</i> )	971
<b>单股负链 RNA 病毒</b>		975
第 44 章	波纳病毒科 ( <i>Bornaviridae</i> )	976
第 45 章	弹状病毒科 ( <i>Rhabdoviridae</i> )	986
第 46 章	丝状病毒科 ( <i>Filoviridae</i> )	1029
第 47 章	副黏病毒科 ( <i>Paramyxoviridae</i> )	1043
第 48 章	正黏病毒科 ( <i>Orthomyxoviridae</i> )	1093
第 49 章	布尼病毒科 ( <i>Bunyaviridae</i> )	1119
第 50 章	沙粒病毒科 ( <i>Arenaviridae</i> )	1140
<b>单股正链 RNA 病毒</b>		1157
第 51 章	小 RNA 病毒科 ( <i>Picornaviridae</i> )	1158
第 52 章	双顺反子病毒科 ( <i>Dicistroviridae</i> )	1203
第 53 章	传腐病毒科 ( <i>Iflaviridae</i> )	1208
第 54 章	杯状病毒科 ( <i>Caliciviridae</i> )	1212
第 55 章	星状病毒科 ( <i>Astroviridae</i> )	1226
第 56 章	冠状病毒科 ( <i>Coronaviridae</i> )	1236
第 57 章	动脉炎病毒科 ( <i>Arteriviridae</i> )	1257
第 58 章	披膜病毒科 ( <i>Togaviridae</i> )	1278

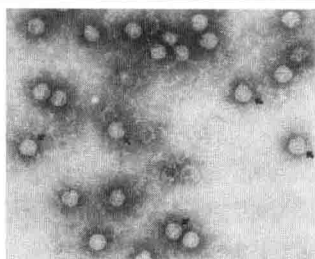
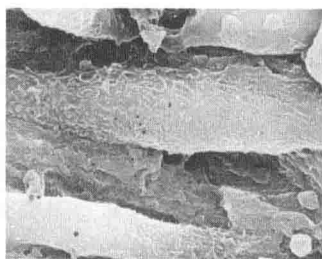
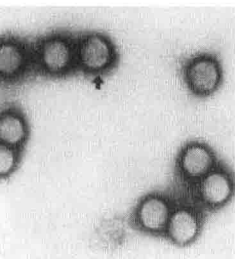
第 59 章 黄病毒科 ( <i>Flaviviridae</i> ) .....	1298
第 60 章 杆套病毒科 ( <i>Roniviridae</i> ) .....	1351
第 61 章 戊型肝炎病毒科 ( <i>Hepeviridae</i> ) .....	1357
第 62 章 野田村病毒科 ( <i>Nodaviridae</i> ) .....	1366
第 63 章 四体病毒科 ( <i>Tetraviridae</i> ) .....	1372
第 64 章 芜菁黄花叶病毒科 ( <i>Tymoviridae</i> ) .....	1375
<b>亚病毒因子</b> .....	1377
第 65 章 亚病毒因子 ( <i>The subviral agents</i> ) .....	1378
<b>未分类病毒</b> .....	1399
第 66 章 未分类病毒 ( <i>Unclassified viruses</i> ) .....	1400
<b>附 畜禽等动物的主要病毒病</b> .....	1405
<b>索引</b> .....	1423

第一篇

# 第一篇



## 动物病毒学基础 和技术总论





# 第 1 章 病毒的基本概念和病毒学简史

XIANDAI DONGWU BINGDUXUE

## 目 录

- |                   |                     |
|-------------------|---------------------|
| 一、基本概念 / 3        | 五、病毒学科的形成、发展和成熟 / 5 |
| 二、病毒病的早期记载和防治 / 3 | 六、动物病毒学 / 8         |
| 三、病毒的发现 / 4       | 主要参考文献 / 8          |
| 四、对病毒本质的认识 / 4    |                     |

### 一、基本概念

病毒 (Virus) 是一类营细胞内寄生性生命周期的亚细胞生物体。一种病毒颗粒只含有 DNA 或 RNA 一种核酸, 在宿主细胞外没有代谢活性, 但是具有潜在的生命力。病毒不是最简单的生命形式, 因为病毒的生命周期不但涉及其自身的代谢, 而且涉及其宿主细胞的代谢, 体现在病毒利用细胞的复制元件进行增殖。

病毒作为地球生物圈中的一类生物因子, 人类对其本质和规律的研究经历了一个多世纪, 而真正认识病毒的本质是在 20 世纪 30 年代中期。20 世纪中叶以后, 随着科学技术尤其是生命科学技术的飞速发展, 人类对病毒本质和规律的认识不断加深, 形成了研究不同病毒本质、认识病毒发生规律、利用病毒服务人类的学科, 即传统的病毒学; 20 世纪 80 年代以后, 分子生物学、细胞生物学、基因组学、蛋白质组学技术等先后运用于病毒学领域, 病毒学逐步发展成了包括传统的病毒学、分子病毒学、病毒蛋白质组学、病毒代谢组学、病毒分子生态学等的现代病毒学。

### 二、病毒病的早期记载和防治

动物和人的病毒病自古就有记载。在西方, 狂犬病的记载可以追溯到公元前 2300 年; 在中国, 公元前 556 年就有狂犬病的具体描述。公元前 1400 年, 古埃及象形文字里即描述了一位祭祀人员的典型脊髓灰质炎症状, 即小儿麻痹。公元前 10 世纪, 在古中国、印度和埃及就有天花的发生, 天花曾在亚洲、欧洲、南美洲、北美洲等多次暴发流行, 造成大批人群死亡, 甚至在一定时期 (16 世纪初) 是一些南美洲 (如墨西哥境内的阿兹特克) 土著人群消失的一个重要原因。

病毒病的防治在公元初期即有记载, 如公元 1 世纪, 罗马医生 Celsus 采用伤口烧灼的方法治疗和预防狂犬病。但更科学和有效的病毒病治疗记载是在我国 11 世纪的宋朝, 中医以“人痘”接种预防天花, 方法是痊愈后的天花患者身上的痂皮研成粉末, 吹进小儿的鼻孔内。这一防止天花的方法曾在人群中大量使用, 获得了较好的效果。公元 17 世纪, 我国预防天花的免疫接种技术, 通过丝绸

之路西行传入中东,继而传播到欧洲。据记载,1722—1730年,845名接种者中,只有17例因感染而死亡;1753—1754年,疫苗接种的死亡率约为1%。尽管这种接种方法有一定的危险,但由于人们惧怕天花流行,仍乐于接受这种免疫。

18世纪,英国乡村医生 Edward Jenner 在行医过程中,根据奶牛场的挤奶姑娘中感染牛痘后不再发生天花的现象,创立了接种牛痘预防天花的免疫方法,并于1796年在人体试验成功[通过类似于 Jenner 创立的免疫方法,即利用痘苗病毒作为疫苗,至1980年,世界卫生组织(WHO)宣布,天花已从地球上彻底消灭]。1884年,法国医生 Louis Pasteur 又发明了狂犬病疫苗,从而奠定了人和动物人工接种免疫的基础。

### 三、病毒的发现

尽管在19世纪早期,人们就有了传染性病原体的概念,但对于“病毒”的认识并不深入。1886年,德国科学家 Mayer 曾利用烟草花叶病植株的叶片制备悬液,注入健康烟草的叶脉中,结果健康烟草也发生了花叶病,首次证明了烟草花叶病的传染性,这种传染性通过煮沸处理可以丧失。但是, Mayer 认为,这种烟草花叶病是由细菌引起的。1892年,俄国科学家 Ivanovski 不但重复和证实了 Mayer 的试验,而且还发现,烟草花叶病的病原在通过细菌滤器后仍能感染健康烟草植株。1898年,荷兰科学家 Beijerinck 同时证实了 Mayer 和 Ivanovski 的实验结果,并进一步发现,烟草花叶中的病原可以在琼脂糖凝胶中以适当速度扩散,而细菌则只能停留在琼脂糖凝胶表面。因此他指出,引起烟草花叶病的致病因子有3个特点:一是能通过细菌过滤器;二是只能在感染的细胞内增殖;三是在体外非生命物质中不能生长。根据这些特点,他提出了“有感染性的、活的流质”,取名“病毒(Virus)”的概念,并指出,这是一种不同于细菌的致病因子。同年,德国科学家 Loeffler 和 Frosch 发现了引起牛口和蹄糜烂的牛口蹄疫病原的可滤过性。

在此后的10多年里,在世界不同地区相继发现了10多种动物和人传染病的致病性病毒,如1900年的鸡新城疫病毒,1901年的黄热病病毒,1902年的鸡痘病毒,1903年的狂犬病毒,1908年的鸡白细胞增生病病毒,1909年的脊髓灰质炎病毒和1911年的 Rous 肉瘤病毒等。

1915年,英国人 Twort 在研究葡萄球菌时,发现葡萄球菌如受到污染即不能再继续培养,而且菌落会变得光滑和透明,因此发现了一种裂解细菌并能连续传播的物质,由于该种物质可以通过滤器,因此推断其是一种病毒。1917年加拿大人 d'Herelle 也独立发现了细菌的裂解现象,并证明裂解因子能在传播过程中增殖,因此将这种裂解因子命名为噬菌体。

### 四、对病毒本质的认识

20世纪初,大量的由病毒引起的动、植物传染病相继被发现、认识和证实,随着物理和化学技术的发展,针对病毒的一系列研究工作迅速展开,对于病毒本质的认识也逐步深入。在机体水平上研究了病毒的增殖、发病机理和免疫反应等。尽管如此,这些对病毒的研究均未离开病毒的自然宿主和易感实验动物。因此,病毒学虽然有很大的进展,但尚未形成独立学科,仍是微生物学的一个分支。

1927—1931年, Vinson 和 Peter 部分纯化了烟草花叶病毒,认为病毒即是蛋白质,并和蛋白的特性相同。1935年, Stanley 从烟草花叶病植株的液汁中纯化出了蛋白晶体,该晶体溶解后,仍具致病性。因此,为病毒是“蛋白质”找到了“证据”,并因此获得了诺贝尔奖(尽管结论不正确)。随后, Schelesinger 研究证明,病毒除了蛋白质以外,还含有磷和脱氧核糖核酸; Bawden 和 Pirie 也发现,病毒中除了蛋白以外,还含有硫和磷。

经过病毒学者的大量试验一致认为,病毒是由蛋白质和核酸组成。以后的研究又证实,核酸分为 DNA 和 RNA 两类, DNA 和 RNA 进而又可区分为单股和双股。此后的10多年时间里,经过反复试验认为,病毒中的核酸更重要,是病毒感染和复制的主体。同时证实,有些病毒还含有一定水平的脂类和糖类。

## 五、病毒学科的形成、发展和成熟

20世纪30年代,电子显微镜的出现使人类可以直接观察病毒颗粒的形态和结构,证明病毒颗粒内部为核酸,外面为蛋白质,有些病毒的外面还包有囊膜。

20世纪40~50年代,病毒的形态、化学组成、培养和病毒的抗原特性以及病毒的致病性等,随着物理、化学、生物学、实验动物学等学科的发展逐步得到了澄清。尤其是病毒的鸡胚和体外细胞培养技术的建立,加速了病毒学研究的发展。早在1913年,Steinhardt等就在体外培养的家兔角膜上培养痘苗病毒。1923—1924年,Carrel应用鸡胚组织块培养Rous肉瘤病毒,1927年又用于培养痘苗病毒。1929年Andrews应用兔睾丸组织块培养兔病毒Ⅲ;Rivers等则用家兔角膜培养痘苗病毒,并发现规律性的细胞病变和包含体。1933年Gey创立了单层细胞培养技术。1943年我国学者黄祯祥首先利用组织培养分离、滴定和鉴定了西方型马脑炎病毒。1951年Dulbecco等采用胰蛋白酶消化组织培养法,应用人工合成培养液,获得了单层细胞。

随着抗生素的普遍应用,体外培养细胞已经是分离、鉴定和大量培养病毒的简便而又十分有效的工具。动物和人类的绝大多数病原性病毒都是通过细胞培养而分离和鉴定成功的。病毒学研究从此进入了一个全盛时期,由此逐渐形成了一种和微生物学并列的、独立的病毒学科。

自1953年至今,病毒学发展过程中的一些里程碑事件有:

1953年,Watson和Crick建立了DNA双螺旋结构理论,它使人们开始从分子水平上去认识遗传物质(DNA)的结构基础和复制特性,理解基因与性状的关系,为分子病毒学的创立奠定了基础。

1962年,Casfar阐明了病毒的二十面体结构,明确了核衣壳二十面体的构成规律,是病毒超微结构认识的重大突破。

1962年,Nathans成功地进行了噬菌体RNA的体外翻译,1965年Spiegelman成功地在体外复制出Q $\beta$ 噬菌体RNA;1967年Goulian成功地在体外复制了FX174噬菌体。这些工作对以后阐明DNA病毒和RNA病毒的增殖机制起到了重要作用。

1967年,Diener在试图分离马铃薯纺锤形病毒块茎病的病毒时,发现其病原是一种不含蛋白质、相对分子量为 $10^5$ 左右的裸露RNA。这样小的RNA分子不编码任何蛋白质。根据其特殊的性质,Diener把这类致病因子称为“Viroids”(类病毒)。随后的研究表明,类病毒还有特殊的复制机制。类病毒的发现不仅揭示了自然界存在着比病毒更简单的生物,而且也使人们加深了对生命起源的认识。

1968年,Duesberg发现流感病毒的多节段RNA基因组,随后在其他一些病毒中如呼肠孤病毒、大麦条纹花叶病毒中也发现了病毒基因组的分节现象。

1970年,Duesberg发现Rous肉瘤病毒含有癌基因*v-src*,而且在正常鸡以及其他脊椎动物和无脊椎动物的细胞DNA中也发现有致癌基因*c-src*的同源序列存在,推测病毒癌基因是来自于细胞正常基因。随着其他肿瘤病毒致癌基因的发现,肿瘤病毒的细胞培养系统建立,以及肿瘤病毒对细胞转化诱导作用的确定,人们对肿瘤发生的机制有了更深刻的了解。

1970年,Temin和Baltimore分别发现了病毒的逆转录酶。逆转录病毒基因组RNA在逆转录酶的作用下,首先合成前病毒DNA(Proviral DNA),然后前病毒整合到宿主染色体DNA上。除了病毒癌基因外,前病毒在宿主DNA上的插入、整合,也可以引起细胞原癌基因的激活和细胞转化,逆转录酶和逆转录过程的发现,是对Crick 1958年提出的遗传学中心法则的重要补充和发展,说明遗传信息不仅可以从DNA到RNA,也可以由RNA到DNA。

1971年,限制性内切酶的发现,为DNA序列分析和病毒基因的定位创造了条件,利用限制性内切酶酶切这一技术曾经成功地为乳头瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、疱疹病毒等构建了酶切图谱。另一些新技术,如基因转移方法、Southern blot的相继诞生,也加快了病毒特异性基因、尤其是转化基因的定位和病毒核酸序列分析的进程。

此外, 20 世纪 70 年代出现的 DNA 重组技术, 使一些病毒基因组能在原核细胞的质粒载体上克隆, 并能在细菌中得到大量复制和表达, 因而有利于探寻病毒的基因组结构和功能。

1977 年, 英国剑桥大学的 Sanger 完成了 FX174 - DNA 全部序列的测定, 根据 FX174 - DNA 全部序列的分析结果, Sanger 意外地发现了基因重叠现象。随后, 在 DNA 噬菌体如 R17、MS2、F2、Q $\beta$  中也证实了基因重叠现象的存在。这是病毒利用有限的遗传信息执行更多的功能, 提高自身在演化过程中适应能力的一种表现。

1977 年, Chow 阐明了腺病毒转录过程中 mRNA 的拼接现象, 随后在 SV40 多瘤病毒中也相继发现了 mRNA 转录后的拼接过程, 从而证实了真核生物基因的不连续性, 明确了内含子 (Intron) 和外显子 (Exon) 的概念。

1978 年, Fiers 和 Reddy 测定了 SV40 - DNA 的一级结构, 证明其由 5 224 个碱基对组成。SV40 是第一个获得全部核苷酸序列的真核生物病毒, 它含有结构基因 VP1、VP2、VP3 以及转化基因 T 和 t, 整个基因组含有 12.5% 的非编码区或非翻译区, 这些区域中包含启动子、增强子和其他调节序列, 可对病毒基因组的复制、转录、翻译进行调控。由于 SV40 既是研究真核基因结构和表达的良好模型, 又是研究癌变机制的理想材料, 因此, SV40 - DNA 一级结构的测定具有重要意义。

在 20 世纪 70 年代, Miller 和 Barbara 研究在 FX174 - DNA 转录时, 还发现了 FX174 - DNA 仅有一条链被转录。方法是, 他们利用 FX174 噬菌体感染大肠杆菌, 并在培养基中加入  $^{32}\text{P}$  - 磷酸盐, 以制备放射性的噬菌体 mRNA, 然后再将标记的 mRNA 分离出来, 让其与分开来的 RF - DNA 正负链杂交, 结果观察到, 只有 RF - DNA 的负链与标记的 mRNA 形成杂交体。因而证实, 在活的 FX174 RF - DNA 中, 仅有一条链作为转录模板。与此类似, T7 噬菌体 DNA 在活体中也只有一条单链被转录。但在 T4 或  $\lambda$  噬菌体中, 情形较为复杂, 其基因组中的某些部分是以一条链作为模板, 而在另一区域, 则是以另一条链为模板。大肠杆菌基因组的转录也同样存在一组基因与另一组基因的模板链不同。

1979 年, Taniguchi 利用质粒表达载体成功地表达了人干扰素, 这是基因工程当时的一项重大突破。

1981 年, Kleid 等利用重组 DNA 技术制备出口蹄疫病毒亚单位疫苗。

1982 年, Summers 等发现乙型肝炎病毒 DNA 复制中有逆转录过程。

1982 年, Moss 和 Paoletti 用痘苗病毒作为载体表达了外源基因。

长期以来认为, 传染性海绵状脑病的病因为非典型病毒或慢病毒。1982 年, 美国加利福尼亚大学的神经病学和病毒学教授 Prusiner 等报道, 羊痒疫 (痒痒病) 是由一种传染性蛋白质颗粒引起, 并将该传染性蛋白命名为 “prion” (朊病毒)。1997 年, Prusiner 因此获得诺贝尔医学奖。后来进一步阐明, 羊痒疫的发病机制是朊病毒分子在体内激发体内朊病毒蛋白发生构象改变。这一发现对其他动物朊病毒感染的研究起到了重要的推动作用。但是, 朊病毒究竟是一种传染性分子, 还是由正常基因突变形成的结构异常的蛋白质, 至今仍存争论。

1983 年, Montagnier 和 Gallo 分别分离到与人艾滋病相关的人类免疫缺陷病毒 (HIV)。

1988 年, Yamaya 利用烟草花叶病毒的全长 cDNA 导入植株, 第一次产生了病毒的 RNA。

1990 年以来, 聚合酶链式反应 (PCR) 技术在病毒学领域得到广泛应用。目前 PCR 已成为病毒性疾病诊断和研究的重要手段。1993 年, 美国科学家 Mullis 由于发明了 PCR 技术, 而与第一个设计基因定点突变的 Smith 共享了诺贝尔化学奖。

1991 年, Han 等将 Moloney 鼠白血病病毒的反义表达序列导入小鼠受精卵中, 从而培育成功对该病毒有抗性的转基因小鼠。

1992 年, Tang 等通过给小鼠接种人生长激素表达质粒, 获得了抗人生长激素的抗体, 因此, 首先提出了针对病原包括病毒的基因免疫 (Genetic immunization) 的概念。

1992 年, Desrosiers 等利用猴免疫缺陷病毒 (SIV) mac239/nef 缺失突变株制备出减毒活疫苗, 抗猴免疫缺陷病毒感染免疫取得了成功, 也赋予人类免疫缺陷病毒疫苗研究许多启示。



1995年,人类免疫缺陷病毒天冬氨酸蛋白酶三维结构的鉴定,使得一些针对病毒蛋白酶活性位点的抑制剂先后问世。1996年,Ho利用逆转录酶抑制剂与蛋白酶抑制剂配成的“鸡尾酒(Cocktail)”,成功抵抗了人类免疫缺陷病毒的感染,因而1996年被称为人艾滋病希望年。

1997年,中国香港首次发现高致病性禽流感可以传染人,为禽流感病毒的跨种间传播提供了事实依据。

2003年,加拿大等国科学家相继完成了严重急性呼吸道综合征病毒(SARSV)基因组的全序列分析,确定了在中国大陆和其他30多个国家和地区“非典型肺炎”的病原为冠状病毒,为该病的防治提供了依据。

同年,从发表的RNA序列开始,经过两年的努力,通过合成的方法,科学家组装成功含有7741碱基的脊髓灰质炎病毒,代表人类合成的第一个生物。

2003年,利用2周的时间,通过较为快速的方法,组装了含有5386个碱基的噬菌体FX174。

同年,发现了介于小原核生物和普通病毒之间的巨型抑菌病毒(Mimivirus),病毒的形态和结构特征如图1-1,该病毒在2004年完成测序,2005年在肺炎病人中检出了抑菌病毒。

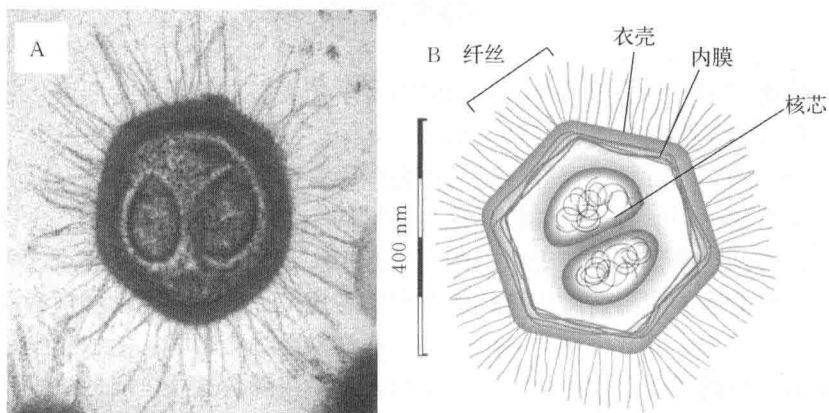


图1-1 巨型抑菌病毒(Mimivirus)形态结构

巨型抑菌病毒为双链DNA病毒,基因组长约120万碱基对,90%的DNA具有编码能力,约含911个蛋白编码基因,并含有编码糖、脂类、氨基酸和核酸代谢的基因。

A: 约200倍放大后的巨型抑菌病毒电镜照片  
(自 N. Aldrovandi); B: 巨型抑菌病毒结构示意图

2005年,在1918年曾经导致5000万人死亡的甲型流感病毒H1N1亚型,其核酸序列信息从保存的病人组织样品中获得,尔后根据这些信息合成了病毒核酸,重新构建成功了该病毒。

2006年,针对1985年发现的可导致大多数宫颈癌的人乳头状瘤病毒(Human papillomavirus, HPV)研制出了两种疫苗,并投放市场。

2006年和2007年,通过逆转录病毒载体将几种特异性转录因子基因导入人或小鼠皮肤细胞,可将这些细胞转变成多潜能干细胞,即诱导的多潜能干细胞。

2008年在巴黎的一个冷却水塔中发现了第一个噬病毒体,即Sputnik virophage(卫星噬病毒体),该噬病毒体利用辅助病毒的元件复制,并抑制辅助病毒的复制。Sputnik virophage在感染Mamavirus的阿米巴中复制,这是第一个已知可以抑制辅助病毒复制的卫星病毒,因此可看作是病毒的寄生体。与噬菌体(Bacteriophage)一词相似,该卫星病毒叫作Virophage,即噬病毒体。Mamavirus是和Mimivirus相关的一种病毒,比Minivirus更大,比大多数细菌所含基因还要多,能形成大的病毒工厂和复杂的病毒颗粒,是目前已知最大的病毒。2011年,又相继发现了两种噬病毒体,即Mavirus virophage和Organic lake virophage,但均和动物无关。

2009年4月末,在北美的墨西哥首先报道了甲型(A型)H1N1流感病毒在人群中的传播和流行,后来传遍几乎世界各国。截至2009年12月31日,甲型(A型)H1N1流感在我国已造成12万多人感染,大部分人治愈,648病例死亡。在猪、犬、禽等动物中均发现了该甲型流感的感染或存在。