

14-3242/ZKQ

17912

專 題 綜 合 評 述

核糖核酸在生物体内的含量
及其作用

中國科學技術情報研究所

1960年1月

83492/K70

核糖核酸在生物体内的含量及其作用

前 言

核酸自1871年 (F. Miescher) 發現以后至1930年由于結構不同, 分別称为两种不同的核酸: 一为核糖核酸 (ribonucleic acid—以下简称RNA), 一为去氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid—以下简称DNA)。現今有人認為DNA与遺傳有关, 而RNA則在蛋白質合成与代謝中有很大作用。研究RNA在机体内所起的作用对于闡明与揭發生命現象的基本規律是有重大意义的。近年來國內外对这一問題都給予極大的注意, 并积累了不少的資料。今就RNA在机体内的含量与分布、RNA在植物病毒繁殖中的意义和植物病毒的重建問題, 以及RNA与蛋白質生物合成的关系等, 分別予以簡介。

本文編寫时参考了下列專著与文献:

1. The Nucleic Acid Vol. II. E. Chargaff, J. E. Davidson (1955)
2. Biochemical Cytology J. Bracht (1957)
3. Нуклеиновые кислоты и размножение вирусов. А. С. Крижвинский, Успехи Соврем. Биол., **45**, 3, 286 (1958)

并包括了1957—1958年与部分1959年的有关文献。

本文承沈同教授審校, 謹此致謝。

目 錄

RNA在生物体内的含量与变化	(1)
RNA 在各种組織中的含量的比較	(1)
生殖細胞形成与胚胎發育和生長	(2)
机体的营养狀況	(3)
再生与腫瘤	(5)
內分泌的影响	(6)
物理化学因子的影响	(7)
RNA 与植物病毒	(9)
RNA 对植物病毒繁殖的影响	(9)
关于病毒 RNA 的感染性	(10)
病毒的重建及其对遺傳的影响	(12)
RNA 与病毒的的結構	(14)
RNA 与蛋白質合成的关系	(16)
RNA 促進蛋白質合成的証明	(16)
胞核与胞質在蛋白質合成中的作用	(17)
核 RNA 与胞質 RNA 的关系	(19)
蛋白質合成与模板學說	(21)
参考文献	(23)

RNA 在生物体内的含量与变化

RNA 在各种組織中的含量的比較

組織中RNA的含量与DNA的含量截然不同，DNA僅限于核与染色體中，而RNA則变化較大，一般多与細胞本身生理活动有很大的关系。不同的組織中RNA的含量差別也很大。I. Leslie (1955) 曾列表比較了各种高等动物組織中RNA与DNA的含量。肝臟組織和胰臟組織中RNA-P/DNA-P比值一般都比其它組織为高，即單位組織重量中RNA含量較多，如鼠胰臟每100克新鮮組織中RNA-P的含量可高达198微克 (R. Y. Thomson, F. C. Heagy 等人, 1953)。其它如小腸、顎下腺等組織的RNA-P都在50微克以上 (每100克組織) (R. Y. Thomson 等人, 1953, W. G. Wiest与C. Heidelberger, 1953)。特別是在家蚕 (Bombyx mori) 絲腺分泌时，RNA含量較儲藏时顯著增多 (J. M. Denucé, 1952)。RNA在血小板中的含量比正常白血球少得多，但血小板中这种核酸的更新速度要比白血球RNA中磷的轉換速度快9倍，可見血小板的代謝比白血球強烈 (И. С. Луганова 等人, 1958)。RNA含量較低的組織多属于机械性活动的組織，如心臟、腎臟、骨骼肌等。RNA在細胞中的分布也是不一致的，鼠肝細胞的RNA有88—90%是含于胞質中，其余的含于核內，而网状內皮系統的RNA大部分都在核中，胞質中的含量較少 (W. C. Schneider 等人, 1950)。

Bieth与Mandel (1953) 曾統計过各种动物相同的組織中核酸的含量，他們發現各种动物种族虽然不同，但他們相同的組織中DNA含量是近似的。細菌的DNA对决定种的特異性有很大的作用，即不同种的細菌，其DNA是不相同的。种类愈相近的細菌，DNA的結構差別愈小，但RNA却相反，它不会受种的影响而改变其性質，所以RNA沒有明顯的种的特異性 (A. C. Спирин 等人, 1957)。組織中的RNA与DNA也受到性別的影响，以致含量有所差異，有的組織RNA-P/DNA-P在雌性中較雄性为大，如果蠅的唾液腺 (R. Steele等, 1949)、幼虫、鷄的肝臟 (R. H. Common等人, 1951) 即如此。果蠅唾液腺的DNA-P雌雄差別不大，而RNA-P在每一器官中的总量無論在成体或幼虫中雌性远較雄性为大。RNA在不同性別的鼠肝中的含量恰与

果蠅情況相反(M. L. Petermann等人, 1958), 除DNA的变化不大外, 雌性所含的RNA都比雄性少(M. F. Harisson, 1953, R. M. Campbell 等人, 1950)。这种不同种的雌雄个体RNA含量的改变, 据I. Leslie (1955)的意见認為这是由于不同的性联染色体的形式所决定的。

生殖細胞形成与胚胎发育和生长

在精子形成时, 蛋白質的合成与RNA的合成有着極其密切的关系(J. Brachet, 1957)。河七鳃鳗(*Lampetra fluviatilis*)的精原細胞在靜止时原生質中RNA的含量是不顯著的。在精原細胞分裂时RNA顯著增高, 这种現象在幼魚性腺發育的各个过程中都可观察到, 但当精細胞成熟时RNA含量就大为减少(Л. А. Чубарева, 1958)。

馬蛔虫(*Parascaris equorum*)卵子的原核中是沒有DNA与RNA存在的, 也沒有組蛋白型的鹼性蛋白發現, 只有在形成受精卵之后, 胞質嗜鹼性增强, 即此时有RNA的存在。作者認為RNA是受精卵形成过程中逐步產生的, 这种RNA并非由精細胞的進入而携帶來的(И. Б. Макаров, 1958)。

在胚胎發育中, 原腸期有RNA合成的現象, 这种合成的出現是与蛋白質合成和耗氧量的增多有关。而在分裂的早期RNA的嘌呤、嘧啶掺合 H^3H_4Cl 的能力几乎是沒有的, 只有到了囊胚初期其掺合能力才迅速增强, 特別在間質(mesenchyma)中尤为明顯。随着胚胎發育的情况不同, RNA的含量常呈一定的梯度的分布, 如在蛙胚發育的早期, 即在未受精的卵、受精卵和擘分卵中的RNA具有明顯的梯度关系, 此时RNA从动極到植極逐步减少(J. Brachet, 1957)。当發育至原腸期, 又產生另一梯度, 自背部至腹部漸次减少, 即原腸期与神經期具背腹、前后的梯度关系。以后随着各个器官开始分化, RNA的含量也逐渐增多, 最后又逐步减少。这种梯度的出現, 說明了卵黃以从未有过的速度向活躍的胞質成分——綫粒体、动質(ergastoplasm)不断轉移, 从这种梯度也可看出RNA在胎体中胞質因子(Cytoplasmic factors)的分布狀況, 同时RNA对决定形态形成有着很大的关系, 如果RNA的代謝在胚胎發育时受到一定阻碍或引起某种紊乱时, 那末胎体的發育与分化必将受到抑制。嘌呤、嘧啶的化学类構物可使RNA合成速度減慢, 形态發生必将停止, 其它如雌性腺激素、二硝基酚以及能影响RNA代謝的药物均能改变RNA的梯度狀況, 胚胎發育必產生極度的畸形(Cagianut, B.,

1949, Waddington, C. H., 等(1955) Brachet, J., 1957)。利用离心法使受精卵RNA的梯度发生改变, 结果胚胎头部不能发育, 在囊胚期如经离心处理, 则有发生双胚或三胚的可能。可见RNA在胚胎发展过程中具有很大的作用, 并随胎体的发展而改变, 但不能把RNA看作是唯一的活性作用物质, 必须注意到RNA与其它物质在发育过程中的相互关系, 如蛋白质, 它和RNA是相互配合、相互作用的。(J. Brachet 1957)

动物由于年龄大小的不相同RNA的含量也有所变化, 即个体各器官的发育、生长速率可以从RNA的总量中体现出来。很早以前就有人注意到鸡胚的肝细胞和血液中核苷酸浓度的总量比成年的含量为高(T. Caspersson与B. Thorell 1941), 又如羊胎体组织的RNA也较成年体为高(J. Davidson, C. Waymouth 1944), 实际上从每个细胞的RNA含量看来, 基本上是变化不大的, 或稍有增加, 而RNA在细胞的浓度则减少, 这是因为蛋白质和其它细胞成分增多的缘故(I. Leslie 1955)。通常利用鸡胚与鼠胚RNA浓度比成年动物为高, 借以说明核酸与蛋白质合成的关系(D. V. N. Reddy等1952), 虽然在胚胎组织中能出现高浓度的RNA, 但事实却不完全如此, 八天的鸡胚每个细胞的RNA量只有二天小鸡的三分之一(I. Leslie与J. N. Davidson 1951), 十天的幼鼠所含的RNA浓度也比十九天的鼠为小(R. Bieth等1948)。近年来也发现幼年较大的鼠比幼龄鼠RNA含量为多(M. L. Petermann等1958)。

哺乳类动物细胞在活体外培养试验中, 各个不同的生长期的RNA与DNA含量亦有差别(N. P. Salzman 1959): 在延滞期(Lag phase) RNA、DNA、蛋白质均迅速增长, 其增长的速度比在增长期(logarithmic phase)的繁殖细胞为快, 而当生长开始时, RNA的含量立即急剧下降, 这种急剧下降的过程一直保持下去。在不同的生长期RNA的变化还表现在RNA合成速度有所不同, 在增长期RNA与DNA对鸟嘌呤的掺合速度大致相同, 而在延滞期RNA的掺合速度要增快二倍。这种现象在细菌培养时也获得了同样的结果(H. E. Wade与D. M. Morgan 1957)。

机体的营养状况

RNA不仅决定于机体本身的活动状态, 而且许多其它外界因子对它也同样有着一定的作用。首先是与营养状况有关, 早在1943年就有人(H. W.

Kosterlitz与I. D. Cramb) 發現鼠在飢餓或攝取缺乏蛋白質的食物后, 細胞的体積縮小, 以后又陸續發覺(H. W. Kosterlitz 1944, J. Brachet, R. Jeener 等 1946)細胞質中的顆粒和戊糖(Pentose)減少。

Campbell 等(1947)注意到鼠在缺乏蛋白質食物一周后, 單位重量的RNA-P下降, 而DNA无变化。Davidson (1947)与Thomson 等(1953)也獲得同样的結果。Mandel 及其同事觀察了鼠在長期飢餓时(50—70天之后)各种組織核酸的变化(P. Mandel, M. Jacob等1950, M. Jacob, L. Mandel等1951), DNA与細胞数量仍变化不大, 只有鼠脾的DNA下降55%, 胞核也略有減少, 而此时RNA在肝臟、腎臟, 肌肉中顯著下降39—75%。但在腦中RNA与DNA 即使在嚴重的長期的飢餓状态下仍无改变。Petermann 等(1958)實驗証明, 鼠在飢餓五天后, RNA的下降僅限于非球体(non-pellet) RNA, 球体RNA (pellet RNA即細胞質微粒体中所含的RNA, 并无变化, 微粒体中的蛋白質却比原來的減少一半。这种看法似与C-Vendrelly与R. Vendrelly (1950)与Muntwyle等(1950)的結論有出入之处, 他們則認為RNA的減少, 主要是在微粒体部分(microsomal fraction), 因为正常情况下肝細胞RNA总量的50%都含于其中。Petermann 等同时还提到微粒体蛋白質的減少与W. Blernhard等(1952)和Faweett等(1955)的結論是一致的, 他們發現鼠在飢餓后用电子顯微鏡檢查實質細胞(Parenchymal cells), 胞内网状体(endoplasmic reticulum)与核蛋白顆粒(nucleoprotein granules)均減少, 因为微粒体蛋白質主要是含于这些結構內。

鼠在飢餓后再進行飼餵二天, RNA的总量可恢复到对照組的80%, 其中非球体的RNA(non-pellet RNA)仍只有对照組的60%, 但球体RNA却比正常的RNA含量高出50%。微粒体蛋白質的RNA:PNP之比值恢复正常(L. M. Petermann 1958)。

除了蛋白質营养影响RNA外, 維生素对RNA亦有影响。动物飼料中如缺乏維生素B₁₂, 肝細胞的核数量、DNA、RNA量均顯著減少(M. R. Saharabudhe等1951, I. A. Rose 1952), 但对腎臟与脾臟的核酸无关。在缺乏維生素B₁₂之后如增加維生素B₁₂, 可使細胞嗜硷物質增多。Fukuda与Sibataus (1953)还研究了維生素C对RNA与DNA的影响。

再生与肿瘤

鼠肝組織部分切除后，引起的增生过程 (hyperplastic process) 極快，在手術后 4—10 天即恢复了被切除部分的 70—80% (R. Y. Thomson, F. C. Heagy 等, 1953 M. Abercrombie 与 R. D. Harkness, 1951, G. T. Mills 等, 1953)，在增生 21 天后，竇狀隙細胞 (Sinusoidal lining cell) 与胆管細胞即恢复正常。

有許多学者从事了再生肝臟中核酸变化的研究。有人提到肝細胞中 DN_A 的增多与肝組織的重量的恢复成正比 (D. L. Drabkin 1947)，因为 DNA 与細胞数量的多少有密切关系。在增殖过程中，Price 与 Laird (1950) 曾發現肝臟匀漿中上清液部分与小顆粒中 RNA 的含量为細胞分裂前的兩倍，在增生的头四天 RNA 增加最快，这种增多的量主要是在小顆粒部分 (J. E. Ultmann, E. Hirschberg, 等 1953)，正說明 RNA 的增多与肝臟重量在此时的迅速增長的过程是相一致的。Novikoff 与 Potter (1948) 也早已提到过这一点。

腎臟在再生过程中 RNA 亦發生变化，P. Mandel 与 L. Mandel 等人 (1950) 認為此时腎臟細胞是数量上的迅速增多，而 Kurnik (1952) 則認為腎臟再生过程中細胞大小在 7 內增大 40—50%，因而对腎脏再生有不同的看法，前者認為腎脏再生是增生过程 (hyperplastic process)，后者認為腎臟的再生是肥大过程。

致癌藥物引起的肝腫瘤 (hepatoma) 可觀察到不同的化学与組織学的变化 (J. M. Price 等人 1949)，这种腫瘤可由致癌藥物偶氮苯 (Azobenzene) 衍生物与 n-acetyl-2-aminofluorene (AAF) 所引起，在飼料中含有 3'-Me-4-DAB (3'-methyl-4-dimethylamino azobenzene) 飼养动物八周后，肝臟无增大現象，但 DNA 濃度大为增多，單位容量的細胞核数量也增多 (A. C. Griffin 等人 1948)。根据 Striebich 等 (1953) 实验結果，在經相同的致癌物質作用后的动物，DNA 与細胞核数目虽有所增多，但綫粒体却大为減少。飼以 4-DAB (4-dimethylamino azobenzene) 后 5—6 个月，肝中蛋白質、磷脂与 RNA 的总量不改变，但 DNA 却大大減少 (R. Y. Thomson & F. C. Heagy 1953)。如經最强烈的致癌物質 (3'-Me-4-DAB) 作用后，組織中大小顆粒的 RNA 含量顯著下降，DNA 明顯上升 (J. M. Price, E. C. Miller 1949)。如飼以 2'-Me-4-DAB (即非致癌物質) 發現細胞中綫粒体

数量增加三倍，而組織中的RNA与DNA稍有减少（Striebach等1953）。鼠肺在感染淋巴肉瘤（Murphy-Sturm lymphosarcoma）时，肺中DNA急剧上升，RNA却较稳定，变化不大（L. R. Cerecedo等1957）。

Petermann与Schneider（1951）曾注意到在鼠移植性白血病与自发性白血病时，RNA在脾脏细胞核中有不同的变化，移植性白血病核中RNA含量显著增多，而自发性白血病无此变化。无论在Ehrlich腹水癌（Ascites tumour）与lymphoma细胞内，核中DNA与RNA/DNA都比健康细胞含量为高（C. Leuchtenberger等1952）。

内分泌的影响

激素的刺激对组织中RNA含量是有影响的。连续七天每天给兔注射20毫克的皮质素，肝脏出现肥大现象，蛋白质和RNA比DNA增加为快（C. U. Lowe等1951，J. Gros等1951），单位重量的RNA相对减少，说明细胞中脂肪合成的速度超过了RNA的合成。Roberts等（1952）也有过类似的实验证明，注射皮质素后引起肝组织的成分变化，由于RNA与DNA浓度的减少，以致形成肝脏脂肪的积聚（K. B. Roberts, H. W. Florey等1952）。鸡胚经皮质素注射后，可引起生长的抑制与RNA/DNA比值的减小和蛋白质含量减少等现象（C. Carallero等1952）。皮质素对移植的鸡胚心脏与上述情况相反，可使RNA/DNA比值上升，并对RNA的合成有促进作用。如使生长素与皮质素合并作用，RNA与DNA的合成率比正常的增加75%，单独使用生长素反而会引起轻微的抑制作用（J. Leslie 1952）。鸡胚肺脏与肠管的移植组织，对皮质素的作用是无效的，核酸浓度无变化（H. W. Gerard与M. Jones 1953）。

甲状腺素可引起鼠肾蛋白质增多15—26%，RNA增多26—33%，DNA也有增多现象，对脾脏也有类似作用（P. Mandel, L. Mendel等1951，L. Mandel, M. Jacob等1952）。如将甲状腺切除，动物的蛋白质、RNA、DNA含量均依次下降（P. Mandel, P. Metais等1953）。

性腺激素对蛋白质合成与RNA的作用也有明显效果。雌鸡经雌性激素处理后，肝脏重量与蛋白质均增多，早已被D. G. Champman等人发现（1949），以后在鼠肝中也进行了类似的实验，单独注射雌二醇48小时后，子宫中RNA含量增多192%，但DNA量增加较少，72小时后RNA的含量却减至137%，

DNA反有所上升 (R. M. Campbell, I. R. Innes等1953, M. A. Telfer 1953)。雄性激素如睾丸酮对鸡肝脏是无效的 (W. E Phillips等1952)。雌性激素不仅影响到肝脏核酸变化, 同时也使血清中核酸量上升 (P. Mandel, J. Clavert等1947, R.H. Common, D.G. Chapman, 1951), 还发现促乳腺激素对鸽腺囊有刺激作用, 它能使腺体重量增加280%, RNA增加850% DNA增加400%, 从组织切片上也证明此时的细胞分裂是加速的 (W. H. McShan等人, 1950), 鼠妊娠时DNA的变化早已有人观察过, 在肝脏中除了DNA明显增加外, RNA/DNA比值也增高 (W. H. Kosterlitz R. M. Campbell 1947)。R. M. Campbell还发现在妊娠的鼠与豚鼠肝脏有一种“过量的RNA”存在, (但在猫妊娠时无此现象) 它可以因移去胎儿、胎盘、脑垂体与卵巢而消失 (R. M. Campbell I.R. Innes 1953, R.M. Campbell, H.W. Kosterlitz 1953)。“过量的RNA”与一般组织所含的RNA不同, 前者决定于食物中能量的消耗, 而后者则与蛋白质有关。鼠在妊娠期间, 可以消除雌雄之间的RNA含量的差别, 使雌鼠的RNA含量也达到雄鼠的水平, 这种增多主要是因为核中与粒线体内RNA增加所致, 因上清液中的RNA在雌雄动物是相等的 (M.L.Petermann与M.G.Hamilton 1958)。

各个内分泌腺体的切除所引起的反应是不一致的。除了上述切除甲状腺能引起蛋白质与RNA、DNA的逐步下降外, 切除性腺与肾上腺也引起同样的反应, 但性腺的切除对雌性动物是无效的。切除脑垂体后骨髓中RNA、DNA、蛋白质均上升 (P. Mandel, P. Metais等1953), 但也有发现此时肝中RNA含量下降 (P.M. Campbell, I.R. Innes 1953, H.S. Distefano, N.D. Bass等1952), 注射RNA可使其恢复。正常鼠经脑垂体生长激素处理后, 肌肉中RNA增多, 但肝中RNA并无变化, 肝与肌肉中的DNA也保持恒定 (B. J. Gray 1956)。

物理化学因子的影响

以500 γ X射线作用于鼠后, 骨髓中RNA与DNA浓度均减少 (C. Lutwak-Mann 1952)。胸腺、脾脏经照射后也有同样变化 (P.P. Weymouth, H. S. Kaplan, 1952)。Mandel等发现在X射线(700 γ)单次量照射下脾脏RNA与DNA含量比两次分量(two fraction)作用下明显减少 (C.M. Gros, P. Mandel等1953)。经过辐射后, 机体的损害可由RNA来逐渐恢复, 所以RNA很可能成为一种比其它抗辐射药物更好的制剂, 但并不是任何RNA都

具有明著的作用。H. B. Лущик (1958) 談到在提取酵母RNA浸出物之前，如將酵母置于对酵母生長有抑制作用而又不会停止生命活动的生活条件下保存；如利用降低溫度，給予一定量的照射，通过这些措施处理的酵母的提出物对抗辐射作用最为有效，可以提高机体LD₅₀的耐量。

大腸桿菌 (*E. coli*) 經紫外綫 (以下簡稱UV) 照射后產生突变，这是众所周知的事，并且核酸的掺合能力也有所改变 (C. O. Doudney 与 E. L. Haas 1958)，RNA对P³²的掺合明顯下降，僅及对照組的50%，而DNA对P³²的掺合几乎完全抑制，同时还發覺大腸桿菌經UV的作用后具有两种不同的RNA，一种称为穩定性RNA，另一种称为不穩定性RNA。这种不穩定性的RNA在照射停止后30分鐘始可恢复。正常RNA的化学性質与經過照射的RNA之間的关系尚不明 (K. Suzuki, J. Ono, 1959)。

机体在燒伤时組織中核酸的变化是不一致的，对各种动物肝臟中RNA、不穩定性DNA与腎臟RNA和不穩定性DNA含量的反应是有差别的，有的增多、有的減少，这决定于机体本身的反应状态。在燒灼后24小时，鼠小腸和脾中的穩定性DNA-P、不穩定性DNA-P与RNA-P浓度均降低。在燒灼后72小时，脾穩定性DNA与小腸RNA-P之濃度仍不能恢复至其原值 (П. Д. Демидова 1958)。

△ 关于化学药剂对RNA的作用，早已有人注意到HN2-methylbis (β -chloroethyl)-amine 对鼠的影响 (G. M. Higgins, R. M. Anderson 1931)。苯巴比妥鈉可以增加整个脾臟核酸的含量 (W. A. Rambach, D. R. Moomaw 等1952)，四氯化碳可促進肝細胞的增殖 (R. M. Campbell, H. W. Kosterlitz, 1952)。

植物生長刺激素如吲哚乙酸 (IAA) 使烟草 (*Nicotina tabacum*) 髓部組織發生变化，IAA濃度愈高則愈能使細胞增大，RNA增多 (J. Silberger, Jr, 与 F. Skoog 1954)。

氯胺苯醇 (Chloramphenicol) 虽然能抑制蛋白質的合成但不能抑制RNA的合成，这是許多人同意的 (I. Watanabe, Y. Kiho, K. Miura, 1958, C. L. Wissemann, J. E. Smadel 等1954, M. Ycas, G. Brawerman, 1957, E. E. Gale, J. P. Folkes 1953)。当氯胺苯醇濃度增至一定时，無論对蛋白質合成、RNA合成与DNA合成中的掺合能力仍有抑制作用。如氯胺苯醇的濃度超过 $3.6 \times 10^{-4} M$ 以上，蛋白質、RNA与DNA对C¹⁴丙氨酸的掺合即开始减弱，如濃度达 $6.7 \times 10^{-3} M$ 时掺合作用完全抑制 (T. R.

Breitman, G. C. Webster 1958)。

RNA 与 植物 病 毒

所有的植物病毒都含有大量的 RNA，含量最少的如烟草花叶病毒（以下简称 TMV）为 6%，含量最多的为蕪菁黄化花叶病毒（Turnip Yellow mosaic virus）可达 35%（J. Brachet 1957）。由于植物病毒，特别是 TMV，其結構較其他机体簡單，含有一定量的核蛋白，所以近年來常以植物病毒作为研究核酸代謝，病毒繁殖、遺傳以及关于蛋白質合成的研究的对象。

RNA 对 植物 病毒 繁殖 的影响

很多試驗証明 RNA 对 病毒 的 繁殖 有着 極其 密切 的 关系。Commoner, Mercer (1952) 及 Jeener, Rosseels (1953) 先后發現如果在感染 病毒 的植物上加入 硫尿嘧啶 (thiouracil)，病毒 的 合成 与 繁殖 立即 受到 抑制。这种 現象 不能 用 硫尿嘧啶 与 酶促 反应 之間 的 競争 來說明，而是 由于 硫尿嘧啶 与 病毒 RNA 相結合，因而 阻止 了 病毒 的 繁殖。許多 事实 証明 这种 現象 是 肯定 的，例如 將 S^{35} 標記 的 硫尿嘧啶 作用 于 感染 了 二天 的植物 病毒 的 叶上，于是 病毒 的 繁殖 力 就 減少 到 50%，將 此 种 病毒 收集 并 提成 結晶，發現 有 一半 的 RNA 与 標記 物質 (即 硫尿嘧啶) 結合 成 thiouridylic acid (R. Feener 1957)。Matthews (1956)，Mandel 等 (1957) 也曾 獲得 类似 的 結果。Matthews 發現 8-azaquanine 与 TMV 的 RNA 摻合，同样 也能 降低 病毒 的 感染 力，与 硫尿嘧啶 具有 相同 的 作用。从 以上 事实 看来 TMV 的 繁殖 与 RNA 有着 不可 分 的 关系，只要 RNA 一發生 改变，那末 核蛋白 的 合成 就 成为 不可能 了。

能 抑制 病毒 繁殖 的 药物 远 不 只是 上述 的 硫尿嘧啶 与 8-azaquanine。E. D. Kilbourne (1959) 証实 了 Antimetabolite (抗代謝產物) 2-脫氧-D-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose) 对 流行 性 感冒 病毒 繁殖 有 抑制 作用。T. Airai, T. Shimomura, Y. Nishikawa 等 (1958) 在 研究 防治 TMV 病害 的 Thiosemicarbazone 各种 衍生物 的 效应 时，發覺 其中 以 不具 取代基 的 Benzalactone 对 病 繁殖 的 抑制 能力 最强，尽管 这些 药物 作用 机制 並 不完全 与 尿嘧啶 或 8-azaquanine 一致。

由于許多药物的作用能引起RNA的破坏,致使整个病毒的感染减弱或消失,因而就使我们考虑到,病毒的感染力是否完全由RNA的存在而决定呢?

Gierer与Schramm (1956a)从病毒-TMV中分离出一种具有感染作用的RNA。这种RNA是以酚溶液来提取的,特别是在当制剂制成后,立即用以感染烟草 (*Nicotina glutinosa*) 叶子时感染力最强。与此同时Fraenkel-Conrat (1956)也曾获得同样的结果,因而证明了RNA本身是有感染力的。近年来利用Schramm的酚提法 (Phenol method) 陆续发现许多其他的病毒中所提取的RNA也具有感染作用。如Siegel, Wildman (1956), Ginosi与Norman (1957) 等人都先后证实了病毒RNA的感染力。

Colter与Bird等人 (1957) 就Mengo脑炎病毒以及Wecher, Schäfer (1957) 就Eastern equine 脊髓炎病毒, Huppert, Sanders (1958) 从脑炎病毒感染的肿瘤细胞中取得的RNA都说明了病毒RNA是有感染作用的。Ping-Yao Chang (原载 "Nature" 1958) 利用Semliki森林病毒为材料比较了病毒制备物及其RNA的功效,发觉RNA酶(核糖核酸酶)对病毒无抑制作用,这可能是由于RNA为蛋白质外膜所保护。经离心处理后的病毒制剂,感染活性99%消失,而RNA的感染活性只减少了55%。病毒制剂与RNA对Sodium deoxycholate的反应也不一致,病毒制剂经此药剂处理后,其感染力大为减弱,而对RNA则无影响。RNA不仅具有一定感染力而且对其它因子的抵抗力比病毒制剂为强。口蹄疫病毒 (foot- & -mouth disease virus) 的RNA不但可使猪肾细胞单层培养 (monolayer culture) 发生病理变化,而且可使经肌肉注射后的小猪发生麻痹而致死亡,并具有与同种病毒同等的免疫型 (F. Brown, R. F. Sellers等人1958)。

关于病毒RNA的感染性

从以上事实看来各种病毒RNA的感染性已成为普遍事实,但是值得提出讨论的是这种用Schramm方法提取的RNA中的纯度如何? 它的感染性怎样产生的? 分离出的RNA与蛋白质是否能重新结合成新的具有感染力的病毒? 必须了解的是“RNA”制剂中是否会有病毒蛋白质的污染,因为即使是少量的病毒蛋白质掺入,那末这种感染性就不能纯粹认为是RNA所产生的作用了,何况这种RNA的感染力一般是极微弱的,如TMV的RNA的感染力只有原毒病的1% (A. Gieres, G. Schramm, 1956b, H. Fraenkel-Conrat,

B. Singer, R. C. Williams, 1957)。实验証明这种RNA的感染性并不依靠病毒蛋白質或病毒的污染而产生：如口蹄疫病毒 RNA 的提取过程中，証实了RNA制剂并未含有残余的病毒，因为这种RNA无论是以核糖核酸酶处理或是正常豚鼠血清处理后其感染力立即消失，反之，如用同样的方法处理病毒則完全无效（F. Brown, R. F. Sellers, 人等1958）。虽然这僅是間接証明，然而却可以說明RNA的感染性是存在的。上述的Semilki森林病毒（Cheng Ping-Yao 1958）的RNA制剂与病毒制剂的性質显然也有所区别。Ada与Anderson（1959）比較了Murray Valley 腦炎病毒及其RNA之間的差別：粗制病毒（Crude virus）經9%酚处理一分鐘后，其原來的效价（ $10^{6.77}$ ）立即喪失，但此懸浮液以Gierer和Schramm标准方法用90%酚溶液提取的RNA，其效价仍高达 10^4-10^5 。同时原病毒經 65°C ，pH7.1处理一分鐘，其原有效价从 10^7 降至 $10^{1.0}$ ；如在 62°C ，处理60分鐘其感染力全部消失。如將其RNA經同样过程处理，其效价仍有 $10^{2.0}$ 与 $10^{2.7}$ 。RNA只有在核糖核酸酶的作用下才喪失功能。粗制病毒在低pH时效价喪失，如处于pH3.0时，30分鐘（ 20°C ）效价从 $10^{6.0}$ 降至 $10^{3.1}$ ，而RNA的效价仍能保持 $10^{4.0}$ 。它們对甲醛的反应也是不一致的，RNA比病毒容易受到破坏。作者就这种现象作了如下的解釋：在感染过程中，RNA必須从病毒結構中釋放出來，因此当溫度、pH、酚使蛋白質表層变性，那末RNA就无法釋放出來。Mengo 腦炎病毒与 Eastern equine 腦脊髓炎（Encephalomyelitis）病毒（J. S. Colter, H. H. Bird, 1957a, E. Wecher W. E. Schäfer, 1957）及其RNA也有上述的一些特点，并且RNA能被乙醇与IM氯化鈉沉淀出來，而病毒无此沉淀。J. Huppert 与 F. K. Sanders（1958）观察到感染細胞酚溶液浸出物的感染性并不直接决定于病毒的含量还表现在：当感染培养液以105000g，离心一小时，从上清液中提取RNA，結結表明上清液虽然僅含有沉淀物1/1000，但其感染力却比沉淀的浸出物感染力强十倍。

尽管以上許多事实都說明RNA本身是具有感染作用的，但仍能有人認為病毒的感染力不完全由RNA决定。因为許多經过提取的RNA，事实上多少还有一些蛋白質存在，尽管这些蛋白質目前还不能用化学方法測定出來。由于感染性微弱（0.1—1%），同时RNA与蛋白質重建后的TMV的感染力远比純RNA为强，所以B. Commoner（Успехи Соврем. Биол. 1959）認為RNA的感染作用与其所含的蛋白質是相互配合而起作用的。

TMV的感染性与RNA微粒的長度有关，如果以去垢剂（detergent agent）

或核糖核酸酶除去其蛋白質與 RNA 末端的 2%，这就使得感染力大大降低。感染力的降低与 RNA 微粒被切除的多少成比例关系，即 RNA 微粒被切除的愈多，其感染力愈弱 (B. Commoner, G. B. Shearer, C. Strode 1958)。因为病毒中 RNA 是單一的核苷酸組成的錢狀聚合分子，只有在完整的，沒有拆裂的分子結構情況下，TMV 才具有它的感染作用。(R. G. Hart 1958, A. Gierer 1957) Schramm (Успехи Соврем. Биол. 1959) 也認為長鏈分子 RNA 是具有感染性的，它的分子量約為二百万，虽然在目前还没有可能分离出这种高分子聚合体的 RNA，但是分子較低的 RNA (約一百万) 的提取是有可能的。Fraenkel-Conrat, Singer, 与 Williams (1957) 曾確定病毒的 RNA 分子量为 2.5×10^6 。疾毒末端的結構有一特殊功能。R. Hart (1958) 曾提到 TMV 短瞬間經去垢剂 (0.02% Duponol) 处理后，蛋白質亞單位 (Subunit) 的折斷是自一端开始的，所以病毒一端的 RNA 就能暴露出來。如 TMV 經去垢剂在 85°C 时处理 15 秒，有 90% 的 RNA 是自一端發生折斷。B. Commoner, G. B. Shearer, C. Strode (1958) 也曾提到并不是病毒的任何部位都具有同等效应的，只有在病毒一端的 4—6% 的 RNA 部分对感染最有效，很可能在 RNA 的这段部位具有一种特有的核苷酸，也可能在这一部位的蛋白質亞單位与 RNA 有着一种独特的、对感染所必需的構型；或是这两种情况同时兼有。

RNA 对病毒的繁殖与感染有着不可分的关系，这点是肯定的。單純的蛋白質似乎对感染并无直接关系。Markham 与 Smith (1949) 用超离心机分离蕪菁斑紋病毒得出二种不同的成分，其中只有含核酸的部分才有感染作用，而沒有含核酸的蛋白質部分其感染力也不存在。其后高桥，石井 (W. N. Takahashi, M. Ishii 1953, 1952.) 与 Jeener, Lemoine (1953) 先后均獲得同样結論，虽然这种不含核酸的蛋白質沒有感染力，但其免疫能力仍然存在。

病毒的重建及其对遺傳的影响

病毒 RNA 与蛋白質分离之后是否还能重建 (Reconstitution)，在恢复它的結構时需要何种条件，是否能保持其原有的感染性，对于这些問題是从 RNA 自病毒中一分离出來时就產生了。Schramm (1947) 發現在酸性条件下被分解的病毒蛋白質能够聚合为桿狀体，其大小与 TMV 相似，聚合过程中由于 pH 不同常發生各种中間类型，桿狀体的長度决定于 pH 值的大小，在 pH 值为 5 时就可聚合为蛋白質的盤狀体，其中央具有一孔，与 TMV 在硷性条件

下分解成的盤狀體相類似，然後這些盤狀體逐漸形成桿狀體，即在化學與形態上與TMV很相象，但是完全缺乏感染性(G. Schramm, W. Zillig 1955)。同年Fraenkel-Conrat 与 Williams (1955) 報導了他們從事這項工作的結果，他們用的方法不同於Schramm 与 Zillig，而是以 1% Sodium dodecyl sulfate 在 pH 8.5 時與病毒作用，然後使分離的蛋白質與 RNA 結合，就可獲得核蛋白，它的吸收光譜與 TMV 是相同的。從它的感染植物壞死的效果來看，這種重建的核蛋白 10—100 毫克/毫升所引起的作用與原來的 TMV 0.1 毫克/毫升所引起的感染效果相等。

這種重建的核蛋白在電子顯微鏡下的圖相與Schramm 所見的 TMV 圖相相符，作者指出病毒的重建取決於 RNA 與蛋白質之間濃度、作用時間以及 pH 值的大小等條件，並認為是這一種純化學的反應過程。其後Commoner, Lippincott, Schearef (1956) 及Fraenkel-Conrat (1957) 用不同的辦法均獲得了感染力達原病毒 30—50% 的重建病毒(A. C. Кривиский, 1958)。

其實 RNA 與蛋白質的結合並無專一性 (G. Schramm 1958)，TMV 的 A-蛋白質可與各種來源的 RNA 結合，也能與 Polyuridylic acid 合成為一桿狀體 (R. G. Hart, J. D. Smith 1956)，但這種結合體的性質和正常的病毒是有區別的 (A. Siegel, S. G. Wildman 与 W. Ginosi, 1956)。

Hart 与 Smith (1956) 曾使蛋白質與人工獲得的多核苷酸與酵母的 RNA 純制劑以及各種單核苷酸進行混合，所獲的核蛋白，其外形、大小、核糖核酸的含量、吸收紫外綫光譜的特點和對核糖核酸酶的穩定性等方面均與 TMV 相似，但是卻沒有生物的活性。所以有生物活性的核蛋白很可能決定於核苷酸基的特殊的排列方式。

病毒的重建並不限於 TMV 一種病毒，其他病毒也同樣有這種重建的可能。Гершензон (1956) 使昆蟲多角體病毒蛋白質與 RNA 重建，也獲得了有活性的病毒。

對於病毒蛋白質與核酸在遺傳中的作用也有不少試驗證明。

1956 Fraenkel-Conrat 曾使不同株的 TMV 蛋白質與 Yellow aucuba (YA) 和 Holmes ribgrass (HR) 等病毒的核酸互相配備，重新結合，然後在 Turkish 烟草上作感染試驗，結果發現其病征與核酸的株屬——即 HR 相類似。這種由 TMV 的蛋白質和 HR 的核酸重新建立起來的“雜種”病毒，(TMV 蛋白質性質與 HR 蛋白質性質顯然是不相同的，無論就其氨基酸的成分上或是它的抗體專一性上都有差別) 當以抗-TMV 血清處理，其感染性大部分

被中和，如用抗-HR血清處理則無效，所以在免疫學上這種雜種完全屬於病毒的蛋白質外膜——TMV之列，而由HR株屬形成的病毒內軸——RNA則決定其植物病征。因此這種現象就可以比在活體外更好地說明蛋白質與核酸之間的關係，即這種雜種的子代的蛋白質與TMV病毒相似。雜種子代蛋白質和TMV相象而不同於HR，這是因為它含有蛋氨酸、組氨酸與酪氨酸。根據這個實驗結果來看，似乎RNA在遺傳中也起着很大的作用。

另一種試驗是將HR與TMV兩種病毒所含的RNA相互結合，然後使植物感染並引起壞死，雖然在壞死組織中仍然可以分離出兩種原來的HR與TMV，但混合性的感染作用還是存在的。儘管混合病征的出現的情況較多，這只能設想壞死的產生是由於二種病毒的機械混合所引起的，要形成一種具有雙親代（即TMV與HR）混合特性的新形式的病毒是不可能的（A. С. Кривиский, 1958）

後來 Fraenkel-Conrat, Singer (1957) 也對自己原來的實驗作了進一步的研究，對上述病毒“雜種”的遺傳結論作了一些修正與補充，仍然不能否認病毒蛋白質在遺傳過程中是有一定作用的。“雜種”子代的生物學特性中，有20—45%是與TMV相近似，即受蛋白質影響，而具有作為授與RNA的HR病毒特性的只有5—12%。所以病毒蛋白質在遺傳中的作用是不能否認的。

RNA 與病毒的結構

~~RNA既然對病毒繁殖有着很大的關係~~，RNA與蛋白質在結構上的關係如何？這是令人尋味的，所以最近許多學者都已注意到這一問題。早在1947年 Schramm就曾提及過 TMV 在鹼性溶液中 pH 10.3時，即分解為6個斷片，然後再分開為更小的蛋白質顆粒與游离的RNA。以後透過電子顯微鏡的考察證明病毒微粒具有一蛋白質的外膜，其中包含有RNA的桿狀的內軸，並在電子顯微鏡中看到這種結構，而另一部分游离的蛋白質則稱之為A-蛋白質，它是構成病毒蛋白質的最小單位，分子量為90,000，在生物學上是無活性的。電子顯微鏡下除了可以看到被鹼性溶液破壞了的RNA與蛋白質結構外，還可以見到與病毒微粒直徑相等的盤狀結構，中央有一孔其直徑恰與RNA桿狀體直徑相等。因此，可以認為病毒的蛋白質外膜是由這些盤形體構成的，並串聯在RNA之上（G. Schramm, G. Sehumacher, W. Zillig 1955）。

Hart (1955) 的實驗也獲得同樣的結果，只是所採用的方法不同。他用