

分子微生物学

〔加〕 J. B. G. 克瓦平斯基 主编

科 学 出 版 社

分子微生物学

〔加〕J. B. G. 克瓦平斯基 主编

赵大健 等译

周与良 校

科学出版社

1986

内 容 简 介

本书从分子生物学角度综述了生物大分子和微生物各大类群的研究进展,全书共分十一章:分子微生物学的概念和标准;分子的排列和组装;微生物的核酸;微生物的蛋白质;微生物的多糖;微生物脂类;分子病毒学;致癌病毒的分子机制等。书中各章均由各个领域的专家编写并附有许多参考文献。

本书可供微生物学、分子生物学、生物化学研究工作者和综合性大学及农、林、医院校有关师生参考。

J. B. G. Kwapinski
MOLECULAR MICROBIOLOGY
John Wiley & Sons 1974

分 子 微 生 物 学

〔加〕J. B. G. 克瓦平斯基 主编

赵大健 等译

周与良 校

责任编辑 王惠君

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1986年6月第一版 开本:850×1168 1/32

1986年6月第一次印刷 印张:15

印数:0001—5,000 字数:399,000

统一书号:13031·3162

本社书号:4290·13—9

定 价: 4.20 元

译 者 的 话

近年来,以细菌、病毒、真菌等为主要对象的分子生物学的研究取得了很大的进展,使对核酸、蛋白质、多糖、脂肪等分子结构和功能的了解迅速深化。与此同时,分子生物学的发展深刻影响了生物科学及相关科学各个分支的发展,也极大地丰富了微生物学的内容,并对现代生物工程学的发生与发展起了极为重要的作用。本书正是在上述的形势下,由一批对分子生物学发展有一定贡献的科学家分头执笔写成,较系统地总结了七十年代中期以前分子微生物学各个领域所取得的进展。这对从事有关领域科学研究和教学的同志们将会有重要参考价值。

由于我们的知识和翻译水平有限,错误和不当之处在所难免,敬请批评指正。

1984年8月

目 录

译者的话.....	ii
第一章 分子微生物学的概念和标准.....	1
第二章 分子的排列和组装.....	6
第三章 微生物的核酸.....	43
第四章 微生物蛋白质.....	94
第五章 微生物多糖.....	119
第六章 微生物的脂类.....	169
第七章 分子病毒学.....	202
第八章 致瘤病毒的分子概貌.....	286
第九章 分子立克次氏体学.....	315
第十章 分子细菌学.....	349
第十一章 分子真菌学.....	380
参考文献.....	425

• • •

第一章 分子微生物学 的概念和标准

J. B. G. Kwapinski

分子微生物学的概念是基于如下的考虑：微生物是一种具有高度组织结构的、动态的、有生命的实体，其各种粒子和作用力经常地变化着、相互作用着、并和周围环境作用着。

在各种形式的微生物中发生的生物过程都受物理和化学一般规律支配。因此各种形式的微生物内部的大分子的合成以及其复制和增殖服从于和支配组建好的结构实体之外的同样的化学规律。由于同一法则适用于细胞内和细胞外的大分子的合成、功能和组分，所以在具有亚结构和一般结构的微生物实体的研究是可以在试管中离体状态下进行的。

在微生物中的分子大约和存在于生物胶体的其他的、解剖学的和非组装的形式中的分子完全一样。这些分子的组分和结构式必须在可测定的条件下进行研究，使得我们可以检验环境对于分子结构和功能的影响。于是我们有可能推想分子在生物组装体中或该环境下将有什么样的结构和功能。

最通常的研究分子生物学的做法，是对于较大的结构体系的某一选择部分的一级、二级、三级、四级结构进行研究，而且研究的注意力集中在化学键合、化学动力学、以及物理的和化学的分子内和分子间的力。虽然这样的研究一时会集中注意较大的有结构的微生物体系的有选择的某一部分，但这种研究的最终目的仍是阐明选出的具有某种结构或功能的部分和一个生物实体或一种生物现象的物理化学结构之间的关系。换句话说，大分子的化学结构

和体系常可以用另外的具有同样结构的化学系统去解释。因为不论以什么方法得到的小分子和大分子的结构基本上是相似的。

研究在亚分子水平上所表现的核相互关系和电子相互关系,可以得到对于生物分子特异性结构和功能的更真切的了解和认识。分子和生物分子的生物化学和免疫化学的特异性,这些分子之间的相互作用以及代谢过程等问题都可以使用量子生物学术语加以阐明。通过应用量子理论,上述诸现象可以看成是一些特异的核与核之间和电子之间的反应。这种反应利用和转化具有一定静态或动态能量的量子。因此,生物分子研究将最后取决于对处于最高分子轨道的电子亲和力和能量系数的研究。

与生物分子的不断变化的动态的能量相反,基态可能只是是由电子引起的各激发态和构型之间的一段较长的插曲,这许多基态的总和比起运动态在分子内反应中要占多得多的时间和空间。

由不同大分子组成的动态生物胶体的外形和结构决定于其分子组分构成复杂的两维或三维空间图型。

不同生物学系统和过程的生物高分子和大分子组分在生物化学作用中扩张和收缩,在自然环境中结构和形状连续地变化着,这变化是由于其链状组分的重新排列以及其分子的形状。

形态上固定的实体发生的化学变化和机械作用是互相有联系的。因此(i)随着大小尺寸的变化就有功能系统的反应能力的改变,以及随之而来的化学反应限度的改变。(ii)改变了相互作用包括有化学转换能力的基团的距离。一种反应剂和聚合键中的几个基团同时起作用,可以诱发更大的协同反应。

各种生物实体,也包括微生物,由于获得化学能量流而得到生长和繁殖。它们一般都使用各种生物体内普遍存在的酶促途径和化学组分来进行。然而,在不同的生物体中,脱氧核糖核酸大分子的某些立体化学上的差别和特殊性质可使同样化合物以不同的序列、位置、数量和排列连接起来,因此也就产生了生物学上不同的个体和多样化的生命。

在有机物质的演化过程中,微生物体内的生物胶体物质是如

何演化而来的？这一直是一个理论上的大课题。尽管从以下几个实验中可以得出若干有意义的结论，诸如在放电情况下分子的活化和组装^[1]以及有机分子在热能和催化剂存在情况下的聚合作用^[2,4,5]等。从以上各种实验事实出发，我们可以将生物分子的演化过程推想如下：存在于地球上的最早期的分子如甲醇、氨、水、二氧化碳和氢等遭受电离能和紫外线的作用，其碳-碳、氢-氢、碳-氢、氮-氢以及氢-氧键被破坏而形成自由原子，这些原子经过重组而产生较为复杂的分子，如甲酸、乙酸、琥珀酸和甘氨酸等。随后，如果甘氨酸上与碳原子键合的某一个氢原子为某种原子的基团所任意交换，那么约廿种不同的氨基酸就可能产生出来。在热能和重金属催化剂的参与下，这些有机分子可以建成各种聚合物和生物分子集团。以上各种反应都能通过化学实验或在化学演化作用表现出来^[1-3,5]。因此，当氢、氰和氨的混合物在 70℃ 下加热 25 天时，即可形成各种不同的中等复杂的有机化合物，如腺嘌呤和核糖等。用紫外线作用于氰氢酸也可合成各种碱基和核苷酸。对甲醛进行紫外和 γ -照射则形成核糖和脱氧核糖^[6,7]。在 50°—60℃ 温度下也可由核苷酸和聚磷酸酯合成核酸。

有人也从实验中观察到以下事实，在有聚磷酸存在下，在熔化的谷氨酸中将高浓度的各种氨基酸混合物加热或在氨液中的各种氨基酸加热，引起分子间的相互作用而产生相当大的多肽。Fox^[1]也曾叙述过以下的事实：通过直接加热各种氨基酸，控制温度，首先使水蒸腾掉大部分，然后使较干残留物进行聚合，由于含少量的水，使其在相应热动力学条件下形成异质聚氨基酸或类蛋白体。我们已经知道，高度聚合的肽和蛋白质可以获得一种特殊的螺旋结构，这是因为各种氨基酸组成的链中的碳、氢、氮和氧原子具有独特的排列。丝状蛋白质能组装成一种特殊的有规则的排列，因此在亚细胞结构中产生一种高度有序的结构。这种具有有限异质性和能同某些酶底物进行有选择性反应能力的类蛋白，它们可以组装成有结构的并显示出许多现代细胞特征的微小体系^[3,4,8]。当加热这些水溶液中的类蛋白时，这种透明的热溶液冷却之后，就会

产生无数的微球体，每一个微球体约含 10^{10} 个分子。这种类蛋白微小体系间通过彼此间形成的联接点进行通信，与此同时它们还具有增殖的能力。

依据上述讨论过的各种实验可以设想如下：在自然条件下主要从甲醇和至少含有六个碳原子合成的各种分子，以及其它具有 SH 和 NH_2 基的各种分子，当凝聚在空气-水界面借助放电及热能的作用便交联成一种不溶性产物。继后，在生物分子进化的后期，占优势的具有烃本质的膜表面便产生出来，并在亲水端获得多种的 SH, NH_2 和氧的基团。

通过电作用力使多种物质键合在一起因而出现多样化的有机化合物，这些有机化合物在微体系内开始形成并逐渐得到完善，这样就产生出诸如多肽、单糖、多糖、类脂和核酸等种种生物分子。蛋白质和核酸的相互作用导致核酸指令下合成蛋白质模型的发展。

由多种不同的化合物组成的大分子被逐步地键合在一起，并在高度专一性信息大分子作用下排列成特异模型。演化中的微体系具有实现复杂而互相连接的生化反应系列的能力，这样就导致亚单位的合成，并组装成具有原始生命形式的构型，从而保证各种化合物沿着一定的路线最有效的运转。照这样，各种原始生物胶体被利用并分化成从原始的生物胶体直到微粒状和各种微粒和各种非细胞水平的结构，如类病毒、病毒粒子、核糖体、线粒体、原生质体和早期原始细胞。由多种相互作用的部件组成的各种生物结构，它们的组装和重排是一种依赖于键能和活化能的协同作用的过程。

产生于不同种类生物体中的但基本上又相同的大分子，它们之间的差异似乎只取决于一个极其细微的化学键合或是一个与较大单位相连接的不寻常的小分子。这种键合成小分子只能用高度精密的物理化学手段或免疫化学方法才能检测出来，上述的种种事实现在已不使人们感到惊奇了！可以预言，微生物体中存在着的非常特异的生物过程和生命过程，最终将能用强子 (hadrons)、轻子、 γ -量子以及其它有待发现的粒子族去解释。然而，在科学

成就达到上述阶段之前，我们当代的分子生物学的实验研究不得不依赖利用那些有生命活力的和带有较大功能部位的生命体系作为复制的模板，以复制类似的部位，或者复制同一种以及近似种类生命体系中所缺少的部位。

(赵大健 译)

第二章 分子的排列和组装

J. B. G. Kwapinski

1. 分子的构型与构象

从量子生物学的观点来看,分子的反应活性可以描述为有固定核心的一组电子的问题^[52]。

分子的电子结构是由分子内电子的动量和位置来表示的。动量和能量相关,而位置则可看做能量或电子相对于核的分布。一个分子内电子位置的概率分布由核与电子的自由空间座标以及和每个粒子的自旋座标的平方所决定。

为了从量子力学角度描述分子,至今还不得不应用一些近似方法,尽管这些方法都还不能完全地说明分子的精确结构。例如,根据波利(Pauli)的测不准原理,一个粒子或分子的动量和位置是不能同时测出的。因此通常都是只精确地测定其动量,并且计算出以波函数平方表示的概率分布来代替位置的测定。所以具有给定动量或能量的一个分子,对其电子的描述是根据这样一种概率推测,即位于一给定的体积单元内的一个电子是用波函数的平方来描述的。

薛定谔(Schrödinger)方程是量子力学的基本方程,波函数是薛定谔方程的解。对于在一定区域内运动着的、质量为 m 的单个粒子作用于此粒子的力可以用一个势能函数 V 表示,则这时薛定谔方程式如下:

$$-\frac{\hbar^2}{8\pi^2m}\left(\frac{r^2\phi}{rx^2} + \frac{r^2\phi}{ry^2} + \frac{r^2\phi}{rz^2}\right) + V\phi = \frac{\lambda r\phi}{2\pi i r}$$

如果真的对于任意数目的粒子所组成的一个集体,若能解薛

定谔方程,那么,任何分子都能精确地描述,而且对任意分子几乎都能得到最完整的知识。一个分子的结构,首先取决于它的几何排列,这种排列用它的每个原子的空间坐标来表示,使分子做为一个整体来说其能量应是最小值。振动的力常数则可以能量随核坐标的变化来获得^[32]。然而,仅能解对一个到三个粒子组成的体系的薛定谔方程式。

虽然分子势能的确切形式是未知的,但重复化学单位的总分子势能可以简谐势能 (harmonic potentials)、扭转能垒 (torsional barriers)、Lennard-Jones 势函数和其它辅助性的条件来表示^[42]。势能的近似值可以下列方程式表示:

$$E = \sum_{\text{所有的键}} \frac{1}{2} K_r (b - b_0)^2 + \sum_{\text{所有的键角}} \frac{1}{2} K_r (\gamma - \gamma_0)^2$$

$$+ \sum \frac{1}{2} K_\theta \{1 + \cos(n\theta^* \cdot \delta)\}$$

$$\begin{aligned} & \text{所有的二面角} \\ & + \sum E_{ij} \left(\frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^6 + \sum \frac{1}{2} \omega (x_i - x_i^0)^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \text{所有的非键对} \qquad \qquad \text{所有原子的坐标} \end{aligned}$$

式中 K_r 为键的力常数; b 为键长; b_0 为平衡键长; K_r 为键角弯曲力常数; γ 为键角; γ_0 为平衡键角; K_θ 为扭转势垒; θ 为二面角; n 为旋转函数的周期; δ 为位相; E_{ij} 为非键最小值深度; r_{ij} 是 i 原子和 j 原子之间的距离; r_{ij}^0 是非键最小值之间的距离; ω 是所有原子的约束力, x_i 是原子的直角坐标; x_i^0 是实验坐标。

对分子详尽而精确的描述是通过测定分子的立体化学式获得的,它表示出原子在分子中的空间排列,这种空间排列是通过精确测量连接这些原子的键长和键之间的角度确定的。应用 X-射线、电子或中子衍射图像的分析,精确地揭示原子和电子的相对位置。

* 原文有误。——译者注

这种分析法可用来研究原子的相对位置和原子间的距离，以及原子间通过非极性键、单键或双键而形成的排列和结合。根据这些资料可绘出电子密度图(图1)；此图表明由于热运动而使原子偏离球形的程度。立体化学分析也能表明电子在单键或双键中的位置。

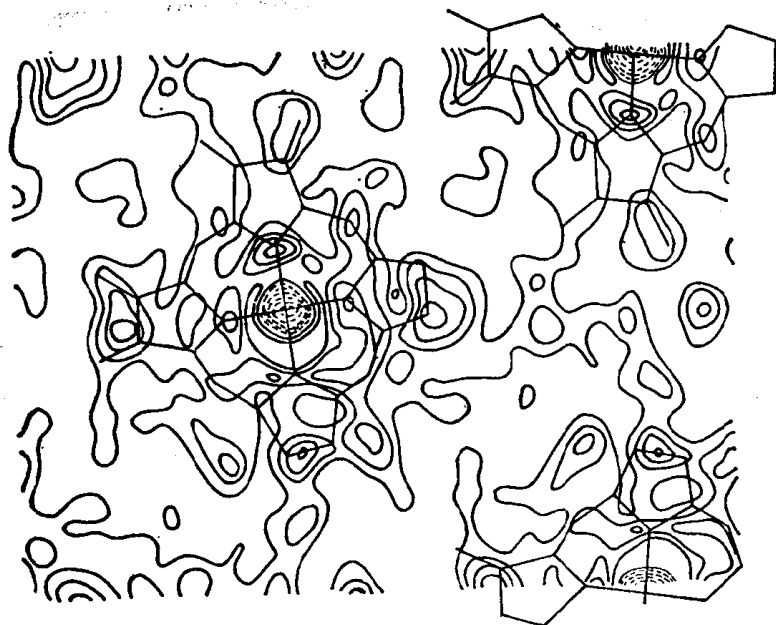


图1 一个分子的电子密度图^[4]

大分子的同一种键内可能具有几种不同的原子位置，它们是由分子的构象性质决定的，这种构象性质取决于分子的不同部位之间除了双键以外的其它作用。因此应用立体化学研究法测定出来的构型图像，可以根据大分子的构象性质的研究加以补充。分子的构象是由对温度敏感的范德瓦尔斯 (Vander Waals) 力和分子各部分之间除了和最原初的价键直接相关的相互作用以外的相互作用决定的^[4]。在抗原抗体反应中也有类似的力存在^[12]。

由于大分子的柔韧性，使它们可能具有许多不同的构象。分子的柔韧性依赖于其键的旋转和扭转的自由度。孤立分子的构象取决于分子内不同部位相互作用效应的总合。环境因素，例如各

种类物分子或溶剂分子的存在，极大地影响不同构象的分布。上述因素对长的，具有柔性的大分子影响特别大。同一分子的完全伸展型与完全卷曲型是构象的两种极端类型。

从不同来源或从同一细胞获得的生物分子可能具有相似的定性定量图像，然而它们在原子细节上仍有差异。应用能描述三维结构的原子方法可研究生物分子的原子细节。这种方法应用自动三圆衍射仪可显示和测量蛋白质分子中重原子的位置，并与标准的晶态分子中的重原子进行比较^[62]。把代表生物分子中原子排列的电子密度照相，就能够得到生物分子的图像(图 2)。

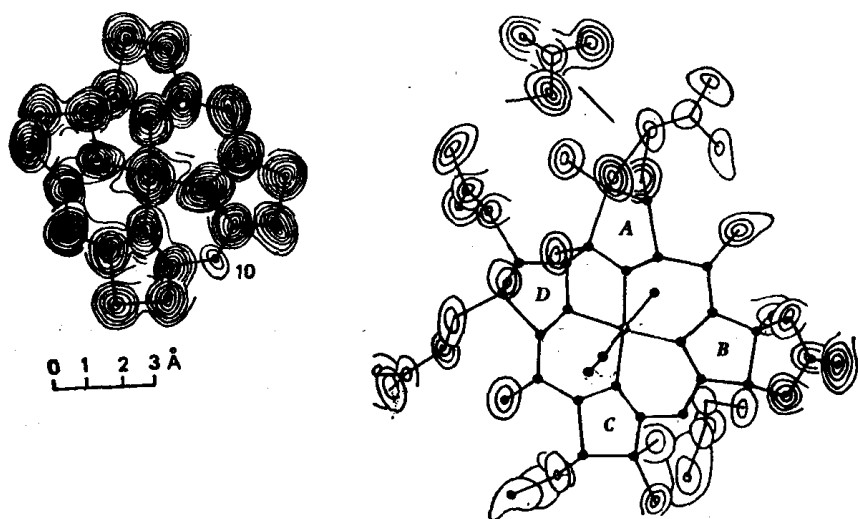


图 2 分子电子图像^[4]

原子间通过反应而形成一个分子之前，每个原子的某些轨道结合而形成分子轨道。根据某些对称性质的不同，两个原子中只有某些轨道混合或杂化，杂化轨道取代个别原子的轨道，如图 3 所示。原子或分子的杂化作用的同时有能量的变化；例如，把电子的一部分从一个原子轨道跃迁到另外一个轨道需要很大的能量。有时，由于结合能的提高，或电子斥力的降低，可使能量得以补偿。

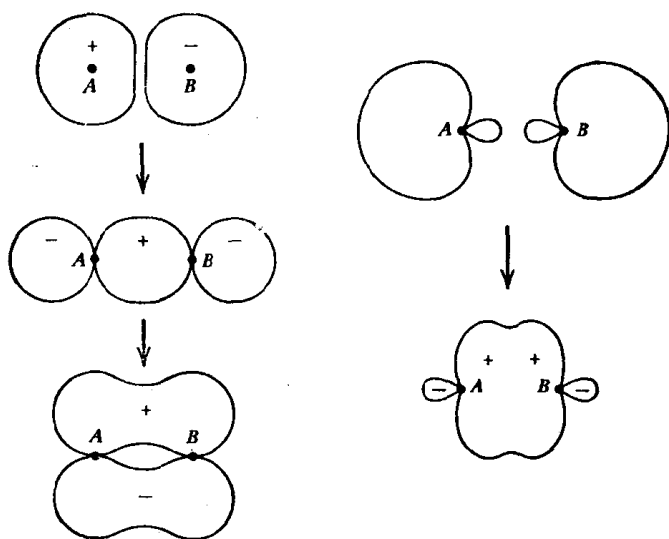


图3 由原子A和B电子轨道杂化作用而产生的分子；分子对称性的变化^[32]。

2. 分子组装体

分子组装体是原子和原子之间能键的有序结合，从而形成具有一定功能的分子结构，它对外界作用力和时间因素保持其构象上稳定性。以共价键结合并具有相对固定的动能的原子团组合成分子的形式。分子内的原子，其性质和大小可由限定的距离、方向和旋转性决定。上述性质以及原子的物理性质和动能，共同决定一个分子的构象。

分子通过结合能联结起来，形成大分子或较高分子。随着聚合复杂性和聚合程度的提高，形成了超分子的亚单位。这些单位在活化后组合成具有构型构象的实体。

在高分子组装、聚合和相互作用中起决定作用的是伴随有总自由能降低的物化过程。分子间反应速率取决于产生跃迁所需的活化能。在生物结构的动态性自我复制体系中，只有某几种高分子才被选作具有特定功能。这些被挑选出来的不同类型的大分子

之间的相互作用产生一种特征性的组合和分子的排列，它是受组合结构本身所固有的控制机构所协调的。高分子和生物分子组织受热力学最小自由能原理和自然选择这一生物学法则所控制。

分子相互作用受两种机制所控制：相互作用的平衡和相互作用的动力学。参与大分子组装的任何一种反应都具有特定的平衡常数，它是参与反应的分子决定的。酶可以降低反应过程所需的活化能，从而使反应加速。比较高级和复杂的生物大分子和聚合物之间的相互作用，特别是那些能形成形态上确定的结构，如病毒颗粒，高分子状态的改变可能会控制平衡常数。所有生物学调节作用都能够通过平衡和速率的协调控制而显示出来，而平衡和速率又取决于相互作用成分的物理性质^[10]。

在生物体内，超分子的实体和具有构象的实体的组分分子似乎都不是以任意的形式存在的，相反，它们是一个有严格序列的动态复合体，或是一个由相互依赖的，异质成分所构成的体系，这些成分不断地相互作用，变换它们的形状和位置、分裂和合并、破裂和被取代。分子的自由度受一种严格的，分子间秩序结构的约束，这样，按照上述方法建成的微粒或有构象的实体，在一定时期内，就可以维持其可识别的结构，并且有固定的形态特征。在一个具有构象的体内，各个不均一部分的排列不断地发生变化，但其组分表现出具有动态的适当的相互空隙和功能活性。

虽然各种分子具有其本身所特有的物化性质，但它们只有动态地通过彼此协同的相互依赖关系和整体相互作用才能表现出它们自己。分子和分子体系之间的相互依赖关系表现为协同性、相互干扰或者是单方面的依附关系。

从这种分子组合的动态观点出发，一个病毒颗粒或一个细菌就是由多种多样的分子总体或超分子实体有系统地组织起的社会。由于其组分、分子间的相互作用，这种组织结构在一定的时期内具备一种特异的、严格的有序性。

如同非生命物质一样，有生命的对象中聚合物分子也排列成盘曲状、直链状或螺旋状。螺旋状分子排列还包括有小角螺旋、环

状或开管螺旋等几种(图 4)。长分子可能排列成盘曲状、也可以折迭或扭曲。这些排列方式中的每一种都可以单独一个单位存在,或组成一个序列;例如,一个分子首先盘曲两圈,然后根据形成一个聚合物分子的基团大小折叠。一些线型分子彼此平行排列,在扭曲过程中,形成一组螺旋,它们互相连接在一起形成一个比较粗的单位。

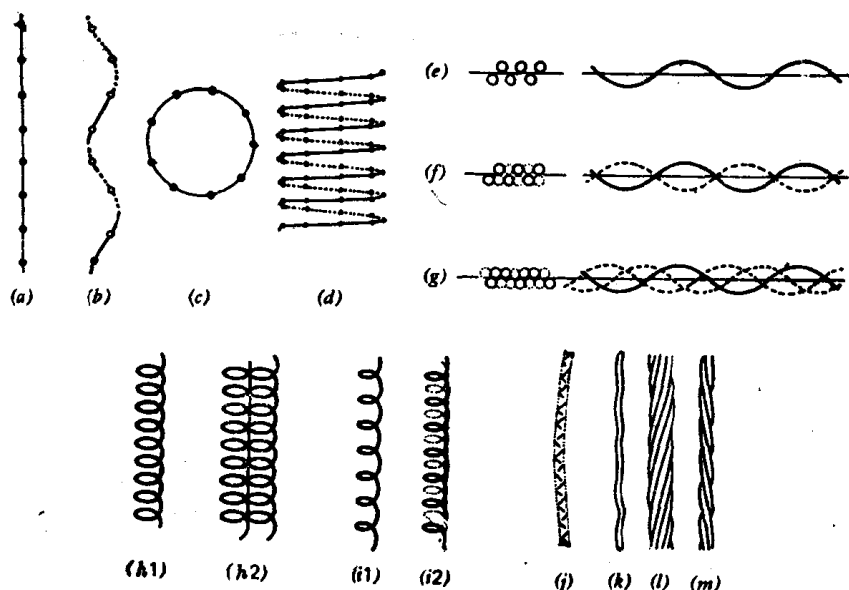


图 4 分子排列的类型^[4]。(a)直链聚合物;(b)大-角螺旋;(c)小-角螺旋;(d)开管螺旋;(e)单-大角螺旋;(f)双-大角螺旋;(g)三-大角螺旋;(h1,2)小-角螺旋;(i1,2)并列排列;(i)有内螺旋的盘旋-线圈;(k)两股盘旋-线圈;(l)七股缠绕的双盘旋-线圈;(m)三股缠绕的盘旋-线圈。

独立的盘曲状和折叠状结构还可进一步复合而形成分子聚集体。分子聚集体是由几个相同分子或很类似的分子通过副键结合在一起而组合的较大单位,在一个时期内以一个独立单位存在着^[4]。在色素和较大的蛋白质,如球蛋白中,就有聚集的分子存在。

以伸展平行的分子形式或成束状排列的聚合物构成一种纤维状结构。盘曲和折叠、呈聚集态或是呈非聚集态的大型分子结构