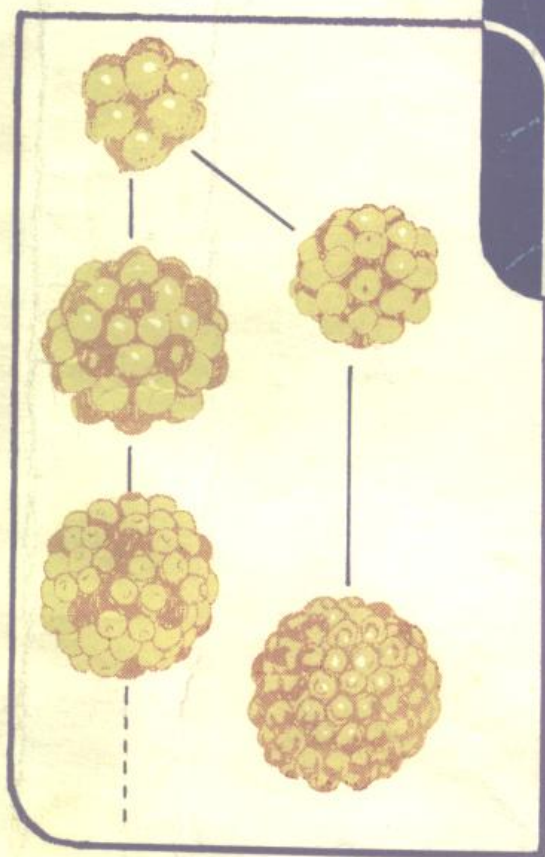


生物学基础知识丛书

莽 克 强 编著



病毒

科学出版社

病 毒

莽克强 编著

科 学 出 版 社

1 9 8 2

内 容 简 介

本书以通俗易懂的语言介绍了病毒（主要包括动物、植物、细菌病毒）的形态、结构、组成、复制，病毒病害的防治，病毒的利用以及病毒研究方面的新进展。

本书可供有高中文化程度的青年、干部、中学教师，从事生物科学、医学的工作人员阅读。

3116/63

病 毒

乔克强 编著

责任编辑 高小琪

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

*

1982 年 1 月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1982 年 1 月第一次印刷 印张：6 1/4

印数：0001—7,400 字数：120,000

统一书号：13031·1788

本社书号：2429·13—10

定 价：0.80 元

序

勤劳勇敢的祖国各族人民，正怀着热切的心情和必胜的信念，团结在中国共产党的周围，为加速实现四个现代化而进行新的长征。在这个极不平凡的历史新时期，大力提高整个中华民族的科学文化水平具有重大的现实意义和深远的历史意义，是当前全党和全国人民的紧迫任务。为此，科学出版社组织编辑了各种自然科学基础学科的普及丛书，《生物学基础知识丛书》就是其中之一。

生物学是研究生命的科学。这一门规模宏伟、内容丰富的自然科学，近二三十年来得到了蓬勃的发展，使得它的地位越来越突出。生物学的许多新成就已经或正在引起农业、医疗卫生、工业和国防建设发生巨大的变革。由于生物学与其它一些科学互相结合、互相渗透和互相促进，衍生出许多新的分支学科，并已深入到分子和量子水平，探讨生命现象的内在规律，证明生命活动的物质性。因而，不难预料，生物学将成为认识自然、改造世界、推动国民经济和人类健康事业的强大武器。将为整个人类社会的进步作出更大的贡献。

我相信，《生物学基础知识丛书》的出版将有利于生物科学知识的进一步普及和提高，将使更多同志掌握和利用生物科学，从而在自己工作中作出更大的贡献，也将有利于培育富

有创造性的新一代生物学家。衷心希望这套丛书为加速实现祖国四个现代化增添应有的力量。

贝时璋

编 著 者 的 话

近十几年来病毒学的发展日新月异，企图在一本科普性的“病毒”小册子里全面反映是不可能的。所以重点放在介绍基础知识，同时又力求能适当反映当前病毒学研究进展。因此病毒的提纯、病毒的组成及其结构、病毒的侵染与复制等章篇幅较大些；病毒病害及其防治尽可能反映其主要方面和特点。由于篇幅有限，病毒的遗传变异、分类、演化只好暂时割爱。

因本人知识水平有限，书中必有不少错误，恳望读者批评指正，相互交流。

本书承周家炽先生、朱既明先生审阅，徐绍华同志绘图制片、抄写，在此一并致谢。

莽克强

1979.4.

目 录

一 病毒学是怎样发展起来的·····	1
二 病毒的定量测定·····	12
(一) 枯斑和空斑测定法·····	12
(二) 血清学方法·····	17
(三) 分光光度法·····	26
三 病毒的提纯·····	30
(一) 提纯前的准备工作·····	31
(二) 把病毒从寄主细胞中释放出来·····	33
(三) 净化提取液·····	35
(四) 进一步浓缩病毒·····	40
(五) 进一步纯化病毒·····	41
(六) “纯”的或匀一性标准·····	53
四 病毒的形状、大小、组成和结构·····	57
(一) 病毒的形状和大小·····	57
(二) 病毒的组成·····	77
(三) 病毒是怎样构成的·····	90
五 病毒病害·····	110
(一) 病毒能造成病害·····	110
(二) 病毒病害的一些特点·····	111
六 病毒的侵染与复制·····	130

(一) 病毒的吸附、穿入和脱壳.....	130
(二) 控制寄主细胞	136
(三) 病毒的复制	141
(四) 病毒的装配	166
七 防治病毒病和利用病毒.....	172
(一) 动物病毒病的防治	173
(二) 植物病毒病的防治	188
(三) 利用昆虫病毒	191

一 病毒学是怎样发展起来的

人们真正看到病毒那是本世纪三十年代的事，而知道有这种比细菌还要小却又能致病的东西，那是上个世纪末的事。第一个有据可查的人的病毒病大概是天花。国外有几百年的历史可查，中国从公元十世纪宋真宗时代就有接种人痘预防天花的记载了。第一个记载的植物病毒病的是郁金香碎色花病，因为至今荷兰阿姆斯特丹的 Rijks 博物馆还保存着一张1619年荷兰画师的一幅得病的郁金香静物画。为什么要画一张得了病的郁金香呢？那是因为病花特别漂亮。你很难想象当时对得病郁金香的狂热了，据记载一个得病的郁金香球茎竟能换来牛、猪、羊甚至成吨的谷物或上千磅的奶酪。当时的荷兰种植者就知道用嫁接的方法，使郁金香健康球茎变成病球茎。但是明确知道病毒病能传染则是到1886年的事了，那时在荷兰工作的德国人麦尔(A. Mayer)把菸草花叶病病株汁液注射到健菸的叶脉中则引起了菸的花叶病。1892年俄国人伊万诺夫斯基(Ivanovski)不但重复肯定了麦尔的试验，而且发现其病原能通过细菌所不能通过的过滤器，可是他本人并未意识到这一现象的重要意义，反而抱怨他用的过滤器出了毛病。用这个出了“毛病”的滤器滤过的细菌培养液，保持几个月都未污染细菌的事实也没能改变他的看法。这也难怪，因

为他当时正生活在巴斯德细菌致病说的极盛时代，没有足够的勇气冲破思想上的无形禁区。倒是荷兰的一位细菌学家，贝杰林克 (M. Beijerinck) 敢于正视现实，于 1898 年重复肯定了伊凡诺夫斯基的结果而且证明显微镜下看不见病原，试管里用培养细菌的方法也培养不出来，但能扩散到琼脂胶中，因此得出结论认为病原是一种比细菌还小的，“有传染性的，活的流质”。不难看出真正发现病毒存在的是贝杰林克，给病毒起拉丁名叫 Virus (原意是毒)的也是他。1898 年德国细菌学家勒夫勒和弗施 (Löffler 和 Frosch) 发现引起牛口蹄疫的病原体也可以通过细菌滤器。1915—1917 年托特和德爱莱尔 (Twort 和 d'Herelle) 都分别发现细菌噬菌体。到本世纪三十年代中期已有很多动、植物病害被认为是病毒引起的，如黄热病，几种脑炎，流感，脊髓灰质炎，狂犬病，马铃薯花叶、卷叶、条斑病，黄瓜花叶病，小麦花叶病等等。而且人们从解决病害观点出发，对病状、病害在自然界是如何传播的，传播媒介是什么，被传染的寄主有哪些，积累了不少资料，例如证明昆虫能传病毒病那是 1900 年的事。1899 年古巴流行黄热病，细菌学家里德 (Reed) 带领一个美国研究小组到古巴去调查病因，当他们排除了其他传染途径后，有意识地让咬过黄热病病人的伊蚊来咬自己，结果他们也患上了这种病，勇敢的拉齐尔 (Lazear) 大夫病死了，这就证明罪犯确实是伊蚊。接着日本人高见 (Takami) 证明一种叶蝉会传水稻矮化病。蚜虫传马铃薯退化病。300 多年前就知道的郁金香碎色病直到 1929 年才证明是蚜虫传的。这时期也发现了一些非常有趣

的生物学现象。如发现一种病毒往往通过变异，产生致病力强弱不等的毒株。而且同一病毒的不同毒株彼此间有颉颃，称干扰现象。还有人发现把病植株的汁液注入到动物体内后，动物的血清和病汁液起特异的反应。这些研究成果都对当时防治病毒病起了重要作用。尽管人们当时并不知道比细菌还小的病毒究竟是什么样子？是什么东西？说到这里使人不禁想起早在法国著名科学家巴斯德年代(Pasteur 1822—1895)发生的脍炙人口的事迹：当时他并不知道狂犬病是病毒病，他对病毒也毫无所知，但是从科学实践中他知道把有侵染性的液体接种到兔脑里。然后把兔的脊髓磨碎的提取物，再接种兔脑传代。如此反复，兔子发病的潜伏期逐渐缩短，直到提取物接种后，兔子在4—6天内发病，继续传代潜伏期不再缩短为止。他把这种改变了的病毒称为“固定毒”。再将被固定毒所侵染的兔子脊髓放在含干燥剂的罐内，用干燥的方法减毒。干燥时间从0—14天不等。时间愈长减毒愈多。这种减毒的病毒液给狗注射后，狗就能抵抗正常强度的狂犬病毒的侵染，而不致死亡了。1885年人们把一个被疯狗咬得很厉害的9岁男孩迈斯特尔(Meister)，送到巴斯德那里请求抢救，巴斯德犹豫了一阵之后，就给这个孩子多次地注射了减毒程度愈来愈低的病毒，即先注射干燥14天的脊髓研磨液，逐渐用较强的病毒，最后注射未经干燥的脊髓研磨液。巴斯德的想法是希望在狂犬病的潜伏期过去之前，使他产生抵抗力。结果巴斯德成功了，孩子得救了。迈斯特尔后来当了巴斯德研究所的守门人。

1935 年美国生物化学家斯坦利 (Stanley) 第一次把病毒提取并结晶出来,他也许是受了当时生化学界“蛋白质热”的思潮影响。因为在 1926 年萨姆纳 (Sumner), 刚刚首次将脲酶提纯结晶, 从而打开了研究蛋白质化学的大门。所以斯坦利总预感到菸草花叶病毒可能是蛋白质分子。他几乎磨了上吨重的感染花叶病的菸叶, 企图用提酶的方法把病毒提纯出来。真是世上无难事, 只怕有心人。他最终成功了! 他得到了一小匙在显微镜下看来是针状结晶的东西, 把结晶物放在少量水中, 水就出现乳光了; 用手指沾一点这溶液, 在健康菸叶上磨擦几下, 一星期以后这棵菸草也得了同样类型的花叶病。可见提纯的东西的确是有侵染性的菸草花叶病毒! 今天在美国加州大学的原来斯坦利实验室里, 仍然保留着一个标注着“Tob. Mos.”字样的瓶子, 其中就盛着当年第一次提纯的菸草花叶病毒 (以后简称 TMV) 至今仍有侵染力。为此斯坦利和萨姆纳分享了 1946 年的诺贝尔化学奖。

当时人们认为 TMV 是蛋白质而且能结晶 (实际上是似结晶) 是一件奇怪的事。因为人们从 1892—1935 的 47 年中, 积累了大量的事实认为病毒可以传染、繁殖、变异、它是活的。食盐、蛋白质这类无生命的东西可以结晶, 怎么活的病毒也能结晶? TMV 到底是活的还是死的? 继 TMV 第一次被提纯结晶后, 世界各地又成功地把一些植物病毒提纯结晶了, 不过动物病毒的第一次被结晶是在这之后 20 年, 即 1955 年施沃特 (Schwerdt) 和谢弗 (Schaffer) 把脊髓灰质炎病毒结晶出来的时候。随着试验材料的不断丰富、方法的不断提高, 两位细心的



北林图 A00058937

英国生物化学家鲍登、

;) 发现纯化的

TMV 制品,并不是纯蛋白质,其中含有磷!进一步追踪,原来磷是来自核酸,TMV含 95%的蛋白质,另外 5%是核酸。TMV 不仅是个蛋白质,确切地说是核蛋白质。接着其他一些被纯化的病毒,也证明都是核蛋白质,它们不是含核糖核酸(RNA)就是含脱氧核糖核酸(DNA)。是不是活的和死的差别,就在于核蛋白质与蛋白质的差别?就在于有没有核酸?以现在生物学的知识不难回答这些问题:生物体的遗传物质基础,寓于核酸之中,生物各种性状是由核酸组成的基因所控制的,病毒具有核酸,有基因,因此,病毒具有生命的真正本质。本来在没有发现病毒之前,生物与非生物的概念似乎是比较清楚的,生物是指动物、植物、细菌。非生物是指各种化学物质,一直到分子量较大的蛋白质。即使本世纪初,年青的美国病理学家立克次(Ricketts)从感染洛杉矶斑疹热的寄主细胞中发现了比细菌还小但仍有细胞形态的立克次体后,也未能搅乱这种概念。其实病毒的出现并不是搅乱了这种概念,而恰恰是丰富和修正了以前的概念。病毒具有生物最重要的特性——繁殖、变异;同时它又具有大分子的化学物质的特性。作为一个大分子的核蛋白质,可以独立地在空气、土壤或水中存在,好像没有活性。可是一旦遇到合适的寄主,就侵入到寄主细胞里,利用寄主原有的一套合成机器来复制自己。病毒也同其他生物一样能发生突变,当环境条件变了,如寄主、温度的变化,由于环境的选择作用,病毒也表现变异。可见病毒具有两重性,一方面具有生物的基本特性,一方面又是化学的大分

273067

• 5 •

子。人们长期以来不知道化学的大分子与当时最小的生物，细菌、立克次体之间还有什么生物，病毒这种“怪物”不正好填补了从蛋白质分子到立克次体中间这段长期空缺的位置吗？六十年代末，美国植物病理学家迪纳(Diener)从患有马铃薯纺锤块茎病的植株中又发现了另一个“怪物”，它能侵染，繁殖造成病害，它不是核蛋白，而是个分子量只有 10 万左右的环状 RNA。现在起名叫类病毒 (Viroid——原意是像病毒)。类病毒比病毒更小更简单了，显然类病毒又填补了另一个空缺。相信随着人类科学实验的不断深入，可以预言会有更多的“新怪物”被揭示。对于什么是生命这一古老的哲学问题，也会不断给予新的定义。

虽然病毒被结晶了，但结晶的样子并不是病毒的形状。拿 TMV 来说，一个结晶要含有上千万个 TMV 颗粒，颗粒很小，用光学显微镜是无法看到的。当时的物理化学家们，发现 TMV 溶液有强烈的流动双折射现象，而这种现象正是杆状粒子的特征，这连同当时 X 光衍射的图谱和 TMV 沉降特性等，间接证明 TMV 颗粒是细杆状的。第一次直接观察到 TMV 颗粒，那是本世纪三十年代末电子显微镜诞生之后的事了，1939 年考雪(Kausche)等人，第一次用电镜看到了 TMV 颗粒，它果真是个杆状的！细菌噬菌体的电镜照片也引起人们的极大兴趣，原来，有些噬菌体竟像个小蝌蚪。

本世纪四十年代艾弗里 (Avery) 著名的试验证明了，早在 1928 年就已经发现的无毒性的肺炎双球菌能被转化成有毒的，其转化物质是该菌的 DNA。第一次确切地把 DNA

和基因概念联系在一起了。这标志着分子生物学的开始。五十年代初发现细菌噬菌体能把某一个细菌株系的遗传物质转移到另一菌株上。同年赫尔希(Hershey)等人用 ^{32}P 和 ^{35}S 标记的含DNA噬菌体来侵染无放射性的细菌,然后追踪放射性,发现噬菌体进入寄主细胞的是 ^{32}P 标记的 DNA 而不是 ^{35}S 标记的蛋白质外壳。接着,德国的吉尔和施拉姆(Gierér 和 Schramm),美国的弗伦克尔-康拉特(Fraenkel-Conrat)分别单独地证明,仅仅是 TMV 的 RNA 就有侵染性,并且决定着 TMV 的遗传特性。利用病毒为材料所进行的这类试验无可争议地证明核酸(不论是 DNA 还是 RNA)都携带着遗传信息。

对病毒学的发展来说,病毒的定量以及用数字来描述病毒的行为是非常重要的。1940 年戴尔布吕克(Max Delbrück)首先建立了一步生长曲线方法,使同步生长的细菌几乎被噬菌体同步地侵染而且没有再侵染发生,从而为定量地研究噬菌体的增殖提供了可能。五十年代动物单层细胞组织培养法的成功,定量测定动物病毒效价的空斑法问世,使动物病毒方面的研究获得了迅速发展。当然动物组织培养的意义远远超出了病毒定量,它在病毒的诊断,疫苗的生产,有关病毒复制等方面,无论是应用还是基础研究都起着极为重要的作用,把它誉为动物病毒发展史上的里程碑不算过分。相形之下,植物病毒方面至今未能像噬菌体和动物病毒那样有简便而有效的寄主体系供病毒进行同步侵染。虽然 1970 年来,植物细胞原生质球(用果胶酶、纤维素酶把植物细胞壁溶去,剩下带细胞膜的细胞)部分解决了同步感染的问题,但制备原生质球比起

动物组织培养,仍然是费事而不稳定,受植物生长条件的影响很大。原生质体的离体存活能力,生理活性也不十分理想。

五十年代初期,利用 X 光衍射分析病毒的晶体使人们对病毒的结构有了深入地了解。1953年沃森和克里克(Watson 和 Crick)关于 DNA 双螺旋模型的提出,进一步促进了分子遗传学的发展。六十年代对于遗传三联体密码,核酸的复制, DNA 转录为 mRNA, 进而以 mRNA 为模板的蛋白质生物合成的所谓中心法则的提出,病毒都做出了重大贡献。人们所以热衷于以病毒为材料,主要原因是它的结构简单,便于分析。分子遗传学的发展,事实上也同时促使病毒分子生物学的兴起和发展。1965年美国科学家斯皮格尔曼(Spiegelman)第一次在体外无细胞体系中把一个大肠杆菌噬菌体的 RNA 自我复制成功了,也就是说把它的 RNA 放在试管里加入必需的聚合酶、酶的底物以及其他各种必要的金属离子和因子,病毒核酸能自我复制成有侵染性的子代核酸。接着 1967 年,用类似的方法使噬菌体 ϕ X174 的 DNA 也同样地自我复制成功。这是人们第一次能使病毒脱离活细胞而复制增殖。打破了长期以来认为病毒必需在活体内才能复制的观点。

一些含 DNA 的动物病毒如多瘤病毒、猿猴病毒 SV40 以及腺病毒能在动物体内引起肿瘤,那是六十年代就知道的了,然而确切地了解病毒致癌的机制却是以后十余年中才逐步实现的。溶原性噬菌体的前噬菌体学说启发人们认为溶原性可能就是病毒致癌的模型。后来发现肿瘤病毒的 DNA 或其片断与细胞染色体整合的现象证实了这个假说。当前全世界不

少著名试验室以 SV40 为模型企图搞清病毒致癌的问题。近十几年来对 SV40 转化细胞的机制, SV40 的复制机制, 及其遗传分析, 以及类似 SV40 的一类病毒在人体内致癌的可能都有了可喜的突破。最近美国哈佛大学吉尔伯特 (Maxam Gilbert) 用化学标记法和英国的桑格 (Sanger) 所建立加减法, 可快速而简便地分析 DNA 序列从而导致比利时的菲尔斯 (Fiers) 等人和美国的韦斯曼 (Weissman) 等人把 SV40 DNA 的全部序列搞清。这是全序列搞清的第一个动物病毒 DNA, 这将会大大促进攻克 DNA 病毒致癌的问题。不少含 RNA 的肿瘤病毒在鸡和老鼠体内造成肿瘤, 其致癌机制长期不解。直到 1970 年坦明 (Temin) 和巴尔的摩 (Baltimore) 发现罗氏肉瘤病毒颗粒含有反转录酶, 病毒 RNA 被该酶反转录成 DNA。该 DNA 和 SV40-DNA 的行为相似, 也整合到寄主细胞核的 DNA 中而引起寄主细胞的转化。这一发现不仅第一次说明了 RNA 肿瘤病毒在了解致癌问题上的重要性, 同时也大大丰富了五十年代沃森-克里克的遗传信息流的中心法则。

随着七十年代遗传工程技术的兴起。人们注意到除质体以外, 病毒是把某一基因片段从一种细胞转移到另一种细胞的可能的分子载体。噬菌体 λ 、M13、动物病毒的 SV40、植物病毒的花椰菜花叶病毒 CaMV 这类含 DNA 的病毒成为遗传工程师们注意的重点对象, 而且也得到了可喜的成绩, 例如把 λ 噬菌体改造为携带有大肠杆菌 DNA 连接酶基因的载体, 在适当寄主中使连接酶的产量提高 100—500 倍。利用 SV40 做