

生物学研究概说

分子病毒学

〔英〕T. H. 彭宁顿 D. A. 里奇 著



科学出版社

· 生物学研究概说 ·

分子病毒学

[英] T. H. 彭宁顿 D. A. 里奇 著

朱本明 徐佐杰 译

钮经义 等校

科学出版社

1981

内 容 简 介

本书综述了病毒学领域最新研究进展,从分子水平介绍病毒。引言用少数几个人们熟悉的病毒从细胞和亚细胞水平阐述病毒的一般原理。而后结合图解介绍了动物病毒和噬菌体的内部结构及功能,并着重阐明病毒感染细胞,包括在感染细胞内的病毒脱外壳、病毒基因组的转录和翻译、病毒基因组的合成、病毒粒子的装配和病毒释放等。最后两章分别概述了病毒遗传学和肿瘤病毒学。书后附有进一步阅读书目。

本书可供生物化学、分子生物学、微生物学、病毒学、遗传学、医学等有关方面科研工作者及大专院校师生参考。

T. H. Pennington and D. A. Ritchie
Outline Studies in Biology

MOLECULAR VIROLOGY

Chapman and Hall 1975

· 生物学研究概说 ·

分 子 病 毒 学

[英] T. H. 彭宁顿 D. A. 里奇 著

朱本明 徐佐杰 译

钮经义 等 校

责任编辑: 范淑琴

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

*

1981 年 9 月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1981 年 9 月第一次印刷 印张: 3 1/4

印数: 0001—6,700 字数: 68,000

统一书号: 13031·1659

本社书号: 2277·13—9

定价: 0.55 元

译 者 的 话

在整个生物学领域中,分子生物学的发展令人注目,而其中分子病毒学占有重要位置。分子病毒学研究受到人们普遍重视。英国格拉斯哥大学病毒学研究所 T. H. 彭宁顿和 D. A. 里奇所著的《分子病毒学》一书,概述了该领域最新研究进展,并从分子水平介绍了病毒。该书内容广博,但简明扼要、篇幅短小、文字精炼,并配合图解阐述。本书既可作为刚接触这个领域的初学者入门读物,又可供从事这方面工作的科研、教学工作者参考。

本书涉及分子生物学、生物化学、微生物学、病毒学、遗传学、医学等多门学科,而且内容新选材精。为了确保译文质量,特请有关方面专家分别审校译文。第1至第3章由中国科学院上海生物化学研究所钮经义教授审校。第4章《病毒遗传学》由复旦大学遗传研究所项维副教授审校。第5章《肿瘤病毒学》由中国科学院上海生物化学研究所沈昭文教授审校。其中本书篇幅最大的重点部分——第3章《病毒感染细胞》曾请复旦大学生物系王鸣岐教授复审。对于他们对本书翻译工作的支持,译者在此表示衷心谢意。

本书名词的中文译名大都参照《英汉生物化学词汇》(科学出版社1977年出版);《分子生物学术语汇编》([美]A. 伊文思著,中国科学院生物化学研究所资料室等译,科学出版社,1977年出版);《英汉医学词汇(试用本)》(人民卫生出版社,1978年出版)。病毒的名称根据《病毒的分类与命名》([英]P. 怀尔狄编著,甘肃农业大学畜牧兽医系微生物教研

组译，科学出版社，1974 年出版)。有些名词因较新，尚无统一的中文译名，系根据有关方面专家意见译出。

由于译者水平有限，恳请读者就错误和不妥处批评指正。

朱本明 徐佐杰

1979 年 9 月于上海

目 录

译者的话	v
第1章 引言	1
1.1 分子病毒学的历史回顾	1
1.2 什么是病毒?	2
1.3 病毒滴定法	3
1.4 病毒和寄主的相互作用	4
第2章 病毒粒子	7
2.1 病毒粒子构造的原理	7
2.2 病毒粒子的解剖学特征	7
2.2.1 立方对称的粒子	7
2.2.2 具有螺旋对称的纤维状病毒	10
2.2.3 带有脂质膜,含有病毒诱导的蛋白质(被膜)的病毒	10
2.2.4 有尾噬菌体	12
2.2.5 痘病毒	14
2.3 病毒核酸	15
2.4 病毒粒子的功能	19
2.4.1 感染作用的传播	19
2.4.2 感染作用的产生	19
2.4.3 吸附	19
2.4.4 侵入	21
2.4.5 侵入寄主后病毒粒子的功能——病毒酶	21
第3章 病毒感染细胞	25
3.1 病毒感染细胞中的转录和转译	26

3.1.1	双链 DNA 病毒(第 I 组)	26
3.1.2	单链 DNA 病毒(第 II 组)	35
3.1.3	双链 RNA 病毒(第 III 组)	36
3.1.4	mRNA 碱基顺序与病毒 RNA 相同的单链 RNA 病毒(第 IV 组)	37
3.1.5	单链 RNA 病毒、mRNA 与基因组的顺序互补(第 V 组)	40
3.1.6	在生长中有 DNA 参与的单链 RNA 基因组(第 VI 组)	41
3.2	蛋白质的转译后修饰	41
3.3	基因组的复制	42
3.3.1	DNA 基因组的复制	42
3.3.2	RNA 基因组的复制	49
3.4	病毒的装配	52
3.5	病毒的释放	55
3.6	温和噬菌体和溶原性	56
3.6.1	原噬菌体的性质	57
3.6.2	溶原性的控制	59
第 4 章	病毒遗传学	62
4.1	突变	62
4.1.1	特定突变	63
4.1.2	一般的系统	64
4.2	功能或互补分析	66
4.3	重组的基本研究	67
4.4	染色体作图	69
4.4.1	遗传图	70
4.4.2	物理图及其与遗传图的关系	71
4.5	遗传重组	73
第 5 章	肿瘤病毒学	78

5.1 什么是肿瘤?	78
5.2 肿瘤的成因	78
5.3 乳多空病毒	80
5.3.1 由多型瘤病毒和猿猴病毒 40 引起的转化作用.....	80
5.4 RNA 肿瘤病毒	85
5.4.1 一般特性	85
5.4.2 生长和转化作用	87
5.4.3 反转录酶	88
5.4.4 RNA 肿瘤病毒遗传学.....	90
5.5 由 DNA 和 RNA 肿瘤病毒引起的转化的比较; 致癌基因理论	92
进一步阅读的建议.....	93

第1章 引言

1.1 分子病毒学的历史回顾

自从分子生物学作为一个独立的学科出现以来,病毒即占有极重要的位置。确实,分子生物学本身的发展主要由于 Deibrück, Luria 和 Hershey 的开创性研究。在三十年代后期,他们就认识到在解决当时生物学上的一个重大问题,即如何用物理和化学的术语来给基因下定义时,细菌病毒(噬菌体,即 bacteriophages,通常缩写为 phages)是一种理想的适宜材料。这些病毒的优越性在于它们生长迅速、容易鉴定和可用容易分辨的遗传标记物。因此用这些病毒能够很快地进行定量的遗传试验。微小的病毒结构简单,是生物化学和生理学研究的合适材料。

在此后二十年,少数噬菌体工作者发现了一系列基本原理,为现代病毒学奠定了基础,总的来说这些原理对于生物学研究具有深远影响。这些研究确定了病毒复制的基本模式,证实核酸分子是遗传物质,并为阐明基因结构开辟了道路。这个时期取得成就的一个重要因素是由于集中精力研究了为数不多的几个噬菌体,特别是大肠杆菌噬菌体 T2 和 T4。同时, Lwoff 及其同事研究了另一种大肠杆菌噬菌体——噬菌体 λ , 该工作导致了对大分子合成调节的同样重要的研究。

动物和植物病毒的研究,起源于十九世纪后叶,最初主要由医学、兽医和农业科学工作者进行。他们许多实践的成功,几乎与分子生物学无关,而是起源于与别的寄生物引起的疾

病作斗争的成功实践,例如控制媒介、培育抗病品种等。五十年代初期新的组织培养技术引入,对于作为应用科学和分子生物学一个分支的动物病毒学,是极其重要的大事。当时另一重要进展是 Dulbecco 发展了一种动物病毒滴定的简单测定方法,它是以噬菌体的标准噬菌斑测定方法为依据的。

动物病毒学的发展主要归功于从噬菌体研究,其次则是从植物病毒研究所得到的知识。但是,近年来对动物病毒的许多重要特征已作了阐述,发现它们和噬菌体并不相同。这些特征包括病毒粒子转录酶,由细胞膜出芽的病毒粒子成熟现象和细胞转化作用。

1.2 什么是病毒?

病毒的最近定义 (Luria 和 Darnell, 1968) 为:“病毒是一种生物,其基因组是由核酸(或为 DNA, 或为 RNA)组成,它们在活细胞内复制,并利用活细胞的合成机器来合成特殊的质粒,即病毒粒子。它包含病毒基因组,并把病毒基因组转移到其他的细胞中去。”

病毒与细胞内的其他专一性寄生物,例如立克次氏体、鹦鹉热类微生物 (Psittacosis group of organisms) 存在某些根本差别,包括:

- (1) 病毒粒子仅含有一种类型核酸: DNA 或者 RNA。
- (2) 用寄主核糖体来合成病毒专有的蛋白质。
- (3) 病毒的增殖是由它们的组分各自合成,然后装配重组成新的病毒粒子,而不是靠生长和分裂。

病毒粒子基本上即是核酸(病毒基因组)被一个蛋白质外壳所包围。蛋白质外壳的功能在于可在细胞外不良环境时保护核酸,并促进核酸侵入寄主细胞。而且,在许多动物病毒

中,它们在感染初期对于启动病毒大分子的合成起重要作用。病毒粒子的结构复杂,而且差异极大。例如许多植物病毒含有一个单一的小的 RNA 分子核心,外面由一个单一蛋白质的很多相同亚基所组成的外壳包围。而一些动物病毒粒子的外壳蛋白至少由 30 种不同的蛋白质构成,并包住一个极长的 DNA 分子。同样,各种病毒粒子的大小差异也相当大。病毒的分类系统基于病毒基因组的化学性质。因此,病毒可分为 DNA 基因组病毒和 RNA 基因组病毒,而这些病毒又可进一步分成单链或双链基因组病毒。

根据寄主的特异性,能将病毒分成三大类,即细菌病毒、蓝绿藻类和植物病毒以及动物病毒。这些病毒组的许多成员在进入它们特殊寄主细胞的方式和在寄主细胞内进行复制方面,均各有其特点。在这方面的一个例子就是许多噬菌体已经发展到具有复杂的结构,能使其 DNA 穿过坚韧的细胞壁,而进入寄主细胞。动物病毒进入寄主细胞时,并不遇到这种障碍;植物病毒则以不同方式进入寄主细胞。

1.3 病毒滴定法

定量分析要求能够测定样品中的病毒粒子数目,有许多方法可以采用。有的是直接测定病毒,如电子显微镜方法及用血红细胞的血球凝集法。而其他一些方法可测定一个病毒材料的感染性滴度。这两种方法可能得不到相同的滴度,因为并非所有的病毒粒子都具有感染性。对于噬菌体来说,天然的病毒粒子和具感染性的病毒粒子之比通常为 1:1。而动物病毒的感染性滴度一般低于病毒粒子数。一种典型的噬菌体测定方法是:把一个浓度适宜的病毒稀释液(如含有 100—200 个具感染性粒子)和一个浓的细菌悬浮液(约有 10^8

个细胞)混合,在 45℃ 时悬浮于溶解的琼脂中。将这一混合物倒在一块盛有可固体化的营养琼脂的平板表面,不久即形成硬化的薄层,从而把噬菌体和细菌固定起来。将此平板保温,使细菌能够繁殖,并在琼脂表面形成一均匀的细胞层,而在感染噬菌体粒子处为空白点。这种空白点系因病毒感染了细菌,并在其内增殖所致。从被感染的细菌中放出许许多多子代病毒,又进一步去感染邻近的细菌,进而产生更多病毒。这种局部的连锁反应蔓延开来,几小时后即达到肉眼可见的程度,均匀的细菌层上出现空白的斑点。这些空白的区域称做为噬菌斑。计算噬菌斑的数目,即可直接估计出具感染性的病毒粒子数。Dulbecco 所发展的动物病毒噬菌斑测定方法与此基本相同。即把病毒倾倒在平底碟子内液体培养基中生长的一层组织培养细胞上,让病毒吸附在细胞上后,把含有营养培养基的溶解琼脂倒在细胞上面,并让其硬化。这样可避免病毒在培养基中自由扩散。就如测定噬菌体一样,在细胞层中产生的每个病毒生长区,均起始于一个被感染细胞。动物病毒感染作用的最终结果是导致细胞死亡,而不是细胞溶解。所以,一般可以用仅能对活细胞染色的染料进行染色鉴定噬菌斑,以被染色的未感染细胞作背景,可见无色的噬菌斑。

1.4 病毒和寄主的相互作用

病毒感染的结果通常引起寄主细胞死亡。例如,仅在寄主细胞溶解后,许多噬菌体才泄出。这些病毒已发展到具有特殊的机制,在其成熟以后能破坏细胞壁和膜。而由许多动物病毒所感染的寄主细胞,在病毒生长成熟后并不溶化。它们致死的原因是病毒选择性地、不可逆地终止寄主细胞的 DNA、RNA 和蛋白质合成,以利于病毒本身的大分子合成。

许多噬菌体也同样终止了寄主细胞的大分子合成，有的甚至能够分解寄主细胞的组分，使之成为它们自己合成所需要的材料。当然，仅对寄主细胞发生感染，而不导致死亡的情况也有。具有这种类型感染作用的病毒，已经具备病毒粒子的释放方法，它并不使寄主细胞发生不可逆损害。如许多动物病毒利用一种出芽过程，从寄主细胞膜中释放出来。在出芽过程中，病毒掺入了被更改的寄主细胞膜一部分，使之成为它们的结构组分之一，从而得以释出。这种感染作用，不仅可使病毒和寄主细胞共存，而且同时使被感染细胞生长和病毒得以增殖。

病毒生长周期所发生的变化顺序如下：

- (1) 病毒粒子吸附在寄主细胞表面。
- (2) 病毒核酸或者是整个(噬菌体)或者是部分病毒粒子(动物病毒)进入寄主细胞。
- (3) 病毒信使 RNA (mRNA) 由病毒基因组转录和转译。
- (4) 基因组复制。
- (5) 子代病毒粒子的装配及其从寄主细胞中的释放。

上述整个过程叫做病毒的生长周期。噬菌体的生长周期一般较短，可以分计算；而动物病毒的生长周期则长得多(图 1.1)。这可能和细菌较快的代谢过程有关，因为细菌的生长周期当然要比真核细胞短得多。

并非所有的病毒感染都会产生子代。这种情况的某些原因很清楚，例如由于寄主的抵抗[寄主和病毒之间的关系经常具有高度专一性，譬如脊髓灰质炎病毒 (Poliovirus) 不会感染非灵长类细胞，因为它们缺乏吸附病毒的受体]。但是在另外一些情况下，病毒基因组可以进入寄主细胞，并且一直留在寄主细胞里，有时经过许多世代的寄主细胞生长，而并不产生病毒。这种类型寄主与细胞相互作用的经典例子是噬菌体对

细菌的溶菌作用。在感染以后,病毒 DNA 便插入到寄主中去,并和细菌染色体以共价键相结合。一个由病毒所控制的有效机制,保证这种状态能继续下去,直到某些环境条件发生变化,如从寄主染色体上切出病毒基因组、病毒粒子开始增殖以及发生细胞溶解。

许多动物病毒也能够把它们的核酸与寄主细胞的基因结合起来。在发生增殖感染的过程中,许多 DNA 病毒可能发生这种现象。也有极少数情况,通常仅在实验室特定条件下发生,即这些病毒 DNA 的结合作用,可能伴随有寄主细胞形态学上的明显变化以及生长类型(转化作用)的急剧改变。在一些易受感染的寄主中,这些变化可以引起癌变(见第 5 章)。然而,许多种 RNA 肿瘤病毒却能够有效地转化细胞,并在被转化的细胞中继续生长。这些细胞的基因组含有以共价键结合的由 RNA 病毒基因组复制的 DNA。

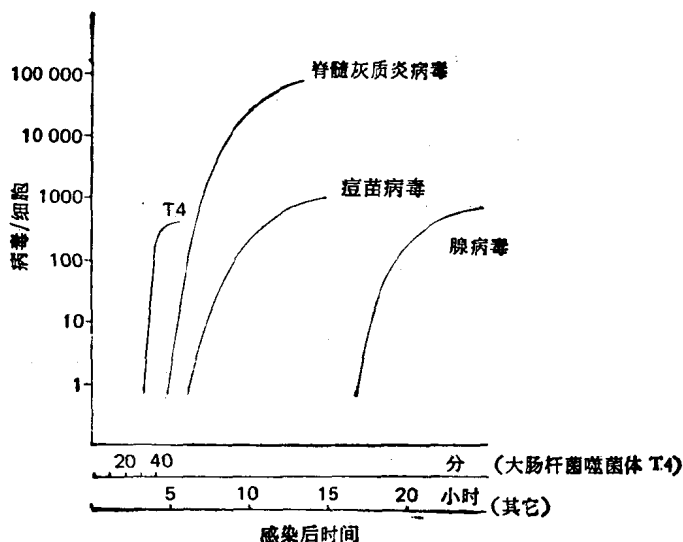


图 1.1 动物病毒和细菌病毒的生长曲线

第2章 病毒粒子

2.1 病毒粒子构造的原理(表 2.1)

病毒的结构有两种基本的类型: (a) 以立方对称的球状壳体结构排列的蛋白亚基(用立方对称这一结晶学术语表明各亚基相互之间的关系); (b) 以螺旋对称结构排列的蛋白亚基。在这两种情况中, 蛋白亚基都包裹着核酸分子, 形成一种称为核衣壳的结构。动物病毒的螺旋形核衣壳外面, 通常由一层含有病毒蛋白和寄主细胞脂类的外膜所包裹。许多植物病毒和一些噬菌体则只有裸露的核衣壳, 而没有外膜。只有一类具有立方对称性的病毒——疱疹病毒(Herpesviruses)的外面有外膜包裹。两种具有外膜的病毒[披盖病毒(Togaviruses)和RNA肿瘤病毒]的核衣壳蛋白亚基排列尚不清楚。在许多立方对称的病毒中, 球状外壳不直接接触核酸, 而是围住内含病毒基因组的另一蛋白质结构, 即所谓病毒核心。

一些非常大的病毒, 包括T系偶数噬菌体类和痘病毒属(Poxviruses)都被归为“复杂病毒”一类。这些病毒被认为既没有立方对称性, 又无螺旋对称性。现在认为T系偶数噬菌体类的头部似乎由按照立方对称排列的蛋白亚基所构成。痘病毒核心的蛋白亚基排列, 到目前还不清楚。

2.2 病毒粒子的解剖学特征

2.2.1 立方对称的粒子

经过精确测定, 凡具有这种基本结构的所有病毒, 均有二

二十面体对称性。二十面体是一个对称的多面体，有十二个顶点和二十个面，每一个等边三角形又可进一步再分为许多小的等边三角形。Caspar 和 Klug 证实这种结构类型，仅是由许多相同蛋白亚基构成球形外壳时的一种通常方式。虽然不可能把六十个以上相同亚基在球体表面上以这种方式等同排列，但许多具有二十面体对称性的病毒在它们的外壳上却排列着六十个以上的亚基。Caspar 和 Klug 运用准平衡原理，解决了这个谜。如果在外壳不同部分连接各亚基的键以不同方式有所变形的话，便可形成这些外壳。也可以利用一种以上的结构亚基来形成这种二十面体。在外壳中，亚基通常以五元体 (pentons) 或六元体 (hexons) 排列而成。这种结构的一个典型代表是腺病毒 (Adenovirus) (图 2.1)。这是一种从结构学看来，特性恰当的病毒。主要因为它们的结构亚基在温和条件下是可溶解的，而大部分其他病毒的结构亚基不具有这一性质。在被感染的细胞里，腺病毒亚基大量存在，能很容易由感染细胞中纯化。此病毒的外壳〔衣壳 (capsid)〕是由 252 个结构亚基〔壳粒 (capsomers)，即衣壳蛋白亚单位〕所组成。其中 240 个结构亚基是有 6 个相邻者的六元体，分子量为 350,000 左右；12 个是有 5 个相邻者的五元体，分子量为 400,000—515,000。这些五元体在二十面体的顶点出现，它们由一个基部和一个带有从病毒表面向外突出的球形突出物的纤维组成。当病毒被强的去垢剂或尿素作用时，六元体以两种形式释放出来，邻近五元体者可作为单体而被溶解，而构成二十面体三角形面的那些六元体亚基就以九聚体 (nonamers) 形式放出。这种病毒内部包含一个和蛋白相连的双链 DNA 分子(分子量为 $20-25 \times 10^6$) 的核心。对结构亚基蛋白多肽组成进一步研究，发现了更为复杂的结构。六元体看来是由 3 个相同的蛋白(分子量 12,000) 组成，纤维也是一种

三聚体 (trimers), 其亚基蛋白的分子量为 60,000—65,000。对五元体的研究难以入手, 不过看来是由许多分子量为 70,000 的相同蛋白所组成。其核心中包含着在增殖复制过程中出现的两种蛋白(分子量为 17,000—45,000)。

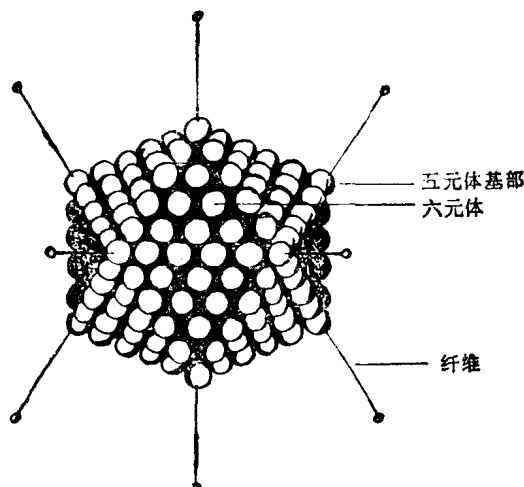


图 2.1 腺病毒——病毒粒子图

这种在末端有一个球形突出物的长的五元体纤维是腺病毒类的特性。其他二十面体病毒的显著特征包括: 其外壳的结构蛋白亚基数目变化很大, 可从 12 个(如噬菌体 ϕ X174)到 812 个[大蚊虹色病毒 (Tipula iridescent virus)]; 它们的直径则可从 20 毫微米[细小病毒 (Parvoviruses)] 到 130 毫微米(大蚊虹色病毒); 它们包藏在外壳中的核酸本质多样, 既可以是双链 DNA [如乳多空病毒 (Papovaviruses)、腺病毒、疱疹病毒和大蚊虹色病毒], 又可以有单链 DNA (如噬菌体 ϕ X174、细小病毒), 也可有单链 RNA [如细小核糖核酸病毒 (Picornaviruses)、噬菌体 Q β 及其同类病毒和许多植物病毒], 或者