

华 / 中 / 师 / 范 / 大 / 学 / 出 / 版 / 基 / 金 / 丛 / 书

分子病毒学

FENZI BINGDUXUE

吴柏春 编著

华中师范大学出版社



华 / 中 / 师 / 范 / 大 / 学 / 出 / 版 / 基 / 金 / 丛 / 书

分子病毒学

FENZI BINGDUXUE

吴柏春 编著

华中师范大学出版社

江苏工业学院图书馆
藏书章

(鄂)新登字 11 号

图书在版编目(CIP)数据

分子病毒学/吴柏春编著. —武汉:华中师范大学出版社.
1999. 7

ISBN 7-5622-1745-9/Q · 24

I. 分… II. 吴… III. 分子生物学:病毒学 IV. Q939.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 01884 号

分子病毒学

© 吴柏春 编著

华中师范大学出版社出版发行

(武昌桂子山 邮编:430079 电话:027-87876240)

新华书店湖北发行所经销

武汉市新华印刷厂印刷

责任编辑:严定友
责任校对:张 钟

封面设计:甘 英
督 印:方汉江

开本:850 mm×1 168 mm 1/32
版次:1999 年 7 月第 1 版
印数:1—1 000

印张:15.75 字数:395 千字
1999 年 7 月第 1 次印刷
定价:20.00 元

本书如有印装质量问题,可向承印厂调换。

出版并新，强差大算官五水册平水湖国特发得由基学毒除于全国
五对并新翻大会财育人本，高要内平水发得味来录下人世我科第
。取次于录出次，直价专参要更前次为，本料

序 言

病毒学是生命科学的重要基础之一。廿世纪以来，烟草花叶病毒的结晶 (Stanley 1935)，其核蛋白本质和核酸具有感染性的发现以及噬菌体溶原性和前噬菌体本质的阐明 (Lwoff, 1950) 等开创性研究，为分子病毒学的发展奠定了基础。Watson 和 Crick (1953) DNA 双螺旋模型和中心法则的形成为分子病毒学的发展确立了理论基础。在操纵子学说和噬菌体 mRNA 的研究 (Jacob 和 Monod, 1961)、澳大利亚抗原的发现 (Blumberg 和 Gaydusek, 1963)、基因结构与病毒复制机制的阐明 (Delbruck, Hershey 和 Luria, 1969)、肿瘤病毒中逆转录酶及其癌变作用的发现 (Baltimore 和 Temin, 1970) 等创新研究的带动下，形成廿世纪下半叶分子病毒学的大发展，极大地丰富了生命科学的内涵。如果没有以病毒为材料的核酸和蛋白质结构与功能的基础研究，和许多分子生物学技术的创建，生物技术不可能成为新的产业。世界上不断暴发的新的病毒病往往导致新的发现和突破。英国疯牛病大发生，使人和动物海绵状脑病病原朊病毒本质的阐明，受到国际学术界的重视，并获得 1997 年诺贝尔生理学 and 医学奖 (Prusiner, 1982—1997)。廿世纪病毒学和与病毒有关的研究成果曾十多次获得诺贝尔奖，足以说明病毒学在生物学上的突出地位。

吴柏春教授编著的《分子病毒学》，深入浅出地阐述了分子病毒学的基本原理和前沿领域，是一本普通分子病毒学的好教材。我

国分子病毒学基础研究与国际水平相比还有较大差距。该书的出版将促进人才培养和研究水平的提高。本人有机会先睹该书校正样本，认为有重要参考价值，为此乐于为序。

田波*

一九九八年二月十日

Watson 和 Crick 开创了分子病毒学的发展奠定了基础。Watson 和 Crick (1953) DNA 双螺旋模型和中心法则的提出成为分子病毒学发展的理论基础。Jacob 和 Monod (1961) 关于蛋白质合成的发现 Blumberg 和 Geyerson (1963) 基因结构蛋白病毒复制机制的阐明 Delbruck, Hershey 和 Luria (1969) 肿瘤病毒中逆转录酶及其酶变作用的研究 Baltimore 和 Temin (1970) 等创新研究的带动下，形成二十世纪下半叶分子病毒学的大发展，极大地丰富了生命科学的内涵。此外，以病毒学为材料的核酸和蛋白质结构的基因组学的基础研究，对于分子生物学技术的创新，生物技术不可能不成为本世纪后半叶最蓬勃发展的新的病毒学领域。英国伦敦帝国理工学院病毒学系在 1970 年诺贝尔奖获得者诺贝尔医学奖获得者 Pruziner (1982-1997) 对病毒学有重要的研究成果。田波教授多次获得诺贝尔奖，足以说明病毒学在生命科学中的重要地位。

* 田波教授，中国科学院院士，我国著名病毒学家与生物工程专家，中国病毒学会副理事长、国际类病毒工作组组员。

前 言

半个多世纪以来,世界科学技术飞速发展,新发现、新创造、新理论、新技术不断涌现。分子生物学已成为当代生命科学的主流学科。随着分子生物学的快速发展和巨大进步,分子病毒学作为分子生物学的前沿领域的学科,在生命科学中占有极为显著的地位,其重要性日益为人们认识。病毒是分子生物,长期适应于细胞内环境,其生命活动反映了细胞生物生命活动的某些基本规律。实际上,分子生物学的一些重要理论的建立,生命活动的一些基本规律的阐明,在许多方面都得益于分子水平的病毒学研究。病毒与人类健康和经济发展的关系极为密切。曾经肆虐全人类的天花、麻疹、脊髓灰质炎,现正波及全球的流感、肝炎、艾滋病,一些疑难的、潜隐的慢性疾病,为害农、林、畜、牧、渔、果、茶、蔬的许多疾病,都将随着分子病毒学的研究和进展得以控制。随着分子病毒学研究的深入,揭示了真核、原核生物基因表达调节控制的一些规律,应用于基因工程、遗传病治疗等新技术领域,为造福人类作出了巨大的贡献。

根据党中央“科教兴国”的战略和“面向世界、面向现代化、面向未来”的精神,为了迎接 21 世纪——生命科学世纪的到来,促进我国现代生命科学和分子病毒学的更大发展,造就本学科领域新一代的高级专门人才,作者在 1990 年自编的《普通分子病毒学》讲义的基础上,经反复修改增删编著成此书。本书为适应生命科学与医学的学科发展和有关专业研究生、本科生及教学、科研人员学习、参考之需而编写;内容取材于国内外有关专著、论文,并融进了作者多年教学的心得和科研的成果,精心构思,博采众长,几经修

改,终成此书。全书共13章,前6章重点阐述病毒的形态、病毒大分子的结构与功能,即“静态分子病毒学”部分;6章~10章主要阐述病毒的侵染、复制、表达、调控、遗传变异、组装与释放,展示病毒生命活动的过程,即“动态分子病毒学”部分。第11章根据Baltimore分类阐述I类~VII类典型病毒及其正常复制,给人以“完整”、“动态”的全貌印象。此外,12,13两章分别介绍了亚病毒和肿瘤病毒与癌的新知识、新理论与新发现。如果说“动态”部分和“静态”部分总论各类病毒复制过程的“共性”是本书的“纬”,那末第11章则是本书的“经”。全书动、静结合,经、纬交错,深入浅出地阐明了分子病毒学的基本理论知识,介绍了学科发展及前沿领域的研究方向。全书力求内容具有系统性,突出重点但不面面俱到;强调知识理论性但不脱离科学研究和应用的实际;注重内容的科学性但行文尽量通俗易懂,图文并茂。作者相信,本书对生命科学、医学的本科生、研究生及有关专业的教学、研究人员提高专业学术水平,优化自身的知识结构,增强自身的科研、教学能力定能有所裨益。倘若读者能从“动态”与“静态”的结合,“经向”与“纬向”的交织中融会贯通,理解并把握分子病毒学的基本理论、基本规律与基本技能,定能对读者“登堂入室”深造本门学科有所帮助,则编著者深感莫大幸焉!

尤需说明的是,作者本着传播分子病毒学学科的知识理论,介绍学科前沿,弘扬学科成就,促进学科繁荣、发展和进步的目的,编著此书时引用了中外同仁的大量文献,来不及一一征得同意,在此一并致谢!

编写本书时,作者得到华中师范大学教学委员会、副校长邓宗琦教授、副校长汪文汉教授的关怀与支持,华中师范大学出版社、研究生处的鼎力相助。作者深感莫大荣幸的是,世界著名病毒学家、中国科学院院士田波教授在百忙之中审阅了书稿,提出了宝贵的修改意见,并欣然命笔为拙作写了序言。此前,武汉大学病毒学

专业博士生导师齐义鹏教授、叶林柏教授,华中师范大学昆虫学专业博士生导师陈曲候教授给予了热情的鼓励和指导;英国Sheffield大学王行国博士及时提供了参考资料并提出宝贵意见。在教学中,研究生李春华、操敏、俞修敏、朱天新、施荣华等同学帮助做了一些资料工作。修改此书的全过程中,得到了妻子熊成秀和家人的理解、支持,杜仪芳小姐打印修改稿,许珩制作插图。在书稿付梓之际,编著者谨向他们表示诚挚的谢意,没有他们的理解、支持、帮助,此书是不可能问世的。

由于学科发展很快,本人学识水平有限,书中错漏之处在所难免,乞望批评赐教,以利病毒学的发展。

编 著 者

1998年于武昌桂子山

目 录

前言	1
1 分子病毒学导言	1
1.1 病毒学发展简史	2
1.2 病毒是分子生物	11
1.3 当代分子病毒学的前沿领域和主要研究方向	15
2 病毒的形态结构与命名分类	22
2.1 病毒的大小与外部形态	22
2.2 病毒的化学组成	23
2.3 病毒的结构	29
2.4 病毒结构的基本规律与结构理论	44
3 病毒核酸的分子生物学	49
3.1 病毒核酸的基本特点	49
3.2 病毒 DNA 的结构与特征	50
3.3 病毒 DNA 的结构与功能的关系	62
3.4 病毒 RNA 的结构与特征	74
3.5 病毒 RNA 的结构与功能的关系	81
4 病毒蛋白质的分子生物学	100
4.1 病毒蛋白质的结构	100
4.2 病毒衣壳蛋白的解离与重组	114
4.3 病毒蛋白质功能概述	120
5 构成病毒的脂类、糖类及其他组分	127
5.1 病毒的脂类	127
5.2 病毒的糖类	128

5.3	病毒包含的其他成份	134
6	病毒感染及其与宿主细胞的相互作用	135
6.1	病毒的吸附、侵入与脱衣壳	135
6.2	病毒感染细胞及作用方式	146
6.3	病毒感染对宿主细胞大分子合成及功能的影响	158
6.4	宿主细胞的限制、诱导与修饰	162
6.5	细胞膜的变化与细胞融合	165
6.6	宿主对病毒感染的免疫作用	167
6.7	干扰素(IFN)与抗病毒作用	171
7	病毒基因组的复制与表达	177
7.1	Baltimore 分类	177
7.2	病毒核酸复制概论	181
7.3	病毒基因组的转录与翻译	207
8	病毒基因组表达的调节	228
8.1	原核病毒基因组表达的调节	228
8.2	真核病毒基因组表达的调节	244
9	病毒粒子的组装、成熟与释放	276
9.1	概述	276
9.2	植物病毒的组装、成熟与释放	280
9.3	噬菌体的组装、成熟与释放	283
9.4	动物病毒的组装、成熟与释放	290
9.5	昆虫杆状病毒的组装、成熟与释放	296
10	病毒的遗传与变异	300
10.1	概述	300
10.2	病毒的突变	303
10.3	病毒突变的分子机制	311
10.4	病毒之间遗传学上的相互作用	316
10.5	病毒之间非遗传学上的相互作用	323

11 典型病毒及其正常复制	331
11.1 I类病毒——腺病毒.....	331
11.2 II类病毒——细小病毒.....	336
11.3 III类病毒——呼肠孤病毒.....	344
11.4 IV类病毒——冠状病毒.....	349
11.5 V类病毒——流感病毒.....	356
11.6 VI类病毒——人免疫缺损病毒(HIV).....	360
11.7 VII类病毒——人乙型肝炎病毒(HBV).....	371
11.8 病毒正常复制的总体概括.....	383
12 亚病毒的分子生物学	385
12.1 亚病毒概述.....	385
12.2 类病毒.....	386
12.3 病毒卫星.....	400
12.4 朊病毒.....	416
13 肿瘤病毒、细胞转化与癌	427
13.1 肿瘤病毒.....	427
13.2 肿瘤病毒感染致细胞转化.....	436
13.3 癌基因与抑癌基因.....	441
13.4 肿瘤病毒致癌的机理.....	450
附录:病毒的命名与分类简介.....	467
参考文献.....	480

本理论和技能,了解该领域的新知识和新成就,对生物学、医学、农学、林学及高新技术如基因工程、蛋白质工程、细胞工程等学科的本科生、研究生、教学与科研人员很有必要,也大有益处。

1.1 病毒学发展简史

1.1.1 病毒的发现及病毒学的诞生

考古学发现,古埃及第18代王朝时代(公元前1400年)的浅浮雕像上一位祭司萎缩的右腿,是典型的小儿麻痹后遗症,说明是脊髓灰质炎病毒病所致。死于公元前1196年的Pharaoh Ramses V,其干尸(现存于开罗博物馆)的面部瘢痕显示死者生前曾患过天花病。病毒病的文字记载数我国最早。公元前500年左右的《左传》一书中,就记述了“国人逐疯犬”、防“疯病”,即驱逐狂犬、防治狂犬病毒引起的疾病。东晋名医葛洪(284—364)著的《肘后方》详细记载了天花病病例。公元10世纪,我国北宋时期已开始用痘接种法以预防天花,至16世纪明代嘉庆年间已广泛应用。清初张璐在其《医通》(1695)也记载有种痘法。吴谦编著的《医宗金鉴》(1793)已总结出浆苗、衣苗、旱苗、水苗共四种种痘法。以上表明,中华民族远在古代社会就已抒写了与病毒病斗争的历史篇章。这些种痘法外传英、俄、朝鲜等国后,对世界抗病毒医疗产生过巨大影响。1796年,英国医生Jenner才用牛痘接种预防天花。1884年法国Pasteur发明了狂犬病毒疫苗。

欧洲关于植物病毒病的最早记录是1576年Charles Lècluse记述的郁金香花斑。1634年—1637年,荷兰人对杂色郁金香特别偏爱,形成利用郁金香球茎大搞投机发财的“郁金香热”,殊不知这种杂色郁金香系植物病毒感染所致。1886年,法国农艺家Adolf Mayer发现并命名了烟草花叶病,但误以为是细菌所致。1892年,

俄国学者 Ivanovsky D 发现烟草花叶病的病原体能通过细菌滤器,不能在体外培养,显微镜下看不到。对此重大发现,他未寻根究底而轻易放过,误认为是细菌毒素致病。1898年,荷兰学者 Beijerinck M(1851—1931)独立重复了 Ivanovsky D 的实验。经过认真探索,他确认是一种比细菌更小的新的病原体,并定名为“Contagium Virum Fluidum”,意为“可溶的活的病原体”。同一年,Loeffler 和 Frosch 研究了牛、羊的口蹄疫,得出了相同的结论。他们分离的滤液,能以高的稀释度传代,能再现疾病,否定了毒素说,确认了新病原体。以上的研究被认为是病毒学研究的正式开端。

1683年, van Leeuwenhoek A(1632—1723)发明显微镜,发现了单细胞微生物。此后, Louis Pasteur(1822—1895)开创了微生物学。同时代的 Robert Koch(1843—1910)和 Joseph Lister(1827—1912)也作出了卓著的贡献。Koch 为证明某致病病原体,曾提出了四条准则:(1)病原体必存在于该疾病的每个病例;(2)该病原体必能从宿主中分离并能体外培养;(3)纯化的病原体培养物接种于健康而敏感的宿主时,该种疾病必能重现;(4)从被感染的实验宿主必能回收同样的病原体。这些准则被当时所公认,以致病理学家们无不确信,任何一种传染病均可借助显微镜找到病原微生物,且能被细菌滤器截留并能在培养基中培养。以上都是在当时的社会条件和科学水平上根据生产实践和防病治病的需要,总结出的科学实验经验和理性认识,至今仍有指导作用。由于 Pasteur L 和 Koch R 创建细菌学、病毒学,开发牛瘟病疫苗,他们共同荣获1905年诺贝尔生理学 and 医学奖。

1902年 Reed 经人体试验发现了黄热病毒,40多年后, Theiler M 确证了黄热病毒并成功地开发了减毒疫苗而荣获1951年诺贝尔生理学 and 医学奖。1908年 Ellerman 和 Bang 报道了鸡白血病滤液有传染性。1911年 Rous F P 发现了鸡的肉瘤的无

细胞滤液可传染健康鸡致恶性肿瘤,于1966年荣获诺贝尔生理学 and 医学奖。1909年 Landsteiner 分离到脊髓灰质炎病毒。1949年, Enders J F 等发明单层细胞培养法培养脊髓灰质炎病毒并成功地获得其灭活疫苗。为此他荣获了1954年的诺贝尔生理学 and 医学奖。他们对人和动物病毒的深入研究,奠定了医学病毒学基础。

细菌病毒发现得较晚,但研究较为深入。1915年, Twort 报道了培养中的微球菌由混浊而变得清彻透明。当时,他力图培养天花的病原体但污染了微球菌,后来微球菌菌落呈玻璃样透明。经最好的滤器过滤,滤液能重复上述变化。Twort 提出两种解释:一是可能存在细菌病毒,二是分泌了溶解细胞的酶。1917年, D'Herelle 报道痢疾病人的粪便滤液可使痢疾杆菌的肉汤培养物变得清彻透明,并称之为 bacteriophage, 即噬菌体。至1934年, Schlesinger M 获得了纯化的噬菌体,从此奠定了细菌病毒学基础。

发现昆虫病毒病的历史同样悠久。12世纪中叶,我国著名的《农书》(陈旉, 1149年版)记有家蚕“高节”、“脚肿”症状。黄省曾的《蚕经》描述病蚕“游走而不安泊”最后“放白水而死”(徐光启, 1639)。《广蚕桑说辑补》(沈公练, 1862)中载,病蚕“脚下有白水者,宜即去之,勿使他蚕沾染”,“一沾其足流之水,立时成白肚”。这显然是家蚕感染核型多角体病毒所致的“脓病”。1856年, Maestri 观察到患脓病家蚕的血液内有粒状体;1872年 Bolle 首次将其命名为多角体。德国 Prowazek V 于1907年发现脓病蚕的滤液有感染性,5年后才确认其病原体是病毒。1947年 Bergold 用理化方法分离到病毒并回感成功,奠定了昆虫病毒学基础。至1986年,已在11个目900余种昆虫中发现了1300余种昆虫病毒,其中我国首次发现的达104种之多。

1.1.2 病毒学研究的生物化学时代

随着新的病毒不断被发现,病毒学家们将各种理化方法引入

病毒传播方式及病理效应的研究之中。早期的病毒生化研究,普遍认为蛋白质变性剂、氧化剂、甲醛、强酸、强碱以及高温、辐射对病毒有害,而中性 pH、低温、蛋白质的温和变性剂对病毒无害。加上病毒的免疫学、结晶学方面的研究成果,使人们初步认识到病毒的化学本质是核蛋白。

1928年—1929年,Thompson B 研究所 Purdy 比较研究了健康烟草与患花叶病烟草(系 TMV 感染)提取物的血清学,发现:①花叶病植株中有一种特异抗原成分;②TMV 抗血清能中和病株提取物的侵染能力;③抗原含量与侵染力(病斑数)有定量关系。1930年—1933年松本(Matsumoto)等做了 TMV 提取物更为广泛的免疫学研究。当时普遍认为自然界中的抗原物质是蛋白质,而花叶病植株中的抗原物质,很可能就是病毒本身。1927年—1931年,Vinson 和 Petre 用藏红染料、乙醇或丙酮沉淀花叶病株抽提物,使沉淀含氮量大增,在电场中的泳动行为同已知的蛋白质,初步显示其蛋白质的特性。

用过滤法测出 TMV 的直径约 30 nm,但当时不知其真面目。1932年,加利福尼亚大学的 Takahashi 和 Rawlins 用流动双折射法测定不对称胶体粒子时发现,感染 TMV 的烟草或蕃茄的抽提物与健康植株抽提物具有完全不同的特性:前者显示出与五氧化二钒胶体或棒状体悬液相同的双折射,后者不显示双折射;由此得出结论:所有证据表明 TMV 或与之相关的某些有规律的物质很可能是棒状颗粒组成的。

Stanley W M 关于 TMV 化学本质的研究,开创了病毒生化研究的新时代。1933年,Stanley 重复了 Vinson 和 Petre 的工作,他控制 pH 改变分离 TMV 的条件,利用几种结晶的蛋白水解酶,分析了化学试剂对病毒活性的影响。在一次关键性的实验中发现,在使 TMV 不太稳定的 pH 条件下,胃蛋白酶大大破坏了 TMV 的侵染活性,于是得出结论,即“TMV 是一种蛋白质,或与蛋白质密

切相关”。Stanley 还用普通的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 反复沉淀病叶滤液, 得出针状结晶物。该结晶体外观上与无机盐一样, 但其溶液有侵染性。即使反复结晶 10 次, 或将其稀释到 10^{-9} g/mL, 仍有侵染活力。经渗透压法和扩散法的初步测定, 该 TMV 相对分子质量达数百万。可以认为, 侵染性是该蛋白质完整分子固有的特性, 完全不同于一般无机盐晶体。1935 年, Stanley 在《科学》杂志上发表的论文指出: “TMV 是一种自催化的蛋白质, 目前姑且假定它的增殖需要活体细胞存在才行”。1936 年, Bawden 及 Pirie 等发现, 纯化的 TMV 含有磷元素和糖类, 且以核糖核酸形式存在, 热变性法可释放此核酸。这一发现被 Stanley 进一步证实, 并修正了原来的某些结论。他还和其他人一起分离了几种不同植物病毒的核蛋白。对 TMV 化学本质的研究大大推动了病毒生化、医学、生化遗传等相关学科的研究, 也促进了电子显微镜、超速离心机的研制。可以说, TMV 的重要性已远远超出了植物病毒本身。因此, 1946 年 Stanley 荣获诺贝尔化学奖, 以表彰他研究 TMV 所作出的划时代的贡献。后来, 研究者们用生物化学方法先后获得了蕃茄丛矮病毒、芸豆南方花叶病毒、芜菁黄花叶病毒、小鼠多型瘤病毒、脊髓灰质炎病毒等病毒的结晶。

1.1.3 病毒学研究的分子生物学时代

1953 年, Watson J D 和 Crick F 在 Nature 和 Cold Harbor Biol Lab 上发表文章, 指出了遗传物质是核酸, 提出了 DNA 的双螺旋右旋模型, 开创了分子生物学时代, 使生物科学发生了划时代变化, 同样, 也使病毒学研究进入了分子病毒学时代。

1932 年德国科学家 Ruska 和 Knoll 研制出世界上第一台电子显微镜, 被人们喻为“科学之眼”。1939 年西门子公司最早制造出 3 nm 分辨率的实用电子显微镜。

1940 年前后, 德国的 Kausche G A 和 Melchers G、美国的