

# 生物科学参考资料

第 四 集

科学出版社

# 生物科学参考资料

第 四 集

科 学 出 版 社

1 9 7 4

## 内 容 提 要

本书共收集了八篇论文。综述了 RNA 肿瘤研究、真菌病毒、中枢突触研究等方面的新进展;介绍了生物化学方法在动植物分类学中的应用,国外电子计算机在农林牧业中的应用的概况,以及国外生物学研究的一些动向。可供广大生物学、医学和农业工作者参考。

## 生 物 科 学 参 考 资 料 第 四 集

\*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝田门内大街 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

\*

1974 年 4 月第 一 版 开本: 787×1092 1/18

1974 年 4 月第一次印刷 印张: 5 4/9

印数: 0001—6,700 字数: 125,000

统一书号: 13031·221

本社书号: 371·13—6

定价: 0.60 元

只限国内发行

# 目 录

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| RNA 肿瘤病毒研究的新进展 .....        | 1  |
| 关于真菌病毒 .....                | 13 |
| 中枢突触研究的某些进展 .....           | 19 |
| 生物化学方法在分类学中的应用 .....        | 34 |
| 国外植物化学在分类学中的应用——化学分类学 ..... | 45 |
| 国外电子计算机在农、林、畜牧业中应用的概况 ..... | 61 |
| 细菌染色体 DNA 的复制 .....         | 75 |
| 国外生物学研究的若干动向 .....          | 84 |

# RNA 肿瘤病毒研究的新进展

肿瘤病毒在动物界存在是相当普遍的(如猴、牛、狗、猫、兔、大鼠、小鼠、地鼠、豚鼠、鸡、蛙等),而且可以由感染而传布。人类肿瘤是否也是由病毒的感染而引起,是医学界和生物学界多年来十分关切的问题。过去二十多年在探讨病毒引起肿瘤的各个学术领域中都累积了许多资料,在研究方法和技术方面也有很大的进步。因此对人类肿瘤的病毒病因问题,开始有了新的认识。

不同的 RNA 肿瘤病毒(亦称为生癌 RNA 病毒),已知的约 100 种,它们的结构和生物学性质很类似。在所有的 RNA 肿瘤病毒中,以禽类和小鼠的白血病肉瘤病毒两组的病理学和流行病学的研究较详细。最近在小鼠乳腺癌方面的研究也有发展。在禽类和小鼠的白血病肉瘤病毒两组中,每一组都含有白血病毒和肉瘤病毒。白血病毒仅仅能够在细胞中繁殖而不使它所感染的细胞转变为癌细胞,肉瘤病毒既能在细胞中繁殖又能使细胞转变为癌细胞。这是 RNA 肿瘤病毒的一个特点。

根据近年来的研究进展来看, RNA 肿瘤病是特别重要,因为这些病毒在小鼠和小鸡中引起的白血病和肉瘤,与人类白血病和肉瘤的性质很相似。在人类乳腺癌中亦已找到类似病毒的颗粒和小鼠乳腺癌中所见很相似。所以这些动物病毒是研究人类肿瘤病毒病因的良好动物模型,同时亦是研究病毒基因的信息传递的适宜材料。

下列实验可显示 RNA 肿瘤病毒感染细胞的特点 (SA\*, 226, 25, 1972):

1. 在正常细胞中 RNA 的合成是以 DNA 的核苷酸排列顺序为 RNA 结构的模板。当在细胞培养液加了放线菌素 D 之后,由 DNA 模板合成 RNA 的作用就被抑制了。但此抗菌素不能抑制由 RNA 为模板合成 RNA 的作用。所以用一般 RNA 病毒感染这个细胞培养,在有放线菌素 D 存在时, RNA 病毒的 RNA 合成并不受抑制。在相同的情况下,用 Rous 肉瘤病毒 (RSV) 感染细胞, RSV 的合成就被抑制了。说明 RSV 的 RNA 合成,并不象一般 RNA 病毒那样是以 RNA 为模板,而是有一个经过以 DNA 为模板的过程。

2. RSV 加到正常分裂的细胞培养中,细胞发生转变,继续分裂并产生新的 RSV。如果在加入 RSV 时,加入 DNA 合成的抑制物,此细胞即不被感染,也不分裂。说明细胞中 DNA 合成被抑制,也抑制了 RSV 的 RNA 合成。现在用静止(即不起分裂)的细胞作实验,这种细胞只有在加入血清后,才发生正常的细胞分裂。用 RSV

\* 资料来源缩写: ARB (*Ann. Rev. Biochem.*), BBRC (*Biochem. Biophys. Res. Commu.*), CR (*Cancer Res.*), IJC (*Intern. J. Cancer*), JNCI (*J. Nat. Cancer Inst.*), N (*Nature*), NNB (*Nature New Biol.*), PNAS (*Proc. Nat. Acad. Sci.*), S (*Science*), SA (*Sci. Amer.*), TRBM (*Texas Rpt. Biol. Med.*), V (*Viol.*).

感染这种细胞,既不发生细胞转变,也不产生新的 RSV 病毒颗粒,只有在加入血清之后,细胞起转变,继续分裂,并产生新的病毒颗粒。可是在用 RSV 感染的同时,加了 DNA 合成的抑制剂,细胞就不被感染,只有在移去 DNA 合成的抑制剂,并加血清后,细胞起分裂,但无转变,亦不产生新的病毒。这些实验表明在 RSV 感染细胞后,有新的病毒 DNA 的合成,与正常的细胞 DNA 的合成情况不同,可见病毒 RNA 的合成,必定与新的病毒 DNA 的合成有关系。

3. 用静止细胞培养,加入 5-溴脱氧核糖尿嘧啶 (5-BrdU) (这是与 DNA 的一种组分脱氧核糖胸腺嘧啶同系的化合物), 5-BrdU 就并入到 DNA 的结构中,这样的 DNA 对光线敏感,在光线照射下就失去 DNA 的生物活性。用 RSV 感染这种细胞,只有在无光线的情况下,细胞加了血清,才起分裂,转变为肿瘤细胞,并产生新的病毒颗粒。如果将同样处理的细胞暴露在光线之下,加血清后,细胞虽能分裂,但不转变,也不起病毒的复制。这些实验说明细胞中原有的 DNA 不受 5-BrdU 的影响,而新合成的病毒 DNA 中有了 5-BrdU 的组分,因受光线的作用而失活,所以不能合成病毒 RNA。

## 一、RNA 肿瘤病毒的分子病毒学

从上述实验可以看出要解决 RNA 肿瘤病毒的发病原理,首先对这种病毒本身的研究,主要是它的分子病毒学研究是十分必要的。

### (一) RNA 肿瘤病毒的组分和结构

RNA 肿瘤病毒一般呈球状颗粒。从电子显微镜下观察病毒的切片, Rauscher 白血病病毒 (RLV) 在固定后用醋酸铀染色,可见它是一个圆形有膜包裹的结构。中间有较紧密的所谓“似核质”。有时在“似核质”中可见有单股或双股盘成树茎年轮纹状的亚结构。这种亚结构可以从似核质中释放出来。这些释放出来的带状物的长度为 1.18 微米,密度为 1.343 克/毫升,具有核蛋白的性质 (V. 46, 277, 1971)。Rous 肉瘤病毒亦是球形的颗粒,外面是一层含脂糖的蛋白质的膜,里面为“似核质”,含有 RNA 和蛋白质。在膜和“似核质”之间,还有一层含蛋白质的内膜。在电子显微镜下常常可以观察到病毒成熟时从细胞膜向外突出,如发芽状。因此病毒外膜有可能具有细胞膜的性质。

RLV 颗粒的平均直径为 1470 Å, 平均密度为 1.226 克/毫升。RSV 颗粒的直径约为 1000 Å。利用病毒颗粒的大小和密度,可以采用密度梯度超速离心法将之分离和提纯,便于对病毒作深入的研究。

此外,在几种病毒形态的比较观察中,可以看到经磷钨酸钠染色的小鼠 RLV 和猫白血病病毒颗粒的表面形态都呈光滑状,而禽类成髓母细胞病病毒 (AMV) 的外膜则有突出物,但不如乳腺癌病毒外膜上突出物排列那样规则。经过冰冻和乙醚处理病毒颗粒的外膜起变化,磷钨酸便易于透入,病毒外膜虽无破裂,而内部结构则受损



伤,可以看到其中有 30 Å 的丝状结构,具有核蛋白性质(V. 42, 1152, 1970)。

## (二) RNA 肿瘤病毒颗粒中的核酸

决定一种病毒感染特性的基本物质是病毒的核酸,更明确地说,是因为病毒核酸具有结构上的特点,反映了病毒作用的特异性。由此可以提出两个问题:(1) RNA 肿瘤病毒的 RNA 有什么特点?(2) 这种 RNA 是怎样合成的?

(1) RNA 肿瘤病毒的 RNA 分子的大小约在 67-74S 之间。小鼠白血病病毒 (MLV) 的 RNA 是单股核苷酸链,分子大小为 70S (V. 45, 586, 1971), 在 0.2M 盐液中为 73S (PNAS. 55, 438, 1966), 在 0.1 M 盐液中为 74S (PNAS. 55, 219, 1966)。禽类成髓母细胞病病毒的 RNA 和小鼠肉瘤病毒 (MSV) 的 RNA 都是单股核苷酸链,它们的核碱组成和沉降行为都相似 (PNAS. 54, 1686, 1965)。最近发现 MSV 和 AMV 的 70S RNA 的基因组中有多腺苷酸的排列 (约为 100—200 个腺苷酸连在一起), 和非生癌病毒的 RNA 比较,前者的多腺苷酸比后者多 25—50 倍 (PNAS. 69, 417, 791, 1972)。这样的结构有什么生物学意义,目前还不知道,仅知在核 RNA, 信使 RNA 和病毒 RNA 的结构中都有多腺苷酸的排列 (NNB. 238, 111, 139, 1972; PNAS. 69, 791, 1972)。从 AMV 所感染的细胞中在 65°C 下提取的具有高效能(指合成蛋白质)的 RNA 的核碱组成和此细胞中 DNA 的核碱组成相似,由此可以认为此 RNA 符合于信使 RNA 的条件 (IJC. 2, 448, 1967)。

由于病毒中 RNA 的量极为微少,不能用提取再行裂解的方法来研究它的核苷酸排列。但采用分子杂交法就能够检验的人肿瘤中所含 RNA 核苷酸排列是否和已知的动物肿瘤病毒 RNA 的核苷酸排列相对应。如果一条 RNA 链上的核碱和另一条 RNA 链上的核碱绝大部分能相结合,就表示它们具有相同的结构。所以用人工方法将双股的 RNA 拆开成为单股链,然后将不同来源的两条单股 RNA 链放在一起保温,它们就此结合成为双股链(称为杂交链,以  $RNA_1$ - $RNA_2$  表示之),就说明  $RNA_1$  和  $RNA_2$  具有成对应的核苷酸排列。RNA 亦可和 DNA 形成杂交链(以 RNA-DNA 表示之)。如果动物肿瘤病毒 RNA 能够和人的白血病细胞中 RNA 成杂交链,就可以认为这个人的白血病有可能是由动物肿瘤病毒所引起。不妨设想在人的细胞中还没有观察到有病毒颗粒的存在时,而已经查出细胞中有了病毒核酸,这也可给病毒病因提供线索。分子杂交技术是相当灵敏的,但要求的精确度亦很高,近年来这个技术颇有发展。

(2) RNA 肿瘤病毒中的 RNA 是怎样合成? 这个问题多年来没有解决。因为根据所谓“中心法则”来看,要合成这类病毒的 RNA 就缺乏 DNA 模板。在 1970 年末发现在 RNA 肿瘤病毒中有一种依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶,即由 RNA 指导的 DNA 聚合酶,(兹简称为 RNA/DNA 聚合酶,亦即下文所说的反向转录酶)。它的特点是以病毒的 RNA 为模板来合成一条 DNA 链的酶活性 (N. 226, 1209, 1211, 1970; N. 228, 1255, 1970)。因此新合成的 DNA 链上核苷酸排列和病毒 RNA 链上的核苷酸排列是相对应的,也就是通过形成 RNA-DNA 杂交链的方式合成这条

DNA 链。由这条 DNA 链再合成新的病毒 RNA。由此可见 RNA 肿瘤病毒之所以能起它的特异作用,主要是因为具备这种 RNA/DNA 聚合酶的活性。一般认为这种 RNA/DNA 聚合酶活性是 RNA 肿瘤病毒所特有的,所以在一细胞中如发现 RNA/DNA 聚合酶的活性,这个细胞中就有 RNA 肿瘤病毒存在的可能性,因此这种特异酶活性的研究和利用,是探讨 RNA 肿瘤病毒引癌的很有意义的工具。

## 二、反向转录

自从所谓“中心法则”(即遗传信息只能从 DNA 传递到 RNA,再由 RNA 传递到蛋白质的概念)发表以来,它对蛋白质生物合成,核酸的结构、合成和功能,噬菌体的作用,遗传基因学说的发展等方面都起了很大的推动作用,过去二十多年中分子生物学的突飞猛进,也可以说是受了“中心法则”一定程度上的引导。现在发现了以 RNA 为模板来合成 DNA 的聚合酶以后,原来从 DNA 到 RNA 的转录过程就得颠倒过来,所以称为反向转录,催化这个过程的酶也就被称为反向转录酶。这个发现并不使“中心法则”的概念失效,反而丰富了遗传信息传递的知识内容。过去对 RNA 肿瘤病毒的复制和感染作用很难解释,现在这些问题的解决是有路可循了。反向转录酶的发现是分子生物学的一个新问题,看来对于肿瘤病毒学、细胞生物学,遗传学等的发展,关系十分密切。

### (一) RNA 肿瘤病毒中反向转录酶的特性

1. 模板的利用: 来源于各种病毒的反向转录酶都是以 RNA 为模板的,它能把四种脱氧核糖核苷三磷酸聚合成 DNA 链,而不能利用核糖核苷三磷酸。所合成的产物能被脱氧核糖核酸酶 (DNAase) 所降解,证明产物确实是 DNA。反向转录酶能被利发霉素 (Rifamycin) 和它的一些衍生物所抑制 (N. 228, 927, 1970), 而不被放线菌素 D 所抑制,放线菌素 D 只能抑制以 DNA 为模板的 DNA 聚合酶 (N. 228, 433, 1970)。利用这些抑制实验可以区别这两种不同的 DNA 聚合酶。

将四种脱氧核糖核苷三磷酸 (其中一种预先用放射性同位素标记,常用的是 [ $^3\text{H}$ ]-胸腺嘧啶核苷三磷酸), 和一点镁离子, 加到病毒颗粒的提取物 (其中有 RNA 模板和反向转录酶) 中一起保温, 然后将合成的 DNA 分离出来, 测定它的放射比活性, 以此衡量病毒中反向转录酶的活性。由于病毒颗粒中原有的 RNA 量很少, 模板功能不够有效, 以致不能充分反映上述提取物中反向转录酶的全部活性。如用人工合成的 RNA 或 DNA 或 RNA-DNA 杂交链作为模板, 加入上述保温混合液中, 产物 DNA 的放射比活性就大大地增加, 其中以 RNA-DNA 杂交链, 如多 (dc)·多 (rG) (即多脱氧核糖胞嘧啶核苷酸链与多核糖鸟嘌呤核苷酸链相结合的杂交链) 的模板效果较好。在比较六种 RNA 病毒的反向转录酶活性的实验中, 都显示采用人工合成的核酸模板, 比天然的核酸模板效能更好 (N. 228, 430, 1970)。

在人类白血病的血浆中和在白血病细胞的提取物中曾发现有一种能用多 (dT)·



多(rA)为模板的聚合酶活性,和一种能用多(dc)·多(dG)为模板的聚合酶活性。前一种酶活性只限于在肿瘤细胞中,而后者在增殖的细胞中亦能找到。所以从利用人工合成模板这一点看,肿瘤细胞中的反向转录酶活性似乎和非恶性的增殖细胞中的这种酶活性有区别。这样看来,使用人工合成的杂交链是比用天然的模板为优越,可以大大提高测定反向转录酶活性的效率,有利于在很少数量的病毒颗粒中寻找此种酶是否存在,而且还可以由此鉴别不同来源反向转录酶的特征。

可是,因为测定反向转录酶活性效率提高了,这个测定法就广泛应用于各种细胞的探讨,结果发现在一般肿瘤细胞(即认为不是由病毒感染所引起的)(N. 237, 499, 1972),甚至在正常细胞(没有肿瘤病毒存在的)中(PNAS. 69, 452, 1972; N. 237, 499, 1972),都有反向转录酶活性的存在。因此使人设想凡是能够利用人工合成的RNA-DNA模板而测出的酶活性,并不都是反向转录酶。那末是不是否定了反向转录酶活性和RNA肿瘤病毒的特异关系呢?为了澄清这个问题曾经有人进行了下述的实验(NNB. 231, 163, 1971):他们用一系列的柱层析法将Rauscher MLV的反向转录酶进行提纯。又从小鼠胚胎细胞的BALB/C细胞株而来的BALB/3T3细胞株中提取了两种DNA聚合酶,和经小鼠肉瘤病毒感染而转化的BALB/3T3细胞中提取了两种DNA聚合酶和反向转录酶。采用了三种模板,一是小牛胸腺DNA,二是合成的多(dT)·多(rA),链长约100个核苷酸,三是合成的多(dT)·多(rA),链长12—18个核苷酸。实验结果见表1。此结果显示只是在细胞BALB/3T3经病毒(MSV)转化之后,才出现具有肿瘤病毒的反向转录酶。正常细胞(BALB/3T3)和转化细胞(BALB/3T3(MSV))虽有一种DNA聚合酶和反向转录酶相似,即都能利用这三种模板,但它们的柱层析行为及免疫性质和反向转录酶不同,所以RNA肿瘤病毒的反向转录酶是具有它的特异性。

表 1

| 号数 | 来 源                    | 酶         | 抗层析行为   | 兔抗血清 | 小牛胸腺<br>DNA | 合成多(dT)·<br>多(rA)<br>(>100) | 合成多(dT)·<br>多(rA)<br>(12—18) |
|----|------------------------|-----------|---------|------|-------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1  | Rauscher MLV           | 反向转录酶     |         | 抑 制  | 能利用         | 能 利 用                       | 能 利 用                        |
| 2  | 正常细胞:<br>BALB/3T3      | DNA 聚合酶-1 | 和 1 号不同 | 不抑制  | 能利用         | 不能利用                        | 不能利用                         |
| 3  |                        | DNA 聚合酶-2 | 和 1 号不同 | 不抑制  | 能利用         | 能 利 用                       | 能 利 用                        |
| 4  | 转化细胞:<br>BALB/3T3(MSV) | DNA 聚合酶-1 | 和 1 号不同 | 不抑制  | 能利用         | 不能利用                        | 不能利用                         |
| 5  |                        | DNA 聚合酶-2 | 和 1 号不同 | 不抑制  | 能利用         | 能 利 用                       | 能 利 用                        |
| 6  |                        | 反向转录酶     | 和 1 号相同 | 抑 制  | 能利用         | 能 利 用                       | 能 利 用                        |

另一个类似的实验(S. 176, 798, 1972):用禽类成髓母细胞病病毒, Mason-Pfizer 病毒(M·PV),大肠杆菌和正常人白血球提取的DNA聚合酶进行比较实验,用了两种人工合成的杂交链:(dT)·(dA)<sub>12-18</sub>, (dT)·(rA)<sub>12-18</sub>这两种病毒,AMV和M·PV的DNA聚合酶能够较好地利用(dT)·(rA)<sub>12-18</sub>,而大肠杆菌和人白血球的DNA聚合酶能较好地利用(dT)·(dA)<sub>12-18</sub>,说明病毒的DNA聚合

酶(反向转录酶)和细菌与白血球细胞的 DNA 聚合酶的性能还是有区别的。

表 2

| DNA 聚合酶 | 并入 20 微升反应混合物的脱氧分子/30 分钟  |                           | 比例: $\frac{(dT) \cdot (dA)_{12-18}}{(dT) \cdot (rA)_{12-18}}$ |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------------|
|         | $(dT) \cdot (dA)_{12-18}$ | $(dT) \cdot (rA)_{12-18}$ |                                                               |
| AMV     | 0.023                     | 0.400                     | 0.058                                                         |
| M-PV    | 0.005                     | 0.190                     | 0.026                                                         |
| 大肠杆菌    | 14.6                      | 1.00                      | 14.6                                                          |
| 人白细胞 I  | 0.104                     | 0.006                     | 17.3                                                          |
| 人白细胞 II | 0.274                     | <0.001                    | >274                                                          |

由此看来用合成模板来检查一种 DNA 聚合酶是否具有反向转录酶的特性是有用的,但不能用它来代替天然的病毒 RNA 模板来发现细胞或病毒中反向转录酶的存在,所以任意地使用非特异性的合成模板,可以导致把其他 DNA 聚合酶误认为反向转录酶的错觉。

2. 引导物的作用: 在 AMV 和 MLV 的 DNA 聚合酶以多核糖核苷酸链为模板的反应中,加入一个和模板核苷酸链相对应的寡脱氧核糖核苷酸短链,模板的效能就会大大地促进(PNAS. 68, 1507, 2505, 1971)。虽然多(dT)·多(rA)模板能够非常灵敏地显示出 DNA 聚合酶的活性,但缺乏特异性,所以用它不能明显地区别病毒和细胞的 DNA 聚合酶(S. 176, 798, 1972)。如果用多(dA)·寡(dT)<sub>12-18</sub>或多(rA)·寡(dT)<sub>12-18</sub>,这些 DNA 聚合酶的特性就可以区别了。病毒的反向转录酶能较好地利用多(rA)·寡(dT)<sub>12-18</sub>,而大肠杆菌和正常人白细胞的两种 DNA 聚合酶则能较好地利用多(dA)·寡(dT)<sub>12-18</sub>。白细胞的 DNA 聚合酶和多(rA)·寡(dT)<sub>12-18</sub>几乎没有作用。在应用外来模板时,反向转录酶又可以用 RNA 为引导物(N. 233, 237, 1971)。所以引导物的作用是发动 DNA 的合成。引导物和模板以氢键相结合后,引导物的 3'-羟基和第一个脱氧核糖核苷酸上的 5'-α-磷酸根之间形成了一个磷二酯键(NNB. 235, 163, 1972)。DNA 链就此延伸。

3. 杂交链的形成: 经反向转录酶的作用而合成的 RNA-DNA 杂交链(NNB. 233, 131, 1971)。这是用单股的病毒 RNA 链为模板而合成的(N. 227, 563, 1970)。这个杂交链上的两股核苷酸链的排列是成对应的。这个杂交链是病毒复制和细胞转变一系列复杂过程的初步产物。从分子杂交实验结果看这种 DNA 产物具有明显的种属特异性(小鼠、地鼠、猫、毒蛇),就是说 C 型病毒的反向转录酶形成的 DNA 产物和不同种属的 RNA 肿瘤病毒的 RNA 进行交叉杂交实验,可以观察 DNA 产物结构上有差别(PNAS. 68, 10, 1971)。

## (二) 反向转录酶及 RNA 肿瘤病毒复制和细胞转变的关系

RNA 肿瘤病毒感染细胞后,发生两方面的生物化学变化: 一是 RNA 肿瘤病毒的繁殖,包括病毒 RNA 的合成和蛋白质合成;二是 RNA 肿瘤病毒使细胞发生病理变化,形成转变细胞。两者都需要以通过反向转录酶的催化作用而合成的 DNA 初

步产物为起点,由此发生一系列的生物化学反应。

在 RNA 肿瘤病毒的复制中, DNA 的信息来源于病毒的 RNA, 然后这个 DNA 反过来又作为新的肿瘤病毒 RNA 合成的模板。通过杂交实验证明了新合成的病毒 RNA 的核苷酸组成和原来的病毒 RNA 的核苷酸组成是完全相同的 (NNB. 231, 90, 1970), 说明了所合成的 DNA 具备了完整的病毒基因组(这就是病毒遗传物质的复制)。此外, 这个 DNA 的另一部分基因有可能转录为信使 RNA, 以此来合成 RNA 肿瘤病毒的蛋白质。在这过程中病毒也利用了细胞的核膜微粒和一些可溶性因子来进行蛋白质合成的。然后病毒 RNA 和病毒蛋白质在细胞膜上汇合而成为病毒颗粒 (PNAS. 69, 1036, 1972)。

在转变细胞形成的过程中, 所合成的 DNA 的另一部分基因需结合到细胞的染色体的 DNA 链上去, 由此合成病毒 RNA 的亚单位, 通过和聚核膜微粒的联系, 最后成为转变细胞。这个过程是很复杂的, 目前还不清楚 (PNAS. 69, 1036, 1972)。

上述这两套基因组(病毒复制和细胞转变)是可以分开的。根据近年来的研究可以将这两个过程概述为如下的步骤。

(1) 单链的肿瘤病毒 RNA (70S) 在反向转录酶的催化作用下合成了初步产物 RNA-DNA 杂交链。

(2) RNA-DNA 杂交链上 RNA 链被分解, DNA 链则被保留下, 分解 RNA 链的酶, 曾于 AMV 中找到, 称为 RNA 酶 H (NNB. 234, 240, 1971)。于是单链 DNA 经依赖于 DNA 的 DNA 聚合酶 (DNA/DNA 聚合酶) 的作用而合成了双链 DNA。这种 DNA/DNA 聚合酶已经在 RSV (N. 228, 424, 1970), HeLa 细胞和 WI-38 细胞中找到 (NNB. 231, 167, 1971)。

(3) 因为从 RNA-DNA 杂交链保留下来的 DNA 是较短的脱氧核苷酸单链, 所以形成的 DNA 双链亦较短, 需要 DNA 连结酶将这些 DNA 链的自由末端连结起来, 这种酶也在 RSV 中找到了 (NNB. 230, 232, 1971)。至此 DNA 双链的作用就分别在病毒复制和细胞转变这两方面进行。

在病毒复制方面: 通过 DNA/RNA 聚合酶的作用合成了具有病毒 RNA 基因的 35S 和 20S 的 RNA 分子 (S. 176, 1418, 1972)。

这两种 RNA 分子 (35S 和 20S) 也许再结合成为 70S 的 RNA 分子。同时这些 RNA 分子也可能提供合成病毒蛋白质的信使 RNA 的基因。然后病毒 RNA 和病毒蛋白质汇合起来成为成熟的病毒颗粒, 据分析, 在一些细胞中, 核里含有 5% 的病毒 RNA, 而在细胞质中只有 0.5—1.0% (NNB. 230, 229, 1971), 说明病毒 RNA 是在核中合成的, 然后部分转到细胞质中。

在细胞转变方面: DNA 双链病毒基因并合到细胞染色体的 DNA 中去。根据一般 DNA 合成的概念, 这个步骤的完成, 须先将 DNA 长链开一个缺口, 依靠 DNA 内解酶将 DNA 长链的一部分切出较短的片段, 再依靠 DNA 外解酶将露出来的链末端的核苷酸一个个地切下来, 这样就成为缺口。这两种核酸分解酶已在 RSV 中找到 (NNB. 230, 232, 1971)。然后 DNA 双链病毒基因就能塞进细胞染色体的 DNA

链中,使染色体 DNA 含有病毒 RNA 的基因组了。

再通过 DNA/RNA 聚合酶的作用,合成了 35S 的 RNA 分子(病毒 RNA 的亚单位)。于是 RNA 肿瘤病毒的信息传递按“中心法则”的程序进行,形成了转变细胞。20S RNA 分子并不参加蛋白质的合成。可见仅是一部分病毒基因在转变过程中表达出来(PNAS. 69, 1036, 1972)。

通过上述一系列反应,对 RNA 肿瘤病毒的感染机制大致可以得到一个轮廓的概念了。

### (三) 反向转录酶在生癌作用中的重要性

以上所述确实证明 RNA 肿瘤病毒的 RNA 是生癌的基因物质,但是仅有这种 RNA,而没有传递这种基因的酶,生癌作用也不能发生。所以反向转录酶是使细胞转变的一个关键因素。用下述实验很可以说明这个问题。有人曾从 Rous 肉瘤病毒中分离出一个变种,象野生病毒,完全没有感染性,不能使小鸡的成纤维细胞转变,后来发现这种变种病毒中没有反向转录酶(V. 43, 313, 1971)。如果用这个肉瘤病毒的变种加上一个禽类白血病病毒再来感染小鸡的成纤维细胞。于是这个细胞就能被转变,并产生能使下一代成纤维细胞转变的肉瘤病毒。但是这个下代转变细胞不再产生感染性的肉瘤病毒后代,而产生一个和原始相同的变种。怎样来解释这种结果呢? 因为变种缺乏反向转录酶,所以无感染性,因之不能使细胞转变;跟白血病病毒混在一起后,肉瘤病毒变种能够借用白血病病毒的反向转录酶使细胞转变,同时又复制具有感染性的后代。这个具感染性的肉瘤病毒的后代还有使成纤维细胞转变的能力,但由此而产生的转变细胞,则不能产生有感染性和有转变能力的肉瘤病毒了,所以又回复到原来的变种。这是因为肉瘤病毒的基因组不能得到它自己的反向转录酶的配合。由这些实验可以认为反向转录酶对于形成转变细胞和产生有感染性的病毒是很重要的。

## 三、人类肿瘤病毒病因问题

动物的肿瘤病毒,除了在动物肿瘤组织切片中用电子显微镜可以观察到之外,还必须用所分离出来的病毒颗粒注入健康的动物体中,使发生同样的肿瘤,加以证实。这种接种方法不能施用于人类,因此人类肿瘤病毒病因,即使在肿瘤组织切片观察到有类似病毒的颗粒,往往不能就此作出肯定的结论。目前由于病毒引起肿瘤的研究有了较大的发展,使人们认识到即使不能使用直接方法(如在人体做接种实验),采用各种不完全直接的方法,互相说明补充,未始不能为人类肿瘤病毒病因的存在,提供确切的证据。

关于人类 DNA 肿瘤病毒,现在已知的有所谓 Burkitt 淋巴瘤中疱疹病毒,中国人的鼻咽癌可能也是由这种病毒所引起。在人类子宫颈癌中曾发现有疱疹病毒,称为疱疹简二型病毒 (ARB. 39, 701, 1970),本文不拟介绍。

## (一) 人类乳汁中 B 颗粒的研究

1. 形态观察: 在人类乳汁中曾发现和小鼠乳腺癌中所见的一种病毒颗粒所谓 B 颗粒(外面有两层膜,内部是染色较深的似核质)很相似。(JNCI. **35**, 549, 1965)。有人报导在 75 个乳汁样品中有 5 个样品含有 B 颗粒(TRBM. **27**, 1027, 1969),在深入调查后,发现在 156 个无乳腺癌家族史的乳汁样品中只有 7 个样品见有 B 颗粒(占 5%),在 10 个有乳腺癌家族史的美国妇女中有 6 人的乳汁有这种颗粒(占 60%),又在 46 个有乳腺癌家族史的印度妇女中有 18 人的乳汁亦发现有这种颗粒(占 39%)。因此可以认为人类乳汁中 B 颗粒的存在和发生乳腺癌的关系较为密切(N. **229**, 611, 1971)。而在另一报导中观察了 263 个美国妇女的乳汁并进行了分析,其中含有 B 颗粒的有 188 个样品。这些颗粒的形状并不完全相同,有的在颗粒的表面有钉状物,有的颗粒带一尾巴,如果按有无乳腺癌家族史来分组;在有或无家族史的两组中,不同形状 B 颗粒的分布情况很相似。因此在较广泛调查分析之后,感到原先认为 B 颗粒的存在和乳腺癌发生的关系,在小鼠中虽可证实,而在人类中未必适用(N. **236**, 103, 1972)。报告人认为鉴定 B 颗粒亦存在着技术上的差错和识别 B 颗粒的不易,所以不能遽下结论。虽然如此,在人乳中找到与小鼠 B 颗粒结构近似的颗粒是千真万确的,因此也不能完全否定上述的关系。但是仅凭形态的观察来鉴定一种病毒是不够的。

2. 免疫反应: 病毒颗粒的外膜主要是蛋白质。每种病毒的外膜蛋白质具有独特的结构,所以应用免疫反应,可以反映某一种病毒蛋白质的特异性,从而检验这种病毒是否存在。例如,利用交叉中和实验,可以检查乳腺癌患者血清中有由病毒蛋白质形成的中和抗体的存在,而在正常人血清中就没有这种抗体。这个结果指出人类乳腺癌和小鼠乳腺癌有共同的抗原,说明都是由相同的病毒蛋白质而来的,从而支持了上述在电子显微镜下所观察的结果(N. **229**, 611, 627, 1971)。最近报导用免疫电子显微镜法的新技术来研究细胞中的病毒颗粒;用免疫扩散试验检查不出的某些特异抗原,而采用免疫铁蛋白技术和固定免疫荧光试验就能检查出来了(N. **234**, 412, 1971)。所以利用免疫反应来检查病毒也是有发展的。仅仅依靠形态观察和免疫反应的结果还是难以下最后的结论,因为当细胞中只有很少数的病毒颗粒时,往往易于遗漏,又因血清是一个非常复杂的蛋白质混合物,如果混杂了少量的病毒蛋白质片段,或经改变的类似结构,虽都能呈现所谓特异的免疫反应,但不能就此来说明病毒颗粒的存在。

3. 理化性质: 从病毒颗粒的密度和它所含 RNA 的分子量的测定,也是检查人的乳腺癌中病毒是否存在的一个指标。用密度梯度超速离心法来纯化人乳中的 B 颗粒,并查出它和小鼠乳腺癌的病毒颗粒的密度都在 1.17—1.19 克/毫升的范围内。又人乳汁 B 颗粒和小鼠乳腺癌病毒 RNA 的分子量都在 60—70S 之间。这就说明这两种不同来源的病毒的物理性质很相近似。

4. RNA 的结构: 采用分子杂交技术可以检查人类乳腺癌是否有生癌病毒的存在。用从人乳腺癌细胞提取 RNA 和小鼠乳腺癌病毒的 RNA 进行杂交实验相对比

(N. 235, 32, 1972; PNAS. 69, 535, 1972), 发现这两种 RNA 能成对应, 说明这两种 RNA 链上的核苷酸排列相似, 因此可以认为它们的生癌功能相似。而在正常乳腺组织或良性乳腺炎的组织中就没有这种 RNA。由此可以认为从人乳腺癌细胞中提出的 RNA, 可能就是病毒 RNA, 至少说是在此 RNA 中含有病毒 RNA 的基因组。乳腺癌 RNA 和 Rauscher 白血病病毒 RNA 相对应的 DNA 则不能起杂交, 可见白血病病毒和乳腺癌病毒的关系不密切。

5. 反向转录酶: 在含有 B 颗粒的人乳汁中已经测出这种病毒具有反向转录酶的活性, 而在没有 B 颗粒的人乳汁就没这种酶活性 (N. 231, 97, 1971)。最近报导认为人乳汁中病毒颗粒和反向转录酶的关系还不能十分肯定, 因为样品例数较少, 而这种病毒颗粒有降解的情况 (N. 236, 103, 1972), 测定酶的方法, 尚在研究中 (N. 240, 17, 1972)。

从以上所述, 可以认为人类乳腺癌中有病毒存在的可能性。家族遗传似乎是这个疾病传播的一个因素。动物有从受精途径感染病毒的实验证据, 但在人类还没有这种资料。现在知道除小鼠外, 在一些猴子的乳腺癌中也找到了病毒 (CR. 30, 2081, 1970), 它的微细结构和小鼠乳腺癌病毒和 L 1210 病毒的相似 (PNAS. 68, 1603, 1971)。在这个猴乳腺癌病毒的血清学实验中 (PNAS. 68, 1608, 1971) 发现它至少含有两种病毒结构抗原, 这种病毒虽然能够在体外感染人类细胞, 但在血清学分析中不能显示出在人类肿瘤中有这种猴病毒抗原的存在。从这些数据看, 问题还是很复杂的。

## (二) 人类肿瘤中 C 颗粒 (C 型病毒颗粒) 的研究

1. 形态观察: 现已确定哺乳类动物的白血病病毒和肉瘤病毒具有相似的结构, 即所谓 C 型病毒颗粒。它的形态结构特征: 每个粗糙的球形颗粒含有似核质, 其中含有 RNA 和蛋白质结合的核蛋白。似核质是包在蛋白质的外膜中。C 型病毒的似核质位于病毒颗粒的中心, 而 B 颗粒的内部结构则呈偏心状 (V. 42, 1152, 1970)。近年来不断在人类肿瘤中发现 C 型病毒颗粒。1957 年曾从一个急性淋巴白血病患者的淋巴结中观察到和小鼠白血病肉瘤病毒相似的 C 型病毒颗粒 (TRBM, 15, 256, 1957)。最近在长臂猿的淋巴肉瘤中找到 C 型病毒 (NNB. 235, 170, 1972)。

2. 接种实验: 在人的横纹肌肉瘤细胞中曾分离出一种病毒, 称为 RD-114 病毒, 它具有哺乳类 C 型病毒的所有特征。这种病毒是将瘤细胞接种到猫胚胎后才得到的, 从而建立了 RD-114 细胞株, 它具有人类染色体组型 (NNB. 235, 3, 1972; NNB. 236, 147, 1972)。此外, 用 12 个人的骨肉瘤, 9 个纤维肉瘤和 4 个良性骨瘤的瘤细胞接种到地鼠体中, 有 6 个恶性肿瘤株建立成功, 用免疫荧光法检查出人肉瘤特异抗原的存在等实验, 都显示了人骨瘤中的生癌因子 (可能即病毒) 已经传到地鼠体中, 使之形成肉瘤 (NNB. 234, 127, 1971)。

3. 核酸结构: 人类白血病细胞的聚核糖微粒体的 RNA 能和禽类成髓母细胞癌病毒的 RNA 成对应; 人类肉瘤 RNA 和小鼠白血病肉瘤病毒的 RNA 成对应



(PNAS. 69, 435, 1972; S. 175, 182, 1972)。所以应用分子杂交法可以检查不同来源或不同类型的 RNA 核苷酸排列。

4. 反向转录酶: C 型病毒中的反向转录酶活性最是引人注意, 因为人们认为它是检查 RNA 肿瘤病毒最灵敏的工具, 这种酶只是在 RNA 病毒里才有, 具有一定的特异性, 但是需要区别 RNA 肿瘤病毒和不引起肿瘤的 RNA 病毒。

1970 年发现 Rauscher 小鼠白血病病毒和 Rous 肉瘤病毒中有反向转录酶后, 就在 40 个白血病患者的白血球中, 2 个骨肉瘤和 1 个软骨肉瘤的活组织中查出亦有这种酶的活性, 而在正常人血液和非恶性血液病患者的血液中完全查不出同样的酶活性 (N. 228, 1255, 1970)。自从这些发现公布之后, 动物肿瘤病毒中反向转录酶活性的测定就开展起来了, 目前至少有十几种的动物肿瘤病毒被研究过 (PNAS. 68, 182, 1613, 1971; PNAS. 67, 143, 1034, 1789, 1970)。特别对人类肿瘤在这个问题上的研究更受注意, 曾从一个人类急性白血病的细胞中找到类似 RNA 肿瘤病毒的反向转录酶, 但在正常血液中没有这种酶活性 (N. 228, 927, 1970)。最近报导在 23 例白血病细胞中, 几乎 95% 具有 70S 的 RNA 和反向转录酶 (N. 240, 72, 1972)。此外在人髓质真性瘤中找到反向转录酶, 而在视网膜真性瘤、神经真性瘤、眼恶性色素瘤中此酶活性较低, 在正常眼窝结缔组织、小脑和视网膜中就找不到这种酶活性 (BBRC. 46, 383, 1972)。

除了测定动物的肿瘤病毒和人类肿瘤中 C 型病毒中反向转录酶的活性外, 在若干非生癌病毒和正常动物和人类的组织细胞中也发现有类似反向转录酶的活性, 如猴的合胞体形成病毒 (所谓泡沫病毒) (N. 229, 258, 318, 1971), 正常大鼠胸腺和经小鼠白血病病毒感染的大鼠胸腺组织培养细胞中都能分离出 C 型颗粒, 密度均在 1.14—1.18 克/毫升, 并都有反向转录酶活性, 只是这两种来源不同的颗粒的血清反应不同 (NNB, 232, 256, 1971)。在 HeLa 细胞 (来源于人子宫颈癌) 和 WI-38 细胞 (来源于人胚胎肺组织) 中都检出有反向转录酶活性 (PNAS. 69, 452, 1972)。在正常大鼠肝和肝癌中亦都有这种酶活性 (N. 237, 499, 1972)。因此不同来源的反向转录酶的特异性尚待深入研究。

5. 免疫研究: 每种哺乳动物的 C 型病毒都具一种主要的种群特异抗原 (“gs” 抗原)。这种抗原的免疫特征是鉴定一个未知种属来源 C 型病毒的唯一的方法 (PNAS. 68, 901, 1971; V. 43, 722, 1971)。用聚丙烯胺电泳法可以将小鼠白血病病毒的结构蛋白质分为 5 个主要部分, 其中分子量为 28000 的部分显示是一种 “gs” 抗原 (V. 47, 1, 1972)。反向转录酶是一种病毒蛋白质, 可以和 “gs” 抗原分开, 小鼠病毒的反向转录酶的抗血清可以部分地抑制大鼠、猫和地鼠病毒的聚合酶, 但不能抑制禽类 C 型病毒和其他含病毒哺乳动物的反向转录酶 (PNAS. 68, 920, 1971)。所以 C 型病毒的反向转录酶的抗血清是提供区别病毒种属来源的方法。从一个灵长类肿瘤中分离出的 C 型病毒的反向转录酶就具有和较低等动物 C 型病毒的反向转录酶不相同的免疫特性 (NNB. 235, 35, 1972)。此外从一个淋巴瘤患者的细胞株中分离出 C 型病毒的抗原特征和其他哺乳动物的 C 型病毒者不同 (NNB. 232, 140, 1971)。

总的看来,在动物(从小鼠到猴猿)白血病肉瘤和人类的一些肿瘤细胞中都查到有C型病毒的存在,几乎所有含RNA的肿瘤病毒中都有反向转录酶活性,这是共同点。但由于病毒的种属来源不同,病毒的抗原性不同,病毒中所含反向转录酶所形成的抗血清的免疫性质亦有区别,这是不同之点。

#### 四、肿瘤的遗传信息的传递问题

肿瘤病毒研究的发展自然对分子遗传学提供更多的资料。目前已经知道病毒感染细胞后引起肿瘤的发生。主要是病毒核酸基因组的复制或传递的结果。其中通过DNA的复制,不同RNA的合成(包括信使RNA),即所谓转录作用,各种蛋白质的合成,即所谓翻译作用,等等一系列的生物化学反应。但是对于肿瘤的遗传信息的由来,有不同的观点(S. 177, 44, 1972);一是认为肿瘤的遗传信息是通过病毒感染从外界进入细胞(并合到DNA中使细胞转变)(初病毒假说);二是认为肿瘤的遗传信息在每个细胞中早就存在,因各种因素的刺激使原被抑压的肿瘤基因解除抑压而发生作用(肿瘤基因假说);三是认为肿瘤的遗传信息是在细胞中通过从新合成而传递的,肿瘤的发生是由于基因的改变而产生“错误的进化”所造成(原病毒假说)。这些观点虽都有若干实验根据,还不能作定论。这个问题的研究有助于解决人类肿瘤发生和病毒传播的关系,是很重要的。

[刘培楠]

# 关于真菌病毒

## 一、真菌病毒工作的两个起点

一个是蘑菇病毒病害和某些高等植物病毒在土壤真菌中传病。一个是真菌中有(在感染病毒的动物细胞或动物中)能抗病毒的物质,例如匍枝青霉菌(*Penicillium stoloniferum*)中的斯塔托弄(statolon)和绳状青霉菌(*P. funiculosum*)中的海来宁(helenine),都证明是球状病毒,都是实践中发现,又提出了不少问题。

## 二、抗动物病毒侵染物质研究的两个阶段

### (一) 寄主内病毒之间的干扰现象——干扰素的发现——干扰素的诱导物

黄热病毒的神经营养性弱毒株可以使同时接种的泛营养性烈性毒株的猴子不至于病死(Hoskins, 1935)。但是,这种干扰现象不同于特异性的抗体反应——抗原不同的黄热病毒之间仍有干扰现象(Findlay 和 MacCallum, 1937)。

二十多年之后, Isaacs 和 Lindenman (1957) 发现感染病毒的动物细胞中产生了对另一种病毒有抗性的蛋白质,叫干扰素,是寄主感染病毒之后早期出现在抗体之前的第一道防线。

最初,干扰素的研究是在小鸡胚胎细胞对病毒反应体系中进行的。此后,又在小白鼠、人、兔、小牛、家鼠、猴等细胞和动物中研究,都得到了性质上相似又能抗病毒侵染的蛋白质。例如, Lampson 等(1963)用感染流感病毒A的鸡蛋尿囊液提纯的干扰素,活性提高到4500倍;一个单位干扰素的活性在小鸡胚细胞-东方马脑炎病毒体系中测定为0.0042微克蛋白质——超过青霉素(0.05微克)和四环素(0.2微克)。

干扰素的活性是广谱的——对病毒的特异性小。干扰素的生产决定于诱导物的本质、动物的种、诱导的场所和诱导后的时间。缺点是抗病毒侵染作用的时间短。

可见,干扰素的研究是免疫学的大问题,来源于动物寄主内病毒之间的干扰现象,发展到研究干扰素的诱导物,是第一个阶段。

### (二) 干扰素诱导物——双链 RNA 病毒——双链 RNA 的来源

引起干扰素反应的诱导物目录已经很长,包括大多数动物病毒、双链的植物病毒、真菌病毒。病毒而外,还有许多非病毒的诱导物,例如许多细菌属(布鲁氏杆菌、沙门氏杆菌、埃希氏杆菌等等),细菌内毒素,立克次体,鸚鹑病原类,类胸肺炎菌生