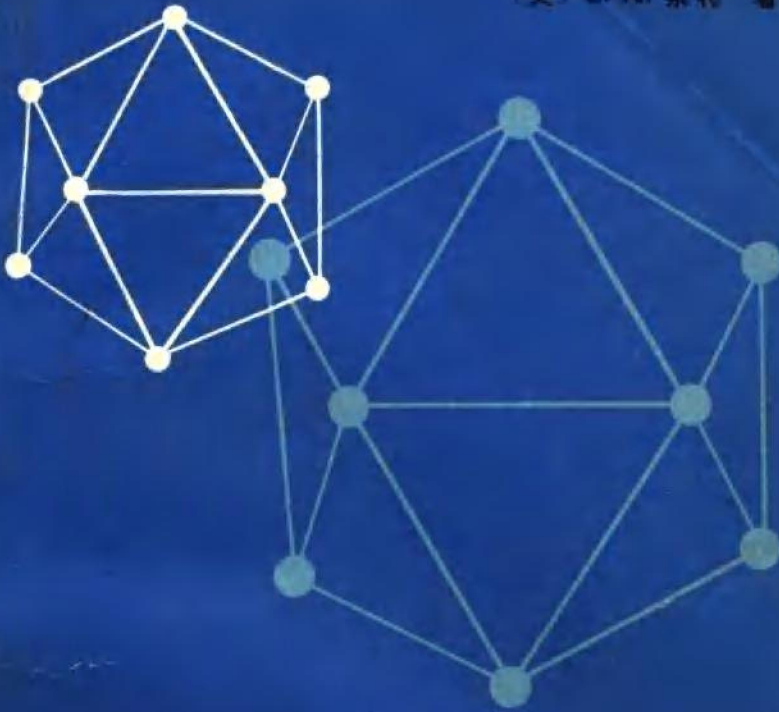


[美] C. A. 奈特 著



# 分子病毒学

科学出版社

## 内 容 简 介

本书概述了病毒学的历史和现状,着重从分子水平上介绍了病毒的结构和本质、病毒的增殖机制和病毒与寄主的相互作用;对于了解分子病毒学对分子生物学发展的贡献以及分子病毒学与分子生物学的其他分支的密切关系颇有帮助。原书是一个普及版本。可供从事微生物、植物病理的科研人员及大专院校有关专业师生参考。

C. A. Knight

MOLECULAR VIROLOGY

McGraw-Hill Book Company, 1974

## 分 子 病 毒 学

[美] C. A. 奈特 著

方荣祥 译

莽克强 校

\*

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

\*

1980年11月第一版 开本: 787×1092 1/32

1980年11月第一次印刷 印张: 8 1/8

印数: 0001—4,620 字数: 183,000

统一书号: 13031·1326

本社书号: 1844·13—9

定价: 1.25 元

## 译 者 的 话

假如我们把 1935 年 Stanley 结晶烟草花叶病毒 (TMV)、1936 年 Bawden 等人发现 TMV 中存在核糖核酸作为分子病毒学的发端,那末自那时以后的四十多年间,分子病毒学已有了很大的发展。现在,通过电子显微镜了解病毒颗粒的形态及其细微结构,通过生化分析了解病毒由各种生物大分子组成的情况,都已非难事。甚至对病毒的主要的生物大分子组分——蛋白质和核酸由各种单元小分子(氨基酸和核苷酸)联结而成的全部次序也有了越来越多的了解,特别是 1976 年以来对二个病毒 (MS2、PSTV) RNA、四个病毒 ( $\phi$ X 174、SV40、G4、fd) DNA 的全部一级结构的测定更是辉煌的成就,它们增进了人们对病毒的本质的了解,同时提出了一些具有重大意义的新概念(例如基因的重叠性、基因的不连续性)。另一方面,在分子病毒学中人们着重研究病毒的侵染和复制的机制,努力阐明病毒与其寄主细胞的关系,在这方面的进展打开了最终控制病毒病害和更多地利用病毒为人类服务的前景。

本书对分子病毒学作了概括的介绍,内容简明,适于作为教科书或教学参考书。作者不采用按病毒的寄主(动物、植物、细菌)分别加以叙述的方法,而是力求寻找各类病毒之间的内在关系,这样做有利于阐明病毒活动的本质,便于各个不同领域的病毒学工作者阅读、比较。另外,考虑到分子病毒学对分子生物学发展的贡献和分子病毒学与分子生物学其他分支的相互渗透、促进,相信本书对其他学科的工作者也会有参

考价值。

本书每章后面附有的参考资料便于人们对有兴趣的专题作进一步的了解。由于原书是1974年出版的,自那以后有不少新出版的书可资参考,如:

- Douglas, J.: *Bacteriophages*, Chapman and Hall, London, 1975.
- Fenner, F. J., and D. O. White: *Medical Virology*, 2d ed., Academic Press, New York, 1976.
- Gibbs, A., and B. Harrison: *Plant Virology, The Principles*, Edward Arnold Ltd., Great Britain, 1976.
- Knight, C. A.: *Chemistry of Viruses*, 2d ed., Springer-Verlag New York Inc., U. S. A., 1975.
- Martin, S. J.: *The Biochemistry of Viruses*, Cambridge University Press, Great Britain, 1978.
- Nayak, D. P. (ed.): *The Molecular Biology of Animal Viruses*, Marcel Dekker, Inc., New York, vol. 1, 1977; vol. 2, 1978.
- Smith, K. M.: *Plant Virus*, 6th ed. Chapman and Hall, London, 1977.
- Watson, J. D.: *Molecular Biology of the Gene*, 3d ed., W. A. Benjamin, Inc., U. S. A., 1976.
- Zinder, N. D. (ed.): *RNA Phages*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1975.
- 岡田吉美: 植物ウイルスと分子生物学, 東京大学出版会, 1977.
- 由于译者水平有限,翻译之中如有错误,敬请读者批评指正。

译 者

1979年3月

## 序 言

在早先的病毒学中,病毒只是一种奇特的病原物;但是在现在的病毒学中,病毒作为遗传物质的重要性已不亚于它们在传染性疾病中的作用。当然,病毒学的这二个方面是互相关联的,因为看来病毒之能致病正是由于病毒与寄主细胞的基因相互作用。病毒病分布甚广,症状纷杂,无一生命形式能幸免其难。

着重研究病毒的物理、化学特性已使病毒学的所有其他方面皆得益非浅。在 Stanley 结晶烟草花叶病毒后不久,主要的注意力便自然地集中于分离、提纯病毒的方法和病毒理化性质的研究。这类研究在二十年后达到了高潮,时值细胞和病毒的核酸被确认为遗传的主体。此后对病毒与细胞组分之间的复杂作用以及用更为敏捷的办法探测这些作用的兴趣仍有增无减。目前人们正致力于在分子水平上探讨细胞与病毒之间的相互作用,这可称为“分子病毒学”。

分子病毒学的方法和发见散布于浩如瀚海的文献中,即使专家们也难以赶上发展的势头,更不用说作贴切的评价了。因此似乎需要一本特别适合大学生水平的描述病毒学原理和涵义的简易版本;而且,将病毒按它们所属的生物如细菌、动物、植物来分门别类加以探讨的作法在过去似乎是合理的,而现在则与此相反,似应尝试将有关病毒的知识予以综合,以使我们能注目于病毒所必需的基本性质,而不致陷入各类病毒特有的深奥难懂的行话以及不可胜数的细微末节中去。

因此,本书的主要目的是为有兴趣的大学生甚或优秀的

• v •

高中生对病毒学的基本原理作一个精练和综合的描述，并附有文献指导，足以适应那些最拔尖的学生的需要。此外，还希望这个简明的描述会有助于各个不同专业的毕业生掌握某个原先了解甚少的专题或扩大、补充以前学到的范围较窄的病毒学课程。

作者十分感谢 R. C. Williams 和 H. W. Fisher 提供许多电子显微镜照片以及其他病毒学家的各种帮助。对 E. N. Story 在制图方面的建议和工作以及 Rosemary Paterson 对本书的建设性批评意见深表谢意。

C. A. 奈特

# 目 录

译者的话.....	iii
序言.....	v
第一章 历史背景.....	1
1-1 病毒病由来已久 .....	1
1-2 疾病的菌源说和作为独特的病原物的病毒的发现 .....	5
1-3 病毒学的化学时代的黎明 .....	12
1-4 分子病毒学的发展 .....	18
第二章 病毒的纯化.....	24
2-1 差速离心和密度梯度离心 .....	26
2-2 沉淀法 .....	32
2-3 吸附法 .....	33
2-4 酶处理 .....	34
2-5 有机溶剂萃取 .....	35
2-6 抗血清处理 .....	36
2-7 电泳 .....	36
2-8 液态两相系统 .....	37
2-9 凝胶层析 .....	38
2-10 纯度和均一性 .....	38
第三章 病毒的结构.....	43
3-1 病毒的组成 .....	43
3-2 病毒的核酸 .....	46
3-3 核酸的基本结构 .....	54
3-4 核酸的功能 .....	59
3-5 核酸的一级结构 .....	61
3-6 基因定位 .....	63
3-7 病毒的蛋白质 .....	71
3-8 蛋白质的功能 .....	73

3-9	蛋白质的一级结构 .....	75
3-10	病毒的脂质 .....	77
3-11	病毒的糖类 .....	80
3-12	其他病毒组分 .....	82
3-13	形态学 .....	83
<b>第四章</b>	<b>侵染过程</b> .....	<b>104</b>
4-1	结合 .....	108
4-2	钻入 .....	110
4-3	增殖 .....	113
4-4	装配 .....	130
4-5	释放 .....	130
4-6	病毒的发病机制 .....	132
4-7	病毒侵染的控制 .....	136
<b>第五章</b>	<b>混合侵染</b> .....	<b>147</b>
5-1	交配 .....	147
5-2	标记获救(交叉复活) .....	153
5-3	复侵染复活 .....	155
5-4	表型混合 .....	157
5-5	互补作用 .....	159
5-6	干扰 .....	171
<b>第六章</b>	<b>突变</b> .....	<b>180</b>
6-1	突变的分子机制 .....	181
6-2	病毒的基因和其蛋白质产物之间的化学关系 .....	197
<b>第七章</b>	<b>病毒的起源、重组和合成;原病毒和病毒基因说</b>	<b>206</b>
7-1	病毒的起源 .....	206
7-2	重组 .....	211
7-3	病毒的实验室合成 .....	218
7-4	原病毒和病毒基因说 (Virogene) .....	221
7-5	类病毒 .....	225
<b>索引</b>	.....	<b>230</b>



# 第一章 历史背景

## 1-1 病毒病由来已久

地球上的人类、其他动物和植物遭受病毒病的折磨已有许多世纪。由于缺少记录和可靠的诊断,要说出这些疾病的历史有多悠久却是不易。许多记述表明至少在公元前二到三个世纪印度和中国就存在天花,但文献中第一个可靠的记述可能是波斯医生(公元860—932)对天花和麻疹症状的图解描述。除了文字记载外,考古学的发现也说明早就存在某些人类病毒,如图1-1所示的古埃及石刻浮雕中的一个主要人象就带有患过引起跛足的脊髓灰白质炎的标记。

在家畜的病毒病中,狂犬病可能是最早有记载的。此病毒病一般与疯狗有关,阿里斯多德(Aristotle)在公元前四世纪就记述了病犬的疯狂和暴怒,通过咬啮还能将病魔传给其他动物。所有的热血动物,包括人在内,对狂犬病都是高度易感的。在人体上这种病常被称作恐水病(hydrophobia,希腊语),公元二世纪 Celsus Aurelianus 对此作了清楚的描述。其中有一段是这样的:

“受咬之初,常有无名的焦躁,易怒,身感不适,好动无静,睡眠易惊,烦恼不安,失眠,伸懒腰,不停的呵欠,老想呕吐,不管患者多么安静地在休息,见风就特别敏感,惧水,厌水,不想喝水。当发病之时,渴但又恐水,起先是不敢见水,后来甚至害怕听到别人说起‘水’字。”

关于植物、细菌、昆虫的病毒病的记载要比人和动物的晚



图 1-1 第十八代埃及王朝(公元前 1,500 年前后)  
时代的一个浅浮雕。注意这个祭司的萎缩的腿部，  
这是得过瘫痪性的脊髓灰白质炎的典型特征。  
(取自 Ny Carlsberg Glyptothek, Copenhagen)

得多,当然这绝不表明这些病毒的起源要晚。最早所知的植物病毒病可能是郁金香花叶病,普通称为“郁金香碎色”,因为它

能使花朵发生引人注目的杂色（图 1-2）。 Carolus Clusius (Charlso de l'Écluse) 在 1576 年郁金香自土耳其引入西欧后



图 1-2 郁金香花叶病。(a)所显示的条斑和羽毛状为这种病毒侵染中的一些碎色类型。可与未受侵染的植株的花对比(图(b)右);(b)中还示出了受侵染((b)左)和未受侵染((b)右)的叶子,前者表现出特征性的斑驳。  
(取自 McKay 和 Warner, *Natl. Hortic. Mag.* 12, 127—216, 1933)

不久就描述了郁金香碎色病的典型的杂色现象。但当时人们并不知其所以然,直到三个半世纪后才明白郁金香的惹人喜爱的条纹和斑驳是由病毒引起的。以前花的杂色越新颖,人们

越视为奇货；现今则又不同了，除了遗传变种外杂色的郁金香一般在苗圃里就被剔除、毁掉，不使之传染给其他原种，特别是那些色质单纯的郁金香。这种做法与十七世纪时人们寻觅此类郁金香的狂热简直是天壤之别。那时人们高价索买某种球茎或种苗，而对于更为奇特的品种所作的交易大得令人难以置信。在1625年的荷兰，为了换到一个“总督”（Viceroy）郁金香的球茎就需出下列货物：4吨小麦，8吨黑麦，4头肥牛，8只肥猪，12只肥羊，2大桶葡萄酒，4桶啤酒，2桶黄油，1,000磅奶酪，1张带附属用品的床，1套礼服，1只银制高脚酒杯。

在1634—1637年的荷兰，这种嗜好达到了可称做“郁金香热”的高潮。在“郁金香热”期间，人们拿郁金香球茎，甚至它的种苗大搞投机，许多人指望通过买卖郁金香发财致富，正如大约3个世纪后成百万的美国人想在股票市场上碰运气一样。最终还是政府的干涉才制止了疯狂的郁金香投机。不过我们倒是要大大感激这股郁金香风给我们留下了丰富的记录和艺术，使我们能沟通古今，并有把握地说在十七世纪就存在一种植物病毒病——郁金香花叶病。

昆虫病毒病可能同高等动、植物的病毒病一样历史悠久。根据Steinhaus的说法，昆虫在公元前就可能受到病魔的折磨。但直到十九世纪中叶，Cornelia和Maestri才记述了家蚕的黄疸病或多角体病的症状，现在知道它肯定是由病毒感染所引起的。

由于辨明细菌的存在赖以显微镜的诞生，所以较晚才能辨认这些微生物的病态也是理所当然的。很可能细菌学家在十九世纪就已在他们的培养物中观察到有细菌病毒活动的迹象，但认真地考虑细菌病毒病害乃始于英国细菌学家F. W. Twort (1915) 和加拿大的Felix d'Herelle (1917) 的鼓舞人心

的论文。此时病毒已被公认为微生物中独立的一类。

总之,尽管缺乏经确证的记载,但据我们现在对病毒的了解,可以说这类病原物的历史同活体一样悠久。事实上,我们将在后面的章节中讨论到,有一种推测认为一种类似病毒的物体可能是生命物质的进化中最原始的形式。

## 1-2 疾病的菌源说和作为独特的病原物的病毒的发现

### 病毒是最小的微生物

虽然几个世纪之前人们就知道传染病,但只是到二十世纪才揭示了致病物的本质,而且至今也还未能窥其全貌。

早在十七世纪三位欧洲的科学家, Kircher, Redi 和 Leeuwenhoek 就提出了近代的疾病的菌源说的基本特征。 Kircher 设想有一种传染性生物 (Contagio animata), 不过他认为它们是在物质腐败时自然发生的; Redi 获得证据表明至少较大的生物如蛆不是从腐烂的物质中自发产生, 而是来源于外界的别的活体; Leeuwenhoek 则用他的精巧的显微镜从人的口腔、肠道、海水及许多其他来源中确确实实地看到并描述了这些“微小动物”(原生动物和细菌)。

考虑到 Leeuwenhoek 所用的仪器, 就可以发现他对原生动物和细菌的开创性的观察具有惊人的精确性。他的显微镜, 总数有 200 多个, 实际上都是固定在金属板之间的一个由放大镜组成的双凸透镜。样品被固定在一个针的顶端, 这个针可用螺旋装置调节以改变被观察物与透镜之间的距离。若被观察物是固体, 可粘在针的尖端; 若是液体, 则取一小滴置于粘在针尖上的一块薄玻片上。对着光通过透镜就可看到被观察物。图 1-3 是 Leeuwenhoek 的许多放大镜(最好的可放大

200 倍左右) 中的一个复制品的照片。在 Leeuwenhoek 所鉴定

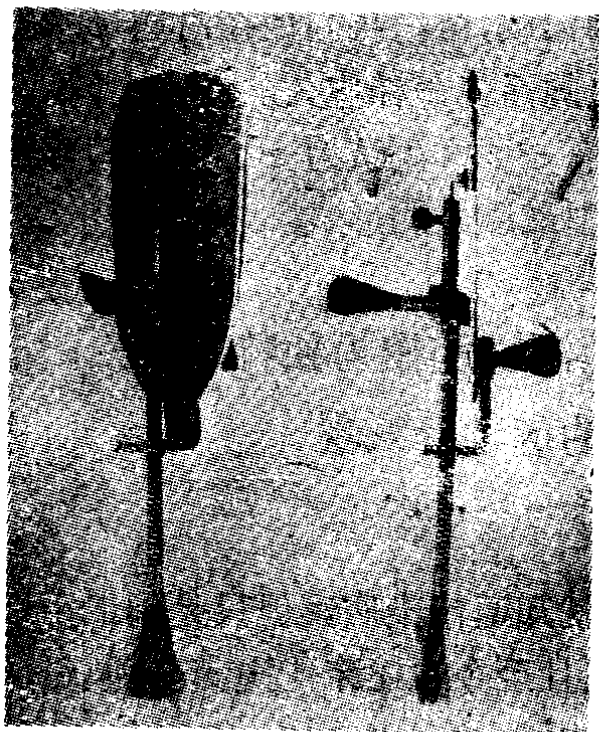


图 1-3 Leeuwenhoek 的一个“显微镜”，示出了它的前视图和侧视图。(这台显微镜是开设在 Delft 的 Leeuwenhoek 住地一家商店制造的复制品)

定的大量物体中有从他的牙齿缝中取出的白色物质。在 1683 年 9 月 17 日给伦敦皇家学会秘书的信中,他叙述了他如何“怀着极大的惊奇发现在前述的物体中有许多极其纤小的活生生的小动物在灵巧活泼地运动”。根据他的叙述和绘制的这些特别的小动物的图样,可以肯定 Leeuwenhoek 所描述的就是通常的口腔细菌,包括一种能动的杆菌生痰月形单胞菌 (*Selenomonas sputi-*

*gena*)、一种小球菌口腔纤发菌 (*Leptothrix buccalis*) 和一种螺旋体,可能是颊螺旋体 (*Spirochaeta buccalis*)。

但是当时人们并未领会 Leeuwenhoek 的观测报告的意义,由于空气(指瘴气和臭气)有能力使病害流行的偏见已先入为主,使对传染病的认识的进展耽误了整整二个世纪。在时疫流行时便想方设法去消毒空气。熏香、熏醋、矿物酸烟气、点火和开炮都在一个时期被看作是对付传染病的灵丹妙药。美国费城对付 1794 年可怕的黄热病流行的做法活现出这种事态的状况。约 10% 的居民被这种恐怖的病魔荡尽,在遍布全城的恐慌甚嚣尘上之时,医士院发布了一项建议书,认为正在大街小巷各处点燃的臆图净化空气的火堆,对于制止黄热病的进一步发展假如不是危险的也是徒劳无益的。它推荐说应

代之以点着火药。建议受到广泛的采纳，但隆隆的炮声和劈啪的枪声只不过是时时打断运走尸体的马车的嘎嘎声而已。而且闹声和危险实在太大，不久市长只得禁止这种做法。

在十九世纪对疾病的新的看法是认为它是由寄生物引起的。德国格廷根（Göttingen）的 Jacob Henle 曾设想过一种其性质与目前所认为的病毒极为相似的致病物质，但他的这种微生物致病的想法只是有了后来三位杰出的研究者的工作才得到普遍的承认。其中一位是 Henle 的学生 Robert Koch（1843—1910），其他二位是 Louis Pasteur（1822—1895）和 Joseph Lister（1827—1912）。

Koch 还是一位德国乡村医生时就做出了了解寄生性疾病的第一个重要贡献。经过卓越的系统研究，他搞清了炭疽杆菌的生活史，并证明了这种生物的耐热孢子期的意义。此后 Koch 继续研究其他的病原性细菌如霍乱弧菌和结核杆菌的性质，并证实了它们的致病能力。他对结核病的工作特别杰出。Koch 还因他发展了细菌学的基本技术而闻名，其中有固体培养，悬滴培养法，苯胺染料染色和显微照相。

在巴黎巴斯德研究所地下室巴斯德（Pasteur）的墓穹上刻志着他的九大发现，除三项外都与疾病的菌原说有关。巴斯德不仅帮助推翻了经典的自然发生说，而且他通过确实的分离和描述表明某些细菌是几种传染病和啤酒、葡萄酒酸败的起因。巴斯德还研究了病毒病，如著名的家蚕黄疸病和狂犬病，指出了它们的微生物病因和传染性，但未与细菌性感染区分开来。

Lister 是一个英国外科医生，他为外科手术后高发率的致命性感染而感到沮丧。例如约半数的截肢者由于继发感染而不能存活。有一次他灵机一动推想坏疽创伤的起因恐怕与巴斯德发现的酒的酸败一样是由于微生物引起的。果真如此就

应该将外科手术的伤口消毒。虽然不能象巴斯德那样用加热来消毒，但 Lister 决定将已成功地用于污物消毒的石炭酸(即酚)试用于伤口消毒。实验极为成功，于是诞生了消毒外科。

就这样 Pasteur、Koch、Lister 和他们后继者的工作带来了细菌学的黄金时代。不久被鉴定为由细菌引起的疾病有麻风、淋病、伤寒、大叶肺炎、鼻疽、丹毒、白喉、破伤风、鼠疫和细菌性痢疾。似乎好象所有的传染病的根子都已被找到了。

可是，在十九世纪末期，用感病烟草进行的一些实验引起了对疾病的菌源说的重大修改。

1876年，一位德国农艺化学家 Adolf Mayer 从海德耳堡(Heidelberg)大学被约请担任荷兰伐赫宁根(Wageningen)农业试验站站长。在荷兰他被有着不同叫法如腥黑穗病、锈病或黑粉病的烟草的一种病态吸引住了。上述叫法虽然与烟草田里一时出现的症状有关，但更具有普遍而特征性的症状是感染叶子上出现深、浅相间的绿色区域，故 Mayer 在1886年称之为烟草花叶病。通过对叶子和土壤的分析 Mayer 指出不能把此病归之于无机物平衡失调。这导致他进行了一项关键的试验。他用一点水研碎一张病叶，用毛细管吸取一些所得的绿色乳浊液，然后刺进健康植株的叶脉。绝大多数被接种的健康植株严重感病。这首先肯定了花叶病的传染性，接着他就用 Koch 等人新建立的技术去寻找致病的微生物。结果归于失败，未能找到任何能引起此病的细菌或真菌。但是 Mayer 还是认为这可能是一个细菌病，其特殊本质有待于今后的研究来揭示。

几年以后一位在克里米亚(Crimea)从事烟草病工作的年轻的俄国科学家 Dmitrii Ivanovsky 进行了这样的研究。在1892年2月12日他呈给圣彼得堡(St. Petersburg)科学院有关花叶病的简短报告的结尾，Ivanovsky 作出了引人注目的评



述：“本人业已发现感受花叶病的叶汁，即使经过 Chamberland 氏烛形滤器的过滤也仍具有传染的性质。”这项观察提示了存在一种比以前所知的任何一种都小的病原，但 Ivanovsky 显然对他的发现还未有充分的自信去提出这样具有革命性的结论。因为他紧接着就写道：“根据当今流行的观点，后一种情况可以最简单地解释为：存在一种细菌，它分泌了可溶于滤液中的毒素。此外还可能有一种同样可以接受的解释，那就是烟草植株的细菌穿过了 Chamberland 氏烛形滤器的孔隙，尽管每次实验前我都用常规法检查了所用的滤器，并自信不会有细缝和裂口。”

6年后(1898年)，荷兰科学家 Martinus W. Beijerinck 重复了 Ivanovsky 的实验，他从患花叶病的烟草叶中挤出汁液，并使之通过图 1-4 所示的那种烛形滤器，表明滤液仍有侵染性。Beijerinck 相信他的滤器阻挡住了细菌。将汁液置于琼脂凝胶块的表面，发现侵染性物质在凝胶中以适度的速度扩散，而细菌仍滞留于琼脂的表面，因此认为这种侵染性物质要比通常的细菌小。Beijerinck 用“传染性活的液体 (Contagium vivum fluidum)”或“病毒 (virus)”来命名这种史无前例的小病原体。Beijerinck 继续展示了病毒即使以干病叶或干燥于滤纸片上的侵染性汁液的形式保存二年以上仍具有侵染力。他还指出可用酒精沉淀病株汁液中的侵染力，这种沉淀在 40℃干燥后仍保留有侵染力。煮沸或甲醛处理可摧毁汁液的侵染力。Beijerinck 在总结他的历史性论文时预言许多其他未知病因的“非寄生性”(意指非细菌性或非真菌

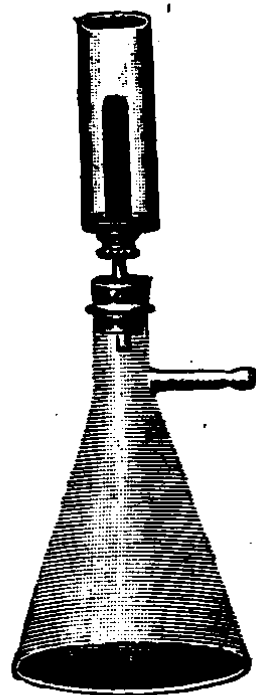


图 1-4 Ivanovsky 和 Beijerinck 使用的过滤装置。