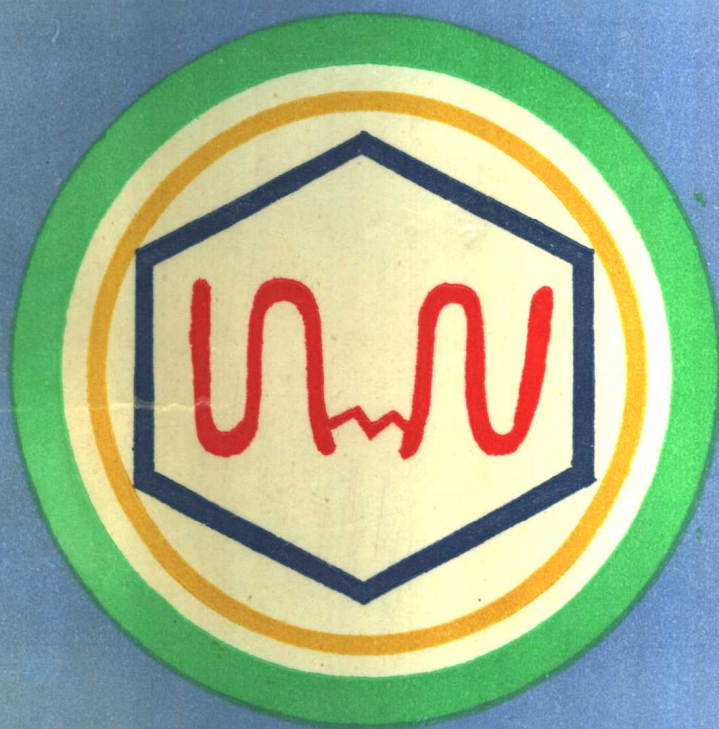


白血病毒、艾滋病病毒、癌基因

Leukoviruses, Human Immunodeficiency Virus, Oncogenes

主编 郑葆芬



上海医科大学出版社

白血病病毒、艾滋病病毒、癌基因

主 编 郑葆芬

副主编 黄光琦 孔良曼

编 写 (按姓氏笔画为序)

马继延 孔良曼 李赤波

郑葆芬 单易非 周金涛

姜延芳 黄光琦 谢红燕

上海医科大学出版社

(沪)新登字 207 号

责任编辑 宫建平

封面设计 严智敏

责任校对 陶安迪

白血病病毒、艾滋病病毒、癌基因

主编 郑葆芬

上海医科大学出版社出版、发行

上海市医学院路 138 号

邮政编码 200032

新华书店上海发行所经销

上海译文印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 11.25 字数 273 000

1996 年 9 月第 1 版 1996 年 9 月第 1 次印刷

印数 1—3 000

ISBN 7-5627-0308-6/R·290

定 价: 19.90 元

PREFACE

I am pleased and honored to write a few words regarding this book. Since the discovery of reverse transcriptase in 1970, retroviruses have played a fundamental role in modern molecular biology and medicine. First, basic principles of molecular biology have been illuminated by study of these viruses. These include identification of mRNA splicing, proteolytic processing of proteins, and enzymes involved in integration of viral DNA. In addition, retroviruses have played important roles in the development of biotechnology. Retroviral reverse transcriptase is the enzyme used in molecular cloning of mRNAs, and retrovirus based vectors are the most commonly used tools for stably introducing genes into cells for gene therapy.

With regard to disease, research in retroviruses has also been extremely important. First, study of retroviruses led to the discovery of oncogenes. Subsequently, it was shown that activation of cellular proto-oncogenes (the progenitors of retroviral oncogenes) is a common occurrence in cancers of all types. The realization that cancer cells undergo genetic changes as they progress (activation of proto-oncogenes and loss of tumor suppressor genes) has been one of the important discoveries in molecular medicine during the past decade. Secondly, two retroviruses are associated with disease in humans: HTLV-I and HIV. HTLV-I infection can lead to adult T-cell lymphoma (ATL), while HIV is the causative agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Given the importance of cancer and AIDS, it is clear that research in retroviruses will continue well into the twenty-first century.

This book comprehensively covers all the important aspects of retroviral molecular biology and pathogenesis. Faculty at the Shanghai Medical University have carried out excellent research on a novel mouse retrovirus system (TSZ) derived in China over the past thirty years. I have had the pleasure of collaborating with these people, principally Prof. Zhehg Bao-fen, over the past ten years. It has been rewarding to watch and participate in advanced molecular biology and cloning experiments on SRS MuLV, carried out at the Shanghai Medical University. The laboratory exercises included in this book reflect the experience of the primary author in directing molecular research on retroviruses, and they should be possible at many universities and colleges throughout China. Thus this book provides an excellent theoretical and practical introduction

to the very important field of retrovirus research.

Hung Fan

Professor of Virology and Molecular Biology

Director of Cancer Research Institute

University of California, Irvine, U. S. A.

序

我很高兴也感到很荣幸为本书写几句。自 1970 年逆转录酶发现以来,逆转录病毒在现代分子生物学和医学中起着十分重要的作用。由于逆转录病毒的研究,使分子生物学的一些基本原理,如 mRNA 剪接、蛋白质的蛋白水解物的加工以及病毒 DNA 整合过程中的酶等得以阐明。此外,逆转录病毒在生物技术发展中也起了重要作用。逆转录病毒中的逆转录酶是用于 mRNAs 分子克隆的酶,以逆转录病毒为基础的载体是基因治疗中将基因稳定地导入细胞最常用的工具。

对于疾病而言,逆转录病毒的研究更是特别重要。首先是逆转录病毒的研究导致癌基因的发现,揭示了细胞原癌基因(逆转录病毒癌基因的祖先)的激活是所有癌症中都发生的。正常细胞转化为癌细胞的过程中,原癌基因激活、肿瘤抑制基因失活,对癌细胞中基因改变的认识是最近 10 年分子医学中的重要发现之一。其次,有两种逆转录病毒与人类疾病有关,即人类 T 细胞白血病病毒-I(HTLV-I)和人类免疫缺陷病毒(HIV)。HTLV-I 感染可引起成人 T 细胞淋巴肉瘤(ATL),而 HIV 是艾滋病(AIDS)的致病因子。由于逆转录病毒对癌症和艾滋病的重要性,到 21 世纪逆转录病毒的研究仍将继续进行。

本书全面地阐述了逆转录病毒分子生物学和致病机制的各个方面。30 年来,上海医科大学的同仁们对中国发现的新的 TSZ 小鼠逆转录病毒系统进行了杰出的研究。在过去 10 年里,我很高兴与他们,特别是与郑葆芬教授合作研究,了解并参与上海医科大学 SRS 小鼠白血病病毒的高级分子生物学和克隆实验是有得益的。本书介绍的实验操作总结了笔者指导逆转录病毒在分子水平研究工作中的经验,这些实验在中国许多高等院校中都可进行。本书可作为逆转录病毒研究这一重要领域中的一本很好的理论和实践的入门书。

美国加州大学欧文分校肿瘤研究所所长
病毒学和分子生物学教授 范 鸿

前 言

肿瘤和艾滋病的研究是当今世界生物医学科学研究中两个最引人注目的领域。在肿瘤和艾滋病的发生中,RNA 肿瘤病毒(或更恰当地称为逆转录病毒),扮演了一个十分重要的角色。因此,人们对逆转录病毒产生了很大的兴趣,从各个领域对逆转录病毒进行了广泛而深入的研究,其中分子生物学方面的研究尤为突出。目前的研究主要集中在以下几个方面:①将逆转录病毒作为一个研究系统,以探索真核生物的生物学特征;②研究逆转录病毒的致病性,探讨其引起肿瘤和艾滋病的机制,以战胜这两类疾病;③利用这类病毒特殊的复制过程,探索将逆转录病毒改造成病毒载体,以进行基因治疗和其他分子生物学的研究。

国内有关逆转录病毒的研究工作在近 20 年才逐步开展起来,上海医科大学在这方面可说是走在前列的。随着对艾滋病和肿瘤研究的重视,这方面的研究工作必将越来越引起各方面的注意。由于国内尚无这方面的专著,在此将我们收集的资料编写成这本书,以供研究生教学和有关科研人员参考。本书从最基本的逆转录病毒生物学特性入手,详细叙述了它的特点及当今世界上有关研究的最新进展。主要内容有:①逆转录病毒的起源、分类、结构特点、复制过程、生物合成和蛋白质组成、致病性及其功能等;②人类 T 细胞白血病病毒(HTLV)和人类免疫缺陷病毒(HIV)的起源、分子结构、基因调控、血清学检查、治疗药物和疫苗前景等,关于 HIV 的内容是在上海第二医科大学研究生分子生物学讲座的基础上经整理补充而成;③癌基因与抑癌基因的发现、结构、功能,以及对肿瘤发病机制的研究和抑癌基因的临床应用等。华西医科大学肿瘤研究所在这方面进行了多年研究,取得不少成绩;④逆转录病毒的实验技术,包括逆转录病毒的分离、病毒基因和病毒蛋白的分离鉴定、病毒基因重组技术及 HIV 的血清抗体和基因扩增等一些常用的方法。

各章力求在叙述基本概念时简洁明了,并反映目前研究的最新进展,注意学术性、先进性和前瞻性。各章都附有主要参考文献,以利于进一步研究时参考。

目前,有关肿瘤和艾滋病的研究日新月异。我们在编写过程中难免有许多欠妥之处,希望广大读者能提出宝贵意见。

郑葆芬

1995年6月

目 录

第一篇 RNA逆转录病毒

第一章 总 论	1	组装	38
一、逆转录病毒的发现	1	一、逆转录病毒蛋白质的合成	38
二、逆转录病毒的分类	2	二、逆转录病毒的组装及其释放	40
三、逆转录病毒的实验生物学及其检测	11	三、逆转录病毒载体的构建及其组装	40
第二章 逆转录病毒的基因结构	15	第五章 逆转录病毒的功能和作	
一、形态结构	15	用	44
二、病毒组成	16	一、逆转录病毒为研究生物的模型系统	44
三、病毒蛋白质	19	二、逆转录病毒的致病性	45
第三章 逆转录病毒的复制	23	第六章 实验性白血病及其病毒的生物学特性研究	48
一、前病毒假说	23	一、中国分离的 T-S-Z 小鼠白血病系统	48
二、逆转录病毒的复制机制	23	二、小鼠 L6565 与 SRS 白血病系统	49
三、复制的早期相——前病毒的建立	25		
四、复制的晚期相——病毒基因的表达	33		
第四章 逆转录病毒蛋白质的合成与			

第二篇 人类 T 细胞白血病病毒与艾滋病病毒

第七章 人类 T 细胞白血病病毒		机制	61
I 型	55	第九章 艾滋病病毒	63
一、HTLV-I 的生物学特性	55	一、HIV 的分离和起源	64
二、HTLV-I 引起的疾病	58	二、HIV 的分子结构	65
三、HTLV-I 的流行特征	58	三、HIV 感染细胞的分子机制	75
第八章 人类 T 细胞白血病病毒		四、HIV 在宿主细胞内的复制和装配	76
II 型	60	五、HIV 感染的血清学检查	79
一、HTLV-II 的分子生物学特性	60	六、治疗艾滋病的药物	81
二、HTLV-II 诱导 T 细胞转化的分子		七、艾滋病疫苗	86

第三篇 癌基因与抑癌基因

第十章 逆转录病毒与癌基因	95	二、逆转录病毒癌基因	96
一、逆转录病毒与肿瘤的关系	95	三、病毒癌基因的来源	100

第十一章 细胞原癌基因与癌基因	
因	103
一、细胞原癌基因	103
二、原癌基因激活机制	104
三、癌基因(转化基因)与人类癌症	112
第十二章 癌基因产物的生物学功能	
能	117

一、癌基因产物的分类及亚细胞定位	117
二、癌基因产物在细胞内的调控作用	119

第十三章 抑癌基因	130
一、概念	130
二、抑癌基因及其产物研究的进展	130
三、展望	141

第四篇 逆转录病毒的实验技术

第十四章 小鼠白血病病毒的实验技术	
术	143
一、MuLV 细胞株的建立	143
二、MuLV 的分离与纯化	144
三、逆转录酶的纯化和活性测定	145
四、MuLV RNA 的提取	146
五、MuLV 蛋白的 PAGE 分析	146
六、MuLV 前病毒DNA的分离与纯化	148
七、MuLV 前病毒的 Southern 印迹杂交	149
八、MuLV DNA 的分子克隆	151
九、重组 MuLV 的构建	153
十、MuLV 的斑点分析试验(XC 合胞试验)	154

第十五章 人类免疫缺陷型病毒的实验技术	156
一、血清中 HIV 抗体的测定	156
二、HIV 的逆转录酶活性分析	160
三、HIV 的基因放大技术	162
附录 1. poly C - Sepharose 4B 亲和层析柱的制备	165
附录 2. 磷酸纤维素 p-11 离子交换柱的制备	165
附录 3. ³² P-探针的制备(缺口平移法)	165
附录 4. 质粒的大量提取、纯化与鉴定	166
附录 5. pSF11 质粒中的 SRSV 基因的镜象 Southern 印迹杂交	167
附录 6. 寡核苷酸探针的放射性标记	169

第一篇 RNA 逆转录病毒

第一章 总 论

肿瘤最显著的特征是它的自主性生长能力,即肿瘤细胞不受体内生长调节系统的控制,持续地分裂增殖。肿瘤的发生主要是细胞内生长调节系统的失调。近年来,随着细胞生物学和分子生物学的迅猛发展,使人们对肿瘤的病因和发生机制有了新的认识。研究表明导致肿瘤发生的因素有物理(如电离辐射)、化学(致癌化学物质)、生物学(病毒)等,这些外因作用于细胞基因组,使某些基因(原癌基因)转变成致癌基因(癌基因),导致细胞癌变。其中病毒是一类具有生命特征的遗传物质,探讨病毒对机体的致癌作用和机制具有重要意义。

动物病毒可概括为 DNA 病毒与 RNA 病毒两大类。DNA 病毒主要有 6 类,即肝炎病毒(hepatitis virus)、猿猴病毒 40(simian viruses 40, SV40)、多瘤病毒(polyomavirus)、乳头状瘤病毒(papillomavirus)、腺病毒(adenovirus)、疱疹病毒(herpesvirus)。RNA 病毒有 9 类,即小 RNA 病毒(picornavirus)、披膜病毒(togavirus)、正粘病毒(orthomyxovirus)、副粘病毒(paramyxovirus)、棒状病毒(rhabdovirus)、冠状病毒(coronavirus)、砂粒病毒(arenavirus)、呼肠孤病毒(reovirus)和逆转录病毒(retroviruses)。

逆转录病毒又称为 RNA 肿瘤病毒(RNA tumor virus)、白血病毒(leukovirus)或致瘤 RNA 病毒(oncornavirus)。由于这类病毒颗粒中含有依赖于 RNA 的 DNA 多聚酶,即逆转录酶,故现称为逆转录病毒。

一、逆转录病毒的发现

1908 年, Ellermann 和 Bang 将患白血病的鸡无细胞滤液注射给健康的鸡,诱发了成髓细胞性白血病(myeloblastic leukemia)和成红细胞增多症(erythroleukemia),奠定了病毒致瘤的实验基础。1911 年, Peyton Rous 研究自发性鸡肉瘤时,发现鸡肉瘤的无细胞滤液能诱发鸡患肉瘤,而对鼠、狗等其他哺乳动物不能诱发肿瘤,由此, Rous 首先提出了病毒是肿瘤的病因,并于 1933 年分离出禽淋巴瘤病毒(avian lymphomatosis virus)。1936 年, Bittner 发现鼠乳腺癌乳汁因子,不久即确定此因子为 RNA 肿瘤病毒。1951 年, Gross 将 AKR 近交系小鼠自发性白血病组织的无细胞滤液注射给 C₃H 近交系乳鼠,诱发了可连续传递的白血病,由此证实病毒可引起小鼠白血病,这对以后肿瘤病毒病因的研究起了有力的促进作用。

Temin 于 1964 年报道放线菌素 D 能抑制鸡肉瘤病毒的繁殖。放线菌素 D 为 DNA 合成抑制剂,为什么却能抑制 RNA 病毒的繁殖?这说明 RNA 病毒的繁殖有赖于 DNA 的合成代谢。因此, Temin 提出了前病毒的假说,即鸡肉瘤病毒的繁殖,须经过形成 DNA 的阶段,病毒 DNA 作为前病毒存在于细胞基因中,繁殖时,病毒 DNA 转录成 RNA,这样才有可能受到放线菌素 D 的抑制而阻止病毒的繁殖。这一学说当时未被普遍接受和重视,因为

与公认的所谓遗传中心法则相矛盾。中心法则认为,指导某一特异性蛋白合成的 DNA 片段(即基因),首先转录为 mRNA,再从 mRNA 翻译合成特异的蛋白质,其顺序应该为 DNA → RNA → 蛋白质。当时,人们受中心法则的影响,而不相信从 RNA 转录为 DNA 的可能性。一般的 RNA 病毒如粘病毒、肠道病毒等的繁殖,都不经过 DNA 合成阶段,这也是当时前病毒学说不受重视的原因之一。因此,在 1970 年以前,前病毒仅仅是一种假说。

以后,有人发现影响 DNA 合成的药物如丝裂霉素 C、放线菌素 D、阿糖胞苷(胞嘧啶阿拉伯糖苷)、5-溴脱氧尿苷等能抑制和干涉 DNA 的合成与表达,也能阻止逆转录病毒的增殖,而不干扰其他 RNA 病毒的增殖。这些实验证明逆转录病毒的增殖包含了病毒 DNA 的合成过程。

1970 年,Baltimore 和 Temin 两个实验室同时发现,在逆转录病毒颗粒(Rous 肉瘤)中存在一种能以 RNA 为模板合成 DNA 的酶,称为 RNA 指导的 DNA 多聚酶,证实了前病毒的形成是逆转录病毒生活周期中重要的一环,也为逆转录酶的发现提供了生物化学证明,即编码在 RNA 分子中的信息可以转给 DNA 分子。此外,还有两个证据有力地支持前病毒假说,即用分子杂交方法可直接检测到感染细胞中的病毒基因 DNA 和从感染细胞中提取的 DNA 有感染性。

逆转录酶的发现不仅使 RNA 肿瘤病毒致癌机制的研究有了新的突破,并且对于证实遗传信息也可以从 RNA 分子传到 DNA 分子的新途径起了关键性作用。

二、逆转录病毒的分类

所有逆转录病毒有共同的形态学、生物学和物理学性质,故属同一病毒亚科(表1-1)。基因组 RNA 是 60~70s 的二聚体复合物,由两个相同亚基组成。5'端有甲基化帽结构,3'端有多聚腺苷酸尾。基因组是正的有义链,可在体外翻译系统中指导蛋白质合成。凡具有复制能力的逆转录病毒基因组都含 3 个编码结构蛋白的基因,即 gag 编码核心的结构蛋白,Pol 编码逆转录酶,env 编码包膜蛋白。所有逆转录病毒的这 3 个基因都按 5'-gag-pol-env-3'次序排列。基因产物用 P、PP 和 gp 代表蛋白质、磷蛋白和糖蛋白,置于分子量前来表示,其前体多聚蛋白(polyprotein)用 Pr 表示。特殊的基因产物可标明基因名称,例如 PP 12^{gag}表示磷酸化的核心结构的 gag 基因产物,分子量为 12×10³。此外,许多肿瘤病毒含癌基因(oncogene),在体内能引起肿瘤,在体外能引起细胞转化。

表 1-1 逆转录病毒亚科的特征

核酸	线形的有义单链 RNA(60~70s), 由相同亚基组成5'结构(m ⁷ G ⁵ PPP5'NmpNp); 3'端多(聚)腺苷酸化,3'和 5'端重复序列;tRNA 与基因组碱基配对的复合物
蛋白质	约 60%,gag 为内部结构蛋白,pol 为逆转录酶,env 为包膜蛋白
脂类	约 35%,来自细胞膜
糖类	约 4%,与 env 蛋白结合
物理化学性质	蔗糖中密度为 1.16~1.18g/ml,氯化铯中为 1.16~1.21g/ml; 对脂类溶剂、去垢剂和热失活(56℃,30min)敏感,对紫外线和 X 射线高抵抗
形态学	球状有包膜病毒(直径 80~120nm),可变的表面凸起(直径 5nm),含核糖核蛋白复合物和核心壳的二十面体衣壳(病毒核心)

逆转录病毒编码的逆转录酶有 RNA 依赖和 DNA 依赖多聚酶活性,这个事实表明,它们的复制涉及双链 DNA 中间体的合成。中间体可以非整合形式(线形分子或共价封闭环

状)或整合形式(前病毒)存在于感染宿主细胞 DNA 中,以类似细胞基因的方式转录(或不转录)。逆转录病毒 RNA 基因组及其整合的前病毒以图 1-1 表示。

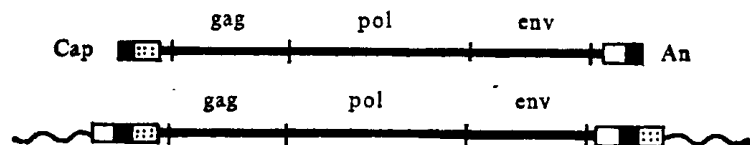


图 1-1 一亚基逆转录病毒基因组(上)和外源性整合前病毒(下)

所有逆转录病毒有相似的化学组成,含约 60%~70%蛋白质、30%~40%脂类、2%~4%糖类和约 1%RNA。逆转录病毒颗粒的包膜来自细胞膜。病毒颗粒的脂类大多存在于病毒包膜中。

根据逆转录病毒的形态学或致病特点对其进行分类,近年来,随着分子生物学技术的发展,在分子水平上根据逆转录病毒基因组结构的不同进行分类。现把逆转录病毒的分类方法概述如下。

(一) 根据逆转录病毒致病性或感染机体后的不同结局分类

逆转录病毒科(retroviridae)包括所有含 RNA 基因组和 RNA 依赖 DNA 多聚酶(逆转录酶)活性的病毒。根据逆转录病毒致病性或感染机体后的不同结局可分为 3 个亚科。

1. 肿瘤病毒亚科:包括所有能在感染宿主中引起肿瘤的逆转录病毒,例如人类 T 细胞白血病病毒 I 型和 II 型(HTLV-I 和 HTLV-II)可分别引起成人 T 淋巴细胞白血病及毛细胞白血病。

2. 慢病毒(lentivirus)亚科:引起慢性疾病,例如人类免疫缺陷病毒 1 型和 2 型(HIV-1 和 HIV-2)在人类可引起艾滋病(AIDS); Visna 病毒可引起绵羊脑组织的慢性感染和脱髓鞘;马传染性贫血病毒(EIAV)可引起马溶血性贫血。

3. 泡沫病毒(foamy virus)亚科:在组织培养中引起显著的泡沫样细胞病理效应,但尚不知它们与任何人类或动物疾病相关。

(二) 根据逆转录病毒的形态分类

逆转录病毒结构的电子显微镜研究,采用连续超薄切片、完整颗粒负染及负染后冰冻干燥加蚀刻等技术,发现大多数逆转录病毒一般呈球形结构,直径约 100nm,有核心(core)或拟核(nucleoid),外有包膜,外表面凸起是由糖蛋白构成的钉状物。根据它们的形态结构和病毒衣壳在细胞内的位置,肿瘤病毒亚科的逆转录病毒又可分为 4 类,即 A、B、C 和 D 型颗粒。

1. A 型颗粒: A 型颗粒只是细胞内形式,即使大量从细胞中分离出也无任何感染性。颗粒直径约 60~90nm,有电子半透明中心,外围双壳。按颗粒所在位置又分成池内和细胞质内两种形式,池内形式常见于 C 型或 D 型颗粒的产生细胞中;细胞质内 A 型颗粒是 B 型小鼠乳腺瘤病毒(MMTV)的前体。

2. B 型颗粒: B 型颗粒的典型代表是 MMTV。这种颗粒有两个显著的形态学特征:一是细胞膜中的芽生颗粒有油炸小甜饼形核心,直径约 75nm,细胞表面有长钉状物;二是芽生后的成熟形式有电子致密的类核,偏心地位于有包膜的颗粒中,直径约 125~130nm。

3. C 型颗粒:迄今所分离的大多数逆转录病毒属 C 型。这类颗粒的主要特征是在细胞膜开始芽生前,一般不能观察到细胞质内病毒结构,有时颗粒明显芽生成细胞质空泡

(vacuoles)。在细胞膜中,最早特征性的病毒结构是电子致密新月形的颗粒核心。有时可见到以包膜的钉状物为核心形成区域向细胞表面的凸起。随着病毒成熟,核心呈球形,有电子半透明中心,细胞膜围绕该结构并紧缩,最后成为细胞外形式,直径80~100nm,呈中心性定位的电子半透明核心(未成熟C型颗粒)或中心性定位的电子致密核心(成熟C型颗粒)。有时可见到明显的钉状物。C型颗粒的主要特征是细胞膜中有新月形核心和细胞外颗粒中有中心性定位的核心,无明确的细胞质内前体。

4. D型颗粒: D型颗粒是根据Mason-Pfizer猴病毒(MPMV)电子显微镜观察命名。该病毒按生物化学标准判断明显属逆转录病毒科,但不能归于B或C型颗粒,故命名为D型。D型颗粒有细胞内和细胞外形式,细胞内颗粒呈环状,直径60~95nm,多见于近细胞膜处,为未成熟D型颗粒;细胞外或成熟D型颗粒,直径100~120nm,有偏心性定位电子致密的类核,并有比B型MMTV短的表面钉状物。

逆转录病毒的形态见图1-2~5。

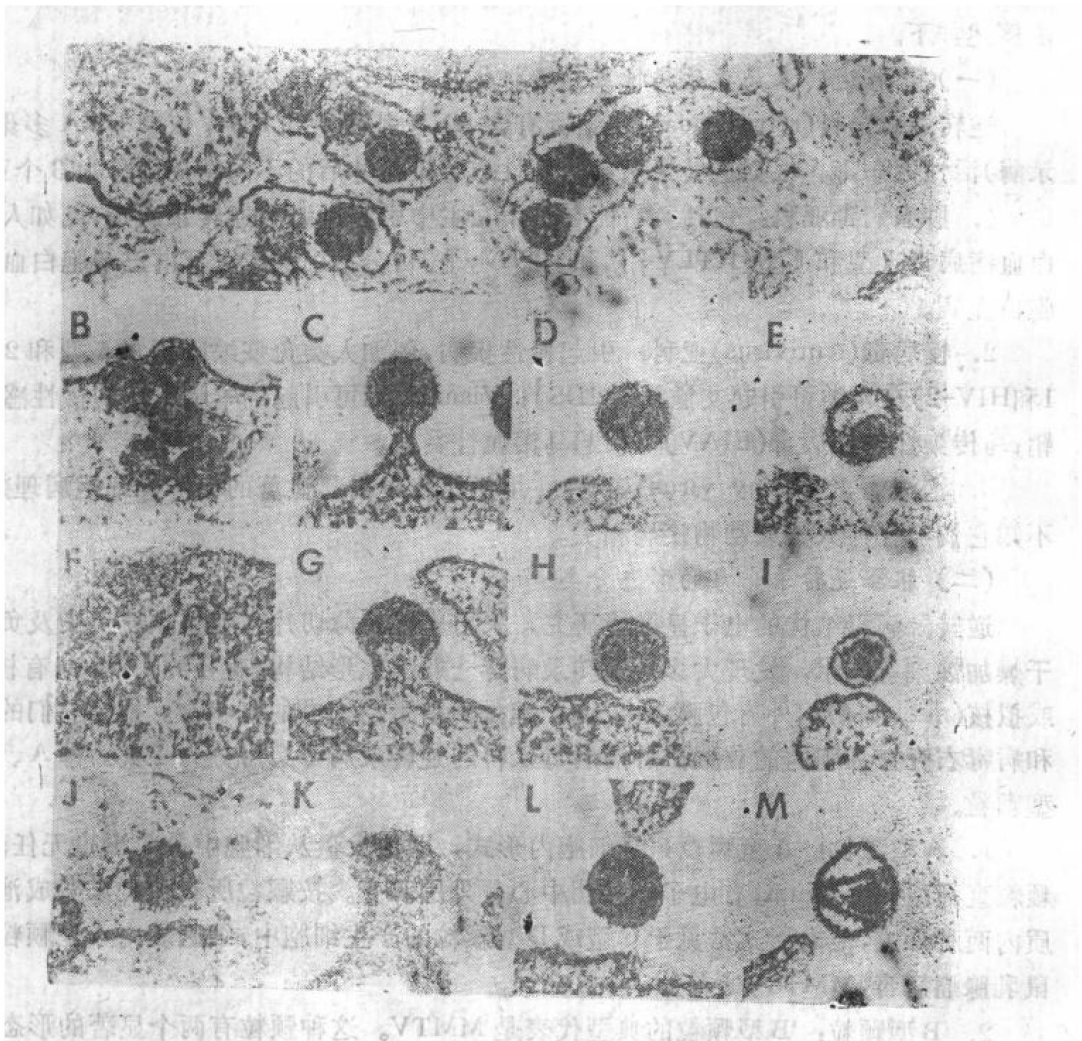


图 1-2 逆转录病毒的形态学和形态发生
(引自 Gallo RC, Jay G. The human retroviruses. 1991, 22~24)

注: 图示每一病毒在细胞内的芽生、不成熟和成熟形式; A 为池内A型颗粒, B~E 为 B 型颗粒(MMTV), F~I 为 C 型颗粒(MuLV); J~M 为 D 型颗粒(MPMV)

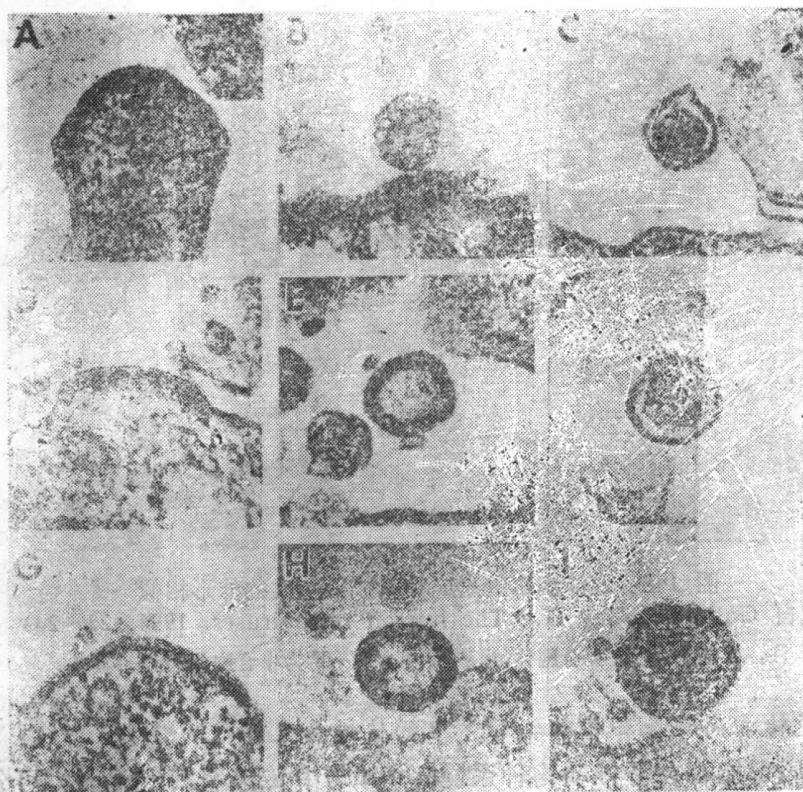


图 1-3 HTLV-BLV 病毒

(引自 Gallo RC, Jay G. The human retroviruses. 1991, 22~24)

注: A~C 为牛白血病病毒(BLV), D~F 为 HTLV-I; G~I 为 HTLV-II

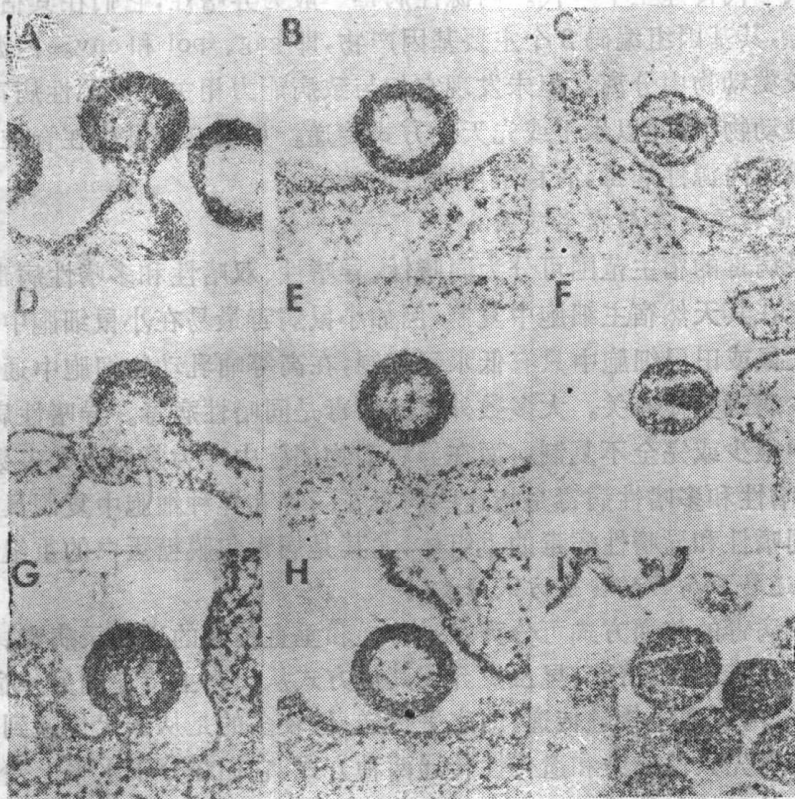


图 1-4 慢病毒(引自 Gallo RC, Jay G. The human retroviruses. 1991, 22~24)

注: A~C 为 HIV-1; D~F 为 HIV-2; G~I 为牛免疫缺陷病毒

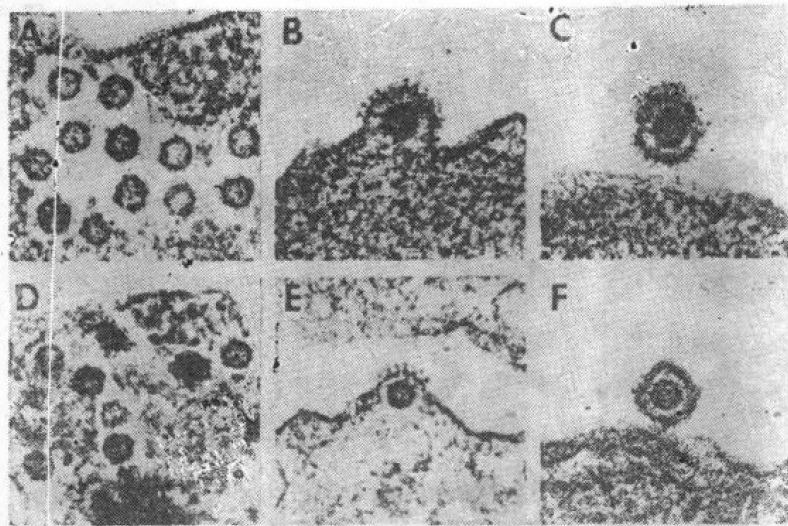


图 1-5 泡沫病毒的未成熟和成熟形式的外形相似
(引自 Gallo RC, Jay G. The human retroviruses. 1991, 22~24)

注: A~C 为黑猩猩合体(泡沫)病毒, D~F 为牛合体(泡沫)病毒

(三) 根据逆转录病毒在脊椎动物种系中的传递和致癌能力分类

根据逆转录病毒能否在脊椎动物种系(germline)中传递及其致癌能力可分为内源性和外源性逆转录病毒。逆转录病毒的特征是它们不作为感染因子存在于自然界,而以稳定性整合的前病毒存在于宿主细胞 DNA 中。内源性病毒是指病毒基因组在脊椎动物中编码,并以遗传基因方式一代传递至下一代。内源性病毒一般为异嗜性,它们在其宿主中很少复制,为非缺陷型病毒,其基因组编码 3 个主要基因产物,即 gag、pol 和 env。内源性病毒已从许多动物包括灵长类动物中分离,但未发现它们与致病能力相关。外源性病毒是指病毒基因组只存在于感染动物中,并以水平或先天性方式传递。如果感染发生在脊椎动物细胞中,则外源性病毒可成为内源性病毒,有稳定可遗传的特征。

(四) 根据逆转录病毒的宿主范围分类

根据逆转录病毒的宿主范围可分为同嗜性、异嗜性、双嗜性和多嗜性病毒。同嗜性病毒是指该病毒优先在其天然宿主细胞中复制,例如小鼠病毒最易在小鼠细胞中繁殖,而在其他啮齿类动物如大鼠或田鼠细胞中只有低水平复制,在高等哺乳动物细胞中通常不能复制,这与细胞表面缺少病毒受体有关。大多数外源性病毒是同嗜性病毒。异嗜性病毒是指该病毒在其天然宿主中很少或完全不复制,而在异种动物细胞中广为复制。大多数内源性病毒是异嗜性病毒。双嗜性和多嗜性病毒是指这些病毒在同种和异种细胞中复制具有同等效率。这种病毒通常是同嗜性和异嗜性病毒的重组体,尤其是病毒包膜糖蛋白的重组体。

(五) 根据逆转录病毒的传递方式分类

根据逆转录病毒的传递方式可分为水平传递和垂直传递的逆转录病毒。感染性疾病的致病因子一般通过接触、气溶胶、昆虫媒介或其他方式从一宿主传递到另一宿主。逆转录病毒和其他病毒一样,可通过接触传递,即水平传递,但较多的是从亲代传递到子代,即垂直传递。垂直传递又有先天性感染和遗传性传递两种方式,它们在分子水平上差异很大,并受不同的生物控制。从母体释放感染性病毒颗粒感染子代,发生先天性感染。病毒可感染鸟蛋或经胎盘、母乳传递。病毒携带 RNA 基因组,进入子代细胞,合成病毒 DNA,并整合入细

胞基因组,因此,先天性感染和水平传递有类似的宿主范围限制。遗传性传递中,病毒基因组以 DNA 前病毒和配子的一部分垂直地从一代传递到下一代,不受宿主范围限制。先天性感染一般通过母体,而遗传性传递可通过母体,也可经父体。

水平感染、先天性感染和前病毒的遗传性传递以小鸡中禽白血病病毒(ALV)为例(图1-6)。在该宿主中,这3种方式自然发生,但结果不同。如果鸡孵化几天后引起水平感染,它们不发生白血病,而是产生中和抗体,对进一步感染和病毒复制产生免疫。如果病毒先天性传递,鸡在胚胎发生中引起典型病毒血症,并保持对病毒抗原终身耐受,鸡生长正常,但成年时常发生白血病。这种鸡由于不断产生病毒,是水平感染和进一步先天性感染的主要来源。

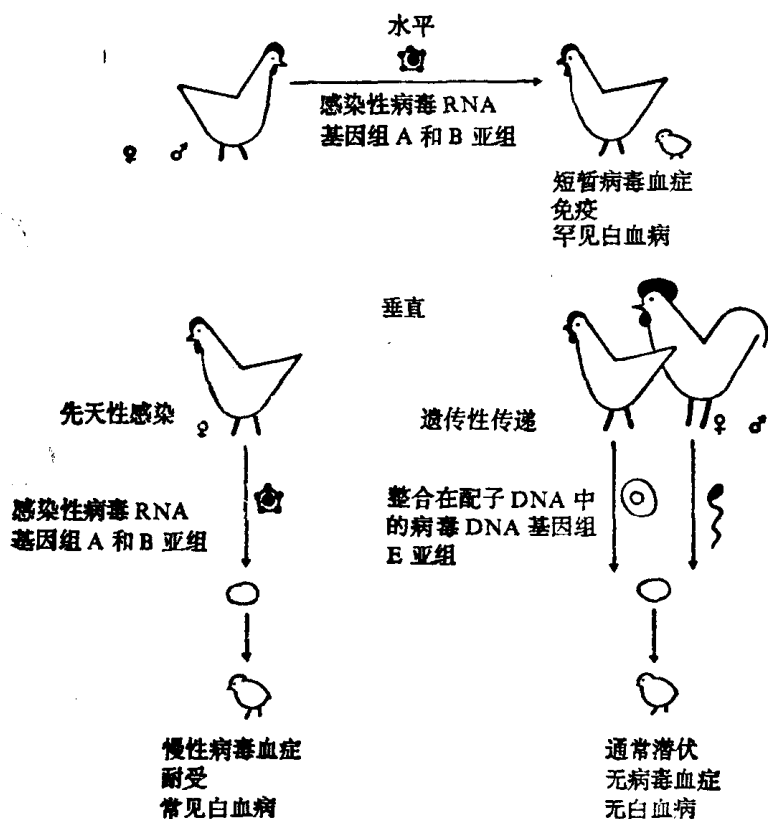


图 1-6 禽白血病病毒的传递方式

猫也对猫白血病病毒(FeLV)的水平感染和先天性经胎盘感染易感,但与鸡不同,水平感染能引起白血病或贫血,先天性感染常在出现造血系统肿瘤前导致流产或新生猫致死性侏儒症。

先天性感染的典型例子是 MMTV 在 C_3H 小鼠中引起乳腺癌。奶中的病毒颗粒传递给新生小鼠,雌鼠发生乳腺癌,并继续感染周期。这种与奶相关的传递,可通过奶中无感染性 MMTV 的代理母亲养育新生儿来消除。

(六) 根据逆转录病毒基因组的核苷酸序列分类

根据逆转录病毒基因组核苷酸序列,逆转录病毒可分为 7 个组,其典型代表及主要特性如下:

1. 哺乳动物 B 型肿瘤病毒(mammalian type B oncovirus)组

典型代表: MMTV。

病毒: B型形态(显著表面钉状物,偏心致密核心,像A型颗粒一样,芽生前在细胞质中装配)。蛋白质中基质蛋白(MA) $\approx 10 \times 10^3$; P21; 衣壳(CA) $\approx 27 \times 10^3$; 核衣壳(NC) $\approx 14 \times 10^3$; 蛋白酶(PR) $\approx 13 \times 10^3$; env基因编码的两个包膜蛋白,即表面糖蛋白(SU) $\approx 52 \times 10^3$ 和穿膜蛋白(TM) $\approx 36 \times 10^3$ 。

基因组: $\approx 10\text{kb}$ 。gag-pro-pol和env的3'端有一附加基因orf(功能尚不清楚)。引物 tRNA^{Lys-3}。长末端重复序列(LTR) $\approx 1\,300\text{bp}$ (U₃1200, R15, U₅120)。

分布: 限于几个外源性垂直传递(经奶)和小鼠内源性病毒,与乳腺癌和T淋巴瘤相关。相关的内源性序列已在其他啮齿类和灵长类动物中发现。未知有含癌基因成员。

2. 鼠白血病病毒相关病毒(MLV-related virus)(哺乳动物C型逆转录病毒组)

典型代表: MuLV。

病毒: C型形态(明显可见表面钉状物,中间致密核心,芽生同时在细胞膜内表面发生装配)。蛋白质中基质蛋白 $\approx 15 \times 10^3$; P12; 衣壳 $\approx 30 \times 10^3$; 核衣壳 $\approx 10 \times 10^3$; 蛋白酶 $\approx 14 \times 10^3$; 表面糖蛋白 $\approx 70 \times 10^3$; 穿膜蛋白 $\approx 15 \times 10^3$ 。

基因组: $\approx 8.3\text{kb}$ 。未知有附加基因。引物 tRNA^{Pro}(少数内源性小鼠疾毒是tRNA^{Glu})。LTR $\approx 600\text{bp}$ (U₃500, R60, U₅75)。

分布: 广泛垂直和水平传递的外源性及许多哺乳动物中发现的内源性病毒。网状内皮组织增生型病毒,包括鸟未知内源性相关病毒。相关内源性序列发现于哺乳动物中。与多种疾病,包括肿瘤、免疫抑制性疾病、神经系统疾患等有关。已分离到许多含癌基因的哺乳动物和网状内皮组织增生病毒成员。

本属又分3亚属,即哺乳动物C型病毒,其成员有鼠肉瘤病毒、MuLV、FeLV、猫肉瘤病毒、长臂猿白血病病毒、豚鼠C型病毒、猪C型病毒、毛猴肉瘤病毒;网状内皮组织增生病毒;其成员有禽网状内皮组织增生病毒;爬虫动物C型病毒,其成员有蛇逆转录病毒。

3. D型逆转录病毒(type D retrovirus)组

典型代表: MPMV。

病毒: D型形态(除不显著的表面钉状物外,同B型)。蛋白质中基质蛋白 $\approx 10 \times 10^3$; P18; 衣壳 $\approx 27 \times 10^3$; 核衣壳 $\approx 14 \times 10^3$; 蛋白酶未知; 表面糖蛋白 $\approx 70 \times 10^3$; 穿膜蛋白 $\approx 22 \times 10^3$ 。

基因组: $\approx 8.0\text{kb}$ 。无已知附加基因。引物 tRNA^{Lys-1,2}。LTR $\approx 350\text{bp}$ (U₃240, R15 U₅95)。

分布: 新老灵长类动物外源性水平传递和内源性病毒。外源性病毒株与免疫缺陷疾病有关。未知含癌基因成员。其他成员有松鼠猴逆转录病毒、Langur病毒(Po-1-Lu)。

4. 禽C型逆转录病毒(avian type C retrovirus)组

典型代表: ALV

病毒: C型形态。蛋白质中基质蛋白 $\approx 19 \times 10^3$; P10; 衣壳 $\approx 27 \times 10^3$; 核衣壳 $\approx 12 \times 10^3$; 蛋白酶 $\approx 15 \times 10^3$; 表面糖蛋白 $\approx 85 \times 10^3$; 穿膜蛋白 $\approx 37 \times 10^3$ 。

基因组: $\approx 7.2\text{kb}$ 。无已知附加基因。引物 tRNA^{Trp}。LTR $\approx 350\text{bp}$ (U₃250, R20, U₅80)。

分布: 见于鸡和一些鸟中广泛外源性垂直和水平传递及内源性病毒。远相关内源性序列见于鸟和哺乳动物中。与肿瘤和某些其他疾病如废用性骺骨增生有关。已分离出许多含癌基因成员。其他成员有禽肉瘤病毒和白血病病毒。