

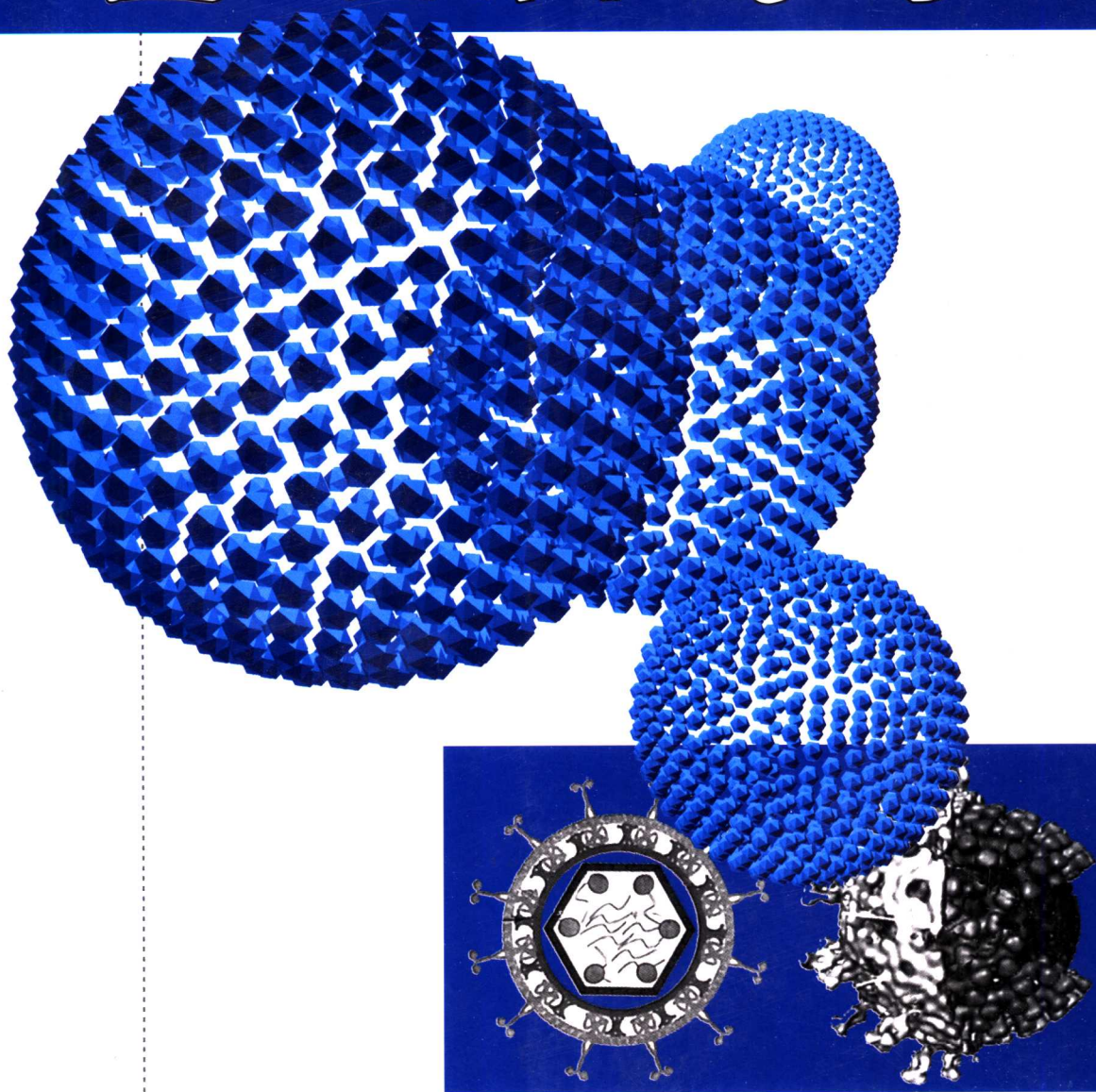
莽克强

Marcel Beld

Rui Mang

编著

基础病毒学



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

基础病毒学

莽克强

Marcel Beld 编著

Rui Mang



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

(京)新登字 039 号

图书在版编目(CIP)数据

基础病毒学/莽克强等编著. —北京: 化学工业出版社, 2005. 5

ISBN 7-5025-6913-8

I. 基… II. 莽… III. 病毒学 IV. Q939.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 048386 号

基础病毒学

莽克强, Marcel Beld, Rui Mang 编著

责任编辑: 叶露 梁静丽

责任校对: 陈静

封面设计: 关飞

*

化学工业出版社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010) 64982530

(010) 64918013

购书传真: (010) 64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 19 字数 456 千字

2005 年 9 月第 1 版 2005 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6913-8

定价: 49.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

编著者简介

莽克强 研究员、博士生导师。1930年出生于北京，1952年毕业于北京农业大学植物病理系。1985~1992年，历任中国科学院微生物研究所病毒研究室主任、微生物研究所副所长。1979~1982年，在美国威斯康辛国立大学生物化学系生物物理实验室作为访问教授。1983~1987年任国家科委生物工程顾问委员会委员，1984~1992年任中国科学院生物工程专家顾问委员会主任委员。1985~1990年任国家“七五”计划生物工程攻关项目专家组组长。1985~1995年，曾担任武汉大学、西北农业大学、上海交通大学、北京农业大学、河北大学、中国科学院研究生院兼职教授；《生物工程学报》和《病毒学报》副主编，《科学》杂志编委。1997~2001年担任中国生物工程学会理事长。先后发表科技论文百余篇，编写翻译著作五部，曾荣获省部级科技进步奖、国家成果奖10项。

Marcel Beld 1988年毕业于荷兰自由大学生物学系。1999年于荷兰阿姆斯特丹大学医学科学研究中心医学微生物系获得博士学位，现任该系高级研究员。

Rui Mang 1991年毕业于上海交通大学生物科学与技术系。1995年于中国协和医科大学生物化学与分子生物学系获得硕士学位。2000年于荷兰阿姆斯特丹大学医学科学研究中心医学微生物系获得病毒学理学博士学位。现任荷兰阿姆斯特丹大学医学科学研究中心医学微生物系高级研究员。

内容提要

病毒虽小,但却与人类社会发展及经济活动的关系极其密切。病毒既可引起宿主病害,给种植、养殖业和人类健康等带来不利的影响,又可利用它们进行疫苗生产和作为遗传工程中的外源基因载体,直接或间接地为人类创造出巨大的经济利益和社会效益。

本书在介绍病毒的起源和发展、病毒组分和结构的基础上,详细阐述了植物病毒、人和动物病毒、昆虫病毒、细菌病毒等的分类及基因组形态图解,并利用分子生物学知识介绍了病毒的纯化、检测及侵染和复制的机理与过程。在进一步了解了病毒与寄主细胞的相互作用机理后,作为综合性论著的一部分,本书列举了与人类健康和社会经济发展紧密相关的病毒病防治的内容。最后,编者邀请国外同行以病毒性肝炎作为实例,撰写了应用性强并日益在临床和流行病防治中占重要地位的病毒检测和诊断的章节,从而使本书的内容体系更加系统、完整。

本书结构条理清楚,内容系统新颖。适合作为生物专业的大中专师生的教材和参考书,有助于读者学到比较扎实的病毒学知识。本书对病毒专业的研究生及发酵工程、遗传育种、疫苗研发等相关领域的研究人员也是一本很好的参考书。

序

病毒是一群非细胞形态的特殊小生物。它们结构简单，形体各异，甚至有的只是单独的核酸大分子。病毒具有生物的基本特征，它们的遗传密码子和其他生物的密码子是基本相同的。但病毒是绝对寄生的，只有在其寄主生物细胞内才能增殖和繁衍后代，脱离寄主则不能进行自我复制，然而并不死亡，一旦侵入寄主又可再复制；有的病毒甚至将其基因组整合到寄主生物细胞的基因组内潜伏下来，一旦条件适合就掠夺寄主的代谢物质和能量，按照病毒的遗传指令繁殖起来，造成寄主严重病害。由于病毒容易发生变异，致使防治病毒病很困难。因此，病毒是原核生物和真核生物（包括人类）的大敌，病毒引起的人类艾滋病、流行性感、肝炎等顽症令人谈虎色变。但在另一方面，病毒作为最简单的模式生物，在发展生命科学的过程中却扮演了重要的角色。此外，利用某些昆虫病毒防治农作物的虫害也是一个有利的措施。在当今生命科学中，对病毒学的研究不论是现在还是将来都是备受关注的领域。

莽克强先生等编写的这部著作，全面系统地论述了病毒学的起源和发展，病毒的组分和结构，病毒的纯化、检测和病毒病的诊断方法，病毒分类，病毒的侵染与复制，病毒与寄主细胞的相互作用，以及病毒病的防治等。其特点是自古论今，内容丰富且新颖，理论和实际兼顾，并包括动物病毒、植物病毒、昆虫病毒和细菌病毒的综合比较的论述。更可贵的是有自己的观点和评论，不是资料的堆砌，适合大学生物学科的本科生和研究生以及有关研究人员参考和阅读。

李季伦

2005年4月10日于北京

/

前言

李季伦先生提议编著此书，以示对我们已故的导师俞大绂院士的尊敬和纪念。俞先生不仅博学而且精于解决实际问题，他为人诚厚，是中国植物病理学奠基人之一。

此书内容是本人多年在中国科学院研究生院教授《病毒分子生物学》课程资料的积累，并补充了当今病毒学领域的最新进展。之所以定书名为《基础病毒学》是鉴于国内已有的病毒学专著多为《植物病毒学》、《动物病毒学》或《病毒分子生物学》，均是以人或动物病毒为主的，而本书包括人、动物、植物、昆虫和细菌的病毒，并从病毒的基本结构、复制、病毒与寄主的相互作用，以及病毒病检测、诊断和防治的角度综合论述病毒学的专业书籍，以供大学本科生或相关研究生参考。再者，病毒学绝大部分知识的积累和研究领域发展主要得益于利用分子生物学、生物化学、遗传学和细胞学的概念和方法；同时病毒学知识的丰富也反向地充实了这些学科，特别是分子生物学。因此本书虽冠名以“基础”二字，却全篇贯穿病毒分子生物学的知识。

编写中深感不足而又力不从心的部分是应用性很强、日益在临床和流行性病防治中占重要地位的病毒检测和诊断的知识。有幸结识荷兰阿姆斯特丹大学医学中心（University of Amsterdam; Academic Medical Center, AMC）医学微生物系临床病毒学实验室（Lab of Clinical Virology, Department of Medical Microbiology）的同行。该实验室自第二次世界大战至今通过三代人坚持不懈的努力，建立了完善的自动化、系列化的分子检测诊断技术。20 世纪 80 年代，该实验室以疱疹病毒为对象的临床分子生物学诊断和研究已达该领域的国际先进水平。当时以 Rene Boom 博士为首发明的专利“利用有机硅吸附核酸”的核酸纯化方法是一个突出的贡献。该方法大大简化了传统的核酸分离纯化方法，为分子诊断在临床上的应用奠定了基础，并由此衍生出多种被广泛应用、商品化的分离方法。90 年代开始，该实验室以病毒性肝炎为研究对象，进行了重点是 HBV 和 HCV 的诊断和治疗的研究。目前，该实验室与荷兰和欧盟的一些大型医院密切合作，进行临床诊断的应用和研究。同时，与 Bayer、Roche 和 Abbot 等国际医药公司合作研究，进行临床试验开发新产品。为此，非常高兴地邀请到该实验室第三代的代表 Marcel Beld 博士撰写“病毒性肝炎的诊断和抗病毒治疗”，Rui Mang 博士撰写“病毒的纯化、检测和诊断”两章的内容。衷心希望能以此次中-荷合作为契机，进而开拓更广泛的临床诊断等应用性合作领域。

莽克强

2005 年 3 月

目 录

第一章 病毒学的起源和发展	1
第一节 病毒学发展的动力	1
第二节 早期病毒学 (1892—1960)	4
一、病毒的发现和纯化 (1892—1940)	4
二、病毒的复制——一步生长曲线 (1940—1950)	5
三、病毒的遗传物质——核酸 (1950—1960)	5
四、动物细胞的单层培养 (1948—1955)	6
第三节 近代病毒学 (1960 至今)	6
一、病毒学与分子生物学	6
二、病毒学与基因工程	7
三、病毒学与后基因组学	9
第四节 病毒学的进展及展望	11
一、病毒的定义及亚病毒侵染因子的发现	11
二、病毒学百年发展史给人们的启示	12
第二章 病毒的组分和结构	13
第一节 病毒的组分	13
一、病毒的 DNA	14
二、病毒的 RNA	17
三、病毒的多分基因组和分段基因组	19
四、病毒颗粒中的蛋白质	20
第二节 病毒颗粒的结构	21
一、螺旋结构	22
二、二十面体对称结构	23
三、有外膜的病毒	26
四、复杂结构的病毒颗粒	28
第三章 病毒的纯化、检测和病毒病的诊断方法	30
第一节 病毒的纯化	30
一、病毒纯化前的预备工作	30
二、病毒纯化的基本原理	31
第二节 病毒的检测	35
一、侵染力的测定	35

二、病毒的培养	36
三、血清学方法	37
四、病毒核酸检测	43
第三节 病毒病核酸分子诊断检测的优化和质量控制	47
一、实验室内的区域设置	48
二、尿苷酶防污染技术	48
三、检测对照的设置	48
四、核酸扩增检测系统的优化	49
五、核酸样品的分离纯化	49
第四章 病毒分类	51
第一节 病毒分类简史和现状	51
一、病毒种的定义	52
二、病毒的属、科、目	53
第二节 病毒分类的前景	54
一、毒粒特性	54
二、生物学特性	54
第三节 病毒分类简表和科、属、毒粒形态图解	55
一、病毒目、科、属、代表种及其寄主简表	55
二、病毒形态图解	55
第四节 亚病毒因子	74
一、类病毒	74
二、卫星病毒和卫星核酸	78
三、朊病毒	81
第五章 病毒的侵染与复制	84
第一节 病毒的侵染	84
一、接触和吸附	84
二、侵入	89
第二节 病毒复制的分类和动物病毒的复制	91
一、病毒复制的分类	91
二、动物病毒的复制	91
1. 以疱疹病毒为代表的组 I 病毒的复制	91
2. 以细小病毒为代表的含 ssDNA 病毒组 II 的复制	98
3. 以呼肠孤病毒为代表的含 (±) RNA 病毒组 III 的复制	103
4. 以小 (微) 核糖核酸病毒科为代表的含 (+) RNA 病毒组 IV 的复制	112
5. 以弹状病毒科和正黏液病毒科为代表的含 (-) RNA 病毒 V 组的复制	119
6. 以反转录病毒为代表的病毒组 VI 的复制 [(+)RNA→(±)DNA→mRNA]	
.....	131
第三节 植物病毒的复制	166

一、dsDNA 病毒	166
二、ssDNA 病毒	169
三、dsRNA 病毒	172
四、(一) RNA 和双链基因组病毒	174
五、(+) RNA 植物病毒	176
第四节 昆虫病毒	200
一、概述	200
二、杆状病毒科	201
三、多段 DNA 病毒科	206
四、野田村病毒科	207
五、四部分病毒科	207
第五节 类病毒	208
第六章 病毒与寄主的相互作用	209
第一节 噬菌体与寄主的相互作用	209
一、溶源性 λ 噬菌体的基本特征	210
二、 λ 噬菌体进入溶源性增殖的方式	211
三、 λ -DNA 整合进入和切割脱离寄主染色体的方式	213
第二节 病毒和动物寄主的相互作用	214
一、非特异性免疫反应	214
二、细胞介导的免疫反应	216
三、抗体介导的免疫反应	217
四、细胞凋亡或程序性死亡	219
五、病毒逃避或抑制免疫反应的策略	220
第三节 病毒与植物寄主的相互作用——植物防御反应中的信号传导	221
一、植物的抗性	222
二、植物天然防御体系的诱导	223
第七章 病毒病的防治	236
第一节 人类病毒病的防治	236
一、疫苗和免疫治疗	236
二、反义寡核苷酸药物	243
三、抗病毒药物	245
第二节 植物病毒病害的防治	248
一、植物病毒病害发生规律及其防治原理	249
二、防治植物病毒病害的措施	257
第八章 病毒性肝炎的诊断和抗病毒治疗	266
第一节 概述	266
一、认识病毒性肝炎	266

二、HBV 和 HCV 对公共健康的影响	268
第二节 乙型肝炎病毒	268
一、HBV 生物学特性	268
二、HBV 致病性	270
三、HBV 免疫反应	271
四、HBV 流行病学和基因型	272
第三节 丙型肝炎病毒	273
一、HCV 生物学特性	274
二、HCV 命名和基因型	276
三、HCV 致病性	276
四、HCV 免疫反应	276
五、HCV 持久性的机理	277
六、HCV 流行病学	278
第四节 抗病毒治疗	278
一、抗 HBV 治疗	278
二、抗 HCV 治疗	279
三、肝脏活组织检查的作用	280
参考文献	281
索引	283

第一章

病毒学的起源和发展

第一节 病毒学发展的动力

病毒学作为一门独立的学科发展至今，不断前进的重要动力有两个：一是病毒是危害人畜健康和植物生长、发育的重要传染病原之一，人类为了自我生活和生存与病毒进行了长期的斗争，并逐渐认识了病毒的传播、流行规律，诊断、防治方法以及病毒本身的特性；二是人们在探索生命秘密，特别是在分子生物学和分子遗传学形成、发展至今的全过程中，病毒一直作为最重要的模式生物之一，对这两门学科中很多重大而关键并具有突破性理论的发现、形成和阐明做出了巨大贡献。因此，即使因现代分子生物学的兴起，使得生物学领域中传统的基本分支学科间的界限变得模糊了的今天，由于人类在上述两方面的需求似乎仍有增无减，从而使病毒学仍不失其作为一门独立学科并保持其完整体系、继续发展的价值。

病毒学的起源是以病理学的一个分支开始的，早在公元前 1400 年，古埃及象形文字就描述了一位司祭人员的病状是典型的脊髓灰质炎，即小儿麻痹症，这可能是对病毒学的第一次文字记载。公元前 1000 年，中国已有天花发生。到公元 1000 年，宋真宗时代已有吸入病痂接种人痘来预防天花的办法了。16 世纪隆庆年间此法已广泛应用。1796 年才有英国人 Edward Jenner 提出种牛痘防天花；1966 年世界卫生组织（WHO）提出对接触天花患者的人进行计划免疫；1977 年 10 月当索马里这一世界上最后一位天花病人治愈之后，宣布全世界消灭了天花病。人类斗争了近千年才消灭了具有二千多年历史的自然传染的天花。但这也并非偶然，一方面是疫苗的发明和大规模的生产，但更重要的是天花病毒无动物寄主，仅在人与人之间传染。

另一个寄主范围很狭的古老病毒病——脊髓灰质炎（polio），1903 年被证明是病毒病。20 世纪 50 年代早期发明 Salk 疫苗和 Sabin 疫苗后，此病例已大大减少。美国和中国现在每年仅 10 多例，甚至少于 10 例，全球消灭小儿麻痹和另一个寄主范围很狭的麻疹病已指日可待。然而一些寄主范围广，人畜共患的病毒病，如狂犬病（rabies）的消灭又谈何容易。早在 1884 年，Louis Pasteur 就制备了第一个弱毒疫苗防治此病，至今已一百多年。一旦疫苗免疫有漏，则时有局部暴发狂犬病的可能，更遗憾的是还有不少危害人类的病毒如丙型肝炎（HCV）、艾滋病（acquired immunodeficiency syndrome, AIDS; *Human*

immunodeficiency virus, HIV) 还没有可用的疫苗。还有些老大难的病毒病, 如 1898 年发现的口蹄疫病毒 (*Foot and mouth disease virus*, FMDV) 和早已危害人类健康、并在 1918 年西班牙流行病蔓延欧洲、死亡 2000 多万人的流行性感冒 (简称流感) 病毒 (*influenza virus*), 虽有疫苗, 但苦于病毒抗原变异太快, 所谓抗原漂移现象 (*antigen drift*) 严重, 使病毒株系层出不穷, 致使疫苗发现不及时, 难达理想效果。流感在世界范围内的快速流行已不足为怪; 猪口蹄疫曾在中国台湾流行, 损失惨重; 几乎有谈虎变色之感的 AIDS 也是由于病毒多变 (现全球已有 4000 多万感染者, 仅 2003 年就新增 500 万), 体内潜伏能力高明, 几十种疫苗至今均不理想, 而其他药物也难奏效。已知的六种肝炎病毒 (*hepatitis virus*) 中尤以乙型肝炎病毒 (HBV) 和丙型肝炎病毒 (HCV) 通过血液传播, 仍有扩展之趋势。HBV 又是治愈率很低的肝癌的诱因之一, 虽有疫苗可用, 但感染的或症状不明的病毒携带人群庞大, 难以短期内奏效。由蚊虫传播的日本脑炎病毒 (*Japanese encephalitis virus*, JEV)、圣路易斯脑炎病毒 (*St. Louis encephalitis virus*, SLEV)、黄热病病毒 (*Yellow fever virus*, YFV) 虽有疫苗可控制疾病, 但传播媒介较多, 在世界范围内可局部发生甚至小流行。1999 年 8 月, 在纽约就有小流行。由鼠类传播或宠物仓鼠为媒介的 Lassa 热在西非和南非一些国家广泛发生。造成人严重出血热且死亡率极高的扎伊尔埃博拉病毒 (*Zaire Ebola virus*, ZEBOV) 和马尔堡病毒 (*Marburg virus*, MARV) 已成为人们严密监视的检疫对象。1967 年从接触过无症状的猴血或组织的病人中首次分离到该病毒。1975~1976 年此病在南非、扎伊尔、苏丹局部流行。20 世纪 80 年代又在非洲局部发生, 90 年代初通过猴子从菲律宾传至美国。1992 年从出口的亚洲猴体内分离到该病毒的某些株系, 当时造成的死亡率高达 53%~88%。2003 年, 西尼罗热病毒 (*West Nile virus*, WNV) 造成 8500 人感染, 199 人死亡。动物病毒病在中国时有发生甚至小流行的除猪口蹄疫、狂犬病外, 还有马传染性贫血 (病原为 *Equine infectious anemia virus*, EIAV)、鸡马立克病 (*chicken Marek's disease*), 以及流行较重死亡率很高的兔出血热病 (病原为 *Rabbit hemorrhagic disease virus*, RHDV), 其中中国自行研制的马传染性贫血病毒疫苗效果较好, 为国际所公认。20 世纪 80 年代末至 90 年代初, 在英国流行的疯牛病 (*mad cow disease*) 即由朊病毒 (*prion*) 侵染的牛海绵状脑病 (*Bovine spongiform encephalopathy*, BSE), 由于有证据认为人吃了病牛肉可能患克雅病 (*Creutzfeldt-Jacob disease*) 而闹得满城风雨, 加之几年内数十人和上百万头牛死于疯牛病, 迫使英国政府不得不屠宰数百万头携带朊病毒的牛。近年, BSE 在日本、加拿大和美国也时有发生。

近年来, 新的病毒不断产生。如 1998 年在马来西亚首先发现 Nipah (尼派) 病毒在全国蔓延, 死亡率很高: 254 人感染, 105 人死亡, 数以百万计的猪被屠宰。此病毒感染的症状虽像流行性感冒, 但很快发展为脑炎, 近年来仍在南亚和东南亚流行。2003 年春, 30 多个国家共 8000 人感染由冠状病毒 SARSV 引起的严重急性呼吸道综合征 (*severe acute respiratory syndrom*, SARS), 近 900 人死亡。

2005 年春, 在越南、泰国、中国、韩国、日本等国局部流行禽流感 (*avian influenza*), 经研究证明为 H₅N₁ 型。在泰国、越南有 52 人死亡, 但目前未证明产生能在人与人之间传染的病毒变异株。

早在 1619 年, 阿姆斯特丹的 Rijks 博物馆中一幅美丽的郁金香写生画正是感染了花碎病毒 (*Tulip-breaking virus*, TBV) 才使它比正常花更漂亮。当时花农已知将健康郁金香种球嫁接到染病的种球上就能获得在当时价值万贯的美丽的却是有病的郁金香。由马

铃薯 Y 病毒 (*Potato virus Y*, PVY)、马铃薯 X 病毒 (*Potato virus X*, PVX) 和卷叶病毒 (*Potato leaf roll virus*, PLRV) 侵染造成马铃薯退化而减产, 早在 18~19 世纪已在欧洲严重发生; 1949~1959 年, 也在中国流行, 如在河北中部发病率高达 85%~90%, 减产 30%~50%, 严重时甚至可达 70%。该病由蚜虫传毒, 块茎调种远距离扩散, 采用茎尖组织培养 (简称组培) 快速繁殖 (简称快繁) 技术脱毒、种苗证书及北种南调的综合防治使该病得到有效控制; 在荷兰则采取在无蚜虫区种植来控制。香蕉束顶病毒 (*Banana bunchy top virus*, BBTV) 是 1913 年通过引种香蕉的病吸芽 (sucker) 从斐济传入澳大利亚的。该病毒由蕉蚜虫传播, 至 1927 年有 90% 蕉田被毁, 香蕉产业受到严重威胁。后来采用早期诊断、清除病株才使病害维持在低水平。这项措施所以能成功, 主要是因为 BBTV 的寄主范围很窄, 只是从香蕉到香蕉间感染, 在中国 BBTV 和由黄瓜花叶病毒 (*Cucumber mosaic virus*, CuMV) 单独侵染或/和烟草花叶病毒 (*Tobacco mosaic virus*, TMV) 共同感染造成的花叶心腐病, 可使老蕉田造成少则 30%~50%, 多则 70%~80% 株毁田荒的惨状。20 世纪 80 年代以来, 采用病毒检测组培快繁无毒幼苗推广的方法, 有效地防治了香蕉束顶病。由蚜虫传播的毁灭性的柑橘速衰病 (病原为 *Citrus tristeza virus*, CTV) 原仅在南美的阿根廷和巴西流行, 损失几百万株, 后相继在南非、美国、西班牙、澳大利亚、以色列以及亚洲部分的地区流行, 采用酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 早期诊断并清除病株, 才有效地得到控制。菲律宾可可树的 Cadang-Cadang 病也是用分子杂交检测, 早期诊断这种由类病毒 (viroid) 引起的毁灭性病害, 然后较准确地砍伐病树得到有效控制的。清除媒介昆虫也是防治病毒的有效方法, 如施用线虫剂使烟草脆叶病毒 (*Tobacco rattle virus*, TRV) 在马铃薯上的发病率从 75% 降至 1%, 南芥花叶病毒 (*Arabis mosaic virus*, ArMV) 在草莓上的危害从 78% 降至 1%。在以色列防治蚜虫可使 PVY、CuMV 危害降低 90%。1950 年前, 莴苣坏死黄化病毒 (*Lettuce necrotic yellow virus*, LNYV) 在澳大利亚根本不是问题, 但之后危害逐步严重, 作物损失在 50% 以上。随后人们发现, LNYV 是由一种蚜虫从无症状的野生寄主苦苣菜 (*Sonchus oleraceus*) 获毒并以持久性方式传至莴苣上, 因此清除野生苦苣菜, 病害就被有效防治。人们不禁要问: 为何 1950 年前蚜虫和苦苣菜俱存却不成灾。究其原因是 20 世纪 60 年代澳大利亚因野兔过剩, 故引进黏液瘤病 (myxomatosis), 使兔的数量大幅下降, 随之天然饲料也相应剧增, 从而使 LNYV 暴发成灾。此例又一次生动说明人类某些不当的农业活动破坏自然生态平衡后所带来的灾难。1964 年, 意大利 1 万公顷甜菜感染由真菌传播的甜菜坏死黄脉病毒 (*Beet necrotic yellow vein virus*, BNYVV) 所引起的甜菜丛根病, 使糖产量损失 50%~60%, 导致一些糖厂关闭。1978 年, 中国内蒙古、新疆、宁夏回族自治区开始受害, 仅内蒙古就受害减产 43.8%, 使含糖率减少 4%~8%。1981 新疆石河子发病面积达 22.2%, 严重影响了制糖业, 使人们必须不断培育抗病品种。

以上仅仅不完全列举一些对人类生存造成严重威胁的病毒病, 说明人类与病毒斗争的长期性、必要性和艰苦性。相反, 随着科技的进步人们检测诊断病毒病的方法日益准确、可靠快速, 防治的方法更加多样有效。今后, 人们不仅能有效控制病毒, 还能利用病毒达到防治病毒病的目的。然而事情并非简单地到此结束, 生物界病原-寄主相互作用的自然法则不是以一方的绝对优势而终结的, 大多数更是遵循“道高一尺, 魔高一丈”的规律。具有生物特性的病毒在与寄主的相互作用中, 不断变异, 不断演化, 不断被选择形成新

株系甚至变异成从未有过的新病毒。寄主对新病原不适应，初期极大可能遭遇重大伤亡，但经长期较量后，寄主也在病毒侵染的选择压力下被选择，致病与抗病两者渐趋平衡。病毒与寄主的矛盾对立系统在进化过程中，受各种自然的或人为的选择，总由平衡→不平衡→再平衡的演化。历史经验已证明，人类和病毒病的斗争难以速战速决，从全局看可能任务渐趋减少，但局部斗争的激烈程度可能有增无减。从理论上讲斗争是无止境的，防治任务任重道远，HIV、流感病毒新株系、SARS病毒、尼派病毒以及禽流感病毒 H₅N₁ 型的出现所造成的惊恐和悲剧，也许正是今后人类与病毒间持久战的部分写照。

第二节 早期病毒学（1892—1960）

一、病毒的发现和纯化（1892—1940）

病毒究竟为何物，其形状和本质一直吸引并困惑着世界各国的科学家，人们研究了长达半个世纪后才得到明确答案。早在 1886 年，荷兰籍法国人 Adolf Mayer 将感染 TMV 的烟草叶汁注入健康烟草叶脉中，诱发了花叶病，这是第一个证明病毒可通过汁液传播的创造性实验。1892 年，俄国人 Dimifri Ivanofsky 不但确认了 Mayer 的实验并发现该病原可穿过细菌不能穿过的未上釉的陶瓷过滤器，称 Chamberland 过滤器。遗憾的是，这两位学者都受当时盛行的 Pasteur 所创疾病细菌学说（germ theory of disease）的束缚，都认为造成烟草花叶病的是细菌。Ivanofsky 竟错误地认为自己的过滤器有问题。1898 年，荷兰人 Martinus Beijerinck 独立地进行了与 Ivanofsky 相同的实验，发现该病原仅能穿过 Chamberland 过滤器，而且如将病叶汁稀释接种烟草后，能在活组织中增殖，并重新回复到稀释前的强度。因此他得出该病原是比细菌还小的一种可传染的毒液（contagium vivum fluidum）。可滤性因子（filterable agent）、可滤性病毒（filterable virus）的名称应时而生。同年 F. Loeffler 和 P. Frosch 证明牛口蹄疫病是可滤性病毒引起的。19 世纪末，修建巴拿马运河时，美国劳工大量死于黄热病，并北上蔓延至美国本土，1900 年 Walter Reed 以实验证明黄热病是由蚊虫传染的一种病毒所致。1915 年，英国人 Frederick W. Twort 和在法国巴斯德研究所工作的加拿大医生 Felix d'Herelle 各自独立发现噬菌体。

当时因受检测方法的限制难以触及病毒本质的探索。直至 20 世纪初，生物化学提纯蛋白质——酶的技术日趋成熟，人们才认为病毒就是一种蛋白质。美国科学家选择浓度高、侵染力维持久，同时已能用枯斑法检测的 TMV 为材料，用纯化酶的方法如用盐、丙酮或乙醇沉淀出有侵染性的 TMV；同时免疫兔子制备出 TMV 的抗血清。这些实验的成功说明了病毒的蛋白质本质，通过光学的流动双折射亦证明 TMV 是细长的杆状颗粒。1934 年 M. Schlesinger 在德国几乎完全纯化了噬菌体。1935 年 W. Stanley 在美国得到纯化的 TMV 及其结晶。1937 年英国的 Bawden 和 Pirie 证明 TMV 的结晶含 5% RNA 和 0.5% 的磷，其他都是蛋白质，显然 TMV 是个核蛋白。1939 年 Kausche 和 Ruska 用电镜照片，直观证明 TMV 是杆状颗粒，至此奋斗了几乎半个世纪，TMV 是核蛋白不是纯蛋白质、病毒是颗粒状不是毒液的争论到此结束。这 20 年（1920—1940）可以说是病毒的化学及其本质研究的阶段。

二、病毒的复制——一步生长曲线 (1940—1950)

当然,科学家更感兴趣的是病毒的复制。为什么仅 $1\mu\text{g}$ 的 TMV 接种烟叶几天后竟产生了上百万的子代病毒颗粒,但却不能像培养细菌那样培养它。1937 年在美国著名的 CALTECH 工作的德国物理学家 Max Delbruck 对 $T_{\text{偶}}$ (T_2 、 T_4 、 T_6) 噬菌体一见钟情,认为是研究病毒复制和遗传的好模式。于 1940 年发表了著名的一步生长曲线 (one step growth curve),用统计学定量方法分析了噬菌体复制的全过程,复制的第一步是病毒颗粒与寄主细胞随机碰撞 (random collision) 通过吸附而进入细胞。一旦进入细菌体内,其核酸和蛋白质就不断复制,但不见有完整病毒颗粒,此阶段称隐蔽阶段 (eclipse period)。病毒颗粒又称毒粒 (virus particle or virion),装配完成称潜伏期 (latent period)。此后直至细胞裂解释放病毒称裂解期 (burst period)。不同噬菌体病毒其裂解量 (burst size) 不同,如小的 RNA 噬菌体 F2、MS2 平均每个细胞 20 000 个,较大的含 DNA 的 T_2 噬菌体和 T_4 噬菌体每个细胞只有 150~400 个。不同噬菌体的潜伏期也不同,如含单链 DNA (ssDNA) 的 ΦX174 噬菌体只有 13min; F2、MS2 和 T_4 噬菌体是 22min、 T_5 噬菌体为 40min。之后证明高等生物的病毒复制全过程也是同样程序,只是其时程是以小时计,不是以分钟计而已。以泊松分布 (poisson distribution) 概率分析证明,有毒力的 (virulenc) 单个病毒颗粒能够发动噬菌体复制直至裂解杀死细菌细胞的全过程。

一步生长曲线的发表正值第二次世界大战爆发之时,Delbruck 只好留在美国,并有幸与流亡在美国 Columbia 大学也是研究 T_1 噬菌体和 T_2 噬菌体的意大利遗传学家 S. E. Luria 相会。他们的联手合作形成了强有力的噬菌体研究组。1942 年,第一张清晰的噬菌体电镜照片问世,同时噬菌体的突变株被分离,溶源性 (lysogenic) 噬菌体被发现。从 20 世纪 40 年代后期开始了在生化水平上研究复制过程中病毒核酸和蛋白质的复制及其与寄主的关系。大量实验清楚地说明病毒侵染抑制寄主细胞大分子 RNA 和 DNA 的合成,如 β -半乳糖苷酶 (β -galactosidase) 的合成被抑制,而病毒的核酸和蛋白质被快速合成。

三、病毒的遗传物质——核酸 (1950—1960)

20 世纪 50 年代初期有几项对病毒学以至 60 年代发展形成的分子生物学有着深远、重大影响的工作:①1952 年用 ^{35}S 和 ^{32}P 分别标记 T_2 噬菌体的蛋白质和核酸试图追踪噬菌体吸附进入大肠杆菌 (*E. coli*) 细胞的机制,结果证明只有 DNA 进入就足以提供复制出 100 多个子代病毒所需的遗传信息,这与 1944 年 Avery 证明无毒肺炎球菌能被转化成有毒的菌株是细菌的 DNA 不是蛋白质颇有异曲同工之效,进一步确认遗传物质基因寓于 DNA 之中;②1953 年, Watson 和 Crick 阐明 DNA 双螺旋结构的文章发表,之后于 1956 年根据病毒负染的电镜照片第一次提出病毒颗粒的外壳蛋白 (coat protein) 是由组分相同的蛋白质亚基 (subunits) 做对称的二十面体或螺旋式的排列而成;③1956~1957 年美国的 Fraenkel-Conrat 和 Singer 与德国的 Gierer 和 Schramm 分别独立地证明纯化的 TMV-RNA 有侵染性并决定 TMV 的遗传特性,利用病毒学材料无可争辩地证明 DNA 和 RNA 都是携带遗传信息的遗传物质;④1952 年 Wyatt 和 Cohen 在 $T_{\text{偶}}$ 噬菌体和动物病毒中发现有寄主 DNA 所没有的新碱基羟甲基胞嘧啶 (hydroxymethylcytosine),经 10 年的努力最终证明是病毒 DNA 编码的羟甲基酶 (hydroxylase) 被合成的原因,可见病毒的遗传信息在寄主细胞内被表达成蛋白质;⑤1955~1957 年, H. Fraenkel Conrat、B. Singer

和 R. C. Williams 在体外将 TMV-RNA 和外壳蛋白质组成完整的有侵染力的 TMV 颗粒，初步提示 TMV 颗粒自我装配 (selfassembly) 的可能。

四、动物细胞的单层培养 (1948—1955)

正值噬菌体和植物病毒研究取得重要成果的同时，动物病毒研究在 1948~1955 年也有一个非常重要而且关键的突破，即动物病毒的研究从利用实验动物整体过渡到利用组织培养。20 世纪 40 年代末，小鼠细胞的体外单层细胞培养开始用于动物病毒研究。之后，昆虫、鱼、蛙、猪、狗以及各种灵长类，包括人的 Hela 细胞系的体外培养相继建立。1953 年，R. Dulbecco 利用组培技术发展出空斑定量病毒的方法，首次定量测定脊髓灰质炎病毒 (poliovirus) 和西方马脑炎病毒 (Western equine encephalitis virus, WEEV) 的侵染性颗粒，开辟了定量动物病毒学的新领域以研究病毒的复制及其与寄主的相互关系，这项技术革新大大推动了动物病毒研究进展，使在临床和流行病毒研究中不断发现新病毒。动物细胞组培技术的开发使脊髓灰质炎病毒的疫苗能在体外培养的猴肾细胞中培养并大规模生产。利用组培技术能较方便地诱导减毒弱株系，开发新疫苗。

第三节 近代病毒学 (1960 至今)

不难看出，大约 1940~1960 年这 20 年间，通过对病毒复制及其与寄主细胞关系在生化水平上的研究，已经为 20 世纪 60 年代分子生物学的诞生奠定了部分但是很重要的基础。同时病毒学家已清楚地意识到利用病毒为探针可以了解生命过程中的核心与本质问题。因为病毒必须利用其寄主的大分子的合成部件、调控信号、生物合成规律才能复制自己。回顾 20 世纪 60~70 年代末，这 20 年的分子生物学以及 1972 年至今生物工程中核心技术——重组 DNA (recombinant DNA) 的诞生和发展的历史进程，正像病毒学家所预料的那样，病毒对生物学的全面发展做出了功不可没的贡献，对重组 DNA (基因工程) 这场革命起着关键的推动作用。

一、病毒学与分子生物学

早在 20 世纪 50 年代发现的溶源性噬菌体 (lysogenic phage)，如 λ 噬菌体基因组 DNA 在一定条件下可以不采取复制→装配→形成病毒颗粒→裂解的生活周期，而是整合到寄主 DNA 中，随寄主 DNA 复制和细胞分裂而不断延续。到 20 世纪 60 年代对于溶源性和裂解性 (lytic) 生活史的相互转换机制已有充分了解。首先得助于利用多种 λ 噬菌体突变体，如条件致死突变、琥珀突变 (amber) 或温敏型突变体的重组，以及基因组缺失和置换突变的杂交，使 λ 噬菌体基因组的基因鉴定和定位成为可能，从而获得基因组的物理图谱。 λ 噬菌体溶源性机制的研究导致发现阻抑蛋白的 cI 的负调控 (negative control) 和转录因子 (transcriptional factors) N 蛋白和 Q 蛋白的正调控 (positive control)，以及多基因间表达调控的相互协调、相互制约的复杂关系，这些成果为以后分子生物学的操纵子学说奠定了基础。

T4 噬菌体是另一个利用突变体获得基因组物理图谱的实例，也是研究其基因结构与功能最彻底的一个范例。尤其是对 $rIIA$ 和 $rIIB$ 两个顺反子 (cistron) 的遗传分析可以认为是研究基因精细结构最佳典范之一。从而导致有关移码突变 (frame-shift mutation) 研究成果首次支持遗传密码是三联体密码的学说。随后，1966 年，人们利用 T4 噬菌体溶菌