

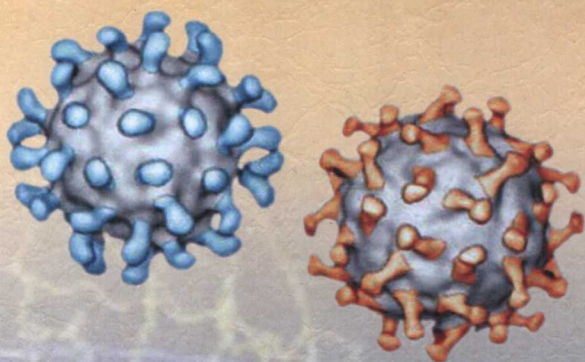
生 命 科 学



专 著 丛 书

龚祖坝 主编

病毒的分子生物学 及防治策略



上海科学技术出版社

生命科学专著丛书

病毒的分子生物学及防治策略

龚祖坝 主编

内 容 简 介

病毒学是一门跨生物学、医学、农学和环境科学的专门学科。随着分子生物学的研究进展,病毒学研究更多地应用分子生物学的技术,在分子水平上更深入地研究和了解生命的“最简单模型”,而分子病毒学的研究成果也丰富和促进了分子生物学的内容和进展。本书涉及分子生物学、分子遗传学、生物工程、农业及医学各领域,既反应了分子病毒学的最新研究进展,也重点涉及到其研究成果在医疗卫生和农业方面的实际应用。例如包括了近年来我国公共卫生安全受到严重危害的SARS冠状病毒和禽流感病毒的基础及诊断防治方面的研究。此外除本书第1、2章,其他各章节均涉及我国医疗卫生或农业方面的重大疾病,如人类的乙型肝炎、丙型肝炎、艾滋病、疯牛病及麦类病毒病等。本书的主要内容来自作者自己的研究成果及国内外学术界的最新研究进展。

本书可供从事生命科学研究的科技人员,有关专业的大专院校教师和本科生、研究生,以及与医学、农业有关的医生及农技师等阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

病毒的分子生物学及防治策略 / 龚祖坝主编. —上海:
上海科学技术出版社, 2006.1
(生命科学专著丛书)
ISBN 7-5323-8223-0

I. 病... II. 龚... III. ①病毒学: 分子生物学
②病毒-防治 IV. Q939.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 112360 号

世 纪 出 版 集 团 出版、发行
上海科学技术出版社
(上海钦州南路 71 号(临) 邮政编码 200235)
新华书店上海发行所经销
常熟市兴达印刷有限公司印刷
开本 787×1092 1/16 印张 26 插页 4
字数 387 000
2006 年 1 月第 1 版
2006 年 1 月第 1 次印刷
印数 1-2 000
定价: 88.00 元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题,
请向工厂联系调换



龚祖埧

1937年11月生。1961年6月毕业于苏联莫斯科大学生物系生物物理专业。1978—1981年在美国加州大学伯克莱分校Martin实验室和Tijian实验室进修分子病毒学。1986及1987年作为访问教授在日本Ebashi教授实验室进行合作研究,1988年在中国科学院上海生物化学研究所晋升为研究员,1989—1990年在美国Purdue大学生物系Rossmann实验室进行合作研究。1986年被评为国家级有突出贡献的中青年专家,1994—1997年任中国科学院上海生物化学研究所副所长。现任中科院生物化学与细胞生物学研究所研究组组长、亚洲及太平洋地区国际分子生物学网络(IMBN-A)副主席等职。已发表研究论文150余篇,著有《病毒和农业》、《中国植物类菌原体图谱》。曾获中国科学院自然科学二等奖、三等奖,1995年国家科学技术进步奖二等奖,1989年国家科学技术进步奖三等奖,上海市重大科学技术成果奖,1999年曹天钦优秀学术论文奖等。

《生命科学专著丛书》序

生命科学在 20 世纪的崛起和发展,无疑是人类所取得的辉煌成就之一。1953 年 DNA 双螺旋结构的发现,叩开了“生命之谜”的大门,一系列激动人心的重大成果纷至沓来。遗传密码的破译、遗传信息传递中心法则的确立、重组 DNA 技术的建立等,成为生命科学天空耀眼的明星,推动着分子生物学的概念和技术全面渗透到生命科学的各个分支学科之中,极大地促进了生命科学与生物技术的迅猛发展。在最近的 50 年里,分子遗传学、分子免疫学、细胞生物学、分子神经生物学等新学科一个接一个地诞生,生命科学与物理学、化学、数学等的交叉渗透,计算机以及大量新技术的广泛应用,多种动植物基因组研究计划的启动,特别是世纪之交人类基因组序列测定的完成,使生命科学的面貌焕然一新,并对农学、医学和制药的原理和工程产生深远的影响。所有这一切辉煌成就,奏响了 21 世纪生命科学时代来临的序曲。

生命科学的研究千姿百态,在基本理论的探讨方面,重点探讨诸如生物的起源演化、遗传变异、生长发育等错综复杂的生命活动的基本规律。与生物的多样性类似,生命科学的分支学科也是多种多样的。有根据所研究的生物对象区分的,如植物学、动物学、微生物学、病毒学等;也有按照所研究的生命活动的特征或层次区分的,如分子生物学、生物化学、细胞生物学、遗传学、发育生物学、生理学、形态学、生态学等。当代生命科学一方面在微观上对生物大分子的结构和功能关系进行研究,另一方面在宏观上对全球生态系统进行研究,深入探讨生物不同种群间及其与环境之间的相互作用规律。这一深刻的变革,使当代生命科学呈现出综合交叉、基础与应用研究紧密结合的发展趋势。学科交叉成为生命科学迅速发展的重要内驱力,传统学科界限正在消失,新的分支学科和新的生长点不断产生,如人类基因组和其他生物基因组研究所催生的基因组学、利用分子生物学手段研究生物系统和进化而产生的分子系统学、生命科学

与信息科学紧密结合而孕育的生物信息学等。同时,生命科学又与人类日常生活密切相关,直接关系到人类自身生活质量及其生存环境的维护。人类面临的诸多问题,如人口控制、疾病防治、农产品的优质高产、生物多样性和环境的保护等,无不与生命科学有着密切的关系。生命科学已成为当代农学、医学等的重要基础。在很多生命科学研究领域,基础研究和应用研究之间的距离正在缩短。特别是以重组 DNA 技术为代表的生物工程的兴起,人们以现代生命科学为基础,结合先进的工程技术手段,能够按照预先的设计来改造生物体或加工生物原料,这为生物医药产业的发展、重大疾病的防治、农作物的改良及病虫害的防治等研究和实践注入了新的动力,提供了一系列新的技术。在这些领域,不断传来振奋人心的消息。

至今,有科学记载的生物已有 170 多万种,最保守的估计全球也有 500~1 000 万种生物。地球上还有不少地方特别是热带地区的生物种类,还没有系统的调查研究,因此地球上物种的数目可能远远超出这一估计数。系统进化与生物多样性的研究,将为人们追溯生物进化的历史进程,保护生物多样性以及合理开发利用自然资源,提供扎实的科学基础。

面对生命科学激动人心的进展及其对人类社会生活的深刻影响,上海科学技术出版社抢占生命科学时代的先机,以积累和弘扬学术薪火为己任,就生命科学中的热点问题,聘请活跃在生命科学研究前沿的有关专家学者潜心著述,并计划在“十五”期间出版这套《生命科学专著丛书》。这套丛书力求从不同侧面展现我国科学家取得的成果,向广大读者介绍生命科学知识及其实际应用状况或前景。这一举措对促进社会各界更好地关心和支持我国生命科学的发展,吸引更多的优秀青年人才投身到生命科学及其相关领域的研究行列中来,具有深远的意义。“九五”期间,上海科学技术出版社已经出版了《生命科学丛书》系列,取得了良好的学术效果和社会效益。我们相信在此基础上推出的《生命科学专著丛书》一定会更上一层楼,为生命科学及生物技术 in 中华大地上的推广作出新的贡献。让《生命科学专著丛书》伴随我们,紧跟生命科学时代快速前进!

许智宏 裴 钢

(《生命科学专著丛书》主编)

2001 年 6 月

前 言

病毒是生命的最简单组织形式,简单的病毒仅由蛋白质和核酸两类生物大分子组成,虽然缺少更高级生物在细胞水平或细胞水平以上的复杂的信息传导和大分子之间的相互作用,但病毒遗传信息的组织、表达和调控,在宿主细胞内的装配和复制,遵循着一般生命现象的规律,特别是研究生物大分子蛋白质和核酸的结构和功能以及它们之间的相互作用,是一个十分有用的模型。近年来,关于在分子基础上如何了解和阐明病毒和宿主间的相互作用,病毒如何“干扰”宿主的生命规律,引起宿主的发病甚至死亡,均是当前分子病毒学的研究热点,分子病毒学也是分子生物学和分子遗传学的一个重要组成部分,其研究成果极大丰富了上述两门学科的内容和促进了它们的进展。

近年来,艾滋病、疯牛病、非典(SARS)和禽流感等病毒性传染病的发生和流行,不仅使人类面临新的“瘟疫”死亡的威胁,对人类的公共卫生系统和人类自我防卫能力引起极大的冲击,而且使工农业生产受到极大的损害。

这些传染病的产生和流行,加上已有的病毒病,如严重危害人类健康的乙肝等,引起各级政府及科研人员的重视,使得我们更为迫切地把研究病毒病以及它的病原摆在一个十分重要的位置,我们过去对大规模病毒病及病毒的研究大多处于“临渴掘井”的态势,而不能做到未雨绸缪。本书邀请了多位国内外科研一线的专家,对艾滋病病毒、朊病毒、SARS病毒、禽流感病毒以及乙肝病毒、丙肝病毒等的研究进展进行深入的介绍,

并且溶入了他们自己的研究成果和心得体会,在分子病毒学的研究基础上,尽可能地提出一些防治策略和设想。

病毒能侵染几乎所有的原核生物和真核生物,本书不可能包含所有病毒,我们希望能对某一种具体病毒的研究而触类旁通,给同类十分相似的病毒研究提供一些启示和思路。当然从目前来看,即使在病毒之间存在一些共同的生命规律,但更多的是多样性和特异性,每种病毒都是我们值得研究的对象。

龚祖坝

2005 年 11 月

作者简介

第1章

- 黄佩群 美国普渡大学(Purdue University)基因疗法研究室
周莹 美国普渡大学基因疗法研究室
郭培宣 教授,兼分子病毒学特聘教授,美国普渡大学基因疗法研究室主任

第2章

- Holland Cheng 教授,美国加州大学戴维斯(Davis)分校

第3章

- 洪涛 研究员,中国工程院院士,中国预防医学科学院病毒学研究所

第4章

- 邹键 博士,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所,美国匹兹堡大学(University of Pittsburgh)博士后
谭若颖 研究助理教授,美国加州大学旧金山分校

第5章

- 汪垣 研究员,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所

第6章

- 袁正洪 教授,复旦大学上海医学院,卫生部医学分子病毒学重点实验室主任

第7章

- 孙兵 研究员,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所
邵朝纲 博士,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所
龚祖坝 研究员,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所

第8章

- 邹键 博士,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所,美国匹兹堡大学博士后
龚祖坝 研究员,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所

第9章

- 邹键 博士,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所,美国匹兹堡大学博士后
单松华 助理研究员,上海出入境检验检疫局
龚祖坝 研究员,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所

第10章

- 龚祖坝 研究员,中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所

第 11 章

陈剑平 研究员,浙江省农业科学院院长,真菌传植物病毒实验室主任

陈炯 博士,浙江大学玉泉校区生物科学与技术系

第 12 章

成卓敏 研究员,中国农业科学院植物保护研究所

出版说明

科学技术是第一生产力。21 世纪,科学技术和生产力必将发生新的革命性突破。

为贯彻落实“科教兴国”和“科教兴市”战略,上海市科学技术委员会和上海市新闻出版局于 2000 年设立“上海科技专著出版资金”,资助优秀科技著作在上海出版。

本书出版受“上海科技专著出版资金”资助。

上海科技专著出版资金管理委员会

目 录

第 1 章 病毒组装的机制及应用前景	1
§ 1.1 病毒马达的主要成分	2
§ 1.2 病毒组装的机制	6
§ 1.3 病毒 DNA 组装的理论意义及与其他生物系统的关系	14
§ 1.4 病毒组装在生物学中的应用	15
参考文献	18
第 2 章 病毒-宿主相互作用的电镜直接观察	26
§ 2.1 投射理论与图像重构	27
§ 2.2 强有效的计算方法	29
§ 2.3 相位的精修与确证	30
§ 2.4 对称加强密度的填充	31
§ 2.5 载网上原子散射的整合	33
§ 2.6 计算差异图以定位结合的分子	35
§ 2.7 脊髓灰质炎病毒和鼻病毒分别与其不同细胞受体间的相互作用	37
§ 2.8 结语	41
参考文献	41
第 3 章 朊病毒和传染性海绵脑病	44
§ 3.1 朊病毒的来历	44
§ 3.2 朊病毒生物学和朊病毒病	46
§ 3.3 人朊病毒病	58
§ 3.4 问题与思考	62
§ 3.5 研究和开发朊病毒和疯牛病快速有效的检测手段	64

参考文献	68
第 4 章 艾滋病病毒(HIV)	70
§ 4.1 HIV-1 病毒颗粒	72
§ 4.2 HIV-1 的生活周期	85
§ 4.3 HIV-1 与宿主细胞间相互作用的关键事件	89
§ 4.4 艾滋病(AIDS)的治疗	107
§ 4.5 HIV-2 的分子生物学	120
参考文献	122
第 5 章 乙型肝炎病毒(HBV)	138
§ 5.1 乙型肝炎病毒的结构	138
§ 5.2 乙型肝炎病毒的基因组	139
§ 5.3 乙型肝炎病毒的结构蛋白	141
§ 5.4 乙型肝炎病毒的非结构蛋白	144
§ 5.5 乙型肝炎病毒基因的转录	146
§ 5.6 乙型肝炎病毒的复制	150
§ 5.7 乙型肝炎病毒基因的变异	154
§ 5.8 乙型肝炎病毒的预防和治疗	156
§ 5.9 乙型肝炎病毒与肝癌	159
§ 5.10 问题和展望	160
参考文献	161
第 6 章 丙型肝炎病毒(HCV)	164
§ 6.1 丙型肝炎病毒的基因组与蛋白质组	164
§ 6.2 丙型肝炎病毒的研究模型	175
§ 6.3 丙型肝炎病毒与宿主的相互作用	181
§ 6.4 问题和展望	192
参考文献	193
第 7 章 SARS 冠状病毒	198

§ 7.1 冠状病毒概述	198
§ 7.2 SARS 冠状病毒的形态结构、亚细胞定位及组织分布	203
§ 7.3 SARS 冠状病毒的基因组结构特点	204
§ 7.4 SARS 冠状病毒的突变及系统发生关系	206
§ 7.5 SARS 冠状病毒主要编码蛋白的功能和结构特点	208
§ 7.6 SARS 冠状病毒的生命周期	214
§ 7.7 SARS 冠状病毒对宿主的影响	215
§ 7.8 SARS 冠状病毒引起急性肺损伤的可能机制	216
§ 7.9 SARS 的流行病学	216
§ 7.10 SARS-CoV 特异性抗体的制备和应用	219
§ 7.11 SARS 疾病的诊断	222
§ 7.12 SARS 的预防和治疗	223
§ 7.13 问题和展望	226
参考文献	227
第 8 章 禽类主要病毒·新城疫病毒(NDV)	233
§ 8.1 新城疫病毒粒子的结构	236
§ 8.2 新城疫病毒的生物学特性	237
§ 8.3 新城疫病毒基因组及其编码产物	238
§ 8.4 新城疫病毒基因组的转录与复制	244
§ 8.5 新城疫病毒致病力强弱的决定因素	250
§ 8.6 新城疫病毒的检测与诊断技术	255
§ 8.7 新城疫病毒的防治	257
参考文献	259
第 9 章 禽类主要病毒·禽流感病毒(AIV)	267
§ 9.1 流感病毒粒子的结构	268
§ 9.2 流感病毒的基因组及其编码蛋白	269
§ 9.3 流感病毒的复制及其基因表达的调控	276
§ 9.4 禽流感病毒的致病力	281
§ 9.5 禽流感病毒抗原性的遗传变异	284

§ 9.6 宿主对流感病毒的免疫反应与疫苗保护	285
§ 9.7 禽流感病毒与人流感病毒的关系	287
§ 9.8 禽流感流行病学	290
§ 9.9 禽流感病毒的检测技术	292
参考文献	297
第 10 章 弹状病毒(RV)	301
§ 10.1 弹状病毒的基因组结构	303
§ 10.2 弹状病毒的结构蛋白及其功能	311
§ 10.3 弹状病毒基因的转录、复制与核衣壳化	317
§ 10.4 用生物工程方法防治弹状病毒	321
§ 10.5 结语	325
参考文献	325
第 11 章 真菌传麦类病毒	333
§ 11.1 种类及其分布	333
§ 11.2 宿主范围、症状和危害	336
§ 11.3 真菌介体及其与病毒的关系	336
§ 11.4 病毒株系	338
§ 11.5 病害防治	340
§ 11.6 病毒基因组的结构与功能	341
参考文献	358
第 12 章 抗病毒转基因植物	362
§ 12.1 原理	362
§ 12.2 方法	366
§ 12.3 抗病毒转基因研究及应用	371
参考文献	391
索引	395

第 1 章 病毒组装的机制及应用前景

在任何一种病毒的成熟过程中,蛋白质的合成和核酸的复制都是通过两套不同的机制来完成的。当蛋白质和核酸分别合成后,两者通过一系列循序渐进的相互作用而形成成熟的病毒粒子,这一过程就是一直引起病毒学家极大兴趣而至今尚未能在分子机制上得到完全解答的病毒组装过程。自 1968 年以来,从事这一领域研究的科学家们每两年召开一次国际性噬菌体组装机制研讨会,到 1990 年,研讨会的内容已由最初的噬菌体组扩展到包括动物病毒组、真菌病毒组、植物病毒组和昆虫病毒组等。科学家们通过对不同类型病毒包装过程的生物学和生物化学方面的研究和比较,逐步揭开了病毒组装和成熟过程的神秘面纱。许多拷贝的蛋白质亚单位装配成一个完整的病毒粒子,就如同用同样大小的砖块建成各种大小不同形状各异的建筑物一样,在建筑物中每一个特定位置的每一块砖的放置都是由建筑工程师来决定的,在病毒粒子的装配中也有相应的调控机制。

病毒核酸的组装与核酸的生物化学和物理特性密切相关。几乎所有的线性双链 DNA 病毒的组装都是在骨架蛋白的帮助下预先形成原衣壳,DNA 分子被装入原衣壳中,骨架蛋白在 DNA 进入时已离去^[1, 2]。DNA 包装过程消耗 ATP,并涉及两个 DNA 包装蛋白。有些线性双链 DNA 病毒,如噬菌体 phi29 核酸的包装还需要 RNA (pRNA,即包装 RNA)的参与^[3]。pRNA 结合到原衣壳的连接器上是整个包装过程的第一步^[4, 5]。环状双链 DNA 病毒的组装是衣壳蛋白加入到病毒的小染色体中。单链 DNA 或 RNA 病毒的组装是通过蛋白质核酸的相互作用,单链 DNA 或 RNA 具有相当高的电荷量,使得核酸能和蛋白质相互作用,共同浓缩。单链 RNA 病毒的 RNA 的二级结构在包装过程中起重要作用。虽然病毒组装理论的完全阐明尚有待于大量基础研究的深入,但目前的研究水平无疑已显示出喜人的前景。由于各种病毒的组装成熟过程

具有共性,故这一机制的阐明除能为研究蛋白质、DNA 和 RNA 等大分子的相互作用提供新的信息外,也能为研究真核细胞染色体的包装、基因克隆载体的构建、嵌合型病毒展示的抗原决定簇和配体的组装提供理论基础和应用手段,同时由于病毒包装为病毒所特有,宿主细胞未拥有相应的机制,因而寻找不伤害宿主的特异性抗病毒药物将成为可能。Phi29 的细胞外 DNA 组装系统是最高效的系统^[6-9],利用 Phi29 的细胞外 DNA 组装系统^[10],phi29 的 DNA 组装马达的力已经测出,高达 59×10^{-12} N,是当前已发现的力最大的生物马达^[11]。Phi29 DNA 组装马达的整体立体结构也已初步阐明^[12-14]。

§ 1.1 病毒马达的主要成分

1.1.1 蛋白质成分

Caspar 和 Klug 首先推断蛋白质亚单位排列成二十面体的病毒衣壳^[15]。Caspar-Klug 的二十面体病毒衣壳结构理论认为,围绕二十面体的十二个顶角是五基体亚单位,与五基体亚单位毗邻的全是六基体亚单位,从而使得不同的病毒衣壳体积大小不同。显然,如病毒衣壳仅含有一种蛋白质亚单位,那么这种蛋白质亚单位必须能通过不同的途径自我作用以形成五基体和六基体,为什么这种单一形状的蛋白质亚单位既能装成五基体和六基体,但只能装配成一个有固定形状的病毒衣壳而不是装配成多个类似病毒衣壳形状的其他结构?此外,双链 DNA 噬菌体的原衣壳还含有一个连接器蛋白,这就更增加了装配过程的复杂性。对不同病毒和噬菌体的研究表明,骨架蛋白和连接器蛋白在病毒衣壳蛋白的正确装配中起了重要作用。病毒衣壳组装需要某些宿主细胞成分如伴侣蛋白(chaperone)或其他细胞因子^[16-21]的参与。像噬菌体 T4 和 $\phi 29$ 那样由单一蛋白质亚基构成的呈长形而不是二十面体的衣壳形状是如何调控形成的问题,已逐步得到阐明^[22, 23]。

1. 原衣壳(procapsid)

双链 DNA 噬菌体在繁殖过程中首先合成一个不含 DNA 的具有生物活性的蛋白外壳,称原衣壳,然后核酸再装进此壳中^[24]。噬菌体的原衣壳至少含有三个结构蛋白:主要壳粒蛋白、连接器和骨架蛋白^[25-28]。