



微生物与分子生物学

Met - Lys - Pro - Val - Thr - Leu - Tyr - Asp - Val - Ala - Glu - Tyr - Ala - Gly - Val -
10
Ser - Tyr - Gln - Thr - Val - Ser - Arg - Val - Val - Asn - Gln - Ala - Ser - His - Val -
20
Lys - Thr - Arg - Glu - Lys - Val - Glu - Ala - Ala - Met - Ala - Glu - Leu -
40
Asn - Arg - Val - Ala - Gln - Gln - Leu - Ala - Gly - Lys - Gln -
50
Val - Ala - Thr - Ser - Ser - Leu - Ala - Leu - His - Ala -
70
Ala - Ala - Ile - Lys - Ser - Arg - Ala - Asp - Gln - Leu -
90
Ser - Met - Val - Glu - Arg - Ser - Gly - Val - Glu -
100
His - Asn - Leu - Leu - Ala - Gln - Arg - Val - Ser -
120
Leu - Asp - Asp - Gln - Asp - Ala - Ile - Ala -
130
Val - Pro - Ala - Leu - Phe - Ile - Ile - Phe -
150
Leu - Gly - Val - Glu - His - Leu - Val - Ala -
170
Leu - Leu - Ala - Glu - Gly - Ser -
190
Ala - Thr - His - Met - Thr - Leu - Thr -
210
Val - Thr - Arg - Glu - Gly - Asp - Thr - Ser -
230
Thr - Met - Leu - Asn - Glu - Gly - Leu - Val -
250
Asn - Asp - Gln - Met - Ala - Leu - Gly - Ala -
270
Thr - Gly - Leu - Arg - (法) 乔治·阿科恩 著
290
Asp - Thr - Glu - Asp - Ser - Ser - Cys - Tyr - Ile -
310
Lys - Gln - Asp - Phe - Arg - Leu - Leu - Gly - Gln -
330
Leu - Leu - Gln - Leu - Ser - Gln - Gly - Gln - Ala - Val -
350
Leu - Leu - Pro - Val - Ser - Leu - Val - Lys - Arg - Lys - Thr -
370
Pro - Asn - Thr - Gln - Thr - Ala - Ser - Pro - Arg - Ala - Leu - Ala -
390
Ser - Leu - Met - Gln - Leu - Ala - Arg - Gln - Val - Ser - Arg - Leu - Glu - Ser -
410
Gln -
430

科学出版社

内 容 简 介

本书作者 Georges Cohen 教授是法国巴黎巴斯德研究所细胞生物化学研究室主任，兼法国全国科学研究中心的研究主任。在本书中他从微生物分子遗传学的角度，扼要地叙述了巴黎巴斯德研究所四十多年来所总结的属于分子生物学的许多基本概念。其中包括：细菌的生长、突变、微生物遗传图的建立、校正抑制、渗透性与主动运输、酶的诱导、生物合成的阻遏、负调节、阻遏物的化学性质及其作用方式和分解代谢阻遏等。全书共分十二章，每章后面皆附有参考文献。

本书可供从事分子遗传、遗传工程、微生物遗传育种、生物化学研究工作的科研人员以及大专院校有关专业的师生参考。

Georges Cohen

MICROORGANISMES ET BIOLOGIE

MOLÉCULAIRE

Hermann, 1976

微生物与分子生物学

〔法〕乔治·科恩 著

吴 明 译

庄增辉 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 12 月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1980 年 12 月第一次印刷 印张：6 1/4

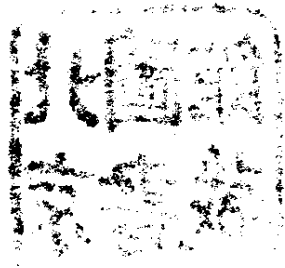
印数：0001—7,050 字数：140,000

统一书号：13031·1406

本社书号：1940·13—9

定 价： 1.00 元

A



译 者 的 话

现代分子生物学的许多基本概念都是从微生物遗传学和生理学基础上发展起来的。在这方面,法国巴黎巴斯德研究所过去四十年来的确有过许多重大贡献。本书作者在这个研究所的三十多年期间,目睹了这个研究所的分子生物学研究的产生、发展而至取得一个又一个成果的全过程,并亲身参与了其中的某些项目的研究。他在本书中概述了该期间微生物与分子生物学及微生物分子遗传学的各个方面的工作,为合理地研究微生物适应它周围环境发生的变化,提供了生理学的和分子的基础。我翻译这本书,希望向有关工作者介绍这方面的基本知识。

本书是法国海尔曼出版公司(Hermann)出版的“研究方法丛书”(Collections Méthodes)之一。这套丛书的作者既是从事科学研究的,同时又是担任过教学任务的。因此,丛书的篇幅虽小,而内容却能做到深入浅出,文字通俗易懂。这就使各分支学科和各种水平的读者通过对本书的阅读,能够掌握分子生物学的最新知识,从而窥见到本学科的全貌,得知目前的发展状况。由于丛书的各分册内容各有所侧重,故而有些内容又是该研究所有过出色成绩的,并且又是构成为现代分子生物学的一个重要方面的如蛋白质的别构相互作用等,则被编入在其它分册(蛋白质的结构和构象动力学“Structure et dynamique conformationnelle des protéines”, Jeannine Yon)里,而在本书里就叙述得过于简单了。

由于译者水平有限,谬误之处在所难免,敬请批评指正。

1978年12月

序 言

本书是在同微生物，特别是同大肠杆菌打交道的大约三十年期间，经过长期深思熟虑的结果。作者的科学生涯几乎全是在巴黎的巴斯德研究所 (l'Institut Pasteur de Paris) 度过的，正是在这个时期内，又正是在这个研究所里产生出了现代分子生物学的许多概念。

本著作应该被看作为对希望维护原核生物研究，尤其是维护微生物生理学和遗传学研究运动的一种赞助。若干年以来，使人们感到一些年轻的科学工作者对这些领域有些不热爱了，他们中间的许多人理所当然地就被吸引到真核生物的分化和发育问题方面去了。

作者感到，无论就微生物学这个词的现代意义还是就这个词的普通意义，现在是，将来一个长时期内依然是普通生物学中形成的最理想的学派。这就是作者想在此表达的信念。

巴黎，1975年7月

目 录

序言.....	vi
第一章 细菌的生长.....	1
生长潜伏期	1
指数生长期	2
生长下降期和停止生长	3
线性生长	4
生长量	5
生长率随碳源营养物浓度而变化	7
连续生长和恒化器	8
生长指数期连续培养的优点	10
二峰生长曲线	11
第二章 营养.....	16
无机离子	18
有机生长因子	19
维生素	19
氨基酸	22
嘌呤碱基和嘧啶碱基	23
脂肪酸	23
多胺	23
互养	23
第三章 突变.....	25
碱基类似物	25
在 DNA 的碱基上起化学作用的物质.....	28
去掉 DNA 碱基的化学物质或处理.....	29
移格子(glissement de cadre)突变(移码突变体)	29

造成一些多肽链终止的无意义突变	31
通过缺失、易位 (transposition) 或倒位 (inversion) 的突变	32
第四章 建立微生物的遗传图	34
突变体的选择	34
性状重组	36
<i>E. coli</i> 的性别	38
以时间为单位作遗传图	39
重组法遗传定位	41
性因子	46
准性以及用它来建立遗传图	47
借助缺失进行精细的遗传定位	50
第五章 校正抑制	52
间接校正抑制	54
第 I 组	54
第 II 组	55
第 III 组	55
基因内校正抑制	55
信息校正抑制	56
抑制基因	57
无意义抑制基因的作用机理	58
错误意义抑制基因的作用机理	59
结论	60
移格子的抑制基因(移码抑制基因)	61
核糖体水平上的校正抑制	64
第六章 通透性与主动运输	68
<i>E. coli</i> β -半乳糖苷透性酶	70
积累的动力学和特异性	70
用立体特异性透性酶来解释生理学上的自相矛盾	76
氨基酸透性酶	78
<i>E. coli</i> 积累外源氨基酸	78
固定作用的特异性 竞争性取代	79

外源缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸对 <i>E. coli</i> K 12 的以及需要这 些氨基酸的 <i>E. coli</i> 突变体的生长效应的解释.....	85
解释肽在 <i>E. coli</i> 突变体里的习性	89
主动运输 transport actif 的机理	93
主动运输的力能学	95
结论	99
第七章 酶的诱导.....	101
β -半乳糖苷酶的全程合成	105
组成型突变体	107
组成型突变体的多效性	108
在 <i>E. coli</i> 合成 β -半乳糖苷酶时, 诱导性的遗传控制和细胞 质的表达	109
第八章 生物合成的酶阻遏.....	122
现象的叙述	122
去阻抑突变体的分离 它们的特性同分解代谢物系统组成型 突变体的特性相类似	127
协调的阻遏和并列阻遏	131
第九章 负调节.....	137
伴随合成一种特异性 mRNA 的诱导作用	137
分离 lac 阻遏物	140
lac 操纵基因是一个 DNA 片段	145
第十章 阻遏物的化学性质及其作用方式.....	149
lac 阻遏物	149
trp 阻遏物	156
arg 阻遏物	159
涉及有 tRNA 参与的生物合成调节	159
遗传表达的自动调节	163
第十一章 分解代谢物的阻遏.....	167
启动子区	169
环状 AMP 和 CAP 蛋白质在 RNA 多聚酶联结于启动子区	

时的作用	170
葡萄糖如何调节环状 AMP 水平的呢?	173
其它分解代谢物阻遏机理的研究	174
第十二章 生物化学途径的演化.....	176
与天冬氨酸衍生的氨基酸生物合成有关的蛋白质	178
<i>E. coli</i> 基因组的演化.....	185
索引.....	189

第一章 细菌的生长

人们早就把细菌培养物的生长区分成为若干个相继的时期,最有特征性的时期是潜伏期 [la phase de latence (lag phase 延滞期)]、生长的指数期 (la phase exponentielle) 和生长的减慢期 (la phase de ralentissement) (图 I.1)。

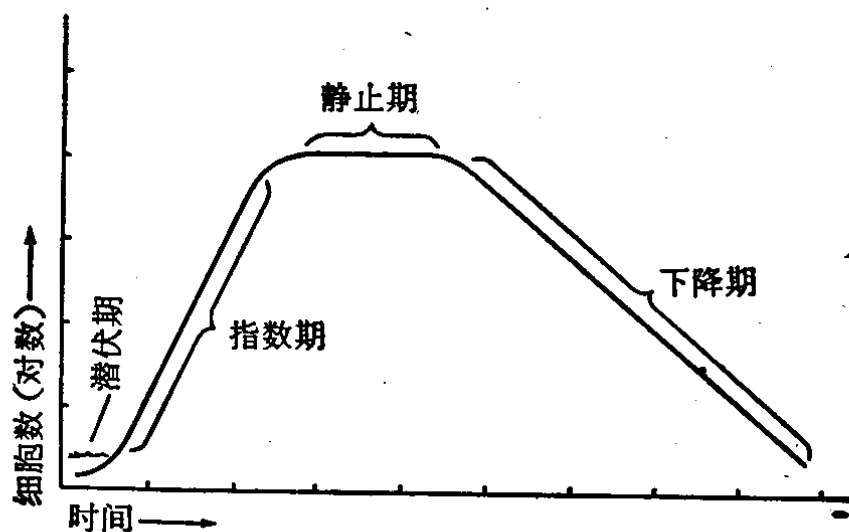


图 I.1 细菌培养期间所观察到的各个时期

生长潜伏期 (图 I.2)

现在所有的作者都同意如下的事实,即潜伏期同所说的生长是没有联系的,而是由于一些偶然的原因造成的,现象表现的一些例子将足以启发读者。

a) 生长停止后,每个细菌的核糖体数目减少了,而蛋白质的合成只能待产生出新的核糖体之后,才能以合适的速率

重新开始。

b) 在一个培养物内,群体的一部分是不能成活的,这时的

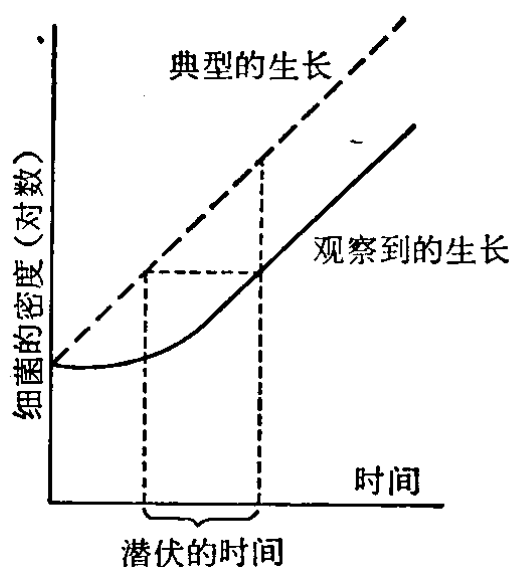


图 1.2 图解确定的潜伏期

的细菌却能分散光; 因此有人常采用比浊法 (néphélométrie) 估计菌体量, 此法较测量成活细胞来得快。如果成活细胞这一部分的数目少, 就必须等待一段时间, 使培养物的光密度变化灵敏。另外人们还将观察到, 通过计算成活细胞所确定的潜伏的时间比用比浊法所确定的潜伏时间要短。

c) 将细胞从培养基 *A* 转接到培养基 *B*, 如果培养基 *B* 的含碳底物的利用需要合成一种或几种诱导酶, 或者说, 如果在培养基 *A* 上的生长引起以后在培养基 *B* 上阻遏 (répression) 的话, 那么, 处于指数生长期的这种转接可能造成一段潜伏期的时间。

d) 最后, 当把处于指数生长期的细菌转接到与原先相同的培养基中时, 所有的条件也都相同, 那么就不存在潜伏时间的这种偶然性了, 这就是再好不过的说明。

指数生长期

所有必需营养物一旦过量出现时, 培养物按某一恒定速率生长, 而且生长速度与培养物的浓度成比例。因此, 是一根指数生长曲线。起始时的群体 x_0 , 经 n 世代后, 一个指数培养物的群体 x 为:

$$x = x_0 2^n$$

以 μ 表示单位时间的细胞分裂数, x 为时间 t 的细胞浓度, x_0 为时间 t_0 的细胞浓度, 得:

$$x = x_0 2^{\mu t}$$

由上式得:

$$\mu = \frac{\log x - \log x_0}{(t - t_0) \log 2}$$

因而, 如果人们在生长指数期中两个时间的培养物的细胞群体数值是已知的话, 就能推算出生长速率 μ 值。

取的时间单位以小时计, 则 μ 实际代表一小时内的细胞分裂数。

如果人们使用仔细算定好的分光光度计, 同时校正好它的读数刻度正比于细菌的浓度, 以及测量仪器上的单位与干物重量之间的比率在指数生长期保持恒定时, 就能由细菌悬浮液的光密度测出生长, 这比计算成活机体简易得多。

要表示指数生长, 最理想的方法莫过于图解法, 纵座标代表培养物光密度的对数, 横座标代表相应的取样时间, 简单查对半对数纸上所得的直线, 即得 μ 值: 用内插法推算出光密度加倍所必须的时间。

生长下降期和停止生长

如果某种必需营养物在生长期快要消耗尽时, 培养基的氧化到了极限, 或者如果培养基变得过酸, 抑或过碱, 则生长速率下降, 并由于消失而停止生长。这种生长下降期和停止期是难以确定的, 其特征和持续的时间取决于限制生长的原因。如果限制作用是由于必需元素消耗尽造成的, 则成活的细胞和菌体量几乎是同时停止增长。

相反, 有毒废物的积累能阻止细胞分裂(成活细胞数保持

恒定),但光密度能持续上升。

线 性 生 长

人们曾证实^[2],如果把某些氨基酸结构类似物加到指数期的大肠杆菌(*Escherichia coli*)培养物里,这种添加物并不引起生长的完全停止,只不过指数生长转变成为线性(算术)生长,亦即转变成为菌体量的增长,直接地与时间成正比的一种生长,按照:

$$x - x_0 = Kt$$

所有这一切就好象是不再合成某种必不可少的组分似的,至少不再积极地合成似的,生长也从此和添加类似物前存在的这种必需成分的量成比例。

我们将在下一章中见到这样的实例。

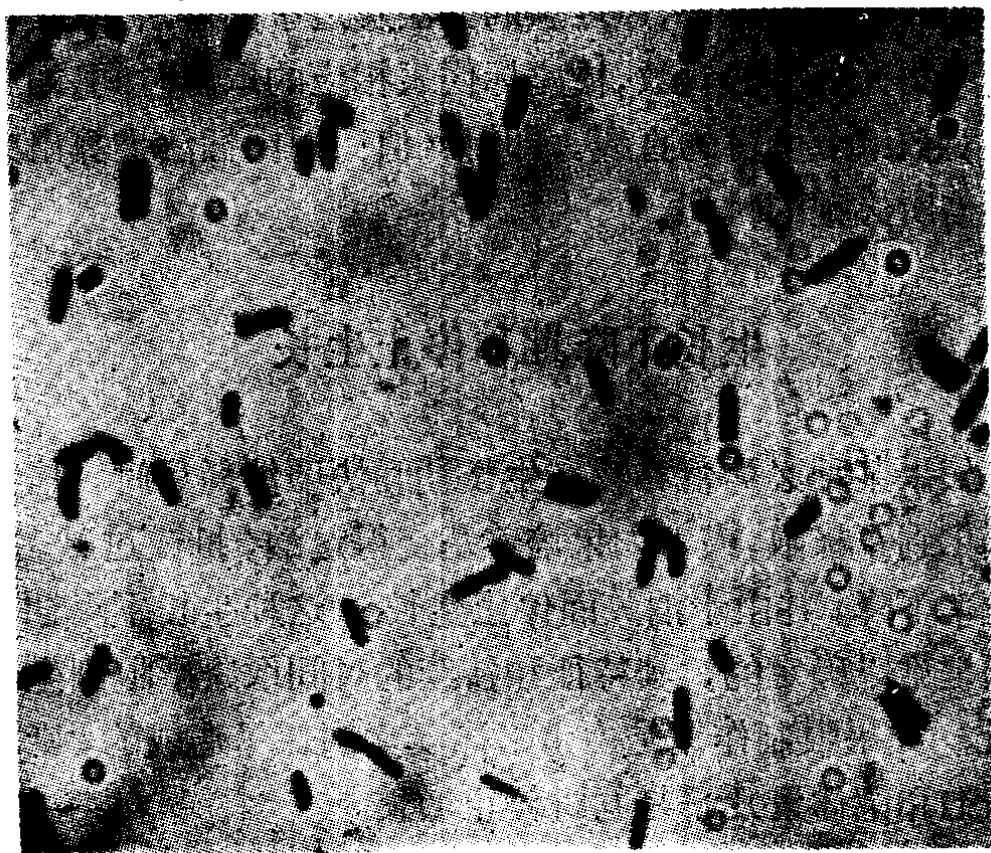


图 1.3 在对数生长期的 *E. coli* K12 培养物的显微镜照片

图 I.3 和 I.4 表示: 正常 *E. coli* 以及在含 $2 \times 10^{-4}M$ 对-氟代苯丙氨酸培养基里稀释的 (在此培养基里, 菌体量增加了 10 倍以上) 同一细菌的形态。看到的长丝状物, 使人假设为细胞分裂过程中的一种变态。

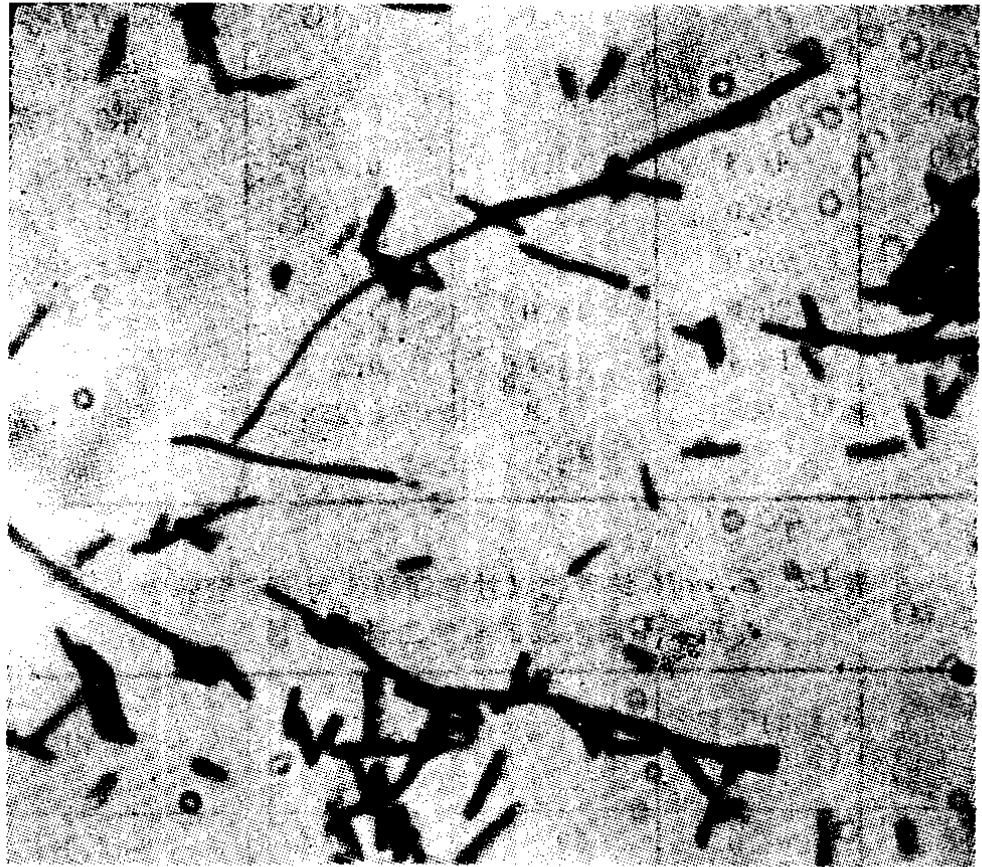


图 I.4 在含 2×10^{-4} MDL-对-氟代苯丙氨酸的培养基内, 稀释的对数生长期的培养物(图 I.3)。照片是在线性生长 15 小时后拍摄的, 在这期间, 培养物的光密度增加了 10 倍。

生 长 量

如果人们想估计生长在某种既定的碳源上例如一种糖类上的细菌培养物的生长量时, 按如下的比例:

$$\frac{\text{总的生长(单位体积的毫克干重)}}{\text{糖的浓度(单位体积的毫克干重)}}$$

细看一下引自 Monod^[1] 经典著作中的下列两个表, 说明

表 1.1 *E. coli* 培养物以葡萄糖为碳源营养物
按其不同浓度的总的生长和产量

葡萄糖 的浓度 (毫克/升)	总的生长 (密度单位)	总的生长(毫 克干重/升)	产 量	与平均数相比之差
200	58.7	47.0	0.235	+0.9%
180	53.0	42.4	0.236	+1.3%
160	46.8	37.4	0.234	+0.43%
140	41.3	33.0	0.236	+1.3%
120	35.0	28.0	0.234	+0.43%
90	26.0	20.8	0.230	-1.3%
70	20.0	16.0	0.228	-2.1%
50	14.4	11.5	0.230	-1.3%
25	6.7	5.4	0.258	+10.7%
平均产量=0.233				

表 1.2 *E. coli* 培养物以甘露糖醇作为碳源营养物
按其不同浓度的总的生长和产量

甘露糖醇 的浓度 (毫克/升)	总的生长 (密度单位)	总的生长(毫 克干重/升)	产 量	与平均数相比之差
200	63.0	50.4	0.250	-2.0%
160	51.8	41.5	0.259	+1.6%
140	44.6	35.7	0.255	0.0%
120	38.5	30.8	0.250	-2.0%
100	31.5	25.2	0.252	-1.2%
80	26.0	20.4	0.255	0.0%
60	20.0	16.0	0.266	+4.3%
40	12.7	10.2	0.255	0.0%
20	6.6	5.3	0.265	+3.9%
平均产量=0.255				

总的生长与培养基中糖类的初始浓度成正比;换句话说,生长量在所研究的浓度范围内与限制性营养物的浓度无关。上例证实,供细菌生长的糖量完全被细菌利用了。某些特别细心

的实验表明,在生长率的变化是由于氧浓度,或者是由于碳源营养物浓度的变化所引起的条件下,生长量就不取决于生长率。引自己提到的 Monod 的工作的图 I.5 说明,在一合成培养基(碳源为乳酸铵)上 *E. coli* 的两种培养物的生长情况。一种是振荡培养物;另一种是静止培养物,氧就是限制性的。后一种培养物的生长比较缓慢,但两者都达到同样最高的生长量。

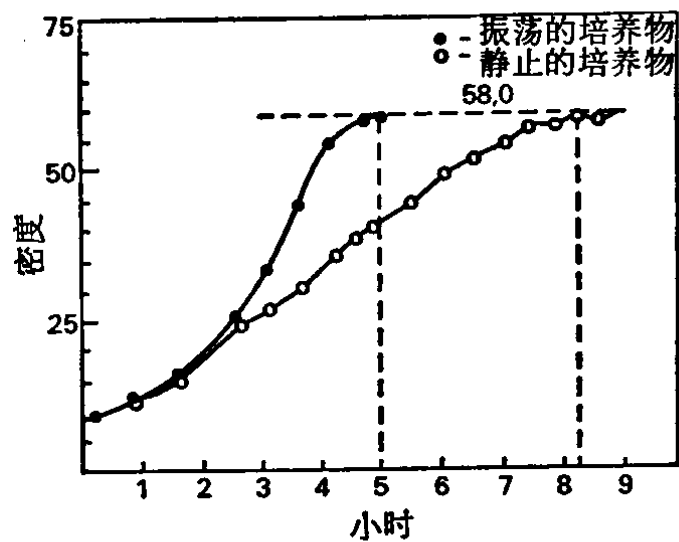


图 I.5 在不同通氧条件下 *E. coli* 两种培养物的生长情况

根据不同的碳源测量到的生长量,变化是很大的,以及反映出 ATP 的不同产量,它是具有各种降解途径的特征。反之,生长量如果按各个分解代谢途径期间形成的 ATP 的量来计算,人们看到,生长量特别恒定,而且每形成“一克分子”的高能键约有 10 克的干物。

生长率随碳源营养物浓度而变化

生长率只有从碳源营养物的某一浓度起才保持恒定。低于此浓度,生长率则大大下降。按生长在合成培养基里的葡萄糖、甘露糖醇或乳糖的浓度而变化的,一株 *E. coli* 的生长率而描述的曲线是平衡双曲线 (les hyperboles équilatères),

它们表示下列关系:

$$\mu = \mu_0 \frac{C}{C_1 + C}$$

μ 是生长率, μ_0 是最高生长率, C 为限制性的营养物浓度。若 $C = C_1$, 则 $\frac{C}{C_1 + C}$ 之比为 1/2, 所以, 常数 C_1 为碳源营养物的浓度, 在此浓度条件下的生长率等于最高生长率的一半。上列方程和描述兰格穆尔等温线 (l'isotherme de Langmuir) 的方程是一致的; 换句话说, C_1 同米海尔-亨利 (Michalis-Henri) 方程中的 K_m 类似。所有这一切就像是存在参与碳源利用的一种饱和系统, 限制了生长率。这也类似于涉及到保证碳源营养物主动运输 (transport actif) 的那种系统 (参见本书第六章)。

连续生长和恒化器

在通常的生长条件下, 当着任何一种营养物被消耗尽, 或者当着培养基的通气成为限制性因子时, 只在为数有限的世代期才发生对数生长。人们把细菌连续地转移到新鲜培养基中去, 显然能延长对数生长期。还有一种比较实用的方法, 亦即连续培养法, 它是由 Monod^[3] 和 Novick 及 Szilard^[4] 两方面介绍的, 此法无论从概念方面还是从实验方面都显示出某种极大的意义。

连续培养的原理如下: 用一生长槽 B 进行细菌培养, 此生长槽与一个储有新鲜培养基的储存器 R 相通, 借助于一个可调的阀门使培养基不断地流下来; 另一方面, 生长槽 B 还备有一个出口管, 它安装成单位时间输出的培养物的量正好等于由储存器输入的量。确保容器 B 内的培养物通气以及有效

的搅拌。落到容器 P 内的细菌要立即冷却，马上终止其繁殖（如图 1.6）。

人们可能会问，生长槽 B 内的细菌群体 N 如何随时间 t 的函数而变化呢！从通过对数生长的方程得出

$$N_t = N_0 e^{\mu t}$$

瞬时生长率：

$$\frac{dN}{dt} = \mu N$$

另一方面，若以 V 表示生长槽的体积， v 表示单位时间内由储存器放出的体积（等于生长槽 B 排出的体积），那么，由下列等式给出细胞流失的速度：

$$\frac{dN}{dt} = -N \frac{v}{Vt}$$

设 $v/Vt = D$ （稀释率）。

由这两个函数的代数和，给出生长槽 B 里的细胞群体的净变化：

$$\frac{dN}{dt} = \mu N - ND = N(\mu - D)$$

在前面我们看到，对一定的微生物来说， μ 值在试验条件下不可能超过最大值 μ_0 ，在这些条件下， μ 只取决于限制性营养物的浓度。如果稀释率 D 超过 μ ，则 dN/dt 取负值，生长槽 B 里的群体就逐渐地流光。如果稀释率 D 低于 μ ，则 dN/dt 取正值，生长槽 B 里的群体大小就增长。不过，增长不可能是无止境的，只是延续到培养基内任何一种营养物成为限制性的时刻为止。到了这时， μ 一直下降到与 D 相等。生长槽 B 里的对数生长期的群体，具有恒定的大小。人们不得

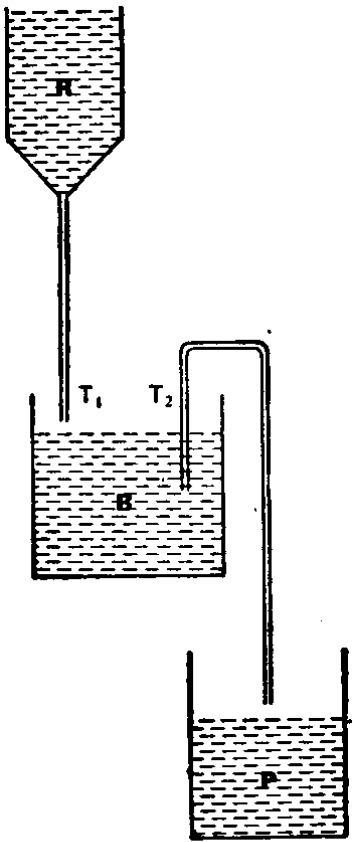


图 1.6 连续培养的仪器恒化器原理