

微生物遗传学

沈 萍 编 著



武汉大学出版社

微生物遗传学

沈萍 编著

武汉大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

微生物遗传学/沈萍编著·—武汉:武汉大学出版社,1995.9

ISBN 7-307-02037-8

- I. 微…
- II. 沈…
- III. 微生物遗传学
- IV. Q933

武汉大学出版社出版发行

(430072 武昌 珞珈山)

武汉华运印刷厂印刷

1995年9月第1版 1995年9月第1次印刷

开本:787×1092 1/16 印张:19

字数:466千字 印数:1—1000

ISBN 7-307-02037-8/Q·35 定价:15.05元

内 容 提 要

本书从阐明微生物基因及染色体结构特征入手,着重介绍了细菌转座因子、质粒、基因突变、遗传重组、基因转移及其定位、基因转录调控等微生物遗传学的基础知识及其进展。并在此基础上,紧密联系实际,从不同水平和层次全面介绍了现代微生物育种的原理、方法和实例。每章后附有参考文献,可供有关读者进一步学习讨论。此外,还附有英汉微生物遗传学词汇,供读者查阅。

本书内容全面,注重理论联系实际,注重本学科与相关学科(分子遗传学、生物化学、微生物学等)和现代分子生物学技术的紧密联系。可作为高等院校本科生的教材,也可供研究生及有关专业的教师和科技人员参考。

前 言

微生物遗传学是以微生物为研究对象的遗传学分支学科，也是微生物学的分支学科。它的建立和发展曾促进了遗传学和微生物学中一些重大基本理论的阐明，也推动了分子生物学的发展。近20年来，随着DNA重组技术、体外诱变、核苷酸序列分析以及PCR DNA扩增等现代分子生物学技术的建立和应用，使微生物的体内遗传学研究与体外遗传操作紧密结合起来，大大促进了微生物遗传学的发展和实际应用。由于微生物作为研究材料的独特优越性，因此在新水平上发展的微生物遗传学必将会象它曾经起过的作用那样，在遗传学、微生物学乃至整个生物科学的发展中继续发挥重要的作用。

本书编写的指导思想之一，是力图将微生物遗传学和现代分子生物学技术紧密结合起来，完整地反映现代微生物遗传学的水平和前沿。其次是保持与相关学科（分子遗传学、生物化学、微生物学等）的紧密联系，在介绍微生物遗传学特性的同时，注意学科之间的交叉性。第三，在介绍一些著名的研究成果或重要发现时，注重阐明其起因和分析过程，以达到启发学生思维、拓宽思路的目的。

微生物遗传学是一门理论和实践紧密结合的学科。微生物育种是其理论在生产实践中的具体应用，近年来发展十分迅速。本书专门用一章篇幅介绍了不同水平的微生物育种方法、原理及取得的成就，使学生对微生物遗传学的实际应用有一个较全面的了解。

本书是在20多年教学和科研实践的基础上，通过参阅、借鉴大量国内外先进教材、专著及文献，并结合我国理科大学生物系高年级学生知识结构特点编写而成的。由于微生物遗传学所涉及的基础知识面广，所以一般应在掌握了普通微生物学、生物化学及普通遗传学知识的基础上进行学习，课堂讲授一般可安排50~60学时。

本书插图由王莉娟和熊定荣绘制。此外，我实验室的研究生黄玉屏、孙广秀、肖晖、江爱民、邓玮玮、毛牧灵、许传东、许文娟和马东晖等也为本书的完稿作了许多细致的工作，在此一并表示感谢。

由于水平和时间所限，书中一定有不少错漏之处，竭诚期望广大读者提出批评指正。

编 者

1994年8月

目 录

第一章 微生物的基因和染色体结构.....	1
第一节 基因概念的演变.....	1
一、Mendel 的“遗传因子”	1
二、染色体上的遗传功能单位.....	2
三、有遗传功能的 DNA 片段	2
四、可分的完整功能单位.....	4
五、不同功能的核苷酸顺序.....	4
六、基因概念在不断发展和更新.....	4
第二节 基因的精细结构.....	6
一、基因内重组的发现.....	6
二、基因精细结构分析方法.....	6
三、互补试验.....	8
四、基因及其多肽产物的共线性关系	12
五、基因的抑制作用	14
第三节 微生物的染色体结构	22
一、大肠杆菌的染色体	23
二、噬菌体的染色体	29
三、酵母菌的染色体	32
参考文献	36
第二章 细菌转座因子	38
第一节 细菌转座因子的发现	38
一、遗传学分析	38
二、DNA 片段的物理性质测定.....	39
第二节 转座因子的分子结构及特性	39
一、插入顺序	39
二、转座子	41
三、Mu 噬菌体	44
第三节 与转座因子有关的遗传学现象及转座机制	46
一、遗传学效应	46
二、转座机制	49
第四节 转座因子在遗传学中的应用	53
一、转移难以鉴定的基因	53

二、标记克隆片段	53
三、提供同源区段	54
四、筛选插入突变	54
五、基因调控的研究	54
六、细胞内基因克隆	54
七、人工构建转座因子类似物	55
第五节 转移转座因子的遗传载体	59
一、质粒载体	59
二、噬菌体载体	59
第六节 逆转座子	60
参考文献	61
第三章 质粒	63
第一节 质粒的表型效应	63
一、致育性	63
二、产生抗菌物质和毒素	64
三、对药物和重金属离子的抗性	66
四、利用异常营养物	68
五、对植物的致病性	70
六、其它	71
第二节 质粒的检测	72
一、根据遗传学特性	72
二、根据质粒分子的结构特性	74
三、线型质粒的检测	77
第三节 质粒的复制	78
一、质粒复制的遗传学分析	78
二、质粒复制的调控	80
三、质粒拷贝数的测定	84
四、质粒的不亲和性和分类	86
五、线型质粒的复制	89
第四节 质粒载体	91
一、载体的一般性能要求	91
二、载体的构建	92
参考文献	102
第四章 基因突变	105
第一节 基因突变的类型	105
一、基因突变的定义及符号	105
二、基因突变的分类	106

第二节 诱变剂及突变机制	108
一、碱基置换突变	108
二、移码突变	114
三、插入突变	117
四、突变不完全是随机过程	117
第三节 DNA 损伤的修复	121
一、光复活作用	121
二、切除修复	121
三、重组修复	123
四、N-糖苷酶和 DNA 损伤修复	123
五、SOS 修复	124
六、适应性修复	126
七、修复作用和突变诱发的关系	126
第四节 体外诱变	127
一、区域随机诱变	128
二、寡核苷酸定位诱变	131
三、PCR 定位诱变	133
第五节 突变型的筛选	136
一、突变型的富集和检出	136
二、突变型特性的鉴定	138
三、检测突变的分子筛选法	139
参考文献	141
第五章 遗传重组	143
第一节 同源重组分子机制	144
一、重组模型	144
二、重组过程中主要步骤的实验证据	145
第二节 RecA 蛋白质在同源重组中的作用	147
一、RecA 蛋白的双重性质	147
二、同源联会的途径和机制	147
三、Holliday 中间体的形成	150
第三节 Chi 位点和 RecBCD 酶	151
一、重组与 λ 噬菌体的生长	152
二、Chi 位点的发现及其作用	152
三、RecBCD 酶和 Chi 在重组中的作用模型	154
第四节 专一位点重组	155
一、 λ 噬菌体的整合和切割	155
二、转座子 Tn3 共整合体的解离	156
三、噬菌体 P1 的专一位点重组	157

四、Mu 噬菌体 G 片段的倒位·····	157
五、重组倒位导致沙门氏菌鞭毛抗原的改变·····	158
第五节 体外 DNA 重组技术·····	158
一、限制性核酸内切酶和连接酶·····	159
二、克隆方法·····	164
三、重组体的选择和鉴定·····	165
四、目的基因的分离·····	167
参考文献·····	169
第六章 基因转移及其定位·····	172
第一节 细菌的接合·····	172
一、大肠杆菌的性别·····	172
二、F 因子的遗传结构及其转移·····	172
三、染色体 DNA 转移及基因定位·····	174
四、放线菌的接合作用·····	178
第二节 转化·····	180
一、自然转化过程及机制·····	181
二、人工转化·····	185
三、技术转移系统·····	186
四、利用转化绘制遗传图谱·····	187
第三节 转导·····	188
一、普遍性转导·····	188
二、局限性转导·····	194
三、链霉菌中的转导·····	198
参考文献·····	198
第七章 基因的转录调控·····	201
第一节 负转录调控·····	201
一、负控诱导系统·····	201
二、负控阻遏系统·····	208
第二节 正转录调控·····	214
一、cAMP-CAP 的正调控作用·····	214
二、激活蛋白的正调控作用·····	216
第三节 λ 噬菌体的调控·····	218
一、调节区·····	218
二、溶源性的形成·····	221
三、原噬菌体的诱导·····	222
四、溶源和裂解途径的选择·····	222
第四节 基因转录的生理调控·····	224

一、枯草杆菌芽孢形成过程中的 σ 亚基的更换	224
二、大肠杆菌的热激应答系统	225
参考文献	226
第八章 微生物育种	228
第一节 诱变育种	228
一、营养缺陷型突变株	228
二、抗阻遏和抗反馈突变型	230
三、组成型突变株	232
四、细胞膜透性突变型	233
五、抗性或敏感突变型	234
第二节 体内基因重组育种	235
一、原生质体融合	236
二、酵母菌的杂交育种	240
第三节 DNA 体外重组技术育种	241
一、概况	241
二、原核表达系统——大肠杆菌	242
三、真核表达系统——酵母菌(酿酒酵母)	248
参考文献	251
附 录	
一、希腊字母表	253
二、英汉微生物遗传学词汇	254
主要参考书	293

第一章 微生物的基因和染色体结构

第一节 基因概念的演变

什么是基因？这是一个贯穿整个遗传学发展过程的核心问题。可以说，一部遗传学的发展史，渗透和贯穿着人们对基因认识的不断深化过程，同时也是对基因的存在、活动方式、变化以及它和周围环境之间的关系由细胞水平到分子水平不断深入了解的过程，在科学实践过程中基因概念不断得到充实和完善。

一、Mendel 的“遗传因子”

1856 年，奥地利学者 G. J. Mendel 以豌豆为材料进行了两年的杂交实验，建立了遗传学的两大规律：分离规律和自由组合规律，并首次提出了“遗传因子”（即基因）的概念，成为近代遗传学的奠基人。

Mendel 用诸如种子形状（圆或皱）、种子颜色（黄或绿）、豆荚形状（膨胀或皱缩）以及茎的长度（高或矮）等性状显著不同的豌豆品种进行遗传杂交，结果他发现每一组第一代（ F_1 ）杂种的性状表现都完全象或几乎完全象两个亲本中的一个。Mendel 就把杂交时保持不变或几乎不变传给后代的那些性状称为显状，而在杂种中隐而不现或潜伏起来的性状称为隐性。当 F_1 自花授粉产生第二代（ F_2 ）时，Mendel 发现原先隐而不现的隐性性状得到了表现，统计显状植株与隐性植株的比率，得到 3 : 1 的比数。

根据这个结果，Mendel 提出了如下的假设：每一个植株中每一个相对性状都由两个相同的“遗传因子”控制，显性“遗传因子”使之表现为显性性状，隐性“遗传因子”使之表现为隐性性状。为了验证其假设的正确性，Mendel 又进行了回交试验，试验结果与假设的预期相符。在此基础上，Mendel 建立了遗传学的第一定律，即“分离规律”：一对基因在异质接合状态下并不相互影响、相互沾染，而在配子形成时，完全按照原样分离到不同的配子中去，在一般情况下，配子分离是 1 : 1，子二代基因型分离为 1 : 2 : 1，表现型分离为 3 : 1。分离出来的隐性同质接合和原来隐性亲本在表现型上是完全一样的，隐性基因并不因为曾与显性基因处于同一个体而发生沾染或影响，仍保持它的原有性质。

Mendel 在进行了一对相对性状杂交试验后，又通过杂交把几对相对性状结合在一个杂种体上，观察性状传递规律。他认为，无论多么复杂的多性状植株杂交，对于每一对相对性状来说，它们同样服从于分离规律。Mendel 在多对相对性状植株杂交试验基础上推论出遗传学的另一规律，即“独立分配规律”，又称“自由组合规律”。这个规律表明，当两对或多对“遗传因子”处于异质接合状态时，它们在配子中的分离是彼此独立互不牵连的。同样，Mendel 用回交试验也证明了这个规律的正确性。

Mendel 揭示的遗传规律表明生物的每一个性状，可以用“遗传因子”的基本单元来分析。从亲本到子代，是由颗粒性“遗传因子”负责传递的。颗粒性“遗传因子”成双地存在于体

细胞内，而在性细胞内是成单存在的。杂交时，颗粒性“遗传因子”保持独立性，它们之间不融合，即在杂种产生配子时，不同的“遗传因子”仍然保持相对的独立性，各自分配在不同的配子里，完整地传给子一代。这就是 Mendel 用颗粒性“遗传因子”对生物遗传现象所作的解释。后来为了使 Mendel 的“遗传因子”的概念在使用上更为准确和方便，人们采用了丹麦遗传学家 W. Johannsen 在 1909 年提出的“基因”一词，这是遗传学史上首次提出的有关“基因”的概念。从 Mendel 的工作和假设可以看出，当时对“基因”的认识还只是一种逻辑推理的产物，是作为一种遗传性状的符号，并没有任何物质内容，但 Mendel 的工作却为基因概念的建立和发展奠定了基础。

二、染色体上的遗传功能单位

1909 年美国遗传学家兼胚胎学家 T. H. Morgan 用果蝇作材料，在前人研究的基础上，根据大量的实验结果，证明位于同一条染色体上的某些性状的基因“连锁”在一起不易交换的连锁和交换现象，并进而阐明它的规律和本质，提出了遗传学的另一重要规律——连锁交换规律。它连同 Mendel 的遗传因子分离规律和自由组合规律一起成为经典遗传学的三大规律。同时结合当时细胞学上已经阐明的有丝分裂和减数分裂的详细过程，Morgan 认为遗传因子主要在细胞核和染色体里，他发现染色体在细胞分裂过程中的活动特点和遗传因子的特性有着平行或相似的关系，于是推测 Mendel 所提出的“遗传因子”（即基因）就在染色体上，染色体是基因的载体，基因在染色体上作直线念珠状排列。他的推测通过用大量的果蝇近亲杂交试验和染色体遗传图谱的绘制得到证实。1910 年 Morgan 用突变型白眼雄蝇和野生型红眼雌蝇杂交，结果发现子代中半数 of 为白眼，并且都是雄的，雌蝇中却没有一只为白眼的，与 Mendel 式遗传不符。按 Mendel 式遗传设想雄蝇中的四分之一和雌蝇中的四分之一应表现出隐性性状，所以这里的白眼基因显然与其它 Mendel 式遗传的隐性因子不同而受性别的影响，因此 Morgan 认为眼色基因（R）和性别决定因子 X 是结合在一起的，即 R 与 X 连锁在一起。这些与性别决定因子连锁在一起的基因位于同一条染色体上，减数分裂时作为一个整体而遗传给后代，Morgan 称之为伴性遗传。不久，进一步搞清了基因组成群，基因群也称为“连锁群”，它的数目刚好等于染色体的对数，同一群内的基因一起遗传，由此推论基因是染色体的一部分。依据 Morgan 首创的连锁学说，连锁遗传是由于连锁基因位于同一条染色体上的结果。

1911 年 Morgan 又在果蝇的 X 连锁基因白眼和短翅两品系的杂交子二代中发现了白眼短翅果蝇和正常的红眼长翅果蝇，首先指出位于同一染色体上的两个基因可以通过染色体交换而分处在两个同源染色体上。根据交换频率（即重组频率）可绘制成染色体遗传图谱，这是证明基因在染色体上直线排列学说的基础。染色体遗传图谱表明，每个物种的许多基因形成与染色体数目相等的连锁群，每群成为一个直线系统，在这直线系统上可用基因之间的交换百分数来表示它们之间的相对距离。这就有力地证明了基因在染色体上以一定的相对位置，并依一定顺序作直线排列的假设。虽然当时科学水平和认识能力不可能对基因赋予实体内容，但是 Morgan 科学地预见了基因是一个化学实体，并已开始从分子水平上考虑基因。

三、有遗传功能的 DNA 片段

自 Morgan 以后，一些科学家为了证实基因并不是形式上的符号而是一个化学实体做了

大量的工作，但都不能确切地阐明基因的化学本质。基因化学本质的确定主要是由以下三项微生物实验证实的。

1. 肺炎双球菌的转化试验

1928年英国科学家 F. Griffith 将大量的经加热杀死了的Ⅱ型光滑（有毒）细菌及少量的粗糙（无毒）活菌注射入同一小鼠体内，这一粗糙菌是由Ⅱ型光滑细菌转变而来的。这一小鼠出乎意料地死了，而且从心血中分离得到了Ⅱ型光滑细菌（而不是Ⅰ型）。这一光滑细菌一再传代保持不变。实验结果表明粗糙细菌从杀死的光滑细菌获得了遗传物质，从而使它产生荚膜而成为光滑型（有毒）。这就是最早发现的转化现象。这一现象为确定遗传物质的化学性质开辟了道路。

1944年，三位美国化学家 Avery、Macleod 和 McCarty 通过对转化因子的一再分离提纯，进行了多方面的研究，结果证实了转化因子是 DNA 而不是蛋白质，也不是其它的有机物或无机物。这是阐明遗传的物质基础是 DNA 的第一个明确的实验根据，也是首次用实验证明了基因是由 DNA 构成。

2. 病毒重建实验

烟草斑纹病毒（TMV）由蛋白质外壳和核糖核酸（RNA）核心所构成，从 TMV 可以分别抽提得到它的蛋白质部分和 RNA 部分，把这两个部分混合在一起，可以得到具有感染的病毒颗粒。病毒重建实验就是将两株具有不同遗传表型和不同蛋白质结构的病毒（T 株和 H 株）进行拆合，即把 T 株的蛋白质和 H 株的核酸（RNA）混合时，可以得到重新组合的具有感染力的杂种病毒。观察新形成的杂种病毒子代的性状发现，杂种子代感染后出现的病症及其蛋白质氨基酸的组成都与亲株 H 相似，重新组合的杂种病毒，它的蛋白质虽然来自 T 株，而其子代的蛋白质反而和 H 株一样。这一实验结果说明病毒蛋白质的特性为它的核酸所决定，即遗传物质是核酸而不是蛋白质。

3. 噬菌体感染实验

T2 噬菌体是感染大肠杆菌的一种噬菌体，它由蛋白质外壳和 DNA 核心所构成。蛋白质中含有硫而不含磷，DNA 中含有磷而不含硫，所以用³²P 和³⁵S 标记 T2 噬菌体，并把这些标记噬菌体进行感染实验，就可以分别测定 DNA 和蛋白质的功能。感染实验结果表明，噬菌体感染寄主细胞时，只把它的 DNA 注射到细胞中去，经过短短二十几分钟后，从细胞中释放出大约几百个噬菌体。这些噬菌体的蛋白质外壳的形状大小和留在细胞外面的外壳一模一样。这同样说明对于 T2 噬菌体来讲，决定其蛋白质外壳特性的遗传信息的携带者是 DNA。

以上三个实验有效地证明了遗传物质是 DNA（或 RNA），使 Mendel 的基因概念不再是形式上的符号，而是如 Morgan 所预言的“它是一个化学实体”。但由于长期以来人们认为的“蛋白质是遗传物质”的观念根深蒂固，所以 DNA 是遗传物质的观点的真正确立是在 1953 年 Watson 和 Crick 提出了 DNA 分子结构的双螺旋模型以后。这一模型雄辩地证明了基因就是 DNA 分子，基因的传递和表达同生物体内的生化代谢过程密切相关。在完善 DNA 分子结构的基础上，Watson 和 Crick 进一步深入研究并明确了 DNA 在活体内的复制方式。1957 年 Crick 最早提出遗传信息在细胞内的生物大分子间转移的基本法则——中心法则。继而 Crick 又于 1961 年提出了三联遗传密码（至 1966 年，20 种氨基酸的遗传密码全部阐明）。这样，DNA 分子不仅具有独特的双螺旋结构，而且还有重要的生物学功能，从而把 DNA 分子的结构与功能有机地统一起来。从此，人们对基因本质的认识有了质的转变。

四、可分的完整功能单位

基因是一个完整的功能单位，但是否也是一个突变单位，一个重组单位呢？早期的遗传学研究都是在高等生物中进行的，因而只有染色体上相距较远的区段发生交换才能较容易地证实。如果两个区段相距很近，重组的可能性极小，只有测定大量的后代才能检测到，而这个数字实在太大了，在高等生物中是无法进行的。即使是经过详细研究的果蝇，要从一次杂交中观察 50000 以上的后代也是很困难的，因此在采用微生物作为研究材料以前，是无法观察到一个基因内相距很近的区段之间的交换的。所以早期的遗传学理论认为只有基因之间才发生交换，而基因内不发生交换，因此把基因看作是决定性状差别的功能单位，同时也是重组和突变的三位一体的最小单位。

1957 年 S. Benzer 用大肠杆菌 T4 噬菌体作材料，研究快速溶菌突变型 r⁺ 的基因精细结构。由于容易培养和观察大量的微生物，特别是通过选择性培养的方法，可以在一只培养皿上测定 0.001% 的重组值，所以 Benzer 对 2000 多个 r⁺ 突变型进行杂交和顺反试验后发现，在一个基因内部的许多位点上可以发生突变，并且可以在这些位点之间发生交换，从而提出了顺反子 (cistron)、突变子 (muton) 和重组子 (recon) 等术语。顺反子学说认为顺反子是一段编码一种多肽链的核苷酸序列，是一个功能单位，如 r⁺ 区的 A 亚区和 B 亚区是两个顺反子 (见第二节)，可编码两个多肽链。而根据 Benzer 的计算，突变单位和重组单位约为 1~3 对核苷酸，这同理论最低值“一个核苷酸对”极其相似。也就是说一个基因可以包括许多突变单位 (突变子) 和许多重组单位 (重组子)。顺反子学说彻底否定了基因是决定遗传性状的功能单位、突变单位和重组单位三位一体的概念，它认为一个顺反子就是一个基因，这个基因或者编码蛋白质，或者编码 RNA 分子 (tRNA, rRNA)。

五、不同功能的核苷酸顺序

1961 年，法国遗传学家 F. Jacob 和 J. Monod 提出了大肠杆菌乳糖操纵子模型，从而阐明了原核生物基因表达的调节控制机制。操纵子模型大大丰富了基因的概念。基因不仅在结构上是可分的即由许多可以单独发生突变、重组的核苷酸组成，而且在功能上也是有差异的。依其功能，基因可分为：

(1) 编码蛋白质的基因 包括编码酶和结构蛋白的结构基因以及编码作用于结构基因的阻遏蛋白和激活蛋白的调节基因。

(2) 没有翻译产物的基因 转录成为 RNA 以后不再翻译成蛋白质的转运核糖核酸 (tRNA) 基因和核糖体核酸 (rRNA) 基因。

(3) 不转录的 DNA 区段 如启动子、操纵基因区段等等。前者是转录时 RNA 多聚酶开始和 DNA 结合的部位，后者是阻遏蛋白或激活蛋白与 DNA 结合的部位。

功能相关的结构基因和操纵基因紧密连锁成一个功能协调的操纵子。通过这些基因的密切协作，细胞才能表现出和谐的功能。所以基因不仅是传递遗传信息的独立单位，而且是具有不同功能的基因间形成相互制约的统一整体，每一基因是这个整体中的一个组成部分。

六、基因概念在不断发展和更新

随着重组 DNA 技术和 DNA 序列分析技术的发展，对基因的认识又有了新的发展和更

新，主要是发现了重叠基因、断裂基因及转座因子（可移动基因）等新现象。

1. 重叠基因 (overlapping gene)

在发现重叠基因以前，所进行的一切遗传学研究（包括 Benzer 对基因精细结构和顺反位置效应的研究）结果都表明基因在染色体上是一个接着一个排列而并不重叠的。但是 1977 年 F. Sanger 在测定噬菌体 ϕ X174 的 DNA 全部核苷酸序列时，却意外地发现基因 D 中包含着基因 E。基因 E 的第一个密码子从基因 D 中央的一个密码子 TAT 的中间开始，因此两个部分重叠的基因所编码的两个蛋白质非但大小不等，而且氨基酸组成和顺序也不同（见第三节）。

重叠基因现象在病毒中已确证后，近年来在细菌和果蝇中，也已发现有基因重叠的现象。基因重叠现象的发现修正了传统上认为各个基因的核苷酸链是彼此分立的观念。

2. 断裂基因 (split gene)

1978 年在对真核基因结构分析中发现，它们的核苷酸序列中间有不转录成 mRNA 的间隔区。因此，W. Gilbert 认为基因

是一个嵌合体，它包含两个区段，一是在 mRNA 中丢失的片段，称内含子；一是将表达的片段，称外显子，表达顺序分别处在内含子之间。因能表达的外显子被不能表达的内含子一一隔开，故有断裂基因之称。现已陆续发现哺乳动物的核基因、酵母菌的线粒体基因为断裂基因，同时在某些感染真核生物的及细菌的病毒（如 T4 噬菌体基因组）中发现

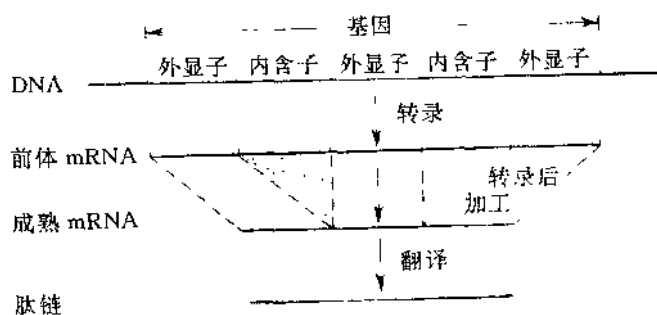


图 1-1 断裂基因示意图

了断裂基因。研究表明，结构基因中插有间隔顺序是普遍的，只是其功能尚不清楚。图 1-1 显示一个含有三个外显子和两个内含子的基因示意图。

基因不连续现象说明同一基因还可分成几个部分。

3. 转座因子（又称可移动的基因）

1950 年 B. Maclintock 首先报道了在玉米中发现的转座因子（当时称为控制因子），可是当时并没有受到重视。60 年代末在细菌中发现一类称为插入顺序的可以移动位置的遗传因子 IS。它本身无表型效应，可是在插入别的基因中间时能引起插入突变。70 年代早期又发现了携带抗药性基因的转座子（Tn），它们能在同一复制子的不同位置 and 不同复制子之间转移位置。当它们转移到某一基因中间时便引起一个插入突变。类似于细菌转座子的可移动遗传因子在其它真核生物（如酵母菌、果蝇等）也已发现。这些可移动基因的发现使人们进一步认识到基因不是稳定静止不动的实体而是可动的。

从 Mendel 提出遗传因子假设到现在，100 多年来人们对基因的认识可归纳如下：基因是一个化学实体，是含特定遗传信息的核苷酸顺序，是遗传物质的最小功能单位，彼此可有重叠；基因是可分的，也是可移动的遗传因子；基因本身在结构和功能上也存在着差异。随着遗传学研究的不断深入，基因概念必将被赋予新的内容，人们也将会更准确地定义基因概念。

第二节 基因的精细结构

一、基因内重组的发现

有关基因遗传结构的第一个明确的结果来自对噬菌体 T4 的 rI^+ A 和 rI^+ B 基因的分析。这是两个影响 T4 噬菌体生命周期的紧密连锁的基因，所以其中任何一个基因突变（称 rI^- 突变）都会缩短 T4 噬菌体在大肠杆菌细胞中的生命周期，导致快速溶菌（rapid lysis），从而产生比野生型大的噬菌斑。野生型和 rI^- 突变在大肠杆菌 B 株中都能良好生长。但在大肠杆菌 K12 (λ) 菌株中却只有野生型能够生长繁殖。所以当二个不同的 rI^- 突变同时感染大肠杆菌 K12 (λ) 株时，只有野生型重组体形成噬菌斑。即使每 10^6 个子代中只有一个重组体也能很容易地检测到。只有这样，才有可能检测到相距十分近的位点之间的低频率的重组事件。

Benzer 分离了 2000 多个 rI^+ A 和 rI^+ B 基因的独立突变株，并用这些突变体进行杂交实验：首先用二种彼此携带有独立分离到的 rI^+ A 或 rI^+ B 突变的噬菌体颗粒感染大肠杆菌 B 株。因为二种病毒均能繁殖，因而可发生遗传重组，然后将其子代（B 株释放的噬菌体）感染大肠杆菌 K12 (λ) 株，结果可检测到野生型重组子，这表明重组可以发生在一个基因内（ rI^+ A 或 rI^+ B），因为如果重组只发生在基因之间，那么携带有同一基因突变的二种噬菌体颗粒杂交就不可能产生野生型重组子。如果将从 B 株释放的噬菌体分别用 B 和 K12 作为指示菌测定噬菌斑数，两者的比数就表示重组频率。通过一系列的杂交实验，实际上测得 rI^- 突变型之间的重组频率最小值是 0.01%，相当于 2.5 对核苷酸，也就是说相距 2.5 对核苷酸或相距更短距离的两个突变位点之间可以发生重组，根据基因和蛋白质线性关系的分析，表明重组实际上可以发生在一个遗传密码的内部，或者说可以发生在任何两对核苷酸之间。

Benzer 利用大肠杆菌 K12 (λ) 为选择系统对 2000 多个 rI^- 突变进行杂交分析，绘制了 T4 噬菌体 rI^+ A 和 rI^+ B 二个基因的遗传图谱（图 1-2），并得出如下的结论：

1. 一个基因内可发生大量的不同位点的突变，在 rI^+ A 和 rI^+ B 基因中约为 1000~1500 个突变位点。
2. rI^+ A 和 rI^+ B 的遗传图谱呈明确的线性，说明基因本身是线性结构。
3. 大多数突变是由于一个位点的变化所产生的，含有这种突变的许多基因可通过在同一位点的第二次突变（回复突变）而恢复原来的野生型基因结构。
4. 另外一些突变可引起一个或多个邻近位点的缺失，超过一个位点以上的缺失突变不能回复到原来的野生型基因结构。

随后通过对其它病毒和细菌基因精细结构分析也得出同样的结论，因此遗传学家当时对基因的概念是：基因是决定一种特异细胞产物的染色体区段，该区段由许多直线排列的相互之间可以发生重组的突变位点所组成。

二、基因精细结构分析方法

基因是可分的，是由许多突变位点组成的。那么如何确定一个基因内部的各突变位点的排列，即分析基因的精细结构呢？下面介绍几种主要的方法。

1. 二点和三点杂交

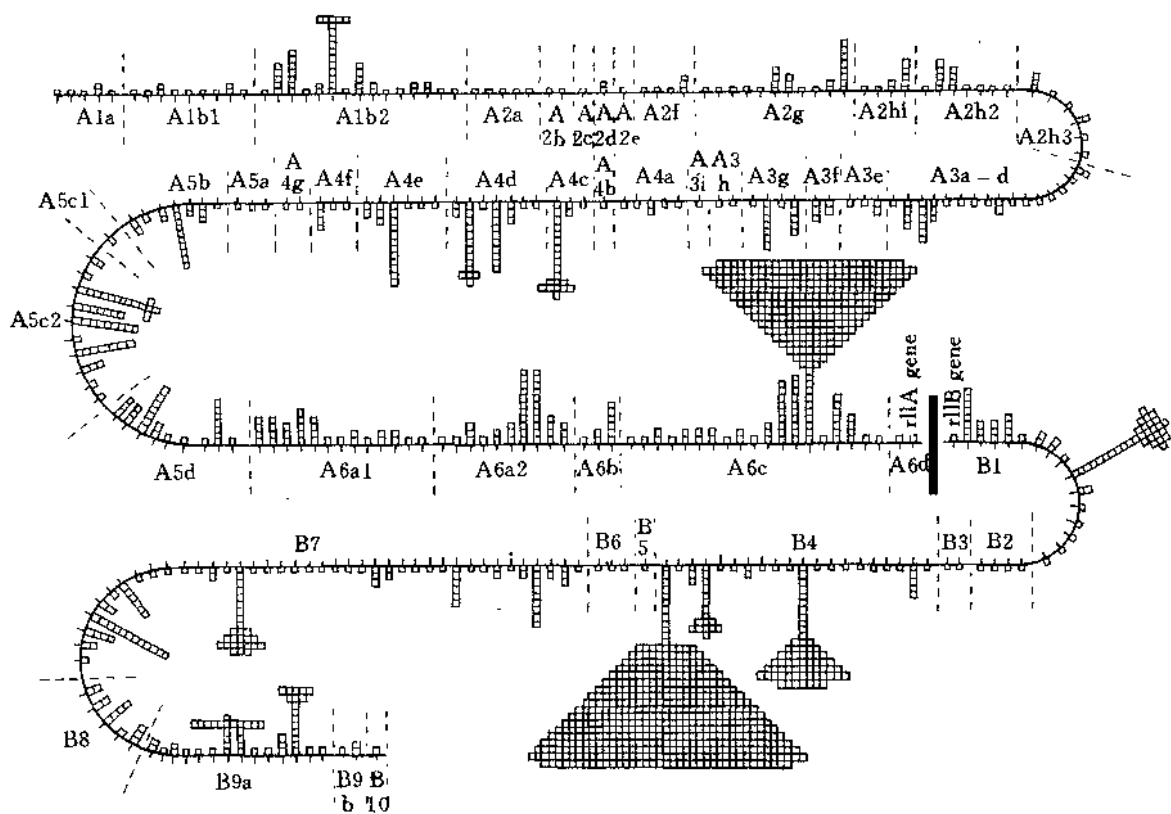


图 1-2 噬菌体 T4 的 $rIIA$ 和 $rIIB$ 基因的遗传图谱

已知两个基因间的距离一般可通过二点和三点杂交，统计杂交子代中重组体数目多少来测定。两个基因的距离愈近，其重组体数目愈少。分析一个基因内的精细结构也可用同样的方法。只是需要在更多的杂交子代中观察数目稀少的重组体。

如果所要测定的突变型本身可以作为选择标记，那么重组频率的测定主要根据选择性培养基上出现的重组子菌落数。图 1-3 中 m_1 和 m_2 分别表示同一基因 A 中的二个不同位点的突变，通过二因子杂交后根据其重组子 A^+ 的多少可确定 m_1 和 m_2 之间的距离。通过一系列的两因子杂交结果的分析可获得该基因的精细结构图谱。但正如图 1-3 所示，两因子杂交往往难以判断两突变位点的方向，例如图中无论 m_2 是在 m_1 的左边还是右边（注意：二种情况下基因内距离 d 是同样的）其重组子 A^+ 都是以同样的频率出现。在这种情况下，如果有第三个突变位点进行三因子杂交则有助于判断。图 1-3 中 m_3 突变位于另一基因 B 中， A^+B^- 重组子的频率不同于 A^+B^+ ，这取决于 m_2 和 m_1 的位置。如果顺序是 $m_1-m_2-m_3$ ，为了产生 A^+B^+ ，需要 4 次交换。产生 A^+B^- 重组子只需二次交换。如果排列顺序是 $m_2-m_1-m_3$ ，为获得 A^+B^+ 或 A^+B^- 重组子均只需二次交换。根据四次交换少于二次交换这一原理和 A^+B^+ 及 A^+B^- 重组子的多少便可判断 m_1 和 m_2 的位置。

2. 缺失定位

所谓缺失定位是利用一系列缺失突变型作为工具，把所要测定的突变型和这一系列缺失