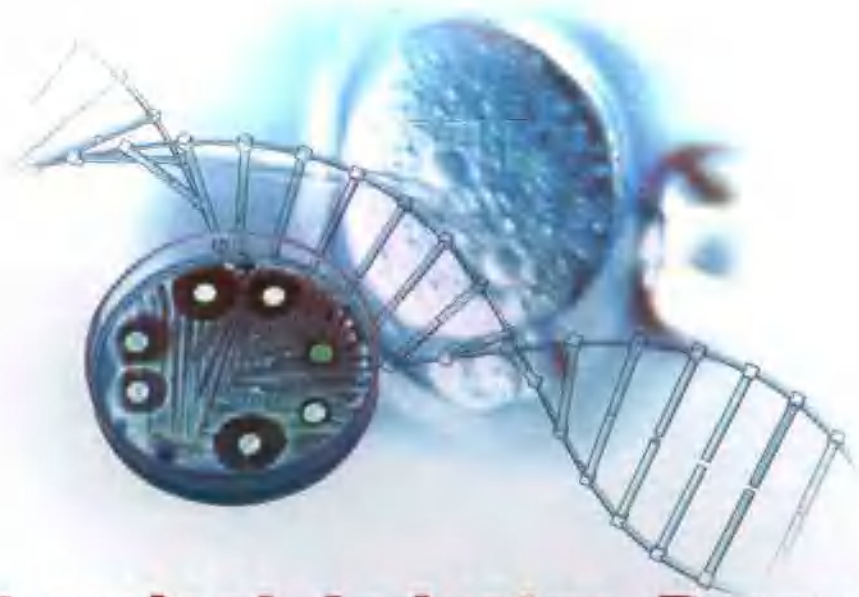


诸葛健 主编

沈微 副主编

工业微生物 育种学



Chemical Industry Press



化学工业出版社
教材出版中心

工业微生物育种学

诸葛健 主 编
沈 微 副主编



化学工业出版社
教材出版中心

· 北京 ·

本书论述了工业微生物育种的遗传学基础及其应用,对育种出发菌株的选择,各种经典的育种方法(如诱变育种、代谢调控育种、基因重组育种),近代的育种方法(如定点突变和基因工程育种)进行了系统、详尽地阐述。也对菌种保藏和工业菌种与基因专利保护予以介绍。

本书可以作为生物工程、发酵工程、生物制药、生物化工、生物技术、食品工程和应用微生物学等专业的本科学和研究生教材或教学参考书,也可作为相关专业技术人员 and 研究人员有实用价值的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

工业微生物育种学/诸葛健主编. —北京:化学工业出版社, 2006. 3
ISBN 7-5025-8456-0

I. 工… II. 诸… III. 工业微生物学-菌种-遗传育种 IV. Q939.97

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 025174 号

工业微生物育种学

诸葛健 主编

沈 微 副主编

责任编辑:赵玉清

责任校对:凌亚男

封面设计:关 飞

*

化学工业出版社 出版发行
教材出版中心

(北京朝阳区惠新里 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

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 16 字数 356 千字

2006 年 6 月第 1 版 2006 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8456-0

定 价: 29.00 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

前 言

作者曾作为无锡轻工业学院（江南大学前身）原发酵教研室主任丁跃坤老师的助教，于1963年协助创建国内首门《工业微生物育种学》课程；1964年，作者又师从上海医药工业研究院的刘颐屏和袁丽蓉二位老师，为育种学的教学打下必要的实验技术基础。至今，作者已从教40余年，借本书总结自己教学和科研的经验与收获，也纪念这断断续续的创建史。

优良的工业生产菌种是发酵工业的核心，江南大学发酵工程专业是国家级重点学科，其微生物系列课程历来都围绕“选种”、“育种”、“培养条件优化”这三方面安排教学内容。20世纪70年代的《工业微生物育种学》课程从1982年开始在本科开设，是在完成原轻工业部“AS1.398蛋白酶产生菌育种新技术”科研项目的基础上，以原生质体融合、原生质体转化和原生质体诱变的原生质体系列育种技术为主体作为课程内容，这些内容在当时属于科学前沿。1986年该课程被列入研究生课程，特别是在工业微生物和分子生物学实验室列入“211”工程重点建设后，《工业微生物育种学》课程的建设就纳入了规范化的日程。

近几年，研究室在完成近十株基因工程菌构建成功的基础上，《工业微生物育种学》课程又将质粒提取、质粒构建、PCR扩增技术、各种转化技术等作为核心内容进一步延伸、拓宽和提高。同时又在本科教学中设立《微生物遗传育种》，在讲课和实验内容上作了层次的划分，从而顺应了时代和新技术发展的要求。《工业微生物育种学》于2002年获得江苏省研究生培养创新工程优秀研究生课程的殊荣。

《工业微生物育种学》强调理论与实践并重，而更着眼于实验研究技术。其内容既有其遗传学的基础，但又不是系统的微生物遗传学；侧重于育种，但又不是纯技术，而是育种的遗传学原理与育种技术的融合。书中的微生物育种技术是传统与现代技术的并存和延伸，是我国微生物育种现状的写照。希望这本书在我国育种教学和研究上发挥应有的作用。

在本书编写过程中研究生徐砾瑜、郭善辉、张洁、王娜、马正、王俊、张丽英、姚雁、吕吉鸿等给予了帮助，特予感谢。

当作者在撰写本书前言时，仍然认为本书的编写有不足之处，但相信在热心读者的帮助下将逐步加以完善。

作者

2006.1.1

于江南大学

目 录

第一章 绪论	1
第一节 工业微生物	1
第二节 工业微生物育种的简史	1
第三节 工业微生物育种的目 的及方法	3
一、诱变育种	3
二、基因重组育种	4
三、重组 DNA 技术	4
第二章 工业微生物育种的遗传学原理	6
第一节 遗传物质的结构和功能	6
一、染色体与基因	6
二、基因型和表现型	8
三、DNA 和染色体	8
第二节 DNA 复制	9
一、复制	9
二、遗传信息的传递	10
第三节 RNA 和蛋白质合成	12
一、转录	12
二、翻译	13
第四节 基因表达规则	16
一、诱导和阻遏	17
二、基因表达的操纵子学说	17
第五节 突变：遗传物质的改变	19
一、突变的类型	19
二、诱变剂	22
三、突变株的检出	24
第六节 基因的转移和重组	27
一、细菌中的转化作用	27
二、细菌的接合	28
三、细菌的转导	30
第七节 质粒和转座子	31
一、质粒	31
二、转座子	33
第三章 工业微生物育种的遗传学应用	35
第一节 DNA 重组和生物技术	35

第二节 DNA 重组的步骤	36
一、限制性内切酶	37
二、载体	37
三、外源 DNA 转入细胞的方法	39
第三节 DNA 的获得	40
一、基因文库	40
二、合成 DNA	41
第四节 选择克隆体	42
第五节 基因产物的形成与应用	44
一、用于药物治疗的基因工程产品	45
二、从 DNA 获得信息应用于基础研究和医疗方面	47
三、从植物疾病到洗发香波和色拉味调料	50
四、在农业方面的应用	51
第六节 基因工程的安全性问题、伦理和未来	52
第四章 育种出发菌株的选择	54
第一节 工业微生物获得的一般途径	54
一、工业微生物应具备的特性	54
二、工业微生物的来源	54
三、分离和筛选微生物	54
第二节 选择性培养基与富集培养	55
一、直接分离	55
二、富集培养	56
三、在液体培养基中富集不同的原核微生物	58
第三节 筛选目的菌株	62
一、收集微生物资源(采样)	62
二、初筛	62
三、复筛	70
四、筛选与评价的区别	72
第五章 诱变育种	74
第一节 突变的类型	74
一、突变的类型	74
二、生物体对突变的修复	76
第二节 诱变剂的类型及其使用	77
一、物理诱变因素	77
二、化学诱变剂	80
三、其他诱变因素	82

第三节 突变的固定	83
第四节 育种的步骤和方法	85
一、出发菌株的选择	85
二、菌悬液的制备	86
三、诱变剂及处理剂量和方法	88
四、突变菌株的分离和筛选	89
五、突变的类型	89
六、初筛方法的简化	90
七、常用的初、复筛方法	92
八、特殊性能变异株的初筛方案设计举例	92
第五节 工业微生物的诱变育种	94
第六节 定点突变	97
实例1 产甘油假丝酵母核糖体蛋白 L41 基因定点突变	99
第六章 代谢调控育种	102
第一节 工业微生物的代谢调控	102
一、代谢调控的类型	103
二、初级代谢产物的代谢调节	112
三、次级代谢产物的代谢调节	115
第二节 营养缺陷型突变菌株的筛选及应用	120
一、什么是营养缺陷型	120
二、筛选方法	121
第三节 抗反馈调节抗性突变株的获得及应用	126
一、筛选抗阻遏和抗反馈突变株的方法	128
二、初级代谢产物发酵生产中的去调节突变型	129
三、酶发酵生产中的去调节突变	129
四、次级代谢产物发酵生产中的去调节突变株	129
第七章 基因重组育种	131
第一节 工业微生物原核与真核的遗传系统	131
一、原核系统	132
二、真核系统 (酵母和丝状真菌)	136
第二节 杂交育种的步骤与方法	140
一、细菌的杂交	140
二、酵母菌的杂交	140
三、霉菌的细胞杂交	144
第三节 转化与转导	148
一、转化育种	148

二、转导育种·····	150
第四节 原生质体育种技术·····	151
一、原生质体融合育种的特点·····	151
二、原生质体融合育种步骤·····	153
三、原生质体融合育种的要点·····	154
四、原生质体转化·····	164
五、原生质体再生率和融合率计算·····	168
六、原生质体技术中的一些特殊技术·····	168
七、原生质体电融合技术·····	169
第八章 基因工程育种·····	171
第一节 基因工程的基本过程和原理·····	171
一、载体·····	171
二、DNA 重组用酶·····	173
第二节 基因工程的基本操作·····	174
一、大肠杆菌感受态细胞的制备和转化·····	174
二、大肠杆菌中质粒的提取与纯化·····	175
三、重组 DNA 的基本操作过程·····	176
实例 1 重组载体 pEtac-PFA 的构建·····	177
第三节 目的基因的获得·····	180
一、鸟枪克隆法的原理·····	180
二、PCR 的基本原理·····	182
实例 2 枯草杆菌淀粉酶基因的 PCR 扩增·····	183
实例 3 产甘油假丝酵母血清苷酸脱羧酶基因 (<i>URA3</i>) 的分离及序列分析·····	185
第四节 大肠杆菌基因工程·····	189
一、强启动子·····	190
二、SD 序列·····	191
三、转录终止·····	191
四、基因的密码子组成·····	191
实例 4 耐热 β -半乳糖苷酶基因在大肠杆菌中的高表达·····	192
实例 5 重组大肠杆菌转化甘油为 1,3-丙二醇·····	195
第五节 非大肠杆菌微生物基因工程·····	198
一、芽孢杆菌基因工程·····	198
实例 6 高碱性蛋白酶基因工程菌的构建·····	199
二、酵母基因工程·····	202
实例 7 黑曲霉植酸酶基因在巴斯德毕赤酵母中的高表达·····	204
实例 8 羧酸还原异构酶基因多拷贝重组啤酒酵母的构建·····	206

第九章 菌种保藏与专利保护	208
第一节 菌种的退化与防治措施	208
一、菌种退化的现象	208
二、菌种退化的原因	208
三、防止退化的措施	210
第二节 菌种的保藏	211
一、菌种保藏的原理	211
二、菌种常用的保藏方法	211
第三节 著名菌种保藏机构及专利菌种保藏机构	216
一、著名菌种保藏机构	216
二、国际专利菌种保藏机构	225
第四节 生物技术发明及其专利保护	226
一、申请专利的基本要求	226
二、生物学发明的认定和专利权的授予	227
三、微生物菌种保藏及其专利申请文件	227
四、基因的专利保护	228
 参考文献	 230
 附录	 231

第一章 绪 论

第一节 工业微生物

工业微生物包括所有工业上应用的微生物，还包括一些工业生产中必须处理的杂菌。在这里，杂菌的含义是相对的。例如：产醋酸细菌在生产醋的过程中是生产菌，但在酒类生产中，由于它的醋酸化作用会使啤酒或葡萄酒酸败而成为杂菌。

每个工业技术人员都应熟悉自己研究的微生物。不仅要知道这些微生物的形态特征，也要清楚在给定条件下微生物的新陈代谢特征。不论菌株来自何处，生产菌株的档案资料必须建立，且在生产和研究中还应不断补充和完善。作为育种的出发菌株，该菌株的育种谱和某些必要的遗传背景也有重要的参考价值。

仅认识工业微生物的用途和污染菌是不够用的，还应注意它们的病原性，即使最终产物含有的是死菌体，对操作人员也是很危险的。如果医疗或制药过程必须用到致病菌，那么操作人员必须先学习如何安全操作这些细菌。

微生物是无所不在的物种，布满在自然界、动、植物及人体，因其极为微小，必须用显微镜观察才能证实其存在。

第二节 工业微生物育种的简史

微生物的整个细胞经长期进化才达到适合其生存与繁殖的要求，“野生型”的细菌或酵母细胞经天择而能密切地适应环境并与其他物种竞争，但未必适于制造人类所要的物质。现代工业微生物学所要获得的是一些畸形的微生物。这些经过遗传育种后的微生物能够生产大量的正常代谢物（其量之多，对野生型微生物的能源和营养而言是一种沉重的负担），甚至制造出本来无法生产的物质。从这个意义上讲，工业生产上应用的每一个微生物细胞是一座小型工厂。

人类在一百多年前以纯株培养的方式，分离出能制造有用物质的细菌和真菌，才开始有可能选出适用于特定需要的菌株，这是对微生物控制及改良的起步。有目标的培育特殊的工业用菌种，则是在人们对微生物遗传学有了一些了解以后。

首先是发现某些突变的机制：即遗传信息的基本单位——基因，突然改变成为新的形式。早在1927年，就已经可以在实验室用X射线诱发突变；1945年以后，发现的各种强力的诱变性辐射线和化学诱变剂，更为微生物学家提供了一套有效的工具，来改变菌种的遗传物质。20世纪40年代中期，遗传学方面的进展使人们能够重组两种或两种以上微生物的基因，而改组它们的遗传信息。对这些过程的进一步了解，促使微生物遗传学和分子生物学至今仍继续蓬勃发展。

第二次世界大战之后的几年，发酵工业的生产规模和生产量都因抗生素的工业生产而起重要的变化。青霉素早在战时就已经制造了，战后又持续开发许多对抗各种细菌性和真菌性疾病的新抗生素。此后，新的发酵方法可以让微生物生产其他的纯化学物质（如氨基酸和核苷酸），这些化学物质无法经济地用野生型菌生产。它们的工业生产仰赖代谢的调控，于是新的发酵工业与微生物遗传学这门新科学平行发展起来。可是，在相当长的一段时间里，遗传科学对工业微生物遗传育种的贡献并不大。

1973年，有关重组DNA（recombinant DNA）和分子克隆（molecular cloning）的实验公布以后，情况有了变化。原则上，新发展出来的这种技术能把任何来源的基因转移到各种微生物中。这些遗传工程技术是揭示基因结构和功能的有力实验工具，它们在工业微生物育种上也有无限的潜力，不仅能培育生产人体胰岛素或生长激素这些崭新的发酵产品的工业菌株，也能有计划地发展更适于生产传统发酵产品的新菌株。表 1-1 列出了与工业微生物育种有关的重要发现。

表 1-1 与工业微生物育种有关的重要发现

年代	人或团体	发现内容
1684年	Antoni van Leeuwenhoek	发现细菌
1826年	Theodor Schwann	酒精发酵由酵母菌引起
1857年	Louis Pasteur	乳酸发酵的微生物学原理
1860年	Louis Pasteur	酵母菌在酒精发酵中的作用
1866年	Louis Pasteur	低温灭菌法
1881年	Robert Koch	研究纯培养细菌的方法
1884年	Robert Koch	科赫原则
1884年	Christian Gram	革兰染色方法
1889年	Martinus Beijerinck	病毒的概念
1917年	Félix Hubert D'Herelle	噬菌体
1928年	Frederick Griffith	肺炎球菌的转化
1929年	Alexander Fleming	青霉素
1940年	George Well Beadle Edward Tatum	红色脉孢菌的突变
1943年	Max Delbruck Salvador Edward Luria	细菌的突变
1944年	Oswald Avery Colin Macleod Maclyn McCarty	证明DNA是遗传物质
1944年	Selman Waksman Albert Schatz	链霉素
1946年	Edward Tatum Joshua Lederberg	细菌的接合

2 工业微生物育种学

续表

年代	人或团体	发现内容
1951年	Barbara McClintock	可转座因子
1953年	James Watson Francis Crick Rosalind Franklin	DNA的结构
1958年	M. Meselson, F. W. Stahl	证明大肠杆菌的半保存复制
1959年	Arthu Pardee Francois Jacob Jacques Monod	基因受阻遏蛋白调控
1959年	F. Macfarlane Burnet	克隆选择理论
1960年	Francois Jacob David Perrin Carmon Sanchez Jacques Monod	操纵子概念
1966年	Marshall irenerg H. Gobind Khorana	遗传密码
1969年	Howard Temin David Baltimore Renato Dulbecco	反转录病毒和反转录
1970年	Hamilton Smith	识别限制性内切酶的作用
1975年	Georges Kohler Cesar Milstein	单克隆抗体
1977年	Carl Woese George Fox	古生菌
1977年	Fred Sanger Steven Niklen Alan Coulson	DNA序列分析
1988年	Kary Mullis	多聚酶链式反应
1995年	Craig Venter Hamilton Smith	细菌基因组的完整序列
1999年	The Institute for Genomic Research	百余种微生物基因组序列

第三节 工业微生物育种的目 的及方法

从野生型的细菌或真菌可以选育出具有专门用途的工业微生物，但必须改变其遗传信息，以消除不好的品性，加强好的品性或引入全新的特性。引起这样的变化有以下方法。

一、诱变育种

诱变育种是利用突变或诱发突变的育种方法。最简单的一种突变是“点突变”，即将一对碱基（如腺嘌呤-胸腺嘧啶）变成另一对（鸟嘌呤-胞嘧啶）。在其他突变情形下，

一个顺序中也可能失去一对碱基或一小段 DNA，或者插入一对新的碱基。这些变化在任何 DNA 中都可能自然发生，即代代相传时 DNA 复制所造成的误差。但自发突变频率很低，任何一对碱基大约复制一亿次才会发生一次。如果让微生物接触到诸如紫外线辐射、电离辐射（X 射线、 γ 射线或中子辐射）和许多能与 DNA 碱基反应或干扰 DNA 复制的各类诱变剂，突变频率就至少可以增加一千倍。

非常优秀的工业生产菌株，是连续经过许多次的突变和筛选而发展出来的。育种时，菌株先以一种诱变剂处理，再取几千至上万个所得到的菌落来检测；当一株突变种的产量有显著增加时，就拿来当作下一次诱变和筛选的出发菌株。用这种方法，以人为方式引导微生物的进化，直至发展出产量具有经济价值的生产菌株为止。

这种选育工作缓慢且工作量大，而结果也是无法预测的。另外，由于产量不仅受生产菌的基因影响，也受培养条件的强烈影响，因此仿真的工业化生产实验必不可少。像目前几种抗生素生产菌都是二、三十年来经过多个研究单位数十次选育才得到的。

二、基因重组育种

重组是遗传育种的另一种基本方法。基因或部分基因的重新排列，能将两种或两种以上生物的遗传信息一起置于一个宿主细胞中，创建具有目的特性的重组株。同源重组是具有相似 DNA 碱基顺序的细菌或真核细胞的染色体，由于某种交配过程，借着 DNA 的剪接而交换相对应的部分。以真核生物来说，有性生殖能提供一种重新分配过程，使来自两个个体的两套染色体“杂交”。

通常亲缘近的生物之间才能杂交成功。然而，不同生物之间重组的天然屏障常常可以原生质体的制备来打破。原生质体就是将细菌或真菌细胞剥去外层细胞壁，而暴露出薄薄的细胞膜。因为各种生物的细胞膜成分大致相同，因此能诱导彼等互相融合成杂种细胞，使它们的基因得以重组。对于同种之间难于实现自然接合的微生物，原生质体融合也是一种增加重组频率的有效技术。链霉菌中许多种就是如此，两种链霉菌之间的融合效率之高，可达到整个群落中至少有五分之一的细胞有新的基因组合。利用这种方法，应该有可能一步就把各菌种经过数次突变和选择所辛苦累积来的抗生素高产量的突变基因结合在一起。

三、重组 DNA 技术

同源重组导致相应一段 DNA 链相互的交换，另一类型的重组是在微生物已有的 DNA 上增加新的 DNA，质粒的转移就属于这种重组技术。质粒是细菌和某些酵母菌染色体外的小型环状 DNA 分子，它们能在宿主细胞里自主复制并由子细胞继承。质粒通常带有赋予细菌特有性能的基因，它们可以从菌株转到另一无亲缘关系的菌株，有时还可以转到不同的种，从而导入全新的遗传特性。

从一个菌种中分离质粒 DNA 并诱导和转入另一个菌种的宿主细胞是操纵重组 DNA 的基础。来自无亲缘生物的基因或者人工合成的基因都可以剪接到质粒上，然后把质粒引入新的微生物宿主中。这些质粒基因是受体细胞中崭新的遗传物质，原来不能通过同源重组稳定地遗传，但用质粒作媒介，这些基因可以跟着质粒的复制，一代接一代无限制地遗传下去。有些“温和性”噬菌体的 DNA 也能作为媒介，只要它们能感染微生物而又不杀死宿主就可以遗传下去。

重组 DNA 的目标是利用微生物生产本来不会合成的蛋白质，如某种酶或激素。基本的观念是将具备能够合成某一产品的个别基因转移到一种宿主微生物中，然后大量培养此微生物以合成产品。目前我们几乎都用大肠杆菌作宿主，将来或许可以选用其他更适于大生产的宿主。重组 DNA 的另一目标是将现有的工业菌株予以改良，不是引进全新的遗传能力，而只用修改遗传信息的方式，也能够改良现有菌株的生产能力。

能在 DNA 特定碱基对切割的限制内核酸酶，可以把巨大的 DNA 分子（如染色体中的 DNA）切割成许多小片段。这些酶中有的会切割出带有“黏性末端”的片段。将它们嫁接到同种酶切割（因此有相配的末端）的质粒（或噬菌体）内，由此得到的重组质粒通过转化引进大肠杆菌中。然后从带有复合质粒的细菌克隆株中筛选需要的菌株。

遗传工程甚至还可能用来使微生物制造从不存在的蛋白质。最近人体干扰素的拷贝 DNA 的克隆成功，使我们发现干扰素的种类相当多。这些干扰素不仅在氨基酸顺序上不同，而且特性也不同。我们可以用类似同源基因重组的技术，把两种大肠杆菌克隆体中不同的天然干扰素基因，各取一部分拼接起来，然后把这杂种基因引进细菌宿主中，就可以制造出各种全新的干扰素来。

用遗传方式改良现有的菌种，特别适于抗生素和生物碱这类不是直接由基因转译，而是经由许多基因产物和酶作用而合成的物质。与其将合成这些产物的整套基因，移植到一个完全陌生、不惯于表现它们的寄主中，还不如改造现有工业菌株的遗传信息。例如，我们可以多添加一个拷贝的基因来畅通一个代谢瓶颈的流量；或者把一种新酶提供给微生物，将天然代谢物改变成为我们所要的产品。

重组 DNA 技术有一个特别的用途，就是定位突变（site-directed mutation）。自发突变或诱发突变的盲目性质，使我们很难找到在 DNA 的特定位置上发生改变的突变种。如果我们要的是缺乏某一种酶的营养菌株时，倒没有什么大问题，因为诱变的目标相当大，整个基因的数百个碱基对中，任何一对发生改变都能使基因失去活性。但是，要有计划地改变基因上特定的部位，以改良它的功能（例如改变启动区中某一特殊的碱基对，以增加转录效率），则困难多了。现在基因可以从一个克隆体中分离出来，它的 DNA 顺序可以在细胞外用特殊的化学处理来改变，然后这个基因可以重新引入寄主中，依赖同源重组把细菌的基因用修饰过的基因换下来。

工业微生物遗传学现在已经成熟了。现有的一系列遗传育种技术，都是几年前所无法想像到的。这些技术包括：定位诱变、原生质体融合以及整套的 DNA 重组。智能地单独或合并应用这些技术，必能使人类对微生物的生化特性有更深入的了解，进而予以变化并有效地利用。

第二章 工业微生物育种的遗传学原理

中国幅员辽阔蕴藏着大量的微生物资源，通过大量工作是能够筛选出更多适合生产要求的新菌种的。但是生产发展不允许我们只停留在从自然索取菌种的初级水平上，还要求对现有生产菌种进行改造，以期在较短时间内能大幅度提高菌种的生产性能，这就是工业微生物育种的任务。要做好育种，必须对育种的遗传学原理有深刻的理解。

事实上，所有微生物特性都是由基因控制或影响的，微生物的遗传特性，包括它们的形状、结构特征（形态学）、生化反应（新陈代谢）、运动能力或其他形式的表现及它们与其他微生物的关系。微生物通过遗传物质的单位——基因将这些特性传递给它们的后代，基因包含了决定这些特性的所有遗传信息。

对遗传学的理解关键是掌握一些微生物学知识。很多抗菌药物，例如抗生素，它能够杀死微生物或抑制其生长，而抗生素都是通过抑制微生物代谢途径而起作用的，如四环素可阻断蛋白质合成过程中的一步反应。知道生物信息是怎样从基因传递给蛋白质，将有助于我们理解抗生素的作用机理，从而能使我们开发防御疾病的新武器。

目前，研究人员正致力于解决微生物对抗生素抗性不断增强这一医学难题，微生物对抗生素抗性的获得主要通过以下几种方式：①合成降解抗生素的酶；②修改抗生素的接收位点来防止抗生素的吸收；③及时地将抗生素运输到细胞外；④合成抑制抗生素的蛋白。不管微生物的抗性是怎样获得的，它都是一直依赖于遗传信息的，并且具有抗性的微生物都已经得到了抑制抗生素作用的一个或一组基因。遗传学为抗性基因的出现原因及其在个体之间转移的方式提供了一个很好的解释，实际上抗性基因不会自发地出现，它们是现有微生物遗传变异的结果。

第一节 遗传物质的结构和功能

这一节要了解遗传学的定义和一些名词（如染色体，基因，遗传编码，基因型，表现型），要懂得 DNA 作为遗传信息是如何作用的。

遗传学是研究遗传的科学，包括基因是什么、它们是怎样携带信息、怎样复制、又是怎样将遗传信息传递给下一代或者其他微生物、在微生物中决定其独有特性的信息又是怎么表达的等一系列问题的研究。

一、染色体与基因

染色体由基因组成，它是携带遗传信息的细胞结构。基因是编码功能性产品的 DNA 片段（一些以 RNA 为遗传物质的病毒除外）。DNA 是由核苷酸重复序列组成的大分子，每一个核苷酸由一个碱基（腺嘌呤，胸腺嘧啶，胞嘧啶，鸟嘌呤），一个脱氧核糖和一个磷酸基团组成（图 2-1）。

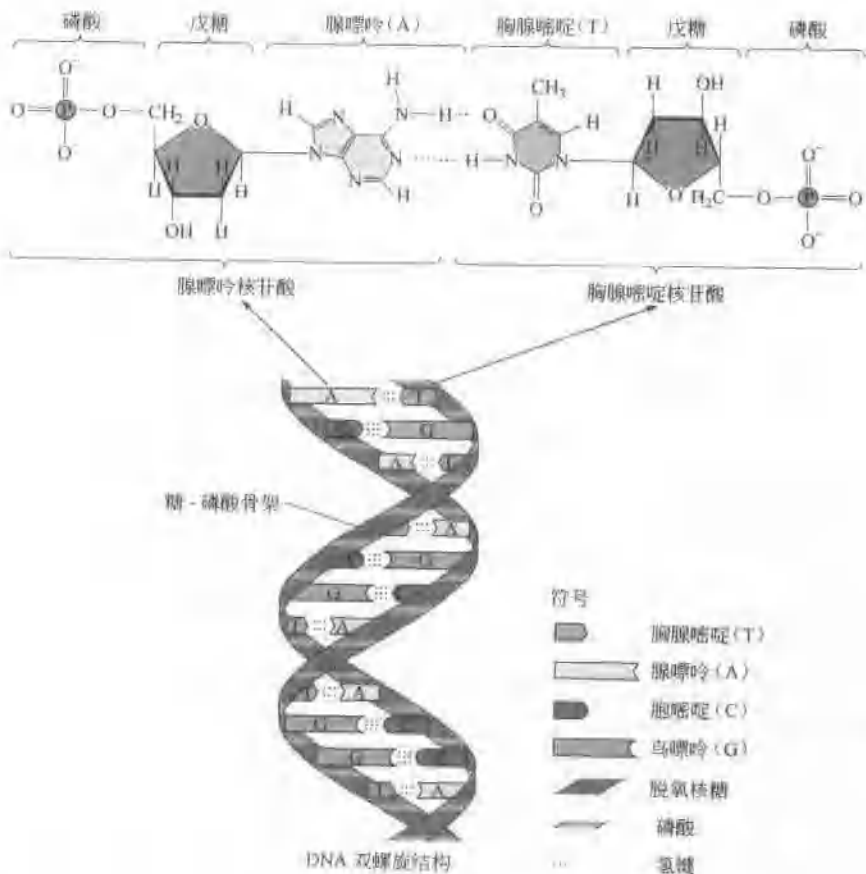


图 2-1 DNA 的组成

在细胞中，DNA 以双螺旋结构的形式存在，该结构由成对的核苷酸长链缠绕在一起形成。每一条链有一串交替的糖和磷酸基团——该链的糖-磷酸骨架，在该骨架上每一个糖和一个碱基相连。碱基对遵循特定的碱基互补配对原则：腺嘌呤与胸腺嘧啶配对，胞嘧啶与鸟嘌呤配对。正是由于这种特殊的碱基配对，一条 DNA 链的碱基序列决定了另外一条链的碱基序列。因此，DNA 的两条链是互补的，这些互补的 DNA 序列正像一张照片和它的底片一样。

DNA 的双螺旋结构有助于解释生物信息贮藏的两个主要特性。

第一，线性的碱基序列提供真实的遗传信息，遗传信息是由 DNA 链上的碱基序列编码的，正像我们书写语言一样，用线性的字母顺序去组成单词和句子。遗传语言仅仅用了四个字母——DNA (RNA) 里的四种碱基，但普通基因里 1000 个这样的碱基却可以有 4^{1000} 种不同的组合方式。这个天文数字解释了基因为何能有足够的变换形式来为细胞的生长提供所有信息及履行它的职责。遗传密码决定碱基序列如何被转换成蛋白质的氨基酸序列，关于这方面的内容将在以后的章节中详细讨论。

第二，DNA 的互补结构使得细胞分裂过程中 DNA 的精确复制得以发生。以照片为类比：如果现在有一张底片，可以一直用这张底片冲洗照片；同样，知道一条 DNA 链的碱基序列，也知道了另外一条链的碱基序列。

一个基因通常先编码一个信使 RNA (mRNA) 分子，该 mRNA 最后编码一个蛋白质。基因产品可以是核糖体 RNA (rRNA) 也可以是转运 RNA (tRNA)，正像我们将要看到的，所有这些类型的 RNA 都将参与到蛋白质的合成过程中。大部分细胞的新陈代谢与遗传信息翻译成的特殊蛋白质有关。DNA 序列转录 (拷贝) 产生一个特殊的 RNA 分子，即 mRNA。mRNA 中的编码信息又被翻译成特定的氨基酸序列并最终形成蛋白质。当一个基因编码的最终分子 (例如一个蛋白质) 形成时，我们就说这个基因已经表达。因此，基因表达包括 DNA 转录形成特殊的 RNA 分子，如果该 RNA 是 mRNA，那么其中的编码信息将被翻译成蛋白质，这个过程可以表示如下：



要进行遗传信息的表达，DNA 必须经过转录和翻译。虽然单个氢键的作用力很弱，但是由于氢键的密度很大，一小段 DNA 上的氢键能提供足够的结合能量来形成双螺旋结构。然而，遗传信息通常只有在解链的状态下才能从 DNA 中读取，这有赖于一些蛋白在合适的时候将 DNA 的双链解开。随着基因的表达，两条分开的 DNA 单链作为复制模板，从而形成了两个子链 DNA 分子。在细胞分裂之前，DNA 中特定的核苷酸序列通常已由酶进行了精确的复制。这种复制使 DNA 能将遗传信息从一个细胞传递到另一个细胞，或者从一代传递到下一代。核苷酸序列所包含信息决定了细胞中所有的蛋白质，核苷酸序列决定着细胞的特性，并且将这些特性转移给细胞的下一代。

DNA 能够改变，也称变异。虽然很多变异引起细胞的损伤或死亡，但是一些变异也能创造可遗传的新特性，能使微生物更好地在新环境中生存。因此，从长远角度看，变异对菌种的成功进化做出了卓越的贡献。

二、基因型和表现型

一个微生物的基因型由它的遗传信息组成，它编码微生物的所有特性，基因型代表潜在的特性，但并不是特性本身。表现型则指一些实际的、已表达的特性，例如，微生物完成一个特殊化学反应的能力。因此，表现型是基因型的表现。

从分子角度看，一个微生物的基因型是它所有基因的总和，即它的全套 DNA。那么是什么组成了微生物的表现型呢？从某种意义上说，一个微生物的表现型是它蛋白质的总和。一个细胞的大部分特性是由蛋白质的结构和功能决定的。在微生物中，大部分的蛋白质要么是酶（催化特殊的反应）要么是结构物（参与大的功能性物质的合成，像膜或者核糖体的合成）。与蛋白质（像类脂或多糖）间接依赖于蛋白质不同的是，表现型依赖于结构大分子。例如，一个复杂的脂质结构或者多糖分子是合成和降解这些结构的酶作用的结果。因此，将表现型仅归于蛋白质并不完全准确，但这是一个有用的简化。

三、DNA 和染色体

细菌有一个单链的环状染色体，该染色体由一个单链的环状 DNA 分子和其上镶嵌的蛋白质组成，染色体是环状、折叠的，并且连接在质膜的一个或几个位点上 (图 2-2)。大