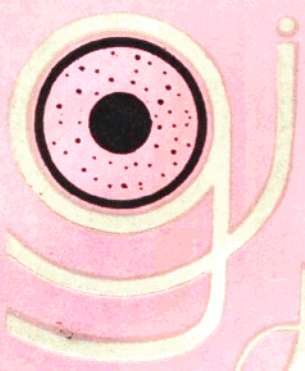




全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定



微生物遗传学

● 周俊初 主编

● 微生物 生物工程 生物技术 食品微生物专业用

中国农业出版社



前 言

微生物遗传学作为微生物的一门重要学科,在本世纪40年代以来有了重要进展,其研究结果极大地丰富了人类对生物遗传变异这一重要特性的认识,并发展了经典遗传学和分子生物学的知识。70年代以来,微生物遗传学与分子生物学和生物化学一道作为主要的基础学科对生物技术,特别是基因工程技术的建立和发展起了重要的推动作用。随着微生物遗传学研究工作的不断深入,人类已在分子水平上逐步揭开了生物遗传变异的奥秘,并在此基础上为实现定向改造现有物种和创造新型物种的宏伟目标奠定了坚实的基础。

微生物遗传学既是微生物专业、生物技术专业和其它相关专业的专业课程,也可作为生物学科其它专业的教学参考书。通过本课程的学习,应使学生对微生物遗传学的基本理论和知识有一个全面而系统的了解,并通过配套的课程实验掌握必要的微生物遗传学实验操作技术。

本书是经全国高等农业院校教材指导委员会审核通过并决定编写的基本教材。编者在写作过程中尽可能地参阅了国内外的有关教材和最新研究进展,力求使本教材能反映出本学科领域的当代水平。作为教材更应兼顾本门学科基本理论和基本知识的科学性、全面性、系统性和准确性,编者在微生物遗传的物质基础、基因突变、基因重组、基因的结构及其调节、微生物育种和基因工程等内容的介绍中,力求做到概念准确、叙述简明扼要。有关的实验操作原理和方法将在本课程的实验指导书中详细介绍。本教材由华中农业大学周俊初主编并具体编写了本书的序言、第一、四、六章和第七章,中国农业大学郭慧编写了第二章和第五章,华中农业大学胡福荣编写了第三章和第八章。

本书的编写过程是在华中农业大学和中国农业大学有关领导的大力支持和关怀下进行的。华中农业大学陈华癸教授仔细审阅了本书主要章节的初稿,并提出了宝贵的修改意见,广西农业大学马庆生教授在百忙之中对本书进行了审阅指导,杨晓庄、周波和胡燕协助完成了全书的插图绘制,王丽华和贺继鸿同志完成了初稿的电脑输入工作,编者在此一并表示衷心的感谢。

限于编者水平有限,本书难免会有许多不当和错误之处,希望广大读者提出宝贵意见。

编 者

1994年12月

目 录

前言	
序言	1
一、经典遗传学的建立和发展	1
二、微生物遗传学的发展过程	2
三、微生物作为遗传学研究材料的特点	4
第一章 微生物遗传的物质基础	5
第一节 病毒和噬菌体的遗传物质	5
第二节 原核微生物的遗传物质	11
第三节 真核微生物的遗传物质	14
第二章 基因突变	21
第一节 基因突变的类型、规律和突变率	21
一、基因符号	21
二、基因突变的类型	22
三、基因突变的规律	23
四、突变率的计算方法	23
第二节 诱发突变	25
一、化学诱变的种类及作用机制	25
二、物理诱变的种类及作用机制	31
第三节 自发突变	34
一、自发突变的证实	34
二、自发突变的作用机制	37
三、突变热点	39
第四节 转座遗传因子	40
一、插入序列 (insertion sequence)	40
二、转座子 (transposon)	41
三、转座噬菌体	43
第五节 DNA 损伤的修复	44
一、光复活作用 (photoreaction)	44
二、切补修复 (excision repair)	44
三、重组修复	45
四、SOS 修复	46
五、适应性修复	47
六、修复与突变形成的关系	48
第三章 细菌和放线菌的基因重组和遗传分析	49
第一节 转化作用	49

一、转化作用的发现	49
二、转化作用的过程	49
三、转化的遗传分析	51
第二节 接合作用	53
一、接合现象的发现	53
二、F 因子与接合作用	54
三、中断杂交试验及基因定位	57
四、大肠杆菌的染色体图	58
第三节 转导作用	58
一、转导作用的发现	58
二、转导噬菌体的类型	59
三、转导的类型及过程	60
四、转导遗传分析	64
第四节 放线菌的基因重组	64
一、链霉菌基因重组的发现	64
二、放线菌的致育因子	65
三、异质系的产生	66
第四章 噬菌体的基因重组和遗传分析	67
第一节 噬菌体的感染特性	67
一、噬菌斑	67
二、涂布效率	68
三、感染复数	69
四、裂解量	69
第二节 烈性噬菌体的遗传分析	69
一、T ₄ 的琥珀突变和遗传分析	69
二、T ₄ 基因组末端重复环状排列的证实	71
三、互补性 (complementation) 和重组性 (recombination) 测验	72
第三节 温和噬菌体的遗传分析	74
λ 噬菌体溶源与溶菌过程的遗传控制	74
第四节 性质特殊的噬菌体	76
一、M13 噬菌体	76
二、Mu 噬菌体	77
第五章 真菌的基因重组和遗传分析	79
第一节 顺序排列四分体的遗传分析	79
一、粗糙脉孢菌的生活史	79
二、粗糙脉孢菌有性杂交的遗传分析	79
第二节 非顺序排列四分体的遗传分析	84
一、构巢曲霉的生活史	84
二、构巢曲霉有性杂交的遗传分析	85
第三节 真菌的准性生殖	87
一、准性生殖的发现	87

二、准性生殖的过程	88
第四节 酵母菌的遗传分析	92
一、酿酒酵母的生活史	92
二、酿酒酵母接合型的调控模型及假说	92
第六章 染色体外的遗传因子	97
第一节 原核微生物的质粒	97
一、质粒的研究方法和命名原则	97
二、质粒的类型	101
三、质粒的大小和数量	105
四、质粒的复制与调节	106
五、质粒的不亲和群	107
六、质粒的稳定性	109
七、质粒的转移	110
第二节 真核微生物的核外遗传物质	111
一、酵母菌的线粒体 DNA 遗传	112
二、叶绿体 DNA 遗传	112
三、酵母菌的 2 μ m 质粒	114
第七章 基因的结构和作用	116
第一节 人类对基因认识的深化和发展	116
一、从“遗传因子”到基因	116
二、从“一个基因一种酶”到操纵子学说	117
第二节 结构基因及其作用	119
一、“一个基因一种酶”假说的验证	119
二、结构基因的互补作用	123
三、基因精细结构的分析	130
第三节 调节基因及其作用	134
一、转录水平上的调控作用	134
二、转译水平上的调控作用	144
第八章 微生物遗传与育种	147
第一节 基因重组的机制	147
一、一般重组(同源重组)	147
二、插入重组(位点专一性重组)	151
三、一般重组和插入重组的区别	152
第二节 基因突变与育种	152
一、自发突变与育种	152
二、诱变育种的基本程序	153
三、突变型的筛选方法	154
第三节 基因重组与育种	160
一、有性杂交育种	160
二、准性生殖育种	161
三、原生质体融合育种	162

四、细菌的基因重组与育种	163
第四节 代谢调节与育种	164
一、生物适应性和自我调节	164
二、抗反馈和抗阻遏育种	164
三、其它类型的育种	165
第五节 基因工程原理及其应用	166
一、基因工程的基本要素	166
二、基因工程的工艺流程	169
三、基因工程的应用及前景	171
参考文献	174

序 言

微生物遗传学作为微生物学的一个分支学科,是在 19 世纪晚期以动植物材料为基础而建立的经典遗传学基础上发展起来的。鉴于以微生物作为研究材料具有动植物难以比拟的优越性,在 20 世纪 40 年代以后的短短 50 余年时间内,微生物遗传学有了飞速的发展,同时也为分子生物学和分子遗传学的建立和发展奠定了基础。

一、经典遗传学的建立和发展

奥地利的修道士孟德尔 (Mendel, 1822—1884) 是经典遗传学之父。他以豌豆 (*Pisum sativum*) 为材料进行杂交试验和子代性状分析,于 1865 年发表《植物杂交的试验》一文,首次提出植物的遗传性状是由遗传因子决定的假说。他认为遗传因子在体细胞中是成对的,其中一个为显性 (dominant),一个为隐性 (recessive),杂交一代本身仅表现显性因子性状,杂交二代才表现出显性和隐性两种遗传因子的性状。并认为两对遗传因子在子代是独立分配随机组合的。孟德尔的学说为后来的学者们所验证并发展为孟德尔遗传定律,即遗传因子的分离定律和自由组合定律。1909 年丹麦的约翰逊 (Johannsen) 提议用基因 (gene) 一词来表示孟德尔的遗传因子,并为当时和以后的学者所接受。美国的遗传学家摩尔根 (Morgan, 1866—1954) 及其助手们以果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 为材料将经典遗传学进一步发展到染色体 (chromosome) 水平,他们通过对不同性状果蝇亲代与杂交子代的性状分析,发现果蝇的基因分离存在连锁现象,并且可以区分出 4 个连锁群 (linkage group),正好与果蝇细胞学研究中观察到的 4 对染色体相符合。摩尔根在大量实验的基础上提出了遗传的染色体学说,认为染色体是遗传的物质基础,在同一染色体上的基因属于同一个连锁群。基因按特定的顺序呈线状排列在染色体上,不同基因之间的交换或重组频率只与它们在染色体上的距离或位置有关而与该位置上的基因种类无关。孟德尔和摩尔根对经典遗传学的建立和发展作出了巨大贡献。

麦克林托克 (McClintock) 于 1931 年首次在光学显微镜下观察到玉米 (*Zea mays*) 基因重组时在染色体内部与不同染色体之间发生断裂和重新组合的过程,从而揭开了包围着经典遗传学的神秘面纱。此外,她还首次发现了生物体内存在的插入因子 (insertion sequences),它们能在染色体内或之间跳动,从而引起基因突变。

华生 (Watson) 和克里克 (Crick) 于 1953 年提出了 DNA 分子结构的双螺旋模型,这一发现基于卡加夫 (Chargaff) 关于 DNA 碱基配对的分析和威尔肯思 (Wilkins) 用 X 射线衍射进行的 DNA 物理结构的研究。该模型不但正确地揭示了作为生物遗传物质的 DNA 的分子结构,而且开创了分子生物学的新纪元。

二、微生物遗传学的发展过程

微生物遗传学的发展起源于对细菌变异现象的研究。玛西尼 (Massini, 1907) 在《可突变的大肠杆菌》一文中首次报道从非乳糖发酵菌株中分离鉴定出能进行乳糖发酵的突变株, 并测定了突变的频率。梅隆 (Mellon, 1925) 在研究细菌变异发生的原因时, 提出大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*) 存在原始的“性”形式。哈德利 (Hadly, 1927) 较系统地总结并评述了细菌的形态、发酵性、毒力、生长最适温度及对防腐剂的抗性等方面出现的变异类型。

英国的物理学家格里菲思 (Griffith, 1928) 在研究细菌抗性时首次发现肺炎双球菌 (*Diplococcus pneumoniae*) 的转化 (transformation) 现象。该菌有许多类型, 能诱发疾病的是产荚膜的光滑型或简称 S 型, 不产荚膜的粗糙型或 R 型则不能致病。依抗原性的差异又可细分为 I、II、III 等血清型。格里菲思将有毒力的 S III 型细菌注入小白鼠, 能令其死亡并能从中分离到 S III 型活菌。用无毒力的 R II 型注射, 小白鼠存活。当用大量的经加热杀死的 S III 型细菌与少量 R II 型活菌混合后一道注射时, 出乎意外地使小白鼠死亡, 并也能从中分离到 S III 型活菌。

阿洛威 (Alloway, 1933) 用来自光滑型肺炎双球菌的无细胞过滤液重复上述试验后, 也实现了从无毒力的 R 型向有毒力的 S 型的转化。为了查清转化因子的本质, 艾弗里 (Avery, 1944) 将经高温灭活的 S III 型肺炎双球菌的无细胞破碎液分为三组: 第一组为不处理的对照, 第二组用蛋白酶处理, 第三组用 DNA 酶处理。然后用于转化 R II 型细菌, 结果在第 1、2 组中均出现了 S III 型细菌, 而第三组却仍然只有 R II 型细菌。这一结果雄辩地证明实现细菌转化的因子是 DNA, 而不是蛋白质。

1941 年, 比德尔 (Beadle) 和塔特姆 (Tatum) 以粗糙脉孢菌 (*Neurospora crassa*) 为材料, 他们用 X 射线诱变筛选获得了大量的营养缺陷型 (auxotroph) 突变株, 它们均不能在基本培养基上生长, 需要添加相应的生长因素。在大量比较分析的基础上他们提出了一个基因一种酶的假说, 并为以后的研究所证实。比德尔和塔特姆的创造性发现为生化遗传学的发展奠定了基础, 是他们首先将遗传基因的作用与酶或蛋白质联系起来, 微生物营养缺陷突变型的发现也为进一步深入研究基因结构、调控、重组以及生物的形态分化和发育等创造了条件。

卢里亚 (Luria) 和德尔布鲁克 (Delbruck) 1943 年进行了著名的波动分析试验 (fluctuation analysis), 其结果雄辩地证明细菌对噬菌体产生的抗性突变是自发产生的, 与它们是否同噬菌体接触无关。他们的研究结果随后又被纽可布 (Newcombe, 1949) 用涂布试验 (re-spreading experiment) 和莱德伯格 (Lederberg, 1952) 用影印培养法 (replica-plated incubation) 进一步证实细菌的基因突变发生在它们与噬菌体或药物接触之前, 后者仅作为一种筛选手段, 将自发产生的抗性突变从大量的突变中筛选出来。

莱德伯格 (1946) 以大肠杆菌 K12 菌株的两种不同营养缺陷型突变株为材料, 发现只有在混和培养液中才能获得可以在基本培养基上生长的野生型 (wild type) 菌株。其后不久, 戴维斯 (Davis) 通过精确的试验证明只有在两个亲本菌株直接接触的条件下才能筛选到野生型菌株, 从而揭示出另一种与转化作用不同的细菌基因重组方式——接合作用 (con-

jugation)。罗宾诺 (Robinow, 1949) 用盐酸水解掉细菌细胞的 RNA 之后用孚尔根 (Feulgen) 染色法首次证实细菌细胞内存在着与真核生物细胞核相似的 DNA 团块。海斯 (Hayes, 1952) 的研究进一步证实接合作用是供体细菌的遗传物质向受体细菌单向转移的结果。莱德伯格和卡维里 (Cavalli) 提出用 F^+ 来表示具致育性的供体菌, 而用 F^- 来区分不能致育的受体菌, 他们还首次报道了由 F^+ 细胞产生的高频重组突变株 (Hfr), 这些突变株能经接合作用以高于 F^+ 菌株数百倍的频率向受体 F^- 细菌转移供体菌基因, 而且一般并不改变受体菌的接合型。雅各布 (Jacob) 和沃尔曼 (Wollman) (1955—1958) 用大肠杆菌 K12 的 Hfr 菌株为供体, 与 F^- 受体菌进行了著名的“中断杂交试验”, 他们将处于对数前期的供、受体菌混合, 并按一定时间间隔取样, 样品经高速搅拌器处理以中断成对细胞间正在进行的接合重组作用, 然后涂在选择重组体的平板培养基上。结果表明: 供、受体菌间保持接合作用的时间愈长, 向受体菌转移的基因数目就愈多。其后许多学者的进一步研究结果表明: 实现供体菌基因的全部转移约需 100min, 并由此而绘制出大肠杆菌的环状基因图。

莱德伯格和津德 (Zinder) 1951 年以鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 的两种不同营养缺陷型突变体 (LT_2 和 $LT_{22}A$) 为材料, 将它们分别培养在以微孔过滤板分开的 U 型管两端, 数小时后取样发现在 $LT_{22}A$ 一端可检测出野生型细胞。由于过滤板阻断了供、受体菌的接触, 因而不能将原原型 (prototroph) 细胞的产生归因于接合重组作用, 进一步的试验也排除了转化的可能性, 从而首次证实了与转化和接合作用不同的另一种新的细菌基因重组方式——转导作用 (transduction)。这一重组作用是由受体菌 $LT_{22}A$ 释放的噬菌体 P_{22} 导致了基因从供体菌向受体菌的转移。莱德伯格 1954 年在研究大肠杆菌温和噬菌体 λ 的转导作用时, 发现它只能转导 *gal* 和 *bio* 等少数供体菌基因。1962 年, 坎贝尔 (Campbell) 提出了 λ 噬菌体进行特异性转导 (specialized transduction) 的整合和脱离模型。

梅塞尔逊 (Meselson) 和斯塔耳 (Stahl) 1958 年用 ^{15}N 和 ^{14}N 交替培养大肠杆菌, 证明了 DNA 的半保留复制机制, 解开了生物遗传稳定性的奥秘。雅各布和蒙洛德 (Monod) 1961 年在研究大肠杆菌乳糖调节机制时, 发现 DNA 上除了结构基因外, 还有调节基因并提出了“操纵子”学说。霍利 (Holley)、柯雷拉 (Khorana) 和尼雷伯格 (Nirenberg) 1965 年用大肠杆菌的离体酶系进一步证实了由 DNA 转录的 mRNA 上三联体遗传密码的存在, 从而揭示了 DNA 与蛋白质合成的关系。

阿贝 (Arber)、史密斯 (Smith) 和纳萨斯 (Nathans) 1972 年发现并从微生物中提取出限制性内切酶, 为进一步开展基因工程研究创造了条件。柯恩 (Cohen) 和博叶 (Boyer) 于 1973 年首次将在体外构建的杂种质粒转入大肠杆菌细胞内实现了复制和表达, 标志着原核生物遗传工程试验的成功。1977 年, 博叶等进一步采用基因工程技术, 使大肠杆菌生产出一种 14 肽的生长激素释放因子 SRIH。伊塔库纳 (Itakura) 1978 年接着将人胰岛素基因转移到大肠杆菌中, 成功地获得了胰岛素 A 和 B。80 年代以来, 美、英、法、德、日等国的学者和企业家相继建成一大批专门从事基因工程、遗传工程或生物技术和商业性开发的公司, 每年都有一批新产品开发问世。目前已经审定并投入商业生产的生物药品就有干扰素、红细胞生成素、尿激酶、血凝因子、乙肝病毒疫苗、人生长激素、人胰岛素和粒细胞集落刺激因子等, 产值达数十亿美元。可以预计, 生物工程将成为下一世纪的新兴产业, 微生物学, 尤其是微生物遗传学又是它的主要基础性学科之一。

三、微生物作为遗传学研究材料的特点

微生物作为遗传学，特别是分子遗传学研究材料的特点是：①微生物是单细胞或多细胞不分化的低等生物，无细胞结构的病毒则更为简单，因而适宜于作为遗传研究的材料。②原核微生物一般为单倍体，许多真核微生物的营养体也是单倍体，不存在多倍体中的显性与隐性基因问题，也无需为隐性基因的表达而进行反复的杂交。③绝大多数的微生物均能在人工培养基上生长繁殖，并能从单个细胞长成菌落，使研究工作一般均能在实验室内完成。④微生物代谢作用强，能在培养条件下积累大量的代谢产物而有利于基因表达的研究。⑤微生物生长繁殖迅速，原核微生物只有无性繁殖，真核微生物的有性世代亦能在短期内完成，有利于缩短研究周期。⑥由于微生物是单细胞营养体，因而供试环境因素对微生物的作用均匀。

根据以上特点，采用微生物作为遗传材料就具有以下几方面的优越性：

1. 易于筛选到营养缺陷型。用在基本和加富两种不同培养基上进行的影印培养，很容易从大量供试菌细胞中检出营养缺陷型。

2. 便于作为基因突变的研究材料。在通常条件下，基因突变的频率很低，但在快速繁殖的微生物中很容易检出，如筛选抗药性突变，只需在培养基中加入相应抗生素，就能达到这一目的。

3. 便于作为基因重组的研究材料。细菌的转化，转导和接合作用的频率虽然不高，但可以利用营养缺陷或抗药性标记，不难从亿万个供试菌细胞中选出基因重组的突变体。

4. 便于用作研究基因结构、功能及调控机制的研究材料。微生物一般具有比高等生物少得多的遗传信息。因而，其基因的定位、结构及其分离均易于进行。基因的表达和调控也可用生理生化及其他方法进行深入的研究。

5. 通过微生物遗传特性的研究可以揭示一切生物共同的遗传规律，并在实验方法和技术上为进一步深入研究高等生物的遗传机制奠定基础。

6. 以微生物为载体，已成为进行高等动植物的分子遗传学研究和生物工程的重要手段。

第一章 微生物遗传的物质基础

核酸作为一切生物遗传的物质基础主要有 DNA 和 RNA 两种类型,每一种生物都带有它自己特有的、决定其全部遗传特性的遗传物质——核酸,并在其上以特殊的顺序与结构编排成基因组,主要包括能转录并翻译成酶或蛋白质的结构基因、对转录或翻译过程起调节作用的调节基因和只转录 RNA 的特殊基因。在不同类群的微生物中,遗传物质的存在方式和作用机理亦有所不同。

第一节 病毒和噬菌体的遗传物质

除新近发现的“朊病毒”外,已知其它所有病毒和噬菌体的遗传物质要么是 DNA,要么是 RNA。除在复制过程中或其它特殊条件下以外,它们一般只含有一种核酸。动物病毒有些属 DNA 型,如痘病毒 (poxvirus); 有些属 RNA 型,如流感病毒 (influenza virus)。植物病毒绝大多数为 RNA 型,如烟草花叶病毒 (tobacco mosaic virus); 少数为 DNA 型,如花椰菜花叶病毒 (cauliflower mosaic virus)。噬菌体多属 DNA 型,如大肠杆菌的 T 系列、 λ 和 Φ X174 噬菌体; 少数属 RNA 型,如 i_2 , MS₂ 和 Q β 噬菌体。

病毒和噬菌体的核酸类型远比细胞生物复杂,除常见的 DNA 双链和 RNA 单链类型以外,还有 DNA 单链 (如 Φ X174) 和 RNA 双链 (如呼肠孤病毒)。从结构上看,大多数病毒和噬菌体的核酸是线状开放式类型,但常常具有特殊的末端重复结构以利于它们在进入宿主细胞后转为环状。少数病毒和噬菌体的核酸 (主要是 DNA) 为闭合环状结构,如花椰菜花叶病毒和 PM₂ 噬菌体。

不同类型病毒和噬菌体的核酸含量差异也很大,少的如流感病毒仅占病毒粒子总量的 1%,多的如 T 偶数噬菌体可达 50% 以上。除极个别以外,每个病毒或噬菌体粒子只含一个核酸分子,小的如大肠杆菌的 MS₂ 噬菌体,其单链 RNA 仅由 3569 个核苷酸组成,更小的如卫星环死病毒的 RNA 单链只含 1200 个核苷酸,仅能编码自己的外壳蛋白并且不能独立侵染复制,只有同腺病毒或烟草坏死病毒一道感染宿主细胞时才能复制繁殖。大的如痘病毒,其闭合环状双链 DNA 的分子量为 160MD (10⁶ 道尔顿),大小为 242kb (10³bp),约含有上百个基因。常见病毒和噬菌体核酸的主要特征见表 1-1。

在某些 RNA 病毒 (如呼肠孤病毒和水稻矮化病毒) 中还存在多组份基因组 (segmented genome) 现象,这是 RNA 病毒所特有的。在 DNA 病毒中, DNA 的分子量一般随病毒结构和功能的复杂化而增加。但在 RNA 病毒中,由于 RNA 分子量的变幅有限,因此其遗传信息的增加则采取多组份基因组方式,即将病毒的基因组分段保存在两个或多个 RNA 片段中。这样在一个病毒粒子中可以有 2 个或多个 RNA 分子,在某些植物 RNA 病毒中还存在多分体现象,即不同的病毒粒子中含有不同的 RNA 片段,只有含有几种不同的 RNA 基

因组的病毒粒子同时存在时才能表现出完整的侵染能力。

类病毒 (viroid) 的结构和化学组成比普通病毒简单, 它们是无蛋白质外壳保护的游离 RNA 分子, 侵入宿主细胞后才能自我复制, 并使宿主致病或死亡。1971 年首次报道的马铃薯纺锤形块茎病类病毒 (PSTV) 是一个只有 359 个核苷酸的共价闭环状单链 RNA 分子。已知最小的草矮生类病毒 (HSV) 仅含 290—300 个核苷酸, 较大的柑桔裂皮病类病毒 (CEV) 亦只含 371 个核苷酸。目前关于类病毒的感染和复制机理尚不清楚。

表 1-1 病毒核酸的特性

核酸与病毒类型	代表性病毒	分子量 (MD)	单链碱基数 (kb)	核酸片段数	极性
双链 DNA					
B 型肝炎病毒 (环状)		1.6	2.5		
乳多瘤病毒 (环状)	多瘤病毒 乳头状病病毒	3.5 6	5.0 9		
假单胞菌噬菌体 (环状)	PMS ₂	6	9		
腺病毒	12 和 18 型 2 和 5 型	21 23	32 35		
大肠杆菌噬菌体	T ₁ 和 T ₇	25	38		
	M ₆	26	39		
	λ	31	48.5		
	T ₅	77	117		
	T ₂ 、T ₄ 、T ₆	110	167		
疱疹病毒	单纯性疱疹病毒	100	151		
枯草杆菌噬菌体	SP8	130	197		
痘病毒	牛痘病毒	160	242		
单链 DNA					
细小病毒	与腺病毒联合的病毒	1.5	4.5		
大肠杆菌噬菌体	ΦX174 (环状)	1.7	5.3		
	M13 (环状)	2.4	7.3		
双链 RNA					
呼肠孤病毒		15*	23		
水稻矮化病毒		15*	23		
家蚕细胞质多角体病毒		15*	23		

(续)

核酸与病毒类型	代表性病毒	分子量 (MD)	单链碱基数 (kb)	核酸片段数	极性
单链 RNA					
卫星环死病毒		0.4	1.2	1	
大肠杆菌噬菌体	R ₁₇	1.3	4	1	+
烟草花叶病毒	TMV	2	6	1	+
芜菁黄花叶病毒		2	6	1	+
维 RNA 病毒	灰质炎病毒	2.5	7.5	1	+
布尼病毒		3*	9	3	-
反转录病毒	洛新肉瘤病毒	3.5	10.5	1	+
α 病毒	辛德比斯病毒	4	13	1	+
弹状病毒	水疱性口炎病毒	4	13	1	-
粘病毒	流感病毒	6*	18	8	-
副粘病毒	鸡瘟病毒	6	18	1	-

* 系核酸片段的总和。(引自 B. W. Bainbridge, Genetics of Microbes, Chapman & Hall, 1987)

普鲁斯纳(Prusiner, 1982)在研究绵羊瘙痒病时发现其病原体是由分子量为 27—30KD 的蛋白质构成的杆状颗粒, 经仔细分析后仍未从中检测到核酸, 其感染作用也不为核酸酶或核酸修饰剂的作用而破坏; 但却因蛋白酶、蛋白质变性剂或氨基酸修饰剂的作用而失活。目前已将这类只含有蛋白质而不含核酸的特殊病毒称为“朊病毒”(prion)。

关于病毒基因组研究得较彻底的有大肠杆菌的 MS₂、M13、ΦX174、T₄ 和 λ 等, 下面简单介绍它们的基因组结构。

1. MS₂ 从大肠杆菌性菌毛侧部侵入的 MS₂ 噬菌体的遗传物质为单链 (+) RNA, 它既是复制时的模板, 同时又可直接作为 mRNA 翻译产生蛋白质。它的大部分 RNA 分子因氢键的作用而互补结合成发夹或花朵形状, 仅含 3569 个核苷酸, 有 3 个基因, 图 1-1 是 MS₂ 的基因图。图 1-2 是 MS₂ 部分 RNA 结构的“花朵”状模型, 它能使病毒 RNA 在寄主细胞内翻译时先从暴露在外的外壳蛋白基因开始, 合成大量的外壳蛋白质, 然后才打开复制酶蛋白基因, 合成出进行噬菌体 RNA 复制必需的复制酶, 并随之很快被已大量产生的外壳蛋白所抑制。复制酶与宿主细胞的 S₁、Tu 和 Ts 三种蛋白质结合后即从 5' 端开始—RNA 和 +RNA 的复制, 随即抑制外壳蛋白的合成。而与附着有关的 A 蛋白则只在复制时打开的



图 1-1 大肠杆菌噬菌体 MS₂ 的基因图

(引自复旦大学生物系, 基础微生物学专题选, 高等教育出版社, 1983)

+RNA链上合成。其结果是复制出一分子的RNA 时能翻译产生一分子的 A 蛋白、适量的复制酶蛋白和大量的外壳蛋白，正好满足了新噬菌体颗粒装配的需要。

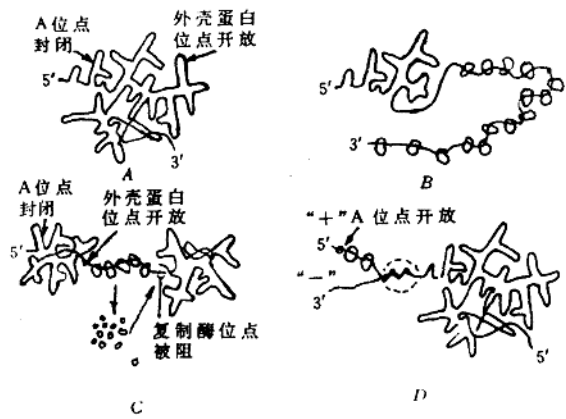


图 1-2 大肠杆菌 MS₂ RNA 的“花朵”状结构模型
 A. 在 RNA 的三个核糖体结合位点中，只有外壳蛋白位点开放转译；
 B. 在转译外壳蛋白过程中打开复制酶位点开始转译；C. 转译出的外
 壳蛋白阻遏复制酶基因的进一步表达；D. A 蛋白仅在新复制的 RNA
 “+”链上合成
 (引自复旦大学生物系，基础微生物学专题选，高等教育出版社，1983)

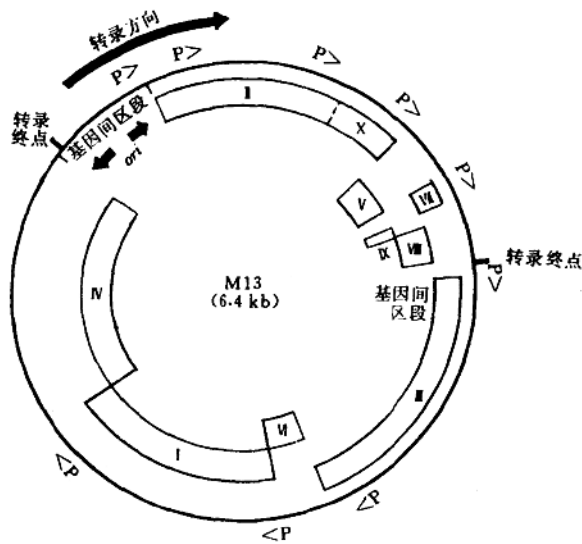


图 1-3 大肠杆菌丝状噬菌体 M13 的基因图
 罗马字母代表不同的基因位置，P>表示启动子位置
 (引自 J. Sambrook, Molecular Cloning, Cold Spring Harbour Lab. Press, 1989)

2. M13 从性菌毛感染大肠杆菌并以逐个释放方式而不裂解宿主细胞的丝状噬菌体 M13 与 f_1 和 f_d 极为相似, 均为环状单链 DNA, 它们之间的碱基序列有 98% 以上的相似性。M13 的 DNA 为 6407bp, 有 10 个基因, 90% 以上的基因组能编码蛋白质, 其间的距离仅有几个碱基。M13 的基因图见图 1-3。

3. Φ X174 大肠杆菌 Φ X174 噬菌体的遗传物质也是环状单链 DNA, 大小虽然只有 5386bp, 却有 12 个基因, 能编码 11 种蛋白, 按蛋白质推算所需要的基因组长度已超过其基因组范围。深入研究后发现在 Φ X174 基因组中有重叠基因, 基因 B、K、E 分别在基因 A、C、D 之中, 但使用不同的阅读框架。基因 A' 虽与基因 A 使用相同的阅读框架, 但却在 A 基因中部才开始转录 (图 1-4)。类似的重复使用基因组的现象还存在于其它小基因组噬菌体及

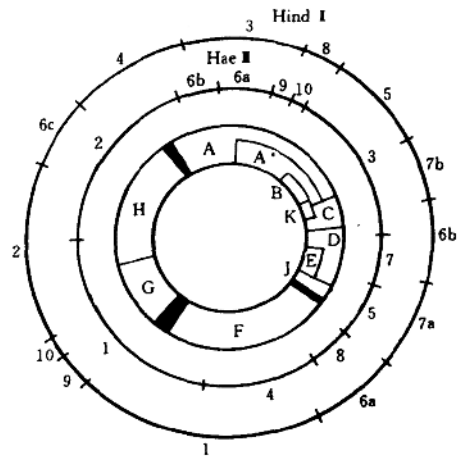


图 1-4 大肠杆菌 Φ X174 噬菌体的基因图。
内圈示基因位置, 两个外圈均为限制性酶切片段位置
(引自 B. W. Bainbridge, *Genetics of Microbes*, Chapman & Hall, 1987)

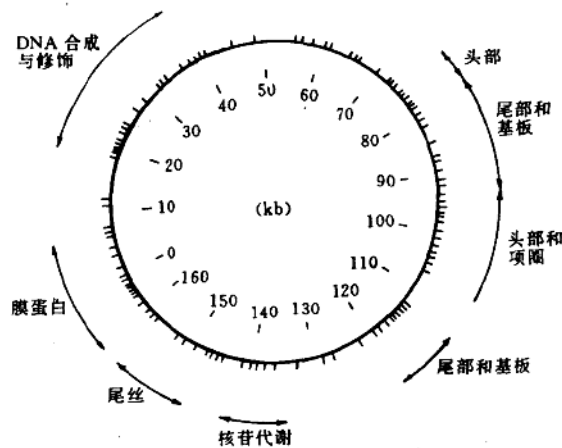


图 1-5 大肠杆菌 T₄ 噬菌体的环状基因图
内圈示以 kb 值表示的基因组位置 and 大小, 外圈示已鉴定的基因功能
(引自 B. W. Bainbridge, *Genetics of Microbes*, Chapman & Hall, 1987)

某些真核生物病毒中，其方法包括改变 mRNA 的切割方式（如多瘤病毒 SV40）或多聚蛋白质的不同切割方式（如脊髓灰质炎病毒）等。

4. T₄ 大肠杆菌的蝌蚪状收缩性长尾噬菌体 T₄ 的遗传物质较大，为线状双链 DNA，大小为 167kb，其环状基因图见图 1-5。一个有趣的现象是 T₄ 在其基因组中用 5-羟甲基胞嘧啶（hmc）来取代胞嘧啶，以避免寄主细胞的限制修饰作用和保护自己的 DNA 不被降解，同时也有利于 T₄ 编码产生的 DNA 酶专一性地降解寄主 DNA，编码的小分子阻遏蛋白能特异性地只抑制寄主的 RNA 聚合酶及其与 DNA 结合的转录作用，也有利于 T₄ 合成的包装蛋白只装配它自己的 DNA 而避免错误包装的发生。已知 T₄ 用于 DNA 合成和修饰等功能的基因至少有 24 个，编码噬菌体头部外壳蛋白质的基因有 23 个，用于头部装配的基因有 20 多个，用于尾部合成和装配的基因则超过 30 个。

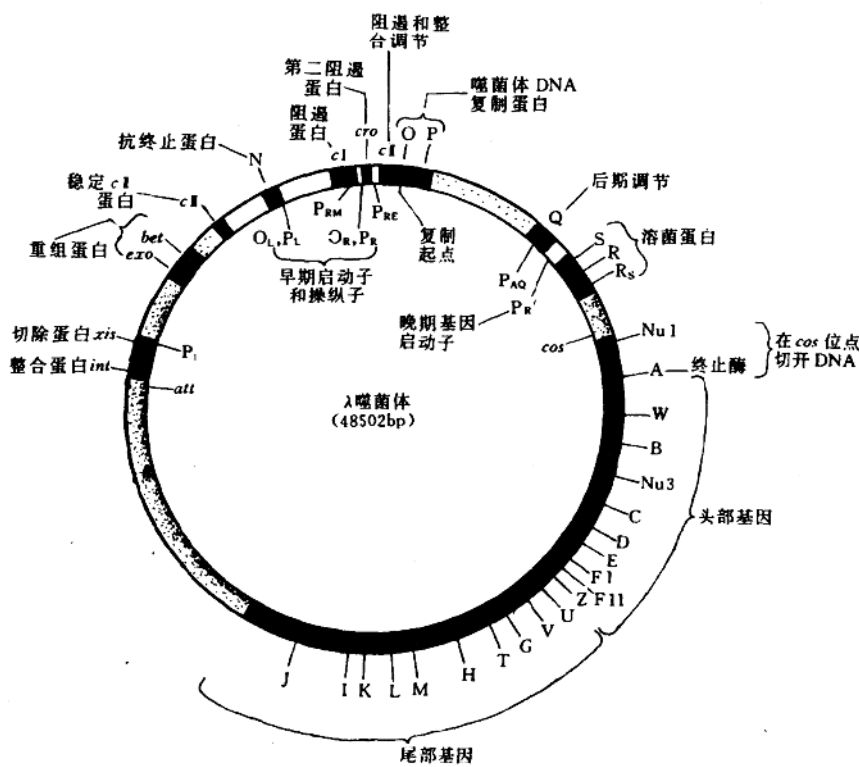


图 1-6 大肠杆菌温和噬菌体 λ 的基因图
 (引自 J. D. Watson et al., Molecular Biology of the Gene,
 The Benjamin/Cummings Publishin, Company, 1987)

5. λ 大肠杆菌的蝌蚪非收缩性长尾噬菌体 λ 是研究和用途十分广泛的温和噬菌体，其遗传物质为线状双链 DNA，大小为 48.5kb。它进入寄主细胞后亦能以其只有 12 个碱基

的粘性末端结合成环状,并以其位于 *attP* 位点上的 15 个碱基识别寄主细胞染色体 DNA 上的 *attB* 位点,并在噬菌体 *int* 基因编码的整合酶作用下插入寄主染色体中。在紫外光等因子的诱导下,又能在 *inf* 和 *xis* 基因(编码切除酶)的共同作用下从染色体 DNA 上脱落下来进行 DNA 的转录、翻译、复制和装配,最后裂解寄主细胞释放出成熟的 λ 噬菌体。 λ 噬菌体的基因图见图 1-6,已鉴定出 35 个以上的基因,其中 5 个用于控制 DNA 复制,6 个用于调节,2 个用于 DNA 复制,20 个用于编码和指导装配外壳蛋白,剩下的 2 个基因用于裂解寄主细胞。

第二节 原核微生物的遗传物质

原核微生物主要有细菌、放线菌和蓝细菌三大类群。染色体 DNA 是原核微生物的主要遗传物质,直接存在于原核(nucliod)之中,一般为环状双链 DNA,并且不与组蛋白相结合。原核微生物染色体 DNA 的分子量较病毒大而又比真核微生物小,其基因总数水平一般为 10^3-10^4 。在一般情况下,一个细胞只有一条染色体或一套基因组,因而为单倍体。每一个细胞的 DNA 含量在细胞生长间期十分稳定,在分裂时染色体便复制为二并能均匀地分配到 2 个子细胞中。

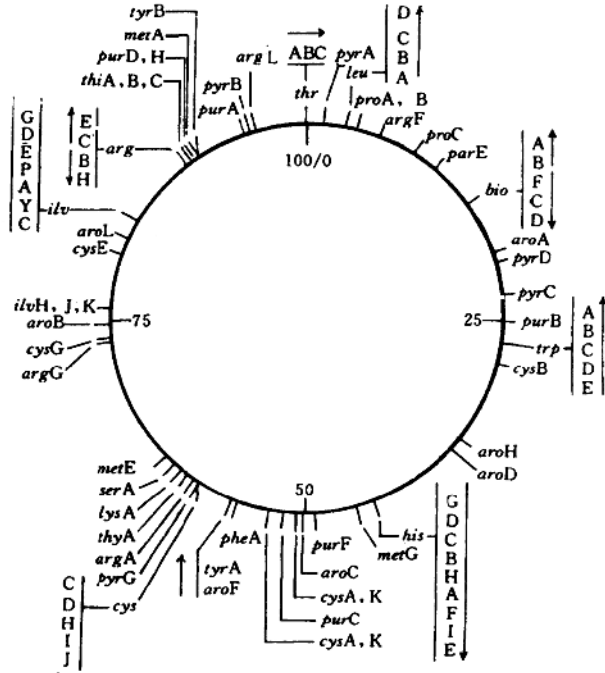


图 1-7 大肠杆菌 (*E. coli*) 的主要基因图

(引自 J. Darnell et al., Molecular Cell Biology, Scientific American Books, 1986)