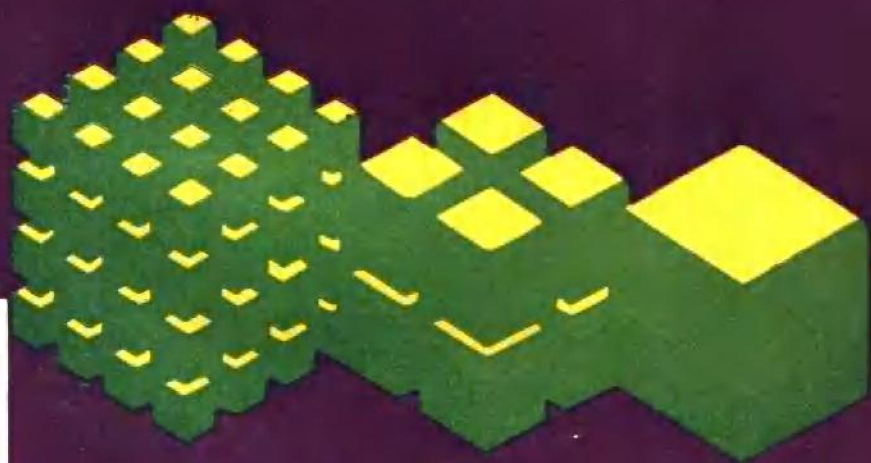


丁友昉 编
陈 宁

普通 微生物 遗传学



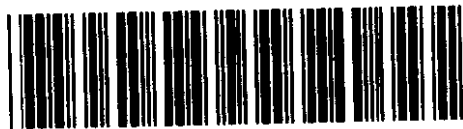
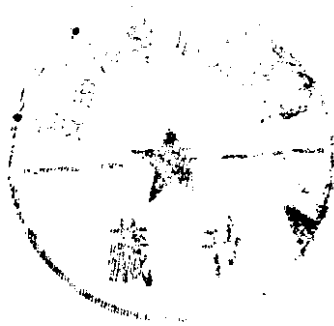
南开大学出版社

Q933
DVF

1/200/3

普通微生物遗传学

丁友昉 陈 宁 编



A0017767

南开大学出版社

〔津〕新登字(90)011号

内 容 介 绍

本书系统介绍微生物遗传学经典的基础知识,同时重点介绍了国内外最新分子遗传学发展的概貌和科研方法及实验手段。除按照不同微生物遗传学的特点分别叙述外,并重点介绍微生物育种和遗传工程。可作为综合性大学、轻工业和农林院校本科生及研究生教材,也可供有关的科研、生产部门的广大读者参考。

普通微生物遗传学

丁友昉 陈 宁 编

南开大学出版社出版

(天津八里台南开大学校内)

邮政编码300071 电话34.9318

新华书店天津发行所发行

河北省邮电印刷厂印刷

1990年6月第1版

1992年7月第1次印刷

开本: 850×1168 1/32 印张: 13.25 插页: 2

字数: 353千

印数: 2501-5500

ISBN7-310 00313-6/Q·10 定价: 6.95 元

前 言

微生物遗传学是在生产实践和科学实验的基础上发展起来的一门学科。随着分子遗传学的迅速发展及所取得的成就，微生物遗传学与生产紧密结合，其应用范围越来越广泛。我们在编写这本书时，既系统地介绍了微生物遗传学经典的基础知识，又重点介绍了国内外目前分子遗传学发展的概貌及新的科研方法和实验手段。

本书是在作者多年教学及科研的基础上，参考国内外最新出版的大学教科书及科技资料编写而成的。涉及面较宽，并有一定的深度。除按照不同微生物遗传学的特点分别叙述外，还重点介绍微生物育种和遗传工程。目的是使从事教学、科研和生产的同仁便于应用，还可作为综合性大学、轻工业和农林院校的大学本科生和研究生的教材。

由于我们的水平有限，书中难免有不妥之处，敬请读者批评指正。

作者

1990年

主要参考文献

- [1]王岳五、陈宁：微生物遗传学与实验技术，南开大学出版社，1989。
- [2]盛祖嘉：微生物遗传学，科学出版社，1981。
- [3]王尔中：分子遗传学，科学出版社，1982。
- [4]刘祖洞、江绍慧：遗传学，高等教育出版社，1979。
- [5]P.F.史密斯：遗传的结构与功能，上海科学出版社，1980。
- [6]吴鹤龄：分子遗传学简介，北京大学出版社，1983。
- [7]G.S.斯坦特：分子遗传学，科学出版社，1978。
- [8]J.B.G.克瓦平斯基：分子微生物学，科学出版社，1986。
- [9]J.D.沃森等：重组DNA简明教程，科学出版社，1987。
- [10]Knippers, R.: Molekulare Genetik, 3.Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1982.
- [11]Miller, J.H. et al: The Operon, Cold Spring Harbor Laboratory, 1978.
- [12]柳岛直彦等：酵母の解剖，講談社サイエンティフィク，1981。
- [13]秋山裕一：酵母の利用と開発，学会出版センター，1979。
- [14]王岳五、陈宁：科学通报，32(18)，1440，1987。
- [15]王岳五、陈宁等：生物工程学报，4(3)，230~234，1988。
- [16]张克旭、陈宁：微生物学报，31(2)，108~114，1991。
- [17]张蓓等：天津微生物，2，4~7，1989。
- [18]Okanishi, M. et al: J.Antibiotics, 23, 45, 1970.
- [19]Jacob.F. et al: Cold Spring Harbor Symp.Quantit. Biol., 26, 193, 1961.
- [20]Cabello, F. et al: Nature, 259, 285, 1976.

目 录

第一章	绪论	(1)
第二章	预备知识	(11)
第一节	微生物细胞和噬菌体粒子	(11)
第二节	微生物遗传的物质基础	(14)
第三节	细胞分裂和生活史	(30)
第四节	经典遗传学概论	(35)
第五节	突变与重组	(52)
第三章	微生物遗传学研究方法	(63)
第一节	噬菌体遗传的研究方法	(63)
第二节	细菌遗传的研究方法	(68)
第三节	真核微生物遗传的研究方法	(75)
第四节	核酸的研究方法	(82)
第五节	基因符号命名规则	(86)
第四章	噬菌体的遗传	(88)
第一节	烈性噬菌体	(89)
第二节	温和性噬菌体	(101)
第五章	大肠杆菌的遗传	(114)
第一节	接合作用	(114)
第二节	转导作用	(138)
第六章	枯草杆菌的遗传	(150)
第一节	转化作用	(150)
第二节	PBS1的转导	(168)
第七章	放线菌的遗传	(173)
第一节	杂交及致育因子	(173)

第二节	遗传分析方法	(176)
第八章	酵母菌的遗传	(192)
第一节	生活史	(192)
第二节	遗传分析方法	(194)
第三节	基因转换与体细胞重组	(203)
第四节	接合型基因的遗传分析	(207)
第五节	嗜杀现象及其遗传	(211)
第六节	细胞质遗传	(215)
第七节	多倍体	(223)
第九章	丝状子囊菌的遗传	(226)
第一节	生活史	(227)
第二节	粗糙链孢霉的遗传学分析	(230)
第三节	构巢曲霉的遗传学分析	(245)
第十章	担子菌的遗传	(257)
第一节	杂交系的遗传	(257)
第二节	Buller现象及其遗传学分析	(268)
第三节	担子菌基因图的绘制	(273)
第十一章	细胞质遗传	(278)
第一节	细胞质遗传的特点	(278)
第二节	细菌质粒	(281)
第三节	转座子	(301)
第十二章	微生物遗传的分子生物学	(312)
第一节	基因的本质	(312)
第二节	基因表达的调节	(336)
第三节	反馈抑制	(355)
第四节	突变的分子机制	(358)
第十三章	微生物育种	(370)
第一节	遗传标记与发酵产物积累	(371)
第二节	原生质体融合育种	(378)
第十四章	遗传工程	(392)
第一节	工具酶	(393)

第二节	寄主-载体系统	(399)
第三节	目的基因的制备与克隆化	(409)
第四节	基因工程育种介绍	(414)

第一章 绪 论

一、微生物遗传学研究的对象和任务

遗传学是研究生物遗传和变异的科学，微生物遗传学以微生物作为研究对象，是遗传学的分支科学，即研究微生物遗传和变异的科学。

微生物的种类很多，无论在外形形态、内部结构、代谢方式和能力以及对生活条件的要求上，都存在着差异。但是，每种微生物都有其独具的特征，其亲代与子代之间具有一定的相似性，也就是说，所产生的子代无论在外形、内部结构和生理特性上都与亲代是相似的。这种子代与亲代相似的现象通称为遗传。这里呈现出微生物种所具有的稳定性的一面。但是，微生物种不是绝对不变的，亲代与子代之间，子代个体之间，总是存在着某种程度的差异，这种现象通称为变异。从历史和发展的观点来看，稳定性是相对的，可变性是绝对的。假如说只有可变性而没有稳定性，那么世界上不但没有固定的微生物种类，而且变异的性状也不可能被固定下来，从而利用微生物生产出人们所需要的产品，则不可想像。反之，如果只有稳定性而没有可变性，那么世界上的微生物也就没有发展，提高生产的可能性也就不存在了，而且生物也就不能适应多变的外界条件而生存下来。所以说，微生物种的稳定性（遗传）和可变性（变异）是微生物种所具有的相互依存而又相互矛盾的两个方面，是生命运动中的一对矛盾，这对矛盾是微生物通过各种方式反映出来的，它们既对立又统一。

从根本上说，微生物遗传学就是研究微生物所特有的遗传与变

异这一对矛盾。当具体考察遗传和变异这一对矛盾时，便会涉及许多需要研究的问题，如为什么不同微生物具有不同的特征，或者说不同的微生物种是怎样形成的？微生物种在亲代与子代之间是如何传递遗传信息的？遗传和变异的根据和条件是什么？通过综合分析复杂的遗传、变异现象，以及深入研究微生物细胞内部结构和分子运动，便可以揭示遗传、变异现象的本质和规律性。微生物遗传学研究的根本任务就在于探讨如何控制微生物种的特性，使之朝着人类所需要的方向发展，以便更好地改造微生物的类型，造福人类，为社会主义现代化建设服务。

二、微生物遗传学的发展

在微生物学发展的初期，微生物的遗传与变异就已为许多人所注意。L. Pasteur 曾经观察到炭疽杆菌经高温培养以后，毒性大减而抗原性不变，这一变异现象被成功地应用到炭疽杆菌的疫苗制造上。R. Koch 通过对疾病和微生物的关系的研究，弄清不同病是由不同微生物引起的，微生物种的概念也从此得以初步建立。19世纪末在小麦锈病的研究中发现了生理族，从而增加了人们对自然界中微生物变异的认识。1907年人们在睡眠病虫中发现了微生物的抗药性突变。1928年，F. Griffith 发现了肺炎双球菌中的转化现象。另外，在30年代中，酵母菌、链孢霉和草履虫的遗传学研究已经开始，不过那时研究的对象仅限于能进行有性生殖的微生物，研究的课题多限于基因的分离、连锁重组等，而用微生物作为研究对象的优越性并没有被充分认识。

到了本世纪40年代，由于以下几个方面的工作，奠定了微生物遗传学的基础，使微生物遗传学发展成一门独立的学科。

1. 链孢霉中营养缺陷型的发现和基因原始功能的研究

遗传学家 G. W. Beadle 和生物化学家 E. L. Tatum 真正认识到微生物作为研究对象具有很大的优越性，于是用 X 射线和紫外线照射链孢霉的分生孢子，将照射过的分生孢子放到未经照射的原子囊

果上去受精，随机选取成熟的子囊孢子，在完全培养基和基本培养基平板上用逐个测定法测定其所需的氨基酸和维生素。如此一个地分离检测，到第299个子囊孢子时，终于发现了所预期的营养缺陷型——维生素B₆缺陷型，从而揭开了微生物遗传学研究的新的—页。该项工作的重要意义在于：①开辟了生化遗传学研究的广阔领域，为生物合成代谢途径的研究提供了有效的手段；②通过对基因作用机制的研究，提出了一个基因一个酶的假说，促进了分子遗传学的发展；③利用营养缺陷型探索代谢途径这一方法的原理，在遗传学研究的各个领域中得到广泛应用。营养缺陷型除了应用在基因原始功能的研究中以外，还广泛应用于基因结构、基因突变和基因调控等方面。此外，许多原理还被用于人类体细胞遗传学研究方面，从而推动了人类遗传学的发展；④在发现营养缺陷型的基础上，细菌的基因重组才得以发现。

2. 细菌接合和基因重组的发现

早在20年代已有人提出细菌是否存在基因重组的问题，并试图用实验加以证明。但因所检测的形态和糖发酵性状不很稳定，并且没有采用排除亲本而选择重组子方法，所以没有取得可信的结果。1946~1947年，J. Lederberg 和 E. L. Tatum 报道在大肠杆菌中采用营养缺陷型作为选择性标记，发现了细菌的基因重组现象。这一发现的重要意义在于：①说明了生物界遗传规律的普遍性；②使得大肠杆菌成为在遗传学中研究得最为详尽的生物，大肠杆菌及其噬菌体已成为分子遗传学研究的一个重要对象；③由于大肠杆菌基因重组的发现，导致大肠杆菌转导现象、真菌的准性生殖和放线菌的基因重组等现象的发现；④为微生物遗传学理论研究应用于生产实践开辟了新途径。

3. 细菌转化因子的化学鉴定

肺炎双球菌的转化现象早在1928年已为 F. Griffith 发现，可是直到1944年转化因子的化学本质才为 O. T. Avery 鉴定为脱氧核糖核酸（DNA）。这是说明遗传的物质基础是DNA的第一个明确

的实验根据，它的发现是DNA双螺旋模型的提出和分子遗传学发展的前奏。

4. 细菌抗药性突变的研究

细菌的抗药性是基因突变还是适应的结果，一直是长期争论不休的问题。1943年S.E. Luria和物理学家M. Delbrück证明了抗药性的出现可以在细菌接触药物以前发生，从而证明了抗药性是基因突变的结果。从此，人们认识到生物界遗传规律的普遍性，并深入开展了以大肠杆菌为材料的基因突变的系统研究和其它方面的研究。

5. 噬菌体遗传学的研究

噬菌体的遗传学早在30年代末就已由M. Delbrück等进行了系统研究，40年代中进入全盛时期。噬菌体结构简单，繁殖迅速，因此有利于研究遗传物质的本质。事实上噬菌体的遗传学研究为DNA是遗传物质提供了有力证据，为三联体遗传密码的发现提供了重要依据，对发展基因概念及基因调控理论作出了重要贡献。

此外，40年代初期抗菌素工业的兴起也给予微生物遗传学的研究以很大的推动力。这些因素合在一起促成了40年代中期微生物遗传学的大发展。

1953年，Watson和Crick首次提出了DNA分子的双螺旋模型，从而开辟了分子遗传学的新纪元。在这一阶段，人们认识到基因的化学本质是DNA。基因的特异性，基因的复制、突变、遗传重组都可以从DNA的化学结构上加以解释。微生物的性状多依赖于代谢，与代谢有关的酶的特异性取决于基因的特异性。细胞中存在着可以复制出与亲代DNA完全相同的DNA的复制机制。到60年代，Jacob和Monod提出了操纵子学说，从而使人们着眼于基因活性调节机制的遗传学研究。总之，微生物遗传学是在经典遗传学的基础上发展起来的，而在其基础上又发展成为分子遗传学。预计微生物遗传学将向如下三个方面发展。

第一，向更微细的方向发展

微生物遗传学中的许多现象目前可以在分子水平上加以解释，但尚存在许多不甚清楚的问题，其中最大的问题之一就是有关特异性的认识。例如，相同染色体乃至相同 DNA 在细胞内可以相互联会 (synapsis)，其机制是什么？要阐明上述问题，必须要有比现在分子水平还要微细的水平上的知识，以及开发与此有关的各种技术。微生物遗传学今后就要阐明这些特异性问题。

第二，向生物学的其它领域发展

微生物遗传学已经弄清楚了微生物遗传信息的表达方式，但这些理论尚不能原封不动地推广到高等生物中。此外，有关微生物的发生学、分化学的问题目前了解甚少。可以说微生物遗传学今后将向生物学的其它领域逐步扩展。

第三，向实用育种学方向发展

随着微生物遗传学的发展，人们可以定向地选育出目的突变株。今后，人们必将开辟通向真正的分子育种学 (molecular breeding) 之路，创造出地球上不存在的、符合人类需求的微生物来。

三、微生物遗传学的主要成就和研究方法

微生物遗传学的发展为遗传学基础理论的研究开辟了新的研究途径，阐明了一些根本问题，提出了一些新概念。其主要成就是：

1. 40年代提出的一个基因一个酶的假说在50年代中得到多方面的验证，使基因的原始功能是决定特定蛋白质的一级结构这一原理得以确立。

2. 通过噬菌体等的基因微细结构分析，阐明了基因是一个不容分割的功能单位，而并不是突变和重组单位，还揭示了基因重叠现象。

3. 阐明了基因突变的分子机制。

4. 提出了调控基因这一新概念。

为什么上述成就的取得主要是采用微生物作为研究材料的结果

呢？这主要是由微生物的特性决定的。微生物作为遗传学研究材料，具有以下优越性：

1. 世代时间短

细菌的世代时间一般为40~60分钟。也就是说，1个细胞在一昼夜中可以培养成为1600万个以上的细胞。因此，将微生物培养一天，便可在固体培养基中得知结果，无疑地缩短了实验的周期。

2. 可以进行纯培养

果蝇等在饲养过程中常易被其它生物污染，相反，微生物可以很容易地进行纯培养，不必担心污染问题。

3. 能在已知化学组成的培养基上进行培养

许多微生物可以在葡萄糖和无机盐组成的合成培养基上生长。其中也有必须补充某种营养素才能生长的。这样就可以很容易地检出生化突变株，有利于从生化角度来研究遗传现象。

4. 可以迅速获得多种个体

例如，使大肠杆菌的雄株与雌株杂交，在一支试管中可以产生100万个接合子，它们的遗传性状不尽相同。由于基因间的相互距离可以通过子代的遗传重组型的频率来加以判断，所以通过接合子便可进行精密的遗传学分析。另外，在一个培养皿中可以检出以 10^{-7} 频率发生的突变。例如，将 10^8 个大肠杆菌涂布于加入链霉素的培养基中，第二天如出现10个菌落，那么可以断定链霉素抗性细胞的出现率为 10^{-7} 。

5. 多数微生物是单倍体细胞

对于二倍体细胞来说，即使发生突变，也多为隐性突变，由于显性基因的影响而很难表现出来。相反，单倍体细胞就没有这种现象，突变可很容易地检出。不过，对于多核体微生物来说，须经几代细胞分裂后，突变性状才能得以检出。

6. 生物化学方面的研究较充分

在微生物中生物化学的研究已经取得很大成就，因此，可以很容易地将生化技术导入遗传学中，有助于遗传现象的分析。

7. 其它

微生物在液体培养基中生长均匀并积累代谢产物，环境因素对液体中的每一个细胞发生均一而直接的作用。微生物体制简单，便于研究，可以用作研究体制复杂的生物（如高等动植物）的简单模型。此外，微生物还便于保存，这对于必须用几百、几千个品系进行研究的课题来说也是一个有利的因素。

怎样研究微生物遗传学呢？微生物遗传学研究的重要手段之一是取得各种突变型。突变型一方面可以用作染色体的标记，另一方面可以用来剖析各种生命活动的遗传控制。为了后一目的，必须获得特定类型的突变型。在高等动植物中虽然也有筛选特定类型突变型的例子，但多数突变型是偶然出现而长期积累起来的。微生物遗传学研究则不同，一般工作常从筛选特定的突变型开始。例如筛选不能合成某一氨基酸的突变型；对于某一药物或噬菌体具有抗性的突变型；在较高温度中不能进行 DNA 复制的突变型；转化过程发生遗传性障碍的突变型；某一特定的酶发生缺陷的突变型；甚至导致某一种蛋白质的某一功能区发生变化的突变型等等。微生物遗传学迅速发展和便于取得所需要的突变型这一点有着密切的关系。

微生物遗传学研究中的另一重要手段是选择性培养方法的应用。特定类型的突变型的筛选之所以能够成功，主要就是利用选择性培养的结果。例如把大量的细菌接种在含有各种药物的培养基上，在培养基上能形成菌落的细菌便是发生了抗药性突变的细菌。这一原理可以应用于突变的研究、细菌接合的研究、转化和转导的研究、基因精细结构分析的研究及基因调控的研究等等。选择性培养方法的应用，使工作效率大大提高，也因此带来遗传学中一些新的概念。例如进行基因重组的分析一般根据杂交子代中亲本类型和重组类型的比数进行。两个基因的距离愈近则必须分析更多的子代个体才能发现重组类型，同一基因内部的两个突变位点的距离必然很近，因此在高等动植物中较难发现它们之间的重组。在微生物中常可以应用选择性培养方法而检出距离十分接近的两个突变位点之间

的重组。例如*E. coli* 噬菌体T₄的快速溶菌突变型r^{II}能感染寄主细菌*E. coli* B而形成噬斑，可是在*E. coli* K上不能形成噬菌斑。从*E. coli* B释放出的噬菌体感染*E. coli* K，如有噬菌斑出现说明两个r^{II}突变型不同，能感染寄主K的噬菌体是染色体交换的结果。从出现噬斑的数目可以知道其距离，所以用*E. coli* K作为选择性培养条件，便能检出两个十分接近的r^{II}突变位点之间发生重组而出现的野生型噬菌体。这样就可以在较短的时间内测定大量的这类突变型，不但提高了工作效率，而且从根本上改变了对于基因的认识。

各种微生物除了具有某些共性以外，还有一些个别的特性。某些特性可以被用来探讨特殊的问题。例如子囊菌中一次减数分裂所产生的四分子包被在一个子囊里面，这一特性有利于基因转换现象的研究。*E. coli* 的性因子可以携带染色体基因，在细菌接合过程中转移这一特性可被用来有效地测定基因的位置关系和顺反位置效应等等。

此外微生物遗传学研究中必然应用微生物学研究中的各种手段和生物化学的各种研究手段。

四、微生物遗传学和其它学科的关系

对于微生物学来讲，微生物遗传学不但促进了人们对微生物的遗传规律的认识，而且促进了对微生物的代谢、生长发育以及免疫学、致病性等方面的认识。例如，通过营养缺陷型和糖发酵缺陷型的研究，阐明了一些微生物的氨基酸、核苷酸等物质的合成及一些糖的吸收机制等；通过不能形成成熟的芽孢的突变型进行细菌芽孢形成机制的研究；应用遗传学方法还对沙门氏菌中鞭毛抗原的转变进行了研究，对于一些致病菌的致病因素进行分析等等。

微生物遗传学的研究利用生物化学知识和方法，反过来也对于生物化学做出许多贡献。不仅是氨基酸和核苷酸的合成，就是蛋白质和核酸的生物合成的研究也多依赖于遗传学方法，多采用微生物

作为材料。

分子遗传学是在微生物遗传学基础上发展起来的一个遗传学的分支科学。遗传密码、转录、翻译等都在微生物中发现和证实。虽然高等动植物中的分子遗传学研究现在日益受到重视，但是以微生物为材料的分子遗传学研究还是占有重要的地位。

微生物遗传学对于人类遗传学的发展有很大的影响。由于不能用人作为试验材料，而且人的生活周期又很长，所以人类遗传学的研究进展缓慢。自从50年代中人的子宫颈癌上皮样细胞体外培养成功以后，这一状况便逐渐发生变化。近年来人类遗传学的飞速发展可以说主要是由于高等生物遗传学研究中采用了微生物遗传学研究方法的结果。高等动植物遗传学研究的微生物化的主要环节是：①离体培养细胞的集落生长；②合成培养基的应用；③突变型细胞株的建立；④细胞融合。

微生物遗传学还促进了生产的发展。在40年代中微生物育种工作仅限于诱变处理，而诱变处理对抗生素效价的提高就十分显著。如1943年从自然界分离得到的青霉素生产菌，当时效价每毫升只有20单位，经过一系列诱变，到1955年已达到8000单位，目前每毫升早已超过一万单位。链霉素从1945年的每毫升50单位，同样经系列诱变，到1955年已达到5000单位，目前也远超过一万单位。随着微生物遗传学的发展，杂交、转导和转化等方法也应用到育种工作中去。尽管这些方法在育种上还未能普遍使用，但是近年来已有人在氨基酸生产菌中利用转导将抗反馈抑制突变型的基因导入到抗阻遏突变型菌株内，结果得到了产量提高十余倍的双重突变型。从这一成功事实来看，转化与转导等遗传学方法应用到育种上只不过是时间问题。细菌的氨基酸合成代谢中的基因调控机制被阐明以后，通过消除阻遏作用而提高最终产物这一原理便被应用于氨基酸的生产而取得了显著的生产效果。

微生物遗传学研究对于医疗卫生事业也作出了重要的贡献，例如对于干扰素的研究，原用人血中的白细胞作为原料制成干扰素，