

崔 涛 编著

细菌遗传学



中国科学技术大学出版社

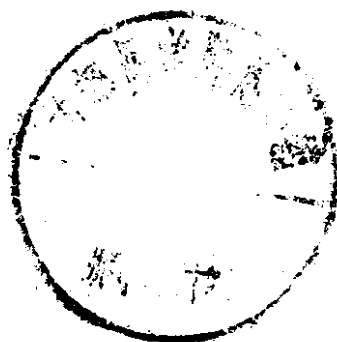
Q939

C7

V7132/02

细菌遗传学

崔涛 编著



A0017729

中国科学技术大学出版社

1991 • 合肥

内 容 简 介

本书系统地阐明了细菌遗传学的基本原理和方法。全书共分十一章,内容包括细菌遗传学概念、基因突变、抑制基因、基因转移的三种基本形式、遗传重组、DNA损伤修复、细菌中可转座的遗传因子、质粒、细菌的基因表达调控,书后附有参考文献、附录(给出了已测定的大肠杆菌K-12菌株基因标记表等)、索引。

全书力求反映细菌遗传学的研究历史和现状。因此,它不仅可作为大专院校生物系本科生和研究生专业课程的教材,以及其它遗传学课程的补充读物,而且还可作为理解分子生物学原理和实验技术的入门书。

细 菌 遗 传 学

崔 涛 编著

中国科学技术大学出版社出版

(安徽省合肥市金寨路96号, 邮政编码: 230026)

合肥永青印刷厂印刷

安徽省新华书店发行

*

开本: 850×1168/32 印张: 13.25 字数: 343千

1991年5月第1版 1991年5月第1次印刷

印数: 1—3000册

ISBN7-312-00236-6/Q·4 定价: 4.15元

前 言

遗传学是研究生物遗传与变异规律的学科，是生物科学的核心问题。遗传学研究的成就推动着生物学理论和实践的进步。

从孟德尔(G. J. Mendal)1865年发表的《植物杂交实验》论文算起到现在真正从分子水平上来解释生物的遗传、变异、进化等生命现象，遗传学经历了一百多年的发展过程。随着遗传学研究内容日新月异，新的分支学科不断出现，各种教科书、著作层出不穷，一版再版。如：普通遗传学、植物遗传学、微生物遗传学、分子遗传学、现代遗传学等等。在这些著作中，或是介绍多细胞的、群体的、人类的遗传体制和规律；或是以一些微生物（象细菌、真菌、藻类、病毒等）为材料论述它们的遗传特征，以及从分子水平上来阐明它们遗传物质的结构与功能和原核、真核生物基因表达调控问题。

由于各门学科向遗传学渗透，产生了分子生物学。而分子生物学的成果和生物技术革命的兴起又引起众多学科的普遍关注和兴趣，特别是生物科学研究中，几乎所有领域的科学工作者，包括细胞生物学、发育生物学、神经生物学、进化生物学等，都在运用分子生物学的技术和方法（主要是重组DNA技术）来为自己服务。那么，除了对在校生物系学生需要扩增和加强现代遗传学基础知识和研究进展的内容介绍外，对正在和准备应用分子生物学技术作为研究手段的科学工作者也有一个不断深入学习的必要性。例如：不知道大肠杆菌内有一种尿嘧啶-N-糖苷酶（Uracil N-glycosylase），就不会理解为什么在体外用亚硫酸钠诱变得到一个突变基因，只有转化至 ung^{-} 寄主菌，才能保持突变的稳定。

和许多高等学校一样，中国科学技术大学生物系近年来为本科生增设了《微生物遗传学》课程，但由于学时和其他因素的限制，不可能全面系统地介绍微生物遗传学所有内容。如果通过一个典型的体系就能了解微生物遗传学基本特点，反映分子遗传学及分子生物学的最新进展，这个系统当然就是细菌。细菌系统是分子生物学中最普遍的研究和运用对象，通过对细菌中的基因突变、基因转移、DNA的损伤修复、遗传重组、转座、基因表达以及产物的后加工的了解，有助于人们解释整个生命现象和规律。特别是在重组DNA技术中，细菌更是占有重要位置。本书正是基于这样的思想写成的，在自然界中，细菌的种类多得不可胜数，较为全面、透彻了解的系统没有几个。本书主要集中在大肠杆菌(*Escherichia coli*)以及肺炎球菌(*Pneumococcus*)、沙门氏菌(*Salmonella*)及枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)等少数几个菌种上讲述细菌遗传学，这肯定存在局限性。因此读者如需要更广泛的知识，除了参阅在本书最后列出的文献和著作外，我向大家推荐英国 John Inns 研究所 D.A. Hopwood 和 K.E. Chater 主编的《Genetics of Bacterial Diversity》(Academic Press 1989)一书。该书覆盖了除大肠杆菌以外，几乎被大部分教科书和专著所遗漏的细菌遗传学问题。

由于该课程是在学生上完生物化学和普通遗传学课程之后与《分子遗传学》平行开设的，因此在编排上尽量注意到避免重复。本书共分11章，各章、节篇幅份量不同，取决于细菌遗传学各分支研究状况。第一章介绍和复习有关遗传学必要的基本知识和基本概念。第二章的基因突变和第三章的抑制基因本可以作为同章叙述，又把第四、五、六章基因转移的三种形式分开讨论，这些完全是基于讲课时方便。第七、八、九章论述基因重组、DNA损伤修复和转座子，是遗传学中的几个基本问题。第十章专门研究质粒性质、结构与功能，是由于质粒的广泛被应用。第十一章简单讨论基因表达调控，这也是细菌遗传学对生物学的一个重要贡献。

作者无论在教学还是在科研方面均是一个新人，能有机会编写这本《细菌遗传学》，首先应归功于中国科学技术大学良好学术环境和对青年人的培养，归功于我的老师、同事、学生和家人的鼓励和帮助。作者编写此书所采用的资料、图表全部取材于前辈及同行们的研究成果和著作。他们中大部分人都为此付出了毕生的精力，在此表示深深的敬意和感谢。在编写此书时，承蒙复旦大学微生物系陈永青副教授阅改了写作提纲，章朝晖同志帮助打印和抄写了全部底稿。

限于作者的教学实践、科研经历、业务水平，书中缺点错误之处，请读者批评指正。

崔 涛

1989年6月于中国科学技术大学

目 次

前言.....	(I)
第一章 基本知识和概念	
第一节 细菌.....	(1)
一、细菌的一般性质和结构特点.....	(1)
二、大肠杆菌.....	(7)
三、枯草杆菌.....	(8)
四、研究细菌的实验方法.....	(10)
第二节 细菌噬菌体.....	(13)
一、噬菌体的一般性质和结构特点.....	(13)
二、噬菌体 λ	(15)
三、噬菌体 Mu.....	(17)
四、研究噬菌体的实验方法.....	(18)
第三节 证明DNA是遗传物质的二个经典实验.....	(21)
一、肺炎球菌转化因子.....	(21)
二、噬菌体感染.....	(24)
第四节 DNA结构.....	(25)
第五节 DNA的复制、转录和蛋白质合成.....	(27)
一、半保留复制.....	(27)
二、环状DNA分子双向复制.....	(30)
三、环状DNA分子滚环复制.....	(31)
四、DNA的转录和蛋白质合成.....	(32)
第二章 基因突变	
第一节 基因符号和命名规则.....	(36)
第二节 突变的自发性.....	(39)

一、波动试验.....	(39)
二、涂布试验.....	(41)
三、影印培养法.....	(43)
第三节 基因突变的类型.....	(45)
一、营养缺陷型.....	(46)
二、糖发酵突变型.....	(48)
三、温度敏感突变型.....	(49)
四、碱基置换和移码突变.....	(50)
五、突变率.....	(52)
第四节 突变的分子基础.....	(53)
一、诱变剂的作用.....	(54)
二、自发突变的机制.....	(61)
三、错配修复中的 DNA 甲基化作用.....	(65)
四、突变的热点.....	(66)
五、乳糖操纵子系统内的各种基因突变.....	(68)
六、突变的回复.....	(71)
第五节 突变型筛选.....	(75)
一、表型延迟现象.....	(75)
二、突变型的浓缩.....	(76)
三、突变型的分离.....	(79)
四、突变型的鉴定.....	(79)
第六节 体外诱变的策略和应用.....	(81)
一、缺失突变.....	(82)
二、插入突变.....	(84)
三、位点定向诱变.....	(85)
四、盒式突变.....	(88)
第三章 抑制基因.....	
第一节 基因内抑制.....	(91)
一、置换抑制.....	(91)

二、移码抑制.....	(92)
第二节 基因间抑制.....	(94)
一、影响tRNA功能的突变.....	(94)
二、影响核糖体功能的突变.....	(100)
第三节 影响抑制基因效率的其它因素.....	(102)
一、tRNA修饰碱基的作用.....	(102)
二、突变位点的前后顺序对抑制效率的影响.....	(103)
三、抑制基因作为遗传学研究中的一种手段.....	(108)
第四章 基因转移——I. 接合	
第一节 细胞接触的遗传物质转移.....	(109)
一、大肠杆菌杂交实验.....	(109)
二、接合型.....	(112)
三、反选择、选择性和非选择性标记.....	(114)
第二节 F因子及其与细菌染色体的相互作用.....	(116)
一、F因子的结构和功能.....	(116)
二、F因子的整合——Hfr 菌形成.....	(122)
三、中断杂交法绘图.....	(123)
四、F因子的切除——F' 菌和部分二倍体.....	(129)
五、F ⁺ , F', Hfr菌比较.....	(132)
第五章 基因转移——II. 转化	
第一节 由DNA分子直接进行遗传物质转移.....	(133)
一、转化因子.....	(133)
二、转化的效率.....	(135)
第二节 转化因子的摄取和整合.....	(138)
一、感受态建立.....	(138)
二、双链DNA的结合摄取.....	(141)
三、供体DNA的整合.....	(143)
第三节 用转化绘制遗传图谱.....	(146)
第六章 基因转移——III. 转导	

第一节 普遍性转导	(153)
一、转导现象的发现	(153)
二、转导噬菌体的形成	(154)
三、流产转导	(157)
四、完全转导子	(159)
第二节 局限性转导	(160)
一、转导噬菌体的形成	(161)
二、高频转导现象	(166)
第三节 转导的应用	(166)
一、互补分析	(166)
二、共转导	(167)
三、三点杂交法	(168)
第七章 遗传重组	
第一节 位点特异性重组	(172)
一、噬菌体 λ 的整合和切除	(173)
二、参加 λ 位点特异性重组的几个蛋白质	(176)
三、噬菌体 P1 的位点特异性重组	(179)
四、噬菌体 Mu 中倒向顺序间的位点特异性重组 ..	(185)
第二节 同源重组	(186)
一、断裂和重联	(187)
二、大肠杆菌重组途径	(192)
三、Holliday 模型与 Chi 结构	(195)
四、RecA 蛋白及其功能	(198)
五、Chi 位点	(202)
六、RecBC 酶	(205)
第八章 DNA 的损伤修复	
第一节 光修复	(209)
一、电离和紫外线辐射	(209)
二、光复活作用	(212)

第二节 暗修复	(214)
一、切除修复	(216)
二、重组修复	(220)
三、SOS修复	(222)
第九章 细菌中可转座的遗传因子	
第一节 插入顺序	(225)
一、转座因子的发现	(225)
二、结构特点和插入机制	(228)
三、插入顺序的用途和遗传学效应	(232)
第二节 细菌转座子	(234)
一、转座子类型和遗传学效应	(235)
二、TnA 的结构组成及转座行为	(237)
三、转座模型	(240)
四、转座子在分子生物学中的应用	(243)
第十章 细菌质粒	
第一节 质粒的结构特点和性质	(246)
一、几个典型的质粒	(246)
二、质粒的检测	(250)
三、质粒的分类和命名	(255)
四、质粒基因作图	(259)
第二节 质粒的复制和接合	(262)
一、质粒的复制	(262)
二、细胞分裂中的质粒分配	(268)
三、质粒的接合	(268)
第三节 重组DNA技术中几个常用质粒	(270)
一、pBR322	(271)
二、噬菌体M13及其衍生物	(273)
三、pUC	(276)
四、噬菌体 λ 及其衍生物	(276)

第十一章 细菌的基因表达调控

第一节 核酸-蛋白质相互作用	(281)
一、生化和遗传学分析	(282)
二、晶体学研究	(286)
第二节 启动子与转录起始	(291)
一、启动子	(291)
二、负控制和正控制	(293)
第三节 转录终止及其控制机制	(297)
一、终止子	(297)
二、作为调控机制的衰弱作用	(302)
三、极性效应	(305)
第四节 噬菌体 λ 的转录调控	(306)
一、噬菌体 λ 基因座位	(306)
二、 λ 基因组控制区	(310)
附录一 本书中所使用的略语和符号	(314)
附录二 遗传密码子表	(317)
附录三 <i>E. coli</i> K-12的基因标记表	(318)
参考文献	(402)
索引	(405)

第一章 基本知识和概念

在细菌遗传学中许多基本概念和术语是具有特定含义的，尽管本章要叙述的大部分基本知识在微生物学、生物化学等一些基础课程中提到过，但系统地复习一下这些概念并给出明确定义，对于理解细菌遗传学的内容是十分必要的。

第一节 细 菌

一、细菌的一般性质和结构特点

在分类学上，将细菌(Bacteria)归属于原核生物界(Procar-yotae)，是微生物的一大群类，细菌在自然界分布最广，数量极大，与人类生产和生活的关系也十分密切，因此，一直是微生物学的主要研究对象。

1. 细菌的形态与大小

细菌是单细胞生物，从其单个有机体形态上分，有三种形式，椭圆形或球形称球菌(Coccus)；圆柱形或杆形称杆菌(Bacillus)；弧形或螺旋形称螺旋菌(Spirillum)。

细菌的大小可采用测微尺在显微镜下准确地测量出，也可通过投影法或照相制成图片，再按放大倍数测算。最小的细菌只有0.2微米(Micrometer，缩写 μm ， $1\mu\text{m} = 10^{-3}\text{mm}$)，大的可长达 $80\mu\text{m}$ ，通常用于实验室研究的细菌在0.5到 $5.0\mu\text{m}$ 之间。

2. 革兰氏染色

细菌的科甚至属的鉴定一般的根据是细菌在显微镜下的形态，对革兰氏染色的反应、对氧的需要等。1884年丹麦医生革兰(C. Gram)用此方法在组织切片中使细菌着色。其特点是：先

用结晶紫染液染色,用碘液将紫色固定于细胞。然后用酒精脱色,最后用沙黄或番红复染,处理后的细菌细胞在显微镜下呈红色者为革兰氏阴性,呈深紫色的为革兰氏阳性。革兰氏阴性与阳性菌细胞壁的化学组成和结构有很大差别。

3. 细菌的构造

细菌具有典型的原核细胞的遗传结构,没有核膜,没有核仁,没有(或极少有)核蛋白。共有的基本结构是细胞壁、细胞膜、细胞核和核糖体。在部分细菌细胞中还有些特殊结构,如鞭毛、伞毛、荚膜、芽孢和气泡等(见图1.1)。

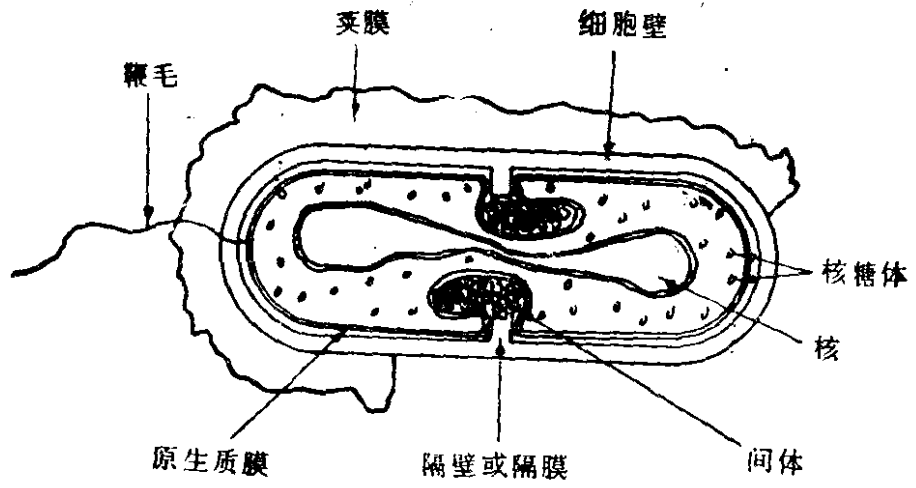
鞭毛(flagellum):鞭毛是一种细胞外的极细的毛发状细胞附属物,鞭毛位于细胞一端称为端生鞭毛;位于整个表面称周生鞭毛。鞭毛是由一种称为鞭毛蛋白(flagellin)的弹性蛋白质组成,其功能是负责细菌运动,即鞭毛的运动引起菌体的运动。

伞毛(pilus):许多革兰氏阴性菌及少数革兰氏阳性菌,在电镜下可以见到一些比鞭毛更细、更短、数量更多的细丝,称为伞毛。它们也是由蛋白质组成,不同类型伞毛有不同功能,作为细菌接合时遗传物质的通道称性伞毛(sex pilus, F-pilus),有的是细菌病毒吸附的位点,有的可附着到哺乳动物细胞或其它物体上。

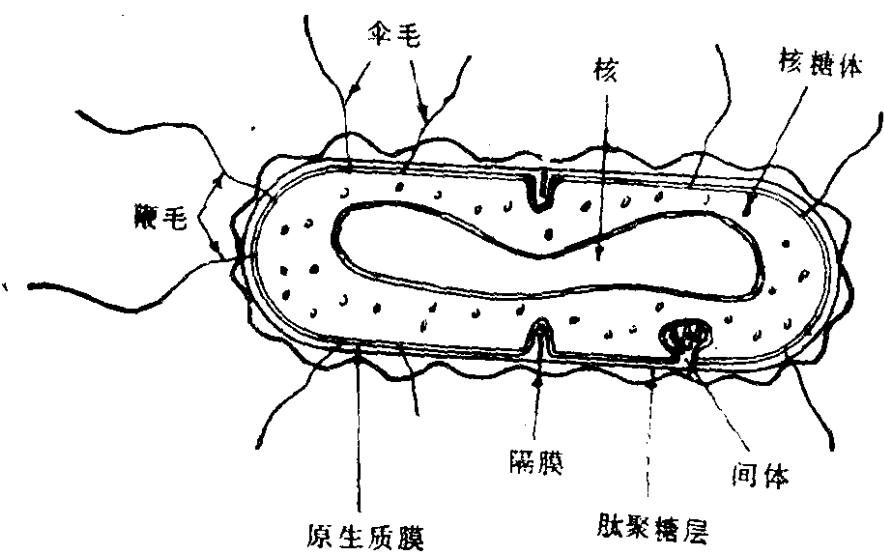
荚膜(capsule):荚膜是位于细菌细胞壁的外侧粘性物质层,必须经过人工处理才能看到。荚膜的化学组成因菌种而异,主要是由葡萄糖和葡萄糖醛酸组成的聚合物,有的也含有多肽、蛋白质、脂。荚膜可以保护细胞免受干燥的影响,它是细胞外碳源和能源贮藏场所,同时能增强某些病原菌的致病能力,使之抵御宿主吞噬细胞的吞噬。

细胞壁(cell wall):细胞壁是位于胞外物质如荚膜或粘液层下边,内侧紧贴细胞膜的一层较为坚韧、略具弹性的结构。实验中采用剧烈的方法才能将细菌细胞壁打破,如果从一个营养细胞去掉细胞壁而得到的细胞余留部分不被破坏的结构,叫做原生质体(protoplast)。原生质体不具有坚硬的外层细胞壁而呈球状。

革兰氏阴性菌细胞壁在化学组成上比革兰氏阳性菌复杂一些，它的被膜(envelope)特殊结构使这类细胞增加一种“屏障”(barrier)功能。革兰氏阴性和革兰氏阳性菌都具有一个共同的成份



(A)



(B)

图 1.1 细胞的结构^[8]某些结构如荚膜、鞭毛、孢子和伞毛等不是所有的细胞都具有的。

(A)革兰氏阳性细菌
(B)革兰氏阴性细菌

为肽聚糖(peptidoglycan)。肽聚糖是由乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine, NAG)、乙酰胞壁酸(N-acetyl-muramic acid, AMA)以及由四、五个氨基酸短肽聚合而成的多层网状结构的大分子结构,如图1.2所示。短肽中的氨基酸通常有:L-丙氨酸、D-

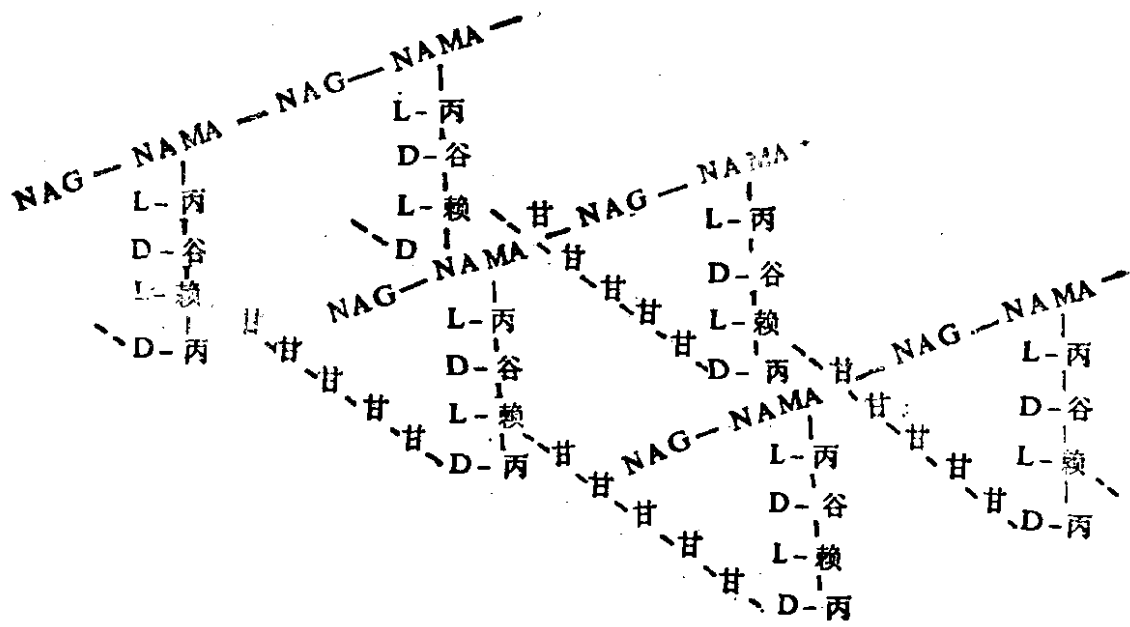


图 1.2 金黄色葡萄球菌细胞壁肽聚糖结构

谷氨酸、L-二氨基酸(L-赖氨酸或二氨基庚二酸等)和D-丙氨酸。这些短肽,通过 D-氨酰羧基连在部分或全部乙酰胞壁酸的残基上,细胞中转肽酶与五肽侧链末端D-丙氨酰-D-丙氨酸形成酶-底物复合物而完成五甘氨酸桥,使得肽聚糖亚单位交叉连接成重复结构。不同种类细菌细胞壁中肽聚糖结构与组成不完全相同,肽桥形式也不一样(见表1.1)。

细胞膜 (cell membrane): 细胞膜又称原生质膜 (plasma membrane),是外侧紧贴于细胞壁而内侧包围细胞质的一层柔软而富有弹性的半透性薄膜。这种半透性、选择性的膜控制着营养物质和废物进入和排出细胞,细胞质膜还是一个重要的代谢活动中心。质膜上包含一些酶类,如细胞色素,合成复杂体液和细胞

表 1.1 在革兰氏阳性细菌细胞壁的肽聚糖中的肽桥^[3]

细 菌	肽 桥
溶壁微球菌 (<i>M. lysodeikticus</i>)	聚合肽亚单位
藤黄八叠球菌 (<i>S. lutea</i>)	聚合肽亚单位
玫瑰色微球菌 (<i>M. roseus</i>)	(L-丙-L-丙-L-丙-L-苏)-L-赖
耐辐射微球菌 (<i>M. radiodurans</i>)	(甘-甘)-L-鸟
金黄色葡萄球菌 (<i>Staph. aureus</i>)	(甘-甘-甘-甘-甘)-L-赖
酿脓链球菌 (<i>Strep. pyogenes</i>)	(L-丙-L-丙)-L-赖
粪链球菌 (<i>Strep. faecalis</i>)	(L-丙-L-丙-L-丙)-L-赖
乳酪乳酸杆菌 (<i>Lact. casei</i>)	(D-异-门冬氨酸)-L-赖
肠膜状明串珠菌 (<i>L. mesenteroides</i>)	(L-丙-L-丝)-L-赖

壁成份的酶，电子传递和氧化磷酸化的酶，从革兰氏阴性菌细胞壁和外膜结构的复杂性，导致发现在外膜和质膜之间存在一个周质层 (periplasmic space)。在周质层中有许多可溶性的受体蛋白质和酶，如结合亮氨酸蛋白质、结合半乳糖蛋白质、碱性磷酸脂酶、核糖核酸酶I和5'-核苷酸酶等等。

间体 (mesosome)：间体是细胞膜折叠进去的部分，是细菌细胞质中主要的、典型的单位膜结构，它与细胞膜连接。无论是革兰氏阳性菌或阴性菌都有间体，但在革兰氏阳性菌中更显著。核物质常连在间体或细胞膜上。

以上细菌细胞表面结构的功能总结于表1.2。

细菌染色体 (bacterial chromosome)：细菌的核位于细胞质内，没有核膜，没有核仁，结构非常简单。为了与高等生物细胞核 (nucleus) 区分，称细菌这种原始形态的核叫类核 (nucleoid)。由于细菌细胞的DNA集中在这个区域里，而且细菌基因的排列与DNA分子的结构有相对应的关系，习惯上又称之为细菌染色体。细菌的核是由单个环状DNA分子组成。正常情况下一个菌体细胞内只有一个核，在细菌处于生长繁殖状态时，由于