

第七章 细菌和病毒的遗传

第一节 细菌和病毒遗传研究的意义

第二节 细菌的遗传重组

第三节 噬菌体与转导

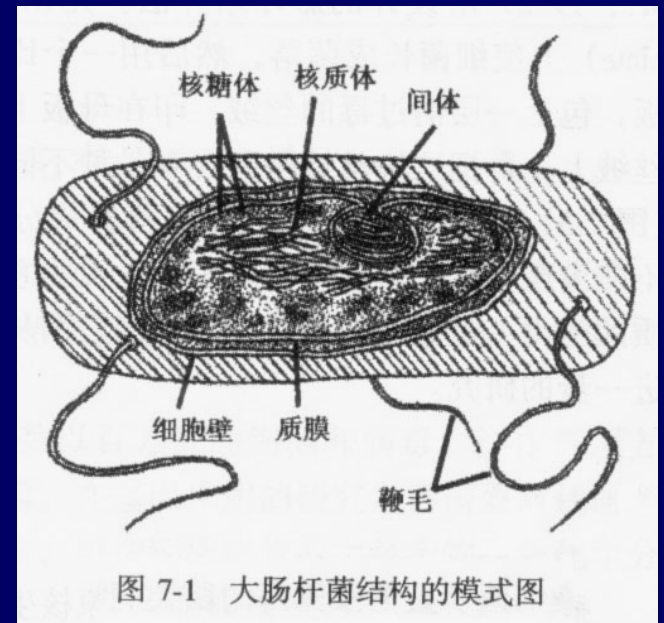


图 7-1 大肠杆菌结构的模式图

第一节 细菌和病毒遗传研究的意义

*一、细菌的生物学特征

*二、病毒的生物学特征

三、细菌和病毒在遗传研究中的优越性

四、细菌和病毒的拟有性过程

五、细菌遗传的实验研究方法

三、细菌和病毒在遗传研究中的优越性

❖作为遗传研究材料具有独特优势，了解微生物遗传研究有助于理解多年来分子生物学、分子遗传学理论发展。

- 世代周期短，繁殖世代所需时间短；
- 易于操作管理和进行化学分析(纯培养与代谢产物累积)；
- 便于研究基因的突变(表现与选择)；
- 便于研究基因的作用(突变型生长条件与基因作用)；
- 便于研究基因的重组(重组群体大、选择方法简便有效)；
- 遗传物质比较简单，可作为研究高等生物的简单模型；
 - ◆在研究基因结构、功能与表达调控时更为简便。

❖同时：

- 微生物的应用领域日益扩大、成就突出(微生物工程)；
- 在遗传工程(包括动植物)中，作为重要研究材料、工具，也具有决定性作用。

四、细菌和病毒的拟有性过程

- ❖ 真核生物基因分离、自由组合及连锁交换均通过有性过程(减数分裂——受精)实现。细菌和病毒均属于原核生物不存在严格意义上的有性过程。
- ❖ 但细菌细胞内除了染色体外还有一些寄生性复制因子(如噬菌体和质粒, 也被称为核外或染色体外因子), 它们可以在细胞间传递, 并且形成细菌染色体间以及细菌染色体与核外遗传因子间的重组体。
 - 这种重组体结构类似于真核生物减数分裂过程中形成的重组体结构。
- ❖ 拟有性过程: 引起细菌、病毒间遗传物质转移与重组的过程。
 - 拟有性过程的存在是细菌、病毒在遗传学研究, 特别是作为真核生物的模式研究遗传重组和基因结构的重要前提。

五、细菌遗传的实验研究方法

*(一) 细胞计数(培养物细胞浓度)

*(二) 建立纯系的方法

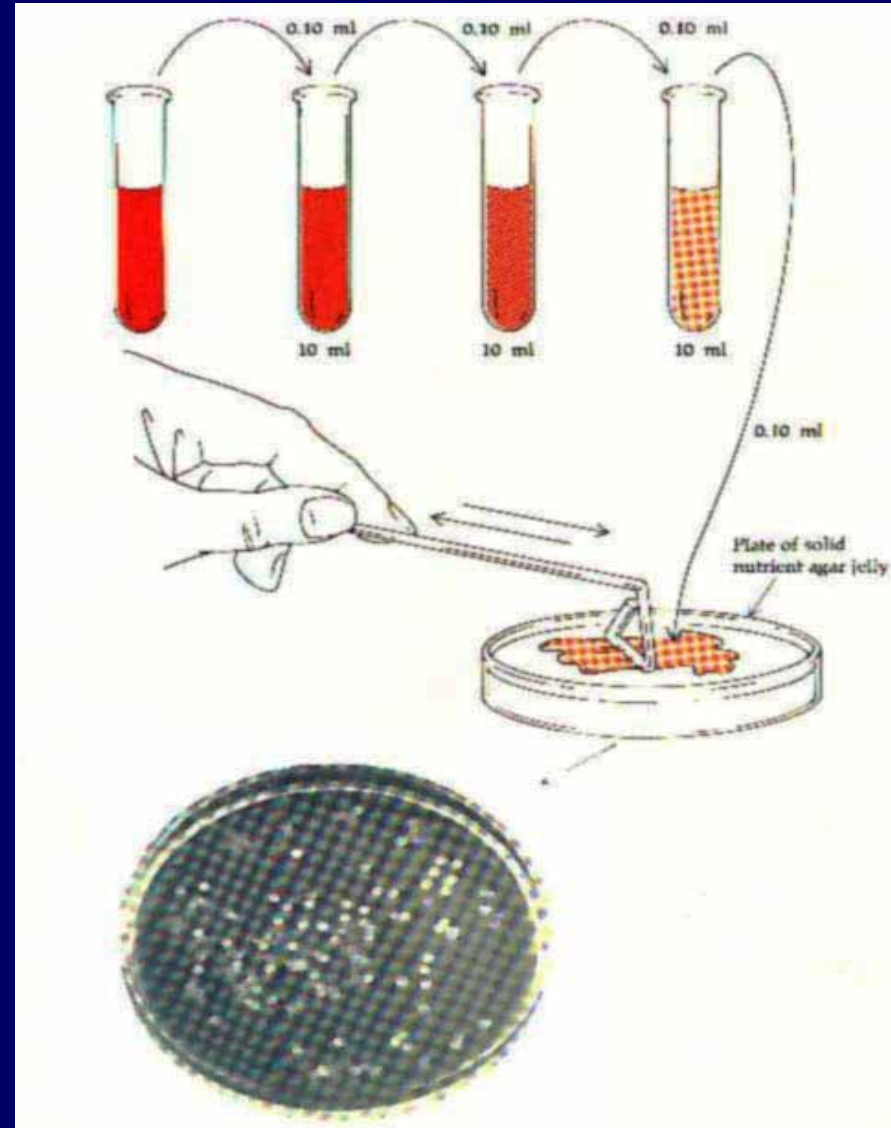
(三) 选择培养法鉴定突变型与重组型

(四) 突变型与重组型的批量筛选方法

* (一) 细胞计数(培养物细胞浓度)

❖ 培养物中微生物计数方法是微生物学的基本实验技术，其基本思路是：

- 对原培养物进行连续稀释；
- 进行平板涂抹培养；
- 由于每个细胞形成一个菌落，计数菌落数；
- 根据稀释倍数计算原培养物中的细胞浓度。



*(二) 建立纯系的方法——纯培养

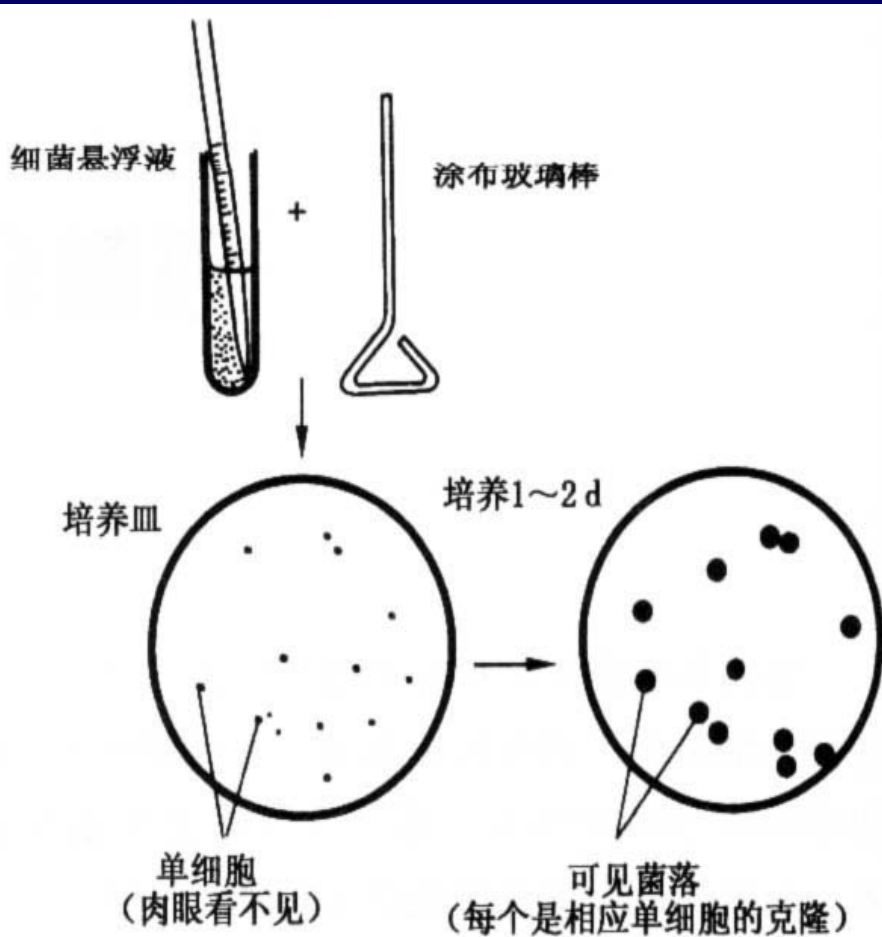


图 7-2 细菌的平板培养

- ❖ 挑取由单个细胞繁殖而来的菌落进行培养就可以获得由一个细胞繁殖而来的纯系。
- ❖ 通常采用平板表面涂布法或划线法可以获得单菌落。这种方法获得的纯系，称为“菌种纯”。
- ❖ 有时采用显微操纵器进行菌丝尖端切割等方法从单个细胞直接培养建立纯系。采用这种方法获得的纯系称为“菌株纯”。

(三) 选择培养法鉴定突变型与重组型

- ❖ 许多细菌的突变都与培养基营养成分及培养条件有关。
- ❖ 营养缺陷型的筛选、鉴定：
 - 选择培养法是根据菌株在基本培养基和营养培养基上的生长表现将菌株分为原养型(也称为原生营养型)与营养缺陷型(在基本培养基上不能正常生长,只能在相应的营养培养基上生长)。
 - 营养突变型的筛选、鉴定方法与红色面包霉生化突变型的鉴定方法基本一致。
- ❖ 其它突变类型的筛选、鉴定：
 - 对于其它的突变类型(如温度敏感型),也可以通过培养条件的选择培养来筛选与鉴定。

(四) 突变型与重组型的批量筛选方法

❖选择培养法一次可鉴定、筛选一种突变型，但要检测分离含有多种突变型的混和菌株，仅采用选择培养法要进行多次试验才能够达到目的、效率太低。

❖为高效检测、分离混和群体中不同突变型，黎德伯格夫妇设计了影印培养法。

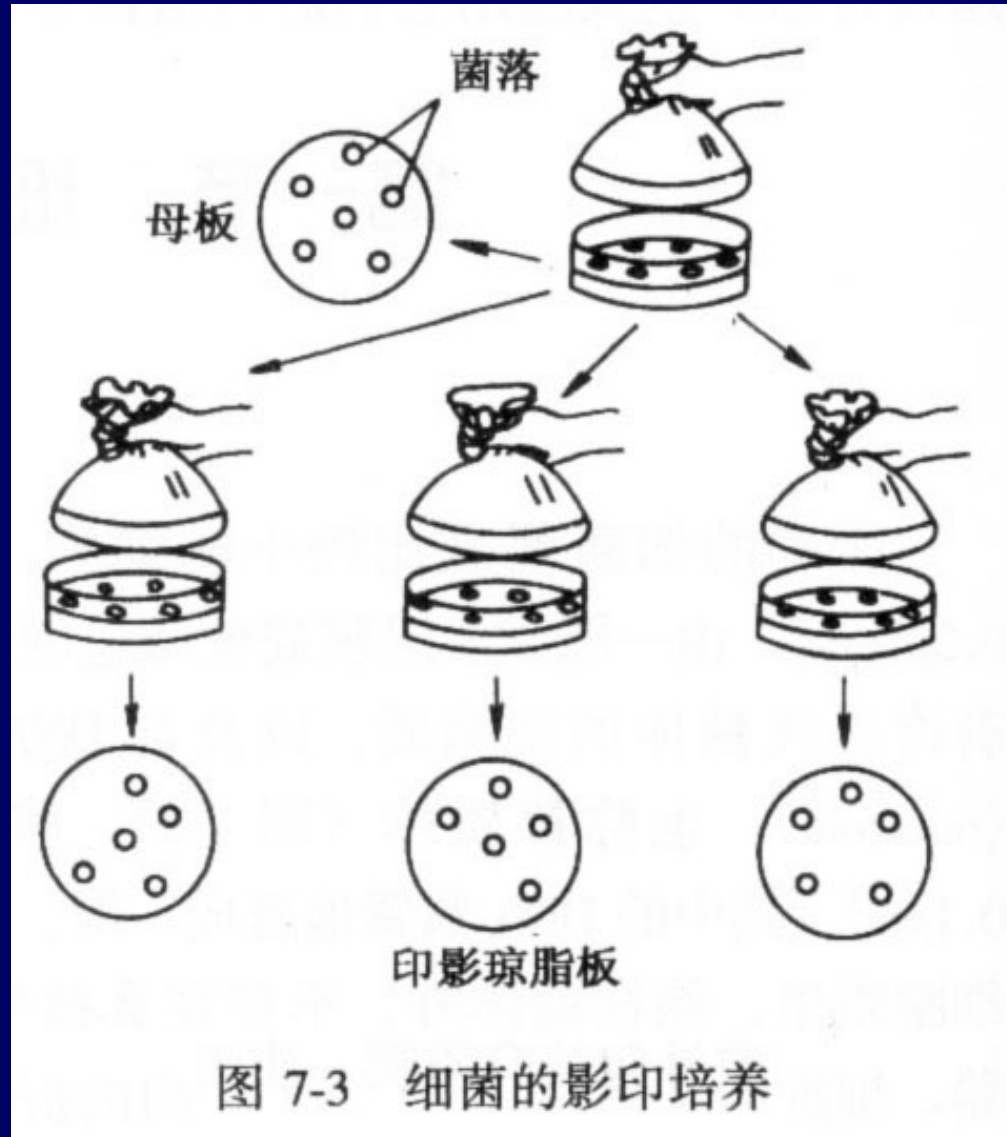
➢该方法原理与选择培养法一致，但是采用影印法将在完全培养基上单菌落同时接种到不同选择培养基上同时对所有菌落进行选择培养，鉴定效率大大提高。

❖注意：

➢(1)最初的培养基必须是非选择性的，即各种突变型都能够在其上生长；

➢(2)必须采用适当的方法如涂布或划线法，以使培养物菌落之间要分开。

影印培养法



第二节 细菌的遗传重组

一、转化

二、接合

三、性导

一、转化(transformation)

(一)、细菌转化实验

(二)、转化过程

*(三)、共同转化与遗传图谱绘制

(一)、细菌转化实验

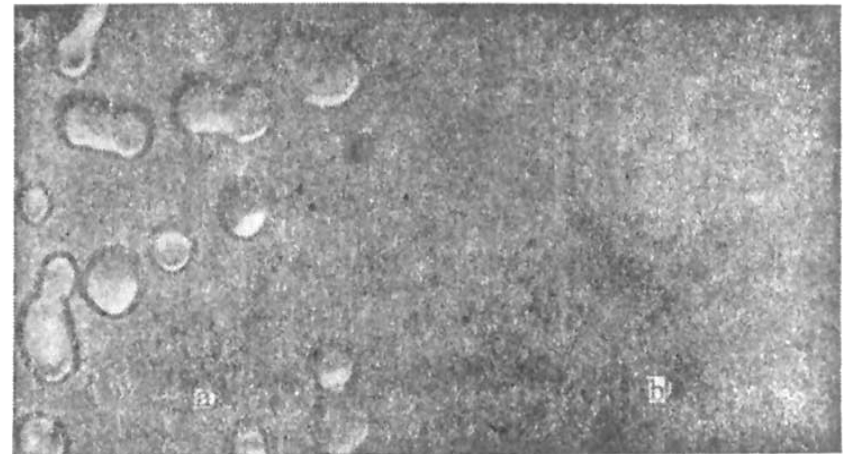
1. 基础知识

❖野生型肺炎双球菌(*Streptococcus pneumoniae*)菌落为光滑型，一种突变型为粗糙型，两者根本差异在于荚膜形成； →

❖荚膜的主要成分是多糖，具特殊的抗原性；

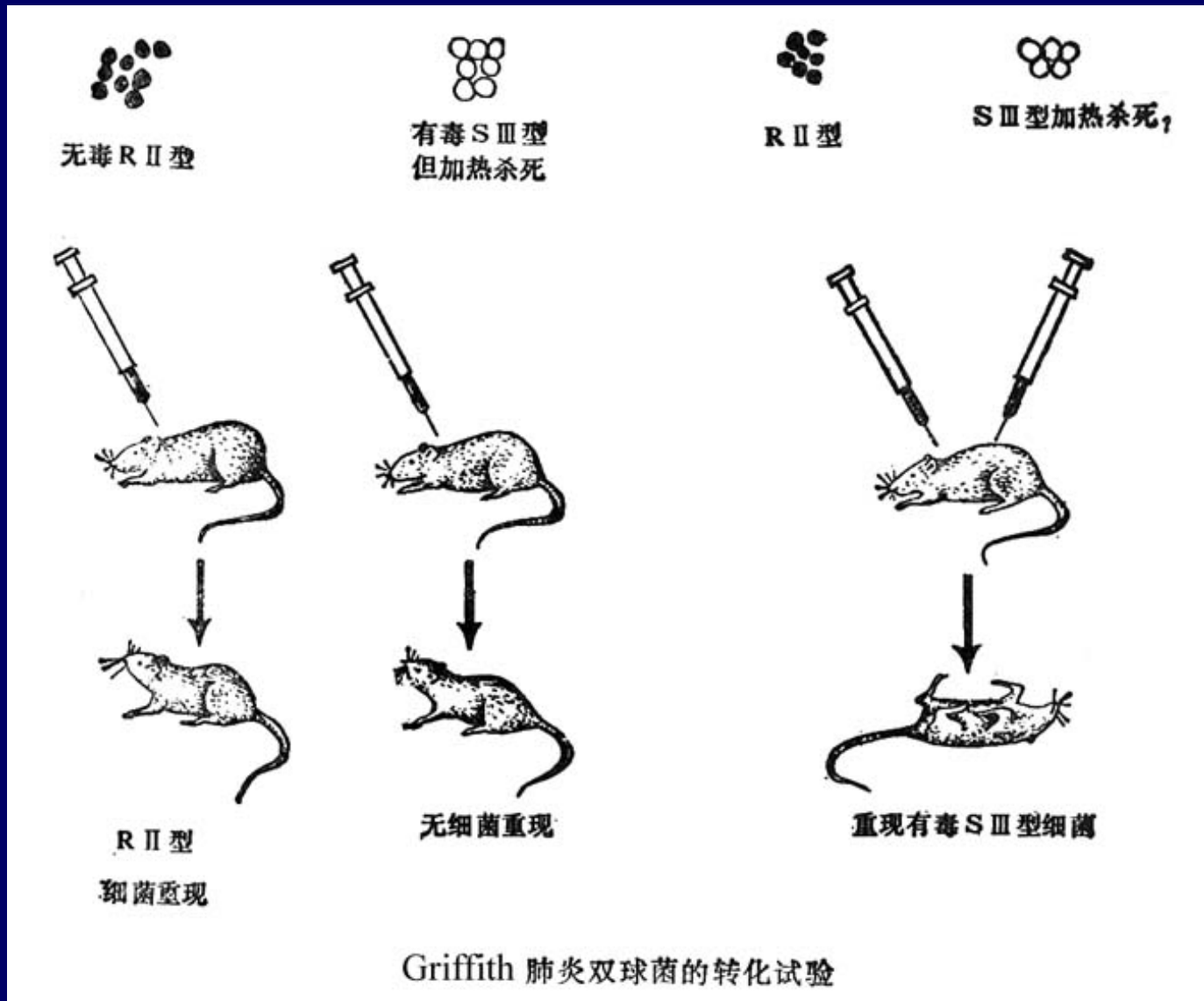
❖不同抗原型是遗传的、稳定的，一般情况下不发生互变。

	荚膜	菌落	毒性	类型
光滑型S	发达	光滑	有	I, II, III
粗糙型R	无	粗糙	无	I, II



肺炎双球菌的野生型菌落和突变型菌落

2. Griffith转化研究(1928)



Griffith对其试验结论及发展

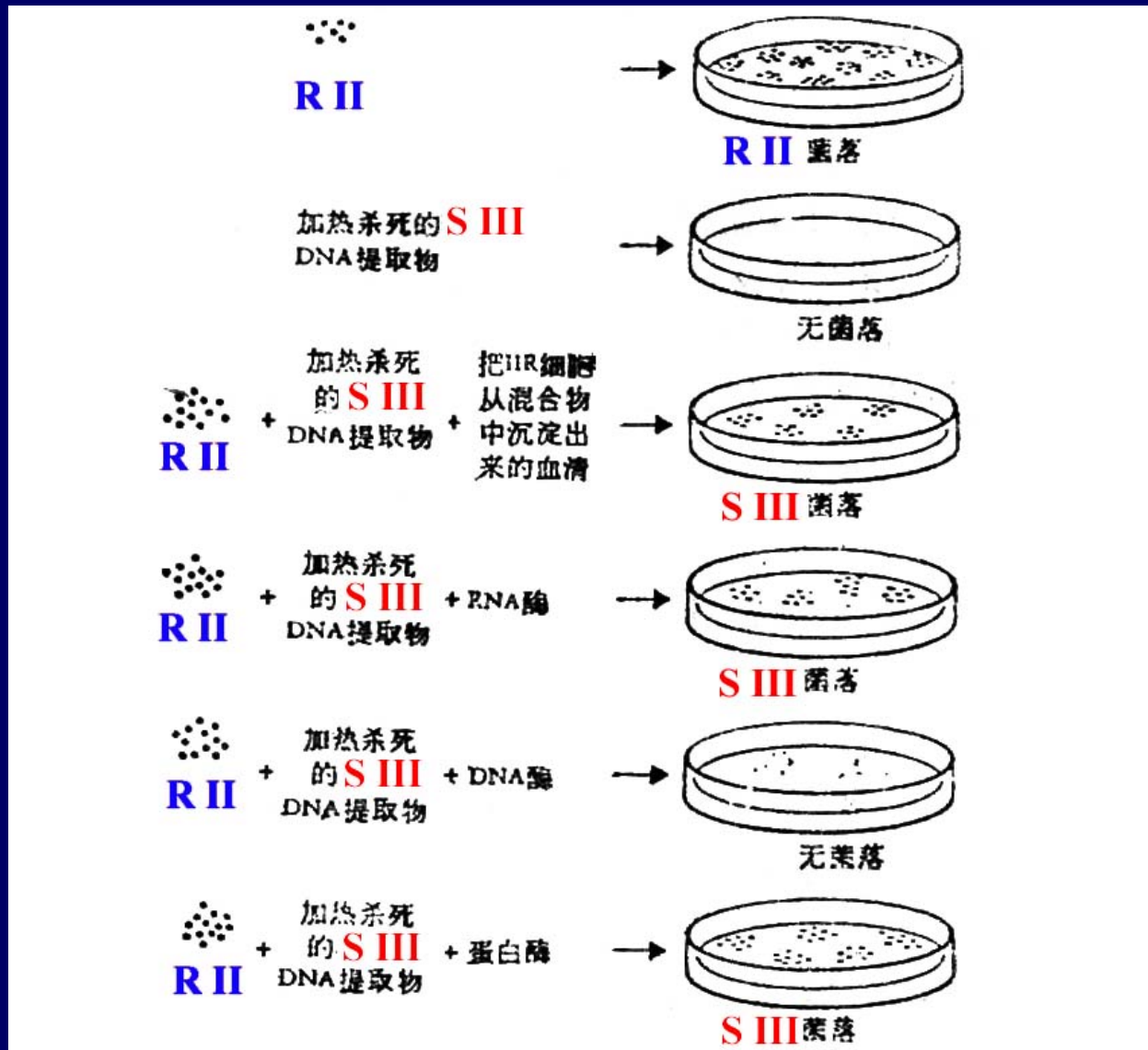
❖ 根据上述研究结果Griffith认为：

- (有毒)死细菌中的某种物质转移到(无毒)活细菌中，并使之具有毒性，导致小家鼠死亡。
- 他将这种细菌遗传类型的转变称为转化，并将引起转化的物质称为转化因子(**tranforming principle**)。
- 但是当时的化学与生化分析技术还无法鉴定杀死细菌中的成分，因而不知转化因子为何物。

❖ 以后一些研究者重复上述试验，并且加入了体外培养试验，即：将加热杀死的SIII细菌与无毒RII细菌混合培养，然后注入小家鼠体内，同样导致家鼠死亡。表明：

- 细菌在培养条件下也能够实现遗传类型间的定向转化。

3. 阿维利(Avery)等的转化实验(1944)



实验结论

- ❖ 上述实验结果表明：来源于加热杀死的SIII细菌，并使RII细菌转化成为SIII型细菌的转化因子是DNA。
- ❖ 正是在这一认识的基础上，将转化定义为：某一基因型的细胞从周围介质中吸收来自另一基因型的DNA而使它的基因型和表现型发生相应变化的现象。
- ❖ Avery等人的实验实际上也表明：决定细菌遗传类型的物质是DNA，即证明了DNA就是遗传物质。
 - 但由于他们采用的实验方法当时不被人们广泛接受，而且得出的结论与当时人们的传统观念(认为蛋白质是遗传物质)不符合，而长期没有得到人们的承认。

(二)、转化过程

❖ 转化现象在细菌中是一种普遍现象。不同细菌转化过程有一定差异，但是它们都存在几个共同特征，即：

❖ 1. 感受态与感受态因子：

- 感受态指细菌能够从周围环境中吸收DNA分子进行转化的生理状态。
- 感受态主要受一类蛋白质(感受态因子)影响，感受态因子可以在细菌间进行转移，从感受态细菌中传递到非感受态细菌中，可以使后者变为感受态。
- 一般认为感受态出现在细菌对数生长后期，并且某些处理过程可以诱导或加强感受态，以大肠杆菌为例，用 Ca^{2+} (如 CaCl_2)处理对数生长后期的大肠杆菌可以增强其感受能力。

❖ 2. 供体(donor)DNA与受体(receptor)细胞结合(binding):

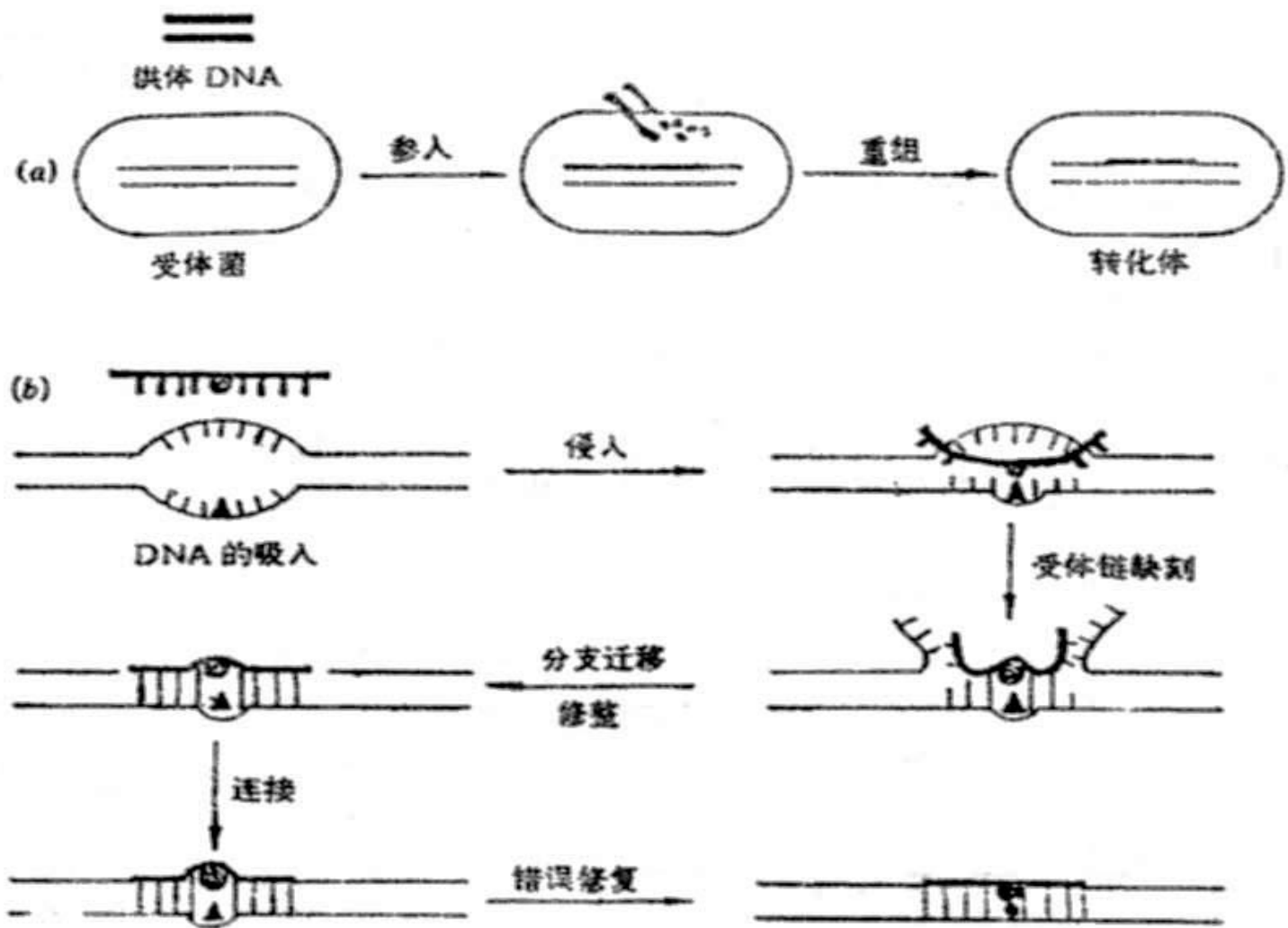
- 结合发生在受体细胞特定部位(结合点);
- 对供体DNA片段有一定要求;
- 结合过程是一个可逆过程。

❖ 3. DNA摄取:

- 当细菌结合点饱和之后, 细菌开始摄取外源DNA;
- 往往只有一条DNA单链进入细胞(单链摄入), 另一条链在膜上降解。

❖ 4. 联会(synapsis)与外源DNA片段整合(integration):

- 整合就是指单链的转化DNA与受体DNA对应位点的置换, 从而稳定地掺入到受体DNA中的过程。
- 实际上就是一个遗传重组的过程。因而研究整合的分子机制事实上也为遗传重组的分子机制作出了贡献。



细菌转化过程图解

(a) 供体DNA 双链吸附, 单链吸入并整合到受体, 然后插入;

(b) 单链供体DNA 整合的假说机制。

* (三)、共同转化与遗传图谱绘制

❖ 利用共同转化绘制细菌连锁遗传图谱的基本原理:

- 相邻基因发生共同转化的概率与两者的距离间成正向关系，基因间距离越近，发生共同转化的频率越高，反之越低。
- 因此可能通过测定两基因共同转化的频率来指示基因间的相对距离。

二、接合

(一)、接合现象的发现和证实

(二)、F因子及其在杂交中的行为

*(三)、中断杂交试验作图

(一)、接合现象的发现和证实

黎德伯格和塔特姆大肠杆菌杂交试验:

❖材料: 大肠杆菌(*Escherichia coli*)K₁₂菌株的两个营养缺陷型品系:

➤A—甲硫氨酸缺陷型met⁻和生物素缺陷型bio⁻;

➤B—苏氨酸缺陷型thr⁻和亮氨酸缺陷型leu⁻。

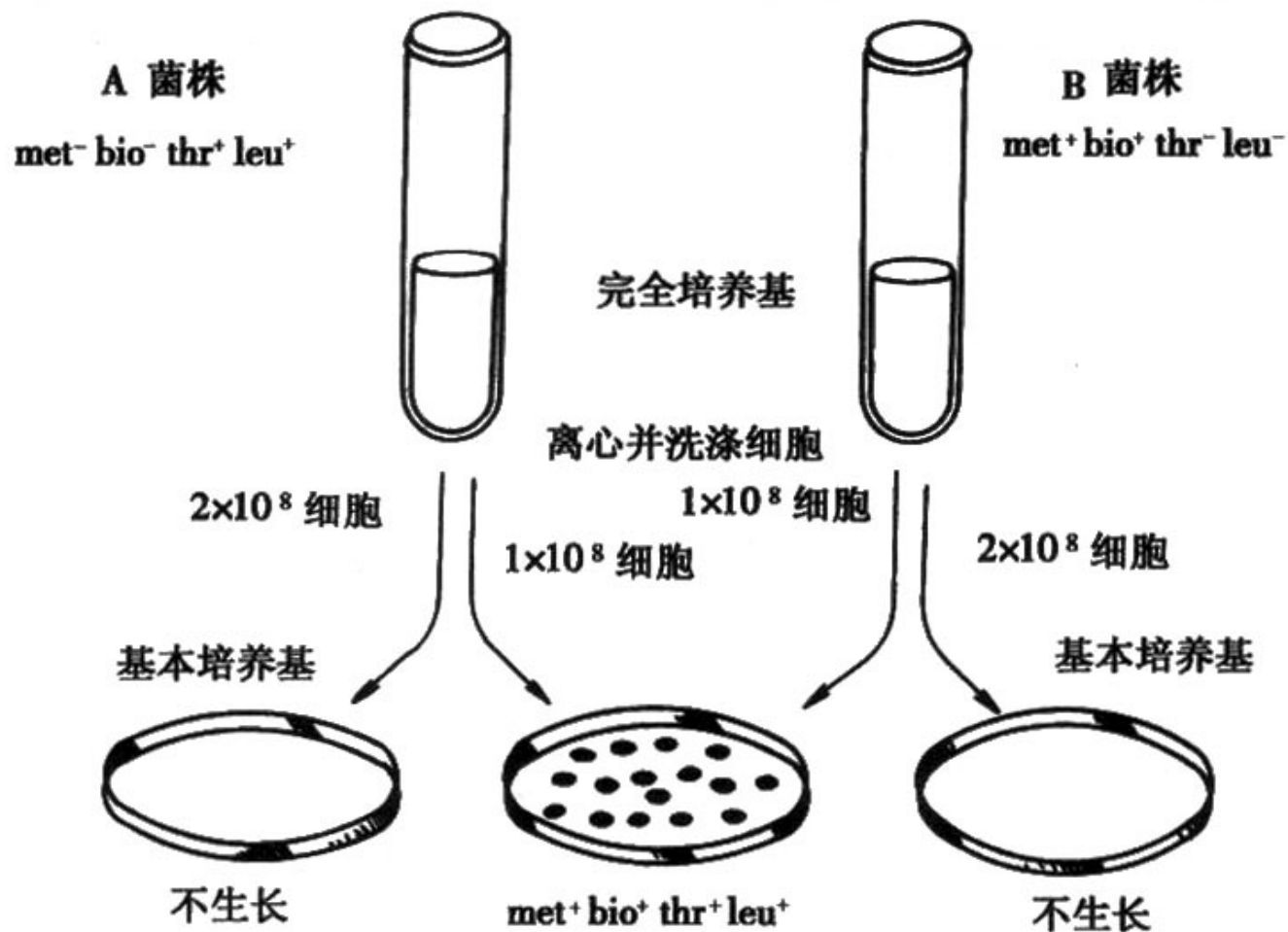
❖方法:

➤将A、B混和, 在基本培养基(固体)上涂布培养。

❖结果:

➤平板上长出原养型菌落(++++)。

黎德伯格和塔特姆接合试验



黎德伯格和塔特姆的接合（杂交）试验

几种可能解释及其分析

- ❖ 对上述试验结果原养型菌落可能产生于：
 - 亲本细菌A或B发生了回复突变；
 - 两品系细胞通过培养基交换养料——互养作用；
 - 两品系间发生了转化作用；
 - 发生细胞融合，形成了异核体或杂合二倍体。
- ❖ 为了验证这些原养型菌落产生的可能而进行的研究最终表明：这些解释均不成立。

回复突变可能的排除

❖ **Lederberg**和**Tatum**利用的双营养缺陷型菌株进行试验，已基本排除**A**或**B**品系发生回复突变产生原养型细菌的可能。

- 单基因回复突变的频率约为 10^{-6} ;
- 双基因回复突变的频率则为 10^{-12} ，频率很低。
- 但试验中产生原养型菌落产生的频率非常高，因此基本可以排除回复突变的可能。

*互养作用及其排除

❖ 试验材料:

- A品系: $A^-B^+T_1^S(\text{met}^-\text{bio}^-\text{thr}^+\text{leu}^+T_1^S)$;
- B品系: $A^+B^-T_1^R(\text{met}^+\text{bio}^+\text{thr}^-\text{leu}^-T_1^R)$ 。

❖ 试验方法:

- 将A、B品系混合接种在基本培养基表面;
- 短时间后喷 T_1 杀死A品系,使其不能持续产生thr与leu供B品系持续生长。

❖ 结果与结论:

- 仍然出现原养型菌落。
- 从而表明互养并非原养型菌落出现的原因,而可能发生了遗传重组。

*转化作用及其排除

❖ Lederbergy和Tatum曾把品系A的培养液经加热灭菌，加入到B品系的培养物中，未得到原养型菌落；表明原养型菌落可能不是由转化作用产生。

❖ 戴维斯(Dawis, 1950)的U型管试验(结果没有得到原养型细菌)；

❖ 实验结论：细胞直接接触是原养型细菌产生的必要条件。

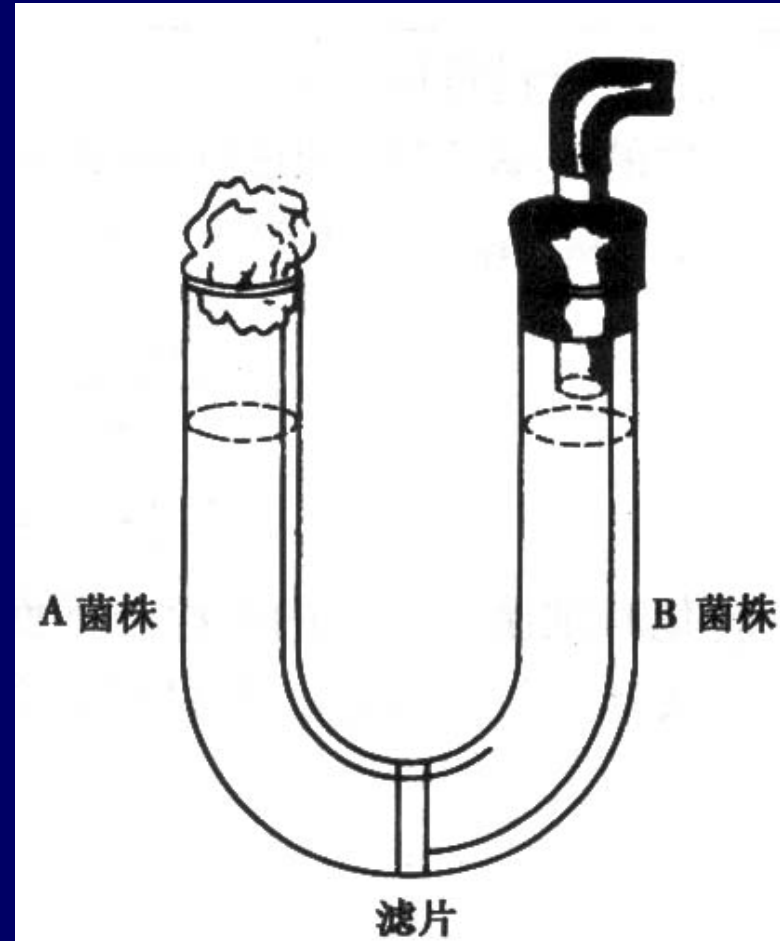


图 7-11 戴威斯(U)型管试验

*异核体和杂合二倍体的可能性

❖出现原养型菌落的另一种可能是细菌细胞发生融合，产生异核体或双杂合二倍体。这两种情况类似于二倍体生物的杂合体将产生原养型菌落。

➤异核体指由于细胞融合而在细胞内含有遗传组成不同的两个或多个细胞核。

➤双杂合二倍体则是异核体进一步发生核融合，形成二倍体细胞核，核内含有两种遗传物质。

❖但细菌为单倍配子体生物，异核体和二倍体只能暂时存在。培养繁殖过程中必将发生分离，产生各种缺陷型菌落。

❖对试验中得到的原养型菌落后代研究表明：

➤后代没有出现预期的性状分离现象。

(一)、接合现象的发现和证实

❖ 经过上述分析可以认为：

➤ 在Lederbery和Tatum及其它类似试验中，发生了一种不同于转化的遗传重组方式，称之为接合。

❖ Hayes(1952)研究表明：

➤ 大肠杆菌两种不同菌株(品系)接合过程中遗传物质的转移是单向的；

➤ 从而认为大肠杆菌存在两种类型品系：雌性与雄性分别作为接合过程中遗传物质的供体与受体。

❖ 接合(conjugation)：

➤ 遗传物质从供体(donor)转移到受体(receptor)的重组过程。

(二)、F因子及其在杂交中的行为

1. F因子:

❖ Hayes等进一步研究发现，大肠杆菌在接合中作供体的能力受细胞内一种致育因子(fertility factor, F因子; sex factor, 性因子)控制。

❖ F因子的化学本质是DNA，可以自主状态存在于细胞质中或整合到细菌的染色体上。

❖ F因子可以在细菌细胞间进行转移并传递遗传物质

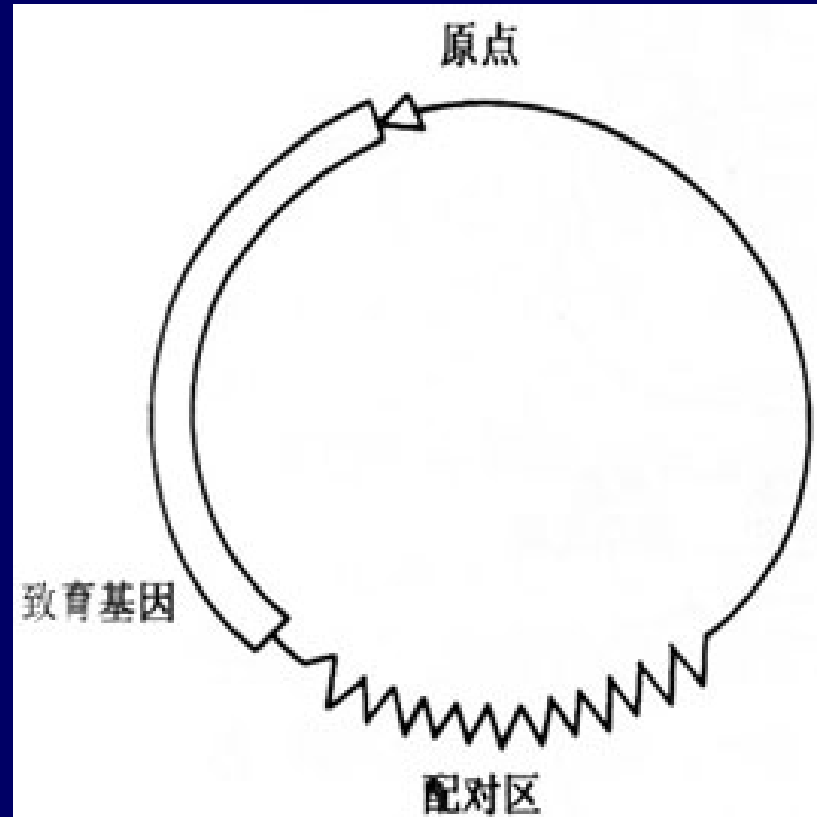
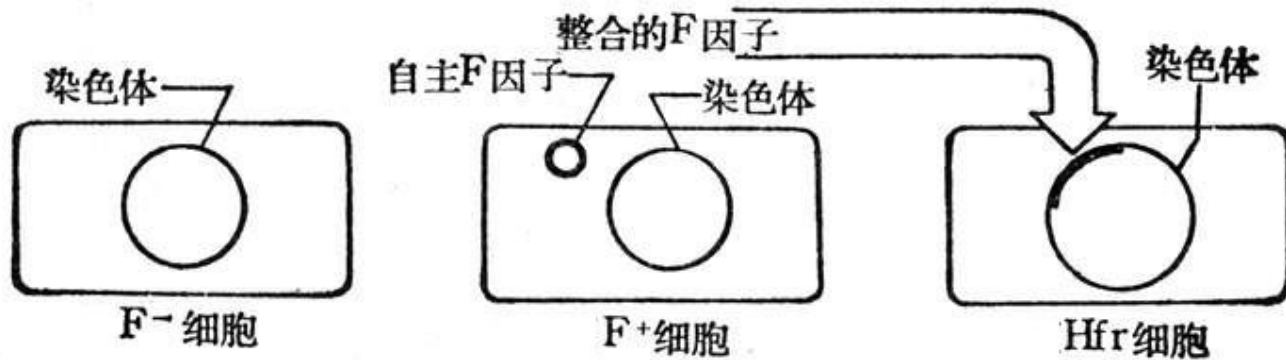
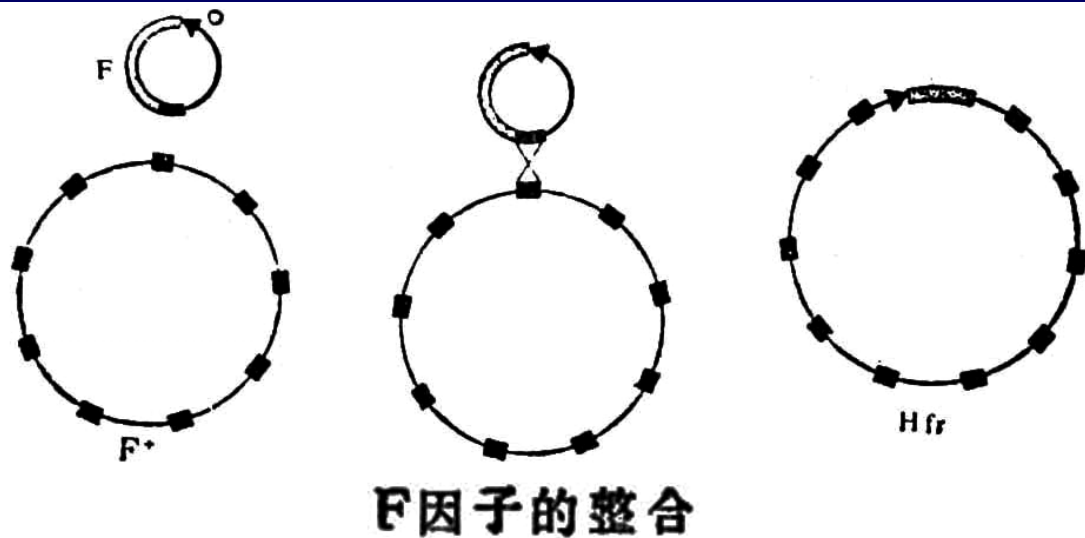


图 7-12 环形 F 因子染色体的 3 个区域

F因子的存在状态



大肠杆菌 F 因子的三种状态



2. F因子及其在杂交中的行为

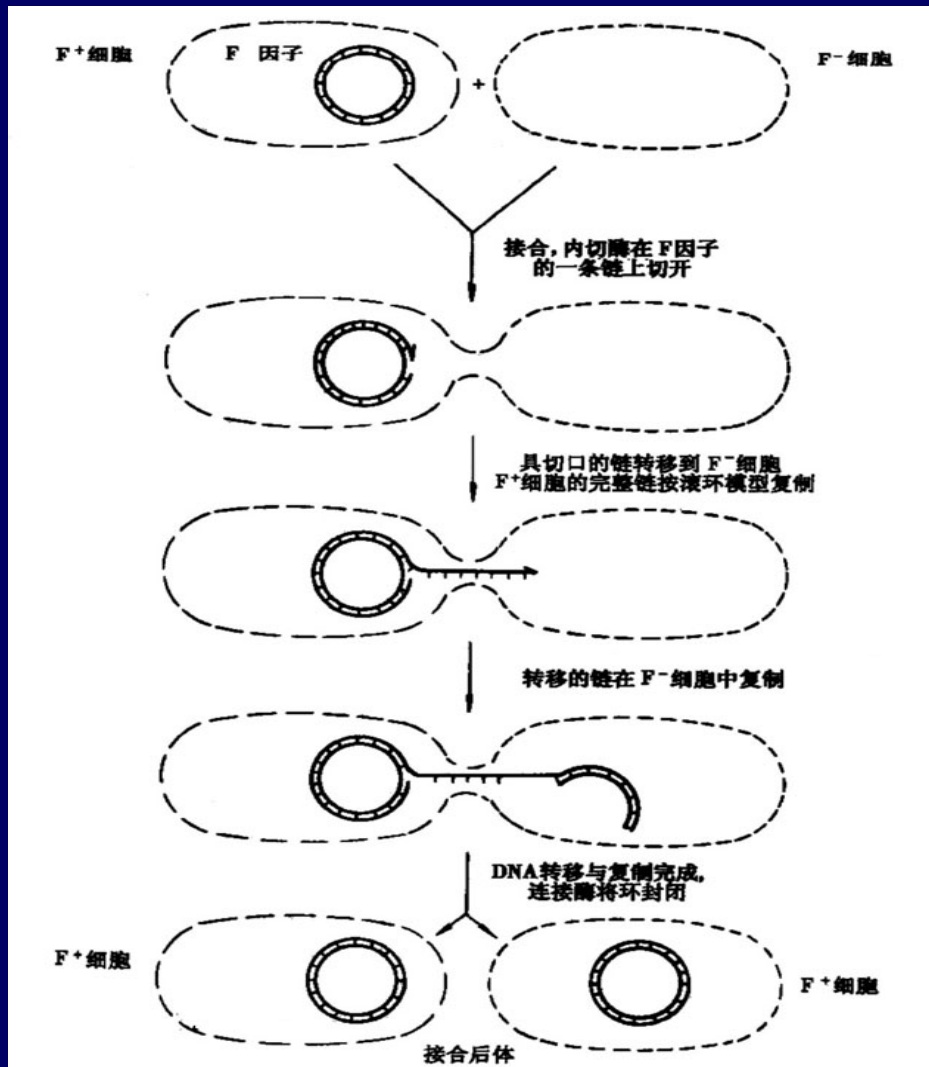


图 7-14 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) Hfr 的形成及其染色体向 F⁻ 细胞的转移图解

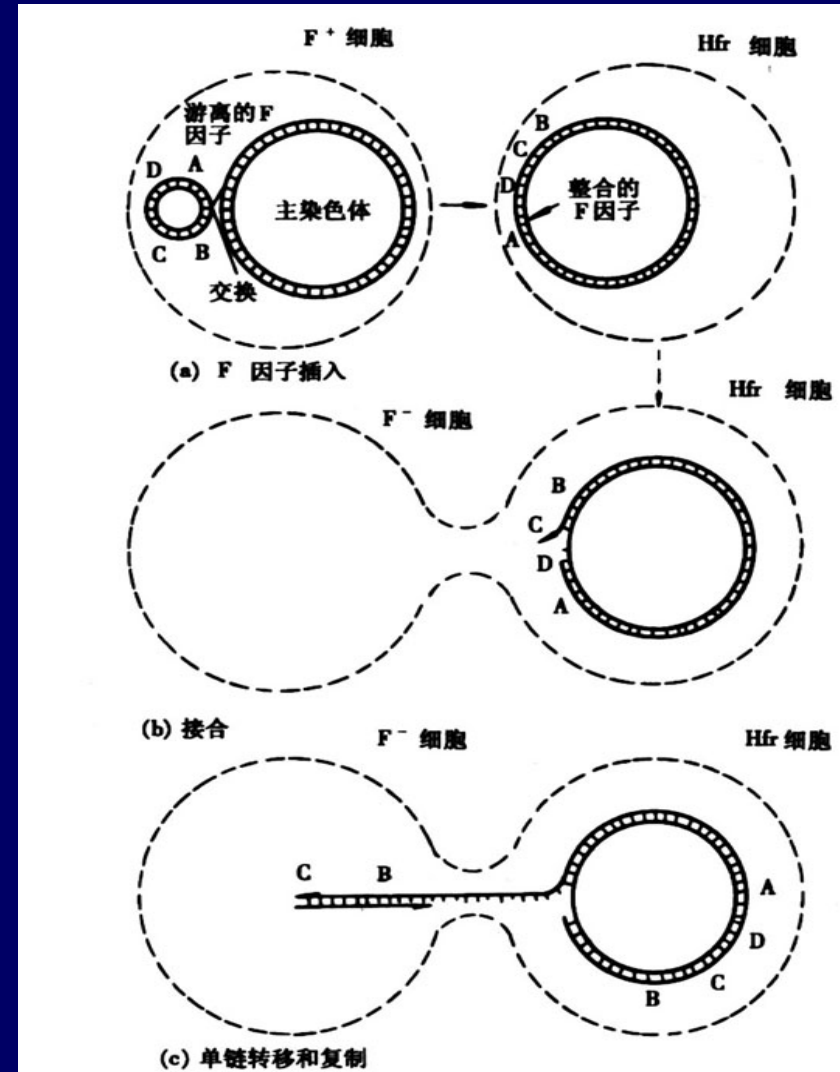
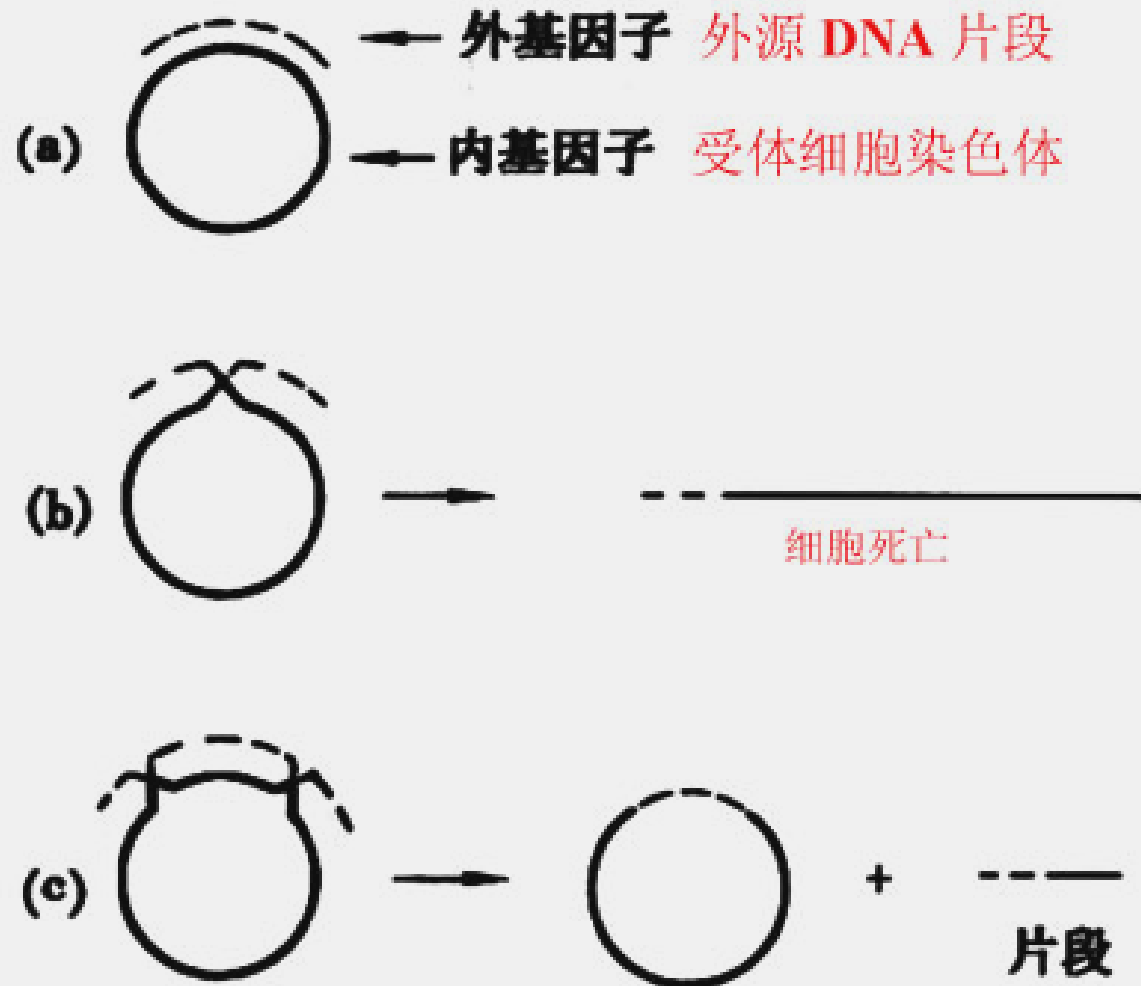


图 7-15 大肠杆菌 (*E. coli*) Hfr 的形成及其染色体向 F⁻ 细胞的转移图解

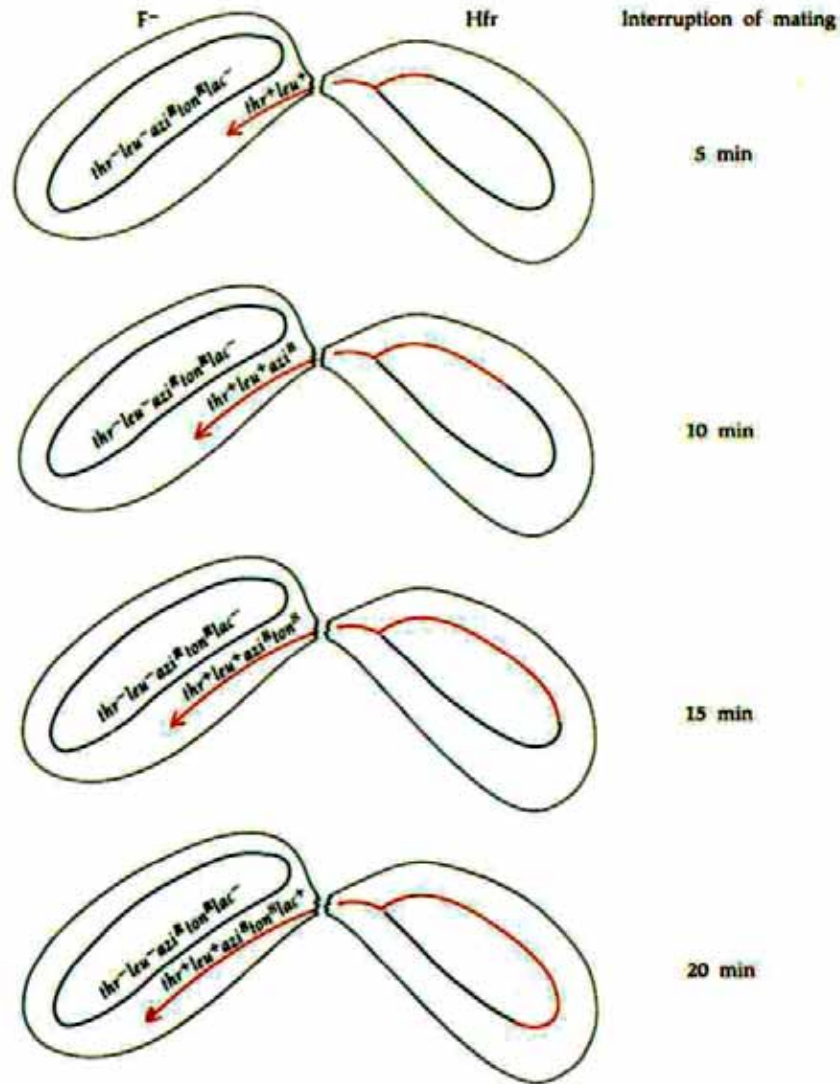
2. F因子及其在杂交中的行为



*(三)、中断杂交试验作图

Figure 7.7

Diagram showing polarized transfer of the Hfr chromosome in an interrupted mating experiment. Only the Hfr genes present in the F⁻ recipient at the time of interruption of mating are available for recombination with the chromosome of the F⁻ cell.



*(三)、中断杂交试验作图

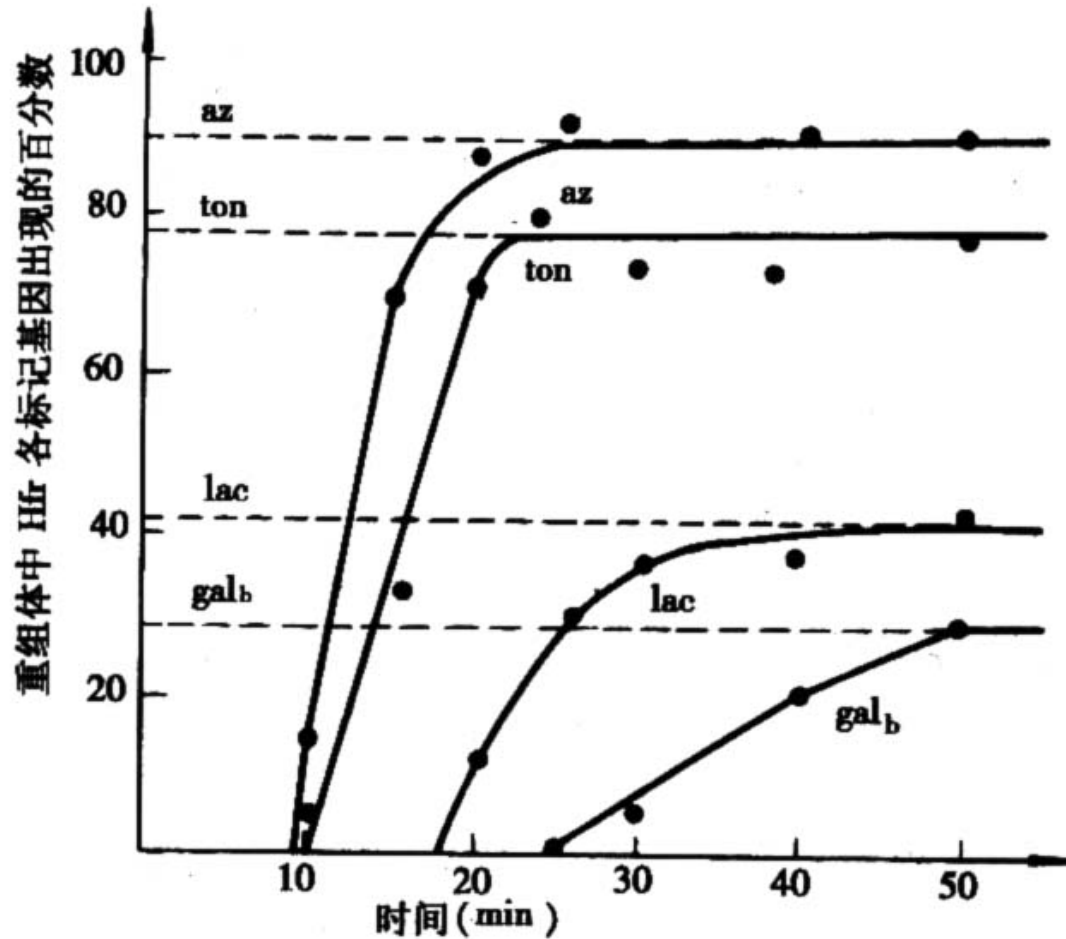
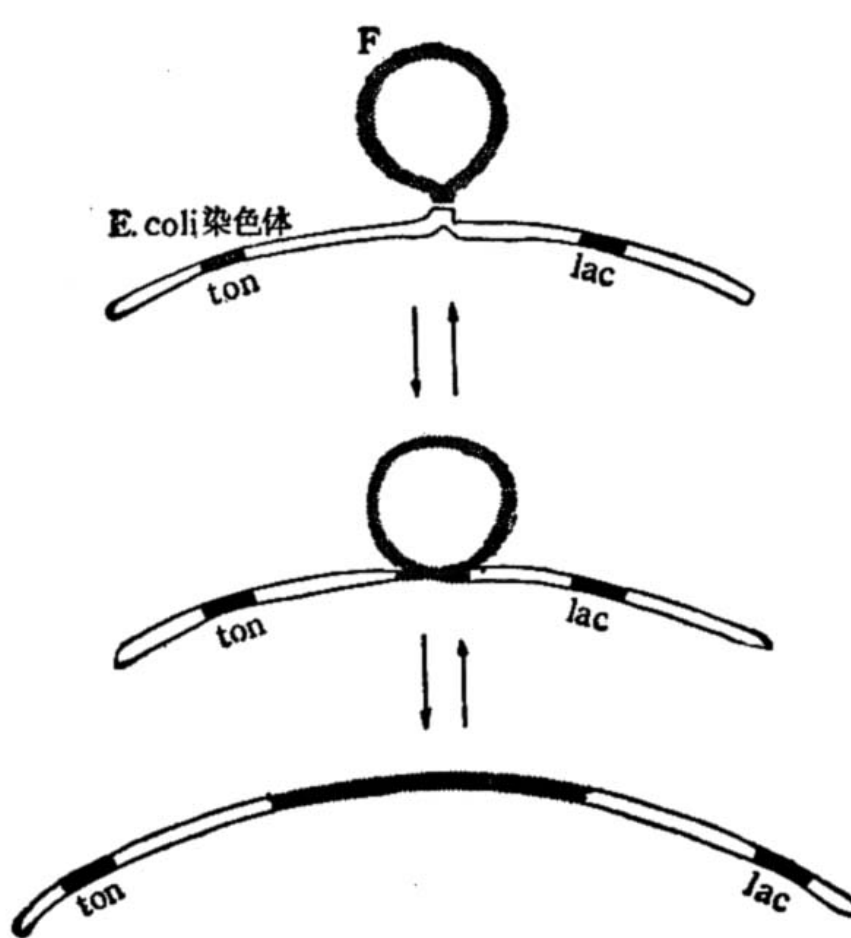
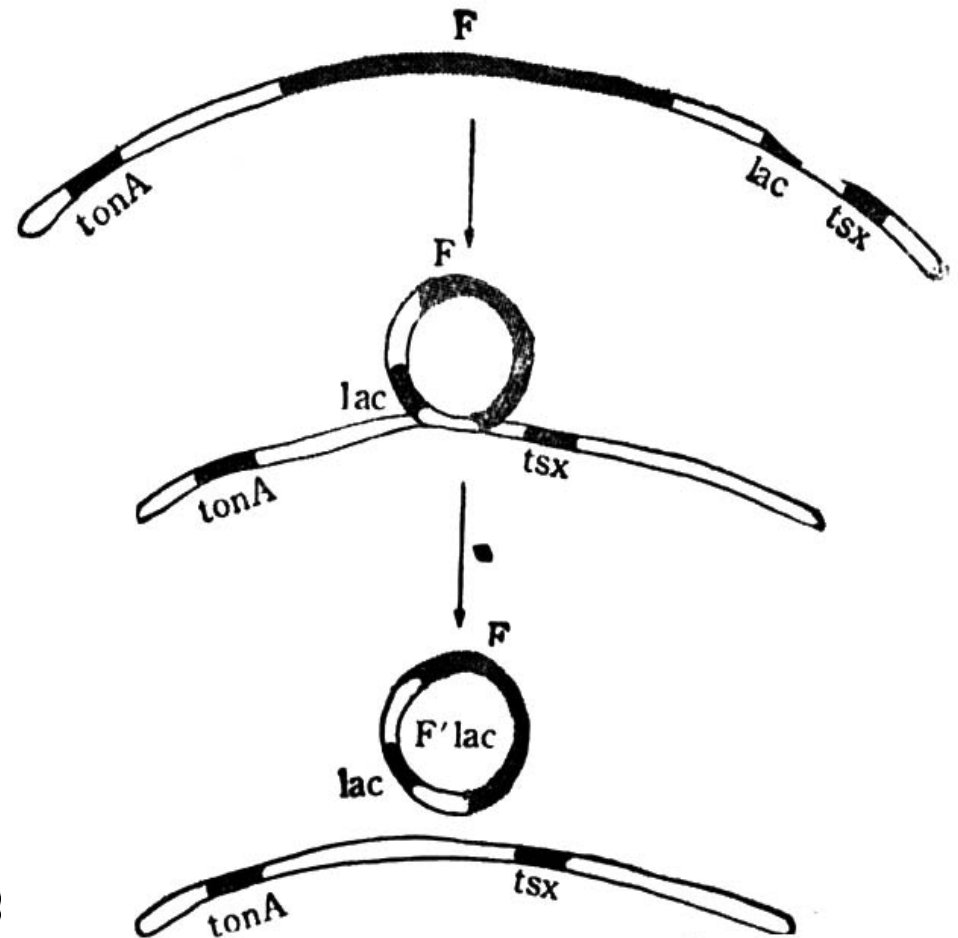


图 7-17 中断杂交后，重组体中 Hfr 遗传性状出现的频率
各标记基因进入 F⁻ 细胞中的时间不同，达到最高水平的时间也不同

三、性导(sexduction)与F'因子



F 因子的整合



F 因子偶尔不准确的环出，带有一部分染色体的基因

F'因子: F因子整合到宿主细胞染色体的过程是可逆的, 当发生环出时, F因子又重新离开染色体。F因子偶然在环出时不够准确, 它携带有染色体的一些基因, 这种F因子称为 \sim 。

性导: 指结合时由F'因子所携带的外源DNA转移到细菌染色体的过程。

F'因子特点:

- 1、F'因子以极高的比率转移细菌的基因;
- 2、F'因子有极高的自然整合率, 而且整合在一定的座位上。

性导在大肠杆菌的遗传学研究中的应用：

- 1、利用不同的F'因子的性导可以测定不同基因在一起转移的频率，并作图。
- 2、由性导形成的杂合部分二倍体中性状的表现确定等位基因的显隐关系。
- 3、性导形成的部分二倍体作互补测验，确定两个突变型是属于一个基因还是不同基因。

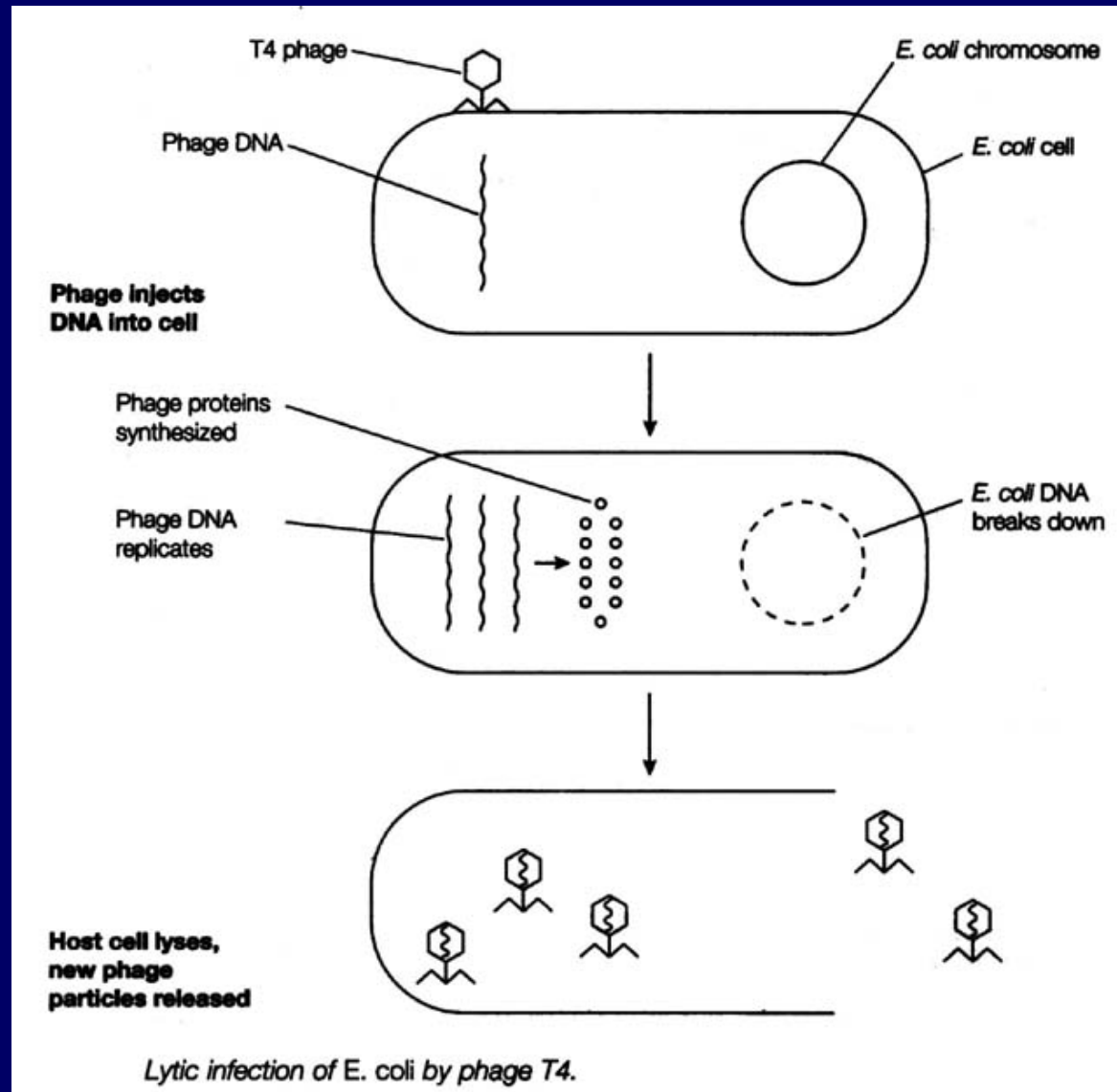
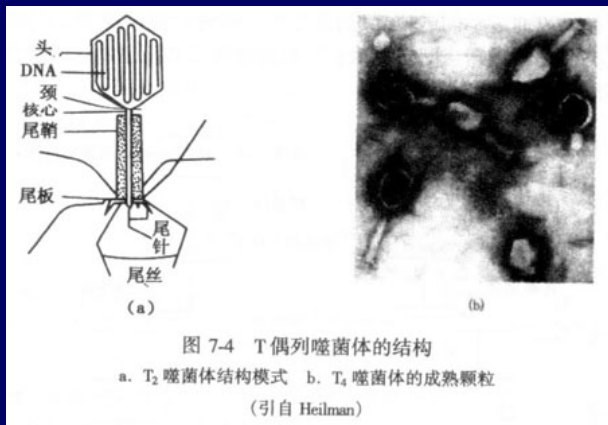
第三节 噬菌体与转导

一、烈性噬菌体

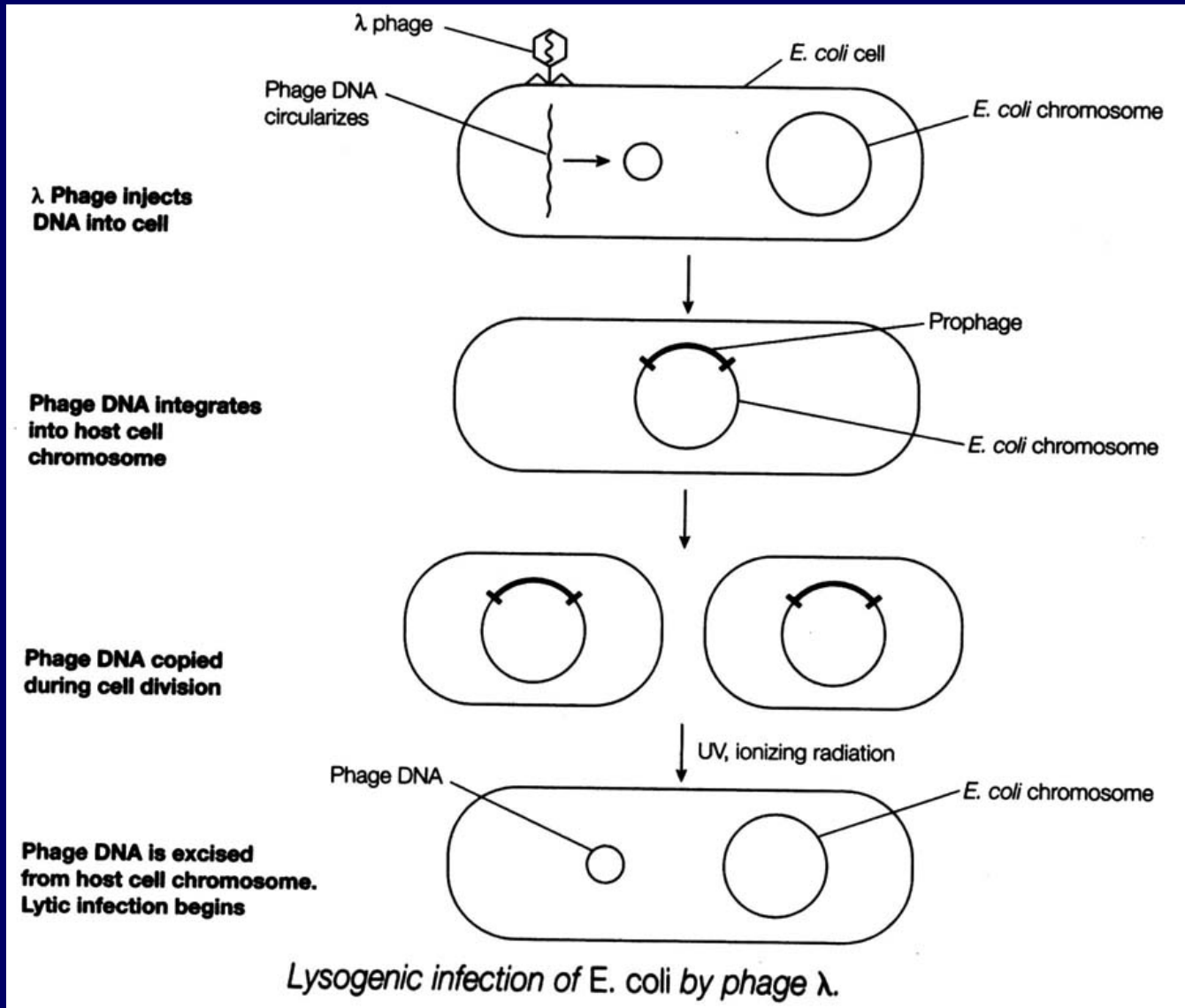
二、温和噬菌体

三、转导

一、烈性噬菌体



二、温和噬菌体



三、转导

普遍性转导：转导细菌染色体组的任何不同部分。P₂₂

特殊性转导：由温和噬菌体进行的转导叫~。λ
又称局限性转导。

转导颗粒：假噬菌体

转导体：转导颗粒侵染受体细菌，形成部分二倍体，基因重组整合到宿主染色体上，形成的具有重组遗传结构的细菌细胞。

合转导：两个基因同在一起转导。或称并发转导。

两因子转导

三因子转导

算出基因间的排列次序和距离。

先用中断杂交法作粗略定位，然后应用普遍性转导进行精确作图。

特殊性转导

附加体：既可以以自主的状态存在，也可以整合在细菌染色体中。

如温和噬菌体中的 λ ；和F因子

多数噬菌体当整合在细菌染色体中都占有一个特定的位置。

特殊性转导的颗粒中，在噬菌体DNA上加进一段细菌DNA，必然要减少相应长度的一段噬菌体DNA。

特殊性转导形成的转导体与转化和普遍性转导不同，供体基因不是置换受体基因，而是整个地插入配对的地方。

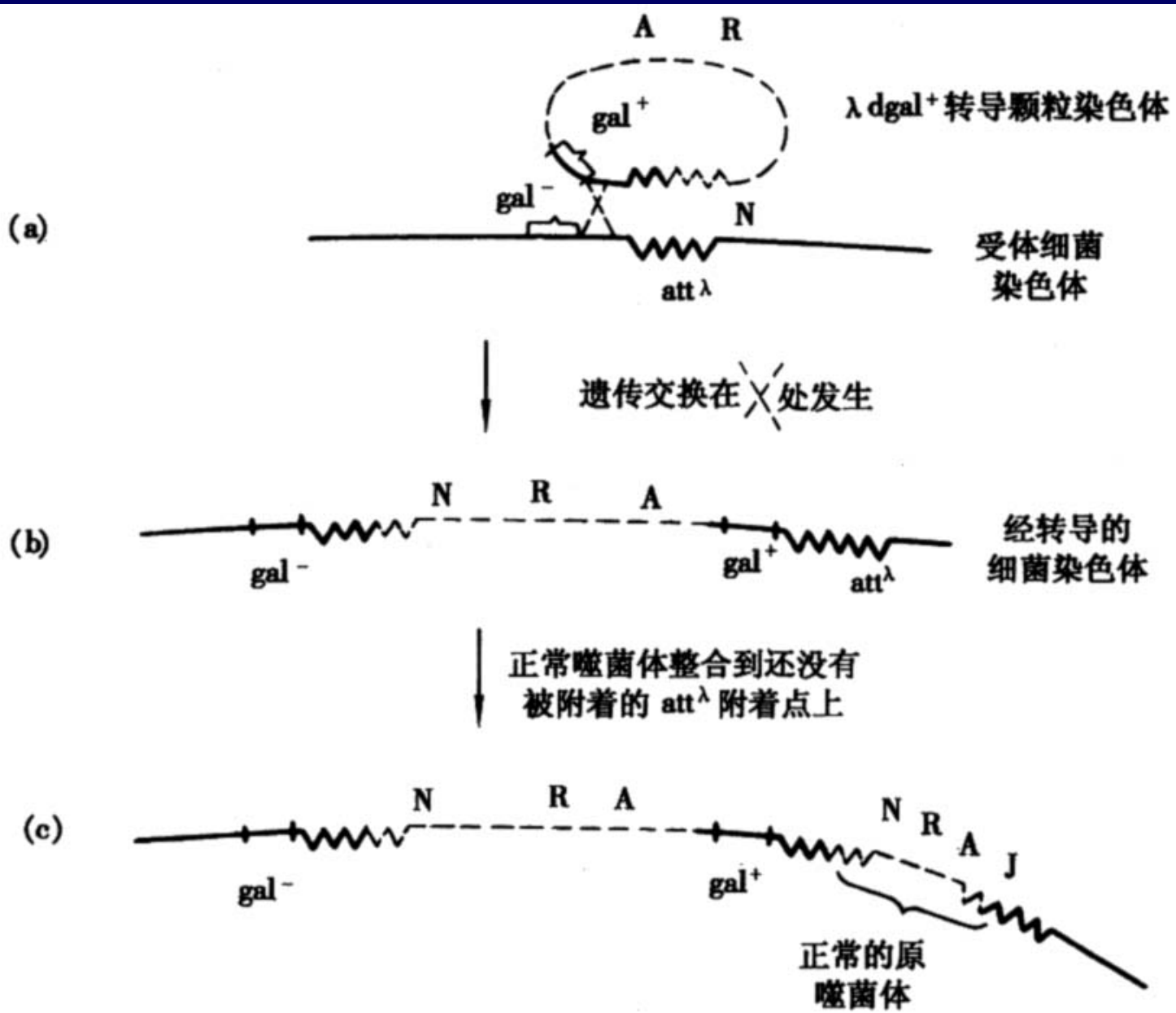


图 7-25 λ dgal⁺ 转导颗粒转导 gal⁻ 细菌的过程

本章要点

- ❖ 细菌和病毒在遗传研究中的优越性；
- ❖ 转化、接合、性导与转导的概念与基本原理；
- ❖ F-菌株、F⁺菌株、Hfr菌株；
- ❖ F因子、F'因子；
- ❖ 温和噬菌体、烈性噬菌体；
- ❖ 原噬菌体、溶源性细菌与溶源性生活周期。

参考书

❖如果希望深入了解、学习微生物遗传及其在遗传学的发展、生物技术中的应用，可参考下面两本书：

1. 普通微生物遗传学

➤丁友肪、陈宁编，南开大学出版社，1990。

2. 遗传分析导论

➤David I. Suzuki, Anthony J. F. Griffiths, Richard C. Lewontin著，兰斌等译，陕西人民教育出版社，1990。