

第七章 微生物的遗传与变异

Microbial Genetics and Variation



P172-206, 2学时

从这两幅图中，你发现了什么？



黑白双胞胎，一个像白人妈妈，一个像黑人爸爸



“一胎生九子，连母十个样”

什么是遗传与变异？

遗传 (inheritance)： 子代与亲代相似

变异 (variation)： 子代与亲代，子代与子代个体之间存在形态特征和生理机能方面的差异

遗传是相对的，变异是绝对的！！

桔生淮南为桔， 桔生淮北则为枳



表型 \equiv 遗传型 + 环境条件

表型 (phenotype)：具有一定遗传型的个体，在特定环境条件下通过生长发育所表现出来的个体外表特征和内在特征的总和。

学习本章内容，我们要回答三个问题

- 1、什么是遗传物质？如何证明的？
- 2、细菌基因重组的方法有哪些？原理是什么？（本章的重难点）
- 3、我们该如何进行微生物的诱变育种？

第一节 遗传变异的物质基础

★证明核酸是遗传物质的经典实验

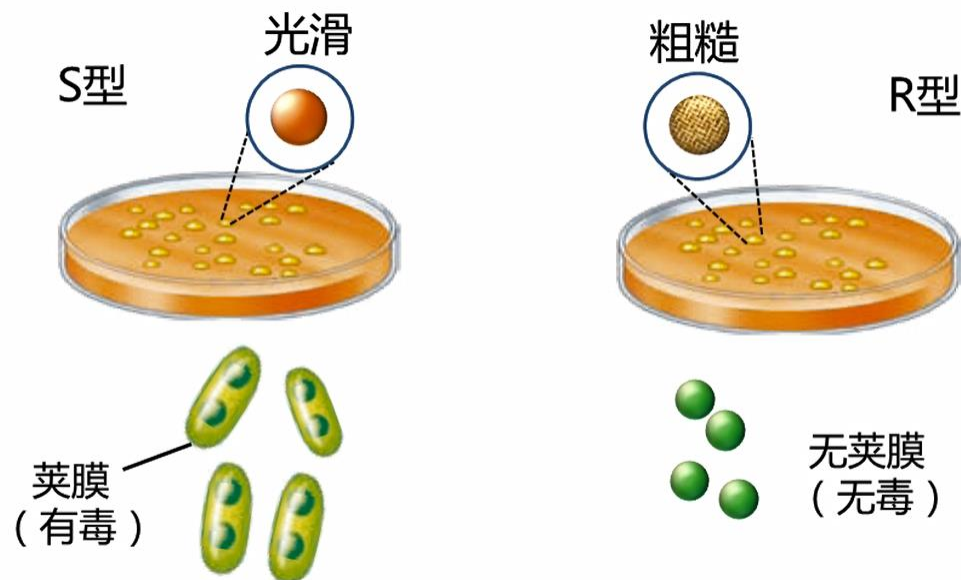
- ① 1928年, F. Griffith肺炎链球菌转化试验。
- ② 1952年, 美国生物学家艾弗德.D.赫尔希的噬菌体感染实验。
- ③ 1956年, 美国生化学家弗伦克尔.海因茨.康尔特的烟草花叶病毒的拆开和重建实验。

1、肺炎链球菌转化实验

肺炎链球菌：

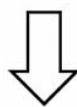
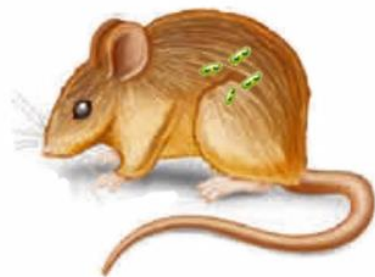
S型（菌体具**荚膜**，菌落表面**光滑**，有致病能力）

R型（菌体无荚膜，菌落表面**粗糙**，无致病能力）



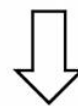
1、肺炎链球菌转化实验

肺炎链球菌



S型

第一组



R型

第二组

1、肺炎链球菌转化实验



1、肺炎链球菌转化实验

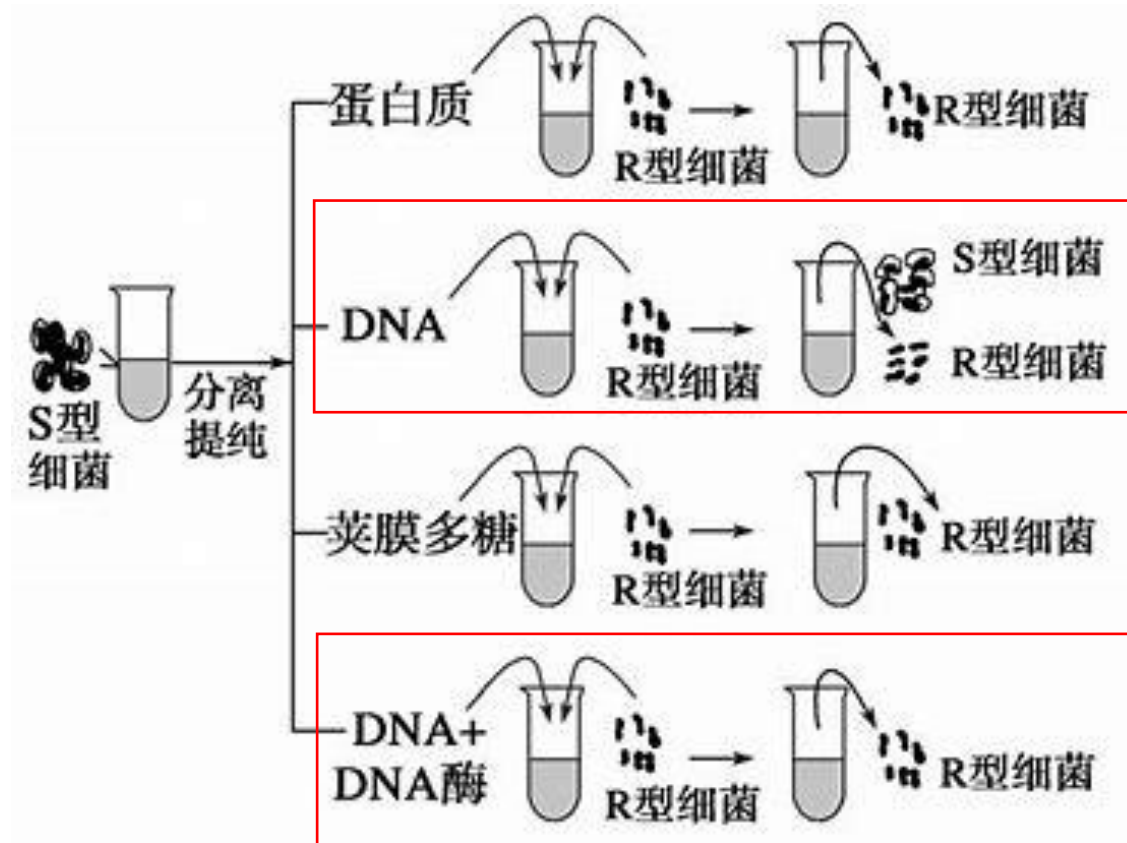
灭活的S型菌+活的R型菌



S型菌

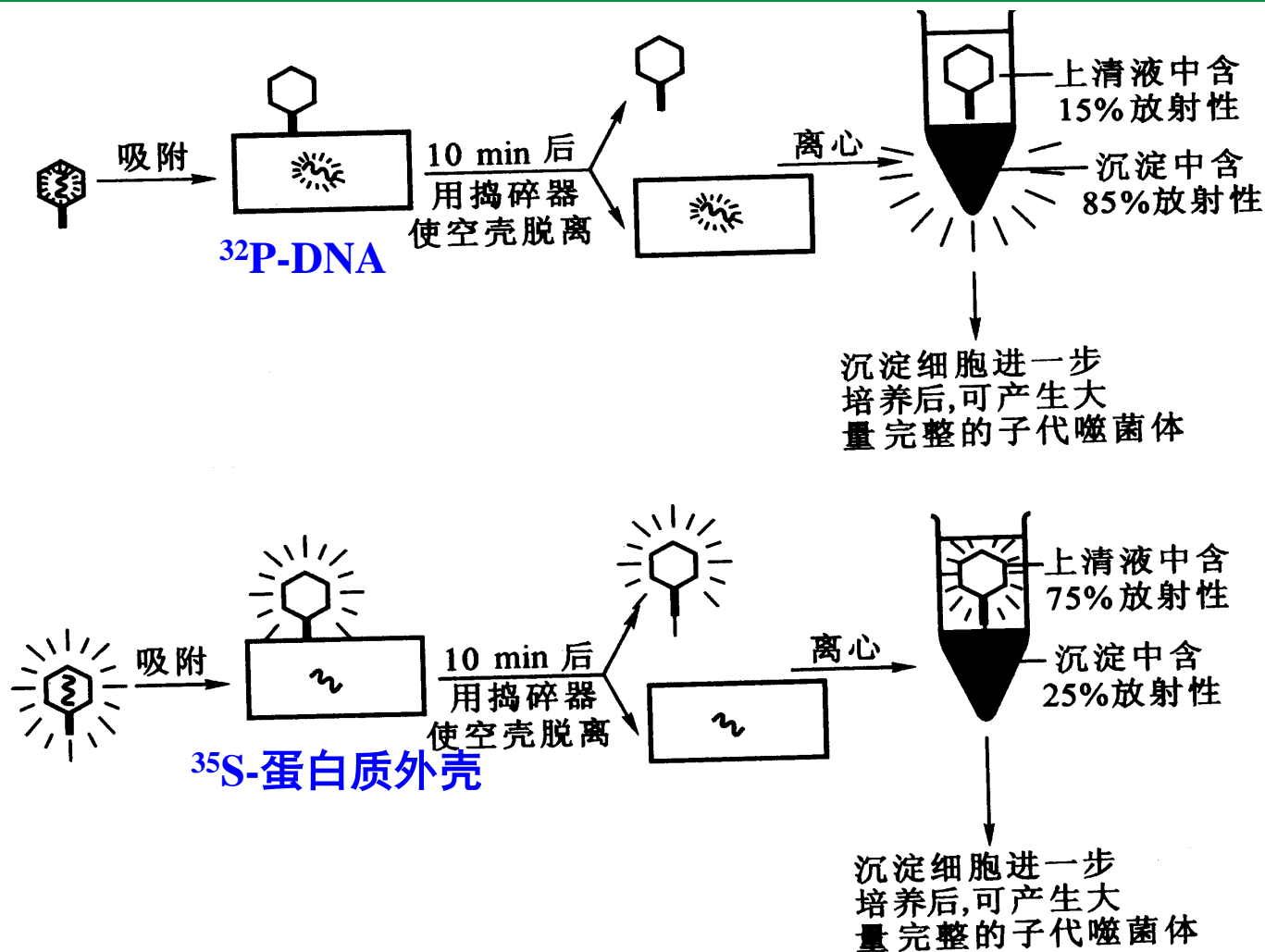
请针对第四组实验中致死小鼠体内出现活的S菌的原因，设计验证方案。

美国细菌学家艾弗里等将加热杀死的有毒菌株抽提物分别纯化



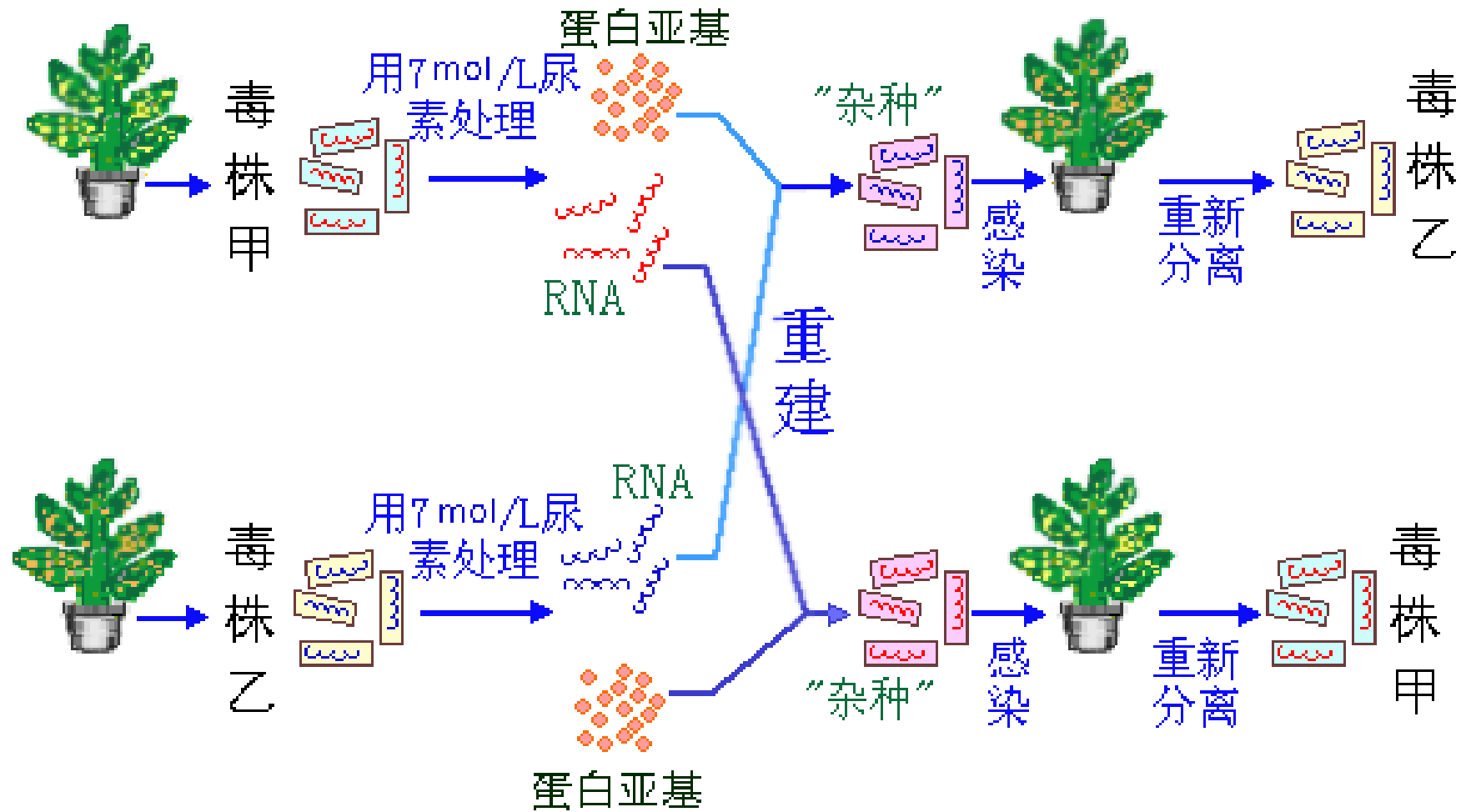
结论：DNA是肺炎链球菌遗传物质

2、噬菌体感染实验



结论：该实验表明蛋白质外壳根本未进入宿主细胞，进入宿主细胞的只有DNA，但却有自身的繁殖、装配能力。

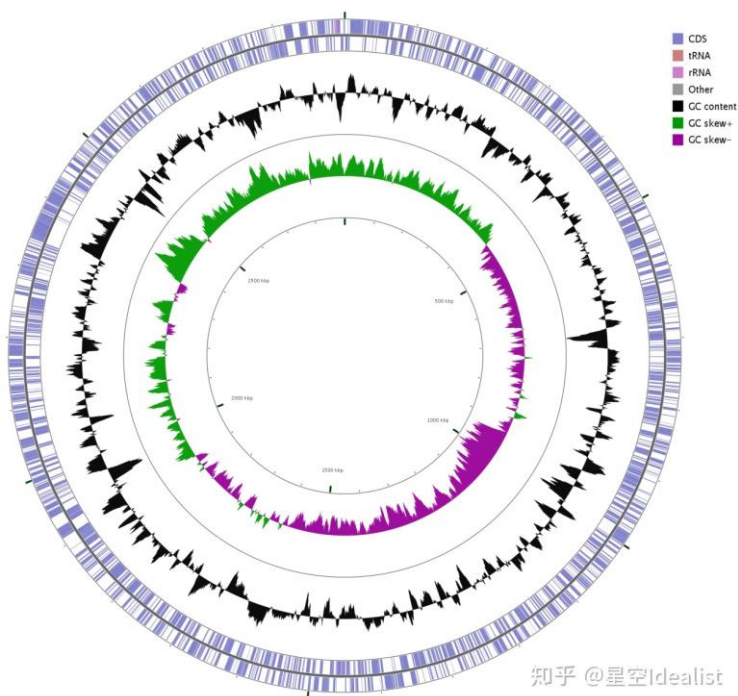
3、植物TMV重组实验——证明RNA是TMV的遗传物质



结论：毒株的表型由RNA决定，与蛋白质无关。

第二节 微生物基因组

一、微生物基因组的概念



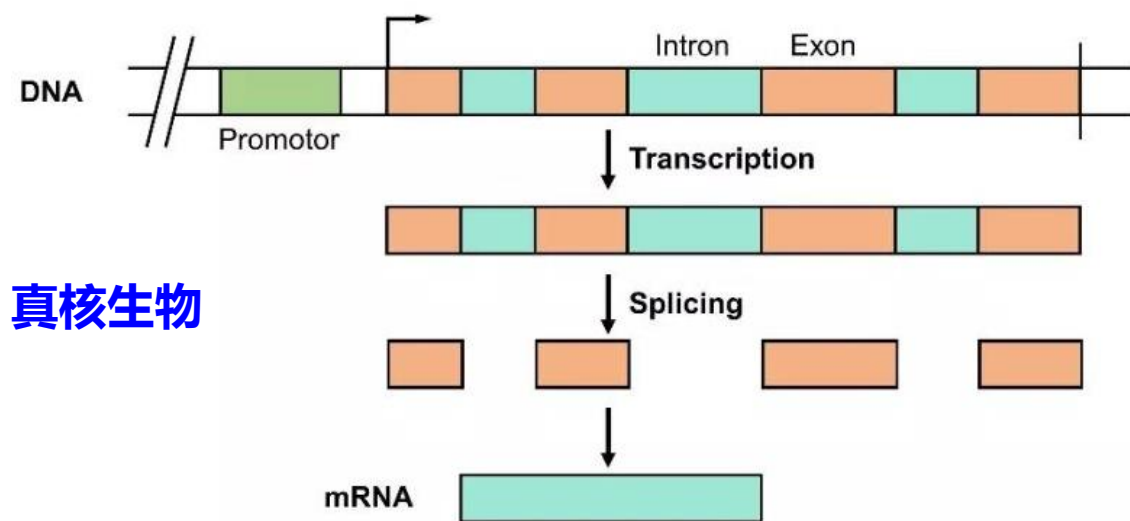
基因组 (genome) :

一个物种的单倍体的所有染色体及其所包含的遗传信息的总称。

它同时包含了**基因编码序列**和**不编码任何基因的DNA序列**。

基因(gene):

是遗传的最小功能单位，它是一段特定的DNA序列。绝大多数基因的功能是编码合成多肽或蛋白质。



Wilhelm Ludvig Johannsen



丹麦遗传学家约翰逊

基因：包括开放读码框**ORF** (open reading frame) 及其转录调控元件 (**启动子和终止序列**)

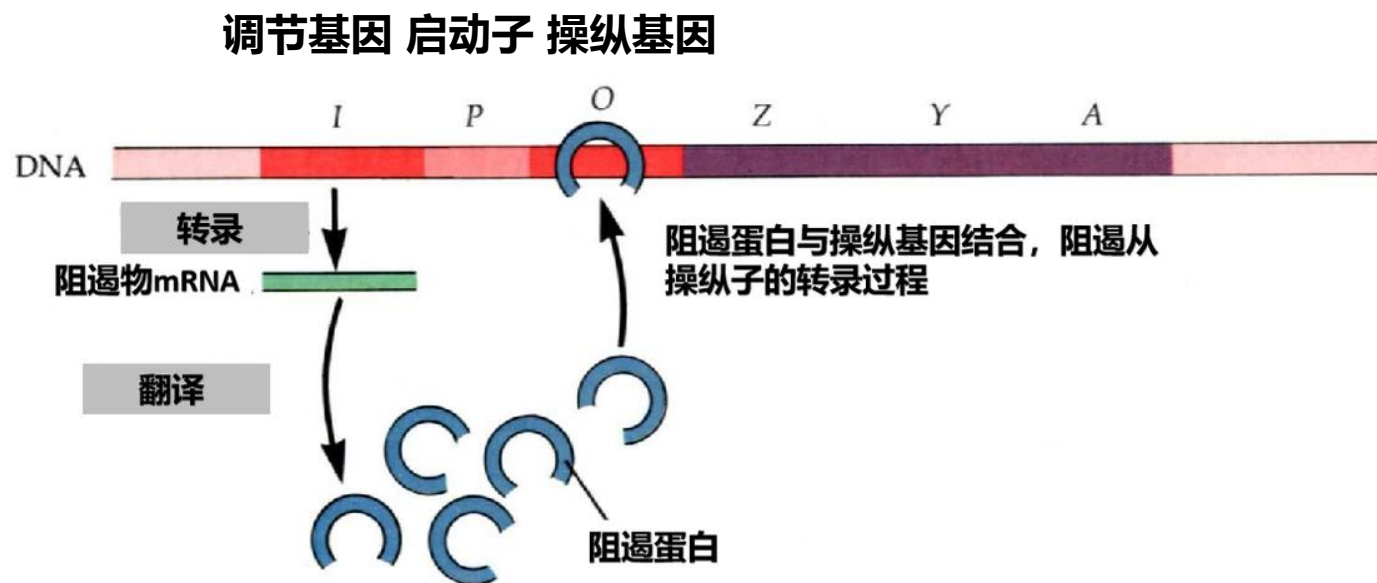
绝大多数编码蛋白质的ORF都有完全相同的结构式，即始于DNA特殊的三联体密码子(ATG/GTG) 和终止于几个特殊的终止密码子(TAA/TGA/TAG)。



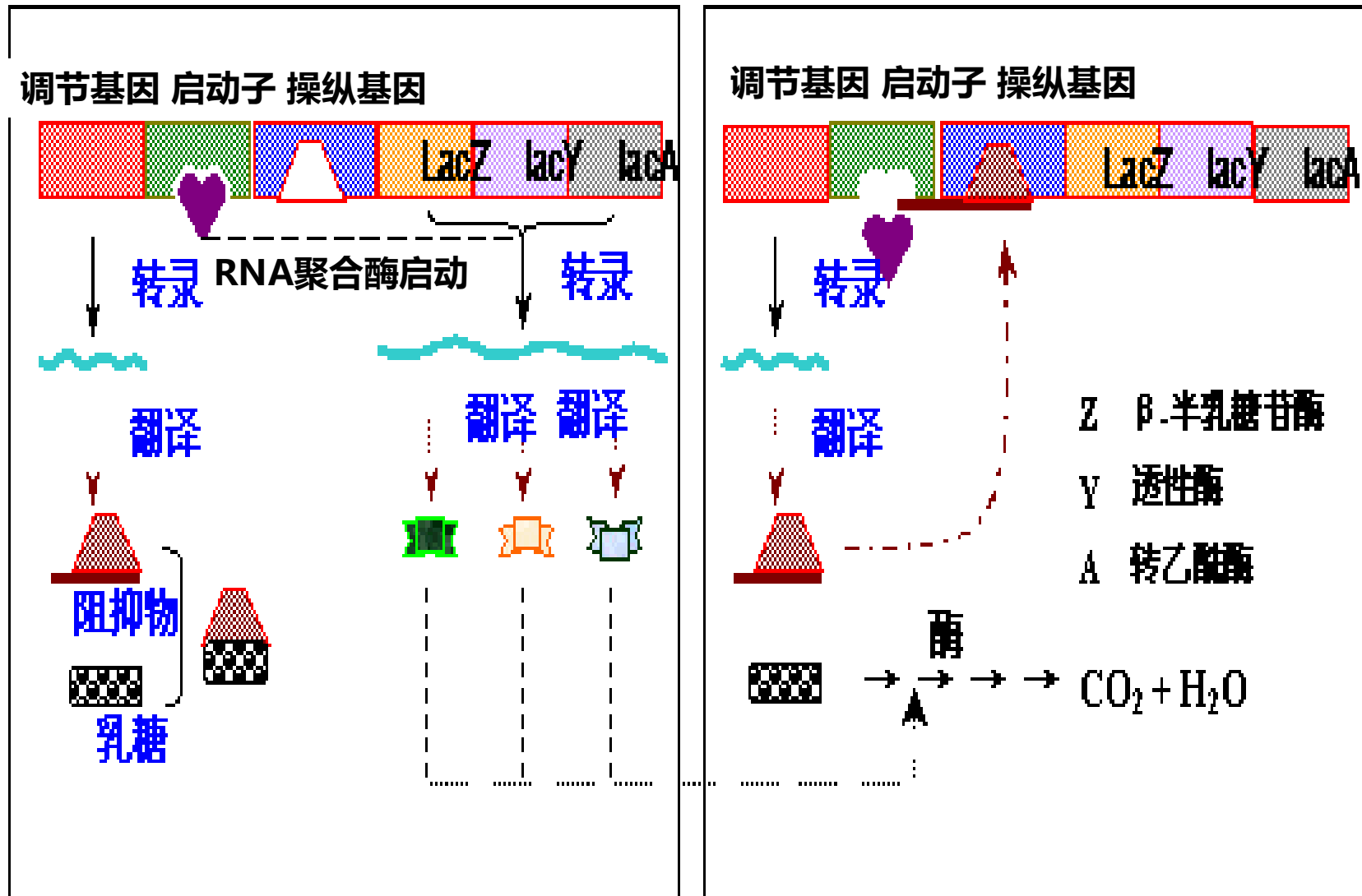
原核生物

操纵子 (operon)结构

定义：两个或两个以上功能相关的结构基因联接在一起，共同转录一个较长的mRNA分子。受同一个调节基因、操纵基因(operator)和启动子(promoter)的调控。



乳糖操纵子调控模型



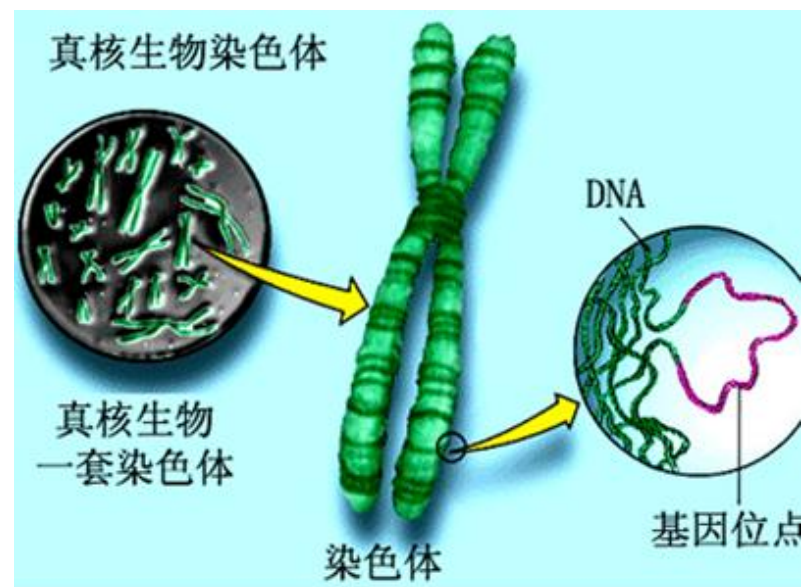
二、基因组存在的主要形式

(一) 染色体 DNA主要的存在形式。



大肠杆菌K-12菌株染色体

1.5 mm, 3000×



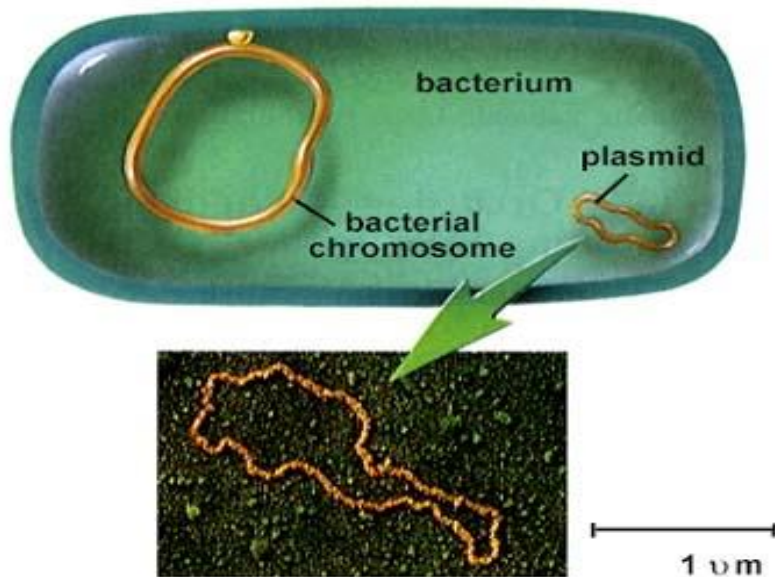
真核生物染色体

(二) 染色体以外的遗传成分

质粒DNA、转座元件和真核微生物的细胞器(线粒体和叶绿体)DNA

1、质粒 (Plasmid)

是染色体外能自主复制的遗传成分，大多以环状双螺旋DNA分子存在。



含有关于次级代谢的遗传信息

按功能分，质粒的类型有：



2、转座因子：

概念：转座子或转座因子指的是一段可以从原位上单独复制或断裂下来，环化后插入另一位点，并对其后的基因起调控作用的DNA序列。



Barbara McClintock

发现过程：

- ❑ 转座因子的最早发现可以追溯到1940年至1950年，McClintock研究了玉米胚乳的表型之间的相互关系。
- ❑ 她发现花斑表型是不稳定的，并推断是由于一种控制因子的存在所导致的。
- ❑ 1951年，McClintock提出了跳跃基因学说，认为存在一种可移动的遗传因子，可以从基因组中一个位置“跳跃”到另一个位置。

原核生物的转座因子：

类型：

(一) 插入序列 (IS)

是一类较小的转座因子，除了与转座作用有关的基因外，不带有任何其他基因，可以在染色体和质粒上发现它们。

(二) 转座子 (Transposon, Tn)

携带有某些抗药性基因或宿主基因，可以通过复制和粘贴的方式从一个位置移动到另外一个位置。

(三) 转座噬菌体

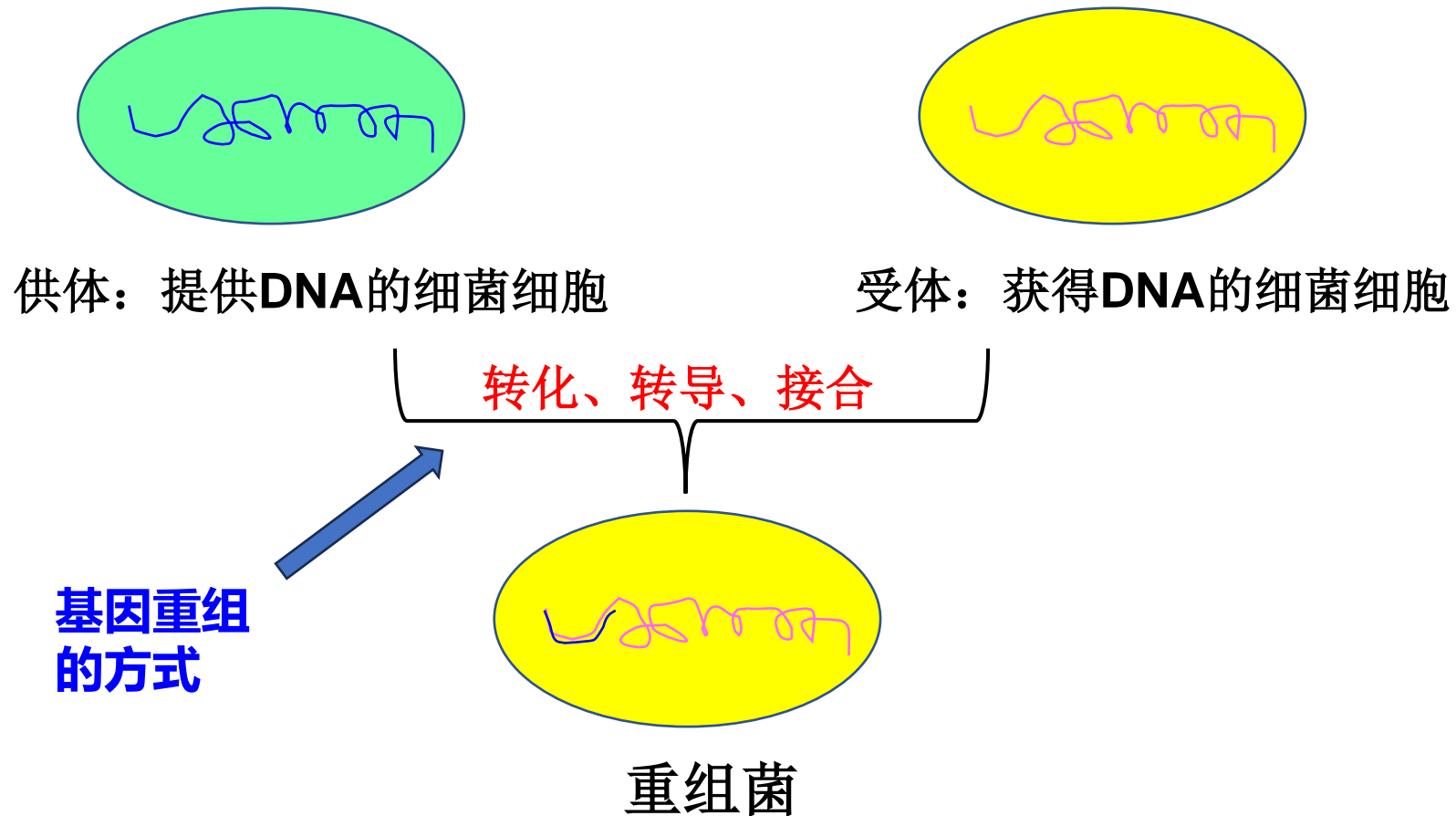
不但控制自身的复制，而且能在微生物细胞之间进行转移。

研究转座因子的意义：

转座因子可以影响细菌的基因表达、调控和进化等过程，研究转座因子对于深入了解生命的遗传学和进化机制具有重要意义。

第三节 细菌的基因重组

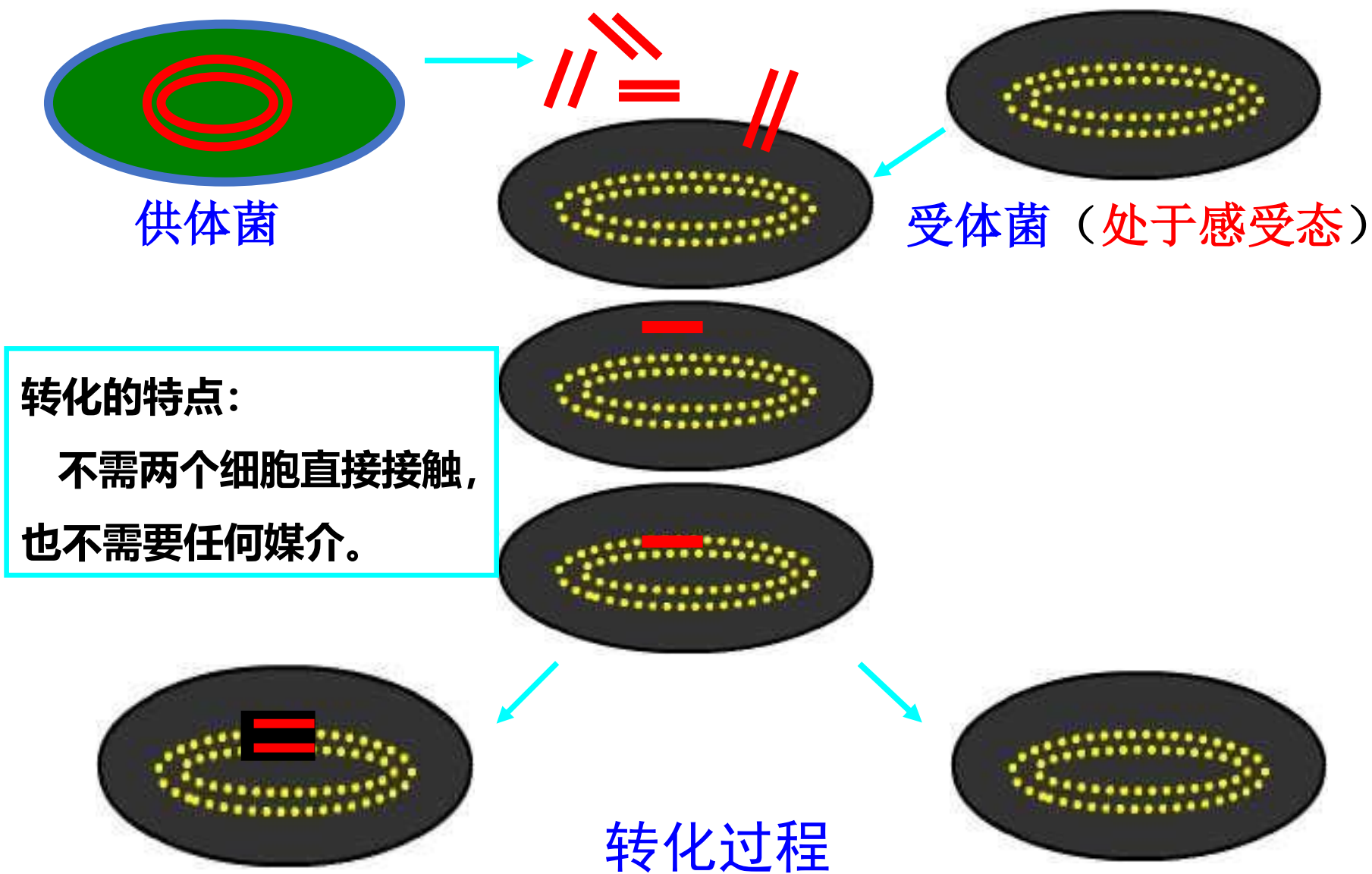
基因重组：两个不同来源的遗传物质进行交换，经过基因的重新组合，形成新的基因型的过程。



请阅读教材p194-195，回答以下问题：

- 1、转化的发生需要哪些必要条件？**
- 2、 λ 噬菌体和P1噬菌体的主要区别是什么？**
- 3、普遍转导与特异转导的主要区别是什么？**
- 4、接合转移发生的必要条件是什么？**

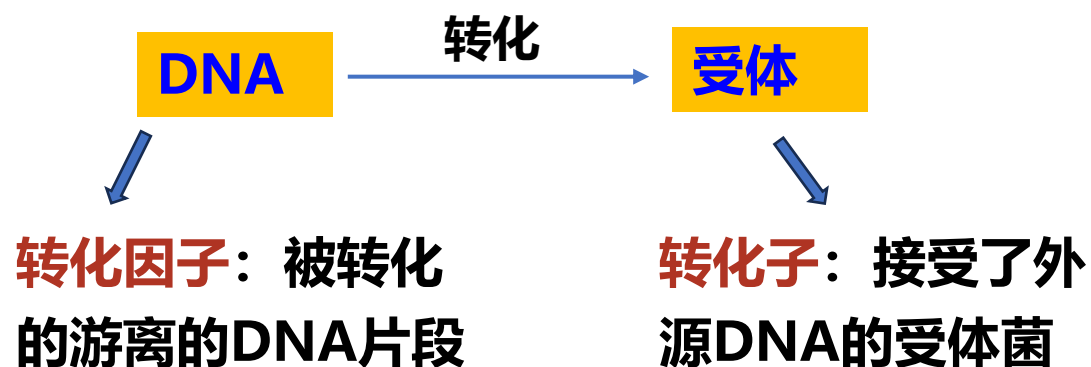
一、转化



外源DNA一旦进入受体，如果它不能单独复制，就可能产生以下3种不同的结果：

- 1、暂时存在于受体细胞中，在细胞分裂过程中丢失；**
- 2、整合到受体细胞的基因组中（同源单交换）；**
- 3、外源基因置换受体中的部分基因（同源双交换）。**

转化的定义：指**外源DNA**(从供体细胞中提取的或人工合成的)**不经任何媒介**被直接吸收到受体细胞的过程。



转化的必要条件

1) 建立**感受态**的受体细胞

自然感受态/人工感受态

2) 外源游离DNA分子（转化因子）

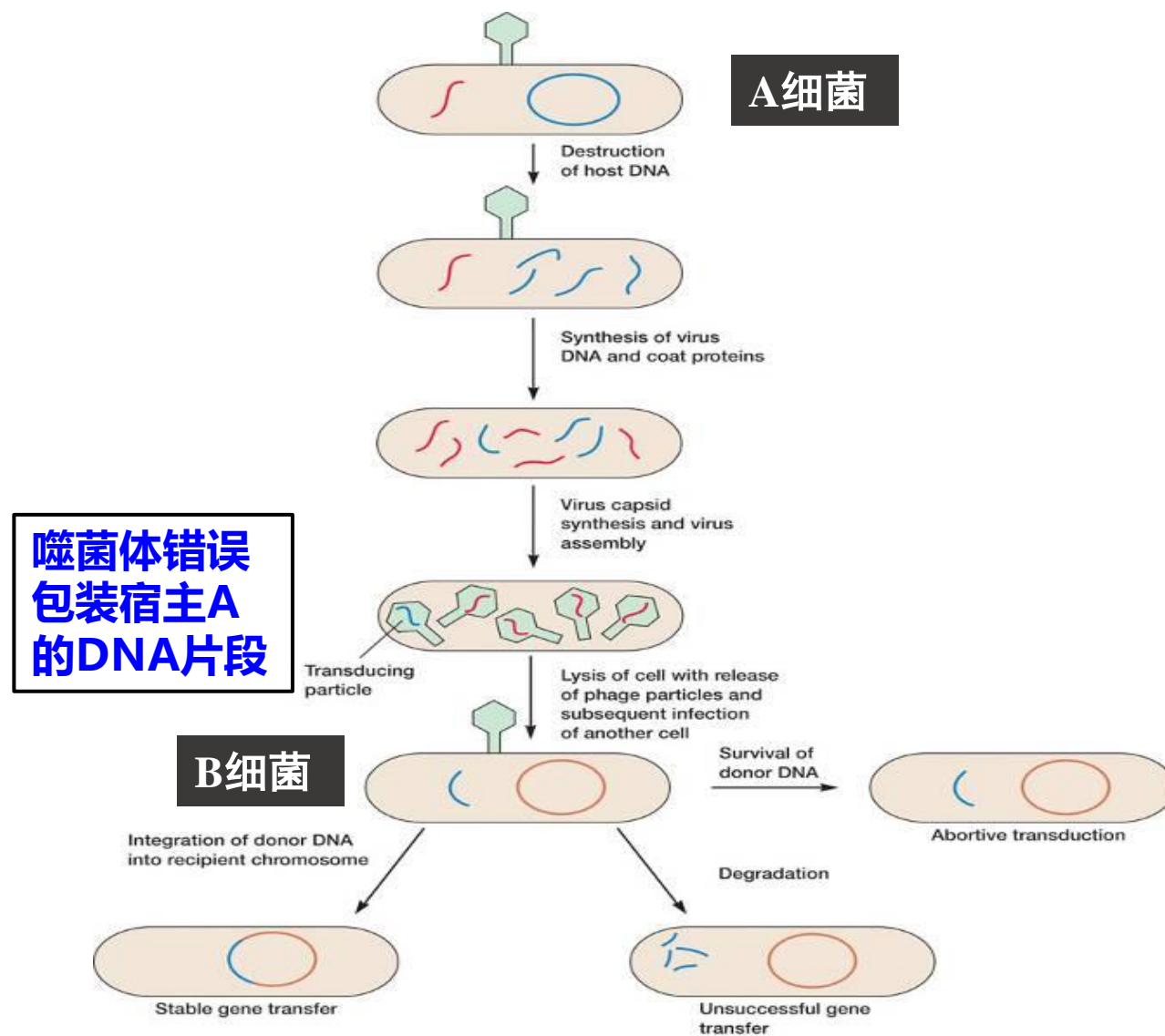
转化因子通常是双链DNA

人工转化方法

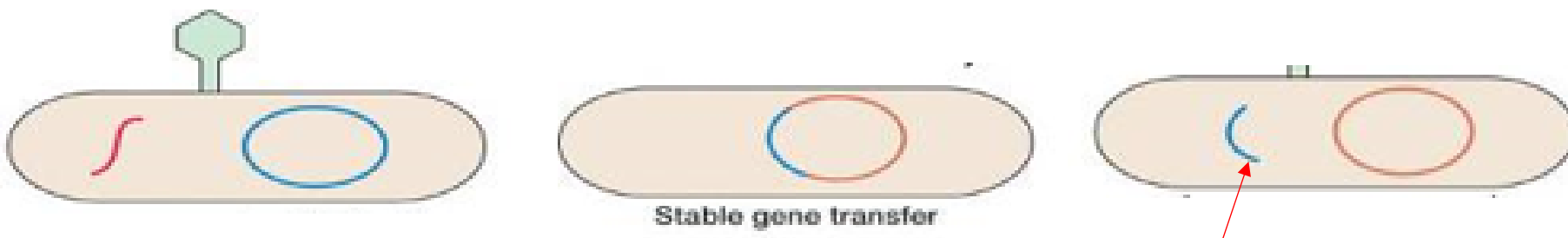
化学转化和电转化是常用的人工转化手段。

- **化学转化**：用0.1 mol/L CaCl_2 处理细胞，通过改变细胞膜的通透性从而使细胞具有摄取大分子DNA的能力，通过42℃短期热处理，促使细胞吸收DNA；
- **电转化**：用10%的甘油处理细胞，用高压脉冲电流击破细胞膜形成小孔，使各种大分子能通过这些小孔进入细胞。

二、转导



转导：是指通过**噬菌体介导**的DNA在不同细菌细胞间转移和基因重组的现象。



转导噬菌体：能将宿主的部分染色体或质粒DNA带到另一个细菌的噬菌体。

获得了由噬菌体携带来的供体菌DNA片段的受体细胞称为**转导子**。

在转导中被转移的染色体片段称为**转导因子**。

细菌转导的类型：

普遍转导

完全转导

流产转导

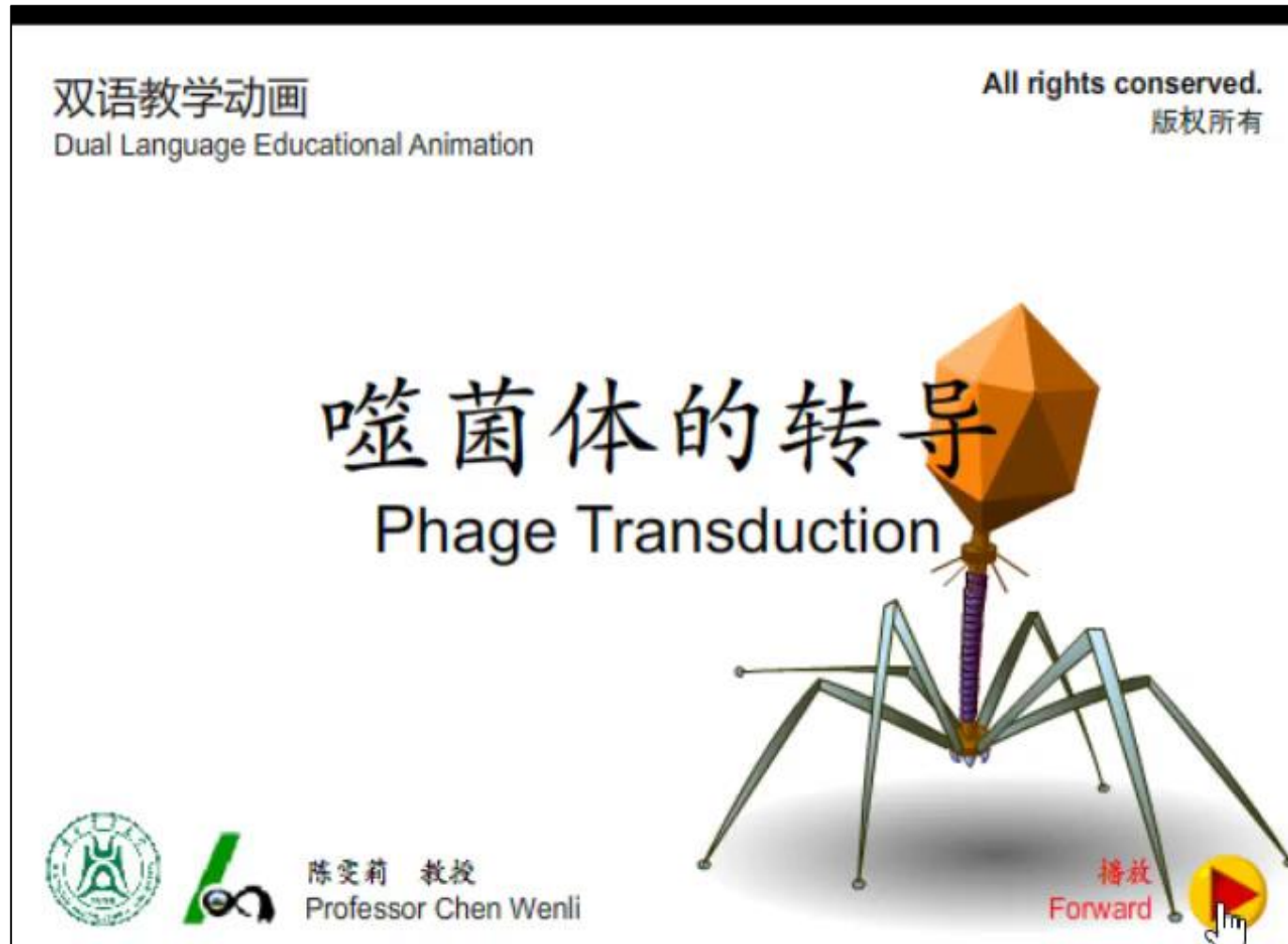
转导失败

特异转导

低频转导

高频转导

普遍转导 (generalized transduction)



“错误包装”

普遍转导 (generalized transduction)

噬菌体可以转导供体细胞染色体的任何部分到受体细胞中

1、完全转导



进入受体的外源DNA通过与细菌染色体的重组交换而形成稳定的转导子。

2、流产转导



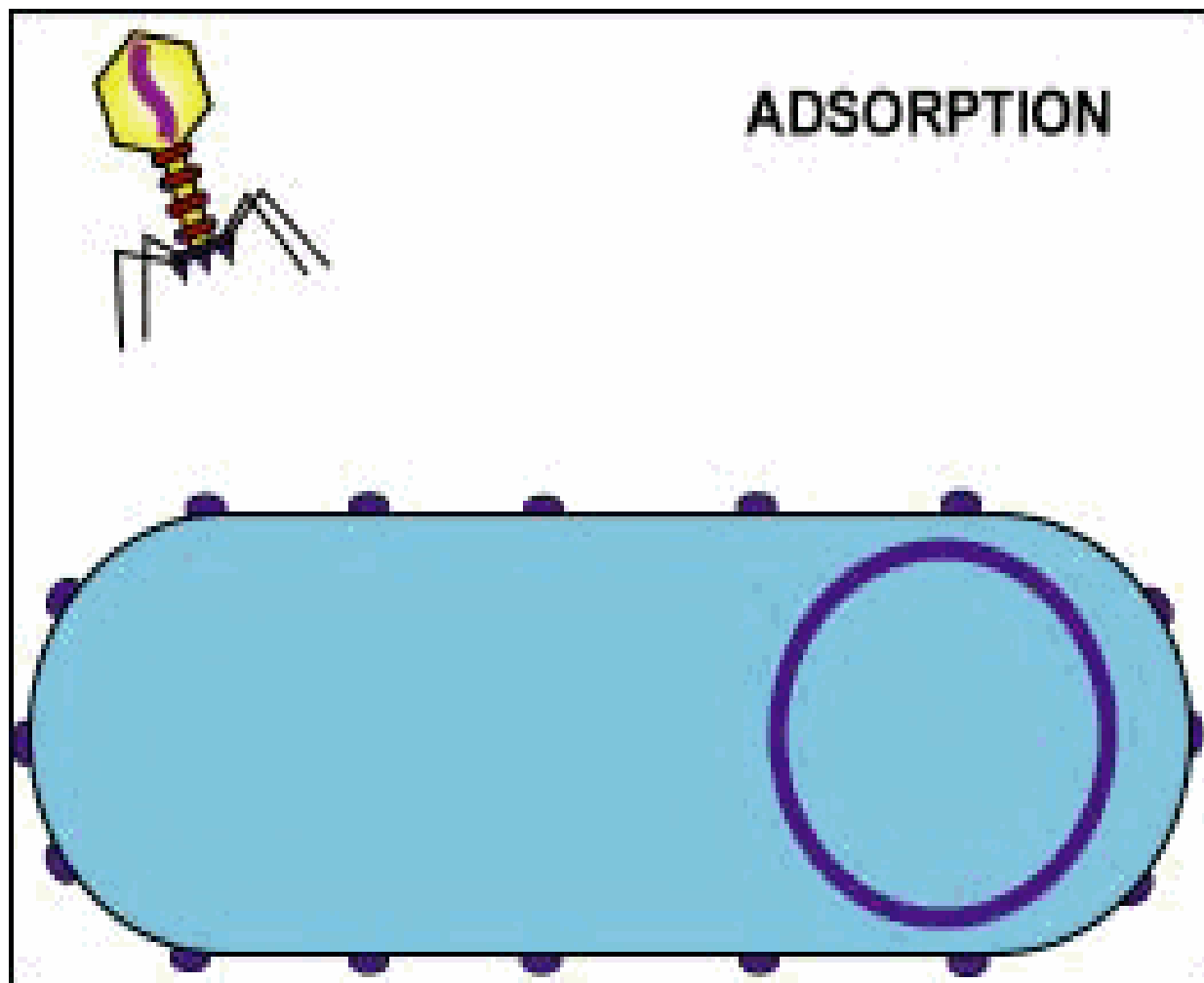
不能整合到细胞染色体上，以游离的状态存在于细胞中，通过细胞分裂只能传给一个子细胞，这种方式叫做**流产转导**；

3、转导失败。

外源DNA被降解



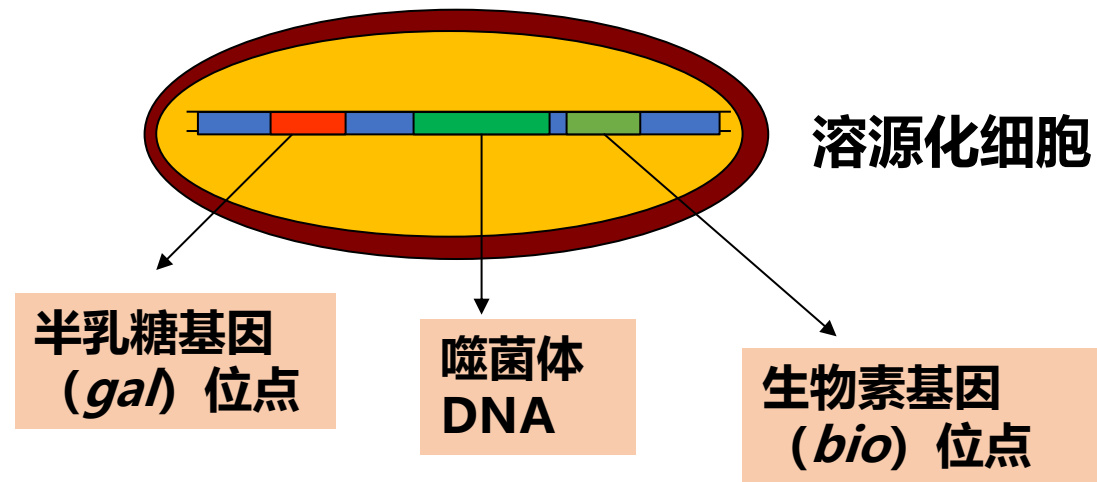
特异转导 (generalized transduction)



“错误切离”

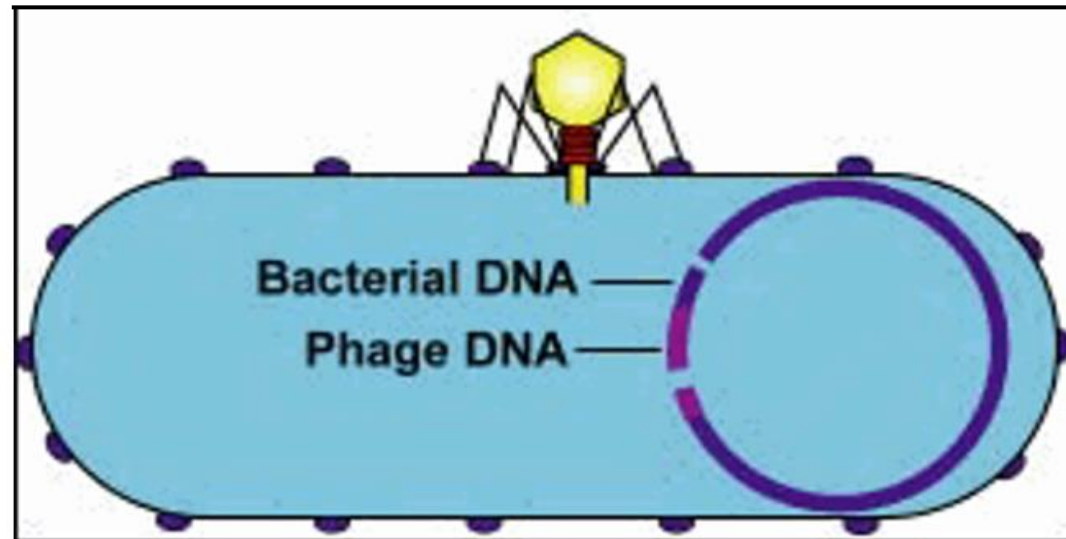
特异转导 (specialized transduction)

噬菌体只能将**供体菌特定的一个或几个基因**转移到受体菌中的转导现象。



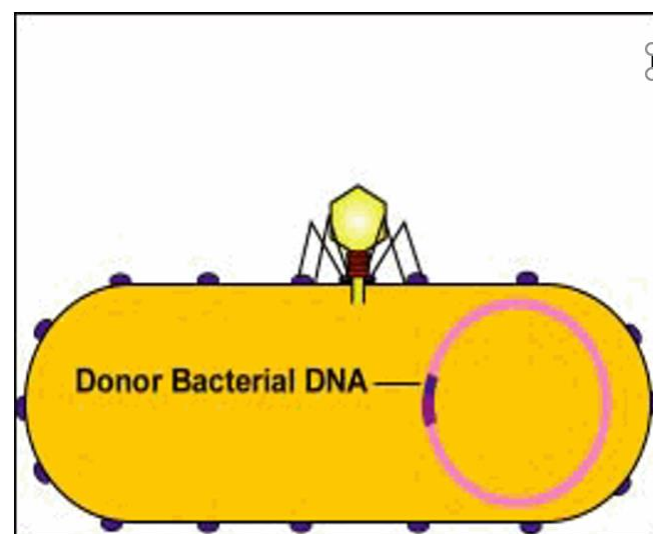
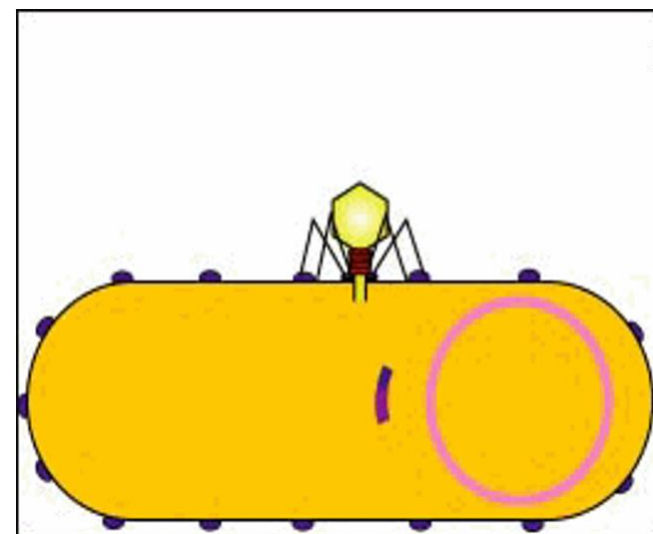
- ◆ 导致局限性转导的一般都是温和噬菌体，他们在供体菌的染色体上具有特定的整合位点。
- ◆ λ 原噬菌体位于K12菌株染色体上半乳糖利用基因 (*gal*) 和生物素合成基因 (*bio*) 之间。

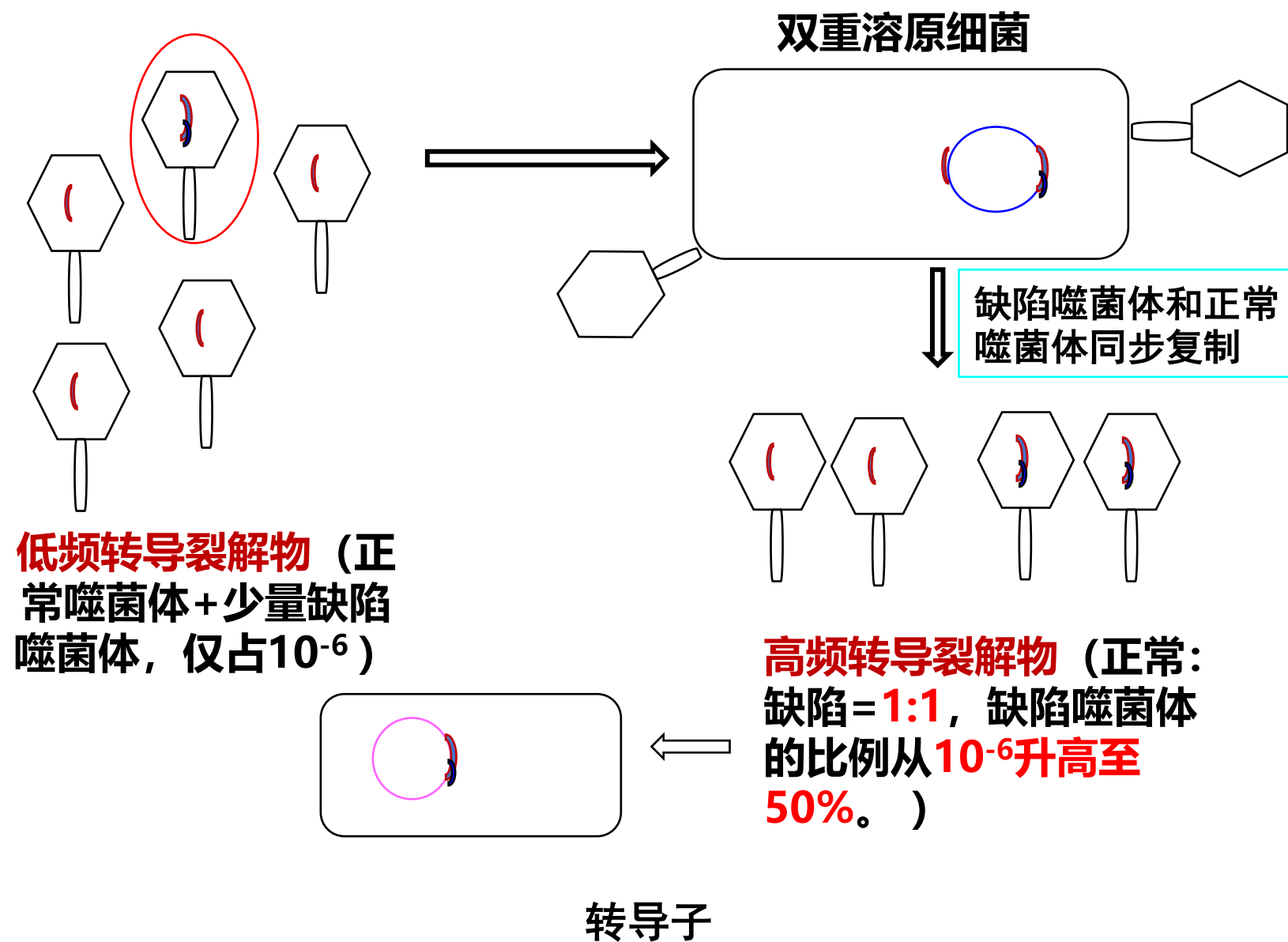
当 λ 原噬菌体脱离染色体而成为游离噬菌体时，约有 10^{-6} 个原噬菌体发生错误切离而形成缺陷噬菌体。这种缺陷噬菌体要么带有gal基因，称为 λ dgal；要么带有bio基因，称为 λ dbio。



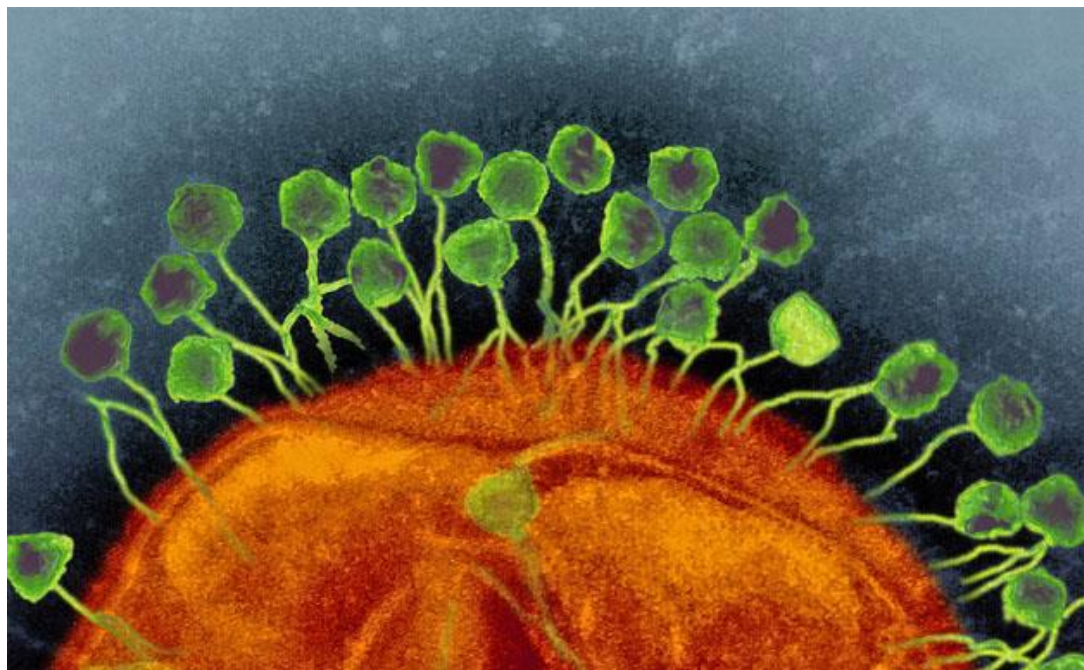
这种缺陷噬菌体亦是转导噬菌体，它具有感染能力，能整合到寄主染色体相同的位点上形成稳定的转导子。

所得转导子的频率比较低，约为 10^{-6} ，称为**低频转导**。





高频转导：在局限转导中，若对双重溶源菌进行诱导，就会产生含50%左右的局限转导噬菌体的高频转导裂解物，用这种裂解物去转导受体菌，就可获得高达50%左右的转导子。



特异转导与普遍转导的主要区别：

- ① **特异转导**中被转导的基因与噬菌体DNA一起被导入受体细胞中（**错误切离**）；

普遍性转导包装的可能全部是宿主菌的基因（**错误包装**）。

- ② **特异转导**颗粒携带**特定的染色体**片段并将特定的个别基因导入受体

普遍转导携带的宿主基因具有**随机性**

在 [填空1] 转导中，噬菌体可以转导给体细胞染色体的任何部分；而在 [填空2] 转导中，噬菌体总是携带同样的片段到受体细胞中。

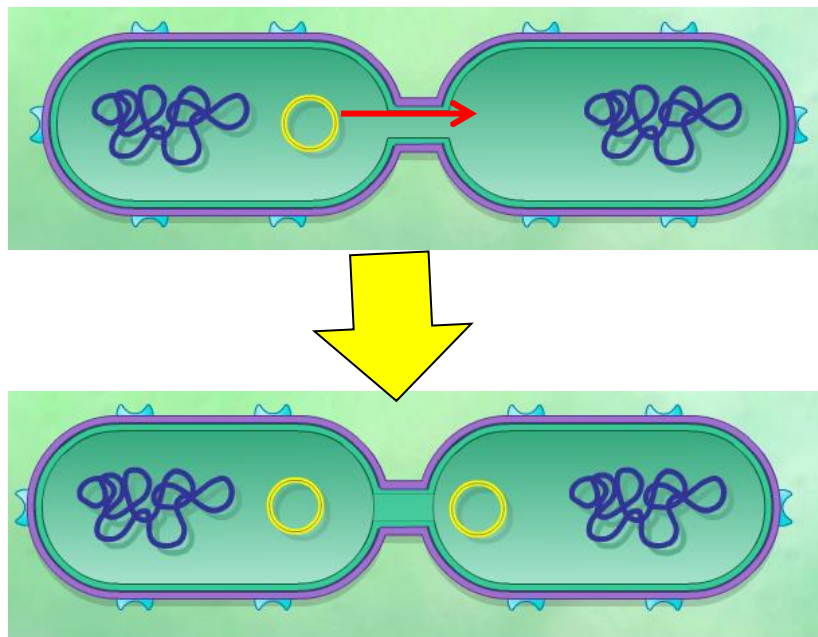
正常使用填空题需3.0以上版本雨课堂

作答

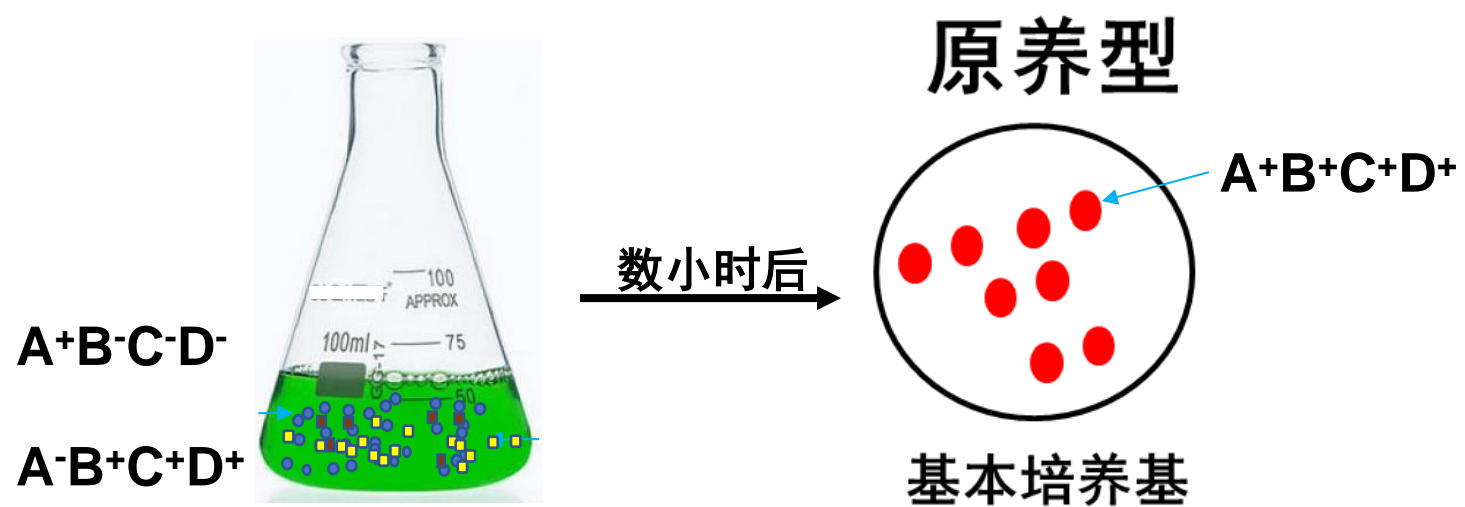
三、接合

1、接合的定义

接合 (Conjugation)：通过细胞与细胞的直接接触而产生的遗传信息的转移和重组过程



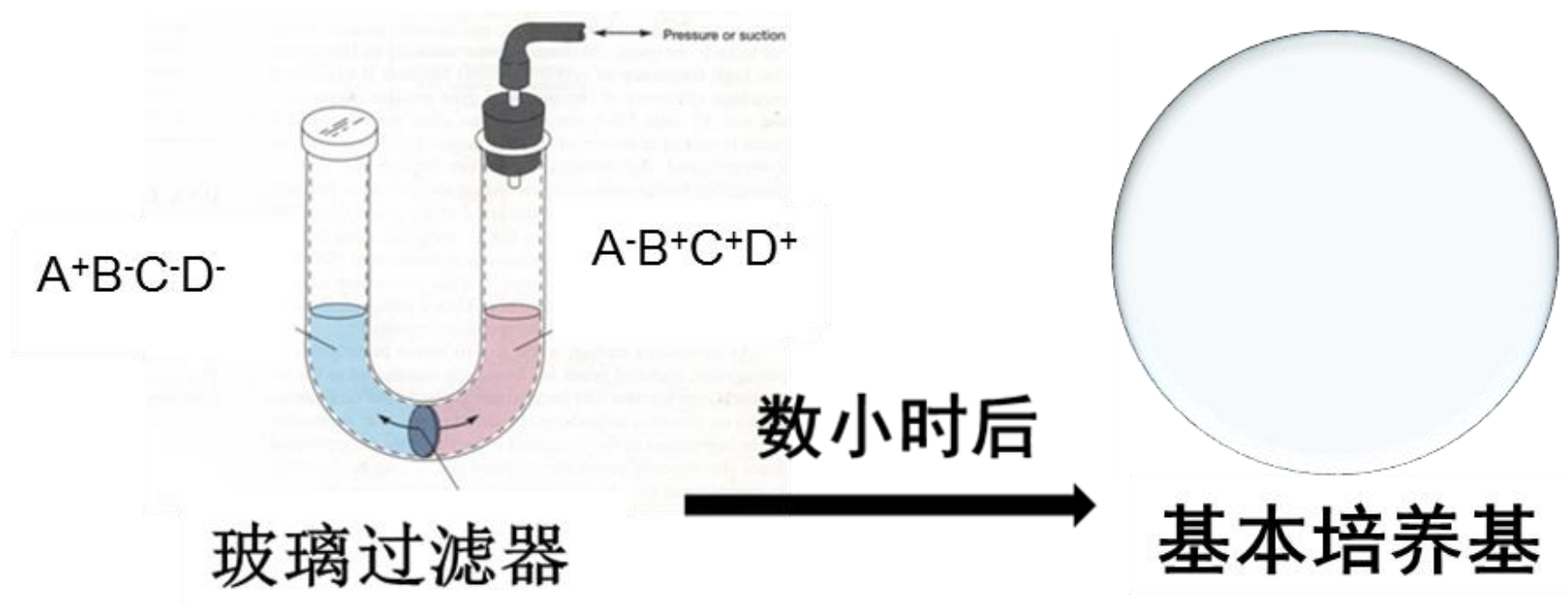
2、接合现象的发现



不能合成其生存所必须的营养物称为**营养缺陷型**。

3、接合的必要条件

证实接合过程需要细胞间的直接接触的
“U”型管实验（ Bernard Davis, 1950 ）

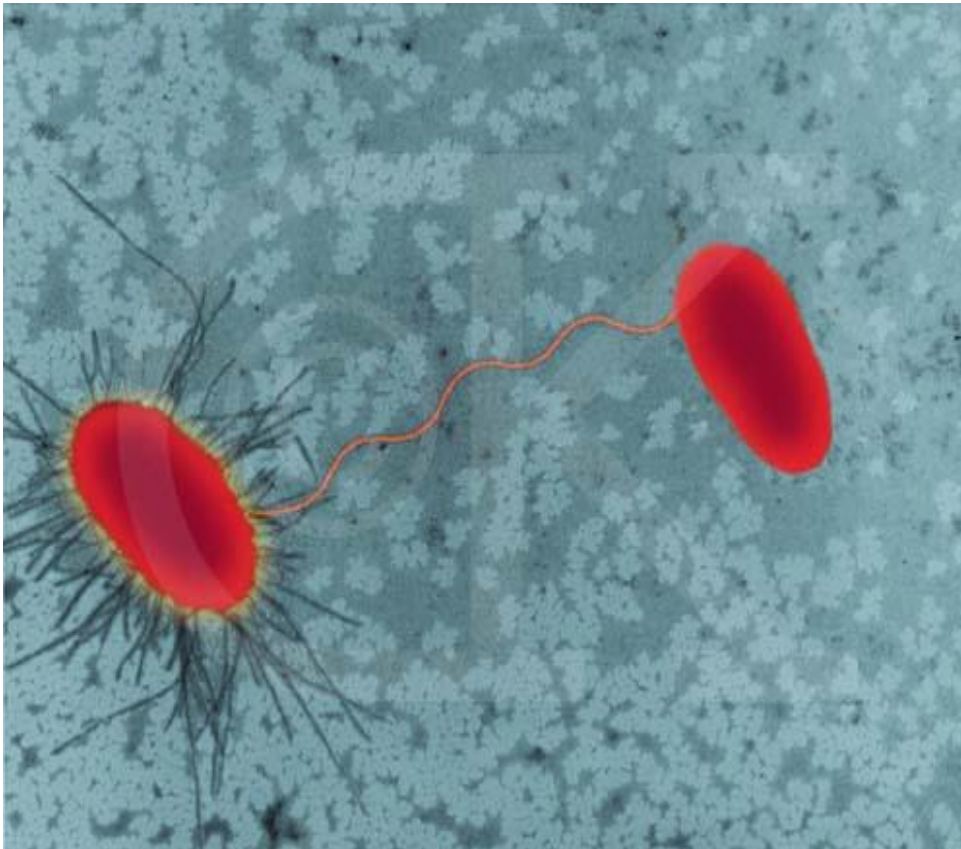


培养液可以流过玻璃过滤器，营养物质可以交换，但是细胞不能通过。

两个缺陷型细胞分开时，
基因转移和重组不能进行

接合机制(*E. coli*)

接合作用是由一种被称为**F因子**的质粒介导，上面有细菌产生性菌毛及控制接合过程进行的20多个基因。

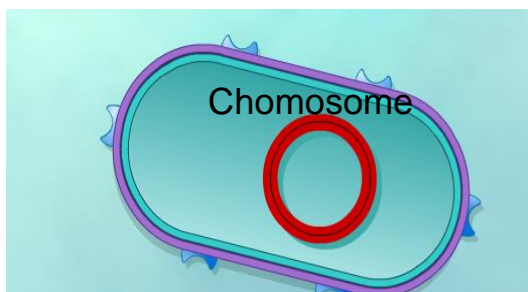


F因子特点：

- 1) 可经接合作用而获得；
- 2) 可通过一些理化因素（如EB或丝裂霉素等）的处理，而从细胞中消失；
- 3) 在大肠杆菌中，F因子的DNA含量约占总染色体含量的2%。

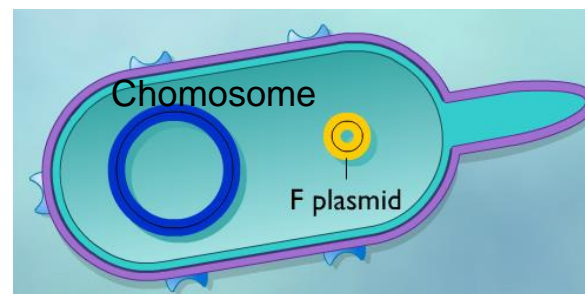
4.1 F因子的四种细胞形式

F⁻菌株 “雌性”

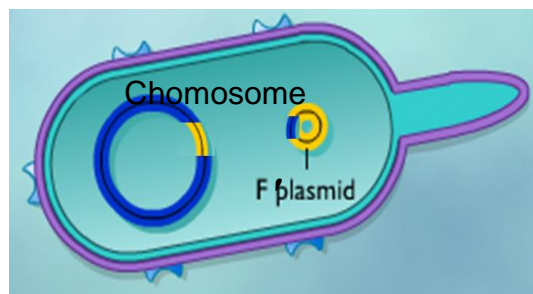


细菌表面**无**性菌毛

F⁺菌株 “雄性”

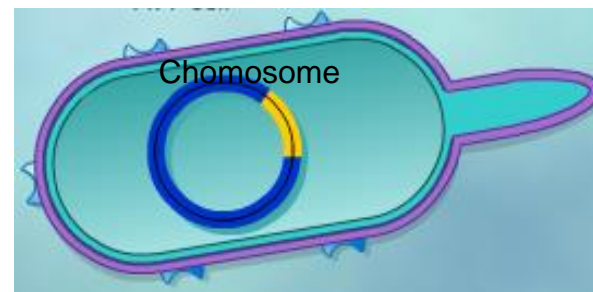


细菌表面有菌毛



F' 菌株 “超雄菌株”

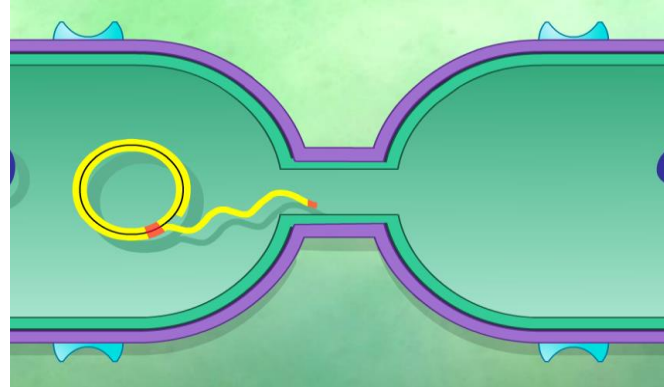
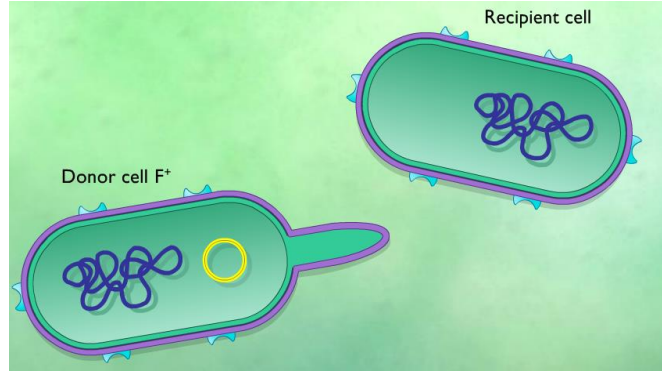
细菌表面有菌毛



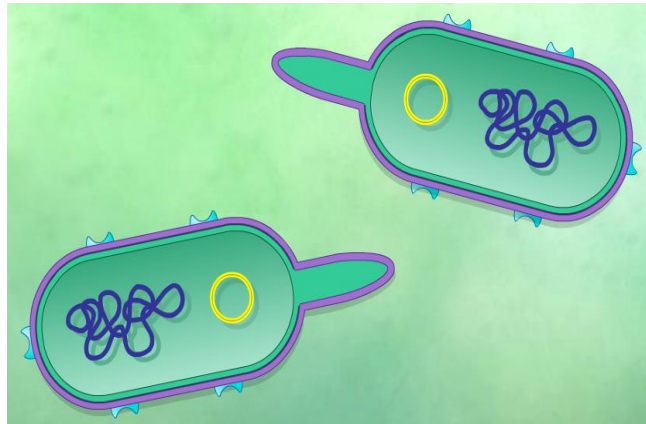
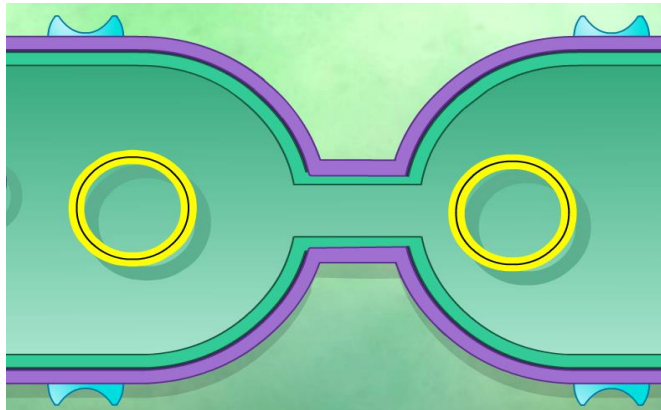
Hfr 菌株又称 “高频重组菌株”

细菌表面有菌毛

4.2 “ $F^+ \times F^-$ ” \rightarrow “ $F^+ + F^+$ ”

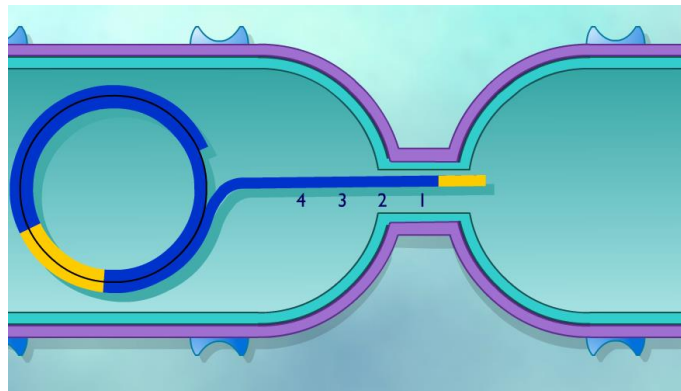
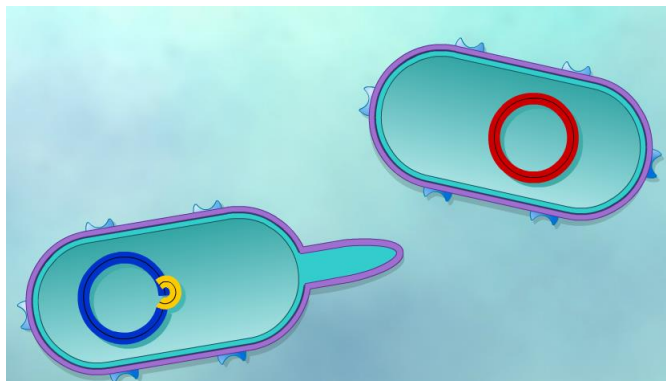


两细胞接触以后，F因子出现缺口，双链之一被切断，从断端转移F因子的一条链到雌细胞中。

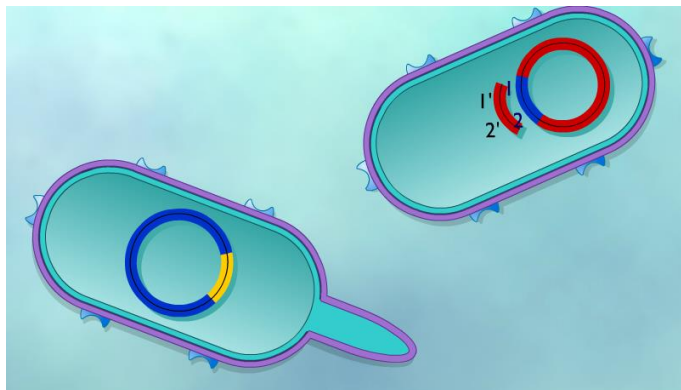
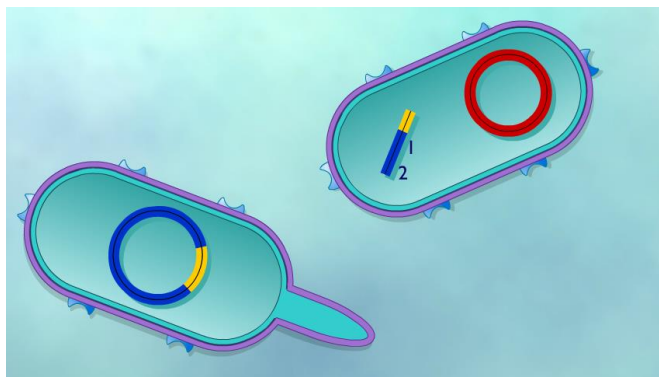


F因子的一条链一进入雌细胞中后，在雌细胞中复制新的F因子从而变成雄细胞，原有雄细胞也完成F因子另一条链的复制。

4.3 “Hfr×F⁻” → “Hfr + F⁻”

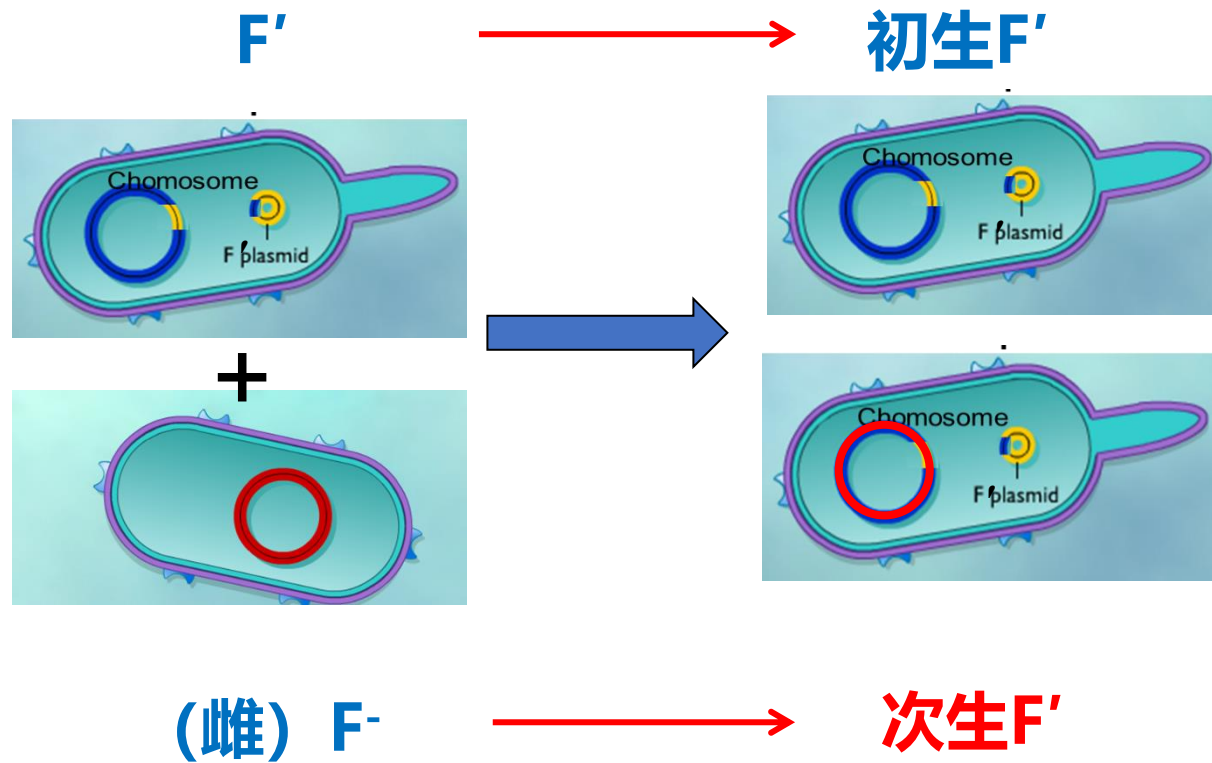


F因子的先导区(leading region)结合着染色体DNA向受体细胞转移，由于转移过程常被中断，因此F因子剩余部分不易转入受体细胞中。



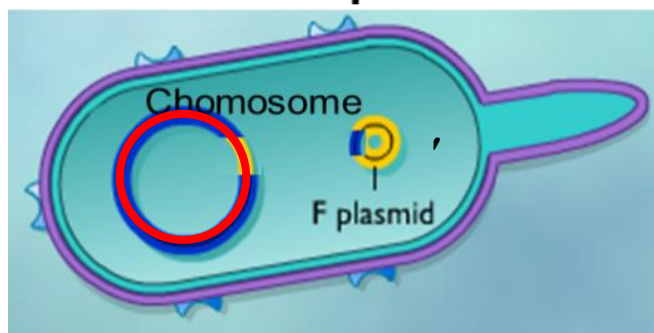
染色体上越靠近F因子先导区的基因，进入的机会就越多，在雌细胞中出现重组子的频率越高。

4.4 “F' × F⁻” → “初生F' + 次生F'”



F因子转导

次生F'



受体既获得了F因子，又获得了来自F'菌株的若干遗传性状。以这种接合来传递供体菌基因的方式，称为F因子转导、性导。

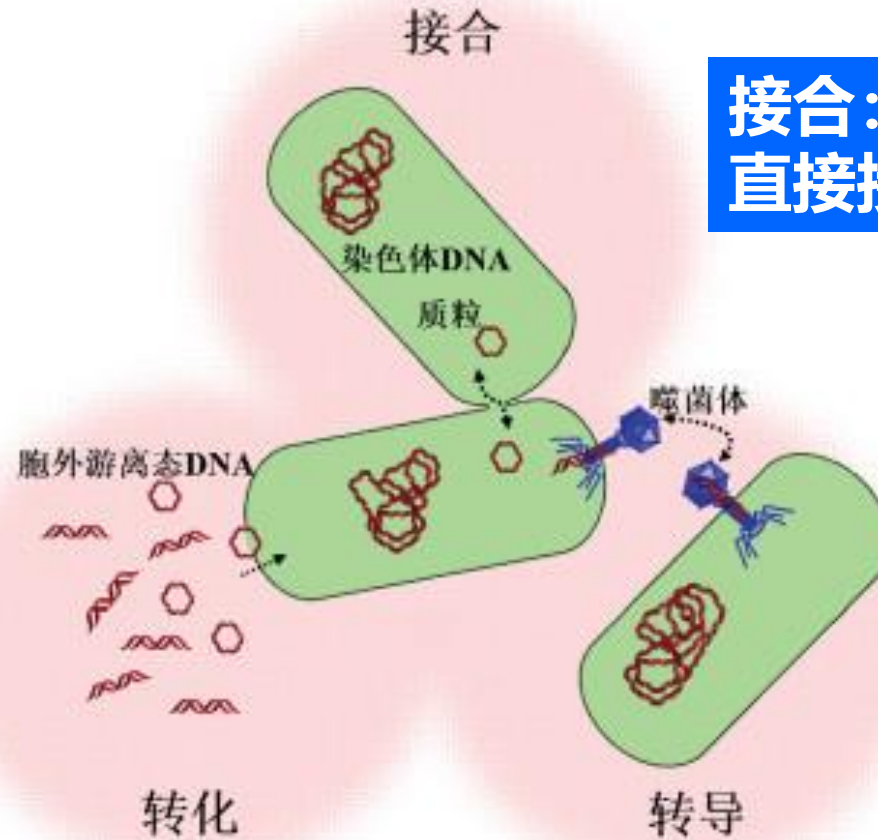
在次生的F'群体中，大约有10%的F'因子重新整合到染色体组上，而恢复成Hfr菌。

接合机制(*E. coli*)



小结:

转化：不需要任何媒介，供体DNA提取出来，注入到受体即可。



接合：需要供体和受体细胞直接接触，由F因子所介导。

转导：以噬菌体为媒介。

第四节 微生物诱变育种

诱变育种：指利用各种诱变剂处理微生物细胞，提高基因的随机突变率，通过一定的筛选方法获得所需要的高产优质菌株。

一、常见的微生物突变体类型（按表型）：

- 营养突变型
- 形态突变型
- 生化突变型
- 抗性突变型
- 条件致死突变型

1、营养缺陷型 (auxotroph)

由于基因突变使得野生型菌株丧失合成一种或几种生长因子的能力，导致其在**基本培养基上无法生长**的突变类型。



负选择标记

2、抗性突变型 (resistant mutant)

对某种化学药物或物理因子产生抗性的突变型。

3、条件致死突变型(conditional lethal mutant)

在某一条件下可以生存，而在另一条件下致死的突变型（如温度敏感型，如一类大肠杆菌突变株在42 °C下致死，在25-30 °C 下生存）。

4、形态突变型(morphological mutant)

指菌体或菌落形态发生改变的突变型（如原本是光滑的，变成有褶皱的）。

5、代谢突变型

如毒力、糖发酵能力、代谢产物的种类和产量以及对某种药物的依赖性突变型等。

二、诱发突变的因素和原理

1、诱发突变的定义

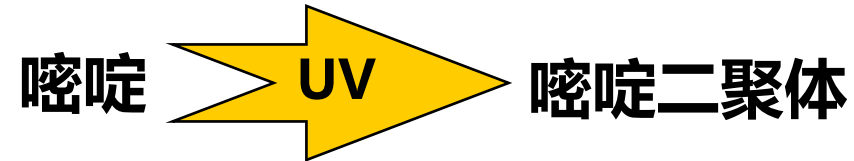
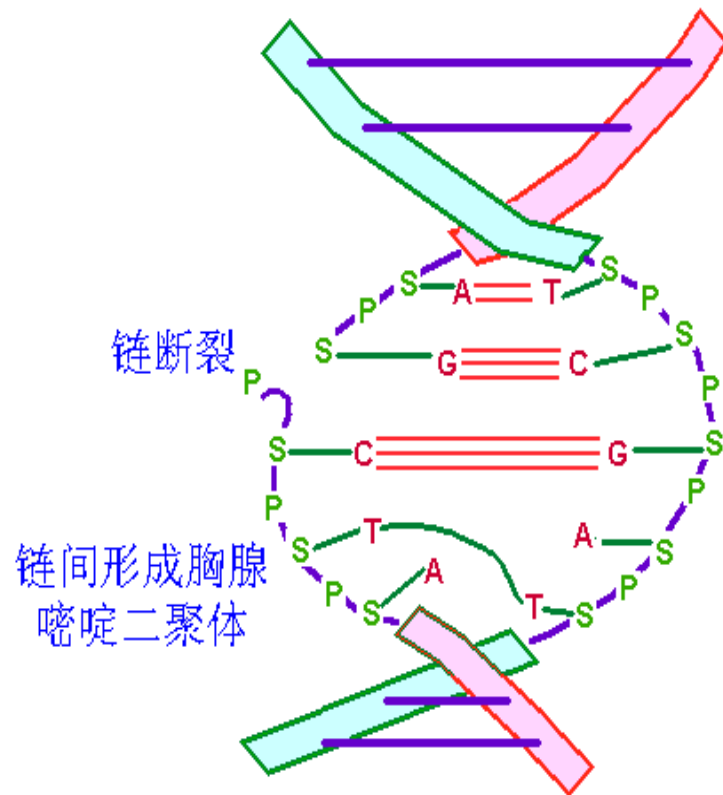
诱发突变：利用物理、化学和生物因素人工诱发产生的基因突变。

诱发突变与自发突变没有本质的差别，诱发突变可以大大提高突变率！

2、物理诱变

紫外线、激光、离子束、X射线、 γ 射线等

紫外线引起DNA突变的机制：

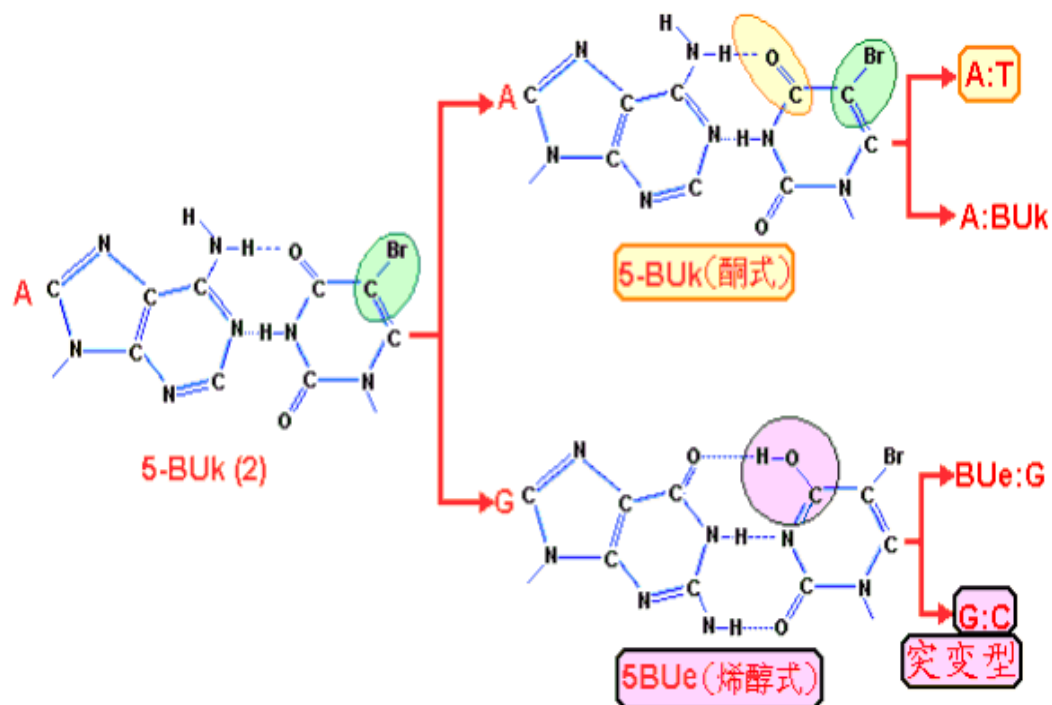


二聚体出现会引起双链结构扭曲变形，妨碍双链的解开，阻碍碱基间的正常配对，从而有可能引起突变或死亡。

3、化学诱变

A、碱基类似物

是一类分子结构与DNA中的碱基非常相似的化合物。



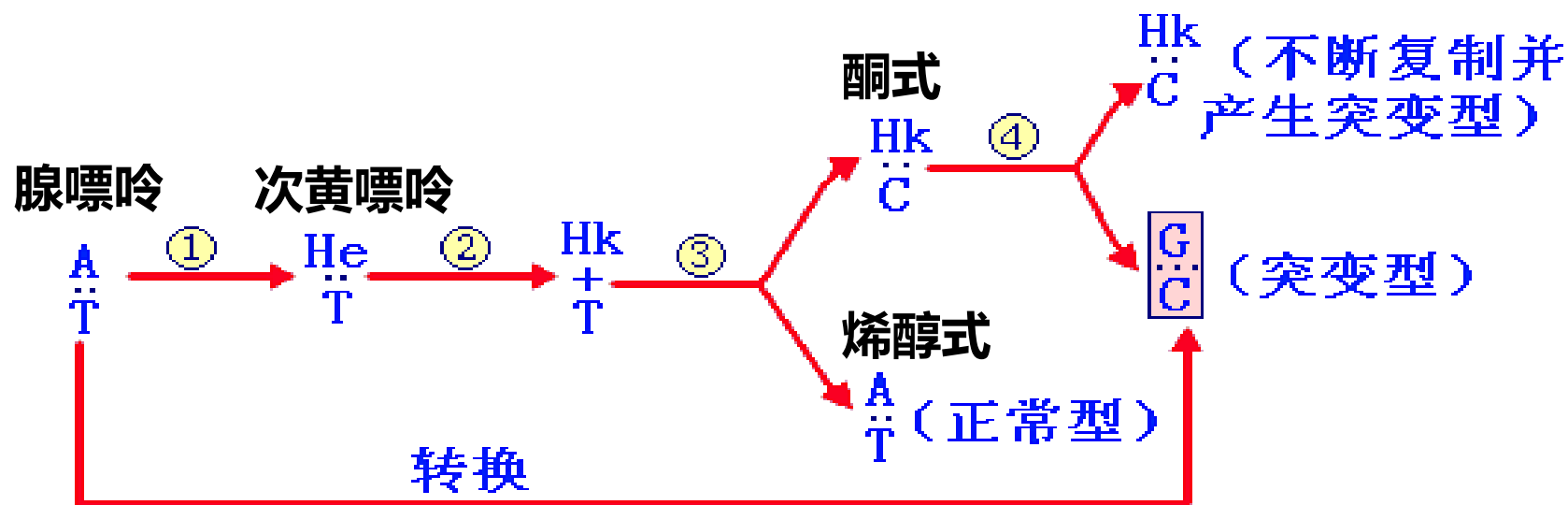
第一轮复制

第二轮复制（若由酮式变成烯醇式就会发生AT → GC）

5-BUK和T有类似的分子结构，以酮式或烯醇式两种形式存在，以酮式存在时与**A**配对，以烯醇式存在时与**G**配对。

B、化学修饰碱基的诱变剂

亚硝酸可使碱基发生氧化脱氨，使腺嘌呤变成次黄嘌呤。

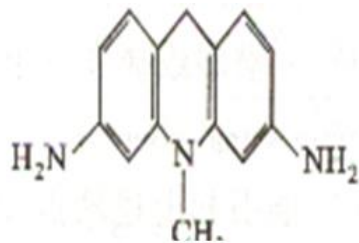


由亚硝酸引起的A:T→G:C转换简图

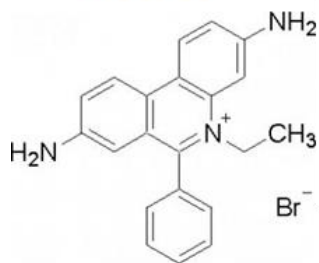
C、嵌入诱变剂 → 引起移码突变



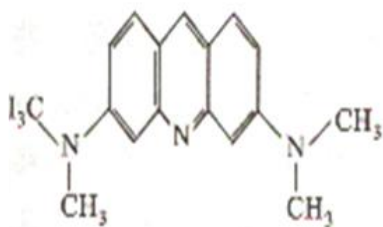
原黄素



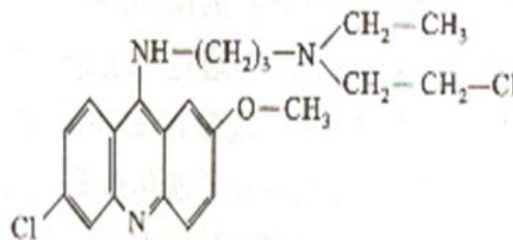
吡啶黄



溴化乙锭 (EB)



吡啶橙



ICR-100

吡啶类化合物的分子多数是扁平的，能够插入到DNA的碱基对之间，使原来相邻的两个碱基对彼此分开，若DNA正在进行复制，很容易插入一个或两个碱基，引起移码突变。

三、诱变育种的过程

(1) 使用简便有效、安全的诱变剂

物理因素：紫外线、X射线等

化学因素：5-溴尿嘧啶，亚硝基胍等

(2) 选用优良的出发菌株

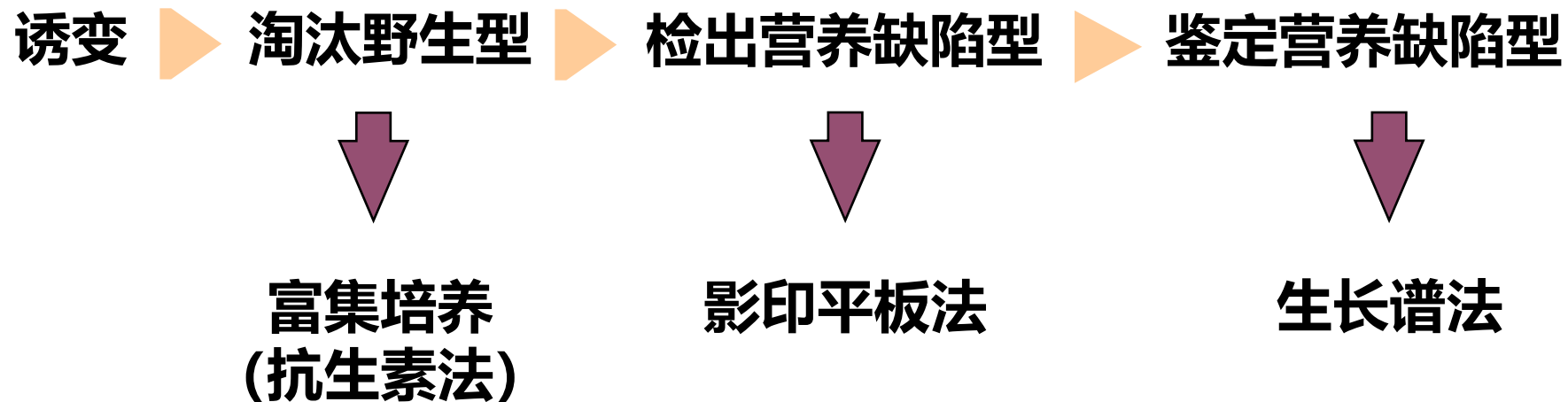
(3) 处理单细胞或单孢子悬浮液

(4) 使用最佳的处理剂量（一般将致死率控制在70%）

(5) 设计高效率筛选方案

突变株的筛选：
产量突变株的筛选
抗药性突变株的筛选
营养缺陷型突变株的筛选

设置一定的条件，允许突变体生长而野生型不能生长



(一) 淘汰野生型，浓缩营养缺陷型：

1、抗生素法：常用的有青霉素法和制霉菌素法。

将诱变处理后的细菌接种到含有一定浓度抗生素的基本培养液中，野生型能生长被杀死，营养缺陷型不能生长则被保留而达到浓缩的目的

2、菌丝过滤法：仅适用于真菌

3、差别杀菌法：对于产孢子（或芽胞）的微生物

(二) 营养缺陷型的检出：

1、逐个检出法：

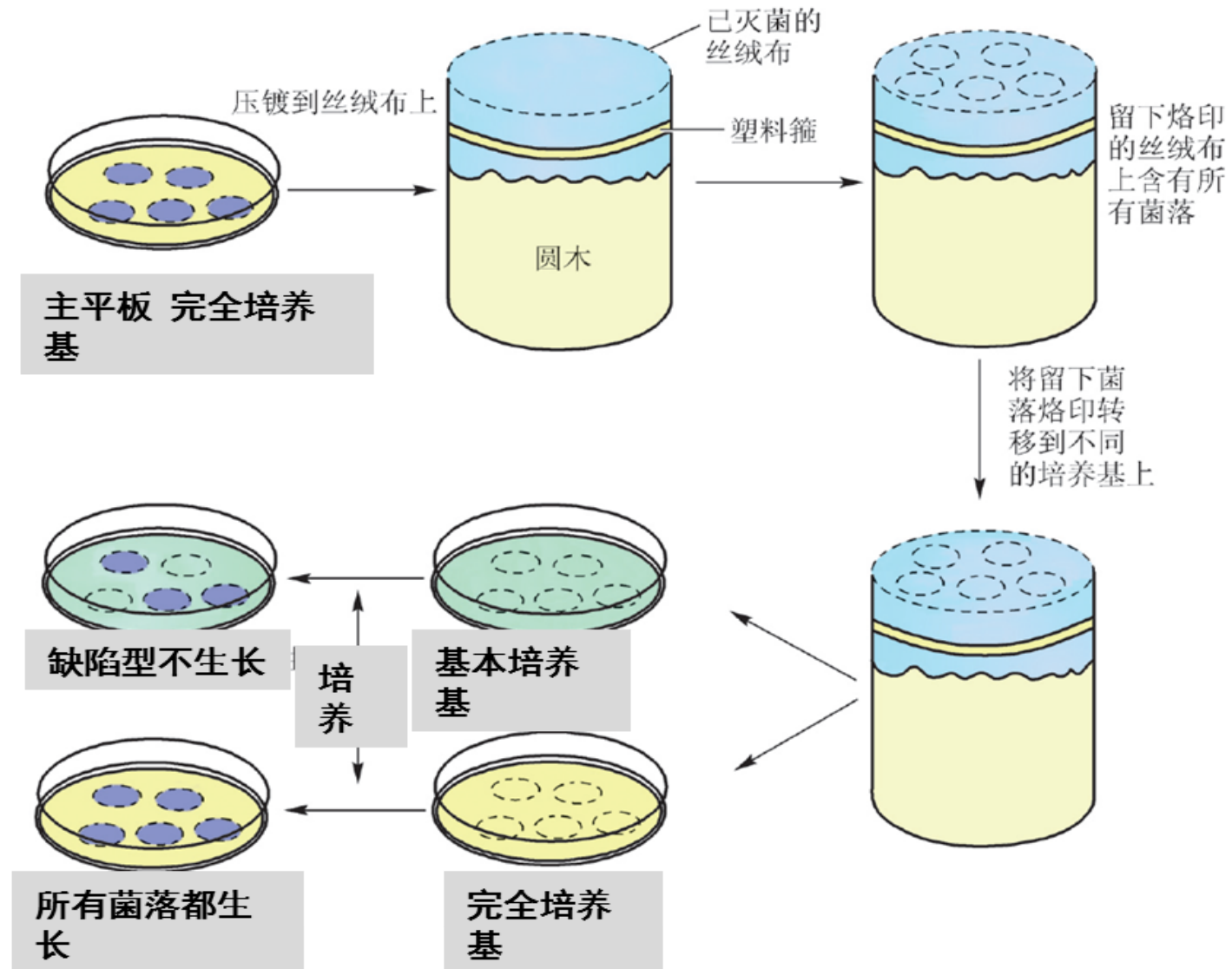
将诱变处理后的细胞涂布到完全培养基上，待形成单个菌落后，将这些菌落逐个地分别点种到基本培养基和完全培养基上，对比，挑基本培养基上不长的。

2、限量补充培养法：

将处理后的细胞接种在含有微量蛋白胨的基本培养基上，野生型逐渐长成较大的菌落，缺陷型长成较小的菌落，若需筛选某一特定的营养缺陷型，加入某一特定物质即可。

3、影印接种法

影印接种法



(三) 营养缺陷型的鉴定：

生长谱法：

营养缺陷型细胞离心，无菌水清洗



稀释后与基本培养基混合，倒平板



将平板分区，按区加上微量待鉴定缺陷型所需的营养物（滤纸片法）



经培养后

观察，若发现某一营养物周围有生长圈，就说明此菌为该营养物的营养缺陷型突变株。

思考题：

细菌基因重组有哪些方式，分别是怎么定义的，发生重组的必要条件又是怎样的？如果需要阻断这种重组，你可以采取什么措施？

提交截止时间：6月22日23:30（本周日）



Thank you for your attention!