

第七章 微生物的遗传变异和育种

Contents

第一节 遗传变异的物质基础

第二节 基因突变与诱变育种

第三节 基因重组和杂交育种

第四节 基因工程

几个概念

◆遗传 (Heredity, Inheritance)

一切生物体最基本的属性之一

生物的亲代传递给子代一套遗传信息的特性。即子代与亲代在形态、生理等方面的相似性

◆遗传型 (基因型Genotype)

生物体所携带的全部遗传因子或基因的总称

遗传型代表了可能性，在环境条件下的作用为表型

◆表现型 (现实型Phenotype)

具有一定遗传型的个体在特定的外界环境中，通过生长发育所表现出来的种种形态和生理特征的总和

◆变异 (Mutation)

生物体在某种外因或内因的作用下所引起的遗传物质结构或数量的改变，即遗传型的改变。发生几率极低，性状变化幅度大，新性状稳定可遗传。

◆饰变 (Modification)

一种不涉及遗传物质结构改变而发生在转录、翻译水平上的表型变化。

饰变的特点：发生几率高；性状变化幅度小；不遗传。同一遗传型在不同外界条件下所呈现的表现型的差异。

突变与饰变的实例——*Serratia*

粘质沙雷氏菌

*Serratia marcescens*产生色素与温度有关



微生物作为模式生物生物学特性

- ♪ 物质与代谢类型的多样性
- ♪ 个体体制极其简单
- ♪ 营养体一般都是单倍体
- ♪ 菌落形态的可见性和多样性
- ♪ 环境条件作用的直接性和均一性
- ♪ 容易形成营养缺陷型菌株
- ♪ 相应的病毒
- ♪ 存在于进化过程中
- ♪ 原始有性生殖方式

第一节 遗传变异的物质基础

一、遗传物质化学本质的确证

- ◆1928年, F.Griffith; 1944年O.T.Avery肺炎链球菌 (*strptococcus pneumoniae*)转化实验.
- ◆1952年, A.D.Hershy、M.Chase的噬菌体感染实验
- ◆1956年, H.Fraenkel-Conrat的植物病毒重建实验

1、肺炎双球菌转化实验

◆*S.Pneumoniae*肺炎双球菌的特性

●光滑型（Smooth, S型）

荚膜，人肺炎、鼠败血症

●粗糙型（Rough, R型）

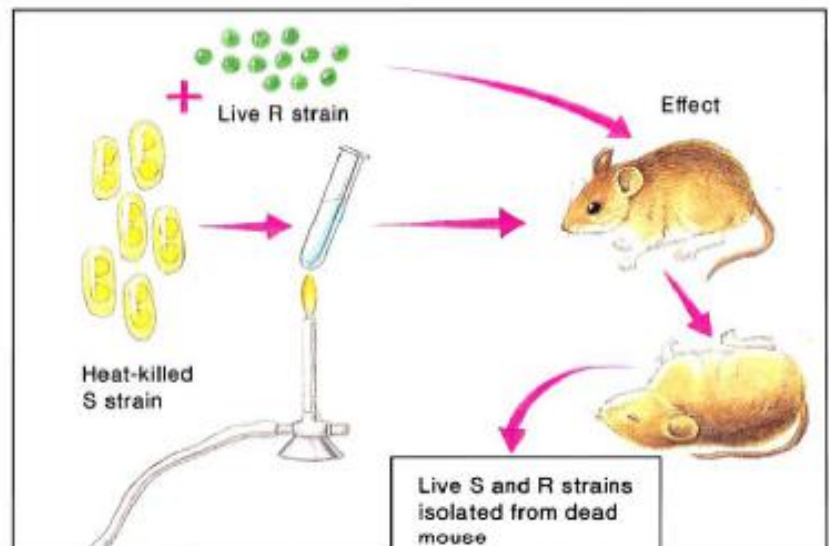
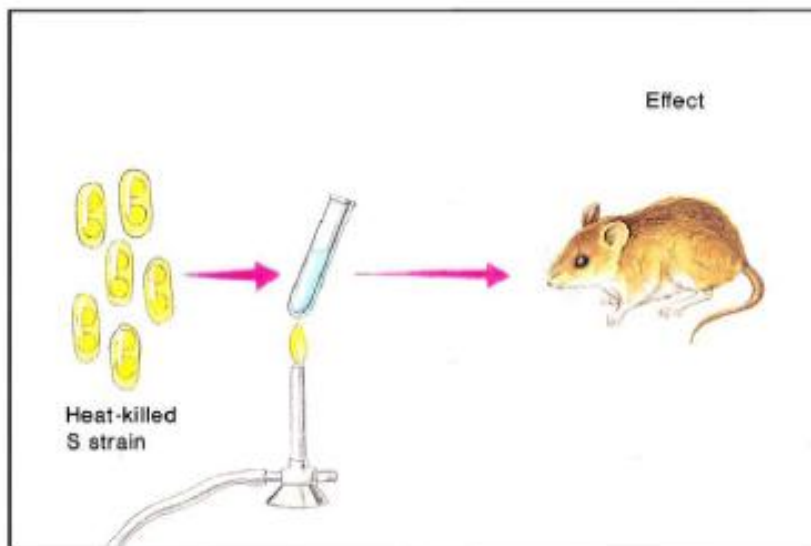
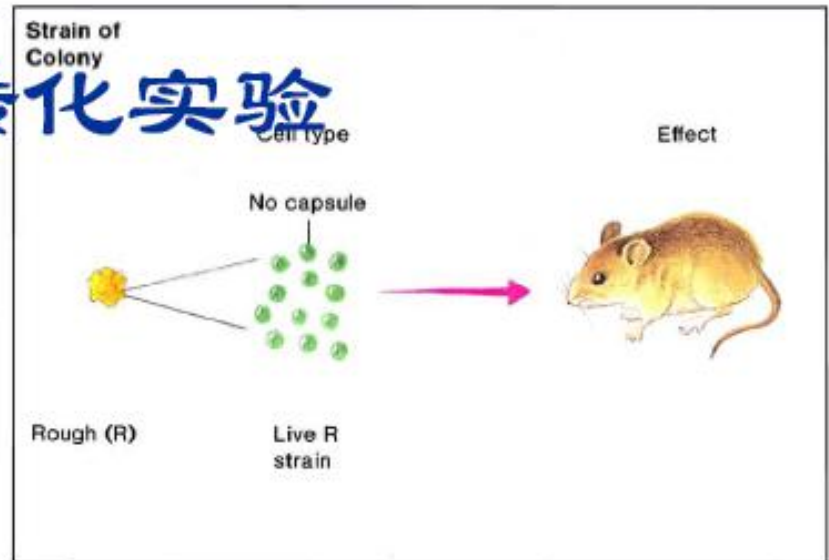
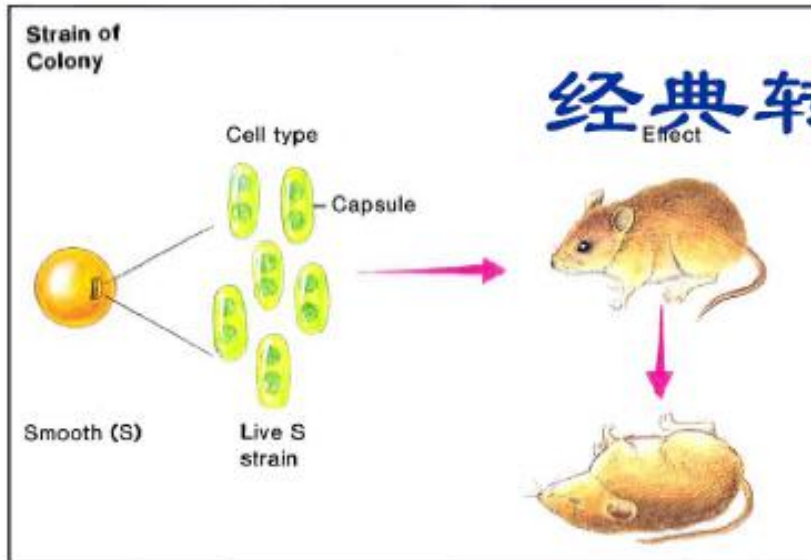
无荚膜，无毒

◆动物实验

◆细菌培养实验

◆S型菌的无细胞抽提液试验

经典转化实验



高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

能从上述实验中得到什么结论？

◆在加热杀死的S型细菌细胞中可能存在一种具有遗传转化能力的物质，能通过某种方式进入R细胞，并使R型细胞获得表达S型荚膜性状的遗传特性？

◆到底是什么物质呢？

♪ DNA？

♪ 蛋白质

♪ 荚膜多糖

♪ RNA

细菌培养实验

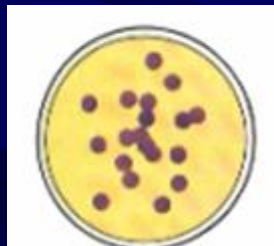
热死S菌

培养



活R菌

培养



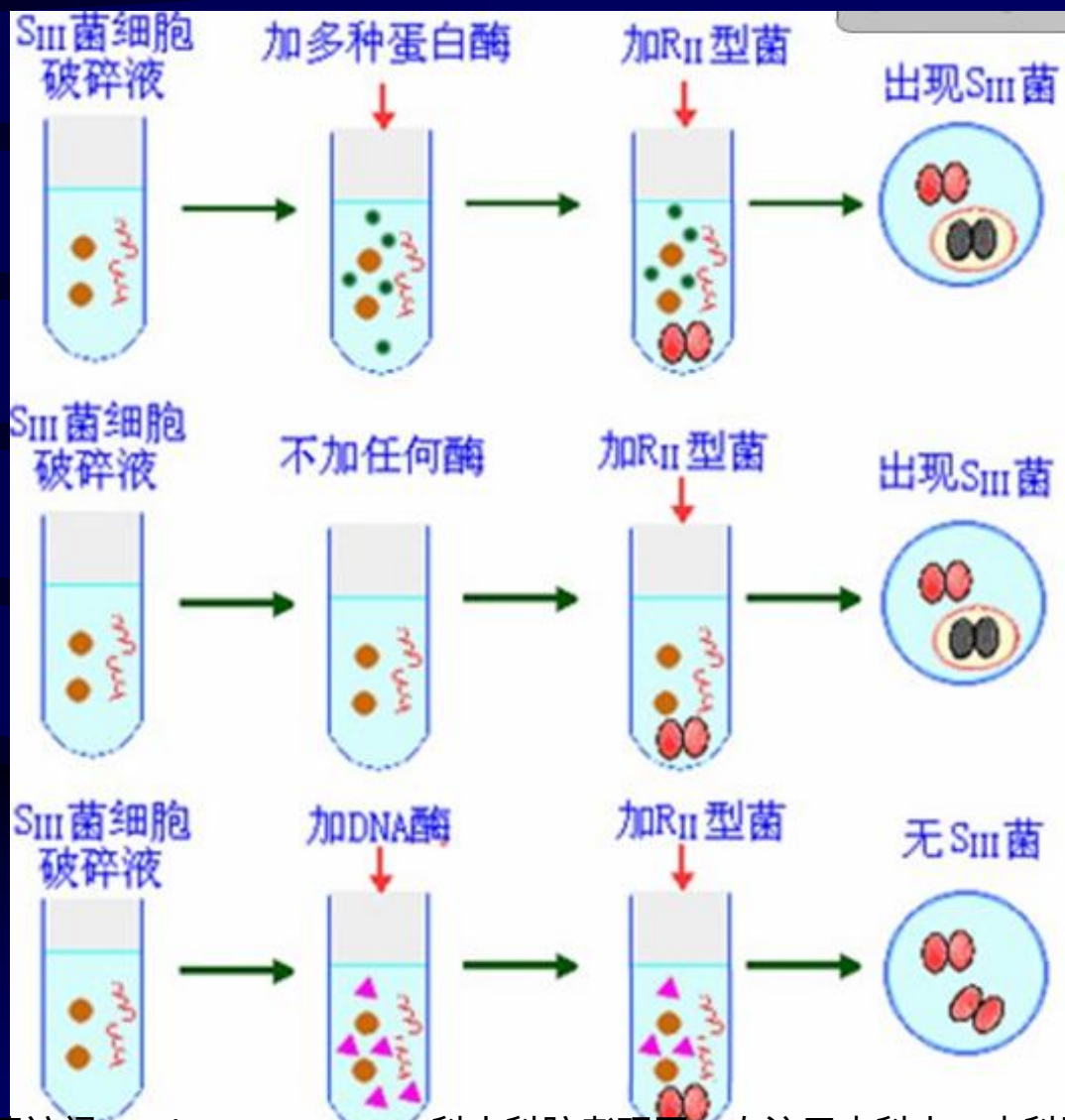
热死S菌+活R菌

培养



无细胞抽提液实验

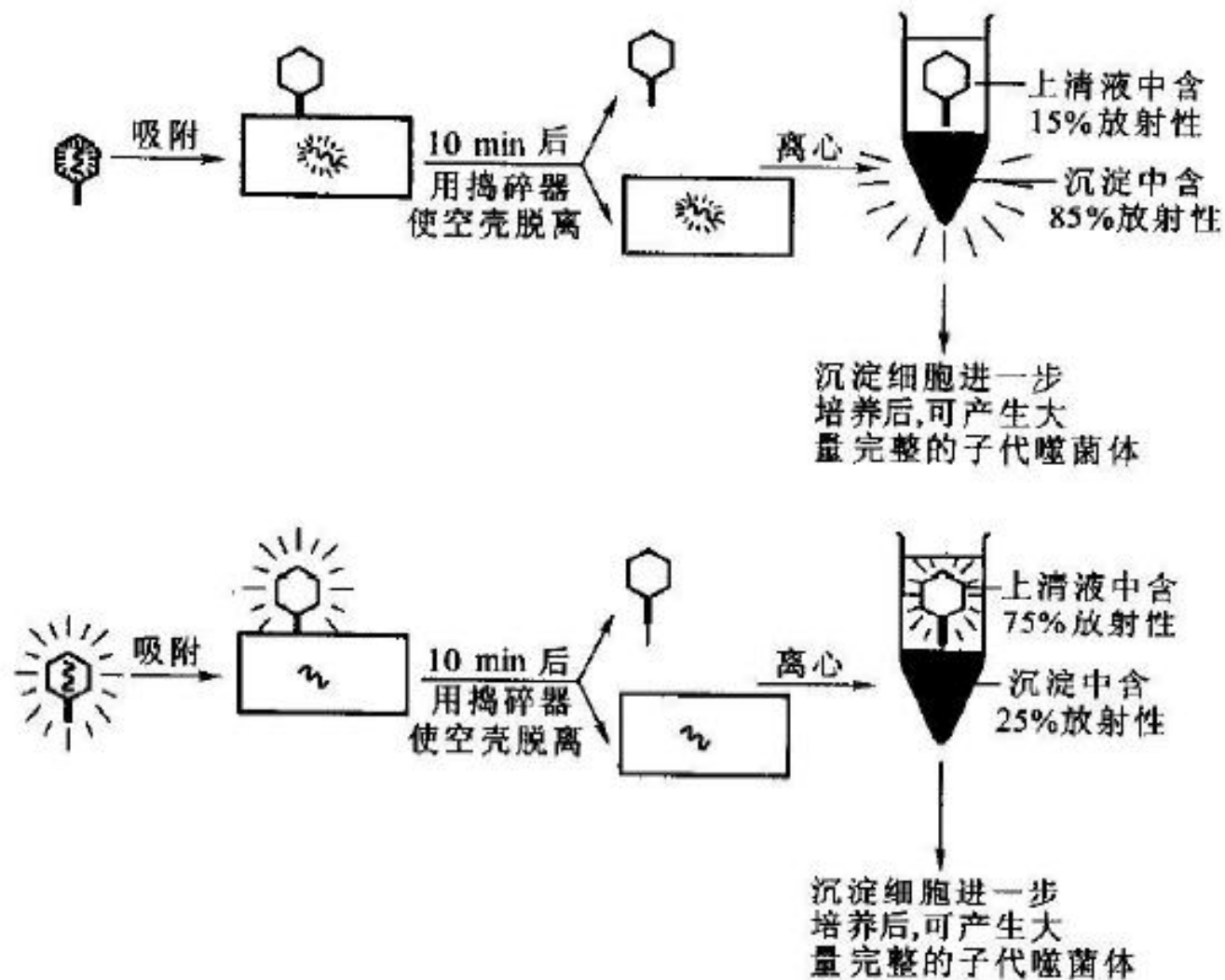
转化因子本质的阐明



2、噬菌体感染实验

- ◆用 ^{35}S 和 ^{32}P 去分别标记大肠杆菌，然后再用T₂噬菌体感染，即得到分别含有 ^{32}P -DNA核心的噬菌体或含 ^{35}S -蛋白质外壳的噬菌体；
- ◆把标记噬菌体与其宿主大肠杆菌混合，经短时间（如10min）保温后，使T₂完成吸附和侵入过程；
- ◆在组织捣碎器中剧烈搅拌，以使吸附在菌体外表的T₂蛋白外壳脱离细胞并均匀分布
- ◆进行离心沉淀，再分别测定沉淀物和上清液中的同位素标记。

噬菌体感染实验



3、植物病毒重建实验

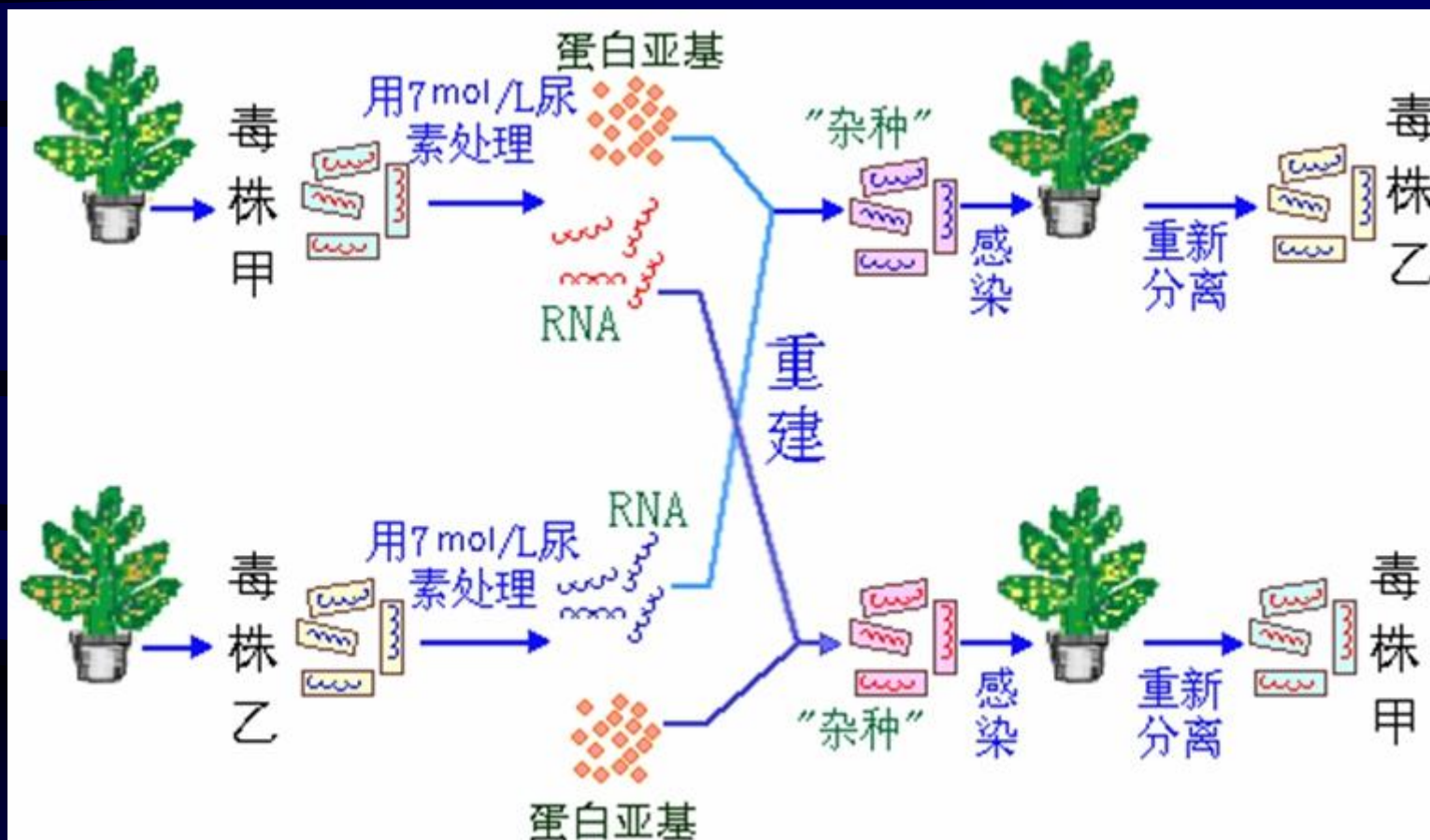
◆ Tobacco mosaic virus TMV, H. Fraenkel-Conrat in 1956

♪ 烟草花叶病毒TMV

♪ 霍氏车前草花叶病毒HRV

♪ 苯酚溶液中震荡分离蛋白质外壳和RNA核心

植物病毒重建实验



结论：核酸是负荷遗传信息的物质基础

二、遗传物质在细胞内的存在部位和方式

◆遗传物质的七个水平

♪ 细胞水平

♪ 细胞核水平

♪ 染色体水平

♪ 核酸水平

♪ 密码子水平

♪ 核苷酸水平

1、细胞水平

◆生物体DNA大部分或几乎存在于细胞核（真核）或核质体（原核）中

◆不同微生物细胞，细胞核数目不同

●单核

S.cerevisiae、*A.niger*、孢子

●双核

杆菌细胞存在两个核区（球菌一般一个）

●多核

粗糙脉胞菌、米曲霉、藻状菌、放线菌

2、细胞核水平

◆基因组、核基因组或核染色体组

●真核生物

核膜包裹，DNA与组蛋白结合形成染色体

●原核生物

无核包裹，DNA裸露，环状双链

◆广义质粒—核外染色体

●真核生物质粒

♪ 细胞质基因：线粒体、叶绿体

♪ 共生生物：Kappa Particle

♪ 2um质粒（酵母菌质粒位于核内，不与核染色体组整合）

●原核生物质粒：F因子、R因子、Col质粒等

3、染色体水平

◆染色体数目

♪ 人：23；水稻：12；大肠杆菌：1；酿酒酵母：16~17；
枯草芽孢杆菌：1

◆染色体倍数：同一细胞中相同染色体的套数

♪ 真核生物：多条染色体，单倍体、双倍体

♪ 原核生物：一条裸露的DNA构成的环状染色体

♪ 单倍体Heploid

♪ 细胞仅含有一套染色体的个体。如多数微生物、高等动植物的生殖细胞

♪ 双倍体：细胞含有两套功能相同的染色体的个数。如多数高等动物、植物体细胞、啤酒酵母营养细胞、合子等

4、核酸水平

◆核酸种类

- ♪ 多数生物遗传物质为DNA，少数病毒为RNA
- ♪ 原核—DNA裸露
- ♪ 真核——DNA被包裹，与组蛋白结合在一起

◆核酸结构

- ♪ DNA—双链、单链；RNA—单链、双链
- ♪ 环状、线状、超螺旋

◆DNA长度：基因组的大小，单位：bp、kb、mb

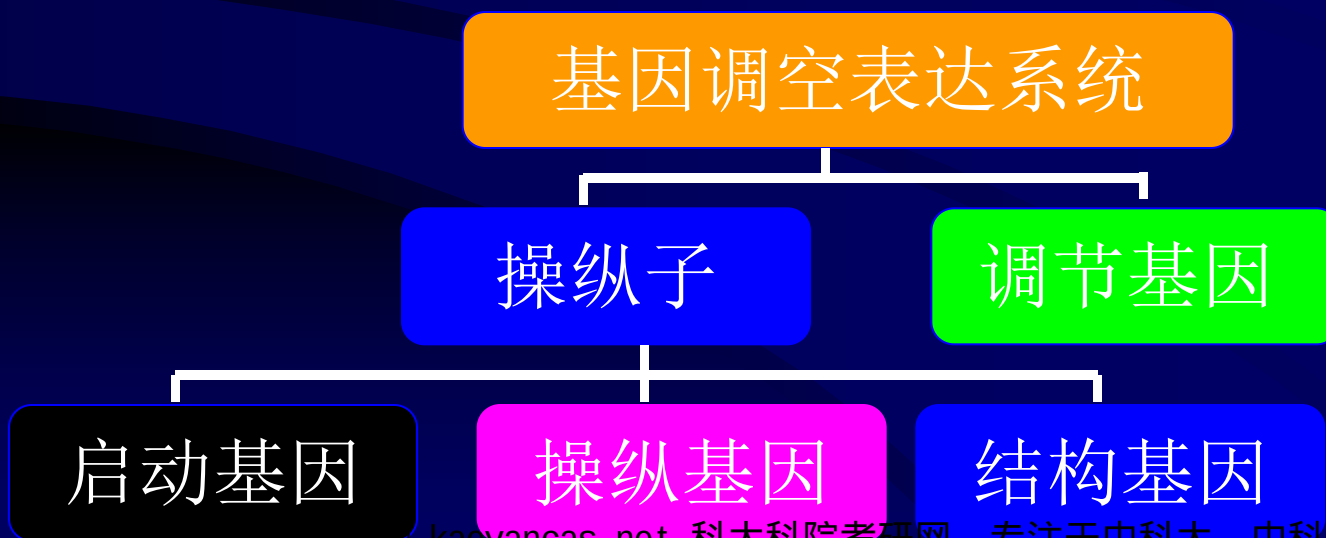
◆微生物基因组测序

5、基因水平

◆基因

生物体内一切具有自主复制能力的遗传功能单位，其物质基础是一条以直线排列、具有特定核苷酸序列的核酸片段

◆原核生物基因调控



操纵子Operon

◆结构基因

决定某一多肽链结构的DNA模板

◆操纵基因

位于结构基因和启动基因之间的一段核苷酸序列

◆启动基因

一种依赖于DNA和RNA聚合酶所识别的核苷酸序列

真核生物的基因组结构

- ◆一般无操纵子结构
- ◆存在大量不编码序列和重复序列
- ◆转录和转译在细胞中有空间间隔
- ◆基因被许多无编码功能的内含子Intron阻隔，使编码序列变成不连续的外显子

基因及其表达产物的规范化表示

◆基因名称：*lacZ*

◆基因表达产物：三个大写字母、
或1个大写2个小写字母

◆抗性基因：*str^R*

6、密码子水平

◆遗传密码是指基因DNA链上决定各具体氨基酸的核苷酸的特定排列顺序

◆密码子Codon：遗传密码的信息单位

每个密码子由链上三个核苷酸顺序决定，常以mRNA上三个核苷酸顺序表示三联密码子

- 四个核苷酸有64种组合
- 同一氨基酸由多个密码子编码
- 无义密码子：UAA、UAG、UGA

享参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.taoyuancas.net

7、碱基水平（核苷酸水平）

◆最低突变单位或交换单位

◆DNA链中有A（腺嘌呤）、T（胸腺嘧啶）、G（鸟嘌呤）、C（胞嘧啶）四种碱基

◆几个数据

♪ 每个碱基对的平均分子量650

♪ 1×10^6 的dsDNA约为1.5kb，或0.5um

♪ 3nm碱基重量约为1ug

♪ 多数细菌的基因组在1~9Mb

(二) 原核生物的质粒

- ◆ 质粒的定义和特点
- ◆ 质粒在基因工程中的应用
- ◆ 质粒的分离与鉴定
- ◆ 质粒的种类
- ◆ 典型的质粒简介

质粒的定义

◆典型质粒

凡是游离于原核生物基因组以外，具有独立复制能力的小型共价闭合环状的dsDNA(cccDNA)

◆质粒的结构

♪ 麻花状的超螺旋结构

1.5~300kb, $M_w 10^6 \sim 10^8$, 相当于约1%基因组

♪ 线状质粒：天蓝色链霉素、赫氏婢疏螺旋体

质粒的特点

◆质粒的功能：非必需的特殊功能

接合、产毒、抗药、固氮、产特殊酶和降解环境毒物、基因重组

◆质粒的复制：独立存在于细胞内的复制子

松弛型复制控制：质粒复制与核染色体复制不同步，一般只含1-2个质粒

严紧型复制控制：质粒复制与核染色体复制不同步，一般可含10-15个

◆质粒消除：吡啶类染料、丝裂霉素C、紫外线、利福平、重金属离子、高温

质粒的特点

◆可整和性

质粒可以与核染色体发生整和与脱离，如F因子，这种质粒称**附加体**

整和：指质粒或温和噬菌体、病毒、转化因子等小型非染色体DNA插入核基因组等大型DNA分子中的现象

◆重组性

质粒与质粒之间、质粒与核染色体之间的基因重组

◆质粒用于基因工程操作的优点

- ♪ 体积小
- ♪ 环状
- ♪ 独立复制起始点
- ♪ 拷贝数多
- ♪ 选择性标记：抗性基因

◆质粒的应用

- ♪ 克隆载体：能够完成外源DNA片段复制的DNA分子

质粒的分离与鉴定

◆质粒分离的步骤

- ♪ 细胞培养
- ♪ 细胞裂解
- ♪ 蛋白质和RNA的去除
- ♪ 质粒DNA与染色体DNA分离

◆质粒的鉴定

- ♪ 电镜
- ♪ 琼脂糖凝胶电泳
- ♪ 聚丙烯酰胺凝胶电泳
- ♪ 密度梯度离心
- ♪ 质粒的限制性酶切图谱

质粒的种类

1. 接合性质粒
2. 抗药性质粒
3. 产细菌素和抗生素质粒
4. 特定生理功能质粒
5. 产毒质粒

典型质粒

◆F质粒

◆R质粒

◆Col质粒

◆Ti质粒

◆Ri质粒

◆Mega质粒

◆降解性质粒

F质粒 F Plasmid

◆ F因子\致育因子Fertility Factor\性因子
Sex Factor

◆ *E. Coli*决定性别并具有转移能力的质粒

◆ 存在F质粒的其他微生物

♪ *Pseudomonas*（假单胞菌属）

♪ *Haemophilus*（嗜血杆菌属）

♪ *Neisseria*（奈瑟氏菌属）

♪ *Streptococcus*（链球菌属）

第二节 基因突变和诱变育种

进化的源泉

一、基因突变

◆什么是基因突变（突变）？

变异的一类，泛指细胞内（或病毒粒内）遗传物质（DNA或RNA）的变化，可自发或诱导产生。

♪ 狭义突变：基因突变（点突变）

♪ 广义突变：基因突变和染色体畸变

◆突变率：一般很低 $10^{-6} \sim 10^{-9}$

◆野生型菌株Wild type strain

从自然界中分离到的菌株

◆突变株Mutant

野生型菌株经突变以后形成的带有新性状的菌株

(一) 基因突变类型

◆ 选择性基因突变

凡是能用选择性培养基（选择条件）快速选择出来的突变株——选择性突变株

♪ 营养缺陷型

♪ 抗性突变型

♪ 条件致死突变型

◆ 非选择性基因突变

♪ 形态变态型

♪ 抗原突变型

♪ 产量突变型

◆某野生型菌株由于发生基因突变引起某酶合成能力丧失，从而丧失合成一种或几种生长因子能力的突变型，无法再在基本培养基（MM）上正常生长反之，须在加入相应生长因子的基本培养基上才能正常生长的变异类型

◆营养缺陷型突变菌株的应用

♪ 遗传学

♪ 分子生物学

♪ 遗传工程

♪ 微生物育种

高参考价值的真题、答案、讲义、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

2、抗性突变型Resistant Mutant

◆指野生型菌株由于发生**基因突变**而产生了**对某化学药物或致死物理因子的抗性变异类型**

◆化学药物或致死因子

抗生素、紫外线

◆抗性突变性突变菌株的应用

♪ 遗传学

♪ 分子生物学

♪ 遗传工程

♪ 微生物育种

3、条件致死突变型

◆ Conditional lethal mutant

某菌株或病毒经基因突变后，在某条件下可正常生长、繁殖，表现其正常的表型，在另一条件下无法生长、繁殖的突变类型

◆ 实例：温度敏感突变株

Temperature sensitive mutant, Ts Mutant

♪ *E.Coli*: 37度下正常生长、42度不能生长

♪ T₄噬菌体：25度下具有感染力，37度无感染力

♪ 导致Ts 突变的原因

蛋白质的结构与功能发生改变

4、形态突变型

◆Morphological Mutant

由于突变引起**个体或菌落形态**的非选择性变异

◆实例：微生物的菌落和个体形态包括那些？

◆芽孢、鞭毛、荚膜、菌落大小粗糙（光滑）、颜色、霉菌放线菌孢子的有无及颜色、噬菌斑大小或清晰度

5、抗原突变型

◆基因突变引起抗原结构（细胞或细胞表面成分）发生变异的突变型，一般属于非选择性突变

◆实例

♪ 细胞壁缺陷变异：L型细菌

♪ 荚膜成分变异

♪ 鞭毛成分变异

6、产量突变型

◆通过基因突变而产生的代谢产物产量上明显有别于原始菌株的突变株

- 高产突变型—正常株
- 低产突变型—负变株

(二) 突变率

◆ 每一细胞或病毒粒在每一世代中发生某一性状突变的几率

◆ 亦可用每一单位群体在每一世代中产生突变株的数目来表示。常为 $10^{-6} \sim 10^{-9}$

♪ 一般突变是独立发生的。突变的基因不会影响其他基因的突变率。

♪ 双重突变的概率是各个突变概率的乘积

◆ 如何测定某基因的突变率？如何筛选突变株？

♪ 回复突变株

♪ 抗药性突变株

◆ 不对应性

突变的形状与引起突变的原因间无直接的对应关系

◆ 自发性：可自发的发生突变

◆ 稀有性

突变几率很低而且较稳定 ($10^{-6} \sim 10^{-9}$)

◆ 独立性

某种基因的突变率不受其他基因突变率的影响

◆ 可诱变性

诱变剂Mutagen提高自突变的几率 ($10^{-10} \sim 10^{-5}$)，而自发突变与诱变间无本质上的差异。

◆稳定性

突变本质是遗传物质结构发生稳定的变化，所产生的新性状也是稳定的、可遗传的

◆可逆性

性状的正向突变和回复突变都可发生，几率相同

♪ 正向突变Forward Mutation

野生型基因变异为突变型基因的过程

♪ 回复突变Reverse/Bach Mutation

由突变型向野生型表型的转变

（四）基因突变的自发性与不对应性证明

◆两种观点的碰撞

- 突变是生物对某特定环境（化学药物、抗生素和高温）的适应，环境是突变的诱因
- 抗性突变是自发产生的，即使是诱发突变，所产生的性状与诱发因素也是不对应的

◆证明实验

- 变量实验
- Newcombe涂布实验
- Lederberg等的影印平板培养法

高参价值的真题 答案 考场笔记 辅导课程 点题 www.kaoyancas.net

(四) 基因突变的自发性与不对应性的证明

◆ 变量实验

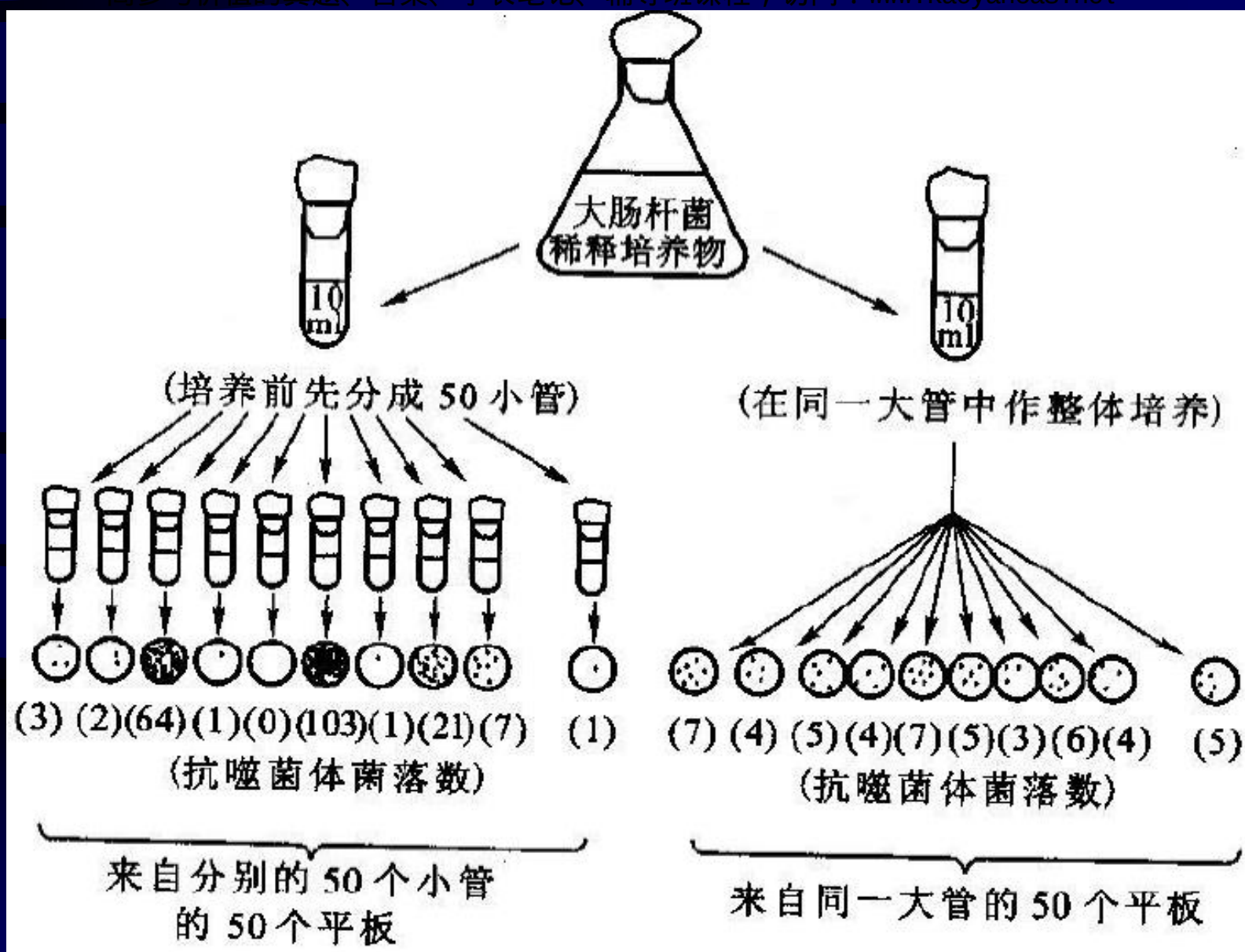
- T_1 sensitive *E.coli*

- T_1 resistant *E.coli*

- 方法学

- ♪ 敏感菌株不能形成菌落

- ♪ 平板涂布技术



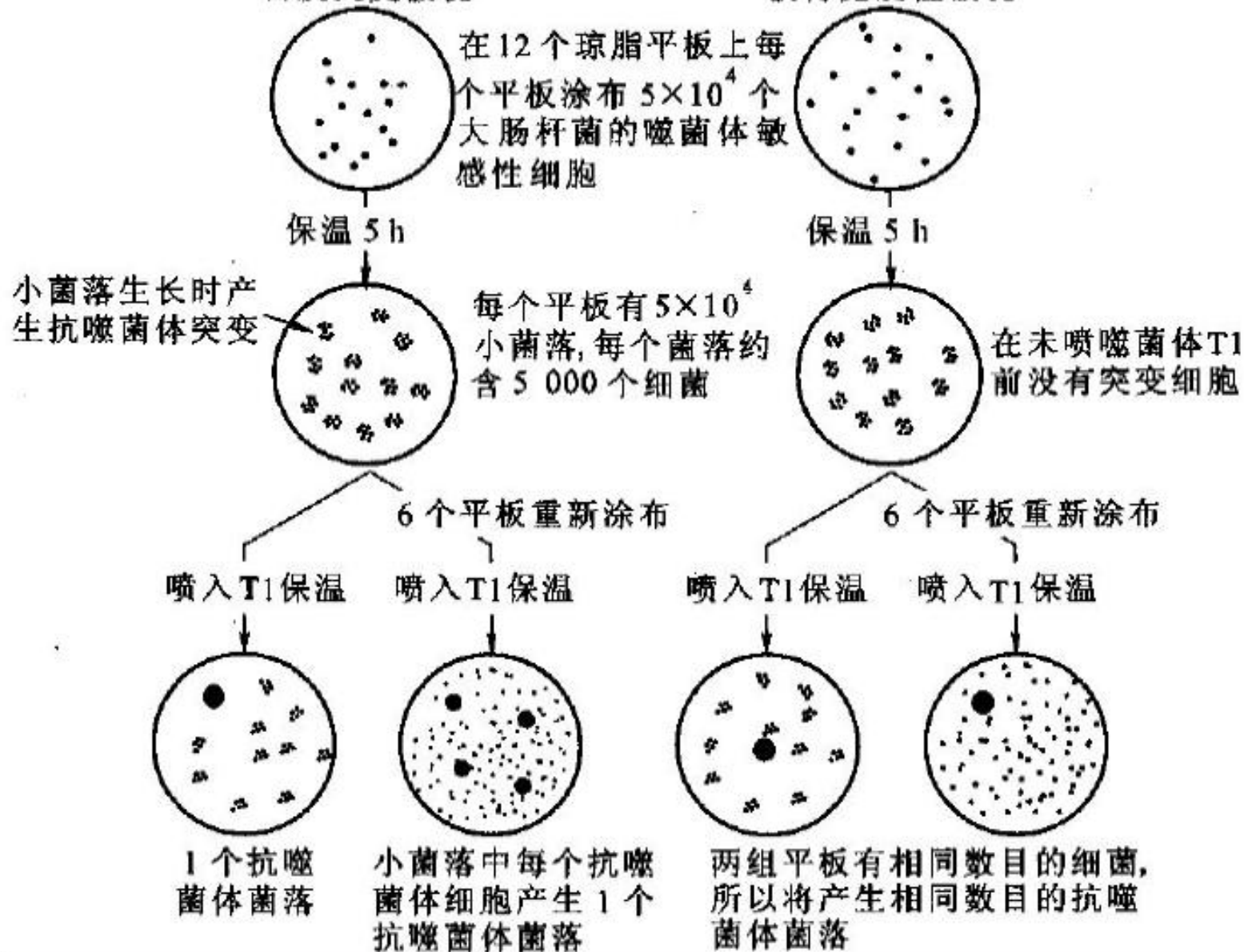
2、涂布实验

◆试验原理

- 固体涂布平板法
- 敏感菌株不能形成单菌落
- 突变率的计算

自发突变假说

获得免疫性假说



3、平板影印培养试验

◆ Replicate Plating

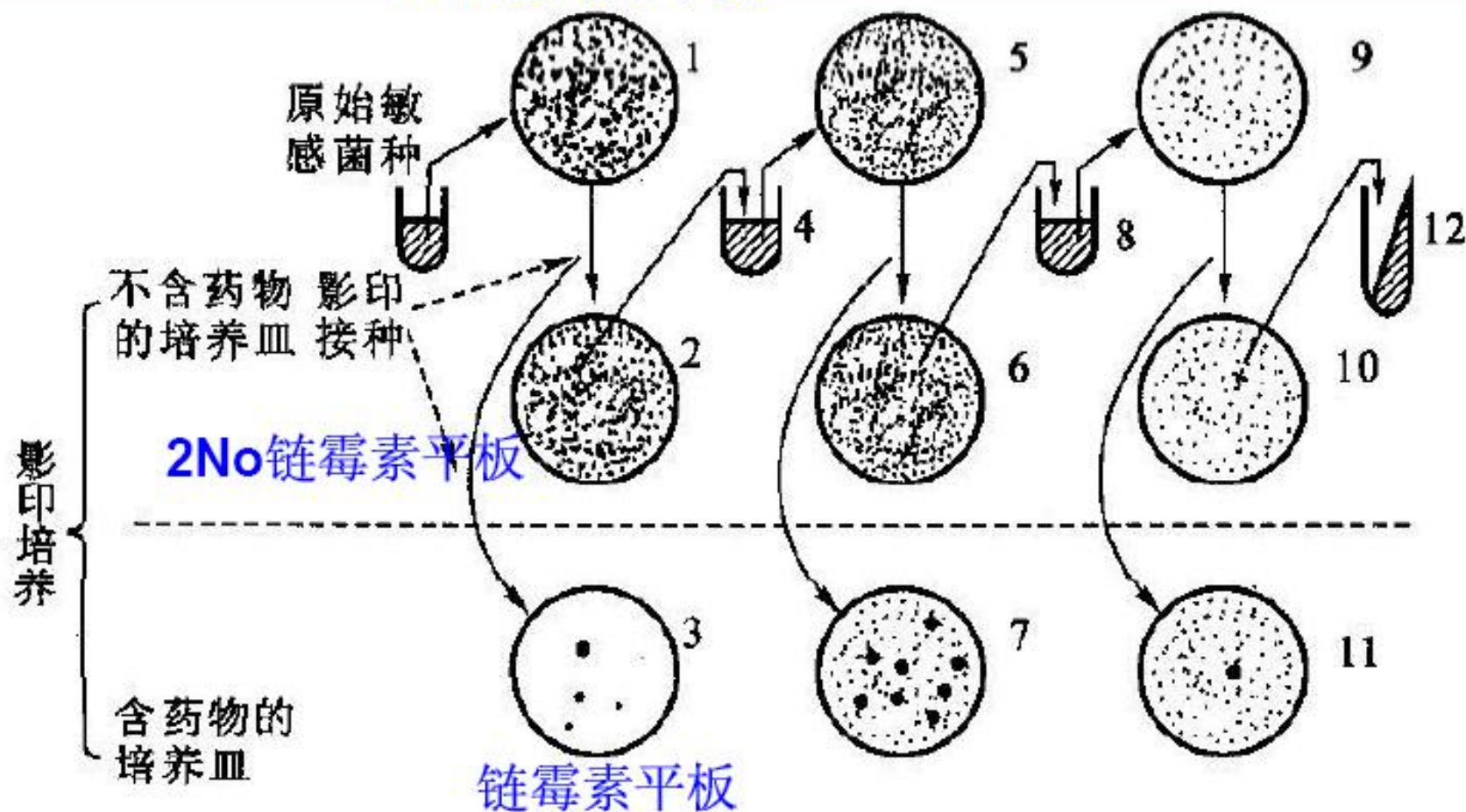
◆ 实验原理

- 抗药性突变

- 链霉素敏感的*E.coli* K12菌株

平板影印试验

1No链霉素平板

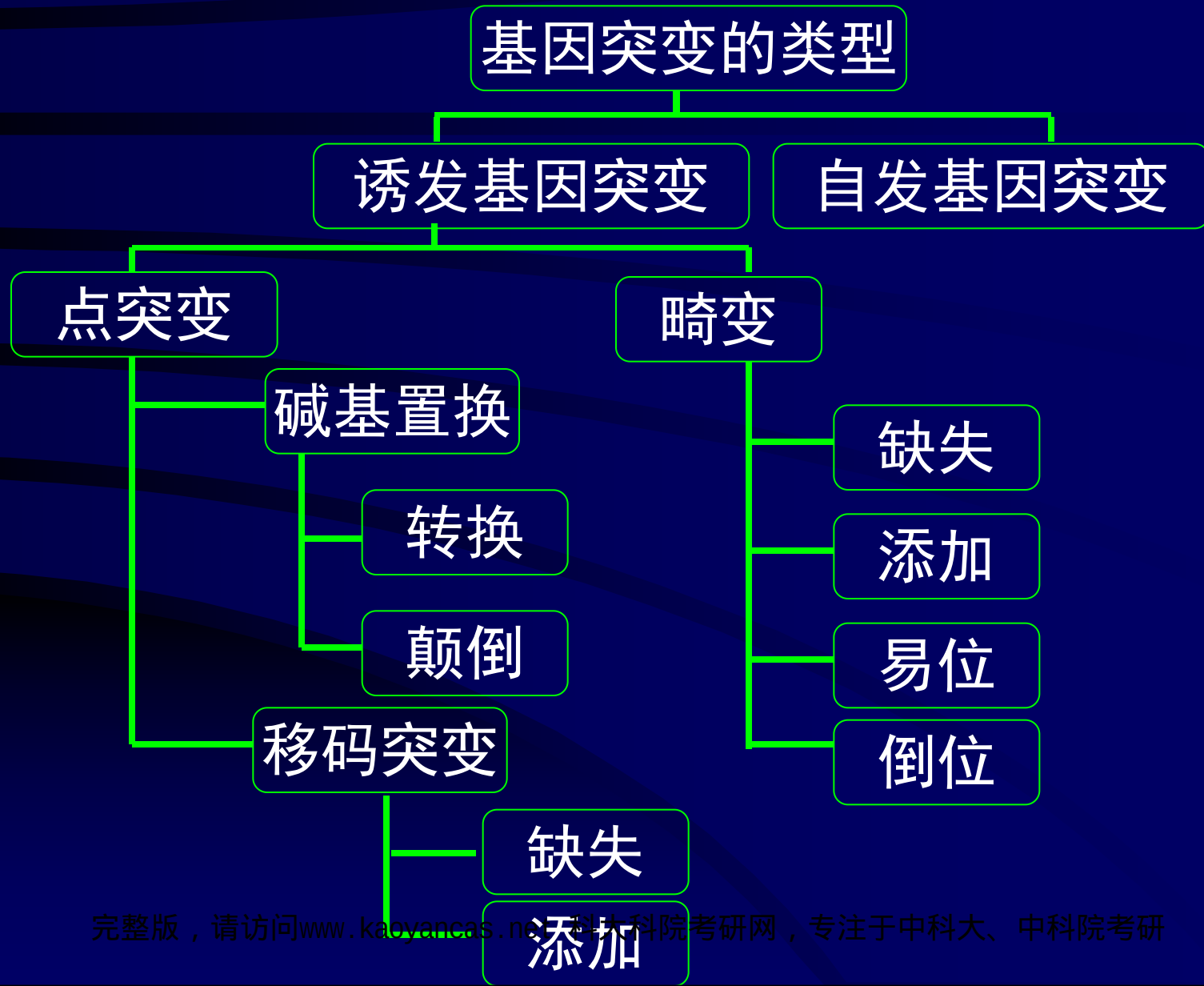


影印平板

FIGURE 7.2 (a) Replica plating method for detection of nutritional mutants. (b) Nutritional mutants, as revealed by the replica plating method. The left photo shows the master plate. The colonies not appearing on the replica plate are marked with an X. The replica plate lacked one nutrient (leucine) present in the master plate.



基因突变的机制



1、诱发突变

◆诱变（Induced Mutation）

利用物理、化学或生物因素显著提高基因自发突变频率的手段

诱变剂（Mutagen）：凡能提高突变率的任何因素

- 碱基置换（Substitution）
- 移码突变（Frame-shift Mutation）
- 染色体畸变（Chromosomal aberration）

碱基置换

◆染色体的微小损

一对碱基被另一对碱基所取代，包括转化和颠换，属于典型的点突变

导致置换的诱变剂

◆直接引起置换的诱变剂

亚硝酸、亚硝基胍、硫酸二乙酯等

◆间接引起置换的诱变剂：碱基类似物

5-溴尿嘧啶、5-氨基尿嘧啶、8-氮鸟嘌呤、2-氨基嘌呤等碱基类似物

作用：通过活细胞代谢活动掺入到DNA分子中

移动码突变

◆诱变剂会使DNA序列中的一个或几个氨基酸发生增添（插入）或缺失，从而使该处后面的全部遗传密码的阅读框架发生改变，并进一步引起转录和翻译错误的一类突变。

◆导致移码突变的诱变剂：吡啶类燃料

染色体畸变

◆诱变剂（某些强烈理化因子如电离辐射X射线、烷化基、亚硝酸）除了引起点突变之外，还能引起染色体DNA分子的大损伤

- 缺失

- 重复

- 插入

- 易位

- 倒位

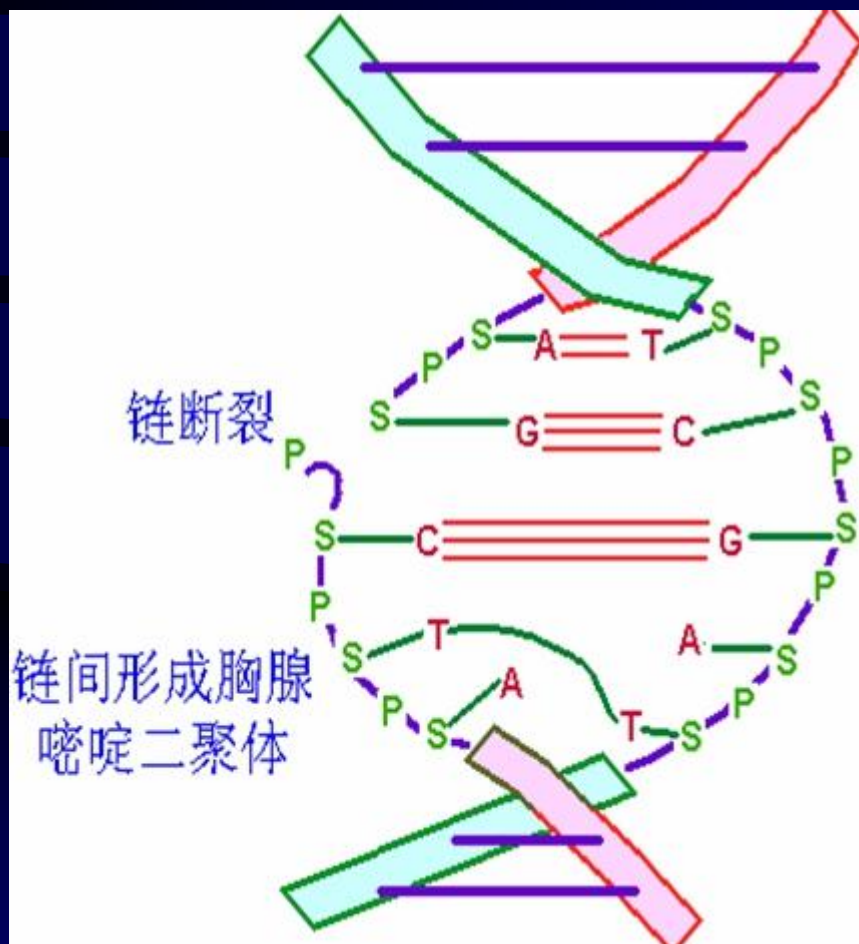
- 染色体数目变化

自发突变

- ◆ 没有人工敢于条件下生物体自然发生的低频率突变
- ◆ 自发突变的诱导因素
 - 背景辐射和环境因素
 - 微生物自身有害代谢产物的诱导效应
 - DNA复制过程中碱基配对错误

(六) 紫外线对DNA损伤及修复

Ultraviolet Ray作用机理



紫外线损伤 DNA 包括:

1. 使核酸链断裂;
2. 形成胸腺嘧啶二聚体;
3. 胞嘧啶的水合作用。

紫外线照射后的微生物暴露在光下可明显降低死亡率, 此称光复活作用。因此在进行紫外线诱变育种时, 应在黑暗中培养。

DNA损伤的修复

◆光复活作用

光裂合酶在可见光下使二聚体重新分解成单体

◆暗修复作用

在暗处即可修复损伤的DNA、需核酸内切酶、核酸外切酶、DNA聚合酶、DNA连接酶

二、突变与育种

◆自发突变与育种

◆诱变育种

自发突变与育种

◆从生产中选育

生产中菌自发突变→及时选育出所需形状的正突变株Plus Mutant

◆定向培养优良品种

用某特定环境长期处理某微生物群体，同时不断对其移种传代，以达到累积并选择合适的自发突变体的育种方法

定向卡介苗

牛结核杆菌→牛胆汁、甘油、马铃薯培养基上→移种230多代→显著减毒结核杆菌（卡介苗）

诱变育种

◆Breeding by Induced Mutation

理化诱变剂→处理均匀、分散的微生物群体→提高突变率→巧妙筛选

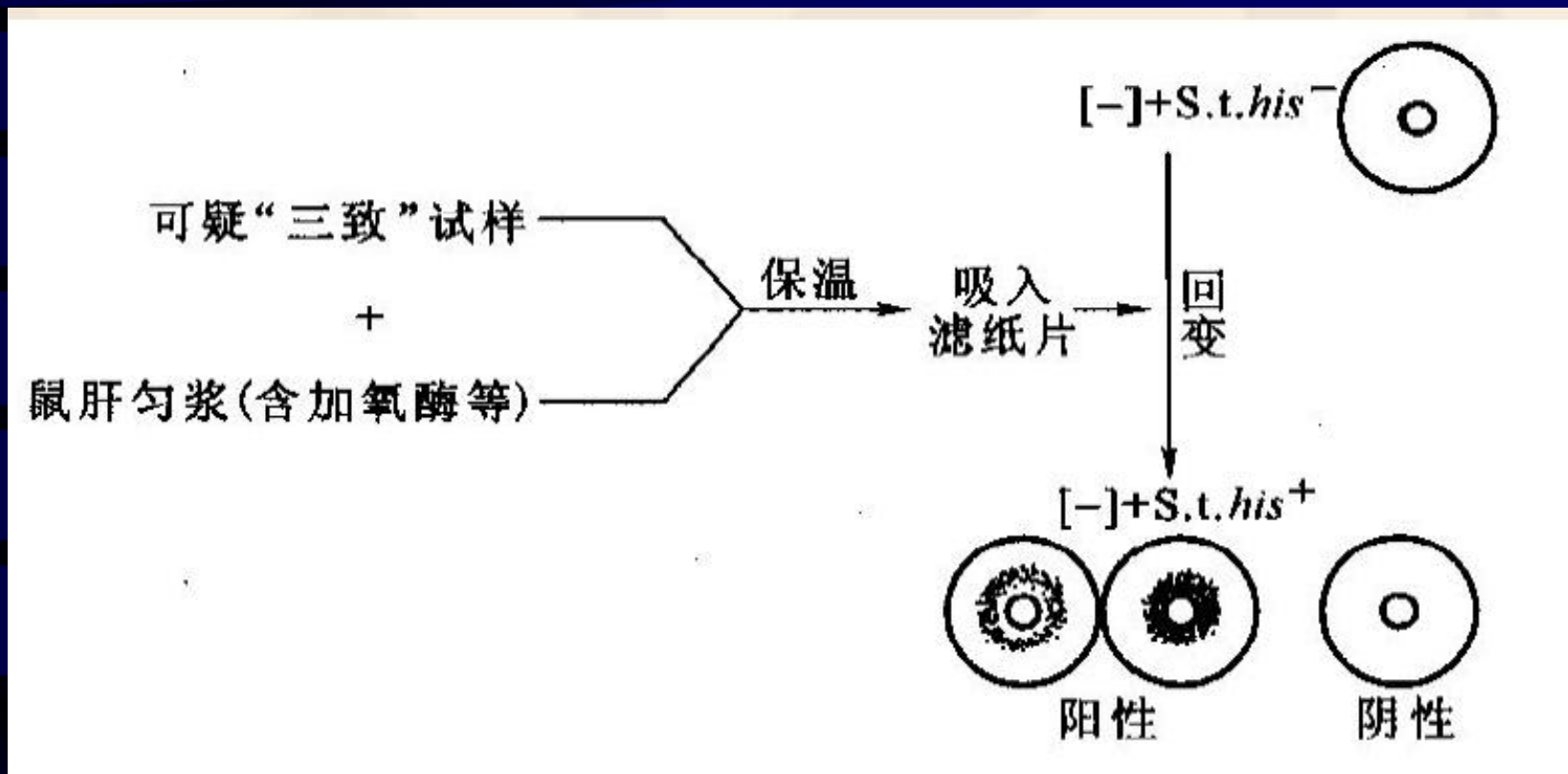
诱变：随机的过程

筛选：定向的过程

◆诱变育种的实践意义

方法：简便易行，工作速度快，收效显著

艾姆斯实验 (Ames test)



可检出致癌物质：黄曲霉毒素、二甲氨基偶氮苯、反应停等

3、三类突变株的筛选方法

◆产量突变株的筛选

◆营养缺陷型突变株的筛选

◆抗药性突变株的筛选

产量突变株的筛选

◆春日酶素生产菌的筛选—琼脂快培养法

◆琼脂块培养法可行的依据在哪里？



实例：春日霉素产生菌的筛选

突变、紫外线、射线、丝裂霉素C、环磷酰胺等

在琼脂平板上的分布(30~100个菌落每皿)

直径 90 mm 培养皿中
放 20 mL 琼脂培养基
29°C 培养 2 d



用直径为 6 mm 的木塞穿孔器取出

放入另一空培养皿中
(80~120琼脂块每皿)



保持一定湿度的小室

29°C 培养 4~5 d



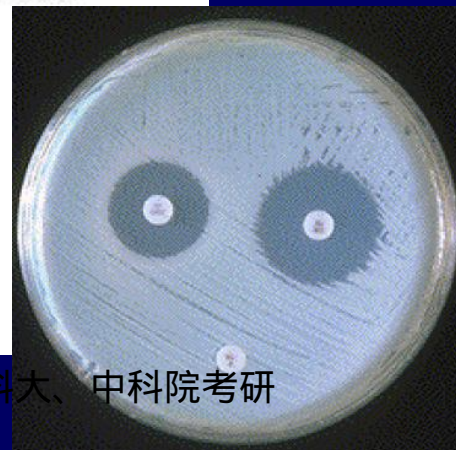
将琼脂块移到生物鉴定板上
(170×250 mm)
(130~150 琼脂块每平板)

29°C 培养 17~18 h

抑菌圈的检查



选出接入斜面



营养缺陷型的筛选

- ◆营养缺陷型突变株筛选中应用的三种培养基
- ◆营养缺陷型突变有关的三类遗传个体
- ◆营养缺陷型的筛选方法

三种培养基

◆基本培养基（MM，[-]）

仅满足某微生物的野生型菌株生长需要的最低成分组合培养基

◆完全培养基（CM，[+]）

凡可满足一切营养缺陷型菌株营养需要的天然或半合成培养基

◆补充培养基（SM，[A]或[B]）

凡可满足相应营养缺陷型生长需要的组合培养基

补充培养基=基本培养基+缺陷的不能合成的代谢物。

营养缺陷型突变有关的三类遗传个体

◆野生型Wide Strain/Type

从自然界分离到微生物在发生营养缺陷型突变前的原始菌株，可以在MM上生长，如[A+B+]

◆营养缺陷型Auxotroph

只能在CM或相应的SM上生长。如[A+B-]

◆原养型Prototroph

指营养缺陷型突变株经回变或重组后产生的菌株，其营养要求在表现型上与野生型相同。

营养缺陷型的筛选方法

◆ 获得野生菌株

◆ 诱变

◆ 淘汰野生型

♪ 抗生素法淘汰

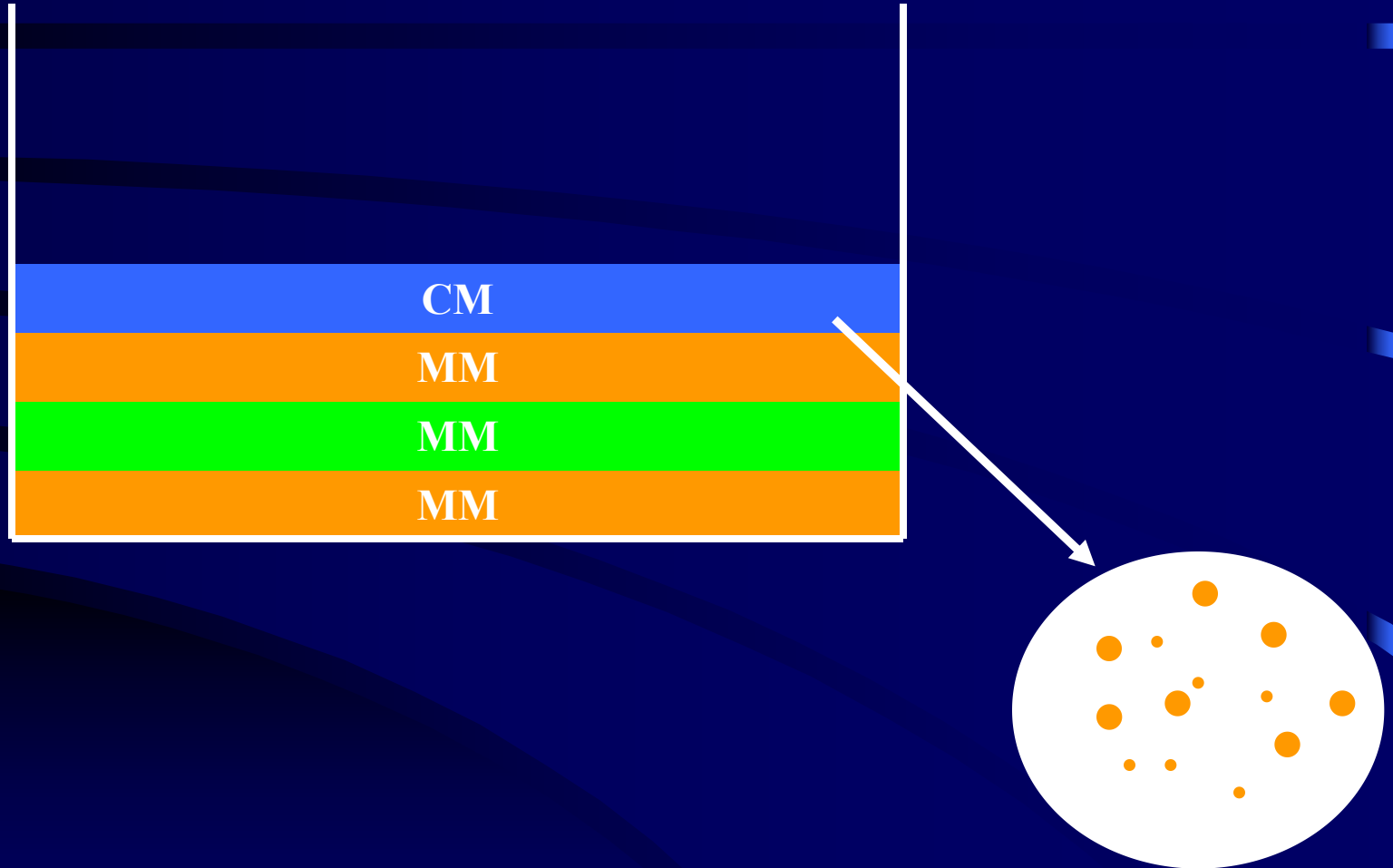
♪ 菌丝过滤法

◆ 检出和鉴定

营养缺陷型的检出

- ◆ 夹层培养法
- ◆ 限量补充培养法
- ◆ 逐个检出法
- ◆ 影印平板法

夹层培养法



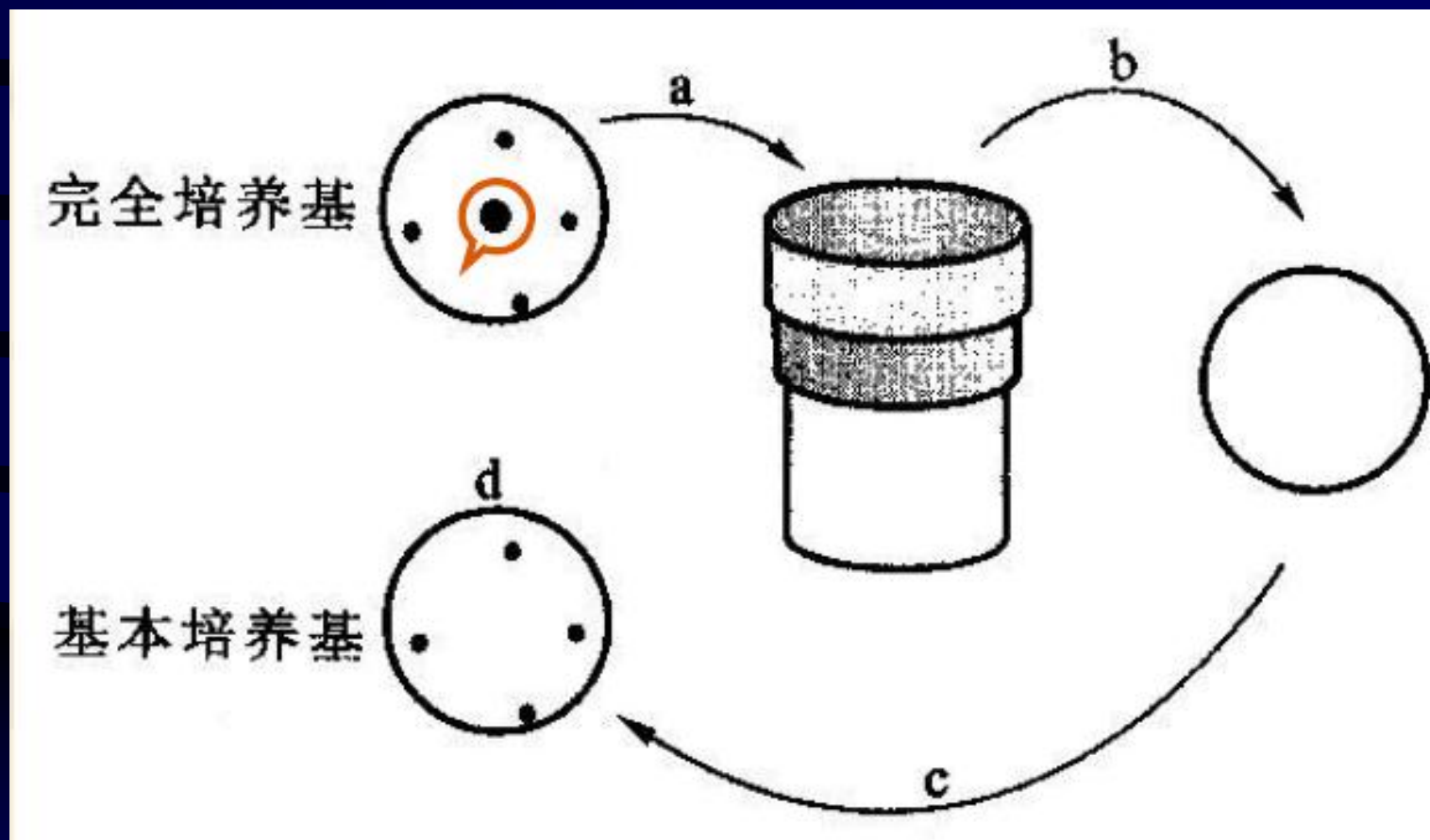
限量补充培养法

- ◆将诱变处理后的细胞接种在含有微量 ($<0.01\%$) 蛋白胨的基本培养基平板上，野生型细胞迅速形成较大的菌落，而营养缺陷型细胞在营养受到限制的培养基上只能形成微小的菌落
- ◆欲获得某一特定的营养缺陷型菌株，只要在相应的基本培养基中添加微量的相应物质

逐个检出法

- ◆细胞诱变处理
- ◆平板涂布在完全培养基上
- ◆接种针或灭菌牙签转接
- ◆培养观察

影印平板法



营养缺陷型的鉴定

◆生长谱法 (Auxanography)

在混有供试菌的平板表面点加微量营养元素，视某营养物的周围是否长菌来确定该供试菌的营养要求的一种快速的方法

◆操作过程

♪ 营养缺陷型细胞培养

♪ 制备菌种悬液

♪ 平板倾注，区域划分

♪ 添加营养物质粉末

♪ 培养观察

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

第三节 基因重组和杂交育种

几个概念

◆微生物基因重组

两个独立基因组内的遗传基因通过一定的途径转移到一起，经过遗传分子间的重新组合，形成新的稳定基因组的过程。

◆基因重组的方式

真核—有性杂交、准性杂交、原生质融合

原核—转化、转导、接合、原生质体融合

基因重组可使生物体在未发生突变的情况，也能产生新的遗传型的个体

一、原核生物的基因重组

◆原核生物的基因重组的类型

♪ 转化

♪ 转导

♪ 接合

♪ 原生质体融合

◆特点

♪ 片段性：仅有一小段DNA序列参与重组

♪ 单向性：从供体菌到受体菌的单向转移

♪ 机制独特而多样

（一）转化（Transformation）

◆定义

受体菌直接吸收来自供体菌的DNA片段，通过交换，把他整合到自己基因组中，从而获得供体菌部分遗传性状的现象

◆转化子

通过转化方式而形成的杂种后代

转化过程

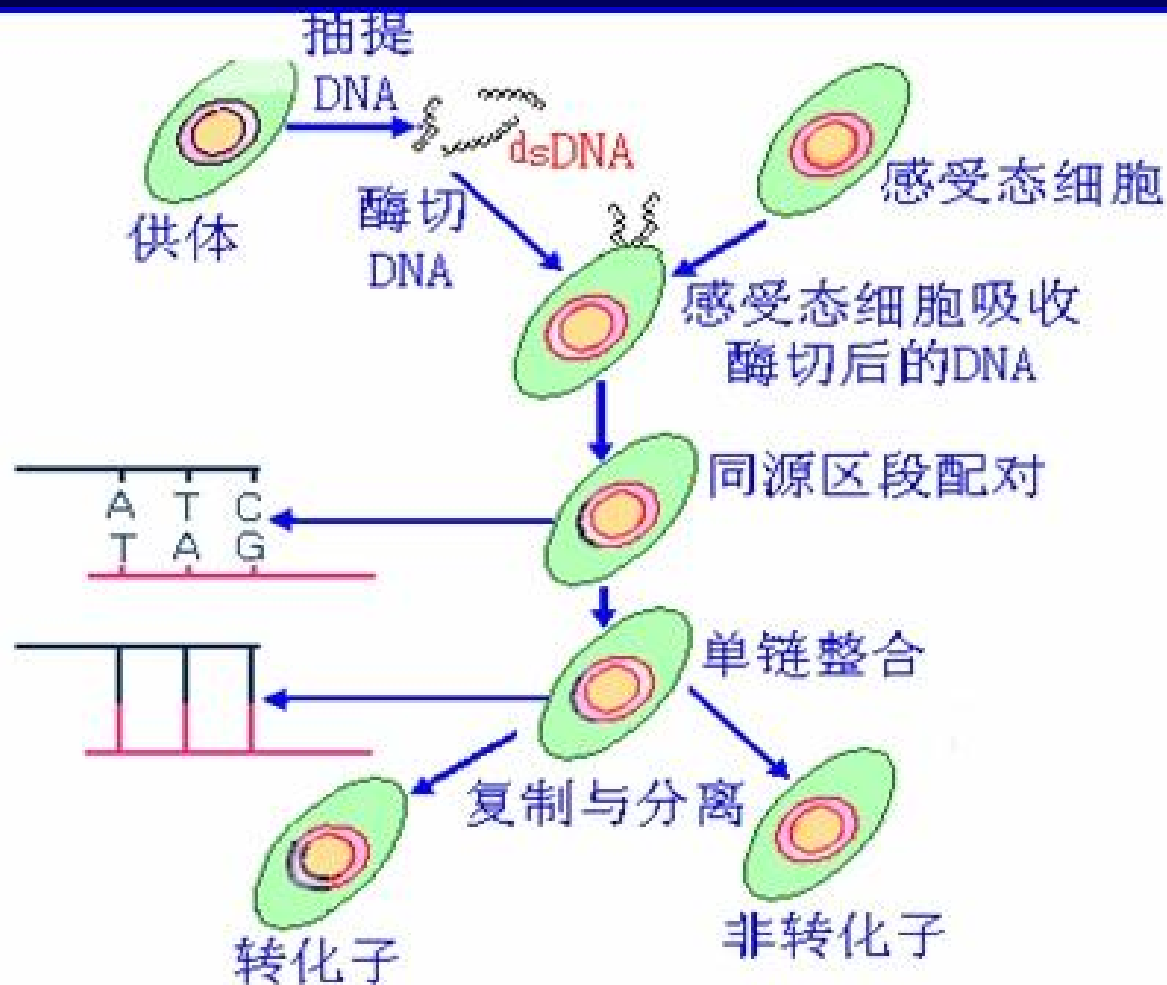
最参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

- ① 受体细胞呈现感受态，即容易接受外源DNA的生理状态
- ② 外源DNA与感受态细胞结合并被吸收
- ③ 外源DNA整合到受体菌中，成为受体菌染色体的一部分

转染：

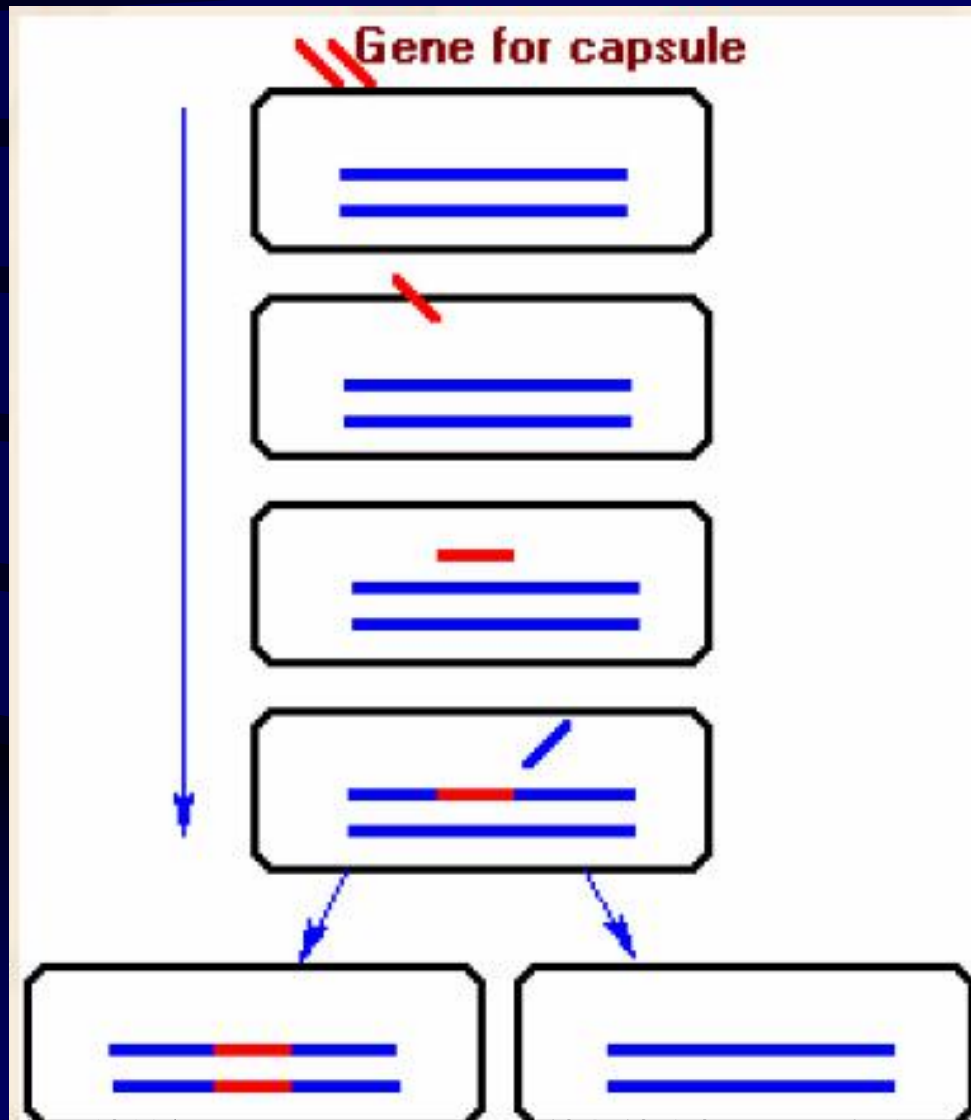
指用提纯的病毒核酸去感染宿主细胞或原生质体，可增殖出一群正常病毒后代的现象

转化示意图



肺炎双球菌转化示意图

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net



完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

（一）转导（Transduction）

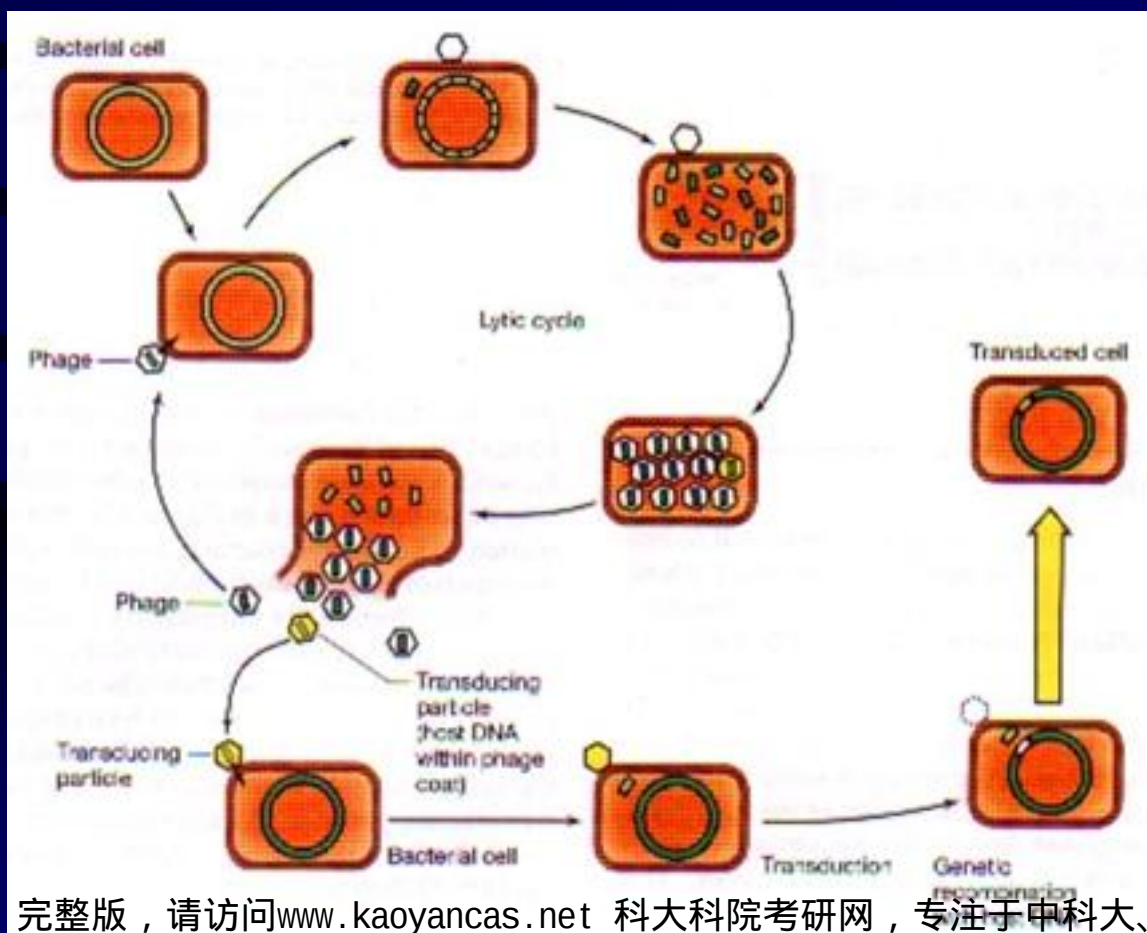
◆定义

通过完全缺陷或部分缺陷噬菌体为媒介，把一供体细胞的DNA片段转移到另一个受体细胞中，并使后者发生遗传变异的过程。

◆通过转导获得供体细胞部分遗传性状的重组受体细胞，称为转导子（Transductant）。携带供体部分遗传物质（DNA片段）的噬菌体称为转导噬菌体或转导颗粒

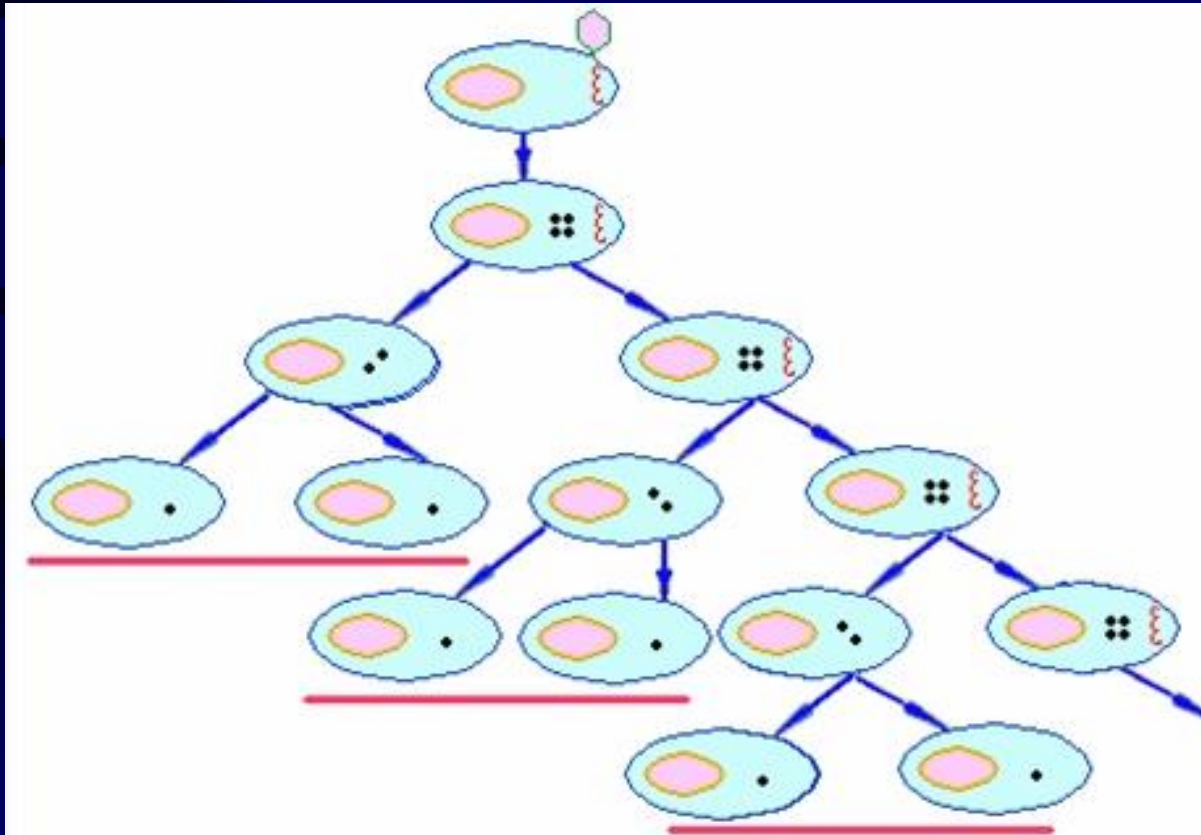
普遍转导

通过极少数完全缺陷噬菌体对供体菌基因组上任何小片段DNA进行“误包装”，而将其遗传性状传递给受体菌的现象。一般用温和噬菌体作为媒介。



流产性普遍转导

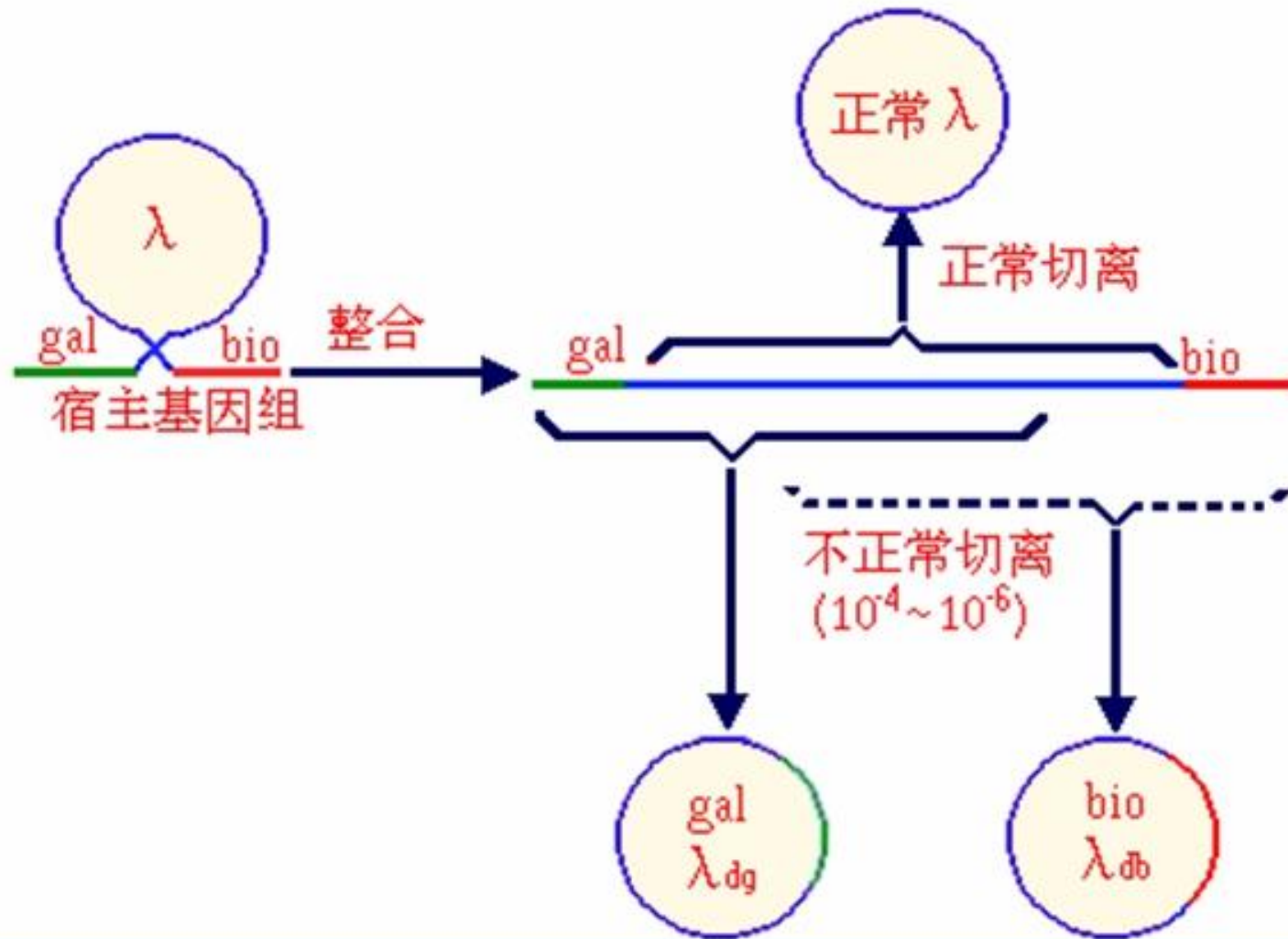
简称流产转导，在许多获得供体菌DNA片段的受体菌内，如果转导DNA不进行重组和复制，其上的基因仅经过转录而得到表达。



(2) 局限转导

当溶源菌群经诱导后，其中极少数前噬菌体从宿主染色体脱离时产生误切割，从而把宿主的某些基因（ λ 前噬菌体位点两端是细菌染色体的 gal^+ 或 bio^+ ）整和到噬菌体的基因组上，当这样的噬菌体侵染另一宿主菌时，噬菌体DNA与受体菌的DNA同源区配对，通过双交换而整和到受体菌的染色体组上，使受体菌获得了供体的这部分遗传特性，而形成转导子（缺陷溶源菌）

λ 噬菌体DNA的不正常切割



◆丢失了部分基因，并被同等长度的宿主基因所取代的噬菌体称为缺陷噬菌体。

◆低频率转导 (*low frequency transduction, LFT*) , 形成转导子的频率很低，只有 $10^{-4} \sim 10^{-6}$

◆高频转导 (*high frequency transduction, HFT*) , 形成转导子的频率很高，理论上可达50%。

溶源转变

◆概念

当正常温和噬菌体感染其宿主细胞而使其发生溶源化时，因噬菌体基因整合到宿主的核基因组上，而使宿主获得了除免疫性之外的新遗传性状的现象。

◆与转导的本质区别

温和噬菌体不携带来自供体的外源基因

温和噬菌体是完整的，噬菌体基因提供新性状

获新性状的是溶原化的宿主细胞

获得的新性状可随噬菌体的小时而同时消失

(三) 接合

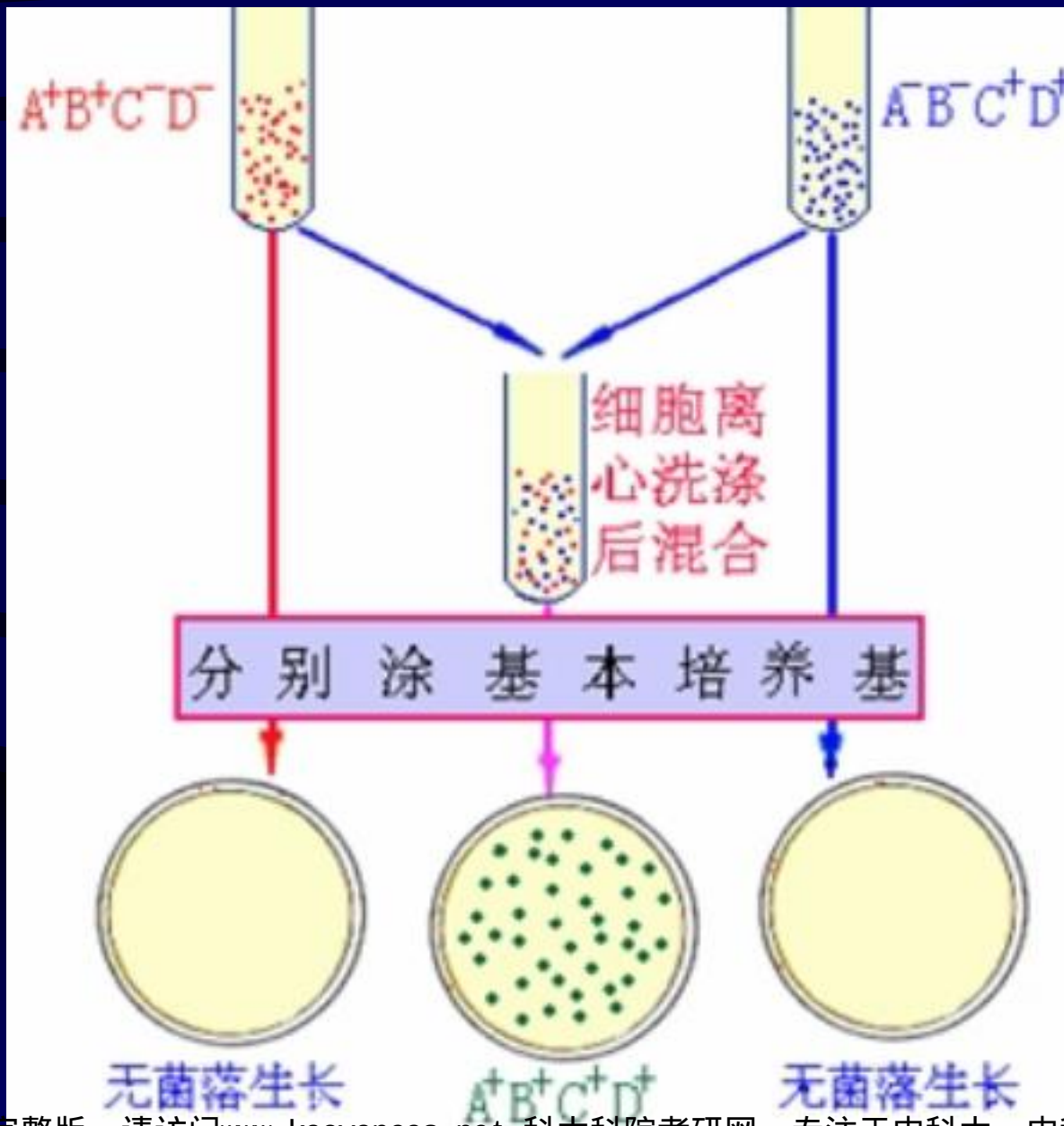
◆概念

供体菌通过性纤毛与受体菌相接触，把F质粒或其携带的不同长度的核基因组片段传递给后者，使后者获得新遗传性状的现象

◆接合子

通过接合而获得新遗传性状的受体细胞

◆重组子



*E.coli*的接合现象

◆什么是F质粒？

决定大肠杆菌*E.coli*性别分化的质粒，是一种属于附加体性质的质粒，既可在细胞中单独存在，也可整合到核染色体组上

◆通过接合获得；通过吡啶化合物、溴化乙锭或丝裂霉素处理而发生质粒消除

♪ 合成性菌毛基因的载体

♪ 决定细菌性别的物质基础

四种结合型*E. coli*菌株（F质粒在细胞内存在方式）

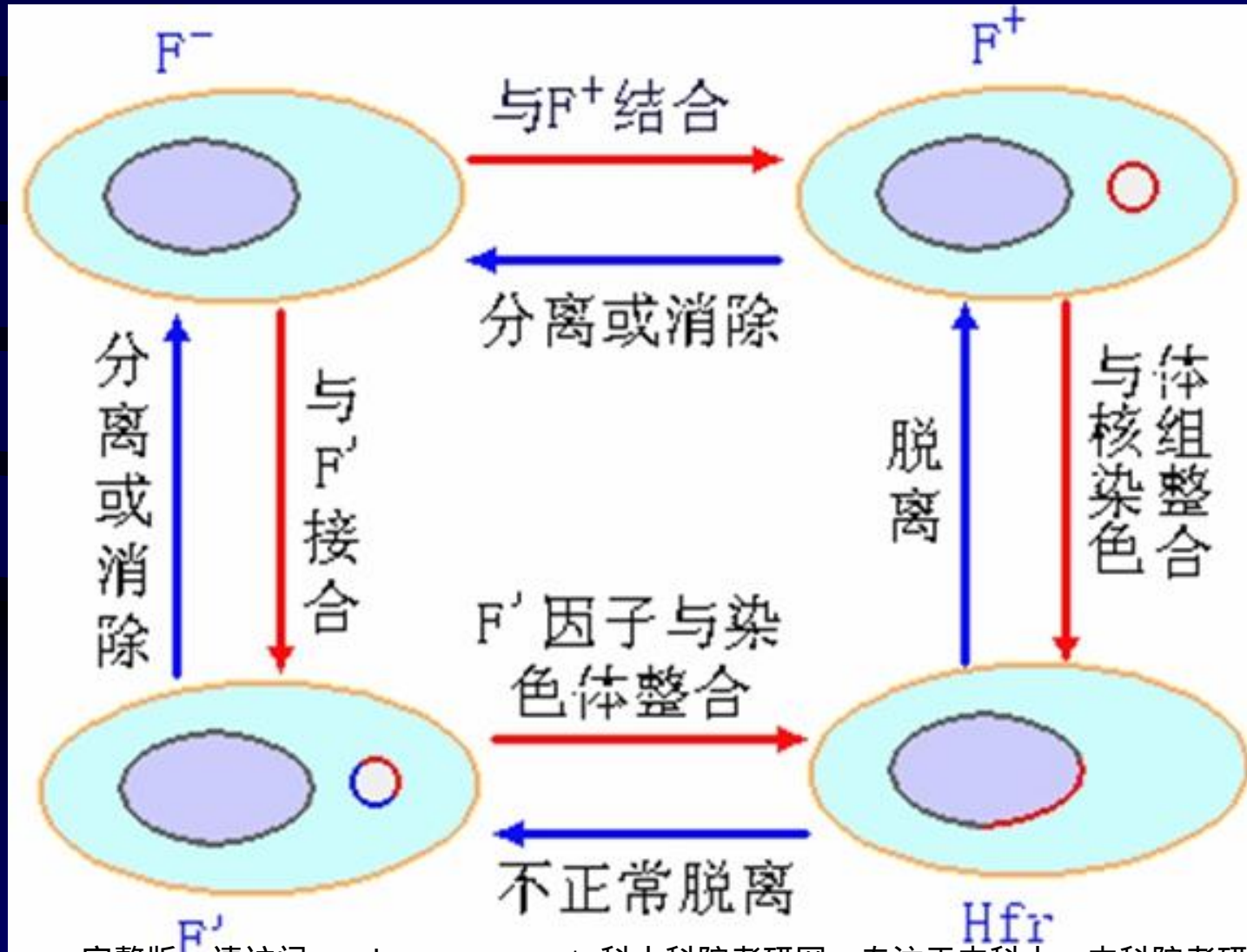
F⁺（“雄性”）菌株

F⁻（“雌性”）菌株

Hfr（高频重组）菌株

F'菌株

F质粒的4种存在方式及相互关系



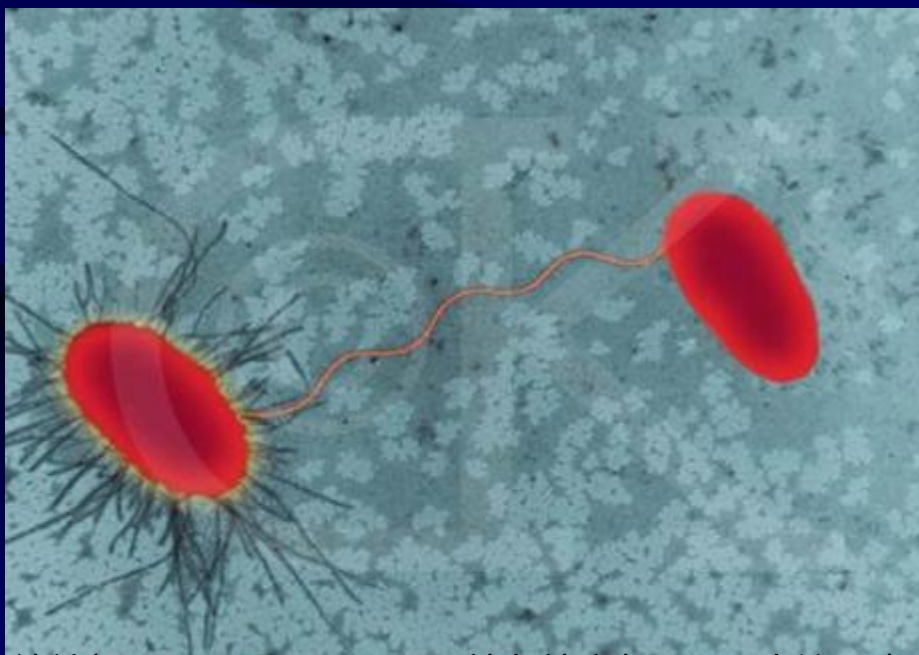
F+ (“雄性”) 菌株

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

◆含F质粒，细胞表面有性菌毛，通过与F-菌株的接合，把DNA转移给F-菌株。

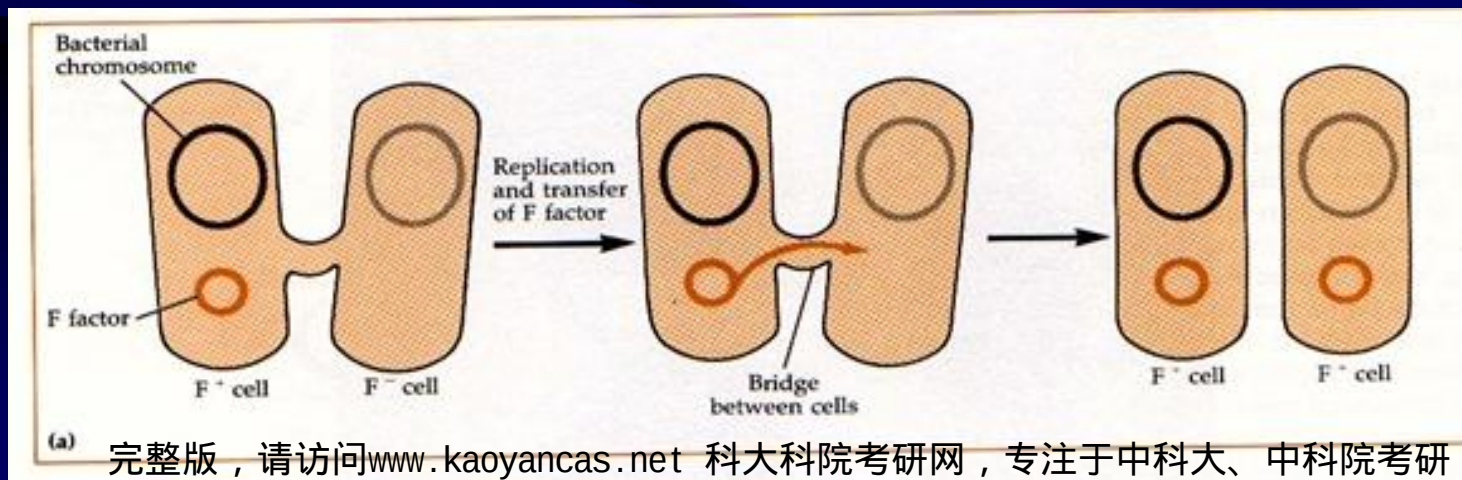
F- (“雄性”) 菌株

◆不含F质粒，细胞表面无性菌毛，可接受外源DNA。



接合的具体过程

- ① F质粒的一条单链在特定位点产生缺口，形成供体单链DNA；
- ② 以滚环模型方式复制F质粒，并以线形方式经过性菌毛传递到F-菌中；
- ③ 在受体细胞内线形外源DNA单链合成互补双链，经环化后形成新的F质粒。

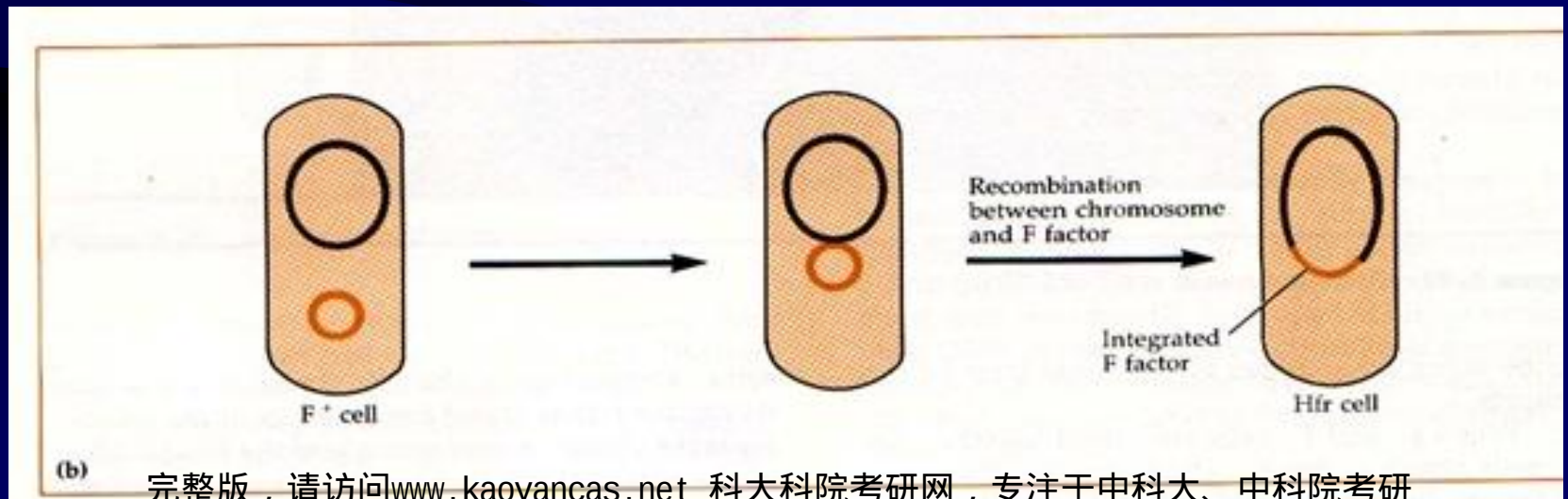


Hfr (高频重组) 菌株

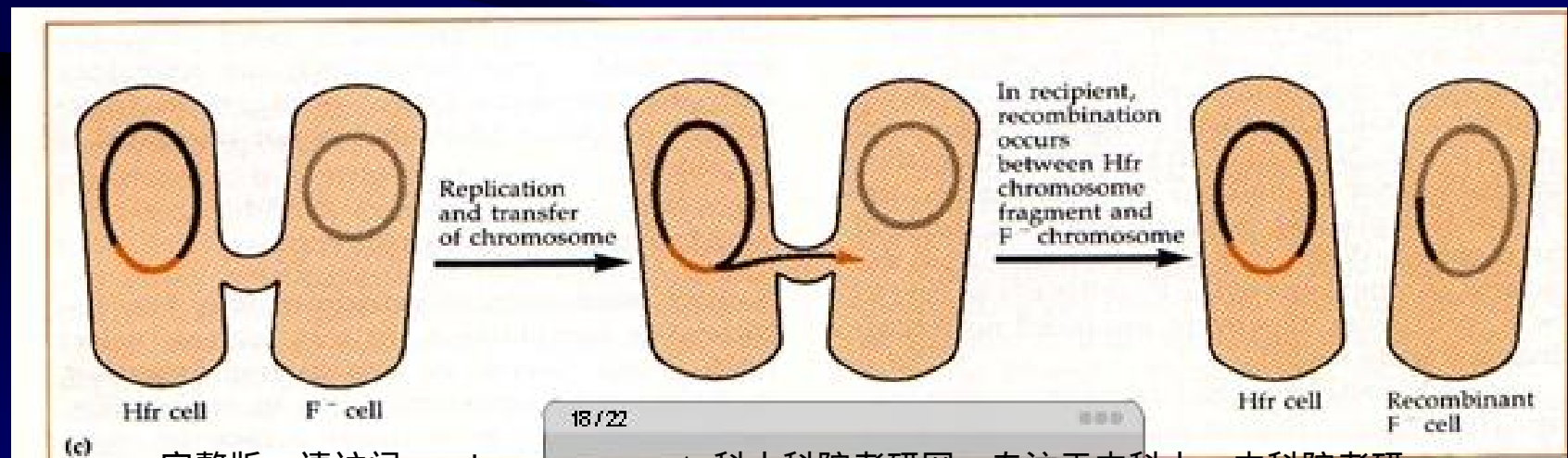
◆ High frequency recombination Strain

F质粒从游离态转变成在核染色体组特定位点上的整合态。

◆ Hfr菌株与F-菌株接合后发生基因重组的频率比单纯用F⁺菌株和F-菌株接合的频率要高数百倍



- ◆ Hfr与F⁻细胞配对
- ◆ 通过性菌毛使两个细胞直接接触，并形成接合管
- ◆ 发生接合中断
- ◆ 外源双链DNA片段与受体菌的染色体DNA双链进行双交换，产生稳定的接合子



F'质粒

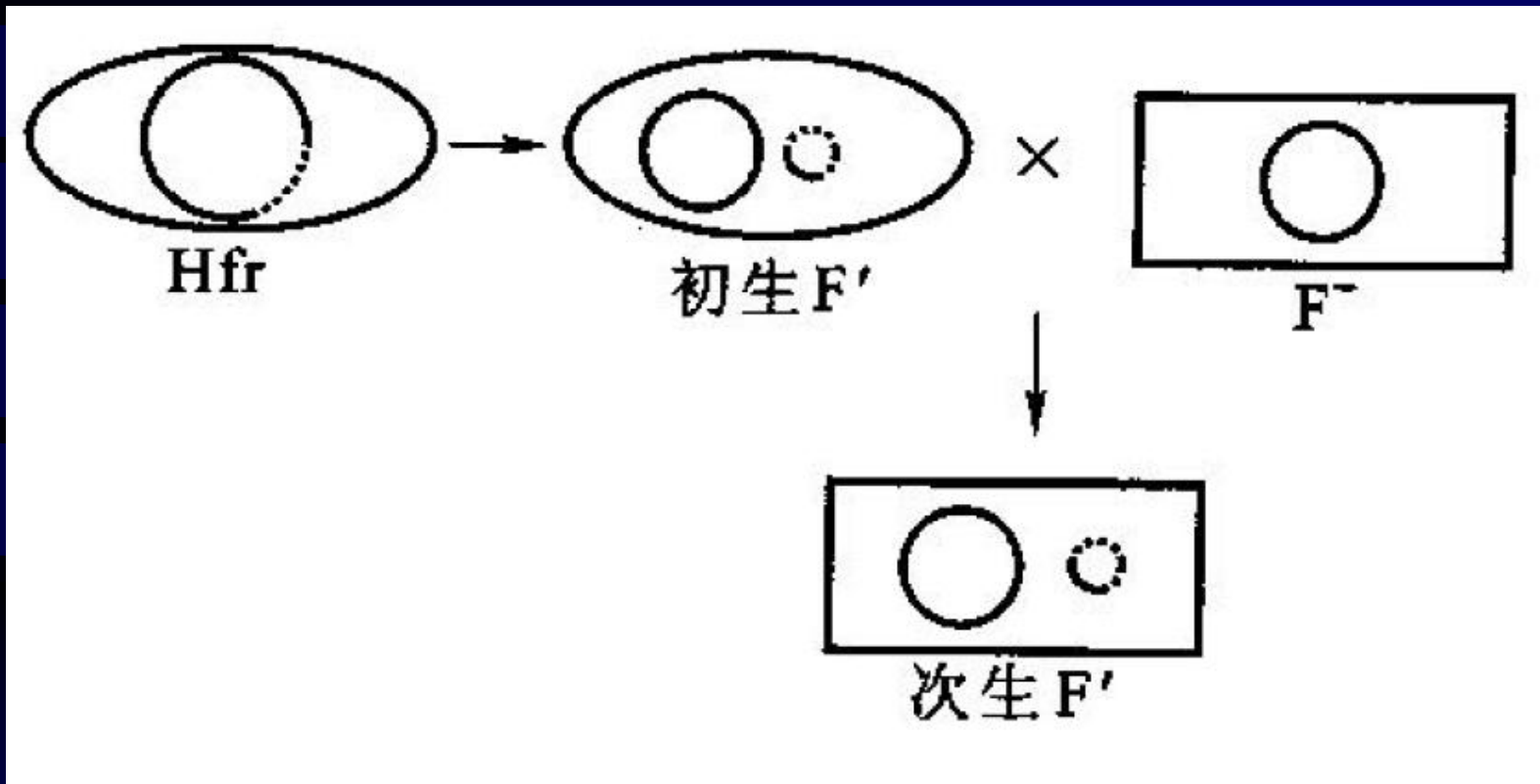
◆Hfr菌株细胞内的F质粒由于不正常切割而脱离核染色体组时重新形成的游离的携带整合位点一小段核染色体基因的特殊F质粒，或F'因子

♪ 初生F'菌株

♪ 次生F'菌株

◆F质粒转导、F因子转导、性导、F质粒媒介的转导以F'质粒传递供体基因的方式

初生F'菌株和次生F'菌株的由来



（四）原生质体融合

◆Protoplast fusion

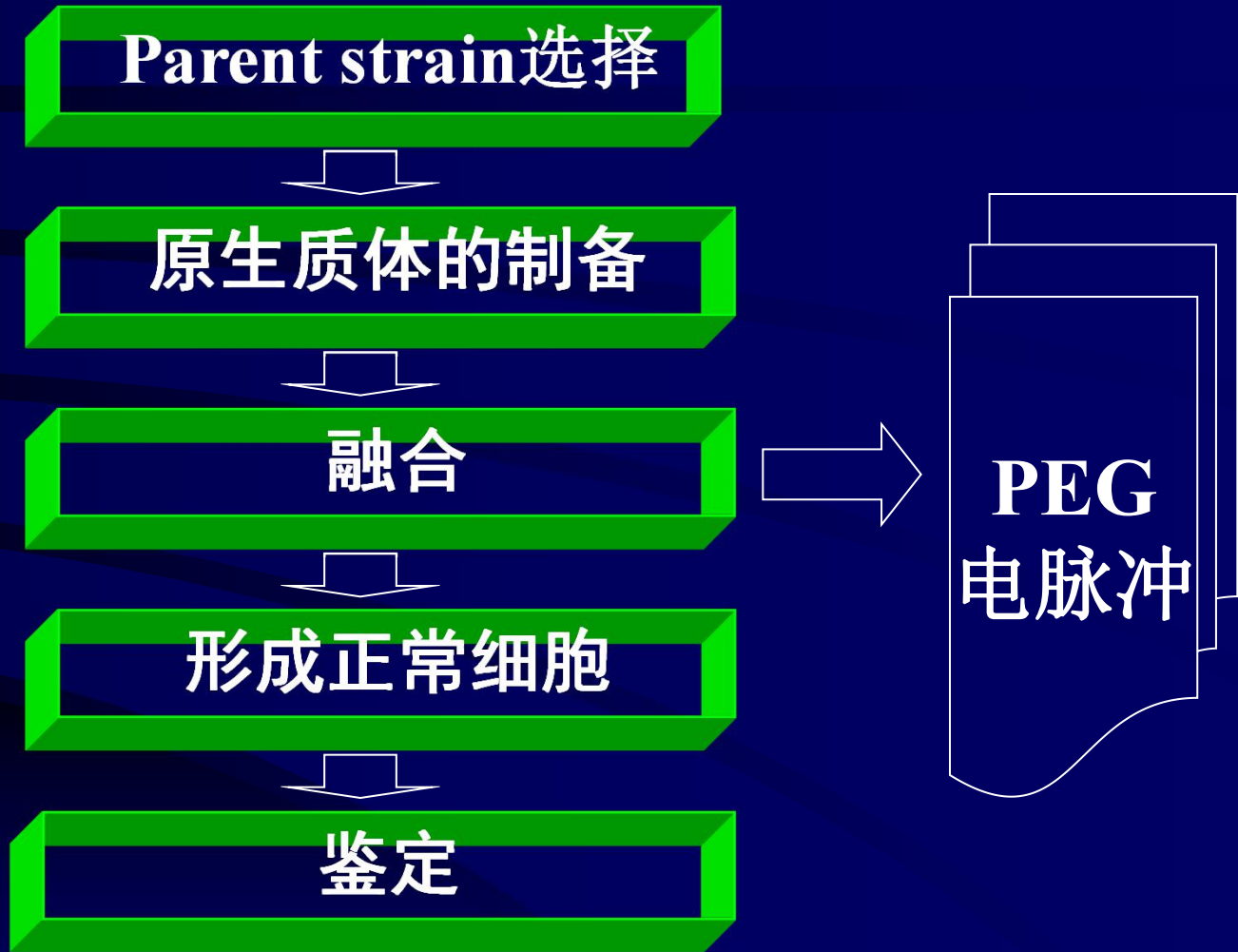
通过人为方法，使遗传性状不同的两个细胞的原生质发生融合，进而发生遗传重组以产生同时带双亲性状、遗传性稳定的重组子（融合子fusant）的过程。

◆进行原生质体融合的生物种类

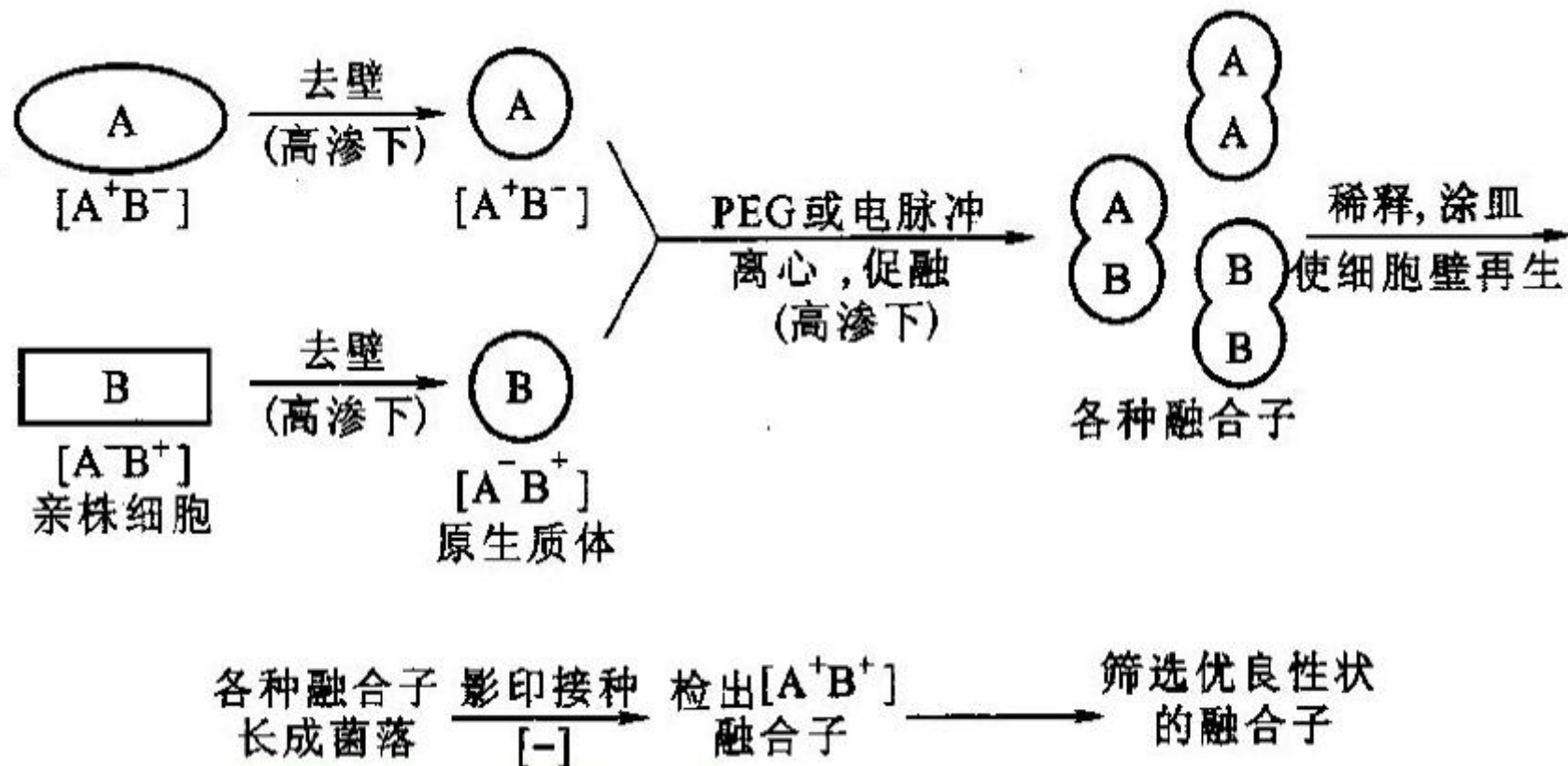
原核生物：细菌、放线菌

真核生物：酵母菌、霉菌、和蕈菌、植物细胞、人和动物细胞

原生质体融合的操作步骤



原生质融合的操作示意图



二、真核微生物的基因重组

- ◆ 有性杂交
- ◆ 准性杂交
- ◆ 原生质体融合
- ◆ 遗传转化

（一）有性杂交（sexual hybridization）

◆概念

一般指不同遗传型的两性细胞间发生的 接合和随之发生的染色体重组，从而产生新遗传型后代的育种技术

◆进行有性杂交的微生物

产生有性孢子的酵母菌、霉菌和蕈菌

*S.cerevisiae*的有性杂交

◆ 步骤

♪ 单倍体的制备

含醋酸钠或其他产孢子培养基

♪ 接触杂交

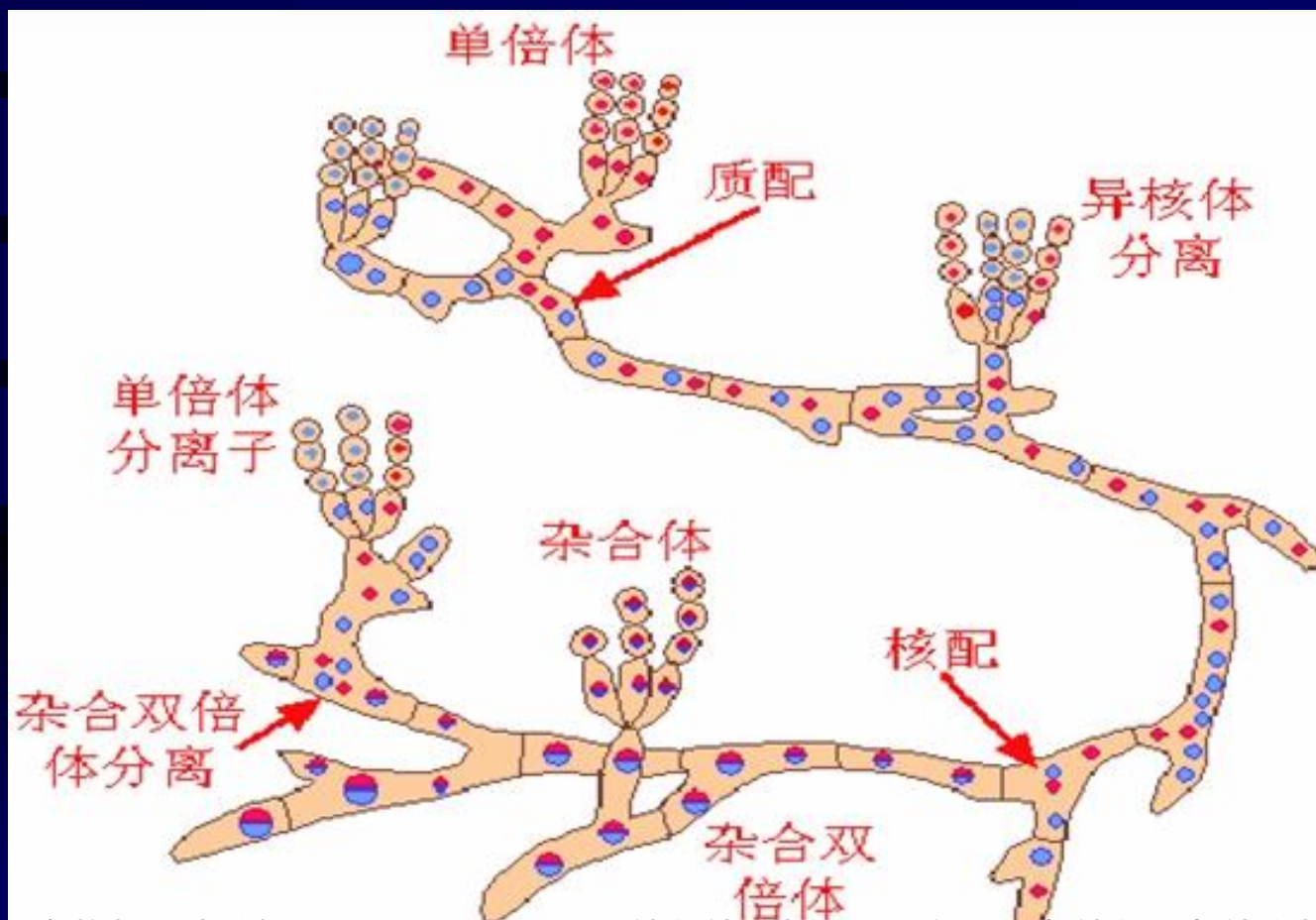
♪ 有性杂交后代双倍体

♪ 优良个体筛选

(一) 准性生殖

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

包括菌丝联接、异核体形成、核配和体细胞交换和单倍体化四个阶段



完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

第四节 基因工程

Gene Engineering

Genetic engineering

基因工程的定义

是用人为方法将所需要的某一供体生物的遗传物质——DNA大分子提取出来，在离体条件下用适当的工具酶进行切割后，把它与作为载体（Vector）的DNA分子连接起来，然后与载体一起导入某一些更易生长、繁殖的受体细胞中，以让外源遗传物质在其中“安家落户”，进行正常的复制和表达，从而获得新物种的一种崭新的育种技术。

过程

- ① 基因分离
- ② 体外重组：外源DNA与载体连接
- ③ 载体传递：导入受体，使外源DNA在受体中表达
- ④ 复制、表达
- ⑤ 筛选、繁殖：对重组后的大量重组子性状进行筛选，从中选出所需性状重组子，并使之繁殖。

基因工程的主要原理与操作步骤

