

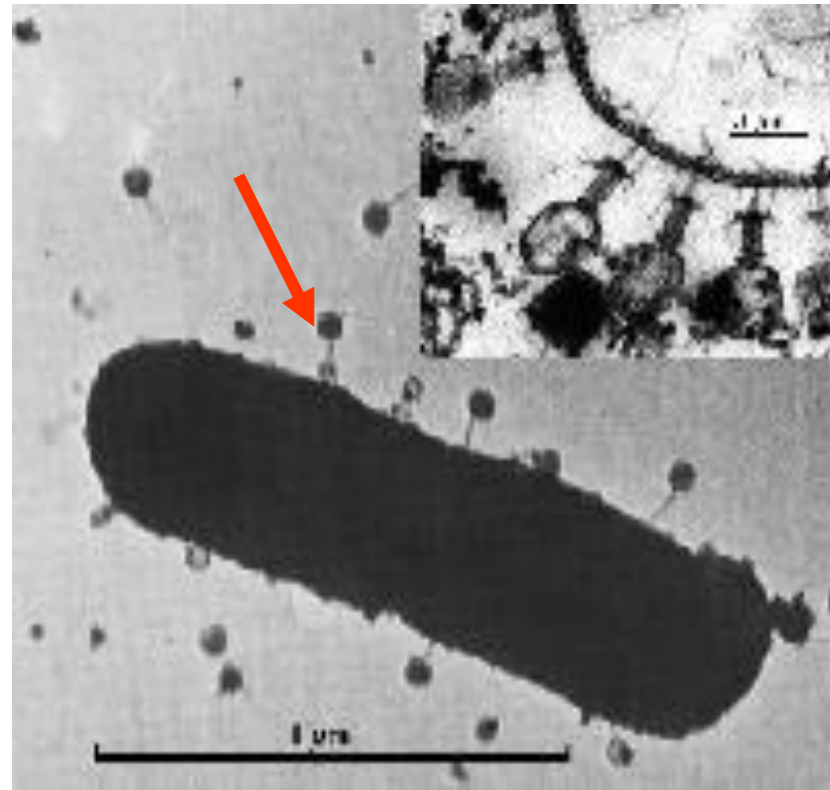
第3章 噬菌体

bacteriophage

Bacteriophages (phages) are viruses which infect bacteria, fungi, actinomycetes, and spirochetes.

They replicate as obligate intracellular parasites in host.

- bacteriophage是感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒的总称。
- 为专性细胞内寄生的微生物。
- 分布广泛，有严格的宿主特异性。

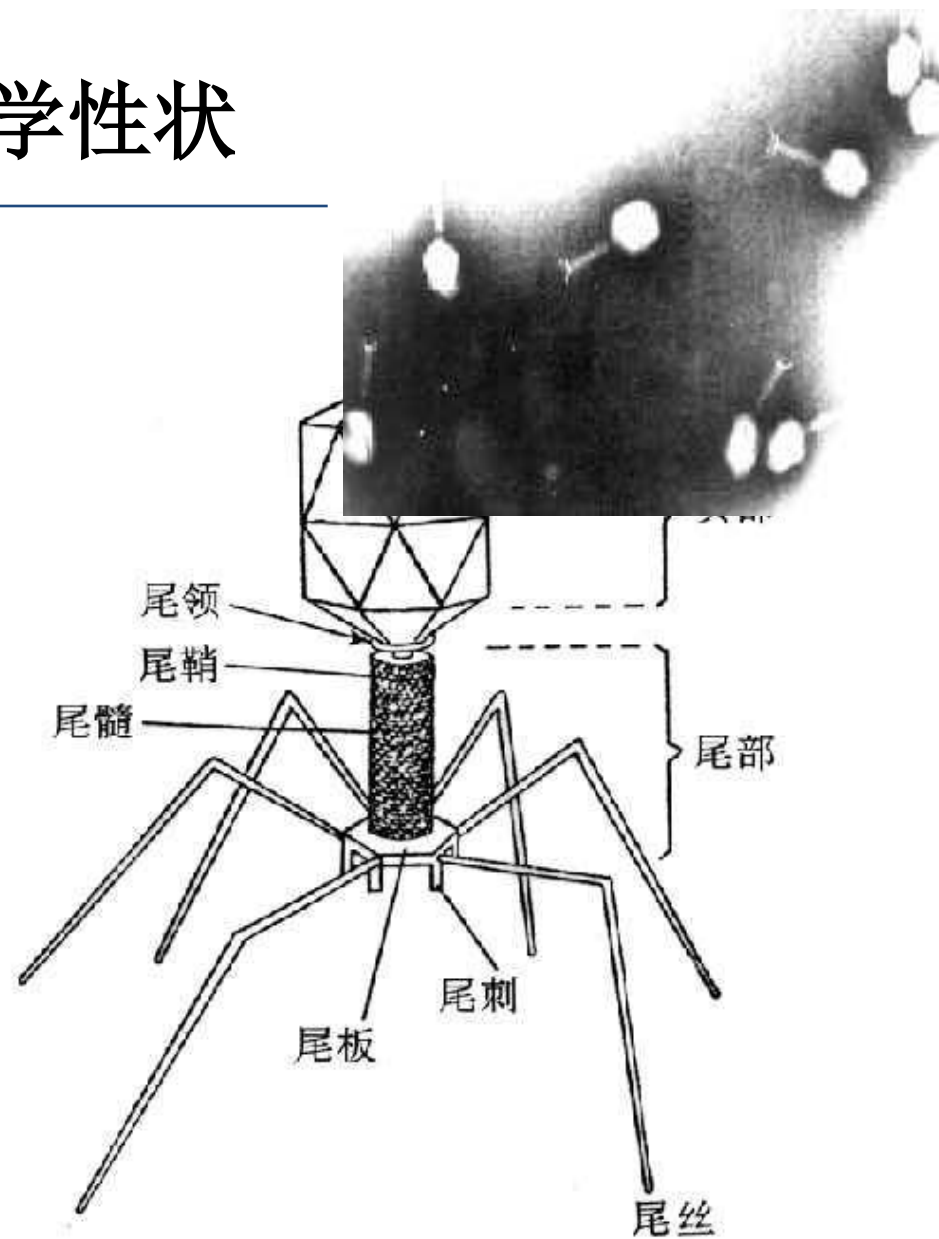


主要内容

- bacteriophage生物学性状
- bacteriophage与宿主菌的关系
virulent phage , temperate phage
- bacteriophage应用

一、bacteriophage生物学性状

- 形态与结构
 - 蝌蚪形、微球形和丝状
 - 头部，尾部
- 化学组成
 - 蛋白质（衣壳）
 - 核酸（核心，**DNA** 或
- 免疫原性
- 抵抗力，比一般细菌强。



bacteriophage种类

- **毒性噬菌体 (virulent phage)**

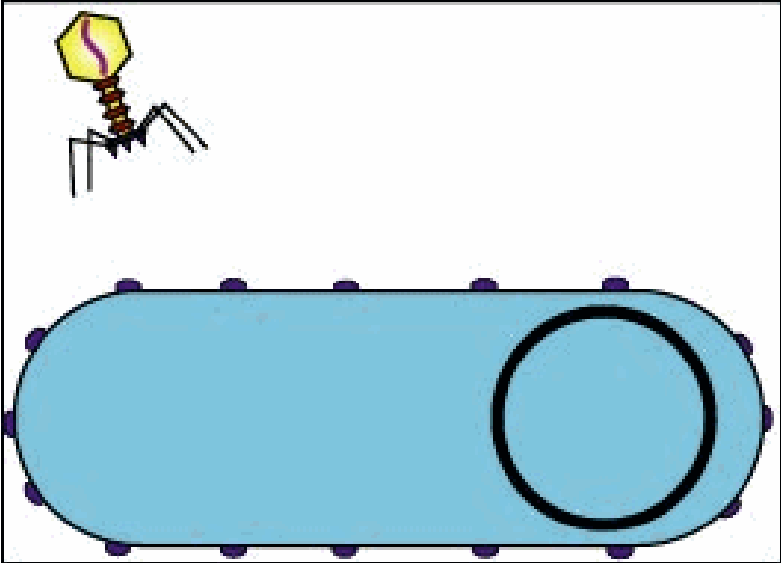
- 能在宿主菌细胞内复制增殖，产生许多子代噬菌体，并最终裂解细菌，称为毒性噬菌体。
- **Virulent phages are phages which can only multiply in bacteria and kill the cell by lysis at the end of the life cycle.**

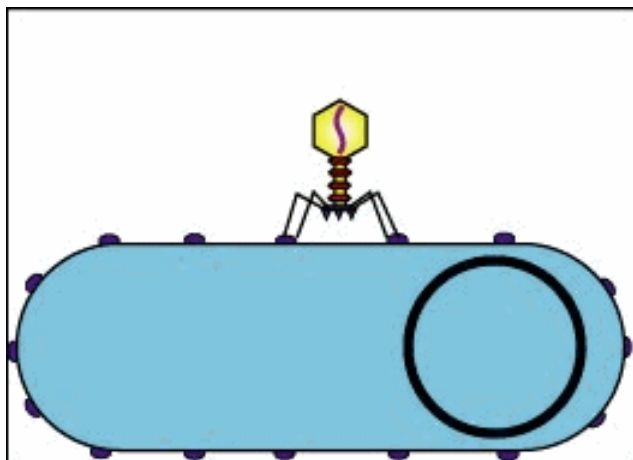
bacteriophage种类

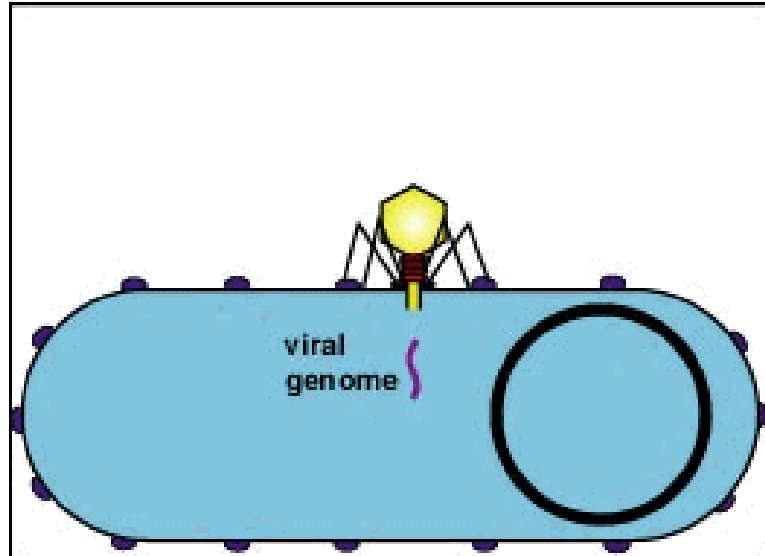
- **温和噬菌体**（temperate phage） / **溶原性噬菌体**（lysogenic phage）
 - 噬菌体基因与宿主菌染色体整合，不产生子代噬菌体，但噬菌体DNA能随细菌DNA复制，并随细菌的分裂而传代。
 - Temperate phages are those that can enter a quiescent state in the cell. In this quiescent state most of the phage genes are not transcribed; the phage genome exists in a repressed state.

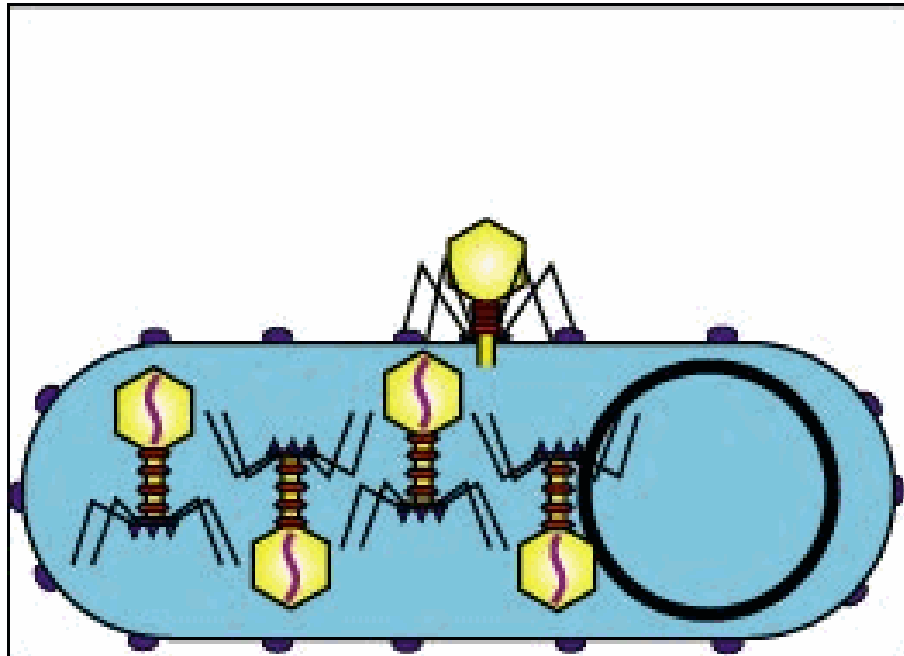
二、 virulent phage

- 复制过程
- 噬菌现象
- 与医学的关系

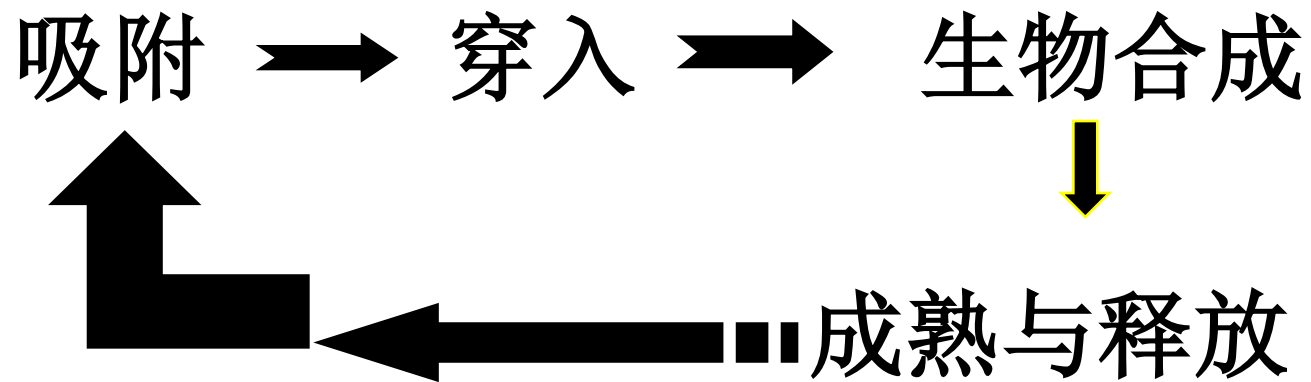






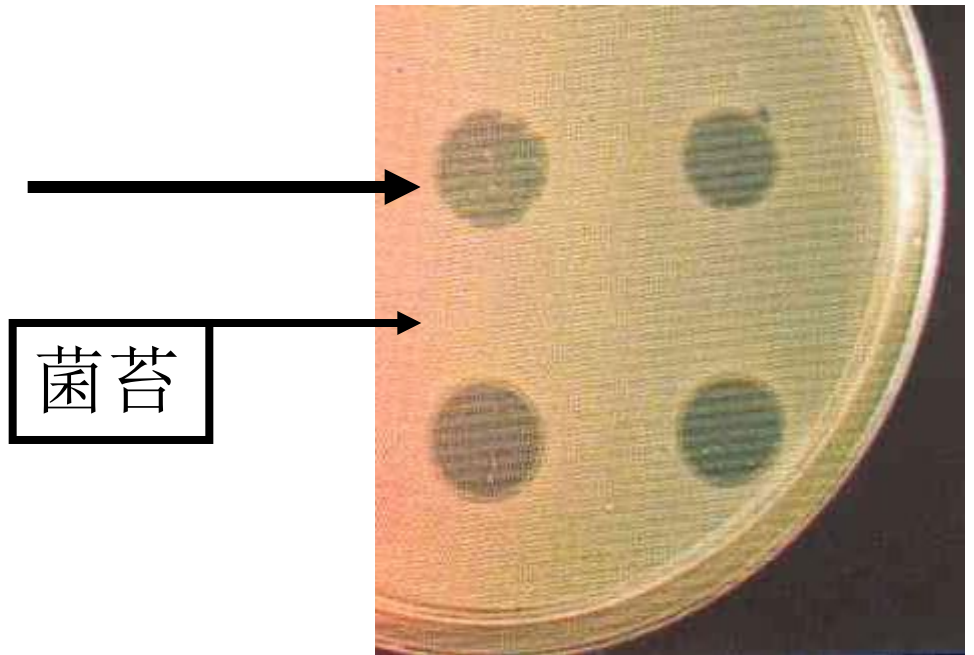


virulent phage复制周期



virulent phage 噬菌现象

- 液体培养基，混浊 → 澄清
- 固体培养基，
出现噬斑 (plaque)



virulent phage在医学上的应用

- 特异性寄生

对细菌进行分型鉴定： 噬菌体型

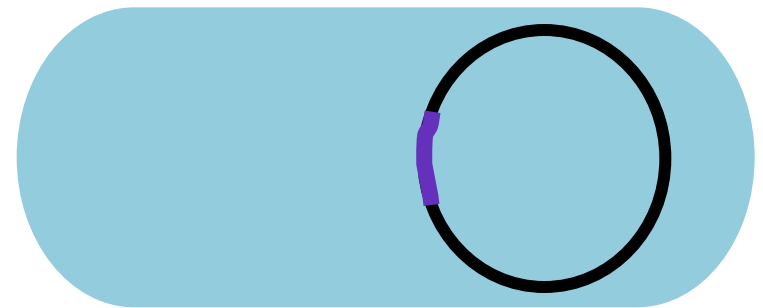
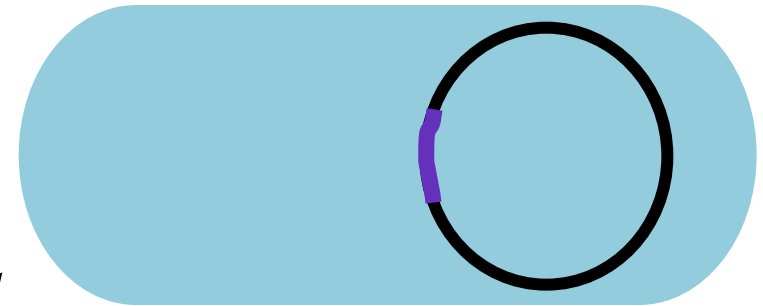
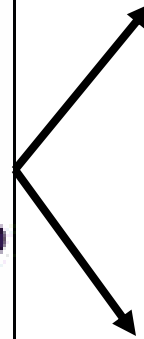
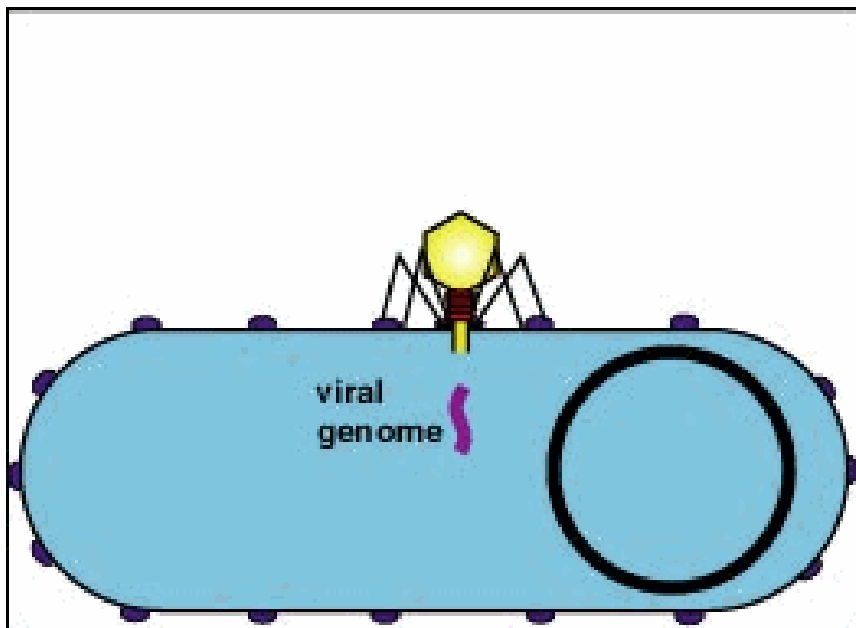
- 溶菌特性

bacteriophage有望成为潜力巨大的抗生素替代物

bacteriophage与宿主菌间的特异性？

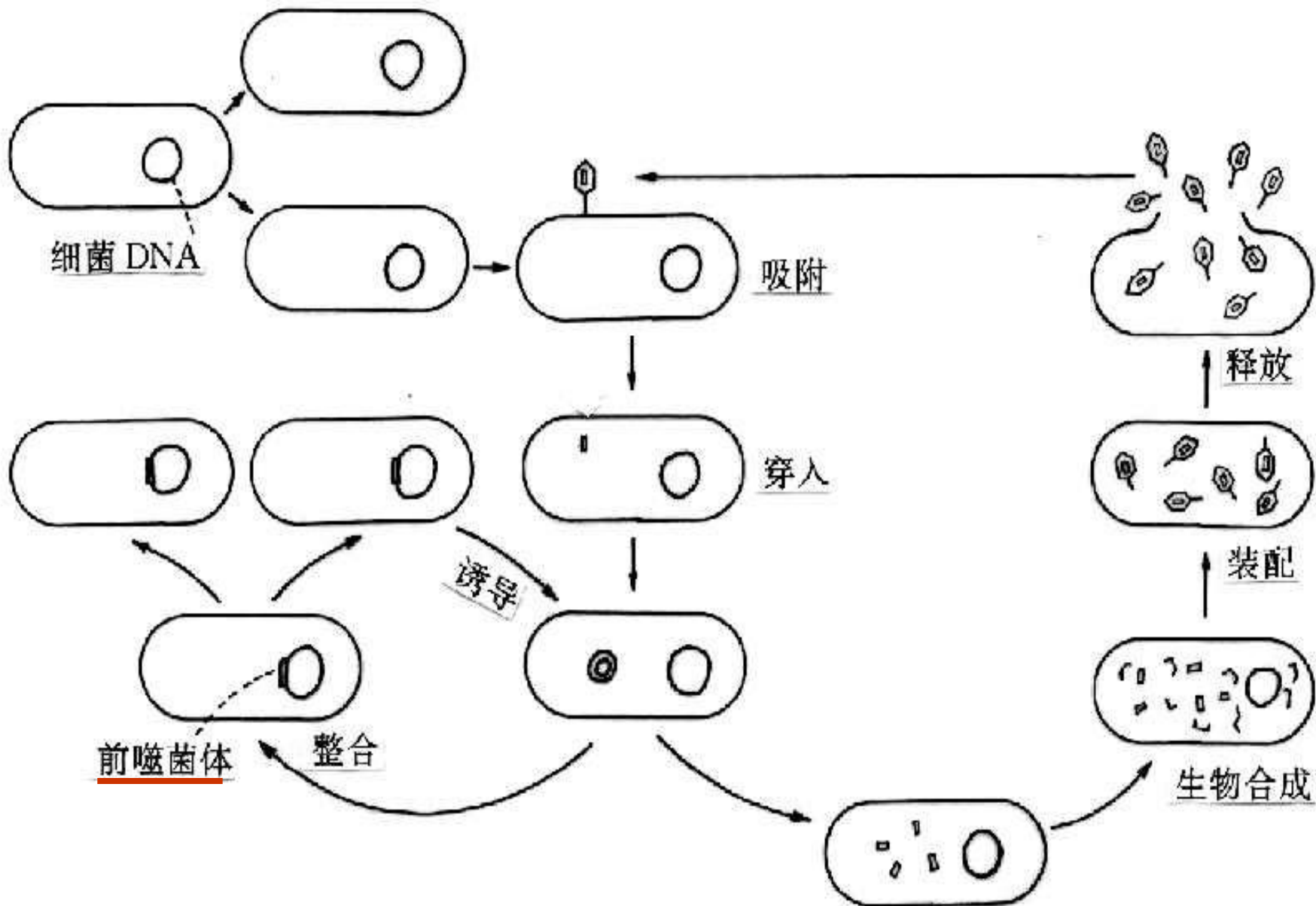
将30~40种作用于同一种细菌的不同噬菌体混合使用，可以避免噬菌体与细菌的特异性问题。

三、temperate phage



prophage : 整合在细菌基因组中的噬菌体基因组

lysogenic bacterium



溶原性周期

溶菌性周期

temperate phage在医学上的应用

- 分子生物学研究的重要工具

基因转导，噬菌体展示技术（详见第5章）

第4章 细菌的遗传和变异

Bacterial Heredity and Variation

•遗传性变异（基因型变异）

•非遗传性变异（表型变异）

	遗传性变异	非遗传性变异
基因改变	+	-
遗传	+	-
可逆性	-	+
外界环境	-	+
变异幅度	个别细胞	群体

细菌的变异现象

- 形态和结构变异
- 菌落变异
- 毒力变异
- 耐药性变异

细菌形态结构变异

L型变异 (表型变异)

青霉素、溶菌酶

细菌典型形态 ————— 多形性

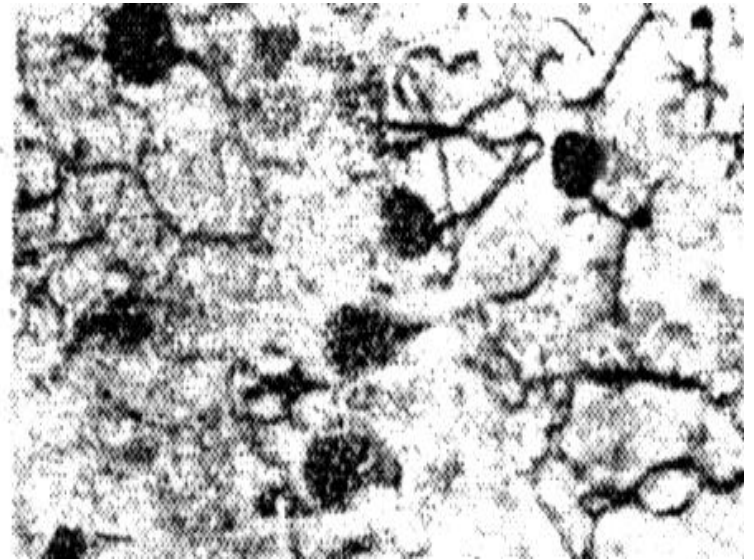
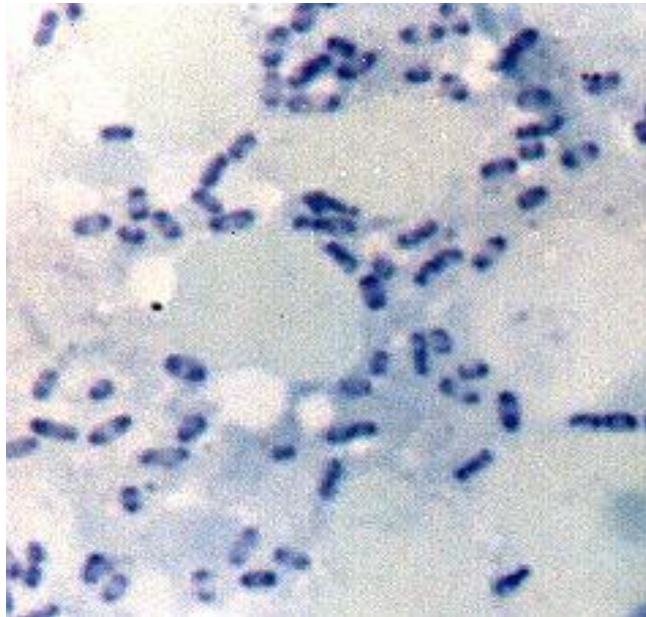
抗体或补体

细菌学检查易漏检；

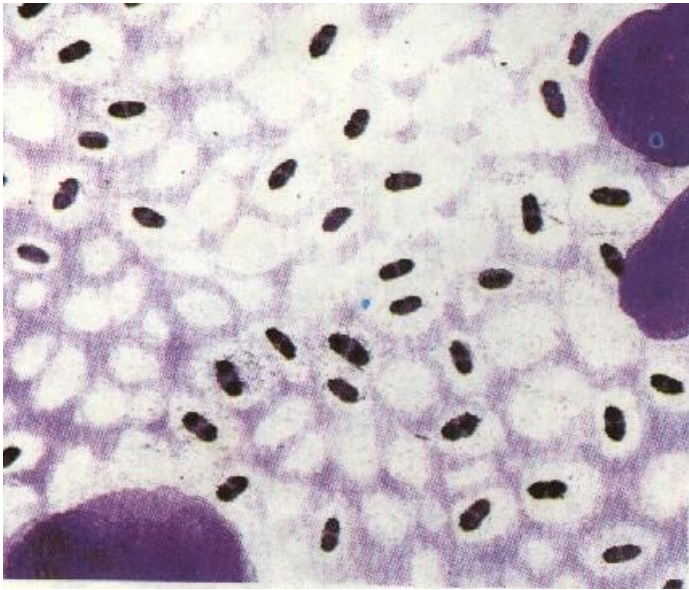
对以细胞壁为靶点的抗菌药物不再敏感。

形态结构变异

鼠疫耶氏菌 $\xrightarrow{\text{3-6\%食盐}}$ 多形性
陈旧培养基物



特殊结构的变异



有荚膜的肺炎链球菌



无荚膜的肺炎链球菌

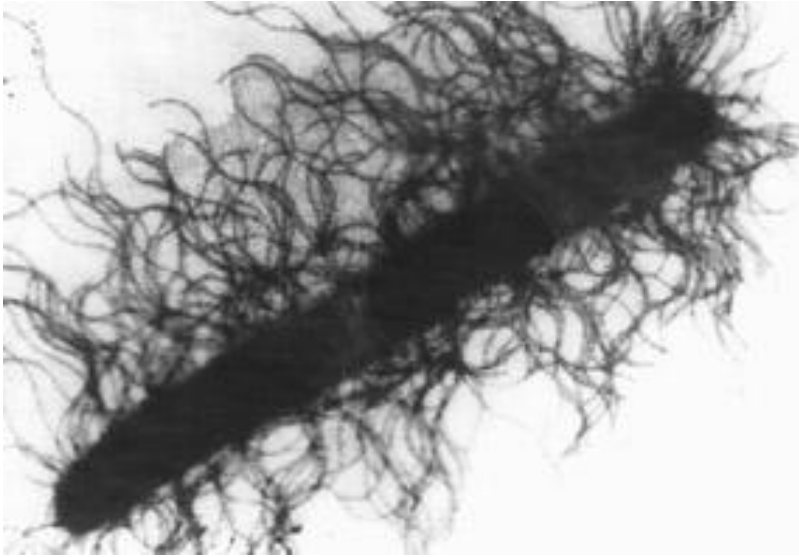
细菌特殊结构的变异

42-43°C

炭疽杆菌 ————— 失去形成芽胞能力, 毒性降低
10-20天

迁徙生长现象

变形杆菌在固体培养基上呈扩散生长，形成以接种部位为中心的厚薄交替，同心圆形的波状菌苔。




变形杆菌的周身鞭毛



迁徙生长

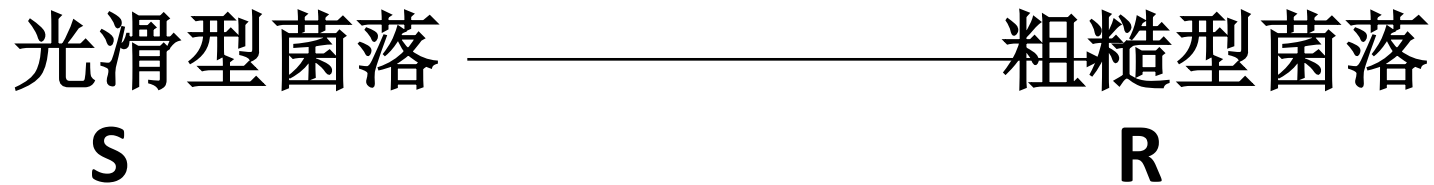
细菌特殊结构的变异

鞭毛变异（H-O变异）

变形杆菌 0.1%石炭酸
迁徙生长（H）  点状生长、单个菌落（O）

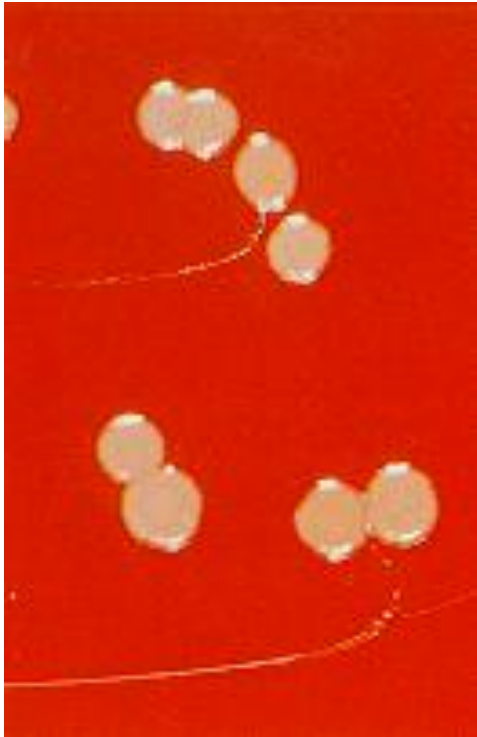
细菌菌落变异（S—R变异）

在陈旧培养基中长期培养

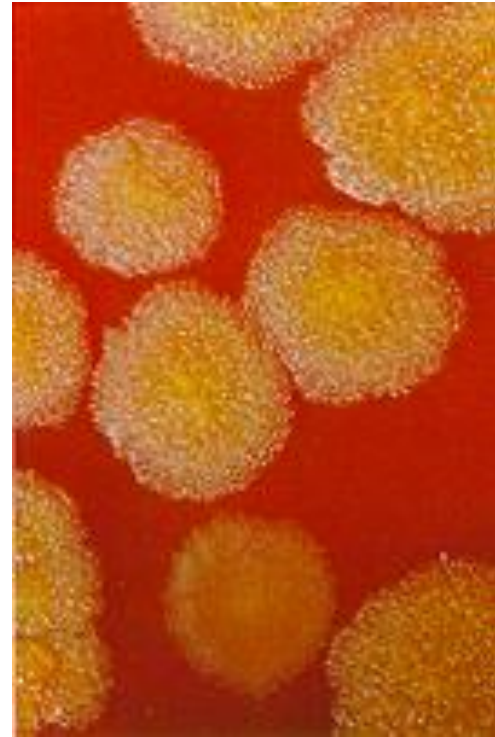


原因：失去LPS的特异多糖，或不形成荚膜

细菌菌落变异 (S-R变异)



smooth colony



rough colony

细菌毒力变异

- 毒力增强

β 棒状噬菌体
白喉棒状杆菌 ————— 溶原性细菌
(产生白喉毒素)

- 毒力减弱

胆汁、甘油、马铃薯培养基
牛结核分枝杆菌 ————— 卡介苗
13年(230代)

疫苗制备:

炭疽杆菌疫苗、鼠疫杆菌疫苗、百日咳杆菌疫苗、卡介苗等

细菌耐药性变异

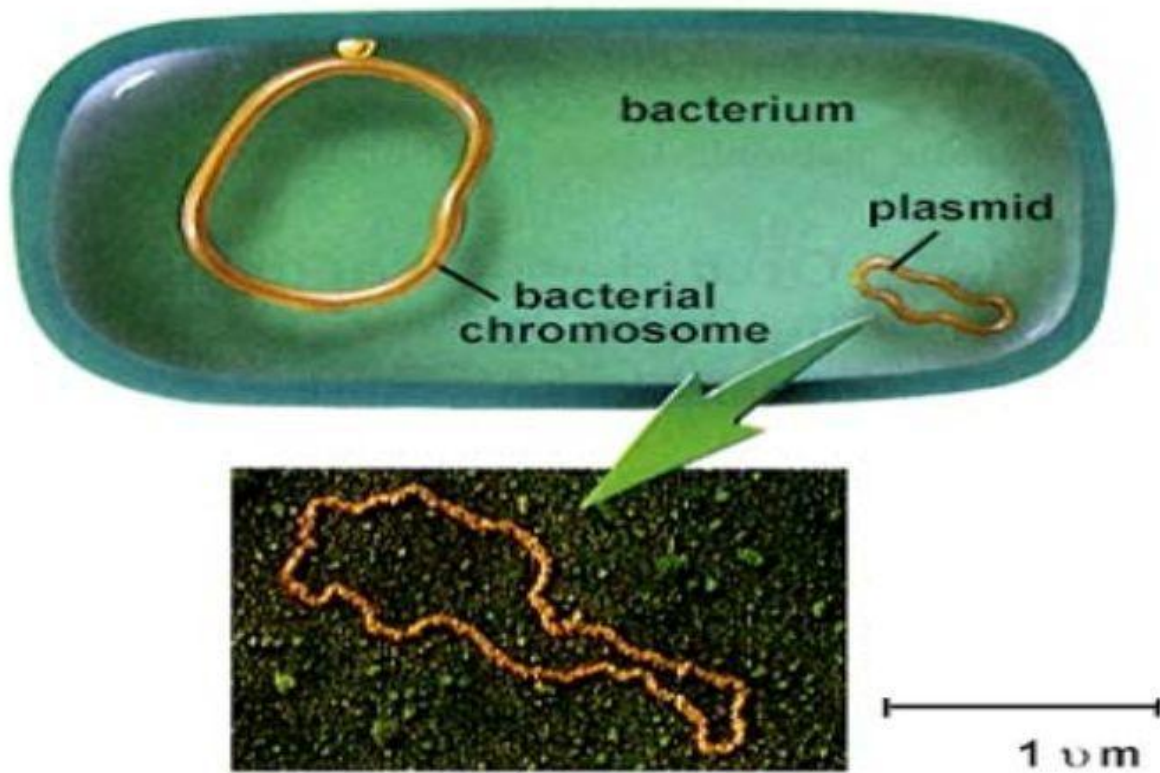
- 细菌对某种抗菌药物由敏感变成耐药的变异为耐药性变异。
如：金黄色葡萄球菌耐药株（金黄色→灰白色）
- 有些细菌同时耐受多种抗菌药物，即**多重耐药菌**，甚至产生药物依赖性。

含链霉素培养基
痢疾杆菌 ————— 依链株
长期培养

超级
细菌

临床细菌感染的治疗面临严重困难。
应以药物敏感试验为依据用药。

细菌遗传变异的物质基础



染色体

质粒

转座因子

1. bacterial chromosome

- 由一条超螺旋的闭环**dsDNA**分子组成，无组蛋白包绕，不形成核小体结构。
- bacterial chromosome基因为连续的，**无内含子**，转录后形成的**mRNA**不必再剪切、拼接，可直接翻译成多肽。

plasmid

- 质粒是存在于染色体以外的遗传物质，细胞质中的闭合的环状dsDNA。
- 约1Kb~250Kb
- 大质粒：含几百个基因
- 小质粒：含几十个基因

plasmid基本特性

- 能自我复制，自主复制
- 编码细菌某些特定性状
- 可自发消除
- 可在细菌间转移
- 相容性和不相容性

紧密型质粒
松弛型质粒

并非细菌生长所必需，但有利于细菌的生存。

接合性质粒
非接合性质粒

几种重要plasmid

- 致育质粒（fertility plasmid, F质粒）
- 耐药质粒（drug-resistance plasmid）
- 毒力质粒（virulence plasmid, Vi质粒）
编码毒力相关因子，如ST质粒
- 细菌素质粒，如Col质粒
- 代谢质粒（降解质粒）

fertility plasmid, F质粒

- 编码性菌毛
- 接合型质粒
- 有三个主要功能区

自主复制区、转移基因群区、重组区

- F^+ 菌（雄性菌）
- F^- 菌（雌性菌）

耐药性质粒（drug-resistance plasmid）

- 编码细菌耐药相关性状

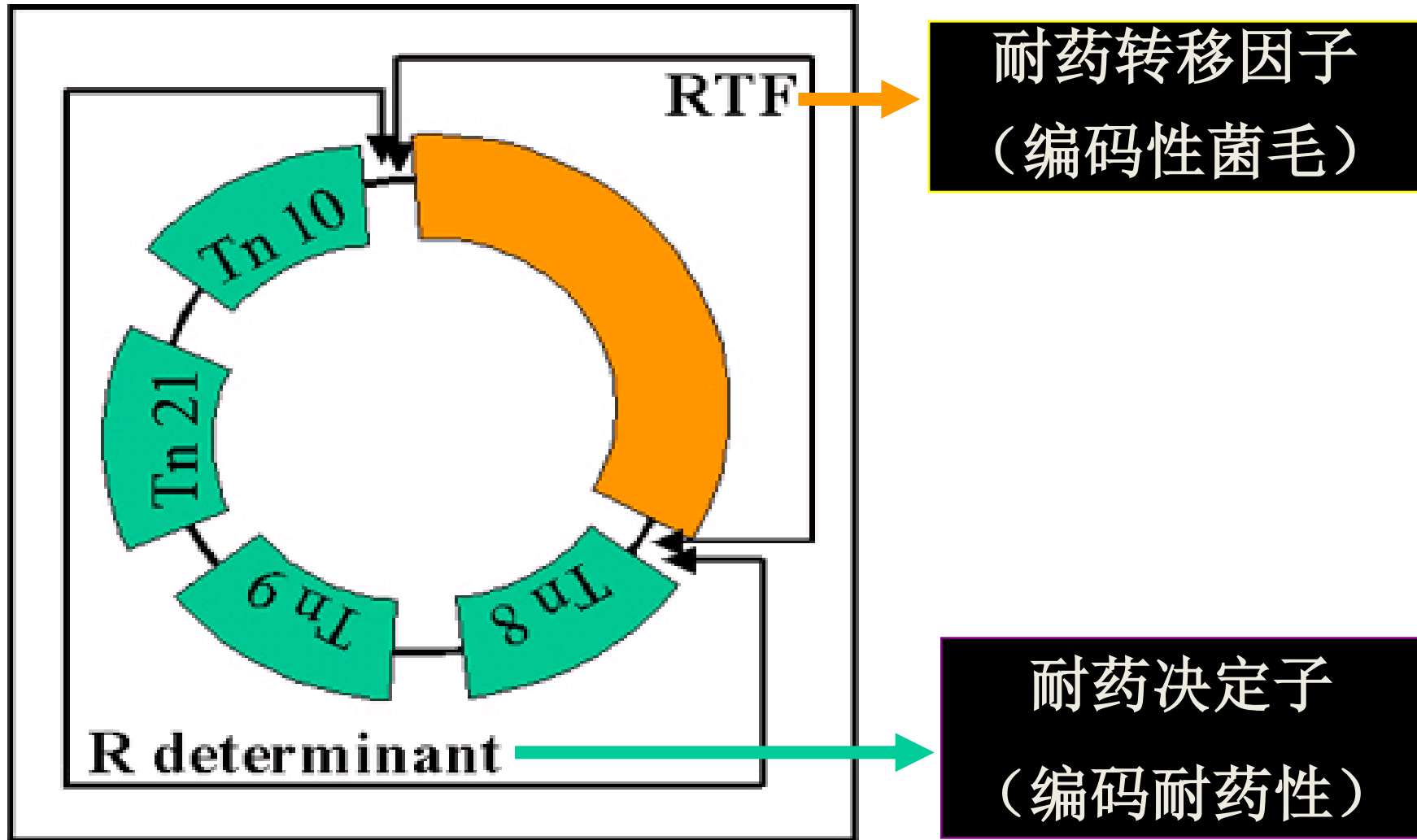
- 接合型耐药质粒，称**R质粒**，

可通过接合方式在细菌间转移的耐药质粒。

- 非接合型耐药质粒，称**r质粒**，

不能通过接合方式在细菌间转移的耐药质粒。

R质粒由两部分构成



细菌基因组中可移动的基因元件

plasmid : 在细菌间移动

转座因子

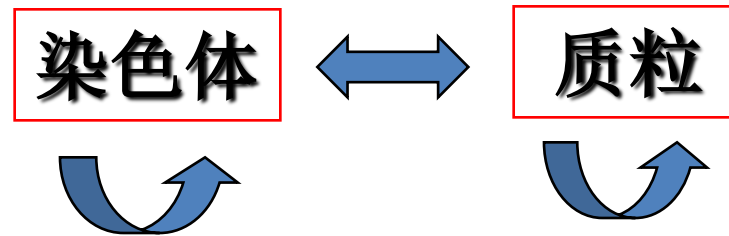
整合子



在细菌细胞内移动

3. 转座因子 (transposable element)

- **transposable element**是指基因组中能够**改变自身位置**的一段DNA片段。 (jumping gene)
- **位置的改变:**



- 转位行为的意义:

能使DNA发生插入突变和广泛的基因重排。

→ 变异和进化。

transposable element 种类

转位酶
基因

- **插入序列** (insertion sequence, IS)

- 最小的转座因子, <2kb。
- 包含转位酶基因、反向重复序列



- **转座子** (transposon, Tn)

- >2kb,
- 携带转位酶基因, 耐药性基因、抗金属基因、毒素基因等。
- 与细菌的多重耐药性有关。



书P52表5-1

常见transposon

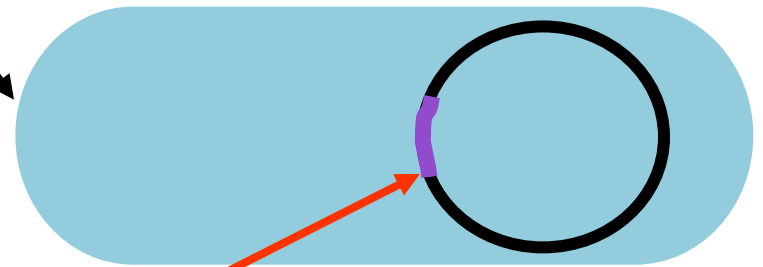
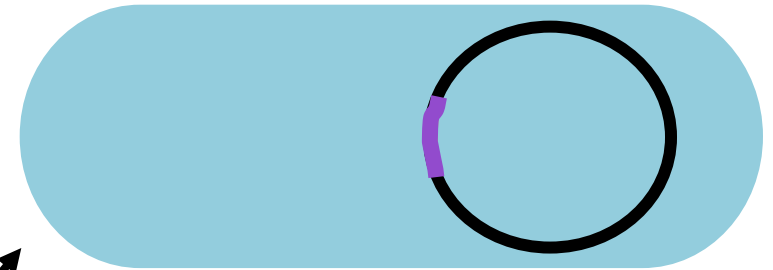
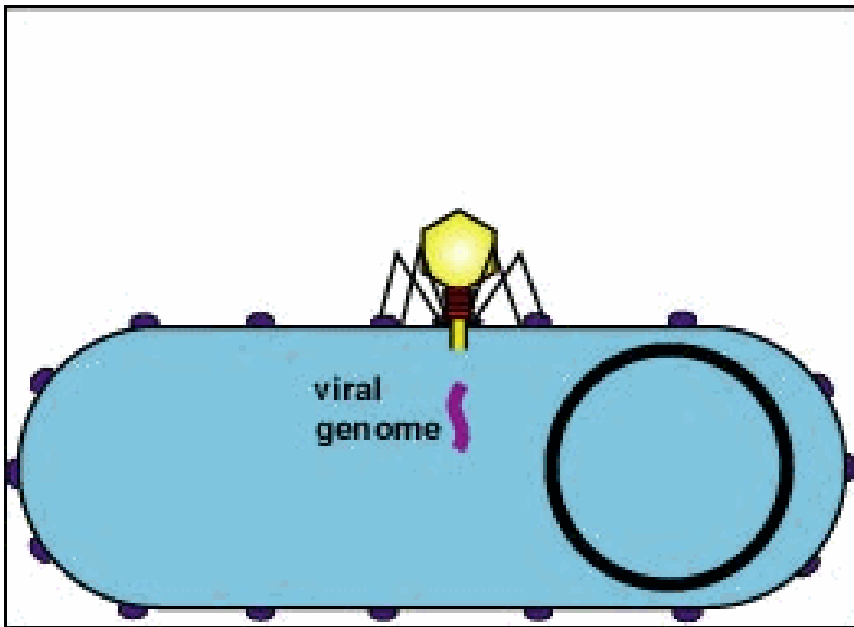
转座子	携带耐药或毒素基因
Tn1 Tn2 Tn3	AP（氨苄青霉素）
Tn4	AP、SM（链霉素）、Su（磺胺）
Tn5	Km（卡那霉素）
Tn6	Km
Tn7	TMP（甲氧苄氨嘧啶）、SM
Tn9	Cm（氯霉素）
Tn10	Tc（四环素）
Tn551	Em（红霉素）
Tn971	Em
Tn1681	大肠埃希菌（肠毒素基因）

4.整合子（integron, In）

- 具有位点特异性重组功能，能捕获和整合外源基因，并可启动所携带基因表达的一段运动的DNA片段。
- 可存在于染色体、质粒或转座子上，可随**转座子**在染色体和质粒间移动；可随**质粒**在细菌间转移。

在细菌耐药播散中
发挥重要作用。

temperate phage



prophage : 整合在细菌基因组中的噬菌体基因组

lysogenic bacterium

5. 噬菌体基因组

- **转座噬菌体或 prophage**：是一些具有转座功能的溶原性噬菌体，能整合到细菌染色体的任一位置，能改变细菌的某些生物学性状。
- 可作为生物诱变剂，研究细菌变异的工具。

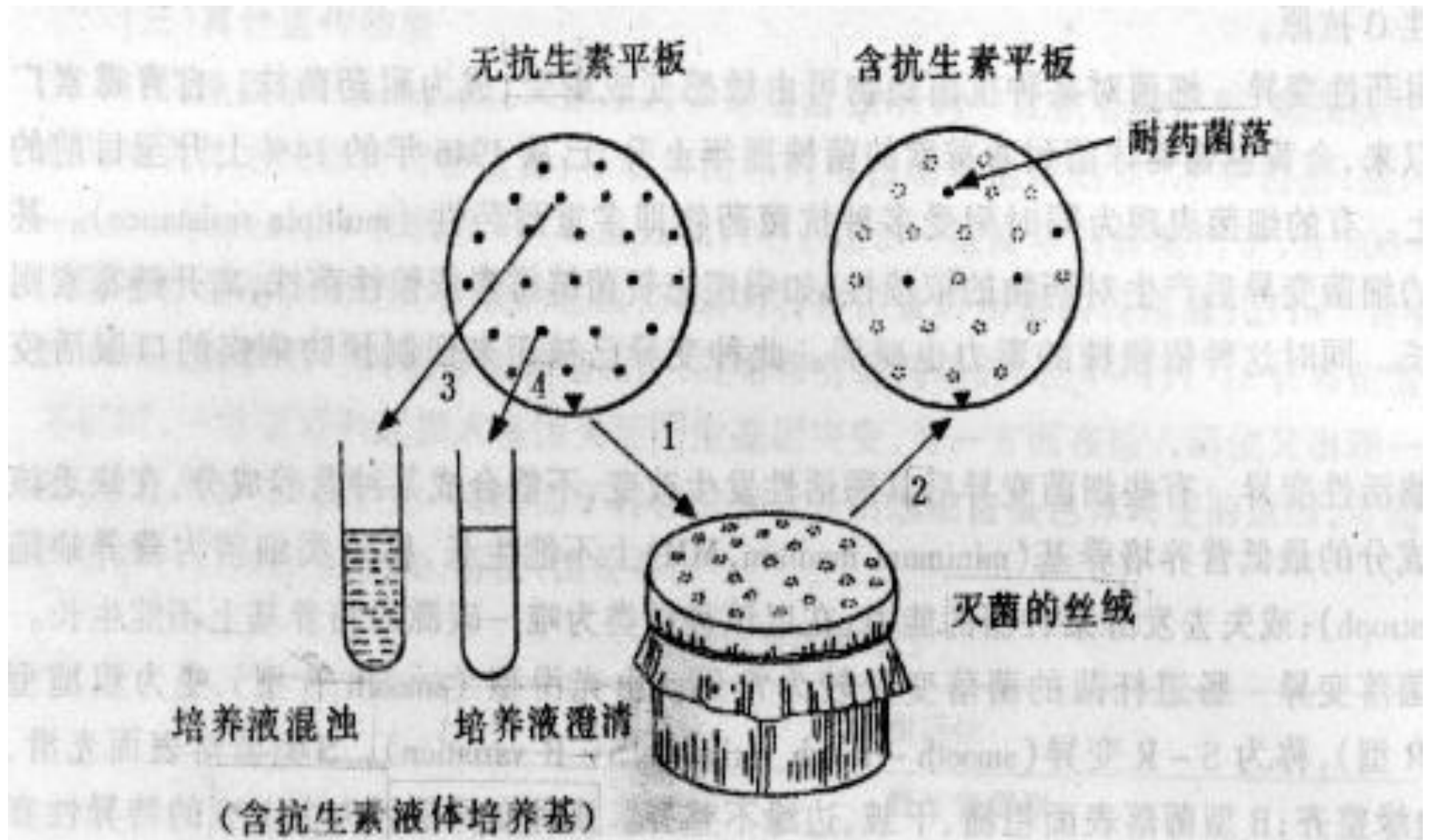
细菌的变异机制

- **基因突变 (gene mutation)**
- **基因的转移和重组
(gene transfer and recombination)**

gene mutation规律

- 自发性和随机性
- 稀少性：自发突变率很低，
 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-9}$
- 可诱变性：理化因素可提高突变率
- 稳定性
- 突变的自发性与环境的选择作用

影印试验 (replica plating) (1952年, Lederberg)



**耐药突变株在接触药物前已出现，
抗菌药物的作用只是选择耐药株**

gene transfer and recombination

- 基因转移（gene transfer）
 - 外源性的遗传物质由供体菌转入某受体菌细胞的过程称为基因转移。
- 基因重组（gene recombination）
 - 转移的基因与受体菌DNA整合在一起称为重组，使受体菌获得供体菌的某些性状。

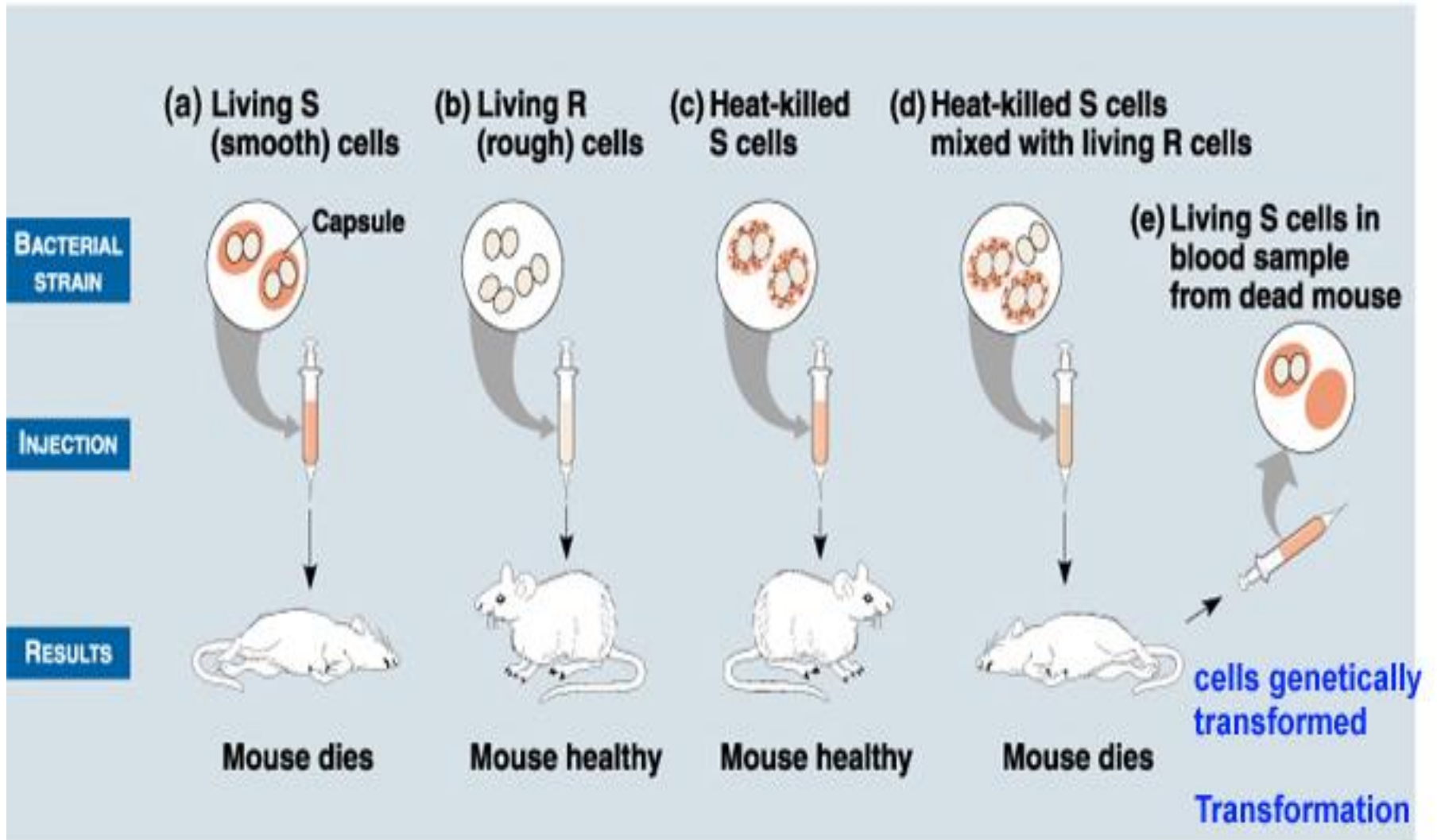
gene transfer and recombination

- 转化（transformation）
- 接合（conjugation）
- 转导（transduction）
- 溶原性转换（lysogenic conversion）
- 原生质体融合（protoplast fusion）

transformation

- 供体菌游离的DNA片段被受体菌直接摄取，使受体菌获得新的性状。

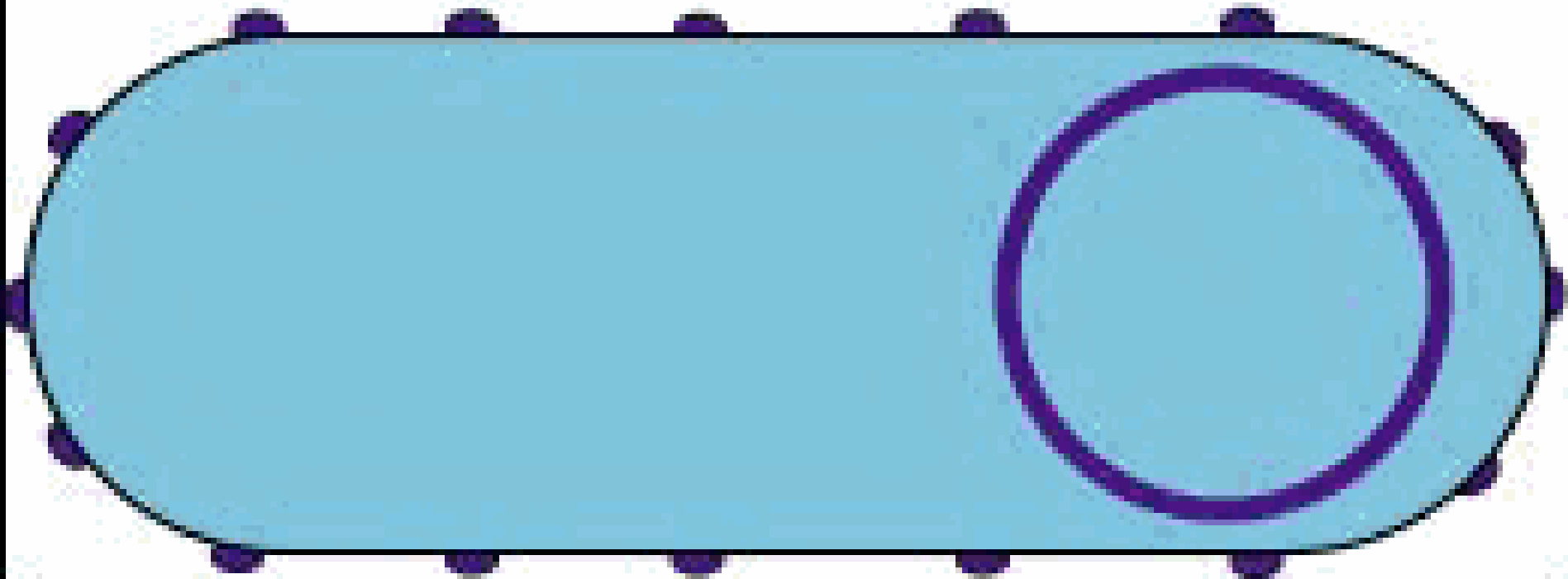
肺炎链球菌的转化试验 (1928, Griffith)



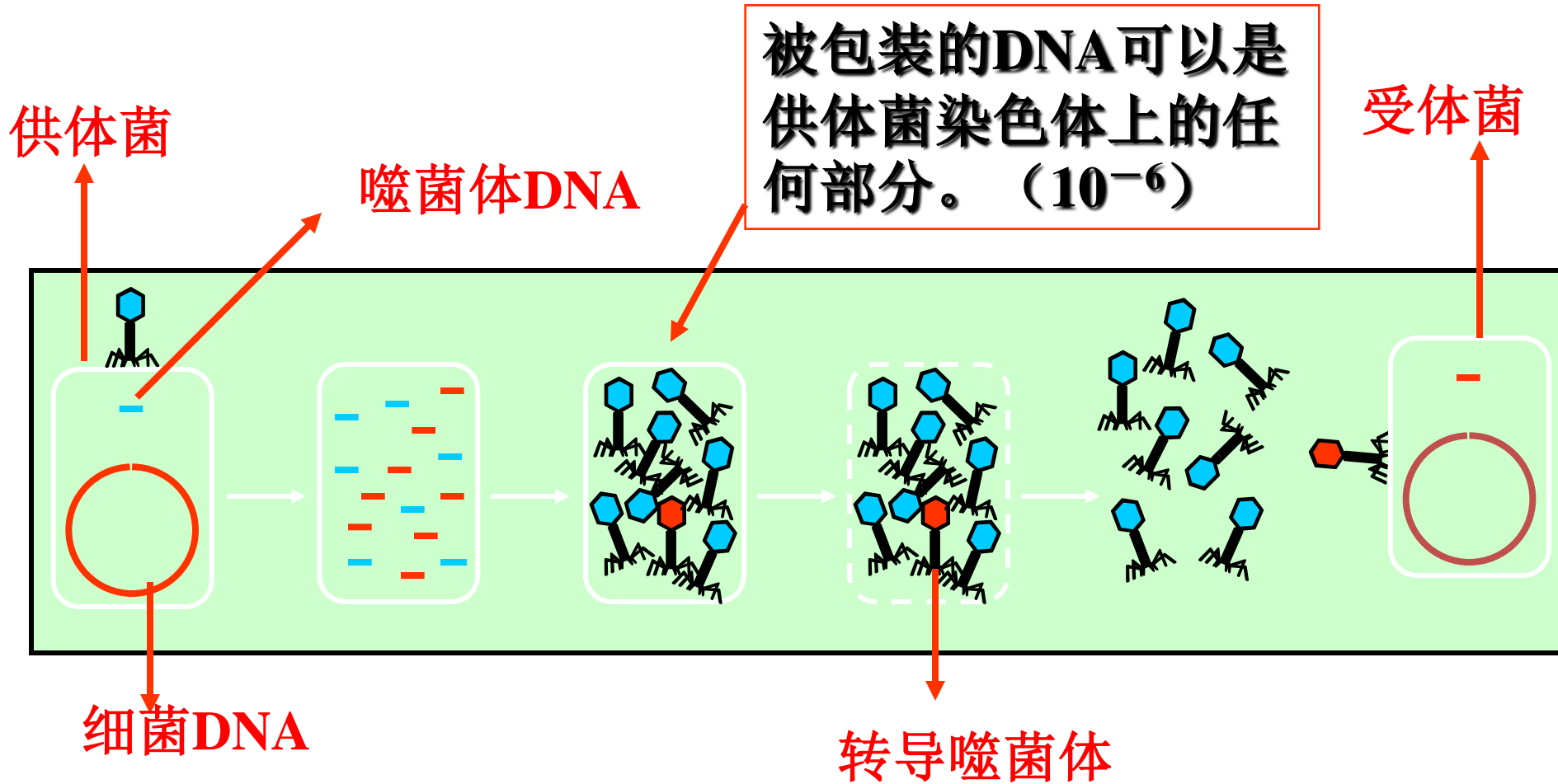
transduction

- 以噬菌体为载体，将供体菌的遗传物质转移到受体菌内，使受体菌获得供体菌的部分遗传性状。
 - 普遍性转导（generalized transduction）
 - 局限性转导（restricted transduction）

ADSORPTION



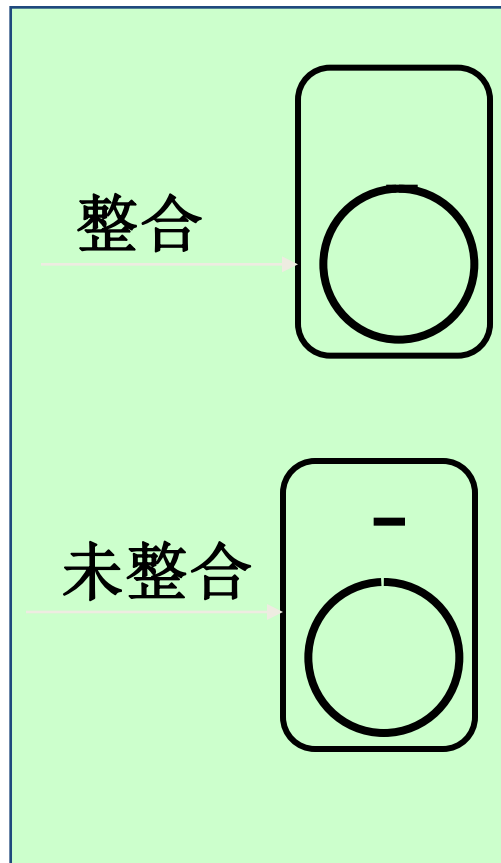
generalized transduction



结果

- 完全转导

- 流产转导

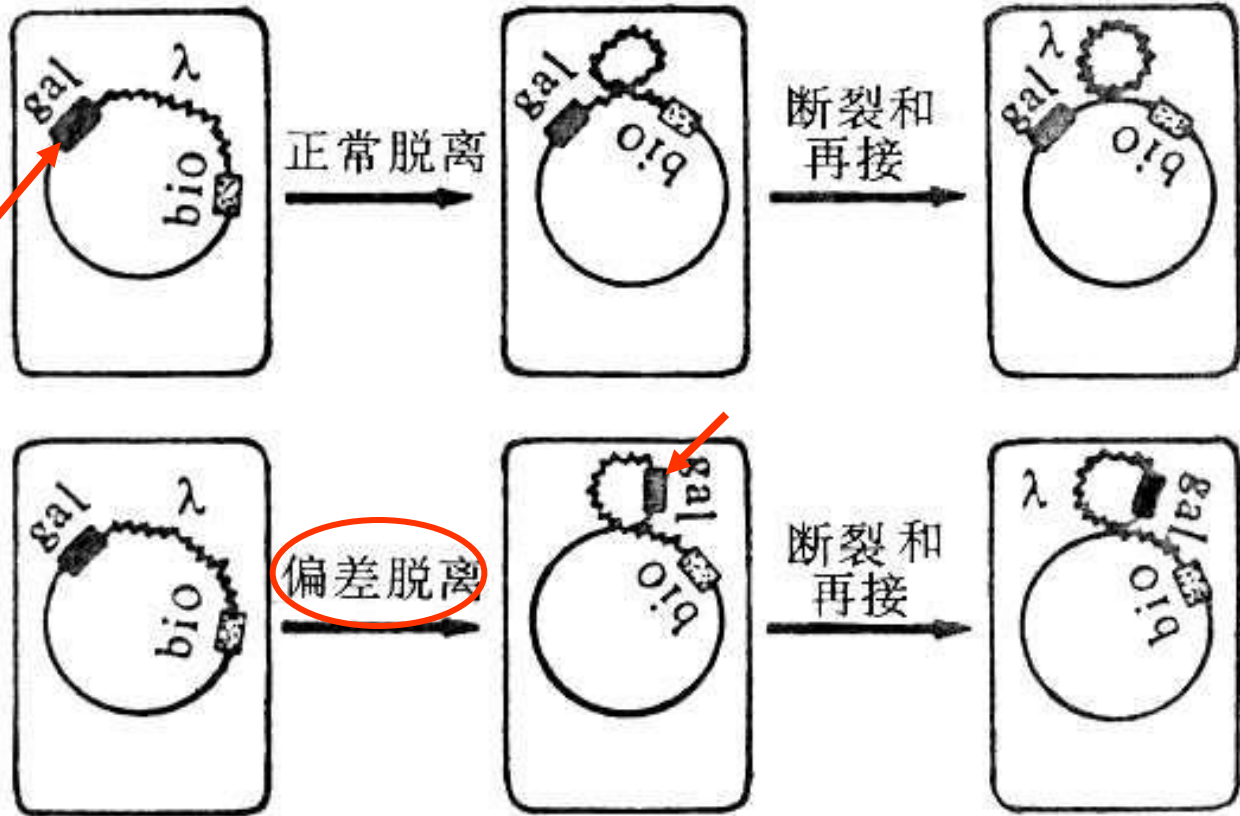


restricted transduction

- 或称特异性转导，所转导的只限于供体菌染色体上**特定的基因**。

restricted transduction

溶原期时，噬菌体DNA整合在细菌染色体特定部位。



偏差脱离：噬菌体DNA发生偏差分离，将自身的一段DNA留在细菌染色体上，而带走了与噬菌体DNA相邻的细菌基因。 (10^{-6})

transformation

供体菌裂解游离的**DNA**片段被受体菌直接摄取，使受体菌获得新的性状。

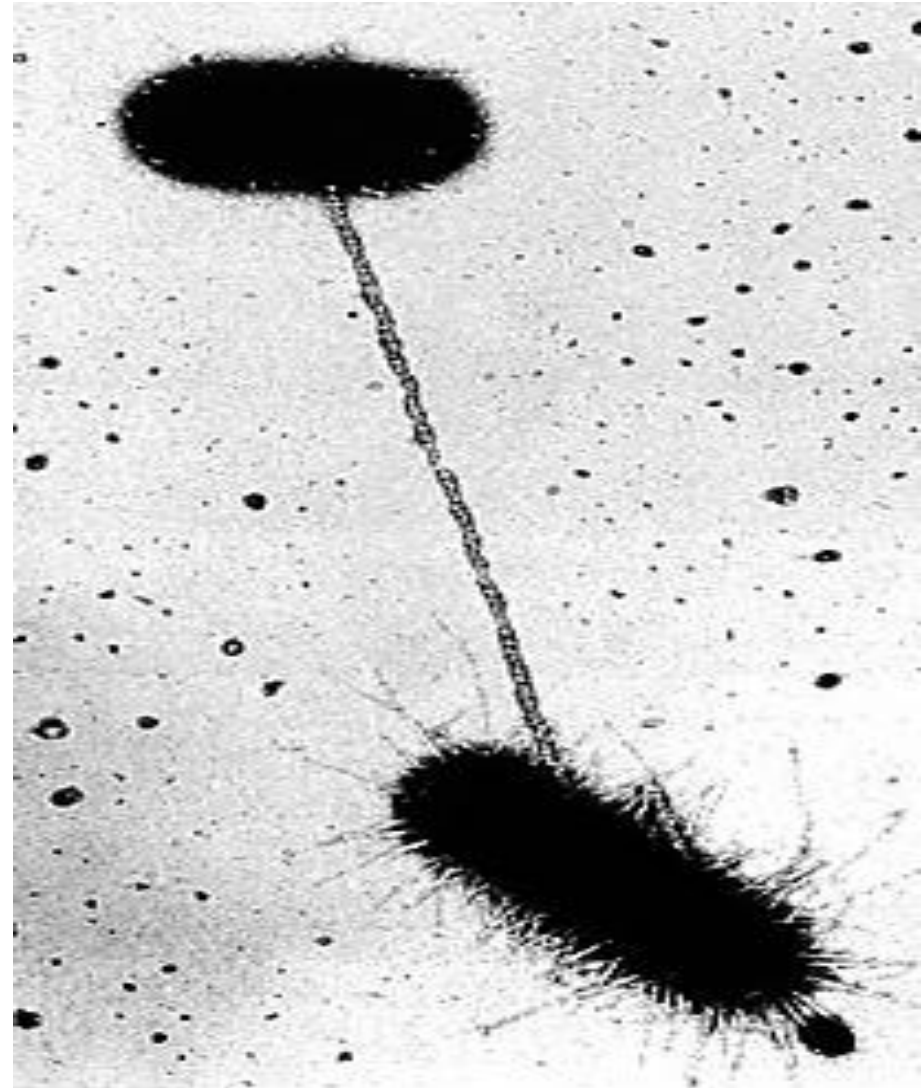
transduction

以噬菌体为载体，将供体菌的一段**DNA**转移到受体菌内，使受体菌获得新的性状。

conjugation

接合是细菌通过**性菌毛**将遗传物质（主要是质粒DNA）从供体菌转移给受体菌。

能通过接合方式转移的质粒称为**接合性质粒**。

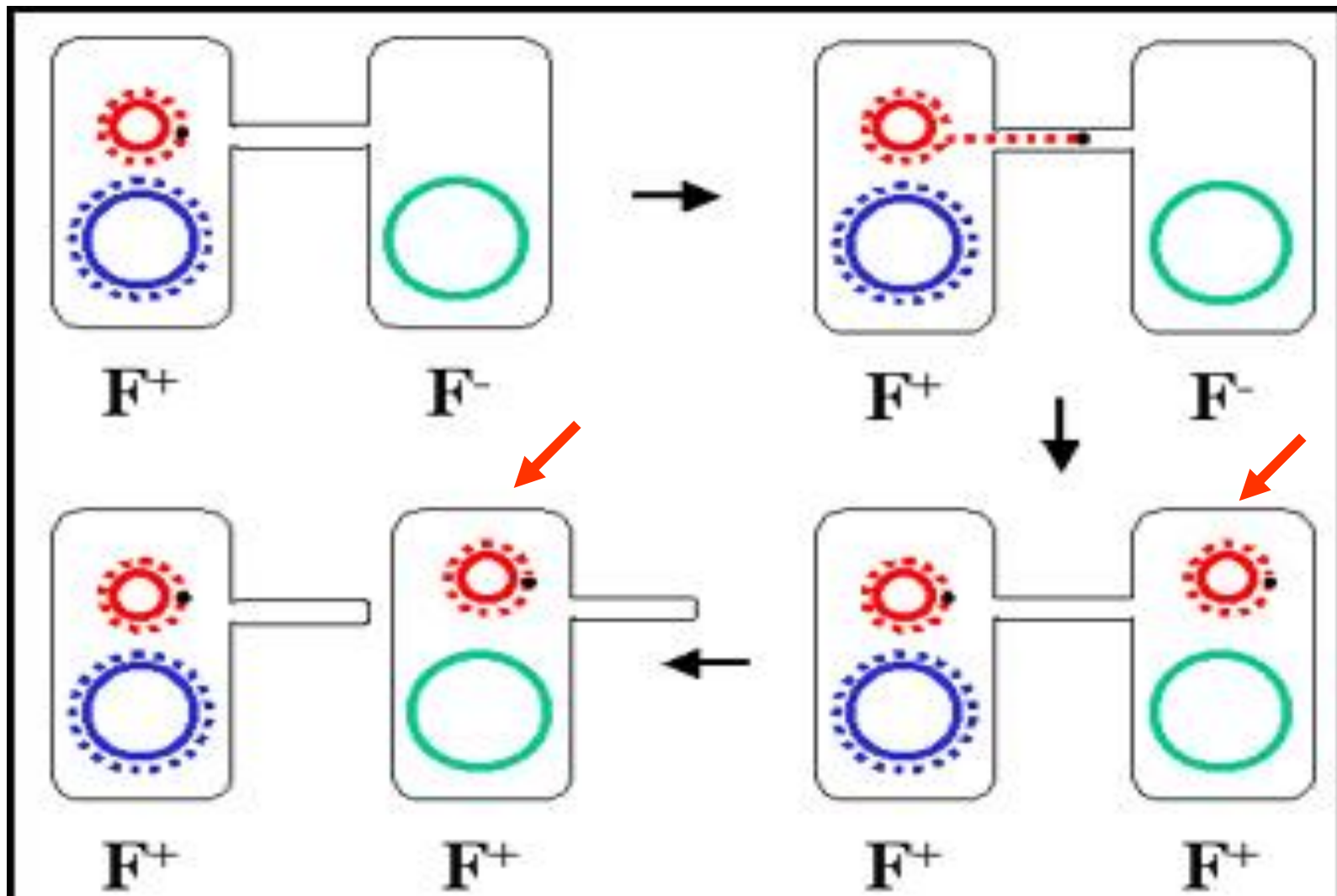


fertility plasmid, F质粒

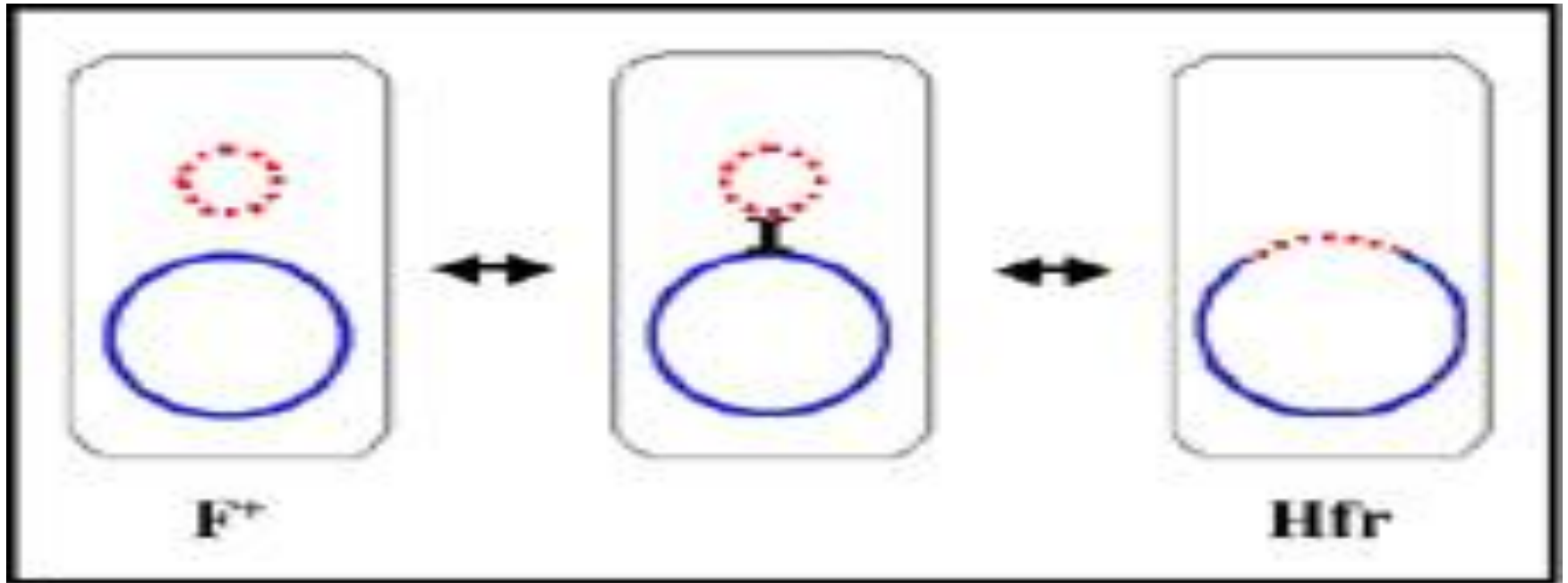
- 接合型质粒
- 有三个主要功能区
 自主复制区、转移基因群区、重组区
- F^+ 菌
- F^- 菌
- **Hfr菌**：带有F质粒基因的细菌
- **F'** ：带有染色体基因的F质粒

F^+ 菌 \times F^- 菌 \longrightarrow F^+ 菌

使受体菌获得供体菌的基因（质粒）

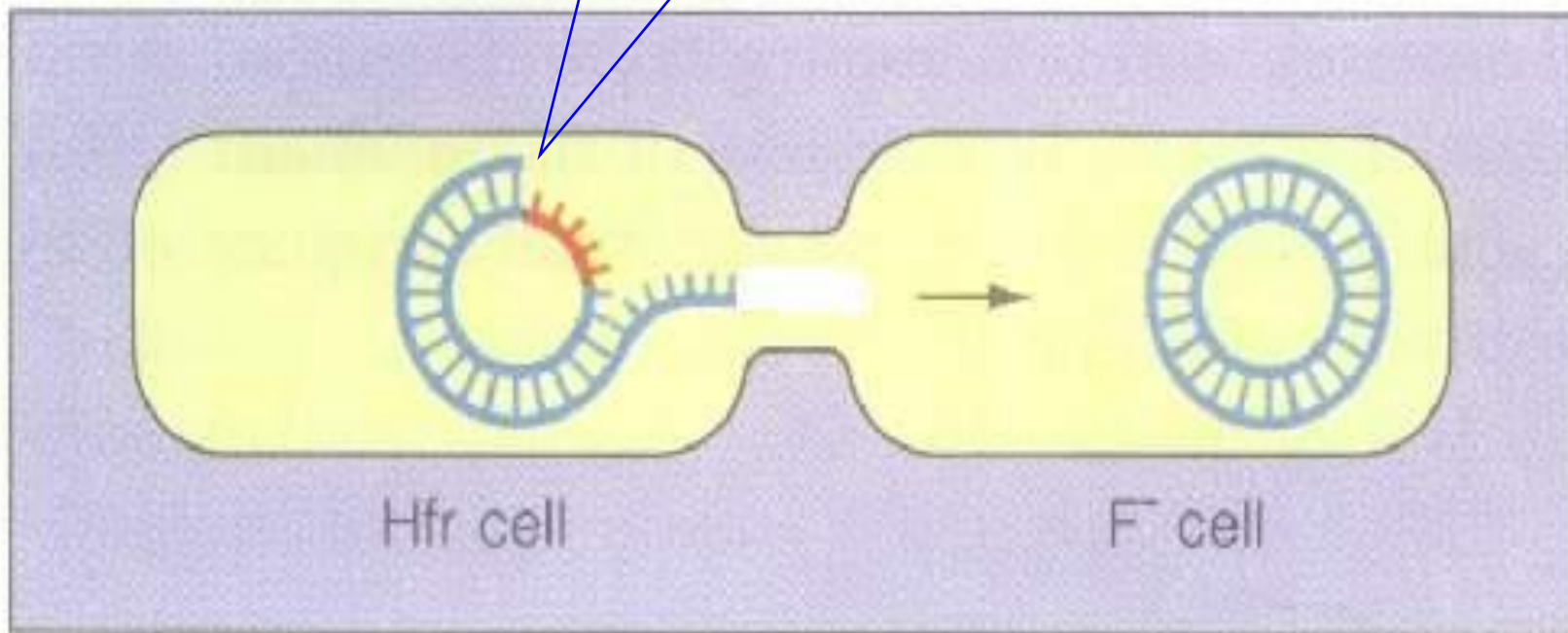


Hfr菌：带有F质粒基因的细菌 ($10^{-5} \sim 10^{-7}$)



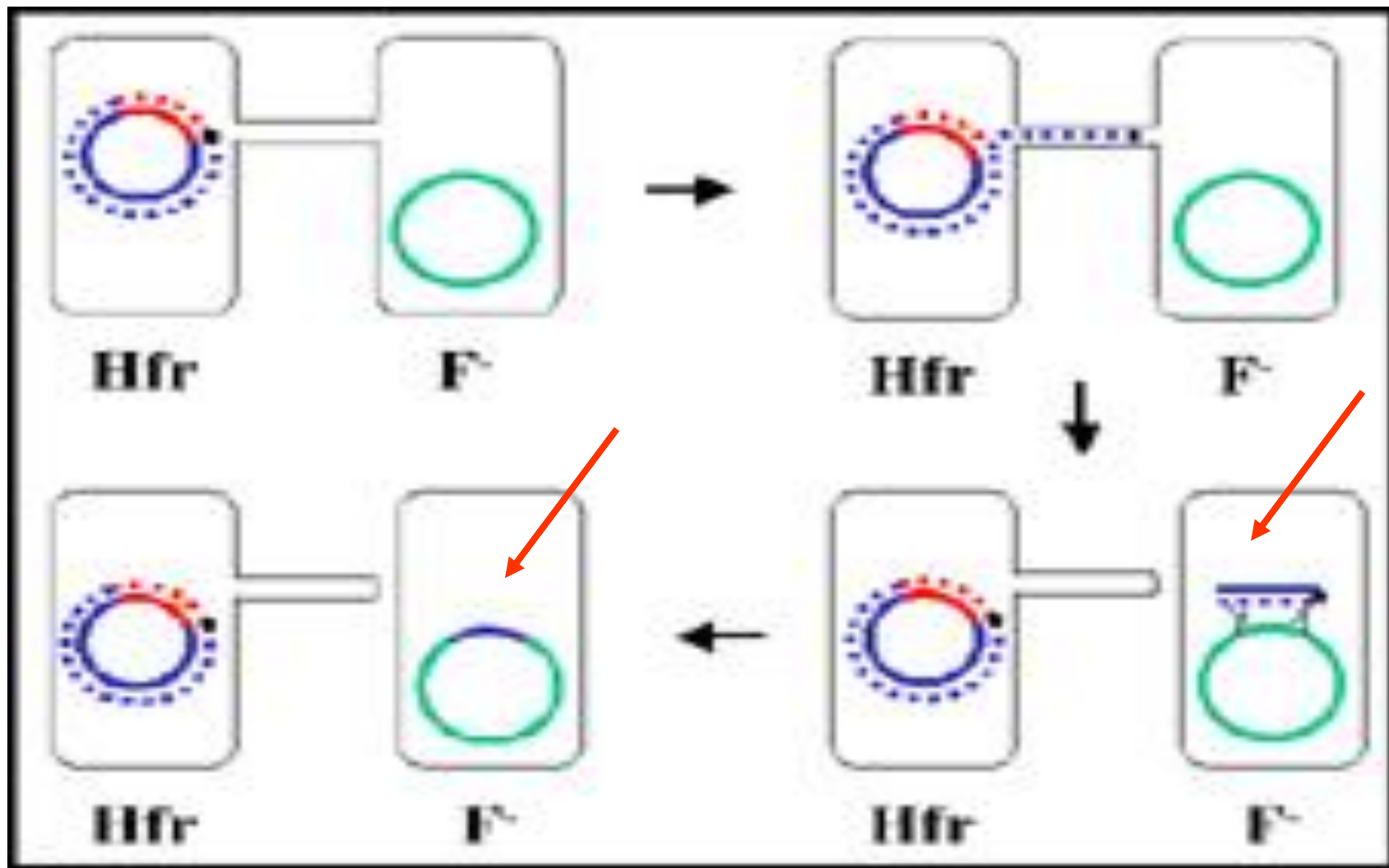
高频转导: Hfr x F⁻

F因子部分在最后转移

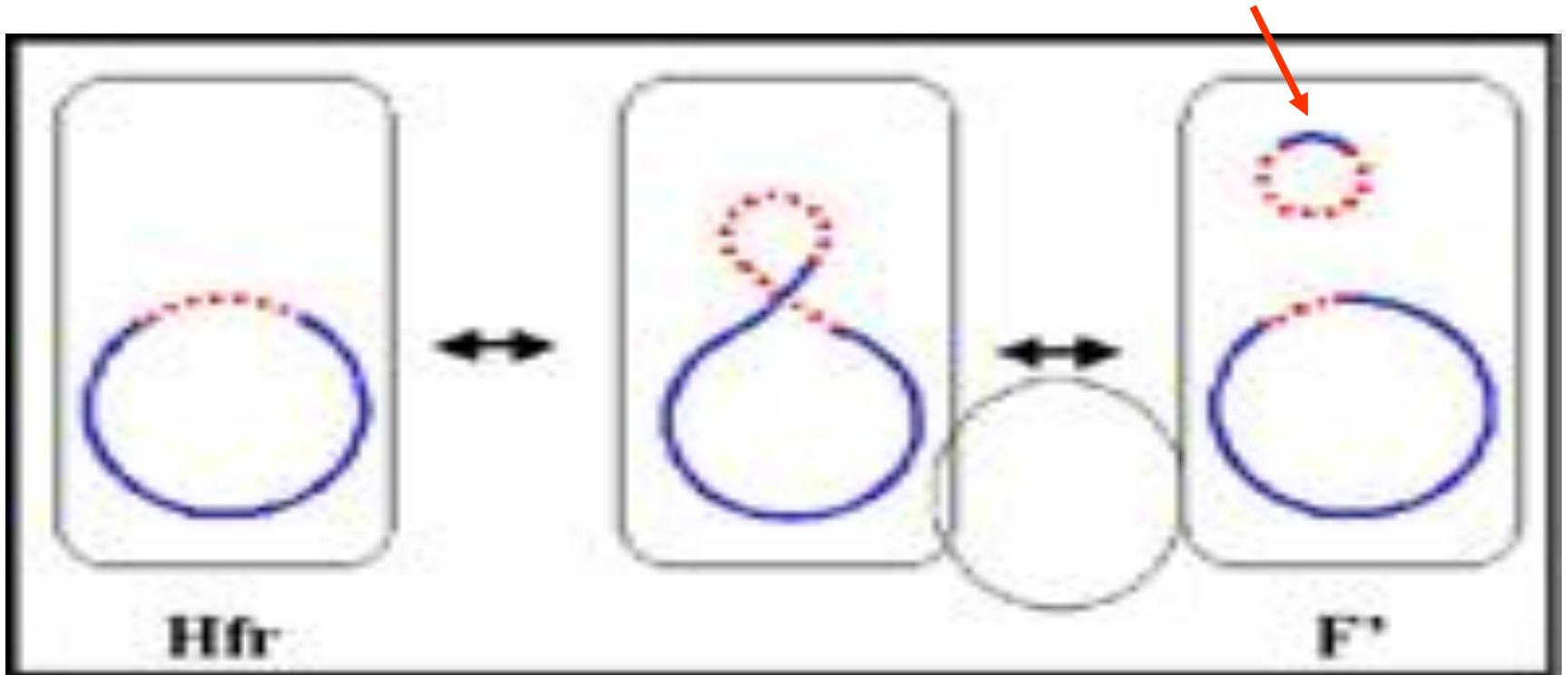


Hfr菌 × F⁻菌 →

使受体菌获得供体菌染色体的基因

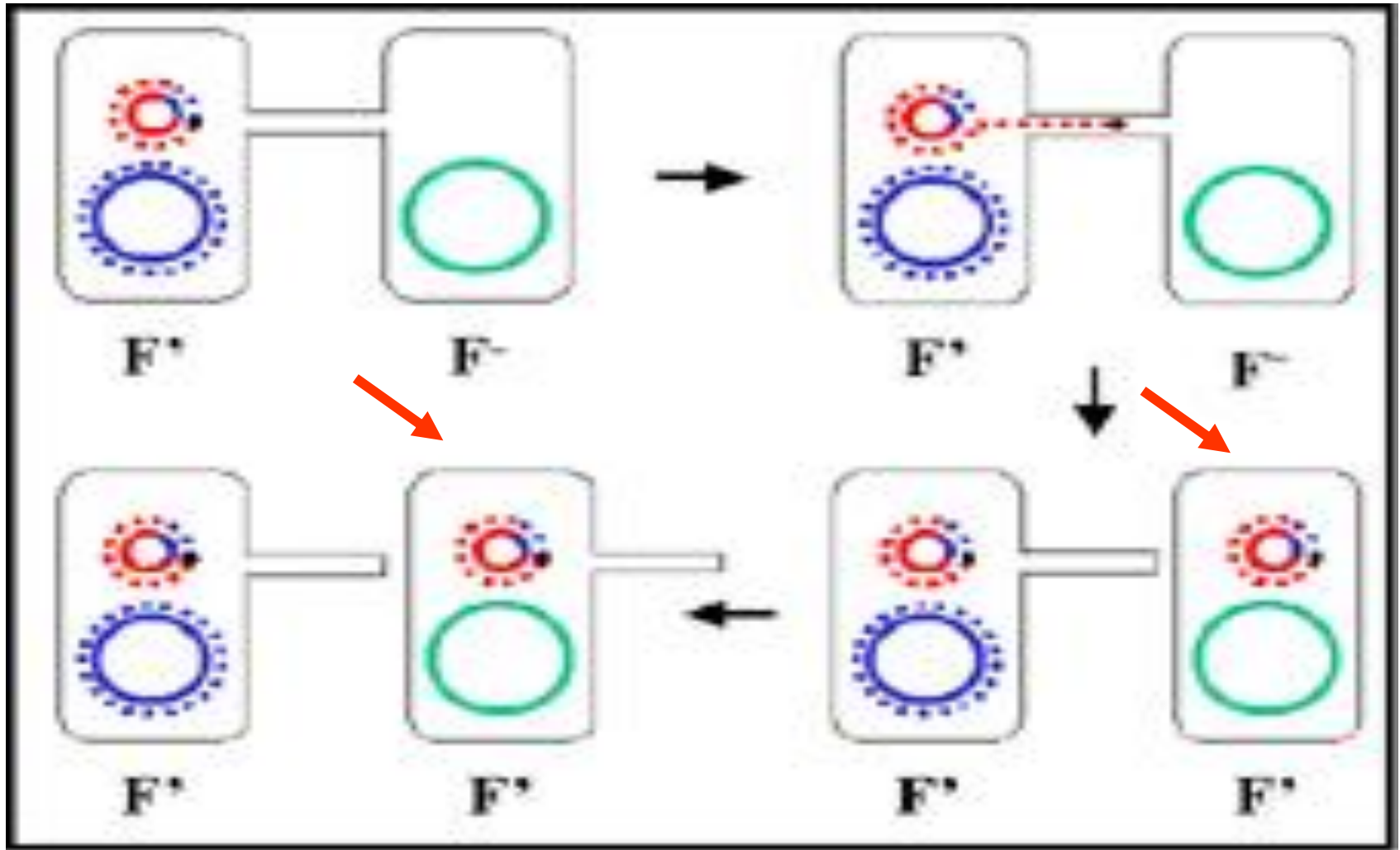


F': 帶有染色体基因的F质粒



F' 菌 \times F^- 菌 \rightarrow F' 菌

使受体菌获得供体菌染色体的基因

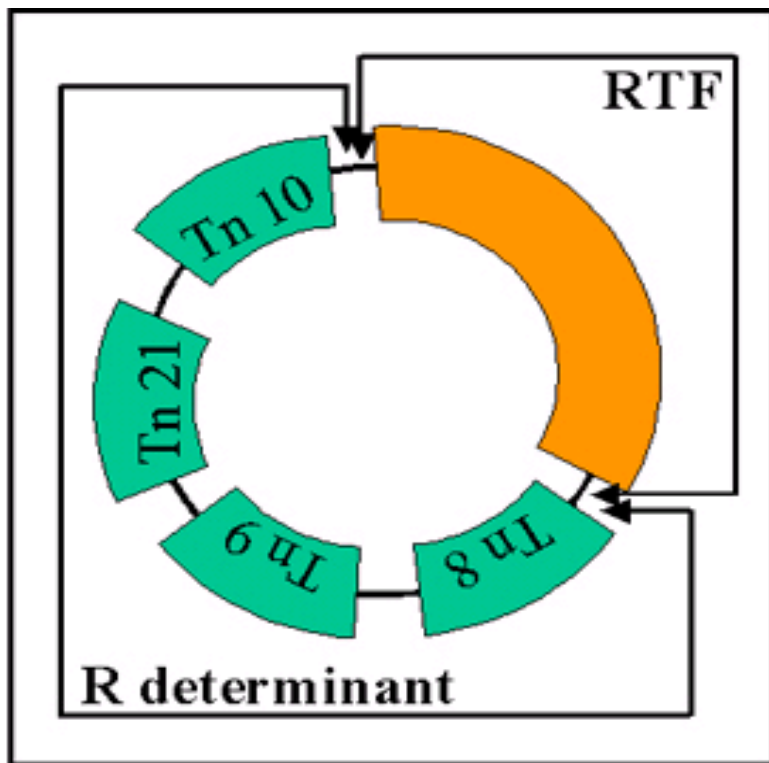


R质粒的接合

- 细菌耐药性的转移和传播与R质粒的接合有关。
- R质粒有耐药传递因子(RTF)和耐药决定子两部分组成。

RTF可编码性菌毛，

R决定子能编码对抗菌药物的耐药性。



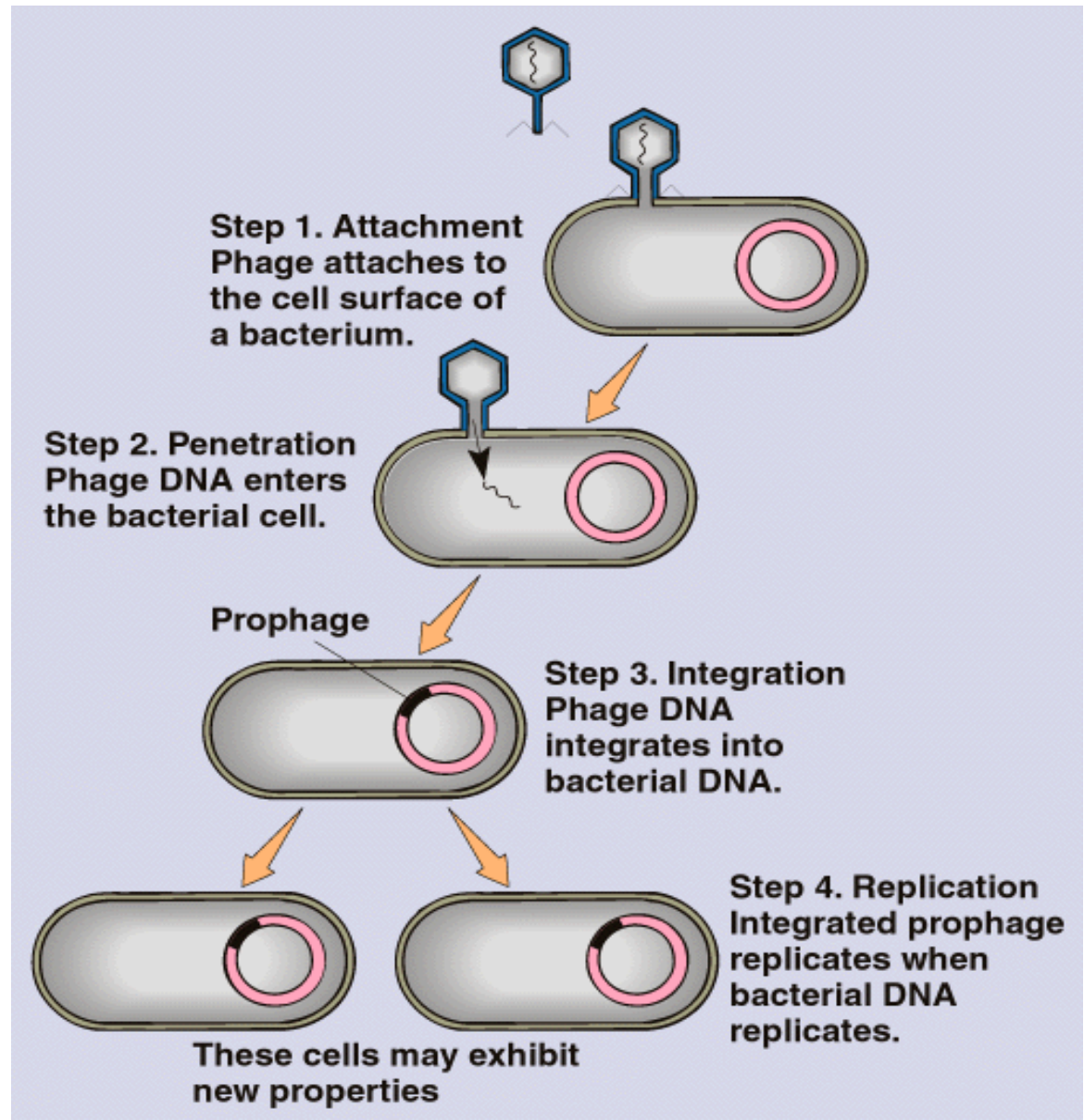
耐药转移因子
(编码性菌毛)

耐药决定子
(编码耐药性)

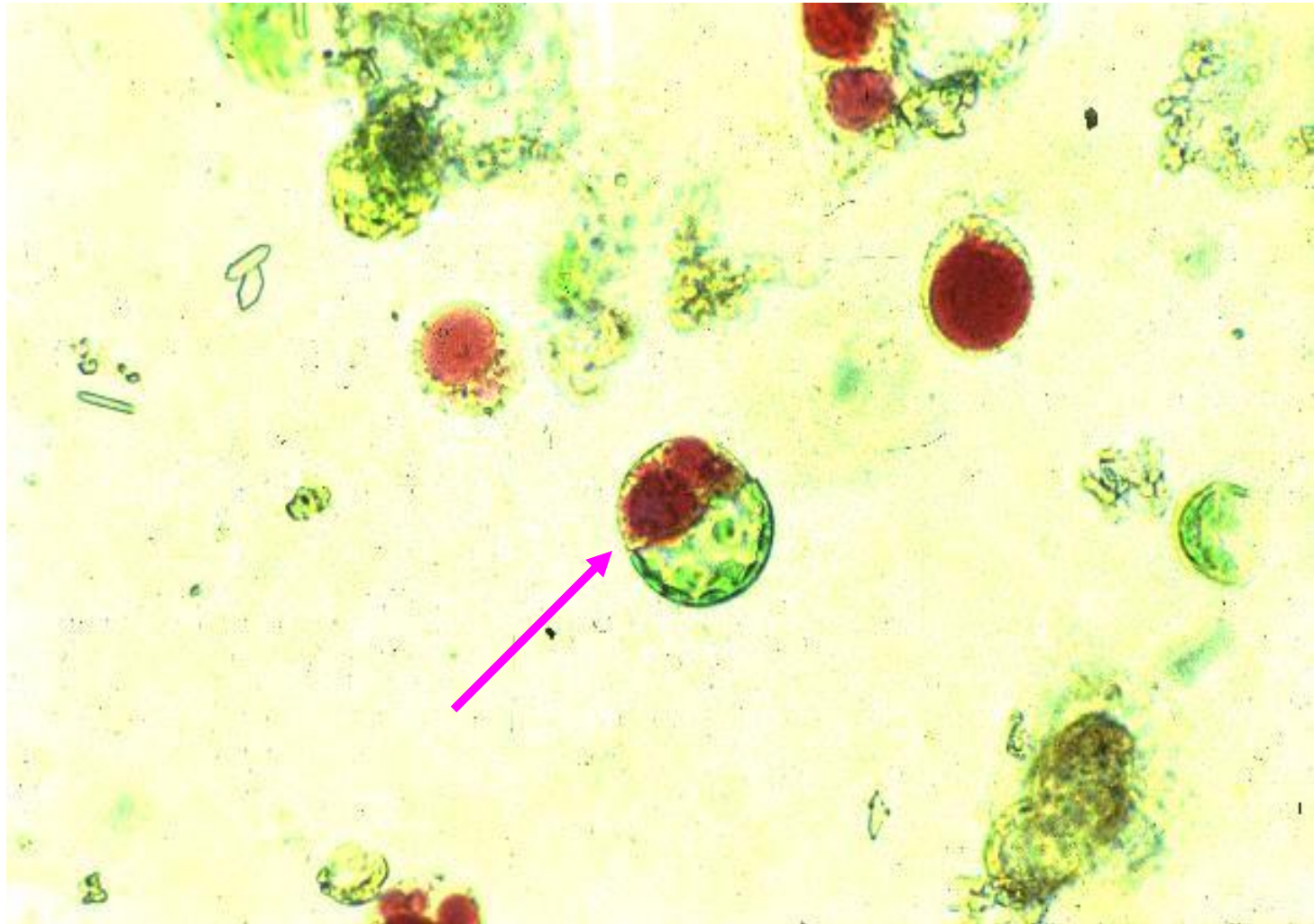
lysogenic conversion

温和噬菌体的基因组与细菌染色体重组，使宿主菌的遗传特性发生改变。

与转导的区别？



protoplast fusion



gene transfer and recombination

	基因来源	基因转移方式
transformation	供体菌	直接摄取
conjugation	供体菌	性菌毛
transduction	供体菌	噬菌体为载体
lysogenic conversion	噬菌体	噬菌体为载体

细菌遗传变异在医学上的意义

- 在疾病的诊断、治疗与预防中的应用
- 在基因工程中的应用
- 在测定致癌物质中的应用
- 在流行病学中的应用

在疾病诊断、治疗与预防中的应用

- 形态、结构、染色性、生化特性、抗原性及毒力等方面的变异，使得诊断复杂化
- 耐药菌株日益增多，预防耐药性
- 药敏实验
- 早期足量
- 要有一定疗程，联合用药
- 不要滥用
- 减毒菌株和无毒株可制备成疫苗

在流行病学中的应用

- 分子生物学分析方法已被用于流行病学调查
 - 质粒指纹图（PFP）
 - 对噬菌体的敏感性，对细菌素的敏感性

在基因工程中的应用

- 基因工程是根据遗传变异中细菌可因基因转移和重组而获得新性状的原理设计的。
 - 切取目的基因→连接到载体上→转移到工程菌内，大量表达目的基因产物。
 - 目前已大量生产胰岛素、干扰素、多种生长激素、rIL-2等细胞因子和乙肝疫苗等生物制品。

summary

- 细菌遗传物质： plasmid ， IS, Tn, In
- gene transfer and recombination
- 概念： bacteriophage, virulent phage ,
temperate phage, prophage,
lysogenic bacterium

Review Questions

- 什么是plasmid？与医学关系如何？医学上重要plasmid有哪些？
- gene transfer and recombination方式？
- 细菌有哪些可移动的基因元件？

预习

第5章 细菌耐药性