质粒的发现与认识过程*

任衍钢　卫红萍
（山西省阳泉教育学院　山西阳泉　045000）

摘要　质粒的发现是20世纪生命科学史上的重大事件。对质粒的研究深化了对细菌的认识，并为基因工程奠定了理论基础。主要介绍质粒的发现和认识过程，从质粒的发现、研究和概念的演进3个方面作了介绍，突出介绍20世纪40-60年代生物学家对质粒的发现、研究和认识过程。着重介绍美国生物学家乔治·莱德伯格等人的发现和对质粒的认识过程。

关键词　质粒　附加体　莱德伯格　大肠杆菌
中国图书分类号：Q-1　文献标识码：E

质粒的发现是20世纪生命科学发展史上的一项重要突破。这项突破为后来生物技术的发展尤其是基因工程奠定了重要的理论基础。美国生物学家乔治·莱德伯格(Joshua Lederberg)因这方面的杰出成就与其他2位生物学家获得了1958年的诺贝尔生理学医学奖。人们对质粒的认识是一个不断深化的过程。本文在这里从3个方面作一个简要的回顾。

1　是突变还是重组

早在20世纪30年代，生物学家就开始进行细菌杂交方面的实验。1937年，有人对大肠杆菌(*E.coli*)糖发酵有差异的菌株进行混合培养，试图从培养物中分离出重新组合的菌落。然而由于糖发酵这种性状很不稳定，易受内外环境影响，难以进行观察分析，没有成功。以后又有一些科学家做过这方面的实验，但用2个具有缺陷型的细菌杂交得到野生型细菌($a^+b^- \times a^-b^+ \rightarrow a^+b^+$)的重组率过低，很难与突变率区分开来，无法说明是突变还是重组所致。由于看不到细菌细胞核，细菌有无基因当时也一直在争论。1942年，著名的英国生物学家赫胥黎(Julian S. Huxley,1887-1975。达尔文时代托马斯·亨利·赫胥黎之孙）就曾写到：细菌不同于多细胞动物，没有基因，细菌的遗传是一个没有解开的秘密。1946年，年仅22岁的哥伦比亚大学医学院的学生莱德伯格，利用放假时间，在瑞恩(F.J.Ryan)教授推荐下到耶鲁大学的泰特姆(Edward Tatum)教授的实验室做暑期临时工。出于对细菌杂交的兴趣，他找到了一种鉴别细菌杂交中产生的野生型是突变还是重组的方法。这种办法就是用多营养缺陷型(multiple auxotrophs)的品系作为亲本进行杂交，即每一种缺陷型细菌都带有几种营养缺陷。如果出现的频率高，就不是突变，而是重组。巧得很的是，泰特姆正好分离了多种大肠杆菌突变型。于是他们一拍即合，开始了共同的研究。他们选用不能在基本培养基上生长的2种含多种营养缺陷型的大肠杆菌进行杂交，一种是蛋氨酸和生物素的营养缺陷型细菌，另一种是苏氨酸、亮氨酸和赖氨酸的营养缺陷型细菌。1946年他们把这2种不能在基本培养基上生长的大肠杆菌混合培养在完全培养基上，经过一夜时间后再培养在基本培养基上。结果出现了能在基本培养基上生长的野生型大肠杆菌，而对照组没有经过混合型培养的2种缺陷型细菌则仍然不能在基本培养基上生存。依据他们的实验结果，莱德伯格和泰特姆提出了自己的假说：产生能在基本培养基上生存大肠杆菌的原因是2种缺陷型的细菌通过接触转移了遗传物质，发生了基因的转移和重组。1947年，莱德伯格还试图像摩尔根那样，试图通过重组频率绘出细菌的遗传连锁图。然而，科学总是在怀疑中进步。在他们阐述这个假说不久，有人对他们的实验提出了质疑，认为这2种缺陷型细菌在混合培养时，还不能排除另一种情况，即2种缺陷型细菌的代谢产物产生了互补，即一种缺陷型细菌的代谢产物溢出被另一种细菌所吸收。这样看来，莱德伯格的理论显然还不能自圆其说。为了进一步论证莱德伯格假说的真伪，1950年，美国生物学家戴维斯(Davis,B. D.)做了一个U形管实验。他将A、B 2种菌株分别放在U形管的两

* 资金项目：国家教育部重点课题《有效推进区域教师专业化发展》(DMAO60188)子课题《有效推进区域教师专业化发展有效教学策略》

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

端，当中用微孔（0.1 μm）滤板隔开，营养物质能够通过微孔滤板，细菌则不能通过。这样，营养物质可以相混，但 2 种细菌不能接触，经过一段时间后，再分别鉴定有无野生菌的出现。实验证明，没有野生菌出现。由此，进一步证实了莱德伯格假说的正确性。

2 是同宗配合还是异宗配合

最初，莱德伯格提出自己的假说是同宗结合，即这种细菌之间的重组是双向的，遗传物质的传递是相互的。真是如此吗？1949 年和 1950 年，微生物学家 Andre Lwoff 和 Antoinette Gutmann 在实验中发现，在 140 株的大肠杆菌株中，只有 9 个菌株株能出现莱德伯格那样的实验现象。原因何在？1952 年，英国生物学家 William Hayes 的实验揭开了这个谜底。他用链霉素处理进行重组的 A 和 B 2 种菌株中的 A 菌株，使 A 菌株失去分裂能力，但不影响与 B 菌株之间发生遗传物质的转移和重组；可是，同样用链霉素处理 B 菌株，B 菌株也失去了分裂能力，但与 A 菌株混合培养后，两者之间却不能发生遗传物质的转移和重组。结论是：A 菌株中的遗传物质能够进入 B 菌株的细菌细胞中去，而 B 菌株细菌中的遗传物质却不能进入到 A 菌株的细菌细胞中去。也就是说 A 细菌是遗传物质的供体，B 菌株是遗传物质的受体，细菌杂交是一个单向的过程。由于这类似于高等动物的雌雄个体现象，人们也认为，细菌有雌雄之分。供体细菌中含有不与染色体联系的 F 因子，受体中不含有 F 因子。F 是英文 Fertility(生殖力)的第 1 个字母。由此看来，莱德伯格的发现有偶然的成份，就像孟德尔发现基因自由组合规律用的恰好是豌豆而不是有连锁性状的品种一样；莱德伯格的实验材料恰好用了分别具有受体和供体因子的菌株。正如巴斯德所说的那样，机遇总是垂青于有准备的头脑。由于莱德伯格的杰出工作与他的导师美国遗传学家泰特姆和比德尔（G.W.Beadle 莱德伯格夫人的导师）共同分享了 1958 年的诺贝尔生理学和医学奖。比德尔和泰特姆获奖的原因则是共同提出了“一个基因一个酶”的学说。

3 质粒、附加体术语的提出与演变

20世纪 50 年代是遗传学研究的黄金时期。除对 DNA 的研究有划时代的突破外，细胞质的遗传也有许多新的发现。1949 年，学者 P. Slonimski 和 B. Ephrussi 发现酵母细胞的呼吸缺陷型突变体是由线粒体引起的；1951 年，莱德伯格和妻子爱莎（Esther Zimmer）发现他和泰特姆用来杂交的大肠杆菌中含有噬菌体，并命名为 λ 噬菌体。1952 年，Hayes 揭示了细菌中存在 F 因子并进行单向传递的现象。依据这一系列惊人的发现，莱德伯格引入了一个新的术语 Plasmid，中文译作质粒。莱德伯格将质粒的定义为细胞内染色体外的遗传因素，除细菌中存在外，包括真核生物中的线粒体和叶绿体。

随后质粒的研究主要集中在细菌的范围之内。1952-1953 年，Hayes、莱德伯格、Cavalli、E. Lederberg 和 Pierre Fredéricq 等进一步证实，质粒确实是一个不与染色体联系的独立遗传因素。1953 年，科学家还发现温和性噬菌体 λ 在大肠杆菌染色体上占有一定位置；1954 年，R. Sager 发现衣藻的一些突变是由叶绿体引起的；Pierre Fredéricq 发现，大肠杆菌的遗传也独立于染色体。1956 年又发现 λ 噬菌体能进行局限性转导。由于莱德伯格的质粒定义的外延过于宽泛，既没有说明质粒的位置，也没有涉及到与染色体的联系。1958 年，Francois Jacob 和 Elie Wollman 则依据近几年对质粒和温和性噬菌体的研究成果，提出了附加体（Episome）这一术语来描述既能游离于细菌染色体外，同时又能与染色体结合的遗传因子。

1961-1962 年，一些科学家相继发现许多细菌耐药因子与附加体有关。1961 年，生物学家通过放射性同位素示踪研究证实细菌在结合时，有部分 DNA 分子从供体转移到受体；1962 年，Allan Campbell 提出，环形的附加体插入细菌染色体后呈线性状态。1969 年，M. Bazarle 和 D. R. Helinski 则证实这些附加体是环形的 DNA 分子。随着对附加体或质粒的研究，附加体被进一步定义为：有时独立存在于宿主细胞 DNA 之外，但在其他时间结合到宿主细胞的染色体上，并随染色体进行自我复制的遗传因子；它包括质粒和一些病毒。这样，质粒与附加体这个术语就经常互换着被一些生物学家使用。由于质粒和附加体在使用上的混乱，1969 年，Hayes 曾建议附加体一词应该“服役期满、光荣退休”。但是事实并非如此。不过，现在已经不再把大肠杆菌素(colicin)因子或溶原性噬菌体看作附加体了。附加体被定义为，既能独立地存在于细胞质中又能整合在染色体上的质粒，它是作为质粒的一种类型存在。由于质粒主要用于对细菌的研究，并且发现含有质粒的细菌中就有数百种，它们都是共价闭合

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

鉴定干小麦种子中含有水分的装置改进

支雪梅 （北京市京源学校　北京　100040）

中国图书分类号：G424.31　　文献标识码：B

在由北京出版社和北京教育出版社出版的北京市义务教育课程改革实验教材《生物》第1册（7年级上学期使用）教材中，第4章“生物的营养”，第2节“人和动物的营养”一节中，安排了实验“食物中的营养成分”。实验的第1步就是验证晒干的种子中含有一定的水分。实验步骤如下：①将晒干的小麦种子10粒，放在干燥的试管内，用酒精灯烘烤，观察试管壁上出现的现象，分析这些现象说明了什么问题。②将试管内的小麦种子倒在石棉网的一角上，在酒精灯火焰上充分燃烧。小麦种子燃烧后剩下的灰分是什么物质？

这个实验现象很明显，效果也不错。但操作过程中有4个问题一直没办法解决。①学生掌握不好烘烤到什么程度将小麦种子倒出；②一旦烘烤过度，小麦种子就容易黏附在试管壁的底部，造成试管黑黑的，变黑的种子倒不出来；③学生情急之下用手摸炽热的试管，易造成烫伤；④试管不易清洗干净，只好报废。每年因为这个实验都要有上百只的试管报废掉。

在实验室工作这些年来，为解决这几个问题想过很多方法。比如：要求教师反复演示讲解烘烤的技巧；如果小麦种子黏附在试管底部，可用试管刷的手柄将其掏出；用各种洗涤剂、酸、碱浸泡，清洗试管等等。但效果都不是很好，每年都会出现上述的情况。

笔者改进了用具，如图1所示：在试管内垫上了一层烧烤用金属箔片，小麦种子就不会黏附在试管上了。

具体操作方法如下：

1）将金属箔片裁剪成2 cm×2 cm方形小块，用特制的模具顶入试管底部，如图2。

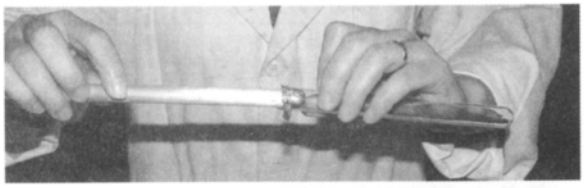

图1

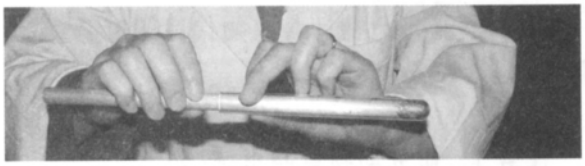

图2

2）加入晒干的小麦种子10粒，放在干燥的试管内，用酒精灯烘烤；

3）在倒出小麦种子时，用金属钩将金属箔片连同小麦种子一同钩出来（图3），倒到石棉网的一角上在酒精灯火焰上充分燃烧。

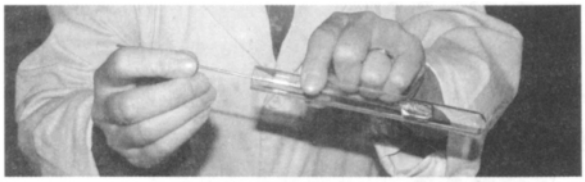

图3

这样实验完成后的试管还可以继续使用。这个小小的改进，让学生实验更安全，又节省了开支。

（E-mail:zhixuemei@yahoo.com.cn）

环状的DNA分子（简称cccDNA）。现在习惯上已经把质粒用来专指细菌、酵母菌和放线菌等生物中染色体以外的单纯的DNA分子。

主要参考文献

1 http://www.whyandhow.org 生物.质粒简述. http://www.whyandhow.org/cn/info/254575/biology.shtml.

2 化工词典内容.附加体;episome. http://www.chemyq.com/xz/xz4/32211aqsfd.htm.

3 陈孝康.质粒.中国百科网.WWW.chinabaike.com.

4 石田寅夫.戚戈平，李晓武译.诺贝尔奖并非是梦.浙江科学技术出版社.1997：74.

5 黄裕泉，樊正忠，陈彩安. 遗传学. 北京：高等教育出版社，1989，10：205—207.

6 Plasmids:Histories of a Concept.Plasmids http://histmicro.yale.edu/mainfram.htm.

7 Edward Lawrie Tatum. cn/wiki/Edward_Lawrie_Tatum http://www.wiki.cn/wiki/Edward_Lawrie_Tatum

8 任本命.乔舒亚·莱德伯格.遗传.2006，28(5)：511—512.

9 Joseph S.Fruton 著.吕增益译.蛋白质、酶和基因.北京：清华大学出版社，2005:435—436.

10 Microbiology History. http://www.bionewsonline.com/pub/pub5.htm

（E-mail:ryg195810@126.com）

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net