

大肠杆菌基因型及遗传符号说明

前言：实验室的一般大肠杆菌拥有 4288 条基因，每条基因的长度约为 950bp，基因间的平均间隔为 118bp（基因Ⅷ）。*E.coli* 基因组中还包含有许多插入序列，如 λ -噬菌体片段和一些其他特殊组份的片段，这些插入的片段都是由基因的水平转移和基因重组而形成的，由此表明了基因组具有它的可塑性。

利用大肠杆菌基因组的这种特性对其进行改造，使其中的某些基因发生突变或缺失，从而给大肠杆菌带来可以观察到的变化，这种能观察到的特征叫做大肠杆菌的表现型 (Phenotype)，把引起这种变化的基因构成叫做大肠杆菌的基因型 (Genotype)。具有不同基因型的菌株表现出不同的特性。

分子克隆中常用的大肠杆菌及其遗传标记按 **Demerec 等 1966 年**提出的命名原则，采用的菌株所有的基因都假定处于野生型状态，除非在基因型上另外注明。

大肠杆菌基因型的表示方法 (Demerec, et, al. 1966)：

一、一般规则：

1、根据基因产物或其作用产物的英文名称的第一个字母缩写成 **3 个小写斜体字母**来表示。

例如：DNA Adenine Methylase→***dam***。

2、不同的基因座，其中任何一个突变所产生的表型变化可能相同，其表示方法是在 **3 个小写斜体字母**后加上一个**斜体大写字母**来表示区别。例如：Recombination→***recA***、***recB***、***recC***。

3、突变位点应通过在突变基因符号后加不同数字表示。如 ***supE44*** (***sup*** 基因座 E 的 44 位突变)。如果不知道几个等位基因中哪一/几个发生了功能性突变，则用连字符“-”代替大写字母，如 ***trp-31***。

4、细菌的基因型中应该包含关于其携带的质粒或附加体的信息。这些符号包括菌株携带的质粒或附加体、质粒或附加体上的突变基因座和突变位点。其**基因符号应与基因座的表示符号明显区别**，符号的第一个字母大写、不斜体并位于括号内；质粒或附加体上的突变基因座和突变位点的基因符号的表示方法与染色体上突变基因座、突变位点的符号相同。

5、对于携带附加体的菌株的完整基因型描述应包括附加体的状态（游离或整合）。以 F 因子为例，**F⁻**：F 因子缺失；**F⁺**：自主性 F 因子，不携带任何遗传可识别染色体片段；**F'⁺**：携带有遗传可识别细菌染色体片段的自主性 F 因子；**Hfr**：整合到染色体上的 F 因子（**high frequency of recombination**）。当这些质粒或噬菌体片段变异或缺失时，用（ ）”或“/”等以区别。例如：**/F' [*traD36*、*proAB*、*lac I q*、*lacZ* M15]**

6、某个基因或某个领域缺失时，在其基因型前面加上“**-**”表示。例如：***lac-proAB*** 基因缺失时它的基因型表示为 **(*lac-proAB*)**。

7、由于某种基因的变异导致大肠杆菌可以明显观察到特征变化，有时也用其表现型代替基因型进行表示。例如：某些抗药性的获得或丧失，用如下方式表示：**Streptomycin 抗性→Str^r**

⁺或 **Str^r**，Ampicillin 敏感性→**Amp^r**。(第一个字母要大写，“+”或“r”表示有抗性，“-”表示无抗性或敏感)。

8、根据某些特异性蛋白的变异及其导致的结果变化进行表示。

例如：TH2 菌株上有一种基因型表示如下：**hsdS20 (rB⁻、mB⁻)**，其中 **S20** 代表特异性识别蛋白发生变异，()中的 **rB⁻、mB⁻**表示由于 S20 的变异而导致 B 株来源的 *hsdR* 和 *hsdM* 的功能缺失。

9、蛋白质的名称与对应的基因或等位基因相同，但不用斜体，且首字母大写，如，UvrA、UvrB。

二、基因符号和意义（见表 1）

部分基因符号和意义

基因符号	意义	注释
Δ	缺失	缺失突变用“Δ”表示，其后的（）中是缺失基因的名称、等位基因号码。如 Δ (<i>lac-proAB</i>)表示 <i>lac-proAB</i> 基因的缺失。
:	断裂	表示：前的基因是断裂的。
::	插入	“::”前的基因由于“::”后的基因插入断裂。
IN	倒位	倒位在大肠杆菌中很少见，用 IN（区域）表示。
TP	转座	如 TP (<i>lacI-purE</i>) 33 表示 <i>lacI</i> 和 <i>purE</i> 间的基因区域（包括这两个基因）被插入到染色体的某个位点。
+	显型或抗性	如果是表示抗性，+也可用 r 代替
-	隐型或敏感、无抗性	如果表示对某种抗生素的敏感性，用“-”上标表示。
/	质粒或附加体的缺失	
() or []		()或[]中的基因是缺失或变异所在
Φ	融合	如 Φ (<i>ara-lac</i>) 表示 <i>ara</i> 和 <i>lac</i> 融合成新基因

三、主要的基因型说明

1、基因重组相关的基因型

recA (Recombination)

功能：*recA* 基因表达 ATP 依赖型 DNA 重组酶，它在 λ-噬菌体与基因组 DNA 的溶原重组时起作用，同时具有对 DNA 放射性损伤的修复功能。由 *recA* 基因的变异所产生的基因型使同源或异源 DNA 的重组不能进行，保持插入 DNA 的稳定性，对 DNA 的转化有利。一个菌株的基因型如果是 **recA**，则说明此菌株的表现型是重组缺陷的。

recB (Recombination)

功能: *recB* 基因表达 ATP 依赖型 DNase 和核酸外切酶 V 的一个亚基, 对 *recA* 的 DNA 重组酶起辅助和促进作用。DNase 催化双链 DNA 的解旋和解链, 核酸外切酶 V 催化单链 DNA 的裂解, 在 DNA 的重组和损伤修复中发挥重要作用。*recB* 基因的变异导致其 DNA 重组和修复功能丧失, 保证了外源 DNA 的稳定, 有利于 DNA 转化。

recC (Recombination)

功能: *recC* 基因表达四种酶, 即核酸外切酶 V, ATP 依赖型的核酸内切酶, 解旋酶及 ATP 酶, 它们和 *recA*, *recB* 所表达的酶相互协调作用, 在 DNA 的重组及放射性损伤的修复中发挥作用。*recC* 基因的变异导致 DNA 重组功能缺失, 保证外源 DNA 的稳定性。

2、甲基化相关的基因型**dam (DNA adenine methylase)**

功能: *dam* 基因表达 DNA 腺嘌呤甲基化酶, 它能催化特异序列 GATC 中 A 的甲基化, 保证 DNA 免受限制性核酸内切酶 *Mbo* I 的切断, 同时在 DNA 复制时也起一定的辅助作用。*dam* 基因的变异导致腺嘌呤 (A) 甲基化酶活性的缺失, 使腺嘌呤 (A) 不被甲基化, 易于获得非甲基化质粒。

dcm (DNA cytosine methylase)

功能: *dcm* 基因表达 DNA 胞嘧啶甲基化酶, 它能特异性识别 DNA 双链上的 CCWGG 序列, 并使第二个 C 甲基化, 即 CmCWGG, 避免 DNA 受到相关限制酶的切断。*dcm* 基因的变异导致胞嘧啶甲基化酶活性缺失, 使外源 DNA 上的 C 不被甲基化, 易于获得非甲基化质粒。

mcrA (Modified cytosine restriction protein a)

功能: *mcrA* 基因表达大肠杆菌防御体系中起重要作用的 *mcrA* 酶, 这种酶能特异性地作用于外来 DNA 上的被甲基化的胞嘧啶序列, 即 C5mCGG 特异序列, 使之分解, 对大肠杆菌本身起保护作用。*mcrA* 基因的变异, 导致上述功能缺失, 对外来 DNA 中被甲基化的胞嘧啶特异序列 (C5mCGG) 失去作用, 有利于限制酶及甲基化酶的克隆体的稳定。

mcrB, C (Methyl cytosine-specific restriction)

功能: *mcrB*, *C* 基因表达两种特异性蛋白, 即 *mcrB* 蛋白和 *mcrC* 蛋白, 它们在大肠杆菌的防御系统中起重要作用。一般情况下, 只有这两种蛋白同时存在时才表现出活性, *mcrC* 具有识别和调节功能, 它能特异性的结合到外源 DNA 上被甲基化的胞嘧啶 (C) 的特异序列 G5mC 上, 然后由 *mcrB* 蛋白切断 (*mcrB* 蛋白是特异性切断外来 DNA 中 G5mC 序列的限制性核酸内切酶), 防御外来 DNA 的侵入。*mcrB*, *C* 基因的变异, 使上述的对外来 DNA 的防御作用缺失, 对质粒的转化有利。

mrr (Methylation requiring restriction)

功能: *mrr* 基因是大肠杆菌细胞防御系统中重要的基因之一, 它能严格限制被甲基化的外源 DNA 的介入。另外, 它对限制酶 *Acc* I, *Cvi*R I, *Hinf* I (*Hha* II), *Nla* II, *Pst* I 以及 N6-腺

嘌呤甲基化酶和 C5-胞嘧啶甲基化酶活性有明显的抑制作用。*mrr* 欠损株（基因型）可用于含有 N6-mA 和 C5-mC 的 DNA 的转化。另外，含有此基因型的菌株也可用于限制酶和甲基化酶的克隆体。

hsdM (Host specific defective)

Map position: 99 min

功能: *hsdM* 基因所表达的 DNA 甲基化酶是 I 型限制酶复合体（具有对 DNA 切断和修补的双重功能）的一部分，它能使 DNA 双链上的 AA (双腺嘌呤) 甲基化，保护宿主 DNA 不被分解。*hsdM* 的变异使细胞内的 DNA 不被甲基化，易于获得非甲基化质粒。

3、点突变相关的基因型

mutS (Mutator)

功能: *mutS* 基因表达的蛋白具有识别 DNA 上错配序列的功能，并能修复其错配序列（GC → AT），防止基因突变。*mutS* 基因的变异导致 DNA 的错配序列不能得到修复，容易发生基因突变，这对于利用点突变进行基因改造是有利的。

mutT (Mutator)

功能: 野生大肠杆菌在进行 DNA 复制时，细胞中的 8-OXO-dGTP 插入模板 DNA 中的 DA 位点的效率几乎与插入 DC 位点的效率相同，导致 A-T 转换成 G-C，使 DNA 产生变异。而 *mutT* 蛋白就是特异性地降解 8-OXO-dGTP 成为单磷酸盐（8-OXO-dGMP），这种单磷酸盐状态的 G (鸟嘌呤) 不能作为底物进行 DNA 合成，从而防止了上述的基因突变。*mutT* 基因的变异使细胞中 8-OXO-dGTP 浓度增高，A → C 的突变几率增大，有利于利用点突变进行基因改造。

dut (dUTPase)

功能: *dut* 基因表达脱氧尿嘧啶三磷酸核苷酸水解酶（dUTPase），它能水解 dUTP 成为 dUMP，使细胞体内 dUTP 的浓度维持在较低的水平，尿嘧啶（U）就不易掺入到 DNA 中，避免了基因发生 A → U 的突变。*dut* 基因发生突变使 dUTPase 活性缺失，导致 dUTP 浓度升高，碱基 U（尿嘧啶）极易掺入到 DNA 中，使其发生 A → U 的基因突变，有利于利用点突变进行基因改造。

ung (Uracil DNA glycosylase)

功能: *ung* 基因表达尿嘧啶-N-糖苷酶，这种酶能特异性识别 DNA 单链或双链上发生突变的尿嘧啶残基，并从 DNA 上水解去除尿嘧啶残基，防止 DNA 发生突变。*ung* 基因的变异导致上述功能缺失， 有利用点突变。

uvrB (Ultraviolet)

功能: *uvrB* 基因表达核酸外切酶中的 b 亚基，这种核酸外切酶具有 DNA 的切补功能，对紫外线损伤的 DNA 有修补作用。*uvrB* 基因的变异使细胞中核酸外切酶切除变异碱基的活性缺失，有利于点突变。

4、核酸内切酶相关的基因型

hsdR (Host specificity defective)

功能: *hsdR* 基因表达 I 型限制酶 **EcoK** (K12 株) 或 **EcoB** (B 株), 在大肠杆菌细胞中起到一种“抗体”的作用, 对外来的各种 DNA 有严格的限制。**HsdR** 基因的变异导致菌株细胞内的 I 型限制酶 **EcoK** 或 **EcoB** 活性缺失, 这对于外来基因的导入及质粒转化是有利的。

hsdS (Host specificitive defective)

功能: *hsdS* 所表达的特异性蛋白是 I 型限制酶 **EcoK** 或 **EcoB** 复合体中的一部分, 它专门负责 *hsdR* 酶和 *hsdM* 酶对 DNA 序列的特异识别。**hsdS** 基因的变异使 *hsdR* 和 *hsdM* 不能正确识别其作用的特异 DNA 序列, 可以保持插入 DNA 的稳定性。

endA (Endonuclease)

功能: *endA* 基因表达非特异性核酸内切酶 I, 它能使所有 DNA 双链解开, 在 DNA 的复制和重组中起重要作用。**endA** 基因的变异将使插入的外源 DNA 更加稳定, 提取的质粒纯度更高。

5、停止密码子相关的基因型

supE (Suppressor)

功能: *supE* 基因表达的阻遏蛋白与停止密码子 UAG 结合, 使蛋白质合成停止。*supE* 基因发生变异时, 不能表达正常的阻遏蛋白, 即使遇到停止密码子 UAG, 蛋白质合成仍能继续, 并使 UAG 作为一个密码子来编码谷氨酰胺 (Glutamine), 从而使发生了琥珀突变 (AAG → UAG) 的基因对蛋白质表达得以延续, 因此称 *supE* 为琥珀突变抑制因子。

supF (Suppressor)

功能: *supF* 基因表达的阻遏蛋白与停止密码子 UAG 结合, 使蛋白质合成停止。*supF* 基因变异时, 不能表达正常的阻遏蛋白, 即使遇到停止密码子 UAG, 蛋白质合成仍能继续, 并使 UAG 作为一个密码子编码酪氨酸 (Tyrosine)。

6、抗药性相关的基因型

gyrA (Gyrase)

功能: *gyrA* 基因表达 DNA 促旋酶 A 亚基。DNA 促旋酶在 DNA 复制时具有使 DNA 解旋和回旋的作用。萘啶酮酸 (Nalidixic acid)、4-喹啉 (4-Quinoline) 等抗生素抑制 DNA 促旋酶的活性是通过与促旋酶复合体 (A2B2) 中的 A 亚基的结合实现的。***gyrA*** 基因的变异使 DNA 促旋酶 A 亚基不能正常表达, 萘啶酮酸和荧光喹啉等失去结合目标, 从而使该基因型的菌株具有了对萘啶酮酸 (Nal^r) 和荧光喹啉的抗性。

rpsL (Ribosomal protein small subunit)

功能: 细胞中的核糖体是蛋白质生物合成的场所, 大肠杆菌细胞中的核糖体包含两个亚基, 即 50S 亚基 (23SrRNA、5SrRNA、34 种蛋白质) 和 30S 亚基 [16SrRNA、21 种蛋白质 (S1~S21)]。*rpsL* 基因就是表达核糖体 30S 亚基中的 S12 蛋白质, S12 蛋白作用于翻译的开始阶段。链霉素 (Streptomycin) 等抗生素的作用位点就是核糖体 30S 亚基上的 S12 蛋白质, 正常情况下链霉素与 S12 蛋白结合使蛋白质的生物合成不能进行, 细胞停止生长。*rpsL* 基因的变异使链霉素失去结合位点, 从而使该基因型的菌株具有了对链霉素的抗性 (Str^r)。

Tn5 (Transposon)

功能：在原核生物和真核生物基因组中都存在有可移动的 DNA 序列，一般称这段序列为转座子或转位基因，转座子上通常带有抗药性基因。**Tn5** 是载有卡那霉素 (Kanamycine) 抗性基因的转座子，当 **Tn5** 转位到大肠杆菌基因组时，能使此菌株获得卡那霉素的抗性 (Km^r)。

Tn10 (Transposon)

功能：**Tn10** 是载有四环素 (tetracycline) 抗性基因的转座子。当 **Tn10** 转位至大肠杆菌基因组时，能使此菌株获得四环素的抗性 (Tet^r)。

7、能量代谢相关的基因型**lacZ (Lactose)**

功能：*lacZ* 基因是大肠杆菌中 *lac* 操纵子的结构基因，表达 β -半乳糖苷酶，分解乳糖为半乳糖苷。 β -半乳糖苷酶是由四个相同的亚基组成的，每个亚基又包含两个片断，即 α 片断和 ω 片断，只有这两种片断同时存在时， β -半乳糖苷酶才表现出活性。*lacZ* 基因的变异或缺失将直接导致 β -半乳糖苷酶活性缺失，细胞在只有乳糖作为碳源的培养基中不能生长，由此可以进行菌株的筛选和纯化。

lacZ M15 (Lactose)

功能：*lacZ*M15 是表达 β -半乳糖苷酶 α 片断的一段基因，当 M15 缺失 (Δ M15) 时，*lacZ* 基因虽然能表达 ω 片断，但不能表达 α 片断， β -半乳糖苷酶没有活性。当带有 *lacZ* (α 片断) 基因的 *lac* 操纵子通过载体 DNA (如 pUC19 DNA) 转化到 *lacZ* Δ M15 基因型的细胞 (如 *E.coli* JM109) 时，在有 IPTG (异丙基- β -D-1-硫代半乳糖苷) 存在的情况下， β -半乳糖苷酶表现出活性，它能分解 X-gal (半乳糖类似物)，使其呈现蓝色。因此可以通过平板上的蓝白菌落进行克隆体的鉴定。

lacI^q (Lactose)

功能：*lacI* 是大肠杆菌中 *lac* 操纵子 (Operon) 的调节基因，它所表达的阻遏蛋白是 *lac* 操纵基因 (Operator) 的抑制因子，这种阻遏蛋白能与过量的乳糖结合而失去对操纵基因的抑制，使 *lac* 操纵子上的结构基因 *lacZ* (β -半乳糖苷酶)、*lacY* (透性酶)、*lacA* (乙酰基转移酶) 得以正常表达。IPTG (异丙基- β -D-1-硫代半乳糖苷) 作为乳糖的类似物与 *lacI* 阻遏蛋白结合而使操纵基因不被抑制，因此 IPTG 经常作为 *lac* 操纵子的诱导剂而使用。

基因型 *lacI^q* 是 *lacI* 基因发生变异而使其大量 (quantity) 的表达阻遏蛋白，从而使 *lac* 操纵基因几乎完全被抑制。利用这种基因型的菌株进行基因表达时，可以使目的基因的表达得到更有效的人为控制。

ara (Arabinose)

功能：*ara* 基因表达阿拉伯糖代谢所需的各种酶，包括：*araA* 表达阿拉伯糖异构酶、*araB* 表达核酮糖激酶、*araC* 表达阻遏蛋白 (起调节作用)，*araD* 表达 L-核酮糖-4-磷酸差向异构酶、*araE* 表达低亲和型 L-阿拉伯糖转运蛋白、*araF* 表达 L-阿拉伯糖结合蛋白、*araG* 表达高亲和性的 L-阿拉伯糖转运蛋白。*ara* 基因的变异，使细胞不能利用阿拉伯糖进行能量代谢，可以利用此特性进行菌株筛选。

mtl (Mannitol)

功能: *mtl* 基因包括 *mtlA*、*mtlC*、*mtlD* 三种基因。*mtlA* 表达磷酸转移酶、*mtlC* 表达阻遏蛋白（起调节作用）、*mtlD* 表达甘露醇-1-磷酸脱氢酶。*mtl* 基因的变异使甘露醇代谢不能进行，细胞在以甘露醇作为唯一碳源的培养基中不能生长。

***xyl* (Xylose)**

功能: *xyl* 基因包含 *xylA*、*xylB*、*xylR* 三种基因。*xylA* 表达 D-木糖异构酶、*xylB* 表达木酮糖激酶、*xylR* 作为调节基因表达阻遏蛋白。*xyl* 基因的变异使细胞不能以木糖作为碳源进行能量代谢。

***gal* (Galactose)**

功能: *gal* 基因表达半乳糖代谢所需的各种酶类及调节蛋白，包括: *galE* (17 min) 表达尿苷二磷酸 (UDG) 半乳糖-4-差向异构酶、*galK* (17 min) 表达半乳糖激酶、*galP* (64 min) 表达半乳糖透性酶、*galR* (62 min) 表达半乳糖操纵子的阻遏蛋白、*galT* (17 min) 表达半乳糖-1-磷酸尿苷酰转移酶、*galU* (27 min) 表达葡萄糖-1-磷酸尿苷酰转移酶。

大肠杆菌 K12 株中通常出现的基因型是 *galK* 和 *galT*，由于这两种基因的变异使细胞不能直接利用半乳糖作为碳源。因此通过在最小培养基中添加半乳糖与否，进行菌株筛选和基因型确认。

***srl* (Sorbitol)**

功能: *srl* 基因包含 *srlA*、*srlC*、*srlD*、*srlR* 等基因。*srlA* 表达磷酸转移系统相关的酶（葡萄糖醇-山梨醇透性酶、磷酸转移酶 II 等）、*srlD* 表达山梨醇-6-磷酸-2-脱氢酶、*srlC*、*R* 都是调控基因，表达葡萄糖醇操纵子的阻遏蛋白。*Srl* 基因的变异使细胞对山梨醇的吸收和利用受到阻碍，在以山梨醇作为唯一碳源的培养基中，此基因型的菌株不能生长。

8、氨基酸代谢相关的基因型

***gpt* (Guanine-hypoxanthine phosphoribosyl transferase)**

功能: *gpt* 基因表达鸟嘌呤-次黄嘌呤磷酸核糖转移酶，参与鸟嘌呤代谢。*gpt* 基因的变异使鸟嘌呤不能生物合成，对菌株筛选有利。

***thyA* (Thymine)**

功能: *thyA* 基因表达胸苷酸合成酶，参与胸腺嘧啶的代谢。*thyA* 基因的变异可以利用胸腺嘧啶进行菌株筛选。

***asd* (Aspartate-semialdehyde dehydrogenase)**

功能: *asd* 基因表达天门冬氨酸半醛脱氢酶，催化如下反应: L 天门冬氨酸-4-半醛 + 磷酸盐 + NADP⁺ = L-4-磷酸天门冬氨酸 + NADPH，此反应是氨基酸共同合成路径的第二步。*asd* 基因的变异使天门冬氨酸合成受阻，用最小培养基进行细胞培养时，需特别添加天门冬氨酸。

***leuB* (Leucine)**

功能: *leuB* 基因表达 3(β)-异丙基苹果酸脱氢酶，作用于亮氨酸生物合成的第二步，催化反应如下: 3-羧基-2-羟基-4-甲基戊烯 + NAD⁺ → 3-羧基-4-甲基-2-氧戊烯 + NADH。*leuB* 基因的变异导致亮氨酸生物合成受阻，在用最小培养基进行细胞培养时，需特别添加亮氨酸。

proA (Proline)

功能: *proA* 基因表达 γ -谷氨酸磷酸还原酶, 作用于脯氨酸生物合成的第二步, 反应如下: L-谷氨酸-5-半醛 + 磷酸 + NADP⁺ → L- γ -谷氨酸-5-磷酸盐 + NADPH。*proA* 基因的变异或缺失, 使脯氨酸的生物合成受阻, 在用最小培养基培养细胞时需要特别添加脯氨酸。

proB (Proline)

功能: *proB* 基因表达谷氨酸-5-磷酸激酶, 它能催化三磷酸盐与谷氨酸盐结合形成谷氨酸-5-磷酸盐, 是脯氨酸合成的第一步, 反应如下: ATP + L-谷氨酸盐 → ADP + L-谷氨酸-5-磷酸。 *proB* 基因的变异或缺失, 使脯氨酸合成受阻, 在用最小培养基培养时需特别添加脯氨酸。

trpR (Tryptophan)

功能: *trpR* 基因表达 “*trp* 操纵子” 的阻遏蛋白, 但这种阻遏蛋白不能单独与操纵子上的操纵基因结合, 只有在 L-色氨酸存在的情况下, 首先与 L-色氨酸结合成复合体, 然后这个复合体才能与操纵基因相结合, 对 *trp* 操纵子起抑制作用。吲哚丙酸盐 (IPA) 作为 L-色氨酸的类似物也能与这种阻遏蛋白结合, 但其形成的复合体没有活性, 不能与操纵基因结合, 因此可以把吲哚丙酸盐 (IPA) 作为 *trp* 操纵子表达的诱导剂。*trpR* 基因的变异, 使 *trp* 操纵子的阻遏蛋白不能表达, 有利于 *trp* 操纵子的蛋白表达。

lys (Lysine)

功能: *lys* 基因分布于大肠杆菌基因组图的 17 ~ 191 min 的 5 个位置上, 包括 *lysA* (61 min)、*lysC* (91 min)、*lysP* (46 min)、*lysT* (17 min)、*lysX* (60 min), 它们的功能如下: *lysA* 表达二氨基庚二酸脱羧酶、*lysC* 表达天冬氨酸激酶、*lysP* 是调节赖氨酸转运的基因、转录赖氨酸 tRNA、*lysX* 负责赖氨酸排泄。*lys* 基因的变异使赖氨酸的生物合成不能进行, 用最小培养基培养时需额外添加赖氨酸。

metB (Methionine)

功能: *metB* 基因表达胱硫醚 γ -合成酶, 催化反应如下: O-琥珀酰-L-高丝氨酸 + L-半胱氨酸 → 胱硫醚 + 琥珀酸盐, 是甲硫氨酸生物合成的第二步。*metB* 基因的变异使甲硫氨酸的生物合成受阻, 用最小培养基培养时需特别添加甲硫氨酸。

cysB (Cysteine)

功能: *cysB* 基因表达一种阻遏蛋白, 对半胱氨酸生物合成所需的各种酶的表达起调节作用。*cysB* 基因的变异有利于半胱氨酸的生物合成。

thr (Threonine)

功能: *thr* 包含三种基因, 即 *thrA*、*thrB* 和 *thrC*。*thrA* 表达天冬氨酸激酶及 L-高丝氨酸脱氢酶, *thrB* 表达高丝氨酸激酶, *thrC* 表达苏氨酸合成酶。*thr* 基因的变异使细胞不能合成苏氨酸, 用最小培养基培养时需添加苏氨酸。

9、维生素代谢相关的基因型**bioH (Biotin)**

功能: *bioH* 基因所表达的蛋白有两种功能: ①催化前生物素到生物素的转化; ②对庚二酰 CoA (辅酶 A) 有优先的阻害作用。*bioH* 基因的变异使细胞不能自身合成生物素, 在最小培养基中必须添加生物素, 细胞才能正常生长。

thi (Thiamin)

功能: *thi* 基因包含有 *thiA*、*thiB*、*thiC*、*thiD*、*thiK*、*thiL* 等。*thiA* 表达硫氨素噻唑转运蛋白、*thiB* 表达硫氨素磷酸盐焦磷酸化酶、*thiC* 表达硫氨素嘧啶转运蛋白、*thiD* 表达磷酸甲基化嘧啶激酶、*thiK* 表达硫氨素激酶、*thiL* 表达硫氨素甲磷酸激酶。*thi* 的变异使硫氨素的生物合成不能进行, 最小培养基中必须添加硫氨素 (VB1), 细胞才能正常生长。

10、蛋白酶相关的基因型

lon (long form)

功能: *lon* 基因表达 ATP 依赖型蛋白分解酶 (La), 它对外源的异型蛋白质具有特异性的分解作用。*lon* 基因的变异或缺失, 使细胞中的这种异型蛋白质分解酶不能得到表达, 这对于保持克隆体目的蛋白的稳定是非常有利的。

ompT (Outer membrane protein)

功能: *ompT* 基因表达特异性的外膜蛋白分解酶, 它特异性地分解与细胞膜结合的含铁肠菌素受体蛋白。*ompT* 基因的变异使膜结合性蛋白分解酶活性缺失, 有利于融合蛋白的表达。

11、物质转运结合相关的基因型

tonA (Transport) = ***fhuA*** (Ferric hydroxamate uptake)

功能: *tonA* 和 *fhuA* 基因处于基因组图同一位点, 它们的作用也相同, 都是表达外膜受体蛋白。这种受体蛋白与铁络合物结合, 并与 *tonB* 蛋白相互协调作用, 把铁化合物运至细胞质中。另外 *tonA*、*B* 受体蛋白还能与大肠杆菌素 M、噬菌体 T1、T5、 $\phi 80$ 等进行不可逆结合, 而使细胞具有一定的抗菌作用。*tonA* 和 *fhuA* 基因的变异使细胞对铁离子的吸收受到阻害, 同时使细胞对某些抗菌素及噬菌体更敏感, 有利于质粒转化和菌体筛选。

tsx (T-six)

功能: *tsx* 基因表达 T6 噬菌体和大肠杆菌素 K 的受体蛋白, 它结合于细胞膜的外表面, 对 T6 噬菌体和大肠杆菌素 K 进入细胞起关键作用。另外 *tsx* 受体蛋白还有与核苷酸特异性结合的功能, 是核苷酸特异性运输通道的第一步, 在核苷酸的吸收方面也起重要作用。*tsx* 基因的变异使外界某些噬菌体及大肠杆菌素等对细胞的侵噬变得困难, 有利于细胞基因组的稳定。

cysA (Cysteine)

功能: *cysA* 基因表达硫酸盐/硫代硫酸盐转移蛋白, 参与细胞对硫酸盐的吸收与转运, 通过 *cysA* 蛋白转运的硫酸盐将参与半胱氨酸的生物合成。*cysA* 基因的变异使半胱氨酸的生物合成受到影响, 在培养此基因型的菌株时要注意添加半胱氨酸。

12、其他

deoR (Deoxyribose)

功能: *deoR* 是大肠杆菌中 *deo* 操纵子的调节基因, 它表达的阻遏蛋白对 *deo* 操纵子具有重要的调控作用。*deo* 操纵子位于大肠杆菌基因图谱 100 min 的位置, 它含有 *deoA*、*deoB*、*deoC* 和 *deoD* 等结构基因, 分别表达 DNA 代谢所需的酶类, 即胸腺嘧啶磷酸化酶、磷酸转位酶、脱氧核糖磷酸醛缩酶和嘌呤核苷磷酸化酶。*deoR* 基因的变异, 使 *deo* 操纵子的阻遏蛋白不能表达, 宿主细胞合成大量的 dCTP, 可以选择性地改善大分子 DNA 的转化。

***traD* (Transmissibility)**

功能: *traD* 基因不属于大肠杆菌基因组 DNA 范围, 它是存在于 F 因子上的一段基因。*traD* 基因在大肠杆菌的结合及 F 因子的传递方面发挥作用。*traD* 基因的变异使大肠杆菌细胞虽然能够结合, 但 F 因子不能在细胞间发生转移, 从而保证了宿主细胞和导入质粒的稳定性。

***hflC* (High frequency of lysogenization)**

功能: *hflC* 基因表达一种高效溶原蛋白, 它能使 λ -噬菌体侵入大肠杆菌细胞后与基因组 DNA 发生溶原反应, 导致噬菌体 DNA 插入到细胞基因组 DNA 中。*hflC* 基因的变异能避免上述的溶原反应, 可以保持宿主基因组及插入质粒的稳定。

***minA*、*B* (Minicell)**

功能: *minA*、*B* 基因是促进微细胞 (不含 DNA) 形成的相关基因。*minA*、*B* 基因的变异阻碍了微细胞的形成, 可以提高克隆体的表达效率。

***relA* (Relaxed)**

功能: *relA* 是松弛调节基因, 对 RNA 的合成具有调节抑制作用。同时 *relA* 基因还表达 ATP: GTP3'-焦磷酸转移酶, 负责在氨基酸饥饿状态下鸟苷 3', 5'-二磷酸 (ppGpp) 的合成, 以适应饥饿环境。*relA* 基因的变异对目的基因的转录有利。

***glnV* (Glutamine)**

功能: *glnV* 基因专门负责转录谷氨酸 tRNA (转运 RNA), *glnV* 基因的变异使以谷氨酸为主的蛋白质的合成受到阻碍。

***tyrT* (Tyrosine)**

功能: *tyrT* 基因专门负责转录酪氨酸 tRNA (转运 RNA), *tyrT* 基因的变异使以酪氨酸为主的蛋白质的合成受阻。

使用时注意:

- 基因工程中, 经常使用的大肠杆菌几乎都来自于 K-12 菌株, 最近也经常使用由 B 株及 C 株来源的大肠杆菌。
- 大肠杆菌 B 株原来就为 *lon*⁻, 另外 MV1184 株不具有琥珀抑制基因 (Amber suppressor free), 由于这些都是原始菌株所不具备的基因, 因此不在基因型中加以表示, 要注意。