



# 细菌分类

## IV. 遗传方法

Dorothy Jones

细菌分类采用遗传特征是比较近期的事。廿世纪五十年代中期,发现了细菌基因的转移,而且 Watson 和 Crick 用实验证明了 DNA 的碱基顺序中遗传信息的分子基础。从那时起,分析遗传物质的物理化学技术的发展,以及对细菌作为遗传工具的开发,积累了对细菌分类有意义的材料。

细菌细胞的遗传组分不仅位于主要的染色体上,而且在许多情况下也存在于染色体外因子上,例如质粒、转座子和溶源性或温和噬菌体,在过去二十年,此事已变得很清楚。所有这些因子携带着能表达表型特征的遗传物质。这样的染色体外的实体对特殊的细菌表型所作的贡献,究竟是直接的表达还是与细胞的染色体 DNA 相互作用,只是刚刚开始了解而已。(见 Broda, 1979; Harwood, 1980; Hardy, 1981)。

分类学的遗传方法对细菌分类学家有很大的吸引力,由于它能够揭示在生物学上重要和稳定的类群(分类单位),也能阐明细菌进化的关系(系统发育)。因而,几种比较新的分类学方法已经和正在用来描述细菌的遗传组分。

在前一章,已经讨论过细菌基因组的物理化学分析方法。本章涉及用于细菌分类的遗传方法,即以细菌之间基因转移为依据的方法。

### 染色体的基因交换

染色体基因交换的三种主要类型是:(a)基因作为可溶性 DNA 分子转移,即转化;(b)由噬菌体转移,即转导;(c)细胞接触,随即转移整个或部分细菌染色体,即接合。在这些类型中,转化的研究至今已证明是确定细菌之间关系最有用的方法。

### 转 化

转化已被证实经常发生在不同种之间,而很少发生在目前被认为不同属的分类单位之间。种间转化在奈瑟氏球菌类和莫拉氏菌类之中可以分出三个不同的同源群。转化的研究已经表明豌豆根瘤菌 *Rhizobium leguminosarum* 和根瘤土壤杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 之间的密切关系。对微球菌的研究已经说明藤黄微球菌 *Micrococcus luteus* 和 *Micrococcus lylae* 之间的紧密关系,且通过体外 DNA 重组被进一步证实。类似的研究表明,在多杀巴斯德氏菌 *Pasteurella multocida*、溶血巴斯德氏菌 *P. haemolytica*、豚巴斯德氏

菌 *P. uiscae* 和侵肺巴斯德氏菌 *P. pneumotropica* 之间存在着低的转化率,这些分类单元在表型和 DNA 重组指征上也是密切相关的。对嗜血菌属 *Haemophilus*, 已完成了大量的转化工作。流感嗜血菌 *Haemophilus influenzae*、埃及嗜血菌 *H. aegyptius* 和副流感嗜血菌 *H. parainfluenzae* 之间的关系看来似乎都是密切的。

染色体 DNA 的转化在其他分类单元之间也得到证实,毫无疑问,这是一个不同种之间相关程度的良好指征,并且能够突出地显示分类同质性及异质性的范围 (Jones 和 Sneath, 1970; Bovre, 1980)。

### 转 导

在转导中,寄主的染色体物质通过几种途径结合入噬菌体,然后通过噬菌体为媒介的转导作用,从一个噬菌体寄主传递到另一个噬菌体寄主内。目前,只知道小范围的细菌类群对转导是敏感的,例如肠杆菌科 *Enterobacteriaceae*、芽孢杆菌属 *Bacillus*、假单胞杆菌类和一些链球菌。关于同一种内的菌株如何容易受转导,知道得不多,但是转导噬菌体的寄主范围类型可能是一个主要的限制因素。事实也表明,与转化比较起来,跟转导有关的较大困难是由于它包含较大的 DNA 片断,较大的片断不容易结合到受体染色体上。从这个遗传转移的途径看来似乎仅在种的水平上对细菌分类有意义,而且其用途受到噬菌体的寄主范围的进一步限制(见 Jones 和 Sneath, 1970)。

在这里,适当地提一下噬菌体在细菌分类的其他作用。正如较早注意到的,温和噬菌体能在寄主细菌中致溶,而且表达其遗传信息为表型特征,这些特征不同于那些不含噬菌体的典型细菌。这个现象作为细菌分类的结果将在以后论述(见染色体外因子)。另外,烈性噬菌体侵染和裂解细菌,这或许是众所周知的最好特征,这个过程称为噬菌体溶菌作用。

把噬菌体溶菌包括在论述遗传方法的章节里,会引起读者感到某种意外。细菌细胞的噬菌体溶菌过程包括噬菌体侵染和增殖,但无溶源作用。而不同于特异性很差的噬菌体吸附,或者不同于先杀死细胞然后从外部溶菌。在噬菌体的侵染过程中,烈性噬菌体的基因被转移和表达,虽然它们并不结合到寄主染色体上,当然它也不在受体菌谱系中发生。特异的噬菌体受体对烈性噬菌体吸附在受体细菌细胞上是必要的;如果细菌携带一个同源的前噬菌体,噬菌体在细胞中

可能受到阻遏,或者可能受到酶作用的限制。两个细菌菌株维持一个已知烈性噬菌体生长的能力反映出单一或两个寄主基因的相似性。所以,这个技术对细菌分类没有什么价值。但是,噬菌体溶菌交叉反应对细菌分类有很大的价值。所报道的噬菌体的寄主范围,可从那些对一个种中的极少数菌株有特异性扩大到那些能裂解当前放在不同属、科甚至是目中的细菌。然而,大多数文献报道表明,大部分噬菌体溶解属于同一种中的大多数菌株,作为其繁殖菌株。在一些细菌类群中,例如在一些化脓性的链球菌、葡萄球菌和肠道细菌中,噬菌体的分型体系在流行病学和鉴定方面,正在起着日益重要的作用。

## 接 合

这种基因交换的方法指的是细胞和细胞接触后整个或部分细菌染色体的转移。接合体系在大肠菌类中了解得最清楚(Curtiss, 1969)。相似的体系在其他属如假单胞菌、弧菌(*Vibrio*)、巴斯德氏菌和根瘤菌中曾被提到,而且也晓得存在于其他属中,但是对其机制了解得不多。有证据表明,在链球菌中,在某些情况下细菌利用性的信息素能引起细胞与细胞的接触(Clewell, 1981)。细胞染色体物质通过接合作用的转移,不如通过转化或转导的转移报道得多。但是,证据表明这种现象只发生在关系密切的分类单元之间。

至今,细菌分类学并没有从与染色体物质的遗传交换有关的研究中获得很大的好处。而且对细菌的同基因型种的概念认识很不够。然而,细菌学家不再认为细菌间的基因转移很少发生,以致对自然界的细菌群体无关重要。在过去二十年,人们已经承认,基因的转移特别是噬菌体、质粒和转座子的转移,它们彼此之间的相互作用,以及细菌染色体和由插入顺序作为媒介而引起的基因转移,可能是细菌变异的重要因素。这个变异对细菌分类有明显的重要性。

## 染色体外因子

质粒、转座子和噬菌体统称为染色体外因子(Novick, 1969; Broda, 1979; Hardy, 1981)。在细菌之间,它们的转移机制基本上与“遗传方法”中描述的那些方法相同。噬菌体在细菌间所有遗传物质的转导中起作用,而且现在已认识到, F' 因子是一种质粒。所以,把细菌间染色体 DNA 和染色体外因子的转移区分得过于清楚可能是人为的。由染色体 DNA 引起的转化可能或不可能伴随质粒 DNA 的转化。在转导过程中,噬菌体携带一部分染色体或质粒 DNA, 在接合过程中,质粒和染色体 DNA 可以被同时转移。这种情况远比以前认识的要复杂得多(Novick, 1969; Hardy, 1981; Clewell, 1981)。

现在,有一系列方法用来从细菌分离染色体外遗

传因子,并用物理化学方法分析它们。Hardy 对这方面作了很好的报道(1981)。

细菌分类学家对染色体外因子主要感兴趣的两方面是,它们能在一定范围的细菌中编码表型特征,以及它们在进化中具有意义。

## 表 型 特 征

实际上,在每个被测定的细菌属都已观察到质粒。用物理筛选方法测出的许多质粒不知道在寄主细菌中编码什么表型特征,它们被称为隐蔽质粒。它们的存在与表型特征不相关,这一事实并不意味着它们不编码这样一个特征,这可能是它们特殊的表型特征未被识别。

已知由质粒编码的表型特征包括对各种抗生素、重金属离子和紫外光的抗性,内毒素、落叶毒素、表面抗原 K<sub>88</sub> 和 K<sub>89</sub>、溶血素、蛋白酶、细菌素、脲酶和 H<sub>2</sub>S 的产生,乳糖、蔗糖、棉子糖和柠檬酸的代谢,各种有机化合物如樟脑、辛醇和甲苯的降解(至少假单胞菌在降解有机化合物所表现的一部分有明显的多样性是由于存在降解质粒的缘故),以及固氮。初步的证据表明,盐杆菌属 *Halobacterium* 气泡的产生受质粒控制。也有证据说明,葡萄球菌的色素、凝固酶和 fibrolysin (一种消瘢痕的成药)的产生是由质粒所决定的。在乳酸链球菌中,血清不透明性因子、M 蛋白、乳酸链球菌肽的产生,以及发酵半乳糖和木糖的能力,似乎很可能是由质粒编码的。

转座子发现于格兰氏阴性细菌的质粒上,已表明它们编码许多抗生素的抗性、乳酸发酵(在小肠结肠炎耶尔森氏菌 *Yersinia enterocolitica*)、热稳定毒素(在大肠埃希氏菌 *E. coli*)。而且,编码其他表型特征的另外一些质粒毫无疑问将会被发现。Harwood(1980)、Clewell(1981)和 Hardy(1981)对质粒和转座子授予细菌的表型特征作了充分的报导。

噬菌体编码表型特征的典型例子是白喉毒素。1950年, Freeman 证明这种毒素只在白喉棒杆菌 *Corynebacterium diphtheriae* 被一种特殊的噬菌体裂解时才能产生。这种蛋白质毒素的结构基因位于噬菌体染色体上。这种噬菌体能在一些关系密切的棒状杆菌即白喉棒杆菌、溃疡棒杆菌 *C. ulcerans* 与绵羊棒杆菌 *C. ovis* (Barksdale, 1970) 中裂解并合成毒素。

## 染色体外因子在分类和在鉴定中的作用

由于这些因子对它们的寄主授与额外的表型特征,而那些特征又是分类所依据的,那么它们在细菌分类上能有一个显著的作用。有两个例子说明质粒的存在与种的命名有关,一是质粒在粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)编码溶血素,而命名携带这种质粒的菌株为粪链球菌产酶变种(*S. faecalis* var. *zymogenes*),而在

乳链球菌 *Streptococcus lactis* 中,决定柠檬酸盐利用的质粒看来与命名乳链球菌二乙酰乳酸亚种 *S. faecalis subsp. diacetylactis* 有关。但是,一个染色体外编码特征在依据大量特征而进行的分类中起的作用,比在正常情况下小,在至今所进行的极初步研究中已证明了这点。

然而,当鉴定以少量特征为依据,并把相当的权重放在个别特征上,例如乳糖发酵在肠道细菌的鉴定中,这样的特征能影响细菌的鉴定。所以,鉴定方案最好根据稳定的特征,这些特征选自使用大量特征的分类学研究,例如借助于电子计算机的分类(数值分类)。采用从这样的研究得出的、以电子计算机为基础的鉴定矩阵是理想的。由于失去或获得一个或两个表型特征而引起鉴定错误的风险,将由此而降至最低限度。

有人曾经建议,已知携带染色体外因子的菌株应从分类学研究中排除。这种方法是不切合实际的,因为现在的方法不总能检测出这样的菌株。而且,可以相信,许多细菌类群依赖这些因子的存在而存活。也曾有人建议,在建立分类系统时,应该排除已知的或猜

测有染色体外编码的特征。同样,现在的方法不可能将所有这样的特征被测定出来,而且这样的特征与分类学有关。

细菌学家应该承认,染色体外因子对细菌变异的的确是起作用的。所以应该承认这种变异,而且在描述细菌分类单位和建立鉴定方案时要适当考虑到。

## 染色体外因子和进化

当前,突变和重组对细菌进化的有关贡献是难以估价的。突变引起细菌的蛋白质结构变化。重组导致现存的基因的重新排列。直至最近,人们很少注意基因重排可能涉及到进化。包括染色体外因子在内的基因转移在细菌变异中可能是一个重要的因素,这种认识形成一种观点,即这些因素在细菌进化中已经起着重要的作用。这些因素在当代细菌变异和适应方面所起的作用是否是细菌从早期进化的主要途径之一,这问题仍然未得到解决(Cullum 和 Saedler 1981; Hardy, 1981; Koch, 1981; Reanney, 1976)。