

焦瑞身 李庆余 何超刚 黄谷良 姚敬业

国际微生物学联合会 (IUMS) 于 1986 年 9 月 7 日至 13 日在英国 Manchester 召开第十四届国际微生物学大会,我国派有 8 人代表团参加。现将会议概况,学术活动等扼要汇报如下:

(一) 会议概况

国际微生物学大会以细菌学和真菌学为主,病毒学为副,因国际病毒学大会将另行召开。

本届大会规模颇大,约有 3,500 人参加。学术活动的形式有:讨论会,墙报、圆桌会议和工作讨论。大会组织 64 个讨论会,其中细菌学、真菌学、病毒学,学科间分别为 32, 10, 11 和 11 个;学术论文分别为 266, 74, 49 与 85 篇,共有 474 篇。

墙报数量巨大,共有 1,500 多篇。有关细菌学的内容占三分之一,应用微生物学占三分之一。在细菌学中细菌生化学数量较多。

现将讨论会题目,罗列于下,从中可以看出国际微生物学目前发展的一些趋向。

(二) 讨论会题目

(甲) 细菌学

(A) 系统分类学

1. 多途径研究细菌分类;
2. 工业上重要放线菌的系统分类;
3. 化学分类学对细菌系统分类的冲击;
4. 同源性和核苷酸顺序在系统分类中的作用;
5. 厌氧革兰氏阴性杆菌的分类学。

(B) 医学和兽医

1. 医院中革兰氏阴性菌的存活、定居和传播;
2. 从体外试验预测抗生素体内反应;
3. 弯曲菌;
4. 寄主粘膜表面与细菌的相互作用;
5. 拟杆菌作为医学和兽医致病菌;
6. 新型疫苗;
7. 微生物快速检测、鉴定和计数方法。

(C) 工业和应用

1. 微生物转化农业和食品工业有机废物;
2. 发酵过程及控制 (I, II),
3. 食品保藏危险评价和微生物预测;
4. 脆弱细胞的培养。

(D) 生化学

1. 厌氧代谢的生化学和遗传学;
2. 古微生物 (archaeobacteria);
3. 细胞分裂和生长;

4. 光合原核生物的生化学和遗传学;
 5. 细菌代谢功能的联系和调节;
 6. 无机化合物和元素在细菌代谢上的作用;
 7. 细菌细胞膜的结构和功能;
 8. 电子传递和氧化磷酸化的生化学和遗传学;
- (E) 生态学

1. 养料贫乏环境;
2. 微生物生态学的梯度和标尺;
3. 自然条件下基因传递;
4. 胞外产物在土壤生态学中的作用。

(F) 遗传学和分子生物学

1. 复制子: 复制与分配;
2. 原核生物基因组组织和重排;
3. 分化的遗传调节;
4. DNA 修复和重组。

(乙) 真菌学

1. 基因表达和调节(分子水平、生理);
2. 遗传因子;
3. 菌根;
4. 真菌表面的性质;
5. 真菌毒素;
6. 真菌膜;
7. 对真菌学有价值的技术;
8. 真菌培养原理;
9. 假丝酵母和假丝病。

(丙) 病毒学

1. 病毒作为基因载体;
2. 重组与转座;
3. 病毒基因组的复制;
4. 病毒装配;
5. 缺失病毒;
6. 病毒分子遗传学;
7. 新型病毒疫苗;
8. 病毒病的检测和诊断;
9. 新的病毒系统;
10. 真菌病毒;
11. 病毒化学治疗。

(丁) 学科间的专题

(A) 应用与生态

1. 工业用微生物的筛选和选育;
2. 国际食品和旅行;
3. 重组 DNA 技术和导源基因表达的新进展;

4. 高温环境;

5. 多细胞分化;

(B) 医学和兽医

1. 性传递疾病的致病机制;

2. 微生物毒素的进展;

3. 混合感染;

4. 致病性的遗传学;

5. 环境对疾病的影响。

(三) 体会

从这次大会的学术活动看来,微生物学各个领域的研究在继续深入,同时研究范围也在继续扩大。学术活动内容丰富,但会场分散,各种讨论会同时进行。因此,与会者只能选择和本人专业对口或接近的参加。下面汇集参加大会的几位代表的一些体会。

1. 细菌系统分类学

在细菌分类方面分子生物学方面受到重视,用 DNA 分子杂交的方法对一些难以用经典方法进行种类以及亚种进行鉴定和分类。例如,法国的 Grimont 根据两种 DNA 分子杂交的程度来判断两种细菌的亲缘关系, DNA 分子杂交程度高,亲缘关系近;杂交程度低,则亲缘关系疏。比利时的 Gilk 运用的 DNA-rRNA 杂交方法也同样适用于细菌分类。细菌的 rRNA 的碱基顺序相当保守,亲缘关系相近的种类的 rRNA 的碱基顺序变化不大,它们的 DNA 分子和 rRNA 易于相互杂交。联邦德国的 Ludwig 将枯草杆菌、藤黄微球菌、绿脓杆菌中编码 23SrRNA 的基因克隆后作为杂交探针,用它们分别和有关的细菌染色体 DNA 杂交,从而进行细菌的系谱研究。日本的 Park 将谷氨酸棒状杆菌、干燥棒状杆菌、球形节杆菌、双氮纤维单胞菌、扩展短杆菌等一系列细菌中编码 5SrRNA 的基因克隆化并进行顺序分析,根据该基因的每个核苷酸位点在漫长的进化过程中发生的碱基替换的数目而作出系谱发生树。另一个简易而有效的鉴定方法是英国的 Owen 所采用的限制性内切酶消化各种细菌染色体 DNA,然后根据酶切后的 DNA 片段由琼脂糖凝胶电泳分离所呈现的特有型式对细菌进行鉴定。

2. 遗传学、分子生物学

质粒稳定性的研究不仅是 DNA 复制分子生物学的课题,也是基因工程十分关切的问题。稳定性包括两个方面:首先,质粒稳定地在宿主细胞中复制、分配。其次,质粒载体上的克隆基因稳定地保持。苏格兰的 Master 等人从大肠杆菌染色体中克隆了一个 129bp 片段,该片段的低拷贝质粒能在宿主细胞中稳定地传代。显然,这一片段提高了质粒的分配的准确性。日本的 Hiraga 研究了 F 因子的一种称为 ccd 机制。众所周知,每个宿主细胞中只有一个 F 因子,通常情况下细胞分裂之后,每个子代细胞都能分配到一个 F 因子,如果出现不带 F 因子的细胞,那么它很容易被

F 因子所编码的一种蛋白质所杀死。依靠这种机制 F 因子得以在宿主细胞群体中稳定地遗传、分配。

复旦大学陈友庆报导 *E. coli* 膜上的 12 kd 蛋白对染色体复制起点有高结合力,在 526bp 复制起点区域有 2 个结合位点。

Rop 蛋白(控制质粒 C01E1 拷贝数的蛋白)的结构——2p 能分析——西德作者研究控制质粒 C01E1 DNA 复制开始的机制,依赖于两个 RNA 分子(RNAI 和 RNAII)的相互作用。当 Rop 基因产物存在下,两个 RNA 之间的亲和力提高。Rop 蛋白是二聚体,含 63 个氨基酸,每一亚基含有二个紧密堆集的 α -螺旋和一个含 6 个氨基酸羧基端。

辅助的质体分配 *E. coli* 染色体片段的克隆化促进 *E. coli* 低拷贝质粒的稳定遗传的分配区域已被鉴定。英国作者鉴定了提高不能稳定遗传质粒的染色体片段。作者用 pBR325 构建 Hind III 染色体 DNA 的基因文库 pBR325 在一个 *E. coli* 菌株不能稳定存在。筛选是连续传代以获得稳定的衍生物,从中得到一个 129bp 片段。含有这一杂种质粒的细胞,其质粒的半衰期从 10 代提高到 25 代。作者认为这一衍生物有一个改进质粒准确分配的(1)插入片段。

E. coli 在硫酸盐限量培养中提高了质粒 pAT153 的稳定性。虽然 pAT153 有高拷贝数,但在 *E. coli* HB101 中,葡萄糖限量培养 50 代后即行消失,证明稳定性可由改变培养条件而提高。在葡萄糖,硫酸盐或 NH_4 -限量培养质粒在寄主细胞消失 10% 的代数分别为 19, 33 或 28。稳定性随稀释度的提高而增加。在硫酸盐限量培养中,稀释度 0.30 或 0.5h^{-1} , 90 代后未发现检出消失。但在培养物质严重限量,低生长情况下质粒消失。在葡萄糖培养稀释度为 0.15h^{-1} , 如果质粒 Tc 基因先经染色体上 IS1 转座钝化后,质粒即能稳定存在。

3. 基因工程

会上基因工程报导较多,除了 α -淀粉酶,碱性蛋白酶、糖化酶之外,还有这样一些酶类:运动发酵单胞菌中的丙酮酸脱羧酶基因,已在大肠杆菌和克雷伯氏菌中表达;耐热的厌氧微生物——热纤梭菌的内切葡聚糖酶、 β -糖苷酶和纤维素酶;丙酮丁醇杆菌的谷氨酰胺合成酶;动物瘤胃中的厌氧微生物的纤维素酶。

α -淀粉酶是一个重要的工业酶类。近年来好几个实验室相继用 DNA 重组技术,从地衣芽孢杆菌中克隆了 α -淀粉酶基因,目的不仅获得产生大量的 α -淀粉酶,而且保持原来基因产物的耐热性状。参加这次会议的几个国家的微生物学家提交的几篇论文都是讨论 α -淀粉酶基因的克隆。其中南非的 Sugrue 的论文颇有实际价值。枯草杆菌所产生的胞外蛋白酶能分解培养基中的各种蛋白质(包括 α -淀粉酶)据此推理如果把一个克隆化的 α -淀粉酶基因导入一个蛋白酶基因

缺失的枯草杆菌的受体菌中，由于 α -淀粉酶不再被蛋白酶分解，这样的菌株会产生大量的 α -淀粉酶。但工业发酵培养液中生长不良。有趣的是，他们发现克隆化的 α -淀粉酶对与之处于同一菌株中的蛋白酶具有抗性，他们将蛋白酶基因克隆在另一个质粒上，一起导入同一个宿主菌株中。这样克隆化后的蛋白酶能识别它“自己”的 α -淀粉酶，而分解培养液中其它的蛋白质，因而在营养丰富的发酵培养液中菌体生长良好，随之产生大量的 α -淀粉酶。他们同时发现带有 α -淀粉酶基因的质粒因发生一个400bp片段的缺失而变得十分稳定，无选择压力地连续传代之后宿主仍能稳定地保持这一质粒。复旦大学遗传所克隆了耐热型 α -淀粉酶，而且同一菌株具有两个同功酶的性质截然不同，酶活力、最适酶反应温度、耐热性能都不相同。芬兰的Palva介绍了他们利用克隆化的解淀粉芽孢杆菌 α -淀

粉酶基因作为材料构建了一个分泌性载体。该基因有一个强有力的启动子和分泌信号顺序、合成的大量的 α -淀粉酶能分泌到胞外，是构建分泌性载体的理想材料。在完成对该基因的全部顺序分析之后，分离所需的启动子和信号顺序作为构建表达和分泌载体。然后分别将各种不同的外源基因置于载体上的启动子和分泌信号顺序后，研究它们表达和分泌的情况。他们发现各种基因产物分泌到胞外的数量是不同的。例如：分泌的 β -内酰胺酶、 α -干扰素、噬菌体膜蛋白数量都远远少于分泌的 α -淀粉酶的数量。就前三者的分泌数量而言， β -内酰胺酶最多， α -干扰素其次，噬菌体膜蛋白最少。这些外源蛋白质都极不稳定。一定时期之后它们会从培养液中消失，这可能是被分泌的胞外蛋白酶所消化的结果。

(续)