

大肠杆菌的基因型

野生的大肠杆菌 (*E.coli*) 的基因组DNA中有470万个碱基对 (bp), 内含4288个基因。 *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。这些不同基因型特性的菌株在基因工程的研究和生产中具有广泛的应用价值。

大肠杆菌基因型的表示方法有如下几种:

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三个斜体字母来表示。
例如: DNA_Adenine_Methylase→dam。
2. 变异基因不同, 导致的结果相同时, 用其作用结果的英文名称的前三个字母斜体后加上一个大写字母来表示区别。
例如: Recombination→recA、recB、recC。
3. 某个基因或某个领域缺失时, 在其基因型前面加上“ Δ ”表示。
例如: lac-proAB基因缺失时它的基因型表示为 Δ (lac-proAB)。
4. 野生的大肠杆菌具有F因子 (质粒) 和噬菌体插入片段, 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 Δ M15]。
5. 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⁺或Str^r, Ampicillin敏感性→Amp⁻。
(第一个字母要大写, “+”或“r”表示有抗性, “-”表示无抗性或缺失)。
6. 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。

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型 (Amber suppressor free), 由于这些都是原始菌株所具备的基因, 因此不在基因型中加以表示, 要注意。

主要的基因型说明

□ 基因重组相关的基因型

recA (Recombination)

Map position: 58 min

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。

recB (Recombination)

Map position: 61 min

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)

Map position: 61 min

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。

□ 甲基化相关的基因型

dam (DNA adenine methylase)

Map position: 74 min

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)

Map position: 43 min

功能：dcm基因表达胞嘧啶甲基化酶，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C^mCWGG，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)

Map position: 26 min

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C^mCGG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（C^{5m}CGG）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)

Map position: 98 min

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G^{5m}C上，然后由mcrB蛋白切断（mcrB蛋白是特异性切断外来DNA中G^{5m}C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)

Map position: 98 min

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, CviR 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。

□点突变相关的基因型

mutS (Mutator)

Map position: 59 min

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)

Map position: 3 min

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)

Map position: 82 min

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)

Map position: 56 min

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，有利于点突变。

uvrB (Ultraviolet)

Map position: 18 min

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。

■核酸内切酶相关的基因型

hsdR (Host specificity defective)

Map position: 99 min

功能: hsdR基因表达型限制酶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 specificity defective)

Map position: 99 min

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)

Map position: 64 min

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。

■终止密码子相关的基因型

supE (Suppressor)

Map position: 16 min

功能: supE基因表达的阻遏蛋白与终止密码子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, 即使遇到终止密码子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)

Map position: 27 min

功能: supF基因表达的阻遏蛋白与终止密码子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, 即使遇到终止密码子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), 弥补了由于琥珀突变 (AAG→UAG) 带来的蛋白合成停止, 因此也称supF为琥珀突变抑制因子。

■抗药性相关的基因型

gyrA (Gyrase)

Map position: 48 min

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)

Map position: 73 min

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)

Map position: 转座子

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 (Kanamycin) 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)

Map position: 转座子

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)。

■能量代谢相关的基因型

lacZ (Lactose)

Map position: 8 min

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。

lacZDM15 (Lactose)

Map position: 8 min

功能: lacZDM15是表达 β -半乳糖苷酶 α 片段的一段基因, 当M15缺失(Δ M15)时, lacZ基因虽然能表达 ω 片段, 但不能表达 α 片段, β -半乳糖苷酶没有活性。

当带有lacZ(α 片段)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)

Map position: 8 min

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)

Map position: 1 min

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)

Map position: 81 min

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)

Map position: 80 min

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)

Map position: 17 ~ 164min

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)

Map position: 58 min

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。

■ 氨基酸代谢相关的基因型

gpt (Guanine-hypoxanthine phosphoribosyl transferase)

Map position: 6 min

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)

Map position: 61 min

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)

Map position: 76 min

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)

Map position: 2 min

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)

Map position: 6 min

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)

Map position: 6 min

功能: proB基因表达谷氨酸盐-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)

Map position: 100 min

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。吡啶丙酸盐(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, 因此可以把吡啶丙酸盐(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)

Map position: 17 ~ 191 min

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)

Map position: 90 min

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)

Map position: 28 min

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)

Map position: 0 min

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。

☐ 维生素代谢相关的基因型

bioH (Biotin)

Map position: 18 min

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)

Map position: 90 min

功能: thi基因包含有thiA、thiB、thiC、thiD、thiK、thiL等。thiA表达硫素噻唑转运蛋白、thiB表达硫素磷酸盐焦磷酸化酶、thiC表达硫素噻唑转运蛋白、thiD表达磷酸甲基化噻唑激酶、thiK表达硫素激酶、thiL表达硫素甲磷酸激酶。thi的变异使硫素的生物合成不能进行, 最小培养基中必须添加硫素(V_{B1}), 细胞才能正常生长。

☐ 蛋白酶相关的基因型

lon (long form)

Map position: 10 min

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)

Map position: 13 min

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。

□物质的转运结合相关的基因型

tonA (Transport) =fhuA (Ferric hydroxamate uptake)

Map position: 3.6 min

功能: tonA和fhuA基因处于基因组同一位点, 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、φ80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碍, 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)

Map position: 9 min

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)

Map position: 52 min

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。

□其他

deoR (Deoxyribose)

Map position: 19 min

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组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)

Map position: F因子

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)

Map position: 95 min

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)

Map position: 10 min, 26 min

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

relA (Relaxed)

Map position: 63 min

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)

Map position: 16 min

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)

Map position: 27 min

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。