

参 考 文 献

- [1] Cohen, C. et al.: *J. Mol. Biol.*, 59, 375, 1971.
[2] Lazarides, E. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 71, 2268, 1974.
[3] Lehto, V. P. et al.: *Nature*, 272, 175, 1978.
[4] Sherline, P. et al.: *J. Cell Biol.*, 77, R9, 1978.
[5] Singer, S. J. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 3883, 1977.
[6] Wang, K. et al.: *Ibid.*, 74, 2021, 1977.
[7] Willingham, M. C. et al.: *J. Cell Biol.*, 67, 146, 1975.

(待续)

3',5'-环化腺苷酸与 λ 噬菌体的基因调控 及其与寄主关系的若干问题

王 身 立

(复旦大学遗传研究所)

λ 噬菌体作为遗传工程中的一种重要工具,它的基因调控问题,已有综述详尽介绍^[1];而 3',5'-环化腺苷酸(以下简称为 cAMP)又是近年来受到广泛重视的一种重要的基因调控物质。因此,本文拟在引述国外有关资料的基础上,对于 cAMP 与 λ 噬菌体的基因调控及其与寄主关系问题,提出一些看法,以供讨论,希望得到批评指正。

一、cAMP 与 λ 噬菌体的基因调控

λ 噬菌体侵入寄主大肠杆菌后,如果它的 DNA 嵌入细菌的染色体,在一定的条件下,噬菌体 DNA 就与细菌的 DNA 同步复制,成为“原噬菌体”。这时我们就说寄主细菌溶原化了。

λ 噬菌体感染大肠杆菌的腺苷酸环化酶缺陷突变型(*cya*⁻)或 cAMP 受体蛋白缺陷突变型(*crp*⁻, 又称 *cap*⁻)时,极少有溶原化发生,表明溶原化需要 cAMP 及其受体蛋白的存在^[2]。当在 *cya*⁻突变型细菌的培养基中加入外源性 cAMP 时,则可促进溶原化的发生。在鼠伤寒沙门氏菌中,对噬菌体 P22, MG40 和 MG178 等,也发现了同样的情况^[2,3]。

λ 噬菌体寄主细菌溶原化的建立需要两个前提,一是阻遏 λ 裂解基因的表达,这就需要有一个 mRNA 转录的负调控机制;二是 λ 噬菌体

DNA 嵌入寄主细菌的染色体^[4]。有人认为,阻遏对于溶原化来说是更为重要的环节,因为大肠杆菌的噬菌体 PI 并不嵌入寄主的染色体,却以原噬菌体的状态存在于寄主细胞中,和寄主的 DNA 进行同步复制。本文所强调的也是 cAMP 与阻遏的关系。

在 λ 噬菌体中,阻遏裂解基因表达的负调节基因有三个,即 CI、CII 和 CIII。如图 1 所示,当 λ 噬菌体侵入寄主细菌后,CI 基因的转录由阻遏建立启动子(Pre)所引发。而 Pre 的读出则需要 CII 或 CIII 基因的产物加上 cAMP

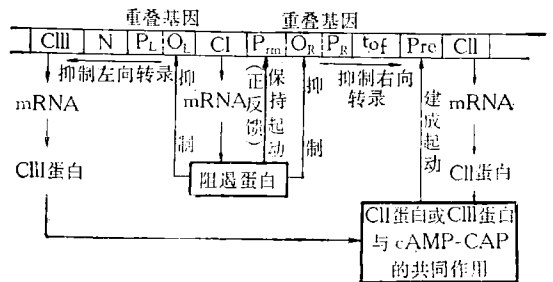


图 1 cAMP 与 λ 噬菌体的基因调控

的共同作用^[4]。或者说, cAMP 及其受体蛋白(CRP)为造成溶原化的阻遏蛋白生成所必需^[9]。当 CI 基因被引发之后, λ 噬菌体即可能嵌入细菌的染色体中。CI 制造的阻遏蛋白可阻遏裂解基因的表达。在保持溶原化的细菌中, λ 噬

菌体唯一转录的基因就是 CI。CII、CIII 基因也同时被 CI 制造的阻遏蛋白所阻遏,于是 Pre 启动子被关闭。这时 CI 便在自己制造的阻遏蛋白激活下继续转录,这就是说,CI 阻遏蛋白具有双重作用:它一方面起负调控作用,阻遏裂解基因的表达;另一方面又有正调控作用,即引发 CI 基因本身的另一个启动子——阻遏保持启动子 (Prm),使 CI 保持在开启状态,不断制造阻遏蛋白。阻遏蛋白与 CI 基因之间存在正反馈作用 (图 1)。这样,噬菌体就有可能保持在溶原化状态而不进入裂解发育途径。

在大肠杆菌的 *cya*⁻ 或 *crp*⁻ 突变型中,λ 噬菌体 CI 基因制造的阻遏蛋白大为减少^[5]。而 M. Belfort 等^[4]以及 A. D. Kaiser 的实验结果表明,无论是 λ 噬菌体的 CIII 基因功能缺陷型突变 (CIII⁻),或寄主细菌的 *cya*⁻ 或 *crp*⁻ 突变,都可使得溶原化频率大为减少 (表 1)。

表 1 λ 噬菌体及其寄主的突变与溶原化频率的关系

溶原化频率 λ 噬菌体	大肠杆菌	<i>cya</i> ⁺ · <i>crp</i> ⁺ (野生型)	<i>cya</i> ⁻ , <i>crp</i> ⁻ (突变型)
CIII ⁺ (野生型)	100%	4 %	
CIII ⁻ (突变型)	4 %	> 0.005%	

已知葡萄糖能抑制许多细菌的腺苷酸环化酶,从而抑制 cAMP 的生成。当大肠杆菌培养基中作为能源的葡萄糖浓度较高时,细菌中 cAMP 的浓度即下降,λ 溶原化的频率也很低;而当加入的葡萄糖浓度较低时,cAMP 水平则较高,细菌溶原化的频率也较高。

应该指出,这方面的研究也有不一致的结果。例如 Jordan 等所报道的实验表明,λ 噬菌体阻遏蛋白的合成以及寄主细菌的溶原化与 cAMP 的关系不大^[6]。此外,Roife 等^[7]曾报道过大肠杆菌的一个大肠杆菌素耐受性突变,它感染 λ 噬菌体后极易发生溶原化而大受 cAMP 及其受体蛋白的影响。经实验分析表明,这个突变型的 RNA 多聚酶发生了改变,从而抑制 λ 噬菌体 DNA 的右向转录却并不影响左向转录,这就易于引起溶原化。因为左向转录与右

向转录的比例也是影响溶原化的重要因素。

二、cAMP 通过寄主细菌的基因活动对 λ 噬菌体进行基因调控

大肠杆菌中有一个隐性突变 *hfl*⁻ (high frequency of lysozation, 高频率溶原化)。该突变型中,即使 cAMP 与 λ 噬菌体 CIII 基因的产物不复存在时,溶原化频率也仍然高达 70—80 %^[4]。

有人提出,*hfl*⁻基因的产物有类似于 cAMP-CRP 和 λ 噬菌体 CIII 基因产物的作用^[8]。如果是这样,*hfl*⁻突变就应该是显性的。但事实上 *hfl*⁻是一个隐性突变。因此,上述说法不足取。

M. Belfort 等指出,野生型寄主 *hfl*⁺基因的产物是噬菌体 Pre 启动子的抑制物,而 CIII 基因的产物与 cAMP-CRP 使 *hfl*⁺基因制造的抑制物失活,从而引发 Pre 启动子,继而开启 CI 基因,使噬菌体有可能向溶原化途径发育。而功能缺陷型隐性突变 *hfl*⁻丧失了制造抑制物的能力,故这时溶原化不再需要 CIII 的产物和 cAMP-CRP 也可能发生。这一说法是比较符合事实的 (图 2)。

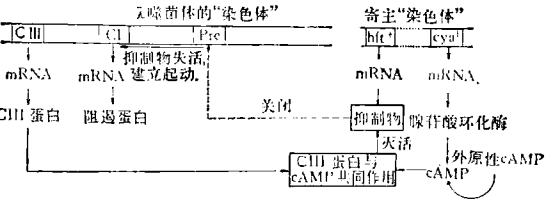


图 2 寄主基因、cAMP 与 λ 噬菌体基因调控的关系

三、寄主细菌的 cAMP 与噬菌体感染

噬菌体与其寄主细菌表面的吸附蛋白结合后,才能侵入寄主细胞,而包括噬菌体吸附蛋白在内的许多细菌细胞表面结构,例如细胞壁、鞭毛和表面抗原等等的生成,都需要 cAMP 的存在。

实验表明,大肠杆菌 K12 必需 cAMP 才能合成供 λ 噬菌体吸附的细胞表面受体。这种受体 (λ 吸附蛋白) 是大肠杆菌 LamB 基因的产

物^[9]。LamB 基因是麦芽糖操纵子 (malB) 中的一个结构基因。麦芽糖操纵子受 cAMP-CRP 的调控。当细菌的 cAMP 水平降低时, 麦芽糖操纵子的转录受到抑制, λ 吸附蛋白的合成就减少, λ 噬菌体的吸附能力也随之下降^[10]。

葡萄糖效应是微生物学中一个熟知的现象。葡萄糖能降低细菌中的 cAMP 水平, 从而关闭掉许许多多的启动子, 抑制诱导性蛋白质的合成。大肠杆菌的麦芽糖操纵子也受葡萄糖的抑制。因而当培养基中加入葡萄糖时, LamB 基因的转录受到抑制, 细菌不能合成吸附蛋白, λ 噬菌体的吸附力就大大降低。但如果加入麦芽糖和 cAMP, 大肠杆菌又会合成吸附蛋白^[11]。因此, cya^- 或 crp^- 突变型在不加 cAMP 时对噬菌体是具有抗性的。这方面的研究对防止细菌培养中的噬菌体感染和选育抗噬菌体的细菌品系具有实际意义。

四、cAMP 对 λ 噬菌体作用于寄主细菌基因的影响

噬菌体与其寄主的基因活动是相互影响着。A. M. Wu 等^[12]报道, λ 噬菌体能抑制其寄主大肠杆菌半乳糖操纵子的表达, 从而降低寄主中 β -半乳糖苷酶的合成速率。当培养基中加入外源性 cAMP 时, 合成速率即可恢复到原来水平。 λ 噬菌体可能降低寄主细菌中的 cAMP 浓度。对于噬菌体 N4, 也发现了同样的

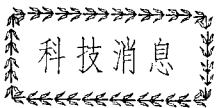
情况。

此外, 当缺乏 cAMP 时, λ 噬菌体即易进入裂解发育途径。 λ 噬菌体利用寄主细菌的基因因为它工作, 而关掉它所不需要的寄主基因。但在野生型 $cya^+ \cdot crp^+$ 寄主中或供应外源性 cAMP 的情况下, 这时如果没有其它诱导裂解的因素, λ 噬菌体通常进入溶源化发育途径, 它与寄主的 DNA 同步复制, 寄主细菌的基因仍然正常地工作, 甚至还可得到 λ 噬菌体从外面带进来的其它基因, 并加以利用, 获得新的功能。这一点, 对遗传工程是具有重要意义的。

参 考 文 献

- [1] 劳为德:《生物化学与生物物理进展》, 1978 年, 第 5 期, 第 32 页。
- [2] Grodzicker, T. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 366, 1972.
- [3] Rao, R. N. & Raj, C. V.: *Mol. Gen. Genet.*, **125**, 119, 1973.
- [4] Belfort, M. & Wulff, D.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **71**, 779, 1974.
- [5] Pastan, I. et al.: *Bact. Rev.*, **40**, 527, 1976.
- [6] Jordan, E. et al.: *ibid.*, **55**: 521, 1973.
- [7] Rolfe, B. et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **120**, 1, 1973.
- [8] Peterkofsky, A.: *cyclic nucleotides in Bacteria*, [2], p. 1, 1976.
- [9] Hofnung, M.: *Genetics*, **76**, 169, 1974.
- [10] Pearson, M. L.: *Virology*, **49**, 605, 1972.
- [11] Ryter, A. et al.: *Excerpta Medica, Sec. 4, Microbiol.*, **29**, 358, 1976.
- [12] Wu, A. M. et al.: *Bacteriophage Lambda*, p. 589, 1971.

[本文于 1978 年 11 月 9 日收到]



有高缠绕的 DNA 存在的定量测定弛豫 闭环 DNA 含量的方法 ——改进的“开闭酶”荧光测定

这里描述的方法系利用最近发现的蛇毒磷酸二酯酶单链内切酶活力的改进荧光检定法。单链特异内切酶具有可作用于 PM₂ DNA (DNA I), 使它转变成开放型 DNA, 但不能作用于弛豫的 DNA (DNA I') 的特点。DNA I' 由荧光方法定量测定(利用它的共价键

闭环 DNA。DNA I + DNA I' 混合物中 DNA I' 的百分比的测定可达 $\pm 1\%$, 这方法也用来测定被 SV40 感染的猴细胞中半纯化的“开闭酶”活性。DNA I 含量在 0—0.4 μg 范围内呈线关系, 灵敏度达 $\pm 0.01 \mu\text{g DNA I'}$ 。
摘自“Anal. Biochem.”, **93**, 346—354, 1979

(上接 801 页)

- [2] 6th Int. Biophysics Cong. Abstracts, Kyoto, Japan, 1978.
- [3] 小谷正雄: 生物物理学年表,《生物物理实验ハンドブック》, 吉岡書店, 527—536, 1970.
- [4] 《全国试验研究机关名鉴》, 1977—1978 年度版。
- [5] 日本生物物理年会第 1、2、3、16、17 届《预稿集》。

[本文于 1979 年 12 月 6 日收到]