

Hb Pastow 的原籍是辽宁省辽中县人, Hb D β 则来自甘肃、河北、内蒙等, 从以上事实初步也能看出一些问题。

七、结 束 语

大约在十七年前, 国内还没有遇到典型的异常血红蛋白。当时, 我国科学工作者曾就此事提醒大家注意。经过十多年的时间, 现在我国境内已经发现了 20 余种异常血红蛋白。这些血红蛋白, 无论从电泳行为、异常链的种类, 以及氨基酸置换等情况来说, 都是多种多样的。

这些成果, 无疑会使生物化学、医学、遗传学和人类学等方面知识更加丰富多彩。当然, 科学在不断发展, 异常血红蛋白的研究工作也在不断深入。我国科学工作者还要努力, 以期在我国也能发现双氨基酸置换、氨基酸缺失、多肽链融合之类更为复杂的异常血红蛋白。这类血红蛋白的发现和研究, 又会将有关科学向前推进一步。

参 考 资 料

(从略)

[本文于 1977 年 9 月 13 日收到]

λ 噬菌体及其在遗传工程中的应用(二)

劳 为 德

(中国科学院生物物理研究所三室)

四、 λ DNA 的基因与基因功能

在作 λ 遗传学分析的时候, 一种方法是利用突变体可查觉的异常来明确基因的功能和排列; 另一种方法通过原噬菌体缺失, 转导噬菌体及品系间杂交来排列遗传位点的次序。为了说明这个问题, 分两个方面介绍, 一个是 λ 的突变体, 另一个是染色体的畸变。

(一) 突变体

1. 噬斑类型突变体

人们首先注意到的 λ 突变是引起噬斑形态的变化。野生型 λ 的噬斑是大而混浊的噬斑, 这是由于一部分噬菌体溶原所致。从这当中可以分离出小噬斑突变体(s, m, p), 清亮斑突变体(c)和边缘模糊界限不清的突变体(f)。清亮斑突变体对于深入了解溶原性很有价值, 由于清亮斑表型是不能建立溶原的结果, 因此所感染的细胞只有一个裂解周期的生长。清亮斑突变体是在 cI、cII 和 cIII 三个基因上有变化。其中 cI 是编码阻遏物的, Jacob-Monod 分离出一个温敏的 cI 突变体, 含有这一突变体作为原噬菌体的溶原菌可以由升高温度来诱导, 说明

它的基因产物是一种蛋白质。但这类突变体不适于所有功能的遗传分析。

2. 烈性突变体

λ 的一种突变体称为烈性突变体(λ vir), 它对阻遏物不敏感, 能在 λ 溶原菌上形成噬斑。这种突变发生在免疫区内, 包括三个突变; 其中 $\nu 1$ 和 $\nu 3$ 连在一起位于 cI 的右边, $\nu 2$ 在 N 的附近。从 λ vir 噬菌体分离出来的 DNA, 其 λ 阻遏物的亲和力比野生型 DNA 要低。而且带有 $\nu 2$, $\nu 3$ 和 $\nu 1$ 突变的 DNA, 全都降低了跟阻遏物的亲和力。我们知道, 阻遏物中断着 cI 两边的基因的表达, 因为它跟两个操纵基因(O_L 和 O_R) 结合, 从两个方向控制着两边的操纵子读出(起点在免疫区)。

3. 寄主范围突变体

细菌本身有一些突变种是抗噬菌体感染的。这是由于细胞表面发生变化使噬菌体不能吸附上去。但噬菌体也能紧接着产生能吸附上这种细菌突变株的突变体。曾经分离出一种 λ 的寄主范围突变体(h), 它能在抗 λ 的菌株 CR63 上形成噬斑, 但不能在其它抗 λ 的细菌突变株上形成噬斑。

h 突变位于基因 J 上, J 基因的产物是构成尾部的组份,能跟中性抗体起反应。因此该突变改变了尾部蛋白质的专一性,使噬菌体在吸附时能跟细菌接触。

4. 条件突变体

有一些基因突变后只能在一定的条件下才表现出功能,这种突变称为条件突变。条件突变包括两种:一种是删节突变 (Suppressible mutation), 这种突变体只有在带有相应的削正基因 (Suppressor gene) 的寄主中才表现出野生型的功能;另一种是温度突变(只有在一定的温度范围内,其功能才被察觉到)。

大部分 λ 的删节突变是可以查出的,因为可以在 *E. coli* K12 的特定衍生株 (c600) 中形成噬斑,但不能在另一种 K12 衍生株 (W3350) 上形成噬斑。c600 株含有翻译 UAG 码子的削正基因。删节突变后的信息 RNA 上有这个 UAG 码子,野生型细胞把它读作句号,因而只合成 (突变) 基因的一片段蛋白质 (表现不出酶活),而寄主 c600 的削正基因可以把 UAG 读作谷氨酸,因此能够形成完整的多肽链。对 UAG 具有专一性的削正基因称为琥珀型 (amber) 削正基因,形成 UAG 码子的删节突变称为琥珀型突变。这个名字最初用于 T_4 的某些条件突变。 λ 的琥珀型突变最初称为 hd (意即依赖寄主) 或 SUS (意即对削正基因敏感)。

例如 λ cI 857S7 这种噬菌体,其中的 S7 突变是一个在诱导后 (cI 857 是温度突变,后叙) 防止裂解但不妨碍 DNA 合成的突变,它可被 SupF (Su3) 削正。因此,如果将噬菌体铺在含有 SupF 削正基因的 CSH25 (SupF thi) 株上它可以形成噬斑,因此 CSH25 是它的指示菌。

对删节突变及其削正的本质目前已有较多的了解,我们知道, UAG, UGA 和 UAA 是不编码氨基酸的三联码子,换句话说,它们是“无意义码子”,跟终止肽链合成有关。有两种蛋白质因子 (R_1 和 R_2) 识别这些码子并影响多肽链从核蛋白体-mRNA-tRNA 复合物中释放出来。在基因中间偶然产生一个突变,出现一个无意义码子,就会引起肽链的过早终止,结果只形成一

种蛋白片段。这种片段是很少有酶活力的。无意义码子突变 (即所谓删节突变) 可以被另一种突变逆转或者说削正,这就是合成一种改变了的 tRNA 分子 (图 5)。这种削正 tRNA 识别无意义码子,并在该点上将一种氨基酸插进肽链。例如 SuI 是一个削正基因,它生成的削正 tRNA 能在琥珀码子 (UAG) 上插入一个丝氨酸,效率达 65%。其它削正基因及其所削正的无意义码子见表 1。

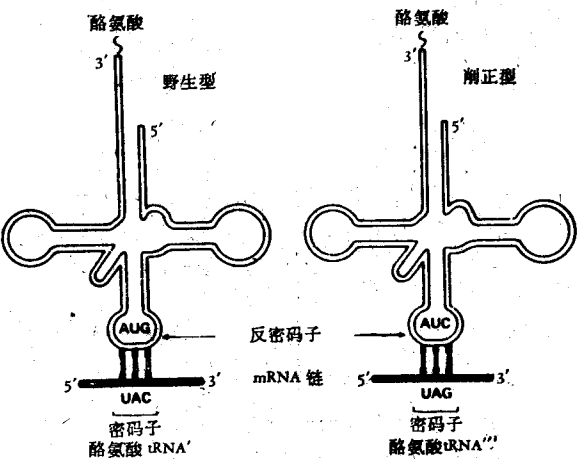


图 5 示删节突变被削正的机理

表 1 无意义码子的削正

削正基因	表型符号	无意义删节	嵌入的氨基酸
SupD	Su1 (SuI)	UAG	丝氨酸
SupE	Su2 (SuII)	UAG	谷氨酸
SupF	Su3 (SuIII)	UAG	酪氨酸
SupC	Su4 (Su _c)	{ UAG UAA	酪氨酸
SupG	Su5	{ UAG UAA	赖氨酸
—	Su6	UAG	亮氨酸
SupU	Su7	UAG	谷氨酸
SupV	Su8	{ UAG UAA	—
—	Su9	UGA	色氨酸
SupB	Su _B	{ UAG UAA	谷氨酸

温度突变,或称温敏突变。它导致蛋白质结构的改变,使之比野生型蛋白对温度更敏感。几乎每一种蛋白都能产生温敏的变异体,有些突变体在高温下不能形成噬斑。有些突变体是形成热不稳定的阻遏物,在高温下形成亮斑。这

时,在 30℃ 下可以形成稳定的溶原菌,但加热到 42℃,则诱发形成噬菌体,例如 λ cI857 就是这样一种突变体。

删节突变及温敏突变在研究基因的功能上极为有用。因为它可以在一定的条件下研究基因不能表现的代谢结果,而且许多条件突变是分布在整个遗传图上,可为遗传分析提供许多新的标志和检出这些标志的方法。

(二) 染色体畸变

染色体畸变实际上是一种染色体重排。在 λ 中的畸变大致有表 2 中的几类。实际上,遗传工程也是一种离体条件下的染色体重排。

表 2 染色体重排

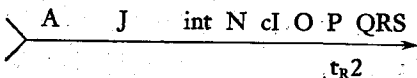
标准基因序列	ABCDEFGF
缺失	ABEFG
嵌入	ABCDXYZEFG
重复	ABCDECDEFG
置换	ABXYZEFG
重复加嵌入	ABCDEXYZDEFG
环状互换	DEFGABC
倒向	ABEDCFG

1. 缺失

缺失突变是由于 DNA 片段丢失所致,缺失的范围可以从一个核苷酸到几千个核苷酸。缺失突变体对热和螯合剂一般是有抗性的。因此经热和螯合剂处理后,存活下来的往往是缺失突变体。最初分离到的是 λ b2,这是根据它在 CsCl 梯度上比野生型密度低而分离得出,它大约丢失了 13% 的 λ DNA。丢失部分是在 att 位点左边,b2 缺失后,再不能嵌入染色体 DNA,但由于还有免疫区,还可以建立阻遏作用。b2 区恰好有 EcoRI 和 Hind III 的几个切点,因此在设计载体时颇受重视。b2 缺失降低嵌入的频率,甚至不能建立溶原。之所以不能嵌入,是由于 DNA 的底物性质发生了改变。当一个细胞同时受到正常 λ 和 b2 感染时,正常的 λ 可以嵌入染色体,但其产物并不能使 b2 单独嵌入;用正常 λ 和 b2 可以建立双溶原菌,但从不出现 b2 单一的溶原菌。 λ 和 b2 的双溶原是一种顺式双溶原,这就是 b2 与正常的 λ 串连起来嵌入;从来没看到过反式溶原(即正常 λ 在一个位

点嵌入,而 b2 在另一位点嵌入)。这就意味着 λ 能使 b2 嵌入是由于这两种 DNA 的相互作用,而不是给它提供嵌入所需的酶。

另一个在构成载体时常用的缺失是 nin5 缺失。该缺失突变体原意为 N 不依赖性 (N independence),nin5 缺失约失去 5.4% 的 λ 基因组,定位于 83.8 至 89.2 单位之间,推测是在 P 和 Q 基因之间。这一缺失消除了依赖于 N 的终止信号 t_{R2} ,从而允许 Q 基因表达:



上图说明是噬菌体缺失。原噬菌体也可以产生缺失;原噬菌体缺失是通过它对某些因子的抗性而筛选出来的。这些因子包括:

(1) 氯酸盐 靠近 λ 原噬菌体有两个细菌基因,这两个基因协同作用。在无氧情况下是对氯酸盐敏感的,可能是由于氯酸盐还原成亚氯酸盐,致使 chlA 基因或 chlD 基因突变失活,结果细胞对氯酸盐有抗性。这种突变株有时会使原噬菌体全部或部分割离。

(2) 半乳糖 大肠杆菌的 galK 基因的产物是半乳糖激酶,它可以把半乳糖转变成半乳糖-1-磷酸。有些突变株在半乳糖代谢的下一步被中断,因此在含半乳糖的培养基上就积累大量的半乳糖-1-磷酸,对这一效应的抗性是 galK 基因失活,galK 基因的失活是由于失去其促进子(位于 galE 的右侧)。将 λ cI857 溶原菌作半乳糖和热抗性筛选,可以造成一系列的缺失,其中包括半乳糖操纵子和原噬菌体的缺失突变。

(3) 热诱导 λ cI857 溶原菌在 42℃ 下诱导时就会死去,因为阻遏物被失活而诱导形成噬菌体,使菌体裂解。但极少数会存活下来,存活下来的包括各种类型的突变体。这些突变体是在一些早基因(受阻遏物控制的)上发生突变。其中有一些是 N 基因缺失。

(4) 其它缺失 用高剂量的紫外光处理时,有一小部分 λ 溶原菌会存活下来,但对再感染不再具有免疫性;其中大部分是失去了全部的原噬菌体,少数存活下来的是失去 int 至 R 之

间的基因。att 位点仍在原噬菌体左侧，但它跟 A-J 分开相当的距离。这种缺失的原噬菌体称为“隐蔽”原噬菌体，因为它们没有免疫性，其它的一些功能也是失活的，从而不暴露自己。另外还有两种隐蔽原噬菌体，一种只含 Q-J 的基因，另一种是只含 F-J 的基因。

用烈性突变体混合感染，可以分离出一种细菌株只含一小段 λ 片段（从 $\nu 2$ 横贯 P），它像质体一样增殖而不妨碍细菌繁殖。

2. 置换及转导噬菌体的形成

缺失有时伴随着外来 DNA 在缺失位点上的嵌入。前面已经说过，对溶原菌进行诱导，原噬菌体就会从染色体上割离出来（如图2）。在此过程中大约有 10^{-5} 的几率出现割离差错，造成一些细菌基因加入噬菌体中去，而同时失去一些噬菌体基因。通过这种带有细菌基因的噬菌体颗粒去感染寄主细胞，这就会从原来的溶原菌得到细菌基因。这种过程称为转导（见图6）。如果受体细胞由于突变失活了相应的基因，就可以用带有该基因的转导噬菌体感染而表现其失活的功能，这种方法可以鉴定出转导噬菌

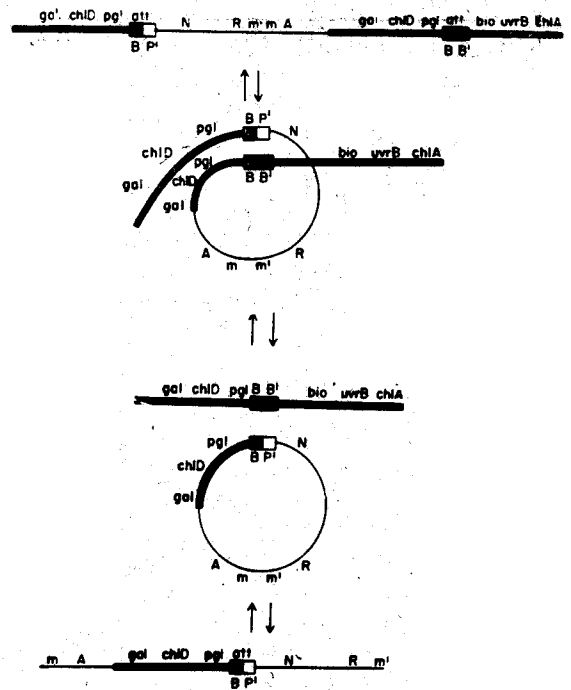


图7 在溶原过程中， λ gal 在细菌 DNA 上的嵌入

以及原来发生突变了的 gal 基因，因此这种转导体在 gal 方面是二倍体的。而由于原来的溶菌物中有大量的非转导的 λ ，所以许多转导体都将是双溶原菌，即也带有非转导的原噬菌体。这时，如果取一双溶原菌的单菌落（既含 λ gal，又有野生型 λ 原噬菌体）进行培养和诱导，就会得到较高比例的 λ gal 噬菌体，因为诱导后细胞会释放出转导的和非转导的噬菌体。这样的溶菌液转导 Gal^- 菌株时频率就高，称为 HFT（高频转导），所得到的转导噬菌体都会是特定的转导噬菌体，因此是纯一的。另一方面，低频转导溶菌物中含有各种转导颗粒。如果我们所用的 Gal^- 受体在 galO 上有一个突变 galO^- ，那末，我们用 λ gal 转导它成 Gal^+ 只需使 galO 完整并表现出功能。这样，通过 galO^- 受体，就可以得到各种各样的转导噬菌体株（ gal K^+ ， T^+ ， E^+ ， O^+ ； galT^+ ， E^+ ， O^+ ； galE^+ ， O^+ ，及 galO^+ ）这是由于不同的割离差错所致。

说到转导，还应提一下首次分离的纯基因（见图8）。1969年，Shapiro 等人从 *E. coli* 分离出一段纯的乳糖操纵子片段，它含有半乳糖苷酶的结构基因（z 基因），操纵基因位点（o），

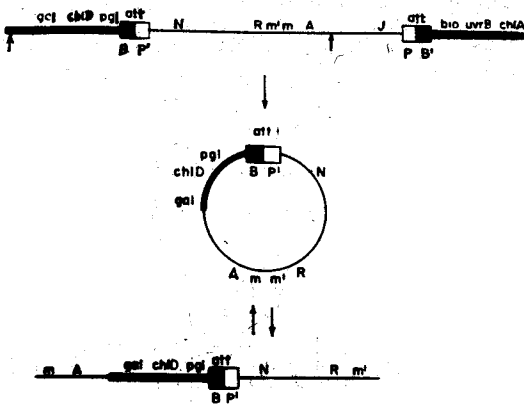


图6 λ gal 转导噬菌体的形成

体。例如，在诱导 λ 溶原菌时，溶菌物中含有正常的 λ 颗粒，此外还有百万分之一的颗粒会转导宿主的 gal 或 bio 基因。如果用这种溶菌物去感染 Gal^- 菌株，则少部分的受体菌就会被转导成 Gal^+ 。由于转导成 Gal^+ 的频率低，因此称这种溶菌物为低频转导的溶菌物（LFT）（见图7）。每一个被转导的细胞都带有 λ gal 噬菌体

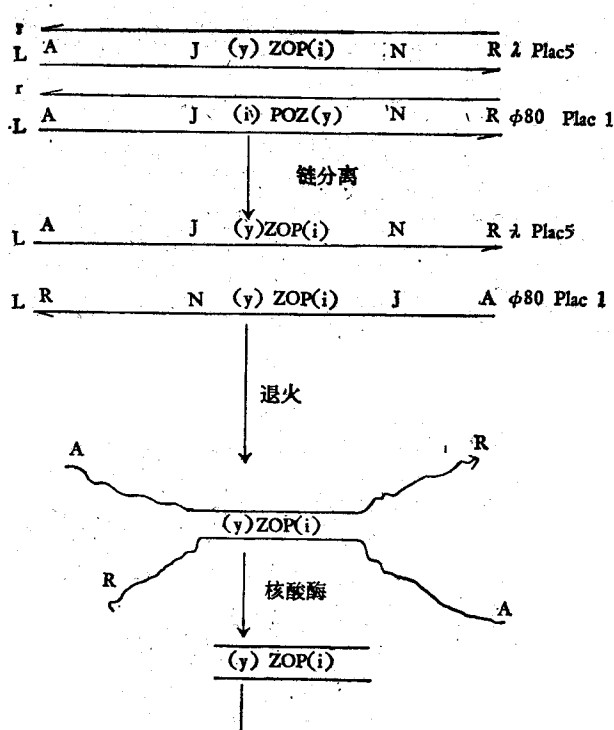


图8 Lac 操纵子 DNA 的分离示意图

和促进子区段 (p)，它在乳糖操纵子中与邻近的基因构成乳糖操纵者。乳糖操纵子的基因顺序是 i, p, o, z, y, a, o。Shapiro 等人用遗传操作的方法，将一个带有 Lac 操纵子的性因子 (即所谓 F-Lac episome) 强迫嵌入细菌的染色体中 λ 的附着点附近的区域 (不是通常的 Lac 操纵子位点)。用 λ 将此菌株的衍生株溶原化后，进行诱导，即分离出一种带有 Lac 操纵子的非缺陷性噬菌体。接着，用同样的方法将 Lac 操纵子嵌入 $\phi 80$ 的吸附位点附近，而其方向跟第一种品系的相反。再用 $\phi 80$ 溶原化，分离出 Lac 转导噬菌体。由于嵌入的顺序相反，则 λ 品系中的 1 链就跟 $\phi 80$ 品系的 1 链互补，因而，除了 Lac 操纵子区域之外，其它部分不互补。这样会形成一个有四条“尾巴”的结构，单链区经单链外切酶水解之后，剩下的就是 Lac 操纵子 DNA 了。

3. 嵌入与重复

通过重组作用， λ 噬菌体可以自发产生纵列重复。较早发现在 λ 噬菌体中存在这种重复

的是在 tdel 33 的逆转体 (revertant) 20R 上。为了说明这种现象，我们先介绍 tdel 33。

tdel 33 是从 80- λ hy 1 中衍生来的 (图 9)，跟 λ 相比，它缺失了 23%。逆转体 20R 是在 tdel 33 的左半部加入了一段 DNA，用 80- λ hy 1/20 R 异双链发现是位于右边 0.35 处。20R 在 $recA^-$ 寄主中是稳定遗传的，但在 $recA^+$ 寄主中则形成一组噬菌体带 (图 10) 图的上方，是从 W3101 $recA^-$ 上制备的 20R，加入 T7 作密度标志，下方是在 W1485 (rec^+) 上制备的 20R 加入 T7 作密度标志，下方是在 W1485 (rec^+) 上制备的 20R 及其子代含重复顺序的噬菌体，从 20R 产生的四种噬菌体带自左至右记为 addl 1₍₀₎ (=tdel 33)，addl 1₍₁₎ (=20)，addl 1₍₂₎ 和 addl 1₍₃₎。与 tdel 33 相比，它们的密度分别为 $\Delta\theta = 0, 10.7, 21.1, 31.1$ 毫克/毫升。从图中可看出 20R 所含的纵列重复是 tdel 33 上有的，不是细菌基因；如果是细菌基因，图中 (下) 的最小密度带就不会跟 tdel 33 吻合。20R 本身重组，可以得到新的类型噬菌体，其中可以失去重复片段 (回复为 tdel 33)，也可以得到另外的重复拷贝 (见图 11)。

此外， λ dv 和 λ 之间也可重组产生长度固定的重复。在设计载体时，可以利用它来补充噬菌体的长度。

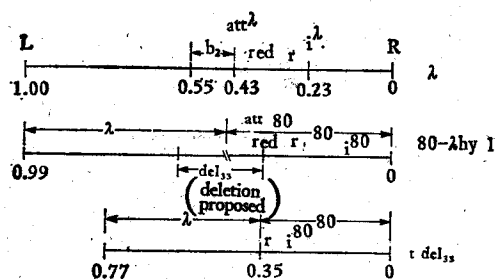


图9 80- λ hy 1 及 tdel 33 DNA 的图解，与野生型 λ 相比

嵌入已反复提到过，这里不再多说。 λ b 1 可在 P 和 Q 基因间插入约 3% λ 长度的外来 DNA。

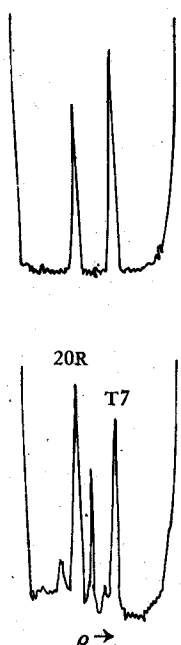


图 10 上: 20R 噬菌体在 W3101 *recA*⁻ 寄主上繁殖时的浮力密度 T7 作为密度标记 下: 在 W1485 (*rec*⁺) 寄主中繁殖的 20R 及子代含重复顺序的噬菌体的浮力密度

自左至右: $\text{add}1_{(0)}$ (= tdel_{33}), $\text{add}1_{(1)}$ (= 20R), $\text{add}1_{(2)}$ 和 $\text{add}1_{(3)}$, 它们跟 tdel_{33} 的浮力密度差分别为: $\Delta\theta = 0, 10.7, 21.1$ 和 31.1 毫克/毫升

此外, 重复加嵌入也是经常出现的。

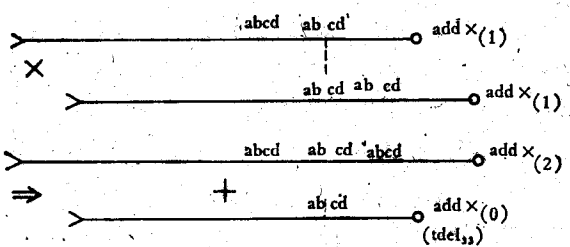


图 11 示意一次顺序重复噬菌体本身重组形成的二次顺序重复噬菌体的过程 (在 *rec*⁺ 寄主中)

4. 倒向

染色体中的某一区段倒转方向, 致使基因与其原来次序相反, 这种现象称为倒向。虽然遗传物质是同样的, 但基因的表现可能受到它在染色体中的位置所影响。

(三) λ 基因及其功能

1. λ 基因

根据遗传学绘图法, 已经得到一幅比较详细的 λ 遗传图。图上标明的基因其功能大多已

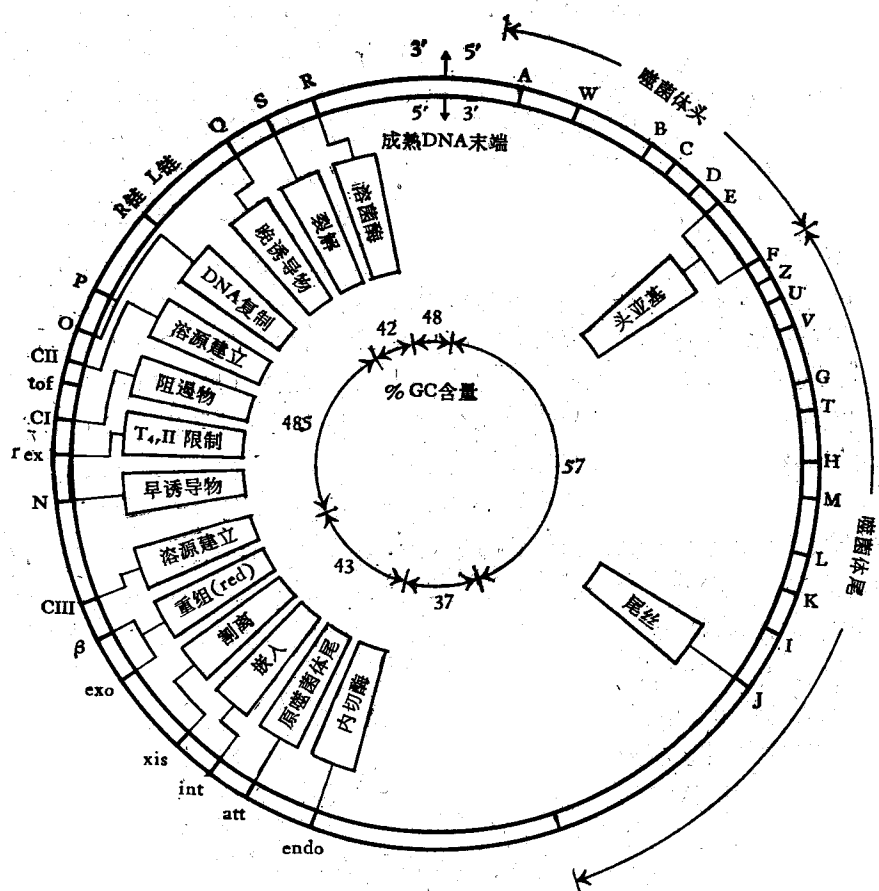


图 12 λ 噬菌体的遗传图

经明确。其中有一些是识别位点。这就是说， λ DNA 不仅决定着特异的蛋白质，而且也具有酶作用底物的属性(图 12)。

(1) 头部基因 AWBCDEF 这七个基因为编头部蛋白的基因。这些基因功能上有缺陷则不能形成头部，但可形成正常的尾部。

(2) 尾部基因 ZUVGTHMLKIJ 这十一个基因决定尾部蛋白的合成。噬菌体的尾部是长管状结构，感染细胞时，DNA 从尾部注入细胞。

(3) 重组基因 *int* 基因是嵌入与割离所需的酶的编码者。*xis* 编码原噬菌体割离所需的酶。这两个基因的产物的识别位点是 *att*。所以是位点专一的重组。*red* 促进一般重组，在(*rec*⁻)寄主中 λ 也能重组，而且在 *int*⁻ 的突变体中，也能在 *rec*⁻ 寄主中重组，说明 *red* 为 λ 自己的重组系统，它包括 *red α* *red β* 和 γ 基因。*red α* 和 *red β* 可能是分别编码 λ 外切酶和 λ 内切酶的基因。

(4) 正调节基因 N 和 Q。它们的产物有利于提高其它基因的转录速度。N 基因产物促进 *cII*, O, P, Q, γ , *red α* , *red β* , *xis* 和 *int* 的转录。Q 基因产物促进头、尾基因和裂解基因的转录。

(5) 负调节基因 *cI* 基因产物是阻遏物，维持原噬菌体的溶原状态。*cII* 和 *cIII* 维持免疫性。*cI* 和 *cII* 之间的 *cro*, *tof*, *fed* 基因使 *cI*, N, *red α* 和 *xis* 基因的表现降低。

(6) DNA 合成基因 O 和 P 为 DNA 复制所必需。

(7) 裂解基因 S 和 R。控制细胞壁的解离。R 的产物是内溶素，它的作用是分解 D-氨基酸之间的键，从而消化细胞壁。

2. 识别位点

mm' 为 DNA 的粘性末端。

att 为噬菌体溶原过程中，噬菌体 DNA 和细菌 DNA 之间附着的位点。

P_L 和 *P_R* 分别为左向和右向转录促进子，为 RNA 多聚酶的识别和

结合位点。

O_L 和 *O_R* 分别为左向和右向转录操纵基因，为阻遏物的识别和结合位点，其中又分 *O_{L1}*, *O_{L2}*, *O_{L3}* 和 *O_{R1}*, *O_{R2}*, *O_{R3}* 几个位点。这些位点的核苷酸顺序及 *cI* 和 *cro* 的核苷酸顺序见图 17。在 *O_L* 和 *O_R* 上现在发现有三个碱基发生变化，就会形成三个突变株 (*V₂*, *V₁₀₁* 和 *V_N*)，其结果是阻遏物结合效力降低(见图 17，插页)。

P_{RM} 为阻遏物维持的促进子。

P_{RE} 为阻遏物建立的促进子。

3. λ 基因的表现及其调节

前面我们已经说过 λ 的生活周期包括溶原和裂解两个周期。它的机制是怎样的呢？我们有了前面的概念，就可以深入描述一下。

当 λ DNA 进入到受体细胞之后，它就通过粘合末端 (*mm'*) 环化为环状分子。并利用寄主的 RNA 多聚酶起始 N 基因的转录及 O, P 基因某种程度的转录，这一阶段称为最早期。N 蛋白的合成激活了重组基因、复制基因和 Q 基因的转录，这个时期叫晚早期。噬菌体在这时或者进入溶原过程，或者进入裂解过程(图 13)。但其决定因素是什么，目前尚不清楚。

(1) 溶原的建立与保持 溶原的建立需要有两个前提，一是阻止裂解基因的表达，这就需要有一个 RNA 转录的负调节；二是噬菌体 DNA 嵌入染色体 DNA，这种嵌入，是一种位置专一的重组作用(见图 14)。这种作用实际上是一种细胞内的遗传工程。这种过程需要 *int* 基因的产物。

阻止裂解基因的表达，是由 *cII* 和 *cIII* 的产物来行使(图 15，封二)。*cII* 和 *cIII* 的产物还有激活 *cI* 基因合成阻遏蛋白的作用。*cII* 和 *cIII* 的蛋白质产物结合在 γ 区的 *P_{RE}* (阻遏建立促进

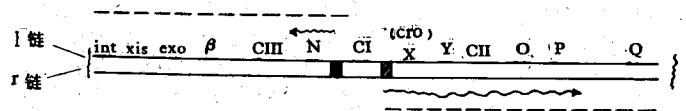


图 13 λ 基因的表达顺序

在最早期，从 *cI* 两边的促进子位点(阴影区)开始转录 RNA；在 1 链上起码至 N 基因，在 r 链上起码包括 x-P 区，但 x 区的 RNA 合成可能是主要的。波形线示最早期转录，虚线示晚早期的转录

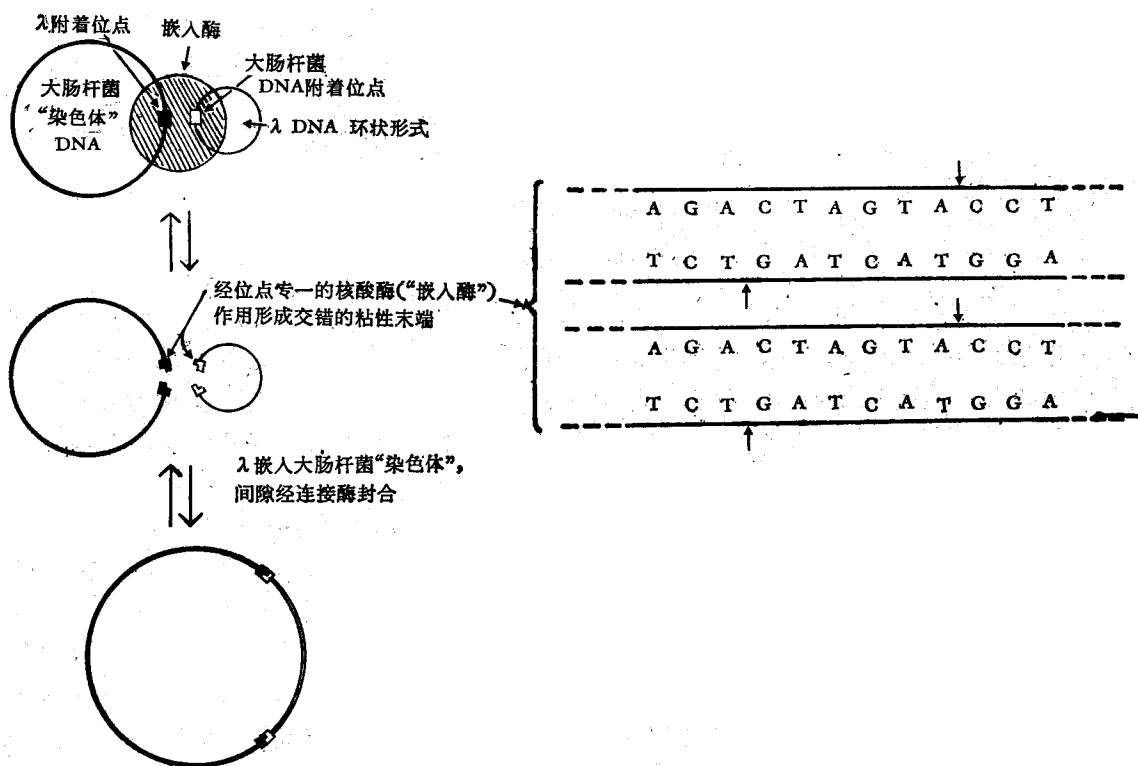


图 14 示位点专一的重组过程

子)上,引发 cI 基因的转录(非溶原菌在噬菌体感染后采取此途径;溶原菌中 cI 的转录则由 PRM 引发),同时抑制 r 链向 cII , O , P 等基因的转录。

当 cI 产物积累到一定数量时, cII 和 $cIII$ 蛋白合成即自行停止。这时, cI 基因则行自控调节,这种自控调节目前已了解得比较详细。简单地说,在 cI 产物较少的时候,其产物优先跟 O_R 、 O_R' 结合,阻遏物结合在 O_R 、 O_R' 上之后,就关闭了 tof (或称 cro) 基因的表达(图 16, 封三)。这时, O_R 没有阻遏物结合,事先结合在 O_R 上的 RNA 多聚酶还会不停地转录 cI 基因并产生阻遏物分子[注意: O_R 的碱基顺序是操纵基因和促进子 PRM 重叠的部位,见图 17(插页)]。但是,一旦 O_R 被阻遏物所占据, cI 基因就被关闭了。

在正常情况下,细胞内只存在 10—20 拷贝的阻遏物。它们分别结合在左右两个操纵基因上,从而关闭着左右向的早期转录。

左右向的操纵基因的长度均约为 75 碱基对,各自都含有三个近似对称的阻遏物结合位点,每一个结合位点都是 17 个碱基对,各位点

之间由一段富于 AT 的区域(约几个碱基对)隔开。这些位点对阻遏物有很大的亲和力(图 17, 见插页)。

在一定的条件下可以将 λ 阻遏物失活,于是两个早期的操纵子就开始转录 mRNA。左操纵子合成原噬菌体剥离所需要的蛋白质,右操纵子则合成 λ DNA 复制所需的产物。

早期基因当中,位于 cI 右侧的 tof 基因的产物则使 cI 基因关闭,从而进入裂解阶段。

(2) 裂解 阻遏物去掉后,本身并不导致早期操纵子的完全转录。要实现完全的转录, N 这个关键的基因必需工作。在缺乏 N 基因产物时, mRNA 合成虽然从两个促进子位点开始,但只进行一段较短的距离,因为附近的停止信号由大肠杆菌 RNA 的 ρ 因子(终止因子)来读。 N 基因产生的蛋白质产物能跟 ρ 因子专一地拮抗,从而使两个操纵子继续被读出。

全部的 λ 晚期基因只有一个促进子(图 18, 见第 48 页)。 λ DNA 中几乎有一半(约 20 个基

(下转第 48 页)

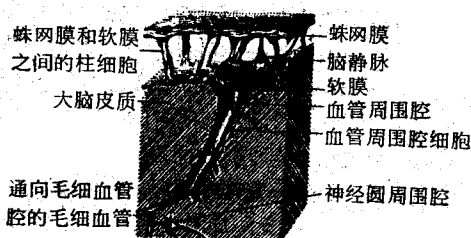


图8 血管周围腔和神经元周围腔

血液和脑组织之间正常代谢物质的交换,避免异物进入脑组织,从而维持脑的生理生化功能。

到目前为止,虽然已对血脑屏障的结构和功能积累了大量知识,但是关于结构和功能的相互关系尚未彻底弄清。根据目前的知识仅仅可以说,不论毛细血管壁或是神经胶质细胞都只是结构的基础,只提供一个舞台,真正的血脑屏障是分子水平上的复杂功能在这一舞台上活动的结果。

血脑屏障对物资通过的选择性分三种^[9]: (1)自由通过的物质。正常代谢物质像 O_2 、 CO_2 、葡萄糖等等; (2)容易通过的物质。像 CO 、脂溶性物质、乙醇等; (3)

不能通过的物质。像不能透过膜的高分子物质;很多药物以及神经传递介质如去甲肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺, γ -氨基丁酸、谷氨酸等都不能通过血脑屏障。但它们的前身,如5-羟色氨酸、谷氨酰胺等则可通过^[10]。

主要参考文献

- [1] 高木博司:《化学と生物》, 12, 148, 1974。
- [2] Orten, J. M. et al.: Biochemistry, p. 10, 1974, Eighth Edition, The C. V. Mosby Company.
- [3] 菅野富夫:《神经研究の进步》, 18, 345, 1974。
- [4] Karlsson, J. O. et al.: J. Neurochem., 18, 2209, 1971。
- [5] Erickson, H. P.: J. Cell. Biol., 60, 153, 1974。
- [6] 内园耕二:《神经研究の进步》, 18, 322, 1974。
- [7] Hubard, J. I.: Physiol. Rev., 53, 674, 1973。
- [8] Norton, W. T.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 122, 77, 1965。
- [9] Shade, J. D. et al.: Basic Neurology., 2nd, p. 78, 1973, Amsterdam Elsevier.
- [10] 甲斐睦兴:《最新医学》, 28, 165, 1973。

(待续)

(上接第39页)

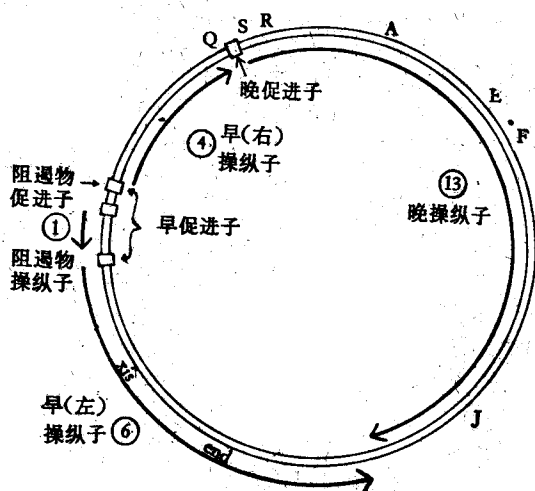


图18 λ 生活周期中基因表达的时程
图内数字为各操纵子表达所需时间

因)是编码晚蛋白的,其中大多数是编码 λ 头部和尾部的组份。所有这些晚基因都属于一个操纵子,在 S 基因之前开始,而在 J 基因之后结束。这个操纵子只有在早期基因 Q 产生的蛋白存在时才表现出功能。Q 的蛋白质产物类似于 σ 因子,为读出晚期促进子所必需。

Q 基因位于距离其促进子 4 分钟的转录时间的地方。因此, Q 的蛋白质只能在感染后 5 分钟才开始出现,感染 10 分钟之后才有足够的 Q 产物来进行晚期 mRNA 的转录。所有的晚基因凑成一个操纵子也进一步控制住了 λ 的生活周期。例如,主要的头部蛋白的基因跟尾部蛋白基因相距约 10,000 碱基对,这就意味着头部装成之后 5 分钟才开始最后的尾部装配。

(待续)

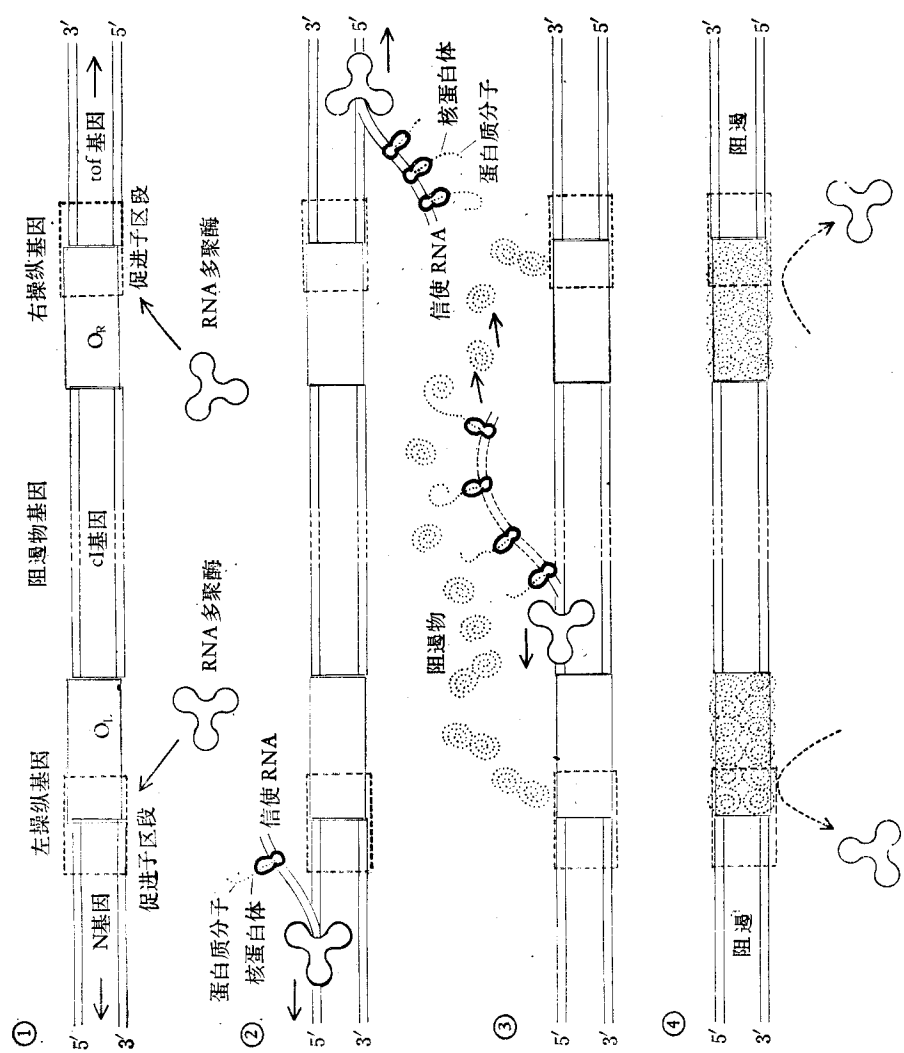


图 16 λ 基因的表达与阻遏

①、②——当 λ DNA 在大肠杆菌内把它的 50 个左右的基因表达而合成蛋白质时，大约 45 分钟就可把细菌捣毁。但有的情况下， λ DNA 嵌入细菌的 DNA 上，这时只有 *cI* 基因所产生蛋白质作为阻遏物，中断了两侧的基因的转录。正常情况下， λ DNA 转录成 mRNA 并翻译成蛋白质。转录是由 RNA 多聚酶来完成，它跟促进子结合，并以 5'→3' 的方向将 DNA 转录成 RNA 链；因此左向转录时从 *N* 基因始，右向转录时从 *rof* 基因始，以相反的方向将不同的 DNA 链转录成信使 RNA，并随即翻译成蛋白质。

③——在另外的情况下，*cI* 基因也以同样的方式转录和翻译。*cI* 基因编码的蛋白质跟 λ DNA 的两个操纵基因结合，即防止 RNA 多聚酶与促进子结合，从而停止了从 *N* 和 *rof* 开始的转录

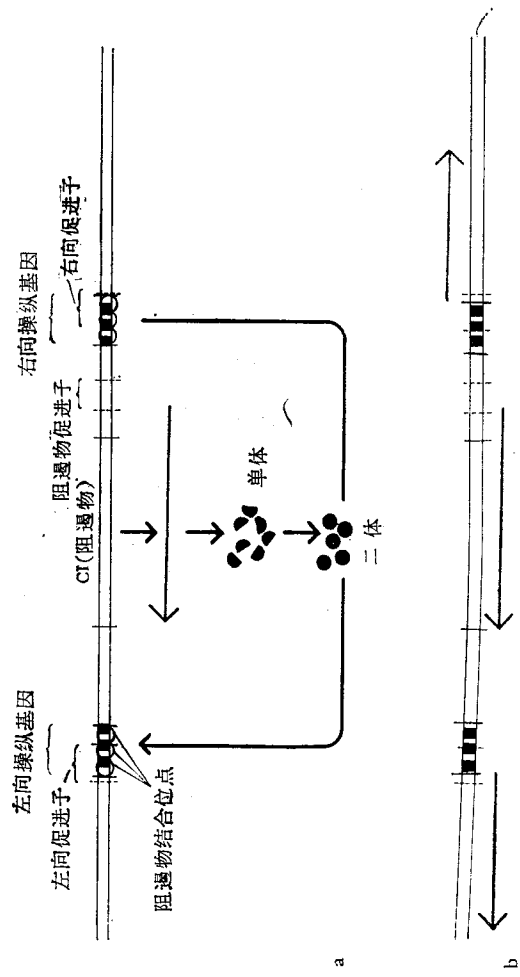


图 15 λ 溶原的维持和去阻遏的基因控制

- (a) 在溶原菌中, 只产生 λ 阻遏物
- (b) 在一定的条件下, 阻遏物失活, 左右两向的早期 λ mRNA 得以转录

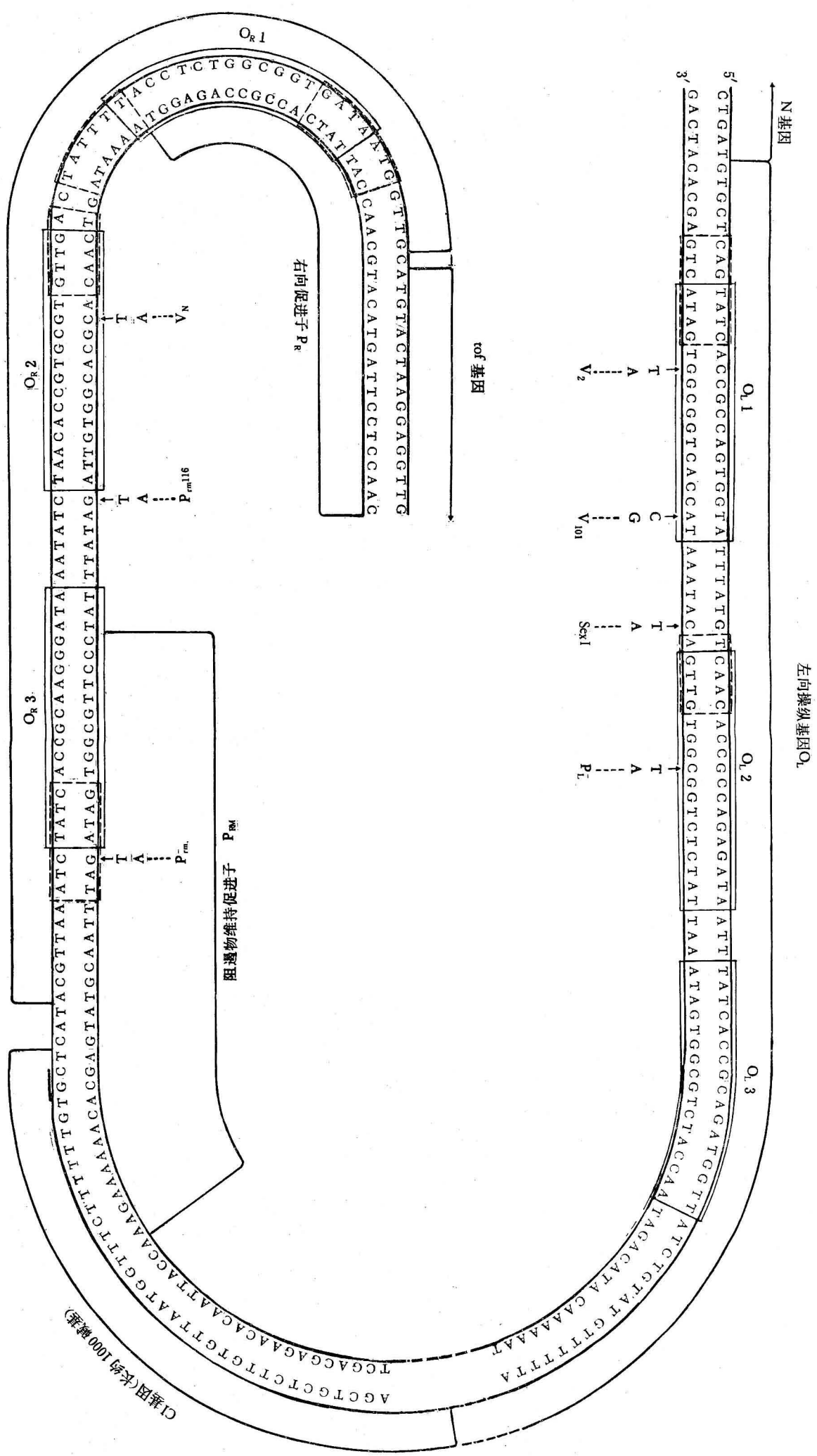


图 17 λ 噬菌体自调控区段已测序的部分碱基顺序

业已明确的 λ 噬菌体 DNA 的左向操纵子和右向操纵子的碱基顺序。方框内的碱基顺序(约 11 对碱基)为阻遏物(即 cI 基因编码的蛋白)的结合位点。不标字母的九个箭头所示的碱基为 λ 突变体 DNA 发生改变的地方, 其中的任一碱基对发生变化都会减少阻遏物在相应的位点结合的亲和力。a, b, c 三个箭头所示的突变位点碱基对发生变化时并不影响阻遏物的结合, 但显著地干扰 RNA 多聚酶对相应的 N, cI 和 cro 基因的促进区段的识别能力。cI 基因长约 1000 碱基, 全部碱基尚未确定。虚线方框为已明确的 RNA 多聚酶的结合位点。某些突变的碱基突变用箭头示出