

# 14

## 原核生物基因的表达调控

**生**物体在其生命活动中,基因的表达严格有序,任何影响到基因开启与关闭、转录和翻译等基因表达程序的调节作用,都属于对基因表达的调控。原核生物是单细胞生物,没有核膜和明显的核结构。它们与周围环境关系密切。在长期进化过程中产生了高度的适应性和应变能力,这是它们赖以生存的保证。由此可见,原核生物的基因表达既与自身的遗传结构相适应,又体现了它们对环境的应变能力。

原核生物基因表达调控主要发生在转录水平上,这可以最经济地在基因表达的第一步实行最有效的控制。原核生物以操纵子为单位的调控系统即体现了这一特点。然而,转录调控的方式多种多样,如噬菌体基因表达的时序调控;大肠杆菌色氨酸合成代谢的衰减调控,即是转录调控的明显例证。此外,也有许多翻译水平上的调控机制,如核糖体蛋白质合成的自身调节;反义 **RNA** 或小 **RNA** 对 **mRNA** 翻译的调控作用等等。有时,原核生物甚至还能从 **DNA** 水平上对基因表达进行调节,如沙门氏杆菌的相变过程,就是以基因重排的方式调控基因转录。

## 14.1 大肠杆菌乳糖操纵子的调控机制

### 14.1.1 大肠杆菌对乳糖的利用和酶诱导

早在 20 世纪初期就发现,酵母细胞只有在某种底物存在时才产生相应的酶。这种由底物诱导而产生酶的效应,称为诱导作用(induction)。酶诱导普遍存在于细菌中,如大肠杆菌(*E. coli*)的乳糖利用系统便是诱导过程的典型例证。大肠杆菌的乳糖代谢需要有  $\beta$ -半乳糖苷酶( $\beta$ -galactosidase)的催化,该酶能把乳糖水解为半乳糖(galactose)和葡萄糖(glucose)(图 14-1)。如果在大肠杆菌的培养基中所用的碳源不是乳糖,而是其他种类的糖(如葡萄糖),那么细胞内的  $\beta$ -半乳糖苷酶的分子极少,平均只有 0.5~5 个分子。可是,一旦培养基的碳源完全用乳糖取代葡萄糖,则在 2~3 min 内,细胞中就合成了大量  $\beta$ -半乳糖苷酶分子,数量骤增,分子数可达 1 000~10 000 个。当从培养基中除去半乳糖,细菌很快就停止合成  $\beta$ -半乳糖苷酶。显然,新合成的  $\beta$ -半乳糖苷酶是在底物乳糖诱导下产生的。可见,乳糖是合成  $\beta$ -半乳糖苷酶的诱导物,而  $\beta$ -半乳糖苷酶是可诱导酶(inducible enzyme)。这个系统称为可诱导系统(inducible system)。

大肠杆菌对乳糖的分解利用,除了需要  $\beta$ -半乳糖苷酶外,还需要半乳糖苷透性酶(galactoside permease)。半乳糖苷透性酶是一种膜蛋白,可协助乳糖分子穿膜进入细胞。除上述两种酶外,还产生了硫代半乳糖苷转乙酰基酶(thiogalactoside transacetylase)。

### 14.1.2 大肠杆菌乳糖操纵子的负控制

为解释上述现象,1961 年法国分子生物学家 E. Jacob 和 J. Monod 通过对大肠杆菌乳糖代谢系统的一系列研究,根据其基因的活动和表达的调节提出了操纵子学说(operon hypothesis)。实验证明,3 种蛋白质: $\beta$ -半乳糖苷酶(Z)、半乳糖透性酶(Y)和硫代半乳糖苷转乙酰基酶(A)的编码基因 *lacZ*、*lacY* 和 *lacA* 依次连接在一起,形成了一个转录单位。操纵子学说主张,该转录单位的转录是从启动子

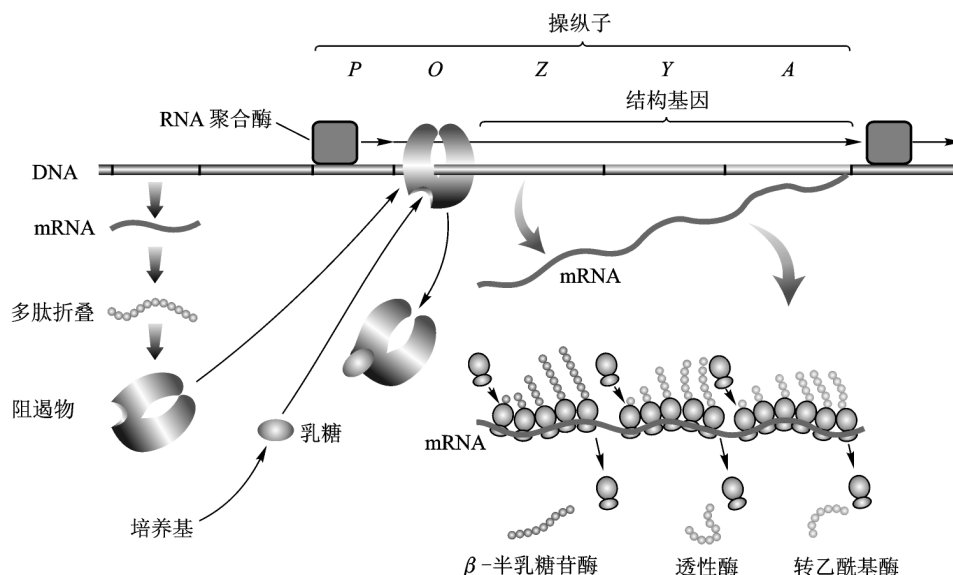


图 14-1 乳糖操纵子的结构

(引自 Griffiths 等, 2005)

(promoter, P) 开始, 并受操纵基因(operator, O) 和调节基因(regulator, I) 的控制。启动子和操纵基因位于乳糖结构基因的上游, 依次互相连接。这样依次排列的 P, O, Z, Y, A 序列片段便构成了一个共表达的遗传单位——乳糖操纵子(lac operon) (图 14-1)。调节基因是一个独立的转录单位, 它有自己的启动子。其表达产物为阻遏物(repressor), 阻遏物既能阻止转录, 又能识别小分子的诱导物。

乳糖结构基因能否转录为 mRNA 受到操纵基因的控制。阻遏物同操纵基因结合则使结构基因关闭, 未结合, 基因则开启。因此, 具有活性的阻遏物只要结合到操纵基因上, 即可阻断 RNA 聚合酶的转录活动。实际上, P 和 O 在序列上有一定序列重叠, O 被阻遏物占据时, RNA 聚合酶就不可能与 P 结合, 因而不能催化转录。阻遏物是否具有活性要受诱导物的影响, 它一旦与诱导物结合, 便会发生构象变化, 而丧失活性, 不再能结合操纵基因。在这种情况下, RNA 聚合酶可顺利地通过操纵基因, 启动结构基因的转录, 3 个基因所转录出的 mRNA 进而翻译成物质(图 14-1)。

在乳糖操纵子系统中, 当没有乳糖等一类诱导物时, 阻遏物与操纵序列结合, 使结构基因不能表达。只有加入小分子诱导物, 于是阻遏物失活, 结构基因才能表达。可见, 调节基因表达的阻遏物的作用在于阻止转录, 这种作用原理称为负控制(negative control)。

乳糖操纵子学说已为实验所证实, 为原核生物基因表达调控机制提供了重要的模式, 在遗传学的发展中具有划时代的意义。为此, F. Jacob 和 J. Monod 获得了 1965 年诺贝尔奖。

### 14.1.3 建立乳糖操纵子模型的相关实验分析

关于细菌中酶诱导的现象早在 20 世纪初即已发现。为什么细菌只有生长在合适的基质中才会有某种酶的产生? Jacob 和 Monod 利用乳糖代谢系统进行了一系列研究, 他们分离到一些 Z, Y, A 酶系统发生改变的大肠杆菌突变体。其中有一类是结构基因本身的改变, 如  $\beta$ -半乳糖苷酶基因 lacZ 发生突变, 由  $Z^+$  突变为  $Z^-$ , 失去了合成  $\beta$ -半乳糖苷酶的能力。另外一类称为组成型突变体(constitutive mutant), 是指原来只有诱导物存在时才能进行酶合成的诱导性菌株, 变成为没有诱导物时也能进行酶合成的突变型。对这种恒定型突变株的遗传分析表明, 这种突变多在 I 基因和 O 基因上, 使野生型  $I^+$  恒定地突变为  $I^-$ , 而  $O^+$  则突变成  $O^c$ 。还有一类称为超阻遏物突变体(superrepression mutant), 这种突变株丧失了所有合成结构基因产物的能力。

在获得一系列乳糖代谢突变体的基础上, 运用大肠杆菌的有性杂交, 可得到由染色体和 F' 因子组合的部分合子(merozygote)。这样, 在受体细胞中除本身环状染色体外, 还能通过质粒 F 因子带来供体细胞的相关基因, 可用于观察其部分二倍体的行为。Jacob 和 Monod 根据大量实验对乳糖代谢中的相关基因进行了系统分析。

#### (1) 调节基因 I 的功能及其产物的分析

从分离出的大肠杆菌乳糖代谢系统突变体进行遗传分析, Jacob 和 Monod 用  $I^-$  突变体菌株与野生型  $I^+$  菌株进行比较, 发现  $I^-$  对结构基因 lacZ 的调控来说都是显性, 而在  $I^-$  细胞中就不同,  $I^- Z^- / F' I^+ Z^+$  成了恒定型,  $I^-$  总是隐性(表 14-1 中的第 1~3 号菌株)。至于第 4 号菌株, 显示其  $I^-$  基因产物是反式作用, 意味着其基因产物不论是顺式还是反式方式, 都能够调节乳糖操纵子的结构基因。

表 14-1 在单倍体和部分二倍体中  $\beta$ -半乳糖苷酶、透性酶的合成

菌株号	基因型	$\beta$ -半乳糖苷酶		透性酶	
		不经诱导	诱导	不经诱导	诱导
1	$I^- Z^+ Y^+$	-	+	-	+
2	$I^+ Z^+ Y^+$	+	+	+	+
3	$I^- Z^- Y^+ / F' I^+ Z^+ Y^+$	-	+	-	+
4	$I^- Z^- Y^+ / F' I^+ Z^- Y^-$	-	+	-	+

续表

菌株号	基因型	$\beta$ -半乳糖苷酶		透性酶	
		不经诱导	诱导	不经诱导	诱导
5	$\bar{I} Z^+ Y^+$	—	—	—	—
6	$\bar{I} Z^+ Y^+ F\bar{I} Z^+ Y^+$	—	—	—	—

细菌生长在以甘油为碳源的培养基中,以 IPTG 为诱导物。“+”表示酶是高水平的,“-”表示酶是低水平或缺乏。

用另外一种突变型  $\bar{I}$  对  $I$  基因功能的进一步研究表明,突变株丧失了合成所有结构基因产物的能力,在部分合子  $\bar{I} F\bar{I}$  中, $\bar{I}$  是显性,如  $\bar{I} Z^+ Y^+ F\bar{I} Z^+ Y^+$  菌株在诱导物存在时既不合成  $\beta$ -半乳糖苷酶,也不合成透性酶。这些遗传学分析证明, $I$  基因是一个控制因子,但它的控制需要一个在细胞内扩散的组分来协助。

为什么在  $lac I$  突变菌株中阻遏物一失活,就不能与操纵基因相结合? 为什么一个  $lac I$  菌株突变成  $lac \bar{I}$  菌株后,合成酶的能力就全部丧失?

根据操纵子学说,上述现象显然都与调节基因  $I$  的产物——阻遏物有关。

用  $^{14}C$  标记的诱导物异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳糖苷(isopropyl  $\beta$ -D-thiogalactoside, IPTG) 作为一种检测剂,从大肠杆菌细胞抽提物中纯化阻遏物,然后再在体外将纯化的蛋白质与 IPTG 进行结合实验。IPTG 不仅与阻遏物有很强的结合能力,而且这种结合在抽提物中很稳定。按照纯化蛋白质的方法收集与 IPTG 结合的特异性抽提物,通过透析去除 IPTG,即可获得纯化的阻遏物。但是,从带有  $\bar{I}$  基因的菌株中分离得到的阻遏物,在体外实验中与 IPTG 未显示亲和性。IPTG 是  $\beta$ -半乳糖苷酶的一种无关的诱导物,它不能被  $\beta$ -半乳糖苷酶分解。这种既能诱导酶的产生,而本身又不分解的诱导物称为义务诱导物(*gratuitous inducer*)。

对阻遏物其他的物理化学性质检测和 X 射线晶体学分析表明,阻遏物是由 4 个相同亚基组成的同源四聚体。每个亚基的相对分子质量约为 38 500,可分为几个功能域: N 端由两个被转角分开的  $\alpha$  螺旋(H-T-H)组成,这两个  $\alpha$  螺旋可插入到 DNA 大沟中,因而是阻遏物的 DNA 结合域。该域由铰链与阻遏物的主体核心相连。核心区可分成两个结构相同的区域(核心功能域 1 和 2),各自具有夹板式结构,即在两边的  $\alpha$  螺旋间夹有 6 列平行的  $\beta$  折叠片。诱导物可结合在两核心区间的缝隙中。C 端含有一个由两个亮氨酸七聚体重复的  $\alpha$  螺旋,又称为寡聚体功能区,用于 4 个单体的聚合,维持阻遏物的四聚体结构(图 14-2)。

对乳糖操纵子阻遏物结构分析表明,其四聚体实际上是由两个二聚体组成,二聚体各亚基含有明显的功能域, N 端的头部片段(head piece)是与 DNA 结合的操纵子位点,而核心区则具有与诱导物结合的诱导物位点[图 14-2 a]。因此,当二聚体各亚基的头部片段同时插入 DNA 双螺旋的两个连续的大沟中时,与操纵基因区段紧密接触,大大增强了阻遏物和 DNA 之间的亲和力,可阻断乳糖结构基因的表达。然而,诱导物的结合却可引起阻遏物分子的变构,使头部片的方向转而朝向核心部位弯曲,从而失去与操纵基因特异结合的能力[图 14-2 b]。

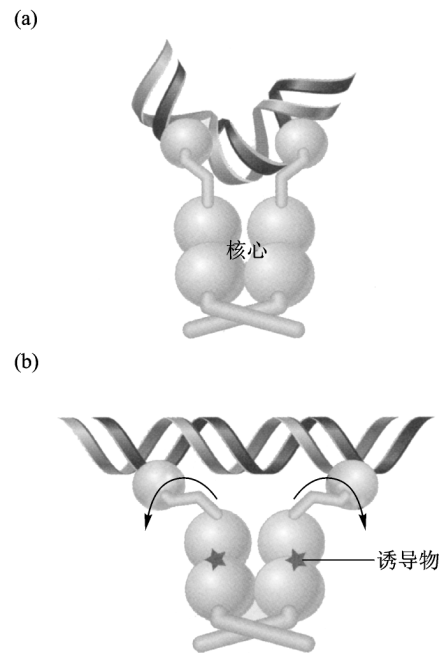


图 14-2 诱导物结合引起阻遏物变构示意图(引自 Lew 2006)

- (a) 头部片段结合到 DNA 大沟的连续螺旋中  
(b) 诱导物结合,改变结合部位的 DNA 构象,头部片段不能插入大沟中

对阻遏物亚基功能域的作图分析有助于深入认识不同突变体如何影响阻遏物与操纵基因的相互作用(图 14-3)。①  $lacI^-$  突变体:突变位点可分布在阻遏物的核心部位。晶体结构分析表明,某些特定的失活突变,其作用甚至可延伸到 C 端的寡聚体部位。通常,使阻遏物失活的突变都具有这种表型。基因产物或是失去形成四聚体的能力,或是虽能形成四聚体,但这种四聚体并不能与操纵基因结合。这类突变基因对野生型为隐性;在突变的单倍体中,乳糖酶系统的表达为恒定型。②  $I^s$  突变体:突变是发生在阻遏物亚基核心部位的第一功能域,从诱导物结合位置延伸到铰链部位。这类突变或是改变诱导物结合位点,使阻遏物不能与诱导物结合;或是虽能与诱导物结合,但并不能产生变构效应(变构效应传导过程中断,不能到达操纵基因结合位点)。所以,不论有无诱导物都与它无关。 $lacI^s$  突变对野生型为显性。在单倍体中,不能诱导  $lac$  酶系统的表达。③  $lacI^{-d}$  突变体:这类特殊的显性负效突变  $lacI^{-d}$  突变作用是发生在阻遏物亚基的 DNA 结合部位,由  $lacI^{-d}$  基因产物与野生型阻遏物基因产物所组成的异四聚体阻遏物,约有 40% 不能与  $lacO$  结合,也就是说由于阻遏物中结合位置的数量减少,降低了  $lacO$  的亲和力。由于 N 端区段有专一性结合 DNA 的作用,在这个位置也可发生“紧密结合”的突变,增强阻遏物与  $lacO$  的亲和力。彼此紧密结合,导致  $lac$  酶系统的不可诱导性。不过这种情况较少见。

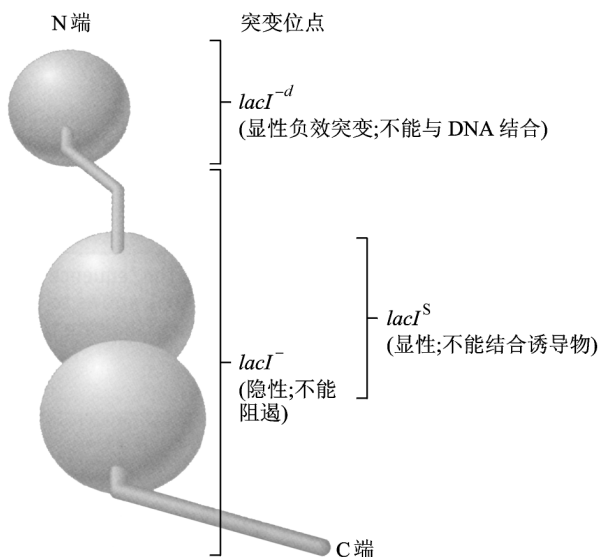


图 14-3 对乳糖阻遏物亚基功能域的作图分析  
(引自 Lewis, 2006)

## (2) 操纵基因 (O) 的确定

细菌从诱导型转变为组成型的遗传学分析显示,阻遏物自身的 DNA 结合功能域发生突变会使阻遏物丧失活性;但在  $I$  基因未发生改变并具有正常的阻遏物情况下,为什么也会出现菌株由诱导型转变为恒定型呢? Jacob 和 Monod 等设想,在邻近整套结构基因的上游有一段可控制这套基因的序列——操纵基因序列,是阻遏物所识别并专一结合的部位。操纵基因序列的突变将导致阻遏物不能识别和结合到该部位上,从而造成乳糖利用物质继续合成(图 14-4)。

那么,如何来辨别那些具有阻遏作用的突变体呢? 如操纵基因恒定型突变体 ( $O^c$ ) 和前述的调节基因恒定型突变体 ( $I^-$ ) 二者究竟有什么区别呢?

我们已经知道反式作用因子在细胞质中可直接与任何 DNA 分子上的靶部位相互作用;顺式作用成分则只能影响到

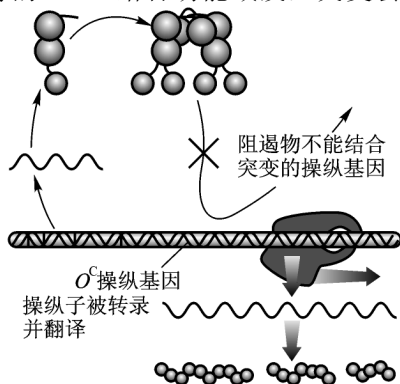


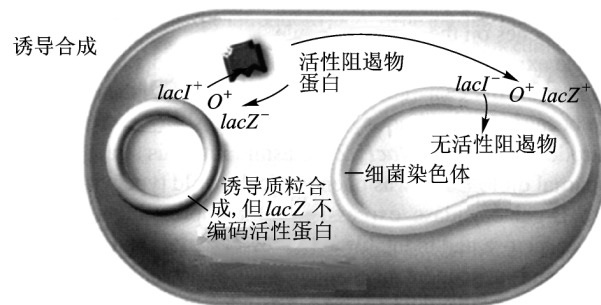
图 14-4 操纵基因突变导致组成型表达  
(引自卢因, 2007)

同一 DNA 分子上相邻基因的表达。因此,对部分二倍体的研究将有助于鉴定操纵子中的恒定性突变究竟是出自操纵基因位置( $O^c$ )的顺式作用,还是源于编码的一种反式作用因子  $lac I$  Monod 等利用  $F' lac$  质粒与细菌菌株构建了多种组合的部分二倍体细胞,它们分别具有调节基因和结构基因( $lac Z$ 和  $lac Y$ )的突变,并对这些细胞的表型进行了分析。

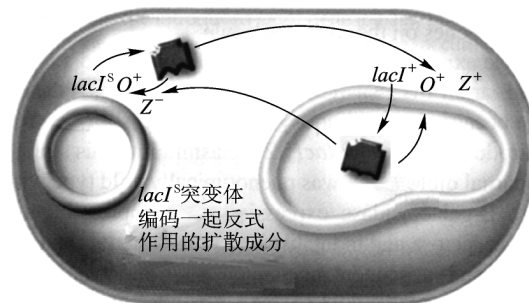
在第一个实验中,部分二倍体的细菌染色体上具有  $lac Z$  和  $lac Y$  基因,由于它不能合成有活性的阻遏物,所以会持续地产生  $\beta$ -半乳糖苷酶。引入的质粒则为  $F' lac I^-$ ,  $lac Z^-$ 。所组成的部分二倍体,其表型为野生型,即缺乏乳糖时,为阻遏状态;有乳糖时又是可诱导的。二倍体细胞兼具这两种性质,就表明  $I^-$  对  $I^+$  为显性。由质粒上  $lac I^-$  基因所产生的 Lac I 蛋白质能够结合到细菌染色体的操纵基因上,这说明  $lac I$  基因的产物是一种反式作用蛋白,能在细胞内与它所遇到的任何操纵基因结合,不论操纵基因处于染色体的任何位置[图 14-5 a]。

第二个实验是将  $lac I^-$  质粒引入  $lac I^+$  的菌株,此菌株原本既可被阻遏,又可被诱导,但构成二倍体细胞后,则只是维持阻遏状态,不再具有可诱导性[图 14-5 b]。显然这是由于 Lac  $I^-$  阻遏物一直

(a)  $lac I^- O^+ Z^+$  菌中的  $F' lac I^+ O^+ Z^-$  质粒



(b)  $lac I^- Z^+$  菌中的  $F' lac I^s Z^-$  质粒



(c)  $lac I^+ O^c lac Z^+$  菌中的  $F' lac I^+ O^+ lac Z^-$  质粒

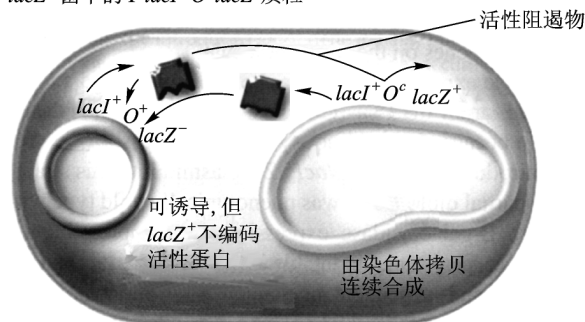


图 14-5 反式作用蛋白质与顺式作用位置

(引自 Hartwell 等, 2000)

(a)  $lac I^+$  质粒基因编码一起反式作用的扩散成分 (b) 不可诱导的——所有  $O^+$  位置最终均被超阻遏物占据 (c) 恒定的——质粒中  $O^+$  的存在不影响细菌染色体中  $lac Z^+$  基因的表达

结合在操纵基因上,表明非诱导性的阻遏物对野生型阻遏物为显性,以致组成部分二倍体的菌株其操纵基因位点随后就全被突变体阻遏物所占据,阻断了细胞中所具有的  $lac$  基因的转录。

第三组实验中的菌株为乳糖代谢恒定型( $lac I^+ O^c lac Z^+$ ),因为  $O^+$  变成  $O^c$  后,它们产生的野生型阻遏物不能结合到已改变了的操纵基因上。 $F' lac I^+ O^+ lac Z$  质粒的导入也不能改变细胞内持续产生  $\beta$ -半乳糖苷酶的状态。由此显示,在  $O^+ O^c$  菌株中  $O^+$  只能控制处于同一染色体上的结构基因,而与  $O^c$  相连的结构基因并不受其他 DNA 分子上的  $O^+$  基因的影响[图 14-5 d]。

从前述实验可得到如下结论:如果一个基因所编码的蛋白质能结合到细胞内任何 DNA 分子的靶位点,那么只要该基因的任何一等位基因为显性,它就能抑制细胞内该基因的其他等位基因。对于  $lac I^-$  突变体来说,不论有无诱导物,其操纵子中结构基因均能恒定地表达,这是由于阻遏物失活。但  $lac I^-$  突变体是隐性的,引入正常的  $lac I^+$ ,它便能恢复控制。至于  $O^c$  突变体则是顺式作用(cis-action),它的显性作用只是对同一 DNA 分子上直接相邻的基因施加影响。所以在部分二倍体中虽在另一染色体上有野生型的  $O^+$ ,也无法改变  $O^c$  突变所在染色体上其相邻结构基因的恒定表达。在操纵子中,像  $O^c$  这类位点突变仅可影响同一分子的相邻基因,这种效应称为顺式显性(cis-dominant)。

后来有的研究者利用阻遏物与操纵基因特异性结合的检测技术,分离出一个  $lac O$  基因的 DNA 片段,对其 DNA 序列的结构分析表明,这是一段含有 17~25 个核苷酸的专一性序列,恰好位于结构基因  $lac Z$  之前,序列中围绕对称轴有两个彼此对称的回文序列(图 14-6),与阻遏物识别位点的对称状况有一定联系。

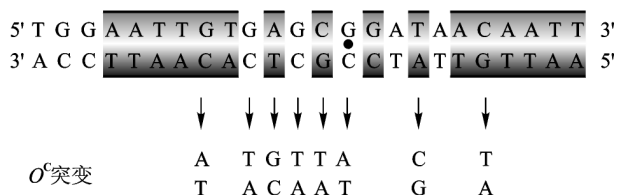


图 14-6  $lac O$  序列与 8 个  $O^c$  突变相关的碱基  
(引自 Griffiths 等 2005)

### (3) 乳糖操纵子中的启动子

根据对各种类型突变体的分析,由于 RNA 聚合酶与阻遏物结合位点在各区段上的突变不同,就为缺失突变株带来不同的遗传效应,因而证明它们与 DNA 的结合并不是在同一个位点上。运用蛋白质保护性实验,以及 I 基因和 Z 基因之间的核苷酸序列分析,又进一步证明,在 I 与 O 之间是 RNA 聚合酶的结合位置——启动子区(D)。

启动子突变是顺式显性,因为它只是位于 DNA 上,是用作转录起始因子结合的识别位置,所控制的转录作用仅限于同一 DNA 分子上操纵子中与其相邻的基因。体外实验也证明, RNA 聚合酶结合到启动子后即可开始操纵子结构基因的转录。但如果操纵基因上结合有阻遏物,则会妨碍 RNA 聚合酶对启动子的结合。与其他原核生物操纵子的启动子相比,乳糖操纵子的启动子具有原核生物典型的启动子 DNA 结合区段——-10 和 -35 区。

根据上述对乳糖操纵子模型各个环节的实验分析,得出的结论是:从基因表达的角度看,大肠杆菌乳糖操纵子的基因表达首先是以 RNA 聚合酶与  $lac P$  结合开始,经过  $lac O$  到达结构基因。3 个结构基因 Z、Y、A 转录成一条 mRNA,最后产生了 3 个不同的蛋白质。蛋白质合成可以通过调节基因 I 的产物来调节,即阻遏途径予以调节,此谓负调节(negative regulation)。

## 14.1.4 大肠杆菌乳糖操纵子的正调控

在大肠杆菌中还发现有一种分子,其作用与阻遏物相反,当它结合到操纵子的适当部位上时,可启动转录。这种调节机制属于正调控(positive regulation)。

大肠杆菌培养基中如果以葡萄糖为能源,其蛋白质合成速率比用其他糖类要快,生长迅速。如果在培养基中同时含有葡萄糖和其他糖类(如乳糖、半乳糖、阿拉伯糖等),细菌只分解利用葡萄糖,而不利用其他糖类。因此,培养基中只要有葡萄糖存在,其分解产物便抑制了利用其他各种糖的酶的产生(如 $\beta$ -半乳糖苷酶等),这种现象称为分解物阻遏(catabolic repression)。1965年, B. Magasanik 偶然发现,大肠杆菌中含有 cAMP,而且细胞内 cAMP 的浓度与培养基中的葡萄糖有关,葡萄糖浓度越高,胞内 cAMP 越少。反之,葡萄糖的浓度降低,则 cAMP 的浓度相应提高(图 14-7)。

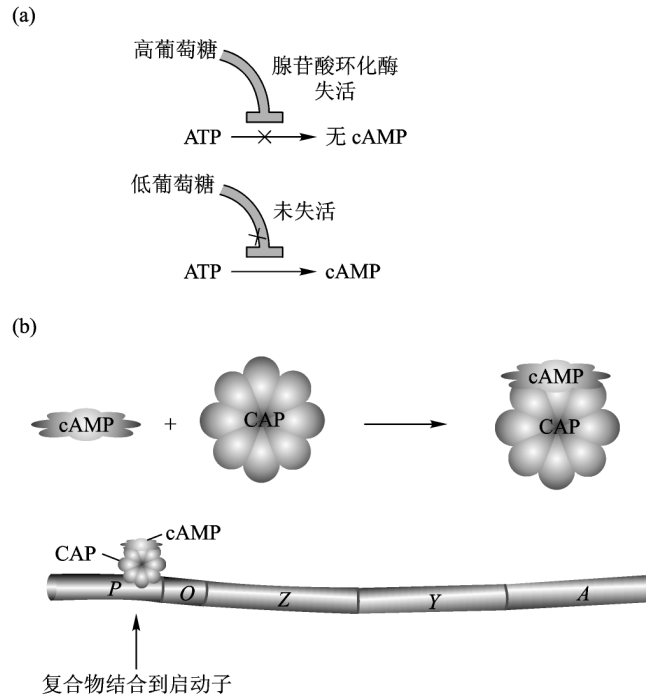


图 14-7 乳糖操纵子的降解产物控制

(引自 Griffiths 等, 2005)

(a) 葡萄糖水平调节 cAMP (b) cAMP-CAP 复合物激活转录

后来从乳糖操纵子突变体的分析表明, cAMP 与分解物阻遏现象有一定关系。在不能把 ATP 转换为 cAMP 的突变体中,由于其 cAMP 的浓度低到不足以激活乳糖操纵子时,就不能诱导产生 $\beta$ -半乳糖苷酶。可见, cAMP 的高浓度能够影响到 $\beta$ -半乳糖苷酶的合成速率。但在另一些突变体中,它们虽能制造 cAMP,却并不能有效地激活乳糖酶,这是由于这些突变体中还缺少另一种诱导蛋白,即由 *cra* 基因编码的分解激活物蛋白(catabolic activator protein, CAP)。因为 *lac* 启动子是一个弱启动子,启动转录需要有 CAP, CAP 结合到启动子上就可以增强 RNA 聚合酶与启动子的亲和力。采用保护降解法已证实,在 *lac* P 区上游 -72~-52 核苷酸对的部位有一个 CAP 结合位点,只是 CAP 这种激活因子蛋白需要与 cAMP 先形成复合物,使 CAP 构象发生变化后,才能与 DNA 上的这一特定序列结合,促进 RNA 聚合酶能更有效地结合到 *lac* 启动子上,增强结构基因的转录(图 14-8)。

在某些方面,基因激活物很像阻遏物蛋白。实际上,细菌中有一些基因调节蛋白既具有阻遏物的

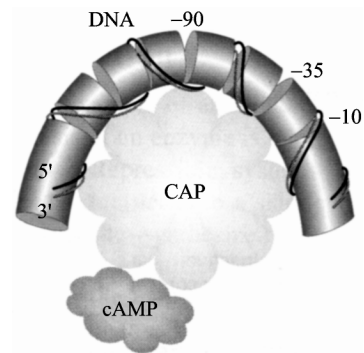


图 14-8 CAP-cAMP 与 *lac* 启动子 DNA 的结合

(引自 Griffiths 等, 2005)



作用,又具有激活因子的功能,它结合到基因组中的一些部位上,可阻遏某些部位的激活;而结合在另外一些部位上,则可能激活转录。像阻遏物一样,激活物常同专一信号配体结合,来提高或降低合成蛋白与 DNA 的亲合力,分别开放或关闭基因。因为这种转录激活常需要其他蛋白质介导的控制,故称为正调控(positive control)。

已知葡萄糖调控是因其裂解产物抑制了 CAP-cAMP复合物的形成,而此复合物又是 RNA 聚合酶结合到 lac 启动子位置时不可缺少的。然而,进一步的研究还发现,甚至在葡萄糖分解物短缺,且已形成 CAP-cAMP复合物的情况下,也只有存在乳糖时,才能产生为乳糖运输和代谢所必需的酶。这表明必须有乳糖操纵子的诱导物与阻遏物结合,将后者从操纵基因位置清除掉,方可使操纵子进行转录。由此可见,细菌只是在需要能量和利用能源时,才会通过产生乳糖代谢的一系列酶来储存能量和进行相应的代谢活动。而乳糖操纵子中由 CAP-cAMP 激活的这种正调控是一种十分有效的调控系统,具有适应意义。因此,在细菌中对乳糖的利用,通过正、负两条途径的配合,可有效地调控基因的转录(图 14-9)。

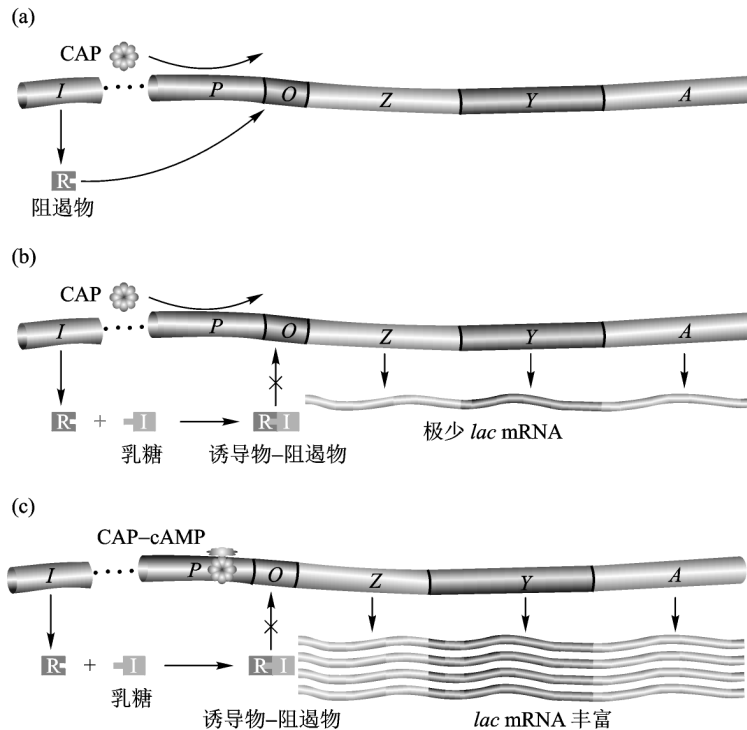


图 14-9 乳糖操纵子的正负调控图解

(仿自 Griffiths 2005)

(a) 葡萄糖存在(cAMP低),无乳糖,无 lac mRNA (b) 葡萄糖存在(cAMP低),乳糖存在  
(c) 无葡萄糖(cAMP高),乳糖存在

## 14.2 其他类型的操纵子

### 14.2.1 半乳糖操纵子中的双重控制

细胞中半乳糖的代谢需要 3 种酶:半乳糖激酶(galactokinase, GalK),半乳糖转移酶(galactose transferase, GalT)和半乳糖差向异构酶(galactose epimerase, GalE)。它们分别由 galK, galT, galE 编

码, 3个结构基因紧密连锁。其上游有操纵基因 *galO* 和启动子 *galP*, 它们共同组成半乳糖操纵子 (*galactose operon*)。大肠杆菌的 *ga* 操纵子与其调节基因距离甚远。

*ga* 操纵子也有正和负两种调控方式。在 *ga* 操纵子中也发现有 *galI* 和 *galO<sup>c</sup>* 两种恒定型突变, 表明 *galI* 的阻遏物的作用机制是通过与操纵基因 *galO* 的结合而阻遏 *galmRNA* 的合成。加入诱导物后, 阻遏物失活, *ga* 操纵子转录效率提高。因此, 从转录水平上看, *ga* 操纵子是一个典型的负控制系统。该系统的诱导物是半乳糖, 而不是其他代谢产物。它不同于 *lac* 操纵子的是, 有葡萄糖存在而没有 CAP-cAMP 的情况下, *gal* 操纵子仍可被诱导进行转录, 只是效率低些; 另外, *galO* 基因位于 *galP* 的前方 (-60~-66) 与 CAP-cAMP 结合部位重叠, 而不是与 RNA 聚合酶结合位点重叠。因此操纵基因的作用是干扰了 CAP-cAMP 的激活效应, 而不是像 *lac* 操纵子那样完全阻止操纵子的转录。它仍然允许 RNA 聚合酶与 *galP* 中的有关部位结合, 这使操纵子在受到阻抑时仍能进行较高的基础合成。

对 *galP* 的突变分析, 发现 *ga* 操纵子有两个相互重叠的启动子: *galP<sub>1</sub>* 和 *galP<sub>2</sub>*。前者的起始依赖 CAP-cAMP, 转录起点为 S1, 位于 +1; 后者不依赖 CAP-cAMP, 转录起始点为 S2, 位于 -5, 两者相距 4 个核苷酸对。两个启动子各有自己的 Pribnow 框, 分别位于 -12~-6 和 -17~-11 (图 14-10)。测定不同条件下所得到的 *galmRNA* 5 端序列表明, 转录时这两个启动子的选择是取决于 CAP-cAMP 的存在与否。当 CAP-cAMP 存在而无葡萄糖时, RNA 聚合酶与 *galP<sub>1</sub>* 结合, 以 S1 为转录起始点, 说明该过程可被 CAP-cAMP 激活。当 CAP-cAMP 不存在而有葡萄糖时, RNA 聚合酶就与 *galP<sub>2</sub>* 结合, 采用 S2 为转录起始点, 该过程可被 CAP-cAMP 抑制, 这就是 *ga* 操纵子基因表达的双重控制。

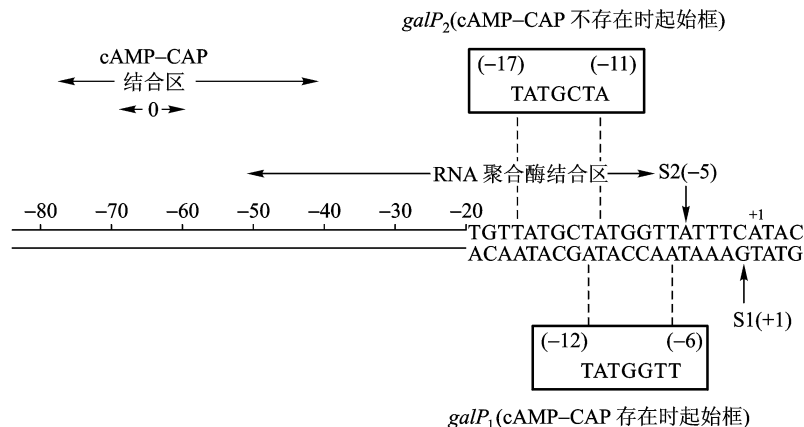


图 14-10 大肠杆菌 *ga* 操纵子的双重控制系统

*ga* 操纵子的这种双重控制系统与半乳糖在分解代谢与合成代谢中的双重作用有关。一方面, 半乳糖可作为细菌的碳素营养, 另一方面半乳糖的衍生物——尿苷二磷酸半乳糖 (*uridine diphosphogalactose*, UDP-gal) 是细菌细胞壁的成分之一。当没有半乳糖时, 细菌必须将自身的 UDP-G 转变成 UDP-gal 催化这一过程的酶是半乳糖表异构酶。为了维持细胞分裂需要形成新细胞壁, 所以 *ga* 操纵子必须进行较高的基础合成, 这种基础恒定型转录是由 *galP<sub>2</sub>* 启动。由此可见, 野生型细菌中, *gal* 操纵子所决定的 3 种酶既有诱导酶的性质, 也有恒定酶的性质。两个启动子的存在显然使操纵子的应答有着更大的适应性, 既能满足经常的低水平需求, 又能应付临时的大量需要。

### 14.2.2 阿拉伯糖操纵子中的双向控制

像 *lac* 操纵子一样, 原核生物的转录调控常常既不是完全的正调控, 也不是完全的负调控。看来,

是两者混合或是以不同方式的正负调控并行。在这方面,阿拉伯糖操纵子(arabinose operon, *ara* operon)提供了一个极好的例子。在这个操纵子中,一个 DNA 结合蛋白既可充当阻遏物,又可作为激活因子。

催化阿拉伯糖代谢的酶分别由 *ara* A、*ara* B、*ara* D 基因编码。3 个基因紧密连锁,排列顺序是:*ara* B、*ara* A、*ara* D,作为一个转录单位转录成一条 mRNA。转录激活是在 *ara* I 这个有起始密码子的区域,其中既有启动子,又包含操纵基因。在此区域邻近有一个 *ara* C 基因,为一个激活因子蛋白编码[图 14-11(a)]。这个激活因子蛋白与阿拉伯糖相结合时,可协助 RNA 聚合酶结合到启动子上,激活 *ara* 操纵子的转录。另外,就是同样的 CAP-cAMP 分解代谢物阻遏系统,既能调节 *lac* 操纵子的表达,也能调节 *ara* 操纵子的表达。

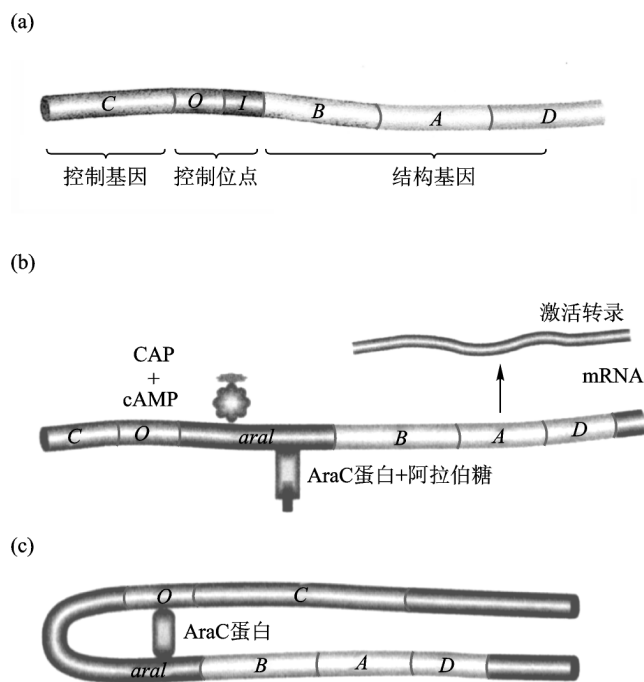


图 14-11 *ara* 操纵子的双向控制

(引自 Griffiths 等, 2005)

(a) *ara* 区域作图 (b) 激活 (c) 阻遏

有阿拉伯糖时, CAP-cAMP 复合物,以及 Ara C-阿拉伯糖复合物,二者必须结合到 *ara* I 的操纵基因区域,以使 RNA 聚合酶结合到启动子上来转录 *ara* 操纵子[图 14-11(b)]。缺乏阿拉伯糖时, Ara C 蛋白采取一种不同的构象,于是结合到 *ara* I 和第二个操纵基因区域——*ara* O 两者上,从而形成一个环,阻止转录[图 14-11(c)]。

对 *ara* C 基因内的点突变或缺失突变的分析表明,这一基因的产物 Ara C 蛋白可以两种构象存在,具有两种功能:一种是在有阿拉伯糖时, Ara C 蛋白与此糖结合,并被激活成为一种诱导性蛋白结合于启动子上,促进 *ara* B、*ara* A、*ara* D 的转录,发挥正调控作用;另一种是,无阿拉伯糖时,则进一步结合到 *ara* O 基因上,表现为阻遏物的性质,抑制 *ara* B、*ara* A、*ara* D 的转录。用核酸酶保护技术和序列分析等方法对 *ara* 操纵子调控区的研究,已经确定有或无阿拉伯糖时, Ara C 蛋白的两种构象及其在操纵子控制区的不同结合位点。

### 14.2.3 色氨酸操纵子中基因表达时的衰减作用

#### (1) 色氨酸操纵子的结构

色氨酸操纵子(*tryptophan operon*, *trp* operon)在大肠杆菌遗传图 72 min 的位置,有 5 个编码酶的

结构基因, *trpE* 和 *trpD* 基因的产物形成一个催化专一步骤的复合物, *trpB* 和 *trpA* 基因产物也组成复合物。色氨酸合成酶是由 *trpB* 和 *trpA* 产物形成的一个四聚体酶, 它催化形成色氨酸的一个二步过程。为酶编码的几个基因紧密连锁(图 14-12)。

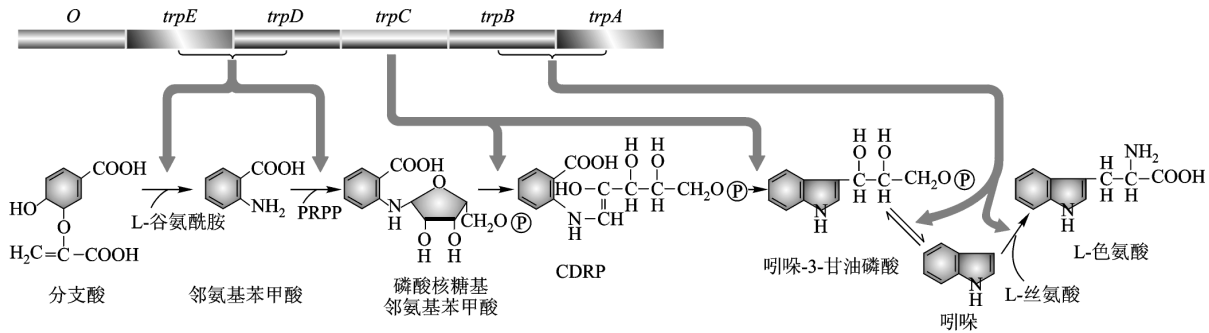


图 14-12 *trp* 操纵子的结构基因及其产物所催化的反应序列

(引自 G. Griffiths 等, 2005)

与 *lac* 操纵子的结构不同, 在 *trp* 操纵子的第一个结构基因 *E* 与操纵基因 *O* 之间还有一段前导序列 (leader sequence), 在色氨酸合成中有着特殊的调控作用。此外, 编码阻遏物的基因 *trpR* 远离 *trp* 操纵子区。另外, 还有参与色氨酸操纵子调控作用的两个因子——*rRNA<sup>trp</sup>* 和色氨酸-*rRNA* 合成酶的编码基因也在遗传图的不同位置。

### (2) 可阻遏系统和反馈抑制

前面所讨论的 *lac* 操纵子是有关编码分解代谢途径中酶基因活性的调控。在这一途径中, 阻遏物一旦与乳糖这一效应物 (effector) 结合之后, 就不再能与操纵基因结合。于是 RNA 聚合酶便从启动子起始转录活动。酶合成的这种调节途径是一类可诱导系统, 称为酶诱导。但在细菌中还有其他操纵子负责某些物质的合成代谢活动, 它们是通过阻遏途径来调节酶的合成过程。这是因为由调节基因所产生的阻遏物单独存在时没有活性, 不能抑制转录; 有效应物存在时, 阻遏物可与效应物结合, 形成复合物, 阻遏物的构象发生改变而产生活性, 结合到操纵基因上, 阻止 RNA 聚合酶催化结构基因的转录。基因转录可被效应物所阻遏的途径称为可阻遏系统 (repressible system)。相应的效应物称为辅阻遏物 (corepressor)。例如, 大肠杆菌中色氨酸合成酶受培养基中色氨酸的影响, 如果在培养基中加入高浓度的色氨酸, 色氨酸的合成便受到抑制。

由于像色氨酸这样的物质是反应的最终产物, 它的产量水平控制着色氨酸酶系统的活性和色氨酸的合成。这种终末产物的抑制作用被称为反馈抑制 (feedback suppression)。由此可见, 色氨酸操纵子正是通过一种反馈抑制机制, 使细胞内的色氨酸浓度维持在一定水平上。

### (3) 色氨酸操纵子中的衰减作用

色氨酸操纵子的调控系统比较复杂, 除可阻遏机制外, 还受到衰减机制的调控。从前述 *trp* 操纵子阻遏调控的讨论中, 已知当 *trpO* 没有结合有活性的阻遏物时 RNA 聚合酶就结合到 *trpP* 上启动转录, 合成多顺反子 mRNA。但事实上, *trp* mRNA 常在转录进入第一个基因 *trpE* 之前便终止, 这表明 *trp* 操纵子除阻遏调控外, 必然还有其他调控途径。

将 *trp* 操纵子的 mRNA 分离出来进行序列分析, 发现在 *trpE* 基因 5' 端起始密码子与 *trpP* 之间有一段长达 160 个碱基的序列, 称为前导序列 (leader sequence, *L*)。但在大量产生 *trp* mRNA 的突变体中, 这一前导序列内则缺失了含有 *trp* 密码子的一段碱基序列。当培养基中含有色氨酸时, 由于前导序列中这一区段的存在, RNA 聚合酶不再前进, mRNA 分子的合成便终止于这一区域。说明这是一个直接参与色氨酸操纵子调控的区段, 称为弱化子或衰减子 (attenuator, *A*) (图 14-13)。

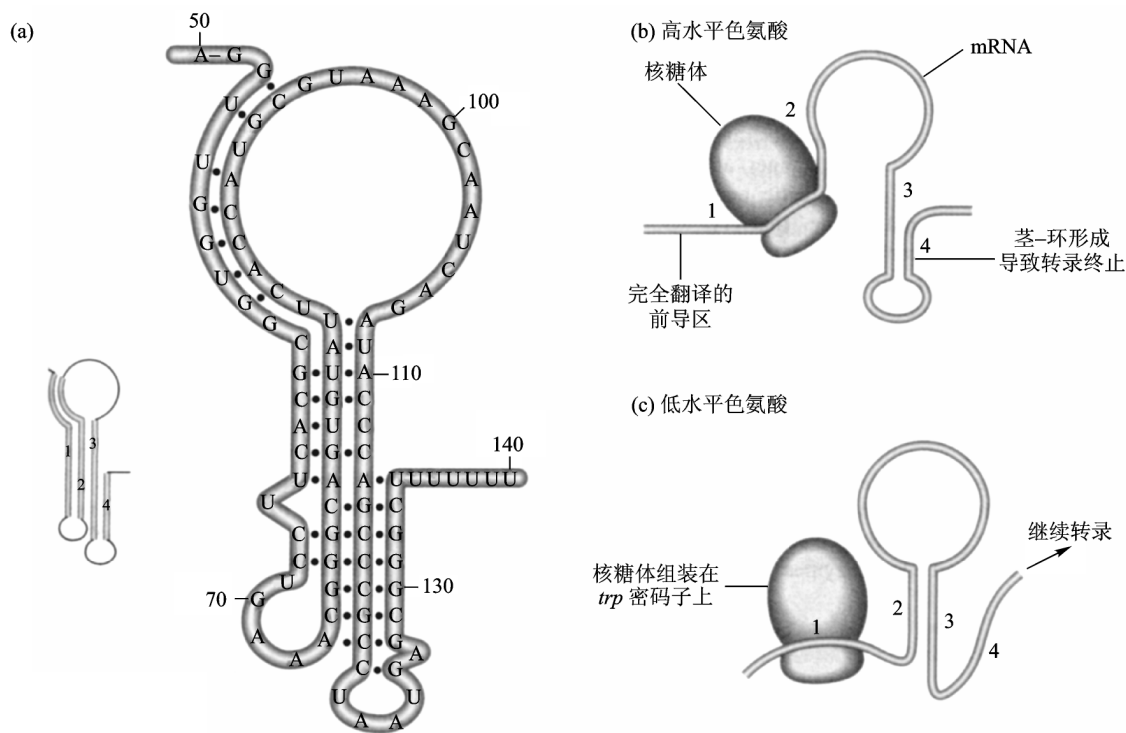


图 14-13 色氨酸操纵子中的弱化子

弱化子序列是怎样实施其调控作用？前导序列中除衰减子序列外，其他的碱基序列又扮演着什么样的角色？

用 *trp* 操纵子研究 mRNA 转录时，发现在高水平的色氨酸条件下，前导序列中的前 141 个碱基虽是以最大速率进行转录，但只得到 1/10 的完整 mRNA。这就是说，在高浓度的色氨酸状况下，由于前导序列的衰减机制，仅有 1/10 的 mRNA 能够继续转录。这说明，弱化子被用作了 mRNA 链的终止子。换言之，在有色氨酸的条件下，使 9/10 的 mRNA 不能继续转录。缺乏色氨酸时，弱化子失活，每一段 mRNA 的转录自始至终地完成，因而色氨酸会十倍地增加。至于那些 *trp* R<sup>-</sup> 突变体，其弱化子也缺失，mRNA 的延伸并没有被阻断，所以不论是否存在色氨酸，转录均畅行无阻。

缺乏色氨酸时，为什么会引发对弱化子终止作用的干扰呢？对 *trp* mRNA 前导序列的分析之后提出了一个模式，认为这是由于前导序列中 mRNA 所形成的两个交替的二级结构所造成。模型中的两个构象，其中一个利于转录终止，另一个则有利于转录延伸。而前导序列的部分翻译将启动有利于终止作用的构象形成(图 14-14)。

图 14-14 *trp* 操纵子衰减作用机制的模型

现已知，在前导序列中靠近起始的部位有一个核糖体结合的位置，随后是以起始密码子 (AUG) 开头的 14 个氨基酸的编码区，其中含有两个紧密相连的色氨酸三联密码子，这一段翻译出的小肽称

为前导肽(leader peptide)(图 14-14)。除此之外,前导序列还有一段富含 GC,并可形成回文结构的序列,包含着 4段能进行核苷酸互补配对的序列。各区的位置分别在:第 54~68位(1区)、第 74~92位(2区)、第 108~121位(3区)和第 126~134位(4区)。它们的配对可造成前导序列发生二级结构上的构象变化,这与 RNA 聚合酶能否在前导序列上继续转录密切相关。

由于细菌中翻译与转录偶联,一旦  $\text{tp mRNA}$  从前导肽编码区转录出来,核糖体便立即结合上去进行翻译。当细胞中有大量色氨酸时, $\text{T}_{\text{trp}}\text{-tRNA}$  供应充足,使核糖体顺利通过两个连续的色氨酸密码子而翻译出前导区段相关的 mRNA。由于 mRNA 快速通过核糖体,将前导序列的 2区拽进核糖体,使 2区来不及与 3区构成茎-环结构,于是 3区与 4区配对,形成了使转录终止的结构。细胞内色氨酸处于低水平时, $\text{T}_{\text{trp}}\text{-tRNA}$  的浓度相应也较低,在 1区色氨酸密码子处的翻译进程缓慢,此时核糖体只占据 1区,2区与 3区之间形成茎-环结构。RNA 聚合酶一直前行,没有在弱化子处停顿。

根据前述衰减模型的分析,弱化子实际上是一个转录暂停信号,而衰减作用的实质是以翻译手段控制基因的转录。衰减系统的调控与阻遏物的控制在方向上是一致的,都取决于细胞内色氨酸的水平,只是由于前导序列中弱化子可对转录强度作进一步调节,以使表达产物在不同条件下更为精确地达到最适水平。

#### (4) 衰减作用的普遍性及其生物学意义

有关  $\text{tp}$  前导序列中二级结构的许多点突变分析,都有力地支持衰减作用机制的上述模型。除  $\text{tp}$  操纵子外,其他一些负责生物合成酶的操纵子也具有类似的衰减控制。例如,在组氨酸操纵子的前导区段,其翻译区内就有连续 7个组氨酸密码子;苯丙氨酸操纵子中前导序列编码的 15个氨基酸的前导肽,其中就含有 7个苯丙氨酸。看来,操纵子中能引起核糖体停顿的密码子较多,可能更有助于实现有效的阻遏解除。

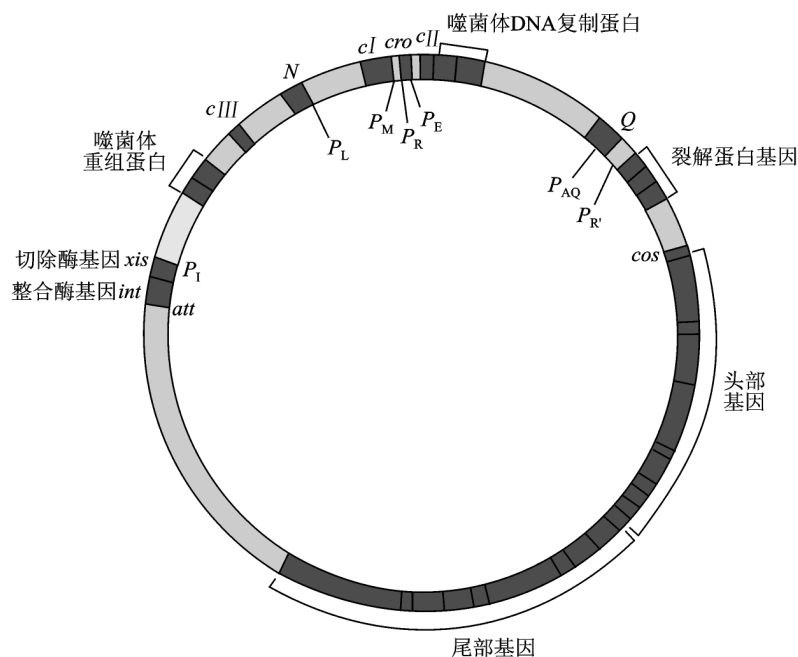
对衰减作用的分析表明,这种机制可以严格控制基因表达,依据细胞内某一氨基酸水平的高低进行表达调控,是一种灵活的多重调控方式:一方面,当有活性阻遏物向无活性阻遏物转变的速率极低时,衰减系统能更加迅速地作出反应,使相应的氨基酸从较高浓度迅速下降;另一方面,若外源相应氨基酸浓度过低,细菌又没有其他相应的内源氨基酸的合成体系,那么细菌将难以支持自身的生长。有了衰减体系的调节,便可通过转录 mRNA 来增加相应的氨基酸合成酶的合成,提高该种内源性氨基酸的浓度。可见,衰减机制在控制基因产物的数量和种类的配比上起着快速而灵敏的调节作用,与阻遏物一起协同控制基因的表达,使之更为精密有效。因而从生物进化角度来看,在细菌中像  $\text{tp}$  操纵子这样,除阻遏作用外,还演化出衰减子调控系统,具有重要的生物学意义。

## 14.3 $\lambda$ 噬菌体基因组的表达调控

### 14.3.1 $\lambda$ 噬菌体的转录调控区

#### (1) 启动子

在调控区内有 4个启动子—— $P_L$ 、 $P_R$ 、 $P_M$  和  $P_E$ (图 14-15)。 $P_L$  是用 L链向左转录的启动子; $P_R$  是用 R链向右转录的启动子,两个都是强启动子。 $P_M$  和  $P_E$  均为  $cI$  基因转录的启动子; $P_M$  启动  $cI$  基因转录,翻译产物为阻遏物,是维持溶源化的关键产物;但  $P_M$  所启动转录的 mRNA 缺少 SD 序列,核糖体较难结合上去进行翻译,因而翻译产物较少,只足以维持已建立起来的溶源状态。 $P_E$  位于  $cro$  与  $cII$  两基因之间,它所起始的  $cI$  mRNA 含有 SD 序列,能翻译出较多的  $C_I$  阻遏物,可以建立起溶源化。只是  $P_E$  的启动必须依赖于  $cII$  和  $cIII$  基因的产物。

图 14-15  $\lambda$  噬菌体基因组

## (2) 调节基因

调节基因有  $cI$ 、 $cII$ 、 $dII$ 、 $N$ 、 $Q$  和  $cro$ 。 $cI$ 、 $N$  和  $cro$  基因集中于  $dII$  与  $cII$  之间的区域。根据其产物的功能又可分为正调节基因( $cII$ 、 $dII$ 、 $N$  和  $Q$ )，以及负调节基因( $cI$  和  $cro$ )。 $cII$  和  $dII$  的产物可激活由  $P_E$  启动的  $cI$  阻遏蛋白基因和由  $P_I$  启动的有关整合基因( $int$  等)的转录表达。 $N$  的产物—— $N$  蛋白调控早期基因表达，是抗终止子，作用于 3 个终止子—— $t_1$ 、 $t_2$  和  $t_3$ 。 $Q$  为裂解晚期基因的正调节基因，其表达产物可激活从  $P_R$  启动的晚期转录，包括裂解基因及头部、尾部等结构基因的转录表达。 $Q$  蛋白也是一个抗终止子蛋白。至于  $cI$  和  $cro$  这两个负调节基因，它们的转录产物对于  $\lambda$  噬菌体进入溶源化还是溶菌途径具有至关重要的作用。

## (3) 操纵基因序列

在  $cI$  两侧的启动子  $P_L$  和  $P_R$  旁各有一个操纵基因分别为  $O_L$  和  $O_R$ ，由于两个操纵基因的序列与相关的启动子有部分重叠，因而常标为  $P_L O_L$  和  $P_R O_R$ 。这两个操纵基因均包含有 3 个能与阻遏物结合的位置，如  $O_L$  中的  $O_{L1}$ 、 $O_{L2}$  和  $O_{L3}$ ； $O_R$  中的  $O_{R1}$ 、 $O_{R2}$  和  $O_{R3}$ 。这些序列都是由 17 个核苷酸对组成，并具有一定程度的回文对称性，它们的核苷酸序列相似，但不完全相同。位点之间相隔的 6~7 个核苷酸对大都是  $A/T$  对。

## (4) 终止子结构

左向中  $P_L-N$  转录的终止子  $t_1$  右向中  $P_R-cro$  转录的终止子  $t_2$ ，以及  $P_R-cro-dII$  转录终止子  $t_3$  都受  $N$  抗终止蛋白的作用。右向  $P_R-Q$  终止子  $t_4$  则受  $Q$  抗终止蛋白的作用。这些终止子均为依赖于  $\rho$  因子( $\rho$  蛋白)的终止子。

## 14.3.2 阻遏物和 Cro 蛋白的结构和功能

### (1) $\lambda$ 阻遏物

$\lambda$  阻遏物是  $cI$  基因的表达产物，是一种调控蛋白。它阻止  $\lambda$  的复制，并促进整合作用的发生。这一阻遏物的发现是由于有一种  $\lambda$  噬菌体的突变型能形成清晰的噬菌斑，以后又发现几种噬菌斑清晰程度不同的  $\lambda$  噬菌体突变型，并从中确认了 3 个噬菌体基因，分别用  $cI$ 、 $cII$  和  $dII$  表示。野生型  $\lambda$  噬菌体感染宿主细胞后，形成混浊噬菌斑，可见  $cI$  基因突变后使得宿主不被溶源化，而发生裂解。

因此, *cI* 基因的产物是阻遏物蛋白, 可以阻遏 λ 噬菌体的基因表达。

用 X 射线晶体学方法已测知 λ 阻遏物由两个相同的亚基组成, 每个亚基含有 236 个氨基酸。

每个亚基上有两个不同的功能区, N 端的第 1~92 位氨基酸具有与操纵基因  $O_L$  和  $O_R$  结合的功能; C 端从第 132~236 位氨基酸的部位具有自身聚合成二聚体的功能; 中间的第 93~131 位的氨基酸起连接 N 端和 C 端的作用[图 14-16(a)]。这个连接区可被木瓜酶等蛋白质水解酶所切断。根据对 λ 阻遏物与操纵基因 3 个结合位点结合时的浓度测定, 发现 λ 阻遏物与  $O_{R1}$  结合能力最强,  $O_{R2}$  次之,  $O_{R3}$  最弱。阻遏物与  $O_L$  结合的情况也是如此。当阻遏物的浓度低时, 它首先同  $O_{R1}$  ( $O_{L1}$ ) 结合, 占据了  $P_R$  (和  $P_L$ ) 的 *Prbnow* 区, 阻止  $P_R$  (和  $P_L$ ) 启动转录。若阻遏物浓度较高时, 除结合  $O_{R1}$  (和  $O_{L1}$ ) 外, 还与  $O_{R2}$  (和  $O_{L2}$ ) 结合, 这时能促进  $P_M$  启动子转录, 即激活 *cI* 基因自身的转录。阻遏物和 O 位点的结合具有协同效应, 当一个二聚体阻遏物与  $O_{R1}$  结合后, 就很容易发生第二个二聚体和  $O_{R2}$  结合[图 14-16(b)]。阻遏物的这种协同效应是通过二聚体 C 端区实现的。如果 λ 阻遏物浓度过高, 也会结合到  $O_{R3}$  位点, 因为  $P_M$  启动子刚好与  $O_{R3}$  位点有重叠, 于是就抑制了 *cI* 基因的转录, 结果阻遏物浓度下降。由此可见, λ 阻遏物是一种自体调节因子 (autogenous regulator), 浓度低时可作为正调节因子进行正向自我调控; 浓度太高时, 又可作为负调节因子进行负向自我调控。这样的调控可使 λ 阻遏物达到足以阻遏  $P_L$  和  $P_R$  启动的浓度, 从而保持溶源状态。

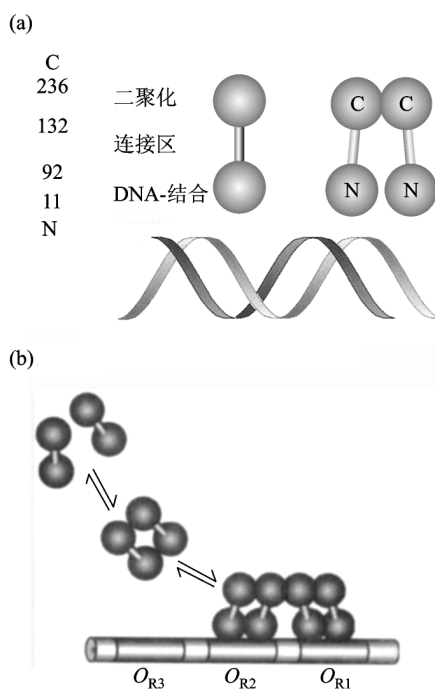


图 14-16 λ 阻遏物的结构以及 O 位点的作用(引自沃森等 2005)

(a) λ 阻遏物的结构

(b) λ 阻遏物与 O 位点结合的协同作用

## (2) Cro 蛋白

Cro 蛋白是由 *cro* 基因经  $P_R$  转录、表达得到的产物。Cro 蛋白分子很小, 由 66 个氨基酸组成, 整个分子只有一个功能区, 在功能上与 λ 阻遏物相似, 也是以二聚体的形式与对称的操纵区结合。但 Cro 蛋白对 O 位点的亲和力与阻遏物的情况恰好相反, 其强弱顺序依次为:  $O_{R3} > O_{R2} > O_{R1}$ ,  $O_{L3} > O_{L2} > O_{L1}$ 。Cro 蛋白浓度低时首先与  $O_{R3}$  结合, 阻止 *cI* 基因的转录; 浓度较高时, 还可与  $O_{R2}$  结合, 除继续阻止 *cI* 基因的转录外, 对  $P_R$  也有阻遏作用; 浓度高时还可与  $O_{R1}$  结合, 进一步阻止  $P_M$  和  $P_R$  启动转录。由此可见, Cro 蛋白是 λ 噬菌体侵入宿主细胞后发生裂解循环的关键影响因子, 能阻止 λ 阻遏物的合成, 以及从  $P_L$  和  $P_R$  起始的早期基因的表达。

### 14.3.3 λ 噬菌体基因表达及转录调控

#### (1) λ 噬菌体溶菌途径中的基因表达

① 基因的分期转录 λ 噬菌体基因在溶菌途径中的表达按时间顺序分为即早期基因 (immediate early gene)、晚早期基因 (delayed early gene) 和晚期基因 (late gene) 3 个阶段进行。当 λ DNA 进入到一个新的宿主细胞, 或是当溶源化细胞进入溶菌状态时, *cI* 基因是关闭的, 在 *cI* 阻遏物不产生或失活的条件下, 解除了对左右操纵区  $O_L$  和  $O_R$  的抑制, 于是, 借助宿主细胞的 RNA 聚合酶分别向左和向右启动前早期的 *N* 和 *cro* 这两个基因的转录, 合成 N 蛋白 (NP) 和 Cro 蛋白。

N 蛋白的功能是抗终止子, 使从  $P_L O_L$  和  $P_R O_R$  起始的转录越过终止子  $t_1$ 、 $t_1'$  和  $t_2$ , 继续进行, 向左停止在  $t_2$ , 向右停止于终止子  $t_{R}$ 。早右操纵子表达产生的 Cro 蛋白与晚早期的基因表达有关, 也



为晚期的基因表达提供了必要条件,使各时期的基因表达环环相扣,依次进行。

晚早期主要是使早左和早右操纵子表达完全,在此期间所表达的基因有左侧的 *cIII* 基因,右向的 *cII* 基因,以及复制基因 *O*、*P* 和另一个调节基因 *Q*。

*Q* 蛋白也是一个抗终止子,它能越过终止子  $t_R$ ,使  $P_R$  启动的转录得以继续进行,使裂解基因、外壳蛋白的头部和尾部基因转录,实现晚期基因的表达。

在溶菌途径中,重组区的 *int* 等整合基因的启动子  $P_i$ ,由于缺乏大量的 *CII*、*CIII* 蛋白,不能被激活,*int* 基因无法转录, $\lambda$  DNA 也就不能整合到宿主染色体。于是,阻碍了溶源化途径的实现,而是进行新噬菌体的组装,并从宿主细胞释放,完成溶菌途径。

②  $\lambda$  噬菌体发育中 *N*、*Q* 蛋白的抗终止作用 *N* 和 *Q* 这两个抗终止基因的产物 *pN* 和 *pQ* 都具有抗终止作用(antitermination),使 RNA 聚合酶越过终止子继续转录,因此又称为抗终止蛋白。在有些操纵子或多顺反子中,常有几个结构基因的末端出现终止子,妨碍多顺反子 mRNA 的转录。于是对于同一操纵子中,结构基因的终止子采用抗终止的方法才能完成多顺反子的转录,并同时实现基因分期转录的目的。在这方面, $\lambda$  噬菌体是一个典型的例子。

为什么 *pN* 和 *pQ* 会有抗终止作用呢?研究表明,抗终止蛋白具有高度的专一性,只作用于带有特定序列的基因。抗终止蛋白识别的专一序列(或称识别位点)一般位于终止子前,总称为抗终止蛋白利用位点(utilization site),*N* 蛋白所作用的位点有 *nut* 和 *nut'*(是指由 *N* 利用的位置),位于  $P_L$  和  $P_R$  下游 60~200 核苷酸处。*Q* 蛋白的作用位点为 *quit* 在晚期启动子  $P_R'$  - 10 和 -35 区之间。它们的结构和终止子一样,呈小茎环状二级结构。

抗终止蛋白并不是在 DNA 上结合这些序列,而是结合到由 DNA 转录出来的包含有 *nut*(或 *quit*) 序列的 RNA 上。当 RNA 聚合酶通过这种位点时,*N* 蛋白或 *Q* 蛋白便与聚合酶结合,并修饰 RNA 聚合酶的构象,使其不受终止子作用的影响,继续转录(图 14-17)。有实验还证明,如果 RNA 聚合酶核心酶的  $\beta$  基因发生突变,则抗终止作用失效。说明抗终止蛋白的抗终止作用与 RNA 聚合酶中的  $\beta$  亚基有关。

## (2) 建立和维持溶源化的基因调控

$\lambda$  噬菌体感染宿主细胞后要进入  $\lambda$  溶源途径同样需要即早期和晚早期的一些基因表达,因为在转录开始时,宿主细胞中没有阻遏物, RNA 聚合酶也不可能在  $P_R$  处启动 *cI* 基因的转录。为建立溶源状态, $\lambda$  DNA 必须整合到宿主染色体上。为此,需要整合酶(integrase),但 *int* 基因的转录起始是受基因表达产物的调控。可见,这样一个溶源化途径也有着的一套紧密相关的基因转录调控系统。

$\lambda$  DNA 进入细胞后,首先转录即早期基因 *N* 和 *cro*, *N* 基因的产物 *pN* 结合于 *nut* 和 *nut'*,使 RNA 聚合酶分别越过终止子  $t_L$  和  $t_{R1}$ ,继续转录 *dIII*、*cII* 和其他基因。*CII* 蛋白是一个转录激活因子,它结合到启动子  $P_i$  上游位点,激活由此启动子开始的 *cI* 基因的转录,产生  $\lambda$  阻遏蛋白,同时激活  $P_i$  启动子,转录 *int* 基因,产生整合酶,使  $\lambda$  DNA 能整合到宿主染色体上。*CIII* 蛋白的功能是用于保护 *CII* 蛋白免受细胞内蛋白酶的分解;如果没有 *CIII* 蛋白,*CII* 就会失去活性。因此,它们常以 *CII* *CIII* 复合蛋白的形式存在。随着  $P_R$  启动 *cI* 转录出的阻遏蛋白大量

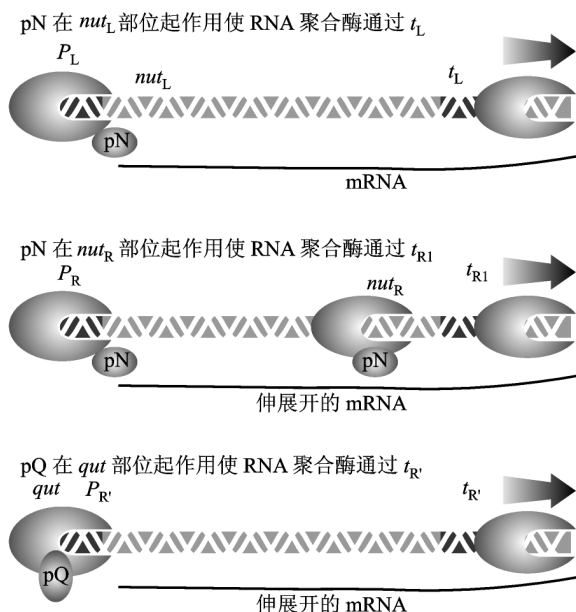


图 14-17 *N* 和 *Q* 终止蛋白的抗终止作用示意图

(引自 Lewin, 2004)

合成,并立即结合到其两侧的操纵序列  $O_L$ 和  $O_R$ 上,阻遏了  $P_L$ 和  $P_R$ 的转录,使得  $N$ 、 $cro$ 、 $cII$ 、 $cIII$ 等调节基因以及复制基因  $O$ 、 $P$ 、溶菌基因  $S$ 、 $R$ ,还有头、尾结构基因的转录都受阻。由此λ噬菌体进入了溶源状态。

$C I$ 阻遏蛋白还是一个正向自体调节因子,促进  $P_M$ 对  $cI$ 基因的转录。一旦溶源建立,原噬菌体依靠启动子  $P_M$ 转录出  $C I$ 蛋白,来维持溶源化。停止由  $P_E$ 启动的  $cI$ 基因转录(图 14-18)。

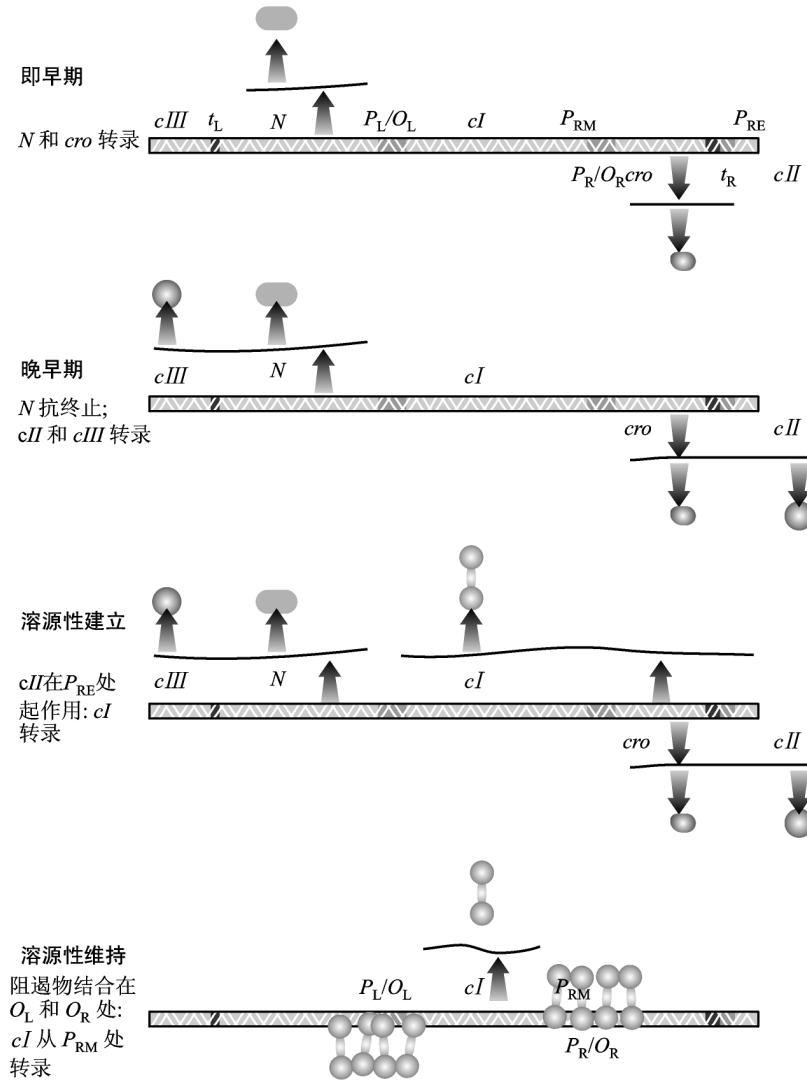


图 14-18 溶源化建立和维持中的基因表达(引自 Lewis 2005)

### (3) 关于 λ 噬菌体的调控模型

有学者根据现有资料,对λ噬菌体生活史中的基因调控提出了一个开关模型。当处于溶源化时期,λ噬菌体以原噬菌体状态存在于宿主染色体上,λ阻遏物与DNA结合处于动态平衡中,占据  $O_{R2}$ 、 $O_{R1}$ 位点,促进了RNA聚合酶与  $P_M$ 结合,启动  $cI$ 基因的转录。另外,也抑制了  $cro$ 启动子转录,从而不利于裂解。当λ噬菌体被诱导,即溶源菌受到紫外线或丝裂霉素C等因素作用后,大肠杆菌的  $recA$ 基因产物被激活,具有蛋白酶活性,将λ阻遏物蛋白肽链第111~112位的氨基酸切断,使之失去活性,并从  $O_{R2}$ 和  $O_{R1}$ 位点脱落下来。这时, RNA聚合酶便可与  $cro$ 基因的启动子结合,使转录转向裂解。在λ噬菌体进入裂解途径的早期,  $Cro$ 蛋白与  $O_{R3}$ 结合,阻止了  $cI$ 基因的表达。同时, RNA聚合酶与  $P_R$ 结合,结果使转录向裂解方向进行。

#### (4) 裂解或溶源化途径的取向和 C I 蛋白与 Cro 蛋白的竞争

从前述有关  $\lambda$  噬菌体在裂解途径和溶源途径中基因表达调控的讨论中,我们已经知道 *cro* 基因的产物 C ro 蛋白是裂解生长必不可少的,而 *cI* 基因产物阻遏物则是溶源途径的关键因子。

$\lambda$  噬菌体侵入宿主后,如果早期基因 *cro* 大量表达,达到一定浓度,并与  $O_{R3}$  和  $O_{L3}$  结合,更高浓度时还可结合于  $O_{R2}$ 、 $O_{L2}$ ,甚至  $O_{R1}$  和  $O_{L1}$ 。于是便会阻断 RNA 聚合酶从  $P_M$  的转录,而开始  $\lambda$  DNA 复制,且由于 N 和 Q 蛋白的抗终止作用,使晚期基因能从  $P_C$  和  $P_R$  继续转录,合成全部晚期 mRNA。

如此归结起来,溶源化和裂解途径的选择实质上是取决于 C ro 蛋白与  $\lambda$  阻遏物竞争占据  $O_R$  和  $O_L$  操纵区的结果。C II 蛋白对这种关系的调整具有重要作用。C II 蛋白激活  $P_C$  合成阻遏物,同时激活  $P_L$  合成 Int 蛋白,有利于建立溶源化。至于 C ro 蛋白则对  $P_C$  和  $P_M$  起阻遏作用,使 C II 和 C III 不可能大量合成,因而不利于溶源化。通常,在感染系数低和适合的碳源及温度条件下,C ro 蛋白显然大于 C II C III,裂解占优势;反之,则溶源化占优势。另外,关于  $\lambda$  阻遏蛋白和 C ro 蛋白竞争的结果,则要看在具体条件下,哪些基因在转录和翻译的时间和频率上占优势,而细胞的许多生理、生化条件都可能对此产生影响。

## 14.4 原核生物基因的翻译调节和蛋白质合成的自身调控

### 14.4.1 翻译调节

一般而言,原核生物的基因表达主要是在转录水平上进行调控。显然,这样更符合生物界的“经济”原则。但是,在 mRNA 被转录出来之后,再从翻译水平予以某些调节可作为转录水平调节的补充,对于基因表达十分重要,能够在一定程度上使个别基因之间的表达程度有所区分。例如, $\lambda$  噬菌体中为后期基因编码的序列长达 26 kb,是作为一个转录单位转录出来的多顺反子 mRNA。然而,这个多顺反子 mRNA 中不同基因编码的蛋白质需用量各异,需要通过翻译进一步调节。

翻译调控的方式是多方面的,如类似于阻遏蛋白结合到 DNA 上阻止了 RNA 聚合酶对启动子的结合那样,阻遏蛋白直接结合到 mRNA 的靶区(含有 AUG 起始密码序列),也会阻遏核糖体结合,妨碍 mRNA 的翻译。此外,mRNA 的寿命和 mRNA 自身的二级结构都可以影响翻译的进行;还有细胞内氨基酸的缺乏也会使蛋白质合成受到抑制。

### 14.4.2 严谨反应

在每个活细胞蛋白质合成中,核糖体直接或间接地控制着一系列酶的合成,因此核糖体在细胞代谢中处于中心地位。当细胞饥饿时,蛋白质合成会骤然下降,细胞中的核糖体数目随之减少,mRNA 和 rRNA 的合成大幅下降(可达 10~20 倍)。这种 rRNA 合成受控于氨基酸饥饿的现象就称为严谨反应(stringent response)或严谨控制(stringent control)。

很久以来,人们在研究大肠杆菌 rRNA 合成的控制中即发现正常的野生型细胞在氨基酸饥饿时,细胞内很快增加一类异常的小分子化合物——鸟苷四磷酸和鸟苷五磷酸(ppGpp 和 pppGpp),其浓度可增加到  $500\mu\text{mol/L}$ ,同时也出现 rRNA 合成的突然停止。最初,对这种细胞的提取物进行双向电泳,在第一向中表现为电泳行为异常,因当时未探明其结构,便称为魔斑(magic spot)。

以后,更多的实验都表明任何一种氨基酸的匮乏或者是任何一种氨酰基 tRNA 合成酶失活的突变都会导致严谨反应。显示出这种反应的触发物是处于核糖体 A 位的无负载 tRNA。当这种无负载 tRNA 进入 A 位后,由于氨基酸缺乏不能形成新肽键,而 GTP 不断消耗,于是出现空转反应(idling reaction),使鸟苷四磷酸和鸟苷五磷酸的合成达到最高水平。说明,在细胞饥饿时,大量 GTP 用于合成

ppGpp和 pppGpp。但如果结合在核糖体 A 位点的无负载 rRNA 被有负荷的 rRNA 替代后,这两种异常核苷酸的合成率便大大下降,并被 spoT 基因编码的酶催化而迅速降解,于是严谨反应逆转。

遗传学实验表明, recA 基因编码一种蛋白质称为严谨因子 (stringent factor, SF) 或称为 ATP-GTP 3 焦磷酸转移酶,它与 ppGpp 的合成有关。在氨基酸短缺的情况下, recA 基因编码的酶催化 GDP 转变为 ppGpp; ppGpp 能够直接与 RNA 聚合酶作用,从而改变 RNA 聚合酶的结构,影响其启动的能力,停止了 RNA 的合成, rRNA 的数量便急剧下降,使核糖体蛋白失去结合对象,核糖体的装配受阻。

鸟苷四磷酸和鸟苷五磷酸是典型的小分子效应物 (effector),具有多种效应。其中最主要的是专一结合于 rRNA 操纵子的启动子上,抑制 rRNA 的转录,从而成为细胞内严谨控制的关键。由于这两种异常核苷酸是在细胞饥饿时合成,使细胞在整个调控网络中作出应急反应。如抑制核糖体和其他大分子的合成;抑制与氨基酸运转无关的转运系统;活化某些氨基酸操纵子的转录表达和蛋白质水解酶等,以期达到节省或开发能源,帮助细胞渡过难关。因此有人就将 ppGpp 这类物质称为报警素 (alarmone)。

### 14.4.3 核糖体蛋白质合成的自身调节

大肠杆菌基因表达装置——核糖体,含有 70 余种蛋白质,其中核糖体蛋白是主要成分,有 50 多种,其余的是聚合酶亚基及其辅助因子。这些蛋白质合成的协同调控才能使细胞与生长条件相适应。有关翻译水平控制最为复杂的例子要算是核糖体蛋白基因的表达调控。

在每个核糖体中核糖体蛋白大都只有一个分子,唯有 L7/L12 是例外,每个核糖体中有 4 个分子。因之,即使在对数生长旺盛的细胞内也没有游离的核糖体蛋白,可见核糖体蛋白的合成是高度协调的。编码这些蛋白质的基因与若干编码辅助蛋白质、RNA 聚合酶亚基的基因混合组编成 6 个操纵子 (表 14-2),各操纵子均以其第一个已知功能的基因命名,其中 str, spc, S10 $\alpha$  这 4 个操纵子排列在一起,其中大约半数以上的基因为核糖体蛋白质编码; rif 和 L11 两个操纵子紧密相连,位于染色体的另一位置。这些操纵子各自含有不同的基因。在大多数情况下,一个操纵子中不同基因的产物并不表现为功能上的相关性,而是在一个更大的整体机构中起作用。另外,各基因表达产物的产量也不尽相

表 14-2 为核糖体蛋白质 RNA 聚合酶亚基以及蛋白质合成辅助因子编码的基因混合编组的操纵子

操纵子	基因及其相应蛋白质(按从启动子开始排列的序列)	调节蛋白
str	<p>npL- npG- fusA- tuA</p> <p>S12 S7 EF- G ER- Tu</p>	S7
spc	<p>npN- npK- npE- npN- npH- npF- npR- npE- npD- npM- SecY- X</p> <p>L14 L24 L5 S14 S8 L6 L18 S5 L30 L15 Y X</p>	S8
S10	<p>npJ- npC- npB- npD- npW- npE- npM npC npQ npP npmC</p> <p>S10 L3 L2 L4 L23 S19 L22 S3 S17 L16 L29</p>	L4
$\alpha$	<p>npM- npK- npD- npA- npQ</p> <p>S13 S11 S4 <math>\alpha</math> L17</p>	S4
L11	<p>npK- npA</p> <p>L11 L1</p>	L1
rif	<p>npI- npL- npB- npC</p> <p>L10 L7/L12 <math>\beta</math> <math>\beta</math></p>	L10

注:每个操纵子中上排为基因符号,下排为其产物;操纵子中的启动子均在左端,受调节的蛋白质都在框线内;带虚线的表示尚未确定受调控的基因。

同,如延伸因子 EF-Tu 在每个细胞中的分子数约为核糖体数的 10 倍;而 RNA 聚合酶的每种亚基数比核糖体数要少一些。由于这些基因是混同编组,这就表明必然存在一种协调机制,使这些需要不同表达量的基因能各得其所。

前述每个操纵子都各有一个自己的调控蛋白,不仅它们本身都是核糖体蛋白质,而且还都是在核糖体中直接与 rRNA 相结合的蛋白质。根据一些实验的分析,这些调控蛋白在 mRNA 上结合的序列与它们同 rRNA 上所结合的序列有很大的同源性,且有形状相似的二级结构;二者都能与起调节作用的核糖体蛋白质相结合,只是对 rRNA 的结合能力大于 mRNA。在一些情况下,蛋白质的贮积常会限制它本身和其他一些基因产物的进一步合成。因此,当细胞内有游离的 rRNA 存在时,新合成的核糖体蛋白就首先与它结合,以启动核糖体的装配,使翻译继续进行;但是只要 rRNA 的合成减少或停止,游离的核糖体蛋白就开始积累,它们就会与自身的 mRNA 结合,阻断自身的翻译。同时也阻断同一顺反子 mRNA 其他核糖体蛋白编码区的翻译(图 14-19),使核糖体蛋白的合成及 rRNA 的合成几乎同时停止。不过 rRNA 的合成是在转录层次上的调节,而核糖体蛋白的合成是在翻译层次上的调控。

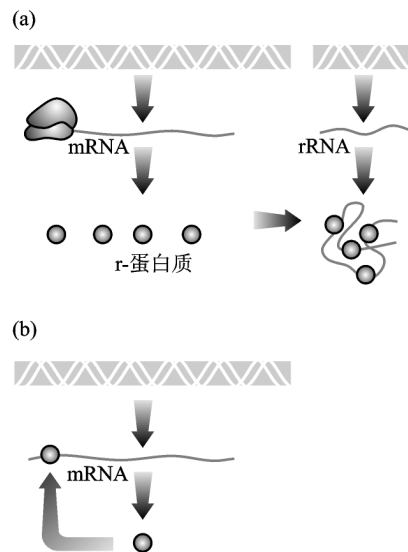


图 14-19 大肠杆菌核糖体蛋白质合成的自身调节  
(a) 存在 rRNA 时,核糖体蛋白质与其结合, mRNA 继续翻译  
(b) 没有 rRNA 时,核糖体蛋白结合于自身 mRNA,阻止翻译

## 14.5 原核生物中小分子 RNA 在基因表达中的调控作用

### 14.5.1 反义 RNA 在基因表达中的调控作用

所谓反义 RNA (antisense RNA) 是指能与所调控的 RNA (或有意义的 RNA) 互补配对,抑制翻译的 RNA 序列。1981 年 Tomizawa 第一次报道了天然反义 RNA 的生物学功能,发现在质粒 DNA 复制时,与引物 RNA 分子互补的 RNA 分子能抑制 DNA 复制。1983 年 Mizuno 和 Simon 等同时发现反义 RNA 的调节作用,揭示了基因表达调节的新机制。

大肠杆菌 Tn10 转座子中转座酶的合成调节是说明反义 RNA 调节基因表达的典型例证之一。Tn10 两端各有一份 IS10 (IS10R 和 IS10L), 转座酶就是由 IS10R 的转座酶基因编码。Tn10 可随机插入大肠杆菌染色体上,这一过程由转座酶催化。靠近 IS10R 末端是两个启动子,它们通过宿主 RNA 聚合酶指导 RNA 的合成。指导 RNA 向内合成的启动子称作  $P_{int}$ , 负责转座酶的转录;而指导向外转录的启动子称为  $P_{out}$ , 通过反义 RNA 来调节转座酶的表达。 $P_{int}$  和  $P_{out}$  转录的方向相反,二者所转录的 RNA 有一段约 36 bp 的重叠区,因此转座产物可以通过碱基配对阻止核糖体结合到  $P_{int}$  启动转录的 RNA 上,也就阻止了转座酶蛋白的合成[图 14-20(a)]。

通过这一机制,细胞内的 Tn10 拷贝数越多,反义 RNA 也会越多,反过来却限制了转座酶基因的表达[图 14-20(b)],以致这个细胞株中的转座效率很低;相反,如果细胞中只有一个 Tn10 拷贝,反义 RNA 水平就会很低,转座酶便可有效地合成,转座发生的频率就会大大增加[图 14-20(c)]。

有关原核生物的研究表明,反义 RNA 作用的基本原理是通过碱基配对与 mRNA 结合,形成二

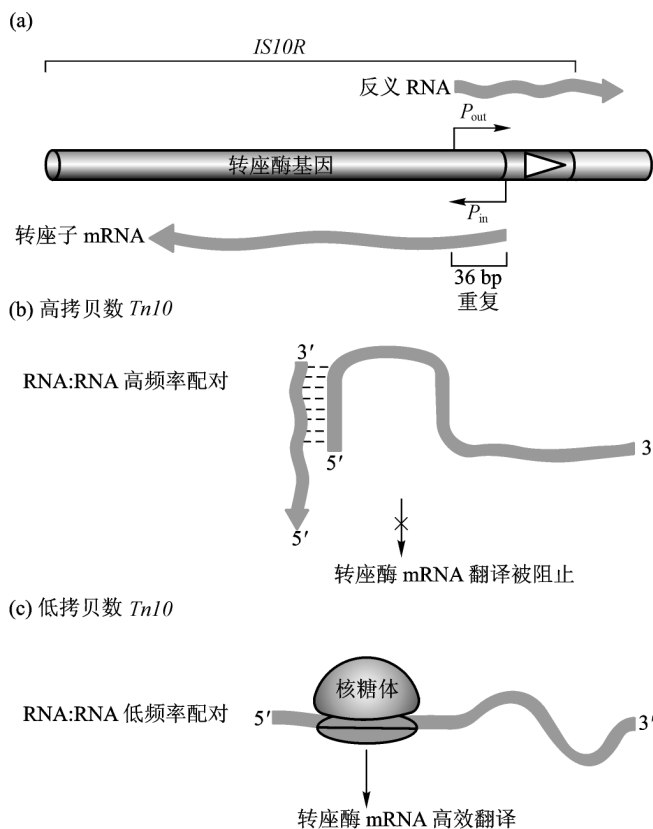


图 14-20 *Tn10* 表达中的反义 RNA 调节  
(引自沃森, 2005)

聚体,从而阻断后者的表达功能。这种作用的可能途径第一是反义 RNA 与 mRNA 的 SD 序列或 / 和编码区互补结合,形成 RNA-RNA 二聚体,使 mRNA 不能与核糖体结合,而阻止了翻译过程;第二是在复制水平上,反义 RNA 则可与引物 RNA 互补结合,抑制 DNA 复制,从而控制着 DNA(如质粒 CoE)的复制频率;第三,在转录水平上,反义 RNA 还可以与 mRNA 5'端互补结合,阻止 mRNA 完整转录。

反义 RNA 的研究具有重要的意义,由于反义 RNA 能高度特异地与 mRNA 结合,抑制特定基因的表达,因此,在基础研究中为基因分析提供了更好的手段,不需改变基因结构就可以分析特定基因在细胞内的功能,从而避免采用对基因进行条件性突变等较为复杂的常规方法。除抑制基因表达外,反义 RNA 还拓宽了原位杂交的应用领域,如利用标记的反义核酸为探针便可较为容易且又特异性地准确进行基因定位和转录水平检测,在 mRNA 加工和转运过程中追踪观察其在核内外的分布,以及进行病毒在细胞内正义和反义的复制与表达的研究。

### 14.5.2 细菌中的 RNA 调节物

阻遏物和激活因子都是反式作用的蛋白质。通常,人们认为基因表达的调控只是通过蛋白质与核酸的相互作用,使结构基因受到阻遏或是处于激活状态。然而,近几年来发现,有些小 RNA 也具有调节基因表达的作用。

和蛋白质调节物一样,小 RNA 调节物是独立合成的一段序列,可以通过碱基间的氢键作用与单链的目标核酸分子形成互补的双螺旋区来影响目标核酸分子的正常活性。其作用机制分两个方面:一是与目标核酸序列形成双螺旋区段,直接阻止蛋白质结合到目标 RNA 单链上,阻断翻译的起始,导致转录终止;或是由于形成双链区而为内切核酸酶创造一个靶位点。二是在目标分子

某一部分形成双链区,使得目标分子的另一部分发生构象变化,间接影响该区段的功能。这种作用机制基本上类似于衰减作用中所形成的二级结构,只是相互作用的区域是处在不同的 RNA 分子上,而不是同一 RNA 序列的不同部分。由此可见,不论直接还是间接地由小 RNA 所介导的调节作用,它们共同的特性都是通过目标序列在二级结构方面的变化来控制其活性。

RNA 调节物与阻遏操纵子的蛋白质不同,它没有变构的属性,不能用改变其识别目标的能力而对其他小分子发生反应。它是用控制其基因的转录作用来发挥作用,或是由于降解 RNA 调节物产量的酶的影响而停止活动。目前在大肠杆菌中已鉴定出约 50 种小分子 RNA,其中有一些是作用于许多目标基因的通用调节物。在通用控制系统中氧化应激(oxidative stress)是一个很好的例子。在这个通用控制系统中小分子 RNA 是一个调节物。当细菌处在活性氧的环境中,就会采用诱导抗氧化剂防御基因来应答。过氧化氢激活转录作用激活因子 OxyR,以此控制几种可诱导基因的表达。这些基因中的 oxyS 编码一个小分子 RNA。

根据相关的实验证明了调控 oxyS 表达的两个突出特点,在正常的条件下,野生型细菌中 oxyS 不表达。但在具有持续活跃 oxyR 基因的突变体细菌中 oxyS 高水平表达,说明它是 oxyR 的激活目标。另外,当细菌暴露于过氧化氢中,很快(约 1 min 内)就会转录出 OxyS RNA,这就进一步证明在氧化胁迫下,细菌被诱导产生一种小分子 RNA,来进行相应的调节。

oxyS RNA 是一条只含有 109 个核苷酸的短小分子,不编码蛋白质,它是一个反式作用调节物,在转录后水平上影响基因表达。它有 10 个以上的目标基因,在有些基因上它激活表达,在另一些基因上它阻遏表达。oxyS 是通过与目标 mRNA 碱基配对机制来行使其阻遏表达的功能。在 OxyS RNA 的二级结构中有 3 个突出的茎-环结构,当与一个目标分子 fhA mRNA 相互作用时,它靠近 3' 端的茎-环正好与 fhA mRNA 起始密码子前方的序列碱基配对,使目标分子翻译受阻(图 14-21)。

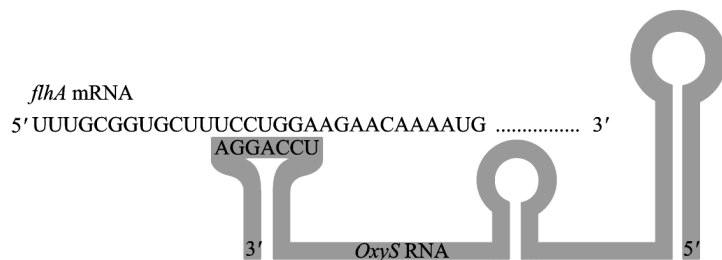


图 14-21 oxyS RNA 抑制 fhA mRNA 翻译示意图  
(引自 Lew 等, 2004)

所有上述几种小 RNA 都利用 RNA 分子伴侣 Hfq 来增强其效应。Hfq 是一种多效蛋白,能与大肠杆菌的许多小 RNA 分子结合。例如,它与 OxyS RNA 结合,通过增强后者与其目标 mRNA 结合的能力来提高 OxyS 的效应。

关于大肠杆菌中小 RNA 调节物的研究,近年已取得不少成果,为在其他生物中探询这类重要的 RNA 调节物提供了范例。

## 思考题

1. 比较正、负调控作用的特点。
2. 在乳糖系统中  $I^-$  对  $I^+$  为正常隐性,而  $I^+$  对  $I^s$  为隐性,为什么?
3. 为什么说在 lac 系统中  $O^c$  突变是顺式作用?
4. 根据下表中所列出的几种二倍体基因型细胞中乳糖操纵子的具体情况,请指出每种情况下的细胞是否能合成相应的产物(用+、-表示),并请说明其原因。

基因型	Z基因		Y基因	
	无诱导物	诱导物	无诱导物	诱导物
1. $\frac{I^- P^- O^c Z^+ Y^+}{I^+ P^+ O^+ Z^- Y^-}$				
2. $\frac{I^+ P^- O^+ Z^+ Y^+}{I^- P^+ O^+ Z^+ Y^-}$				
3. $\frac{I^+ P^+ O^c Z^- Y^+}{I^+ P^- O^+ Z^- Y^-}$				
4. $\frac{I^s P^+ O^+ Z^- Y^-}{I^- P^+ O^c Z^- Y^+}$				

5. 请根据你所学的知识说明在原核生物的代谢调控系统中,哪些是有调节基因参与作用? 哪些是没有调控基因参与作用? 为什么?

6. 色氨酸操纵子调控系统的特点如何? 意义何在?

7. 为什么 $\lambda$ 噬菌体中, CI蛋白与Cro蛋白的竞争,关系到 $\lambda$ 噬菌体两条发育途径的选择?

8. 如何区分顺式与反式作用元件?

9. 在大肠杆菌的乳糖操纵子中,下述基因或位点的作用各如何?

(a) 调节基因 (b) 操纵基因 (c) 启动子 (d) 结构基因 Z (e) 结构基因 Y

10. CAP-cAMP对lac操纵子的效应是正调节,还是负调节? 为什么?

11.  $\lambda$ 噬菌体的N蛋白是一个转录终止子,在 $\lambda$ 调节级差中具有什么作用?