

病毒学集刊

ACTA VIROLOGICA SINICA

中国科学院武汉病毒研究所编辑

3

科学出版社



病毒学集刊编辑委员会

高尚荫(主编)	王鸣歧	司穉东	田 波	田慕贞
朱既明	吴章琦(常编)	芦文钧	周家炽	庞其方
林放涛	张立人	郭辉玉	谢天恩(副主编)	裘维蕃
蔡宜权	廖延雄			

EDITORIAL BOARD OF ACTA VIROLOGICA SINICA

Gao Shang-yin (Editor-in-Chief) Wang Ming-qi Si Zhi-dong Tian Bo
Tian Mu-zhen Zhu Ji-ming Wu Zhang-qi (Managing Editor) Lu Wen-
jun Zhou Jia-chi Pang Qi-fang Lin Fang-tao Zhang Li-ren Guo Hui-yu
Xie Tian-en (Associate Editor) Qiu Wei-fan Cai Yi-quan Liao Yan-xiong

病毒学集刊

ACTA VIROLOGICA SINICA
中国科学院武汉病毒研究所编辑

3

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1983年8月第一版

开本: 787×1092 1/16

1983年8月第一次印刷

印张: 11

印数: 0001—3,620

字数: 250,000

统一书号: 13031·2341

本社书号: 3202·13—9

定价: 1.75元

科技新书目: 53-36

目 录

专 论

λ 噬菌体基因及其功能·····	司稗东 (1)
内源性病毒与正常病毒丛·····	向近敏 (13)

研 究 报 告

鸡传染性支气管炎病毒的研究——病毒的某些理化特性与形态·····	
·····李汉秋 戎宪辉 丁明孝 翟中和 李 平 康春保 艾国光 (25)	
大尺蠖核型多角体病毒的提纯·····	张益民 刘宇兰 曾云添 吴远明 李金照 (35)
噬菌体 T7DNA 和 λ plac5 DNA 对大肠杆菌的转染·····	朱以桂 崔道珊 李金照 (43)
感染口蹄疫 O 型病毒的 BHK-21 细胞表面形态的变化 ·····	何大澄 翟中和 (49)
乙型肝炎表面抗原抗体的微量固相放射免疫检测法·····	
·····俞翠珠 陈慧英 周翊钟 丁红珍 (57)	
棉铃虫 (<i>Heliothis armigera</i>) 核型多角体病毒的生物学特性 ·····	
·····张光裕 张友清 龚汉洲 周春莲 (63)	
棉铃虫 (<i>Heliothis armigera</i>) 核型多角体病毒的形态发生 ·····	
·····张光裕 王学兰 张世敏 龚汉洲 邓海凡 袁 丽 (75)	
中国野鼠 (<i>Apodemus agrarius</i>) 肺抗原同朝鲜出血热特异抗体之间对流免疫沉淀反 应特异性的检定·····	向近敏 宋宝莲 郑志明 杨占秋 蒋文玲 (87)
1978—1979 年湖北地区动物流感病毒分离及血清抗体测定 ·····	罗群明
田慕贞 杨经华 陈顺兰 王素秋 刘可风 宋淑华 李玉胜 朱咸中 (93)	
武汉地区婴幼儿急性呼吸道感染的病原探索·····	
·····韦浩春 田慕贞 董继华 任启文 冯玲玲 李川江 (101)	
昆虫病毒核酸的研究 II. 蓖麻蚕核型多角体病毒 DNA 的特性·····	
·····林栖凤 胡国律 赵克斌 何华钧 赵伟光 严家骥 (107)	
棉铃虫 (<i>Heliothis armigera</i>) 的饲养及其核型多角体病毒的增殖 ·····	
·····张光裕 张友清 葛 珞 单子明 (113)	
痘苗毒种通过一日龄鸡胚选育高感染性毒株及其遗传稳定性的研究·····	
·····杨海门 陈传珍 潘梅芳 祝玉桃 (121)	
大尺蠖核型多角体病毒 DNA 的纯化与特性研究·····	
·····李金照 朱以桂 崔道珊 曾云添 张益民 吴远明 刘宇兰 汤显春 (129)	

简 报

- HSV-2 抗原对宫颈癌患者周围血白细胞的粘附抑制试验
.....冯珏孙 刘汉燕 张江虹 向近敏 (137)
- 家蚕核型多角体病毒 DNA 的限制性内切酶 EcoRI 和 BamHI 酶解分析
.....马延高 陈蔚梅 燕小安 卢文筠 (141)
- 旋转曝光技术在 T4 超微结构上的应用
.....何能波 薛汉煌 陈见璋 卢汉逵 苏淑卿 林彩婵 (149)
- 松茸毒蛾核多角体病毒病的初步研究.....
.....苏 星 戴冠群 仪向东 石木标 冼炳才 邓常发 易观路 洪道常 (153)
- 棉铃虫核型多角体病毒攻毒某些动物的血清学检查.....黄文林 张光裕 (159)

学 术 交 流

- 巴尔蒂莫 (Baltimore, D.) 教授关于当代病毒学研究报告提纲吴章琦译 (165)

ACTA VIROLOGICA SINICA NO.3

CONTENTS

MONOGRAPH

- Genes and Gene Function in Bacteriophage Lambda Si Zhi-dong (1)
The Endogenous Virus and The Normal Viral Flora Hsiang Chin-min (13)

RESEARCH PAPERS

- Studies on the Avian Infectious Bronchitis Virus (IBV) Morphological and Physico-chemical Properties Li Han-qiu Rong Xian-hui
Ding Min-xiao Zhai Zhong-he Li Pin Kang Chun-bao Ai Guo-guang (32)
Purification of a Nuclear Polyhedrosis Virus from *Buzura suppressaria*
..... Zhang Yi-min Liu Yu-lan Zeng Yun-tian Wu Yuan-ming Li Jin-zhao (42)
Transfection of T7 DNA and λ plac 5 DNA to *E. coli*
..... Zhu Yi-kui Cui Dao-san Li Jin-zhao (48)
A SEM Study on the Surface Morphology of BHK-21 Cells Infected with FMDV
..... He Da-cheng Zhai Zhong-he (55)
Micro-Solid Phase Radioimmunoassay for the Detection of Hepatitis B Surface
Antigen and Antibody
..... Yu Cui-zhu Chen Hui-ying Zhou Ti-zhong Ding Hong-zhen (62)
Biological Properties of the Nuclear-Polyhedrosis Virus of the Cotton Bollworm,
Heliothis armigera
..... Zhang Guang-yu Zhang You-qing Gong Han-zhou Zhou Chun-lian (73)
Morphogenesis of the Nuclear-Polyhedrosis Virus of the Cotton Bollworm, *Helio-*
this armigera Zhang Guang-yu
Wang Xue-lan Zhang Shi-min Gong Han-zhou Deng Hai-fan Yuan Li (85)
Demonstration of *Apodemus agrarius* Lung Antigen Showing Specificity against
Korea Hemorrhagic Fever Viral Specific Antibody by the Method of Coun-
terelectrophoresis Hsiang
Chin-min Chu Bao-lean Tseng Tze-ming Yang Zan-chou Jiang Wen-ling (92)
The Isolation and Serological Survey of Influenza Virus from Animals in Hubei
..... Luo Qun-ming Tian Mu-zhen Young Jiong-hua Chen Shun-lan
Li Yu-shen Wang Su-qiu Liu Ke-feng Song Shu-hua Zhu Xian-zhon (99)
A Study of Virus Etiology of Infantile and Early Child's Acute Respiratory
Disease in Wuhan
..... Wei Hao-chun Tian Mu-zhen Dong Ji-hua Ren Qi-wen Feng Lin-lin (106)
Studies on the Nucleic acids of Insect Viruses II. Characterization of DNA Isolated

- from Nuclear Polyhedrosis Virus of *Attacus ricini* Lin
 Xi-feng Hu Guo-lu Zhao Ke-bin He Hua-jun Zhao Wei-guang Yan Jia-qi (111)
- Rearing of *Heliothis armigera* and Propagation of Its Nuclear-Polyhedrosis Virus
 Zhang Guang-yu Zhang You-ying Quo Luo Dan Zi-ming (120)
- A Study on the Selection of Hyperattenuated Vaccinia Virus Strains by Means of
 One-Day-Old Chick-embryo Passage and Their Stability of Genetic Characters
 Yang Hong-fei Chen Chuan-zhen Pan Mei-fang Zhu Yu-tao (127)
- The Purification and Characterization of DNA Isolated from *Buzura suppressaria*
 Nuclear Polyhedrosis Virus Li Jin-zhao Zhu Yi-gui Chui Dao-shan
 Zeng Yun-tian Zhang Yi-min Wu Yuan-ming Liu Yu-lan Tang Xian-chun (135)

SHORT COMMUNICATIONS

- LAI Study on the Inhibition of Leukocyte Adherence of Cervical Cancer Patients
 with HSV Antigen
 Feng Jue-sun Liu Han-yan Chang Jiang-hung Hsiang Chin-min (137)
- Analysis of NPV DNA of Silkworm, *Bombyx mori* L. with Endonuclease, BamHI
 and EcoRI Ma Yen-gao Cheng Wei-mei Yan Xiao-an Lu Van-jun (141)
- An Exposure Technique of Rotation and Its Use for the Ultrastructure Studies on
 the Bacteriophage T4 He Neng-bo
 Xue Han-huang Chen Jian-zhang Lu Han-kai Su Shu-ying Lin Cai-chan (149)
- A Preliminary Study on Nuclear Polyhedrosis of the Pine Tussock Moth, *Dasychira*
Axutha Collette Su Xing Tai Guan-qun Yi Xiang-dong
 Shi Mu-biao Xian Bing-chi Deng Chang-fa Yi Guan-lu Hong Dao-chang (153)
- Serological Detection of Some Animals Inoculated with Nuclear Polyhedrosis Virus
 of *Heliothis armigera* Huang Wen-lin Zhang Kuang-yu (159)

ACADEMIC EXCHANGE

- An Outline for a Speech about the Study of Modern Virology by Professor Balti-
 more, D. Wu Zhang-qi (165)

λ 噬菌体基因及其功能

司 穉 东

(中国科学院上海植物生理研究所微生物室, 上海。江苏噬菌体研究室, 南京)

GENES AND GENE FUNCTION IN BACTERIOPHAGE LAMBDA

Si Zhi-dong

(Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica, Shanghai.

Jiangsu Laboratory of Bacteriophages, Nanjing)

温和性噬菌体和细菌溶原性曾引起了很多人的重视, 尤其对大肠杆菌的 λ 噬菌体的研究, 多年来曾成为探讨 DNA 复制、转录、重组、基因表达的调节控制等各方面研究的对象, 积累了丰富的资料。下面仅对 λ 噬菌体基因组的结构功能, 感染进入宿主细胞后, 在裂解和溶原周期中基因的调节和控制, 作一简单介绍。

一、 λ 噬 菌 体

λ 为大肠杆菌的噬菌体, 具有一个直径约 55 毫微米的正 20 面体的头, 经一个连络的颈部结构 (Connector) 与一个没有收缩的尾鞘, 长约 150 毫微米, 粗约 12 毫微米的长尾连接, 尾末端有一个 25×2 毫微米的尾丝。

λ 为温和性噬菌体, 它感染菌细胞后可以发展为两个不同的结局, 引起两种反应: 裂解性反应及溶原性反应。感染的 DNA 经过早期的转录和早期的蛋白质合成后, 病毒可以发展为裂解或溶原两个途径。如果是进入裂解的途径, 则早期蛋白质的合成关闭, 开始晚期的转录, 合成结构蛋白, 复制的 DNA 进入噬菌体头壳, 装配成熟的噬菌体颗粒, 合成溶菌蛋白, 最后细胞裂解, 成熟噬菌体释放, 约 40 分钟左右细胞可以产生 100—200 个噬菌体颗粒。如果是选择了溶原反应的途径, 则上述晚期转录的途径关闭, 通过特异的重组, 环化的 λ DNA 整合嵌入宿主基因组中, 成为前噬菌体, 这个过程称为溶原化。感染的细胞存活下来成为溶原性菌。

λ 噬菌体的基因组为双链线状的 DNA, 分子量为 30.8×10^6 道尔顿, 约相当 46,500 核苷酸对。电镜长度为 17 微米, 横径 0.002 微米, 体积约为 5×10^{-5} 立方微米。如噬菌体头以直径为 0.055 微米 (即 $55\text{m}\mu$) 的球体计, 体积约为 9×10^{-5} 立方微米。因此, DNA 是压缩在头内的^[1]。在噬菌体颗粒中 λ DNA 两 5' 端各为单链, 长为 12 个核苷酸, 并且是互补的末端, 称为粘性末端 (cohesive end) 或成熟末端 (mature end)^[2]。其左链或 I 链 (左向或

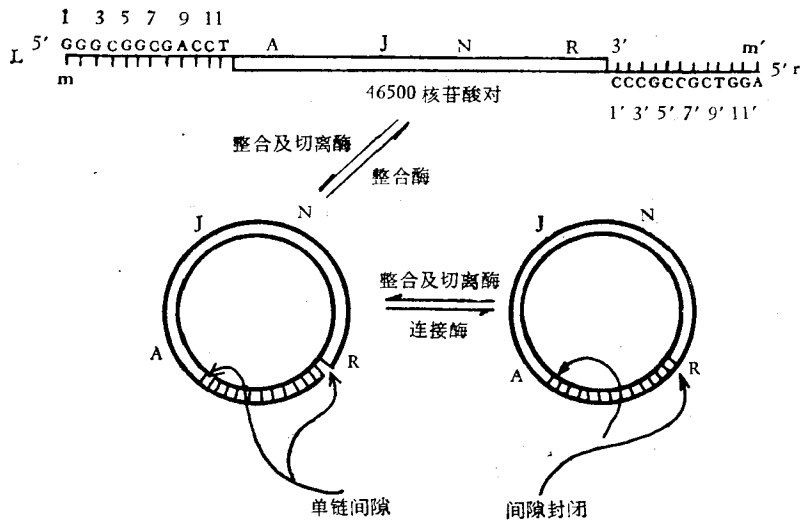


图1 λ DNA 的粘性末端及其环化

反时针方向转录的链)的5'末端,称m末端,末端碱基为鸟嘌呤(G)。右链或r链即右向转录(顺时针方向转录)链的5'末端称m'末端,其末端碱基为腺嘌呤(A)。感染进入宿主细胞的 λ DNA,两端互补链联结成闭环DNA分子,进行复制、转录或整合(见图1)。

二、 λ 噬菌体的基因及其功能

现已知道的 λ 噬菌体的基因及识别位点约有57个。这些基因在成熟的噬菌体颗粒内的染色体上的分布如图2—3^[3]。由于感染进入细胞后,m-m'两末端闭合成环状DNA,因此,两端的基因相邻接(见图4)^[4,6]。经过溶原化过程, λ DNA整合在菌染色体中,成

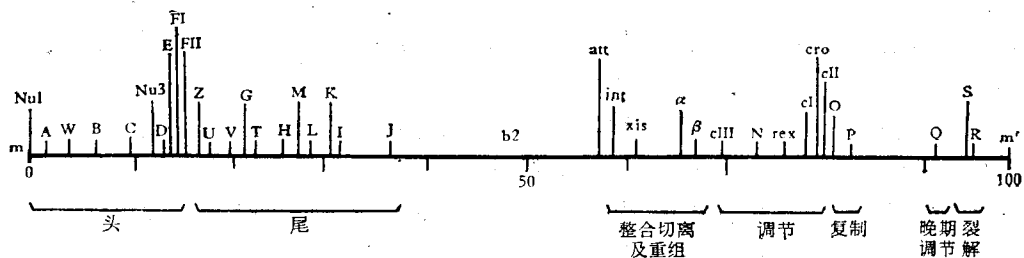


图2 λ 噬菌体的基因图及其主要的基因功能

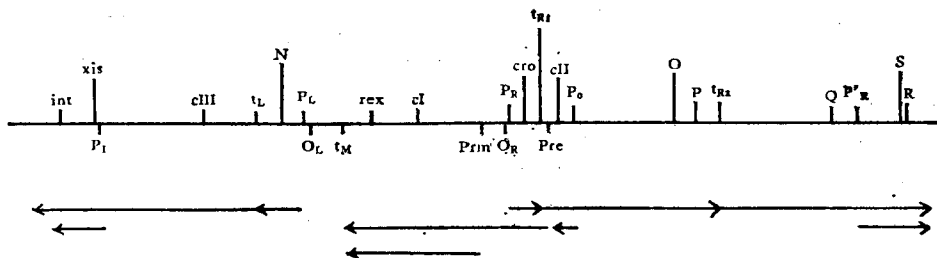
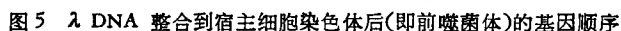
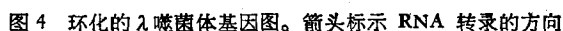


图3 λ 噬菌体基因组右臂各主要的基因、识别位点及RNA转录的方向



λ 基因分布的特点是功能相关的基因聚集成簇, 如构成外壳蛋白的基因 A-J, 与裂解有关的 S, R, DNA 复制的基因 O, P 等都分别聚在一起。这样, 少数的调节功能的蛋白就可控制多数基因, 使调节控制更为简化。再一特点就是基因与其作用的靶位点相靠近, 如 cI, cro 与操纵基因 O_L, O_R, int, xis 与联结点 P·P', DNA 复制基因 O, P 与复制的原始点 ori 都紧密相邻。

• 3 •

裂解基因等。从左端至右端的基因或识别位点名称、顺序及其功能如下:

m 为成熟噬菌体 DNA 分子的左侧粘性末端,即 DNA 1 链 5' 端,伸出的 DNA 单链为 12 个核苷酸,顺序与 m' 相互补。末端碱基为鸟嘌呤 (G)。其位置作为 λ 基因组的 0 位。

Nu1 与 DNA 包装及粘性末端的形成有关。可能激活 A 蛋白。位置为 0/0.5。

A 产物 A 蛋白与 DNA 包装到头壳——Prohead 及粘性末端的形成有关。但在最后完整的噬菌体内并无 A 蛋白组分,即并非完整的头的组成部分。位置为 0.5/4.7。

W 其蛋白修饰充填了 DNA 的头部。位置为 4.7/5.0。

B 其蛋白为外壳的结构组分,B 蛋白分裂衍生的 B^* 蛋白形成头、尾的连接部分(或称颈部)。位置为 5.0/8.3。

C 合成的蛋白为外壳的结构组分。C 蛋白的两个分裂衍生物与基因 **E** 蛋白衍生物组成 x_1 及 x_2 蛋白存在于外壳中。位置为 8.3/11.3。

Nu3 (或 **hP**) 合成与头壳装配有关的蛋白。位置为 11.3/12.3。

D **D** 与 **E** 蛋白为噬菌体头的 2 个主要组分,在 DNA 包装时或包装后嵌合到外壳。位置为 12.3/12.8。

E 编码的蛋白为噬菌体头的主要组分,与 C 蛋白衍生物组合成 x_1 及 x_2 蛋白存在于头壳。位置为 12.8/14.8。

FI 产物与 DNA 的包装及成熟有关。位置为 14.8/15.7。

FII 通常即称为 **F** 基因,蛋白为充填了 DNA 头的结构组分,为与尾结合的中介。位置为 15.7/16.3。

以上为形成有功能的噬菌体头部及 λ DNA 粘性末端所必需的基因。

Z, U, V, G, T, H, M, L, K, I, J 等 11 个基因分布在 16.3 至 39.4 这一区段。为形成噬菌体尾部所必需的基因,或为尾的结构组分或与尾的装配有关。其中 **V** 是编码尾部主要蛋白的基因。**U** 的产物是控制尾部长度的决定因子。**J** 基因编码的蛋白形成尾丝,决定噬菌体吸附的宿主范围,即决定宿主特异性的蛋白,也是引起抗噬菌体血清中和反应的抗原。

b2 如前述,编码的蛋白功能还不知,为不活动的区段。位置为 39.4/57.3。

attP·P' (或 **atta·a'**, **a·a' P·P'**, **attP**, **attPOP'**, **POP' attλ**) 为溶原反应中整合时, λ DNA 与宿主染色体附着和进行特异重组的位点。相应的宿主染色体位点称为 **b·b'** (或 **attb·b'**, **B·B'**, **attB·B'**, **attB**)。噬菌体和宿主的这个位点都有 15 个核苷酸顺序是相同的,称为共同核心 (common core)^[1,7]。因而此位点又分别称为 **POP'** 及 **BOB'** (见后)。其中 **O** 表示共同核心。这个位点的位置在 **b2** 区右侧 57.3 处。

int 为整合基因。其产物整合酶 (integrase) 为 λ DNA 与宿主基因组整合所必需。与切离基因 **xis** 产物一起又是前噬菌体切离所必需。其识别位点为 **P·P'**。位置为 57.4/59.8。

xis 切离基因。其产物 **xis** 蛋白与 **int** 蛋白一起控制前噬菌体的切离 (exision)。位置为 59.8/60.2。

P₁ 为 **int** 基因转录的起动机。受 **cII**, **cIII** 蛋白的正调节。位置为 60.2。

redα (或 **exo**, **redX**) 为重组基因。其蛋白产物 (λ -核酸外切酶) 是作用于双链 DNA

的 5'-核酸外切酶 (5'-exonuclease), 促进一般重组, 并使在 $recA^-$ 及 Feb^- 宿主(如 $polA^-$) 中也能生长, 但干扰在 P2 溶原菌中的生长。位置为 64.7/66.1。

$red\beta$ (或 β , bet , $redB$) 基因产物 β 蛋白与 $red\alpha$ 产物联合作用促进一般重组。其影响 λ 在各不同宿主中的生长与 $red\alpha$ 相似。位置为 66.1/67.8。

gam (或 γ) 调节 DNA 的复制, 产物 γ 蛋白, 抑制宿主编码的 $RecB^-C^-$ 核酸酶。为 DNA 滚环式复制的颞颥物。位置为 67.8/68.7。

kil 使宿主细胞丧失活力, 并抑制细胞分裂。位置为 68.7/69.2。

$cIII$ 建立溶原性 (与 cII 一起), cII 及 $cIII$ 蛋白联合激活由 Pre 及 P_i 起动的 cI , rex 和 int 基因的转录, 起正调节的作用。阻遏裂解、头、尾(可能还有复制)基因的转录。位置为 68.8/70.7。

ral 其产物缓和 K-12 限制性内切酶对未修饰的 λ DNA 的限制作用, 位置为 70.7/71.6。

t_L 为终止位点。受终止因子 ρ (ρ) 作用, 终止从 P_L 开始的早早期转录 (左向 P_L-N-t_L 的转录)。也是基因 N 产物的抗终止作用的位点。位置在 71.8。

N 为噬菌体生长周期中的正调节基因。其产物 N 蛋白消除终止因子 ρ 在 t_L , t_{R1} , t_{R2} 位点上转录的终止作用, 使后早期的重组, 复制及调节诸基因进行转录。位置为 72.5/73.3。

P_L 为左向转录的起动子, 即当生长期的早早期时为 N 基因转录的起动子。也是在 N 蛋白激活后的后早期中重组等基因转录的起动子。在裂解周期的晚期中受 cro 的阻遏。在溶原性维持期中受 cI 的阻遏。 P_L 起动的 RNA 合成的起始点 (s_L) 在此位点之左。 P_L 位置在 73.5 处。

O_L 为左侧由 P_L 开始转录的操纵基因。分为三个各为 17 个核苷酸对的结合位点, 即 O_{L1} , O_{L2} , O_{L3} 。 cI 蛋白及 cro 蛋白与 O_L 结合阻止 RNA 聚合酶的结合和从 P_L 起动的转录。位置为 73.5/73.6。

t_M 为在溶原性建立和维持期间 cI 及 rex 基因由 Pre 及 Prm 开始的转录的终止位点。位置在 74.2。

rex 基因产物限制并不相关的大肠菌噬菌体如 T4rII, T51r 突变株在 λ 溶原菌细胞的生长。位置为 74.2/75.9。

cI 编码 λ 阻遏体蛋白的基因。阻遏体以 2 聚体或 4 聚体与 O_L 及 O_R 操纵基因结合, 阻遏由 P_L , P_R 起动子开始的转录, 保持细菌的溶原性。为负调节基因。 cI 蛋白也调节 cI 及 rex 基因从 Prm 起动的转录, 在低浓度时起正调节的作用, 高浓度时则起负调节的作用。位置为 76.9/78.4。

Prm (或 P_M , P_C , Prm) 为溶原性维持期间 cI 及 rex 基因转录的起动子, cI 及 cro 蛋白结合于 O_R , 而对其转录起调节作用。位置为 78.4。

O_R 为右侧由 P_R 及 Prm 开始转录的操纵基因。分为三个各 17 个核苷酸对的结合位点, 即 O_{R1} , O_{R2} , O_{R3} 。如 cI 及 cro 蛋白结合于 O_{R1} 及 O_{R2} , 则阻止 RNA 聚合酶的结合, 从而阻止由 P_R 开始的右向转录。 cI 蛋白结合于 O_{R1} (和/或 O_{R2}) 则增强由 Prm 的转录。而 cI 及 cro 蛋白结合于 O_{R3} 则阻止由 Prm 开始的转录。 cI 蛋白与 O_{R1} , O_{R2} 亲合大于 O_{R3} , 因此, 在较低量时总应是优先与 O_{R1} (和/或 O_{R2}) 结合。位置为 78.4/78.5。

P_R 为右向转录的启动子。在早早期启动 *cro* (有限度的 *cII*, *O*, *P*) 基因的转录, 及经 *N* 蛋白激活后的后早期经 *cro* 基因继续向前的转录。在裂解反应的晚期被 *cro* 所阻遏。在溶原性维持期间被 *cI* 蛋白所阻遏。位置为 78.5。

cro (或 *tof*, *fed*, *Ai*, *ai*) 编码的 *cro* 蛋白以二聚体与 O_L 及 O_R 结合, 阻遏由 P_L , P_R 及 P_{rm} 的转录, 包括基因 *N*, *cI*, *rex*, 也包括 *cro* 本身的转录, 因此, 其产物也称第二 λ 阻遏体, 为负调节基因。*cI* 蛋白促动 P_{rm} 的转录 (较低量只结合于 O_{R1} 或 O_{R2} 时), 而 *cro* 则相反, 减低由 P_{rm} 启动的 *cI* 的表达。位置为 78.6/79.0。

P_{re} (P_E , P'_C , P_{re}) 为溶原性建立期间 *cI* (及 *rex*) 转录的启动子。受 *cII*, *cIII* 蛋白的正调节。位置在 79.2。

cII 与基因 *cIII* 一起为建立溶原性所必需。*cII*, *cIII* 蛋白激活由 P_{re} 及由 P_I 启动子开始的 *cI*, *rex* 及 *int* 基因的转录, 并阻抑裂解, 头、尾 (可能还有复制) 基因的转录。位置为 79.2/78.8。

P_O 为左向转录的 4S RNA (或 “oop” RNA) 的启动子。此核酸为 81 个碱基的 RNA, 可能是 λ DNA 复制的引物 (Primer) 也是溶原性建立时的另一个启动子^[8]。位置为 79.9。

O 与基因 *P* 同为 λ DNA 早期复制的开始所必需。对增殖期的复制也是必需的。位置为 79.9/81.9。

ori 为 DNA 复制的起始位点, 需 *O*, *P* 蛋白的促动。位置为 80.9。

P 与基因 *O* 同为 λ DNA 复制所必需。位置为 81.9/83.3。

t_{R2} 与 t_{R1} 相似均为依赖 ρ 因子的终止位点。为由 P_R 开始的早早期 RNA 转录在 t_{R1} 之后又一终止位点。*N* 蛋白可消除在此等位点上转录的终止。位置为 83.3。

Q 噬菌体裂解周期晚期的正调节基因。产物 *Q* 蛋白促进由 P'_R 开始的晚期转录, 包括裂解, 头、尾诸基因。位置为 90.8/92.1。

P'_R (或 P_Q) 为控制晚期转录的启动子, 包括头、尾及裂解诸基因的转录, 受 *Q* 蛋白的正调节作用。位置为 93.1。

S 与基因 *R* 一起是细胞裂解所必需。*S* 蛋白可能影响细胞功能或直接影响细胞膜, 使易于裂解, *S*⁻突变株则可积累大量的细胞内噬菌体。位置为 93.1/93.9。

R 与基因 *S*⁻ 一起为细胞裂解基因。*R* 基因编码 λ 内溶素, 为一种肽链内切酶 (endopeptidase), 水解细胞壁的胞壁质 (murein) 中二氨基庚二酸与 D-丙氨酸残基间的氨基-羧基交联链 (amino-carboxyl crosslink)。位置为 93.9/95.0。

m' 为成熟的噬菌体 DNA 分子的右侧粘性末端, 即 DNA *r* 链 5' 端伸出的 12 个核苷酸 DNA 单链, 顺序与 *m* 相互补, 末端碱基为腺嘌呤 (A)。其位置作为 λ 基因组的 100 位点。

三、裂解反应中基因的表现及其调节

λ 感染后按各基因的功能表现, 或其信息的转录可分三类或三个阶段, 如前述即早早期, 早期 (或后早期) 及晚期 (late stage)^[9,10]。

早早期开始的转录, 一是由 P_L 开始的 *l* 链转录, 一是由 P_R 开始的 *r* 链转录。转录是

借宿主细胞的 RNA 聚合酶进行,此时合成的产物为 N 蛋白及 cro 蛋白,和少量的 cII 及 O、P 产物。N 是正调节基因。其产物 N 蛋白为 ρ 因子(终止因子)的专一对抗物。没有 N 蛋白时 mRNA 的合成从 P_L, P_R 两个起动力开始,左到 t_L , 右到 t_R , 即终止,即只转录 12S 的 N 及 7S 的 cro 的信息。所以 N 是一个很重要的基因。当 N 蛋白合成后,终止因子 ρ 的作用受到阻碍,即开始后早期的转录。此时左右早期操纵子经过 N 及 cro 基因继续向前转录,包括 DNA 复制基因 O, P, 晚期正调节基因 Q 等裂解反应所需的基因,以及调节基因 cII 及 cIII, 整合基因 int 等溶原化所需的基因。同时 N 及 cro 继续转录和翻译。此时可以进入两个途径,或者是发展成裂解或者发展为溶原反应。如果 cro 蛋白阻断了后早期基因的转录,包括 cII, cIII, cII 及 cIII 蛋白很快耗竭,不能促动 cI 转录的开始,而合成的 Q 蛋白激活 P'_R 起动力,因而开始晚期操纵子的转录,包括头、尾基因 A-J, 裂解基因 S, R, 乃合成噬菌体结构蛋白,经装配、成熟并引起细胞的裂解,释放得到新一代的噬菌体。cro 基因对这一途径的发展,晚期基因功能的表达起调节作用。

四、 λ 基因组的整合、溶原性建立和维持的基因调节和控制

噬菌体感染后,如果是进入溶原状态时,噬菌体不增殖,其基因组整合到宿主染色体中,成为前噬菌体。前噬菌体与细胞染色体一起复制,并传给子代细胞。溶原性反应包括两个内容,一是发生一次位点特异的重组事件, λ DNA 嵌入到宿主基因组中,即发生整合。一是 λ 基因组不进入生长(裂解)周期,呈阻遏状态。两个内容是独立的受不同的基因控制,又受相同基因产物的调节。但其产物都是在后早期时转录合成的。

(一) λ 基因组的整合

整合是按 Campbell 的方式进行的。首先 λ 基因组环化成闭环 DNA, 然后整合到细胞染色体中,此时需要整合基因 int 合成的整合酶。int 转录的起动力 P_i 受 cII 及 cIII 产物的正调节,因此,应是在后早期转录合成的。整合是在噬菌体基因组的特异位点 $P \cdot P'$ (或 attPOP') 与菌染色体的相应位点 $B \cdot B'$ (或 attBOB') 间发生重组。attPOP' 位于 int 基因的左邻,因此,整合后 λ 基因的排列次序与成熟的 λ 及环化的 λ 基因组上基因次序不同。前噬菌体与菌染色体间连结点,左侧(attL)为 BOP', 右侧(attR)为 POB'。左侧与宿主菌基因 gal, chlD-pgl 相邻,右侧与宿主菌 bio-uvr 相邻。当 cI 阻遏体失活或其水平不足以保持阻遏的作用时(如受到诱导作用时),左右两侧的早期操纵子就开始转录,得到 int 及 xis 蛋白,在其共同作用下以与整合时相反的方向,前噬菌体由连接位点 att BOP' 及 att POB' 切离,并成环状的 λ DNA, 以感染进入细胞时相同的步骤可又进入生长裂解的周期,噬菌体增殖,细胞裂解。如果切离的噬菌体基因组未进行复制,经细胞分裂后,乃稀释失去,这种现象称为治愈或复愈(cure)。失去了前噬菌体的菌株称为复愈菌株,此时菌株又恢复溶原化前菌株的性状(见图 6)。

近年来对 λ DNA 的整合与切离的位点进行了重要的研究。这个位点及发生特异性重组区域的 DNA 的核苷酸序列已经确定。发现在 λ att POP', 前噬菌体两侧的 BOP' 及 POB', 和宿主菌 BOB' 等 4 个连接位点,都有一相同的称为共同核心的 15 个核苷酸序列(见图 7)。认为整合重组的交换事件必应发生在这个共同核心的序列的范围之内或者在

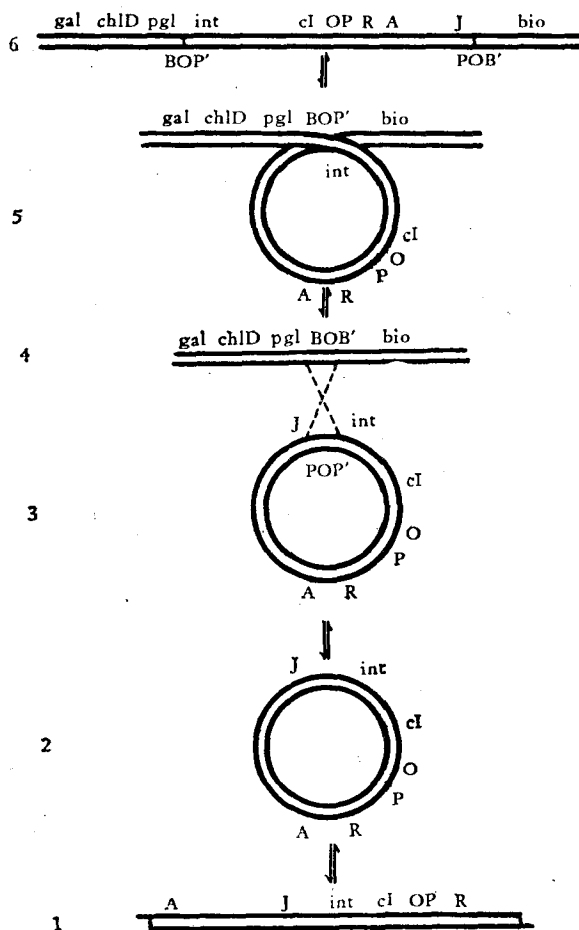


图6 λ 噬菌体整合到宿主菌染色体的过程。1. 成熟噬菌体的基因组, DNA 为线状, 两端为粘性末端; 2. 在细胞内成环状 DNA 分子, 单链间隙有待闭合; 3. 间隙封闭后的环状 DNA; 4. 宿主菌细胞的染色体, 附着的特异位点 BOB' 与 POP' 间进行特异的重组; 5. 整合; 6. 整合到染色体中的前噬菌体

其边缘上, 因为与这个核心连接的左右两侧的核苷核序列都没有改变。而且这个反应可能是通过每个重组的连接点的两条链中的交错开的切口的方式而进行的。

(二) 溶原性建立的基因调节与控制

cI 为负调节基因, 产物 cI 蛋白即阻遏体。当 λ DNA 进入一个敏感的菌细胞, 即没有阻遏体的非溶原细胞后, 如前述, 经早早期的转录产生了 N 蛋白, N 蛋白在 t_L 及 t_{R1} 位点消除了 P 因子在此二位点的终止作用, 进入后早期的转录。左向及右向转录子分别经过 N 及 cro 继续转录, 并得到 cIII 及 cII 蛋白。此二蛋白激活 cI (及 rex) 基因转录的启动子 Pre。cII, cIII 产物也阻遏裂解、头、尾基因, 可能还有复制基因的转录, 阻止 λ DNA 不进入裂解周期。由 Pre 启动 cI 的转录和 cI 蛋白合成后, 与 cI 左右两侧的操纵基因 O_L , O_R 结合, 使两侧的转录不能进行。这样使几乎 λ 全部基因不能表现, 而呈阻遏状态, 因此, 噬菌体

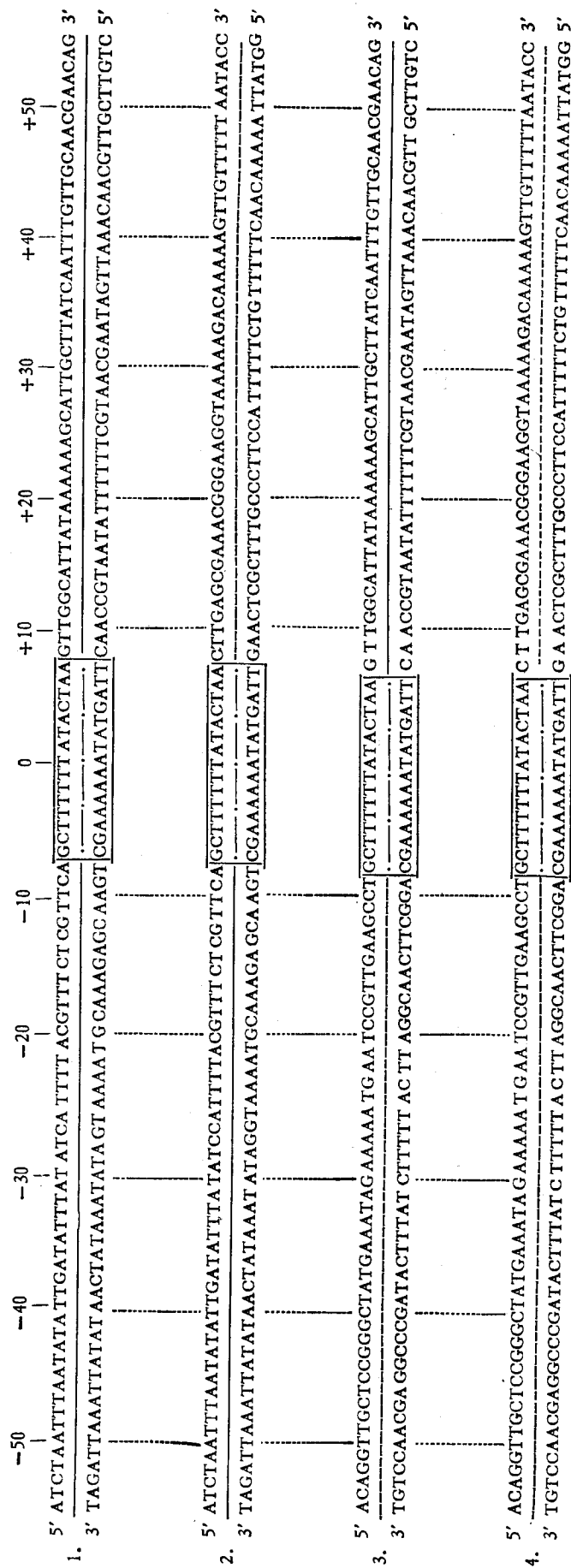


图7 λ 噬菌体、前噬菌体及宿主染色体的 att 位点共同核心的核苷酸顺序。直线为噬菌体及前噬菌体 DNA (P 及 P'), 点线为宿主染色体 DNA (B 及 B') 断线为共同核心。

1. attP (POB'); 2. attR (POB'); 3. attL (BOB'); 4. attB (BOB').

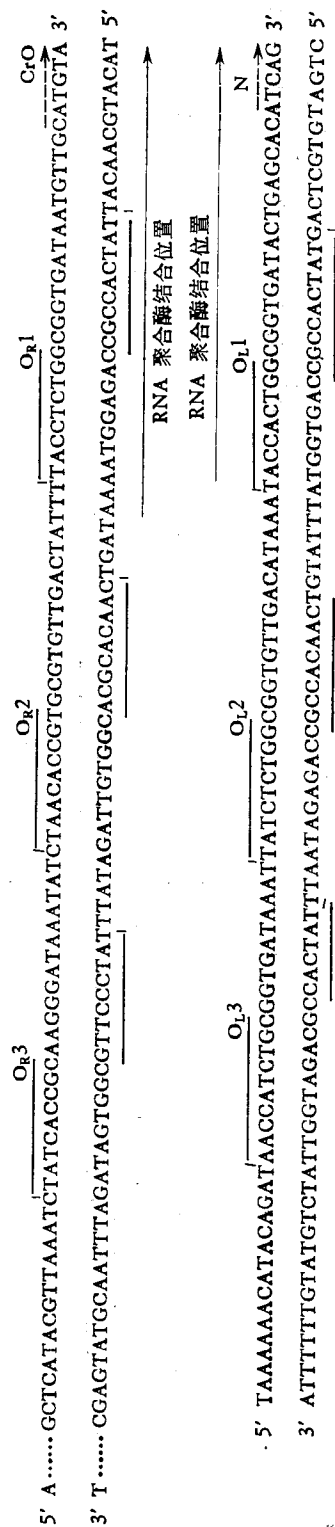


图 8 λ 噬菌体左右操纵基因 (O_L , O_R) 的核苷酸顺序

不进入生长周期而成前噬菌体状态,溶原性得以建立。在建立溶原性中,发现 cI 转录的另一个起源,即 cI 基因的转录也是 oop RNA 转录的扩延,其启动子为 P_o 。

(三) 维持溶原性的基因调节与控制

由于 cI 蛋白由 P_{re} 以及 P_o 开始转录合成后,建立了溶原状态,但 cI 蛋白与 O_L , O_R 操纵基因结合,也阻止了 cII , $cIII$ 蛋白的合成,而 cII , $cIII$ 为 P_{re} 的正调节基因,因此,溶原性建立后由 P_{re} 开始的 cI 的转录也就终止。 P_o 起动的 oop RNA 到 cI 转录的扩延也需要 cII , $cIII$ 的功能,也应因此而终止。但 cI 的转录还有另一个启动子 P_{rm} ,它在 cI 与 O_R 之间,如前述,它是受 cI 蛋白本身的调节的,即阻遏体水平高时起负调节的作用,水平低时起正调节的作用。因此,由 P_{rm} 启动合成的阻遏体较由 P_{re} 转录合成的速度低,但可在溶原性菌细胞中保持一定活性水平,而维持溶原性的稳定。

(四) 阻遏体在细胞内的作用

cI 阻遏体为分子量 26,000 道尔顿的蛋白分子,它以二聚体或四聚体与左右两侧的操纵基因 O_L 及 O_R 相结合,而左右两侧的启动子 (P_L , P_R) 和 O_L , O_R 有部分的重叠,阻遏体与 O_L , O_R 的结合阻碍了 RNA 聚合酶与 P_L , P_R 的结合,从而阻止了由两侧早期操纵子的转录和其他所有基因功能的表现。现知两侧操纵基因的碱基顺序是很有对称相似之处,每侧各有三个与阻遏体结合的位点(见图 8)^[1,10,11],每个位点均为 17 个碱基对,分别从左右外侧向内称为 O_L1 , O_L2 , O_L3 及 O_R1 , O_R2 , O_R3 。每个位点间由 3—7 个或者全部或者几乎由全部 AT 碱基对的“间隔”所分开。17 个碱基对的顺序是阻遏体识别的位点,发现在 O_L1 , O_L2 , O_R1 , O_R2 结合位点中的碱基顺序发生改变时,都降低对阻遏体的亲合性。结合位点的 17 个碱基顺序呈局部内对称性 (partial internal symmetry)。比较对称位点的半位点顺序 (half-site sequence),即相对链的相对位点。从相对的两端向中央沿 5'—3' 方向读其顺序,发现有相当规律的对称。某些位置的碱基有改变,将影响与阻遏体的亲合性,而最有利的顺序是 TA TCACCGC (或与此很接近顺序)。以右侧操纵基因为例,阻遏体产生后,首先与 O_R1 , O_R2 结合,由于 O_R1 , O_R2 均与阻遏体结合,而与其部分重叠的启动子 (P_R) 乃不能与 RNA 聚合酶结合,即不能向右开始 cro 基因的转录。而转录 cI 的另一起动子 P_{rm} 正在 O_R3 的左边,除非 O_R3 也被阻遏体结合才能阻止 cI 的转录,亦即大量的阻遏体可关闭 cro 及 cI 的转录,而少量的阻遏体则只关闭 cro 的转录。另方面小量的阻遏体对其本身基因的转录呈正调节作用。这样就可对溶原性反应与裂解性反应间的选择有了进一步的认识。

RNA 聚合酶与 λ DNA 结合的能力受紧靠结合位点外侧的碱基顺序的完整性所影响,例如 O_R2 左侧的 CG 碱基对的突变,则使聚合酶转录 cI 基因成为不可能,同样在 O_L1 与 O_L2 间的 CG 对的突变,也阻止 N 的转录。而 O_R2 右侧的 CG 对的突变相信会影响 cro 的转录。

以上,简短的介绍了 λ 噬菌体的基因及基因功能,和裂解与建立及维持溶原状态时基因调节和控制。显然这些遗传学基础的研究对遗传工程的研究也是重要的。遗传工程的研究中做为基因的载体,就非常需要对其遗传结构和功能等有清楚的了解,以便利用和改造。 λ 噬菌体在细胞中除上述裂解和溶原两种情况,即营养状态和前噬菌体状态外,