

A GENETIC SWITCH
Phage Lambda Revisited

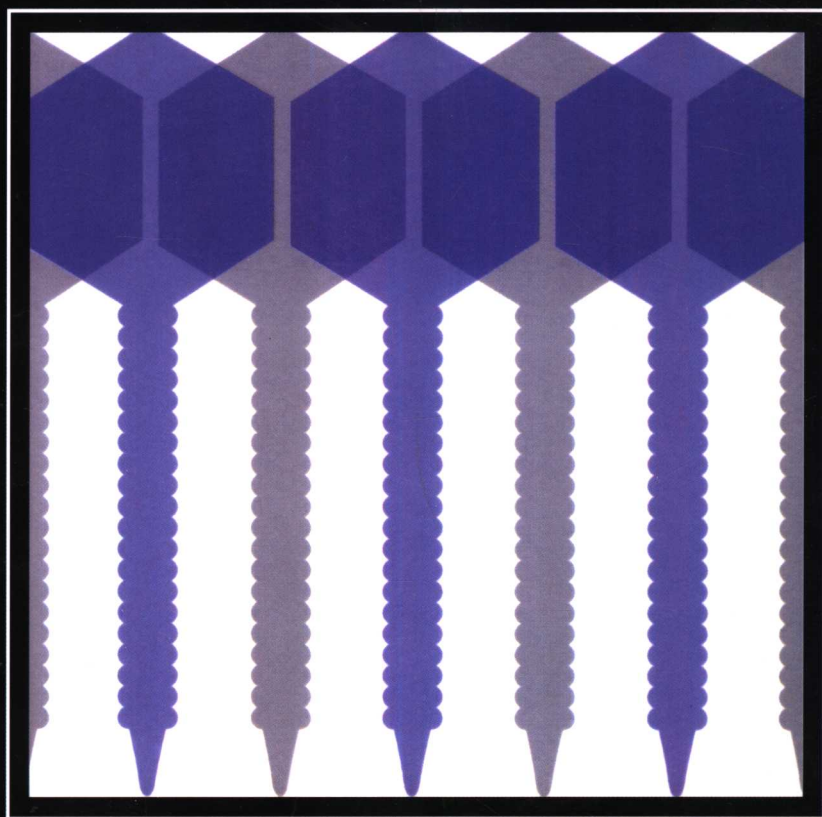
基因开关

——再访 λ 噬菌体

[美] M. 普塔什尼(Mark Ptashne) 编

孙超 彭学贤 译 刘景生 审校

(原著第3版)



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

A GENETIC SWITCH

Phage Lambda Revisited

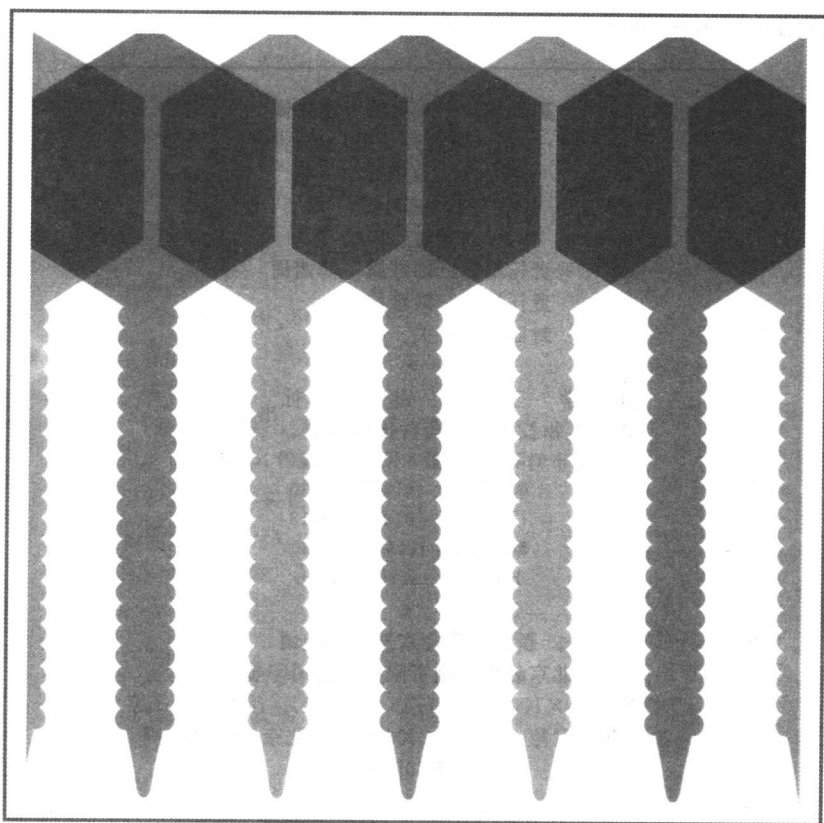
基因开关

——再访 λ 噬菌体

[美] M. 普塔什尼(Mark Ptashne) 编

孙超 彭学贤 译 刘景生 审校

(原著第3版)



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

基因开关——再访 λ 噬菌体: 第 3 版/[美] 普塔什尼 (Ptashne, M.) 编; 孙超, 彭学贤译. —北京: 化学工业出版社, 2006.6

书名原文: A Genetic Switch: Phage Lambda Revisited

ISBN 7-5025-9038-2

I. 基… II. ①普…②孙…③彭… III. 噬菌体
IV. Q939.48

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 071087 号

A Genetic Switch: Phage Lambda Revisited, 3rd Edition/by Mark Ptashne

ISBN 0-87969-716-4

Copyright©2004 by Cold Spring Harbor Laboratory Press. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by Cold Spring Harbor Laboratory Press

本书中文简体字版由 Cold Spring Harbor Laboratory 出版公司授权化学工业出版社独家出版发行。未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2004-6130

基因开关——再访 λ 噬菌体

(原著第 3 版)

[美] M. 普塔什尼 编

孙超 彭学贤 译

刘景生 审校

责任编辑: 郎红旗 傅四周

责任校对: 洪雅姝

封面设计: 关飞

*

化学工业出版社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印装

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 11 字数 150 千字

2006 年 9 月第 1 版 2006 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-9038-2

定价: 25.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

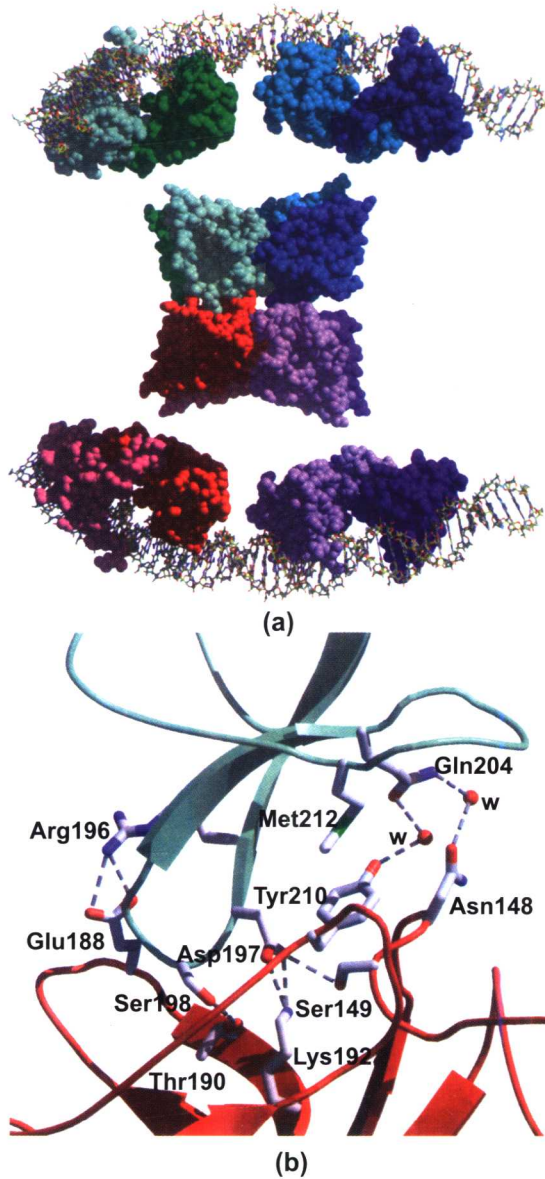


图5-9 (a) 阻抑物八聚体和DNA。中心的结构是八聚体的8个羧基端结构域。氨基端结构域结合于DNA。在实际的结构中, 氨基端和羧基端结构域是连续的。(b) 八聚体的表面。绿色和红色蛋白片段对应图5-8和图5-10中的浅黑和深黑色区域。注意在遗传学和结构分析中广泛的对应性:如图5-12中所描述, 除了一个残基外, 在此处标记的其他每一个残基都在已分离到的协同性突变体的其中一个上发生了改变。协同性突变的另外3个位点 (Phe202、Gly147和Gly199) 存在于或靠近于被描述的表面。像显示的那样, Gln204与它的对应残基 (Tyr210和Asn148) 的相互作用由水分子介导 (参考文献:Beamer和Pabo 1992; Bell和Lewis 2001) (图像用BobScript、MolScript和Raster3D完成)

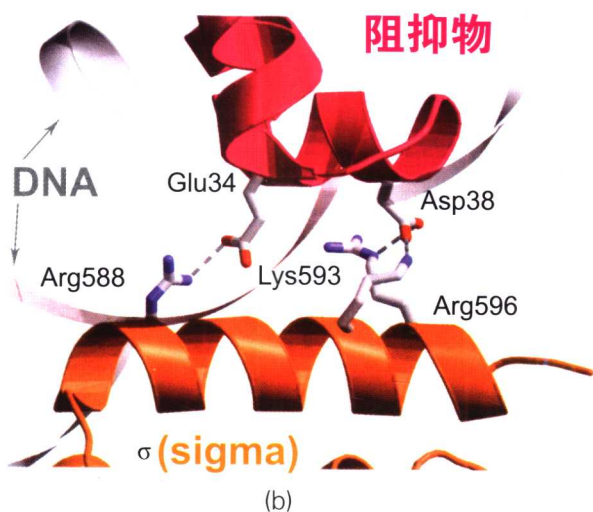
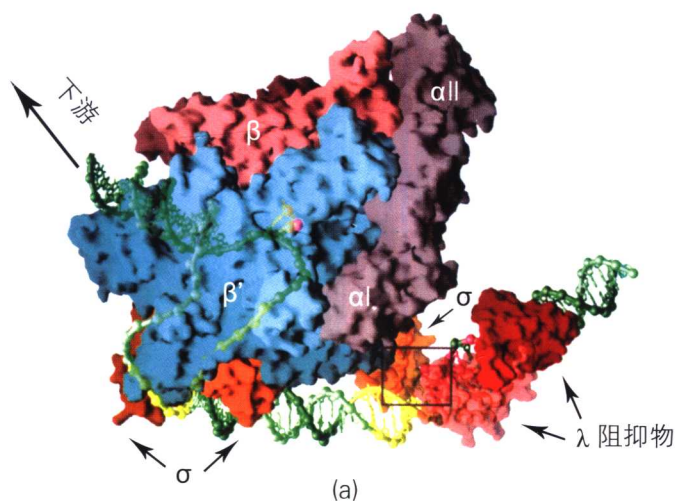


图5-15 (a) 阻抑物 (氨基端结构域)-聚合酶-启动子复合物。这个模型通过结合两个蛋白质-DNA的晶体结构建立起来。第1个有结合于强操纵基因位点 O_L1 的阻抑物 (氨基端结构域) 和结合于相邻的启动子-35区域的 σ 片段 (区域4)。第2个是结合于启动子的完整的RNA聚合酶。聚合酶和 α 片段从细菌 *Thermus aquaticus* 中分离得到, 非常类似于相应的大肠杆菌蛋白。在以前图形中绘制的松散连接的 α -CTD, 在这些结构中不能看到。 ω 亚基藏于 α 亚基的后面。(b) A部分的结构中, 阻抑物和 σ 70 之间的相互作用。参与形成这种蛋白-蛋白之间相互作用的5个残基仅覆盖了大约 $342\text{\AA}^2$ (即 3.42nm^2) 的表面区域。除了显示由阻抑物Glu34和Asp38形成的主要接触, 结构可能至少解释了图5-14中增加激活区域强度的一些替换。例如, 代替阻抑物Lys39的Glu可能与 σ 的Arg596有另外的接触。这里没有显示由 σ 的Arg588形成的额外接触: Arg588接触 σ 的Glu585, 定位那个残基使之与DNA接触 (参考文献: Jain D等, 2004年, 以及D.Jain, 个人交流) [(b) 图像用Bobscrip、Molscrip和Raster 3D完成]

谨以此书献给我的父母和 Matt Meselson

第 3 版前言

生物学家以进化的系统作为研究对象，这使我们有希望以还原的方式理解任何特定的事物。自然界分步构建了这个系统，每一步都在过去版本上有所提高，因此，按照这条思路，研究者可以把系统拆分，一点一点地进行研究，也许可以明白系统是如何组合在一起的。在研究细菌病毒 λ 的基因调控中，这些观念被证明是正确的。

本书的第 1 版（1986 年出版）描述了一系列蛋白-蛋白和蛋白-DNA 之间的相互作用，这些相互作用可以影响 λ 噬菌体中的两种可变基因表达模式。这种“基因开关”（我们对它的称呼）确保了对环境信号的应答中，从一种模式到另一种模式的有效转变。

正是由于不断的科学发现（这些发现与我无关），而不是对过去版本的内容进行调整，促成了这一版的问世。其中最令人瞩目的目的是描述了结合到相距很远的 DNA 位点上的蛋白之间的相互作用，并揭示了这些相互作用使开关比我们想像得更加有效地运转。其他比以前更深入的探究，用更清晰的分子术语为我们揭示了转录激活子是如何工作的。另有实验开始剖析复杂的 λ 基因调控网络的可能进化方式，也有实验揭示了抑制子本身所带有的酶功能。

这些新进展被添加到仅在第一版基础上进行稍稍改动的一章（第 5 章）中。已经熟悉开关基本内容的读者可以直接翻到第 5 章了解这些新进展；其他读者可以阅读按目前顺序排列的全书以了

解全部内容。作为第2版一部分的真核基因调控的扩展在本版被删去了，它们被重新整理并以更大的篇幅放入《基因和信号》(Genes and Signals, Ptashne and Gann, 2002, Cold Spring Harbor Laboratory Press)一书中。因此，第2版的前言在这里也被删去了。

像过去的内容一样，第5章表明，发现开关组分之间的相互作用并评价它们的生物学意义需要将遗传学和生物化学研究结合起来，有时还需要生物物理和结构方面的研究数据。如果有些相互作用很弱，如介导蛋白对DNA协同结合的相互作用，很难看到其他任何方法可以发挥作用。通过单独研究组分反应，然后将它们拼合在一起，已经阐明了我们关于开关的图画。事实上，逐步推进的方法产生了（看上去）如此完整和连贯的图画，因此这本身（在我看来）就是非同寻常的。

严格地讲，本书被冠以并保留错误的名称——“外遗传开关”，可能会更合适一些。基因表达状态的外遗传改变不依赖于原始信号（或事件）而存在，也不包括DNA序列的改变。溶原状态建立后可以在多次细胞分裂中保持溶原态（见第3章），是外遗传的一个典型例子。

有一些目前还在研究的 λ 噬菌体基因调控的重要问题，我没有在第5章中讨论。“抗终止子”N和Q（在第3章中介绍）的作用机制是两个例子。系统生物学家将定量建模的方法应用于 λ 噬菌体生活模式的这个或那个方面以及在两者之间的转变，但是我也没有试图综述这些问题。其中一些研究的参考文献可在第5章的文末找到。

本书的所有插图（以及《基因和信号》的插图）可以在网站 www.genesandsignals.com 上找到。

慷慨的同事又一次给予我帮助，向我提供实例、插图、建议和批评。我想特别感谢 Alex Gann，他对每一步的鼓励和建议都非常重要，还有 Seth Darst、Lan Dodd、Ann Hochschild、Deepti Jain、Leemor Joshua-Tor、Mitchell Lewis、John Little 和 Keith Shearwin，他们有的贡献了插图或未发表的结果，有的对内容提出了广泛的建议，有的两者兼而有之。我也要感谢 Alan Camp-

bell、Simon Dove、Richard Ebright、Barry Egan、Drew Endy、Lenny Guarente、Barry Honig、Sandy Johnson、Tom Laue、Wendel Lim、Richard Losick、David Sear、Richard Tresman 和 Jose Vilar，他们中的每个人都帮助我思考了一些事情。Mary Jo Wright 的打字和组织工作，不止一次为我节省了时间。Hans Neuhart 准确快速地重绘了老插图和新插图，CSHL 出版社的 Denise Weiss、Melissa Frey 和 Susan Schaefer 在成书中的作用也是无法估量的。

M. 普塔什尼

Mark Ptashne

2004 年 1 月于美国纽约

第 1 版前言

这是一本关于自然界中最简单的生物之一——一种生长在细菌中的病毒的书。它描述了被称为 λ 的病毒如何利用它的基因（它的 DNA）来指导它生长这个问题，汇集了大约 25 年的研究成果。

为什么要花费这么大的力量研究一个病毒呢？这是一个值得提出来的问题，毕竟生物学中的每一个例子都至少部分具有偶然性和特殊性。每个生物的工作方式已被它的进化历史所决定。我们对一个生物中过程的简单描述不可能完全应用于另一个生物。答案存在于被称为发育的基本生物过程中。

简单地讲，这个问题可作如下描述：一个特定的生物个体的所有细胞以 DNA 分子形式具有一套相同的蓝图。但是更高等生物从受精卵开始发育，会出现大量不同类型的细胞。发育过程的基础是基因的选择性使用，这便是我们称之为基因调控的现象。在不同阶段，部分依赖于环境信号，细胞选择使用一套或另一套基因，从而沿着一条或另一条发育途径进行发育。是什么样的分子机制决定了这些选择呢？

λ 噬菌体的生命周期是解决这个问题的范例：病毒依据细胞外信号选择这样或那样的生长模式，我们相当详细地了解介导这些过程的分子相互作用。我们相信相似的相互作用可能是许多发育过程的基础；通过对 λ 噬菌体这个特例的描述，我们提出了其他研究可以借鉴的观点，尽管没有其他例子和 λ 噬菌体完全一致。

本书的绪论部分描述了关于基因和它们工作方式的一些基本

事实，阅读绪论，可使读者用最适度的分子生物学知识理解最初的3章。

本书前3章从三个方面描述了 λ 噬菌体的发育过程：从远距离显示了参与病毒和宿主菌之间相互作用的事件的整个模式；更近地用粗略的分子术语描述了这个过程中的关键步骤；非常近地显示了精确的分子相互作用。每一水平的基本概念用一系列图片而不是参考文献和实验呈现在这些章节中。在许多观点上，我们对 λ 噬菌体的理解与其他生物的发育过程和基因控制相关。

第4章比前3章更有技术性，它描述了一些关键实验的原理。如果你知道前3章列出的答案，就更容易理解这些实验和基于它们的讨论。

读者将看到我们现在对 λ 噬菌体中基因调控的许多方面有了一个连贯的理解。我们利用整合的图片对实验观察进行了解释，更重要的是预测新实验的结果。这种严密程度部分实现了，因为我们的模型几乎没有一个是依赖于孤立的实验观察；相反地，它们是以试管中和活细胞中进行的整合的成套实验为基础的。

因此，本书作为整体是一个个例研究，它显示了生物化学和遗传学实验是如何构建部分世界景观的。我避免使用需要不同的、更长的说明来描述我们的理解是如何发展的这种历史方法。

分子生物学的魅力之一是它提供的对基本问题的答案大部分可以轻松地被可视化。我们通常仅需要简单的图片，很少需要引用深奥的思想。我们的目的是根据分子相互作用理解基因调控。看一眼这些分子的特征性大小和形状常常可以揭示，或帮助我们记住它们是如何工作的。请认真对待本书的图片，为什么？因为它们是我们目前观点的摘要。我完全期望随着我们理解的加深，在接下来的几年中，它们会被重新绘制。

我要感谢哈佛大学和我实验室中的学生和同事：Alison Cowie、Nick Cozzarelli、Norm Davidson、Hatch Echols、Gary Gussin、Gerhard Hochschild、Will McClure、Russ Maurer、Howard Nash、Jeff Roberts、Bob Schleif、Hamm Smith、John Staples、Jim Watson、Adam Wilkins、Keith Yamamoto、Michael Yarmolinsky、Patricia Zander，特别是Sandy Johnson，他们为本书的撰

写提供了许多友好的建议。正是 Bernard Hirt 首先提出了由我撰写本书这个想法。

在成书过程中，三个人起到了特别重要的作用：Ben Lewin 指导和编写了版式与协议；Carol Morita 迅速而富有想像力地创造了图例说明；Carol Nippert 非常好地完成了打字、再打字和组织、再组织工作。

M. 普塔什尼

Mark Ptashne

1986 年 1 月于美国马萨诸塞州剑桥

目 录

绪 论	1
1 调控的主要因素	11
1.1 开关的组分	14
1.1.1 DNA	14
1.1.2 RNA 聚合酶	15
1.1.3 阻抑物	16
1.1.4 Cro	17
1.2 阻抑物和 Cro 的作用	18
1.2.1 负调控	18
1.2.2 正调控	19
1.2.3 阻抑物结合的协同效应	21
1.3 诱导——扳动开关	23
1.4 协同效应——开关的稳定性和灵敏性	27
1.5 自我调节的作用	29
1.6 其他情况	30
进一步阅读：相关综述	30
2 蛋白-DNA 相互作用和基因调控	32
2.1 操纵基因	32
2.2 阻抑物	35
2.3 Cro	39

2.4 氨基酸-碱基对之间的相互作用	40
2.5 启动子	44
2.6 基因调控	46
进一步阅读: 相关综述	48

3 控制回路——设置开关

3.1 λ 生长的简单概述	50
3.1.1 遗传图谱	50
3.1.2 环化	52
3.1.3 基因表达	52
3.1.4 整合	53
3.2 转录的调控	54
3.2.1 极早期	54
3.2.2 早期	55
3.2.3 晚期裂解	56
3.2.4 晚期溶原化	57
3.3 决定	58
3.4 整合和切除的控制	60
3.4.1 情况 1——建立溶原化	60
3.4.2 情况 2——裂解生长	60
3.4.3 情况 3——诱导	62
3.5 其他噬菌体	62
3.6 SOS 反应	63
3.7 λ 途径和细胞发育	65
3.7.1 调节基因	65
3.7.2 开关	67
3.7.3 基因表达模式	68
进一步阅读: 相关综述	69

4 关键实验的启示

4.1 阻抑物概念	70
4.1.1 清澈和毒性突变	70

4.1.2 免疫力和异种免疫力	72
4.1.3 细菌交配的不对称性	73
4.2 20 世纪 60 年代早期的阻抑物蛋白	74
4.3 阻抑物的分离和 DNA 结合	75
4.4 制造更多阻抑物	78
4.5 第 1 章、第 2 章的解释	79
4.5.1 阻抑物的组成	79
4.5.2 阻抑物的二聚化	81
4.5.3 阻抑物二聚体与操纵基因位点的结合	81
4.5.4 右向操纵基因与 Cro 的结合	88
4.5.5 阻抑物与 O_R 的结合	90
4.5.6 溶原体中阻抑物的结合及其转录调控	91
4.5.7 Cro 与 O_R 的结合	97
4.5.8 RecA 切割阻抑物引起诱导作用 (图 1-21)	100
4.5.9 当 Cro 结合到 O_{R3} 时开关被打开 (图 1-24)	101
4.5.10 阻抑物和 Cro 与操纵基因的结合	101
4.5.11 阻抑物通过结合 O_{R2} 并通过它的氨基端结构域与聚合酶的接触激活 cI 的转录	105
4.6 结论	110
进一步阅读: 综述文章	111
研究论文	111
5 2004: 新进展	115
5.1 长程协同效应和 P_{RM} 的抑制	115
5.1.1 阻抑物八聚体结合 O_R 和 O_L	117
5.1.2 阻抑物合成的自我负调控	118
5.1.3 长程相互作用和 P_R 的阻抑作用	119
5.1.4 长程相互作用和 P_{RM} 的阻抑作用	121
5.1.5 P_{RM} 的激活和阻抑	121
5.1.6 阻抑物结构	121
5.2 正调控 (转录激活)	129
5.2.1 聚合酶和启动子	130

5.2.2	激活机制	130
5.2.3	激活区域的变种	131
5.2.4	<i>pc</i> 突变的抑制基因 (suppressor)	132
5.2.5	晶体学	133
5.2.6	激活旁路	133
5.2.7	改变激活区域和靶点的上下游序列	136
5.3	阻抑物单体的结构和阻抑物断裂的机制	139
5.4	开关的进化	142
5.4.1	改变 O_R 中位点对阻抑物的亲和力	142
5.4.2	除去正调控	143
5.4.3	除去 DNA 结合二聚体之间的协同性	143
5.5	CII 和决定	145
	参考文献: 书籍和综述	147
	参考文献: 研究论文	148
	附录	151
A1	设计有效的 DNA 结合蛋白	151
A1.1	大纲	151
A1.2	特异性和非特异性结合	151
A1.3	增加特异性	154
A1.4	利用协同性	155
A1.5	真核生物中的 DNA-蛋白相互作用	157
	进一步阅读: 研究论文	158
A2	强弱相互作用	159
	索引	160

绪 论

大约 40 年前，巴黎巴斯德研究所的 André Lwoff 和他的同事描述了一株普通肠细菌大肠杆菌的一个引人注目的特性。如果用中等剂量的紫外线照射，这些细菌停止生长，大约 90min 后，它们裂解（爆裂），大量的被称为 λ 的病毒被释放到培养基中。这些病毒被称为噬菌体（bacteriophage）——食菌者，或简单称为 phage。释放的 λ 噬菌体通过感染新细菌扩增。许多被感染的细菌不久裂解，产生新的噬菌体，但是有些细菌存活下来并且携带潜伏状态的 λ 噬菌体。这些细菌正常地生长和分裂，直到培养物又一次被照射，然后这些子代细菌像起始的细菌一样，裂解并产生大量新的 λ 噬菌体。图 0-1 显示了病毒及其宿主的照片。

Lwoff 和他的同事 Francois Jacob、Jacques Monod 意识到病毒两种状态的转变——从分裂细胞中的潜伏状态到被照射细菌中的激活状态——是基本生物过程中的一个简单例子，基因的打开和关闭。

基因决定了组成活细胞的分子的结构。在特定的时间，每一个细胞——细菌的或人的——只使用一套基因来指导其他分子的产生，我们说这些被表达的基因是“开”，那些不被表达的基因是“关”。用另一句话说，这些基因的表达是被调控的。

作为例子，考虑一个人从受精卵开始的发育。随着这个细胞及其后代的分裂——一个重复上百万次的过程，每一个新细胞得到一套相同的基因。而且有些细胞（如头发细胞）的外观和功能与其他细胞（如皮肤细胞）不同，是因为在不同的细胞中打开不