

敖世洲 主编

基因分子生物学研究进展

JI YIN FEN ZI
SHENG WU XUE
YAN JIU JIN ZHAN

上海科学技术出版社

基因分子生物学研究进展

主 编

敖 世 洲

副 主 编

李 育 阳 杨 胜 利

上海科学技术出版社

基因分子生物学研究进展

敖世洲 主编

上海科学技术出版社出版、发行

(上海瑞金二路 450 号)

上海东方印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 13 字数 304,000

1992 年 12 月第 1 版 1992 年 12 月第 1 次印刷

印数 1—2,600

ISBN 7-5323-3068-0/Q·47

定价: 23.00 元

(沪)新登字 108 号

序

近几年来基因分子生物学的飞跃发展促进了 DNA 重组技术或基因工程的不断更新,并渗透到生命科学的各个领域:基因分子生物学应用于农业,将引起新的绿色革命;应用于医药,兴起了生物治疗、基因治疗等新领域。我国“863”高技术研究发展计划把生物技术领域放在重要地位,目的是要采用新技术提高我国人民的健康保障水平,发展我国生物高技术产业,而基因分子生物学的研究则是实现这一目标的基础。

发展高技术,我们不仅要跟踪国际上的最新研究成果,而且要在跟踪中力求创新;要创新,就必须进行必要的基础研究和理论知识的提高。正基于此,“863”专家组于 1992 年秋将在北京举行一次全国性基因分子生物学研究进展学术讨论会,并将大会论文汇编成册,这就是本书编写的原委。

本书从原核、真核基因转录调节,转录因子的结构与功能, RNA 的剪接和编辑,蛋白质生物合成中的肽链折叠,重要病毒以及人类主要组织相容性复合物的分子生物学,乃至人类基因组研究进展等 22 个专题,基本上概括了近年来基因分子生物学研究的主要成就和最新进展,实为一本从事生命科学的广大科技人员的重要参考书。

本书的编写者多为从事“863”高技术研究的第一线科技人员,他们对各自的专业均具有丰富的实践经验和理论知识,在出色完成极其繁重的科研任务的同时,根据自己的专长,综合了国内外的大量文献,他们的论文有观点、有分析,又有综合概括;而且文字流畅,语句结构严谨,一丝不苟。这部著作实际上是集中了我国生物技术中青年科学家的集体劳动和智慧,也反映了我国新一代科学家的迅速成长。

我相信,这本书的出版,不仅会对我国生命科学和生物高技术的发展起到很大的推动作用,而且也将对我国在生物领域实现高技术产业化推波助澜。

侯云德

“863”生物技术领域专家委员会首席科学家

中国预防医学科学院病毒学研究所所长

1992 年 10 月

目 录

序.....	侯云德	
真核细胞 DNA 复制.....	陆长德	(1)
原核基因的表达调控.....	杨胜利	(12)
酵母基因转录调控的分子机制.....	李育阳	(19)
病毒基因组的转录调节	吴淑华 侯云德	(28)
甾体激素对真核基因表达的负调控机制.....	张永莲	(47)
癌基因、抗癌基因和哺乳动物细胞基因表达调控.....	顾健人	(53)
热休克与真核基因调控.....	沈翊珩	(64)
珠蛋白基因表达调控.....	刘德培 梁植权	(72)
转录因子的结构与功能.....	敖世洲	(80)
内含子与 RNA 剪接.....	祁国荣	(89)
RNA 的编辑.....	金由辛	(98)
核糖体的拓扑结构及蛋白质生物合成.....	凌 俊 刘望夷	(109)
mRNA 结构对蛋白质翻译的调控作用.....	强伯勤 王 林	(117)
蛋白质折叠.....	冯佑民 张友尚	(125)
肝炎病毒分子生物学的研究进展.....	汪 垣 李载平 李光地	(134)
主要组织相容性复合体的分子生物学.....	陈诗书	(145)
细胞生长因子及其受体.....	徐永华	(154)
逆转座子介导的基因突变和重排.....	朱圣庚	(160)
人类基因组研究路线、方法及进展.....	柴建华	(168)
植物基因定位和基因组研究进展.....	朱立煌	(179)
植物防卫基因的研究.....	方荣祥	(185)
植物弹状病毒基因转录和复制的调控.....	龚祖坝	(193)

真核细胞 DNA 复制

陆 长 德

(中国科学院上海生物化学研究所, 200081)

真核细胞的生长周期由 G_1 、 S 、 G_2 和 M 四个时期组成。 S 期为 DNA 合成期, M 期为有丝分裂期, G_1 和 G_2 是 S 期与 M 期之间的间隔期。在 G_1 期 DNA 复制所需要的原料和能量得到积累和贮备, 在 G_1 后期和 G_1/S 期转折处有一些 DNA 复制所必需的蛋白质被合成或被修饰。在 S 期中进行的 DNA 复制包括 DNA 合成的起始, RNA 引物的合成, 新生 DNA 链的合成和延长, DNA 合成后 RNA 引物被切除, 缺口补齐后由 DNA 连接酶将 DNA 片段连接起来。在 DNA 合成过程中, 由解链酶解开 DNA 双链, 由拓扑异构酶消除或引入超螺旋。线状染色体的端区则由端聚酶加上并延长端区的重复顺序。DNA 合成的同时也合成了组蛋白, 组蛋白与 DNA 链结合而形成染色质。 G_2 期是有丝分裂准备期, 染色质通过 G_2 期后变成高度紧密的染色体。在 M 期, 核壳破裂, 由微管将染色体上的着丝粒与纺锤体的中心粒相连并将染色体拉向纺锤体的端点, 最终将 DNA 分子分配到二个子细胞中去。

最近 10 年来真核细胞 DNA 复制研究取得了突破性的进展。首先, 猿猴病毒 40(SV40) 体外 DNA 复制体系的建立促进了对参与 DNA 复制的酶及蛋白质因子的研究, 鉴定了已经分离的酶与蛋白质的功能, 又分离纯化了几种新的复制蛋白质并确定了它们在复制叉上的作用。其次, DNA 复制的酶与蛋白质因子的 cDNA 及基因的克隆和测序证明从酵母到哺乳动物它们在结构上是保守的, 同时为进一步研究它们的功能及调控创造了条件。此外, 染色体 DNA 复制的起始点及其他有关元件的研究, DNA 复制的调控等研究也取得了一些新的进展。这里着重介绍近年来真核细胞 DNA 复制研究的新进展^[1~5]。

一、应用 SV40 体外 DNA 合成体系取得的进展

SV40 基因组是含 5243bp 的环状双链 DNA, 有一个 DNA 复制起点。SV 40 DNA 复制时除了需要病毒基因编码的 T 抗原外, 其他则利用宿主细胞的酶和复制因子。SV40DNA 合成所必需的宿主蛋白质很可能在细胞 DNA 复制中也起着相似的作用。用带 SV40 复制起始顺序的质粒可以作为研究真核细胞 DNA 复制的模型。

T 抗原是由 708 个氨基酸组成的一条多肽链, 其中 135~249 氨基酸残基是专一的 DNA 结合区, 能识别 SV40 复制起始区的重复顺序 GAAGC, 371~625 氨基酸残基为 ATPase 解链酶功能区, 有的研究认为 T 抗原通过其他细胞蛋白与 DNA 聚合酶 α 相结合, 近来用纯的 α 与 T 抗原研究它们的相互作用发现 T 抗原 N 端的 83 个氨基酸残基是与 DNA 聚合酶 α 结合的区域。T 抗原的 676~708 氨基酸残基与宿主专一性有关。T 抗原的功能受磷酸化修饰的调节。在 SV40 DNA 复制起始时 T 抗原识别并结合到 SV40 的复

制起始区, T 抗原可沿着 DNA 链移动, 由它的解链酶活性通过水解 ATP 使 DNA 双链局部解开。单链 DNA 结合蛋白可使单链 DNA 稳定。DNA 聚合酶 α -引发酶的复合物通过与 T 抗原的相互作用结合到单链 DNA 上开始合成 RNA 引物及 DNA 链^[9~10]。

应用 SV40 体外 DNA 合成体系进行了广泛的研究, 取得了不少进展。

1. 用 SV40 体外模型确定了 DNA 聚合酶 δ 及分裂细胞核抗原(PCNA) 在细胞 DNA 复制中的作用^[9,10]

Stillman 实验室用 SV40 体外 DNA 合成体系研究时发现有一个细胞组分是有效地进行 SV40 DNA 合成所必需的, 加入这个因子可使 DNA 链延长效率增加 5 倍并可复制出完整的 SV40 DNA。经研究证明这一蛋白因子就是 PCNA。同时 So 和 Downey 实验室发现了一种 DNA 聚合酶 δ 的附属蛋白, 它能促进 DNA 聚合酶 δ 利用 polydA/oligodT 的活性, 其促进作用是大大增加 DNA 聚合酶 δ 的合成进行性。很有意思的是这种附属蛋白的分子量、物理化学性质以及分离纯化方法都与 PCNA 很相似。几个实验室合作很快证明了 DNA 聚合酶 δ 的附属蛋白就是 PCNA。由此从四个不同途径研究得到的结果合在一起说明 DNA 聚合酶 δ 与 PCNA 在细胞 DNA 复制中是必需的, DNA 聚合酶 δ 是细胞 DNA 的复制酶。这四个不同途径的研究是: (1) 用荧光标记的红斑狼疮病人的自抗体分析 3T3 细胞发现在 G₁/S 期交界处开始细胞核可以看到荧光, S 期荧光很强, 到 G₂ 期荧光消失, 这种仅出现在 S 期细胞核中的蛋白被称作分裂细胞核抗原(PCNA)。(2) 用双相电泳比较分裂细胞与静止细胞的蛋白质成分的差别, 发现了一些只有分裂细胞才有的蛋白质称细胞周期调节蛋白(cyclin), 以后又证明 PCNA 是 cyclin 的一种。(3) PCNA 是有效地进行 SV40 DNA 复制所必需的。(4) PCNA 能促进 DNA 聚合酶 δ 合成 DNA 的进行性而对 DNA 聚合酶 α 却没有作用。PCNA 的抗体可以中和它对 DNA 聚合酶 δ 的作用。

2. 鉴定了新的复制蛋白 RPA 和 RFC^[11,12]

利用 SV40 体外体系从人培养细胞中纯化和鉴定了另外两种复制蛋白 RPA 和 RFC。在此体系中与 T4 噬菌体的复制蛋白相比, 真核生物 RPA 相当于 T4 的基因 32 蛋白是一种单链 DNA 结合蛋白。RFC 与 T4 的基因 44/62 蛋白相似, 具有 ATPase- 解链酶活性。PCNA 相当于 T4 基因 45 蛋白, 可促进基因 44/62 蛋白的解链活性。

3. 真核 DNA 聚合酶 α 、 δ 及复制因子在复制叉上的功能^[13,14]

DNA 聚合酶 α 和 δ 都是细胞 DNA 的复制酶, 它们在 DNA 复制中关系如何? Downey 等在 1987 年冷泉港讨论会上提出一个假说: DNA 聚合酶 δ 在复制中合成前导链而 DNA 聚合酶 α 合成后随链。这是基于(1) DNA 聚合酶 δ 催化 DNA 合成的进行性比 α 大得多。(2) DNA 聚合酶 δ 在 PCNA 存在时能进行链替代合成, 而 α 不能。(3) DNA 聚合酶 α 与引发酶活性紧密相连而 δ 则不与引发酶活性相连, 因此 α 适合于合成后随链。Stillman 实验室利用杂交技术证明了上述假说。将 SV40 复制起始点两侧的顺序分别制备出可与新合成的前导链和后随链杂交的单链探针, 用这些探针分别与不同条件和时间下合成的带放射性的子代 DNA 进行杂交, 结果证明, 如果 DNA 聚合酶 δ 、PCNA 和 RFC 任缺一种则只有短的放射性片段被合成, 经杂交分析这些短片段属后随链。当存在 DNA 聚合酶 δ 、PCNA 和 RFC 时, 有长片段合成, 它可与前导链探针杂交。以后又证明前导链的第一条冈崎片段是由 DNA 聚合酶 α 引发酶合成的。

在 SV40 体外体系上还研究了在前导链上 DNA 聚合酶 α 向 δ 转换的机制。用化学交

联、足迹法及凝胶电泳研究了 RFO、PCNA 与模板-引物的相互作用。结果表明首先由 RFO 识别并结合到引物末端, 在 ATP 存在时 PCNA 与 RFO 可在模板-引物末端形成一个复合体, 这个复合体与 DNA 聚合酶 α 的亲合力很低而与 DNA 聚合酶 δ 的亲合力很高。据此提出了在前导链上 DNA 聚合酶 α 与 δ 之间转换的机制: DNA 聚合酶 α 合成了第一条冈崎片段后, RFO 识别并结合到引物末端, 然后在 ATP 作用下 PCNA 结合到 RFO-引物末端, 促使 DNA 聚合酶 α 的解离, DNA 聚合酶 δ 通过与 PCNA 及 RFO 的相互作用结合到模板-引物末端开始连续地合成前导链。

二、真核生物 DNA 聚合酶研究进展^[15~17]

早先已知道有四种真核 DNA 聚合酶, 即 α 、 β 、 γ 和 δ 。 α 是复制酶, β 为修复酶, γ 为线粒体 DNA 聚合酶, δ 的功能不很清楚。自 1987 年 DNA 聚合酶 δ 和 PCNA 的功能被确定后, 对所有研究真核生物 DNA 复制的实验室提出这样一个问题, 你研究的生物中有没有 DNA 聚合酶 δ 和 PCNA? 现在在多种生物中分离鉴定了 PCNA 和 DNA 聚合酶 δ 。然而, 在分离鉴定 DNA 聚合酶 δ 时发现有两种 δ , 原记为 δ_1 和 δ_2 。两者的许多性质都相似, 如有 3'→5' 外切活性, 对 BuPdGTP 不敏感等, 它们的区别在于与 PCNA 的作用, δ_1 是依赖 PCNA 的, δ_2 不依赖 PCNA。 δ_2 催化合成 DNA 的进行性较高而且不受 PCNA 的影响。为避免混淆并使酵母 DNA 聚合酶的命名与其他真核生物 DNA 聚合酶的命名统一起来, 由一些科学家提议将真核 DNA 聚合酶重新命名, 新的命名全部用希腊字母并将 δ_2 更改为 ϵ 。

1. DNA 聚合酶 α 引发酶复合物^[18~21]

DNA 聚合酶 α -引发酶早在 1958 年已从小牛胸腺发现, 以后在果蝇、人 KB 细胞、HeLa 细胞、酵母、小鼠、兔等许多种生物中进行了研究。早先的研究证明 DNA 聚合酶 α 是细胞 DNA 复制酶, 近年来新的证据进一步支持了这一点。用 DNA 聚合酶 α 的单克隆抗体可抑制通透细胞的 DNA 复制。鼠细胞 DNA 复制的温度敏感株经证明是 DNA 聚合酶 α 发生了突变。DNA 聚合酶 α 基因的表达在转录及转录后水平上与细胞分裂有关。SV40 体外 DNA 复制需要 DNA 聚合酶 α 。对于 DNA 聚合酶 α 催化亚基的分子量曾有不同的报道。在 Korn 实验室制备出 DNA 聚合酶 α 的单克隆抗体后为研究 DNA 聚合酶 α 提供了有力的工具。利用抗体进行的亲和层析大大加快了分离纯化的速度, 减少了在分离纯化过程中蛋白酶的水解作用, 现已确定 DNA 聚合酶 α 由四个亚基组成, 其中催化亚基分子量约 160~180 kD, 另一条 70 kD 多肽近来证明是个磷酸化的蛋白, 它可能在催化亚基与引发酶之间起连接作用, 由于它随细胞周期而受磷酸化及去磷酸化修饰, 因此也可能起着调节作用。另两条多肽分子量为 55~60 kD 和 48~50 kD, 具有引发酶活性。酵母 DNA 聚合酶 I 及 KB 细胞 DNA 聚合酶 α 的 cDNA 已克隆, 从 cDNA 推算其分子量为 165 kD, 用抗 C 端与抗 N 端的抗体作免疫测定证明全长的 DNA 聚合酶 α 的催化亚基在 SDS 电泳中测得分子量为 180 kD。比较 DNA 聚合酶 α 与其他复制酶结构, 有六个保守的区域, 其中两个区域与 dNTP 结合有关, 一个区域富含 Cys 是金属结合区, 可能与 DNA 结合有关。 α 与引发酶作用的区域在多肽链的 N 端。引发酶通常与聚合酶紧密联系在一起, 用较剧烈的条件可分出 60 kD 和 50 kD 的复合物, 并具有引发酶活性, 但将这两条肽完全分开则无活性。抗

49 kD 肽的抗体可抑制引发酶活性。而抗 59 kD 肽抗体的抑制作用较小, 催化中心可能在 50 kD 肽上。小牛胸腺的 49 kD 肽有 GTP 的结合位点, 酵母引发酶为 48 kD, 有 ATP 的结合位点, 两者氨基酸顺序同源性也很高。重组的人 DNA 聚合酶 α 165 kD 亚基能在酵母中表达, 但带有这种重组质粒的酵母 α 的温度敏感株在限制温度仍不能生长。表明人的 α 165 kD 亚基不能代替酵母 α 165 kD 亚基而起作用。曾报道果蝇 DNA 聚合酶 α 的 180 kD 亚基与其他亚基分离后具有 3'→5' 外切活性, 现看来这个 3'→5' 外切活性很可能来自 DNA 聚合酶 ϵ 。

2. DNA 聚合酶 δ ^[22~24]

DNA 聚合酶 δ 具有 3'→5' 外切活性, 它与原核生物 DNA 聚合酶一样具有校正阅读的功能。从小牛胸腺纯化的 δ 的分子量为 173 kD, 由二条多肽链组成。催化亚基为 125 kD, 另一个 48 kD 亚基的功能还不清楚。DNA 聚合酶 δ 与 DNA 聚合酶 α 一样可被 aphidicolin 等抑制剂所抑制, 但两者又有区别, 例如 δ 对 BuPdGTP 的抑制相对不敏感而 α 很敏感, 两者免疫反应也不同。现在酵母 DNA 聚合酶 III、人及小牛胸腺 DNA 聚合酶 δ 的催化亚基的 cDNA 已克隆。从核苷酸顺序推算 δ 催化亚基分子量为 125 kD。从氨基酸顺序也证明 DNA 聚合酶 δ 和 α 是不同的酶。酵母 DNA 聚合酶 I 和 III 也是不同的酶, 它们由不同的基因编码。编码 δ 的 CDC2(POL3) 是酵母生长必需的, 它的温度敏感株在限制温度下细胞生长在 S 期受阻也证明了 δ 在细胞 DNA 复制中的功能。现在从兔骨髓中也分离鉴定了 PCNA 和 DNA 聚合酶 δ , 它具有与小牛胸腺 DNA 聚合酶 δ 相同的结构特征、催化性质及免疫特性。而最早从兔骨髓中纯化的 DNA 聚合酶 δ 则与它完全不同是一种不依赖 PCNA 的酶。

3. DNA 聚合酶 ϵ ^[25~28]

DNA 聚合酶 ϵ 是另一种具有 3'→5' 外切活性的酶。由于具有这种校正阅读的功能, 它催化合成 DNA 的真实比 α 高 10 倍, 比 β 高 500 倍。有关它的结构, 不同实验室的结果还不尽相同, 酵母 DNA 聚合酶 II(ϵ) 催化亚基的 cDNA 已克隆, 它的单个阅读框架可编码一个分子量为 255 kD 的蛋白质, 在分离中观察到的较低分子量的条带很可能是蛋白酶水解的产物。DNA 聚合酶 ϵ 的其他亚基组成也未最后确定。酵母 DNA 聚合酶 II 由大于 200 kD 及 80, 35, 30 和 29 kD 五条多肽组成, 而 HeLa 细胞 DNA 聚合酶 ϵ 不含这些亚基。DNA 聚合酶 ϵ 的功能还不十分清楚。细胞受紫外线照射损伤后的修复需要 DNA 聚合酶 ϵ , 表明它可能在 DNA 修复中起作用, 然而将酵母 ϵ 的基因破坏则酵母停止在 S 期不能进行分裂, 表明 ϵ 是染色体 DNA 复制所必需的。近来, 发现在某些盐浓度下 PCNA 和 RFO 能促进 DNA 聚合酶 ϵ 的合成进行性。在 SV40 体外体系中缺少 PCNA 合成的后随链的长度也缩短, 而 PCNA 与 α 是无相互作用的, 因此提出 DNA 聚合酶 ϵ 的功能是合成后随链, 而 DNA 聚合酶 α -引发酶仅仅合成 RNA 引物及一小段 DNA。

4. 有关 DNA 聚合酶研究的其他进展^[29,30]

DNA 聚合酶研究取得进展还有赖于新的技术和方法的使用。多克隆和单克隆抗体的获得提供了有力的工具。DNA 聚合酶 cDNA 克隆成功不仅证明了 DNA 聚合酶的结构, 还可利用病毒载体在培养细胞中大量表达这种蛋白质, 克服了材料来源少的困难, 也为研究 DNA 聚合酶结构与功能的关系以及 DNA 聚合酶基因表达的调控创造了条件。DNA 聚合酶的抑制剂的研究也为分离纯化 DNA 聚合酶作出了贡献。现可利用 BuPdGTP、BuAdATP

来区分 α 与 δ 、 ϵ 。羧基二磷酸也可用来区分这三种酶,二甲基亚砷则可用来区分 δ 和 ϵ 。在确定 DNA 聚合酶及复制因子在复制叉上的功能时还采用了 DNA 俘获、化学交联、足迹法等方法。DNA 聚合酶催化 DNA 合成的进行性的研究也为解决 DNA 聚合酶的功能起了重要的作用。

三、DNA 聚合酶的附属蛋白和其他复制蛋白质

1. DNA 聚合酶的附属蛋白^[31~37]

现已知道的 DNA 聚合酶的附属蛋白有 δ 的 PCNA 和 RFC(亦称 A1),识别引物的蛋白 PRP1 和 PRP2(过去称 C1 和 C2),以及 α 的活化因子 AAF。

PCNA 的功能被确定以后,在多种生物中分离鉴定了 PCNA,PCNA 无种属特异性,哺乳动物 PCNA 可促进酵母 DNA 聚合酶 III 合成的进行性。PCNA 的基因也已在人、大鼠、小鼠、酵母、果蝇等生物中被克隆。它们有较高的同源性,显示出在进化中 PCNA 是很保守的。酵母的 PCNA 基因是周期性地表达的,与此不同的是 HeLa 细胞的 PCNA 水平在整个细胞周期中变化并不很大,在 G₁ 到 S 期 PCNA 的合成只增加 2~3 倍。另外的研究指出细胞核上 PCNA 的免疫检测受细胞样品固定方法的影响,通常细胞样品用甲醇固定,有些 PCNA 会丢失,只有与 DNA 紧密结合的 PCNA 被检测出来。在 S 期与 DNA 紧密结合的 PCNA 增多因而 S 期细胞核上 PCNA 免疫反应强。研究表明 PCNA 确依细胞周期而被合成,但在 S 期结束后并不被降解掉。然而,静止细胞用血清或有丝分裂剂诱导进行细胞分裂时 PCNA 的合成大大增加,白细胞介素 2 也可诱导 T 细胞中 PCNA 基因的表达,这种合成是转录水平上的。与组蛋白的合成不同,PCNA 的合成不依赖于 DNA 的合成。DNA 合成的抑制剂不影响 PCNA 的合成,而用反义核酸抑制 PCNA 的合成可抑制细胞 DNA 的合成和细胞分裂。向爪蟾卵中微量注射 PCNA 的抗体也可抑制染色体和质粒 DNA 的复制。

RFC 由多个亚基组成,分子量分别为 140, 41, 37 kD。另一报道 A1 由 145, 40, 38, 37 和 36.5 kD 五条肽组成。RFC 的 140 kD 亚基与 DNA 模板-引物相结合,41 kD 亚基与 ATP 结合。动力学研究表明 RFC、PCNA 及 RPA 在复制叉上的相互作用是蛋白与蛋白的相互作用。SV40 体外复制体系研究表明缺少 RFC 导致前导链合成受影响,体外实验也证明酵母 PCNA 只有在以 polydA/oligodT 作模板引物时能促进酵母 DNA 聚合酶 δ 的合成进行性。用引发的天然 DNA 时,PCNA 要过量 1000 倍才能形成复合物,当加入 RFC 后,DNA 聚合酶 δ 具有很高的合成进行性。A1 的 40 kD 亚基的 cDNA 已克隆并在细菌中表达。它具有 ATP 结合位点,PCNA 可降低它与 ATP 的结合。抗 40 kD 亚基的抗体可抑制 RFC、PCNA 对 DNA 聚合酶 δ 的作用。37 kD 亚基的 cDNA 亦已克隆。

PRP1 和 PRP2 是两个分子量分别为 36 kD 和 41 kD 的引物识别蛋白。它们可促进 DNA 聚合酶 α 的活性。经分析它们并不改变 DNA 聚合酶 α 的合成进行性,也不改变 dNTP 的 K_m ,而是降低了引物末端的 K_m 。使 DNA 聚合酶 α 与模板-引物末端的亲和力增加 20~30 倍。PRP1、PRP2 与 DNA 聚合酶 α 的相互作用有种属特异性。

AAF 为 DNA 聚合酶 α -引发酶的活化因子,它可促进 DNA 聚合酶 α -引发酶利用未经引发的模板。AAF 有两个亚基组成,分子量分别为 132 kD 和 44 kD。AAF 可加强

DNA 聚合酶 α -引发酶与单链 DNA 模板的联系, 还可增加 DNA 聚合酶 α 的合成进行性。它对 DNA 聚合酶 β 、 δ 、 γ 无作用。

2. 其他复制蛋白^[38~42]

DNA 复制过程还需要单链 DNA 结合蛋白(即 RPA), 解链酶, 拓扑异构酶。真核生物染色体端区的加长需要端聚酶。

RPA 由 70, 32, 14 kD 三条多肽组成。RPA 对单链 DNA 亲和力高, 对双链 DNA 亲和力低, 它本身没有酶活性。在 SV40 体外复制体系中, 在 DNA 合成的起始阶段其他来源(*E. coli*, HSV 等)的单链结合蛋白可以代替人的 RPA, 然而它们不能代替 RPA 完成 DNA 体外复制过程, 表明 RPA 除了在起始解链时起作用外还在 DNA 链延长过程中起作用, 延长过程中 RPA 的作用有种属特异性。体外实验证明 RPA 可增加 DNA 聚合酶 α 的合成进行性。RPA 也促进 DNA 聚合酶 δ 的活性, 但不是影响 δ 的合成进行性。现已制备出几种 RPA 的单克隆抗体, 一种可抑制 RPA 对 δ 的促进作用及起始的解链作用, 而对 RPA 促 α 的活性无影响。另三种可抑制 RPA 对 α 的促进作用, 但不影响解链及对 δ 的促进作用。这些结果说明 RPA 至少有三个功能区: DNA 结合区, 与解链酶及 δ 的作用区, 与 α 的作用区。酵母的 RPA 由 69, 36, 13 kD 三条肽组成。酵母 69 kD 亚基的基因已克隆, 是酵母生长所必需的。从核苷酸顺序推算酵母 69 kD 肽与人 70 kD 肽的氨基酸顺序非常相似。RPA 的 70 kD 亚基具有单链 DNA 结合活性。过去认为小牛胸腺 UP1 是真核生物单链 DNA 结合蛋白, 然而它不能代替 RPA 的作用, 后来研究表明它可能是一种异源的核糖核蛋白的降解产物。

DNA 解链酶 与原核生物一样, 真核 DNA 复制时也需要有几种解链酶参加。已从多种生物中分离纯化了几种解链酶。HeLa 细胞解链酶 I 分子量为 65 kD。以 3'→5' 方向解开 DNA 双链。小牛胸腺的一种解链酶分子量为 47 kD, 也从 3'→5' 方向进行解链。另一种 56 kD 解链酶从 5'→3' 方向进行解链。此外 RFC 也具有解链酶活性。

拓扑异构酶 复制叉上的酶和复制蛋白沿着 DNA 链前进时会在前面产生正的超螺旋。拓扑异构酶的作用是消除这种超螺旋。超螺旋的消除与 DNA 合成同时进行。研究发现新合成的子链上会带有较短的缺口, 表明母链的完全分离可略先于子链复制的完成。在 DNA 复制完成后拓扑异构酶能在 DNA 双链中引入超螺旋, 帮助 DNA 缠绕、折叠、压缩形成染色质。已发现的酵母拓扑异构酶有三种即 I、II 和 III。其中拓扑异构酶 I 和 II 是 DNA 复制所必需的, 也与染色体的压缩和去压缩有关。拓扑异构酶 III 则起其他作用。

端聚酶 真核生物线状染色体的末端为端粒体, 它可使染色体稳定并防止它与其他断裂的或天然的 DNA 末端相融合。端粒体是由端区 DNA 重复顺序和一种蛋白质组成的复合物。现已测出多种生物的端区重复顺序, 如四膜虫 TTGGGG, 纤毛虫 TTTTGGGG, 哺乳动物(人, 中国仓鼠等)TTAGGG。端区重复顺序通常有几百核苷酸长, 其中一条链富 G, 方向是 5'→3', 另一条链富 C。富 G 链比富 C 链长出 12~16 核苷酸是端区蛋白质结合处。端区重复顺序由专门的端聚酶加上并延长。端聚酶是一种蛋白质与 RNA 的复合物, 四膜虫端聚酶的 RNA 长 150 核苷酸, 其中一部分顺序富含 C 可与端区的重复顺序互补并作为端区重复顺序延长的模板, 端聚酶中的蛋白质则是一种反转录酶。如将端聚酶 RNA 的顺序突变掉, 在体内就按突变后的顺序为模板合成出新的端区重复顺序, 证明端聚酶中 RNA 是端区重复顺序合成的模板。然而新的端区重复顺序却使细胞分裂发生困难, 表明端区重

复顺序还与细胞分裂有关。酵母 EST1 基因编码了 70 kD 的端聚酶的蛋白质部分。缺失 EST1 功能可使染色体缩短,几代后导致死亡。端聚酶的作用机制、端区重复顺序的长短与细胞生理状态的关系(如衰老、肿瘤等)是一些实验室研究的课题。

四、DNA 复制酶及蛋白质基因的遗传学研究 以及它们的表达及功能的调控

1. DNA 聚合酶基因的遗传学研究^[43,44]

至今的研究结果表明从低等真核生物酵母到高等哺乳动物 DNA 复制的酶及复制机制在进化上是保守的。从已克隆的酶及因子的 cDNA 的核苷酸顺序看同源性也很高。多年来酵母的遗传学研究已具有一定的基础,鉴定了多种基因及其突变株。cDNA 的克隆将分子生物学与遗传学研究结合了起来。通过对酵母基因突变株的研究可以了解这些基因及其产物在细胞中的功能并可推论哺乳动物中相应蛋白质的功能。

酵母 DNA 聚合酶 α -引发酶的两个温度敏感株 *cdc17-1* 和 *pol1-17* 在限制温度下迅速停止 DNA 合成,从这两突变株提取的 DNA 聚合酶 α 在限制温度下失去催化活性。另三个突变株 *pol1-1*, *cdc17-2* 和 *hpr3* 在限制温度不立即停止 DNA 合成,可继续 DNA 复制并完成一个细胞分裂周期。分析表明 *pol1-1* 株的 DNA 聚合酶 α 在限制温度下发生了构象变化,影响了聚合酶与引发酶复合物的稳定性。*pol1-1* 的 α 第 493 位 Gly 变成 Arg。*hpr3* 是 493 位 Gly 变成了 Glu, *cdc17-2* 是 637 位 Gly 变成了 Asp。

酵母 DNA 聚合酶 II(ϵ) 5 个亚基中 3 个亚基的基因已分离得到。其中 POL2(编码大于 200 kD 亚基)与 DPB2(编码 80 kD 亚基)是细胞生长必需的,而 DPB3(编码 34 kD 亚基)则不是必需的。 ϵ 的温度敏感株 *pol2-9* 和 *pol2-18* 在限制温度降低染色体 DNA 合成速度,从这个突变株分离的 DNA 聚合酶 ϵ 也是温度敏感的。*dpb2-1* 突变株降低体内 DNA 合成速度,从这个突变株不能分离纯化得到 DNA 聚合酶 ϵ 全酶。此外 DNA 聚合酶 ϵ 的 3'→5' 外切活性的突变株细胞变异频率比野生型高 20 倍。这些结果都表明 DNA 聚合酶 ϵ 参与了染色体 DNA 的复制。与 SV40 体外体系结果不同的是利用连接酶与 DNA 聚合酶双突变株研究的结果表明, DNA 聚合酶 ϵ 合成了染色体 DNA 的前导链,而不是 DNA 聚合酶 δ 合成了前导链。

酵母引发酶的两个亚基的基因已鉴定为 PRI1 和 PRI2, 基因阻断研究表明这两个基因也是细胞生长必需的。

2. DNA 复制酶及蛋白质基因的表达^[45,46]

酵母的 Pol1(*cdc17*)(编码 α 催化亚基), Pol3(*cdc2*)(编码 δ 催化亚基)及 Pol30(编码 PCNA)的表达是按细胞周期进行调控的。在 G₁ 后期它们的表达增加 10~100 倍,在 S 早期达到峰值,在 S 后期降为基线水平。分析酵母的与 DNA 复制有关的一些基因包括 Pol1, Pol2, Pol3, PRI1, PRI2, Pol30 及胸苷激酶, DNA 连接酶, 胸苷酸合成酶等的基因,在 5' 上游 -100 到 -200 位置中都有一个 Mlu I 切点(AOOGGT),这一顺序可能与这些基因在 G₁/S 交界处的同步表达有关。

人 DNA 聚合酶 α 基因的表达也进行了研究。缺失研究表明转录起始点 5' 上游 248 bp 是 α 基因有效地进行表达所必需的。转录起始点附近是富 G-C 区,但缺少 TATA 盒,对面

链上有 OCAAC 元件。248 bp 中有与 Spl1, Ap1, Ap2 和 E2F 等结合位点一致的顺序。用部分纯化的核蛋白可保护 OCAAC 和 E2F 结合位点不被 DNase I 水解。当人培养细胞从 G₀ 期诱导进行分裂时, α 的 mRNA 转录, 蛋白质的合成以及酶活性都增加, 并出现在 DNA 合成峰之前。 α 基因对于血清诱导作出的反应像是多点顺序元件而不是单一顺序元件的反应。相对应的 DNA 聚合酶 β 的基因在分裂与静止细胞中都有正常表达。小鼠引发酶 49kD 亚基基因在 G₀ 期诱导进入细胞分裂后, mRNA 转录水平也提高 10 倍。

人 PCNA 全基因已克隆, 有 5 个内含子 6 个外显子。转录起始点 5' 上游 400 bp 中包含有转录的启动子和增强子顺序。PCNA 的转录依细胞周期虽然仅差几倍, 但细胞从 G₀ 期诱导进行分裂后转录大大增加。缺失研究表明第 4 个内含子看来也参与了 PCNA 基因表达的调控。

3. 复制酶与蛋白质的修饰调控^[47]

近来不少研究表明参与 DNA 复制的酶与蛋白质不仅在转录水平上受到调控, 而且在细胞周期的不同阶段中以磷酸化与去磷酸化修饰的方式调节了它们的活性。

DNA 聚合酶 α 的 180kD 和 70 kD 亚基在 G₂ 期被 p34^{cdc2} 及其他蛋白激酶催化磷酸化, 在 M 期磷酸化的 α 对单链 DNA 亲和力降低, 在 G₁ 期再由磷酸酯酶去磷酸化。

RPA 的 34 kD 亚基也受磷酸化修饰, 此亚基在 S 期被磷酸化, 到 G₁ 期去磷酸化。至少有三种蛋白质与它的磷酸化有关: cyclin A, cyclin B 及 p34^{cdc2}。RPA 的去磷酸化形式与 DNA 的亲和力低, 用 SV40 体外模型分析 RPA 可能有二步磷酸化修饰, 在第一次磷酸化修饰后 RPA 可通过与 T 抗原的作用结合到 DNA 上去, 进一步修饰可使结合在复制起始点上的 RPA 34 kD 亚基改变构象, 产生一种电泳时移动较慢的条带。

4. 真核细胞染色体 DNA 复制过程中组蛋白的修饰^[48]

海胆卵 DNA 复制研究发现, 在进入细胞周期的 S 期时, 有组蛋白的多聚(ADP-核糖)化修饰, S 期后细胞核与抗多聚(ADP-核糖)抗体的反应减弱。用多聚(ADP-核糖)合成酶的抑制剂 3-氨基苯甲酰胺抑制组蛋白的多聚(ADP-核糖)化修饰则阻止了 S 期的进展以及卵的分裂。表明组蛋白的修饰与染色体 DNA 复制有关。

五、真核细胞染色体 DNA 的复制

通常相信, 在 SV40 体外模型上各种 DNA 聚合酶及蛋白质因子在复制叉上的功能与染色体 DNA 复制时是相同的。然而 DNA 复制的起始则不相同, 一个细胞有许多条染色体, 每条染色体比原核生物(*E. coli*)整个基因组大得多, 为保证在一定时间内完成 DNA 复制, 每条染色体是多点起始进行复制的。真核细胞染色体 DNA 在一个细胞周期中只起始复制一次, 即有一种机制使已复制的区域不会重复复制。

1. 酵母染色体上的自复制顺序和结合蛋白^[49~53]

真核细胞染色体 DNA 复制起始点在大多数生物中还了解得很少。研究得较多的是酵母。利用双向电泳技术已在酵母染色体 DNA 上鉴定出一些自复制顺序(ARS), 带这些顺序的质粒能在酵母中进行复制。经比较所有酵母的 ARS 都有 11 bp 的核心顺序即 $\begin{smallmatrix} \text{A} & & & & \text{A} \\ \text{T} & \text{T T T A T} & \text{G} & \text{T T T} & \text{T} \\ & \text{A} & & & \text{A} \end{smallmatrix}$, 但并非有这种 11 bp 顺序的区域都是复制的起始点。这个顺序的二侧

对于发挥 ARS 的作用也是需要的。近来已鉴定出一些二侧有关元件。其中之一是专一的蛋白质 OBF1 的结合位点,这一位点有的称为 22 bp 的增强子,有的称为 B3 元件。另一元件位于核心顺序中富 T 的一条链的 3' 端是富 AT 的区域(ATR),这个区域约 72 bp 长,ATR 能增强复制的起始但只在 3' 端起作用。这一元件有的称为 DNA 解旋元件(DUE),有的实验室进一步在这个区域内鉴定了 B1 和 B2 二个较短的元件是与复制起始有关的。OBF1 的 cDNA 已克隆,核苷酸顺序测定结果证明它也就是另外二种结合蛋白 ABF1 和 BAF1。ABF1 又是转录的活化因子,表明有些蛋白质既作用于转录又作用于复制。OBF1 可结合到 TON₇ACG 顺序上,对 DNA 复制的起始起增强作用,这一顺序在一些转录调节位点上也存在。另外还有一个 MCM1 结合蛋白也可能与酵母 DNA 复制的起始有关。

2. 人染色体 DNA 复制起始的研究^[54,55]

试图在人染色体 DNA 中找出类似的自复制顺序。将一个认为是 ARS 的顺序装入质粒,发现它在人细胞中复制起始点仍不至一个。至今的结果表明人染色体上可以开始复制的信号很丰富且顺序专一性不高。但如果在人细胞中测定大肠杆菌染色体 DNA 的复制则起始效率很低,表明人基因中确有某些顺序信号与 DNA 复制的起始有关,它们在细菌 DNA 中是不存在的。对人的 62 个基因片段进行的研究表明复制起始与 DNA 片段的长度有关,长的片段利于复制。人染色体 DNA 复制研究利用病毒构建的载体,病毒本身在人细胞中复制的机制对了解细胞内 DNA 复制的控制也有帮助。

3. 染色体上的复制元件和人造染色体

复制起始顺序、端区重复顺序是染色体进行复制所必需的元件。着丝粒则是染色体复制后能正确地分配到二个子细胞中去所必需的。现已从酵母分离鉴定了上述三种元件并构建了人工染色体。这种人工染色体能在酵母中随细胞周期而复制。利用这种人工染色体作载体可以插入很大的 DNA 片段,成为有用的工具。

六、小结和展望^[56,57]

真核生物 DNA 复制研究近年来取得了突破性的进展。研究结果表明真核 DNA 复制的一些基本机制与原核生物也是一致的。例如 DNA 的半保留复制,二条链的半不连续合成,所需的酶也相似,都由 3'→5' 外切活性执行的校正阅读功能来保证 DNA 合成的高度真实性。真核与原核也有区别,原核生物 DNA 复制时在复制叉上催化前导链和后随链合成的两个酶的核心是一样的,而真核的两个酶不一样。原核的引发酶与解链酶紧密相连,真核中引发酶与 DNA 聚合酶 α 紧密相连。大肠杆菌 DNA 复制定点起始,起始蛋白与 DNA 相互作用专一性很强。真核 DNA 复制多点起始,看来起始蛋白识别的专一性不强。真核细胞染色体有端粒体和着丝粒,原核生物无这种元件,真核细胞 DNA 复制完成前不能重新起始也与原核不同。真核细胞 DNA 复制虽已取得很大进展,但仍有一些问题没有搞清。利用 SV40 构建的体外复制体系也未达到与体内一样的效率。

由于 DNA 复制的整个过程与细胞的分裂、分化、衰老、癌变以及细胞周期等有着密切的关系,因此今后的 DNA 复制研究将越来越多地与这些领域的研究结合起来。随着 DNA 复制研究的进展有些问题已初露端倪,如前所述细胞 DNA 复制酶与蛋白质基因的表达随细胞周期在转录水平上进行调控,而且它们的功能依细胞周期受磷酸化和去磷酸化修饰的

调控。另外已知道细胞周期调节蛋白和 p34^{cdc2} 蛋白激酶在细胞周期中起着关键作用, 参与了许多酶与蛋白质包括 DNA 复制的酶和蛋白质的磷酸化。Cyclin A 是在 G₁/S 期转折处 p34^{cdc2} 的活化因子, 而 Cyclin B 则在 G₂ 期活化 p34^{cdc2}, p34^{cdc2} 本身也随着细胞周期而受磷酸化和去磷酸化修饰的调节。还有人根据一些实验结果提出一种假说即分化细胞之所以在分裂后仍能保持相同的细胞状态是在 DNA 复制的染色质装配过程中实现的。非表达的基因在 DNA 合成后与组蛋白装配成染色质而表达的基因则在 DNA 合成后与专门的结合蛋白结合成复合体, 它不再与组蛋白结合而维持它原有的状态。

病毒核酸的复制也已取得不少进展, 本文不再叙述。病毒核酸复制的研究既为病毒防治创造了条件, 也可作为真核 DNA 复制研究提供有用的工具。

限于篇幅不能详细引用文献, 可参阅综述 1~5 以及如下二本会议论文摘要:

Abstracts of papers presented at the 1991 meeting on Eukaryotic DNA Replication, Kelly, T. and Stillman, B. eds. OSH N. Y. Keystone Symposia on Molecular & Cellular Biology, Journal of Cellular Biochemistry, Abstract Supplement 16B 1992.

参 考 文 献

- [1] Challberg M D and Kelly T J. *Annu Rev Biochem*, 1989, **58**: 671
- [2] Stillman B. *Annu Rev Cell Biol*, 1989, **5**: 197
- [3] Burgers P M J. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1989, **37**: 235
- [4] Wang T S-F. *Annu Rev Biochem*, 1991, **60**: 513
- [5] So A G and Downey K M. *Critical Rev in Biochem and Mol Biol*, 1992, **27**: 129
- [6] Murakami Y, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**: 2869
- [7] Dornreiter I, et al. *EMBO J*, 1990, **9**: 3329
- [8] Weinberg D H, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 8692
- [9] Tan C. -K, et al. *J Biol Chem*, 1986, **261**, 12316
- [10] Blow J. *Nature*, 1987, **326**: 441
- [11] Wold M S and Kelly T J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85**: 2523
- [12] Tsurimoto T and Stillman B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 1023
- [13] Tsurimoto T, et al. *Nature*, 1990, **346**: 534
- [14] Tsurimoto T and Stillman B. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 1961
- [15] Lehman I R and Kaguni L. *J Biol Chem*, 1989, **264**: 4265
- [16] Weiser T, et al. *Biol Chem*, 1991, **266**: 10420
- [17] Burgers P M J, et al. *Eur J Biochem*, 1990, **191**: 617
- [18] Miller M R, et al. *Biol Chem*, 1985, **260**: 134
- [19] Eki T, et al. *J Biol Chem*, 1986, **261**: 8888
- [20] Johnson L M, et al. *Cell*, 1985, **43**: 369
- [21] Wong S W, et al. *EMBO J*, 1988, **7**: 37
- [22] Bauer G A, et al. *J Biol Chem*, 1988, **263**: 917
- [23] Boulet A, et al. *EMBO J*, 1989, **8**: 1849
- [24] Chung D W, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 11197
- [25] Budd M E, et al. *J Biol Chem*, 1989, **264**: 6557
- [26] Morrison A, et al. *Cell*, 1990, **62**: 1143
- [27] Kesti T and Syväoja J E. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 6336
- [28] Lee S -H, et al. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 22707
- [29] Talanian R V et al. *Biochemistry*, 1989, **28**: 8370
- [30] Copeland W C and Wang T S-F. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 22739

- [31] Almendral J, M et al. *Proc. Natl. Acad Sci USA*, 1987, **84**: 1575
- [32] Morris G F and Mathews M B. *J Biol Chem*, 1989, **264**: 13856
- [33] Bravo R and Macdonald-Bravo H. *J Cell Biol*, 1987, **105**: 1549
- [34] Zuber M, et al. *Mol Cell Biol*, 1989, **9**: 57.
- [35] Lee S -H, et al. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 594
- [36] Jindal H K and Vishwanatha T K. *Biochemistry*, 1990, **29**: 4767
- [37] Goulian M and Heard C J. *J Biol Chem*, 1990, **265**: 13231
- [38] Kenny M K, et al. *J Biol Chem*, 1990, **265**: 7693
- [39] Erdile L F, et al. *J Biol Chem*, 1990, **265**: 3177
- [40] Thommes P and Hübscher U. *FEBS Lett.*, 1990, **268**: 325
- [41] Wang J C. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 6659
- [42] Blackburn E H. *TIBS*, 1991, **16**: 378
- [43] Lucchini G, et al. *Gene*, 1990, **90**: 99
- [44] Foiani M, et al. *Mol Cell. Biol*, 1989, **9**: 3081
- [45] Bauer G A and Burgers P M. *J. Nucleic Acids Res*, 1990, **18**: 261
- [46] Pearson B E, et al. *Mol Cell. Biol*, 1991, **11**: 2081
- [47] Nasheuer H -P, et al. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 7893
- [48] Meijer L, et al. *EMBO J*, 1991, **10**: 1545
- [49] Fangman W L and Brewer B J. *Annu Rev Cell Biol*, 1991, **7**: 375
- [50] Umek R M and Kowalski D. *Nucleic Acids Res*, 1990, **18**: 6601
- [51] Marahrens Y and Stillman B. *Science*, 1992, **255**: 817
- [52] Christ C and Tye B -K. *Genes Dev*, 1991, **5**: 751
- [53] Francesconi S C and Eisenberg S. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 4089
- [54] Krysan P J and Calos M P. *Mol Cell Biol*. 1991, **11**: 1464
- [55] Heinzel S S, et al. *Mol Cell Biol*, 1991, **11**: 2263
- [56] Norbury C, et al. *EMBO J*, 1991, **10**: 3321
- [57] Wolffe A P. *J Cell Science*, 1991, **99**: 201

原核基因的表达调控

杨 胜 利

(中国科学院上海生物工程研究中心, 200233)

原核基因表达调控的研究近年来不仅在分子水平逐步深入, 而且在细胞水平的研究也取得很大进展。通过对核酸与蛋白质, 核酸与核酸, 蛋白质与蛋白质, 蛋白质与小分子的相互作用的研究, 阐明了许多基因调控的分子机制。对细胞整体的基因调控网络, 生长和发育的基因调控和环境对基因的调控等研究, 阐明了应答系统中信号接收、转换和传递的机制, 细胞生理状态对基因的调控, 使操纵子水平的基因调控研究和细胞基因调控网络的研究联系起来, 能更好地了解活细胞中的基因调控规律。

一、操纵子水平的转录调控

转录是原核基因表达的主要调控点。转录调控是通过 RNA 聚合酶、转录因子和启动子的相互作用实现的。RNA 聚合酶的结构和功能的复杂性, 启动子结构和组织的多样性以及众多的转录因子导致转录调控的多样性, 使细胞能迅速地应答内部和外部的信号, 通过相应的基因调控的变化, 及时改变细胞的表型, 以适应环境和细胞生理状态的变化。转录调控的基本单元是操纵子。

原核细胞一般都有多种 RNA 聚合酶, 其差别在于 σ 因子, 而核心酶是相同的。核心酶由 2 个 α 亚基, 1 个 β 亚基和 1 个 β' 亚基组成。 β 亚基对 RNA 聚合酶的功能是至关重要的, 参与催化 RNA 合成、终止信号识别、底物和产物的结合、严紧型调节信号的应答、 β 和 β' 亚基合成的调控。而 σ 因子则参与启动子的识别和结合, 以及转录起始复合物的异构化。 σ 因子与核心酶结合形成全酶, 是核心酶和启动子之间的桥梁。 σ 因子的取代在细胞发育和对环境的应答反应中起主导作用。

启动子不仅决定转录的起始位点, 而且决定转录的起始频率。一个启动子的强度取决于它与 RNA 聚合酶的亲和性以及转录起始复合物的异构化速度。与启动子强度有关的启动子结构要素有: -35 区顺序, -10 区顺序, 两者的间隔。负调控的启动子的操纵基因位置对转录的精密调控起重要作用。如 9 个受 LexA 调控的操纵子的操纵基因有 8 个不同位置, 导致 9 个操纵子转录强度的差异, 结果 9 个操纵子在适当的时候以适当的强度协调地得到表达, 它们的基因产物协同地完成 SOS 应答反应^[1]。正调控启动子的活化蛋白结合位点以及一些远程活化启动子的辅助蛋白结合位点的顺序和位置也都对启动子强度有影响。有些正调控的启动子不仅需要活化蛋白, 而且需要辅助蛋白共同激活其转录。如 σ^{54} 启动子的活化蛋白结合位点在 -80 到 -120 区, 活化蛋白不能与启动子和 RNA 聚合酶相互作用, 必须依赖于辅助蛋白 IHF 结合于启动子和活化蛋白结合位点之间造成 DNA 链的弯曲和环化, 活化蛋白才能激活转录。