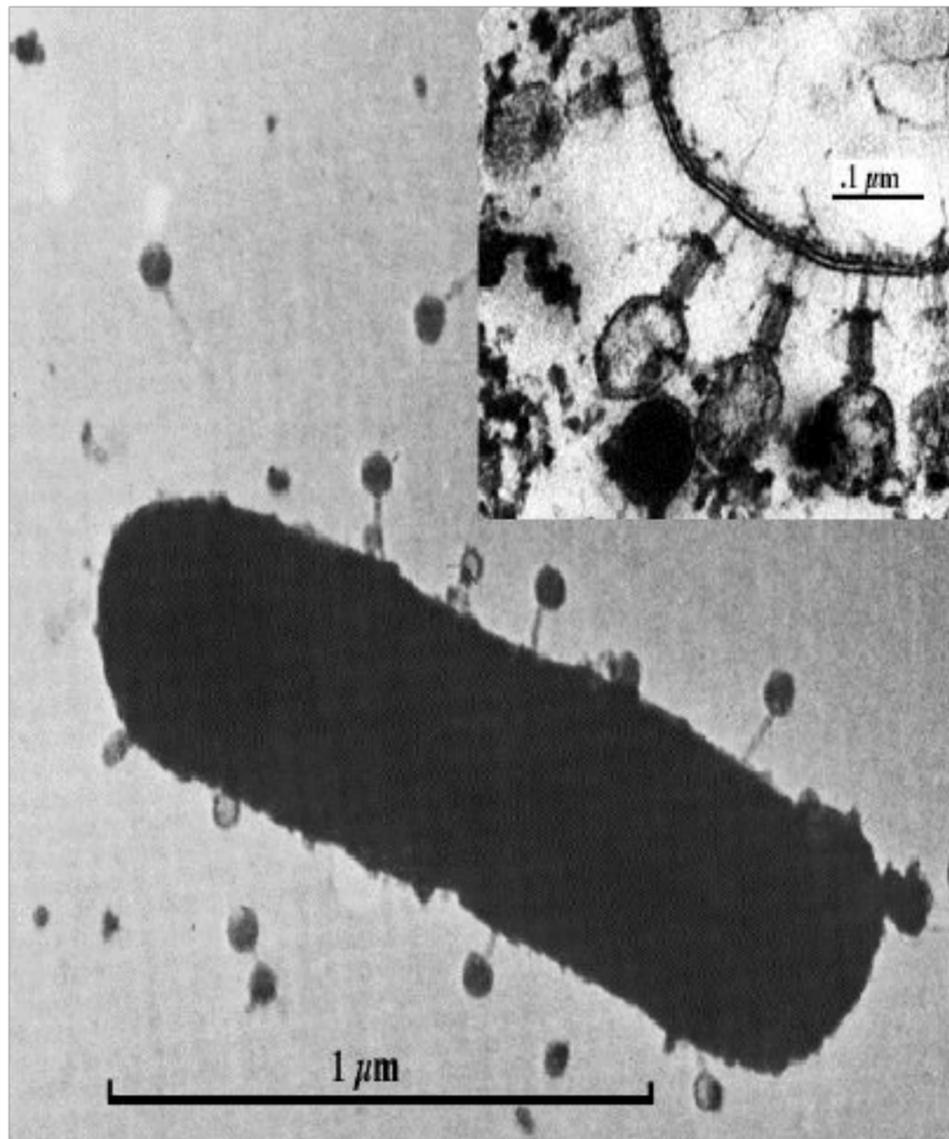




生命科学学院

λ 噬菌体的裂解性和溶原性的基因调控机制



姓名：

学号：

班级：

专业：

摘要

λ 噬菌体（**phage**）有两种生存策略，一种通过感染宿主细胞，产生大量的子代噬菌体，同时宿主细胞裂解死亡，这种方式称为裂解性感染。另一种是噬菌体的基因组以一种原噬菌体的方式潜伏于细菌中，这种增值方式称为溶原态（**lysogeny**）。 λ 噬菌体的裂解发育、溶原发育和溶原发育到裂解发育的诱导是研究生物分子调节优异的模型。经过四十多年的研究，在这个模型中已经发现了众多的正调节因子和负调节因子在转录水平或转录后调节基因的表达。

关键词： λ 噬菌体、裂解性、溶原性

目录

1. 摘要	2
2. λ 噬菌体的结构组成	3
2.1 壳体结构	3
2.2 λ 噬菌体的核心	3
3. λ 噬菌体的生活周期	6
3.1 λ 噬菌体 DNA复制	6
3.2 λ 噬菌体的转录调控	7
3.3 λ 噬菌体的溶原性感染	9

3.3.1 λ噬菌体溶原化状态的建立	9
3.3.2 λ噬菌体基因组的整合	11
3.3.3 原噬菌体的割离	12
3.3.4 裂解性-溶原性选择决定	15
4. 参考文献	16

1951年 Esther Lederberg 发现 E.coli K12 菌株经 UV 诱发或偶尔自发放出噬菌体。E.coli K12 中有潜伏的、无感染能力状态的噬菌体，称原噬菌体。将这种噬菌体命名为 λ。λ 侵染 E.coli 后可进入裂解周期（lytic cycle）或溶原周期（lysogeny）。

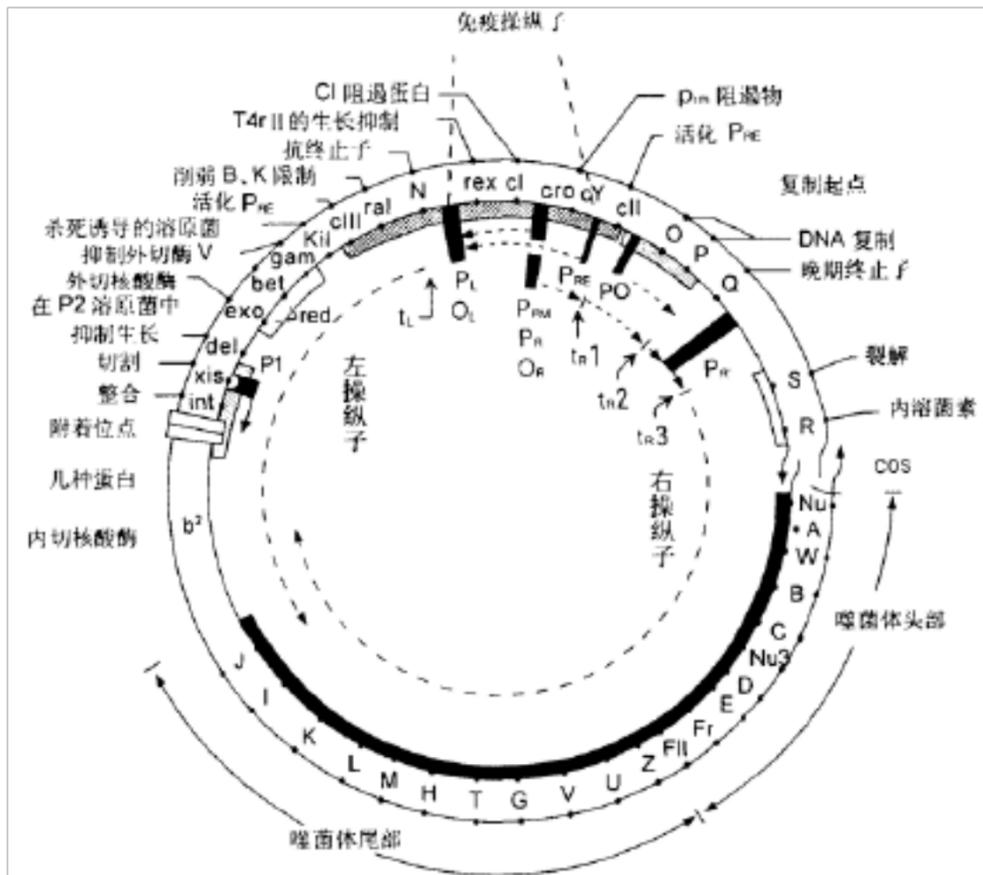
2. λ噬菌体的结构组成

2.1 壳体结构

λ噬菌体是有尾噬菌体，壳体由头部和尾部组成，头部和尾部通过颈部相连。头部通常呈二十面体对称，直径为 60nm 左右；尾部呈螺旋对称，无收缩性。λ噬菌体头部蛋白主要有 gpE(38kD) 和 gpD(12kD)，他们以非二硫键进行共价连接。

2.2 λ噬菌体的核心

λ噬菌体核心包含线状 dsDNA 分子量为 30.8MD，含有 48502bp，其双链 DNA 的两 5' 端叫做 m 端，末端碱基为 G，为左向或反时针方向转录的链。R 链或右链 5' 端称为 m' 端，末端碱基为



A. λ DNA被注入到宿主细胞后，可借助两 5' 端单链的氢键缔合和连接酶的作用形成闭合环状 DNA

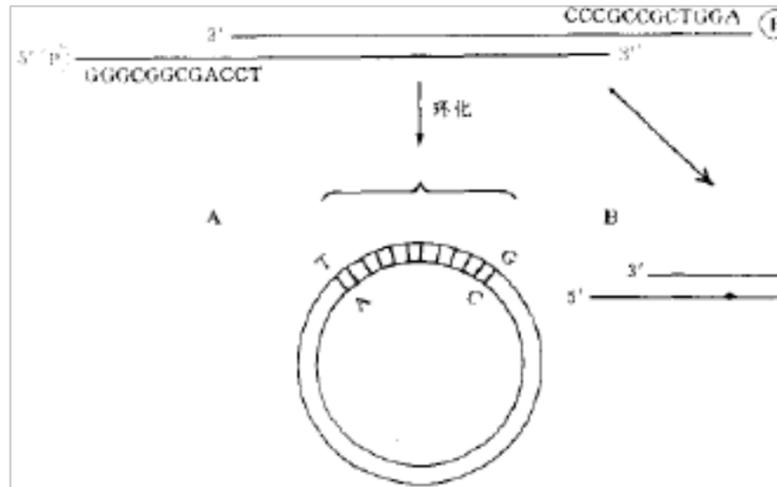


图 3-16 λDNA 退火后形成二聚体
A. 环状分子; B. 二聚体

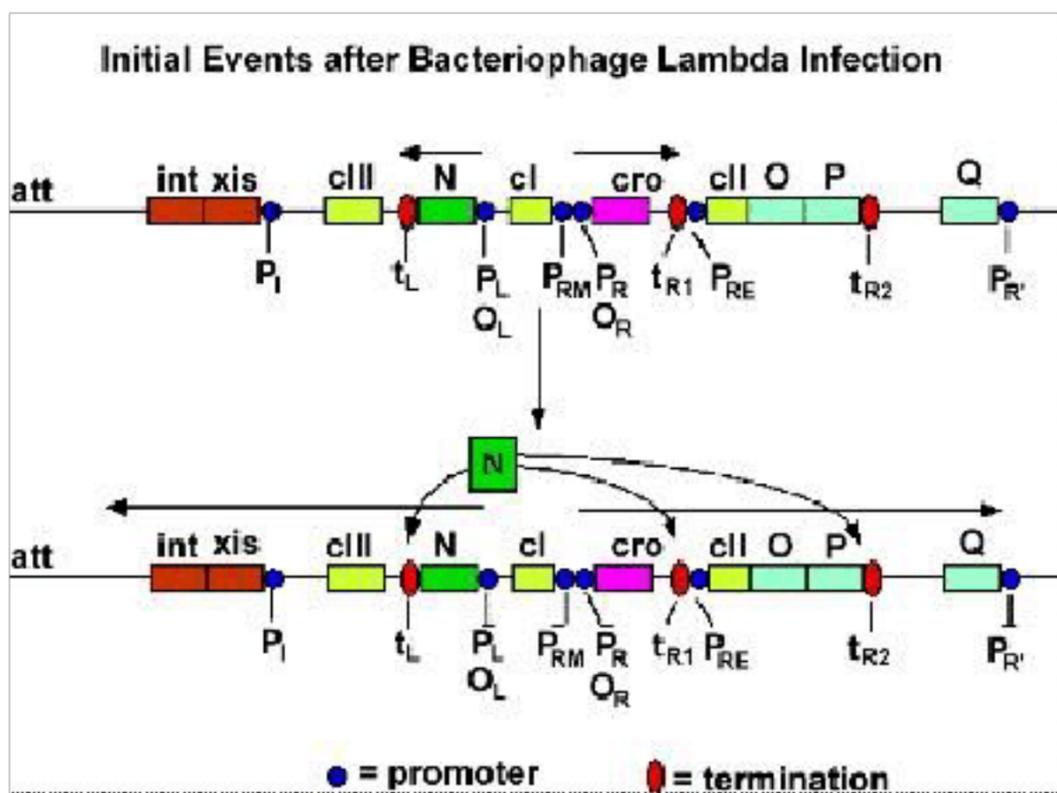
由于 λ 噬菌体即可进行裂解生长，也可进入溶原化状态，因此 λ 噬菌体基因组的结构是与它的这些特性相适应的，其中一些基因决定裂解生长，另一些基因决定 λ 噬菌体的溶原化，甚至还有一些基因可以对这两种状态的转变行使调节作用。λ 噬菌体基因组 DNA 总长度为 48502bp，呈线状，当其 DNA 进入细胞后和基因进行转录时则呈环状。根据 λ DNA 的环状结构，可将 66 个可编码的基因分成 3 个功能区(functional block)：右边的功能区参与衣壳形成和 DNA 复制，称为右操纵子区；左边的功能区与裂解生长和溶原化功能有关，xc 称为左操纵子区，中央功能区是 λ 基因组调控操纵子区，也称为免疫操纵子区。

左图为 λ 噬菌体的基因图。

(1) 右操纵子区 A 至 J 为构成衣壳蛋白的基因，其中 S、R 基因与裂解作用有关。O、P 为 DNA 复制基因，与复制原点(ori) 靠近，Q 为抗终止因子基因。

(2) 中央调控操纵子区 cI 为 λ 阻遏物基因，其基因产物是 λ 噬菌体基因组早期转录的阻抑物；cro 为操纵基因 O_L 和 O_R 的阻抑物基因，其蛋白产物通过 O_R 可抑制左向 cI 基因的转录。cII 基因产物能激活 cI 和 int 转录，与 λ 噬菌体进入或维持溶原化状态有关。

(3) 左操纵子区 N 是抗转录终止基因，N 基因产物能拮抗早期转录终止子 t_{R1}、t_{R2} 和 t_{L1}、t_{L2}，使 P_L 和 P_R 的转录作用各自越过终止子区而继续向左和向右进行延伸转录。



exo 和 bet 是位于 red 区域的两个基因，常被称为 red 基因，red 为重组相关的基因，其基因产物为核酸外切酶，参与裂解生长早期所发生的重组，并能使 DNA 的 θ 型复制转变为滚环复制。Gam 为大肠杆菌外切核酸酶 V 的抑制物基因，gam 基因产物可使宿主 recB 和 recC 基因编码的外切核酸酶失活，而外切核酸酶 V 则降解

由滚环复制所产生的线状多联体 DNA Δ int 是整合酶基因，int 基因产物能识别宿主细胞染色体 DNA 和噬菌体基因组上相应的 att 位点，并能催化二者的断裂和再连接。Att 位点称为附着位点，在宿主细胞 DNA 上称为 attB，在噬菌体 DNA 上称为 attP, attB 和 attP 位点分别有一段由 15bp 组成的同源核苷酸序列，借助同源性重组作用可使噬菌体基因组插入到宿主的染色体 DNA 上。Xis 为切除酶基因。Int 和 xis 基因产物共同作用，能使 att 位点发生重组，并将原噬菌体基因组 DNA 从宿主染色体中切割下来，使 λ 噬菌体进入裂解过程。在左区还有一个 cIII 基因，它的基因产物可行使 cII 样的功能，即激活 cI 和 int 的转录。在 b2 区域内的一些基因不是噬菌体存活和感染所必需的，它们包括 DNase、膜蛋白基因和 int 基因表达的调节位点。从 λ 噬菌体整个基因组来看，相邻基因之间的终止位点和起始位点常发生重叠。如在 ATGA 序列中，TGA 是前一个基因的终止密码子，而 ATG 则是后一个基因的起始密码子，像这样的重叠结构，λ 噬菌体基因组中就有 30 个，整个基因组很少有非编码区。

表 1 λ 噬菌体主要的调节元件及调节基因产物的功能

调节元件或调节基因	产物及功能
P_L, O_L, P_R, O_R	左右向转录的启动子和操纵子
$t_R (1, 2, 3, 4, 5)$	右向转录的终止子
$t_L (1, 2)$	左向转录的终止子
P_{RE}^L	C I 蛋白建立启动子，受 CII 蛋白调控
P_I	int 基因启动子，受 CII 蛋白调控
P_{aQ}	Q 蛋白反义 RNA 启动

P_{RM}	子, 受 CII 蛋白调控 CI 蛋白基因维持启动子, 受 CI 浓度调控
P'_R nut L, nut R	晚期转录的启动子 N 蛋白左右两个反终止结合位点
qut	Q 蛋白反终止结合位点
cro	P^L 和 P^R 的阻遏蛋白, 并可阻遏 P^E , 抑制 CI 表达
ci	P^L 和 P^R 的主要的阻遏物, 并可自主调控 P^E
c II	可以启动 P^{RM} 、 P^L 和 P^R , 使 λ 进入溶原化途径
c III	和 CII 组成复合物, 启动 P^E 产生 c I 及 cro 的反义 RNA
N	t_{R1} , t_{R2} 及 t_{L1} 的反终止蛋白
Q	t_{R4} 的反终止蛋白.
O, P	DNA 复制所需的蛋白
S, R, R ₂	裂解宿主所需的裂解酶
int	整合酶, 使 λ 整合到宿主的染色体中
xis	切除酶, 帮助 λ 在 att 位点和宿主连接
bet, exo	重组蛋白, 帮助 λ 和宿主进行重组
W, B, N u3, C, D, E, F I, F II, Z	头部蛋白基因
U, V, G, T, H, M, L, K, I, J	尾部蛋白基因
cos (cohesive)	12bp 的回文序列,

A

由线状连接成环状的连接点，A 蛋白切割位点
末端酶，识别 cos 位点，包装时将环连体切成单个的基因组

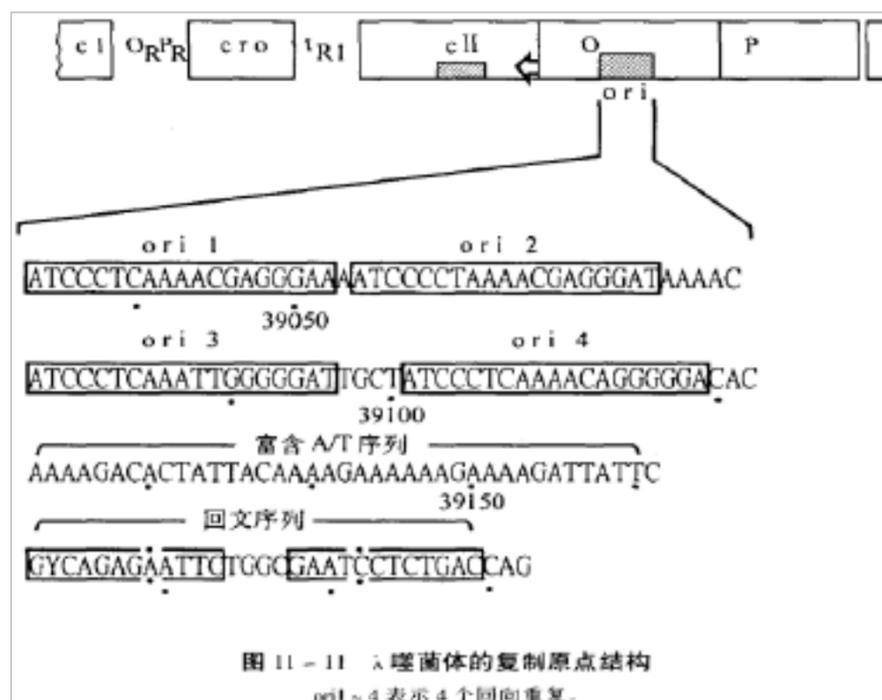
3. λ噬菌体的生活周期

3.1 λ噬菌体 DNA复制

λ噬菌体 DNA复制分为早期复制和晚期复制。在早期和晚期复制阶段各具有不同的复制方式，早期为 θ 复制，晚期为滚环复制。

(1) θ 复制 θ 复制是从一个复制原点起始的，并且通过左复制叉和右复制叉产生双向复制。

复制原点的组成：λ噬菌体的 θ 复制原点存在于基因 O 区域内，由三个部分组成：一是 4 个高度保守的同向重复序列，由 19bp 组成，被称为 ori 重复序列；二是大约为 40bp 组成的 AT 富含序列，其中 AT 占 80%；三是 28bp 组成的回文序列，中间不对称的部分含有 4bp，见下图。



θ 复制的起始：λ DNA复制是从复制原点起始的，ori 的 DNA链解旋要有基因 O和基因 P 产物的参与，然而基因 O和基因 P 的转录却是通过右向启动子 P_R 和右向操纵基因 OR发动的。如果 cI 基因编码的阻遏蛋白结合在 PR和 OR上，基因 O和基因 P 就不能进行转录，λ DNA复制也随之被阻断。通常 λ 基因 O和基因 P 一旦编码形成蛋白 O和蛋白 P，蛋白 O就可以识别和结合 4 个 ori 重复序列，并且再通过 λ 蛋白 P 同大肠杆菌的 dnaB 基因编码的解旋酶相互作用，构成复制复合体，后者与蛋白 O在 ori 部位作用，使 DNA双链解旋，然后由引发酶催化合成一段引物 RNA，再在 DNA聚合酶III的催化下启动 DNA复制，从 ori 起始，λ DNA呈双向复制。值得指出的是，在复制原点部位的 AT富含序列具有两个方面的功能，一是 AT富含区段呼吸作用强易于使 DNA解旋。二是 AT富含序列易于产生 RNA→DNA合成的转变。λ DNA所进行的 θ 复制，没有固定的复制终点，当两个复制叉碰撞在一起的时候，复制便告终止。

(2) 滚环复制 在 λ 噬菌体进行裂解生长的晚期，早期蛋白合成关闭，衣壳蛋白和溶细胞蛋白开始合成，DNA的复制也由 θ 复制转变为滚环式复制。

DNA滚环复制为单向复制，故它又称为 σ 复制，由滚环复制产生的多联体线状分子经 λ 内切酶识别并切开从粘性末端 cos 位点，形成 λ 线状 DNA分子。再经过衣壳蛋白将 λ 线性 DNA分子包装在衣壳内。大肠杆菌的外切酶 V能阻止 λ 噬菌体 DNA滚环复制，但 λ gam 基因产物能使这种酶失活。

3.2 λ 噬菌体的转录调控

DNA的两条链都有各自的转录单位，r 链为右向转录，l 链为左向转录，一些在功能上密切相关的基因聚集而成几个大的转录单位，即 4 个操纵子，他们分别称为阻遏蛋白操纵子、左向早期操纵子、右向早期操纵子和右向晚期操纵子。 λ 阻遏蛋白操纵子含有 cI 基因，其产物 cI 蛋白为 λ DNA 的阻遏蛋白；左向早期操纵子主要编码与重组、整合、割离有关的蛋白；右向早期操纵子主要编码与复制有关的蛋白；晚期操纵子编码头部结构蛋白，还有溶菌酶，与噬菌体的裂解作用有关。晚期操纵子是一个大的操纵子，含有 20 多个基因。

λ 噬菌体左右向早期操纵子并非是各自仅仅转录合成一条 mRNA 而是右向早期转录操纵子转录合成 3 种 mRNA (R1, R2 和 R3)，左向早期转录操纵子转录合成两种 mRNA (L1 和 L2)。 λ 噬菌体 mRNA 的转录终止是通过依赖于 ρ 因子的终止子以及抗终止子来调控的。

在左向早期操纵子中，具有一个依赖于 ρ 因子的终止子 t_L ，宿主 RNA 聚合酶从左向启动子 P_L 转录至终止子 t_L ，产生 L1 mRNA。在右向早期操纵子中具有两个依赖于 ρ 因子的终止子 t_R 、 t_R 和一个对于抗终止作用不敏感的终止子 t_R ，大肠杆菌聚合酶从右向启动子 P_R 开始转录合成 R1 mRNA。L1 mRNA 的基因 N 转录产物，R1 mRNA 的基因 cro 的转录产物，这两个基因均称为极早期基因，而两个左右早期转录操纵子的其他基因称为延迟早期基因。蛋白 N 能阻止终止子 t_L 、 t_R 和 t_R 的终止作用，而使延迟早期基因得到表达，转录生成 L2、R2、R3 三种 mRNA，其中 L2 和 R2 mRNA 编码合成与 cI 基因

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/448017074053007003>