

细菌染色体的高级结构

黄 仪 秀

(北京大学生物学系)

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 及大部分细菌的细胞通常含有一个染色体, 称为细菌染色体 (bacterial chromosome) 或类核 (nucleoid)。大肠杆菌染色体 DNA 的分子量大约是 2.6×10^9 , 相当于 4×10^6 碱基对, 估计可携带约 4000 个基因, 用双向凝胶电泳可分出 2100 种蛋白质。

大肠杆菌染色体是一条环状双链 DNA 分子, 长度约 1300 μm , 而大肠杆菌细胞长度却只有 1—2 μm 。因此面临着一个问题, 细菌必须通过某种高级结构, 才能将如此巨大的环状 DNA 分子有组织地压缩在细胞内, 并且执行正常的转录和复制功能。最近的研究工作使我们对细菌(主要是大肠杆菌)的染色体结构已有更多的了解。现认为细菌染色体 DNA 在细胞内存在着两种不同的结构层次: 整个染色体 DNA 组织成为若干超螺旋的结构区 (domain of supercoiling)^[1]; 并且在这些结构区中的 DNA 片段与类组蛋白结合构成类核小体 (nucleosome-like)^[2]。本文就有关结构简述如下。

(一) 细菌染色体的分离和组分

从正在生长的细菌细胞中可分离到完整的细菌染色体, 它是一种处于高度压缩状态的 DNA-RNA-蛋白质的复合物。在某些分离条件下, 膜也与这些复合物相结合。

早在 1970 年, Pettijohn 和他们的同事发展了类核的分离方法。他们利用在有足够配对离子 (counterion) 存在的条件下, 消除 DNA 电荷之间的排斥力, 从而稳定了 DNA, 并通过裂解细胞分离到类核。最初利用 NaCl 作为配对离子; 后来发现多胺也能稳定 DNA, 因而采用 5mmol/L 亚精胺 (spermidine) 来分离类

核^[3]。

实验证明, 所分离到的类核 DNA 与细胞内压缩状态 DNA 的表现特征是一致的: (1) 分离到的类核大小 (0.5—1.5 μm) 与正在生长细菌细胞内所观察到的类核大小相一致。(2) 分离类核中的 DNA 保留了超螺旋结构。随着 EB (溴化乙锭) 浓度的增加, 类核沉降系数呈现双相改变。(3) 分离类核 DNA 如同在体内的类核 DNA 一样, 被组织成为超螺旋的结构区, 并且体外测定每个基因组 DNA 的结构区数目与 Sinden 和 Pettijohn 在体内所发现的结构区数目相一致。至于类核的分离方法是否能够使细胞内结构区位置保持不变, 以及体内结构区是否存在静态或动态的变化, 目前尚无实验加以证明。

应该指出的是, 两种分离方法所获得的类核, 其所结合的大分子种类有着显著的不同。以高盐 (1mol/L NaCl) 作为配对离子时, 所得到的类核漏掉了许多小的 DNA 结合蛋白。因为这些蛋白与组蛋白相类似, 它们与 DNA 的结合对盐极其敏感。此外高盐条件有时也能导致类核缺失细胞膜。高盐类核所发现的蛋白质包括 RNA 聚合酶亚基、31 和 35 千道尔顿 (kDa) 的两种膜蛋白以及许多微量蛋白。与此相反, 用亚精胺作为配对离子所分离到的类核却含有更多的结合蛋白, 而且膜常常附着在类核上。许多研究者证实^[4,5], 类核中所发现的蛋白质包括许多结合蛋白, 即类组蛋白 (Hu、HLPI 和 H 蛋白) 和其他未被鉴定的蛋白质 (17、26 和 28 kDa)。

值得注意的是, 在所有分离方法得到的类核中, 都保留了新合成的单链 RNA (包括

tRNA、rRNA 和 mRNA) 以及 RNA 聚合酶亚基。

(二) 超螺旋 DNA 的分区结构

在大肠杆菌染色体的电子显微镜相片(图1)中,可清楚地看到接近染色体中心似乎存在着“支架”(scaffold)结构的稠密区,DNA分子的不同部位结合到支架上,形成多环的分区结构,并且每一个结构区的DNA都呈超螺旋状态。整个染色体保持紧密结构。

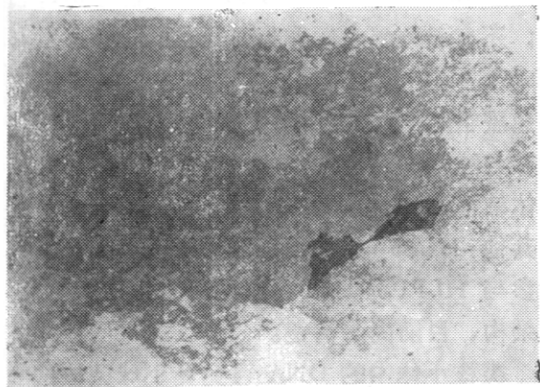


图1 大肠杆菌的染色体电镜图

染色体附着在两段可能是膜的蛋白质样物质的片段上。
这是一个完整的呈超螺旋状的双螺旋DNA分子

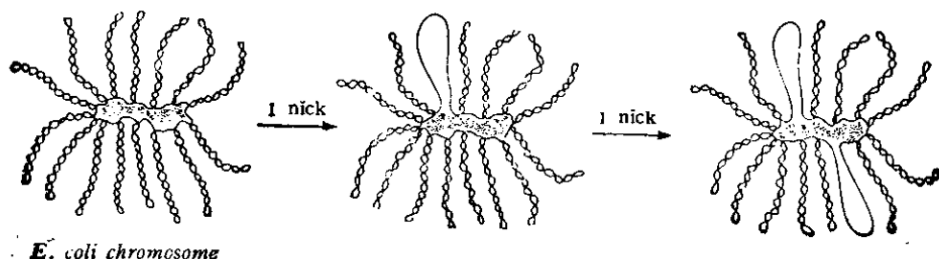
1. 染色体中心的“支架”结构: Kavenoff 和 Bowen 指出染色体中心可能存在着“支架”结构,它可能是由 RNA 或膜组成的。最初的实验认为 RNA 是染色体 DNA 分区结构的核心(支架)。当用 RNA 酶处理类核或用利福平处理分离类核前的细胞,则会造成高盐分离类核的解体。由此推测,可能存在一类特殊的 RNA,它与 DNA 局部碱基配对,从而起着组织与稳定类核 DNA 分区结构的作用。后来的

研究趋向于否定这种看法。Sinden 和 Pettijohn 发现,用利福平处理细胞,体内超螺旋结构区的数目并不减少^[4],而且还发现与类核相结合的 RNA 仅是一些新合成的 RNA,因此目前认为,新生的 RNA 可能仅仅在分离类核过程中,起着体外稳定 DNA 分区结构的作用。

最近的研究倾向于认为某些蛋白质(很可能是膜蛋白)才是构成染色体 DNA 分区结构的“支架”。当用降解蛋白质的胰蛋白酶或者用可破坏蛋白质与蛋白质相互作用的去垢剂去处理分离的类核时,可以看到当蛋白质被除去时,“支架”即被破坏,染色体显著散开。此外在无膜的类核中仍发现存在着膜结合蛋白。许多实验结果证明,无论在体内与分离的类核中,膜与 DNA 紧密接触^[6]。Portalier 和 Worcel 实验证明染色体 DNA 与某些膜蛋白保持着紧密接触。而 Drlica 等和 Dworsky 和 Schaechter 指出每个基因组存在着 20 个 DNA-膜接触物^[6,7]。Dworsky 和 Schaechter 的实验指出 75—80% DNA-膜接触物对 RNA 酶是敏感的。

至于“支架”是否是由 RNA 或蛋白质组成的真实“结构”,至今尚不完全清楚。此外,在体内和体外, RNA 和蛋白质在形成和稳定染色体 DNA 结构区中的作用仍须进一步研究。

2. 染色体 DNA 分子的不同部位结合到“支架”上,形成多环结构区:通常当用极少量 DNA 酶处理超螺旋的双链 DNA 时,使其单链断裂,然后将处理过的 DNA 进行离心沉降。超螺旋的 DNA 分子由于一条链断裂,超螺旋结构就会全部丧失,这样其 S 值就会急剧下降(大



E. coli chromosome

图2 大肠杆菌染色体高度折叠超螺旋结构示意图
图中仅画出 45 个环中的 15 个,这些环附着在“支架”蛋白上,每个单链缺口松开一个环

约下降30%)。然而,当用DNA酶处理大肠杆菌染色体时,则出现不完全相同的结果。开始时DNA只产生一个单链断裂,S值只下降百分之几。第二个断裂又能引起S值的第二次下降。在断裂45次后,染色体的形式仍保持不变。根据这些数据可以推测大肠杆菌染色体的DNA可能存在 45 ± 10 个超螺旋的结构区,这些结构分别结合到“支架”的 45 ± 10 个部位。因此当某一结构区超螺旋DNA中一条链断裂,它只会引起这个结构区的超螺旋结构局部松开,而决不会使整个DNA分子超螺旋结构完全松开^[8,9]。分离后的细菌染色体经电镜测定,每个基因组DNA约有100个结构区。并且电子显微镜已经观察到具有一至两个开放环的结构区(图2)。从而证实了细菌染色体DNA的确形成了超螺旋的多环结构区。每个结构区DNA平均大小为100kbp。

3. 每个结构区的DNA呈不同程度的超螺旋状态:DNA旋转酶(gyrase)在DNA复制中起着重要作用,它负责DNA的超螺旋化。如果将香豆霉素(大肠杆菌旋转酶的抑制剂)加到大肠杆菌细胞培养物中,大约在一个世代的时间,染色体丧失了超螺旋结构,间接测量旋转酶在染色体上结合部位的数目,表明大约有45个结合部位。这些部位的空间分布仍不清楚,但估计在每个超螺旋的结构区上有一个结合部位^[10]。因此旋转酶在调节不同结构区DNA扭转张力方面可能起着主要作用,而不同程度DNA扭转张力将会影响基因表达。

细菌染色体形成结构区的意义,在于它可以使得染色体的不同结构区具有不同水平的超螺旋,并且提供一种可能性,使构成染色体同一结构区的一群基因可进行操纵子的协同调节。可能一个DNA的结构区即相当于一个功能调节单位。

(三) 类核小体结构

从部分破裂的细菌细胞所释放出来的细菌DNA中可观察到类似于真核染色体念珠般的细丝^[11],但是这些结构是极不稳定的,溶胞产物保持几分钟之后,这些结构就会自发破坏,然后

只能观察到高度超螺旋和裸露的线状DNA。实验证明细菌染色体结构区中的DNA片段与某些类组蛋白结合形成类核小体。但是在体内只有部分DNA能够形成此种结构。

在大肠杆菌中已分离到四种不同的类组蛋白(histone-like protein 简称HLPS)。它们包括一对称为HLP11a和HLP11b(也称Hu或BH₂)的蛋白质,其单体大小为9kDa,它的氨基酸组成类似真核组蛋白H2B;另一种蛋白质称为HLP1,大小为17kDa,它可能与BH1相同;还有一种蛋白质称为H蛋白,大小为28kDa,它与组蛋白H2A有相似的氨基酸组成和免疫学的交叉反应^[12],HLP11a和HLP11b蛋白与纯化的染色体DNA相互作用形成类核小体结构,此结构中的DNA呈负超螺旋^[13]。至于其他HLPS蛋白是否能够形成类似结构或者参与HLP11a-HLP11b二聚体形成类核小体结构,目前尚不清楚。

类核小体中的DNA可免受小球菌核酸酶的降解,受保护不被酶降解的DNA片段大小为60或120bp,但至今没有发现这种大小的倍数个碱基对的被保护DNA片段。由此推测类核小体结构在DNA链上并不是有规则等地分布着。

细菌细胞中所有存在的HLPS数目已被粗略测定,大约每个细胞有10000—120000个二聚体分子,根据蛋白质与DNA相互作用的数量化学推算,可能有足够的HLPS蛋白与20—100%细菌染色体DNA相结合。

细菌染色体与真核生物染色体存在着某种程度的结构相似性,它们的DNA都在不同结构层次被有组织地高度压缩成为紧密结构。细菌染色体DNA显然存在着两种不同结构层次:较短的DNA片段(60或120bp)与类组蛋白结合构成类核小体;较大的DNA片段(平均100kbp)结合到“支架”上,构成了超螺旋的DNA结构区。这些高级结构有利于基因复制和表达调控。

细菌染色体与真核生物染色体在结构上仍

(下转第227页)

(上接第 236 页)

然存在着一些重要差别: (1) 真核生物核小体组成为规则的重复结构, 而细菌的类核小体则不规则地分布在部分 DNA 链上。(2) 真核生物核小体细丝可进一步盘绕成为螺管, 而细菌不存在这一层次的组织结构。(3) 真核生物细胞中染色体 DNA 似乎不具张力, 而大部分细菌染色体 DNA 却似乎具有扭曲张力。

相信随着对细菌染色体结构和功能的深入研究, 将使我们对于细菌染色体复制和基因表达调控机制的认识产生新的重大突破。

参 考 文 献

1. Sinden R & D Pettijohn: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**: 224—228, 1981.
2. Pettijohn D: *Cell*, **30**: 667—669, 1982.

3. Kornberg T et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**: 3189—3193, 1974.
4. Yamazaki K et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **196**: 217—224, 1984.
5. Portalier R & A Worcel: *Cell*, **8**: 245—255, 1976.
6. Ogden G B & M Schaechter: *Microbiology* (Levine L ed.), Am. Soc. Microbiol. Publications, P. 282—286, 1985.
7. Drlica K et al.: *J. Bacteriol.*, **134**: 1103—1116, 1978.
8. Drlica K: *Escherichia coli and Salmonella typhimurium* (Neidhardt F C ed.), Am. Soc. Microbiol. Publications, P. 91—103, 1987.
9. Freifelder D: *Molecular Biology*, Jones and Bartlett Publishers, Inc. Boston, P. 196—198, 1988.
10. Snyder M & K Drlica: *J. Mol. Biol.*, **131**: 287—302, 1979.
11. Griffith T: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**: 563—567, 1976.
12. Hubscher U et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**: 5097—5101, 1980.
13. Rouviere-Yaniv J & M Yaniv: *Cell*, **17**: 265—274, 1979.