



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

C. R. Biologies 328 (2005) 514–520



<http://france.elsevier.com/direct/CRASS3/>

Fac-similé de la note / Facsimile of the article

L'opéron : groupe de gènes à expression coordonnée par un opérateur

[C. R. Acad. Sci. Paris 250 (1960) 1727–1729]

François Jacob, David Perrin, Carmen Sánchez, Jacques Monod

Available online 26 May 2005

Préface

Les origines de l'opéron lactose

À la fin des années 1940, Jacques Monod commença à étudier les systèmes qui, chez *E. coli*, permettent d'utiliser le maltose ou le lactose. Très vite, il apparut que le système lactose était plus facile à manier et offrait plus de possibilités expérimentales que le système maltose.

Le système lactose se trouva concerner plusieurs protéines : la β -galactosidase, la β -galactoside-perméase et une galactoside-acétylase. Une série de mutations fut obtenue. Toutes ces protéines, chez *E. coli* sauvage, n'étaient synthétisées qu'en présence de β -galactoside. Elles furent appelées « inductives ». Parmi les mutations obtenues, certaines produisaient les protéines, même en l'absence de galactoside. Elles furent appelées « constitutives ». L'étude comparée inductif/constitutif montra que c'était le gène « inductif » qui était actif et produisait ce qui fut appelé un « répresseur ».

Par conséquent, à côté des gènes dits « de structure » existaient des gènes dits « régulateurs », qui modulaient l'expression des gènes de structure. Dans le système lactose, tous ces gènes étaient groupés sous forme d'une séquence appelée « opéron ».

François Jacob

Preface

The origins of the lactose operon

In the late 1940s, Jacques Monod began studies of the systems that permit *E. coli* to utilize maltose or glucose. It rapidly became clear that the lactose system was easier to handle and offered more experimental possibilities than the maltose system.

The lactose system was found to involve several proteins: β -galactosidase, the β -galactoside permease, and a galactoside acetylase. A series of mutations in the genes for these proteins was obtained. In wild-type *E. coli*, all three of the proteins were synthesized only in the presence of β -galactoside and they were defined as 'inducible'. A certain fraction of the mutations obtained (defined as 'constitutive') led to the production of the three proteins, even in the absence of galactoside. Comparative studies on inducible versus constitutive demonstrated that the gene responsible for induction produced a factor that was named 'repressor'.

The conclusion of these observations was that, in addition to the genes called 'structural', other genes called 'regulatory' exist that modulate the expression of the structural genes. For the lactose system, all of these genes were grouped together in a sequence named 'operon'.

François Jacob

SÉANCE DU 29 FÉVRIER 1960.

1727

GÉNÉTIQUE BIOCHIMIQUE. — *L'opéron : groupe de gènes à expression coordonnée par un opérateur*. Note de MM. **FRANÇOIS JACOB**, **DAVID PERRIN**, M^{lle} **CARMEN SANCHEZ** et M. **JACQUES MONOD**, transmise par M. Jacques Tréfour.

L'analyse de différents systèmes bactériens conduit à la conclusion que dans la synthèse de certaines protéines (enzymatiques ou virales) un double déterminisme génétique intervient qui met en jeu deux gènes à fonctions distinctes : l'un (gène de structure) responsable de la structure de la molécule, l'autre (gène régulateur) gouvernant l'expression du premier par l'intermédiaire d'un répresseur (¹). Les gènes régulateurs identifiés jusqu'à ce jour présentent la propriété remarquable d'exercer un *effet pléiotrope coordonné*, chacun gouvernant l'expression de plusieurs gènes de structure, étroitement liés entre eux, et correspondant à des protéines-enzymes appartenant à une *même séquence biochimique*. Pour expliquer cet effet, il paraît nécessaire de supposer une entité génétique nouvelle, dite « opérateur », qui serait : *a.* adjacent à un groupe de gènes et commanderait leur activité; *b.* sensible au répresseur produit par un gène régulateur particulier (¹). En présence du répresseur, l'expression du groupe de gènes serait inhibée par l'intermédiaire de l'opérateur. Cette hypothèse conduit à des prédictions très distinctives concernant les mutations qui pourraient affecter la structure de l'opérateur. En effet :

1° Certaines mutations affectant un opérateur se traduiraient par la perte de la capacité de synthétiser les protéines déterminées par le groupe de gènes liés « coordonnés » par cet opérateur. Ces mutations simples se comporteraient comme des délétions physiologiques, et ne seraient complémentaires par aucun mutant chez lequel l'un des gènes de structure de la séquence serait altéré.

2° D'autres mutations, entraînant par exemple une perte de sensibilité (affinité) de l'opérateur pour le répresseur correspondant, se traduiraient par la synthèse constitutive des protéines déterminées par les gènes coordonnés. Ces mutations constitutives, contrairement à celles qui résultent de l'inactivation de gènes régulateurs, seraient *dominantes* chez un diploïde hétérozygote, mais leur effet ne se manifesterait que sur les gènes situés en position *cis* par rapport à l'opérateur muté.

Nous avons étudié certaines mutations qui, affectant le métabolisme du lactose chez *Escherichia coli* K 12 et agissant à la fois sur la synthèse de la β -galactosidase et sur celle de la galactoside-perméase, semblaient pouvoir correspondre à des modifications de l'hypothétique opérateur. Rappelons que trois gènes distincts ont été reconnus dans ce système : 1° *y*, gène de structure de la galactoside-perméase; 2° *z*, gène de structure de la β -galactosidase, dont certains allèles permettent la synthèse d'une

1728

ACADÉMIE DES SCIENCES.

protéine modifiée, Cz, enzymatiquement inactive, 3° i, gène de régulation synthétisant un répresseur spécifique pour le système. Ces trois gènes sont étroitement liés. Rappelons, en outre, que des bactéries diploïdes pour les gènes de ce groupe peuvent être obtenues par transfert de facteurs sexuels (F) ayant incorporé le fragment correspondant de génome bactérien (F-Lac) ⁽²⁾.

Unités de galactosidase et de protéine Cz [cf. ⁽³⁾] exprimées en pourcentage du résultat trouvé pour l'allèle localisé sur le chromosome chez les bactéries induites.

Unités de perméase [cf. ⁽³⁾] en pourcentage du résultat trouvé chez les bactéries induites. nd, non décelable. L'excès du produit de l'allèle z localisé sur le facteur F-Lac semble indiquer la présence de plusieurs facteurs F-Lac par chromosome ⁽²⁾, ⁽³⁾.

Génotype.		Bactéries non induites.			Bactéries induites.		
Chromosome.	F-Lac.	Galactosidase.	Protéine. Cz.	Perméase.	Galactosidase.	Protéine Cz.	Perméase.
i ⁺ o ⁺ z ⁺ y ⁺		<1	-	nd	100	-	100
i ₁ ⁻ o ⁺ z ₁ ⁻ y ⁺ /F i ⁺ o ⁺ z ⁺ y ⁺		<1	nd	nd	320	100	100
i ₂ ⁻ o ⁺ z ₂ ⁻ y ⁺ /F i ⁺ o ^c z ⁺ y ⁺		36	nd	33	270	100	100
i ⁺ o ⁺ z ₁ ⁻ y ⁺ /F i ⁺ o ^c z ⁺ y ⁺		110	nd	50	330	100	100
i ⁺ o ⁺ z ⁺ y _R ⁻ /F i ⁺ o ^c z ₁ ⁻ y ⁺		<1	30	-	100	400	-
i ⁺ o ⁺ z ₁ ⁻ y ⁺ /F i ⁺ o ^c z ⁺ y _R ⁻		60	-	nd	300	-	100

A partir d'un diploïde i⁺z⁻/F-i⁺z⁺, des mutants constitutifs (o^c) ont été isolés. Par des recombinaisons et transferts appropriés, les différents génotypes diploïdes donnés dans le tableau ont été obtenus. On notera que les allèles z₁⁻ et z₂⁻ utilisés permettent la synthèse de protéines (Cz₁, Cz₂) inactives, dosables cependant en présence de β-galactosidase par voie immunochimique ⁽³⁾. On voit, d'après ce tableau, que chez les bactéries hétérozygotes pour o et pour z, la perméase ainsi que la galactosidase ou la protéine Cz sont partiellement constitutives, mais que seul l'allèle de z ou de y placé en cis par rapport à o^c est exprimé constitutivement, l'allèle trans demeurant strictement inductible comme dans le génotype o⁺/o⁺. La mutation constitutive o^c est donc pléiotrope, dominante, et son effet ne se manifeste qu'en position cis.

A partir de bactéries haploïdes de type sauvage, plusieurs autres mutants ont été isolés, chez lesquels un événement mutationnel apparemment simple entraîne la perte du pouvoir de synthétiser à la fois la perméase et la β-galactosidase. Ces mutants réversent au type sauvage à un taux de 10⁻⁷ à 10⁻⁸. Ils sont récessifs et ne sont complémentés ni par les mutants z⁻, ni par les mutants y⁻. L'analyse génétique montre que ces mutations (o⁰) sont extrêmement liées aux mutations o^c, et qu'elles sont situées entre les loci z et i (eux-mêmes étroitement liés). L'ordre des loci dans le segment Lac est : TL...Pro...y-z-o-i...Ad...Gal.

D'après leurs caractères, les mutations o⁰ et o^c paraissent affecter un élément génétique qui n'est pas exprimé par un produit cytoplasmique

SÉANCE DU 29 FÉVRIER 1960.

1729

indépendant. Les propriétés remarquables de ces mutations sont inexplicables selon la conception « classique » du gène de structure et les distinguent également des mutations affectant le gène régulateur *i*. Elles sont, en revanche, conformes aux prévisions tirées de l'hypothèse de l'opérateur. Plusieurs mutations défectives simples, à effet pléiotrope coordonné, et non complémentables, ont été décrites pour d'autres systèmes bactériens, en particulier pour le métabolisme du galactose ⁽⁴⁾. Nous suggérons que ces mutants pourraient affecter un opérateur.

L'hypothèse de l'opérateur implique qu'entre le gène classique, unité indépendante de fonction biochimique, et le chromosome entier, il existe une organisation génétique intermédiaire. Celle-ci comprendrait des *unités d'expression coordonnée (opérons)* constituées par un opérateur et le groupe de gènes de structure coordonnés par lui. Chaque opéron serait, par l'intermédiaire de l'opérateur, soumis à l'action d'un répresseur dont la synthèse serait régie par un gène régulateur (non nécessairement lié au groupe). La répression s'exercerait, soit directement au niveau du matériel génétique, soit au niveau de « répliques cytoplasmiques » de l'opéron. Cette hypothèse expliquerait la corrélation très généralement observée chez les bactéries entre association fonctionnelle et liaison génétique pour les systèmes enzymatiques séquentiels. Elle entraîne d'autres conséquences vérifiables, notamment que les enzymes d'une séquence gouvernée par un même opérateur ne pourraient pas être induites *séparément* ⁽⁶⁾.

(1) F. JACOB et J. MONOD, *Comptes rendus*, 249, 1959, p. 1282.

(2) F. JACOB et E. A. ADELBERG, *Comptes rendus*, 249, 1959, p. 189.

(3) D. PERRIN, A. BUSSARD et J. MONOD, *Comptes rendus*, 249, 1959, p. 778.

(4) H. M. KALCKAR, K. KURAHASHI et E. JORDAN, *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 45, 1959, p. 1776.

(5) H. W. RICKENBERG, G. N. COHEN, G. BUTTIN et J. MONOD, *Ann. Inst. Pasteur*, 91, 1956, p. 829.

(6) Ce travail a bénéficié de subventions du « Jane Coffin Childs Memorial Fund » et de la « National Science Foundation ».

(Services de Physiologie microbienne et de Biochimie cellulaire,
Institut Pasteur, Paris.)



English translation

The operon: a group of genes with expression coordinated by an operator ☆

François Jacob, David Perrin Carmen Sánchez, Jacques Monod

Services de physiologie microbienne et de biochimie cellulaire, Institut Pasteur, Paris, France

Presented by Jacques Trefouel

The analysis of various bacterial systems has led to the conclusion that the synthesis of certain proteins (enzymatic or viral) involves a double genetic determinism, which calls into play two genes with distinct functions: one, the structural gene, is responsible for the structure of the molecule; the other, the regulatory gene, governs the expression of the first gene through the intervention of a repressor [1]. The regulatory genes that have so far been identified manifest the remarkable property of exercising a *coordinated pleiotropic effect*, with each regulatory gene governing the expression of several structural genes that are tightly linked and that correspond to protein enzymes belonging to the same biochemical pathway. In order to explain this effect, it appears necessary to hypothesize a new genetic entity, called ‘operator’ that would be: (a) adjacent to a group of genes and in control of their activity; (b) sensitive to the repressor produced by a particular regulatory gene [1]. In the presence of the repressor, the expression of the group of genes would be inhibited through the intermediary of the operator. This hypothesis leads to very distinct predictions concerning the mutations that could affect the structure of the operator. In effect:

- (1) certain mutations that alter an operator are manifested by loss of the capability to synthesize the proteins specified by the group of linked genes that are ‘coordinated’ by this operator. These simple mutations behave as physiological deletions and could not be complemented by any mutant for which one of the structural genes of the sequence had been altered;
- (2) other mutations, which lead for example to a loss of sensitivity (affinity) of the operator for the corresponding repressor, are manifested by the constitutive synthesis of the proteins specified by the coordinated genes. These constitutive mutations, in contrast to those resulting from the inactivation of regulatory genes, would be *dominant* in a heterozygous diploid, but their effect is only observed on genes located in *cis* position with respect to the mutated operator.

We have studied certain mutations that alter the metabolism of lactose in *Escherichia coli* K 12 and exert an effect on the synthesis of both β -galactosidase and galactoside permease and therefore would appear to correspond to modifications of the hypothetical operator. Note that three distinct genes have been identified in this system: (1) the *y* structural gene for galactoside-permease; (2) the *z* structural gene for β -galactosidase, for which certain alleles lead to the synthesis of a modified protein, Cz, that is enzymatically inactive; and (3) the *i* regulator gene

☆ Translated from French by Stuart Edelstein.

Table 1

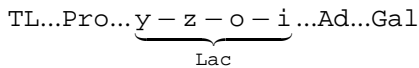
Units of galactosidase and of protein Cz (see [3]) expressed as a percentage of the results obtained for the allele located on the chromosome of induced bacteria. The units of permease (see [5]) are presented as a percentage of the results obtained with induced bacteria. nd, non-detectable. The excess of the product of the allele z located on the F-Lac factor appears to indicate the presence of several F-Lac factors per chromosome [2,3]

Genotype		Uninduced bacteria			Induced bacteria		
Chromo-	F-Lac	Galactosidase	Protein Cz	Perméase	Galactosidase	Protein Cz	Permease
some							
$i^+o^+z^+y^+$	< 1	–	nd	100	–	100
$i_3^-o^+z_4^-y^+$	/F <i>i</i> ⁺ <i>o</i> ⁺ <i>z</i> ⁺ <i>y</i> ⁺	< 1	nd	nd	320	100	100
$i_3^-o^+z_4^-y^+$	/F <i>i</i> ⁺ <i>o</i> ^c <i>z</i> ⁺ <i>y</i> ⁺	36	nd	33	270	100	100
$i^+o^+z_1^-y^+$	/F <i>i</i> ⁺ <i>o</i> ^c <i>z</i> ⁺ <i>y</i> ⁺	110	nd	50	330	100	100
$i^+o^+z^+y_R^-$	/F <i>i</i> ⁺ <i>o</i> ^c <i>z</i> ⁻ <i>y</i> ⁺	< 1	30	–	100	400	–
$i^+o^+z_1^-y^+$	/F <i>i</i> ⁺ <i>o</i> ^c <i>z</i> ⁻ <i>y</i> ^{R-}	60	–	nd	300	–	100

that specifies the synthesis of a repressor. These three genes are tightly linked. Note as well that bacteria that are diploid for the genes of this group can be obtained by transfer of the sex factors (F), which have incorporated the corresponding fragment of the bacterial genome (F-Lac) [2].

Starting with a diploid $i^+z^-/F-i^+z^+$, constitutive mutants (o^c) were isolated. Using appropriate re-combinations and transfers, the different diploid genotypes presented in Table 1 were obtained. It should be noted that the alleles z_1 and z_4 utilized permit the synthesis of inactive proteins (Cz_1, Cz_4) whose concentrations can be measured in the presence of β -galactosidase by an immunochemical method [3]. It may be noted from the data in Table 1 that for bacteria that are heterozygous for o and z , the permease, as well as the galactosidase or the protein Cz are partially constitutive, but only the z or y alleles located in *cis* with respect to o^c are expressed constitutively, with the allele in *trans* remaining strictly inducible, as in the genotype o^+/o^+ . The mutation o^c is therefore pleiotropic, dominant, and its effect is manifested only in position *cis*.

Starting with wild-type haploid bacteria, several other mutants were isolated, for which an apparently simple mutational event leads to the loss of the capacity to synthesize both the permease and β -galactosidase. These mutants revert to wild-type with a frequency of 10^{-7} to 10^{-8} . They are recessive and are not complemented by either z or y mutants. Genetic analysis reveals that these mutations (o^o) are tightly linked to mutations o^c and that they are located between the loci z and l (which are themselves tightly linked). The order of the loci in the segment Lac is:



On the basis of their characteristics, the mutations o^o and o^c appear to affect a genetic element that is not expressed by an independent cytoplasmic product. The remarkable properties of these mutations are unexplainable according to the ‘classical’ conception of structural genes and are also distinct from mutations that affect the regulatory gene i . These mutations are, in contrast, in accord with the predictions based on the operator hypothesis. Several simple defective mutations with coordinated pleiotropic effects (but not subject to complementation) have been described for other bacterial systems, in particular for galactose metabolism [4]. We suggest that these mutants might affect an operator.

The operator hypothesis implies that between the classical gene (an independent unit of a biochemical function) and the chromosome, there exists an intermediate genetic organization. It is made up of *coordinated units of expression (operons)* composed of an operator and the group of structural genes that it coordinates. Each operon would be, through the intermediary of the operator, susceptible to the action of a repressor whose synthesis is regulated by a regulatory gene (not necessarily linked to the group). The repression will be exerted either directly at the level of the genetic material, or at the level of a ‘cytoplasmic version’ of the operon. This hypothesis would

explain the correlation observed very generally in bacteria between functional association and genetic linkage for systems of sequential enzymes. It would also lead to other testable consequences, notably that the enzymes of a sequence governed by the same operator cannot be induced *separately* [6].

References¹

- [1] F. Jacob, J. Monod, C. R. Acad. Sci. Paris 249 (1959) 1282.
- [2] F. Jacob, E.A. Adelberg, C. R. Acad. Sci. Paris 249 (1959) 189.
- [3] D. Perrin, A. Bussard, J. Monod, C. R. Acad. Sci. Paris 249 (1959) 778.
- [4] H.M. Kalckar, K. Kurahashi, E. Jordan, Proc. Natl Acad. Sci. USA 45 (1959) 1776.
- [5] H.W. Rickenberg, G.N. Cohen, G. Buttin, J. Monod, Ann. Inst. Pasteur 91 (1956) 829.
- [6] This research was supported by the Jane Coffin Childs Memorial Fund and the National Science Foundation..

¹ References have been re-formulated as they are currently in the *Comptes rendus*. See the facsimile of the original text for their original form.