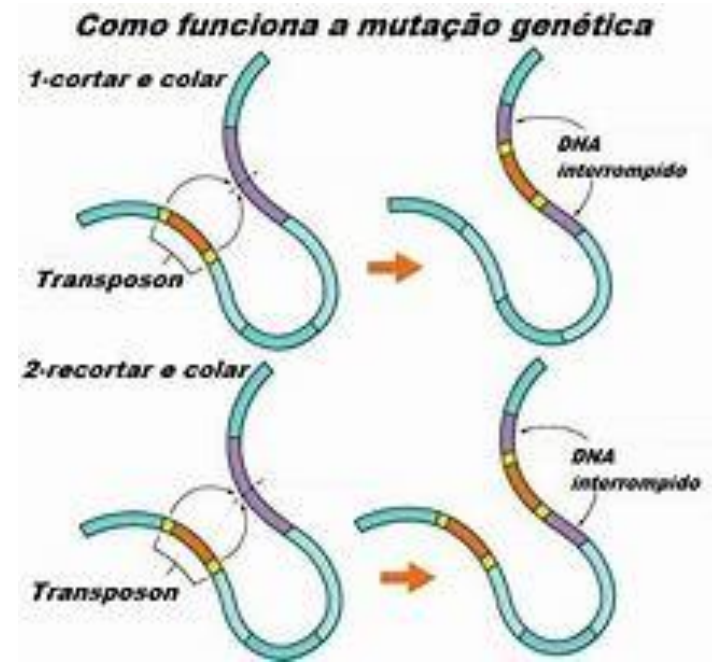


转座因子与染色体变异

关键问题：

- 何种遗传现象导致转座子的发现？
- 什么是转座子？类型及机制
- 在人类基因组中发现了哪几种转座元件？
- 转座子对基因组的结构和基因的功能有什么影响？



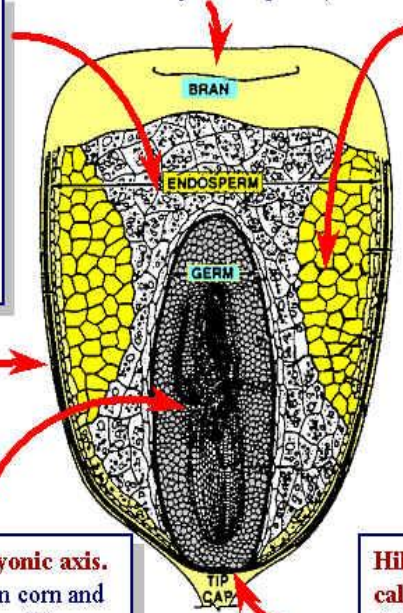
一、转座子的发现与分类:



Floury endosperm.

- ✓ More "open" in structure yet opaque in appearance.
- ✓ Dent corn has about equal proportions of horny to floury starch (vs popcorn w/ mostly vitreous starch).

Dent (due to soft floury endosperm)



Pericarp(bran)

Vitreous endosperm.

- ✓ Also called horny, corneous or hard endosperm.
- ✓ Primary starch in flint corn.
- ✓ Source of dry milling grits.
- ✓ Tightly compacted and translucent.
- ✓ Higher in CP than floury starch.
- ✓ More of this starch in mature, high test weight kernels.
- ✓ The last starch laid down in the kernel during the last few weeks of development.

Germ scutellum and embryonic axis.

- ✓ Germ larger in short season corn and in HOC (at the expense of starch).
- ✓ In HOC, each 1% unit increase in oil, expect 1.3% unit lower starch.

Hilum or abscission layer. Also called black layer.

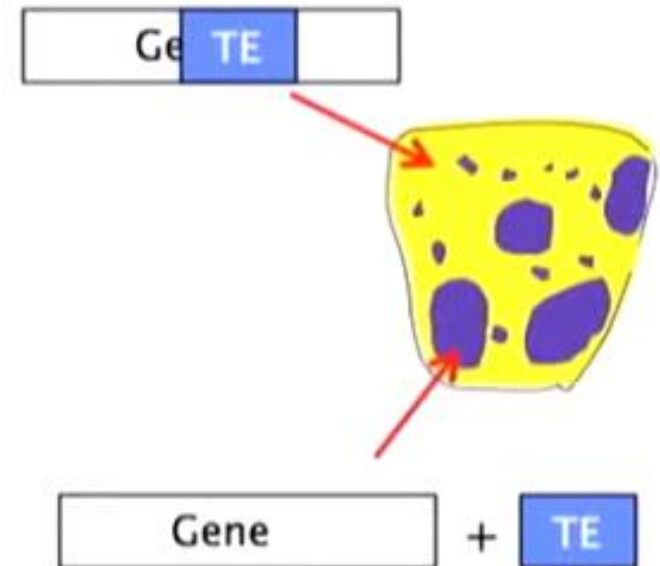
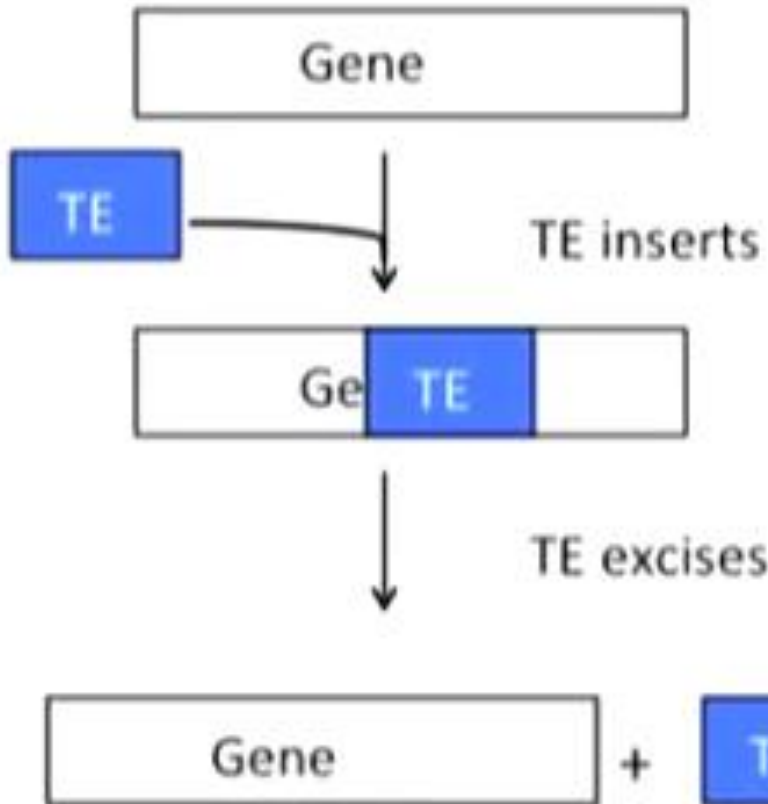
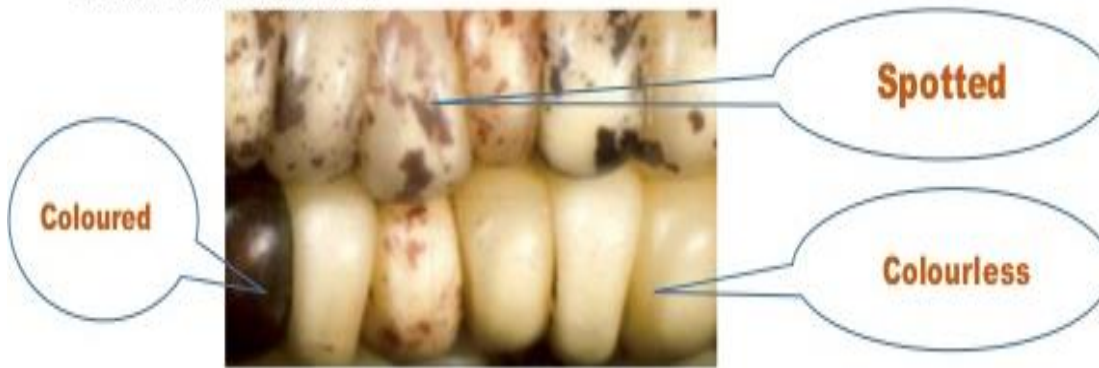
- ✓ Caused by collapse and compression of several layers of cells at physiological maturity.
- ✓ Cool weather can cause premature BL.

Diagram Source: Hosenev, 1986. Principles of Cereal Science and Technology. Am Assoc of Cereal Chemists, St. Paul, MN



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

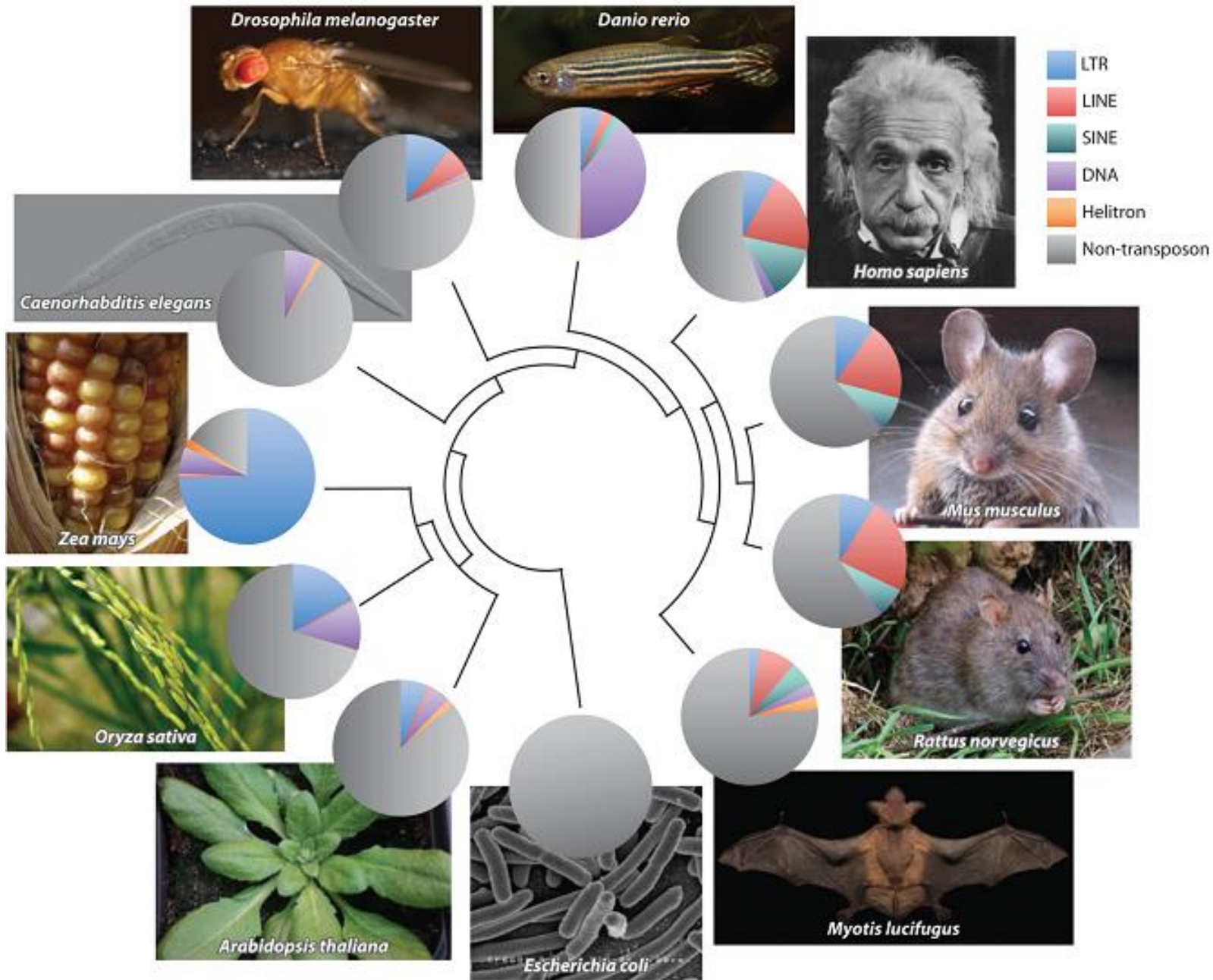
*Barbara McClintock
(1902-1992)*



转座子（transposon）：是指存在于染色体DNA上可以自主复制和位移的一段DNA顺序。

表 18.1 按照转座机制对转座元件进行的分类

类别	举例	生物
I 剪切-粘贴转座子	IS 元件(例,IS50)	细菌
	复合转座子(例,Tn5)	细菌
	<i>Ac/Ds</i> 元件	玉米
	<i>P</i> 因子	果蝇
	<i>mariner</i> 元件	果蝇
	<i>hobo</i> 元件	果蝇
	<i>Tc1</i> 元件	线虫
	Tn3 元件	细菌
II 复制转座子		
III 反转录转座子		
A. 类反转录病毒元件(也叫长末端重复,或 LTR,反转录转座子)	Ty1	酵母
	<i>copia</i>	果蝇
	<i>gypsy</i>	果蝇
B. 反转座因子	<i>F</i> 、 <i>G</i> 和 <i>I</i> 元件	果蝇
	端粒特异反转座因子 (<i>HeT-A</i> , <i>TART</i>)	果蝇
	LINEs(例, <i>L1</i>)	人类
	SINEs(例, <i>Alu</i>)	人类



Active transposition in genomes. *Annu Rev Genet.* 2012;46:651-75. 5

基因的水平转移是如何发生的？

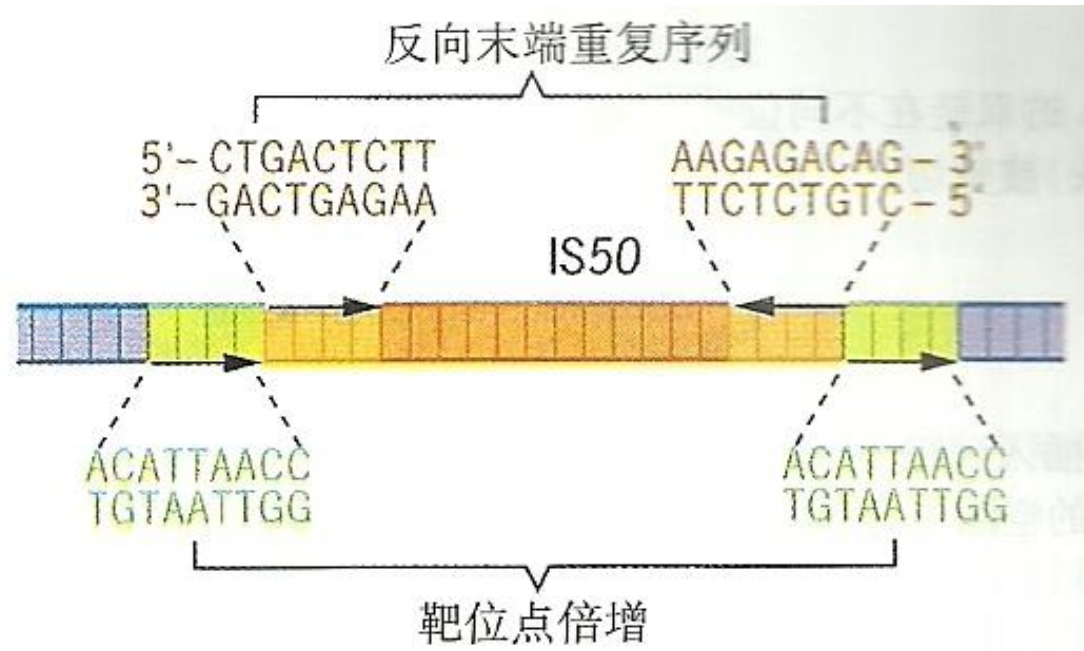
- 降解精子所释放的DNA附着于同区域其他物种的精子，在受精过程中被带入卵子；
- 叮咬类寄生虫通过“外泌体”将病毒传给宿主
- 病毒感染



二、细菌中的转座子:

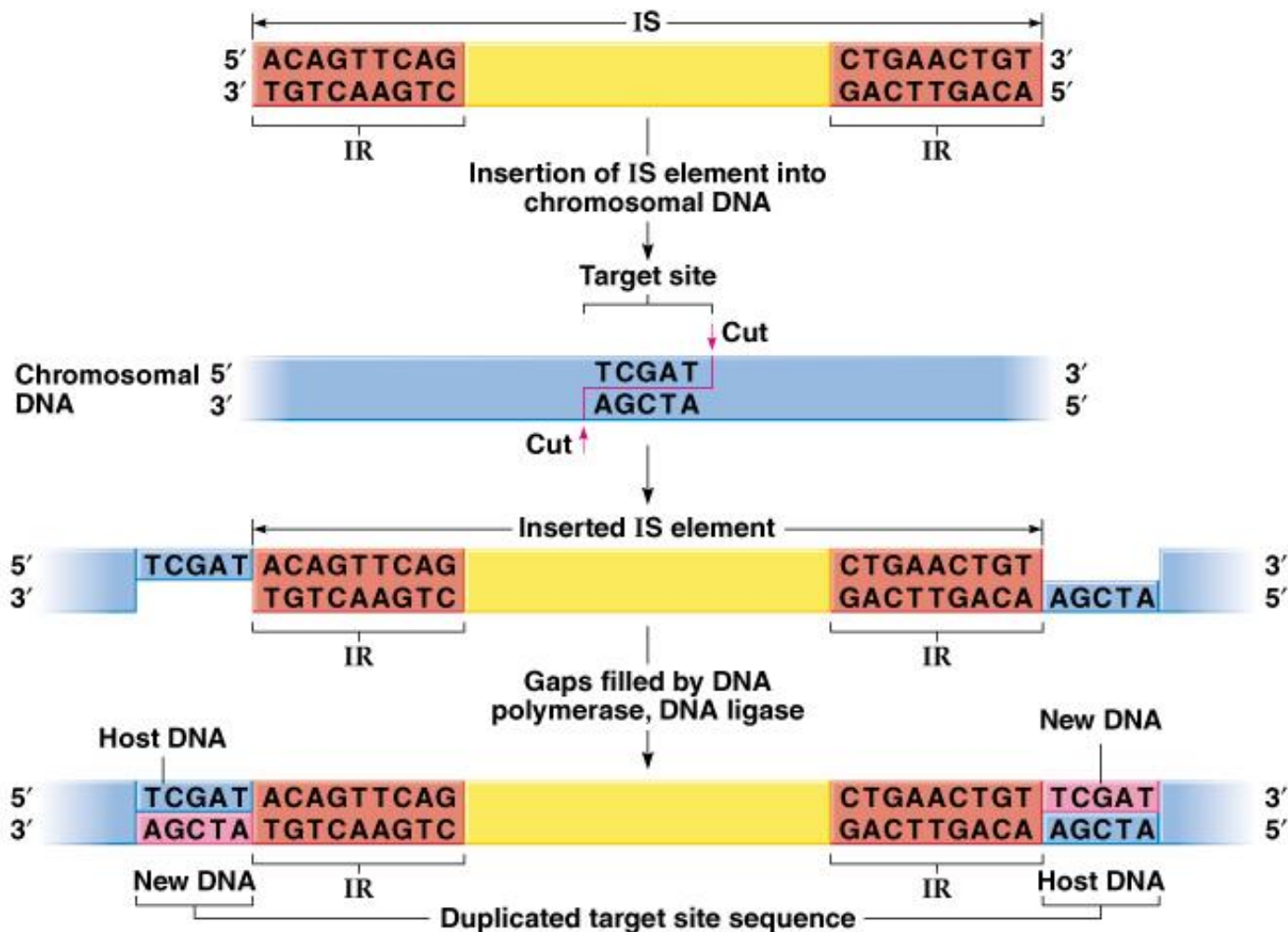
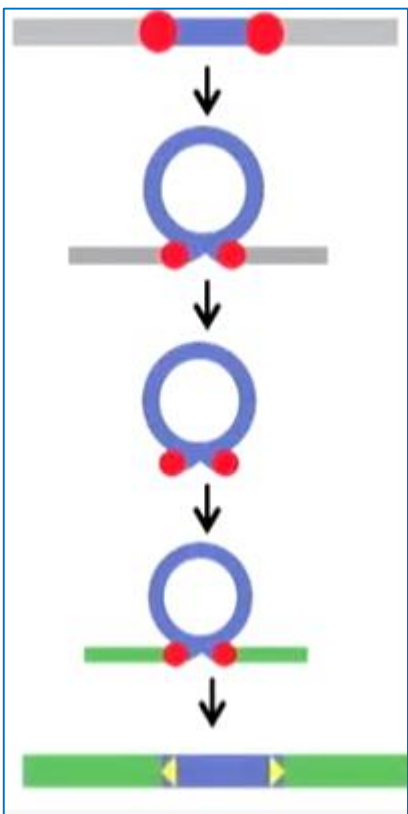


1. IS元件(insertion sequence or IS element):



特征:

- ① 反向末端重复(inverted repeats, IR): 9-40 bp, 是大多数但不是全部种类的转座子的特征;
- ② 转座酶(transposase): 切割DNA双链、催化IS的转座, 由IS编码;
- ③ 靶位点倍增(target site duplication): 2-13bp的正向重复序列(direct repeats, DR);



转座酶交错切开宿主靶位点，然后IS插入，与宿主的单链末端相连接，余下的缺口由DNA聚合酶和连接酶加以填补，最终插入的IS两端形成了DR或靶重复。

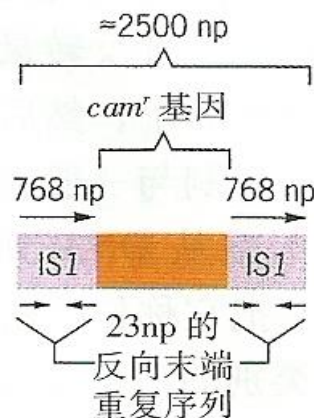
表 23-4 IS 的结构和功能

	DR (bp)	IR (bp)	中心区 域 (bp)	靶的选择	拷贝数
IS 1	9	23	768	随机	5~8
IS2	5	41	1327	热点	5 (在 F 因子上为 1)
IS4	11~13	18	1428	AAN20TTT	1 或 2
IS5	4	16	1195	热点	?
IS10R	9	22	1329	NGCTNAGCN	
IS50R	9	9	1531	热点	
IS903	9	18	1057	随机	

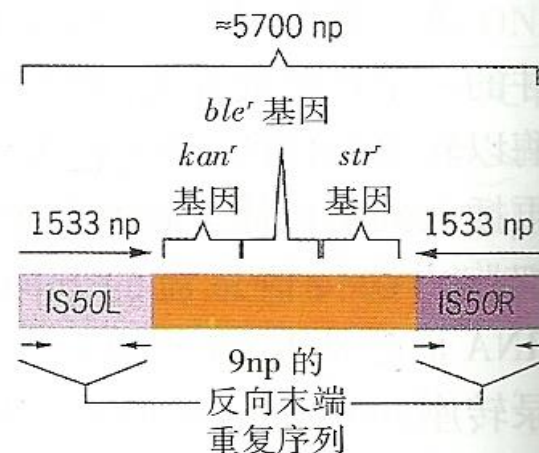
- ④ 结构紧凑；一般小于2500bp；
- ⑤ 靶向选择各有不同；
- ⑥ 一个细菌的染色体可能包括一种特定类型的IS元件的几个拷贝；

2. 复合转座子 (composite transposon, 用Tn表示)

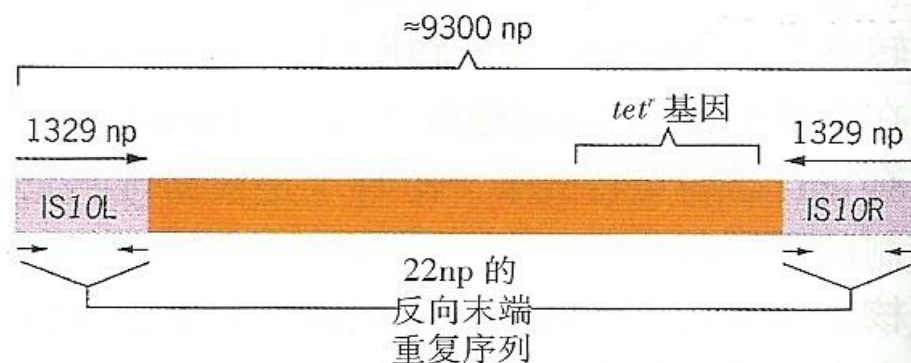
① 两端的组件由IS元件组成, 中间夹着一个或多个结构基因如某些抗药性基因和其它基因组成。



(a) Tn9

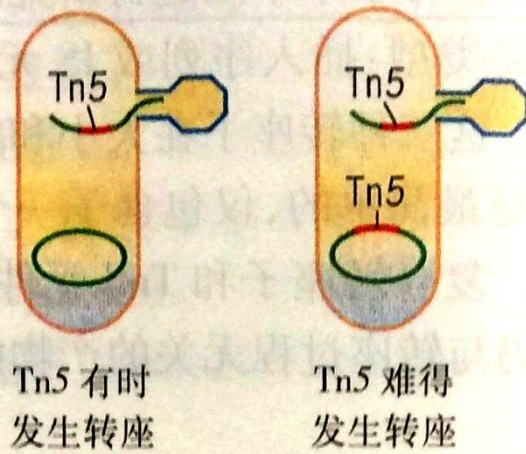


(b) Tn5



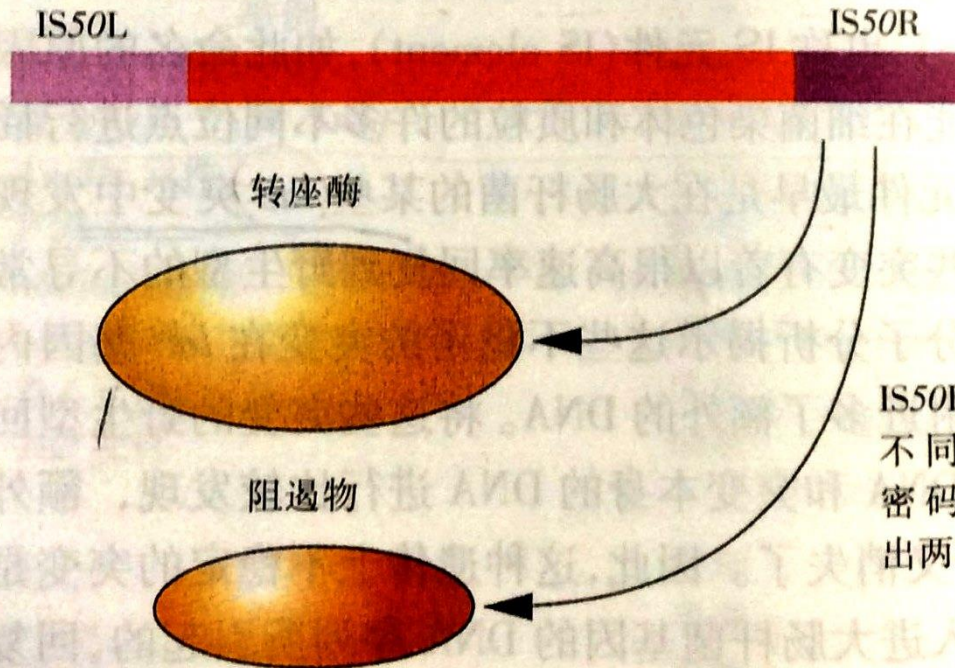
(c) Tn10

图 18.3 复合转座子的遗传结构。组成序列的方向和长度(以核苷酸对数 np 表示)已在图中标明。(a)Tn9 两端各有一个 IS1 元件,中间有一个氯霉素抗性基因。(b)Tn5 由两侧的 IS50 元件及中间的卡那霉素、博来霉素和链霉素抗性基因组成。(c)Tn10 由两侧的 IS10 元件以及中间的四环霉素抗性基因组成。



② 复合转座子的转座是**可调节的**;

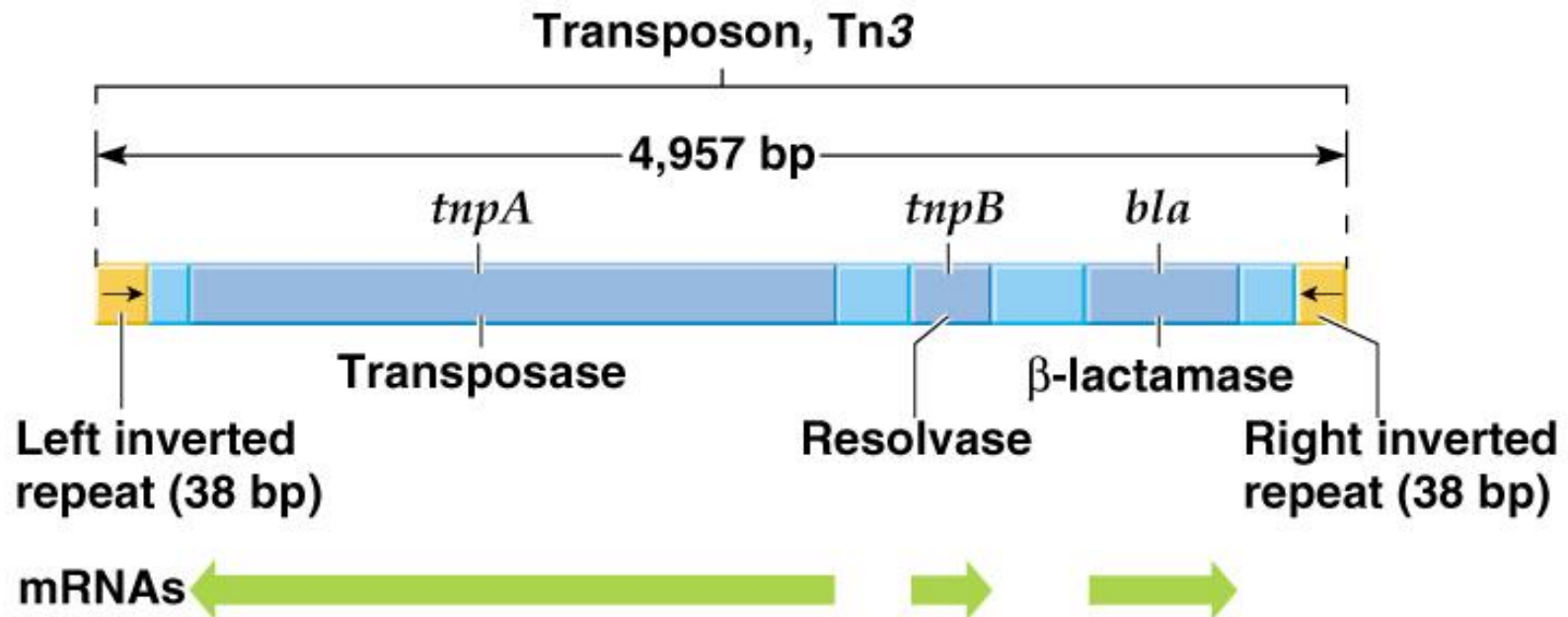
(a)



(b)

3. Tn3元件:

两端没有IS元件，只有40bp左右的简单反向重复序列；



Tn3的转座机制

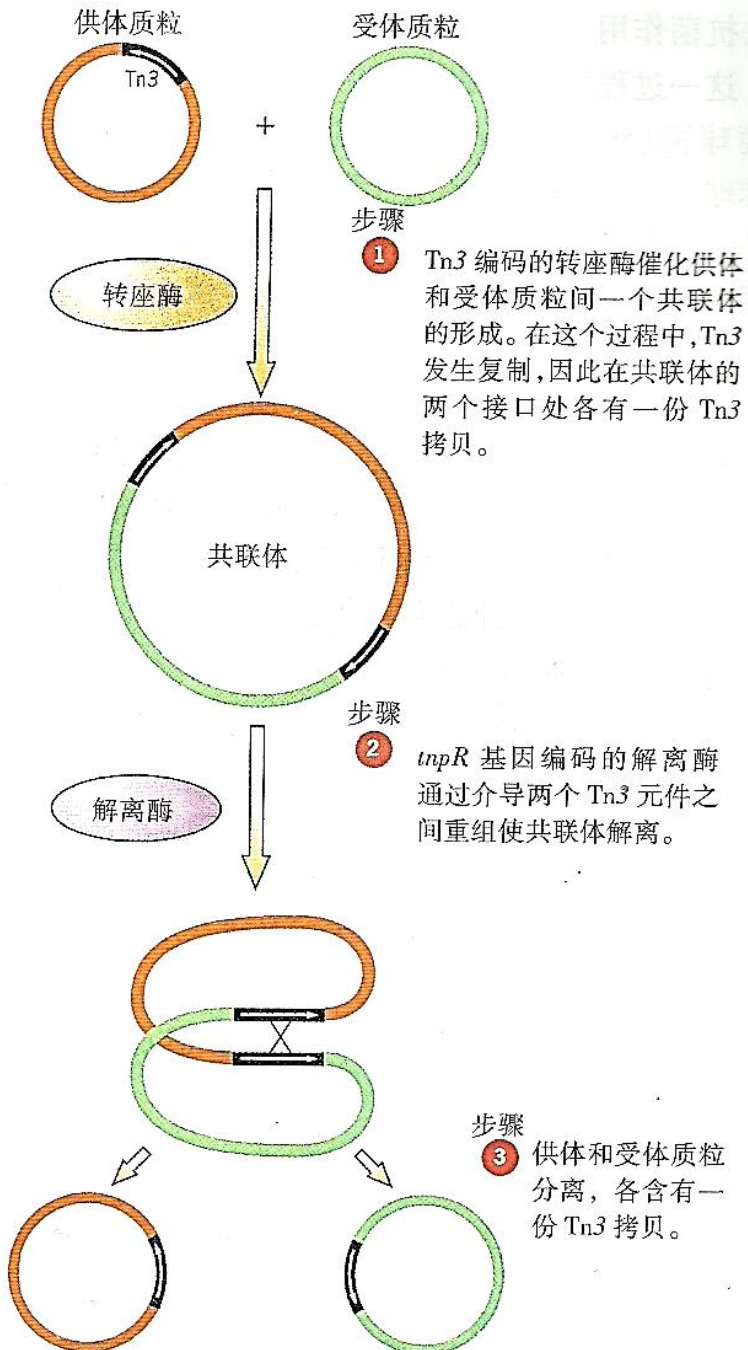
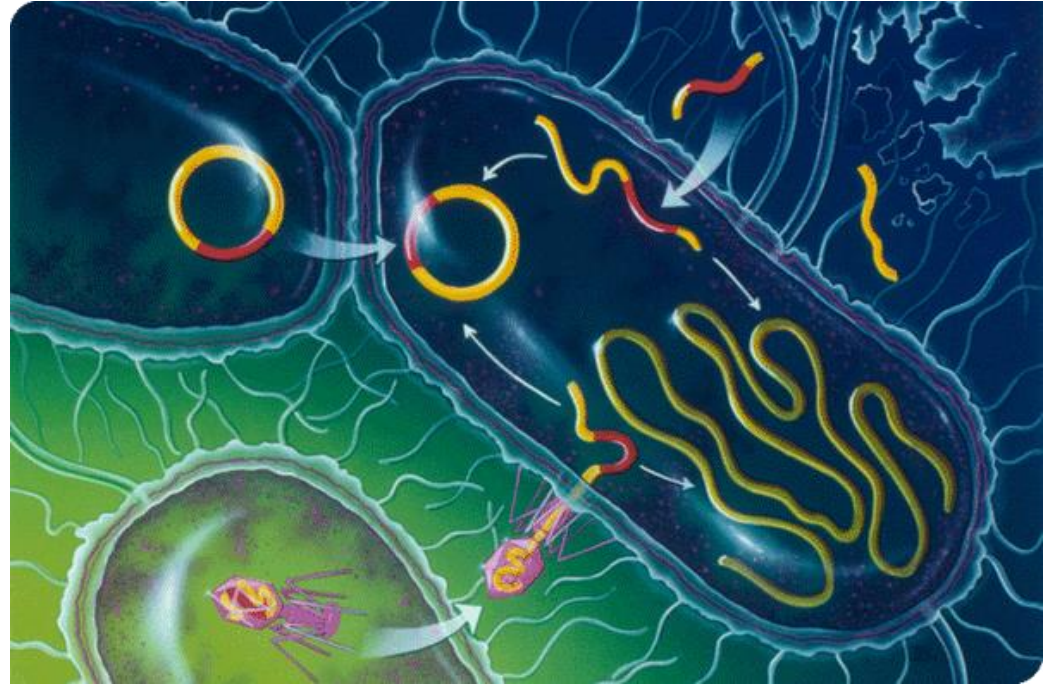


图 18.6 Tn3 通过形成共联体进行转座。

细菌转座子的医学意义

----- *Pandrug-resistant (PDR) bacteria*

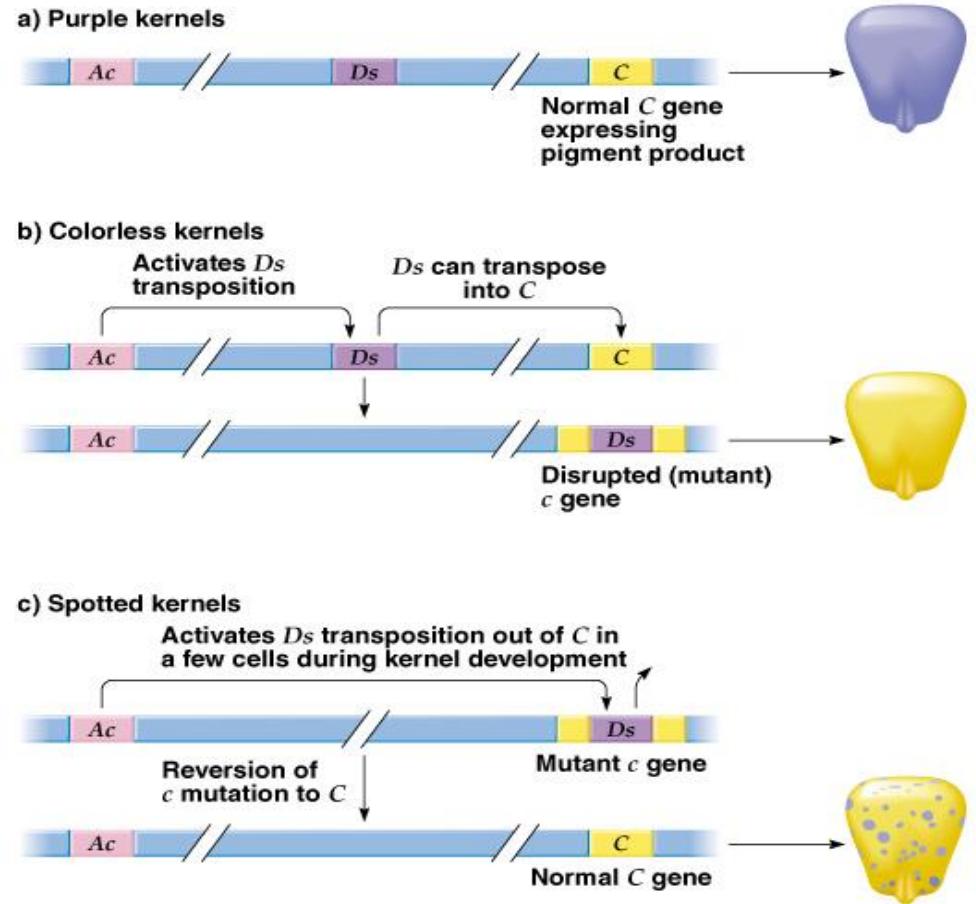


获得性耐药 (acquired resistance) 是指原先对某种药物敏感的细菌获得了对该药物的耐受性，其原因主要有：1. 基因突变；2. 细菌从其他种类的耐药菌那里获得了耐药性，主要是通过可在细菌中转移的遗传元件如质粒、转座子、整合子等。

三、真核生物中的转座子：

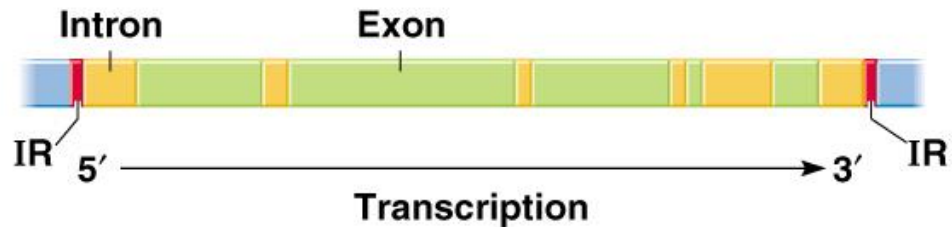
1. 玉米中的Ac-Ds系统

- ❖ **Ds**：即解离因子（**dissociator**），插入到C基因（色素）中，使之突变，成无色素。
- ❖ 另一个可移动的控制因子是**Ac**，称**激活因子**（**activator**）
- ❖ **Ac**能激活**Ds**转座进入C基因或其它基因，也能使**Ds**从基因中转出，使突变基因回复，这就是**Ac-Ds**系统。

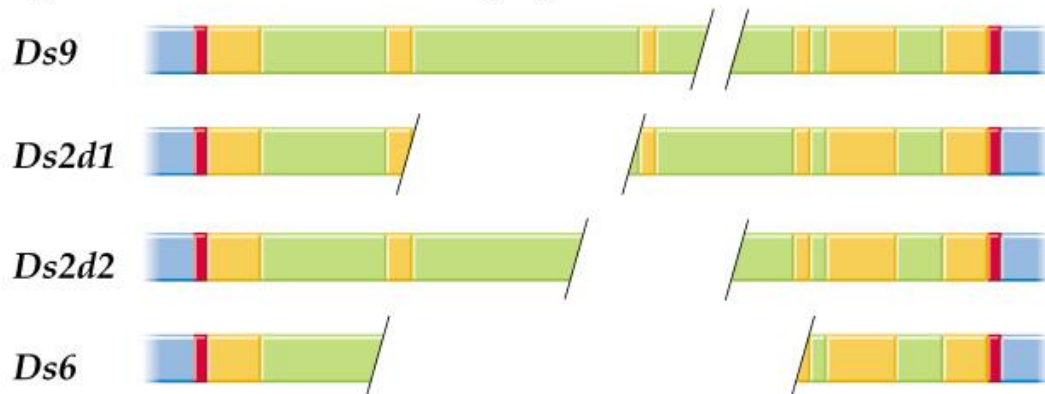


- ① Ac和Ds都能移动;
- ② Ac元件: 4563bp, 结构中含5个外显子的单个基因, 其产物是转座酶; 末端11bp的IR和8bp的DR, DR是由靶位点重复而成。
- ③ Ds元件: 内部序列缺失的Ac; 但在Ac编码的转座酶作用下, 仍可被激活。
- ④ Ac元件编码转座酶为一反式作用因子;

a) Activator element (*Ac*)



b) Dissociation elements (*Ds*)





Rice 350 Mb



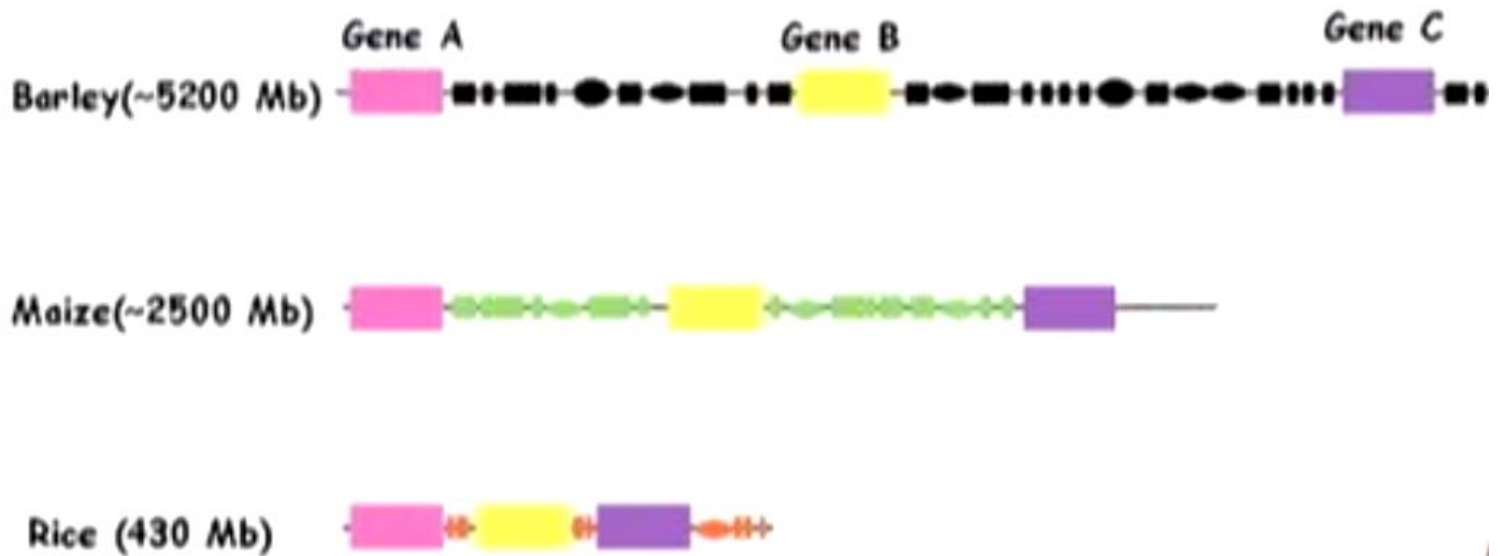
Sorghum 700 Mb



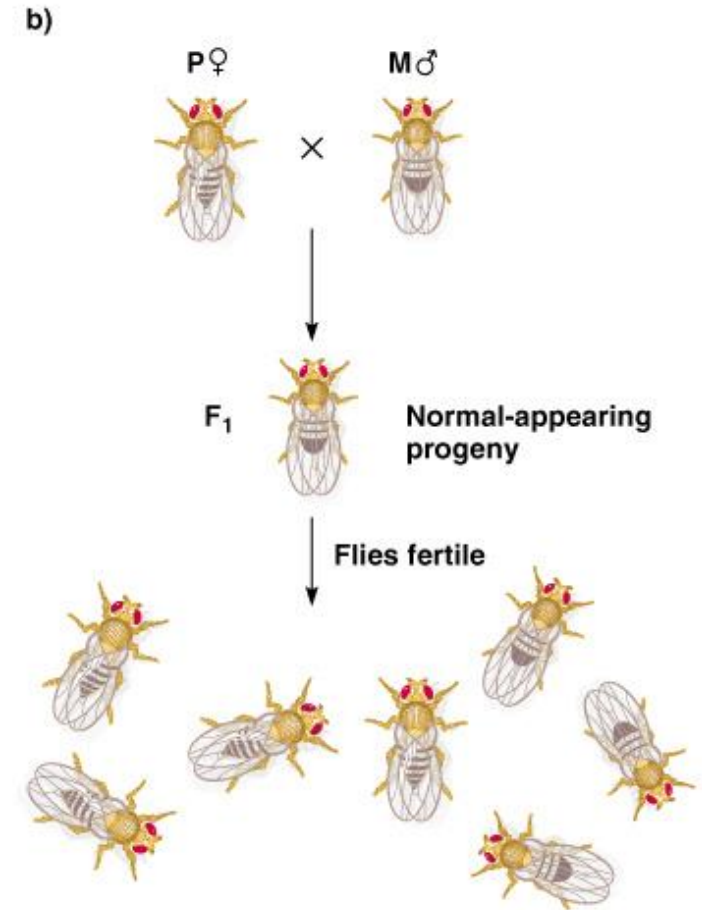
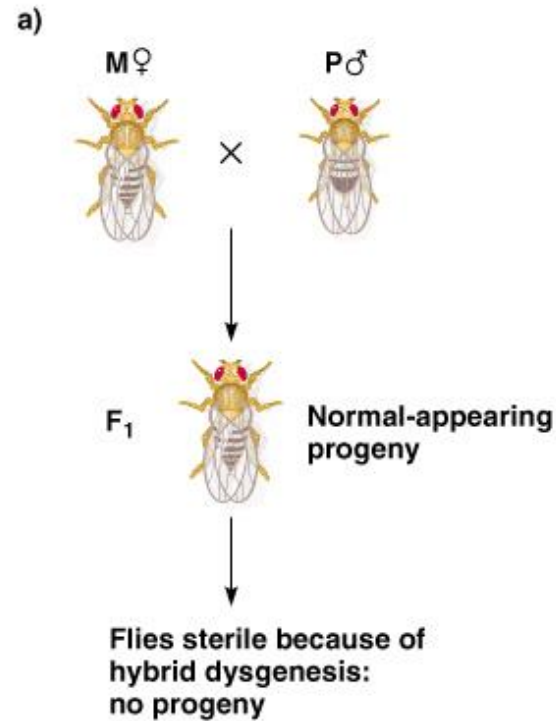
Maize 2500 Mb



Barley 5000 Mb



2. 果蝇中的P因子和杂种不育

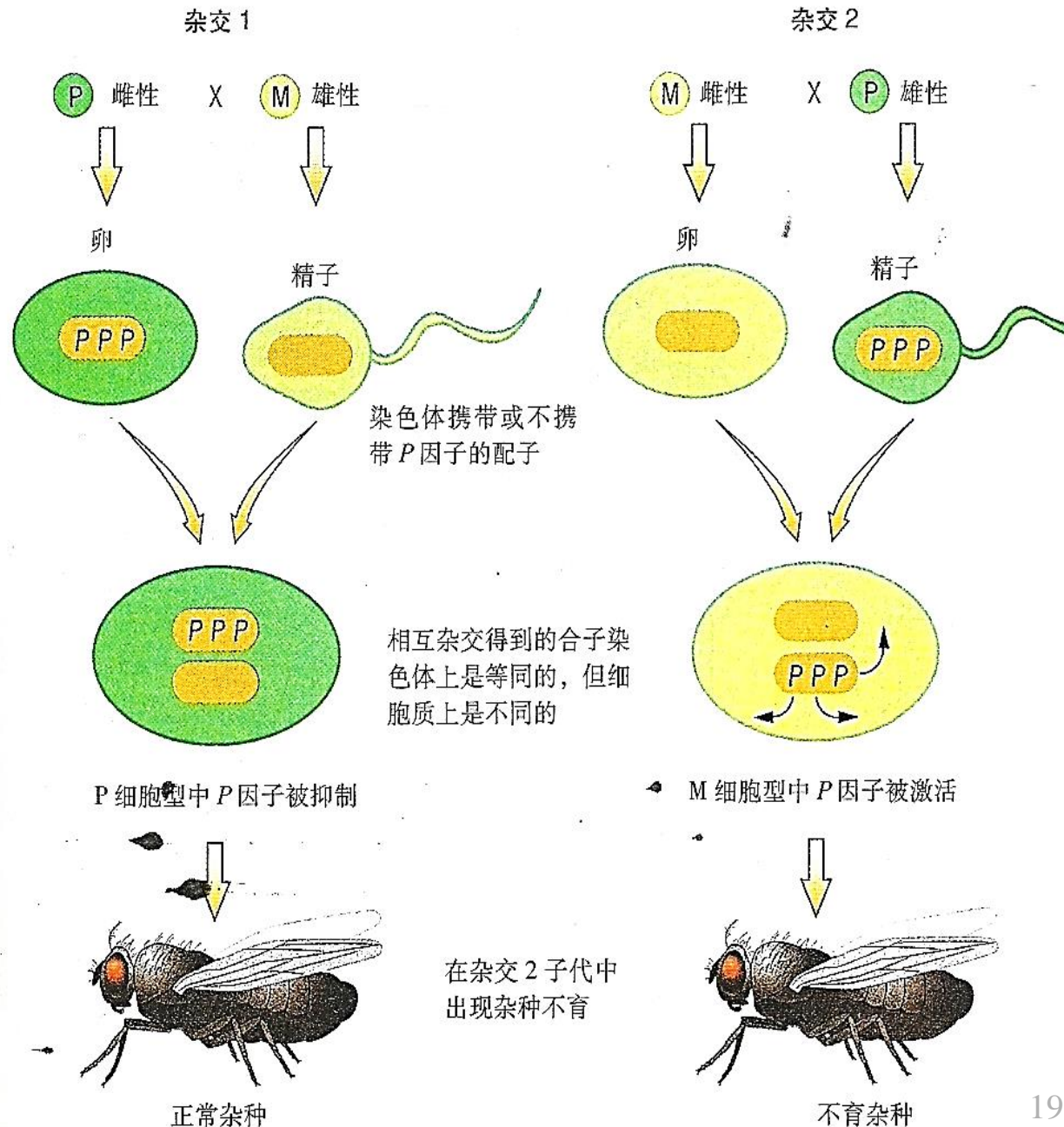


母本			
		M	P
父本	M	正常	正常
	P	不育	正常

P因子的细胞型调节:

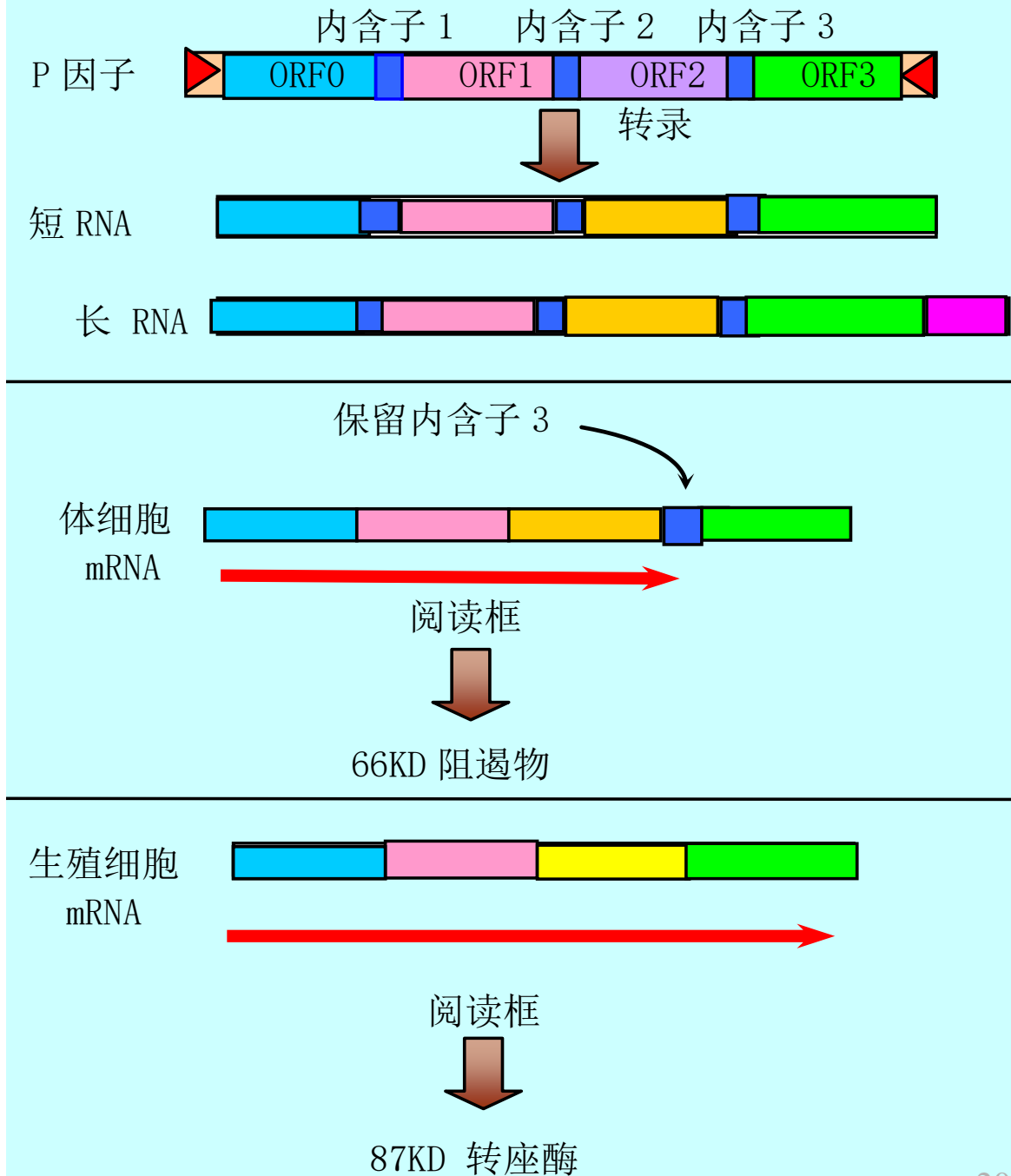
P细胞型: 染色体上含有P因子, 抑制P因子移动;

M细胞型: 染色体上不含P因子, 允许P因子移动;



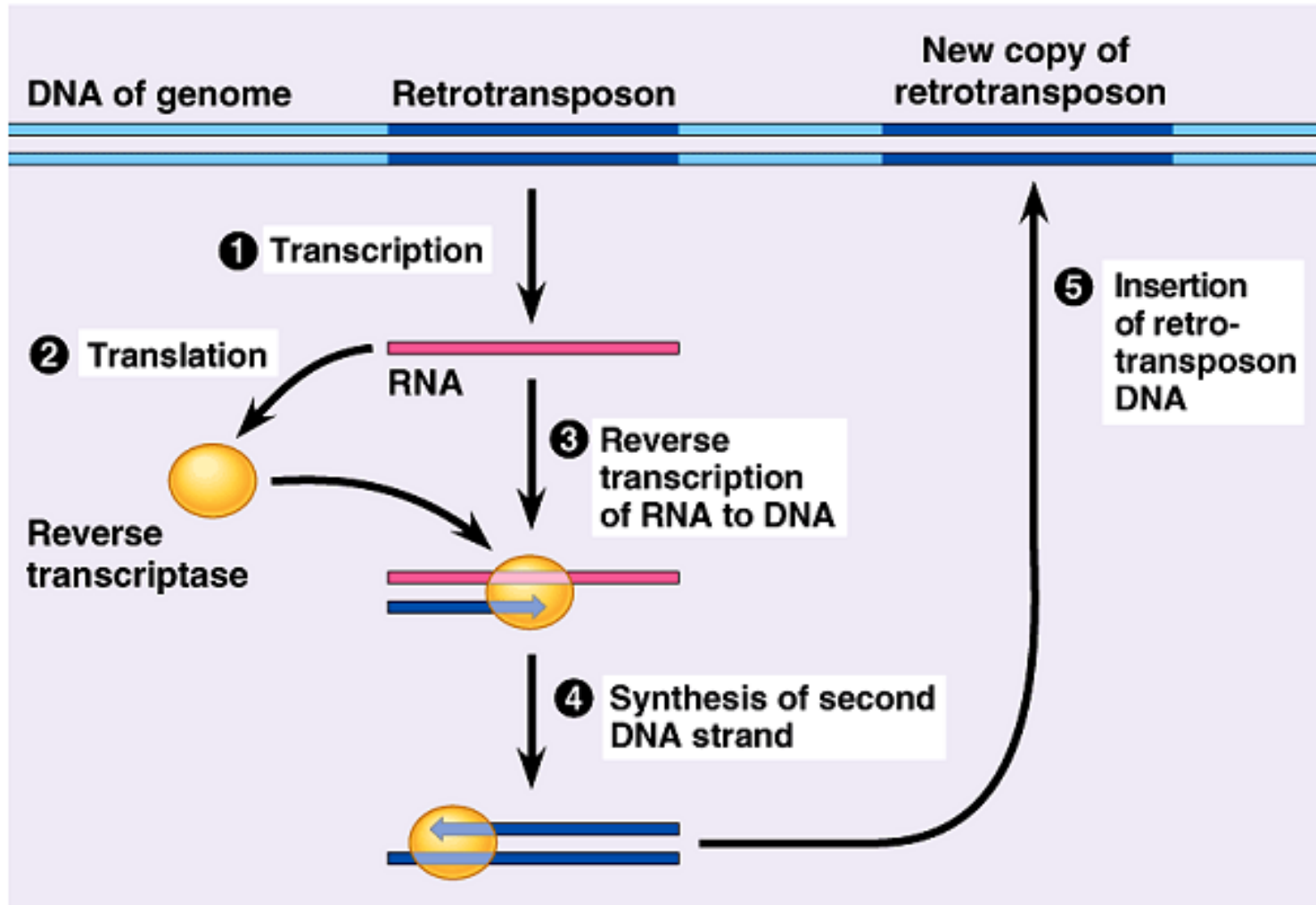
P元件

- ❖ P因子全长2 907 bp，两端有31 bp的反向重复序列；
- ❖ 4个外显子、3个内含子；
- ❖ 体细胞中，只有内含子1、2被顺利切除，产生前3个外显子的功能型 mRNA，被翻译成66KD的截短蛋白——无转座活性；
- ❖ 生殖细胞中，内含子3被切除，产生的成熟mRNA包括全部4个外显子并被翻译成87KD的转座酶，才能导致P因子转座和配子败育。



3. 酵母的Ty1转座子----反转录转座子

反转录转座 (retrotransposon): 从DNA到RNA再到DNA的转移过程。



DNA vs RNA Transposons



Genomic DNA



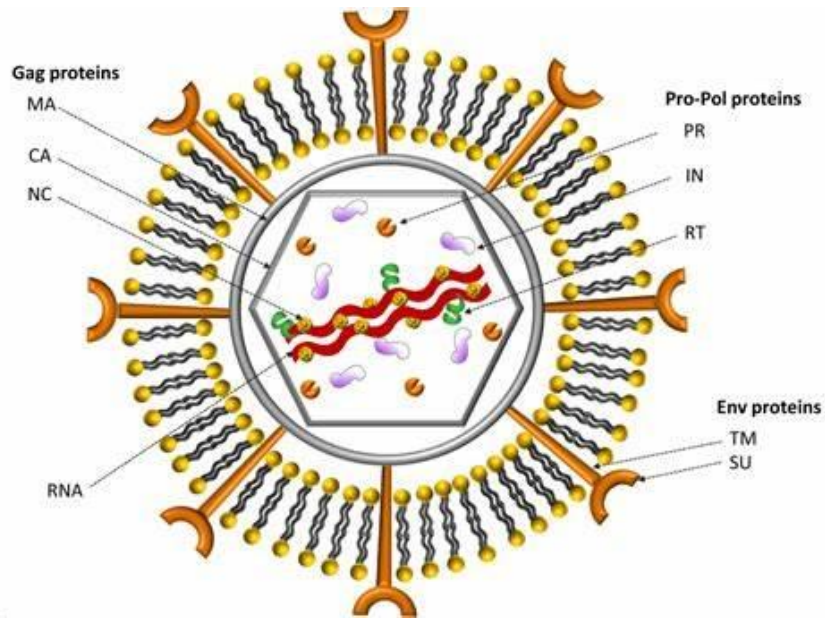
Transposon

DNA Transposons



RNA Transposons





(a) A retrovirus, MoMLV

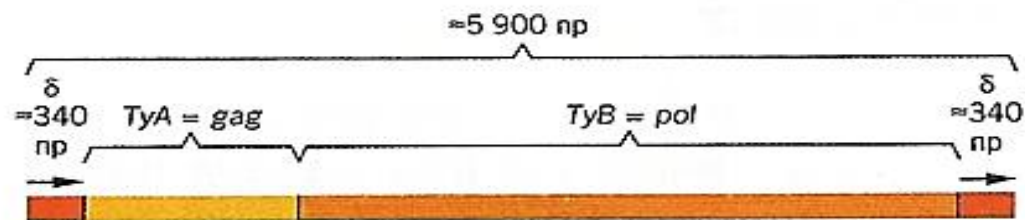


(b) *Ty1* in yeast



(c) *Copia* in *Drosophila*





(a)

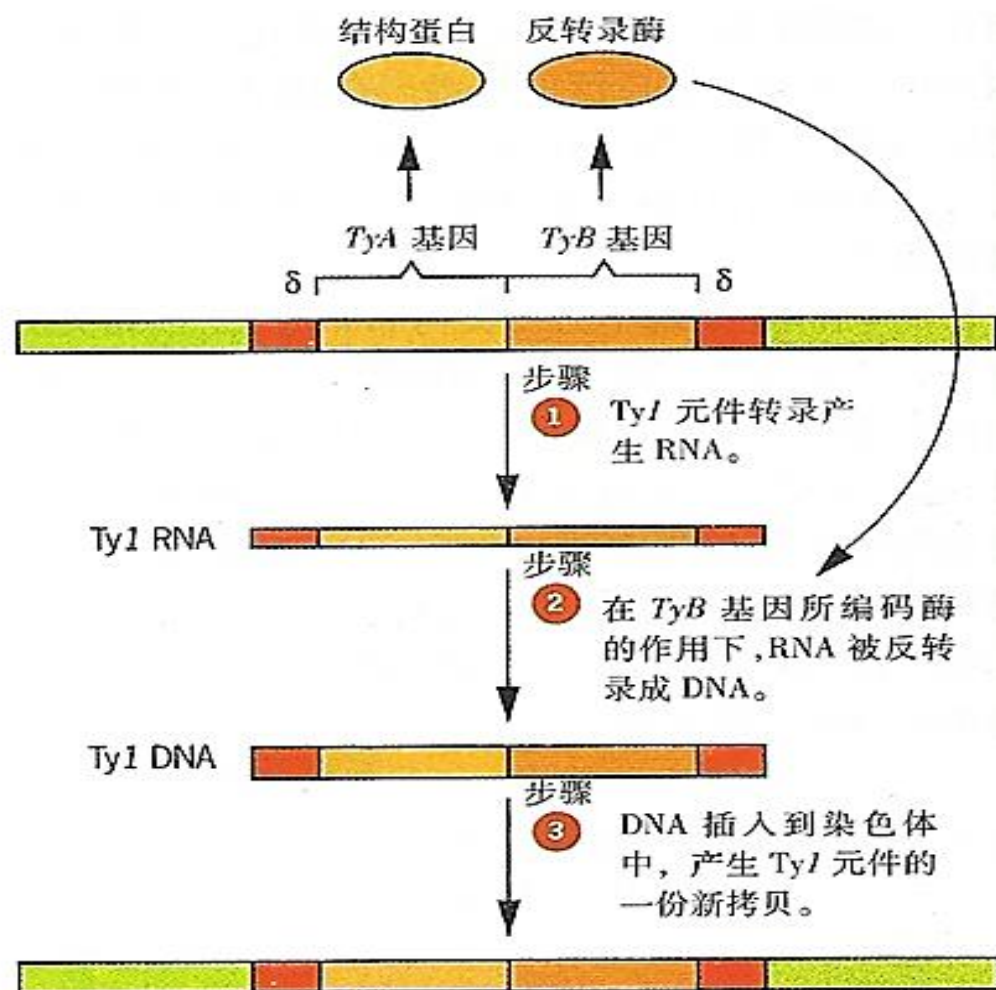


图 18.14 酵母 Ty1 的转座。



可分为两大类:

- ① 类反转录病毒元件 (retrovirus-like element): 与反转录病毒结构类似: 编码区位于中间, 两侧有相同方向的长末端重复序列 (long terminal repeats, LTR), 也被称为LTR反转录转座子。

区别: 反转录病毒首先被观察到的是以传染性病毒颗粒的形式存在, 并能在细胞间传播; 而反转座子是被当作基因组中的一部分而被发现的, 它们**可以在基因组内进行转座, 但不能在细胞间迁移。**

- ② 非LTR反转座因子: 在哺乳动物中常见。末端不具LTR结构, 而是带有特征性的**poly(A)**序列。

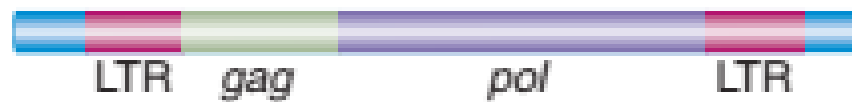
(a) A retrovirus, MoMLV



(b) Ty1 in yeast



(c) Copia in *Drosophila*



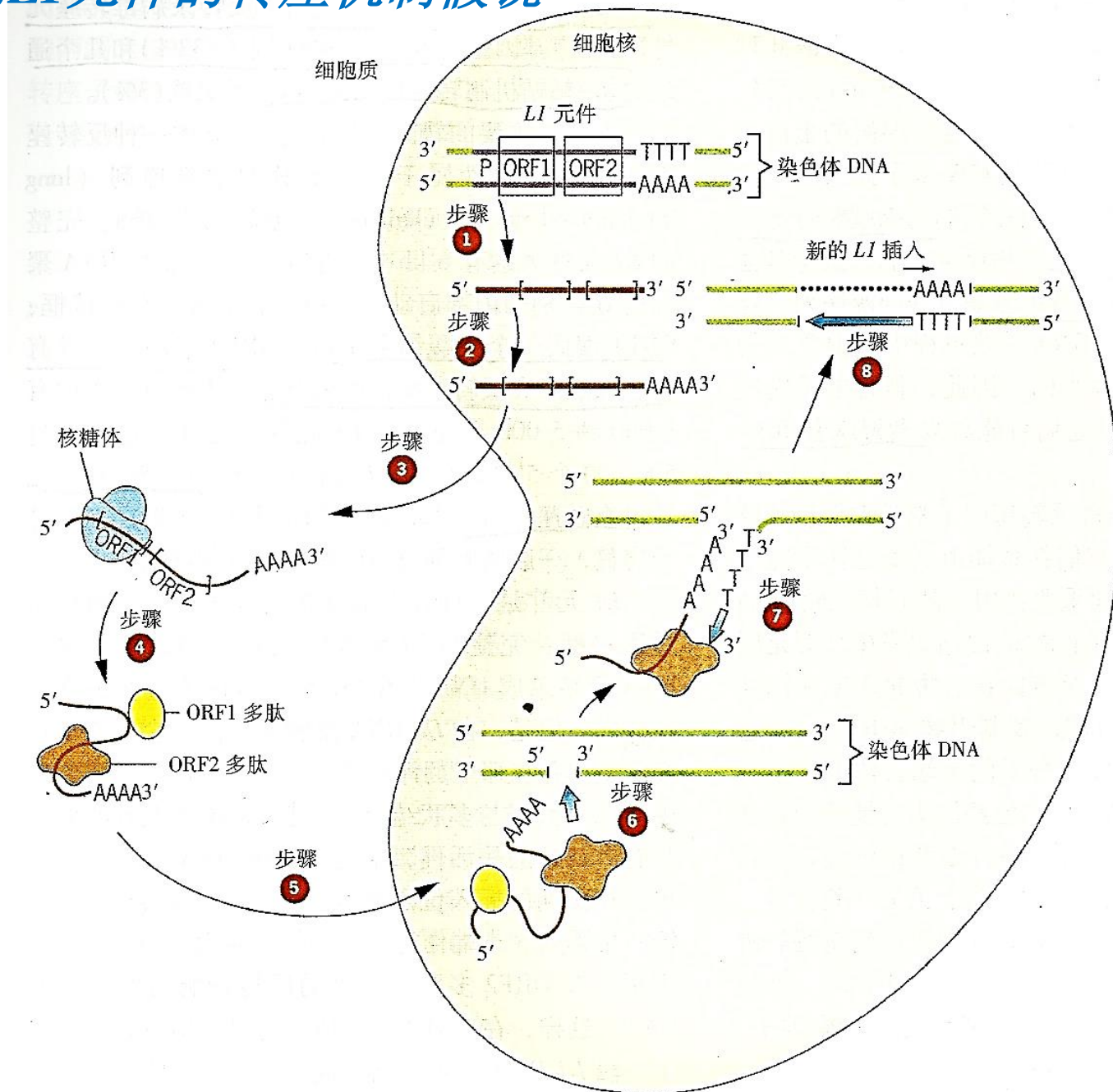
(d) L1, a human LINE



LINEs: 长散在核序列 *long interspersed nuclear elements*, e.g. L1

SINEs: 短散在核序列 *short interspersed nuclear elements*, e.g. Alu

人类基因组中的L1元件的转座机制假说



4. 人类中的转座元件

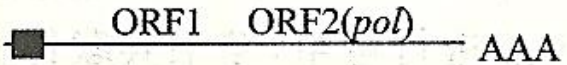
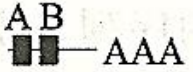
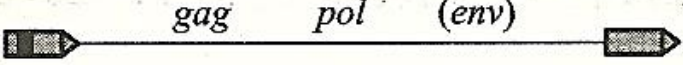
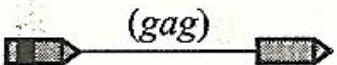
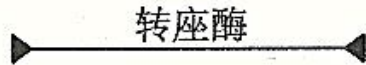

			长度	拷贝数	占基因组比例
LINE	自主转座		6~8 kb	850 000	21%
SINE	非自主转座		100~300 bp	1 500 000	13%
反转录病毒类 转座子序列	自主转座		6~11 kb	450 000	8%
	非自主转座		1.5~3 kb		
DNA 转座 子序列	自主转座		2~3 kb	300 000	3%
	非自主转座		80~3 000 bp		

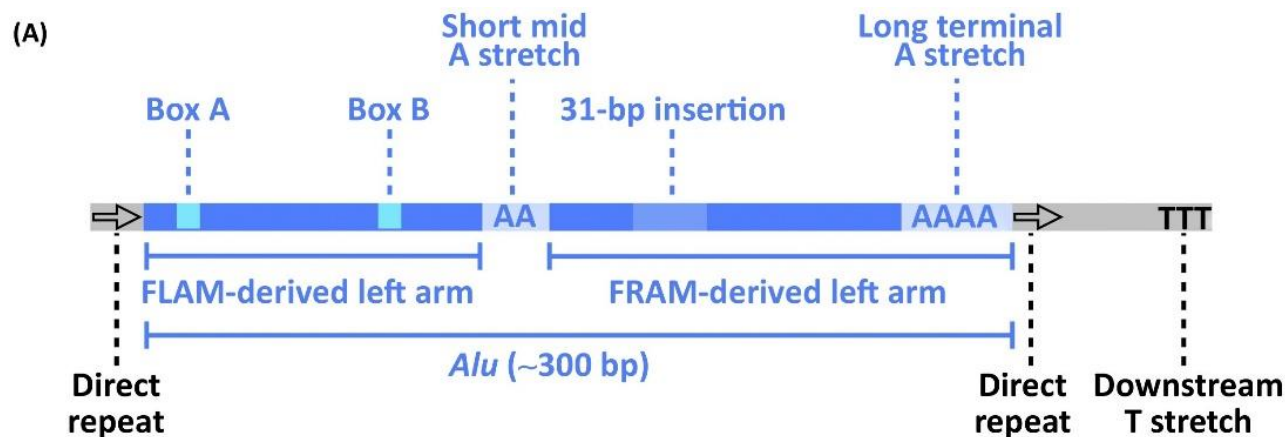
图 11-19 人类基因组中的几种主要转座子



- **LINEs:** L1全长6.1kb, 基因组中有 8×10^5 个拷贝, 但仅有1%左右是全长;
- LINEs发生转座时, 反转录产物通常具有不完整的5'端, 得到许多截短突变体并插入到基因组中, 平均大小仅1kb左右;
- 人类基因组含有3个LINEs家族, 即L1(有转座活性), L2和L3(无转座活性);
- 全长L1具有转座活性, 而且L1编码产物还可以介导SINEs的反转录转座。
- 已有14种致病的L1插入突变被鉴定, 包括凝血因子VIII基因(血友病)和Dystrophin基因(DMD)。L1转座仍是罕见事件。

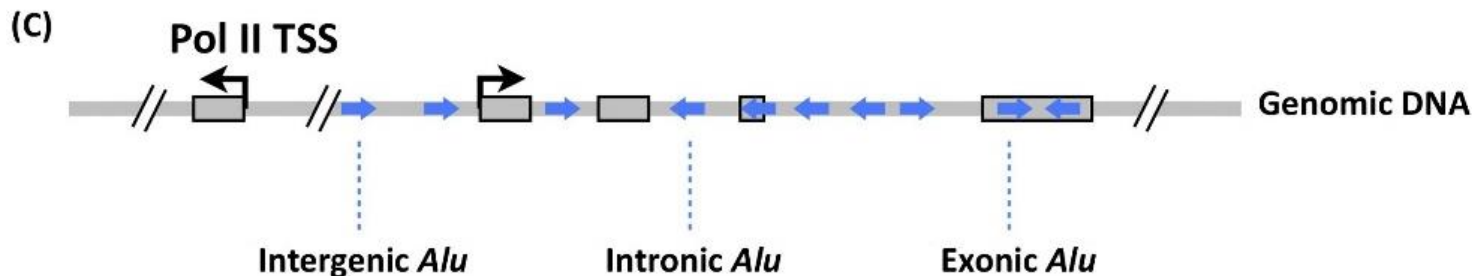
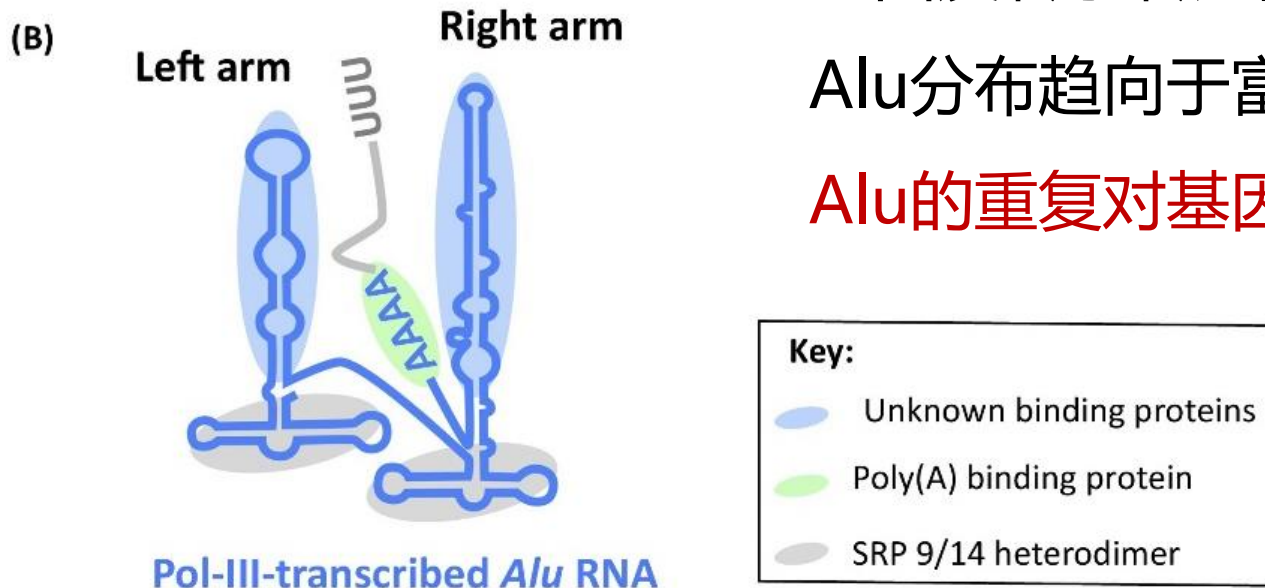


- **SINEs**较短，一般为100-400bp，不编码蛋白质；因此，SINEs的转座依赖于LINE。
- 人类基因组中含有三个SINEs家族，即**Alu**（有转座活性），MIR和Thers/MIR3(无转座活性)。
- Alu：在人类基因组中有 10^6 拷贝。两侧有正向重复序列，内部含有串联重复两次的130bp序列，在第二个重复序列内部有一个31bp序列的插入，因其中含有限制性内切酶Alu位点而得名。





- Alu来源于7SL RNA基因（信号识别蛋白SRP的组分之一），由7SL RNA基因反转录转座而产生的假基因。

Alu分布趋向于富含GC的区域，推测Alu的重复对基因组进化有重要作用。

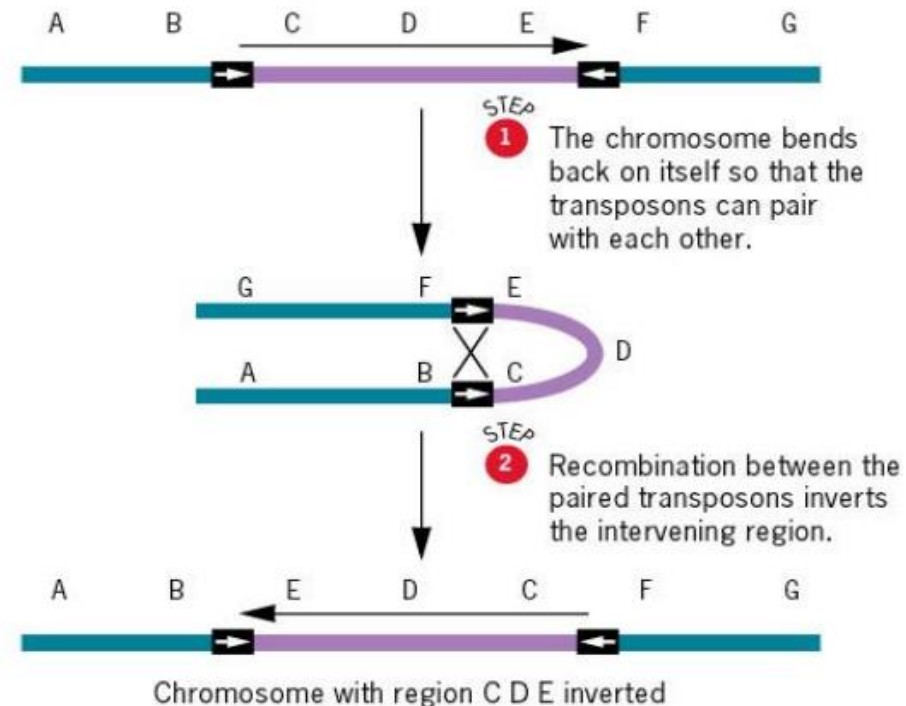
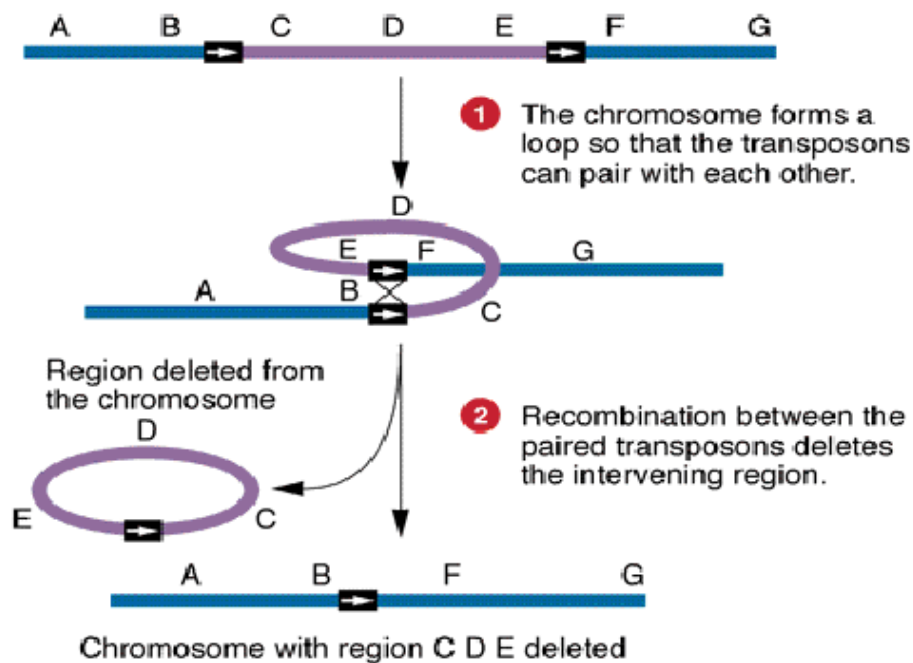


- **LTRs:** 尽管在人类DNA中已发现了100多个不同的类反转录病毒元件家族，但由于内部存在缺陷已失去转座活性。
- **DNA元件:** 人类基因组中含有7个DNA转座子家族（剪切-粘贴机制），但它们在人类基因组中完全丧失了转座活性，被称为DNA转座子化石。

		Length	Copy number	Fraction of genome
Autonomous		2-3 kb	300,000	3%
Non-autonomous		80-3,000 bp		

四、转座的遗传效应

1. 转座导致染色体结构变异，在引起基因组不稳定的同时也为物种进化提供了素材；



STEP

1

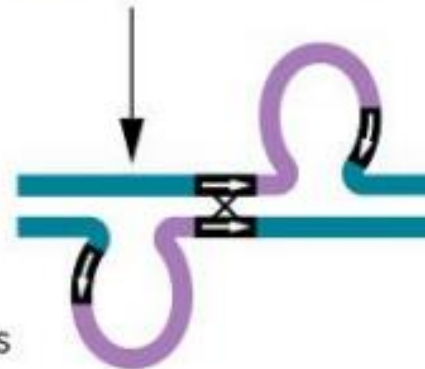
The chromosome replicates to form two sister chromatids.

STEP

2

The sister chromatids pair unequally, and transposon-mediated recombination produces one chromosome with a deletion and another with a duplication.

Chromosome with two neighboring transposons oriented in the same direction



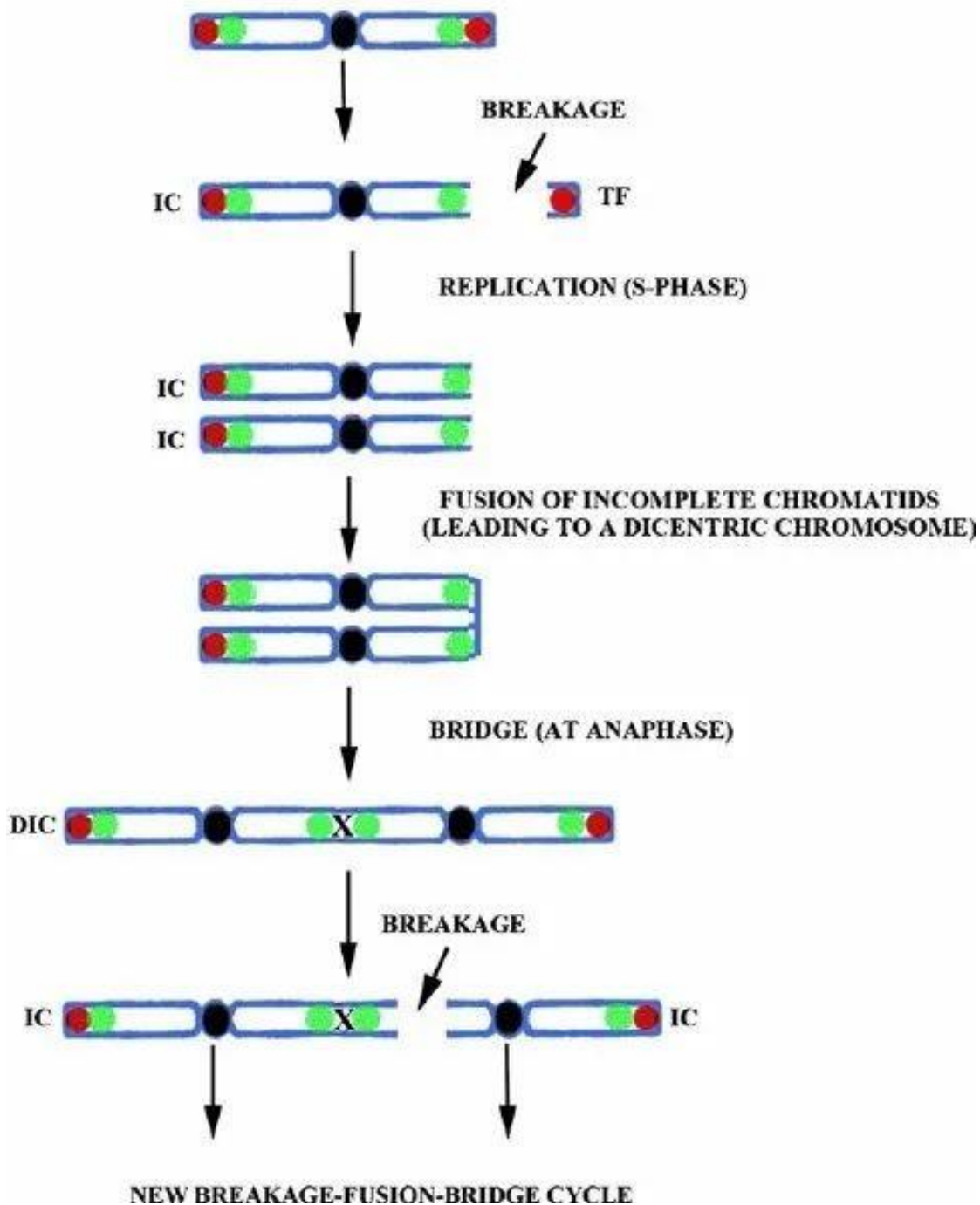
Chromosome with region duplicated



Chromosome with region deleted

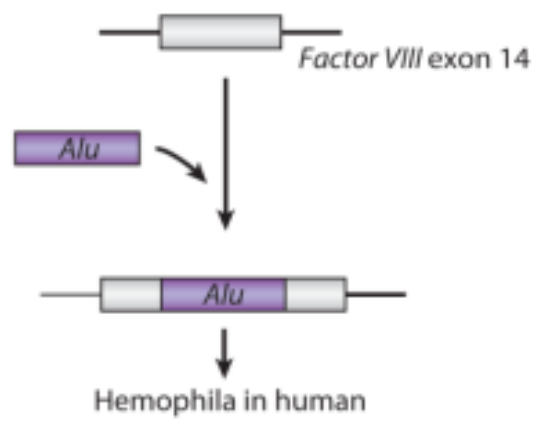
转座子诱导姐妹染色单体
通过断裂-融合-桥循环
(*breakage-fusion-bridge*
cycle, BFB) 过程形成双
着丝粒与无着丝粒片段,
导致染色体重排

NORMAL CHROMOSOME (ONE CHROMATID) (G1-PHASE)

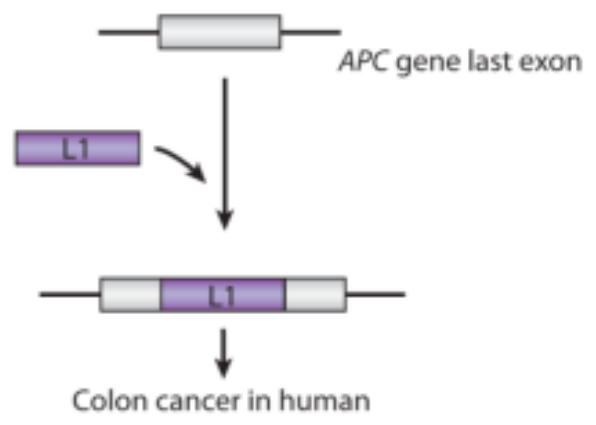


2. 有可能导致基因的转录激活/沉默、原有基因的突变或新基因的获得；

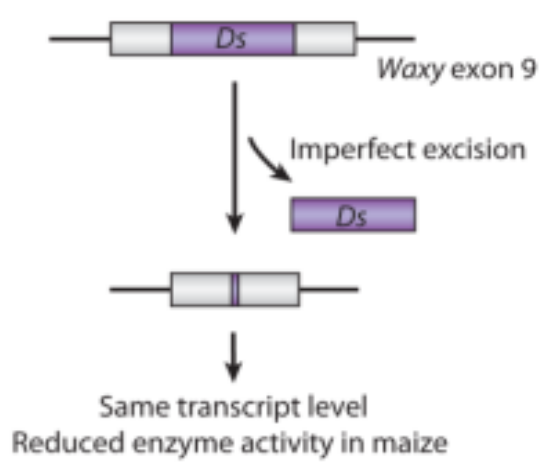
a Exon interruption (germ line)



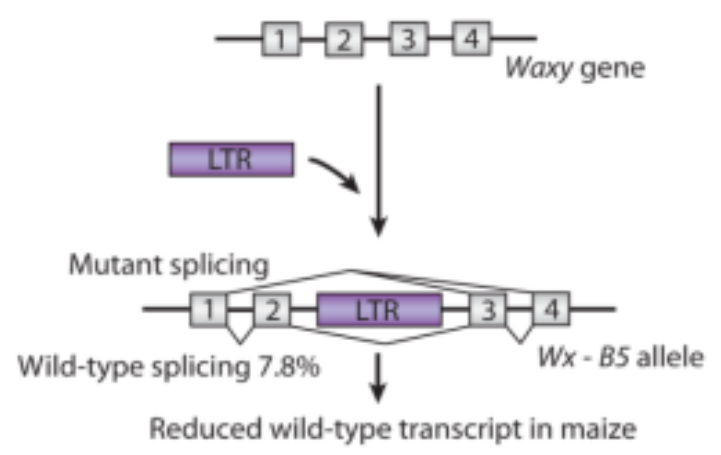
b Exon interruption (somatic)



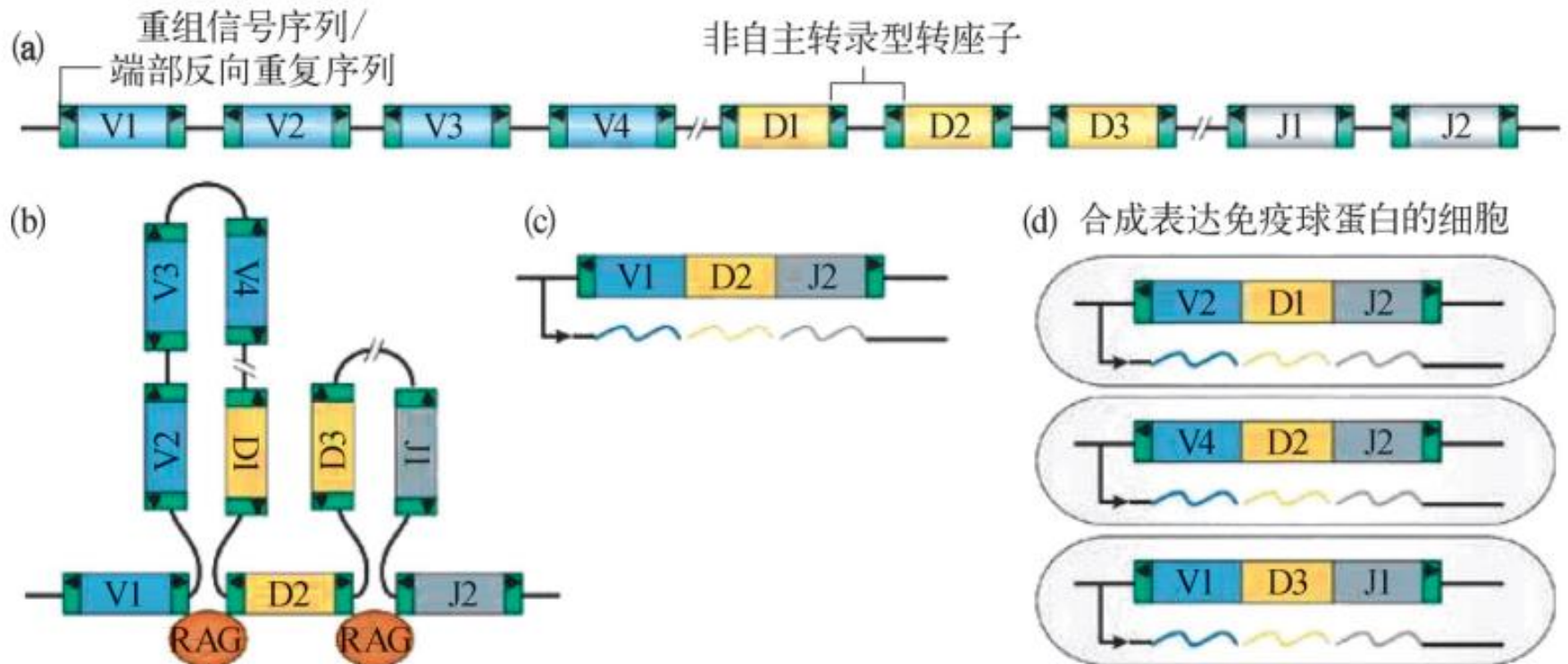
c Imperfect excision resulting in allelic variant



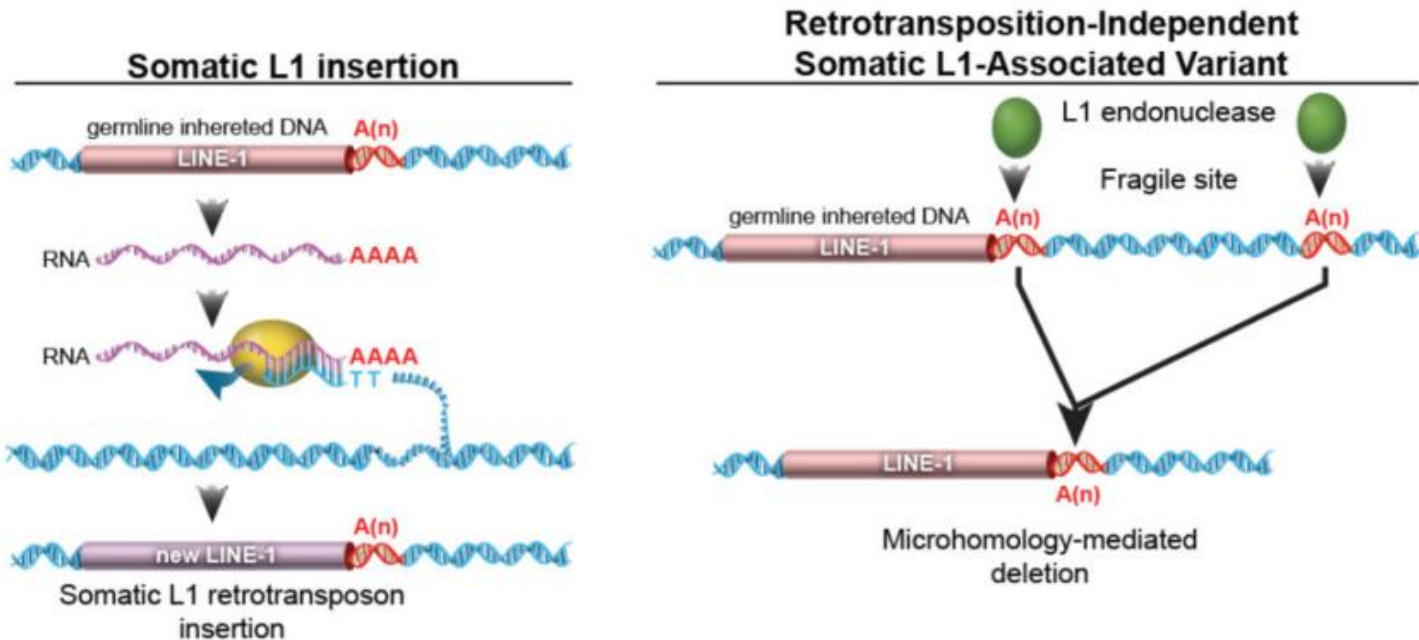
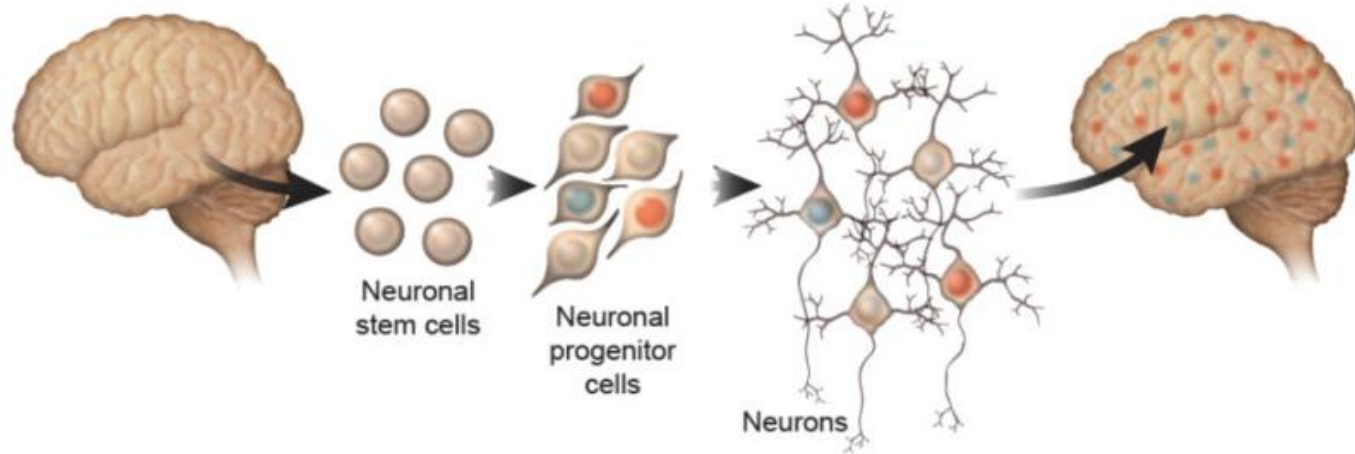
d Alternative splicing induction



3. 由于转座在基因组中引入了大量正反向重复序列，因此转座也促进了免疫球蛋白基因区的DNA重排，参与基因表达调控



身体内每个细胞都具有相同的DNA吗？



L1-associated genomic regions are deleted in somatic cells of the healthy human brain. [Nat Neurosci. 2016](#)

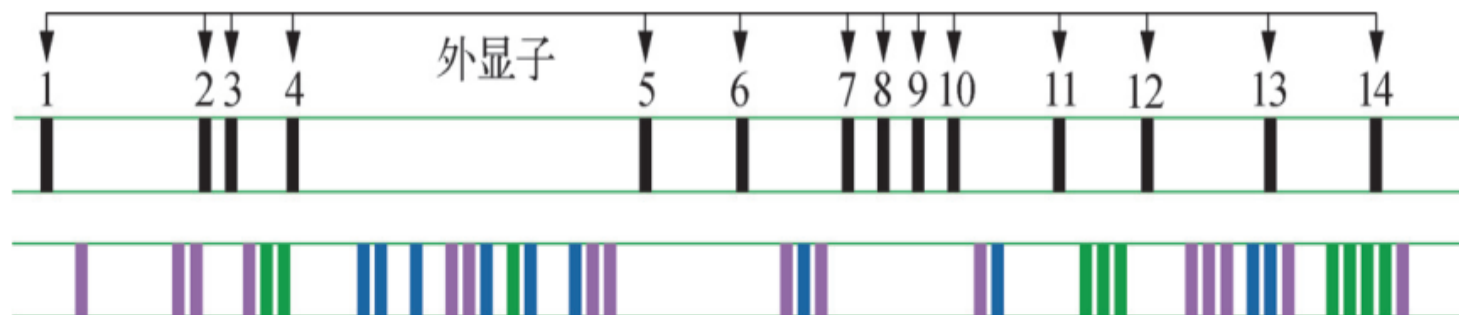


图7-24 人HGO基因中重复序列的种类及其分布示意(仿自 B. Granadino 等)

图中上部显示了HGO基因外显子位置,下部显示了重复序列Alu(蓝色)、SINE(紫色)和LINE(绿色)的位置。



为什么转座子多在内含子序列中?

Xenotransplantation (异种器官移植)



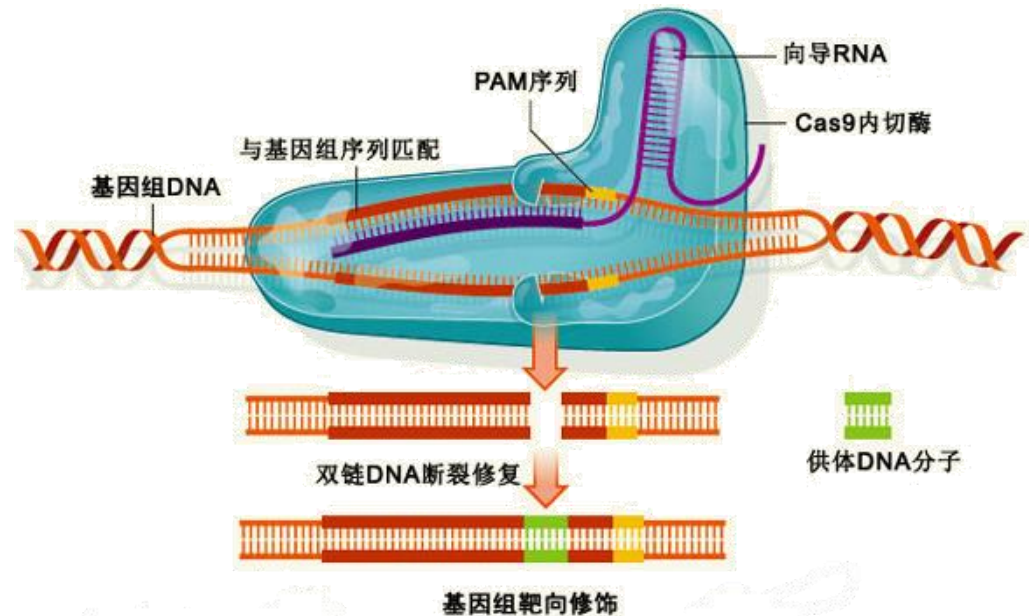
Pig-to-human
immunological
compatibility

risk of **cross-species
transmission of porcine
endogenous retroviruses**
(猪内源性逆转录病毒, PERV)

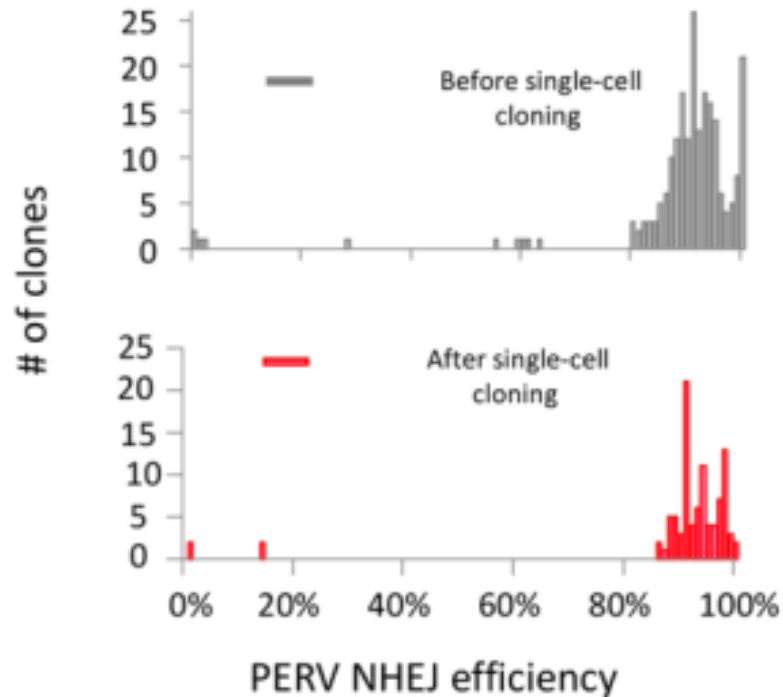
STRATEGY

1. *PERV inactivation in pigs' genome via Crispr Cas9*

2. *generated PERV-inactivated pigs via somatic cell nuclear transfer*



two CRISPR guide RNAs specific to the catalytic core of the PERV *pol* gene; FFF3: primary porcine fetal fibroblast cell line.



Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. Science, 2017