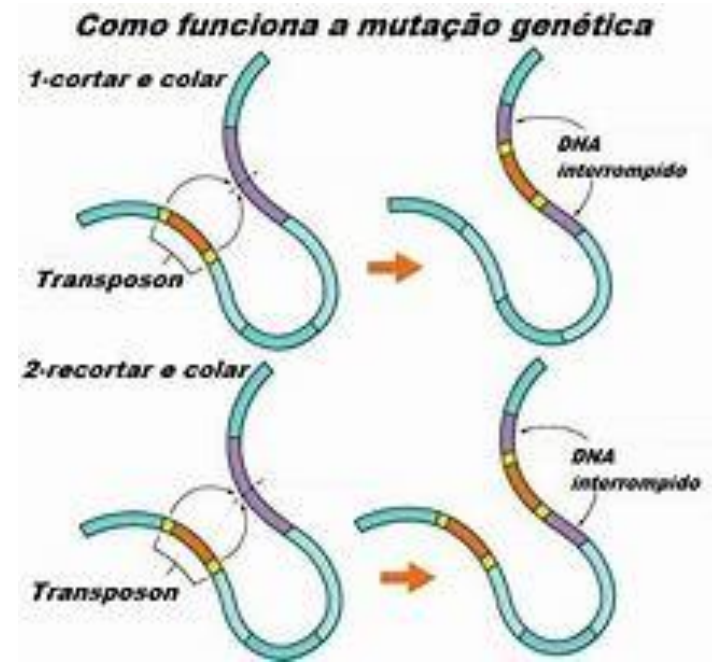


转座因子与染色体变异

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？
- 宿主防御



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)

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.

Pericarp(bran)

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.

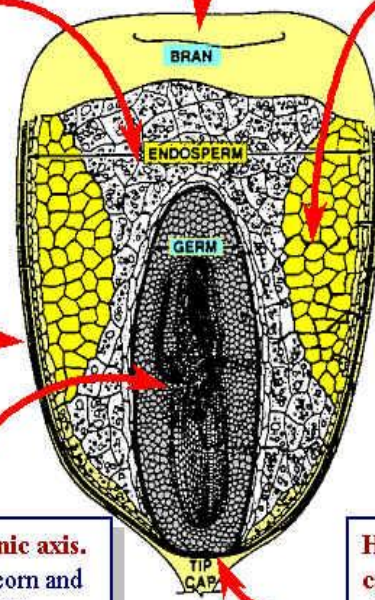
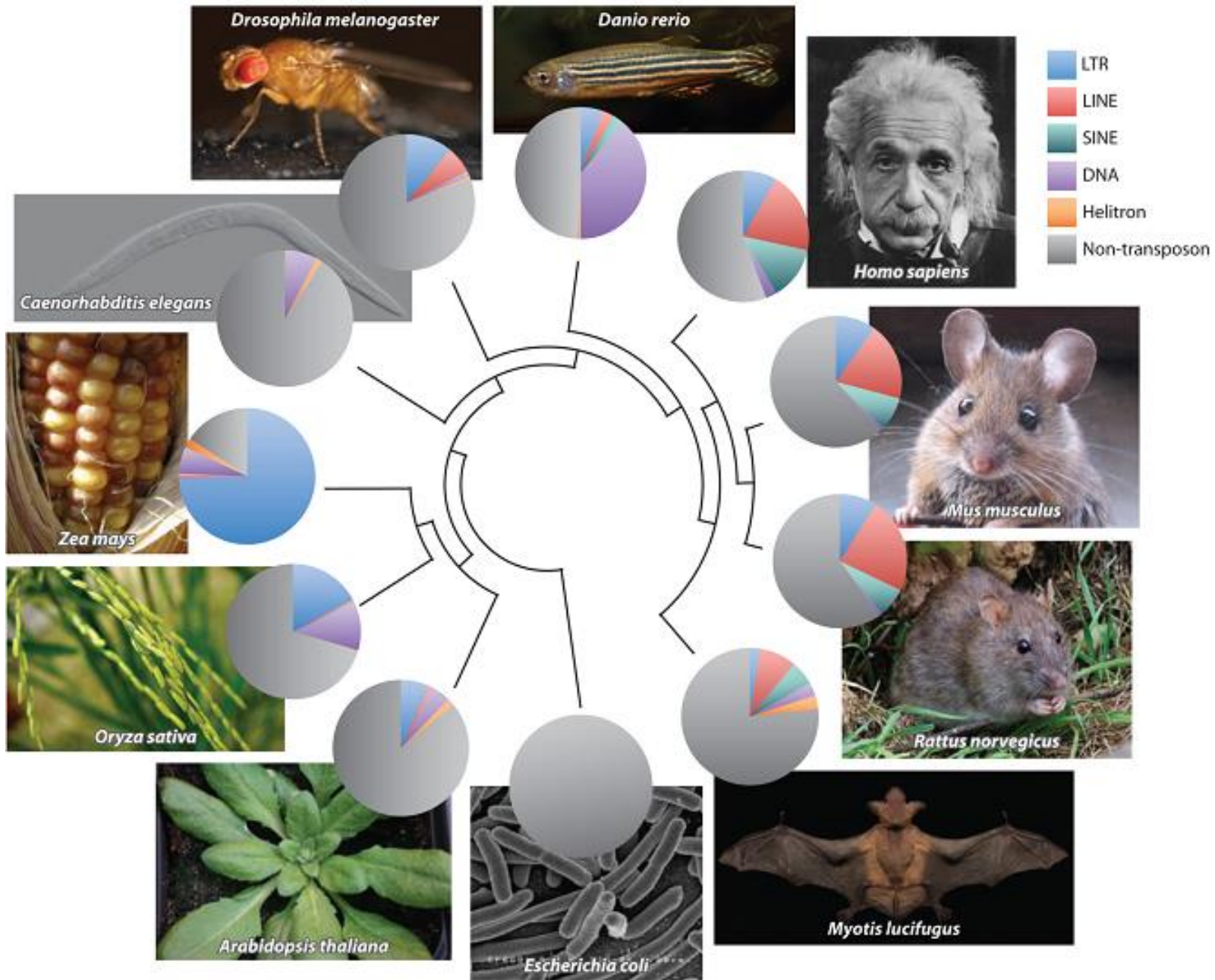


Diagram Source: Hosenev, 1986. Principles of Cereal Science and Technology. Am Assoc of Cereal Chemists, St. Paul, MN

转座子（transponson）：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

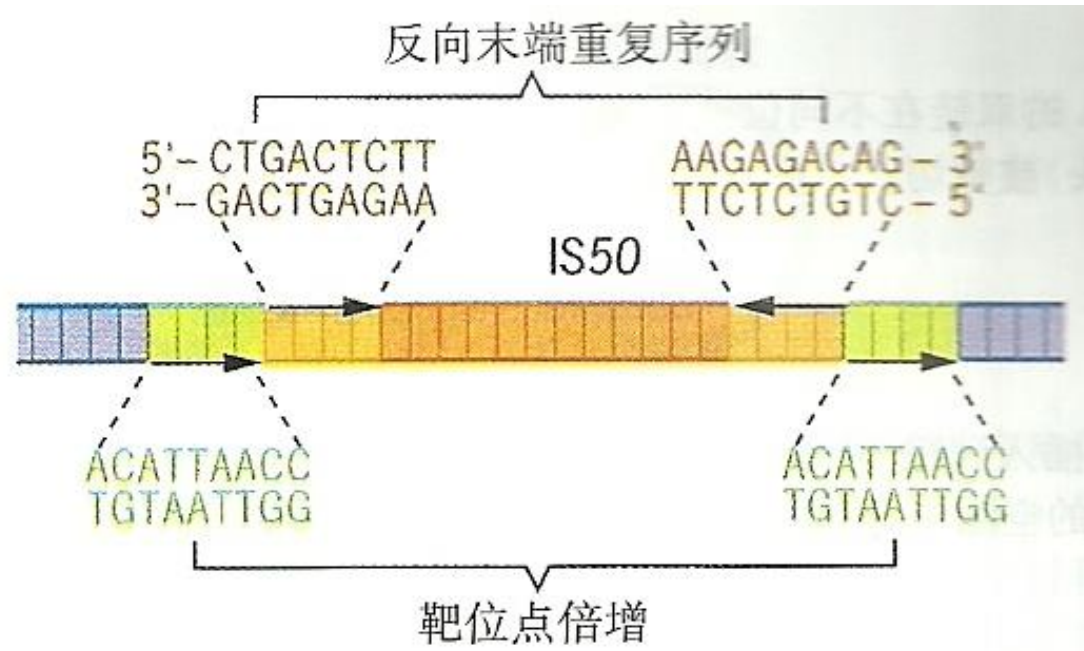


Active transposition in genomes. *Annu Rev Genet.* 2012;46:651-75. 4

二、细菌中的转座子:

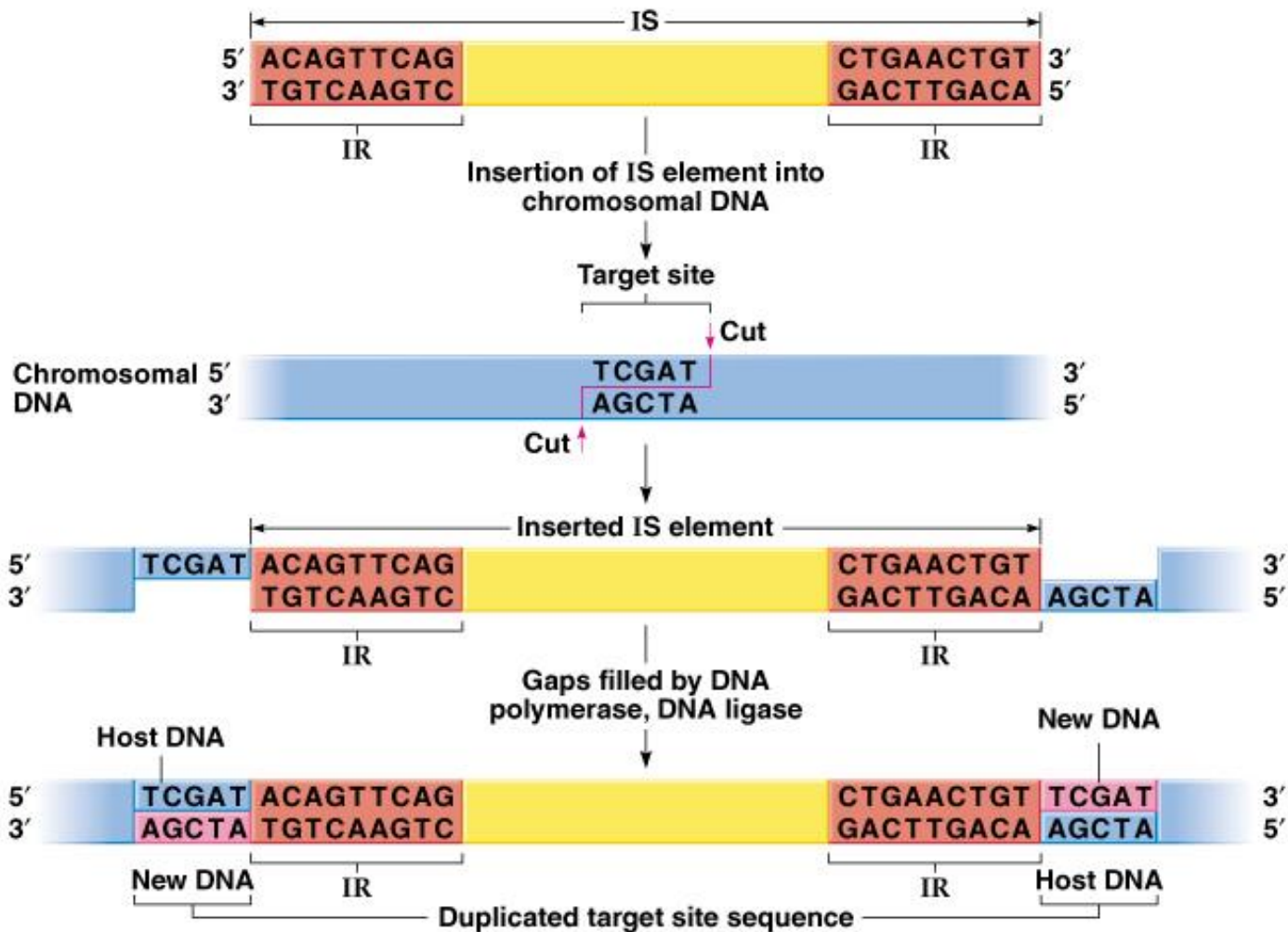
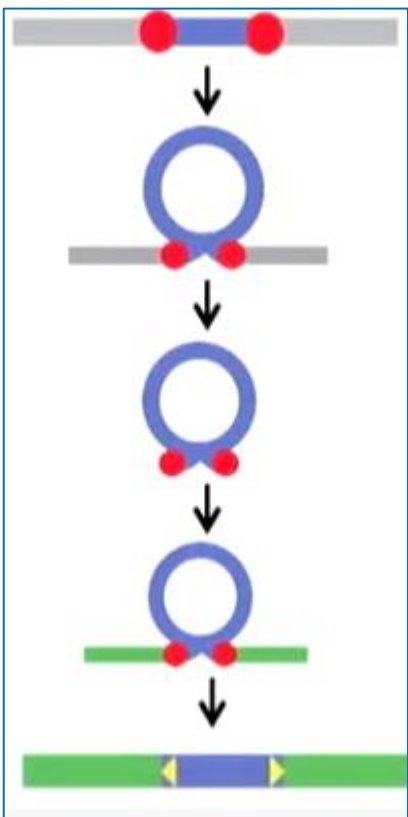


1. IS元件(insertion sequence or IS element):



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。

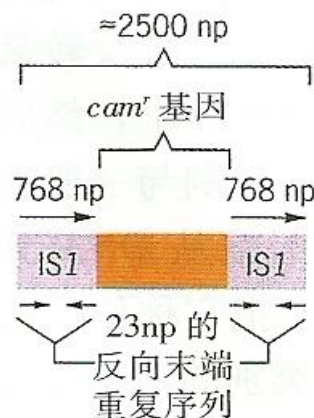
表 23-4 IS 的结构和功能

	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	

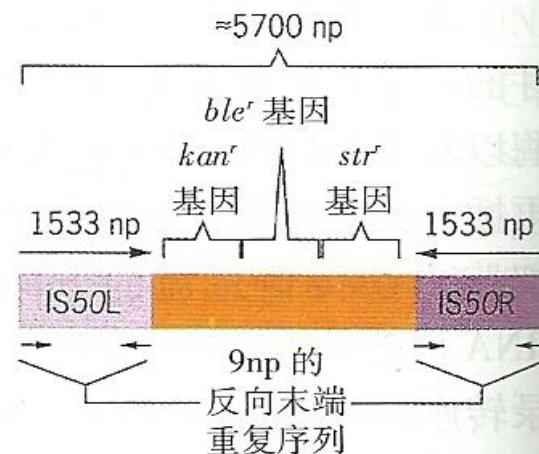
- ④ 结构紧凑；一般小于2500bp；
- ⑤ 靶向选择各有不同；
- ⑥ 一个细菌的染色体可能包括一种特定类型的IS元件的几个拷贝；

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

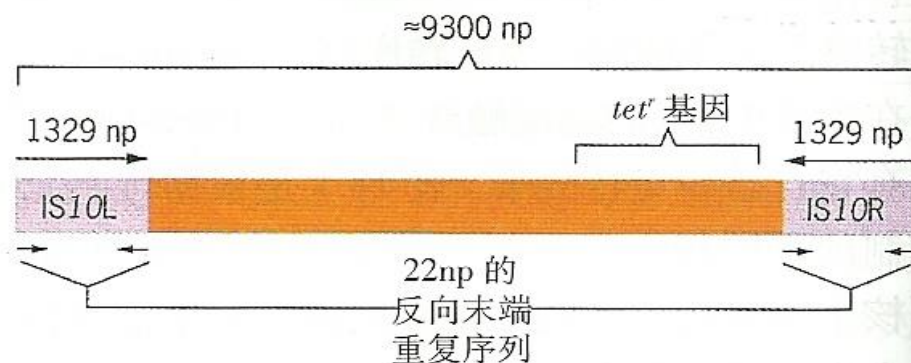
① 两端的组件由IS元件组成, 中间夹着一个或多个结构基因如某些抗药性基因和其它基因组成。



(a) Tn9

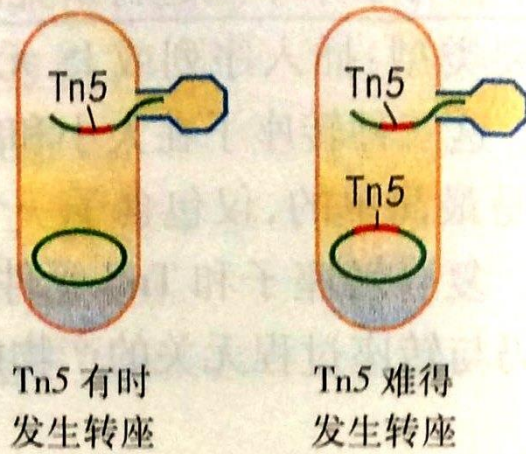


(b) Tn5



(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)



转座酶

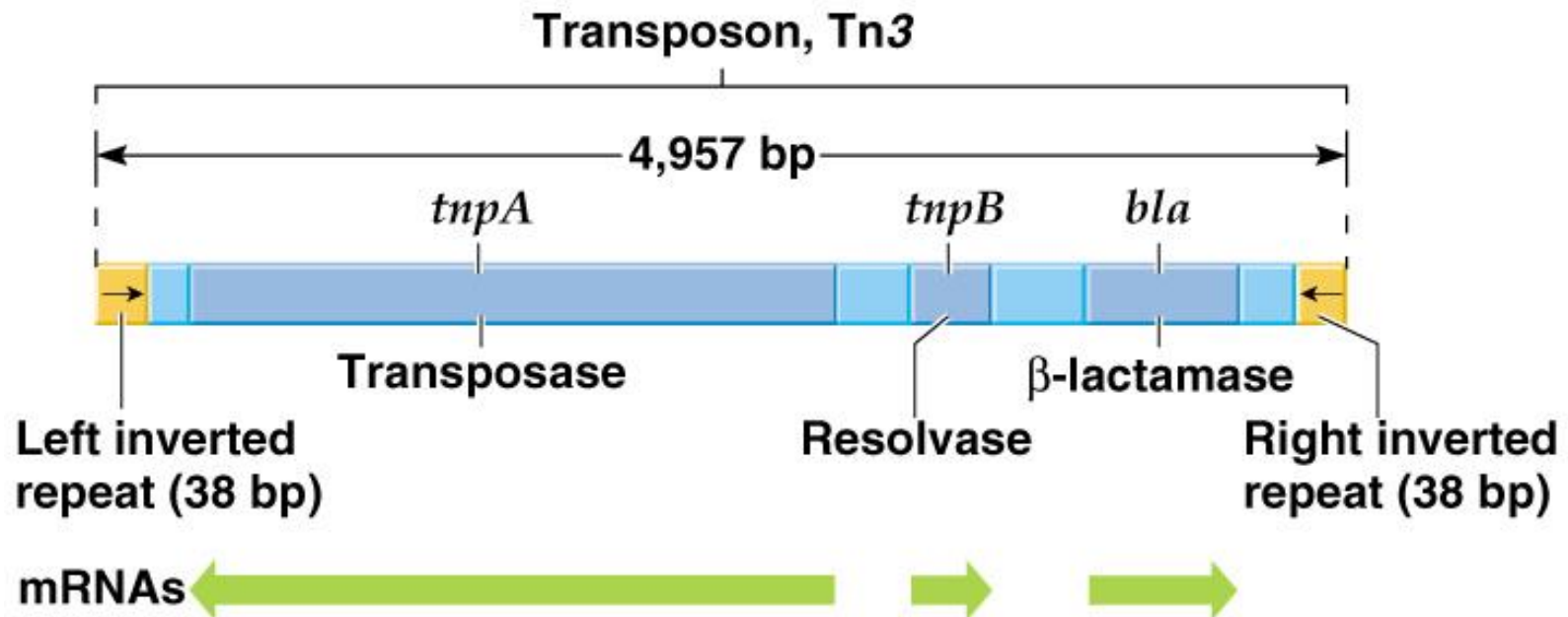
阻遏物

IS50R 元件从不同的起始密码子翻译出两种蛋白

(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

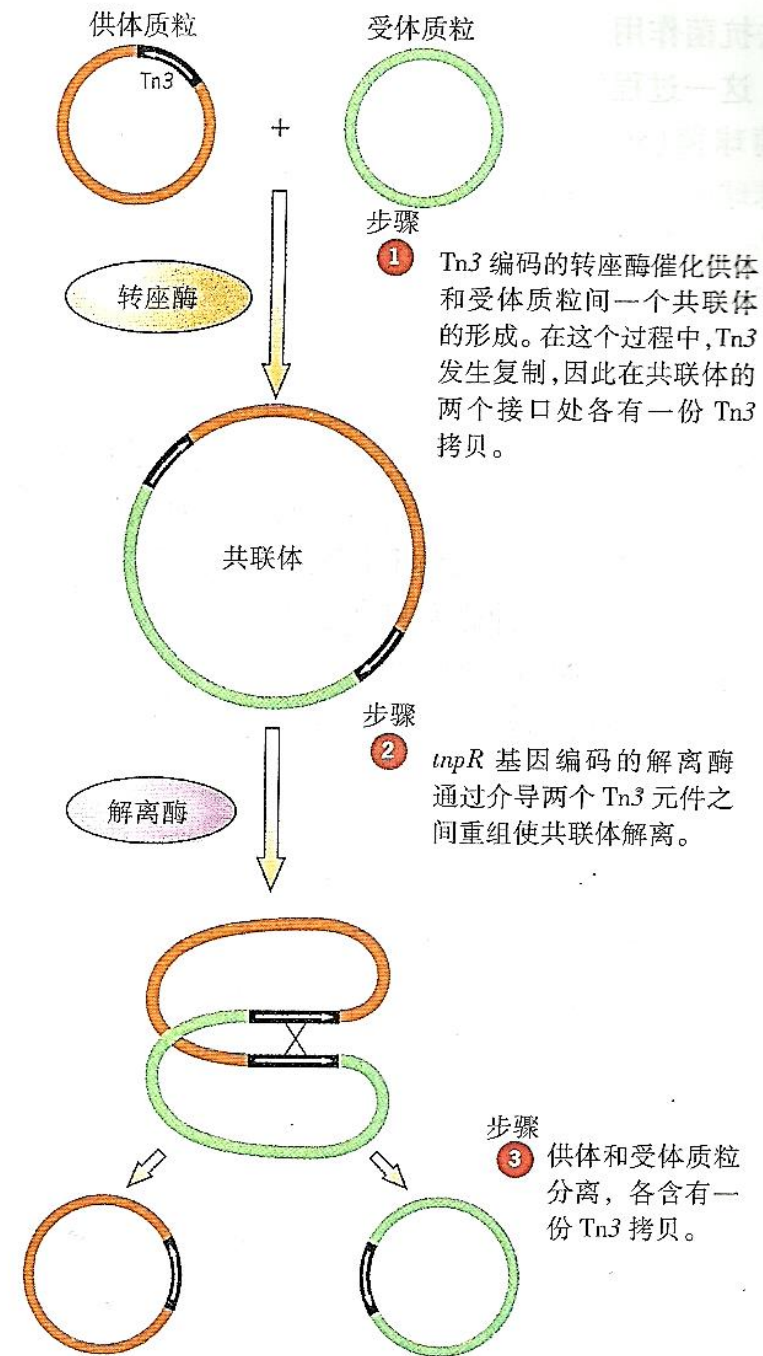
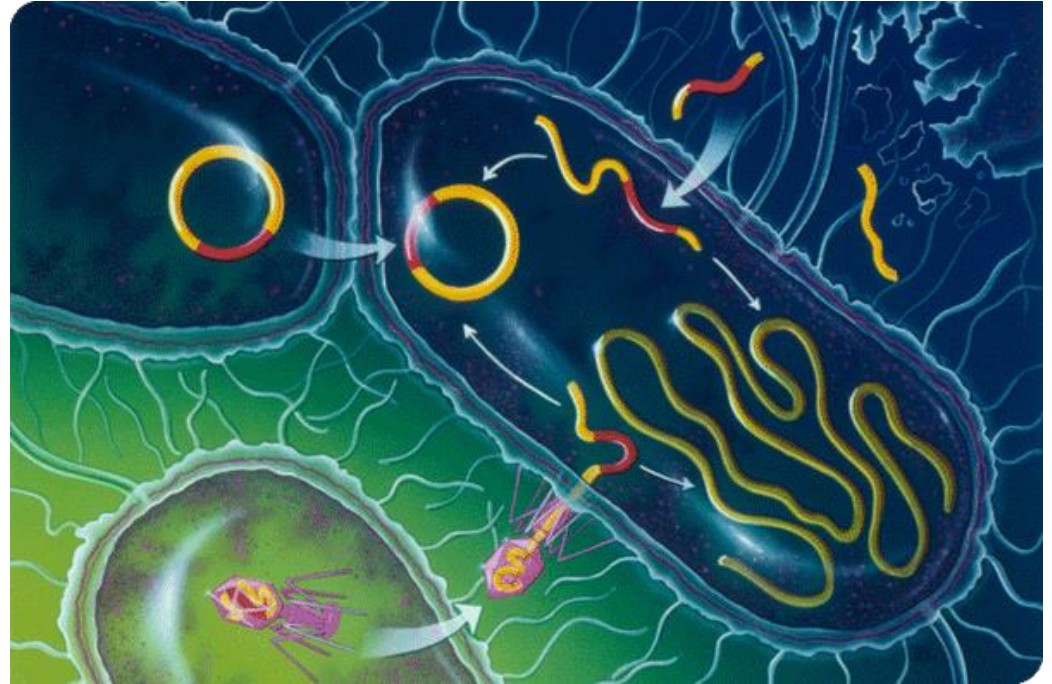


图 18.6 Tn3 通过形成共联体进行转座。

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。

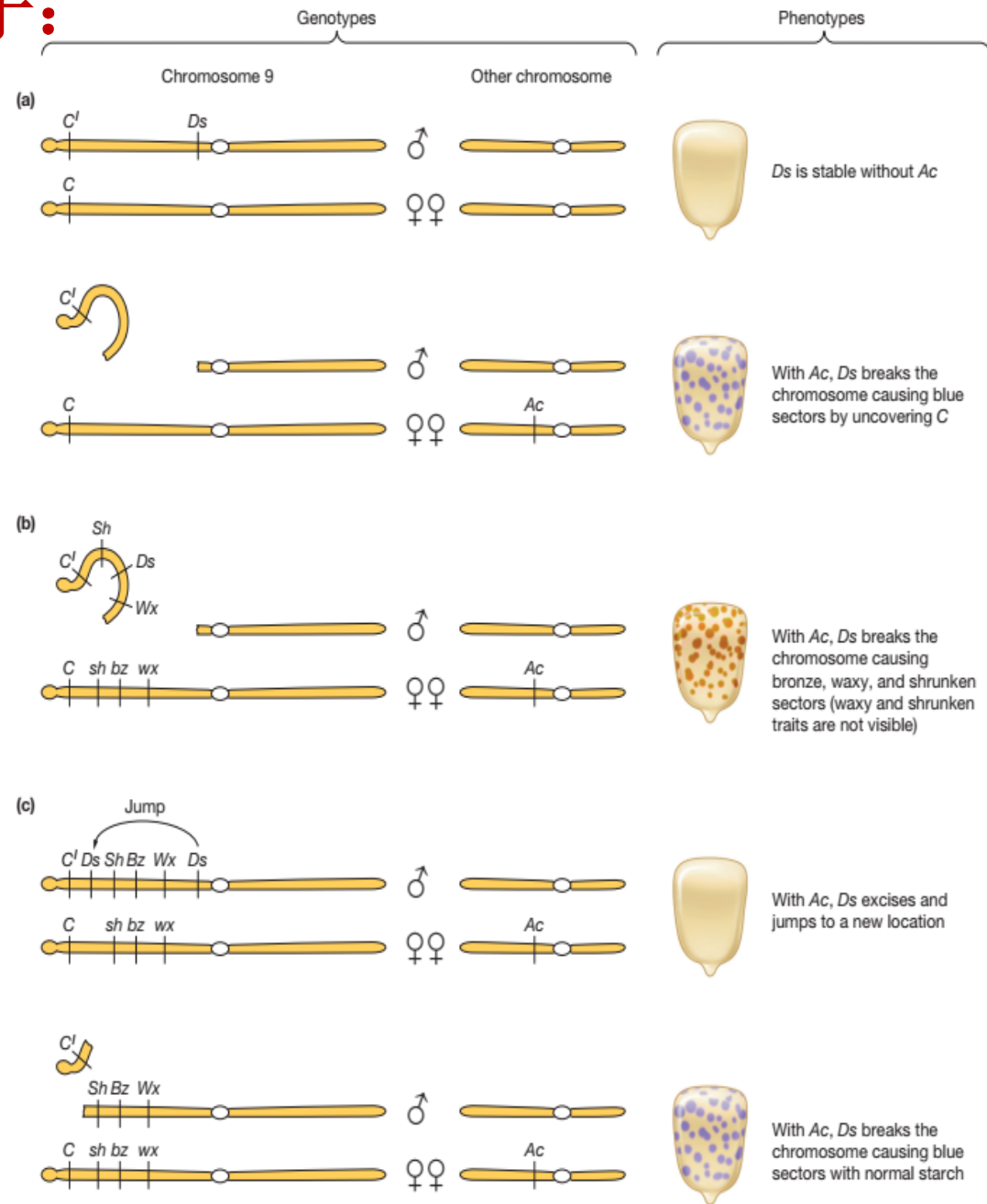
三、真核生物中的转座子：

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。

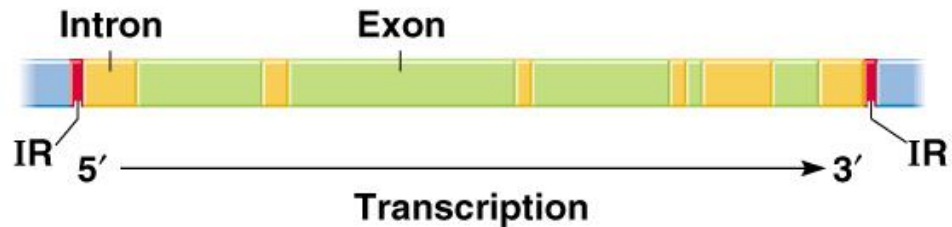
❖ 另一个可移动的控制因子是 **Ac**，称激活因子（**activator**）

❖ **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。

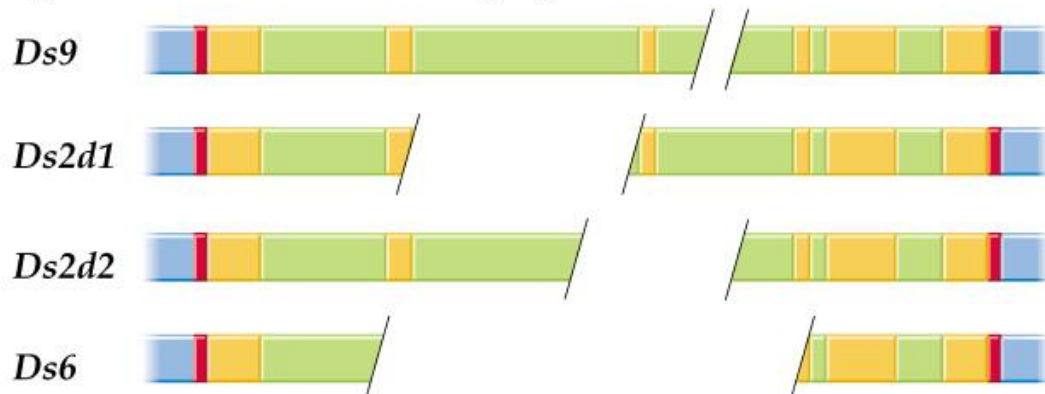


- ① Ac和Ds都能移动;
- ② Ac元件: 4563bp, 结构中含5个外显子的单个基因, 其产物是转座酶; 末端11bp的IR和8bp的DR, DR是由靶位点重复而成。
- ③ Ds元件: 内部序列缺失的Ac; 但在Ac编码的转座酶作用下, 仍可被激活。
- ④ Ac元件编码转座酶为一反式作用因子;

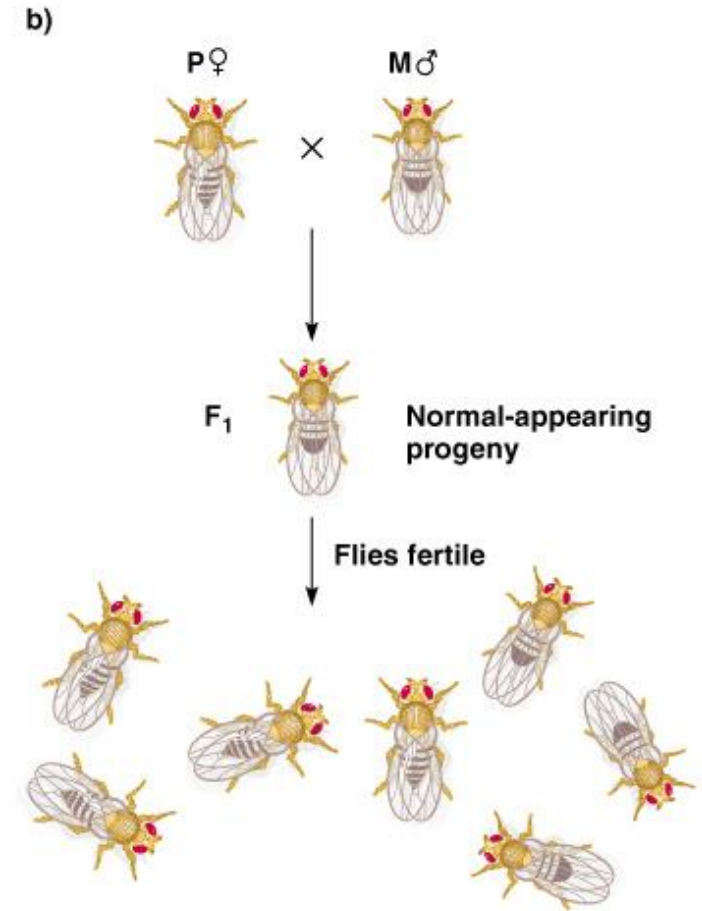
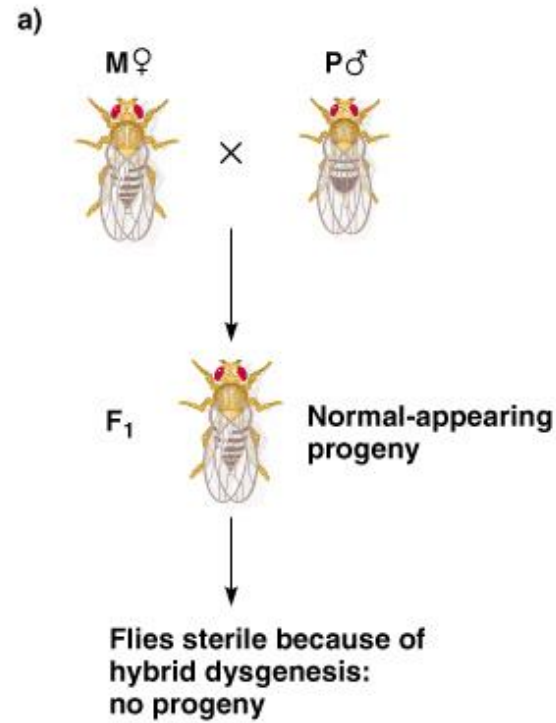
a) Activator element (*Ac*)



b) Dissociation elements (*Ds*)



2. 果蝇中的P因子和杂种不育

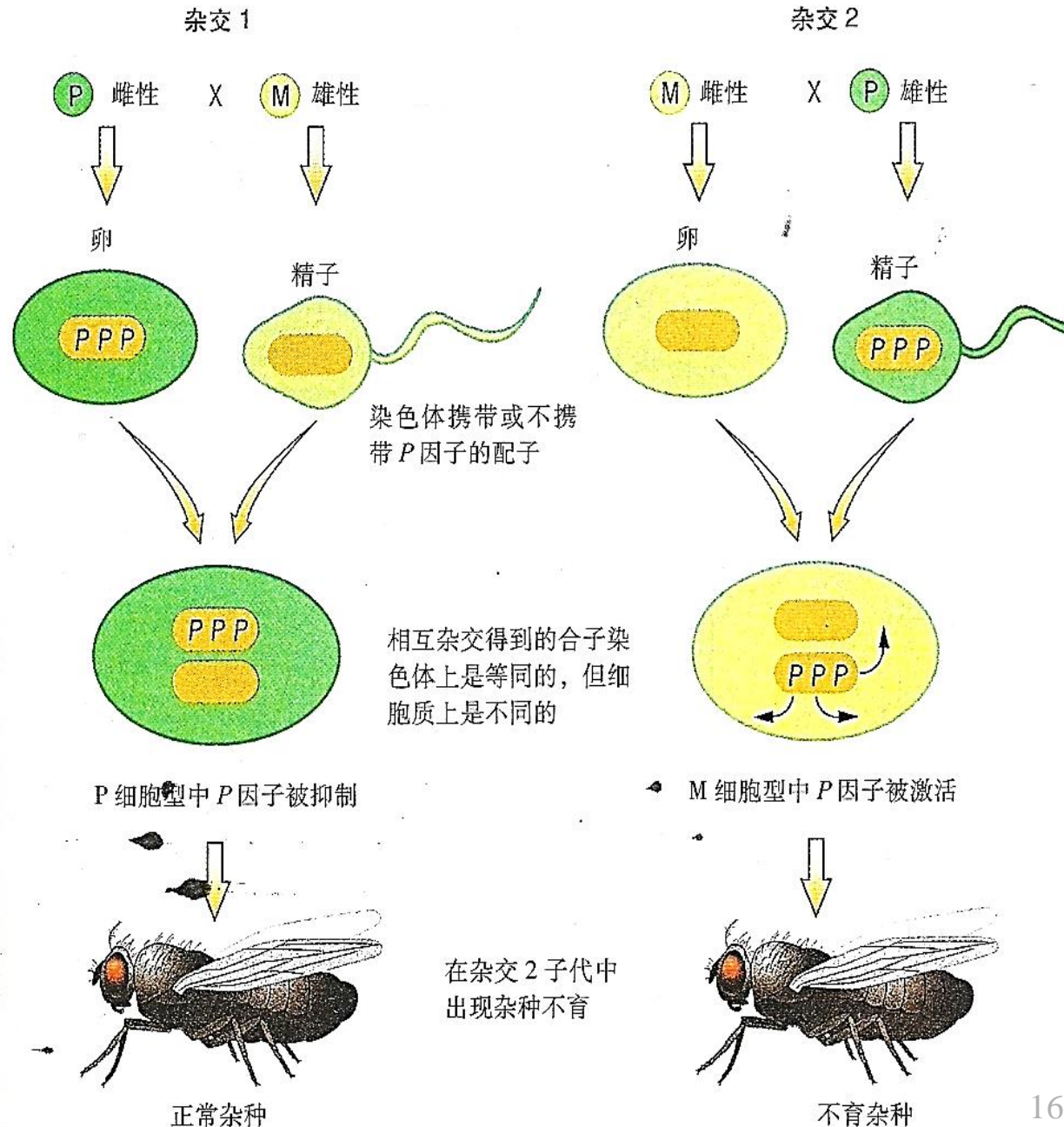


母本			
		M	P
父本	M	正常	正常
	P	不育	正常

P因子的细胞型调节:

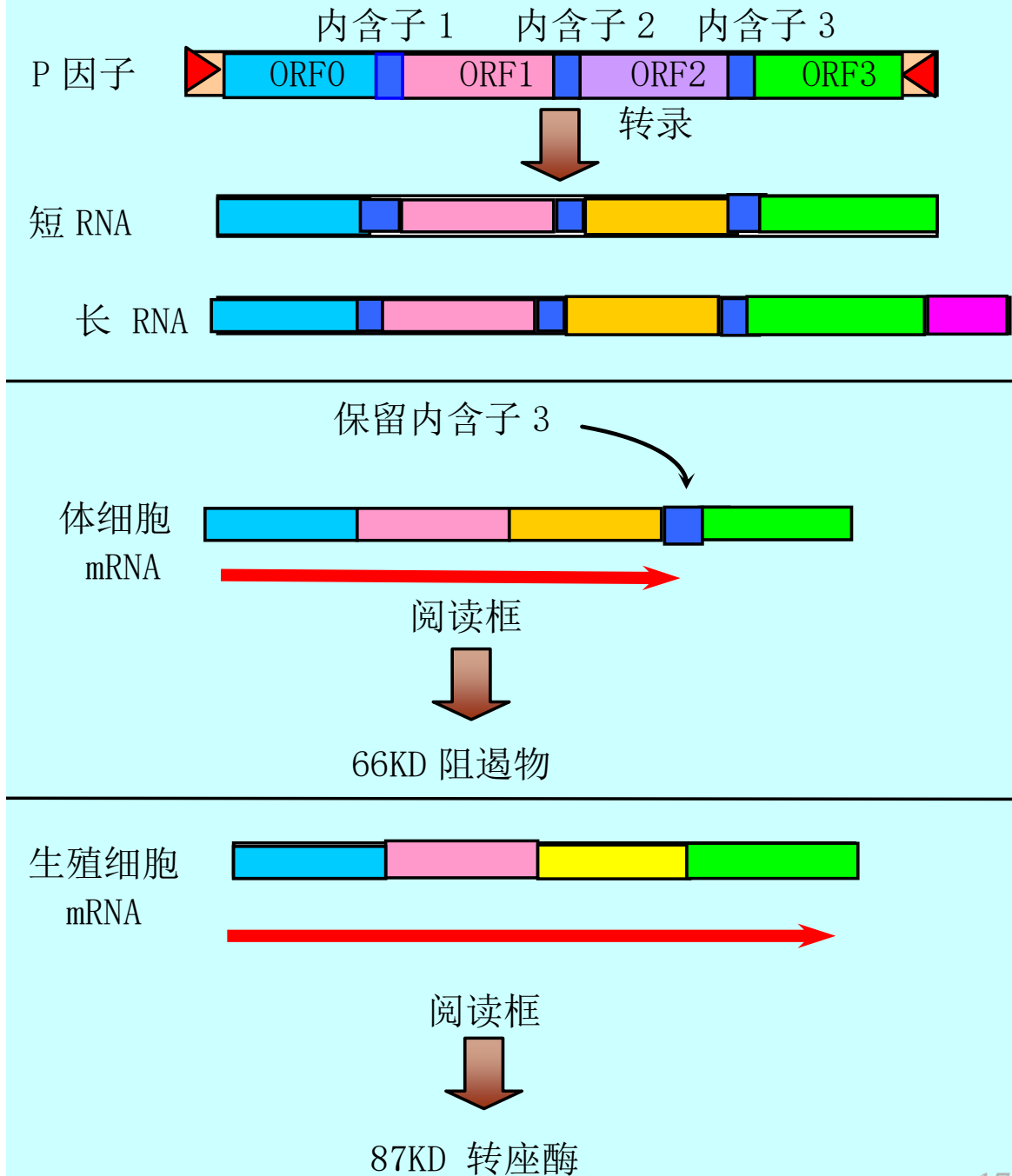
P细胞型: 染色体上含有P因子, 抑制P因子移动;

M细胞型: 染色体上不含P因子, 允许P因子移动;



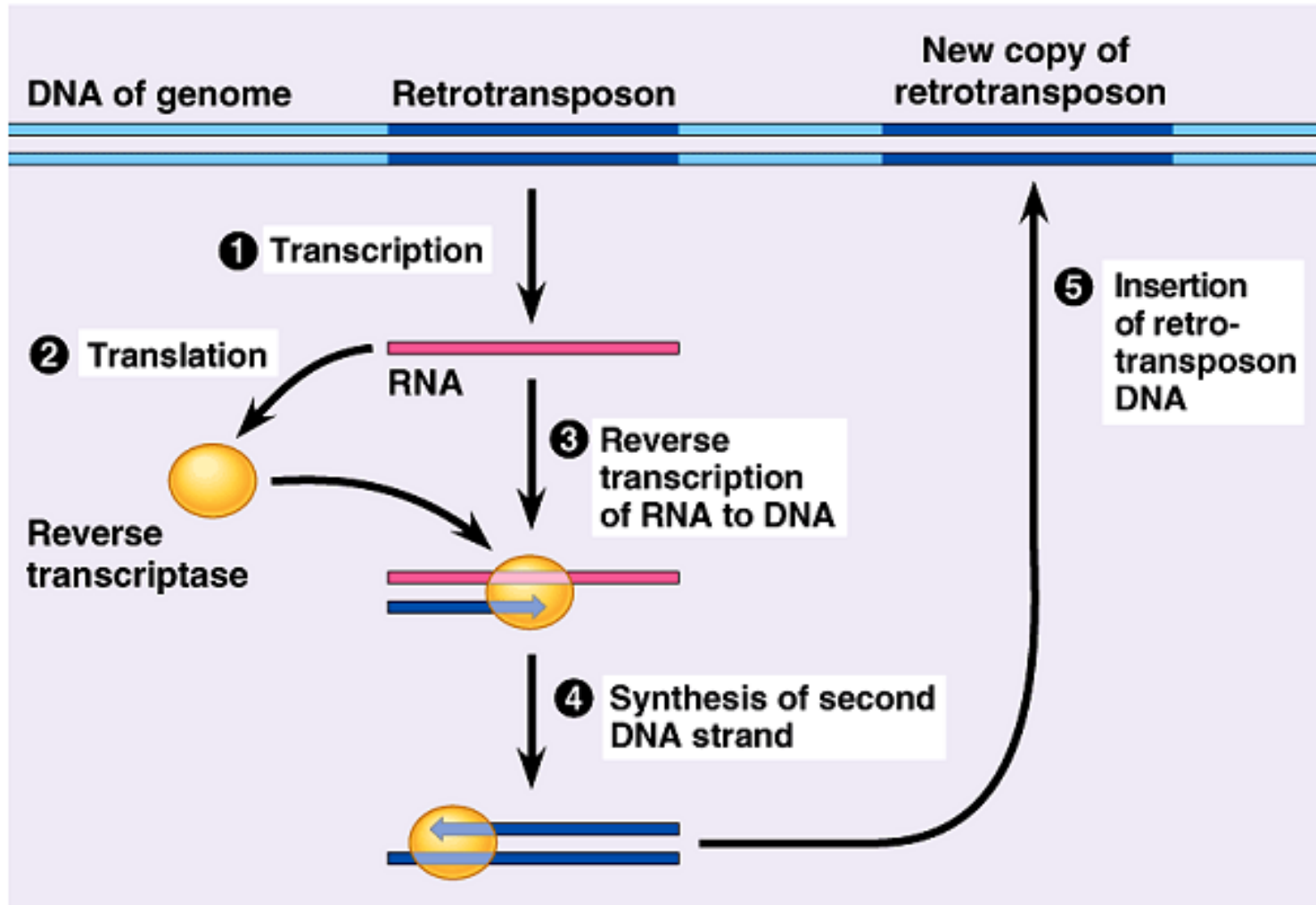
P元件

- ❖ 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。



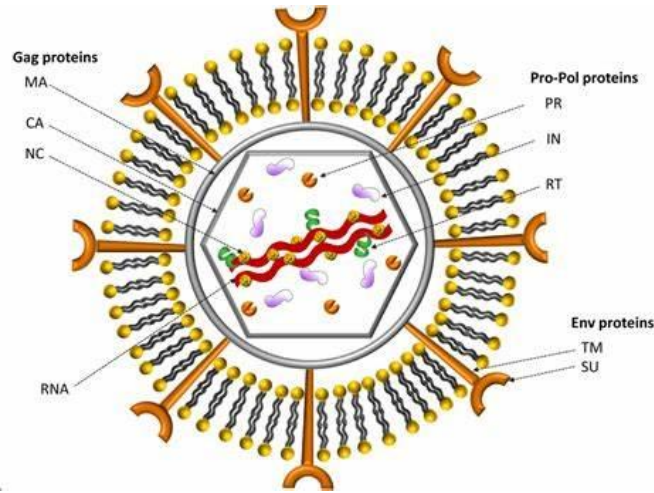


可分为两大类:

- 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



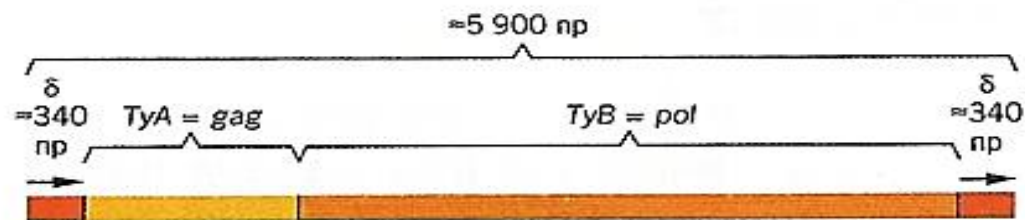
(b) Ty1 in yeast



(c) Copia in *Drosophila*



- **Pol**: 蛋白酶、整合酶和逆转录酶;
- **Gag**: 衣壳蛋白;
- **Env**: 包膜糖蛋白, 宿主识别、侵入和释放;
- **LTR**: 控制转录和基因组整合。5' 端的LTR包含了启动子, 增强子等调控序列, 以及转录起始位点TSS; 3' 端的LTR序列包含了转录终止位点。



(a)

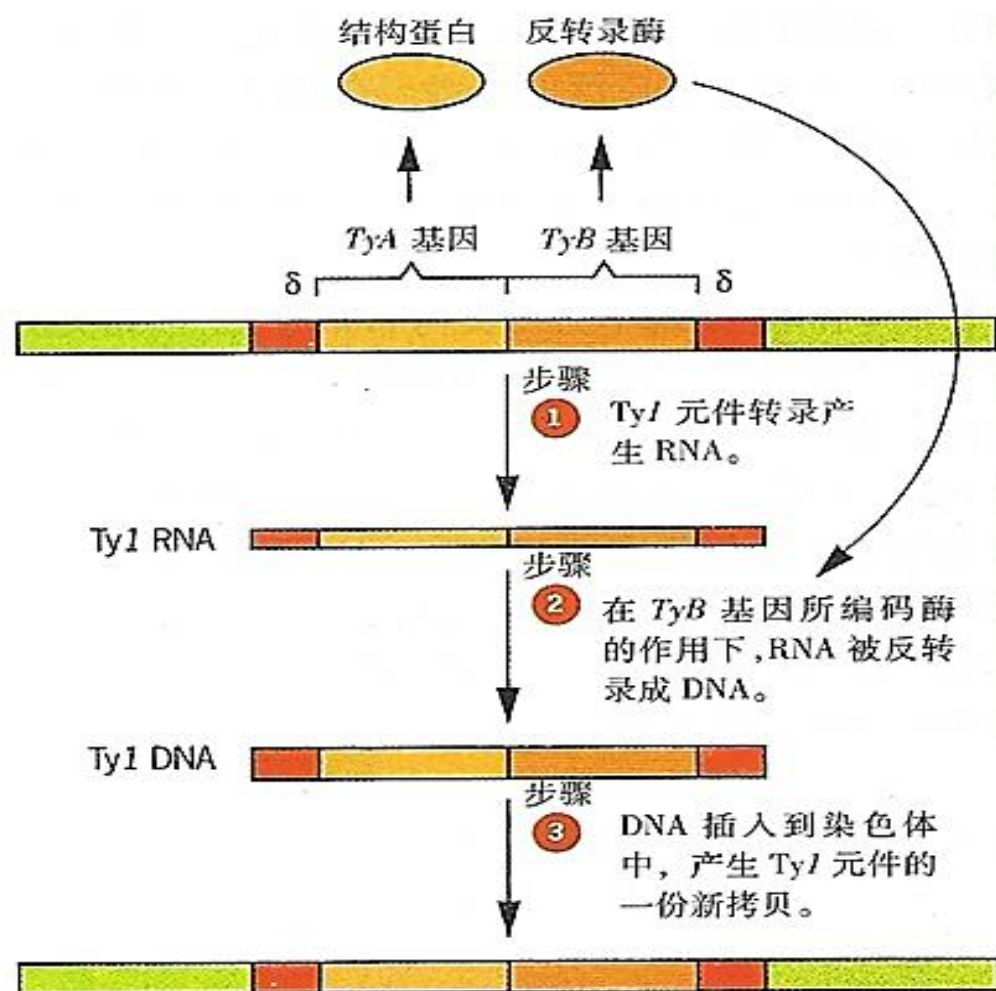


图 18.14 酵母 Ty1 的转座。

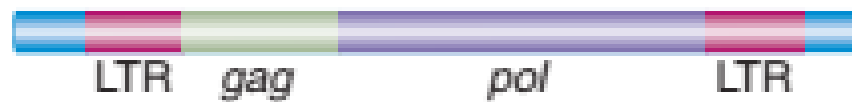
(a) A retrovirus, MoMLV



(b) Ty1 in yeast



(c) Copia in *Drosophila*



(d) L1, a human LINE



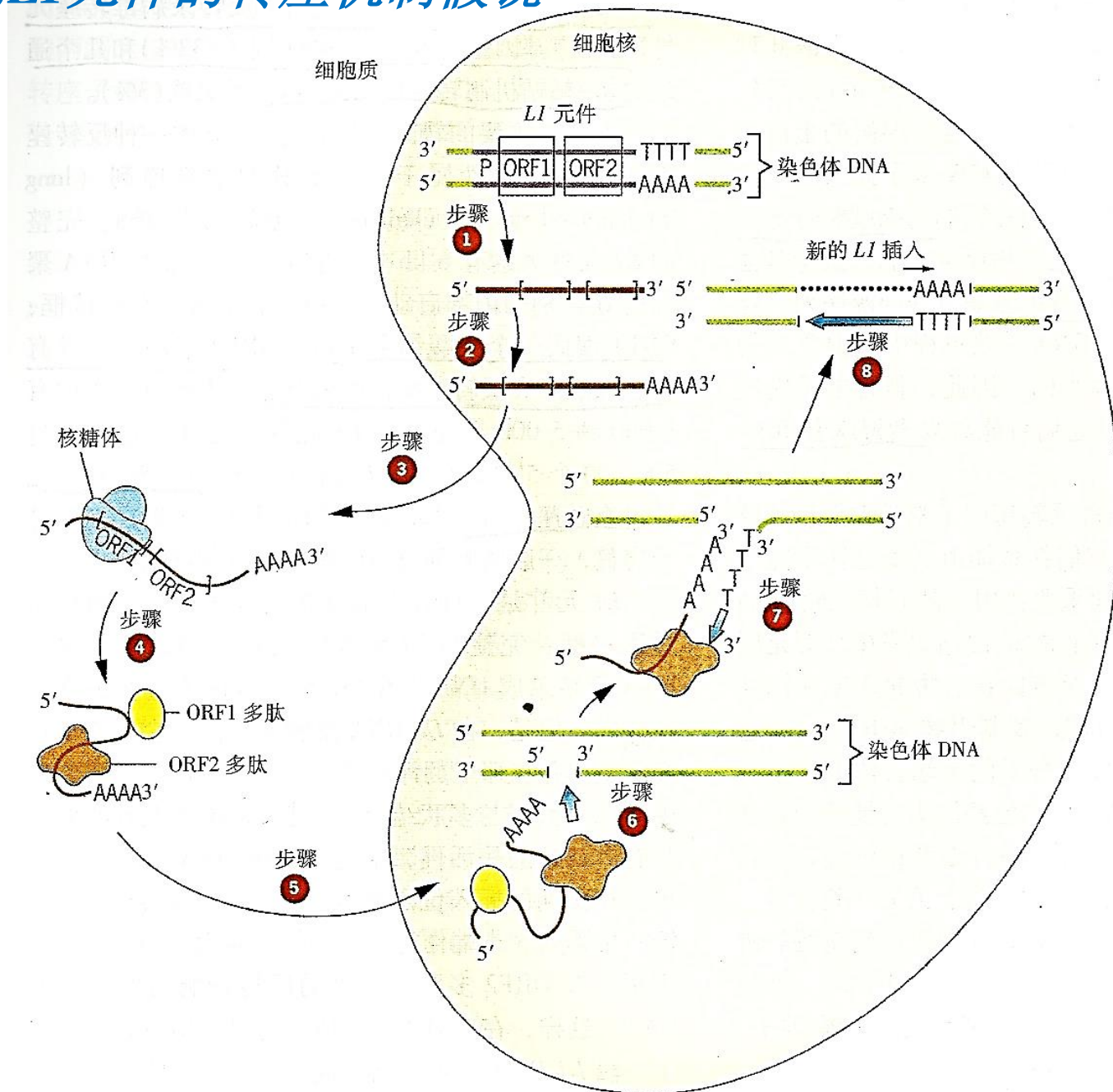
LINEs: 长散在核元件 *long interspersed nuclear elements*, e.g. L1

SINEs: 短散在核元件 *short interspersed nuclear elements*, e.g. Alu₂₂

人类基因组中的L1元件的转座机制假说



L1全长6.1kb



4. 人类中的转座元件

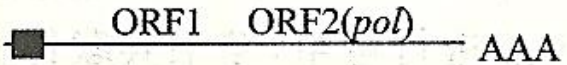
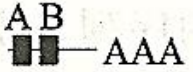
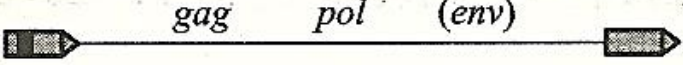
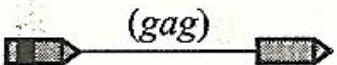
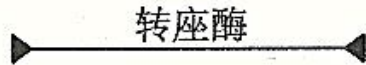

			长度	拷贝数	占基因组比例
LINE	自主转座		6~8 kb	850 000	21%
SINE	非自主转座		100~300 bp	1 500 000	13%
反转录病毒类 转座子序列	自主转座		6~11 kb	450 000	8%
	非自主转座		1.5~3 kb		
DNA 转座 子序列	自主转座		2~3 kb	300 000	3%
	非自主转座		80~3 000 bp		

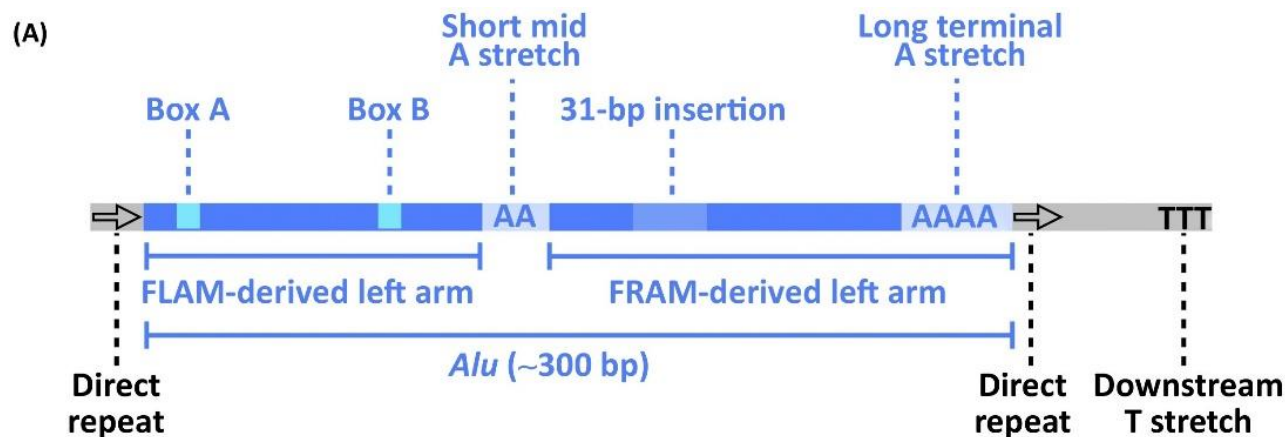
图 11-19 人类基因组中的几种主要转座子



- **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。

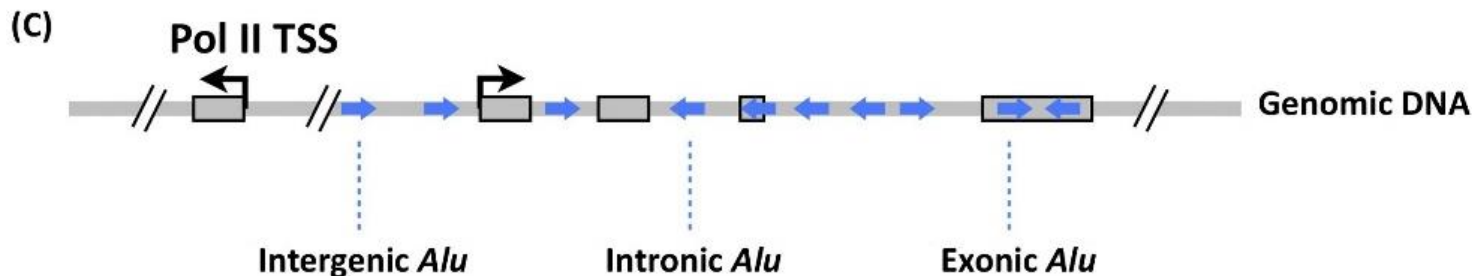
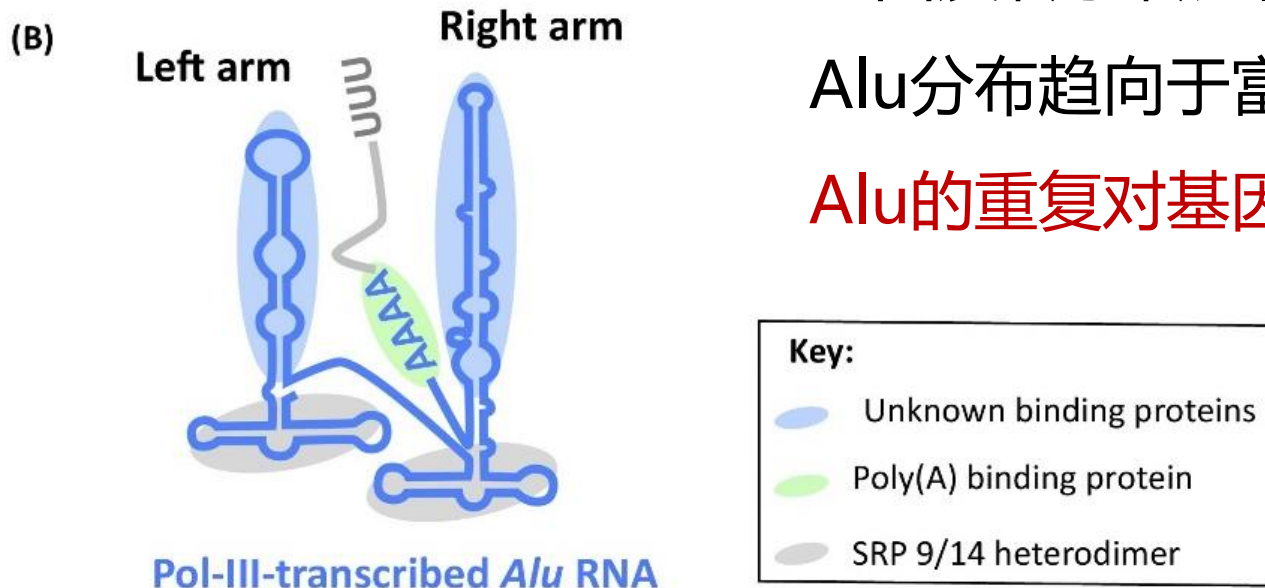


- **SINEs**较短，一般为100-400bp，不编码蛋白质；因此，SINEs的转座依赖于LINE。
- 人类基因组中含有三个SINEs家族，即**Alu**（有转座活性），MIR和Thers/MIR3(无转座活性)。
- Alu：在人类基因组中有 10^6 拷贝。两侧有正向重复序列，内部含有串联重复两次的130bp序列，在第二个重复序列内部有一个31bp序列的插入，因其中含有限制性内切酶Alu位点而得名。





- 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。

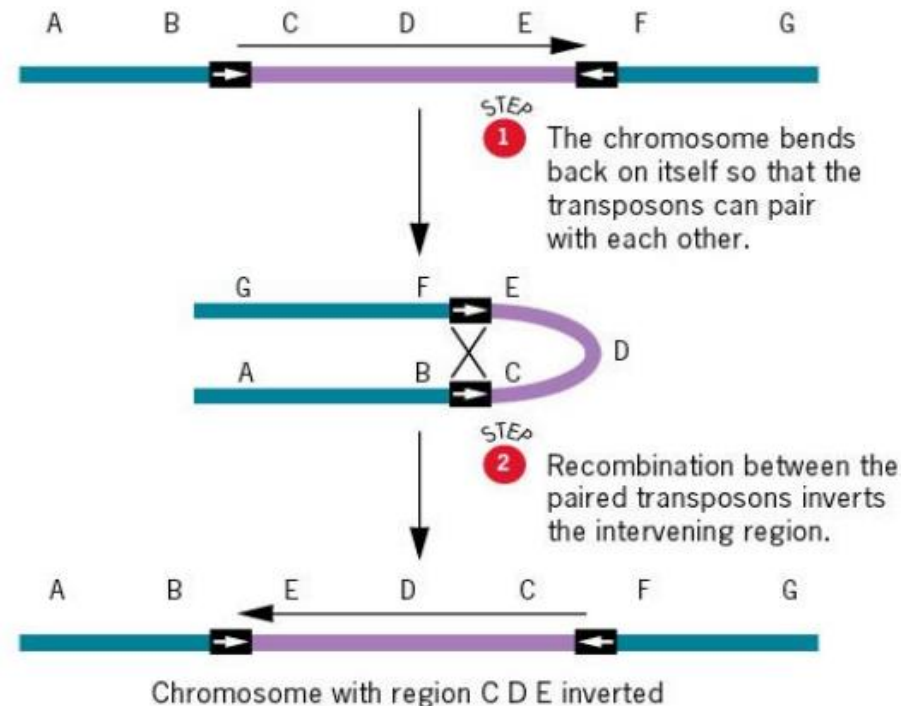
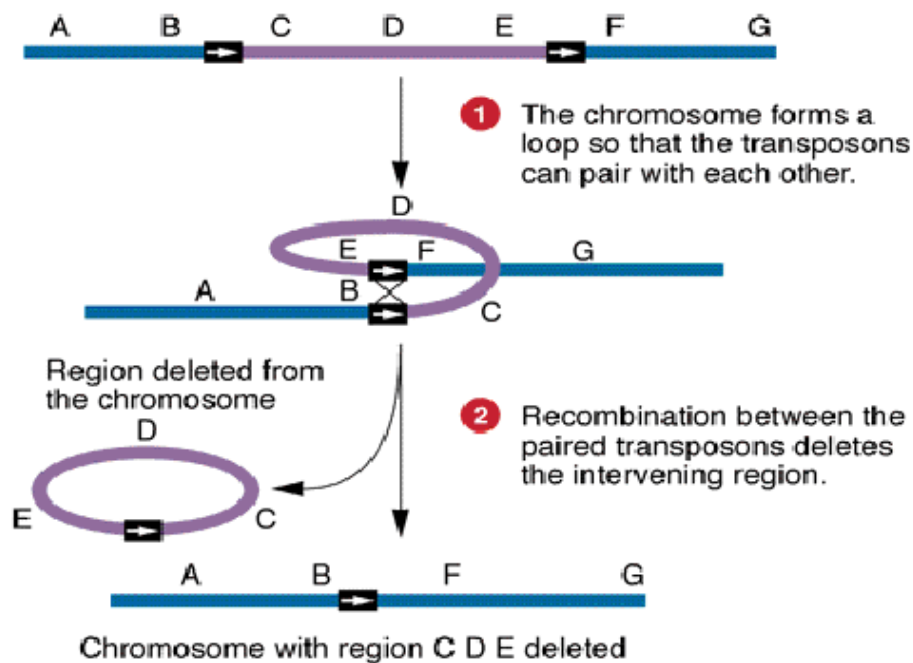


- **LTRs:** 尽管在人类DNA中已发现了100多个不同的类反转录病毒元件家族，但由于内部存在缺陷已失去转座活性。
- **DNA元件:** 人类基因组中含有7个DNA转座子家族（剪切-粘贴机制），但它们在人类基因组中完全丧失了转座活性，被称为DNA转座子化石。

		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

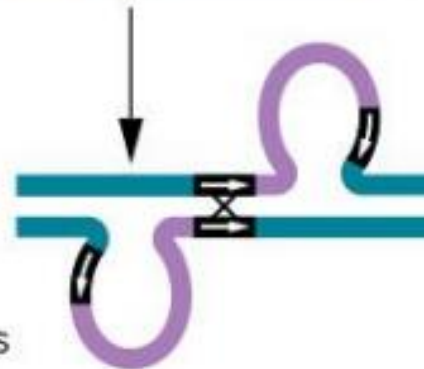
The chromosome replicates to form two sister chromatids.

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



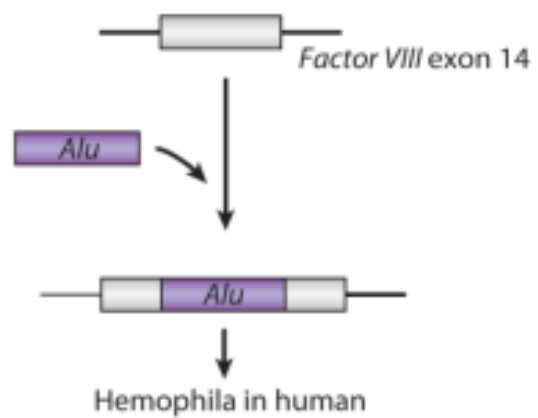
Chromosome with region duplicated



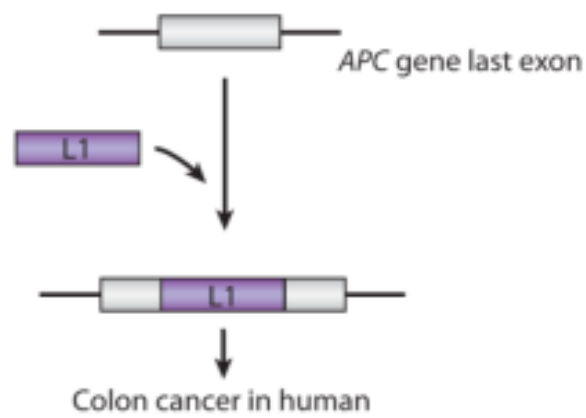
Chromosome with region deleted

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；

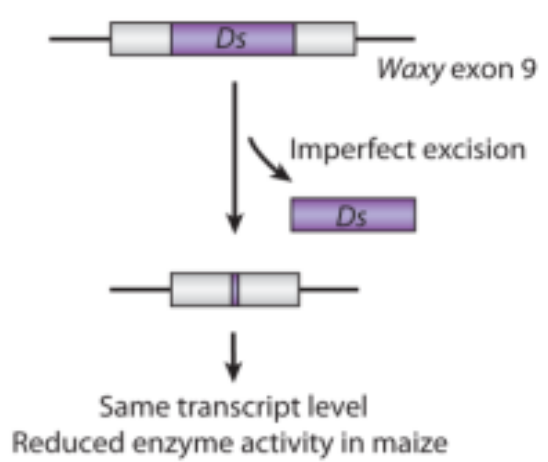
a Exon interruption (germ line)



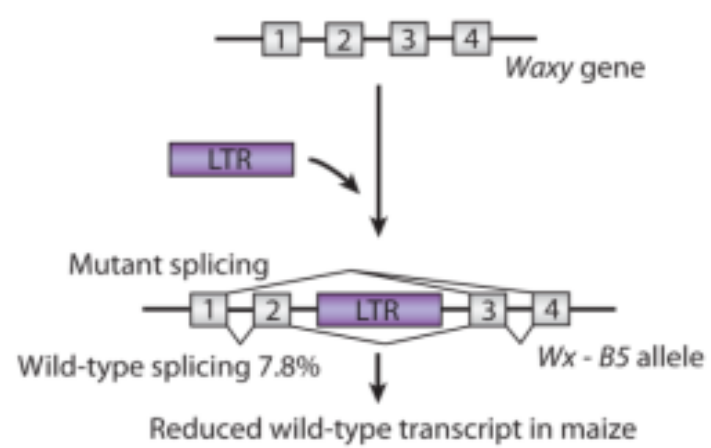
b Exon interruption (somatic)



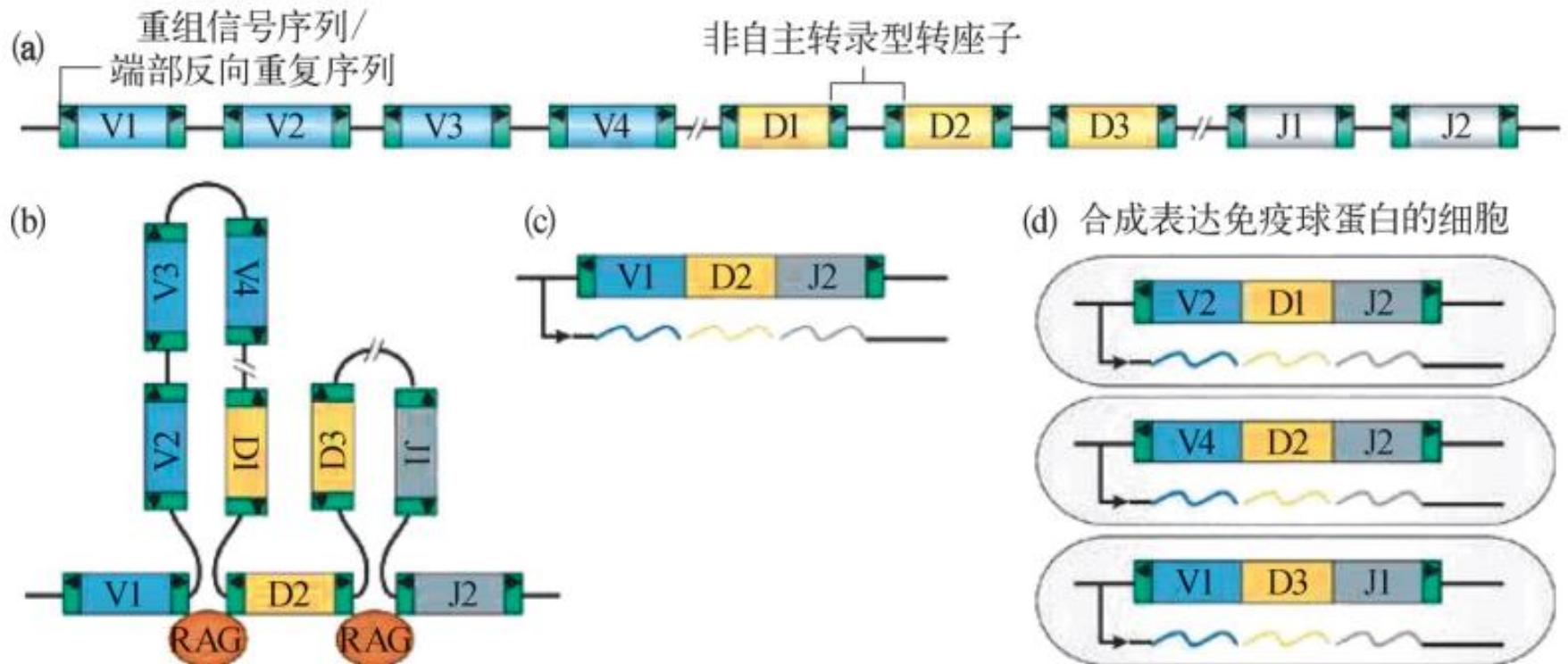
c Imperfect excision resulting in allelic variant



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



五、宿主防御

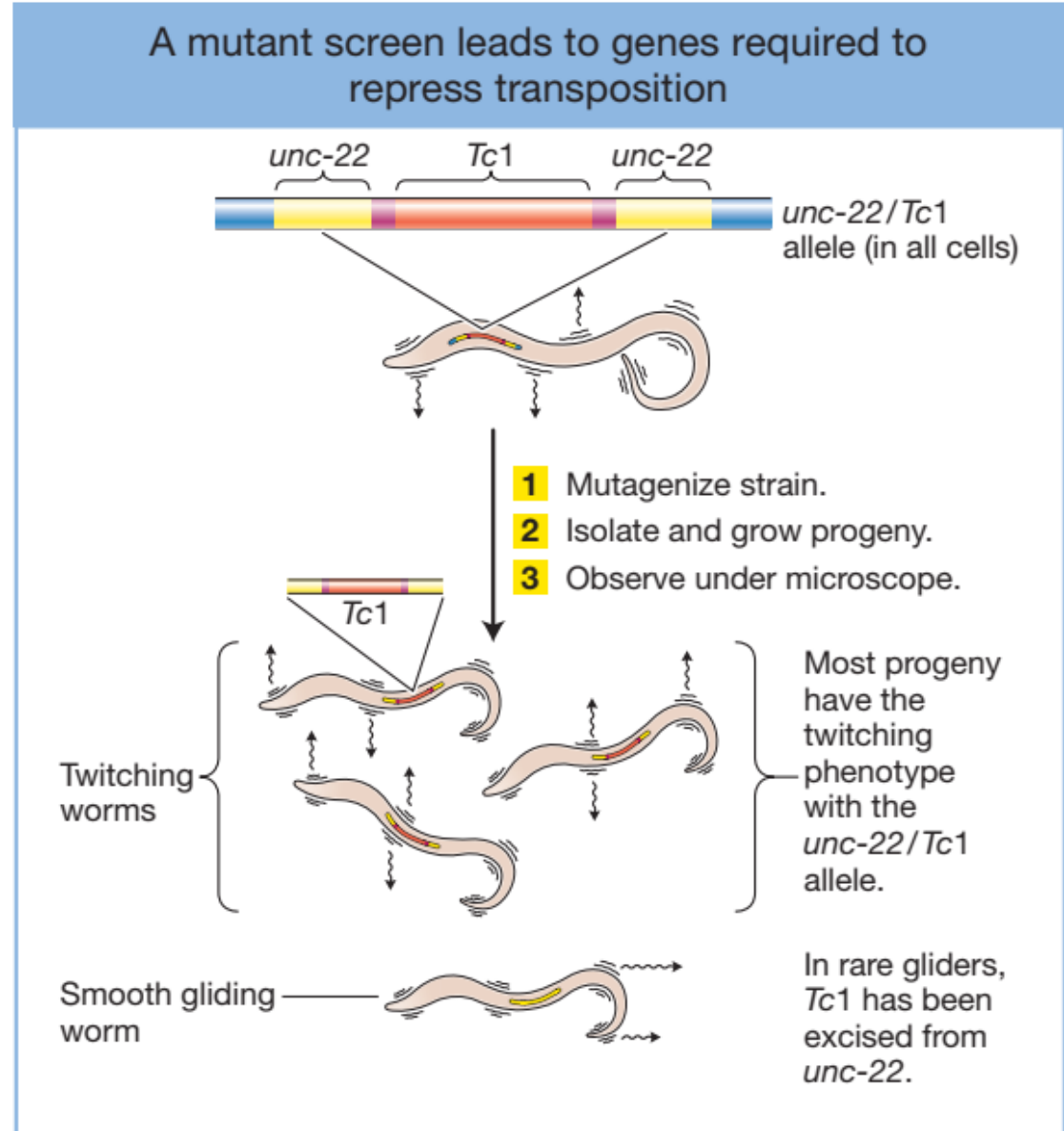


FIGURE 16-26 Experimental design used to identify genes required to repress transposition. Investigators look for mutants that have regained normal movement because mutations in these individuals would have disabled the repression mechanism that prevents the transposition of the *Tc1* element from the *unc-22* gene.

A single *Tc1* element can repress transposition

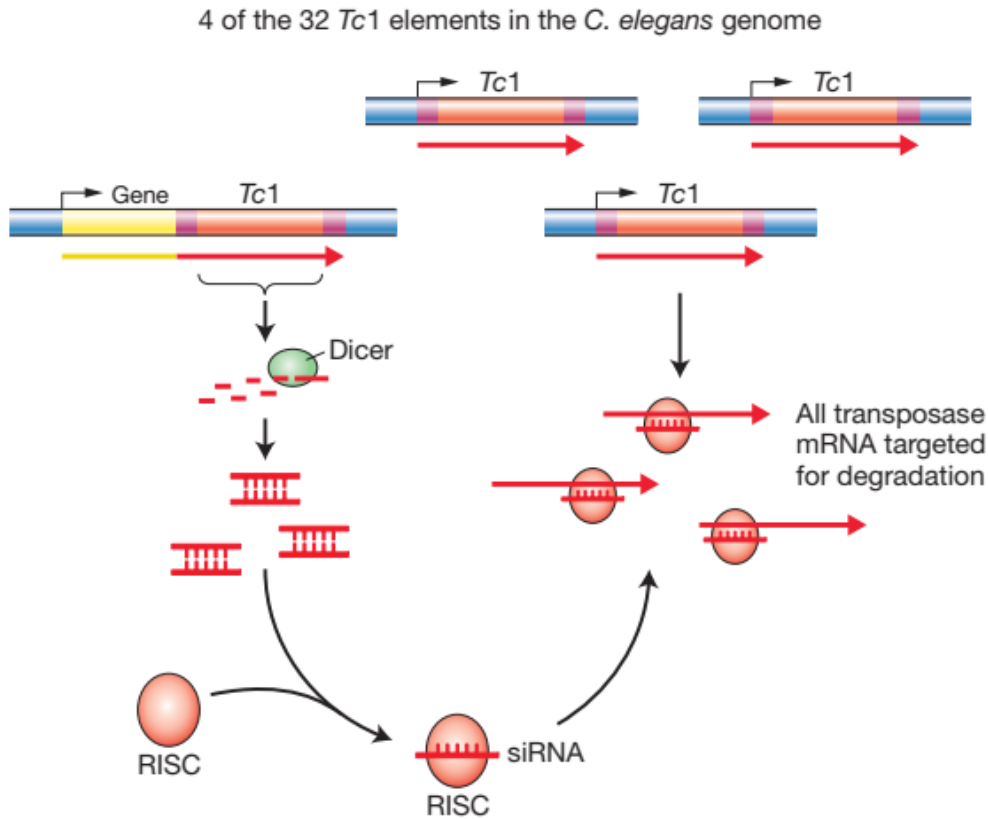


FIGURE 16-27 The production of dsRNA from only a single *Tc1* element is sufficient to silence all of the *Tc1* transposase genes and thereby repress transposition in the germ line. The siRNA derived from *Tc1* dsRNA is bound to RISC and targets all complementary RNA for degradation.



1. RNAi 途径

Eukaryotes use RNAi to repress the expression of active transposable elements in their genomes. In this way, a single element that inserts near a gene can be transcribed to produce dsRNA that will trigger the silencing of all copies of the element in the genome.

Inactivation of TEs following insertion into pi-clusters

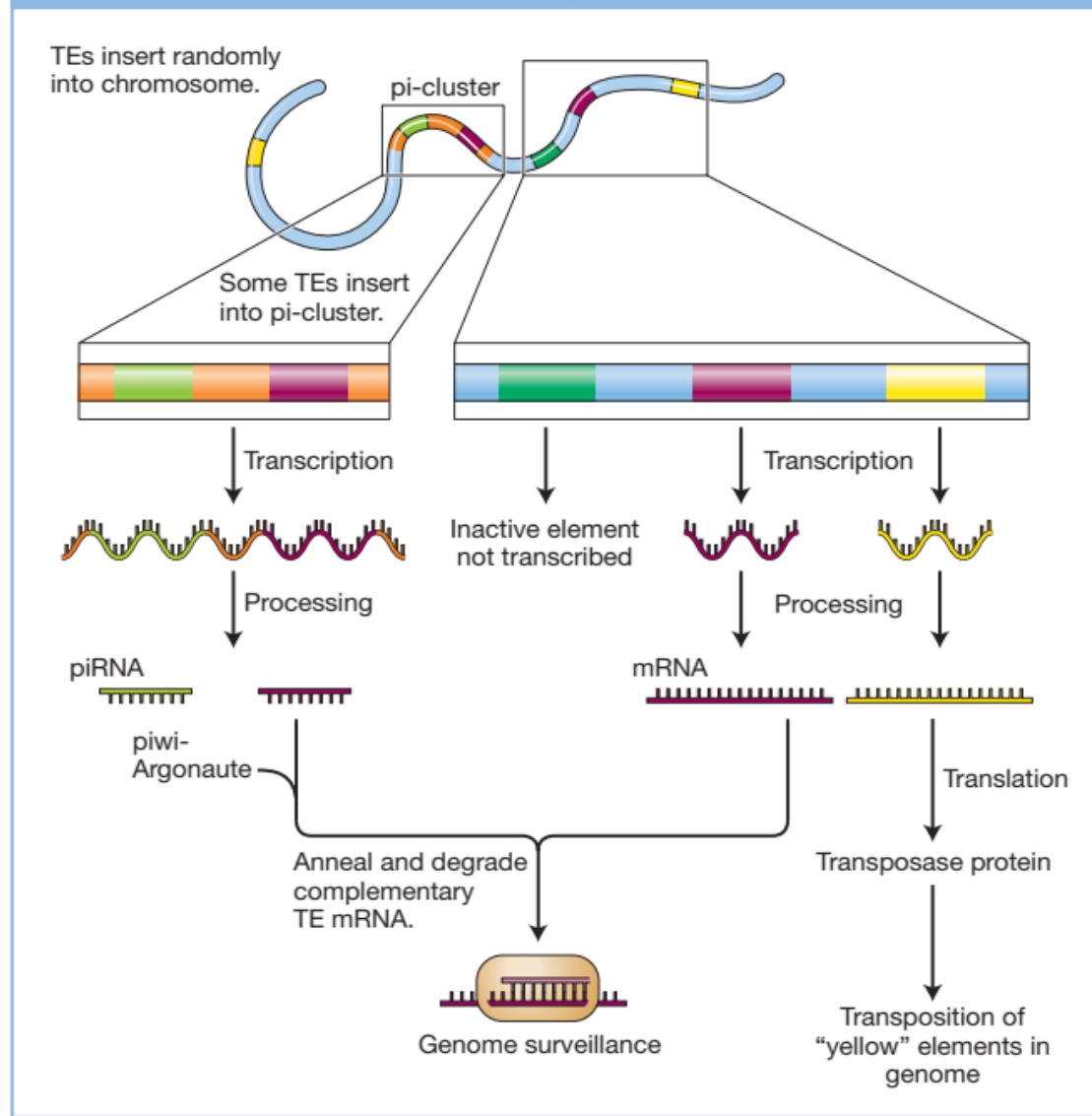


FIGURE 16-28 Insertion of the green and purple transposons into a pi-cluster in the genome results in the degradation of transcripts from these two transposons by the steps shown and described in the text. In contrast, the yellow transposon will remain active until copies insert by chance into a pi-cluster.



2. piRNA 途径

These small noncoding RNAs have their origin in long RNAs transcribed from pi-clusters that capture fragments of invasive DNA



FUTURE ISSUES

1. What is the transposon distribution/activity in genomes that have not yet been sequenced?
2. Why are transposon distributions different across various genomes? What factors regulate transposon activities?
3. How common are somatic transposition events? In what cell types and developmental stages do they occur?
4. What is the full range of functional impacts of transposon insertions? What are their roles in generating phenotypic diversity?