

原核生物中的转座子

陆德如

(中国科学院微生物研究所, 北京)

转座子 (transposon) 研究是当前分子遗传学中活跃的领域之一, 由于发现了转座子, 使人们对遗传物质及其运动的认识, 提高到了新水平, 也为当前分子遗传学和遗传工程的研究提供了一个强有力的工具, 这是一个值得我们注意的领域。

一、什么是转座子

转座子是一种能转座到同一或不同基因组的 DNA 片段。目前已知有三种类型:

1. 插入序列 (IS): 最初由于它的插入极性效应而被发现。其长度约为 800—1400 个碱基对。它广泛存在于细菌染色体和质粒中, 有的抗药性转座子的末端重复序列也是插入序列,

所以可能它在插入过程中起关键作用。

2. 能转座的抗药性因子 (Tn): 它的结构比插入序列复杂, 其中间为与转座无关的抗药性基因, 两端为重复序列, 长度约为 4,500—20,000 个碱基对, 在转座过程中保持完整, 它普遍存在于抗药性质粒中。

3. 细菌噬菌体 λ 和 Mu: 这两种温和噬菌体在溶源化过程中可插入细菌染色体。Mu 在细菌染色体上有大量插入位点; 而 λ 在正常条件下只有一个插入位点, 但当细菌染色体中插入位点缺失时, 可以有若干个插入位点。

以上三类转座子的特性见表 1。还有一些新的转座子不断被发现, 最近报道, 大肠杆菌产热稳定肠毒素基因 (Ent) 和假单胞杆菌的降解

表 1 三种类型转座子的特性

转座子	名 称		所联合的药物抗性*	大小 (以碱基对数目计)	末端重复
	新	旧			
插入序列	IS ₁			800	
	IS ₂			1,350	
	IS ₃			1,400	
	IS ₄			1,400	
能转座的抗药性因子	Tn ₁	TnA	amp	4,800	140 碱基对倒位
	Tn ₂	TnA	amp	4,800	140 碱基对倒位
	Tn ₃	TnA	amp	4,600	140 碱基对倒位
	Tn ₄	TnS	amp, sul, strep,	20,500	140 碱基对倒位
	Tn ₅	TnK(1)	Kan	5,200	1460 碱基对倒位
	Tn ₆	TnK(2)	Kan	4,100	
	Tn ₇		TMP, strep,		
	Tn ₈	TnC	cam	2,500	800 碱基对倒位
	Tn ₁₀	TnT(1), Tc10	tet	9,300	1400 碱基对倒位
噬菌体	Mu-1			38,000	

* amp: 氨苄青霉素; sul: 磺胺; strep: 链霉素; Kan: 卡那霉素;

TMP: 三甲氧苄二氮唑啉; cam: 氯霉素; tet: 四环素。

甲苯和二甲苯基因都是转座子。

二、与转座子有关的遗传学现象

经典遗传学认为基因只有在等位基因间发生重组时才能移动,转座子则不仅能在两个没有任何同源性基因组之间移动,还能引起一系列不正常重组。下面谈谈它们的一些特性。

1. 转座和插入突变^[3]: 由于转座子都能以一定的频率插入一个基因组的不同位点,所以人们常常以分离和分析插入突变体来研究转座过程。现在,在分析了不同转座子的插入特性后了解到,几乎每个基因组都存在着大量的插入位点。例如沙门氏菌的染色体中,就有 631 个 Tn_{10} 的插入位点;在大肠杆菌染色体中则有 Mu 噬菌体的无数个插入位点。插入过程实际上是转座子和插入目标之间的重组过程,但这种重组不依赖细菌的一般重组功能,也不需要二者同源。在插入一个基因组时,有的转座子有一定的优先插入区域,例如 Tn_{10} 插入沙门氏菌组氨酸操纵子时,50% 以上均插入 *his G* 区域,但 Tn_5 及 Mu 噬菌体却无任何优先插入区。当转座子插入一个基因后,该基因的功能受到破坏,其表型和一般突变体相同,如营养缺陷、酶的缺失等,但还能使该基因获得转座子的抗药性基因;当转座子从该基因切离时,基因功能可得到恢复,并伴随丧失抗药性。所以插入和切离都是一个精确的过程。转座子和被插入基因交接点的 DNA 序列分析表明,在交接处新增加了 5 个或 9 个碱基的重复序列^[4],这为了解转座子插入机制提供了重要线索,但详细机制还需进一步研究。

2. 缺失: 许多研究表明,几乎所有的转座子都能促进它们相邻的基因缺失,这过程也独立于细菌的一般重组功能。这种缺失过程一般从转座子一端开始,可一直延伸到相邻的基因,缺失也可从另一端开始,但不能在两端同时引起缺失。不同转座子促进缺失的频率并不相同,但一般都高于转座频率和自发缺失频率,例如 IS_1 在 *gal* 基因中缺失频率可增加 2,000 倍。所以人们认为促进缺失形成也是转座子功能之

一。

除转座、缺失外,转座子还能促进发生倒位、重复等其他不正常重组。现在,由于这些发现和研究的已导致了一个很重要的概念,即转座子的存在和活动可引起一系列不正常重组,并且这种重组不是异常现象,而是一种普遍现象,例如 SV40 病毒能插入到真核细胞的染色体,可能就是通过这种不正常重组来进行的;又如最近发现的一些真核生物的结构基因,其中所包含的信息比相当的信使 RNA 或蛋白质多,有人认为这些多余信息就是转座子,通过不正常重组可把这些转座子切离而活化基因;再如现在发现的抗药性质粒,也可能通过不正常重组及自然选择,使许多存在于不同质粒上的单个抗药性基因集合到一个质粒上。

3. 极性效应: 与转座子有关的另一个特殊现象是它的插入极性效应,即当转座子插入到一个操纵子时,不仅能破坏被插入基因,也能大大降低位于远离启动子一端的基因表达,例如当插入 *Lac* 操纵子的 z 基因时,也大大减弱 α 基因的表达。现已发现,绝大多数转座子都有极性效应,而且正、反方向插入时都有。但是 IS_2 只有一个插入方向时才有极性效应,相反方向时反而有促进转录的作用,所以 IS_2 可能包含有一个启动子^[5]。研究表明,转座子产生的极性效应比无意义突变造成的极性效应强得多。例如 IS_1 和 IS_2 可比无意义突变时降低转录 100—1000 倍之多。但这两种极性效应都能被大肠杆菌的转录终止因子突变体所抑制,所以极性效应可能与转录终止因子有关。

三、转座子在基因分析和遗传工程中的应用

由于转座子具有上述特性,所以它在基因分析和遗传工程研究中是个非常有用的工具。现略举数例加以说明。

1. 基因分析: 当前遗传工程研究中, $ColE_1$ 类质粒是一类重要运载体,但由于它缺少选择性标记和多拷贝,所以用化学方法诱变很难得到它的突变体,即使能得到,也很难分析和进行遗传定位。应用转座子作为诱变剂,正好可克

服这些困难,因为它们具有选择性的抗药性标记,很容易进行遗传定位,如果把它和限制性内切酶图谱、异源双链电镜观察等方法相结合,就能绘出它的功能图。现在应用这种方法已绘出了 ColE₁ 质粒的遗传功能图^[6]。

固氮基因的分析是另一个例子^[7]。用一般方法得到它的突变体,工作量很大,但利用 Mu 噬菌体,可以较容易得到它的缺失突变体,而且用缺失突变体定位基因,比三点杂交法更加有效和正确。最近,用由 Mu 噬菌体诱导的缺失突变体进行互补试验,发现固氮基因不是 7 个而是由 15 个基因所组成。所以用转座子得到的突变体来分析基因,比常规方法更精细和迅速。

2. 分离基因^[8]: 在遗传工程研究中,分离一个非选择性性状的基因是十分麻烦的工作。但是借助转座子,就可变得十分简单。例如,细菌中一系列核酸酶,在理论上或应用上都很重要,如能把为它们编码的基因分离出来作成无性繁殖系,将有很大用处,但它们都没有选择性标记,用生化方法分离十分困难。而要用乌枪法从体外 DNA 重组而得的大量无性繁殖系中筛选带有这些基因的,工作量也很大。但如果在这些基因旁边插入一个抗药性转座子,那么这种基因的无性繁殖系就可很容易在含抗菌素的营养琼脂上从大量细胞中挑选出来。

3. 遗传工程中 DNA 运载体的建成

一个自然界的质粒必须经过人工改造才能成为有用的 DNA 运载体,而利用转座子使一个质粒具有抗药性,是一种较简单的改造方法。它不需复杂的体外 DNA 重组技术,只要用一般微生物学方法,就能把一个抗药性基因转位到另一个质粒上去。例如现在利用的 PBR 322 质粒,它的前身 RSF 2124^[8] 就是把一个抗药性质粒上的转座子 Amp 抗性基因,通过转座的方法转移到了 ColE₁ 质粒上,使这个质粒既能产生许多拷贝,又有选择性标记,成了较理想的运载工具。

由此可见,转座子作为一种工具,在分子遗传学和遗传工程研究中有它的独特用处。而且几乎在这个领域的各个方面,都可找到它的用处。所以有人说,当前每个分子遗传学家必须认真考虑一下转座子在自己工作中的用处。

四、转座子存在的普遍性

在其它生物中是否也有类似转座现象呢? 现有许多证据表明,似乎许多其它生物中也存在转座子。例如玉米中的控制因子^[9],就能从一个遗传位点转移到另一个位点,并且,当它插入一个基因内,或靠近另一个基因时,能抑制这些基因的活性;在果蝇中也有类似的现象^[10],这就是“跳跃”基因。例如在 X 染色体上的“白色”基因能转座到许多不同位点上去,并且最近已有人分离到这个基因的无性繁殖系,这给真核生物转座子研究提供了十分有用的材料。当然真核生物中的这种现象是否与原核生物中的转座子表现完全相同,尚有待进一步研究。

可以肯定,原核和真核生物中转座子及其引起的不正常遗传重组的研究,将大大促进一些重大生物学问题的解决,例如进化过程、肿瘤形成、真核细胞的基因调节等。也必然导致人们对遗传物质认识上的新突破。

参 考 文 献

- [1] Kleckner, N.: *Cell*, **11**:11, 1977.
- [2] Saunders, J. R.: *Nature*, **274**:211, 1978.
- [3] Kleckner, N.: *J. Mol. Biol.*, **115**:125, 1977.
- [4] Sherratt, D.: *Nature*, **274**:213, 1978.
- [5] Nevers, P. and H. Saedler: *Nature*, **268**:109, 1977.
- [6] Dougan, G. et al.: *Molec. Gen. Genet.*, **158**:325, 1978.
- [7] MacNeil, T. et al.: *J. Bact.*, **136**:253, 1978.
- [8] So, M., R. Gill and S. Falkow: *Molec. Gen. Genet.*, **142**:239, 1975.
- [9] Bukhari, A. I., J. A. Shapiro and S. Adhya: *DNA Insertion Elements, Plasmids and Episomes*, Cold Spring Harbor, New York, p. 425, 1977.
- [10] Gehring, W. J.: *Nature*, **275**:364, 1978.