



第12章 遗传重组



本章教学提纲

CONTENTES

目 录

1 遗传重组的类型

2 同源重组

2.1 基因转变

2.2 同源重组和基因转变的分子基础

3 位点专一性重组

4 异常重组-转座遗传因子

4.1 Ac-Ds系统

4.2 原核生物中的转座因子

4.3 果蝇中的转座子

4.4 人类中的转座子

4.5 转座的遗传学效应

4.6 转座的表观遗传调控

4.7 转座子的利用

5 遗传重组的应用-基因工程

ONE

遗传重组的类型



遗传重组的类型

P 遗传重组

genetic

recombination

也称基因重组

不同DNA链的断裂和连接而产生DNA片段的交换和重新组合，从而形成新的DNA分子的过程。

P 作用

保证了遗传多样性，为选择奠定了物质基础，是生物得以进化发展的原因，与突变一起是变异的来源。



遗传重组的类型

遗传重组主要类型

(依据对DNA序列和所需蛋白质因子的要求)



同源重组



位点专一性重组



异常重组

共同点

均为双链DNA间的物质交换，但发生的情况不同。



一、同源重组 / 普遍性重组

A 同源重组

指发生在同源DNA序列之间的重组。

B 发生条件

它的发生依赖大范围的DNA **同源序列的联会**，重组过程中，两个染色体或DNA分子 **交换对等的部分**。

C 举例

同源染色体非姐妹单体交换；细菌的转化、转导、接合；噬菌体的重组等。



一、同源重组 / 普遍性重组

需要重组的
蛋白质参与;
(例如.大肠杆
菌: RecA蛋
白、 RecBC
蛋白)

蛋白质因子
对DNA碱基
序列的**特异
性要求不高**;
(存在重组热
点和序列长
度的影响)

真核生物染
色质的状态
(如异染色质)
影响重组的
频率。



一、同源重组 / 普遍性重组

2个DNA分子序列**同源**,
且同源区域
越长越有利。

条件

功能

- A: 维持种群的**遗传多样性**;
- B: 有助于DNA的**损伤修复**。





二、位点专一性重组 / 保守性重组



原核生物中最为典型
特点

供体与受体的**特定定位点的短同源序列**之间。

DNA精确切割 \longrightarrow 连接

DNA不失去、不合成、**不交换对等部分** (有时是一个DNA分子整合到另一个DNA分子中, 又称**整合式重组**), 需要位点专一性的**蛋白质因子参与**。





二、位点专一性重组 / 保守性重组

 例如

λ 噬菌体DNA通过其**attP位点**和**大肠杆菌DNA**的**attB位点**之间专一性重组而实现整合过程。

 条件

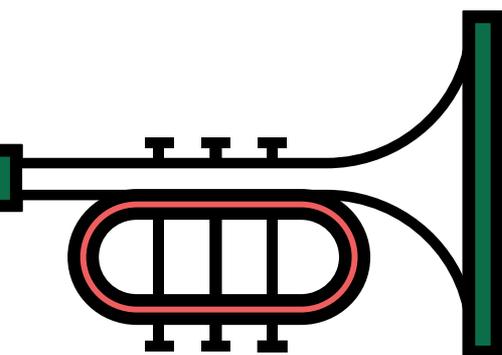
一段15bp的同源序列和**位点专一性的蛋白质因子**(不能催化其他任何两条不论是同源的还是非同源序列间的重组, 从而保证了 λ 噬菌体整合方式的专一性和高度保守性, 因此又称保守性重组), 而且这一重组**不需要RecA 蛋白质**的参与。



三、异常重组

完全不依赖于序列间的同源性而使一段DNA序列插入另一段中，但在形成重组分子时往往依赖DNA复制而完成重组过程，因此又称**复制性重组**。

如：**转座子**从染色体的一个区段转移到另一个区段或从一条染色体转移到另一条染色体



TWO

同源重组

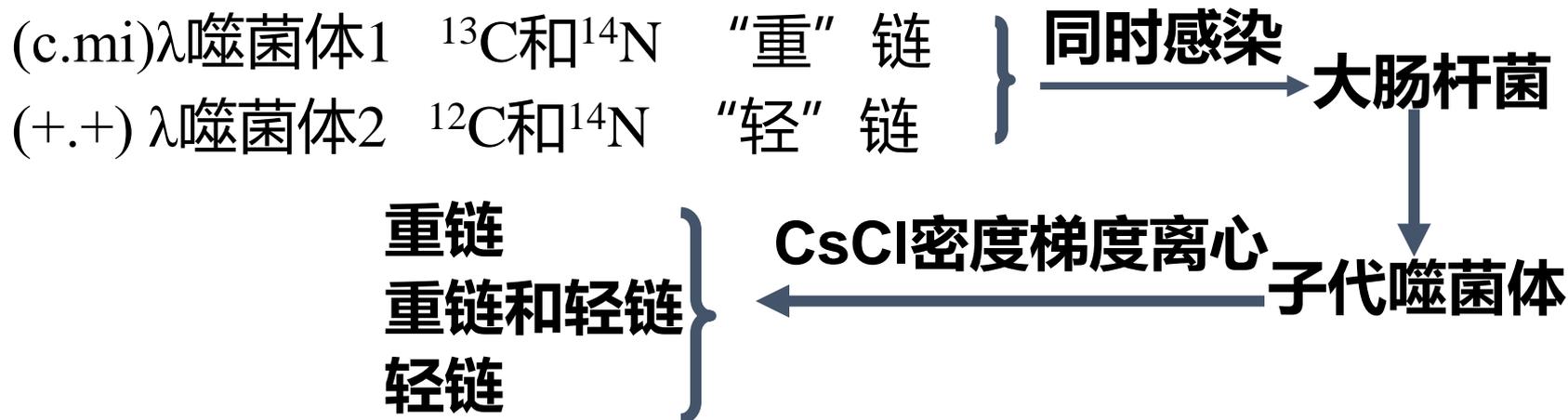


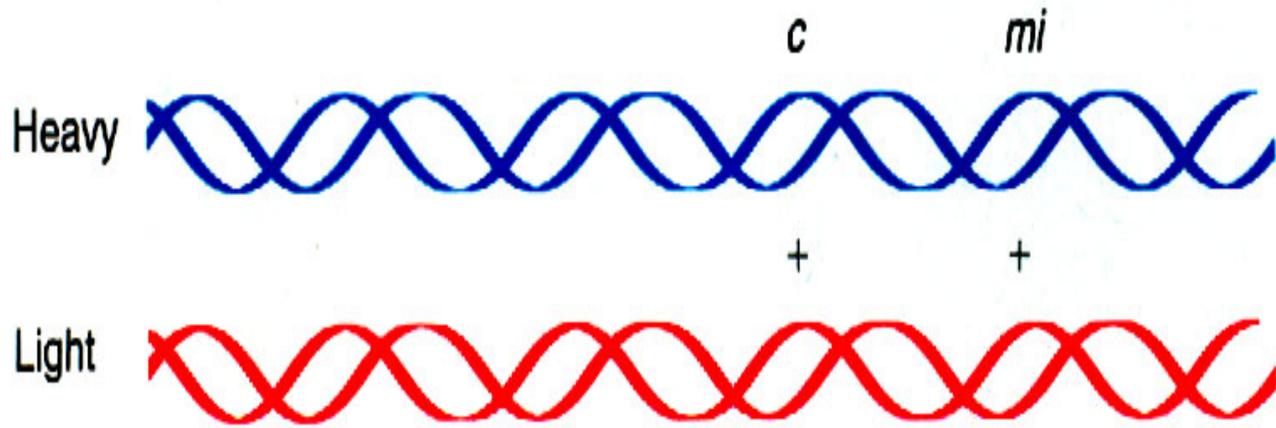
同源重组

一、重组双方DNA分子的断裂与重接

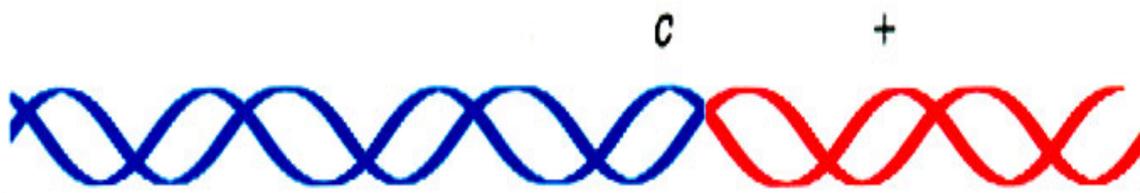
1. 证据:

1961, M.Meselson and J.J.Wergle两个双标记 λ 噬菌体感染大肠杆菌。

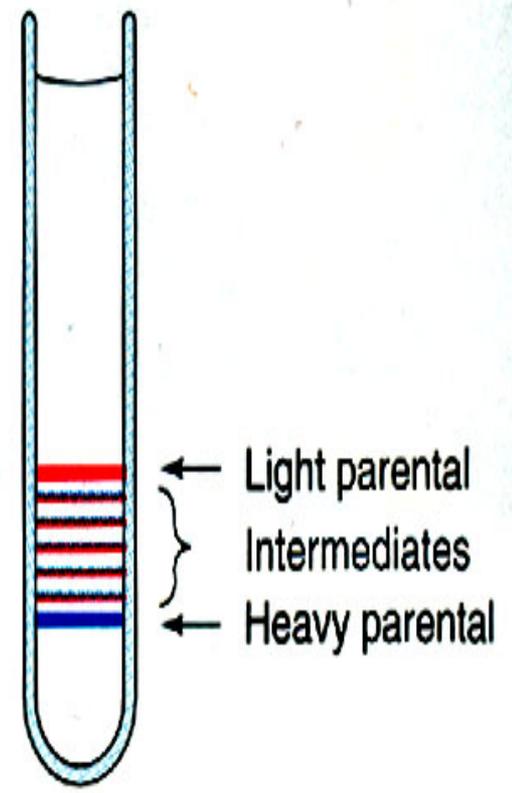




(a)



(c)



(b)



基因转变

基因转变(gene conversion)

一个基因转变为它的等位基因的遗传学现象。
(源于基因内重组)它属于一种异常分离。

M.B.Mitchell
在粗糙脉孢
霉的杂交试
验中发现。

pdxp(缺陷型1)
酸度敏感的VB6(吡哆醇)需要型

pdx (缺陷型2)
酸度不敏感的VB6需要型

Mitchell: $+ pdxp \times pdx +$



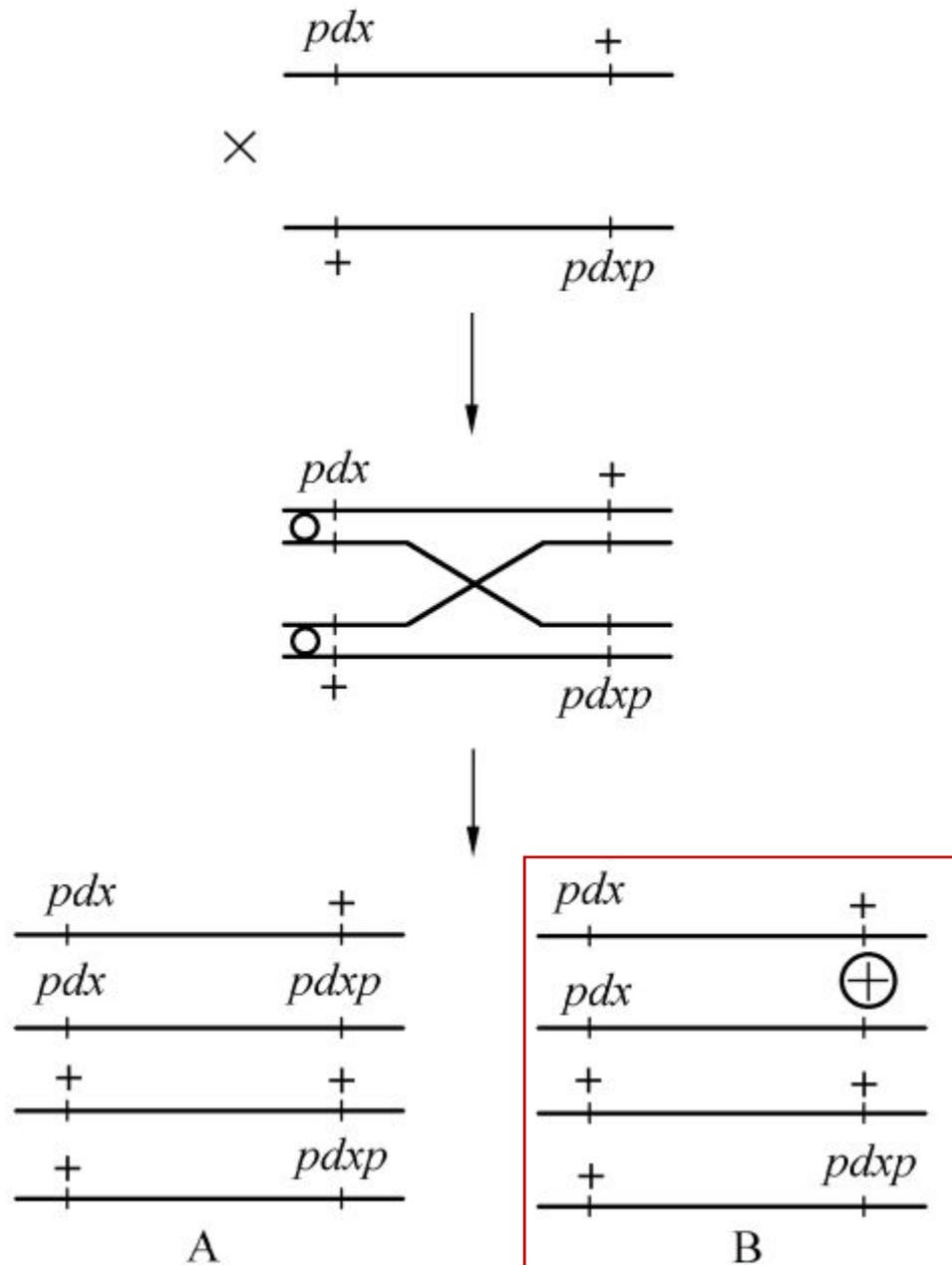
孢子对	子囊			
	1	2	3	4
1	$+ pdxp$	$pdx +$	$++$	$pdx +$
2	$++$	$pdx +$	$+ pdxp$	$+ pdxp$
3	$+ pdxp$	$++$	$pdx +$	$++$
4	$pdx +$	$+ pdxp$	$pdx +$	$pdx +$



上图的分析



Mitchell发现在后代的四个子囊中，出现了野生型的孢子对 (+ +)，这两个位点间好像有了重组，但跟预期不同，重组后应该同时出现双突变型的孢子对 (pdx pdxp) (如同下图中的A) 却没有发现，然而实际情况是出现了下图中B中的情况，好像是由于一个基因转变成了它的等位基因，所以将这种情况称为基因转变。



脉胞菌的基因转变



上图的分析



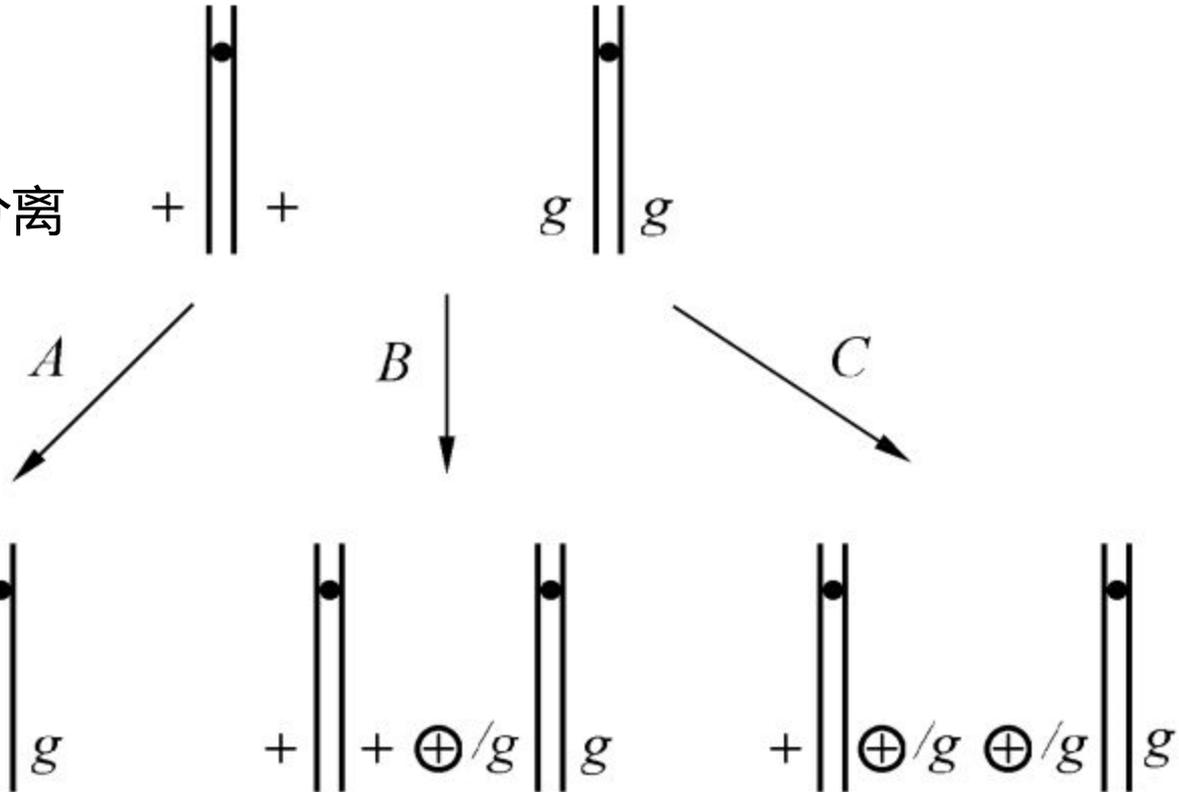
基因转变往往伴有转换区外基因的重组，但区外基因的重组是正常的交互方式，所以虽然pdxp位点出现异常分离，而邻接的pdx位点仍显示正常的2:2分离。

粪生菌壳菌的基因转变

E.Olive在研究g座位时发现

正常: 4+ : 4g

但有极少数是异常分离



+++++gg
6:2(或2:6)

+++++ggg
5:3(或3:5)

+++g+ggg
异常4 4
(或3:1:1:3)



粪生粪壳菌的基因转换特点

虽然 $g/+$ 这对等位基因表现不寻常的分离，但是邻近的基因 A/a 都呈现正常的分离(见下图)。

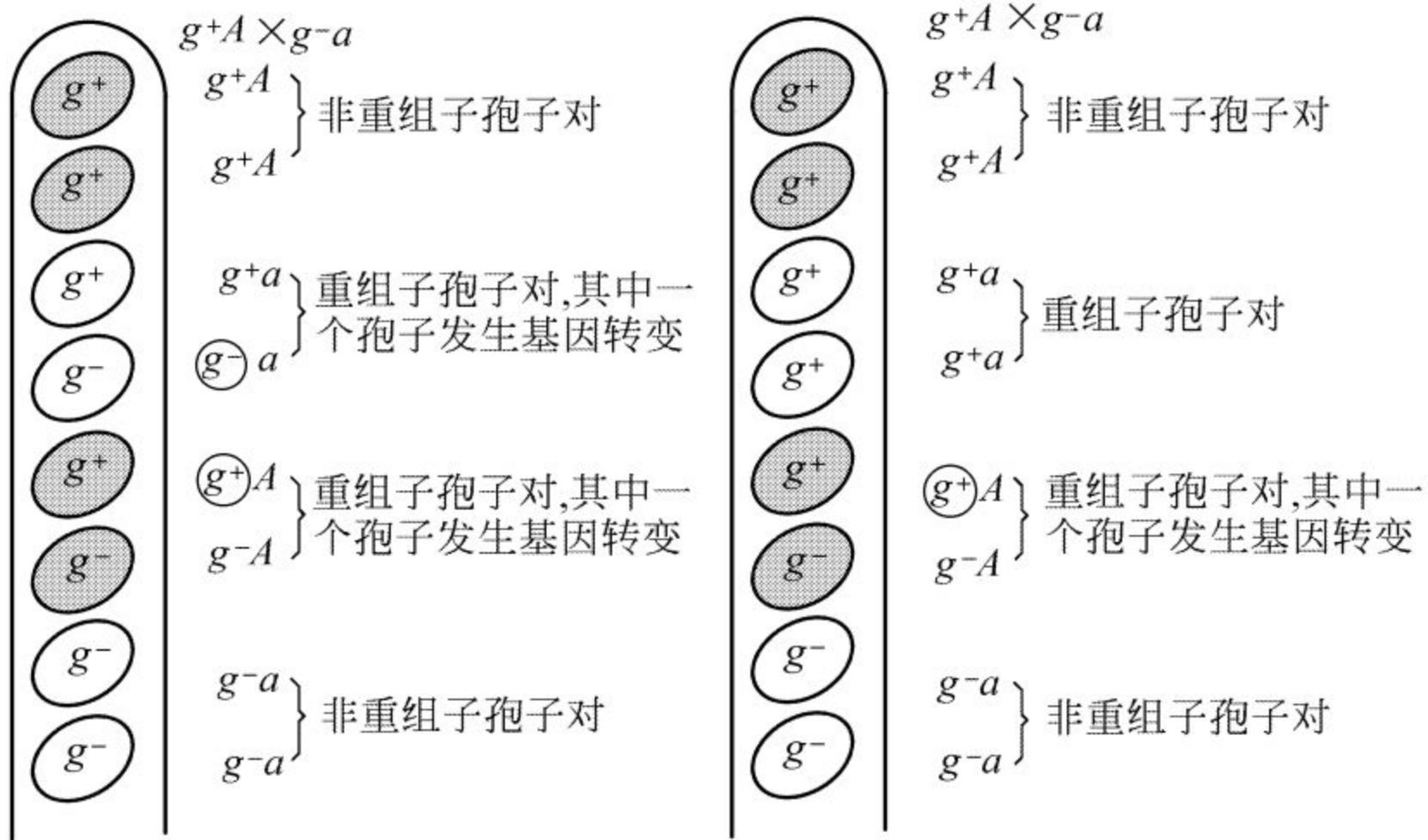
特点

在有基因转变的子囊中，基因转变和遗传重组都发生在同样两个单体的子囊比例竟高达90%；即遗传重组和基因转变是有关的。这也是基因转变与基因突变的不同之处。



在基因转变产生异常4:4和5:3分离的粪生粪壳菌中，与g基因邻近的

*A/a*基因(*A*和*a*分别用灰底和白底表示)呈2:2分离



3*g*⁺:1*g*⁻:1*g*⁺:3*g*⁻

5*g*⁺:3*g*⁻



基因转变

(二) 基因转变的类型

1

染色单体转变: 2: 6或6: 2分离比

减数分裂4个产物中, 只有一个出现基因转变。

2

半染色单体转变: 5: 3; 3: 1: 1: 3

减数分裂4个产物中, 1个或2个的各一半出现基因转变。

等位基因的分离发生在减数分裂后的有丝分裂中。



同源重组和基因转变的分子基础

几个概念

重组核心：两个DNA分子的连接。

分支迁移：DNA双链体中部分配对的DNA链，通过顶替它的同源链而扩展其配对的过程(重组接点沿双链移动的过程)。

交互重组：一条亲本双螺旋分子和另外一条亲本双螺旋分子共价连接，中间有一段异源双链区，这种重组称为交互重组。



同源重组的Holliday模型

Robin Holliday于1964年提出了重组的杂合DNA模型 (Holliday) 模型。

该模型对重组过程的解释如下：

- ▼ A、同源的非姐妹染色单体**联会**；
- ▼ B、同源非姐妹染色单体DNA中两个方向相同的单链，在DNA内切酶的作用下，**在相同位置同时切开**；
- ▼ C、切开的单链**交换重接**；
- ▼ D、形成**交联桥结构**；



同源重组的Holliday模型

E、交联桥沿配对DNA分子“移动”。两个亲本DNA分子间**造成一大段异源双链DNA** (Holliday结构);

F、异源双链DNA分子的**间距变大**，但仍然保持Holliday结构。

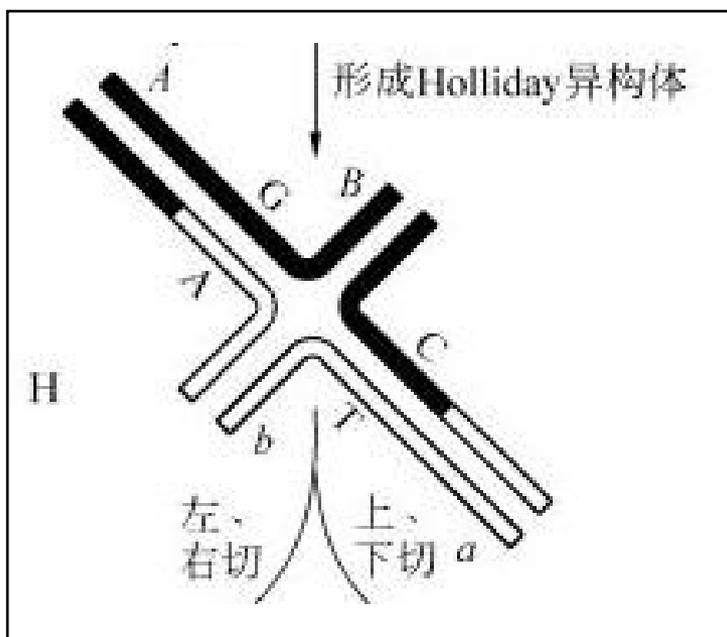
G、绕交联桥**旋转180°**;

H、形成**Holliday异构体**;

I、通过两种方式之一**切断DNA单链**，若**左右切**，则形成非重组体，若**上下切**则形成重组体。



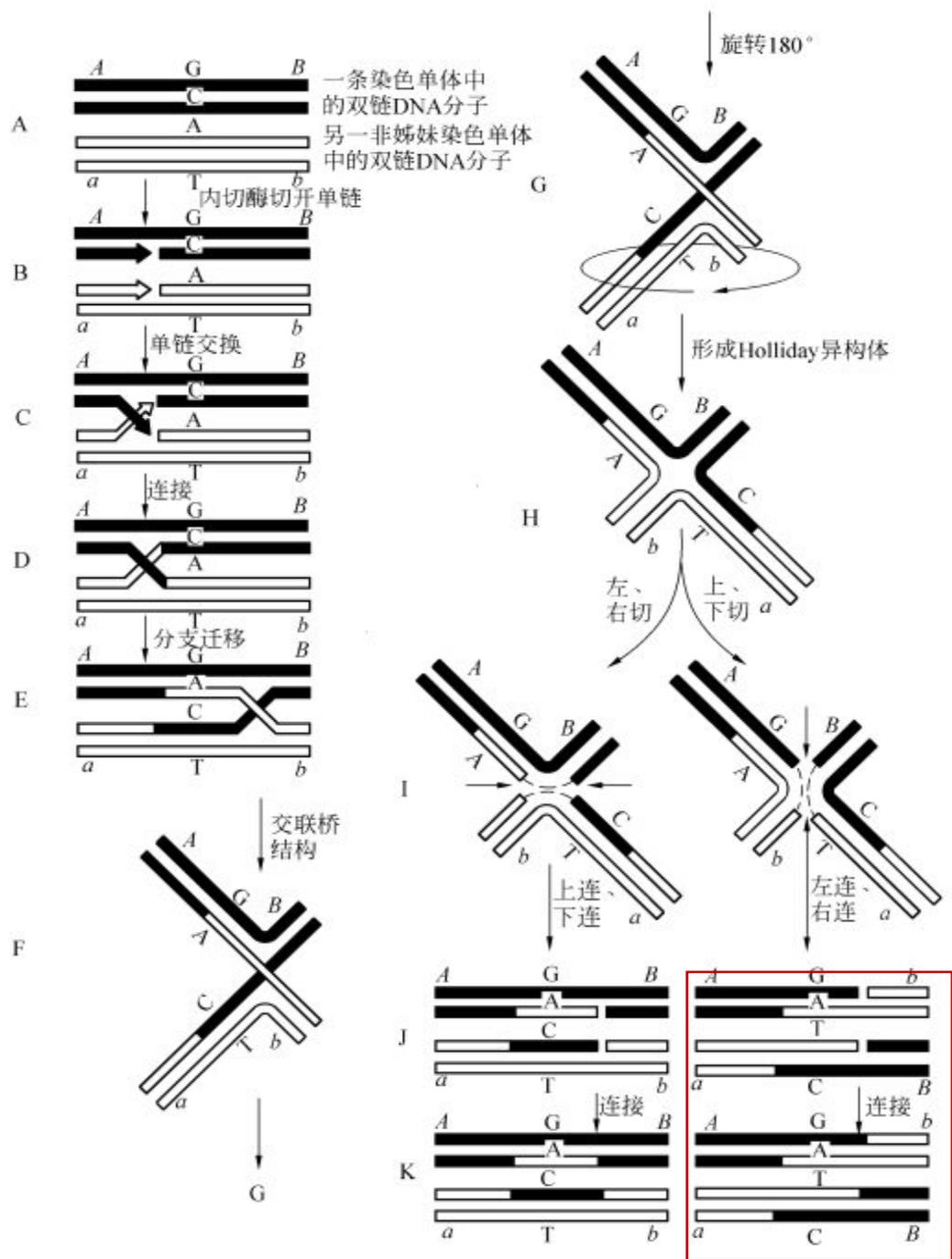
同源重组的Holliday模型



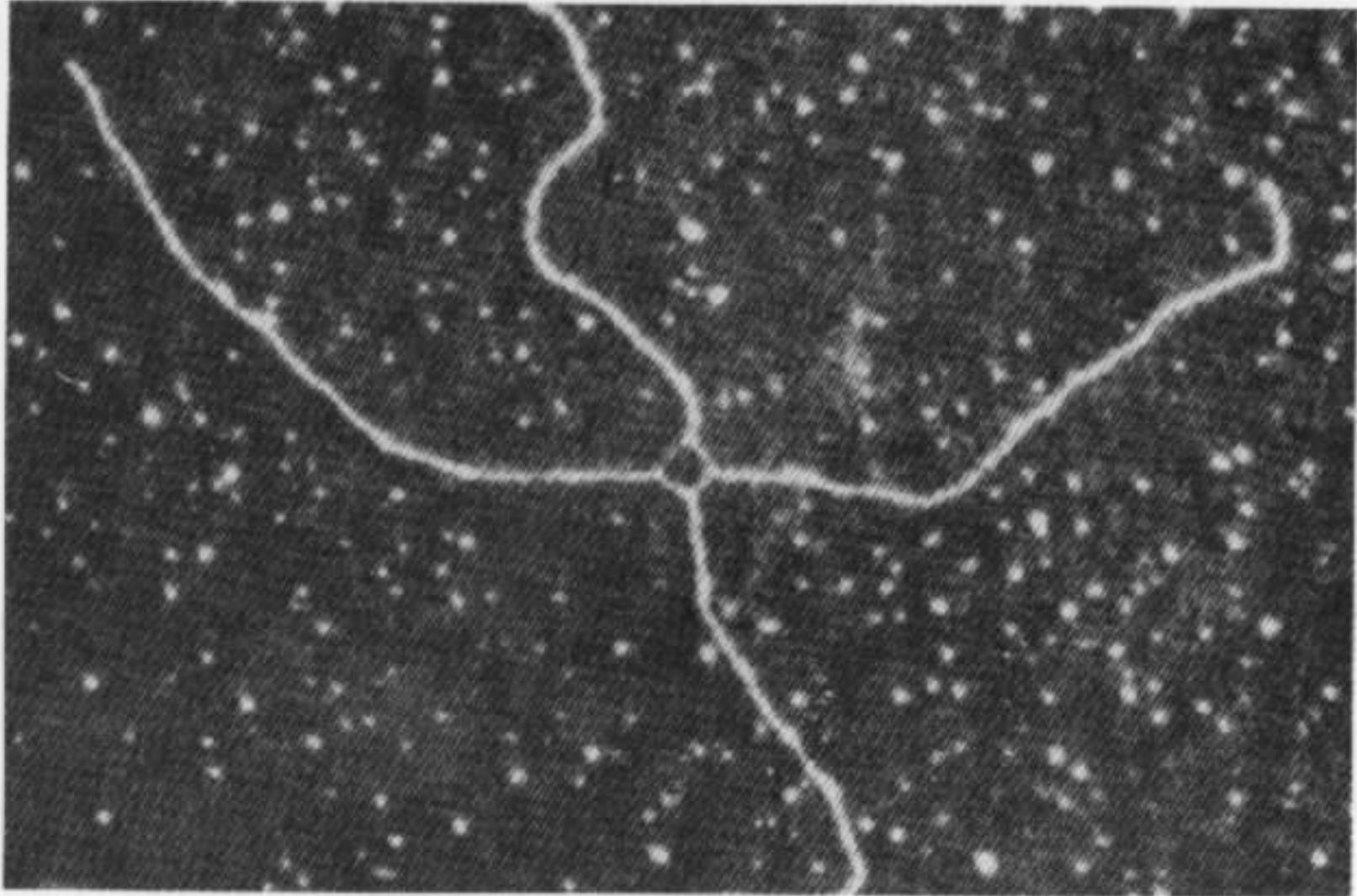
由上可知
无论Holliday结构断裂是否
导致旁侧遗传标记的重组，
他们都含有一个异源双链
DNA区。有关的两核苷酸
区段分别来自不同的亲本，
从而由原来的G - C, A -
T配对变成G - A, C - T
非配对。

同源重组的Holliday模型

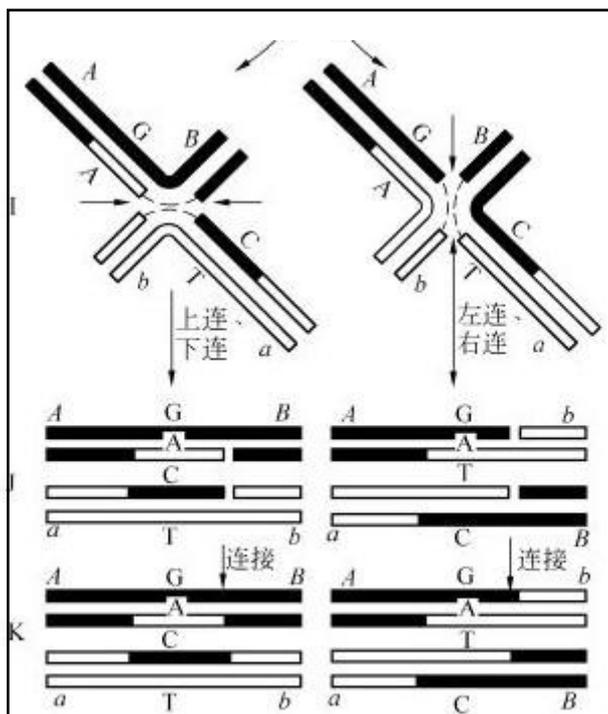
(为简略计, 图中只显示2条染色体单体; AB、ab表示旁侧标记基因)



Electron micrograph of a Holliday intermediate with some single-stranded DNA in the branch point region.



异源双链的修复



从Holliday模型已清楚表明，
 在对称的异源双链区存在着不
 配对碱基（如G - A， C - T），
 这种异源DNA是不稳定的，
 细胞内的修复系统能够识别不
 配对碱基，并以其中一条链为
 模板进行切除修复。



异源双链的修复

例如：粪生粪壳菌杂交中，假设用于 + X g 杂交的两亲本仅有一对碱基之差，如：

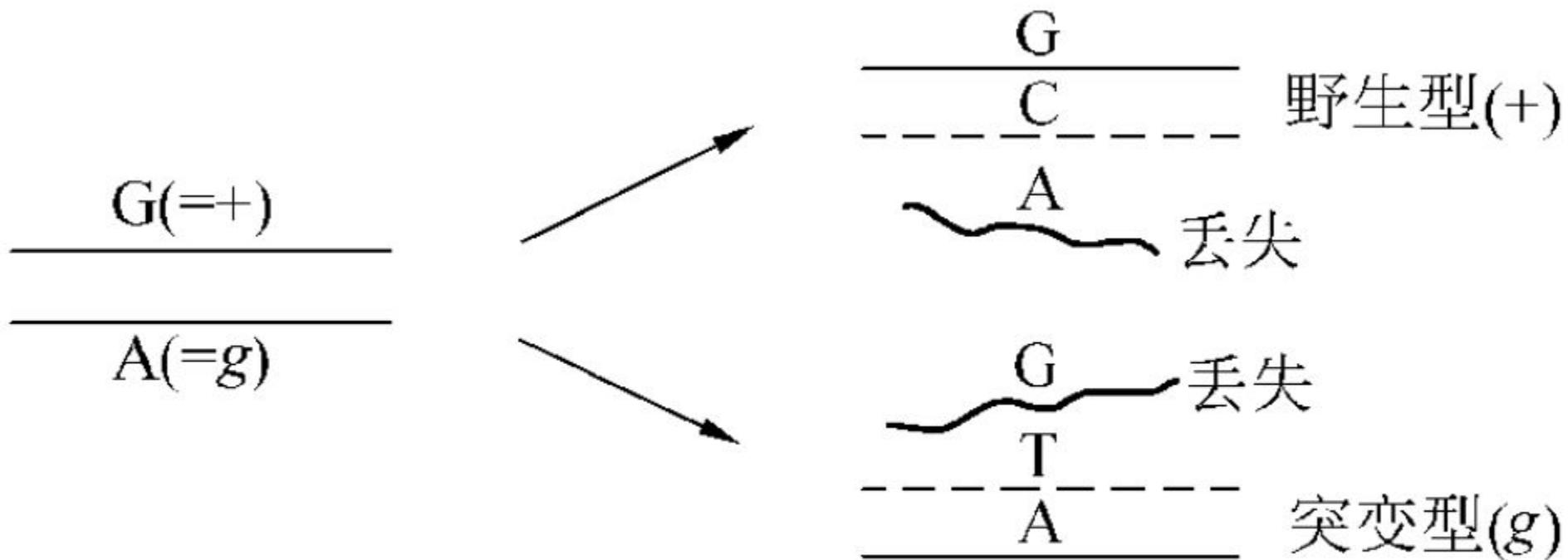
+ 是 ACAGT g 是 ACATT
 TGTC A, TGTAA,

则异源双链区应为：

ACAGT ACATT
TGTA A 或 TGTCA,

不配对部分如何修补呢？

不配对碱基的两种修复校正方式



由于切除的不配对区段的不同，校正后或出现野生型或出现突变型。

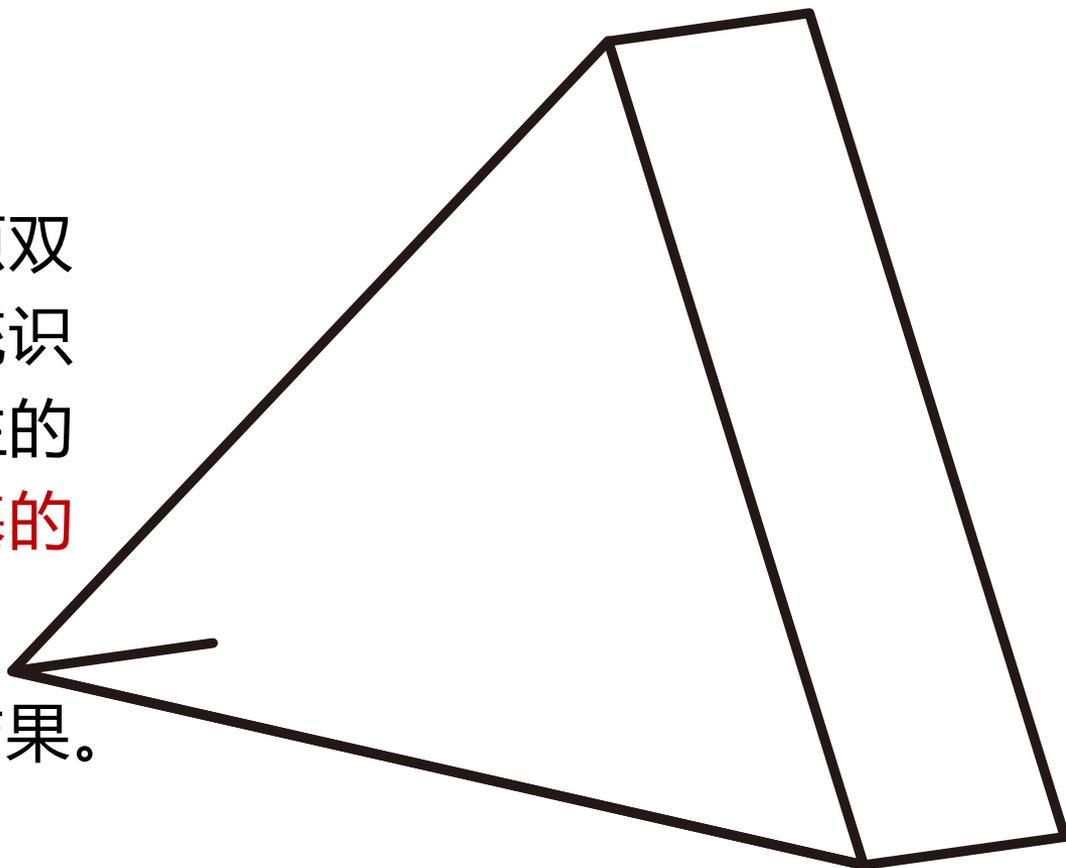


基因转变的分子机制

基因转变的实质

重组过程中留下的局部异源双链区，在细胞内的修复系统识别下不同的酶切/不酶切产生的结果（**异源双链不配对碱基的不同修复结果!**）。

不同的切除会产生不同的结果。





基因转变的分子机制

根据切除修复原理，基因转变的几种类型产生的分子机制可以归纳如下：



1、两个杂种分子均未校正，复制后出现异常的 $4+ : 4g$ (或 $3 : 1 : 1 : 3$) 的分离。



2、一个杂种分子校正为 $+$ ，或校正为 g 时，则发生另一种类型的半染色单体转变，前者修复后出现 $5 : 3$ 的分离，后者子囊孢子的异常分离比为 $3 : 5$ 。



基因转变的分子机制



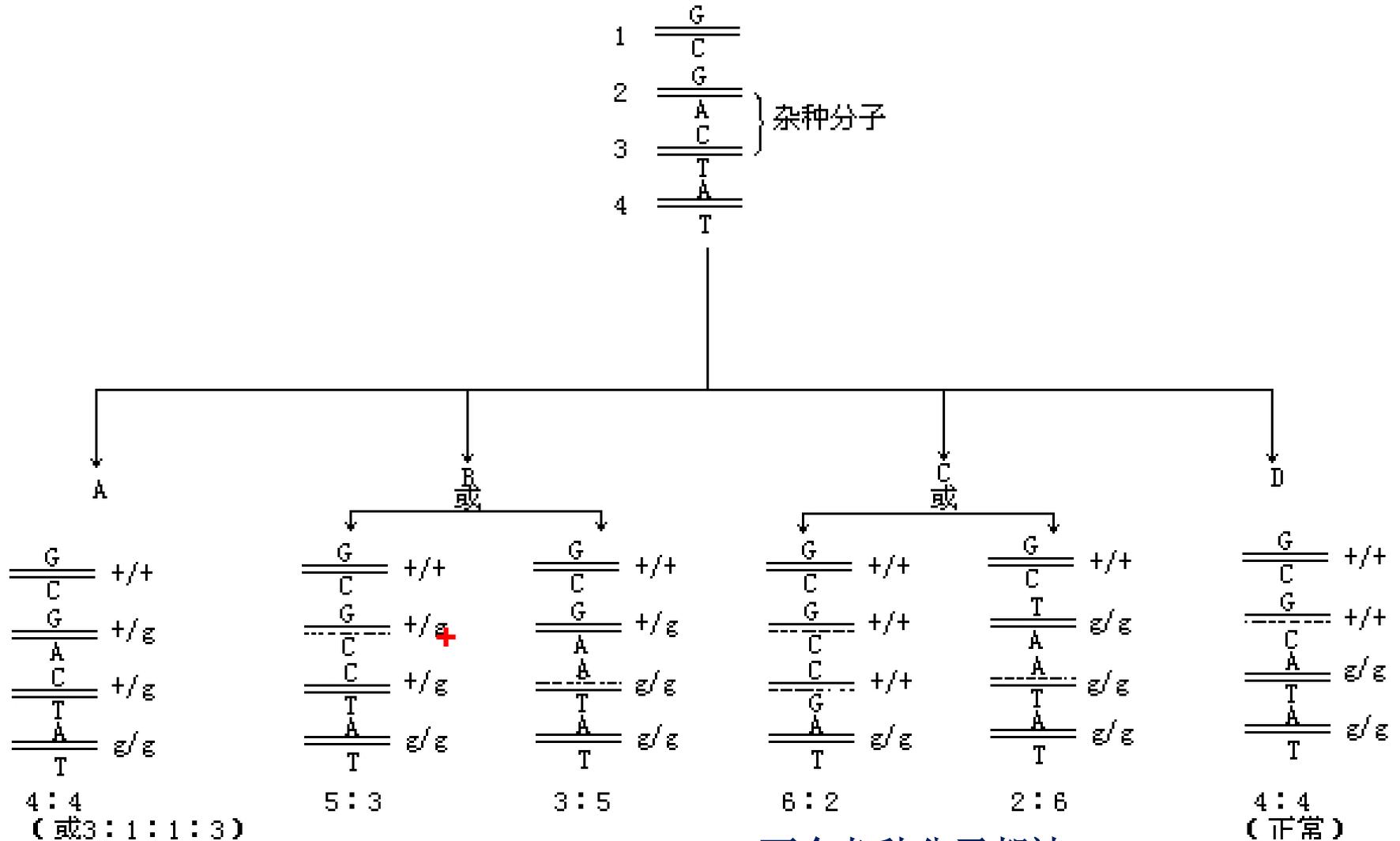
3、两个杂种分子都被校正为+(或g)时，修复后出现6 + : 2g(或2 + : 6g)的异常分离。这便是出现染色单体转变的起因。



4、当两个杂种分子都按原来两个亲本的遗传结构进行修复时，则减数分裂4个产物恢复成G-C、G-C、A-T、A-T的正常配对状态，子囊孢子分离正常，呈现4 + : 4g的结果。

基因转变的分子机制示意图

修复的DNA片段用虚线表示



两个杂种分子
均未校正

一个杂种分子被校正

两个杂种分子都被
校正为+或g

两个杂种分子都被
正确校正



小结



所以基因转变实质上是异源双链DNA错配的核苷酸在修复校正过程中所发生的一个基因转变为它的等位基因的现象。



从Holliday模型可以看出，重组是一个酶促过程，需要核酸内切酶、外切酶、DNA聚合酶、连接酶。

THREE

位点专一性重组



位点专一性重组

λ 噬菌体的整合和切除

λ 噬菌体: attP POP'

大肠杆菌: attB/ att λ BOB'

1、整合: BOB' + POP' $\xrightarrow[\text{IHF}]{\text{Int}}$ BOP' + POB'

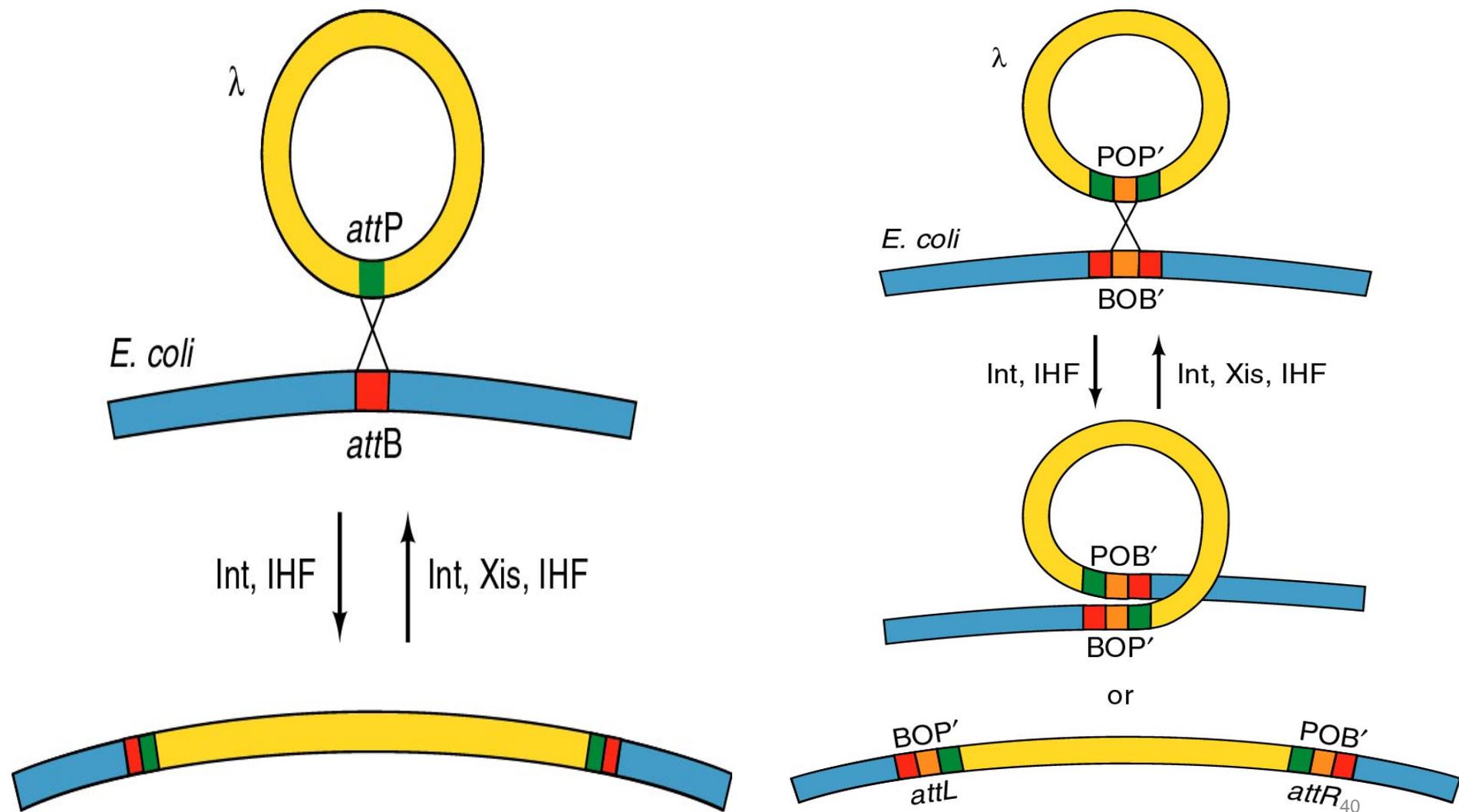
2、切除: BOP' + POB' $\xrightarrow[\text{IHF}]{\text{Int, Xis}}$ BOB' + POP'

Int: intergrase, 整合酶;

IHF: integration host factor, 整合宿主因子;

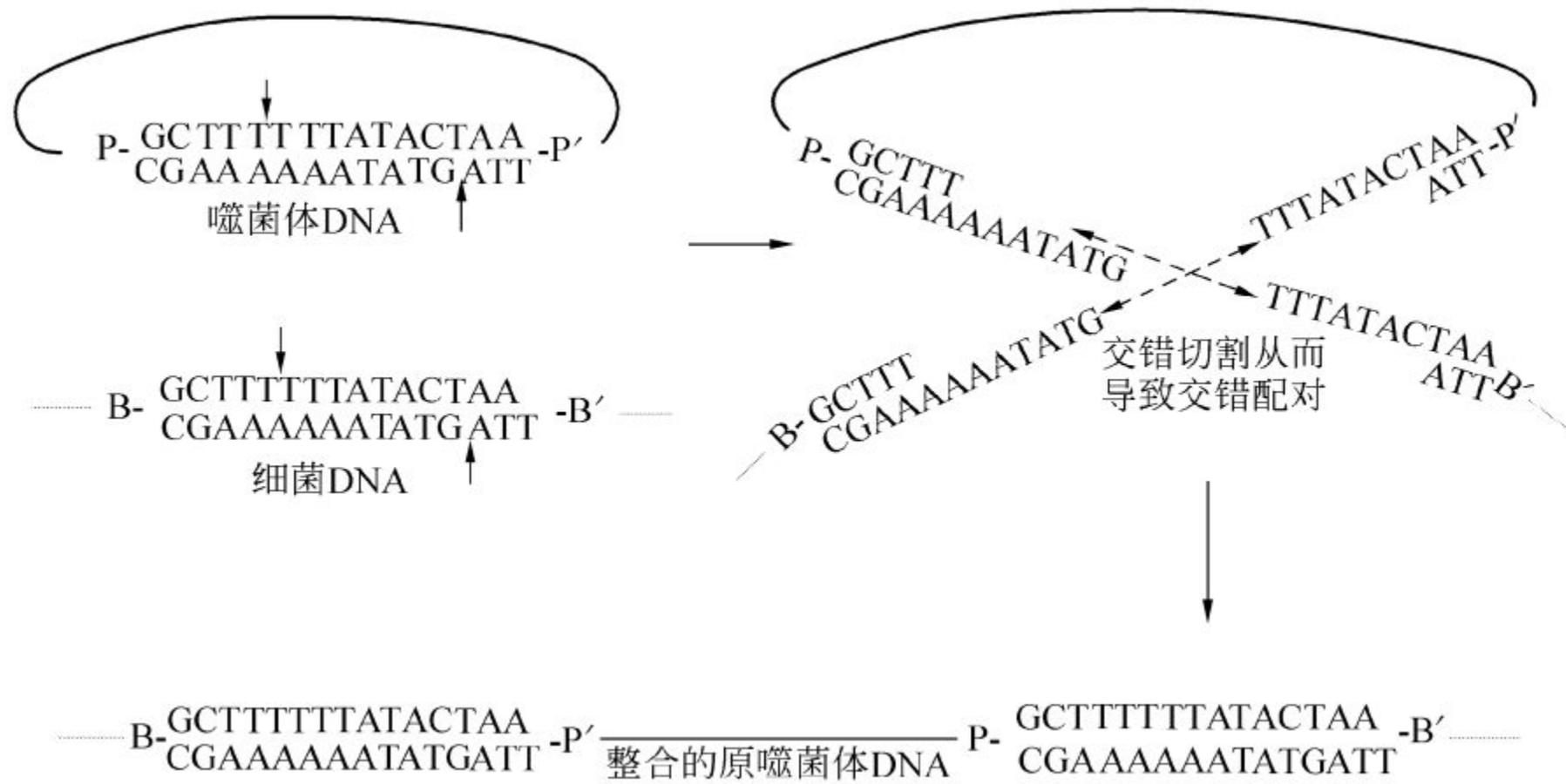
Xis: excisionase, 切除酶。

通过attP和attB间的相互重组，环状的噬菌体DNA转换为整合的原噬菌体，原噬菌体通过attL和attR间的相互重组而切除

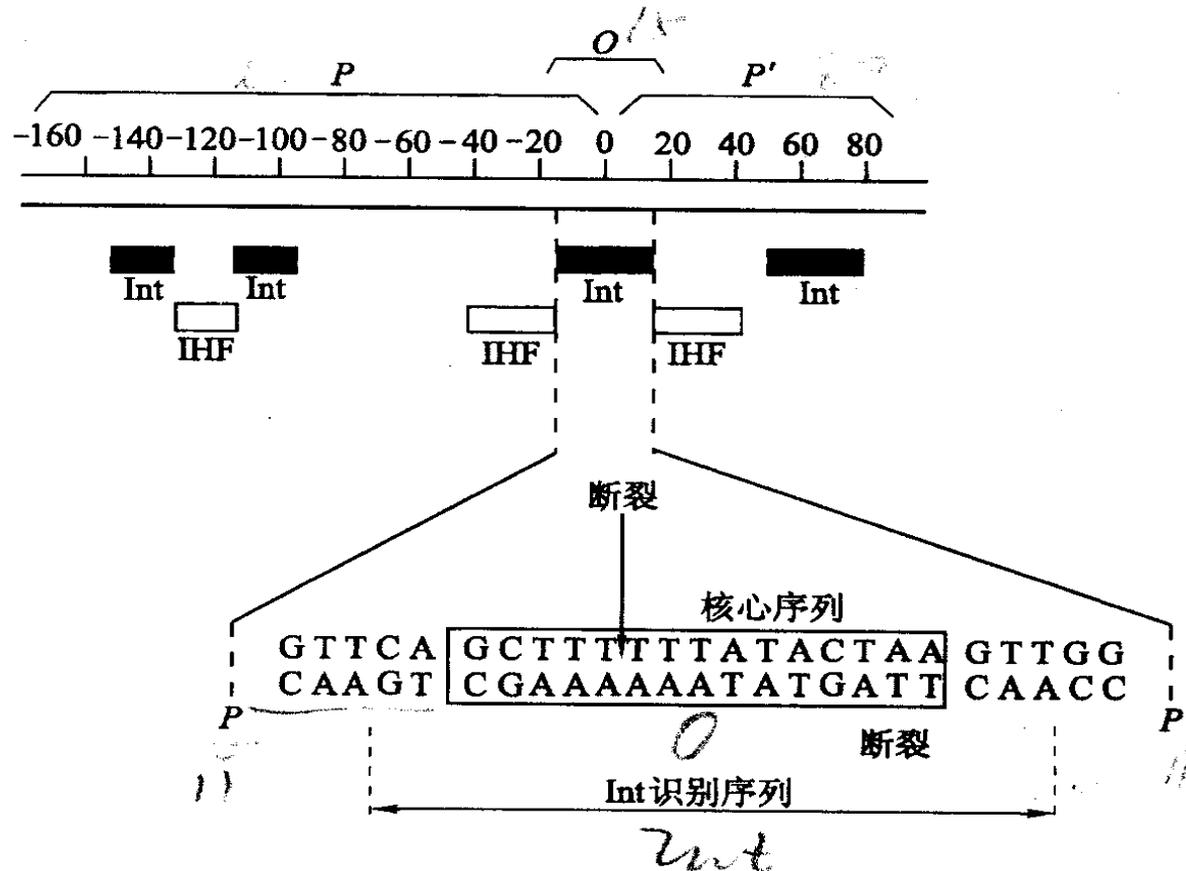


噬菌体整合过程的分子机制

在attB和attP共有的核心序列中交错切割，
然后交错配对，重组体末端连接。产生整合的原噬菌体



在 attP 上 Int 和 IHF 的结合点 (Int 结合序列处的识别点包括断裂点)





小结

根据这一模型，对 attP 和 attB 的初始识别并不直接依赖于 DNA 序列的同源性，但却依赖于 Int 蛋白能识别两者的 att 序列的能力，依据整合体的结构，两个 att 位点按照预定的方向被带到一起。接着发生链的交换反应，此时序列同源性则显示了其重要性。所以噬菌体侵入细胞后是整合重组还是切除重组受到严格的基因调控。

FOUR

异常重组-转座遗传因子



异常重组-转座遗传因子

异常重组(illegitimate recombination)发生在彼此同源性很少或没有同源性的DNA序列之间。可能是最原始的重组类型，异常重组经常导致基因破坏而引起突变，与人类遗传疾病、癌症发生和基因组进化有关。

有些DNA序列可以移动到基因组内的其他位置上去，这类序列称为转座元件或转座子(transposons)。

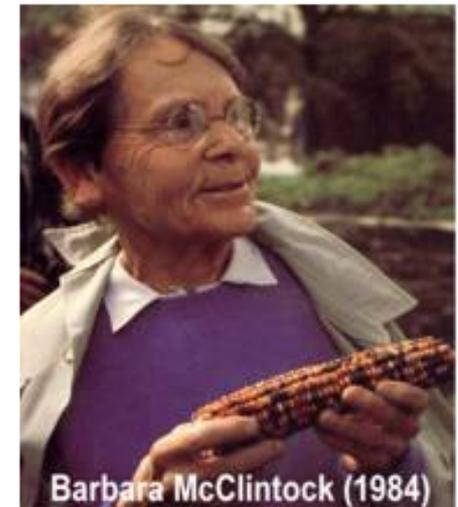
一个转座子由基因组的一个位置移到另一个位置的过程称为转座。

Transposable Genetic Elements



Transposition Mechanism and Regulation of the Maize Transposable Element *Activator* (*Ac*)

The maize *Activator* (*Ac*) element was the first transposon to be recognized in 1947 by Barbara McClintock. It is the prototype of a class of transposons that move via DNA intermediates by a "cut-and-paste" mechanism and occur ubiquitously in all higher eukaryotes from plants to humans.





芭芭拉·麦克林托克

芭芭拉·麦克林托克
(McClintock B., 1902 ~ 1992)

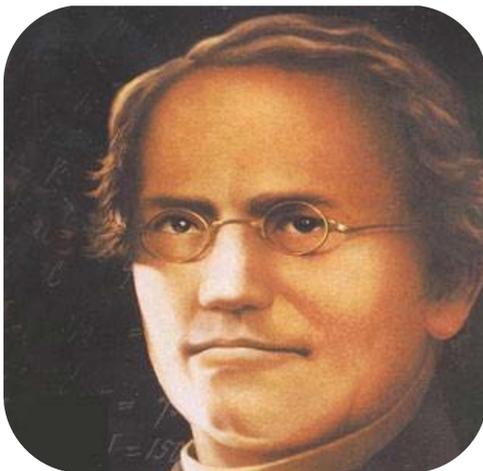




芭芭拉·麦克林托克

有人说，20世纪的遗传学里面没有26个字母，只有一个字母那就是：M。

M代表了遗传学的奠基人孟德尔(Mendel)，遗传学的开拓者摩尔根(Morgan)，还有就是遗传学的集大成者麦克林托克(McClintock)。





芭芭拉·麦克林托克

1902年麦克林托克出生于美国康涅狄格州首府哈特福德市，几乎是与遗传学一同出生、成长的。她于1919年进入了康奈尔大学农学院就读。

1927年，25岁的麦克林托克获得了康奈尔大学植物学博士学位。1929~1931年间，她发表了一系列论文，证明了玉米染色体形态与遗传特性之间的关系，并研究得出端粒(telomere)与着丝粒(centromere)在染色体上的作用，由于其在细胞遗传学的巨大贡献，她在1944年成为美国科学院院士，1945年担任美国遗传学会主席。



芭芭拉·麦克林托克

在20世纪40年代到20世纪五十年代间，她发现了转座子，同时也研究了其在控制基因表达方面的作用，她进一步发展了玉米代间性状改变的基因调控理论。





芭芭拉·麦克林托克

1951年提出了可移动的遗传基因(即“跳跃基因”)学说——基因可从染色体的一个位置跳跃到另一个位置、甚至从一条染色体跳跃到另一条染色体，为研究遗传信息的表达与调控、生物进化与癌变提供了线索。在她公布她的研究成果之后，等待她的并不是掌声，而是那从未消失的对女性、对她的冷嘲热讽。面对这样的境地，她在1953年决定从此不再发表论文！



芭芭拉·麦克林托克

直到20世纪70年代，当**细菌**、**酵母**、**果蝇**中陆续发现转座基因的报道之后，人们才想起麦克托克早在20世纪50年代初就对玉米中的转座基因有过透彻的研究和报道。至此，麦克林托克那曾被看作是天方夜谭式的异端思想，才逐渐融入当代科学思想的洪流之中。

1983年，81岁高龄的麦克林托克由于发现了可移动的遗传物质获得了诺贝尔生理学或医学奖。有人曾这么称赞麦克林托克：“她整整让科学界追了她35年”。





芭芭拉·麦克林托克

因发现DNA双螺旋结构而获得诺贝尔奖的沃森也曾给予她高度赞扬：“她是个伟人，她孤军作战，标新立异。她做的工作是极其重要的。”

麦克林托克曾这么说过：“多少年来，我在对于玉米遗传的研究中已获得很多的欢乐。我不过是请求玉米帮助我解决一些特殊的问题，并倾听了她那奇妙的回答。”

这就是麦克林托克的人生。



Ac-Ds系统

转座元件首先是由B.McClintock于20世纪40-50年代中在玉米遗传研究中发现的。玉米籽粒的颜色很不稳定，有时籽粒出现斑点，当时她提出一种全新的观点来说明这种现象，**她认为遗传因子可以移动，从染色体的一个位置跳到另一位置，从一个染色体跳到另一染色体，并引起基因活性和功能的改变。**

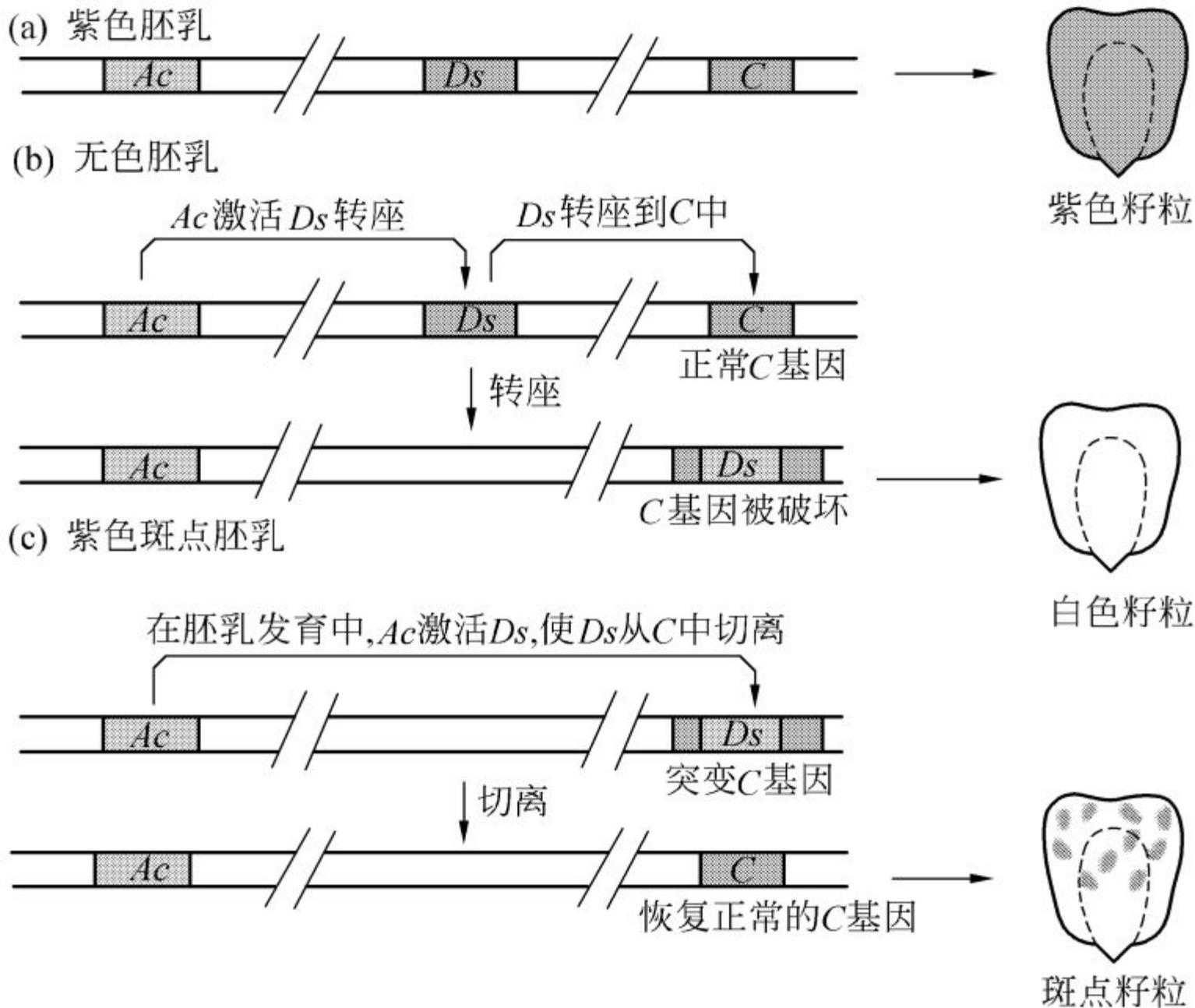


McClintock关于玉米籽粒颜色的解释

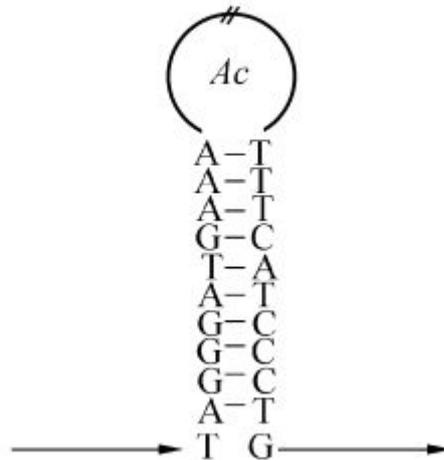
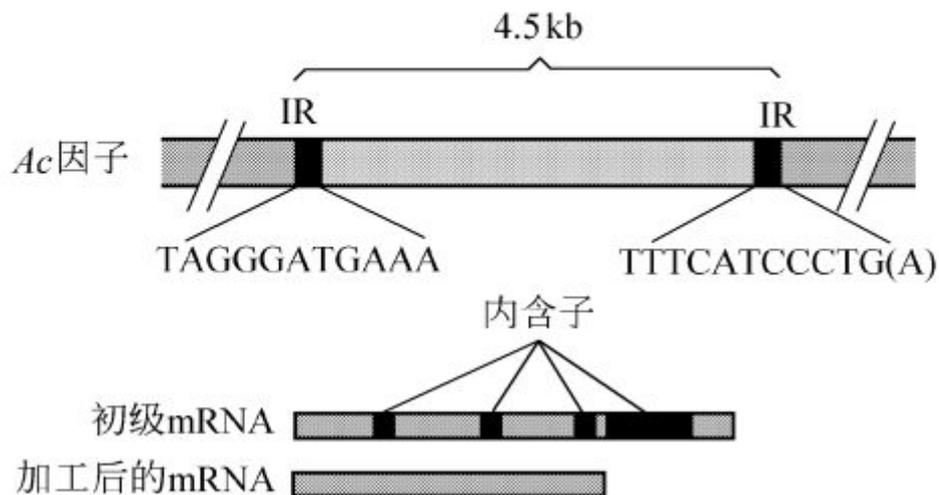
玉米糊粉层颜色的控制涉及多对基因，假设A1、A2、R、Pr基因均为显性，则当C基因为野生型时，胚乳呈紫色。若C基因的突变阻断了紫色素的合成，那么胚乳为白色。在胚乳发育过程中，若突变发生回复则产生斑点。回复突变发生得越早，产生的紫斑就越大。

而C基因的突变是由一个可移动的控制因子(转座子)引起的，称为解离因子 (dissociator, Ds)，它可以插入到基因C中，即转座。另一个可移动的控制因子是Ac，称激活因子 (activator)，它的存在可以激活Ds转座进入C基因或别的基因，也能使Ds从基因中转出，使突变基因回复。这就是Ac-Ds系统。

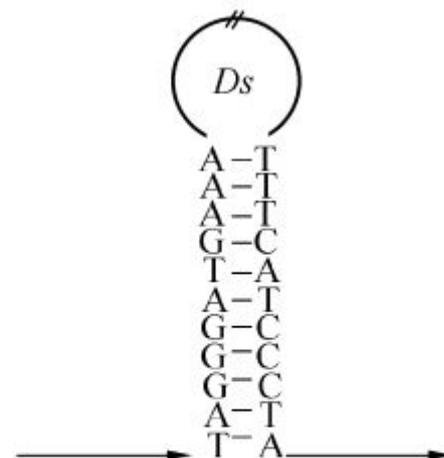
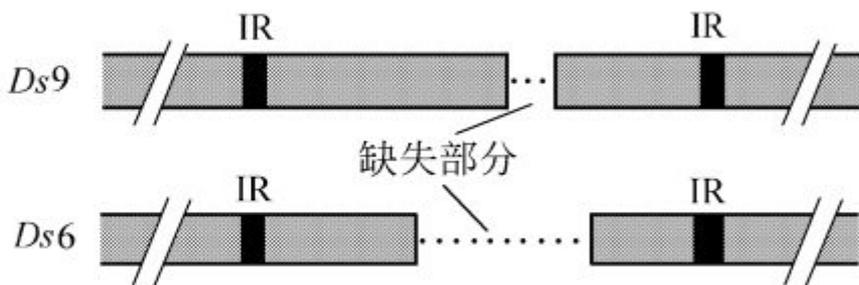
玉米转座因子对胚乳颜色的影响



Ac-Ds转座元件结构示意图



Ds因子：

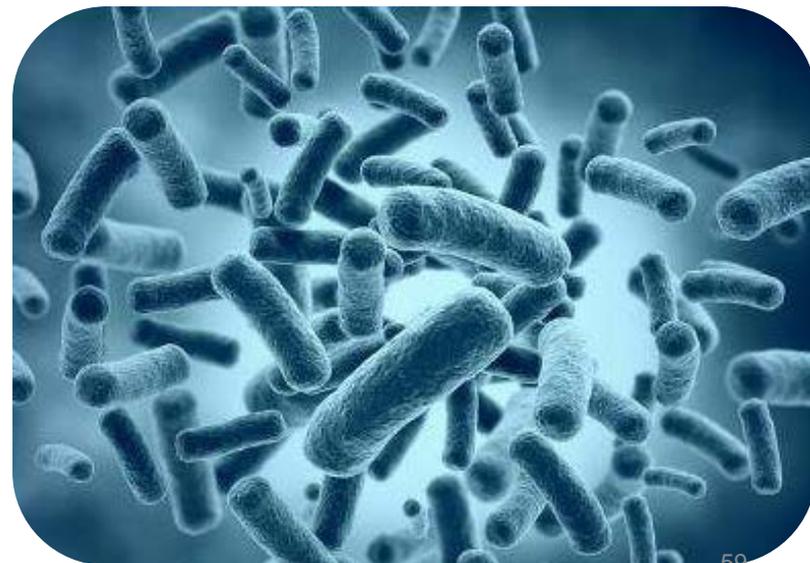


右边示Ac及Ds元件的单链DNA末端反向重复对形成的**茎环结构**，这种结构可能对转座有意义。



原核生物中的转座因子

原核生物的转座子是20世纪60年代早期发现的，是在研究大肠杆菌的**极性突变体**中发现的。





原核生物中的转座因子

极性突变体

指那些影响位于突变位点下游的一个或多个正常基因的表达的突变体。

极性突变体原因

通常是由于单个碱基的插入或缺失所引起的移码突变，因此经常使用那些能引起高频率插入和缺失突变的化学诱变剂使移码突变回复到野生型（通过第二个位点的突变损伤来恢复失活基因的正确读码框）。



原核生物中的转座因子

在某些实验中发现，用这些突变剂处理半乳糖极性突变子时并没能获得野生型回复突变子，因此推论这些突变子的产生并不是由于单个碱基的插入或缺失引起的，而是由于其他类型的插入或缺失引起的。

一系列的实验结果显示这些极性突变体是由于DNA片段的插入引起的。





如何证明极性突变子含有插入的DNA片段?

1、密度梯度离心实验 (最简单的证据):

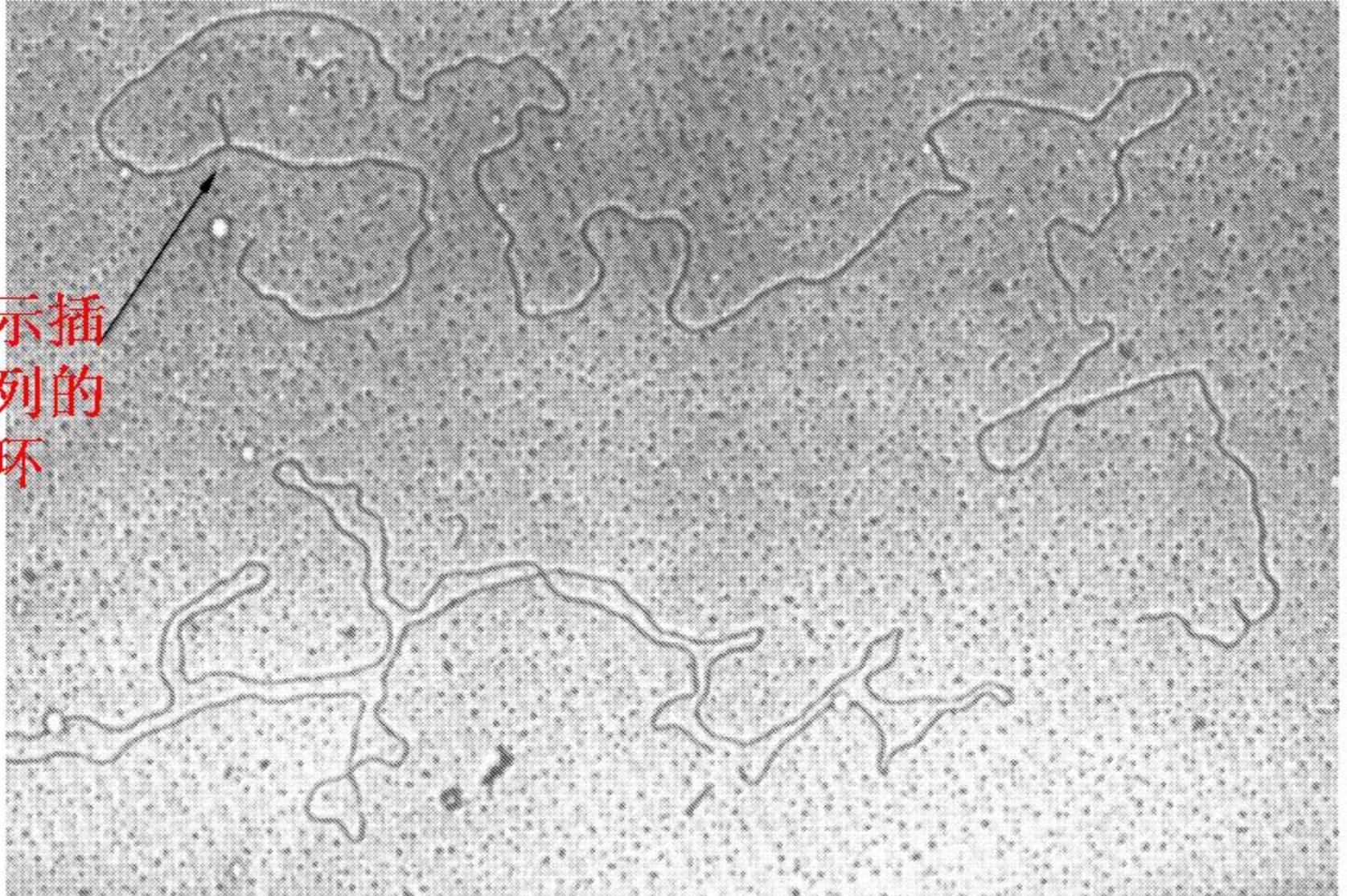
极性突变子和野生型的 λ 噬菌体分别分离出来, 进行CsCl密度梯度离心, 结果出现了两条带, 结果极性突变子的密度大于野生型的密度, 表明有可能是具有小片段DNA的插入。

2、分子杂交实验 (最直观的证据):

将极性突变子和野生型DNA分子进行杂交, 在电镜下可以看到杂交链上出现了一个额外的单链的茎环结构, 说明极性突变子中有额外DNA片段的插入。

3、对极性突变子进行测序 (最可靠的证据)。

λ dgal^m和 λ dgal⁺分子杂交的电镜图片



箭头示插入序列的单链环

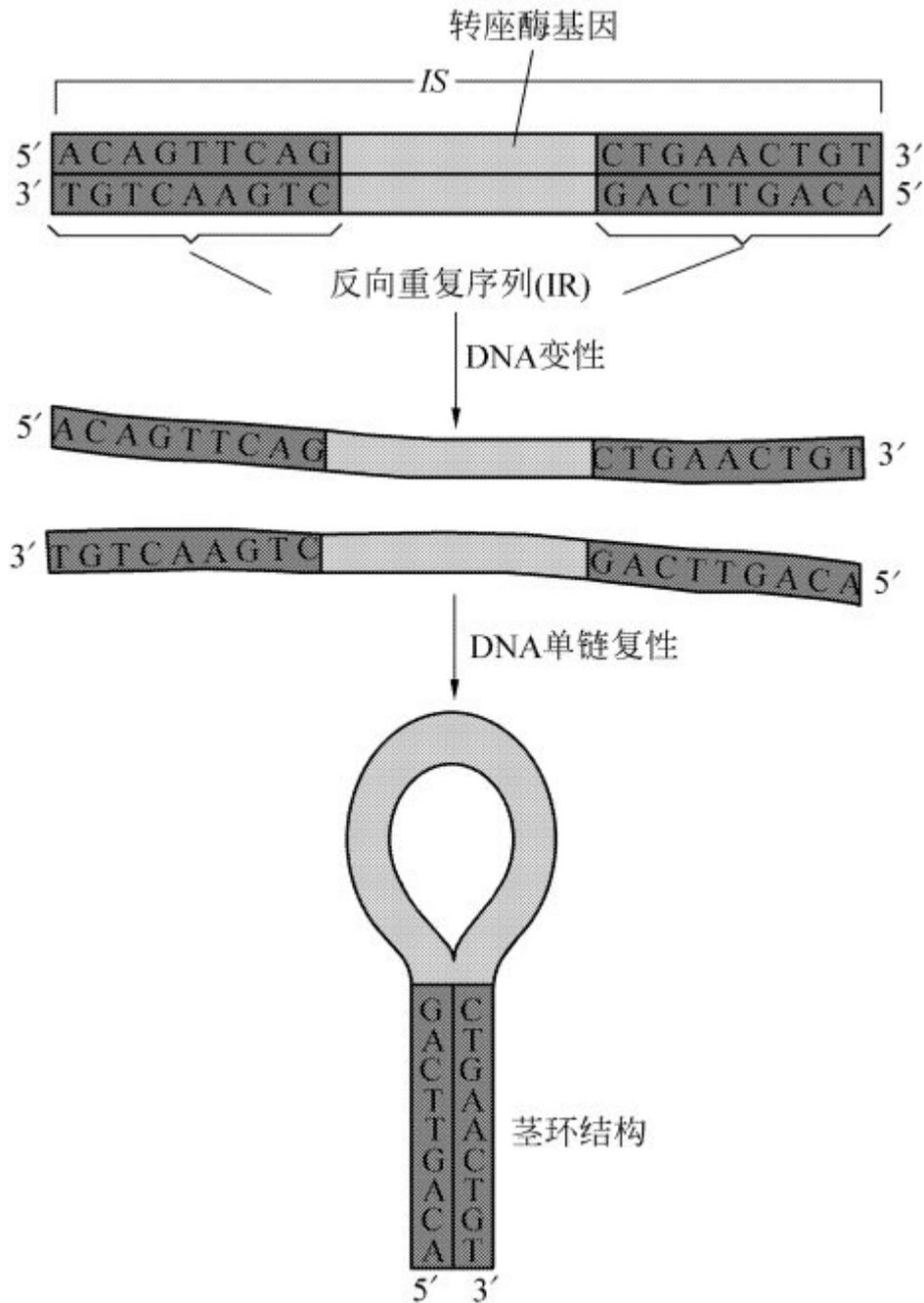


插入序列

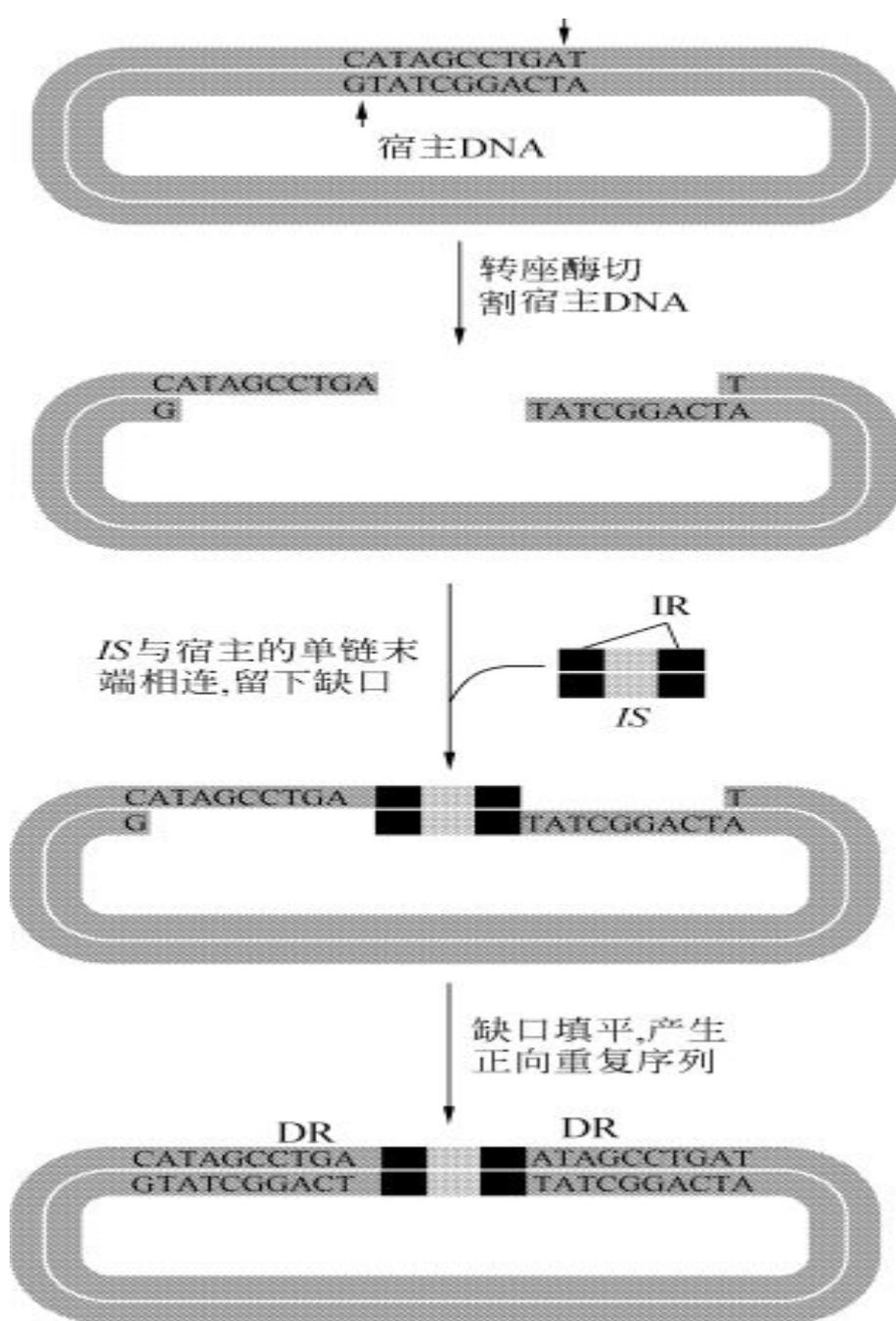
根据分子结构和遗传性状可将原核生物中的转座因子分为**插入序列**(insertion sequence, IS)、**复合转座子**(composite transposon, Tn)和**转座噬菌体**三类。

IS是最简单的转座因子，它仅含有编码转座酶的基因，本身没有任何表型效应。

IS转座是一罕见事件，与自发突变处于同一数量级，为每代 10^{-7} - 10^{-6} 。



IS具有的末端重复序列
经变性和复性后形成茎
环结构

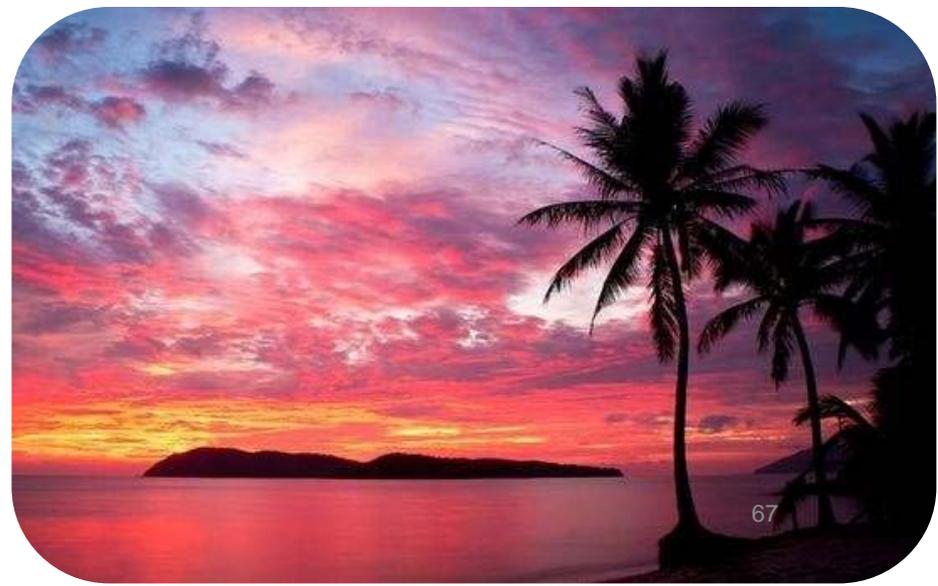


由转座酶所介导的转座因子整合过程示意图



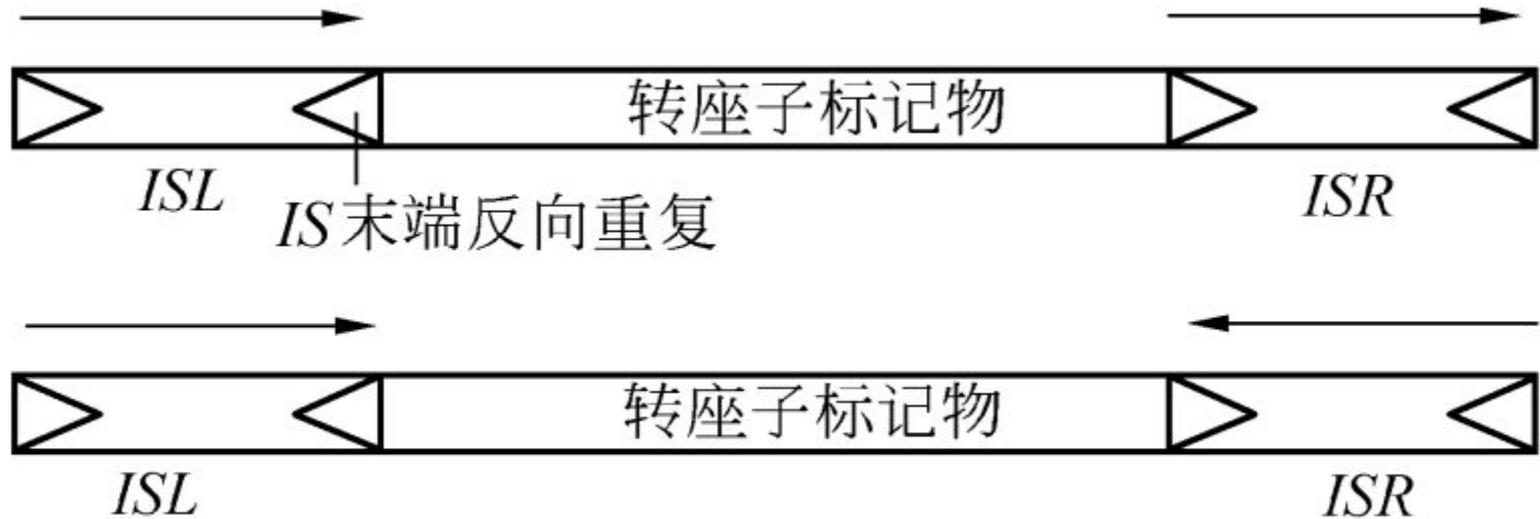
复合转座子 (Tn)

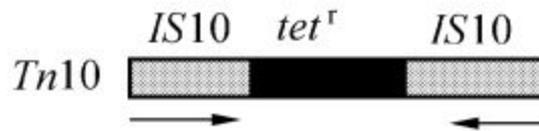
除含有转座所必需的基因外，还含有与转座无关的一些基因如抗药性基因、乳糖发酵基因等。因此 Tn 的转座能使宿主菌获得有关基因的特性，如抗生素抗性等。



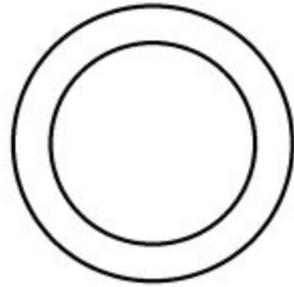
复合转座子的结构

复合转座子两侧的IS组件可以同向或反向，可以相同或不同

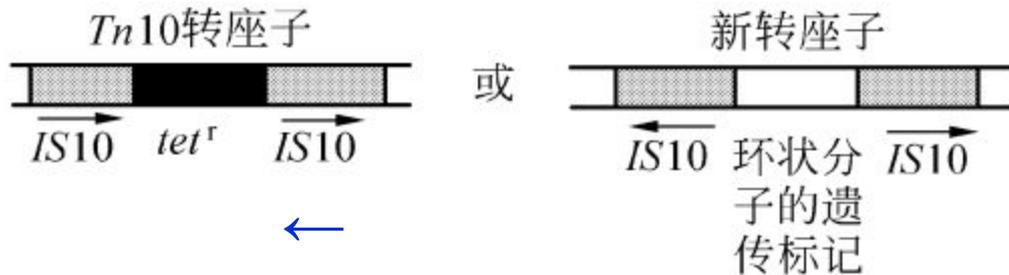
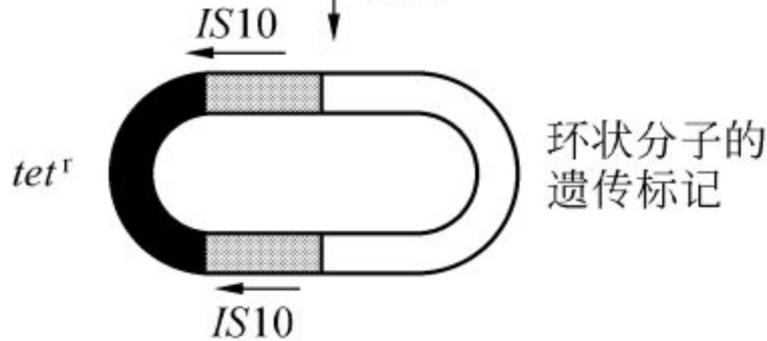




环状分子
(带一些遗传标记)



转座

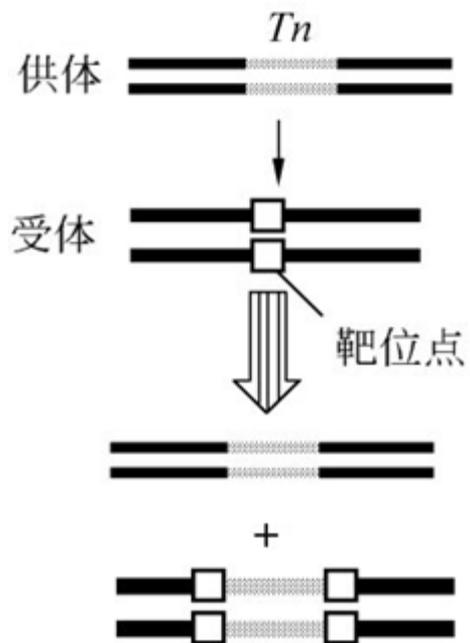


Tn10的转座

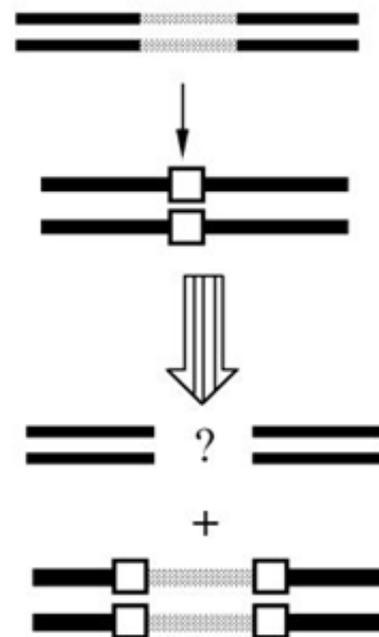
当Tn10为环形分子的一部分时，IS10能使环的任意一侧转座



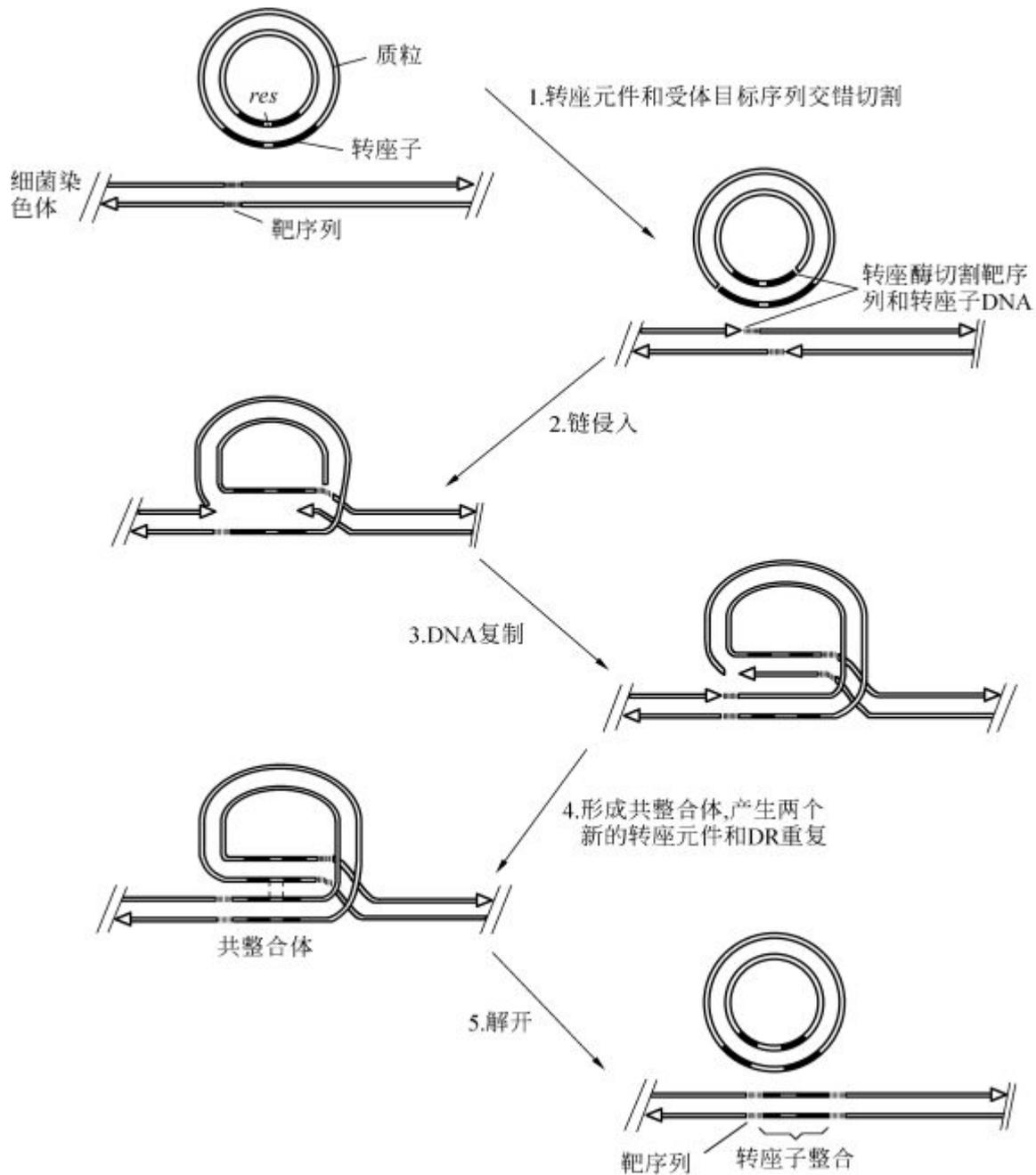
转座的两种机制



A. 复制型转座



B. 保守型转座



复制型转座示意图



保守型转座

保守型转座过程中转座元件从供体部位被切除，并通过一系列过程插入到靶部位，这与 λ 噬菌体的整合机制十分相似。



保守型转座的结果是原来位置上的转座元件丢失，而在新的位置上增加了转座元件。



转座噬菌体

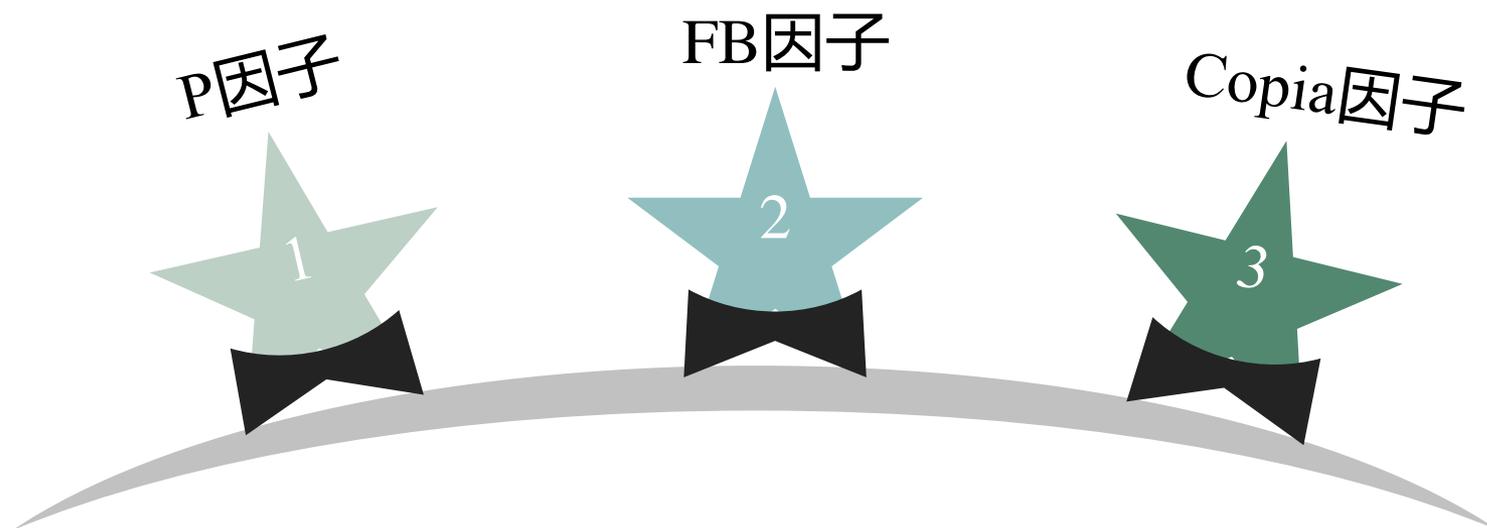
正常情况下，温和噬菌体应该整合到宿主染色体的一定位置上，但有一种 Mu(mutator phage)的噬菌体几乎可以插入宿主染色体的任何一个位置上，称为转座噬菌体。



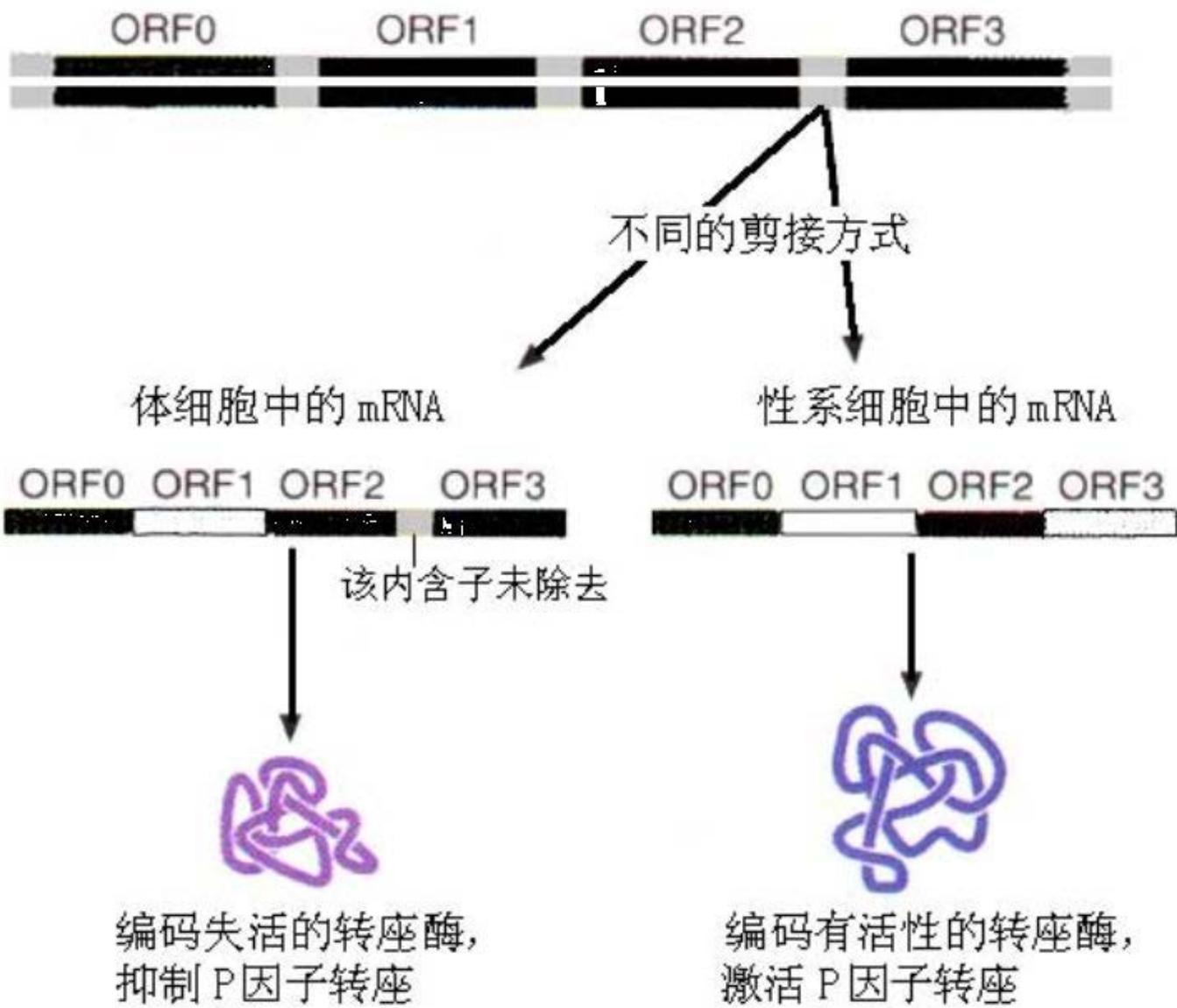
Mu噬菌体为一37kb的线状DNA，不含末端倒转重复序列，这是它和其他转座元件不同的地方。两端各带一小段大肠杆菌的DNA，且每个Mu所携带的宿主DNA都各不相同。



果蝇的转座子



P因子



果蝇 P 因子在不同细胞系中的剪接

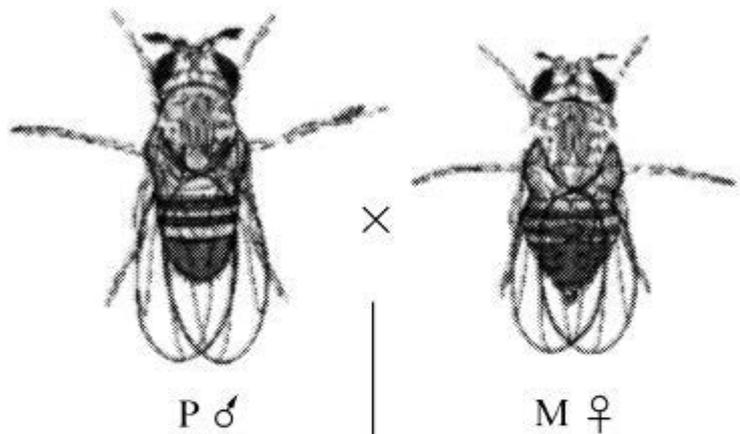


果蝇的杂种不育

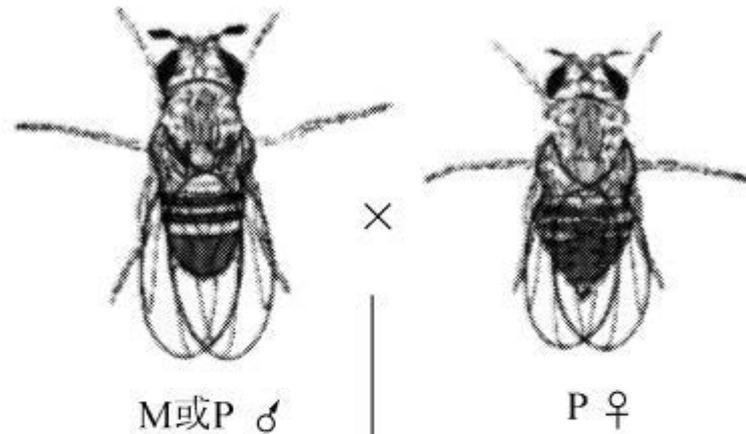
由于转座酶和抑制因子这两种蛋白质的存在，使得P因子调控产生一个有趣的现象。

当P品系（带有P因子的品系）和M品系（不带P因子的品系）杂交产生P - M杂种时，如果P品系雄果蝇（带有全长和缺失的P因子）和M品系雌果蝇（不含P因子或只含缺失的P因子）交配时，在杂种的生殖细胞中发生大量的P因子转座，导致劣育或不育，这种情况称为杂种不育。

然而反交或P品系的雌雄果蝇杂交，都不会出现杂种不育现象，即F1代是正常可育的。



劣育, 很少后代



正常后代

果蝇杂种不育
仅发生在
P ♂ × M ♀ 中



果蝇杂种不育的原因

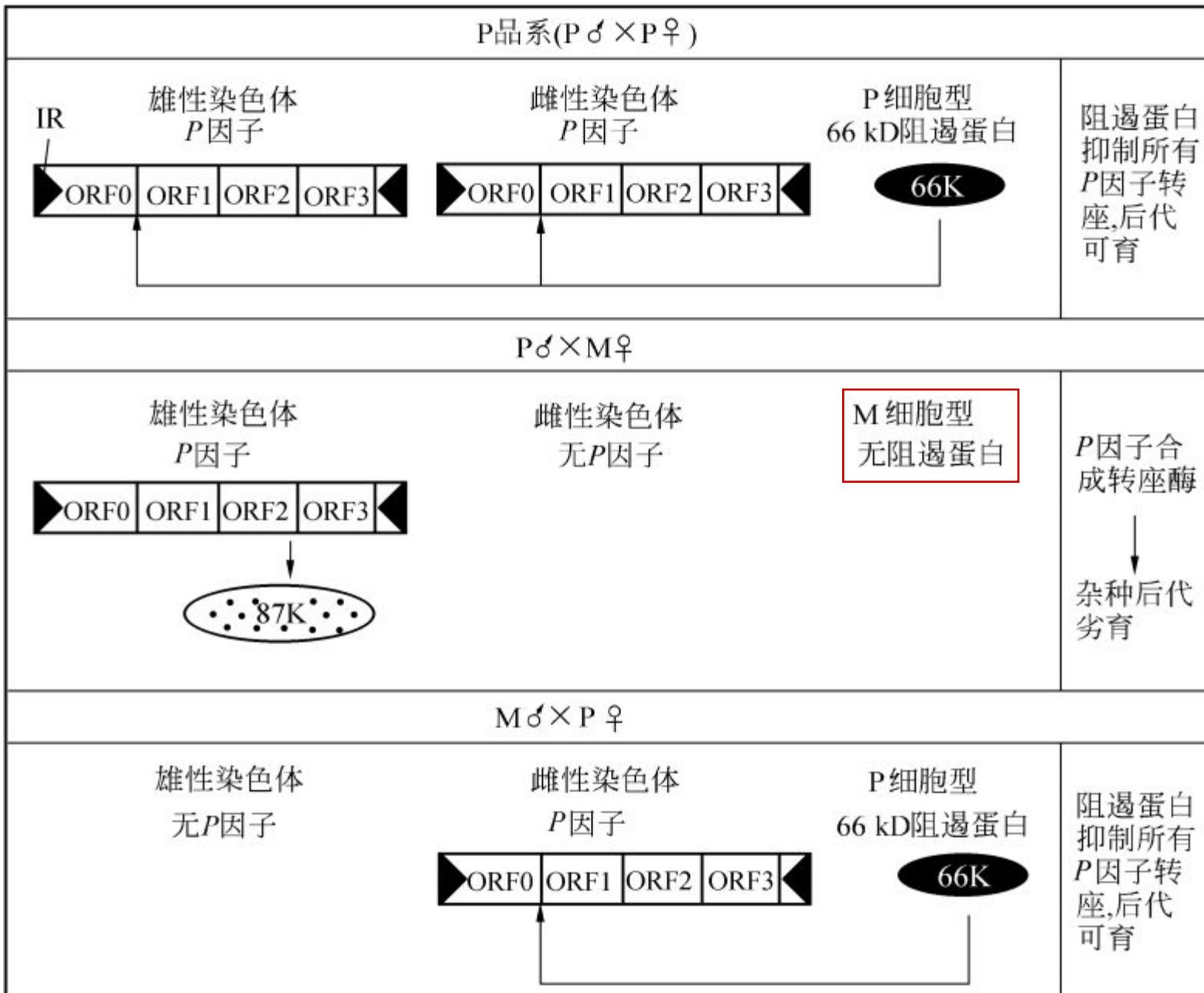
果蝇的细胞质因子与P因子转座有关。

P品系雄果蝇和M品系雌果蝇交配产生劣育F1是因为F1代的细胞质主要来自M品系，而M品系细胞质内缺失66KD的转座阻遏蛋白，因此P品系雄性细胞核染色体上的P因子可以自由转座，从而使得后代劣育。

反交或P品系的雌雄果蝇杂交，由母本提供的正常细胞质因子都能抑制P因子的转座，从而后代可育。

P因子造成杂种生殖障碍可能是物种形成中生殖隔离的一种手段。

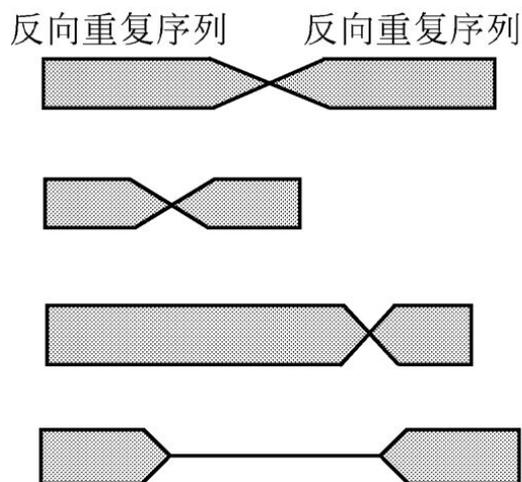
果蝇杂种不育决定于基因组中P因子和不同胞型中阻遏蛋白的相互作用





FB因子

果蝇中FB(foldback)因子不同成员的DNA序列有很大变化，两端有很长的反向重复序列。反向重复序列或是直接相邻或中间隔开数个kb。凡是夹在两个FB因子之间的任何DNA序列都可能被转座，表明这类转座子在基因组进化中可能起重要作用。但具体机理还不清楚。



果蝇FB因子的结构



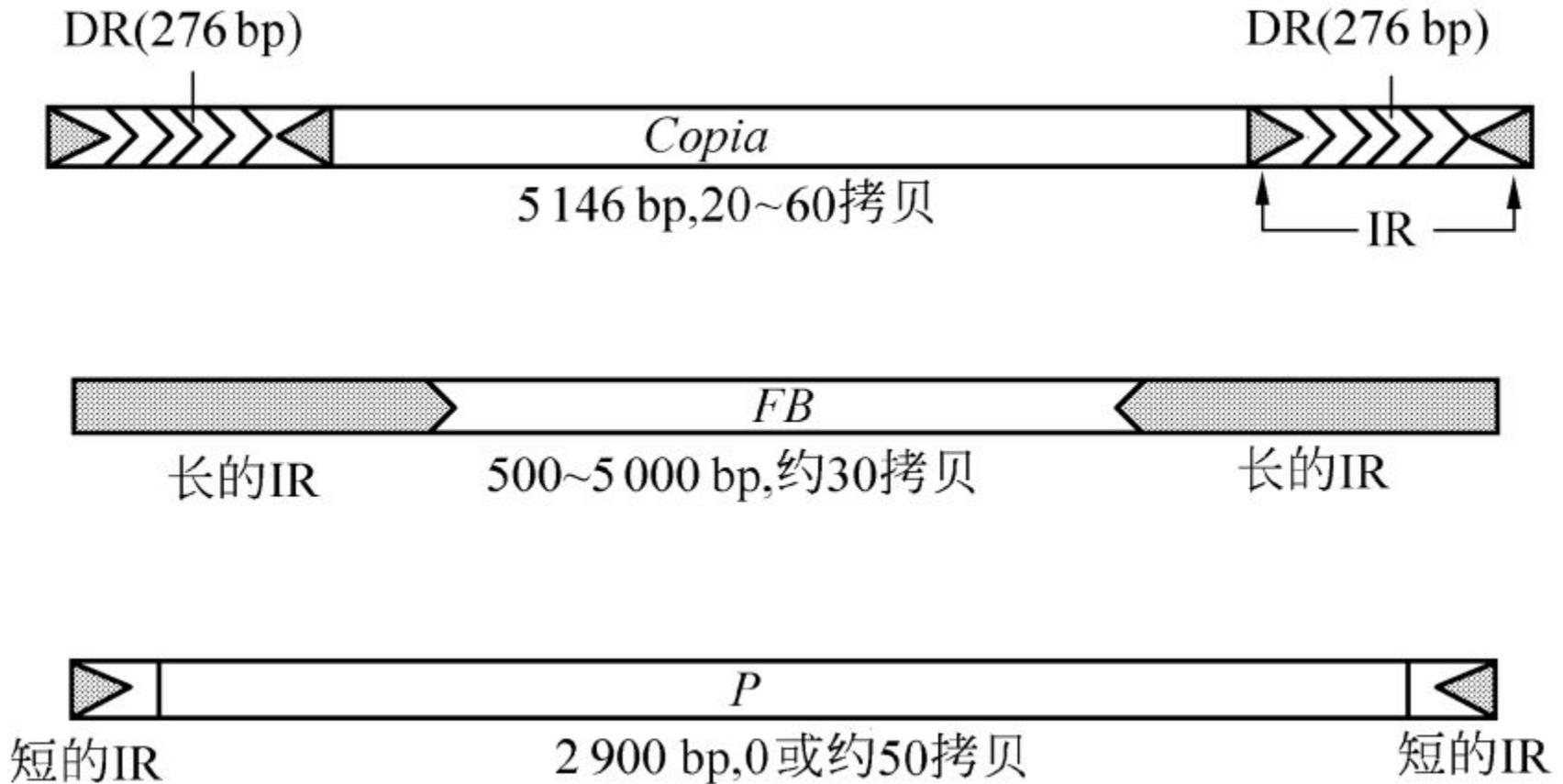
Copia因子

Copia因子是果蝇的一种反（逆）转录转座子 (retrotransposon)，它通过RNA为中介，反转录成DNA后进行转座。

Copia 因子由于存在大量密切相关的编码高丰度 mRNAs 的序列而得名。

Copia因子全长5000bp左右，两端各有一个相同的276bp的正向重复序列 (DR)，每个正向重复序列本身的两端还各有一个不完美的反向重复序列 (IR)。

果蝇中三种不同转座子因子的结构比较





人类中的转座子



人类基因组中约有44%的序列为转座子，它们绝大部分在很久以前就失去了转座活性。



人类基因组中的转座子按照转座机制可分为两类：**DNA转座子**和**反转录转座子**。



反转录转座子是引起人类疾病的潜在病因，转座子在人类遗传学研究中具有重要意义。



人类中的转座子

A DNA转座子

仅占人类基因组的3%，早在3700万年前就处于静止状态

B 反转录转座子

依据是否出现长末端重复序列(LTR)，反转录转座子分为**LTR反转录转座子**和**非LTR反转录转座子**。

C 非LTR反转录转座子

包括**长散布元件(LINE)**、**短散布元件**和**SVA**三个家族。

非LTR反转录转座子是目前仍具有转座活性、活跃度最高的人类转座子。



转座的遗传学效应



插入突变失活



改变染色体结构



外显子改组



引起DNA甲基化



产生新的变异



插入突变失活



这是转座的最直接效应。一般来说，转座子的插入使插入区的基因失活是因为正常的转录和(或)翻译受到阻碍。

如果转座子插入到基因的调控区域，它可能改变基因表达的模板或基因表达的特异方式，从而引起癌变或发育的畸变等。



改变染色体结构

其中一种可能的机制是位于同一染色体上不同位置的两个同源转座子发生交换。

染色体内异位交换

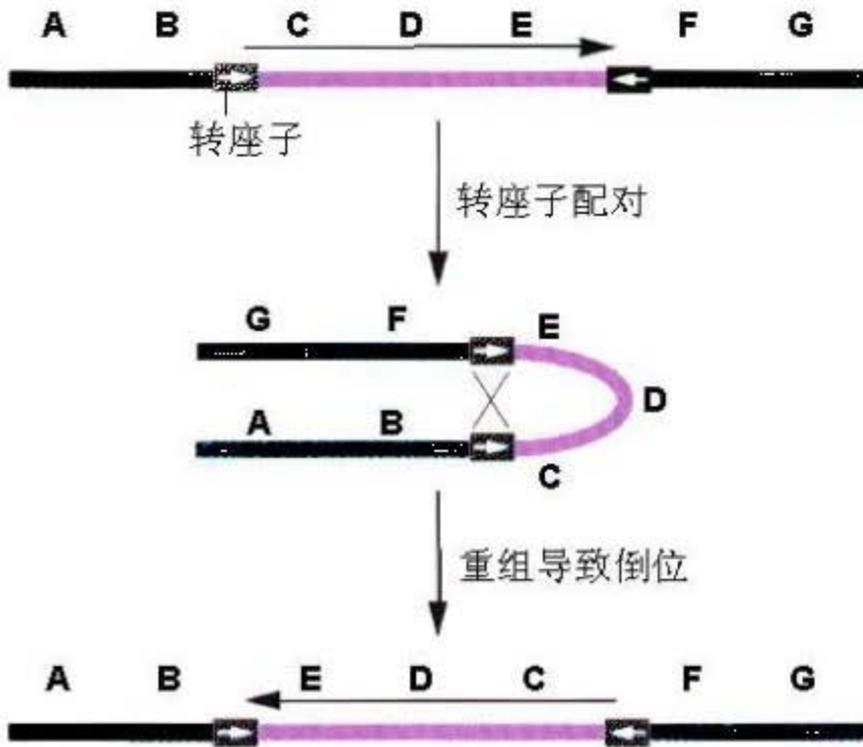
交换序列位于同一染色体上不同位点。染色体内异位交换导致倒位和缺失的产生。



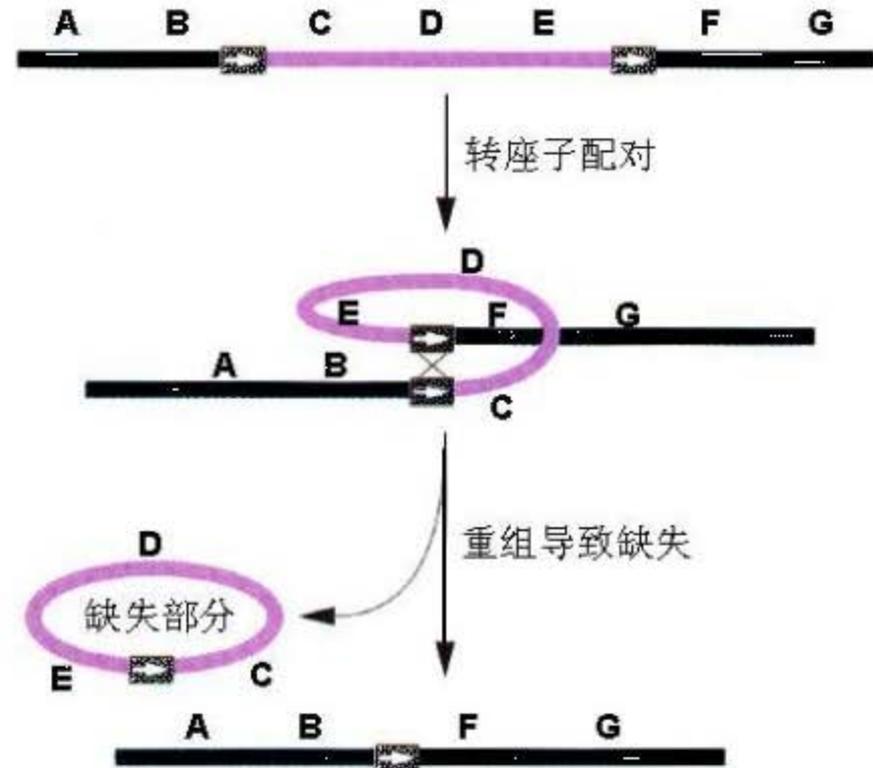
染色体间异位交换

交换发生在姐妹染色单体及同源染色体之间。染色体间异位交换导致重复和缺失的产生。

交换序列位于同一染色体上不同位点的染色体内异位交换

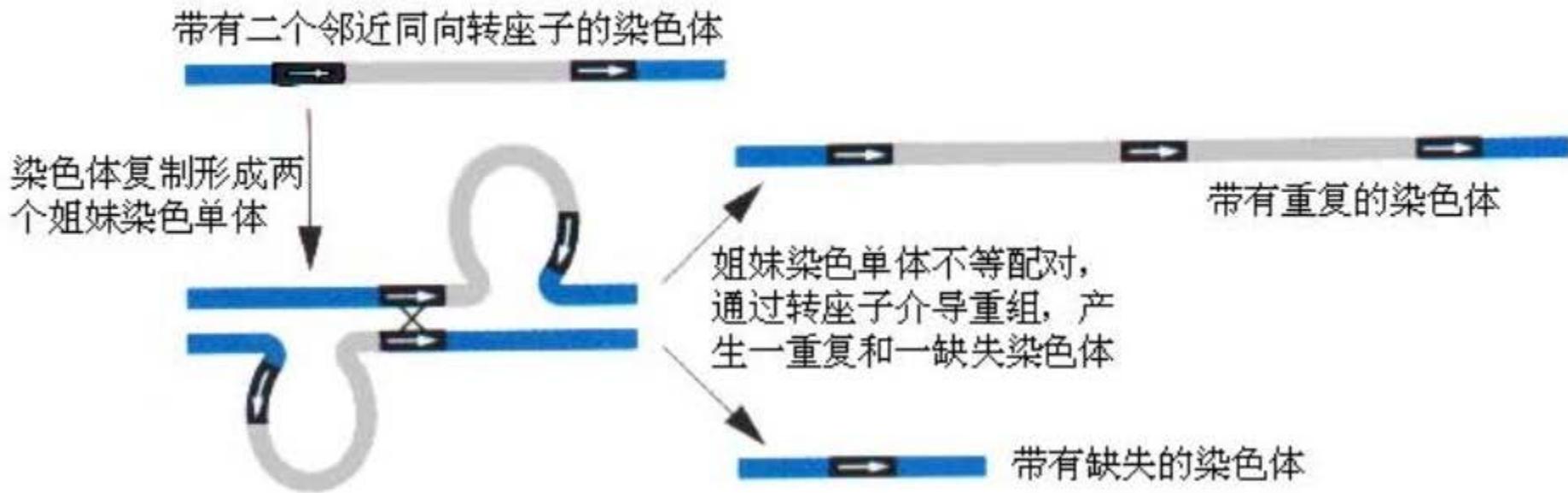


两个反向转座子配对并交换，
在它们之间的部分发生倒位



如果两个同向转座子配对并交换，
在它们之间的部分发生缺失

通过转座子介导的姐妹染色单体之间的染色体内异位交换





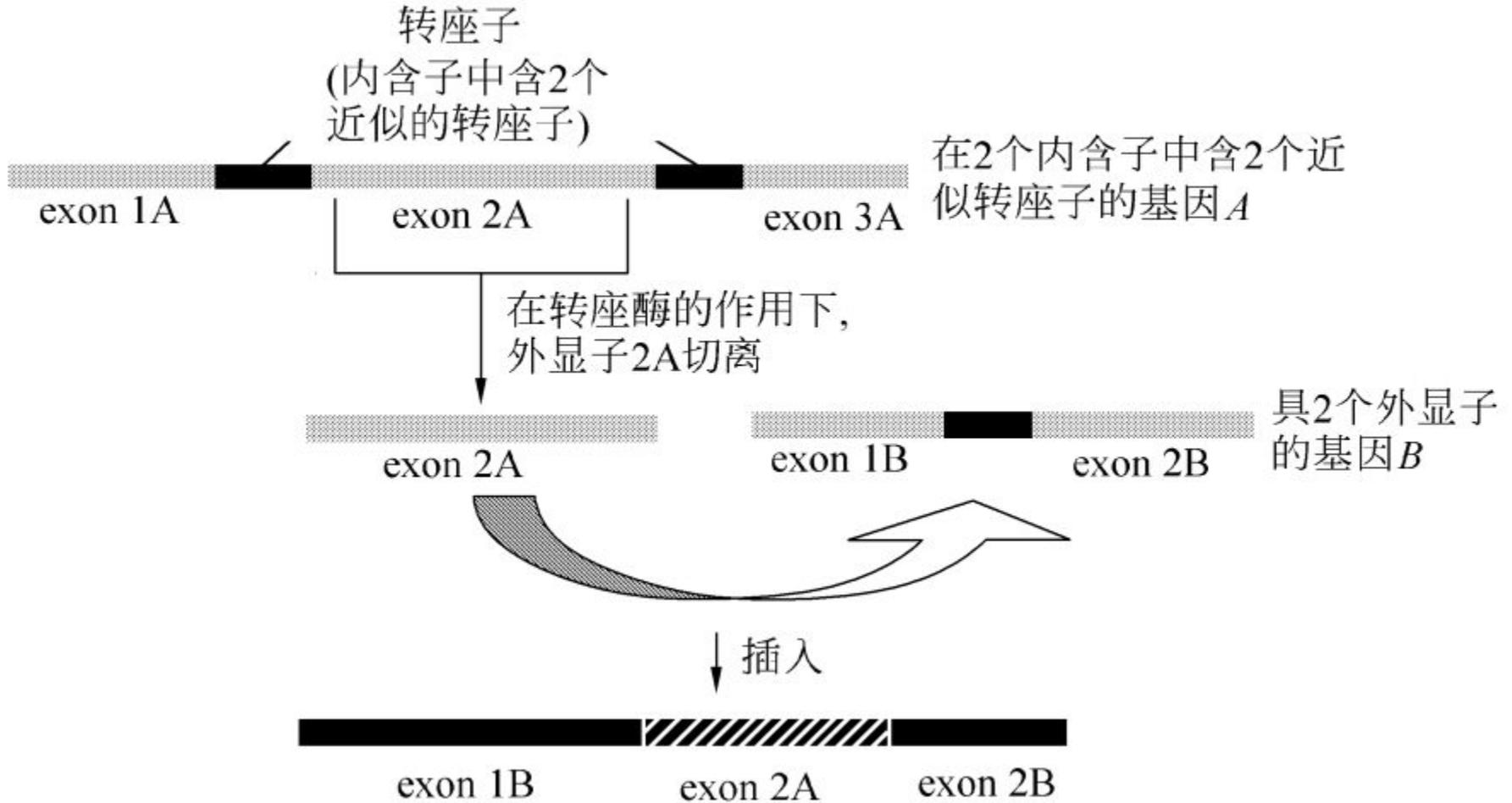
外显子改组

当两个转座子被同一转座酶识别而整合到染色体的邻近位置时，则位于它们之间的序列有可能被转座酶作用而转座。

如果这段DNA序列中含有外显子，则被切离并可能插入另一基因中，**这种效应称为外显子改组。**

外显子改组将导致基因组中新基因的产生。如果转座子插入内含子区，则有可能引起选择性剪接，从而**产生新的蛋白。**

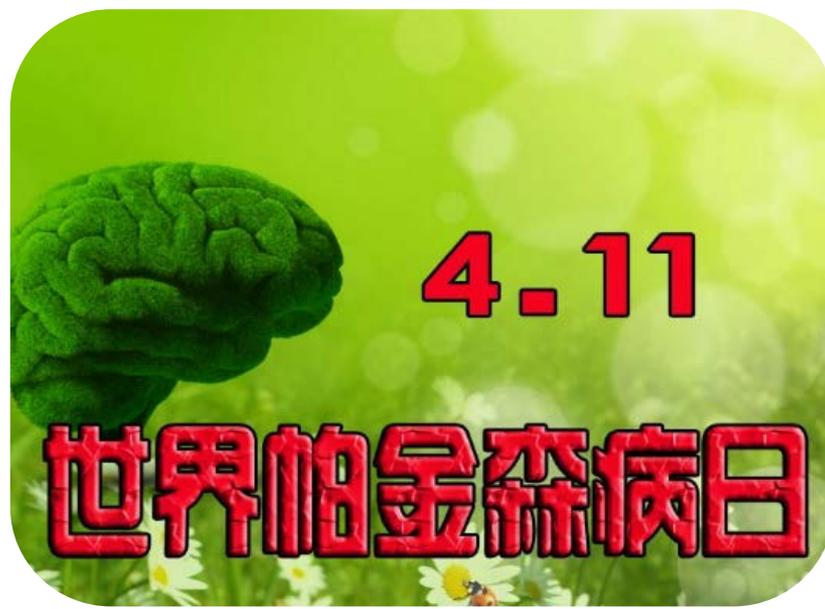
双转座子插入所引起的外显子改组示意图





引起DNA甲基化

研究发现，转座子在宿主基因表达的表观遗传调控中扮演着积极的角色。如SVA插入到X染色体的TAF1基因的第32个内含子中，并伴有SVA DNA甲基化，从而导致TAF1 mRNA表达的减少，继而影响许多神经元基因的转录，从而引起X连锁的肌张力障碍——**帕金森病**。



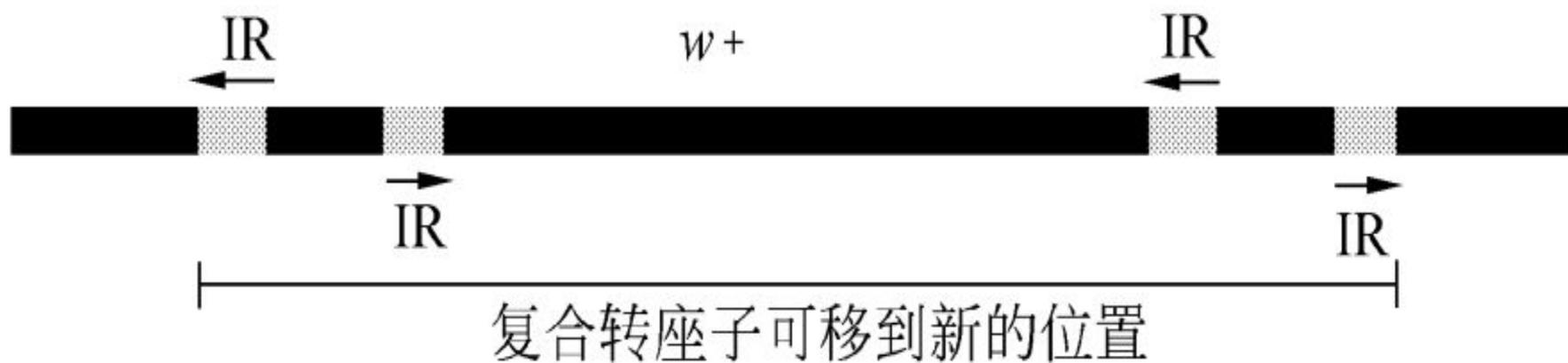


产生新的变异

如果同一转座子的两个拷贝位于同一染色体的相邻位置，转座酶识别外端的反向重复序列(IRs)，这样两个重复序列之间的整个单位将作为一个复合转座子转座，将导致其间的基因跳跃到新的位置上。

另外，由于转座子可以携带其他基因，包括自身的基因甚至宿主染色体上的基因进行转座，形成重新组合的基因组，以及前述的通过转座形成大片段插入，双转座子引起缺失、倒位、重复及外显子改组等均会造成基因组新的变异，这些变异对生物的进化有重要意义。

位于相同转座子之间的基因可作为复合转座子转座





转座的表观遗传调控



大量研究表明，在转录和翻译后水平上表观遗传机制对转座元件的调控起了相当重要的作用。如**利用甲基化使转座子的转座活性降低或失活。**



RNA干扰(RNAi)机制**在寄主对自身表达基因和转座子的控制方面起着重要的作用。**对于有活性的转座子，它是控制其无限转座的有效手段。



转座的表观遗传调控

转座子的沉默对基因组完整性的保持非常重要。沉默一旦启动，机体可以通过表观遗传方式“记忆”并保持转座子世代沉默。



转座子沉默的调控机制相当复杂。不同转座子、不同位置的转座子，其沉默机制不完全相同。



通过转座子沉默与激活机理的研究，可能将为我们进行动植物育种提供新的理论依据。





转座子的利用

转座子标签法(transposon tagging)



转座子标签法是转座子最早也是最常见的应用之一。

当利用转基因技术将转座子导入受体中，以转座子DNA为探针，与感兴趣的表型变异株的基因文库进行杂交，就可以筛选出带此转座子的克隆，它必定含有与转座子邻接的突变基因的部分序列，再以此序列为探针，就可以从野生型基因文库中克隆出完整的基因。

从理论上讲，利用转座子标签法可以分离出任何可引起表型变化的失活基因。



转座现象的危害

由于转座子可以进行无源性重组，因此可以将多种抗药性基因集中到一个质粒上，使宿主菌能抵抗多种抗生素，带有严重的医疗问题。

有可能产生超级细菌。

对付超级细菌的对策

万古霉素



抗菌肽



RNA药物





万古霉素

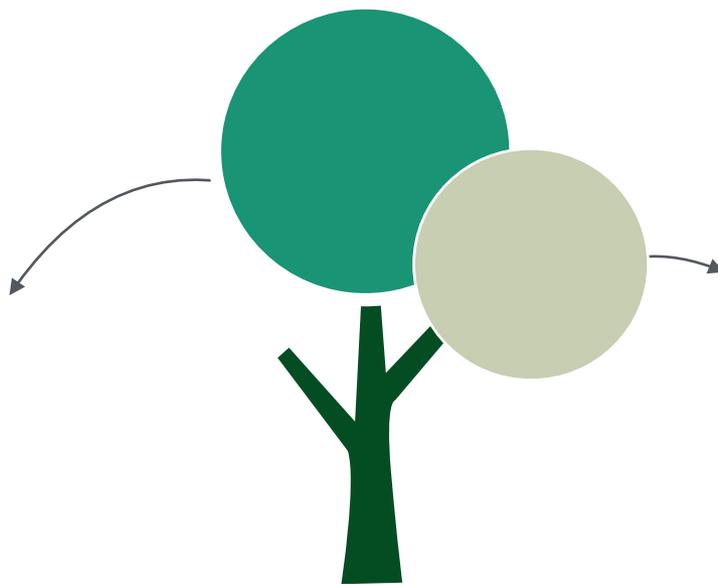
万古霉素

(Vancomycin)

是抗生素的一种，

其分子式为

$C_{66}H_{74}ClN_9O_{24}$ 。



万古霉素的药力较强，在其他抗生素对病菌无效时会被使用。



抗菌肽

一般认为抗菌肽杀菌机理主要是作用于细菌的细胞膜，破坏其完整性并产生穿孔现象，造成细胞内容物溢出胞外而死亡。

抗菌肽是生物体内经诱导产生的一种具有生物活性的小分子多肽，分子量在2000 ~ 7000左右，由20 ~ 60个氨基酸残基组成。这类活性多肽多数具有强碱性、热稳定性以及广谱抗菌等特点。



抗菌肽

目前，所有的常规抗生素都出现了相应的抗药性致病株系，致病菌的抗药性问题已经日益严重地威胁着人们的健康。

寻找全新类型的抗生素是解决抗药性问题的一条有效途径。

抗菌肽因为抗菌活性高，抗菌谱广，种类多，可供选择的范围广，**靶菌株不易产生抗性突变**等原因，而被认为将会在医药工业上有着广阔的应用前景。



RNA药物

利用RNAi (RNA interference) **原理**针对细菌的重要基因设计小的干扰 RNA, 使其表达沉默, 从而抑制细菌生长。

不易产生抗药性和耐受性。

优点

缺点

价格昂贵, 且如何有效给药, 防止RNA的降解是一个难题。





遗传重组的应用—基因工程

基因工程

是以分子遗传学为理论基础，以分子生物学和微生物学等现代方法为手段，利用DNA重组技术将不同来源的基因与载体DNA在体外进行重组，然后将这种重组DNA分子导入受体细胞，并使之在受体细胞内重组、增殖和表达，用以改变生物原有的生物学和遗传特性，获得新品种或生产新产品。

同时，基因工程技术为基因结构与功能的研究提供了有力的手段。



基因工程的步骤

- 01 获取目的基因或DNA片段。
- 02 基因表达载体的构建。
- 03 将目的基因导入受体细胞。
- 04 目的基因的检测与鉴定。
- 05 对基因工程生物的生态安全性和消费安全性进行评估。



基因工程对人类的影响

(1)在**农业**方面，用基因工程方法培育出了能抗病虫害、减少农药施用量且食用安全的作物。如转Bt基因（源自苏云金芽孢杆菌）的玉米和马铃薯。

(2)在**转基因动物育种**方面，利用基因工程可以改良动物的经济性状，并通过转基因动物进行药物或蛋白质的生产等。如**美国已批准转基因三文鱼用于人类消费**。

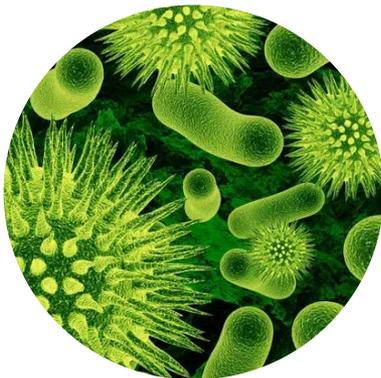




基因工程对人类的影响

(3)在**工业及环境保护**方面，基因工程技术为解决人类目前所面临的与人类前途生死攸关的环境保护问题提供了可能性。如利用转基因微生物分解纤维素，生产生物乙醇。

(4)在**医药卫生领域**，利用基因工程可以生产基因工程药物，发现新药，改进药物生产工艺等。如自1982年重组人胰岛素在美国上市以来，每年平均有3-4个新药或疫苗问世。

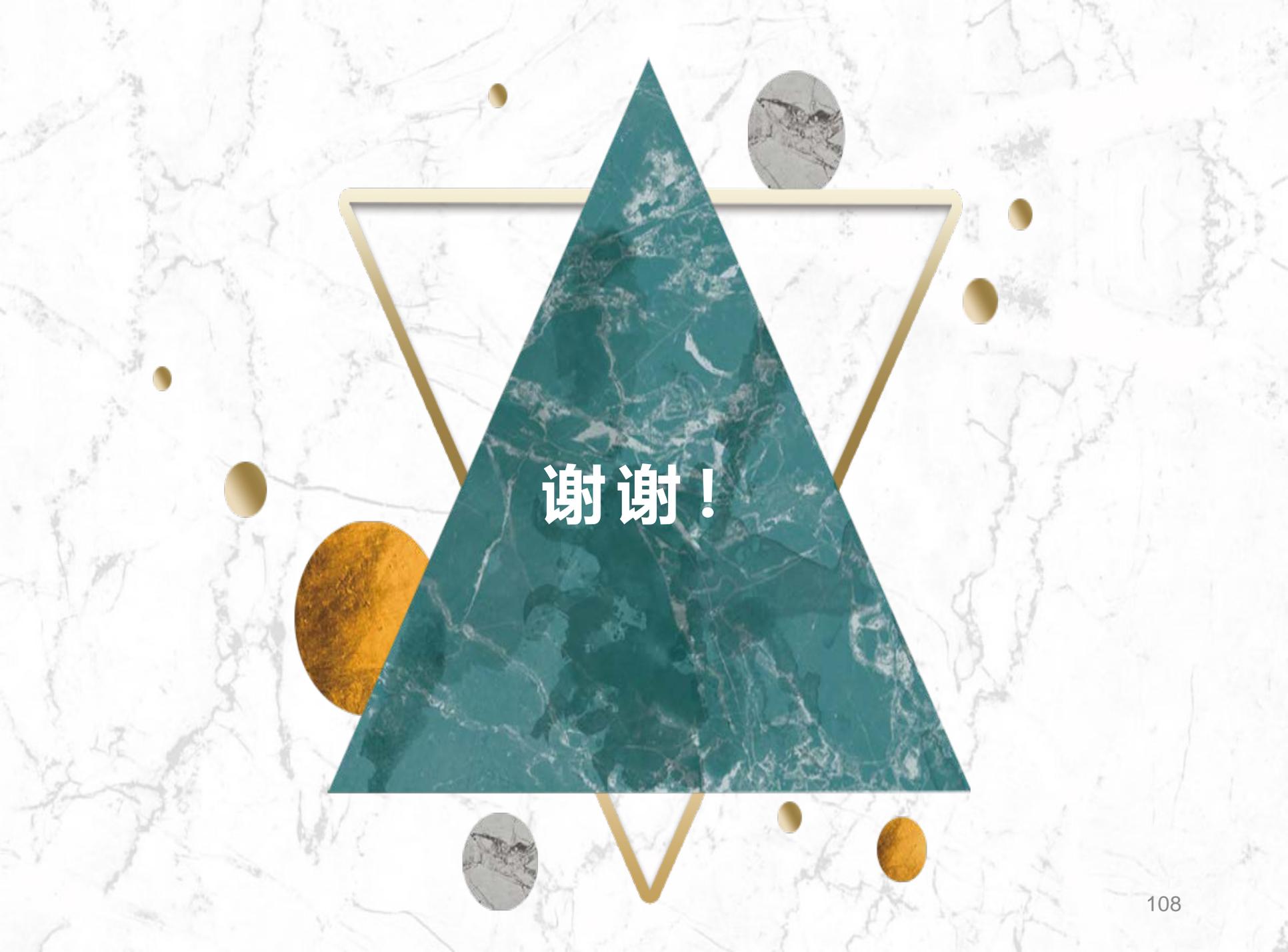




基因工程对人类的影响

(5)在**基因治疗**方面，利用基因工程可以向有缺陷的细胞补充具有相应功能的基因，以纠正其基因缺陷，达到治疗目的。如1990年美国对一名患有遗传性腺嘌呤核苷脱氨酶(ADA)缺陷的四岁女孩实施了基因治疗。目前对ADA缺乏症、乙型血友病、糖尿病等病的基因治疗已取得长足进展，并已扩大到肿瘤、心血管疾病、神经系统疾病等的治疗。





谢谢!