

第五节 位点专一性重组

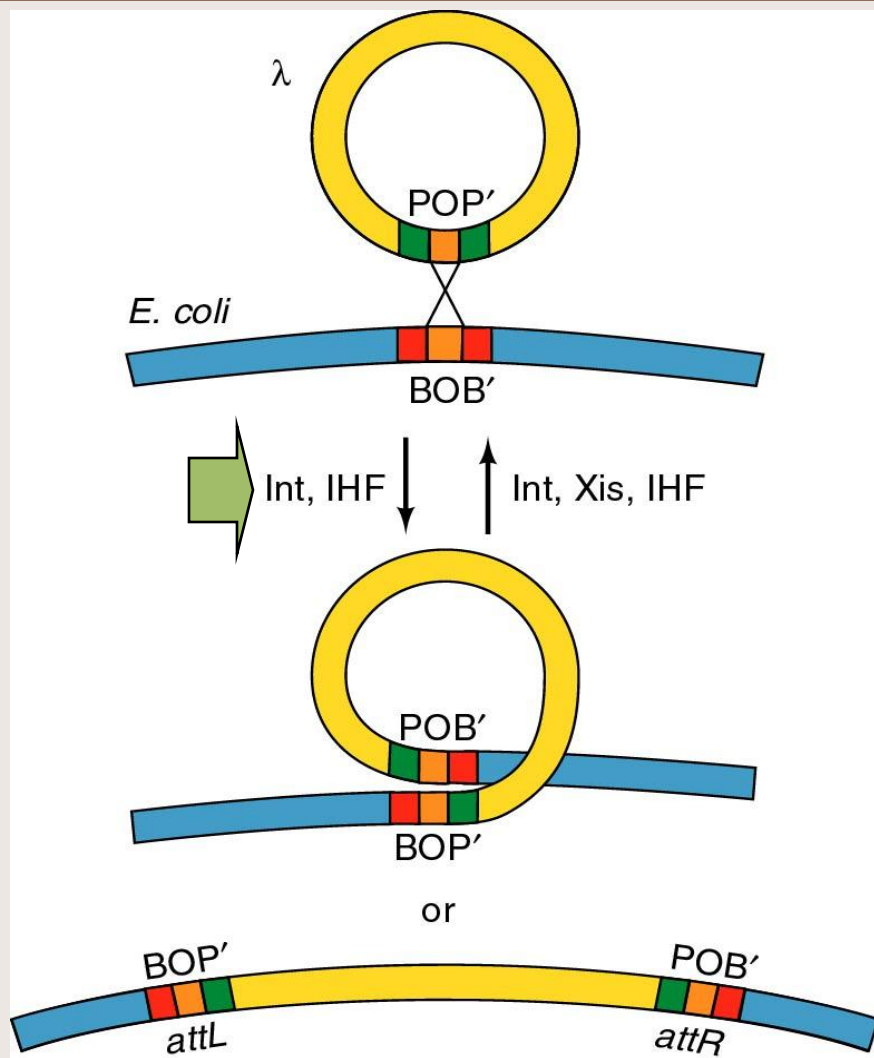
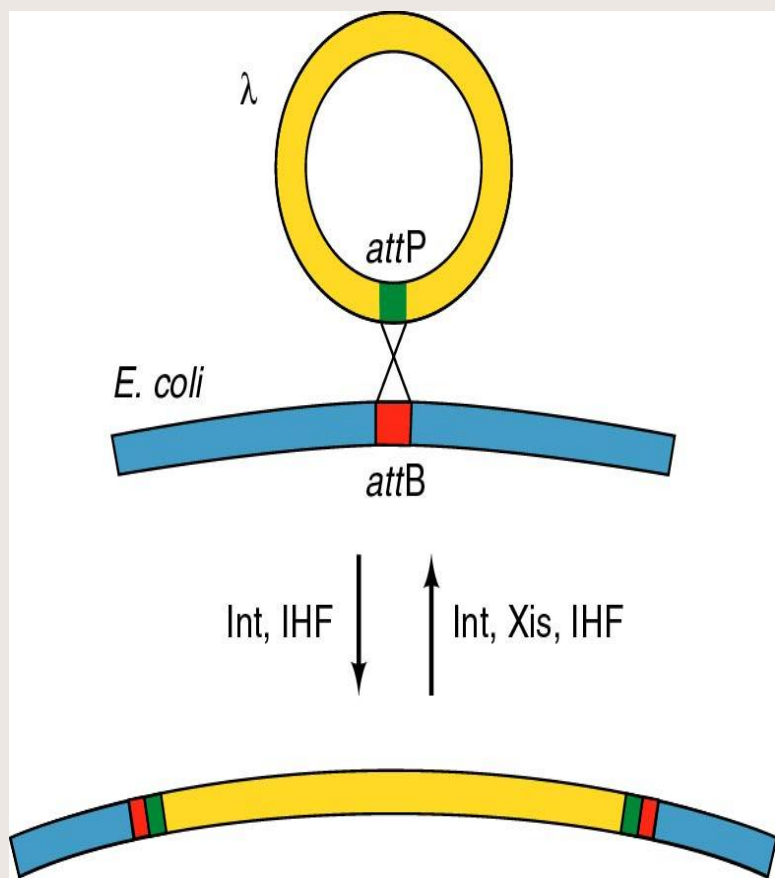
- 一、 λ 噬菌体的整合和切除

λ 噬菌体: **attP** **POP**、

大肠杆菌: **attB/ att λ** **BOB**、

1. 整合:

2. 切除:



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

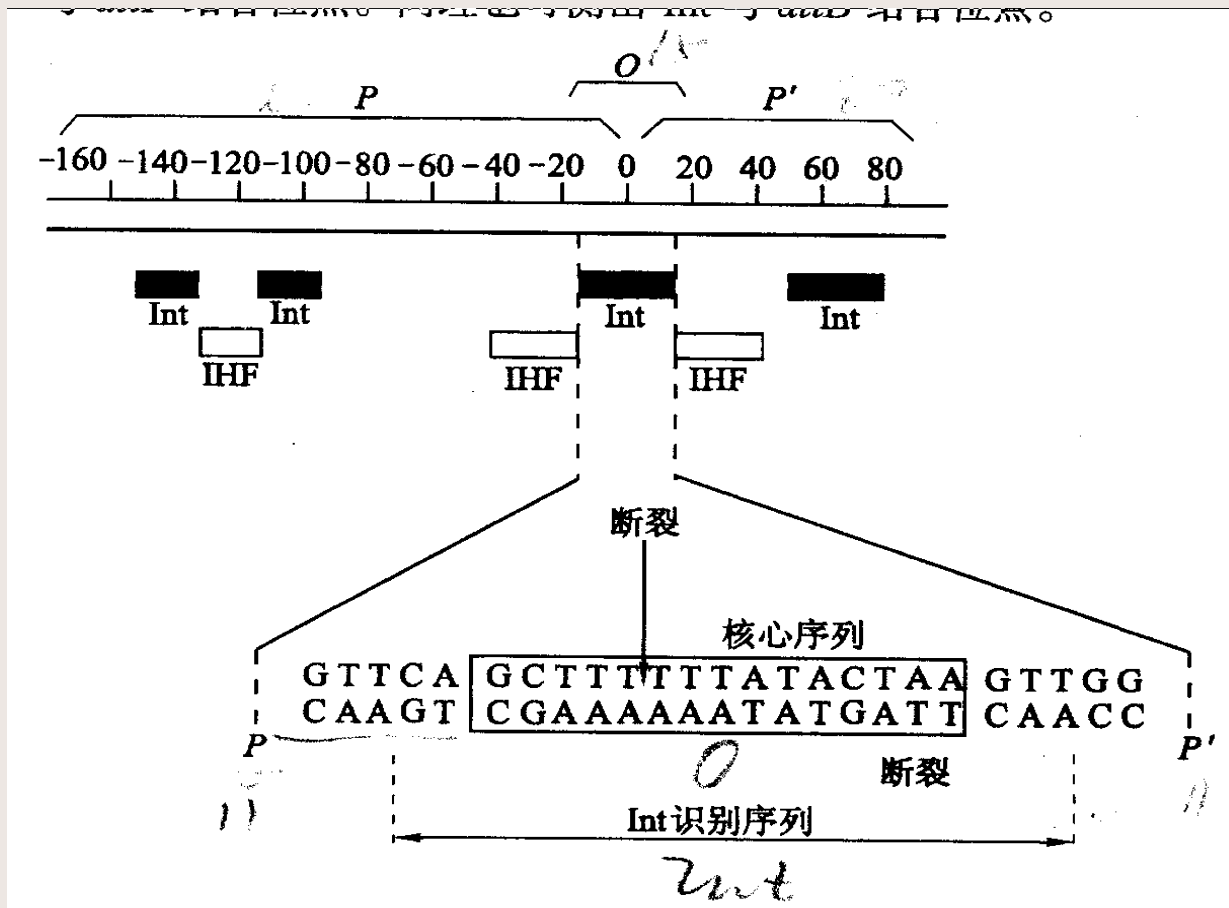
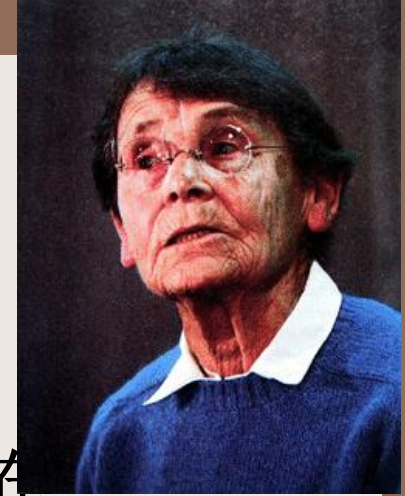


图 8-13 attP 上 Int 和 IHF 的结合点
 (Int 结合于核心序列处的识别点包括断裂点)

第六节 异常重组—转座遗传因子

染色体DNA上某些序列可以移动到基因组的其他位置上去——转座元件或转座子

一、转座元件的发现



1950年麦克林托克 (McClintock) 认为存在着一种**转座因子** (transposable elements)

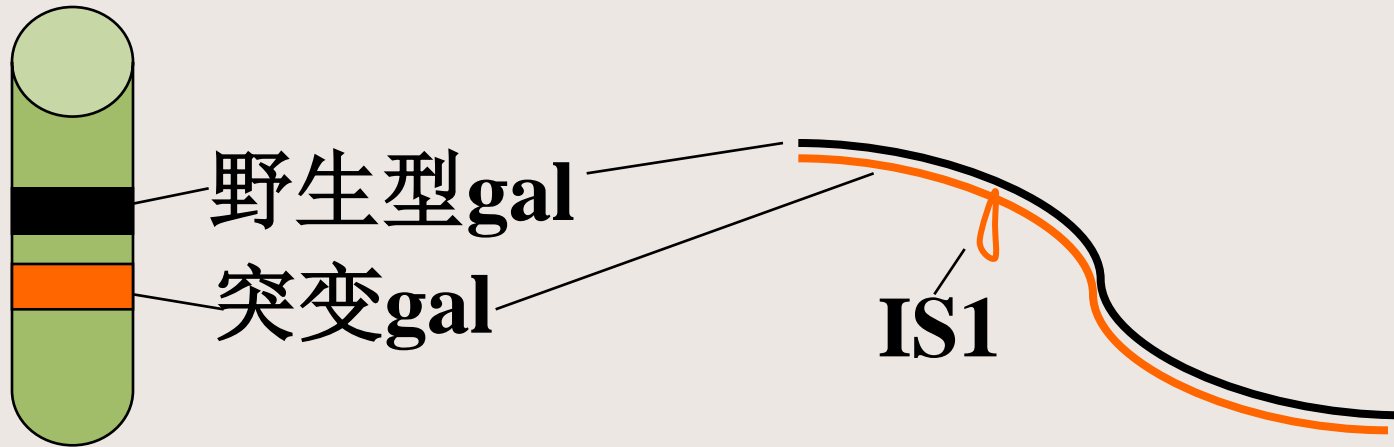
20世纪70年代夏皮罗 (Shapiro) 用 *E. coli* 乳糖操纵子突变株进行杂交分析后, 才确认转座子的存在

半乳糖操纵子

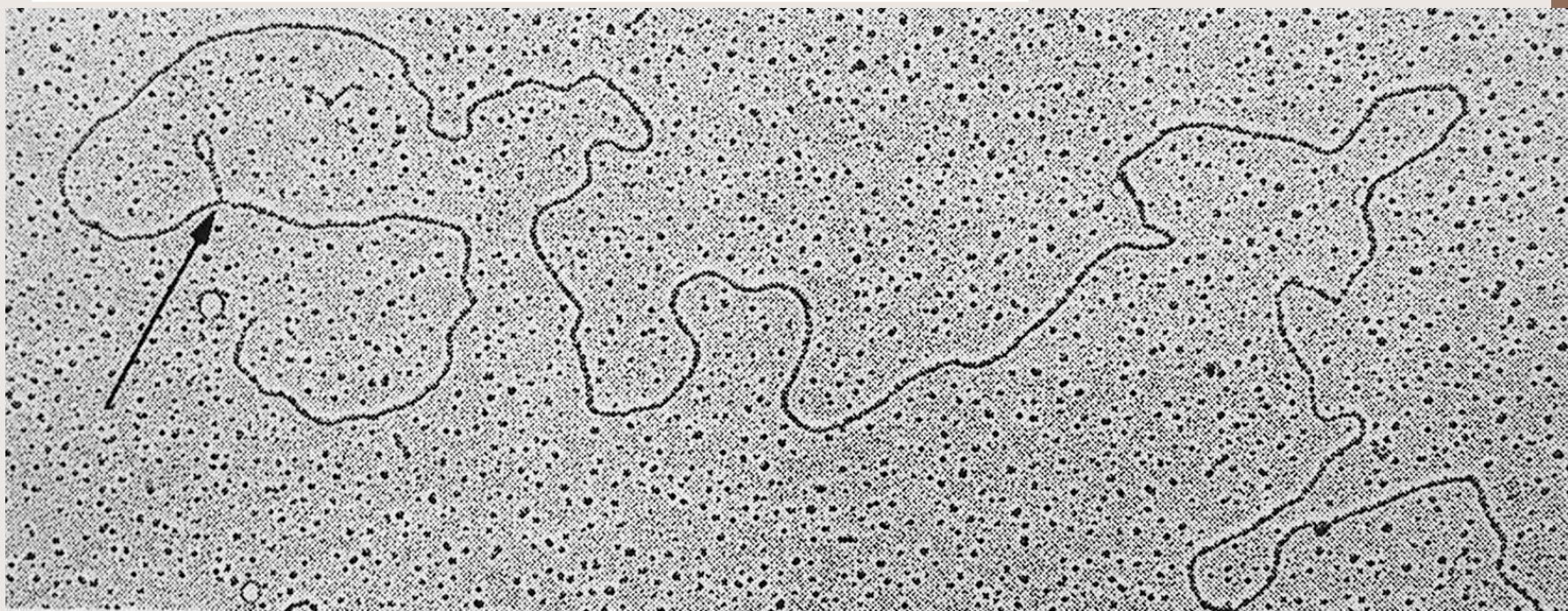
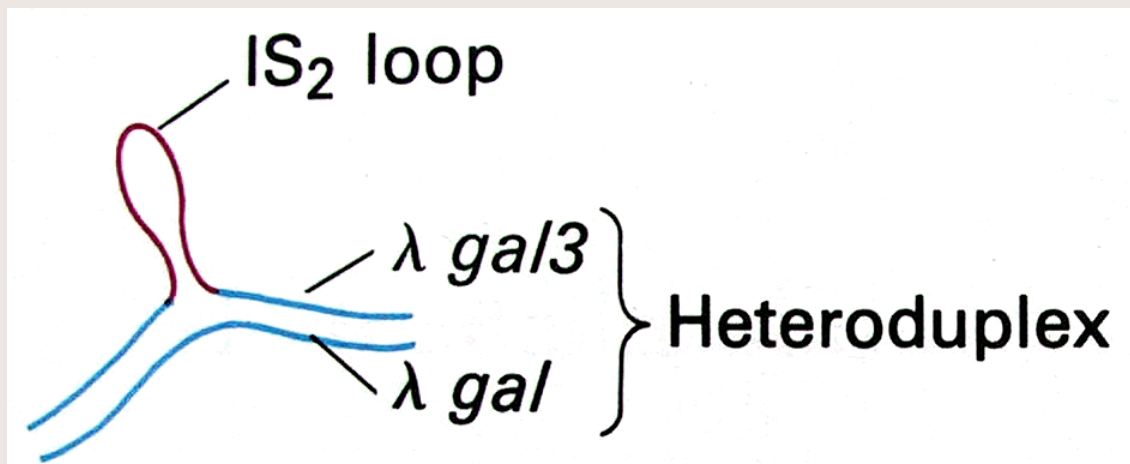


密度梯度离心和分子杂交实验，证实突变的DNA中确实有插入片段。

称之为IS1 (insertion sequence1)



含有IS2的半乳糖操纵子与野生型DNA杂交



二、原核细胞转座子

1、插入序列 IS(insertion sequence,)

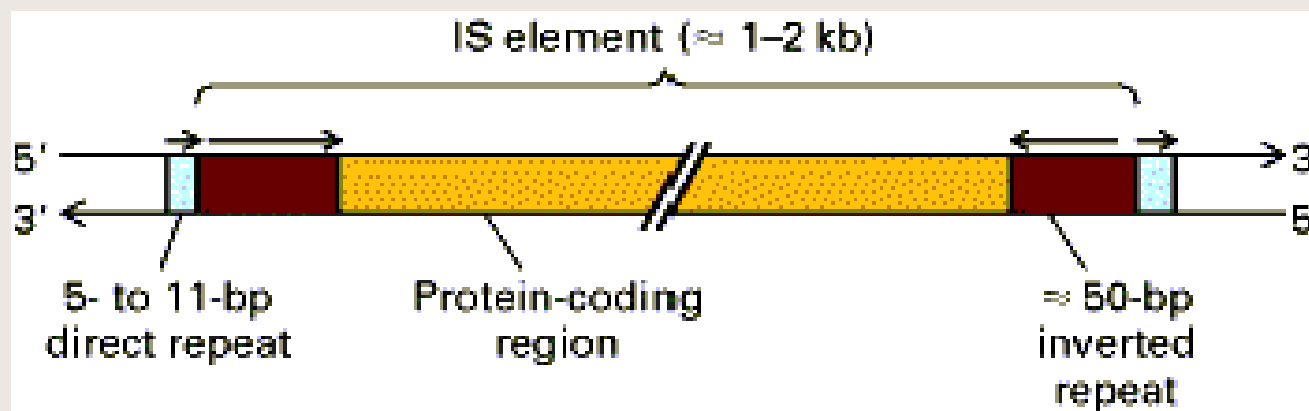
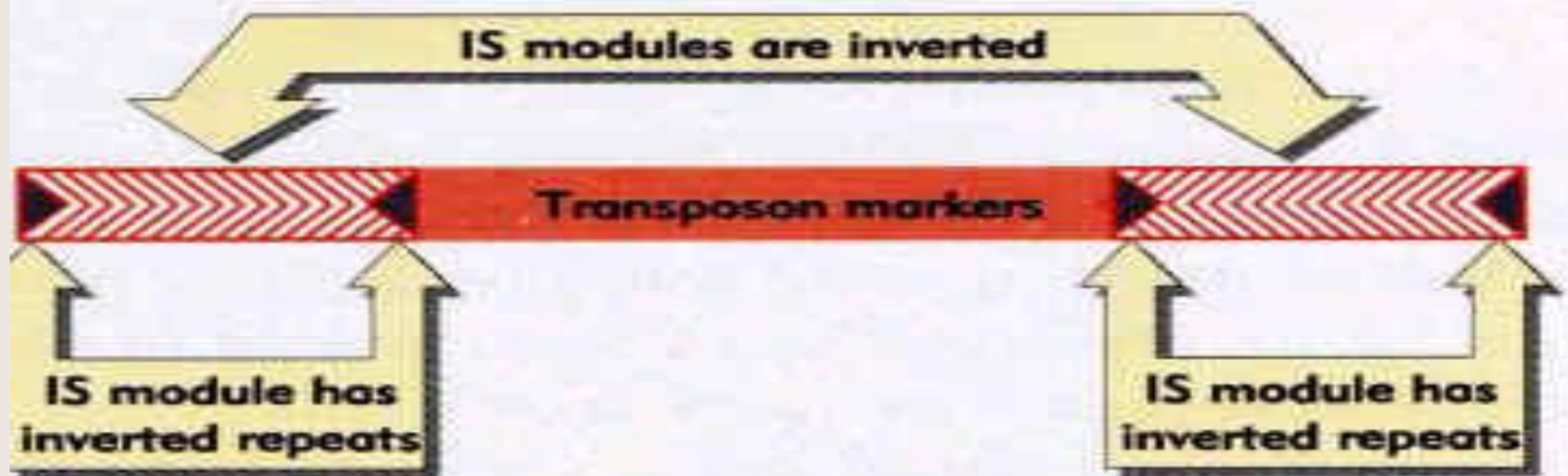


Figure 34.2

A composite transposon has a central region carrying markers unconnected with transposition (such as drug resistance) flanked by IS modules. The modules have short inverted terminal repeats. If the modules themselves are in inverted orientation (as drawn), the short inverted terminal repeats at the ends of the transposon are identical.



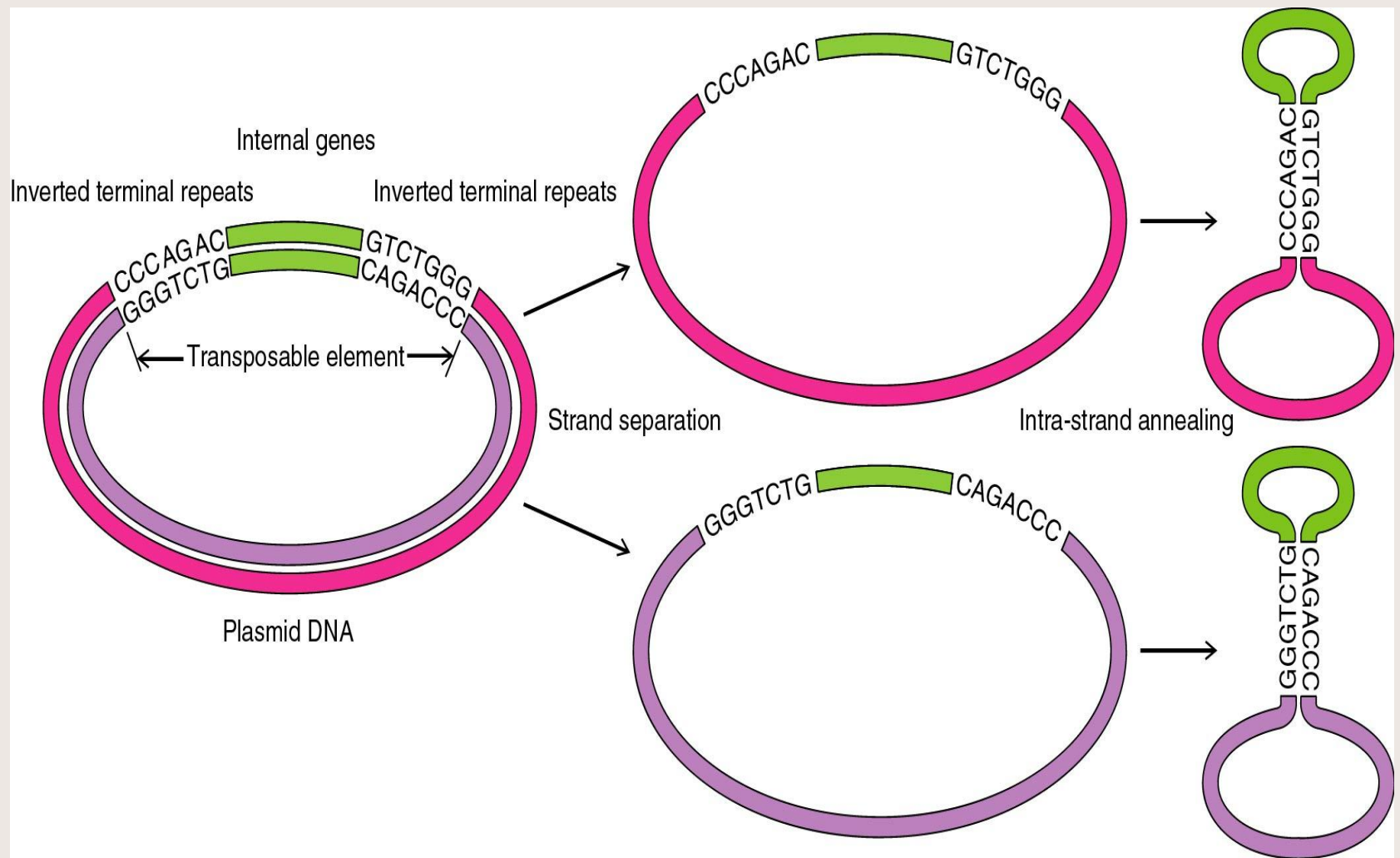
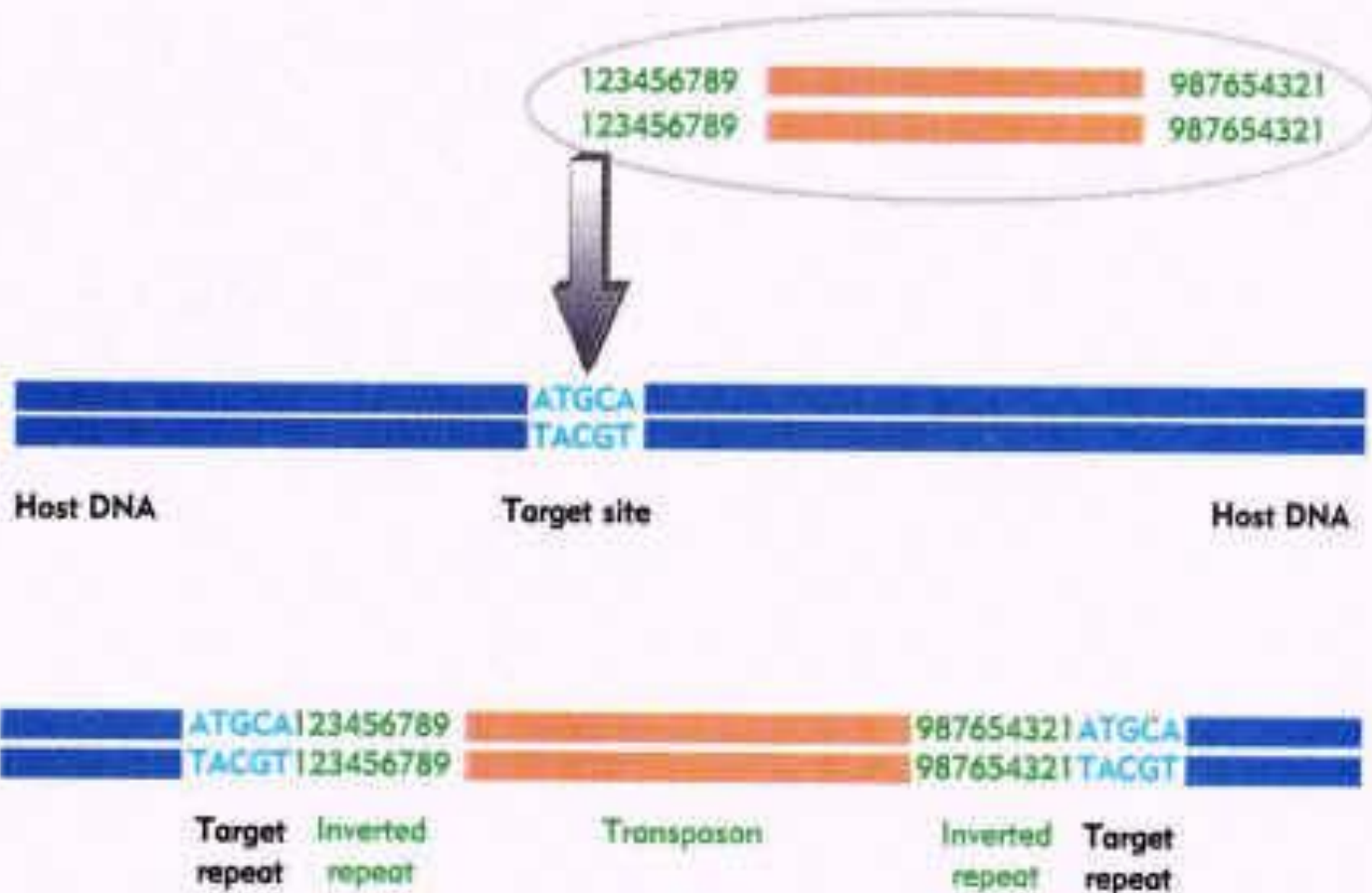
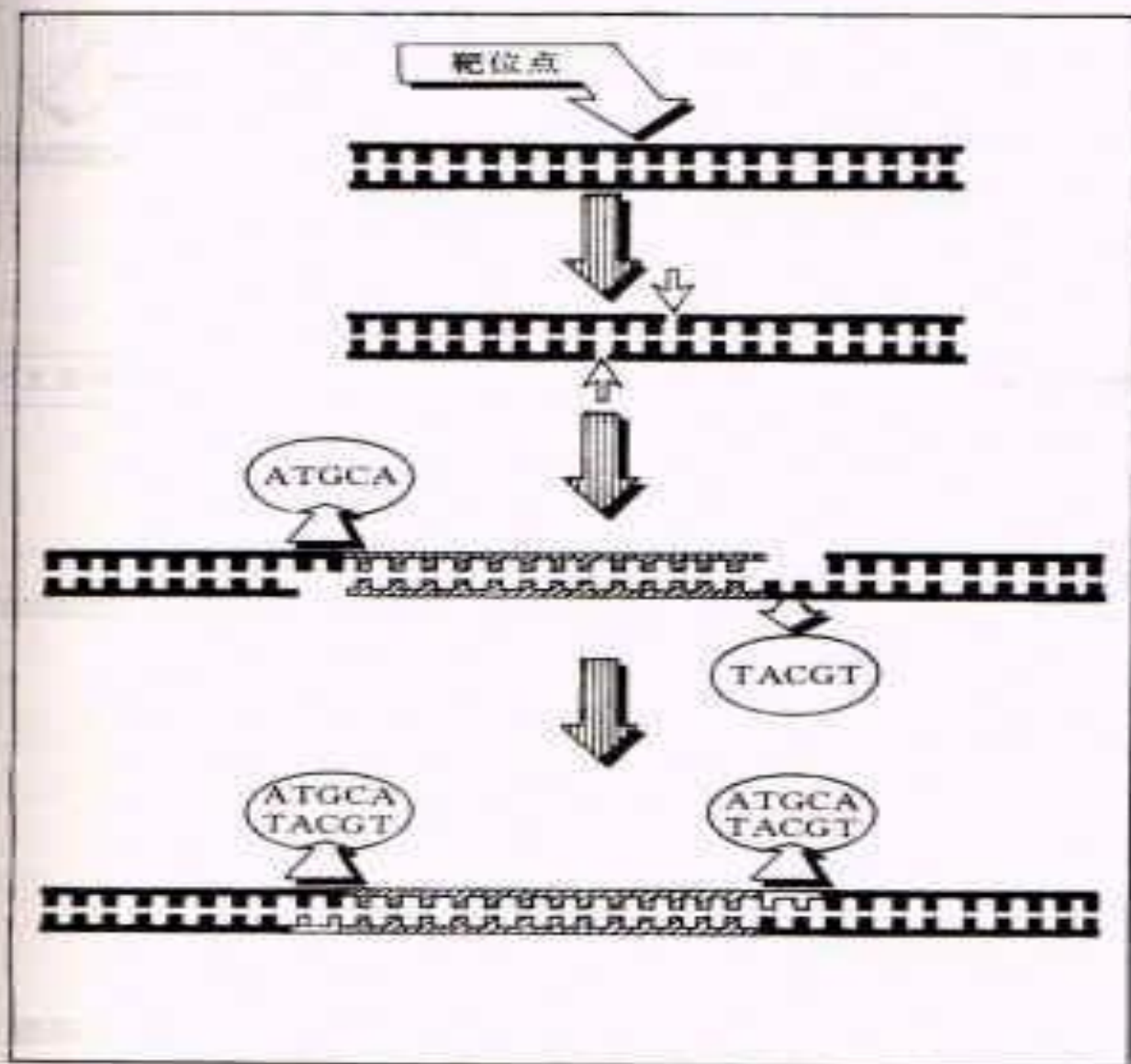


Figure 34.1

Overview: transposons have inverted terminal repeats and generate direct repeats of flanking DNA at the target site. In this example, the target is a 5 bp sequence. The ends of the transposon consist of inverted repeats of 9 bp, where the numbers 1 through 9 indicate a sequence of base pairs.





靶位点特征粘性
末端切割

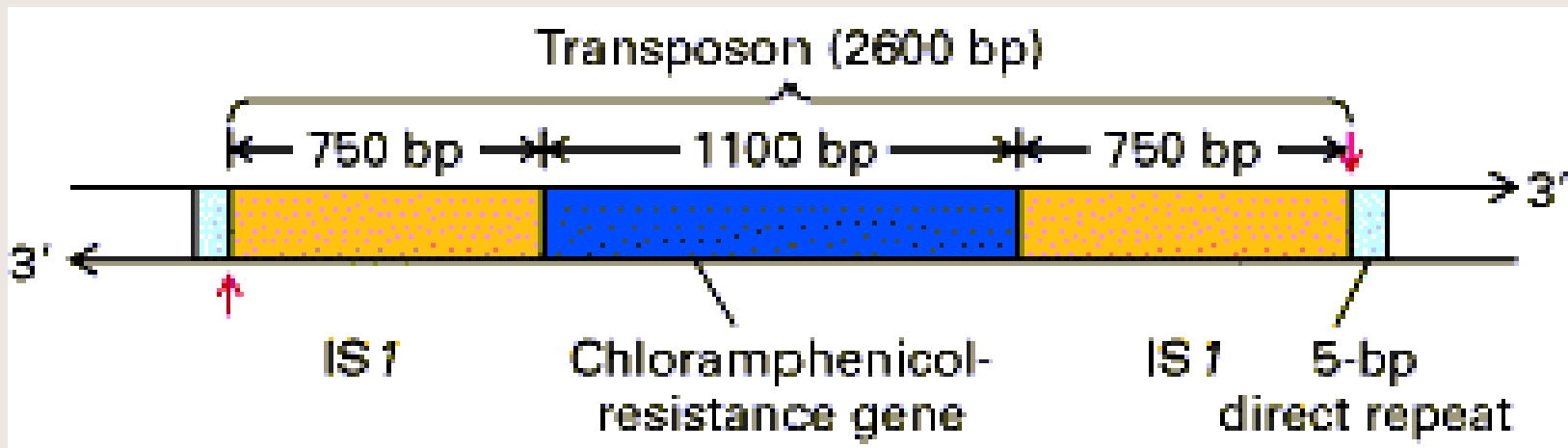
形成具有单链粘性
末端的转座子

粘性末端复制形成
直接重复序列

图 2-14 靶位点直接重复序列的形成

2. Tn转座子 (transposon elements)

又称为Bacterial transposons、复合转座子。



3、转座噬菌体

三、真核生物转座子

1、果蝇中的转座子——P因子（P element）

缺失型P因子

全长P因子

P element的结构

- ① 4个开放阅读框（ORF）
- ② 3个内含子（I）
- ③ 两端各一个反向重复（IR）



- 只在生殖细胞中实现转座。
- 在体细胞中虽然也转录，但转录出的产物没有转座酶活性！

在生殖细胞中



↓ 转录、剪切

mRNA



↓ 翻译

转座酶



↓
87kDa转座酶：使P因子转座。导致不育。

在体细胞中



↓ 转录、剪切

mRNA



↓ 翻译

66kDa蛋白

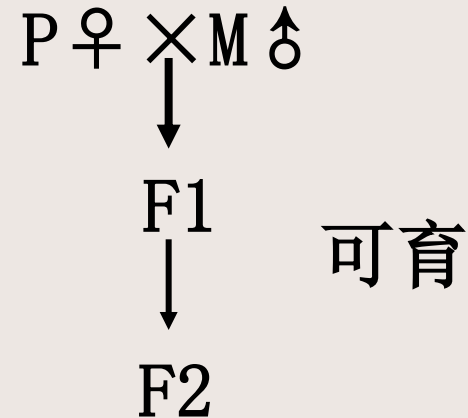
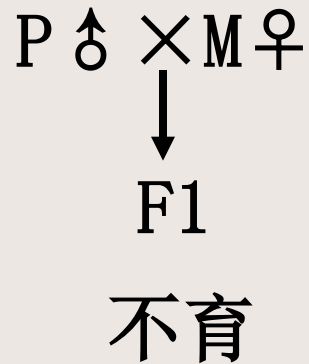


这个66kDa蛋白的功能恰好是个抑制转座的抑制物。（在P型雌果蝇的卵细胞质中大量存在，而且稳定；M型雌果蝇中没有）。

果蝇杂交不育 (hybrid dysgenesis) :

P型果蝇 (paternal contributing) 含p因子

M型 (maternal contributing) 不含p因子:



2. 玉米转座子Ac-Ds



紫色、花斑色、白色



- 如果有C基因，胚乳合成色素，呈紫色；
- 如果C突变（c），胚乳无色素，呈白色。

C 突变为 c 是由于一个“可移动的控制因子”（transposable controlling element）的插入引起的，她称之为 Ds （dissociator）。

(a) In absence of Ac , Ds is not transposable.
Wild type expression of W occurs



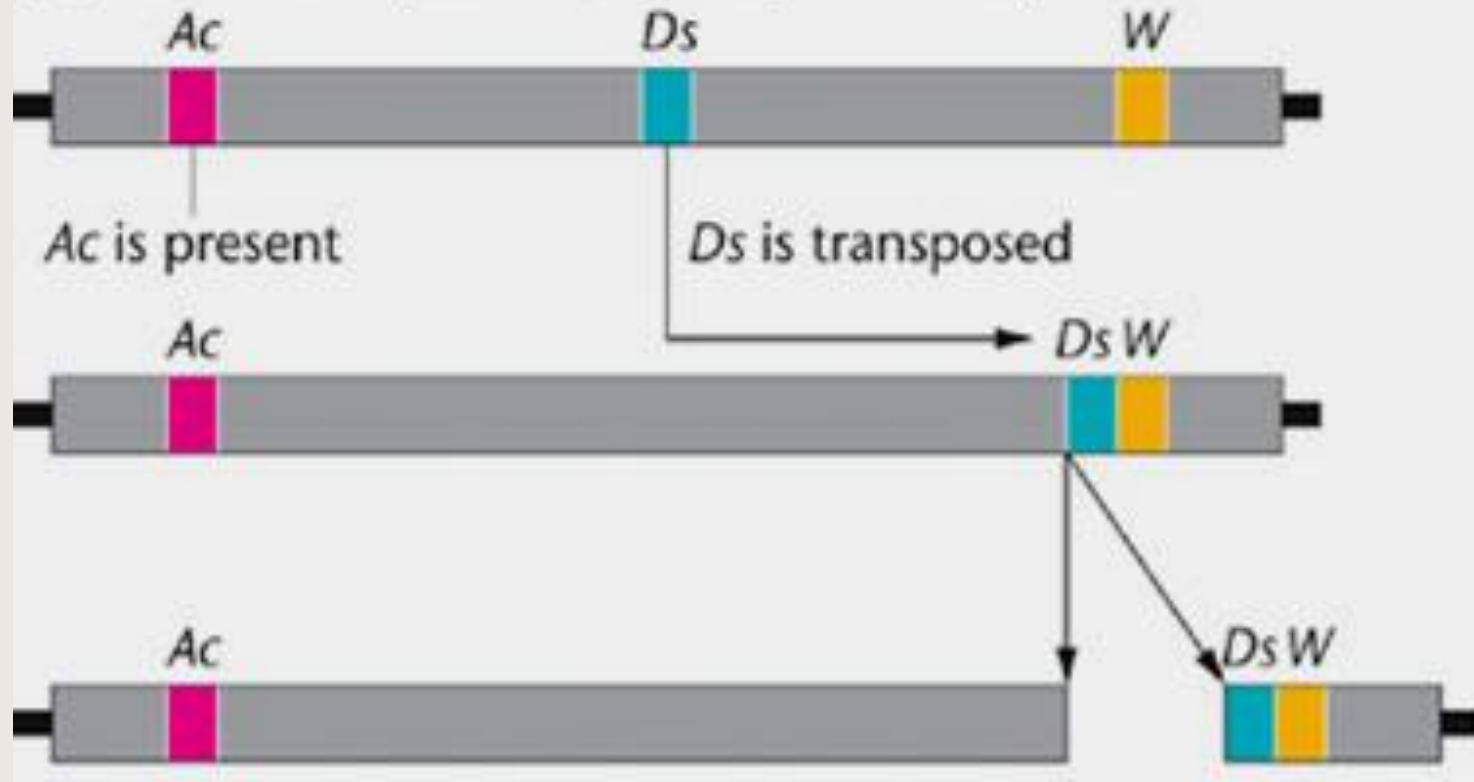
W: white (C基因)

玉米色斑，大小不一

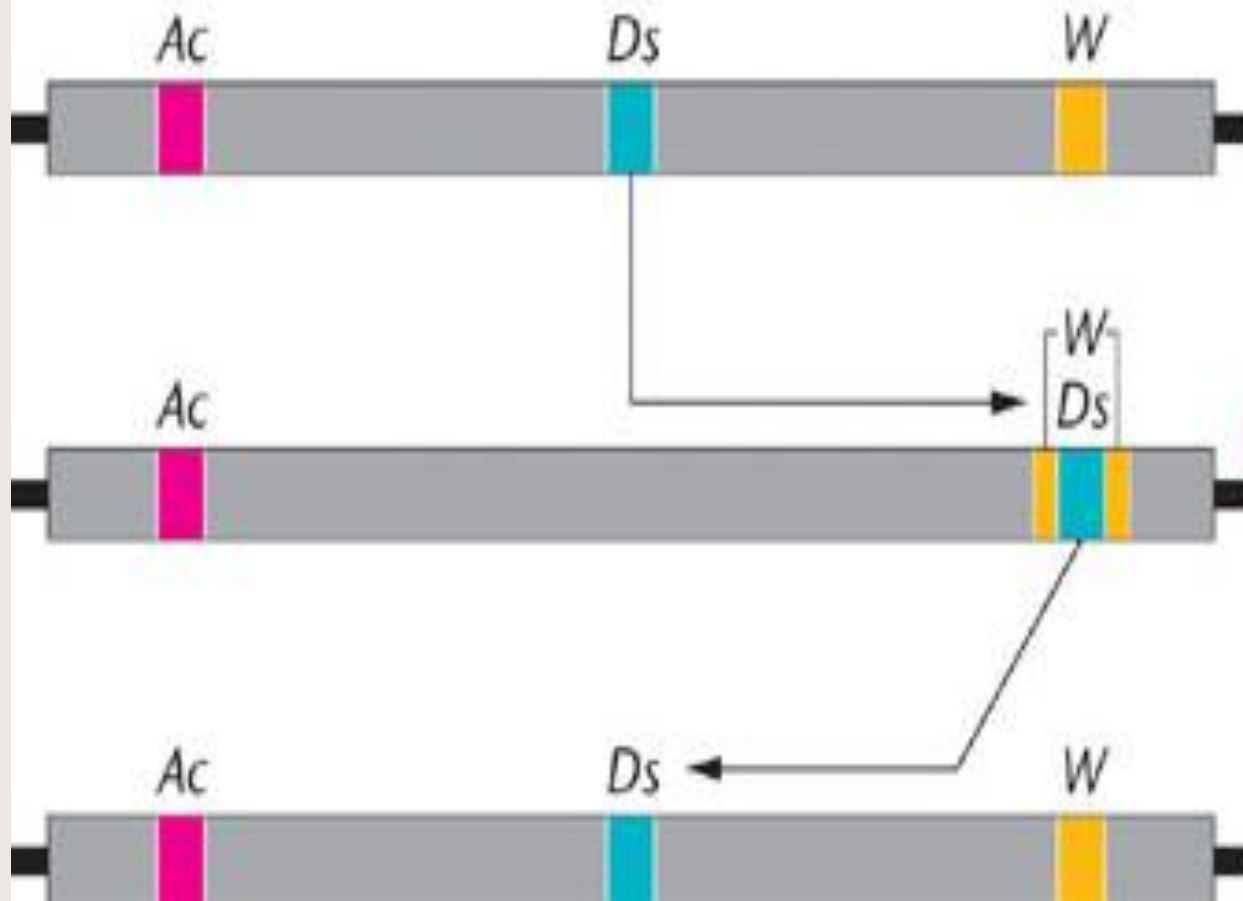


激活因子Ac

(b) When Ac is present, Ds may be transposed



(c) *Ds* can move into and out of another gene



Ds is transposed into *W* gene.
W gene is inhibited,
producing mutant effect

Ds "jumps" out of *W* gene.
Wild-type expression
of *W* is restored

四、转座机制

(1) 复制型转座

(replicative transposition)

(2) 非复制型转座

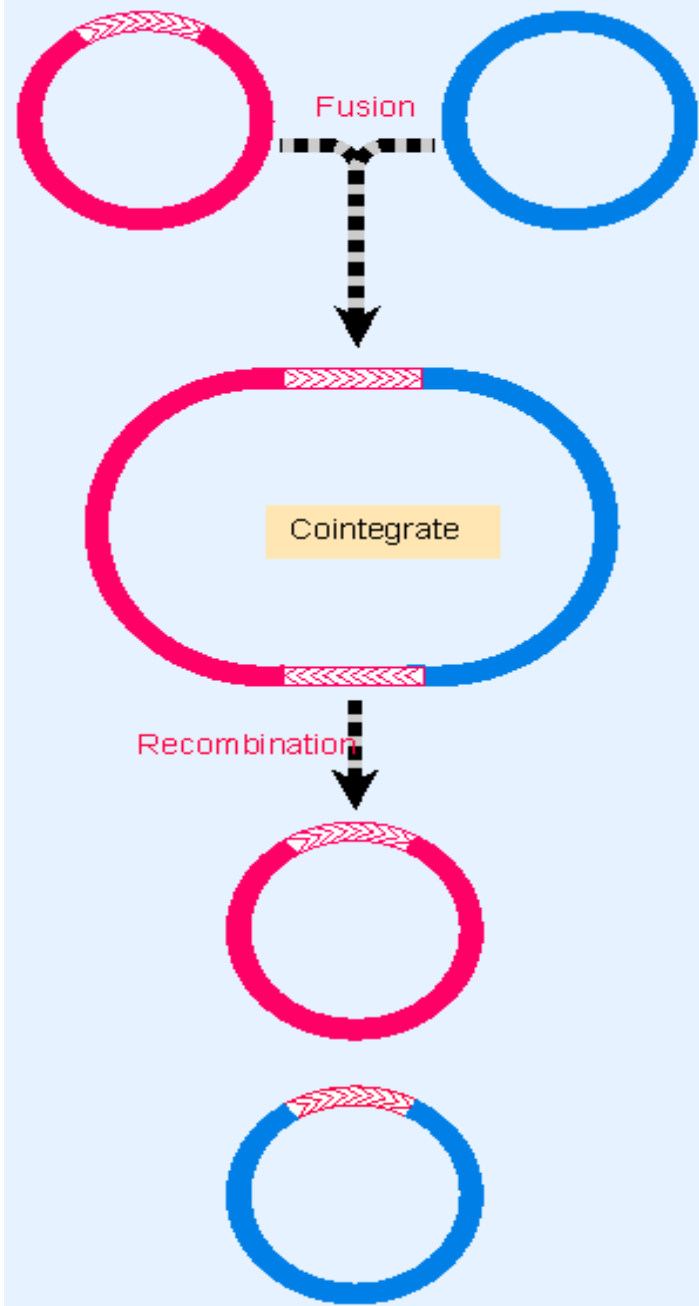
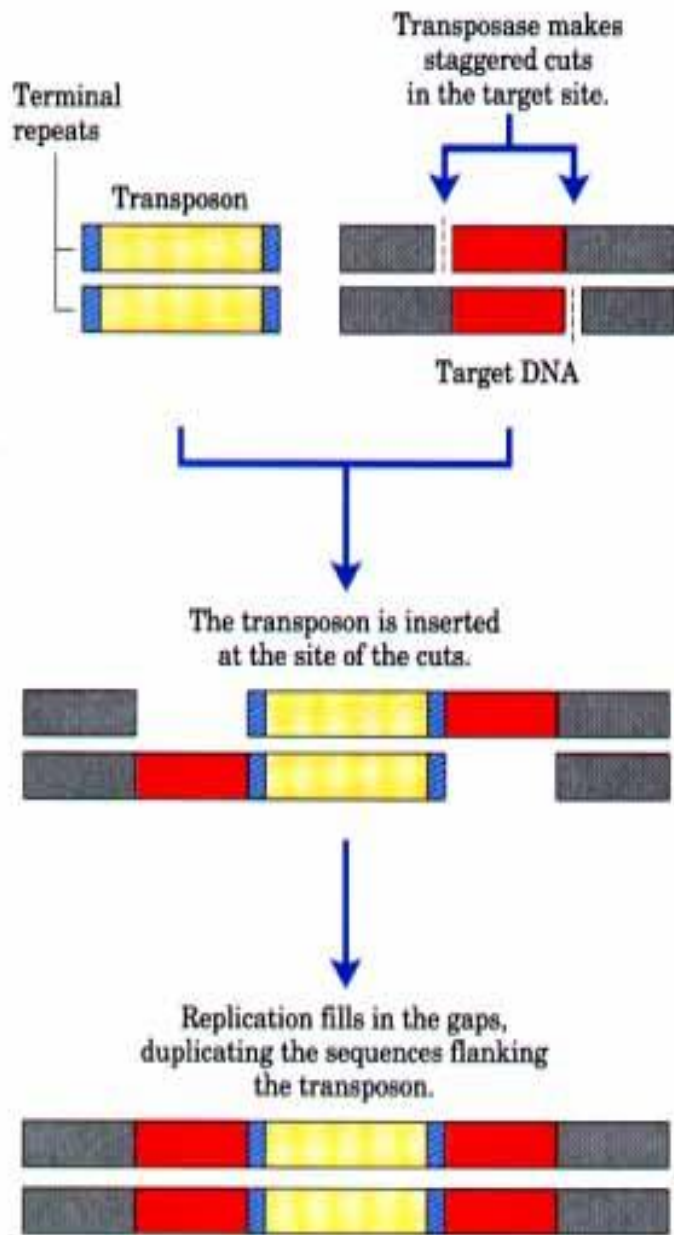
(nonreplicative transposition)

(3) 保守转座

(conservative transposition)

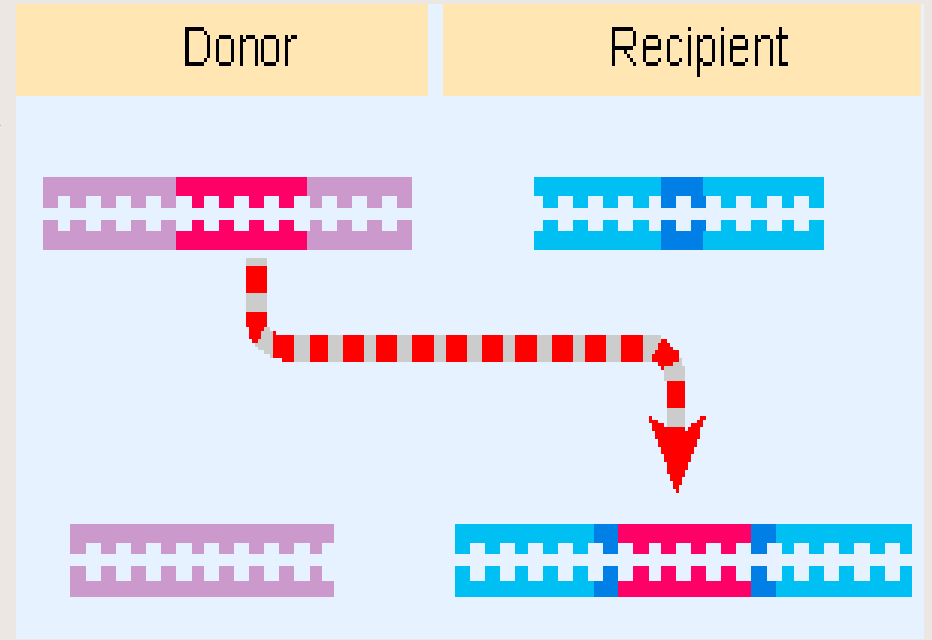
• DNA转座

♪复制转座



♪ 保守转座

杂种分子形成后



细菌中,转座子切除后留下的空缺不能修复,供体分子降解

真核生物中,空缺由双链断裂重组修复

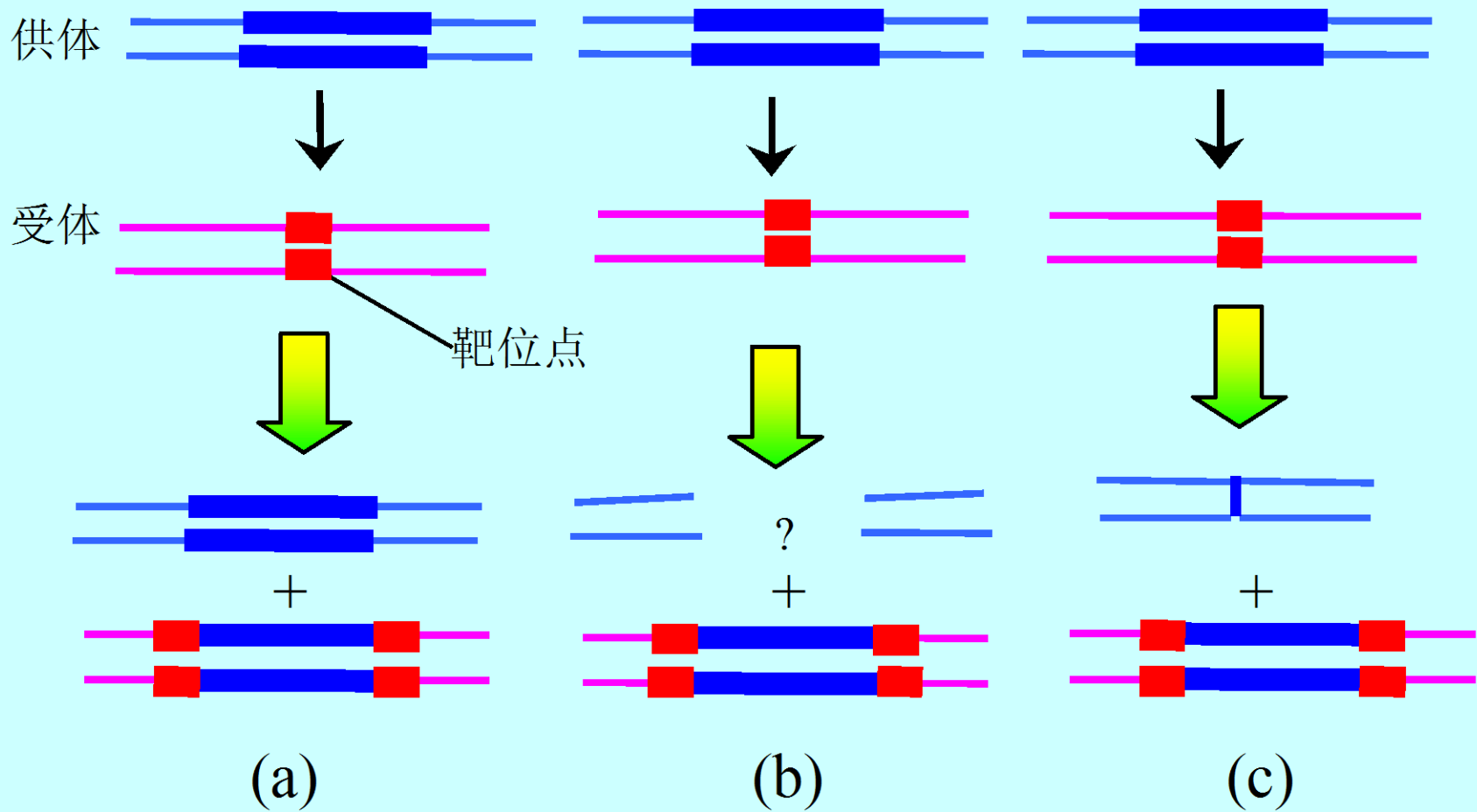


图 23-35 三种不同的转座机制: (a)复制性转座;(b)非复制性转座;
(c) 保守性转座.

五、转座的遗传学效应

- ◆插入突变
- ◆产生新的基因；
- ◆染色体畸变
- ◆生物进化

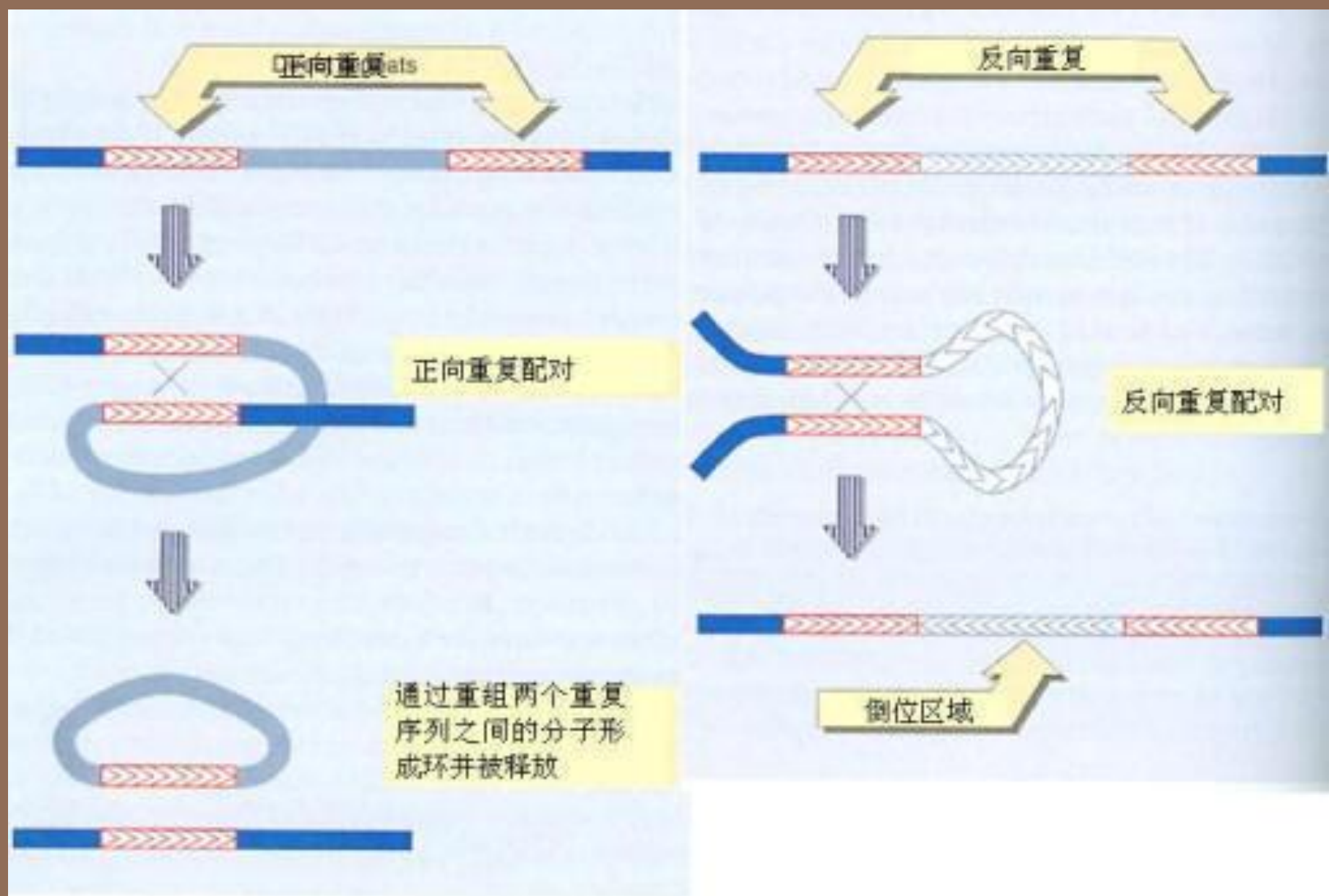


图 19-23 正向重复之间 (a) 和反向重复之间 (b) 的重组结果 (引自 Lewin, 2000)

转座子导入植物细胞



获得目的性状突变株系



构建核 DNA 文库



用转座子序列作探针进行杂交



分析转座子两侧序列并且以此为探针

转座子标记克隆示意图

野生型植物核 DNA



构建核 DNA 文库



完整的目的性状基因