

植物 LTR 类反转录转座子在植物基因组学研究中的应用

郭玉双¹, 陈 静¹, 张建华², 李祥羽³, 胡重怡¹, 任学良¹

(1. 贵州省烟草科学研究所, 贵州 贵阳 550081; 2. 浙江大学 环境与资源学院, 浙江 杭州 310058; 3. 黑龙江省农业科学院 作物育种研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: LTR 类反转录转座子是植物基因组中的重要转座元件, 对植物基因组的结构及功能有重要的影响。综述了近年来植物 LTR 类反转录转座子的类型和结构、在基因组中表达和调控, 并探讨了它们在植物基因组学研究中的应用前景。

关键词: 植物基因组; LTR 类反转录转座子; 表达调控; 基因组学

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2011)11-0139-04

转座子是一类可在植物中移动的遗传元件, 通常可分为两种类型, 第一种类型如研究最早的存在于玉米基因组中的 Ac/Ds 和 Spm/En 转座系统, 是以 DNA 为中介, 在植物基因组中是以“剪切-粘贴”的方式移动, 这种转座方式并不增加植物基因组的大小; 第二种类型则是以 RNA 为中介, 在植物基因组中是以“复制-粘贴”的方式移动, 称为反转录转座子, 该种转座方式可导致宿主基因组的扩增。目前, 反转录转座子在植物基因组组成、表达调控以及在植物基因组学研究中的应用已受到广泛关注。

1 反转录转座子的类型与结构

反转录转座子是真核生物中最为广泛的转座因子, 在植物基因组中占有极大的比例, 在水稻中占 18%, 在玉米中占 50%~80%, 在小麦中达 90%^[1]。反转录转座子根据其 5' 端和 3' 端是否有重复序列首先可被分为两类: 长末端重复反转录转座子(long terminal repeats, LTRs)和非长末端重复反转录转座子(non-long terminal repeats, non-LTRs)。LTR 反转录转座子又可分为 Ty1-copia 与 Ty3-gypsy 两个亚类。而非长末端

重复反转录转座子根据长度和组成的不同又分为 LINEs(long interspersed nuclear elements)和 SINEs(short interspersed nuclear elements)两种类型^[2](见图 1)。

长末端重复反转录转座子在转座子的 5' 端和 3' 端有一对同向高度相似的序列, 长度从几百 bp 到几千 bp 不等。重复序列中通常含有一些调控元件, 主要包括反转录转座子转录需要的启动子和终止子, 长末端反转录转座子通常由 RNA 聚合酶 II 转录, 从 5' 端开始, 结束于 3' 端。Ty1-copia 与 Ty3-gypsy 两类反转录转座子都编码一个多聚蛋白(polyprotein), 该蛋白可被蛋白酶切割形成有功能的多肽, 称为 gag 和 pol。其中 gag 编码结构蛋白负责包涵反转录转座时的 RNA 中间体, 而 pol 则编码反转录转座子生活周期中的一些酶类。Ty1-copia 与 Ty3-gypsy 中这些酶在 pol 中的顺序并不一样^[3]。目前已发现的具有活性或潜在转座活性的植物 LTR 类反转录转座子见表 1。

非长末端重复反转录转座子没有两端的 LTR 序列, 在 3' 端以 poly(A) 结尾(见图 1)。LINEs 和长末端重复反转录转座子类似, 也是 RNA 聚合酶 II 转录而来, 具有 gag 和 pol 等机构蛋白。通常认为 LINE 是长末端重复反转录转座子的前体。SINEs 是 RNA 聚合酶 III 转录而来, 不具备编码任何蛋白的功能, 通常只存在于被子植物中^[4]。

收稿日期: 2011-09-20

基金项目: 贵州省自然科学基金资助项目(黔科合 J 字[2011]2338 号)

第一作者简介: 郭玉双(1981-), 男, 山东省胶州市人, 博士, 助理研究员, 从事植物分子生物学研究。E-mail: yshguo@126.com。

通讯作者: 任学良(1976-), 男, 山西省孝义县人, 博士, 副研究员, 从事烟草育种及生物技术研究。E-mail: renxuel@126.com。

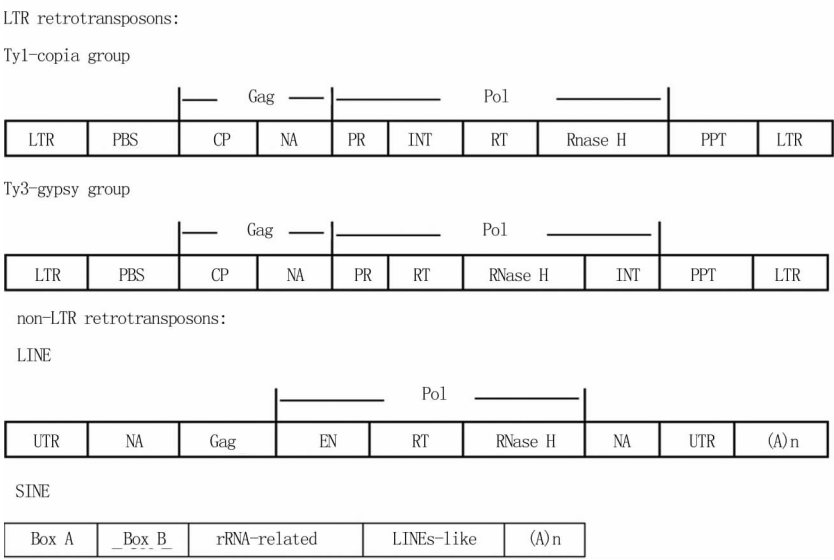


图 1 反转录转座子的结构

LTR 为长末端重复;PBS 为引物结合位点;CP 为衣壳类蛋白;NA 为核苷酸结合部分;PR 为蛋白酶;INT 为整合酶;RT 为反转录酶;PPT 为多嘌呤序列;(A)_n 为多聚腺嘌呤

表 1 具有活性或潜在转座活性的植物 LTR 类反转录转座子

LTR 反转录转座子分类	物种	转座情况	表达特异性
Ty1-copia 家族			
BARE-1	大麦	/	叶片及愈伤组织
B5	玉米	转座到 waxy 基因内	/
G	玉米	转座到 waxy 基因内	/
Hopscotch	玉米	转座到 waxy 基因内	/
Ji	玉米	/	根、叶片、幼穗
Opie	玉米	/	根、叶片、幼穗
PREM-2	玉米	/	早期花粉粒
Prt1/Prt3	番茄	/	原生质体
Prt4	番茄	/	原生质体
Prt5	番茄	/	原生质体
Prt6	番茄	/	原生质体
R9	黑麦	/	幼苗
SIRE-1	大豆	/	幼苗、叶片
Stonor	玉米	转座到 waxy 基因内	/
Tnp2/TNT1B	烟草	原生质体培养时可转座到 nia 基因内	/
Tnt1A	烟草	原生质体培养时可转座到 nia 基因内	根、原生质体、愈伤、微生物诱导
Tos10	水稻	细胞培养时拷贝数增加	细胞培养
TLC1	番茄	/	根、愈伤、原生质体、高盐诱导
Wis-2	小麦	植株下一代多态性增加	原生质体
FaRE1	草莓	/	植物激素诱导的叶片
Tos17	水稻	细胞培养时拷贝数增加	细胞培养
Tos19	水稻	细胞培养时拷贝数稍有增加	细胞培养
Tot1	烟草	细胞培养和组织培养时拷贝数增加	原生质体、组织及细胞培养,愈
		原生质体培养时可	伤、病毒诱导
Tot2	烟草	转座到 nia 基因内	原生质体
Tot3	烟草	细胞培养时拷贝数稍有增加	原生质体
Tot5	烟草	/	病毒诱导
Ty3-gypsy 家族			
Cinful	玉米	/	叶片
Huck	玉米	/	根、叶片、幼穗
Magellan	玉米	转座到 waxy 基因内	/
TCI-4	番茄	/	种子
Tpt	火炬松	/	微生物诱导的幼苗
Zeon-1	玉米	组织培养时转座到 zeinA 基因附近	胚乳

2 LTR 反转录转座子的活性调节

LTR 反转录转座子通常在植物基因组中以多拷贝的形式存在,并占有极高的比例,例如大麦中的 Ty1-, BARE-1 以及玉米中的 Opie-1 和 Huck2 通常都有 20 000~200 000 个拷贝。植物为了防止这些反转录转座子频率过高的转座而造成基因突变以及基因组的不稳定性,进化出很多机制抑制反转录转座子转座的机制,其中,基因沉默(gene silencing)是最普遍和有效的方法。基因沉默分为转录后水平的基因沉默(Posttranscriptional gene silencing, PTGS)和转录水平的基因沉默(Transcriptional gene silencing, TGS)。目前研究表明,TGS 是植物抑制反转录转座子的转座的主要方式,在此过程中,在宿主中表达与目标序列多个拷贝是介导 TGS 沉默的关键因素^[5]。例如,通过表达多个拷贝的果蝇 LINE 类型的反转录转座子“Drosophila I”的部分序列,能够强烈抑制该反转录转座子的活性。同时,研究表明,植株体内的干扰性小分子 RNA(short interfering RNA, siRNA)也能介导 TGS 从而导致反转录转座子的沉默^[6]。

3 LTR 类反转录转座子在植物基因组学研究中的应用

3.1 LTR 类反转录转座子在植物基因组进化研究中的应用

LTR 类反转录转座子在植物进化中具有重要的研究价值,LTR 类反转录转座子可以像反转录病毒一样,以 RNA 为中间载体,以通过“复制-粘贴”的方式反复插入基因组,导致宿主基因组被扩增而自身在宿主基因组中的比例增大,这是造成物种多样性的重要推动力。Vitte 等人研究了水稻基因组中 41 个 LTR 反转录转座子家族的进化历史发现每个 LTR 反转录转座子都有独特的转座方式,并且其 DNA 序列的变化速度非常快^[7];研究表明,澳洲野生稻在过去的三百万年的进化过程中,其基因组中增加了 9 万个反转录转座子的拷贝,从而导致其基因组大小增加了约 1 倍^[8]。在某些基因组较大的植物中,还发现了“嵌套式反转录转座子”,即一个反转录转座子存在于另外一个反转录转座子之中。通过比较玉米和高粱该区域的“嵌套式反转录转座子”序列发现,高粱中缺乏该结构,说明“嵌套式反转录转座子”的形成是在玉米和高粱 2 个物种分化之后形成的。

同时研究还表明,在玉米和高粱分化之后,反转录转座子在 2 个物种基因组中的转座频率是不一样的^[9]。

3.2 LTR 反转录转座子在基因功能研究中的应用

LTR 反转录转座子可用于对植物基因功能的研究,反转录转座子在转座时能够插入到植物基因内部或基因附近,从而造成了该基因的缺失或者破坏该基因的启动子而导致基因的表达量发生变化,通过对表型的鉴定可获得特定基因的功能^[10-11]。另外,研究表明,反转录转座子能够改变某些蛋白的空间结构,从而改变蛋白的功能^[12]。在水稻中,Hirchick 等构建了反转录转座子 Tos 17 基因敲除体系,用于水稻中基因的克隆^[13]。应用该体系,Sato 等人克隆了水稻 OSH15 基因,并证明了该基因能够控制水稻的节间延伸^[14]。

4 结论与展望

目前对植物中 LTR 反转录转座子的研究还不够深入,尤其是对其作用的分子机制尚不十分清楚,对于反转录转座子的研究,对于解释很多生物学现象,具有重要的意义。目前还有许多研究表明,LTR 类反转录转座子的转座活性受外界环境的调节,其转录可被多种生物的和非生物的环境因素所激活^[15-18],这些都为植物中 LTR 反转录转座子的研究提供了新的研究思路。

参考文献:

- [1] 马有志,富田因则,曹丽霞,等. 来自中间偃麦草基因组的类反转录转座子片段的克隆及其特征分析[J]. 作物学报, 2004,30(4):299-303.
- [2] Macas J, Neumann P. Ogre elements-A distinct group of plant Ty3/gypsy-like retrotransposons [J]. Gene, 2007, 390:108-116.
- [3] Du C, Swigoňová Z, Messing J. Retrotranspositions in orthologous regions of closely related grass species[J]. BMC Evolutionary Biology, 2006, 6:1-12.
- [4] 唐益苗,马有志. 植物反转录转座子及其在功能基因组学中的应用植物遗传资源学报[J]. 2005, 6(2):221-225.
- [5] Vance V, Vaucheret H. RNA silencing in plants-defense and counterdefense[J]. Science, 2002, 292:2277-2280.
- [6] Jordan I K, McDonald J F. Tempo and mode of Ty element evolution in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Genetics, 1999, 151:1341-1351.
- [7] Vitte C, Panaud O, Quesneville H. LTR retrotransposons in rice (*Oryza sativa* L.): recent burst amplifications followed by rapid DNA loss[J]. BMC Genomics, 2007, 8:218.
- [8] Benoit P, Romain G, Nathalie P, et al. Doubling genome size

- without polyploidization; Dynamics of retrotransposition-driven genomic expansions in *Oryza australiensis*, a wild relative of rice[J]. *Genome Research*, 2006, 16:1262-1269.
- [9] Thomas W, Beat K. Genome-wide comparative analysis of copia retrotransposons in Triticeae, rice, and *Arabidopsis* reveals conserved ancient evolutionary lineages and distinct dynamics of individual copia families[J]. *Genome Research*, 2007, 17:1072-1081.
- [10] Marillonnet S, Wessler S R. Retrotransposon insertion into the maize waxy gene results in tissue-specific RNA processing[J]. *Plant Cell*, 1997, 9:967-978.
- [11] Leprince A S, Grandbastien M A, Meyer C. Retrotransposons of the Tnt1B family are mobile in *Nicotiana glauca* and can induce alternative splicing of the host gene upon insertion[J]. *Plant Mol Biol*, 2001, 47:533-541.
- [12] Du C, Swigoñova Z, Messing J. Retrotranspositions in orthologous regions of closely related grass species[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2006, 6:62.
- [13] Hirochika H. Activation of tobacco retrotransposons during tissue-culture[J]. *EMBO J.*, 1993, 12:2521-2528.
- [14] Sato Y, Sentoku N, Miur Y. Loss-of-function mutations in the rice homeobox gene OSH15 affect the architecture of internodes resulting in dwarf plants[J]. *EMBO J.*, 1999, 18:992-1002.
- [15] Kimur Y, Tosa Y, Shimada S, et al. OARE-1, a Tyl-copia retrotransposon in oat activated by abiotic and biotic stress[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001, 42:1345-1354.
- [16] Okamoto H. Efficient insertion mutagenesis of *Arabidopsis* by tissue culture-induced activation of the tobacco retrotransposon Tto1[J]. *Plant Journal*, 2000, 23:291-304.
- [17] Sakamoto K, Ohmido N, Fukui K, et al. Site-specific accumulation of a line-like retrotransposon in a sex chromosome of the dioecious plant *Cannabis sativa*[J]. *Plant molecular Biology*, 2000, 44:723-732.
- [18] Mhiri C, de Wit P J G M, Grandbastien M A. Activation of the promoter of the Tnt1 retrotransposon in tomato after inoculation with the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1999, 12:592-603.

Application of LTR-retrotransposons in Plant Genomes

GUO Yu-shuang¹, CHEN Jing¹, ZHANG Jian-hua², LI Xiang-yu³, HU Zhong-yi¹, REN Xue-liang¹

(1. Guizhou Tobacco Research Institute, Guiyang, Guizhou 550081; 2. Environment and Resources Science College of Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058; 3. Crop Breeding Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Long terminal repeat(LTR)-retrotransposons are genetic elements and important for the plant genomic organization. This review described the structure, genomic organization, expression, regulation, and discusses their contributions to plant genomic research.

Key words: plant genome; LTR-retrotransposons; regulation; genomic research

(上接第 138 页)

Application of the Suppression Subtractive Hybridization Technique in Plant-Diseases

WANG Fang

(Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

Abstract: Based on the suppression PCR and subtractive hybridization, suppression subtractive hybridization (SSH) is a powerful technique that enables researchers to compare two populations of mRNA and obtain clones of genes that are expressed in one population but not in the other. SSH has become an efficient method that segregates and clone genes with the characteristics of high sensitivity, reliability and simplicity. The article introduced the principle and characteristics of SSH. The application on the study of plant-parasitic nematode and plant resistant-disease mechanism were reviewed.

Key words: suppression subtractive hybridization(SSH); PCR; genes; plant