



Sự chuyển vị

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

PGS. TS. Phạm Thành Hồ

Sự chuyển vị (Transposition)

Các *phần tử chuyển vị* (transposable elements) hay *phần tử di động* (mobile elements) là những trình tự ADN có khả năng di chuyển từ vị trí này đến vị trí khác (mục tiêu) của bộ gen (cùng bộ gen hay khác). Sự di chuyển ADN này được gọi là *transposition* (sự chuyển vị).

Tái tổ hợp (Recombination) trong *chuyển vị* (transposition) là sự kết nối (junction) giữa các *đầu mút* của phần tử chuyển vị với các đầu mút bị cắt hở của ADN mục tiêu (target site). Khác với tái tổ hợp tương đồng (homologous recombination), *transposition* không đòi hỏi sự tương đồng (homologous sequence) giữa các phần tử di động và ADN mục tiêu, và nó độc lập với chức năng được mã hóa bởi *recA*, vì nó sử dụng *enzym đặc hiệu* là *Transposaz*.

Đây là hiện tượng rất phổ biến trong thiên nhiên, các transposon được tìm thấy ở vi khuẩn, nấm, thực vật và động vật (bảng 20.6).

Bảng 20.6- Các phần tử chuyển vị có ở Prokaryotae và Eukaryota

Prokaryota	Eukaryota
– Trình tự xen đoạn: IS– Transposon: Tn như <i>Tn3</i> , <i>Tn5</i> , <i>Tn10</i> ,...– Virut: <i>Mu</i>	– Retrotransposon: Nấm men (Yeast): <i>Ty</i> Ruồi giấm: <i>copia</i> , <i>P</i> – Transposon (ADN): Ngô: hệ thống <i>Ac-Ds</i> – SINE: ở người (họ <i>Alu</i>)– Retrovirut: <i>Rous sarcoma</i> , <i>HIV</i>

Chúng có chức năng như các vector quan trọng thực hiện biến đổi di truyền. Các xen đoạn, mất đoạn và cấu trúc lại bộ gen thường kèm theo sự di chuyển của các transposon. Sự di chuyển này làm sai hỏng chức năng bình thường của gen. Chúng *hoạt hóa* hay *làm bất hoạt* các gen bằng cách xen đoạn vào kề bên hay vào giữa đoạn gen. Các transposon IS, là các *phần tử lặp đoạn* (repetitive elements), còn tạo các vùng tương đồng rải trong bộ gen, nhờ đó các hệ thống *tái tổ hợp tương đồng* có thể tác động.

Transposition gồm các kiểu chính:

Sự chuyển vị

– *IS*: trình tự xen đoạn (insertion sequence) là các *transposon* ngắn.

– *Transposon* (kí hiệu *Tn*): Các phần tử di động dài (khoảng 5000 bp) có chứa một hoặc vài gen. Nó thực hiện:

+ *Transposition không sao chép* (nonreplicative): Phần tử chuyển vị được cắt khỏi ADN cho (donor) và được gắn vào phân tử ADN mục tiêu. Thuộc loại này có *Tn10*, *Tn5*, *Tn7*.

+ *Transposition sao chép* (replicative): ADN được nhân đôi và bản sao được xen vào vị trí mới tạo *cointegrat* (cộng gắn) và có *Tn3*, *Mu*.

– *Retrotransposition*: Sự di chuyển qua trung gian ARN, nhờ reverse transcriptaz tạo thành cADN, và sự xen đoạn cADN vào vị trí mới.

Các trình tự xen đoạn IS

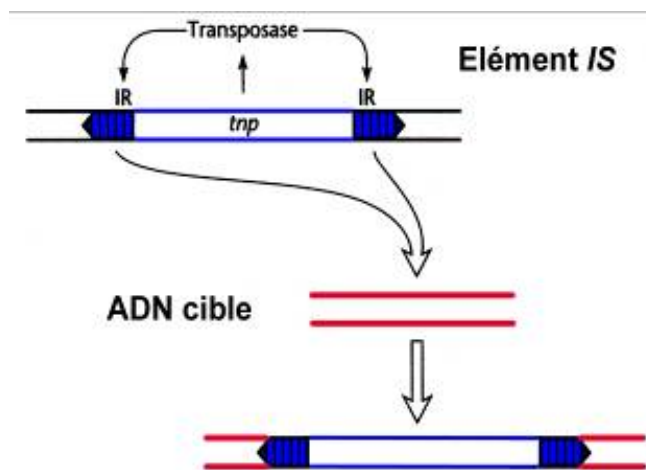
Các *transposon đơn giản nhất* là các trình tự xen đoạn (insertion sequence) và được kí hiệu bởi tiếp đầu ngữ IS kèm số thứ tự như IS₄.

Các phần tử IS là các cấu phần bình thường của ADN vi khuẩn và plasmid. Dòng *E. coli* chuẩn thường chứa vài bản sao (<10) của bất kì một trong các IS chung thường gặp. Để mô tả sự xen đoạn vào điểm đặc biệt, kí hiệu 2 chấm kép được sử dụng như λ:: IS₁ chỉ IS₁ xen vào phage λ.

Các IS là những đơn vị tự trị, mỗi một trong chúng mã hóa cho chỉ một protein cần thiết cho sự chuyển vị bản thân chúng. Trình tự của mỗi loại IS có khác nhau, nhưng trong tổ chức cấu tạo có nhiều tính chất chung. Ở giữa có *gen transposaz tnp*, hai đầu có *lặp đoạn đảo ngược* (IR – Inverted repeats). Sự xen đoạn của IS ở *tiêu điểm* (target) được minh họa trên hình 27. Cấu trúc transposon và sự chèn vào ADN mục tiêu nêu trên hình 28.

Các đầu mút của transposon có *trình tự lặp lại đảo ngược* (inverted repeat - IR). Trong ví dụ này, tiêu điểm có 5 bp. Các đầu mút của transposon gồm các lặp đoạn đảo ngược 9 bp được đánh số từ 1 đến 9.

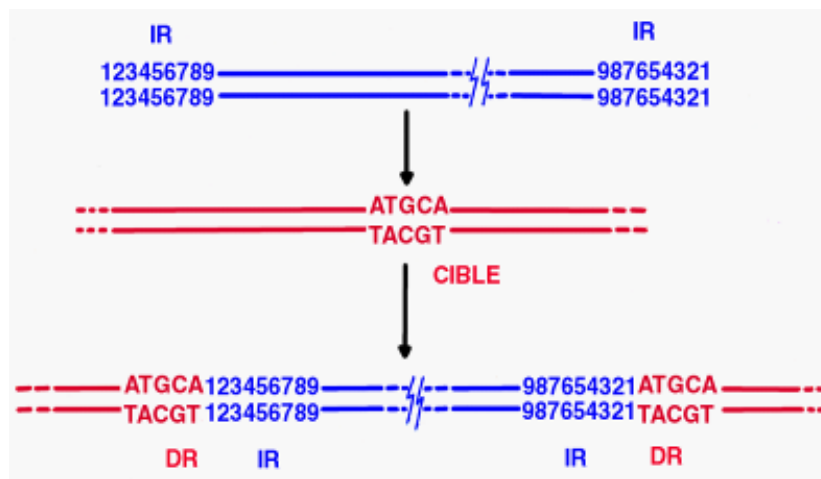
IRIRDNA mục tiêu



Cấu trúc IS và sự chèn vào ADN mục tiêu

Ở hai đầu của IS luôn có hai *trình tự lặp đoạn trực tiếp* (direct repeat) ngắn. Các trình tự này dao động tùy transposon, nhưng cố định đối với mỗi loại IS. Chiều dài của phần lớn lặp đoạn trực tiếp là 9, chúng xác định các đầu mút của transposon.

Mục tiêu



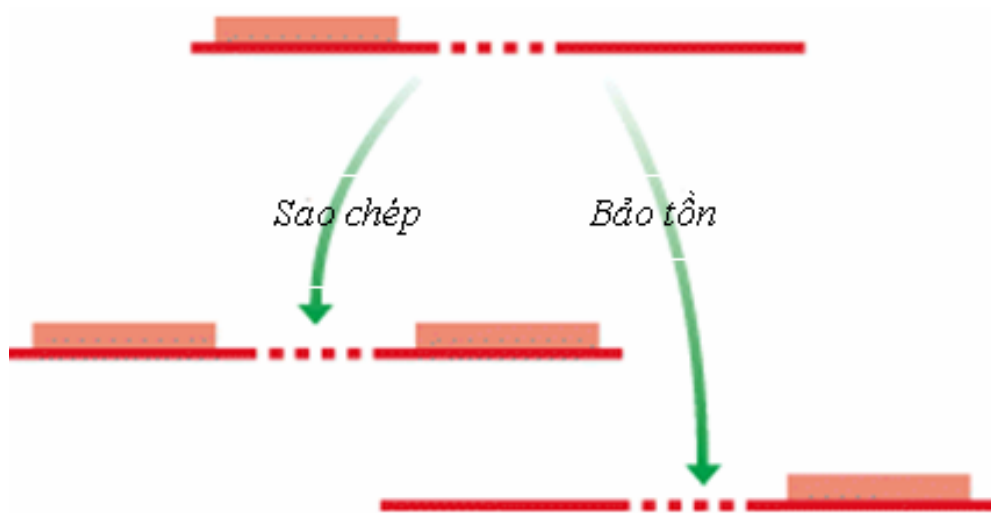
Sơ đồ cấu trúc của transposon có các IS, các lặp đoạn đảo ngược IR (inverted repeat) và tạo lặp đoạn trực tiếp ở hai đầu ADN đích mục tiêu

Transposon không sao chép và sao chép

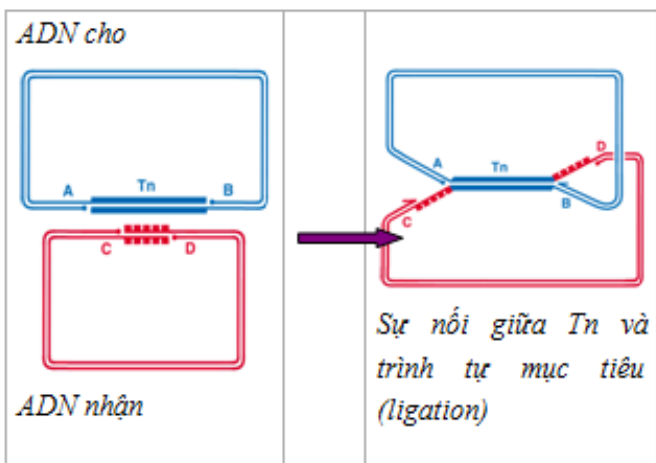
Sự chuyển vị ADN theo 2 kiểu khác nhau (sao chép và không sao chép hay bảo tồn (conservative)) và có những tính chất chung.

Sơ đồ diễn biến *transposition sao chép* (transposon Tn3) được nêu trên các hình sau: cắt và nối, sự cộng gán và phân tách.

Sự chuyển vị

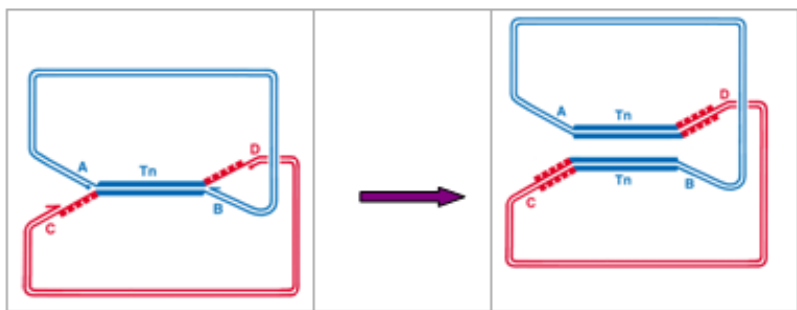


Sơ đồ về transposition sao chép và không sao chép



Sơ đồ transposition sao chép (Tn3)

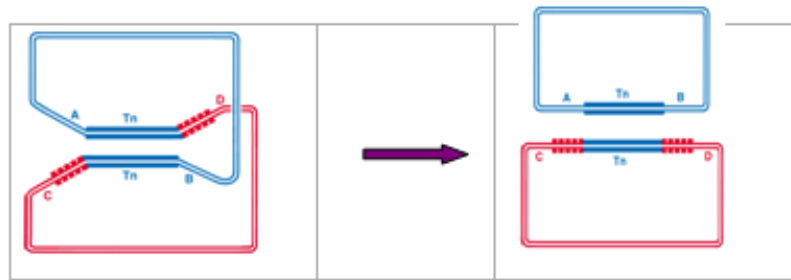
Tiếp theo là sự cộng gán (Cointegrat Formation) 2 loại ADN



Cointegrat) của 2 loại ADN

Cuối cùng là sự phân tách (Resolution) ra 2 loại ADN

Sự chuyển vị



Sự phân tách ra 2 loại ADN

Quá trình transposition có những đặc điểm sau đây:

- Cả hai đầu của phân tử mang gần như một trình tự có định hướng *đảo ngược* nhau.
- Các transposon mã hóa ít nhất một protein là *transposaz*. Transposaz gắn đặc hiệu và cắt các trình tự ở cuối để thực hiện chuyển vị.
- Các transposon tạo bản sao ngắn ($\leq 12bp$) của ADN ở điểm mục tiêu trong transposition. Chiều dài của trình tự này đặc trưng và không đổi đối với một phân tử nhất định và được tạo ra nhờ sự *cắt so le* (staggered cleavage) của ADN mục tiêu nhờ transposaz.

Cơ chế transposition được nghiên cứu chi tiết ở *phage Mu* và có thể tóm tắt như sau:

- Sự nhận biết và bắt cặp 2 đầu mút của transposon nhờ transposaz để hình thành cấu trúc chuyên biệt *protein - ADN*. Sự hình thành phức hợp được kích thích bởi các *protein HU* và *IHF* là các nhân tố tham gia tái tổ hợp điểm chuyên biệt *Mu transposaz*, giống như *λ Int protein*, có 2 vùng gắn độc lập.
- Sự *cắt khác* (nicking) do transposaz tạo ra 3'-OH ở mỗi đầu của Mu.
- *Cắt tiêu điểm* nhờ transposaz tạo đầu mút so le 5' - P dài 5 bp.
- Sự *nối đầu 5' - P* của tiêu điểm với 3'-OH của transposon tạo *cấu trúc trung gian chuyển mạch* (strand - transfer intermediate).

Tn10 có lẽ sử dụng cơ chế tương tự để thực hiện transposition *không sao chép* hay *bảo tồn* (conservative transposition).

Sự chuyển vị ngược (Retrotransposition)

Nhóm các transposon, được phát hiện ở nấm men (*Ty*) và *Drosophila* (*copia*) và có liên quan đến retrovirut, di chuyển đến vị trí mới qua trung gian ARN. Transposon của nấm men *Ty*, giống với retrovirut, có *lặp đoạn cuối dài* (long terminal repeat) được gọi là

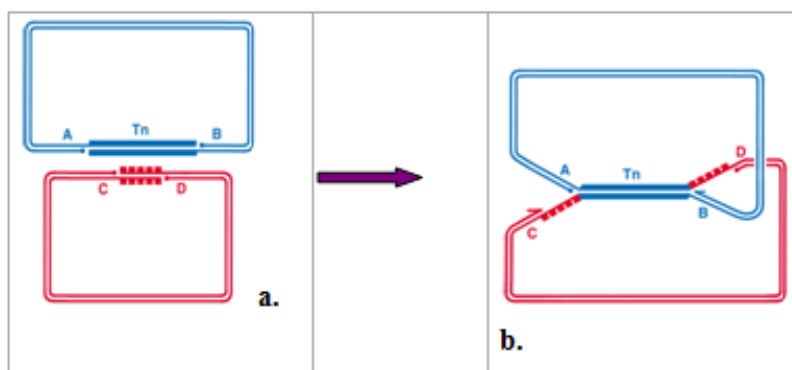
Sự chuyển vị

trình tự δ nằm ở 2 phía đoạn mã hóa. Các protein được mã hóa, có trình tự tương đồng với *integraz* của retrovirut và *reverse transcriptaz*, rất cần thiết cho transposition.

Phương thức *phiên mã ngược* của các phần tử di động tương tự như của retrovirut. Có sự tương tự về cấu trúc giữa retrovirut và các retrotransposon ở nấm men (*Ty*) và *Drosophila* (*copia*).

Sự chuyển vị ngược tạo bản sao của phần tử ở vị trí mới, trong khi phần tử cho ban đầu vẫn giữ nguyên cấu trúc không biến đổi. Do vậy, retrotransposition tạo nên một ít đứt đoạn và các tái cấu trúc (rearrangement) của bộ gen tế bào chủ. Những biến đổi của bộ gen liên quan với retrotransposition sẽ dẫn đến việc làm *ngừng* hay *hoạt hóa các gen*, mà một số có thể gây ung thư.

Các *transposon* đã góp phần vào sự tiến hóa của *plasmid*, và vài chứng cứ cho thấy các *plasmid R* có được tính đề kháng kháng sinh thông qua các *transposon*.



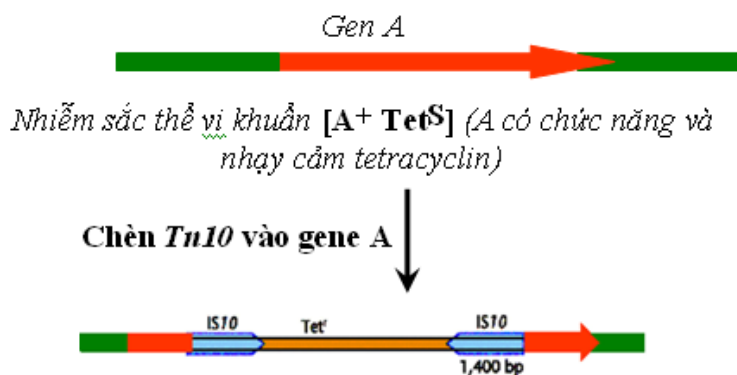
Transposition không sao chép hay bảo tồn conservative transposition)

Mũi tên chỉ các điểm cắt và sau đó nối lại theo trật tự mới.

Gây đột biến bằng transposon

Các ứng dụng của transposon bao gồm:

– *Gây đột biến* (mutagenesis) bằng transposition.



Transposon Tn10 chèn vào A làm mất chức năng, nhưng kháng tetra.

- Công cụ cho kỹ thuật di truyền *in vivo* (*in vivo* Genetic Engineering).
- Nhân tố trung gian đề kháng kháng sinh (mediator of antibiotic resistance)

Ở đây đề cập chủ yếu đến *gây đột biến nhờ transposon* (Transposon Mutagenesis). Sự chèn transposon vào giữa gen sẽ dẫn đến *đột biến* làm mất chức năng bình thường của gen (hình trên). Transposon cung cấp một phương tiện dễ dàng để tạo các đột biến trên Nhiễm sắc thể. Một thuận lợi cho gây đột biến bằng transposon là nó có chứa 1 gen kháng kháng sinh, mà gen này dùng làm marker (dấu chuẩn) để nhận biết transposon được chèn vào. Trước tiên các dòng mang gen kháng kháng sinh được phân lập từ môi trường giàu dinh dưỡng, nơi các đột biến khuyết dưỡng tăng trưởng tạo khuẩn lạc. Sau đó chúng có thể được sàng lọc trên môi trường giới hạn được cung cấp các chất tăng trưởng nào đó để xác định chất nào cần thiết cho đột biến.

Các transposon cũng hữu ích cho sự chèn 1 marker gen khuyết dưỡng (auxotrophic) vào trong dòng sinh vật hoang dại. Thường thì các đột biến khuyết dưỡng khó phân lập trực tiếp. Nhưng nếu *marker khuyết dưỡng* được đưa vào cùng transposon với marker kháng kháng sinh, thì có thể qua *chọn dòng đề kháng kháng sinh* mà xác định marker khuyết dưỡng. Hai transposon thường được sử dụng trong *gây đột biến* là *Tn5* (kháng neomycin và kanamycin) và *Tn10* (chứa 1 marker kháng tetracycline).

Integron là các transposon có thể thu nhận và biểu hiện các gen từ nhiều nguồn khác nhau. Tuy nhiên, khác với các transposon được chèn vào một cách ngẫu nhiên, các *integron* chèn vào có tính chọn lọc cao (high selective) trong các điểm xen đoạn (insertion site) của chúng, thường thì được chèn vào trong plasmid.

Integron chứa gen mã hóa cho protein được gọi là *integraz*, cần thiết cho sự *tái tổ hợp ở điểm chuyên biệt* (site-specific recombination). Bộ gen của phage λ (lambda) chèn vào Nhiễm sắc thể của *E. coli* ở một vị trí đặc biệt nhờ hoạt tính của *enzym integras* λ . *Integron* cũng chứa trình tự ADN đặc biệt cho phép *integraz* chèn các nhóm gen gọi là *cassette* vào Nhiễm sắc thể, mà trên đó có promoter cho phép các *gen cassette* mới được biểu hiện.