

# 跳不跳？有關係！---轉位子與植物基因篩選

## Transposon and plant gene tagging

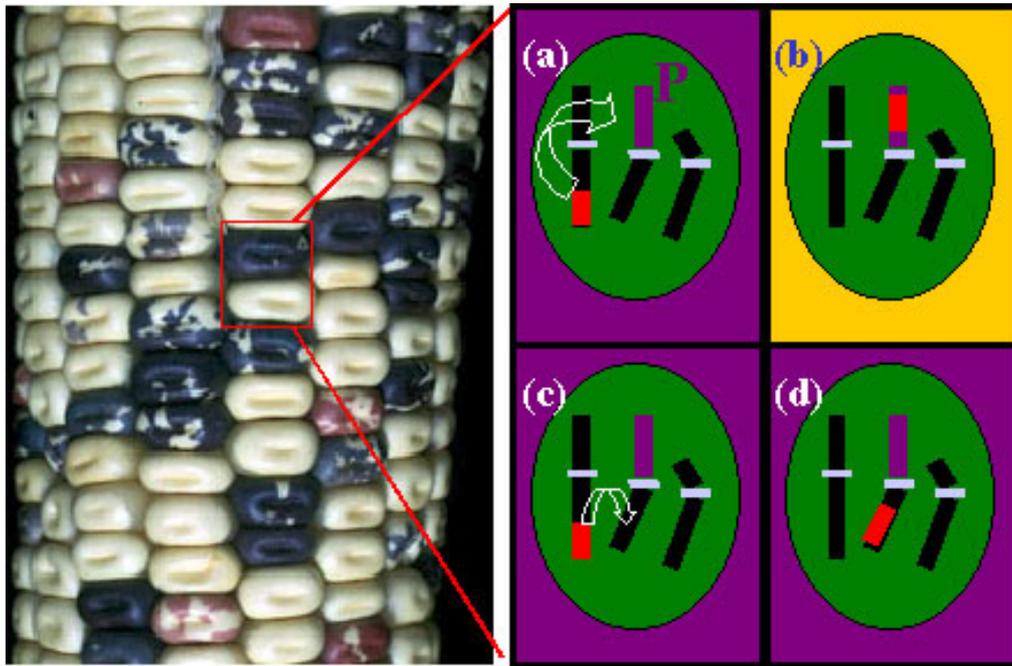
農藝系助理教授常玉強

### 為什麼要用轉位子？

植物除了提供糧食、維持生態，也提供了許多動物或微生物無法製造的化合物。目前為止，有 20,000 個以上的化學品來自植物，美國每年約有 90-110 億美元之植物來源藥或中間體產出。由植物而來的藥物，其世界市場總值為 226 億美元，其中一半以單一成份作為處方藥，另一半則作為中草藥補品。預計在 2002 年，由植物而來藥物將價值 307 億美元(資料由工研院李承榆博士提供)。因此，在藥用植物中篩選該藥品的功能基因組(functional genome)，將是未來植物生物技術重要的工作。其中，應用轉位子製造突變體是基因篩選工作上重要的工具；例如，將某一藥用植物中以轉位子製造出不再產生該藥品的突變體，則立刻可由該轉位子選殖出基因。當然，轉位子還可以應用於選殖出負責其他性狀的基因。例如，許多植物抗病基因就是由轉位子選殖出來的。

### 轉位子是什麼？

轉位子最早在 1947 年被 Barbara McClintock 在玉米中發現：她發現轉位子可自動轉位於基因間，並插入基因而破壞了該基因之性狀(圖一)。在所有轉位子中，最有名而且研究得最徹底的就是 *Ac* 轉位子。另一與 *Ac* 轉位子極為類似的轉位子稱為 *Ds* 轉位子，兩者不同在於：*Ac* 可以自行轉位而 *Ds* 則必須在前者存在時才可轉位因此稱為「被動轉位子」(non-autonomous transposon)。*Ac-Ds* 在 1984 年被德國 Starlinger 選殖並定序，經過進一步研究發現：(1) *Ac* 由 4565-bp 組成並含有轉位酵素基因；(2) *Ds* 與 *Ac* 之差別僅在於 *Ds* 缺少(或突變)了 *Ac* 之轉位酵素基因；(3) 一最小之 *Ds* 僅含 *Ac* 之兩端各 250-bp 即可被轉位酵素作用而轉位(圖二)。近來，許多學者應用轉位子跳出原基因位置又插入新基因位置特性，已篩選一些重要之植物基因，稱基因鈎取(gene tagging)。成功實例除在玉米外，其它植物如煙草、番茄、阿拉伯芥等亦鈎取出抗病基因、雄不孕基因。基因鈎取被認為是研究高等植物分子生物學重要之工具。



圖一：轉位子在細胞染色體中跳至 P 基因（色素基因）上 (a)，破壞了 P 基因之性狀使細胞成為黃色 (b)。若轉位子跳至其他非色素基因上 (c)，則細胞仍為紫色 (d)。

自動轉位子

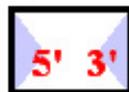
*Ac*



4565-bp

被動轉位子

*Ds*  
(缺失的 *Ac*)

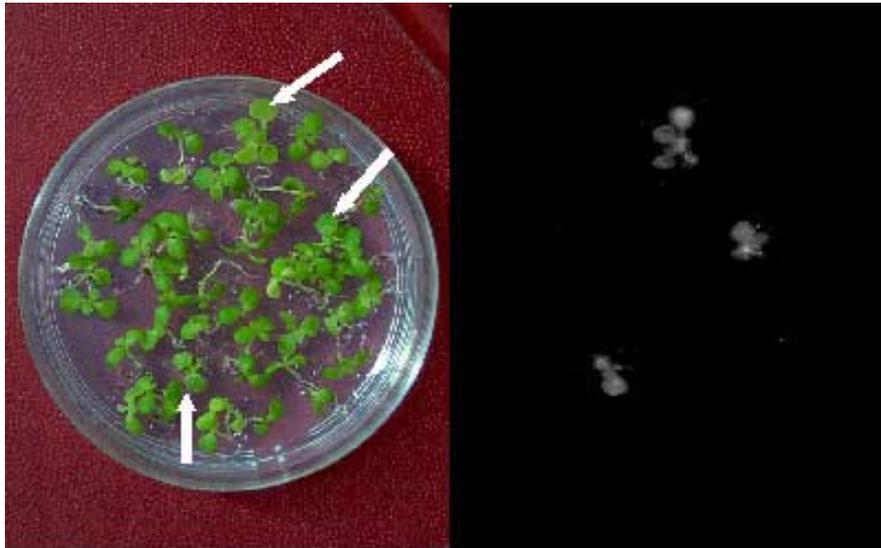


最小的 *Ds* 僅 447-bp

圖二：*Ds* 與 *Ac* 之差別僅在於 *Ds* 缺少（或突變）了 *Ac* 之轉位酵素基因；最小之 *Ds* 僅含 *Ac* 之兩端各約 250-bp 即可被轉位酶作用而轉位。

### 如何控制轉位子?

轉位子又稱跳躍基因，在基因中跳躍或不跳躍均受轉位酵素控制（也就是說，轉位酵素表現時才可能跳躍而不表現時則無法跳躍）。因此，如果想要控制轉位子，第一步就是控制轉位酵素的啟動子。因此，我們將轉位酵素接上一個「可誘導的啟動子」（inducible promoter）。從此轉位酵素的表現就可以受到控制。而前述啟動子是一個可以用化學藥劑（水楊酸）來誘導的啟動子成為。由此推論，轉位酵素的表現將受到是否添加化學藥劑而控制。在實際執行上，我們只要把化學藥劑噴灑在植物上，則植物中的轉位酵素表現而轉位子就會轉位（跳躍）。從此以後，當我們希望製造突變體時，就噴灑水楊酸而使轉位子跳躍。而當製造足夠的突變體時，就不再噴灑水楊酸，從此轉位子不再跳躍，而得到穩定的突變體。



圖三：發光的煙草幼苗顯示轉位在親本誘導（以水楊酸噴灑花）後轉位。圖左：正常光照下之煙草幼苗(約五十株)；圖右：黑暗下攝取發光幼苗之影像，有三顆幼苗發光，顯示誘導效率約為 6%。

### 如何偵測轉位子的跳躍？

由於轉位子的跳躍是在細胞核內染色體中執行，因此，如果我們要偵測轉位子是否轉換必須經由 DNA blot 方面來檢驗。而該方法非常耗時，尤其當我們希望偵測少數特定細胞中轉位子是否轉位，往往無法抽取足夠的 DNA。因此，非常需要一個簡便的方法偵測轉位子是否轉位成功。本研究發展了一套可以直接在活體細胞中偵測到轉位子的轉位行為。這套方法是利用螢火蟲的冷光基因\* (luciferase gene)，的該冷光基因與一個植物的啟動子融合後，再將上述可誘導轉位子插

在兩者之間。當整個構築轉入植物後，冷光基因因為轉位子的阻隔而無法表現。但是，當轉位子跳出後則冷光基因與啟動子再一次融合而可以表現，而使細胞或整棵植物發光（圖三）。經由攝影技術則可以捕捉發光的影像，據此可以測得轉位在何種組織或細胞進行轉位。因此，整個偵測實驗並不需要破壞植物細胞或組織。除了上述用於偵測轉位子的轉位，冷光基因還可以應用在其他許多分子生物學的研究上，其重點均在於使用不破壞細胞的優點。

### 結語及展望

- 一、 轉位子可產生突變體而相對之基因可很快的被篩選出。因此，轉位子是研究分子遺傳學的重要工具。
- 二、 可誘導轉位子（inducible transposon）可增強轉位子的利用價值，未來發展重點在篩選重要作物（如水稻及藥用作物）之基因。
- 三、 冷光基因可以應用於在活組織及細胞的偵測，未來將更進一步開發偵測單一細胞發光技術。

\*筆者找不到 luciferase gene 正確的中文翻譯，暫時譯為冷光基因。

### 參考文獻

1. Haring, M.A., Rommens, C., Nijdamp, H.J.J. and Hille, J. (1991). The use of transgenic plants to understand transposition mechanisms and to develop transposon tagging strategies. *Plant Mol. Biol.* 16, 449-461.
2. Charng, Y.C., Pfitzner, A.J.P., Pfitzner, U.M., Charng-Chang, K.F., Tu, J. & Kuo, T.T. (2000) Construction of an inducible transposon, *INAc*, to develop a gene tagging system in higher plants. *Molecular Breeding* 6, 353-367.
3. Charng, Y.C., Ma, C. Tu, J. and Kuo. T.T. (1997) A 200-bp constructed inducible PR-1a promoter fusion to the *Ac* transposase gene drives higher transposition of a *Ds* element than the native PR-1a promoter fusion drives. *Plant Sci.* 130, 73-86.
4. Charng, Y.C. and Pfitzner, A.J.P. (1994). The firefly luciferase gene as a reporter for *in vivo* detection of *Ac* transposition in tomato plants. *Plant Sci.* 98, 175-183.
5. Charng, Y.C., Pfitzner, U.M. and Pfitzner, A.J.P. (1995). Fusions of the inducible promoter of the PR-1a gene to the *Activator* transposase gene can transactive excision of a nonautonomous transposable element by external and internal stimuli. *Plant Sci.* 106, 141-155.