

# 基因表达的三维调控\*

储成才 司丽珍 陈 帅

(遗传与发育生物学研究所 北京 100101)

**摘要** 人类基因组草图及拟南芥菜和其它模式生物基因组全序列的公布极大地推动了基因组学研究的发展,也为生物的品种改良及产量和品质的提高奠定了基础。如何对天文量数据进行信息化处理,并将所得信息转入功能、应用研究是我们面对的新问题。我们将细胞特异性表达启动子与可诱导系统相结合,建立起可用于植物转基因表达时、空、量三维调控的基因开关系统,为功能基因组研究及通过基因工程技术对植物代谢实施精确调控提供了全新的思路。

**关键词** 基因开关, 基因表达, 基因调控

近 20 年来,随着分子生物学等相关研究的不断深入,植物基因工程的研究和应用也获得了巨大进展。主要表现在:(1) 拟南芥菜基因组全序列测定和水稻基因组工作草图的绘制完成;(2) 基因分离新手段的应用和相当数量具有重要应用价值基因的获得;(3) 大量植物包括几乎所有农作物转化系统的建立和转化方法的完善;(4) 一大批转基因植物的商业化应用。

单纯从技术角度来说,控制特定性状目的基因的分离已不再是基因工程的瓶颈。由于转基因在植物体中的表达存在位置效应,加上定点整合技术在高等生物中尚未突破,使得外源基因在转基因植物中表达的精确调控与人们预期的目标仍有相当的距离。因此,植物基因工程的下一步应该集中在转基因表达的精确调控上。

转基因表达的调控主要通过合适的启动子来实现。目前,在植物基因工程中最常用的启动子有在双子叶植物中广泛使用的花椰菜花叶病毒 (CaMV) 35S 启动子和在单子叶植物中广泛应用的水稻 actin 1 和玉米 ubiquitin 启动子。这些启动子均

属于组成型表达启动子,也就是说,由其控制下的转基因在植物的所有部位以及植物发育的所有阶段都会表达。然而,很多外源基因的组成型表达会引起植物的形态发生改变,并给植物的生长和发育带来一系列的负面影响,引起多效性,从而使其应用受到很大的局限。

为了使外源基因在植物体内有效表达并高效发挥作用,同时又最大限度地减少对植物的负面影响,人们希望能对植物代谢或转基因表达进行器官、组织乃至细胞水平上的调控。在过去十年中,人们从植物中分离到具有不同器官或细胞特异性启动子,并在此方面作了大量工作<sup>[1]</sup>,获得了具有不同细胞表达特异性启动子,如叶肉细胞、微管束、根特异性表达启动子等(见封三)。这些特异性表达的启动子为在植物中特异性地表达外源基因奠定了基础。

随着拟南芥菜基因组全序列测序的完成和人类及水稻基因组工作草图的绘制,标志着人们将把工作中心由结构基因组研究转入功能基因组研究。对于一些特定代谢途径的精确调控,器官或组织特

\* 收稿日期: 2001 年 5 月 10 日

异性启动子显然已力不从心,如人们很难利用其来控制那些当缺失或获得时有致死效应基因的表达。因此,在很多情况下,对一些特定基因功能的分析不仅需要器官组织特异性表达及表达量的精确调控,更重要的是能实现转基因在植物体的定时表达,使之真正能按照人们的意愿进行时、空、量三维调控,从而最大限度地减少对植物其它代谢途径的影响。因此,转基因表达的时、空、量三维精确调控对基因功能的准确释译具有极为重要的意义。而这一目标的实现则有赖于可精确调控的基因开关系统的建立和优化。事实上,建立和优化基因开关系统,从而使目的基因的表达可按人们的意愿加以调控,长期以来一直深受科学界重视<sup>[2,3]</sup>。

早期的基因诱导系统主要是由植物本身分离而来,如脱落酸、乙烯、伤害、热休克等诱导系统,由于诱导因子本身可触发植物体内一系列其它反应,使其很难在理论研究或生产上获得应用。随后人们把目光转入异源可诱导系统。到目前为止,很多异源可诱导系统已成功地应用于植物,如大肠杆菌中的乳糖操纵子系统及四环素诱导系统<sup>[4,5]</sup>,酵母中的铜诱导系统<sup>[6]</sup>和由哺乳类动物中优化出来的糖甾醇诱导系统<sup>[7]</sup>等。可惜的是,他们中的大多数很难在真正意义上应用于生产实际或基因功能研究,其中的原因很多,如在不诱导的情况下背景很高(乳糖操纵子系统、四环素诱导系统),诱导物在植物体内难以扩散以及对环境具有负面影响(铜诱导系统中的诱导物是重金属,糖甾醇诱导系统中的诱导物是激素类药物)等。

基于赤霉菌(*Aspergillus nidulans*) *alc* 调节因子,我们建立了 *alc* 基因开关系统<sup>[8,9,10]</sup>。在此系统中,目的基因通过转录因子识别位点(*alcA*)和 CaMV 35S 微启动子组成的嵌合启动子所调控,而相应的转录因子由 CaMV 35S 所调控。在正常情况

下目的基因处于沉默状态,只有当外源诱导物酒精及其类似物存在的情况下,诱导物与转录因子结合改变其构象,从而激活转录因子与目的基因上游 *alcA* 结合,目的基因得以转录。这一系统与其它诱导系统相比,具有诱导物极为便宜,容易施用,极低的背景表达水平和很高的可诱导性,而且诱导物对生物及环境无任何副作用等特点,特别适合基础理论研究和农业应用的研究<sup>[11]</sup>。

要实现转基因表达的定时、定点及定量的三维精确调控,可将细胞特异性启动子和可诱导启动子彼此优势相结合,使基因开关具有更好的时、空、量的调控。从理论上讲,通过将组织特异性表达的启动子代替组成型表达来控制上游转录因子可以实现这一目标。我们选择具不同特异性表达的启动子代替 35S 启动子来控制转录因子 *alcR*,并用葡萄糖苷酸酶(GUS)作为报告基因对转基因的表达实行监控,真正实现了转基因表达的定时、定点及定量的三维调控(见封三及下图)。这不仅为精细调控植物代谢途径奠定了基础,也为今后植物功能基因组研究提供了全新的思路和可靠的手段。

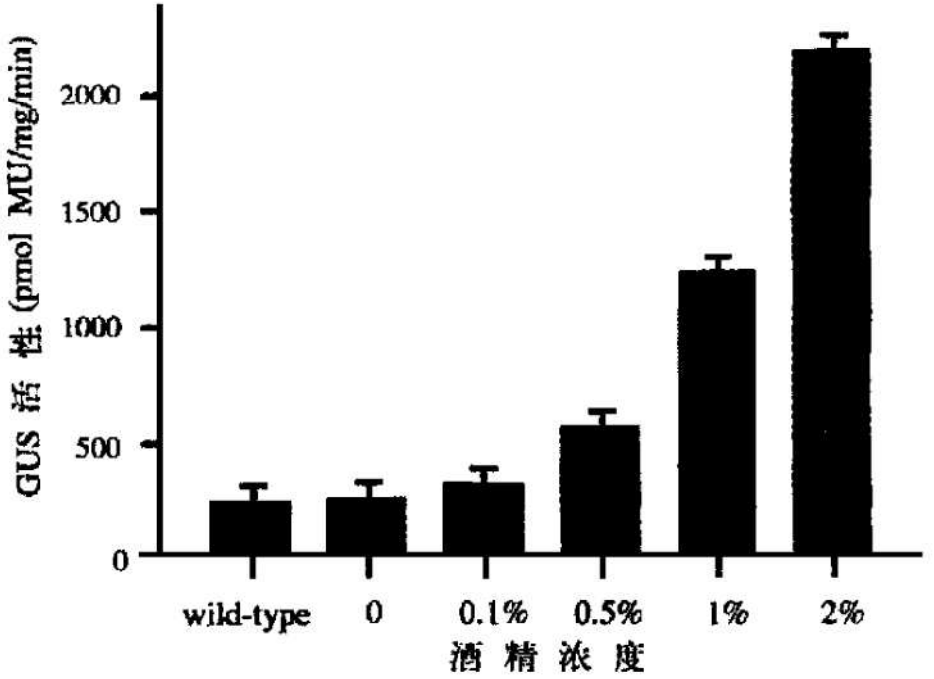


图 转基因表达量可通过诱导剂的剂量加以调控

## 参考文献

- 1 Chu C C. Molecular Structure and Expression Patterns of Glycine Decarboxylase Genes from *Flaveria pringlei* (C3) and *Flaveria anomala* (C3-C4). Halle-Wettemberg: Martin Luther University Press, 1996, 1: 100.
- 2 Gatz C. Chemically inducible promoters in transgenic plants. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1996, 7: 168—172.
- 3 Gatz C. Chemical control of gene expression. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1997, 48: 89—108.
- 4 Gatz C, Quail P H. Tn10-encoded tet repressor can regulate an operator containing plant promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1988, 85: 1394—1397.
- 5 Gatz C, Froberg C, Wendenburg R. Stringent repression and homogeneous derepression by tetracycline of a modified CaMV 35S promoter in intact transgenic tobacco plants. *Plant J.*, 1992, 2: 397—404.
- 6 Mett V L, Lochhead L P, Reynolds P H S. Copper controllable gene expression system for whole plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1993, 90: 4567—4571.
- 7 Aoyama T, Chua N H. A glucocorticoid-mediated transcriptional induction system in transgenic plants. *Plant J.*, 1997, 11: 605—612.
- 8 Caddick M X, Greenland A J, Qu N et al. An ethanol inducible gene switch for plants used to manipulate carbon metabolism. *Nature Biotechnol.*, 1998, 16: 177—180.
- 9 Salter M G, Paine J A, Riddell K V et al. Characterization of ethanol-inducible *alc* gene expression system for transgenic plants. *Plant J.*, 1988: 16, 127—132.
- 10 Qu N. Establishment of a chemical-inducible expression system for manipulation of primary metabolism in transgenic plants. Rostock University Press, 2001, 1—105.
- 11 Jepson I, Chu C C, Qu N et al. Genetic method. PCT patent: international publication number WO99 29881.

## 3-dimensional Control of Transgene Expression

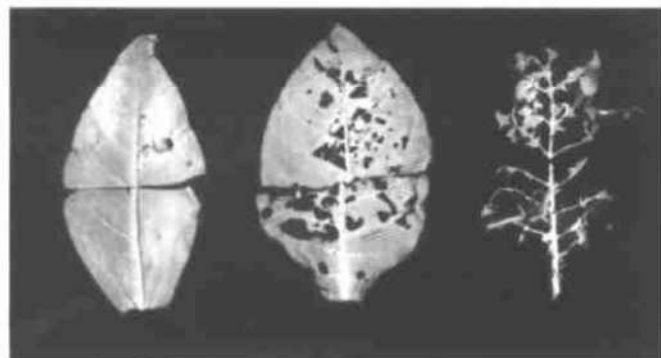
Chu Chengcai Si Lizhen Chen Shuai

(Institute of Genetics and Developmental Biology, CAS, 100101 Beijing)

This paper tried to introduce the new thinking about controlling gene expression in transgenic plant by gene switch system. The system not only can be used to manipulate the target gene restricted to specific tissues, the expression level and expression period of transgene can be also fine-tuned, which allows us to express the target gene in both tissue specific and inducible manners. It will be the powerful tool in functional genetic studies.

**储成才** 男, 遗传与发育生物学研究所研究员, 博士生导师。1996 年获联邦德国马丁-路德大学博士学位。1997—1999 年在德国植物遗传和作物育种研究所从事博士后研究。1993 年应邀赴德国植物遗传和作物育种研究所从事基因和启动子的分离研究, 并在该领域取得了相当大的进展。2000 年 6 月入选中国科学院“百人计划”到中国科学院植物生物技术开放实验室工作, 任课题组长。发表论文 20 多篇, 申请专利 2 项, 其中利用‘基因开关’对转基因的调控以提高作物产量(遗传方法)获得美国、欧洲、日本及中国等 75 国专利。

# 遗传与发育生物学研究所 在基因研究等方面取得新进展



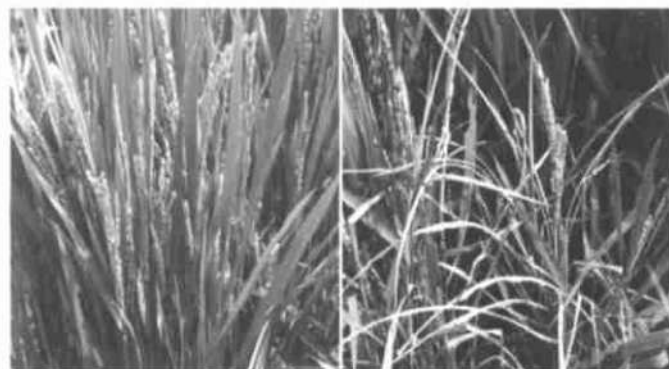
▲转修饰后 CpTI 基因烟草对棉铃虫的抑制情况

转 sck 基因烟草 (左); 转未修饰 cpII 基因烟草 (中); 非转化植株对照 (右)



▲转 sck 基因水稻植株

高抗性转基因植株 (左)、中等抗性转基因植株 (中) 及对照植株 (右) 在大田不施用杀虫剂的情况下受二化螟攻击的状况



▲转 sck 水稻 T<sub>1</sub> 代田间实验



▲转 sck 基因水稻大田环境释放

在完全不施用杀虫剂的情况下, 转基因水稻生长正常 (绿色部分), 对照完全死亡 (外围枯黄部分)



▲培养罐生产马铃薯脱毒苗



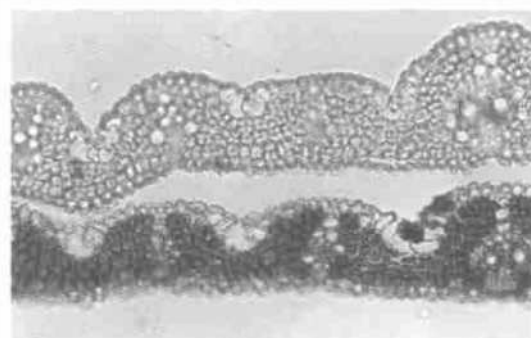
▲培养罐中生产微型薯



▲具有不同细胞特异性表达启动子在转基因水稻中的表达情况  
微管组织特异性表达启动子 (左)



叶肉细胞特异性表达启动子 (右)



▲ak 基因开关系统在转基因水稻中的表达情况