

ORIGEN I EVOLUCIÓ DEL DNA MÒBIL

JOSEP CASADESÚS

Departamento de Genética. Universidad de Sevilla

RESUM

Els elements transposables són fragments de DNA que poden canviar la seva posició en el genoma. Alguns elements es transposen mitjançant intermediaris de DNA (classe I), mentre que altres es transposen mitjançant RNA (classe II o «retroposons»). Els elements de la classe I codifiquen funcions de recombinació il·legítima, les quals catalitzen la inserció de l'element dins de noves posicions pel sistema de tallar i enganxar. Això podria implicar, o no, la replicació de l'element, i donar lloc a dos tipus diferents de transposició: replicativa i conservativa. La varietat de transposons trobada tant en eucariotes com en procariotes suggereix que les mutacions que els van originar han ocorregut diverses vegades al llarg de l'evolució. No obstant els orígens cel·lulars dels transposons encara no s'han identificat, si més no pel que fa als de la classe I. La transposició està estretament regulada, per un o més mecanismes que operen en sèrie, els quals normalment mantenen les freqüències de transposició a nivells molt baixos. Aquesta autorestricció pot ésser comparada a la d'un paràsit atenuat. La presència de transposons no sembla beneficiosa per a qualsevol cèl·lula o organisme, encara que ho podria ésser per a tota una població, pel fet de resultar una poderosa font de polimorfisme. Tanmateix, a la llarga, els transposons sembla que són eliminats del genoma, la qual cosa indica que són contraseleccionats. Els retroposons es transposen mitjançant un intermediari d'RNA, per la qual cosa requereixen una transcripció inversa en una de les etapes de la transposició. Són estranys en procariotes, però molt comuns en eucariotes: seqüències de DNA mitjanament repetitives d'eucariotes superiors estan bàsicament compostes de retroelements com ara els LINE i els SINE. Alguns retroelements estan estretament relacionats amb els retrovirus, mentre que d'altres provenen de gens cel·lulars els quals han esdevingut gens amplificables (o pseudogens). Diferents línies d'investigació suggereixen l'existència de lligams evolutius entre transposons i introns: certs transposons poden ésser tallats i units a partir dels transcrits, i certs introns són capaços de transposar-se, com a mínim a *loci* homòlegs. Els processos de transposició, retroposició i evolució intrònica, juntament amb l'espectacularitat dels esdeveniments de recombinació, que són possibles gràcies a l'existència de seqüències de DNA repetitives, semblen la principal font de polimorfisme vigent a la natura. El coneixement d'aquests processos revela un panorama dinàmic d'evolució biològica com un continu i incansable canvi de l'estructura del genoma.

MOTS CLAU: *transposons, retroposons, introns, reorganitzacions del genoma, polimorfisme genètic, evolució.*

SUMMARY

Transposable elements are DNA pieces that can change their position in the genome. Some elements transpose via DNA intermediates (Class I) while others transpose via RNA (Class II or «retroposons»). Class I elements encode illegitimate recombination functions which catalyze the insertion of the element into new locations by a cut-and-paste process. This may involve or not the replication of the element, thus giving rise to two distinct types of transposition: replicative and conservative. The variety of transposons found in both eukaryotes and prokaryotes suggests that mutational events giving rise to transposons have occurred many times during evolution. However the cellular ancestors of transposons remain to be identified, at least for Class I elements. Transposition is tightly regulated, by one or more serially-operating mechanisms which usually keep transposition frequencies at very low levels. This self-restraint can be compared to that of an attenuated parasite. The presence of transposons is unlikely to be beneficial for any individual cell or organism, although it may be beneficial at the population level as a powerful source of polymorphism. However, in the long run, transposons seem to be eliminated from the genome, thus suggesting that they are counterselected. Retroposons transpose via an RNA intermediate, thereby requiring reverse transcription as one of the transposition steps. They are rare in prokaryotes but extremely common in eukaryotes: middle repetitive DNA sequences of higher eukaryotes are mainly composed of retroelements such as LINES and SINES. Some retroelements are closely related to retrovirus while other derive from cellular genes which have turned into amplifiable genes (or pseudogenes). Several lines of evidence suggest the existence of evolutionary links between transposons and introns: certain transposons can be spliced from transcripts and certain introns are able to transpose, at least to homologous loci. The processes of transposition, retroposition and intron evolution, together with the panoply of recombination events made possible by the existence of repetitive DNA sequences, appear to be the most powerful sources of polymorphism operating in nature. The knowledge of such processes unveils a dynamic picture of biological evolution as a continuous, restless reshaping of genome structure.

KEY WORDS: *transposons, retroposons, introns, genome rearrangements, genetic polymorphism, evolution.*

INTRODUCCIÓ

Un dels descobriments més rellevants de la genètica molecular de les darreres dècades és l'existència de gens (o grups de gens) mòbils, també anomenats *elements de DNA transposable*. Els primers indicis de la mobilitat d'alguns fragments genòmics procedeixen dels estudis de Barbara McClintock, que van tardar gairebé vint anys fins a ésser valorats adequadament per la comunitat científica. Sobre la base d'experiments purament genètics, McClintock va proposar que els canvis de color observats als grans de l'espigall de blat de moro durant la divisió somàtica eren produïts per «elements controladors» que canviaven de posició dintre del genoma (McClintock, 1951). Vint anys més

tard, el descobriment de les seqüències d'inserció bacterianes (Jordan *et al.*, 1968; Malamy, 1970, i Shapiro, 1969) va confirmar l'existència de gens mòbils. Avui sabem que pràcticament tots els genomes, des dels virus fins als mamífers, contenen seqüències amb capacitat de transposició. En sentit ampli, es poden considerar elements transposables tots els mencionats a la taula 1. Les seqüències esmentades són tan variades que una discussió unificada del seu origen i la seva evolució seria gairebé impossible. De fet, aquest article es centra principalment en els elements de la classe I (i sobretot en les seqüències d'inserció i els transposons procariòtics), tot i que dedica un apartat als retroposons i intenta una síntesi global, especulativa.

TAULA I

Classificació d'elements transposables

Classe I: Elements que es transposen mitjançant DNA

I.I. PROCARIÒTICS	Seqüències d'inserció (Is1, IS2, IS3, IS30, IS200, etc.) Transposons composts (Tn5, Tn10, etc.) Transposons de la família de Tn3 Bacteriòfags (Mu, D, lambda, P22, etc.) Sistemes d'inversió
I.I. EUCARIÒTICS	Elements controladors del blat de moro (Ac, Dotted, Mu, Sm, etc.) Elements P de <i>Drosophila</i>

Classe II. Elements que es transposen mitjançant RNA

II.I. PROCARIÒTICS	Retroelements «satèl·lits» d' <i>E. coli</i> i <i>Myxococcus</i>
II.II. EUCARIÒTICS	Superfamília «vírica» Retrovirus Transposó Ty de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Transposó Còpia de <i>Drosophila</i> LINE de mamífers Superfamília «no vírica» SINE Alu i B1 de mamífers Pseudogens processats derivats de transcrits de la polimerasa II

Seqüències d'inserció

Les seqüències d'inserció són elements transposables «sense fenotip», que només es poden detectar per anàlisi física. Tenen entre 700 i 2.500 parells de bases (pb) i s'han trobat a tots els genomes on s'han buscat, tant d'eubacteris (gram positius i gram negatius) com d'arqueobacteris (Galas i Chandler, 1989).

També són freqüents als genomes de bacteriòfags i encara més als plasmidis (Cohen 1976, i Galas i Chandler, 1989). Entre les IS hi ha moltes variacions d'estructura. És corrent que els extrems de l'element consisteixin en repeticions invertides (Galas i Chandler, 1989), però hi ha elements sense repeticions terminals, com IS200 (Gibert *et al.*, 1991). Tampoc hi ha uniformitat en l'organització interna, però moltes IS tenen

un marc obert de lectura (ORF) llarg que ocupa quasi tot l'element i una sèrie d'ORF més petits, sovint superposats, a la cadena complementària. Tot i que molts ORF teòrics, detectats per anàlisi de seqüències amb ordinador, poden no ésser reals, l'abundància d'ORF superposats sembla indicar que les IS tenen tendència a comprimir la seva informació genètica en una mida mínima. A més de la superposició clàssica d'ORF per transcripció de les dues cadenes de DNA (Galas i Chandler, 1989), es coneixen exemples de codons alternatius per a iniciar la traducció (Berg, 1989, i Gibert *et al.*, 1991) i de canvis de fase programats, semblants al sistema *gag-pol* dels retrovirus (Fayet *et al.*, 1990).

Les proteïnes necessàries per a la transposició solen ésser codificades per un o dos dels ORF llargs (Galas i Chandler, 1989). El cas més corrent és l'existència d'un sol enzim de transposició (transposasa); els altres ORF codifiquen proteïnes reguladores o de funció desconeguda. També hi ha IS que codifiquen RNA no traduïbles: per exemple, un dels transcrits de IS10 és un RNA antimissatger que regula la traducció de l'mRNA de la transposasa (Kleckner, 1989). Les repeticions invertides dels extrems de l'element són les dianes de la transposasa i en molts casos s'assemblen a la diana de l'element (Galas i Chandler, 1989).

Transposons procariòtics

Els elements transposables que porten gens addicionals, a més dels necessaris per a la transposició, s'anomenen transposons. El nom és òbviament equívoc i no passa d'ésser una convenció justificada per l'ús. A més, dintre de la categoria dels *transposons* s'hi inclouen almenys dues classes d'elements: (i) els transposons composts, formats per dues IS que contenen gens detectables entremig; (ii) els transposons de la família de Tn3. Als transposons composts, el cas més corrent és que les dues IS formin repeticions invertides, però també n'hi

ha que les tenen directes. Per exemple, Tn5 està format per dues seqüències IS50 invertides i una regió central que conté gens de resistència a kanamicina, estreptomycinina i bleomicina (Berg, 1989); en canvi, a Tn9, la regió central de resistència a cloramfenicol està flanquejada per repeticions directes d'IS1 (Galas i Chandler, 1989).

Els transposons composts més coneguts són els de resistència a agents antibacterians, però n'hi deu haver de molts més tipus (So *et al.*, 1979). En principi, sempre que dues còpies d'una IS es situïn relativament a prop es forma un transposó compost, ja que el conjunt de les dues IS i la seqüència central pot funcionar com una unitat. De fet, el procés es pot reproduir experimentalment, i s'observa que la freqüència de transposició del conjunt és inversament proporcional a la seva grandària, probablement perquè a la transposasa li costa més trobar l'extrem d'element a mesura que la distància augmenta (Kleckner, 1989). Ara bé, aquesta imatge dels transposons composts és relativament simplista ja que, com es discutirà més endavant, en molts exemples «naturals» una de les dues IS és inactiva.

Els transposons de la família de Tn3 no estan formats per IS, però també tenen repeticions terminals (Sherratt, 1989). A més de la transposasa, codifiquen una resolvasa que desfà cointegrats actuant sobre seqüències adjacents, anomenades *res*. La majoria dels transposons de la família de Tn3 porten gens addicionals de resistència a antibiòtics (García Lobo i De la Cruz, 1990, i Sherratt, 1989), però també hi ha un exemple (Tn1000) sense fenotip (per tant, només el coneixement de la seva estructura molecular permet distingir Tn1000 d'una IS).

Un aspecte molt estudiat de l'evolució dels transposons, per la seva importància mèdica i ambiental, és la formació d'elements amb resistència múltiple a antibiòtics. Abans de l'era dels antibiòtics, aquesta pressió només existia al sòl i afectava exclusivament els microorganismes que convivia amb els estreptomicets i bolets productors de substàncies antibacterianes. L'ús

exagerat d'antibiòtics en la sanitat humana i animal ha augmentat extraordinàriament la pressió selectiva a favor de la resistència. A alguns transposons de la classe II, com la família de Tn21, la formació de resistència múltiple es rela-tivament fàcil, ja que el transposó codifica una integrasa que pot dirigir processos de re-combinació (García Lobo i De la Cruz, 1990, i Martínez i De la Cruz, 1990). Estudis realitzats pel grup de De la Cruz suggereixen que, a la família de Tn21, el procés d'incorporació de nous gens de resistència es fa per retrotranscripció integrativa de mRNA (Martínez i De la Cruz, 1990). Aquesta hipòtesi estableix un nexa inesperat entre els transposons de la classe I i els

retroelements. També abona la idea que els gens de resistència poden haver arribat als bacteris per transferència horitzontal des dels mateixos productors d'antibiòtics, molts dels quals són eucariotes (Davies, 1990, i Liras i Martin, 1990).

Transposons eucariòtics de la classe I

Als eucariotes, els elements de classe I més ben coneguts al nivell molecular són els del blat de moro i els de *Drosophila*, però això no vol dir que siguin els més abundants o els més interessants: senzillament indica que la genètica d'aquests organismes té moltes dècades. De fet, com als procarïotes, de transposons eucariòtics, se n'han trobat pràcticament a tots els genomes on se n'han buscat. Al blat de moro, els més coneguts pertanyen a les famílies *En/Spm* («Enhancer/Suppressor-mutator») i *Ac* («Activator»). Són transposons relativament «senzills», no gaire diferents d'una IS bacteriana i tenen repeticions invertides als extrems (vegeu la fig. 1). *En/Spm* codifica almenys dos productes, un dels quals deu ésser la transposasa (Gierl *et al.*, 1989). Els elements de la família *Ac* només codifiquen una proteïna, que és necessària per a la transposició; però, curiosament, no interacciona físicament amb les repeticions terminals (Gierl, 1990, i Gierl *et al.*, 1989). Al genoma del blat de moro, a més dels elements silvestres *En/Spm* i *Ac*, hi ha membres defectius d'ambdues famílies, anomenats respectivament *dSpm* i *Ds*. Aquestes còpies defectives poden ésser complementades en *trans* pels seus parents silvestres (Gierl, 1990). Alguns elements defectius *Ds* poden funcionar com introns i, per tant, ésser eliminats de l'mRNA; aquest detall del seu comportament els emparenta amb els introns, especialment amb els introns mòbils descrits pel grup de Bernard Dujon (Dujon, 1989, i Gierl, 1990).

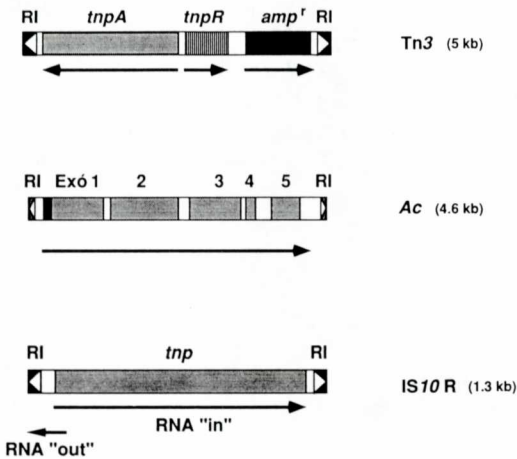


FIGURA 1. Diagrames de l'estructura molecular d'alguns transposons de la classe I; els dibuixos no estan fets a escala. RI són les repeticions terminals invertides. Les fletxes indiquen els ORF. *tnp* és l'abreviació de «transposasa». L'ORF de la transposasa de l'element *Ac* codifica un RNA pre-missatger amb quatre introns.

A *Drosophila* també s'han descrit transposons de classe I: els més coneguts són els de la família P, que —com les famílies de transposons del blat de moro— està formada per membres silvestres i defectius (Charlesworth i Langley, 1989, i Fontdevila, 1987). Els transcrits dels elements P són processats d'una manera diferent a les cèl·lules somàtiques i a les de la línia germinal; aquest processament diferencial fa que només es produeixi transposasa a les cèl·lules de la línia germinal. Els elements P són responsables d'un fenomen d'especiació incipient, anomenat «disgènesi dels híbrids», que té un interès evolutiu extraordinari i que es discutirà en un apartat posterior.

Mecanismes de transposició

Tots els processos de transposició consisteixen en una recombinació que col·loca l'element transposable dins d'una seqüència-diana més o menys específica. El procés es pot efectuar de dues maneres: replicant l'element alhora que es produeix la transposició (transposició replicativa) o recombinant l'element a

nova diana sense deixar-ne còpia al lloc original (transposició conservativa). Als procariotes, el producte d'una transposició replicativa és un cointegrat que fon el replicó donador i el receptor (vegeu la fig. 2). Els transposons que tenen resolvasa (com els de la família de Tn3) poden desfer els cointegrats per una recombinació específica a les seqüències *res*: alternativament, i amb molta menor eficàcia, els cointegrats es poden desfer per recombinació homòloga, dependent de *recA*, entre les dues còpies de l'element (Sherratt, 1989).

La replicació conservativa consisteix a «obrir» la molècula donadora i treure'n l'element mòbil per introduir-lo en una nova diana (vegeu la fig. 2). Aquest tipus de transposició és propi de transposons procariòtics molt coneguts, com Tn5 i Tn10 (Berg, 1989, i Kleckner, 1989) i també dels transposons Ds del blat de moro (Gierl *et al.*, 1989). En principi, i tenint en compte que l'extracció de l'element provoca un trencament de doble cadena, es pot suposar que la molècula donadora no sobreviu a la transposició (Galas i Chandler, 1989, i Kleckner, 1989). Ara bé, experiments realitzats per Andrés Garzón indiquen que un plasmidi portador de Tn10 pot sobreviure a la transposició conservativa, tot i re-

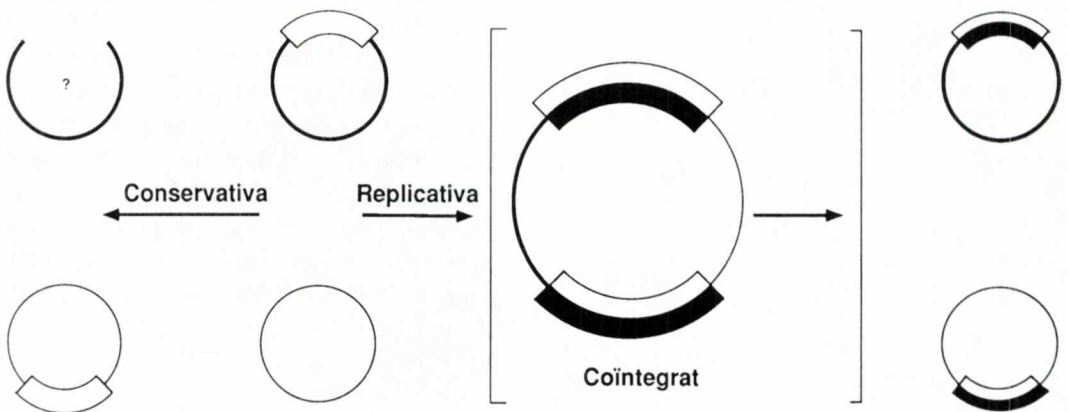


FIGURA 2. Transposició conservativa, transposició replicativa (cointegració) i resolució d'un cointegrat.

gistrar deleccions a la zona que ocupava el transposó (Garzón i Casadesús, 1991). El mecanisme de reparació implicat en el salvament de la molècula donadora encara no es coneix.

Hi ha elements que es poden transposar d'ambdues maneres. Per exemple, el fag Mu introdueix el seu DNA en el cromosoma d' *E. coli* per una transposició conservativa que origina, en principi, lisogènia; ara bé, si es dispara el cicle lític, el genoma de Mu es multiplica per transposició replicativa (Pato, 1989). Un altre element que pot escollir entre la inserció conservativa i la cointegració és *IS1*, que només fa transposició conservativa quan l'element no pot replicar-se (Biel i Berg, 1984). Hom pot veure en aqueixa elecció una resposta estratègica a situacions fisiològiques concretes.

Conseqüències genètiques de la transposició

La transposició dintre d'un gen produeix una mutació, generalment amb pèrdua total de funció. Als operons, les insercions produeixen mutacions polars, que impedeixen l'expressió dels gens situats riu avall. Les dianes de molts transposons són seqüències prou curtes i ambigües per a ésser molt abundants al genoma; per exemple, els transposons bacterians *Tn5* i *Tn10* poden inserir-se pràcticament a qualsevol gen. La diana de *Tn10* (i d'*IS10*) és una seqüència de 9 pb on el triplet central pot ésser una seqüència qualsevol i els dos triplets del extrems són variacions d'una seqüència de consens (vegeu la fig. 3). Per a *Tn5* encara no s'ha definit una diana-consens, tot i ésser clar que la transposició no és aleatòria (Berg, 1989). De fet, l'especificitat d'inserció varia molt d'un transposó a un altre: n'hi ha que es transposen quasi aleatòriament (per exemple, Mu) mentre que altres són més específics. Un cas extrem d'especificitat es troba a *Tn7*, que només té una diana al cromosoma d'*E. coli*. Alguns transposons (com els de la família de *Tn3*) tenen especificitat «regional», és a dir, s'inserixen en regions concretes sense escollir-

ne un lloc precís (Sherratt, 1989). Però potser el cas més general és l'especificitat limitada: per exemple, *IS1* s'inserix a regions riques en A+T que tinguin almenys 7 pb idèntics als extrems de l'element (Galas i Chandler, 1989).

L'efecte mutacional de la transposició no es limita a la inserció; generalment, el procés de transposició produeix una duplicació de la diana (vegeu la fig. 3). La producció d'aquesta duplicació limita extraordinàriament la possibilitat de reversió i, de fet, moltes mutacions d'inserció no reverteixen o bé ho fan a una freqüència molt baixa. Per a una reversió en sentit estricte, a més de l'escissió precisa de l'element cal eliminar la seqüència duplicada, cosa que succeeix a baixa freqüència. Per tant, l'escissió dels transposons genera mutacions «puntuals» amb gran eficàcia; per exemple, al blat de moro, on els elements *En/Spm* i *Ac* tenen altíssimes freqüències d'escissió a la línia germinal, l'escissió de transposons es considera una font primordial de nous al·lels (Gierl, 1990).

Una inserció pot afectar l'expressió d'un gen sense necessitar inserir-se en la regió codificant. Molts elements transposables porten promotors dirigits cap a fora, que poden dirigir la transcripció d'un gen proper al punt d'inserció (Darymple i Arber, 1985, i Wang i Roth, 1988). També poden modificar l'«activitat» dels promotors canviant el superenrotllament o altres paràmetres de la topologia del DNA (Jackson, 1984).

Un tercer —i importantíssim— apartat dintre dels efectes de la transposició és la producció de grans reordenacions genòmiques. La mateixa activitat de la transposasa pot originar deleccions i inversions (Galas i Chandler, 1989). A més, les còpies d'un mateix transposó poden servir de regions d'homologia per a la producció de duplicacions, deleccions i translocacions per processos de recombinació homòloga (Hughes i Roth, 1985, i Roth i Schmid, 1981).

Per tant, l'activitat dels gens mòbils pot originar molts tipus de mutacions. Com que la majoria de les mutacions són nocives, el DNA transposable pot considerar-se, per a cada

genoma individual, un enemic amagat que en qualsevol moment pot originar una catàstrofe. Però per a la població, i sobretot per a l'espècie, els transposons són una font primordial de polimorfisme i, per tant, un motor decisiu de l'evolució. Aquesta imatge dual del DNA mòbil no ha estat acceptada fàcilment. Per exemple, fa uns anys, el grup de Daniel Hartl va proposar que els transposons podien tenir algun avantatge per a l'individu, basant-se en l'observació del fet que les soques d'*Escherichia coli* que portaven IS50 tenien avantatge sobre les soques sense IS50 en estudis de competició a un quimostat (Biel i Hartl, 1983). Però un estudi recent, realitzat al laboratori de Werner Arber, indica que aqueix avantatge és degut a un gen de resistència a bleomicina, i no té relació amb la producció de transposasa (Blot *et al.*, 1990).

Regulació de la transposició

Un element mòbil que augmenta el seu nombre de còpies dintre d'un genoma amb el risc de generar mutacions pot considerar-se un paràsit

molecular, fins i tot un exemple de «DNA egoista» (Doolittle i Sapienza, 1980, i Orgel i Crick, 1980). Però tots els elements mòbils coneguts regulen la seva transposició, sovint d'una manera molt estricta. Sembla raonable pensar que, de fet, l'autolimitació de la transposició deu ésser un requeriment imprescindible per a l'èxit evolutiu de l'element: una transposició excessiva produiria una alta freqüència de mutacions letals per a l'hoste i, per tant, posaria en perill la supervivència del mateix transposó; l'estratègia d'un paràsit atenuat ofereix moltes més possibilitats de sobreviure (Doolittle *et al.*, 1984).

Un cas ben conegut de regulació estricta de la transposició es troba a IS10: la traducció de l'mRNA de la transposasa és bloquejada per un RNA antimissatger que s'acumula a més velocitat que l' mRNA de la transposasa (Kleckner, 1989). Per tant, quan IS10 entra en una cèl·lula «verge» hi ha una certa probabilitat que es produeixi una transposició. Però cada transposició fa més improbable la següent, perquè l'augment del nombre de còpies dóna més avantatge a l'inhibidor de la traducció. Aquesta regulació

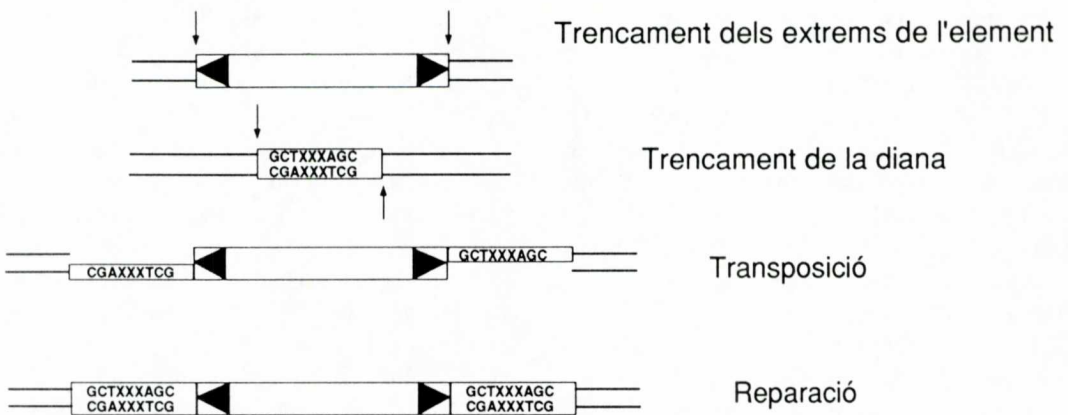


FIGURA 3. Transposició conservativa d'IS10. La transposasa fa un trencament de doble cadena als extrems de l'element i un altre (de doble cadena i bisellat) a la diana. Després de la transposició, els sistemes cel·lulars de reparació omplen les osques de cadena simple, amb la qual cosa produeixen la duplicació de la diana.

limita el nombre de còpies de IS10 per cèl·lula i evita una transposició excessiva. A més, la transcripció del promotor de la transposasa és reprimida per una metilació d'adenines a les seqüències GATC d'una regió crítica del promotor (Kleckner, 1989). La transcripció només és possible quan la regió crítica queda hemimetilada, és a dir, durant el període, probablement breu, que va des de la replicació del cromosoma a la metilació de les seqüències GATC hemimetilades. Per tant, només es permet una breu etapa de transcripció per cycle cel·lular (per a, posteriorment, decidir si el transcrit es tradueix o no, depenent de la quantitat d'antimissatger acumulada).

IS10 és simplement un exemple il·lustratiu; mecanismes diferents però anàlegs es coneixen en altres elements, i sembla raonable pensar que l'autolimitació de la transposició deu ésser universal. Un aspecte addicional d'aquesta autolimitació és la inactivació d'una de les dues còpies que formen part d'un transposó compost. Es curiós que a alguns transposons composts com Tn5 o Tn10 només una de les IS sigui activa. Cal pensar que la selecció del transposó compost (per la presència d'antibiòtics al sòl o als hospitals) ha exigint «reprogramar» l'activitat del conjunt, per evitar que la síntesi de transposasa per ambdues IS pogués produir una transposició excessiva.

Un mecanisme encara més subtil d'auto-control és l'elecció de diana. Les dianes d'alguns transposons procariòtics semblen «amagades» per la transcripció (Casadesús i Roth, 1989). La base molecular d'aquest fenomen encara no es coneix, però el seu avantatge selectiu és obvi: la interferència de la transcripció evita la transposició a gens que s'estan transcrivint a alta freqüència, i són, per tant, importants o fins i tot vitals. Alguns transposons de *Drosophila* poden tenir un comportament anàlog, ja que tenen tendència a acumular còpies a les regions heterocromàtiques (Charlesworth i Langley, 1989).

Hi ha transposons que augmenten la seva freqüència de transposició en situacions de dificultat de creixement o de *stress*. Un exemple és la seqüència IS200 de *Salmonella*, que només es transposa en cultius vells, és a dir, en la fase estacionària o en la de mort cel·lular massiva (Gibert i Casadesús, 1991). També s'ha descrit que alguns transposons del blat de moro s'activen per infeccions virals, trencament de cromosomes, irradiació, secada i altres condicions ambientals desfavorables (Gierl, 1990). Sembla, doncs, que l'habitual moderació de la transposició pot desaparèixer en moments crítics, quan està en joc la supervivència de l'hoste (i amb ella, la del mateix element transposable). També es coneixen casos on la transposició es dispara per causes genètiques (creuament). A *Drosophila*, un exemple típic és el creuament d'un mascle P (P⁺) i una femella M (P); a la fecundació, l'entrada d'un cert nombre de còpies de l'element P a l'òvul sense repressor de P dispara la transposició, i produeix una alta freqüència de mutacions i reorganitzacions cromosòmiques que causen la disgènesi (viabilitat i fertilitat reduïda) dels híbrids (Charlesworth i Langley, 1989, Fontdevila, 1988, i Rose i Schmid, 1981).

Origen i evolució dels transposons de la classe I

El «transposó mínim», representat per les IS bacterianes i alguns transposons del blat de moro, sembla ésser un gen de transposasa (i alguns altres ORF, de regulació o de funció desconegudes), vorejats per les dianes terminals. Avui, que es coneix la seqüència de nucleòtids de molts elements mòbils i hi ha programes sofisticats d'ordinador per a comparar-les, hom podria esperar reduir la varietat a un esquema general i deduir quines característiques ha de tenir un enzim per a funcionar com una transposasa. També s'hauria de poder deduir quins gens cel·lulars poden adquirir per mutació les característiques adients i tornar-se elements transposables. Però aquests raonaments

apriorístics no es compleixen a la pràctica: entre diferents elements mòbils hi ha poc o gens d'homologia i no se'n coneix cap que s'assembla a un gen cel·lular. Per tant, no sabem d'on procedeixen els transposons; hom pot especular que l'activitat de la transposasa s'assembla a la de les topoisomerases i els enzims de restricció, però no hi cap prova de parentiu entre aquests enzims i una transposasa. La falta d'homologia entre transposases de diferents orígens indica que un enzim amb activitat de transposasa es pot «fabricar» de moltes maneres. També hi ha dianes de tota mena, i ni tan sols l'existència de repeticions terminals, directes o invertides, és imprescindible: hi ha elements, com IS200, Tn554 i Mu, que no tenen repeticions terminals (Gibert *et al.*, 1991; Murphy i Lofdahl, 1984, i Pato, 1989).

Tot i no sabent-ne l'origen, l'abundància i varietat d'elements mòbils que es troben als genomes fa pensar que deu ésser relativament fàcil que es formin per mutació de gens cel·lulars. La pregunta que cal fer-se ara és: un cop s'han format i comencen a transposar-se, són mantinguts per selecció o són un pes que el genoma ha de suportar mentre no pugui eliminar-lo? Ja s'ha comentat anteriorment que els experiments de Hartl, que suggerien que la presència de transposasa podia ésser avantatjosa, han resultat un artefacte. Per tant, no tenim cap dada que indiqui que els transposons són beneficiosos per al genoma; en canvi, hi ha indicis de que, a la llarga, els elements mòbils són eliminats. L'eliminació suggereix immediatament la possibilitat d'una contraselecció. Un exemple especialment clar és el següent: *Escherichia coli* i *Salmonella typhimurium* són dos parents pròxims dintre dels enterobacteris i es van separar evolutivament fa uns cent cinquanta milions d'anys (Ochman i Wilson, 1987). Encara conserven una alta homologia funcional, que fa que moltes funcions bioquímiques puguin complementar-se mútuament (Ochman i Wilson, 1987). Els mapes cromosòmics d'*Escherichia* i *Salmonella* són pràcticament idèntics i els seus DNA encara tenen una homologia del 85 % en

llocs mutacionals i un 50 % en llocs silenciosos (Ochman i Wilson, 1987, i Roth i Schmid, 1981); en canvi, no tenen cap element transposable en comú (Gibert *et al.*, 1990; Lam i Roth, 1983, i Roth i Schmid, 1981). Això sembla indicar que els elements transposables que cada gènere posseeix actualment han sorgit després de la separació evolutiva, i que els que posseïa l'avantpassat comú d'*Escherichia* i *Salmonella* ja han estat eliminats. De fet, de seqüències que s'assemblen a restes de transposons, se'n troben a tots els genomes, tant procariòtics com eucariòtics: per exemple, les seqüències *rep* dels enterobacteris (Stern *et al.*, 1984) i les restes de transposons *Uq* detectats a certes varietats de blat de moro on *Uq* ja ha desaparegut (Gierl, 1990, i Gierl *et al.*, 1989).

Transferència horitzontal de transposons

La possibilitat d'introduir transposons en una espècie per transferència genètica horitzontal afegeix un nivell addicional de complexitat a l'evolució del DNA mòbil. Cal tenir en compte que, als bacteris, els plasmidis autotransmissibles, els bacteriòfags amb més d'un hoste i els processos naturals de transformació permeten un tràfec d'informació genètica que salta les barreres d'espècie. Als eucariotes, la transferència genètica horitzontal deu ésser molt més limitada, però l'entrada de virus a la línia germinal pot ésser prou freqüent, almenys des del punt de vista evolutiu.

Ara bé, l'entrada d'un element mòbil en una cèl·lula no sempre va seguida de transposició i establiment al genoma. Als bacteris hi ha elements mòbils que tenen una relativa promiscuïtat i poden funcionar en molts hostes (per exemple, Tn5), però també n'hi ha d'altres que mostren una especificitat d'hoste molt restringida. Exemples molt clars d'aquest fenomen es troben en la transferència del factor F entre *Escherichia* i *Salmonella*. F conté una còpia del transposó Tn1000, una de la seqüència IS2 i dues d'IS3. Tots aquests elements es transposen

fàcilment a *E. coli*, però només Tn1000 ho fa a *Salmonella*, almenys amb una freqüència fàcil de detectar. Recíprocament, a *E. coli* no es detecta transposició de la seqüència IS200 de *Salmonella* (Gibert i Casadesús, 1991). La causa d'aquesta especificitat es troba molt probablement en la necessitat d'interaccionar amb funcions de l'hoste per realitzar la transposició. Per tant, els elements mòbils han de coevolucionar amb les funcions cel·lulars que parasiten. Un corol·lari d'aquesta afirmació és que els elements mòbils que parasiten funcions cel·lulars molt conservades poden tenir més promiscuïtat: així passa amb Tn5, que necessita girasa per a transposar-se (Berg, 1989). Per tant, el confinament d'elements mòbils dintre d'una espècie, a més de l'aïllament genètic, pot tenir altres causes; les limitacions funcionals en són una i cal tenir-la en compte.

Encara hi ha una altra limitació que és interessant mencionar: els possibles efectes nocius de la transposasa o de la mateixa inserció de l'element al genoma. Per exemple, la seqüència IS2 d'*Escherichia coli* pot transposar-se a *Salmonella*, però és molt difícil aïllar soques de *Salmonella* que portin IS2 al cromosoma perquè creixen molt malament (Casadesús, no publicat). Sembla difícil que el fenomen sigui degut a la síntesi de transposasa, ja que les soques de *Salmonella* que porten IS2 en un plasmidi creixen normalment. Més aviat sembla que l'estructura del cromosoma no tolera bé la presència d'un fragment «estrany». Què té IS2 per a fer emmalaltir un cromosoma de mida quatre mil vegades més gran? Qui sap si la resolució de paradoxes com aquesta podrà proporcionar-nos, algun dia, coneixements transcendents sobre la topologia cromosòmica i l'organització del nucleòide bacterià.

Les limitacions a la transposició i el confinament d'elements transposables dintre d'una espècie ens obliguen a afegir un matís a l'afirmació general, feta més amunt, que els elements transposables són corrents a tots els genomes. Cal afegir que, tot i essent certa en general, l'abundància i activitat dels transposons

de classe I varia molt segons l'espècie. Per exemple, a *E. coli* s'han trobat almenys nou tipus d'elements transposables i a *Salmonella*, només un (Casadesús i Roth, 1989; Galas i Chandler, 1989, i Lam i Roth, 1983). Als eucariotes també hi ha espècies on els transposons són abundants i d'altres on són escassos (Charlesworth i Langley, 1989, i Finnegan, 1983). No és fàcil saber, almenys per ara, si l'aparició i l'establiment d'elements transposables depèn només de l'atzar o està condicionada per detalls, encara desconeguts, de l'organització genòmica.

Retroposons

Els retroposons són elements que es transposen per mitjà de l'RNA, en un procés on participa la transcriptasa inversa, i que era considerat, fins fa poc, exclusiu d'eucariotes. El descobriment de transcriptasa inversa i de molècules híbrides DNA-RNA en els bacteris obliga a plantejar-se la possibilitat que la retroposició sigui un procés universal (Inouye i Inouye, 1991). Però, de moment, els exemples clàssics de retroposons pertanyen al món eucariòtic.

Hi ha dos tipus o «superfamílies» de retroposons (vegeu la taula 1). A la superfamília viral s'hi inclouen els retrovirus i els retroposons derivats de retrovirus o emparentats amb ells. Els retrovirus són virus de RNA que poden fabricar còpies de DNA del seu genoma i inserir-les als cromosomes de l'hoste. La síntesi de DNA de doble cadena, catalitzada per la transcriptasa inversa, és una etapa obligada en la replicació dels retrovirus. El genoma de RNA dels retrovirus acaba en repeticions directes i el procés de retrotranscripció les converteix en repeticions terminals llargues (LTR), que són una mena de repeticions invertides com les d'un transposó de la classe I. Les LTR permeten que el DNA lineal i bicatenari funcioni com un transposó i s'insereixi en el genoma de l'hoste. Els retrovirus són una font importantíssima de

de senyals (Deininger, 1989). Totes les SINE conegudes deriven de gens que codifiquen RNA petits i no traduïbles, que han adquirit la capacitat de retroposar-se amb alta eficàcia a la línia germinal (Deininger, 1989). Les retroposicions successives han amplificat extraordinàriament el nombre de membres de la família fins a representar, en certs casos, una fracció important del genoma: per exemple, la família *Alu* constitueix el 5 % del genoma humà haploide (Deininger, 1989). Els mòduls de DNA mitjanament repetit (SINE, LINE, pseudogens processats etc.) sempre es troben en un nombre de còpies molt superior al de qualsevol transposó de classe I. Potser perquè tenen molt menys autocontrol que els transposons de la classe I? I si fos així, com és que la selecció tolera la seva enorme proliferació? Podria ésser un avantatge per a la cèl·lula augmentar el nombre de còpies de gens com 7SL? Podria, un cop començat el procés, disparar-se sense cap possibilitat d'aturada?

Transposons i introns

La ciència és integradora, i molt sovint progressa gràcies a operacions de síntesi que relacionen fenòmens que anteriorment es consideraven desconnectats (Jacob, 1977). Així passa, avui dia, entre la biologia els transposons i la dels introns. El descobriment que molts gens, sobretot als eucariotes, contenen seqüències que s'han d'eliminar del RNA premissatger abans de la traducció fou una de les grans sorpreses de la biologia molecular dels anys setanta (Breathnach *et al.*, 1977; Breathnach *et al.*, 1981, i Jeffreys i Flavell, 1977). L'origen dels introns fou, des del primer moment, objecte de moltes especulacions (Crick, 1979, i Gilbert *et al.*, 1986); estudis recents suggereixen que els transposons i els introns poden tenir relació evolutiva; una versió radical d'aquesta idea consisteix a considerar que la majoria dels introns són restes de transposons ancestrals (Lambowitz, 1989).

Els introns anomenats «del grup I» són una família d'introns autocatalítics a la qual pertanyen l'intró de l'rRNA nuclear 26S de *Tetrahymena*, la majoria dels introns del DNA mitocondrial dels llevats, alguns introns de cloroplasts i els introns dels fags de la sèrie T. Tots aquests introns s'eliminen de l'RNA premissatger per la famosa reacció de transesterificació descrita pel grup de Thomas Cech (Cech i Bass, 1986). Els introns del grup I són transposables, però només es poden inserir a una posició predeterminada dintre d'un gen homòleg que no tingui intró. Sempre van a la mateixa posició que ocupaven en el gen donador; per aquest motiu el procés s'anomena *homing* («anada a casa»). La possibilitat que els introns del grup I puguin realitzar una transposició «vertadera» ha estat i és encara objecte de discussió. Però, fins i tot si s'arriba a demostrar que el moviment del grup I es redueix a anar a casa, encara és possible considerar aquests introns com a hipotètics descendents d'elements de DNA transposable que han perdut la mobilitat que tingueren en el passat (Dujon, 1989).

Una altra connexió entre el món dels transposons i el dels introns es troba en el minoritari grup II, que té una reacció autocatalítica diferent del grup I. Els ORF dels introns del grup II codifiquen una proteïna emparentada amb la transcriptasa inversa. Per ara no s'ha pogut demostrar de manera irrefutable que aquests introns puguin transposar-se per mitjà de l'RNA, però hi ha moltes dades indirectes que així ho suggereixen (Dujon, 1989, i Scazzocchio, 1989).

El parentiu entre transposons i introns no ens ha de sorprendre. Vist des d'un punt de vista teleològic, eliminar l'intró d'un pre-mRNA soluciona un dels grans problemes dels elements mòbils: com proliferar sense produir mutacions nocives. Un intró pot ésser considerat com un paràsit atenuat al màxim, que garanteix la seva supervivència a base d'escapar-se del programa genètic en el moment que molesta. Sembla, doncs, raonable pensar que la conversió d'un element transposable en un intró hauria de tenir un gran avantatge selectiu.

Transposició i evolució genòmica

Abans del descobriment del DNA mòbil, la síntesi neodarwinista tenia un problema molt seriós sense resoldre: com podia explicar l'evolució a partir del polimorfisme generat per les mutacions puntuals, que tenen una freqüència molt baixa i difícilment produeixen efectes dràstics sobre el fenotip. D'altra banda, els estudis citològics indicaven que els fenòmens d'especiació estaven molt sovint associats a la producció de reordenacions genòmiques de les quals es desconeixia la causa. Avui sabem que el motor principal del «bricolatge» genòmic són els elements mòbils. El repte de les properes dècades és saber d'on sorgeixen els elements mòbils (sobretot els de la classe I), quines condicions ambientals i genòmiques afavoreixen la seva aparició i quins factors regulen la seva activitat. Però ja podem avançar que l'imatge de l'evolució que sorgirà de tots aquests coneixements serà encara més dinàmica que l'actual; probablement s'assemblarà a un joc, cada cop més complex, de combinatòria. A la biosfera, Déu juga contínuament a daus.

Agraïments

Em plau agrair a John Roth i a Werner Arber l'hospitalitat amb que m'han acollit repetidament als seus laboratoris, a Salt Lake City i a Basilea, i també l'oportunitat de discutir amb ells sobre DNA mòbil i molts altres temes. Agraïxo igualment l'intercanvi constant d'idees amb Andrés Garzón.

BIBLIOGRAFIA

BERG, D. E. (1989). «**Mobile DNA**». Transposon Tn5. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe. American Society for Microbiology.) p. 185-210.

- BIEL, S. W. i D. E. BERG. (1984). Mechanism of IS1 transposition in *E. coli*: choice between simple integration and cointegration. **Genetics** 108: 318-330.
- BIEL, S. W. i D. L. HARTL. (1983). Evolution of transposons: natural selection for Tn5 in *Escherichia coli* K-12. **Genetics** 103: 581-592.
- BLOT, M., J. MEYER i W. ARBER. (1990). and fitness in *E. coli* K-12. **EMBO Workshop «Molecular mechanisms of transposition and its control»** Expression of Tn5. (Roscoff, France).
- BOEKE, J. D. (1989). «**Mobile DNA**». Transposable elements in *Saccharomyces cerevisiae*. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe. American Society for Microbiology.) p. 335-374.
- BREATHNACH, R., J. L. MANDEL i P. CHAMBON. (1977). Ovaalbumin gene is split in chicken DNA. **Nature**. 270: 314-319.
- BREATHNACH, R. i P. CHAMBON. (1981). Organization and expression of eukaryotic split genes coding for proteins. **Ann. Rev. Biochem.** 50: 349-383.
- CASADESÚS, J. No publicat.
- CASADESÚS, J. i J. R. ROTH. (1989). Absence of insertions among spontaneous mutants of *Salmonella typhimurium*. **Mol. Gen. Genet.** 216: 210-216.
- CASADESÚS, J. i J. R. ROTH. (1989). Transcriptional occlusion of transposon targets. **Mol. Gen. Genet.** 216: 204-209.
- CECH, T. R. i B. L. BASS. (1986). Biological catalysis by RNA. **Ann. Rev. Biochem.** 55: 599-629.
- CHARLESWORTH, B. i C. H. LANGLEY. (1989). The population genetics of *Drosophila* transposable elements. **Ann. Rev. Genet.** 23: 251-287.
- COHEN, S. N. (1976). Transposable genetic elements and plasmid evolution. **Nature**. 263: 731-738.
- CRICK, F. (1979). Split genes and RNA splicing. **Science**. 204: 264-271.
- DARYMPLE, B. i W. ARBER. (1985). Promotion of RNA transcription on the insertion element IS30 of *E. coli* K-12. **EMBO J.** 4: 2687-2693.
- DAVIES, J. (1990). What are antibiotics? Archaic functions for modern activities. **Mol. Microbiol.** 4: 1227-1232.
- DEININGER, P. L. (1989). «**Mobile DNA**». SINES: short interspersed repeated DNA elements in higher eukaryotes. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe. American Society for Microbiology.) p. 619-636.
- DOOLITTLE, W. F., T. B. L. KIRKWOOD i M. A. H. DEMPSTER. (1984). Selfish DNAs with self restraint. **Nature**. 307: 501-502.
- DOOLITTLE, W. F. i C. SAPIENZA. (1980). Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. **Nature**. 284: 601-603.
- DUJON, B. (1989). Group I introns as mobile genetic elements: facts and mechanistic speculations - a review. **Gene**. 82: 91-114.
- FAYET, O., D. RAMOND, P. POLARD, M. F. PRERE i M. CHANDLER. (1990). Functional similarities between retroviruses and the IS3 family of bacterial insertion sequences. **Mol. Microbiol.** 4: 1771-1777.

- FINNEGAN, D. J. (1983). Transposable elements in eukaryotes. *Int. Rev. Cytol.* **93**: 281-326.
- FONTDEVILA, A. (1987). The unstable genome: an evolutionary approach. *Genét. Ibér.* **39**: 315-349.
- FONTDEVILA, A. (1988). «**Population Genetics and Evolution**». The evolutionary potential of the unstable genome. (Ed.: G. de Jong.) Springer-Verlag. p. 251-263.
- GALAS, D. i M. CHANDLER. (1989). «**Mobile DNA**». Bacterial insertion sequences. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe. American Society for Microbiology. p. 109-162.
- GARCÍA LOBO, J. M. i F. DE LA CRUZ. (1990). «**Microbiología 1990**». Mecanismos de formación de transposones bacterianos con resistencia a múltiples antibióticos. (Ed.: J. Casadesús, F. Ruiz-Berraquero.) Publicaciones de la Universidad de Sevilla. p. 45-51.
- GARZÓN, A. i J. CASADESÚS. (1991). Fate of the donor molecule in Tn10 transposition. (Manuscript en preparació).
- GIBERT, I., J. BARBÉ i J. CASADESÚS. (1990). Distribution of insertion sequence IS200 in *Salmonella* and *Shigella*. *J. Gen. Microbiol.* **136**: 2555-2560.
- GIBERT, I., K. CARROLL, D. HILLYARD, J. BARBÉ i J. CASADESÚS. (1991). IS200 is not a member of the IS600 family of insertion sequences. *Nucl. Acids Res.* **19**: 1343.
- GIBERT, I. i J. CASADESÚS. (1991). Dynamics of IS200 proliferation in stationary cultures of *Salmonella typhimurium*. (Manuscript en preparació).
- GIERL, A. (1990). How maize transposable elements escape negative selection. *Trends Genet.* **6**: 155-158.
- GIERL, A., H. SAEDLER i R. A. PETERSON. (1989). Maize transposable elements. *Ann. Rev. Genetics.* **23**: 71-85.
- GILBERT, W., M. MARCHIONNI i G. MCKNIGHT. (1986). On the antiquity of introns. *Cell.* **46**: 151-154.
- JACOB, F. (1977). Evolution and tinkering. *Science* **196**: 1161-1166.
- JACKSON, I. J. (1984). Transposable elements and suppressor genes. *Nature.* **309**: 751-752.
- JEFFREYS, A. J. i R. A. FLAVELL. (1977). The rabbit b-globin gene contains a large insert in the coding sequence. *Cell.* **12**: 1097-1108.
- JORDAN, E., H. SAEDLER i P. STARLINGER. (1968). Oo and strong polar mutations in the *gal* operon are insertions. *Mol. Gen. Genet.* **102**: 353-363.
- HUGHES, K. T. i J. R. ROTH. (1985). Directed formation of deletions and duplications using Mud(Ap, *lac*). *Genetics.* **109**: 263-282.
- HUTCHISON III, C. A., S. C. HARDIES, D. B. LOENB, W. R. SHEHEE i M. H. EDGELL. (1989). «**Mobile DNA**». LINES and related retroposons: long interspersed repeated sequences in the eucaryotic genome. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe.) American Society for Microbiology. p. 593-617.
- INOUE, M. i S. INOUE. (1991). Retroelements in bacteria. *TIBS.* **16**: 18-21.
- KLECKNER, N. (1989). «**Mobile DNA**». Transposon Tn10. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe. American Society for Microbiology. p. 227-268.
- LAM, S. i J. R. ROTH. (1983). IS200: a *Salmonella*-specific insertion sequence. *Cell.* **34**: 951-960.
- LAMBOWITZ, A. M. (1989). Infectious introns. *Cell.* **56**: 323-326.
- LIRAS, P. i J. F. MARTÍN. (1990). «**Microbiología 1990**». Bioquímica y genética de la producción de antibióticos b-lactámicos. (Ed.: J. Casadesús, F. Ruiz-Berraquero.) Publicaciones de la Universidad de Sevilla. p. 201-214.
- MALAMY, M. H. (1970). «**The lactose operon**». Some properties of insertion mutations in the *lac* operon. (Ed.: J. R. Beckwith, D. Zipser.) Cold Spring Harbor Laboratory. p. 359.
- MARTÍNEZ, E. i F. DE LA CRUZ. (1990). Genetic elements involved in Tn21 site-specific integration, a novel mechanism for the dissemination of antibiotic resistance genes. *EMBO J.* **9**: 1275-1281.
- MCCCLINTOCK, B. (1951). Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **16**: 13-47.
- MURPHY, E. i S. LOFDAHL. (1984). Transposition of Tn554 does not generate a target duplication. *Nature.* **307**: 292-294.
- NEVERS, P. i H. SAEDLER. (1977). Transposable genetic elements as agents of gene instability and chromosome rearrangements. *Nature.* **268**: 109-115.
- OCHMAN, H. i A. C. WILSON. (1987). **Evolutionary history of enteric bacteria**. «*Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: cellular and molecular biology». (Ed.: F. C. Neidhardt.) American Society for Microbiology. p. 1649-1654.
- ORGEI, L. E. i F. H. C. CRICK. (1980). Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature.* **284**: 604-606.
- PATO, M. L. (1989). «**Mobile DNA**». Bacteriophage Mu. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe.) American Society for Microbiology. p. 23-52.
- ROGERS, J. H. (1989). How were introns inserted into nuclear genes? *Trends Genet.* **5**: 213-216.
- ROSE, M. R. i W. F. DOOLITTLE. (1983). Molecular biological mechanisms of speciation. *Science.* **220**: 157-162.
- ROTH, J. R. i M. B. SCHMID. (1981). Arrangement and rearrangement of the bacterial chromosome. *Stadler Symp.* **13**: 53-70.
- SCAZZOCCHIO, C. (1989). Group I introns: do they only go home? *Trends Genet.* **5**: 168-172.
- SHAPIRO, J. A. (1969). Mutations caused by the insertion of genetic material in the galactose operon of *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* **40**: 93-105.
- SHERRATT, D. (1989). «**Mobile DNA**». Tn3 and related transposable elements: site-specific recombination and transposition. (Ed.: D. E. Berg, M. M. Howe.) American Society for Microbiology. p. 163-184.
- SO, M., F. HEFFRON i B. J. MCCARTHY. (1979). The *E. coli* gene encoding heat stable toxin is a bacterial transposon flanked by inverted repeats of IS1. *Nature.* **277**: 453-456.

- STERN, M. J., G. FERRO-LUZZI AMES., N. H. SMITH, E. C. ROBINSON i C. F. HIGGINS. (1984). Repetitive extragenic palindromic sequences: a major component of the bacterial genome. **Cell**. 37: 1015-1026.
- WANG, A. i J. R. ROTH. (1988). Activation of silent genes by transposons Tn5 and Tn10. **Genetics**. 120: 875-885.