

(18) 452-456

郑州黑腹果蝇自然群体 P-M 细胞型多态性研究

蒙世杰 张克雄

Q969.462.2

(西北大学生物学系, 710069, 西安; 第一作者 52 岁, 男, 副教授)

摘要 应用性腺败育频率的遗传分析方法, 对郑州黑腹果蝇自然群体的 P 因子活性和细胞型进行了较详尽的剖析。结果发现, 该群体的 P 因子活性是单态的; 而细胞型在群体、单雌系内和个体间皆表现出多态现象; 该群体为缺乏完整 P 因子的 M' 品系。提出了 Q 因子调控模型, 以解释在缺乏完整 P 因子的 M' 品系中细胞型决定和多态现象产生的机理, 并对细胞型的频率分布规律与平均 GD(性腺)不育频率之间的内在联系进行了讨论。

关键词 黑腹果蝇; GD 不育; 细胞型; 多态; P 因子

分类号 Q962

在黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)中, 业已发现和鉴定了许多结构和功能上迥然不同的可动因子族, 约占整个基因组的 17%^[6]。其中与 P-M 杂种劣育有关的 P 族可动因子, 以其特殊的遗传学效应和广泛的应用前景吸引着众多的遗传学家和分子生物学家。这不仅因为对它的研究, 在认识和揭示诸如核质互作、种群进化、基因调控和自发突变的机理等基本理论上具有重要的意义^[7], 而且在分子生物学上, 它已成为基因检出、生物诱变和基因克隆分子标记的有力手段^[12]。应用工程 P 因子能够简捷地发现希望克隆的基因, 也可迅速地找到基因表达的增强子^[7], 并可望成为真核生物遗传工程上一种新的安全可靠的基因载体。

P 因子在黑腹果蝇的基因组中可高达 60 个拷贝, 分布在各条主染色体上, 表现出长度上的异质性和结构顺序上的同源性^[14]。P 因子可分为完整的和缺失的两大类。完整的 P 因子长 2 907 bp, 两端具有 31 bp 的反向重复顺序, 包含有 4 个开放阅读框(Open Reading Frame, ORF), 编码一个 P 因子转座酶^[11]。缺失因子是由完整因子通过不同程度的中间缺失形成的, 不能编码转座酶。但只要它们的末端和亚末端顺序是完整的, 在转座酶的作用下, 同样具有转座的能力^[7]。缺失因子在功能上是非自主的, 因为它们的转座需要完整的(又称自主的)P 因子的存在。

由 P 因子的转座引起的各种劣育性状, 统称为杂种劣育综合症, 包括性腺败育(GD 不育), 雄性重组(MR), 遗传比例偏离, 染色体重排和各类突变的大幅度提高^[6]。P 因子的转座是由父方提供的染色体 P 因子和母方提供的 M 细胞型两种遗传组分相互作用的结果^[6]。依据两类标准诊断杂交, 可将黑腹果蝇在 P-M 系统中分为 P、Q 和 M 三大类型^[6]。Engles 将允许 P 因子转座的细胞状态称为 M 细胞型; 将抑制 P 因子移动的细胞状态称为 P 细胞型^[4]。本文首次报道了我国自然群体中发现的 P-M 细胞型多态现象, 并探讨了细胞型决定机理和多态现象产生的可能原因。

1 材料和方法

1.1 材料

标准品系^[6]w-Harwich(wH)是带有白眼(w)标记的强 P 品系, r-Canton-S(rCS)是带有鲜红眼(r)

标记的真实 M 品系。此两品系由著名的 P 因子研究专家 Engels 教授于 1987 年 7 月所赠送。

郑州群体野生品系是由蒙世杰和郝建国于 1989 年 10 月在郑州酿造厂所采集的。当天从所采集的 200 多只黑腹果蝇中,随机挑出 30 只雌蝇,单雌分管饲养,建立单雌系。其余装入奶瓶作为自然群体的样本。

全部果蝇在撒有活酵母的玉米粉—琼脂—糖普通培养基上饲养,在 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 下保存。子₁代羽化后,各单雌系保持 50~70 个个体,群体样本保持在 200 只个体左右。

1.2 P 因子活性和细胞型测定

1.2.1 标准诊断杂交和分类标准 按照标准诊断杂交,杂交 A 为 $rCS \text{♀♀} \times U$ (待测果蝇) $\uparrow \uparrow$,用以测定待测品系的 P 因子活性, F_1 雌蝇的 GD 不育频率可给出 P 因子活性的直接量度;杂交 A* 为 $U \text{♀♀} \times wH \uparrow \uparrow$,用以测定待测品系的细胞型。用此两类诊断杂交 F_1 雌蝇的 GD 不育频率,可将任何品系在 P-M 系统内进行分类。如果杂交 A 的 GD 不育频率大于 10%,则为 P 品系;若在两类杂交中都小于 10%,则为 Q 品系;在杂交 A* 中大于 10%,则为 M 品系,其细胞型为 M 型,小于 10% 则为 P 细胞型^[9]。显然 P 和 Q 品系的细胞型均为 P。M 品系又分为 M' 和真实 M。真实 M 品系不含任何 P 因子,表现出缺乏任何调控 P 因子活性的能力,其杂交 A* 产生 100% 的 GD 不育。M' 则含有数量不等的缺失 P 因子,表现出具有不同程度的调控能力,在杂交 A* 中往往产生大于 10% 和小于 100% 的 GD 不育频率^[9]。

1.2.2 测定程序 诊断杂交可采用 20 雌对 20 雄,以获得待测品系的平均 GD 不育频率。也可采用单只测定 ($3rCs \text{♀} \times 1U \uparrow$, $1U \text{♀} \times 3wH \uparrow$) 以获得个体的 GD 不育频率。按既定的杂交程序^[9,10],将选好的处女蝇和雄蝇按杂交 A 和 A* 的组合放入盛有新鲜培养基的奶瓶(测品系)或 $\Phi 3 \times 10 \text{ cm}$ 的指管(测个体)中,立即置于 29°C 恒温下培养。第 15 d 将 F_1 成蝇转入新的奶瓶或指管中, 25°C 培养 3~5 d。然后解剖 F_1 雌蝇,每一奶瓶解剖 100 只,每一指管解剖 30 只。观察统计败育和正常卵巢数。败育卵巢数在检测卵巢总数中所占的百分数即为 GD 不育频率。

2 结果和分析

本研究对郑州群体样本和单雌系进行了品系测定 ($20 \text{♀} \times 20 \uparrow$) 和单只测定,全部测定在采集后 5 代之内进行。

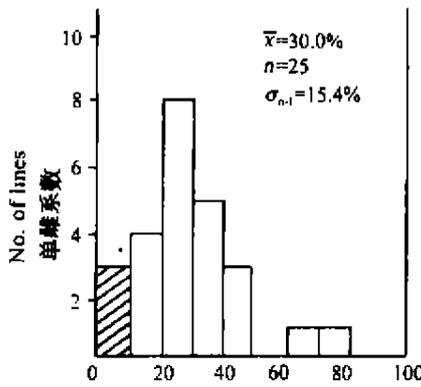
2.1 杂交 A 的结果

所有杂交 A 的 F_1 GD 不育频率皆为零。表明该群体或所有检测的个体缺乏 P 因子转座的活性,即缺乏完整的 P 因子,P 因子活性呈单态分布。

2.2 杂交 A* 的结果

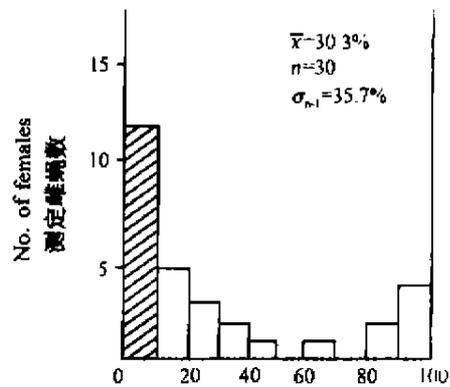
对郑州群体集团杂交 A* 的 GD 不育频率为 29.5%。对 25 个单雌系的集团杂交 A* 的结果表示于图 1。图 1 是以 10% 为组距绘制的 GD 不育频率分布图。图中阴影部分为 P 细胞型的单雌系比例, \bar{x} 是 25 个单雌系的平均 GD 不育频率, n 为所测定的单雌系数, σ_{-1} 为标准差。 $\bar{x} = 30\%$ 与前一结果 29.50% 无显著差异,都大于 10%,说明该群体从总体上看,为 M 细胞型。同时又小于 100%,表明其基因组含有一定数量的缺失 P 因子,属于 M' 品系。图 1 中有 3 个单雌系小于 10%,为 P 细胞型;其余大于 10%,为 M 细胞型。在 M 细胞型的单雌系间 GD 不育频率存在着明显的差异,表明其细胞型的调控能力不同。因此,P 和 M 细胞型以及 M 细胞型不同程度的调控能力构成了郑州群体明显的细胞型多态现象。

表 1 和图 2 给出了对郑州群体样本的 30 只雌蝇单只测定的结果和分布。与集团测定(图 1)结果相比,个体间差异更大($\sigma_{-1} = 35.7\%$),出现了 0 和 100% 的极端个体。零个体完全抑制了来自 wH 品系的 P 因子活性;100% 的个体则缺乏任何抑制能力。有趣的是图 2 与图 1 的频率分布相反,表现为中间低两边高的双峰分布^[9]。



GD 不育百分数

图 1 单雌系的频率分布



GD 不育百分数

图 2 测定雌蝇的频率分布

Fig. 1 Frequency Distribution of Isofemale Lines

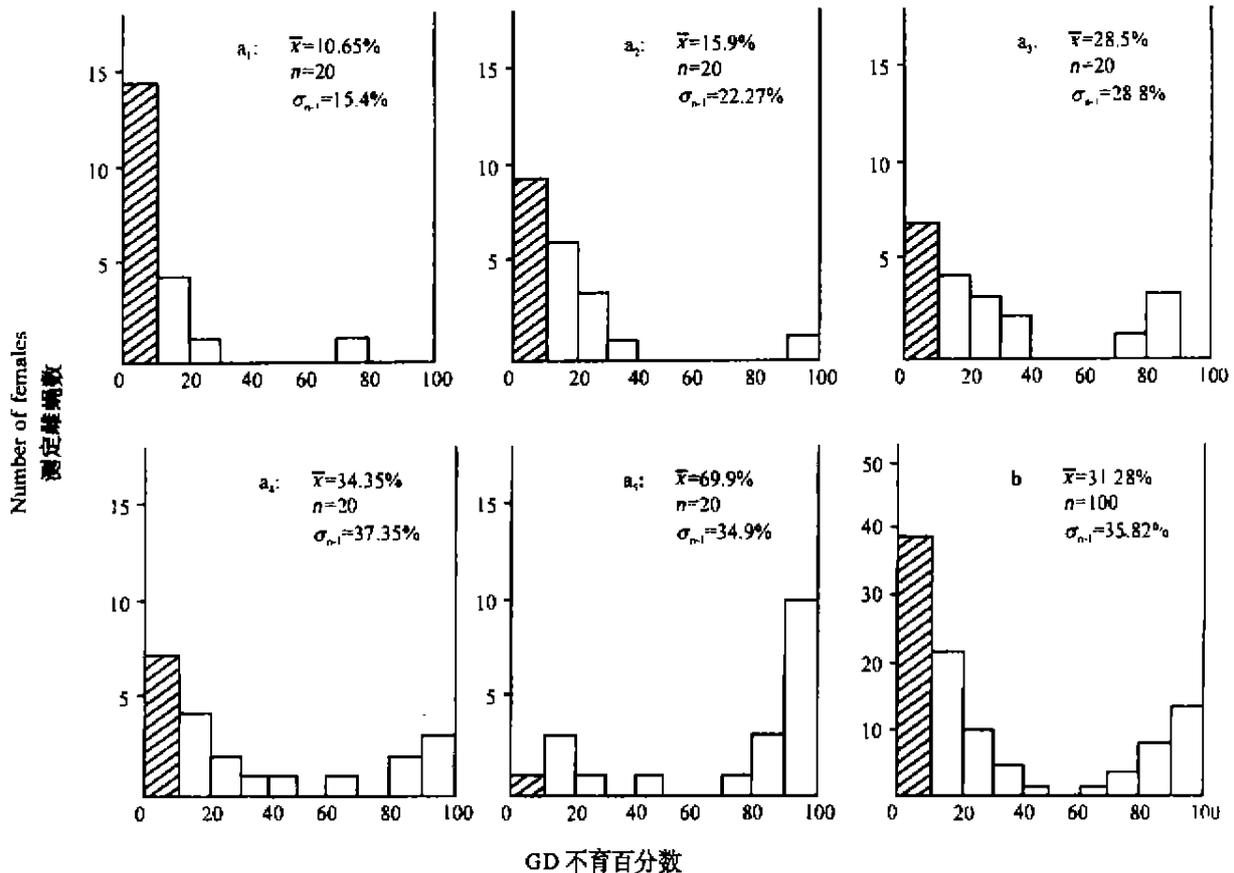
Fig. 2 Frequency Distribution of Females Tested

图 3a₁-a₅ 给出了随机抽取的 5 个单雌系内, 单只测定的结果。尽管各单雌系的频率分布不同, 但仍具有与图 2 相同的一些特征, 如 GD 不育频率变异大, P 和 M 细胞型共存, 呈双峰分布等。这些结果表明单雌系内也存在着明显的多态现象。图 3b 是将图 3a₁-a₅ 叠加的结果, 它与图 2 分布接近, 代表了郑州群体的基本遗传结构。若将图 3 中各单雌系的频率分布的差异与其平均 GD 不育频率 \bar{x} 同时加以分析, 便会立即发现一个很重要的规律, 即频率分布方式直接依赖于 \bar{x} , \bar{x} 值越高, 出现的 P 细胞型个体的频率越低, 100% 极端个体的比例越大, \bar{x} 值越低, P 细胞型个体比例越高, 100% 的个体比例越小。这一发现为我们认识 M' 群体的细胞型决定机理和多态现象形成的原因提供了重要的线索。

附表 单只测定杂交 A* 的 GD 不育频率(%)

Tab. GD Frequency of Single Female in Cross A* (%)

0	0	0	0	0	0
0	1	2	4	5	8
11	14	16	18	19	22
24	28	31	36	42	66
85	88	94	95	100	100



GD 不育百分数

图 3 单雌系内的频率分布

Fig. 3 Percent Distributions Within Isofemale Lines (a₁-a₅) and the sum (b) of a₁-a₅

3 讨论

对北美洲自然群体的研究,首先发现了 P 因子活性的多态性,它反应了个体间所含的完整 P 因子在数量上的不同,但其细胞型皆为单态的 P 型,缺乏 M 细胞型^(5,9)。本研究则相反,P 因子活性是单态的,但细胞型是多态的。这为探讨细胞型多态的形成和细胞型决定机理提供了良机。

对细胞型决定机理业已提出了好几种模型^(10,15,16)。这些模型基于对如北美那样的群体的研究,因此认为 P 细胞型的形成至少需要一个完整的 P 因子。所以这些模型均不能解释本研究结果。类似我们的结果,在地中海地区也发现不含完整 P 因子的细胞型多态的 M' 自然群体⁽¹⁾。在日本还发现缺失 P 因子却可完全抑制 P 因子活性的 Q 品系⁽⁸⁾。Simmons 等 1990 年报道了缺乏任何自主 P 因子,具有不同调控能力的 M' 品系⁽¹⁷⁾。Black 等提出了 Kb 因子模型以解释此类现象⁽²⁾。他们认为 M' 品系的细胞型主要取决于一类长约 1 Kb 的缺失 P 因子。然而 Simmons 等的实验发现,一些 M' 品系显然含有许多 Kb 因子,却未表现出任何抑制能力⁽¹⁷⁾。因此,有必要提出更合理的假设来解释细胞型决定机理。

我们认为,完整 P 因子所编码的转座酶具有识别转座位点和催化转座^(2,13)两种功能。而任何缺失都可使催化活性丧失⁽⁷⁾,但不一定影响酶的识别功能。因此从功能上可将缺失 P 因子分为具有识别功能的 Q 因子和丧失识别功能的 M 因子两类。Q 因子的产物可与基因组中的 P 因子转座位点相结合,阻止了转座酶的作用,从而对 P 因子活性起着负调控作用。只要基因组中 Q 因子数达到一定值(阈值)时,细胞质中 Q 因子的产物便可几乎或全部占据转座位点,细胞质表现为 P 细胞型。当 Q 因子数低于此值时,则具有较低的抑制 P 因子转座的能力,这时便表现为 M 细胞型。因此,可用基因组中 Q 因子的数量差异解释 M' 群体中细胞型多态现象形成的原因。可以想象 M 因子一般要比 Q 因子缺失严重。在基因组中所发现的那些 P 因子碎片⁽⁷⁾都可以认为是 M 因子。但不一定所有的 M 因子都比 Q 因子小,那些影响到识别功能区的缺失即是很小,也会形成 M 因子。这样便不难理解,那些只含 M 因子的个体或品系,则缺乏任何调控能力,在标准诊断杂交 A* 中可产生 100% 的 GD 不育,呈现出与真实 M 相同的效应。也可解释,为什么含有许多 Kb 因子的 M' 品系会缺乏任何调控能力,因为它们属于 M 因子。

郑州 M' 品系杂交 A* 的平均 GD 不育频率是对 Q 因子平均含量的量度, $\bar{x} = 30\%$,表示 F₁ 代雌蝇中 70% 的卵巢由于 Q 因子含量较低而表现为正常。该群体细胞型的多态性表明,个体间所含的缺失因子的性质(Q 或 M 因子)和数量不同,该群体尚未达到准平衡状态,处于由 M 向 P 进化的某一阶段⁽⁶⁾。Engels 假设⁽¹⁷⁾:如果这些 P 因子在引起 GD 不育的功能上不同,则同类因子可能是紧密连锁的,这就是说 Q 和 M 因子在群体中遗传分离并非是随机的。本研究中出现的双峰分布可能是分别连锁的两类缺失因子遗传分离的结果。

有了 Q 因子调控模型,便很容易理解图 3a₁-a₅ 中的各种分布,各单雌系的 \bar{x} 值是由其创始者(雌蝇和它的配偶)所携带的缺失因子的数量和性质决定的。那些带有 Q 因子多的单雌系, \bar{x} 值小,分离产生 P 细胞型的机率则高,而产生不含 Q 因子的 100% 的个体的机率则低(如 a₁)。相反,创始者含 Q 因子少的单雌系, \bar{x} 值则高,分离产生 P 细胞型的机率则小,而产生 100% 的机率则高(如图 3 a₅)。

Q 因子模型与其他调控模型一样,仅仅是来自统计资料和间接实验结果上的推断⁽¹¹⁾,尚需分子水平的直接证据。

本研究多蒙 W. R. Engels 教授帮助,陈新全和蒋晓鹏同志也作了部分工作,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Anxolabehere D, Nouaud D, Periquet G. Cytotype polymorphism of the P-M system in two wild populations of *Drosophila melanogaster*. PNAS. USA. 1982, 79:7 801~7 803
- 2 Black D M, Jackson S M, Kidwell M G, et al. KP elements repress P-induced hybrid dysgenesis in *D. melanogaster* EMBO, J. 1987, 6:4 125~4 135
- 3 Boussy I A, Healy M J, Kindwell M G. Molecular analysis of the P-M gonadal dysgenesis cline in eastern Australian *Drosophila melanogaster*. Genetics, 1988, 119:875~888

- 4 Engels W R. Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster* rules of inheritance of female sterility. *Genet. Res.*, 1979, 33:219~236
- 5 Engels W R, Preston C R. Components of hybrid dysgenesis in a wild population of *D. melanogaster*. *Genetics*, 1980, 95:111~128
- 6 Engels W R. The P family of transposable elements in *Drosophila*. *Annu. Rev. Genet.*, 1983, 17:315~344
- 7 Engels W R, P elements in *Drosophila*. In: Berg D E, Hower M M. ed. *Mobile DNA*. Washington D C, American Society for Microbiology, 1989. 437~484
- 8 Hagiwara N, Naramura E, Matsuura E T, et al. Hybrid dysgenesis in natural populations of *Drosophila melanogaster* in Japan. *Genet. Res.*, 1987, 50:105~111
- 9 Kidwell M G. Evolution of hybrid dysgenesis determinants in *Drosophila melanogaster*. *PNAS. USA.*, 1983, 80:1655~1659
- 10 O'Hare K, Rubin G M. Structure of P transposable elements of *Drosophila melanogaster* and their sites of insertion and excision. *Cell*, 1983, 34:25~35
- 11 O'Hare K, Driver A, Mc Crach S. et al. Distribution and structure of P elements from *Drosophila melanogaster* P Strain π_2 . *Genet. Res.*, 1992, 60:33~41
- 12 Pirrotta V. Cloning *Drosophila* genes. In: Roberts D B. ed. *Drosophila, a practical approach*. Washington D C, Oxford, 1986. 83~110
- 13 Rasmusson K E, Rasmusson J D, Simmons M J. Repression of hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster* by individual naturally occurring P elements. *Genetics*, 1993, 133:605~622
- 14 Ronsseray S, Lehmann M, Nouaud D. et al. The regulatory property of autonomous subtelomeric P elements are sensitive to a suppressor of variegation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1996, 143:1665~1674
- 15 Simmons M J, Raymond J D, Laverty T R, et al. Chromosomal effects on mutability in the P-M system of hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1985, 111:869~884
- 16 Simmons M J, Raymond J D, Boedingheimer M J, et al. The influence of nonautonomous P elements on hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1987, 117:671~685
- 17 Simmons M J, Raymond J D, Rasmusson, L M, et al. Repression of P element-mediated hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 1990, 124:663~675

责任编辑 徐象平

A Study on P-M Cytotype Polymorphism in a Natural Population of *Drosophila Melanogaster* in China

Meng Shijie Zhang Kexiong

(Department of Biology, Northwest University, 710069, Xi'an)

Abstract In *Drosophila melanogaster* the P-M hybrid dysgenesis results from the interaction of two genetic components; P elements and M cytotype. Both the components of a wild population of *D. melanogaster* from Zhengzhou, were examined and studied in detail by genetic analysis of the GD sterility. The result shows that the population is M' strain with defective P elements. No P elements active for potential GD sterility were revealed in all the tested males, presenting monomorphism for the P element activity. But the females among and within the isofemale lines as well as in the population tested individually exhibited various abilities to repress GD sterility (0~100%), presenting clearly P-M cytotype polymorphism. Here we propose a model of Q element regulation for the cytotype determining and the polymorphism forming mechanism in the M' natural populations and isofemale lines without any intact P elements. The internal relations between distributor of P-M cytotypes and the mean GD frequencies among and within the isofemale lines are discussed.

Key words *D. melanogaster*; GD sterility; cytotype; polymorphism; P element