

10

核外遗传分析

染色体外遗传因子所决定的遗传现象,在真核生物中称为核外遗传或细胞质遗传(**extranuclear inheritance** 或 **cytoplasmic inheritance**)。孟德尔定律重新发现后不久,于 1909 年法国植物学家 **C. Correns** 就报道了不符合孟德尔定律的遗传现象。他发现紫茉莉(*Mirabilis jalapa*)中花斑叶的母本与绿色叶的父本杂交后,子代都是花斑叶;而绿色叶母本与花斑叶父本的杂交子代却都是绿色叶。从正反交的这些结果来看,后代叶色只是由母本传递。人们推测细胞质中可能存在遗传物质,但直到 1953—1964 年才相继获得在线粒体和叶绿体中存在 **DNA** 的直接证据。随着有关线粒体、叶绿体基因组及其基因表达的研究日益受到人们的重视,由此核外遗传的研究更是逐渐成为遗传学中的重要领域之一。对线粒体 **DNA**(**mitochondrion DNA, mtDNA**)和叶绿体 **DNA**(**chloroplast DNA, ctDNA**)的结构、功能等方面所进行的大量研究,表明这些细胞器都是半自主性的,是细胞中的核外遗传体系。它们的基因组能为自身行使功能所需要的 **rRNA**、**tRNA** 以及某些蛋白质编码,线粒体和叶绿体中的核糖体是在细胞器中装配和行使功能的。

10.1 核外遗传的性质与特点

核外遗传因子存在于线粒体和叶绿体基因组中,它们能够自主复制,其遗传传递行为不按核基因的方式进行,也不出现相应的分离比,故又称为非孟德尔式遗传(non Mendelian inheritance)。核外遗传的特点是:细胞器基因组通过细胞质由一代传到另一代;亲本等位基因的分离比为 4:0,而不同于细胞核中等位基因的 2:2 分离比;正反交的结果不同,杂交子代某些性状只具有母本表型特征。此外,核外因子不能进行遗传作图。

上述核外遗传的性质和特点可以通过亲子之间性状的传递方式来说明。如几种高等植物绿白斑植株,其茎、叶有的是深绿,有的是白色,还有的是绿白斑驳(图 10-1)。各部分都能生芽开花。用不同枝条的花朵相互授粉,正反交后代的性状表现不同于经典遗传学的规律,而且杂交子代茎叶的颜色完全依母本花所在的枝条而定,与花粉来自哪一种枝条全然无关。来自深绿色枝条的种子长成深绿色幼苗;来自白色枝条种子的幼苗只包含无色的质体;唯有来自母本为绿白枝条的种子可以产生白色、绿色和绿白斑的幼苗,它们的比例在每朵花中也不相同(表 10-1)。在正反交中,子代某些性状仅与母本表现相同,是由于控制这些性状的遗传因子存在于核外的细胞质中,杂交后所形成的合子其细胞质几乎全部来自于雌性配子,雄性配子的贡献往往只是提供一个核,所提供的细胞质却微不足道。



图 10-1 紫茉莉 (*Mirabilis jalapa*) 的细胞质遗传(引自吴相钰等, 2005)

表 10-1 紫茉莉的细胞质遗传

母本枝条的类型	父本枝条的类型	子代的类型
白		白
绿	白	绿
绿白斑		绿、白或绿白斑
白		白
绿	绿	绿
绿白斑		绿、白或绿白斑

续表

母本枝条的类型	父本枝条的类型	子代的类型
白		白
绿	绿白斑	绿
绿白斑		绿、白或绿白斑

核外因子通过细胞质传递,还可用真菌中的异核体实验进一步证实。霉菌或放线菌的菌丝细胞常可连接在一起发生细胞融合。两个核基因不同的菌株其菌丝彼此连接并发生融合,于是不同类型的核便处在混合的细胞质中。这样的菌丝体称作异核体。如粗糙脉孢菌的野生型与突变型 *poky* 品系的菌丝互相融合,可形成异核体。当形成分生孢子时,异核体内的两种细胞核将分别出现在不同的分生孢子中,但已经混合的细胞质则不再分开。根据核基因标记,对这些单核分生孢子的后代进行遗传分析,可以看到一些具有野生型核的菌株表现出 *poky* 小菌落性状,而另一些带有小菌落核的菌株却变成了野生型。这一异核体测验的结果说明核的来源对小菌落这个表型性状的发育并无影响,而核外基因才是控制小菌落性状的遗传因子,这种遗传因子通过异核体的细胞质传递给它的无性分生孢子。

10.2 细胞内敏感性物质的遗传

10.2.1 草履虫放毒型的遗传

1943年 T. M. Sonneborn报道了草履虫 (*Paramecium aurelia*) 卡巴粒 (*Kappa particles* κ) 的遗传。草履虫有一个大核(营养核)和两个小核(二倍体的生殖核)。草履虫既可以进行无性生殖,又可进行有性生殖。无性生殖时,通过细胞分裂,一个个体分成两个新个体,基因型与原来的个体一致。有性生殖有两种方式,一种是接合生殖,即两个具有不同基因型的虫体接合,大核消失,各小核经减数分裂产生 4 个单倍体核,保留其中的一个,其余退化;这个单倍体的小核经有丝分裂,成为两个小核,接合的两个虫体各将一个小核转移给对方,从而发生了遗传物质的交换。虫体分开后,体内的两个小核融合,便形成一个二倍体核。若两虫体接合时间超过了核交换所需的限度,那么在虫体间还可能通过彼此间所形成的细胞质桥交换细胞质。另一种有性生殖方式是自体受精,即同一个体的两个小核经减数分裂后留下一个小核,这个小核分裂一次后又相互合并,随后再分裂发育成大核和小核。自体受精的后代都是纯合体。

有些品系的草履虫,其细胞质中含有卡巴粒,是一类放毒性颗粒,其释放的毒性物质可杀伤细胞质中不含此种颗粒的敏感型草履虫。若是一个杀伤者(基因型 KK) 与一个敏感者(基因型 kk) 只是短暂接合,除核交换外并无胞质的交换,子代草履虫基因型都将是 Kk ,但杀伤者仍为杀伤者,敏感者还是敏感者,因为细胞质中无卡巴粒[图 10-2 a]。一旦二者的结合时间延长,除发生了小核交换外,细胞质也发生了交换,那么,接合的虫体分开后,敏感者由于既有 Kk 的基因型,细胞质中又有了卡巴粒,也就变成了杀伤者[图 10-2 b]。这表明卡巴粒只是通过细胞质来传递,但是它们的保持却要依赖于核中显性基因 K 的存在。而且,基因型为 Kk 的放毒型(杀伤者)并不稳定,一旦经自体受精,基因型分离为 KK 和 kk , kk 个体细胞质中的卡巴粒不能保持和增殖,几代无性生殖后,就将因卡巴粒的消失而最终成为敏感者。由此可知,放毒型的遗传既取决于细胞质里的卡巴粒,同时又受到核基因 K 的控制。

当用高温、X射线或其他方法消除杀伤者细胞质内的卡巴粒,它们便变成敏感型。有趣的是,它们可以通过吞食切碎的杀伤者再回复成为杀伤者。看来,卡巴粒虽然依赖核基因来维持它的存在,但仍具有它自身的遗传连续性。而 K 基因对维持卡巴粒的存在是不可缺的,只是它不能产生出卡巴粒。

卡巴粒的直径为 $0.2 \sim 0.4 \mu\text{m}$,相当于一个小型细菌的大小,内含 DNA 和 RNA 及一些酶。在有氧呼吸时卡巴粒的细胞色素与宿主不同,可以被看做是存在于草履虫细胞质内的一类共生生物(endosymbiont)。

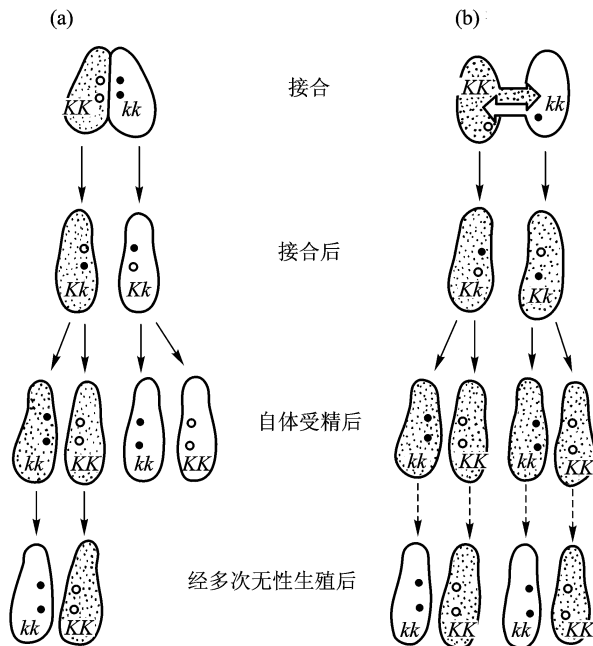


图 10-2 草履虫的感染性物质遗传

(a) 接合时间短 (b) 接合时间长

除卡巴粒外,还先后在草履虫中发现一些其他的放毒性颗粒,如 γ 粒、 λ 粒、 μ 粒等,和卡巴粒一样,它们也表现出与核基因共同作用的核外遗传性质。

10.2.2 果蝇的感染性遗传

在黑腹果蝇中有两个通过雌亲将感染因子传递给后代的例子,都显示出明显的核外遗传形式。果蝇的绝大多数品系可以被一定量的 CO_2 所麻醉,但当放回正常的空气中后,就迅速地恢复过来,并无任何严重的后遗效应。这种品系是对 CO_2 有抗性的。然而有些品系在受到 CO_2 处理后却长期麻醉不能恢复原状,表现对 CO_2 极度敏感,而且这种对 CO_2 的敏感性总是通过雌性遗传而极少由雄性遗传。以后发现对 CO_2 敏感性的果蝇带有一种称为 σ 的病毒样颗粒,它可以使雌体变成对 CO_2 敏感。若是在繁殖时将这种颗粒引入,或是将敏感果蝇的提取物注射到有抗性的果蝇中,都会诱导出敏感性。由此表明, σ 是一种感染性因子,能够改变寄主表型,使对 CO_2 具敏感性,通过雌亲的卵子,一代一代地遗传下去。

果蝇中核外遗传的另一个例子是关于性比(sex ratio, SR)的现象。在果蝇的一些品系中,它们的雄性子代远低于常规的 1:1 的比例,甚至完全缺如,这种现象就是“性比失常”。产生大量雌性后代的雌蝇称之为“性比雌蝇”,它们把这种特性遗传给子代中的雌体而不传给雄体。在“性比雌蝇”子代中,雄体的缺少看来是由于雄性胚胎在发育早期即已死亡。已经发现果蝇中的这种性比现象也是由

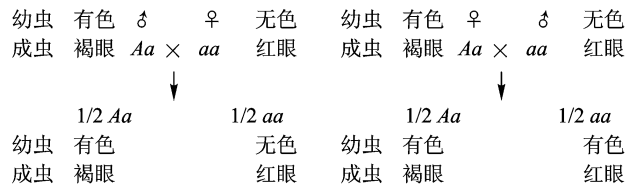
于一种类似于 σ 的螺旋体 (spirochete) 所引起。通过繁殖或是注入 SR 个体的抽提物都能将这种 SR 性状引入到正常的果蝇体内。和卡巴粒一样, σ 颗粒和 SR 螺旋体在果蝇中的存在也是取决于相应的核基因。

10.3 母体影响

在正反交情况下, 子代某些性状相同于其雌性亲本的现象, 其中有的是由于细胞质遗传因子传递的结果, 属于核外遗传的范畴, 但有的却是由于母体中核基因的某些产物积累在卵母细胞的细胞质中, 使子代表型不由自身的基因型所决定而出现与母体表型相同的遗传现象, 则称为母体影响 (maternal effect)。母体影响有两种: 一种是短暂的, 只影响子代个体的幼龄期; 另一种是持久的, 影响子代个体终生。

10.3.1 短暂的母体影响

欧洲麦蛾 (*Ephesia kuhunika*) 野生型幼虫的皮肤中含有色素, 成虫复眼为深褐色。现已鉴定这种色素是由犬尿氨酸 (kynurenine) 所形成的, 由一对基因 (Aa) 控制。有色个体与无色个体 (aa) 杂交, 不论父本还是母本是有色的, 其子一代也都是有色的。但当用子一代 (Aa) 与 aa 个体测交, 其后代的表型则决定于有色亲本的性别。若父本为 Aa 后代表型与一般测交无差别, 即其中半数测交后代幼虫的皮肤是着色的, 成虫复眼为深褐色; 另一半后代幼虫无色, 成虫时眼为红色。但是如果母本为 Aa 所得测交后代幼虫都是有色的, 成虫时其中半数为褐色眼, 半数为红眼。这些结果既不同于一般测交, 也与伴性遗传的方式不符。上述杂交见下列图示:



产生上述结果的原因是由于基因 A 使幼虫着色, 卵母细胞中有 A 基因存在, 因而经减数分裂产生的卵, 不论基因型是 A 或 a 它们的细胞质中都含有 A 基因的产物, 即色素的前体以及由前体所合成的色素。而测交所得的受精卵的细胞质多来自卵子, 所以有色母本 (Aa) 的后代中, aa 基因型幼虫的皮是有色的。不过, 这种母性的影响只是暂时的, 因为这种个体缺少 A 基因, 不能自身合成色素, 随着个体发育, 色素逐渐消耗, 成虫时复眼已成为红色。由此可见, 这种母性影响显然是通过母体细胞质而起作用, 但仍是核基因的遗传, 因为母体细胞质中的色素物质是由其基因型决定的。

10.3.2 持久的母体影响

在椎实螺 (*Limnaea peregra*, 俗称田螺) 的遗传研究中, 曾观察到母性基因对后代表型的持久影响。椎实螺是雌雄同体的, 单个饲养时, 它们进行自体受精。群养时, 一般是异体受精, 两个个体相互交换精子, 同时又各自产生卵子。

椎实螺外壳的旋转方向可以是右旋, 也可以是左旋。这种性状由一对基因控制, 右旋 (control, D) 对左旋 (d) 为显性。右旋 (DD) 雌性与左旋 (dd) 雄性交配, F_1 全为右旋, 当 F_1 自体受精, 其 F_2 也都是右旋。但是, 在子二代中, 有 $3/4$ 的雌性所产生的子三代则为右旋, $1/4$ 雌性产生的

F₃ 则为左旋。这里, F₂ 全为右旋, 因其母本基因型为 Dd, 母体中的核基因 D(右旋)的产物积累在卵母细胞的细胞质中, 使 F₂ 中的 dd 个体的表型也为右旋。反交时, 即雌性为左旋(dd), 雄性为右旋(DD), F₁ 全是左旋, 虽然基因型为 Dd, 只因母体的 d 基因产物在卵细胞质中, 使之表型为左旋, 不由自身的基因型决定(图 10-3)。F₂ 则和正交情况一样都是右旋, 是因为子一代母体的基因型为 Dd, 到第三代才表现为右旋: 左旋 = 3: 1 的分离, 该现象称为延迟遗传(表 10-2)。在这种遗传方式中, 子一代表型受母体基因型所制约, 而不由它自身的基因型决定, 其表型与母体相同。

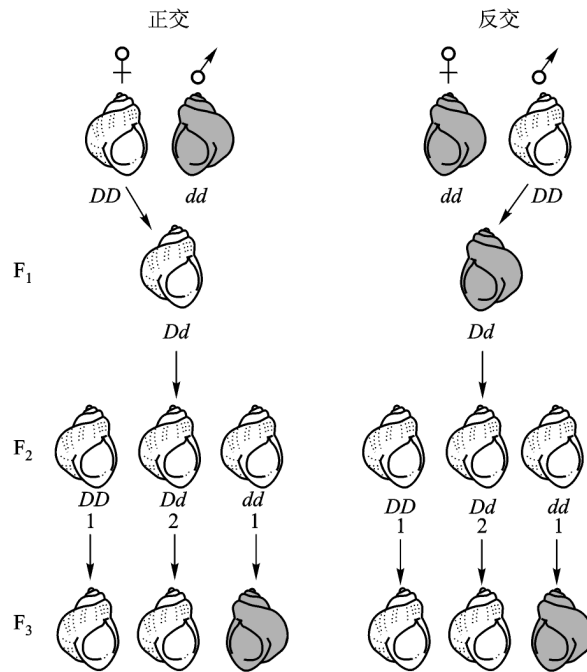


图 10-3 椎实螺外壳旋向的遗传

表 10-2 椎实螺外壳旋向的遗传

F ₂	F ₃		
	基因型	表型	比率
1 DD	1 DD	右旋	3
2 Dd	1/2 DD		
	1 Dd		
1 dd	1/2 dd	左旋	1
	1 dd		

为什么核基因的表达晚了一代(在 F₃ 时才表现 3: 1 分离)? 对持久的母体影响的理解不能单纯从遗传学角度而必须从发生学角度上来考虑。在田螺发育中, 其受精卵是螺旋式卵裂, 它的第一次卵裂的纺锤体排列方向不是垂直的, 而是右螺旋的方向转向右约 45°, D 基因决定; 左旋者, 则向左旋转 45°, 由 d 基因控制。随后的卵裂以及随之躯体和外壳的分化便向右转或左转。换言之, 整个发育决定于第一次卵裂, 而第一次卵裂的旋转方向决定于卵母细胞的来源。所以田螺螺壳及螺体的旋向发育归根到底决定于母体的基因型和这种基因型所影响的卵母细胞(图 10-4)。

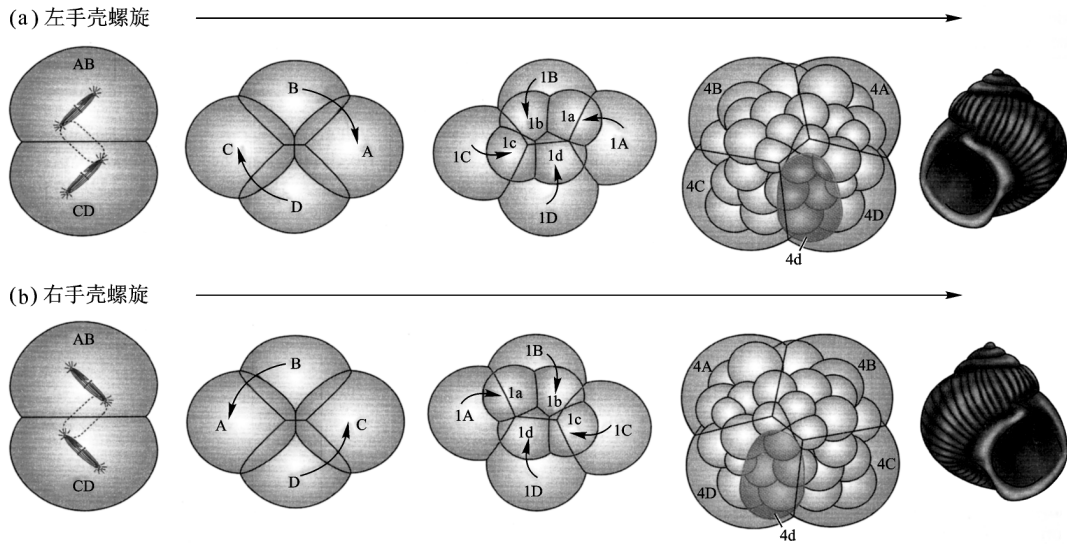


图 10-4 椎实螺螺壳的右旋向与左旋向(从动物极观)(引自 Gilbert 2000)

右旋向与左旋向的来源可追溯到第二次卵裂时有丝分裂纺锤体的定向。右旋和左旋彼此呈镜像对映

10.4 线粒体遗传及其分子基础

10.4.1 酵母的小菌落突变

1949年,法国学者 B. Ephrussi 与其同事在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中发现了小菌落突变型,这是在培养基上酵母群体中所展现出的小菌落表型。在正常的酵母细胞群体中一般约有 1% 的细胞会自发形成小菌落。这是一种在糖类代谢中不能利用氧气的缺陷菌株,它们缺少细胞色素 *a*、*b* 以及细胞色素 *c* 氧化酶。即使在通气条件下,细胞生长也很缓慢,只能长成很小的菌落。所以将这种突变型称作小菌落(*petite*)。多次实验表明,小菌落很稳定。当用大菌落进行培养时,经常产生少数的小菌落,而用小菌落进行培养,则只产生小菌落,并不再回复到正常的大菌落。

化学诱变剂也可诱导获得小菌落。如用溴化乙锭、吡啶黄等突变剂处理正常酵母菌,即使在通气条件下,长出来的酵母菌也全部都是小菌落。在缺氧条件下,连正常酵母菌也不能产生细胞色素氧化酶,当然是不能诱发出这种小菌落突变的。

将小菌落酵母菌(交配型 *A*) 同正常的酵母菌(交配型 *a*) 杂交,形成二倍体合子 *Aa* 再将其减数分裂所得的 4 个单倍体子囊孢子分别培养,其后代都是正常的,作为核基因标记的结合型等位基因(*A*, *a*) 仍按 1:1 分离,而小菌落性状完全消失(图 10-5)。这是因为小菌落酵母菌与正常酵母菌结合时,细胞质也都共同融合到二倍体合子中。细胞质中的线粒体自身能够复制,但不是像核基因那样在减数分裂中有规律地分离,而是在细胞分裂时随机分配到子细胞中。这样,每个子囊孢子可能获得正常线粒体,而由它们长成的菌落都是正常的。可见酵母菌的小菌落特性的遗传因子是存在于细胞之中进行核外遗传的。以后,根据氯化铯密度梯度离心,测出小菌落细胞中线粒体 DNA 与大菌落的线粒体 DNA (mitochondrion DNA, *mDNA*) 明显不同,有时小菌落中甚至还测不出线粒体 DNA 的存在。这说明,小菌落突变使线粒体 DNA 严重缺损或大部分丢失。用分子杂交和限制酶分析方法对小菌落线粒体 DNA 全部缺失或严重变异的类型与野生型大菌落的线粒体 DNA 进行了比较研究,发现小菌落线粒体 DNA 除有一些片断多次重复外,线粒体基因组中还有大片段缺失。可见酵母小菌落突

变是由于线粒体 DNA 的遗传变异,致使线粒体不能正常执行其功能,线粒体中蛋白质合成受阻,造成了呼吸代谢的缺陷。

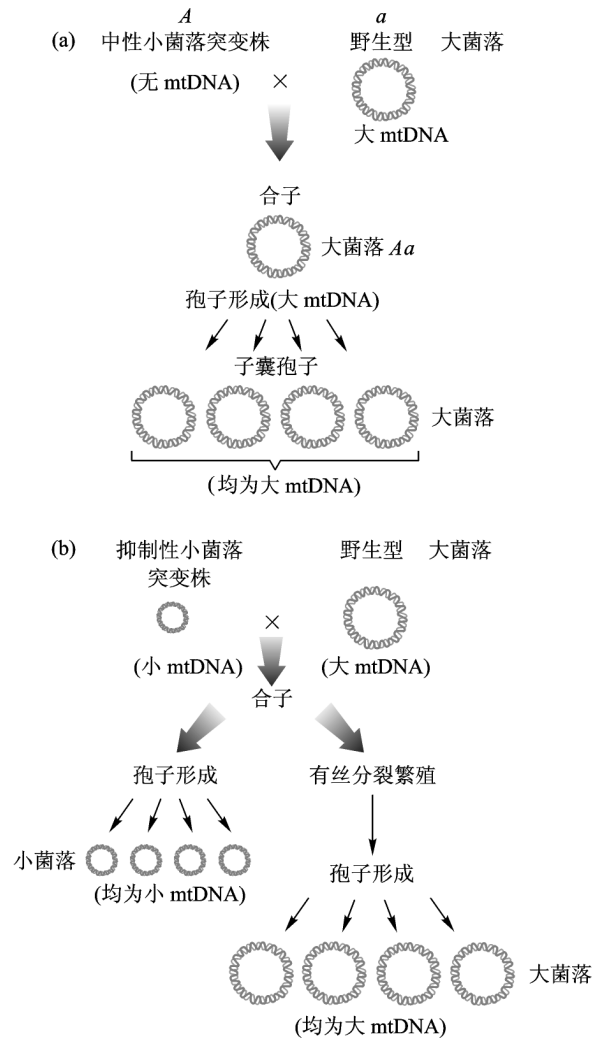


图 10-5 不同类型酵母菌杂交中的 mtDNA 遗传

(a) 中性小菌落酵母与野生型株杂交 (b) 抑制性小菌落与野生型株杂交

10.4.2 线粒体基因组

(1) 线粒体基因组的一般性质

线粒体中有称为拟核(nucleoid)的高度浓缩结构,其中常含有几个拷贝的线粒体 DNA 分子,例如酵母每个线粒体含有 10~30 个拟核,每个拟核又含有 4~5 个 mtDNA 分子。由于每个酵母细胞中有 1~45 个线粒体,因此每个细胞就有很多 mtDNA 分子。线粒体基因组是裸露的 DNA 双链分子,主要呈环状,但也有线性的分子。各个物种的线粒体基因组大小不一。一般,动物细胞中的线粒体基因组较小,为 10~39 kb,酵母为 8~80 kb,都是环状;四膜虫属(Tetrahymena)和草履虫等原生动物为 50 kb,是线性分子。植物的线粒体基因组比动物的大许多,也复杂得多,大小可以从 200 kb 到 2500 kb,如在葫芦科中,西瓜是 330 kb,香瓜(Cucumis melon L.)是 2500 kb,相差达 7 倍。

mtDNA 也能进行半保留复制。通常,核 DNA 的复制与细胞分裂是同步的,但 mtDNA 却有迥然不同的规律:多细胞生物中,不论是分裂着或静止的体细胞中,mtDNA 的合成常是活跃进行着的。只

是这种复制活动并不均一,有些 mDNA 分子在细胞周期中复制几次,而另一些可能一次也不复制。对细胞周期中 mDNA 合成的动力学研究,显示出细胞内 mDNA 合成的调节与核 DNA 合成的调节是彼此独立的。然而线粒体 DNA 的复制仍受核基因的控制,其复制所需的聚合酶是由核 DNA 编码,在细胞质中合成的。

线粒体是半自主性的,其所含有的 DNA 不仅能复制传递给后代,而且还能转录所编码的遗传信息,合成线粒体某些自身所特有的多肽。对一些真核生物线粒体基因组的序列分析,表明它们可为线粒体成分的 rRNA、tRNA 和蛋白质编码(表 10-3)。线粒体基因组编码的蛋白质总数相当少,与其基因组大小无关,如哺乳动物线粒体基因组虽仅 16 kb,可为 13 种蛋白质编码;而酵母线粒体基因组 60~80 kb,却只编码几种蛋白质。植物具有大得多的线粒体基因组,能为较多的蛋白质编码。线粒体基因组编码的蛋白质主要是氧化呼吸所需要的酶复合物中的少部分亚基,如细胞色素氧化酶的 3 个大亚基,ATP 酶的几个亚基等。原生生物和植物 mDNA 还编码它自身所需要的一些核糖体蛋白。除哺乳动物极小的线粒体基因组外,在大多数的线粒体基因组某些基因中已发现有内含子。线粒体基因组还为其自身的核糖体装置编码两个主要的 rRNA。线粒体基因翻译系统中的 tRNA 也是由其自身的基因组编码,不同生物线粒体 tRNA 的数量不一。

表 10-3 线粒体基因组编码的蛋白质和 rRNA、tRNA 的数量

物种	大小/kb	编码蛋白质的基因数	编码 RNA 的基因数
真菌	19~100	8~14	10~28
原生生物	6~100	3~62	2~29
植物	200~2 500	27~34	27~34
动物	16~17	13	13

(2) 线粒体 DNA 的组成

不同生物体细胞中线粒体的组成不尽相同,而各具其特点。虽然不同动物门类的线粒体基因组的构成在细节上有差异,但基本上是局限于为少数基因编码的小型基因组。哺乳动物中线粒体基因组最为致密,没有内含子,有些基因编码实际上是重叠的,如人类线粒体基因组的 16 569 bp 中(图 10-6),除与 DNA 复制起始有关的 D 环外,几乎每个碱基对都用于编码序列。其中已确定 13 个为蛋白质编码的区域,它们是细胞色素 b、细胞色素氧化酶的 3 个亚基、ATP 酶的 2 个亚基以及 NADH 脱氢酶的 7 个亚基的编码序列。另外还有 2 个为 rRNA(16S 和 12S)和 22 个 tRNA 编码的基因。这些基因排列紧凑,且其中多数的 tRNA 基因位于 rRNA 和 mRNA 基因之间。对人类线粒体 DNA 转录后加工的研究发现原始转录产物的断裂正好发生在 mt-tRNA 前后。因此 mt-tRNA 序列的二级结构可能作为加工酶的识别信号,在原始转录产物加工过程中起着“标点符号”的作用。

然而,较哺乳动物线粒体基因组大 5 倍的酵母线粒体基因组,虽基本功能相似,但 DNA 组成上迥然不同(图 10-6)。其基因间有大段非编码序列间隔,核糖体大小亚基的两个 rRNA 基因相距可达 25 000 kb,而且两个重要的基因中还有内含子,是断裂基因。如为细胞色素氧化酶亚基 I 编码的基因以及编码细胞色素 b 的基因均有若干个内含子。线粒体基因中内含子的发现是十分令人惊讶的,因为即使在酵母的核基因中也较少有内含子的存在。更为显著的另一特点是酵母线粒体基因的内含子具有可以将它们自身从 RNA 转录物中剪切除去的相关序列,这种自我剪接过程是一种 RNA 所介导的催化作用。

至于植物线粒体 DNA,不仅特别大,还表现出诸多复杂性。据目前所知,植物线粒体基因组中,编码蛋白质的基因有 *cox* 3 个细胞色素氧化酶复合物的大亚单位 *CoxI*、*CoxII* 和 *CoxIII* 的基因,植

关于线粒体基因病的遗传特点,首先就是突变 mDNA 通过母亲卵子传递给子女,父源性将其突变 mDNA 传递给子女则只是散发的偶然事件。其次,由于细胞质内包含多个 mDNA 分子,当某个特定位置上的突变同时发生在这些 mDNA 的同一基因时,称为纯质性(同序性)(homoplasm);若一个细胞内多个 mDNA 在此特定位置上既有突变基因又有正常基因,则称为异质性(heteroplasm)。因此,线粒体基因病的症状是以突变 mDNA 纯质个体最为严重,突变 mDNA 异质个体是否受累,则决定于突变 mDNA 所占的比例而定。第三,传递突变 mDNA 的母亲既可是纯质或异质性的患者,也可以是表型正常异质性的携带者。

10.5 叶绿体遗传及其分子基础

10.5.1 衣藻的叶绿体遗传

在叶绿体遗传研究方面,莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)是研究得最为详尽的材料之一。它是单细胞藻类,其营养细胞通常含有一个单倍体核、一个叶绿体(chloroplast)和约 20 个线粒体。衣藻通常行无性生殖,有时通过两种形态学上相同但交配型不同的配子进行融合,行有性生殖。衣藻的交配型是由细胞核内一对等位基因 m^+ 和 m^- 所决定的。配子融合给合子提供了相等的细胞内含物,合子萌发时,通常立即发生减数分裂,其 4 个单倍体产物,核基因是按 2:2 分离。但是,有一些基因如影响光合作用能力的基因、某些抗性基因都表现为母性遗传。这种现象最早发生于从衣藻中分离得到的突变体 sm^-s 这是一种对链霉素具有高度抗性的突变体。当交配型 m^+sm^-r 与 m^-sm^-s 杂交时,则几乎所有的子代(通常 > 99%)是链霉素抗性型;反交时(m^+sm^-s 与 m^-sm^-s)则几乎所有子代都是链霉素敏感型,显示其子代的链霉素抗性依亲本交配型不同而异,为非孟德尔式遗传。

这样一种特殊的母性遗传现象并不只限于链霉素抗性,其他一些性状的遗传也符合这一规律。

10.5.2 叶绿体遗传的分子基础

(1) 叶绿体基因组

叶绿体基因组有很多方面与线粒体基因组相似,也是一个裸露的环状双螺旋分子,其大小一般变动在 120 kb 至 190 kb 之间。通常一个叶绿体中可含有一个至几十个这样的 DNA 分子。叶绿体基因组的碱基序列中不含有 5-甲基胞嘧啶,这一特点可作为鉴定叶绿体 DNA(chloroplast DNA, cDNA)提纯程度的指标。

大多数植物的叶绿体基因组有一个共同的特征,即含有两个反向重复序列。它们之间由两段大小不等的非重复序列所隔开。由于重复序列方向相反,所以在复性过程中每条单链上的两个重复序列恰好可以互补形成双链结构,而它们间的两个非重复区则形成两个大小不等的单链 DNA 环,分别称为大、小单拷贝序列(single copy sequence)。不同植物中大、小单拷贝区的长度不一。但是,在蚕豆、豌豆等一些豆科植物叶绿体 DNA 中至今未检测出重复序列,而眼虫的 Z-Ha 品系中却有 3 个紧密排列的重复序列。

叶绿体 DNA 能够自我复制。但是和线粒体 DNA 一样,叶绿体 DNA 的复制酶及许多参与蛋白质合成的组分都是由核基因编码,在细胞质中合成后转运入叶绿体。

叶绿体基因组含有自己的转录翻译系统。它的核糖体属于 70S 型,组成 50S 和 30S 小亚基的 23S、4 5S、5S 和 16S rRNA 基因都是由叶绿体 DNA 编码。叶绿体核糖体蛋白质基因中约有 1/3 也是叶绿体 DNA 编码,另外,叶绿体基因组还含有 30 多个 rRNA 基因的编码序列。

(2) 叶绿体 DNA 的物理图谱及基因组成

许多植物叶绿体 DNA 的限制性内切酶识别位点作图和整个核苷酸序列分析,表明它们含有几乎近于完全相同的叶绿体基因(图 10-8)。

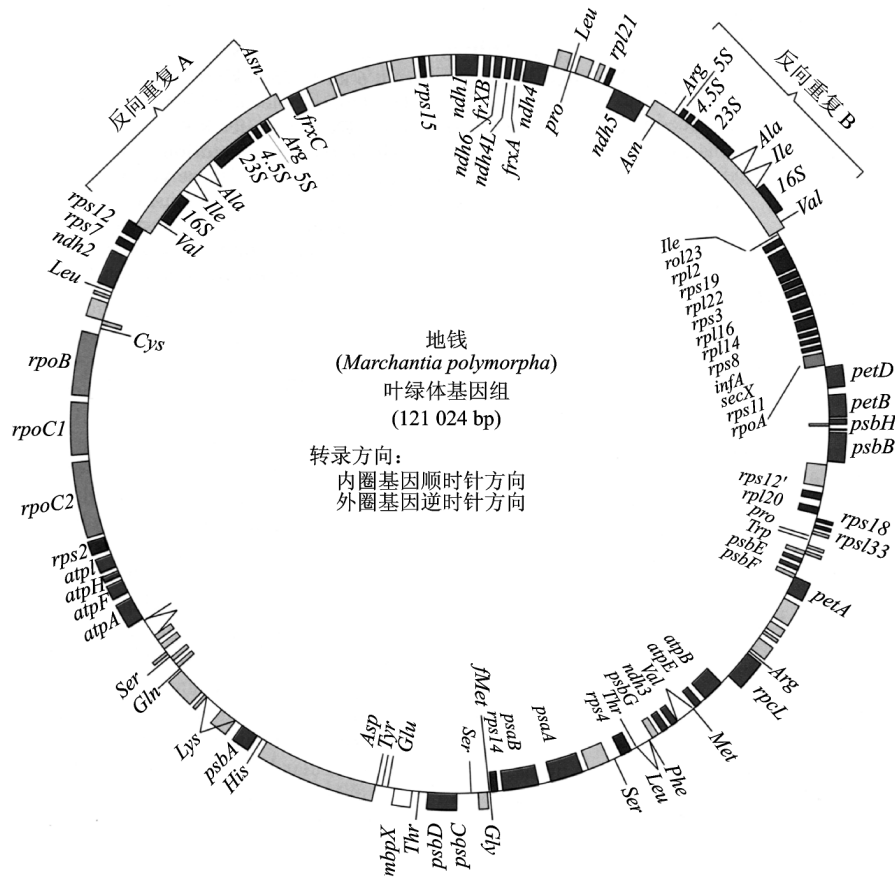


图 10-8 地钱叶绿体基因组(引自 Snustad 等, 2006)

DNA 分子环外列出的基因是逆时针转录的, 环内列出的基因是顺时针转录的

atp ATP 合成酶 frx 铁硫蛋白 inA: 起始因子 A mplx 叶绿体通透酶 ndh 推定的 NADH 还原酶
pet 细胞色素 b₆/f 复合物 psa 光系统 I psb 光系统 II rbc 核酮糖二磷酸羧化酶 rpl 和 rps: 大亚单位核糖体蛋白
rpo α RNA 聚合酶 rps 小亚单位核糖体蛋白 4.5S, 5S, 16S, 23S: rRNA 大小 rRNA 基因用氨基酸缩写字母表示

陆生植物叶绿体基因组有 105~113 个基因(表 10-5), 其中 4 种核糖体 rRNA 基因以 16S、23S、4.5S 和 5S 的次序反向排列在两个重复区中。此外, 叶绿体基因组还为一些蛋白质编码, 如约 20 个叶绿体核糖体蛋白质、叶绿体 RNA 聚合酶的几个亚基、光合系统 I 和 II 部分中的几个蛋白质、ATP 酶的亚基、在电子传递链中酶复合物的部分成分、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶(RuBP 酶)的大亚基。在叶绿体 DNA 分子上约有 30 个 rRNA 基因, 其中 4 个在反向重复区段, 有两个插在 16S rRNA 和 23S rRNA 之间; 其他则分散在整个基因组中。

表 10-5 陆生植物叶绿体基因组编码的基因数目

基因类型	数目
RNA 编码	
16S rRNA	1
23S rRNA	1
4.5S rRNA	1

续表

基因类型	数目
5S rRNA	1
rRNA	30~ 32
基因表达	
r蛋白	20~ 21
RNA聚合酶	3
其他	2
叶绿体功能	
核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶及类囊体	31~ 32
NADH脱氢酶	11
总计	105~ 113

叶绿体基因组中的内含子可分为两类：rRNA基因中的内含子通常是位于反密码子环上，有如酵母核 rRNA中的情况，且有些内含子非常长，如有的 rRNA编码序列不过 70~ 80个核苷酸，其内含子却可长达一二百个碱基。蛋白质编码基因中的内含子则与线粒体基因中的内含子类似，如眼虫叶绿体 DNA为 RuBP羧化酶大亚基编码的基因就含有 9个插入序列。

(3) 叶绿体遗传系统与核遗传系统的关系

作为细胞内一个相对独立的遗传系统，在整个细胞生命活动中，叶绿体基因组有其自主复制的遗传特性，但同时还需要核遗传系统提供的编码信息。就叶绿体蛋白质的合成来看，根据它们的来源可以分为 3类。第一类是由叶绿体 DNA编码，在其 70S核糖体上合成，如光系统 I P700 Chla蛋白质和相对分子质量为 3.2×10^4 的膜蛋白 pba。第二类是由核 DNA编码，在细胞质 80S核糖体上合成，然后转运到叶绿体中成为类囊体膜成分，如光系统 II Chla/b蛋白质。第三类则是由核 DNA与叶绿体 DNA共同控制的，如二磷酸核酮糖羧化酶，其大亚基由叶绿体基因组编码，在 70S核糖体上合成，而其小亚基却是由核 DNA编码，在细胞质中 80S核糖体上合成之后，穿过叶绿体被膜进入叶绿体中与大亚基一起整合为全酶。同样，ATP合成酶的 CF₁中的 α 、 β 、 ϵ 3个亚基，CF₀中亚基 I和 III的基因都在叶绿体 DNA上编码；而 CF₁中的 γ 、 δ 亚基和 CF₀中的亚基 II则由核 DNA编码。

由此可知，叶绿体基因只对组成叶绿体的部分多肽具有控制作用，而整个叶绿体的发育、增殖及其机能的正常发挥却是由核 DNA和叶绿体 DNA共同控制。所以，和线粒体一样，叶绿体也是半自主性细胞器。

知识窗 10-1

关于真核细胞器的起源

关于线粒体、叶绿体的来源，生物学家十分关注。目前，学术界对此问题较为普遍接受的理论是内共生学说(endosymbiont theory)。该学说是 Lynn Marglis在其 1967年发表的“关于有丝分裂细胞的起源”一文中提出的。她主张，最初厌氧性原核细胞通过细胞表面活动吞入了具有呼吸能力的原核细胞(细菌)，形成共生关系，二者在生存方面相得益彰，彼此获利。内共生体获得了宿主的保护，同时为厌氧性宿主提供了产能的呼吸途径，内共生体变成了线粒体。后来，以相同的方式，宿主细胞与螺旋体、蓝细菌(蓝藻)原核生物形成内共生关系，于是产生了鞭毛(纤毛)和叶绿体。这一过程可用图 1表示。

现今的研究不断发现真核细胞有许多属性符合于内共生学说的推理，例如：① 线粒体、叶绿体和细菌都含有环状 DNA分子(基因组)。② 线粒体、叶绿体对某些药物的反应与细菌相同。③ 参与有氧呼吸和光合作用的专一性的酶分布于细菌质膜和线粒体、叶绿体的内膜上。越来越多的实验例证

支持内共生学说。

总之,真核细胞器的起源是祖先原核生物基因组复制和质膜内陷包围形成的共生体(图 2)。

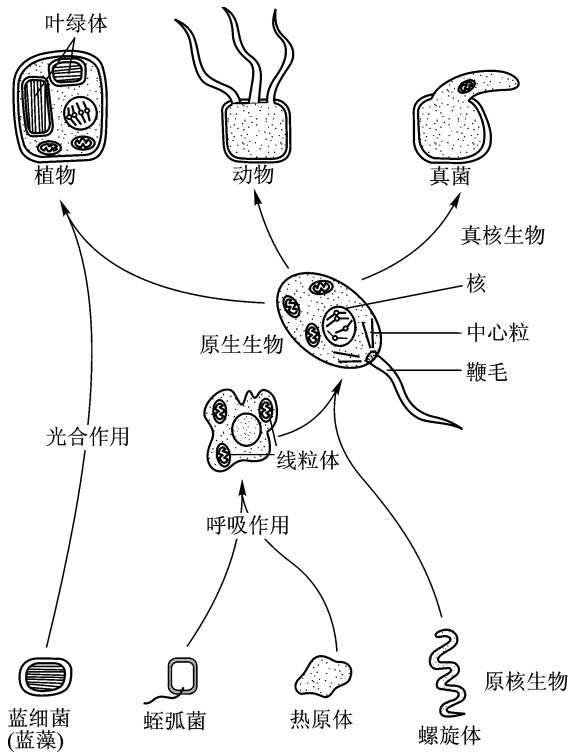


图 1 鞭毛与叶绿体的产生

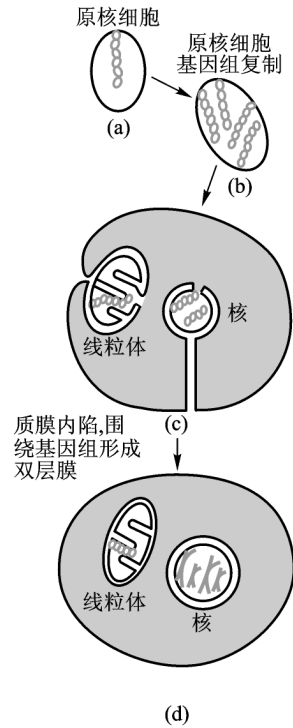


图 2 共生体形成过程

10.6 核外遗传与植物雄性不育

10.6.1 植物的雄性不育

植物花粉败育的现象称为雄性不育(male sterility)。雄性不育在植物界较为普遍,已在多种植物中发现。高等植物的雄性不育是杂种优势利用的一条重要途径。雄性不育所涉及的作物种类逐年增加,利用范围日趋广泛,愈来愈受到世界各国农业工作者的重视。

根据雄性不育遗传的机制,大抵可以分为核不育型和质-核不育型。

(1) 核不育型

这是一种由核内基因决定的雄性不育类型。现有的核不育型多属自然发生的突变。在水稻、小麦、玉米、谷子、番茄等作物中均曾发现过,但总的说来,核不育现象比较少,且往往因为不能产生后代而被淘汰。仅有少数例外,它们能通过环境因素调节而恢复育性保存后代。如湖北的光敏核不育水稻、山西的太谷核不育小麦等。遗传学试验证明,多数核不育类型都受核内一对隐性基因(m)控制,纯合体(msm)表现雄性不育。其不育性可被相对的显性基因(M)所恢复,杂合体(Msm)后代呈简单的孟德尔式分离。因此,单纯用遗传学方法不能使核不育型的整个后代群体保持不育性。这是核不育类型的一个重要特征,因此核不育类型的利用受到很大的限制。

(2) 质-核不育型

这种类型是由细胞质和细胞核基因互作所控制的不育类型。不育植株表现出多种表型异常,如花丝异常,花药不外露,花粉粒不饱满等。质-核不育类型的不育性由细胞质不育基因(sterility, S)和相对应的核基因决定。当细胞质基因 S 存在时,核内必须是相对应的纯合隐性不育基因 rfrf 个体才能表现不育。杂交或回交时,只要父本核内没有可育核基因(restere fertik, Rf),杂交子代就一直保持雄性不育,显示了细胞质遗传的特点。如果细胞质基因是正常可育的基因(normal N),即使核基因仍为 rfrf 个体仍是正常可育的;如果核内存在显性可育基因 Rf 则不论细胞质基因是 S 或 N,个体均表现育性正常(图 10-9)。

从上述分析可见,质-核雄性不育是细胞质和细胞核两个遗传体系相互作用的结果。这样,在实践中既有可能找到保持系(N) rfrf 这样的合子其细胞质中没有雄性不育因子,而核基因 rf 是隐性的,使雄性不育得以保持,另一方面又能找到相应恢复系(N) RfRf,这种品系不仅其细胞质中无雄性不育因子,且核中还存在恢复可育性的基因,使育性得以恢复。因而,这种质-核不育类型在农作物的杂种优势利用上具有重要的价值。目前,我国湖南、江西、广东等地在农业生产中大面积推广的杂交水稻,就是将植物雄性不育性用于制种以创造杂种优势的一个范例。

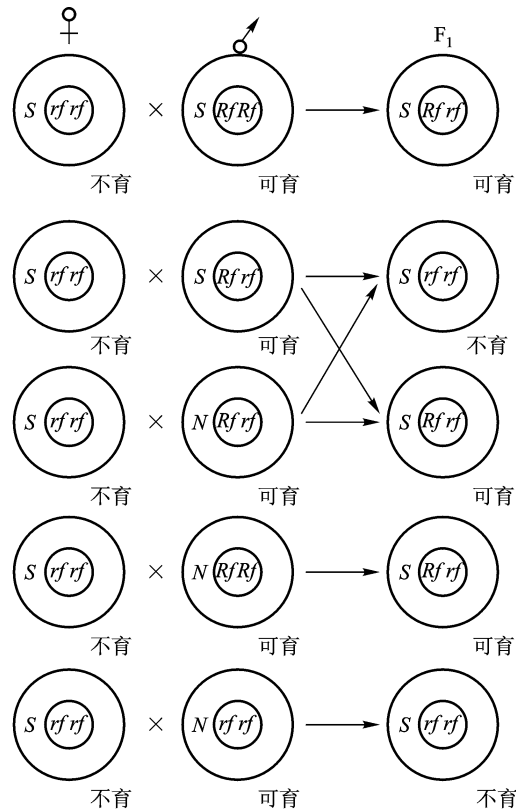


图 10-9 质-核型不育性遗传的示意图

10.6.2 高等植物雄性不育性的遗传机制

在高等植物中为什么会发生雄性不育?其机制如何?随着作物雄性不育在生产上的广泛利用,对其遗传机制的探讨也愈渐为人们所瞩目。由于细胞质雄性不育表现为母本遗传特性,因此在研究中,人们推测线粒体与叶绿体基因组所发生的某些变异应与胞质雄性不育有一定联系。

至于线粒体与雄性不育系的关系,最初的研究是根据线粒体 DNA 的核酸内切酶图谱的差异而观察到的。以后在小麦、高粱、油菜、烟草作物中也有类似的发现。

玉米不育系由于恢复育性的核基因不同而分为 3 类: cm s- S、cm- C 和 cm s- T。它们的线粒体 DNA 限制性酶切图谱与其相应保持系的酶切图谱之间存在明显的差异,且三者彼此之间也不相同。这 3 类玉米不育系可分别由核提供的不同显性基因而恢复其花粉育性: T 型由两个基因 Rf1 和 Rf2 恢复, S 型和 C 型则分别由 Rf3 与 Rf4 恢复。

有关玉米 T 型不育系的研究发现,其线粒体 DNA 有一个特异的 3 547 bp 的核苷酸序列,它含有两个长的可读框(ORF): T-urf13 和 ORF25。前者编码一个相对分子质量为 1.3×10^4 的多肽,后者则可编码一个相对分子质量为 24 547 的多肽。经 RNA 印迹法表明, T-urf13 只能与 T 型细胞质中的转录产物杂交,从而证明了它与玉米 T 型不育性的相关性。T-urf13 编码的多肽广泛存在于 cm s- T 玉米所有器官的线粒体膜中。蛋白质印迹法、免疫学分析都证实该多肽分布于线粒体膜上,可能与 ATP 酶有某种联系,在分离的细胞色素 c 氧化酶中也观察到它的存在。现已知育性恢复基因 Rf1 可以特异性地抑制 T-urf13 的表达,使多肽的含量减少约 80%。而其隐性等位基因 rf1 则不影响 T-urf13 的表达。初步的研究表明, Rf1 可能影响 T-urf13 的转录过程,但其控制机制还不清楚。

与 $cm\text{-}T$ 型玉米相似, $cm\text{-}C$ 不育现象也涉及线粒体呼吸链基因的变异。近年,我国学者在水稻、高粱、玉米等作物雄性不育机制的研究中,先后都发现了雄性不育系和正常品系中线粒体 DNA 基因结构的差异。1990年王斌等克隆了不育玉米 mDNA,建立了无细胞离体转录系统。

$cm\text{-}S$ 型玉米线粒体基因组中含有两个线粒体的 S 因子: S1 和 S2,是自主复制序列。在甜菜、水稻等作物不育系的线粒体中也先后发现了类似 S 因子的质粒分子,而雄性不育系的保持系不含有这些片段。最初,人们认为这种质粒状分子就是核-质雄性不育因子,近年的研究表明,它们与雄性不育性之间可能只存在间接的联系,即与通过分子重组引起歧化效应有关。

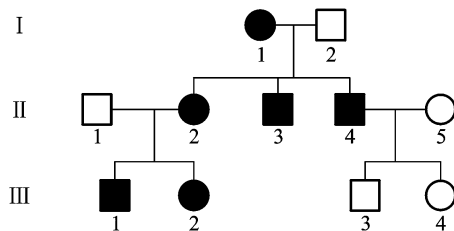
叶绿体 DNA 与雄性不育的有关报道最早见于烟草和棉花。以后人们发现玉米正常品系与不育品系叶绿体 DNA 的限制酶谱仅有微小差异,又利用双向电泳技术进一步鉴定出叶绿体 DNA 的一些变化与胞质雄性不育有关。我国科学家选用玉米、小麦、油菜等的雄性不育系及相应保持系为材料,通过 DNA 的热变性分析、酶切消化、琼脂糖凝胶电泳比较等技术,揭示了雄性不育与叶绿体 DNA 的关系。尤为有意义的是以油菜及萝卜为材料进行了叶绿体特异片段的克隆、定位及序列分析工作,其结果不仅显示出不育品系与相应可育品系叶绿体 DNA 之间存在某种差异,而且发现萝卜及油菜中与花粉育性特异性有关的叶绿体 DNA 片段均位于 rRNA 基因所在的反向重复区中,并确定了该片段在此重复区的具体位置。

20世纪 80年代初期,在玉米叶绿体和线粒体基因组的研究中发现,这两种基因组有长约 12.1 kb 的同源区,其同源性大于 90%。这段序列包括 16S rRNA 和两个 rRNA 及 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶大亚基的基因片段。而且玉米 3种雄性不育类型的改变,都与这一同源区序列的改变有关。进一步证明了该同源区序列的变化,不仅与单子叶植物中的玉米,也可能与双子叶植物中的油菜、萝卜的小孢子不育性的改变有关。

对可育与不育品系叶绿体蛋白质的比较也获得有意义的成果。如高粱、小麦、玉米、水稻、油菜和烟草等许多作物不育系与正常品系的 RuBP 羧化酶活性存在明显差异。此外,油菜不育系与可育系的叶绿体类囊体膜上 ATP 酶偶联因子的一个亚基 $\beta\text{-CD}$ 也存在差异, RuBP 羧化酶活性存在明显差异,而它们都是由叶绿体自身 DNA 编码的。

思考题

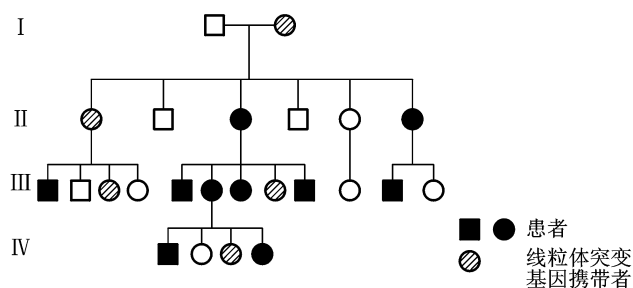
1. 请举例说明核外遗传的特点。
- 2.



- (a) 上面这一谱系是否为线粒体遗传? 为什么?
 - (b) 上述谱系还能适用于其他类型遗传吗?
3. 如果有一条多肽,其中含有 **Tyr, His, Ile, Met** 这几种氨基酸,那么
 - (a) 在哺乳动物核 DNA 序列中其密码子如何(包括全部可能的密码子)?
 - (b) 在哺乳动物线粒体 DNA 序列中其密码子如何(包括全部可能的密码子)?
 4. 请列表比较人类与酵母线粒体基因组结构上的差异。
 5. 草履虫的放毒型品系与敏感型品系接合,产生的 F₁ 是放毒型(**KR**)和敏感型(**kr**)。在下述几种情况下预期的

结果如何?

- F_1 中的两个放毒者之间接合。
 - F_1 中的放毒者与敏感者接合。
 - F_1 中敏感者自体受精。
 - 由上述(c)中产生的 Kk 敏感者与 F_1 中的放毒者接合。
- 你怎样理解叶绿体基因组的半自主性?
 - 请以下述线粒体基因病谱系简要说明线粒体基因病的传递与发病规律。



- 请以两个遗传实例简要说明核外遗传现象。
- 当生长在富含葡萄糖培养基上的一个酵母突变株的小菌落与一个野生型酵母菌株杂交,所有后代都是野生型。请问是什么突变作用产生这种小菌落?
- 植物与动物两者的 **mDNA** 之间的主要区别如何?
- 用 **DNA** 重组技术将哺乳动物的一个线粒体基因与细菌基因融合,使线粒体基因 **3** 端的一半(编码 **278** 个氨基酸)连接到细菌 **5** 端的一半(编码 **200** 个氨基酸)上,通过转化将此融合基因引入细菌细胞,能否产生具有 **478** 个氨基酸长的多肽? 请解释。