

遗传学 (第3版)

第5章 核外遗传分析

1. 核外遗传的性质与特点
2. 母体影响
3. 线粒体遗传及其分子基础
4. 叶绿体遗传及其分子基础
5. 线粒体和叶绿体的起源与进化
6. 核外遗传与植物雄性不育





5.1 核外遗传的性质与特点

核外遗传 (*Extranuclear Genetics*)

又称为细胞质遗传 (*Cytoplasmic inheritance*)

主要涉及细胞质中的遗传因子:

线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)

叶绿体DNA (chloroplast DNA, ctDNA/cpDNA)

不符合孟德尔定律的遗传现象



非孟德尔式遗传 non-Mendelian inheritance



细胞质遗传的概念

真核生物遗传物质种类

核基因组 → 染色体 → 基因 (核DNA)

细胞器基因组

叶绿体基因组 (ctDNA)
线粒体基因组 (mtDNA)
中心粒 RNA (Centro RNA)
动粒 DNA (Kinto DNA)
膜体系 DNA (membrane DNA)

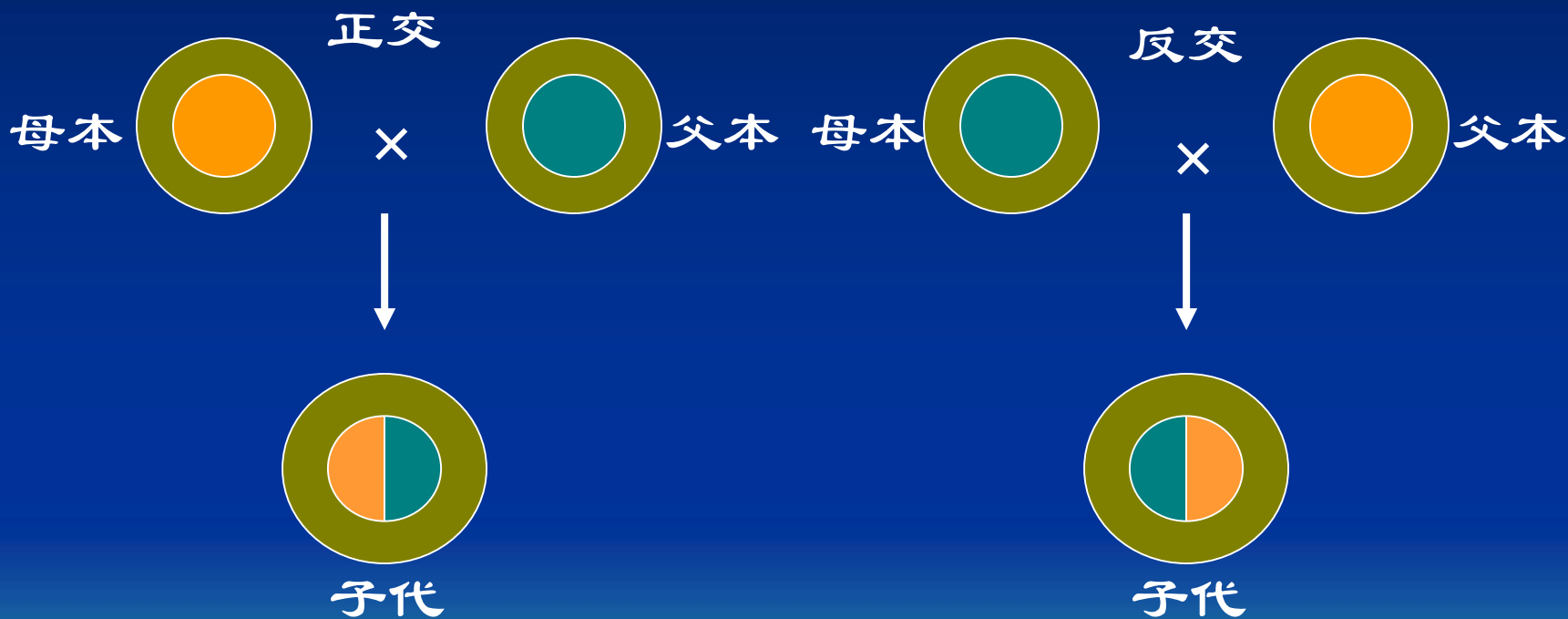
细胞质基因组

非细胞器基因组

共生体基因组 (symbiont DNA)
细菌质粒基因组 (plasmid DNA)

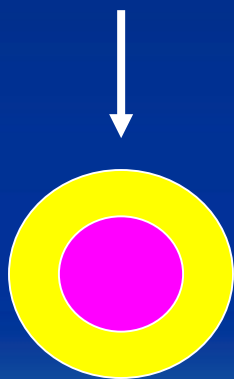
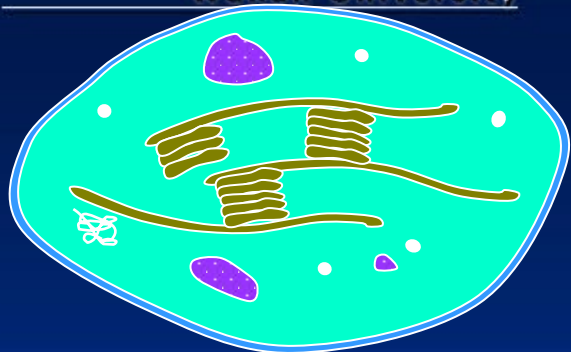
细胞核遗传

受细胞核内遗传物质控制的遗传现象，叫做细胞核遗传（核遗传）。

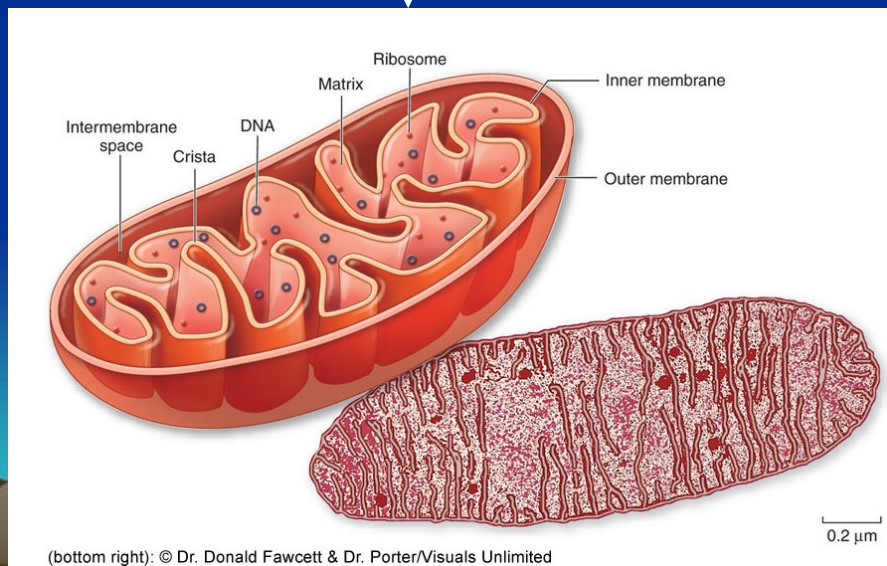




受细胞质内遗传物质控制的遗传现象，叫做核外遗传（细胞质遗传）。



子代





5.1 核外遗传及其特征

在真核生物中，核外遗传因子主要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。

核外遗传的主要特点是：

- ①遗传物质在细胞器上，细胞器基因组通过细胞质遗传给下一代；
- ②杂交后代不表现有比例的分离，即不出现孟德尔式分离比；
- ③正反交 ($A \text{♀} \times B \text{♂}$ $B \text{♀} \times A \text{♂}$) 的结果不同，杂交子代某些性状通常只具有母本表型特征；
- ④核外遗传因子不能对核内的染色体进行遗传重组作图。

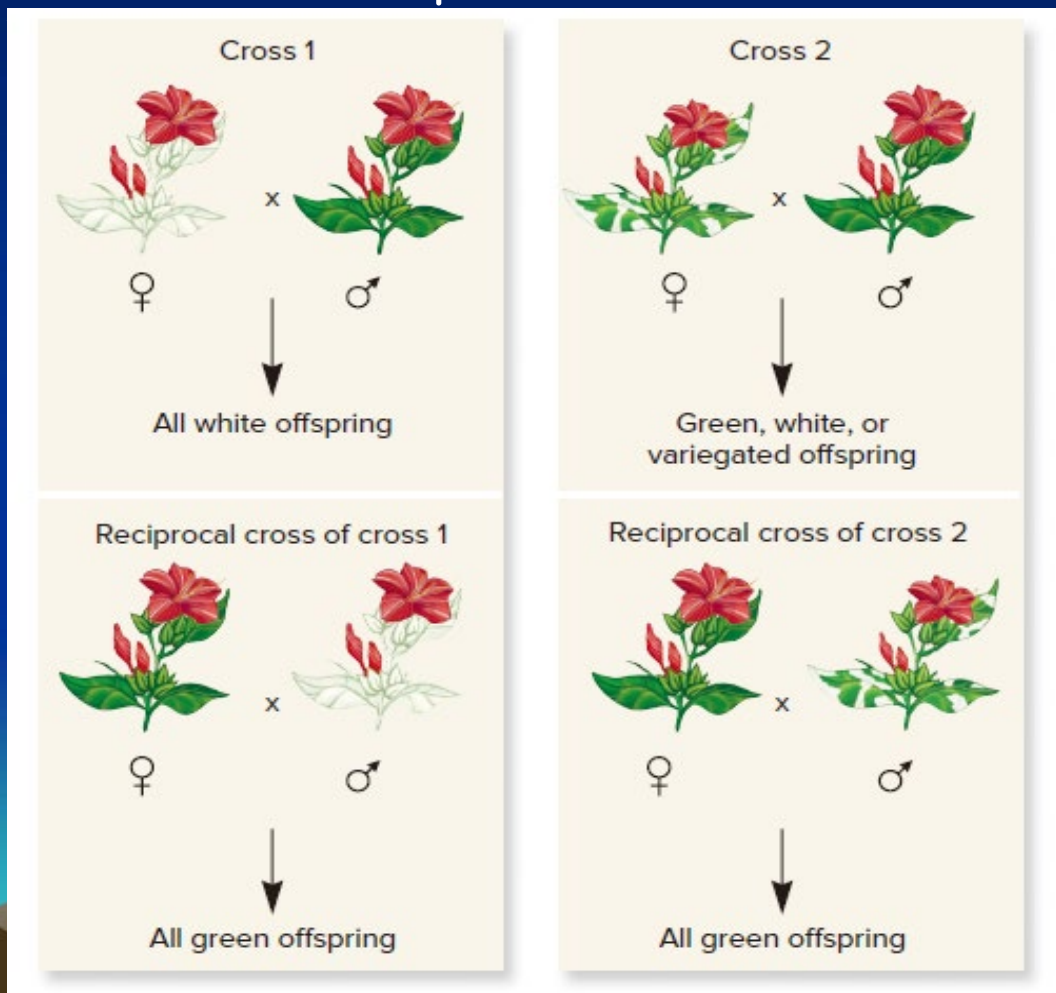
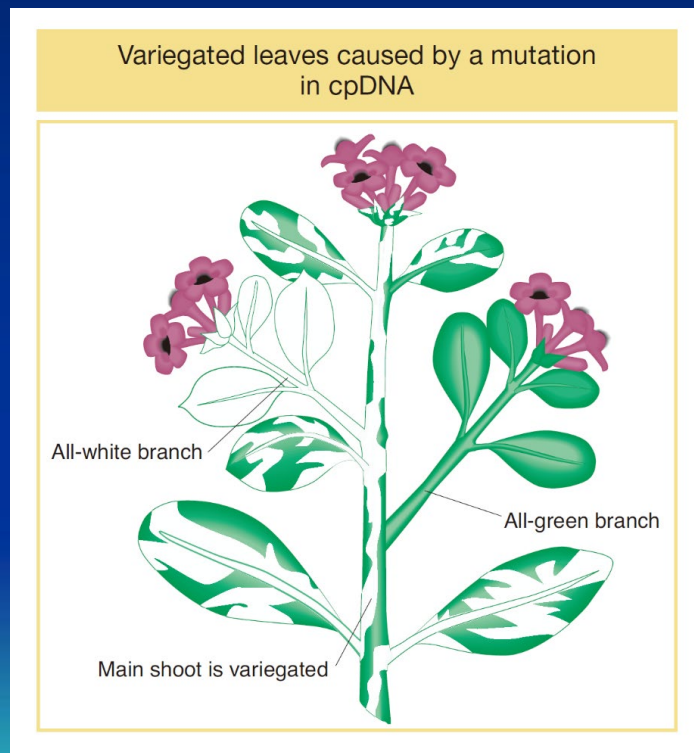


5.1.1 高等植物紫茉莉 (*Mirabilis jalapa*) 花斑叶的遗传

紫茉莉 正常的绿色 (含正常的叶绿体)

斑色 (叶绿体 chloroplasts + 白色体 Leukoplasts)

白色 (白色体 Leukoplasts)





5.1.2 酵母小菌落的遗传

1940年后期，Boris Ephrussi 等人在固体培养基上研究酵母的生长情况：有氧呼吸、发酵

野生型菌落：grande colony

↓ 偶尔

小菌落：petite colony

小菌落不是因为细胞小，而是因为其生长率比野生型慢，生化分析表明：小菌落基本上不能进行有氧呼吸，它们主要是从发酵中获得能量。

酵母中自发产生小菌落的频率：0.1%~1%，在存在嵌入剂的情况下（例如 Ethidium bromide）100%的酵母细胞都变成小菌落。



酵母小菌落系统在研究核外遗传中特别有用：

①小菌落突变型丰富

②缺乏线粒体功能的酵母细胞

仍能成活和生长

小菌落

1、核小菌落 (Nuclear petites)

2、中性小菌落 (Neutral petites)

3、抑制小菌落 (Suppressive petites)



(1) 核小菌落 (nuclear petites) / (segregational petites)

这些小菌落的突变基础在核基因组中，线粒体蛋白一些亚基是由核基因编码的，这些核小菌落突变型称为 Pet^-

Pet^- 突变子与野生型 Pet^+ 杂交

$Pet^- \times Pet^+$



Pet^+ / Pet^- 二倍体，生成大菌落 (grande)



减数分裂

四分子：2: 2分离

2 Pet^+ : 2 Pet^- 典型的孟德尔分离比

这种核小菌落的遗传方式不属于核外遗传



(2) 中性小菌落

中性小菌落的遗传如 [图20.18](#)

neutral petites — rho⁻N

wild - type — rho⁺N

rho⁻N × rho⁺N



rho⁺N/rho⁻N 二倍体 grande colonies



减数分裂

[图20.18](#)

4分子中 核外分离: 0 neutral petite mutants: 4 wild type

核基因分离: 2 neutral petite mutants: 2 wild type

(取名为中性是因为这种类型的小菌落并不影响野生型)





核外性状的这种结果是典型单亲遗传的例子
在单亲遗传中所有的子代
都只表现出一个亲本的表型

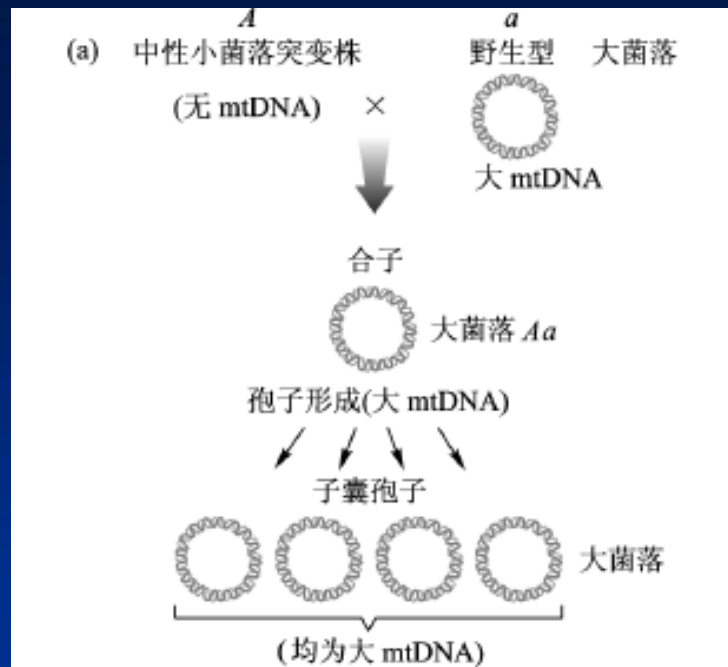
这并不是母体遗传 (maternal inheritance)
因为两个单倍体细胞融合产生二倍体对细胞质是
大小相同贡献相等的。

中性小菌落的本质是什么？
检查中性小菌落线粒体遗传物质揭示了一个非常显著的特点：





基本上99%—100%的mtDNA被丢失了，中性小菌落不能执行线粒体的功能，但是它们能够成活在，因为发酵过程在细胞质中进行



在 中性小菌落 × 野生型 杂交中

野生型酵母带有正常的线粒体，完整的mtDNA，所以在所有的子代中都恢复正常的线粒体的功能，因此一代以后，小菌落的性状消失。





3、抑制小菌落 (suppressive petites)

抑制小菌落对野生型产生影响

多数小菌落突变具有抑制作用

$\text{rho}^+ \times \text{rho}^-$ 抑制小菌落



(10-4)

$\text{rho}^+/\text{rho}^-$ 二倍体

它的呼吸特性位于正常的和小菌落品系之间



有丝分裂

99%的小菌落

(取名为suppressive, 基于这种实事: 即这种类型的小菌落克服了野生型而产生respiratory-deficient表型)

在这种群体中任何小菌落的孢子形成，产生的四分子：

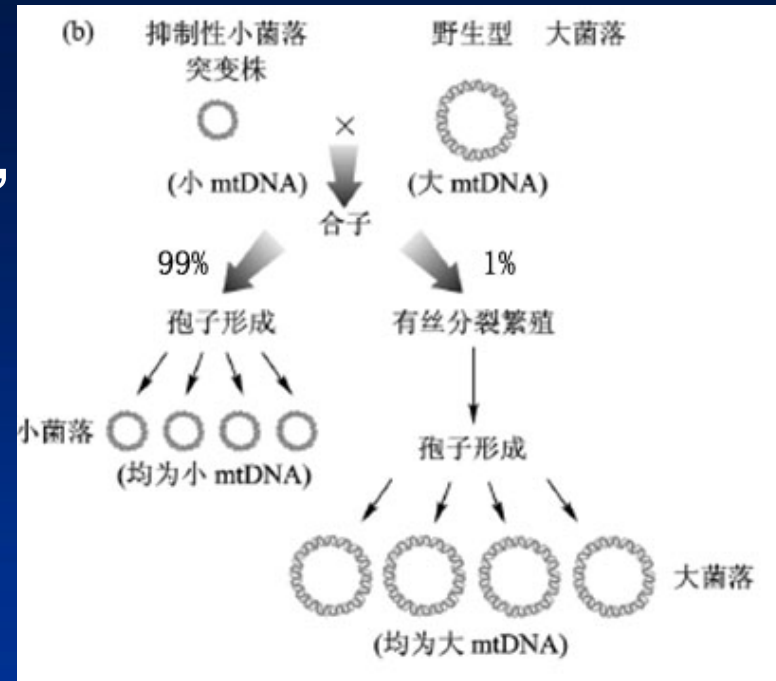
核外分离：4 petites:0 wild type

核基因分离：2 mutant:2 wild type

Suppressive petite 的本质：

从mtDNA的部分缺失开始→一些校正机制，那些没有缺失的序列被复制，直到正常含量的mtDNA被恢复。

在校正事情中有时出现mtDNA的重排，因为在线粒体基因组中编码蛋白质的基因是广泛散布的，这些缺失和重排导致有氧呼吸中酶的缺陷，而产生小菌落。





人们提出抑制小菌落对正常的线粒体有抑制效应可能是：

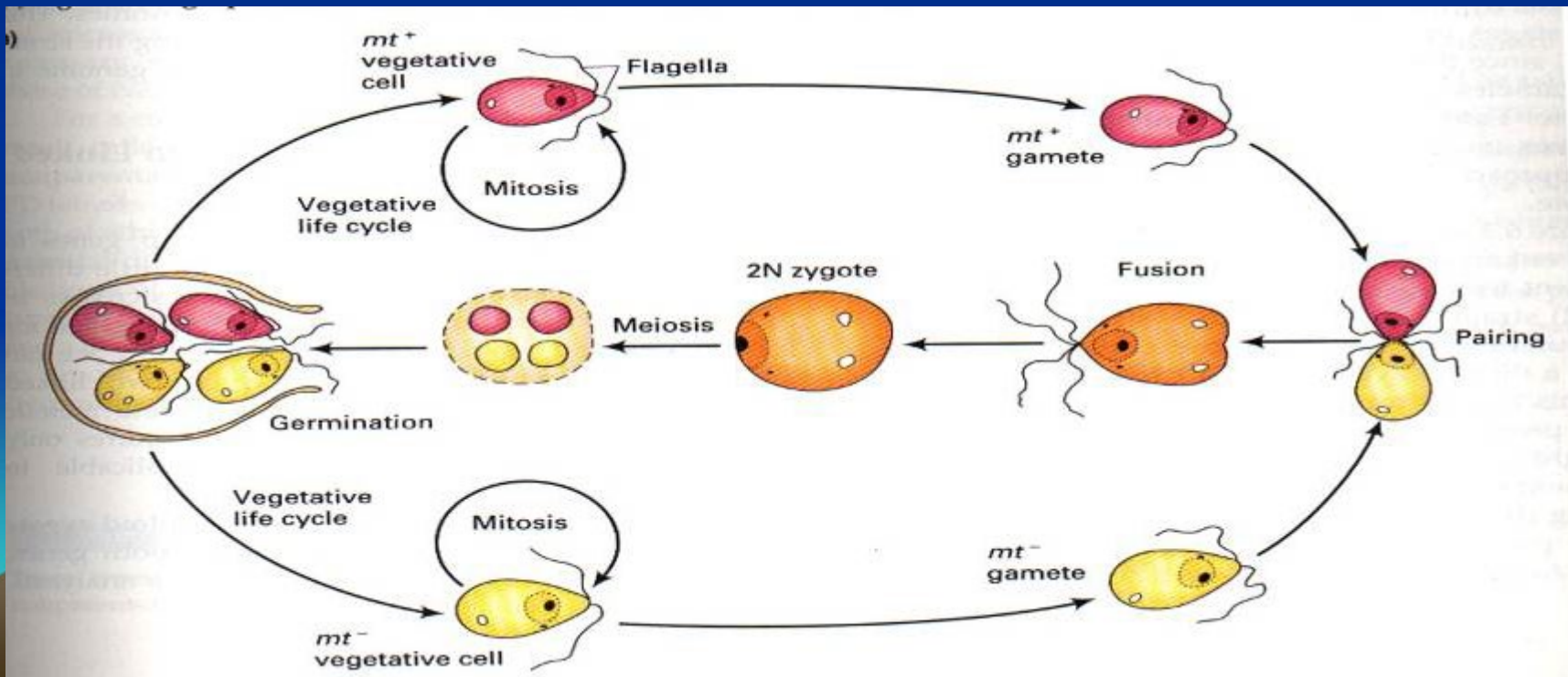
(1) 抑制型线粒体mtDNA可能比正常的线粒体复制得更快，在细胞中简单地蔓延，所观察在品种间的抑制性的变异，可能反映复制中抑制型线粒体的相对竞争性。

(2) 在抑制mtDNA和正常mtDNA重排之间，抑制型线粒体和正常的线粒体能融合并且重组，可能严重地改变正常的线粒体的基因组构，产生小菌落。



5.1.3 衣藻抗生素抗性的遗传

衣藻通常行无性生殖，有时通过两种形态相同但交配型不同的配子进行融合，行有性生殖。同型配子间不能融合，仅相反交配型的配子能够融合产生二倍体的合子。衣藻的交配型是由细胞核内一对等位基因 mt^+ 和 mt^- 所决定的。配子





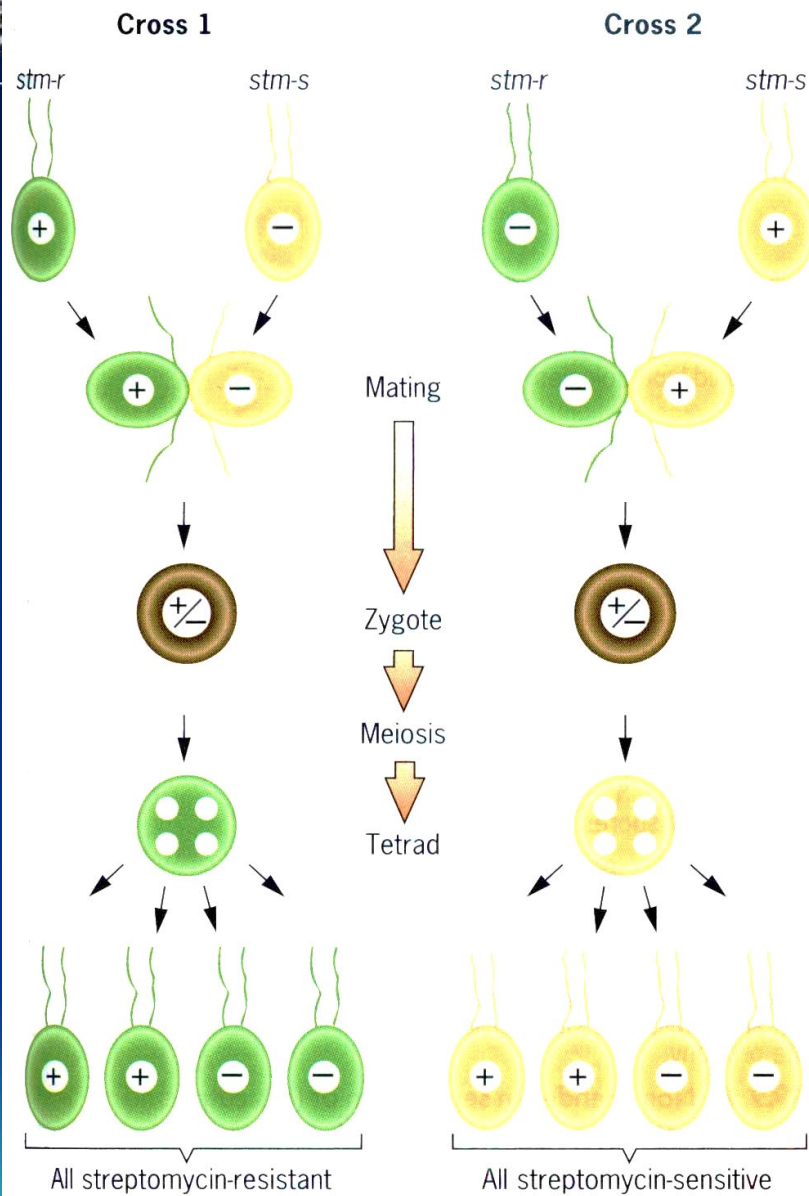
衣藻有一个由核外遗传物质决定对链霉素的抗性（*streptomycin resistance, sm-r*）性状。衣藻野生型细胞为链霉素敏感型（*sm-s*）。

在1954年，美国遗传学家Sager进行了以下杂交实验：

$sm-r\ mt^+ \times sm-s\ mt^- \rightarrow$ 全部后代（99%）表现为 *sm-r*

$sm-s\ mt^+ \times sm-r\ mt^- \rightarrow$ 全部后代（99%）表现为 *sm-s*

以上结果表明正反交结果不同，说明衣藻对链霉素的抗性或敏感是由非孟德尔遗传因子所控制（图5-3）



研究表明：该性状由衣藻中叶绿体基因组DNA上的基因所控制。交配型 mt^+ 和 mt^- 细胞质中都含有叶绿体基因组DNA，当发生交配时，两个亲本对合子贡献的细胞质是相等的，而**后代总是保留 mt^+ 亲本与叶绿体基因组上控制的性状有关的表型**。一种分子解释是在两种不同的交配型发生交配时，由 mt^- 细胞所提供的叶绿体DNA可能被一种特异性识别它的核酸酶所降解，通过 mt^+ 细胞的细胞质而带有对链霉素的抗性或敏感性性状都被遗传下去了，因而表现出单亲遗传的特征。

图5-3 衣藻中由叶绿体决定的抗生素抗性的遗传



5.1.4 草履虫的核外遗传

(1) 草履虫放毒型的遗传

草履虫 { 一个大核——营养核
 两个小核——生殖核, $2n$

草履虫的生殖方式:

1) 无性生殖: 一个个体通过细胞分裂, 成为二个个体, 基因型跟原来的个体一样。

2) 有性生殖

①接合生殖 (Conjugation): 两个个体接合, 交换小核, 大核消失。小核经减数分裂后产生4个单倍体, 保留一个, 其余退化。留下的这个单倍体核经一次有丝分裂, 产生两个单倍体核。个体接合, 各将一个小核转移给对方, 个体放开后, 体内的二个小核融合, 形成一个二倍体核。经两次有丝分裂, 形成4个 $2n$ 核, 其中二个核合并成一个大核。若接合时间长, 则细胞质也可交换。



②自体受精 (Autogamy) :

同一个体的两个小核经减数分裂，留下一个小核，该小核分裂一次又相互合并，随后再分裂发育成小核和大核。

(Fig--45)

3).草履虫放毒型和敏感型的接合

若 某些草履虫 → 草履虫素 → 杀死其它的草履虫但对自己无害。

能产生草履虫素的个体叫做放毒型 (killer)

而受害的个体就称为敏感型 (sensitive)

根据遗传学实验，草履虫的放毒型必需有两种因子同时存在

① 细胞质因子，叫做卡巴粒 (Kappa particle, κ)

② 显性基因核基因K

因此： K/K + 卡巴粒 → 是放毒型

k/k → 是敏感型

放毒型（基因型 $KK + \kappa$ ）与敏感型（基因型 kk 无卡巴粒）交配（接合）

若：

短时接合，
交换小核，
无胞质交换

接合时间较长，
交换小核，
交换细胞质

子代基因型 Kk ，含卡巴粒的为放毒型，不含卡巴粒的为敏感型

(Fig-47)

基因型都为 Kk 含卡巴粒——放毒型

卡巴粒通过细胞质来传递，其保持依赖于核中的显性基因 K 的存在。

kk 个体细胞质的卡巴粒不能保持和增值 $\xrightarrow{\text{几次无丝分裂}}$ 卡巴粒消失变成敏感型。

基因型为 Kk 的放毒型并不稳定 $\xrightarrow{\text{自体受精}}$ 分离基因型为 $\left\{ \begin{array}{l} KK \\ kk \end{array} \right.$



从以上实验可知，有卡巴粒的草履虫是放毒型，没有卡巴粒的草履虫是敏感型，可见草履虫素是卡巴粒产生的，但细胞质中卡巴粒的增殖又依赖核基因K的存在。如果单有核基因K存在，而细胞质中没有卡巴粒，也不能产生卡巴粒，从而仍然是敏感型。

4). 卡巴粒的本质

亦称k粒。它存在于放毒型草履虫的细胞质中，能进行自体复制，具有与病毒相似的性质，一般认为是寄生性病毒。卡巴粒的直径约 $0.2\ \mu\text{m}$ ，长约 $1\sim 5\ \mu\text{m}$ ，含有DNA、RNA、蛋白质、糖类等，现已公认是一种内共生体。在具强放毒作用的草履虫中，一个细胞内有 $400\sim 1600$ 个卡巴粒，这种粒子也可向草履虫的培养液中释放，可杀死摄取这种粒子的敏感型草履虫。

与卡巴粒相类似的粒子有 λ 、 σ 、 γ 、 δ 等粒子。它们也表现出与核基因共同作用的核外遗传性质。



5.2 母体影响

母体影响 (maternal influence) :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。

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。





5.2.1 短暂的母体影响



欧洲麦蛾 (*Ephestia kuhuniella*)

野生型幼虫的皮肤中含有色素，成虫复眼为深褐色。

这种色素是由犬尿氨酸所形成的，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。

$AA \times aa$

$aa \times AA$

↓

↓

Aa 有色

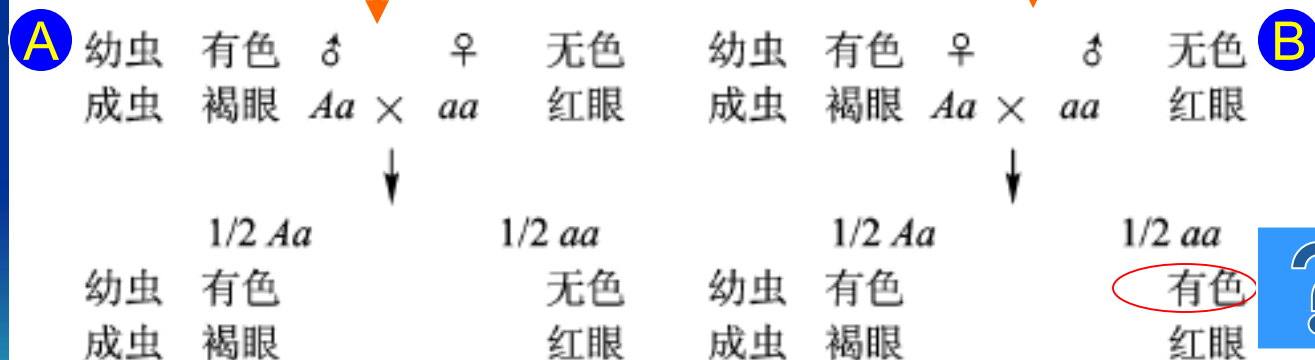
Aa 有色



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。

若母本为 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





在B交配中由于基因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，所以在有色母本（Aa）的后代中，aa基因型幼虫的皮肤是有色的。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。



5.2.2 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。

椎实螺的壳旋方向，由一对核基因控制
右旋（dextral, *D*）对左旋（*d*）为显性



但是，壳旋方向不由本身的基因型决定，

而由母体的基因型决定

图5-5

母体影响不同于核外遗传，它的遗传性状是在卵的受精之前由母体的核基因型所控制（Fig-34），并不包括核外基因，母体的影响只能持续一代。



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** (delayed inheritance) (表5— 2)。

表 5 - 2 椎实螺外壳旋向的遗传

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

延迟遗传：例如田螺壳的右旋、左旋等所见的现象。虽然该性状本身是由细胞核基因决定的，表现出明显的孟德尔式遗传，但是作为卵细胞质的性质却是在母体内形成的，因此子代的表型常常和母亲的基因型相同。这样在F₂中基因型虽以3 : 1比例分离，但表型并不分离，与母体的性状完全一样，延迟一代后，在F₃中表型才以3 : 1的比例分离。



为什么核基因的表达晚了一代（在 F_3 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 5-6）。





5.3 线粒体遗传及其分子基础

1890年，德国生物学家Altaman首先在光学显微镜下观察到动物细胞内存在着一种颗粒状的结构，将其命名为bioblast

1898年，德国科学家Benda首次将其命名为线粒体（mitochondrion）

1963年，M. Nass和 S. Nass在鸡胚中发现线粒体DNA（mtDNA）

Schatz分离到完整的线粒体DNA

1981年，在英国剑桥大学Sanger实验室的Anderson小组测定了人mtDNA的完整DNA序列，称为“剑桥序列（Cambridge sequence）”

人们又在线粒体中发现了RNA、DNA聚合酶、RNA聚合酶、tRNA、核糖体、氨基酸活化酶等进行DNA复制、转录和蛋白质翻译的全套装置，揭示出线粒体具有独立的遗传体系



5.3.1 线粒体基因组的结构及一般性质

线粒体：真核细胞细胞器，细胞呼吸作用的主要场所
具有独立于核染色体之外的基因组——mtDNA
(mitochondrial DNA)

以双链超螺旋环状分子存在于细胞内

(原生动物中的草履虫及四膜虫的mtDNA是双链线性分子)

功能：进行三羧酸循环中的氧化反应

电子传递和能量转换

线粒体基因组，编码细胞器的一些蛋白质

而且, 哺乳动物线粒体与细胞代谢和胁迫信号的传导、钙离子稳态、活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生及细胞凋亡等重要生物过程密切相关



不同生物细胞的mtDNA所含信息量、大小和组成形式上也都有所不同。

不同物种的真核生物线粒体基因组大小差异很大：

一般，动物细胞中的线粒体基因组较小

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2 500 kb，例如在葫芦科中，西瓜 (*Citrullus lanatus* L.) 380 kb，香瓜 (*Cucum ismelon* L.) 2 500 kb，两者相差近7倍；而甜瓜 (*Cucumis melo varreticulates*) mtDNA可达2600kb

酵母的较大：75--84Kb

果蝇和蛙次之：18.5kb 和17.5kb

哺乳动物最小：16.5kb

例：牛 mtDNA 16338 bp

小鼠 mtDNA 16295 bp

人 mtDNA 16569 bp

mtDNA的大小 (size)

Differs among organisms

Organism	Size (kb)
<i>Homo sapiens</i> (Human)	16.6
<i>Mus musculus</i> (Mouse)	16.2
<i>Xenopus</i> (frog)	18.4
<i>Drosophila</i> (fruit fly)	18.4
<i>Saccaromyces</i> (yeast)	75.0
<i>Pisum sativum</i> (pea)	110.0
<i>Arobidopsis</i> (mustard plant)	367.0



(1) mtDNA结构特点与一般性质

迄今，已完成对人及上千种动物线粒体基因组全序列的测序，虽然在细节上有差异，但基本上属于为少数基因编码的小型基因组

例：人及哺乳动物mtDNA全序列结构上具有较高的保守性，一般由2个非编码区和37个编码基因组成，其结构特点及一般性质：

① 闭合环状DNA，无组蛋白结合，不形成核小体；

② 基因数目和排列顺序相同：

2个rRNA基因（12S和16S rRNA）

22个tRNAs (F-41)

13个线粒体膜蛋白基因（+ 1个氧化代谢所需基因）

③ 一个D环，与mtDNA的复制有关；

④ 有2个复制起始点，分别复制H和L链；

⑤ 哺乳动物的线粒体基因DNA没有内含子； (F-41)

不存在非编码的重复序列

⑥ 某些蛋白质的密码子与核基因通用密码子不同。



mtDNA 密码子与核基因密码子的差异

生 物	密 码 子	核基因编码	mtDNA 编 码
线粒体基因组			
动物 (Mammals)	UGA	终止密码 stop	Trp
	AGA, AGG	Arg	终止密码 stop
	AUA	Ile	Met
果蝇 (<i>Drosophila</i>)	UGA	终止密码 stop	Trp
	AGA	Arg	Ser
	AUA	Ile	Met
酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	UGA	终止密码 stop	Trp
	CUN	Leu	Thr
	AUA	Ile	Met
真菌 (Fungi)	UGA	终止密码 stop	Trp
玉米 (Maize)	CGG	Arg	Trp



酵母线粒体基因组较哺乳动物线粒体基因组大5倍，基本功能相似，但基因组上基因的组成分布迥然不同（[图5-7](#)）

在酵母线粒体基因组中：

(1) 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250kb；

(2) 某些基因中含有内含子，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。

(3) 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](#)。



植物线粒体较大，结构复杂多样，截至2020年10月，NCBI数据库总共登录了231种高等植物的线粒体基因组序列（其中双子叶植物122种，单子叶植物20种）。部分高等植物线粒体基因组的结构特点总结在表5-3。

植物线粒体基因组的主要特点：

- ① 属于“大基因组型”，编码的基因数目比动物线粒体基因组的要多（表5-4，表5-5）；
- ② 存在构型形式多样性。存在Y型、H型、多元线形、线形、环形，或环形与线形共存等分子形式；



- ③ 线粒体基因组结构差异较大，并呈现异质性。
- ④ 易变性强，含有大量非编码序列和重复序列、存在基因替代及功能性转移。
- ⑤ 在基因表达过程中，被子植物线粒体基因RNA编辑现象十分频繁。在拟南芥mtDNA中检测到了441个RNA编辑位点，在水稻mtDNA中检测到了491个RNA编辑位点（表5-3）。
- ⑥ 含有内含子（20~24个），初级转录物经剪接除去内含子变成成熟的mRNA。例如，小麦中编码NADH还原酶的一个亚基的*nad1*基因形成成熟的mRNA（图5-8）的剪接过程
- ⑦ 密码子的偏好使用。

表1 完成测序的部分高等植物线粒体基因组特征

Table 1 Key features of some sequenced higher plant mitochondrial genomes.

植物种类 Plant species	线粒体基 因组大小(bp) Size of mitochondrial genomes (bp)	基因 数目 ^a Genes number ^a	编码序列 比例(%) Coding region ratio (%)	顺式内 含子数 No. of cis- splicing introns	反式内 含子数 No. of trans- splicing introns	内含 子序列 比例(%) Intron ratio (%)	叶绿体 DNA 序列比例(%) Chloroplast DNA sequence ratio (%)	核序列 比例(%) Nuclear DNA sequence ratio (%)	重复序列 比例(%) Repeat sequence ratio (%)
拟南芥 ^[1] <i>Arabidopsis</i>	366 924	55	10.6	18	5	8.0	1.1	4.0	6.8
甜菜 ^[2] Sugar beet	368 801	52	10.3	14	6	5.6	2.1	3.3	8.8
烟草 ^[3] Tobacco	430 597	60	9.9	17	6	6.5	2.5	ND	8.0
油菜 ^[4] Rapeseed	221 853	53	17.3	19	5	12.9	3.6	ND	ND
小麦 ^[5] Wheat	452 528	55	9.5	16	6	6.4	5.8	0.2	15.2
玉米 ^[6] Maize	569 630	52	7.4	15	7	4.3	4.4	0.1	23.0
水稻 ^[7] Rice	490 520	56	11.1	17	6	7.2	6.2	13.4	58.3
葡萄 ^[8] Grape	773 279	53	5.9	ND	ND	3.9	8.8	ND	6.8
西瓜 ^[9] Watermelon	379 236	58	10.3	19	5	8.6	6.0	6.4	10.0
西葫芦 ^[10] Zucchini	982 833	53	3.9	19	5	3.1	11.5	2.1	37.7

^a不考虑拷贝数; ND:无具体数据。

^aNot considering the copy number; ND: no data.



(2) 复制特点

mtDNA的复制是半保留式的——D环复制（详见第2章）

。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，mtDNA的复制活动并不均一，有些mtDNA分子在细胞周期中复制几次，而另一些可能一次也不复制。

细胞内mtDNA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。





5.3.2 线粒体基因的蛋白质合成

线粒体是半自主性的，其DNA能复制也能传递给后代，能转录和翻译其自身编码的遗传信息，合成所特有的多肽。

①线粒体基因组转录的mRNA 没有5'端的帽结构，起始密码常直接位于mRNA的5'端。这一结构特点，表明线粒体蛋白质的合成装置与细胞质中核糖体有所不同。不同真核生物线粒体的核糖体是一些55S至80S大小不等的颗粒，由两个大小不等的亚基组成，每个亚基只有一条由线粒体DNA转录而来的rRNA分子。

②线粒体核糖体蛋白是由核基因编码，在细胞质核糖体上合成，然后转运到线粒体中的。

③在密码子反密码子配对上，线粒体基因组的tRNA可以识别反密码子的第三位置上4个核苷酸（A、U、G、C）中的任何一个，这样就大大扩大了tRNA对密码子的识别范围，因而线粒体基因组中的tRNA就足以用于蛋白质的合成。

④线粒体遗传密码与核基因中有某些差异（表5-6）



表 5-6 线粒体与细胞质翻译系统中密码子使用情况比较

mRNA 密码子	编码的氨基酸			
	细胞质	线粒体		
		人类	酵母	果蝇
CUU CUC CUA CUG	亮氨酸	亮氨酸	苏氨酸	亮氨酸
AUA	异亮氨酸	甲硫氨酸	甲硫氨酸	甲硫氨酸
UGA	终止	色氨酸	色氨酸	色氨酸
AGA AGG	精氨酸	终止	精氨酸	丝氨酸





5.3.3 线粒体基因产物与核基因产物间的相互作用

线粒体基因组与细胞核基因组、叶绿体基因组之间都存在着丰富的遗传物质交流和基因产物间的相互作用。例如，线粒体的核糖体蛋白、氨酰tRNA合成酶、聚合酶、许多结构蛋白都是由核基因编码，在细胞质中合成后，定向转运到线粒体，执行各种生物学功能。（[表5-7](#)）。

这充分说明线粒体基因产物与核基因产物间的相互作用的重要性。线粒体作为一个半自主系统，其形态发生与生物合成，在很大程度上依赖于自身的遗传体系与核基因组的相互作用。由此可见，**线粒体结构和功能的完整性受到核基因组和线粒体基因组的双重控制。**





5.3.4 线粒体DNA突变与人类疾病

人类受精卵的线粒体几乎全部来自卵母细胞，这种传递方式称为母系遗传（*matrilinear inheritance*）或母体遗传（*maternal inheritance*）。

由于mtDNA结构或功能异常所导致的疾病称为线粒体基因病。到目前为止，100多种不同类型的 mtDNA 重排和50多种 mtDNA点突变已被发现与人类疾病相关。

多种线粒体突变涉及 ATP 合成，能量需求大的组织、细胞对ATP 缺乏较为敏感。因此，线粒体基因病常表现为肌病、心疾病、神经系统疾病、贫血、糖尿病等。



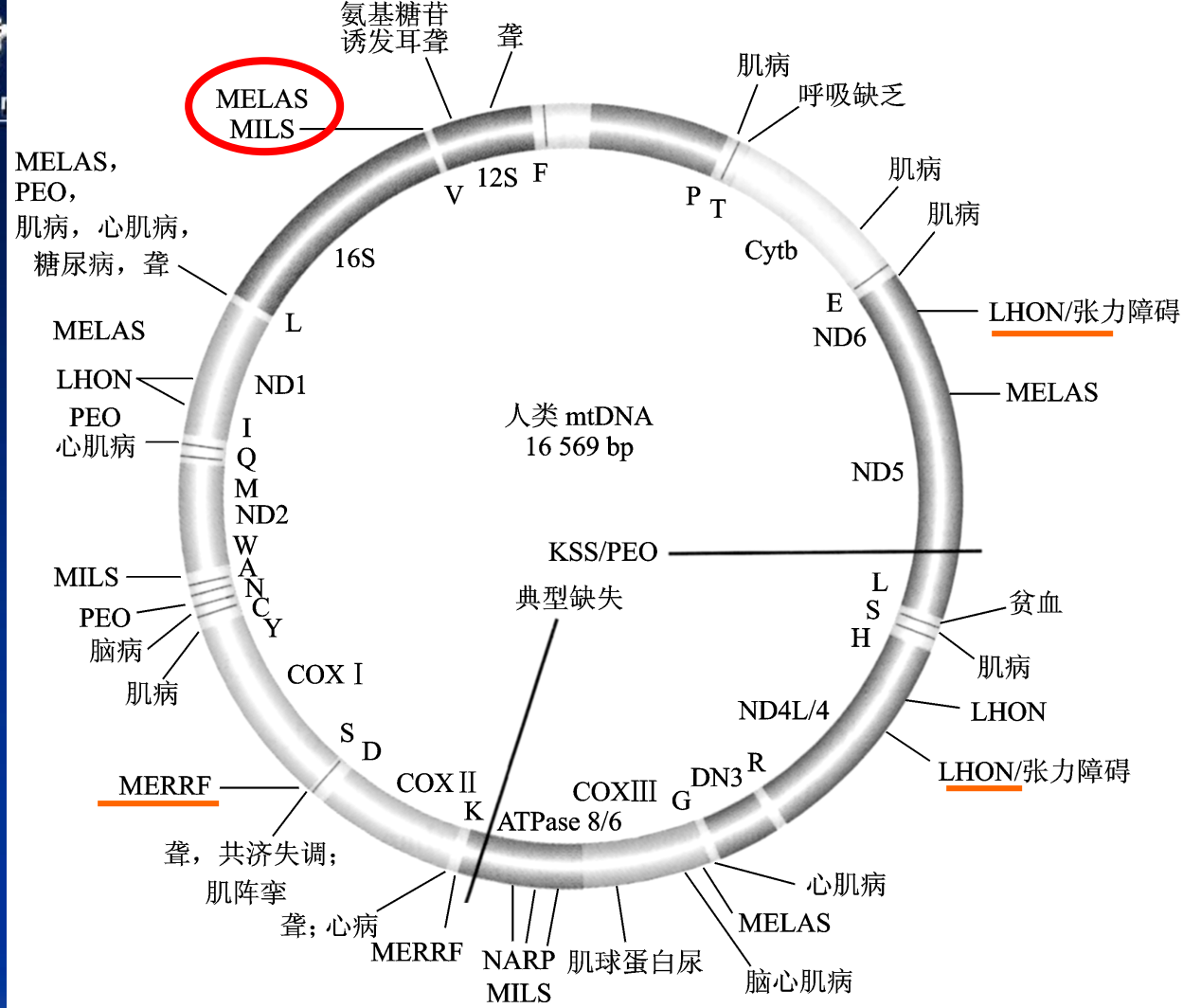


图 5—9 人类线粒体基因病

示突变位点引起的细胞疾病

MERRF：肌阵挛性癫痫及粗糙红纤维综合征

LHON：Leber遗传性视神经病

NARP：神经性肌虚弱

MELAS：线粒体脑肌病

PEO：进行性外眼肌麻痹

MILS：母性遗传Leigh氏综合征



TABLE 6.5

Examples of Human Mitochondrial Diseases

Disease	Mitochondrial Gene Mutated
Leber hereditary optic neuropathy	A mutation in one of several mitochondrial genes that encode electron transport chain proteins: ND1, ND2, CO1, ND4, ND5, ND6, and cytb
Neurogenic muscle weakness	A mutation in the <i>ATPase6</i> gene that encodes a subunit of the mitochondrial ATP-synthetase, which is required for ATP synthesis
Mitochondrial myopathy	A mutation in a gene that encodes a tRNA for leucine
Maternal myopathy and cardiomyopathy	A mutation in a gene that encodes a tRNA for leucine



线粒体基因病的遗传特点

(1) 突变mtDNA 通过母亲卵子传递给子女，父源性将其突变mtDNA 传递给子女则只是散发的偶然事件。

(2) 由于细胞质内包含多个mtDNA 分子，当某个特定位置上的突变同时发生在这些mtDNA 的同一基因时，称为纯质性（同序性，homoplasmy）；若一个细胞内多个mtDNA 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（heteroplasmy）。因此，线粒体基因病的症状是以突变mtDNA 纯质个体最为严重，突变mtDNA 异质性个体是否受累，则决定于突变mtDNA 所占的比例而定。

(3) 传递突变mtDNA 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。



重新认识线粒体在细胞中的作用和功能

近年，研究发现动物及人类的线粒体密切参与细胞信号转导通路。线粒体执行各种信号功能，作为平台，启动细胞信号转导，以及在多个过程中作为传感器和效应器。

特别是在细胞死亡信号、先天免疫和细胞自噬过程中起到积极的作用，线粒体调控这些不同的、但相互关联的过程。这些包括：线粒体外膜作为一个主要的信号平台，通过线粒体动力学和线粒体代谢物调节细胞信号，包括ATP和活性氧的种类。

更重要的是，在线粒体控制细胞信号转导和调节线粒体的动态平衡过程中出现欠缺，可能会导致许多疾病，特别是与年龄相关的疾病。这些新的发现，使我们有必要重新研究和认识线粒体在细胞中的作用和功能

PAMPs
 LPS MSU Alum Niericcin



Fig. 3. Mitochondrial ROS and innate immunity. Left: various PAMPs converge on the mitochondria, leading to upregulation of ROS. Mitochondrial

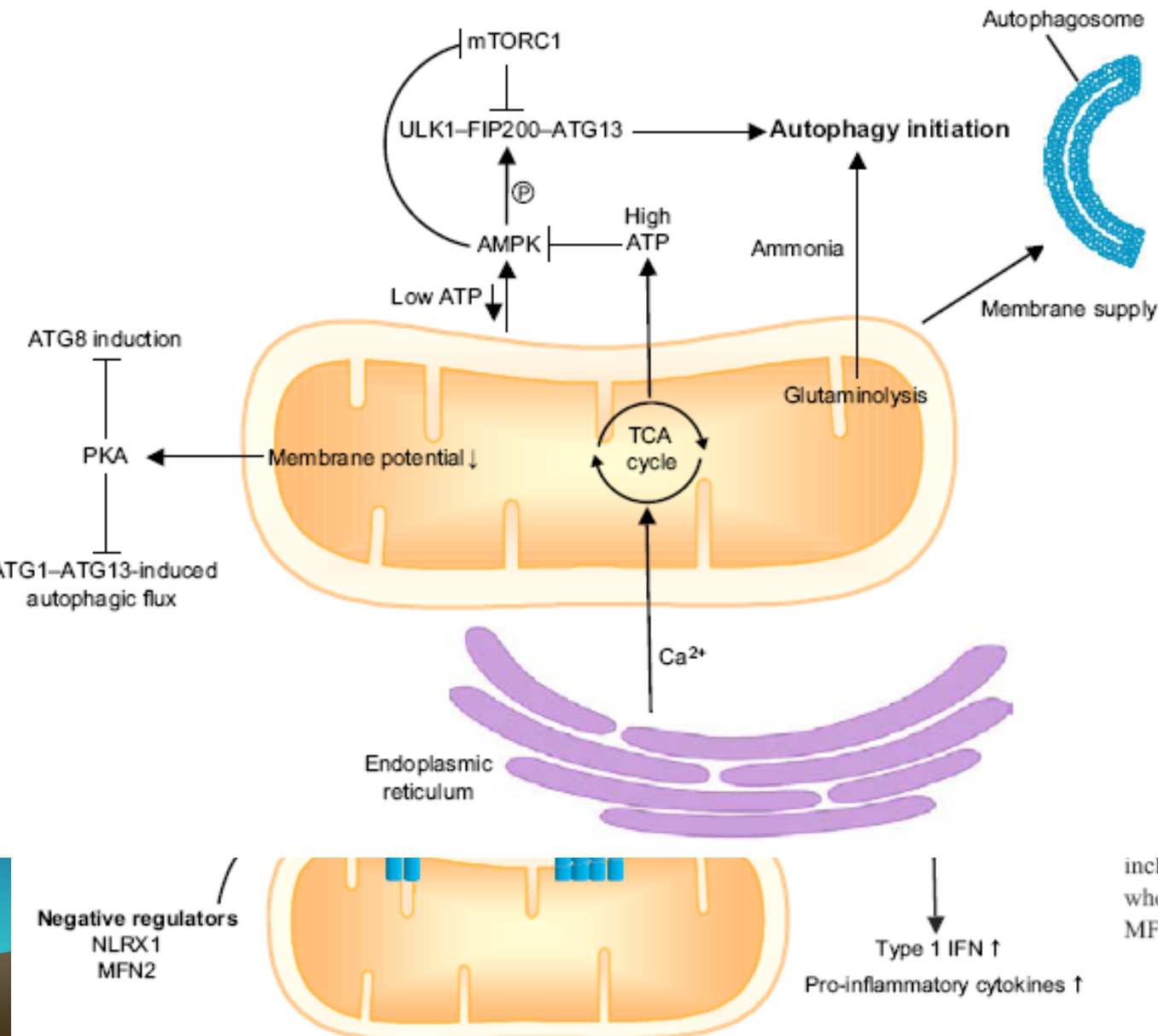


Fig. 4. Mitochondrial regulation of autophagy. Left: in yeast, loss of mitochondrial membrane potential leads to activation of PKA. PKA inhibits autophagy by repressing induction of ATG8 and by inhibiting ATG1-ATG13-induced autophagic flux. Centre: by regulating cellular ATP levels, mitochondria regulate autophagy through AMPK. When ATP levels are low, AMPK is activated and induces autophagy through direct phosphorylation of the ULK1-FIP200-ATG13 complex, and indirectly by inhibiting the suppression of autophagy by mTORC1. Ca²⁺ release by the ER enhance the tricarboxylic acid cycle (TCA cycle), upregulating ATP levels. Right: ammonia produced by mitochondrial-dependent glutaminolysis initiates autophagy by a non-conventional ULK1-independent mechanism. Under some conditions, the OMM can serve as a source of membrane for autophagosome biogenesis.

include TOM70, STING and mitochondrial fusion, whereas negative regulators include NLRX1 and MFN2.



对线粒体新功能的认识

(1) 线粒体可以双亲遗传

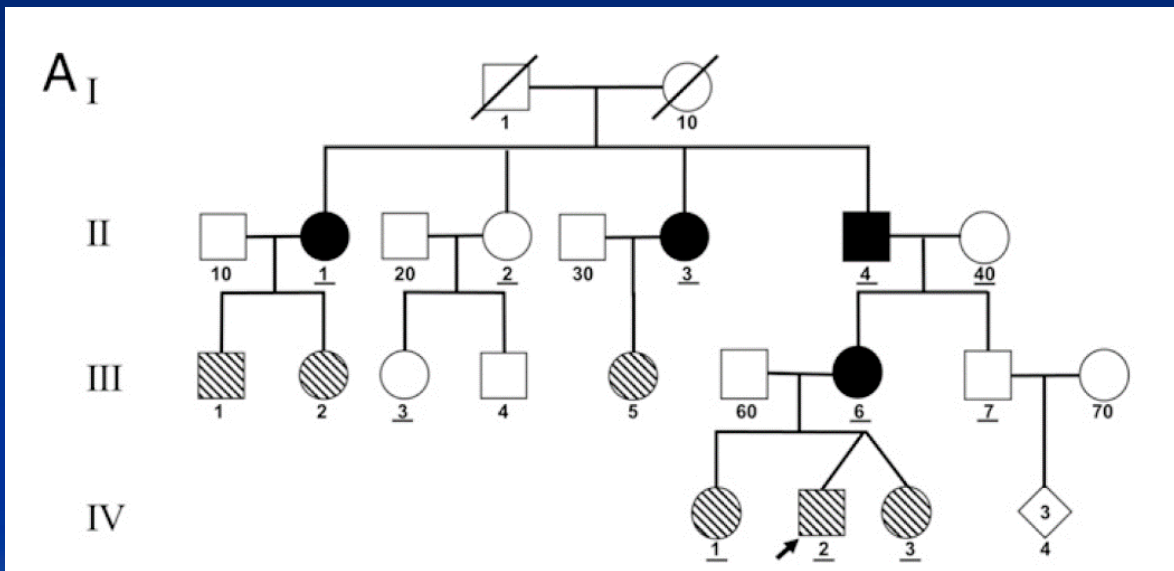
1980年，Wallace等证明人类线粒体DNA是严格通过母亲传递给后代的，即mtDNA通过母亲卵子传递给子女。一直以来，人们普遍认为线粒体和mtDNA在人类中完全由母系遗传（maternal inheritance）

2002年，Schwartz和Vissing报道了一例28岁的线粒体肌病患者，他们确定，携带突变的mtDNA起源于父亲，占患者肌肉mtDNA的90%。这是科学家首次发现线粒体DNA可以从父亲那里传递给后代。没有引起科学界的重视。

2018年，华人科学家黄涛生研究团队的研究表明，严格按照“母系遗传”的线粒体模式有罕见的例外，并且父亲可以为后代的mtDNA做出贡献。



在他们的研究中第一个被证实的先证者（家庭A的IV-2）是一个4岁的小男孩（图5-10），他在美国辛辛那提儿童医院医学中心（CCHMC）的MitoClinic接受了疲劳、肌张力低下、肌肉疼痛和上睑下垂的评估，被怀疑患有线粒体疾病。其他家庭成员表现出不同的临床症状，但没有怀疑患有线粒体疾病。



黑色填充符号表示双亲mtDNA传递的4个家族成员（II-1，II-3，II-4和III-6），对角填充符号表示6个家族成员（III-1，III-2，III-5，IV-1，IV-2和IV-3）携带大量的、高程度的mtDNA异质性，但母亲传递正常。

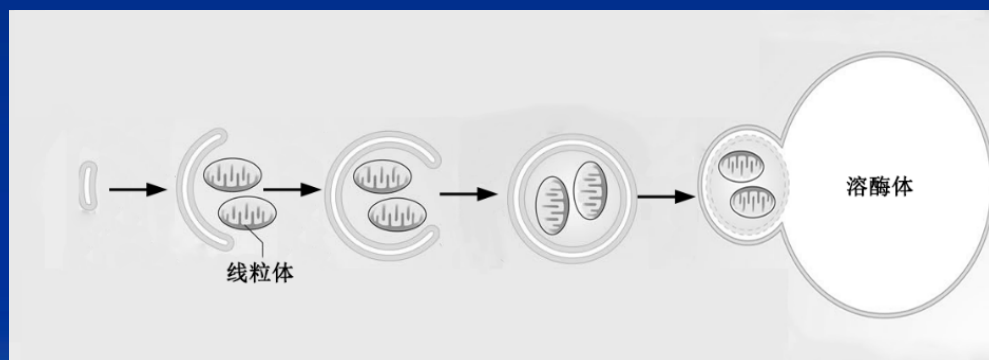
图5-10 家族A mtDNA传递的谱系图（引自Luo等，2018）



顺着这个先证者小男孩的系谱，对同代以及向上查找3代（图5-10 II 中包括黑色填充符号的三个家族的所有成员），他们对这三个没有血缘关系的家族中的17个个体一个一个地经高通量深度全mtDNA基因组测序分析，检测出这些个体具有高水平的mtDNA异质性（从24%到76%）。说明来自父亲精子的线粒体能够同来自母亲的线粒体一样在好几代子代间传递，根据其数据他们估计这种现象在人群中的发生率约为0.02%。他们的结果表明，尽管母体mtDNA遗传的核心结论仍然有效，在某些特殊情况下，父系mtDNA也可以传递给后代——mtDNA是可以双亲遗传 (biparental inheritance of mitochondrial DNA) 的。其意义在于，阐明这种不寻常的遗传模式的分子机制将为了了解mtDNA是如何从父母传递给后代的，提供新的见解，并且可能为致病性mtDNA传播的治疗开辟新的途径

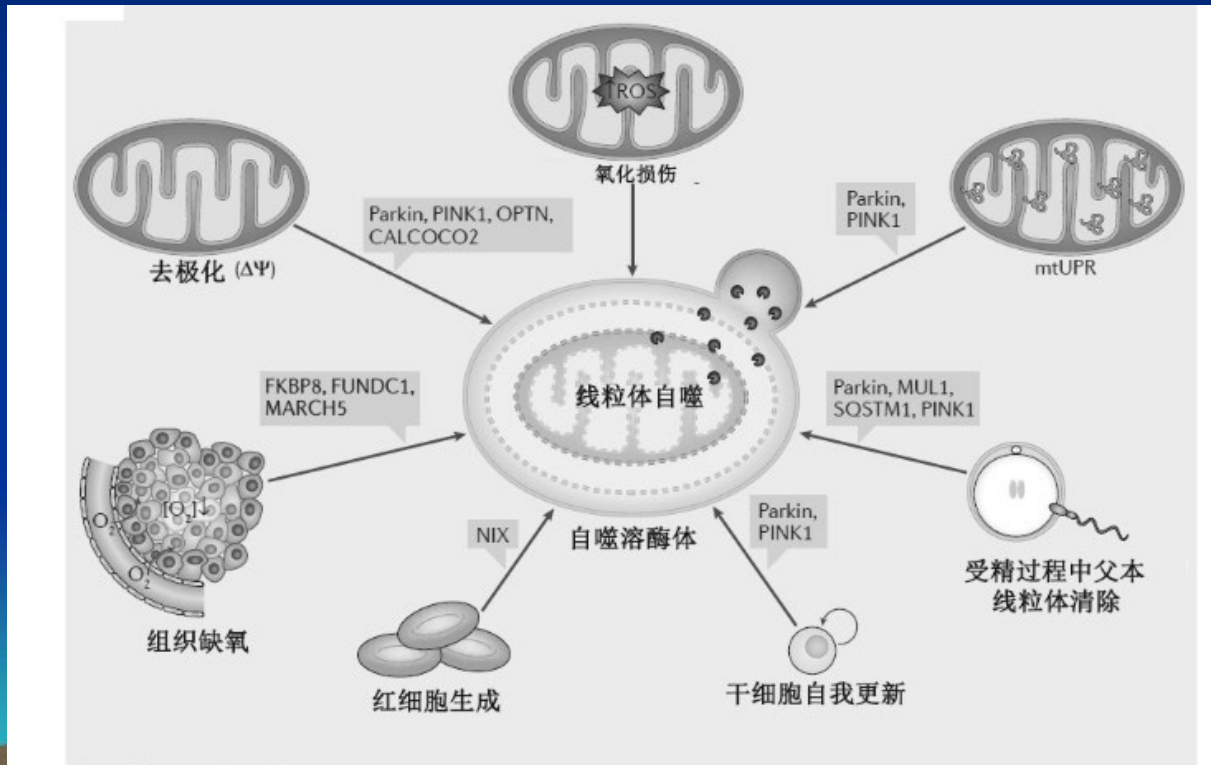
(2) 线粒体自噬及其功能

线粒体自噬（mitophagy）是一种选择性的细胞自噬过程，能够特异性的清除受损的、功能异常的、多余的线粒体，通过与溶酶体结合而将其降解，从而维持线粒体网络的健康与完整性。线粒体自噬有着和细胞自噬相似的过程，包括吞噬泡（phagophore）的启动和衍生，自吞噬体的形成和吞噬，以及与溶酶体融合和分解等步骤。





线粒体自噬除了清除受损的、多余的以及衰老的线粒体外，在一些细胞的发育、成熟过程中也起着重要的作用，如在哺乳动物血红细胞的成熟过程中、受精过程中父本线粒体清除、干细胞自我更新、组织缺氧、细胞的氧化损伤等过程中，起着清除细胞碎片等作用（图5-12）。由此可见，维持细胞稳态以及细胞的完整性，线粒体自噬是必不可少的一种机制。





武汉大学

Wuhan University

莲线粒体基因组研究

本实验室完成莲藕线粒体基因组测序和组装

首次完成莲线粒体基因组测序、组装与图谱构建。用第三代单分子测序技术（SMRT）对中国莲线粒体基因组进行了测序、组装，并对线粒体基因和可能的ORF进行了注释，完成了中国莲线粒体物理图谱的构建。



TABLE 6.4

Transmission of Mitochondria Among Different Organisms

Organism(s)	Organelle	Transmission
Mammals	Mitochondria	Maternal inheritance
<i>S. cerevisiae</i>	Mitochondria	Biparental inheritance
Molds	Mitochondria	Usually maternal inheritance; paternal inheritance has been found in the genus <i>Allomyces</i>
<i>Chlamydomonas</i>	Mitochondria	Inherited from the parent with the <i>mt</i> ⁻ mating type
Plants		
Angiosperms	Mitochondria	Often maternal inheritance, although biparental inheritance is found among some species
Gymnosperms	Mitochondria	Usually paternal inheritance



5.4 叶绿体遗传及其分子基础

5.4.1 叶绿体基因组的结构

叶绿体基因组也是一个裸露的环状双螺旋分子，高等植物不同物种叶绿体基因组的大小相差也比较大

微管植物一般为120~160kb

其中：被子植物120kb

Ct-DNA

裸子植物150多kb

蕨类植物140—150kb, 约编码120个左右基因

藻类尤其是绿藻变化很大37 ~ 2000kb

通常一个叶绿体中可含有一个至几十个叶绿体DNA（chloroplast DNA, ctDNA or cpDNA）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ctDNA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：

- 1、含有两个反向重复序列（inverted repeat, IR），它们之间由两段大小不等的非重复序列所隔开。
- 2、两个非重复区形成两个大小不等的单链DNA环，分别称为**大单拷贝序列**（large single-copy sequence, **LSC**）和**小单拷贝序列**（small single-copy sequence, **SSC**）。

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能自我复制，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。



5.4.2 叶绿体基因组的物理图谱

利用限制性内切酶识别位点作图和整个核苷酸序列分析，表明植物叶绿体基因组DNA含有几乎近于完全相同的叶绿体基因。现以地钱（Liverwort）为例说明（[图5-10](#)）。

陆生植物叶绿体基因组一般含有110~120个基因（[表5-8](#)），可分为三大类基因：

- ①有关叶绿体遗传系统的基因，包含编码rRNA、tRNA、核糖体蛋白、起始因子等的基因；
- ②编码光合系统的基因，主要涉及叶绿体功能的基因；
- ③第三类涉及氨基酸、脂质、色素生物合成的基因等。



其中蛋白质编码基因70~88个，tRNA基因30~32个，rRNA基因4个。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（图5-10）。此外，叶绿体基因组还编码约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羧化酶）的大亚基。在叶绿体DNA分子上约有30个tRNA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。有关数据见叶绿体基因组数据库：

ChloroplastDB (<http://chloroplast.cbio.psu.edu/>)



5.4.3 叶绿体DNA的几种基本类型

结构上依其重复序列的特点分为：

I型：不存在反向重复 如松科、豆科的叶绿体基因组

([@图5-10](#))

II型：含有大反向重复（5—76Kb），把叶绿体基因组分割为大单拷贝区（LSC）和小单拷贝区（SSC）([图 5-10](#))，大部分陆生植物和藻类叶绿体基因组属此类。

III型：含有多个串联重复和散布重复，例如伞藻、纤细裸藻等 ([@图5-10](#))



5.4.4 叶绿体遗传系统与核遗传系统的关系

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。

叶绿体蛋白质的合成可以分为3类：

第一类：**由叶绿体DNA编码**，在其70S核糖体上合成，如 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：**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 Cha/b蛋白质。

第三类：**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。

由此可知，和线粒体一样，叶绿体也是半自主性细胞器。



莲叶绿体基因组研究

本实验室完成莲藕叶绿体基因组测序和组装

首次完成莲叶绿体基因组测序、组装与图谱构建。采用第一代、二代（Illumina Miseq）和三代测序技术（Pacbio）对莲叶绿体基因组DNA进行了测序，组装并校正后得到全长为163,600bp的叶绿体基因组，注释得到113个基因，并绘制了莲叶绿体基因组物理图。



5.5 线粒体和叶绿体的起源与进化

5.5.1 真核生物的细胞器为内共生体

关于线粒体、叶绿体的来源，学术界较为普遍接受的理论是：

内共生学说（endosymbiont hypothesis）

1967年 美国生物学家Lynn Marglis 发表“关于有丝分裂细胞的起源”一文。她论证了，线粒体和叶绿体曾经是自由生活的生物，是后来整合到原始的真核细胞中的。她认为**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**

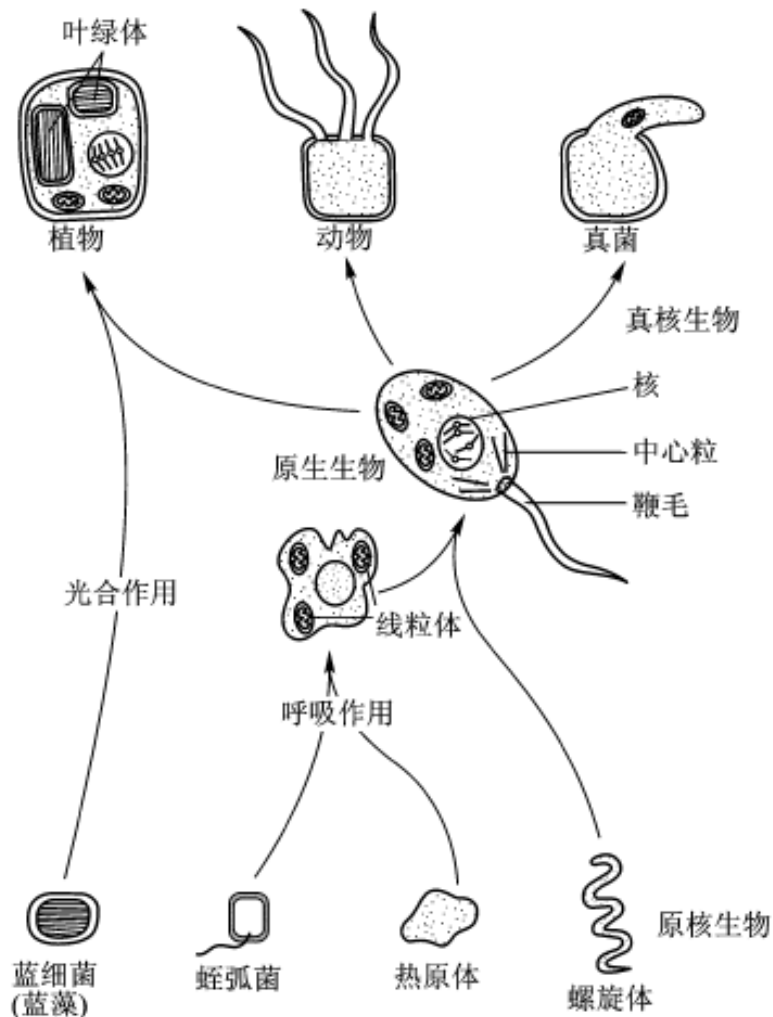


图 1 鞭毛与叶绿体的产生

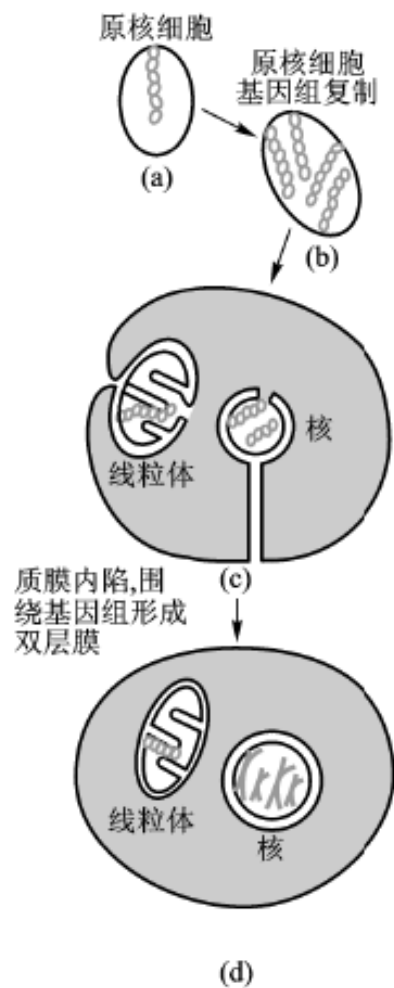


图 2 共生体形成过程



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

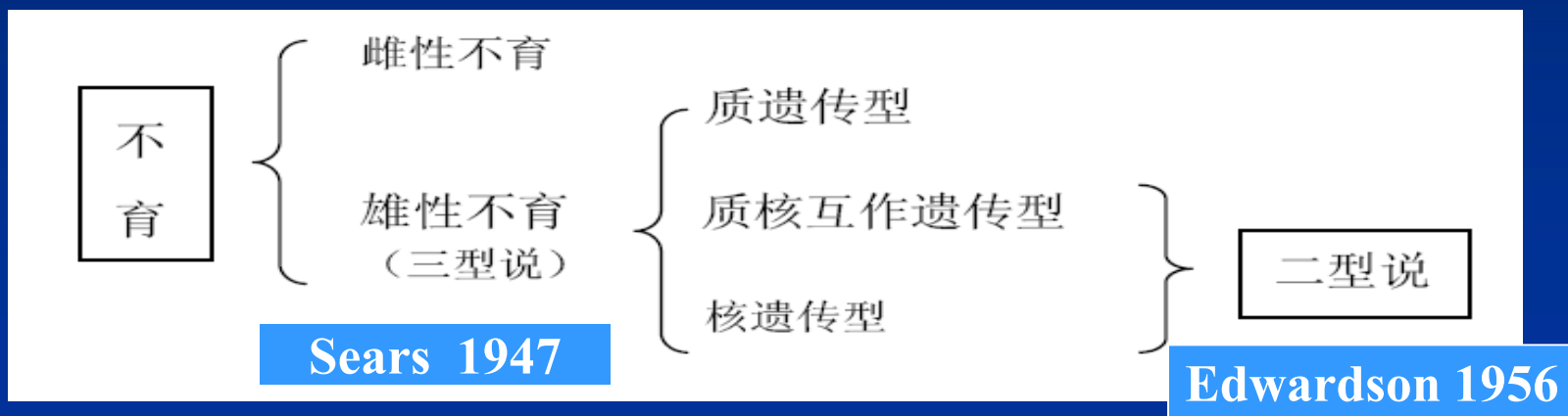


5.6 核外遗传与植物雄性不育

5.6.1 植物雄性不育及其应用

植物花粉败育的现象称为**雄性不育 (male sterility)**，它是指植物的雄性生殖系统不能正常发育，不能产生有功能的花粉粒，而其雌性生殖系统发育和营养生长完全正常的一种生物学现象。

植物雄性不育的遗传模式：



雄性不育现象在植物界很普遍，在43科、162属、320个种的617个亚种或种间杂种中存在。如水稻、玉米、高粱、大小麦、甜菜、油菜等。

其中水稻、油菜、玉米雄性不育性已用于大田生产之中。



(1) 质不育型

目前已在270多种植物中发现有细胞质雄性不育现象。

IRRI (International Rice Research Institute)运用远缘杂交培育的雄性不育系IR66707A (*Oryza perennis* 细胞质, 1995) 和IR69700A (*Oryza glumaepatula* 细胞质, 1996) 均具有异种细胞质源, 其细胞质完全不同于目前所有的水稻雄性不育系。

细胞质型不育系的不育性只能被保持而不能被恢复。



(2) 核不育型

是由核内染色体上基因所决定的雄性不育类型。

如：可育基因 Ms \rightarrow 不育基因 ms 。

这种核不育变异在稻、麦、玉米、谷子、番茄和洋葱等许多作物中都已发现。

例如：番茄中有30对核基因能分别决定该不育型；

玉米的7对染色体上已发现了14个核不育基因。

遗传特点：

败育过程发生于花粉母细胞的减数分裂期间，不能形成正常花粉，败育十分彻底，可育株与不育株界限明显。



遗传研究表明：

多数核不育型均受简单的一对隐性基因(msms)所控制，纯合体(msms)表现为雄性不育。

这种不育性能被相对显性基因Ms所恢复，杂合体(Msms)后代呈简单的孟德尔式的分离。

$msms \times MsMs$
 \downarrow
 $Msms$
 $\downarrow \otimes$
 $MsMs \quad Msms \quad msms$
 $3 \quad : \quad 1$



用普通遗传学的方法不能使整个群体保持这种不育性，这是核不育型的一个重要特征。

∴无保持系，这种核不育的利用有很大的限制性。



在水稻中所发现的**光(温)敏核不育材料**提供了一种解决上述问题的可能性：

* 水稻光敏核不育材料：

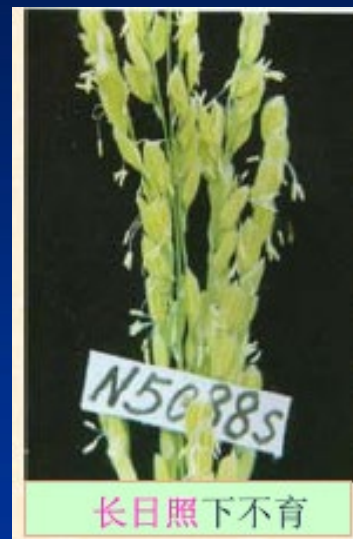
长日照条件下为不育(>14h, 制种)；

短日照条件下为可育(<13.75h, 繁种)。

* 水稻温敏核不育材料：

>28℃, 不育；

<23-24℃育性转为正常。



湖北光周期敏感核不育水稻

Hubei photoperiod-sensitive Genic Male-sterile Rice
[HPGMR]

- ①不需要保持系
- ②不用寻找恢复基因



水稻：二系 { 一系两用：光敏核不育水稻
既是不育系，又是保持系。
恢复系

石明松：沔阳沙湖原种场，1973年秋，在一季晚粳
农垦58田野发现了三株典型雄性不育株。

光周期敏感核不育水稻：

(1) 长日照诱导不育，短日照诱导可育，日照长度是诱导光敏核不育水稻农垦58S育性转换的主导因素。

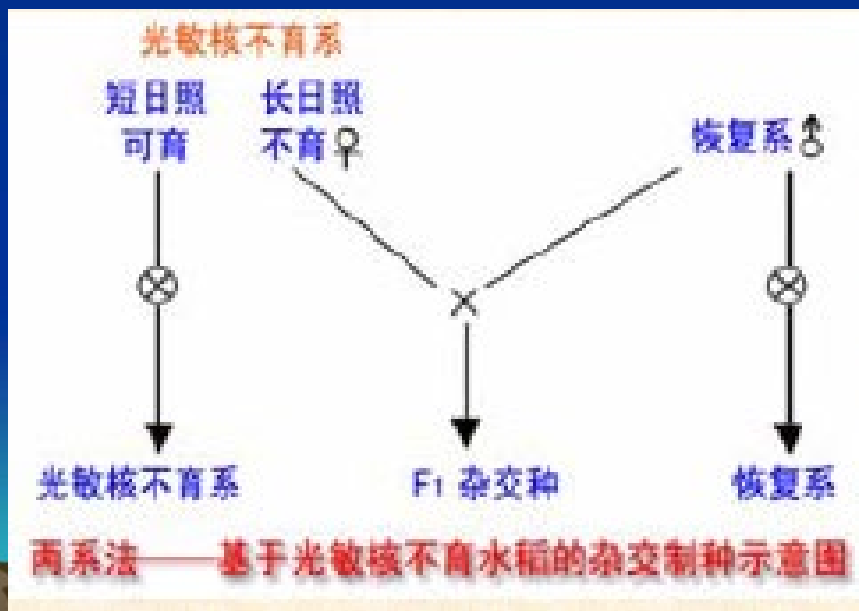
人工光照条件：13小时45分钟以上光长 → 抽穗不育
13小时45分钟以下光长 → 抽穗可育

(2) 不育特性的遗传为隐性核不育基因控制
不受细胞质的影响



1973年，**沔阳沙湖原种场石明松**在一季晚粳**农垦58**田野发现了三株典型雄性不育株“**湖北光敏核不育水稻—农垦58S**”。

“**农垦58S**”在长日照条件下为不育，短日照下为可育，可将不育系和保持系合二为一，提出了生产杂交种子的“**二系法**”。





(3) 质—核不育型 (cytoplasmic male sterility, CMS) 细胞质雄性不育

①.概念：由细胞质基因和核基因互作控制的不育类型。

②.花粉败育时间：

在玉米、小麦和高粱等作物中，这种不育类型的花粉败育多数发生在减数分裂以后；

在水稻、矮牵牛、胡萝卜等植物中，败育发生在减数分裂过程中或在此之前。

质核不育的表现一般比核不育要复杂

③.遗传特点：

胞质不育基因为S；

胞质可育基因为N；

核不育基因r，不能恢复不育株育性；

核可育基因R，能够恢复不育株育性。



线粒体与植物细胞质雄性不育 (Cytoplasmic male sterility, CMS)

细胞质雄性不育植株表现出多种异常表型：花丝不正常，花粉粒不饱满，碘染不正常着色，绒毡层发育不正常，细胞色素氧化酶、ATPase等多种酶活下降；线粒体结构不正常。→推测：

由于线粒体DNA发生某些改变与CMS表型存在一定联系

- ① 育性正常植株与CMS植株的线粒体DNA限制酶酶切图谱不同，只有大约50%的DNA片段是共同的。
- ② 用线粒体基因组上的一些基因如*atpA*、*atp6*、*cob*、*cox1*、*cox2*、*rps12*、*rrn18*、*rrn26*基因片段作探针，在不育株与可育株之间存在特异片段 (RFLP) 的差异。发现多种植物的CMS往往是由于在这些区域的同源重组产生嵌合基因，成为扰乱花药发育的关键原因。
- ③ 离体翻译产物：玉米可育株与不育株存在差异多肽，不育株比可育株多一种21KDa的多肽。
- ④ 转录物分析：发现可育株与不育株转录物模式（转录物种类、大小）不同



以不育个体 $S(rfrf)$ 为母本，分别与五种可育型杂交，结果如图5-12所示

由上图可见，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 $(N) rf rf$ ，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 $(N) Rf Rf$ ，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。

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。

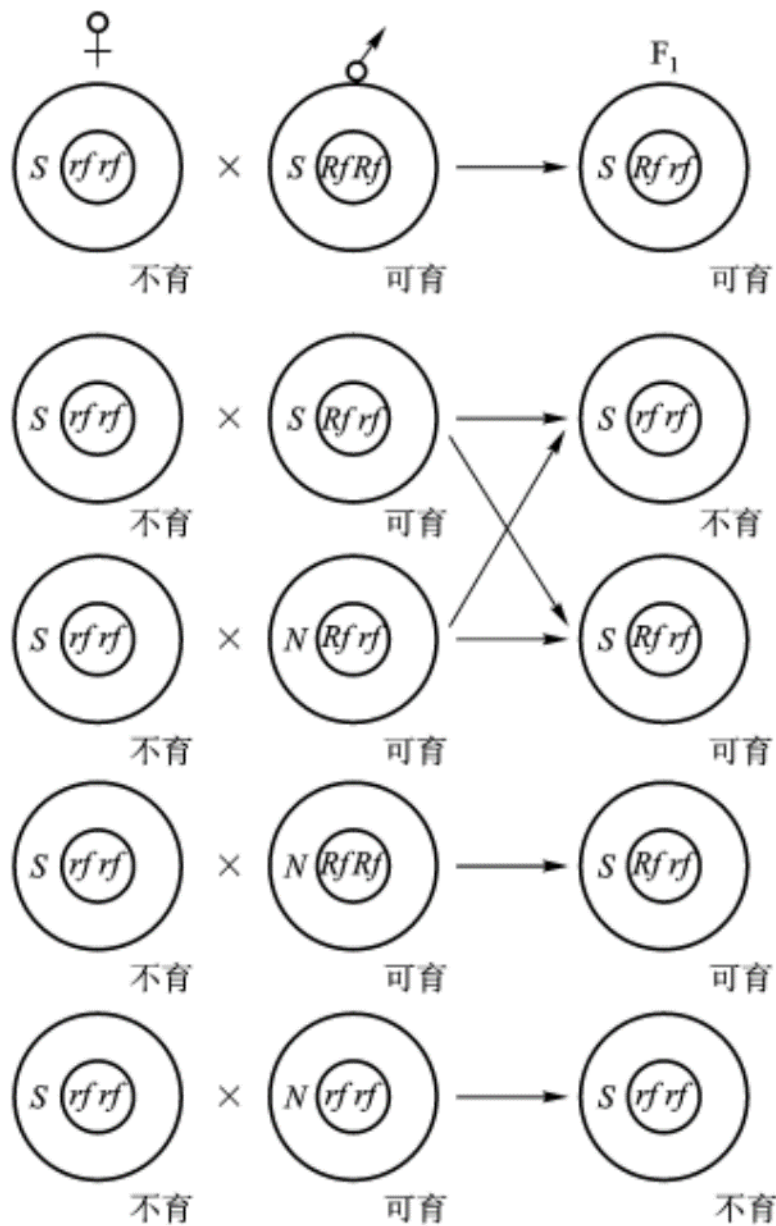


图 5 - 12 质 - 核型不育性遗传的示意图



(3) 植物雄性不育的应用

植物雄性不育的应用**主要是利用杂种优势于农作物的育种中**，母本若为雄性不育，可免去田间大面积繁育制种时的人工去雄工作，节省劳动成本并保证杂交种子的纯度。植物雄性不育的应用即杂种优势的利用，**最早成功的例子要数杂交水稻**。

杂交水稻是选用两个在遗传上有一定差异，同时其优良性状又能互补的水稻品种，进行杂交，生产具有杂种优势的第一代杂交种，用于生产。

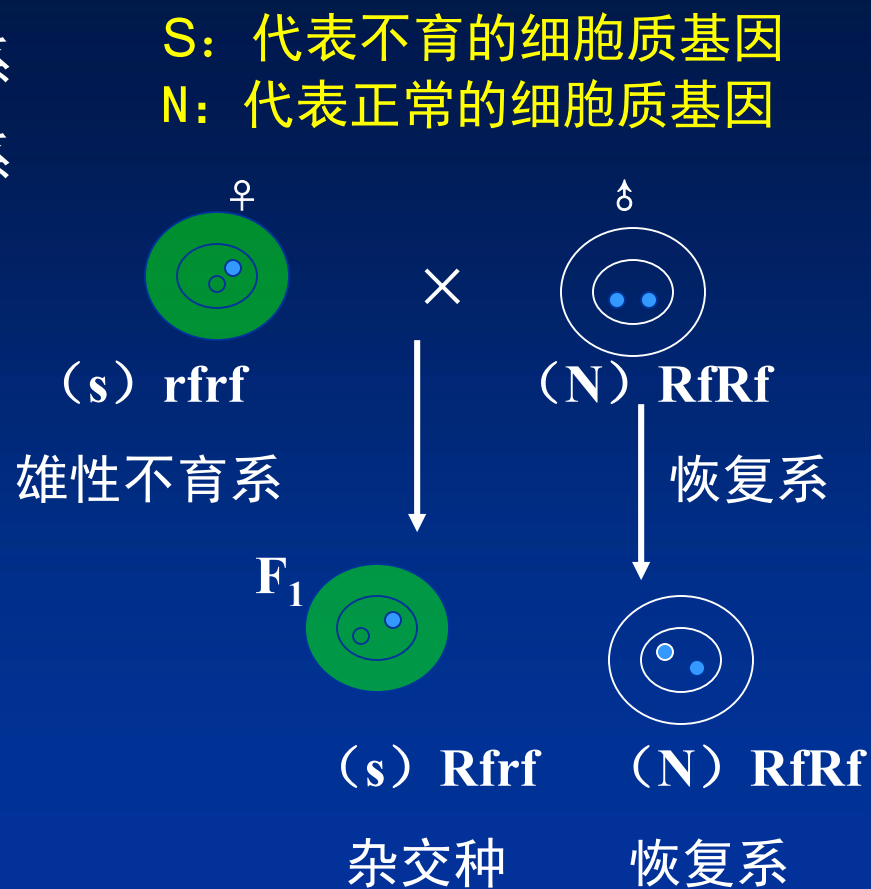
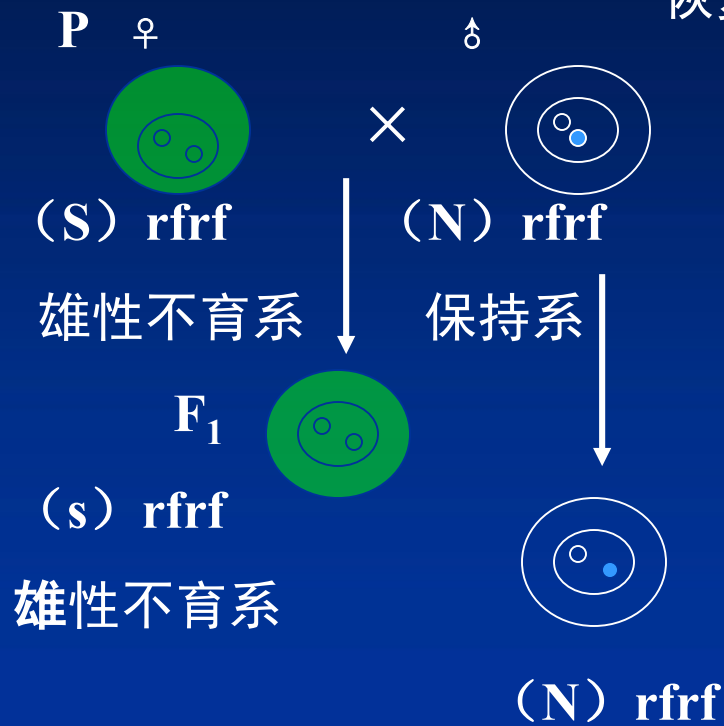
1973年，我国首先实现了野败籼型杂交稻三系配套。

三系配套也称为三系法，是指不育系、保持系和恢复系在杂交种的生产过程中需配套使用。



水稻：三系

不育系
保持系
恢复系



S: 代表不育的细胞质基因
N: 代表正常的细胞质基因

正常自交系能使母本结籽，又能保持原有自交系的性状，所以也叫保持系（保持雄性不育系的雄性不育性）

保持系

具有恢复能力的自交系，它的花粉授予不育系后，能使不育系的后代恢复正常，开花结籽，所以叫恢复系。

（上世纪70年代 野败型 三系配套 袁隆平）



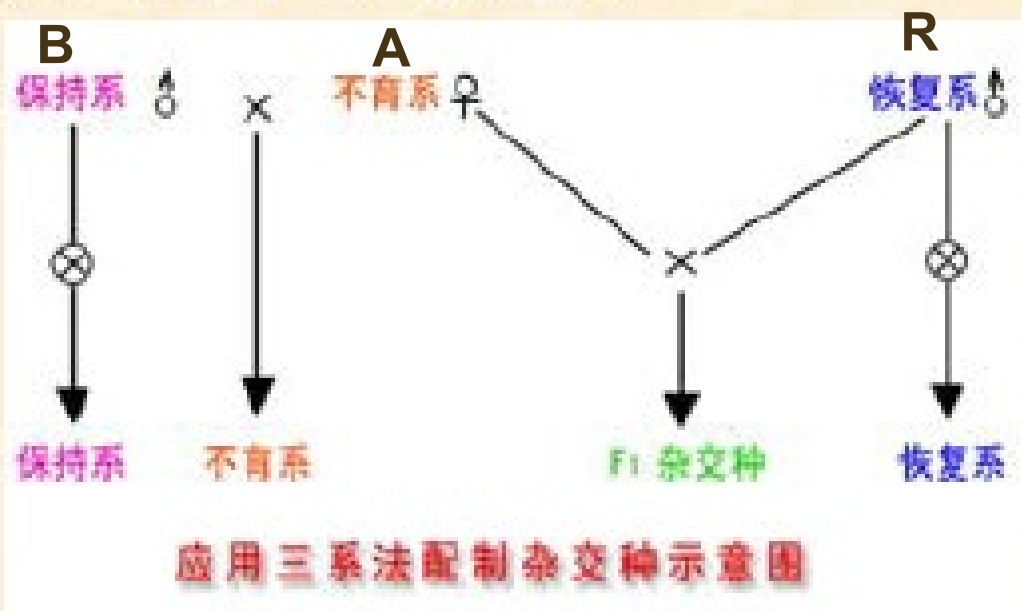
(6). 生产上的应用:

质核型不育性由于细胞质基因与核基因间的互作，故既可以找到**保持系** → 不育性得到保持、也可找到相应**恢复系** → 育性得到恢复，实现**三系配套**。

同时解决不育系繁殖和杂种种子的生产的问题:

繁殖: $A \times B \rightarrow A$

制种: $A \times R \rightarrow F_1$





三系二区制种法:

(1) 雄性不育系, 以符号 $(s) rfrf$ 来表示。

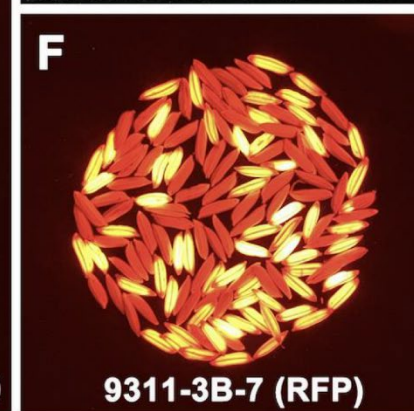
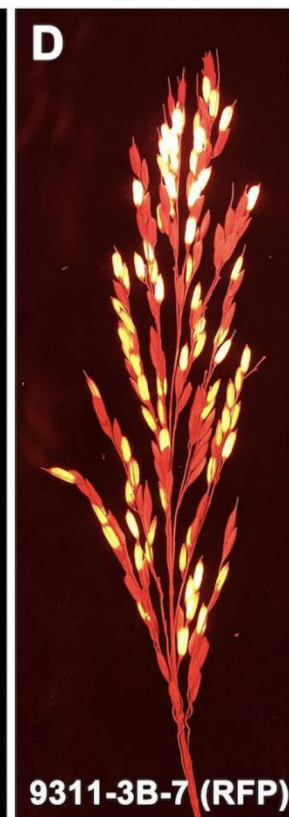
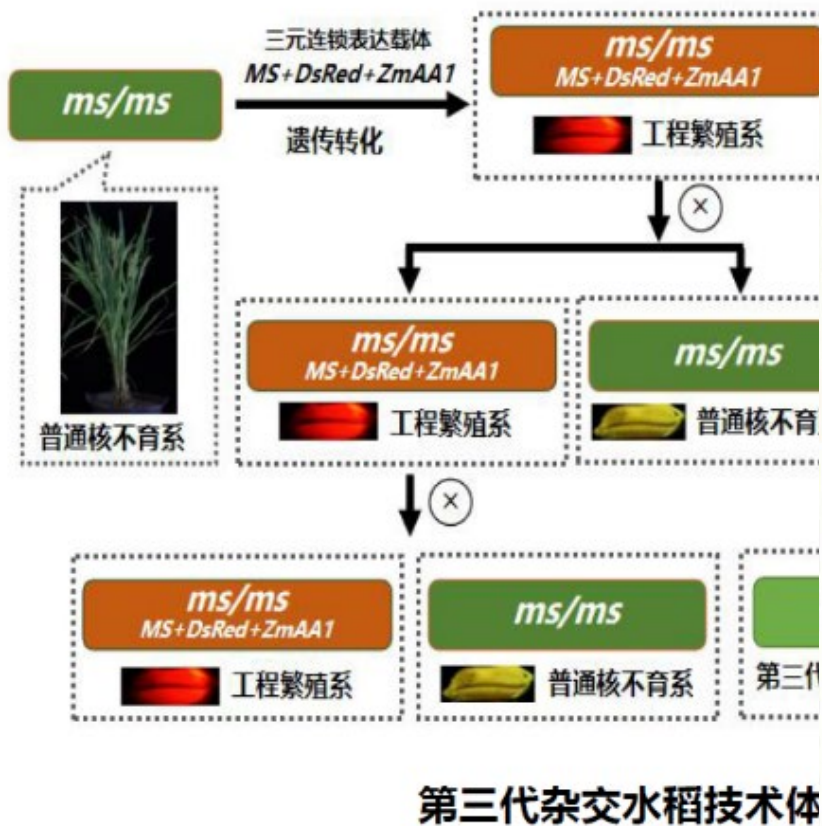
(s) 是指(sterility), rf (restore fertile)
是表示雄性不育得到恢复。

(2) 保持系: 以符号 $(n) rfrf$ 来表示。

$(N \text{ for normal})$ 来表示。

(3) 恢复系: $(N) RfRf,$

第三代杂交水稻



都非常简便易行。

花粉育性鉴定及种子荧光分型





5.6.2 植物雄性不育的遗传机制

(1) 植物CMS的分子机理假说

➤ 线粒体功能失调假说

嵌合基因与正常基因共同竞争同一启动子序列和表达所需的限制因子而影响线粒体正常基因的表达；或者嵌合基因产生的异常多肽与正常多肽竞争结合在线粒体能量代谢复合物中的位置，导致能量代谢系统功能的弱化，从而使花粉发育时期需要的大量的能量得不到满足，最终导致花粉败育。

➤ 毒性假说

针对T-CMS玉米对玉米专化小斑病的敏感性，Flavell提出了雄性不育的“毒性假说”。该假说认为URF13本身就是一种毒蛋白，它结合在线粒体内膜上形成一个通道，从而导致线粒体膜通透性增强，基质内离子外泄，正常膜电势降低，能量合成受阻；尽管它可能对T-CMS玉米整株的细胞都有毒性，但对花药的毒性更大，因而最终导致花粉败育。



- (3) 国内常用的几种水稻细胞质类型及其败育机制：

野败型 红莲型 BT型

- BT型水稻不育系中的嵌合基因`orf79`，`orf79`位于`atp6`基因的下游，并与其共转录，其转录产物具有细胞毒性，转基因研究证明`orf79`基因可以导致植株产生CMS现象（Wang, 2006）。
- 红莲型水稻中不育相关基因`orfH79`

`orf79`与`orfH79`同源



PNAS February 14, 2012 109 (7) 2654-2659; <https://doi.org/10.1073/pnas.1121374109>

A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice

Jihua Ding^a, Qing Lu^a, Yidan Ouyang^a, Hailiang Mao^a, Pingbo Zhang^a, Jialing Yao^b, Caiquo Xu^a, Xianghua Li^a,

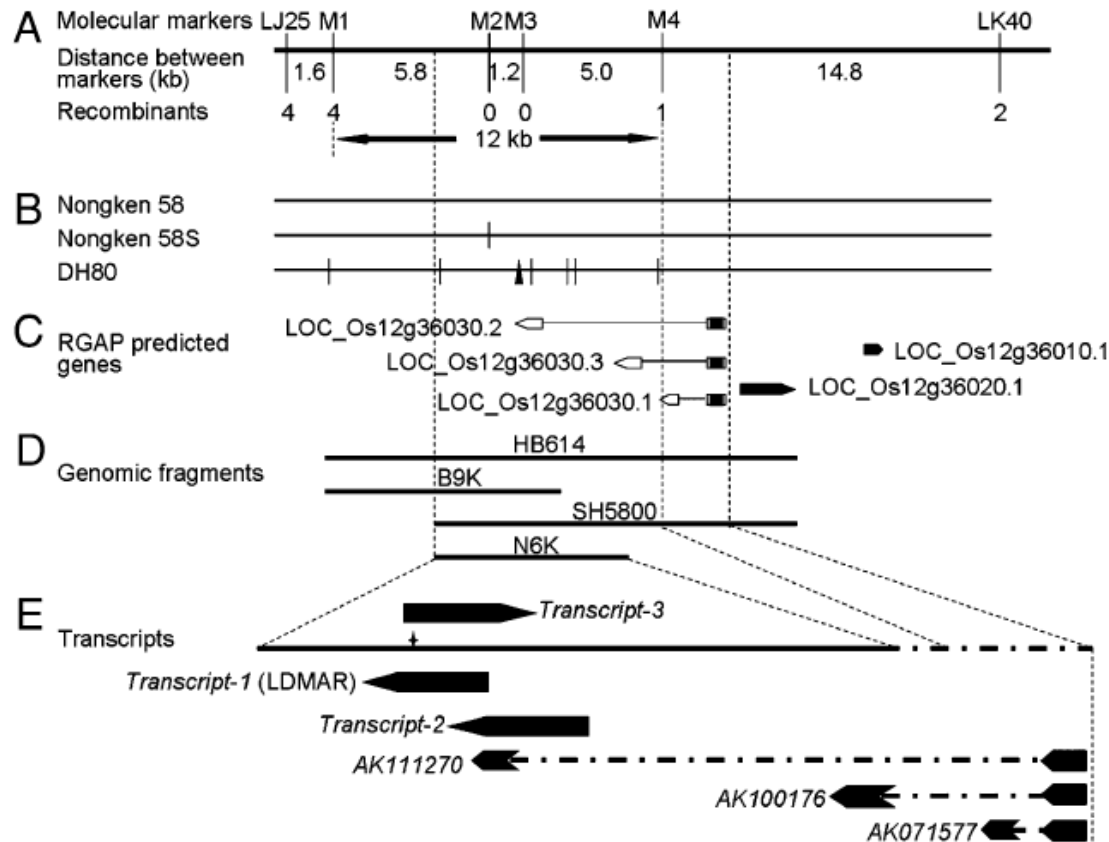


Fig. 1. Mapping and cloning of the *pms3*. (A) Genetic and physical maps of *pms3*. (B) Polymorphisms identified by comparative sequencing of a 28.4-kb

A

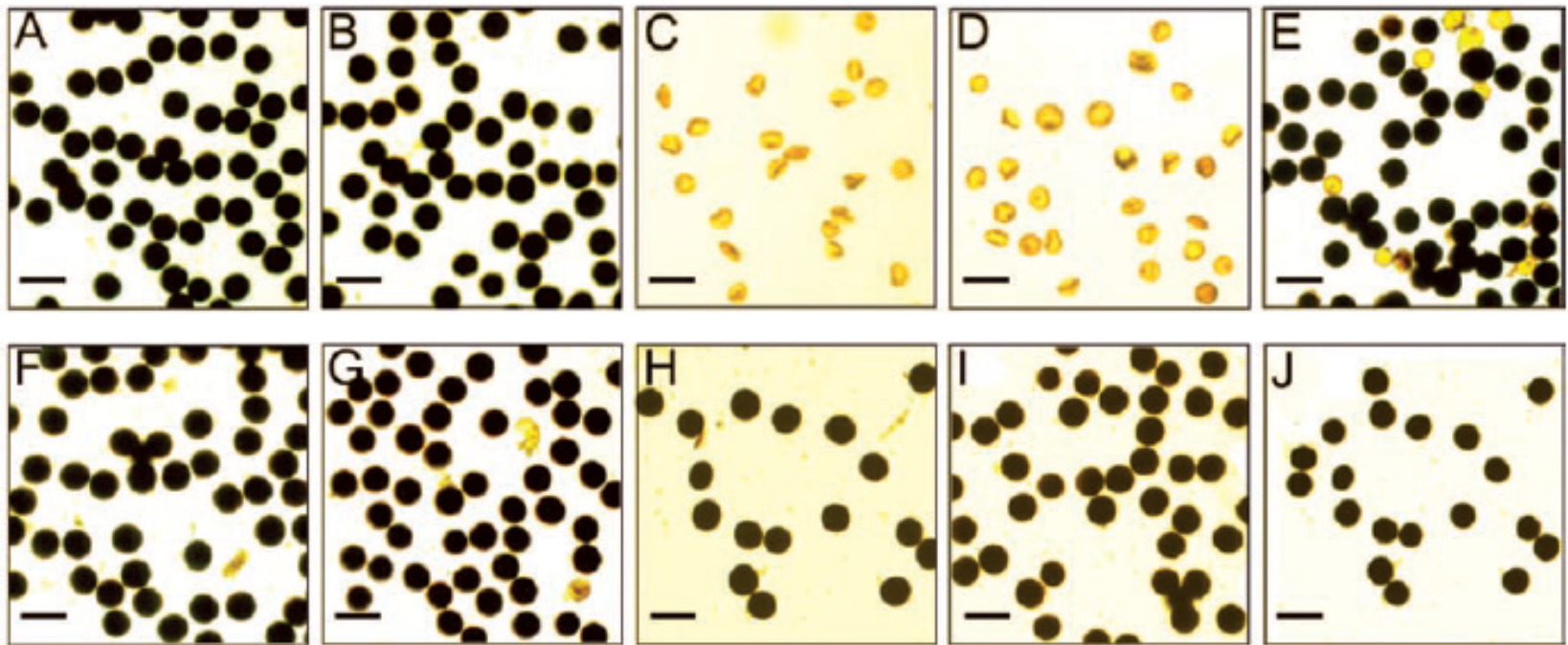
tms12-1(t)
22.258

Figure 2 Pollen fertility of transgenic NK58S and PA64S plants is restored by *TMS12-1(t)*. (**A, B**) Fertile pollen of NK58S and PA64S plants grown under short-day (12 h) and low-temperature (22-23 °C) conditions during the MMC-meiosis stages. (**C, D**) Sterile pollen of NK58S and PA64S plants grown under sterility-inducing conditions (14-h day length, 25-30 °C). (**E, F**) Fertility-restored pollen of PA-10.4- and PA-9-transgenic T_1 NK58S plants, respectively. (**G, H**) Fertility-restored pollen of PA-2.4-transgenic T_1 plants of NK58S and PA64S, respectively. (**I, J**) Fertility-restored pollen of transgenic T_1 NK58S (**I**) and T_1 PA64S (**J**) plants overexpressing a 375-bp sequence (PA-0.37). All transgenic plants were grown under sterility-inducing conditions (14-h day length, 25-30 °C). Scale bars: 50 μ m.

杂交水稻雄性不育机理研究进展

1、2006年，刘耀光研究组的结果揭示：在BT（Boro II）型细胞质雄性不育水稻里有一个异常的线粒体的开放读码框——*orf79*，它和*atp6*基因共转录，编码一个细胞毒素肽。经转基因植株证实 *orf79* 在水稻中表达导致花粉呈雄配子体雄性不育。

同时，该研究在第10号染色体*Rf-1*位点上发现一个编码含PPR蛋白（Pentatricopeptide repeats protein，三角状五肽重复蛋白）的多基因簇，其中至少有2个成员*Rf1a*和*Rf1b*被证明对BT型有育性恢复功能。*Rf1a*和*Rf1b*编码的2个蛋白：RF1A和RF1B均定位在线粒体中。

The Plant Cell, Vol. 18, 676–687, March 2006, www.plantcell.org © 2006 American Society of Plant Biologists

Cytoplasmic Male Sterility of Rice with Boro II Cytoplasm Is Caused by a Cytotoxic Peptide and Is Restored by Two Related PPR Motif Genes via Distinct Modes of mRNA Silencing ^W

Zhonghua Wang,^{a,1} Yanjiao Zou,^{a,1} Xiaoyu Li,^{a,2} Qunyu Zhang,^{a,2} Letian Chen,^a Hao Wu,^a Dihua Su,^a Yuanling Chen,^a Jingxin Guo,^a Da Luo,^{b,c} Yunming Long,^a Yang Zhong,^d and Yao-Guang Liu^{a,3}

^aKey Laboratory of Plant Functional Genomics and Biotechnology of Guangdong Province, College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

^bInstitute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China



其中RF1A 以内切方式切断B-*atp6/orf79*的mRNA 来阻止 ORF79 蛋白的产生而使育性恢复，而RF1B 则通过降解B-*atp6/orf79*的mRNA使育性恢复。在RF1A 和RF1B 同时存在时，RF1A具有优先的作用。其研究还表明：RF1A 除了具有切断B-*atp6/orf79* mRNA 的功能外，还可以促进*atp6* mRNA 的编辑，推测后者可能是其基本功能，前者是进化过程中产生的新功能。刘耀光研究组的研究结果完整地阐明了水稻 CMS-BT 型雄性不育和育性恢复的分子机理。

2、2012年朱英国团队的研究工作，也说明了在红莲型细胞质雄性不育系中，是通过一个富含甘氨酸的蛋白质GRP162复合物，水稻PPR蛋白RF5使其恢复育性。

The Plant Cell, Vol. 24: 109–122, January 2012, www.plantcell.org © 2012 American Society of Plant Biologists. All rights reserved.

The Rice Pentatricopeptide Repeat Protein RF5 Restores Fertility in Hong-Lian Cytoplasmic Male-Sterile Lines via a Complex with the Glycine-Rich Protein GRP162

Jun Hu,^{a,b,c} Kun Wang,^{a,b,c} Wenchao Huang,^{a,b,c} Gai Liu,^a Ya Gao,^a Jianming Wang,^a Qi Huang,^{a,b} Yanxiao Ji,^{a,b} Xiaojian Qin,^{a,b} Lei Wan,^{a,b} Renshan Zhu,^{a,b,c} Shaoqing Li,^{a,b,c} Daichang Yang,^{a,b,c} and Yingguo Zhu^{a,b,c,1}

^a Key Laboratory of the Ministry of Education for Plant Developmental Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

^b Engineering Research Center for Plant Biotechnology and Germplasm Utilization, Ministry of Education, Wuhan University, Wuhan 430072, China

^c State Key Laboratory for Hybrid Rice, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

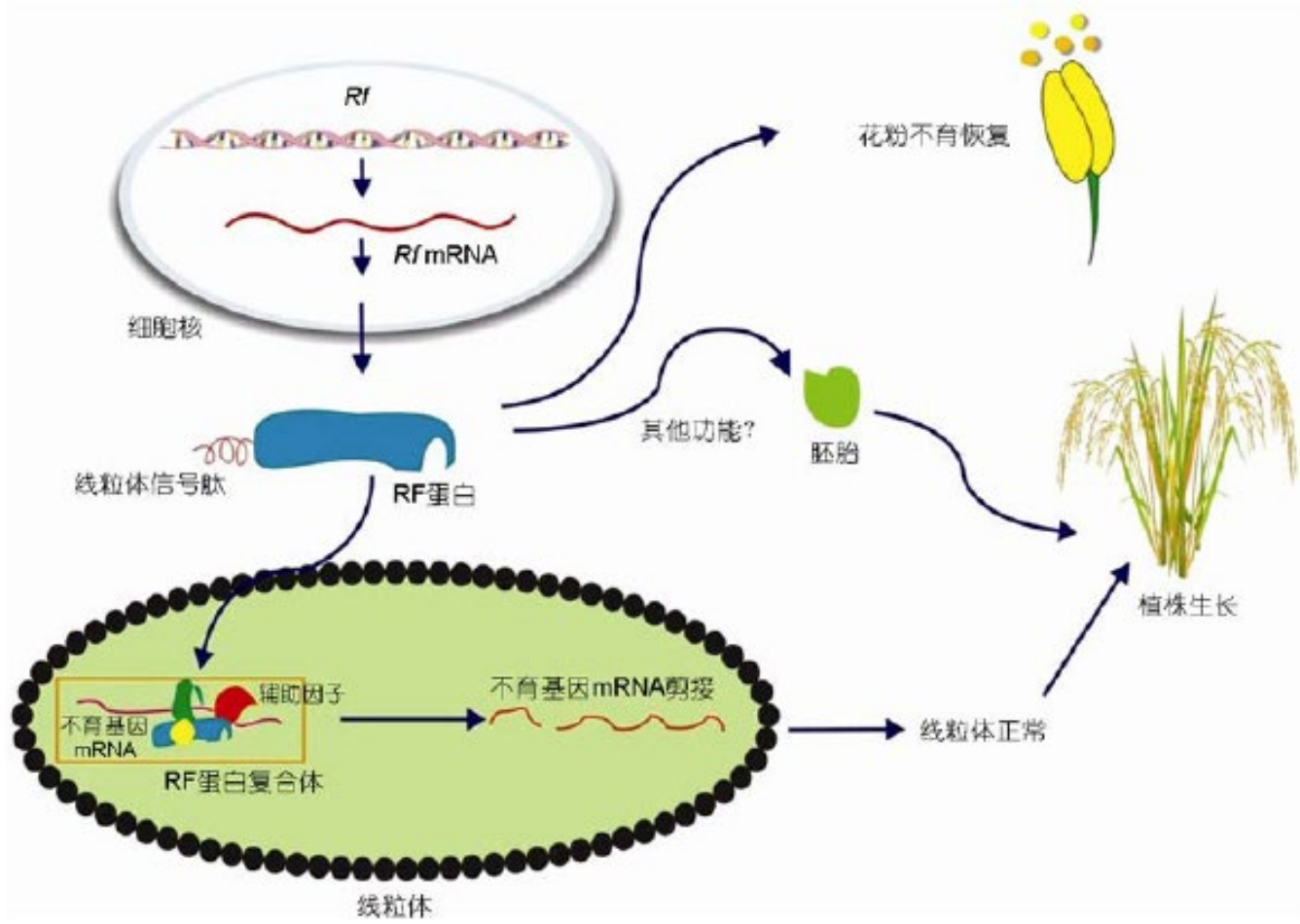


图3 育性恢复的分子模型^[23]

不育系线粒体内一编码79个氨基酸的可读框 **OrfH79** 为HL-CMS不育基因, ORFH79蛋白破坏线粒体正常功能后导致花粉败育。遗传分析发现, HL-CMS为双基因恢复模式, 进而克隆了恢复基因 **Rf5** 和 **Rf6**。育性恢复机理研究表明, 恢复基因**RF5**蛋白与**GRP**蛋白互动, 组装成**400~500 kD**的分子复合体作用于**atp6-OrfH79 mRNA**, 从而恢复不育性。

Pentatric with hex male ste

Wenchao Huang^a,
Guoxin Yao^a, Jian

^aNational Key Laborato
Valley Hybrid Rice Colla
Studies, Wuhan Univers

14984-14989 | PNAS | De

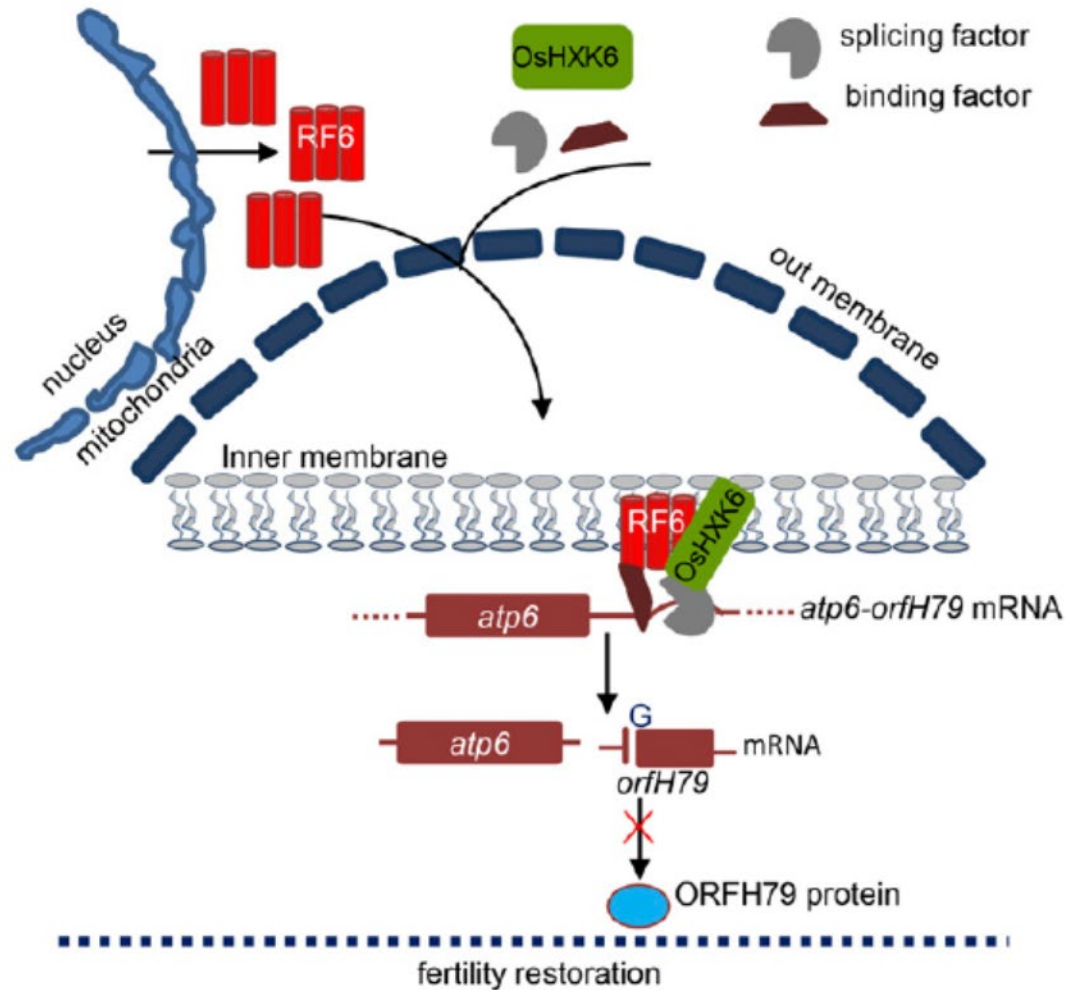


Fig. 5. A working model showing the mechanism by which RF6 restores the fertility of HL-CMS. RF6 and OsHXX6 proteins are targeted to mitochondria, forming a complex with other proteins, including RNA-binding and processing factors, likely to cleave the aberrant *atp6-orfH79* transcript, thus disrupting *orfH79* mRNA and preventing its translation. Consequently, this processing ensures normal pollen development and leads to the restoration of CMS fertility.

functions

Yafei Zeng^a,

iculture, The Yangtze River
The Institute for Advanced

org/cgi/doi/10.1073/pnas.1511748112

A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice

Dangping Luo^{1,2}, Hong Xu^{1,4}, Zhenlan Liu¹, Jingxin Guo¹, Heying Li¹, Letian Chen¹, Ce Fang³, Qunyu Zhang¹, Mei Bai¹, Nan Yao³, Hong Wu¹, Hao Wu¹, Chonghui Ji¹, Huiqi Zheng¹, Yuanling Chen¹, Shan Ye¹, Xiaoyu Li¹, Xiucan Zhao¹, Riqing Li¹ & Yao-Guang Liu¹

Plant cytoplasmic male sterility (CMS) results from incompatibilities between the organellar and nuclear genomes and prevents self pollination, enabling hybrid crop breeding to increase yields¹⁻⁶. The Wild Abortive CMS (CMS-WA) has been exploited in the majority of 'three-line' hybrid rice production since the 1970s, but the molecular basis of this trait remains unknown. Here we report that a new mitochondrial gene, *WA352*, which originated recently in wild rice, confers CMS-WA because the protein it encodes interacts with the nuclear-encoded mitochondrial protein COX11. In CMS-WA lines, *WA352* accumulates preferentially in the anther tapetum, thereby inhibiting COX11 function in peroxide metabolism and triggering premature tapetal programmed cell death and consequent pollen abortion. *WA352*-induced sterility can be suppressed by two restorer-of-fertility (*Rf*) genes, suggesting the existence of different mechanisms to counteract deleterious cytoplasmic factors. Thus, CMS-related cytoplasmic-nuclear incompatibility is driven by a detrimental interaction between a newly evolved mitochondrial gene and a conserved, essential nuclear gene.



Doi: [10.1038/ng.2570](https://doi.org/10.1038/ng.2570)

2013年，刘耀光小组
揭示了水稻WA-CMS败
育及恢复机理



刘耀光课题组成功克隆了野败型细胞质雄性不育基因：WA352

研究发现，不育系的WA352 mRNA表达是组成型的，WA352蛋白只在花药特定时期（花粉母细胞期）的绒毡层特异积累，并与核基因编码的线粒体定位蛋白COX11进行互作。COX11具有消除活性氧的功能，是真核生物保守的一个新的细胞程序性凋亡（PCD）的抑制因子。这个蛋白互作干扰了COX11的正常功能，导致花药绒毡层线粒体的活性氧爆发和细胞色素c释放到细胞浆（这是PCD的诱导因素），提前启动PCD控制的绒毡层降解，从而产生花粉败育。

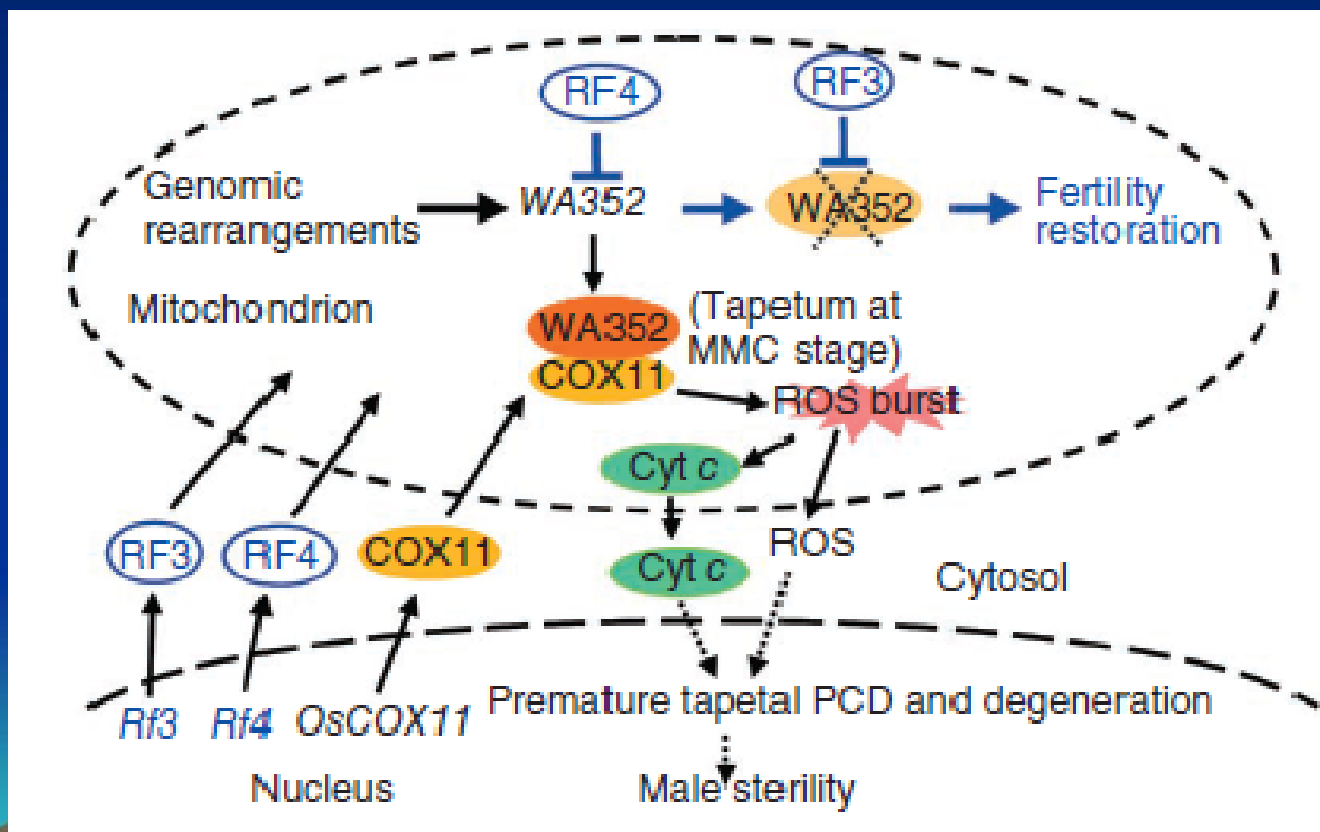


而2个恢复基因 $Rf3$ 与 $Rf4$ 以不同机理抑制 $WA352$ 表达而恢复育性。论文还揭示了 $WA352$ 是一个在野生稻线粒体基因组经多次重组事件产生的年轻新基因；我国多种类型水稻不育系如岗型、印水型，矮败型等不育系也含有相同的 $WA352$ 基因，表明它们与野败型属同一 CMS 类型。也就是说，绝大部分的三系杂交稻都是利用基于 $WA352$ 基因的雄性不育不育系。

首次阐明了植物 CMS 系统通过线粒体不育基因和核基因的互作控制核质不亲和性（雄性不育）的分子机理，有别于前人提出的能量代谢缺陷导致 CMS 的假说。



WA-CMS的不育线粒体基因WA352与核基因编码的cox11相互作用，这种互作干扰了COX11的正常功能，导致花药绒毡层线粒体的活性氧爆发和细胞色素c释放到细胞浆（这是PCD的诱导因素），提前启动PCD控制的绒毡层降解，从而产生花粉败育。



水稻WA-CMS败育及恢复机理 (Luo et al., 2013)



武汉大学

Wuhan University

本章结束

谢谢!

作业 P124-5、7
p125-13





Figure 3.13 Human mitochondrial DNA has 22 tRNA genes, 2 rRNA genes, and 13 protein-coding regions. 14 of the 15 protein-coding or rRNA-coding regions are transcribed in the same direction. 14 of the tRNA genes are expressed in the clockwise direction and 8 are read counter clockwise.

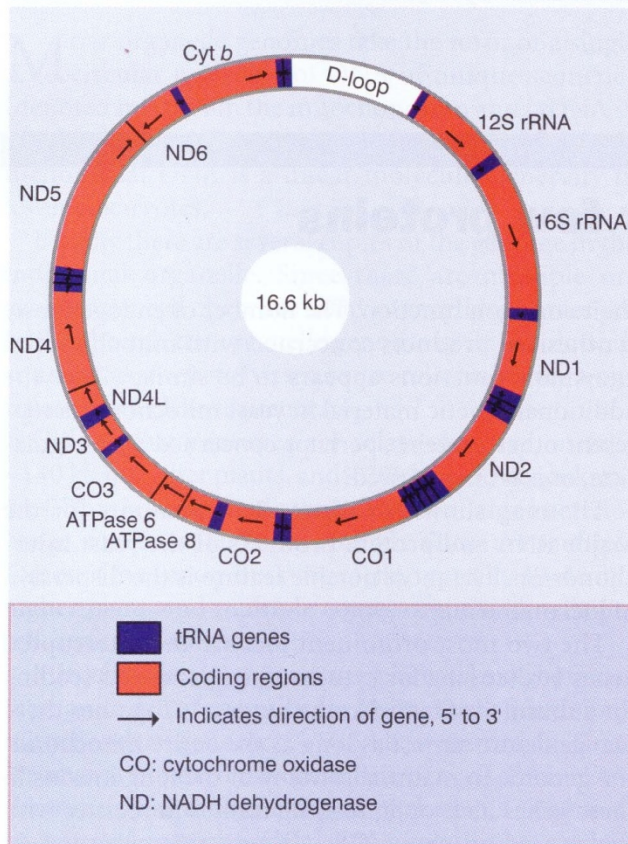
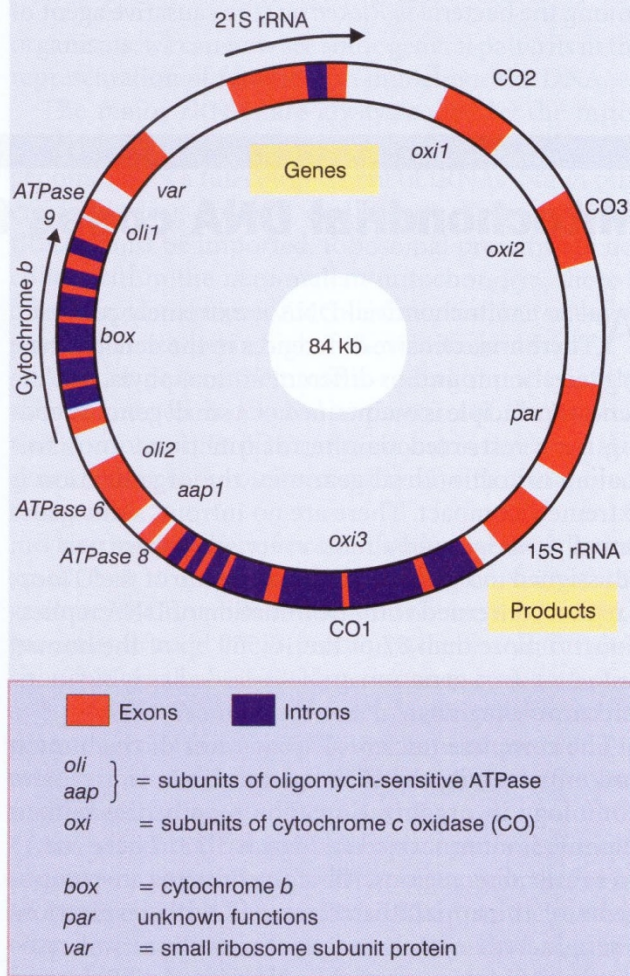


Figure 3.14 The mitochondrial genome of *S. cerevisiae* contains both interrupted and uninterrupted protein-coding genes, rRNA genes, and tRNA genes (positions not indicated). Arrows indicate direction of transcription.



F-40

[返回](#)

人线粒体基因组

酵母线粒体基因组

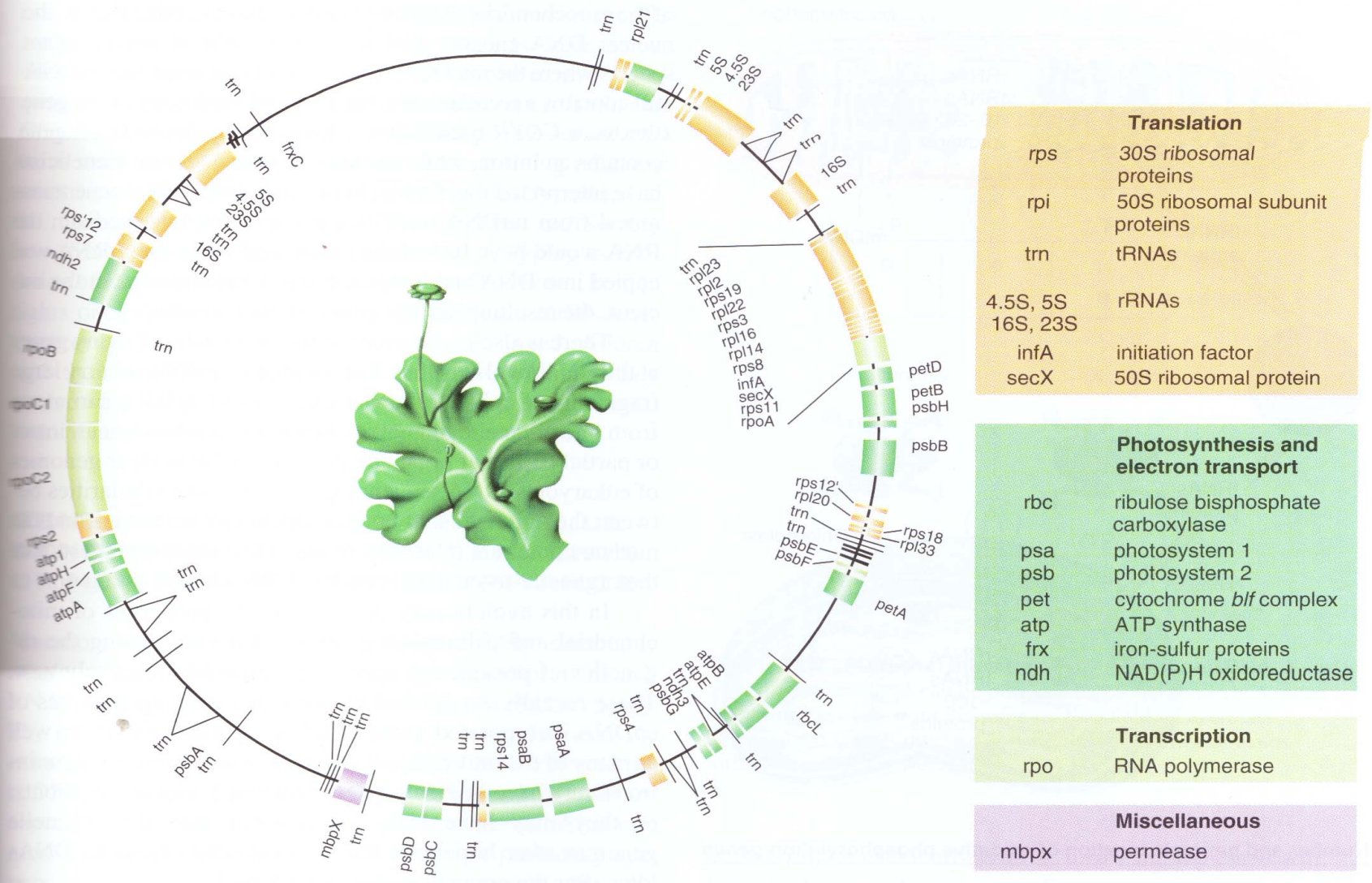
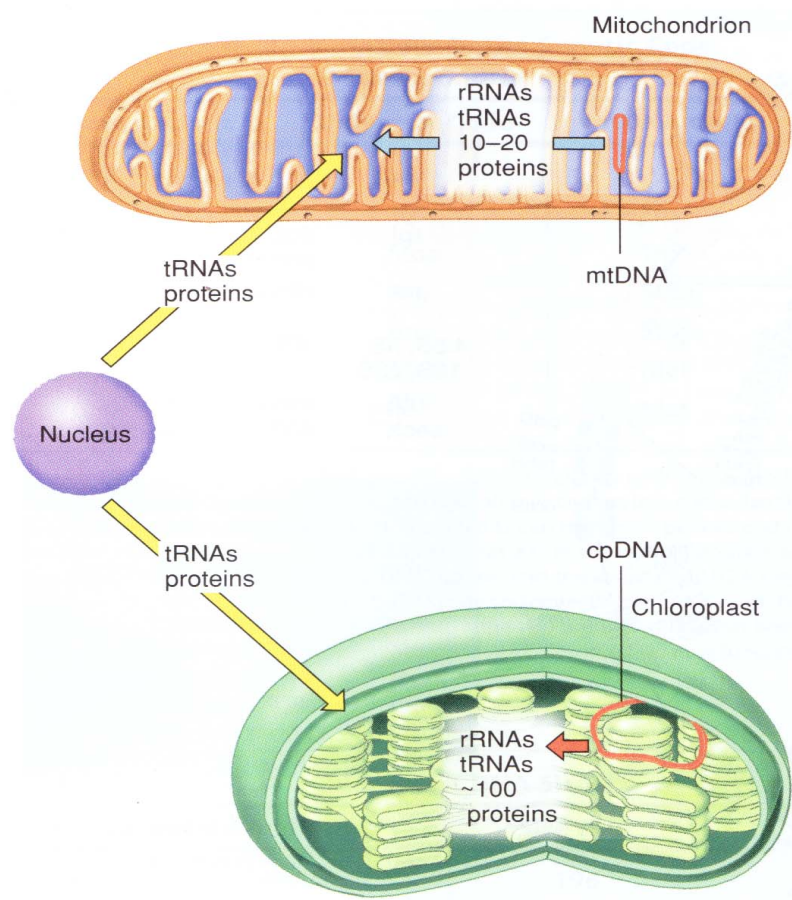


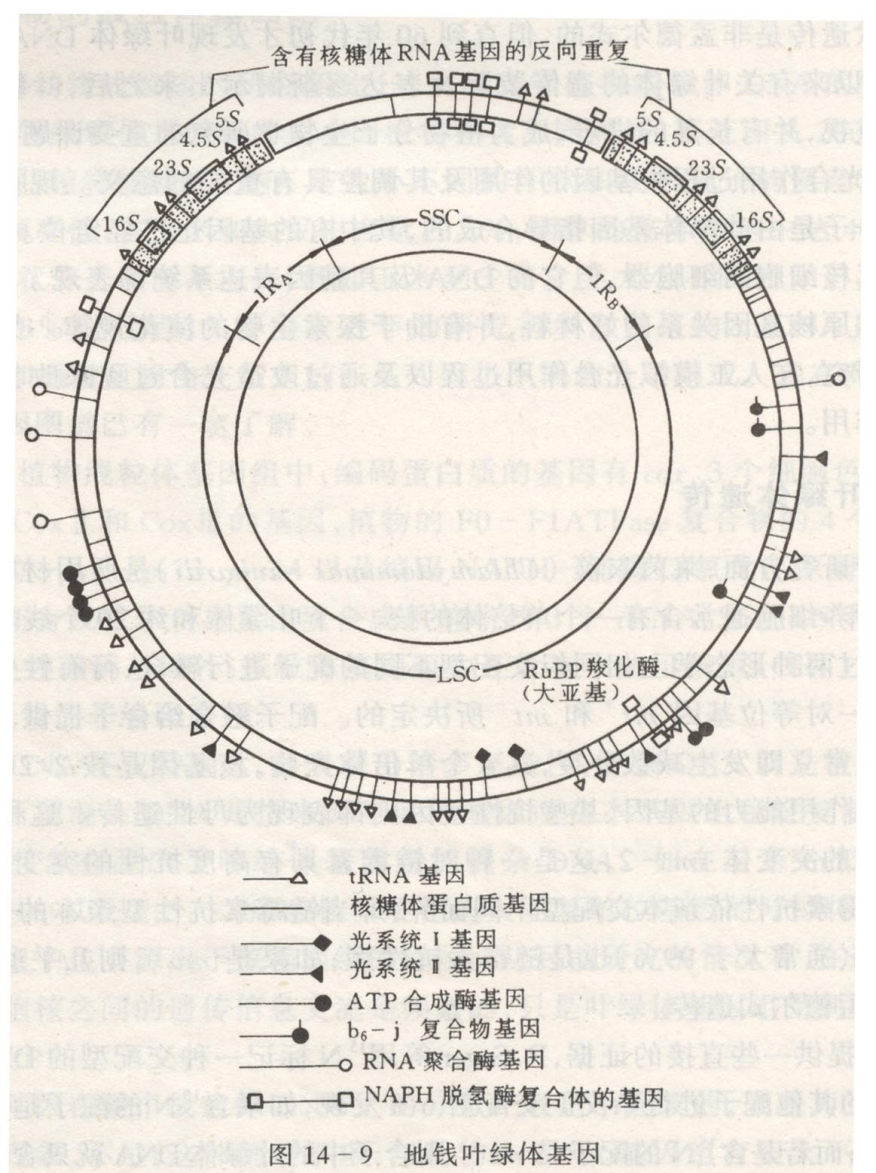
Figure 14.7 Chloroplast genome of the liverwort, *M. polymorpha*. The relative locations and symbols of some of the 128 genes are indicated. Genes are color-coded according to general function.



Number and genomic location of oxidative phosphorylation genes

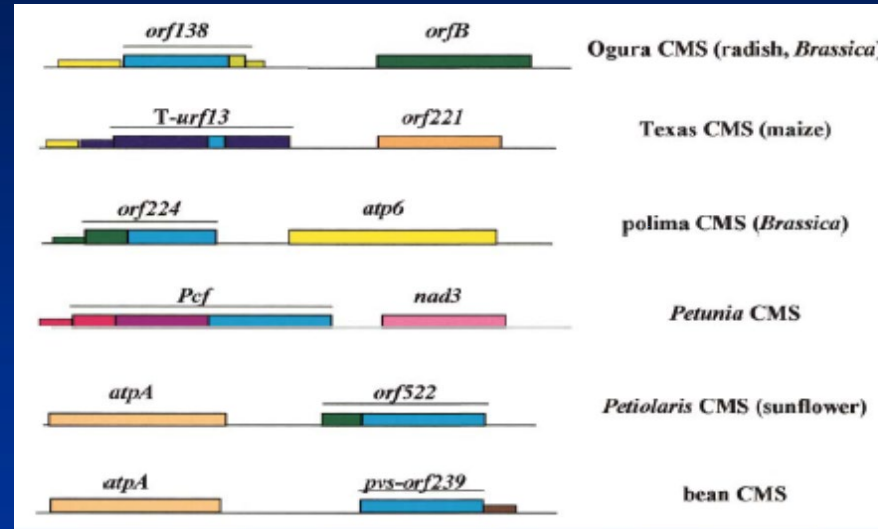
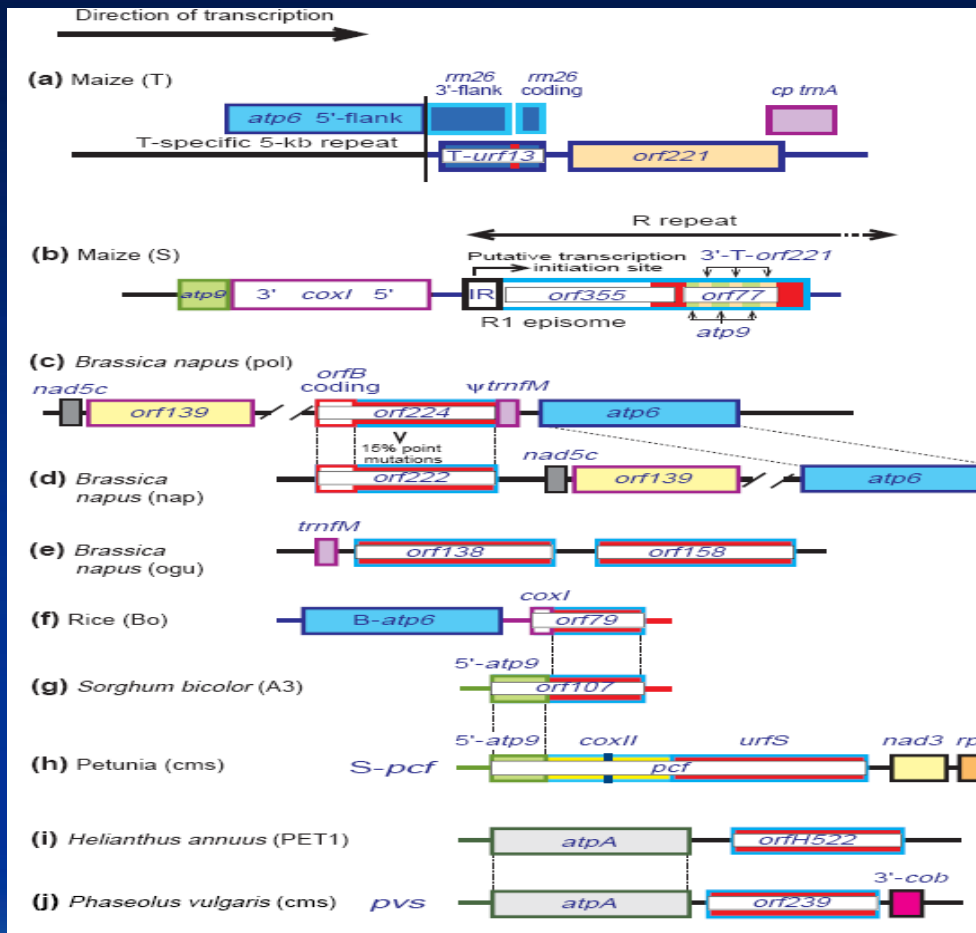
Genomic location	Number of polypeptides					Total
	Electron-transport chain				ATP synthase	
	I	II	III	IV	V	
Mitochondrion	7	0	1	3	2	13
Nucleus	≥33	4	10	10	10	≥67
Total	≥40	4	11	13	12	≥80

Figure 14.8 Mitochondria and chloroplasts depend on gene products from the nucleus. Although some organelles in some species have many more genes than others, all are dependent on RNA and protein products encoded by nucleus genes. The location of oxidative phosphorylation (OXPHOS) genes is shown.



fh

返回



不同农作物的镶嵌基因

[返回](#)

Chimeric Genes Associated with CMS

[返回](#)

谢谢



谢谢