



遗传学 (第3版)

第7章 真核生物的遗传分析

1. 真核生物基因组
2. 真核生物的遗传重组
3. 真核生物的基因转变
4. 真核生物的体细胞交换与基因定位
5. 真核生物基因的消除与扩增和重排

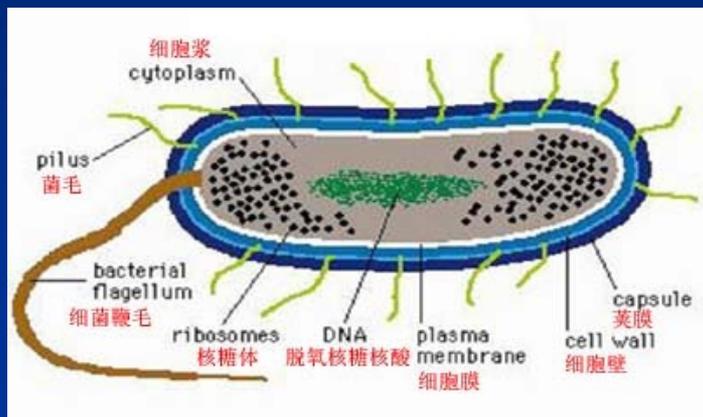




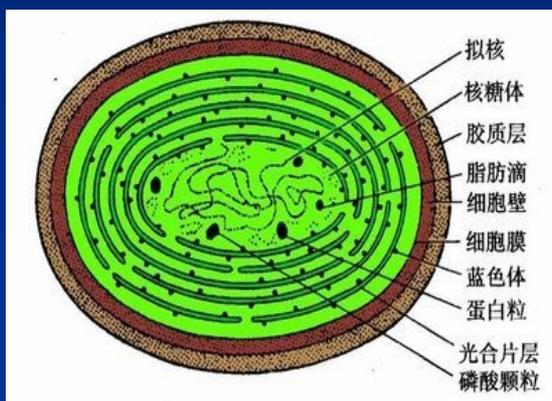
7.1 真核生物基因组

7.1.1 真核生物与原核生物细胞与基因组结构的区别

原核生物 (prokaryote): 细胞中无核膜包围细胞核的生物, 如细菌 (bacterium)、蓝细菌 (cyano-bacterium) 等。



细菌



蓝细菌



真核细胞

真核生物 (eukaryote): 有核膜包围细胞核的生物, 如真菌、藻类、原生动物、植物和动物等。

表 7-1 原核细胞与真核细胞的主要区别

要点	原核细胞	真核细胞
大小	大多数很小(1 ~ 10 μm)	大多数较大(10 ~ 100 μm)
细胞核	无膜包围,称为拟核	有双层膜包围
染色体		
形状	环状 DNA 分子	核内为线性 DNA 分子;线粒体和叶绿体内为环状 DNA 分子
数目	1 个连锁群	2 个或多个连锁群
组成	DNA 裸露或结合少量蛋白质	核 DNA 同组蛋白结合;线粒体和叶绿体中的 DNA 裸露
DNA 序列	无或很少重复序列	有重复序列
基因表达	RNA 和蛋白质在同一区间合成	RNA 在核中合成和加工;蛋白质在细胞质中合成
细胞分裂	二分或出芽	有丝分裂或减数分裂
内膜	无独立的内膜	有,分化成细胞器
细胞骨架	无	普遍存在
运动细胞器	由鞭毛蛋白丝构成简单鞭毛	由微管构成纤毛和鞭毛
呼吸作用和光合作用	质膜	线粒体和叶绿体(植物)
用酶的分布		
核糖体	70S(50S + 30S)	80S(60S + 40S)
营养方式	吸收,有的行光合作用	吸收,光合作用,内吞
细胞壁	肽聚糖、蛋白质、脂多糖、脂蛋白	植物细胞具有纤维素壁



真核生物与原核生物的主要区别是：

- ①真核生物遗传物质DNA与组蛋白结合构成核小体，是构成染色体的基本结构单位。而原核生物的遗传物质是DNA或RNA，其染色体是单纯的DNA或RNA。
- ②真核生物染色体一般为多条，间期有核膜所包被而组成细胞核。原核生物的染色体往往只有一条，没有膜包围，形成拟核。
- ③真核生物基因组由核基因组和细胞器基因组组成，核基因组为线性DNA分子。细胞器基因组主要有线粒体基因组和叶绿体基因组，都为环状DNA分子。真核细胞内由膜间隔成许多功能区，除细胞核外还有由膜包围的细胞器。原核生物基因组为环状DNA分子，没有内膜系统，细胞内未达到分区化。另外，原核生物质粒DNA基因对细菌的生存往往不是必需的。
- ④真核生物的染色体上具有一个着丝粒，在细胞分裂过程中出现纺锤体，原核生物染色体无着丝粒，在细胞分裂过程中则不会出现纺锤体，而是采取二分或出芽方式进行分裂。



7.1.2 真核生物基因组结构特点

(1) C值悖理

一个物种单倍体的染色体数目及其所携带的全部基因称为该物种的**基因组**（genome）。

基因组DNA测序的结果表明基因组中不仅包含着整套基因的编码序列，同时还包含着大量非编码序列，即基因之间的序列。这些序列同样包含着遗传指令(genetic instruction)。因此，**基因组（应该）是整套染色体所包含的DNA分子以及DNA分子所携带的全部遗传指令。**

genome : The complete set of sequences in the genetic material of an organism. It includes the sequence of each chromosome plus any DNA in organelles.(genes IX/X/Lewin's Genes XI)

genome: the sum total of genetic information in a particular cell or organism (Genetics: from genes to genomes 5th)



生物体的单倍体基因组所含DNA总量称为C值 (C-value)

- 每种生物各有其相对恒定的C值
不同物种的C值之间有很大差别
- 能营独立生活的最小的生物——
枝原体(*Mycoplasma*)的C值不到 10^6 bp
- 一些显花植物和两栖类动物的C值则可多达 10^{11} bp,
- 相差10万倍。

C值同生物的进化有什么关系? 生物的C值, 即基因组的DNA总量是不是随着生物的进化而相应地增加?





一方面：在一些低等生物中，随着生物进化，增加了生物体的结构和功能的复杂性，基因组也相应地增大即C值↑。如蠕虫的C值大于霉菌、藻类、真菌、细菌和支原体。

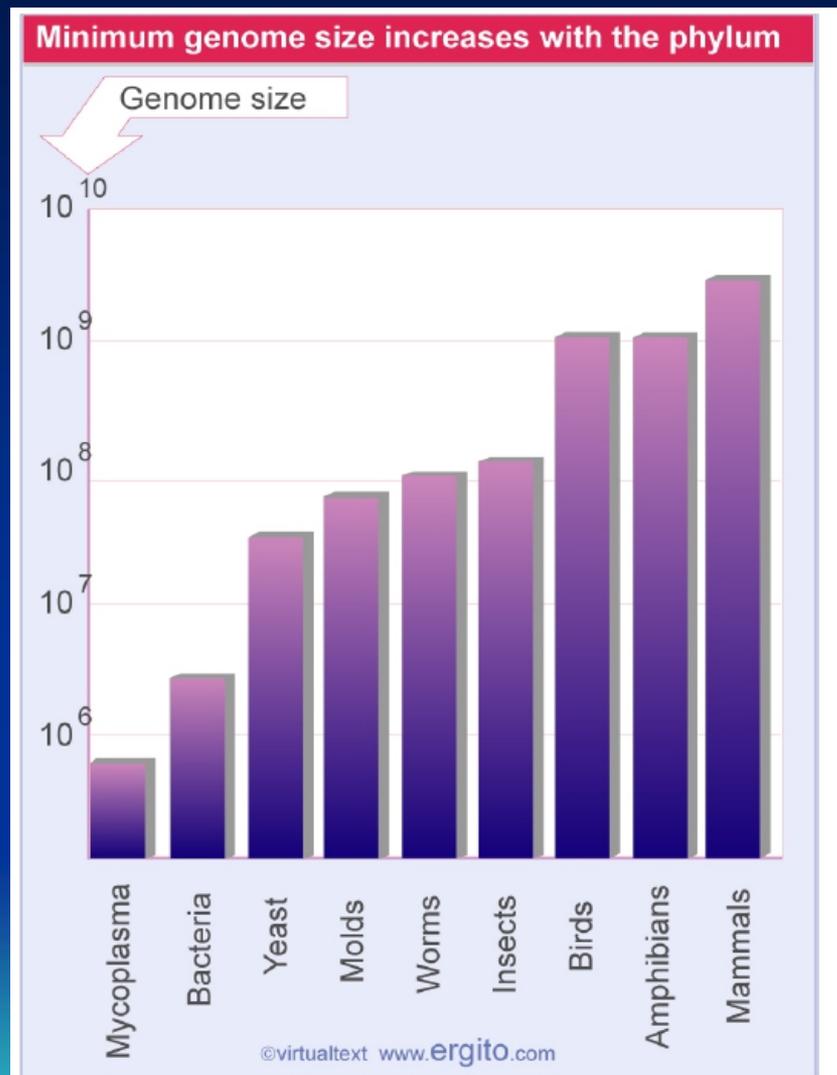


Figure 3.6 The minimum genome size found in each phylum increases from prokaryotes to mammals.

Is DNA content related to morphological complexity?

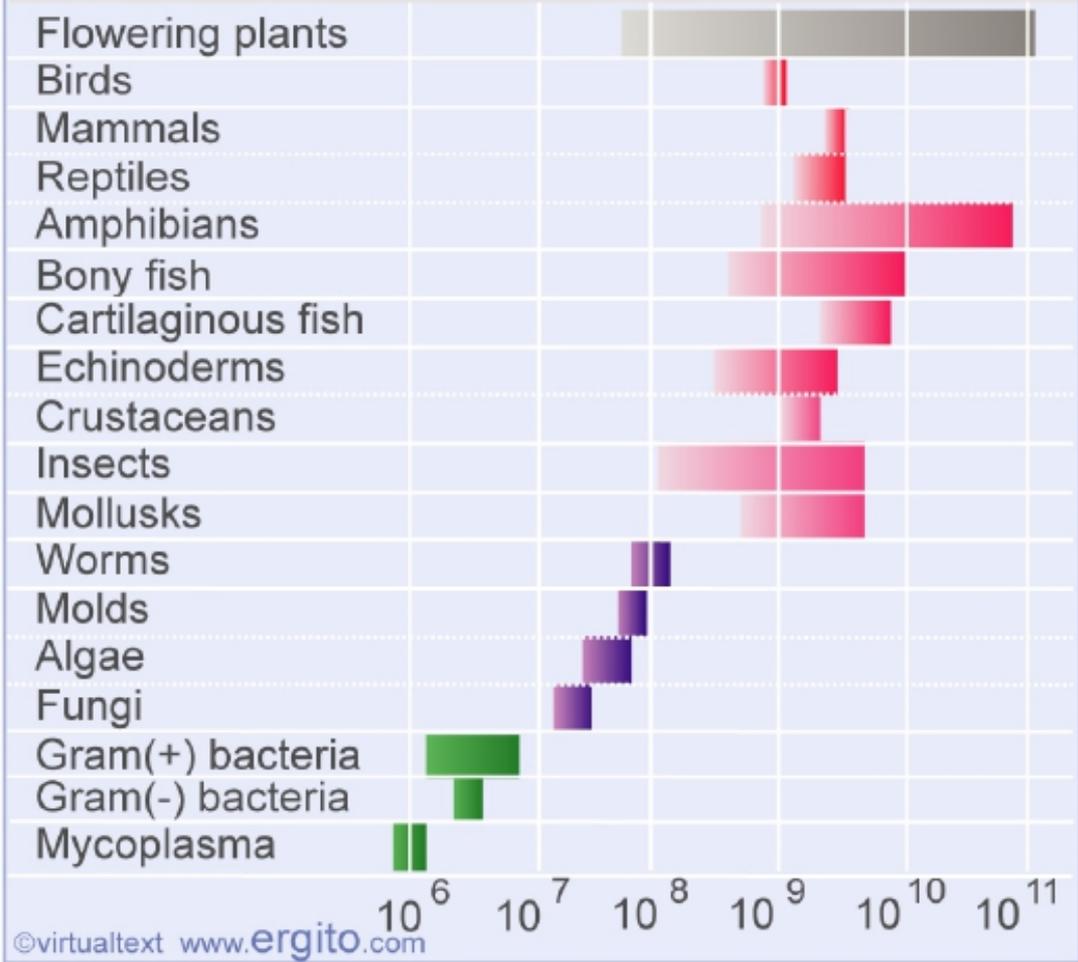


Figure 3.5 DNA content of the haploid genome is related to the morphological complexity of lower eukaryotes, but varies extensively among the higher eukaryotes. The range of DNA values within a phylum is indicated by the shaded area.

另一方面：随着进一步的进化，在其他生物中则看不到这种规律。

显花植物和两栖类动物的基因组最大

两栖类动物 C值

小的 10⁹bp

大的10¹¹bp

软骨鱼、硬骨鱼甚至昆虫和软体动物的基因组都大于包括人类在内的哺乳动物的基因组。爬行类和棘皮动物的基因组大小同哺乳动物几乎相等。





因此，从总体上说

生物基因组的大小同生物在进化上所处的地位及复杂性之间无严格的对应关系，这种现象称为C值悖理(C-value paradox)

C-value paradox:

the lack of direct relationship between the C-value and phylogenetic complex.

人们对C值悖理已经提出许多解释：包括基因组的部分或完全加倍、转座、反转录已加工假基因、DNA 复制滑动、不等交换和DNA扩增等，Petrov等又提出一个解释是：各种生物基因组的大小是由于基因组中长期积累起来的过量的非编码DNA被清除的速率不同所造成的结果，即DNA丢失的速率愈慢，那么基因组DNA含量愈高



(2) N值悖理

N (number of genes) 值悖理(N-value paradox)

物种的基因数目与生物进化程度或生物复杂性的不对应性，这被称之为

N值悖理 (N-value paradox)

G值悖理 (G-value paradox)





面对由基因组测序和注释所揭示出来的线虫、果蝇、植物以及人等的有关蛋白质编码基因的数目如何进行解释？

比如：

人的基因组（3300Mb）：26,000个左右的基因；

线虫（*C. elegans*）基因组（97Mb）：19,000个基因；

果蝇（*D. melanogaster*）基因组常染色质部分的120Mb：13,600个基因；

啤酒酵母（*S. cerevisiae*）基因组（12Mb）：约6,000个基因；

水稻（*O. sativa*）基因组（389Mb）：37,544蛋白质编码基因



非常明显，果蝇基因组比线虫基因组大，进化地位比线虫高，而编码基因反而比线虫少；人的基因组应该是最复杂的，人的进化地位最高，但编码的基因还没有水稻基因组的多。显然，要理解每一个物种发育、代谢、生长、繁殖、行为等等的本质，仅用基因组的序列测定的结果是不能直接地回答这些问题的。在对基因组进行注释后，人们试图用基因组的结构和基因数目的多少来说明基因的功能以及各物种间的关系也不是一个简单的问题。



(3) 真核生物基因组DNA序列的复杂性

真核生物基因组DNA C值和N值悖理现象都表明其DNA序列的复杂度，为此可通过复性动力学来检测基因组DNA序列的复杂性。也就是通过DNA的变性（denaturation）和复性（renaturation）反应的动力学过程分析DNA序列的性质，由于复性的速率取决于互补的DNA序列之间的随机碰撞，所以DNA复性是一个双分子二级反应。

①序列复杂性(sequence complexity)

同一类生物中基因组大小相差悬殊，其主要差别在于“多余”(excess)DNA的量的差别。“多余”DNA量多，则基因组大；反之，则小。所谓“多余”DNA主要是重复序列，即这种DNA序列在基因组中可以有不止一个拷贝。

不同序列的总长度称为序列复杂性

或者说：DNA分子中不重复碱基的总量（用bp来表示）

或者说：最长的没有重复序列的核苷酸对的数值

例 $\left(\frac{ATAT}{TATA}\right)_{40}$ 其总长为160bp，但不重复的碱基：AT

所以 序列复杂性 $x = 2$ (bp)

而 $\left(\frac{ATGC}{TACG}\right)_{40}$ 序列复杂性 $x = 4$ (bp)

若一个DNA分子长度为 10^6 bp，完全不含重复顺序，

则 $x=10^6$ (bp)



② DNA复性动力学

基因组内**单一序列和重复序列**的组成可通过DNA复性动力学研究来确定。

DNA复性:当变性DNA的两条互补链在除去变性因素后,可以重新或部分恢复成双螺旋结构。

复性的必要条件: 足够的盐浓度;

温度适中 (低于 T_m 20-25°C)

复性过程缓慢: 成核作用→拉链作用

当两条单链DNA接触时,如果某个区段可以互补配对,就先形成一个双链核心区,然后扩展其互补配对区段而复性形成双链。

复性过程很复杂,但基本符合二级反应动力学



复性的速率可用下列公式表示: $dC/dt = -kC^2$



这里， C 是在 t 时单链DNA的浓度， k 是二级反应常数。

上述公式可以重排为：
$$-dC/C^2 = kdt$$

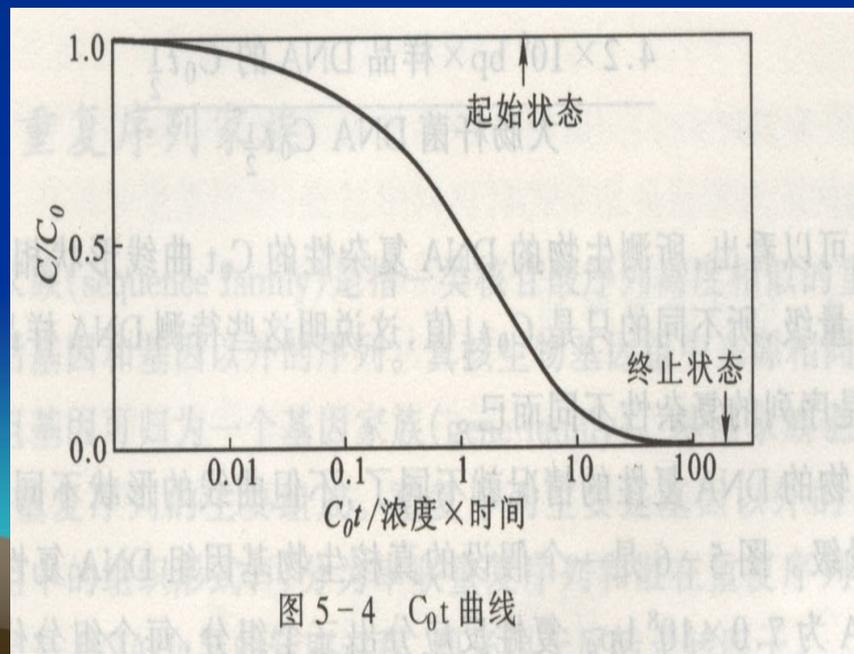
对上式积分整理得：
$$C/C_0 = 1/(1+kC_0t)$$

这里 C_0 是 $t=0$ 时DNA的初始浓度

这个公式表明反应中单链DNA所占百分数(C/C_0)是DNA浓度(C_0)同反应时间(t)乘积的函数，通常用 C_0t 来表示。

在一个特定的实验中， C_0 是已知的， C 是可以测定的，如 C/C_0 对 C_0t 作图可以得到下图的曲线，称为 C_0t 曲线(见图5 - 4)。

当 $C/C_0=0.5$ 即复性反应完成一半时 ($t_{1/2}$)的 C_0t 值定义为 $C_0t_{1/2}$



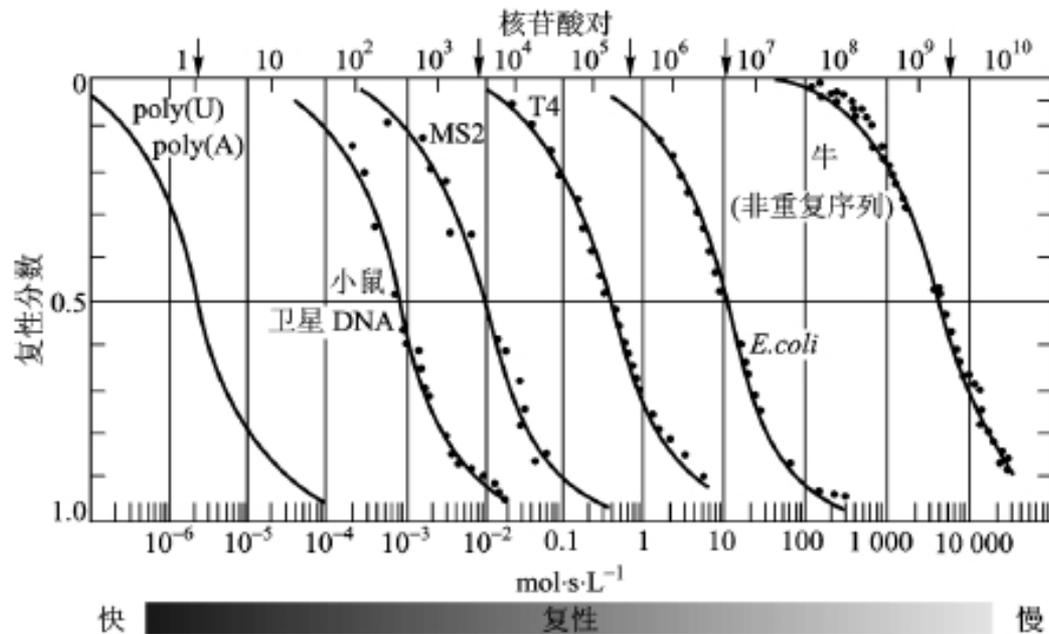


图 6-3 不同物种核酸的 C_0t 曲线

$$\frac{\text{基因组A的 } C_0t_{1/2}}{\text{基因组A的核苷酸对数}} = \frac{\text{基因组B的 } C_0t_{1/2}}{\text{基因组B的核苷酸对数}}$$



当条件一定时：

$C_0t_{1/2}$ 的大小与DNA的分子量及复杂性有关

(1) $C_0t_{1/2}$ 越大，表示复性速度越慢，DNA的分子量越大

DNA总量一定时，基因组越复杂，任何特定顺序的拷贝数就越少。

例如，DNA起始总量为12pg，一种细菌基因组大小为0.004pg，则它的各种顺序有： $12/0.004=3000$ 拷贝。另一种真核生物基因组大小3pg， $12/3=4$ 拷贝。尽管测得的 C_0 绝对量相同是12pg（核苷酸 mol/L）。而事实上后者各顺序的浓度比前者低了 $3000/4=750$ (倍)。要使该真核生物基因的拷贝数也达到3000,则要多加750倍的DNA.因此,该真核生物DNA复性反应的 $C_0t_{1/2}$ 是细菌DNA反应 $C_0t_{1/2}$ 的750倍。



(2) 在不存在重复序列的情况下, $C_0t_{1/2}$ 值与基因组的大小成正比, 也即与反应体系中的复杂度成正比:

$$X = K' C_0 t_{1/2}$$

A. 在一般标准条件下(阳离子浓度为0.18 mol/L, 片段大小为400bp)

$$K' = 5 \times 10^5$$

则有: $X = 5 \times 10^5 C_0 t_{1/2}$

B. 在非标准条件下,通常用大肠杆菌DNA作为标准测定未知DNA的复杂度:

$$\frac{C_0t_{1/2}(\text{欲测基因组DNA})}{C_0t_{1/2}(\text{大肠杆菌DNA})} = \frac{\text{复杂度 (欲测基因组DNA)}}{4.2 \times 10^6 \text{ bp}}$$

(3).在有重复顺序的复性中,在同一个复性曲线上的各动力学组分的 $C_0t_{1/2}$ 并不因基因组的大小而增减,而是与DNA序列的重复频率成

$$\text{反比: } C_0t_{1/2} (1) : C_0t_{1/2} (2) = f(2) : f(1)$$

式中 (1) 和 (2) 代表两个不同的动力学组分, f 代表其重复频率 (拷贝数)

复性动力学研究表明 { 原核生物基因组的 C_0t 曲线是单一的S形曲线
真核生物基因组的 C_0t 曲线是多S形曲线, 由若干个 (一般2—3个) S形加合成的曲线。

如图5-6所示：求A、B、C的复杂性和各自的重复频率？

已知：基因组： $7.8 \times 10^8 \text{bp}$
 A: 25% $C_0t_{(A)1/2} = 0.0013$
 B: 30% $C_0t_{(B)1/2} = 1.9$
 C: 45% $C_0t_{(C)1/2} = 630$

以上数值是从复性动力学曲线上查得。

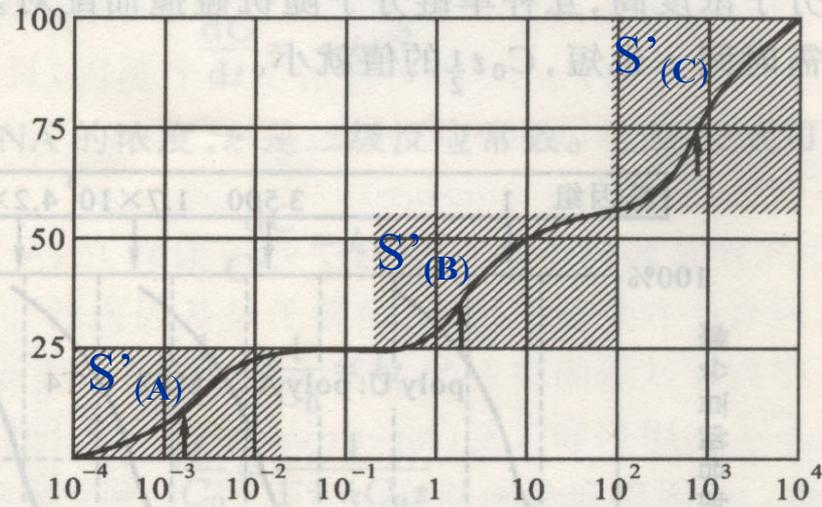
(在某一S'曲线内的总长度)
 根据： $f = \frac{\text{化学复杂长度}}{\text{动力学复杂长度}}$
 (在相应S'曲线内的每个拷贝长度)

以大肠杆菌的 $C_0t_{1/2}$ 为标准时有：

$$\text{待测样品的DNA复杂性} = 4.2 \times 10^6 \frac{\text{样品DNA } C_0t_{1/2}}{\text{E.coil DNA } C_0t_{1/2}}$$

(E.coli $C_0t_{1/2} = 4.0$)

重新结合的百分数 $(1-C/C_0)$



	快速复性组分	中速复性组分	缓慢复性组分
占基因组的百分比	25	30	45
$C_0t_{1/2}$	0.0013	1.9	630
复杂性, bp	340	6.0×10^5	3.0×10^8
重复频率	5.0×10^5	350	1
	A	B	C

图 5-6 DNA 复性动力学测定真核生物基因组的三种组分(斜线区) 箭头指明每种组分的 $C_0t_{1/2}$ 值



待测样品的DNA复杂性 = $4.2 \times 10^6 \frac{\text{样品DNA } C_0 t_{1/2}}{\text{E.coil DNA } C_0 t_{1/2}}$

求每一S'的动力学复杂性:

$$C_0 t(C)'_{1/2} = 630 \times 45\% = 283$$

$$\begin{aligned} \text{C DNA 复杂性} &= 4.2 \times 10^6 \times 283 / 4.0 \\ &= 3.0 \times 10^8 \text{ (bp)} \end{aligned}$$

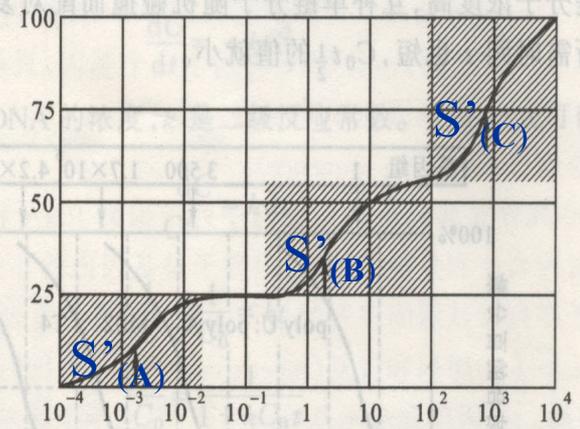
$$C_0 t(B)'_{1/2} = 1.9 \times 30\% = 0.57$$

$$\begin{aligned} \text{B DNA 复杂性} &= 4.2 \times 10^6 \times 0.57 / 4.0 \\ &= 6 \times 10^5 \text{ (bp)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C_0 t(A)'_{1/2} &= 0.0013 \times 25\% \\ &= 0.000325 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{A DNA 复杂性} &= 4.2 \times 10^6 \times 0.000325 / 4.0 \\ &= 340 \text{ (bp)} \end{aligned}$$

重新结合的百分数(1-C/C₀)



	快速复性组分 A	中速复性组分 B	缓慢复性组分 C
占基因组的百分比	25	30	45
C ₀ t _{1/2}	0.0013	1.9	630
复杂性, bp	340	6.0 × 10 ⁵	3.0 × 10 ⁸
重复频率	5.0 × 10 ⁵	350	1

图 5-6 DNA 复性动力学测定真核生物基因组的三种组分(斜线区) 箭头指明每种组分的 C₀t_{1/2} 值



根据化学长度和复杂性求重复频率：

$$B \text{ 化学长度} = 7.0 \times 10^8 \times 30\% = 2.1 \times 10^8 \text{ (bp)}$$

$$B \text{ 动力学长度} = 6 \times 10^5 \text{ (bp)}$$

$$f(B) = 2.1 \times 10^8 / 6 \times 10^5 = 350$$

$$A \text{ 化学长度} = 7.0 \times 10^8 \times 25\%$$

$$A \text{ 动力学长度} = 340$$

$$f(A) = 7.0 \times 10^8 \times 25\% / 340 = 5 \times 10^5$$

由此可见，在真核生物中复性反应最快的组分是一些高度重复序列，复性反应次之的是中度重复序列，复性反应最慢的组成则是单一序列以及在基因组中出现2—3份拷贝的一些序列。



7.2 真核生物的遗传重组

7.2.1 遗传重组的概述

遗传重组（genetic recombination）是DNA双螺旋间的遗传物质断裂并发生重组，从而改变基因组成和排列顺序，导致生物体的变异，产生新的性状的过程。

遗传重组不仅发生在细胞减数分裂过程中，而且也发生在高等真核生物的体细胞有丝分裂过程中。在核基因、叶绿体基因或线粒体基因间也会发生基因重组。

遗传重组可分为：

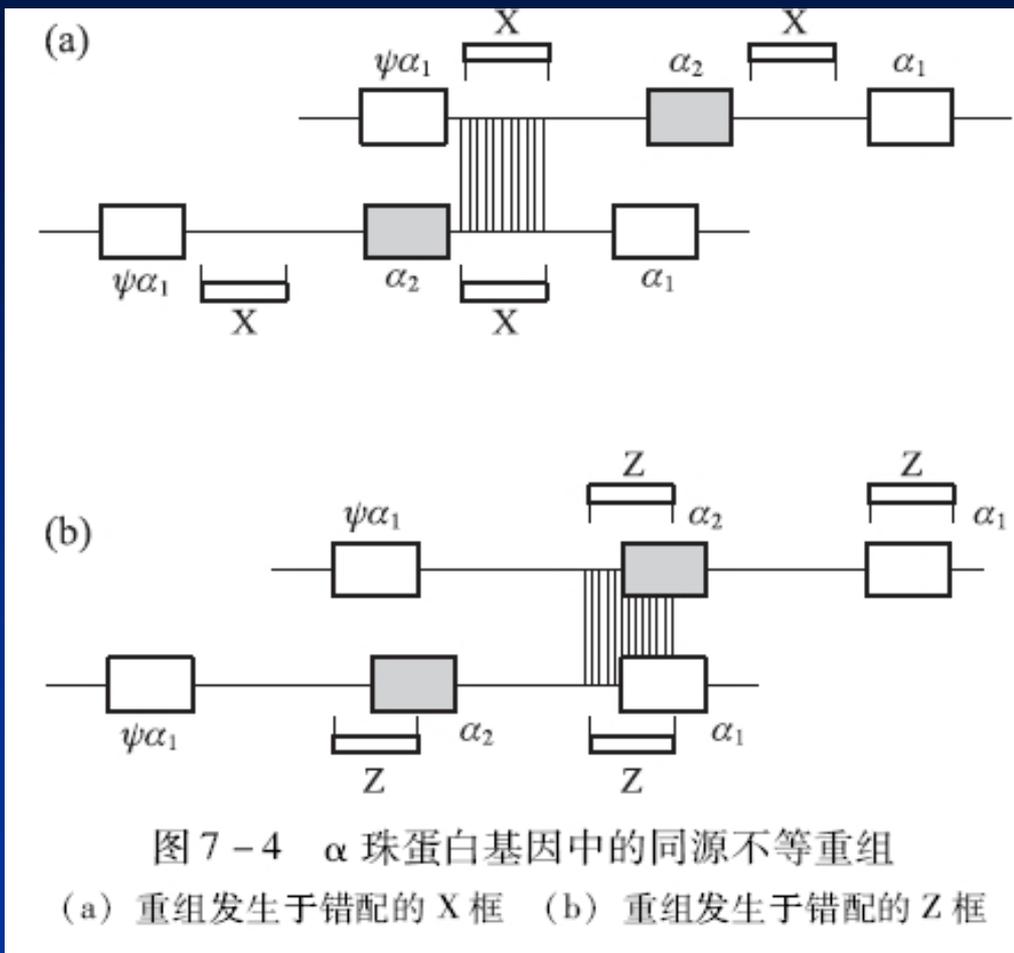
同源重组（homologous recombination）、

位点专一性重组（site-specific recombination）

异常重组（illegitimate recombination）



同源重组是依赖于大范围的DNA同源序列间的联会，重组可以发生在联会部分的任何位点上。如图7-4 α -地中海贫血症患者的 α 珠蛋白基因的缺失可能起源于基因序列间的同源不等交换。在 α_1 (HbA_1) 和 α_2 (HbA_2) 珠蛋白基因的两侧都有同源序列（以X框和Z框表示），在减数分裂过程中，两条同源染色体之间的这些同源序列之间均有可能进行配对而发生同源不等交换，从而导致 α 珠蛋白基因的缺失和重复，无论这种不等交换是两个相邻同源X框[图7-4 (a)]，还是发生在两个相邻Z框[图7-4 (b)]，结果都是一条同源染色体上只剩下一个 α 珠蛋白基因，而另一条同源染色体上有3个 α 珠蛋白基因。





位点专一性重组只依赖于小范围内同源序列的联会，而且重组也只限于在这一小范围内。 λ 噬菌体感染大肠杆菌后的整合与切离是典型的位点专一性重组，详见第9章。

异常重组则是完全不依赖于DNA序列间的同源性，如转座子从染色体的一个位置转座到另一位置，或从一条染色体转座至另一条染色体，这与染色体序列间同源性无关，只需在转座和复制有关的酶作用下进行，因此该重组又称为复制重组（replicative recombination），详见第13章。



7.2.2 同源重组的机制

(1) 同源重组发生在减数分裂前期

同源重组又称**普遍性重组**（generalized recombination），它的发生是依赖于较大范围的DNA同源序列的联会。

真核生物的遗传重组发生在减数分裂时期的同源染色体的非姊妹染色单体之间，而且染色体或DNA分子之间相互交换对等的部分。

重组热点：即某类序列发生重组的概率高于其他序列。

真核生物的染色质状态影响重组，如异染色质及其附近区域很少发生重组。

同源重组对同源区的长度要求：

E.coli 活体重组至少要求20~40 bp同源序列

哺乳动物基因间的重组要求同源序列在150 bp以上

同源区越长越有利于同源重组

在真核生物中，双链DNA分子间基因重组是完成减数分裂所必需的，而且基因重组发生在减数分裂前期（图6-12）

减数分裂前期 I

分子相互作用

细线期
浓缩染色体
变得可见，
常附着在核膜上



每条染色体
复制，组成
两条姊妹染色
单体



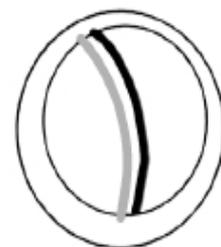
偶线期
染色体开始
在有限的
区域配对



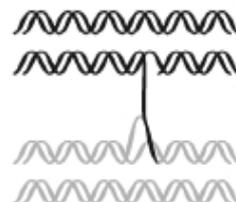
起始



粗线期
沿着整条配对
的染色体，联
会复合体向前
延伸



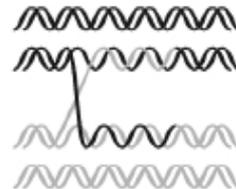
链交换
单链之间交换



双线期
染色体分开，
但由交叉将
其聚合在一起



同化
交换单链区延伸



终变期
染色体浓缩
从核膜上分开；
交叉仍旧存在，
所有 4 条染色
单体都可见



解离

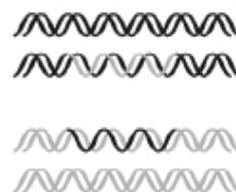


图 6-12 染色体交换与 DNA 分子相互作用的对应关系



(2) 同源重组的分子模型

① Holliday 模型（霍利迪模型）

狭义的遗传重组专指因为DNA分子内断裂—接合而引起基因交流的过程。

同源重组有时又叫交换（crossing over）

它发生在DNA同源序列之间

1964年，R. Holliday设想了一个模式，用来解释同源重组，经过许多细节上的修改：

Holliday model for reciprocal genetic recombination

图7-5





- 1、同源染色体的识别和配对排列
- 2、两条多核苷酸链在对应位置断裂并相互侵入（交换）
- 3、酶的作用使交换的链连接形成Holliday中间体
- 4、分枝移位（Branch migration）形成异源双链DNA（Heteroduplex DNA）
- 5、异源双链DNA转动，再次拉长Holliday中间体
- 6、由内切酶在水平方向或垂直方向切开Holliday中间体
- 7、产生带间隙的双螺旋
- 8、酶的作用使隙连接起来

图7-5



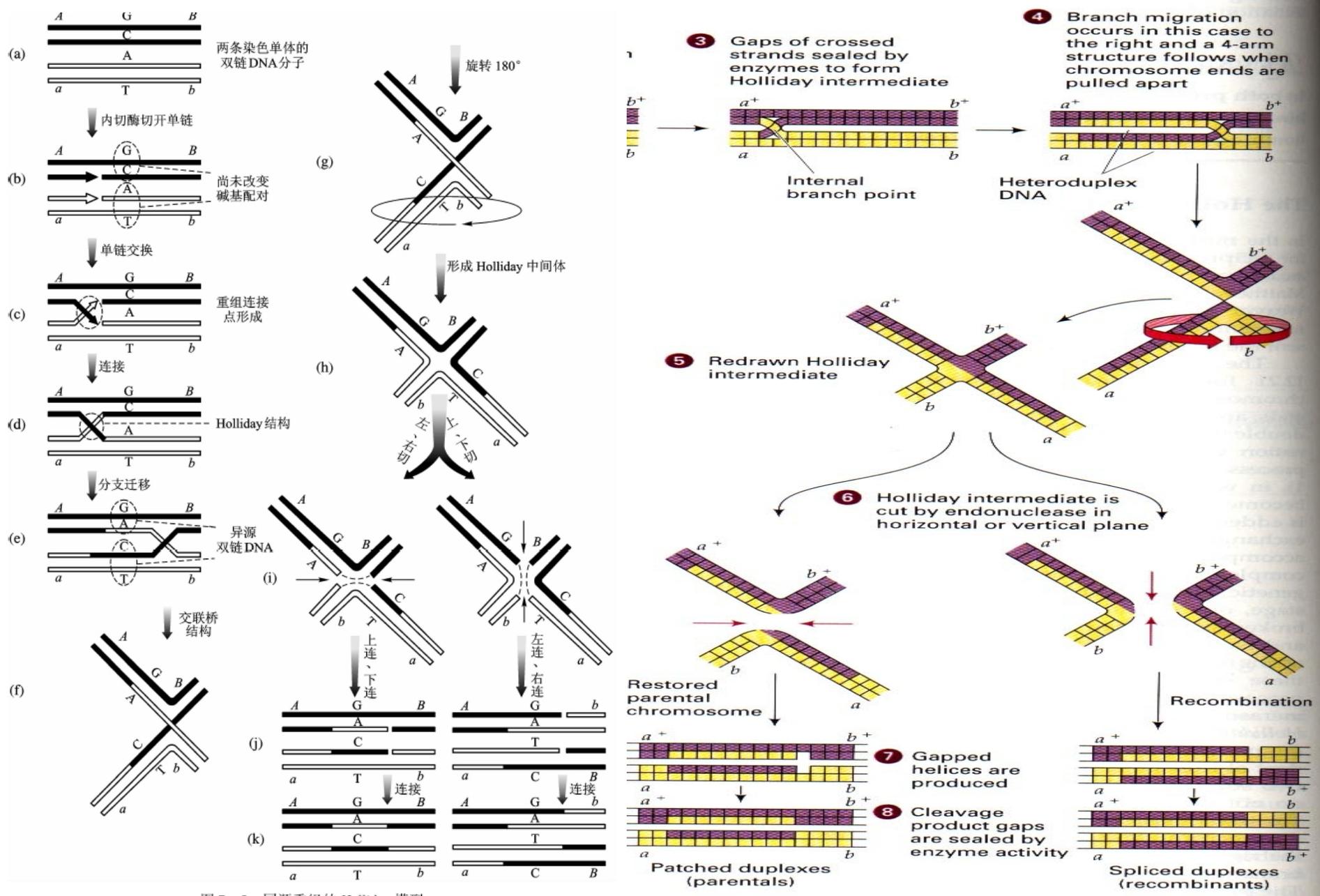


图 7-5 同源重组的 Holliday 模型



② Meselson-Radding 模型 (单链侵入模型)

单链侵入模型。首先，DNA分子中的一条单链发生断裂，游离出的一条单链末端侵入到另一条DNA分子中。接着，DNA聚合酶对留下的缺口进行修复(虚线)。在另一条DNA分子中被替代的链降解，而两个末端被连接(见箭头)。开始，形成异源双链(用斜线代表) DNA分子，支链迁移将在另一个DNA分子上产生另一个异源双链。像在Holliday模型一样，异构化使两侧的DNA分子重组。通过这个模型，异源双链首先只在两个DNA分子中的一个形成。然后一旦Holliday连接体形成，支链迁移能在另一个DNA分子上产生异源双链。这就解释了两个DNA分子中异源双链是如何形成的。

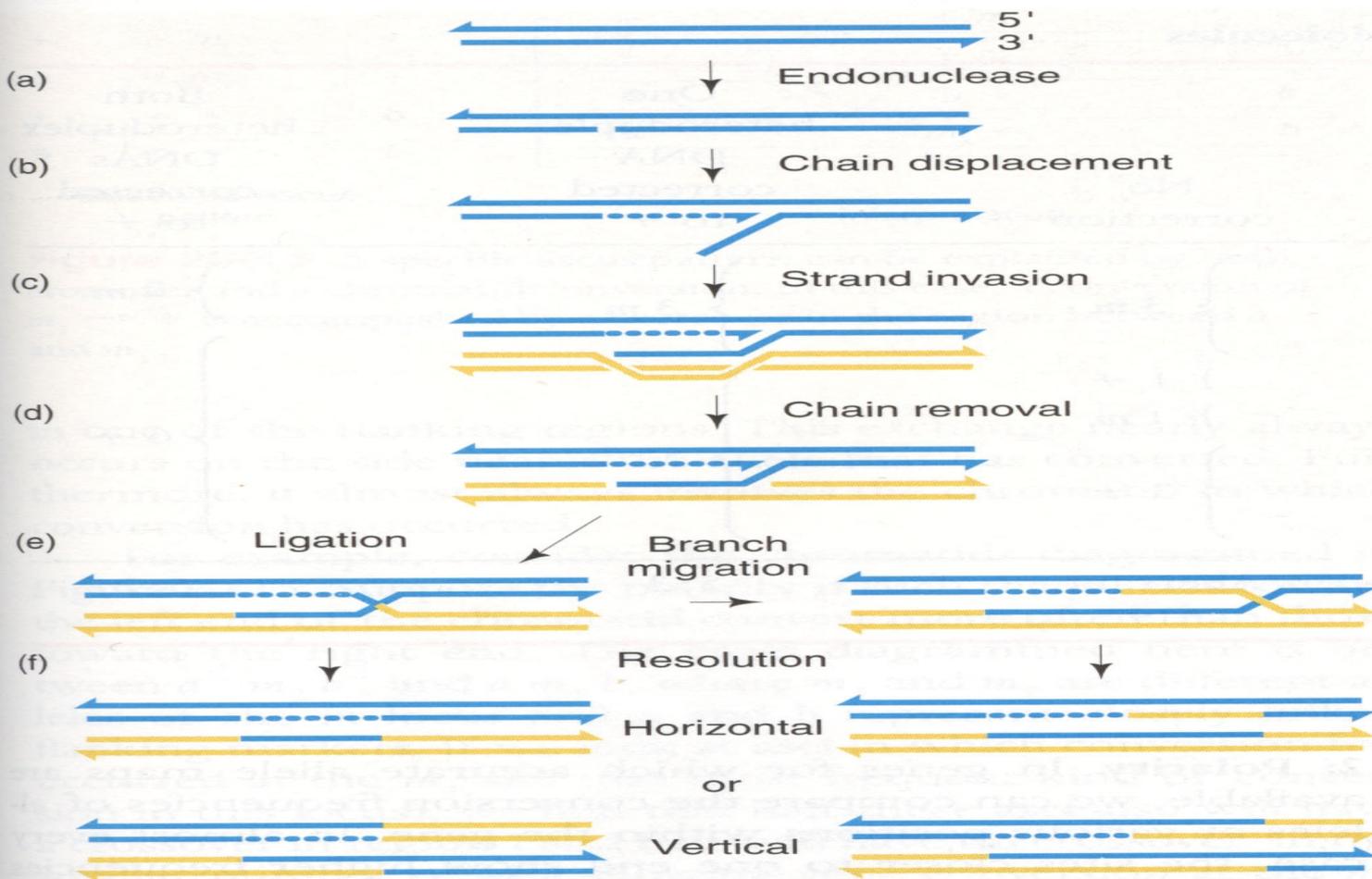


Figure 20-11 The Meselson-Radding model. (a) A duplex is cut on one chain. (b) DNA polymerase displaces one chain. (c) The resulting single chain displaces its counterpart in the homolog. (d) This displaced chain is enzymatically digested. (e) Ligation completes the formation of a Holliday junction, which is genetically asymmetric in that only one of the two duplexes has a region of potentially heteroduplex DNA. If the junction migrates, heteroduplex DNA can arise on both duplexes. (f) Resolution of the junction occurs as in the Holliday model. (From F. W. Stahl, "The Holliday Junction on Its Thirtieth Anniversary," *Genetics* 138, 1994, 241–246.)





③ 双链断裂重组模型 (Double-strand breaks initiate recombination)

Holliday 模型和Meselson和Radding模型对一些例外的重组现象，如基因转换(gene conversion)不能很好解释。

基因转换在许多生物中都存在，最早在酵母及真菌中被发现。酵母中配子融合产生杂合子，后者经减数分裂形成有4个孢子的子囊。假如配子在某一座位有不同的等位基因，正常情况下2个孢子将表现同一基因型，另2个孢子表现另一基因型。但有时会出现例外，即这种2：2的分离比例由3：1比例取代。这种现象被称为基因转换，即一种等位基因形式转变为另一种等位基因形式，只发生在减数分裂时期。

有一种双链断裂模型用于解释重组过程中发生的基因转换事件，它们并非由单链缺口起始，而是先在1个双链分子中产生断裂，即2个单链在同一位置产生缺口，然后将这2个缺口转移到同源的另一双链分子。

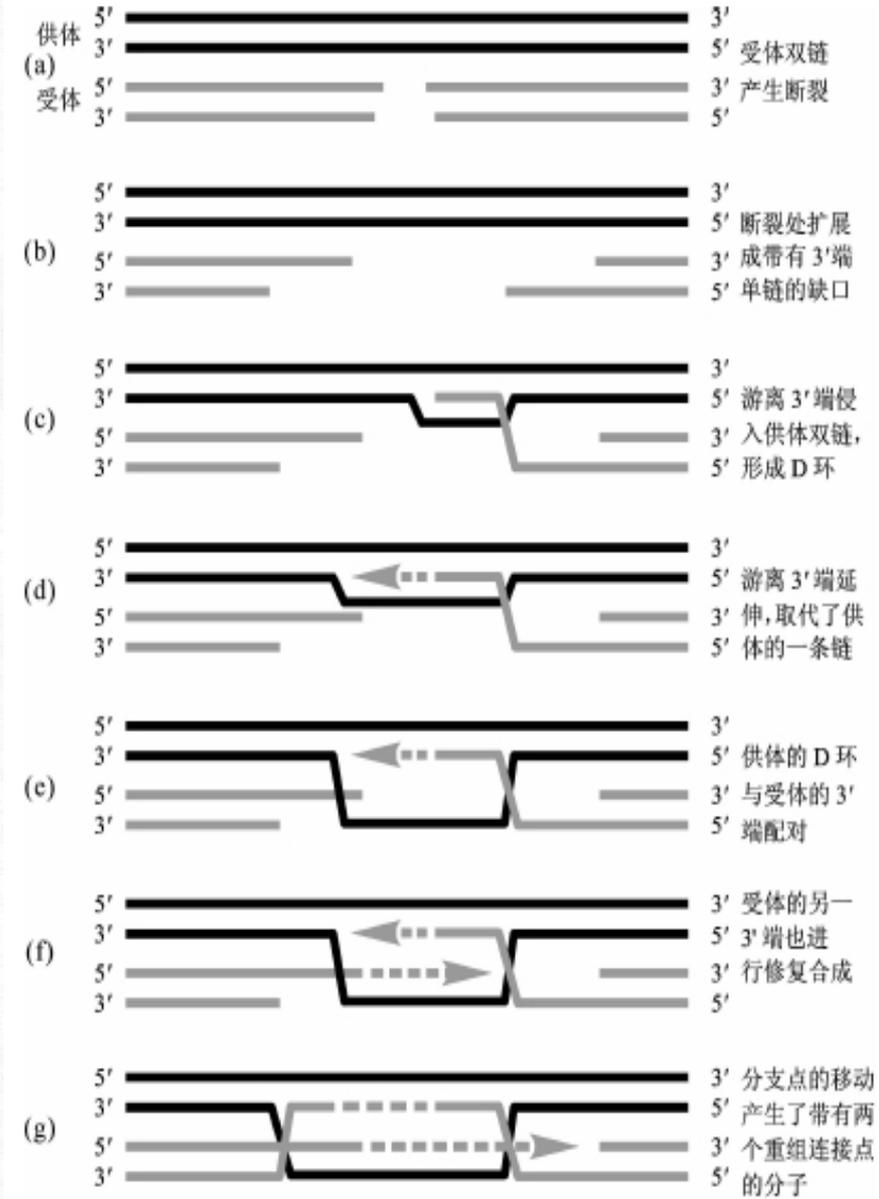
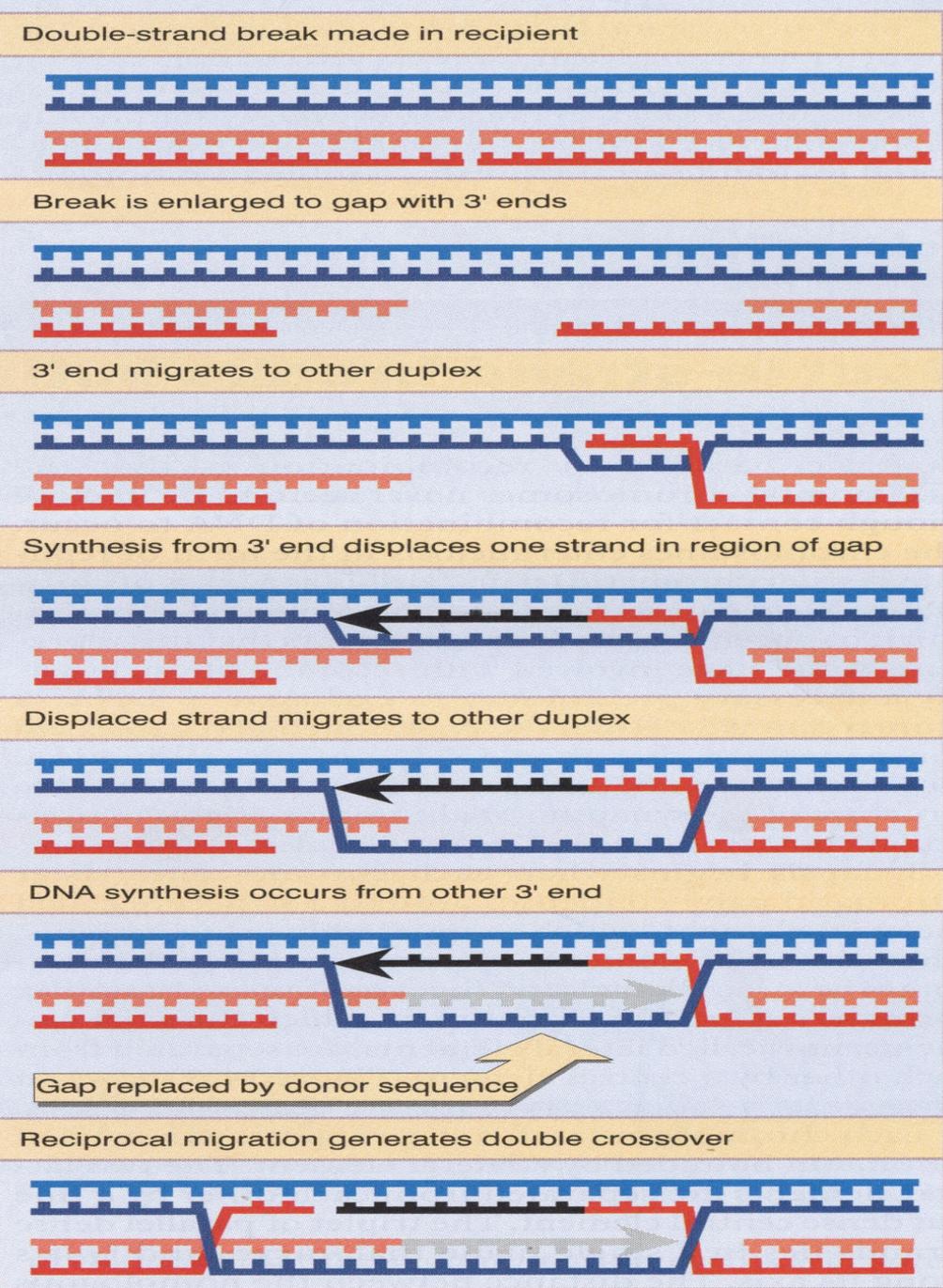


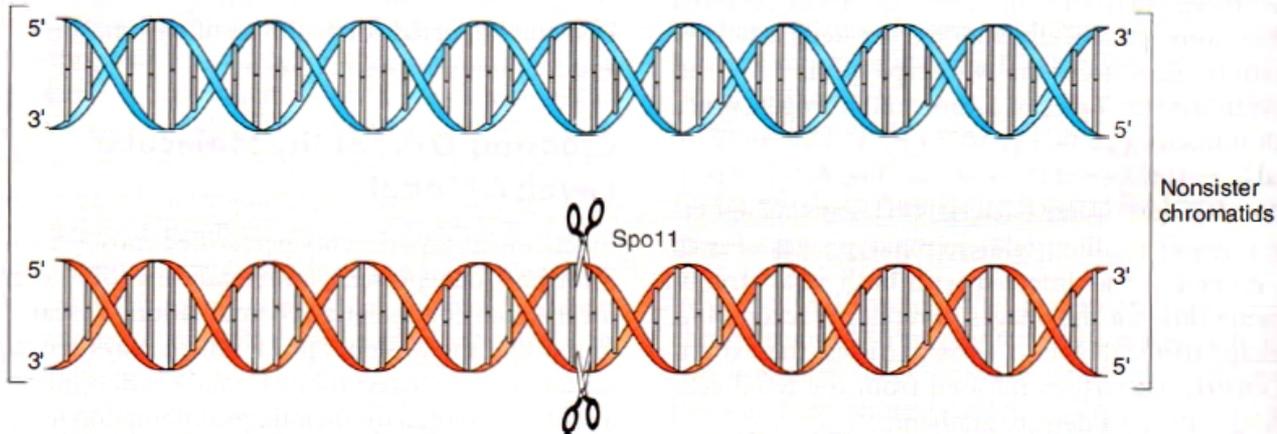
图 7-6 双链断裂起始重组模型(仿自 Lewin, 2011)



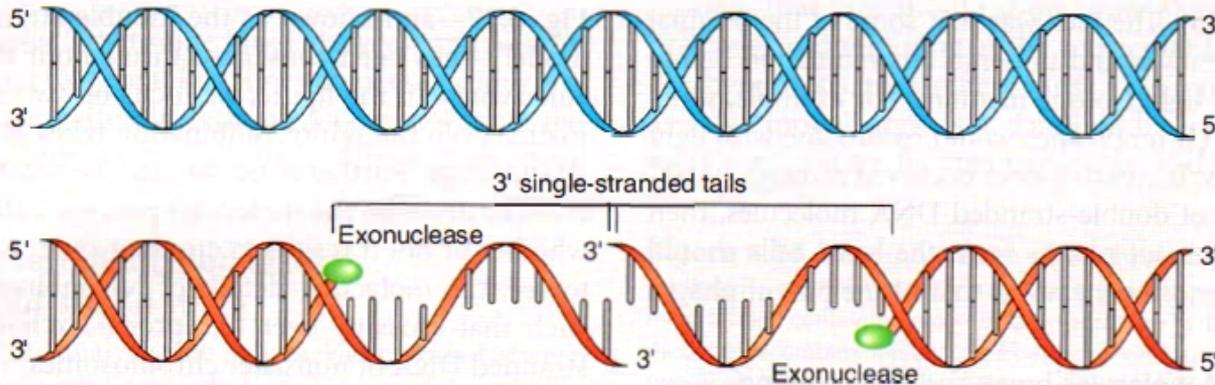


A Model of Recombination at the Molecular Level

Step 1 Double-strand break formation. During meiotic prophase, **Spo11** protein makes a double-strand break on one of the chromatids by cleaving the phosphodiester bonds between adjacent nucleotides on both strands of the DNA. (Note that only the two nonsister chromatids undergoing recombination are shown.)

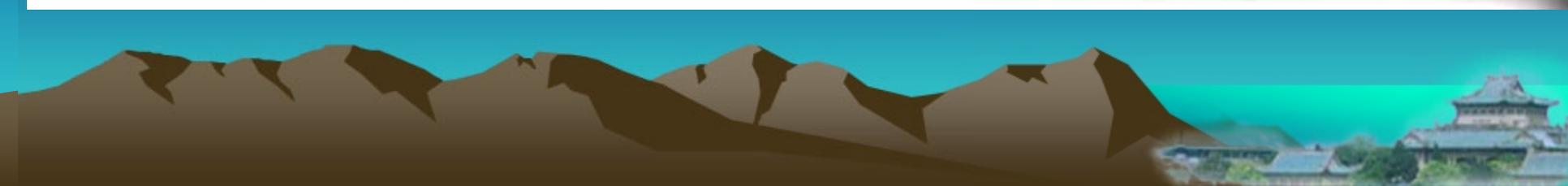
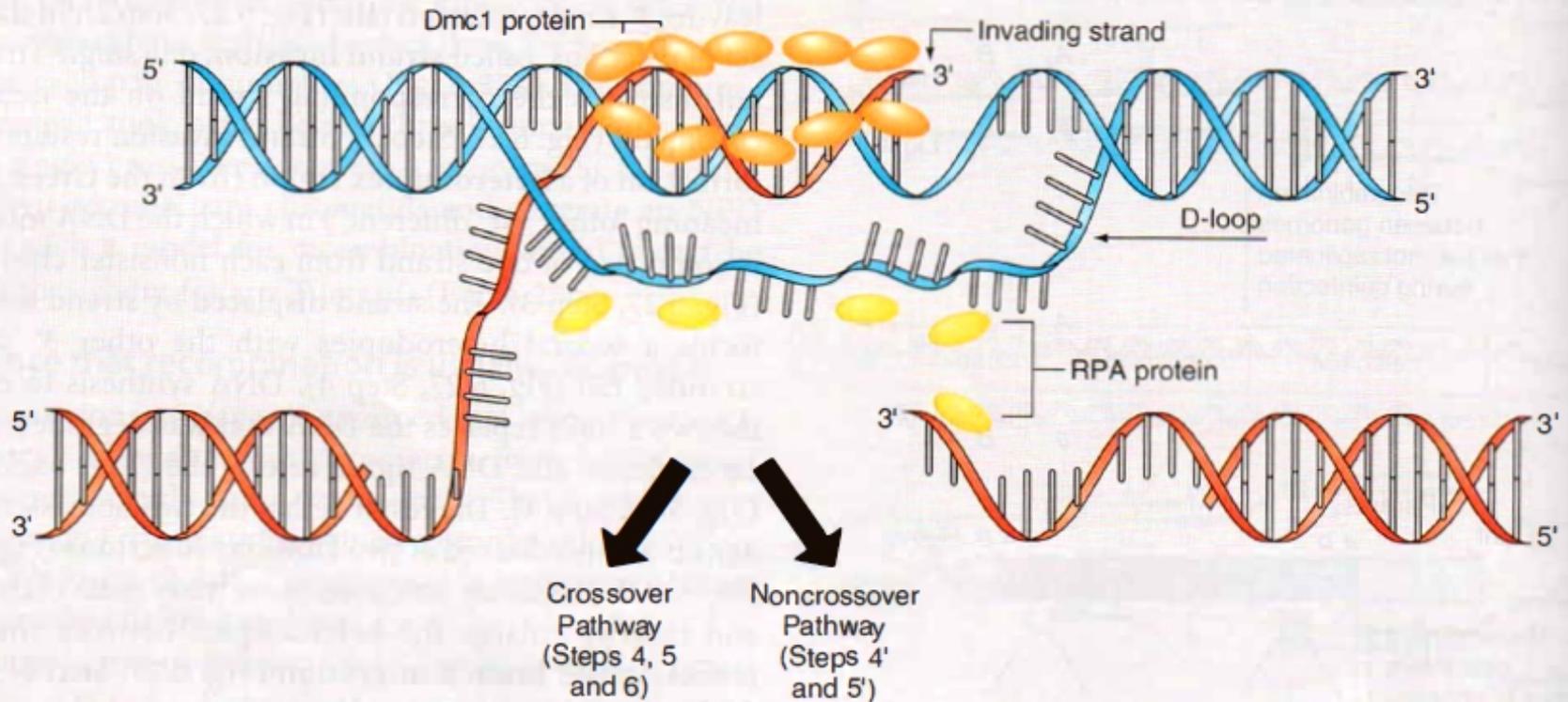


Step 2 Resection. An **exonuclease** degrades the 5' ends on each side of the break to produce two 3' single-stranded tails.





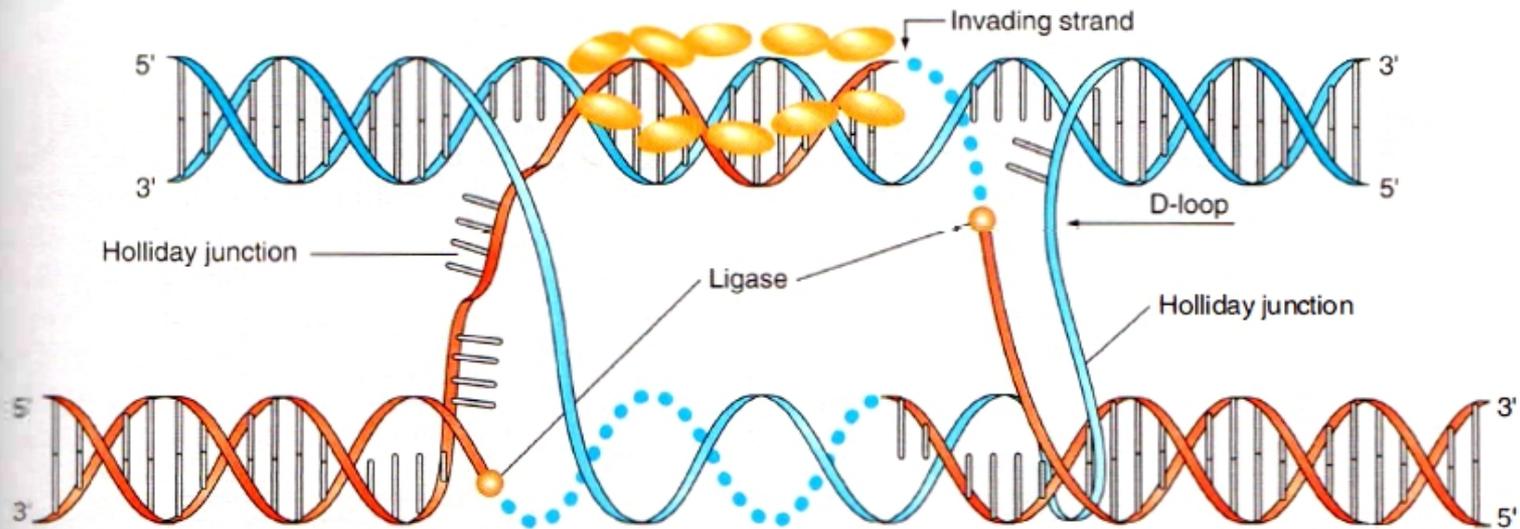
Step 3 First strand invasion. The protein Dmc1 (orange ovals) collaborates with other proteins (not shown) to help one of the tails to invade and open up the other chromatid's double helix. Dmc1 then moves along the double helix, prying it open. The invading strand scans the base sequence it passes in the momentarily unwound stretches of DNA duplex. As soon as it finds a complementary sequence of sufficient length, the invading strand becomes immobilized by dozens of hydrogen bonds and forms a stable **heteroduplex**. The strand displaced by the invading tail forms a **D-loop** (for displacement loop), which is stabilized by binding of replication protein A (RPA) (yellow ovals). D-loops have been observed in electron micrographs of recombining DNA.





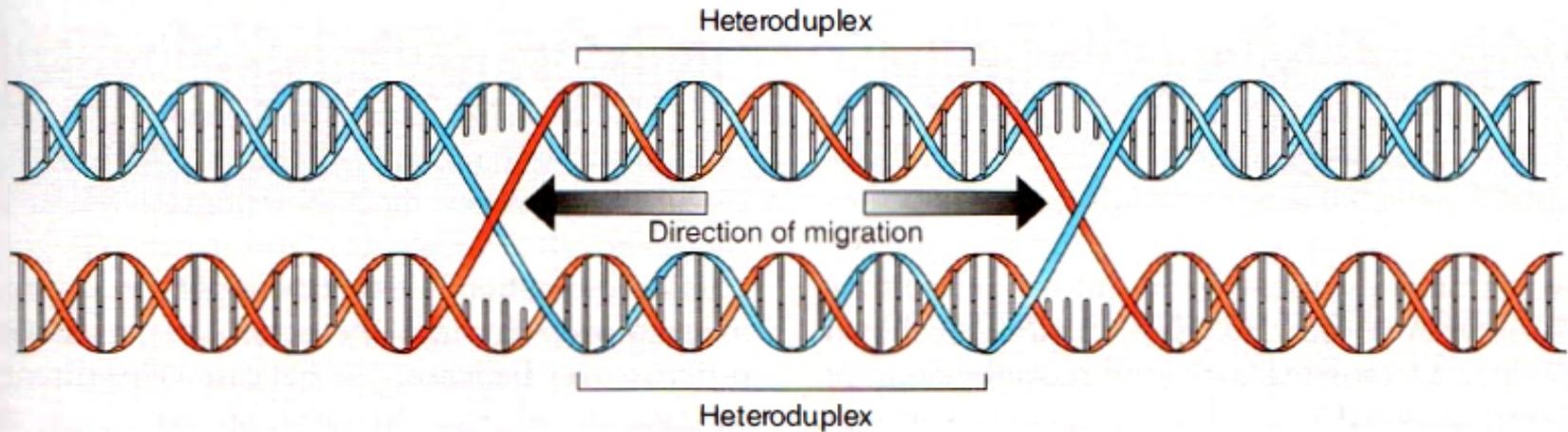
Crossover Pathway

Step 4 Formation of a double Holliday junction. New DNA added to the invading 3' tail (*blue dots* at the top) enlarges the D-loop until the single-stranded bases on the displaced strand can form complementary base pairs with the 3' tail on the non-sister chromatid. New DNA added to this latter tail (*blue dots* at the bottom) re-creates the DNA duplex on the bottom chromatid. At each side of the original break, the 3' end of the newly synthesized DNA is connected to a 5' end left after resection, and **DNA ligase** forms phosphodiester bonds to rejoin DNA strands without the loss or gain of nucleotides. The resulting X-shaped structures are called **Holliday junctions** after Robin Holliday, the scientist who first proposed the existence of junctions between four strands of DNA.

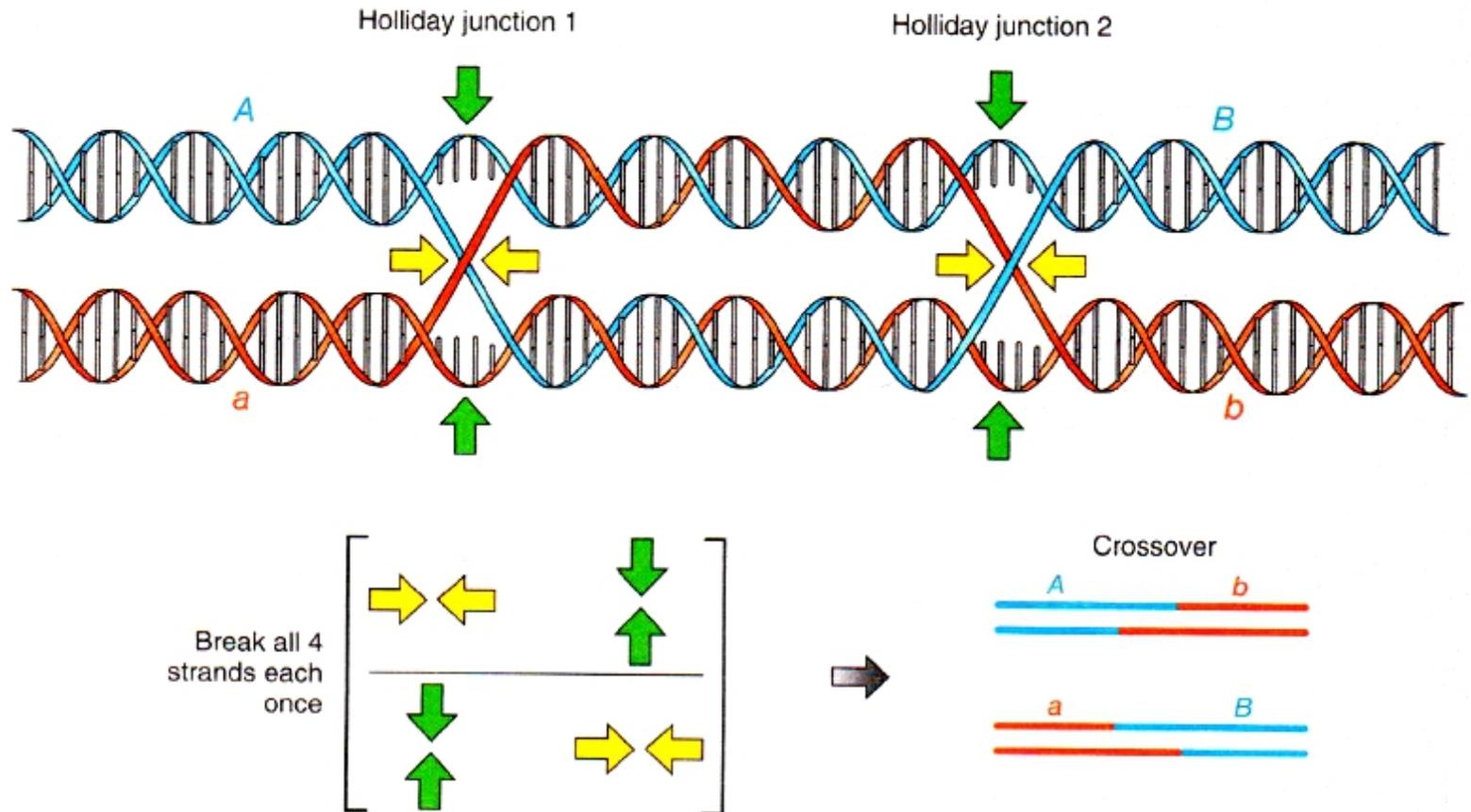




Step 5 Branch migration. The two invading strands tend to “zip up” by base pairing with the complementary strands of the parental double helices they invade. The DNA double helices unwind in front of this double zipping action, moving in the direction of the arrows in the figure, and two newly created heteroduplex molecules rewind behind it. Branch migration thus lengthens the heteroduplex region of both DNA molecules from tens of base pairs to hundreds or thousands.

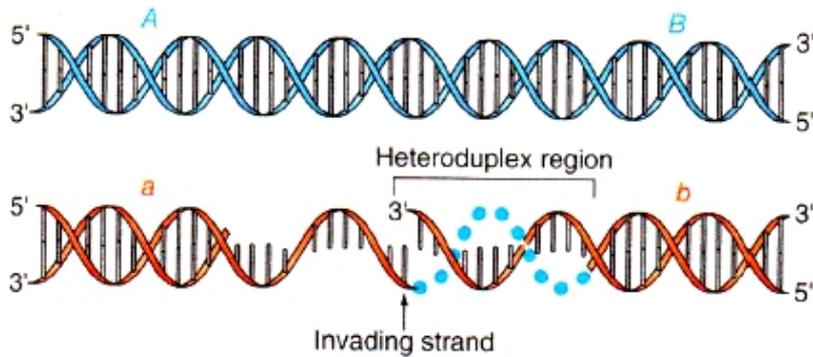


Step 6 Resolution of the Holliday junction. The two interlocked nonsister chromatids must disengage. Separation is achieved by breakage of two DNA strands at each Holliday junction by an enzyme called **resolvase** (*not shown*); the strands are subsequently rejoined by DNA ligase (*not shown*). At each junction, there are two options: The *blue* and *red* strands indicated by *green* arrows, or the *blue* and *red* strands indicated by *yellow* arrows, may be cut and rejoined so that *red* DNA connects to *blue* DNA and *vice versa*. The two Holliday junctions are usually resolved by pathways of different colors (one *yellow* and the other *green*). Crossing-over results because each of the four strands is cut once and rejoined. Note that recombination events will always produce short heteroduplex regions.

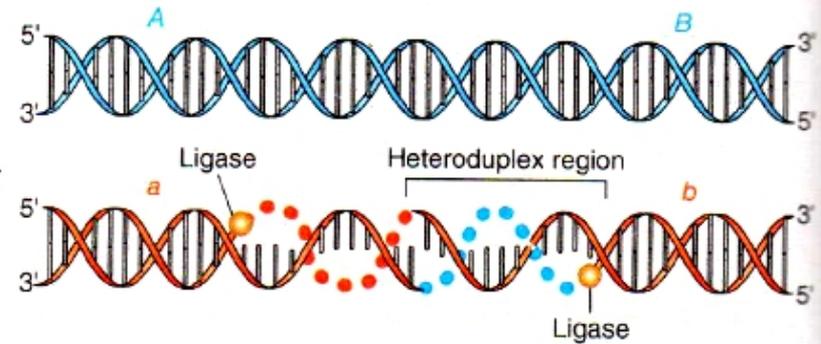


Noncrossover Pathway

Step 4' Strand displacement and annealing. The invading strand (*arrow*) was extended by DNA synthesis (*blue dots*) using the nonsister chromatid (*blue*) as a template (see Step 4). An **anticrossover helicase** enzyme (not shown) has disentangled the invading strand and the nonsister chromatid.



Step 5' DNA synthesis and ligation. The remaining gap in the double-stranded DNA sequence is filled by DNA synthesis (*red dots*) and DNA ligase forms phosphodiester bonds to rejoin the DNA strands. The result is no crossover, but a heteroduplex region remains nonetheless.





7.3 真核生物的基因转变

7.3.1 异常分离与基因转变

在四分子分析中已知一对等位基因杂交子代的子囊可形成6种正常分离类型：

AAAAaaaa 或 aaaaAAAA

AAaaAAaa 或 aaAAaaAA

AAaaaaAA 或 aaAAAAaa

这只是四分子中是否发生重组和纺锤体随机取向而形成，两种孢子的比例相等，即等位基因A:a= 4:4。

后来发现有些孢子分离比例异常

如 3: 5和6: 2以及异常的4: 4分离

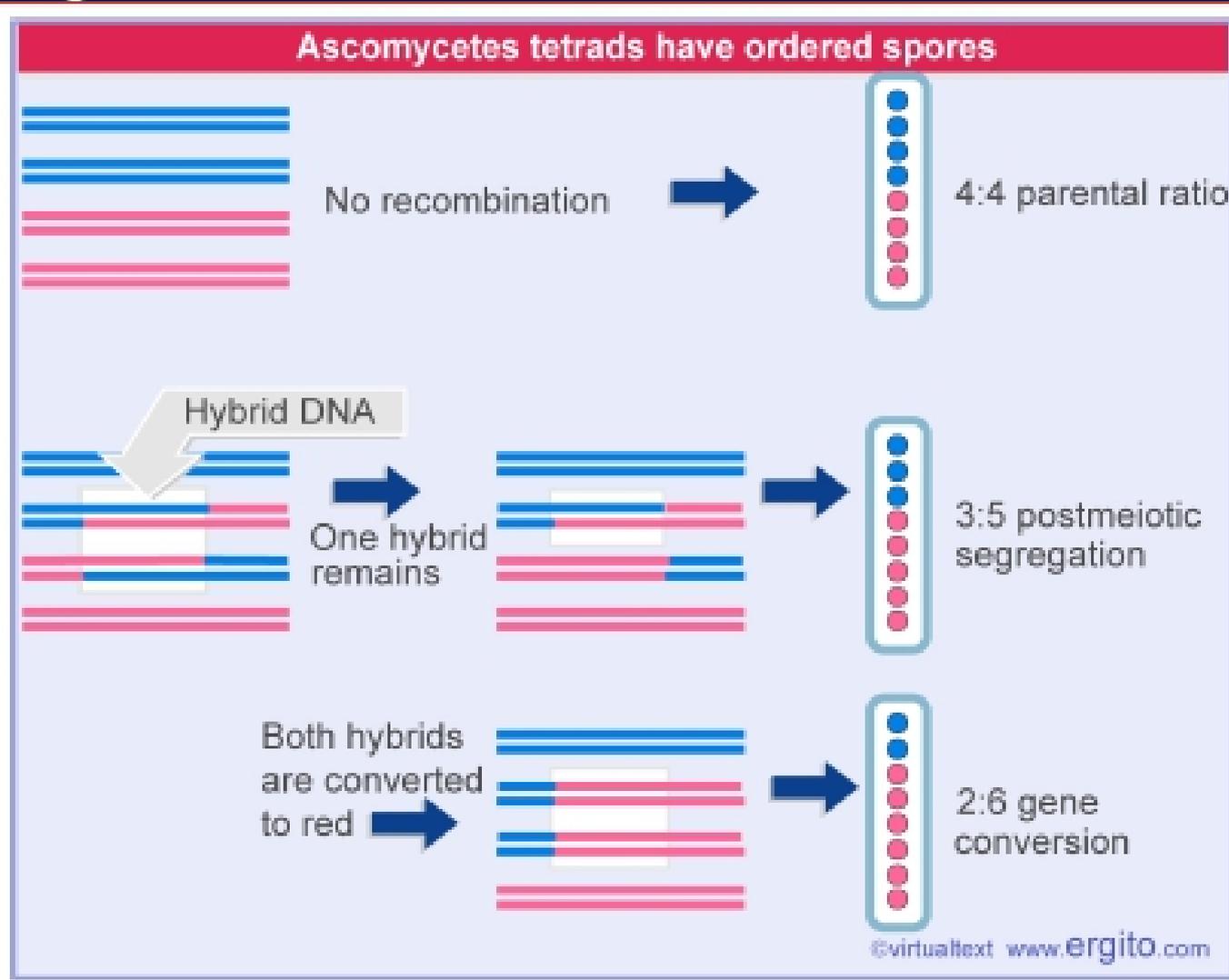


Figure 15.18 Spore formation in the *Ascomycetes* allows determination of the genetic constitution of each of the DNA strands involved in meiosis.





在脉孢菌和粪生粪壳菌 (*Sodaria fimicala*) 等子囊菌中也发现了一些异常分离 (abnormal segregation) 现象。

Mitchell 将与维生素B6 合成有关的不同的突变型进行杂交，将两个吡哆醇突变株杂交：



取得子一代子囊后，对585个子囊中的孢子依次解剖，进行培养和鉴定。他发现其中4个子囊中有野生型的孢子对出现，可是跟预期的相反，如果这两个基因间发生了重组，重组后应该同时出现的**双突变型** (*pdx pdxp*) 孢子对却没有发现 (表7-3)



表 7-3 粗糙脉孢菌中 + *pdxp* × *pdx* + , 其中 4 个子囊的结果

孢子对	子囊								
	1		2		3		4		
第一对	+	<i>pdxp</i>	<i>pdx</i>	+	+	+	+	<i>pdx</i>	+
第二对	+	+	<i>pdx</i>	+	+	<i>pdxp</i>	+	<i>pdxp</i>	
第三对	+	<i>pdxp</i>	+	+	<i>pdx</i>	+	+	+	+
第四对	<i>pdx</i>	+	+	<i>pdxp</i>	<i>pdx</i>	+	<i>pdx</i>	+	+

注:每一子囊内的 4 个孢子对(8 个孢子)中,只有 1 个孢子对是完全野生型,但没有相对应的双突变型。

怎样解释这一现象? 不可能是突变, 因为它们的频率远比这些基因的正常突变率高得多。分析的方法是灵敏的, 如果有双突变的话, 就能够检出。Mitchell的上述实验结果用图7 -7来表示。



由于重组，出现了完全野生型的孢子对（+，+），但没有重组的对应产物——双突变型的孢子对（*pdx pdxp*），结果应如图7-7所示。然而发生的情况说明尽管*pdxp*出现异常的3:1分离，但紧密连锁的*pdx*基因却显示出正常2:2分离。

这些反常的情况，好像是一个基因转变为它的等位基因，这种现象称为基因转变（gene conversion）。图7-7中，基因*pdxp*转变为*pdxp*⁺（或+），图中以 ⊕ 表示该基因发生了基因转变。所以双突变型的孢子对没有出现。

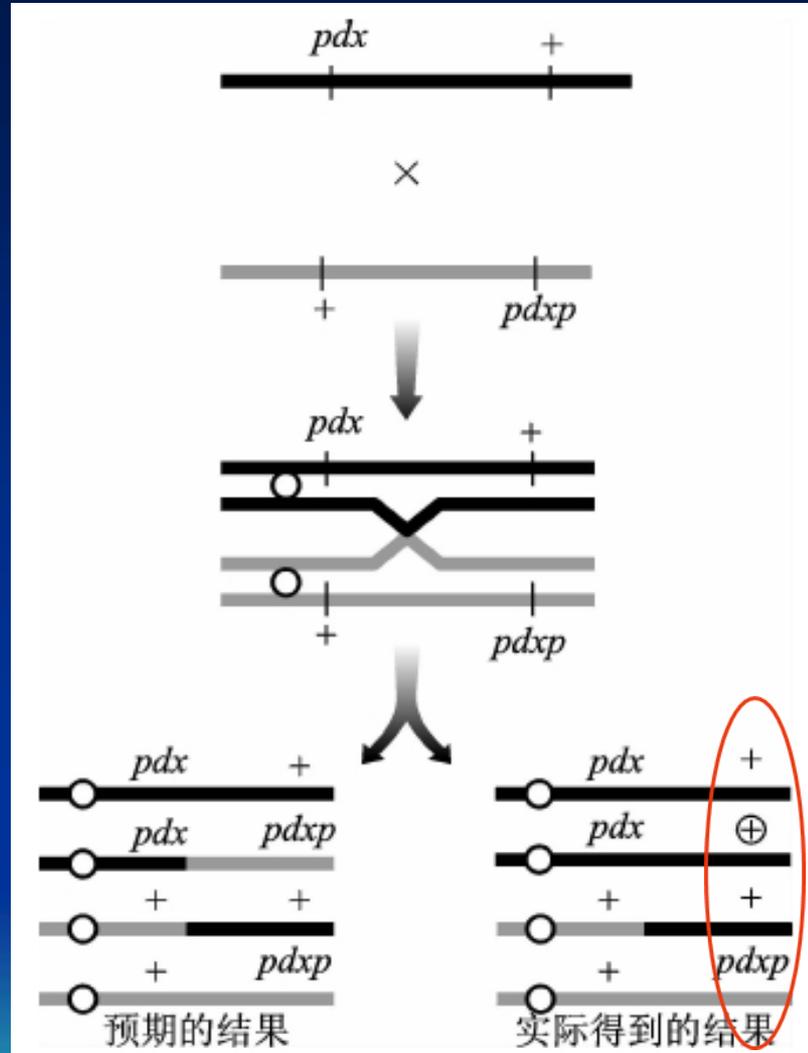


图7-7 粗糙脉孢菌的基因转变



基因转变 (gene conversion, conversion) :

又称“**基因转换**”

(1) 同源重组时由于错配修复而生成非交互性重组链，将一个等位基因转换成另一个等位基因。

(2) 异源双链DNA错配的核苷酸对在修复校正过程中所发生的一个基因变为它的等位基因的现象。

遗传学名词（第二版）2006，科学出版社





7.3.2 基因转变的类型

基因转变的类型分为：

① **染色单体转变** (chromatid conversion) ，即减数分裂的4个产物中有一个产物发生了基因转变，出现

$6g^+ : 2g^-$ 或 $2g^+ : 6g^-$ 类型的子囊。 图7-8 (a)

② **半染色单体转变** (half-chromatid conversion) ，即减数分裂的4个产物中，有1个产物的一半或两个产物的各一半出现基因转变，因而形成5:3或3:5和异常4:4即3:1:3:1类型的子囊，基因转变只影响半个染色单体分离,显然是发生在减数分裂后的有丝分裂中，所以又称为减数后分离 (postmeiotic segregation) 。

图7-8 (b) , (c)



染色单体转变

半染色单体转变

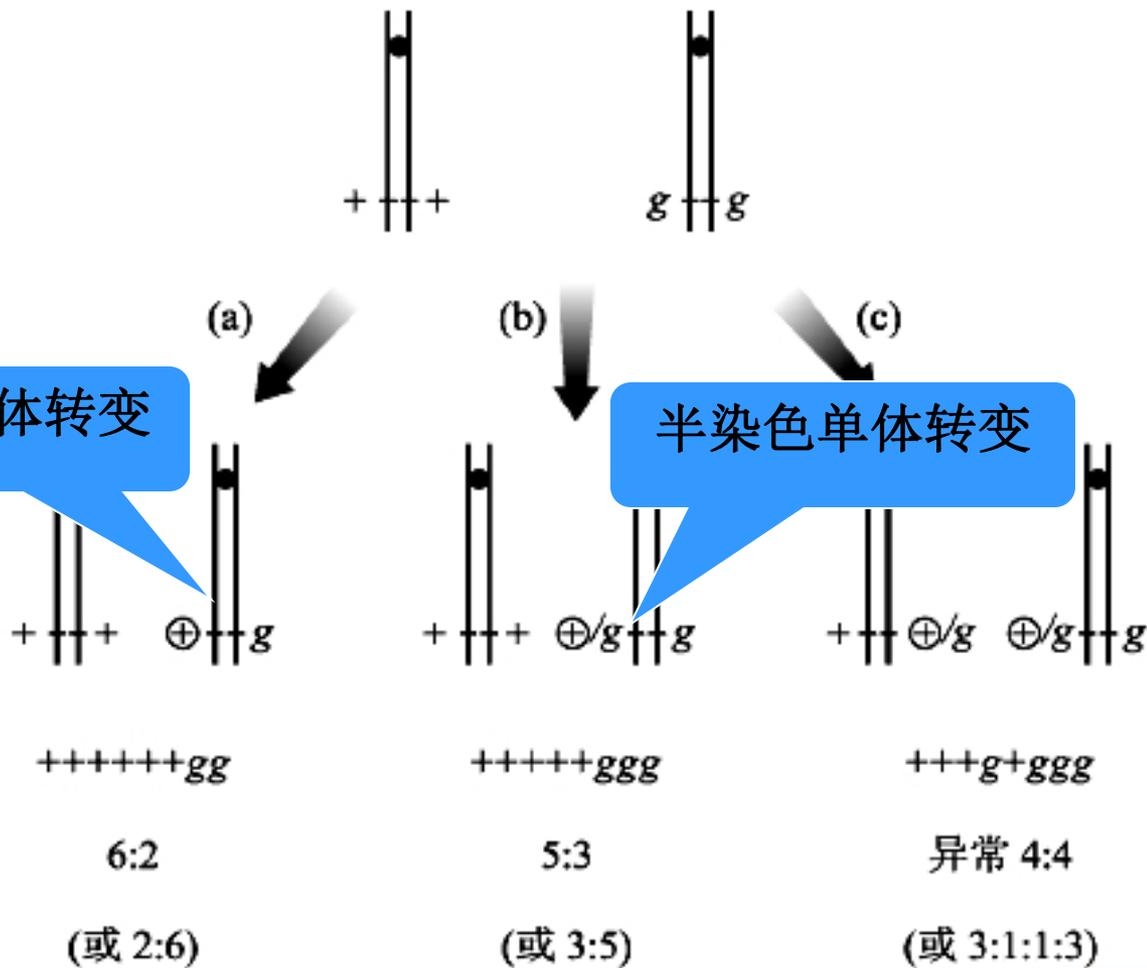
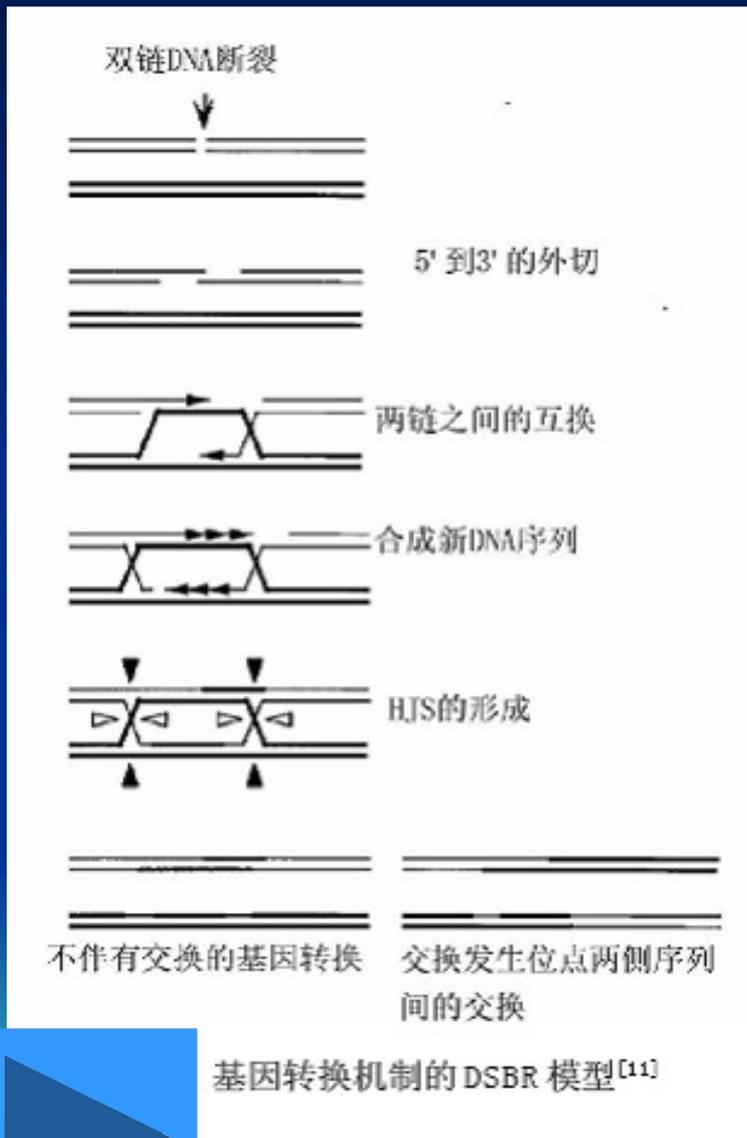


图7-8 基因转变的类型





双链断裂修补模型(double-strand break repair, DSBR) :DSBR模型由 Szostak等于1983年提出。其主要特点是起始于双链DNA 缺口即DSB 而得名。DSB 产生后，同源的DNA 双螺旋可以作为模板成为遗传信息的供体，通过形成D-loop 和两个Holliday junctions (HJs)达到链的交换和缺口的修补。在形成D-loop 和HJs 后而开始DNA 合成之前，供体中的一条链会和受体的一条链各自进行互补配对，此时不配对的碱基则被切除而代之正确配对的碱基。在此过程中，基因转换是对异源双链DNA 的错配修复而不是像以前认为的是简单的对双链缺口的修复。





7.3.3 基因转变的分子机制

由Holliday模型和DSB起始重组模型都已清楚表明在对称的异源双链区存在着不配对碱基（如G-A，C-T），形成两个杂种分子。异源DNA不稳定，细胞内的修复系统能够识别不配对碱基，并以切除修复的方式完成修复过程（详见第11章），杂种分子得到校正。

研究表明基因转变产生的机制是由于DNA的错配修复（mis-match repair）。具体过程为：图7-z1

- 1、在减数分裂前期亲本染色体配对
- 2、链的交换产生两个错配部分
- 3、经DNA合成过程切除和修复某条单链的某部分
- 4、产生6：2（3：1）基因转变的m+基因转变是由于重组和修复所产生

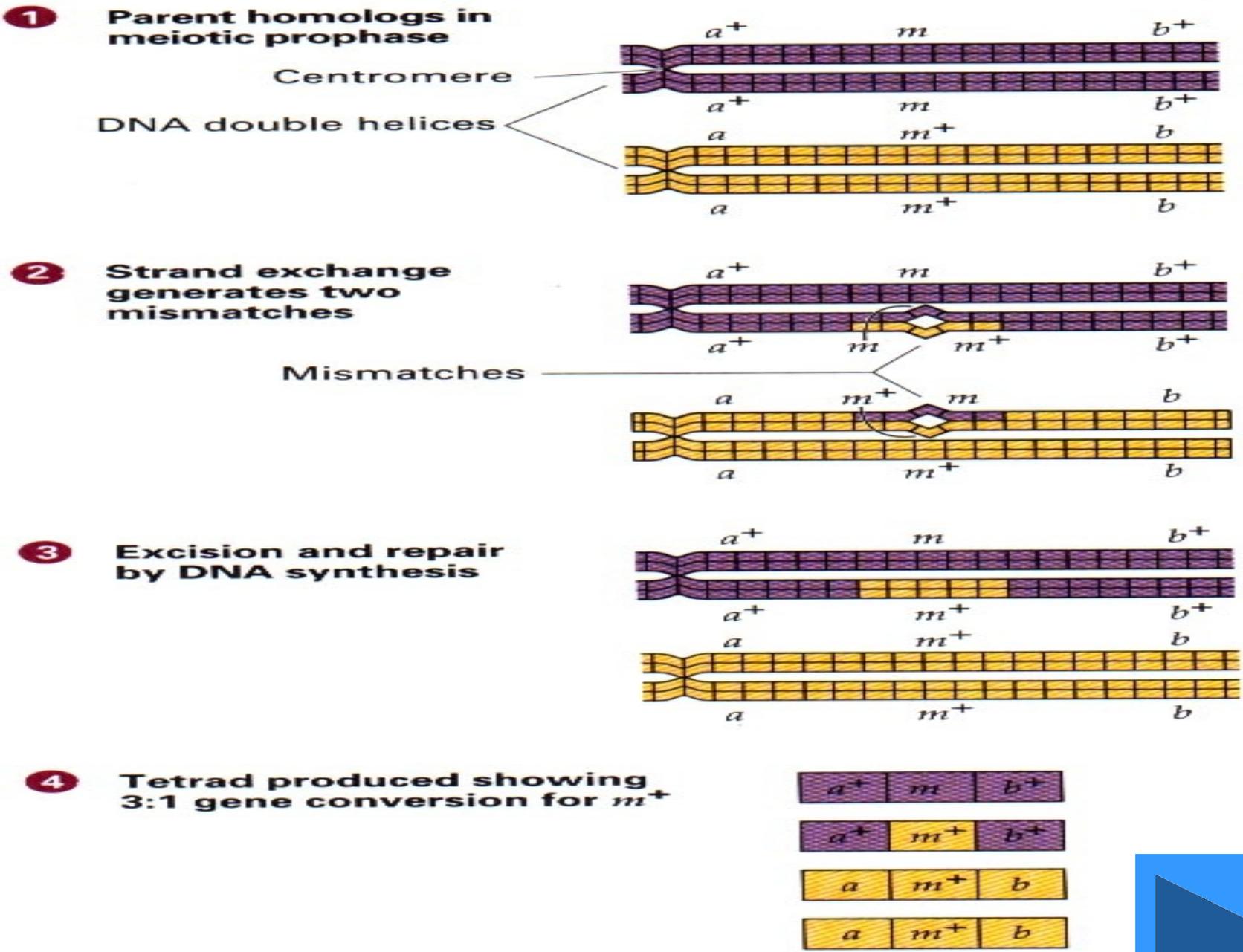
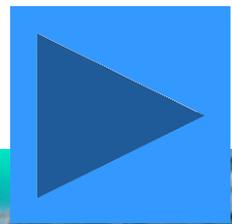


图7-21





根据错配切除修复原理，基因转变的几种类型产生的分子机制归纳如P159图7-9：

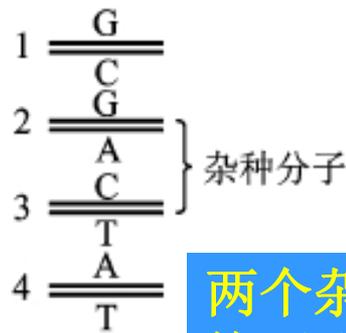
①两个杂种分子均未校正，复制后出现异常的4+：4g（或3：1：1：3）的分离 [图7-9 (a)]。

②一个杂种分子校正为+，或校正为g时，则发生另一种类型的半染色单体转变，前者修复后出现5：3的分离，后者子囊孢子的异常分离比为3：5 [图7-9 (b)]

③两个杂种分子都被校正到+（或g）时，修复后出现6+：2g（或2+：6g）的异常分离 [图7-9 (c)]

④当两个杂种分子都按原来两个亲本的遗传结构进行修复时，则减数分裂4个产物恢复成G—C、G—C、A—T、A—T的正常配对状态，子囊孢子分离正常，呈现4+：4g的结果 [图7-9 (d)]

一个杂种分子校正为+，
或校正为g时的半染色
单体转变，分离比为3:
5



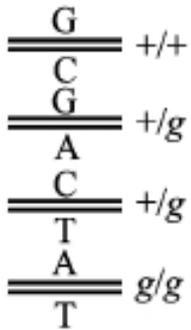
按原来两个亲本的遗传
结构进行修复，4个产物
恢复正常配对状态，子
囊孢子分离正常

两个杂种
校正到+
时，修复
+ : 2g (或 2+ : 6g)
的异常分离

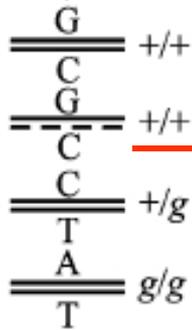
两个杂种分子均未校
正，复制后出现异常
的4+ : 4g (或 3+ :
1:3) 的分离

(b)
或

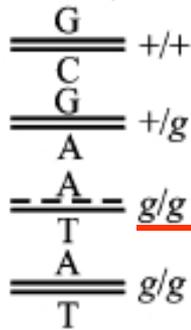
(c)
或



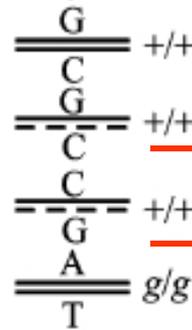
4:4
(或 3:1:1:3)



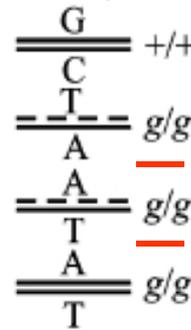
5:3



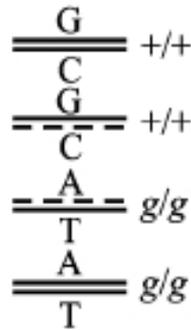
3:5



6:2

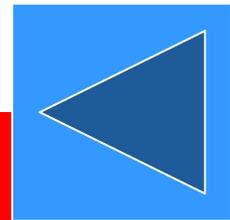


2:6



4:4
(正常)

图7-9 基因转变的分子机制示意图





本节几个名词解释：

- 正干涉：一次交换后引起邻近的第二次交换的频率下降。
- 负干涉：一个区域发生交换后使邻近的交换频率增加的遗传学现象。
- 共转变：彼此相距很近的几个位点的基因同时发生转变。
- 极化现象：越靠近断裂位点的基因，越容易发生转换，越远的越不容易发生转换。
- 极化子：染色体上呈现基因极化现象的区域。



由于某些不配对碱基切除修复校正的结果与该区发生双交换的效应一致，其实是基因转变的结果，因此出现C值（并发系数）大于1，这称为负干涉（negative interference），即一个区域的交换引起邻近区域另一次交换频率增加的现象。

大量实验结果表明，大约有一半的子囊发生基因转变的同时伴随两侧遗传标记的重组，而“负干涉”形成的原因显然是基因转变的同时并不伴随两侧遗传标记的重组。



基因转变具有以下几个特点：

(1) 基因转变具有极性 (polarity) :

一个基因内部不同位点的基因转变频率有一个梯度 (gradient) 或者极性, 靠近某一端的转变频率比远离该端的基因转变频率高, 这是由于交换仅在异源双链DNA中产生错配部分, 异源双链DNA出现在断裂点和在Holliday结构分开部位的分枝点之间, 愈远的基因愈离断裂点远。

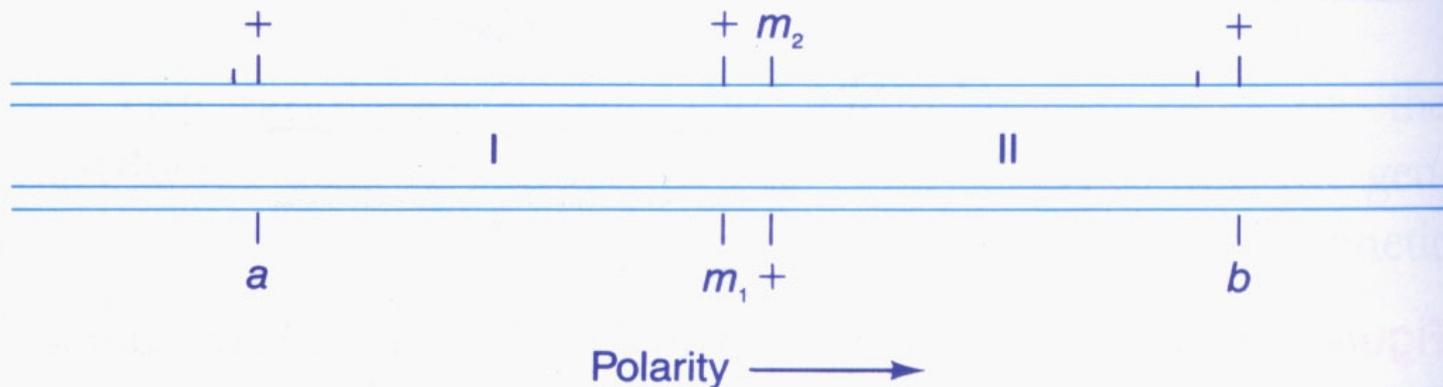


Figure 20-15 Diagram of chromatids involved in a cross. The arrow indicates the polarity of gene conversion in the *m* locus, pointing toward the end with lower conversion frequency.



(2) 基因转变常与旁侧的基因的交流相连系：

交换几乎经常是在转变的位点的一侧，而且经常是在转变的那条染色单体上。

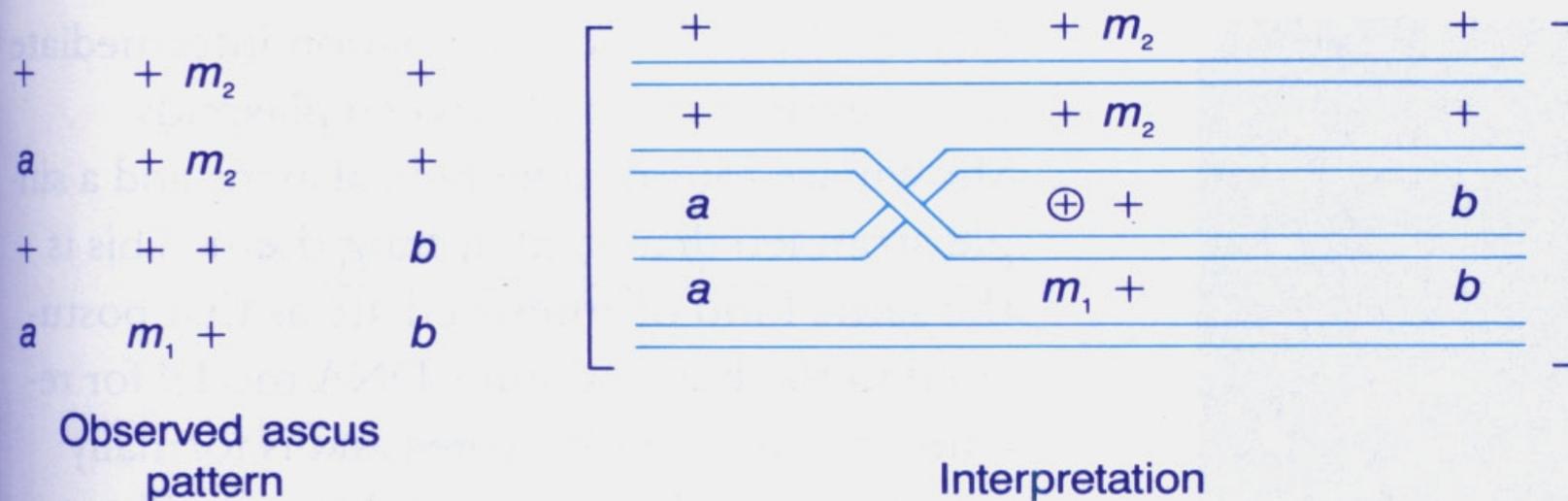


Figure 20-16 A specific ascus pattern can be explained by both crossover and a chromatid conversion. In this case, a conversion of $m_1 \rightarrow +$ is accomplished by a crossover in the region between a and m_1 .

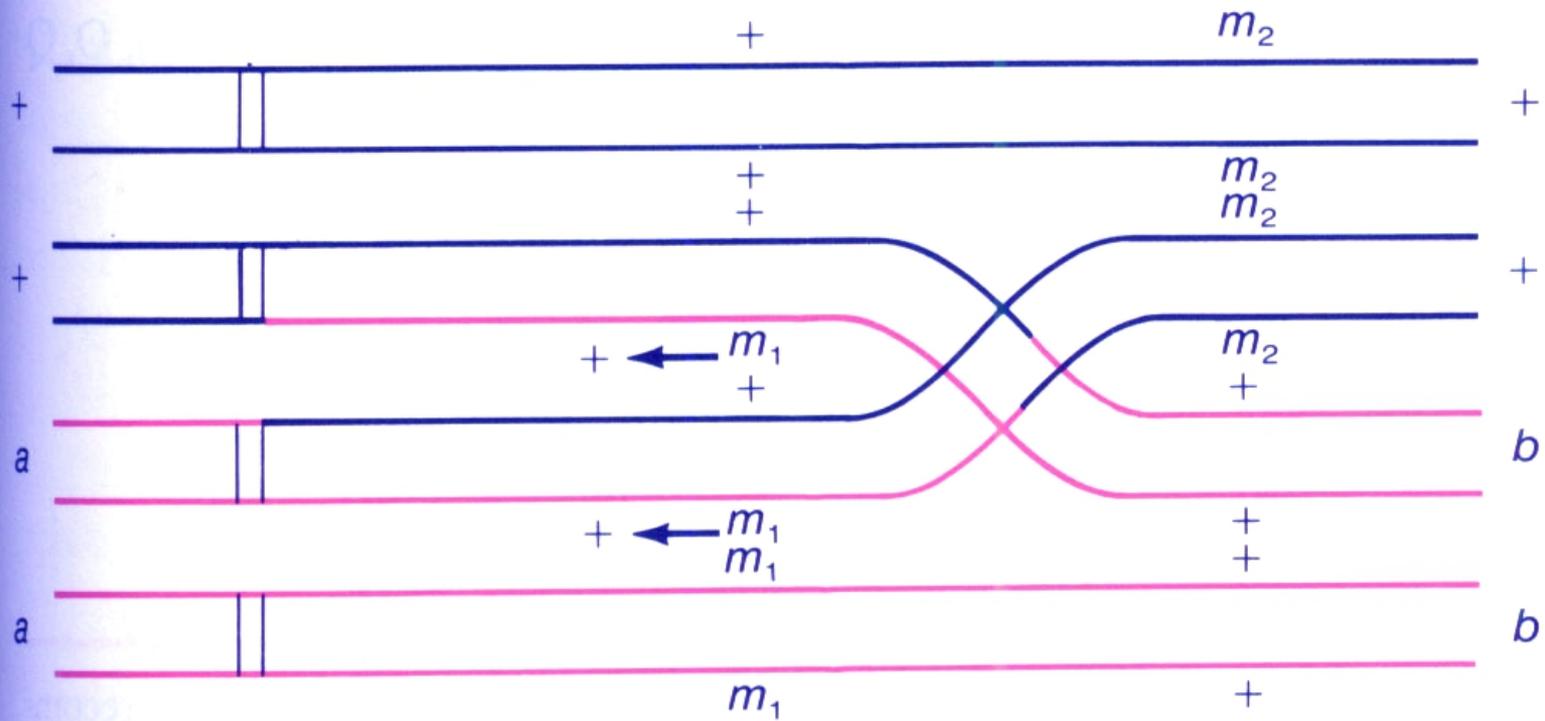


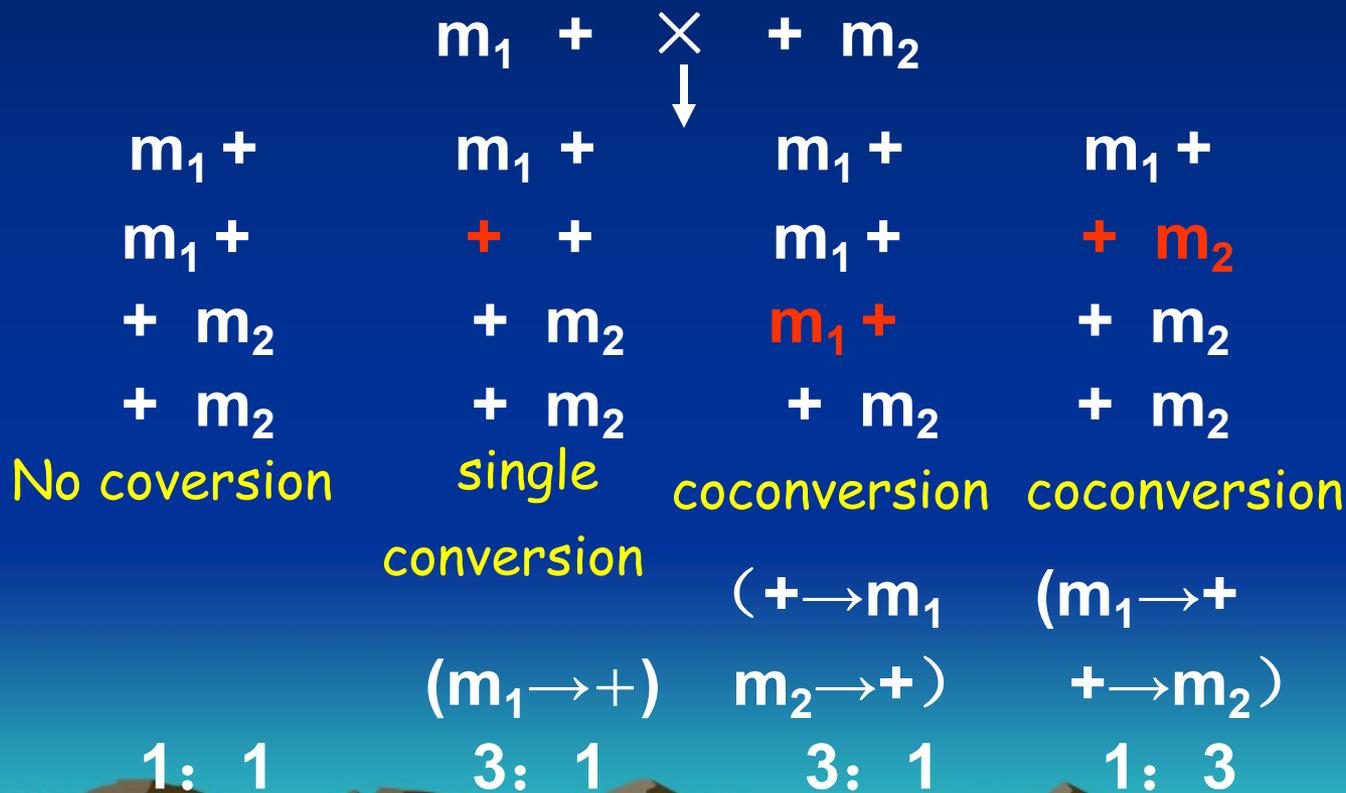
Figure 20-17 An explanation of the ascus in Figure 20-16 in terms of the heteroduplex DNA model. Arrows represent the direction of correction of the heteroduplex DNA.





(3) 共转变 (coconversion) / 共转换

当同一基因内不同突变型杂交时，在某些子囊中可以看到几个位点同时发生转变：





基因转变不仅是专一的，而且是有方向的，它不仅涉及单个位点（或基因座），而且涉及染色体的一个区段，如一对含有两个基因差异的突变型杂交时，在某些子囊中可以发生几个基因同时发生转变的现象，称为共转变（coconversion）。共转变的频率大于独立转变的预期频率，两个基因距离越近，共转变频率越大，即在异源双链的同一区域内沿相同方向同时被修复校正的概率越大。



基因转变的**极化子模型**（polaron model）：

该模型假定内切酶首先作用于基因的一端，从起点开始，基因转变频率由高到低形成一个梯度，在染色体上呈现基因转变极化现象的这样一个区域称为一个**极化子**（polaron），有时一个极化子就相当于一个基因。





7.4 真核生物的体细胞交换与基因定位

7.4.1 体细胞交换与单倍体化

构巢曲霉 (*Aspergillus nidulan*) 的分生孢子是单核的。将两个不同营养缺陷型菌株所产生的分生孢子大量混合接种在基本培养基的表面，可以得到少量的原养型菌落。由于这些原养型菌落细胞含有来自两亲本的细胞核，因此称为**异核体** (heterokaryon)。

异核体：在同一个细胞质中含有两种或多种不同基因型的细胞核的细胞、孢子或菌丝体。

大量异核体中的核仍保持单倍体状态，但有少数单倍体细胞核融合成为二倍体细胞核或合核体 (synkaryon)。



利用分生孢子颜色突变的遗传标记来鉴别一种菌落是二倍体还是异核体。如构巢曲霉

野生型 ($w^+ y^+$) 分生孢子是绿色的

突变型有 黄色分生孢子 ($w^+ y^-$)

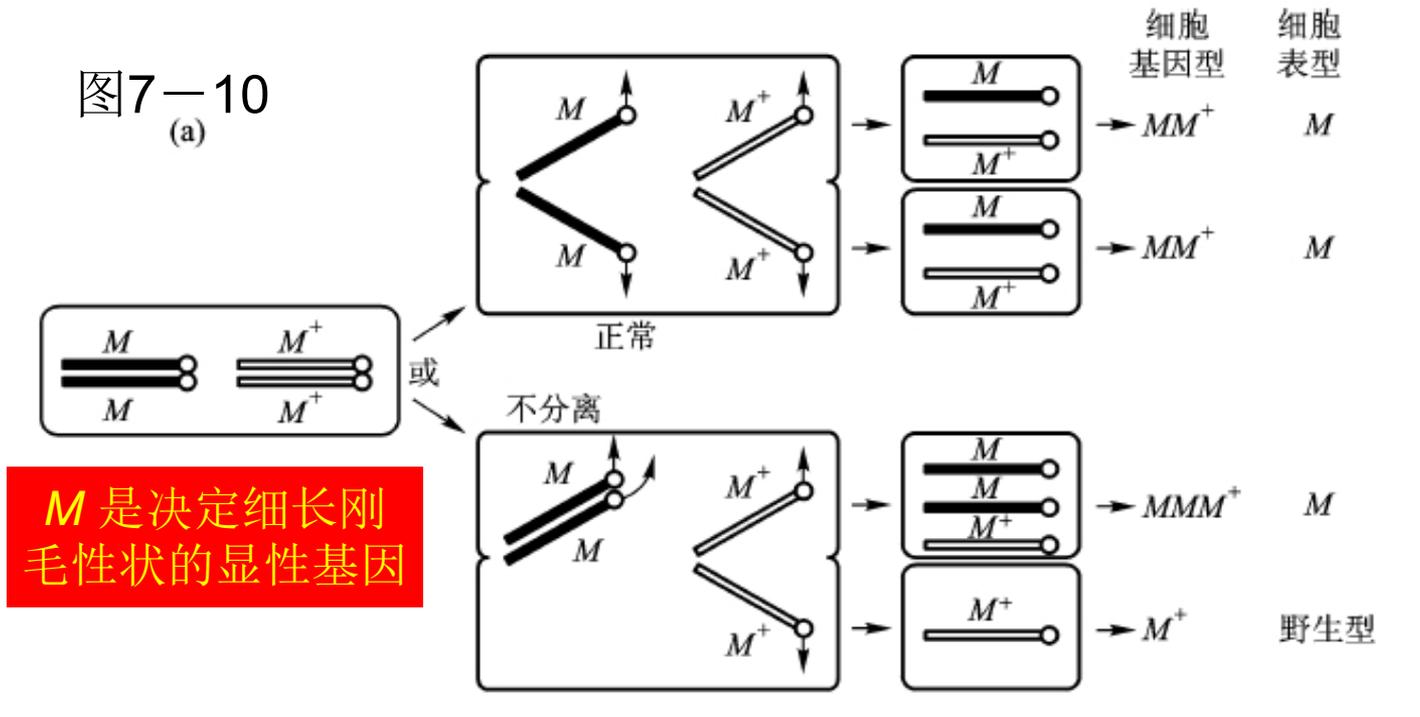
和 白色分生孢子 ($w^- y^+$)

由产生黄色孢子的某一营养缺陷型 ($A^- B^+ w^+ y^-$) 和产生白色孢子的另一缺陷型 ($A^+ B^- w^- y^+$) 组成的异核体的基因型为: $A^- B^+ w^+ y^- / A^+ B^- w^- y^+$

二倍体比异核体较为稳定, 从大量二倍体分生孢子中可以得到少数体细胞分离子 (segregant) , 所谓分离子是重组体和非整倍体或单倍体的总称。在这里产生非整倍体或单倍体的过程称为单倍体化 (haploidization), 产生重组体的过程称为体细胞交换 (somatic crossing over) 。

单倍体
化是在有丝
分裂过程中
染色体不分
离的结果。

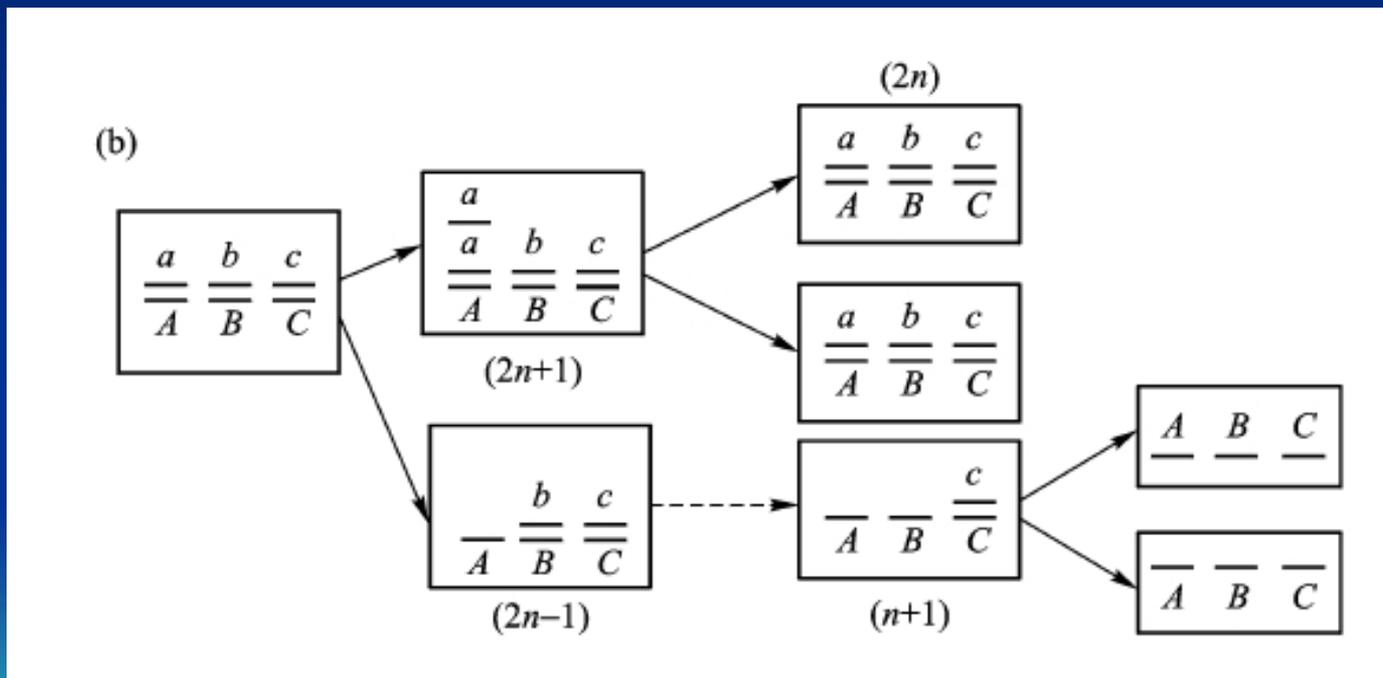
图7-10
(a)



正常的体细胞有丝分裂两条染色体各自趋向一极，导致了在表型上的分离现象。最初是Bridges观察果蝇杂合基因型 M^+M （ M 是决定细长刚毛性状的显性基因）的雌蝇时，发现有些具有 M 基因的雌蝇长出了一块扇形的野生型刚毛。表明杂合体的等位基因在表型上发生了分离。Bridges证明这是有丝分裂不分离（mitotic nondisjunction）造成的（图7-10（a））。

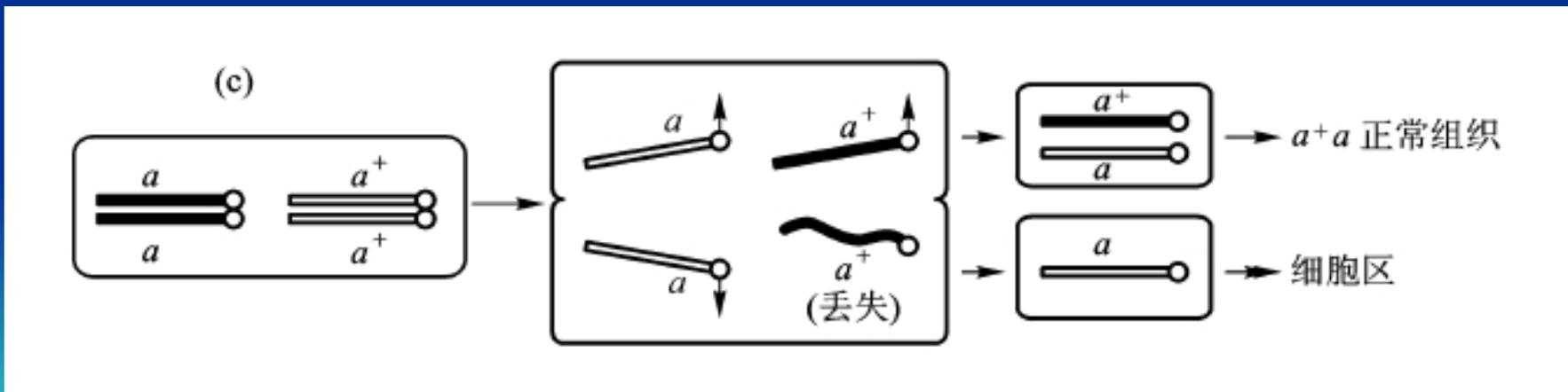


$2n+1$ 也称为三体，它常失去一条染色体而成为二倍体。在此过程中，可以由杂合体转变为纯合体； $2n-1$ 也称为单体，生长迟缓，且不稳定，常进一步失去其他染色体而最后成为一个稳定的单倍体（图7-10 (b)）





在单倍体化过程中，如果排除染色体携带的是某一个显性基因，那么相应的隐性基因所决定的性状就得以表现，这正像高等植物杂交 F_1 中不分离，而在子二代中分离出隐性性状个体的原理一样。单倍体化过程使隐性性状表现，这种现象也称分离。此外，杂合体细胞中在有丝分裂后的子细胞核重建时，发生一条染色体丢失的现象称为有丝分裂染色体丢失（mitotic chromosome loss），从而也导致表型的分离 [图7-10（c）]。





杂合二倍体的体细胞交换是产生分离子的第二个途径:

例构巢曲霉的体细胞在有丝分裂过程中，同源染色体间却可发生染色体交换，即**体细胞交换**。由于体细胞交换可导致原杂合二倍体的部分基因纯合化，这种现象**也称为有丝分裂交换**（mitotic crossing over）。

构巢曲霉5个隐性基因

paba（对氨基苯甲酸）

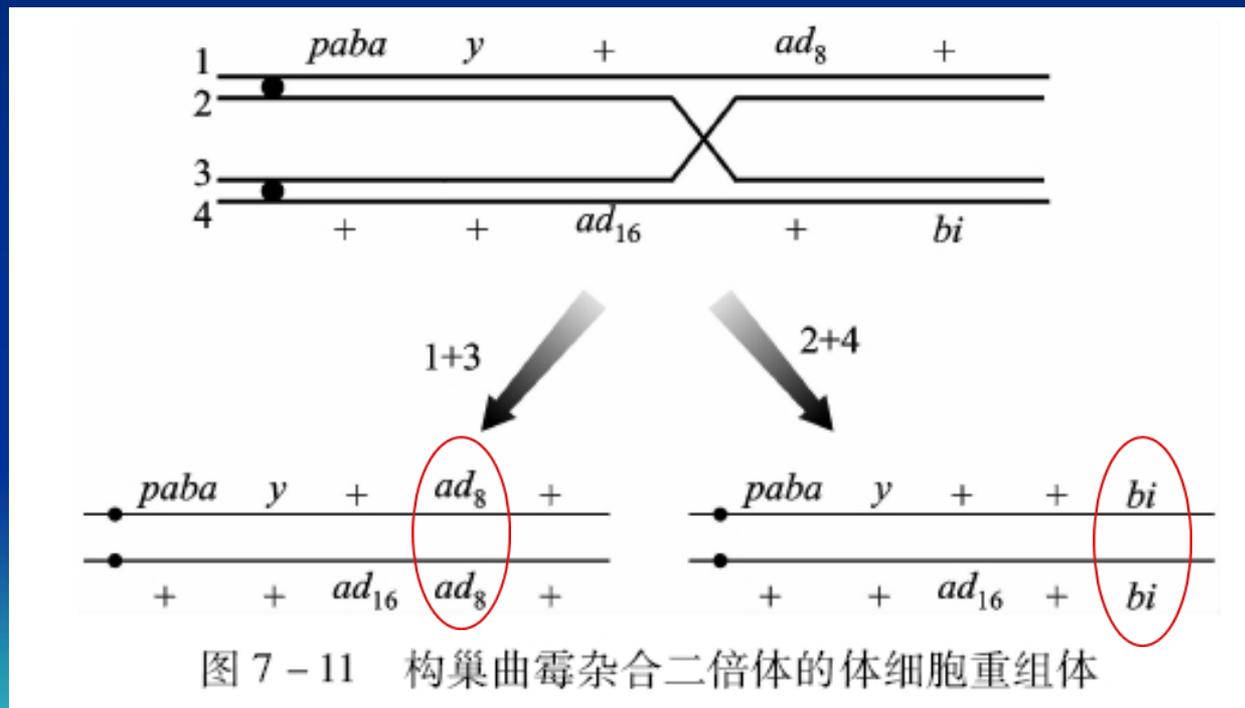
y（黄色孢子）

ad₁₆（嘌呤16）

ad₈（嘌呤8）

bi（生物素）

的杂合二倍体 *paba y + ad₈ + / + + ad₁₆ + bi* 为例，说明在发生体细胞重组后形成末端 *ad₈* 与 *bi* 基因纯合二倍体的过程





(1) 有丝分裂重组 (Mitotic recombination)

1936年Curt Stern首先观察到 Mitotic crossing-over

果蝇 性连锁隐性突变基因 y (黄体, yellow body color, y)

Sn (焦刚毛, Short twisty bristles, singed, Sn)

$$y^+ Sn / y^+ Sn \times y Sn^+ / \uparrow$$

(纯合 灰体, 焦刚毛) \downarrow (黄体, 正常刚毛)

F_1 雌蝇大多数是野生型表现

基因型: $y^+ Sn / y Sn^+$ 表型: 灰体, 正常刚毛

但某些雌果蝇有斑块 (patches)

- Single yellow spot 黄斑
- Single singed spot 焦刚毛斑块
- twin spots 双斑
 - 黄斑
 - 焦刚毛斑 mosaic phenotype

图7-12





以上这些不能用正常的基因分离进行解释

也不能用染色体不分离或染色体丢失进行解释，因为这里观察到的变化是体细胞的（body cells），而不是种系（germline）的变化。

对以上现象最好的解释是：

mitotic crossing-over event所产生的结果如图7.15所示：

某些细胞的有丝分裂中Y座位和Sn座位之间或Sn座位和着丝粒之间同源染色体发生了交换，也可能是双交换。

由于交换了的细胞形成的组织分别表现为：黄斑、双斑、焦刚毛斑。最后一种斑的出现代表着双交换的结果，和减数分裂一样，双交换出现的频率最低。

(a)	有丝分裂交换	线条图	有丝分裂产物	表型
	单交换 ($y - sn$)		$\begin{array}{c} \frac{y}{+} \quad \frac{+}{sn} \\ \frac{y}{+} \quad \frac{sn}{+} \end{array}$	单纯黄体 野生型
	单交换 ($sn - \bullet$)		$\begin{array}{c} \frac{y}{+} \quad \frac{+}{+} \\ \frac{y}{+} \quad \frac{sn}{sn} \end{array}$	黄体 焦毛
	双交换 ($y - sn - \bullet$)		$\begin{array}{c} \frac{y}{+} \quad \frac{+}{+} \\ \frac{y}{sn} \quad \frac{+}{+} \\ \frac{+}{+} \quad \frac{sn}{sn} \end{array}$	野生型 单纯焦毛

图 7-12 体细胞有丝分裂交换

(a) 体细胞有丝分裂交换



(2) 有丝分裂交换的机理 Mechanism of Mitotic crossing-over

有丝分裂交换只能在二倍体细胞中进行研究

图(gp181f6.10)是一假设的杂合子细胞，在没有交换的情况下其一对同源染色体上所具有的基因的分离模式，亲本细胞和子代细胞在表现型上都为野生型。

有丝分裂交换发生在类似于减数分裂四线阶段（Four-strand）。图GP181，6.11所示与图6.10相同的细胞类型，在基因c和d之间发生了有丝分裂交换。

从母本和从父本衍生而来的染色单体靠在一起形成一个四联体（tetrad），这类似于减数分裂的四线阶段，正是在这个时期发生交换。交换后，两对染色单体分离并独立迁移到赤道板上，导致了两种取向：

当类型（a）完成有丝分裂，产生两个二倍体细胞1和2，子代细胞1是纯合的 $d^+ e^+/d^+ e^+$ ，因此表现为野生型，子代细胞2是纯合的 de/de ，在该性状上表现为突变型。



(3) 视网膜母细胞瘤 Retinoblastoma

视网膜母细胞瘤是人类的一种肿瘤,可能是由有丝分裂重组引起的。

视网膜母细胞瘤是一种**儿童眼癌** ([gp183f6.12](#)) 常见于出生至4岁儿童中,若发现得早,90%以上的经 λ 射线照射,可以根除肿瘤。有两种形式的成视网膜细胞瘤:

一种是无家族史的“**散发型**”视网膜母细胞瘤 (sporadic retinoblastoma, nonhereditary) (60%的病例),自然产生,家族无该病的历史。**单侧肿瘤** (unilateral tumor) 即肿瘤只出现在一只眼睛中。

另一种是“**家族型**” (hereditary) 视网膜母细胞瘤 (40%的病例),对产生眼瘤的易感性 (susceptibility) 是遗传的。通常产生包括**双眼的多种眼瘤** (bilateral tumors)。比散发型病人得病年龄早,这种家庭中,同胞兄弟姐妹和子女常常出现同样类型的肿瘤。



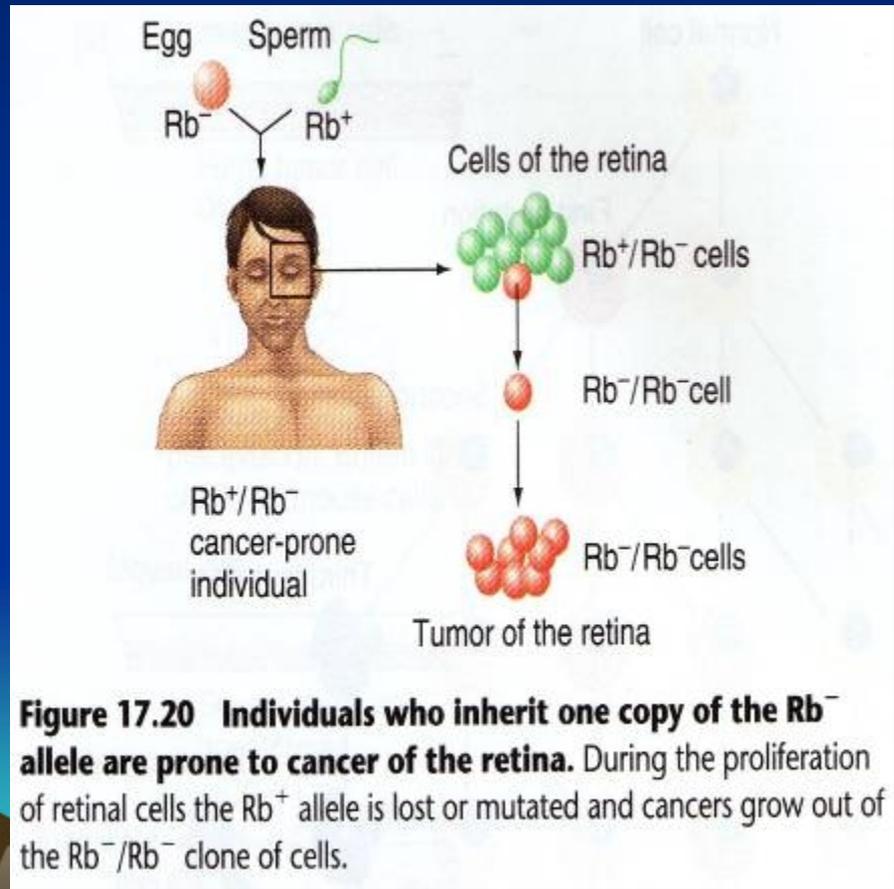
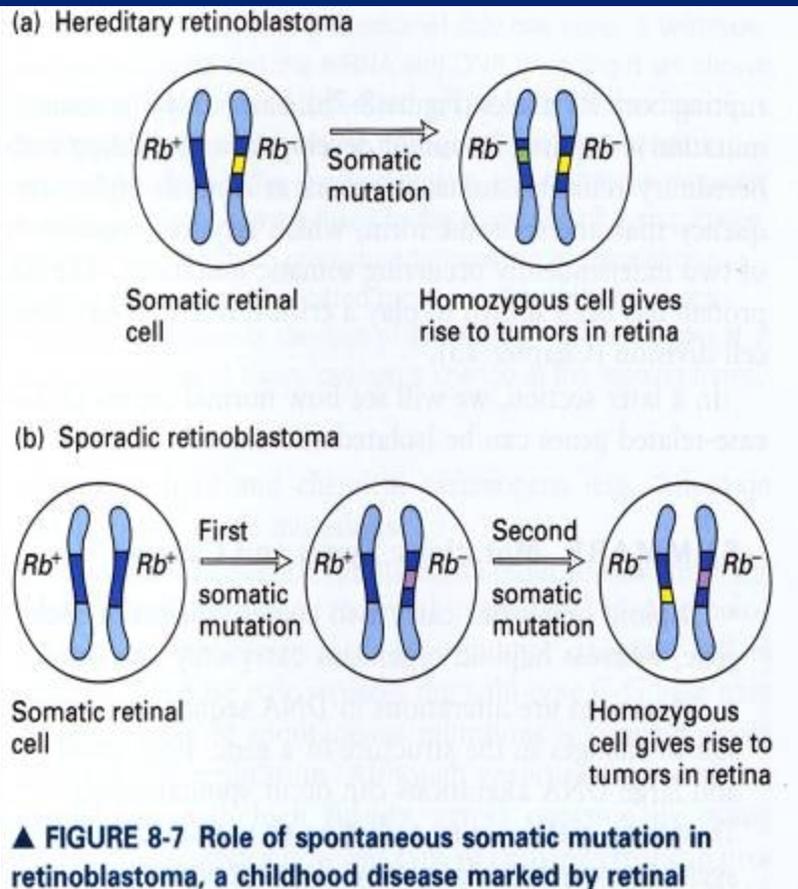
系谱分析得到的结果与单基因编码该病说法一致，1971年Alfred Knudson提出了一个模型来解释散发型和家族型视网膜母细胞病的出现。

["二次突变"学说two-hit hypothesis,第一次突变型发生在生殖细胞期，第二次突变发生于分化的体细胞中]。他假设基因组中双拷贝的视网膜母细胞瘤基因（RB）独立地突变时产生视网膜母细胞瘤。

对于散发型视网膜母细胞瘤，他提出孩子出生时带有两份野生型基因拷贝（Genotype RB^+/RB^+ ），然后两个突变发生在相同的成视网膜细胞中。因为在相同的细胞内出现两次这样突变事情的机会非常低，所以“散发型”多数产生单侧眼瘤。



第一次突变产生RB/RB⁺细胞（在家族型中已产生这种细胞RB/RB⁺），第二次突变可能是在着丝粒与13P¹⁴之间发生了有丝分裂交换，得到了一个突变等位基因的纯合子：



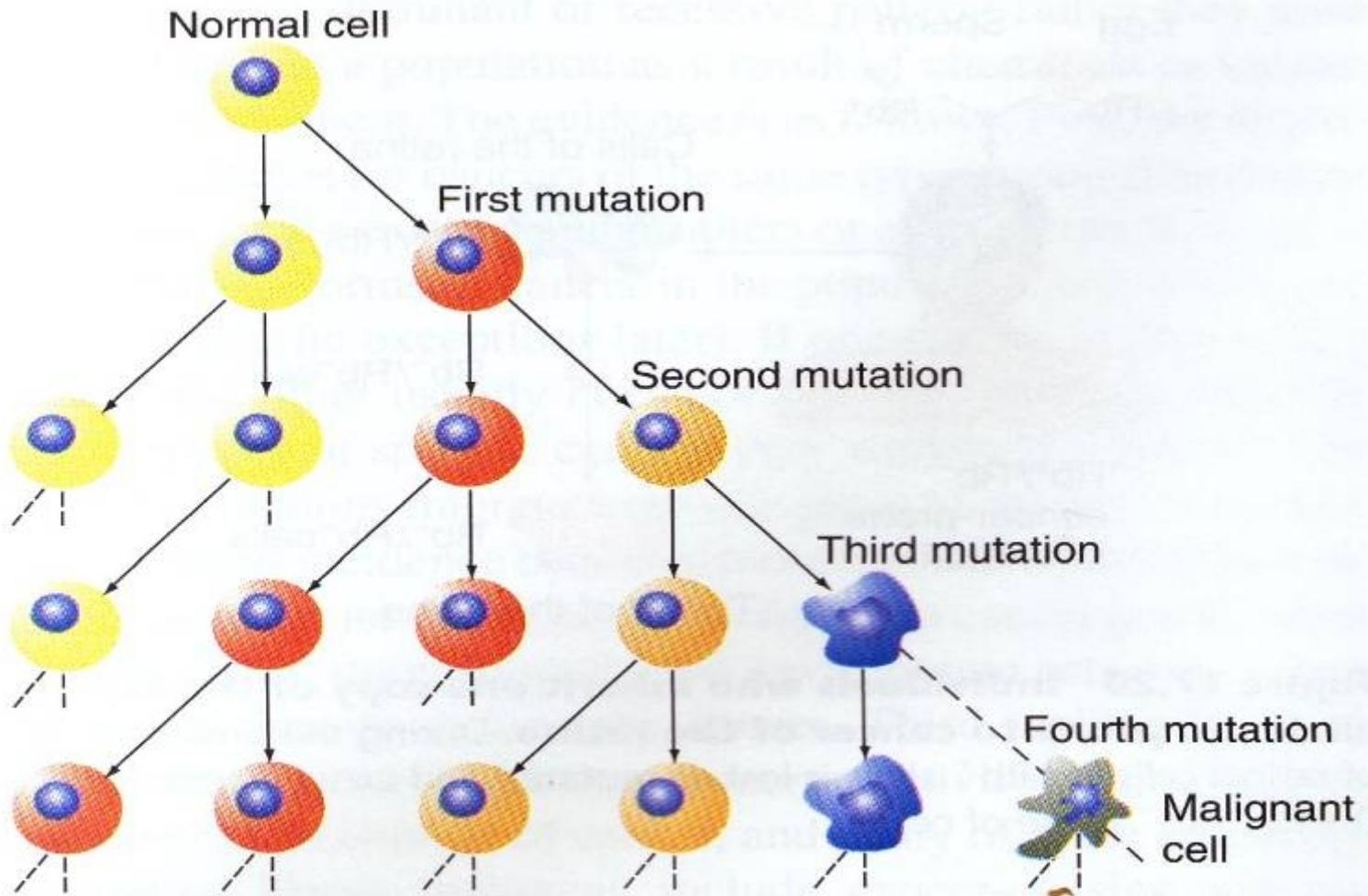


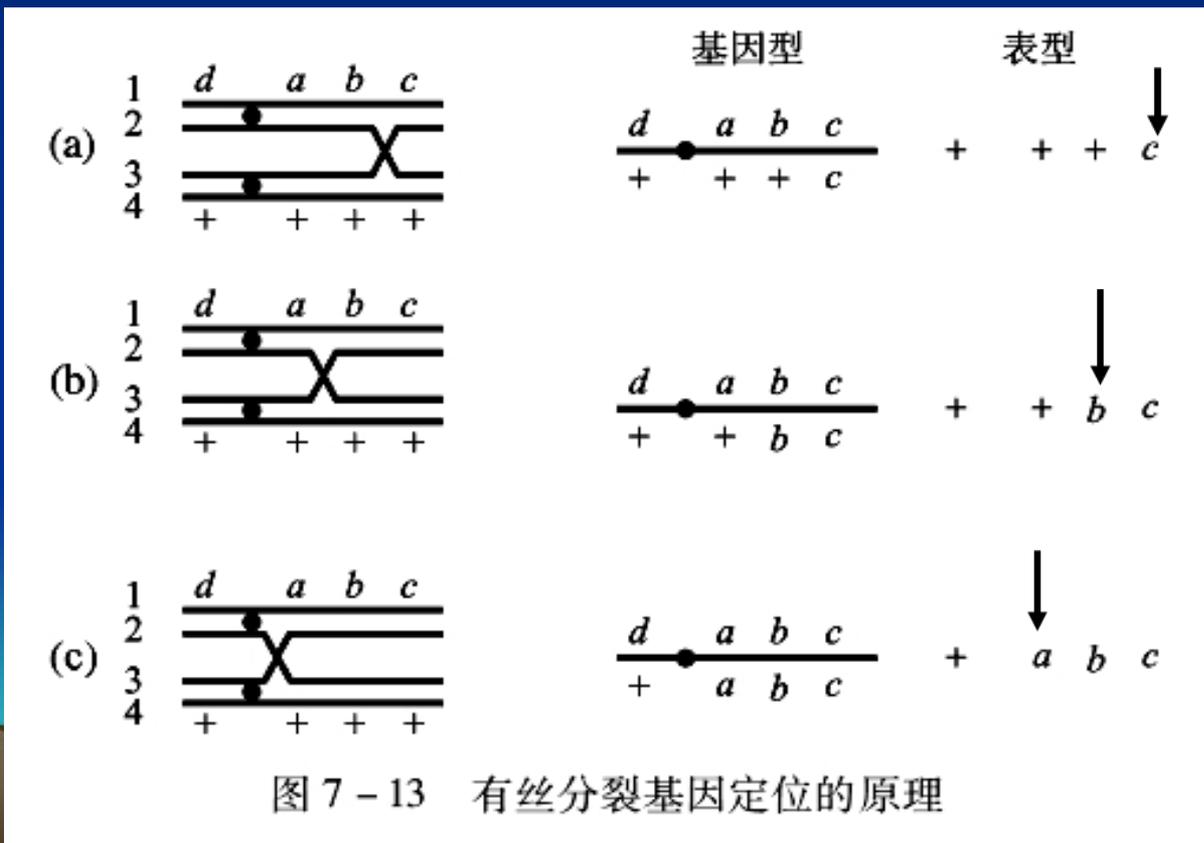
Figure 17.21 Cancer is thought to arise by successive mutations in a clone of proliferating cells.



7.4.2 有丝分裂交换与基因定位

基因定位：通过有性过程中细胞的减数分裂、同源染色体联会、基因间的重组率来确定基因的位置。

有丝分裂交换进行基因定位的原理：是依据体细胞同源染色体的交换使得染色体远端的杂合基因纯合化的规律，用来确定基因的排列位置和距离（图7-13）。



离着丝粒愈近的基因纯合的机会愈小，愈远的则大，而且着丝粒一端的基因纯合不影响着丝粒另一端基因的纯合。



因此，如果发现两个染色体臂上的基因同时出现纯合化现象，就有可能是体细胞同源染色体的交换结果。

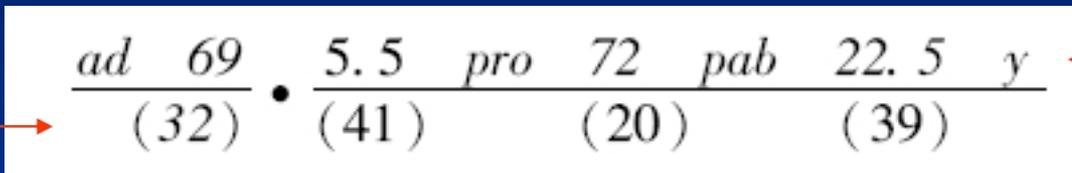
真菌在二倍体的有丝分裂过程中，偶尔发生同源染色体交换，导致连锁基因的重组，这一遗传变异过程称为准性生殖（parasexuality）；或：不经过减数分裂而导致基因重组的一种生殖方式，常见于霉菌中。

准性生殖产生的重组体细胞一般和营养体细胞没有形态、生理上的差异，而且不产生在特殊的囊器中。

准性生殖过程中染色体交换和染色体的减少是不规律且不协调的，这便是准性生殖过程与有性生殖过程中基因重组的主要区别。



通过有丝分裂定位得到的构巢曲霉的第一染色体右臂的各基因之间的图距如下：



减数分裂定位数据

有丝分裂数据

在图距中，上面是染色体有丝分裂数据，下面是减数分裂定位数据，两者定位数据相差甚远，这正是有丝分裂与减数分裂交换过程的基本差别，但二者在顺序上是一致的。

有丝分裂重组的频率比减数分裂的频率要低得多，有人认为这可能是由于有丝分裂中同源染色体只有某些部分发生配对的缘故。



7.5 真核生物基因的消除与扩增和重排

7.5.1 基因消除

某些原生动物，如线虫、昆虫和甲壳类动物等在个体发育中，许多体细胞常常丢掉整条或部分的染色体，只有将要分化形成生殖细胞的那些细胞一直保留全部染色体。通过丢失染色体，丢失某些基因而删除这些基因的活性的现象称为**基因消除 (gene elimination)**。

如马蛔虫 (*Ascaris megalocephalus*) 受精卵细胞内只有两对染色体 ($2n=4$)，其上具有若干个着丝粒，在发育为成体的早期阶段，只有其中一个着丝粒行使功能，保证正常的有丝分裂。当个体发育到一定阶段后，在将要分化形成体细胞的那些细胞中，这对染色体破碎，形成许多小的染色体，而其中一些小染色体并不含着丝粒，因而在以后的细胞分裂过程中丢失，但是在那些将要分化形成生殖细胞的细胞中则不存在染色体破碎现象。



例：小麦瘦蚊（*Mayetiole destructor*）的个体发育过程中，其卵的后端含有一种特殊细胞质——**极细胞质**。

在极细胞质中的核保留全部40条染色体

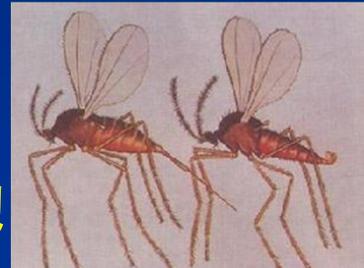
其他细胞质区域的核只保留了8条

（发生染色体消减而丢失了32条染色体）

有40条染色体的细胞分化为⇒生殖细胞

而只有8条染色体的细胞继续增殖成为⇒体细胞

如用尼龙线结扎卵，使细胞核不能向极细胞质移动，或用紫外线照射极细胞质，那么所有的核都丢失32条染色体，其结果体内没有生殖细胞而发育成为不育的瘦蚊



（图7-14）

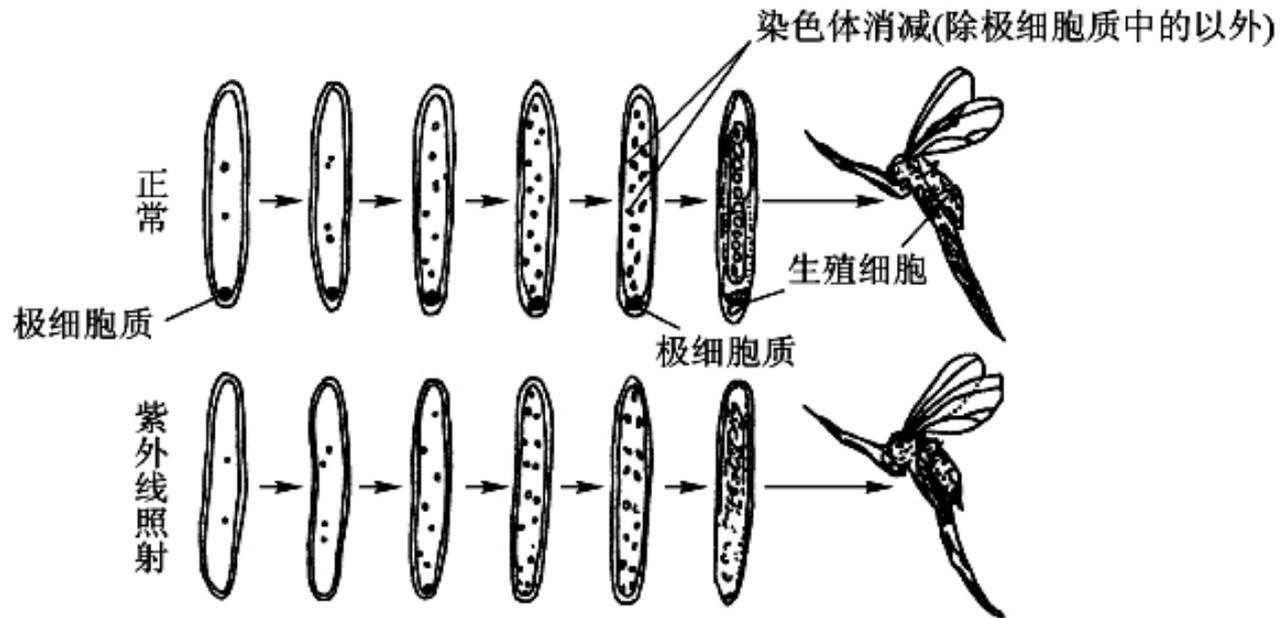


图 7-14 小麦瘿蚊的染色体消滅

正常情况下,在第3~4次分裂之间,两个核向极细胞质移动,不久成为生殖细胞,其余的核放弃部分染色体变成体细胞。如用紫外线照射极细胞质,所有核都放弃部分染色体发育成不育的瘿蚊

极细胞质中何种物质可控制染色体丢失,而使生殖细胞的分化成为可能? 分析表明: **在极细胞质中有含有丰富RNA的颗粒——核糖体颗粒的集合体**。用离心的方法使这种颗粒移动,让极细胞质以外的核也接触到这种颗粒,结果这些细胞核的染色体就不再发生丢失。此外,紫外线照射可使极细胞质中这类颗粒性物质失活,使染色体消滅而无法分化为生殖细胞。说明调控染色体丢失的主要物质是核酸。



7.5.2 基因扩增

基因扩增（gene amplification）是指基因组内某些基因的拷贝数专一地大量增加的现象。

它是细胞在短期内为满足发育或生理适应的需要而产生足够多的基因产物的一种调控手段，其实质是通过差别的基因复制（differential gene replication）而完成的。

例：爪蟾（*Xenopus*）的卵母细胞便是通过rDNA的扩增而大量合成rRNA

体细胞rDNA 的拷贝数：500个

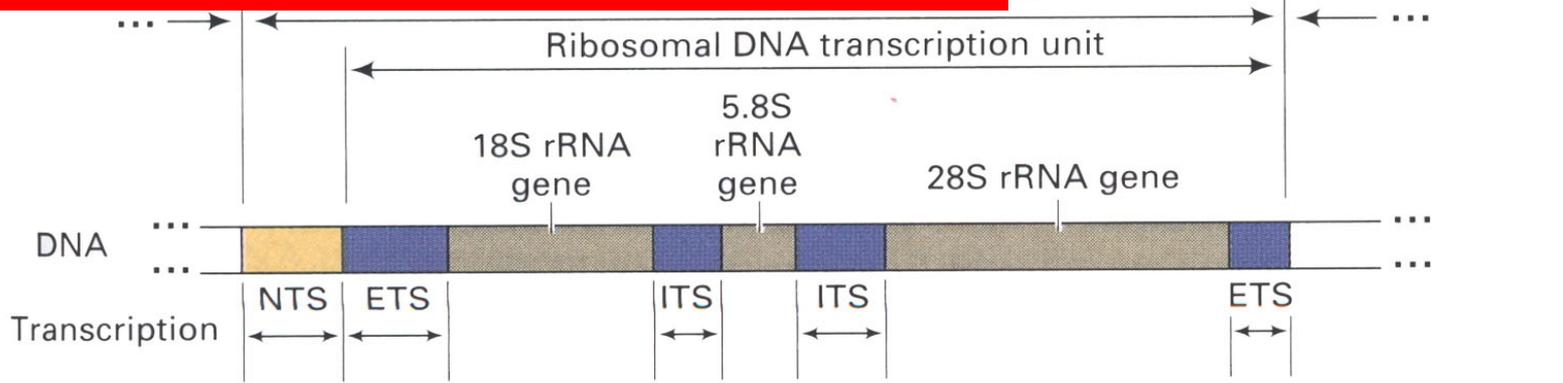
卵母细胞中的拷贝数约：2,000,000个

以供转录合成卵裂期所需要的 10^{12} 个核糖体

爪蟾的rDNA单位，每一单位中包含18 S rRNA基因、5.8 S rRNA基因和28 S rRNA基因，它们成簇存在，重复串联在一起形成核仁组织区（nucleolar organizer）。



NTS (nontranscribed spacer): 非转录间区;
ETS (external transcribed spacer) : 外间区;
ITS (internal transcribed spacer): 内间区



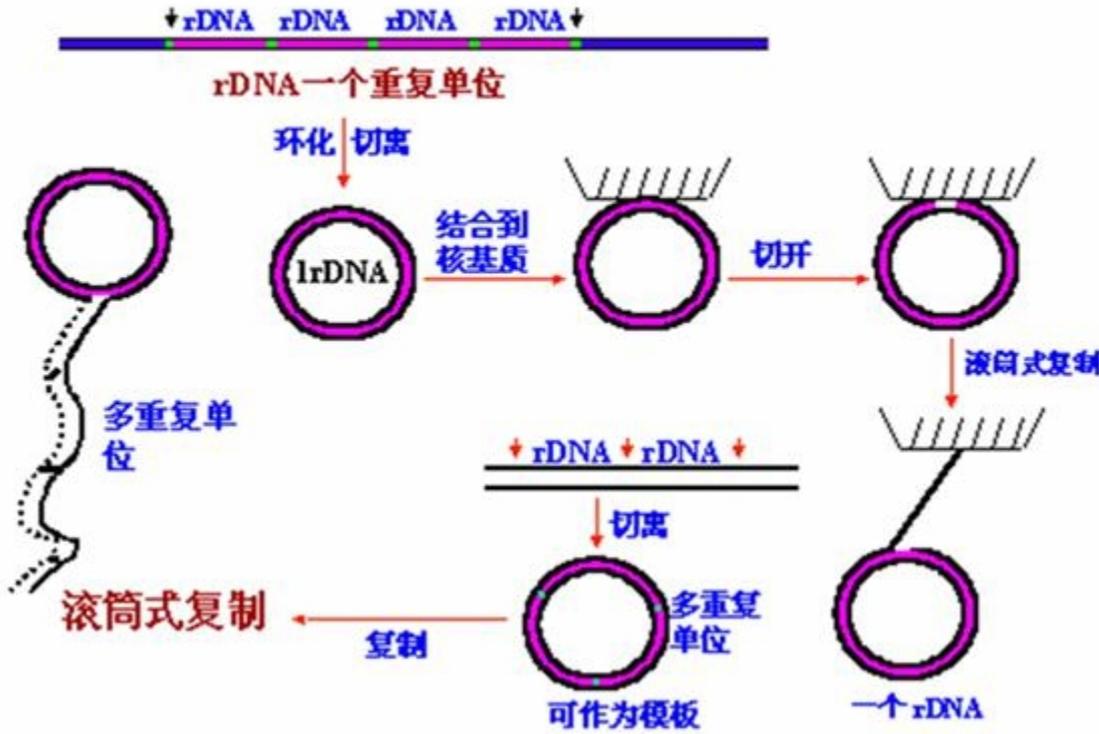
高等真核生物中有4种rRNA，其中18 S、5.8 S和28 S rRNA为主体rRNA，它们的基因组成重复单位；而5 S rRNA 基因与主体rRNA 基因分隔开，独立成为串联重复单位，每个重复单位由5 S rRNA基因和转录区之前的非转录区组成。5 S rRNA基因没有基因扩增现象

表 7-4 rRNA 基因簇串联重复单位的不同长度

单位:bp

生物	重复单位长度	非转录间隔区长度	转录区长度
酿酒酵母	8 950	1 750	7 200
黑腹果蝇	11 500 ~ 14 200	3 750 ~ 6 450	7 750
非洲爪蟾	10 500 ~ 13 500	2 300 ~ 5 300	7 875
小鼠	4 400	30 000	13 400

滚筒式扩增



主体rRNA以多聚体形式出现，多聚体可能来自基因组中多个rDNA重复单位。rDNA扩增以滚筒式进行复制。在核仁中，每一个核仁的核仁数往往增加到几百个。当卵细胞成熟后，rDNA便失去了继续存在的意义，因而非但扩增停止，而且所扩增的rDNA也开始逐渐降解。当受精卵分裂至数百个细胞后，这类染色体外的rDNA分子便完全消失了。

染色体外分
 rDNA分
 。
 滚环方
 包含在
 胞核中

rDNA便失去
 了继续存在的意义，因而非但扩增停止，而且所扩增的rDNA也开始逐渐降解。当受精卵分裂至数百个细胞后，这类染色体外的rDNA分子便完全消失了。





(1) **由于发育过程的需要而出现基因扩增现象**: 在一些昆虫、两栖动物、鱼类的卵母细胞发育中和原生动物的核形成过程中都观察到rDNA扩增;

(2) **外界环境条件的改变, 也会造成基因扩增**: 在哺乳动物离体培养的细胞系中加入二氢叶酸还原酶 (dihydrofolate reductase, DHFR) 的抑制剂氨甲蝶呤 (methotrexate, MTX) 后, 可以使该酶的结构基因 *dhfr* 扩增达到40~ 400个拷贝, 于是细胞产生更高的酶活性来增强对氨甲蝶呤的抗性。



7.5.3 基因重排

基因重排 (gene rearrangement) 是指DNA分子的核苷酸序列的重新排列, 序列的重排不仅可形成新的基因, 还可调节基因的表达。

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中接合型 (mating types) 的决定属于基因重排

单倍体酵母有两种接合型:

a 由基因 *Mata* (mating 的缩写) 控制

α 由基因 *Mata* 所控制

一个单倍体细胞不是a型就是 α 型。

两个不同接合型细胞可接合, 相同接合型细胞不能接合。

根据分泌物质的不同识别不同的接合型:

*MATa*细胞产生a因子, *MAT α* 细胞产生 α 因子, 它们是促进不同接合型细胞相互接合的物质基础。



接合后的二倍体
细胞基因型为 a / α ，
此杂合二倍体可产生
 $MATa$ 和 $MAT\alpha$
(Fig. 18.2)

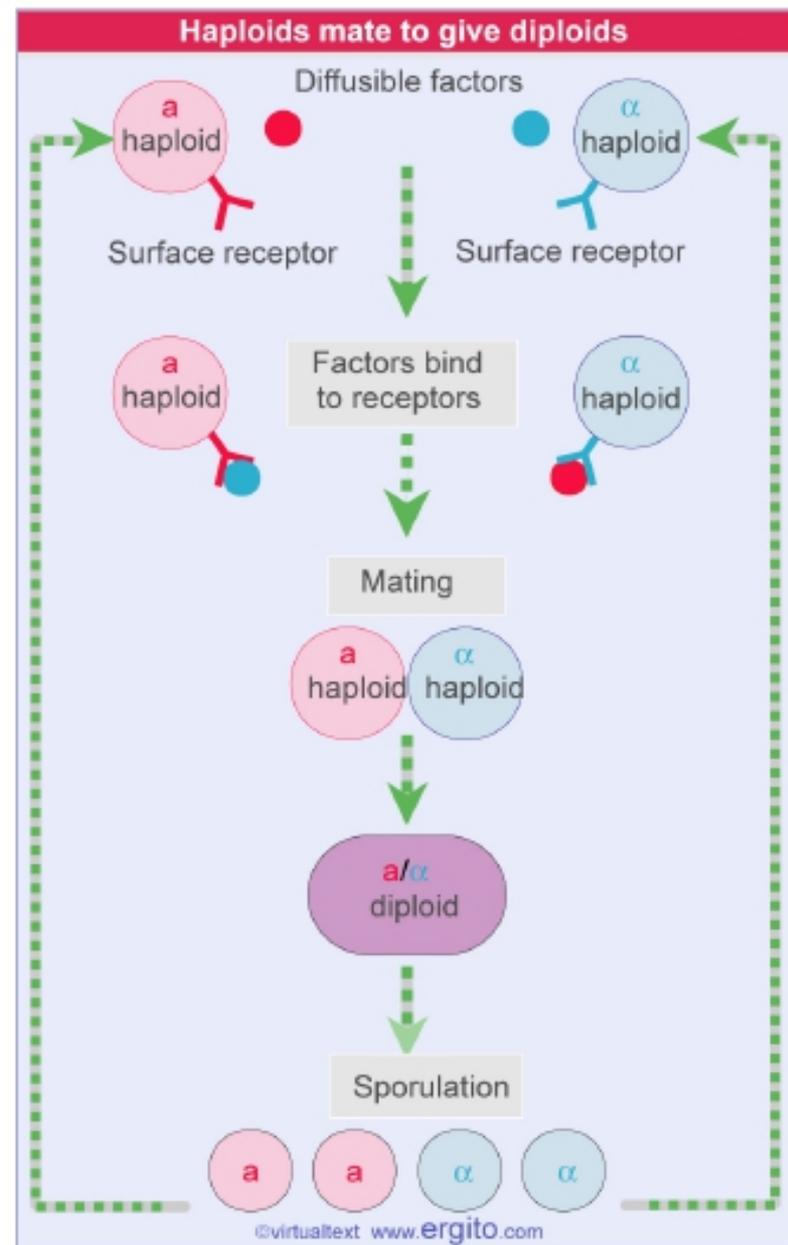


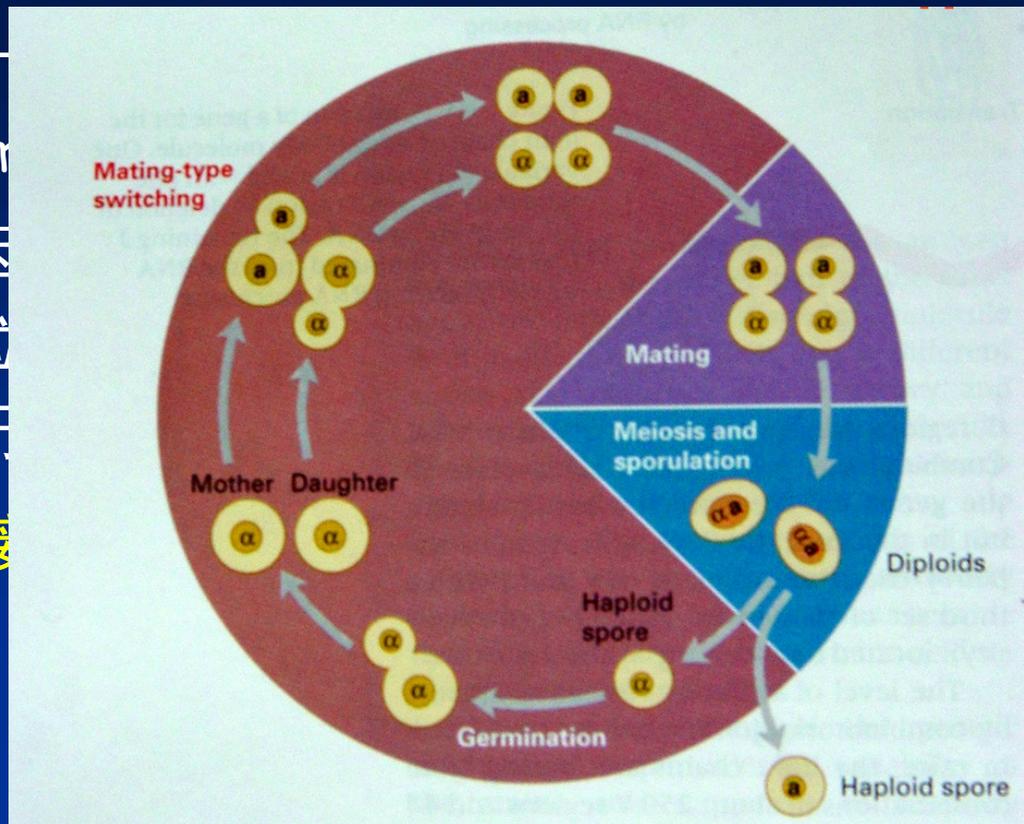
Figure 18.2 The yeast life cycle proceeds through mating of $MATa$ and $MAT\alpha$ haploids to give heterozygous diploids that sporulate to generate haploid spores.



但是a型可以转变
象称为**接合型互变** (m

Mat (接合型基因
而接合型互变又依赖位
宗接合, *HO*), 它位于

不管起始为哪种接
居群基因型发生变化,
致大量二倍体 *MATa* /
为二倍体居群。



一个单倍体细胞同时存在着 *Mata* 和 *Matα* 的遗传信息,
但在特定时刻只有其中一个表达。

分...
 侧的称为 $HML\alpha$ ，它是仅位于
 位于右侧的称为 $HMR\alpha$ ，它是
盒子模型 (cassette model)
 MAT 位置上存在**活跃盒**
 置上的 $HML\alpha$ 和 $HMR\alpha$ 基因都
 cassettes)，当它们转移到
 $HML\alpha$ 转移到 MAT 座位上后
 移到了 MAT 座位而取代了 H
 。 MAT 位置出现 $HML\alpha$ 或 H
 $HMR\alpha$ 并不消失，仍然保留

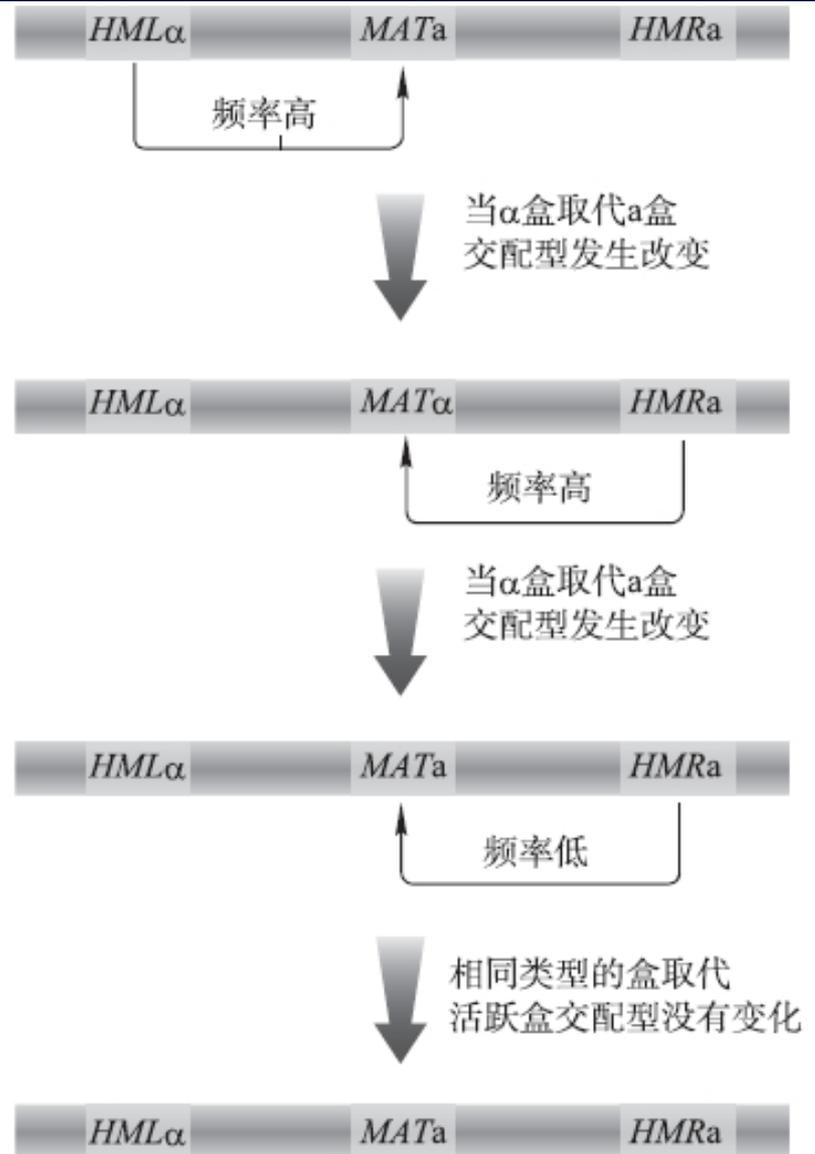
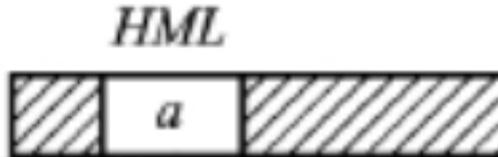


图 7-16 酵母接合型转变(引自 Krebs 等, 2014)

There are silent cassettes for mating type

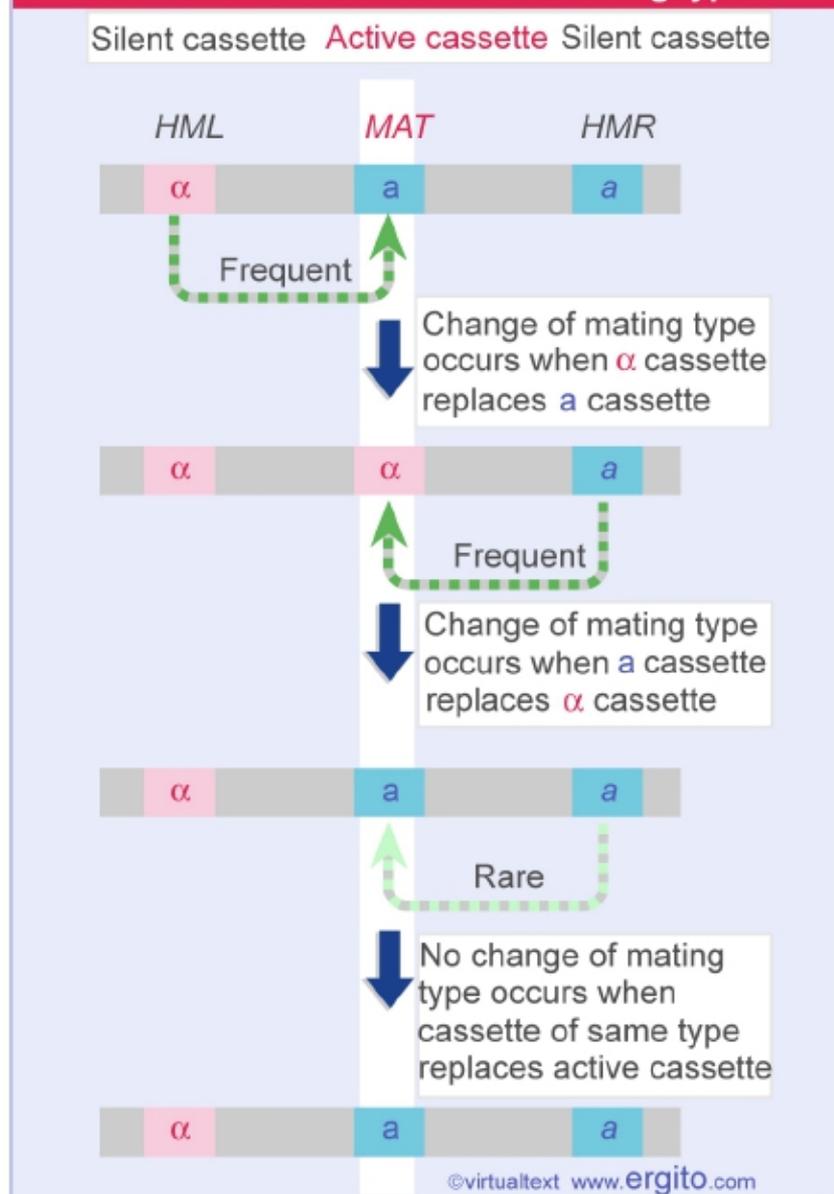


Figure 18.7 Changes of mating type occur when silent cassettes replace active cassettes of opposite genotype; when transpositions occur between cassettes of the same type, the mating type remains unaltered.

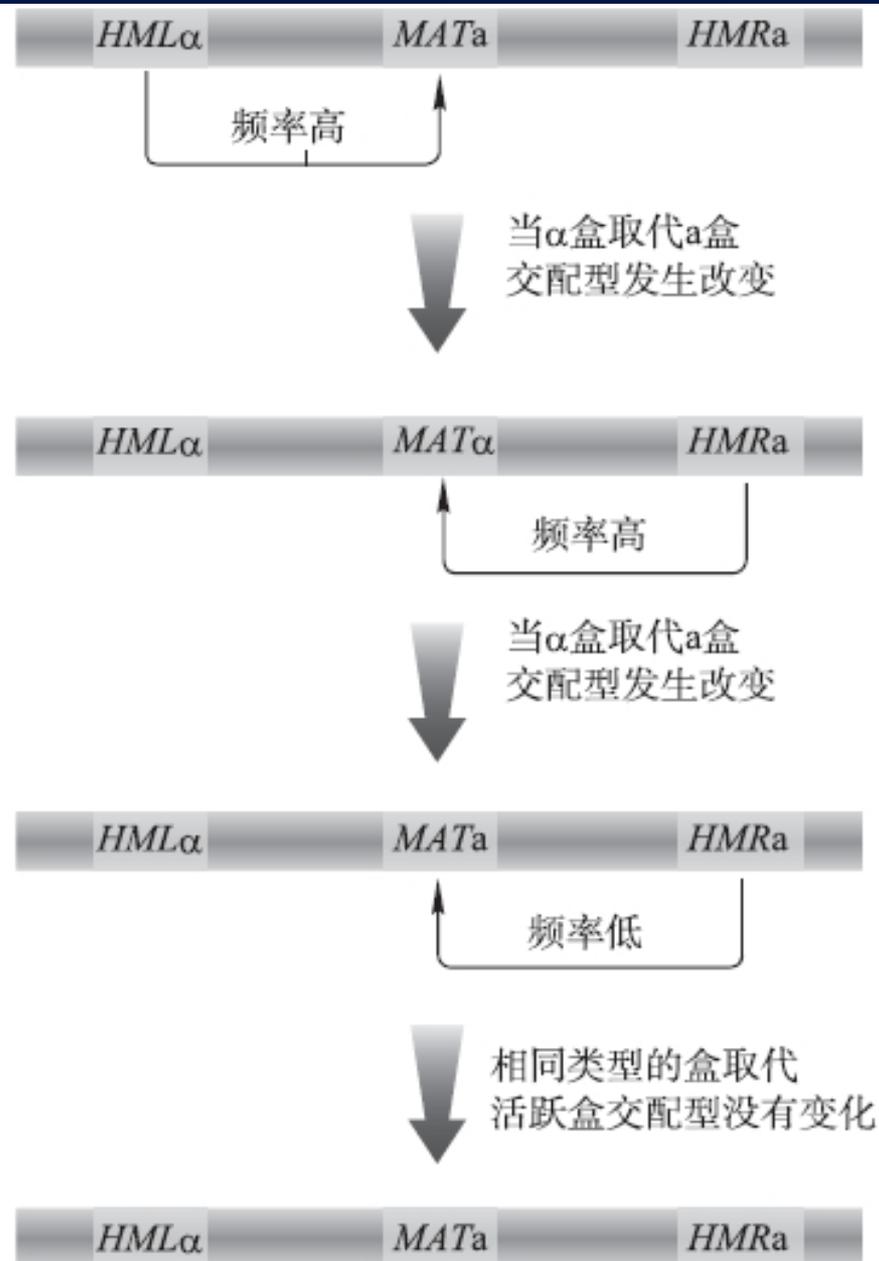


图 7 - 16 酵母接合型转变(引自 Krebs 等,2014)

比较两个沉默盒（ $HML\alpha$ 和 $HMR\alpha$ ）与两个活跃盒（ $MAT\alpha$ 和 $MAT\alpha$ ）的序列，结果表明： $HML\alpha$ 、 $MAT\alpha$ 、 $MAT\alpha$ 均由W、X、Y、 Z_1 、 Z_2 5部分组成，而 $HMR\alpha$ 仅由X、Y、 Z_1 3部分组成（表7—5）

表 7 - 5 酵母 4 种与接合型相关盒序列组成及长度

单位:bp

盒	W	X	Y	Z_1	Z_2	总长
$HML\alpha$	723	704	747	239	88	2 501
$MAT\alpha$	723	704	747	239	88	2 501
$MAT\alpha$	723	704	642	239	88	2 396
$HMR\alpha$		704	642	239		1 585





Y为中心区，两个活跃盒的差异就在Y区，因此基因产物也不同。*MAT α* 编码 a_1 和 a_2 两种调节蛋白；*MAT α* 仅编码 α_1 一种调节蛋白。同时在Y区的左端，4种盒都有序列完全相同的启动子，但只有两个活跃盒表达，而且有相同的Y区的沉默盒都不能表达（图6-30）

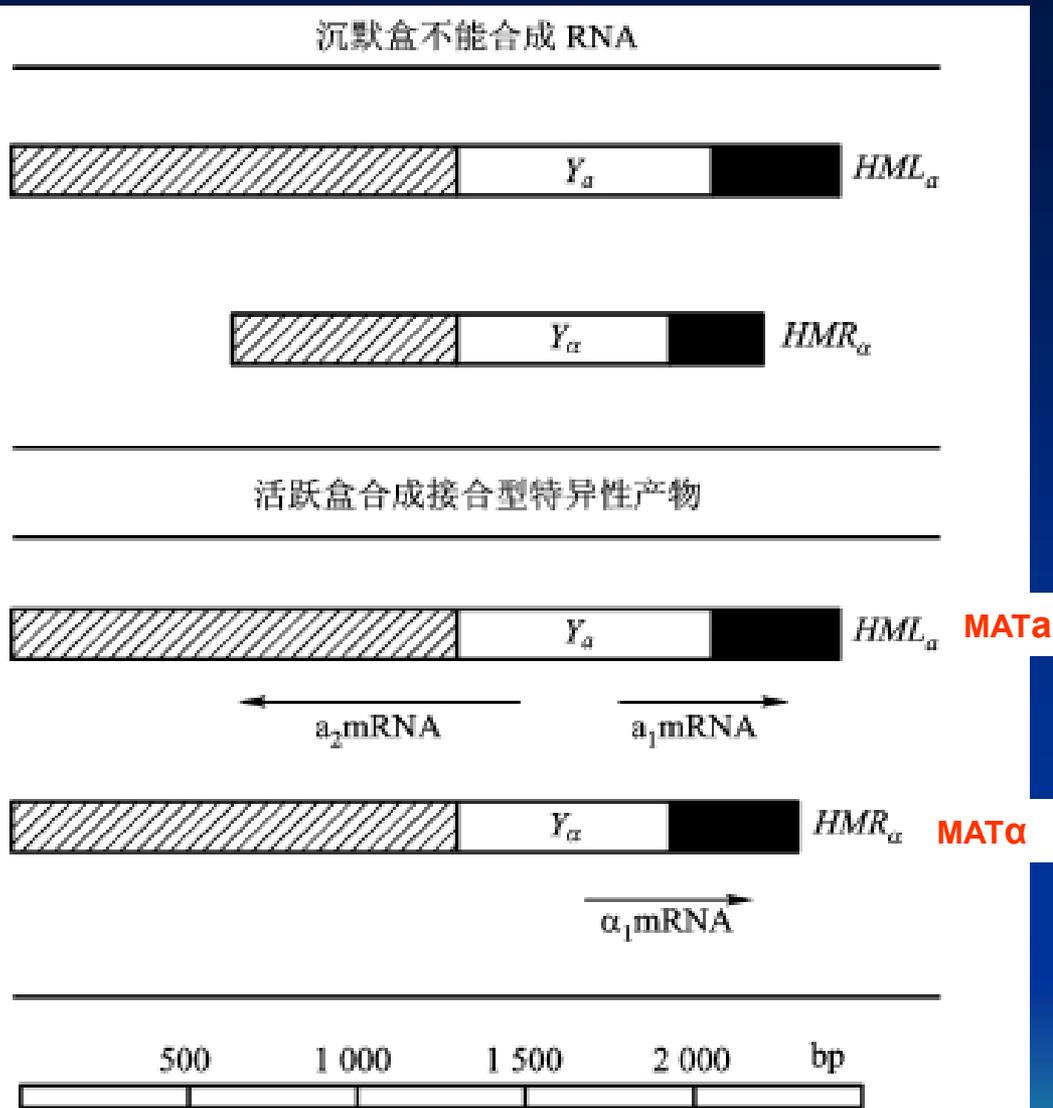


图 6-30 a 与 α 之间 Y区的差异



沉默盒的表达调节不是直接依赖于识别启动子位点来完成的

接合型的建立和转换功能的实现涉及一系列基因：

控制接合型的基因（*MAT*）、控制接合型转换的基因（*HO*）

抑制HO表达的基因（*SIN 1~5*），

阻遏沉默盒基因表达的阻遏蛋白4个亚基的基因*sir1~4*

（silent information repressor, *sir*）

缺失突变分析表明，在两个沉默盒启动子上游1.5 kb有抑制表达的靶位点：
EL是位于HML上游的靶位点，ER是位于HMR上游的靶位点。

E位点的行为类似负增强子（negative enhancers），可在离启动子2.5 kb远距离行使功能，且无方向性。有时称它为沉默子（silencer）。而活跃盒上游无E位点。阻遏蛋白（SIR）的结合位点正是E位点，它们可能是通过改变染色质结构而阻止基因表达的。此外，两个沉默盒又缺乏DNA酶I超敏感点，而活跃盒的两个转录单位上游各含有一个超敏感点。这也可能是造成活跃盒和沉默盒表达活性差异的原因。



沉默子 (silencer)

又称“沉默基因 (silent gene)”。是帮助降低或关闭邻近基因表达活性的一段DNA顺式元件序列。

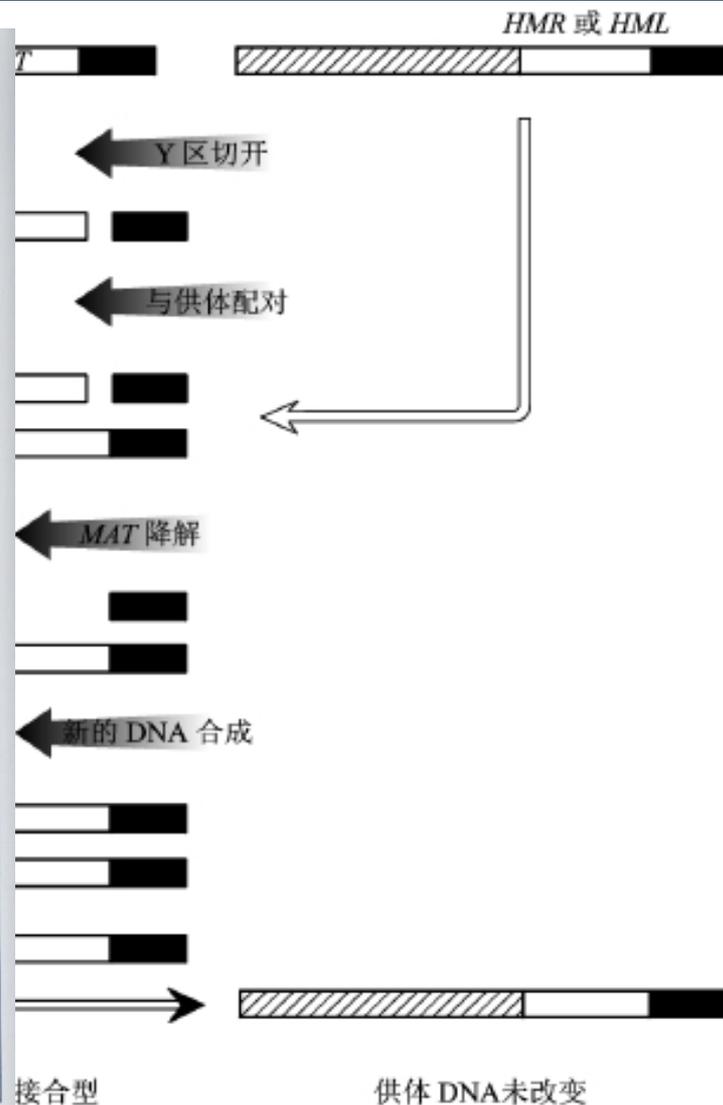
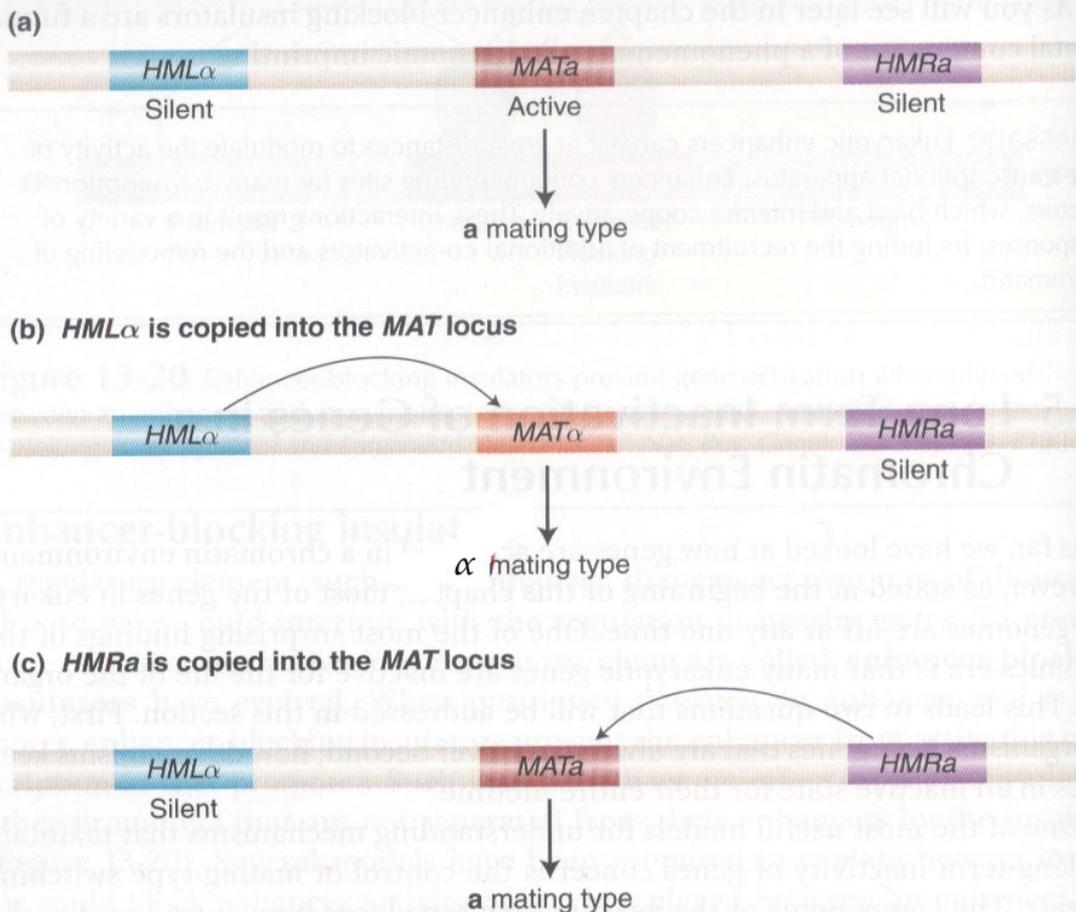




酵母MAT序列的转换是一种具有多方面特性的重组过程

接合型转换说明发生了基因转变，即受体位点（MAT）转变成供体类型（HML或HMR）的序列，而且此过程是单向的。通过点突变已鉴定出在MAT的Y右侧一位点是结合型转换的必需位点，Y—Z边界是一个DNA改变位点，它标志着转换事件的起始位点，在经历转换的细胞群体中，MAT座位有1%~3% DNA在此位置上有双链切口，此切口靠近边界且与DNase超敏感位点一致。已知*HO*基因编码一种内切酶，该酶作用于MAT盒上Y区的右侧，其识别序列为TTTCAGCTTTCCGC AACAGTATA。切开双链缺口，分裂产生一个4 bp的单链末端 [图6—31（a）]。正是这种双链断裂起始了MAT序列的转变过程

Mating-type switching is controlled by recombination of DNA cassettes



(b)

Figure 13-22 *S. cerevisiae* chromosome III encodes three mating-type loci, but only the genes at the MAT locus are expressed. *HML* encodes a silent cassette of the α genes, and *HMR* encodes a silent cassette of the *a* genes. Copying of a silent cassette and insertion through recombination at the MAT locus switches mating type.

受体 MAT 双链断裂起始接合型转变
酶切 Y 区右侧 (b) MAT 序列转变过程

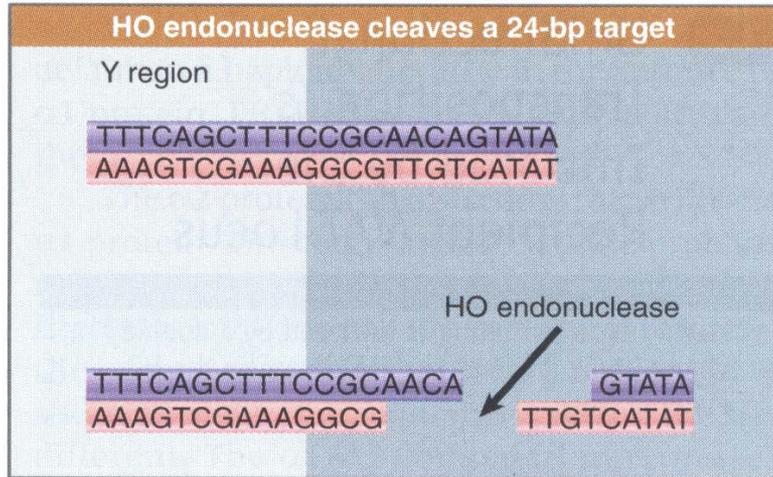


FIGURE 19.38 HO endonuclease cleaves *MAT* just to the right of the Y region, which generates sticky ends with a 4-base overhang.

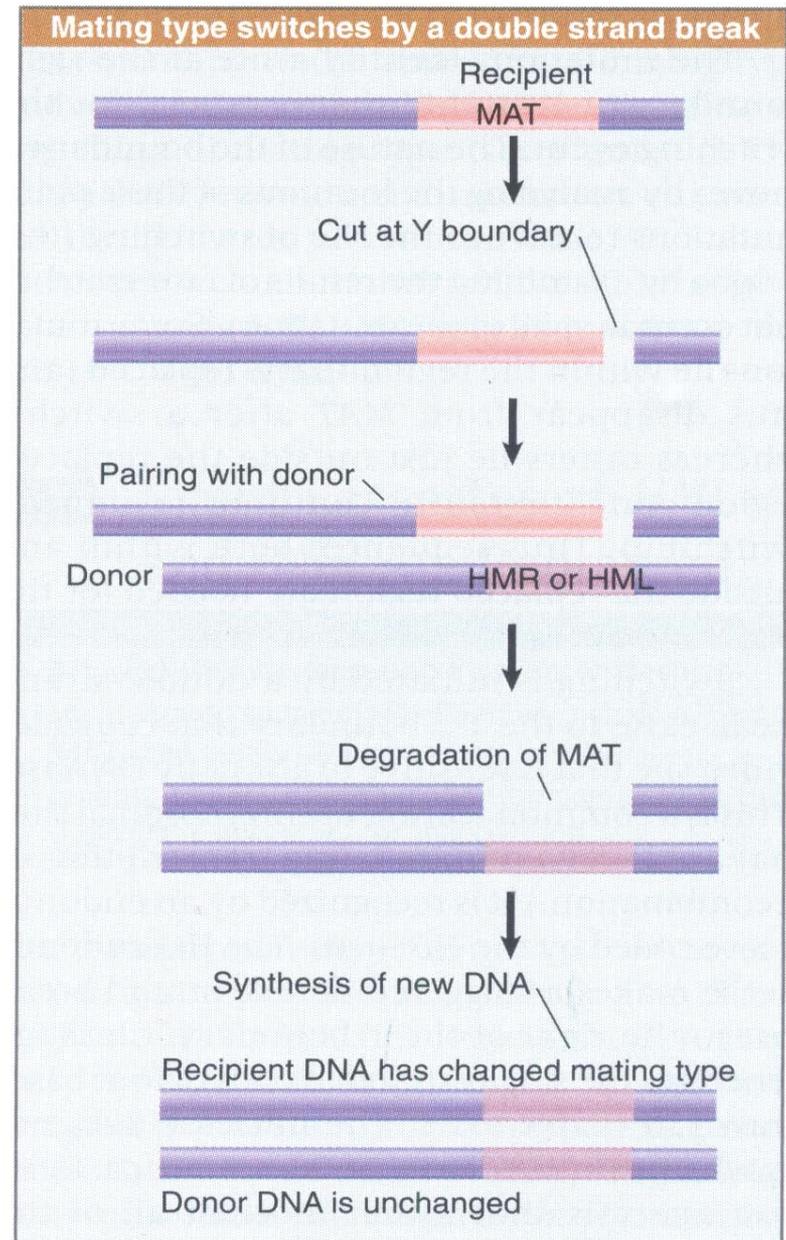


FIGURE 19.39 Cassette substitution is initiated by a double-strand break in the recipient (*MAT*) locus, and may involve pairing on either side of the Y region with the



武汉大学

Wuhan University

本章结束

作业： P170-5、 P170-7

p171-10

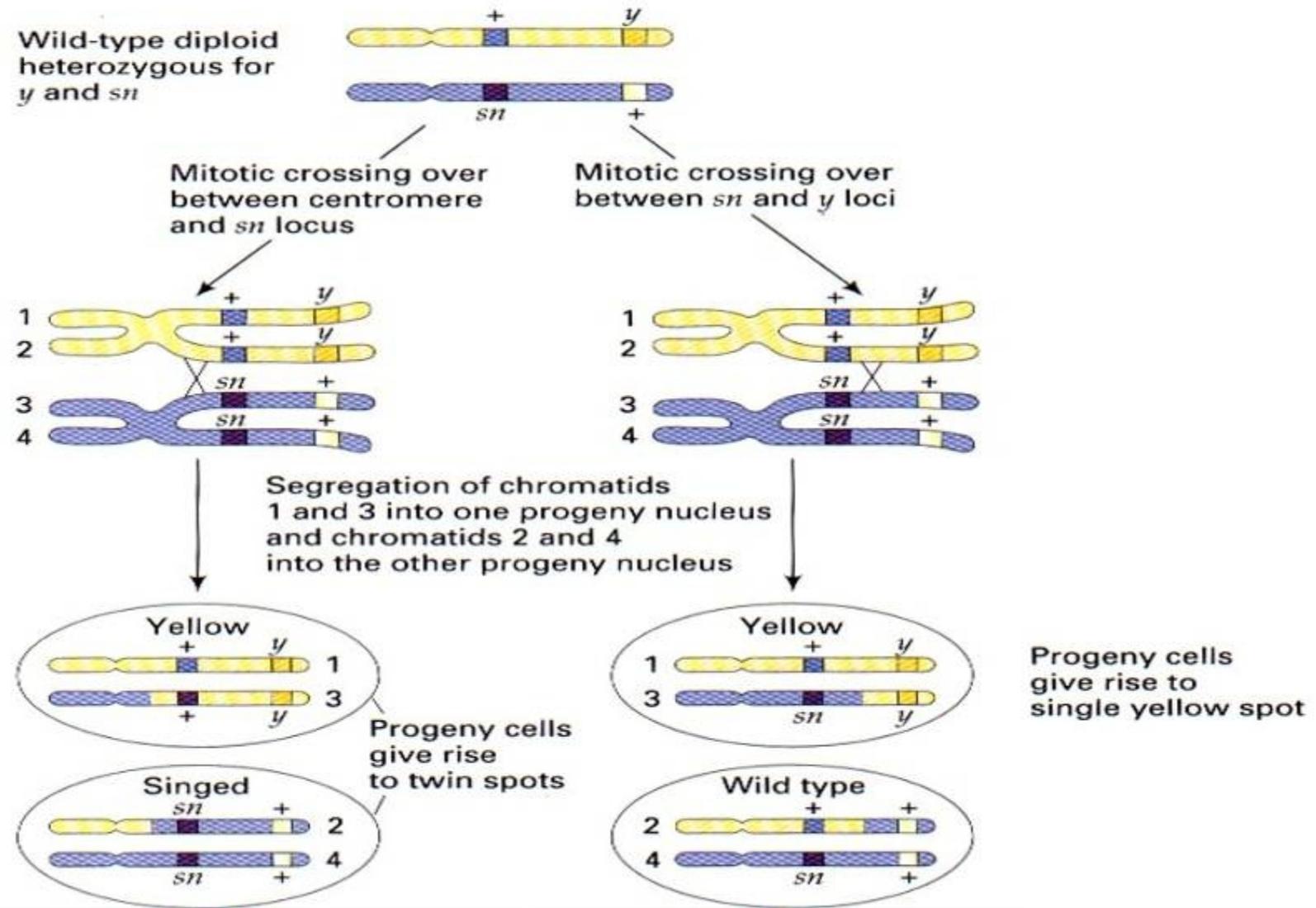
谢谢！





~ FIGURE 6.9

Production of the twin spot and of the single yellow spot shown in Figure 6.8 by mitotic crossing-over.



mutant *RB* was inherited through the germline.

a) Sporadic retinoblastoma

b) Hereditary retinoblastoma

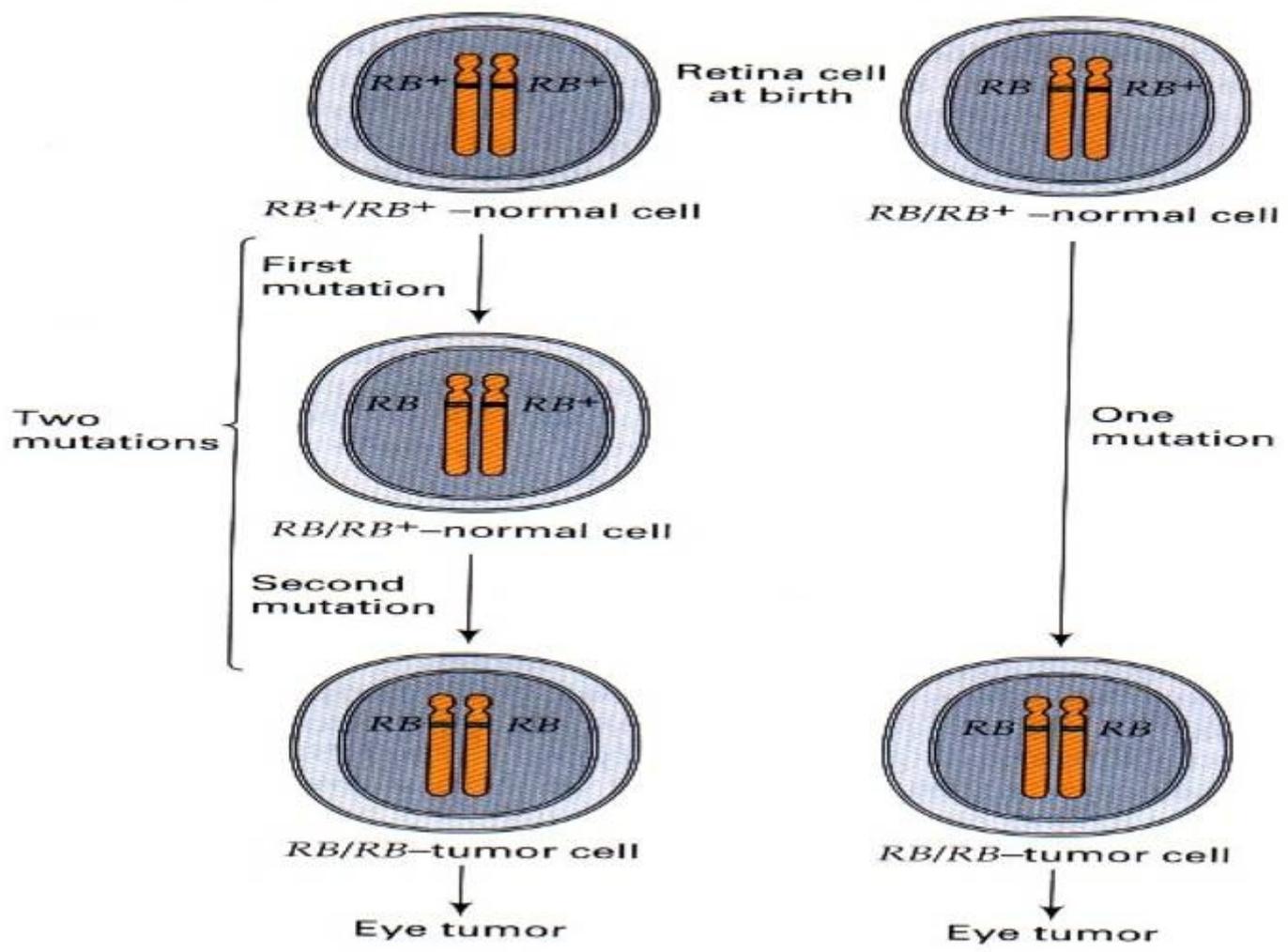


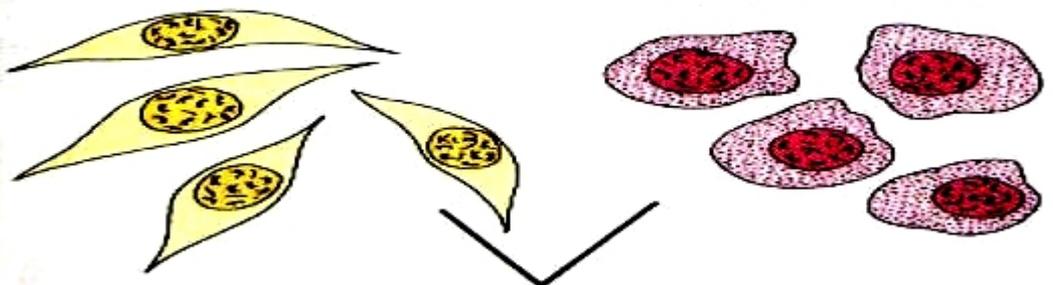


FIGURE 6.16

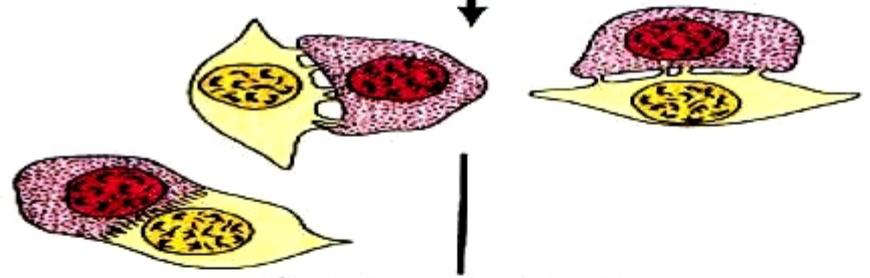
HAT technique for selecting fused, hybrid mouse-human cells.

Human cells, TK⁺ and HGPRT⁻

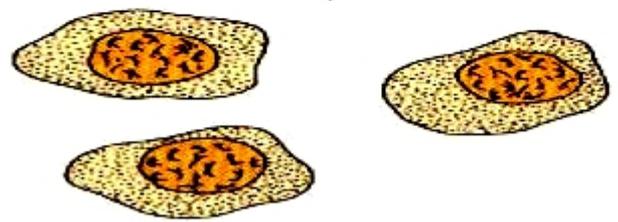
Mouse cells, TK⁻ and HGPRT⁺



Cell fusion



Aminopterin added to inhibit growth of TK⁻ and HGPRT⁻ cells



Only mouse-human hybrid cells (TK⁺/TK⁻ and HGPRT⁺/HGPRT⁻) proliferate.

5.18

返回



~ FIGURE 7.20

Trisomy-21 (Down syndrome): (a) Karyotype; (b) Individual.

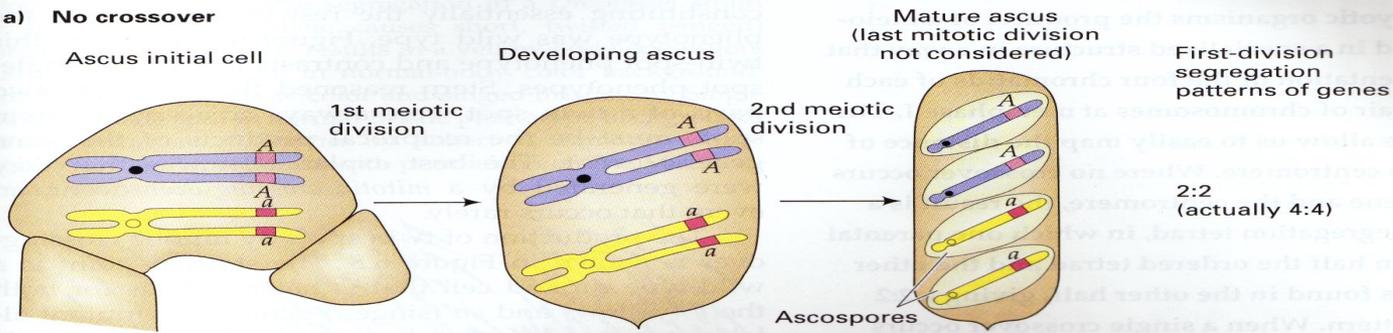


a)

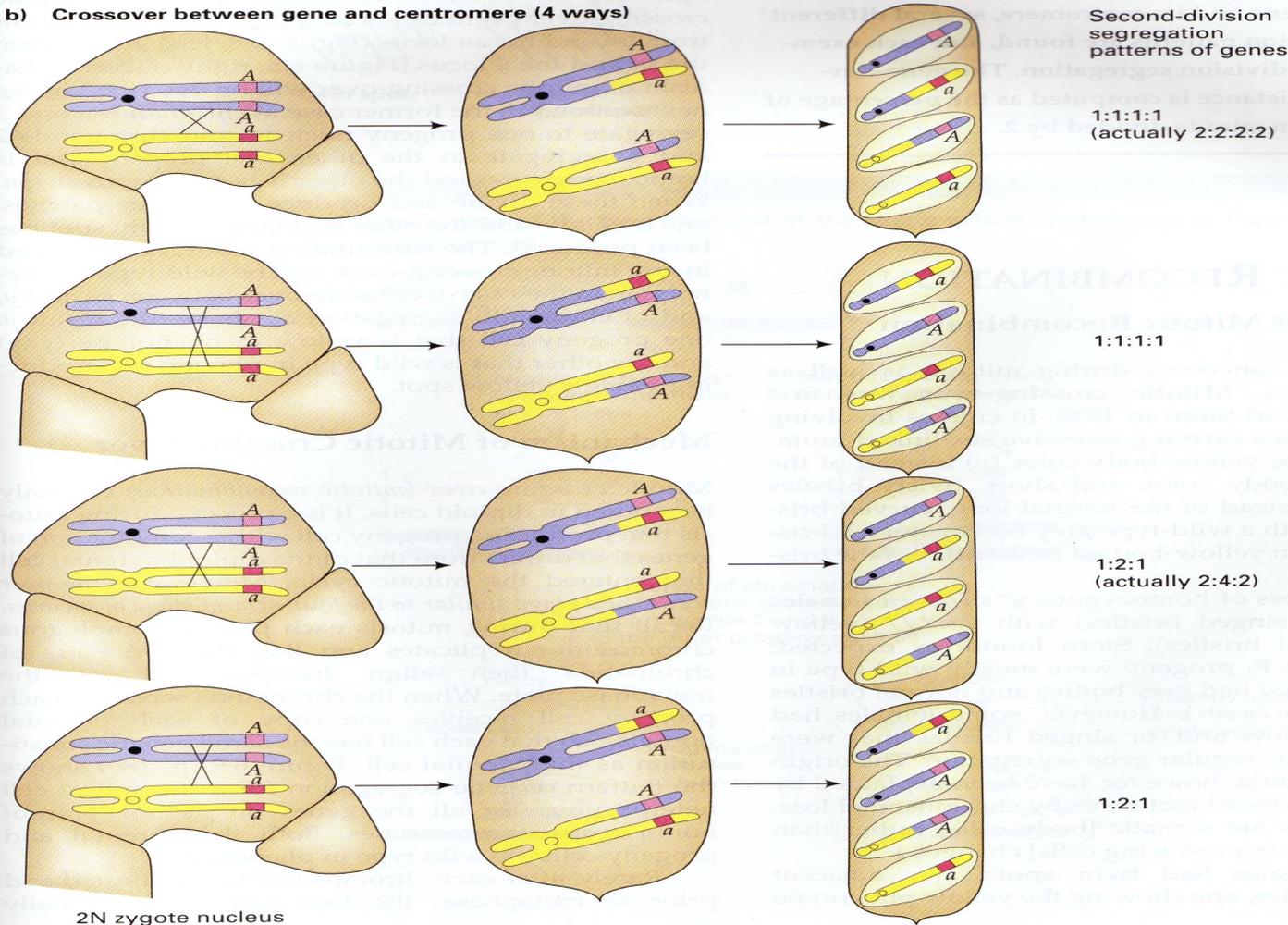


b)

a) No crossover



b) Crossover between gene and centromere (4 ways)



gp177

返回

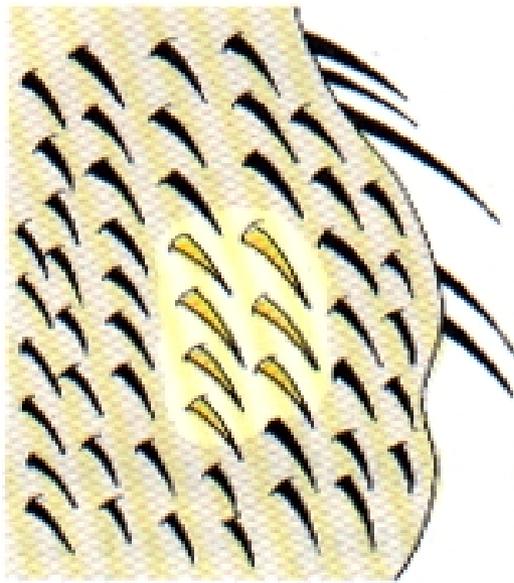
返回b



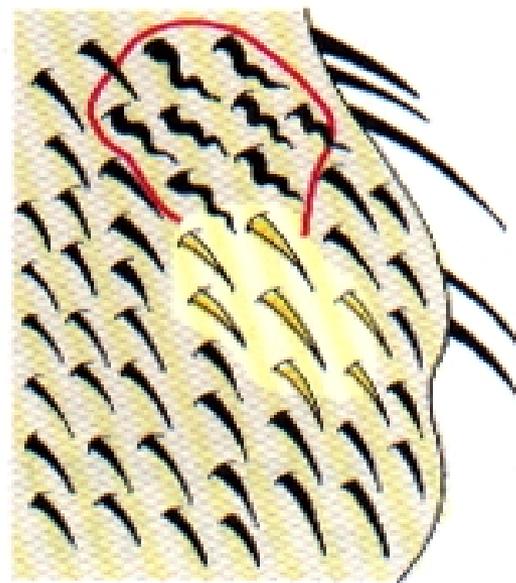


~ FIGURE 6.8

Body surface phenotype segregation in a *Drosophila* strain $y^+ sn/y sn^+$. The *sn* allele causes short, twisted (singed) bristles, and the *y* allele results in a yellow body coloration:
(a) Single yellow spot in normal-body color background;
(b) Twin spot of yellow color and singed bristles; (c) Single singed-bristle spot in normal-bristle phenotype background.



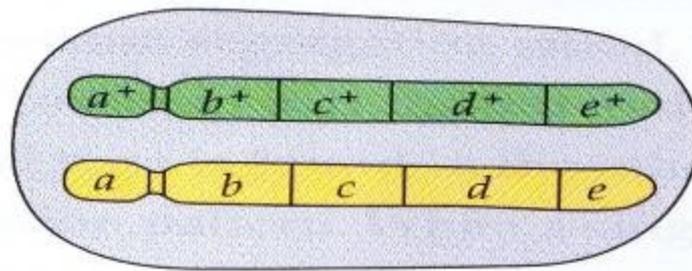
a) **Single yellow spot**



b) **Twin spot**

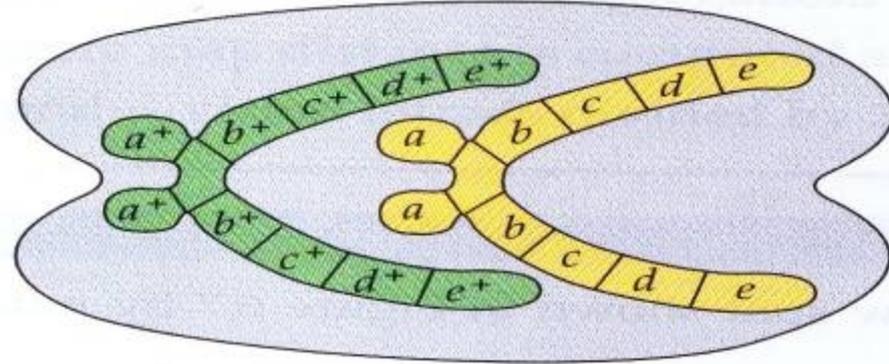


c) **Single singed spot**



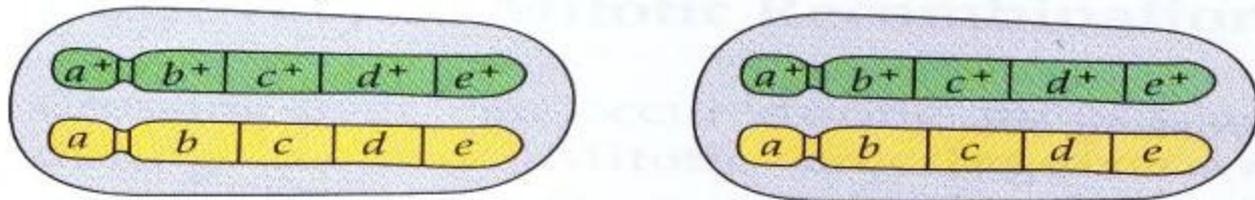
Parent 2N cell with one pair of homologous chromosomes: wild-type phenotype

Cell enters mitosis



After chromosome replication, chromatids migrate to opposite poles

Completion of mitosis



Progeny 2N cells, both with wild-type phenotype



HAT培养基筛选

H, 次黄嘌呤; A, 氨基喋呤; T, 胸腺嘧啶

(Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase)
次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 (HGPRT)



核苷合成
前体物质

四氢叶酸还原酶

A

内源性途径(主要途径)

DNA

外源性途径(旁路途径)

胸腺嘧啶激酶 (TK)
(Thymidine kinase)

B淋巴细胞: HGPRT⁺, TK⁺ → 存活

骨髓瘤细胞: HGPRT⁻, TK⁻ → 死亡

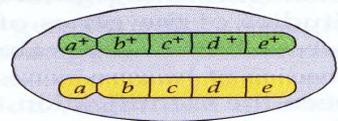
Salvage pathways

antifolates

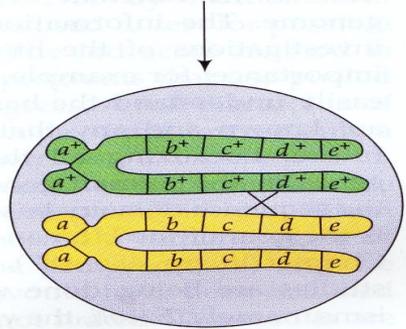
ifolate

se)

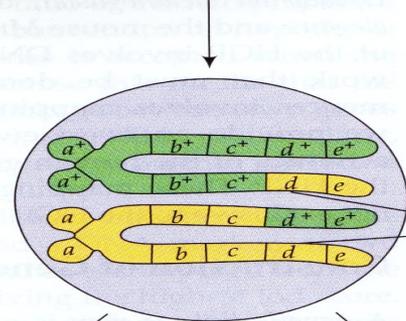
返回



Parental 2N cell with wild-type phenotype



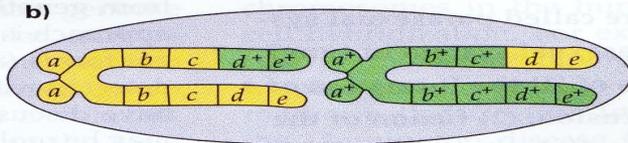
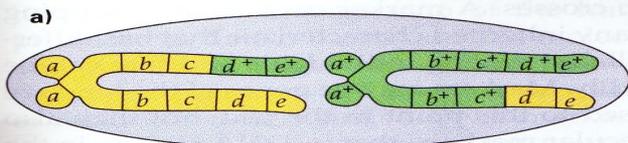
Chromosome replication and rare formation of a mitotic tetrad



Crossover occurs between c and d loci

Recombinant chromatids result from crossover

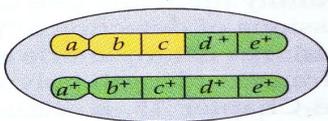
Pairs separate and orient in one of two possible ways



Mitosis is completed

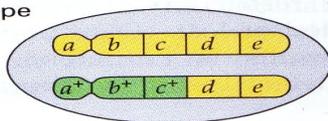
Wild-type phenotype

1



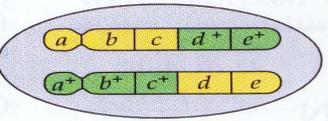
de phenotype

2



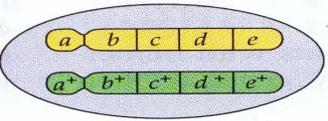
Wild-type phenotype

3



Wild-type phenotype

4



gp182

[返回](#)

