

# 现代遗传学

## 基因的突变及筛选

高志勇

# 遗传学研究之“道”

# 提出问题

- 人的寿命受什么控制？
- 梅花为什么在冬天开放？

# 表型异常 → 基因的异常



环境条件变化

表型异常

基因变化

**研究对象的选择？**

# 异常基因的定位

# 正向遗传学

表形差异 → 基因差异 → 基因功能

野生型红花 → RR →

突变型白花 → rr →

R基因控制花的颜色



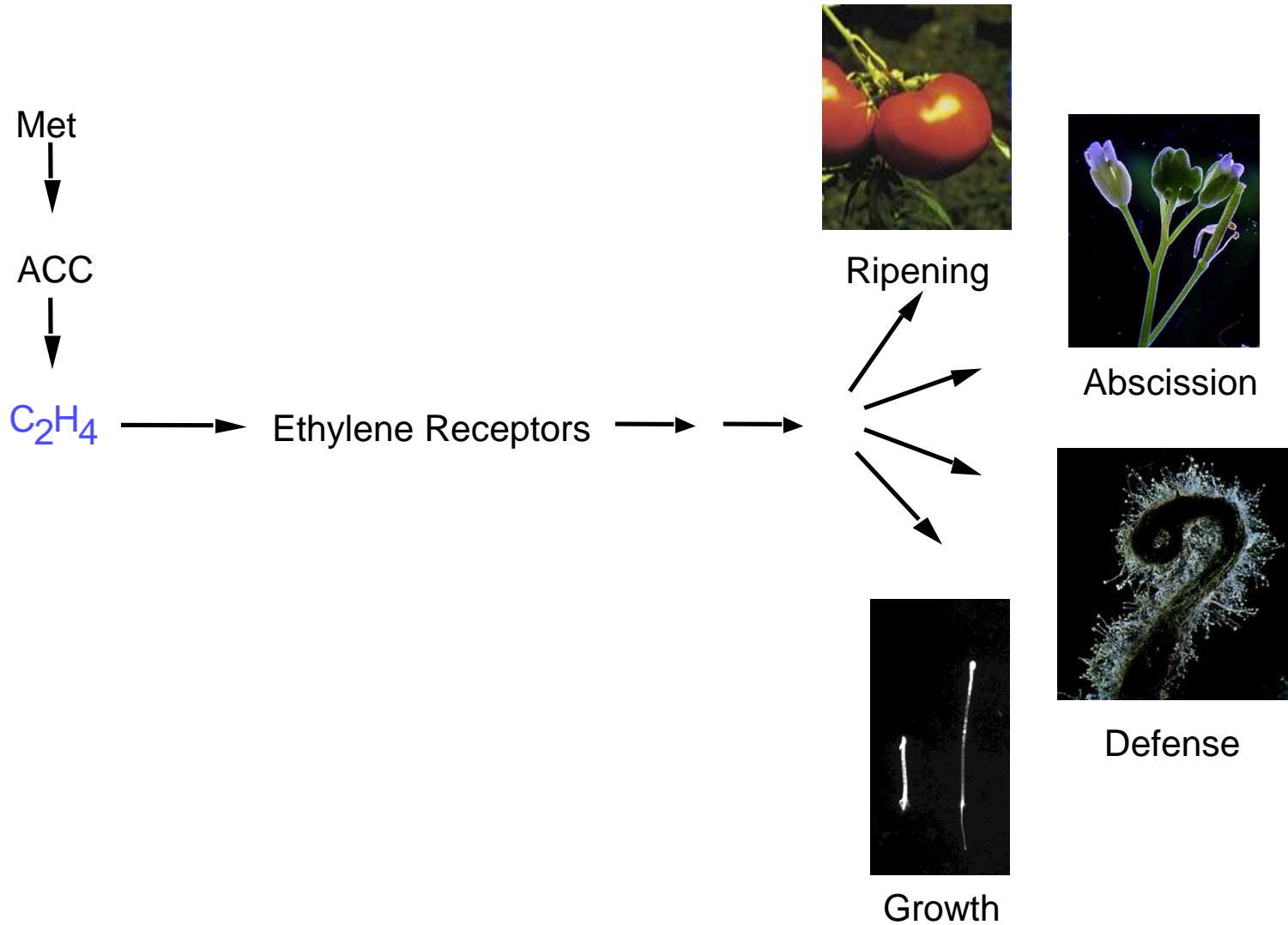
# 模式植物-拟南芥(*Arabidopsis*)

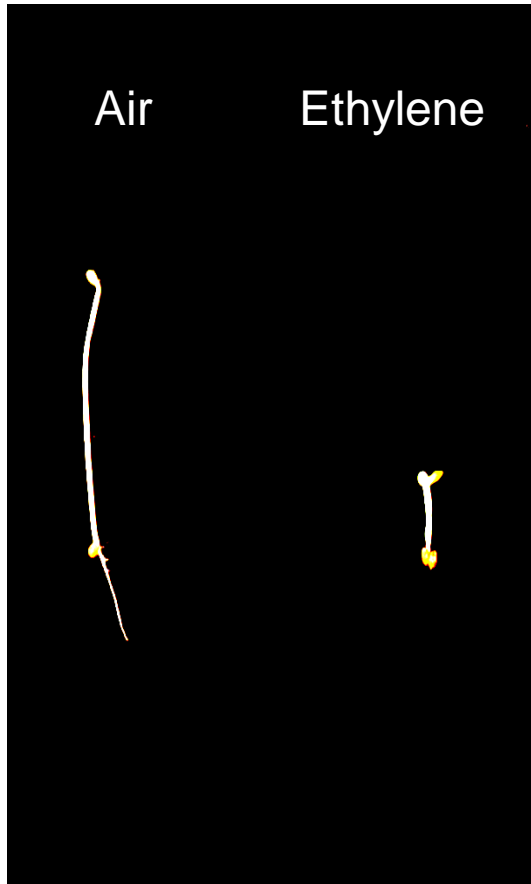


基因组135M  
5条染色体  
27000基因

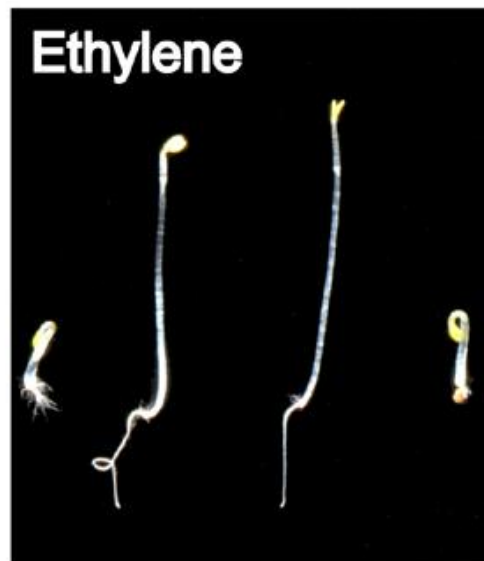
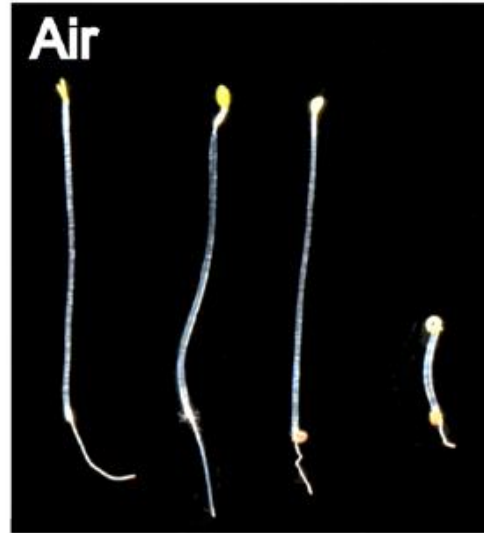


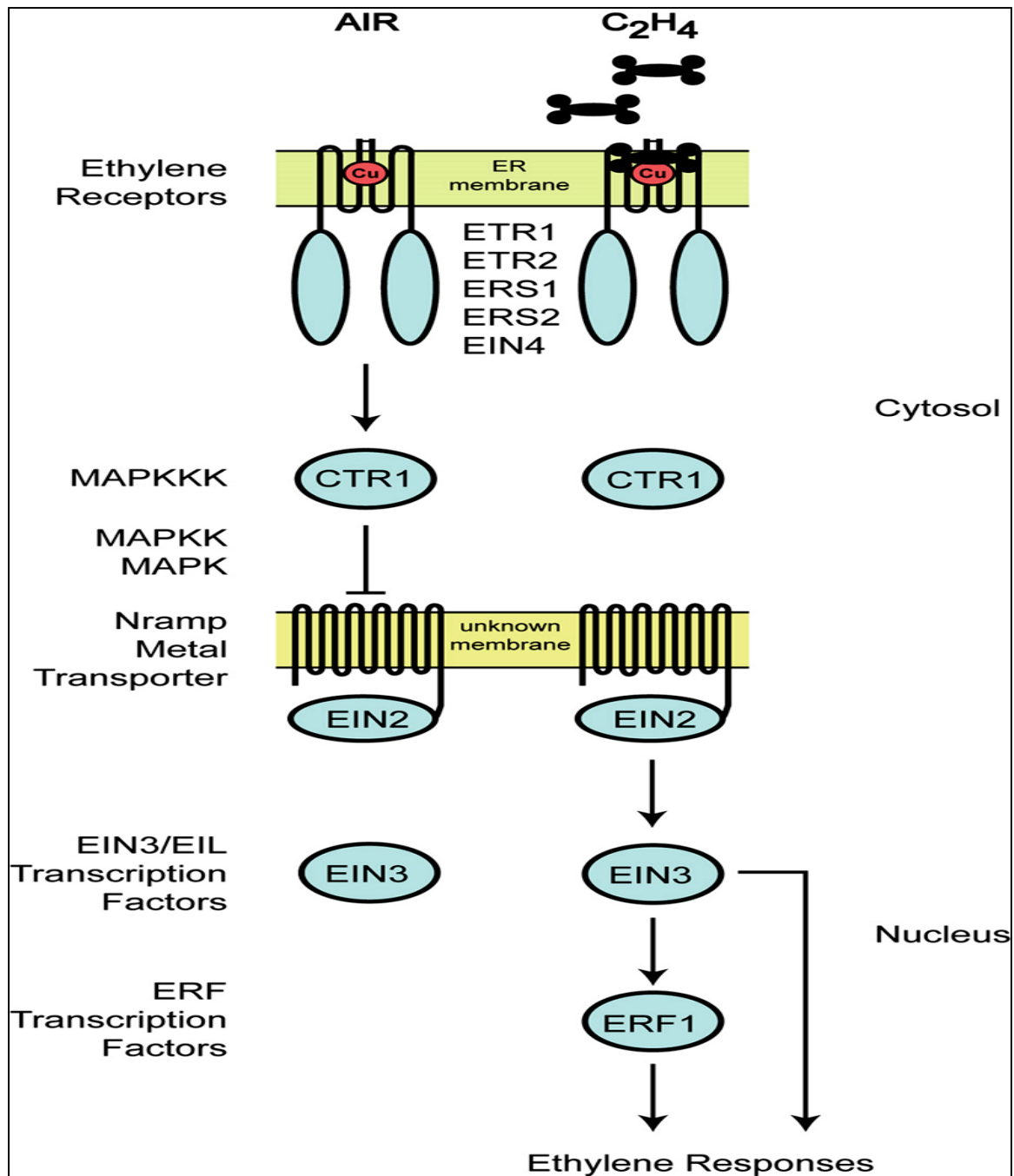
# Ethylene is a plant hormone





WT    *etr1-1*    *ein2*    *ctr1-2*





# SA信号转导

SA → NPR1 → → PR基因上调

实验设计： SA-----→PR基因上调

建立ProBGL2: GUS转基因植物

正常植物+SA-----→ GUS生成, GUS酶活性升高, 染色为蓝色

SA信号转导突变体+SA-----→GUS不被诱导, 无酶活性, 染色为白色

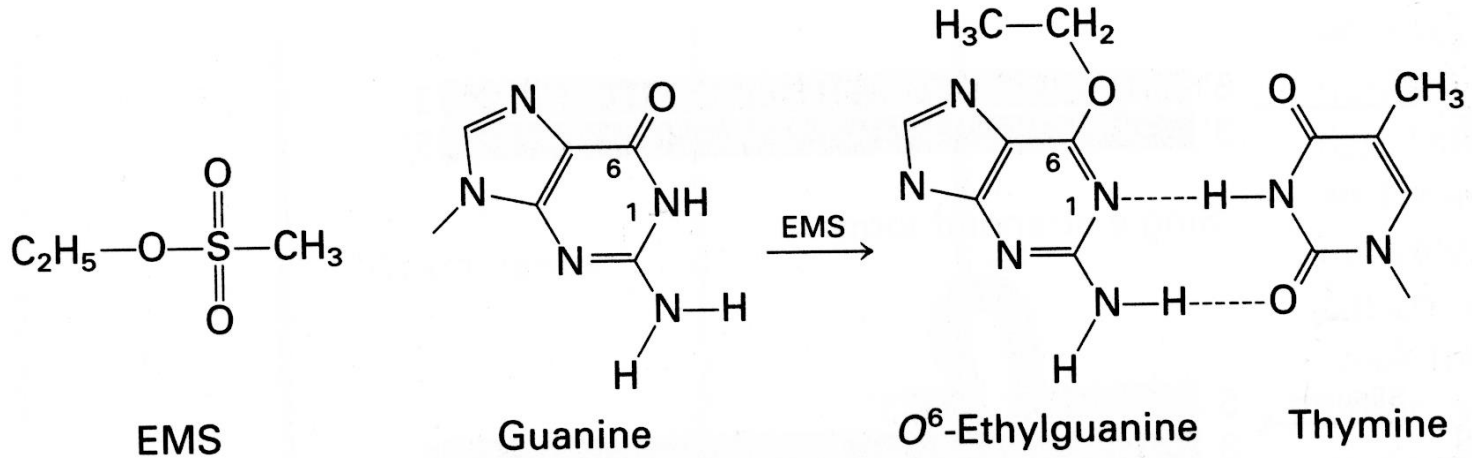
宏观遗传表形与分子遗传表形

# 基因的突变—自发突变

生态型（ecotype）是指同一物种内因适应不同生境而表现出具有一定结构或功能差异的不同类群。此词主要用于植物。生态型是遗传变异和自然选择的结果，代表不同的基因型，所以即使将它们移植于同一生境，仍保持其稳定差异。不过不同生态型之间可以自由杂交；型间差异尚不足以作为物种的分类标志。

如：拟南芥不同生态型开花时间不同，所需春化时间不同。基因组测序可以发现序列的不同。

# 基因的突变—化学突变



G:::C      突变为      A::T

A::T      突变为      G:::C



## 13.1.2 点突变的分子效应

### (1) 突变发生在基因编码区

在蛋白质水平上可造成：

① 同义突变（*synonymous mutation*） 某基因的一个碱基对的变化改变了mRNA中的一个密码子，该密码子与原密码子一样编码相同的氨基酸，产生的蛋白质仍为野生型功能。若碱基替换发生在密码子的第三位时，由于密码子的简并性，并不能产生错误的氨基酸，故同义突变又称为沉默突变（*silent mutation*）。

例：由 $AT \rightarrow GC$ 转换突变而产生的一个沉默突变使密码子从5'-AAA-3'变为5'-AAG-3'，这两种密码子都是Lys的专用密码子

- f) **Silent mutation (change in codon such that the same amino acid is specified; here an AT-to-GC transition in the third position of the codon gives a codon that still encodes lysine)**

5' ... TCTCAA**AA**TTTACG ... 3'  
 3' ... AGAGTT**TTT**AAATGC ... 5'

... - Ser - Gln - **Lys** - Phe - Thr - ...

5' ... TCTCAA**AG**TTTACG ... 3'  
 3' ... AGAGTT**TTT**CAATGC ... 5'

... - Ser - Gln - **Lys** - Phe - Thr - ...

- g) **Frameshift mutation (addition or deletion of one or a few base pairs leads to a change in reading frame; here the insertion of a GC base pair scrambles the message after glutamine)**

5' ... TCTCAA**AA**TTTACG ... 3'  
 3' ... AGAGTT**TTT**AAATGC ... 5'

... - Ser - Gln - **Lys** - Phe - Thr - ...

5' ... TCTCAA**G**AAATTTACG ... 3'  
 3' ... AGAGTT**G**TTTAAATGC ... 5'

... - Ser - Gln - **Glu** - **Ile** - **Tyr** - ...

## ②错义突变 (missense mutation) :

由于单个碱基替换导致肽链中的氨基酸发生改变。

在DNA中一对碱基的改变引起一个mRNA密码的改变，结果使得多肽链中原来的一个氨基酸，变为另一个氨基酸，导致表型的改变。

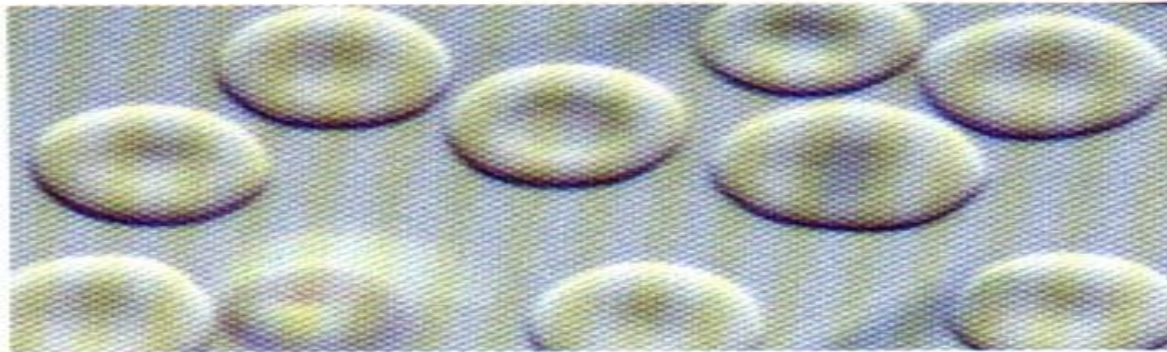
如图13-2C，一对碱基AT→GC转换突变，使得

DNA从5'-**AAA**-3'变成5'-**GAA**-3' mRNA密码子从

3'-**TTT**-5' → 3'-**CTT**-5'

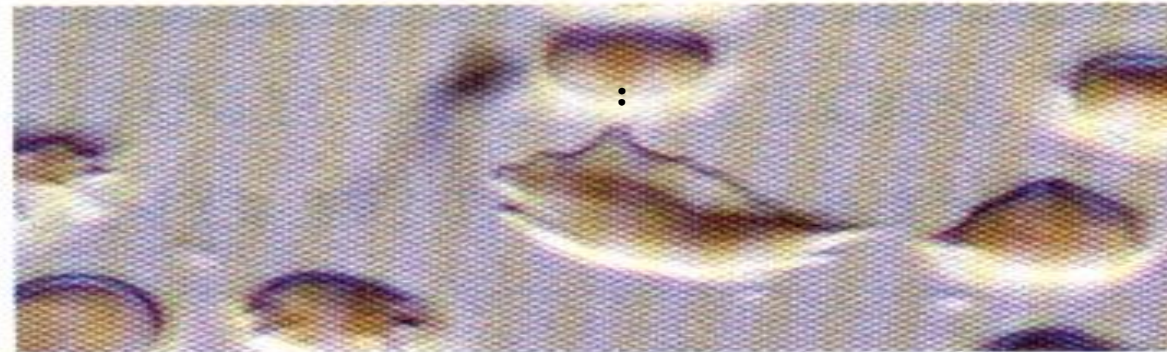
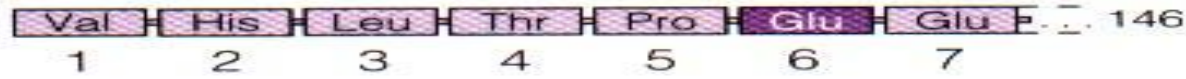
5'-**AAA**-3' (Lysine) 5'-**GAA**-3' (Glutamic acid 谷氨酸)。

例如：人的β-hemoglobin基因在第六个密码子上一对核苷酸的变化导致β-hemoglobin链的一个氨基酸替换 (Glu→Val)，若该个体是突变的纯合子，他将是镰刀形贫血病患者，HbA→Hbs



(a) Normal red blood cells

10  $\mu$ m



(b) Sickled red blood cells

10  $\mu$ m



**FIGURE 17-1**

**Missense mutation in sickle cell anemia.**

(a) Normal red blood cells and the normal amino acid sequence of the  $\beta$ -globin gene.

(b) Sickled red blood cells and the missense mutation in the  $\beta$ -globin gene.

### ③无义突变 (nonsense mutation) :

由于某一碱基被替换后，原来编码某一氨基酸的密码子突变成为终止密码子 (UAG、UAA或UGA)，从而造成蛋白质尚未全部合成就终止了翻译，形成无功能的多肽链。

因为一个无义突变使多肽链在不正确的地方链终止，这种突变提前使肽链终止。

如果无义突变发生在靠近基因的开放阅读框的3'末端，则所产生的蛋白质有可能保有一些生物学功能，但多数的无义突变产物的功能往往会完全丧失。

d) Nonsense mutation (change from an amino acid to a stop codon; here a transversion mutation from AT to TA changes the codon from lysine to UAA stop codon)



... - Ser - Gln - **Lys** - Phe - Thr - ...



... - Ser - Gln - **Stop**



e) Neutral mutation (change from an amino acid to another amino acid with similar chemical properties; here an AT to GC transition mutation changes the codon from lysine to arginine)



... - Ser - Gln - **Lys** - Phe - Thr - ...



... - Ser - Gln - **Arg** - Phe - Thr - ...



图13—4

#### ④中性突变 (neutral mutation) :

基因中一个碱基对的变化改变mRNA的一个密码子，产生氨基酸的替换，但不影响蛋白质的功能，从mRNA信息翻译的蛋白质的功能上检测不到所发生的变化。中性突变是一组错义突变，在这些突变的地方新的密码子编码一种不同的氨基酸从化学上与原来的氨基酸相等，因此并不影响蛋白质的功能。

*AAA → AGA*

*Changing basic Lys to basic Arg*

*(will not alter protein function in many cases)*

# 基因的突变—辐射突变

基因片段缺失。1 bp to >30K bp, 通常在 1 to 4 kb。



# 正向遗传突变体筛选

## Genetic Analysis of Ethylene Signal Transduction in *Arabidopsis thaliana*: Five Novel Mutant Loci Integrated into a Stress Response Pathway

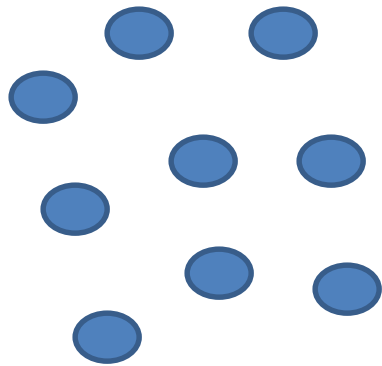
Gregg Roman, Barry Lubarsky, Joseph J. Kieber,<sup>1</sup> Madge Rothenberg and Joseph R. Ecker

*Plant Science Institute, Department of Biology, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania 19104-6018*

Manuscript received October 12, 1994

Accepted for publication November 17, 1994

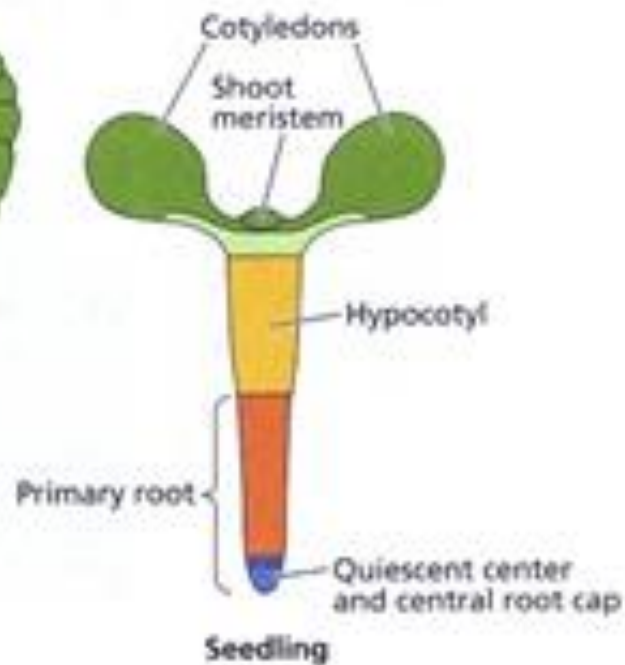
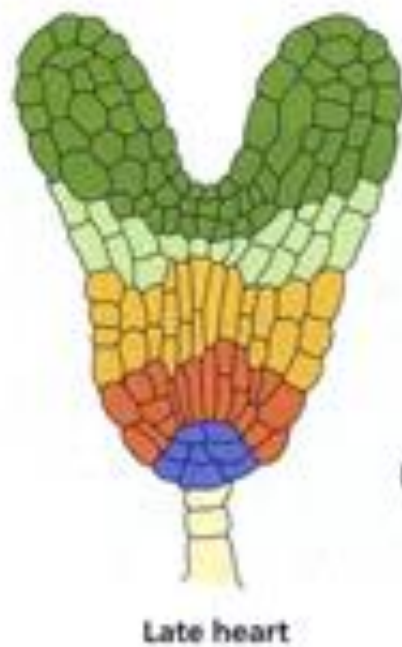
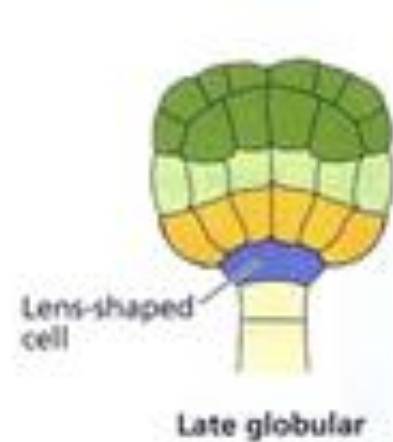
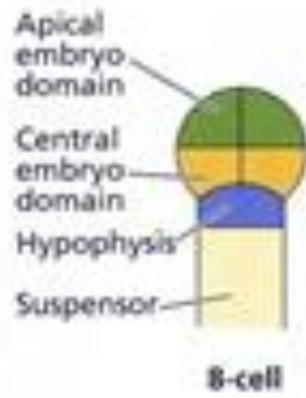
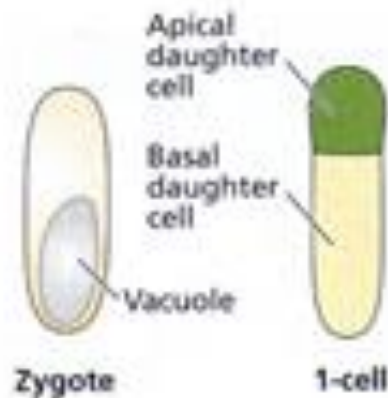
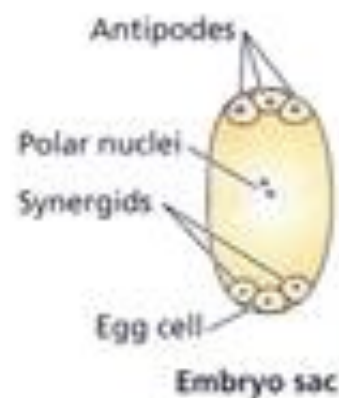
1. M<sub>0</sub>拟南芥种子 50,000粒进行EMS诱变。50,000粒进行X-射线诱变。
2. 种植突变种子获得M1代种子。M1种子自花授粉，产生M2代种子。1500个独立M1植株的M2代种子混合放在一起（Pools）。
3. M2代植物（10000-15000粒种子/Pool）进行筛选。



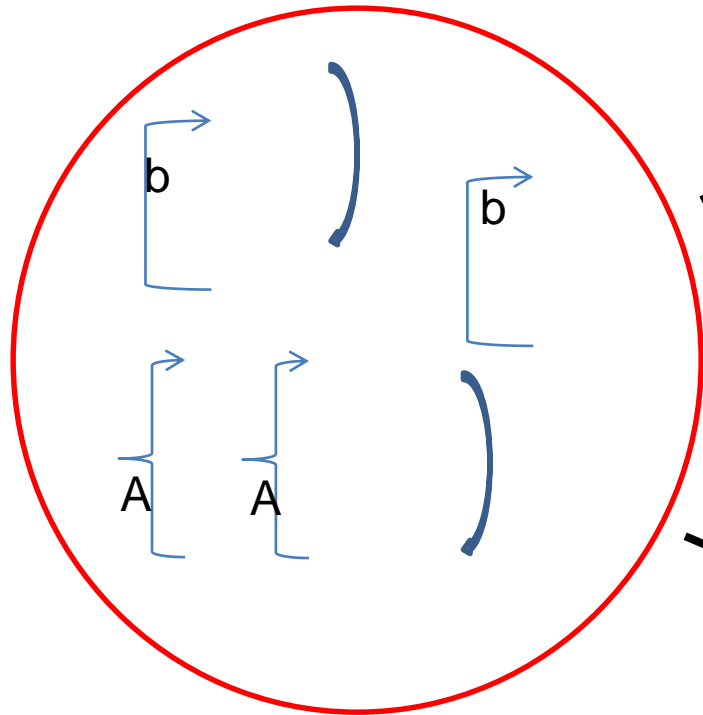
M<sub>0</sub>代种子

种子胚胎细胞

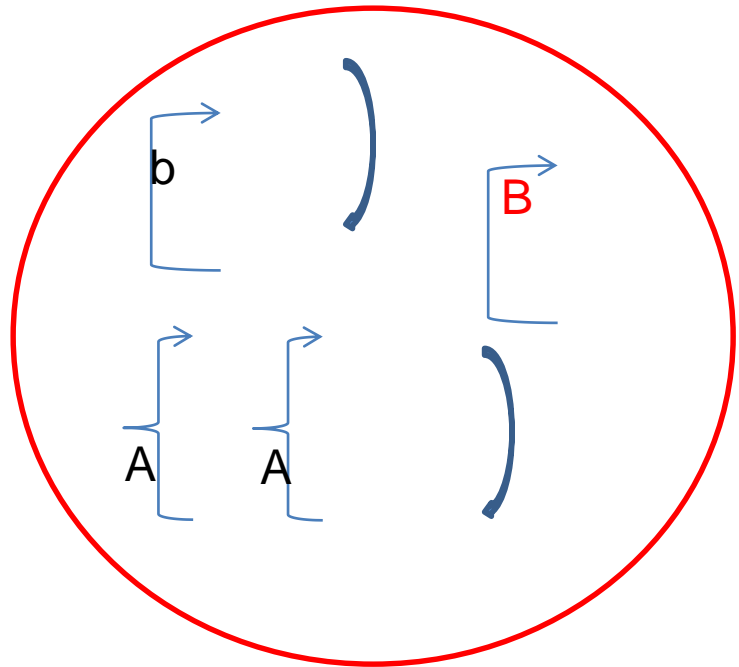
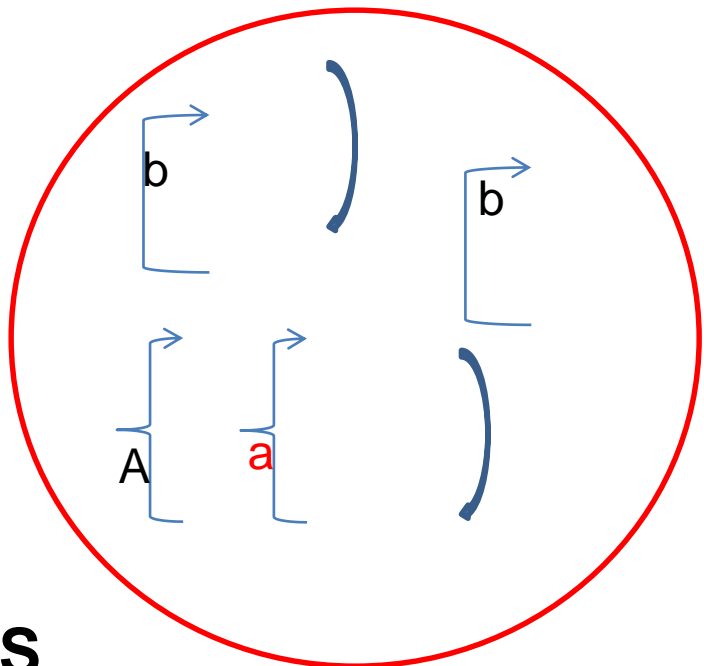




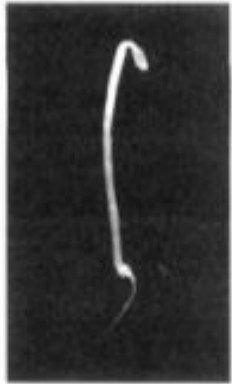
- 由突变处理过的M0种子生成的植物为M1植物，M1植物生成的种子为M1代种子。
- **M1植物的表型能用作突变筛选吗？**



**EMS**



# 突变体



Wild type/air



Wild type/ethylene



*eto1-1*/air



*ctr1-1*/air



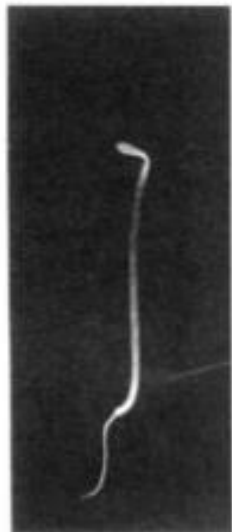
*eir1-1*/ethylene



*aux1-21*/ethylene



*hls1-1*/ethylene



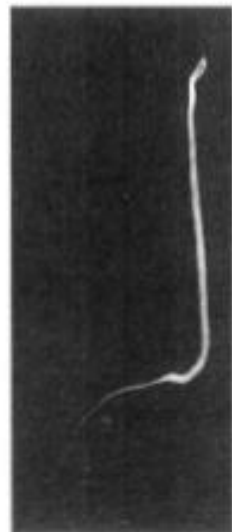
*etr1-3*/ethylene



*ein2-1*/ethylene



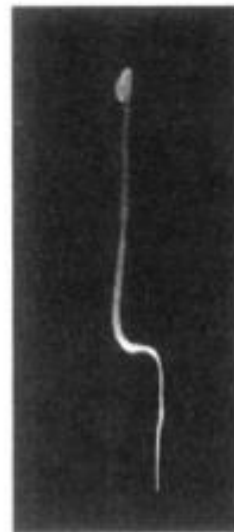
*ein3-1*/ethylene



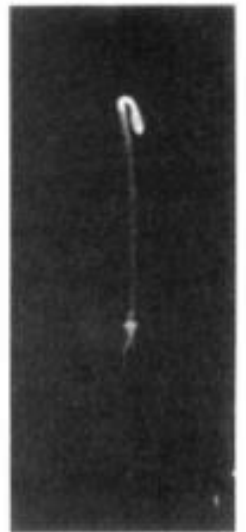
*ein4*/ethylene



*ein5-1*/ethylene



*ein6*/ethylene



*ein7*/ethylene

4. 筛选的M2代突变体与母体回交。F1代表形可以判断突变体的显隐性。F2代表形分离比可以判断突变表形是否为单基因控制。
5. 突变体间的互补实验可以判断潜在的突变基因是否为同一基因。

# 如何判断基因显隐性？

- 纯和突变体 $\times$ 野生型 $\rightarrow$ F1
- F1为野生型说明突变为隐性基因；
- 突变型 显性 ；



# 如何判断是单基因引起的突变？

- 纯和突变体 $\times$ 野生型 $\rightarrow$ F1  $\rightarrow$  F2分离比

# 互补实验

$a_1a_1BB \times a_2a_2BB \rightarrow a_1a_2BB$  (隐性表型)

(隐性) (隐性)

$aaBB \times AAbb \rightarrow AaBb$  (显性表型)

**TABLE 2**  
**Genetic segregation of new ethylene response mutants**

Strain/ generation	Female	Male	Ein <sup>+</sup>	Ein <sup>-</sup>	χ <sup>2</sup>
<i>ein4</i>					
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>ein4</i>	0	8	
F <sub>2</sub>			13	36	0.11
<i>ein5</i>					
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>ein5-1</i>	10	0	
F <sub>2</sub>			41	13	0.02
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>ein5-2</i>	5	0	
F <sub>2</sub>			53	19	0.07
F <sub>1</sub>	<i>ein5-1</i>	<i>ein5-2</i>	0	4	
F <sub>1</sub>	<i>ein5-1</i>	<i>ein2-1</i>	13	0	
F <sub>1</sub>	<i>ein5-1</i>	<i>ein3-1</i>	4	0	
<i>ein6</i>					
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>ein6</i>	9	0	
F <sub>2</sub>			374	38	54.7 <sup>b</sup>
F <sub>1</sub>	<i>ein6</i>	<i>ein2-1</i>	2	0	
F <sub>1</sub>	<i>ein6</i>	<i>ein3-2</i>	4	0	
F <sub>1</sub>	<i>ein6</i>	<i>ein5-2</i>	5	0	
<i>ein7</i>					
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>ein7</i>	0	6 <sup>c</sup>	
F <sub>2</sub>			33	46/104 <sup>d</sup>	5.3 <sup>e</sup>
F <sub>1</sub>	<i>ein5-1</i>	<i>ein7</i>	0	1	
F <sub>1</sub>	<i>ein5-2</i>	<i>ein7</i>	0	3	
<i>eir1</i>					
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>eir1-1</i>	19	0	
F <sub>2</sub>			48	18	0.19
F <sub>1</sub>	Wild type	<i>eir1-2</i>	9	0	
F <sub>2</sub>			101	24	2.24
F <sub>1</sub>	<i>eir1-1</i>	<i>eir1-2</i>	0	12	

<sup>a</sup> Wild type denotes the wild-type Columbia strain.

<sup>b</sup>  $P < 0.05$ .

<sup>c</sup> These *ein7* heterozygotes had phenotypes intermediate between that of the parental *ein7* homozygote and wild-type Columbia.

<sup>d</sup> Of these 150 Ein<sup>-</sup> plants, 104 had the intermediate phenotype seen in the F<sub>1</sub>, whereas 46 had a phenotype similar to the *ein7* parental strain.

<sup>e</sup> A 1:2:1 ratio of Ein<sup>-</sup>:intermediate:Ein<sup>+</sup> was tested.

## Characterization of an Arabidopsis Mutant That Is Nonresponsive to Inducers of Systemic Acquired Resistance

Hui Cao, Scott A. Bowling, A. Susan Gordon, and Xinnian Dong<sup>1</sup>

DCMB, Department of Botany, Box 91000, Duke University, Durham, North Carolina 27708-1000

1. BGL2-GUS转基因种子 36,000粒进行EMS诱变。
2. 种植突变种子获得M1代种子。M1种子自花授粉，产生M2代种子。建立12个独立M2种子Pools。
3. 对13,468个M2代植物进行筛选。得到76株在M3代植物中GUS活性降低突变株。选择最低活性的突变株 (*npr1*) 进行后续分析。
4. 回交获得F1代，F1表形为母体表形。F2代3:1表形分离。

**A disease symptoms**

**B BGL2-GUS expression**



# 如何研究RIN13的功能？



# 如何定位突变基因？