

植物细胞器间遗传信息转移

董 色 白艳玲* 徐海津 张秀明 乔明强

(南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要 真核生物细胞质中有多种执行特定功能的细胞器, 其中线粒体和质体含有独立的基因组, 但细胞器的遗传信息储量有限, 其多数结构和功能蛋白质仍然由核基因组编码。来自植物的相关研究表明, 细胞核与细胞器间不仅在功能上相互依存, 而且遗传信息分子能跨越生物膜屏障, 在细胞核与细胞器间及不同的细胞器间进行传递, 并由此可以引起部分遗传信息在细胞内定位及基因表达等方面的相应改变。细胞器间遗传信息转移机制的研究将为深入认识核质相互作用及真核生物的进化提供重要的线索。

关键词 细胞器; 遗传信息; 传递

真核生物细胞内具有两种遗传系统: 独立自主的细胞核基因组和具有半自主性的核外基因组。核外基因组主要是动植物共有的线粒体和植物所特有的质体。绝大多数遗传信息位于细胞核, 而线粒体和质体仅包含为数有限的与细胞器功能相关的基因。在起源上, 对于线粒体和质体有两种推测: (1) 细胞器是由细胞核分离出的部分基因组成^[1]。(2) 细胞器来源于内共生的自养微生物^[2]。现在人们普遍接受内共生学说, 该学说认为线粒体起源于变形菌(*Proteobacterium*), 质体起源于蓝细菌(*Cyanobacterium*)^[3]。内共生体进化的典型特征就是基因逐渐趋于简化, 简化过程即基因丢失或转移的过程。转移是指在进化过程当中细胞器的部分基因转移到细胞核, 随着这一过程的进行遗传信息逐渐集中于细胞核。转移到细胞核的基因一方面扩大了细胞核的基因含量, 另一方面也使得一部分核基因的功能取代了线粒体和质体基因的功能。然而, 遗传信息的交流并不是单方向的, 也有细胞核基因转移到细胞器, 同时线粒体和质体之间也存在着基因的交流。只是质体基因组相对保守, 不同的植物间质体基因组相差无几, 而线粒体则相反, 在不同植物间线粒体基因组大小差距很大。

植物细胞内一直都进行着细胞核、线粒体和质体基因组间的遗传信息传递, 只是传递方式各有不同。对细胞内遗传信息的交流及其传递方式的研究逐步揭开了细胞器进化的面纱, 为实现细胞器遗传转化提供了重要依据。

移到细胞核, 相对也有部分细胞核基因转移到了细胞器, 同时两个细胞器之间也存在基因的传递。细胞内遗传信息的传递在动物中已处于静止状态, 但是高等植物中仍在继续^[4]。

1.1 质体与细胞核之间遗传信息的传递

内共生学说认为质体起源于蓝细菌, 蓝细菌早在 1.2 亿年前就与其真核宿主形成了共生关系, 随后许多基因或从蓝细菌转移到了宿主核基因组, 或因为功能丢失而导致基因彻底丢失, 造成质体基因组越来越小, 也逐渐形成质体对细胞核的依赖关系, 这一现象在自然界非常普遍, 例如拟南芥细胞核中有大约 18% 的基因来自于蓝细菌^[5]。

虽然进化生物学家观察到了细胞内遗传信息传递的现象, 但这些进化事件的发生过程仍然还是个未解之谜。Stegemann 等^[6]在进行叶绿体转基因研究中观察到了转基因表达异常的现象, 并抓住这条线索, 通过实验证实了这是遗传信息从质体向细胞核转移引起的结果。首先, 研究者在叶绿体转化载体中引入烟草花叶病毒 35S 强启动子及其驱动的卡那霉素(*kan*)抗性基因 *nptII*, 构建成叶绿体表达载体 pRB98 (图 1)。

在 pRB98 叶绿体表达载体中的 *nptII* 只能在细胞核内组成型表达, 而连接在 *nptII* 表达盒下游的壮观霉素/链霉素抗性基因 *aadA* 是由叶绿体特异性启动子驱动的, 只能在叶绿体中表达。三株烟草叶绿体转基因植株具有壮观霉素/链霉素抗性, 并能同时扩

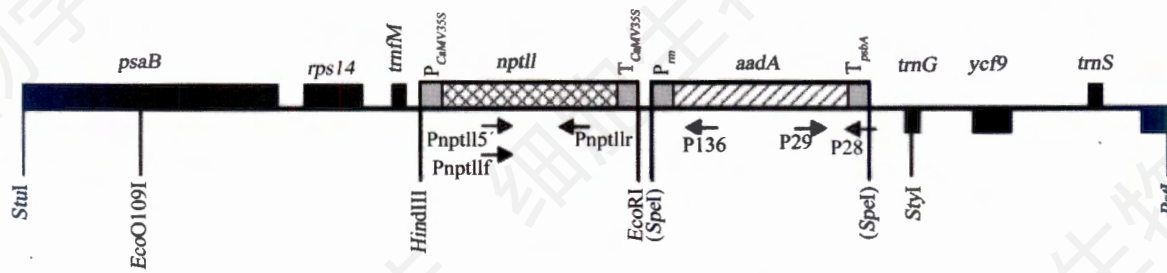
1 细胞器间遗传信息的传递

对多数真核生物的研究表明细胞器部分基因转

收稿日期: 2007-12-06 接受日期: 2008-03-10

天津市自然科学基金资助项目(No.08JCYBJC04200)

* 通讯作者。Tel: 022-23503340, E-mail: baiyl@nankai.edu.cn

图1 叶绿体转化载体 pRB98 图谱^[6]

增多 *nptII* 和 *aadA* 基因序列, 在经历了促使转基因叶绿体同质化的连续 4 代壮观霉素/链霉素抗性筛选和杂交后代检测, 表现出抗高浓度 kan 的能力, 并筛选出有 *nptII* 基因的表达。这样筛选到的植株通常含有大片段没有转录活性的叶绿体序列, 这与经常在高等植物细胞核中发现大片段的线粒体和叶绿体 DNA 序列结果是相吻合的。

Stegemann 等^[7]以上述实验筛选到的植株为检测对象, 用壮观霉素和链霉素筛选 *aadA* 发挥功能的植株, 为了排除自发突变导致的抗性, 分别用壮观霉素、链霉素、壮观霉素和链霉素三种培养基筛选, 如果同时有壮观霉素和链霉素抗性则为 *aadA* 在细胞核内有表达, 如若仅壮观霉素或是链霉素单种抗生素抗性较高, 则视为自发突变的结果, 同时为了验证这一结果的可靠性做了自交和杂交, 自发突变的植株表现出单亲遗传, 并且只表现出对壮观霉素和链霉素之一有较高的抗性, 而 *aadA* 在细胞核内有表达的植株杂交显示壮观霉素和链霉素抗性符合孟德尔遗传。同时为了进一步确定 *aadA* 的表达做了 Northern 杂交, 结果显示 *aadA* 有转录活性, 只是在不同的株系中 *aadA* 的表达量不同, 说明不同的株系中发生了不同的基因重排。如果不同的株系中有不同的基因重排, 那么上游的真核表达盒 *nptII* 应该会有什么变化呢? 针对自交和杂交株系检测了它们的卡那霉素抗性, 有趣的是所有植株中的卡那霉素抗性均消失了, 提取 *nptII* 的 mRNA 做杂交信号很低或是完全没有, 说明获得 *aadA* 抗性的同时伴随着 *nptII* 抗性的丢失。

Stegemann 等的研究不仅证实细胞核与质体之间确实存在遗传信息的传递, 而且证明了遗传信息是以 DNA 方式参与转移的, 同时揭示已转移 DNA 序列存在基因重排的可能性, 并由此造成质体基因向细胞核转移后发生沉默或表达水平的改变。

1.2 线粒体与细胞核之间遗传信息的传递

线粒体基因组主要编码核糖体蛋白和呼吸链蛋白相关基因, 除此之外, 还有转录调控基因、辅助蛋白翻译及修饰相关的一些基因等。因此, 线粒体基因转移的研究重点主要集中在核糖体蛋白基因和呼吸链蛋白相关基因。研究发现植物中核糖体蛋白基因与呼吸链蛋白基因丢失数量差异较大。显花植物中 14 种线粒体核糖体蛋白转移到了细胞核, 即小亚基的 S1、S2、S3、S4、S7、S9、S10、S11、S12、S13 和 S19, 大亚基的 L2、L5、L16^[8]。被子植物呼吸链中除 *coxII* 外仅 *sdh3* 和 *sdh4* 发生了转移, Southern 杂交结果显示呼吸链中剩余的 11 个基因均未发生丢失或转移。为什么呼吸链中只有 *sdh3* 和 *sdh4* 发生了基因转移, 而其他基因仍存在于线粒体中呢? 一种解释是由于某些高度疏水膜蛋白不能转运到细胞器中并进行准确定位, 限制了呼吸链中一些蛋白基因的转移^[4]。Keith 等^[9]通过 Southern 杂交验证了 280 种被子植物中的基因丢失情况, 结果显示有 16 个基因的丢失最为常见, 即显花植物中丢失频率较高的 14 个核糖体蛋白基因和呼吸链中的 2 个琥珀酸脱氢酶基因。上述呼吸链中基因转移的情况有种系特异性, 被子植物线粒体普遍存在的 *atp1*、*nad7* 和 *nad9* 基因在某些种系中丢失或转移的频率不低于 *sdh3* 和 *sdh4*; 此外酿酒酵母和构巢曲霉中的 *atp9* 已从线粒体转移到了细胞核; 线虫和软体动物线粒体中 *atp8* 基因已发生丢失现象^[10]。

线粒体基因转移过程中基因的表达有三种状态: (1) 线粒体中的基因拷贝或是丢失或是功能缺失, 只有细胞核中的基因在发挥功能。(2) 线粒体中的基因仍然在发挥功能, 而转移到细胞核中的基因处于沉默状态。(3) 线粒体与细胞核中的基因以不同的比例在发挥着功能, 例如脉孢菌中 *atp9* 基因在不同组织的细胞核与线粒体发挥作用的程度不同, 这种不同是由于 *atp9* 基因在细胞核和线粒体中均参与转录, 但在翻译

水平只有其一合成有功能的蛋白质,或是翻译后由于蛋白质修饰及折叠等原因造成只有其一发挥功能^[11]。水稻线粒体中 *rps11* 的表达就只有转录过程不存在翻译,而最终起作用的是细胞核中的 *rps11* 拷贝^[12]。

基因在线粒体和细胞核之间的转移是双向的,已有研究发现线粒体基因组内也存在细胞核基因。Schuster等^[13]在月见草线粒体中检测到一段细胞核同源序列,比对证实其中 528 bp 与玉米细胞核 18S rRNA 有 91% 的同源性。拟南芥线粒体基因组中来源于细胞核的反转座子序列占 4%^[12]。

1.3 质体与线粒体之间遗传信息的传递

质体具有很强的遗传保守性,任何外源基因的存在都有可能破坏原有基因的表达,甚至给质体带来致命性的损害,所以质体中混杂的外源 DNA 很少,但是质体 DNA 序列却很频繁的向线粒体转移。线粒体中大约 1/5 的 tRNA 是由质体来源的基因编码,例如拟南芥中有 6 个 tRNA 基因来自于质体;月见草中 tRNA^{Ser} 来自于质体;玉米线粒体中有包含 23S rRNA 的 3' 末端、4.5S rRNA、5S rRNA 和毗邻 tRNA^{Arg} 部分的 1 270 bp 片断来自于质体^[13]。玉米和小麦线粒体中 tRNA^{Trp} 已被证明来源于质体,且该基因具有转录和翻译功能^[14]。

在显花植物进化过程当中,线粒体的部分核糖体蛋白基因或是丢失或是向细胞核转移。但是许多植物例如拟南芥、大豆、棉花中 *rps13* 基因已经从线粒体丢失但并没有转移到细胞核内,取而代之的是来源于质体的 *rps13* 基因在核中的双拷贝^[15], Mollier 等^[16]在实验基础上重新验证了这一现象,即在这两个拷贝上分别融合了绿色荧光蛋白基因,其一合成蛋白质后输送到了质体,另一个拷贝在丢失了质体转移肽序列后重新获得了线粒体转移肽序列,合成后的蛋白质能够转移到线粒体。

质体基因向线粒体转移后是否还具有功能尚不肯定,基因功能的丧失主要有以下三方面原因:(1)特殊功能基因转移后是很难发挥作用的,例如: *rbcL* 和 16S rRNA 基因;(2)线粒体和质体中控制转录和翻译的序列是不同的;(3)有些质体基因如甘蓝中 tRNA^{Leu} 基因转移后发生了改变,玉米中 tRNA^{Ala} 转移后发生断裂,结果都导致基因转移后丧失功能。

基因组之间的作用是相互的,虽然目前没有报道介绍有线粒体基因直接转移到质体基因组,但是也有来自线粒体基因的表达产物输送到质体的情况。Gallois 等^[17]在研究拟南芥质体 L21 蛋白时就发现这

一蛋白质的相关基因来自于线粒体。

2 基因转移的方式

与动物和真菌线粒体基因组相比,植物线粒体基因组非常庞大,尤其是被子植物,通常 300~800 kb。如此庞大的基因组只有 11%~18% 有编码功能,很多非编码序列是外源漫游到线粒体中的。包括线粒体在内的细胞器间遗传信息的转移机制,一直是研究细胞器形成与进化以及细胞器转基因工程的关键性问题,诸多学者对此进行了详细研究,并获得了一些有价值的结果。

2.1 RNA 介导的转移方式

支持 RNA 介导基因转移的证据来自于细胞核中的线粒体基因与原拷贝相比缺少内含子,并与线粒体中编辑过的 mRNA 非常相似。植物线粒体基因转录后可能会进行 C-U 的 RNA 编辑,偶尔也会发生 U-C 的转变^[18],这是线粒体 RNA 编辑的一个特征,细胞核不存在类似的 RNA 编辑情况^[19]。由此,当与原线粒体基因相比较,转移至细胞核的拷贝与线粒体中编辑过的拷贝更为相似就认定这一基因的转移是由 RNA 介导的。豇豆线粒体中的 *coxII* 基因就是一个典型的例子。以 *coxII* 为探针与豇豆基因组做 Southern 杂交,结果显示线粒体中不存在 *coxII* 基因。从豇豆总基因组中扩增得到的 *coxII* 基因与其 cDNA 序列完全一致,同时 Northern 杂交结果显示 *coxII* 转录产物含有多聚腺苷酸,说明豇豆的 *coxII* 已由 RNA 介导的方式从线粒体转移到了细胞核^[19]。以豌豆的 *rps10* 为探针调取拟南芥 cDNA 文库中的 *rps10* 拷贝,结果显示 cDNA 克隆具有多聚腺苷酸,且拟南芥中的 *rps10* 与植物线粒体中的拷贝相比较,是经过 RNA 编辑过的版本,这一发现再一次印证 RNA 作为一种介导方式参与了基因在线粒体与细胞核之间的转移^[20]。*rps12* 也表现出类似的现象,该基因在月见草细胞核中的拷贝与线粒体中转录后 9 处发生 RNA 编辑的 *rps12* 拷贝相同^[21]。Adams 等^[22]对被子植物中的 277 个属用 *rps10* 的第一个外显子和一个单独的内含子做探针进行杂交,结果显示细胞核中的 *rps10* 拷贝缺少内含子,通过 PCR 检测发现有 C-T 编辑,说明 *rps10* 的转移也是 RNA 介导的过程。

2.2 DNA 片断直接转移

在水稻细胞核内发现 V-ATPase B 基因的下游连接了一段来自线粒体基因组的片断,其中包括 *rps19* 基因的 3' 末端、*rps3* 和 II 类内含子的一部分,

与原线粒体片断同源性达99%, 应该是近期转移的结果。这一段片断中有 II 类内含子的存在, 但没有发现编辑情况, 说明这一片断的转移是由 DNA 介导的而非 RNA^[23]。水稻 10 号染色体上有 33 kb 的质体 DNA, 大约占质体总 DNA 的 25%, 这么大片段出现在核染色体上只能用 DNA 片断直接转移这种方式来解释。

对 DNA 直接转移这一现象同时在实验水平上进行了验证, Stegemann 等^[6]将 pRB98 用基因枪的方法打入烟草子叶, 随后在筛选到的具有 kan 抗性植株中用分子生物学的方法检测到 *aadA* 和 *nptII* 两基因及中间片段同时存在于细胞核, 可见是通过 DNA 片段直接转移的。与此相似, Huang 等^[24]在 *nptII* 基因内部插入了内含子, 通过检测发现同样是经 DNA 直接转移的结果。正是这一转移方式的存在, 如果在转移基因的下游连接一个目的基因, 通过适当重组目的基因即能在细胞核内转录翻译。

除质体外, 线粒体是否也有向核转移过大片段的 DNA 呢? 对拟南芥 2 号染色体的研究解释了这一问题, 拟南芥 2 号染色体包含 36 kb 的线粒体 DNA; 水稻 10 号染色体包含 57 个线粒体片段, 大小介于 80~2 500 bp; 酵母核基因组中包含线粒体的 34 个片段, 甚至在人的核基因组中也存在着 59 个线粒体片段, 每个片段长度均大于 2 kb, 其中一个长度达 14.6 kb, 大小相当于线粒体的一个拷贝^[5]。然而, DNA 在不同基因组间转移的分子机制还不被人们所了解。

在真核生物中葫芦科植物的线粒体基因组最大, 如黄瓜的线粒体基因组达 1 500 kb, 而葫芦科植物线粒体基因组庞大的形成机制一直未得到明确的解释。最近的研究揭示, 在一些黄瓜线粒体基因组中存在环形 DNA 类质粒^[25,26]。目前国际上已报道在 10 余种高等植物中存在线粒体类质粒, 而且多数类质粒与细胞核或细胞器基因组有同源性, 这提示线粒体类质粒可能具有在不同基因组间转移的能力, 并在细胞器进化中可能起了某种作用。Koulintchenko 等^[27]以玉米线粒体线形 DNA 类质粒为对象, 研究了离体线粒体吸收外源 DNA 的方式。结果发现, 植物线粒体能够利用以电压依赖性离子通道(voltage-dependent anion channel)和线粒体内膜腺苷酸转运体(adenine

nucleotide translocator)为基础的多功能蛋白质复合物将类质粒转运到线粒体中, 这一复合物类似动物线粒体的通透性转换孔道(permeability transition pore complex), 同时发现以这种方式吸收的外源 DNA 没有序列特异性, 几 kb 的线状 DNA 转运效率最高。

3 展望

目前关于线粒体、质体与细胞核之间遗传信息的交流引起了科学家们的关注, 对这一现象的研究不仅有助于了解细胞器的起源和进化过程, 而且还能更进一步明晰核质互作的分子机制。因为, 细胞器遗传转化较传统的核转化具有超量表达目的基因、具原核表达方式和母系遗传方式可防止基因扩散等优点, 使之成为生物技术发展的一个新领域, 所以, 解析遗传信息的转移及其转移方式可为植物遗传转化特别是细胞器遗传转化和基因工程育种方面提供重要的理论和应用依据。

参考文献(References)

- [1] Mahler HR et al. *Int Rev Cytol*, 1975, **43**: 1
- [2] Gray MW et al. *Microbiol Rev*, 1982, **46**: 1
- [3] Eckardt NA et al. *Plant Cell*, 2006, **18**: 2865
- [4] Adams KL et al. *Genetics*, 2001, **158**: 1289
- [5] Leister D. *Trends Genet*, 2003, **19**: 47
- [6] Stegemann S et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 8828
- [7] Stegemann S et al. *Plant Cell*, 2006, **18**: 2869
- [8] Schuster W et al. *Plant Mol Biol*, 1994, **25**: 33
- [9] Adams KL et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**: 9905
- [10] Adams KL et al. *Phylogenet Evol*, 2003, **29**: 380
- [11] Blanchard JL et al. *Trends Genet*, 2000, **16**: 315
- [12] Unseld M et al. *Nat Genet*, 1997, **15**: 57
- [13] Schuster W et al. *EMBO J*, 1987, **6**: 2857
- [14] Marechal L et al. *Curr Genet*, 1987, **12**: 91
- [15] Adams KL et al. *Plant Cell*, 2002, **14**: 931
- [16] Mollier P et al. *Curr Genet*, 2002, **40**: 405
- [17] Gallois JL et al. *Gene*, 2001, **274**: 179
- [18] Gualberto JM et al. *Nucleic Acids Res*, 1990, **18**: 3771
- [19] Ong HC et al. *BMC Evol Biol*, 2006, **6**: 55
- [20] Wischmann C et al. *FEBS Lett*, 1995, **374**: 152
- [21] Grohmann L et al. *Nucleic Acids Res*, 1992, **20**: 5641
- [22] Adams KL et al. *Nature*, 2000, **408**: 354
- [23] Kubo N et al. *Gene*, 2001, **271**: 193
- [24] Huang CY et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 9710
- [25] 白艳玲等. *南开大学学报(自然科学版)*, 2002, **35**: 97
- [26] 白艳玲等. *生物工程学报*, 2003, **19**: 240
- [27] Koulintchenko M et al. *EMBO J*, 2003, **22**: 1245

The Transfer of Genetic Information between Organelles in Plants

Shai Dong, Yan-Ling Bai*, Hai-Jin Xu, Xiu-Ming Zhang, Ming-Qiang Qiao

(College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract Although mitochondrion and plastid have their own genomes, the genetic information of them is much limited, and therefore, the vast majority of the proteins they need are coded by nucleus for their construction and function. Related research has shown that there are not only interdependent in function between nucleus and organelles, but also the transfer of genetic information among them. This kind of transfer is most likely to take genetic information to new location of the cell, change the expressing of genes, etc. Therefore, investigations on the mechanisms concerning the transfer of genetic information between organelles can give important clues for a better understanding of the interactions among nucleus and cytoplasm, and evolution of eukaryotes.

Key words organelle; genetic information; transfer

Received: December 6, 2007

Accepted: March 10, 2008

This work was supported by the Tianjin Municipal Science and Technology Commission (No.08JCYBJC04200)

*Corresponding author. Tel: 86-22-23503340, E-mail: baiyl@nankai.edu.cn