

- hren, B. et al.) Raven Press, New York, pp 257—280.
- [9] Burgess A. and N. Nicola, 1983, In "Growth Factors and Stem Cells" Academic Press, New York., pp 273—306.
- [10] Burgess, A. and N. Nicola, 1983, In "Growth Factors and Stem Cells" Academic Press, New York, pp 185—230.
- [11] Willoms C. H. et al., 1982, *Exp. Cell Res.*, 139: 191—197.
- [12] Holmes S. D. et al., 1986, *J. Biol. Chem.*, 261: 4076—4080.
- [13] Dawe, C. J., 1972 In "Tissue Interaction in Carcinogenesis" (Ed. Tarin, D.) Academic Press, New York, pp 305—358.
- [14] Smith, C. J., 1972, In "Tissue Interaction in Carcinogenesis" (Ed. Tarin, D.) Academic Press, New York, pp 191—225.
- [15] Shamberger, R. T. and G. Rudolph, 1967, *Nature (Lond.)*, 213: 617—618.
- [16] Sugar, T., 1972, In "Tissue Interaction in Carcinogenesis" (Ed. Tarin D.) Academic Press, New York, pp 127—159.
- [17] Vasiliev, J. M., 1958, *Brit. J. Cancer*, 12: 524—536.
- [18] Kirk, D. et al., 1981, *Cancer Res.*, 41: 1100—1103.
- [19] Kirk, D., et al., 1983, *Cancer Res.*, 43: 3754—3758.
- [20] 潘琼婧等, 1984, 中国医学科学院学报, 6 (2): 100—103.
- [21] 吴克复, 1986, 中华血液学杂志, 7: 266—269.
- [22] 吴克复, 1986, 中华血液学杂志, 7: 536—538.
- [23] Antoniades, H. N. et al., 1985 In "Cancer Cells 3. Growth Factors and Transformation" (Ed. Fermisco, J. et al.) Cold Spring Harbor Laboratory pp 145—151.
- [24] Stoscheck, C. M. and L. E. King, Jr., 1986, *Cancer Res.*, 46: 1030—1037.
- [25] Goldenberg, D. M. and R. A. Pavia, 1981, *Science*, 212: 65.
- [26] Goldenberg, D. M. and R. A. Pavia, 1982, *Proc. Natl., Acad. Sci. USA* 79: 2386—2392.
- [27] Rubin, H., 1985, *Cancer Res.*, 45: 2935—2942.
- [28] DeOme, K. et al., 1978, *Cancer Res.*, 38: 2103—2111.

## 植物叶绿体DNA与线粒体DNA的遗传变异

李文哲

(中国科学院上海植物生理研究所)

真核生物中,植物的遗传是比较特殊的,一般都有三套遗传信息指导它的整个生命活动,核染色体DNA(nDNA),线粒体DNA(mtDNA)和叶绿体DNA(cpDNA)[或质体DNA(ptDNA)]。细胞器的DNA含量和大小都远小于核DNA,因此虽早在本世纪初就发现了细胞质遗传现象,并推测细胞质中存在遗传物质,但直到近二、三十年才发现cpDNA和mtDNA存在的直接证据<sup>[1]</sup>。人们用现代分子生物学技术研究了叶绿体、线粒体基因组的组织结构和基因结构<sup>[2,3,4]</sup>,这些成果对于光合作用和细胞质遗传的一些重要性状(如雄性不

育和某些抗病、抗药性)的研究有重要的意义。在线粒体研究中发现的一类质粒状DNA可能成为有效的遗传工程载体。同时还发现,nDNA和cpDNA mtDNA之间有遗传物质的传递,cpDNA与mtDNA在自然条件下的植物中和体外培养的细胞及再生的植物中表现出复杂的变异现象,这些现象为研究叶绿体、线粒体的起源以及它们DNA的进化提供了线索,此外还可应用于生物工程和传统育种。本文简要介绍叶绿体、线粒体的基因组织结构,然后重点讨论cpDNA和mtDNA在自然状态和体外培养植物中的遗传变异。

## 一、叶绿体的遗传变异

### 1. cpDNA 的组织结构和特性

叶绿体基因组比核基因组和线粒体基因组有较强的保守性，其大小在各种植物中是很相近的。cpDNA 在被子植物中为 120—160 kb，在绿藻中为 85—292 kb<sup>[5]</sup>。cpDNA 的组织结构前已有综述论及<sup>[2,5,6]</sup>。cpDNA 的容量约可编码 100 个蛋白，其中较清楚的有十类基因<sup>[2]</sup>，cpDNA 基因的表达只发生于叶绿体中，在其他质体中也含有结构和大小相同的 cpDNA (ptDNA)，但其生物合成和功能均受核基因控制。

cpDNA 的最大特点是具有含 rRNA 基因的重复顺序，这种重复顺序的存在对于叶绿体的遗传稳定性可能是很重要的：① 重复顺序间高度的一致性可能是由某些拷贝校正机制 (conversion 或 copy correction) 来维持的。在 cpDNA 的序列分析或同源性分析中都发现重复顺序间相当一致，而且，发生于重复单位内的自然突变总是对称地存在于两个重复顺序中。② 叶绿体基因组中反向重复顺序引起分子间重组。例如：含有此种重复顺序的菠菜和莴苣中出现头对头 (head-to-head) 的环状二体，而含单个重复顺序单位的豌豆中只有头尾相接的二体<sup>[5]</sup>。③ 重复顺序的存在导致高频分子内重组。带有重复顺序的 cpDNA 往往以两种异构体 (inversion isomer) 的 1:1 混合的形式存在，它们的单拷贝区的方向相反 (图 1)。由于重复顺序的存在而带来的这种修复性和统一性在遗传进化中是内部动力型，属于分子驱动 (molecular drive)，分子驱动的稳定和驱向作用被称为进化中的第三动力<sup>[7]</sup>。注意叶绿体基因组的这一特点，对于认识它的遗传变异很有帮助。

### 2. 叶绿体的遗传和变异

植物细胞中叶绿体基因组数目非常庞大，可认为是一类超多倍体基因组。细胞中质体数目从 1—10<sup>8</sup> 个不等，而质体中 cpDNA 拷贝数

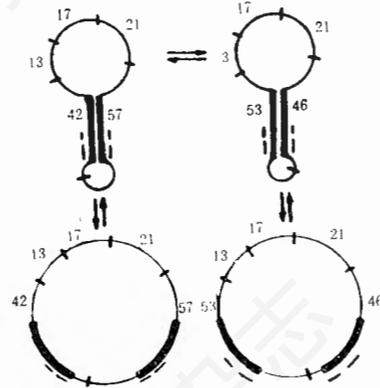


图 1 cpDNA 反向重复序列片段分子内重组模型 (通过重组出现异构体)。粗重线表示重复顺序<sup>[1]</sup>。

也从 1—10<sup>2</sup> 个不等。但是在亲代对子代的遗传中，它们并不以这种形式传给子代，一些学者认为，叶绿体的遗传信息可能是通过其他细胞成分，如核或原质体传递给子代的<sup>[2]</sup>，叶绿体本身只具有基因表达能力，而无遗传能力。在伞藻中 75% 的叶绿体检测不到 cpDNA 的存在<sup>[1]</sup>，这部分叶绿体显然没有遗传能力。可以认为这是一个特例，在建立叶绿体功能表达系统后丢失了 cpDNA。有大量证据表明，植物中的各种质体只能来源于原来就存在的质体，且质体类型可以相互转化，所以很可能由一些特殊的质体担任遗传。叶绿体或其他质体复制是一个分化发育的过程，由细胞的分化发育决定。原质体是分化细胞特有的细胞器，由它可分化发育出各种质体，而在脱分化细胞中，原质体又从分化的质体中再生出来。组织培养的烟草叶肉细胞脱分化过程中叶绿体出芽而成原质体，同时自身逐渐被巨大的淀粉粒所充满，从而转变为体积很大的造粉体。原质体芽也具有发育为其他各类质体的潜能<sup>[8]</sup>。因此，原质体在叶绿体遗传中有重要的地位。

在植物各门中，叶绿体遗传的形式和机制是极为多样的，从严格的母系遗传到父系遗传为主的形式都有。然而，母系遗传是主要的形式，比较强的父系遗传只存在于几种裸子植物

中,即使在双亲遗传中,母本的贡献也比父本大得多。除去亲本一方的叶绿体(通常是父本的)一般有几形式:精子发生时除去,精子运动时丢失,受精过程中除去或者在合子内降解。荧光显微观察证明,衣藻 cpDNA 的母系遗传是由于父本 cpDNA 降解,降解发生于配子细胞壁融合和配子原生质体融合之间<sup>[9]</sup>。亲缘关系很近的被子植物的叶绿体遗传也很不相同,可能说明各种遗传形式是相互独立地进化的。单亲遗传可以认为是一种阻止两亲本的叶绿体基因组发生重组的机制。但质体融合现象很少见,也就没有重组的机会,在双亲遗传的种中,质体也是互不融合的,因此更可能是细胞核与质体相互作用,使得不亲和的一方质体被除去<sup>[10,11]</sup>。

体细胞杂交中叶绿体的分配和遗传与有性生殖中叶绿体的遗传相似,子代植株中只出现一方亲本的叶绿体,而无另一亲本的叶绿体,限制性内切酶图谱分析也证实了这一点。亲本的 cpDNA 之间没有重组发生。应指出,另一细胞器线粒体,在自然条件下是较严格的单亲遗传,但在融合细胞中杂交亲本的 mtDNA 能共存于子代细胞和植株中,并发生亲本 mtDNA 间的重组,这种差别是令人深思的。

组织培养中 cpDNA 的变异是比较小的,这与 mtDNA 的多变异形成了鲜明的对比。长期培养(1000代)的烟草悬浮细胞中分离出的 cpDNA 在基因组大小和内切酶图谱上都和种子植株的 cpDNA 没有明显区别<sup>[12]</sup>。其他几种植物,如玉米、甜菜等的组织培养细胞中分离的 cpDNA 也与天然的无明显区别。但花粉(花药)培养的白化苗中出现 cpDNA 缺失的现象。孙敬三等(1979)<sup>[13]</sup>发现水稻花药培养中的白化苗 cpDNA 缺失 23 S 和 16 SrRNA。Dad 等(1985)<sup>[14]</sup>在小麦和大麦花药白化苗中发现 cpDNA 出现几种不同的分子量较小的分子,有些丢失了反向重复顺序,是缺失了的质体基因组。很可能白化苗的出现与叶绿体基因组的缺失直接相关。

综上所述,叶绿体基因组保守性较强,含有特征性重复顺序。它的遗传形式多样而以母系遗传为主,在组织培养和体细胞杂交中具有稳定性强,单亲遗传的特点。

## 二、线粒体的遗传变异

### 1. 植物 mtDNA 的组织结构及特性

与叶绿体基因组相比,植物线粒体基因组大得多,大小及组织结构非常多样。同动物、真菌等相比,其特征也是突出的。简言之,高等植物 mtDNA 有三个基本特点:①基因组大小及其变动范围大;②基因组组成多样;③存在随体小分子 DNA。

植物 mtDNA 大小范围为 200—2400 kb (植物 cpDNA 为 120—160 kb,动物 mtDNA 15—19 kb,真菌 mtDNA 17—108 kb),基因组组成非常多样,同一植物有各种不同大小的 mtDNA 分子,近年已初步肯定植物 mtDNA 是由一个主基因组(master genome)和通过重组由它衍生的一系列大小不同的分子组成。<sup>[15,16]</sup>重组基础是一种正向重复顺序,约 2—3 kb。应说明,有一种新观点认为,mtDNA 以线状为主,环状仅是复制时出现的一种暂时状态<sup>[17]</sup>。此外,植物线粒体中还有许多小的环状或线状分子,与主基因组无共同顺序,以不同大小存在,丰度很高,称为随体(supernumerary DNA)。随体小分子中最引人感兴趣的是质粒状小分子 DNA,这种 DNA 具有类似转座子的特点,能够整合于 mtDNA 基因组或游离出来,能够自我复制。研究表明,它们的整合或游离状态与雄性不育有关,但因情况复杂,至今未得出结论。这些特点使质粒样小分子有可能成为一种有前途的遗传工程载体。

### 2. 线粒体的遗传变异

线粒体在有性生殖中是母系(单亲)遗传的,为典型的细胞质遗传,天竺葵和月见草中虽然叶绿体是双亲遗传的,线粒体仍为单亲遗传。线粒体在花粉中发生了降解,成为髓磷脂样结构(myelintype figure),而质体却能在花

粉中存在<sup>[18]</sup>，这说明，线粒体遗传和叶绿体遗传是相互独立的。

体细胞杂交中，杂交细胞的两个亲本的线粒体可以共存，且发生线粒体融合与 mtDNA 重组<sup>[11]</sup>。在烟草和矮牵牛中，种内原生质体杂交再生的植株之间 mtDNA 内切酶图谱都互不相同，且与亲本不同<sup>[11,11]</sup>，即使同一融合细胞再生的植株之间 mtDNA 的内切酶图谱亦不相同。而具有相同 mtDNA 内切酶图谱的原生质体融合时不发生上述现象，说明这种变化不是由培养选择条件或核背景不同造成的，很可能是亲本 mtDNA 重组的结果。克隆探针和分子杂交技术证明了这一假说，发现融合细胞的 mtDNA 确实含有两个亲本的 mtDNA 片段<sup>[19,20]</sup>。体细胞原生质体融合为 mtDNA 重组提供了条件，导致不同种细胞 mtDNA 的重组。而自然条件下只能发生细胞内 mtDNA 重组。许多植物的雄性不育（如玉米、烟草、甜菜、小麦、蚕豆等）和抗病性（如玉米 CMS-T 株对 Hm-T 毒素的敏感性）和 mtDNA 有关。根据体细胞杂交中线粒体的分配和重组等特性可以通过体细胞杂交获得抗病或雄性不育等性状，这些性状还可用作体细胞杂交研究中的标记<sup>[11]</sup>。

植物 mtDNA 的变异性很强，它的组织结构的多样性就是其进化历程和遗传变异的表征。线粒体基因组大小变化很大，仅葫芦科内，mtDNA 大小相差 7—8 倍，但它们编码的基因却大致相同。最近研究认为，在不同植物中存在一些基本的功能基因，叫做核心 DNA (core DNA)，而其他 DNA 序列则是外源插入或原有 mtDNA 扩增而来，并在此基础上发生小范围的高频的序列漂移或重排，其中核 DNA 可能是一个主要的来源，实验证明，mtDNA 确有接受外源 DNA 的能力。这样，外来或重排 DNA 造成了各种植物线粒体基因组之间的广泛差异。但自然生长的植物中 mtDNA 是较稳定的，上述变化发生在漫长的进化历程中，这种情况下，组织培养成为研究 mtDNA 遗传变异的有力手段。

Ore 和 Walbot(1985)比较了玉米 B<sub>37</sub>N 在近亲繁殖系统和离体培养下的线粒体基因组稳定性，他们是用雄性不育(CMS)回复可育做为指标的，发现近亲繁殖系统在三代以内很稳定，而离体培养中变化则非常大<sup>[21]</sup>。对玉米 CMS 的大量研究中，发现从 CMS 株组织培养再生的育性回复株，mtDNA 内切酶图谱各不相同，也不同于原 CMS 株和正常可育株<sup>[22,23]</sup>。mtDNA 在原生质体培养中也发生很大的变化<sup>[24]</sup>，但其机制不清。mtDNA 发生变化的情况并不均一，小麦花粉培养再生的二倍体植株就没有 mtDNA 变异，尽管这些植株的其他变异是非常大的<sup>[25]</sup>。这可能说明花粉培养有其特殊性，在生殖细胞中存在一些稳定因素。Lonsdale 的研究指出，mtDNA 的重组在某些细胞分裂的特殊组织中是受到抑制的，这也说明变异的发生更多地存在于受到整体组织的控制较不严格的部分<sup>[26]</sup>。整体植物中，单个细胞发生的 mtDNA 变化不易通过分裂扩增而成为下一代细胞或植株的 mtDNA 主要基因组，而组织培养程序为培养的每一个细胞提供了繁殖分化的机会，使得变异有更多机会表现出来，因此，在一定意义上说，组织培养缩短了进化的历程，使我们能更好地观察和跟踪线粒体基因组进化的过程。另一方面，现已发现组织培养中细胞变异大大增加，有相当部分是属于核 DNA 的变异，而实验表明一些线粒体基因型的选择是由核背景决定的。Leavings III(1983)发现玉米 CMS 的育性回复与核背景有关<sup>[27]</sup>，CMS 现象可以看作是正常核与外来细胞质或外来细胞核与正常细胞质的不亲和作用。玉米中 CMS-S 型和 CMS-T 型的 CMS 就是由于 mtDNA 的变化引起了核与 mtDNA 的不亲和性。回复株中，核基因型发生了变化，新的核型可以选出线粒体的亲和基因型，从而产生了正常育性。这种线粒体基因型可能早就存在于线粒体基因库中，发生适当的核变化时，选择很快进行，而且选出的线粒体基因型是相同或相似的。对 CMS-S 和 CMS-T 回复

株的研究表明,线粒体基因组的 变化是相似的<sup>[22,23]</sup>。组织培养条件下,mtDNA 多变,而且丰富的核背景为 mtDNA 提供多种选择压,我们可以利用这种现象培养选择具有新的细胞质型的植物品种。由于线粒体母系遗传的特点,性状在后代不分离,具有遗传稳定的优越性。

再介绍一下核与线粒体、叶绿体 DNA 运动的现象,这对于 mtDNA 和 cpDNA 遗传问题的探讨是很有意义的。很多植物中,cpDNA 存在于 nDNA 和 mtDNA 上,mtDNA 存在于 nDNA 上,从这种同源现象可推测进化上发生这样的 DNA 运动:



Ellis把这种同时出现于两种或两种以上遗传系统的 DNA 定义为“promiscuous DNA”<sup>[28]</sup>,这种 DNA 传递被认为是进化中核染色体 DNA 的重要来源之一。在 *Podospora* 中,可以看到,mtDNA 和 nDNA 的运动有规律地发生在一定的细胞周期中。培养初期 mtDNA 上的正常组分  $\alpha$ 、 $\beta$  到培养后期细胞老化时就被切下,象质粒一样高速扩增并被整合入 nDNA<sup>[29]</sup>。玉米、动物和其他一些低等生物中都发现 mtDNA 稳定插入 nDNA,随之扩增、重排。这种 DNA 运动与细胞核复制和生理状态相关,因此,可以设想用离体培养法进行控制与分析,来探究细胞器 DNA 复制与遗传的关系。

### 摘 要

植物叶绿体和线粒体含有 DNA,它们表现出不同的遗传变异特性。叶绿体基因组的保守性强,含有特征性重复顺序,它的遗传形式多样而以母系遗传为主,在组织培养和体细胞杂交中具有稳定性强,单亲遗传的特点。线粒体基因组变异性很强,含有主基因组和随体 DNA,它的遗传形式是母系遗传,但在体细胞杂交中有时表现为双亲本遗传,并有 mtDNA 重组,mtDNA 在组织培养中发生极大的变异性。在细胞核和线粒体、叶绿体之间存在 DNA 互相运动的现象。

### 参 考 文 献

- [1] Plamer J. D., 1985, In: *Molecular Evolutionary Genetics*, eds. by MacIntyre R. J., pp 131-240. Plenum Press, New York and London.
- [2] 胡友纪, 1985, *植物生理学通讯*, 1985(2): 67-71.
- [3] Leaver C. J. and M. W. Gray, 1982, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 33: 373-402.
- [4] Whitfield R. R. and W. Bottmley, 1983, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 34: 279-310.
- [5] Plamer J. D., 1985, *Ann. Rev. Genet.*, 19: 325-354.
- [6] 肖伟等, 1985, *细胞生物学杂志*, 7(4): 149-153.
- [7] Vines G., 1982, *Newscientist*, 96: 664-665.
- [8] 朱玉清等, 1982, *植物学报*, 24(3): 199-201.
- [9] Coleman A. W., 1984, *Exp. Cell Res.*, 152: 528-540.
- [10] Belliard G., et al., 1978, *Mol. Gen. Genet.* 165: 231-237.
- [11] Belliard G., et al., 1979, *Nature*, 281: 401-403.
- [12] Seyer P., et al., 1982, *Plant Sci. Lett.*, 25: 345-352.
- [13] Sun C. S., et al., 1979, *Theor. Appl. Genet.*, 55: 193-197.
- [14] Dad A. and T. H. N. Ellis. 1985, *Curr. Genet.* 9: 671-678.
- [15] Lonsdale D. M., et al., 1983, *Cell*, 34: 1007-1014.
- [16] Plamer J. D. and C. R. Shelds, 1984, *Nature*, 307: 437-440.
- [17] Bendich A. J., 1985, In: *Genetic Flux in Plants*, ed. by Hohn B. and E. S. Dennis, pp 111-138. Springer-Verlag Wien, New York.
- [18] Vaughn K. C., et al., 1981, *Curr. Genet.*, 3: 105-108.
- [19] Boesshore M. L., et al., 1983, *Mol. Gen. Genet.*, 190: 459-467.
- [20] Rothenberg M., 1985, *Curr. Genet.*, 9: 615-618.
- [21] Ore A. E. and V. Walbot, 1985, *Theor. Appl. Genet.*, 70: 287-293.
- [22] Gengenbach B. G., et al., 1981, *Theor. Appl. Genet.*, 59: 161-167.
- [23] Kemble R. J., et al., 1982, *Theor. Appl. Genet.*, 62: 213-217.

- [24] McNay J. W., et al., 1984, *Theor. Appl. Genet.*, 67: 433-437.
- [25] Rode A., et al., 1985, *Theor. Appl. Genet.*, 71: 320-324.
- [26] Lonsdale D. M., et al., 1984, *Nucleic Acids Res.*, 12: 9251-9261.
- [27] Levings III, C. S., 1983, *Cell*, 32: 659-661.
- [28] Ellis R. J., 1982, *Nature*, 299: 678-679.
- [29] Wright R. M., et al., 1982, *Cell*, 29: 505-515.

## 脊椎动物和无脊椎动物的光感受器结构\*

黄 春 发

(厦门大学细胞生物学研究室)

光感受器是感光细胞一个特化部分。动物通过视觉来感知外界多变的环境, 首先由光感受器将光能转变为化学能。对感光器官结构研究, 始于上世纪后叶<sup>[1]</sup>。随着科学技术的高速发展, 透射电镜、扫描电镜和冰冻蚀刻复型等新技术的广泛应用, 对感光细胞结构的研究, 从广度和深度都大有长进, 现已报道感光细胞超微结构的动物几乎遍布各动物门类<sup>[2,3]</sup>。

### 一、脊椎动物视细胞形态学

脊椎动物的感光细胞, 即视细胞, 来自视杯内壁的神经上皮, 一般呈单层(极少数夜行性动物有双层或多层)。视细胞是一种长形细胞, 按其形状分为视锥细胞和视杆细胞, 它又可细分为三部分: 外段, 连接纤毛和内段。

1. 外段 外段富含视色素, 形状在视杆细胞中象杆状, 视锥细胞中象锥状。在不同动物中, 外段的长度、直径和形状不同, 即使在同一视网膜的不同位置(中央和周边)也略有差别<sup>[1]</sup>。外段由扁平的杆盘或锥盘组成。每个盘由两层膜构成, 与外段轴垂直, 杆盘的边缘有很深的切迹, 俯视觉花瓣。Young 和 Droz(1968)<sup>[4]</sup>用放射自显影研究指出: 杆盘是持续形成的, 由外段基部的细胞膜内陷更新。新生盘不断向顶端方向推移, 最后从顶端脱离形成被细胞膜包裹的一堆片层体(图 1 a, b)。同时顶端碎片又不断脱落, 并为色素上皮细胞所吞噬。视杆

外段膜盘脱落发生在黎明, 脱落过程可认为是一种顶分泌<sup>[1]</sup>。

锥盘是圆的, 边缘光滑无切迹, 通常与细胞膜表面相连接<sup>[5]</sup>, 锥盘间有一狭窄的与外界相通的开口。在低等脊椎动物中, 这些开口较宽, 出现在外段某特定区域。锥盘膜也在外段基部形成, 但一直排至顶端并与细胞膜持续

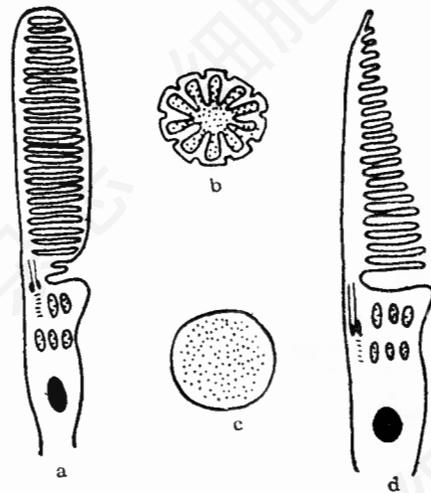


图 1 视杆细胞和视锥细胞模式图

- a. 视杆细胞纵切片  
b. 视杆细胞外段横切片  
c. 视锥细胞外段横切片  
d. 视锥细胞纵切片

\* 本文承蒙汪德耀教授审阅, 特此致谢。