

花发育调控基因的研究进展

聂 亭 白书农^① 马 诚

(中国科学院发育生物学研究所, 北京 100080)

花的发育是植物生长过程的一个重要阶段。九十年代初,随着植物分子生物学研究方法的逐步发展和模式植物的建立,在花发育调控基因方面的研究已经取得了一些结果,它们主要集中在拟南芥菜,金鱼草及单子叶的玉米等材料。本文特对这些工作做如下简扼的介绍。

一、花发育概述

植物的花器官具有基本的四轮结构,由外至内依次是花萼、花瓣、雄蕊和心皮。花的发育过程有几个阶段:首先是花的诱导过程,此时植物由环境与自身的因子诱导从营养生长进行到生殖生长,形成花序分生组织(inflorescence meristem);然后由花序分生组织,逐步形成花的分生组织(floral meristem),而后由花分生组织产生花器官的原基,进而逐步分化为成熟的花器官。

八十年代后期,通过突变体表型的分析和基因克隆等遗传学及分子生物学方法,在花发育的各个阶段都展开了不同程度的研究,其中主要集中在分离鉴定花发育调控基因及其功能和产物结构的分析上。目前在许多植物,主要在模式植物拟南芥菜和金鱼草中分离出许多花发育的突变体;这些突变体往往出现发育过程的障碍或是紊乱。因此从这些突变体中克隆出相应的基因一般被认为可能与该发育过程的调控直接相关。在研究调控基因之间的关系时,目前常使用双突变体方法,即在单基因突变体背景下,观察另一基因的突变是加强还是减弱了原单基因突变体的表型,从而推断它对单基

因起正向还是负向调控的作用。这些方法的应用逐步揭示了花发育过程的相应调控基因和它们相互之间作用的网络关系。

二、花发育各阶段的调控基因功能和协同作用的研究

2.1 花诱导过程

花的诱导过程一般指植物在一定诱发条件下从营养生长开始进入生殖生长的关键时期,该过程受阻则不能产生花。花的诱导过程实际上包括两方面:内外环境诱导因素的诱发过程和自发发育特定基因启动表达的决定过程。目前研究花诱导关键基因的方法也即是从这两方面分别进行的:一方面许多植物受到环境因素如日照、温度等和自身的赤霉素、光敏色素及钙等因素的影响^[4]。因而,从分离的对诱导因素反应异常的突变体中克隆到的特异基因可能参与了该诱导反应。拟南芥菜的开花受日照和温度的影响,其开花期变化的突变体可分为“早开花”与“迟开花”两类。Koorneef 将得到的迟开花突变体分为 12 组不同的座位^[1]。最新克隆得到的 LD(LUMINDEPENDENS 的简称)基因的突变体表型即是开花延迟而且光感受能力受影响,春化作用可以减弱其部分表型^[2]。早开花型突变体中目前仅发现 hy3(hypocotyl)是由光敏色素 B 基因损伤导致的^[3]。低温处理目前只发现与脱甲基化有关。与诱导相关的调控基因的克隆目前尚未见报道。另一方面,直接从生殖发育内在控制基因的突变体入手;该类突变体在无外在诱导因素作用的条件下,直接由种子开始进入生殖生长。如突变体 emf 在

^① 白书农所在单位为中国科学院植物研究所

种子萌发期就跨越了营养生长过程而直接产生了花序分生组织,表明相应的基因 EMF 可能是激活营养生长所必需的,也可能是起抑制芽的顶端生殖状态的作用,因而 Sung 假设基因 EMF 产物在拟南芥菜的幼期处于正常水平,随着成长而逐渐减少,从而发生生殖生长开了花。而长日照有助于减少 EMF 基因的产物而加速开花^[5]。但目前 EMF 抑制开花的假说尚未有充分的证据。另外突变体 *tf11* 也较早地出现了花序,营养叶数目减少了。有人认为相应的基因 TFL1 也可能与开花抑制过程有关^[6,7]。

花的诱导过程是花发育过程中最为关键和最终要揭示的问题。目前也有许多研究者先克隆出花的结构特异基因,通过研究其调控基因的方法来倒推花的诱导基因。

2.2 花分生组织的形成:

在拟南芥菜和金鱼草的突变体中已鉴定出一些与调控花分生组织启动相关的基因。其中拟南芥菜的突变体 *leafy* (简写 *lfy*), *apetall* 简写 *ap1* 和金鱼草中突变体 *floricaula* (简写 *flo*), *squamosa* (简写 *squa*) 的表型都不同程度出现花序分生组织转变为花分生组织受阻,而被次生花序分生组织取代。它们相应的基因 LFY、AP1 和 FLO、SQUA 也被克隆出来,其中 FLO、LFY 编码相似的富含 Pro 和酸性区域的蛋白,是转录因子的普遍特征。LFY 的产物还被发现定位于核中^[8],更支持了它们是转录调控因子的假设。AP1 与 SQUA 也具有类似转录因子的同源产物。

目前一般认为,拟南芥菜中花分生组织的形成主要可能与 LFT、AP1 调控作用相关。双突变体实验表明,其它基因包括 CAL, CLV3, AP2, TFL1 等可能通过 LFY, AP1 间接地发挥作用。(见表 1) CAL 基因在突变体 *ap1* 背景下能促进 LFY 和 AP1 的表达^[9];突变体 *ap2* 能增强 *ap1* 或 *lfy* 的表型;基因 *clv1* 的突变体也同样增强突变体 *lfy* 和双突变体 *lfy, ap1* 的表型^[10,11]。起反向调控作用的基因发现是 TFL1, 它抑制花分生组织的形成。而且双突变体 *lfy, ap1* 的表型证明它们是协同作用的^[12]。另外

还有实验表明在花器原基形成过程,基因 LFY, AP1 及 AP2 仍继续起调控作用。该过程可以简示如图 1。

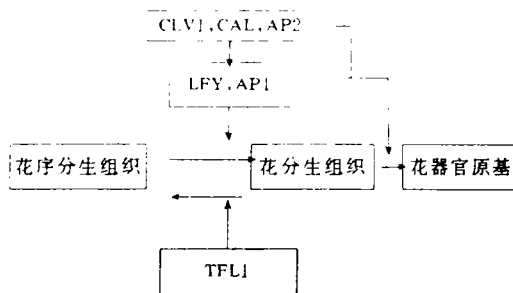


图 1 拟南芥菜的花分生组织发育调控基因的作用示意图

2.3 花器官原基的形成

拟南芥菜与金鱼草的一些影响花的四轮结构的基因已被克隆出来,它们被称为“同源异形”基因(homeotic genes);由序列比较发现,在这两种材料之间控制同种结构的基因具有很高的同源性。由此 Coen 和 Meyerowitz(1991)共提出了花原基形成的“ABC 模式”的假说^[13]。他们将同源异形基因的功能作用区域分为 A, B, C 三类,而基因相应功能表示为 a, b, c;由于他们认为花四轮状结构(从外至内)花萼、花瓣、雄蕊和心皮的每相邻两轮受到同一类基因的作用,而一轮原基的形成也都是由一个或两个相邻重叠的基因调控。(图 2 I)也就是花萼、花瓣、雄蕊和心皮分别由基因 A, B, C 的功能 a, ab, bc, c 决定。这个模式还包括两点:(1)A 与 C 基因功能相互排斥;外侧两轮(花萼,花瓣)中 A 抑制 C,而内侧两轮(雄蕊,心皮)中 C 抑制 A 的功能。(2)B 的功能是与 A, C 作用独立的。现在认为属于 A 类基因的有拟南芥菜的 AP1 和 AP2;B 类基因的有拟南芥菜的 AP3 和 PI, 金鱼草的 DEFA 和 GLO;C 类包括拟南芥菜的基因 AG 和金鱼草的 PLENA。(图 2 II),目前在其它材料如矮牵牛,西红柿,单子叶玉米等植物中也发现并克隆到与拟南芥菜和金鱼草具有功能相似,产物同源的一系列同源异形基因(表 1),也支持了该假说的普遍适用性。

表 1 花发育调控基因的特征与突变体表型

发育诱导	调控基因(拟)	产物特征	同源基因	单突变体表型	文 献
花的诱导期	LD		较晚开花	6
	EMF		未经营养生长而开花	1
	TFL1		较早出现花序组织	2 37 38
花分生组织的形成	TFL1			花序向花分生组织转变	
	LFY	转录因子	FLO	部分花向花序转变	13 39 40-43
	AP1	MADS	SQUA TM4	花分生组织向花序转变	9 44-46
	CAL		增强 apl 表型	9
	CLV1		增强 lfy 及 lfy, apl 表型	10 11
	CLV2		出现许多心皮	11
花原基器官的形成	AP1	MADS	SQUA TM4	花萼转为萼叶, 花瓣异常	9 44-46
	AP2		花萼转为心皮, 花瓣转为雄蕊	13 39 24 17 47-48
	AG	MADS	PLENA BAG1	雄蕊转为花瓣, 心皮转为花	13 39 25
				PMADS3	
			NAG1 ZAG1		24 47-29
	AP3	MADS	DEFA TM6	花瓣转为花萼, 雄蕊转为心皮	13 39 25 29 36
	PI	MADS	GL0 FBP1	与 ap3 相似	36 47-38 51-52
			PMADS2 NTGL0		
	SUP		雄蕊数目超常, 心皮减少	13 39 19-20

注:同源基因中,金鱼草有 FLO, SQUA, PLENA, DEFA, GL0; 矮牵牛有 PMADS2, PMADS3, FBP1;

番茄有 TM4, TM6;烟草有 NAG1, NTGL0; 玉米有 ZAG1;芸苔有 BAG1;(Brassica napus)

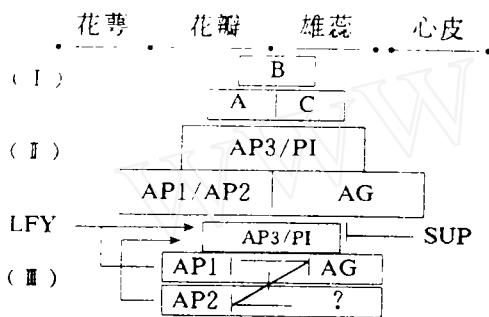


图 2 (I) ABC 模式图;

(II) 拟南芥相应 ABC 模式基因

图;

(III) 修改后的拟南芥 ABC 基因模式图。(注:→正调控;——|负调控)

拟南芥关于花原基的同源异形基因协同作用的最新研究结果,进一步修改和充实了原有“ABC”模式的假说^[14]。(1)在 A 类与 C 类相互抑制作用关系中,由突变实验表明 AG 能抑制 AP1 在内侧两轮的表达而且其表达不受 AP1 的影响^[15-17];而 AP2 基因在所有花轮都表达而且抑制 AG 在外侧两轮的表达。也有人由此推测两轮中可能还存在抑制 AP2 的因

子^[17]。(2)B 类基因的表达发现与 A, C 类基因的作用相互独立,同时还存在自身的反馈调控。拟南芥的 AP3 基因在突变体 ap3 或 pi 中表达实验及金鱼草的基因 DEFA 和 GL0 在突变体 glo 或 defA 中表达实验结果表明这两对 B 类基因(AP3/PI, DEFA/GL0)中每一基因存在对维持另一基因正常水平的表达都是必需的,也就是存在 B 类基因内部的调控。另一方面,拟南芥的 AP3/PI 还要受到基因 AP2、LFY 和 SUP(SUPERMAN 的简称)的调控。双突变体 sup, ap3 或 sup, pi 均证明基因 sup 能抑制 AP3 和 PI 在花第四轮(心皮)中的表达^[19,20];而 AP2 还被发现是 AP3 早期正常表达和 AP3, PI 晚期表达所必需的, LFY 也在最近发现与 AP1 两者的产物协同激活了基因 AP3^[18]。(图 2Ⅲ)在继续深入广泛的研究过程中,该模式可能会得到更多实验扩充、完善与修正;但是植物体中肯定也同时在“ABC”同源异形基因作用模式基础之上,存在着决定花分化多样性即物种特异性的调控机制。

2.4 成熟花器官分化与性别决定

花器官原基形成后,雌蕊与花药成熟过程

中的调控基因尚未见有克隆出来的报道,目前有人正在进行相应突变体的基因筛选工作^[21,22]。关于花性别决定机制,最近有人提出可能与性、常染色体比例和某些性染色体座位如玉米的 tassel seed 座位有关^[23]。但是由于花器官成熟过程十分复杂,目前该阶段在基因水平的工作进展仍然较慢。

三、花发育调控基因的结构特征与作用机制

3.1 花发育调控基因的结构特征

目前发现以上提到的许多花发育的调控基因都至少具有两个保守区域:“MADS 区”和“K 区域”。“MADS 区”是在比较拟南芥菜的 AG 产物蛋白与金鱼草 DEFA 的产物具有相似性基础之上,发现它们还与人类 SRF 因子,酵母的 MCM1 及 ARG80 基因的产物的部分区域都具有极为相似的序列,而取名为“MADS”区(即 MCM1, AG 和 ARG80, DEFA, SRF 的缩写)^[24,25]。后来发现拟南芥菜的 AP1, AP3, CAL, PI 和金鱼草的 SQUA, PLENA GLO 及矮牵牛的 GP 基因^[26]等产物蛋白均含“MADS”区。(表 1)“K 区域”不如 MADS 区保守,是一段与中间纤维的角蛋白(keratin)部分同源的区域,由此推测它与形成亲水脂的卷曲螺旋有关,因而可能使调控基因的蛋白产物参与蛋白之间相互作用^[27,28],而且发现其 N 端或 C 端附近的 Lys 残基作用尤其重要^[29,30]。

3.2 花发育调控基因的作用机制:

基因 SKI, MCM1 的研究结果表明它们作用于相同的靶序列“CC(A/T)₆GG”被称为“CArG 盒”^[31,32]。最近模式植物中进行的实验也证明了拟南芥菜 AG 产物,金鱼草 DEFA 与 GLO 产物的异源二倍体同样结合于“CArG 盒”^[30,33-36]。因而调控基因保守的“MADS 区”可能是它们产物发挥调控功能专一结合 DNA 的部位,而相应的突变体即可能在 MADS 区的结合 DNA 的位点上发生突变失去调控功能,出现相应异常表型。上文曾提及花的同源异形基因能在至少花结构的相邻两轮器官中表达,

但呈现出不同的表型。有人认为这是由于同源异形基因的产物通过“K 区”与不同轮结构中可能存在的不同的“辅助蛋白因子”相互作用,因而可以在不同区域调节不同系列的特异基因的表达,最终产生表型的多样^[14]。

四、花发育调控基因的研究展望

最近几年,在花发育某些阶段调控基因的功能,和它们的协同作用,以及可能作用的模式机制等方面如上文所述已取得了很多新的进展。而且目前其中有的最新进展已开始对以前的某些假说提出了新的质疑。如 Jofuku 等人发现 AP2 基因不仅在花的分生组织,而且在非花器官如叶和茎中同样都能测出表达^[56]。95 年 2 月, A. J. Kelly 等人也报导了与 LFY 同源的烟草基因 NFL 在花分生组织与未决定的营养分生组织(indeterminate vegetative meristem)中均有转录^[57]。在这些原认为是花的特异性基因的非特异表达发现之后,将会引起对 ABC 假说的新的思考。也有人试图提出更合理的假说。但是,目前从花发育研究的整体来看,在花的诱导过程,花器官的最终成熟,花发育的多态性决定以及各阶段的基因之间如何进行系统的时空的相互作用等方面仍存在诸多疑问和难点,等待科学家和研究工作者们更深入更广泛的实验探索。

参考文献

1. Koornneef M et al. (1991), Mol Gen Genet 229, 57-66;
2. I ha Lee et al. (1994) plant cell 6:75-83;
3. Reed et al. (1993) Plant cell 5:147-157;
4. Bernier et al. (1993) Plant cell 5:1147-1155;
5. Sung, et al. (1992) Science 258, 1645-1647;
6. Shamon & Meekd-Wagner (1991) Plant cell 3:877-892;
7. Schulty & Haughn (1993) Development 119:745-765;
8. Weigel & meyerowitz (1993) Science 261:1723-1726;
9. Bowman et al. (1993) Development 119:721-743;
10. Clark et al. (1993) Development 119:397-418;
11. Leyser & Fumier (1992) Development 116:397-403;
12. Coen (1992) curr Opin: cell Biol 4:929-933;
13. Coen & Meyerowitz (1991) Nature 355:31-37;
14. Hong Ma (1994) Genes & Development 8:745-756;

15. Mandl et al. (1992) *Nature* 360:273-277;
16. Gustafson-Brown et al. (1994) *Cell* 76:131-143;
17. Okamura et al. (1993) *Plant cell* 5:1183-1193;
18. Meyerowitz (1994) *Scientific American* 11:40-47;
19. Schults et al. (1991) *Plant cell* 3:1221-1237;
20. Bowman et al. (1992) *Development* 114:599-615;
21. Gasser & Robinson-Beers (1993) *Plant cell* 5 (10): 1231-1239;
22. Goldberg et al. (1993) *Plant cell* 5(10):1217-1229;
23. Caldoron Vrea & Dellaporta (1993) *Plant cell* 5 (10): 1241-1251;
24. Yanqsky et al. (1990) *Nature* 346:35-39;
25. Schwarz-Sommer et al. (1990) *Science* 250:931-936;
26. Van der knol et al. (1993) *Genes & Dev* 7:1214-1228;
27. Ma et al. (1991) *Genes & Dev* 5:484-495;
28. Pnueli et al. (1991) *Plant J* 1:255-266;
29. Jack et al. (1992) *cell* 68:683-697;
30. Schwarz-Sommer et al. (1992) *EMBO J* 11:251-263;
31. Pollock & Treisman (1990) *Nucleic Acid Res* 18:6197-6204;
32. Wymne & Treisman (1992) *Nucleic Acid Res* 20:3297-3303;
33. Mueller & Nordheim (1991) *EMBO J* 10:4219-4229;
34. Huang et al. (1993) *Nucleic Acid Res* 21:4769-4776;
35. Shiraishi et al. (1993) *Plant J* 4:385-398;
36. Trobner et al. (1992) *EMBO J* 11:4693-4704;
37. Shamon & Meeks-Wagner (1993) *Plant cell* 5:639-655;
38. Alvarez et al. (1992) *Plant j* 2:103-116;
39. Carpenter & coen (1990) *Genes & Dev* 4:1483-1493;
40. Coer et al. (1990) *cell* 63:1311-1322;
41. Schults & Hanghn (1991) *Plant cell* 3:771-781;
42. Huala & Sussx (1992) *Plant cell* 4:901-913;
43. Weigel et al. (1992) *cell* 69:843-859;
44. Irish & Sussx (1990) *Plant cell* 2:741-743;
45. Huijser et al. (1992) *EMBO J* 11:1239-1249;
46. Mardel et al. (1992) *Nature* 360:273-277;
47. Bowa et al. (1989) *Plant cell* 1:37-52;
48. Bownae et (1991) *Development* 112:1-20;
49. Bradley et al. (1992) *cell* 72:85-95;
50. Kuenst et (1989) *Plant cell a*:1131-1135;
51. Sommer et al. (1990) *EMBO J* 9:605-613;
52. Jack et al. (1993) *Sem Dev Biol* 4:51-63;
53. Angement et al. (1992) *Plant cell* 4:983-993;
54. Tsuchimoto et al. (1993) *Plant cell* 5:843-853;
55. Schmidt R J et al. (1993) *Plant cell* 5(7):729-737;
56. K. Diane Jofuku et al. (1994) *Plant cell* 6(9):1211-1225;
57. Alam J Kelly et al. (1995) *Plant cell* 7(2):225-234;



第五届国际植物分子生物学会会议将于 1997 年 9 月 21 日—27 日在新加坡召开,会议联系处为:

INTERNATIONAL SOCIETY FOR
PLANT MOLECULAR BIOLOGY
Biochemistry & Molecular Biology
University of Georgia
Athens, GA30602-7229 USA

Telephone: (706)542-2086
(706)542-3239
(706)542-2070
Fax: (706)542-2090
Internet: LDure @ uga. cc. uga. edu