分子植物卓越中心等通过测定非法重组频率挖掘优质蛋白玉米修饰基因

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/7641.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

12
月10
日，中国
科学院分子植物科学卓越创新中心/植物生理生态研究所巫永睿研究组团队在*Communications Biology* 杂志上在线发表题为*High frequency DNA rearrangement at q γ 27 creates a novel allele for Quality Protein Maize*
breeding 的研究文章。优质蛋白玉米胚乳修饰因子*q γ 27*
位点结构高度不稳定，该团队通过巧妙遗传设计深入解析了该位点发生非法重组的频率及基因重排的分子遗传机制。

基因拷贝数变异（Copy Number Variation, CNV）是驱动物种基因组动态变化的主要动力之一。CNV可由基因复制、缺失及插入引起，它可直接导致基因表达的剂量差异，引起种内个体间表型不同程度的变异，或者新拷贝发生新的变异，从而演化出不同于原始拷贝的表达模式，甚至进化出新的功能。人类基因组有3000
Mbp，4.8-9.5%是由CNV贡献的，在群体多态性形成中扮演重要作用。玉米基因组有2200 Mbp，大量基因存在基因复制，而CNV是影响不同自交系间表型差异的主要来源之一。CNV主要通过基因同源重组发生。在减数分裂时，如果同源染色体上的不同基因拷贝发生完全等位配对，任何染色体交换（crossover）都不会引起CNV；如果不同基因拷贝之间发生了非等位配对，这个区间的染色体交换就会导致基因重排：一条染色体失去一个或多个拷贝，另外一条得到相应数量的拷贝，这称之为非法重组。正常的同源重组频率很容易通过发生交换两侧的标记算出，然而非法重组的频率很少有直接通过遗传学实验精确测定的报道。

30年前，美国罗格斯大学Joachim Messing实验室发现玉米27-kDa
γ-醇溶蛋白编码基因（*γ 27*
）在不同玉米自交系间存在拷贝数变异，有些自交系含有两个拷贝，有些只含有一个。Messing实验室通过Southern Blot实验发现含两个*γ 27*拷贝的等位位点（*Standard* allele, *S*
）可以通过基因重排变成一个拷贝（*Rearranged* allele,
R
），然而由于受到实验体系的限制，这个位点由非法重组导致的基因重排频率一直无法测定。玉米主要储藏蛋白是缺乏必需氨基酸赖氨酸的醇溶蛋白。Opaque2（O2）转录因子主要调控含量最高的α-醇溶蛋白，在*o2*突变体中，α-
醇溶

蛋白大量
下降，富含赖氨酸
的其他蛋白互补性上调，因此提高了
玉米的营养品质。然而*o2*突变体是粉质表型，不能直接进行产业化。优质蛋白玉米（Quality Protein Maize,
QPM）以*o2*
突变体为高赖氨酸供体，通过聚合多个胚乳修饰因子恢复成硬质而育成。前期研究发现优质蛋白玉米高表达γ27醇溶蛋白是粉质胚乳恢复成硬质所必需，后续研究发现优质蛋白玉米高表达γ27醇溶蛋白是因为含有两个*γ27*拷贝的*S*等位基因，说明这个*S*
等位基因
在优质蛋白玉米育
种中受到了人工选择。由于很多大刍
草（野生玉米）也含有*S*等位基因，暗示*γ27*
的基因复制发生在玉米
驯化之前，而目前玉米自交系含有的单拷贝基
因（*R*等位基因）是*S*
等位基因发生基因重排产生的（图
1a）。普通玉米自交系含有*R*或*S*
等位基因对籽粒表型没
有任何影响，虽然优质蛋白玉米胚乳修饰必须
依赖*S*
等位基因，但其
修饰程度受多个因子调控及环境影响。因此，通过籽粒表型筛选*S*等位基因的重排子很不可靠。

巫永睿研究组团队设计了一系列巧妙的
遗传学实验测定了*S*
等位基因的重排频率（图1）。第一个关键设计：他们发现这个基因重复片段包含两个基因，分别是*γ27*
和 ARID4。*ARID4*
在基因复制后在其3’端产生了一个1923-bp的缺失。利用这个InDel设计一对PCR引物就可以知道某个材料含有*S*（PCR产物是两条带）或*R*
等位基因（PCR产物仅为一条大带或小带）；第二个关键设计：PCR标记是显性遗传的，如果父本或母本只有一方发生基因重排，在
自交后代中重排带型与*S*
带型重叠，无法判断上代减数分裂中是否发生了基因重排。论文合作者Nebraska州立大学的David Holding实验室用γ射线辐射诱变优质蛋白玉米K0326Y，创制了该材料的基因组大片段缺失体库，其中一个材料的*S*等位基因位点全部缺失（K0326Y-deletion,
K-D）。巫永睿团队把含有*S*
等位基因位点的不同自交系与K-
D材料做正反杂交，那么*S*
等位基因无论在父本或母本减数分裂时产生的单拷贝，都可在下一代被PCR引物检测到。通过45000多个PCR样本检测，该团队发现了58
个重排子，因此*S*等位基因从上一代到下一代发生基因重排的频率是1.27 x
10^{-3}
。这个频率比人类基因组中检测到的几个高频重排位点高了100-1000倍，这与玉米自交系基因组变异巨大是一致的。他们还发现A188自交系(2.67×10^{-3}) 和K0326Y优质蛋白玉米(2.22 x

10^{-3}
)分别从母本和父本遗传具有最高重排频率，而W22自交系的父母本重排频率在所有材料中都是最低的(0.69 x 10^{-3}和0.83 x
10^{-3}
)，说明不同自交系或同一自交系的父
母本在减数分裂时在*S*
等位基因位点形成的非法重组交换次数是有差异的。玉米很多经典突变事件频率都是可以通过遗传学实验测量的，比如*Adh1*和*C1*
基因发生自发突变的频率数量级是10^{-7}，*Ac*
转座子的转座频率数量级是10^{-7}，后者与*S*
等位基因发生重排的频率相当；第三个关键设计：基因重排导致一条染色体失去基因拷贝的同时，另一条染色体会得到相应的拷贝数，但是三个拷贝重复的PCR带型与两个拷贝的一致，无法通过上述方法鉴定到。UniformMu转座子突
变体库是以含*S*
等位基因的W22自交系建立的，每个突变体都是从单粒种子自交扩繁的。如果某些突变体在建库之初发生了基因重排，那么三拷贝的等位基因就会被保留在UniformMu群体中。研究人员利用定量PCR方法果然筛选到了三拷贝 *γ27*基因的材料。

三拷贝等位位点比两拷贝增加了 *γ27*
基因的mRNA转录和蛋白质合成。通过透射电镜观察胚乳淀粉细胞发现三拷贝材料的蛋白体数目和大小
都有显著增加
。当研究人员把特异争对 α -
醇溶蛋白基因的RNAi转基因导入三拷贝 *γ27*
材料中时，聚合材料
不仅含高赖氨酸品质，而且胚乳表现硬质
，说明三拷贝 *γ27*等位基因可以在UniformMu材料背景下修饰 α -醇溶蛋白基因沉默导致的粉质表型，暗示其将成为一个优良等位修饰位点用于优质蛋白玉米育种。

山东农业大学作物生物学国家重点实验室教授刘红军、中科院分子植物卓越中心博士生黄永财和山东农业大学博士生李晓寒为论文共同第一作者。用于该研究的优质蛋白玉米辐射诱变材料由美国内布拉斯加州立大学林肯分校植物科学创新中心教授David R. Holding提供，上海交通大学农业与生物学院王文琴研究组参与了合作。巫永睿为通讯作者。研究工作得到国家自然科学基金、中国科技部和中科院等的资助。

文章链接

分子植物卓越中心等通过测定非法重组频率挖掘优质蛋白玉米修饰基因

研究团队单位：分子植物科学卓越创新中心/植物生理生态研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发