

耿小红,武艳芍,余 马. 人工合成六倍体小麦 SHW-L1 生长后期紫色茎叶的遗传定位[J]. 江苏农业科学,2017,45(2):36-38.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.009

人工合成六倍体小麦 SHW-L1 生长后期 紫色茎叶的遗传定位

耿小红¹, 武艳芍¹, 余 马²

(1. 运城农业职业技术学院,山西运城 044000; 2. 西南科技大学生命科学与工程学院,四川绵阳 621010)

摘要:小麦花青素苷色素基因对小麦抗性提升意义重大。以 170 份重组自交系群体为材料,并利用已构建的高密度遗传图谱对人工合成六倍体小麦 SHW-L1 的生长后期紫色茎叶目标性状进行遗传定位。结果表明,该目标性状为单基因遗传,且被定位于染色体 7D,与 *Rc-D1*、*Pls-D1*、*Plb-D1*、*Pan-D1* 等基因毗邻或具有等位性。

关键词:人工合成小麦;生长后期;紫色茎叶;遗传定位

中图分类号: S512.103.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0036-02

花青素苷色素对生物胁迫和非生物胁迫都具有广谱性防御,花青素苷色素还对心血管疾病疗效显著,且表现较好的抗癌和抗炎活性,具有很高的药用价值。这使得植物中花青素苷生物合成途径研究极为广泛,并被认为是最好的次生代谢途径模式之一^[1]。目前,玉米、拟南芥、金鱼草及牵牛花等模式植物中与花青素苷合成相关调控及结构基因都已被识别,并为普通小麦等具有复杂基因组的栽培物种提供了同源克隆基础^[2]。普通小麦中花青素苷色素累积会产生红色或紫色的胚芽鞘及叶耳,蓝色淀粉,紫色茎秆、叶片叶鞘等器官。因此,研究具有颜色特异性的种质资源,以发掘到优异的小麦花青素苷色素基因对小麦抗性提升意义重大。

普通小麦(AABBDD)是由四倍体小麦(AABB)和节节麦(DD)杂交后产生的异源六倍体物种。作为普通小麦的 D 基因组供体物种,节节麦(*Aegilops tauschii*)分布广泛,其分布范围从土耳其一直延伸至中国。如此广阔的分布亦表明节节麦丰富的遗传多样性。因此,利用节节麦创制新的六倍体小麦对小麦在世界范围内的适应性提升非常重要。本研究通过对以人工合成小麦和四川审定品种为亲本构建的重组自交系群体及其亲本为材料,同时利用已构建图谱对该群体生长后期紫色植株颜色进行质量性状定位,以发掘到小麦茎叶中花青素色素沉积的关键位点。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究采用的试验材料为 170 份重组自交系群体(SHW-L1 × 川麦 32,简称 SC 群体)。该群体亲本 SHW-L1 系人工合成六倍体小麦,为节节麦 AS60(*Ae. tauschii* ssp. *tauschii*, DD, 2n = 14)与我国特有圆锥小麦 AS2255(*Triticum*

turgidum ssp. *turgidum*, AABB, 2n = 28)杂交后, F₁ 后代经秋水仙碱染色体加倍处理所得^[3]。川麦 32 为四川省主要主推品种,本研究所有材料均由四川农业大学小麦研究所提供。

1.2 试验实施

170 份重组自交系群体、亲本 SHW-L1 及川麦 32 以及 SHW-L1 合成亲本 AS60 及 AS2255 于 2012—2013 年种植于四川农业大学温江校区试验农场。田间设计采用单粒播种,种植行长 1.5 m,单株间距 0.1 m,行间距 0.3 m,每株系种植 3 行,常规肥水管理及病虫害防治。

1.3 表型鉴定

待植株进入成熟期后,茎叶及麦穗变黄以前,定期观察植株茎秆、叶片、叶鞘颜色。表型与 SHW-L1 一致的群体株系记为 A,与川麦 32 一致的群体株系记为 B。

1.4 标记-性状连锁分析

方差分析采用 SPSS 16.0 分析软件。SC 群体遗传连锁图谱数据及各株系基因型数据来源于四川农业大学小麦研究所研究结果^[4]。SC 群体遗传图谱共包括 1 862 个标记位点,全长 3 766.9 cM,平均标记密度为每个位点 2 cM。因 Mapmaker/EXP 软件不能处理高通量的高密度图谱数据,故目标性状基因染色体定位采用 Joinmap 分析软件对图谱标记位点及目标性状进行群体划分,以识别到和目标性状连锁紧密的标记位点连锁群。目标性状在该连锁群的遗传定位采用 Mapmaker/EXP 3.0 软件分析。

1.5 目标性状紧密关联位点的亲本验证

利用与目标性状关联紧密的遗传位点(遗传距离小于 10 cM)对群体亲本 SHW-L1,以及 SHW-L1 的合成亲本 AS60 及 AS2255 进行基因型鉴定,验证各目的条带在 SHW-L1 人工合成过程中的稳定性。

2 结果与分析

2.1 表型比较

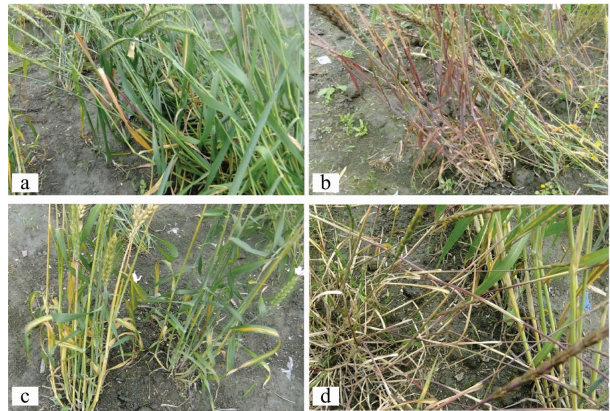
当灌浆期结束后,SC 群体株系及亲本 SHW-L1 与川麦 32 茎叶颜色差异明显。SHW-L1 灌浆期结束后,未被叶鞘包被的茎秆、叶片及叶鞘都由绿色渐变成紫色(图 1-a、

收稿日期:2015-12-08

基金项目:四川省育种攻关(编号:2011NZ0098-12-11);西南科技大学博士基金(编号:13ZX7155)。

作者简介:耿小红(1969—),女,山西运城人,硕士,讲师,主要从事作物遗传育种教学与研究。E-mail:gengxiaohong126@126.com。

图 1 - b),最后全株变成紫色后直至成熟后期而全株枯黄。川麦 32 则在成熟后期直接由绿色转为枯黄(图 1 - c)。SHW - L1 的 A、B 基因组供体亲本 AS2255 与川麦 32 表型一致,D 基因组供体亲本 AS60 与 SHW - L1 表型一致(图 1 - d)。170 份重组自交系群体中,93 个株系与 SHW - L1 表型一致,剩余 77 份自交系与川麦 32 表型一致。卡方检验结果表明,植株生长后期茎叶颜色在 SC 重组自交系群体中分离比例为 1 : 1,复合单基因遗传分离模式(表 1)。



a—SHW-L1 灌浆期; b—SHW-L1 蜡熟期; c—川麦 32 蜡熟期; d—AS60 蜡熟期

图 1 SC 群体亲本材料生长后期茎叶颜色

表 1 RIL 群体中胚芽鞘颜色方差分析

株系频率		群体数	EXP.	χ^2
紫色	绿色			
93	77	170	1 : 1	2.03

2.2 染色体定位

小麦生长后期茎叶颜色的染色体定位分析中,目标性状被划分到 7D 染色体所在连锁群。该位点与 7D 染色体上 99.4 ~ 117.9 cM 区段内 17 个标记位点最为紧密,遗传距离小于 10 cM(图 2)。

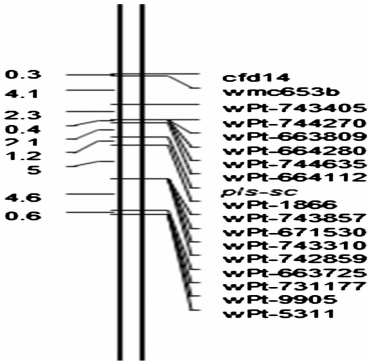


图 2 生长后期紫色茎叶性状在染色体 7D 上的定位结果

2.3 基因型鉴定

与目标性状紧密关联的连锁区段中共包含 2 个 SSR 分子标记位点(cfd14、wmc653)以及 15 个 DArT 位点。利用上位点对人工合成小麦 SHW - L1 及其合成亲本进行基因型鉴定分析,结果表明,17 个位点中,6 个位点分别为 wPt - 663809、wPt - 744635、wPt - 743857、wPt - 743310、wPt - 742859、wPt - 9905,在异源六倍化过程中不符合孟德尔

遗传规律。其中 wPt - 663809、wPt - 744635、wPt - 743857、wPt - 743310、wPt - 742859 在 AS60 中都被检测到,但未在 SHW - L1 中检测到。wPt - 9905 则在 SHW - L1、AS60 及 AS2255 中都被检测到。其余 9 个位点在异源六倍化过程中按孟德尔遗传规律进行传递。

3 讨论

引起植物变色的花青素合成途径(ABP)是整个类黄酮合成途径网络分支之一^[1]。目前在小麦植株各部位表达的花青色素合成相关基因大多已被发掘,且被定位到染色体上,如位于 7 号染色体同源群的红色胚芽鞘基因 *Rc - A1*、*Rc - B1* 和 *Rc - D1*^[5],及与该 3 个基因毗邻的紫色胚芽鞘基因 *Pc - A1*、*Pc - B1*、*Pc - D1*;紫色叶鞘基因 *Pls - A1*、*Pls - B1*、*Pls - D1*;紫色叶片基因 *Plb - A1*、*Plb - B1*、*Plb - D1*;紫色花药相关基因 *Pan - A1*、*Pan - D1*。此外,2 个紫色果皮相关基因还被定位于染色体 2A(*Pp3*)、7B(*Pp1*)上^[6-7]。4 个红色叶耳相关基因被定位于染色体 4B、6B、7A、7D 上^[8-9]。从物种高冰草(*Thynopirum ponticum*)、百萨偃麦草(*Thinopyrum bessarabicum*)、一粒小麦(*Triticum monococcum*)、野生一粒小麦(*T. boeoticum*)中发掘到的蓝色糊粉粒相关基因(*Ba* 基因)则通过置换或基因导入的形式被引入到 4 号染色体同源群内^[10-11]。

本研究发现,人工合成小麦 SHW - L1 只在生长后期茎叶才变为紫色,与前人报道全生育期紫色叶鞘、茎秆、叶片有差异。目标性状收集集中,紫色茎秆、叶片及叶鞘在 SC 群体中尚未出现分离,因此记录为一个性状。该目标性状在 SC 群体中为单基因遗传,且被定为染色体 7D 上。笔者在该位点附近也定位了来源于 SHW - L1 的紫色胚芽鞘相关基因。该基因与 *Rc - D1* 具有等位性,本研究定位目标性状基因极有可能与紫色叶鞘基因 *Pls - D1* 或紫色叶片基因 *Plb - D1* 具有等位性。该性状是未被报道的新性状,也可能是一个新基因。本研究发现被叶鞘包裹的茎秆在生长后期并未变成紫色,因此,该基因表达可能与生长阶段及光照等环境有关。因 SC 群体是一个初步定位群体,该目标基因与 7D 染色体上 *Rc - D1*、*Pls - D1*、*Plb - D1*、*Pan - D1* 等基因的等位性还有待进一步精细化定位验证。对目标性状周围位点进行 SHW - L1 及其亲本的基因型验证中,该区段有位点缺失现象,研究该基因在异源六倍化过程中的序列及功能表达变化非常必要。

参考文献:

[1] Winkel - Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology [J]. Plant Physiol, 2001, 126 (2): 485 - 493.

[2] Mol J, Grotewold E, Koes R. How genes paint flowers and seeds [J]. Trends Plant Sci, 1998, 3: 212 - 217.

[3] Zhang L Q, Liu D C, Yan Z H, et al. Rapid changes of microsatellite flanking sequence in the allopolyploidization of new synthesized hexaploid wheat [J]. Science China Life Sciences, 2004, 47 (6): 553 - 561.

[4] Yu M, Mao S L, Chen G Y, et al. QTLs for uppermost internode and spike length: whether they affect wheat height at an individual QTL level in two RIL populations? [J]. Euphytica, 2014, 200 (1): 95 - 108.

陈志锋, 彭 莱, 吴 强. 单细胞水平原钙黏蛋白基因簇的转录分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(2): 38–43.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.010

单细胞水平原钙黏蛋白基因簇的转录分析

陈志锋¹, 彭 莱², 吴 强^{1,2}

(1. 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240;

2. 上海交通大学系统生物医学研究院比较生物医学中心/系统生物医学教育部重点实验室, 上海 200240)

摘要:原钙黏蛋白 (protocadherin, *Pcdh*) 基因簇由紧密相连的 3 个基因簇 (*Pcdh α* , *Pcdh β* 和 *Pcdh γ*) 组成, 其中 α , β 基因簇包含可变区外显子 (C 型和非 C 型) 和恒定区外显子。这种独特的基因排列方式使 *Pcdh* 基因簇具有产生单细胞分子多样性的潜能。目前, 在单细胞水平有关 *Pcdh* 基因簇转录表达的研究较少。为了探索单细胞 *Pcdh* 基因簇的转录表达模式, 利用显微操作系统并结合 RT-PCR 方法, 在单细胞水平分析了小鼠大脑皮层和人类神经母细胞瘤细胞系 SK-N-SH 的 *Pcdh α* 和 *Pcdh β* 基因簇表达模式。研究发现 *Pcdh α* 和 *Pcdh γ* 的 C 型和非 C 型亚型均是随机表达, 每个单细胞表达不同组合的若干个 *Pcdh* 基因簇亚型。研究表明, 在小鼠大脑皮层及人类神经母细胞瘤的单个细胞中, *Pcdh* 基因簇的转录表达都能够产生单细胞表面分子多样性。这为进一步揭示神经元中 *Pcdh* 基因簇表达调控的分子机理及其在大脑神经回路中的功能奠定理论基础。

关键词:原钙黏蛋白基因簇; 表达模式; 单细胞; RT-PCR; 单细胞表面分子多样性

中图分类号:Q786

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2017)02-0038-06

哺乳动物的神经系统中含有上亿个神经元, 这些神经元通过突触结构形成复杂而有序的信号通讯网络, 不同神经元之间是如何有效地相互识别, 进而相互连接, 形成复杂的神经环路, 这一直都是神经科学领域亟待解决的重要基础性课题。有研究提出每个神经元都含有其特异性的身份识别标签^[1-2], 这些标签具有分子多样性, 可以用来区别于其他神经元, 指导不同神经元之间特异性识别, 保证神经环路的正确形成。在哺乳动物系统中, 何种蛋白能够产生单细胞的分子多样性呢? 近年来, 在脊椎动物中所独有的、进化过程中高度保守的原钙黏蛋白基因簇引起了人们的关注。原钙黏蛋白基因

簇由 3 个串联排列的基因簇 *Pcdh* (α , β 和 γ) 组成, 其中 *Pcdh α* 和 *Pcdh γ* 基因簇包含 C 型和非 C 型可变外显子组成的可变区以及 3 个恒定区外显子组成的恒定区^[3-4] (图 1)。小鼠 *Pcdh α* 基因簇可变区包含 12 个非 C 型可变外显子 ($\alpha 1 \sim \alpha 12$) 和 2 个 C 型可变外显子 ($\alpha c 1 \sim \alpha c 2$), 小鼠 *Pcdh γ* 基因簇可变区包含 19 个非 C 型可变外显子 ($\gamma a 1 \sim \gamma a 12$, $\gamma b 1 \sim \gamma b 8$, 但没有 $\gamma b 3$) 和 3 个 C 型可变外显子 ($\gamma c 3 \sim \gamma c 5$) (图 1-A); 人的 *Pcdh α* 基因簇可变区包含 13 个非 C 型可变外显子 ($\alpha 1 \sim \alpha 13$) 和 2 个 C 型可变外显子 ($\alpha c 1 \sim \alpha c 2$), 人的 *Pcdh γ* 基因簇可变区包含 19 个非 C 型可变外显子 ($\gamma a 1 \sim \gamma a 12$, $\gamma b 1 \sim \gamma b 7$) 和 3 个 C 型可变外显子 ($\gamma c 3 \sim \gamma c 5$) (图 1-B)。在转录时, 通过启动子选择和顺式可变剪接作用, 使可变区外显子与 3 个恒定区外显子相连, 最终形成由可变区外显子编码的胞外结构域 (含有 6 个胞外结构域, 即 EC1 ~ EC6)、跨膜结构域和恒定区外显子编码的胞内结构域组成的原钙黏蛋白分子^[5-6] (图 1)。因此, 不同可变外显子形成不同原钙黏蛋白的组合具有产生单细胞多样性的潜能。

Yagi 等对 P21 小鼠蒲肯野细胞 *Pcdh* 基因簇的表达模式进行了研究, 认为 *Pcdh α* 和 *Pcdh γ* 基因簇 C 型亚型组成型表

收稿日期: 2016-01-26

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 91519302, 812111583); 中国博士后科学基金 (编号: 2015M571558); 上海市科学技术委员会科研计划 (编号: 14JC1403601)。

作者简介: 陈志锋 (1989—), 男, 江西赣州人, 硕士研究生, 主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: chenzt2013@qq.com。

通信作者: 吴 强, 教授, 博士生导师, 主要从事分子细胞生物学和神经发育生物学研究。Tel: (021) 34204300; E-mail: qiangwu@sjtu.edu.cn。

[5] Khlestkina E K, Pestsova E G, Röder M S, et al. Molecular mapping, phenotypic expression and geographical distribution of genes determining anthocyanin pigmentation of coleoptiles in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Theor Appl Genet, 2002, 104(4): 632–637.

[6] Khlestkina E K, Pshenichnikova T A, Röder M S, et al. Clustering anthocyanin pigmentation genes in wheat group 7 chromosomes [J]. Cereal Res Commun, 2009, 37(3): 391–398.

[7] Khlestkina E K, Röder M S, Pshenichnikova T A, et al. Functional diversity at the *Rc* (red coleoptile) gene in bread wheat [J]. Mol Breed, 2010, 25(1): 125–132.

[8] Gulyaeva Z B. Localization of the genes for pubescence of the glumes

and coloration of the auricles in the leaf sheath in winter wheat variety UT'Yanovka [J]. Bull Appl Bot Genet Plant Breed, 1984, 85: 95–96.

[9] Melz G, Thiele V. Chromosome locations of genes controlling 'purple leaf base' in rye and wheat [J]. Euphytica, 1990, 49(2): 155–159.

[10] Arbuzova V S, Badaeva E D, Efremova T T, et al. A cytogenetic study of the blue-grain line of the common wheat cultivar Saratovskaya 29 [J]. Russ J Genet, 2012, 48(8): 785–791.

[11] Shen Y, Shen J, Dawadondup, et al. Physical localization of a novel blue-grained gene derived from *Thinopyrum bessarabicum* [J]. Mol Breed, 2013, 31(1): 195–204.