

玉米瘤黑粉菌的遗传交配型

陈三凤 刘德虎* 李季伦

(中国农业大学生物学院 北京 100094)

关键词: 玉米瘤黑粉病, 交配型, 位点

中图分类号: Q933 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654(2000)02-0146-03

玉米瘤黑粉病是玉米的一种重要病害, 普遍分布于世界各玉米产区, 我国各地也有不同程度的发生, 主要症状是在玉米的茎、叶、雄花、雌穗等部位形成肿瘤^[1]。其病原菌为玉米瘤黑粉菌 (*Ustilago maydis*), 属于担孢子亚门, 异宗配合。在玉米瘤黑粉菌的生活史中, 有两种不同形态的细胞, 即单倍体细胞 (担孢子) 和双核菌丝体。单倍体细胞没有致病性, 在特定培养基上芽殖产生“酵母”状菌落。不同遗传型的单倍体细胞融合形成双核菌丝, 双核菌丝能在寄主植物体内迅速发育, 刺激寄主组织形成肿瘤, 并继而经过细胞核融合, 产生双倍体的冬孢子^[2]。

近年来, 通过遗传工程和分子生物学的研究技术研究表明, 玉米瘤黑粉菌 (*U. maydis*) 单倍体细胞间的融合、双核菌丝的致病性和有性生殖的完成是由两个不同位点, 即 a 位点和 b 位点控制的^[3]。a 位点有两个等位基因 a1 和 a2, 控制单倍体细胞间的融合^[4]; b 位点有 33 个复等位基因, 决定双核菌丝的致病性和有性生殖^[5]。两个单倍体细胞只有在 a 位点上不同时, 才能融合形成双核菌丝, 而双核菌丝细胞只有在 b 位点上不同时才有致病性和完成有性生殖^[6]。玉米瘤黑粉菌的单倍体细胞和双倍体细胞在培养基上呈现不同的菌落形态, 单倍体细胞在培养基上芽殖产生“酵母”状菌落, 而双核菌丝则是菌丝状菌落。在国外已成功的构建了玉米瘤黑粉菌的表达载体^[7], 以玉米瘤黑粉菌为受体, 通过转化筛选获得几种遗传型不同的双倍体细胞^[8]。(1) 双倍体菌系 ($a \neq b$): 在培养基上菌落呈菌丝状, 有致病性, 能使玉米结瘤, 并能完成有性生殖产生冬孢子^[9]; (2) 双倍体菌系 ($a \neq b$): “酵母”状菌落, 没有致病性^[10]; (3) 双倍体菌系 ($a = b$): “酵母”状菌落, 但具有致病性, 能完成有性生殖; (4) 双倍体菌

系 ($a = b$): “酵母”状菌落, 没有致病性。这些研究结果清楚的表明 b 位点决定着双核菌丝的致病性和有性生殖的完成, a 位点决定着单核细胞间的融合, 双核菌丝的生长和维持需要 a 位点和 b 位点共同起作用。下面将 a 位点和 b 位点的基因组结构特点和它们的基因产物的功能及相互作用模式作一介绍。

1 a 位点的基因结构和基因产物的功能及其相互作用

a 位点控制着单核细胞的融合, 有两个等位基因 a1 和 a2。Boiker 等^[10]从分别含有 a1 和 a2 位点的不同黑粉菌系中分别提取染色体 DNA 与载体连接, 转化受体菌 *U. maydis* 构建成 a1 基因文库和 a2 基因文库。经筛选获得含有 a1 位点和 a2 位点的 DNA 片段, 长度分别为 4.5kb 和 8kb。核酸杂交试验表明这两个 DNA 片段无同源性, 而只在这两个 DNA 片段两侧有同源性。核酸序列分析和基因产物的功能试验表明, a1 和 a2 位点都分别包含两个基因: 交配信息素 (*mfa*) 和信息素受体 (*pra*), 即 a1 位点有交配信息素 *mfa1* 基因和信息素受体 *pra1* 基因; a2 位点有交配信息素 *mfa2* 基因和信息素受体 *pra2* 基因。a1 位点的信息素基因 (*mfa1*) 编码 1 个 40 个氨基酸的短肽, a1 位点的信息素受体基因 (*pra1*) 有 3 个内含子, 编码 357 个氨基酸的长肽。a2 位点信息素基因 (*mfa2*) 编码 38 个氨基酸的短肽, 信息素受体基因 (*pra2*) 有 2 个内含子, 编码 346 个氨基酸的长肽。a1 位点和 a2 位点的信息素基因之间无同源性, 信息素受体基因之间无同源性。这两个基因结构图谱见图 1A。同 1 个 a 位点编码的交配信息素与它的信息素受体不能相

* 中国农业科学院生物技术研究中心 北京 100081

收稿日期: 1999-03-08, 修回日期: 1999-04-27

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

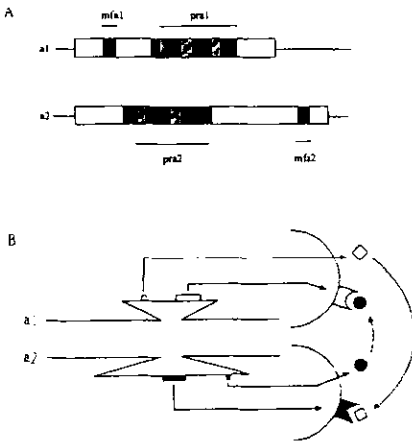


图 1 a 位点的基因结构及编码的信息素和信息素受体相互作用模式

A a 位点的基因结构: a1 位点有 *mfa1* 和 *pra1* 两个基因, a2 位点有 *mfa2* 和 *pra2* 两个基因, 这两个位点位于两个无同源性的 DNA 片段上; *pra1* 和 *pra2* 分别含有 3 个和 2 个内含子, 图中箭头表示转录方向

B a1 位点和 a2 位点编码的交配信息素和信息素受体的相互作用

互接合, 而要与另 1 个不同 a 位点编码的信息素受体结合, 即 *mfa1* 与 *pra2*, *mfa2* 与 *pra1* 相互作用, 其可能的作用机理见图 1B^[11]。

2 b 位点的基因结构和基因产物的功能及其相互作用

两个 a 位点不同的单细胞 (a1/a2) 融合后, 双核阶段的维持和致病性都决定于 b 位点。如果 b 位点相同, 无论 a 位点相同与否, 则这种双核菌丝体没有致病性, 反之, 如果 b 位点不同, 无论 a 位点相同与否, 则这种双核菌丝体具有致病性。在玉米瘤黑粉菌中, 有 33 个不同的 b 位点, 每个 b 位点也包含两个基因 *bE* 和 *bW*。 *bE* 编码 1 个长 410 氨基酸的多肽, *bW* 编码 1 个长 626 氨基酸的多肽。对 4 个不同的 b 位点 (b1, b2, b3 和 b4) 的核酸序列分析及推测的氨基酸结构比较, *bE* 在 N-端 110 氨基酸是可变区 (40% 差异), 其余 C-端是高度保守区 (93% 等同率)。 *bW* N-端 130 氨基酸是可变区 (56% 差异), C-端是保守区 (96% 等同率)。 *bE* 和 *bW* 的氨基酸之间没有同源性, 但却都有一个短的、与 DNA 结合的 HTH (Helix-Turn-Helix) 结构, 有这一结构的蛋白, 一般都属于调节蛋白。 *bE* 和 *bW* 基因间的间隔距离是 260bp, 每个基因内部都有 1 个内含子, 基因结构见图 2A^[5,12]。如前面所述, 玉米瘤黑粉菌 (*U. maydis*) 有性

生殖的完成和致病性都需要双核菌丝中有两个不同的 b 位点。进一步研究表明, *bE* 和 *bW* 的基因产物是成对起作用的, 1 个 b 位点的 *bEx* 产物或 *bWx* 产物与另 1 个 b 位点的 *bWy* 或 *bEy* 产物成对起作用, 并且, 只要有 1 对基因 *bEx* / *bWy* 或 *bEy* / *bWx* 就能诱导寄主形成肿瘤和完成有性生殖, Gillenssen 等^[12] 为了更精确的确定 *bE* 和 *bW* 基因在致病过程的作用, 将 *bW1* 通过缺失或插入外源基因而失活, 同时 *bE1* 基因正常而不受影响, 然后转移到含有正常 b2 位点的菌系中, 能够激发病理过程; 将 *bW2* 基因破坏后进行上述试验也得到相同结果。2 对不同的 *bW1* 与 *bE2*, *bW2* 与 *bE1* 相互结合, 或 1 对 *bE1* / *bW2* (或 *bE2* / *bW1*) 相互结合, 就可激发病理过程, 而 *bW1* 和 *bE1*, *bW2* 和 *bE2* 结合则没有致病作用。为了证明 *bWx* 和 *bEy* 是否在单倍体细胞中也有致病作用, 他们将 *bW1* 和 *bE2* 共同构建在 1 个质粒载体中得到重组质粒 pbW1 / E2, 分别转化 a1 单倍体细胞和 a2 单倍体细胞, 在 b 位点进行同源取代, 结果重组的单倍体细胞在培养基上能形成弱的菌丝菌落, 而且能引起玉米产生肿瘤。但重组单倍体与含有不同 a 位点 (a1 或 a2)、但缺失 *bE* 和 *bW* 两个基因的单倍体菌系杂交, 就会产生典型的菌丝菌落, 充分证明 *bE* 和 *bW* 基因成对起作用, 当它们来自不同的 b 位点时就可激发真菌的发育和有致病作用; 另外也说明, a 位点不仅在细胞融合中起作用, 而且在菌丝生长中需要 a 和 b 位点共同起作用。由于在 *bW* 和 *bE* 编码的氨基酸结构中都有一个与 DNA 结合的 HTH (Helix-Turn-Helix) 结构, 因此, *bE* 和 *bW* 编码的多肽相互作用形成的二聚体, 是一系列致病基因转录中的调节蛋白。来自不同 b 位点的 *bE* 产物和 *bW* 产物作用形成杂二聚体状态时, 多肽结构与 DNA 结合区域裸露, 因此具有调节蛋白的功能; 若来自同一 b 位点的 *bE* 产物和 *bW* 产物处于另一种杂二聚状态时, 则与 DNA 结合区域闭合, 失去调节功能, 其作用模式见图 2B^[12~15]。

总之, 在玉米瘤黑粉菌生活史中, 有单倍体细胞和双核体细胞两种形态。两个遗传型不同的单倍体细胞间的融合是由 a 位点控制的, a 位点有两个等位基因 a1 和 a2, a1 和 a2 位点都含有两个基因, 即交配信息素 (*mfa*) 和信息素受体 (*pra*), *mfa1* 与 *pra2*, *mfa2* 与 *pra1* 的基因产物相互成对起作用。两个单细胞融合后, 双核菌丝的维持、致病性及有性生殖的完成都需要有 b 位点。

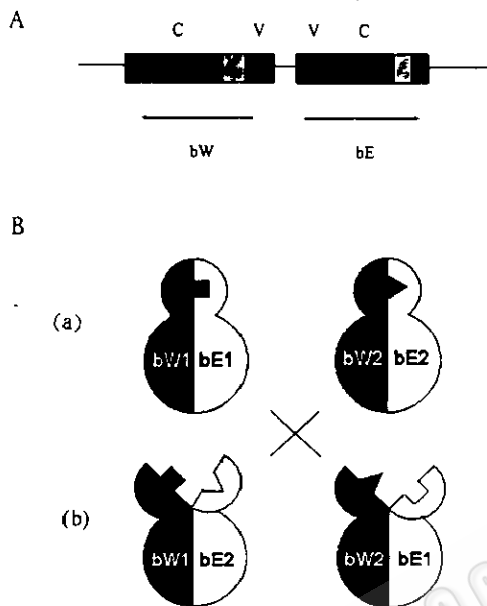


图2 b位点的基因结构及***bW***和***bE***两种多肽的相互作用模式

A b位点的基因结构:***bW***和***bE***两种基因的可变区(V)和保守区(C)用黑色标出,内含子用白色斜线表示,箭头表示转录方向

B ***bW***和***bE***两种多肽的相互作用:(a):同一位点的***bW1/E1***或***bW2/E2***杂二聚体,DNA结合区闭合,无活性,(b):不同b位点的***bW1/E2***或***bW2/E1***杂二聚体,DNA结合区裸露,有活性

玉米瘤黑粉菌有33个不同的b位点,每个b位点也有两个基因***bE***和***bW***,一个b位点中的***bE***与另一个b位点中的***bW***成对起作用。在玉米瘤黑粉菌的生活史中,可能还有一些基因参于双核菌丝的维持和在致病过程

中起作用,随着研究的深入,人们将会对它们的结构、功能及与其它基因间的相互作用有更深刻的了解。

参 考 文 献

- [1] 华南农学院、河北农业大学主编. 植物病理学. 北京: 农业出版社, 1983.
- [2] Banuett F, Herskowitz I. In *Genetics of Phytopathogenic Fungi*, 1988, 6:427~455.
- [3] Holliday R. In *Handbook of Genetics*, 1974, 1:575~595.
- [4] Banuett F, Herskowitz I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 36:6878~6882.
- [5] Schuiz B, Banuett F, Dahl M *et al.* *Cell*, 1990, 60: 295~306.
- [6] Wang J, Holden D W, Leong S A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85:865~869.
- [7] Wangemann M, Schauz K. *Experimental Mycology*, 1991, 15:159~166.
- [8] Day P R, Anagnostakis S L, Puhalla J E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1971, 68:533~535.
- [9] Puhalla J E. *Phytopathology*, 1969, 59:1771~1772.
- [10] Bolker M, Urban M, Kahmann R. *Cell*, 1992, 68: 441~450.
- [11] Egel R. *Nature*, 1992, 357:23~24.
- [12] Gillissen B, Bergemann J, Sandmann C *et al.* *Cell*, 1992, 68:647~657.
- [13] Yee A R, Kronstad J W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:664~668.
- [14] Schlesinger R, Kahmann R, Kamper J. *Mol. Genet.*, 1997, 254:514~519.
- [15] Hartmann H A, Kahmann R, Bolker M. *The EMBO Journal*, 1996, 15:1632~1641.