

链孢霉四分体分析连锁基因距离矫正的一种简便方法和计算数据的修正

李友勇, 赵元增

(河南职业技术学院农学系, 河南 新乡 453003)

摘要: 本文探讨一个在链孢霉四分体分析中连锁基因距离矫正的简便方法。并提出在计算交换值时, 当遇到着丝粒在两基因中间的类型时, 应该把基因与着丝粒之间发生的四线双交换类型分别计入两个单交换内。

关键词: 链孢霉; 四分体; 连锁基因; 交换值; 矫正

中图分类号: Q3-3

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2003)03-0330-03

A Simple Method to Correct Genetic Distance Between Linked Genes and a Correction of Calculating Data in Tetrad Analysis in *Neurospora crassa*

LI You-Yong, ZHAO Yuan-Zeng

(Henan Vocation Technical Teacher's College, Henan Xinxiang 453003, China)

Abstract: The present paper is dealing with a simple method to correct the distance of linked genes in tetrad analysis in *Neurospora crassa*. It is suggested that the data of 4-thread double crossing over should be added in two single crossing over respectively in centromere mapping when calculating crossover value of the two genes locating across the centromere.

Key words: *Neurospora crassa*; tetrads analysis; linked genes; crossing over value; correction

基因定位是细胞遗传学研究的一个手段, 它把染色体上的基因以 1% 交换值为单位排列在染色体上, 从而绘制出连锁遗传图。因此, 基因定位是研究物种遗传结构与功能, 并进一步对基因进行利用的重要手段。基因定位的全部工作几乎都集中在测定基因间的距离, 即测定两基因的交换值上。交换值的准确性直接决定基因定位的精确性。测定交换值常用两点杂交和三点杂交方法, 也叫两点定位和三点定位。这是细胞学基因定位的常用方法之一。细胞遗传学已研究的动植物、微生物连锁遗传图绝大多数都是用这种方法绘制的。正是由于测定交换值在基因定位中的重要地位, 因此遗传学研究和遗传学教学都把交换值测定作为其重点和难点内容来对待。

在进行链孢霉四分体分析时, 总会遇到在着丝粒附近(着丝粒两端或在着丝粒一端)的基因定位。当把着丝粒作为一

个基因座看待时, 加上它附近的两个基因就相当于 3 个基因座, 即三点定位。但由于着丝粒不仅本身在后期 I 必然分开, 而且还决定其他基因分离时期, 即有: 第一次分裂分离 (M_1) 和第二次分裂分离 (M_2), 因此, 其连锁和交换的结果要比与着丝粒无关的 3 个基因定位复杂得多。普通的三点定位, 3 对杂合基因分离的结果将产生 8 种配子, 其中最少的一对是双交换型的, 次少的两对是两个单交换型的, 占多数的一对是亲型的。在四分体分析中, 当定位的基因离着丝粒较近时, 把两对基因与着丝粒一起定位, 由于出现 M_1 和 M_2 两次分离, 因此两对基因不再是 4 种分离类型, 加上着丝粒也不是 8 种类型, 而是像 Lidegrem 归类的 7 种类型。这 7 种类型分别是由 ① 不交换、② 两基因间四线双交换、③ 单交换 I、④ 单交换 II、⑤ 二线双交换、⑥ 三线双交换、⑦ 四线双交换(着丝粒在两基因间)或四线三交换(着丝粒在一侧) 7 种染色体行为产生的。

1 矫正的另一方法

在教科书^[1,2,3]中,当考虑两两重组(在链孢霉中也叫重组染色单体)计算交换值时,两个单交换值相加大于直接两端基因(或基因与着丝粒)重组计算值。显然这是因为双交换未被计入的缘故。在教科书中,计算矫正的数值的方法是用一列表,分别计算出交换后的重组染色单体数,再除以总染色单体数获得矫正的数值(表 1 和表 2)。

表 1 A v 重组时被低估的矫正^[3]

Table 1 The correction of recombination value underestimated for A to v^[3]

子囊类型	记录的重组染色单体数						
	每一子囊中的重组数			子囊数	所有子囊中的重组数		
	A o ¹⁾	o v	A v		A o	o v	A v
2	0	0	4	1	0	0	4
5	2	2	0	5	10	10	0
6	2	2	4	3	6	6	12
7	2	2	2	10	20	20	20
							36 + 36 ≠ 36

1) o 表示着丝粒。

$$\text{矫正值} = [(36+36) - 36] / (1161 \times 4) \times 100 = 0.7751\%$$

表 2 o ade 重组时被低估的矫正^[1]

Table 2 The correction of recombination value underestimated for centromere to ade^[1]

子囊类型	记录的重组染色单体数						
	每一子囊中的重组数			子囊数	所有子囊中的重组数		
	o nic	nic ade	o ade		o nic	nic ade	o ade
2	0	4	0	1	0	4	0
3	2	2	0	5	10	10	0
6	2	4	2	1	2	4	2
7	2	2	2	5	10	10	10
							22 + 28 ≠ 12

$$\text{矫正值} = ((22+28) - 12) / (1000 \times 4) \times 100 = 0.95\%$$

在实际教学中,我们总感到这种方法费时,学生不易理解。即使理解了,在实际应用中还难以找出一个规律性的东西。我们在教学实践中,深入分析了链孢霉的分离类型,即两两计算时使用的类型和未被计入的类型,用一公式可很快计算出矫正数值。例如刘祖洞《遗传学》链孢霉 nic+ × + ade 的数据^[1]。

计算单交换值时使用的子囊型为:

$$o\ nic: [\textcircled{4} + \textcircled{5} + \textcircled{6} + \textcircled{7}] / 1000 \times 1/2 \times 100 \quad (1)$$

$$= (5+90+1+5) / 1000 \times 1/2 \times 100 = 5.05\%$$

$$nic\ ade: [\textcircled{2} + \textcircled{6} + (\textcircled{3} + \textcircled{4} + \textcircled{7}) / 2] / 1000 \times 100 \quad (2)$$

$$= [1+1+(90+5+5) / 2] / 1000 \times 100 = 5.2\%$$

$$o\ ade: [\textcircled{3} + \textcircled{5} + \textcircled{6} + \textcircled{7}] / 1000 \times 1/2 \times 100 \quad (3)$$

$$= (90+90+1+5) / 1000 \times 1/2 \times 100 = 9.30\%$$

$$\text{当} [(1)+(2)] - (3) \text{时,得} \textcircled{2} + \textcircled{4} + \textcircled{6} - \textcircled{7} / 2 \quad (4)$$

即,在计算 o ade 时,(4)式是未给计入的。(4)式涉及的 4 个类型,正是双交换发生的类型。即直接估计 o ade 时,估计偏低的原因。(1+5+1-5/2)/1000=0.95%

表 3 链孢霉 nic+ × + ade(nic+/+:烟酸依赖型/正常型; ade+/+:腺嘌呤依赖型/正常型)7 种子囊类型的数据^[1,5]

Table 3 The data of 7 types of asci from hybridization of nic+ × + ade(nic+/+:nicotine requirement /wild type; ade+/+:adenine requirement /wild type) in Neurospora crassa^[1,5]

子囊型	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
基因型	+ ade	++	++	+ ade	+ ade	++	++
次序	nic +	nic ade	nic +	++	+ ade	++	+ ade
	nic +	nic ade	nic ade	nic +	nic +	nic ade	nic +
实得子囊数	808	1	90	5	90	1	5

再例如,Howe(1956)在链孢霉的 Av × av⁺ 的杂交[缓慢生长菌丝(v)对正常生长菌丝(v⁺)和交配型 A 对 a]的分离数据(表 4)。

表 4 链孢霉的 Av × av⁺ 的杂交[缓慢生长菌丝(v)对正常生长菌丝(v⁺)和交配型 A 对 a]的分离数据^[2,3,6]

Table 4 the data of 7 types of asci from hybridization of Av × av⁺ (v/v⁺: 'visible' slow growth/wild type; A/a: two types of mating) in Neurospora Crassa^[2,3,6]

子囊型	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
基因型	Av	Av ⁺	Av	Av ⁺	Av	Av ⁺	Av
次序	av ⁺	av	av	Av	Av	Av ⁺	Av ⁺
	av ⁺	av	av ⁺	av	av ⁺	av	av
实得子囊数	888	1	126	128	5	3	10

在计算两个单交换时:

$$o\ a: [\textcircled{4} + \textcircled{5} + \textcircled{6} + \textcircled{7}] \times 1/2 \quad (1)$$

$$o\ v: [\textcircled{3} + \textcircled{5} + \textcircled{6} + \textcircled{7}] \times 1/2 \quad (2)$$

$$a\ v: [\textcircled{2} + \textcircled{6} + \textcircled{3} / 2 + \textcircled{4} / 2 + \textcircled{7} / 2] \quad (3)$$

$$(1) + (2) - (3) = \textcircled{5} - \textcircled{2} + \textcircled{7} / 2 \quad (4)$$

(4)式 ⑤ - ② + ⑦/2 = 5 - 1 + 10/2 = 9 是直接计算 av 时未计入的子囊数。9/1161 × 100 = 0.7751% (这里不能再乘以 1/2,因为是双交换),即为矫正的值。

即,矫正值可通过计算两个单交换距离使用的孢子数减去直接计算两端基因使用的孢子数来矫正之。

2 交换值计算数据的修正

如前所述,基因定位的过程,实际上是一个交换值的测定过程。最终连锁图的绘制是一个逐步精确的过程。双交换的发生使我们常常对两基因之间距离估计偏低。只有我们在此间找到新的基因,或两个基因距离较小(5个单位)时,计算的交换值才比较可靠。超过50个单位以上的连锁基因,它们不是以独立的形式表现,但无论如何我们也计算不出它们的真实交换值。当两个基因距离超过5个单位,我们又找不到它们中间有一个合适的基因时,就不能轻信我们的试验数值是准确的。

在不涉及着丝粒的普通三点定位中,我们矫正估计偏低的依据是双交换配子,两端基因之间的双交换配子在计算两个单交换时都用到了,即若两个基因之间发生了双交换,我们在计算交换值时,这种重组体的2倍才能真正反映二者之间的距离。我们还知道,任两个基因之间若发生了双交换,在通常的杂交中我们是无法查知的。但在链孢霉的四分体分析中,可以根据孢子的排列检查出它的存在。即,顺序排列的非亲二型(上两例中的②)是研究的两个基因与着丝粒之间发生四线双交换的产物。这无论着丝粒在一侧类型还是着丝粒在中间类型都是如此的。这个类型的重组,在计算着丝粒在一侧类型(表3)时,没有被忽略,而在计算着丝粒在中间类型(表4)时则被漏掉了,这个类型,无论四线双交换发生在着丝粒左端还是发生在着丝粒右端^[3],或同时在着丝粒两端^[2],都将产生这种顺序排列的非亲二型。这种非亲二型在计算两个单交换时未被计入^[2],在直接计算两端基因 $a v$ 时被计入了,但在矫正时又给减去了,结果是它们未被真正计入两个单交换之中。因此,可以看出,非亲二型在交换值计算中被漏计了。这种情况,在 Catcheside 的《微生物遗传学》中也未涉及到^[4]。我们认为,对于这种情况,在计算两个单交换时,应该把非亲二型计入其中,因为双交换是实际基因间距离存在的一种必然结果。侯占铭从交换类型上曾

注意到这种情况,他把双交换数据归到着丝点一端的距离中^[7]。又由于我们不能查出这个双交换是发生在着丝粒左端还是在右端或在两端,在计算时且把非亲二型看作普通三点定位双交换一样计入两个单交换中。那么, $A v \times a v^+$ 的数据计算应为:

$$o a: [②+④+⑤+⑥+⑦] \times 1/2/1161 \times 100 = 6.33075\% \quad (1)$$

$$o v: [②+③+⑤+⑥+⑦] \times 1/2/1161 \times 100 = 6.24462\% \quad (2)$$

$$a v: [②+⑥+③/2+④/2+⑦/2]/1161 \times 100 = 11.71404\% \quad (3)$$

$$(1)+(2)-(3) = 6.33075\% + 6.24462\% - 11.71404\% = 0.86133\%$$

$$\text{矫正: } (1)+(2)-(3) = ⑤+⑦/2/1161 \times 100 = 0.86133\% \quad (4)$$

即, $A V$ 之间实际距离应是 $6.33+6.24=12.57$, 在我们当前的教科书中是 $6.28+6.20=12.48$, 低估了 0.09 个单位。

参 考 文 献 (References):

- [1] 刘祖洞. 遗传学[M]. 第二版, 北京: 高等教育出版社, 1990. 5. 183~188.
- [2] 盛祖嘉. 微生物遗传学[M]. 第二版, 北京: 科学出版社, 1997. 153~159.
- [3] P. F. 史密斯(褚启人译). 遗传的结构与功能[M]. 上海: 上海科技出版社, 1984, 114~122.
- [4] Catcheside, D. G. (盛祖嘉译). 微生物遗传学 [M]. 北京: 科学出版社, 1958, 22~28.
- [5] Howe H H. Crossing over and nuclear passing in *Nneurospora crossa*[J]. *Genetics*, 1956, 41: 610.
- [6] Fincham J R S. Day P R. *Fungal Genetics*[M]. Great Britain: Adlard & Sonltd, The Bartholomew Press. 1963, 13~15.
- [7] 侯占铭. 真菌类遗传分析教学概论[J]. 遗传, 1997, 19(3): 30~33.

欢迎订阅 2003 年《分子植物育种》双月刊

《分子植物育种》(Molecular Plant Breeding)是由国家科技部批准,国家新闻出版署核准的学报级刊物,本刊“立足国内,面向国际”,是一份为转基因育种、分子标记辅助育种及常规育种服务的国际性科学杂志。主编:张启发院士。

本刊围绕水稻、小麦、玉米、油菜、大豆、棉麻、薯类、果树、蔬菜、花卉、茶叶、林草等,刊登分子遗传育种理论、分子育种方法、分子育种研究动态以及优良种质培育等方面的科学论文报道,内容新颖,信息量大、报道及时、可读性强,是广大植物分子生物学家、分子遗传学家、植物育种家的必备刊物。

订阅办法:本刊为大16开,全年出刊6期。铜版纸彩色印刷,每期40元,全年240元(含邮寄费)

汇款可通过邮局或银行帐号汇至编辑部海南办公室,海南编辑部 E-mail: mpbhn@vip. sina. com

地址:海南省三亚市丹州小区 D223 幢 103 号 邮编:572012

收款单位:分子植物育种编辑部 联系人:李娟

开户银行:建行三亚市分行二环西路分理处 开户帐号:000016010000000351

单位名称:分子植物育种编辑部 电话:0898-88231312, 传真:0898-88231342