

专论与综述 Reviews

植物 MADS 盒基因与花器官的进化发育¹

曾 英 胡金勇 李志坚 (中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

MADS-Box Genes in the Evolution of Flower Development

ZENG Ying, HU Jin-Yong, LI Zhi-Jian (Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204)

提要 已在维管植物中发现百余种 MADS 盒基因, 此种基因家族由表达模式和功能关系密切的基因构成多种特定的亚族如 *DEF/GLO* 类(B 功能)、*AG* 类(C 和 D 功能) 等。植物花器官发生和花形态多样性的遗传机理和进化规律都可能与 MADS 盒基因的结构、表达以及功能进化相关。

关键词 MADS 盒基因 进化发育

1 MADS 盒基因与花器官发育

MADS 盒基因属于一个古老的基因家族, 存在于整个真核生物界, 其生物学功能是调节细胞分化发育。MADS 基因家族的蛋白产物均为转录因子, 具有调控其它基因转录的能力, 其最先确定的 4 个成员基因分别是 *MCM1*、*AGAMOU*、*DEFICIENS* 和 *SRF*, 取其首写字母即构成 MADS。在基因结构上, MADS 基因族的成员都含有一段称为 MADS 盒(MADS box)的高度保守序列, 编码约 50 个氨基酸, 与识别特异的 DNA 序列有关, 是这类转录因子与目标基因上特异 DNA 序列结合的功能区^[1]。MADS 盒基因编码的蛋白有 3 种不同类型, 即 MEF2 型、ARG80 型和 MIKC 型, 前 2 种仅存在于动物和真菌, 而 MIKC 型局限于植物。除了植物中许多与花发育有关的基因外, 哺乳动物的 *SRF* 和酵母中的 *MCM1* 转录因子也都是这一基因家族的成员。植物基因组含有大量(至少 2530)的 MADS 盒基因, 并且在基因组内分散排布, 动物及真菌的 MADS 盒基因则少得多^[2]。

花器官既是植物经典分类学的重要依据, 又是种子植物发育生物学的研究热点, 可以相信花器官是研究植物发育、基因、进化三者关联的理想模式系统。花发育的遗传学研究已在拟南芥、矮牵牛、金鱼草、烟草等植物中取得重要结果, 基于拟南芥和金鱼草的各类花器官同源异型突变体研究, 人们发现了花发育中调控各类花器官形成的器官特征基因, 并提出花发育的 ABC 模型^[3]。这一模型认为, 花器官分别由具有不同功能活性的三类基因

(用 A、B、C 表示) 决定, A 功能单独作用决定形成萼片, A 和 B 决定形成花瓣, B 和 C 共同决定雄蕊, 心皮则由 C 单独决定。这一模型还提出 A 和 C 的功能是相互抑制的, B 功能仅限于花部的第 2 轮和第 3 轮且不依赖于 A 和 C 功能^[4]。已在拟南芥中克隆的具有 A 功能的基因有 *AP1* 和 *AP2*, 具 B 功能的有 *AP3* 和 *PI*, 具 C 功能的是 *AG*; 在金鱼草中相应的具 A 功能的有 *SQUA*, B 功能的有 *DEF* 和 *GLO*, C 功能的是 *PLE*。后来发现矮牵牛中决定胎座和胚珠中央分生组织特征的 *FBP7* 和 *FBP11* 基因, 并将其列为 D 基因, 在拟南芥中相应的基因可能是 *AGL11*^[5], 这是 ABC 模型的延伸。虽然 ABC 模型可以解释大部分植物, 尤其是高等真双子叶植物(higher eudicots)野生型和各种同源异型突变体的花器官发育过程, 但随着更多的与 A、B、C 功能有关的同源异型基因相继被克隆, 特别是对被子植物基部类群和低等真双子叶植物的同源异型基因表达时序模式研究, 发现 ABC 模型在整个被子植物的花器官发育中并不是极端保守的^[6]。

除 *AP2* 外, 所有已克隆的 A、B、C、D 同源异型基因编码的蛋白质均含有一个保守性很强的 DNA 结合序列 MADS 盒, 属于 MADS 盒基因家族。既然 A、B、C、D 同源异型基因在花器官发育中十分重要, 并且它们都属于 MADS 盒基因家族, 因此可以推测, 植物花器官发生和花形态多样性的遗传机理和进化规律都可能与 MADS 盒基因的结构、表达以及功能进化相关。

2 蕨类植物的 MADS 盒基因

蕨类植物的 MADS 盒基因研究目前主要集中在水蕨(*Ceratopteris*), 迄今已克隆至少 15 个含

收稿 2000-05-17 修订 2001-01-21

1 中国科学院生物科学与生物技术研究特别支持费资助项目 (STZ-00-26)。

MADS 盒基因的不同基因组位点的 cDNA, 大部分 cDNA 序列与典型的种子植物 MADS 盒基因在 MADS 域的序列和整体结构方面有着高度相似性, 即这类 MADS 盒基因编码的蛋白质都具有 MADS 域(M)、间区(I)、类角蛋白域(K)和 C 域(C), 可归入 MIKC 型 MADS 盒基因。

采用系统发育重建方法(phylogeny reconstruction)分析与其它已知 MADS 盒基因的进化关系时, 发现水蕨的 MADS 盒基因由 *CRM1*、*CRM3* 和 *CRM6* 3 类基因亚族构成, 分散排布在种子植物基因亚族中。对距离水蕨较远的瓶尔小草属(*Ophioglossum*)进行 cDNA 克隆(水蕨是薄囊蕨类的高度演化类群, 瓶尔小草是厚囊蕨类在蕨类系统树的基部开始分支), 发现 4 种不同的基因 *OPM1* 和 *OPM3-OPM5*^[7], 然而这些基因仍然不属于种子植物中已知的任何一个基因亚族。除 *OPM3* 和 *OPM4* 外, *OPM1* 和 *OPM5* 可能分别属于 *CRM7* 和 *CRM6* 类基因。因此 *CRM6* 类和 *CRM7* 类基因已在蕨类进化的早期形成。目前还没有证据表明现存蕨类植物具有花同源异型基因的功能同源基因。

根据系统发生重建并不能找到任何线索来说明蕨类 MADS 盒基因的功能, 突变体或转基因植株也不能证明这些基因的功能。用 Northern 杂交和 mRNA 原位杂交方法研究水蕨的 MADS 盒基因表达时发现, 大部分基因的表达在蕨类生活史的孢子体世代和配子体世代都能明显检测到; 只有 *CRM9* 和 *CRADS1* 基因例外, 它们在孢子体世代中表达比在配子体世代中明显强很多^[7,8]。大部分蕨类植物的 MADS 盒基因在两个生活史阶段都有表达, 而种子植物则恰好相反, 尽管其许多 MADS 盒基因的表达发生在雄蕊、心皮或胚珠中, 但种子植物 MIKC 型基因在配子体阶段表达的情形只发现一例, 即金鱼草的 *AGL17* 类基因 *DEFH125*。蕨类植物 MADS 盒基因在孢子体世代和配子体世代中都能表达, 说明它更为普遍地控制着发育或细胞分化的功能, 它与被子植物决定花器官形成的同源异型基因受到严格的时间和空间限制明显不同。

除时空表达的普遍性以外, 许多水蕨 MADS 盒基因还具有一些与种子植物 MADS 盒基因不同的特征。已有证据表明, 大部分水蕨 MADS 盒基因包括 *CRM1*、*CRM4*、*CRM6*、*CRM9* 等的最初转录产物都会发生选择性剪接(alternative splicing),

尽管已报道 150 多种种子植物 MADS 盒基因, 但发生选择性剪接的仅 1 例。但动物的 *MEF2* 类 MADS 盒基因的选择性剪接却非常典型, 从玉米分离到的含 MADS 盒的转座子类元件也存在选择性剪接。因此选择性剪接可能代表了一种古老的机理, 它增加每一个 MADS 盒基因蛋白产物的多样性, 种子植物中这一机理可能已经退化, 也可能还在起作用^[9]。

尽管大部分蕨类植物 cDNAs 具有编码全部(N) MIKC 型蛋白的能力, 包括 *CRM11*、*CRM12* 和 *CMADS5* 在内的一些 cDNAs 具有与 MADS 盒基因 cDNA 序列的高度相似性, 但由于框内终止密码或核苷酸插入或丢失等原因, 这些基因并不存在连续的阅读框架(ORF)^[8]。

可以推测, 现存蕨类和种子植物的最近一个共同祖先没有胚珠或花器官, 但有裸露的孢子囊和一个独立的配子体世代; 它已经有不止一个 MIKC 型 MADS 盒基因, 但可能比现存的蕨类或种子植物少; 这些 MIKC 型基因都不是特异花同源异型基因的功能同源基因, 它们在植物的生活史(包括配子体世代和孢子体世代)中普遍表达, 但不是器官特征基因; 与酵母 *MCM1* 基因的作用相比, 它们在发育或细胞分化的转录调控中发挥更广泛的作用^[9]。

3 裸子植物的 MADS 盒基因

现存裸子植物由 4 个类群构成, 即松柏类、买麻藤类、苏铁类和银杏类。目前在苏铁类和银杏类植物中只分离得到了少数几个 MADS 盒基因的 cDNA, 对裸子植物 MADS 盒基因的研究主要集中在松柏类和买麻藤类(这主要是因为它们的生态学地位和商业重要性以及买麻藤类一直被认为是被子植物的姐妹类群等原因)。

松柏类植物 MADS 盒基因的研究报道主要来自云杉属(*Picea abies*、*Picea mariana*)和松属(*Pinus radiata*、*Pinus resinosa*)^[10,11]。系统发生重建显示, 目前所得到的全长 cDNA 均可归属到被子植物已知的基因亚族内(包括 *AG*、*AGL2*、*AGL6*、*DEF/GLO* 和 *TM3* 类基因)。与大部分被子植物雌雄同株两性花的花器官相比, 已研究过的松柏类植物是雌雄同株单性的, 有真正的单性生殖轴(axes)。雌球果由不育苞片和可育鳞片两部分组成; 雄球果仅由小孢子叶构成。表达分析发现其 MADS 盒基因在雌雄球果中均有转录, 也有在营养器官中表达的, 如辐射松(*Pinus radiata*)针叶原基中转录表达的 *AGL6* 类基因 *PRMADS3*^[12]。在挪

威云杉的营养茎中也发现 *TM3* 类基因 *DAL3* 的转录产物,但胚胎、种子及幼苗中没有。原位杂交显示,辐射松的 *PRMADS1-3* 基因在形成珠鳞和小孢子叶原基的细胞群中表达,挪威云杉的珠鳞中同样也有 *AG* 类基因 *DAL2* 的表达,但在苞片、球果轴及顶端分生组织中没有检测到^[13]。*SAG1* 来自黑云杉,是 *DAL2* 的功能同源基因,在雌球果中的表达与 *DAL2* 相似;而在雄球果形成绒毡层的组织中,检测到 *SAG1* 基因低水平的表达。这些数据说明松柏类生殖结构形成与 *AG*、*AGL2* 和 *AGL6* 类基因都有关^[9]。

那么,拟南芥 *AG* 基因与挪威云杉 *DAL2* 基因在结构上的相似,是否也表明两者功能上的相似?通过 35S 组成性启动子控制下的 *DAL2* 在转基因拟南芥中的表达分析,发现大部分转化体的表型变异,如卷曲的丛生叶和早花等似乎与 *DAL2* 基因的功能没有多大关系。而另一些转化体则发生花器官特征的同源异型变异:萼片在其边缘部分产生雌性特征,如胚珠样结构和柱头特异的乳突状细胞;花瓣具有雄性特征,成为花丝状器官或雄蕊状器官并具花药状结构;第3和第4轮器官不受转基因的影响^[13]。因此转基因表达类似于拟南芥异位表达被子植物 *AG* 功能同源基因如 *AG* 本身或来源于欧洲油菜 (*Brassica napus*) 的 *BAG1* 基因。既然 ABC 模型能预测 A 和 C 功能是相互拮抗的,因而上述表型变异可认为是 A 功能丢失或 C 功能在拟南芥花器官第1和第2轮异位表达。研究 *AG* 和 *BAG1* 的结果表明, *AG* 类基因足以异位完成同源异型的 C 功能。因此对 *DAL2* 转基因实验结果的一种最简单的解释就是,花被器官的 *DAL2* 活性可在功能上取代异位表达实验中的 *AG* 活性^[9]。

根据 ABC 模型, C 类功能基因参与雄蕊和心皮的器官决定。但在裸子植物中并不存在雄蕊和心皮,那么松柏类植物 *DAL2/SAG1* 的功能是什么?可能回答这一问题的云杉属的 *DAL2/SAG1* 突变体目前还未得到。表达分析表明, *DAL2/SAG1* 在决定珠鳞或心皮特征和雄性生殖器官特征中起作用,系统发生重建已预测到松柏类植物可能有 *DEF/GLO* 类基因,而基因克隆的结果也支持这一观点。因此 *DAL2/SAG1* 基因可能与由云杉属的 *DEF/GLO* 类基因中的一个或多个基因相互作用,决定雄性生殖器官特征^[9]。表达分析和转基因实验都表明, *DAL2/SAG1* 的功能与被子植物的 C 功能而不是 D 功能更相似。乍一看来,这一

结论似乎很矛盾,因为是胚珠而不是心皮存在于所有裸子植物中,胚珠很可能在系统进化发生史上更为古老,因此决定胚珠分化的基因比决定雄蕊和心皮分化的 *AG* 类基因更为原始。但还必须想到, *DAL2/SAG1* 功能可能是 C 和 D 功能的祖先,那么种子植物 *AG* 类基因功能的早期进化是如何体现的呢?目前在裸子植物中分离得到的 *AG* 类基因只有一种类型。系统发生重建表明,这些基因位于被子植物 C 和 D 功能基因的基部,因此这些基因的原始功能可能能够区分生殖器官(如雄性孢子体和珠鳞包括胚珠)与营养器官(包括球果苞片)。

买麻藤类(gnetophytes)是种子植物中有争议的类群之一,它包括3个属:*Gnetum*、*Ephedra*、*Welwitschia*。根据形态学的植物分类系统,认为现存的种子植物中买麻藤类是被子植物的姐妹类群^[14]。而最近的分子生物学数据则提出买麻藤类与松柏类的亲缘关系更近^[15]。

买麻藤类植物 *Gnetum gnemon* 13个不同的单拷贝 MADS 盒基因 cDNA 序列已经报道^[16]。系统发生重建表明有7个基因属于新的基因亚族,其余6个基因(*GGM1*、2、3、9、11、12)分别归属于被子植物已知基因亚族如 *STMADS11*、*TM3*、*DEF/GLO*、*AG*、*AGL6*,因此推测它们是被子植物相关基因的功能同源基因。其中 *GGM2* 是裸子植物中发表的第1个 *DEF/GLO* 类基因,后来在两种松柏类植物(*Norway spruce*、*Monetary pine*)中也发现了 *DEF/GLO* 类基因。系统发生重建显示,在已有的被子植物、买麻藤类和松柏类植物基因亚族如 *AG*、*AGL6*、*DEF/GLO* 和 *TM3* 类基因中,买麻藤属的基因总是与松柏类的基因形成亚族,而将被子植物的基因排除在它们的亚族之外^[16]。这一发现为买麻藤类植物与松柏类的亲缘关系比与被子植物的关系更近的假说提供了分子生物学证据。

鉴于同源器官一般应表达直系同源的发育控制基因,因此,用 MADS 盒基因研究不同种子植物的生殖器官在结构上和发育上的同源性是可行的。例如,有进化模式提出,被子植物花瓣与买麻藤生殖器的外层珠被同源,如果是这样的话,则无论是在雄球果还是雌球果, B 功能基因的功能同源基因如 *GGM2* 应在买麻藤的外层珠被中表达。然而事实是 *GGM2* 根本不在雌球果中表达,雄球果内包围药轴的珠被也不表达,而仅限于在药轴本身表达 *GGM2*^[16]。买麻藤外层珠被表达 *AG* 类基因 *GGM3*,说明也不可能与被子植物的花被同源。这

一事实倒是为另一种假说即买麻藤的外层珠被与被子植物胚珠的珠被甚至心皮同源提供了佐证,而且 *GGM3* 的松柏类功能同源基因 *SAG1* 在胚珠的珠被中表达非常强^[11]。不过这些结论仍有待完善,因此应该更严格地检测裸子植物和被子植物相关基因的直系同源性,基因独立地加入(co-option or recruitment)到非同源的发育过程中也是不能排除的,因此必须对更多的基因进行检测分析。虽然如此,但我们已有理由相信,MADS盒基因的系统发生与某些形态结构(如胚珠)的进化之间有着非常密切的联系,研究MADS盒基因的系统发生有助于了解花的起源。

系统发生树及已发表的数据说明,裸子植物和被子植物共有的MADS盒基因亚族有5个,也就是说现存种子植物的最近一个共同祖先中,至少存在5种不同的MIKC型基因:*AG*、*AGL2*、*AGL*、*DEF/GLO*和*TM3*类基因亚族。很可能还有与*GGM13*、*GGM12*近似的第6和第7种基因亚族,因其功能同源基因已在被子植物中发现^[17]。可以推想,这些基因大部分已参与孢子体的生殖器官决定,现存种子植物的最近一个共同祖先可能采用同源异型C和D功能(C/D)的祖先模式(该功能由*AG*类基因提供)区分生殖器官与非生殖器官,甚至用原始的B功能(由至少1个*DEF/GLO*类基因提供)决定雄性和雌性生殖器官。因此花器官ABCD系统的前身(precursor)很可能在现存种子植物的进化基部已建立了BC/D系统,但BC/D系统在蕨类和种子植物的最近一个共同祖先根本不存在^[9]。归纳起来,现存裸子植物和被子植物的最近一个共同祖先(距今约30亿年)含有至少7种不同的MADS盒基因,它们是*AG*、*AGL2*、*AGL6*、*DEF/GLO*、*GGM13*、*STMADS11*和*TM3*类基因。这些基因大多已参与决定孢子体生殖器官如胚珠;由*AG*类基因提供的同源异型基因C/D功能的祖先模式可能用来区分生殖器官和营养器官,甚至于由*DEF/GLO*类的基部基因提供的原始B功能很可能用来区分雄雌生殖器官。因此花同源异型基因的功能同源基因和决定花器官特征(BC/D系统)的ABCD系统的前体,很可能在现存种子植物的进化基部已经建成。

4 被子植物基部类群的MADS盒基因

目前有关被子植物进化的假设认为,单子叶植物与真双子叶植物(eudicots)两大单系类群置根于木兰类双子叶植物的基部集合群之中^[14]。木兰类

双子叶植物基部集合群在这里称为被子植物基部类群(basal angiosperms),其花形态结构变化异常丰富,有大而多被的两性花、小而简单的单性花,花器官各轮的数量和排布也有很大差别。显然,研究被子植物基部类群不同花形态的*SQUA*、*DEF*、*GLO*、*AG*类MADS盒基因,将有助于了解ABCD模型的进化。其中令人感兴趣的问题有,被子植物进化过程中花器官特征基因如何影响花瓣的独立演化?花瓣独立演化是否都需要新的*DEF*和*GLO*类基因?被子植物基部类群是否存在其它类型基因替代*DEF*类和*GLO*类基因?如果是,那么表达*DEF*和*GLO*类基因就不是被子植物基部类群花瓣所必须的。Kramer等^[18]在克隆了13种植物(包括古草本、木兰类、真双子叶)的*DEF*和*GLO*类直系同源基因并同已知的*AP3*、*PI*基因的模体(motif)进行比较后提出,*DEF*和*GLO*类基因家系内都发生过相当频繁的基因重复事件。虽然ABCD模型在高等真双子叶植物中相当保守,但低等真双子叶植物花同源异型基因的时空表达模型则差别较大。来自低等真双子叶植物毛茛的*AP3*和*PI*功能同源基因仅在花瓣原基表达,之后逐渐减少甚至消失,说明花瓣特征基因在高低等真双子叶植物是由不同的基因控制,这就极大地支持了被子植物花瓣器官是多次独立进化的学说^[6]。

至今不能回答A功能的起源和第一个*SQUA*类基因的来源。与A功能有关的基因有好几种,已发现拟南芥的两个A功能基因(*AP1*和*CAL*)也是分生组织特征基因;金鱼草的A功能基因*SQUAMOSA*不仅在萼片及花瓣表达,也可在非花器官中表达,因此A功能可能是由分生组织特征基因演变而来。根据系统发生重建推测,*SQUA*类基因可能由*AGL2/AGL6/SQUA*亚族(有时也叫*AP1/AGL9*基因亚族)的一个祖先基因的基因复制产生^[9]。*AGL15*类基因在发育的胚胎中表达^[19],但*AGL15*类基因并非存在于所有种子植物中,目前已报道的*AGL15*类基因仅在十字花科中分离到,而木兰属中发现*AGL15*类基因至少说明这类基因在被子植物基部类群已经存在^[9]。因此被子植物基部类群对于了解花器官的起源是至关重要的。可以肯定的是被子植物的最近一个共同祖先已经具有至少9种不同的MADS盒基因,分别属于不同的基因亚族:*DEF*、*GLO*、*AGL15*、*AG*、*AGL2*、*AGL6*、*GGM13*、*STMADS11*和*TM3*类。

5 单子叶植物的MADS盒基因

虽然单子叶植物中分离到的第1个MADS盒基因来自兰花^[20],但大部分研究都集中在玉米和水稻上^[21~23]。系统发生重建显示,玉米的 *ZA G1/ZMM2* 基因与拟南芥的 *AG* 基因直系同源^[24,25],用反向遗传策略获得的 *ZA G1* 缺失突变体并没有发生预期的花器官同源异型转变产生非花器官,而是产生许多心皮^[25],说明决定花分生组织特征的功能缺失。已知 *AG* 基因除决定雄蕊和心皮特征外,也参与决定花分生组织特征。可能 *ZA G1* 的功能只是决定花分生组织特征。表达分析揭示 *ZA G1* 对心皮发育更重要。系统发生重建显示, *ZMM2* 与水稻 *OSMADS3* 形成一个基因亚族,它不包括 *ZA G1*,说明 *ZMM2* 及其复制位点与 *OSMADS3* 在祖先是直系同源的。因此不仅是 *OSMADS3* 基因,还有 *ZMM2* 及其复制位点也参与禾本类植物的C功能^[9]。玉米 *SIL KY1* 基因的克隆对玉米B功能的认识是一次飞跃^[26], *SIL KY1* 突变体表型与真双子叶植物B功能突变体十分相似;另外,这一基因在浆片原基和雄蕊原基表达,推测它是B类基因 *DEF* 的功能同源基因。就B功能而言,ABCD模型适合于禾本类植物。

目前还不清楚单子叶植物MADS盒基因是否参与了A功能,但从玉米、高粱、百合中已分离到 *SQUA* 类基因^[2,27],因此 *SQUA* 类基因在单子叶植物和真双子叶植物的最近一个共同祖先已经建立。已从玉米中克隆到30余种MADS盒基因,属于10多个不同的基因亚族,其中 *AGL17* 等几类基因还未在非单子叶植物发现其直系同源基因,另有一类可转座的MADS盒基因 *TMZ1* 或 *ZEM* 基因如 *ZA G4*,具有转座子的特征,如拷贝数和基因位点不确定、含13bp的回文结构(TIRs)等。*TMZ1* 是目前唯一不含MIKC域的植物MADS盒基因,但其MADS盒结构决定了 *TMZ1* 属于 *AG* 亚族^[9]。百合、郁金香等具有瓣状被片,可解释为ABCD模型中B功能扩展至轮1。郁金香B功能缺失突变体完全支持这种解释。最近已从百合植物 *Lilium regale* 中克隆到MADS盒基因,发现其 *DEF* 类基因既在花被层,也在雄蕊中表达,这同样支持了瓣状被片是B功能基因在轮1和轮2中表达的看法^[9]。

单子叶植物各类群的花形态结构和花序结构各异,其花器官的B和C功能可能与真双子叶植物相似,但禾本类植物的B功能决定浆片而不是轮2花瓣;在百合及其近缘种,B功能很可能不仅在轮2

和轮3表达,也可在轮1表达,因此可以认为百合类的花被由两轮被片构成。除被子植物最近一个共同祖先含有的9类MADS盒基因外,单子叶植物和真双子叶植物的最近一个共同祖先(距今约20亿年)还具有 *AGL17* 类和 *SQUA* 类基因。

6 真双子叶植物的MADS盒基因

在花发育的进化过程中MADS盒基因的数量增加具有谱系特点,基因亚族在一种植物至少含有两个成员,表明MIKC型基因进化的多样化及定式。虽然BCD功能及相应的基因在高等真双子叶植物相当保守,但A功能就不那么确定^[28]。拟南芥的A功能可能由决定花分生组织特征的功能演化而来;金鱼草的A功能则不单是这样,且更可能是两种功能密不可分,因为可以区分决定轮1与决定花本身的基因突变体至今还没有得到。矮牵牛的A功能与拟南芥的也不同,*AP2*的矮牵牛直系同源基因并不表现A功能,虽然这一功能是存在的^[29]。最近从菊科植物大丁草 *Gerbera* 中发现的 *SQUA* 直系同源基因 *GSQUA1* 并不表达A功能,在花序及小花原基的维管束里则高度表达^[28]。

在低等真双子叶植物毛茛亚纲中已发现其 *DEF* 和 *GLO* 直系同源基因的表达模式与高等真双子叶植物有较大差别。荷包牡丹 (*Dicentra eximia*) 和冰岛罂粟 (*Papaver nudicaule*) *DEF* 类和 *GLO* 类基因的转录产物或蛋白质仅在花瓣原基积累,随花发育而减少并限于花瓣边缘,甚至完全消失^[6]。说明这些基因或许与高等真双子叶植物决定花瓣特征的功能同源基因作用模式不同,或许在由雄蕊到花瓣的进化过程在花瓣中被赋予了新的功能。既然单子叶植物的 *DEF* 类和 *GLO* 类基因可决定花瓣或浆片特征,而且在毛茛类植物花瓣原基发育中也检测到 *DEF* 类和 *GLO* 类基因的表达,因此可以认为,决定花瓣状器官特征的发育模式可能是所有现存单子叶植物和真双子叶植物乃至所有被子植物的共同衍征(synapomorphy),花瓣发育后期丧失花瓣特征基因的持续表达反映出产生低等真双子叶植物的谱系内的次生进化事件。

要更好地了解ABCD功能在花发育中的作用,还必须明确其上游调节因子及其目标基因。最近已在这两个方面取得突破,一是克隆了拟南芥的 *CLF* 基因^[30],其缺失突变同C功能基因 *AG* 的异位表达相似即产生叶卷曲,认为 *CLF* 可能抑制 *AG* 在植物发育后期不适当部位的表达。但 *CLF* 蛋白序列与果蝇 Polycomb 族的 *Ez* 基因的蛋白序

列有很高的相似性, *Ez* 基因是记忆系统的一部分, 它通过多次细胞分裂维持失活或活化同源异型选择基因的原初空间模式。CLF 和 E(Z) 序列相似说明这两种蛋白可能具有同一个祖先并一直保守, 植物也具有 Polycomb 族基因功能, 这一点很重要, 因为动植物同源异型的目标基因编码不同的转录因子, 无论是 MADS 域蛋白还是同源异型域蛋白均是如此。因此作为同源异型基因的抑制物 Polycomb 族蛋白很可能在动植物中是独立进化的^[9]。另外, 直到最近才证实第 1 个花同源异型基因的直接靶基因, 采用 mRNA 差异显示技术分离到受甾体化合物正调节 (up-regulated) 的 mRNA, 它与 1 个含 NAC 域的基因吻合 (NAC 是最初 3 个成员基因矮牵牛 *NAM*、拟南芥 *ATAF1-2* 和 *CUC2* 的首写字母合并), 因此称为 *NAP* 基因 (*NAC* 类, 受 *AP3/PI* 激活), 表达分析显示, *NAP* 在雄蕊和花瓣的细胞分裂与细胞扩增的转换中起作用^[31]。

植物 MADS 盒基因除了调节花发育的作用外, 还参与根、叶、果实、种子以及胚胎的发育^[32]。它存在于裸子植物和蕨类植物的事实进一步说明, MADS 盒基因的作用不只限于花发育。例如, *AGL1* 和 *AGL5* 是 *AG* 类基因的副同源基因 (paralogues), 与果实的正常开裂有关, 因双突变体的长角果不开裂^[33]。功能转变最显著的例子要数 *FUL* 基因, 它与 *AP1*、*CAL* 均属于 *SQUA* 类基因, *SQUA* 类基因一般在花序或分生组织表达, 它有分生组织的特征功能。虽然 *ful* 突变体并没有表现花序异常的表型, 但它是转向开花时花轴上表达的第 1 组基因之一^[33]。*ap1*、*cal*、*ful* 三重突变体具有更显著的 *ap1*、*cal* 表型, 说明这 3 个基因在始花期有部分功能可能是多余的。因此 *SQUA* 类基因在分生组织中的作用很有可能反映了它的原始功能, *FUL* 后来在花进化过程中执行了新添的功能。

花器官特征的 ABCD 模型在高等真双子叶植物相当保守, 只是狭义的 A 功能在不同植物中有不同的基因, 或者根本不存在 A 功能。低等真双子叶植物的花同源异型基因的时空表达模式差别较大, 已确证, 拟南芥 MADS 盒基因功能不只限于花发育, 它与根和果实的发育都有关。

7 展望

要完全弄清楚 MADS 盒基因在植物进化中的作用还有相当长的路。进化发育遗传学 (evolutionary developmental genetics, 简称 evodevotics) 的

研究手段如基因克隆与测序、系统发生重建、表达分析、突变体分析等, 已架起 MADS 盒基因系统发育与植物形态进化之间的桥梁。基因复制与添加 (recruitment) 对控制植物发育的基因网的进化已是众所周知^[9]。

采用异源转基因研究基因功能替代可严格检测到基因功能的保守性, 此种实验最好选取直系同源基因进行。另外, 研究亲缘关系密切的单系类群以及自然居群内 MADS 盒基因位点的自然变异, 对了解 MADS 盒基因变异是否引起性状的自然变异是有意义的, 这类研究已经在 *CAL*、*AP3*、*PI* 基因上开始进行^[34,35], 而在此之前, 绝大多数 MADS 盒基因的功能都是采用突变体发现的。

MADS 盒基因功能同源基因的启动子比较研究也将是一个令人感兴趣的领域。遗憾的是目前对 MADS 盒基因的启动子知之甚少, 仅有拟南芥 *AG* 和 *AP3* 基因的启动子有所报道^[36,37]。

作为转录因子的 MADS 域蛋白的正常功能发挥有赖于形成蛋白的同源, 或异源二聚体甚至更高级的蛋白复合体, 也有赖于与 DNA 的结合, 以及必须活化或抑制基础转录机制等。已有许多体内体外实验用于研究进化过程中亲缘关系较远的 MADS 域蛋白如何进行蛋白-蛋白和蛋白-DNA 的相互作用^[38], 相信不久在这方面将有新的突破。

参考文献

- 1 罗 达. 花发育的分子遗传学. 见: 许智宏, 刘春明编. 植物发育的分子机理. 北京: 科学出版社, 1999. 89106
- 2 Fischer A, Baum N, Saedler H *et al.* Chromosomal mapping of the MADS-box multigene family in *Zea mays* reveals dispersed distribution of allelic genes as well as transposed copies. *Nucl Acids Res*, 1995, **23**:19011911
- 3 Coen ES, Meyerowitz EM. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 1991, **353**:3137
- 4 Weigel D, Meyerowitz EM. The ABCs of floral homeotic genes. *Cell*, 1994, **78**:203209
- 5 Angenent GC, Colombo L. Molecular control of ovule development. *Trends Plant Sci*, 1996, **1**:228232
- 6 Kramer EM, Irish VF. Evolution of genetic mechanisms controlling petal development. *Nature*, 1999, **399**:144148
- 7 M nster T, Pahnke J, Di Rosa A *et al.* Floral homeotic genes were recruited from homologous MADS-box genes preexisting in the common ancestor of ferns and seed plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**:24152420
- 8 Hasebe M, Wen CK, Kato M *et al.* Characterization of MADS homeotic genes in the fern *Ceratopteris richardii*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**:62226227

- 9 Theissen G, Becker A, Rosa AD *et al.* A short history of MADS-box genes in plants. *Plant Mol Biol*, 2000, **42**:115149
- 10 Liu J-J, Podila GK. Characterization of a MADS box gene (Accession No. Y09611) from immature female cone of red pine (PGR 97-032). *Plant Physiol*, 1997, **113**:665
- 11 Rutledge R, Regan S, Nicolas O *et al.* Characterization of an *A GAMOUS* homologue from the conifer black spruce (*Picea mariana*) that produces floral homeotic conversions when expressed in *Arabidopsis*. *Plant J*, 1998, **15**:625634
- 12 Mouradov A, Glassick TV, Hamdorf BA *et al.* Family of MADS-box genes expressed early in male and female reproductive structures of Monterey pine. *Plant Physiol*, 1998, **117**:55-61
- 13 Tandre K, Svenson M, Svensson ME *et al.* Conservation of gene structure and activity in the regulation of reproductive organ development of conifers and angiosperms. *Plant J*, 1998, **15**:615-623
- 14 Crane PR, Friis EM, Pedersen KR. The origin and early diversification of angiosperms. *Nature*, 1995, **374**:2733
- 15 Chaw SM, Zharkikh A, Sung HM *et al.* Molecular phylogeny of extant gymnosperms and seed plant evolution: analysis of nuclear 18S rRNA sequences. *Mol Biol Evol*, 1997, **14**:5668
- 16 Winter KU, Becker A, M nster T *et al.* MADS-box genes reveal that gnetophytes are more closely related to conifers than to flowering plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**:73427347
- 17 Carmona MJ, Ortega N, Garcia-Maroto F. Isolation and molecular characterization of a new vegetative MADS-box gene from *Solanum tuberosum* L. *Planta*, 1998, **207**:181188
- 18 Kramer EM, Dorit RL, Irish VF. Molecular evolution of genes controlling petal and stamen development: duplication and divergence within the *APETALA3* and *PISTILLA TA* MADS-box gene lineages. *Genetics*, 1998, **149**:765783
- 19 Heck GR, Perry, SE, Nichols KW *et al.* AGL15, a MADS domain protein expressed in developing embryos. *Plant Cell*, 1995, **7**:12711282
- 20 Lu ZX, Wu M, Loh CS *et al.* Nucleotide sequence of a flower-specific MADS box cDNA clone from orchid. *Plant Mol Biol*, 1993, **23**:901904
- 21 Cacharr n J, Saedler H, Theissen G. Expression of the MADS-box genes *ZMM8* and *ZMM14* during inflorescence development of *Zea mays* discriminates between the upper and the lower floret of each spikelet. *Dev Genes Evol*, 1999, **209**:411420
- 22 Chung YY, Kim SR, Finkel D *et al.* Early flowering and reduced apical dominance result from ectopic expression of a rice MADS box gene. *Plant Mol Biol*, 1994, **26**:657665
- 23 Kang HG, Jeon JS, Lee S *et al.* Identification of class B and class C floral organ identity genes from rice. *Plant Mol Biol*, 1998, **38**:10211029
- 24 Theissen G, Strater T, Fischer A *et al.* Structural characterization, chromosomal localization and phylogenetic evaluation of two pairs of *A GAMOUS*-like MADS-box genes from maize. *Gene*, 1995, **156**:155166
- 25 Mena M, Ambrose BA, Meeley RB *et al.* Diversification of C-function activity in maize flower development. *Sci*, 1996, **274**:15371540
- 26 Schmidt RJ, Ambrose BA. The blooming of grass flower development. *Curr Opin Plant Biol*, 1998, **1**:6067
- 27 Mena M, Mandel MA, Lerner D *et al.* A characterization of the MADS-box gene family in maize. *Plant J*, 1995, **8**:845854
- 28 Yu D, Kotilainen M, P ll nen E *et al.* Organ identity genes and modified patterns of flower development in *Gerbera hybrida* (Asteraceae). *Plant J*, 1999, **17**:5162
- 29 Maes T, Van de Steene N, Van Montagu M *et al.* The *AP2*-like genes of *Petunia hybrida*. *Flowering Newsl*, 1998, **25**:35 40
- 30 Goodrich J, Puangsomlee P, Martin M. A Polycomb-group gene regulates homeotic gene expression in *Arabidopsis*. *Nature*, 1997, **386**:4451
- 31 Sablowski RWM, Meyerowitz EM. A homolog of *NO APICAL MERISTEM* is an immediate target of the floral homeotic genes *APETALA3/PISTILLA TA*. *Cell*, 1998, **92**:93103
- 32 Huang H, Tudor M, Weiss CA *et al.* The *Arabidopsis* MADS-box gene *AGL3* is widely expressed and encodes a sequence-specific DNA-binding protein. *Plant Mol Biol*, 1995, **28**:549567
- 33 Liljegren SJ, Ferr ndiz C, Alvarez-Buylla ER *et al.* *Arabidopsis* MADS-box genes involved in fruit dehiscence. *Flowering Newsl*, 1998, **25**:919
- 34 Purugganan MD, Suddith JI. Molecular population genetics of the *Arabidopsis* cauliflower regulatory gene: nonneutral evolution and naturally occurring variation in floral homeotic function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**:81308134
- 35 Purugganan MD, Suddith JI. Molecular population genetics of floral homeotic loci: departures from the equilibrium-neutral model at the *APETALA3* and *PISTILLA TA* genes of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 1999, **151**:839848
- 36 Hill TA, Day CD, Zondlo SC *et al.* Discrete spatial and temporal cis-acting elements regulate transcription of the *Arabidopsis* floral homeotic gene *APETALA3*. *Development*, 1998, **125**:1711-1721
- 37 Sieburth LE, Meyerowitz EM. Molecular dissection of the *A GAMOUS* control region shows that cis elements for spatial regulation are located intragenically. *Plant Cell*, 1997, **9**:355365
- 38 Fan HY, Hu Y, Tudor M *et al.* Specific interactions between the K domains of AG and AGLs, members of the MADS domain family of DNA binding proteins. *Plant J*, 1997, **12**:9991010