

杂交棒眼果蝇亮红眼的遗传特性及其眼睛色素含量分析

杨军¹ 连林生² 赵春江¹ 白丽华¹ 吴常信¹

(1. 中国农业大学 动物科学技术学院, 北京 100094; 2. 云南农业大学 动物科技学院, 昆明 650201)

摘要 黑腹果蝇眼色性状由多个基因所调控,是研究基因间互作的有效模型。为了探究棒眼果蝇与野生型果蝇杂交产生亮红眼突变体的机制,将亮红眼突变体分别与野生型果蝇进行正、反、测交和与眼色突变体果蝇(*cn*, *v* 和 *st*)进行互补测验,同时对不同果蝇品系进行了眼色素的测定。结果表明,亮红眼果蝇是由于其 *scarlet* (猩红眼)基因突变所致,暂命名为 *st^{br}*; *st^{br}*果蝇眼黄素含量极显著低于野生型果蝇 ($P < 0.001$),而其果蝇蝶呤含量比较无显著差异 ($P > 0.05$)。本研究中 *st^{br}*果蝇眼睛呈现亮红色,可能是由于其 *scarlet* 基因突变,影响了眼黄素前体物的跨膜运输,造成果蝇眼睛中眼黄素合成水平降低所致,此结果为 *st^{br}*果蝇开展分子生物学研究奠定了基础。

关键词 棒眼; 亮红眼; 眼色; 眼色素; 黑腹果蝇

中图分类号 Q 969.462.1; Q 343.15

文章编号 1007-4333(2006)05-0013-04

文献标识码 A

Genetic characteristic and eye pigment analysis of bright-red-eye outcross progeny of Bar fly

Yang Jun¹, Lian Linsheng², Zhao Chunjiang¹, Bai Lihua¹, Wu Changxin¹

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract Eye colour of *Drosophila melanogaster* is modulated by multiple genes, which is effective model for interaction research among genes. For understand the mechanism of mutation of the bright-red-eye progeny of Bar and wildtype fly, bright-red-eye mutants crossed to wildtype flies and eye colour mutants (*cn*, *v* and *st*) respectively. Eye pigment analysis of different fly lines was also performed. Results of crossing indicated that mutation of *scarlet* gene is responsible for the bright-red-eye phenotype. The bright-red-eye mutant was named *st^{br}* in this research. Results of eye pigment analysis represented that *st^{br}* fly have significantly less xanthommatin than wild flies ($P < 0.001$) but no difference of drosopterin content is found between wild type and *st^{br}* ($P > 0.05$). Bright red eye colour of *st^{br}* fly in this research may be result of mutation *scarlet* gene, which induced interruptive trans-membrane transportation of pigment precursor and decreasing biosynthesis of xanthommatin. Result of this research provides basis for further molecular biological analysis of *st^{br}* fly.

Key words Bar eye; bright red eye; eye colour; eye pigment; *Drosophila melanogaster*

果蝇眼睛颜色的表现是由于大约 80 多个基因在不同发育阶段的表达和相互作用^[1],这些基因的作用包括参与眼色素前体物的运输、色素颗粒的合成、色素颗粒转运和色素颗粒的沉积。对于不同遗传背景的果蝇品系间杂交所产生的眼色突变体的研究,可以很好地描述影响其基因间的相互作用模式,

为家畜质量和数量性状的“多因一效”和“一因多效”的基因表达模式提供参考和一定的依据。正常黑腹果蝇眼色为红褐色,由 2 类色素所构成:红色的果蝇蝶呤(drosopterin)由鸟嘌呤经蝶啶中间体所合成,褐色的眼黄素(xanthommatin)由色氨酸经 4 步酶促反应而合成^[2-5]。影响果蝇眼色的基因主要分为 3

收稿日期: 2006-04-10

作者简介: 杨军,博士研究生, E-mail: yangjunfly@163.com; 连林生,教授,博士生导师,通讯作者,动物分子数量遗传学研究, E-mail: lls401@sohu.com; 吴常信,中国科学院院士,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事动物分子数量遗传学研究, E-mail: chxwu@public.bta.net.cn

类,第1类是直接参与眼色素生物合成的基因,如基因 *vermilion* (*v*)、*cinnabar* (*cn*) 和 *karmoisin* (*kar*) 分别编码眼黄素合成途径上的色氨酸加氧酶、犬尿氨酸 3-羟化酶及酚噁嗪酮合成酶^[10-11], *purple* (*pr*) 基因编码果蝇蝶呤合成途径中的 6-丙酮酰四水蝶呤合成酶;第2类是编码运输色素前体的分类载体(ABC transporters)的基因 *white* (*w*)、*scarlet* (*st*) 和 *brown* (*bw*), 其中 *whit* 和 *scarlet* 基因产物构成 ABC 转运蛋白的 White/Scarlet 亚基,参与眼黄素的跨膜运输,而 *white* 和 *brown* 基因产物构成 ABC 转运蛋白的 White/Brown 亚基,参与果蝇蝶呤的跨膜运输;第3类“颗粒簇基因”(granule group gene)是近年来研究的热点,其所编码的蛋白都具有运送蛋白至溶酶体及相关颗粒组织并参与这些颗粒形成的功能^[6]。

本实验室在培育果蝇的过程中,发现棒眼果蝇与紫眼果蝇杂交,后代出现亮红眼表型,且能通过筛选形成品系;广泛的果蝇杂交试验结果显示,棒眼果蝇与野生型果蝇杂交,后代出现亮红眼突变体;紫眼果蝇与野生型果蝇杂交,后代无亮红眼突变体出现。观察发现,棒眼果蝇与野生型果蝇杂交产生的亮红眼突变体在羽化初期眼睛呈现鲜亮红色,随着日龄的增加逐渐变暗,18~20日龄以后与野生型接近。本文旨在揭示2种果蝇品系杂交出现亮红眼表型的遗传特性。

1 材料与方法

1.1 果蝇品系及其培育

野生型果蝇、棒眼果蝇(*Bar*, *B*)、白眼果蝇(*white*, *w*)和位于2、3号染色体上的隐性标记突变体果蝇残翅 *vestigial* (*vg*) 和黑檀体 *ebony* (*e*) 由本实验室保存,眼色突变品系猩红眼果蝇(*scarlet*, *st*)、朱砂眼果蝇(*cinnabar*, *cn*)、朱红眼果蝇(*vimilion*, *v*)由日本 *Drosophila* Genetic Resource Center (Kyoto Institute of Technology) 提供。果蝇在25℃、人工光照条件下培育。

1.2 亮红眼果蝇培育及其遗传特性分析^[8-9]

本实验室棒眼果蝇为红棒眼和紫棒眼的混合群,且棒眼又包括了宽棒眼和窄棒眼。首先将棒眼混合群分离提纯为宽棒眼、窄棒眼、宽紫棒眼和窄紫棒眼4个品系,以这些品系分别与野生型果蝇作正、反交,后代自交,直到出现亮红眼个体,将亮红眼果蝇培养成纯系保存。

1.3 亮红眼果蝇遗传特性分析

培养成纯系的亮红眼果蝇再与野生型果蝇分别进行正、反、测交,观测 F_1 、 F_2 和 F_1 后代表型并统计数目,分析其相对于野生型果蝇的显隐性关系及其是否与性染色体连锁。

用两点测验法分别对亮红眼果蝇与2号染色体突变残翅果蝇 *vestigial* (*vg*) 和3号染色体突变黑檀体果蝇 *ebony* (*e*) 进行测交,观察并统计后代表型和数目,初步确定影响亮红眼表型的基因。

棒眼果蝇与野生型果蝇正、反交所能产生的亮红眼果蝇品系间分别进行互补测验,以及亮红眼果蝇与引入的眼色突变品系进行互补测验,确定本试验所产生的亮红眼果蝇是否是已知眼色突变品系。

1.4 果蝇眼色素提取与分析

参照 Susan 等^[6]的果蝇眼睛色素提取方法,做适当的修改,分别提取野生型、棒眼、白眼、眼色突变品系和亮红眼果蝇的果蝇蝶呤(雌雄果蝇各10只)和眼黄素(雌雄果蝇各15只),用 unico uv-2000 分光光度计(上海尤尼柯)在特定波长(果蝇蝶呤 485 nm,眼黄素 492 nm)下测定提取物的吸光度 A ,同一品系重复提取测定3次。因为果蝇成熟后眼睛颜色会发生变化,所以用于眼睛色素提取的果蝇均为标准的10日龄成虫。以与野生型果蝇吸光度的百分比值作为结果进行分析,以色素缺乏的白眼果蝇作为阴性对照。

$$P = (A_{\text{mutant}} / A_{\text{wildtype}}) \times 100\%$$

式中: P 为眼色素值; A_{mutant} 为突变品系眼色素吸光度; A_{wildtype} 为野生型眼色素吸光度。

1.5 统计学方法

使用 SAS V8.02 软件对果蝇表型分离比和雌雄比例进行卡方检验。因为亮红眼果蝇眼黄素测定只有2次重复,所以运用 SAS 的 GLM 程序对果蝇品系间眼睛色素含量差异进行分析。

2 结果与分析

2.1 亮红眼培育及其遗传特性分析

棒眼果蝇与野生型果蝇的正、反交试验中,红棒眼(宽红棒眼和窄红棒眼)与野生型的正、反交组合中都有亮红眼后代产生,且都培养成纯系,编号为 *brr C1*、*brr C2*、*brr C3* 和 *brr C4*。

亮红眼果蝇与野生型果蝇正、反交结果显示(表1),反交 F_1 代雌雄比为 1:1 ($P > 0.05$), F_2 代野生型与亮红眼表型比为 3:1 ($P > 0.05$);正交 F_1 代雌

表1 亮红眼果蝇与野生型果蝇杂交结果
Table 1 Genetic analysis of bright-red-eye flies

杂交后代	反交(野生型 × 亮红眼)				正交(亮红眼 × 野生型)				测交(亮红眼 × F ₁ 正交)			
	野生表型		亮红眼表型		野生表型		亮红眼表型		野生表型		亮红眼表型	
F ₁	256	281	0		290	349	0		0		0	
F ₂ /F _t	155	144	37	44	134	150	34	35	92	102	62	83

雄比为 1:1 ($P > 0.05$), F₂ 代野生型与亮红眼表型比为 3:1 ($P > 0.05$); 测交 F₁ 代野生型与亮红眼表型比为 1:1 ($P > 0.05$)。这些都说明亮红眼表型是位于常染色体上的隐性性状。

亮红眼果蝇与残翅果蝇 *vg* 杂交产生的 F₁ 代, 再与亮红眼/残翅双隐性纯合体进行测交, F₁ 代表型比野生型/亮红眼/残翅/亮红眼残翅符合 1:1:1:1 ($P > 0.05$)。此结果符合不同染色体上基因产生配子时的自由组合规律, 初步说明控制亮红眼表型的基因不在 2 号染色体上。亮红眼果蝇与黑檀体果蝇 *e* 杂交产生的 F₁ 代, 再与亮红眼/黑檀体双隐性纯合体进行测交, F₁ 代表型野生型/亮红眼/黑檀体为 1:1 ($P > 0.05$), 黑檀体/亮红眼为 1:1 ($P > 0.05$), 不符合自由组合规律, 其中野生型和亮红眼/黑檀体果蝇为染色体发生交换产生的后代, 说明控制亮红眼表型的基因与黑檀体基因 *ebony* 共同位于 3 号染

色体上。

亮红眼果蝇品系间互补测验中, *brrC1*、*brrC2*、*brrC3* 和 *brrC4* 相互间杂交后代 (F₁、F₂) 全部表现为亮红眼表型, 雌雄比例为 1:1 ($P > 0.05$), 说明这 4 个亮红眼品系为同一品系。

亮红眼果蝇与眼色突变品系间互补测验结果表明, 亮红眼果蝇与位于 2 号染色体上的 *cn* 品系杂交, F₁ 代全为野生型表型, F₂ 代表型分离比野生型/亮红眼(231:164)符合 9:7 的比例 ($P > 0.05$); 与位于 X 染色体上的 *v* 品系杂交, F₁ 代雌蝇全为野生型表型, 雄蝇全为亮红眼, F₂ 表型分离比野生型()/野生型()/亮红眼()/亮红眼()符合 3:3:5:5 ($P > 0.05$)。

亮红眼果蝇与 *st* 杂交, F₁、F₂ 代均表现为亮红眼表型, 且雌雄比例为 1:1 ($P > 0.05$) (表 2), 说明引起本实验室亮红眼果蝇的表型基因就是位于 3 号

表2 亮红眼果蝇与眼色突变果蝇品系间互补测验结果

Table 2 Result of complementation test of *brr* and known eye-color mutant lines

杂交后代	亮红眼 × <i>st</i>		亮红眼 × <i>v</i>		亮红眼 × <i>cn</i>						
	野生表型	亮红眼表型	野生表型	亮红眼表型	野生表型	亮红眼表型					
F ₁	0	114	110	77	63	57	66	0			
F ₂	0	227	272	73	79	110	99	110	121	80	84

染色体上的 *st* 基因的等位基因, 命名为 *st^{br}*。

2.2 果蝇眼色素提取

由色素分析结果(表 3)可以看出, 亮红眼果蝇 *st^{br}* 眼睛中果蝇蝶呤含量与野生型果蝇和猩红眼果蝇 *st* 间差异不显著 ($P > 0.05$), 而 *st^{br}* 果蝇眼睛中眼黄素含量显著低于野生型果蝇 ($P < 0.001$), *st^{br}* 果蝇与 *st* 果蝇眼黄素含量差异不显著 ($P > 0.05$)。红棒眼果蝇果蝇蝶呤含量显著低于野生型果蝇、*st^{br}* 和 *st* 果蝇 ($P < 0.001$), 眼黄素含量显著低于野生型果蝇 ($P < 0.001$) 而显著高于 *st^{br}* 和 *st* 果蝇 ($P < 0.01$), 这可能与棒眼果蝇小眼面数目减少、眼睛狭窄有关。

3 讨论

本试验中棒眼果蝇和野生型果蝇杂交产生亮红眼果蝇, 遗传特性分析表明其是位于常染色体上的隐性突变所造成, 互补测验进一步确定其为 *scarlet* 基因突变所致。 *scarlet* 基因的产物负责果蝇眼黄素的跨膜运输, 如果 *scarlet* 基因发生突变, 就会影响眼黄素前体向色素细胞的转运, 造成果蝇眼睛中眼黄素的减少。本试验色素测定结果表明, 亮红眼果蝇的果蝇蝶呤含量与野生型果蝇间差异不显著 ($P > 0.05$), 而亮红眼果蝇的眼黄素水平则极显著降低于野生型果蝇 ($P < 0.001$)。ten Have 等对 6 个 *scarlet* 自发突变体果蝇的 *scarlet* 基因序列分析

表3 不同果蝇品系眼睛色素吸光度分析

Table 3 Absorbance analysis of eye pigment of different fly lines

果蝇品系	检测果蝇数(果蝇蝶呤 眼黄素)	果蝇蝶呤	眼黄素
野生型	30 45	100.000 0 A(1.476 3)	100.000 0 A(1.049 6)
猩红眼(<i>st</i>)	30 45	94.998 0 A(1.476 3)	19.548 0 C(1.049 6)
亮红眼(<i>st^{br}</i>)	30 30	94.082 8 A(1.808 1)	21.457 7 C(1.049 6)
红棒眼(<i>B</i>)	30 45	21.802 4 B(1.476 3)	37.509 5 B(1.049 6)
白眼(<i>w</i>)	30 45	4.025 4 C(1.476 3)	1.329 8 D(1.049 6)

注:括号内数值为最小二乘均值标准差;同列中字母相同表示差异不显著,字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)

表明,4个自发突变品系的 *scarlet* 基因中插入了反转录转座子,*scarlet* 基因转录提前终止,所产生的无功能的多肽无法行使转运蛋白的功能,从而导致了果蝇眼色的改变^[12]。本研究中的亮红眼果蝇所表现出的亮红眼,可能是其 *scarlet* 基因由于某种因素的作用发生了突变,其编码蛋白部分缺失或完全丧失转运眼黄素前体物——色氨酸跨膜运输的功能,从而引起果蝇眼睛中眼黄素合成水平的降低,使得其呈现亮红色。

对家养动物生产性状的改良已深入到基因水平。许多生产性状表面上看是受1个独立基因控制,但依据单个基因进行选择所取得的遗传进展并不大,更多的时候是不同遗传背景的动物群体间同一基因的遗传效应差别很大。这就与“多因一效”的遗传机制有关,即控制1个性状是多个基因协同作用的结果。果蝇眼睛颜色性状,表面上看是受单基因控制的质量性状,但仅就眼睛色素的沉积而言,就受到3类基因的影响。本实验中亮红眼果蝇的 *scarlet* 基因发生了突变,从而发生了眼睛颜色的改变,这其中也许就涉及到 *scarlet* 和 *white* 基因及其编码产物之间的互动和协同。深入地对该现象进行分子生物学层次的研究,可为家畜生产性状基因调控研究和改良家养动物生产性状提供一定的模式依据。

感谢日本 *Drosophila* Genetic Resource Center (Kyoto Institute of Technology) 赠送眼色突变果蝇品系 *st*、*v* 和 *cn*。

参 考 文 献

[1] Lloyd V, Ramaswami M, Kramer H. Not just pretty eyes: *Drosophila* eye-colour mutations and lysosomal delivery [J]. Trends Cell Biol, 1998, 8:257-259

[2] Juan F, Francisco J S, Dolores R, et al. Pigment patterns in mutants affecting the biosynthesis of pteridines

and xanthommatin [J]. *Drosophila melanogaster* Biochem Genet, 1986, 24(7/8):545-569

- [3] Richard G, John M, Bruce S, et al. Cloning and characterization of the *scarlet* gene of *Drosophila melanogaster* [J]. Genetics, 1989, 122:595-606
- [4] Phillips J P, Forrest H S. Ommochromes and Pteridines [M]. Ashburner M, Wright T R F. The Genetics and Biology of *Drosophila melanogaster*. Vol 2d. London: Academic Press, 1980:542-623
- [5] Sullivan D, Kitos R, Sullivan M. Developmental and genetic studies on kynurenine hydroxylase from *Drosophila melanogaster* [J]. Genetics, 1973, 75:651-661
- [6] Amanda R W, Howells A J, Tearle R G. Cloning and characterization of the *vermillion* gene of *Drosophila melanogaster* [J]. Mol Gen Genet, 1986, 202:102-107
- [7] Susan M, Michael R, Timothy R, et al. Mutations in the *white* gene of *Drosophila melanogaster* affecting ABC transporters that determine eye colouration [J]. Bioch et Bioph Acta, 1999, 1419:173-185
- [8] Ralph J. Fly pushing: the theory and practice of *Drosophila melanogaster* [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997
- [9] 沙利文 W, 阿什伯恩纳 M, 霍利 R S. 果蝇实验指南(影印版) [M]. 北京: 科学出版社, 2004
- [10] Tearle R. Tissue specific effects of ommochrome pathway mutations in *Drosophila melanogaster* [J]. Genet Res, 1991, 57:257-266
- [11] Susan M M, Antony J H, Graeme B C, et al. Sub-cellular localization of the *White/Scarlet* ABC transporter to pigment granule membranes within the compound eye of *Drosophila melanogaster* [J]. Genetica, 2000, 108: 239-252
- [12] ten Have F M, Green M M, Howells A J. Molecular characterization of spontaneous mutations at the *scarlet* locus of *Drosophila melanogaster* [J]. Mol Gen Genet, 1995, 249:673-681