

APETALA1

与拟南芥突变体AFDL基因 表达分析

戚晓利 著



东北大学出版社
Northeastern University Press

APETALA1 与拟南芥突变体 AFDL 基因表达分析

戚晓利 著

东北大学出版社

·沈阳·

© 戚晓利 2015

图书在版编目(CIP)数据

*APETALA1*与拟南芥突变体AFDL基因表达分析 / 戚晓利著. —沈阳: 东北大学出版社, 2015.7

ISBN 978-7-5517-1017-6

I. ①A… II. ①戚… III. ①拟南芥—突变基因—基因表达 IV. ①Q949.748.3

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第173430号

出 版 者: 东北大学出版社

地址: 沈阳市和平区文化路3号巷11号

邮编: 110004

电话: 024—83680267(社务室) 83687331(市场部)

传真: 024—83680265(办公室) 83680178(出版部)

网址: <http://www.neupress.com>

E-mail: neuph@neupress.com

印 刷 者: 沈阳中科印刷有限责任公司

发 行 者: 东北大学出版社

幅面尺寸: 170mm×240mm

印 张: 9.25

字 数: 162千字

出版时间: 2015年7月第1版

印刷时间: 2015年7月第1次印刷

责任编辑: 汪彤彤

责任校对: 春 晓

封面设计: 刘江旻

责任出版: 唐敏志

ISBN 978-7-5517-1017-6

定 价: 25.00元

前 言

近年来, 根据对模式植物拟南芥、金鱼草等遗传突变体的研究, 逐渐建立起花发育的基因调控网络模型, 成花诱导和花发育的分子遗传机制成为植物发育生物学的研究热点。

A类基因 *APETALA1* (*API*) 不仅是花器官特征基因, 同时还是花分生组织的功能基因, 能影响花瓣的发育和整个花序的形态。本书是以作者的科研数据成果与教学实践经验为基础, 并结合当前国内外研究进展著述而成的。全面阐述了 *APETALA1* 基因功能, 构建了一拟南芥花发育异常突变体 *AFDL* 的基因表达谱。研究从转录组水平上识别了一批与花发育异常相关的基因。*AFDL* 株系在营养生长期有大量对环境刺激起反应的基因发生表达变化, 抽薹后参与了花发育、分生组织特性维持、分化等生物过程基因发生表达差异, 其中发现两个与茎发育密切相关的基因。*AFDL* 及其基因表达谱为研究成花诱导及花发育过程的调控网络提供了有价值的参考。

本书的出版得到了国家自然科学基金青年科学基金项目 (31400568)、中央级公益性科研院所专项资金 (040509)、黑龙江省教育厅科学研究项目 (12513091)、佳木斯大学科学技术重点项目 (Sjz2012-19)、黑龙江省大学生创新创业训练计划项目 (201410222040) 的资助, 本书研究内容属于以上项目的部分研究成果。

著 者

2015年7月

上篇 *APETALA1* 基因

1 绪 论	3
1.1 引 言	3
1.2 成花诱导	4
1.3 花器官发育模型	9
2 <i>APETALA1</i> 对植物成花的作用	15
2.1 <i>API</i> 基因	15
2.2 <i>API</i> 基因表达模式	15
2.3 <i>API</i> 基因的突变体	16
2.4 与 <i>API</i> 基因相关的基因调控网络	16

下篇 拟南芥突变体 *AFDL*

3 <i>AFDL</i> 表型观察	23
3.1 <i>AFDL</i> 形态	23
3.2 <i>AFDL</i> 生长发育周期	23
3.3 <i>AFDL</i> 花器官形态结构	26
3.4 <i>AFDL</i> 花扫描电镜分析	30
4 <i>AFDL</i> 的遗传背景分析	32
4.1 纯杂鉴定	32
4.2 利用 TAIL-PCR 检测突变位点	34
4.3 转基因植株载体构建和表型分析	37
4.4 杂交分析	48
4.5 <i>AFDL</i> 中 <i>API</i> 上下游基因表达分析	50
4.6 <i>AFDL</i> 拟南芥中 <i>API</i> 启动子的克隆	53

4.7 小 结	59
5 AFDL中API启动子的表达调控分析	61
5.1 AFDL中API启动子序列分析	61
5.2 植物表达载体构建	64
5.3 CArG box对API表达模式的调控作用	73
5.4 小 结	80
6 基因芯片表达谱分析	81
6.1 研究方法	81
6.2 结果与分析	86
6.3 小 结	108
7 候选基因的克隆与作用分析	109
7.1 研究方法	109
7.2 结果与分析	112
7.3 小 结	119
8 讨论及结论	120
8.1 讨 论	120
8.2 结 论	127
8.3 展 望	129
参考文献	130
附 录	132
附录A 拟南芥种植	132
A.1 拟南芥种植方法	132
A.2 拟南芥生长影响因素	133
A.3 讨 论	135
附录B 引 物	136
附表C 缩略词	139

上篇 *APETALA1* 基因



1 绪 论

1.1 引 言

高等植物完成整个生活周期要经过种子萌发、营养生长、开花、受精、胚胎发育、种子形成等一系列发育过程。其中，开花是植物发育的核心过程，这一过程涉及不同发育方式的转换。各种花器官的发生和发育，是在外界环境条件作用下，由内部信号的产生、传递和相互作用等综合调控基因表达的结果。开花可分为成花诱导 (flower induction)、花的发生 (flower evocation) 和花器官的形成 (formation of floral organs) 三个主要过程。由于花的发育是植物发育过程中的重要环节，所以，植物学家很早以前就开始研究花的形态结构和成花机制。至今，人们在自然界中已经发现了 20 多万个品种的花，并且通过杂交又得到了千余个新的花品种。虽然各种植物的花在形态上有很大的差别，但是大部分的花都只含有四轮花器官，它们在发育方面受到了保守机制的调控。

随着分子遗传学手段的运用，花发育的研究获得了突飞猛进的发展，成为发育生物学研究中最引人瞩目的热点。借助于模式植物拟南芥和金鱼草的花发育突变体，人们从拟南芥和金鱼草里首次克隆到与花发育相关的基因。随着分子生物学研究和现代生物技术的进步，人们已经了解了部分花发育的调控途径、分子调控机制和花发育特征基因之间的相互调控关系，并建立了相应的花发育模型。基因芯片和染色体免疫共沉淀技术的运用，使得人们发现了更多转录因子及其调控的基因，分析了它们所参与的开花途径，发现了更多可能参与到花早期模型的建立、产生四种花器官各种类型的细胞或组织、决定最终花形态等的新基因，这些研究使得人们对于花发育的分子调控机制的认知越来越深入。发掘新基因和针对具有重要功能的花特征基因进行基因工程改造，对于农林业的发展尤为重要，特别是在控制花的形态和数量、开花时间、增加结实率等方面，有着重大的生物学理论意义和实践应用价值。

1.2 成花诱导

成花诱导即植物顶端分生组织从营养顶端转化为花分生组织的过程。开花植物从胚胎到成熟的植株经历了一系列分生组织分化的有序过程,大部分开花植物经历了一套固有的细胞分化过程,并形成了横切面辐射排列和纵向极性排列的组织结构。在横切面上的辐射状排列包括最外面的表皮、皮层和中央的原形成层组织,中心轴的顶端位置是顶端分生组织(shoot apical meristem, SAM),这部分组织能够持续分化并且能自我补充,SAM干细胞产生的子细胞排列在分生组织的外围并进入不同的分化途径。在植物种子萌发的胚胎形成过程中,只产生了少量的器官,SAM在侧翼位置启动叶原基的分化,经过一段时间的营养生长,捕获了大量的光能量,然后结合植物内源及环境的各种信号之后,引发了花的发育。当顶端分生组织转化为花序分生组织时,就产生了独特的二级花序分生组织,随后,又产生了花分生组织。在很长一段时间里,人们认为,开花是受到植物体内开花物质的刺激而产生的现象。随着分子遗传学的发展,特别是拟南芥等模式植物里越来越多与开花相关的基因被克隆之后,人们逐渐认识到,开花诱导过程是一个非常复杂的信号传导途径相互交织调控的结果,可分为4条平行途径:光周期途径、春化途径、自主途径和赤霉素(GA)途径。

1.2.1 光周期途径

光周期途径也称长日照途径,是现阶段在拟南芥中研究得最为详尽的一条途径。人们对光对植物开花影响的研究开展得比较早。根据植物对光周期要求的长短不同,将它们分为长日照植物和短日照植物。光周期的日照长度对开花时间有重要的影响,拟南芥在短日照条件下开花时间明显滞后。

叶片及绿色茎中的光受体收到光信号,通过调节生物节律来调控节律基因的表达,节律基因再调控下游控制开花时间的基因,最终对开花时间产生影响。现在已发现的光受体主要有3类。第一类为光敏素(Phytochromes, PHY),在拟南芥中已发现了5种光敏素基因,它们主要吸收红光和远红光,比如PHYA能在远红光条件下表现出高表达水平,能对光照时间的长短做出响应;PHYB在长短日照下都能抑制开花。第二类是隐花色素(Cryptochromes, CRY),主要吸收蓝光和紫外光,在拟南芥中已经克隆了CRY1和CRY2两种基因,长日照下CRY2能促进开花。第三类是向光蛋白(Phototropin),这类蛋白由Phototropin1和Phototropin2组成,对蓝光表现出依赖型向光反应,对叶绿体的运动和气孔闭合有一定的作用,对开花时间的影响尚未发现。当日照时间发

生变化时,植物体内的平衡受到破坏,并激活或抑制一些开花基因的表达。

植物在接受光信号之后,将节律信号传递给下游开花基因。*EARLY FLOWERING 3 (ELF3)*, *TERMINING OF CAB1 (TOC1)*, *BINDING KELCH REPEAT F-BOX1 (FKF1)*, *ZEITLUPE (ZTL)*, *LUXARRHYTHMO (LUX)* 和 *LOV KELCH PROTEIN2 (LKP2)* 都属于昼夜节律基因,它们都位于光周期途径的上游。拟南芥中 *CONSTANS (CO)* 是第一个被证实与生物节律相关并能影响开花时间的基因, *CO* 接收到节律基因的调控信号,并在叶片中被激活表达, *CO* 受到生物节律钟的影响而表现出表达波动。昼夜节律类基因和下游基因 *CO* 的联系主要依靠 *GIGANTEA (GI)* 和 *DOF FACTOR1 (CDF1)* 来连接, *CDF1* 能抑制 *CO* 的表达。此外, *PHYB* 和 *CRY2* 在维持 *CO* 的表达方面起到重要的作用。长日照条件下,当 *CO* 表达量超过临界值时,就会激活 *FT* 的表达,激活 *LEAFY (LFY)*, *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)*, *SUPPRESSOR OF CONSTANS OVEREXPRESSION (SOC1)* 而促进开花。

研究发现,在 *CO* 的上游还存在3个受生物节律钟调控的基因,即 *GI*, *ELF3* 和 *FKF1*, 这3个基因之间的上下游关系还不明确。*GI* 编码一个跨膜核蛋白, *gi* 突变体中 *CO* 表达受到明显抑制,推断 *GI* 是 *CO* 的上游促进因子。*ELF3* 的表达也具有昼夜节律性, *elf3* 在连续光照条件下节律异常,但是在暗条件下保持正常, *ELF3* 与 *PHYB* 存在相互作用, *ELF3* 是 *PHYB* 信号传导过程中所必需的,但并不是调控开花时间所必需的。在 *CO* 的下游有 *FT* 和 *SOC1* 这2个靶基因。*FT* 是开花促进因子,但其同源基因 *TFL1* 却是开花抑制因子, *FT* 和 *TFL1* 能与带有 b-ZIP 结构域的转录因子 *FLOWERING LOCUS D (FD)* 相互作用,并结合在一些花器官决定基因的启动子区域来调控开花时间。结构预测发现, *FT* 和 *TFL1* 的蛋白晶体结构有一些差异,这可能使得它们具有不同的功能。在拟南芥中, *FT* 在叶片中产生并移动到顶端分生组织与 *FD* 相互作用来促进成花基因的表达,促进开花。*SOC1* 在超表达 *CO* 的植株里表达量上升, *FT* 的过表达也能迅速引起 *SOC1* 的激活响应。

1.2.2 春化途径

有些植物需要低温条件,才能促进花芽形成和花器官发育,这一过程叫作春化阶段,而使植物通过春化阶段的这种低温刺激和处理过程则叫作春化作用。春化作用是一个缓慢的量变积累过程,植物只有在低温条件下处理了足够长的时间,才会产生较明显的春化效应;春化作用不具有遗传性,主要通过茎尖或根尖这些具有分化活性的细胞来对低温做出反应;而且春化作用的主要作

用是促进植物开花而不是诱导成花。

随着研究的发展,人们在春化作用的研究上已经从最初的生理学研究转向分子机理研究方向。在拟南芥中已发现6个与春化作用直接相关的基因 *VRN1*, *VRN2*, *VRN3*, *VRN4*, *VRN5* 和 *VIN3*。*VRN1* 和 *VRN2* 都是组成型表达; *VIN3* 位于 *VRN1* 和 *VRN2* 上游,在经春化处理的 *VRN1* 和 *VRN2* 中表达, *VIN3* 在经过足够时间的低温处理之后才会表达,它可抑制 *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, 当低温处理结束, *VIN3* 也立即关闭。温暖的环境使 *VIN3* 不再表达,这时 *FLC* 的抑制作用就靠 *VRN1* 和 *VRN2* 的组成型表达来维持。*VIN3* 的功能是经春化作用后,建立对 *FLC* 的抑制,而 *VRN1* 和 *VRN2* 则是参与 *FLC* 抑制的维持。

表观遗传学的研究发展使得人们对春化作用的机理研究进入了一个新的领域。*VIN3* 感受低温之后,与其他蛋白形成具有去乙酰化酶活性的复合物 HDAC,使 *FLC* 基因区域的染色质蛋白的 H3 组蛋白的 K9 和 K14 去乙酰化,在这个过程中, *VIN3* 作为去乙酰化酶的协作蛋白起作用。由于染色质结构发生了改变, *FLC* 的 H3K4 不能发生三甲基化修饰,随之产生的结果就是 PAF1 复合物不能激活 *FLC* 的表达,而 H3K9 和 H3K27 上的甲基化水平都有所提高,染色体处于异染色质状态,从而实现了对 *FLC* 的抑制作用。*FLC* 蛋白具有抑制开花的作用,春化作用则通过抑制 *FLC* 的表达而促进开花。

FRIGIDA (FRI) 在植物春化中也起到重要作用, *FRI* 编码一个含有2个卷曲螺旋结构域的蛋白,能与其他蛋白和核酸相互作用发挥功能。*FRI* 的表达量不受春化作用的影响,但它是春化途径中一个重要的调控基因。*FRI* 的作用是促进 *FLC* 的表达,从而实现对开花的抑制作用。多数早花生态型的拟南芥都携带隐性纯合的 *FRI* 等位基因,而晚花型拟南芥往往都带有显性的 *FRI* 基因。在 C24 拟南芥中,自主途径的作用能被 *FRI* 途径替代,但这种作用也能被春化作用抑制。在春化途径中,对 *FLC* 表达起抑制作用的 *VRN* 类基因、*HIGH EXPRESSION OF OSMOTICALLY SENSITIVE 1 (HOS1)* 和起促进作用的 *FRI*, 都会对 *SOC1* 和 *FLOWERING LOCUS T (FT)* 产生间接的作用,以达到抑制或促进开花的最终目的。春化途径与赤霉素途径相互交织, *GA* 处于 *FLC* 下游,并与 *LFY* 相联系促进开花,低温处理使得 *FLC* 表达被抑制,从而解除了其对下游 *GA* 的抑制作用,使得植物发生营养生长向生殖生长的转变。

1.2.3 自主途径

植物开花过程是整合了外界环境及自身内部信号而产生的生理活动。植物

体内存在一种调控机制,当植物生长到一定阶段,其内部产生的发育信号促进开花的途径称为自主途径。

自主途径中的基因通过彼此独立的相互平行途径调控 *FLC* 的表达。*LUMINIDEPENDENS* (*LD*) 编码一个核蛋白,它在植物体内分布没有特异性,在茎端和根尖中丰富,其对开花时间的调节是通过调控 *LFY* 的表达而实现的。*FRIGIDA* (*FCA*), *FPA*, *FLK* 和 *FY* 都编码 RNA 结合蛋白,抑制 *FLC* 的表达,这些蛋白对 *FLC* 前体 mRNA 的调节和稳定性在开花控制中是非常关键的,属于转录后调节。*FCA* 编码蛋白具有一个 RNA 结合域和蛋白相互作用的结构域,*FCA* mRNA 前体通过选择性剪切得到 4 种转录物: α , β , γ 和 δ 。只有 γ 编码有完整活性的 *FCA* 蛋白,*FCA* 在表达上具有自我调控机制,能控制 *FCA* 在时间和空间上的适当表达,适时启动开花功能。*FPA* 在 N 端含有 3 个 RNA 识别域,在处于发育阶段的组织中表达极强,独立于 *FCA* 调节 *FLC*。*FLK* 是植物特异性核蛋白,编码 3 个 K 同源域的 RNA 结合蛋白,它在发育的组织中强烈表达,与 *FCA* 对 *FLC* 的调控作用相平行。*FY* 是 *FCA* 的协作蛋白,与 *FCA* 相互作用调节 *FLC* 表达,控制拟南芥的开花时间。*FLOWERING LOCUS D* (*FLD*) 和 *FVE* 编码调节 *FLC* 表观遗传因子,通过对 *FLC* 染色质进行去乙酰化的表观修饰来抑制 *FLC* 的表达。*FLC* 染色体组蛋白去乙酰化后,*FLC* 由活化状态转变为非活化状态,从而启动植物开花。

1.2.4 赤霉素 (GA) 途径

早在 20 世纪 50 年代,人们就发现赤霉素 (gibberillin, GA) 可以促进拟南芥提早开花,突变体 *gal1*, *ga4* 和 *ga5* 均表现出晚花的表型。其中, *gal1* 的表型最强烈,出现了矮化、晚花及多分枝等一系列表型。在短日照条件下,植物由营养生长向生殖生长转变时,GA 促进了花分生组织基因 *LFY* 的表达。此外,GA 还能调节部分 DELLA 蛋白表达,进而调控花粉囊的形成和花粉小孢子的发生,GA 通过消除 DELLA 对开花的抑制作用来促进植物开花。GA 途径中有 3 个关键基因 *GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE* (*GAI*), *REPRESSOR OF GA* (*RGA*) 和 *RGA-LIKE 1* (*RGL1*),它们在序列及功能上都极为相似。GA 合成一旦受阻,就会减少对 *GAI*, *RGA* 和 *RGL1* 的抑制作用而导致晚花。基因 *SPINDLY* (*SPY*) 位于 *GAI* 的上游,它与 GA 途径也有密切的联系,很可能是 *GAI/RGA* 的上游激活因子。研究发现, *FLOWERING PROMOTING FACTOR 1* (*FPF1*) 和 *SHRUNKEN 1* (*SH1*) 基因位于 *LFY* 的上游、*GAI/RGA/RGL* 的下游,对 *FT* 的表达没有影响,超表达 *FPF1* 也能引起早花表型。

有关研究结果表明, microRNA 也参与 GA 对开花的调控。过表达 miR159 的转基因拟南芥中 *MYB33* 和 *LFY* 的表达量会下降, 短日照下表现出晚花表型, 这表明 miRNA159 在 GA 途径中受到了 GA 的激活以及 *GAI* 和 *RGA* 的抑制。miR159 可能是 GAMYB 活性维持的调节因子, 参与了 GAMYB 依赖的信号传导途径, 其作用机理还有待进一步的研究。

1.2.5 开花诱导途径的信号整合

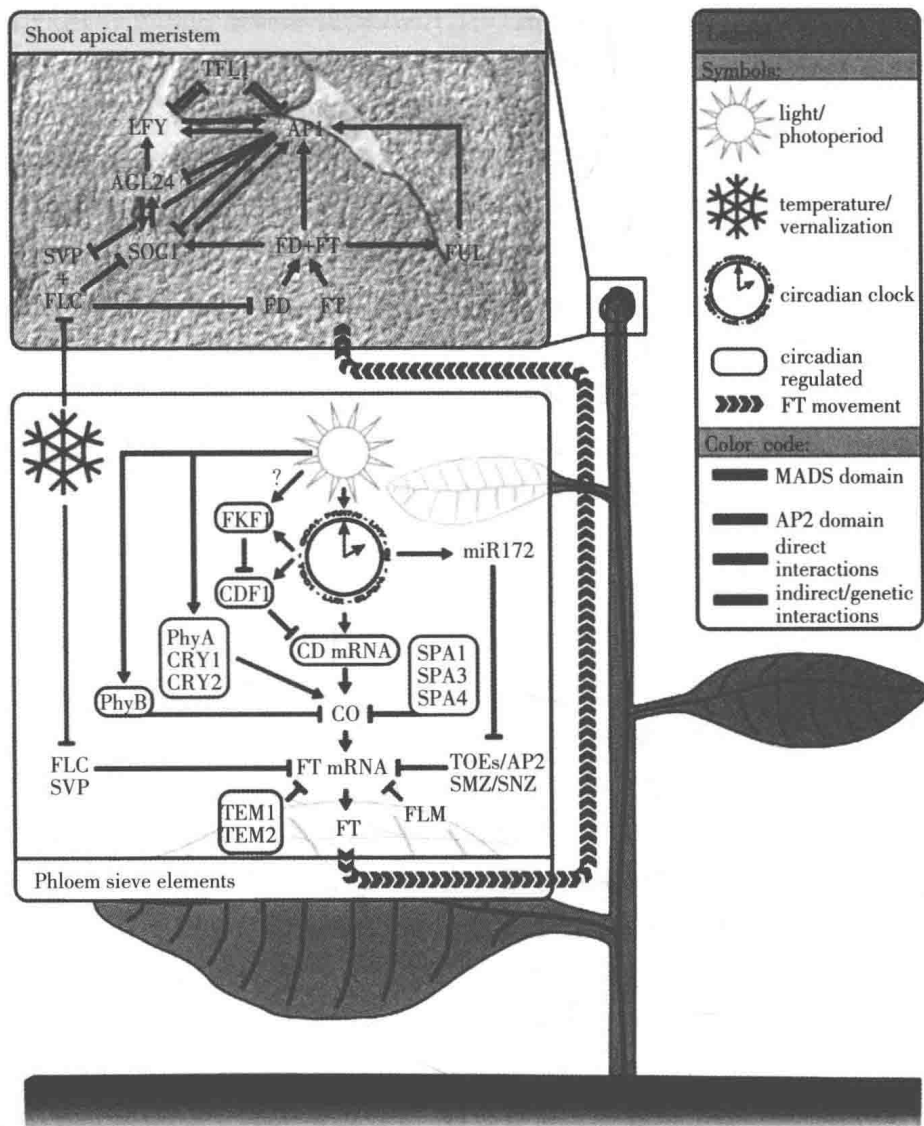


图 1-1 调控拟南芥开花时间的途径 (Yant L., 2009)

Fig. 1-1 The flowering timing pathway in *Arabidopsis* (Yant L., 2009)

植物开花时间调控的4条途径既彼此独立,又相互交织,最终形成一个复杂的网络。这4条途径激活一套开花途径整合子,进而激活花分生组织特性基因,启动植物开花。*CO*为光周期途径下游基因,*FLC*汇集春化和自主途径的信号。*SOC1*, *FT*, *LFY*是*CO*, *FLC*下游开花途径整合因子,通过整合来自不同开花途径的信号,进而精确调控花分生组织基因的表达。

叶片感知光照和生物节律信号,控制维管处*CO*基因的表达。*CO*在叶片处活化*FT*。开花抑制子*FLC*汇集自主途径和春化途径信号,与*SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP)*形成复合体发挥作用,直接结合*FT*而抑制其活化。与*FLC*相似的基因*FLOWERING LOCUS M (FLM)*也抑制*FT*活性,但其通过直接还是间接作用尚不清楚。除*FLC*, *FLM*抑制*FT*活性外,在叶中*FT*受两类*APETALA2 (AP2)*基序蛋白的抑制作用;*TEMPRANILLO (TME)*通过结合*FT*基因,直接抑制*FT*;6种microRNA172作用的*AP2-like*目标基因也通过*FT*抑制开花。*FT*的产物可作为成花素,经过长距离转运到茎尖分生组织处,与b-ZIP转录因子*FLOWERING LOCUS D (FD)*形成复合体而发挥作用,激活茎端花分生组织基因的表达。*FT*直接结合*AP1*启动子使其活化,*FD*作用于*SOC1*和*FRUITFUL (FUL)*,促进成花转变和启动花发育过程,而*FLC*负控*SOC1*和*FD*。在促进、抑制信号相互作用下,*AP1*与*LFY*在分生组织侧翼激活花分生组织,而在分生组织中央*TFL1*通过阻止*LFY*,*AP1*基因维持花序分生组织(见图1-1)。

1.3 花器官发育模型

大部分双子叶植物的花都是由四轮花器官组成的,它们按照同心圆的方式排列,从外到内依次为:萼片、花瓣、雄蕊和心皮。萼片在第1轮形成了一个保护屏障。在第2轮的花瓣通常以艳丽的颜色来吸引传粉的昆虫,有一部分植物的萼片和花瓣是一样的,被统称为花被;里面的两轮花器官则主要参与生殖活动。第3轮的雄蕊产生花粉形成配子体。心皮在第4轮产生含有雌配子体的胚珠及胚囊,多个心皮相互融合形成雌蕊。植物受到成花诱导后,其顶端分生组织的侧翼上首先形成了花原基突起,然后花分生组织开始分化成各种组织器官,在此过程中,每个细胞都获取到不同的信号,分化成相应的细胞类型。

1.3.1 经典ABC模型

人们对于花发育模型的研究始于一系列花器官突变体,在拟南芥和金鱼草中,一些花突变体的花器官类型发生了同源异型的转变,即在突变体发生了器官组织异位现象。同源异型转变是由于同源异型基因的突变会改变细胞发育的

途径，导致器官或组织产生的。同源异型基因是一类含有同源框的基因。在胚胎发育中的表达水平对于组织和器官的形成具有重要的调控作用。该类基因突变，就会在胚胎发育过程中导致某一器官异位生长，即本来应该形成的正常结构被其他器官所取代。由于同源异型基因的突变与花器官的变异有直接对应关系，其功能可以从花的表型反映出来，因此，反过来可以从表型的改变推测是哪些基因发生了突变。通过同源异型基因的研究，提出了花发育的 ABC 模型，这个模型成为植物发育生物学上的一个里程碑。基于形态学和遗传学方面的分析，这个模型描述了四种花器官的发育受到了三类功能重叠的基因调控，这三类基因被称为 A，B，C 类基因，每类基因都能调控两轮相邻花器官的发育（见图 1-2）。A 类基因控制第 1，2 轮花器官发育，A 类基因突变时，会导致萼片变成心皮，花瓣变成雄蕊；B 类基因控制第 2，3 轮花器官的发育，其功能突变会使花瓣变为萼片，雄蕊变成心皮；C 类基因控制第 3，4 轮花器官的发育，其功能丧失会导致雄蕊变为花瓣，心皮变成萼片。为了解释花器官的同源异质转变，人们证实了 A 类基因和 C 类基因是相互拮抗的。在 A 类基因突变体中，C 类基因的表达活性扩展到外面两轮花器官，并且使得花萼转变成心皮、花瓣转变成雄蕊。在 C 类基因突变体中，A 类基因的表达扩散到里面两轮花器官，比如花器官的数量明显增加，在花的内部又产生了新的花，形成了萼片—花瓣—花瓣—萼片多次重复的花形态，甚至在心皮内产生类似于花瓣—

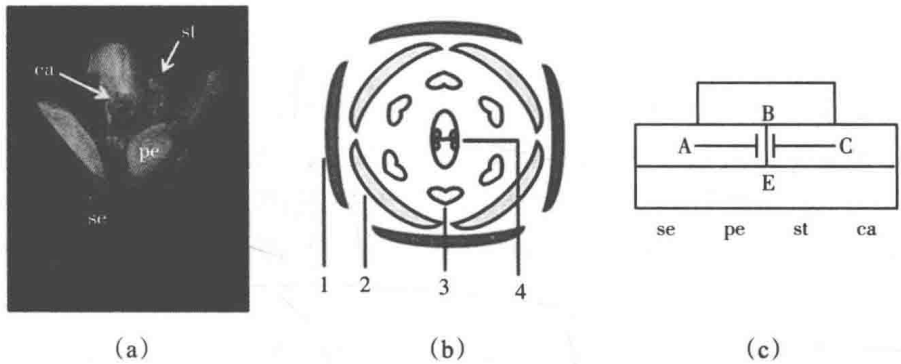


图 1-2 花基本形态及 ABC 模型图

(a) 野生型拟南芥的花由 4 片花萼、4 片花瓣、6 个雄蕊和 2 个雌蕊组成；(b) 四轮花器官对应的俯视图；(c) 花发育的 ABC 模型，表明三类基因作用所对应的花器官

Fig. 1-2 Flower morphology and the ABC model of flower development
 (a) The morphology of a wild type flower of *Arabidopsis*, which consists of fourse-
 pals, four petals, 6 stamens and 2 carpels; (b) Flower formula indicating whorls one to
 four whorls; (c) Diagram of ABC model, indicating domain of ABC genes activated

萼片嵌合体的不确定花器官。但是，在A类或C类突变体里，B类基因的表达并没有受到影响，B类基因突变体中花瓣转变成花萼，雄蕊转变成心皮，形成了萼片—萼片—心皮—心皮的花形态特征。

在拟南芥中，A类基因包括 *AP1*，*AP2*；B类基因包括 *APETALA3* (*AP3*) 和 *PISTILLATA* (*PI*)；C类基因包括 *AGAMOUS* (*AG*)。在金鱼草中，相对应的A功能基因是 *SQUAMOSA* (*SQUA*)，*AP2* 的同源基因是 *LIPLESS1* (*LIP1*) 和 *LIPLESS2* (*LIP2*)；B功能基因是 *GLOBOSA* (*GLO*) 和 *DEFICIENS* (*DEF*)；C功能基因是 *PLENA* (*PLE*)。

综上所述，经典ABC发育模型有以下几条原则：每一类同源异型基因调控相邻的两轮花器官的发育，一旦基因发生突变，其所调控的花器官就会发生同源转变；多个花同源异型基因联合作用决定了各种花器官的发育；A、C类基因的作用相互拮抗。经典ABC模型在花同源异型基因的表达模式、花器官突变的分子机制等方面做出了较好的解释，并能够预测基因突变之后花器官的表型，因此，被广泛接受。

1.3.2 ABC模型的发展

ABC模型是基于对所分离的控制花器官决定基因作用方式的一种简单化的概念性解释，而自然界中花的形态是千变万化的，因此，这个模型一直伴随着人们的质疑。首先，ABC模型中不同类型器官的划分是很严格的，但许多开花突变体中，不同类型器官之间常常会出现嵌合体；其次，*ag*突变体在理论上应使第3、4轮组织发育成为相同数量的花萼和花瓣，事实上，往往出现增殖现象，产生大量的花萼花瓣，暗示AG可能不是一个单独的基因，而是有多个同源基因，这些基因不但在雄蕊和心皮发生过程中起作用，也在其他生命过程中起作用；最后，*AP2*基因的表达不具有器官特异性，所有花器官中都存在该基因的表达产物。如果这些基因是形成花的充分条件，那么把这三类基因同时在叶片中表达，则花器官会发生异位。但并没有观察到这一现象，这是否说明还有其他重要的花器官基因有待发现？对这些问题的深入研究扩展了经典的ABC模型。

矮牵牛里克隆得到的 *FLORAL BINDING PROTEIN7* (*FBP7*) 和 *FLORAL BINDING PROTEIN11* (*FBP11*) 在胚珠原基及珠被里特异表达，异位表达 *FBP7* 和 *FBP11* 能使花萼和花瓣上形成异位胚珠或胎座。相反，在野生型矮牵牛中抑制 *FBP7* 和 *FBP11* 的表达，会在原本生长胚珠的位置出现心皮状的组织，因此，*FBP7* 和 *FBP11* 被认为是胚珠发育的主控基因。而胚珠的发育又是独立于心皮的，因此，ABC模型扩展为ABCD模型，*FBP7* 和 *FBP11* 被归为D