Analysis of plastid and mitochondrial DNA insertions in the nucleus (NUPTs and NUMTs) of six plant species: size, relative age and chromosomal localization

六种植物中线粒体假基因和叶绿体假基因的分析：大小、相对年龄和染色体定位

摘要：我们分析了六种测序和拼接完成的六种植物的细胞核中线粒体和叶绿体基因插入片段（其中线粒体插入片段简称为numt，叶绿体的简称为nupt）的长度、相对年龄和染色体定位。我们发现，在这六种植物中，所有的长插入片段比短插入片段有着更低的与细胞器基因组更低的差异性，可以用来判断他们的进化关系。在拟南芥和水稻这些基因组较小的植物中中，大片段的nupt和numt位于染色体着丝粒附近；在大豆和玉米中这些基因组较大的物种中，大片段的nupt和numt也出现在了染色体的其他区域。在拟南芥和高粱中，nupt与numt的分布与转座元件（TEs）的分布有着正相关；而在葡萄和大豆中有着负相关；在水稻和玉米种则无关。我们提出了一个可能的模型：新的叶绿体或线粒体序列先插入着丝粒区域后，通过TE转座元件或异位重组转移至其余位置。转座元件的转座的活性和速度的不同造成了nupt和numt在物种间分布的差异。

关键词：杂乱DNA，nupt，numt，着丝粒，植物

前言

植物细胞包含三种基因组：核基因组、线粒体基因组和质体基因组。在进化过程中，细胞器基因组发生了减少，并且部分DNA片段转移进入细胞核中。一些被称为杂乱DNA的DNA片段仍在三个种基因组发生转移。在片段整合进入核基因组后，由线粒体片段产生的称为numt，叶绿体的称为nupt，并且几乎在所以植物中均有发现。大约18%的拟南芥基因是从蓝藻祖先的质体获得的。对于nupt产生时间、长度、结构、染色体定位等等仅在水稻和拟南芥中进行过系统的分析。在水稻中，大片段nupt几乎都分布在着丝粒区域，但是由于关于它们定位、长度和相对年龄的系统性分析并没有在其他物种中进行，因此普遍规律并没有被揭示出来。

关于DNA从细胞器转移至并整合入核基因组的机制仍没有定论。有研究表明，这种插入是通过NHEJnonhomologous end-joining pathway非同源末端连接介导的双链损伤修复机制形成的。更多物种全基因组序列的可用性使得能够更详细地研究NUPT和NUMT的基因组结构。早期分析的四个物种中，检测到NUMTs的含量和核或线粒体基因组的大小之间没有相关性。然而，最近对几十种物种的系统研究表明，NUPT和NUMT的数量和累积长度与基因组大小和细胞中细胞器的数量相关。差异性最小的NUPT和NUMT具有更大的长度，这意味着原始插入是长片段的并且随时间而变短。然而，许多NUMT的存在可能不是因为插入而是因为插入后重复，大多数长片段NUPT在水稻似乎已在100万年内从核基因组中消除，表明NUPT和NUMTs的存在和积累受到核DNA扩增和缩减的影响。NUPT在玉米近交系之间的染色体定位的巨大变化还表明，质体DNA插入核基因组是经常发生的，并且是近期发生的。除了大片段的NUPT和NUMT，在植物核基因组中也发现了短的最近插入。这些短序列中的一些成簇出现，这可能表明它们在转移之前是有联系的。虽然有的时候，NUPT和NUMTs成为核中的功能基因，但大部分时候是突变的，有的被核基因组删除或加倍了。在这里，我们基于六个序列植物物种的分析发现，大片段的的NUPT和NUMT是最新插入的。它们在小基因组的物种（拟南芥和水稻）中的通常位于着丝粒区域；但是它们在具有更大基因组的物种（大豆和玉米）中更加碎片化并且沿着整个染色体分布。我们推测，转座因子（TE）的动力学与重组率一起决定了混杂DNA的更替和分布模式。

材料和方法

使用blast2.2.25，e值0.01，没有过滤，错配罚分2，窗口9.长度小于100不算。

A putative recombination point was detected downstream of the cox2 pseudogene (pseudo-cox2) in potato mitochondrial DNA (mtDNA).一个可能的重结合位点位于线粒体cox2 假基因的下游。This sequence corresponds to a 32 bp sequence which appears to be well-conserved and is adjacent to the terminals of some mitochondrial genes in Citrullus lanatus, Beta vulgaris and Arabidopsis thaliana and is probably involved in the genic rearrangements.这个序列与拟南芥等生物中的一个保守32bp序列相一致，这个序列邻近于线粒体某些基因的末端，并且可能与基因重排有关。[[1]](#footnote-0)

A Comparative Approach Shows Differences in Patterns of Numt Insertion During Hominoid Evolution

（numts）在真核生物中普遍存在，尽管它们在不同物种间的存在很大的差异。 大多数对于numt进化的了解来自于对单一物种的全基因组分析，最近也有人采用跨越广泛的系统发育距离的不同物种全基因组进行比较。 在这里，我们比较了人与黑猩猩的基因组数据，推断出numt形成的模式和过程。 我们发现了，从黑猩猩和人类分化以来，黑猩猩基因组中新形成的66个numt，这显著大于在人类中观察到的37个。

通过对100余物种numt的分析，我们确定了numt插入，缺失，重复的数量并量化了它们之间的微同源关系。 人类和黑猩猩的大多数numt是通过微同源和NHEJnonhomologous end-joining pathway介导的双链损伤修复机制形成的。人类特有的numt通常整合在转座因子缺少区，但在黑猩猩中没有看到类似现象。另外，系统发育分析表明，线粒体基因组长度至少为500bp，大多为大于1kb。Last, phylogenetic analyses indicate that mitochondrial-numt

alignments must be at least 500 bp, and preferably 1 kb in length, to accurately reconstruct hominoid phylogeny and recover the correct point of numt insertion.

核基因组整合线粒体DNA（numt）是转移并整合进入核基因组的线粒体DNA片段，在动物植物真菌中均有发现报道。它们常被称作“假基因”。

A recombination point is conserved in the mitochondrial genome of higher plant species and located downstream from the cox2 pseudogene in Solanum tuberosum L.

在土豆中，*cox3/sdh4/*pseudo-*cox2* 基因簇的存在已被证实。本实验证明了*sdh4* 和 *cox2* 基因在土豆、大豆、和桃子的线粒体中也是成簇出现的。

Analysis of Nuclear Mitochondrial DNA Segments of Nine Plant Species: Size, Distribution, and Insertion Loci

Young-Joon Ko, Sangsoo Kim等人对九种植物的numt的研究认为，1.在线粒体基因组大的植物中，长numt的比例大于线粒体基因组小的植物；2.全基因组加倍事件增加了短numt的比例；3.numt在外显子区域中更丰富。[[2]](#footnote-1)

结果和讨论

在绘制了基因组大小和线粒体DNA插入大小的相关性图表，表明了核基因组越大，线粒体DNA插入越多。在绿藻中也存在这个现象。numt的数量是植物的特征之一。除了绿藻（C.REINHARDTII AND C.subellipsoidea），由blast结果得出的numt数量，从拟南芥的770个到葡萄的14509个。另外，植物中的numt比鲸类（whale species）中更多。

对numt长度分布的研究：最短长度为25bp，最长为107kb。在物种间也有很大不同。超过70%的numt是短于400bp的。绿藻植物的线粒体基因组很小，超过80%的numt长度小于200bp；葡萄的线粒体基因组比较大，有30%的numt超过1kb；玉米有着最大的核基因组和第二大的线粒体基因组，其numt一半以上是超过5kb的；比玉米基因组稍小的白菜（B.rapa）的numt有着类似于玉米的分布。总之，线粒体基因组小的物种中短numt所占比例更高。对比单子叶植物和双子叶植物，并没有明显的差别。但藻类和陆地植物之间却有明显的差别，这种差别更多的是由于核基因组大小差异造成的。基因组加倍或三倍可能将长的numt分裂开，所以在加倍的植物中长numt减少。在G.max和V.vinifera中也观察到了这个现象。

鲸类平均核基因组大小为2.5Gb，平均线粒体基因组大小为16kb。在鲸类中numt长度大于5kb的比例小于2%，但是在植物中，比例却大于4%，在拟南芥中大于17%。这说明了，线粒体基因组即使很大，加上染色体加倍事件，在植物中长numt片段仍然存在。

下一个分析是关于numt插入位点的区域类型。在陆地植物中，一部分numt插入在基因内部，但在绿藻中，超过70%的numt在非基因区（genic boundaries）。在基因区内的numt，有90%与外显子区域有重叠。这与numt在动物中的分布是相反的：例如在鲸中，有很少的numt位于基因区，其中位于外显子区的就更少了。我们分析了各个物种中，numt在不同位置的分布，发现位于外显子区域的numt明显多于其他位置。鉴于外显子对于生物的重要意义，大量numt插入到外显子区域，可能影响了植物的表型。

关于numt的研究有很多，但并没有关于基因组大小、numt大小、numt大小分布比例、numt插入位置分类等等之间的关系研究。虽然我们的数据显示了它们之间可能的关系，但并不能not enough to infer the biological meaning说明它们就一定有什么生物学意义。进一步研究，还需要更好的测序数据。

1. Tada SFS, Souza AP. A recombination point is conserved in the mitochondrial genome of higher plant species and located downstream from the cox2 pseudogene in Solanum tuberosum L.[J]. Genet.mol.biol, 2006, 29(29):83-89. [↑](#footnote-ref-0)
2. Ko Y J, Kim S. Analysis of Nuclear Mitochondrial DNA Segments of Nine Plant Species: Size, Distribution, and Insertion Loci[J]. Genomics & Informatics, 2016, 14(3):90. [↑](#footnote-ref-1)