

文章编号: 1671-8836(2011)03-0269-08

综述

# 衣藻性别决定及交配过程中的基因调控

徐 涤<sup>1</sup>, 陈 鹏<sup>2</sup>, 邵宏波<sup>2</sup>, 臧晓南<sup>1</sup>, 张学成<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学 海洋生物遗传育种教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 山东 烟台 263004)

**摘要:** 阐述了单细胞绿藻衣藻(*Chlamydomonas*)性别相关基因及其作用机制的研究进展, 其中着重介绍了位于 *mt* 基因座及少量位于常染色体上的性别相关基因, 并分析了它们在营养细胞分化为正负两种交配型的配子细胞、正/负配子的交配以及合子分化的起始这 3 个关键步骤中的调控作用。

**关键词:** 衣藻; 性别相关基因; 配子类型基因座位; 基因调控

中图分类号: Q 344 文献标识码: A

## 0 引言

真核生物性别的起源和进化是生物学领域的研究热点和难点之一。性别是一种保证遗传多样性的手段, 通过两个性别的分化可以进化出避免自交的遗传屏障<sup>[1]</sup>。高等真核生物中最常见的性别决定机制是 X-Y/Z-W 系统, 在两条性染色体之间几乎所有的遗传重组都被抑制了, 确保遗传物质的交换发生在两个不同的个体之间, 至少是只发生在其他的染色体之间<sup>[1]</sup>。但是简单真核生物, 比如藻类的性别决定和分化机制研究比较少, 微藻具有无性繁殖和有性繁殖两个独立的发育过程, 而大型藻类的生活史更加复杂, 具有二世代或三世代的世代交替过程, 目前对其机制尚不明了。

衣藻(*Chlamydomonas*)是单细胞绿藻, 其生活史较简单, 生长快, 世代周期短, 易于培养和控制其生活周期, 遗传操作简单, 而且减数分裂产生的配子可以进行四分体分析<sup>[2]</sup>。这些优点使衣藻成为当代细胞和分子生物学不同研究领域的首选模式物种之一, 大量的莱茵衣藻(*C. reinhardtii*)实验株系被建立起来, 成功实现了细胞核、叶绿体、线粒体基因组遗传转化, 成为迄今为止惟一一个能对细胞中全部 3 个基因组进行遗传转化的物种<sup>[3]</sup>。衣藻的基因组

大小约为 121 Mb, 目前已经实现了全基因组测序<sup>[4]</sup>, 其核基因组序列组成了 17 个连锁群(Linkage Groups), 可能对应于它的 17 条染色体。

近年来对藻类的性别决定及性别分化的研究有了一定的进展, 如单细胞的衣藻<sup>[5]</sup>、硅藻<sup>[6]</sup>, 大型藻中的丽丝藻(*Aglaothamnion*)<sup>[7]</sup>、杂球藻(*Pleodorina*)<sup>[8]</sup>、江蓠(*Gracilaria*)<sup>[9]</sup>及裙带菜(*Undaria*)<sup>[10]</sup>等, 研究方法逐渐成熟并获得一些相关的基因或基因标记。其中对模式生物衣藻的研究<sup>[5, 11]</sup>已经获得了一系列的线索和成果, 有助于揭示性别调控的生物学基础和进化途径, 也可为其他藻类的相关研究提供依据。

## 1 衣藻生活史

衣藻的有性生殖周期经历单倍体与二倍体两个生长阶段。衣藻的单倍体细胞有正负两种交配型(mating type, mt), 都可以进行营养繁殖。正负交配型的配子融合形成二倍体的合子, 合子进行减数分裂产生正负交配型的两种单倍体细胞。每种细胞都能进行有丝分裂产生新的营养细胞。当环境中的氮含量低于某一阈值, 特别是  $\text{NH}_4^+$  缺乏时<sup>[12]</sup>, 带有 *mt*<sup>+/-</sup> 基因座的细胞开始表达能使之分化成正/负

收稿日期: 2010-09-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40606034)

作者简介: 徐涤, 女, 博士, 讲师, 现从事藻类遗传研究。E-mail: dixu@ouc.edu.cn

配子的基因. 相互接触的正负配子通过鞭毛紧密的粘附在一起(它们会同时与多个配子接合, 但最终只与一个相反类型的配子融合). 粘合的配子会脱去它们的细胞壁形成细胞团, 然后相互融合的两个细胞紧密结合, 从而形成一个双核的四鞭毛细胞 (quadriflagellated cell, QFC)<sup>[15]</sup>. 在此后的 1 h 里, 两个核相互融合, 一系列合子特异的基因开始表达, 合子吸收掉鞭毛并形成厚厚的合子细胞壁<sup>[13]</sup>. 这层细胞壁能够保护合子不受冷冻及干燥的伤害, 而这两种伤害是衣藻在温带土壤中最主要的不利环境. 合子成熟后会进入一个休眠期来使细胞度过不利的环境. 当生存环境好转后, 合子萌发并减数分裂产生 4 个能够进行营养生长的子代细胞<sup>[14]</sup>.

还有另外一种情形: 有时候新生成的合子细胞没能进行正常的合子特异基因的表达, 当恢复了环境中氮的含量后, 这种细胞能够重新开始进行营养生长, 成为一种同时带有  $mt^+ / mt^-$  的稳定二倍体细胞. 这种二倍体细胞遇到氮缺乏时会分化为负配子, 也就是说, 在同时存在  $mt^+$  和  $mt^-$  基因座的情况下, 负分化对正分化是显性的<sup>[15]</sup>. 这种二倍体在交配过程中会与正配子接合, 它们产生的三倍体细胞无法进行正常的减数分裂. 因此这一途径无法在自然界保存下来.

## 2 性别相关基因和 $mt$ 基因座

衣藻进入有丝分裂后产生正/负配子, 在配子中

表达的基因可分为以下几类<sup>[5]</sup>: ①有些基因, 例如 NSG(氮缺乏配子分化, nitrogen starved gametogenesis) 类基因<sup>[16]</sup> 和 GAS(配子特异, gamete specific) 类基因<sup>[17]</sup> 在  $NH_4^+$  缺乏的情况下上调表达. 它们在正/负两种类型的配子中均有表达, 有的同时也在营养生长的细胞中表达. 这类基因大多数已被证明是为了使细胞适应氮缺乏的环境, 而不是为了产生特别的配子类型. ②有些基因只在一种配子中表达, 它们是在  $mt^+$  或  $mt^-$  座位上编码, 它们的表达能够产生与交配相关的特性. ③另外一些基因同样只在一种配子类型中表达, 产生与交配相关的特征, 但它们却位于基因组的其他区域, 即常染色体上的性别相关基因. 这些基因的特异表达依赖于  $mt^-$  编码的信息. ④还有些基因也是仅在一种配子类型中表达, 但它们在配子阶段并不显示功能. 相反, 在配子体的细胞质中它们的表达产物是被隔绝的, 其功能是在受精后激活合子特异的进程. 从这个意义上讲, 这些基因的表达产物有些类似于多细胞生物中储存在卵细胞中的母源蛋白.

衣藻交配型基因座位于第 6 连锁群左臂, 只有两种等位形式:  $mt^+$  和  $mt^-$ <sup>[18]</sup>. 带有  $mt^+$  基因座的细胞在交配时分化为正配子, 带有  $mt^-$  基因座的细胞则分化为负配子. 衣藻的  $mt$  基因座是一段长度为 200~300 kb 的多基因染色体区域, 在正配子和负配子之间基因的排列顺序不同, 从而抑制了重组<sup>[19]</sup>. 由图 1 可看出其基因或者发生了整体的位移, 或者发生了顺序的重排. 基因间的重组被抑制不

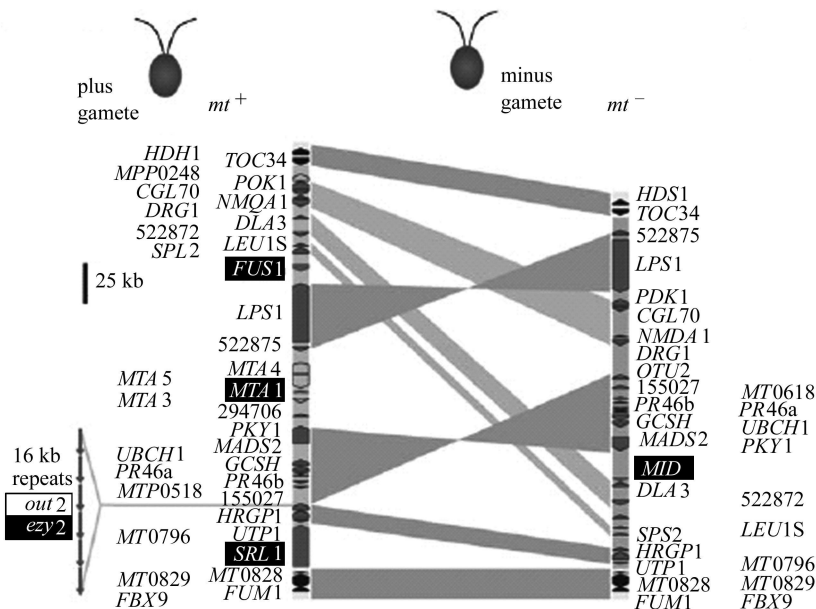


图 1 莱茵衣藻交配型  $mt$  基因座<sup>[19]</sup>

仅可以保证性别相关基因的遗传, 还可以减少其基因间的交换。

除了染色体的重排,  $mt^+$  基因座还包含了 3 段在  $mt^-$  基因座中没有的 DNA 序列以及一段由 *czy2* (只在合子中表达)<sup>[20]</sup> 和 *otu2* (只在正配子中表达) 交替重复构成的序列。同样的,  $mt^-$  基因座中也包含了 3 个  $mt^+$  基因座所没有的区域。目前认为, 正是 *fus1* (*fusion*), *mtd1* (*mt locus, region d*) 和 *mid* (*minus dominance*) 这 3 个  $mt^+ / mt^-$  特有基因以及  $mt^+$  和  $mt^-$  座位中都存在的 *sad1* 基因和位于常染色体上的 *sag1* 基因在配子分化和交配过程中行使了最重要的功能。其他种属的 *mt* 基因座也含有这样的差异基因<sup>[21]</sup>, 在脊椎动物和一些无脊椎动物的性染色体间的差异更加明显<sup>[22]</sup>。

衣藻的 *mt* 基因座具有某些性染色体的性质。这个基因座位中包括 40 多个基因<sup>[21]</sup>, 大多数交配型特异的基因目前功能未知。除此以外, 还包括与孢子形成、减数分裂以及二倍体世代的细胞器基因组传递相关的管家基因<sup>[18]</sup>。

### 3 配子的分化

单倍体衣藻营养细胞通过配子分化转化为有交配能力的配子细胞, 其间伴随着细胞生化过程和亚细胞形态的变化<sup>[23]</sup>。在光镜下很难看出衣藻营养细胞与配子细胞的外形差异, 但在电镜下观察时, 它们在形态学方面最显著的变化是出现了大量由高尔基体发育形成的囊泡以及交配结构<sup>[24]</sup>。分子水平上最明显的变化发生在核糖体: 细胞质和叶绿体的核糖体数目减少<sup>[24]</sup>, 新核糖体翻译精确度降低<sup>[25]</sup>, 核糖体蛋白质的电泳迁移率也发生变化<sup>[26]</sup>。其他的变化还包括性别特异的凝集素的产生<sup>[27]</sup>和配子自溶素的合成<sup>[28]</sup>等, 这些都表明配子的分化是基于基因表达的变化。除了 *mid*, *mtd1*, *fus1* 和 *mta1* 等几个基因外, 两种交配型的细胞都带有形成任何一种配子类型所需要的全部基因, 但每种类型的配子只表达其中的一组基因<sup>[13]</sup>。

#### 3.1 配子分化的环境信号

衣藻的配子分化过程分为两步, 分别由外源信号氮和光照控制<sup>[23]</sup>。营养细胞的配子分化是由环境中可利用氮源(通常是  $\text{NH}_4^+$ ) 的缺乏诱导的。当环境中的氮发生缺乏时, 营养细胞开始进行两种重要的生理进程<sup>[29]</sup>: 第一, 通过一系列代谢变化适应氮缺乏环境; 第二, 启动配子分化过程从而产生具有交配能力的配子。氮缺乏诱导营养细胞分化为不成熟

的配子细胞。不成熟的配子细胞在光照(主要是蓝光)的作用下可以转化为成熟的配子细胞。这种配子形成过程中由氮缺乏诱导产生的具有感光活性的中间态不成熟配子细胞称为前配子(*pre gametes*)<sup>[30]</sup>。而在将前配子转化为配子的过程中需要光信号, 保持交配活性也需要这两种信号。这两个连续的信号传导链控制着配子的形成<sup>[23]</sup>。

配子分化过程中两个光依赖步骤在 370, 450 nm 处有最大吸收, 这一现象与高等植物对蓝光的作用光谱相类似<sup>[31]</sup>。近年来已在高等植物中分离出了两种蓝光受体: 隐花色素(*cryptochromes*) 和向光素(*phototropins*)<sup>[32]</sup>。莱茵衣藻中也发现了这两种蓝光受体<sup>[33]</sup>, 其中向光素控制着衣藻的性别, 向光素表达量低的藻株无法进行配子的分化、交配能力的获得和合子的萌发<sup>[34]</sup>。

需要指出的是, 只有在两种外界信号(可利用氮源的缺乏和光)同时存在的情况下才能产生和保持交配活性。短时间的光照不足以启动前配子转化为配子, 这一过程中需要对光感受器进行持续的刺激。而向配子环境中重新加入氮源或转入黑暗中培养后, 配子很快就丧失了它们的交配活性重新进行有丝分裂, 这说明缺少任何一个信号时交配活性都是不稳定的, 并且分化过程是可逆的。

#### 3.2 配子分化中的基因调控

氮缺乏发生后, 衣藻细胞就不再进行营养生长和分裂, 并开始执行两个关键程序。首先要进行一系列代谢变化以适应氮饥饿条件, 例如上调表达的基因里包括负责对硝酸盐进行运输和还原的蛋白<sup>[35]</sup>; 然后细胞将开始进行配子的分化, 表达配子特异的基因, 导致营养细胞转化为正/负配子<sup>[36]</sup>。

只存在于  $mt^-$  基因座的 *mid* 基因控制着负主导(*minus dominance*) 现象。正常表达 *mid* 基因的细胞最终会分化为负配子, 如果将 *mid* 基因转入正配型的营养细胞中去, 当氮缺乏时, 该细胞能够进行正常的负配子分化程序并转化为功能完全的负配子<sup>[37]</sup>。MID 蛋白是由 147 个氨基酸组成的转录因子, 属于 RWP-RK 家族, 这个家族的几种蛋白也在高等植物对抗氮缺乏的过程中起作用<sup>[37]</sup>。如前所述, 每个衣藻细胞都带有形成任何一种配子类型所需要的几乎全部基因, 可是当 *mid* 基因缺失时, 原本的负配子无法成功表达负配型特异的基因, 反而会表达除 *fus1* (仅位于  $mt^+$  基因座) 之外的正配型特异基因。由于这种正配子缺少 *fus1* 基因, 所以只能与负配子凝集却无法与之融合, 被称为假正型(*pseudor plus*)<sup>[38]</sup>。这种假正型现象说明 *mid* 基因编

码的转录因子既可以开启负配型特异基因的表达也可以抑制正配型特异基因表达,因此目前认为 *mid* 基因是衣藻性别决定的主要调控因子<sup>[39]</sup>. 近年来在对多细胞绿藻杂球藻 *Pleodorina starrii*<sup>[8]</sup> 以及 *Gonium pectorale*<sup>[40]</sup> 的研究中也鉴别出 *mid* 的同源基因,它只存在于雄配子体基因组中,显示出 *mid* 基因在性别决定进化过程中的重要性. 研究表明, *P. starrii* 的雄配子体正是由衣藻这类同配生殖祖先的负配子进化而来,这使人们对异配生殖进化及雌雄分化起源等问题有了认识上的突破<sup>[8]</sup>.

另一个 *mt<sup>-</sup>* 基因座特有基因 *mtd1* 目前数据库中没找到与之同源的序列<sup>[20]</sup>. 该基因与 *mid* 基因互相依赖,共同完成对负配子分化的调控. 该过程推测为:较低水平的 MID 浓度即可激活 *mtd1* 的表达并足以抑制正配型基因的表达,然后较高水平的 MID 浓度则激活一系列负配子基因的表达,使细胞分化为负配子.

到目前为止,诱导衣藻配子分化的具体机制尚不完全明了,但位于 *mt* 座位上的这些特异基因最先感知了氮缺乏这个环境因子的改变,启动了一系列调控分子的表达,至少有两种:一种是控制配子特异基因表达的分子,另一种是控制性别特异基因表达的分子,从而使细胞停止了营养生长而转入配子分化阶段.

#### 4 正/负配子的交配

衣藻正/负配子的交配是由细胞融合来实现的. 衣藻的正负配子在鞭毛表面上分别带有正凝集素 (*mt<sup>+</sup>* 凝集素) 和负凝集素 (*mt<sup>-</sup>* 凝集素). 正负凝集素分子互相识别,将相反配型的配子细胞拉在一起并使它们的鞭毛发生粘附. 详细过程参见文献[2]. 细胞团中鞭毛相互粘附的正负配子开启了一个复杂的信号通路,引发了细胞内一系列酶的级联反应,使 cAMP(环化腺苷酸磷酸)的水平升高了10倍,相应细胞间的信号传递也迅速增加<sup>[41]</sup>. 同时将储存的水解酶活化并释放出来,迅速降解正负配子的细胞壁,从而使配子能够通过质膜顶端交配结构的介导发生融合<sup>[42,43]</sup>. 活化后 *mt<sup>-</sup>* 的交配结构只是细胞膜略微地向外隆起, *mt<sup>+</sup>* 的交配结构由于肌动蛋白丝的聚合形成了 3 μm 长的受精管道,交配结构外壁都附有毛边(fringe)<sup>[44]</sup>.

正型凝集素由位于常染色体 LG VIII 的基因 *sag1* 编码<sup>[45]</sup>, 负型凝集素是由位于 *mt* 基因座内的基因 *sad1* 编码<sup>[20]</sup>. 在 *mt<sup>+</sup>/mt<sup>-</sup>* 基因座上都有具有

此功能的 *sad1* 拷贝,其表达受 *mid* 基因的调控,因而在正配子中不表达,但转入了外源 *mid* 基因后便可以获得表达<sup>[37]</sup>. *SAG1* 和 *SAD1* 凝集素是巨大的纤维蛋白<sup>[46-48]</sup>,它们属于富含羟脯氨酸的糖蛋白家族(hydroxyproline rich glycoprotein (HRGP) family),这一家族还包括组成衣藻、团藻及高等植物的细胞壁蛋白质.

正配子的毛边是由 *mt<sup>+</sup>* 座位上的 *fus1* 基因编码的糖蛋白<sup>[38]</sup>,它对融合前接触非常关键. 如果该基因被突变将产生无毛边的交配结构,虽然能够在 cAMP 作用下形成受精管,但却不能与负型交配结构相融合<sup>[44]</sup>. 目前对负配子毛边的编码基因尚不完全清楚,但在衣藻以及其他的一些藻类、原生物和高等植物中发现了一个很保守的被称为 *gcs1* (generative cell specific) 的常染色体基因,它编码细胞融合过程中所需要的跨膜蛋白<sup>[49]</sup>,使正负配子最终完成融合<sup>[50]</sup>.

衣藻正负配子之间的识别系统可总结为: *mt<sup>+</sup>* 座位里编码一个基因(*fus1*)主要负责正、负配子毛边之间的识别;而 *mt<sup>-</sup>* 座位里编码一个基因(*sad1*)主要负责正、负配子鞭毛上凝集素之间的识别. 编码正型凝集素的基因(*sag1*)位于常染色体上,而编码负配子细胞毛边的基因(*gcs1*)有可能也位于常染色体上. 交配后合子的凝集素会立即丧失粘附性而从细胞团上释放出来,剩下的配子将继续交配进程. 该过程效率很高,几分钟即可完成,因此衣藻的合子发育具同步性.

#### 5 合子分化的起始

衣藻的正负配子大小相同,融合后为合子提供相同容量的细胞质,并且都为启动合子的发育提供了遗传信息. 这些信息在配子融合后的 10 min 内就启动了新基因的表达,比正负配子细胞核融合要早 30~60 min<sup>[51]</sup>.

配子融合后,由一对同源蛋白启动了其他合子特异基因的表达,这对同源蛋白是分别由正配子提供的 GSP1 (Gamete specific plus protein) 和负配子提供的 GSM1 (Gamete specific minus protein) 相互作用,并从细胞质转移到细胞核中以完成起始转录的功能<sup>[52]</sup>. *gsp1* 和 *gsm1* 基因都是由常染色体编码的,它们在营养细胞中表达水平很低,当配子分化快结束时开始上调表达,而在细胞内 cAMP 的含量升高时呈现最高的表达水平. 与配子分化中的调控基因类似, *gsm1* 基因的表达需要 *mid* 基因正调控,而

*gsp1* 基因的表达却受 *mid* 的抑制<sup>[5]</sup>.

## 6 细胞器的单系遗传

多细胞生物的线粒体和叶绿体单系遗传现象不仅仅是一种被动的行为, 例如叶绿体的母系遗传可能不是由于卵细胞提供了绝大部分的细胞器, 而是生物体主动破坏了来自父本的叶绿体基因组<sup>[53]</sup>. 属于同配型的衣藻就是经典的例子.

Nishimura 从杂交、生化与分子、显微荧光染色以及光镊技术几个方面总结了衣藻负配子 cpDNA (叶绿体 DNA) 的母系遗传证据<sup>[11]</sup>. 例如图 2 所表示的是一个衣藻的合子, 左、右半边分别为原先的正配子与负配子, 可观察到左边负配子的 cpDNA 逐渐消失.

解释这一现象最简单的模型就是保护-摧毁模型, 正配子的 cpDNA 被保护而未被保护的负配子 cpDNA 很可能在合子发育的早期被具有摧毁功能的因子降解. 这个模型可能的分子基础是甲基化保护的 DNA 可以免除被内切酶攻击. 2002 年位于叶绿体基因组上编码甲基化酶的基因被发现, 并且被证实只在正配子中表达<sup>[54]</sup>. 可是实验又表明甲基化并不能完全承担保护正配子 cpDNA 的功能, 还有未知的机制同时保护正配子 cpDNA 免受在合子发

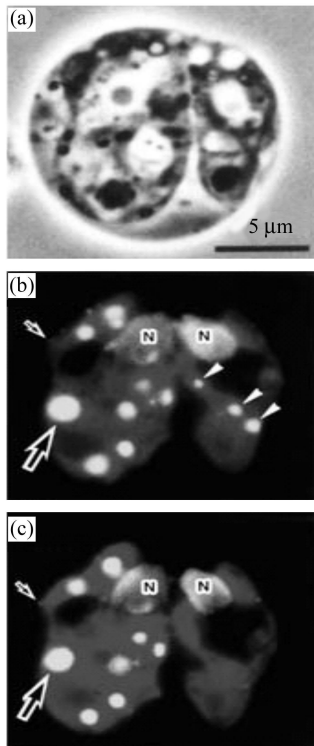


图 2 衣藻合子中负配子 cpDNA 的丢失

(a) 合子; (b), (c) 分别显示负配子 cpDNA 丢失的前后

育早期表达的核酸酶的攻击<sup>[55]</sup>. 此外, cpDNA 的单系遗传系统还可能存在着一种监督机制, 当正配子的 cpDNA 数量少到某一阈值时就会阻止降解负配子的 cpDNA<sup>[56]</sup>, 从而变成了双系遗传<sup>[57]</sup>. 有意思的是, 其中行使功能的蛋白质所属的蛋白类型一般在调控细胞周期的进入以及细胞大小方面起关键作用, 而且近来在团藻 (*Volvox carteri*) 中鉴定出一种与性别决定相关的蛋白也是属于该蛋白类型<sup>[58]</sup>.

高等植物的线粒体往往也是母系遗传, 但衣藻线粒体遗传是父系的, 并且相对于叶绿体的母系遗传来说更为保守, 只要是正常进行交配和发育就会严格执行. 负配子叶绿体 DNA 的降解大约发生在正、负配子交配后 1 h, 而正配子线粒体 DNA 的降解发生在合子减数分裂开始之时. 目前, 衣藻中线粒体父系遗传的分子基础尚不清楚, 线粒体 DNA 的甲基化水平没有变化, 推测其并不是采取叶绿体 DNA 甲基化保护的策略<sup>[59]</sup>. 象衣藻这样一个物种中的细胞器分别来自父本和母本的现象在植物中也是很特别的, 只有一些松树种类有相似情况, 这为单系遗传的研究提供了很好的材料.

## 7 结束语

真核生物性别决定及交配的策略千变万化, 与物种的分离和形成密切相关. 因此相近的物种利用相似的方式, 例如衣藻属中的莱茵衣藻 (*C. reinhardtii*) 和卵配衣藻 (*C. eugametos*), 虽然它们的共同祖先要上溯到几亿年前, 但它们的性别决定模式却没有改变, 依然是使用鞭毛上产生的 HRGP 类凝集素互相识别. 但是, 它们之间也存在很大的差别, 两者之间的凝集素无法互相识别, 造成生殖隔离. 对最相近的两种衣藻基因组的比较发现, 与性别相关的基因发生了很大的变化, 远比管家基因进化得快<sup>[60]</sup>.

藻类生物的起源并不是单一的, 从进化树上看绿藻与高等绿色植物的亲缘关系最近, 曾经属于同一分支, 然后约 10 亿年前分开<sup>[4]</sup>, 而其他各藻类的分支更加原始且多元. 但是, 对红藻中的日本对丝藻 (*Antithamnion nipponicum*) 的研究显示, 卵子与无鞭毛的精子之间的识别也依赖于凝集素<sup>[61]</sup>. Nozaki 和 Hamaji 在其他多细胞绿藻中克隆到类似 *mid* 基因的负主导基因<sup>[8, 40]</sup>. 这些相通之处提供了藻类性别调控模式的进化线索. 因此, 对模式生物衣藻的研究可为还处于起步阶段的其他藻类生物中性别相关基因及其调控的探讨指出可能的道路.

## 参考文献:

- [1] Cristina A J S, Carla C S, Adlane V B F. Sex in fungi: Lessons of gene regulation[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2003, **2**(1): 136-147.
- [2] 李修岭, 李夜光. 衣藻有性生殖的分子机制[J]. 西北植物学报, 2009, **29**(7): 1490-1495.  
Li Xiuling, Li Yeguang. Molecular mechanism of Chlamydomonas mating[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2009, **29**(7): 1490-1495(Ch).
- [3] 谢传晓, 韩伟, 余增亮. 模式生物衣藻及其研究进展[J]. 遗传, 2003, **25**(3): 350-354.  
Xie C X, Han W, Yu Z L. Progress of Chlamydomonas as a model organism[J]. *Hereditas*, 2003, **25**(3): 350-354(Ch).
- [4] Sabeeha S M, Simon E P, Olivier V, et al. The Chlamydomonas genome reveals the evolution of key animal and plant functions[J]. *Science*, 2007, **318**: 245-251.
- [5] Goodenough U W, Lin H, Lee J H. Sex determination in Chlamydomonas[J]. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 2007, **18**(3): 350-361.
- [6] Davidovich N A. Tendencies in development of reproductive biology in *Diatom algae* [J]. *International Journal on Algae*, 2010, **12**(1): 5-18.
- [7] Chah O K, Lee I K, Kim G H. Karyology and sex determination in *Aglaothamnion oosumiense* Itono (Ceramiaceae, Rhodophyta) [J]. *Hydrobiologia*, 2004, **512**: 157-164.
- [8] Nozaki H. A new male specific gene "OTOKOP" in *Pleodorina starrii* (Volvocaceae, Chlorophyta) unveils the origin of male and female[J]. *Biologia*, 2008, **63**(6): 772-777.
- [9] 陈鹏. 龙须菜配子体 SSH 文库的建立及与性别相关基因的分析[D]. 青岛: 青岛科技大学化工学院, 2010.  
Chen Peng. *Suppression Subtractive Hybridization Libraries Construction between Gametophytes of Gracilaria lemaneiformis and Analysis of Sex-Related Genes*[D]. Qingdao: College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, 2010(Ch).
- [10] Shan T F, Pang S J. Sex-linked microsatellite marker detected in the female gametophytes of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta) [J]. *Phycological Research*, 2010, **58**(3): 171-176.
- [11] Nishimura Y. Uniparental inheritance of cpDNA and the genetic control of sexual differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *J Plant Res*, 2010, **123**: 149-162.
- [12] Matsuda Y, Shimada T, Sakamoto Y. Ammonium ions control gametic differentiation and dedifferentiation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Cell Physiol*, 1992, **33**(7): 909-914.
- [13] Pan J, Snell W J. Signal transduction during fertilization in the unicellular green alga, *Chlamydomonas* [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2000, **3**(6): 596-602.
- [14] Goodenough U W, Armbrust E V, Campbell A M, et al. Molecular genetics of sexuality in *Chlamydomonas* [J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1995, **46**: 21-44.
- [15] Galloway R E, Goodenough U W. Genetic analysis of mating locus linked mutations in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Genetics*, 1985, **111**(3): 447-461.
- [16] Abe J, Kubo T, Saito T, et al. The regulatory networks of gene expression during the sexual differentiation of *Chlamydomonas reinhardtii*, as analyzed by mutants for gametogenesis [J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, **46**(2): 312-316.
- [17] Gloeckner G, Beck C F. Genes involved in light control of sexual differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Genetics*, 1995, **141**(3): 937-943.
- [18] Asamizu E, Nakamura Y, Sato S, et al. A large scale structural analysis of cDNAs in a unicellular green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*: Generation of 3343 non-redundant expressed sequence tags [J]. *DNA Res*, 1999, **6**: 369-373.
- [19] Ferris P J, Olson B, De Hoff P, et al. Evolution of an expanded sex determining locus in *Volvox* [J]. *Science*, 2010, **328**: 351-354.
- [20] Ferris P J, Armbrust E V, Goodenough U W. Genetic structure of the mating type locus of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Genetics*, 2002, **160**(1): 181-200.
- [21] Fraser J A, Diezmann S, Subaran R L, et al. Convergent evolution of chromosomal sex determining regions in the animal and fungal kingdoms [J]. *PLoS Biol*, 2004, **2**(12): 384.
- [22] Graves J A. Sex chromosome specialization and degeneration in mammals [J]. *Cell*, 2006, **124**(5): 901-914.
- [23] Beck C F, Acker A. Gametic Differentiation of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiol*, 1992, **98**(3): 822-826.
- [24] Martin N C, Goodenough U W. Gametic differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. I. Production of gametes and their fine structure. *J Cell Biol*, 1975, **67**(3): 587-605.
- [25] Bulte L, Bennoun P. Translational accuracy and sexual differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Curr Genet*, 1990, **18**(2): 155-160.

- [26] Picard B, Bennoun M, Bennoun P. Change in the cytoplasmic ribosome properties during gametogenesis in the alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Curr Genet*, 1985, **9**(3): 239-243.
- [27] Adair W S. Characterization of *Chlamydomonas* sexual agglutinins [J]. *J Cell Sci Suppl*, 1985, **2**: 233-260.
- [28] Waffenschmidt S, Kuhne W, Jaenicke L. Immunological characterization of gamete autolysins in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Bot Acta*, 1989, **102**(1): 73-79.
- [29] Goodenough U W. *Chlamydomonas Mating Interactions* [M]. Washington D C: ASM, 1991, 71-112.
- [30] Treier U, Fuchs S, Weber M, et al. Gametic differentiation in *Chlamydomonas reinhardtii*: Light dependency and gene expression patterns [J]. *Arch Microbiol*, 1989, **152**(6): 572-577.
- [31] Weissig H, Beck C F. Action spectrum for the light dependent step in gametic differentiation of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Physiol*, 1991, **97**(1): 118-121.
- [32] Briggs W R, Beck C F, Cashmore A R, et al. The phototropin family of photoreceptors [J]. *Plant Cell*, 2001, **13**(5): 993-997.
- [33] Huang K, Merkle T, Beck C F. Isolation and characterization of a *Chlamydomonas* gene that encodes a putative blue light photoreceptor of the phototropin family [J]. *Physiol Plant*, 2002, **115**(4): 613-622.
- [34] Huang K, Beck C F. Phototropin is the blue light receptor that controls multiple steps in the sexual life cycle of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, **100**(10): 6269-6274.
- [35] Fernandez E, Galvan A. Nitrate assimilation in *Chlamydomonas* [J]. *Eukaryot Cell*, 2008, **7**: 555-559.
- [36] Lynne M Q. Signal transduction in the sexual life of *Chlamydomonas* [J]. *Plant Mol Biol*, 1994, **26**(5): 1271-1287.
- [37] Ferris P J, Goodenough U W. Mating type in *Chlamydomonas* is specified by mid, the minus dominance gene [J]. *Genetics*, 1997, **146**(3): 859-869.
- [38] Misamore M J, Gupta S, Snell W J. The *Chlamydomonas* Fus1 protein is present on the mating type plus fusion organelle and required for a critical membrane adhesion event during fusion with minus gametes [J]. *Mol Biol Cell*, 2003, **14**(6): 2530-2542.
- [39] Ferris P J, Woessner J P, Goodenough U W. A sex recognition glycoprotein is encoded by the plus mating type gene fus1 of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Mol Biol Cell*, 1996, **7**(8): 1235-1248.
- [40] Hamaji T, Ferris P J, Coleman A W, et al. Identification of the minus dominance gene ortholog in the mating type locus of *Gonium pectorale* [J]. *Genetics*, 2008, **178**: 283-294.
- [41] Wilson N F, O'Connell J S, Lu M, et al. Flagellar adhesion between *mt(+)* and *mt(-)* *Chlamydomonas* gametes regulates phosphorylation of the *mt(+)*-specific homeodomain protein GSP1 [J]. *J Biol Chem*, 1999, **274**(48): 34383-34388.
- [42] Matsuda Y, Saito T, Yamaguchi T, et al. Cell wall lytic enzyme released by mating gametes of *Chlamydomonas reinhardtii* is a metalloprotease and digests the sodium perchlorate insoluble component of cell wall [J]. *J Biol Chem*, 1985, **260**(10): 6373-6377.
- [43] Buchanan M J, Imam S H, Eskue W A, et al. Activation of the cell wall degrading protease, lysin, during sexual signalling in *Chlamydomonas*: the enzyme is stored as an inactive, higher relative molecular mass precursor in the periplasm [J]. *J Cell Biol*, 1989, **108**(1): 199-207.
- [44] Goodenough U W, Detmers P A, Hwang C. Activation for cell fusion in *Chlamydomonas*: Analysis of wild type gametes and nonfusing mutants [J]. *J Cell Biol*, 1982, **92**(2): 378-386.
- [45] Goodenough U W, Hwang C, Warren A J. Sex-limited expression of gene loci controlling flagellar membrane agglutination in the *Chlamydomonas* mating reaction [J]. *Genetics*, 1978, **89**(2): 235-243.
- [46] Cooper J B, Adair W S, Mecham R P, et al. *Chlamydomonas* agglutinin is a hydroxyproline rich glycoprotein [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1983, **80**(19): 5898-5901.
- [47] Goodenough U W, Adair W S, Collin Osdoby P, et al. Structure of the *Chlamydomonas* agglutinin and related flagellar surface proteins in vitro and in situ [J]. *J Cell Biol*, 1985, **101**(3): 924-941.
- [48] Ferris P J, Waffenschmidt S, Umen J G, et al. Plus and minus sexual agglutinins from *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant Cell*, 2005, **17**(2): 597-615.
- [49] Mori T, Kuroiwa H, Higashiyama T, et al. Generative cell specific 1 is essential for angiosperm fertilization [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(1): 64-71.
- [50] Liu Y, Tewari R, Ning J, et al. The conserved plant sterility gene HAP2 functions after attachment of fusogenic membranes in *Chlamydomonas* and *Plasmodium* gametes [J]. *Genes Dev*, 2008, **22**: 1051-1068.
- [51] Suzuki L, Woessner J P, Uchida H, et al. A zygote specific protein with hydroxyproline rich glycoprotein domains and lectin like domains involved in the assembly of the cell wall of *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta) [J]. *J Phycol*, 2000, **36**(3): 571-583.

- [52] Lee J H, Lin H, Joo S, *et al.* Early sexual origins of homeoprotein heterodimerization and evolution of the plant KNOX/BELL family[J]. *Cell*, 2008, **133**(5): 829-840.
- [53] Umen J G, Goodenough U W. Chloroplast DNA methylation and inheritance in *Chlamydomonas* [J]. *Genes Dev*, 2001, **15**(19): 2585-2597.
- [54] Nishiyama R, Ito M, Yamaguchi Y, *et al.* A chloroplast resident DNA methyltransferase is responsible for hypermethylation of chloroplast genes in *Chlamydomonas* maternal gametes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**: 5925-5930.
- [55] Nishiyama R, Wada Y, Mibu M, *et al.* Role of a nonselective de novo DNA methyltransferase in maternal inheritance of chloroplast genes in the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Genetics*, 2004, **168**: 809-816.
- [56] Armbrust E V, Ibrahim A, Goodenough U W. A mating typelinked mutation that disrupts the uniparental inheritance of chloroplast DNA also disrupts cell size control in *Chlamydomonas* [J]. *Mol Biol Cell*, 1995, **6**: 1807-1818.
- [57] Wurtz E A, Boynton J E, Gillham N W. Perturbation of chloroplast DNA amounts and chloroplast gene transmission in *Chlamydomonas reinhardtii* by 5-fluorodeoxyuridine [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1977, **74**(10): 4552-4556.
- [58] Kianianmomeni A, Nematollahi G, Hallmann A. A gender specific retinoblastoma related protein in *Volvox carterii* implies a role for the retinoblastoma protein family in sexual development [J]. *Plant Cell*, 2008, **20**: 2399-2419.
- [59] Nakamura S. Paternal inheritance of mitochondria in *Chlamydomonas* [J]. *J Plant Res*, 2010, **123**: 163-170.
- [60] Lee J H, Waffenschmidt S, Small L, *et al.* Between species analysis of short repeat modules in cell wall and sex-related hydroxyproline rich glycoproteins of *Chlamydomonas* [J]. *Plant Physiology*, 2007, **144**(4): 1813-1826.
- [61] Kim G H, Fritz L. Gamete recognition during fertilization in a red alga, *Antithamnon nipponicum* [J]. *Protozoa*, 1993, **174**(1): 69-73.

## Progress of Gene Regulation Involved in *Chlamydomonas* Sex Determination and Mating Process

XU Di<sup>1</sup>, CHEN Peng<sup>2</sup>, SHAO Hongbo<sup>2</sup>, ZANG Xiaonan<sup>1</sup>, ZHANG Xuecheng<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong, China;

2. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 263004, Shandong, China)

**Abstract:** This paper reviewed recent progress of sex-related genes and their mechanisms in unicellular green alga *Chlamydomonas*. We focused on genes which were gathered on mating-type (*mt*) locus as well as some additional sex-related genes located in autosomes and their regulations during the following 3 key steps: Plus and minus gamete sexual differentiation from vegetative cells, mating between *mt*<sup>+</sup>/*mt*<sup>-</sup> gametes, and initiation of zygote differentiation.

**Key words:** *Chlamydomonas*; sex-related genes; gamete-specific locus; gene regulation