

科研报告书																							
姓名：尚雪莹		导师：常芳		手机：18321715213																			
核心科学问题		基因 HEMERA 在植物生殖发育过程中的功能研究																					
与导师在研项目的关系		相对独立的课题																					
技术路线图		(1) 基因型鉴定 (2) 表达水平鉴定 (3) HEMERA (HMR) 基因对拟南芥育性影响的初步探究 ● 整体育性分析 ● 正反交实验 (4) HMR 对拟南芥雄性育性的影响 ● 亚历山大红染色观察花粉育性 ● 半薄切片观察花药结构变化																					
当期科研进度		1. hmr-22 突变体植株及 HMR::HA/hmr-5 转基因突变体基因型鉴定 A. 根据原始文献 PCR 扩增出 hmr-22 突变体植株及 HMR::HA/hmr-5 转基因突变体中的 HMR 基因 B. 由于两种突变体均为点突变，所以采用随机抽样测序的方法确定基因型，测序图统计列表如下 <table><tr><td>突变体</td><td>植株数量</td><td>检测数量</td><td>突变核苷酸</td><td>突变氨基酸类型</td><td>纯合数量</td></tr><tr><td>hmr-22</td><td>101</td><td>10</td><td>1722 G->A</td><td>D516N (GAU->AAU)</td><td>10</td></tr><tr><td>HMR::HA/hmr-5</td><td>65</td><td>10</td><td>517 G->A</td><td>W114* (UGG->UAG)</td><td>10</td></tr></table> 全部抽样检测的突变体点突变类型全部符合文献记录。 2. 植株形态的观察与统计 每株植物的果荚数与果荚中的种子数是用来衡量植物育性的两个重要指标。通过观察三种植物整体形态及整体育性，发现 hmr-22 的确在育性上有较为明显的缺陷。而回复突变植株 HMR::HA/hmr-5 的整体表型则几乎和野生型一致。				突变体	植株数量	检测数量	突变核苷酸	突变氨基酸类型	纯合数量	hmr-22	101	10	1722 G->A	D516N (GAU->AAU)	10	HMR::HA/hmr-5	65	10	517 G->A	W114* (UGG->UAG)	10
突变体	植株数量	检测数量	突变核苷酸	突变氨基酸类型	纯合数量																		
hmr-22	101	10	1722 G->A	D516N (GAU->AAU)	10																		
HMR::HA/hmr-5	65	10	517 G->A	W114* (UGG->UAG)	10																		

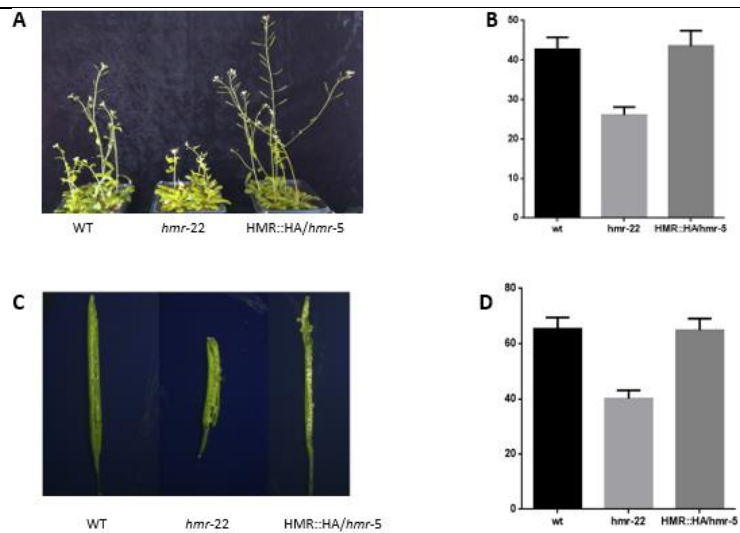


图 2. 植株形态的观察与统计

- A. 整体植株形态的观察。*hmr-22* 生长速度明显慢于野生型，而 *HMR::HA/hmr-5* 的生长速度快于野生型； B. 植株完全成熟后，统计平均主轴果荚数。发现突变体平均主轴果荚数明显下降； C. 果荚形态观察。*hmr-22* 果荚明显短于野生型，而 *HMR::HA/hmr-5* 果荚长度与野生型类似； D. 果荚中种子数统计，*hmr-22* 每个果荚平均种子数明显下降。

3. 花药亚历山大红染色显示 *hmr-22* 的花粉数量有明显下降。

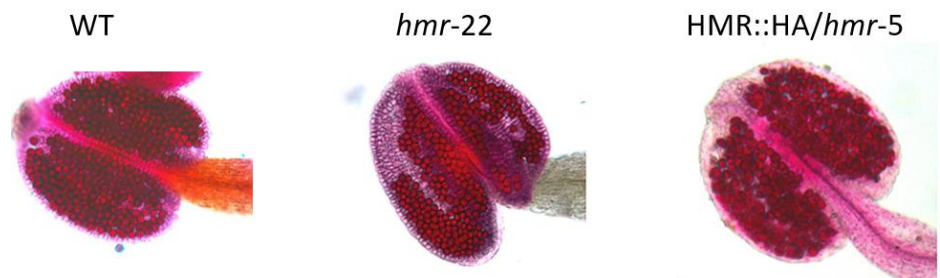


图 3. 亚历山大红染色结果

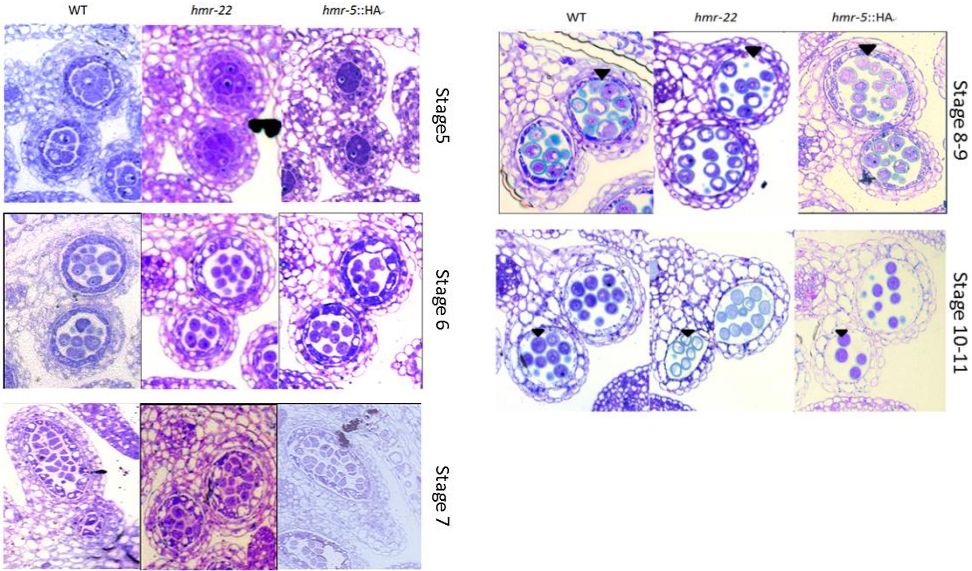
每种类型植株的花药观察 10 株以上，可育花粉染色显示紫红色，败育花粉显示绿色。发现 *hmr-22* 与野生型相比，花粉数量减少，同时花药内也存在败育的花粉。

4. *hmr-22* 花粉萌发率有显著下降

花粉萌发实验 (Pollen in vitro germination) 通过花粉在培养基上的萌发率的情况反应花粉萌发活力。而 *hmr-22* 萌发率也有降低，说明 *HEMERA* 可能也影响到花粉萌发过程。



图 4. 花粉萌发实验

	从左到右依次为野生型，<i>hmr-22</i> 突变体与 <i>HMR::HA/hmr-5</i> 的花粉萌发实验图（部分）。右图为统计出的各个植株的萌发率。 5. 半薄切片观察花药横切 拟南芥的花药发育可以划分为 12 个不同的时期。初步发现 <i>hmr-22</i> 突变体花粉发育早期较为正常，但后期出现空泡化，绒毡层发育也有一定程度的异常。绒毡层是花药中为花粉发育提供营养的结构，正常情况下绒毡层会随着花粉成熟而逐渐降解。但在 <i>hmr-22</i> 植物中，绒毡层可能出现过早降解情况，并由此导致花粉无法获得足够营养而出现部分败育。  图 5. 花药横切 5-7 期花药发育的主要事件是减数分裂及小孢子的形成。在这一阶段突变体与野生型表型基本无差异。<i>hmr-22</i> 的花药在 8-11 期开始出现异常。绒毡层（以黑色箭头指示）在 <i>hmr-22</i> 中在 8-9 期已经提前降解。
相关学科的最新进展	可包括：之前未注意到的相关研究 (本格最多不超过一页 A4 纸)

下一步的研究计划

1. 表性重复
2. 基因表达水平检测、转录组检测。

毕业班学生的夏季考核材料需总结整个培养经历。