

长爪沙鼠 ATPase8 , ATPase6 , COX3 基因的 克隆及序列分析

李长龙 柯贤福 卢领群 郭红刚 薛晓婴

(浙江省医学科学院 浙江省实验动物中心 杭州 310013)

【摘要】 目的 对长爪沙鼠线粒体 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因全序列进行测定 ,并对其进行鉴定及进化分析。方法 根据长爪沙鼠已知基因序列设计引物 ,采用 PCR 产物测序法 ,对目的片段进行测序鉴定。结合已公布啮齿类动物 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因序列 ,分析其碱基组成、遗传距离、并基于最小进化法和 UPGMA 法构建系统进化树。结果 获得长爪沙鼠线粒体 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因全序列 ,其与家鼠、小家鼠和仓鼠均具有较高的同源性(76~98%) ;进化分析结果显示 ,长爪沙鼠与家鼠、黑家鼠和仓鼠遗传距离较近;碱基 G 的含量分别为 6.9% ,10.7% ,15.2% ,符合 mtDNA 的特点;A + T 含量分别为 68.2% ,64.1% ,59.2% ,明显低于 G + C 含量 ,符合哺乳动物的特点。结论 本研究为首次获得长爪沙鼠 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因全序列 ,长爪沙鼠与家鼠、黑家鼠和仓鼠具有较近遗传距离 ,本研究为长爪沙鼠进化研究、线粒体的结构和功能研究奠定基础。

【关键词】 长爪沙鼠; ATPase8; ATPase6; COX3; 克隆; 进化分析

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)07-0006-07

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.07.002

Determination and Analysis of ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 Gene Complete Sequence of Mongolian Gerbil(*Meriones unguiculatus*)

LI Chang-long , Ke Xian-fu , LU Ling-qun , GUO Hong-gang , SA Xiao-ying

(Zhejiang Center of Laboratory Animal ,Zhejiang Academy of Medical Science , Hangzhou , 310013 , China)

【Abstract】 Objective To complete sequence of mitochondrial ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 of Mongolian Gerbil determined basing on the PCR products. The sequence was analysed in phylogenetic tree , nucleotide composition and genetic distance. **Methods** The primer was designed according to the published sequences. The PCR product were sequenced and determined. Combined with known ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 sequence of other rodents , nucleotide composition and genetic distance were analysed; phylogenetic tree was constructed by minimum-evolution (ME) methods and UPGMA methods. **Result** The ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 gene were cloned in Mongolian Gerbil , which have high homology with rat , mouse and hamster(76~98%) ; it is higher genetic relationship with rat , mouse and hamster by phylogenetic analysis; the G content(6.9% ,10.7% ,15.2%) are similar with feature of mtDNA; the A + T content (68.2% ,64.1% ,59.2%) are similar with feature of mammalian genome. **Conclusion** The ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 , gene sequence of mongolian Gerbil was determined for the first time. We found that Mongolian Gerbil have close genetic relationship with rat , mouse and hamster in this research. This research is an important work for study on evolution , structure and function of the mongolian gerbil mitochondrion.

[基金项目]“十一五”科技支撑计划重点项目(2009BAI83B02);国家自然科学基金项目(31000985);浙江省科技计划项目(2008F3021)。

[作者简介]李长龙(1976-),男,副研究员,博士,研究方向:实验动物遗传学。E-mail: li-changlong@126.com。

[通讯作者]薛晓婴(1952-),男,研究员,研究方向:实验动物学。E-mail: saxiaoyin@163.com。

【Key words】 Mongolian gerbil; ATPase8; ATPase6; COX3; Clone; Phylogenetic analysis

长爪沙鼠 (Mongolian Gerbil, *Meriones unguiculatus*) 俗称蒙古沙鼠, 属于啮齿目, 仓鼠科, 沙鼠亚科, 沙鼠属, 又称长爪沙土鼠、蒙古沙鼠和黄耗子等。野生长爪沙鼠主要分布于我国内蒙古及其毗邻的干旱和半干旱地区^[1]。1935 年大连卫生所的春日送给日本北里研究所 20 对长爪沙鼠并开始驯化, 后引种到美、英、法等国。我国有两个主要的长爪沙鼠群体, 分别保存于浙江省实验动物中心和首都医科大学^[1]。长爪沙鼠具有独特的解剖学、生理学和行为学性状, 对于一些疾病(如: 脑缺血、癫痫、高血脂、寄生虫、细菌、病毒和老年性疾病等)的研究具有极为重要的价值, 已在越来越多的研究所使用^[2]。

线粒体是细胞的能源中心, 在细胞能量代谢、细胞凋亡和程序化死亡中发挥重要作用。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是高等动物唯一的核外遗传物质, 呈共价闭合的环状双链结构。mtDNA 结构简单、进化速度快(是单拷贝核基因的 5-10 倍), 呈严格的母性遗传, 遗传行为相对独立, 变异发生的几率相对稳定、无组织特异性、提取方便^[3]。由于 mtDNA 的遗传特性, 已被广泛地用于物种起源与进化、生物分类及群体遗传结构等方面的研究^[4]。

本研究首次对长爪沙鼠线粒体 ATPase8, ATPase6, COX3 基因全序列进行测定和鉴定, 并结合已公布啮齿类动物 ATPase8, ATPase6, COX3 基因序列进行系统进化分析, 旨在为长爪沙鼠系统进化关系和长爪沙鼠能量代谢研究提供遗传学资料, 为全长线粒体测定分析奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

长爪沙鼠来自浙江省实验动物中心 [生产许可证号: SCXK(浙) 2008-033; 使用许可证号: SYXK(浙) 2008-0014], 长爪沙鼠解剖采集肝脏样品, -20℃ 保存。

1.2 总 DNA 提取

采用酚氯仿抽提法提取基因组 DNA, 0.7% 琼脂糖凝胶电泳检测, -20℃ 保存。

1.3 引物设计和 PCR 扩增

分别参照长爪沙鼠 mtDNA 序列 AB381914 和 MUU83801 设计上下游引物^[5-6], 引物由上海美吉生物公司合成。上游 (COX2 3' 端) 5'-TCCAACCACAGCTTTATACCG-3', 下游 (ND3 5' 端)

5'-GGCATGGACTTTTTCTGCAT-3'。扩增片段内应包括 ATPase8, ATPase6, COX3 三个编码基因全序列及 tRNA-Gly 和 tRNA-Lys 等两个 tRNA 基因全序列。

扩增反应体系总体积为 25 μL: 模板 DNA 100 ng, 10 × buffer 2.5 μL, MgCl₂ (2.5 mol/L) 2 μL, dNTP 2 μL, 上下游引物 (10 pmol/L) 各 1 μL, 1 U pfuDNA 聚合酶, 加灭菌纯水补足。扩增条件: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 56.5℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环, 72℃ 延伸 7 min。

1.4 序列纯化、测序、拼接

用北京天根胶回收试剂盒对 PCR 扩增产物进行纯化, 纯化后的产物由上海美季公司完成测序工作, Chromas 2.22 校对测序图, DNAMAN5.5 拼接序列。

1.5 序列的鉴定和分析

从 GenBank 下载其他具有完整 mtDNA 基因组序列的 18 种啮齿类动物类的 ATPase8, ATPase6, COX3 序列, GenBank 登录号分别为: NC_005089 家鼠 (*Mus musculus*)、NC_012387 小家鼠 (*Mus musculus castaneus*)、NC_006914 西欧家鼠 (*Mus musculus domesticus*)、NC_006915 日本小鼠 (*Mus musculus molossinus*)、NC_010339 东欧家鼠 (*Mus musculus musculus*)、NC_012389 缅甸鼠 (*Rattus exulans*)、NC_012461 帅家鼠 (*Rattus praetor*)、NC_012374 黑家鼠 (*Rattus rattus*)、NC_011638 达氏家鼠 (*Rattus tanezumi*)、AC_000022 褐家鼠 (*Rattus norvegicus*)、NC_013068 大仓鼠 (*Tscherskia triton*)、NC_007936 中国仓鼠 (*Cricetulus griseus*)、NC_003041 台湾田鼠 (*Microtus kikuchii*)、NC_001892 胖睡鼠 (*Glis*)、NC_005314 非洲跳鼠 (*Jaculus*)、NC_009056 鳞尾松树 (*Anomalurus*)、NC_000884 豚鼠 (*Cavia porcellus*) 和 NC_002658 蔗鼠 (*Thryonomys swinderianus*) 等。用 DNAMAN5.5 进行同源性分析; 用 EMBOSS 中 compseq 程序统计碱基含量和计算 A 和 G 偏离^[7]; 用 MEGA 4.0 统计物种间遗传距离, 并基于 Kimura-Parameter 双参数模型, 用 UPGMA 和最小进化法构建分子系统进化树^[8]。

2 结果与分析

2.1 长爪沙鼠线粒体基因克隆和测序

从长爪沙鼠基因组 DNA 中特异性克隆获得 1.9 kb 的片段 (图 1)。经过测序获得长爪沙鼠

mtDNA 序列 1952 bp ,其中包括 ATPase8 ,ATPase6 , COX3 编码基因全序列、tRNA-Gly 和 tRNA-Lys 转运 RNA 基因序列。

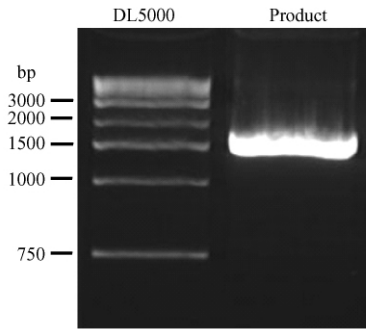


图 1 PCR 扩增长爪沙鼠线粒体 DNA 部分序列
注:泳道 DL5000 为 DL5000 Marker ,泳道 Product 为线粒体 DNA 部分序列扩增结果

Fig. 1 The result of PCR amplified the partical sequence of mtDNA in Mongolian Gerbil
Note: The line 1 is DL5000 Marker , the line 2 is product of PCR amplified the partical sequence of mtDNA

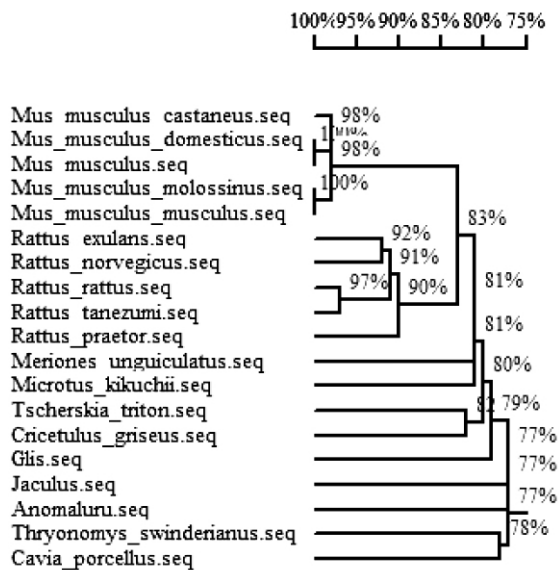


图 2 长爪沙鼠 ATPase8 与其他啮齿类动物同源性分析
Fig. 2 The homology analysis between Mongolian Gerbil ATPase8 yene and other rodents

2.2 长爪沙鼠 ATPase8 基因的鉴定及遗传进化分析

长爪沙鼠 ATPase8 基因序列与其他啮齿动物的基因序列分别进行序列比对、同源性分析和进化分析。结果显示 ,长爪沙鼠 ATPase8 基因序列全长 204 bp 编码 67 个氨基酸的序列。COX3 基因与家鼠同源性为 90%、与小家鼠同源性为 98% ,与仓鼠

同源性为 83% (图 2) 。

利用 MEGA4.1 软件将长爪沙鼠和 18 个啮齿类动物的 ATPase8 基因进行系统进化分析。结果显示 ,家鼠、小家鼠分别聚合与 A ,B 两支 ,之后与长爪沙鼠分支聚合 ,之后依次为台湾田鼠 ,非洲跳鼠 ,仓鼠等分支聚合 (图 3) 。分枝长表示分歧度 ,枝上的数值为 1000 次重复抽样检验得到的支持率。分别选择家鼠、黑家鼠、中国仓鼠、豚鼠、蔗鼠和睡鼠与长爪沙鼠计算遗传距离。基于 ATPase8 基因结果显示 (表 1) ,长爪沙鼠与家鼠遗传距离最近为 0.633; 与黑家鼠遗传距离为 0.685; 与中国仓鼠遗传距离为 0.867 (表 1) 。

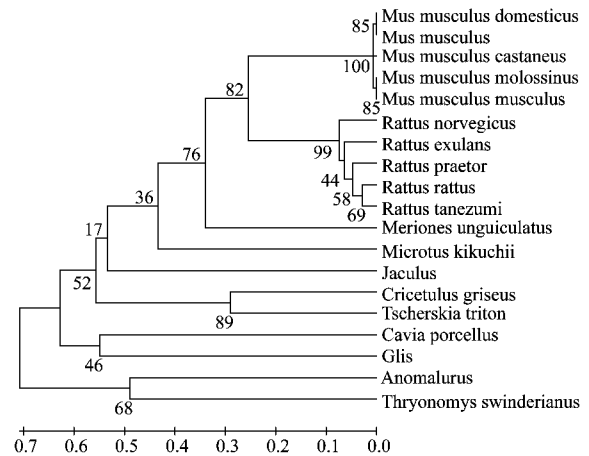


图 3 UPGMA 法构建的 ATPase8 基因系统发生树
Fig. 3 Phylogenetic tree based on ATPase8 sequences by UPGMA methods

2.3 长爪沙鼠 ATPase6 基因的鉴定及遗传进化分析

长爪沙鼠 ATPase6 基因序列与其他啮齿动物的基因序列分别进行序列比对、同源性分析和进化分析。结果显示 ,长爪沙鼠 ATPase6 基因序列全长 681 bp 编码 226 个氨基酸的序列。ATPase6 基因与家鼠同源性为 89%、与小家鼠同源性为 98% ,与仓鼠同源性为 76% (图 4) 。

利用 MEGA4.1 软件将长爪沙鼠和 18 个啮齿类动物的 ATPase6 基因序列进行系统进化分析。结果显示 ,家鼠、小家鼠分别聚合与 A ,B 两支 ,之后与中国仓鼠等仓鼠分支聚合 ,之后依次为长爪沙鼠等分支聚合 (图 5) 。分别选择家鼠、黑家鼠、中国仓鼠、豚鼠、蔗鼠和睡鼠与长爪沙鼠计算遗传距离。结果显示 (表 1) ,长爪沙鼠与家鼠遗传距离最近为 0.273; 与黑家鼠遗传距离为 0.281; 与中国仓鼠遗传距离为 0.29 (表 1) 。

表 1 长爪沙鼠与其他鼠类遗传距离

Tab. 1 The genetic distance between Mongolian Gerbil and other rodents

物种 Species	豚鼠 Cavia porcellus	中国仓鼠 Cricetulus griseus	家鼠 Mus musculus	睡鼠 Glis glis	黑家鼠 Rattus Rattus	蔗鼠 Thryonomys swinderianus
长爪沙鼠 Meriones unguiculatus						
胞色素氧化酶亚基 3 COX3	0.313	0.244	0.211	0.281	0.231	0.295
三磷酸腺苷酶亚基 6 ATPase6	0.346	0.281	0.273	0.291	0.290	0.335
三磷酸腺苷酶亚基 8 ATPase8	0.997	0.867	0.633	1.160	0.685	1.534

表 2 长爪沙鼠 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 编码序列的碱基组成

Tab. 2 The nucleotide composition in COX3 ,ATPase6 ,ATPase8 gene sequence of Mongolian Gerbil

基因 Gene	A 含量 A (%)	C 含量 C (%)	G 含量 G (%)	T 含量 T (%)	A + T 含量 A + T (%)	含量 G + C (%)	A 偏倚 A-skew	G 偏倚 G-skew
	三磷酸腺苷酶亚基 8 ATPase8	35.8	25	6.9	32.4	68.2	31.8	-0.568
三磷酸腺苷酶亚基 6 ATPase6	32.5	25.3	10.7	31.6	64.1	35.9	-0.406	0.014
胞色素氧化酶亚基 3 COX3	28.7	25.67	15.2	30.5	59.2	40.8	-0.256	-0.030

3 讨论

3.1 长爪沙鼠 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因序列的测定和鉴定

哺乳动物 mtDNA 内包含 13 个编码基因,均参与呼吸的电子传递^[9]。三磷酸腺苷酶亚基 6、8 (adenosine triphosphatase 6、8 ,ATPase6、ATPase8) 和胞色素氧化酶亚基 3 (cytochrome oxidase ,COX3) 在 mtDNA 上呈相邻分布,均可用于分子进化研究^[10-12]。ATPase 是生物体内广泛存在细胞膜上的一种极为重要的酶,功能主要是维持细胞内外离子及渗透压和跨膜电化学平衡以及细胞能量代谢。ATPase 8 和 ATPase 6 基因是编码 ATPase (又称 FOF1-ATPase 酶复合物) F0 部分的基因,是呼吸链电子传递中不可或缺的部分^[3]。COX3 是线粒体呼吸链电子传递的终末复合物,属亚铁血红素,铜氧化酶的超家族,是线粒体氧化能力的关键调节部位^[13]。

mtDNA 是闭合的双链环状 DNA ,ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 依次排列于 mtDNA 中段,在 COX2 和 ND3 基因之间。本研究根据已知的长爪沙鼠 COX2 和 ND3 基因部分序列分别设计上下游引物,并在基因组 DNA 中扩增出约 1.9 kb 的 DNA 片段 (图 1)。共测得长爪沙鼠 mtDNA 序列 1952 bp,其中包括 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 编码基因全序列、tRNA-Gly 和 tRNA-Lys 转运 RNA 基因序列。序列比对和同源分析结果显示,长爪沙鼠线粒体 COX3 序列全长为 784bp ,ATPase6 序列全长为 681 bp ,ATPase8 序列全长为 204 bp (图 8); ATPase8 和

ATPase6 基因间存在 43 bp 的碱基重叠 ,ATPase6 和 COX3 基因间存在 1 bp 的碱基重叠。本研究选择 18 种不同的啮齿类动物线粒体 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因序列进行同源性分析,结果显示,长爪沙鼠 3 个基因与家鼠、小家鼠和仓鼠序列同源性在 76% ~ 98% 之间。线粒体基因由于没有组氨酸保护,而且处于高氧化条件之下,其突变频率较核基因高^[3],因此认定上述序列为长爪沙鼠 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因全序列。

3.2 长爪沙鼠线粒体 DNA 序列及进化分析

动物的起源进化长期以来一直困扰着遗传学家。分子遗传学方法为研究群体的起源和进化开辟了新的途径^[7]。mtDNA 比核 DNA 的突变率高 5 ~ 10 倍^[8]。利用 mtDNA 序列构建的系统发育树能很好的反映动物母系的迁徙和进化。许多科学家利用 mtDNA 序列差异来研究动物的遗传多样性与起源演化,取得了一系列令人瞩目的成果^[14]。

不同物种的 mtDNA 碱基组成和特性存在明显的差异^[15]。DNA 的鸟嘌呤和胞嘧啶的碱基含量 (G + C 含量) 在不同物种的基因组中波动范围广阔^[16],甚至在同一物种的基因组不同区域也不相同。这种基因组局部碱基不均衡的现象表现为不同区域的核苷酸碱基组成存在差异^[17]。长爪沙鼠 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因编码序列中碱基 G 的含量分别为 6.9% ,10.7% ,15.2% ,明显低于其他碱基的含量 mtDNA 的一个显著特征^[18]; A + T 含量分别为 68.2% ,64.1% ,59.2% 符合哺乳动物 A、T 含量高 ,G、C 含量低的特点相似^[19]。

```

1      TCCAACCACA GCTTTATACC GATCGTCCTA GAAATAATTC CACTAAAAC TTTTCGAAAAT
61     TGATCTGTGT CTATAACTCA ATAGCATTAT GAAGCTTAAT GCGTTAACCT TTTAAGTTAA
121    AGTAAGAGAA GAATCTTTCT CCATAATGGA TATGCCACAA CTAGATACAT CTACATGATT
181    TATAACTATA TTTTCTTCAA TCATTACTCT GTTTATTCTA TTTCAATTGA AGCTTTCTTC
241    CCAGGACTTT CCACATCCCC CTATAACAAA AACTATAAAA ACCTTAAAAA CTAAGACCCC
301    TTGAGAACAA AAATGAACGA AAACCTATTT GCCTCTTTCA TTACCCCTAC CATAATAGGT
361    CTGCCTGTAT TTACCCTTAT TATTATGCTC CCATCAATTC TATTTACATC ATCAAATCGT
421    CTAATCAACA ATCGCTTCCA CACCTTTCAA GAATGATTAA CAAAATTAAT CATAAAACAA
481    ATAATAACAA TTCATTCACC AAAAGGACGA ACCTGGTCCC TAATAATCAT CTCACTAATT
541    ATATTTATTG GGTCACAAA TCTCCTAGGA TTATTACCAC ATACATTTAC TCCAAC TACA
601    CAATTATCAA CAAACCTAGC TATAGCTATC CCCCTATGAG CTGGAGCAGT AATTACTGGT
661    TTCCGACATA AACCAAAAAG CTCGTTAGCC CACTTTTTTAC CTCAAGGAAC CCCAATTTCC
721    TTAATTCCTA TACTTGTTAT CATTGAAACT ATTAGTTTAT TCATTCAACC AATAGCACTA
781    GCTGTTCGAC TAACAGCCAA TACTACTGCC GGACATCTAC TTATACATTT AATTGGAGGG
841    GCAACCATAG CGTTAACAAG CATTAGTACC CCACTGCCT TAATCACTTT TATTATTTTA
901    ACTTTACTCA CAGTACTGGA ATTTGCTGTG GCCTTAATTC AAGCCTACGT TTTACCTTA
961    TTAGTCAGCC TGTATCTACA TGACAACACC TAAATGACTCA CCAAACACAT GCATTTTATA
1021   TAGTTAATCC AAGCCCATGA CCCCTAACAG GTGCTCTATC TGCCTTACTA CTCACCTCGG
1081   GCCTAACAA ATGATTTTCA TACAATTCCA CTATCTTGTT ACTAGTAGGA CTCGCCACAA
1141   ACATTCTCAC AATATTTCAA TGATGACGAG ATATTATCCG TGAAGGAAC TTCCAAGGTC
1201   ACCACACCCC AGTTGTCCA AAAGGCCTAC GATACGGGAT AATCCTATTC ATTGTATCAG
1261   AAGTATTTTT CTTCTCAGGG TTTCTCTGAG CCTTTTACCA CTCTAGCCTA GTTCCCACAC
1321   ATGATCTAGG GGGATGCTGA CCCCTACAG GAATTACACC ACTTAATCCA CTAGAAGTAC
1381   CGCTACTAAA TACATCAGTA CTTCTAGCAT CCGGGGTTTC AATCACGTGA GTCATCACA
1441   GCCTAATAGA AGGTAAACGA AATAATATAA ATCAAGCCCT ACTAATTACA ATCAGTCTAG
1501   GTCTCTATTT CACCGCTCTA CAAGCATCAG AATATCTAGA AACCCCTTTT TCCATCTCAG
1561   ATAGCATTTA TGGGTCTACA TTTTTTATAG CAACAGGCTT CCATGGACTC CACGTAATTA
1621   TTGGATCTAC CTTCTCATT GTGTGCCTTC TACGACAGCT AAAATTTTAC TTCACATCAA
1681   ATCATCACTT TGGGTTTGAG GCAGCAGCAT GATACTGACA TTTCGTAGAT GTTGTATGAC
1741   TTTTCTTTA CGTTTCATT TATTGATGAG GCTCCTATTC TCTTAGTATA AACAGTACAA
1801   TTGACTTCCA ATCAGTTAGA TCTAGCAAAC TCTAGAAGAG AATAATCAAT ATATTACTTT
1861   CCCTTCTTAT TAATATTTTC TTGTCAACTC TCCTAATTAT TATCGCATTT TTCATCCCTC
1921   AAATTAATAT TTATGCAGAA AAAGTCCATG CC
    
```

图 8 长爪沙鼠 ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 基因序列

Fig. 8 The complete sequence of ATPase8 ,ATPase6 ,COX3 gene in Mongolian Gerbil 序列阴影部分为

注: ATPase8 基因编码序列 ,序列方框部分为 ATPase6 基因编码序列 ,序列下划线部分为 COX3 基因编码序列

Note: The shadow sequence is ATPase8 gene(152 – 354 bp) ; The frame sequence is ATPase6 gene((313 – 993 bp) ;

The underline sequence is COX3 gene(992 – 1776 bp)

Chevret 等^[20]曾利用 DNA 在溶解温度的方法研究长爪沙鼠与家鼠和小家鼠的进化关系 ,结果显示长爪沙鼠与家鼠和小家鼠存在较相近的进化关系。Colangelo 等^[21]利用 cyt B 和 16S rRNA 具有序列研究在非洲的沙鼠的分子进化关系; Chevret 等^[22]利用 cyt B 和 12S rRNA 基因序列研究沙鼠亚科内分子进化关系。李长龙等^[2]利用 D-Loop 区序列分析长爪沙鼠 ,结果显示长爪沙鼠与家鼠、小家鼠和仓鼠存在较相近的进化关系。

本研究应用 MEGA 4.0 软件 ,分别基于

ATPase8 , ATPase6 ,COX3 基因全序列 ,用 UPGMA 法构建系统进化树得到相似的拓扑结构 ,结果显示 ,家鼠和小家鼠均分别聚合为一支。在基于 ATPase8 和 COX3 基因构建的进化树中 ,长爪沙鼠最先与家鼠和小家鼠的分支聚合 ,之后与仓鼠分支结合;在基于 ATPase8 基因构建的进化树中 ,仓鼠属的 3 个动物先与家鼠和小家鼠的分支聚合 ,之后在与长爪沙鼠分支聚合。说明家鼠、小家鼠、仓鼠和长爪沙鼠遗传关系较近。分别基于 ATPase8 , ATPase6 ,COX3 基因的遗传距离分析结果基本验证

了进化分析结果,长爪沙鼠与家鼠的遗传距离最近,与黑家鼠和仓鼠的遗传距离较近,与蔗鼠、豚鼠、睡鼠等其他动物遗传距离较远。

从 3 个基因编码序列分析显示,基于相同动物不同基因构建的系统发生树存在一定的差异。于燕等发现,基于黑鲈不同脂代谢相关基因构建的系统发生数结果也存在不同,研究者认为其原因是基因进化速率的不同所导致。研究者认为组织分布单一、功能简单、直接作用于靶分子的蛋白质、其编码基因序列变化大,适于反映近缘物种的亲缘关系;组织分布广、功能多样、作用机理复杂的基因适于分析远缘物种间的亲缘关系^[23]。利用长爪沙鼠 D-Loop 区序列构建的系统发生树与本研究也存在不同^[2],其原因可能是 D-loop 区的进化速率是 mtDNA 其他区域的 3~5 倍多导致。但是,以上数据根据 mtDNA 部分序列计算得出,进一步研究应采用 mtDNA 全序列信息并增加动物数量,在充分参考考古学数据的基础上进行综合分析。

参考文献:

- [1] 方喜业,邢瑞昌,贺争鸣. 实验动物质量控制[M]. 北京: 中国标准出版社,2008:913-916.
- [2] 李长龙,卢领群,郭红刚,等. 长爪沙鼠线粒体 DNA 控制区全序列测定及分析[J]. 中国比较医学杂志,2010,20(4):40-45.
- [3] 徐其放,陈嘉昌,朱世杰,等. 动物线粒体 DNA 的特异结构及应用分子系统学分析的方法[J]. 中国比较医学杂志,2005,15(5):315-319.
- [4] 廖顺尧,鲁成. 动物线粒体基因组研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展,2000,27(5):508-512.
- [5] Martin Y, Gerlach G, Schlotterer C, et al. Molecular phylogeny of European murid rodents based on complete cytochrome b sequences[J]. Mol Phylogenet Evol,2000,16(1):37-47.
- [6] Chevret P, Dobigny G. Systematics and evolution of the subfamily Gerbillinae (Mammalia, Rodentia, Muridae) [J]. Mol Phylogenet Evol,2005,35(3):674-688.
- [7] Salvato P, Simonato M, Battisti A, et al. The complete mitochondrial genome of the bag-shelter moth Ochrogaster lunifer (Lepidoptera, Notodontidae) [J]. BMC Genomics,2008,15(9):331-346.
- [8] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. Mol Biol Evol,2007,24(8):1596-1599.
- [9] Goios A, Pereira L, Bogue M, Macaulay V, Amorim A. mtDNA phylogeny and evolution of laboratory mouse strains[J]. Genome Res,2007;17(3):293-8.
- [10] 管敏强,曹琼洁,陈忠义,等. 线粒体 DNA 序列分析封闭群小鼠遗传稳定性[J]. 实验动物与比较医学,2009,29(2):113-116.
- [11] 宋宏图,李兵,沈卫德. 老挝家蚕线粒体 cox3 基因序列分析及分子进化研究初探[J]. 江苏蚕业,2006,28(4):14-17.
- [12] 邵爱华,杜建,陈葵,等. 暗纹东方纯线粒体 ATPase8 和 ATPase6 基因的克隆与序列分析[J]. 苏州科技学院学报:自然科学版,2010,27(1):41-46.
- [13] 江海洪,谢燕,刘情予. 细胞色素 c 氧化酶的分子生物学研究进展[J]. 国外医学、生理、病理科学与临床分册,2001,21(1):20-22.
- [14] Moreira MA, Bonvicino CR, Soares MA, Seuñez HN. Genetic diversity of neotropical primates: phylogeny, population genetics, and animal models for infectious diseases [J]. Cytogenet Genome Res,2010,128(1-3):88-98.
- [15] 高英凯,苗永旺,苏小茜,等. 74 种鸟类线粒体基因组碱基组成及特征分析[J]. 云南农业大学学报:自然科学版,2009,24(1):51-58.
- [16] Daubin V, Perrière G. G + C3 structuring along the genome: a common feature in prokaryotes [J]. Mol Biol Evol,2003,20(4):471-483.
- [17] Sueoka N. Two aspects of DNA base composition: G + C content and translation-coupled deviation from intra-strand rule of A = T and G = C [J]. J Mo Evo,1999,49(1):49-62.
- [18] 樊乃昌,施银柱. 中国鼯鼠(Eospalax)亚属分类研究[J]. 兽类学报,1982,2(2):183-197.
- [19] 杨路存,陈桂琛,刘荣堂,等. 3 种鼯鼠 mtDNA 控制区结构及其系统发育分析[J]. 草业科学,2009,26(2):100-106.
- [20] Chevret P, Denys C, Jaeger JJ, et al. Molecular evidence that the spiny mouse (Acomys) is more closely related to gerbils (Gerbillinae) than to true mice (Murinae) [J]. Proc Natl Acad Sci USA,1993,90:3433-3436.
- [21] Colangelo P, Granjon L, Taylor PJ, et al. Evolutionary systematics in African gerbilline rodents of the genus Gerbilliscus: Inference from mitochondrial genes [J]. Mol Phylogenet Evol,2007,42(3):797-806.
- [22] Chevret P, Dobigny G. Systematics and evolution of the subfamily Gerbillinae (Mammalia, Rodentia, Muridae) [J]. Mol Phylogenet Evol,2005,35(3):674-688.
- [23] 于燕,梁旭方,李诗盈,等. 大口黑鲈脂代谢相关基因 NPY、UCP2、LPL、HL 克隆与分子进化分析[J]. 水生生物学学报,2008,32(6):900-907.

(修回日期)2011-01-17