

鱼类的生物化学与分子生物学 第二卷

—— 分子生物学前沿

(加) P.W.Hochachka 和 T.P.Mommsen 编

昌永华 余来宁 译
金由辛 主审



中国农业出版社

鱼类的生物化学与分子生物学 第二卷

——分子生物学前沿

(加) P. W. Hochachka 和 T. P. Mommsen 编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

鱼类的生物化学与分子生物学. 第2卷: 分子生物学
前沿 / (加) 霍克其卡 (Hochachka, P.W.) 等编; 昌永华,
余来宁译. —北京: 中国农业出版社, 2003.4

ISBN 7-109-08273-3

I. 鱼... II. ①霍...②昌...③余... III. ①鱼类-生
物化学②鱼类-分子生物学 IV. Q959.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 017898 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路2号)

(邮政编码 100026)

出版人: 沈镇昭

责任编辑: 丁福辉

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2003年4月第1版 2003年4月北京第1次印刷

开本: 787mm × 1092mm 1/16 印张: 23.25

字数: 540千字 印数: 1~1000册

定价: 58.00元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

全书共 21 章, 涉及鱼类线粒体 DNA 进化、DNA 指纹分析、基因作图、肿瘤分子生物学、细胞色素 P450、分子内分泌学、分子免疫学、分子神经生物学、抗冻蛋白、应激蛋白及金属硫蛋白分子生物学、细菌性鱼病分子生物学、转基因鱼分子生物学及司登尼亚钙素分子生物学等。作者从系统发育的观点, 在分子水平对不同纲的同一蛋白质及其基因进行了比较。书中还用一定篇幅介绍了实验技术。

本书可供生物学及水产科学方面的研究人员、教师、研究生及高年级大学生参考。

译者的话

本书是鱼类的生物化学与分子生物学丛书第二卷——分子生物学专辑。

本书的翻译得到原编者 P.W.Hochachka 博士、中国水产科学研究院、长江水产研究所和农业部淡水鱼类种质资源与生物技术实验室的支持。本书的出版得到了中国农业出版社丁福辉副编审的帮助。

本书于 1997 年译出第一稿, 1998 年根据《英汉生物学词汇》(1997 年版) 和《英汉汉英生物化学词汇》(1996 年版) 译出第二稿。在第二稿翻译过程中尽量使用全国科学技术名词审定委员会已公布的标准名词。对于查不到的专业词汇, 按其专业门类曾得到刘建康、邢其毅、杨雄里、赵尔宓、宋大祥、周曾铨、孟庆闻、薛国雄、蔡妙英、王亦信诸位先生的帮助。后又在第二稿基础上进行了反复多次校订。本书由中国科学院上海生物化学研究所分子生物学国家重点实验室副主任、《生物化学与生物物理学报》常务编委金由辛研究员主审。除主审外, 审阅本书的还有中国水产科学研究院长江水产研究所前业务副所长黄忠志研究员、前淡水鱼类种质资源与生物技术实验室主任张兴忠研究员、前鱼病研究室主任左文功研究员。金由辛、黄忠志二位先生皆审阅了全书并分别为中译本作序。左文功先生审阅了第七、八章, 张兴忠先生审阅了其它各章。最后译者综合他们的意见修改定稿。在此向所有支持、帮助本书翻译出版及审阅本书的领导和专家谨致谢忱。

关于原书编者提出的中国比较生物化学和比较生理学会与国际比较生物化学和比较生理学会 (CBP) 联系问题, 几经周折, 已沟通它们之间联系并获悉北京大学生命科学院已选派两名资深教授担任 CBP 编委。

书后附有详细索引便于专题研究, 英文名词多采用复数, 系实录, 便于英文写作时参考。

由于本书内容新、涉及面广, 限于译者水平, 译文可能存在某些错误。敬请读者批评指正。

译者

2002 年 9 月 30 日

中译本序一

分子生物学经过 50 年突飞猛进的发展，累累硕果的理论研究及日新月异的新技术已经渗透到生物科学的几乎所有领域，加深了各领域的纵深研究，促进了一大批新学科的兴起和发展。

鱼类的分子生物学研究亦处于迅速发展时期，这方面的研究文献数量迅速增加，质量也日益提高。

原著中作者综合了鱼类生物化学与分子生物学方面研究的大量信息，介绍了分子生物学新技术在鱼类研究中的应用，内容新，信息量大，涉及面广。

昌永华、余来宁不辞辛劳把原著译成中文，介绍给生物学领域的研究人员、教师和学生。无疑，将有益于大家对鱼类生物化学和分子生物学的研究进展有较全面的了解。相信，该译本将有助于我国鱼类生命学科研究的进一步发展。

中国科学院上海生物化学研究所分子生物学国家重点实验室
副主任、《生物化学与生物物理学报》常务编委、研究员 金由辛

2002 年 9 月 9 日

中译本序二

我作为一名曾从事动物生理与生物化学研究的科技工作者，有幸拜读了《鱼类的生物化学与分子生物学第二卷——分子生物学前沿》一书的译稿。它带领我走进了分子生物学这一新的学术领域，使我能较系统地对正在形成的一个新兴学科——鱼类分子生物学的进展与一些主要成果有了较全面的认知和了解，特别是从比较动物学角度获得了大量最新信息与资料。它将给从事分子生物学、生物化学、比较生物学及基础医学科研的工作者以新的启迪与思考。本书的撰稿人均为各自领域的前沿专家，文献尤为丰富，因此，本书实乃一本不可多得的好书。

译者为我所昌永华、余来宁两位专家。余来宁先生为我所生物技术室主任，在鱼类生物技术方面成果颇丰。

而本书主要执笔者昌永华先生 1976 年从遵义钛厂调入我所，主要从事英语翻译和外事工作，但不久，即将注意力主要集中在生物技术方面的翻译及其情报的研究。为人勤奋好学，为了胜任生物技术及遗传方面的情报研究工作，于 1983 年在武汉大学生命科学院进修沈同主编的《生物化学》和刘祖洞等编的《遗传学》。在文字工作上一丝不苟，治学严谨。这些均为本书译稿翻译技术的熟练、严谨、准确提供了重要基础。

谨祝本书早日顺利出版，以飨读者。

中国水产科学研究院长江水产研究所前业务副所长、研究员 黄忠志

2002 年 9 月 15 日

原书编者致译者的信

中国

湖北荆州 (434000)

中国水产科学研究院长江水产研究所

淡水鱼类种质资源与生物技术实验室

Dr. 昌永华:

关于中国比较生物化学与比较生理学会。

感谢您 1996 年 9 月 27 日的信。欣喜您多么赞赏《鱼类的生物化学与分子生物学——分子生物学前沿》这一卷。我将非常高兴看到该卷用中文翻译并出版。

我想要同您讨论的另一个话题同比较生物化学与比较生理学 (CBP) 有关——Tom Mommensen 和我是其共同编辑。您可能知道,几个学会与我们的杂志有密切联系。我们一直在努力工作,以提高其质量并使其在全世界成为我们学科的旗舰杂志。中国有比较生物化学与比较生理学会一类的学会吗?如有,请您告诉其会长或其它官员的名字和地址,以便我可以写信。我对拥有更多的中国人参加我们杂志非常感兴趣,而这样做的一个办法就是取得一个或更多的中国学会与 CBP 联系。作为回报,中国学会获得对其会员的较廉价的订阅费、一个会员担任编委的可能性、在杂志上刊登学会活动的可能性及增强学科和将其运动铸入未来的机会。

请将这一信息传达给您认为可能有兴趣的任何学会。另一个可能性是在中国生理学会内建立一个比较生物化学和比较生理学分会 (我想现在一定有)。如果那样,您可能愿意将该学会地址发送给我,我就能直接与它继续讨论这一话题了。

我将期待接到您就这些事的回信。

您的真诚的: P. W. Hochachka

哲学博士、加拿大皇家学会会员

1996 年 10 月 27 日于

加拿大不列颠哥伦比亚大学动物学系

不列颠哥伦比亚省温哥华 V6T124

序

编辑《鱼类的生物化学与分子生物学》丛书的想法产生于这一迅速发展的研究领域中目前缺乏一个发表当今发展水平综述文章的论坛。一方面，该领域中的研究人员和学生总是发觉他们自己在搜索关于普通生物化学的文献（以大鼠为主）后，才发现涉及鱼类背景情形的、通常是不完全的和令人失望的短文。另一方面，鱼类生物化学与分子生物学原始文献的数量正在迅速增加，质量正在迅速提高，为一个正在成熟的领域提供了使人信服的证据。这一学科不再是大鼠或人生物化学的小同胞，恰恰相反，最近导致了一些重要概念的突破；鉴于这一理由，并且由于其活动范围有时与“主流”生物化学是非重叠的，这一领域无疑已经成熟并且随时都可编辑其自己的综述系列。

比较生物化学、分子生物学和比较生理学，作为3门学科，按照定义，都利用生物作为一类特殊的实验参数来探讨功能的一般机制和原理。在理论上，这一探讨对于系统发育界限是较盲目的，但是在实践中，经费提供的现实性和实验材料的可得性大大限制了活动的领域。因此，两个系统发育类群——昆虫和鱼类——在最近的几十年期间，在这些学科中，提供了大量的实验数据库。引起注意的是，虽然比较生物化学在许多方面产生于比较生理学，但是在昆虫领域中这两种活动的生长和发展在很大程度上是沿着两条独立的途径进行的。相反，鱼类的比较生理学和比较生物化学并非相互如此独立，而且其趋势是前者包围后者。我们相信，这两个领域中现代概念的发展及处理大量数据库的简单数理逻辑使这成为独立的现实与独立的感觉相符合的适当时机。我们感到这是编辑这一综述系列的另一个重要理由。

我们的目的是，从理论和实验的角度向研究人员和学生提供有关的信息源。为有益于学生、理论家和实验员等，敦促特约撰稿人着重阐明概念并将实验结果与动物的生物学联系起来，指出有争论的问题及尽可能多地叙述未来研究的方向。

Peter W. Hochachka

Thomas P. Mommsen

于加拿大布列颠哥伦比亚省

温哥华和维多利亚

缩 略 语

ACTH	促肾上腺皮质激素	INA	冰晶核形成激活因子
AF (G) P	抗冻 (糖) 蛋白	LPS	脂多糖
AFB ₁	黄曲霉毒素 ₁	LTR	长末端重复序列
AFP	抗冻蛋白	MAb	单克隆抗体
AHH	芳烃羟化酶	MAMAc	乙酸甲基氧化偶氮甲酯
ANP	心房钠尿肽	MCH	黑素细胞集中激素
AVP	精氨酸升压素	MHC	主要组织相容性复合体
BaP	苯并 [a] 芘	MLR	混合淋巴细胞反应
BKD	细菌性肾病	MRE	金属应答元件
BNF	β -萘黄酮	MT	金属硫蛋白
CAT	氯霉素乙酰转移酶	MVR	小卫星变体重复
CHH	大麻哈鱼心脏细胞系	NPT	新霉素磷酸转移酶
CHSE - 214	大鳞大麻哈鱼胚胎细胞系	PAH	多环芳烃
CRD	糖类识别域	PCB	多氯联苯
CRF	促肾上腺皮质激素释放因子	PCR	聚合酶链反应
CRH	促肾上腺皮质激素释放激素	POMC	阿黑皮素原
CS	司登尼亚氏小体	PRL	促乳素
DEN	二乙基亚硝胺	RFLP	限制片段长度多态性
E ₂	17 β -雌二醇	RSV	劳斯肉瘤病毒
EDRF	内皮衍生舒张因子	RTG - 2	虹鳟性腺细胞系
EPC	鲤上皮瘤组织细胞株	RTH - 149	虹鳟肝细胞瘤细胞系
ER	雌激素受体	SL	生长促乳素
ERE	雌激素应答元件	STC	司登尼亚钙素
ERM	肠炎性红嘴病	STX	司登尼亚氏小体切除
EROD	乙氧基试卤灵 O - 脱乙基酶	TCDD	2, 3, 7, 8 - 四氯二苯并二噁啉
GH	生长激素	TCDF	2, 3, 7, 8 - 四氯二苯并呋喃
GHRH	生长激素释放激素	TNF	肿瘤坏死因子
GnRH	促性腺激素释放激素	TRE	肿瘤应答元件
GRE	糖皮质激素应答元件	UI	硬骨鱼紧张肽 I
hsp	热激蛋白	Vg	卵黄蛋白原
IGF	胰岛素样生长因子	VNTR	可变数目串联重复序列
IHNV	传染性造血器官坏死病毒	VT	加压催产素
ILP	胰岛素样肽	XRE	外源化合物应答元件

目 录

译者的话	
中译本序一	
中译本序二	
原书编者致译者的信	
序	
缩略语	
第 一 章 鱼类线粒体 DNA 的进化	1
第 二 章 生长激素、促乳素和生长促乳素：结构概述	33
第 三 章 鱼类的 DNA 指纹分析	49
第 四 章 鱼类的基因作图	74
第 五 章 癌基因	93
第 六 章 鱼类细胞色素 P450	113
第 七 章 细菌性鱼病的分子生物学	131
第 八 章 免疫系统	159
第 九 章 转基因鱼的分子生物学	172
第 十 章 虹鳟金属硫蛋白基因和应激蛋白基因的分子分析： 结构、表达与调控	200
第 十 一 章 鱼类金属硫蛋白基因的表达与调控	215
第 十 二 章 鱼类抗冻蛋白的多样性及分布：对其起源的新见解	232
第 十 三 章 美洲黄盖鲿抗冻蛋白基因表达的调控	243
第 十 四 章 鱼类抗冻蛋白基因的启动子分析	253
第 十 五 章 真骨鱼类促肾上腺皮质激素释放因子及相关肽的分子分析	266
第 十 六 章 真骨鱼类和无颌类的加压催产素神经肽前体与基因	279
第 十 七 章 鱼类神经肽的分子生物学	293
第 十 八 章 雌激素受体基因：结构及在虹鳟中的表达	304
第 十 九 章 卵黄蛋白原基因在真骨鱼类中的表达	317
第 二 十 章 鱼类和其它原始脊索动物的胰岛素基因及胰岛素样 生长因子基因	329
第二十一章 司登尼亚钙素：结构、功能及调控	338
主题词索引	351

第一章 鱼类线粒体 DNA 的进化

Axel Meyer

(美国纽约州立大学石溪分校生态学与进化系, NY11794-5245)

一、引言

二、线粒体基因组

1. 大小
2. 线粒体遗传系统
3. 线粒体基因
4. 基因次序
5. 遗传密码
6. 效率与致密性
7. 复制与转录

三、进化速率

1. 替换的速率与方式
2. 蛋白质编码基因
3. 转移 RNA 基因
4. 核糖体 RNA 基因
5. 控制区
6. 外温动物进化速率减慢了吗?

四、线粒体 DNA 进化的可能机制

1. 碱基组成偏倚和密码子偏倚
2. 驱动线粒体 DNA 进化的可能机制

五、线粒体 DNA 和聚合酶链反应

1. 线粒体 DNA 和群体水平问题
2. 线粒体 DNA 和系统发育问题
3. 前景

致谢

六、参考文献

一、引言

线粒体起源于因“内共生事件”而成为真核生物一部分的自由生活的紫色细菌^{142,231}。然而,线粒体是单源的还是多源的,现在不清楚⁹⁸(参考文献 97 中的参考文献)。已对线粒体 DNA (mtDNA) 的进化进行过评述^{9,40,41,42,57,95-97,154,187,219},还发表了几篇论及线粒体的分子生物学和生物起源的述评^{10,51,56,61,215}。本述评在所提供的有限篇幅内,试图概述 mtDNA 进化的现有知识,特别着重于鱼类系统。g 然而,就 mtDNA 而论,鱼类或许是脊椎动物中

研究得最不充分的类群之一。迄今,仅发表了数篇关于鱼类 mtDNA 实际序列的文章。因此,我将利用主要来源于我的实验室未发表的资料,试图鉴别并强调鱼类 mtDNA 进化的类型和可能的基本过程。

已测序若干种无脊椎动物和脊椎动物的线粒体全基因组或确定了基因次序。无脊椎动物包括两种海胆^{50,127}、几种海星(不全)^{116,128,192,193}、果蝇(*Drosophila yakuba*)⁵⁸、蜥蜴利什曼虫(*Leishmania tarentolae*)(不全)⁶³、卤虫(*Artemia salina*)(不全)²⁵、蚤属(*Daphnia*)(不全)¹⁹⁹、紫贻贝(*Mytilus edulis*)(不全)¹²⁰、线虫纲的猪蛔虫(*Ascaris suum*)和秀丽新杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)¹⁶⁴、扁形动物门的片形吸虫(*Fasciola*)(不全)⁸⁷及纤毛虫纲的草履虫(*Paramecium*)¹⁷⁵。在脊椎动物,已发表人¹、牛²、小鼠³⁴、大鼠⁸⁸、长须鲸⁶、鸡和鹌鹑(不全)^{68,69}及滑爪蟾(*Xenopus laevis*)¹⁸⁰的全序列。此外,已知的其它物种线粒体部分序列,多得不胜枚举。尚未测定鱼的线粒体全基因组,但一个测序大西洋鳕(*Gadus morhua*)线粒体全基因组的研究计划正在进行中¹²⁹(Johanson,私人通信)。

二、线粒体基因组

1. 大小

动物的线粒体基因组是线粒体含有的多拷贝、单一、小型、双链、环状[在水螅(*Hydra*)²²¹和草履虫(*Paramecium*)¹⁷⁵中呈线状]DNA分子。视细胞类型而定,每个细胞有多达数千个线粒体基因组。一般,动物 mt 基因组的大小约为 $16\,500 \pm 500$ 碱基对(bp)(参考文献 40~42, 57, 154 中的述评)。动物 mt 基因组的大小分布不遵循某一特定的系统发育时间表。然而,脊椎动物一般显示较小的范围。迄今,仅测序了少数动物 mt 全基因组。随着研究的物种增多,今后将有许多意外发现。迄今动物中最大 mt 基因组(达 39.3kb)是在亦显示大的种内变异^{90,194}的扇贝中发现的。在这里,同在别处发现的一样,大的种内变异通常是由影响控制区的串联重复造成的(见下文)。真菌蝗植物 mtDNA 大小与进化类型差异巨大,本文不予考察(见参考文献 92~96 中的述评)。鱼类种内大小差异可能同字间差异一样大^{27,29,46}(参考文献 41、42、154 中的述评)。

2. 线粒体遗传系统

线粒体 DNA 是一个在许多方面与核遗传系统不同的遗传系统。动物 mtDNA 是单倍体且是不重组的(见参考文献 123, 163 和参考文献 124 中的参考文献)。植物线粒体 DNA 似乎是一个嵌合体(线粒体基因、叶绿体基因和核基因的组合),通过水平转移组装而成(参考文献 97),且已知是重组的(参考文献 97 中的参考文献)。

动物线粒体基因组几乎仅仅是母体遗传的。父体线粒体似乎在受精期间被迅速降解²¹⁷,或此后不久在复制时被丢失了¹⁴⁵。最新研究结果倾向于支持“瓶颈假说”,即 mtDNA 的母体遗传是从上一代的线粒体 DNA 基因型通过少数特殊种系 mtDNA 分子的差异扩增介导的^{8,111,137}。这一瓶颈似乎是对在牛¹³⁷中可能发生一代内一个 mtDNA 单元型被另一个完全取代的观察的一个似乎合理的解释。在果蝇属(*Drosophila*),外源 mtDNA 的实验导入表明,供体的 mtDNA 与受体的 mtDNA 一起残留了几代。在若干情况下,供体的 mtDNA 甚至取代了受体的 mtDNA 且被遗传了^{143,160}。其它研究表明,适宜的核环境对线粒体执行功能是必需的(见参考文献 154)。

一般,一个生物中仅有一个类型的线粒体 DNA。然而,异质性即不止一个类型的 mtDNA 在一个个体中存在的报告正在迅速增加(关于异质性的述评见参考文献 153, 154)。在大多数主要生物类群,包括几种鱼,如美洲鲈 (*Alosa sapidissima*)²⁷、鲟 (*Acipenser* spp.)⁴⁶ 和弓鳍鱼 (*Amia calva*)²⁹ 中偶尔发现异质性。在报道鱼类异质性的例子中,异质个体在群体中的比例,在弓鳍鱼中为 5%²⁹,在美洲鲈中为 12%²⁷,在鲟鱼中高达 41%⁴⁶。其它已报道的异质性事件包括人^{99,173}、牛¹¹²、蜥蜴^{66,153}、蝾螈²²⁰、果蝇 (*Drosophila*)¹⁰³ 和贻贝 (*Mytilus*)⁸。

异质性的大多数情况就是 mt 基因组的某一段,主要是 D-环区的串联重复(见下文)。长度突变不是异质性的惟一形式,也存在着简单替换²⁷。牛的异质状态(点突变)可在很少数几代内被反转为同质情形^{111,117},但长度变异引起的异质性在昆虫中持续了多代^{106,197}。



图 1-1 鱼类线粒体基因次序

图中标出了 H-链和 L-链复制的起点。H-链的起点在控制区, L-链复制的起点在 YCNAW tRNA 基因簇中。转移 RNA 基因用阴影框表示。所有蛋白质 (ND6 除外) 的编码序列(模板)及大多数 tRNA 基因在 H-链上。正文中给出了蛋白质简称的全名。L-链编码的 tRNA 基因在环的外界上标示, H-链编码的 tRNA 基因在内界上标示。尚未测定鱼类线粒体全基因组,但这里显示的排列,是脊椎动物共有基因次序,已为参考文献 129 对跨越所有基因接点的测序所证实

长度变异引起的异质性的普遍发生提示它可能容易发生。对串联重复拷贝数异质性的起源和保持已提出的机制包括分子间重组¹⁷⁸、聚合酶在同聚物区中阻塞¹¹²、复制错排⁷⁴及复制期间滑脱链错配⁶⁶、因不适当地延伸在复制前错排⁴⁶。在异质状态,较小的 mtDNA 更可能被传递至下一代,或在受精后复制时丢失较大的 mt 基因组^{177,197}。

线粒体基因组的“群体遗传”行为的模拟提示,雄性的线粒体 (male mitochondrion) 罕被固定在卵母细胞线粒体的大群体中^{35,55}。然而,文献中正在开始出现惟母体遗传教条的例外。在紫贻贝,杂种的实验制作表明广泛的父性贡献²³⁴,这在从前曾有人提出过¹¹⁸。同样,在果蝇 (*Drosophila*)¹³⁸ 和小鼠,有文献证明父性渗漏¹⁰²。父性渗漏可能以 1 000 个分子中 1 个的低比率发生;父性渗漏的普遍性和速率仍是未知的¹⁰²。在植物和真菌,线粒体、叶绿体和核间基因的转移很普遍(参考文献 97 中的参考文献),但在动物,仅知道线粒体基因转移入核的几个例子,且从未有过相反的情形¹³³ (参考文献 196 中的参考文献)。在若干情形(小鼠⁸³,田鼠²⁰⁷)观察到了动物种间 mtDNA 的水平转移,但这或许是一个罕见的现象。

3. 线粒体基因

动物的线粒体基因组含 13 个为蛋白质编码的基因、两个为核糖体 RNA (小 12S rRNA 和大 16S rRNA) 编码的基因、22 个为转移 RNA (tRNA) 编码的基因及一个含 mtDNA 复制和 RNA 转录起始位点的主要非编码区(在无脊椎动物中为 AT-丰富区,在脊椎动物中为控制区)(图 1-1)。

线粒体的蛋白质编码基因,为与电子传递链有关的酶亚基编码^{10,110,215}。这些是 NADH 脱氢酶的 7 个亚基 (ND1、2、3、4、4L、5、6)、细胞色素 b、细胞色素 c 氧化酶的 3 个亚基 (CO I、II、III) 和 ATP 合成酶的两个亚基 (ATP 酶 6

和 8)。如在 13 个基因中仅发现 12 个, 是 ATP 酶 8 基因丢失了¹²⁰。显然, 线粒体的生化机构执行功能需要多的多的基因产物, 大多数是从细胞溶胶输入线粒体的 (例如参考文献 107, 215)。显然, 今天的“流线型”、核依赖的线粒体基因组, 是遗传控制从以前较复杂和较大的 mt 基因组向核逐渐转移的结果²¹⁹。

线粒体基因组的两条链称为轻 (“L”) 链和重 (“H”) 链。这两个名称反映了其 G + C 含量在脊椎动物中的显著差异, 导致其行为在 CsCl₂ 密度梯度中不同。内温脊椎动物显示比外温动物更加链偏倚。这是由轻链中的反 G 偏倚和重链中的反 C 偏倚引起的 (参考文献 40 ~ 42 的述评)。脊椎动物线粒体基因组中的所有基因都由 H 链编码, 极少例外。在脊椎动物线粒体基因组的 37 个结构基因中, 仅 ND6 和 8 个 tRNA 由 L-链编码 (图 1-1)。这一对于作为编码链的“H”链的偏倚, 在无脊椎动物 (例如果蝇) 中一般没有如此明显。脊椎动物中 L-链上编码碱基的数量不到 mt 基因组中编码碱基总数的 10%, 而在果蝇属 (*Drosophila*) 中则约为 50%。脊椎动物编码链具有与“基因密度”不均匀相关的组成的强烈偏倚。

4. 基因次序

动物的线粒体基因次序在已研究过的每个门中是不同的。即使在门内 (例如, 棘皮动物), 仍存在基因次序的差异^{116, 192, 193}。鱼类线粒体基因次序与脊椎动物“共有”基因次序没有差异 (图 1-1)。鱼类 mtDNA 序列最完整的资料来自大西洋鳕 (*Gadus morhua*)¹²⁹ (Johansen, 私人通信) 且与脊椎动物“共有”基因次序一致 (图 1-1)。对鲤 (*Cyprinus carpio*)⁵ 和鲑科鱼类 [(*Salmo salar*)⁶⁴, (*Oncorhynchus* spp.)]²⁰⁸ 的限制分析及部分序列研究与 Wes Brown 的实验室对软骨鱼类和无颌类研究的未发表资料 (见参考文献 154) 提示, 鱼类 mtDNA 基因次序遵从脊椎动物的一般情形。

线粒体基因次序在脊椎动物间略有差异^{68, 69, 169, 232, 233}。有袋类和鸟类 mtDNA 基因次序与脊椎动物“共有”的情形多少有点不同。观察到的最普通差异是 tRNA 基因的转座造成的。在这一方面, 一旦研究更多的类群, 例如爬行类, 可能发现脊椎动物“普遍”基因次序的更多例外情形。

值得注意的是 tRNA 基因在蛋白质编码基因间的有规律散布 (图 1-1)。曾有人提出^{9, 24, 45, 162}, tRNA 基因的二级结构在转录期间起标点信号的作用 (见下文)。引起注意的是, 当两个蛋白质编码基因 (如 ATP 酶 6 - COIII) 没有被一个 tRNA 基因分隔时, 有时可由基因 (小鼠³⁴、果蝇⁴⁵) 的 3' 端一级序列推断出一个稳定的发夹环结构。在基因的 TA-ATG 连接处, 这些二级结构可能是适当转录所需要的。

在某些鱼类中可能也存在这样的二级结构。图 1-2 显示了根据虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的一级序列提出的这样一个发夹结构²⁰⁸。该结构含一个 7bp 的茎和一个 29bp 的环。然而, 茎并非刚好在 ATP 酶 6 基因的 TA 末端终止。从丽鱼科

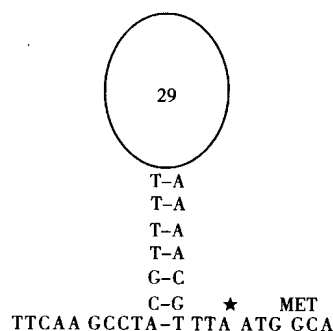


图 1-2 虹鳟在 ATP 酶 6 基因 - COIII 基因连接处的假定发夹结构

序列资料引自参考文献 208。不知是否存在这一结构, 也不知是否同对果蝇和其它几个物种所提出的那样, 它起标点信号的作用。同已提出二级结构的其它物种不同, 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的茎不是正好在 ATP 酶 6 基因的终止密码子处终止

(Cichlidae)、雀鲷科 (Pomacentridae)、海鲷科 (Embiotocidae) 和隆头鱼科 (Labridae) 四个科鱼类的其它种的一级序列不可能推断出一个强二级结构。

5. 遗传密码

线粒体的遗传密码比真核生物核的“通用”遗传密码简并, 因而较少受制约 (参考文献 9 述评)。并非所有动物线粒体的遗传密码都相同^{1,21,162}。脊椎动物¹、棘皮动物^{50,127}和果蝇 (例如参考文献 58) 的密码略有差异。所有脊椎动物线粒体密码与核密码相比最显著的差异是, 用 TGA 作为色氨酸密码子而非作为终止密码子, 用 ATA 作为甲硫氨酸密码子而非异亮氨酸密码子^{165,166}。简化后的线粒体密码需要较少的 tRNA 种。翻译 mt 简并密码需要 24 种 tRNA; 然而, 在 mt 基因组中通常仅有 22 个 tRNA 基因。这是可能的, 因为密码子 AGA/G 在哺乳类和两栖类系统中 (而非在果蝇 *Drosophila yakuba* 中) 不是作为精氨酸密码子而是作为终止密码子使用的, 且 tRNA-Met 和 tRNA-F-Met 似乎是同一个 tRNA 基因的产物 (参考文献 9 的述评)。

除 AUG 外, 好几个起始密码子都可用做起始密码子 (例如 AUA、AUU、AUC, 参考文献 9 的述评)。GUG 是大西洋鳕¹²⁹ CO I 基因、大鼠⁸⁸ ND1 基因、果蝇 (*Drosophila yakuba*) ND5 基因和海胆^{50,127} ATP 酶 8 基因的翻译起始密码子。线粒体的一些基因缺乏真正的终止密码子, 以 T 或 TA 结尾; 全终止密码子 (赭石型, TAA) 是在 RNA 加工期间通过 mRNA 的聚腺苷酸化产生的^{1,162}。

鱼类线粒体密码与脊椎动物线粒体密码相似, 因为 TGA 和 ATA 分别与色氨酸和甲硫氨酸匹配^{129,136,146,148,161}。

6. 效率与致密性

与核基因组相比, 动物 (但不是真菌和植物) 的线粒体基因组是高效的 (参考文献 9, 97 的述评), 即它罕含重复或非编码序列。线粒体蛋白质编码基因不含内含子, 且基因通常被不到 10 碱基对 (bp) 分隔。两个基因可以没有基因间的间隔子而直接邻接, 且在有些情况下, 这些基因甚至重叠数个碱基。转移 RNA 基因与蛋白质编码基因可能重叠相当多, 如在果蝇 (*Drosophila yakuba*) 中, tRNA-Ser 基因和 ND1 基因重叠 18bp⁵⁸。若干由不同链编码的基因亦重叠 (例如 ND5 基因与 ND6 基因在小鼠³⁴中重叠 14bp, 在牛²中重叠 17bp)。ATP 酶 6 基因和 ATP 酶 8 基因的阅读框重叠, 在脊椎动物中从未少于 6~7bp。ATP 酶 6 和 8 基因的两个阅读框相差一个核苷酸。这些阅读框对中的每一对都有一个单一转录物^{1,162}; 每一对基因的重叠阅读框似乎都是从一个单一 mRNA 翻译的。ND4 基因和 ND4L 基因亦重叠。ND4-ND4L 基因的这一重叠更短, 从未超过 7 碱基对。在果蝇属 (*Drosophila*) 中这些基因邻接而不重叠, 而在棘皮动物中 ND4 基因和 ND4L 基因是分隔的。

引起注意的是, ATP 酶 6 基因中的重叠在外温动物 {爪蟾 (*Xenopus*) 10bp¹⁸⁰; 大西洋鳕 (*Gadus*) 10bp¹²⁹; 杜父鱼 10bp⁹³; 丽鱼科鱼类 10bp [Meyer 和 Titus 未发表]} 中比在内温动物 (人 46bp¹; 牛 40bp²; 小鼠 43bp³⁴; 大鼠 43bp⁸⁸; 长须鲸 31bp⁶) 中短。然而, 鸡⁸⁸具有外温动物的 10bp 重叠的情况。不知道爬行类和哺乳类的情形如何。似乎值得花时间深入研究这一系统发育倾向及其可能的分子原因 (如果存在这样的原因的话)。鉴于这些基因重叠如此多的碱基, 对于报道 ATP 酶 6 和 8 两个基因在任何动物线粒体 DNA 中都不分开可能不感到意外了。然而, ATP 酶 8 的基因似乎在紫贻贝 mt 基因组中缺如¹²⁰。

业已提出 mt 基因组的致密性是造成脊椎动物基因次序稳定的部分原因 (见上文), 因为内含子和大的基因间隔区的缺乏, 使 mt 基因组不大可能重排。基因间隔区似乎是非功能性的, 因为在这些位点以与在蛋白质编码基因第三位大约相同的频率发生替换, 且增加和缺失与在控制区中一样频繁⁴²。

脊椎动物典型 mt 基因组控制区以外的所有非编码核苷酸总共不到 100: 小鼠³⁴ 为 64, 牛² 为 57, 人¹ 为 87, 果蝇 (*Drosophila yakuba*)⁵⁸ 为 183。贻贝 (*Mytilus*) mt 基因组¹²⁰ 中发现有 5 大段显然非编码 DNA。在脊椎动物, 除控制区以外的惟一的大非编码区, 是 tRNA-Asp 和 tRNA-Cys 间的一个 31 ~ 34bp 的区域。这是 L-链复制起点所在区 (图 1-1 中的 O_L, 见下文)。

在鱼类, 发现了几个相当大的非编码区。在大西洋鳕 (*Gadus morhua*), tRNA-Thr 和 tRNA-Pro 间有一个 74bp 的插入段¹²⁹。在爪蟾 (*Xenopus*), 这一段非编码 DNA 仅 26bp 长¹⁸⁰, 在高首鲟 (*Acipenser transmontanus*) 仅 3bp 长⁸⁹。在几个科的数十种鱼中, Thr-tRNA 和 Pro-tRNA 之间无插入段或少于 5bp^{146,200} (Meyer 未发表资料)。在海刺鱼 (*Spinachia spinachia*) 的 Glu-tRNA 和细胞色素 b 基因间我们发现有一个 109bp 的插入段¹⁵⁰。这一插入段在海刺鱼的所有受试个体中都相同, 但在刺鱼科的所有近亲种中都缺如。

7. 复制与转录

已发表了几篇 mtDNA 转录和复制的综述^{9,59~61}, 主要研究了小鼠 mtDNA 的复制 (参考文献 59, 61 中的述评)。两条链的复制起始于两个固定点且单向进行, 不中断。子 H-链的合成 (起点在控制区, 见下文) 首先被启动, 并向细胞色素 b 基因延伸。一旦被复制的子 H-链到达轻链复制起点 (O_L 在 tRNA 簇中, 图 1-1), L-链的复制即开始。L-链的复制在反方向进行, 并用被取代的亲 H-链作为模板链。这一区域含有跨越大进化距离的保守特征。它形成一个大发夹环, 茎约 11bp 长, 而环因序列和长度皆较少保守, 在 10bp 和 19bp (爪蟾²²⁹) 间变动。环的另一个值得注意的特征是, 其 T 含量通常很高 (超过 50%) (见参考文献 42)。然而, 这一区段的惟一已知鱼序列具有 50% 的 C 而非 T¹²⁹。鸡⁸的这一轻链复制起点似乎丢失了。一旦 H-链合成结束并在 L-链合成完成前, 两条子链分开。复制在海胆中较之于在脊椎动物中似乎完全不同 (参考文献 42 中的述评与参考文献)。

mtDNA 的复制是连续的、不对称的和单向的。因此, 它执行功能需要的酶比核机构少⁵⁴ (参考文献 57, 61 中的述评)。在线粒体⁶¹中, 仅有一种 DNA 聚合酶 (DNA 聚合酶 γ), 而在真核生物核中有三种典型 DNA 聚合酶。长期认为缺乏的修复酶和校读酶, 最近已在动物线粒体中发现 (见参考文献 61)。

此外, 仅对哺乳动物 (小鼠)^{9,53,60,61} 和两栖类 (爪蟾)^{36,47} 系统中的转录进行了充分研究。H-链的转录起始于控制区中的一个启动位点和 tRNA-Phe 附近的另一个位点。L-链转录的起始发生在控制区中的惟一的一个位点。转录物延伸产生后来被加工成 tRNA、rRNA 和 mRNA 的多顺反子 RNA。

尚未研究复制在鱼类中的起点, 但是如同在所有其它脊椎动物中一样, 两个复制起点, 似乎相距约 5 000bp。已发现大西洋鳕 L-链复制起点在常见的 tRNA 簇中 (图 1-1¹²⁹)。在控制区, 根据与小鼠和爪蟾 (*Xenopus*) 的序列比较, 在大西洋鳕¹²⁹中, 鉴定了保守序列块 (如 CSB-2)、对复制很重要的转录起始区、终止关联序列 (5' - TACAT - 3',