

C-mos 及其在系统发生研究中的应用*

景开颜 周开亚** 孙红英

(南京师范大学 生命科学学院 遗传资源研究所 南京 210097)

摘要: 用于重建系统发生关系的分子标记需满足一些条件,常用的有线粒体 DNA 序列和一些核基因序列。本文介绍了一种核基因 *c-mos*, 由于其为单拷贝, 无内元, 全长约 1 kb, 便于从基因组中扩增并测序, 可度量中等分类阶元间的亲缘关系, 目前主要应用于爬行类和鸟类的系统发生研究中。

关键词: 核酸分子标记; *c-mos*; 系统发生

中图分类号: Q781 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2002)02-77-03

C-mos and Its Application in Phylogenetic Studies

JING Kai-Yan ZHOU Kai-Ya SUN Hong-Ying

(Institute of Genetic Resources, Nanjing Normal University Nanjing 210097, China)

Abstract: The molecular markers used in phylogenetic analysis need to meet some conditions. What are commonly used are mitochondrial DNA sequences and some nuclear gene sequences. We introduced here a nuclear gene *c-mos*. This is a kind of single copy nuclear gene with no intron, totally 1 kb or so in size. It is now mainly applied in the phylogenetic studies of reptiles and birds.

Key words: Molecular markers; *c-mos*; Phylogenetic studies

自林奈及其后的达尔文等建立和不断完善的传统的系统学, 在过去的数百年间获得了辉煌的成就, 其影响甚至跨越了单纯的生物学领域。而科学技术的不断进步, 生命科学自身的不断发展, 特别是近半个世纪来, 随着生物学研究水平从个体转向分子, 从宏观转向微观, 古老的生物系统学也焕发出了新的活力。与主要以形态、化石数据进行系统发生研究的传统的系统学相比, 新兴的分子系统学则是从蛋白质、核酸等生物大分子水平上研究生物进化过程。它不仅定性、定量地提供了大量的分子性状, 还将长期以来处于不同研究领域的小进化(种下系统发生)和大进化(种上系统发生)统一起来。20世纪80年代以前, 因研究手段的限制, 研究主要集中于蛋白质方面; 而随着双脱氧法的建立和大规模自动化测序的普及, 对物种进行核酸序列水平的比较、研究已逐渐成为常规方法了。

随着生物信息的网络化, GenBank 中的序列数据正以指数级增长着, 将会发现更多的可用于系统发生研究的基因, 如何选择合适的分子标记(群)应用于不同

的研究对象, 是当前分子系统学家不可避免的问题, 正如 Friedlander^[1] 和 Graybeal^[2] 指出的那样, 应当充分利用数据库中的序列资料, 针对不同目的选择正确的分子标记。

C-mos 是一个单拷贝、无内元基因, 内部存在保守区域, 很容易从基因组模板中得到扩增并直接测序。而基因全长仅 1 kb 左右, 极大减少了测序所需经费, 对从事分子系统学研究的普通实验室来说是一大有利条件。以 *c-mos* 为“标尺”, 可度量中等分类阶元的亲缘关系。当前国内的研究中, 主要集中于线粒体 DNA 序列以及少数的核基因序列, 尚未见有关应用 *c-mos* 的报

* 国家自然科学基金重点项目(No. 30130040), 国家自然科学基金项目(No. 39970094, 30170113);

** 通讯作者;

第一作者介绍 景开颜, 女, 24岁, 硕士; 研究方向: 动物分子生物学; E-mail: kyzhouj@jlonline.com.

收稿日期: 2001-07-19, 修回日期: 2001-11-20

道,故在此做一介绍。

1 分子系统学中常用的核酸分子标记

能用于系统发生分析的核酸分子标记应具备下列条件:(1)以单拷贝或易区分的少量拷贝存在;(2)大部分编码区具有序列保守性(以增加有用信息的数量),内部无核苷酸亚序列重复和主要核苷酸偏向性;(3)没有被多个或长的内元打断^[1]。在分子系统学研究中已经采用的核酸分子标记大致可满足上述条件,如线粒体中的 rRNA 基因、tRNA 基因等和核 rDNA、卫星 DNA 及单拷贝 DNA 等。其中 mtDNA 和核 rDNA、微卫星、小卫星 DNA 等可对近期和远古歧异的动物分类单元间的系统发生关系进行较好的重建,但对中间歧异(intermediate divergences, 50 ~ 300 MYA)的分类单元间的系统关系的分析能力较弱。而编码核蛋白的基因则较易于进行序列比对,能清楚地发现、确定快速进化的位点,其进化速率介于核 rDNA 和无功能 DNA(junk DNA)两个极端之间的中间水平,正适于研究中层分类阶元的系统发生关系,不仅能解决中间歧异,也可用于检测基于线粒体和 rDNA 所提出的系统发生的假说。对该类标记在系统发生中的应用正在逐渐深入,如 Graybeal^[2]提出了在脊椎动物系统发生研究中,几种实用的候选核基因,如 *c-myc*、*p53*、*c-mos* 等。

2 原癌基因 *c-mos* 及其编码产物的生物学功能

C-mos 是一种原癌基因。所谓原癌基因(proto-oncogene)即细胞癌(*c-onc*)基因,是在正常真核细胞中发现的癌基因,因与致癌病毒中的病毒癌(*v-mos*)基因相区别而得名。原癌基因的正常表达是细胞正常代谢和发育所需要的,但当细胞一旦受到致癌因子或另一癌基因的影响,则原癌基因就可能转变成致癌的癌基因,合成过量的癌基因蛋白。

C-mos 是病毒鼠源肉瘤病毒(murine sarcoma virus, Mos)的一种胞内同源物,当其异位表达时,将导致脊椎动物体细胞的肿瘤形成。其编码产物 Mos 在脊椎动物和无脊椎动物卵母细胞减数分裂中^[3]均起关键的协调作用,在进入减数分裂 II 期前后对减数分裂/有丝分裂的转变进行负调控。其最终生物学作用是减数分裂 I 期后,迅速将细胞周期模式从有丝分裂的胚胎型向减数分裂 II 型转变,从而产生单倍体接合子。

目前已知 Mos 在脊椎动物只作用于卵母细胞,使其在第二次减数分裂中期停滞。Mos 通过对回到胚胎有丝分裂周期的抑制来阻止不必要的 DNA 复制和受精

前单性生殖的激活,减少染色体的数目。在无脊椎动物海燕中, Mos 使其卵母细胞在第二次减数分裂完成后停滞而不是在中期停滞^[3]。

3 *C-mos* 在分子系统学中的应用

C-mos 大小约 1 kb,现已发现存在于爬行类、鸟类、哺乳类和无脊椎动物中,截止到 2001 年 9 月,在 GenBank 上可查到的 *c-mos* 的序列(全长及部分片段)已逾 200 多条。在已测得全长的 *c-mos* 序列中(如人类^[4]、海燕^[5]等)未发现重复序列,也极少出现会影响序列比对的插入缺失,这使得 *c-mos* 易于以基因组 DNA 进行 PCR 扩增,产物也可直接测序,得到序列后的比对等数据整理及进一步的分析也可较少受到人为因素的影响。目前,国际上已有几个研究组,测定了很多不同分类单元的 *c-mos* 同源物的序列,如有鳞目(蜥蜴类和蛇类)、侧颈龟类、鸟类、蛙类等,单独或合并其它基因的序列应用于系统发生分析,其中以爬行类和鸟类的居多。

如 Saint 等^[5]设计了扩增 *c-mos* 基因的两套引物——简并引物 G77、G78 及其内部的 G73、G74,从代表了 4 个目的 25 种爬行动物中,用套式 PCR 扩增出了 *c-mos* 基因片段约 375 bp。通过 *c-mos* 基因的部分序列研究了有鳞目动物高级阶元间的系统发生关系。研究结果支持喙头类与有鳞类具有共同的祖先,有鳞目是一个单系群。在有鳞目内,鬣蜥科(Agamidae)与避役科(Chamaeleonidae)相关联,壁虎科(Gekkonidae)和鳞脚虎科(Pygopodidae)组成一个单系,石龙子科(Scincidae)是一个单系群,蛇类的蚺总科(Booidea)与盲蛇科(Typhlopidae)相聚。通过 *c-mos* 基因树与近年来以形态学各性状关系为基础的进化树之间的分析比较, Saint 等指出此基因对有鳞目内科级阶元的系统发生分析是非常有用的分子标记。而且,由于 *c-mos* 已在多种动物中发现,应是高级阶元脊椎动物系统发生研究的一个非常有用的先导基因(pilot gene)。Harris^[6]等在 Saint 等的研究基础上,增加了环尾蜥科(Cordylidae)、美洲鬣蜥科(Iguanidae)、蜥蜴科(Lacertidae)、利吻蜥科(Trogonophidae)、黄蜥科(Xantusidae)等 5 个科的种类,测定了 *c-mos* 基因片段的序列。他们的数据与 Saint 等的数据合在一起共包括有鳞目的 19 个科。系统发生分析的结果提示,黄蜥科为石龙子科的姐妹群,与它们最接近的是环尾蜥科。蜥蜴科(Amphisbaenidae)和利吻蜥科聚为一个单系,它们是蜥蜴科的姐妹群。美洲鬣蜥科与角蜥科(Phrynosomatidae)相聚,鬣蜥科和避役科与它们的关系最近。澳虎亚科(Diplodactylinae)是鳞脚虎科(Pygopodidae)的姐妹群。在最大简约树(MP)和最大似然树

(ML)中睑虎科(Eublepharidae)的位置不同,它在MP树中是鳞脚虎科的姐妹群,而在ML树中与壁虎科(Gekkonidae)相聚。

Donnellan等^[7]根据线粒体的12S rRNA基因及核基因组的c-mos基因序列研究了澳大利亚的4大壁虎类,澳虎亚科的澳虎类(Diplodactylini)和篙趾虎类(Carphodactylini),鳞脚虎科,壁虎科以及非澳大利亚的睑虎科的壁虎。结果支持澳虎亚科是单系的,鳞脚虎类是澳虎亚科的姐妹群。澳虎亚科中的澳虎类是单系的,而篙趾虎类不是一个单系群。Austin^[8]根据12S rRNA和c-mos基因序列的变异研究了太平洋热带岛屿的滑蜥属(*Lipinia*)2种石龙子的扩散方式。汤加群岛和萨摩亚群岛的汤加滑蜥(*L. tongana*)在遗传上一致,提示它们是随着人群在近期从斐济传入的。斐济群岛的同色滑蜥(*L. concolor*)的不同种群间有相当大的遗传歧异,表明在人类存在以前发生过群岛内的扩散和隔离。

Hedges等1999年在Science上发表的研究则是将c-mos与其它21个核基因及线粒体DNA序列的数据合并,对爬行类主要类群的进化进行了分析,其结果把鳄类和龟鳖类列在一起,而把有鳞类放在爬行类系统发生树的基部。这个结果不支持传统的龟鳖类位于系统发生树的基部的观点^[9]。

Cooper和Penny^[10]测定了鸟类10个目约600 bp的部分c-mos基因序列和16个目约390 bp的部分12S rRNA基因序列。根据化石提供的歧异时间,两两分组,以亲缘关系相近的2种鸟为一组,比较它们的序列差异。把亲缘关系较远的2对鸟合成四个一组,根据进化速率估算2对间的最小歧异时间。得到的结果支持现存各目鸟类最早歧异时间在白垩纪的早期。若干其它陆生脊椎动物的数据也提示相似的生存模式,因而支持鸟类和哺乳类在白垩纪有渐进的分化,而非在第三纪早期发生了爆炸式的辐射。

最近,Tachibana等第一次在无脊椎动物海燕(*Aste-*

rina pectinifera)中发现、证实了c-mos的存在^[1],这无疑将拓展其在无脊椎动物进化研究中的应用。

参 考 文 献

- [1] Friedlander T P, Redier J C, Mitter C. Nuclear gene sequences for higher level phylogenetic analysis: 14 promising candidates. *Syst Biol*, 1992, **41**: 483 ~ 490.
- [2] Graybeal A. Evaluating the phylogenetic utility of genes: a search for genes informative about deep divergences among vertebrates. *Syst Biol*, 1994, **43**: 174 ~ 193.
- [3] Tachibana K, Tanaka D, Isobe T et al. C-mos forces the mitotic cell cycle to undergo meiosis II to produce haploid gametes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 14 301 ~ 14 306.
- [4] Watson R, Oskarson M, Vande Woude G F. Human DNA sequence homologous to the transforming gene (mos) of Moloney murine sarcoma virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, **79**: 4 078 ~ 4 082.
- [5] Saint K M, Austin C C, Donnellan A C et al. C-mos, a nuclear marker useful for squamate phylogenetic analysis. *Mol Phylogenet Evol*, 1998, **10**: 259 ~ 263.
- [6] Harris D J, Sinclair E A, Mercader N L et al. Squamate relationships based on c-mos nuclear DNA sequences. *Herpetol J*, 1999, **9**: 147 ~ 151.
- [7] Donnellan S C, Hutchinson M N, Saint K M. Molecular evidence for the phylogeny of Australian gekkonoid lizards. *Biol J Linn Soc Lond*, 1999, **67**: 97 ~ 118.
- [8] Austin C C. Phylogenetic relationships of *Lipinia* (Scincidae) from New Guinea based on DNA sequence variation from the mitochondrial 12S rRNA and nuclear c-mos genes. *Hamadryad*, 1998, **23**: 93 ~ 102.
- [9] Hedges S B, Poling L L. A molecular phylogeny of reptiles. *Science*, 1999, **283**: 998 ~ 1 001.
- [10] Cooper A, Penny D. Mass survival of birds across the Cretaceous-Tertiary boundary: molecular evidence. *Science*, 1997, **275**: 1 109 ~ 1 113.