

八种纤毛虫减数分裂基因的分子进化研究

宁应之^① 陈凯^① 张晶^② 姜传奇^② 熊杰^② 缪炜^{②*}

① 西北师范大学生命科学学院 兰州 730070; ② 中国科学院水生生物研究所水生生物多样性与保护重点实验室 武汉 430072

摘要: 减数分裂是真核生物适应性进化的重要机制, 以 8 种纤毛虫作为实验对象, 通过生物信息学方法对其 14 个减数分裂基因进行了鉴定及分子进化研究。结果表明: (1) 不同的纤毛虫种类存在一些特异性的减数分裂基因的丢失与复制现象; (2) 减数分裂相关基因在纤毛虫中很保守; (3) 纤毛虫减数分裂重要的同源重组过程是在真核生物中不常见的 II 型。本研究表明, 纤毛虫减数分裂可能代表了真核生物较原始的减数分裂方式, 在进化的过程中很保守, 为研究真核生物减数分裂起源与进化提供了重要线索。

关键词: 减数分裂基因; 分子进化; 纤毛虫

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 02-301-09

Molecular Evolution of Meiotic Genes in Eight Ciliates

NING Ying-Zhi^① CHEN Kai^① ZHANG Jing^② JIANG Chuan-Qi^② XIONG Jie^② MIAO Wei^{②*}

① *College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070;* ② *Key Laboratory of Aquatic Biodiversity and Conservation, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China*

Abstract: Meiosis is an important mechanism in the adaptive evolution of eukaryotes. Here, we identified 14 meiotic genes in eight ciliates and performed the molecular evolution analysis (Table 1, 2). The results show that: (1) Specific meiotic genes lost and duplication exist in ciliates; (2) Meiotic genes are conserved in ciliates (Fig. 1); (3) Recombination process in meiosis of ciliates belongs to class II type (Fig. 2), which is not common in other eukaryotes. These results indicate that meiosis in ciliates may represent the original style, and may be a good model for studying the origin and evolution of eukaryotic meiosis process.

Key words: Ciliates; Meiotic genes; Molecular evolution

有性生殖的核心是减数分裂, 在减数分裂过程中, DNA 复制一次, 细胞连续分裂两次, 产生的配子染色体数目只有原先的一半, 随后两个配子再次接合, 产生的子代细胞染色体数目与亲本一致, 以此来维持物种的连续性

(Villeneuve et al. 2001)。减数分裂是真核生物的一个普遍的生理过程, 在人类 (*Homo sapiens*)、小鼠 (*Mus musculus*)、黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、秀丽隐杆线虫

基金项目 国家国际科技合作专项项目 (No. 2013DFG32390);

* 通讯作者, E-mail: miaowei@ihb.ac.cn;

第一作者介绍 宁应之, 男, 教授; 研究方向: 土壤原生动物的分类与生态; E-mail: ningyz@nwnu.edu.cn.

收稿日期: 2015-10-04, 修回日期: 2015-12-07 DOI: 10.13859/j.cjz.201602016

(*Caenorhabditis elegans*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)等模式生物中已经展开了广泛的研究(Ramesh et al. 2005)。然而截止目前,减数分裂过程在纤毛虫这一类群中的研究很少,且仅在嗜热四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)中有相关实验及功能研究。纤毛虫作为原生动物的一大类群,具有两大特征,一是大部分纤毛虫在生命周期的某一个阶段生有纤毛,二是有大小两种核型,即生殖核(小核)和营养核(大核)。纤毛虫的生活史包括无性生殖和有性生殖两个阶段:当环境营养条件充足时,采取无性生殖,在这种情况下生殖核是沉默的,基因的表达都发生在营养核;当环境条件恶劣时,进行接合生殖(沈温芬 1999)。以四膜虫为例,在接合生殖时不同交配型的细胞两两接合,小核减数分裂形成配子核,互换后生成合子核,合子核分裂分化产生新的大核和小核(缪炜 2010)。在此过程中涉及的减数分裂可以为后代带来基因型的变化,提供可遗传的变异。

本文以 8 种已测定了基因组的纤毛虫作为研究对象,在鉴定它们的减数分裂核心基因的基础上开展分子进化研究,旨在探讨作为单细胞真核生物的纤毛虫其减数分裂基因的进化特点,为理解减数分裂的起源与进化提供线索。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 数据来源 2006 年,嗜热四膜虫(Eisen et al. 2006)和第四双小核草履虫(*Paramecium tetraurelia*)(Aury et al. 2006)基因组测序相继完成,并在随后的 9 年里又相继公布了多子小瓜虫(*Ichthyophthirius multifiliis*)(Coyne et al. 2011)、尖毛虫(*Oxytricha trifallax*)(Swart et al. 2013)、浮萍棘尾虫(*Stylonychia lemnae*)(Aeschlimann et al. 2014)和其他 3 种四膜虫(*T. malaccensis*, *T. ellioti* 和 *T. borealis*)的基因组数据,为研究纤毛虫减数分裂的分子进化提供了材料。上述 8 种纤毛虫基因组数据均通过公共数据库获得,分类学上它们分别属于纤毛门下的寡膜纲和旋毛纲(表 1)(Lynn 2008)。**1.1.2 研究对象** 通过比较敲除目标基因的细胞株和野生型细胞株在核发育上的差别,然后辅以生物信息学分析方法,科学家在分子和细胞水平上较为详细地阐述了嗜热四膜虫的减数分裂过程(Mochizuki et al. 2008, Howard-Till et al. 2011, 2013)。包括 *Spo11*、*Mre11*、*Smc1*、*Smc3*、*Rec8*、*Hop2*、*Mnd1*、*Dmc1*、*Rad51*、*Msh4*、*Msh5*、*Mus81*、*Sgs1* 和 *Esp1* 14 个被认为是与嗜热四膜虫减数分裂相关的重要基因,

表 1 八种纤毛虫基因组数据

Table 1 Genome sequences of eight ciliates

分类单元 Taxonomy	物种 Species	数据来源 Data sources
	嗜热四膜虫 <i>Tetrahymena thermophila</i>	
寡膜纲(四膜目) Oligohymenophorea (Tetrahymenina)	<i>T. malaccensis</i>	http://ciliate.org
	<i>T. ellioti</i>	
	<i>T. borealis</i>	
寡膜纲(膜杵目) Oligohymenophorea (Hymenostomatida)	多子小瓜虫 <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	http://ich.ciliate.org
寡膜纲(咽膜目)Oligohymenophorea (Peniculida)	第四双小核草履虫 <i>Paramecium tetraurelia</i>	http://paramecium.cgm.cnrs-gif.fr
	尖毛虫 <i>Oxytricha trifallax</i>	http://oxy.ciliate.org
旋毛纲(散毛目) Spirotrichea (Sporadotrichida)	浮萍棘尾虫 <i>Stylonychia lemnae</i>	http://stylo.ciliate.org

这些基因分别参与了减数分裂的染色体粘着 (cohesion)、DNA 双链断裂、双链入侵、双链断裂修复、同源重组 (homologous recombination, HR)、同源染色体分离等过程。本研究以此 14 个减数分裂相关的重要基因作为研究对象, 开展分子进化分析。

1.2 实验方法

1.2.1 基于同源搜索的减数分裂基因的鉴定 以嗜热四膜虫的 14 个减数分裂基因的蛋白序列作为参考序列, 一方面与另外 7 个物种的蛋白质组序列进行基于相似性的 BLASTP 搜索 (Altschul et al. 1990) 和基于保守结构域 (domain) 的 HMM profile 搜索 (Pfam 数据库) (Finn et al. 2011), 得到该物种的初步候选同源基因序列; 另一方面, 考虑到部分物种的基因注释可能不完整, 因此将参考的蛋白序列与另外 7 个物种的基因组序列进行基于蛋白与核酸的 TBLASTN 比对, 将比对的结果用 GeneWise (Birney et al. 2004) 进行从头预测, 整合两方面的结果, 去除冗余, 得到最终的候选同源基因及蛋白序列。

1.2.2 非同义替换率/同义替换率计算 采用基于最大似然算法的 PAML CODEML 对减数分裂基因分别进行非同义替换速率 (nonsynonymous substitutions per non-synonymous site, d_N)、同义替换速率 (synonymous substitutions per synonymous site, d_S) 以及其比值 (d_N/d_S , ω) 计算 (Yang 2007)。在使用 PAML 计算核酸替换速率时采取两种模型, M0 模型 (假设所有枝系具有同一个进化速率) 作为零假设, M2 模型 (计算被标记的前景枝相对于背景枝的进化速率) 作为备择假设, 并对 M2 模型进行 χ^2 检验。当 $\omega > 1$ 时, 表示该基因受到正选择作用, 在自然选择的作用下选择出有利于物种生存的性状; 当 $\omega = 1$ 时, 表示该基因受到中性选择作用; 当 $\omega < 1$ 时, 表示该基因受到负选择 (纯化选择) 作用, 群体中出现有害基因对物种生存不利, 产生的有害突变个体被淘汰掉。

1.2.3 系统建树方法 利用 MAFFT v6.850 进行多序列比对 (Katoh et al. 2002), 采用 Gblocks v0.91b (参数: $-t = p$, $-b2 = 0.65$, $-b5 = a$) 进行序列剪切, 去掉模糊的比对区域 (Castresana 2000)。采用基于贝叶斯算法的 MrBayes v3.2.1 和基于最大似然算法的 RAxML v8.0.2 构建系统发育树 (Ronquist et al. 2012, Stamatakis 2014)。MrBayes 建树采用的是混合的 WAG + I + G 模型, 迭代次数为 100 000 次, 每隔 10 代取样一次; RAxML 建树选用 LG 氨基酸替代矩阵模型 (LG amino substitution matrix), 经验频率估计 (frequencies empirically estimated) 采用基本的 F 模型, 位点取代速率差异 (rate heterogeneity among site) 用 gamma 分布模型估算, 包括 4 个 gamma 位点, 即 RAxML 分析采用 (LG + F + Γ 4) 模型, 自展 (bootstrap) 次数设置为 1 000。系统发育树通过 FigTree v1.3.1 (Rambaut. 2009) 和 MEGA6 (Tamura et al. 2013) 两种途径进行可视化和编辑。

2 结果

2.1 减数分裂同源基因鉴定结果

14 个减数分裂基因同源搜索结果见表 2, 不同物种间减数分裂相关基因存在特异性基因丢失和基因复制的现象。所有的基因在 4 种四膜虫里都存在相对应的同源基因, 由于在同一个属不同物种间的分化时间较短, 因此氨基酸序列分歧小, 同源基因的数量均为 1。*Spo11*、*Smc1* 和 *Smc3* 这 3 个基因在所有物种间的数量均为 1。

基因复制在草履虫、尖毛虫和棘尾虫这 3 个物种中是一个较为普遍的现象, 复制发生在减数分裂过程的 DNA 双链入侵和同源重组两个阶段。如 *Mre11*、*Rad51*、*Msh4* 和 *Sgs1* 在草履虫中均有 2 个拷贝; *Mre11*、*Rad51*、*Hop2*、*Mnd1* 和 *Sgs1* 在尖毛虫和棘尾虫均有 2 个拷贝。

比较纤毛虫减数分裂的染色体粘着、双链入侵和同源重组这三个重要的过程, 在行使

表 2 同源基因统计
Table 2 Statistics of homologous genes

基因 Gene	物种 Species								功能 Function
	Tth	Tma	Tel	Tbo	Imu	Pte	Otr	Sle	
<i>Spo11</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	促使 DNA 双链断裂 (DSB) 的产生 Creates DNA double-strand breaks (DSB) in homologous chromosomes
<i>Smc1</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	SMC1/SMC3 二聚体与 REC8 形成环状的黏连蛋白 (染色体粘着) Forms a heterodimer with SMC1 and SMC3 to form core sister chromatid cohesin subunits, with ring shape around sister chromatids
<i>Smc3</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Rec8</i>	1	1	1	1	1	-	-	-	促使减数分裂过程中的姐妹染色单体粘连在一起 Holds sister chromatids together during meiosis
<i>Mre11</i>	1	1	1	1	1	2	2	2	5' 到 3' 核酸内切酶, 使 DSB 产生 3' 末端 5' - 3' dsDNA exonuclease and ssDNA endonuclease, trims back broken DNA ends and hairpins
<i>Dmc1</i>	1	1	1	1	1	-	1	1	结合在 DSBs 的 3' 末端, 修复 DSBs, 同时行使 DNA 双链入侵的功能 Forms helical filaments on single-stranded and double-stranded DNA and catalyzes homologous DNA pairing and strand exchange
<i>Rad51</i>	1	1	1	1	1	2	2	2	
<i>Hop2</i>	1	1	1	1	1	1	2	2	HOP2 和 MND1 形成的异源二聚体可以稳定 RAD51 和 DMC1 Ensures accurate and efficient homology searching, downstream of RAD51 and DMC1, during pachytene stage of meiotic prophase
<i>Mnd1</i>	1	1	1	1	1	1	2	2	
<i>Msh4</i>	1	1	1	1	-	2	1	1	MSH4/MSH5 形成二聚体, 稳定同源重组中间体 Forms a heterodimer, directs Holliday junction resolution towards crossover with interference
<i>Msh5</i>	1	1	1	1	-	1	1	1	
<i>Mus81</i>	1	1	1	1	-	1	1	1	DNA 解离酶和 DNA 解旋酶在有丝分裂 DNA 修复起重要作用, MUS81/SGS1 二聚体可以解离 DNA 黏连蛋白 MUS81 resolvase and SGS1 helicase have well established roles in mitotic DNA repair, joint molecules are resolved by MUS81/SGS1
<i>Sgs1</i>	1	1	1	1	1	2	2	2	
<i>Esp1</i>	1	1	1	1	1	-	-	-	减数分裂后期破坏染色体粘着结构, 使姐妹染色单体分离 A protease required at the onset of anaphase to cleave cohesin and thereby enable sister chromatid separation

Tth. *T. thermophila*; Tma. *T. malaccensis*; Tel. *T. ellioti*; Tbo. *T. borealis*; Imu. *I. multifiliis*; Pte. *P. tetraurelia*; Otr. *O. trifallax*; Sle. *S. lemnae*.

- . 基因组序列没有鉴定到该基因。- . Homolog was not identified in the genome.

DNA 双链入侵的过程中, 仅草履虫丢失了 *Dmc1* 基因, 其丢失基因的功能可能被其同源基因 *Rad51* 的一个拷贝所代替, 因此双链入侵是纤毛虫减数分裂更为保守的过程。在减数分裂染色体粘着的形成和解离阶段, 草履虫、尖毛虫和棘尾虫均丢失 *Rec8* 和 *Esp1*; 在同源重组阶段, 小瓜虫丢失与同源重组相关的基因 *Msh4*、*Msh5* 和 *Mus81*。基因的丢失与复制表明纤毛虫减数分裂在进化的过程中存在差异。

2.2 减数分裂基因的核酸替换率分析

草履虫、尖毛虫和棘尾虫同时丢失 *Rec8* 与 *Esp1* 基因, 因此不计算这 2 个基因的 d_N/d_S ; 小瓜虫丢失 *Msh4*、*Msh5* 和 *Mus81*, 在计算这 3 个基因的 d_N/d_S 时不考虑小瓜虫, 草履虫丢失 *Dmc1*, 在计算 *Dmc1* 的 d_N/d_S 时亦不考虑草履虫。最终选取 *Spo11*、*Mre11*、*Smc1*、*Smc3*、*Mus81*、*Hop2*、*Mnd1*、*Dmc1*、*Rad51*、*Msh4*、*Msh5* 和 *Sgs1* 这 12 个基因分别计算 d_N/d_S (图

1)。

除四膜虫的 *Msh4* 基因和棘尾虫的 *Sgs1* 基因的 ω 分别为 0.316 和 0.223 外, 剩余的 ω 值分布均在 0 ~ 0.2 之间, 其中 ω 小于 0.1 的比例为 84%, 说明纤毛虫减数分裂基因都受到很强的纯化选择作用。*Mnd1*、*Mre11*、*Rad51* 和 *Smc1* 的所有 ω 值都小于 0.1, 说明相比较于其他减数分裂基因, 这 4 个基因更为保守。

2.3 系统发育分析

采用 RAxML 和 MrBayes 两种方法对 14 个减数分裂基因分别构建系统发育树 (图 2), 以此描述不同物种间减数分裂基因进化的相互关系, 并进一步了解该基因的进化历史。草履虫 *Mre11*、*Rad51* 和 *Sgs1* 发生复制, 被复制的基因的两个拷贝聚在一起, 说明草履虫的基因复制是在物种形成之后单独复制的; 尖毛虫和棘尾虫的 *Mre11*、*Rad51*、*Sgs1*、*Hop2* 和 *Mnd1* 均发生复制, 尖毛虫发生复制基因的一个拷贝

与棘尾虫的一个拷贝聚在一起, 与其另外一个拷贝相距甚远, 说明尖毛虫和棘尾虫在其共同的祖先分化之前已发生基因的复制, 被复制的基因在祖先状态时发生分歧。

3 讨论

3.1 纤毛虫减数分裂基因的丢失与复制

纤毛虫减数分裂同源搜索结果表明, 在纤毛虫不同物种间减数分裂基因的拷贝数存在差异。基因丢失通常导致生物体某些功能的缺陷; 而基因复制的效应主要体现在两方面, 一是起剂量补偿的作用, 二是被复制基因的不同拷贝在进化过程中发生功能分化。基因丢失模型见图 3a, 草履虫、尖毛虫和棘尾虫同时丢失 *Rec8* 与 *Esp1*, 另外 *Rec8* 是在减数分裂染色体粘着过程中形成环状复合体的关键基因, 将减数分裂早期同源染色体通过闭合的环状复合体黏着在一起, 染色体粘着的作用持续到减数分裂后

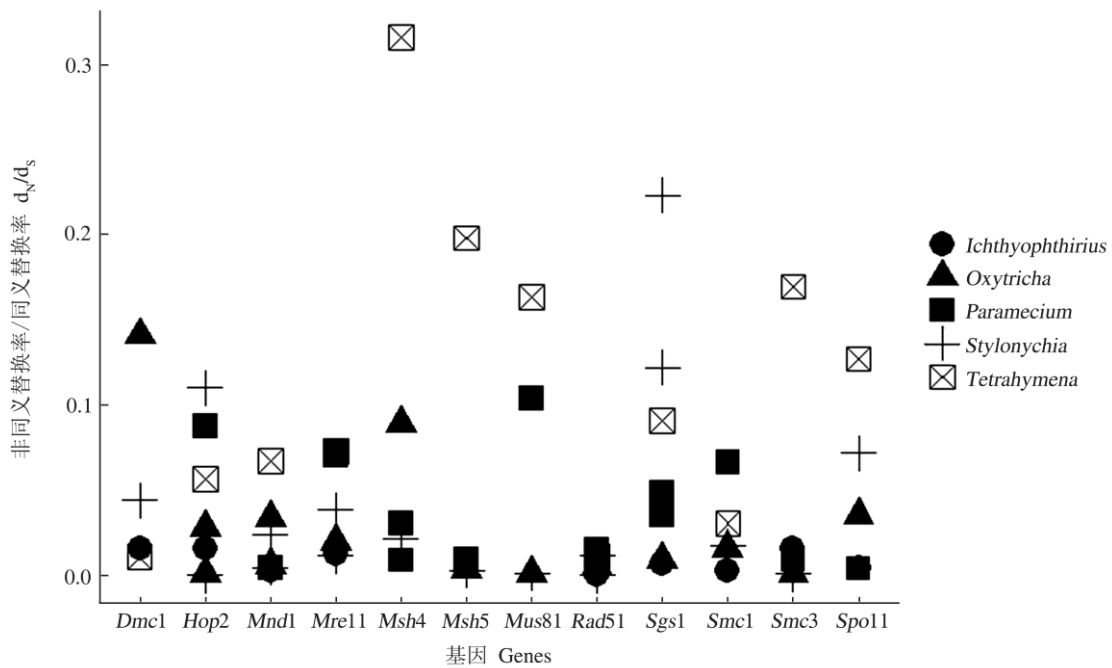


图 1 非同义替换率/同义替换率 (d_N/d_S) 分布

Fig. 1 The ratio of nonsynonymous substitutions per non-synonymous site to synonymous substitutions per synonymous site (d_N/d_S)

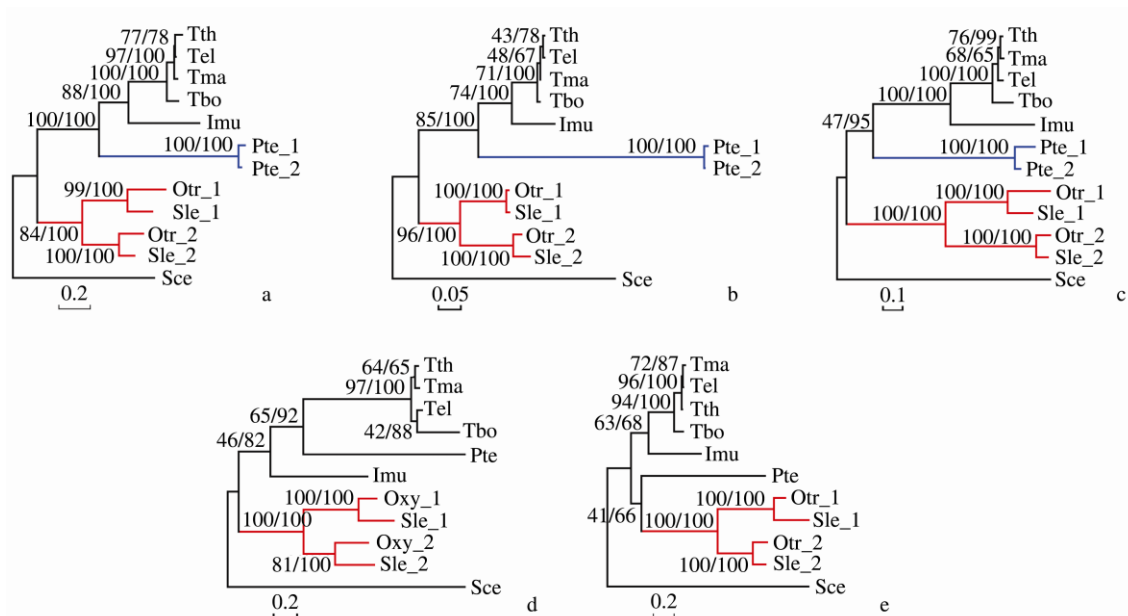


图 2 减数分裂基因的系统发育关系

Fig. 2 Phylogenetic trees of meiotic genes

a. *Mre11*; b. *Rad51*; c. *Sgs1*; d. *Hop2*; e. *Mnd1*.

Tth. *T. thermophila*; Tma. *T. malaccensis*; Tel. *T. elliotii*; Tbo. *T. borealis*; Imu. *I. multifiliis*; Pte. *P. tetraurelia*; Otr. *O. trifallax*; Sle. *S. lemnae*.

拓扑结构采用的是最大似然建树方法；图中每支上的数据：斜线左边是 RAxML 建树的置信值，斜线右边是 MrBayes 建树的置信值；蓝线表示草履虫的基因复制，红线表示尖毛虫和棘尾虫的基因复制。

Phylogenetic tree constructed using maximum likelihood was shown; the support values were labeled for each node (RaxML/MrBayes). Blue lines indicated the gene duplication in *P. tetraurelia*, and red line indicated the gene duplication in *O. trifallax* and *S. lemnae*.

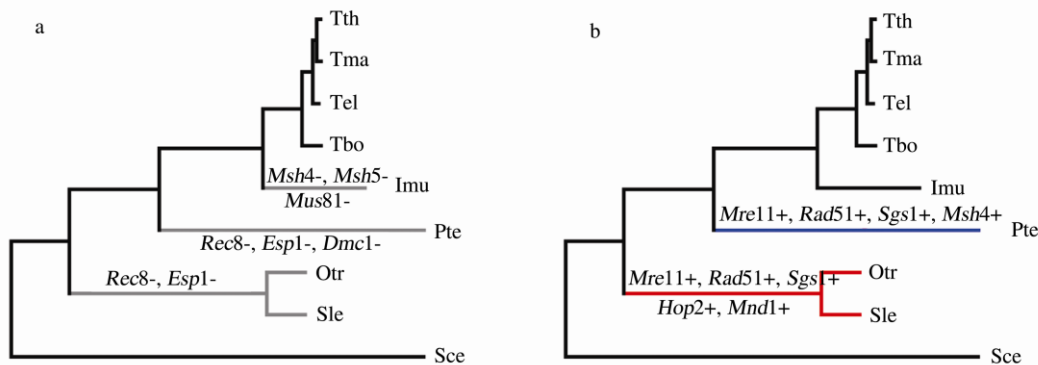


图 3 纤毛虫减数分裂基因丢失与复制的模型

Fig. 3 Model of meiotic gene lost and duplication in ciliates

a. 基因丢失模型； b. 基因复制模型。 a. The model of gene lost; b. The model of gene duplication.

Tth. *T. thermophila*; Tma. *T. malaccensis*; Tel. *T. elliotii*; Tbo. *T. borealis*; Imu. *I. multifiliis*; Pte. *P. tetraurelia*; Otr. *O. trifallax*; Sle. *S. lemnae*.

期，通过 ESP1 解离酶的作用将黏连蛋白从着丝粒处解离，从而促进同源染色体的分离

(Howard-Till et al. 2013)。几乎所有后生动物的 REC8 对有丝分裂和减数分裂中的染色体正常分离起重要的作用。同时草履虫、尖毛虫和棘尾虫缺乏与 *Rec8* 同源的 *Scs1* 和 *Rad21*，表明在纤毛虫存在一些未知的基因作用于减数分裂的染色体粘着过程。草履虫虽然丢失 *Dmc1*，但与 *Dmc1* 具有极高同源性的 *Rad51* 有 2 个拷贝，可能是 *Rad51* 的某一个拷贝可以代替 *Dmc1* 的作用。小瓜虫丢失与同源重组相关基因 *Msh4*、*Msh5* 和 *Mus81* 的原因是：(1) 减数分裂基因特异性的丢失有可能是由于基因组数据不完整造成的；(2) 由于丢失上述同源重组相关的基因，从而导致小瓜虫减数分裂功能的丧失；(3) 可能存在一种简化的减数分裂方式，来补偿小瓜虫减数分裂基因丢失的缺陷。

基因复制模型如图 3b 所示，基因复制只发生在草履虫、尖毛虫和棘尾虫这三个节点。草履虫 *Mre11*、*Rad51* 和 *Sgs1* 基因是在物种形成之后单独复制的，同一个基因的不同拷贝之间相似度很高，这可能与草履虫进化历史上发生过 3 次全基因组复制有关，基因复制可能是一种剂量补偿效应。*Mre11*、*Rad51*、*Sgs1*、*Hop2* 和 *Mnd1* 均在尖毛虫和棘尾虫共同的祖先发生复制（图 3b），被复制的基因不同拷贝间具有相同的蛋白结构域，但蛋白编码序列相似度低，在其祖先进化过程中可能发生过快速进化，导致其功能也发生了分化。

3.2 纤毛虫减数分裂基因是保守的

通过 d_N/d_S 计算得出 8 种纤毛虫减数分裂基因的 ω 值均远远小于 1（图 1），说明纤毛虫减数分裂基因在进化过程中受到了强烈的纯化选择，揭示这些基因的功能是非常保守的。另外，四膜虫、草履虫、尖毛虫和棘尾虫均存在多种交配型（Phadke et al. 2009），可以进行有性生殖，说明其具有减数分裂这一过程；而小瓜虫由于营独特的寄生生活，生活史较复杂，尚未在实验条件下观测到其有性生殖，因此不能确定其是否存在减数分裂这一过程。

3.3 纤毛虫减数分裂的同源重组方式属于 II 型

嗜热四膜虫的 14 个减数分裂基因主要用于染色体粘着、DNA 双链断裂、双链入侵、双链断裂修复、同源重组（HR）、同源染色体分离等过程。染色体黏着是减数分裂的关键事件，SMC1、SMC3 与 REC8 共同作用形成环状的黏连蛋白复合体，使姐妹染色单体粘着在一起，染色体粘着一直到减数分裂后期，防止染色单体过早的分离，当减数分裂前的黏连蛋白附着到姐妹染色单体上时，启动减数分裂过程特异的染色体粘着作用（Howard-Till et al. 2013）；当染色体发生凝聚之后会在 SPO11 拓扑异构酶的作用下，催化 DNA 双链断裂（DSB）产生，同时 SPO11 共价结合在 DSBs 的末端（Loidl et al. 2009）；随后核酸外切酶 MRE11 识别 DSBs，对 DSB 进行 5' - 3' 方向的切割加工，暴露出 3' 单链 DNA 末端（Lukaszewicz et al. 2010），RAD51 和 DMC1 结合到单链 DNA 末端上，一方面，起到稳定并保护 DNA 单链和防止形成二级结构的作用（Howard-Till et al. 2011），另一方面在 HOP2 和 MND1 共同作用下催化并介导 DNA 单链入侵到另外一条非姐妹染色体的同源区域，DNA 的两条链发生交叉联会（crossover, CO）（Mochizuki et al. 2008），入侵区域随后在 MSH4 和 MSH5 的作用下形成稳固的 D-LOOP 结构；侵入的 DNA 双链分别以非姐妹染色体的 DNA 链为模板不断延伸，最后在连接酶的作用下将断裂的 DNA 单链接起来（Lukaszewicz et al. 2013），从而完成减数分裂修复过程（图 4）

有性生殖起源于真核生物最早的祖先（Dacks et al. 1999）。根据同源重组的类型分为 I 型和 II 型，在酵母减数分裂过程中，I 型的交叉形成需要 ZMM 蛋白复合体（ZIP1、ZIP2、ZIP3、ZIP4、MSH4、MSH5 和 MER3），其中 ZIP2、ZIP3 和 ZIP4 是联会复合体的重要组成成分。II 型的交叉途径依赖于 MUS81 限制性内切酶的作用，无联会复合体，减数分裂的四分体形成 D 环结（Bishop et al. 2004）。本文结果证明，除小瓜虫因为丢失与同源重组相关的

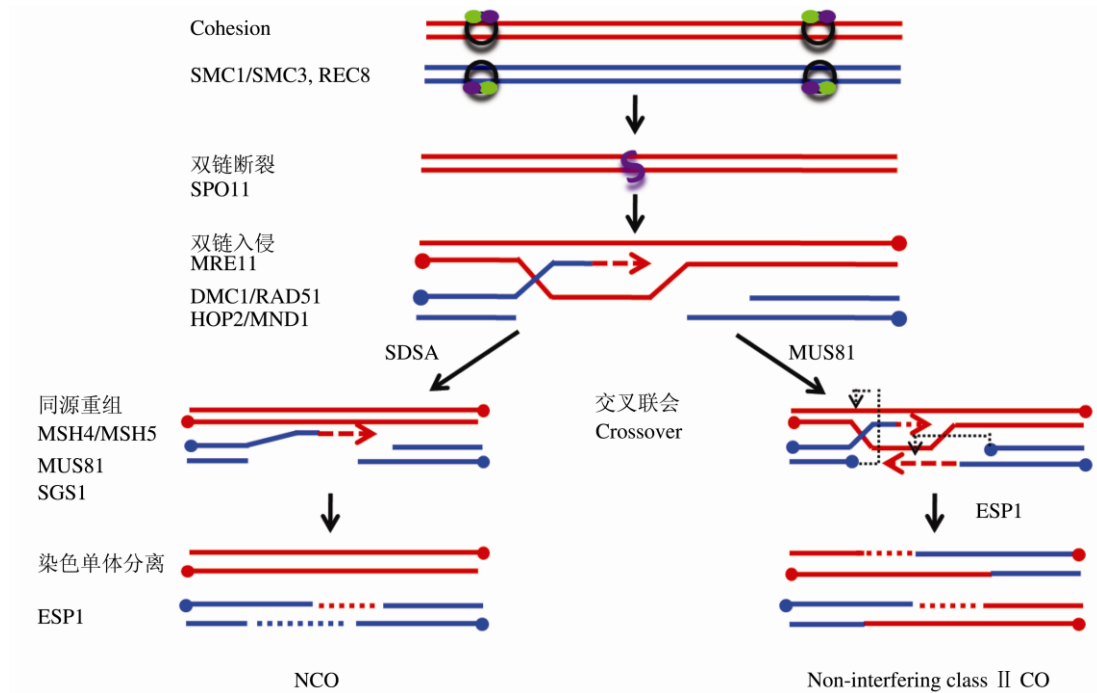


图 4 纤毛虫减数分裂的同源重组过程 (仿 Hollingsworth et al. 2004)

Fig. 4 Homologous recombination of meiosis in ciliates (from Hollingsworth et al. 2004)

MUS81、MSH4 和 MSH5 基因外, 其他 7 种纤毛虫的减数分裂的同源重组均为依赖于 MUS81 内切酶的 II 型交叉方式, 这与 Chi 等 (2014) 通过比较四种纤毛虫与后生动物的 51 个减数分裂相关基因得出的结论一致。

长期以来, 减数分裂被认为是由有丝分裂演变而来的 (Wilkins et al. 2009)。Kohl 和 Sekelsky (2013) 认为在减数分裂进化的早期, 同源重组只有 II 型的交叉方式, 在这种方式下 DNA 双链断裂的基因在有丝分裂过程中仍然起着至关重要的作用, 且 II 型的调控机制较 I 型更为简单, 参与减数分裂过程的基因也较 I 型途径更少。因此, 纤毛虫的减数分裂方式应该是真核生物中更为原始的 II 型分裂途径。

参 考 文 献

Aeschlimann S H, Jonsson F, Postberg J, et al. 2014. The draft assembly of the radically organized *Stylonychia lemnae* macronuclear genome. *Genome Biology and Evolution*, 6(7): 1707–1723.

Altschul S F, Gish W, Miller W, et al. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3): 403–410.

Aury J M, Jaillon O, Duret L, et al. 2006. Global trends of whole-genome duplications revealed by the ciliate *Paramecium tetraurelia*. *Nature*, 444(7116): 171–178.

Birney E, Clamp M, Durbin R. 2004. GeneWise and genomewise. *Genome Research*, 14(5): 988–995.

Bishop D K, Zickler D. 2004. Early decision: meiotic crossover interference prior to stable strand exchange and synapsis. *Cell*, 117(1): 9–15.

Castresana J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution*, 17(4): 540–552.

Chi J, Mahe F, Loidl J, et al. 2014. Meiosis gene inventory of four ciliates reveals the prevalence of a synaptonemal complex-independent crossover pathway. *Molecular Biology and Evolution*, 31(3): 660–672.

Coyne R S, Hannick L, Shanmugam D, et al. 2011. Comparative genomics of the pathogenic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*, its free-living relatives and a host species provide insights into

- adoption of a parasitic lifestyle and prospects for disease control. *Genome Biology*, 12(10): R100.
- Dacks J, Roger A J. 1999. The first sexual lineage and the relevance of facultative sex. *Journal of Molecular Evolution*, 48(6): 779–783.
- Eisen J A, Coyne R S, Wu M, et al. 2006. Macronuclear genome sequence of the ciliate *Tetrahymena thermophila*, a model eukaryote. *Plos Biology*, 4(9): e286.
- Finn R D, Clements J, Eddy S R. 2011. HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Research*, 39(8): W29–W37.
- Hollingsworth N M, Brill S J. 2004. The Mus81 solution to resolution: generating meiotic crossovers without Holliday junctions. *Genes & Development*, 18(2): 117–125.
- Howard-Till R A, Lukaszewicz A, Loidl J. 2011. The recombinases RAD51 and DMC1 play distinct roles in DNA break repair and recombination partner choice in the meiosis of *Tetrahymena*. *Plos Genetics*, 7(3): e1001359–e1001359.
- Howard-Till R A, Lukaszewicz A, Novatchkova M, et al. 2013. A single cohesin complex performs mitotic and meiotic functions in the protist *tetrahymena*. *Plos Genetics*, 9(3): e1003418.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K I, et al. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30(14): 3059–3066.
- Kohl K P, Sekelsky J. 2013. Meiotic and mitotic recombination in meiosis. *Genetics*, 194(2): 327–334.
- Loidl J, Mochizuki K. 2009. *Tetrahymena* meiotic nuclear reorganization is induced by a checkpoint kinase-dependent response to DNA damage. *Molecular Biology of the Cell*, 20(9): 2428–2437.
- Lukaszewicz A, Howard-Till R A, Loidl J. 2013. MUS81 nuclease and SGS1 helicase are essential for meiotic recombination in a protist lacking a synaptonemal complex. *Nucleic Acids Research*, 41(20): 9296–9309.
- Lukaszewicz A, Howard-Till R A, Novatchkova M, et al. 2010. MRE11 and COM1/SAE2 are required for double-strand break repair and efficient chromosome pairing during meiosis of the protist *Tetrahymena*. *Chromosoma*, 119(5): 505–518.
- Lynn D H. 2008. *The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. 3rd ed. Dordrecht: Springer Verlag, 279–325.
- Mochizuki K, Novatchkova M, Loidl J. 2008. DNA double-strand breaks, but not crossovers, are required for the reorganization of meiotic nuclei in *Tetrahymena*. *Journal of Cell Science*, 121(13): 2148–2158.
- Phadke S S, Zufall R A. 2009. Rapid diversification of mating systems in ciliates. *Biological Journal of the Linnean Society*, 98(1): 187–197.
- Rambaut A. 2009. FigTree. Edinburgh, UK: University of Edinburgh, Institute of Evolutionary Biology, 15–78.
- Ramesh M A, Malik S B, Logsdon J M Jr. 2005. A phylogenomic inventory of meiotic genes: evidence for sex in *Giardia* and an early eukaryotic origin of meiosis. *Current Biology*, 15(2): 185–191.
- Ronquist F, Teslenko M, van Der Mark P, et al. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3): 539–542.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9): 1312–1313.
- Swart E C, Bracht J R, Magrini V, et al. 2013. The *Oxytricha trifallax* macronuclear genome: a complex eukaryotic genome with 16,000 tiny chromosomes. *Plos Biology*, 11(1): e1001473.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.
- Villeneuve A M, Hillers K J. 2001. Whence meiosis? *Cell*, 106(6): 647–650.
- Wilkins A S, Holliday R. 2009. The evolution of meiosis from mitosis. *Genetics*, 181(1): 3–12.
- Yang Z. 2007. PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8): 1586–1591.
- 缪炜. 2010. 原生动物的四膜虫“小材”有“大用”. *生物学通报*, 45(12): 1–4.
- 沈韞芬. 1999. *原生动植物学*. 北京: 科学出版社.