

鲍配子识别蛋白的研究*

刘慧慧^① 李太武^{①**} 苏秀榕^① 黄滨^②

(^①宁波大学生命科学与生物工程学院 宁波 315211; ^②宁波市水产研究所 宁波 315012)

摘要: 配子相互作用的生化机制对于进一步阐明生殖过程具有重要作用,它是深入了解细胞内识别的理想体系。精卵细胞相互作用包括一系列的步骤,开始于精子与卵细胞外被的接触,终止于两性细胞的融合及精子核进入卵细胞质中,而精卵细胞的识别具有建立于各自性细胞表面成分基础上的种的特异性,鲍则是研究精卵识别的好材料。鲍精子在发生顶体反应时释放出两种蛋白质——细胞溶素(lysin)和18 ku糖蛋白(sp18),其中的细胞溶素与其卵黄膜上的受体紧密结合,并利用非酶反应在卵黄膜上穿一个小孔,整个精子则从此孔穿过卵黄膜与卵细胞融合; sp18释放后则覆盖到精子细胞膜表面,起到溶解卵细胞脂质体的作用,即 sp18介导精、卵细胞膜的融合。鲍卵细胞膜上存在细胞溶素受体,它是大的不分支的糖蛋白分子,占据了卵黄膜30%的组分,可以专一性地与细胞溶素相结合。这些配子识别蛋白共同进化且速度很快,其中细胞溶素和18ku糖蛋白通过正向选择进化,而细胞溶素受体进行协同进化。

关键词: 鲍;配子;识别蛋白;杂交机理

中图分类号: Q756 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)06-104-06

The Research Progress of Abalone's Gamete Recognition Protein

LIU Hui-Hui^① LI Tai-Wu^① SU Xiu-Rong^① Huang Bin^②

(^① Faculty of Life Science and Technology, Ningbo University, Ningbo 315211;

^② Ningbo Fisheries Research Institute, Ningbo 315012, China)

Abstract: Study on the biochemical mechanism of gamete interaction is important for further understanding of the fertilization process, and also because it represents an ideal system to learn more about inter-cellular recognition. Sperm-egg interaction involves a series of steps that begin from the contact of sperm with the envelope of the egg, and end with the fusion of the two gametes and incorporation of the sperm nuclear in the egg cytoplasm. Such interaction is species-specific based on molecular recognition between gamete surface components. Abalone is the better animal for studying gamete recognition. During acrosomal process the lysin and sp18 are released, and lysin binds tightly to the VE receptor for lysin (VERL) and creates a hole in the egg vitelline envelope (VE) by a nonenzymatic mechanism. Through this hole the sperm passes the VE and fuses with egg. Sp18 is an 18 ku protein that coats the sperm surface during acrosomal process to mediate fusion between sperm and egg cell membranes. The VERL, a giant, unbranched glycoprotein comprising 30% of the VE, exists in the vitelline envelope and fuses with lysin by species-specificity. These recognition proteins coevolved with high speed, but VERL with concerted evolution and lysin and sp18 with positive selection.

Key words: Abalone; Gamete; Recognition proteins; Hybridization mechanism

* 浙江省自然科学基金资助项目(No:400002),宁波大学学生科研资助项目((No:C 02);

** 通讯作者, E-mail: litaiwu@hotmail.com;

第一作者介绍 刘慧慧,女,26,硕士研究生;研究方向:生物化学与遗传育种;E-mail: liuhuihui_77@163.com。

收稿日期:2003-01-30,修回日期:2003-09-10

鲍 (*Halotis*), 俗称鲍鱼, 隶属于软体动物门 (Mollusca)、腹足纲 (Gastropoda)、前鳃亚纲 (Prosobranchia)、原始腹足目 (Archaeogastropoda)、鲍科 (Haliotidae), 是近海海洋生物的重要组成部分之一^[1]。作为珍贵的海产软体动物, 其足发达, 肉质细嫩, 味道鲜美, 营养丰富。除食用价值较高以外, 壳又是有名的中药材 (石决明), 其出口创汇值高, 在国内外具有较大的市场潜力。

受精是胚胎发育的开始, 是指单倍体的雌、雄生殖细胞相结合, 各自的单倍体融合形成二倍体合子的过程, 包含了专一的细胞间的识别、黏着和最终细胞融合, 并涉及到精子和卵细胞之间复杂的相互作用。精卵之间的识别与结合是受精过程能够发生的前提条件, 其实质是性细胞表面糖蛋白及其受体的相互作用。鲍配子细胞的识别与结合正是由其精子表面的细胞溶素 (16 ku)、18 ku 糖蛋白 (sp18)、卵细胞表面的细胞溶素受体蛋白 (VERL) 共同介导的。

本课题组在皱纹盘鲍的组织学、细胞学、生理学、生物化学、病害防治等方面做了许多工作^[2-9]。近年来, 又从应用角度出发, 主要进行遗传育种及种质改良方面的研究, 其主要途径就是通过鲍的种间杂交来实现。因此, 研究鲍配子表面识别蛋白的性质和功能可为该领域的研究奠定理论基础。

1 鲍精子识别蛋白

鲍是典型的无脊椎动物, 在繁殖季节, 广播精卵于海水中, 受精作用和胚胎发育都在体外进行。自然界中, 很多种鲍共同栖息于相同的海水环境中, 而且生殖季节相互交叠, 却很少产生种间杂交现象, 其原因就是种间配子不识别, 无法受精。研究表明^[10], 成鲍的精子具有发达的顶体泡, 其内含有多钟蛋白质, 其中只有细胞溶素 (16 ku) 和 18 ku 糖蛋白 (sp18) 与生殖有关。

1.1 细胞溶素 细胞溶素 (lysin) 是最早被研究清楚的繁殖蛋白, 作为一种分子量为 16 ku 的非酶蛋白质^[11], 整个分子大小为 $50\text{\AA} \times 50\text{\AA} \times 35\text{\AA}$, 其中 65% 的结构处于 α -螺旋状而无 β -折叠。Lysin 共含 5 个 α -螺旋, 其中 $\alpha 1$ 和 $\alpha 4$ 构成该分子的中心, $\alpha 1$ 含 7 个折点, 整个分子基本是笔直的; $\alpha 2$ 有 8 个折点并于组氨酸处弯曲 125° ; $\alpha 3$ 和 $\alpha 4$ 之间通过三个残基相连, 它们之间的夹角为 135° ; $\alpha 5$ 内部只有两个折点, 并与 $\alpha 2$ 的 NH_2 -末端相连。正是因为 $\alpha 2$ 分子中的扭结以及 $\alpha 3$ 和 $\alpha 4$ 分子之间的联系使前 4 个 α -螺旋分子之间的联系得以增强。

Lysin 的晶体结构已用 X-射线研究清楚, 是一种以高 α -螺旋为组成成分的蛋白质 (图 1), 具有三个重要的

结构特征^[11,12]: (1) 从螺旋束突出由 1~12 个氨基酸残基组成的 NH_2 -末端区域构成了分子其余部分, 该区域有种属特异性; (2) 细胞溶素的一面含有 2 条几乎平行的贯穿于整个分子长度的基本氨基酸链, 它使细胞溶素蛋白具有静正电荷且成为表面活性蛋白; (3) 基本链的反面存在由 11 个疏水残基组成的疏水区, 该区域在细胞溶素的二聚化中起作用。当把分离的卵黄膜加入 lysin 二聚体时, 二聚体迅速溶解, 这说明溶解卵黄膜的是 lysin 的单聚体状态, 对于该单聚体和二聚体结构及各自功能, Kresge 等人^[13]已在红鲍中研究清楚。上述两条基本氨基酸链及其反面疏水区在 7 种加利福尼亚鲍中是保守的, 表明其作用与卵黄膜的破裂有关, 而与配子细胞间的特异性识别无关。

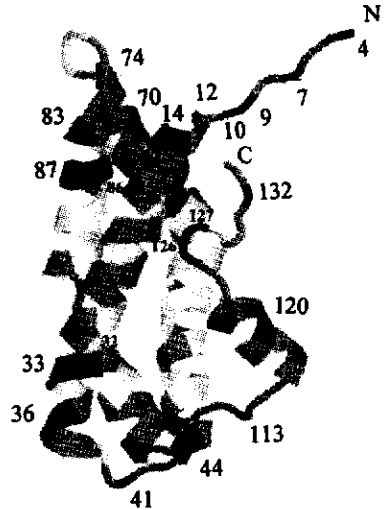


图 1 红鲍细胞溶素晶体结构^[11]

另外, lysin 的 NH_2 -末端和 COOH -末端在同一面, N -末端的 2~12 氨基酸残基总是具有种属专一性, 而 C -末端也存在相应的变化, 用定点突变的方法发现^[14], lysin 的 COOH -末端和 NH_2 -末端决定了它对 VERL 的特异性识别。事实上, lysin 的部分结构在多种鲍中几乎相同, 例如红鲍 (*Haliotis rufescens*) 和绿鲍 (*Haliotis fulgens*) 的 lysin 的 134 个氨基酸中只有 51 个不同^[15], 其 COOH -末端和 NH_2 -末端差异性也很明显, 而在这样高度分化的氨基酸序列中, 两种鲍的 lysin 仍然存在很多保守性的特征: 两种 lysin 的 α -碳原子图谱基本相同; lysin 的一面有 11~16 个疏水氨基酸区, 而另一面含有 2 条几乎平行的贯穿于整个分子长度的基本氨基酸链。

1.2 18 ku 糖蛋白 在鲍精子发生顶体反应时, 伴随着 lysin 的释放, 18 ku 糖蛋白 (sp18) 也随之释放并覆盖到精子细胞膜表面, 起到溶解卵细胞脂质体的作用, 即

sp18 介导精、卵细胞膜的融合。sp18 表面堆积着许多碱性和疏水的氨基酸残基,例如绿鲍 sp18 共有 39 个疏水和芳香族氨基酸残基,其中的 29 个位于分子表面并占据整个分子表面积的 22%,这些氨基酸使 sp18 拥有一个大的偶极矩,并使之具有很强的亲脂性,也正是这些表面疏水氨基酸簇和带正电的高静电荷区使 sp18 具有这样强的亲脂性。

Kresge 等人研究证明^[16], sp18 是一个长形的大小为 $54\text{\AA} \times 32\text{\AA} \times 30\text{\AA}$ 的三面分子,具有溶解力的有效面积为 $8\,171\text{\AA}^2$ 。sp18 分子的 70% 处于 α -螺旋状态,分子中不存在 β -折叠,整个分子是由 5 个 α -螺旋自上而下以右手螺旋方式组成的束状结构,其中螺旋 $\alpha 1$ ~ $\alpha 4$ 组成 sp18 分子的核心,并且它们之间存在相互连接的伸展结构;位于最长螺旋($\alpha 2$)中的扭结使自身与 $\alpha 1$ 、 $\alpha 3$ 和 $\alpha 4$ 的连接增大, $\alpha 3$ 与 $\alpha 4$ 之间的弯曲结构促使二者与其它螺旋分子紧密结合; $\alpha 5$ 因含有两个氨基酸残基(Lys127 和 Asp128)而构成了 sp18 分子的尾部结构,并从整个螺旋束中伸出来,同时 $\alpha 5$ 和 C-末端通过 11 个氢键和 1 个左向的二硫键与整个分子的核心部分相连,该二硫键存在于 Cys60 和 Cys134 之间,并在 COOH-末端使 $\alpha 2$ 与 $\alpha 5$ 相连接。研究来自 5 种鲍的 sp18 序列表明,该蛋白全长序列中的 132~146 号氨基酸残基明显不同,而 5 种鲍仅有 11 个残基是保守的,它们也都有两个保守的

半胱氨酸残基。

1.3 Lysin 与 sp18 的对比 Kresge 等认为^[17],鲍精子发达的顶体泡内含几乎等量的分子量分别为 16 ku 和 18 ku 的 lysin 和 sp18,顶体反应发生时,这两种蛋白以胞吐的方式释放出来并发挥各自功能。

上述两种蛋白的结构有很强的相似性。例如在绿鲍中,sp18 分子虽然较 lysin 大,但二者的高级结构非常相似,都存在 5 个 α -螺旋结构,各螺旋的位置也大致相同(图 2), α -碳骨架的折叠方式几乎一样,说明它们可能由同一个原始蛋白通过基因复制的方式分化而来。研究这两种蛋白的氨基酸序列发现,它们的氨基酸序列已经有了很大的分化,lysin 和 sp18 的 136~141 个氨基酸位点中,只有 24 个相同。如同 sp18 一样,lysin 也是一个亲脂性的分子,15 个疏水的和芳香族氨基酸残基位于分子的一面,构成疏水区;另一面具有包含有 26 个碱性氨基酸(精氨酸和赖氨酸)的平行氨基酸链,上述这些残基占据整个分子大约 39% 的面积。sp18 则含有更多的碱性氨基酸,所占面积与 lysin 相似,但其偶极矩是 lysin 的 2 倍;sp18 含有的较少数量的疏水和芳香族氨基酸大多暴露在溶剂中,使 sp18 分子具有较大的疏水区。Lysin 和 sp18 正是存在上述特征才造成了二者结构相似,功能不同。

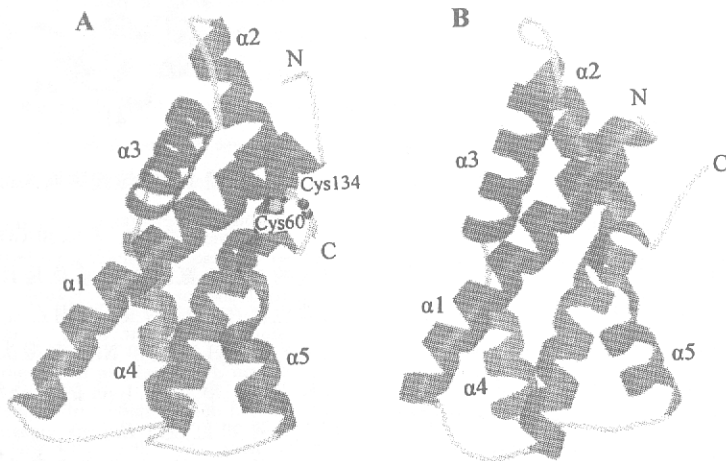


图 2 绿鲍 sp18(A)与 lysin(B)蛋白折叠方式对比^[16]

2 卵细胞膜上的细胞溶素受体(VERL)

鲍类的卵细胞由一层又厚又复杂的细胞基质包被,包括胶状物、卵黄膜和细胞表面壳等几种成分。Mozingo 等^[18]研究其超微结构发现:胶状物位于卵细胞的最外层,含有可吸引精子的化学物质,起到吸引精子

的作用,但它不负责诱导顶体反应;而卵黄膜的内含物可诱导顶体反应,该诱导过程保证了溶解蛋白在卵黄膜上的积累,从而分解卵黄膜使精子进入卵间隙与卵细胞表面接触。另外,卵细胞上还存在由大小均一的丝状物组成的网状结构(egg surface coat, ESC),该 ESC 层含有精子结合受体(VERL),它是不分支的糖蛋白,是

同细胞溶素相结合的惟一成分,具有种属特异性。鲍卵细胞膜上的 VERL 是一个不分支的杆状糖蛋白纤维分子,分子间通过氢键相连并紧密结合,相对分子量大约 1 000 ku^[19],包含了 22 个串联重复的 153 个氨基酸的序列基元,其中大约有一半的成分被糖基化。该受体的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳表明在 1 500 ~ 2 500 ku 条带间有 1 ~ 3 条银染带,这些成分来自同一个蛋白质骨架,不同的迁移率可能是蛋白水解、糖基化及带电状况不同等原因造成的,这与用电子显微镜观察到的 VERL 是长杆状大分子的结论相一致。VERL 是卵黄膜成分中一种特殊的成分,每一分子的 VERL 大约与 126 ~ 146 分子的 lysin 重复分子相结合,这表明 VERL 具有很多与 lysin 相结合的基元。

Galindo 等人^[20]研究红鲍 VERL 的 cDNA 全长序列(11 166 bp)证明,从甲硫氨酸到 VERL 重复序列开始的一段存在 42 个氨基酸残基,后面是 22 个自由的重复序列基元,每个重复包含 153 个 β -折叠型的氨基酸基序,其中重复序列 1 和 2 与 3 ~ 22 的氨基酸组成分化明显,而 3 ~ 22 的每个重复的组成几乎相同,并且后者(3 ~ 22)一般进行协同进化,而前者(1 和 2)并非如此;VERL 的最后一个重复后面跟随着 353 个非重复性的氨基酸组成的弗林蛋白酶位点(RTRR)、一个透明带区和一个疏水的 COOH-末端。

3 细胞溶素与其受体的相互作用

所有动物都存在种特异性的受精作用,即同种生物精卵结合率远高于异种。鲍的配子识别蛋白是研究精卵特异性识别的最具特征性的系统。例如有 7 种鲍共同栖息在北美海岸,它们的生境和生殖季节相互交叠,存在杂交的机会,但这些种类之间仍然保持分离状态,野生种类中很难找到杂种后代,其分子基础就是同种两性细胞之间的特异性识别与结合^[15]。

Yang、Vacquier 等人研究认为^[21],鲍细胞溶素存在于精子的顶体泡内,当精子粘附到卵黄外膜上时就诱发顶体反应,释放的 lysin 以二聚体的形式与卵黄膜相结合,随后其单聚体形式利用非酶解反应,在卵黄膜上穿一个直径为 3 μm 的小孔,精细胞就从此处穿过卵黄膜与卵细胞融合。Lysin 与 VERL 的结合显现出高度的专一性,不同种间的 lysin 表面不同的序列图距决定它对卵细胞膜的特异性识别。

如前所述,当鲍类精子粘附到卵黄外膜上时就诱发顶体反应,释放的 lysin 与 VERL 具有高度亲和性,使 VERL 纤维分子失去亲和力并分散开,形成小孔,精细胞就从此处进入与卵细胞融合;而 sp18 对卵黄膜没什么

影响,但它融合脂质的速度远大于 lysin,主要起到调节中介膜融合的作用(图 3)。不同鲍的这两种蛋白所发挥的作用有所差别,例如皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)与红鲍的 lysin 和 sp18 的作用特点就不同,皱纹盘鲍的 sp18 能溶解卵黄膜最外层;红鲍的 lysin 和 sp18 混合物有该作用,其中 sp18 可以改变红鲍卵黄膜结构,有利于 lysin 的进一步作用;这更加说明,鲍的受精作用存在特异性。

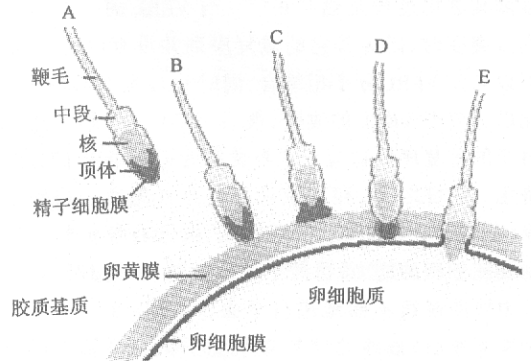


图 3 精子入卵模式图^[12]

A. 卵对精子的趋化吸引; B. 精子粘附在卵膜上; C. 顶体反应; 释放顶体内成分; D. 精子在卵膜上融一个孔, 并到达卵细胞膜; E. 两性细胞膜融合

每个细胞溶素受体(VERL)可以同很多个细胞溶素相结合,说明种间受精抑制因素不只是卵黄膜与溶解蛋白的反应,还可能存在精子对 ESC 层的粘接作用。许多研究者对鲍的精卵结构中的与精卵结合有关的结构及其作用还在进一步研究中。

4 配子识别蛋白的进化

近年来,鲍配子识别蛋白进行特异性识别的原因及其进化引起了人们的广泛关注。Vacquier 等人^[22]通过研究 7 种生境和繁殖季节相互交叠的加利福尼亚鲍,来阐明调节精卵特异性结合的分子是如何进化的。通过分析它们的线粒体 DNA 发现,有 4 种鲍于 100 ~ 200 万年前已经分化出来。他们又分析了 lysin 和 sp18 全长序列的核苷酸取代物,结果证明这两种蛋白的进化符合达尔文正向选择规律^[21,23],并且有研究证明海胆^[24]和一些腹足类动物^[25]的进化也是如此。也就是说适应性选择改变了上述两种蛋白的氨基酸序列,为了保持与相对应的卵细胞表面受体的最适结合它们才有了这种正向选择。还有研究表明^[26],lysin 和 sp18 进化速度比已发现的哺乳动物中进化最快的 γ -干扰素和细胞松弛素快 2 ~ 50 倍,并且比线粒体 DNA 进化还快。事实

上,鲍精子的 lysin 和 sp18 如同海胆的结合素一样是进化最快的蛋白之一。上述研究说明,正是配子识别蛋白基因的快速分化而形成了种间生殖的屏障。

通过研究卵细胞膜上的 VERL 可以发现上述配子识别蛋白高速进化的原因。VERL 的串联重复序列基因要进行协同进化^[27],即基因进行不平衡交换,使重复序列在同一种类内达到均质化,而在种间则分化的非常明显,这样重复序列的相似性种内就大于种间。据推测其进化过程是这样的^[28]:当 VERL 的一个重复发生点突变时,因为其它的重复杂序列并没有改变,lysin 仍可以与该 VERL 分子相结合,同时 lysin 也作出相应的变化以适应于 VERL 的改变,最后 VERL 进行协同进化使自身的重复序列适应于本身的突变以及 lysin 的适应性进化。简言之^[29],卵细胞膜的成分首先通过协同进化发生改变,对应的精子成分为了保证自身仍然具有粘附到卵细胞的能力,也做了相应的改变,这种机制不需外力协助连续不断地进行下去,并可以在一个种群当中发挥作用,最终的结果导致配子识别系统中卵子上的受体通过协同进化发生分化,而与之相结合的配基则通过正向选择进行适应性进化。Lysin 与其受体的这种共同进化使物种保持持续不断的分化,最终造成种间杂交的分子屏障。

参 考 文 献

- [1] 王如才,王昭平,张建中编著. 海水贝类养殖学. 青岛: 青岛海洋大学出版社,1993.331~348.
- [2] 李太武,聂丽萍,刘金屏等. 皱纹盘鲍消化酶的研究. 水产科学,1995a,14(5):3~7.
- [3] 李太武. 皱纹盘鲍中几种营养成分的测定. 中国海洋药物,1995b,14(1):47~48.
- [4] 李太武,丁明进,宋协民等. 鲍脓疱病致病菌——河流弧菌Ⅱ抗药机制的研究. 海洋与湖沼,1996,27(6):33~39.
- [5] 李太武,丁明进,相建海等. 皱纹盘鲍对河流弧菌Ⅱ苗免疫的研究. 海洋与湖沼,1997,28(1):27~32.
- [6] Li T W *et al.* Study on the pustule disease of abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) on the Dalian Coast. *Journal of Shellfish Research*, 1998, 17(3): 707~711.
- [7] 李太武,宁淑香,冷春玲等. 皱纹盘鲍稚鲍体内一种寄生虫的初步研究. 海洋科学,1999,2:1~2.
- [8] 李太武,徐继林,丁新等. 皱纹盘鲍消化腺的超微结构. 动物学报,2001,47(5):583~586.
- [9] 杨文新,苏秀榕,刘艳等. 皱纹盘鲍消化系统的组织学研究. 辽宁师范大学学报,2000,23(3):307~311.
- [10] 李太武,苏秀榕,杨文新等. 试述鲍类前合子生殖隔离. 辽宁师范大学学报(自然科学版),2001,24(3):298~301.
- [11] Shaw A, Meree, Vacquier V D, *et al.* The crystal structure of lysin, a fertilization protein. *Science*, 1993, 262: 1 864 ~ 1 867.
- [12] Vacquier V D. Evolution of gamete recognition protein. *Science*, 1998, 281: 1 995 ~ 1 998.
- [13] Kresge N, Vacquier V D, Stout C D. 1.35 and 2.07 Å resolution structures of the red abalone sperm lysin monomer and dimer reveal features involved in receptor. *Biological Crystallography*, 2000, D56: 34~41.
- [14] Lyon J D, Vacquier V D. Interspecies chimeric sperm lysins identify regions mediating species-specific recognition of the abalone egg vitelline envelope. *Developmental Biology*, 1999, 214: 151~159.
- [15] Kresge N, Vacquier V D, Stout C D. The high resolution crystal structure of green abalone sperm lysin: implications for species-specific binding of the egg receptor. *J Mol Biol*, 2000, 296: 1 225 ~ 1 234.
- [16] Kresge N, Vacquier V D, Stout C D. The crystal structure of a fusogenic sperm protein reveals extreme surface properties. *Biochemistry*, 2001, 40: 5 407 ~ 5 413.
- [17] Kresge N, Vacquier V D, Stout C D. Abalone lysin: the dissolving and evolving sperm protein. *Bio Essays*, 2001, 23: 95 ~ 103.
- [18] Mozingo N M, Vacquier V D, Chandler D E. Structural features of the abalone egg extracellular matrix and its role in gamete interaction during fertilization. *Mol Rep And Devel*, 1995, 41: 493~502.
- [19] Swanson W J, Vacquier V D. The abalone egg vitelline envelope receptor for sperm lysin is a giant multivalent molecule. *Proc Natl Acad Sci*, 1997, 94: 6 724 ~ 6 729.
- [20] Galindo B E, Moy G W, Swanson W J, *et al.* Full-length sequence of VERL, the egg vitelline envelope receptor for abalone sperm lysin. *Gene*, 2002, 288: 111~117.
- [21] Yang Z H, Willie J S, Vacquier V D. Maximum-likelihood analysis of molecular adaptation in abalone sperm lysin reveals variable selective pressures among lineages and sites. *Mol Biol Evol*, 2000, 17(10): 1 446 ~ 1 455.
- [22] Lee Y H, Vacquier V D. The divergence of species-specific abalone sperm lysins for promoted by positive darwinian selection. *Biol Bull*, 1992, 182: 97~104.
- [23] Lee Y H, Ota T, Vacquier V D. Positive selection is a general phenomenon in the evolution of abalone sperm lysin. *Mol Biol Evol*, 1995, 12: 231~238.
- [24] Metz E C, Robles-Sikisaki R, Vacquier V D. Positive selection and sequence rearrangements generate extensive polymorphism in the gamete recognition protein binding. *Mol Bio Evol*, 1996, 13: 397~406.

- [25] Hellberg M E, Vacquier V D. Rapid evolution of fertilization selectivity and lysin cDNA sequences in teguline gastropods. *Mol Bio Evol*, 1999, **16**(6): 839 ~ 848.
- [26] Metz E C, Roble-Sikisaki R, Vacquier V D. Nonsynonymous substitution in abalone sperm fertilization genes exceeds substitution in introns and mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 10 676 ~ 10 681.
- [27] Swanson W J, Vacquier V D. Concerted evolution in an egg receptor for a rapidly evolving abalone sperm protein. *Science*, 1998, **281**: 710 ~ 712.
- [28] Swanson W J, Vacquier V D. The rapid evolution of reproductive proteins. *Macmillan Magazines Ltd*, 2002, **3**: 137 ~ 144.
- [29] Swanson W J, Aquadro C F, Vacquier V D. Polymorphism in abalone fertilization proteins is consistent with the neutral evolution of the egg's receptor for lysin (VERL) and positive Darwinian selective of sperm lysin. *Mol Biol Evol*, 2001, **18** (3): 376 ~ 383.