

池螺蚌线粒体基因组双单性遗传现象分析

盛军庆^① 林巧惠^① 王军花^① 彭扣^① 曾柳根^{①②} 洪一江^{①*}

① 南昌大学生命科学与食品工程学院 南昌 330031; ② 南昌市农业科学院 南昌 330038

摘要: 部分双壳贝类的线粒体遗传方式不同于标准的母系遗传(SMI), 被称为双单性遗传现象(DUI)。池螺蚌(*Hyriopsis schlegelii*)是淡水双壳贝类, 是否存在双单性遗传现象? 本文采用普通PCR扩增、SHOT-GUN测序及软件拼接获得了雄性池螺蚌线粒体基因组(以下简称Hs-mtDNA)全序列, 并与本实验室已报道的雌性池螺蚌线粒体基因组全序列进行差异性分析。结果表明, 雄性和雌性Hs-mtDNA全长分别为15 961 bp和15 939 bp, 雄性比雌性长22 bp, 雌雄线粒体基因组成与排列顺序一致。各蛋白编码基因的碱基数目均一致, 碱基转换率为1.01%~7.34%, 颠换率为0.00%~0.62%, 氨基酸差异率为0.00%~9.35%; 其中, *COX1* 基因变异率为2.72%; *COX2* 基因碱基变异率最高, 达7.50%, 雄性*COX2*的3'末端没有出现编码延伸区。雄性12S rRNA基因发生5 bp的碱基转换, 差异率为0.6%; 16S rRNA基因比雌性长9 bp, 碱基差异率仅为1.2%。雌雄tRNA-His均位于H链上, 介于*COX2*与*ND3*之间, 没有出现位置的差异性。雌雄Hs-mtDNA的非编码区共有28个1~393 bp的片段, 但未见控制区。在tRNA-Glu与tRNA-Tyr间有一段长393 bp的非编码区存在蛋白质翻译功能, 但非雄性特异性蛋白。以*COX1*基因建立系统进化树, 池螺蚌和三角帆蚌(*H. cumingii*)聚在一起, 而含有双单性遗传现象的无齿蚌属的*Pyganodon grandis*、小方蚌亚科的*Venustaconcha ellipsiformis*及小方形蚌属的*Quadrula quadrula*三者雄性聚为一支, 雌性聚为一支。因此, 雌雄池螺蚌线粒体存在一定的差异性, 但其差异要比其他具有双单性遗传现象的淡水双壳类小得多, 且池螺蚌线粒体遗传可能不存在双单性遗传现象。

关键词: 池螺蚌; 线粒体基因组; 差异性分析; 双单性遗传

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2014)04-597-08

Doubly Uniparental Inheritance Analysis of Mitochondrial Genome in *Hyriopsis schlegelii*

SHENG Jun-Qing^① LIN Qiao-Hui^① WANG Jun-Hua^① PENG Kou^①
ZENG Liu-Gen^{①②} HONG Yi-Jiang^{①*}

① School of Life Sciences and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031;

② Nanchang Academy of Agricultural Science, Nanchang 330038, China

Abstract: Mitochondrial inheritance mode of some bivalves is different from standard mitochondrial inheritance (SMI), which is named doubly uniparental inheritance (DUI). *Hyriopsis schlegelii* is a freshwater bivalve, but whether it shows DUI is not known. The paper researched the complete mitochondrial genome of male *H.*

基金项目 国家公益性行业科研专项(No. 200903028), 国家自然科学基金项目(No. 31160534), 江西省科技落地计划项目(No. KJLD12001), 江西省自然科学基金项目(No. 20122BAB204016);

* 通讯作者, E-mail: yijianghong@126.com;

第一作者介绍 盛军庆, 女, 讲师; 研究方向: 水产动物遗传育种学; E-mail: shengqingjun@163.com。

收稿日期: 2013-09-24, **修回日期:** 2014-02-12

schlegelii using PCR, shot-gun sequencing technology, and analyzed DUI of mitochondrial genome of *H. schlegelii* according to the mtDNA characteristics, protein-coding genes, tRNA-His gene and the difference of non-coding region of male and female *H. schlegelii*. The results showed that the mitochondrial genome sequences of male and female contained 15 961 and 15 939 base pairs, respectively. Two mtDNA sequences contained identical genetic constitution and gene arrangement including 13 protein-coding genes, 22 transfer RNA genes, 2 ribosomal RNA genes, and 28 non-coding regions ranged from 1 to 393 bp in size. When comparing the protein-coding genes of two sequences, there was no difference in sequence length, and the ratio of transition and transversion, and amino acid differences were 1.01% – 7.34%, 0.00% – 0.62% and 0.00% – 9.35%, respectively. There was 2.72% transition and transversion of *COX1* and 7.50% of *COX2* between the male and female. There was no extra male sequence of a 3' C-terminus codon extension of *COX2*. 12S rRNA gene of male contained 5 bp transition and the ratio was only 0.6%; 16S rRNA of male was 9 bp longer than that of female and the transition ratio was 1.2%. The location of tRNA-His was the same between the male and female, which was encoded on the H strand and was located between *COX2* and *ND3*. There was no control region in non-coding regions. There were identical potential polypeptides in the non-coding regions between tRNA-Glu and tRNA-Tyr of the male and female, which were not the male-specific proteins. Constructing a molecular phylogenetic tree based on *COX1* genes using neighbor-joining methods (MEGA 4.0 software), it was showed that *H. schlegelii* and *H. cumingii* had the closest relationship than others; male *Pyganodon grandis*, *Venustaconcha ellipsiformis* and *Quadrula quadrula*, which belonged to DUI species, were monophyletic, while females were the other monophyletic. In conclusion, there is a little difference between male and female *H. schlegelii*, but the difference is much less than in other freshwater shellfish. Therefore, there is probably no DUI of mitochondrial genome in *H. schlegelii*.

Key words: *Hyriopsis schlegelii*; Mitochondrial genome; Different analysis; Doubly uniparental inheritance

动物线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 一直被认为是严格母系遗传的, 目前在双壳纲贝类中发现存在另一种特殊的 mtDNA 遗传——双单性遗传 (doubly uniparental inheritance, DUI)。这种遗传方式使后代中雌性的 mtDNA 只来自母系 (female-transmitted, F type), 与严格的母系遗传相似; 而雄性的 mtDNA 来自双亲, 在体细胞中存在 F 型 mtDNA, 在精巢中存在父系 mtDNA (male-transmitted, M type) (Heoh et al. 1991)。目前仅在海洋贝类翼形亚纲贻贝目、异齿亚纲帘蛤目和淡水贝类蚌目中发现, 这种遗传现象被认为是性别连锁的线粒体遗传, 它与性别分化存在着一定的联系 (Curole et al. 2005)。陈玲等 (2012) 对具有双单性遗传现象的背瘤丽蚌 (*Lamprotula leai*) F 型线粒体基因组进行全序列分析, 并与已报道的 6 种具有双单性遗传现象的淡水蚌类 F 型线粒体基因组进行了比较;

Chakrabarti 等 (2006) 分析了小方蚌亚科的 *Venustaconcha ellipsiformis*, 具有 555 bp 的雄性特异性 *COX2* 基因的 3' 编码延伸区, 蛋白质印迹及免疫组化分析显示该 C-末端延伸区蛋白只在雄性性腺中表达, 是该物种具有双单性遗传现象的一个典型特征。Soroka (2008) 分析背角无齿蚌 (*Anodonta woodiana*) *COX1* 基因特征, 确定背角无齿蚌具有双单性遗传现象。池螺蚌 (*Hyriopsis schlegelii*) 也属淡水贝类蚌目, 其线粒体是否也存在双单性遗传现象? 本文拟采用普通 PCR 扩增、SHOT-GUN 测序、软件拼接获得雄性池螺蚌线粒体基因组全序列, 并与雌性池螺蚌线粒体基因组全序列 (HQ641406) 进行差异性比较分析, 以期为进一步研究淡水珍珠蚌线粒体基因双单性遗传方式和种质资源保护奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集、性别鉴定及其总 DNA 的提取
池蝶蚌采自江西省抚州市国家级池蝶蚌良种场,选取性成熟且发育良好的池蝶蚌,用针管沾取少量性腺组织在显微镜下进行雌雄鉴定。取新鲜精巢组织 50 ~ 100 mg, 参照酚氯仿抽提方法提取总 DNA, 并保存于 -80℃ 备用。

1.2 线粒体全序列的 PCR 扩增及测序 在 NCBI 中查找双壳贝类线粒体全序列, 通过 Clustal W 软件比对三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii*, FJ529186)、褶纹冠蚌 (*Cristaria plicata*, FJ986302) 及其他珠蚌科物种的核苷酸

序列。在相对保守的区域, 运用 Oligo 6.0 软件设计可以覆盖池蝶蚌线粒体基因全序列的引物(表 1), 确保相邻两引物之间的重叠区域在 100 bp 以上。使用 17 对引物扩增出线粒体全长序列。PCR 反应体系为 50 μl, 含模板 DNA 100 ng, 10 × PCR 缓冲液 5 μl, 10 μmol/L 引物各 1 μl, 10 mmol/L dNTP Mix 1 μl, *rTaq* 聚合酶 2 U, 灭菌水补足至 50 μl。反应条件为 95℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 50 ~ 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳

表 1 雄性池蝶蚌线粒体基因全序列扩增所用的引物

引物 Primer	序列 Sequence(5'→3')	位置 Position
1	TGGGCTAGATTCTCACGAC	1393 - 1412
	GGCTGGTTTGGGTTTAGTTAT	2681 - 2701
2	GGCTCACCTCACAACACCAAT	2494 - 2514
	GTGGAAGTCCTTGCGGTTTTAG	3460 - 3481
3	GGCAGTAAAGTCGGATAAGT	3133 - 3152
	GCTCGTGTAAAGGTATGATAGT	4502 - 4523
4	CCAGCCCAGAAGCACAAAAGAC	4269 - 4290
	GAGGTAAGGGGAAAAGCAGCAGAT	5603 - 5626
5	GCTTTCGCTATTATCCACCTTCT	5450 - 5472
	GCTGGGTCGGTTATTCACTC	6903 - 6922
6	CCACAATAACGGGTAAAGTCCAATC	7690 - 7714
	TGGGGCTCGGTTTGTCTTCT	8983 - 9001
7	ACCCCTATTCCCCTCTTTTC	11007 - 11027
	TGTGCCATTTTCCGTGTCTC	12613 - 12633
8	AAGACCTACTCAATGCCCTACCC	13396 - 13418
	TTTGCGGTGATTATGTTCTACGA	14839 - 14861
9	CGTGGAAGGCCATATCAGGAGC	14583 - 14605
	GGGGGGAAGAAACCATGAGGAA	15723 - 15745
10	CCATAACAAACCGAGAAAGAT	15391 - 15410
	CCCCCTCATACTGCTCTAA	443 - 461
11	GCTTATCTCAACGGCTTAC	232 - 250
	AATGGGGGAGTGTTTAGAC	1532 - 1550
12	CGGATTACCAAACTCTCG	6641 - 6659
	GTGGATGGATAGTCAGTGAAC	7946 - 7966
13	CATCTCCTCGCTAACAGTC	8739 - 8757
	GGGGTTGGTGATTATTCT	10250 - 10269
14	TAACTCGCTCACAGACTT	10172 - 10190
	TTTTAGGGTGGGGTGGAGT	10733 - 10751
15	CGGTAACCACAAGTGAAAC	10658 - 10676
	AGTTGGGTGTTGAGGAGAGT	11125 - 11144
16	TACCTACGAACCCCATCAAT	12523 - 12542
	AAATAAAACCGAGCCACCT	13871 - 13889
17	AGCATCAAAAGACACCCC	13510 - 13528
	GCGACTATTCACGGGTTTGT	13890 - 13909

检测, 确认获得条带大小在 800 ~ 1 600 bp 之间的目的片段, 采用胶回收试剂盒纯化目的片段, 转入大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 感受态细胞, 筛选克隆送上海生工生物技术有限公司测序。

1.3 全序列的拼接、分析及提交 测序结果通过 BLAST 检索 (Altschul et al. 1997), 确定序列与 GenBank 中所收录的双壳类相应区段有较高同源性后, 用 Clustal X 软件 (Thompson et al. 1997) 对所得序列进行编辑和排序比对, 并用 SEAVIEW 人工手动排检, 最后使用 DNASTAR 对所得的所有序列进行拼接, 得到基因组全序列。经 Sequin 7.9 注释后提交 GenBank (Accession No. HQ641407)。

1.4 雌雄池蝶蚌线粒体基因序列比较分析 将所获得的雄性池蝶蚌线粒体基因全序列, 与雌性池蝶蚌线粒体基因全序列 (HQ641406) 进行基因特征、蛋白编码基因、tRNA-His 基因、非编码区差异性比较, 以 *COX1* 基因采用邻接法构

建系统进化树, 分析池蝶蚌线粒体遗传是否存在双单性遗传现象。

2 结果与分析

2.1 Hs-mtDNA 序列特征与蛋白质编码基因 雌雄 Hs-mtDNA 序列测序过程中未见“套峰”现象, PCR 产物具备同质性。雄性 Hs-mtDNA 全长为 15 961 bp, 雌性 Hs-mtDNA 全长为 15 939 bp (HQ641406), 雄性序列总长比雌性强 22 bp, 基因组成及排列顺序与雌性一致, 包括 13 个蛋白质基因、22 个 tRNA、2 个 rRNA 基因和 28 个长度为 1 ~ 393 bp 不等的非编码区, 除 *ND3* ~ *ND5*、*ND4L*、*ATP6*、完整的 *ATP8*、*COX1* ~ *COX3* 及 tRNA-D、tRNA-H 在 H 链编码外, 其他基因均在 L 链上编码。

雌雄 Hs-mtDNA 13 个蛋白质编码基因总长均为 11 109 bp, 编码 3 690 个氨基酸。各蛋白编码基因的碱基数目均一致, 碱基转换、颠换及编码氨基酸的差异性结果见表 2。蛋白质

表 2 池蝶蚌线粒体 13 个蛋白质编码基因雌雄间的碱基及氨基酸差异

Table 2 The nucleotide and amino acids divergence of the protein-coding genes of mitochondrial genome between male and female <i>Hyriopsis schlegelii</i>										
基因 Gene	碱基总数 Number of nucleobase (bp)	转换 Transition		颠换 Transversion		密码子第一位转换 Transition in the first codon		氨基酸 Amino acid		
		数量 Number	百分比(%) Percentage	数量 Number	百分比(%) Percentage	数量 Number	百分比(%) Percentage	总数 Number	差异数 Number of difference	差异率(%) Percentage of difference
<i>ATP6</i>	708	14	1.98	1	0.14	3	0.42	235	3	1.27
<i>ATP8</i>	162	5	3.09	1	0.62	2	1.23	53	2	3.77
<i>COX1</i>	1 542	37	2.40	5	0.32	9	0.58	513	3	0.58
<i>COX2</i>	681	50	7.34	1	0.15	11	1.61	226	8	3.54
<i>COX3</i>	780	11	1.41	0	0.00	1	0.13	259	1	0.39
<i>Cyt b</i>	1 155	33	2.86	2	0.17	5	0.43	384	4	0.10
<i>ND1</i>	897	19	2.12	1	0.11	4	0.45	298	6	2.01
<i>ND2</i>	966	19	1.97	1	0.10	3	0.31	321	3	9.35
<i>ND3</i>	357	6	1.68	0	0.00	2	0.56	118	0	0.00
<i>ND4</i>	1 347	22	1.63	2	0.15	5	0.37	448	5	1.11
<i>ND4L</i>	297	3	1.01	0	0.00	1	0.34	98	1	1.02
<i>ND5</i>	1 728	32	1.85	1	0.06	8	0.46	575	7	1.22
<i>ND6</i>	489	10	2.04	1	0.20	2	0.41	162	4	2.47

编码基因出现的碱基转换率为 1.01% ~ 7.34%, 颠换为 0.00% ~ 0.62%, 蛋白编码基因总变异率仅为 2.49%。在密码子第一位上, 转换及颠换均处于较低水平, 仅 *ND1* 和 *ND6* 出现碱基的颠换。氨基酸差异性为 0.00% ~ 9.35%, 变异率最高的为 *ND2* 基因, 最低的为 *ND3* 基因。

与雌性 Hs-mtDNA 相比, 雄性 *COX1* 基因碱基变异率为 2.72%, 出现 37 个转换位点和 5 个颠换位点(表 2)。*COX2* 基因是碱基变异率最高的基因, 达 7.5%, 出现 50 个转换位点和 1 个颠换位点, 但雌雄池蝶蚌 *COX2* 基因长度一致, 为 681 bp。且在雄性池蝶蚌 *COX2* 的 3'末端没有出现编码延伸区。

2.2 tRNA-His 基因位置 与雌性池蝶蚌一样, 雄性池蝶蚌拥有 22 个 tRNA, 长度在 61 ~ 70 bp 之间, 总长为 1 405 bp。碱基含量, A 为 34.0%、T 为 28.0%、G 为 18.6%、C 为 19.5%。雌雄间 tRNA 碱基变异率仅为 0.64%。

利用在线分析软件 tRNA-Scan vet1.21 对雌雄线粒体全基因组进行 tRNA 分析, 雌雄 Hs-mtDNA 都存在 tRNA-His 结构, 该序列在雌雄间只存在一个核苷酸的差异, 位于 H 链上, 介于 *COX2* 与 *ND3* 之间, 雌雄间没有出现位置

的差异性。

2.3 rRNA 与雌性相比, 雄性线粒体 12S rRNA 基因发生 5 bp 的碱基转换, 差异率为 0.6%, 处于低水平。雌雄 16S rRNA 基因的差异性较大, 雄性 16S rRNA 基因长度为 1 304 bp, 比雌性长 9 bp。碱基含量, T 为 24.1%、C 为 23.5%、A 为 36.6%、G 为 15.8%。总共在 16 个位点产生碱基转换, 雌性 699 bp 之后, 雄性插入 1 个 T, 1 247 bp 位置缺失一个 AT。在雄性 572 bp 后, 插入一个 TAAAAAAAAAC 序列, 形成两个 TAAAAAAAAAC 串联重复序列(图 1)。

2.4 非编码区控制区及开放阅读框 雄性线粒体 DNA 的非编码区共有 28 个 1 ~ 393 bp 的片段, 总长度为 1 341 bp, 比雌性长 12 bp。碱基含量, A 为 38.1%、T 为 25.4%、C 为 28.8%、G 为 7.7%, A + T 为 63.5%, 略高于雌性的 62.5%。非编码区多于 100 bp 的区域有 6 个, 比雌性多 1 个。在非编码区中未见控制区。

使用 NCBI 中的开放阅读框在线软件预测 393 bp 的非编码区, 其编码 87 个氨基酸残基的多肽(图 2)。利用在线软件 Predict Protein 预测其具 α 螺旋结构, 通过 NCBI 的 Blastp 功能搜索, 其与跨膜蛋白有同源性, 但同源性较



图 1 池蝶蚌雌雄线粒体 16S rRNA 基因序列碱基差异

Fig. 1 The nucleobase divergence of the 16S rRNA genes between female and male mitochondrial genome of *Hyriopsis schlegelii*

F. 雌性; M. 雄性; * 表示碱基相同; - 表示碱基缺失; □ 表示串联重复序列。
F. Female; M. Male; “*” The same nucleobase; “-” There is no nucleobase here; “□” Tandem repetitive sequence.

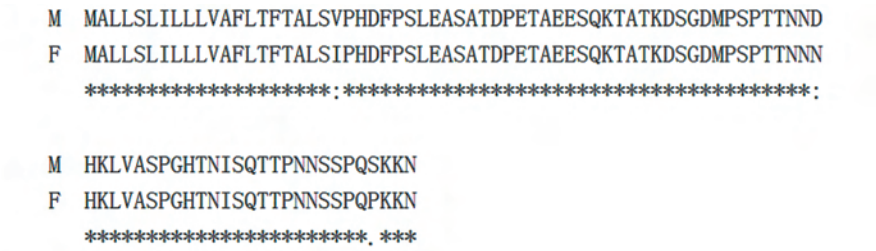


图2 雌雄池蝶蚌线粒体 tRNA-Glu 与 tRNA-Tyr 之间的非编码区推测的氨基酸序列

Fig. 2 Amino acid sequences of the potential peptides encoded by unassigned region in female and male mtDNA of *Hyriopsis schlegelii*

F. 雌性; M. 雄性; * 表示氨基酸序列相同; “:” 表示同种性质的氨基酸; “.” 表示不同种性质的氨基酸。
F. Female; M. Male; “*” The same amino acid; “:” The same properties of amino acid; “.” Not the same properties of amino acid.

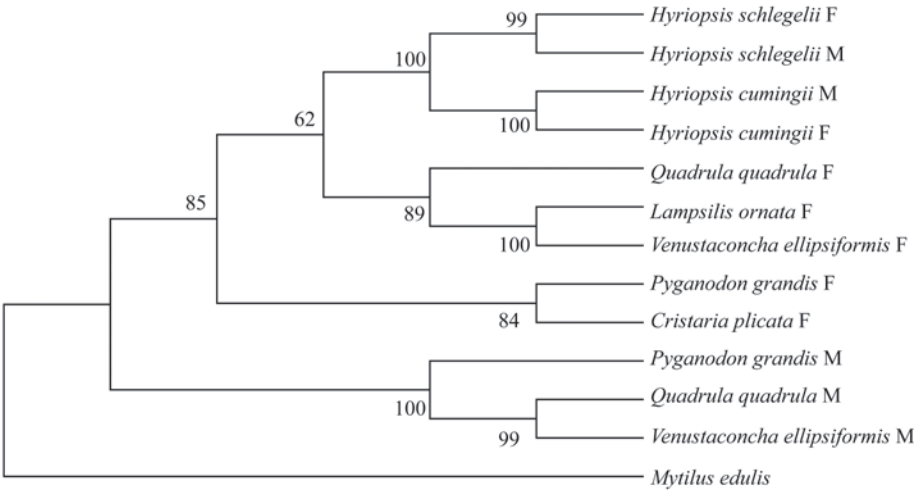


图3 基于 COX1 基因的邻接法分子系统进化树的构建

Fig. 3 Molecular phylogenetic tree based on COX1 genes was constructed by neighbor-joining method

各枝上数值表示进化枝的遗传距离。F. 雌性; M. 雄性; *Hyriopsis schlegelii*. 池蝶蚌; *Hyriopsis cumingii*. 三角帆蚌; *Quadrula quadrula*. 小方形蚌属物种; *Lampsilis ornata*. 射线佩饰真珠蚌; *Venustaconcha ellipsiformis*. 小方蚌亚科物种; *Pyganodon grandis*. 无齿蚌属物种; *Cristaria plicata*. 褶皱冠蚌; *Mytilus edulis*. 紫贻贝。
Value in every branch means genetic distance in clade. F. Female; M. Male.

低。在此区域,雌雄池蝶蚌仅有3个氨基酸序列差异。

2.5 雌雄池蝶蚌 COX1 基因系统进化 以 COX1 基因建立雌雄 Hs-mtDNA COX1 系统进化树,池蝶蚌和三角帆蚌聚在一起,而含有双单性遗传现象的小方蚌亚科的 *V. ellipsiformis*、小方形蚌属的 *Q. quadrula* 及无齿蚌属的 *P. grandis* 雄性的 COX1 基因聚为一支。

3 讨论

在海洋贝类贻贝属中具有双单性遗传的物种中, F 与 M 型线粒体间遗传变异率在 2% ~ 21% 之间,而在淡水贝类的珠蚌科, F 与 M 型线粒体间遗传变异率在 28% ~ 34% 之间 (Soroka 2008), Doucet-Beaupré 等 (2010) 认为 28% ~ 34% 的变异率是保守值,在小方蚌亚科

的 *V. ellipsiformis*、小方形蚌属 *Q. quadrula*、无齿蚌属 *P. grandis* 和古异齿亚纲日本山脊真珠蚌 (*Inversidens japonensis*) 中,发现蛋白编码基因的变异率分别为 41%、42%、43% 及 43%。本实验结果显示,雌雄 Hs-mtDNA 蛋白编码基因变异率仅为 2.49%,远远低于具有双单性遗传现象的淡水贝类珠蚌科线粒体间遗传变异率范围。

Soroka (2008) 认为存在双单性遗传现象的双壳贝类 *COX1* 有较大的差异性; Beagley 等 (1997) 在研究加州贻贝 (*M. californianus*) 的双单性遗传时发现其雌性腺线粒体的 *COX1* 片段之间变异率为 21.1%, 位正鹏等 (2009) 认为翡翠股贻贝 (*Perna viridis*) 雌雄性腺 *COX1* 基因片段变异率仅为 0.31%, 不存在双单性遗传现象。雌雄 Hs-mtDNA *COX1* 片段之间变异率较低, 仅为 2.72%, 远远低于加州贻贝。Curolle 等 (2002) 在研究珍珠蚌科物种双单性遗传现象时发现, 雄蚌具有特异的 *COX2* 基因 (*M-COX2*), 其在碳端增加了 200 bp 的核苷酸序列。具有双单性遗传现象的东亚壳菜蛤 (*Musculista senhousia*) 雄性 mtDNA 具有 2 个 *COX2* 基因 (*M-COX2a*, *M-COX2b*), 并得出 *M-COX2b* 长度为 123 bp (Passamonti et al. 2011)。尽管雌雄池螺蚌 *COX2* 基因的核苷酸存在 7.5% 的较大差异, 但两者并没有出现核苷酸和蛋白质序列长度的差异。Curolle 等 (2002) 采用 *COX2* 基因构建系统进化树, 发现具有双单性遗传现象的贝类雄性聚成一支, 雌性聚成另外一支。本研究以 *COX1* 基因构建系统进化树, 雌雄池螺蚌聚在一起, 而含有双单性遗传现象物种无齿蚌属 *P. grandis*、小方形蚌亚科 *V. ellipsiformis* 和小方形蚌属 *Q. quadrula* 的雄性聚为一支, 雌性聚为一支, 与 Curolle 等 (2002) 结果类似。因此, 从 *COX1* 和 *COX2* 基因碱基差异性及其构建的系统进化树来看, 池螺蚌线粒体可能不存在双单性遗传现象。

双单性遗传现象的贝类线粒体中, tRNA-His 基因存在着较大的位置变异。雄性珠蚌科物种的非编码区开放阅读框位于 tRNA-D 与

ND4L 之间, 雌性开放阅读框位于 tRNA-E 与 tRNA-W 之间 (Breton et al. 2009)。Doucet-Beaupré 等 (2010) 研究无齿蚌属 *P. grandis*、日本山脊真珠蚌和小方形蚌属 *Q. quadrula* 线粒体双单性遗传现象时发现, tRNA-His 在雄性线粒体中介于 *ND5* 与 *ND1* 之间, 在雌性线粒体中其位置则介于 *ND2* 与 *ND3* 之间。池螺蚌中雌雄线粒体 tRNA-His 位于 H 链上, 均介于 *COX2* 与 *ND3* 之间, 这表明池螺蚌雌雄线粒体中 tRNA-His 没有出现位置的差异性, 不具备双单性遗传现象贝类的特征。有双单性遗传现象的淡水贝类小方蚌亚科 *V. ellipsiformis*、日本山脊真珠蚌、无齿蚌属 *P. grandis* 及小方形蚌属 *Q. quadrula* 雌雄间 16S rRNA 除有长度差异外, 碱基差异性更高 (Doucet-Beaupré et al. 2010)。本研究中雌雄池螺蚌线粒体 16S rRNA 相差 9 bp, 这种差异是由于雄性池螺蚌插入了一个重复序列。Rawson 等 (1995) 研究新西兰绿唇贻贝 (*P. canaliculus*) 雌雄个体的 16S rRNA 基因片段, 其变异率小于 1%, 未见双单性遗传现象。池螺蚌 12S rRNA 碱基差异率仅为 0.6%, 16S rRNA 基因变异率仅为 1.2%, 变异率较小, 因此可能也不存在双单性遗传现象。

Breton 等 (2009) 研究小方蚌亚科 *V. ellipsiformis* 时发现, 在线粒体 DNA 中非编码区出现了雄性和雌性特异的开放阅读框, 并通过免疫印迹验证, 在繁殖期这种性别特异的蛋白分别表达于雌雄性腺中。按照 Fickett (1982) 的理论, 对池螺蚌雌雄非编码区的序列进行预测, 发现 tRNA-Glu 与 tRNA-Tyr 之间的非编码区具有蛋白翻译的功能, 分析表明该蛋白可能具有跨膜转运的功能, 但未见雌雄间具有特异性表达的氨基酸序列, 从这点可判断, Hs-mtDNA 可能不存在双单性遗传现象。

综上所述, 雌雄池螺蚌线粒体存在一定的差异性, 但其差异要比其他具有双单性遗传现象的淡水双壳类小得多, 且池螺蚌线粒体可能不存在双单性遗传现象。

参 考 文 献

- Altschul S F, Madden T L, Schäffer A A, et al. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17): 3389 – 3402.
- Beagley C T, Taylor K A, Wolstenholme D R. 1997. Gender-associated diverse mitochondrial DNA molecules of the mussel *Mytilus californianus*. *Current Genetics*, 31 (4): 318 – 324.
- Breton S, Beaupre H D, Stewart D T, et al. 2009. Comparative mitochondrial genomics of freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida) with doubly uniparental inheritance of mtDNA: Gender-specific open reading frames and putative origins of replication. *Genetics*, 183 (4): 1575 – 1589.
- Chakrabarti R, Walker J M, Stewart D T, et al. 2006. Presence of a unique male-specific extension of C-terminus to the cytochrome c oxidase subunit II protein coded by the male-transmitted mitochondrial genome of *Venusta concha ellipsiformis* (Bivalvia: Unionoidea). *FEBS Letters*, 580 (3): 862 – 866.
- Curole J P, Kocher T D. 2002. Ancient sex-specific extension of the cytochrome c oxidase II gene in bivalves and the fidelity of doubly-uniparental inheritance. *Molecular Biology and Evolution*, 19 (8): 1323 – 1328.
- Curole J P, Kocher T D. 2005. Evolution of a unique mitotype-specific protein-coding extension of the cytochrome c oxidase II gene in freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida). *Journal of Molecular Evolution*, 61 (3): 381 – 389.
- Doucet-Beaupré H, Breton S, Chapman E G, et al. 2010. Mitochondrial phylogenomics of the Bivalvia (Mollusca): searching for the origin and mitogenomic correlates of doubly uniparental inheritance of mtDNA. *BMC Evolutionary Biology*, 10 (1): 50 – 69.
- Fickett J W. 1982. Recognition of protein coding regions in DNA sequences. *Nucleic Acids Research*, 10 (17): 5303 – 5318.
- Hoeh W R, Blakley K H, Brown W M. 1991. Heteroplasmy suggests limited biparental inheritance of *Mytilus* mitochondrial DNA. *Science*, 251 (5000): 1488 – 1490.
- Passamonti M, Ricci A, Milani L, et al. 2011. Mitochondrial genomes and doubly uniparental inheritance: new insights from *Musculista senhousia* sex-linked mitochondrial DNAs (Bivalvia Mytilidae). *BMC Genomics*, 12 (2): 442.
- Rawson P D, Hilbish T J. 1995. Evolutionary relationships among the male and female mitochondrial DNA lineages in the *Mytilus edulis* species complex. *Molecular Biology and Evolution*, 12 (5): 893 – 901.
- Soroka M. 2008. Doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA in the freshwater bivalve *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionidae). *Folia Biologica*, 56 (1/2): 91 – 95.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25 (24): 4876 – 4882.
- 陈玲, 汪桂玲, 李家乐. 2012. 背瘤丽蚌 F 型线粒体基因组全序列分析. *生态学报*, 32 (8): 2420 – 2429.
- 位正鹏, 孔晓瑜, 吴相云, 等. 2009. 基于 CO I 序列的翡翠股贻贝 *Perna viridis* 线粒体遗传特性分析及其近缘种间的系统关系探讨. *热带海洋学报*, 28 (6): 72 – 78.