

10 种软骨鱼线粒体基因组特征分析

申欣^{1,2} 田美¹ 孟学平¹ 程汉良¹

(¹ 淮海工学院海洋学院, 连云港 222005)

(² 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要 综合分析了软骨鱼 10 个物种的线粒体基因组全序列, 全面揭示软骨鱼线粒体基因组的基本特征、蛋白质编码基因和差异位点等。软骨鱼 10 个物种线粒体基因组均编码后生动物标准的 37 个基因, 而且其基因排列完全相同。真鲨目和鳐形目线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因的 Ka/Ks 比值都远远低于 1 (0.019 1~0.156 4), 显示出较强的纯化(负)选择。基于线粒体基因组构建的系统发育树结果显示, 软骨鱼纲分为两支: 全头亚纲和板鳃亚纲。在板鳃亚纲内部, 鳐形目和鲛形目聚为一支; 真鲨目、鼠鲨目、须鲨目、虎鲨目和角鲨目聚为一支, 其亲缘关系为: {[(真鲨目+鼠鲨目)+须鲨目]+虎鲨目}+角鲨目。软骨鱼线粒体基因组差异位点分析表明, 在软骨鱼群体遗传的研究中, *nad5* 和 *nad4* 基因是理想的分子标记, 可以作为 *cox1* 基因辅助的分子标记, 用于分析软骨鱼不同群体之间的遗传多样性, 为其生物多样性的保护及合理利用其生物资源提供更多保障。

关键词 软骨鱼纲 线粒体基因组 系统发育 差异位点 分子标记

中图分类号 Q595.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)03-0026-07

Analysis of the characteristics of ten cartilaginous fishes mitochondrial genomes

SHEN Xin^{1,2} TIAN Mei¹ MENG Xue-ping¹ CHENG Han-liang¹

(¹ College of Marine Science, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005)

(² Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The basic characteristics of chondrichthyes mitochondrial genomes were fully revealed by comprehensive analysis of mitochondrial genomes in ten cartilaginous fishes. Mitochondrial genomes of cartilaginous fishes contain 37 standard metazoan genes and their gene order is identical. The Ka/Ks ratio of 13 mitochondrial protein-coding genes in the Carcharhiformes and Rajiformes classes is much lower than 1 (0.019 1~0.156 4), indicating a strong purifying selection (negative selection).

The phylogenetic trees based on mitochondrial genomes showed that the class Chondrichthyes is divided into two clades: the subclass Holocephali and the subclass Elasmobranchii. In-

国家自然科学基金(40906067)、江苏省“青蓝工程”人才基金(苏教师[2010]27号)、江苏省自然科学基金(BK2007066)、江苏省海洋生物技术重点建设实验室研究基金(2009HS13)和淮海工学院自然科学基金(Z2009048)共同资助

收稿日期:2010-07-05;接受日期:2010-08-14

作者简介:申欣(1981-),男,副教授,博士,主要从事海洋动物线粒体基因组学和蛋白质组学研究。E-mail:shenthin@163.com, Tel:

side the subclass Elasmobranchii, the order Rajiformes and the order Myliobatiformes were clustered as a clade, and the other five orders (Carcharhiniformes, Lamniformes, Orectolobiformes, Heterodontiformes, and Squaliformes) were clustered as another clade. The phylogenetic relationship is (((Carcharhiniformes + Lamniformes) + Orectolobiformes) + Heterodontiformes) + Squaliformes. The genetic variation analysis of main genes (13 protein coding genes and 2 ribosomal RNA genes) among cartilaginous fish species showed that *nad5* and *nad4* genes are ideal molecular markers and can be used as supplementary molecular markers to *cox1* gene, which can be used to analyze the genetic diversity among different groups and provide more basis for rational use of its biological resources.

KEY WORDS Chondrichthyes Mitochondrial genome Phylogeny Genetic different loci Molecular marker

线粒体基因组,作为核外遗传物质,具有结构简单、基因排列紧凑和严格的母系遗传等特点,在过去的十几年中已经被广泛应用于后生动物分子系统发育和群体遗传的研究(Boore *et al.* 1998; Boore 1999; Helfenbein *et al.* 2004; Dellaporta *et al.* 2006)。软骨鱼类隶属于脊索动物门 Chordata、有头动物亚门 Craniata、软骨鱼纲 Chondrichthyes。软骨鱼类包括板鳃亚纲的鲨类及其近亲鳐类及全头亚纲的银鲛类,其内骨骼全是软骨,鳍条为角质鳍条。多数软骨鱼类的肉、皮、骨、内脏均可食用;著名的“鱼翅”就是鲨鱼的鳍经过加工后制成的富含蛋白质、营养丰富的高级食品(张法忠 2003)。鲨鱼软骨中提取的药用成分,可以用于治疗心血管疾病,可抗动脉硬化和血管内斑块的形成,有抗凝血、抗肿瘤和降血脂等作用(张法忠 2003; 贺丽虹等 2005; 雷呈祥等 2007)。在 GenBank 线粒体基因组的数据库中,目前有 10 条软骨鱼的线粒体基因组。本文在 10 条软骨鱼线粒体基因组研究的基础上,全面分析软骨鱼线粒体基因组的基本特征、蛋白质编码基因、系统发育关系和差异位点等。本工作可为软骨鱼的分子系统发育及种质资源的研究提供遗传信息,软骨鱼线粒体基因组差异位点的分析也可为寻找合适的分子标记提供参考。

1 材料和方法

1.1 数据获取

从 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中检索、下载得到 10 种软骨鱼线粒体基因组全序列。分别是隶属于板鳃亚纲 Elasmobranchii、真鲨目 Carcharhiniformes 的小点猫鲨 *Scyliorhinus canicula* 和白斑星鲨 *Mustelus manazo*; 鼠鲨目 Lamniformes 的欧氏尖吻鲛 *Mitsukurina owstoni*; 须鲨目 Orectolobiformes 的条纹斑竹鲨 *Chiloscyllium plagiosum*; 虎鲨目 Heterodontiformes 的佛氏虎鲨 *Heterodontus francisci*; 鳐形目 Rajiformes 的钝头魮 *Amblyraja radiata* 和平背魮 *Okamejei kenojei*; 鳐形目 Myliobatiformes 的达氏近魮 *Plesiobatis daviesi*; 角鲨目 Squaliformes 的白斑角鲨 *Squalus acanthias* 以及隶属于全头亚纲 Holocephali 银鲛目 Chimaeriformes 的大西洋银鲛 *Chimaera monstrosa* (Cao *et al.* 1998; Delarbre *et al.* 1998; Rasmussen *et al.* 1999; Arnason *et al.* 2001; Kim *et al.* 2005)。

1.2 同义替换率(*Ks*)和非同义替换率(*Ka*)分析

一般来讲,进化速率是受稳定性(负)选择、突变和定向(正)选择控制的。为了检验选择压力对于软骨鱼(以两种真鲨目鱼类和两种鳐形目鱼类为代表)线粒体基因组的影响,线粒体基因组中 13 个蛋白质编码基因的核酸序列通过 Clustal X(Thompson *et al.* 1997)进行多重序列比对。同义替换率(*Ks*)和非同义替换率(*Ka*)通过 PAML(Yang 2007)和 DnaSP 4.10.7(Rozas *et al.* 2003)进行了估算。

1.3 系统发育分析

线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的氨基酸序列通过 Clustal X(Thompson *et al.*, 1997)进行多重序列比对。然后,通过两种方法(最大似然法和贝叶斯方法)进行系统发育重建,使用的软件分别为 PHYML 2.4(Guindon *et al.*, 2003)和 MrBayes 3.1(Ronquist *et al.*, 2003)。在最大似然法中,节点可靠性通过自展法(Bootstrap=1 000)评估(以 BPM 表示)。在贝叶斯分析中,马尔可夫链运行 1 000 000 个世代(构树频率为 1 000 代)以保证足够的时间达到收敛。把最初的 100 个树去除后,余下的 900 个树进行合议,并估算贝叶斯先验概率(以 BPP 表示)。

1.4 基因差异位点分析

以 10 种软骨鱼线粒体基因组、两种真鲨目鱼类线粒体基因组和两种鳐形目鱼类线粒体基因组作为数据群进行了基因差异位点分析。13 个蛋白质编码基因和两个核糖体 RNA 基因的核酸序列通过 Clustal X(Thompson *et al.*, 1997)进行多重序列比对。然后通过 DnaSP 4.10.7(Rozas *et al.*, 2003)分析了线粒体基因组主编码基因的差异位点和基因变异特征。

2 结果和讨论

2.1 软骨鱼线粒体基因组的特征

软骨鱼 10 个物种线粒体基因组长度介于 16 697 bp(小点猫鲨)和 18 580 bp(大西洋银鲛)之间,均值为 17 117 bp,长于硬骨鱼线粒体基因组(其均值为 16 654 bp)。10 个物种的线粒体基因组均编码后生动物标准的 37 个基因(13 个蛋白质编码基因、22 个转运 RNA 基因和两个核糖体 RNA 基因)(表 1)。10 个软骨鱼物种的线粒体基因组的基因排列相同,而且与脊椎动物线粒体基因组的原始排列完全一致。线粒体基因组主编码链的 A+T 含量最低的为 57.6%(平背魮魮),最高的为 62.6%(条纹斑竹鲨),均值为 60.6%,远高于硬骨鱼线粒体基因组的 A+T 含量(其均值为 55.1%)。软骨鱼 10 个物种线粒体基因组的基本特征见表 1。

表 1 10 种软骨鱼线粒体基因组的基本特征

Table 1 Basic features of mitochondrial genomes in 10 cartilaginous fishes

物种名称 Species	GenBank 登录号 Access No.	线粒体基因组 长度(bp) Length	基因数目 Number of genes	A+T 含量(%) Percentage of "A+T"	参考文献 Reference
<i>S. canicula</i> 小点猫鲨	NC_001950	16 697	37	62.0	Delarbre <i>et al.</i> , 1998
<i>M. manazo</i> 白斑星鲨	NC_000890	16 707	37	61.7	Cao <i>et al.</i> , 1998
<i>M. owstoni</i> 欧氏尖吻鲛	NC_011825	17 743	37	61.2	Ferrara <i>et al.</i> , 2009*
<i>C. plagiosum</i> 条纹斑竹鲨	NC_012570	16 726	37	62.6	Xie <i>et al.</i> , 2010*
<i>H. francisci</i> 佛氏虎鲨	NC_003137	16 708	37	60.1	Arnason <i>et al.</i> , 2001
<i>A. radiata</i> 钝头魮	NC_000893	16 783	37	59.7	Rasmussen <i>et al.</i> , 1999
<i>O. kenojei</i> 平背魮魮	NC_007173	16 972	37	57.6	Kim <i>et al.</i> , 2005
<i>P. daviesi</i> 达氏近魮	NC_007230	17 514	37	58.1	Chen <i>et al.</i> , 2007*
<i>S. acanthias</i> 白斑角鲨	NC_002012	16 738	37	61.2	Rasmussen <i>et al.</i> , 1999
<i>C. monstrosa</i> 大西洋银鲛	NC_003136	18 580	37	61.4	Arnason <i>et al.</i> , 2001

注: * 表示此线粒体基因组数据仅提交 GenBank 数据库,没有正式发表

2.2 软骨鱼线粒体基因组的蛋白质编码基因

在软骨鱼线粒体基因组的蛋白质编码基因中,除了 *cox1* 基因以 GTG 作为起始密码子外,其余的 12 个基因(*atp6*、*atp8*、*cob*、*cox2*、*cox3*、*nad1*、*nad2*、*nad3*、*nad4*、*nad4L*、*nad5* 和 *nad6*)均以 ATG 作为起始密码子。在

软骨鱼线粒体基因组中,6 个基因(*cob*、*cox2*、*nad1*、*nad2*、*nad3* 和 *nad4*)存在不完全的终止密码子(TA-或者 T-),其中 *nad4* 基因的终止子全部为不完全终止子“T-”;其余的 7 个基因的所有终止密码子均为完全终止密码子(TAA、TAG、AGG 或者 AGA)。软骨鱼线粒体基因组中的 5 个蛋白质编码基因(*atp6*、*atp8*、*cox3*、*nad3* 和 *nad4L*)编码氨基酸数目相同,分别为 227、55、261、116 和 98 个;其余 8 个蛋白质编码基因编码的氨基酸数目稍有差异(表 2)。软骨鱼 10 个线粒体基因组蛋白质编码基因所编码氨基酸的数目及起始、终止密码子见表 2。

表 2 10 种软骨鱼线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的氨基酸长度及起始、终止密码子

Table 2 Amino acids number, initiation and termination codons in the 13 protein-coding genes in mitochondrial genomes of 10 cartilaginous fishes

物种名称 Species		<i>atp6</i>	<i>atp8</i>	<i>cob</i>	<i>cox1</i>	<i>cox2</i>	<i>cox3</i>	<i>nad1</i>	<i>nad2</i>	<i>nad3</i>	<i>nad4</i>	<i>nad4L</i>	<i>nad5</i>	<i>nad6</i>
<i>S. canicula</i> 小点猫鲨	NO.	227	55	381	517	230	261	324	348	116	460	98	609	173
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	T-	TAA	T-	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	TAA	TAA	TAG
<i>M. manazo</i> 白斑星鲨	NO.	227	55	381	518	230	261	324	348	116	460	98	609	173
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TAG	TAA	T-	TAA	TAA	TAG	TAG	T-	TAA	TAA	AGG
<i>M. owstoni</i> 欧氏尖吻鲛	NO.	227	55	381	517	230	261	324	347	116	460	98	609	173
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TA-	TAA	T-	TAA	TAA	TA-	T-	T-	TAA	TAA	AGA
<i>C. plagiosum</i> 条纹斑竹鲨	NO.	227	55	381	518	230	261	324	348	116	459	98	612	174
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TA-	TAA	T-	TAA	TAA	TA-	T-	T-	TAA	TAA	TAA
<i>H. francisci</i> 佛氏虎鲨	NO.	227	55	381	518	230	261	325	348	116	460	98	609	169
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TAG	TAA	T-	TAA	T-	TAA	TAG	T-	TAA	TAA	TAA
<i>A. radiate</i> 钝头缸	NO.	227	55	380	518	230	261	324	348	116	460	98	611	172
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	TAA	TAA	TAA	TAG	T-	TAA	TAG	TAA
<i>O. kenojei</i> 平背鲼	NO.	227	55	380	518	232	261	324	348	116	462	98	611	172
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TAA	TAA	AGA	TAA	TAA	TAA	TAG	T-	TAA	TAA	TAG
<i>P. daviesi</i> 达氏近缸	NO.	227	55	381	516	230	261	325	347	116	460	98	607	173
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	TAA	TAA	TAA	T-	T-	TAA	TAA	TAA
<i>S. acanthias</i> 白斑角鲨	NO.	227	55	381	518	230	261	324	348	116	460	98	610	173
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	TAA	TAG	TAG
<i>C. monstrosa</i> 大西洋银鲛	NO.	227	55	381	519	230	261	323	347	116	458	98	612	173
	I codon	ATG	ATG	ATG	GTG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG
	T codon	TAA	TAA	T-	AGG	T-	TAA	TAA	TAG	T-	T-	TAA	TAA	TAA

2.3 同义替代和非同义替代

为了分析软骨鱼线粒体基因组蛋白编码基因的选择压力,统计了两种真鲨目鱼类和两种鳐形目鱼类的 13 个蛋白编码基因的同义替换率(K_s)和非同义替换率(K_a)。真鲨目和鳐形目线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因的 K_a/K_s 比值都远远低于 1(0.019 1~0.156 4),显示出较强的纯化(负)选择(图 1)。在真鲨目线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因中,*cox2* 基因的 K_a/K_s 值最低(0.019 9),其次为 *cox1* 和 *cox3* 基因,其 K_a/K_s 值分别为 0.021 2 和 0.027 1,说明这些基因承受较强的选择压力和功能束缚;而 *atp8* 基因的 K_a/K_s 值最高(0.156 4),其次为 *nad6* 和 *nad3* 基因,其 K_a/K_s 值分别达到了 0.143 2 和 0.134 8,说明这些基因的选择压力较弱。在鳐形目线粒体基因组中,*cox2* 基因的 K_a/K_s 值也是最低(0.019 1),其次为 *cob* 和 *cox1* 基因,其 K_a/K_s 值分别为 0.029 0 和 0.032 4,说明这些基因承受较强的选择压力和功能束缚;而 *cox3* 基因的 K_a/K_s 值最高(0.054 6),其次为 *nad3* 和 *nad2* 基因,其 K_a/K_s 值分别达到了 0.054 5 和 0.053 0,说明这些基因的选择压力较弱。

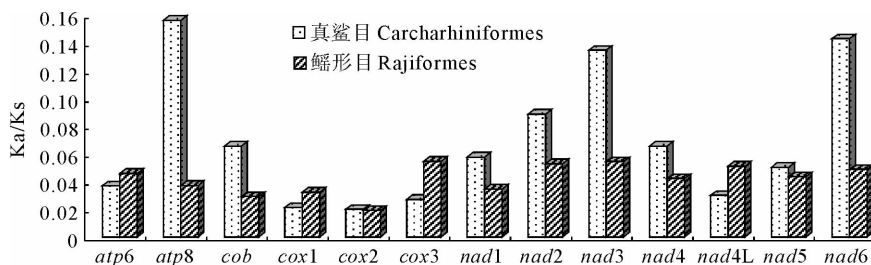


图 1 两种真鲨目和两种鳐形目鱼类线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的 Ka/Ks 分析

Fig. 1 The Ka/Ks analysis of 13 protein-coding genes in mitochondrial genomes of 2 Carcharhiniformes and 2 Rajiformes

2.4 系统发育关系分析

基于线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的氨基酸序列,通过两种方法(最大似然法和贝叶斯方法)构建的系统发育树的拓扑结构完全一致(图 2)。从系统发育树的结果可以看出,软骨鱼纲分为两支:全头亚纲和板鳃亚纲(BPP=100, BPM=100)。在板鳃亚纲内部,鳐形目和鲛形目聚为一支(BPP=100, BPM=100);真鲨目、鼠鲨目、须鲨目、虎鲨目和角鲨目聚为一支(BPP=100, BPM=100),其亲缘关系为: { [(真鲨目+鼠鲨目)+须鲨目]+虎鲨目}+角鲨目(图 2)。



0.05

注:两种系统发育重建方法得到的拓扑结构完全一致;第 1 位和第 2 位数值分别代表贝叶斯方法的先验概率和最大似然法自展值(分别以 BPP 和 BPM 表示)

图 2 基于线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的氨基酸序列构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on aligned amino acid sequences of 13 mitochondrial protein coding genes

2.5 软骨鱼线粒体基因组的差异位点分析

在种群遗传的研究中,分子标记的选择是至关重要的。以 10 种软骨鱼线粒体基因组、两种真鲨目鱼类线粒体基因组和两种鳐形目鱼类线粒体基因组作为数据群进行了基因差异位点分析。10 种软骨鱼线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因和两个核糖体 RNA 基因的差异位点分析详见表 3。 $cox1$ 基因通常被用于 Barcoding 分析和海洋生物类群的群体遗传研究(Schindel *et al.* 2005)。然而,从分析的结果可以看出,在 15 个主编码基因中, $cox1$ 基因最为保守,差异位点的比例为 39.41%。4 个基因($cox2$ 、 $cox3$ 、 $srRNA$ 和 $lrRNA$)差异位点的比例为 40%~50%;其余的 10 个基因($atp6$ 、 $atp8$ 、 cob 、 $nad1-6$ 和 $nad4L$)差异位点的比例为 50%~60%。差异位点数最多的为 $nad5$ 基因(670 个),其次为 $nad4$ 和 $cox1$,差异位点数分别达到 557 和 479 个。因此,在软骨鱼群体遗传的研究中, $nad5$ 和 $nad4$ 基因可以作为 $cox1$ 基因辅助的分子标记。

从对两种真鲨目鱼类线粒体基因组主编码基因的差异位点的分析可以看出, $srRNA$ 和 $lrRNA$ 基因最为保守,差异位点的比例分别为 10.32%和 11.84%;差异位点数最多的基因为 $nad5$ 基因(349 个),其次为 $nad4$ 和 $cox1$ 基因,差异位点数分别为 268 和 230 个(表 4)。因此,在真鲨目群体遗传的研究中, $nad5$ 和 $nad4$ 基因

可以作为 *cox1* 基因辅助的分子标记。与真鲨目线粒体基因组类似,在两种鳐形目鱼类线粒体基因组主编码基因中,*srRNA* 和 *lrRNA* 基因最为保守,差异位点的比例分别为 4.98% 和 7.59%;差异位点数最多的为 *nad5* 基因(293 个),其次为 *cox1* 和 *nad4* 基因,差异位点数分别为 218 和 204 个(表 5)。因此,在鳐形目群体遗传的研究中,*nad5* 和 *nad4* 基因可以作为 *cox1* 基因辅助的分子标记。综上所述,在软骨鱼群体遗传的研究中,*nad5* 和 *nad4* 基因是理想的分子标记,可以作为 *cox1* 基因辅助的分子标记,用于分析软骨鱼不同群体之间的遗传多样性。

表 3 10 种软骨鱼线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因和两个核糖体 RNA 基因的差异位点分析

Table 3 Analysis of different loci of 13 protein-coding genes and two ribosomal RNA gene in mitochondrial genomes of 10 cartilaginous fishes

基因名称 Gene name	<i>atp6</i>	<i>atp8</i>	<i>cob</i>	<i>cox1</i>	<i>cox2</i>	<i>cox3</i>	<i>nad1</i>	<i>nad2</i>	<i>nad3</i>	<i>nad4</i>	<i>nad4L</i>	<i>nad5</i>	<i>nad6</i>	<i>srRNA</i>	<i>lrRNA</i>
总位点数* Total number of sites	684	168	1 143	1 548	691	786	970	1 037	349	1 375	297	1 806	507	923	1 600
不变位点数 Invariable sites	334	71	552	938	407	445	466	441	162	637	124	852	213	533	952
差异位点数 Different sites	350	97	591	610	284	341	504	596	187	738	173	954	294	390	648
单现突变数 Singleton sites	100	28	160	131	81	120	140	155	55	181	48	284	80	151	232
简约位点数 Parsimony sites	250	69	431	479	203	221	364	441	132	557	125	670	214	239	416
差异位点比例(% Different/Total sites	51.17	57.74	51.71	39.41	41.10	43.38	51.96	57.47	53.58	53.67	58.25	52.82	57.99	42.25	40.50

注: * 总位点数不包含插入和缺失位点

表 4 两种真鲨目鱼类线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因和两个核糖体 RNA 基因的差异位点分析

Table 4 Analysis of different loci of 13 protein-coding genes and two ribosomal RNA gene in mitochondrial genomes of 2 Carcharhiniformes

基因名称 Gene name	<i>atp6</i>	<i>atp8</i>	<i>cob</i>	<i>cox1</i>	<i>cox2</i>	<i>cox3</i>	<i>nad1</i>	<i>nad2</i>	<i>nad3</i>	<i>nad4</i>	<i>nad4L</i>	<i>nad5</i>	<i>nad6</i>	<i>srRNA</i>	<i>lrRNA</i>
总位点数* Total number of sites	681	165	1 143	1 551	690	783	972	1 044	348	1 380	294	1 827	519	950	1 664
不变位点数 Invariable sites	554	134	916	1 321	600	673	806	821	291	1 112	230	1 478	414	852	1 467
差异位点数 Different sites	127	31	227	230	90	110	166	223	57	268	64	349	105	98	197
差异位点比例(% Different/Total sites	18.65	18.79	19.86	14.83	13.04	14.05	17.08	21.36	16.38	19.42	21.77	19.10	20.23	10.32	11.84

注: * 总位点数不包含插入和缺失位点

表 5 两种鳐形目鱼类线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因和两个核糖体 RNA 基因的差异位点分析

Table 5 Analysis of different loci of 13 protein-coding genes and two ribosomal RNA gene in mitochondrial genomes of 2 Rajiformes

基因名称 Gene name	<i>atp6</i>	<i>atp8</i>	<i>cob</i>	<i>cox1</i>	<i>cox2</i>	<i>cox3</i>	<i>nad1</i>	<i>nad2</i>	<i>nad3</i>	<i>nad4</i>	<i>nad4L</i>	<i>nad5</i>	<i>nad6</i>	<i>srRNA</i>	<i>lrRNA</i>
总位点数* Total number of sites	681	165	1 140	1 554	690	783	972	1 044	348	1 380	294	1 833	516	964	1 673
不变位点数 Invariable sites	582	146	950	1 336	605	685	816	871	298	1 176	250	1 540	441	916	1 546
差异位点数 Different sites	99	19	190	218	85	98	156	173	50	204	44	293	75	48	127
差异位点比例(% Different/Total sites	14.54	11.52	16.67	14.03	12.32	12.52	16.05	16.57	14.37	14.78	14.97	15.98	14.53	4.98	7.59

注: * 总位点数不包含插入和缺失位点

3 结论

本文在 10 个软骨鱼线粒体基因组全序列的基础上,全面分析软骨鱼线粒体基因组的基本特征、蛋白质编码基因和差异位点等。软骨鱼 10 个物种线粒体基因组长度为 16 697~18 580 bp。10 个物种的线粒体基因组均编码后生动物标准的 37 个基因,而且其基因排列完全相同。真鲨目和鳐形目线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因的 Ka/Ks 比值都远远低于 1(0.019 1~0.156 4),显示出较强的纯化(负)选择。基于线粒体基因组构建的系统发育树结果显示,软骨鱼纲分为两支:全头亚纲和板鳃亚纲(BPP=100,BPM=100)。在板鳃亚纲内部,鳐形目和鲼形目聚为一支(BPP=100,BPM=100);真鲨目、鼠鲨目、须鲨目、虎鲨目和角鲨目聚为一支(BPP=100,BPM=100),其亲缘关系为:[(真鲨目+鼠鲨目)+须鲨目]+虎鲨目+角鲨目。软骨鱼线粒体基因组差异位点分析表明,在软骨鱼群体遗传的研究中,*nad5* 和 *nad4* 基因是理想的分子标记,可以作为 *cox1* 基因辅助的分子标记,用于分析软骨鱼不同群体之间的遗传多样性,为其生物多样性的保护及合理利用其生物资源提供更多保障。

参 考 文 献

- 张法忠. 2003. 黄、渤海的软骨鱼类种类及利用价值. 特产研究, 25(3): 53~56
- 贺丽虹, 黄建华, 沈颂东, 孙少勇. 2005. 鲨鱼中的抗肿瘤活性物质及其作用机制. 海洋科学, 29(11): 63~66
- 雷呈祥, 彭武林, 马 丽. 2007. 鲨鱼软骨活性物质的研究现状. 海军医学杂志, 28(3): 279~281
- Arnason, U., Gullberg, A., and Janke, A. 2001. Molecular phylogenetics of gnathostomous(jawed) fishes: Old bones, new cartilage. Zool. Scr. 30(4): 249~255
- Boore, J. L. 1999. Animal mitochondrial genomes. Nucleic Acids Res. 27: 1 767~1 780
- Boore, J. L., and Brown, W. M. 1998. Big trees from little genomes: mitochondrial gene order as a phylogenetic tool. Curr. Opin. Genet. Dev. 8: 668~674
- Cao, Y., Waddell, P. J., Okada, N., and Hasegawa, M. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the shark *Mustelus manazo*: evaluating rooting contradictions to living bony vertebrates. Mol. Biol. Evol. 15: 1 637~1 646
- Delarbre, C., Spruyt, N., Delmarre, C., Gallut, C., Barriol, V., Janvier, P., Laudet, V., and Gachelin, G. 1998. The complete nucleotide sequence of the mitochondrial DNA of the dogfish, *Scyliorhinus canicula*. Genetics, 150: 331~344
- Dellaporta, S. L., Xu, A., Sagasser, S., Jakob, W., Moreno, M. A., Buss, L. W., and Schierwater, B. 2006. Mitochondrial genome of *Trichoplax adhaerens* supports placozoa as the basal lower metazoan phylum. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103: 8 751~8 756
- Guindon, S., and Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Syst. Biol. 52(5): 696~704
- Helfenbein, K. G., Fourcade, H. M., Vanjani, R. G., and Boore, J. L. 2004. The mitochondrial genome of *Paraspadella gotoi* is highly reduced and reveals that chaetognaths are a sister group to protostomes. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 101: 10 639~10 643
- Kim, I. C., Jung, S. O., Lee, Y. M., Lee, C. J., Park, J. K., and Lee, J. S. 2005. The complete mitochondrial genome of the rayfish *Raja porosa* (Chondrichthyes, Rajidae). DNA Seq. 16: 187~194
- Rasmussen, A. S., and Arnason, U. 1999. Phylogenetic studies of complete mitochondrial DNA molecules place cartilaginous fishes within the tree of bony fishes. J. Mol. Evol. 48: 118~123
- Ronquist, F., and Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19: 1 572~1 574
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., and Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics, 19: 2 496~2 497
- Schindel, D. E., and Miller, S. E. 2005. DNA barcoding a useful tool for taxonomists. Nature, 435: 17
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins, D. G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res. 25: 4 876~4 882
- Yang, Z. 2007. PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. Mol. Biol. Evol. 24: 1 586~1 591