

藻类线粒体 DNA 研究进展^①

张 静^② 王绪敏* 刘 涛^③ 宫庆礼^③

(中国海洋大学 青岛 266003)

(* 中国科学院北京基因组研究所 北京 101318)

摘 要 系统地研究分析了 26 种藻类线粒体 DNA(mtDNA)全基因组的结构特征,利用细胞色素 b 基因(*cob*)对应的氨基酸序列构建了 24 种藻类和 10 种高等植物的系统树,并结合国内外 mtDNA 研究成果,论述和分析了利用 mtDNA 进行藻类系统进化研究的进展。指出:藻类 mtDNA 在进化过程中分为“简化起源型”和“原始型”两种类型;根据 *cob* 基因氨基酸序列构建系统树显示,绿藻和高等植物聚为一支,而不含叶绿素 b 的红藻、褐藻等藻类聚为另一支。

关键词 线粒体 DNA, cytochrome b, 进化树, 系统进化

0 引 言

线粒体(mitochondrion)是真核生物通过氧化磷酸化途径而供能的主要细胞器,1890 年被发现(Altaman, 1890),1898 年被正式命名(Benda, 1898)^[1]。“内共生假说”认为线粒体起源于生活在有核细胞内的古细菌^[2]。

Nass 等(1963)在鸡肝细胞的线粒体中首次发现了 DNA^[3],为核外遗传物质的研究掀开了新的一页。目前在线粒体 DNA(mitochondrion DNA, mtDNA)的分子结构、密码特性、酶切图谱、基因图谱以及核苷酸序列分析等方面都进行了大量的研究。已经完成了人、牛、小鼠、大鼠、家鸡、非洲爪蟾、果蝇、海胆、鲸、海豹以及拟南芥、玉米、小麦、衣藻等动物和植物的 mtDNA 序列测定工作^[3]。mtDNA 作为动物细胞中唯一的核外遗传物质,由于其基因组结构简单,进化速率快,母系遗传和在世代传递过程中不发生重组等特性,自 20 世纪 80 年代以来成为研究群体遗传分化和追溯母系起源的一个良好材料^[4]。如宋平等(1994)比较了鲢、鳙鱼 mtDNA 的 11 种限制性内切酶图谱,发现在鲢鱼亚科鱼类的发生过程中,mtDNA 的一级结构随着鲢、鳙的分化发生了差异;兰宏等(1995)用 20 种限制性内切酶分析来自中国西南地

区的家猪与野猪的 mtDNA 群体遗传多样性,证明中国西南地区的猪起源于一个共同的祖先^[5]。在高等植物中 mtDNA 被认为与细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)有密切关系。如 Levings 和 Dewey(1976)利用限制性酶切片分析(restriction enzyme fragment analysis, REFA)技术研究玉米正常细胞质和雄性不育系细胞质 mtDNA 时发现两者的酶切图谱存在明显差异^[6]。Kadowaki 等(1986)、Mignouna 等(1987)证实了水稻的细胞质雄性不育是因 mtDNA 某些位点发生变化引起的^[7,8]。另外,在黑麦、高粱、甜菜、珍珠粟、毒麦草等植物中也得到了类似的研究结果^[9]。

对上述动植物 mtDNA 研究中的新发现,引起了国内外同行学者对 mtDNA 研究的极大兴趣。20 世纪 90 年代以来,藻类因其具有重要生态意义和经济价值受到了重视,也对其开展了类似的 mtDNA 研究工作。据美国国家生物技术信息中心(NCBI)2008 年 3 月的报道,目前,已完成线粒体全基因组测序的藻类多达有 26 种。本文对藻类 mtDNA 研究进行了综合分析和整理,就分子结构特点、基因特点等进行了比较研究,并利用细胞色素 b 基因(*cob*)对应的氨基酸序列构建了 24 种藻类和 10 种高等植物的系统树,讨论和分析了 mtDNA 在藻类系统进化中的热点和难点。

① 863 计划(2006AA10A412;2006AA09Z421)和国家自然科学基金(40606035, 40776072)资助项目。

② 女,1982 年生,硕士;研究方向:海藻遗传学。

③ 通讯作者, E-mail: qingli@vip.sina.com; liutao@ouc.edu.cn
(收稿日期:2007-10-17)

1 藻类 mtDNA 的分子结构特点

1.1 mtDNA 的分子量和构型

mtDNA 的分子量和构型在真核生物中差别很大。高等动物的 mtDNA 都是环状构型,分子量恒定在 16~19kb 之间,结构排列紧密,没有内含子。而高等植物的 mtDNA 很复杂,构型上既有环状又有线状,分子量变化范围很大,从 200kb 到 2000kb 以上,并且具有很长的基因间序列。26 种藻类的 mtDNA 分子量一般集中在 15~70kb 之间,多为共价、闭合的环状结构(见表 1)。仅有绿藻门的莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)和衣藻 *Polytomella capuana*(单细胞绿藻)的 mtDNA 为线状分子^[10,11]。Fan 等(2002)在 *Polytomella parva*(单细胞绿藻)线粒体中

发现了两种大小不同的线性 mtDNA(分子量分别为 13.5kb 和 3.5kb),这是绿藻 mtDNA 存在两种不同 DNA 分子的首次报道^[12]。

1.2 mtDNA 的碱基组成。

mtDNA 的一个突出特点是低鸟嘌呤和胞嘧啶含量(G+C 含量),相应其浮力密度和解链温度也都较低。已测定的 mtDNA 中 G+C 含量范围为 13.3%~53.2%,平均值为 38%。对比分析 26 种藻类 mtDNA 的 G+C 含量,结果显示,其 G+C 含量多集中在 20%~40% 之间,藻类 mtDNA 与其他生物相似,在核苷酸组成上偏好于 AT 编码。在褐藻门、红藻门中 G+C 含量相对恒定,而在绿藻门不同物种间的 G+C 含量差别相对较大(见表 1),绿藻门 *Polytomella capuana* mtDNA 表现出了对 GC 碱基的偏爱性,其 G+C 含量高达 57%。

表 1 藻类线粒体基因组的基本特征

门	物种	基因组大小/bp	构型	G+C%	基因含量
Chlorophyta 绿藻门	<i>Ostreococcus tauri</i> (绿枝藻纲)	44237	环状	38	78
	<i>Oltmannsiellopsis viridis</i> (绿藻纲)	56761	环状	33	63
	<i>Nephroselmis Olivacea</i> 绿肾藻	45223	环状	32	70
	<i>Pedinomonas minor</i> 小型平藻	25137	环状	22	23
	<i>Scenedesmus obliquus</i> 斜生栅藻	42781	环状	36	53
	<i>Chlamydomonas eugametos</i> 卵配衣藻	22897	环状	34	20
	<i>Prototheca wickerhamii</i> 小型无绿藻	55328	环状	25	63
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 莱茵衣藻	15758	线状	45	25
	<i>Pseudendoclonium akinetum</i> (石莼目)	95880	环状	39	94
	<i>Chara vulgaris</i> 普生轮藻	67737	环状	40	76
	<i>Polytomella capuana</i> (衣藻科)	12998	线状	57	21
	<i>Cyanidioschyzon merolae</i> (红毛菜纲)	32211	环状	27	62
	<i>Porphyra purpurea</i> 紫色紫菜	36753	环状	33	57
Rhodophyta 红藻门	<i>Chondrus crispus</i> 皱波角叉菜	25836	环状	27	51
	<i>Desmarestia viridis</i> 酸藻	39049	环状	36	68
	<i>Fucus vesiculosus</i> 墨角藻	36392	环状	34	67
Phaeophyta 褐藻门	<i>Laminaria digitata</i> 掌状海带	38007	环状	35	67
	<i>Pykaiella littoralis</i> 间囊藻	58507	环状	37	79
	<i>Dictyota dichotoma</i> 网地藻	31617	环状	36	66
	<i>Emiliania huxleyi</i> (等鞭金藻目)	29013	环状	28	48
Chrysophyta 金藻门	<i>Ochromonas danica</i> 丹麦棕鞭藻	41035	线状	26	75
	<i>Chaetosphaeridium globosum</i> 毛球藻	56574	环状	34	77
Streptophyta	<i>Chlorokybus atmophyticus</i>	201763	环状	39	89
	<i>Mesostigma viride</i>	42424		32	70
Bacillariophyta 硅藻门	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	43827	环状	30	61
	假微型海链藻				
Cryptophyta 隐藻门	<i>Rhodomonas salina</i> (红胞藻属)	48063	环状	29	73

(引自 NCBI 数据库, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, 2008 年 3 月 20 日)

1.3 mtDNA 的密码特性

动物 mtDNA 大多数使用修饰的遗传密码子,高

等植物、大多数藻类 mtDNA 使用通用遗传密码子。部分藻类中 mtDNA 的遗传密码子、反密码子及密码

识别机制与通常编码规律有所不同,具有一定的偏向性和悖离性。在通常情况下,作为终止密码子的蛋白石密码子(UGA)在小型平藻(*Pedinomonas minor*)mtDNA 里却编码色氨酸(Trp),这种悖离性被认为与 tRNA^{Trp}具有一个 UCA 反密码子有关,这个反密码子可以同时识别编码色氨酸(Trp)的密码子 UGG 以及 UGA 两种密码子^[13]。Nedelcu(2000)在斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)mtDNA 中也发现了类似现象,通常做为终止密码子的琥珀密码子(UAG)用来编码亮氨酸(Leu),而编码丝氨酸(Ser)的密码子 UCA 则作为终止密码子^[14]。

2 藻类 mtDNA 的基因特点

mtDNA 是真核生物中较简单的 DNA 分子,其遗传信息量仅为核 DNA 的几万到几十万分之一。线粒体基因组的大小与基因含量无直接关系而非编码序列的核苷酸数目相关,因此尽管各种生物的线粒体基因组大小相差悬殊,但所含的基因数目却相差不大,这与叶绿体 DNA 编码能力与其顺序长度成正比的规律不同。

真核生物 mtDNA 存在广泛的差异,从其编码能力来看,动物、真菌及一部分藻类具有较低的编码能力,而植物则明显增加。藻类线粒体基因基本上可分为两类:呼吸作用相关基因;转录和翻译相关基因。

2.1 呼吸作用相关基因

主要包括细胞色素 b 基因、细胞色素氧化酶基因、ATP 合成酶基因以及尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)脱氢酶基因、琥珀酸脱氢酶基因等。

细胞色素 b 基因(*cob*): *cob* 基因的序列在物种间相对保守,其编码产物 - 细胞色素 b(cytochrome b)是构成线粒体氧化磷酸化系统复合体 III 的蛋白质之一。莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)^[15]、酸藻(*Desmarestia viridis*)、假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)、小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)、斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)、*Ostreococcus tauri* 和 *Polytomella capuana* 的 *cob* 基因编码具有血红素的细胞色素 b,除此之外,大多数藻类中该基因编码的细胞色素 b 不含血红素辅基,这是藻类异于其他生物的一个基因编码特点。在已知的 26 种藻类中只有 *Cyanidioschyzon merolae* mtDNA 不具有 *cob* 基因。

细胞色素氧化酶基因(*cox*): 细胞色素氧化酶的功能是催化还原态细胞色素 c 被氧分子所氧化。小

型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)^[16]和 *Cyanidioschyzon merolae*^[17]等多数藻类线粒体上具有编码细胞色素氧化酶 3 个亚基的基因(*cox I*、*coxII* 和 *cox III*),而莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、卵配衣藻(*Chlamydomonas eugametos*)、小型平藻(*Pedinomonas minor*)和 *Polytomella capuana* 这 4 种藻比较例外,mtDNA 只编码细胞色素氧化酶的 *cox I*。

ATP 合成酶基因(*atp*): 生物体内几乎一切生命活动都需要通过水解 ATP 的高能磷酸键来获得能量支持,在 ATP 合成酶作用下,细胞可合成 ATP。大多数藻类 mtDNA 中都具有 *atp6*、*atp8*、*atp9* 三个基因,分别编码 ATP 合成酶 F0 亚基 6、ATP 合成酶 F0 亚基 8 和 ATP 合成酶 F0 亚基 9^[18]。而绿肾藻(*Nephroselmis olivacea*)、小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)、普生轮藻(*Chara vulgaris*)等 10 种藻类除上述 3 个基因之外还具有编码 ATP 合成酶 F1 α 亚基的 *atp1*。此外,在 *Chlorokybus atmophyticus*、*Oltmannsielopsis viridis*、*Pseudendoclonium akinetum* 和球石藻(*Emiliania huxleyi*)4 种藻中发现有编码 ATP 合成酶 F0 β 亚基的 *atp4*。莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、卵配衣藻(*Chlamydomonas eugametos*)和 *Polytomella capuana* 线粒体上不具备 ATP 合成酶基因^[15]。

NADH 脱氢酶亚基基因(*nad*): NADH 脱氢酶是参与呼吸作用的酶,在反应中与 NADH 脱氢酶牢固结合的辅基接受 NADH 上的氢原子,使氧化型的黄素单核苷酸变成还原型的黄素单核苷酸。小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)mtDNA 中具有 NADH 脱氢酶复合物的 9 个亚基基因(*nad1-nad7*, *nad4L* 和 *nad9*)。皱波角叉菜(*Chondrus crispus*)具有 NADH 脱氢酶复合物 7 个亚基的基因(*nad1 - nad6*, *nad4L*)^[19]。*Polytomella parva* 线粒体的两条线性 DNA 分别编码 NADH 脱氢酶复合物的 2 个亚基(*nad5*, *nad6*),3.5kb 的 mtDNA 只编码 *nad6*,13.5kb mtDNA 编码基因 *nad5*^[12]。

琥珀酸脱氢酶基因(*sdh*): 琥珀酸脱氢酶能使琥珀酸脱氢生成延胡索酸,并将氢离子传递给受氢体。在生物进化过程中,绝大多数真核生物编码琥珀酸脱氢酶各亚基的基因已由线粒体转移到了细胞核中,而在红藻 *Cyanidioschyzon merolae* mtDNA 上还保留了编码琥珀酸脱氢酶铁硫中心蛋白的 *sdhB*、编码琥珀酸脱氢酶细胞色素 B560 亚基的 *sdhC* 和编码琥珀酸脱氢酶疏水亚基的 *sdhD* 基因^[17];皱波角叉菜(*Chondrus crispus*)mtDNA 上也保留了 *sdhB*、*sdhC* 基因^[19]。

2.2 转录和翻译相关基因

主要包括 tRNA 基因、rRNA 基因等。

Turmel 等(1999)对小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)、莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、卵配衣藻(*Chlamydomonas eugametos*)、绿肾藻(*Nephroselmis Olivacea*)、小型平藻(*Pedinomonas minor*) mtDNA 进行了分析,认为绿藻 mtDNA 根据 rRNA 基因的组织方式以及 tRNA 基因的数目可以分为两种类型^[13]。

第一种类型是衣藻类型(*Chlamydomonas-like type*)即“简化起源型”,莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、卵配衣藻(*Chlamydomonas eugametos*)和小型平藻(*Pedinomonas minor*)属于此种类型。其 mtDNA 具有非常简化的 rRNA 基因组成,只有 2 个 rRNA 基因,即 rRNA 大亚基(large-subunit, LSU)基因和 rRNA 小亚基(small-subunit, SSU)基因, tRNA 基因数目相对也较少。这种类型的 mtDNA 基因是不连续的,如莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的线粒体 rRNA 基因被编码 tRNA 和蛋白质的基因所间隔;卵配衣藻(*Chlamydomonas eugametos*)的 LSU 编码区中插入了 I 类内含子以及编码 tRNA 和蛋白质的基因。同时这种类型的 mtDNA 序列具有较快的进化速率,进化过程中仅保留了很少的原始特征。

第二种类型是无绿藻类型(*Prototheca-like type*)即“原始型”,小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)和绿肾藻(*Nephroselmis olivacea*)属于此种类型。这种类型的 mtDNA 进化速率较慢,其 rRNA 基因是连续的,基因数目相对较多,既包括 rRNA 的大小亚基基因也包括 5S rRNA 基因,并且具有几乎一整套的 tRNA 基因(绿肾藻 mtDNA 能编码自身所需的全部 tRNA)。

Pombert 等(2006)对 *Oltmannsiellopsis viridis* 的线粒体序列进行了分析,指出这种绿藻的 mtDNA 属于“原始型”^[20],进一步证实了 Turmel mtDNA 分类方法的可靠性。Pierre 等(2006)研究了网地藻(*Dictyota dichotoma*)、墨角藻(*Fucus vesiculosus*)、酸藻(*Desmarestia viridis*) mtDNA,发现这 3 种褐藻也具有上述绿藻中“原始型”的 mtDNA 特点^[21]。这说明 mtDNA 的这种分类不仅适用于绿藻,同时也适用于其他藻类。本文结合 mtDNA 上述分类原则,通过对 26 种藻类的基因进行归纳,普生轮藻(*Chara vulgaris*)、皱波角叉菜(*Chondrus crispus*)、掌状海带(*Laminaria digitata*)、毛球藻(*Chaetosphaeridium globosum*)、间囊藻(*Pylaiella littoralis*)以及 *Mesostigma viride*、*Cyanid-*

ioschyzon merolae、*Chlorokybus atmophyticus* mtDNA 上具有 5S rRNA 基因并且 tRNA 基因数目相对较多,由此可认为上述藻类 mtDNA 也属于“原始型”。

3 藻类 mtDNA 与系统学研究

藻类具有低等性和原始性的特点,导致其可用于比较和度量生物种群差别的形态学指标较少,且藻类形态特征受环境条件和生长发育时期的影响较大,因此,有时应用经典的形态分类方法很难对藻类进行准确的鉴定,故有必要采用分子生物学方法来进行辅助鉴定。藻类 mtDNA 分子量小、结构简单,更适于进行系统进化分析,但藻类此方面的研究起步较晚。本文根据 NCBI 已发布的藻类和高等植物 *cob* 基因氨基酸序列,利用 MEGA 4.0.1 软件,用邻接法(neighbor joining, NJ)构建了系统树,结合国内外研究成果对藻类系统进化关系进行了研究分析。

3.1 藻类及陆生高等植物线粒体 *cob* 基因进化谱系

因为 mtDNA 中 *cob* 基因的保守性强,因此选取了 34 种藻类和高等植物(均为 mtDNA 测序物种)的 *cob* 基因对应氨基酸序列,构建了系统树,通过自我检验(bootstrap test)1000 次重复估计各分支的置信值(见图 1)。其中包括了 24 种藻类以及玉米(*Zea mays*)、鸭茅状摩擦禾(*Tripsacum dactyloides*)、小麦(*Triticum aestivum*)、水稻(*Oryza sativa*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、油菜(*Brassica napus*)、地钱(*Marchantia polymorpha*)、台东苏铁(*Cycas taitungensis*)、苞苴(*Chondrilla aff*)10 种高等植物。

从图 1 可以看出,研究结果可明显分为两个大类群。红藻门、褐藻门、硅藻门等不含叶绿素 b 的藻类形成一个类群,绿藻门和陆生高等植物共同形成一个类群(高等植物的苞苴除外)。其分支结构还显示了绿藻门藻类 mtDNA 在进化上具有两个分支:一条分支是以莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)、小型平藻(*Pedinomonas minor*)、斜生珊藻(*Scenedesmus obliquus*)、真配衣藻(*Chlamydomonas eugametos*)为代表的;另一分支是以绿肾藻(*Nephroselmis olivacea*)、小型无绿藻(*Prototheca wickerhamii*)等为代表的。根据 Turmel 等(1999)和 Pombert 等(2006)对上述绿藻 mtDNA rRNA 基因和 tRNA 基因数目的研究,第一个分支中的藻类皆属于“简化起源型”,其 mtDNA 中没有核糖体 5S rRNA 基因, tRNA 基因也较少。第二个

分支中的藻类属于“原始型”,其 mtDNA 中除具有核糖体大小亚基基因之外尚有 5S rRNA 基因,并且具有几乎一整套 tRNA 基因。由此可以推测,绿藻 mtDNA 在不同的进化分支上其基因组成发生了某些

变化。陆生高等植物与“原始型”的绿藻具有一个共同的祖先,而“简化起源型”的绿藻在进化主干上则与其它绿藻及高等植物分离,独立形成一个分散的类群。

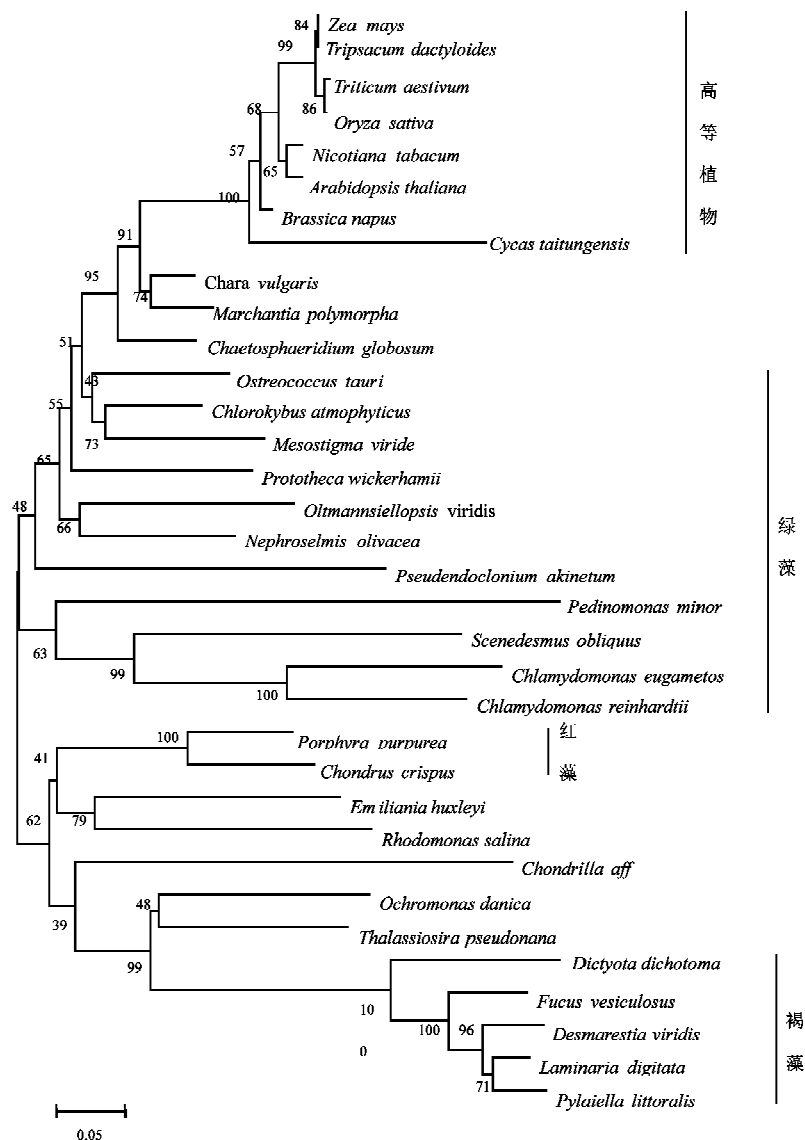


图 1 应用 NJ 法构建的 cob 基因氨基酸序列的分子系统树

3.2 绿藻 mtDNA 与系统进化

在分子系统学发展之前,就普遍认为陆生植物是由逐渐适应陆地生活的原始藻类衍生而来,但这一过程的发生途径以及系统进化关系并不十分明确。根据形态解剖学以及生长发育的研究结果,轮藻目(Charales)和 Coleochaetales 都与陆生植物具有较好的一致性^[22]。绿色植物(绿藻和陆生植物)mtDNA 在结构和分子量大小上均具有高度特异性,利用这一特点可以从线粒体角度得到结论。Turner 等通过测定轮藻纲中普生轮藻(*Chara vulgaris*)的 mtDNA 序列,并将其与甜菜(Sugar beet)、拟南芥

(*Arabidopsis thaliana*)、水稻(*Oryza sativa*)以及地钱(*Marchantia polymorpha*)、绿藻 *Chaetosphaeridium globosum*、*Mesostigma viride* 相比较,发现普生轮藻(*Chara vulgaris*)G+C 含量与陆地植物非常接近,线粒体基因编码序列与陆地植物有 90.7% 的同源性^[22],由此证实普生轮藻(*Chara vulgaris*)是藻类中与陆生植物亲缘关系最近的。本文对藻类及高等植物 cob 基因分析的系统进化结果也支持了这一结论。

3.3 红藻 mtDNA 与系统进化

红藻的起源、进化及与其它藻类的关系是藻类学研究的热点和难点之一。随着红藻 mtDNA 研究

的开展, *Chondrus crispus* (皱波角叉菜)、*Cyanidioschyzon merolae* 等红藻被认为具备独特的进化方式。例如在皱波角叉菜 mtDNA 中发现了 6 个开放阅读框, 其中有 4 个与陆生植物 mtDNA 的具有高度同源性。同时其 rRNA 小亚基基因和多数蛋白质基因在结构以及系统发生上都与陆生植物的非常相似。但皱波角叉菜 mtDNA 还具有一些与植物明显不同而与真菌类似的特征, 如基因组较小, 译码密度高, 使用修饰遗传密码子等^[19]。Ohta 等 (1998)^[17] 和 Matsuzaki 等 (2004)^[23] 对生活在酸性火山温泉极端环境中的红藻 *Cyanidioschyzon merolae* mtDNA 进行了研究, 这种超小型的原始红藻染色体由约 1652 万个碱基对组成, 细胞里只有一个线粒体和一个叶绿体, 线粒体和叶绿体中碱基对的数量分别约为 3.2 万个和 15 万个 (基因组规模在已发现的植物中最小)。 *Cyanidioschyzon merolae* 的 mtDNA 在基因含量上类似于植物, 并且有很大一部分是编码核糖体蛋白质的基因和 ORFs, 与植物 mtDNA 相同; 但其基因组织方式上却与真菌的类似, 仅有很短的基因间隔区并且没有内含子。上述红藻 mtDNA 与高等植物、真菌的均表现出一定程度的相似性, 这为进一步探究红藻起源与进化提供了线索。

线粒体分子系统学研究的很多结果也提出了红藻和绿色植物 (绿藻和高等植物) 线粒体具有相同起源的证据。Burger 等 (1995) 对红藻中的紫色紫菜 (*Porphyra purpurea*)、*Cyanidioschyzon merolae*、龙须菜 (*Gracilariopsis lemaneiformis*) 以及绿藻中的小型无绿藻 (*Prototheca wickerhamii*)、*Tetraselmis maculata* 等 mtDNA 上的 *cox I*、*cox II*、*cox III* 和 *cob* 基因进行比较分析, 提出红藻和绿藻的 mtDNA 具有共同的祖先^[24]; Leblanc 等 (1995) 分析了皱波角叉菜 (*Chondrus crispus*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、地钱 (*Marchantia polymorpha*)、小型无绿藻 (*Prototheca wickerhamii*) 线粒体上 rRNA 大小亚基基因的结构, 发现它们具有高度同源性^[19]; Ohta 等 (1998) 利用线粒体上的 *cox III* 基因构建了 *Cyanidioschyzon merolae*、皱波角叉菜 (*Chondrus crispus*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、地钱 (*Marchantia polymorpha*)、小型无绿藻 (*Prototheca wickerhamii*) 等多种植物的系统树^[16], 进一步证明了红藻、绿藻、高等植物的 mtDNA 在进化上是同源起源的。本文对 24 种藻类和 10 种高等植物的 *cob* 进化分析结果显示, 红藻和绿藻及高等植物的分支关系相对较远。现代分子系统学研究的结果显示, 采用不同的分子标记技术以及不同的基因

序列所得到的研究结果往往存在着一定的差异。其主要原因是到目前为止, 对生物的基因组进化的方式和途径仍有待于进一步深入了解。随着分子遗传学研究更深入地开展, 采用多种手段和多种分析方法相结合对分子系统学进行综合分析, 将有望更客观地揭示系统进化关系。

4 研究展望

目前 NCBI 已发布了 26 种藻类的线粒体全基因组序列, 通过对其 DNA 结构特征进行分析, 可为藻类系统的发生和演化研究提供重要的辅证。对于以形态特征无法确定具体系统关系的类群, 利用分子学数据 (基因序列) 往往可基本确定其相对的系统位置。在实际研究工作中, 应注意将不同功能或不同来源的基因序列进行比较, 并结合形态学、细胞学、地理学等各方面的证据来研究其在系统进化中的地位和亲缘关系。

对藻类 mtDNA 的深入了解和现代生物技术的发展, 将会为系统学研究提供更为丰富的数据, 进一步开展分子系统学研究将会为我们提供一个更为完整的藻类系统进化的轮廓。分子系统学的快速发展, 并不意味着可以忽略形态解剖学以及发育生物学等传统生物学研究工作。正如 Judd 所描述的, 系统学研究的问题已由“类群的系统发育是什么?”转移到“它们的形态多样性是如何产生的?”从基因序列和形态学所推导出的系统发育关系仍需要建立在比较分析的基础上, 如果要从更深层次上探讨藻类的系统发育和进化, 必须对形态特征等进行更为深刻的了解。

参考文献

- [1] 熊庆, 刘作易, 喻子牛. 线粒体 DNA 的研究与应用. 西南农业学报, 2002, 15(3): 111-115
- [2] Lang B F, Burger G, O' Kelly C J, et al. An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. *Nature*, 1997, 387(6632): 493-497
- [3] 谢志雄, 吕朝阳, 杨代淑. 动物线粒体 DNA 的结构特点及研究概况. 南都学坛, 1997, 17(3): 83-85
- [4] Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA. *Evolution of genes and protein*, 1983, 70: 1967-1971
- [5] 焦丽萍, 赵宗胜, 李大全. 家畜线粒体 DNA 研究应用概况. 草食家畜, 2000, 3(108): 16-18
- [6] Levings C S III, Pring D R. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from normal and Texas cytoplasmic male sterile maize. *Science*, 1976, 193: 158-160

- [7] Kadowaki K, Ishige T, Suzuki S. Different in the characteristics of mitochondrial DNA between normal and male sterile cytoplasms of japonica rice. *Jan J Breed*, 1986, 36:333-339
- [8] Mignouna H, Virmani S, Briguët M. Mitochondrial DNA modifications associated with cytoplasmic male sterility in rice. *Theor Appl Genet*, 1987, 74:666-669
- [9] 凌杏园, 周培疆, 朱英国. 植物细胞质雄性不育分子机理研究进展. *植物学通报*, 2000, 17(4):319-332
- [10] Gray M W, Boer P H. Organization and expression of algal (*Chlamydomonas reinhardtii*) mitochondrial DNA. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1988, 319(1193):135-47
- [11] Smith D R, Lee R W. Mitochondrial genome of the colorless green alga *Polytomella capuana*: a linear molecule with an unprecedented GC content. *Mol Biol Evol*, 2008, 25(3):487-96
- [12] Fan J, Robert W L. Mitochondrial genome of the colorless green alga *Polytomella parva*: two linear DNA molecules with homologous inverted repeat termini. *Mol Biol Evol*, 2002, 19(7):999-1007
- [13] Turmel M, Lemieux C, Burger G, et al. The complete mitochondrial DNA sequences of *Nephroselmis olivacea* and *Pedinomonas minor*: two radically different evolutionary patterns within green algae. *The Plant Cell*, 1999, (11):1717-1729
- [14] Nedelcu A M, Lee R W, Lemieux C, et al. The complete mitochondrial DNA sequence of *Scenedesmus obliquus* reflects an intermediate stage in the evolution of the green algal mitochondrial genome. *Genome Res*, 2000, 10(6):819-31
- [15] Michaelis G, Vahrenholz C, Pratje E. Mitochondrial DNA of *Chlamydomonas reinhardtii*: the gene for apocytochrome b and the complete functional map of the 15.8 kb DNA. *Mol Gen Genet*, 1990, 223(2):211-6
- [16] Wolff G, Plante I, Lang B F, et al. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the chlorophyte alga *Prototheca wickerhamii*. Gene content and genome organization. *J Mol Biol*, 1994, 237(1):75-86
- [17] Ohta N, Sato N, Kuroiwa T. Structure and organization of the mitochondrial genome of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* deduced from the complete nucleotide sequence. *Nucleic Acids Research*, 1998, 26(22):5190-5198
- [18] Denovan-Wright E M, Lee R W. Comparative analysis of the mitochondrial genomes of *Chlamydomonas eugametos* and *Chlamydomonas moewusii*. *Curr Genet*, 1992, 21(3):197-202
- [19] Leblanc C, Boyenl C, Richard O, et al. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the rhodophyte *Chondrus crispus* (Gigartinales): gene content and genome organization. *J Mol Biol*, 1995, 250:484-495
- [20] Pombert J F, Beauchamp P, Otis C, et al. The complete mitochondrial DNA sequence of the green alga *Oltmannsiellopsis viridis*: evolutionary trends of the mitochondrial genome in the Ulvophyceae. *Curr Genet*, 2006, 50:137-147
- [21] Pierre M, Secq O L, Susan G W, et al. Complete mitochondrial genomes of the three brown algae (Heterokonta: Phaeophyceae) *Dictyota dichotoma*, *Fucus vesiculosus* and *Desmarestia viridis*. *Curr Genet*, 2006, 49:47-58
- [22] Turmel M, Otis C, Lemieux C. The mitochondrial genome of *Chara vulgaris*: insights into the mitochondrial DNA architecture of the last common ancestor of green algae and land plants. *The Plant Cell*, 2003, (15):1888-1903
- [23] Matsuzaki K, Misumi O, Shin I T, et al. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red algae *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature*, 2004, 428:653-657
- [24] Burger G, Saint-Louis D, Gray M W, et al. Complete sequence of the mitochondrial DNA of the red alga *Porphyra purpurea*. Cyanobacterial introns and shared ancestry of red and green algae. *Plant Cell*, 1999, 11(9):1675-94

A review on mitochondrial DNA of algae

Zhang Jing, Wang Xumin*, Liu Tao, Gong Qingli

(Ocean University of China, Qingdao 266003)

(* Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of sciences, Beijing 101318)

Abstract

In this article, the molecular structures of 26 algae' mitochondrial genomes from the GenBank were analyzed, and a phylogenetic tree based on the amino acid sequences of the *cob* gene from 24 algae and 10 higher plants was constructed. The research status of algae mtDNA in systematic evolution was also reviewed. It points out that two distinct mitochondrial genome types have been described among the algal lineages: a reduced-derived, *Chlamydomonas*-like type and an ancestral, *Prototheca*-like type; According to the phylogenetic tree based on the amino acid sequences of *cob*, green algae and higher plants clustered into one group, while red algae, brown algae and other algae which do not contain chlorophyll b clustered into another group.

Key words: mitochondrial DNA, cytochrome b, phylogenetic tree, systematic evolution