

基因转换的分子机制及其在 nrDNA 致同进化过程中的应用研究进展

阚显照¹, 王士泉², 朱国萍¹

1. 安徽师范大学生命科学学院生物大分子进化重点实验室, 安徽芜湖 241000

2. 科技导报社, 北京 100081

[摘要] 基因转换是指同源序列之间非交互性的信息转换。基因转换现象已在原核生物及真核生物中被广泛发现。基因转换的主要作用是引起序列的转移、致同进化、抗原的变异、抗抗生素的免疫、缺口的修复等。通过对引起基因转换现象的 4 种分子重组模型(Holliday 模型、Meselson-Radding 模型、DSBR 模型和 SDSA 模型)的介绍, 探讨基因转换在 nrDNA 致同进化过程中的应用。

[关键词] 基因转换; 同源重组; 分子机制; nrDNA; 致同进化

[中图分类号] Q349.55, Q949.66

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)09-0047-05

Progress in Gene Conversion Research: Molecular Mechanisms and the Application in the Process of nrDNA Concerted Evolution

KAN Xianzhao¹, WANG Shiquan², ZHU Guoping¹

1. Key Laboratory of Bio-Micromolecular Evolution, College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, Anhui Province, China

2. Science and Technology Review Society, Beijing 100081, China

Abstract: Gene conversion is defined as a non-reciprocal transfer of information between homologous sequences and has been found in a wide variety of karyotic and eukaryotic organisms. It plays an important role in reversion, concerted evolution, antigenic variation, antibiotic resistance and gap repair. Molecular models, including Holliday model, Meselson-Radding model, DSBR model, and SDSA model, can be used to explain gene conversion. In this paper, these molecular mechanisms, as well as the role of gene conversion in the process of nrDNA concerted evolution we reviewed.

Key Words: gene conversion; homologous recombination; molecular mechanisms; nrDNA; concerted evolution

CLC Numbers: Q349.55, Q949.66

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)09-0047-05

基因转换是指同源序列之间非交互性的信息转换。Edelman 和 Gally^[1]首次提出基因转换能引起基因组中重复基因的同质化。基因转换的作用与不等交换相似, 唯一的差别是后者可以引起基因数量的增加或减少^[2]。Birky 于 1976 年开始研究利用计算机模拟基因转换的理论问题, 随后的一些研究建立和发展了致同进化的数学模型^[3-13]。基因转换现象已在原核生物和真核

生物中被广泛发现。基因转换在序列的转换、致同进化、抗原的变异、抗抗生素的免疫、缺口的修复等方面起着重要的作用。

1 基因转换的分子机制

目前有 4 种分子重组模型解释基因转换现象的机制^[14]: Holliday 模型^[15]、Meselson-Radding 模型^[16]、DSBR

收稿日期: 2007-03-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(30500300), 教育部科学技术研究重点项目(206066), 安徽省引进海外留学人才基金项目(2005Z032)

作者简介: 阚显照, 男, 安徽省芜湖市北京东路 1 号安徽师范大学生命科学学院, 讲师, 研究方向为大分子进化生物学;

E-mail: xianzhao@ibcas.ac.cn

(double-strand break repair)模型^[17]和 SDSA (synthesis-dependent strand annealing)模型^[18]。图 1^[14]给出了引起基

因转换现象的分子模型。

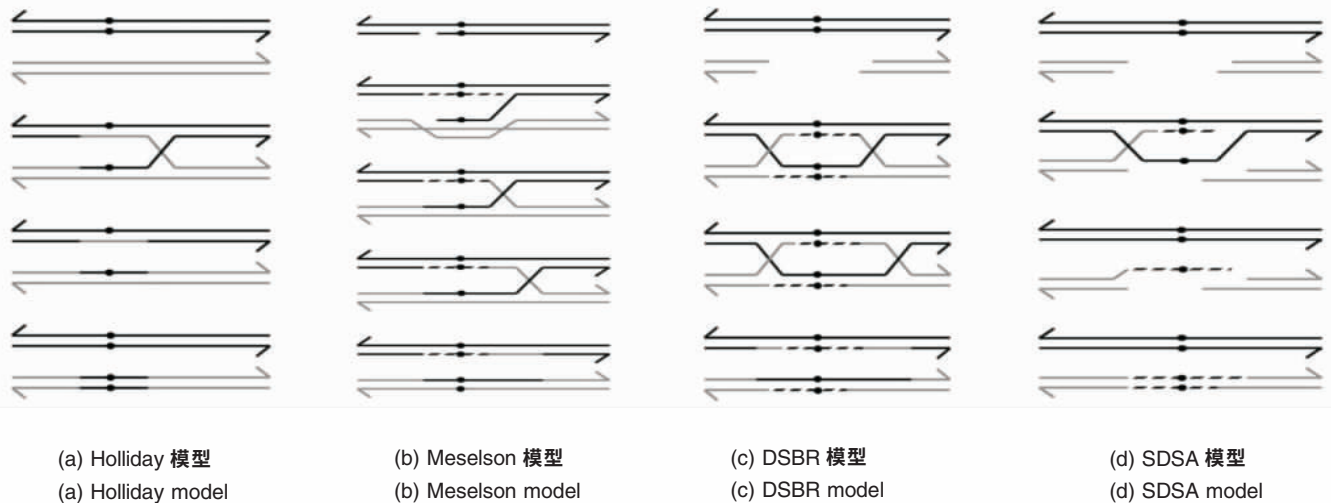


图 1 引起基因转换现象的分子模型

Fig. 1 Molecular models of recombination that explain gene conversion

1.1 Holliday 模型

Holliday 模型是第一个用杂合双链 (heteroduplex) DNA 分子解释重组的模型, 1964 年由 Holliday^[15]提出。这一模型中的关键步骤有: ① 2 个同源染色体 DNA 排列对齐, 每个染色体含 2 条姐妹染色单体; ② 每个同源染色体中的 1 条单体都在相应的位置出现单链缺口, 接着 2 个断开的平行单链部分解离, 相互插入对方的螺旋中进行单链交换; ③ 缺口处再连接起来, 通过分枝移动 (branch migration) 产生异源双链 DNA, 这个重组中间产物的一个臂旋转 180°, 形成 Holliday 结构; ④ 在特异核酸酶作用下, 对称的 Holliday 结构中的单链部分被切开, 形成 2 种产物, 单链断头连接后, 再经过对杂合双链部分的错配碱基修复 (mismatch repair), 其中一种产物为交换, 另一种为基因转换。1976 年, Potter 和 Dressler^[19]对 DNA 重组的电镜观察结果为该模型的 Holliday 结构提供了直接证据。

1.2 Meselson-Radding 模型

Meselson-Radding 模型由 Meselson 和 Radding 于 1975 年^[16]提出, 用来解释不对称杂合双链 DNA 的形成。这个模型的要点如下: ① 同源 DNA 分子中只有 1 个分子发生单链断裂, 然后以 3' 断头为引物进行 DNA 合成, 这时 5' 断头被转换出来呈单链状态; ② 单链入侵另一 DNA 分子的同源区, 造成链的置换, 形成 D 环和一小段杂合双链 DNA; ③ D 环的单链部位被降解, 插入链进行原位连接, 随着供体双链分子中 DNA 的合

成及核酸酶对受体双链分子中 D 环形成链的进一步降解, 这段有限的杂合双链 DNA 长度得到扩展; ④ 在酶促作用下, 不再产生不对称的杂合双链 DNA, 分枝迁移或异构化作用使 2 个同源染色单体 DNA 分子中的单链断头并列程控靠近, 并连接起来, 180° 旋转后形成 Holliday 结构, 分支发生类似 Holliday 模型中的解离后产生 2 种构型, 经过错配修复后其一为交换, 另一为转换。

1.3 DSBR 模型

DSBR 模型由 Szostak 等^[17]于 1983 年提出。在 DSBR 模型中, 一个 DNA 双螺旋可以做为遗传信息的供体, 通过链的交换和缺口的填充而直接取代受体中相应的序列; 作为交换过程的一部分, 当一个双螺旋的 1 条 DNA 链与另一个双螺旋的互补区发生配对进, 则产生异源双链 DNA; 当修复系统识别不匹配的碱基后, 有可能对 1 条链的不配对碱基进行切除并代之以配对的碱基, 而使互补性得以恢复。这种通过对异源双链区内不配对碱基的修复而进行基因校正的过程就是基因转换。

1.4 SDSA 模型

2001 年, Allers 和 Lichten^[18]对 DSBR 模型进行了修改, 提出 SDSA 模型 (Synthesis-Dependent Strand Annealing model)。在这个模型中, 1 条双螺旋被切开, 双链裂口被降解产生游离的 3' 端, 然后一个 3' 端入侵另一个双螺旋 DNA 分子的同源区, 并以它为模板进行 DNA 合成; 被置换的链形成 D-环, 新合成的链从入侵的双链

中移走。基因转换可通过 DNA 合成或错配修复两个途径产生,而这两个途径与交换(crossover)无关。

2 核 rDNA 的致同进化

Edelman 和 Gally 于 1970 年发现:在同一个物种内重复序列家族的成员具高度相似性;相反,来自近缘种的该家族成员有变异。他们把观察到的这种现象称为 DNA 序列协同进化(coevolution of DNA sequences)。Brown 等(1972)在研究爪蟾属(*Xenopus*)时也发现这一现象,即来自同一物种非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的核糖体 DNA 基因间区(IGS)呈现高度一致性,与来自另一物种 *X. borealis* 的相比差别很大。他们认为这种高度的种内一致性不可能通过净化选择(purifying selection)方式被保留下来,有可能通过某种机制使一个重复单元积累的突变能“水平”地扩散到同一基因家族中的其他成员,并把这种现象称为“水平进化”(horizontal evolution)。后来, Hood 等(1975)在研究抗体基因家族时把此现象称为重合进化(coincidental evolution); Zimmer 等(1980)在研究血红蛋白 α 链编码区的基因重复及缺失时,又将此现象的术语改为致同进化(concerted evolution),并得到广泛认可。综上所述,致同进化就是指由于不等交换或基因转换等机制,同一生物种内或同一基因簇内的基因复制发生序列均质化的进化过程^[2, 20-22]。

致同进化是一个非常普遍的生物学现象。从细菌到植物,再到高等哺乳动物,大多数重复基因家族都会经历致同进化过程^[23]。例如,大肠杆菌(*Escherichia coli*) K-12 株的 7 个 16S rRNA 基因序列差异仅有 0.195%,乙型流感嗜血杆菌(*Haemophilus Influenzae*) RD 株的 6 个 16S rRNA 基因完全相同,然而大肠杆菌 K-12 和乙型流感嗜血杆菌 RD 之间的 16S rRNA 基因序列差异却有 5.90%^[23-24]。

对 rRNA 基因的多项研究表明,它的多复制不是独立进化的,而是以致同的方式进化的^[25-30]。也就是说,同一个体或同一物种内 rRNA 基因簇(array)的每一个复制与其他复制间是非常相似的。当然,也有很小的差别存在于同一个体内的不同 rRNA 基因簇间,这种差别主要来自 NTS 内的长度变异。

3 基因转换在 nrDNA 致同进化中的应用

引起致同进化的分子机制主要有主-仆假说(master-slave hypothesis)^[31]、跳跃复制假说(salutatory replication hypothesis)^[31-32]、染色体不等交换(unequal crossing-over)^[33]、基因转换(gene conversion)^[22, 34, 35]、复制性

转位(duplicative transposition)^[9, 21]、复制滑脱(replication slippage)或滑链错配(slipped-strand mispairing)^[36, 37]。目前得到普遍认可的是染色体不等交换和基因转换。

3.1 原核生物 nrDNA 致同进化中的基因转换现象

基因转换机制导致 rRNA 基因致同进化现象已在多种原核生物中发现,例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)^[35]、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)^[36]、肠球菌属(*Enterococcus*)^[37]。下面以大肠杆菌和副溶血弧菌为例说明。

大肠杆菌中有 7 个操纵子(*rrn*),分别称为 A, B, C, D, E, G 和 H,位于染色体的不同位点。各种基因在 *rrn* 中的排列没有一定的规律,种类、数量和位置都不相同。3 种 rRNA 的相对位置具有一定规律,即 16S rDNA—tDNA—23S rDNA—5S rDNA—tDNA,但在某些 *rrn* 操纵子中,5S rDNA 后没有 tDNA 序列。Ammons 等^[35]在研究大肠杆菌 5S rDNA 的敲除对存活度的影响时,发现操纵子 B 上敲除了 5S rDNA 的菌株可以通过基因转换从菌株(B)DHE(B 操纵子上含有 5S rDNA)中重新获得 5S rDNA。

副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)有 11 个 rDNA 操纵子(*rrn*),其中有 10 个定位在 1 号染色体上,1 个定位在 2 号染色体上。该 VpKX 菌株的基因组分析表明,11 个 rDNA 操纵子中的 16S rDNA(*rrs*)几乎相同^[38]。但 Gonzalez-Escalona 等^[36]发现同种的 VpD 菌株却含有两种类型的 *rrs*,其中 7 个为一种类型,4 个为另一种类型,认为这是基因转换的结果。同时,他们认为不同菌株间的 *rrs* 的差别是由于先发生了基因侧向转移(lateral transfer),随后出现基因转换。

3.2 动物 nrDNA 致同进化中的基因转换现象

在疟原虫(*Plasmodium*)^[39]、杜氏利什曼原虫(*Leishmania donovani*)^[40]、蜥蜴(*Heteronotia binoei*)^[22]、蚂蝗(*Caledia Captiva*)^[41]、鲟鱼(*sturgeon*)^[42]、果蝇(*Drosophila melanogaster*)^[43]、人类^[44]等动物的 nrDNA 致同进化中发现基因转换现象。

Enea 和 Corredor^[39]比较恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*)、伯氏疟原虫(*Plasmodium berghei*)的小亚基 rDNA 时,发现这 2 个种的小亚基 rDNA 不是独立进化的,而是以致同进化的方式,引起致同进化的主要机制是基因转换。

在孤雌生殖的异源三倍体蜥蜴中的研究中,致同进化已使整个核仁组织区的 rDNA 簇纯合,而且序列总是偏向 2 个亲本中的 1 个。这些三倍体蜥蜴的历史只有几千年,只进行无性繁殖,即很少或缺乏遗传重组,而且 rDNA 的基因座数没有减少,但其中一个亲本的

rDNA 类型已经消失,说明基因转换可以在一个短得惊人的进化时间尺度内完成^[22]。

3.3 植物 nrDNA 致同进化中的基因转换现象

在植物中,除了烟草^[45]外,目前发现明显的基因转换例子还很少。黄花烟草(*Nicotiana rustica*) ($2n=4x=48$) 是一个异源四倍体,母本是圆锥烟草(*N. paniculata*) ($2n=2x=24$, P-基因组的供体),父本是带纹玛瑙烟草(*N. undulata*) ($2n=2x=24$, U-基因组的供体)。Matyasek 等发现:①母本 *N. paniculata* 有 1 个 5S 和 2 个 18S-5.8-26S rDNA 位点,父本 *N. undulata* 多一个 18S-5.8-26S rDNA 位点,而 *Nicotiana rustica* 的位点数等于父母本的总和;② *Nicotiana rustica* U-基因组上 18S-5.8-26S rDNA 的复制数在扩张,与此相对应的是 P-基因组上在减少;③ *Nicotiana rustica* 的 IGS 序列有 80% 是父本类型,20% 是母本类型。这些数据表明,在黄花烟草的异源多倍化进程中,由于父本的定向基因转换导致了 rDNA 的 IGS 区之间的致同进化。这也说明在高等植物异源多倍化进程中,基因转换可能对多复制基因家族的致同进化起一定的作用。

4 结论

真核生物基因组中的很大一部分是由一系列紧密相关的非等位 DNA 序列构成的,其中包括有编码功能的多基因家族 (gene family) 和没有编码功能的重复 DNA 序列家族。在基因家族中,研究最多的是 rRNA 基因家族。rRNA 占细胞总 RNA 的 80% 左右。作为核糖体主要成分的 rRNA 编码基因,主要分布在细胞核内的染色体上,极少数分布于 2 种细胞器中,即叶绿体和线粒体中。

通过研究基因转换的分子机制及其在 nrDNA 致同进化中的应用,对深入探讨致同进化的机理有着非常重要的理论和实践意义。

参考文献(References)

- [1] EDELMAN G M, GALLY J A. Arrangement and evolution of eukaryotic genes [M]// SCHMITT F O. Neurosciences: Second study program. New York: Rockefeller University Press, 1970: 962-972.
- [2] NEI M, ROONEY A P. Concerted and birth-and-death evolution of multigene families [J]. Ann Rev Genet, 2005, 39: 121-152.
- [3] BIRKY C W, Jr, SKAVARIL R V. Maintenance of genetic homogeneity in systems with multiple genomes[J]. Genet Res, 1976, 27: 249-265.
- [4] WALSH J B. Unusual behaviour of linkage disequilibrium in two-locus gene conversion models [J]. Genet Res, 1988, 51: 55-58.
- [5] WALSH J B. Persistence of tandem arrays: implications for satellite and simple-sequence DNAs [J]. Genetics, 1987, 115: 553-567.
- [6] WALSH J B. Selection and biased gene conversion in a multigene family: Consequences of interallelic bias and threshold selection[J]. Genetics, 1986, 112: 699-716.
- [7] OHTA T. On the gene conversion model as a mechanism for maintenance of homogeneity in systems with multiple genomes[J]. Genet Res, 1977, 30: 89-91.
- [8] OHTA T. Actual number of alleles contained in a multigene family[J]. Genet Res, 1986, 48: 119-123.
- [9] OHTA T. A model of duplicative transposition and gene conversion for repetitive DNA families[J]. Genetics, 1985, 110: 513-524.
- [10] OHTA T. Some models of gene conversion for treating the evolution of multigene families [J]. Genetics, 1984, 106: 517-528.
- [11] NAGYLAKEI T. Gene conversion, linkage, and the evolution of repeated genes dispersed among multiple chromosomes[J]. Genetics, 1990, 126: 261-276.
- [12] KAPLAN N L, HUDSON R R. On the divergence of genes in multigene families [J]. Theo Pop Biol, 1987, 31: 178-194.
- [13] BASTEN C J, WEIR B S. Effect of gene conversion on variances of digenic identity measures[J]. Theo Pop Biol, 1990, 38: 125-148.
- [14] SANTOYO G, ROMERO D. Gene conversion and concerted evolution in bacterial genomes[J]. FEMS Microbiol Rev, 2005, 29: 169-183.
- [15] HOLLIDAY R. A mechanism for gene conversion in fungi [J]. Genet Res, 1964(5): 282-304.
- [16] MESELSON M S, RADDING C M. A general model for genetic recombination [J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1975, 72: 358-361.
- [17] SZOSTAK J W, ORR-WEAVER T L, ROTHSTEIN R J, et al. The double-strand-break repair model for recombination[J]. Cell, 1983, 33: 25-35.
- [18] ALLERS T, LICHTEN M. Differential timing and control of noncrossover and crossover recombination during meiosis[J]. Cell, 2001, 106: 47-57.
- [19] POTTER H, DRESSLER D. On the mechanism of genetic recombination: electron microscopic observation of recombination intermediates [J]. Proc Natl Acad Sci, USA, 1976, 73: 3000-3004.

- [20] ALVAREZ I, WENDEL J F. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2003, 29: 417–434.
- [21] DOVER G. Molecular drive: A cohesive mode of species evolution[J]. *Nature*, 1982, 299: 111–117.
- [22] HILLIS D M, MORITZ C, PORTER C A, *et al*. Evidence for biased gene conversion in concerted evolution of ribosomal DNA[J]. *Science*, 1991, 251: 308–310.
- [23] LIAO D. Concerted evolution: Molecular mechanism and biological implications [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64: 24–30.
- [24] BLATTNER F R, PLUNKETT G, BLOCH C A, *et al*. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12[J]. *Science*, 1997, 277: 1453–1474.
- [25] SCHLOTTERER C, HAUSER M T, VON HAESELER A, *et al*. Comparative evolutionary analysis of rDNA ITS regions in *Drosophila* [J]. *Mol Biol Evol*, 1994, 11: 513–522.
- [26] KRYSTAL M, D'EUSTACHIO P, RUDDLE F H, *et al*. Human nucleolus organizers on nonhomologous chromosomes can share the same ribosomal gene variants [J]. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1981, 78: 5744–5748.
- [27] DOVER G, COEN E. Springcleaning ribosomal DNA: A model for multigene evolution [J]. *Nature*, 1981, 290: 731–732.
- [28] COEN E, STRACHAN T, DOVER G. Dynamics of concerted evolution of ribosomal DNA and histone gene families in the *melanogaster* species subgroup of *Drosophila*[J]. *J Mol Biol*, 1982, 158: 17–35.
- [29] COEN E S, DOVER G A. Unequal exchanges and the coevolution of X and Y rDNA arrays in *Drosophila melanogaster*[J]. *Cell*, 1983, 33: 849–855.
- [30] ARNHEIM N, KRYSTAL M, SCHMICKEL R, *et al*. Molecular evidence for genetic exchanges among ribosomal genes on nonhomologous chromosomes in man and apes [J]. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1980, 77: 7323–7327.
- [31] CALLAN H G. The organization of genetic units in chromosomes[J]. *J Cell Sci*, 1967(2): 1–7.
- [32] BUONGIORNO-NARDELLI M, AMALDI F, LAVA-SANCHEZ P A. Amplification as a rectification mechanism for the redundant rRNA genes [J]. *Nat New Biol*, 1972, 238: 134–137.
- [33] LEVINSON G, GUTMAN G A. Slipped-strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution [J]. *Mol Biol Evol*, 1987(4): 203–221.
- [34] DOVER G A. DNA turnover and the molecular clock[J]. *J Mol Evol*, 1987, 26: 47–58.
- [35] AMMONS D, RAMPERSAD J, FOX G E. 5S rRNA gene deletions cause an unexpectedly high fitness loss in *Escherichia coli*[J]. *Nucl Acids Res*, 1999, 27: 637–642.
- [36] GONZALEZ-ESCALONA N, ROMERO J, ESPEJO R T. Polymorphism and gene conversion of the 16S rRNA genes in the multiple rRNA operons of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, 246: 213–219.
- [37] BOTINA S G, SUKHODOLETS V V. Speciation in bacteria: Comparison of the 16S rRNA gene for closely related *Enterococcus* species [J]. *Genetika*, 2006, 42: 325–330.
- [38] MAKINO K, OSHIMA K, KUOKAWA K, *et al*. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: A pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae* [J]. *Lancet*, 2003, 361: 743–749.
- [39] ENEA V, CORREDOR V. The evolution of plasmodial stage-specific rRNA genes is dominated by gene conversion[J]. *J Mol Evol*, 1991, 32: 183–186.
- [40] YAN S, LODES M J, FOX M, *et al*. Characterization of the *Leishmania donovani* ribosomal RNA promoter [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1999, 103: 197–210.
- [41] ARNOLD M L, CONTRERAS N, SHAW D D. Biased gene conversion and asymmetrical introgression between subspecies[J]. *Chromosoma*, 1988, 96: 368–371.
- [42] ROBLES F, DE LA HERRAN R, LUDWIG A, *et al*. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in the ancient fish sturgeon [J]. *Genome*, 2005, 48: 18–28.
- [43] BENEVOLENSKAYA E V, KOGAN G L, TULIN A V, *et al*. Segmented gene conversion as a mechanism of correction of 18S rRNA pseudogene located outside of rDNA cluster in *D. melanogaster*[J]. *J Mol Evol*, 1997, 44: 646–651.
- [44] CABURET S, CONTI C, SCHURRA C, *et al*. Human ribosomal RNA gene arrays display a broad range of palindromic structures[J]. *Genome Res*, 2005, 15: 1079–1085.
- [45] MATYASEK R, LIM K Y, KOVARIK A, *et al*. Ribosomal DNA evolution and gene conversion in *Nicotiana rustica* [J]. *Heredity*, 2003, 91: 268–275.

(责任编辑 李慧政)