

太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族的系统发生分析

于雪, 于红, 孔令锋, 李琪

中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003

摘要: 文章利用生物信息学方法对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas* Thunberg)酪氨酸酶基因家族的氨基酸序列特征、分类及系统发生进行了分析。结果表明, 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族在进化过程中存在基因扩张现象, 其主要方式是基因重复。太平洋牡蛎酪氨酸酶可分为3种类型: 分泌型 (Type A), 胞内型 (Type B)和具跨膜结构域型 (Type C)。根据太平洋牡蛎酪氨酸酶进化树分析, 发现 Type A 酪氨酸酶中, tyr18 与其他 Type A 酪氨酸酶分化较大, 可能是较早分化出来的酪氨酸酶; Type B 酪氨酸酶中的 tyr2 和 tyr9 以及 Type C 中的 tyr8 为较早分化出的酪氨酸酶。系统发生树分析发现太平洋牡蛎酪氨酸酶的聚类受酪氨酸酶类型以及基因位置的影响, 其分泌型酪氨酸酶首先与头足类分泌型酪氨酸酶聚在一起, 然后与线形动物门分泌型酪氨酸酶聚在一起, 与腔肠动物门分泌型酪氨酸酶分化明显。太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶自身分化较大, 总体上与线性动物门、其他软体动物胞内型酪氨酸酶聚为一支, 与扁形动物门、脊索动物门、腔肠动物门胞内型酪氨酸酶分化较大。太平洋牡蛎具跨膜结构域型酪氨酸酶与扁形动物门、环形动物门以及脊索动物门具跨膜结构域型酪氨酸酶分化明显, 与合浦珠母贝具跨膜结构域型酪氨酸酶聚为一支。这表明双壳类的 Type C 型酪氨酸酶与其他物种的同源酶的进化差异较大。文章首次探讨了太平洋牡蛎酪氨酸酶家族分类、分化及系统发生, 以期对太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族的理论研究和实际应用提供依据。

关键词: 太平洋牡蛎; 酪氨酸酶; 分类; 系统发生

Phylogenetic analysis of tyrosinase gene family in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg)

Xue Yu, Hong Yu, Lingfeng Kong, Qi Li

Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract: The deduced amino acid sequence characteristics, classification and phylogeny of tyrosinase gene family in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg) were analyzed using bioinformatics methods. The results showed that gene duplication was the major cause of tyrosinase gene expansion in the Pacific oyster. The tyrosinase gene family in the Pacific oyster can be further classified into three types: secreted form (Type A), cytosolic form (Type B) and membrane-bound form

收稿日期: 2013-10-28; 修回日期: 2013-12-02

基金项目: 国家高技术研究发展规划(863计划)项目(编号: 2012AA10A405-6)和国家自然科学基金项目(编号: 31372524)资助

作者简介: 于雪, 硕士研究生, 专业方向: 贝类遗传育种学。E-mail: yuxueqd@gmail.com

通讯作者: 李琪, 教授, 博士生导师, 研究方向: 水产动物遗传育种学。E-mail: qili66@ouc.edu.cn

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2014.0135

网络出版时间: 2014-1-6 11:47:27

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20140106.1147.002.html>

(Type C). Based on the topology of the phylogenetic tree of the Pacific oyster tyrosinases, among Type A isoforms, tyr18 seemed divergent from other Type A tyrosinases early, while tyr2 and tyr9 appeared divergent early in Type B. In Type C tyrosinases, tyr8 was divergent early. The cluster of the Pacific oyster tyrosinases determined by their classifications and positions in the scaffolds. Further analysis suggested that Type A tyrosinases of *C. gigas* clustered with those from cephalopods and then with nematodes and cnidarians. Type B tyrosinases were generally clustered with the same type of tyrosinases from molluscas and nematodes, and then with those from platyhelminths, cnidarians and chordates. Type A tyrosinases in the Pacific oyster and the Pearl oyster expanded independently and were divergent from membrane-bound form of tyrosinases in chordata, platyhelminthes and annelida. These observations suggested that Type C tyrosinases in the bivalve had a distinct evolution direction.

Keywords: *Crassostrea gigas*; tyrosinase; classification; phylogeny

酪氨酸酶是含铜金属酶, 广泛分布于微生物、动物、植物及人体中, 是黑色素生物合成的关键酶, 可以催化两个反应: 催化 L-酪氨酸羟基化转变为 L-多巴和氧化 L-多巴形成多巴醌, 多巴醌经过一系列反应后形成黑色素^[1,2]。黑色素合成在生物体中具有重要的生理功能, 人类遗传病如白化病、白癜风、耳聋都与黑色素合成中的一个或多个相关基因的突变有关^[3]。酪氨酸酶在无脊椎动物先天免疫防御中也起着重要的作用^[4,5]。酪氨酸酶还参与昆虫蜕皮后角质的硬化以及软体动物卵囊、足丝、角质层的形成等多种生理反应^[6-10]。

目前, 软体动物中关于酪氨酸酶的研究主要集中在基因克隆、分离和酶活性分析等方面^[8,9,12-15], 关于酪氨酸酶进化方面的分析较少。通过对后生动物酪氨酸酶的进化分析, 根据系统进化树拓扑结构, 可将酪氨酸酶分为刺胞动物和原肢类酪氨酸酶、头索和半索动物酪氨酸酶类似蛋白、脊索动物酪氨酸酶家族和酪氨酸酶相关蛋白^[2]。大部分后生动物中, 不同物种的酪氨酸酶和酪氨酸酶类似蛋白存在独立的基因扩张现象^[2]。Felipe 等^[16]根据组氨酸排列顺序将酪氨酸酶分为 α 亚型、 β 亚型、 γ 亚型, 并认为 α 亚型是最原始类型。然后经过两次复制: 第一次复制, 早于单纤毛真核生物的分化, 分化出了 β 亚型即胞内型; 第二次复制, 早于动物的分化, 分化出 γ 亚型即跨膜结构域型。分化出的多细胞真核生物中有酪氨酸酶亚型缺失现象, 即一种或两种亚型缺失, 留下的亚型进行线性扩张^[16]。以上均是针对不同物种酪氨酸酶基因家族的系统进化研究, 但是对某个物种中线性扩张的酪氨酸酶基因家族的研究还未见报

道。例如, 合浦珠母贝(*Pinctadafucata* Gould)中已发现并克隆了 3 个酪氨酸酶基因^[8,9], 但这些酪氨酸酶的类型以及与其他物种酪氨酸酶的进化关系等问题仍然有待探索。

太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas* Thunberg)亦称长牡蛎, 隶属软体动物门双壳纲(Bivalvia), 是世界上养殖范围最广、养殖产量最大的经济贝类。根据 FAO 统计, 2011 年太平洋牡蛎世界总产量达到 63.7 万吨 (<http://www.fao.org/fishery/species/3514/en>)。2012 年, 太平洋牡蛎基因组测序完成, 共发现 26 个酪氨酸酶基因, 存在基因扩张现象^[11]。

本研究对相关数据库中的太平洋牡蛎和其他一些物种的酪氨酸酶序列进行收集整理、同源比对以及聚类分析, 探讨了太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族的分类、演化, 旨在为太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族的理论研究和实际应用提供基础资料, 为软体动物酪氨酸酶家族的深入研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 酪氨酸酶氨基酸序列的获取

太平洋牡蛎酪氨酸酶 tyr19 基因序列已由本实验室克隆获得(于雪, 未发表), 其余酪氨酸酶基因序列从太平洋牡蛎基因组数据库(<http://www.oysterdb.cn/>)下载获得。合浦珠母贝酪氨酸酶基因序列从其基因组数据库(<http://marinegenomics.oist.jp/genomes/>)下载获得, 其他分别隶属于脊索动物门、软体动物门、环节动物门、扁形动物门、线虫动物门和腔肠动物门的 17 个物种的酪氨酸酶从 NCBI 下载获得, 相关信息见表 1。

表 1 序列来源及登录号

分类	物种 ^a	基因名称	登录号	基因种类
脊索动物门 Chordata	小家鼠(<i>Mu smusculus</i>) (Linnaeus, 1758)	<i>M. musculus tyr1</i>	NP_035791.1	Type C
		<i>M. musculus tyr2</i>	NP_112479.1	Type C
		<i>M. musculus tyr3</i>	NP_034154.2	Type C
	非洲爪蛙(<i>Xenopus (silurana) tropical</i>) (Gray, 1864)	<i>X. tropicalis tyr1</i>	NP_001017161.1	Type C
		<i>X.tropicalis tyr2</i>	NP_001016476.1	Type C
		<i>X. tropicalis tyr3</i>	NP_001096518.1	Type C
	真海鞘(<i>Halocynthia roretz</i>) (Drasche, 1884)	<i>H. roretzi tyr</i>	BAC76423.1	Type C
	文昌鱼(<i>Branchiostoma floridae</i>) (Hubbs, 1922)	<i>B. floridae tyr</i>	AAM18867.1	Type B
	舌囊虫(<i>Saccoglossus kowalevskii</i>) (Agassiz, 1873)	<i>S. kowalevskii tyr1</i>	XP_002738430.1	Type B
		<i>S. kowalevskii tyr2</i>	XP_002735255.1	Type C
		<i>S. kowalevskii tyr3</i>	XP_002738429.1	Type C
	软体动物门 Mollusca	合浦珠母贝(<i>Pinctada fucata</i>) (Gould, 1850)	<i>P. fucata tyr1</i>	pfu_aug1.0_1032.1_29544.t1
<i>P. fucata tyr2</i>			pfu_aug1.0_16905.1_25558.t1	Type B
<i>P. fucata tyr3</i>			pfu_aug1.0_20693.1_11329.t1	Type B
<i>P. fucata tyr4</i>			pfu_aug1.0_3212.1_37533.t1	Type B
<i>P. fucata tyr5</i>			pfu_aug1.0_7279.1_31368.t1	Type B
<i>P. fucata tyr6</i>			pfu_aug1.0_8995.1_60538.t1	Type B
<i>P. fucata tyr7</i>			pfu_aug1.0_4.1_57868.t1	Type C
太平洋牡蛎(<i>Crassostrea gigas</i>) (Thunberg, 1793)		<i>C. gigas tyr1</i>	OYG_10006802	Type B
		<i>C. gigas tyr2</i>	OYG_10008737	Type B
		<i>C. gigas tyr3</i>	OYG_10009468	Type B
		<i>C. gigas tyr4</i>	OYG_10009318	Type B
		<i>C. gigas tyr5</i>	OYG_10009319	Type A
		<i>C. gigas tyr6</i>	OYG_10007753	Type C
		<i>C. gigas tyr7</i>	OYG_10021076	Type C
		<i>C. gigas tyr8</i>	OYG_10007793	Type C
		<i>C. gigas tyr9</i>	OYG_10017983	Type B
		<i>C. gigas tyr10</i>	OYG_10017214	Type C
		<i>C. gigas tyr11</i>	OYG_10026225	Type A
		<i>C. gigas tyr12</i>	OYG_10026226	Type A
		<i>C. gigas tyr13</i>	OYG_10026227	Type B
		<i>C. gigas tyr14</i>	OYG_10026230	Type B
		<i>C. gigas tyr15</i>	OYG_10009045	Type B
		<i>C. gigas tyr16</i>	OYG_10014286	Type B
		<i>C. gigas tyr17</i>	OYG_10028079	Type A
		<i>C. gigas tyr18</i>	OYG_10011912	Type A
		<i>C. gigas tyr19</i>	OYG_10011913	Type C
		<i>C. gigas tyr20</i>	OYG_10011916	Type B
		<i>C. gigas tyr21</i>	OYG_10028072	Type B
阿根廷鱿鱼(<i>Illex argentinus</i>) (Castellanos, 1960)		<i>I. argentinus tyr</i>	BAC87843.1	Type A
乌贼(<i>Sepia officinalis</i>) (Linnaeus, 1758)		<i>S. officinalis tyr</i>	CAC82191.1	Type A

续表 1

分类	物种 ^a	基因名称	登录号	基因种类
环节动物门 Annelida	小头虫(<i>Capitella teleta</i>) (Grassle & Grassle, 1976)	<i>Capitella teleta tyr1</i>	ELU131195.1	Type C
		<i>Capitella teleta tyr2</i>	ELT93343.1	Type C
扁形动物门 Platyhelminthes	华枝睾吸虫(<i>Clonorchis sinensis</i>) (Cobbold, 1875)	<i>C. sinensis tyr1</i>	GAA32069.2	Type A
		<i>C. sinensis tyr2</i>	GAA48882.1	Type A
		<i>C. sinensis tyr3</i>	GAA48883.1	Type A
	日本血吸虫(<i>Schistosoma japonicum</i>) (Katsurada, 1904)	<i>S. japonicum tyr1</i>	AAW26996.1	Type C
		<i>S. japonicum tyr2</i>	AAW24636.1	Type C
	曼氏血吸虫(<i>Schistosoma mansoni</i>) (Sambon, 1907)	<i>S. mansoni tyr1</i>	AAW21822.1	Type C
<i>S. mansoni tyr2</i>		XP_002576328.1	Type C	
线虫动物门 Nematoda	隐秀丽线虫(<i>Caenorhabditis elegans</i>) (Maupas, 1990)	<i>C. elegans tyr1</i>	NP_498711.1	Type A
		<i>C. elegans tyr2</i>	NP_499836.1	Type A
		<i>C. elegans tyr3</i>	NP_492055.2	Type A
		<i>C. elegans tyr4</i>	NP_491709.1	Type A
		<i>C. elegans tyr5</i>	NP_491131.2	Type A
	秀丽新小杆线虫(<i>Caenorhabditis briggsae</i>) (Dougherty & Nigon, 1949)	<i>C. briggsae tyr</i>	XP_002633562.1	Type B
	罗阿丝虫 <i>Loa loa</i> (Cobbold, 1864)	<i>L. loa tyr</i>	XP_003137308.1	Type B
腔肠动物门 Cnidaria	海葵(<i>Nematostella vectensis</i>) (Stephenson, 1935)	<i>N. vectensis tyr1</i>	XP_001625461.1	Type A
		<i>N. vectensis tyr2</i>	EDO46249.1	Type B
		<i>N. vectensis tyr3</i>	XP_001635796.1	Type B
	鹿角珊瑚(<i>Acrpora digitifera</i>) (Dana, 1846)	<i>A. digitifera tyr</i>	aug_v2a.08145.t1	Type B
	大乳头水螅(<i>Hydra magnipapillata</i>) (Dana, 1846)	<i>H. magnipapillata tyr1</i>	XP_004208972.1	Type A
		<i>H. magnipapillata tyr2</i>	XP_004206014.1	Type B
<i>H. magnipapillata tyr3</i>		XP_002166336.1	Type B	

注：^a括号内给出的是物种命名人和命名时间。

1.2 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因结构分析

太平洋牡蛎酪氨酸酶所在 Scaffold、基因组位置等信息从太平洋牡蛎基因组序列数据库(<http://www.oysterdb.cn/>)获得。

1.3 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因氨基酸序列分析

使用 SMART 软件(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)分析并选取酪氨酸酶的保守结构域;用 SignalP 4.0 和 Cholorop 1.1^[17,18]对酪氨酸酶信号肽进行预测;用 TMHMM 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)预测酪氨酸酶跨膜结构域;用 ClustalX 1.83 软件^[19]对太平洋牡蛎酪氨酸酶的保守结构域进行多重比对分析。

1.4 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因的进化分析

太平洋牡蛎酪氨酸酶的保守结构域的多重比对

在 ClustalX1.83^[19]中进行,利用 MEGA5.0^[20]采用邻接法(Neighbor-joining method, NJ)并自举(Bootstrap) 1000 次计算置信值。不同物种酪氨酸酶的保守结构域序列的多重比对也在 ClustalX1.83 中进行。用 MrBayes 3.2^[21]构建贝叶斯系统发生树。

2 结果与分析

2.1 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因所在 Scaffold 分析

通过太平洋牡蛎基因组数据分析,获得具有较完整酪氨酸酶结构域的酪氨酸酶基因 21 个,分布于 14 个 Scaffold 上(图 1)。其中, Scaffold 867 上分布的酪氨酸酶基因最多,为 4 个; Scaffold43702 有 3 个; Scaffold552 和 Scaffold337 各有 2 个; Scaffold248、 Scaffold203、 Scaffold483、 Scaffold552、 Scaffold557、 Scaffold612、 Scaffold1155、 Scaffold1220、 Scaffold1719、

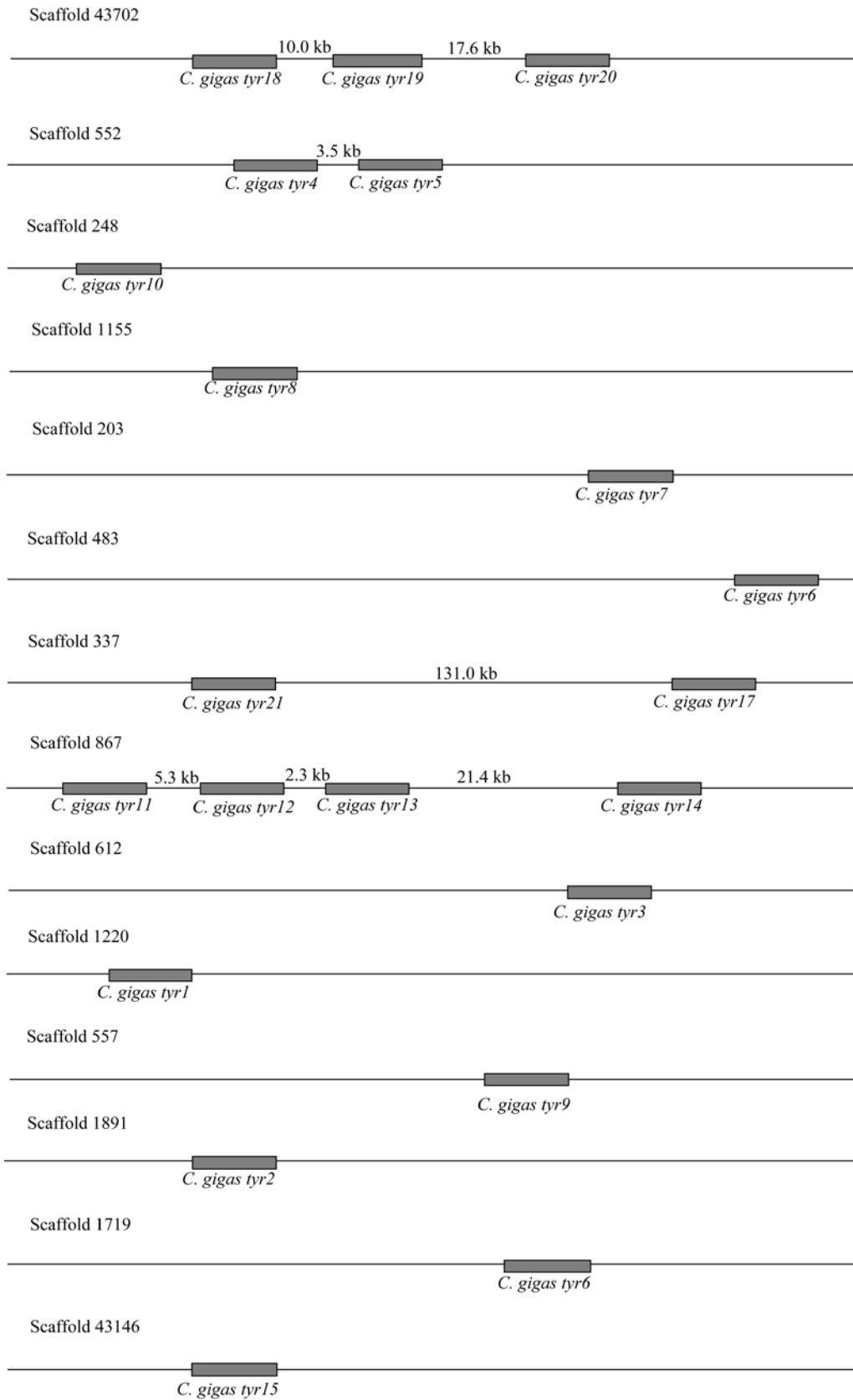


图 1 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族所在 Scaffold 分析 (数字代表两个基因间的距离)

Scaffold1891 和 Scaffold4314 均含有一个酪氨酸酶基因。

2.2 太平洋牡蛎酪氨酸酶的分类与保守区域分析

所有物种的酪氨酸酶都具有酪氨酸酶保守结构域, 酪氨酸酶保守结构域都包含两个保守铜离子结构域 Cu(A) 和 Cu(B)。太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族中, 包括 3 种类型的酪氨酸酶。tyr5、tyr11、tyr12、tyr17、tyr18 为分泌型(Type A); tyr1、tyr2、tyr3、tyr4、tyr9、tyr13、tyr14、tyr15、tyr16、tyr20、tyr21 为胞内型(Type B)。tyr6、tyr7、tyr8、tyr10、tyr19 为具跨膜结构域型酪氨酸酶(Type C)。太平洋牡蛎酪氨酸酶保守结构域序列比对分析表明, 除 tyr9 外其他酪

氨酸酶都包含 6 个保守的组氨酸(图 2)。

2.3 太平洋牡蛎酪氨酸酶的系统进化

太平洋牡蛎酪氨酸酶的系统进化树分析见图 3, 其酪氨酸酶基因为多拷贝基因, 21 个酪氨酸酶基因中有 9 对同源基因存在基因重复现象(tyr1 和 tyr21, tyr2 和 tyr9, tyr3 和 tyr13, tyr4 和 tyr5, tyr7 和 tyr10, tyr11 和 tyr14, tyr12 和 tyr17, tyr19 和 tyr20), 其中 4 对同源基因(tyr12 和 tyr17, tyr11 和 tyr14, tyr4 和 tyr5, tyr19 和 tyr20)属于基因内复制, 位于相同的 Scaffold, 其余 5 对同源基因(tyr1 和 tyr21, tyr2 和 tyr9, tyr3 和 tyr13, tyr7 和 tyr10, tyr15 和 tyr16)均位于不同的 Scaffold, 可能属于基因间的重复。

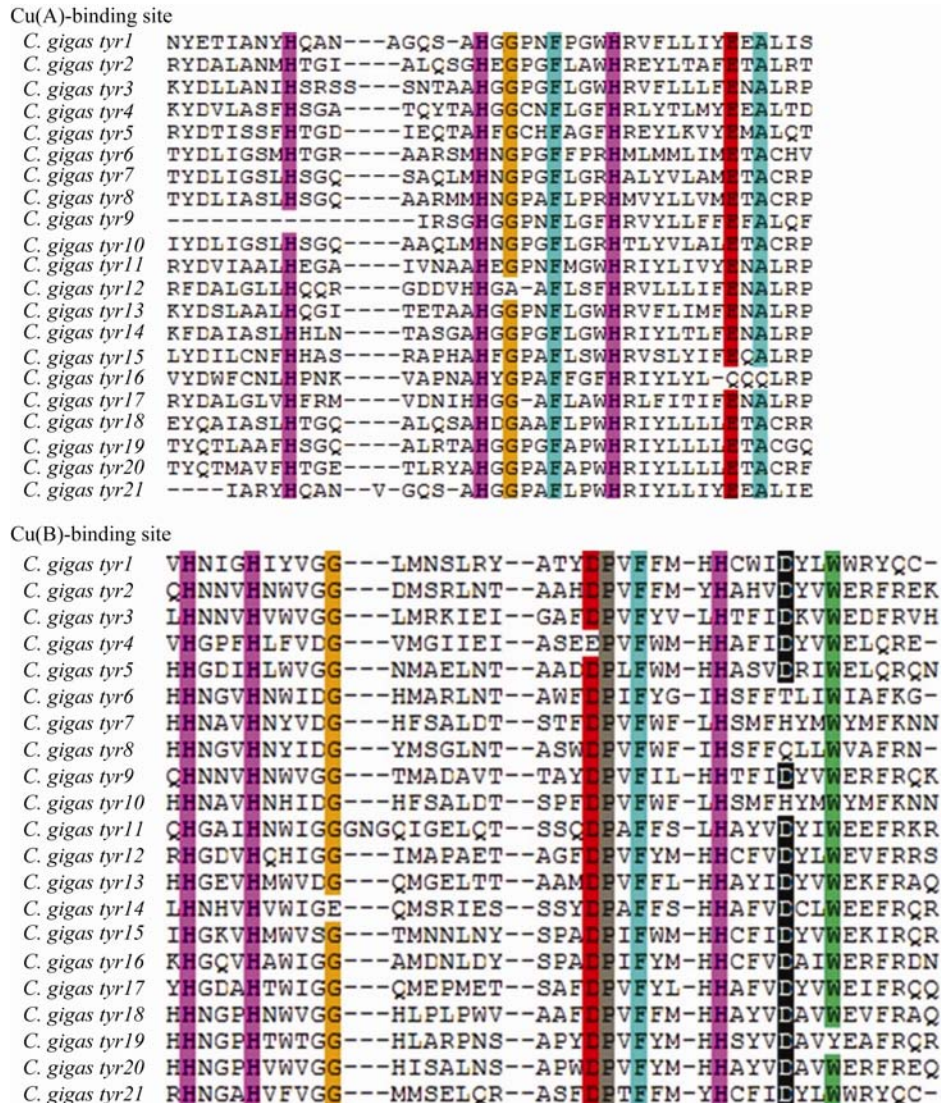


图 2 太平洋牡蛎酪氨酸酶 Cu(A)和 Cu(B)结合域的比对

保守的组氨酸残基用紫红色标注, 剩余的相对保守的氨基酸残基用其他颜色标注。

太平洋牡蛎分泌型酪氨酸酶的系统进化树分析见图 4。太平洋牡蛎所有分泌型酪氨酸酶首先与头足类分泌型酪氨酸酶聚在一起, 然后与隐秀丽线虫分泌型酪氨酸酶聚在一起。海葵和水媳分泌型酪氨酸酶单独聚为一支, 与太平洋牡蛎、头足类、隐秀丽线虫分泌型酪氨酸酶分化较大。

太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶 tyr1、tyr2、tyr9、tyr15、tyr16 与合浦珠母贝胞内型酪氨酸酶聚为一支,

与鹿角珊瑚、舌囊虫、大乳头水媳和海葵胞内型酪氨酸酶分化较大(图 5A)。太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶 tyr3、tyr11、tyr13 和 tyr14 与罗阿丝虫、秀丽新小杆线虫胞内型酪氨酸酶聚为一支, 与华枝睾吸虫、文昌鱼、海葵和大乳头水媳的胞内型酪氨酸酶分化较大(图 5B)。

太平洋牡蛎具跨膜结构域型酪氨酸酶 tyr6、tyr7、tyr8、tyr10、tyr19 与合浦珠母贝具跨膜结构域

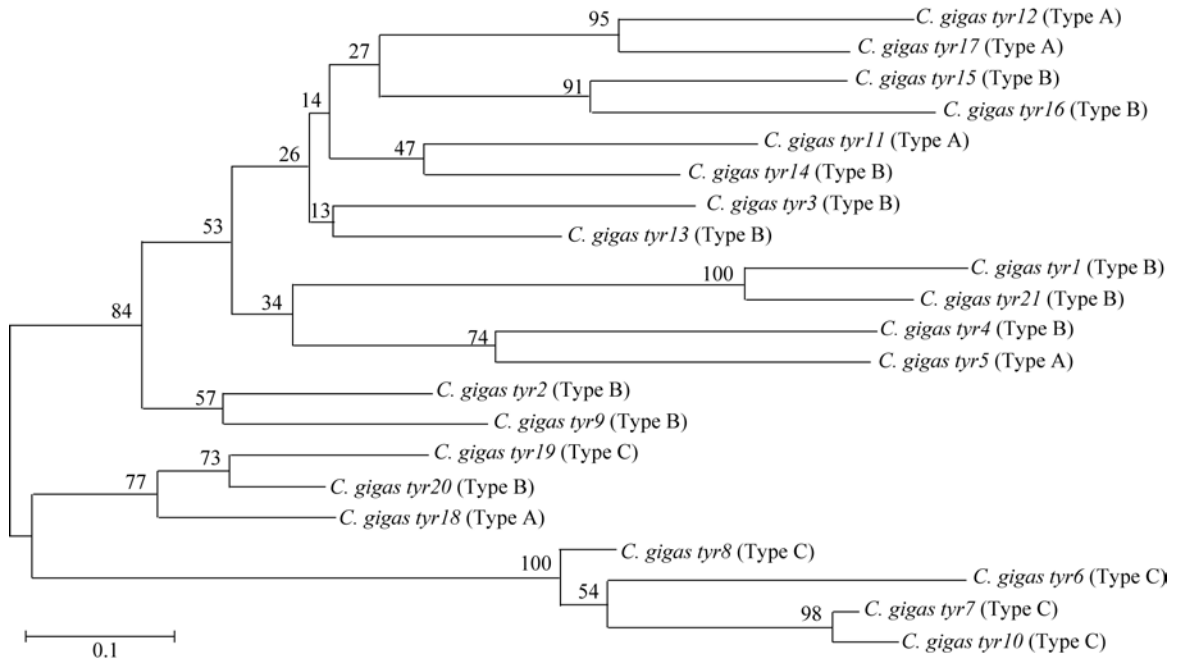


图 3 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族的系统进化树

节点上显示的数字通过构建 NJ 树方法得到。

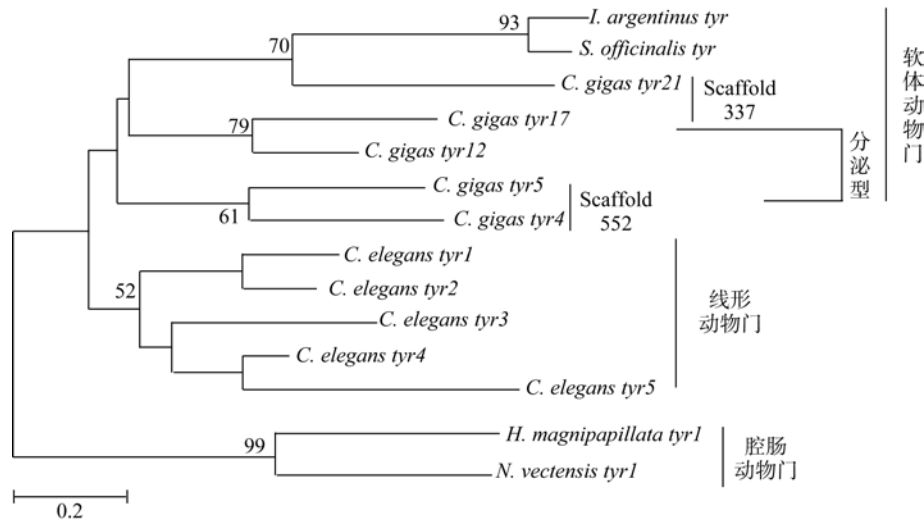


图 4 分泌型酪氨酸酶系统进化树

节点上显示的数字通过构建贝叶斯树方法得到, 系统发生树只显示支持度大于 50% 的值。

型酪氨酸酶聚在一起, 与其他具有跨膜结构域型酪氨酸酶种类分化较大(图 6)。

3 讨论

Felipe 等^[17]按照组氨酸排列将酪氨酸酶分成 α 亚型、 β 亚型、 γ 亚型, 并认为 α 亚型全部含有信号肽, 为分泌型。通过研究太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族发现, 虽然太平洋牡蛎酪氨酸酶在组氨酸排列上属于 α 亚型, 但类型多样, 不仅包括具信号肽的分泌型酪氨酸酶, 还包括胞内型酪氨酸酶和具跨膜结构域型酪氨酸酶, 说明 α 亚型酪氨酸酶结构的复

杂性。Sugumaran^[22]认为无脊椎动物中的酪氨酸酶缺乏跨膜结构域。但是通过分析发现环节动物门、扁形动物门和软体动物门的某些酪氨酸酶均含有跨膜结构域。本研究说明无脊椎动物酪氨酸酶的多样性及复杂性。太平洋牡蛎和合浦珠母贝具跨膜结构域型酪氨酸酶保守结构域的所在位置不同于脊索动物门、环节动物门和扁形动物门具跨膜结构域型酪氨酸酶。这些物种的跨膜结构域分布在 C 末端, 而太平洋牡蛎及合浦珠母贝的跨膜结构域分布在 N 末端与信号肽重叠, 而且有些类型只具有跨膜结构域而没有信号肽。这可能导致了太平洋牡蛎以及合浦珠

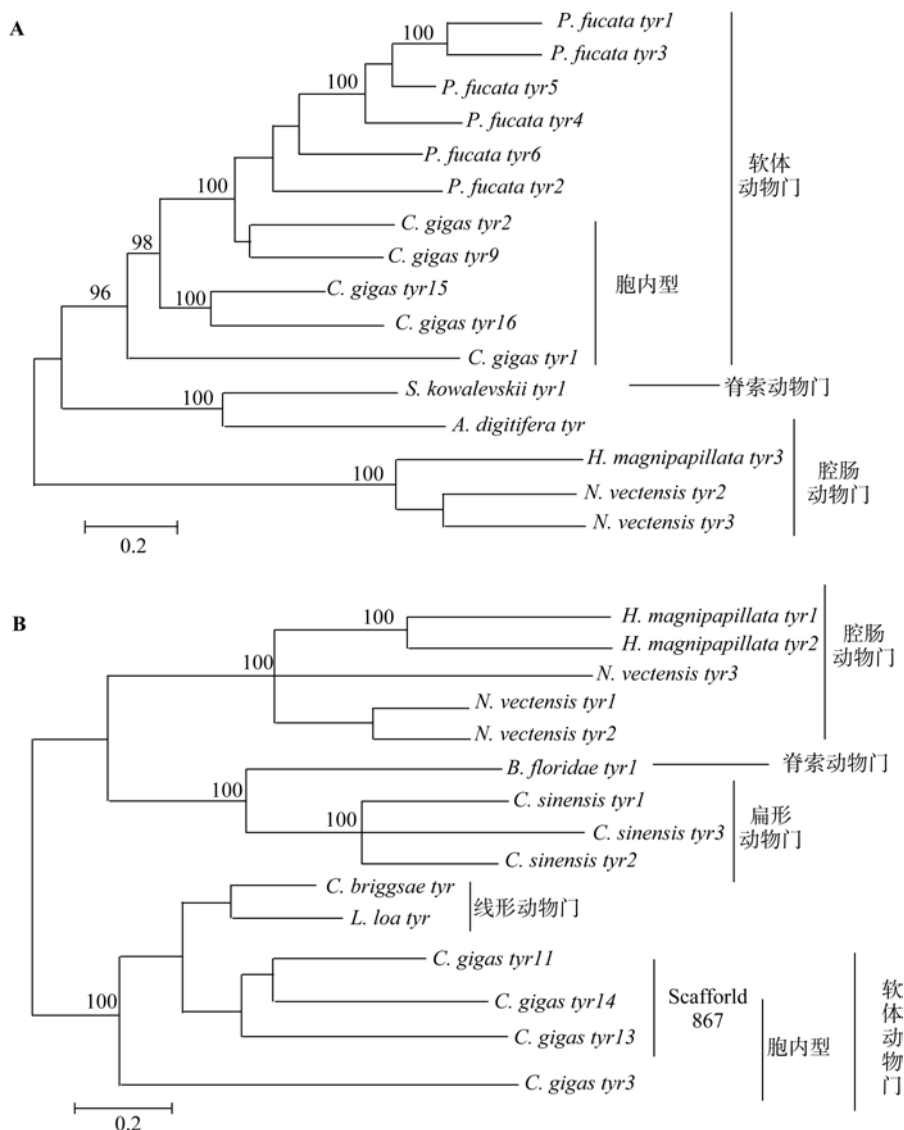


图 5 胞内型酪氨酸酶系统进化树

A: 太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶 tyr1、tyr2、tyr9、tyr10、tyr15 和 tyr16 的系统进化树分析; B: 太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶 tyr3、tyr11、tyr13 和 tyr14 的系统进化树分析。节点上显示的数字通过构建贝叶斯树方法得到, 系统发生树只显示支持度大于 50% 的值。

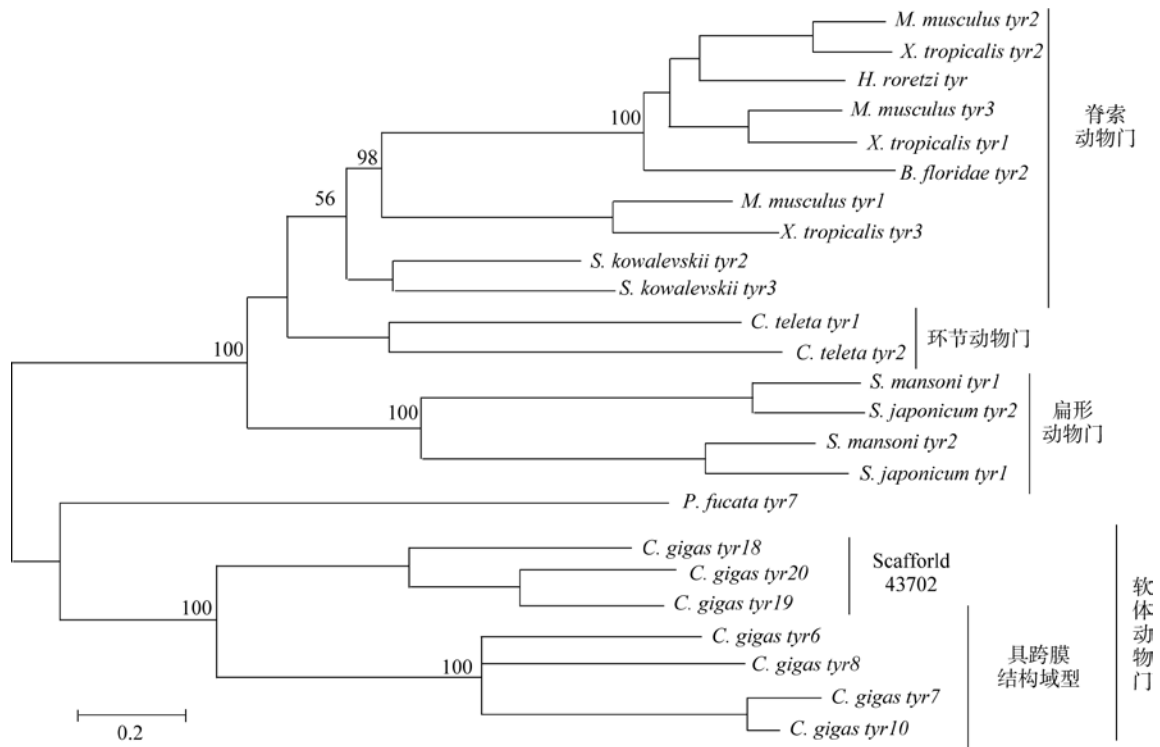


图 6 具跨膜结构域型酪氨酸酶系统进化树

节点上显示的数字通过构建贝叶斯树方法得到, 系统发生树只显示支持度大于 50% 的值。

母贝具跨膜结构域类型与脊索动物门, 环节动物门和扁形动物门具跨膜结构域型酪氨酸酶的分化较大, 使得太平洋牡蛎和合浦珠母贝具跨膜结构域酪氨酸酶在进化中构成一独立分支。

通过系统发生分析发现, 太平洋牡蛎酪氨酸酶进化树上的分布不仅受保守结构域影响还受基因所在位置影响, 如 tyr4、tyr21 并非分泌型酪氨酸酶, 但 tyr4 与 tyr5 同位于 Scaffold 552, tyr21 与 tyr17 同位于 Scaffold 337, 仍与太平洋牡蛎分泌型酪氨酸酶聚在一起; tyr11 并非太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶, 但与 tyr13、tyr14 同位于 scaffold 867, 在进化树上与太平洋牡蛎胞内型酪氨酸酶聚在一起; 太平洋牡蛎 tyr18、tyr20 并非太平洋牡蛎具跨膜结构域型酪氨酸酶, 但与 tyr19 同位于 scaffold 43702, 在进化树上与太平洋牡蛎具跨膜结构域型酪氨酸酶聚在一起。以上结果说明酪氨酸酶基因所在位置在一定程度上影响了酪氨酸酶保守结构域的分化, 也说明了太平洋牡蛎酪氨酸酶基因分化的复杂性, 存在基因内和基因间复制。

基因重复是基因家族数量增加的主要方式, 太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族中发现 9 对基因重复现象, 说明基因重复是太平洋牡蛎酪氨酸酶基因扩增

的一个因素, 同时也有力证实了基因重复是基因组遗传多样化的重要来源^[23]。太平洋牡蛎酪氨酸酶的基因重复伴随着结构分化, 支持了结构分化在基因复制中的普遍性^[24]。根据太平洋牡蛎酪氨酸酶进化树分析, 发现 Type A 酪氨酸酶中, tyr18 与其他 Type A 酪氨酸酶分化较大, 可能是较早分化出来的 Type A 酪氨酸酶。Type B 酪氨酸酶中, tyr2、tyr9 为较早分化出的 Type B 酪氨酸酶。Type C 型酪氨酸酶中 tyr8 较早分化出来, 而且 Type C 型酪氨酸酶与 Type A 型、Type B 型酪氨酸酶分化较大, 沿着较独立的方向进行基因扩张。其中最早分化的酪氨酸酶 tyr2、tyr8、tyr9、tyr18 可能参与比较基础的代谢, 如软体动物先天性免疫、黑色素形成。随着基因的再次分化、扩张, 预示着这些基因可能具有特化的新功能, 比如参与软体动物卵囊、足丝、角质层的形成等多种特化的生理反应^[18-10]。太平洋牡蛎酪氨酸酶基因家族的扩张可能与酪氨酸酶在太平洋牡蛎功能的分化密切联系。

参考文献

- [1] Ito S, Wakamatsu K, Ozeki H. Chemical analysis of melanins and its application to the study of the regulation of

- melanogenesis. *Pigm Cell Res*, 2000, 13(Suppl 8): 103–109. [\[DOI\]](#)
- [2] Esposito R, D’Aniello S, Squarzone P, Pezzotti MR, Ristrotore F, Spagnuolo A. New insights into the evolution of Metazoan tyrosinase gene family. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): E35731. [\[DOI\]](#)
- [3] Goding GR. Melanocytes: the new black. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(2): 275–279. [\[DOI\]](#)
- [4] Gillespie JP, Kanost MR, Trenczek T. Biological mediators of insect immunity. *Ann Rev Entomol*, 1997, 42: 611–643. [\[DOI\]](#)
- [5] Luna-Acosta A, Thomas-Guyon H, Amari M, Rosenfeld E, Bustamante P, Fruitier-Arnaudin I. Differential tissue distribution and specificity of phenoloxidases from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *CompBiochemPhysiol*, 2011, 159B: 220–226. [\[DOI\]](#)
- [6] Sugumaran M. Unified mechanism for sclerotization of insect cuticle. *Adv Insect Physiol*, 1998, 27: 229–334. [\[DOI\]](#)
- [7] Sugumaran M. Molecular mechanisms for mammalian melanogenesis comparison with insect cuticular sclerotization (minireview). *FEBS Lett*, 1991, 293(1–2): 4–10. [\[DOI\]](#)
- [8] Kouhei N, Masato Y, Koichi M, Hiroshi M. Tyrosinase localization in mollusc shells. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2007, 146: 207–214. [\[DOI\]](#)
- [9] Zhang C, Xie LP, Huang J, Chen L, Zhang RQ. A novel putative tyrosinase involved in periostracum formation from the pearl oyster (*Pinctada fucata*). *BiochemBiophys Res Commun*, 2006, 342(2): 632–639. [\[DOI\]](#)
- [10] Zhou Z, Ni DJ, Wang MQ, Wang LL, Shi XW, Yue F, Liu R, Song LS. The phenoloxidase activity and antibacterial function of a tyrosinase from scallop *Chlamys farreri*. *Fish Shellfish Immunology*, 2012, 33(2): 375–381. [\[DOI\]](#)
- [11] Zhang G, Fang X, Guo X, Li L, Luo R, Xu F, Yang P, Zhang L, Wang X, Qi H, Xiong Z, Que H, Xie Y, Holland PW, Paps J, Zhu Y, Wu F, Chen Y, Wang J, Peng C, Meng J, Yang L, Liu J, Wen B, Zhang N, Huang Z, Zhu Q, Feng Y, Mount A, Hedgecock D, Xu Z, Liu Y, Domazet-Lošo T, Du Y, Sun X, Zhang S, Liu B, Cheng P, Jiang X, Li J, Fan D, Wang W, Fu W, Wang T, Wang B, Zhang J, Peng Z, Li Y, Li N, Wang J, Chen M, He Y, Tan F, Song X, Zheng Q, Huang R, Yang H, Du X, Chen L, Yang M, Gaffney PM, Wang S, Luo L, She Z, Ming Y, Huang W, Zhang S, Huang B, Zhang Y, Qu T, Ni P, Miao G, Wang J, Wang Q, Steinberg CE, Wang H, Li N, Qian L, Zhang G, Li Y, Yang H, Liu X, Wang J, Yin Y, Wang J. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 2012, 490: 49–54. [\[DOI\]](#)
- [12] Cong R, Sun W, Liu G, Fan T, Meng X, Yang L, Zhu L. Purification and characterization of phenoloxidase from clam *Ruditapes philippinarum*. *Fish Shellfish Immunol*, 2005, 18(1): 61–70. [\[DOI\]](#)
- [13] Jiang JW, Xing J, Sheng XZ, Zhan WB. Characterization of phenoloxidase from the bay scallop *Argopecten irradians*. *J Shellfish Res*, 2011, 30(2): 273–277. [\[DOI\]](#)
- [14] Aladaileh S, Rodney P, Nair SV, Raftos DA. Characterization of phenoloxidase activity in Sydney rock oysters (*Saccostrea glomerata*). *CompBiochemPhysiol*, 2007, 148(4): 470–480. [\[DOI\]](#)
- [15] Luna-González A, Maeda-Martínez AN, Vargas-Albores B, Ascencio-Valle F, Robles-Mungaraya M. Phenoloxidase activity in larval and juvenile homogenates and adult plasma and haemocytes of bivalve molluscs. *Fish Shellfish Immunol*, 2003, 15(4): 275–282. [\[DOI\]](#)
- [16] Aguilera F, McDougall C, Degnan MB. Origin, evolution and classification of type-3 copper proteins: lineage-specific gene expansions and losses across the Metazoa. *BMC Evol Biol*, 2013, 13: 96. [\[DOI\]](#)
- [17] Petersen TN, Brunak S, Von Heijne G, Nielsen H. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nat Meth*, 2011, 8(10): 785–786. [\[DOI\]](#)
- [18] Emanuelsson O, Nielsen H, von Heijne G. ChloroP. A neural network-based method for predicting chloroplast transit peptides and their cleavage sites. *Protein Sci*, 1999, 8(5): 978–984. [\[DOI\]](#)
- [19] Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thomps JD, Gibson TJ, Higgins DG. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2794–2948. [\[DOI\]](#)
- [20] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 2011, 28(10): 2731–2739. [\[DOI\]](#)
- [21] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol*, 2012, 61(3): 539–542. [\[DOI\]](#)
- [22] Sugumaran M. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. *Pigment Cell Res*, 2002, 15(1): 2–9. [\[DOI\]](#)
- [23] Lespinet O, Wolf IY, Koonin EV, Aravind L. The role of lineage-specific gene family expansion in the evolution of eukaryotes. *Genome Res*, 2002, 12: 1048–1059. [\[DOI\]](#)
- [24] Xu G, Guo C, Shan H, Kong H. Divergence of duplicate genes in exon-intron structure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4): 1187–1192. [\[DOI\]](#)