

# 社鼠(*Niviventer confucianus*)线粒体基因组全序列分析

马晓婷 黄玲\* 刘玉静 解卫海 靖美东\*

(鲁东大学生命科学学院, 烟台 264025)

**摘要** 社鼠(*Niviventer confucianus*)属于啮齿目(Rodentia)、鼠科(Muridae)、白腹鼠属(*Niviventer*), 关于该物种的分子系统学研究极少。为获取社鼠线粒体基因组全序列, 提取其基因组总DNA, 参照近缘物种线粒体基因组全序列设计34对特异性引物, 利用PCR扩增全部片段后进行测序, 之后对其基因组组成及结构特点进行了初步分析。结果表明, 社鼠线粒体基因组全序列长16 281 bp (GenBank收录号: KJ152220), 包含22个tRNA基因、13个蛋白质编码基因、2个rRNA基因和1个非编码控制区; 基因组核苷酸组成为34.0% A、28.6% T、24.9% C、12.5% G。将所得序列与社鼠近缘物种(川西白腹鼠、小家鼠、褐家鼠)的线粒体全基因组进行比较, 结果显示, 四个物种的线粒体基因组虽然在基因组大小、部分tRNA二级结构、部分蛋白质编码基因的起始或终止密码子及控制区长度和碱基组成上有差异, 但基因组结构和序列特征方面都具有较高的相似性。四个物种线粒体全基因组间的遗传距离显示, 社鼠与川西白腹鼠距离最近, 而与小家鼠距离最远。该研究为利用线粒体全基因组信息进行啮齿类分子系统学研究提供了有价值的资料。

**关键词** 社鼠; 线粒体基因组; 序列分析

## Sequence Analysis of the Complete Mitochondrial Genome of *Niviventer confucianus*

Ma Xiaoting, Huang Ling\*, Liu Yujing, Xie Weihai, Jing Meidong\*

(College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China)

**Abstract** *Niviventer confucianus* belongs to genus *Niviventer*, family Muridae, order Rodentia, and it is involved in few molecular phylogenetic studies. The complete mitochondrial genome (mitogenome) sequence of *N. confucianus* was firstly obtained with PCR and sequencing techniques using 34 pairs of specific primers. The mitogenome (the GenBank accession number: KJ152220) was 16 281 bp in length and the nucleotide composition was 34.0% A, 28.6% T, 24.9% C and 12.5% G. The mitogenome consisted of 13 protein-coding genes, 22 tRNAs, 2 rRNAs and 1 control region, and the genome organization and sequence characters didn't differ greatly from those of mitogenomes of *N. excelsior*, *Mus musculus*, and *Rattus norvegicus*, though small difference existed. The genetic distance among mitogenomes of four species showed that the relationship between *N. confucianus* and *N. excelsior* was closest, while the relationship between *N. confucianus* and *M. musculus* was farthest. This work provides valuable data for phylogenetic analysis of rodents with complete mitogenome information.

**Key words** *Niviventer confucianus*; mitochondrial genome; sequence analysis

收稿日期: 2014-03-19 接受日期: 2014-05-07

国家自然科学基金(批准号: 31171189、31371252)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0535-6685004, E-mail: huangdl@126.com; jingmeidong@126.com

Received: March 19, 2014 Accepted: May 7, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31171189, 31371252)

\*Corresponding authors. Tel: +86-535-6685004, E-mail: huangdl@126.com; jingmeidong@126.com

网络出版时间: 2014-07-29 15:26 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.08.0070.html>

社鼠(*Niviventer confucianus*)属于哺乳纲(Mammalia)、啮齿目(Rodentia)、鼠科(Muridae)、鼠亚科(Murinae)、白腹鼠属(*Niviventer*)<sup>[1]</sup>。在我国,社鼠分布在除新疆、黑龙江外的各省市;主要栖息于山地和丘陵地带的林区、灌木丛及农田中,具有广泛的生活环境;以植物种子和果实为主要食物,喜夜间活动<sup>[2-5]</sup>。该物种已于2000年8月1日被列入“国家林业局令(第7号)”发布的野生动物名录中<sup>[6]</sup>。

关于社鼠的研究多集中于生态学<sup>[7-10]</sup>和流行病学<sup>[11-12]</sup>,相关分子研究较少,基因组信息匮乏。孙波<sup>[13]</sup>曾利用微卫星标记对千岛湖陆桥岛屿社鼠种群遗传多样性和遗传结构进行过研究。Jing等<sup>[14]</sup>曾利用线粒体细胞色素b基因序列探讨过白腹鼠属内系统发育关系,认为在中国分布的九个白腹鼠属物种里,社鼠(*N. confucianus*)与台湾社鼠(*N. culturatus*)、台湾白腹鼠(*N. coxingi*)、灰腹鼠(*N. eha*)、梵鼠(*N. brahma*)和刺毛鼠(*N. fulvencens*)的亲缘关系较近,而与安氏白腹鼠(*N. andersoni*)、川西白腹鼠(*N. excelsior*)和褐尾鼠(*N. cremoriventer*)的亲缘关系较远。但从形态上看,社鼠与川西白腹鼠和刺毛鼠相似性较大,差异微小,有时连物种准确鉴定都非常困难<sup>[15]</sup>,所以关于社鼠在白腹鼠属中的系统发育地位还需要利用更大量的基因组信息进行更深入的研究。

动物线粒体基因组多为共价闭合的环状双链DNA,具有结构简单、重组较少、母系遗传等特点,已经成为动物系统发育与进化、分子生态学、群体遗传学等多个研究领域广泛使用的分子标记<sup>[16-19]</sup>。基因组全序列比单一基因包含更多的信息位点,可避免单一基因构树引起的偏差,以及部分序列变异的不均衡性造成假象而提供错误的信息。近来,越来越多的研究倾向于用基因组全序列探讨系统发育关系,以得到更准确的拓扑结构<sup>[20]</sup>。目前,GenBank中收录的白腹鼠属线粒体基因组全序列极少,只有川西白腹鼠的两个个体(JQ927552和NC\_019617)。本研究采用基因扩增、测序及序列分析的方法,首次获得了社鼠线粒体基因组全序列,并将该序列与GenBank中已有的川西白腹鼠(JQ927552)、小家鼠(*Mus musculus*, EF108336)及褐家鼠(*Rattus norvegicus*, AC\_000022.2)的线粒体基因组全序列进行了对比分析。该研究结果为社鼠、白腹鼠属乃至整个鼠科的分子系统发育研究提供了资料,也为社鼠的保护工作提供了科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

社鼠样品(编号:2004093)采于陕西省宁强县黄坝驿乡黄坝驿村,地理信息为:32°45'992" N, 106°8'869" E;海拔953 m。取部分新鲜肌肉组织于离心管内,-20 °C冷冻保存以备用。

### 1.2 试剂及仪器

基因组DNA提取试剂盒DNeasy Tissue Kit购自Promega公司;DNA marker DL2000™、Premix Ex Taq酶购自大连宝生物公司;双蒸水购自生工生物工程(上海)股份有限公司;其他试剂均为国产分析纯。PCR仪(Biorad Mycycler);凝胶成像仪(UVP GelDoc-It™ 310 Imaging System);测序仪(ABI 3730XL)。

### 1.3 基因组DNA提取

肌肉组织剪碎研磨后,用基因组DNA提取试剂盒提取全基因组DNA。然后用1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度,于-20 °C冷冻保存备用。

### 1.4 引物设计和PCR扩增

参照GenBank中已公布的川西白腹鼠和小家鼠等近缘种的线粒体基因组序列,用Primer 5.0软件<sup>[21]</sup>设计了可覆盖线粒体基因组全序列的34对引物。

PCR扩增的反应体系为50 μL:模板DNA 0.5 μL (DNA含量约100 ng),上下游引物各1 μL, Premix Ex Taq酶25 μL(含Ex Taq酶1.25 U、4种dNTP各0.4 mmol/L、Mg<sup>2+</sup> 4 mmol/L),双蒸水23.5 μL。PCR扩增的反应条件为:94 °C预变性3 min;94 °C变性30 s, 50~60 °C退火30 s, 72 °C延伸90 s,共35个循环;最后,72 °C延伸10 min。PCR产物于4 °C冰箱中保存。每进行一次PCR,均设置一个空白对照进行污染检测。

取5 μL PCR产物进行1.5%的琼脂糖凝胶电泳,用2 μL DNA Marker作为基因片段对比标准,用凝胶成像仪拍摄记录结果。

### 1.5 产物测序、序列拼接及分析

PCR产物委托上海生工生物工程测序部进行测序(序列长度大于600 bp进行双向测序,小于600 bp进行单向测序)。测序结果用MEGA5.2软件<sup>[22]</sup>和Seq ManII软件<sup>[23]</sup>进行分析,经人工手动校正后进行序列拼接,最后得到社鼠线粒体基因组全序列,并经Editplus(ver 2.10)文本编辑器编辑注释,提交到GenBank。

利用MEGA 5.2统计了序列全长和碱基含量,并通过与白腹鼠线粒体基因组全序列进行比对,分

析定位了社鼠线粒体基因组中 tRNA 基因、rRNA 基因、蛋白质编码基因及非编码区的位置。通过 tRNAscanSE1.21 (<http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscanSE/>) 确定了各 tRNA 的相对位置和三叶草结构, 用 mFold (<http://mfold.rna.albany.edu/?q=mfold/download-mfold>) 绘制了非三叶草结构的 tRNA。采用 MEGA5.2 计算社鼠与川西白腹鼠 (JQ927552)、小家鼠 (EF108336) 及褐家鼠 (AC000022.2) 线粒体基因组全序列的遗传距离。

## 2 结果

### 2.1 社鼠线粒体基因组结构概述

序列拼接完成后得到社鼠线粒体基因组全序

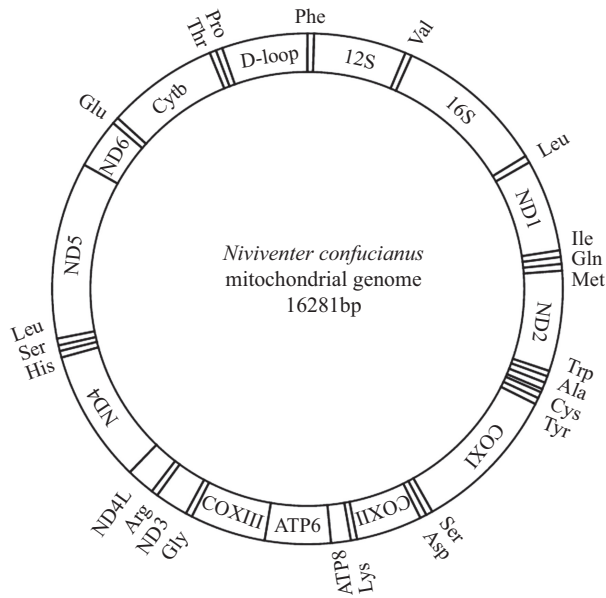
列长 16 281 bp, 共包含 13 个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 编码基因、2 个 rRNA 编码基因和两段非编码区 (D-loop 和轻链复制起点  $O_L$ ) (表 1 和图 1)。

整个基因组排列非常紧凑: 在 37 个编码基因之间, 共有 24 bp 间隔区, 只占基因组 DNA 总长度的 0.147%; 在 10 个区域 (*tRNA-Ile* 与 *tRNA-Gln*, *ND2* 与 *tRNA-Trp*,  $O_L$  与 *tRNA-Cys*, *COX1* 与 *tRNA-Ser(UCN)*, *ATP8* 与 *ATP6*, *ATP6* 与 *COX3*, *ND4L* 与 *ND4*, *tRNA-Ser(AGY)* 与 *tRNA-Leu(CUN)*, *ND5* 与 *ND6*, *Cyt b* 与 *tRNA-Thr*) 出现了重叠现象, 重叠区总共 106 bp, 占序列总长的 0.651% (表 1)。除 NADH 脱氢酶亚基 6 (*ND6*) 及 *tRNA-Gln*、*tRNA-Ala*、*tRNA-Asn* 等 8 个 tRNA 基因位于 L 链上外, 其他的基因均编码在 H 链上。在基

表 1 社鼠线粒体基因组组成和结构特征

Table 1 Organization and structural characteristics of the *N. confucianus* mitochondrial genome

基因名称 Gene	起始位置 From	终止位置 To	序列长(bp) Size (bp)	间隔(+)/重叠(-) Spacer(+)/overlap(-)	H链/L链 Strand	起始密码子 Codon start	终止密码子 Codon stop
<i>tRNA-Phe</i>	1	68	68	0	H	GTT	CA
<i>12S-rRNA</i>	69	1 025	957	0	H	CAA	AAT
<i>tRNA-Val</i>	1 026	1 094	69	0	H	CAC	TGA
<i>16S-rRNA</i>	1 095	2 667	1 573	0	H	ACT	T
<i>tRNA-Leu(UUR)</i>	2 668	2 742	75	1	H	ATT	ATA
<i>ND1</i>	2 744	3 698	955	0	H	GTG	T
<i>tRNA-Ile</i>	3 699	3 767	69	-3	H	AGA	CTA
<i>tRNA-Gln</i>	3 765	3 835	71	3	L	CTA	TA
<i>tRNA-Met</i>	3 839	3 907	69	0	H	AGT	TA
<i>ND2</i>	3 908	4 944	1 037	-7	H	ATA	GT
<i>tRNA-Trp</i>	4 938	4 996	59	1	H	ATA	TG
<i>tRNA-Ala</i>	4 998	5 065	69	2	L	TAA	CCT
<i>tRNA-Asn</i>	5 068	5 138	71	0	L	CTA	TA
<i>OL</i>	5 139	5 173	35	-3	L	CTT	AG
<i>tRNA-Cys</i>	5 171	5 236	66	0	L	AAG	GCT
<i>tRNA-Tyr</i>	5 237	5 303	67	1	L	TGG	CC
<i>COX1</i>	5 305	6 849	1 545	-3	H	ATG	TAA
<i>tRNA-Ser(UCN)</i>	6 847	6 915	69	3	L	TAA	CTC
<i>tRNA-Asp</i>	6 919	6 986	68	1	H	GAG	TA
<i>COX2</i>	6 988	7 671	684	3	H	ATG	TAA
<i>tRNA-Lys</i>	7 675	7 739	65	0	H	CAT	AT
<i>ATP8</i>	7 740	7 943	204	-43	H	ATG	TAA
<i>ATP6</i>	7 901	8 581	681	-1	H	ATG	TAA
<i>COX3</i>	8 581	9 364	784	0	H	ATG	T
<i>tRNA-Gly</i>	9 365	9 432	68	0	H	ACT	TA
<i>ND3</i>	9 433	9 779	347	2	H	ATC	TA
<i>tRNA-Arg</i>	9 782	9 849	68	2	H	TGG	AA
<i>ND4L</i>	9 852	10 148	297	-7	H	ATG	TAA
<i>ND4</i>	10 142	11 519	1 378	0	H	ATG	T
<i>tRNA-His</i>	11 520	11 587	68	0	H	GTA	CC
<i>tRNA-Ser(AGY)</i>	11 588	11 646	59	-1	H	AAG	TA
<i>tRNA-Leu(CUN)</i>	11 646	11 716	71	0	H	ACT	TA
<i>ND5</i>	11 717	13 546	1 830	-23	H	ATT	TAA
<i>ND6</i>	13 524	14 042	519	0	L	TTA	CAT
<i>tRNA-Glu</i>	14 043	14 111	69	5	L	TAT	AAC
<i>Cyt b</i>	14 117	15 274	1 158	-15	H	ATG	TAA
<i>tRNA-Thr</i>	15 260	15 327	68	0	H	GTC	CA
<i>tRNA-Pro</i>	15 328	15 395	68	0	L	TCA	TG
<i>control region</i>	15 396	16 281	886	0	H	AAC	A



ND1-6代表NADH脱氢酶亚基, COX I-III代表细胞色素氧化酶亚基, ATP6和ATP8代表ATP合成酶亚基, Cytb代表细胞色素b. ND1-6 refers to NADH dehydrogenase subunits 1-6, COX I-III refers to cytochrome oxidase subunits 1-3, ATP6 and ATP8 refer to ATPase subunits 6 and 8, Cytb refers to cytochrome b.

图1 社鼠线粒体基因组结构简图

Fig.1 Gene map of *N. confucianus* mitochondrial genome

因组的WANCY(*tRNA-Ala*、*tRNA-Asn*、*tRNA-Cys*、*tRNA-Tyr*)区有一段可以形成茎环结构的OL(轻链复制起点)保守序列。

基因组碱基组成为34.0% A、12.5% G、24.9% C、28.6% T, A+T含量远远大于G+C含量, 具有显著的AT偏好。

实验所得基因组全序列已成功注册到GenBank

中, 序列号为KJ152220。

2.2 社鼠线粒体基因组各组成部分的特征

2.2.1 tRNA基因特征 社鼠线粒体基因组包含22个tRNA基因(表1), 可运载20种氨基酸(包括两个*tRNA-Leu*和两个*tRNA-Ser*), 基因长度范围为58~75 bp。除*tRNA-Trp*、*tRNA-Ser(AGY)*及*tRNA-Lys*之外, 其余19个tRNA的二级结构均为典型的三叶草结构。相对于典型三叶草结构, *tRNA-Trp*缺少氨基酸接受臂和D环、*tRNA-Ser(AGY)*缺少D环、*tRNA-Lys*缺少T环(图2)。社鼠tRNA在预测的二级结构中出现29处错配, 全部为UG错配。*tRNA-Phe*、*tRNA-Val*、*tRNA-Met*、*tRNA-Thr*和*tRNA-Ala*的氨基酸接受臂为6对碱基, *tRNA-Leu*的反密码子臂为4对碱基, *tRNA-Leu*的反密码子环为9个碱基, 其余tRNA的氨基酸接受臂为7对碱基, 反密码子臂为5对碱基, 反密码子环为7个碱基; TΨC臂除*tRNA-Met*为3对碱基外其他均为4或5对碱基, TΨC环均为6或7个碱基; DHU臂为3或4对碱基, DHU环长度变化较大, 在3~10个碱基之间。

2.2.2 蛋白质编码基因特征 社鼠线粒体基因组的13个蛋白质编码基因包括1个细胞色素b(*Cytochrome b*)编码基因、2个ATP酶亚基基因(*ATPase6*、*ATPase8*)、3个细胞色素氧化酶亚基基因(*COX1*、*COX2*、*COX3*)和7个NADH脱氢酶亚基基因(*ND1*、*ND2*、*ND3*、*ND4*、*ND4L*、*ND5*、*ND6*)。这些蛋白质编码基因总长为11 419 bp, 占全基因组的70.14%, 存在显著的AT偏好(A+T占61.7%)。这些基因中除*ND6*定位在L链上外, 其余均定在H链

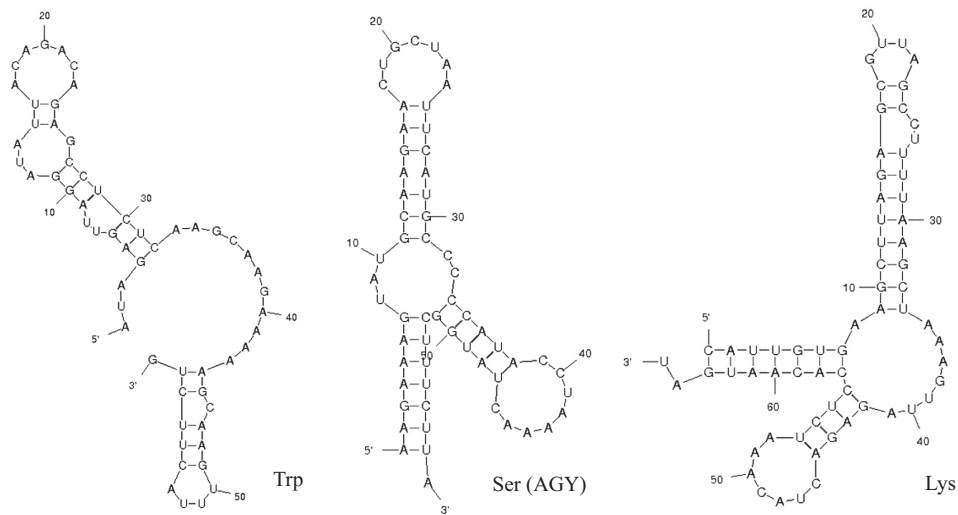


图2 三种tRNA的预测二级结构  
Fig.2 Inferred secondary structures of three tRNA



表2 社鼠控制区序列碱基组成

Table 2 Nucleotide compositions of the mitochondrial control region of *N. confucianus*

	终止序列区 Extended termination associated sequences				中央保守区 Central conserved domain				保守序列区 Conserved sequence blocks			
	A	T	G	C	A	T	G	C	A	T	G	C
<i>N. confucianus</i>	35.6	34.8	11.2	18.4	26.2	29.2	17.4	27.2	39.3	29.6	7.6	23.6

表3 四个物种线粒体基因组全序列遗传距离

Table 3 Genetic distance among the mitochondrial genome sequences of four species

	1	2	3
<i>N. confucianus</i>			
<i>N. excelsior</i>	0.101		
<i>M. musculus</i>	0.188	0.204	
<i>R. norvegicus</i>	0.161	0.165	0.211

上。其中, *ND1*、*ND2*、*ND3*、*ND5*、*ND6*分别以GTG、ATA、ATC、ATT、TTA为起始密码子以外,其他基因均以ATG为起始密码子。7个基因(*COX1*、*COX2*、*ATP8*、*ATP6*、*ND4L*、*ND5*、*Cyt b*)的终止密码子为TAA, *ND6*的终止密码子是CAT, 剩余基因因为不完全密码子(*ND1*、*COX3*、*ND4*: T; *ND2*: GT; *ND3*: TA)(表1)。

13个蛋白质编码基因共编码3 683个氨基酸。Leu的使用频率最高(15.48%), 其次为Ile(15.45%)和Thr(8.88%)。

**2.2.3 非编码区特征** 社鼠线粒体基因组的主要非编码区是位于*tRNA-Pro*和*tRNA-Phe*之间的控制区(D-loop区), 长度为886 bp, 在5'端和3'端均存在短串联重复序列。控制区碱基组成为33.7% A、30.9% T、12.0% G、23.4% C, G的含量明显低于其他碱基, AT的含量(64.6%)明显高于GC的含量(35.4%), 是AT富集区。

对比小家鼠线粒体基因组控制区的序列, 将社鼠控制区初步划分为中央保守区(central conserved domain, CD)、终止序列区(extended termination associated sequences, ETAS)和保守序列区(conserved sequence blocks, CSBs)三部分<sup>[24]</sup>。中央保守区序列长度约为250 bp, 是控制区最保守的部分。终止序列区又可分为ETAS1和ETAS2两部分, 该区存在一段保守的终止结合序列TAS(TACATA)和与之互补的序列(ATGTAT), 分别位于5~10 bp和36~41 bp处。保守序列区又可分为CSB-1、CSB-2和CSB-3。

控制区各区段的碱基组成情况显示: A的含量在终止序列区(35.6%)和保守序列区(39.3%)明显高于中

央保守区(26.2%); 中央保守区G的含量(17.4%)明显高于终止序列区(11.2%)和保守序列区(7.6%)(表2)。

另一个非编码区是位于*tRNA-Asn*和*tRNA-Cys*之间的轻链复制起点( $O_L$ ), 长度为35 bp。与其他哺乳动物相似, 社鼠线粒体基因组的轻链复制起点区域也可折叠成稳定的茎环二级结构, 其中茎区22 bp, 环区13 bp。

### 2.3 四个物种线粒体基因组遗传距离

用MEGA 5.2将实验得到的社鼠线粒体基因组全序列与川西白腹鼠、小家鼠和褐家鼠线粒体基因组全序列进行对比分析, 得到四个物种线粒体基因组的遗传距离(表3)。结果显示: 社鼠与白腹鼠线粒体基因组间的遗传距离最小(0.101); 与小家鼠的遗传距离最大(0.188)。川西白腹鼠与褐家鼠遗传距离(0.165)小于与小家鼠遗传距离(0.204); 小家鼠与褐家鼠的遗传距离最大(0.211)。

## 3 讨论

### 3.1 社鼠线粒体基因组特征

GenBank中收录的川西白腹鼠、小家鼠、褐家鼠的线粒体基因组全长分别为16 298 bp、16 299 bp和16 300 bp, 实验所得社鼠线粒体基因组全序列长16 281 bp, 比前三者都小。社鼠线粒体基因组包含2个rRNA、22个tRNA、13个蛋白质编码基因和1个D-loop区, 基因组结构与川西白腹鼠<sup>[25]</sup>、小家鼠<sup>[26]</sup>、褐家鼠<sup>[27]</sup>相同, 符合桂建芳<sup>[28]</sup>所述的脊椎动物mtDNA的结构特征。社鼠线粒体基因组序列的AT含量(62.6%)远大于GC含量(37.4%), 显示出显著的AT偏好, 这与川西白腹鼠(AT 62.1%)、小家鼠(AT 63.2%)

表4 四个物种线粒体基因组蛋白质编码基因密码子使用情况  
Table 4 Characters of mitogenome protein-coding genes of four species

蛋白基因 protein- coding genes	密码子数 Code number				起始密码子/终止密码子 Start and end codon			
	社鼠 <i>N. confucianus</i>	川西白腹鼠 <i>N. excelsior</i>	小家鼠 <i>M. musculus</i>	褐家鼠 <i>R. norvegicus</i>	社鼠 <i>N. confucianus</i>	川西白腹鼠 <i>N. excelsior</i>	小家鼠 <i>M. musculus</i>	褐家鼠 <i>R. norvegicus</i>
<i>ND1</i>	318	318	319	319	GTG/T	GTG/T	GTG/TAG	GTG/TAG
<i>ND2</i>	345	345	346	346	ATA/GT	ATC/T	ATA/TAG	ATA/TAG
<i>COX1</i>	514	515	515	515	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA
<i>COX2</i>	228	228	228	228	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA
<i>ATP8</i>	68	68	68	68	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA
<i>ATP6</i>	227	227	227	227	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA
<i>COX3</i>	261	261	261	261	ATG/T	ATG/T	ATG/T	ATG/T
<i>ND3</i>	115	116	116	116	ATC/TA	ATC/TAA	ATT/TAA	ATT/TAA
<i>ND4L</i>	99	99	99	99	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/TAA
<i>ND4</i>	459	459	459	459	ATG/T	ATG/T	ATG/T	ATG/T
<i>ND5</i>	610	610	608	611	ATT/TAA	ATA/TAA	ATC/TAA	ATA/TAA
<i>ND6</i>	173	173	173	173	TTA/CAT	TTA/CAT	TTA/CAT	TTA/CAT
<i>Cyt b</i>	386	386	381	381	ATG/TAA	ATG/TAA	ATG/T	ATG/TAA

和褐家鼠(AT 61.3%)也是一致的。社鼠的22个tRNA中有19个可折叠成三叶草结构,这与川西白腹鼠和小家鼠线粒体基因组tRNA基因相同<sup>[24-25]</sup>,但与褐家鼠的有差异<sup>[24]</sup>。社鼠tRNA三叶草结构出现的29处错配均为UG错配,白腹鼠、小家鼠和褐家鼠tRNA三叶草结构中的错配也全部是UG错配(分别为22处、26处和23处)。可见,在线粒体基因组tRNA中易出现错配且以UG错配居多,但部分错配可通过RNA的编辑进行校正<sup>[29]</sup>。以上结果暗示,大部分鼠科动物的线粒体基因组结构特征可能很相似,与宋国华等<sup>[18]</sup>提出的啮齿类动物线粒体基因组在进化上高度保守是一致的。

### 3.2 蛋白质编码区

通过比较社鼠、川西白腹鼠、小家鼠和褐家鼠线粒体基因组13个蛋白质编码基因的位置及密码子使用情况发现:社鼠线粒体基因组*COX2*、*ATP8*、*ATP6*、*COX3*、*ND4*、*ND4L*、*ND6*的密码子数与其他三个物种相同,剩余6个基因(*ND1*、*ND2*、*COX1*、*ND3*、*ND5*、*Cyt b*)的情况有差异(表4)。四个物种的10个基因(*ND1*、*COX1*、*COX2*、*ATP8*、*ATP6*、*COX3*、*ND4L*、*ND4*、*ND6*、*Cyt b*)的起始密码子相同,剩余3个基因有差异(社鼠*ND2*和*ND5*与川西白腹鼠不同,*ND3*和*ND5*与小家鼠、褐家鼠不同)。张芳等<sup>[30]</sup>提出,鼠的*ND1*和*ATP8*基因都是以真核生物线粒体基因组中特有的GTG作为起始密码子,而社鼠、

川西白腹鼠、小家鼠和褐家鼠的*ATP8*基因却均以ATG作为起始密码子。四个物种9个基因(*COX1*、*COX2*、*ATP8*、*ATP6*、*COX3*、*ND4L*、*ND4*、*ND5*、*ND6*)的终止密码子相同,其余4个基因有差异(表4)。

### 3.3 控制区

动物线粒体基因组突变率比核基因高5~10倍,而控制区的进化速率是线粒体基因组中最快的,是其它线粒体基因序列的3~5倍<sup>[31]</sup>。线粒体基因组的控制区虽然含有保守片段,但不编码蛋白质,也是整个线粒体基因组中长度与结构变异最大的区域,由于该区域的存在导致了不同物种线粒体基因组序列长度的不同<sup>[32]</sup>。哺乳动物线粒体基因组的控制区位于*tRNA-Pro*和*tRNA-Phe*之间<sup>[33]</sup>,社鼠情况与此相符,且社鼠线粒体基因组控制区的长度为886 bp,与川西白腹鼠(895 bp)、小家鼠(877 bp)和褐家鼠(897 bp)控制区长度均不同。

社鼠线粒体控制区序列中G的含量明显低于其他碱基的含量,而且AT的含量(64.6%)明显高于GC的含量(35.4%),这符合哺乳动物线粒体控制区序列的特点<sup>[34]</sup>。社鼠控制区的AT含量(64.6%)比白腹鼠(62.8%)、小家鼠(63.2%)和褐家鼠(63.3%)都高,结合下述所讨论的四个物种间的亲缘关系,说明线粒体控制区AT含量的变化与系统发育关系没有密切的相关性。社鼠控制区三个区段的碱基含量显示,碱基A的含量在终止序列区(35.6%)和保守序列区

(39.3%)明显高于中央保守区(26.2%),这与Liu等<sup>[35]</sup>提出的终止序列和保守序列A含量应高于中央保守区观点相符合。中央保守区G的含量(17.4%)明显高于终止序列区(11.2%)和保守序列区(7.6%),这也暗示了中央保守区具有较高的稳定性。

### 3.4 四个物种的亲缘关系

根据线粒体全基因组序列计算的遗传距离显示:社鼠与白腹鼠线粒体基因组间的遗传距离最小(0.101),与小家鼠的遗传距离最大(0.188),说明四个物种间社鼠与川西白腹鼠的亲缘关系最近,而与小家鼠亲缘关系最远。川西白腹鼠与褐家鼠和小家鼠间遗传距离的比较也证明白腹鼠属与大家鼠属亲缘关系更近。

本文首次进行的社鼠线粒体基因组序列结构及特征分析扩充了白腹鼠属线粒体基因组全序列的数据,为后续更加全面、深入探讨白腹鼠属乃至整个鼠科的系统发育关系提供了实验数据,同时也为社鼠的保护工作提供了科学依据。

### 参考文献 (References)

- Corbet GB, Hill JE. The mammals of the Indomalayan region: A systematic review. Oxford: Oxford University Press, 1992, 488.
- Musser GG. Notes on taxonomy of *Rattus andersoni* and *R. excelsior*, murids endemic to western China. *Journal of Mammalogy* 1979; 60: 581-92.
- Marshall JT. A synopsis of Asian species of *Mus* (*Rodentia, Muridae*). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 1977; 158: article 3.
- 鲍毅新. 社鼠的研究概要. 浙江师范大学学报(自然科学版) (Bao Yixin. A summary of studies on *Rattus niviventer*. *Journal of Zhejiang Normal University, Natural Science*) 1993; 16(2): 50-4.
- 邓先余, 冯庆, 王应祥. 中国大陆白腹鼠属的分支系统发育研究. *动物分类学报* (Deng Xianyu, Feng Qing, Wang Yingxiang. *Studies on cladistic phylogeny of genus *Niviventer* (*Rodentia muridae*) in mainland of China. *Acta Zootaxonomica Sinica*) 2005; 30(2): 234-8.*
- 王志宝. 国家林业局令第七号—国家保护的有益的或者有重要经济、科学研究价值的陆生野生动物名录. *野生动物* (Wang Zhibao. The state forestry administration makes No.7-state protection beneficial or have important economic and scientific research value of terrestrial wildlife list. *Chinese Journal of Wildlife*) 2000; 5: 49-82.
- 罗泽珣, 范志勤. 川西林区社鼠与白腹鼠种间差异的探讨. *动物学报* (Luo Zhexun, Fan Zhiqin. *Specific differences of *Rattus niviventer* and *R. coxingi* occurring sympatrically in the western highland of szechwan province. *Acta Zoologica Sinica*) 1965; 17(3): 334-42.*
- 张洁. 社鼠种群生态研究. 兽类学 (Zhang Jie. *Studies on the population ecology of sulphur bellied Rat. *Acta Theriologica Sinica*) 1993; 13(3): 198-204.*
- 沈良良. 千岛湖岛屿社鼠的巢区和领域研究 (硕士学位论文). 浙江师范大学 (Shen Liangliang. *The research on home range and field of *Niviventer confucianus* on islands at thousand island lake. Zhejiang Normal University*), 2011, 1-45.
- 张美文, 黄璜, 王勇, 李波. 洞庭湖区社鼠的繁殖生态. *生态学报* (Zhang Meiwen, Huang Huang, Wang Yong, Li Bo. *Reproductive ecology of sulphur bellied rat (*Niviventer confucianus*) populations in the Dongting Lake region. *Acta Ecologica Sinica*) 2006; 26(3): 884-94.*
- 李贤凤, 潘亮, 孙宝常, 袁高林, 黄立雄, 周文伟, 等. 流行性出血热新传染源—社鼠的发现. *福建医药杂志* (Li Xianfeng, Pan Liang, Sun Baochang, Yuan Gaolin, Huang Lixiong, Zhou Wenwei, et al. *Epidemic haemorrhagic heats up the discovery of new source-*Niviventer confucianus*. *Fujian Medicine Journal*) 1985; 2: 13.*
- 董文鸽, 郭宪国, 门兴元, 钱体军, 吴滇. 洱海周边地带社鼠体表寄生虫的多样性调查. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* (Dong Wenge, Guo Xianguo, Men Xingyuan, Qian Tijing, Wu Dian. *Diversity of ectoparasites on *Niviventer confucianus* in the surrounding areas of Erhai Lake. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Disease*) 2009; 27(3): 241-4.*
- 孙波. 千岛湖陆桥岛屿社鼠种群遗传多样性和遗传结构研究 (硕士学位论文). 浙江师范大学 (Sun Bo. *The research on genetic diversity and genetic structure of *Niviventer confucianus* population in land bridge islands of Qiandao Lake. Zhejiang Normal University*), 2009, 1-94.
- Jing MD, Yu HT, Wu SH, Wang W, Zheng X. Phylogenetic relationships in genus *Niviventer* (*Rodentia: Muridae*) in China inferred from complete mitochondrial *cytochrome b* gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2007; 44(2): 521-9.
- 李裕冬, 刘少英, 曾宗永. 白腹鼠属几个相似种的差异探讨. *四川动物* (Li Yudong, Liu Shaoying, Zeng Zongyong. *Discussion about different characters of four species in *Niviventer*. *Sichuan Journal of Zoology*) 2007; 26(1): 41-5.*
- Arbogast BS, Kenagy GJ. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *J Biogeography* 2001; 28: 819-25.
- Bi XX, Huang L, Jing MD, Zhang L, Feng PY, Wang AY. The complete mitochondrial genome sequence of the black-capped capuchin (*Cebus apella*). *Genet Mol Biol* 2012; 35(2): 545-52.
- 黄族豪, 刘迺发. 动物线粒体基因组变异研究进展. *生命科学研究* (Huang Zuhao, Liu Naifa. *Advances in mitochondrial genome size variation in animals. *Life Science Research*) 2010; 14(2): 166-71.*
- 宋国华, 林强, 岳文斌, 刘田福, 胡松年. 中国地鼠线粒体基因组的序列分析与分子进化. *中国实验动物学报* (Song Guohua, Lin Qiang, Yue Wenbin, Liu Tianfu, Hu Songnian. *Sequence analysis of the complete mitochondrial genome and molecular evolution of *Cricetulus griseus*. *Acta Laboratorium Animals Scientia Sinica*) 2012; 20(1): 70-5.*
- Zhang P, Wake DB. Higher-level salamander relationships and divergence dates inferred from complete mitochondrial genomes. *Mol Phylogenet Evol* 2009; 53(2): 492-508.
- Singh VK, Mangalam AK, Dwivedi S, Naik-Biotechniques S. Primer premier: Program for design of degenerate primers from a protein sequence. *Biotechniques* 1998; 24(2): 318-9.
- 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): 2731-9.
- 23 Burland TG. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. *Methods Mol Biol* 2000; 132: 71-91.
- 24 Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: Identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene* 1997; 205(1): 125-40.
- 25 Chen W, Sun Z, Liu Y, Yue B, Liu S. The complete mitochondrial genome of the large white-bellied rat, *Niviventer excelsior* (Rodentia: Muridae). *Mitochondrial DNA* 2012; 23(5): 363-5.
- 26 Goios A, Pereira L, Bogue M, Macaulay V, Amorim A. mtDNA phylogeny and evolution of laboratory mouse strains. *Genome Res* 2007; 17(3): 293-8.
- 27 Gadaleta G, Pepe G, de Candia G, Quagliariello C, Sbisà E, Saccone C. The complete nucleotide sequence of the *Rattus norvegicus* mitochondrial genome: Cryptic signals revealed by comparative analysis between vertebrates. *J Mol Evol* 1989; 28(6): 497-516.
- 28 桂建芳. 脊椎动物线粒体DNA的进化遗传学. *动物学杂志*(Gui Jianfang. The evolution of the vertebrate mitochondrial DNA genetics. *Chinese Journal of Zoology*) 1990; 25(1): 50-5.
- 29 Yokobori S, Pääbo S. Transfer RNA editing in land snail mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(22): 10432-5.
- 30 张方, 米志勇. 动物线粒体DNA的分子生物学研究进展. *生物工程进展*(Zhang Fang, Mi Zhiyong. Advance in molecular biology of animal mitochondrial DNA. *Progress in Biotechnology*) 1998; 18(3): 25-31.
- 31 Wenink PW, Baker AJ, Tilanus MG. Mitochondrial control-region sequences in two shorebird species, the turnstone and the dunlin, and their utility in population genetic studies. *Mol Biol Evol* 1994; 11(1): 22-31.
- 32 Wallace DC. Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 781-821.
- 33 Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290(5806): 457-65.
- 34 Wolstenholme DR. Animal mitochondrial DNA: Structure and evolution. *Int Rev Cytol* 1992; 141: 173-216.
- 35 Liu H, Tzeng CS, Teng HY. Sequence variations in the mitochondrial DNA control region and their implications for the phylogeny of the *Cypriniformes*. *Canad J Zool* 2002; 80(3): 569-81.