

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00013

无颌类脊椎动物适应性免疫系统的进化

刘岑杰, 黄惠芳, 马飞, 刘欣, 李庆伟

辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116029

摘要: 适应性免疫系统的起源与进化问题一直是人们研究的热点, 以七鳃鳗为代表的无颌类脊椎动物, 被普遍认为处在进化出适应性免疫系统的边缘。因此, 研究无颌类脊椎动物适应性免疫的机制, 对揭示适应性免疫系统的起源与进化具有重要意义。研究表明, 无颌类在一定范围内具有高等脊椎动物特有的适应性免疫特征, 并发现了一些在结构或功能上与高等脊椎动物免疫相关基因同源的免疫因子。文章就近年来对无颌类脊椎动物适应性免疫系统机制的研究进展作一概述, 为进一步深入研究脊椎动物适应性免疫系统的起源与进化提供有益的参考。

关键词: 无颌类; 适应性免疫; 免疫相关基因; 起源进化

The evolution of adaptive immunity system of agnathan vertebrates

LIU Cen-Jie, HUANG Hui-Fang, MA Fei, LIU Xin, LI Qing-Wei

College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

Abstract: All along peoples pay extensive attention on the origin and evolution of adaptive immunity system. Agnathans, taking lamprey as the representative, are generally thought at the edge of evolving the adaptive immunity system. Therefore, it is very significantly important to further study the mechanism of adaptive immunity of agnathans for revealing the origin and evolution of adaptive immunity system. Previous studies indicated that agnathans shared some characters of adaptive immunity with higher vertebrates. In addition, a few researchers also found that some genes are homologous in the structure or function with the immunologically relevant genes of higher vertebrates. In this article, we have summarized some recent research progresses about the mechanism of adaptive immunity system of agnathans. The aim of this paper is to provide valuable clues for further studying of the origin and evolution of the adaptive immunity system of vertebrate.

Keywords: agnathan; adaptive immune; immunologically relevant gene; origin and evolution

免疫(immunity)是指生物体对一切非己分子进行识别与排除的过程。根据获得方式的不同, 将免疫分为先天性免疫(innate immune)和适应性免疫(adaptive immune)。几乎所有的生物都具备先天性免疫, 但高等的脊椎动物在先天性免疫的基础上, 又进化出了更完善的适应性免疫系统, 不仅具有完整的免疫器官和免疫细胞, 而且免疫活性细胞还能产

生特异性抗体和淋巴因子, 从而准确地识别自己, 排除异物以达到机体内环境的相对稳定, 这对保护自己、延续种族和物种的进化都有重大意义。

长期以来, 有关适应性免疫的起源与进化问题一直是人们研究的热点。以前人们普遍认为适应性免疫系统起源于硬骨鱼类^[1]。但随着研究的不断深入, 人们发现以七鳃鳗和盲鳗为代表的无颌类脊椎

收稿日期: 2007-07-06; 修回日期: 2007-08-16

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30671083)和国家重点基础研究发展计划(编号: 2007CB815802)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30671083), and the National Basic Research Program of China (No.2007CB815802)]

作者简介: 刘岑杰(1982-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: liucenjie@163.com

通讯作者: 李庆伟(1955-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: liqw@263.net

动物处在进化出适应性免疫系统的边缘^[2], 无颌类脊椎动物在一定范围内存在适应性免疫的现象和多种参与适应性免疫相关的免疫因子, 这可能提供揭示人类适应性免疫系统演化起源的关键线索。早在 1972 年, Good 等^[3]便对七鳃鳗的免疫反应进行了初步研究, 发现它对同种异体间的组织移植有排斥和超敏感反应。1990 年, Varner 等^[4]运用蛋白分离与纯化等技术从盲鳗的血液中分离出了一种血清蛋白, 鉴定它与免疫球蛋白在结构与序列上具有同源性。在七鳃鳗类淋巴细胞中, 发现有多种与脊椎动物淋巴细胞的分化、增殖、迁移和信号转导相关的同源基因的表达, 但是与抗原多样性相关重组免疫球蛋白同源基因却一直没有在七鳃鳗中被发现^[5]。近年来, 人们发现无颌类脊椎动物存在一种适应性免疫响应, 但是在免疫应答过程中产生的抗原受体, 并不是我们在有颌类脊椎动物中看到的重组抗原受体, 而是在类淋巴细胞上发现了新型可变受体, 利用一种不寻常的基因重排过程来产生受体多样性^[5]。随着基因组计划和生物信息学的迅猛发展, 为免疫基因的进化研究提供了便捷有效的方法后, 相继在盲鳗, 七鳃鳗等无颌类脊椎动物的淋巴样细胞中证实有与 T 细胞受体, CD4 等免疫相关基因的同源基因的表达^[6]。这些免疫相关基因的发现, 为研究适应性免疫在无颌类脊椎动物中的起源与进化提供了可能的证据。

适应性免疫系统是由免疫组织和器官、免疫细胞及免疫活性因子组成。下面将从无颌类免疫系统这 3 个方面的进化来概述无颌类适应性免疫的起源与进化。

1 无颌类脊椎动物免疫器官的进化

高等脊椎动物的主要适应性免疫组织和器官有骨髓、胸腺、淋巴结、脾及扁桃体等; 硬骨鱼类的主要免疫器官有胸腺、肾、脾脏及粘膜相关淋巴组织, 它与高等哺乳动物在免疫器官组成上的主要区别在于没有骨髓和淋巴结。然而作为脊椎动物中最低等的一个类群——无颌类, 虽然没有进化出完善的免疫组织和器官, 但是具有独特的鳃呼吸器官——鳃囊, 在幼体时期有胸腺样组织的形成^[7]。没有完善的淋巴结, 只有弥散的淋巴细胞, 在鳃囊组织中有小淋巴细胞的产生^[8]。这些小淋巴细胞的产生, 为无颌类适应性免疫的进化提供了组织基础。

2 无颌类脊椎动物淋巴细胞的进化

适应性免疫是通过淋巴细胞表达特异性受体来识别外界抗原的。淋巴细胞作为一类特殊的具有免疫活性的细胞, 其在进化过程出现的具体时间目前尚没有明确的证明。在无颌类脊椎动物中, 虽然尚未发现胸腺、脾脏、淋巴结等免疫组织, 但已出现了小淋巴细胞。盲鳗消化道的固有层组织, 七鳃鳗鳃囊附近的造血组织, 其周围常见有小淋巴细胞集聚。这些小淋巴细胞在结构上, 有一个浓缩染色质的细胞核, 周围包被一层薄染色质, 其中有相关的细胞器结构^[8]。这些类淋巴细胞在受到外界抗原或异物刺激时, 能够形成成熟的淋巴细胞, 完成一系列活化和增殖等过程。从形态学上分析, 无颌类的这些类淋巴细胞, 主要产生于一些造血组织。如幼鳗期的褶皱前肠, 成体期的脊椎弓和鳃囊等组织都能被发现有小淋巴细胞的产生^[9]。Shintani 等^[10]于 2000 年在七鳃鳗的消化管淋巴样细胞中发现 *PU.1*/*Spi-B* 同源基因的表达, *PU.1*/*Spi-B* 基因是在高等脊椎动物淋巴细胞中特异表达的一类蛋白基因家族, 它的研究成果在分子水平上进一步验证了淋巴细胞在无颌类脊椎动物中的存在。

3 无颌类脊椎动物免疫相关因子的研究

在无颌类脊椎动物的类淋巴细胞中, 有大量与高等脊椎动物淋巴细胞的分化、增殖、迁移、信号传递等相关的同源基因表达。高等脊椎动物免疫应答的特异性是建立在 T、B 淋巴细胞表面抗原识别受体的多样性的基础上, 而抗原识别受体的多样性又是通过抗原识别受体编码基因的 *V*、*J*、*C* 基因片段的重组来实现的^[11]。在无颌类中, 它的类淋巴细胞尚未完成成熟 T、B 淋巴细胞的进化, 虽然发现有 T 细胞抗原受体 (TCR) 等适应性免疫相关同源基因的表达, 但是 T、B 淋巴细胞表面抗原识别受体的重组机制在无颌类的免疫系统中却不存在。那么无颌类是如何实现它的适应性免疫的呢? 无颌类通过其特有的重组机制, 来产生一系列多样的抗原识别受体, 实现特异性免疫。以下将对目前已发现的一些无颌类适应性免疫系统中的免疫相关因子做一概述, 以此探讨无颌类的适应性免疫。

3.1 T 细胞受体 (TCR) 和 CD4

T 细胞表面的抗原识别分子称为 T 细胞抗原受体 (TCR)。未分化成熟的前 T 细胞中都含有胚系基因

(germ line gene), 每种胚系基因都由许多分隔状态的带有编码前导肽(L)的可变区基因(V)、联接恒定区基因(C)的连接基因(J)、多样性基因(D)等组成。胚系基因无转录和表达功能, 转录前必须经过基因重排(gene rearrangement), 形成含有VJC或VDJC基因的完整DNA才能转录mRNA, 翻译TCR的一条肽链。通过重组构成不同的TCR分子, 由此决定了T细胞识别抗原的多样性和特异性, 从而可对环境中千变万化的抗原产生特异性应答^[12, 13]。CD4 分子是T细

胞的分化抗原, 分布于部分T淋巴细胞和胸腺细胞表面, 在免疫识别中为辅助受体, 分别与TCR共同组成复合抗原受体。

2004 年, Pancer 等^[6]对海七鳃鳗肠壁组织类淋巴细胞和血液免疫激活类淋巴细胞的转录产物进行研究, 鉴定出 TCR 和 CD4 同源基因的表达。序列结构特征分析表明七鳃鳗的 TCR-like 和 CD4-like 基因具有适应性免疫抗原受体基因序列的基本特征, 暗示其可能是 TCR 基因和 CD4 基因的祖先基因。将七

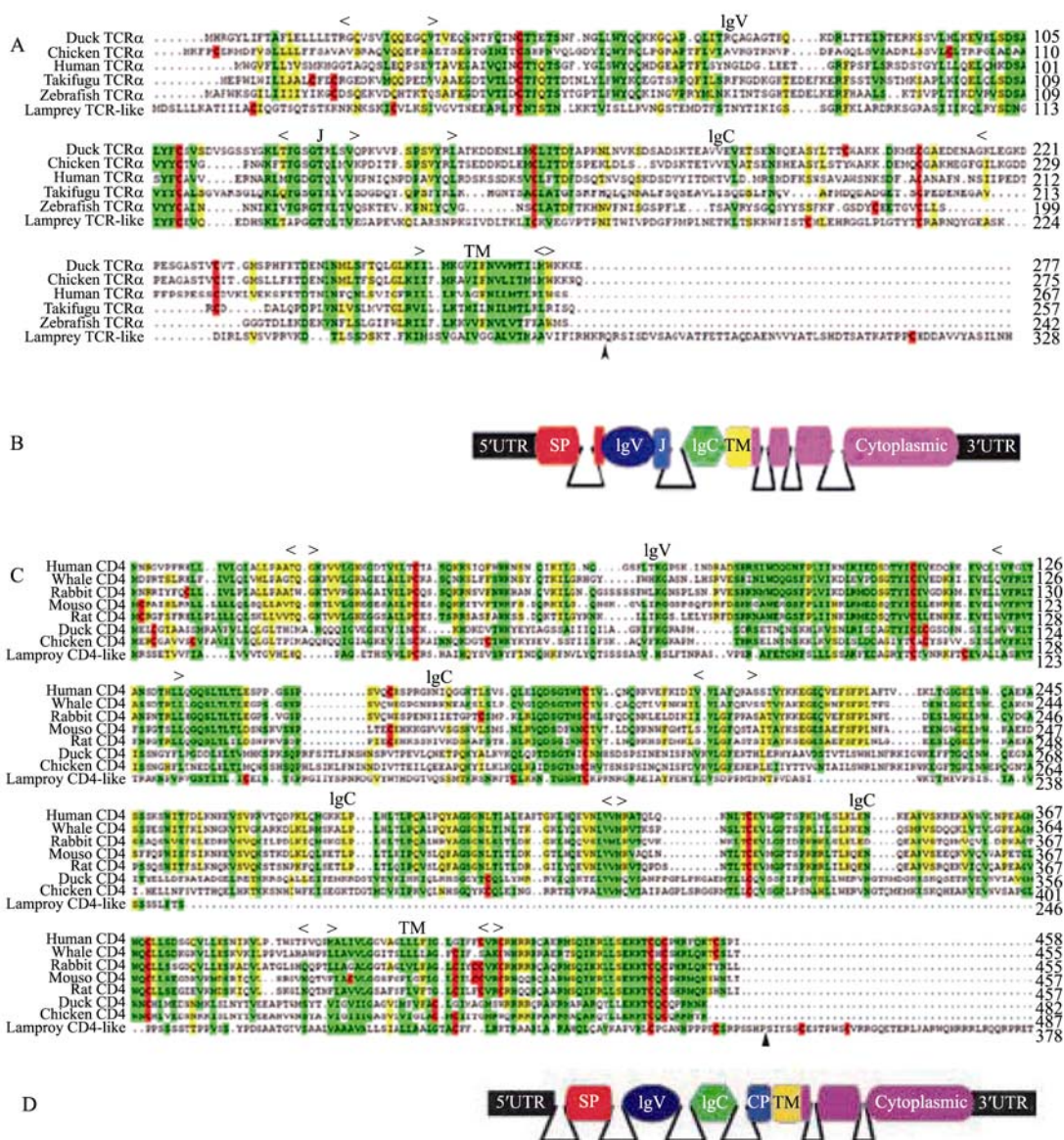


图 1 七鳃鳗 TCR-like 基因, CD4-like 基因与其他物种同源基因的多序列比对^[6]

A、C: 七鳃鳗 TCR-like 基因, CD4-like 基因在序列结构上具有与有颌类脊椎动物的 TCR, CD4 分子相似的可变区、跨膜区和连接区; B、D: 七鳃鳗 TCR-like 基因, CD4-like 基因的外显子, 内含子结构模型。

Fig. 1 Multiple alignment of the lamprey TCR-like and CD4-like molecules with related vertebrate lymphocyte receptors^[6]

A and C: Jawed vertebrate TCR and CD4 molecules. Approximate location of Ig and transmembrane (TM) domains as well as the location of the J region in TCRs are indicated; B and D: Stick models of exons and introns in the TCR-like and CD4-like genes.

鳐中表达的 *TCR-like* 基因与其他脊椎动物的 *TCR* 基因作多序列比对(图 1), 发现前者在序列结构上包含可变区 V, 连接区 J 和跨膜区 TM 3 段与后者同源的基因片段, 而 CD4 同源基因则包含 V、C、TM 3 段同源的基因片段。从序列结构的特征分析, 七鳃鳗的 *TCR-like* 和 *CD4-like* 基因具有适应性免疫抗原受体基因序列的基本特征, 鉴定其很可能是现代 *TCR* 和 *CD4* 基因的祖先基因。但是, 分析发现, 在海七鳃鳗中发现的这种 *TCR-like* 基因, 它的可变区 V, 只具备有一个单拷贝序列, 因此无法像脊椎动物 *TCR* 基因一样, 通过不同的 V 区基因与 C、J 基因的重排, 来实现多样抗体的表达。因此推测, 海七鳃鳗的这种 *TCR-like* 基因仅仅只是现代 *TCR* 基因的前体, 但在功能上还没有达到免疫活性的进化。

3.2 B 细胞受体

目前, 在无颌类的类淋巴细胞中, 尚未发现有高等脊椎动物 B 淋巴细胞表面受体的同源基因的表达。那么, 我们是否就能断定, 在无颌类免疫系统中就不存在由 B 淋巴细胞介导的适应性体液免疫的进化痕迹呢? 磷脂酰肌醇 3 激酶 B 细胞接头(BCAP)的发现, 为我们提出了进一步的思考。BCAP 是一种

新型的 B 细胞接头蛋白, 其主要功能是使抗原受体结合的蛋白质酪氨酸磷酸化, 可以调控下游的效应分子, 同时介导纤维原细胞生长因子受体间的信号传递^[14, 15]。2002 年, Uinuk-Ool 等^[16]在海七鳃鳗淋巴细胞中发现了 BCAP 同源基因的表达, 鉴定其与家鸡的 BCAP 基因有 37% 的同源性, 同时将其翻译成蛋白质, 其蛋白结构和特性与人类、家鸡、大鼠的 BCAP 蛋白相似, 包括 336~404 氨基酸残基间的锚蛋白重复区, 636~666 残基间的盘绕区, 436~453 残基间的脯氨酸富集区, 和 3 个酪氨酸磷酸化位点 Tyr-378、Tyr-423 和 Tyr-448。2005 年, Cannon 等^[17]从七鳃鳗的 cDNA 文库中筛选出一段信号肽序列, 它与哺乳动物的 *VpreB* 基因在结构上具有同源性, 包含有一段具有识别位点的跨膜结构域。BCAP, *VpreB* 在七鳃鳗中的表达, 暗示在无颌类脊椎动物中也有可能存在 B 细胞介导的适应性免疫应答。

3.3 可变淋巴受体(VLR)

有颌类脊椎动物通过淋巴细胞表面抗原识别受体编码基因的 V、J、C 基因片段的重组来产生多样的抗原识别受体。然而对于无颌类脊椎动物, 也存在一种适应性免疫响应, 但不是我们在有颌类脊椎

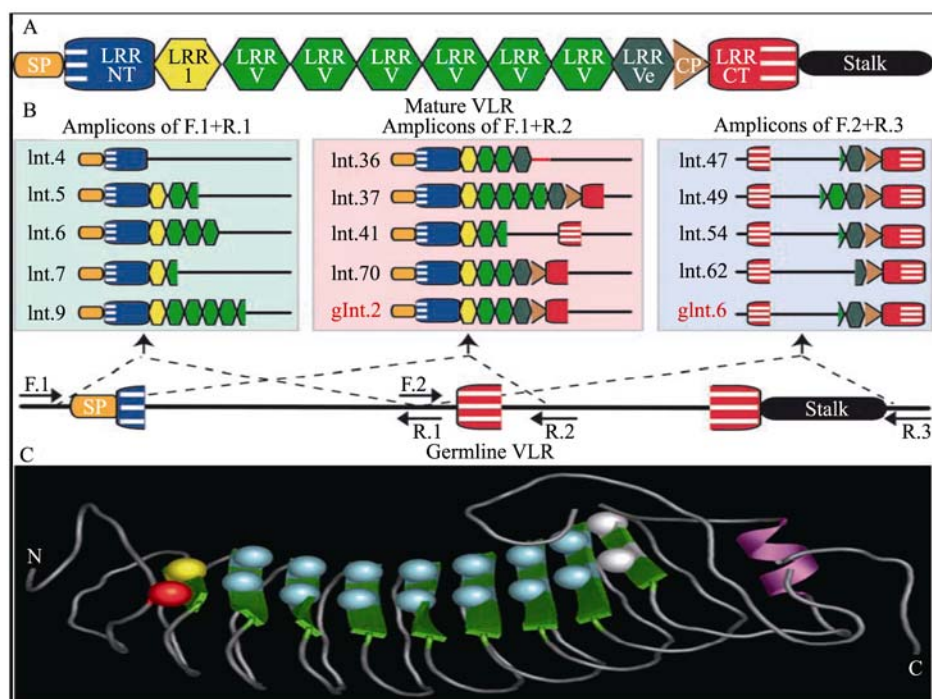


图 2 成熟 VLR 的基本结构及形成机制^[18]

A: VLR 基因结构: SP, LRRNT, LRR1, LRRV, LRRVe, CP, LRRCT; B: 胚系 VLR 基因重组机制; C: VLR 可变结构域的 3D 模型。

Fig.2 Lamprey VLR diversity and gene rearrangement intermediates^[18]

A: VLR gene structure: SP, LRRNT, first LRR1, variable LRRV, end LRRVe, CP, and LRRCT; B: Germline VLR gene rearrangement intermediates; C: 3D model of VLR diversity region.

动物中看到的重组抗原识别受体, 而是在类淋巴细胞上发现了一种新型可变受体, 利用一种不寻常的基因重排过程来产生受体多样性。这种新型可变受体被称为可变淋巴受体(variable lymphocyte receptor, VLR), 它通过另一种不同的方式来生成多种抗原识别受体, 实现自身的适应性免疫^[18, 5]。这种可变淋巴受体的重组方式是在一个发育不完全的胚系细胞可变淋巴受体基因(germline VLR gene, gVLR)中, 随机插入亮氨酸富集重复(leucine-rich repeat, LRR)单元, 产生多种成熟的可变淋巴抗原识别受体。通过这种方式, 理论上来说, 一个胚系淋巴细胞可变受体基因就可以生成 10^{14} 个特异性抗原受体, 其多样性足以应对外界多变的抗原。研究发现, 海七鳃鳗具有一个胚系细胞可变淋巴受体基因^[5], 而盲鳗具有两种, 分别是VLR-A和VLR-B^[19]。成熟可变淋巴受体的基本结构是由多个亮氨酸重复单元的插入形成, 它包括 30~38 残基的N末端LRR(LRRNT), 18 残基的首位 LRR(LRR1), 24 残基的可变 LRR(LRRVs), 13 残基连接肽(CP)和 48~65 残基的C末端LRR(LRRCT)^[20](图 2)。由于这种可变淋巴受体的存在, 为无颌类脊椎动物提供了大量的多样性抗原识别受体, 为适应性免疫的发展提供了分子基础。

3.4 其他免疫因子

此外, 在无颌类脊椎动物中, 还发现存在与适应性免疫相关的多种免疫因子。Uinuk-ool等^[21]在海七鳃鳗淋巴细胞中还发现CD45 免疫因子的表达, 它是脊椎动物免疫系统主要的跨膜酪氨酸磷酸酶(PTP), 用来调节T细胞和B细胞的激活与增值^[22]。成熟的CD45 蛋白由 1 281 个氨基酸残基组成, 一段跨膜序列(TM)将一条肽链分割成N-末端胞外区(EC)和C-末端胞质区。七鳃鳗中的CD45 同源蛋白在C-末端胞质区 906~972 和 1 104~1 661 两段氨基酸残基处与人类的CD45 具有同源性。将七鳃鳗CD45 的基因与其他物种的做NJ树(图 3), 可以看出它的进化地位。

最近Cooper等人运用生物信息学等方法, 分析海七鳃鳗免疫相关的EST数据, 发现CD8, CD98, TAP等适应性免疫相关因子的同源基因也在七鳃鳗淋巴细胞中有表达^[22~24], 在高等动物中, 这些因子对淋巴细胞的活化、迁移、分化等具有调解作用。

从以上分析可知, 无颌类脊椎动物体内确实存在数量较多, 结构多样可能参与有颌类脊椎动物适

应性免疫的免疫因子。虽然其与脊椎动物免疫球蛋白等免疫分子之间的进化关系尚不明确。但可以肯定的是, 它们的出现决非偶然, 应当是生物界与自然选择的结果。

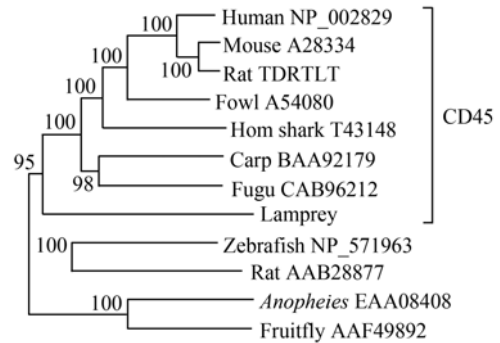


图 3 七鳃鳗 CD45 基因与其他相关物种的进化树^[16]

Fig. 3 Neighbor-joining tree of CD45 sequences and related PTPs^[16]

4 无颌类脊椎动物适应性免疫机制

适应性免疫是通过淋巴细胞表面各种不同的抗原受体识别异物, 多种多样的抗原受体则通过一系列重组机制产生。在高等脊椎动物中, 通过免疫球蛋白和 T 细胞受体胚系基因的 V、J、C 等基因片段的重组来产生多样的抗原受体。然而, 在无颌类脊椎动物中发现的一些与适应性免疫相关的可变受体基因(TCR-like gene), 虽然它们的结构与有颌脊椎动物的可变受体基因有一定的相似性, 都具有可变区 V, 连接区 J, 固定区 C。但是 TCR-like 基因的可变区只有一个拷贝, 因此, 它不能象高等脊椎动物的 TCR 基因那样, 以 V、J、C 基因片段重组的方式发生重排, 以产生多种可变受体。后来研究发现, 在无颌类脊椎动物的免疫系统中却存在着另一种重组方式用以生成多种可变受体, 其抗原受体是可变淋巴受体^[25]。它的重组方式是在一个不完全胚系细胞可变淋巴受体基因(incomplete germline VLR gene)中插入亮氨酸富集重复单元(leucine-rich repeat, LRR), 以产生多种体细胞可变淋巴受体, 来对外界多种抗原, 产生适应性免疫反应。无颌类所特有的这种抗原识别受体编码基因的重组机制与高等脊椎动物的重组方式类似(图 4), 推测无颌类脊椎动物的这种重组受体的方式, 与有颌类脊椎动物的适应性免疫有一定的进化关系, 很可能是一种适应性免疫的初级形式。

- [6] Pancer Z, Mayer WE, Klein J, Cooper MD. Prototypic T-cell receptor and CD4-like coreceptor expressed in lymphocytes of the agnathan sea lamprey. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 13273–13278. [\[DOI\]](#)
- [7] Finstad J, Papermaster BW, Good RA. Evolution of the immune response II. Morphologic studies on the origin of the thymus and organized lymphoid tissue. *Lab Invest*, 1964, 13: 490–512.
- [8] Mayer WE, Uinuk-Ool T, Tichy H, Gartland LA, Klein J, Cooper MD. Isolation and characterization of lymphocyte-like cells from a lamprey. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(22): 14350–14355. [\[DOI\]](#)
- [9] Wallin IE. The relationships and histogenesis of thymus-like structures in ammocoetes. *American Journal of Anatomy*, 2005, 22: 127–167. [\[DOI\]](#)
- [10] Shintani S, Terzic J, Sato A, Saraga-Babic M, O'hUigin C, Tichy H, Klein J. Do lampreys have lymphocytes? The Spi evidence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(13): 7417–7422. [\[DOI\]](#)
- [11] Cannon JP, Haire RN, Rast JP, Litman GW. The phylogenetic origins of the antigen binding receptors and somatic diversification mechanisms. *Immunological Review*, 2004, 200: 12–22. [\[DOI\]](#)
- [12] Flajnik MF, Kasahara M. Comparative genomics of the MHC glimpses into the evolution of the adaptive immune system. *Immunity*, 2001, 15: 351–362. [\[DOI\]](#)
- [13] Flajnik MF. Comparative analyses of immunoglobulin genes: surprises and portents. *Nature Reviews Immunology*, 2002, 2(9): 688–698. [\[DOI\]](#)
- [14] Yokoyama K, Su IH, Tezuka T, Yasuda T, Mikoshiba K, Tarakhovsky A, Yamamoto T. BANK regulates BCR-induced calcium mobilization by promoting tyrosine phosphorylation of IP3 receptor. *EMBO Journal*, 2002, 21: 83–92. [\[DOI\]](#)
- [15] Wang YH, Zhang Z, Burrows PD, Kubagawa H, Bridges SL Jr, Findley HW, Cooper MD. V(D)J recombinatorial repertoire diversification during intraclonal pro-B to B-cell differentiation. *Blood*, 2003, 101(3): 1030–1037. [\[DOI\]](#)
- [16] Uinuk-Ool T, Mayer WE, Sato A, Dongak R, Cooper MD, Klein J. Lamprey lymphocyte-like cells express homologs of genes involved in immunologically relevant activities of mammalian lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 14356–14361. [\[DOI\]](#)
- [17] Cannon JP, Haire RN, Pancer Z, Mueller MG, Skapura D, Cooper MD, Litman GW. Variable domains and a VpreB-like molecule are present in a jawless vertebrate. *Immunogenetics*, 2005, 56(12): 924–929. [\[DOI\]](#)
- [18] Alder MN, Rogozin IB, Iyer LM, Glazko GV, Cooper MD, Pancer Z. Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate. *Science*, 2005, 310(5756): 1892–1893. [\[DOI\]](#)
- [19] Pancer Z, Saha NR, Kasamatsu J, Suzuki T, Amemiya CT, Kasahara M, Cooper MD. Variable lymphocyte receptors in hagfish. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 9224–9229. [\[DOI\]](#)
- [20] Cooper MD, Alder MN. The evolution of adaptive immune systems. *Cell*, 2006, 24, 124(4): 815–822. [\[DOI\]](#)
- [21] Uinuk-ool TS, Mayer WE, Sato A, Takezaki N, Benyon L, Cooper MD, Klein J. Identification and characterization of a TAP-family gene in the lamprey. *Immunogenetics*, 2003, 55: 38–48.
- [22] Cannon JP, Haire RN, Rast JP, Litman GW. The phylogenetic origins of the antigen-binding receptors and somatic diversification mechanisms. *Immunological Reviews*, 2004, 200: 12–22. [\[DOI\]](#)
- [23] Mayer WE, O'Huigin C, Tichy H, Terzic J, Saraga-Babic M. Identification of two Ikaros-like transcription factors in lamprey. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2002, 55(2): 162–170. [\[DOI\]](#)
- [24] Janeway CA, Traver JrP, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. New York: Garland Publishing, 2001.
- [25] Kasamatsu J, Suzuki T, Ishijima J, Matsuda Y, Kasahara M. Two variable lymphocyte receptor genes of the inshore hagfish are located far apart on the same chromosome. *Immunogenetics*, 2007, 59(4): 329–331. [\[DOI\]](#)
- [26] Laird DJ, De Tomaso AW, Cooper MD, Weissman IL. 50 million years of chordate evolution: Seeking the origins of adaptive immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 6924–6926. [\[DOI\]](#)
- [27] Du Pasquier L. Meeting the demand for innate and adaptive immunities during evolution. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2005, 62(1): 39–48. [\[DOI\]](#)
- [28] Du Pasquier L. Speculations on the origin of the vertebrate immune system. *Immunology Letters*, 2004, 92(1–2): 3–9. [\[DOI\]](#)
- [29] Cannon JP, Haire RN, Rast JP, Litman GW. The phylogenetic origins of the antigen-binding receptors and somatic diversification mechanisms. *Immunological Reviews*, 2004, 200: 12–22. [\[DOI\]](#)
- [30] Eason DD, Cannon JP, Haire RN, Rast JP, Ostrov DA, Litman GW. Mechanisms of antigen receptor evolution. *Seminars In Immunology*, 2004, 16(4): 215–226. [\[DOI\]](#)