

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00588

猕猴 *MHC-DPB1* 基因外显子 2 多态性研究

徐怀亮^{1,2}, 汪宴廷², 程安春^{1,3}, 姚永芳², 倪庆永², 曾文³, 毕凤均³, 杨泽霞³, 陈孝跃³

1. 四川农业大学, 动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 雅安 625014;
2. 四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014;
3. 四川农业大学实验动物工程技术中心, 雅安 625014

摘要: 猕猴(*Macaca mulatta*)是最理想的医学实验灵长类动物, 且为国家二级保护动物。为了解中国猕猴主要组织相容复合体(Major histocompatibility complex, MHC)基因的遗传多态性背景, 为它们在生物医学研究中的应用及其遗传资源的保护提供一定的科学依据, 文章采用变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)和克隆测序技术分析了 106 个四川野生猕猴 *MHC-DPB1* 基因的 exon 2, 共检测到 21 个 *Mamu-DPB1* 等位基因, 其中有 15 个为本研究中首次发现的新等位基因; 从整个大的猕猴群体(106 个个体)来看, 等位基因频率最高的是 *Mamu-DPB1*30*(0.1120); 单独从不同地理群体来看, 最高等位基因频率分别为: 小金-*DPB1*30*(0.1120), 黑水-*DPB1*04*(0.1702), 巴中-*DPB1*32*(0.1613), 汉源-*DPB1*30*(0.1120), 九龙-*DPB1*04*(0.1139); 氨基酸序列比对发现, 猕猴 *Mamu-DPB1* 等位基因编码的氨基酸序列中, 有 12 个氨基酸残基变异位点表现出物种特异性, 其中有 9 个位于新发现的 15 个 *Mamu-DPB1* 等位基因氨基酸序列中; 不同物种来源的 *DPB1* 等位基因系统发生树表明, 猕猴与其近缘物种食蟹猴(*Macaca fascicularis*)的 *DPB1* 等位基因间存在着跨种多态(Trans-species polymorphism)现象。研究还表明, *MHC-DPB1* 等位基因在中国猕猴群体和先前为主要研究对象的印度猕猴群体间具有较大的差异。

关键词: 猕猴; 主要组织相容复合体 II 类; *Mamu-DPB1* 基因; 多态性

Polymorphism of *MHC-DPB1* gene exon 2 in rhesus macaques (*Macaca mulatta*)

XU Huai-Liang^{1,2}, WANG Yan-Ting², CHENG An-Chun^{1,3}, YAO Yong-Fang²,
NI Qing-Yong², ZENG Wen³, BI Feng-Jun³, YANG Ze-Xia³, CHEN Xiao-Yue³

1. Key Laboratory of Animal Disease and Human Health of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;
2. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;
3. Engineering and Technology Center for Laboratory Animals of Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: Rhesus macaque (*Macaca mulatta*) has long been used as an experimental model animal for biomedical research and was under the key state protection (class II) from Chinese government. In order to facilitate the use of Chinese

收稿日期: 2009-11-24; 修回日期: 2010-03-06

基金项目: 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目(编号: IRT0848), 动物疫病与人类健康四川省重点实验室开放基金项目(编号: SZDSYS-200601)和四川省教育厅自然科学基金重点项目(编号: 08ZA076)资助

作者简介: 徐怀亮(1968-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 野生动物遗传资源保护与利用。Tel: 0835-2885934; E-mail: huailxu@yahoo.com

汪宴廷(1983-), 男, 硕士, 研究方向: 野生动物遗传资源保护与利用。Tel: 0835-2885934; E-mail: lsqw1983@163.com

徐怀亮和汪宴廷同为第一作者。

通讯作者: 程安春(1965-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物传染病致病机理、免疫及分子生物学。Tel: 0835-2885774;
E-mail: chenganchun@vip.163.com

rhesus macaques in biomedical research and their protection based on better understanding of the major histocompatibility complex (MHC) genes in these macaques, the exon 2 of *Mamu-DPBI* genes were determined in 106 wild rhesus macaques using DGGE, cloning and sequencing. A total of 21 *Mamu-DPBI* alleles were obtained, of which 15 alleles were novel sequences that had not been documented previously. *Mamu-DPBI**30 was the most frequent allele in the whole large population comprising all 106 rhesus macaque individuals (0.1120) and in Xiaojin population (0.1120), *Mamu-DPBI**04 in Heishui (0.1702), *-DPBI**32 in Bazhong (0.1613), *-DPBI**30 in Hanyuan (0.1120), and *-DPBI**04 in Jiulong (0.1139). The alignment of the amino acids sequences showed that 12 variable sites were species-specific, of which 9 sites occurred in the putative amino acids sequences of the 15 novel *Mamu-DPBI* alleles. Trans-species polymorphism was observed on the phylogenetic tree based on the *DPBI* alleles of rhesus macaques and cynomolgus (*Macaca fascicularis*). In addition, these results also demonstrated that significant genetic differentiation has occurred between Chinese and Indian rhesus macaque population.

Keywords: *Macaca mulatta*; major histocompatibility complex class II; *Mamu-DPBI* gene; polymorphism

猕猴(*Macaca mulatta* Zimmermann)是最理想的一种非人灵长类实验动物,在包括多发性硬化、风湿性关节炎、获得性免疫缺乏综合征(Acquired immune deficiency syndrome, AIDS)等人类疾病的生物医学研究中发挥着重要的作用^[1~3]。以往有关 AIDS 的发病机理和疫苗的研究几乎全部使用印度猕猴,近年来随着印度猕猴的禁止出口,中国猕猴在国际灵长类实验动物中的应用比例将不断扩大^[4]。因此摸清中国猕猴的遗传学背景对于推动其在国际生物医学研究中的应用具有重要的意义。

主要组织相容复合体(Major histocompatibility complex, MHC)是一类编码膜表面糖蛋白的分子,包括 I 类、II 类和 III 类分子。I 类分子几乎表达于所有类型的细胞,主要与内源性抗原肽结合并递呈给 CD8⁺ 杀伤性 T 细胞,导致靶细胞死亡^[5];而 II 类分子主要在免疫细胞,如 B 细胞、辅助 T 细胞,或者 CD4⁺ 细胞、巨噬细胞和其他的抗原递呈细胞中表达,它们分别在适应性免疫应答中的关键步骤,即抗原递呈到 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞过程中起主要作用^[6,7]; III 类分子是分布于血清及其他体液中的可溶性分子,包括补体成分 C2、C4、备解素(Bf)、热休克蛋白(Hsp70)、肿瘤坏死因子(Tnf)和凋亡诱导因子(Aif)等,可参与炎症和应急反应,与内源性抗原的加工递呈相关^[8]。研究发现, *MHC* 基因的差异性很大程度上影响着动物实验结果的稳定性、可靠性和可重复性,尤其在感染性动物模型建立过程中表现得更为明显^[9]。通过对猕猴 *MHC* 基因 exon 2 的检测,已有 12 个 *Mamu-DRA*、128 个 *Mamu-DRB*、20 个 *Mamu-DQA1*、50 个 *Mamu-DQB1*、

7 个 *Mamu-DPA1* 和 18 个 *Mamu-DPBI* 等位基因相继得到鉴定^[10~12]。*Mamu-DPBI* 等位基因属于 *MHC* II 类,有研究表明它和实验性自身免疫性脑脊髓炎(Experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)的敏感性有关,在 *MHC*-DP 抗原的选择性多肽结合中起主要的作用,在体液应答中也是一个重要的因子^[13~15]。然而,由于 *MHC* I 类分子在免疫反应中起着直接的重要作用,目前对于中国猕猴 *MHC* 基因多态性的研究更多的是集中于该类基因^[16~20],对于中国猕猴 *MHC* II 类基因,仅见少量有关 *DQB* 基因的研究^[12,21],而对于中国猕猴 *MHC-DPBI* 基因遗传多态性的研究迄今为止尚未见报道。

变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)是近几年来国内外应用比较广泛的分子生物学技术之一。已有学者将其应用于一些灵长类的 *MHC* 多态性研究中,并证明这是一种研究群体遗传学快速而准确的方法^[22,23]。本研究首次采用 DGGE 和克隆测序技术,对我国猕猴资源富集地四川地区的 5 个野生猕猴地理种群共 106 个个体的 *MHC-DPBI* 基因外显子 2 进行了检测,并以该等位基因为分子标记对这些猕猴的遗传多样性进行了评估,将为推动该地区猕猴遗传资源的保护与开发利用提供一定的科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验中所有猕猴样品均采自国家实验猕猴种源基地(四川农业大学),分 5 个地理群体即四川小

金、黑水、巴中、汉源和九龙,共 106 个成年个体。其中小金 20 只、黑水 20 只、巴中 15 只、汉源 25 只、九龙 26 只。所有个体均采用一次性注射器通过后肢静脉采血获得。每个个体采集 1~1.5 mL 血液,迅速加入等体积的抗凝剂 EDTA(0.5 mol/L)保存液,轻轻震荡后放入冰盒,带回实验室-20℃ 保存。由于这些猕猴均为四川省内近年来新建的猕猴养殖基地从野外首次捕获的基础群体,来源地清楚,因而这些样品实际上完全来自野生猕猴。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取与一次 PCR 扩增

本实验样本采用常规酚-氯仿抽提法及全血 DNA 小量抽提试剂盒从血液中提取 DNA。以猕猴全血基因组 DNA 为模板,参照 Doxiadis 等^[10]设计的 GC 夹板引物(正向引物 5' 富含约 30 个 GC),扩增 *Mamu-DPB1* 基因 exon 2 长约 330 bp 片段。引物序列为: M5 DPB1: 5'-CCCGCCGCGCCCCGCGCCCGCCCCGCGCCTGAGAGTGGCGCCTCCGCTCAT-3 (正向), M3 DPB1: 5'-AGCCCGGCCCAAAGCCTCACTC-3 (反向),由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR 扩增体系为: 2×*Taq* Plus MasterMix (天根生化科技有限公司) 25 μL, 正反向引物各 2 μL (10 μmol/L), 模板 60~120 ng, 补水至总体积为 50 μL。PCR 扩增条件: 96℃ 预变性 5 min; 96℃ 变性 30 s, 61℃ 复性 20 s, 72℃ 延伸 30 s, 32 个循环; 最后再 72℃ 延伸 20 min, 4℃ 保存。PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶 Goldenview 染色电泳后在紫外线照射下拍照, 得到预期片段长度的样品暂定为阳性。

1.2.2 垂直 DGGE

取 20 μL 第一次 PCR 扩增产物, 加等体积的 2× loading Buffer 混合均匀后, 加到 12% 的梯度变性聚丙烯酰胺凝胶加样孔中, 变性梯度为 0~80% (100% 的变性 = 7 M 尿素 + 40% 的去离子甲酰胺), 在 D-CODE (BioRad) 系统中, 60℃、200 V 电泳 4 h。用 1% 的硝酸银溶液进行染色, NaOH 显色液显色, 直到出现清晰条带为止, 并确定最佳变性梯度范围为 40%~75%。

1.2.3 水平 DGGE

取 20 μL 第一次 PCR 扩增产物与等体积的 2×

loading Buffer 混合均匀后, 加入到 12% 的梯度变性聚丙烯酰胺凝胶中, 根据垂直 DGGE 确定的最佳变性梯度范围, 将水平 DGGE 变性梯度范围设为 40%~75%, 置 D-CODE (BioRad) 系统中, 于 60℃、200 V 电泳 4 h。用 1% 的硝酸银溶液进行染色, NaOH 显色液显色, 直到出现清晰条带为止。然后用手术刀片将不同泳道有差异的条带切下, 浸泡于 50 μL TE 中, 4℃ 过夜。

1.2.4 *Mamu-DPB1* 等位基因的二次 PCR 扩增及克隆测序

采用 1.2.1 中一次 PCR 扩增的体系和反应条件, 使用非 GC 夹板引物 M5 DPB1: 5'-TGAGAGTGGCGCCTCCGCTCAT-3 (正向) 和 M3 DPB1: 5'-AGCCCGGCCCAAAGCCTCACTC-3 (反向) (由上海生工生物工程技术服务有限公司合成), 对切胶洗脱的各 *Mamu-DPB1* 等位基因进行二次 PCR 扩增, 并用 DNA 柱式胶回收试剂盒 (上海生工生物工程技术服务有限公司) 进行回收纯化。

将纯化后的二次 PCR 产物与 pBluescript II 载体 (宝生物工程(大连)有限公司) 连接, 而后转化到高效感受态 DH5α 细胞 (宝生物工程(大连)有限公司), 通过氨苄抗性筛选和菌落 PCR 鉴定阳性克隆, 由上海生工生物工程技术服务有限公司测序。

研究过程中为确保序列的可靠性, 从 DGGE 胶上切取条带时, 只选择清晰的条带 (放弃明显很弱的带) 用于随后的二次 PCR 扩增和克隆测序; 测序时每条带随机挑取 3~5 个克隆, 选取测序结果中至少出现两次以上的序列确定为等位基因; 对于仅出现在某一个体中的等位基因, 该样品将被重复实验 1 次, 能重复出现的方能视为有效等位基因。

1.2.5 数据分析

序列用 Chromosoma 1.62、DNASTar 软件包中 SeqMan、EditSeq、Megalign 软件 (DNASTAR Inc, 1996) 和 CLUSTAL X 进行人工校对、编辑和比对, 确保序列无误。序列确定后, 采用 MEGA4.1 计算平均非同义替换速率 (Average rates of nonsynonymous substitutions, *dN*) 和平均同义替换速率 (Average rates of synonymous substitutions, *dS*) 以及等位基因间的核苷酸和氨基酸序列差异。并基于 Kimura 双参数 (Kimura 2-parameter, K2P), 使用邻接法 (Neighbor

joining, NJ), 构建 *Mamu-DPBI* 基因 exon 2 的核苷酸序列系统发生树。系统发生树中, 分支处的置信值使用 Bootstrap 法进行检验, 重复次数为 1 000 次。

2 结果与分析

2.1 *Mamu-DPBI* 等位基因及其序列特征

采用 DGGE 和克隆测序技术, 对来自四川地区的 5 个野生猕猴群体共 106 个个体的 *MHC-DPBI* 基因 exon 2 进行检测分析, 共获得 21 个 *Mamu-DPBI* 等位基因, 其中仅有 6 个等位基因(*Mamu-DPBI**04、*-DPBI**06、*-DPBI**07、*-DPBI**10、*-DPBI**12、*-DPBI**13)在先前的研究中有所报道, 其余 15 个 *Mamu-DPBI* 等位基因均为本研究中首次检测到的新等位基因。以 GenBank 中已报道的 18 个 *Mamu-DPBI* 等位基因(*Mamu-DPBI**1~18)为基础, 结合相关的命名规则将这 15 个新等位基因依次命名为 *Mamu-DPBI**19~33, 对应的 NCBI 基因登录号为: GQ354419~GQ354433。

在核苷酸水平上, 5 个猕猴群体中共发现的 21 个 *Mamu-DPBI* 等位基因 exon 2 序列共有 63 个变异位点, 各群体所含 *DPBI* 基因 exon 2 的变异位点数在 55~62 之间(表 1), 其中变异位点数最高的为小金群体 (62 个), 最低的为黑水群体(55 个)。在猕猴 *DPBI* 基因 exon 2 的碱基组成中, T、C、A、G 碱基的平均含量分别为 14.8%、23.7%、24.9%和 36.6%, GC 含量(60.3%)明显高于 AT 含量(39.7%)。4 种碱基在密码子的分布存在差异, 第 3 密码子中 G 的比例最高, 为 49.8%; 第 2 密码子中 A 的比例最高, 为 43.6%。*DPBI* 等位基因 exon 2 中共发生碱基转换 10 次, 碱基颠换 11 次, 转换(si)与颠换(sv)之比约 1:1, 说明猕猴 *DPBI* 基因序列变异中不存在转换偏倚现象。

在氨基酸水平上, 猕猴 21 条 exon 2 氨基酸序列

中共有 33 个氨基酸位点发生变异, 占位点总数的 38.8%。20 种氨基酸在小金、黑水、巴中、汉源和九龙这 5 个群体中均有分布。谷氨酸(Glu)在所有等位基因中的含量最高, 平均为 14.0%; 其次为 Arg 和 Tyr, 分别为 11.4%和 8.6%, 而脯氨酸(Pro)和甲硫氨酸(Met)的含量较低, 平均含量为 1.17%。在 *DPBI* 基因 exon 2 中密码子的使用非常不均匀, 其中 GAG 的使用频率最高, 平均为 9.9%, 其次为 GAC (7.1%)和 CUG (5.5%); 同义密码子的使用也表现出强烈的偏爱性, 如编码亮氨酸(Leu)的 6 种密码子中, CUG 的平均使用频率最高, 为 5.5%; 其次为 UUG (0.7%)和 CUC(0.1%), UUA、CUU 和 CUA 没有使用。

2.2 *Mamu-DPBI* 等位基因在四川猕猴群体中的频率分布

通过 DGGE 筛选可以将两条仅有 1 个碱基突变的序列分开, 因此可将处于同一水平线上的条带判定为同一等位基因。经过 DGGE 和银染后, 对相应条带进行回收和克隆测序, 再结合胶图比较, 得到不同等位基因的分布情况(图 1)。根据结果计算出 5 个群体 *Mamu-DPBI* 等位基因的频率(表 2)。将 106 个个体作为一个大群体来看, 等位基因频率处于前 3 位的分别是 *Mamu-DPBI**30(0.1120)、*-DPBI**04 (0.0965)和*-DPBI**26(0.0772), 等位基因频率超过 10% 的基因只有 *Mamu-DPBI**30(0.1120)。分别从各小群体来看, 在小金、黑水、巴中、汉源和九龙这 5 个群体中, 等位基因的频率最高的分别是 *Mamu-DPBI**30 (0.1120)、*-DPBI**04(0.1702)、*-DPBI**32(0.1613)、*-DPBI**30(0.1120)和*-DPBI**04(0.1139), 其次分别为 *Mamu-DPBI**13(0.1111)、*-DPBI**26(0.1489)、*-DPBI**32 (0.1613)、*-DPBI**28/29(0.0893)和*-DPBI**30(0.1013); 处于第三位的分别是 *Mamu-DPBI**10 (0.0889)、

表 1 四川 5 个猕猴群体的 *DPBI* 等位基因数及其核苷酸和氨基酸变异位点数

种群名称	样本数目	等位基因数目	核苷酸变异位点数(变异率, %)	氨基酸变异位点数(变异率, %)
小金	20	18	62(24.0)	33(38.8)
黑水	20	14	55(21.3)	29(34.1)
巴中	15	16	57(22.1)	32(37.6)
汉源	25	18	61(23.6)	33(38.8)
九龙	26	19	61(23.6)	33(38.8)
合计	106	21	63(24.4)	33(38.8)

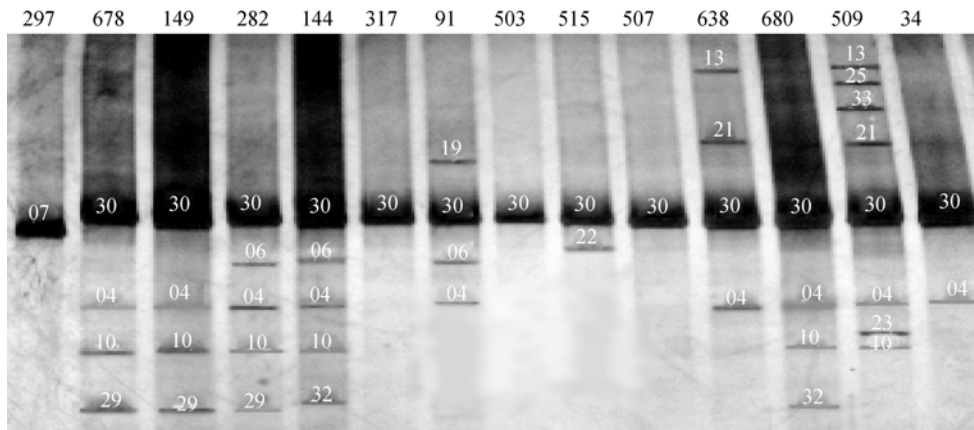


图 1 部分猕猴个体 *DPBI* 等位基因 *exon 2* 的 PCR 扩增产物的 DGGE 分离结果

泳道最上方的黑色数字为猕猴样品库中的个体编号, 泳道中条带上的白色数字为相应的等位基因编号, 如 04 则表示 *Mamu-DPBI*04* 等位基因, 同一水平线上的条带判定为同一个等位基因。

表 2 5 个猕猴群体 *Mamu-DPBI* 等位基因的基因频率

	个体总数 (n=106)		小金 (n=20)		黑水 (n=20)		巴中 (n=15)		汉源 (n=25)		九龙 (n=26)	
	Na	A.F	Na	A.F	Na	A.F	Na	A.F	Na	A.F	Na	A.F
<i>Mamu-DPBI*04</i>	25	0.0965	2	0.0444	8	0.1702	3	0.0968	3	0.0536	9	0.1139
<i>Mamu-DPBI*06</i>	5	0.0193	1	0.0222	0	—	0	—	2	0.0357	2	0.0253
<i>Mamu-DPBI*07</i>	2	0.0077	0	—	0	—	0	—	2	0.0357	0	—
<i>Mamu-DPBI*10</i>	18	0.0695	4	0.0889	0	—	4	0.1290	4	0.0714	6	0.0759
<i>Mamu-DPBI*12</i>	1	0.0039	1	0.0222	0	—	0	—	0	—	0	—
<i>Mamu-DPBI*13</i>	14	0.0541	5	0.1111	1	0.0213	2	0.0645	3	0.0536	3	0.0380
<i>Mamu-DPBI*19</i>	3	0.0116	1	0.0222	0	—	0	—	0	—	2	0.0253
<i>Mamu-DPBI*20</i>	11	0.0425	0	—	4	0.0851	1	0.0323	2	0.0357	4	0.0506
<i>Mamu-DPBI*21</i>	15	0.0579	3	0.0667	2	0.0426	2	0.0645	2	0.0357	6	0.0759
<i>Mamu-DPBI*22</i>	8	0.0309	2	0.0444	1	0.0213	1	0.0323	3	0.0536	1	0.0127
<i>Mamu-DPBI*23</i>	7	0.0270	1	0.0222	0	—	1	0.0323	4	0.0714	1	0.0127
<i>Mamu-DPBI*24</i>	10	0.0386	2	0.0444	3	0.0638	1	0.0323	3	0.0536	1	0.0127
<i>Mamu-DPBI*25</i>	3	0.0116	0	—	0	—	0	—	2	0.0357	1	0.0127
<i>Mamu-DPBI*26</i>	20	0.0772	3	0.0667	7	0.1489	2	0.0645	1	0.0179	7	0.0886
<i>Mamu-DPBI*27</i>	6	0.0232	2	0.0444	2	0.0426	0	0.0000	0	—	2	0.0253
<i>Mamu-DPBI*28</i>	19	0.0734	2	0.0444	4	0.0851	2	0.0645	5	0.0893	6	0.0759
<i>Mamu-DPBI*29</i>	18	0.0695	3	0.0667	3	0.0638	2	0.0645	5	0.0893	5	0.0633
<i>Mamu-DPBI*30</i>	29	0.1120	7	0.1556	6	0.1277	2	0.0645	6	0.1071	8	0.1013
<i>Mamu-DPBI*31</i>	15	0.0579	3	0.0667	2	0.0426	1	0.0323	3	0.0536	6	0.0759
<i>Mamu-DPBI*32</i>	15	0.0579	2	0.0444	1	0.0213	5	0.1613	3	0.0536	4	0.0506
<i>Mamu-DPBI*33</i>	15	0.0579	1	0.0222	3	0.0638	2	0.0645	3	0.0536	5	0.0633

注: Na 表示等位基因数目; A.F 表示等位基因频率; n 表示个体数目; A.F 为 0 则用“—”表示。群体最高等位基因频率用灰色突出显示。

-*DPBI*30*(0.1277)、-*DPBI*04*(0.0968)、-*DPBI*10/23*(0.0714)和-*DPBI*26*(0.0886)。从群体间来看, *Mamu-DPBI*07* 等位基因只出现在汉源群体中, 而 *Mamu-*

*DPBI*12* 等位基因只在小金群体中被检测到。另外, *Mamu-DPBI*04*、-*DPBI*13*、-*DPBI*21*、-*DPBI*22*、-*DPBI*24*、-*DPBI*26*、-*DPBI*28~33* 这 12 个等位

基因为 5 个群体的共有等位基因(表 2)。

2.3 猕猴 *DPBI* 等位基因 exon 2 的自然选择性检验

采用 Mega4.1 软件, 基于 Kuma 方法模型对这 21 个从四川猕猴群体中获得的 *DPBI* 等位基因看成一个整体, 按 exon 2 全部位点、抗原结合位点(Antigen binding sites, ABS)和非抗原结合位点(Non-antigen binding sites, Non-ABS)区域分别计算平均非同义替换率(dN)和平均同义替代率(dS), 并进行 Z-test 选择性检验(表 3)。其结果显示 dN 均小于 dS , 但并不显著($P>0.05$), 表明这些等位基总体存在着净化选择(Purifying selection)作用。当对这 21 个 *DPBI* 等位基因进行两两成对选择性检验时, 发现其中有 1 对基因(*Mamu-DPBI**12、*Mamu-DPBI**23)间的 $dN(0.106\pm0.028)$ 显著大于 $dS(0.035\pm0.022)$, dN/dS 值为 3.03 ($P<0.05$), 说明这两个等位基因间存在着强烈的正向选择(Positive selection)作用。

2.4 猕猴和食蟹猴 *DPBI* 等位基因的氨基酸序列比对

DPBI 基因 exon 2 编码的氨基酸序列为 MHC-DP 抗原的 $\beta 1$ 区域。将 15 个新发现的 *Mamu-DPBI* 等位基因与 GenBank 中获得的 18 个 *Mamu-DPBI* (Z3240202~Z3240210、AF024563~AF024565、EF544137、NM_001134293)和 43 个食蟹猴(*Macaca fascicularis* Rafles)*Mafa-DPBI*(AB235856~AB235896、AM086064~AM086065、AM943634)等位基因的氨基酸序列进行比对(图 2)。在所编码的 85 个氨基酸残基中(*Mamu-DPBI**26~28 为 87 个), 共检测到 52 个氨基酸突变位点, 其中有 5 个(第 6、10、60、82 和 83 位点)为新的突变位点; 在新发现的 15 个 *Mamu-DPBI* 等位基因中, 有 3 个等位基因(*Mamu-DPBI**26~28)的氨基酸序列中检测到 2 氨基酸的插入, 分别位于第 43 和 44 位点, 均为缬氨酸。另外, 通过这两种猴子的种间氨基酸序列比较, 还发现有 45 个氨基酸残基显示出物

种特异性, 其中 *Mamu-DPBI* 特有的为 12 个, 且有 9 个位于新发现的 15 个 *Mamu-DPBI* 等位基因编码的氨基酸序列中。

2.5 *DPBI* 等位基因的系统发生分析

基于 33 个猕猴 *Mamu-DPBI*、43 个食蟹猴 *Mafa-DPBI*、4 个人 *HLA-DPBI*(FM211032~FM211034、AM158320)和 1 个绢毛猴 *Saoe-DPBI**0101(AF027966)的 exon 2 核苷酸序列, 采用 NJ 法构建系统发生树(图 3)。从图 3 可以看出, 来自人的 4 个 *HLA-DPBI* 等位基因相互聚在一起, 单独聚为一个小的分支; 来自猕猴的 33 个 *DPBI* 等位基因则分散在食蟹猴的 35 个 *DPBI* 等位基因(*Mafa-DPBI**1~32、44、45、49)中, 它们共同聚为一个大的分支, 显示出明显的跨物种多态现象(Trans-species polymorphism); 而来自食蟹猴的另 8 个 *DPBI* 等位基因(*Mafa-DPBI**34~41)则单独聚为另一支, 离外群 *Saoe-DPBI**0101 最近, 可能为较原始的等位基因。

3 讨论

*MHC*基因的多态性水平被普遍认为是种群抗病能力和生存力的重要指标。猕猴的*MHC*基因在漫长的进化过程中, 由于分化时间的差异和生存压力的不同, 地理隔绝甚至养殖场封闭养殖都会造成*MHC*基因不同的存在状态, 使得不同个体的恒河猴*MHC*基因在数量和功能上有所差异^[25]。先前的研究表明, 人类有着高度多态性的*MHC-DPBI* 位点, 其多态性在猕猴中却不高^[26, 27]。Doxiadis等^[11]对 161 个猕猴个体的*Mamu-DPBI* 基因进行分析发现, 大部分*DPBI* 等位基因在不同起源的猕猴中共有, 表明猕猴*DPBI* 位点具有较低的多态性和一定的进化稳定性。但Sano等^[28]对 217 个食蟹猴个体*MHC-DPBI* 等位基因exon 2 进行研究, 发现了 41 个*Mafa-DPBI* 等位基因, 表明食蟹猴 *MHC-DPBI* 位点具有较高的

表 3 四川猕猴群体中 21 个 *DPBI* 等位基因 exon 2 平均非同义替代速率(dN)与平均同义替代速率(dS)

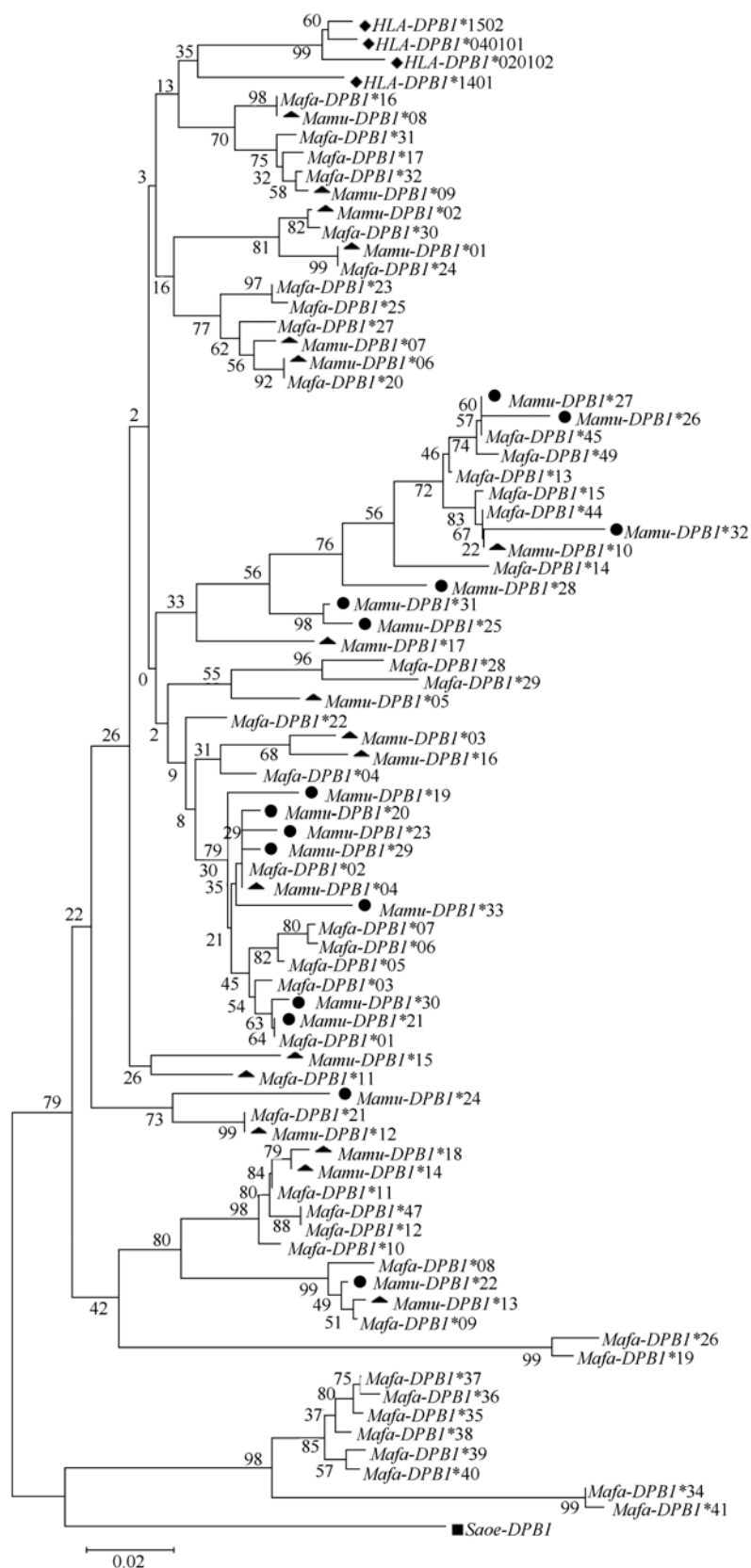
位点	$dN \pm SE$	$dS \pm SE$	dN/dS	P 值
所有位点	0.072 ± 0.015	0.112 ± 0.031	0.643	0.095
抗原结合位点(ABS)	0.068 ± 0.028	0.110 ± 0.107	0.618	0.323
非抗原结合位点(Non-ABS)	0.074 ± 0.018	0.116 ± 0.033	0.638	0.104

注: 猕猴*DPBI* 基因编码肽 β -链的抗原结合位点(ABS)数为 16 个, 即第 5、7、9、24、26、33、34、53、57、63、66、67、70、74、78 和 82 位点氨基酸残基^[24]。SE 为 1 000 次自举检验后标准误差值。

	1	1111111112	2222222223	3333333334	4444444445	5555555556	6666666667	7777777778	8888888
	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567
Mamu-DPB1*01	ENTVYQGRME	CYAFNGTQRY	LERVIYNREE	YARFDSVGE	FRA—TELGR	PDAEYVNSQK	DILEENQAVA	GTSCRHMYEL	DEAVTLQ
Mamu-DPB1*02	L V Q		F	FV		T	R	RR V D M N	
Mamu-DPB1*03	L V Q		F	FV		T	R	RR V D M N	
Mamu-DPB1*04	L Q		F	FV		AV	R	RR V D M N	
Mamu-DPB1*05	L Q		H	HV			R	RR V D M N	
Mamu-DPB1*06	F Q			V			L	MR V D M YN	
Mamu-DPB1*07	LF Q			F			L	MR V D M YN	
Mamu-DPB1*08	LF L Q		L	FV			RR	V D M N	
Mamu-DPB1*09	LF L Q		L	FV			MR	T D V N	
Mamu-DPB1*10	LF A Q			LL		E S	T	K R GV D M N	
Mamu-DPB1*11	LF E Q		D	FV	Y		R	R EV D V N	
Mamu-DPB1*12	L V Q		N Q	FV	Y	T		NR V DRV N	
Mamu-DPB1*13	L Q	I	F H	FM	A Y	M S	R	R EV DRV N G H	R
Mamu-DPB1*14	L Q	I	F H	FM	Y	M T C	K	MR D V N V N	
Mamu-DPB1*15	F		N	FV				R V DRV N	
Mamu-DPB1*16	F Q					T	R	RR V D M N	
Mamu-DPB1*17	LF A Q		F	FL	Y	E	K	R V D M N	
Mamu-DPB1*18	D L Q	I	F H	FM	Y	M T C	K	MR D V N V N	
Mamu-DPB1*19	L Q		F			AV	T	K R GV D M N	
Mamu-DPB1*20	L Q		F			AV	R	R V D M N	G
Mamu-DPB1*21	L Q		F H			AV	R	R V D V N	
Mamu-DPB1*22	L Q	I	F H	FM	A Y	M S	R	R EV DRV N G H	
Mamu-DPB1*23	L Q		F			AV	R	R V D M N	G
Mamu-DPB1*24	L H Q			LL	Y	T		NR V DRV N	
Mamu-DPB1*25	L Q		F H			E S	T	K R GV D M N	
Mamu-DPB1*26	LF A Q	S	F	LL	Y VV W	E S	T	K R V D M YN	G
Mamu-DPB1*27	LF A Q		F	LL	Y W W	E S	T	K R V D M N	
Mamu-DPB1*28	L Q		F	LL	Y W W	E S	T	K R V D M N	
Mamu-DPB1*29	L Q		F			AV	R	R V D M N	
Mamu-DPB1*30	L Q		F H			A	R	R V D V N	
Mamu-DPB1*31	L Q		F			E S	T	K R GV D M N	
Mamu-DPB1*32	LF A Q			LL		E S	T	K R GV D M N G H	R
Mamu-DPB1*33	L Q		F	F		AV	R	R EV D M N G	R
Mafa-DPB1*01	L Q		F H			AV	R	R V D V N	
Mafa-DPB1*02	L Q		F			AV	R	R V D M N	
Mafa-DPB1*03	L Q		F			AV	R	R V D V N	
Mafa-DPB1*04	L V Q		F			AV	R	R V D V N	
Mafa-DPB1*05	L Q		F			AV	F	R V D V N	
Mafa-DPB1*06	L Q		F			AV H	F	R V D V N	
Mafa-DPB1*07	L Q		F			AV H	F	R V D M N	
Mafa-DPB1*08	L Q	I	F H	FM	A Y	M T C	F	R EV DRV N G H	R
Mafa-DPB1*09	L Q	I	F H	FM	A Y	M T	R	R EV DRV N G H	R
Mafa-DPB1*10	L Q	I	F H	FM	Y	M T C	K	MR DRV N V N	
Mafa-DPB1*11	L Q	I	F H	FM	Y	M T C	K	MR D V N V N	
Mafa-DPB1*12	L Q	I	F H	FM	Y	M T C	K	MR D V N V N	
Mafa-DPB1*13	LF A Q		F	LL		E S	T	K R V D M N	
Mafa-DPB1*14	LF A Q			LL		E S		R G N	
Mafa-DPB1*15	LF A Q			LL		E S	T	K R AV D M N	
Mafa-DPB1*16	LF L Q		L	FV			RR	V D M N	
Mafa-DPB1*17	LF L Q		L	FV			MR	T D V N	
Mafa-DPB1*19		V		W	FV	A	I	K R G N QS T P IRK	
Mafa-DPB1*20	F Q			V			L	MR V D M YN	
Mafa-DPB1*21	L V Q		N Q	FV	Y	T		NR V DRV N	
Mafa-DPB1*22	L Q						R	R V D M N	
Mafa-DPB1*23	L			L			L	MR V D M YN	
Mafa-DPB1*24									
Mafa-DPB1*25				L			L	MR V D M YN	
Mafa-DPB1*26		V	K	FM	A	I S	K	R G N QS T P IRK	
Mafa-DPB1*27	F Q			FV	E		L	MR V D M YN	
Mafa-DPB1*28	LL V Q		H	HV		A	F	R EV D V N	
Mafa-DPB1*29	LL I D		H	HV	Y		F	R EV D V YN	
Mafa-DPB1*30	V Q			FV					
Mafa-DPB1*31	L Q		L	FV			MR	T D V N	
Mafa-DPB1*32	L L Q		L	FV			MR	T D V N	
Mafa-DPB1*34	C R F	Y	L D F Q	V LR		T R R	QAR	EV DRV N A PLIRK	
Mafa-DPB1*35	R F		L D F Q	V L		T R	S	QER EV DRV N K	
Mafa-DPB1*36	R F		L D F Q	FV L	M	T R	S	QER EV DRV N K	
Mafa-DPB1*37	R F		L D F Q	FV L		T R	S	QER EV DRV N K	
Mafa-DPB1*38	R S		L D F Q	FV L		T R	S	QER EV DRV N K	
Mafa-DPB1*39	R S		L D F Q	FV L		N R	T	QER EV DRV N K	
Mafa-DPB1*40	R S		L D F Q	V L		R	T	QER EV DRV N K	
Mafa-DPB1*41	C R F	Y	L D Q	V LR	Q	T R R	QAR	EV DRV N A PLIRK	
Mafa-DPB1*44	LF A Q			LL		E S	T	K R GV D M N	
Mafa-DPB1*45	LF A Q		F	LL	Y W	E S	T	K R V D M N	
Mafa-DPB1*49	LF A Q		F	LL	Y W	E S	T	K R AV D M N	

图 2 33 个 Mamu-DPB1 等位基因和 42 个 Mafa-DPB1 等位基因推导性氨基酸序列比对

“—”表示与第一行的氨基酸残基相同,“-”表示缺失的氨基酸;下划线表示在本研究中和先前的报道中共有的等位基因,矩形方框内为本研究新检测到的 15 个 Mamu-DPB1 等位基因,灰色突出显示为新的变异位点。

图 3 *MHC-DPB1* 等位基因的系统进化树

●标注的为本研究中新发现的 *Mamu-DPB1* 等位基因, 为 GenBank 中已公布的 *Mamu-DPB1* 等位基因, 为人 *DPB1* 等位基因, 为外群。

多态性。本研究通过DGGE和克隆测序技术从来自四川地区的 106 个野生猕猴个体中获得了 21 个 *DPB1* 等位基因, 其中有 6 个与先前报道的主要来自印度猕猴的 18 个 *DPB1* 等位基因中的 *Mamu-DPB1*04*、*-DPB1*06~07*、*-DPB1*10*、*-DPB1*12~13* 完全相同, 说明这些等位基因可能是在所有猕猴中普遍存在的, 处于不同环境中的猕猴面临相同的传染性病原体和寄生虫发挥着同样的免疫抵抗反应。另外 15 个(71%)为本研究中新检测到的 *DPB1* 等位基因, 这很可能是中国猕猴特有的 *DPB1* 等位基因, 反映了中国猕猴 *DPB1* 基因较丰富的多态性以及和印度猕猴的差异性, 这与在其它类型 *MHC* 基因上的研究结果^[12]相一致。另外, 本研究还发现大多数同一个体中可检测到 3 个以上的等位基因, 如编号为 509 的个体可检测到 8 个等位基因(图 1), 暗示 *Mamu-DPB1* 基因在同一条染色体上可能存在着多个基因座。

在先前发现的 18 个 *Mamu-DPB1* 等位基因中, 大部分 *MHC-DPB1* 等位基因在不同地区的猕猴中都可以发现, 但有一些等位基因存在地区特异性。例如 Doxiadis 等^[10]在比较印度、缅甸和中国猕猴的 *MHC-DPB1* 基因时, 发现一些特定的等位基因只在某一来源的猕猴中出现。如 *Mamu-DPB1*01* 和 *DPB1*02* 只在印度猕猴中出现, *-DPB1*05*、*-DPB1*09* 和 *-DPB1*14* 仅出现于缅甸猕猴中, 而 *-DPB1*15* 则仅出现于中国猕猴中。从四川省内不同地域的 5 个猕猴群体等位基频率分布来看, 本研究中检测到的 21 个 *Mamu-DPB1* 等位基因大多数在 5 个群体中都能检测到, 但在各群体中的出现频率有所不同。如在小金、黑水、巴中、汉源和九龙这 5 个群体中, 等位基因频率最高的分别是 *Mamu-DPB1*30*(0.1120)、*-DPB1*04*(0.1702)、*-DPB1*32*(0.1613)、*-DPB1*30*(0.1120)和 *-DPB1*04*(0.1139)(表 2)。*Mamu-DPB1*07* 等位基因仅出现于汉源群体中, 而 *Mamu-DPB1*12* 等位基因仅在小金群体中被检测到。表明这些猕猴在不同地域不同生境中可能面临着不同的病原微生物组成, 这可能与四川省复杂的地理情况有一定的关系。四川省位于长江上游, 地跨青藏高原、横断山脉、云贵高原、秦巴山地、四川盆地几大地貌单元, 地势西高东低, 由西北向东南倾斜, 地形复杂多样, 这 5 个猕猴群体在地理上相距都在几百公里

以上, 面临的病原微生物环境完全有可能存在着差异性。

当进行氨基酸序列比较(图 2)时, 与先前报道的印度猕猴中 18 个等位基因相比, 15 个新检测到的等位基因中发现有 9 个新的突变位点; 与同属的另一物种食蟹猴的 *DPB1* 氨基酸序列相比, 发现有 45 个物种特异性氨基酸残基, 其中有 12 个位于 *Mamu-DPB1* 位点。这些结果均从另一侧面说明了 *Mamu-DPB1* 基因的多样性和特异性。自然选择在基因层次上的效应可以理解为对突变的非随机淘汰与保存。当对 21 个从四川猕猴群体中获得的 *DPB1* 等位基因看成一个整体, 按 exon 2 全部位点、抗原结合位点和非抗原结合位点区域分别计算平均非同义替代率(dN)和平均同义替代率(dS), 并进行 z-test 选择性检验(表 3)。其结果显示不同区域的 dN 均小于 dS , 表明这些等位基的不同功能区域均存在着一定程度的纯化选择(Purifying selection)作用。Qiu 等^[12]对于中国猕猴 *MHC-DQB1* 基因的研究结果表明, 猕猴 *DQB1* 基因的 ABS 位点存在着正向选择作用, 而本研究中 *DPB1* 基因 ABS 位点并没有显示出正向选择作用。然而, 当对这 21 个 *DPB1* 等位基因进行两两成对性选择性检验时, 发现其中有 1 对基因(*Mamu-DPB1*12*、*Mamu-DPB1*23*)间的 $dN(0.106 \pm 0.028)$ 显著大于 $dS(0.035 \pm 0.022)$, dN/dS 值为 3.03 ($P < 0.05$), 说明这两个等位基因间存在着强烈的正向选择作用。

Sano 等^[28]通过系统进化树分析, 将他们发现的 41 个 *Mafa-DPB1* 基因分为两部分, 即由 G1 引物扩增得到的 33 个 *Mafa-DPB1* 基因归为 G1 谱系(*Mafa-DPB1*1~32*、44、45、49), 由 G2 引物扩增得到的 8 个 *Mafa-DPB1* 基因归为 G2 谱系(*Mafa-DPB1*34~41*), 并认为 G2 谱系基因可能是一个和 *Mamu-DPB2* 和 *HLA-DPB2* 位点相关的不同基因座位。在我们的研究中, 基于 *DPB1* 基因 exon 2 序列构建的系统发生树中(图 3), 新检测到的 15 个 *Mamu-DPB1* 基因和 G1 谱系的 33 个 *Mafa-DPB1* 基因分散的聚在一起, 与 Sano 等得到的结果一致。因此可以推断, 15 个新 *Mamu-DPB1* 基因的出现可能是相同或近似自然选择压力下趋同进化(Convergent evolution)的结果。值得注意的是, 系统树还显示, 本研究获得的 21 个 *Mamu-DPB1* 等位基因(来自中国)相对紧靠在一起聚为一个亚支, 与先前报道的 *Mamu-DPB1* 等位基因

(主要来自印度)明显分开成不同的支系,这表明中国猕猴和印度猕猴这两个地理种群在*DPBI* 等位基因上已表现出明显的遗传差异,这从核基因水平上支持了Smith和McDonough^[29]通过线粒体DNA标记研究的结果。另外, 33 个*Mafa-DPBI* 等位基因分散在*Mamu-DPBI* 等位基因的各支系中,也表明*DPBI* 等位基因在这两个物种间存在着跨种多态(Trans-species polymorphism)现象,这与Klein^[30]提出的*MHC*多态现象的跨种假设相吻合。而且,有 7 个*Mafa-DPBI* 等位基因(*Mafa-DPBI**24、-*DPBI**02、-*DPBI**20、-*DPBI**16、-*DPBI**44、-*DPBI**21、-*DPBI**01)分别与另 7 个*Mamu-DPBI* 等位基因(*Mamu-DPBI**01、-*DPBI**04、-*DPBI**06、-*DPBI**08、-*DPBI**10、-*DPBI**12、-*DPBI**21)成对出现于树中,事实上核苷酸序列比对结果显示这 7 对*Mafa-Mamu* 等位基因的核苷酸序列是完全相同的,说明这些等位基因很有可能在这两个物种分歧之前就已存在于它们的共同祖先中。

四川地区的猕猴是个相对独立的地理种群,资源丰富,由于其受特殊的地理环境影响在*MHC*基因进化上表现出一定的丰富性和地域特异性。然而,猕猴在中国广泛分布于 19 个省区,且各地理分布群之间的遗传多样性差异较大^[31]。因此,在未来的研究中广泛收集全国各地地理分布群的猕猴样品,深入分析各地理分布群之间的*DPB*、*DQB*、*DRB*等*MHC*基因的遗传差异,全面揭示中国猕猴*MHC*基因的遗传背景,对于整个中国遗传猕猴资源的保护与开发利用都具有重要的意义。

参考文献(References):

- [1] Lackner AA, Veazey RS. Current concepts in AIDS pathogenesis: insights from the SIV/macaque model. *Annu Rev Med*, 2007, 58(1): 461–476. [\[DOI\]](#)
- [2] Seggewiss R, Loré K, Guenaga FJ, Pittaluga S, Mattapallil J, Chow CK, Koup RA, Camphausen K, Nason MC, Meier-Schellersheim M, Donahue RE, Blazar BR, Dunbar CE, Douek DC. Keratinocyte growth factor augments immune reconstitution after autologous hematopoietic progenitor cell transplantation in rhesus macaques. *Blood*, 2007, 110(1): 441–449. [\[DOI\]](#)
- [3] Vierboom MP, Jonker M, Tak PP, Hart BA. Preclinical models of arthritic disease in non-human primates. *Drug Discov Today*, 2007, 12(7–8): 327–335. [\[DOI\]](#)
- [4] Smith DG. Genetic characterization of Indian-origin and Chinese-origin rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Comp Med*, 2005, 55(3): 227–230.
- [5] Boyson JE, Shufflebotham C, Cadavid LF, Urvater JA, Knapp LA, Hughes AL, Watkins DI. The *MHC* class I genes of the rhesus monkey: Different evolutionary histories of *MHC* class I and II genes in primates. *J Immunol*, 1996, 156(12): 4656–4665.
- [6] Jones EY, Fugger L, Strominger JL, Siebold C. *MHC* class II proteins and disease: a structural perspective. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(4): 271–282. [\[DOI\]](#)
- [7] Rocha N, Neefjes J. *MHC* class II molecules on the move for successful antigen presentation. *EMBO J*, 2008, 27(1): 1–5. [\[DOI\]](#)
- [8] 季芳, 饶军华, 刘晓明. 恒河猴主要组织相容性复合体(MHC)的多态性研究概述. *中国比较医学杂志*, 2007, 17(7): 420–425.
- [9] 陈瑾, 代解杰, 和占龙, 李琦涵, 杨贵波, 孙晓梅. 云南地区恒河猴 *MHC* 部分基因频率及多态性的分析. *中国实验动物学报*, 2008, 12(6): 410–416.
- [10] Doxiadis GG, Otting N, de Groot NG, Bontrop RE. Differential evolutionary *MHC* class II strategies in humans and rhesus macaques: relevance for biomedical studies. *Immunol Rev*, 2001, 183(1): 76–85. [\[DOI\]](#)
- [11] Doxiadis GG, Otting N, de Groot NG, de Groot N, Rouweler AJ, Noort R, Verschoor EJ, Bontjer I, Bontrop RE. Evolutionary stability of *MHC* class II haplotypes in diverse rhesus macaque populations. *Immunogenetics*, 2003, 55(8): 540–551. [\[DOI\]](#)
- [12] Qiu CL, Yang GB, Yu K, Li Y, Li XL, Liu Q, Zhao H, Xing H, Shao Y. Characterization of the major histocompatibility complex class II *DQB* (*MhcMamu-DQB1*) alleles in a cohort of Chinese rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Hum Immunol*, 2008, 69(8): 513–521. [\[DOI\]](#)
- [13] McCanlies EC, Ensey JS, Schuler CR, Kreiss K, Weston A. The association between HLA-DPB1Glu69 and chronic beryllium disease and beryllium sensitization. *Am J Ind Med*, 2004, 46(2): 95–103. [\[DOI\]](#)
- [14] Slienderregt BL, Otting N, Kenter M, Bontrop RE. Allelic diversity at the *Mhc-DP* locus in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Immunogenetics*, 1995, 41(1): 29–37. [\[DOI\]](#)
- [15] Arnold ML, Pei R, Spriewald B, Wassmuth R. Anti-HLA class II antibodies in kidney retransplant patients. *Tissue Antigens*, 2005, 65(4): 370–378. [\[DOI\]](#)

- [16] Ma X, Tang LH, Qu LB, Ma J, Chen L. Identification of 17 novel major histocompatibility complex-A alleles in a population of Chinese-origin rhesus macaques. *Tissue Antigens*, 2009, 73(2): 184–187. [\[DOI\]](#)
- [17] Ouyang D, Xu L, Dai Z, Shi H, Zhang G, Zheng Y, He X. Identification of major histocompatibility complex class I alleles in Chinese rhesus macaques. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, 40(11): 919–927. [\[DOI\]](#)
- [18] Blasky AJ, Karl JA, Wiseman RW, Read DS, O'Connor DH. Rapid high-resolution MHC class I genotyping of Chinese rhesus macaques by capillary reference strand-mediated conformational analysis. *Immunogenetics*, 2008, 60(10): 575–584. [\[DOI\]](#)
- [19] Otting N, Heijmans CM, van der Wiel M, de Groot NG, Doxiadis GG, Bontrop RE. A snapshot of the *Mamu-B* genes and their allelic repertoire in rhesus macaques of Chinese origin. *Immunogenetics*, 2008, 60(9): 507–514. [\[DOI\]](#)
- [20] Karl JA, Wiseman RW, Campbell KJ, Blasky AJ, Hughes AL, Ferguson B, Read DS, O'Connor DH. Identification of MHC class I sequences in Chinese-origin rhesus macaques. *Immunogenetics*, 2008, 60(1): 37–46. [\[DOI\]](#)
- [21] Viray J, Rolfs B, Smith DG. Comparison of the frequencies of major histocompatibility (MHC) class-II DQA1 and DQB1 alleles in Indian and Chinese rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Comp Med*, 2001, 51(6): 555–561.
- [22] Blancher A, Tisseyre P, Dutaur M, Apoil PA, Maurer C, Quesniaux V, Raulf F, Bigaud M, Abbal M. Study of *Cynomolgus* monkey (*Macaca fascicularis*) MhcDRB (Mafa-DRB) polymorphism in two populations. *Immunogenetics*, 2006, 58(4): 269–282. [\[DOI\]](#)
- [23] Huchard E, Cowlshaw G, Raymond M, Weill M, Knapp LA. Molecular study of Mhc-DRB in wild chacma baboons reveals high variability and evidence for trans-species inheritance. *Immunogenetics*, 2006, 58(10): 805–816. [\[DOI\]](#)
- [24] Brown JH, Jardetzky T, Saper MA, Samraoui B, Bjorkman PJ, Wiley DC. A hypothetical model of the foreign antigen binding site of class II histocompatibility molecules. *Nature*, 1988, 332(6167): 845–850. [\[DOI\]](#)
- [25] 王雪霞, 何小维. 灵长类主要组织相容性复合体 I 类基因进化概述. *遗传*, 2006, 28(5): 611–616.
- [26] Otting N, de Groot NG, Noort MC, Doxiadis GG, Bontrop RE. Allelic diversity of *Mhc-DRB* alleles in rhesus macaques. *Tissue Antigens*, 2000, 56(1): 58–68. [\[DOI\]](#)
- [27] Doxiadis GG, Otting N, de Groot NG, Noort R, Bontrop RE. Unprecedented polymorphism of Mhc-DRB region configurations in rhesus macaques. *J Immunol*, 2000, 164(6): 3193–3199.
- [28] Sano K, Shiina T, Kohara S, Yanagiya K, Hosomichi K, Shimizu S, Anzai T, Watanabe A, Ogasawara K, Torii R, Kulski JK, Inoko H. Novel cynomolgus macaque *MHC-DPBI* polymorphisms in three South-East Asian populations. *Tissue Antigens*, 2006, 67(4): 297–306. [\[DOI\]](#)
- [29] Smith DG, McDonough J. Mitochondrial DNA variation in Chinese and Indian rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Am J Primatol*, 2005, 65(1): 1–25. [\[DOI\]](#)
- [30] Klein J. Origin of major histocompatibility complex polymorphism: the trans-species hypothesis. *Hum Immunol*, 1987, 19(3): 155–162. [\[DOI\]](#)
- [31] 万玉玲, 季芳, 饶军华, 刘晓明. 中国不同地域恒河猴 MHC-I 型部分等位基因的调查. *动物学杂志*, 2007, 42(2): 1–5.

• 综合信息 •

进化

(英) 巴顿 等著; 宿兵 等译

978-7-03-027175-4 ¥168.00 元 (含光盘) 2010 年 4 月出版

内容简介

本书是一部全面、系统介绍进化生物学的教科书。本书的作者均是多年从事进化生物学研究并对本领域有卓越贡献的欧美学者。本书涵盖了进化生物学的产生和发展的历史,从西方早期的自然神学到达尔文的进化论。本书介绍了进化生物学的重要科学问题和相应的研究领域,如生命的起源、物种形成与生命多样性产生的机制、体制发育的进化、突变和遗传重组、DNA 和蛋白质的变异、生命复杂性状的遗传基础、自然选择在分子水平的作用机制、进化中的冲突与合作、进化中新性状的产生以及人类起源和进化的历史等。本书的讲述深入浅出并提供了大量实际研究的例证和精美直观的图表。

本书适合于作为本科生和研究生的专业教材,同时也是从事生命科学研究的学者不可多得的参考书。

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街 16 号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 周文宇(010-64031535)

网上订购: www.dangdang.com www.joy.com www.amazon.cn www.beifabook.com

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索书目录