

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01417

藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 的多态性

李佳慧¹, 姚永芳¹, 周亮², 徐怀亮¹

1. 四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014;
2. 四川省医学科学院四川人民医院实验动物研究所, 成都 610212

摘要: 主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)对许多疾病的易感性和抵抗力起着重要的作用。为了解藏酋猴(*Macaca thibetana*)的 MHC 基因遗传背景, 以促进藏酋猴遗传资源的保护及其在生物医学研究中的应用, 文章采用 PCR 扩增和克隆测序等方法对来自四川地区的 70 个藏酋猴样品的 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 进行了检测和分析。首次在藏酋猴中获得了 18 个 *DPB1* 等位基因(*Math-DPB1*), 其中 1 个为假基因(*Math-DPB1*01:06N*)。18 个等位基因中, *Math-DPB1*06:01:01* (67.14%) 的阳性检出率最高, 其次为 *Math-DPB1*01:03:01* (37.14%)、*Math-DPB1*09:02* (25.71%) 和 *Math-DPB1*22:01* (15.71%)。氨基酸序列比对发现, 藏酋猴 *Math-DPB1* 等位基因编码的氨基酸序列中, 有 5 个氨基酸残基变异位点表现出物种特异性。不同物种来源的 *DPB1* 等位基因系统发生树表明, 藏酋猴、猕猴(*Macaca mulatta*)和食蟹猴(*Macaca fascicularis*)的 *DPB1* 等位基因不是以物种特异性方式聚类, 而是种间混聚在一起, 并显示出明显的跨物种多态性(Trans-species polymorphism)。选择性检验表明, 平衡选择(Balancing selection)在维持 *Math-DPB1* 基因的多态性中起着重要的作用。

关键词: 藏酋猴; 主要组织相容性复合体 II 类; *DPB1* 基因; 遗传多态性; 跨物种多态

Polymorphic analysis of *Mhc-DPB1* gene exon 2 in Tibetan macaques (*Macaca thibetana*)

LI Jia-Yi¹, YAO Yong-Fang¹, ZHOU Liang², XU Huai-Liang¹

1. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;
2. Institute of Laboratory Animals of Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610212, China

Abstract: Major histocompatibility complex (MHC) molecules play an important role in the susceptibility and/or resistance to many diseases. To gain an insight into the MHC background of the Tibetan macaques (*Macaca thibetana*), and thereby facilitate their protection and application in biomedical research, the second exon of the *Mhc-DPB1* genes from 70 Tibetan macaques in Sichuan Province were characterized by PCR, cloning, sequencing, and statistical analysis. A total of

收稿日期: 2012-08-31; 修回日期: 2012-10-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 30970383), 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)和四川省教育厅自然科学基金重点项目(编号: 08ZA076)

作者简介: 李佳慧, 在读硕士, 专业方向: 野生动物遗传资源保护与利用。E-mail: lijiaiyadbx21421@yeah.net

姚永芳, 硕士, 实验师, 研究方向: 野生动物遗传资源保护与利用。E-mail: yao073@126.com

李佳慧和姚永芳同为第一作者。

通讯作者: 徐怀亮, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 野生动物遗传资源保护与利用。Tel: 0835-2886080; E-mail: huailxu@yahoo.com

网络出版时间: 2012-10-30 09:44:27

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20121030.0944.001.html>

18 *Mhc-DPBI* alleles were identified from Tibetan macaques, of which one (*Math-DPBI*01:06N*) was a pseudogene. *Math-DPBI*06:01:01* (67.14%) was the most frequent allele in all the 18 alleles detected, followed by *Math-DPBI*01:03:01* (37.14%), *Math-DPBI*09:02* (25.71%), and *Math-DPBI*22:01* (15.71%). The alignment of putative amino acid sequences of the 18 *Math-DPBI* alleles showed that 5 variable sites were species-specific to Tibetan macaques. A phylogenetic tree constructed using *DPBI* alleles in difference species demonstrated that the alleles for *Math-DPBI*, *Mamu-DPBI*, and *Mafa-DPBI* tended to mix together, rather than cluster into a separate branch in a species-specific fashion, and the Trans-species polymorphism was also observed in the phylogenetic tree. Selection analysis revealed that balancing selection may play an important role in maintaining the polymorphism of *Math-DPBI* genes.

Keywords: *Macaca thibetana*; major histocompatibility complex class II; *DPBI* gene; genetic polymorphism; trans-species polymorphism

非人灵长类作为实验动物已广泛用于各种人类疾病的研究和疫苗的研发中, 猕猴(*Macaca mulatta* Zimmermann)是最常用的非人灵长类实验动物。然而, 近年来随着印度猕猴被禁止出口, 与猕猴亲缘关系较近的其他猕猴属动物已逐渐成为理想的替代实验动物。藏酋猴(*Macaca thibetana* Milne-Edwards), 又名四川短尾猴、大青猴, 隶属于猕猴属, 为我国特有物种, 广泛分布于中国的四川、贵州、云南东北部、广西和广东北部、湖南、福建、江西、浙江、和安徽等地^[1]。由于人为干扰, 如过度采伐森林, 开垦农田和非法狩猎等, 近年来野生藏酋猴种群数量已急剧下降, 现已被列入CITES附录 中, 并在IUCN濒危动物红皮书中归为“近危”物种, 在我国已被列为国家二类重点保护动物。由于藏酋猴具有寿命长, 性格温顺, 易驯养, 形态、生理上与人类的高度相似等特点, 是非人灵长类实验动物, 已被用于生物医学研究中^[2,3]。目前, 有关藏酋猴的研究多集中于行为生态学方面, 对于其遗传背景方面的研究尚很少有报道。

主要组织相容性复合体(Major Histocompatibility complex, MHC)是一类编码细胞膜表面糖蛋白的分子。根据结构和功能, *MHC*基因通常分为三类: Ⅰ类、Ⅱ类和 Ⅲ类。Ⅰ类和 Ⅱ类分子在脊椎动物免疫调控过程中起着重要作用。经典的 Ⅰ类(α)分子几乎表达于所有类型的细胞, 主要功能是将异质性的细胞质基质多肽呈递给CD8+细胞毒性T细胞^[4,5]。Ⅱ类分子只在少数免疫细胞、主要抗原呈递细胞如巨噬细胞、淋巴细胞、树突状细胞中表达, 主要是将处理过的外源抗原呈递给CD4+T辅助细胞^[6,7], 进

而激发其他细胞产生免疫反应^[8]。*MHC* Ⅲ类基因不具有抗原呈递功能, 但编码一些具有其他免疫功能的分子, 例如补体成分(如C2、C4、Bf、Hsp70)和细胞因子(如Tnf、Aif)。

MHC Ⅲ类分子是由 α 链和 β 链组成的异质二聚体, 这两条链分别由两个单独的基因编码。*MHC*基因具有非常高的多态性, 而 Ⅲ类基因的多态性普遍集中在外显子 2 的编码 α 1 链和 β 1 链肽结合区的部分。这种多态性使得每个个体都能结合和呈递各种抗原。藏酋猴*DPBI*(*Math-DPBI*)属于*MHC* Ⅲ类, 尽管目前尚缺乏藏酋猴*DPBI* 基因座全面的等位基因信息, 但是人类的*HLA-DPBI* 基因座已经为角膜和肾脏的移植提供了多态基因型兼容性标记(Polymorphic genotype compatibility markers), 而*HLA-DPBI* 等位基因与重症肌无力、多发性硬化、霍金森症以及多种其它疾病有关。此外, 研究发现猕猴的一个 *Mhc-DPBI* 等位基因与猕猴实验性自身免疫脑脊髓炎(Experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)的敏感性有关^[9]。因此, 灵长类*Mhc-DPBI* 在DP抗原的选择性多肽结合中起着基础的、重要的作用^[10], 是体液应答中的一个重要因子^[11]。

本研究对来自四川地区藏酋猴主要分布区的 70 个藏酋猴样品的 *Mhc-DPBI* 基因外显子 2 进行了PCR扩增、克隆测序和多态性分析, 其结果将为该地区藏酋猴遗传资源的保护和利用提供一定的科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

藏酋猴样品 70 个, 均来自四川境内的藏酋猴分

布区, 其中 10 个为血液样品, 来源于峨边; 4 个肌肉样品, 来源于萦经; 56 个粪便样品, 分别来源于天全(29 个)、峨眉(15 个)、宝兴(3 个)、唐家河(3 个)、雷波(2 个)和都江堰(3 个)。血液样品由四川省医学科学院四川人民医院实验动物研究所提供, 肌肉样品来自碧峰峡动物园自然死亡个体, 粪便样品直接采自野外, 浸于无水乙醇中带回实验室保存于-80℃冰箱中备用。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

使用全血 DNA 小量抽提试剂盒(Simgen, 杭州)从血液样品中提取总基因组 DNA; 采用常规酚-氯仿抽提法从肌肉中提取 DNA; 粪便 DNA 的提取使用粪便基因组 DNA 快速提取试剂盒(Aidlab, 北京)。

1.2.2 *Math-DPBI* 基因 exon 2 片段扩增、克隆和测序

以藏酋猴总基因组 DNA 为模板, 直接采用 Doxiadis 等^[12]的引物 M5'DPBI: 5'-TGAGAGTGGC GCCTCCGCTCAT-3'(正向)和 M3'DPBI: 5'-AGCCC GGCCAAAGCCTCACTC-3'(反向)(由上海生物工程技术服务有限公司合成), 扩增 *Math-DPBI* 基因 exon 2 长约 330 bp 片段。PCR 扩增体系为: 15 μ L 2 \times Es Taq MasterMix(北京康为世纪生物科技有限公司), 正反向引物各 1.2 μ L (10 pm/ μ L), 模板 36~72 ng, 补水至总体积为 30 μ L。PCR 扩增条件: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 58℃ 复性 40 s, 72℃ 延伸 30 s, 30 个循环; 最后 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存。PCR 扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳分离, 并用 DNA 柱式胶回收试剂盒(上海生物工程技术服务有限公司)进行回收纯化。

将纯化后的 PCR 产物与 pMD 19-T 载体(宝生物工程(大连)有限公司)连接, 然后转化到高效感受态 DH5 α 细胞(天根生化科技(北京)有限公司), 通过氨苄抗性筛选和菌落 PCR 鉴定阳性克隆, 随机挑选 6-9 个克隆送至北京六合华大基因科技股份有限公司测序。

1.2.3 等位基因确定和命名

为了尽量避免 PCR 扩增过程中出错的假阳性等位基因, 在测序结果中, 对于仅出现在同一动物个体中的等位基因, 须至少有 3 个完全相同的序列被

发现, 且能在又一次独立的 PCR 中重复出现时, 方能视为有效等位基因; 对于出现在不同动物个体中的等位基因, 至少要有两个完全相同的序列出现方能确定为等位基因; 对于只出现一次, 但经 Blast 发现与 *Mamu-DPBI* 或 *Mafa-DPBI* 序列完全相同的序列也确定为有效等位基因。将获得的等位基因提交到 GenBank 数据库中, 并提交到国际 MHC 基因命名委员会 IPD-MHC NHP 数据库中进行命名^[13]。

1.2.4 数据分析

序列用 Chromas 2.31、DNASTar 软件包中的 Seqman、EditSeq 和 Clustal X 进行人工校对、编辑和比对, 确保序列无误。采用 Mega 5.05 软件, 基于 Kuma 方法对藏酋猴 *DPBI* 等位基因 exon 2 序列的全部位点、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(Average rates of nonsynonymous substitutions, dN)和平均同义替换率(Average rates of synonymous substitutions, dS), 并进行 Z-test 选择性检验。

为了估计藏酋猴 *Mhc-DPBI* 基因 exon 2 在进化过程中受到的选择压力, 我们采用 PAML 4.4 软件包进行进化分析^[14,15]。使用 CODEML 程序中的“位点-特异”模型(Site-specific model)检测平衡选择(Balancing selection)假设。我们使用“随机-位点”模型(Random-site models)^[16]假设几个具有不同 ω 参数的位点, 这些 ω 参数不具有密码子归属某一类型(中性选择(Neutral selection), 纯化选择(Purifying selection), 正向选择(Positive selection))的先验信息(Prior information)。为了检验是否所有的密码子都受到了正向选择, 我们估计了 6 种不同密码子替换模型(M0、M1a、M2a、M3、M7、M8)下的参数^[16]。为了比较受到选择和不受选择情况下的模型(例如, M0 vs M3、M1a vs M2a、M7 vs M8)的一致性, 进行了似然率检验(The likelihood ratio tests, LRT)。当选择性模型 M2a 和 M8 显示存在密码子的参数 $\omega > 1$, 那么就证明这些密码子受到了正向选择压力^[16]。在模型 M2 和 M8 中用 Bays Empirical Bayes(BEB)来计算各位点类型的后验概率(Posterior probability)^[17]。统计显著性通过比较 2 个模型的 2 倍似然率对数差($2\Delta\ln L$)的 χ^2 分布检验, 自由度等于这 2 个模型所包

含参数数目的差^[14]。某些位点类型的 ω 的后验均值 >1 , 则这些位点可能受到正向选择^[17]。

基于 Kimura 双参数(Kimura 2-parameter, K2P)模型, 使用邻接法(Neighbor joining, NJ), 在 Mega5.05 软件中构建 *Math-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。

在数据分析中, 本研究还从 GenBank 中下载了 20 个猕猴(*M. mulatta*, *Mamu*)、20 个食蟹猴(*Macaca fascicularis* Raffles, *Mafa*)、6 个人(*Homo sapiens* Linnaeus, *HLA*) 和 1 个棉顶狨猴(*Saguinus oedipus* Linnaeus, *Saoe*)的 *DPBI* 等位基因的相应序列, 与藏酋猴的相应序列进行比较分析。

2 结果与分析

2.1 *Math-DPBI* 等位基因及其序列特征

采用克隆测序技术对四川地区的 70 个藏酋猴样品的 *Mhc-DPBI* 基因 exon 2 进行检测分析, 共获得 18 个 *Math-DPBI* 等位基因, 其命名及 GenBank 登录号见表 1, 其中 *Math-DPBI*01:06N* 是假基因。在核苷酸水平上, 18 个 *Math-DPBI* 等位基因 exon 2 序列共有 50 个变异位点, 变异位点集中分布于第 14-47、第 59-108、第 138-164、第 184-217 位核苷酸位点。在藏酋猴 *DPBI* 基因 exon 2 的碱基组成中, T、C、A、G 的平均含量分别为 15.4%、23.6%、24.6%、36.4%, GC 含量(60.0%)明显高于 AT 含量(40.0%)。4 种碱基在密码子中的分布存在差异, 第 3 位中 G 的比例最高, 为 50.2%; 第 2 位中 A 的比例最高, 为 44.6%。*DPBI* 等位基因 exon 2 中共发生碱基转换 9 次, 碱基颠换 8 次, 转换(Ti)与颠换(Tv)之比约为 1:1, 说明藏酋猴 *DPBI* 基因序列变异中不存在转换偏倚现象。

在氨基酸水平上, 18 条 *Math-DPBI* 基因 exon 2 氨基酸序列中共有 24 个氨基酸位点发生变异, 占位点总数的 27.6%。20 种氨基酸中, 异亮氨酸(Ile)在 *Math-DPBI*06:03* 中无分布, 甲硫氨酸(Met)在 *Math-DPBI*01:02*、*Math-DPBI*01:05*、*Math-DPBI*06:02*、*Math-DPBI*06:03*、*Math-DPBI*09:01:01*、*Math-DPBI*09:01:02*、*Math-DPBI*09:02* 中无分布。谷氨酸(Glu)在所有等位基因中的含量最高, 平均为

14.6%; 其次为 Arg 和 Leu, 分别为 10.9%和 8.2%, 而甲硫氨酸(Met)含量最低, 平均为 0.7%。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, 为 10.0%, 其次是 UAC(6.3%)和 CUG(5.7%); 同义密码子的使用也表现出强烈的偏好性, 如编码亮氨酸(Leu)的 6 种密码子中, CUG 的使用频率最高, 为 5.7%, 而 CUA 没有使用。

将 70 个藏酋猴样品看作一个群体, 分别计算各个等位基因在所有个体中的阳性检出百分比, 以大致估计各等位基因的频率(表 1)。从表中可以看出, 等位基因 *Math-DPBI*06:01:01* 在 47 个样品中都检测到, 其阳性检出率最高, 为 67.14%, 意味着其等位基因频率可能是最高的; 其次是 *Math-DPBI*01:03:01*, 阳性检出率为 37.14%; 处于第三位的是 *Math-DPBI*09:02*(25.71%); 处于第四位的是 *Math-DPBI*22:01*(15.71%)。这 4 个等位基因的阳性检出率都超过 10%, 它们在四川地区的藏酋猴群体中可能属于优势等位基因。而大多数其他等位基因的阳性检出率都在 3.00%以下。

2.2 藏酋猴 *DPBI* 等位基因 exon 2 的自然选择性检验

对 18 条 *Math-DPBI* 基因 exon 2 序列的全部位点、抗原结合位点(ABS)和非抗原结合位点(Non-ABS)的平均非同义替换率(dN)和平均同义替换率(dS)进行比较(表 2)。其结果显示 exon 2 全部位点和非抗原结合位点(Non-ABS)的 dN 均小于 dS , 表明这些等位基因总体上存在着纯化选择(Purifying selection)作用; 抗原结合位点(ABS)的 dN 大于 dS ($\omega=1.475$), 说明藏酋猴 *Mhc-DPBI* 基因 exon 2 的抗原结合位点存在着正向选择(Positive selection)趋势。对 *Math-DPBI* 基因 exon 2 的全部位点、ABS 位点、Non-ABS 位点进行 Z-test 选择性检验(表 2), 结果表明所有这些位点并不具有统计学上的意义($P>0.05$), 因此我们不能排除(在 5%水平上)无效假设, 即 *Math-DPBI* 基因 exon 2 的全部位点、ABS 位点、Non-ABS 位点存在着中性选择(Neutral selection)。当对这 18 个 *DPBI* 等位基因进行两两成对性选择性检验时, 发现其中有 29 对基因间的 dN 显著大于 dS ($P<0.05$), 说明这 29 对等位基因间存在着强烈的正向选择作用。

采用 PAML 软件包中的“随机-位点”模型检测藏

表 1 *DPB1* 等位基因在 70 个藏酋猴样品中的分布

等位基因	GenBank 登录号	Na ¹	A.P ² (%)	I.A ³
<u>Math-DPB1*01:01</u>	JQ241443	1	1.43	<i>Mafa-DPB1*02, Mamu-DPB1*04</i>
<u>Math-DPB1*01:02</u>	JQ319039	1	1.43	<i>Mafa-DPB1*01:07, Mamu-DPB1*21</i>
<i>Math-DPB1*01:03:01</i>	JQ241445	26	37.14	None
<i>Math-DPB1*01:03:02</i>	JQ359007	2	2.86	None
<i>Math-DPB1*01:04</i>	JQ359012	1	1.43	None
<u>Math-DPB1*01:05</u>	JQ359009	1	1.43	<i>Mamu-DPB1*30</i>
<i>Math-DPB1*01:06N</i>	JQ241449	2	2.86	None
<u>Math-DPB1*06:01:01</u>	JQ241448	47	67.14	<i>Mamu-DPB1*09</i>
<i>Math-DPB1*06:01:02</i>	JQ359008	3	4.29	None
<u>Math-DPB1*06:02</u>	JQ272197	1	1.43	<i>Mafa-DPB1-H11</i>
<i>Math-DPB1*06:03</i>	JQ241447	2	2.86	None
<i>Math-DPB1*06:04</i>	JQ359011	2	2.86	None
<i>Math-DPB1*09:01:01</i>	JQ241442	7	10.00	None
<i>Math-DPB1*09:01:02</i>	JQ241446	3	4.29	None
<i>Math-DPB1*09:02</i>	JQ241444	18	25.71	None
<u>Math-DPB1*15:01</u>	JQ241440	2	2.86	<i>Mafa-DPB1*44, Mamu-DPB1*10</i>
<u>Math-DPB1*15:02</u>	JQ359010	1	1.43	<i>Mamu-DPB1*27 new</i>
<i>Math-DPB1*22:01</i>	JQ241441	11	15.71	None

注: ¹Na 表示含有该等位基因的样品数; ²A.P 表示等位基因的阳性检出率, 即含有该等位基因的样品数在 70 个样品中所占的百分比; ³I.A 表示与 *Math-DPB1* 等位基因核苷酸序列完全相同的 *Mafa-DPB1* 等位基因或 *Mamu-DPB1* 等位基因, 相应的 *Math-DPB1* 等位基因用粗体和下划线突出显示。具有较高比例的 4 个等位基因用灰色背景突出显示。

表 2 藏酋猴 18 个 *DPB1* 等位基因 exon 2 平均非同义替换速率(*dN*)与平均同义替换速率(*dS*)

位点	<i>dN</i> ± <i>SE</i>	<i>dS</i> ± <i>SE</i>	(<i>dN</i> / <i>dS</i>)	<i>P</i> 值
所有位点	0.060 ± 0.014	0.064 ± 0.017	0.938	0.426
ABS	0.146 ± 0.059	0.099 ± 0.075	1.475	1.000
Non-ABS	0.044 ± 0.014	0.068 ± 0.019	0.647	0.126

注: 藏酋猴 *DPB1* 基因编码肽β-链的抗原结合位点(ABS)为参照猕猴 *DPB1* 基因ABS位点^[18]所得, 共 16 个, 分别为第 5、7、9、24、26、33、34、53、57、63、66、67、70、74、78 和 82 位点氨基酸残基。*SE* 为 1 000 次自举检验后的标准误差值。

表 3 藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 正向选择位点

模型	<i>P</i>	似然值	模型比较	参数估计	正选择位点
M0: 单一比率	33	-769.1926		$K=2.589, \omega=0.313$	None
M1a: 近中性	34	-743.7783		$K=2.512, p_0=0.788, p_1=0.212, \omega_0=0.047, \omega_1=1.000$	Not allowed
M2a: 正选择	36	-736.8603	M1a vs. M2a $2\Delta\text{LnL} = 13.836,$ $\text{df}=2, p<0.01$	$K=2.839, p_0=0.768, p_1=0.205, p_2=0.269, \omega_0=0.0550, \omega_1=1.000, \omega_2=8.375$	7,61
M3: 离散	37	-736.5701	M0 vs. M3 $2\Delta\text{LnL}=65.245,$ $\text{df}=4, p=0.00$	$K=2.988, p_0=0.799, p_1=0.175, p_2=0.026, \omega_0=0.071, \omega_1=1.349, \omega_2=9.463$	None
M7:	34	-745.3943		$K=2.424, p=0.098, q=0.287$	Not allowed
M8: &	36	-737.5948	M7 vs. M8 $2\Delta\text{LnL}=15.599,$ $\text{df}=2, p<0.01$	$K=2.769, p_0=0.972, p_1=0.028, p_2=0.125, q=0.381, \omega=8.032$	5,7,51,61

注: *P* 表示参数个数, *K* 是估算转换/颠换比率的定量, ω 是选择参数, p_n 是基于 ω_n 位点类型的位点的比例, *p*、*q* 是 β 函数的模型参数(M7 和 M8), 用粗体突出后验概率>0.95 的正向选择位点。

酋猴 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 受到的平衡选择压力,“随机-位点”模型证明在选择压力下藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 位点间存在极度的变异性,有一些位点受到了正向选择。对于藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因,模型 3 比模型 0 更适合($M0$ vs $M3$, $P=0$),表明藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因序列位点间存在可变的选压力,备择假设模型显著优于无效假设模型($M1$ vs $M2$, $P<0.01$; $M7$ vs $M8$, $P<0.01$)(表 3),因此可以接受 $M2$ 和 $M8$ 的计算结果。采用“位点-特异”模型计算藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 的正向选择位点, $M2$ 模型和 $M8$ 模型显示有 2 个相同的密码子的后验概率 >0.95 (表 3)。 $M8$ 模型采用了更适用于小型数据分析的 BEB, 因此可认为其计算结果是可靠的。在 $M2$ 模型和 $M8$ 模型计算出的正向选择位点中有一个位点(第 7 位点氨基酸残基)是推导性的 ABS 位点。

2.3 藏酋猴、猕猴和食蟹猴 *DPB1* 等位基因的氨基酸序列比对

DPB1 等位基因 exon 2 编码的氨基酸序列为 *Mhc-DP* 抗原的 $\beta 1$ 区域。将 18 个 *Math-DPB1* 与 GenBank 中获得的 20 个食蟹猴(*M. fascicularis*)的 *DPB1* 等位基因及 20 个猕猴(*M. mulatta*)的 *DPB1* 等位基因的氨基酸序列进行比对(图 1)。在所编码的 87 个氨基酸残基中,共检测到 40 个变异位点,其中有 3 个(第 16、29、78 位点)为新的突变位点;在 18 个 *Math-DPB1* 等位基因中,有 1 个等位基因(*Math-DPB1*15:02*)的氨基酸序列中检测到了 2 个氨基酸的插入,分别位于第 44 和 45 位点,均为缬氨酸;等位基因 *Math-DPB1*01:06N* 的第 78 位氨基酸位点,编码酪氨酸的密码子突变成终止密码子,而成为假基因(图 1)。通过这 3 种猴子的种间氨基酸序列比较,发现有 16 个氨基酸残基显示出物种特异性,其中 *Math-DPB1* 特有的为 5 个;有 9 对等位基因的氨基酸序列完全一致,这 9 对等位基因分别是 *Math-DPB1*01:01* 与 *Mafa-DPB1*02/Mamu-DPB1*04*, *Math-DPB1*06:01:01* 与 *Math-DPB1*06:01:02/Mafa-DPB1*17/Mamu-DPB1*09*, *Math-DPB1*15:01* 与 *Mamu-DPB1*10*, *Math-DPB1*01:02* 与 *Mafa-DPB1*01:07*, *Math-DPB1*01:03:01* 与 *Math-DPB1*01:03:02*, *Math-DPB1*09:01:01* 与 *Math-DPB1*09:01:02*, *Mafa-DPB1*18* 与 *Mamu-DPB1*08*, *Mafa-DPB1*20* 与 *Mamu-*

*DPB1*06/Mamu-DPB1*07*, *Mafa-DPB1*11* 与 *Mamu-DPB1*14*。猕猴、食蟹猴和藏酋猴之间部分 *DPB1* 等位基因的氨基酸序列完全相同意味着跨物种多态现象(Trans-species polymorphism)的存在。

2.4 *DPB1* 等位基因系统发生分析

基于 18 个 *Math-DPB1*、20 个 *Mafa-DPB1*、20 个 *Mamu-DPB1*、6 个 *HLA-DPB1* 和 1 个 *Saoe-DPB1* 的 exon 2 核苷酸序列,采用 NJ 法构建系统发生树(图 2)。从图 2 中可以看出,来自人的 6 个 *HLA-DPB1* 等位基因相互聚在一起,单独形成一个支系;而来自藏酋猴的 18 个 *DPB1* 等位基因则分散在食蟹猴的 15 个 *DPB1* 等位基因(*Mafa-DPB1*1~7*、*13~20*)和猕猴的 16 个 *DPB1* 等位基因(*Mamu-DPB1*1~11*、*15~17*、*19*、*20*)中,并未按照物种的来源聚类,显示出明显的跨物种多态现象。18 个 *Math-DPB1* 等位基因分别属于 5 个谱系:01、06、09、15 和 22,在 NJ 树中,同一谱系的等位基因聚集在一起,不同谱系的等位基因聚在不同的分支上。

3 讨论

藏酋猴作为可替代猕猴进行生物医学研究的一种非人灵长类实验动物,了解其 MHC 遗传背景具有重要的意义。本研究采用 PCR 扩增和克隆测序技术,从来自四川地区的 70 个藏酋猴样品中首次获得了 18 个 MHC 类 *DPB1* 等位基因,其核苷酸序列内部的变异位点较多(50 个);在与猕猴、食蟹猴的 *DPB1* 等位基因的推导性氨基酸序列比对中还发现有缺失/插入(*Math-DPB1*15:02*)和终止密码子提前出现所致的假基因化现象(*Math-DPB1*01:06N*)(图 1)。这些结果表明藏酋猴 *DPB1* 基因具有较丰富的多态性,这与其它猕猴属(*Macaca*)动物类似。例如,已有研究表明食蟹猴 *Mafa-DPB1* 基因多态性与人类 *HLA-DPB1* 基因相似,具有较高水平的多态性,到目前为止已经发现了超过 50 个的 *Mafa-DPB1* 等位基因^[10,19-22]。然而,猕猴 *Mhc-DPB1* 基因的多态性可能较低,到目前为止仅有 33 个 *Mamu-DPB1* 等位基因被报道^[18,23]。徐怀亮等^[18]对四川地区 5 个猕猴群体的研究发现,21 个 *Mamu-DPB1* 等位基因 exon 2 序列共有 63 个变异位点,各群体中 *Mamu-DPB1* 等位基因 exon 2 的变异位点数目在 55~62 之间;而

	1	1111111112	2222222223	3333333334	4444444445	5555555556	6666666667	7777777778	8888888
	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567
<i>Mamu-DPBI*01</i>	ENVVYQGRME	CYAFNGTQRY	LERYIYNREE	YARFDSVDGE	FRA—TELGR	PDAEYWNSQK	DILEEKQAVA	GTSCRHDYEL	DEAVTLQ
<i>Mamu-DPBI*02</i>	...L...V...Q...	FV...
<i>Mamu-DPBI*03</i>	...L...V...Q...	...F...	T...	R...RR...V	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*04</i>	...L...Q...	...F...	AV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*05</i>	...L...Q...	...H...	HV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*06</i>	...F...Q...	V...	L...MR...V	D.M...YN...	...
<i>Mamu-DPBI*07</i>	...F...Q...	V...	L...MR...V	D.M...YN...	...
<i>Mamu-DPBI*08</i>	...LF...L...Q...	...	L...	FV...	RR...V	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*09</i>	...LF...L...Q...	...	L...	FV...	MR...T	D.V...N...	...
<i>Mamu-DPBI*10</i>	...LF...A...Q...	...	LL...	E...S...	T...K...R...GV	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*11</i>	...LF...E...Q...	...D...	FV...	Y...—	R...R...EV	D.V...N...	...
<i>Mamu-DPBI*12</i>	...L...V...Q...	...N...Q...	FV...	Y...—	...	T...	NR...V	DRV...N...	...
<i>Mamu-DPBI*13</i>	...L...Q...	...I...F...	FM...	A...Y...—	M...S...	...	R...R...EV	DRV...N...G...H...	R
<i>Mamu-DPBI*14</i>	...L...Q...	...I...F...	FM...	Y...—	M...T...C...	...	K...MR...	D.V...N...V...N...	...
<i>Mamu-DPBI*15</i>	...F...Q...	...N...	FV...	R...V	DRV...N...	...
<i>Mamu-DPBI*16</i>	...F...Q...	T...	R...RR...V	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*17</i>	...LF...A...HD...	...F...	FL...	Y...—	E...—	...	K...R...V	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*18</i>	D...L...Q...	...I...F...	FM...	Y...—	M...T...C...	...	K...MR...	D.V...N...V...N...	...
<i>Mamu-DPBI*19</i>	...L...Q...	...F...	AV...	T...K...R...GV	D.M...N...	...
<i>Mamu-DPBI*20</i>	...L...Q...	...F...	AV...	R...R...V	D.M...N...	G...
<i>Mafa-DPBI*01:07</i>	...L...Q...	...F...H...	AV...	R...R...V	D.V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*02</i>	...L...Q...	...F...	AV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Mafa-DPBI*03</i>	...L...Q...	...F...	AV...	R...R...V	D.V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*04</i>	...L...V...Q...	...F...	AV...	R...R...V	D.V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*05</i>	...L...Q...	...F...	AV...	F...R...V	D.V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*06</i>	...L...Q...	...F...	AV...H...	F...R...V	D.V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*07</i>	...L...Q...	...F...	AV...H...	F...R...V	D.M...N...	...
<i>Mafa-DPBI*08</i>	...L...Q...	...I...F...H...	FM...	A...Y...—	M...T...C...	...	F...R...EV	DRV...N...G...H...	R
<i>Mafa-DPBI*09</i>	...L...Q...	...I...F...H...	FM...	A...Y...—	M...T...C...	...	R...R...EV	DRV...N...G...H...	R
<i>Mafa-DPBI*10</i>	...L...Q...	...I...F...H...	FM...	Y...—	M...T...C...	...	K...MR...	DRV...N...V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*11</i>	...L...Q...	...I...F...H...	FM...	Y...—	M...T...C...	...	K...MR...	D.V...N...V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*12</i>	...L...Q...	...I...F...H...	FM...	Y...—	M...T...C...	...	K...MR...	D.V...N...V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*13</i>	...LF...A...Q...	...F...	LL...	E...S...	T...K...R...V	D.M...N...	...
<i>Mafa-DPBI*14</i>	...LF...A...Q...	...	LL...	E...S...	...	G...N...	...
<i>Mafa-DPBI*15</i>	...LF...A...Q...	...	LL...	E...S...	T...K...R...AV	D.M...N...	...
<i>Mafa-DPBI*16</i>	...LF...A...Q...	...F...	LL...	Y...VM...W...	E...S...	...	T...K...R...AV	D.M...N...	...
<i>Mafa-DPBI*17</i>	...LF...L...Q...	...L...	FV...	MR...T	D.V...N...	...
<i>Mafa-DPBI*18</i>	...LF...L...Q...	...L...	FV...	RR...V	D.M...N...	...
<i>Mafa-DPBI*19</i>	...F...Q...	...	FV...	E...	L...MR...V	D.M...YN...	...
<i>Mafa-DPBI*20</i>	...F...Q...	...	V...	L...MR...V	D.M...YN...	...
<i>Math-DPBI*01:01</i>	...L...Q...	...F...	AV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Math-DPBI*01:02</i>	...L...Q...	...F...H...	AV...	R...R...V	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*01:03:01</i>	...L...Q...	...F...H...	AV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Math-DPBI*01:03:02</i>	...L...Q...	...F...H...	AV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Math-DPBI*01:04</i>	...L...Q...	...F...H...	AV...	R...R...V	D.M...N...	...
<i>Math-DPBI*01:05</i>	...L...Q...	...F...H...	A...	R...R...V	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*01:06N</i>	...L...Q...	...F...H...	AV...	R...R...V	D.M...N*	...
<i>Math-DPBI*06:01:01</i>	...LF...L...Q...	...L...	FV...	MR...T	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*06:01:02</i>	...LF...L...Q...	...L...	FV...	MR...T	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*06:02</i>	...L...E...Q...	...D...	FV...	F...R...EV	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*06:03</i>	...LF...L...Q...	...L...	FV...	F...R...EV	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*06:04</i>	...LF...L...Q...	...L...	FV...	MR...T	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*09:01:01</i>	...LL...V...Q...	...H...	HV...	A...	F...R...EV	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*09:01:02</i>	...LL...V...Q...	...H...	HV...	A...	F...R...EV	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*09:02</i>	...LL...V...Q...	...H...	HV...	A...	F...R...EV	D.V...N...	...
<i>Math-DPBI*15:01</i>	...LF...A...Q...	...	LL...	E...S...	T...K...R...GV	D.M...N...	...
<i>Math-DPBI*15:02</i>	...LF...A...Q...	...F...	LL...	Y...VV...W...	E...S...	...	T...K...R...V	D.M...N...	...
<i>Math-DPBI*22:01</i>	...L...Q...	...H...	HV...	Y...—	L...R...V	D.M...N...	...

图 1 猕猴、食蟹猴和藏酋猴的 *DPBI* 等位基因的推导性氨基酸序列比对

猕猴(*Mamu-DPBI*)和食蟹猴(*Mafa-DPBI*)的 *DPBI* 等位基因各 20 个; 矩形框为本研究中检测到的 18 个 *Math-DPBI* 等位基因。“.”表示与第一行的氨基酸残基相同,“-”表示缺失的氨基酸,“*”表示终止密码子; 灰色突出显示为 *Math-DPBI* 特有的氨基酸残基。

18 个 *Math-DPBI* 等位基因 exon 2 序列共有 50 个变异位点, 表明猕猴属动物中点突变可能对 *DPBI* 多态性的产生起到决定性的作用。对于人类而言, *HLA-DPBI* 基因的变异在一定程度上还是由点突变产生, 但近似重组的频繁交换在多态性的产生中起着主要作用, 使得 *HLA* 基因快速进化, 导致其较高水平的多态性^[12,24-26]。另外, Doxiadis 等^[27]对食蟹猴

MHC 类基因研究发现, 大约一半的 *Mafa-DPBI* (4/10)、*Mafa-DQA1*(8/14)、*Mafa-DQB1*(6/12)和 1/3 的 *Mafa-DRB*(11/35)等位基因与猕猴的直系同源基因完全相同; Creager 等^[28]在对 24 个食蟹猴获得的 127 个 *MHC* 类基因全序列研究发现, 12 个新的等位基因与猕猴 *MHC* 类基因核苷酸序列完全相同, 3 个等位基因与红面短尾猴(*Macaca arctoides* I.Geoffroy,

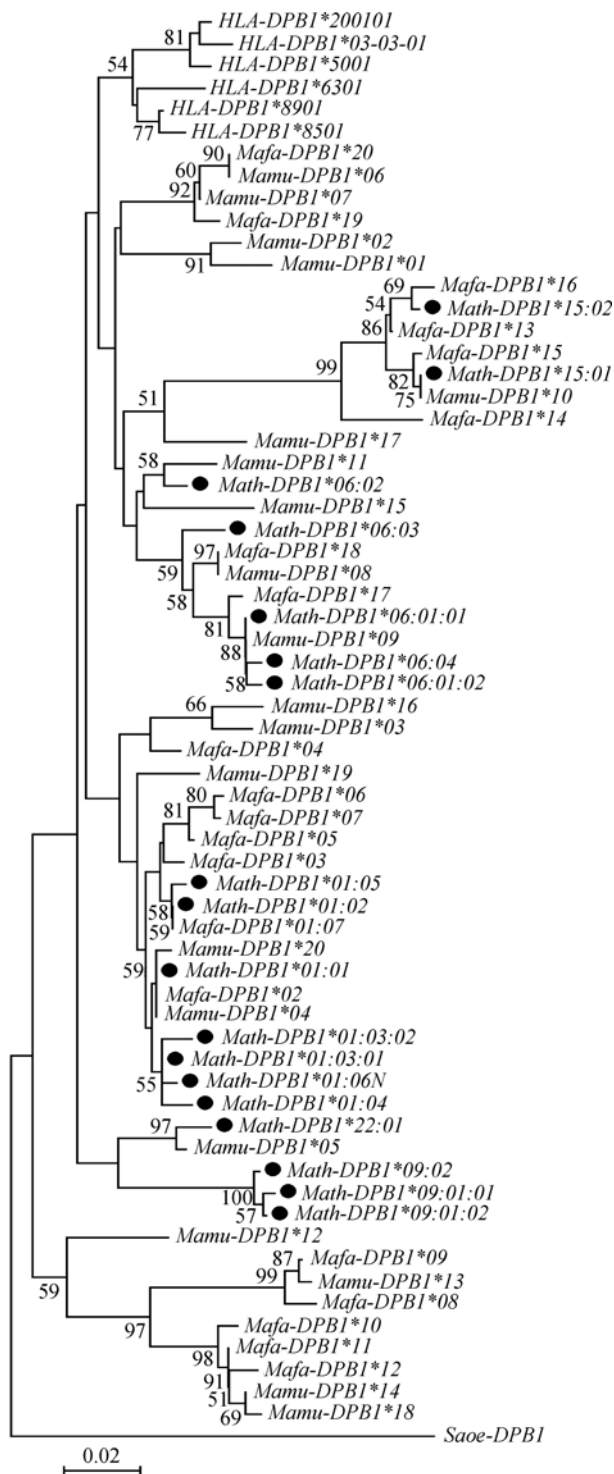


图 2 基于 *Mhc-DPB1* 等位基因核苷酸序列的 NJ 树
标注为本研究发现的 *Math-DPB1* 等位基因, *Saeo-DPB1* (AF027966) 为外群。

Maar) 的同源基因完全相同。在本项研究中, 18 个 *Math-DPB1* 等位基因中有 7 个与 *Mamu-DPB1* 或 *Mafa-DPB1* 等位基因的核苷酸序列是完全相同的

(表 1), 说明这些等位基因很有可能在这 3 个物种分歧之前就已经存在于它们的共同祖先中^[18], 也表明了 *MHC* 类基因的种间共享可能是猕猴属动物中的普遍现象。

Mhc-DPB1 基因的多态性主要集中在 exon 2 中编码肽结合区 (Peptide binding region, PBR) 的那些位点, 这种多态性使得有机体能够结合和呈递各种各样的多肽性配体, 这些变异大多来源于对病原体的识别和呈递能力的正向选择作用。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和保存^[18]。本研究中, 我们将 18 个藏酋猴 *DPB1* 等位基因看作为一个整体, 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换率 (dN) 和平均同义替换率 (dS), 其结果显示全部位点和非抗原结合位点的 dN 小于 dS , 而抗原结合位点 (ABS) 的 dN 大于 dS , 这表明平衡选择在藏酋猴 *DPB1* 等位基因 ABS 位点的多态性维持中起着重要的作用。

Xu 等^[29] 应用 PAML 软件包对鱼类 *MHC* II 类基因的遗传机制进行了探索, 结果发现, 鱼类 *MHC* II 类基因序列的位点间承受的选择压力具有异质性, 在鱼类 *MHC* II 类 B 基因检测出 13 个密码子位点的后验概率大于 0.95, 属于显著的正向选择位点, 其中有 12 个正向选择位点位于由 exon 2 编码的 $\beta 1$ 结构域。与 Xu 等的研究结果相似, 我们对藏酋猴 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 的研究发现, *Math-DPB1* 基因 exon 2 位点间承受的选择压力具有异质性; 有 2 个密码子位点 (第 7 位和第 61 位氨基酸残基) 的后验概率大于 0.95, 这两个密码子位点属于正向选择位点, 其中第 7 位点氨基酸残基属于推导性的 ABS 位点, 而第 61 位点氨基酸残基非常接近其中的一个 ABS 位点 (第 63 位点氨基酸), 它可能与多肽识别具有潜在的关联作用。

本研究基于 65 个 *Mhc-DPB1* 基因 exon 2 序列构建系统发生树 (图 2), 树的总体结构与先前报道的关于 *Mafa-DPB1* 和 *Mamu-DPB1* 系统发生树相似^[18,23,30]。18 个藏酋猴 *Math-DPB1* 等位基因分散在 15 个 *Mafa-DPB1* 基因和 16 个 *Mamu-DPB1* 基因的各支系中, 而不是以物种特异性的方式聚类。有 8 个 *Math-DPB1* 等位基因与猕猴或食蟹猴的相应同源基因成对地出现在树中, 特别是其中的 6 对 *DPB1* 等位基

因: *Mamu-DPBI*06* 与 *Mafa-DPBI*20*, *Mamu-DPBI*08* 与 *Mafa-DPBI*18*, *Math-DPBI*01:02* 与 *Mafa-DPBI*01:07*, *Math-DPBI*15:01* 与 *Mamu-DPBI*10*, *Math-DPBI*06:01:01* 与 *Mamu-DPBI*09*, *Math-DPBI*01:01* 与 *Mafa-DPBI*02/Mamu-DPBI*04* 的核苷酸序列在成对的种间是完全相同的, 表明了猕猴属动物种间跨种多态现象的存在, 强烈地支持了 Klein^[31] 提出的 MHC 多态现象的跨种假设。

参考文献(References):

- [1] 蒋学龙, 王应祥, 王岐山. 藏酋猴的分类与分布. 动物学研究, 1996, 17(4): 361–369. DOI
- [2] 王红星, 姚方, 周亮, 钟浩, 许跃忠. 藏酋猴人工繁育研究概况. 中国科技成果, 2009, 10(23): 38–40. DOI
- [3] Liu G, Zeng T, Yu WH, Yan NH, Wang HX, Cai SP, Pang IH, Liu XY. Characterization of intraocular pressure responses of the Tibetan monkey (*Macaca thibetana*). *Mol Vis*, 2011, 17: 1405–1413. DOI
- [4] 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. DOI
- [5] Cresswell P. Antigen processing and presentation. *Immunol Rev*, 2005, 207(1): 5–7. DOI
- [6] Srisapoom P, Ohira T, Hirano I, Aoki T. Cloning, characterization and expression of cDNA containing major histocompatibility complex class I, II α and II β genes of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Sci*, 2004, 70(2): 264–276. DOI
- [7] Kjøglum S, Larsen S, Bakke HG, Grimholt U. How specific MHC class I and class II combinations affect disease resistance against infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Shellfish Immunol*, 2006, 21(4): 431–441. DOI
- [8] Pierniey SB, Oliver MK. The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. *Heredity*, 2006, 96(1): 7–21. DOI
- [9] McCanlies EC, Ensey JS, Schuler CR, Kreiss K, Weston A. The association between *HLA-DPBI^{Glu69}* and chronic beryllium disease and beryllium sensitization. *Am J Ind Med*, 2004, 46(2): 95–103. DOI
- [10] Slierendregt 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
- [11] 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
- [12] 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
- [13] Ellis SA, Bontrop RE, Antczak DF, Ballingall K, Davies CJ, Kaufman J, Kennedy LJ, Robinson J, Smith DM, Stear MJ, Stet RJM, Waller MJ, Walter L, Marsh SGE. ISAG/IUIS-VIC comparative MHC nomenclature committee report, 2005. *Immunogenetics*, 2006, 57(12): 953–958. DOI
- [14] Yang ZH. PAML: a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Comput Appl Biosci*, 1997, 13(5): 555–556. DOI
- [15] Yang ZH. PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(8): 1586–1591. DOI
- [16] Yang ZH, Nielsen R, Goldman N, Pedersen AMK. Codon-substitution models for heterogeneous selection pressure at amino acid sites. *Genetics*, 2000, 155(1): 431–449. DOI
- [17] Yang ZH, Wong WSW, Nielsen R. Bayes Empirical Bayes inference of amino acid sites under positive selection. *Mol Biol Evol*, 2005, 22(4): 1107–1118. DOI
- [18] 徐怀亮, 汪宴廷, 程安春, 姚永芳, 倪庆永, 曾文, 毕风均, 杨泽霞, 陈孝跃. 猕猴 *Mhc-DPBI* 基因外显子 2 多态性研究. 遗传, 2010, 32(6): 588–598. DOI
- [19] Otting N, Doxiadis GGM, Versluis L, de Groot NG, Anholts J, Verduin W, Rozemuller E, Claas F, Tilanus MGJ, Bontrop RE. Characterization and distribution of *Mhc-DPBI* alleles in chimpanzee and rhesus macaque populations. *Hum Immunol*, 1998, 59(10): 656–664. DOI
- [20] Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Hurley CK, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM Th, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Trowsdale J. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Hum Immunol*, 2005, 66(5): 571–636. DOI
- [21] O'Connor SL, Blasky AJ, Pendley CJ, Becker EA, Wiseman RW, Karl JA, Hughes AL, O'Connor DH. Comprehensive characterization of MHC class II haplotypes in Mauritian cynomolgus macaques. *Immunogenetics*, 2007, 59(6): 449–462. DOI
- [22] Ling F, Wei LQ, Wang T, Wang HB, Zhuo M, Du HL, Wang JF, Wang XN. Characterization of the major histocompatibility complex class II *DOB*, *DPBI*, and *DQBI* alleles in cynomolgus macaques of Vietnamese origin. *Immunogenetics*, 2011, 63(3): 155–166. DOI
- [23] Doxiadis GGM, 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](#)
- [24] Zangenberg G, Huang MM, Arnheim N, Erlich H. New *HLA-DPBI* alleles generated by interallelic gene conversion detected by analysis of sperm. *Nat Genet*, 1995, 10(4): 407–414. [DOI](#)
- [25] Gyllensten U, Bergström T, Josefsson A, Sundvall M, Erlich HA. Rapid allelic diversification and intensified selection at antigen recognition sites of the *Mhc* class II *DPBI* locus during hominoid evolution. *Tissue Antigens*, 1996, 47(3): 212–221. [DOI](#)
- [26] Bontrop RE, Otting N, de Groot NG, Doxiadis GGM. Major histocompatibility complex class II polymorphisms in primates. *Immunol Rev*, 1999, 167(1): 339–350. [DOI](#)
- [27] Doxiadis GGM, Rouweler AJM, de Groot NG, Louwerse A, Otting N, Verschoor EJ, Bontrop RE. Extensive sharing of MHC class II alleles between rhesus and cynomolgus macaques. *Immunogenetics*, 2006, 58(4): 259–268. [DOI](#)
- [28] Creager HM, Becker EA, Sandman KK, Karl JA, Lank SM, Bimber BN, Wiseman RW, Hughes AL, O'Connor SL, O'Connor DH. Characterization of full-length *MHC* class II sequences in Indonesian and Vietnamese cynomolgus macaques. *Immunogenetics*, 2011, 63(9): 611–618. [DOI](#)
- [29] Xu TJ, Sun YN, Shi G, Cheng YZ, Wang RX. Characterization of the major histocompatibility complex class II genes in miiuy croaker. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23823. [DOI](#)
- [30] 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](#)
- [31] Klein J. Origin of major histocompatibility complex polymorphism: the trans-species hypothesis. *Hum Immunol*, 1987, 19(3): 155–162. [DOI](#)

•综合信息•

进化论的产生与发展

生命科学专论

书号： 978-7-03-034756-5/Q · 2945

作者： 周长发 定价： 75

内容简介： 进化论的产生和发展是科学史上的重要事件，对生物学和社会学都产生了极大影响，更引起过各种社会思潮的斗争和争论。然而，历史上，对进化论的最初理论及其后来的提高和完善却充斥着种种不实传闻和恶意攻击，甚至是造谣中伤、谩骂污蔑。因而，对达尔文进化论的主要理论和主旨思想进行澄清和辨析十分必要。本书作者在阅读大量原始文献的基础上，结合多年对进化论和生物系统学的研究心得和教学体会，精心编成此书。本书用简洁的语言对达尔文进化论产生和发展的历史及其相关内容进行深入浅出、条理清楚的介绍，对进化论原理和主要经典研究也有所交代。

读者对象： 本书适合作为生物学本科生、各专业研究生的教材，更是所有生物学从业人员，尤其是进化论、科学史研究人员必不可少的参考书

科学出版社 科学销售中心 联系人：周文宇

电话：010-64022646, 010-64017321 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com