

脊椎动物从水生到陆生演化过程中的遗传创新

王堃, 任彦栋, 邱强

西北工业大学生态环境学院, 西安 710072

泥盆纪时期(4 亿年前)脊椎动物登陆事件是脊椎动物演化史上的一次巨大飞跃, 需要脊椎动物在呼吸系统、运动系统和神经系统等诸多方面进行系统革新^[1,2], 从而适应从水生到陆生环境的改变。长期的古生物学和系统分类学研究显示, 现存四足动物最近的鱼类近亲是肺鱼, 而肉鳍鱼亚纲(包含空棘鱼、肺鱼和四足动物)与辐鳍鱼亚纲(常见的各种鱼)被统称为硬骨鱼纲。长期以来, 肺鱼和早期辐鳍鱼类这些“活化石”鱼类基因组一直缺乏系统研究, 特别是肺鱼拥有已知脊椎动物中最大的基因组(40 Gb 以上), 分析难度极大, 因而硬骨鱼祖先到肉鳍鱼祖先再到陆生脊椎动物演化历程中的遗传创新机制这一重大科学问题始终没有得到很好解答。

2021 年 2 月 5 日, *Cell* 杂志在线发表了西北工业大学、中国科学院水生生物研究所、中国科学院昆明动物研究所、中国科学院北京基因组研究所、华大基因、丹麦哥本哈根大学、中国科学院古脊椎动物与古人类研究所、中国农业科学院农业基因组研究所、华南农业大学、武汉希望组生物技术公司等多个研究团队合作完成的两项脊椎动物演化的重大成果。通过对现生多个古代鱼类基因组的研究, 以及进化生物学、鱼类学、古生物学、计算生物学和实验生物学等多学科交叉, 分别从原始辐鳍鱼类和肺鱼两个不同的演化节点角度(图 1), 揭示了脊椎动物从水生到陆生转变的遗传创新基础^[3,4], 为理解脊椎动物的演化历史提供了新的遗传学证据。

1 原始辐鳍鱼类基因组的解析发现登陆的遗传基础已经在硬骨鱼类祖先出现

如何在缺少水体浮力的情况下支撑身体进行运动, 以及如何呼吸空气中的氧, 是脊椎动物从水生到陆生演化过程中需要克服的两个最重要障碍。原始辐鳍鱼类保留了一些克服从水到陆障碍有关的特征, 如: 拥有原始的用来呼吸空气的肺, 可离水存活一段时间; 拥有肌肉和内骨骼支撑的胸鳍柄, 可以在水底爬行等。通过解析辐鳍鱼类基部的多鳍鱼(*Polypterus senegalus*)、匙吻鲟(*Polyodon spathula*)、弓鳍鱼(*Amia calva*)和鳄雀鳝(*Atractosteus spatula*)4 个物种高质量的基因组, 结合比较基因组分析和实验验证, 从分子水平揭示了许多脊椎动物重要器官的同源关系, 并首次提出与四足动物陆生适应相关器官和生理功能的遗传调控机制在其硬骨鱼祖先中已开始出现雏形, 为后续肉鳍鱼登陆演化出四足动物这一飞跃提供了重要的遗传创新基础, 包括: 骨骼运动灵活性、空气呼吸功能以及心脏系统 3 个方面(图 1)。

原始辐鳍鱼类胸鳍的后基鳍骨与四足动物的“大臂”(肱骨)属于同源器官, 但该器官在辐鳍鱼类中的真骨鱼这一支则特异性丢失^[5-8]。该研究发现许多四足动物中调节四肢发育的增强子在原始辐鳍鱼类已经存在, 其中一个极端保守的增强子甚至可以

收稿日期: 2021-02-04; 修回日期: 2021-02-10

作者简介: 王堃, 博士, 副教授, 研究方向: 脊椎动物演化。E-mail: wangkun@nwpu.edu.cn

任彦栋, 博士, 博士后, 研究方向: 进化基因组学。E-mail: renyandong90@126.com

王堃和任彦栋为共同第一作者。

通讯作者: 邱强, 博士, 教授, 研究方向: 进化基因组学。E-mail: qiuqiang@lzu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.21-063

网络出版时间: 2021/2/24 11:26:36

URI: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20210223.1648.002.html>

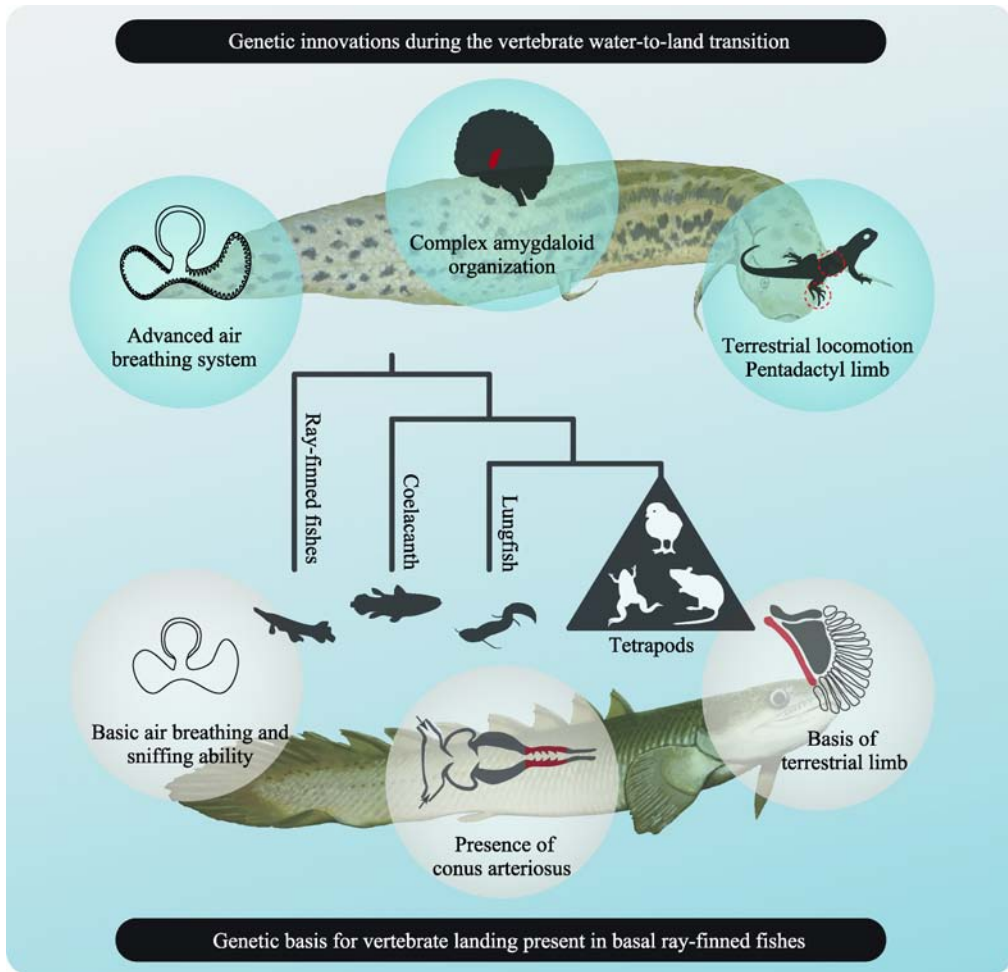


图 1 脊椎动物水生-陆生转化过程中的基础与创新

Fig. 1 The genetic foundation and innovation during the vertebrate water-to-land transition

追溯到软骨鱼类，这一增强子可以调控下游与滑膜关节形成相关的 *Osr2* 基因的表达。通过再生实验以及原位表达分析，证实了该基因主要在后基鳍骨与鳍条的连接处表达，该区域对应了四足动物中的滑膜关节结构，揭示了滑膜关节雏形的遗传创新在硬骨鱼祖先中已经出现。

通过比较基因组分析发现，原始辐鳍鱼类的嗅觉感受器中，除了具有鱼类都拥有的检测水溶性分子的嗅觉受体之外，还具有能够检测空气分子的嗅觉受体，同时存在两种类型的嗅觉受体也暗示其具有潜在的空气呼吸能力。进一步的多器官表达谱和系统发育分析显示肺与鱼鳔的表达谱最为接近，部分在肺中特异性表达的基因在硬骨鱼的祖先中已经出现，暗示着“原肺”形成的分子基础早已存在。此外，原始辐鳍鱼类肺中高表达的基因显著集中在血

管新生通路，可能与其肺或鱼鳔表面密布血管从而帮助氧气扩散及运输相关。以上结果表明，人们常见的真骨鱼的鱼鳔是由脊椎动物早期的肺演变而来，并且遗传基础早在硬骨鱼祖先阶段就已经产生。

空气呼吸能力的出现必然伴随着血液循环系统的提升，因而心脏和呼吸系统的协同演化对脊椎动物从水生到陆生的转变至关重要，从鱼类的一心房一心室到人类的两心房两心室，心脏的结构和功能也不断趋向完善和复杂。共线性分析发现，与心脏系统相关的基因在人类和多鳍鱼之间存在非常保守的共线性关系，表明这些基因具有保守的调控机制。该研究首次鉴定出一个 *Hand2* 基因的保守调控原件，在小鼠基因组中靶向删除该调控元件后，发现 *Hand2* 基因在在早期胚胎的右心室表达量降低，并导致心脏发育不全以及先天性死亡。

2 肺鱼基因组的解析揭示脊椎动物水生—陆生转变过程中的遗传创新

肺鱼是四足动物最近的现生姊妹群,是解析脊椎动物登陆过程不可或缺的桥梁。然而,肺鱼属物种基因组大小从 40~100 Gb 不等^[9],是人类基因组大小的数十倍,对其超大基因组的解析成为巨大的挑战。该研究利用单分子测序技术,并开发了全新的组装算法,成功地解析了非洲肺鱼的基因组。该基因组组装大小为 40.05 Gb,与预测大小相吻合,也是迄今已被解析的最大基因组。该基因组包含 95.4% 的脊椎动物完整基因,组装质量远超过 2018 年发表的美西螈(包含 70% 脊椎动物完整基因,32 Gb)^[10]及 2021 年发表的澳洲肺鱼(包含 67% 脊椎动物完整基因,34 Gb)^[11]基因组,标志着我国科研人员在解析超大复杂基因组方面已经达到国际顶尖水平。利用这一高质量基因组,研究人员揭示了肺鱼基因组增大之谜,并深入解析了脊椎动物在登陆过程中出现的新基因、新调控元件及其他遗传创新。这些遗传创新与脊椎动物水生-陆生转变过程中呼吸系统、四肢及运动系统、鳃弓演化和神经系统的演变密切相关(图 1)。

肺鱼基因组扩增主要是由于逆转录转座子在数亿年中持续插入造成的结果。这一持续性的基因组扩增使得肺鱼的内含子长度要远超其他物种。在肺鱼基因组中,基因长度超过 1 Mb 的有 5000 个,而在人类基因组中只有数十个。然而,这些超长基因的转录水平却并未受到很大影响,表明肺鱼具备对超长基因的高效转录机制。通过对数十个脊椎动物基因组的成分进行系统分析,发现与基因组大小呈显著正相关的不仅有逆转录转座子的数量,另外一类与抑制转座子直接相关的锌指蛋白也随着基因组的增大而普遍扩张,这类锌指蛋白还在肺鱼的生殖腺中高表达,可能在生殖系细胞中起到抑制转座子活性的作用。这可能是肺鱼基因组之所以能容忍数量庞大的逆转录转座子的因素之一,也是大基因组应对逆转录转座子的一种补偿机制。

四足动物的标志是五指的形成,这一表型也标志着脊椎动物真正走向陆地。此前的主流观点认为,*Hoxa11* 和 *Hoxa13* 在四肢末端的互斥表达是五指形

成的机制。当 *Hoxa11* 和 *Hoxa13* 在四肢末端共表达时,出现类似鱼鳍的表型;当 *Hoxa13* 在四肢末端抑制 *Hoxa11* 的表达时,则出现五指的表型,然而此前的研究始终未能发现这一调控背后所对应的遗传创新机制。在高质量肺鱼基因组基础上,该研究在 *Hoxa11* 上游 200 bp 左右发现了一个四足动物新起源的调控元件,可能与 *Hoxa13* 用以调控 *Hoxa11* 的时空表达密切相关。有趣的是,这一新起源的调控元件在蛇类和鸟类中发生了较大的变异,可能与其附肢的特化有关。该研究还发现了多个与手臂形成(桡骨出现和运动神经元能力增强)相关的遗传变异,包括影响四肢发育的角质鳍条蛋白编码基因在肺鱼(丢失一个拷贝)和四足动物(丢失全部拷贝)中渐进式丢失,控制后肢发育的 *Hox13b* 基因在四足动物中发生了特异性的大片段缺失,控制腰椎运动神经元发育的 *Hoxc10* 基因上游产生了四足类动物特异性的调控元件等。这些结果首次在全基因组水平揭示了脊椎动物获得陆地性附肢和运动能力的遗传创新机制。

液体(血液)与空气交界面对肺泡造成的表面张力是直接呼吸空气的陆生脊椎动物必须要面对的挑战,而肺表面活性剂基因的表达则是解决这一问题的关键。陆地脊椎动物中的肺表面活性剂基因包括 *SP-A*、*SP-B*、*SP-C* 和 *SP-D* 四种^[12~14]。该研究发现这些基因经历了至少 3 步演化,从硬骨鱼祖先就开始出现的 *SP-B* 证明了硬骨鱼祖先就已经具备初步的空气呼吸能力;而从肉鳍鱼祖先出现的新基因 *SP-C*,证明了肉鳍鱼祖先呼吸能力得到了进一步的增强;最终从四足动物祖先开始出现的新基因 *SP-A* 和 *SP-D*,标志着陆生脊椎动物呼吸系统的完备。此外,*Slc34a2* 基因在循环利用肺表面活性剂的磷脂质方面具有关键性作用,该基因在肺鱼和四足动物的肺中高表达,但在辐鳍鱼类的肺中低表达。此前研究表明,该基因在斑马鱼中主要在消化系统中表达,以提高磷元素的利用率^[15,16]。因此,该基因可能是在肉鳍鱼祖先中被肺招募,使其呼吸功能得到了进一步增强。

在脊椎动物登陆过程中,大脑中最为显著的改变发生在负责情绪处理的杏仁核区域中^[17]。从肺鱼和四足动物的共同祖先开始,杏仁核开始具备相对成熟的多分区结构^[18,19]。该研究发现,在肺鱼和四

足动物的祖先出现了两个新基因, *Nps* 和 *Npsr*, 分别编码神经肽 S 及其受体。这两个新基因在杏仁核中表达, 负责抗焦虑功能。此外, 该研究还发现了多个与杏仁核有关的基因在肺鱼和四足动物祖先都出现了较大的氨基酸变异。这些结果提示肺鱼和四足动物在抗焦虑方面可能具有更强的能力, 而这一能力的增强可能对陆地生活有益。

这两项创新性的研究成果, 为人们更清晰描绘脊椎动物从水生到陆生的演化过程提供了新的遗传证据: (1) 四足动物陆生性背后的遗传基础早在硬骨鱼共同祖先已经出现, 对后续的跨越式演化提供了分子遗传基础, 特别是调控空气呼吸功能、骨骼运动灵活性、以及心肺系统发育相关的古老基因和调控元件; (2) 而肉鳍鱼的祖先则在空气呼吸、陆地运动和神经系统方面得到进一步的完善, 为四足动物的最终登陆做好了前期准备。

参考文献(References):

- [1] Hinchliffe JR. Evolutionary developmental biology of the tetrapod limb. *Dev*, 1994,(Suppl.): 163–168. [DOI]
- [2] Long JA, Gordon MS. The greatest step in vertebrate history: A paleobiological review of the fish-tetrapod transition. *Physiol Biochem Zool*, 2004, 77(5): 700–701. [DOI]
- [3] Bi XP, Wang K, Yang LD, Pan HL, Jiang HF, Wei QW, Fang MQ, Yu H, Zhu CL, Cai YR, He YM, Gan XN, Zeng HH, Yu DQ, Zhu YA, Jiang HF, Qiu Q, Yang HM, Zhang YE, Wang W, Zhu M, He SP, Zhang GJ. Tracing the genetic footprints of vertebrate landing in non-teleost ray-finned fishes. *Cell*, 2021, 184(5): 1377–1391.e14. [DOI]
- [4] Wang K, Wang J, Zhu CL, Yang LD, Ren YD, Ruan J, Fan GY, Hu J, Xu WJ, Bi XP, Zhu YA, Song Y, Chen HT, Ma TT, Zhao RP, Jiang HF, Zhang B, Feng CG, Yuan Y, Gan XN, Li YX, Zeng HH, Liu Q, Zhang YL, Shao F, Hao SJ, Zhang H, Xu X, Liu X, Wang DP, Zhu M, Zhang GJ, Zhao WM, Qiu Q, He SP, Wang W. African lungfish genome sheds light on the vertebrate water-to-land transition. *Cell*, 2021, 184(5): 1362–1376.e18. [DOI]
- [5] Davis MC, Shubin NH, Force A. Pectoral fin and girdle development in the basal actinopterygians *Polyodon spathula* and *Acipenser transmontanus*. *J Morphol*, 2004, 262(2): 608–628. [DOI]
- [6] Tanaka M. Fins into limbs: Autopod acquisition and anterior elements reduction by modifying gene networks involving 5'Hox, Gli3, and Shh. *Dev Biol*, 2016, 413(1): 1–7. [DOI]
- [7] Wagner GP, Chiu CH. The tetrapod limb: a hypothesis on its origin. *J Exp Zool*, 2001, 291(3): 226–240. [DOI]
- [8] Woltering JM, Irisarri I, Ericsson R, Joss JMP, Sordino P, Meyer A. Sarcopterygian fin ontogeny elucidates the origin of hands with digits. *Sci Adv*, 2020, 6(34): eabc3510. [DOI]
- [9] Metcalfe CJ, Filé J, Germon I, Joss J, Casane D. Evolution of the Australian lungfish (*Neoceratodus forsteri*) genome: a major role for CR1 and L2 LINE elements. *Mol Biol Evol*, 2012, 29(11): 3529–3539. [DOI]
- [10] Grohme MA, Schloissnig S, Rozanski A, Pippel M, Young GRY, Winkler S, Brandl H, Henry I, Dahl A, Powell S, Hiller M, Myers E, Rink JC. The genome of *Schmidtea mediterranea* and the evolution of core cellular mechanisms. *Nature*, 2018, 554(7690): 56–61. [DOI]
- [11] Meyer A, Schloissnig S, Franchini P, Du K, Woltering J, Irisarri I, Wong WY, Nowoshilow S, Kneitz S, Kawaguchi A, Fabrizio A, Xiong PW, Dechaud C, Spaik HP, Volff JN, Simakov O, Burmester T, Tanaka EM, Schartl M. Giant lungfish genome elucidates the conquest of land by vertebrates. *Nature*, 2021, 590(7845): 284–289. [DOI]
- [12] Gómez-Gil L, Schürch D, Goormaghtigh E, Pérez-Gil J. Pulmonary surfactant protein SP-C counteracts the deleterious effects of cholesterol on the activity of surfactant films under physiologically relevant compression-expansion dynamics. *Biophys J*, 2009, 97(10): 2736–2745. [DOI]
- [13] Roldan N, Nyholm TKM, Slotte JP, Pérez-Gil J, García-Álvarez B. Effect of lung surfactant protein SP-C and SP-C-promoted membrane fragmentation on cholesterol dynamics. *Biophys J*, 2016, 111(8): 1703–1713. [DOI]
- [14] Haagsman HP, Diemel RV. Surfactant-associated proteins: functions and structural variation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 2001, 129(1): 91–108. [DOI]
- [15] Chen P, Tang Q, Wang CF. Characterizing and evaluating the expression of the type IIb sodium-dependent phosphate cotransporter (slc34a2) gene and its potential influence on phosphorus utilization efficiency in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish Physiol Biochem*, 2016, 42(1): 51–64. [DOI]
- [16] Chen P, Huang Y, Bayir A, Wang C. Characterization of the isoforms of type IIb sodium-dependent phosphate cotransporter (Slc34a2) in yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*, and their vitamin D₃-regulated expression under low-phosphate conditions. *Fish Physiol Biochem*, 2017, 43(1): 229–244. [DOI]
- [17] Bruce LL, Neary TJ. The limbic system of tetrapods: a comparative analysis of cortical and amygdalar populations. *Brain Behav Evol*, 1995, 46(4–5): 224–234. [DOI]
- [18] Northcutt R G. Telencephalic organization in the spotted African Lungfish, *Protopterus dolloi*: a new cytological model. *Brain Behav Evol*, 2009, 73(1): 59–80. [DOI]
- [19] González A, Northcutt RG. An immunohistochemical approach to lungfish telencephalic organization. *Brain Behav Evol*, 2009, 74(1): 43–55. [DOI]