

# 浪尖上的绿精灵

—从真核藻类到软体动物水平基因转移的分析

Pku09s3g7

北京大学理论生物学中心

司光伟 朱学珺 曲姣 赖彬彬

# 提纲

- 背景介绍
- 前人研究
- 对于前人研究的验证
- 推论

# 1. 背景介绍

海蜗牛

*Elysia chlorotica*



November 18, 2008 | vol. 105 | no. 46 | pp. 17589–18072

# PNAS

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

www.pnas.org

## Mollusc photosynthesis



Perfect bulk diamonds

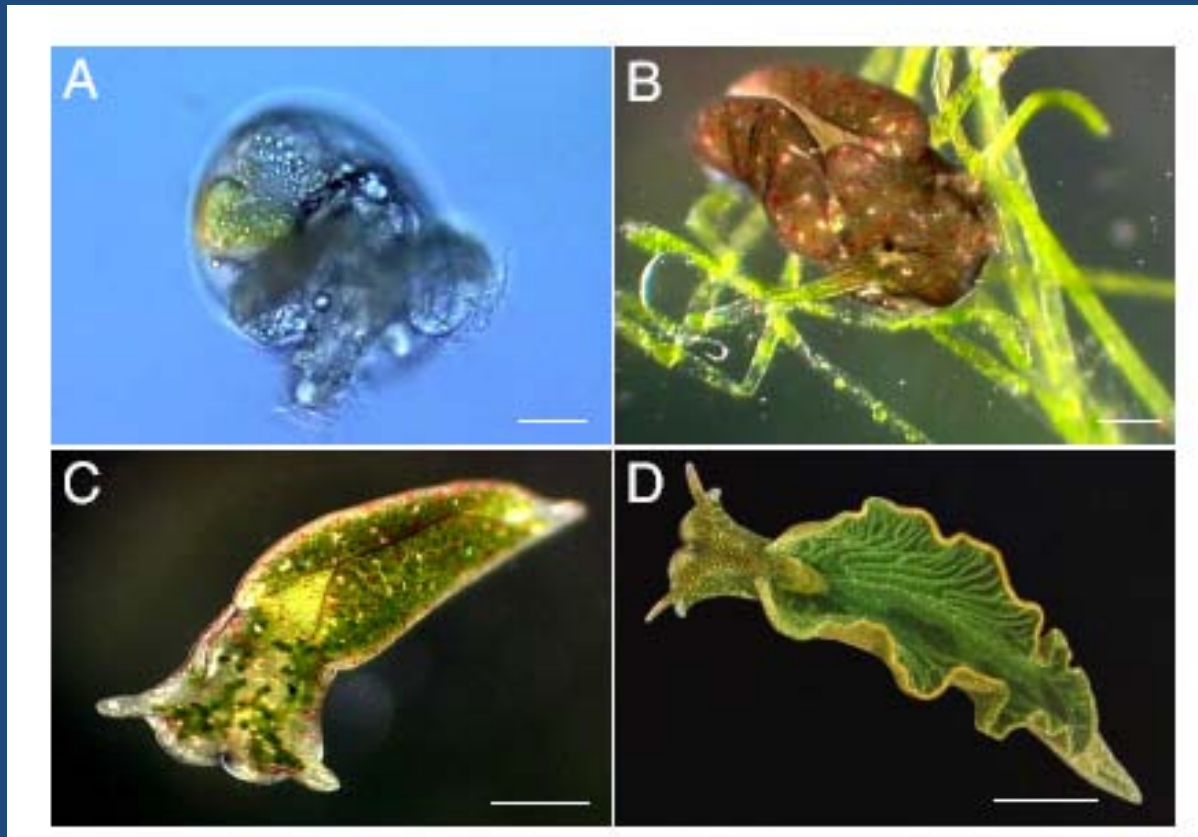
Biogenic magnetite

Predicting cholera epidemics

Corn signatures in fast food

# 1. 背景介绍

海蜗牛 *Elysia chlorotica*—软体动物门腹足纲  
囊泡藻 *Vaucheria litorea*—黄藻门无隔藻纲



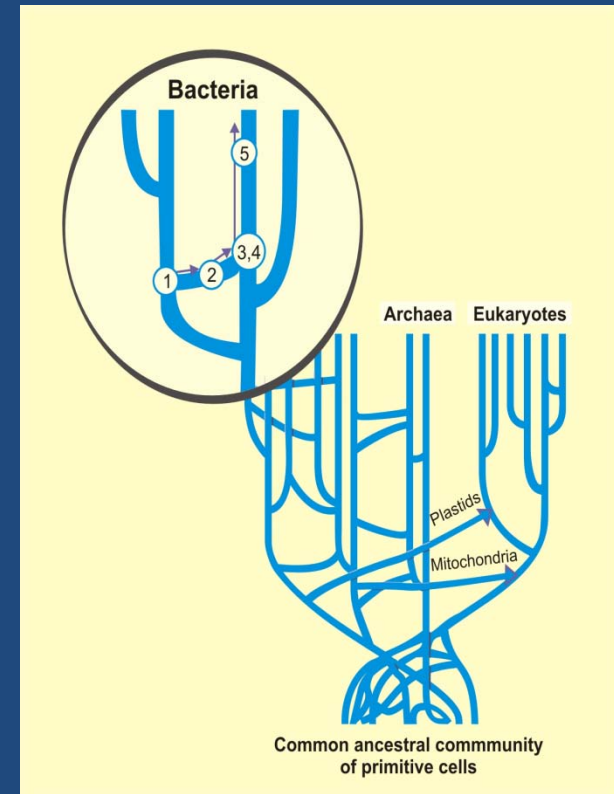
## 2. 前人研究

问题：海蜗牛如何通过进食海藻进行光合作用

- 囊泡藻保持基因组和结构的完整性，内共生在海蜗牛体内
- 海蜗牛把吞食的囊泡藻的细胞膜消化掉，只留下囊泡藻的叶绿体，本来由囊泡藻提供的另外一部分光合作用基因在囊泡藻和海蜗牛之间发生水平转移

## 2. 前人研究

- 基因的水平转移（侧向转移）  
遗传物质在不同物种之间的交流  
遗传物质：叶绿体、  
线粒体、细胞核  
物种：近缘或远缘



- 水平基因转移是相对于垂直基因转移（亲代传递给子代）提出的，它打破了亲缘关系的界限，使基因流动的可能变得更为复杂

## 2. 前人研究

实验证据:

- 1) 测序发现, 参与光合作用的psbO基因 (photosystem II extrinsic protein O) 不在囊泡藻的叶绿体上。
- 2) 用藻类的psbO基因片段设计引物, 在成体海蜗牛和海蜗牛卵中可以找到类似序列的DNA。而利用藻类psbO基因附近的另外一个基因设计引物, 则只能在藻类里有所收获。
- 3) Northern Blotting进一步验证了海蜗牛体内也有psbO的mRNA
- 4) 对海蜗牛的线粒体测序, psbO不在线粒体上

## 2. 前人研究

# Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene *psbO* to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*

Mary E. Rumpho<sup>a,1</sup>, Jared M. Worful<sup>a</sup>, Jungho Lee<sup>b</sup>, Krishna Kannan<sup>a</sup>, Mary S. Tyler<sup>c</sup>, Debashish Bhattacharya<sup>d</sup>, Ahmed Moustafa<sup>d</sup>, and Jam

## 3 other gene transfer! !

Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species

National Library of China

转至

打印

电子邮件

添加到标记结果列表

保存到 EndNote Web

保存到 EndNote, RefMan, ProCite 更多选项

作者: [Pierce SK](#) (Pierce, Sidney K.), [Curtis NE](#) (Curtis, Nicholas E.), [Hanten JJ](#) (Hanten, Jeffery J.), [Boerner SL](#) (Boerner, Susan L.), [Schwartz JA](#) (Schwartz, Julie A.)

来源出版物: SYMBIOSIS 卷: 43 期: 2 页: 57-64 出版年: 2007

被引频次: 3 参考文献: 19 [引证关系图](#)

摘要: The sea slug, *Elysia chlorotica*, is a deep green color due to the presence of intracellular, symbiotic chloroplasts captured from algae during feeding. Several chloroplast proteins, including some that are nuclear-encoded such as FCP, LHC 1 and LHC 2, are synthesized while the plastids reside in the host cytoplasm for as long as 9 months. Using PCR, we have identified the sequences for [fcp](#), [Lhcv 1](#) and [Lhvc 2](#) in genomic DNA and mRNA from adult slugs, and from pre-hatched veliger larvae. These results show that the algal nuclear genes are present in the animal cell, are transcribed and are transmitted to the offspring. This is the first demonstration of transfer of functional, inheritable genes between multicellular organisms.

### 施引文献列表: 3

本文已被引用 3 次 (来自 Web of Science)。

[Rohwer F, Thurber RV](#) [Viruses manipulate the marine environment](#) NATURE 459 7244 207-212 MAY 14 2009

[Rumpho ME, Worful JM, Lee J, et al.](#) [Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene \*psbO\* to the photosynthetic sea slug \*Elysia chlorotica\*](#) PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 105 46 17867-17871 NOV 18 2008

[Pierce SK, Curtis NE, Hanten JJ, et al.](#) [Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species \(vol 43, pg 57, 2007\)](#) SYMBIOSIS 43 3 171-171 2007

[ [查看全部施引文献](#)，共 3 篇 ]



## 2.前人研究

结论:

多细胞真核生物核基因组之间也能发生基因水平转移;  
海蜗牛消化掉囊泡藻的细胞膜, 却能维持其叶绿体的完整性, 并能进行光合作用;

遗留问题:

这种机制是如何发生的

# 我们的工作

- 用生物信息学方法验证水平基因转移的发生
  - 1) 海蜗牛系统发育地位的分析  
方法：海蜗牛线粒体基因在其他物种上的分布  
线粒体基因的系统发育树构建
  - 2) 对psbO, fcp, Lhcv1, Lhcv2这些待验证的水平转移基因的来源分析
  - 3) 对多次内吞学说的验证
- 对产生机理的推测

# 3.我们的工作 -- 验证

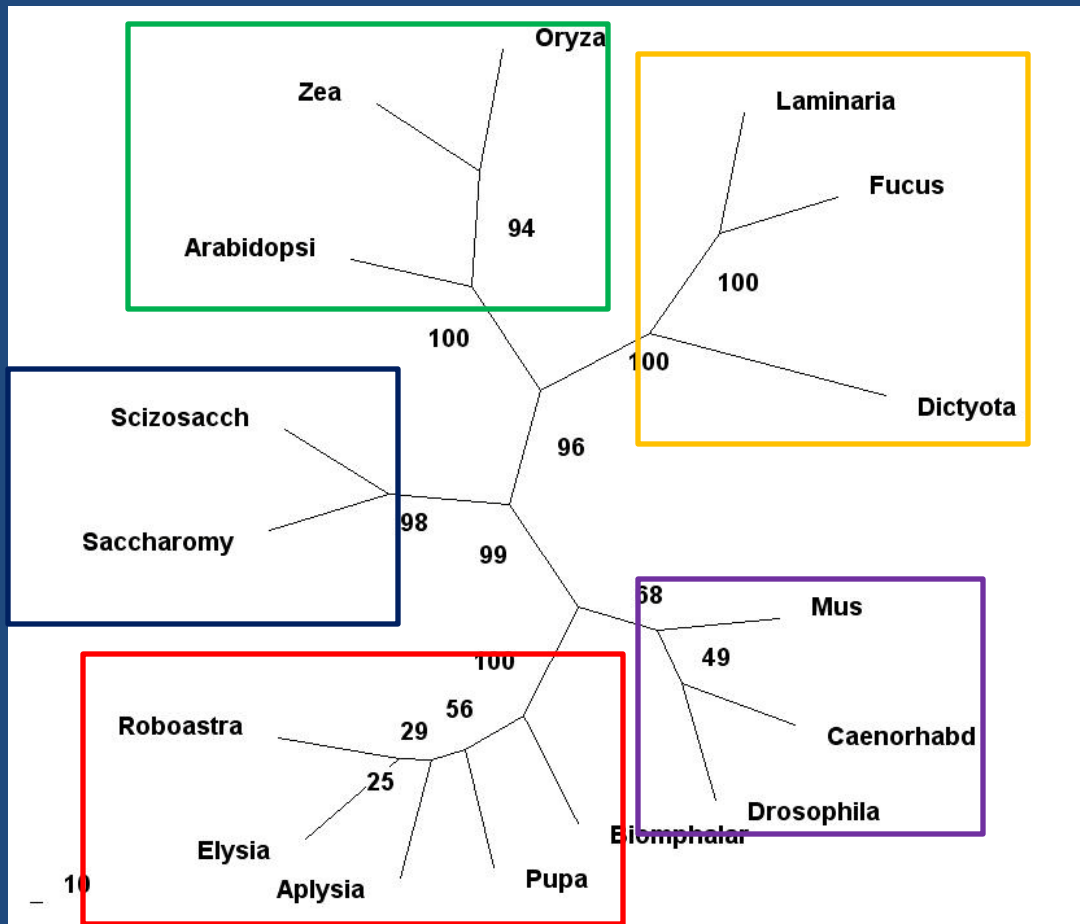
## (1) 海蜗牛系统发育地位分析

### 海蜗牛线粒体基因在其他物种上的分布

物种	与海蜗牛线粒体13个基因重叠的个数	所属类群
<i>Elysia chlorotica</i> 海蜗牛	13	软体动物
<i>Roboastra europaea</i>	12	软体动物
<i>Aplysia californica</i>	13	软体动物
<i>Dictyota dichotoma</i>	10	藻类
<i>Fucus vesiculosus</i>	10	藻类
<i>Laminaria digitata</i>	10	藻类
<i>Oryza sativa</i>	8	高等植物
<i>Zea luxurians</i>	8	高等植物
<i>Mus terricolor</i>	2	哺乳动物
<i>Drosophila melanogaster</i>	2	昆虫

# 3.我们的工作 -- 验证

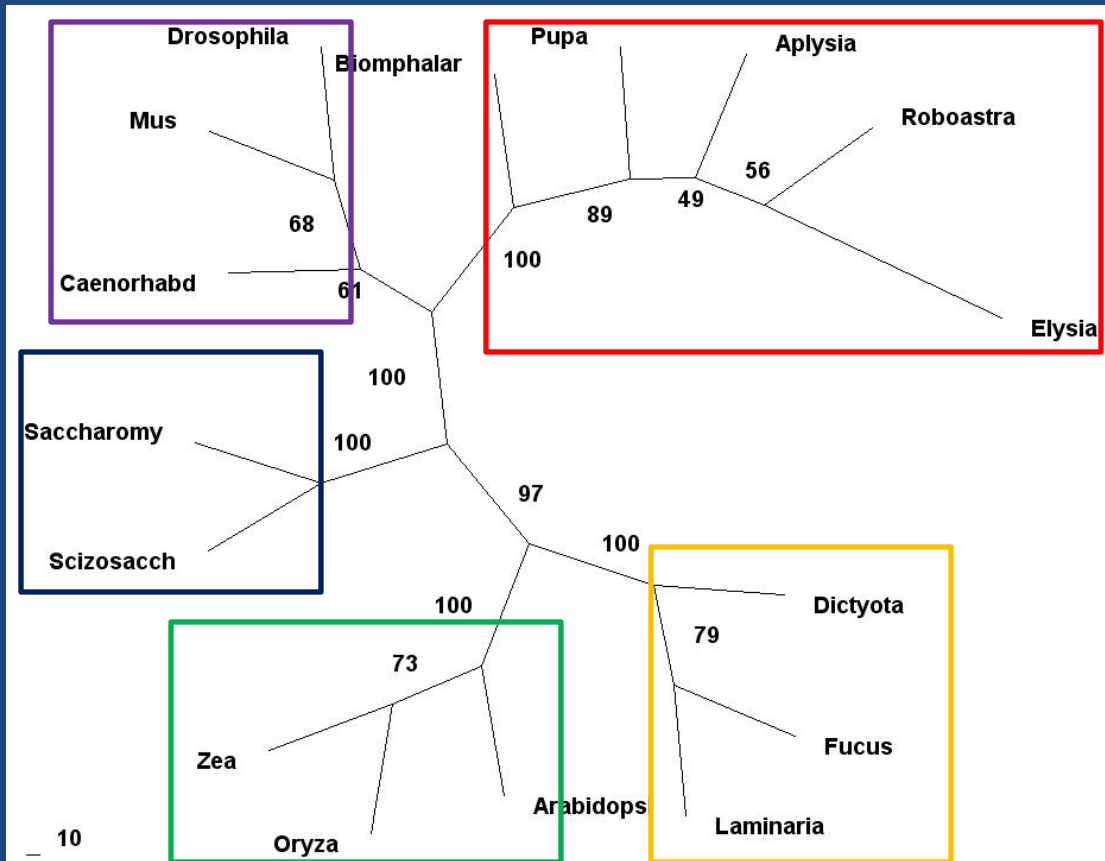
(1) 海蜗牛系统发育地位分析:  
最大似然法对线粒体Cytochrome b 蛋白建树



软体动物  
其他后生动物  
真菌  
植物  
藻类

# 3. 我们的工作 -- 验证

(1) 海蜗牛系统发育地位分析:  
最大似然法对线粒体cytochrome c oxidase (COX)蛋白建树

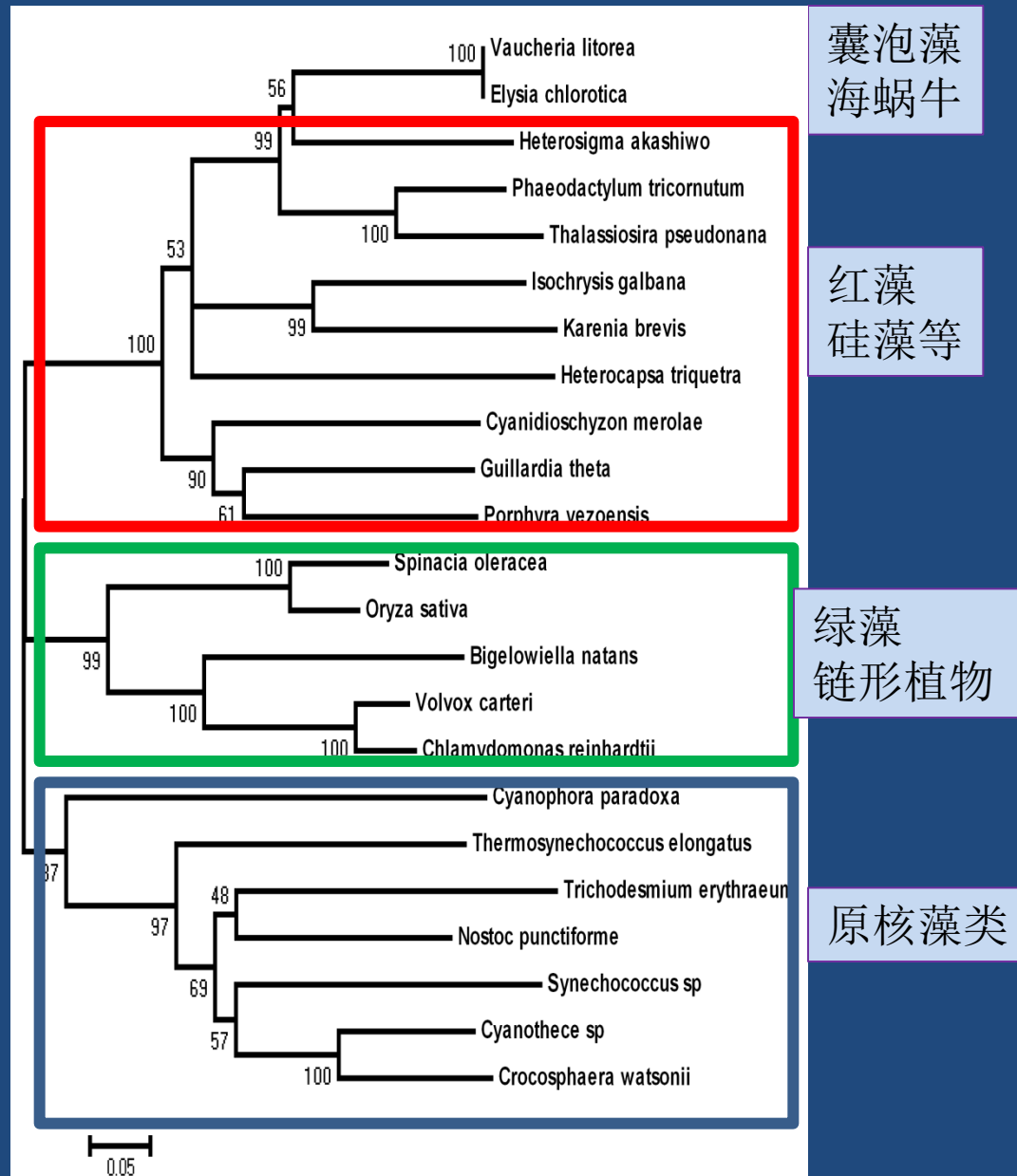


软体动物  
其他后生动物  
真菌  
植物  
藻类

# 3. 我们的工作 -- 验证

## (2) 待验证的水平转移基因的来源分析

邻接矩阵法对藻类和海蜗牛的psbO蛋白建树，海蜗牛和囊泡藻是聚类在一起的，证明海蜗牛psbO基因来源于囊泡藻



### 3. 我们的工作 -- 验证

#### (2) 待验证的水平转移基因的来源分析

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻psbO gene/mRNA  
一致性100%

```
>gb|EU621882.1 Elysia chlorotica photosystem II extrinsic protein O gene, complete cds
Length=963

Score = 1737 bits (1926), Expect = 0.0
Identities = 963/963 (100%), Gaps = 0/963 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻fcp gene/mRNA  
一致性100%

```
>gb|EF559313.1 Vaucheria litorea FCP gene, partial cds
Length=323

Score = 583 bits (646), Expect = 5e-166
Identities = 323/323 (100%), Gaps = 0/323 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻Lhcv1 gene/mRNA  
一致性100%

```
>gb|AF336982.1|AF336982 Vaucheria litorea light harvesting complex protein 1 mRNA, complete cds; nuclear gene for chloroplast product
Length=700

Score = 524 bits (580), Expect = 4e-148
Identities = 290/290 (100%), Gaps = 0/290 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

### 3. 我们的工作 -- 验证

#### 2) 待验证的水平转移基因的来源分析

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻Lhcv2 gene的一致性99%

```
>gb|EF559309.1 Vaucheria litorea LHCV 2 gene, partial cds
Length=477

Score = 856 bits (948), Expect = 0.0
Identities = 476/477 (99%), Gaps = 0/477 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻Lhcv2 mRNA的一致性100%

```
>gb|AF336985.1|AF336985 Vaucheria litorea light harvesting complex protein 2 mRNA, partial
cds; nuclear gene for chloroplast product
Length=542

Score = 655 bits (726), Expect = 0.0
Identities = 363/363 (100%), Gaps = 0/363 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

结论:

在囊泡藻和海蜗牛之间存在水平转移基因  
psbO, fcp, Lhcv1, Lhcv2

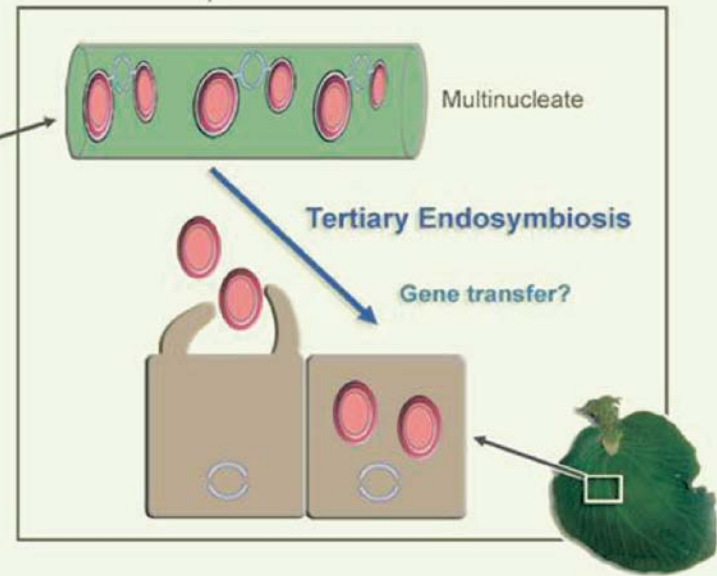
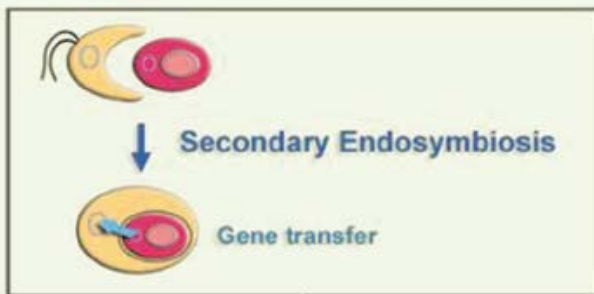
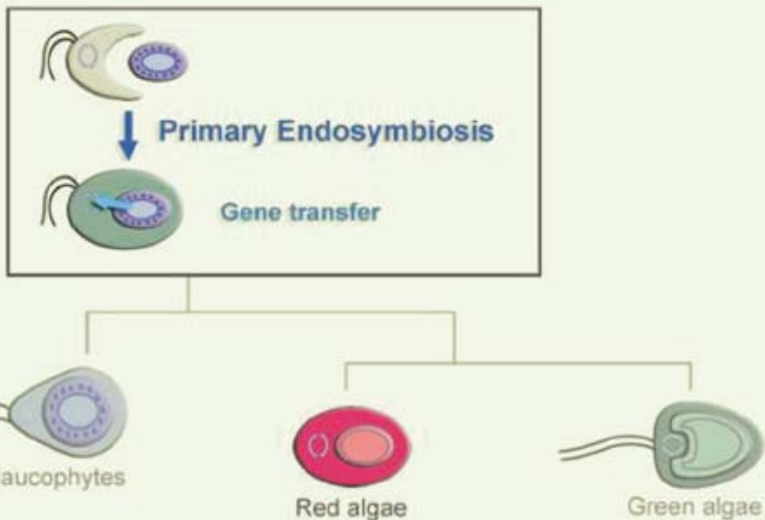


# 3. 我们的工作 -- 验证

## (3) 多次内吞过程验证

四次内吞：  
原核藻类

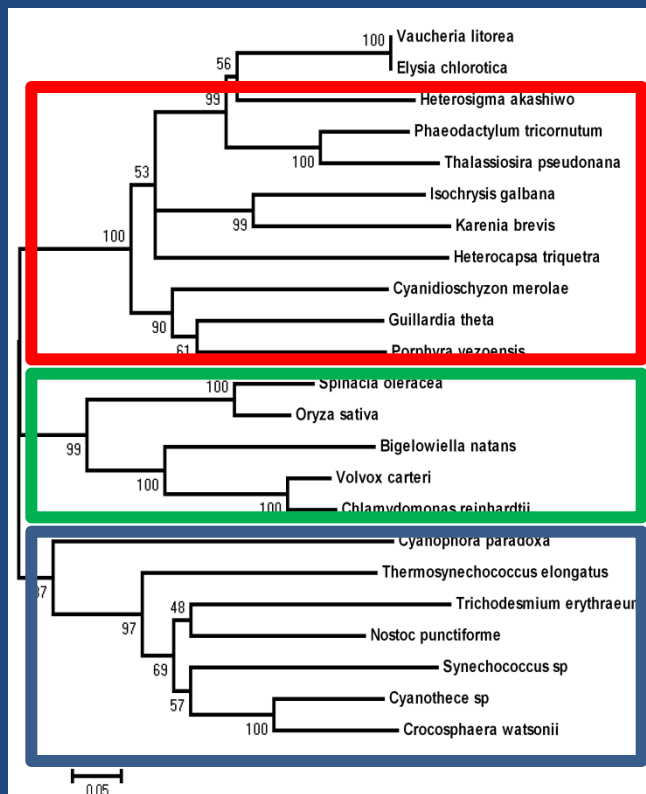
- > 单细胞单核藻类
- > 未知藻类
- > 多细胞多核藻（囊泡藻）
- > 海蜗牛



# 3. 我们的工作 -- 验证

## (3) 多次内吞过程验证

根据psb0基因的系统发育树和囊泡藻叶绿体基因在其他物种上的分布分析，内吞造成了红藻和囊泡藻之间的基因水平转移



物种	重复个数	所属类群
Vaucheria litorea <b>囊泡藻</b>	172	黄藻门
Porphyra yezoensis	154	红藻门
Cyanidioschyzon merolae	154	红藻门
Thalassiosira pseudonana	151	硅藻门
Heterosigma akashiwo	136	针胞藻纲
Phaeodactylum tricornutum	144	针胞藻纲
Guillardia theta	141	隐藻门
Pinus krempfii	82	链形植物
Cucumis sativus	97	链形植物

## 4. 我们的工作 -- 推论

(1) 为什么发生水平转移的基因在种间有如此高的相似度

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻psbO gene/mRNA  
一致性100%

```
>gb|EU621882.1 Elysia chlorotica photosystem II extrinsic protein 0 gene, complete cds
Length=963

Score = 1737 bits (1926), Expect = 0.0
Identities = 963/963 (100%), Gaps = 0/963 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

局部序列比对发现海蜗牛和囊泡藻FCP gene/mRNA  
一致性100%

```
>gb|EF559313.1 Vaucheria litorea FCP gene, partial cds
Length=323

Score = 583 bits (646), Expect = 5e-166
Identities = 323/323 (100%), Gaps = 0/323 (0%)
Strand=Plus/Plus
```

## 4. 我们的工作 —— 推论

(1) 为什么发生水平转移的基因在种间有如此高的相似度

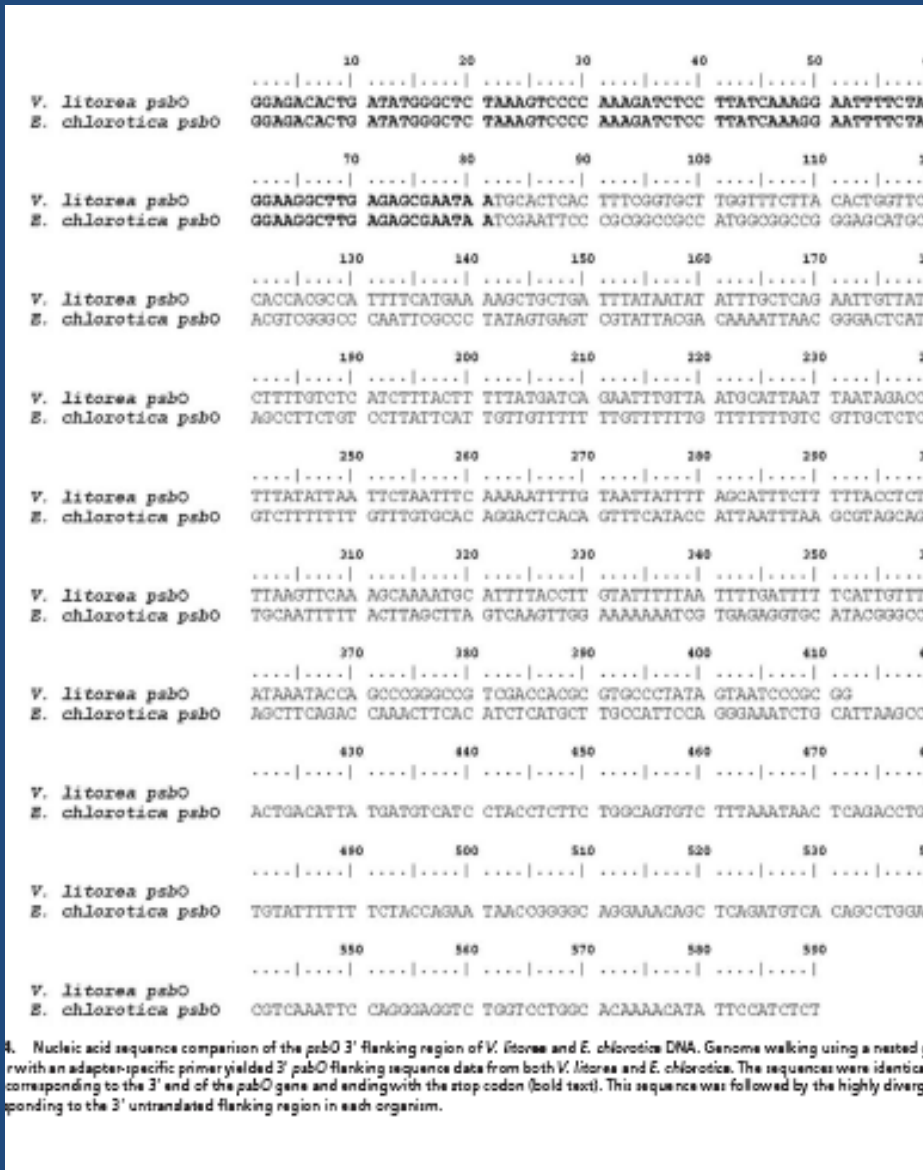
推测1：水平转移发生的时间不太长，因此没有产生统计意义的突变

推测2：由于海蜗牛体内的叶绿体不能遗传给下一代，每一代海蜗牛都要重新吞噬囊泡藻并利用其叶绿体，与叶绿体上光合作用基因协同工作迫使两个物种细胞核内的光合作用基因协同进化

# 4. 我们的工作 -- 推论

## (2) 水平转移的分子机制是什么

psbO 基因编码区的一致性 100%，但它的3'UTR序列在海蜗牛和囊泡藻中差异很大  
用海蜗牛的这部分序列 blast



## 4. 我们的工作 -- 推论

(2) 水平转移的分子机制是什么  
结果:

在软体动物门 (Mollusca (taxid:6447)) 中,  
找到类群特异的小卫星序列

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value
<a href="#">91256.1</a>	Ensis arcuatus <b>microsatellite DNA</b> , locus 53E07, allele 1-53E07	<a href="#">89.7</a>	89.7	19%	1e-17
<a href="#">91251.1</a>	Ensis arcuatus <b>microsatellite DNA</b> , locus 47G06, allele 1-47G06	<a href="#">87.8</a>	87.8	23%	4e-17
<a href="#">57456.1</a>	Cirrothauma murrayi 18S ribosomal RNA gene, complete sequence	<a href="#">84.2</a>	121	17%	5e-16
<a href="#">91258.1</a>	Ensis arcuatus microsatellite DNA, locus 55G07, allele 1-55G07	<a href="#">71.6</a>	71.6	19%	3e-12

而在囊泡藻所属的黄藻门 (Xanthophyceae (taxid:2833)) 中

① No significant similarity found. For reasons why, [click here](#)

## 4. 我们的工作 -- 推论

### (2) 水平转移的分子机制是什么

推测1: **psbO**基因水平转移是通过mRNA反转录后插入核基因组实现的，可以和其他基因一起插入（**bulk transfer**），也可以独立发生

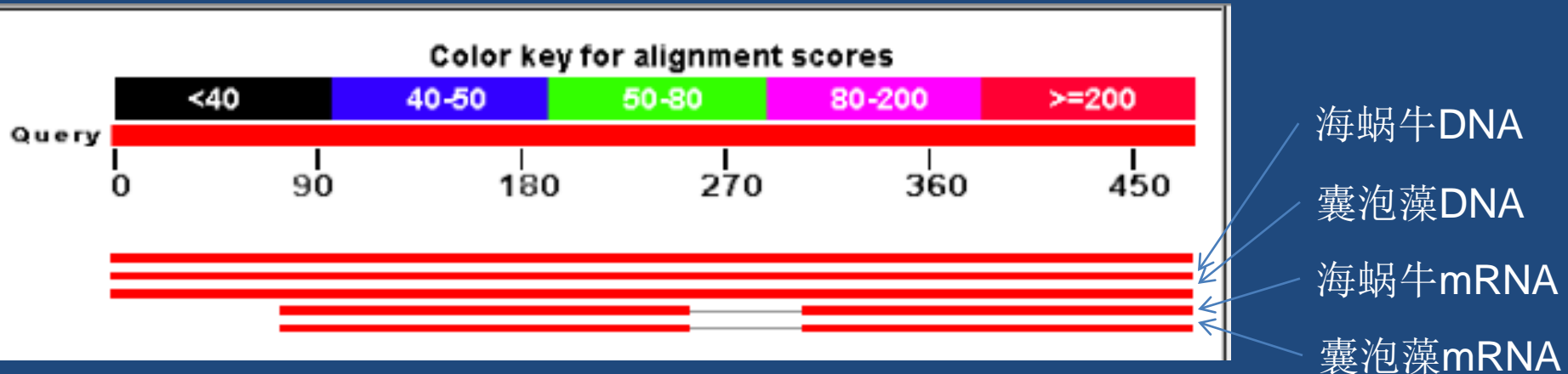
推测2: 水平转移发生的方式是多个基因以DNA的形式一次性插入，**psbO**基因应位于整个插入序列的3'端

## 4. 我们的工作 -- 推论

### (2) 水平转移的分子机制是什么

对海蜗牛和囊泡藻Lhcv2 mRNA和基因的比对发现，二者的基因都含有内含子，且内含子序列相同

推论：如果基因水平转移是通过多个基因一次性插入实现的，必然以DNA形式转移。否则，各个基因的插入方式不相同





## 4. 我们的工作 -- 推论

目前已知的不同物种核基因组之间的水平基因转移：

- 原核生物之间：携带抗性的质粒在不同菌株之间转移
- 原核生物和真核生物之间：根瘤菌和豆科植物
- 多细胞真核生物之间：动物和动物之间的转座子，植物和植物之间的转座子，植物和寄生线虫之间的水平转移
- 病毒介导的基因水平转移

## 4. 我们的工作 —— 推论

### (2) 水平转移的分子机制是什么

- 对于多细胞真核生物之间的基因水平转移，研究得比较清楚的机制只有同界生物水平转移的转座子。植物和寄生线虫之间的水平转移也只有生物信息学证据。
- 对于跨界的基因水平转移机制仍有待研究

## 4. 我们的工作 —— 推论

### (3) 进一步的工作

若能得到囊泡藻和海蜗牛的基因组全序列

- 利用四个已知的水平转移基因的相对位置，可以进一步研究水平基因转移是否为独立发生。
- 考察是否还有其他水平转移基因
- 水平转移序列两端的序列特征是什么

## 5. 总结

- 两个多细胞真核生物之间的水平基因转移分析

对参考文献的若干问题进行验证和更深入的探讨

提出水平基因转移可能的机制假说

未来工作的预期

- 方法：系统发育树构建，序列比对，blast

## 6. 参考文献

- Rumpho ME, Worful JM, Lee J, Kannan K, Tyler MS, Bhattacharya D, Moustafa A, Manhart JR.(2008) Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene psbO to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotic*. *Proc Natl Acad Sci* 105(46):17867-71.
- Pierce SK, Curtis NE, Hanten JJ, Boerner SL, Schwartz JA (2007) Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species. *Symbiosis* 43:57–64.

感谢罗老师的指导和支持  
感谢本组成员的辛勤工作  
感谢助教的热心帮助

谢 谢 大 家 ！