

核化线粒体组学与转基因人分析法

李 凯^{1,2,4}, 张 佳^{1,3}, 廖端芳⁴, 陈琳玲⁴

(1. 天津脉基因测绘有限公司, 天津市 300100; 2. City of Hope National Medical Center Duater CA, USA;

3. GNF Institute San Diego CA, USA; 4. 南华大学生命科学院 SNP 研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 医学生物工程学; 线粒体 DNA; 转基因人分析法; 核化线粒体; 进化; 人类古线粒体

[摘要] 二十世纪遗传与基因工程技术的发展为人类从生物化学和遗传学角度探索基因及其产物的分子机制开辟了新途径。然而, 现有基因工程技术, 特别是转基因技术, 因伦理学上的原因并不完全适用于涉及人类自身的生物医学研究。因此, 有待新技术与方法的建立以使基因工程策略能更好地用于人类基因组水平的研究。本文提出一种转基因人分析法即以人类染色体 DNA 与线粒体 DNA 的重组作为研究对象。我们将这种研究线粒体 DNA 与染色体 DNA 的相互作用的科学称之为核化线粒体组学。利用核化线粒体组学方法, 一个长度为 16 kb 与人类线粒体参考序列 NC-001807 具有 94% 同源性的类古线粒体已组装完成, 其无疑将对现代医学与进化研究具有不可估量的作用。

[中图分类号] R-1

[文献标识码] A

Mitochromics and Transgenic Human Assay

LI Kai^{1,2,4}, ZHANG Jia^{1,3}, LIAO Duan-Fang⁴, and CHEN Lin-Ling⁴

(1. Tianjin Genomapping Inc, Tianjin 300100, China; 2. City of Hope National Medical Center Duater CA, USA; 3. GNF Institute San Diego CA, USA; 4. SNP Institute, School of Life Science and Technology, Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] mtDNA, transgenic human assay, mitochromics, evolution, ancient mtDNA.

[ABSTRACT] Mitochondrial DNA differs from chromosomal DNA by its endosymbiotic characteristics of being a foreigner to prokaryotic cells circular intronless and multitronics. When mtDNA is recognized as a transgene humankind becomes a transgenic species occurred naturally under strict definition of transgenic technology. With transgenic human assay we are able to study the biological effect of mtDNA-original homologues in the genome of modern eukaryotic cells. This new discipline is termed Mitochromics. Mitochromic analysis allows the assembling of an ancient mtDNA using eight nuclear mtDNA analogues which has an overall consensus rate of 94% with NC-001806. We believe that this assembled ancient mtDNA sequence will have enormous application in evolution and biomedical studies.

生物医学研究的目的是为了地更好地促进医疗保健, 了解人类进化和预测未来。近年发展起来的生物工程技术, 如转基因动物、基因敲除动物及克隆动物等极大地加速了生物医学的相关研究速度。虽然药物研发的经验使我们认识到实验动物和人类对药物的反应有很大的区别, 但现有基因工程技术因伦理学上的原因并不完全适用于人类。

尽管真核生物、原核生物、线粒体和叶绿体的起源尚未阐明, 但对真核生物染色体 DNA 与线粒体 DNA 有不同遗传特性与遗传方式已无争议。与真核生物的染色体 DNA 相比, 线粒体 DNA 为环状结构、无内含子, 且具有多重转录系统和不同的遗传编码系统, 为严格的母系遗传, 表现出明显的外源基因的特征, 因而为转基因人的研究提供了坚实的理论

基础和进化依据。当把外源线粒体 DNA 确认为一种转基因 DNA 时, 人类即成为严格意义范畴内的转基因物种。据此, 我们提出一种简单的转基因人作为分析线粒体 DNA 与染色体 DNA 之间相互作用的工具, 并称之为核化线粒体组学(mitochromics)。

1 核化线粒体组学的研究内容

核化线粒体组学主要研究真核生物染色体 DNA 与线粒体基因之间的相互作用; 包括研究生物小分子和生物大分子在不同进化层次的生物之间的相互作用, 特别是研究线粒体 DNA 对染色体基因结构和功能的影响, 以及研究染色体 DNA 对线粒体基因结构和功能的影响。由于历经数百万年漫长的进化过程, 现代生物线粒体在功能上已高度特化、通过与染色体基因的相互协同作用共同维持现代生物的正常生理功能。线粒体 DNA 与染色体基因之间的长期适应与共存使线粒体早期所含有的大部分基因已融入染色体^[1]。这些融入染色体的线粒体基因

[收稿日期] 2003-12-02 [修回日期] 2003-12-17

[作者简介] 李凯, 湖南华容人, 留美学者, 通讯作者。张佳, 天津市人, 留美学者。廖端芳, 湖南沅江人, 博士、教授、博士研究生导师, 留美归国学者。

对维持线粒体的功能十分重要,相关基因产物常常具有亲脂性,在细胞浆中表达后再转运至线粒体内。从功能上讲,线粒体因其具有通过氧化/磷酸化产生ATP的功能而对现代真核生物细胞至关重要。与那些基于分子水平探讨生命功能的生物化学研究不同,核化线粒体组学通过探索存在于核内遗传材料中的线粒体DNA片段而阐明细胞功能和其与物种进化的关系。

2 研究水平与方法

2.1 染色体和线粒体的初步研究

对染色体和线粒体基因同源序列的数量分析及物种进化史分析;染色体基因中线粒体元件结合、富集区域或非富集区域的局部特性的研究。

2.2 线粒体的进一步研究

对不同生物种属之间线粒体DNA序列的进化特性的研究;对线粒体DNA在染色体中的重组情况及重组率的研究;对染色体内线粒体基因同源序列的突变率的研究。

2.3 不同生物种属之间蛋白质进化水平的比较

研究功能基因在线粒体和染色体之间迁移数量;以及由于线粒体DNA的融入而被关闭的染色体基因的数量;线粒体基因产物和染色体基因产物在功能上相互协调的可能方式。

2.4 核化线粒体组学在疾病预防、诊断和治疗中的价值评价

研究从单基因水平分析染色体基因组中由线粒体DNA片段的融入所引起的基因突变和基因缺失;研究从染色体水平来研究由线粒体DNA片段的融入所引起的染色体内和染色体间的基因重组。从而评价核化线粒体组学在疾病预防、诊断和治疗中的价值。

2.5 生物学预期

从进化的内在动因看,个体之间染色体的差异包括致病性基因重组对物种的生物学预期具有很大的参考价值。一个生物种群的基因有效重组越多,这些种群在进化方面就越年轻,其基因型和表现型对环境的变化就具有越强的适应性,物种的生存预期就越长。当然上述假设有待通过比较已灭绝的种属或濒危种群的染色体DNA和线粒体DNA的差别及相互作用得以确认。

3 应用核化线粒体组学分析法所获得的新发现

3.1 利用核化线粒体组学方法,我们最近发现染色体DNA与线粒体DNA的重组率与物种进化层次具有一定的相关性。与大鼠和小鼠相比,人类染色体DNA与线粒体DNA的重组率较高;提示重组率较高的物种,其进化速度可能较快^[2]。

3.2 利用核化线粒体组学原理,可以解释遗传进化史上的某些特殊事件。由于重组率较高的物种,其进化速度可能较快。而且,低等物种的进化时间普遍长于高等物种。因此,发生遗传变异或进化速度的不同有可能是进化层次不一的多物种在同一相对较短的时间点相继出现并形成化石的原因,如寒武纪生物大爆发^[3]。

3.3 利用核化线粒体组学方法,我们发现尼安特人的线粒体DNA与人类染色体内的部分线粒体源性DNA具有高度同源性,因此我们认为不能排除尼安特人与现代人在基因水平上可能存在亲缘关系^[4]。

3.4 利用核化线粒体组学方法,可以对线粒体病进行病因学研究。通过比较人类不同进化时期和现代人的线粒体DNA及核化线粒体,我们可以找出各种线粒体病究竟是由于新近的染色体基因突变,还是由于进化早期线粒体的基因型在特定遗传背景下所表现出的致病效应。

3.5 利用核化线粒体组学方法,最近我们完成了人类古代线粒体的组装工作其长度为16Kb,与人类线粒体参考序列NC-001807具有94%的同源性。这一人类古线粒体的组装完成,无疑将对现代医学与进化研究具有不可估量的作用^[5]。

4 小结

核化线粒体组学是生物科学的一个新的分支。核化线粒体组学的发展,有赖于计算机科学、生物信息学、考古学、古人类学、进化论、基因组学和分子生物学等多学科的参与,和不同领域对转基因人分析法进行更深入的分析与应用。

【参考文献】

- [1] Berg OG, Kurland CG. Why mitochondrial genes are most often found in nuclei. *Mol Biol Evol*, 2000, 17 (6): 951-961
- [2] Li K, Zhang J, Sommer SS. Acceleration of human evolution driven by mitochondrial DNA. (to be published)
- [3] Li K, Liao DF, Chen LL, Peng CY, Wang C, Zhang J. Transgenic human assay and evolutionary role of mtDNA by Mitochromic analysis. *J Nankai Univ*, 2004, 32 (1): 1-3
- [4] Li K, et al. Living fossils unearthed by blasting human chromosomes with neanderthal mt DNA. (to be published)
- [5] Zhang J, Li K. An assembled old version of human mtDNA using nuclear pseudogenes. genbank accession # BN000436

(此文编辑 胡必利)