

脊椎动物视蛋白基因分子进化的研究进展

李志强^{1, 2} 何舜平¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

PROGRESS ON MOLECULAR EVOLUTION OF VERTEBRATE OPSIN GENES

LI Zhi-Qiang^{1, 2} and HE Shun-Ping¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

关键词: 分子进化; *RH1*; *RH2*; *SWS1*; *SWS2*; *LWS/MWS*

Key words: Molecular evolution; *RH1*; *RH2*; *SWS1*; *SWS2*; *LWS/MWS*

中图分类号: Q349 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)06-1193-05

视觉是动物获取外界信息的重要途径,在动物的捕食、配偶选择及讯息传递等方面均有重要作用,对动物的进化具有深远而广泛的影响^[1]。经过科学家的不懈努力,生态因素被认为是引导视觉系统进化的一个主要因素^[1,2]。相对于无脊椎动物而言,脊椎动物的视觉系统有着惊人的多样性,反应了脊椎动物对环境中各种色彩的高度适应性^[1]。脊椎动物的视觉是由位于视网膜中的视色素(Visual pigments)介导的。每个视色素分子均由一个跨膜蛋白视蛋白(Op sin)和一个生色基团通过席夫氏碱共价连接形成(在牛的 rhodopsin 中为位点 296 的丝氨酸)。生色基团为视黄醛(11-*cis*-retinal, A1)或者 3,4-脱氢视黄醛(11-*cis*-3,4-dehydroretinal, A2)^[3]。当感光的视色素分子吸收光子后,视色素生色基团的构象发生变化,从顺式构象转变为反式构象,并与视蛋白分离;然后活化的视蛋白与转导蛋白结合,激活与转导蛋白偶联的 G 蛋白,通过胞内的磷酸化级联反应导致细胞膜上的离子通道关闭,细胞膜超极化,形成超极化的感受器电位,传导至大脑后即产生视觉^[4]。

视色素的光谱敏感峰值(即 $\lambda_{\max}$)及范围由视蛋白和生色基团的相互作用决定^[3]。生色基团也有独特的 $\lambda_{\max}$:席夫氏碱被质子化的生色基团在溶液中的 $\lambda_{\max}$ 为 440 nm,而席夫氏碱未被质子化的生色基团在溶液中的 $\lambda_{\max}$ 为 365 nm^[1]。但生色基团和视蛋白结合形成的视色素 $\lambda_{\max}$ 的范围很宽广:360—635 nm^[1]。视蛋白是具有七个跨膜结构域的 G 蛋白

耦联受体超家族(G protein-coupled receptors, GPCR)中的一个庞大的家族。脊椎动物的视蛋白基因可根据其序列相似性及产物视蛋白 $\lambda_{\max}$ 的不同而分为五个亚家族:() *RH1*, 又被称为视杆蛋白(Rhodopsin),其 $\lambda_{\max}$ 在 500 nm 左右;() *RH2* (Rhodopsin-like pigments, 绿视蛋白),其 $\lambda_{\max}$ 为 470—510 nm;() *SWS1* (Short wavelength- or blue-sensitive pigments, 紫外/蓝视蛋白),其 $\lambda_{\max}$ 为 360—430 nm;() *SWS2* (*SWS1*-like pigments, 蓝视蛋白),其 $\lambda_{\max}$ 为 440—460 nm;() *LWS/MWS* (Long wavelength- or middle wavelength-sensitive, or red- and green-sensitive pigments, 红/绿视蛋白),其 $\lambda_{\max}$ 为 510—560 nm^[3]。这些基因的长度差异很大:七鳃鳗(P500)、变色龙(P495, P358 和 P482)和小鼠(P509)的视蛋白基因长度大于 19 kb,而辐鳍鱼类的 *RH1* 只有 1 kb 左右^[3]。*RH2*、*SWS1* 和 *SWS2* 均具有四内含子/五外显子的结构,而 *LWS/MWS* 具有五内含子/六外显子的结构。*RH1* 在视杆细胞里表达,介导暗视觉,即感受弱光,无色觉功能;其他 4 种视蛋白在视锥细胞里表达,被称为视锥色素(cone pigments),介导明视觉(感受强光)和色觉^[3]。

视蛋白吸收光谱调节分子机制的研究始于 1983 年,在这一年 Nathans 和 Hogness 克隆了牛的视杆蛋白基因^[5]。到现在为止,牛的视杆蛋白也是唯一具有晶体结构数据的视蛋白^[6]。随着生物所处环境的不同,视杆细胞和视锥细胞的比例也不同:深海或夜行性的动物为了尽量感受可用的弱

收稿日期: 2008-07-04; 修订日期: 2009-02-19

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30530120); 国家重点基础研究发展计划(2007CB411600)资助

作者简介: 李志强(1979—), 男, 汉族, 博士; 主要从事鱼类系统发育与分子进化及生物地理学的研究。E-mail: brucelemon@163.com

通讯作者: 何舜平, E-mail: clad@ihb.ac.cn

光,视网膜上几乎全是视杆细胞,而白天活动的变色龙 (*Anolis carolinensis*) 视网膜上全是视锥细胞^[3]。 $\lambda_{\max}$ 值与生物所处环境的光线有关,譬如在海洋生活的鱼类有蓝、绿视蛋白;而由于淡水对红光有很好的通透性,在淡水生活的鱼类除了有蓝、绿视蛋白外,还有红视蛋白。如果视蛋白相同的话, A2 会使 $\lambda_{\max}$ 向长波方向偏移,即红移^[3]。到现在为止,科学家们已经知道了超过 100 种视蛋白的氨基酸序列和吸收光谱,为以后视蛋白功能的研究提供了便利^[3]。经过研究,发现一些关键位点对 $\lambda_{\max}$ 的调节具有非常重要的作用^[7],这些位点大部分集中在七个跨膜区。可用两种方法来测量 $\lambda_{\max}$: 显微分光光度计法 (Microspectrophotometry, MSP)^[8,9] 和体外试验法 (*In vitro* assay)^[11]。体外试验法是通过细胞培养的方法来生产、纯化视蛋白,在体外使视蛋白与生色基团结合后测定视色素吸收光谱的方法,这种方法比 MSP 法精确,应用范围更广泛^[11]。下面就视蛋白基因的进化作一综述。

1. 视蛋白基因之间的系统发育关系

大部分脊椎动物的基因组都有视蛋白基因的五个亚家族。据此推测,在脊椎动物的祖先中就通过 4 个连续的基因复制事件产生了这五种视蛋白基因。到现在为止,在人和其他有胎盘哺乳动物的基因组中只发现三种视蛋白基因,即 RH1, SWS1 和 LWS/MWS, RH2 和 SWS2 极有可能在哺乳动物进化的早期就丢失了^[3,10]。最近,在鸭嘴兽的基因组中发现了 SWS2^[11]。因此, RH2 在哺乳动物的祖先中就丢失了; SWS2 在有胎盘哺乳动物和有袋类发生分歧后才在前者中丢失。这五种视蛋白基因的系统发育关系为 (((RH1, RH2), SWS2), SWS1), LWS/MWS)^[3,12]。

2 视蛋白基因的分子进化

2.1 RH1 基因

辐鳍鱼类的 RH1 没有内含子,而其他脊椎动物的 RH1 均有四个内含子和五个外显子。据推测辐鳍鱼类的 RH1 可能是由 *erro* (Extraretinal rod-like op sin gene) 通过一个古老的逆转录转座事件形成的^[13]。绝大部分脊椎动物视杆蛋白的 $\lambda_{\max}$ 在 500 nm 左右,但变色龙 (491 nm)、海鳗 (482 nm)、康吉鳗 (487 nm)、海鲂 (492 nm)、金鱼 (492 nm)、非洲矛尾鱼 (485 nm)、宽吻海豚 (488 nm) 和短吻真海豚 (489 nm) 视杆蛋白的 $\lambda_{\max}$ 发生了蓝移。除了金鱼和变色龙,其他发生蓝移的物种都生活在蓝光占主导地位的海洋环境,反应了其对应蓝光环境的适应^[3]。D83N、E122Q 和 A292S 的替换分别使牛的 RH1 发生了 6、19 和 10 nm 的蓝移^[3]。据研究,变色龙 RH1 的蓝移或许是由 D83N 引起的;而非洲矛尾鱼 RH1 的蓝移是由 E122Q 和 A292S 引起的^[1,3]。令人惊奇的是,生活于印度尼西亚海域的印度尼西亚矛尾鱼 (*Latimeria menadoensis*) 的 RH1 也发生了 E122Q 和 A292S 替换,从而也蓝移到 485 nm^[14]。Yokoyama 和 Takenaka 研究了金眼鲷目金鳞鱼科 (Beryciformes, Holocentridae) 11 种金鳞鱼 RH1 基因的进化,发现其 RH1 的 $\lambda_{\max}$ 值与生活的水深关系密切:祖先

RH1 的 $\lambda_{\max}$ 为 493 nm,随着生活水层的不同, $\lambda_{\max}$ 分别发生了红移和蓝移。生活在 0—10 m 水层的鱼类发生了红移, $\lambda_{\max}$ 为 502 和 499 nm,生活在 0—70 m 水层的鱼类 $\lambda_{\max}$ 为 486—494 nm,生活在 60 m 以下水层的鱼类发生了蓝移, $\lambda_{\max}$ 为 481 nm,表现出适应性进化的现象。影响金鳞鱼视杆蛋白 $\lambda_{\max}$ 的氨基酸替换为 E122M、F261Y 和 A292S^[7]。

2.2 RH2 基因

RH2 感受绿光,存在于除哺乳类外的其他有颌类中^[3,10]。脊椎动物可通过两种方式获得红-绿视觉: RH2 或者 LWS/MWS。LWS/MWS 的进化会在后文中述及。有些鱼类、爬行类及两栖类没有 MWS,它们可以通过 RH2 来获得红-绿视觉,即用 3,4 脱氢视黄醛作为生色基团^[15]或者在感光细胞中含有彩色的油滴^[3]。金鱼的 RH2 (P511) 当用视黄醛作为生色基团时, $\lambda_{\max}$ 为 511 nm; 当用 3,4 脱氢视黄醛作为生色基团作为生色基团时, $\lambda_{\max}$ 为 537 nm^[15]。鸡获得绿视觉的方法则与金鱼不同。鸡的 RH2 以视黄醛作为生色基团时, $\lambda_{\max}$ 为 508 nm; 由于在感光细胞中有绿色的油滴,鸡含有 RH2 的视锥细胞实际上的 $\lambda_{\max}$ 为 533 nm^[16]。RH2 在脊椎动物中的加倍事件也有报道。非洲丽鱼及斑马鱼的 RH2 发生了加倍: 斑马鱼的 RH2 通过片段复制形成了 RH2-1、RH2-2、RH2-3 和 RH2-4 四个基因,在基因组上串联排列,其 $\lambda_{\max}$ 分别为 467、476、488 和 505 nm^[17]。Parry, et al. 在四种非洲丽鱼中发现 RH2 有三个拷贝: RH2A α 、RH2A β 和 RH2B,其 $\lambda_{\max}$ 也不相同^[18]。红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 和黑青斑河豚 (*Tetraodon nigroviridis*) 的 RH2 也发生了加倍: RH2-1 和 RH2-2,但两种河豚的 RH2-2 趋同退化为假基因^[19]。在已知 RH2 $\lambda_{\max}$ 的脊椎动物中,非洲矛尾鱼、变色龙和壁虎的 RH2 发生了蓝移,分别为 478、495 和 467 nm。非洲矛尾鱼的蓝移可能和其生活的环境有关: 非洲矛尾鱼生活在 200 m 左右深的海洋中,在这个深度能到达的光线波长在 480 nm 左右,与蓝移有关的两个氨基酸替换为: E122Q/M207L^[11]。生活于印度尼西亚海域的印度尼西亚矛尾鱼的 RH2 与非洲矛尾鱼的 RH2 在氨基酸水平上只在位点 216 上有差异,同样具有氨基酸替换 E122Q/M207L,其 $\lambda_{\max}$ 也蓝移到 478 nm^[14]。

2.3 SWS1 基因和 SWS2 基因的进化

人们很早就认识到无脊椎动物具有紫外视觉,许多昆虫的行为受紫外视觉的影响^[3,20]。随着研究的深入,人们发现一些脊椎动物也具有紫外视觉,如鱼类、两栖类、鸟类、爬行类及哺乳类等。靠鸟类传粉的开花植物的花瓣可以反射紫外光,从而可以吸引具有紫外视觉的鸟类^[12,20]。鱼类的鳞片和鸟类的羽毛可以反射紫外光,从而可以被用来相互识别^[12,20]。一些爬行类和两栖类可以用紫外视觉来通信^[21,22]。实际上,脊椎动物在很多情况下都可以运用紫外视觉,如信息传递、捕食及交配等^[21—25]。紫外视觉由 $\lambda_{\max}$ 在 360 nm 左右属于 SWS1 的视蛋白介导。SWS1 还包括了 $\lambda_{\max}$ 在 390—440 nm 的视蛋白 (感受蓝光)。当没有紫外光或紫外光不重要时, SWS1 基因会变成假基因,例如非洲矛尾鱼和海豚的 SWS1^[26,27]。迄今为止,已测定了 21 种脊椎动物

SW S1视蛋白的氨基酸序列和 $\lambda_{\max}$ 通过对这 21种脊椎动物 SW S1视蛋白各个祖先节点的氨基酸序列进行推导,并通过突变实验构建祖先节点的 SW S1视蛋白,发现除了鸟类的最近共同祖先的 SW S1 $\lambda_{\max}$ 为 393 nm 外,其他祖先节点的 SW S1的 $\lambda_{\max}$ 均在 360 nm 左右^[20]。鸟类最近共同祖先的 SW S1的 $\lambda_{\max}$ 由于在四个位点发生了氨基酸替换 (F49V / F86S / L116V / S118A) 而变为蓝视蛋白。长尾小鸚鵡 (*Melopittacus undulatus*)、斑胸草雀 (*Taeniopygia guttate*) 和金丝雀 (*Serinus canaria*) 通过在鸟类最近共同祖先的 SW S1序列发生 S90C (可使 $\lambda_{\max}$ 蓝移大约 30 nm) 的氨基酸替换而又重新获得了紫外视觉^[12,20]。由于许多脊椎动物在进化中保持了紫外视觉,因此紫外视觉必定在某些特定的情况下具有优势。紫外光在环境中广泛存在,为什么有些生物会从紫外视觉转换为蓝视觉?可能的原因有:1. 紫外光会对视网膜组织造成损伤;2. 蓝视觉会提高视力分辨力和增强对比度^[20]。有些鸟类从紫视觉转换为紫外视觉似乎与鸟类的迁徙有关^[20]。随着研究的深入,人们认识到脊椎动物 SW S1的 $\lambda_{\max}$ 并不仅仅由处于跨膜区 - 的 11个位点的氨基酸决定^[12,20,28],处于跨膜区 - 的氨基酸与处于跨膜区 - 的氨基酸通过协同作用也参与了 SW S1的光谱调节^[28]。紫外视蛋白可以感受紫外光与紫外视蛋白的生色基团具有未质子化的席夫氏碱有关^[28]。脊椎动物 SW S1 $\lambda_{\max}$ 的调节机制还远未明晰。

SW S2感受蓝光。已知氨基酸序列和 $\lambda_{\max}$ 的 SW S2比 SW S1少。现在已测定了 8种脊椎动物 SW S2的氨基酸序列和 $\lambda_{\max}$: 金鱼 (*Carassius auratus*)、火蜥蜴 (*Ambystoma tigrinum*)、牛蛙 (*Rana catesbeiana*)、变色龙 (*Anolis carolinensis*)、鸽子 (*Columba livia*)、斑胸草雀 (*Taeniopygia guttate*)、鸡 (*Gallus gallus*) 和蜥蜴 (*Cynops pyrrhogaster*)^[29,30]。Yokoyama 和 Tada 研究了这 8种脊椎动物 SW S2的进化,发现脊椎动物祖先 SW S2的 $\lambda_{\max}$ 在 439 nm,与席夫氏碱被质子化的生色基团在溶液中的 $\lambda_{\max}$ 相近。这 8种脊椎动物 SW S2的 $\lambda_{\max}$ 主要由 10个具加性效应的位点决定,即 49、52、91、93、94、122、207、261、269 和 292^[29]。在脊椎动物的进化中,金鱼、变色龙和斑胸草雀的 SW S2保持了祖先 SW S2的 $\lambda_{\max}$ 。鸡和鸽子 SW S2的红移主要是由其最近共同祖先的 SW S2发生了 I49A 的氨基酸替换引起的。火蜥蜴 SW S2的蓝移由氨基酸替换 T93V 引起,而牛蛙 SW S2的蓝移则与 L207I 有关。当然,由于已知氨基酸序列和 $\lambda_{\max}$ 的 SW S2很少,对结果的解释需谨慎。随着研究的深入,将会发现越来越多的参与 SW S2 $\lambda_{\max}$ 调节的位点。

2.4 LWS/MWS基因的进化

在脊椎动物的祖先中就存在着 LWS 基因,这使得 LWS 广泛分布于脊椎动物中。由于有胎盘哺乳动物的最近共同祖先丢失了 SW S2和 RH2,这使得大部分哺乳动物为二色视觉 (即为红 - 绿色盲)^[3,10];但有些哺乳动物具有三色视觉,即具有红 - 绿视觉^[31-33]。哺乳动物的感光细胞中既没有 3,4脱氢视黄醛也没有彩色油滴,其红 - 绿视觉是由 LWS /

MWS 介导的。高等灵长类通过两种不同的途径获得红 - 绿视觉:类人猿和旧世界猴的 LWS/MWS 位于 X 染色体上,由于发生了 LWS 的加倍事件形成了 LWS 和 MWS, LWS 和 MWS 在染色体上串联排列,其功能也发生了分化 (LWS 的 $\lambda_{\max}$ 为 ~560 nm, MWS 的 $\lambda_{\max}$ 为 ~530 nm),加上在常染色体上的 SW S1形成了三色视觉;许多新世界猴和原猴类 (Prosimian) 没有发生 LWS 的加倍事件,但在 X 染色体上的 LWS/MWS 有三个等位基因,则雄性及在这个座位上为纯合体的雌性为二色视觉,在 X 染色体上有两个等位基因的雌性为三色视觉 (X 染色体的随机失活)^[3,31,32]。例如松鼠猴 (*Saimiri sciureus*) LWS 的等位基因有三个, $\lambda_{\max}$ 分别为 532、547 和 561 nm^[3]。但一属新世界猴 吼猴 (*Alouatta*) 也发生了 LWS 的加倍事件,比旧世界猴的加倍事件要晚^[31,32]。由于在其他的新世界猴中没有发现 LWS 的加倍事件,因此吼猴的最近共同祖先在和其他新世界猴发生分歧后,发生了一次独立于旧世界猴的加倍事件。Yokoyama 研究了 11种脊椎动物 (包括哺乳类、鸟类、爬行类、两栖类及鱼类) LWS/MWS 的进化,推导了祖先序列,并用突变实验表明有 5个关键位点对 LWS/MWS 的光谱调节有重要作用: S180A (位点的序号以人的 LWS/MWS 为参照物)、H197Y、Y277F、T285A、A308S 单突变和 S180A/H197Y 协同突变对 $\lambda_{\max}$ 的影响分别为 -7、-28、-8、-15、-27、11 nm;反方向的突变则为 7、28、8、15、27、-11 nm,并且这些位点具有加性效应^[3]。脊椎动物 LWS/MWS $\lambda_{\max}$ 的变化完全可以用这 5个位点的效应加以阐释 (即五位点准则)。墨西哥脂鲤 (*Astyanax mexicanus*) 通过与旧世界猴及类人猿相同的方式来获得三色视觉^[34]。生物学中常用的模式生物 - 斑马鱼的 LWS 发生了片段复制,具有两个拷贝: LWS-1 和 LWS-2,在染色体上串联排列。LWS-1 和 LWS-2 编码区长度分别为 1074 bp 和 1071 bp,其产物视蛋白的 $\lambda_{\max}$ 分别为 558 nm 和 548 nm^[17]。

高等灵长类的三色视觉被认为是便于从杂色的树叶中辨别黄色和红色的果实^[33]。但是大部分的脊椎动物是红 - 绿色盲,红 - 绿色盲也应该具有某种优势。人们也确实发现红 - 绿色盲的人在识别具有伪装色彩的物体方面比红 - 绿视觉的人具有优势^[35,36],红 - 绿色盲的僧帽猴 (Capuchin monkey)、食蟹猴 (Crab-eating monkey) 及黑猩猩也具有这种优势^[37]。人们还没有发现红 - 绿色盲在其他方面的优势。由于红 - 绿色盲在脊椎动物中是广泛存在的,红 - 绿色盲在其他方面的优势需要进一步研究。

2.5 其他的视蛋白基因

除了以上五类视蛋白外,还有一些视蛋白并不介导视觉光反应,而是介导非视觉光反应,称为 non-visual pigments,包括 pinopsin、VA-opsin (vertebrate ancient opsin)、parapinopsin、exorhodopsin、encephalopsin、neuropsin (Opn5)、melanopsin 和 peropsin^[38]。Melanopsin (Opn4) 最先在非洲爪蟾中发现,其表达并不局限于黑色素细胞,在眼睛的组织中也表达,其表达部位为 RPE (Retinal pigment epithelium) 和虹膜。后来在哺乳动物、鸟类及鱼类中也发现了与 melanopsin 同源的基

因,并且表达的部位也更广泛,如鸡的松果腺体中也表达 melanopsin,在哺乳动物中表达部位为 ipRGCs (Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells) 和视网膜的内核层细胞 (Inner nuclear layer of the retina)。现在 melanopsin 的功能还不是很清楚,我们所了解的是 melanopsin 与非视觉光反应有关,如光行为、褪黑激素 (Melatonin) 的合成、瞳孔的光反应及睡眠^[39]。Melanopsin 为光感受器分子是大家所公认的,最近发现 melanopsin 在光存在的条件下也具有异构酶的功能 (催化视黄醛反式构象和顺式构象的相互转换)^[39,40]。从斑马鱼和鲑鱼 (Salmon) 及胡瓜鱼 (*Plecoglossus altivelis*) 中均发现了 VA 视蛋白 (Vertebrate ancient opsin)^[41-43]。来源于鲑鱼的 VA 视蛋白与视黄醛结合时,复合物的 $\lambda_{\max}$ 在 500 nm 左右,虽然对其功能还不是太了解,但推测应该与感受光线有关。

随着研究的深入,科学家们发现视锥细胞和视杆细胞的功能或许并不是我们以往认为的那么单一 (即介导视觉),而是多功能的。Dkhissi-Benyahya, *et al.* 发现大鼠的 MW (mid-wavelength) 视锥细胞和 melanopsin 共同参与了生理节律的调节^[44]。无脊椎动物和脊椎动物分别运用感杆束细胞 (rhabdomeric cells) 和纤毛状感光细胞 (Ciliary photoreceptor cells) 介导视觉。这两种细胞表达的视蛋白基因、结构及信号通路都是不同的。以前人们认为感杆束细胞只存在于无脊椎动物中,而纤毛状感光细胞则只存在于脊椎动物中^[45]。令人吃惊的是, Arendt, *et al.* 发现一种海洋沙蚕 (*Platynereis dumerilii*) 拥有两种类型的细胞:感杆束细胞存在于眼睛中,纤毛状感光细胞存在于脑中,并且后者具有的视蛋白基因与脊椎动物的视蛋白基因关系更近^[46]。这种沙蚕的脑部还具有视网膜同源盒蛋白质 (Retinal homeobox proteins), 但眼睛里没有这类蛋白质。视网膜同源盒蛋白质对脊椎动物发育出视网膜非常重要,这还是第一次在无脊椎动物里发现它。这项新发现表明,即使是最原始的动物,身上也兼有构成脊椎动物和无脊椎动物视觉系统的成分。可能无脊椎动物脑部的一些感光细胞经过一系列变化,成为了脊椎动物的眼睛。Arendt, *et al.* 提出,在脊椎动物和无脊椎动物的一种被称为原始两侧对称动物 (Urbilateria) 的共同祖先身上,同时存在两种光学系统,其中一种能够感知建立生活节律所必须的光,另一种则可能是原始的眼睛^[46]。

3 研究展望

比较不同物种的视蛋白基因序列,构建进化树,并根据进化树推导祖先节点的氨基酸序列,可鉴定对光谱调节可能具有贡献的氨基酸替换,并对这些氨基酸替换用体外试验法加以验证。运用这种方法,我们在视蛋白光谱调节的分子机制方面取得了长足的进展,如 LWS/MWS 的五位点准则。然而,有些位点之间具有强烈的协同效应,并且部分位点上反向和正向氨基酸替换并不使 $\lambda_{\max}$ 发生相同程度的偏移,因此我们对光谱调节分子机制的认识仍然是零碎的,需深入研究其机制。

生态因素在视蛋白的进化中占有重要地位。对生活在不同光环境或具有特殊行为的脊椎动物的视蛋白基因进行研究可能会揭示一些新的光谱调节机制,发现一些新的光谱调节位点。如生活于不同光环境中丽鱼 (Cichlid) 的 SWS2a、RH2、LWS 和 RH1 均有一部分位点受正向选择的影响,并与所处的光环境密切相关,这些位点上的氨基酸替换今后可用突变实验加以证实^[47]。随着越来越多脊椎动物视蛋白氨基酸序列和光谱敏感峰值及范围的测定,将有助于我们了解视蛋白的光谱调节机制及视蛋白的进化与生态因素的关系。

参考文献:

- [1] Yokoyama S. Molecular evolution of color vision in vertebrates [J]. *Gene*, 2002, **300**: 69—78
- [2] Yokoyama S, Yokoyama R. Adaptive evolution of photoreceptors and visual pigments in vertebrates [J]. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 1996, **27**: 543—567
- [3] Yokoyama S. Molecular evolution of vertebrate visual pigments [J]. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2000, **19**: 385—419
- [4] Nathans J. Molecular biology of visual pigments [J]. *Annu. Rev. Neurosci.*, 1987, **10**: 163—194
- [5] Nathans J, Hogness D S. Isolation, sequence analysis, and intron-exon arrangement of the gene encoding bovine rhodopsin [J]. *Cell*, 1983, **34**: 807—814
- [6] Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, *et al.* Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor [J]. *Science*, 2000, **289**: 739—745
- [7] Yokoyama S, Takenaka N. The molecular basis of adaptive evolution of squirrelfish rhodopsins [J]. *Mol. Biol. Evol.*, 2004, **21**: 2071—2078
- [8] Cronin TW, Marshall NJ, Caldwell RL. Visual pigment diversity in two genera of mantis shrimps implies rapid evolution (Crustacea; Stomatopoda) [J]. *J. Comp. Physiol. A.*, 1996, **179**: 371—384
- [9] Porter M L, Cronin TW, McClellan D A, *et al.* Molecular characterization of crustacean visual pigments and the evolution of pancrustacean opsins [J]. *Mol. Biol. Evol.*, 2007, **24**: 253—268
- [10] Trezise A E, Collin S P. Opsins: evolution in waiting [J]. *Curr. Biol.*, 2005, **15**: 794—796
- [11] Davies W L, Carvalho L S, Cowing J A, *et al.* Visual pigments of the platypus: A novel route to mammalian colour vision [J]. *Curr. Biol.*, 2007, **17**: 161—163
- [12] Yokoyama S, Radlwimmer FB, Blow N S. Ultraviolet pigments in birds evolved from violet pigments by a single amino acid change [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, **97**: 7366—7371
- [13] Bellingham J, Tarttelin E E, Foster R G, *et al.* Structure and evolution of the teleost extraretinal rod-like opsin (*errolo*) and ocular rod opsin (*rho*) genes: is teleost *rho* a retrogene [J]? *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.*, 2003, **297**: 1—10
- [14] Yokoyama S, Tada T. Adaptation of the African and Indonesian coelacanths to deep-sea environments [J]. *Gene*, 2000, **261**:

- 35—42
- [15] Palacios A G, Varela F J, Srivastava R, *et al.* Spectral sensitivity of cones in the goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Vis. Res.*, 1998, **38**: 2135—2146
- [16] Bowmaker J K, Knowles A. The visual pigments and oil droplets of the chicken retina [J]. *Vis. Res.*, 1977, **17**: 755—764
- [17] Chinen A, Hamaoka T, Yamada Y, *et al.* Gene duplication and spectral diversification of cone visual pigments of zebrafish [J]. *Genetics*, 2003, **163**: 663—675
- [18] Parry J W, Carleton K L, Spady T, *et al.* Mix and match color vision: tuning spectral sensitivity by differential opsin gene expression in Lake Malawi cichlids [J]. *Curr. Biol.*, 2005, **15**: 1734—1739
- [19] Neafsey D E, Hartl D L. Convergent loss of an anciently duplicated, functionally divergent RH2 opsin gene in the fugu and *Tetraodon* pufferfish lineages [J]. *Gene*, 2005, **350**: 161—171
- [20] Shi Y, Yokoyama S. Molecular analysis of the evolutionary significance of ultraviolet vision in vertebrates [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, **100**: 8308—8313
- [21] Fleishman L J, Loew E R, Leal M. Ultraviolet vision in lizards [J]. *Nature*, 1993, **365**: 397
- [22] Viitala J, Korpimäki E, Pakkangas P, *et al.* Attraction of kestrels to vole scent marks visible in ultraviolet light [J]. *Nature*, 1995, **373**: 425—427
- [23] Bennett A T D, Cuthill I C, Partridge J C, *et al.* Ultraviolet vision and mate choice in zebra finches [J]. *Nature*, 1996, **380**: 433—435
- [24] Bennett A T D, Cuthill I C, Partridge J C, *et al.* Ultraviolet plumage colors predict mate preferences in starlings [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**: 8618—8621
- [25] Hunt S, Cuthill I C, Swaddle J P, *et al.* Ultraviolet vision and band-colour preferences in female zebra finches, *Taeniopygia guttata* [J]. *Anim. Behav.*, 1997, **54**: 1383—1392
- [26] Yokoyama S, Zhang H, Radlwimmer F B, *et al.* Adaptive evolution of color vision of the Comoran coelacanth (*Latimeria chalumnae*) [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, **96**: 6279—6284
- [27] Fasick J I, Robinson P R. Mechanism of spectral tuning in the dolphin visual pigments [J]. *Biochemistry*, 1998, **37**: 432—438
- [28] Yokoyama S, Stamer W T, Takahashi Y, *et al.* Tertiary structure and spectral tuning of UV and violet pigments in vertebrates [J]. *Gene*, 2006, **365**: 95—103
- [29] Yokoyama S, Tada T. The spectral tuning in the short wavelength-sensitive type 2 pigments [J]. *Gene*, 2003, **306**: 91—98
- [30] Takahashi Y, Ebrey T G. Molecular basis of spectral tuning in the newt short wavelength sensitive visual pigment [J]. *Biochemistry*, 2003, **42**: 6025—6034
- [31] Dulai K S, von Domum M, Mollon J D, *et al.* The evolution of trichromatic color vision by opsin gene duplication in New World and Old World primates [J]. *Genome Res.*, 1999, **9**: 629—638
- [32] Jacobs G H, Neitz M, Deegan J F, *et al.* Trichromatic colour vision in New World monkeys [J]. *Nature*, 1996, **382**: 156—158
- [33] Surridge A K, Osorio D, Mundy N I. Evolution and selection of trichromatic vision in primates [J]. *Trends Ecol. Evol.*, 2003, **18**: 198—205
- [34] Yokoyama R, Yokoyama S. Convergent evolution of the red- and green-like visual pigment genes in fish, *Astyanax fasciatus*, and human [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**: 9315—9318
- [35] Morgan M J, Adam A, Mollon J D. Dichromats detect colour-camouflaged objects that are not detected by trichromats [J]. *Proc. Biol. Sci.*, 1992, **248**: 291—295
- [36] Saitou A, Mikami A, Hosokawa T, *et al.* Advantage of dichromats over trichromats in discrimination of colour-camouflaged stimuli in humans [J]. *Percept. Mot. Skills*, 2006, **102**: 3—12
- [37] Saitou A, Mikami A, Kawamura S, *et al.* Advantage of dichromats over trichromats in discrimination of colour-camouflaged stimuli in nonhuman primates [J]. *Am. J. Primatol.*, 2005, **67**: 425—436
- [38] Santillo S, Orlando P, De Petrocillis L, *et al.* Evolving visual pigments: hints from the opsin-based proteins in a phylogenetically old "eyeless" invertebrate [J]. *Biosystems*, 2006, **86**: 3—17
- [39] Panda S, Nayak S K, Campo B, *et al.* Illumination of the melanopsin signaling pathway [J]. *Science*, 2005, **307**: 600—604
- [40] Melyan Z, Tartelin E E, Bellingham J, *et al.* Addition of human melanopsin renders mammalian cells photoreceptive [J]. *Nature*, 2005, **433**: 741—745
- [41] Minamoto T, Shimizu I. A novel isoform of vertebrate ancient opsin in a smelt fish, *Plecoglossus altivelis* [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, **290**: 280—286
- [42] Philp A R, Garcia-Fernandez J M, Soni B G, *et al.* Vertebrate ancient (VA) opsin and extraretinal photoreception in the Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *J. Exp. Biol.*, 2000, **203**: 1925—1936
- [43] Kojima D, Mano H, Fukada Y. Vertebrate ancient-long opsin: a green-sensitive photoreceptive molecule present in zebrafish deep brain and retinal horizontal cells [J]. *J. Neurosci.*, 2000, **20**: 2845—2851
- [44] Dkhissi-Benyahya O, Grönfier C, De Vanssay W, *et al.* Modeling the role of mid-wavelength cones in circadian responses to light [J]. *Neuron*, 2007, **53**: 677—687
- [45] Plachetzki D C, Serb J M, Oakley T H. New insights into the evolutionary history of photoreceptor cells [J]. *Trends Ecol. Evol.*, 2005, **20**: 465—467
- [46] Arendt D, Tessmar-Raible K, Snyman H, *et al.* Ciliary photoreceptors with a vertebrate-type opsin in an invertebrate brain [J]. *Science*, 2004, **306**: 869—871
- [47] Spady T C, Seehausen O, Loew E R, *et al.* Adaptive molecular evolution in the opsin genes of rapidly speciating cichlid species [J]. *Mol. Biol. Evol.*, 2005, **22**: 12—22