

鸡 Z 染色体上 *DMRT1* 基因的多重跨染色体剪接

赵洋, 余红仕, 卢衡, 姚凯, 程汉华*, 周荣家*

(武汉大学生命科学院发育生物学研究中心, 湖北武汉 430072)

摘要: 性别决定与分化发育是同时涉及生命现象中两种细胞分裂(有丝分裂和减数分裂)形式的惟一的分化发育过程。对该过程中关键基因 *DMRT1* 的转录分析, 发现位于鸡 Z 染色体上的 *DMRT1* 基因分别同时与 4 号染色体上的 *CENP C1* 基因、5 号染色体上 *CD5R* 基因和 2 号染色体上 *37LRP/p40* 基因发生跨染色体剪接, 由此构成了新的跨染色体剪接本 *DMRT1-CENP C1*、*DMRT1-CD5R* 和 *DMRT1-37LRP/p40*。对其剪接位点的分析, 发现两段染色体序列存在的重叠区可能在这种剪接中起着重要作用。*DMRT1* 基因在转录过程中同时与多个染色体上基因发生多次跨染色体剪接的发现, 无疑有助于对在转录水平上的多样性基因调控以及性别决定与分化发育等的认识开辟另一新途径。

关键词: 性别决定; Z 染色体; 转录; 鸡

中图分类号: S831.2; Q343 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254–5853(2006)02–0175–06

Interchromosomal *Trans*-Splicing of *DMRT1* Gene on Chicken Chromosome Z

ZHAO Yang, YU Hong-shi, LU Heng, YAO Kai, CHENG Han-hua*, ZHOU Rong-jia*

(Department of Genetics and Center for Developmental Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: Sex determination/differentiation is the only developmental process involving two types of cell divisions (mitosis and meiosis). Analysis of transcription of key gene *DMRT1* in the process showed that *DMRT1* gene on the chromosome Z was trans-spliced with *CENP C1* on the chromosome 4, *CD5R* on the chromosome 5 and *37LRP/p40* on the chromosome 2, which composed a rare form of transcripts *DMRT1-CENP C1*, *DMRT1-CD5R* and *DMRT1-37LRP/p40* respectively. Overlapping regions between splicing sites on both chromosomes were observed, which would play an important role in the interchromosomal trans-splicing. The findings that multiple genes on different chromosomes are trans-spliced simultaneously with the *DMRT1* during transcription undoubtedly help in understanding diversity of gene regulations at transcriptional level and sex determination and differentiation mechanisms.

Key words: Sex determination; Chromosome Z; Transcription; Chicken

人类基因组计划结果显示, 人类的基因约为 25 000 多个, 比原先预计的 10 万个基因相差甚远。人类等高度物种基因组的复杂性与基因数量的关系提示, 存在其他机制来增加基因组的复杂性, 以适应多变的环境和高度的智力等生理需求。目前的研究显示, 选择性剪接是增加基因组编码能力的重要机制。选择性剪接是通过对 mRNA 前体分子中不同 5' 和 3' 剪接位点的拼接, 使一个基因能编码多个蛋

白, 这些蛋白可以具有多样性的生物学功能, 有些相互之间甚至具有相反的拮抗作用。人类基因组中 59% 的基因具有选择性剪接, 一个基因产生多个 mRNAs, 其中约 80% 的选择性剪接导致编码的蛋白质改变 (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001; Modrek & Lee, 2002)。通过选择性剪接方式大大增加了基因组的编码能力和蛋白质的多样性。选择性剪接大致可以划分为三类:

* 收稿日期: 2005–12–07; 接受日期: 2006–01–04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370771); 国家重点基础研究发展规划项目 (2004CB117401); 教育部新世纪人才计划资助

* 通讯作者 (Corresponding authors), E-mail: rjzhou@whu.edu.cn; hhcheng@whu.edu.cn

(1) 选择性启动子, 多个第一个外显子的选择, 将使 mRNAs 的 5' 端具有多样性; (2) mRNAs 前体分子内部外显子的选择性剪接, 包括内含子引入, 外显子的切除; (3) mRNAs 前体分子 3' 末端外显子的选择性剪接, 将利用不同的 3' 末端的加尾信号, 产生不同的 3' UTR mRNA 分子或者具有不同 C 末端的蛋白质分子。

我们最近发现, 参与性别分化发育的基因 *DM-RTI* 在性腺中存在选择性剪接。在人类、小鼠、黄鳍、斑马鱼等物种中均存在类似于果蝇性别决定基因 *doublesex* (*dsx*) 的选择性剪接模式, 即选择性剪接都发生在基因 3' 端 (Guo et al, 2005; Huang et al, 2005)。 *Dsx* 基因选择性剪接在果蝇的性别决定中起着重要作用。果蝇 *dsx* 和线虫的性别决定基因 *mab-3* 所编码的蛋白质都包含一个新的具有 DNA 结合能力的保守基序, 即 DM 结构域, 并由此通过相似的机制控制性别的分化发育。最近的研究显示, 在哺乳动物、鸟类、爬行类、线虫以及果蝇中都发现了包含有 DM 结构域的基因 (Shen & Hodgkin, 1988; Raymond et al, 1998; Raymond et al, 1999; Smith et al, 1999), 该基因形成了一个新的控制发育的基因家族。这类基因具有高度的进化保守性, 被统称为 *DMRT* 基因 (*doublesex* 和 *mab3* 相关的转录因子)。目前, 已经发现 *DMRT* 基因家族至少具有 7 个成员基因。 *Dmrt1* 是第一个在小鼠及人类中克隆得到的包含 DM 结构域的基因, 并证实参与了性别的分化发育 (Raymond et al, 1998)。

反式剪接 (*trans-splicing*) 是一种稀有的剪接形式, 它是将相互两条独立基因表达的 mRNA 连接成为一个新的转录本, 最近在线虫、果蝇、大鼠等物种中都存在这种剪接方式, 其中多为来自于同一染色体 mRNA 之间的剪接 (Sullivan et al, 1991; Blumenthal, 1995), 仅有几例是涉及两个不同染色体上 mRNA 的剪接 (Sullivan et al, 1991; Vellard et al, 1991; Li et al, 1999; Yang et al, 2004)。这种涉及两个不同染色体上 mRNA 的剪接, 即跨染色体剪接 (*interchromosomal trans-splicing*) 是一类特殊的反式剪接, 其分子机制及生物功能仍不清楚。

本研究首次发现鸡 *DMRTI* 的跨染色体剪接, 并且与多个染色体上基因发生多次剪接, 我们称其为多重跨染色体剪接 (*multiple interchromosomal trans-splicing*)。这些新发现无疑有助于对在转录水

平上的多样性基因调控以及性别决定与分化发育等的认识。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验所用来杭鸡购于华中农业大学鸡场, 为成年雄性个体。

1.2 RNA 提取及 cDNA 合成

取雄性个体性腺, 液氮研磨, 依说明书提取总 RNA (Qiagen Total RNA Kit), Rnase-free Dnase (Promega) 消化和纯化后, 用 1 μ g 为模板合成 SMART cDNA (Clontech SMART cDNA Synthesis Kit)。

1.3 3'RACE 扩增

以 SMART cDNA 为模板, 引物为: CDS III: 5' ATTCTAGAGGCCGAGCGGCCGACATG (T)³⁰NN 3' (SMART cDNAs 公有引物), gDMF1: 5' GCAAC-CACGGCTACTCCTCGC 3' (*DMRTI* 特异引物, 位于 DM 结构域, 紧靠其 5' 端)。反应混合物总体积 20 μ L, 包括 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3) \times 1.5 mmol/L MgCl₂、50 mmol/L KCl、200 μ mol/L dNTP、每种引物 0.2 μ mol/L、1 U *Tag* DNA 聚合酶。PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 变性 3 min; 然后 94 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 复性从 68 $^{\circ}$ C 到 60 $^{\circ}$ C 30 s, 每个循环降 0.5 $^{\circ}$ C, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 8 个循环; 之后, 94 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 61 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。

1.4 阳性克隆鉴定

3dphRACE PCR 产物纯化后 (E.Z.N.A Cycle-Pure Kit) 与 pGEM-T Easy 载体 (Promega) 连接, 电转至 TG1 中, 挑单克隆, 菌落 PCR 鉴定。PCR 扩增引物: CDS III: ATTCTAGAG GCCGAGCGGCCGACATG (T)³⁰NN 3', gDMF2: 5' GCTGAAGCT-GAAGGGGCACAAGCGGTT 3'。反应体系同 3'RACE PCR。PCR 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 变性 3 min; 然后 94 $^{\circ}$ C 变性 25 s, 65 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min,

Southern 杂交: 探针为黄鳍的 *Dmrt1* 全长 cDNA (1.48 kb, GenBank 登录号为 AF421347), 以插入黄鳍 *Dmrt1* 全长 cDNA 的质粒为模板, PCR 扩增, 切胶回收扩增片段 (E.Z.N.Gel Extraction Kit)。扩增探针引物: 5f2: 5' GTTTGGCAGTTG-GCAGCA TAGT 3', 1500 r: 5' AGTTTGATTCTGAA-

GAGTGTCCCC 3'。将克隆 PCR 产物电泳转膜，紫外胶联仪胶联 2 min (12 000 J/cm²)。55 °C 预杂交 2 h， α -³²P 标记的探针加入杂交管中于 55 °C 杂交 16 h。依次用 2 × SSC、0.5% SDS；2 × SSC、0.1% SDS 洗膜，最后用 0.1 × SSC、0.1% SDS 于 55 °C 洗膜。X 射线曝光及显影。

1.5 序列测序与分析

DNA 序列委托上海博亚公司测序，cDNA 序列在 NCBI 进行 Blast 分析，查询与其相似的核苷酸序列，并在 UCSC ([http: www.genome.ucsc.edu](http://www.genome.ucsc.edu)) 上利用 Blat 与鸡基因组序列进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 鸡 *DMRT1* 3'RACE 分析

3'RACE 分析获得 920、860 和 810 bp 的 DNA 片段，经 *DMRT1* 探针 Southern 杂交为阳性 (图 1)。经 DNA 序列测序和分析，与已报道的鸡 *DMRT1* 基因 mRNA (AF123456) 进行比对分析，发现这 3 个克隆都包含 *DMRT1* 的保守区域 DM 区，但 3'端序列在 *DMRT1* 基因中并不存在。对鸡基因组进行 Blast 分析，发现存在选择性剪接。*DMRT1* 基因含有 5 个外显子，与之比较，3 个剪接本都有外显子 1 和 2，但是缺少外显子 4 和 5。在 3 个剪接本中第一个剪接本含有完整的外显子 3；第二个剪接本含有外显子 3 前面的 34 个碱基；第三个剪接本完全不含外显子 3。

2.2 鸡 *DMRT1* 存在跨染色体剪接

与鸡基因组序列进行比对分析，发现这三个剪接本存在跨染色体剪接 (图 2)。在 *DMRT1* 序列之

后的序列分别是另外 3 个染色体上基因的跨染色体剪接，它们分别是 *DMRT1* 与 4 号染色体上的 *CENP C1* 基因 (GenBank 登录号 nm205051)、5 号染色体上 *CD5R* 基因 (预测基因，与 *CD5* 基因相关，GenBank 登录号 hmm8859) 和 2 号染色体上 *37LRP/p40* (GenBank 登录号 xm418817) 基因，由此构成了新的跨染色体剪接本，分别命名为 *DMRT1-CENP C1*、*DMRT1-CD5R*、*DMRT1-37LRP/p40* (GenBank 登录号分别为 AY448020、AY448021、AY448022)。

DMRT-CENP C1 含有 4 个外显子，最后一个外显子是 4 号染色体上着丝粒蛋白 *CENP C1* 基因的外显子 19，也是 *CENP C1* 基因的 3'UTR。*DMRT1-CD5R* 基因含有 7 个外显子，外显子 4、5、6、7 来自 5 号染色体上 *CD5R* 基因。*DMRT1-37LRP/p40* 基因含有 6 个外显子，后 4 个外显子位于 2 号染色体上，与 *37LRP/p40* 基因 (核纤受体前体蛋白/*p40* 核糖体关联蛋白基因) 相互剪接。

对 3 个剪接本翻译的氨基酸序列进行分析，发现其开放阅读框与 *DMRT1* 基因的开放阅读框一致。*DMRT1-CENP C1* 基因编码 232 个氨基酸，含有 *DMRT1* 基因的 DM 区，来自于 *CENP C1* 基因的 225 个碱基仅提供 19 个氨基酸的编码序列，其余为 3'UTR。*DMRT1-CD5R* 基因编码 239 个氨基酸，含 DM 区，来自于 *CD5R* 基因的序列为 *CD5* 相关的一个转录本，该转录本由于其选择性剪接与 CDR 其他转录本部分区段存在差异，导致 3'端读码框出现变化，而与 *DMRT1* 拼接后读码框一致。*DMRT1-37LRP/p40* 基因编码 259 个氨基酸，含 *DMRT1*

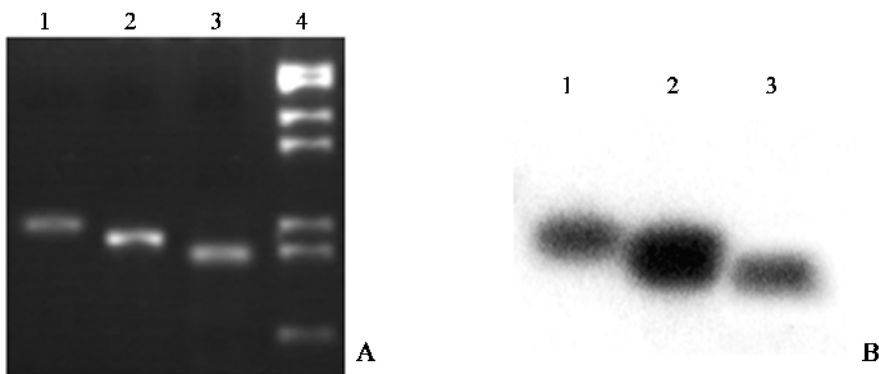


图 1 鸡 *DMRT1* 3'RACE 分析

Fig. 1 3'RACE analysis of chicken *DMRT1*

A: 克隆 PCR 产物; B: PCR 产物的 Southern 杂交结果 (A: Clone PCR products; B: Southern blot hybridization of PCR products)
1: *DMRT1-CENP C1*; 2: *DMRT1-CD5R*; 3: *DMRT1-37LRP/p40*; 4: Lambda DNA/*Hind* III + *Eco*R I marker.

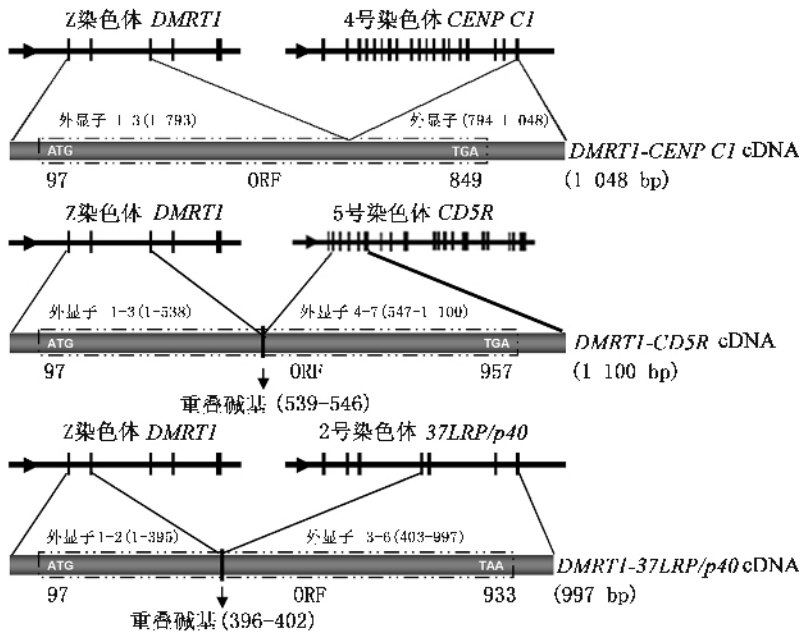


图 2 *DMRT-CENP C1*、*DMRT1-CD5R*、*DMRT1-37LRP/p40* 的跨染色体分析

Fig. 2 Interchromosomal trans-splicing analysis of *DMRT-CENP C1*, *DMRT1-CD5R*, *DMRT1-37LRP/p40*

因目前鸡 *DMRT1* mRNA 的 5' 序列未到起始密码子 ATG, 依据人 (CAB82427.1)、小鼠 (AAF12826.1)、大鼠 (AAK57706.1)、猪 (AAL25080) 的 *DMRT1* 蛋白质序列, 并假定鸡 *DMRT1* 5' 端不存在选择性剪接, 预测了鸡 *DMRT1* mRNA 5' 序列, 将序列补至 ATG。

Because of unknown 5' sequence to start code ATG of *DMRT1* mRNA, we deduced the 5' sequence of chicken *DMRT1* according to amino acid sequences of mouse (AAF12826.1), rat (AAK57706.1), pig (AAL25080), and supposed that no alternative splicing at 5' region of chicken *DMRT1*.

DM 区, 其余氨基酸序列与 *37LRP/p40* 基因一致, 包括 *37LRP/p40* 基因的回文序列 LMWWML, 该回文序列是核纤蛋白受体 I 的结合位点 (Clausse et al, 1996)。 *DMRT1-CENP C1*、*DMRT1-CD5R* 以 TGA 为终止密码子, *DMRT1-37LRP/p40* 则采用 TAA (表 1); *DMRT1-CENP C1* 和 *DMRT1-37LRP/p40* 含有 AATAAA 加尾信号, *DMRT1-CD5* 没有此序列, 可能存在其他序列起加尾信号的作用 (图 3)。 *DMRT1-CD5R* 中两段染色体序列相剪接的附近序列存在 8 个碱基重叠, 即 CCATCCCC, *DMRT1-37LRP/p40* 中存在 7 个碱基重叠, 即 TGAGC-CA。

2.3 鸡 *DMRT1* 跨染色体剪接位点分析

对这些剪接本的跨染色体剪接位点进行分析, 发现 *DMRT1-CENP C1* 和 *DMRT1-37LRP/p40* 均符合 GU-AG 规律, *DMRT1-CD5R* 是 AT-CC, 也不符合少见的 GC-AG, AT-AC, 可能是稀有的跨染色体剪接方式 (表 1)。对跨染色体剪接位点附近的 34 bp 序列进行分析, 发现它们的序列不具有保守性。用 RNAstructure (Mathews et al, 1999) 预测二级结

构, *DMRT-CENP C1* 形成单股茎环结构, *DMRT1-CD5R* 和 *DMRT1-37LRP/p40* 形成双股茎环结构。

3 讨论

DMRT1/dsx/mab-3 是唯一参与脊椎动物和非脊椎动物性别决定与分化发育的共有基因, 它们均具有共同的 DM 结构域。目前已在哺乳类、鸟类、爬行类两栖类和鱼类等进化地位不同的物种中都发现了该类基因。已知果蝇 *dsx* 基因的 3' 端选择性剪接参与其性别分化, 最近我们在小鼠、黄鳝、斑马鱼 *DMRT1* 中发现的选择性剪接方式与果蝇 *dsx* 基因类似 (Guo et al, 2005; Huang et al, 2005), 表明这种剪接在进化上是保守的, 可能在性别决定和分化机制中具有重要的作用 (Burtis & Baker, 1989)。性腺的形成与分化是同时涉及生命现象中两种细胞分裂形式的唯一发育过程, 即有丝分裂和减数分裂, 相对其他生命过程, 其分化发育中的基因表达调控具有独特的复杂性。

本研究发现鸡 *DMRT1* 存在跨染色体剪接, 并且分别与另外 3 个染色体的 3 个不同基因之间发生

表 1 鸡 *DMRT1* 及其跨染色体剪接位点分析Tab. 1 Splicing sites analysis of chicken *DMRT1* and interchromosomal *trans*-spliced isoforms

转录本 Transcript	外显子 Exon	剪接位点 Splice site		
		5'剪接位点 5' splice donor	内含子大 Intron size (kb)	3'剪接位点 3' splice acceptor
<i>DMRT1</i>	1	CCGTGCAG <u>gtgagacg</u>	1.87	gtccccag GTTGCCT
	2	ACCACCAG <u>gtcagtgc</u>	19.26	ttttccag AGGGACGG
	3	AGTGGCAG <u>gtatgatg</u>	9.90	ctctacag ATGAAGGG
	4	AGCGAGAG <u>gtaggtgc</u>	23.33	tccegcag TGTTTTCC
	5	TGAGGGCGAGT <u>AGGCCG</u>		
<i>DMRT1-CENP C1</i>	1	CCGTGCAG <u>gtgagacg</u>	1.87	gtccccag GTTGCCT
	2	ACCACCAG <u>gtcagtgc</u>	19.26	ttttccag AGGGACGG
	3	AGTGGCAG <u>gtatgatg</u>	—	tttttag ACCACTTG
	4	ACCTTCAGATTGAAGAT		
<i>DMRT1-CD5R</i>	1	CCGTGCAG <u>gtgagacg</u>	1.87	gtccccag GTTGCCT
	2	ACCACCAG <u>gtcagtgc</u>	19.26	ttttccag AGGGACGG
	3	TCCCTTCC ? <u>atccccag</u>	—	tgccggcc ? ATCCCCCG
	4	AGGAAGAG <u>gtgggat</u>	0.31	ccaccag GTTCTCAC
	5	AGAGAGAG <u>gtaacggg</u>	0.44	tcceacag GAGaAGAA
	6	TGTTCAAG <u>tggtgagt</u>	0.37	gcceccca GATCCGCA
	7	CGCAACCCAAT <u>G</u> AAGCT		
<i>DMRT1-37LRP/p40</i>	1	CCGTGCAG <u>gtgagacg</u>	1.87	gtccccag GTTGCCT
	2	CTGAGCCA <u>gtgtcaa</u>	—	tccgtgag CCAGGACT
	3	ACAACAAG <u>gttactgc</u>	0.88	tgttgag GGAGCACA
	4	CTGAGGAG <u>gtaaagac</u>	0.21	cattgcag ATTGAGAA
	5	CCCCACAG <u>gtcagttt</u>	0.42	aattgcag AGGACTGG
	6	GGAGTGCTCTT <u>A</u> ACTTC		

DMRT1 第 1 外显子 5' 端序列是预测的；终止密码子用下划线标出。

5' sequence of exon 1 of *DMRT1* was predicted, stop codes are underlined.

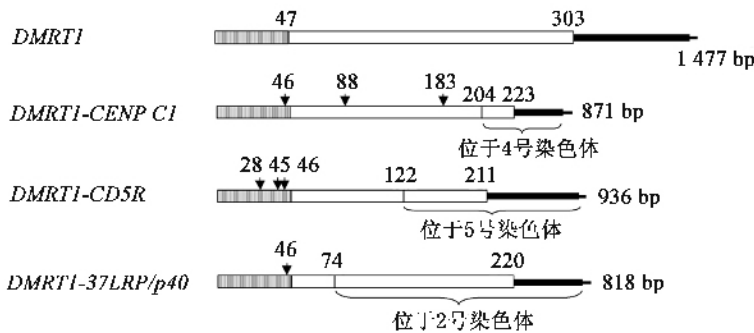


图 3 *DMRT1-CENP C1*、*DMRT1-CD5R*、*DMRT1-37LRP/p40* 基因编码氨基酸序列分析

Fig. 3 Amino acid sequences of *DMRT1-CENP C1*, *DMRT1-CD5R*, *DMRT1-37LRP/p40*

图中的数字表示从 DM 区开始的氨基酸数，阴影矩形为 *DMRT1* 基因的 DM 区，白色矩形为其他编码区，黑色实线为非翻译区；后下方数字为碱基数，箭头指示与 *DMRT1* 不同的氨基酸。

Numbers in Figure indicate number of amino acid from DM domain, shadow rectangles show DM domain of *DMRT1*, white rectangles show other coding sequences, and black lines show untranslated regions. The numbers in the end under the lines indicate nucleotide numbers of these cDNAs. The numbers with arrowheads indicate the different amino acid compared to *DMRT1*.

剪接。这种以一个基因的多重跨染色体剪接是很稀有的 RNA 剪接形式，这不仅可以增加基因的编码

能力，而且可能是转录水平上一种新的基因表达调控形式。从推导的氨基酸序列分析，*DMRT1-CENP*

CI 基因保留了 *DMRT1* 基因较多的区段, 具有 DM 结构域, 几乎所有的编码序列都来自于 *DMRT1* 基因, 可能具有 *DMRT1* 基因的部分功能, 而 *CENP CI* 的 3'UTR 也许对其翻译有调控作用。同样的情况, 在人 *ACAT-1* 的剪接中也存在, 但其活性约为正常蛋白的 30% (Li et al, 1999; Yang et al, 2004)。 *DMRT1-CD5R* 基因含有 *DMRT1* 基因的 DM 结构域, 该蛋白可能具有 DNA 结合能力。 *DMRT1-37LRP/p40* 由 *DMRT1* 和 *37LRP/p40* 近各半的区段剪接组成, 难以推测在功能上更偏向哪方。但是, 它们的共同点是均具有 *DMRT1* 基因的 DM 结构域, 可能在转录水平上参与基因表达调控。上述推测是基于这些 mRNA 能翻译形成有功能的蛋白质, 但实际上它们可能只在转录水平以 RNA 形式参与基因表达调控。目前还不清楚位于 2 条或者 2 条以上染色体基因转录后, 其前体 RNA 上的剪接位点是如何被识别和被拉近的。而且几乎与剪接位点序列及其二级结构无关, 因为它们都不具有保守性。有一种可能是这些 mRNA 在核中几乎同时被转录, 通过特殊的碱基配对, 本研究中发现 *DMRT1-CD5R* 和

参考文献:

- Blumenthal T. 1995. Trans-splicing and polycistronic transcription in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Trends Genet*, **11** (4):132-136.
- Burtis KC, Baker BS. 1989. Drosophila doublesex gene controls somatic sexual differentiation by producing alternatively spliced mRNAs encoding related sex-specific polypeptides [J]. *Cell*, **56** (6):997-1010.
- Clausse N, Jackers P, Jares P, Joris B, Sobel ME, Castronovo V. 1996. Identification of the active gene coding for the metastasis-associated *37LRP/p40* multifunctional protein [J]. *DNA Cell Biol*, **15** (12):1009-1023.
- Guo YQ, Cheng HH, Huang X, Gao S, Yu HS, Zhou RJ. 2005. Gene structure, multiple alternative splicing, and expression in gonads of zebrafish *Dmrt1* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, **330** (3):950-957.
- Huang X, Guo YQ, Shui Y, Gao S, Yu HS, Cheng HH, Zhou RJ. 2005. Multiple alternative splicing and differential expression of *DMRT1* during gonad transformation of the rice field eel [J]. *Biol Reprod*, **73**:1017-1024.
- International Human Genome Sequencing Consortium. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome [J]. *Nature*, **409** (6822):860-921.
- Labrador M, Mongelard F, Plata-Rengifo P, Baxter EM, Corces VG, Gerasimova TI. 2001. Protein encoding by both DNA strands [J]. *Nature*, **409** (6823):1000.
- Li BL, Li XL, Duan ZJ, Lee O, Lin S, Ma ZM, Chang CC, Yang XY, Park JP, Mohandas TK, Nol W, Chan L, Chang TY. 1999. Human acyl-CoA:Cholesterol acyltransferase-1 (*ACAT-1*) gene organization and evidence that the 4.3-kilobase *ACAT-1* mRNA is produced from two different chromosomes [J]. *J Biol Chem*, **274** (16):11060-11071.
- Maniatis T, Tasic B. 2002. Alternative pre-mRNA splicing and proteome expansion in metazoans [J]. *Nature*, **418** (6894):236-243.
- Mathews DH, Sabina J, Zuker M, Turner DH. 1999. Expanded sequence dependence of thermodynamic parameters improves prediction of RNA secondary structure [J]. *J Mol Biol*, **288** (5):911-940.
- Modrek B, Lee C. 2002. A genomic view of alternative splicing [J]. *Nat Genet*, **30** (1):13-19.
- Raymond CS, Kettlewell JR, Hirsch B, Bardwell VJ, Zarkower D. 1999. Expression of *DMRT1* in the genital ridge of mouse and chicken embryos suggests a role in vertebrate sexual development [J]. *Dev Biol*, **215** (2):208-220.
- Raymond CS, Shamu CE, Shen MM, Seifert KJ, Hirsch B, Hodgkin J, Zarkower D. 1998. Evidence for evolutionary conservation of sex-determining genes [J]. *Nature*, **391** (6668):691-695.
- Shen MM, Hodgkin J. 1988. *mab-3*, a gene required for sex-specific yolk protein expression and a male-specific lineage in *C. elegans* [J]. *Cell*, **54** (7):1019-1031.
- Smith CA, McClive PJ, Western PS, Reed KJ, Sinclair AH. 1999. Conservation of a sex-determining gene [J]. *Nature*, **402** (6762):601-602.
- Sullivan PM, Petrusz P, Szpirer C, Joseph DR. 1991. Alternative processing of androgen-binding protein RNA transcripts in fetal rat liver. Identification of a transcript formed by trans splicing [J]. *J Biol Chem*, **266** (1):143-154.
- Vellard M, Soret J, Viegas-Pequignot E, Galibert F, Nguyen VC, Dutrillaux B, Perbal B. 1991. C-myc proto-oncogene: Evidence for intermolecular recombination of coding sequences [J]. *Oncogene*, **6** (4):505-514.
- Yang L, Lee O, Chen J, Chen J, Chang CY, Zhou P, Wang ZZ, Ma HH, Sha HF, Feng JX, Wang Y, Yang XY, Wang L, Dong RH, Omvold K, Li BL, Chang TY. 2004. Human acyl-coenzyme A:Cholesterol acyltransferase 1 (*acat1*) sequences located in two different chromosomes (7 and 1) are required to produce a novel *ACAT1* isoenzyme with additional sequence at the N terminus [J]. *J Biol Chem*, **279** (44):46253-46262.

DMRT1-37LRP/p40 两段染色体序列存在重叠区或许在这种剪接中起着重要作用, 其中可能还有其他特异蛋白的参与来完成这一过程 (Labrador et al, 2001; Maniatis & Tasic, 2002)。

跨染色体剪接现象报道很少, 例如, 人类 *ACAT* 基因的剪接涉及 1 号和 7 号染色体 (Li et al, 1999; Yang et al, 2004), 大鼠 *ABP* 基因的转录物涉及 3 号和 10 号染色体 (Sullivan et al, 1991)。选择性剪接大大增加了蛋白多样性和基因的编码能力, 本研究发现的鸡 Z 染色体上 *DMRT1* 的多重跨染色体剪接现象进一步丰富了对基因的编码能力, 并且对性别分化发育机制的认识具有性的提示。鸟类是异配性别, 通过 ZZ/ZW 性染色体系统来决定个体性别的分化发育, 具有 ZZ 染色体组成的个体发育为雄性, 而 ZW 染色体组成发育为雌性。然而, *DMRT1* 基因在鸡等鸟类的性别决定中的确切生物学功能和作用机制至今仍未研究清楚。对该基因的跨染色体剪接的发现无疑有助于认识这种新的基因调控模式, 然而其发生机制及生物学功能还有待进一步研究。