地山雀线粒体基因组全序列的测定和分析

杨超¹, 雷富民², 黄原^{1,*}

(1. 陕西师范大学 生命科学学院,陕西 西安 710062; 2. 中国科学院动物研究所 动物进化与系统学重点实验室,北京 100101)

摘要:基于长距 PCR 扩增及保守引物步移法测定并注释了地山雀(*Pseudopodoces humilis*)的线粒体基因组全 序列。结果表明,地山雀线粒体基因组全长 1.6 809 万 bp, A+T 含量为 52.9%, 37 个基因排列顺序与红原鸡一致。蛋白质基因的起始密码子中,除 COI 基因为 GTG 外,其余均为 ATG。ND1 和ND5 基因终止密码子为 AGA; COII 基因为 AGG; COIII 和ND4 基因为不完全终止密码子 T;其余基因均为典型的 TAA 或 TAG。预测了 22 个 tRNA 基因的二级结构,发现 tRNA^{Ser} (AGN)缺少 DHU 臂, tRNA^{Phe} 的 TψC 臂存在一单核苷酸插入。预测的地山 雀 125 和 165 rRNA 二级结构分别包括 3 个结构域 47 个茎环和 6 个结构域 60 个茎环。 控制区位于 tRNA^{Glu}和 tRNA^{Phe}之间,长度 1240 bp。控制区结构为高变 I 区、中央保守 II 区和保守序列 III 区 3 个结构域。

关键词:地山雀;雀形目;山雀科;地山雀属;线粒体全基因组; RNA 二级结构;中央保守区 中图分类号:Q344.13;Q786;Q959.739 文献标志码:A 文章编号:0254-5853-(2010)04-0333-12

Sequencing and Analysis of the Complete Mitochondrial Genome of *Pseudopodoces humilis* (Aves, Paridae)

YANG Chao¹, LEI Fu-Min², HUANG Yuan^{1,*}

(1. School of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

2. Key Laboratory of Zoological Evolution and Systematics, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: The complete sequence of *Pseudopodoces humilis* mitochondrial genome was determined by using long PCR and conserved primers walking approaches. The results showed that the entire mitochondrial genome of *Pseudopodoces humilis* was 16809 bp in length with 52.9% A+T content, and the 37 genes had the same gene order with that of *Gallus gallus*. All protein coding genes of the *Pseudopodoces humilis* mitochondrial genome started with ATG codon, except for *COI* with GTG. For terminate codon usage, most of genes terminate with codons TAA or TAG, *ND1* and *ND5* were AGA, *COII* was AGG, and the *COIII* and *ND4* genes had an incomplete termination codon (T). The secondary structures of 22 tRNA were predicted, all tRNA can form typical secondary structure, except tRNA^{Ser} (AGN) with an absence of DHU arm, and tRNA^{Phe} with an extra nucleotide inserted in the T ψ C arm. The predicted secondary structures of 12*S* rRNA and 16*S* rRNA exhibit 47 helics in 3 structural domains and 60 helics in 6 domains, respectively. The control region of *Pseudopodoces humilis* located between tRNA^{Glu} and tRNA^{Phe} with 1240 bp in length, and has structure domains found in that of the other birds.

Key words: *Pseudopodoces humilis*; Passeriformes; Paridae; *Pseudopodoces*; Complete mitochondrial genome; RNA secondary structure; Central conserved dormain

鸟类线粒体基因组(mitochondrial genome, mtDNA)为闭合环状分子,长度为16.3~23.5 kb(Li et al, 2002),与其他脊椎动物线粒体 DNA (mtDNA) 一样,鸟类 mtDNA 也是一种双链 DNA 分子,含有13 个左右的蛋白编码基因、2 个核糖体 RNA 和22 个左右的 tRNA 基因(Boore, 1999)。基因排列高

度简洁,无内含子和转座子,除 1~2 kb 的非编码 区外,整个基因组都有编码功能(Quinn, 1997)。在 鸟类线粒体基因组所编码的 37 个基因中,ND6 和 8 个 tRNA 基因(*Glu、Gln、Ala、Asn、Cys、Tyr、 Pro*和 *Ser-UCN*)由轻链编码,其余皆为重链编码。 由于具有分子结构简单、母性方式遗传、碱基突变

收稿日期: 2010-01-11; 接受日期: 2010-04-07

基金项目:国家杰出青年科学基金和自然基金资助项目(30925008;30870270);中国科学院动物进化与系统学重点实验室开放课题 资助项目(O529YX5105)

^{*}通讯作者(Corresponding author), E-mail: yuanh@snnu.edu.cn

率高和进化速度快等特点,线粒体基因组已成为从 分子水平研究起源、进化及亲缘关系的重要遗传标 记(Stoneking & Soodyall, 1996; Ramirez et al, 1993; Avise et al, 1990)。截至 2009 年 12 月,GenBank 公 布的已测出全线粒体基因组的雀形目鸟类仅为 9 种。随着测序技术的飞速发展及基因组研究的不断 深入,近些年来,线粒体 ND2、12/16S rRNA、Cyt b、COI 和 D-loop 区等材料相继被用于雀形目鸟类 的系统学研究 (Dimcheff et al, 2002; Spicer & Dunipace, 2004; Ma et al, 2005; Liang et al, 2007; Singh et al, 2008),然而,这些研究仅仅是基于某个 基因或部分序列,大规模、系统性的采用线粒体全 基因组进行研究则并不多见。此外,有关该类群的 起源以及各科演化关系,也一直是鸟类学界研究的 热点(Ericson et al, 2000)。

由于雀形目鸟类具有极大的多样性,测序的物种较少,加之趋同进化的干扰和建树时的长枝吸引等问题,导致在推断该类群分类和进化关系上存在困难。因而,补充该类群线粒体全序列有利于正确地解决其存在的系统发育问题。此外,目前在鸟类中还没有完整的线粒体 16S 和 12S rRNA 的二级结构报道,而二级结构的信息是指导 rRNA 基因序列比对、数据划分和加权分析的前提。

分布于青藏高原的地山雀 (Pseudopodoces humilis)为地栖性鸟类,隶属于雀形目(Passeriformes) 山雀科 (Paridae)地山雀属(Pseudopodoces),为我国 特有种。关于地山雀分类地位问题一度引起颇多争 议,曾被作为地鸦属(Podoces)的亚属(Zarudny & Loudon, 1902) 或被独立列为拟地鸦属 (Pseudopodoces) (Riley, 1930; Vaurie, 1959)。近些 年,有学者结合骨骼比较特征与线粒体 DNA 以及 核 DNA 的综合研究,建议将该物种定为"地山 雀"(James et al, 2003),从鸦科(Corvidae)移到山雀 科,得到了国际上广泛的承认。本文测定了地山雀 的线粒体全基因组,在对序列进行拼接、注释的基 础上,对线粒体各基因的起始位置、组成含量、结 构特征等进行了详细的阐述, 预测和分析了 22 种 tRNA 和两种 rRNA 的二级结构。地山雀全线粒体 基因组的测定和完整的 16S 和 12S rRNA 的二级结 构预测,将为雀形目鸟类线粒体谱系基因组学的研 究提供新的数据资料。

1 材料与方法

1.1 材料

地山雀(*Pseudopodoces humilis*)标本于 2003 年 8月6日采集于青海省青海湖鸟岛,浸泡于无水乙 醇中,并保存于-20℃的冰柜;而凭证标本(4783) 现保存于中国科学院动物研究所动物进化与系统 学重点实验室鸟类标本馆。

1.2 方 法

1.2.1 总 DNA 提取 采用传统的酚-氯仿提取法, 将地山雀肌肉置于 600 µL 匀浆缓冲液(0.01 mol/L Tris, pH 7.8; 5 mmol/L EDTA, 5% SDS, 50 ng proteinase K/µL)中研磨, 65℃水浴消化 3~5 h。用 平衡酚(pH 7.6~7.8)提纯两次,再用 CI(氯仿:异戊 醇=24:1)提纯一次。最后用-20℃预冷的 100%乙 醇沉淀和 70%乙醇洗涤总 DNA(Dang et al, 2008)。 1.2.2 引物设计和 PCR 扩增 根据已公布的红原 鸡(*Gallus gallus*)mtDNA 序列(NC_001323),参考相 关文献(Sorenson et al, 1999; Sorenson, 2003)提供的 引物位置和比对保守区确定引物对,并对每条引物 进行评价和修改。最后确定 29 对 Sub-PCR 引物和 6 对候补引物,并从中选取 5 对作为长 PCR 引物和 它们在整个基因组中的分布、扩增片段大小等详见 表 1,表 2。

以所提取的总 DNA 为模板,用 5 对长 PCR 引 物扩增覆盖整个线粒体基因组并相互重叠的片段 D1~D5。长 PCR 反应程序为:93℃预变性 2 min; (92℃ 10 s,58~53℃ 30 s,68℃ 10 min)×20; (92 ℃ 10 s,53℃ 30 s,68℃ 10 min,且每一循环增 加 20 s)×20;68℃ 7 min;4℃保温。反应体系为 15 µL:10×LA PCR Buffer1.5 µL,25 mmol/L MgCl₂ 1.5 µL,2.5 mmol/L dNTP 2.4 µL,10 µmol/L 引物各 2.1 µL,5 U/µL LA *Taq* DNA 聚合酶 0.18 µL,总 DNA(模 板)1~3 µL,然后加 ddH₂O 补足。

以长 PCR 的纯化产物为模板进行 Sub-PCR, 扩 增出长度为 500~1300 bp 的短片段。 Sub-PCR 反 应程序: 95℃预变性, 4 min; (95℃ 45 s, 53~58 ℃ 60 s, 72℃ 60 s)×30/35; 72℃ 7/4 min, 4℃保 温。Sub-PCR 反应体系(25 µL)为: 10×PCR Buffer 2.5 µL, 25 mmol/L MgCl₂ 2.5 µL, 2.5 mmol/L dNTP 2.5 µL, 10 µmol/L 引物各 2.0 µL, 5 U/µL *Taq* DNA 聚合

表 1 长 PCR 扩增引物序列 Tab. 1 Primer sequences for Long PCR amplication								
片段 Fragments	引物名称 Name	引物序列(5'-3') Primer sequences						
D1	L2260	CAA GGT AAG TGT ACC GGA AGG TG						
D1	H6681	GGT ATA GGG TDC CRA TGT CTT TRT G						
D2	L6615	CCT CTG TAA AAA GGA CTA CAG CC						
D2	H10884	GGG TCR AAW CCR CAT TCG TAT GG						
D3	L10635	CAC CAC TTY GGC TTY GAR GCA GC						
D3	H13563	TGR AGG GCD GCR GTG TTR GC						
D4	L13040	ATC CAA TGG TCT TAG GAR CCA						
D4	H16064	CTT CAA TCT TTG GYT TAC AAG ACC						
D5	L15725	AAA CCH GAA TGA TAC TTC CTM TTY GC						
D5	H1530	GGT GGC TGG CAC ARG ATT TAC C						

兼并位点说明(degenerate sites): G, A, T=D; A, g=R; A, C=M; A, T=W; C, T=Y; A, T, C=H.

表 2 扩增线粒体全基因组片段引物对列表 Tab. 2 The list of partial pair primers for amplifying the mitochondrial genome

片段 Fragments	引物名称 Name	预计扩增长度	片段 Fragments	引物名称 Name	预计扩增长度
		Expected length (bp)			Expected length (bp)
D01	L1263 (tPhe)	506	106	L10635 (COX3)	1202
BUI	H1859 (12S)	390	A00	H11837 (ND4)	1202
B02	L1754 (12S)	540	407	L11458 (ND4L)	002
	H2294 (tVal)	540	A07	H12344 (ND4)	880
B03	L2260 (12S)	621	100	L12156 (ND4)	801
	H2891 (16S)	051	Auo	H13047 (tLeu)	891
B04	L2725 (16S)	567	4.00	L13040 (tLeu)	523
	H3292 (16S)	507	A09	H13563 (ND5)	525
Doc	L3218 (16S)	502	A 10	L13525 (ND5)	602
B03	H3784 (16S)	505	Alt	H14127 (ND5)	862
D 06	L3722 (16S)	110	4.11	L14080 (ND5)	060
B00	H4170 (ND1)	440	AII	H15049 (CYTB)	909
D07	L3803 (16S)	0.4.1	4.12	L14770 (ND5)	525
D0/	H4644 (ND1)	841	AIZ	H15295 (CYTB)	525
B08	L4500 (ND1)	701	D14	L14996 (CYTB)	(50)
	H5201(tMet)	/01	B14	H15646 (CYTB)	830
DOO	L5143 (tGln)	623	D15	L15413 (CYTB)	651
D09	H5766(ND2)	023	БІЗ	H16064 (tTHR)	031
P 10	L5758 (ND2)	022	B16	L15725 (CYTB)	2000
B10	H6681 (CO1)	923	B10	H1530 (12S)	2000
D11	L6615 (tTyr)	507	B17	L16087 (tTHR)	50
БП	H7122 (CO1)	307	B1/	H16137 (tPRO)	30
D10	L7036 (CO1)	510	D19	L15710	为太司师
B12	H7548 (CO1)	512	B18	H16728	补无引初
D12	L7525 (CO1)	506	D20	L16225	为太司师
B13	H8121 (CO1)	390	B20	H614	补无引初
4.01	L7987 (CO1)	641	Dal	L537	弘玄己物
A01	H8628 (CO2)	041	D21	H1860	1176 71 40
4.02	L8386 (CO2)	940	D26	L16206	为太司师
A02	H9235 (ATP6/ATP8)	849	B20	H739	补无引初
4.02	L8929 (CO2)	707	D20	L16525	为太司师
A03	H9726 (ATP6)	191	B29	H1530	补无引初
4.04	L9700 (ATP6)	642	D24	L436	站去司物
A04	H10343 (CO3)	043	B34	H1530	作元归初
105	L10236 (CO3)	(40			
A05	H10884 (ND3)	648			

酶 0.25 μL, 长片段产物(模板)0.5~1 μL, 然后加 ddH₂O 补足。

所有长 PCR 产物和 Sub-PCR 产物均用 1.0%的 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 DNA 凝胶回收试剂盒 进行纯化。

1.2.3 测序 Sub-PCR 产物进行直接测序或者克隆 测序, 克隆使用的载体为 pMD18-T。测序均由上海 生工生物工程技术服务有限公司完成。

1.2.4 序列拼接、注释和分析 使用 Staden Package 1.7 (Bonfield et al, 1995)进行序列拼接和注释, 通过 与斑胸草雀 Taeniopygia guttata(NC 007897)线粒体 DNA 序列进行比对确定蛋白质基因、tRNA 基因和 rRNA 基因的位置。使用 MEGA 3.0 统计线粒体基 因组碱基组成,蛋白质基因密码子使用频率等。使 用 tRNAScan-SE ver.1.21(Desjardins & Morais, 1990) 进行 tRNA 二级结构预测。参照从 RNA 数据库 (http://www.rna.ccbb.utexas.edu/)下载的扁嘴鹅 (Coscoroba coscoroba)、绿头鸭(Anas platyrhynchos)、红原鸡(Gallus gallus)的 srRNA 二级结构,并 结合所发表的五彩绿咬鹃(Pharomachrus pavoninus) srRNA 二级结构(Espinosa de los Monteros, 2003), 对 srRNA 基因二级结构进行了预测。参照从 RNA 数据库(http://www.rna.ccbb.utexas.edu/)下载的非洲 爪蟾(Xenopus laevis)的 lrRNA 二级结构模板,并参 考黄牛(Bos taurus)的 lrRNA 二级结构(Burk et al, 2002),对 lrRNA 基因二级结构进行了预测。

2 结 果

2.1 线粒体基因组组成与基因排列

地山雀线粒体基因组全序列已提交至 GenBank,登录号为:HM535648。拼接好的地山雀 线粒体基因组全长1.6809万bp,由13个蛋白质编 码基因(protein-coding genes, PCGs)、22个tRNA基 因、2个rRNA基因(lrRNA和srRNA)组成,基因排 列顺序(表3)与斑胸草雀和红原鸡相同。基因排列非 常紧密,存在6处总长度为29bp的基因重叠,重 叠区长度从1~10bp不等;基因间隔序列总长度为 81bp,共计19处,大小在1~12bp之间,基因间 隔最大的在ND1-tRNA^{IIe}之间和tRNA^{Pro}-ND6之间, 达到了12bp;既没有重叠,也没有间隔的紧密排 列基因对共计12处。

2.2 核苷酸组成

从表 4 可以看出, 地山雀 mtDNA 碱基百分含

量为 C>A>T>G, A+T%略大于 G+C%, 并无明显差 异。4 种碱基的含量都非常接近,这与已报道的绝 大多数鸟类线粒体基因组碱基含量分布一致。蛋白 编码基因4种碱基百分含量与整个线粒体基因组最 为相似。在不同密码子碱基含量的问题上,地山雀 第三位密码子的碱基含量波动较大,该结论与 Gao et al(2009)对 74 种鸟类全线粒体基因组不同密码子 第三位碱基含量波动最大的描述一致,表明线粒体 基因组中碱基变化主要由密码子第三位碱基变化 造成。

2.3 蛋白编码基因及密码子使用

地山雀 13 个蛋白编码基因长度与已公布的雀 形目鸟类一致。13 个蛋白编码基因所用起始密码子 除 COI 基因为 GTG 外,其余均为 ATG;最常用终 止密码子为普通的 TAA,其它情况为: NDI 和 ND5 基因终止密码子为 AGA; COII 基因终止密码子为 AGG; COIII 和 ND4 基因为不完全终止密码子 T; ATP6 基因和 ND6 基因终止密码子均为 TAG;在所 编码的 3 787 个氨基酸中,Ala、Ile、Leu、Ser 和 Thr5 种氨基酸的使用频率最高,占到了所有氨基酸 的 49.44%。相对同义密码子使用也和其它鸟类相 似。

2.4 tRNA 二级结构

地山雀线粒体基因组有 22 种 tRNA,其中 14 种位于重链上,8 种位于轻链上。所用反密码子与 红原鸡相同。用 tRNAScan-SE 1.21 预测出地山雀除 tRNA^{Ser} (AGN)以外的所有 tRNA 二级结构,其均能 形成典型的三叶草结构。 在所预测的 22 种 tRNA 二级结构中总共出现了 37 处错配,其中有 28 对为 GU 错配;其余为 5 对 AC 配对,发生在 tRNA^{Asp}、 tRNA^{His}、tRNA^{Phe}和 tRNA^{Ser} (AGN)的氨基酸接受臂 和 tRNA^{Ser} (AGN)的反密码子臂;2 对 UU 错配,发 生在 tRNA^{Gly}的反密码子臂和 tRNA^{Met} 的 TψC 臂; 2 对 CC 错配,发生在 tRNA^{Gly} 的反密码子臂和 tRNA^{Leu} (UUR)的氨基酸接受臂。

2.5 rRNA 二级结构

地山雀 srRNA 基因位于 tRNA^{Phe} 和 tRNA^{Val}之间,长度为 976 bp。预测的 *srRNA* 基因二级结构(图 1)与所发表的其他鸟类 srRNA 二级结构大体一样,包含 3 个结构域 47 个茎环。

lrRNA 基因位于 **tRNA^{Val}** 和 **tRNA^{Leu}** (**UUR**)之间,长度为1597 bp。预测的地山雀 **lrRNA** 基因二级结构包含 6 个结构域 60 个茎环(图 2)。

基因 Gene	编码链 Coding strand	起始位置 终止位置 Start position End position		碱基 长度 Length	间隔 Intergenic length	起始密码子 Initiation condons	终止密码子 Termination condons
tRNA ^{Phe}	Н	1	69	69			
SrRNA	Н	70	1045	976	0		
tRNA ^{Val}	Н	1046	1115	70	0		
LrRNA	Н	1116	2712	1597	0		
$tRNA^{Leu}(UUR)$	Н	2713	2787	75	0		
ND1	Н	2793	3770	978	5	ATG	AGA
tRNA ^{lle}	Н	3783	3854	72	12		
tRNA ^{Gln}	L	3861	3931	71	6		
$tRNA^{Met}$	Н	3935	4003	69	3		
ND2	Н	4004	5044	1041	0	ATG	TAA
$tRNA^{Trp}$	Н	5044	5114	71	-1		
$tRNA^{Ala}$	L	5116	5185	70	1		
$tRNA^{Asn}$	L	5191	5263	73	5		
$tRNA^{Cys}$	L	5264	5330	67	0		
$tRNA^{Tyr}$	L	5330	5400	71	-1		
CO I	Н	5402	6952	1551	1	GTG	AGG
tRNA ^{Ser} (UCN)	L	6944	7018	75	-9		
$tRNA^{Asp}$	Н	7022	7090	69	3		
CO [[Н	7098	7781	684	7	ATG	TAA
$tRNA^{Lys}$	Н	7783	7850	68	1		
ATP8	Н	7852	8019	168	1	ATG	TAA
ATP6	Н	8010	8693	684	-10	ATG	TAG
COIII	Н	8699	9482	784	5	ATG	Т
$tRNA^{Gly}$	Н	9483	9551	69	0		
ND3	Н	9552	9902	351	0	ATG	TAA
$tRNA^{Arg}$	Н	9904	9973	70	1		
ND4L	Н	9975	10271	297	1	ATG	TAA
ND4	Н	10265	11642	1378	-7	ATG	Т
tRNA ^{His}	Н	11643	11713	71	0		
tRNA ^{Ser} (AGN)	Н	11714	11779	66	0		
$tRNA^{Leu}(CUN)$	Н	11779	11849	71	-1		
ND5	Н	11850	13667	1818	0	ATG	AGA
Cyt b	Н	13676	14818	1143	8	ATG	TAA
$tRNA^{Thr}$	Н	14822	14890	69	3		
tRNA ^{Pro}	L	14896	14965	70	5		
ND6	L	14978	15496	519	12	ATG	TAG
tRNA ^{Glu}	L	15498	15569	72	1		
D-loop		15570	16809	1240	0		

表 3 地山雀线粒体基因组组成
 Tab. 3 The gene contents of Pseudopodoces humilis mitochondrial genome

表 4 地山雀 mtDNA 核苷酸组成

Genes or partitions	A(%)	T(%)	C(%)	G(%)	A+T(%)	n
Whole genome	29.7	23.2	32.6	14.6	52.9	16809
All protein genes	27.6	24.4	33.7	14.3	52.0	11361
1 st codon position	27.5	20.3	28.6	23.6	47.8	3787
2 nd codon position	18.2	40.0	28.8	12.9	58.2	3787
3 rd codon position	37.2	12.9	43.5	6.4	50.1	3787
RNA genes	28.7	27.8	21.3	22.2	56.5	1548
RNA	33.0	20.5	26.2	20.3	53.5	2573
A+T rich region	26.4	28.2	31.5	13.9	54.6	1240

337



图 1 地山雀 srRNA 二级结构预测结果 Fig. 1 Predicted secondary structures for srRNA of *Pseudopodoces humilis* mispairing are indicted by *

2.6 控制区

地山雀的控制区位于 tRNA^{Glu}和 tRNA^{Phe}之间, 长度 1240 bp。本文以红原鸡(Eberhard et al, 2001) 和蓝灰蚋鹅(*Polioptila caerulea*)(Ruokonen & Kvist, 2002)为基准序列预测了地山雀的线粒体控制区中 央保守区 F、E、D、C、B 结构域(图 3),以及推断 了保守序列区(conserved sequence blocks, CSB)中 CSB-1 结构域存在 20 bp 长度碱基序列插入现象(图 4)。

3 讨 论

3.1 ND3 基因的胞嘧啶插入现象

据 Gao et al(2009)统计,古颌超目中几乎所有 的物种都发现 ND3 基因存在胞嘧啶插入现象,而在 今颌超目中大多数鸟类都存在不携带胞嘧啶插入 的物种,并且在当时已测定线粒体基因组全序列的 9 个雀形目物种中都不存在胞嘧啶的插入现象。

地山雀 ND3 基因序列 174 位点处不存在胞嘧



图 2 地山雀 lrRNA 二级结构预测结果 Fig. 2 Predicted secondary structures for lrRNA of *Pseudopodoces humilis* mispairing are indicted by *

啶的插入现象(图 5)。原鸡(图 5 的 3_G gallus, NC_001323)为 12 个已公布的鸡形目鸟类中惟一的 一个不存在胞嘧啶插入的物种;但后续的研究工作 发现在原鸡(图 5 的 4_G gallus, NC_007235)中也 存在该现象(Mindell et al, 1998)。Tu et al(2009)对北 京鸭(2_Anas platyrhychos)及 Sun et al(2004)对两种 鸮类(5_Asio otus)的线粒体基因组全序列描述中都 涉及到了 ND3 基因序列存在碱基插入现象。 对这 一现象的解释,通常认为这个额外的核苷酸在翻译 过程中是不参与表达的,而是被 RNA 的自我编辑 后剪切掉,使得基因功能得以恢复,从而避免了移 码突变导致的 ND3 基因转录提前终止 (Mindell et al, 1998)。

3.2 tRNA 二级结构

tRNA 序列变异主要发生在环区, 茎区相对保守。其中一些变异如双链的互补性碱基突变、G-U 配对等在所预测的地山雀 tRNA 二级结构中都有出现,大部分碱基对符合 Wasten-Click 配对原则,另有一些 GU 变偶碱基对符合 G-U 摆动配对原则,这对于维系 tRNA 二级结构的稳定性起到非常重要的作用。地山雀的所有 tRNA 基因中,有 37 处错配,其中 28 对为 GU 错配。一些学者认为线粒体基因组 tRNA 基因的部分错配可以通过 RNA 自我剪切来恢复基因的功能,不会引起氨基酸转运上的障碍(Yokobori & Pääbo, 1995)。

地山雀没有发现像位于脊椎动物线粒体基因 组的 tRNA^{Asn} 和 tRNA^{Cys} 之间相当于轻链复制起始 的发夹结构, Ramirez et al(1993)和 Tu et al(2009)对 北京鸭线粒体基因研究也有类似报道:地山雀线粒 体 tRNA^{Phe} 的 T_WC 臂有一处嘧啶的插入,为不配对 的"C",其组成和配对形式符合 Harrison et al(2004) 描述的鸟类线粒体 tRNA^{Phe}的 TyC 臂通常存在的三 种配对形式(图 6a); 地山雀 tRNA^{Ser} (UCN)、tRNA^{Lys}、 tRNA^{Asn}和 tRNA^{Leu} (CUN)四种 tRNA 基因临近氨基 酸接受臂的第八位上均为腺嘌呤"A",这些有别于 其它脊椎动物,可能是鸟类普遍存在的一个特征 (Hälid et al, 1997); 关于地山雀 tRNA^{Ser} (AGN)基因 缺少 DHU 臂,这种情况在包括鸟类在内的脊椎动 物线粒体中比较常见。tRNA^{Ser} (AGN)基因均缺少 DHU 臂的长度由低等无脊椎动物到高等脊椎动物 逐渐变短,对原鸡的 tRNA^{Ser} (AGN)二级结构预测 发现其 DHU 臂仅有一对碱基对(Lowe & Eddy, 1997), 对哺乳动物这类 tRNA 的研究表明, 它们可 以形成潜在的 L 型结构以维持反密码子与 CCA 接 受臂之间的距离(Hanada et al, 2000), tRNA 转运特 定氨基酸的功能及其L形的三级结构主要由氨基酸 臂和反密码子环决定,而 T Ψ C 环和 DHU 环,及其 相应的臂,似乎不会抑制 tRNA 的功能(Dirheimer et al, 1995; Wolstenholme et al, 1994).

3.3 rRNA 二级结构

a	F-box	490 500 510 520
Γ	NC_000879 Smithornis sharpei	
	NC_000880 Vidua chalvbesta	TGATCGCGCCTCTCACGAGAACCCGAGCTACTCAACGTT
	NC 007897 Taeniopygia guttata	TAACCGTGTTTCTCACGAGAACCGAGCTACTCAACGTAJ
	Pseudopodoces humilis	TGATCGTGTTTCTCACGAGAACCGAGCTACCCCGTGTC
	NC 010228 Sylvia atricapilla	TAATCGTGATCCTCACGAGAACCGAGCTACTCAACGTC
	NC_010229 Sylvia crassirostris	TGATCGTAGTTCTCACGAGAACCCACCAACTCGACGTT
	NC_010227 Acrocephalus scirpaceus	TAACTGTACTCCTCACGAGAACCGAGCTACTCAACGTC
	NC_007883 Menura novaehollandiae	TAGTCGTGCTCCTCACGAGAAATCAGCAACCCGGTGTT
	Polioptila caerulea	TAGTCGTGCTCCTCACGAGAACCGAGCTACTCAACGTC4
- 1	NC_002069 Corvus frugilegus	TAATCGTAGTTCTCACGAGAACCGAGCTACTCGACGTAC
	NC_001323 Gallus gallus	TGATCGTCCACCTCACGAGAGATCAGCAACCCC-TGCCJ
. 1	Clustal Consensus	
b	E-box	540 550 560
Г	NC 000879 Smithornis sharpei	TGCACATCACGACCAGCTTCAGGACCATCCTTTCC
	NC 007975 Cnemotriccus fuscatus	TGTTTATCACGACCAGCTTCAGGTGCGTACTTTCC!
1	NC_000880 Vidua chalybesta	TATTATAGGTTCTTGGCCAGCGACACATACTTTCC
	NC_007897 Taeniopygia guttata	TGTTATAGGTTATTGGCTTCAGGCGCATACTTTCC
	Pseudopodoces humilis	TACCTTCGGTTATTGGCTTCAAGGCCATAACATCC
	NC_010228 Sylvia atricapilla	TACTTTCGGTTATTGTCTTCAGGGTCATACTTTCC
	NC_010229 Sylvia crassirostris	TGCTCTTAGTCCTTGGCGTCAGGGACATACTTTCC
	NC_010227 Acrocephalus scirpaceus	TGCCCTAGGTTATTGTCTTCAGGGGCATACATTCC
- i		GGCCCTACGTTACCAGCTTCATGATCATACTTTCCC
	NC 002060 Convuo frugiloguo	ma caca accompace common can can ma ammmacy
1	NC_001323 Gallus gallus	
	Clustal Consensus	IGIACIICAIGACCABICICAGGCCCATICIIICC(
	Clustal Consensus	
•	D-box	600 610 620 620
C r	NO 000070 Smithernie obernei	
	NC_000079 Sillutoritis sharper	GCTTTTTGC -GCCTCTGGTTCCTCGGTCAGGGCCATTTGAT
	NC_000880 Vidua chalvbesta	TCTTTTGCGCTATTGGTTGTAACTTCAGGACCATA-CCT
	NC 007897 Taeniopygia guttata	TCTTTTGCGCCACTGGTTGTAATTTCAGGGCCATA-ACT
	Pseudopodoces humilis	TCTTTTGCGCCACTGGTTCCTATTTCAGGGCCATA-ACT
	NC_010228 Sylvia atricapilla	TCTTTTGCGCCACCCGTGGTAATTTCAGGTCCATA-ACC
	NC_010229 Sylvia crassirostris	TCTTTTGCGCCTCCCGTGGTAATTTCAGGACCATA-ACT
	NC_010227 Acrocephalus scirpaceus	TCTTTTGCGCCACCGGTTGTAACTTCAGGACCATA-GAA
	NC_007883 Menura novaehollandiae	TCTTCACCAGGCCTCTGGTTCCTATTTCAGGGCCATA-ACT
I	Polioptila caerulea	TCTTTTGCGCCTACGGTTGTAACTTCAGGACCATA-CGG
- 1	NC_002069 Corvus frugilegus	ACTTTTGCGCCTCTGGTTCCTATTTCAGG-CCATA-ACT
	NC_001323 Gallus gallus	CTTCCACCGTACCTCTGGTTCCTCGGTCAGGCACATC-CCA
. I	Clustal Consensus	
4		
a _	O have	when the second se
	C-box	650 660 670 680
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTTGGGGATGCTT
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTTGGGGATGCTT CCGTCTCTTGCTCCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata Pseudopodpose humilie	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sv/via atricapilla	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTGGGGATGCTT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGTTGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTTGGGGATGATA.
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia crassirostris	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGSAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT.
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTATGGTTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGT-TGGAT CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT.
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007875 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATGGTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGCATGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC CCTTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFTC CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGFAT.
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_002069 Corvus frugilegus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTAATGGTGGGGATGCTT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGSAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTA-TGCAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT.
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_00080 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_002069 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTAATGGTGGGGATGCTT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGSAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGC-TGSAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTCCCTTATTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTC
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_002069 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-GGTAGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCTGCCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGATCGGATCGGATCGCAT. CCTGAACTTCCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGATCGGAT. CCTGAACTTCCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGATCGGAT. CCTGAACTTCCCTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGAT. CCTGAACTTCCCGAGATCCAGATCCAGATGCAAGTGGTCGGAACTCGGATCGCAT. CCTGAACTTCCCCGACTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGATCGGAT. CCTGAACTTCCCCGACTCTCACAGATCCAGATCCAGATGGTCGGAT. CCTGAACTTCCCCGACTCCGACACTCGGACGACGACGGACG
	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_00080 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_002069 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATGGTGGGGGGGGGTGTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGT-TGGAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGCGGATGAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGGATGFAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTTCCTCCTGCTTCACAGATGCAAGTGGATCGGGTCGGAA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTTCACAGATGCAAGTGGTCGGGTCG
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007875 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similaritv and B-box	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTGAACTTTCCACGTTCTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTCTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATCCAGTGCAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCCCACGATGCAAGTGCACGGGAC-TGCAT. CCTGAACTTCCCTGCTTCCACGATGCAAGTGCACGGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCCTGCCTTCCCCGAGTGCAGGTGCGGA-TGCAGTGCGGA- CCTGAACTTCCCGCCTTCCCCCGAGTGCAGGTGCGGA- CCTGAACTTCCGCCCTCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
e _	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_0010237 Acrocephalus scirpaceus NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGAT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTCCCTTATTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTGAACTTTCCACGTTTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. Bird similarity box 910 920 930 940 94 95
e _	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_000887 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_001029 Sylvia atricapilla NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGC-TGGAT CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTCCCTCGTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTCCCTCGTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTCCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTCCTCACGCTTCCACGAGTGCAGTGGTCGGAA-TGCAT. Bird similarity box B-box 910 920 930 940 9: AATGTAGCACTG-TGCACAGTTCCCTGGCATTT-GCCTTGGCAATTC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_010287 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_001023 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similaritv and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGTTGGAT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTGAACTTTCCTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGCAT. CCTGAACTTTCCTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGCAT. Bird similarity box B-box 910 920 930 940 9! AATGTAGCACTG-TGCACAGTTCCTGGCATTT-GGCTTTGGCACTTTC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGCAGGTATTCGTTTGGCACTTTCC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_00787 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Aerocephalus scirpaceus NC_007838 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_002069 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_000889 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTATGGTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGT-TGGAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCGC-TGGAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCCTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAAT CCTTCCTCCTTGCCTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGAAGTGTCGGAACTTTG CCTTCCTCCTTGCCTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGAAGTGTCGGAACTTTG CCTTCCTCCTTGCCTTGCACAGATGCAAGTGGTCGGAAGTGCGGCTTGGAACTTTG Sid similarity box B-box 910 920 920
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007875 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007857 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u>	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGAT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACCTTTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACCTTTTCACGAGATGCAAGTGGTCGGA-TGAT. Bird similarity box 910 920 930 940 9! AATGTAGCACTG-TGCACAGTTTCCTGGCATTT-GGCTTGGAATTTC GCTGTAGCACGGATGCACTTTGCACGGCATTT-GGCTTGGAACTTC GCTGTAGCACGGATGCACTTTGCACGCATTTCATGGATGCC ACTTG-ACACGATGCACTTTGC-ACCCATTCATGGAGGCC ACCTGAACTGATGCACTTTG-ACCCATTCATGGAGGCC ACCCGGATACTGATGCACTTTG-ACCCATTCATGGAGGCC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_010287 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_0010283 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGTT CCGTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCTTCTCCTTCCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCTTCTCCTTCCACGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCTTTCCCTTCCACGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT CCTTCTTCTTCCTTCCACGATGCAAGTGGTCGGCA-TGCAT CCTTG-ACACTGTTGCCCTTCCACGATTC-GCTTTGGAATTTC 910 920 930 940 9: AATGTAGCACTG-TGCACAGTTTCCTGGCATTT-GGTTTGGCACTTC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGAGTGCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGAGTGCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGAGTGCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGAGCCCC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_010287 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Acrocephalus scirpaceus NC_007833 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similaritv and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_000795 Cnemotriccus fuscatus NC_00080 Vidua chalybesta NC_00080 Vidua chalybesta NC_000880 Yidua chalybesta NC_000880 Xidua chalybesta NC_000880 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGCTGGAT CCGTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGCATGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGATAGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGATAGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAATGCTTGGGAA-TGAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGCAT. CCTG-CCTTATTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTG-CCTTATTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGAACTTCCTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGACTTCCTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGACTTCCTGCTCTTCACAGATGCAAGTGGTCGGA-TGCAT. CCTGACTTCCTGCTGCCTTTCCACGATGCAGTGCGGA-TGCAT. CCTGACCTGCTGCCCTTCCCAGGCTTGGCATTCGGCATTCCTGGCATTCCTGCGCATTCCTGCCCTTCCACGCTTTCCTGCCCTTCCAGGCTTTCCTGGCATTCCGGCCTTCCACGCTTGGCACTTCCACCCCATTCATGGAGCGCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGAGCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGAGCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_0007833 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_000869 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus <u>Bird similaritv and B-box</u> NC_000879 Smithornis sharpei NC_000879 Smithornis sharpei NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010229 Sylvia crassirostris	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTTACTATGGTGGGGATGCTT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGCTGGAT CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCCTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCCTTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCCTTCCACAGATGCAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCCCTTCCACAGATGCAGGGCGAAGTGGTCGGAATTACAGACTGGACTTTCCCCGGACGGA
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007875 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia crassirostris NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similaritv and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_000880 Vidua chalybesta NC_000887 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-GAT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCGC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTCCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTCCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTG-ACTTTCCACTTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACTTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACTTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACTTTTCACAGATACAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACTTTTCACAGATCAAGTGGTCGGA-TGAT. CCTGAACTTTCCACTTTTCCACGATTCCTGGCATTT-GGCTTGGAATTCC GCTGTAGCACGGATGCACTTTGCACGCATTT-GGCTTGGAACTTC GCTGTAGCACGATGCACTTTGC-ACCCCATTCATGGACGCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACGCCC ACCTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCCCCCCACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCCCCCACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCCCCCCCC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilia NC_010229 Sylvia atricapilia NC_010229 Sylvia atricapilia NC_010229 Xuia atricapilia NC_001023 Aerocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007883 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_007883 Menura novaehollandiae	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGATGAT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGC-TGGAT CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTG-ACTTTCCACGTTTCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTG-ACATTTCCACGTTTCCACGAAGTGCTCGGGA-TGAT. GCTGTAGCACGGATGCACTTTG-ACCCCATTGGTTTGGCACTTC ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACTGC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACGCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACGCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACGCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGACCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTTG-ACACTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCC(ACTGG-CCCTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCCC(ACTGG-CCCTGATGCACTTTG-ACCCCATTCATGGCCCCCCCCCC
e	C-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_007897 Taeniopygia guttata <u>Pseudopodoces humilis</u> NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_010229 Sylvia atricapilla NC_00269 Corvus frugilegus NC_001323 Gallus gallus Clustal Consensus Bird similarity and B-box NC_000879 Smithornis sharpei NC_007975 Cnemotriccus fuscatus NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_000880 Vidua chalybesta NC_000285 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010228 Sylvia atricapilla NC_010227 Acrocephalus scirpaceus NC_007833 Menura novaehollandiae Polioptila caerulea NC_00269 Corvus frugilegus	650 660 670 680 TCGTCAACATTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCCGTAACTATTGGT-AGTTATGCAC TTCCTATACTTGCGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGGTTGSAT CCGTCTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCGT-TGSAT CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTTCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCC-TGCAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCCTTGCTCTTCACAGATACAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCTCCTTGCTCTTCACAGATGCAAGTGGTCGGCA-TGAT. CCTTCCTCCTTGCTCTTCACAGATGCAAGTGGTCGGGA-TGAT. CCTTG-ACACTGTGCCCTTTCCACGATGCAAGTGGTCGGGA-TGCAT. 910 920 930 940 9: AATGTAGCACTG-TGCACAGTTTCCTGGCATTTGGTTTGGCACTTC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGAGTGCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGAGGCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGACGCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCCC ACTTG-ACACTGATGCACTTTGACCCCATTCATGGCCCCCCCCCC

图 3 11 种雀形目鸟类及红原鸡线粒体基因组控制区结构域 (中央保守区)

Fig. 3 The structure domains of control region in 11 Passeriformes birds and Gallus gallus (central conserved domain)

杨 超等:地山雀线粒体基因组全序列的测定和分析

		000 4										
а		C3B-1	930		940	950		960	. 970	980	990	1(
	NC 000879 NC 007975 NC 000880 NC 007897 <u>Pseudopode</u> NC 010228 NC 010229 NC 010227 NC 007883 NC 002069 NC 001323 Clustal Conse	Smithornis sharpei Cnemotriccus fuscatus Vidua chalybeata Taeniopygia guttata ces humilis Sylvia atricapilla Sylvia atricapilla Sylvia atricapilla Sylvia atricapilla Sylvia cassirostris Acrocephalus scipaceus Menura novaehollandiae Corvus frugilegus Gallus gallus nsus	GGCATTT-GG GCTATT-GG CCCATT CCCATT CCCATT CCCATT CCCATT CCCATT CCCATT CCCATT CGCATTTGGT	CTTGGAA TTTGGCA CATGGAA C-TGAAA CATGGAA CATGGAA CATGGCO CATGGCO CATGGCO CATGGCO CATGGCO CATGGCO CATGGCO	ATTTCCTO ACTTCCAO GTGCGCGCG GGCCCCGCGC CCCCGCGC CCCCGCGC CCCCGCGC CCCCGCGC CCCCGCGC CCCCGCGC CCCCGCGC CCCCCGCGC CCCCCGCGC CCCCCGCGC CCCCCC	CTTGGTTT STTCGTCT CTATTAC CCATTTAC CCGTTACC CCGTTACC CCGTTACC CCGTTACC CAGGCTCC CCAGCTCC CCAGCTAC CCCCCCCG	CTAAG- CTAAG- CTCTC- CTCTC- CCTCT- CCTTAG CTATT- CTATT- CTATA- GTAAA-	-CATGCT -CTAGGT -AAGTA -AAGTA -TAGCG TAGGCA -GGGCA -GGGCA -GGGCA -GGGTG -CGGTG -TGGTG *	CTGTTAGA- GTGGTTGA- GCAGATAG- GCAAATAG- CTAATTGG- CTGATTAA- CTGGTTAA- ATGGATAA- ACCCTTGGA GCAGATAA- CCTTGGA	ATCCATGTTT ATTAATGCTCC TTTAATGCTCC TGTAATGGTC TGCAATGCTT TGCAATGCTT TGCAATGGTC TTTAGTGCTCC TGTTATGGTC TGATATGCTT TGATATGCTT TGATATGCTT	STATGGCATA SATAGACATA TCCGGACATGC TCCGGACATAC GCCGGACATAC GCCGGACATAC GCCGGACATAC GCCGGACATAC SCCGGACATAA SCCGGACATAA	TTTT: TTTT: TTAT: TTAT: TTAA: TTAA: TTAA: TTAC: TTAC: TTCA: AATT: TTTCA: TTTCA: TTTCA: TTTCA:
b		CSB-1	930		940	. 950		960	970	980	990	10(
	NC 010228 NC 010229 NC 000880 NC 007897 <i>Pseudopodc</i> C 010227 NC 007883 AF 027835 NC 002069 NC 000879 NC 000879 SC lustal Conse	Sylvia atricapilla Sylvia crassirostris Vidua chalybeata Taeniopyia guttata ces humilis Acrocephalus scirpaceus Menura novaehollandiae Polioptia caerulea Corvus frugilegus Smithornis sharpei Cnemotriccus fuscatus nsus	ACCACATT ACCCCATT ACCCCATT ACCCCATT ACCCCATT GTAACATT GTAACATT ACCCCATT CTGGCATTT-G ATGCTATT-G	-CATGGZ -CATGGZ -CATGGZ -CATGGZ -CATGGZ -CATGGZ -CATGGZ GTTGGZ GTTTGGZ **	ACCCCCCC CCCCCCCCC ACCCCCCCC ACCCCCCCC CCCTCCCC ACCCCCCCC	CGTTAC CTTTTTA CCATTTA CCATTTA CCGTTTA CCGGTTA CCAGGCTC CCAGGCTA CCTTGGTT AGTTCGTC	CCTCT CCTCTC CCTCTC CCTCTC CCTATI CCTATI CCTATI CCTATA CCTATA FCTAAG	TAGGC AGCAGGC CAAGT C-TAAGC C-TAAGC CAGGT CAGGT CAGGT CCGGT G-CATGC G-CTAGG	ACTGAAT-A ACTGTTT-A AGCAAGAT-A GCTAATT-G GCTAATT-G AATGGAT-A AACCCTTGG AGCAGOATA GGCAGAT-A TCTGTTAGA TGTGGTTGA	ATGCAATGCTT ATGAGATGCTT GTTTAATGCT GTTTAATGCT GTGTAATGGT ATGCAATGGT ATGCAATGGT ATGCAATGGT ATGCAATGGT ATGCTATGGT AT-CCATGTT AT-TAATGCT * ***	PACCGGACATG PACCGGACATG PTCCGGACATG PTCCGGACATA PCCCGGACATA CCCCGGACATA CCCCGGACATA CCCCGGACATA CCCCGGACATA CCATGGCATA CGATAGACATA CGATAGACATA	CTTGAT: CTTACT(CTTATT? CTTAAT; GTTCAT; AAATTC(TTTAG; GTTTGT; TTTT; TTTT;
c		CSB-1	950	ge	60 → i	nsertion	€ 98	0	990	1000	101	
	NC 000879 NC 007975 NC 000880 NC 007897 <u>Pseudopodo</u> NC 010228 NC 010229 NC 010227 NC 007883 AF 027835 NC 002069 NC 001323 Clustal Copper	Smithornis sharpei Conemoticcus fuscatus Vidua chalybeata Taeniopygia guttata sylvia atricapilla Sylvia atricapilla Sylvia atricapilla Sylvia scirpaceus Menura novaehollandiae Polioptila caerulea Corvus frugilegus Gallus gallus meus	GAATTTCCTC GCACTTCCAG GAGTGCGCGC GAGGCGCGCG GACCCCGCGC GCCCCCGCGC GCCTCTCCCG GAGGCCCCCG GTGGGTCCCC GTTCTTCCCC *	TTGGTT TTCGTC CATTTA CGTTTA CGTTTA CGTTTA CGTTTA AGGCTC CAGCTA CCCCCCC	CCTAAG-(CCTAAG-(CCTCTC CCTCTC CCCCTC CCCTAT CCTAT CCTATT CCTATA GTAAA	CATGCTCT CTAGGTGT -AAGTAGC FAAGCGCT FAAGCGCCT FAGGCACT CAGGCACT -AGGTAAC -CGGTGGC -TGGTGCT *	GTTAGA GGTTGA AGATAC AAATAC GAATAA GTTTAA GGATAA CCTTGG AGGATAA AGATAA	- ATCCA - ATTTAA - TTTTAA - TGTAA - TGCAA - TGCAA - TGCAA - TGCAA - TGCAA - TGTTAG - TGTTA - TGTTA	TGTTTGTAT TGCTCTCCG TGCTCTCCG TGCTTGCCG TGCTTACCG TGCTTGCCG TGCTCGCTG TGCTCGCCG TGCTCGCCG TGCTTGCCG TGCTTGCCG	GGCATATITT- GACATACITA GACATACITA GACATACITA GACATGCITG GACATGCITG GACATAGITC GACATAGITT GACATAGITT GACATAGITT	TTAC TTGC -TTATI -TTATI -ATTIF -ATTIF -CTCTF -CTCTF -TCGCC -AGTTI -GTTAI FATCAF	
						TTT A <						

图 4 11 种雀形目鸟类及红原鸡线粒体基因组控制区结构域比较(保守序列区-1) Fig. 4 The structure domains of control region in 11 Passeriformes birds and *Gallus gallus* (CSB-1)



图 5 5种鸟类线粒体 ND3 基因序列 174 位点比对情况 Fig. 5 Compared results on the 174 site for ND3 gene of five avian mitochondrial genome

rRNA 中的单链环区和双链茎区交替排列,受 到不同的选择压。一般地,环区的进化非常快,在 物种间表现出高度的变异性,而茎区则相对保守 (Noller, 1984; Woese et al, 1980)。但也有一些茎区含 有同环区一样的可变长度,某些位点却有较高的可 变性,而一些环区相反则具有十分保守的序列 (Vawter & Brown, 1993; Simon et al, 1994)。通过预 测 rRNA 的二级结构,有助于了解地山雀 rRNA 基 因不同区段行使的功能和所蕴含的进化信息,从而 可以有力的应用于解决其系统发育问题。

srRNA:地山雀 srRNA 基因二级结构整体上与 红原鸡、扁嘴鹅等相似。不同之处在于其 srRNA 二 级结构中茎1区由6个碱基对组成,比红原鸡、扁 嘴鹅等多一对,并在第三位有一胞嘧啶插入,形成 单核苷酸突环,这与五彩绿咬鹃相一致(图 6b);地 山雀结构域 I 中的茎 4 仅形成 3 bp 的配对,红原鸡、 绿头鸭、扁嘴鹅中,该区域则为 7—8 bp 碱基的配 对。通过对上述四种鸟 srRNA 基因序列进行比对, 发现地山雀 该区域 与其它鸟类相比缺失了 "UUUGC"一小段序列,致使连接茎 3 和茎 4 的内 部环异常增大,且与 U/GUUGC 互补的上游序列 AAACG 依然存在(图 6c)根据双链的互补性碱基突 变,可见地山雀茎 4 并没有发生共变 (covariation); 关于茎 24,所预测的地山雀该区域形成 3 bp 的碱 基配对,已发表的绿头鸭和扁嘴鹅 srRNA 基因二级 结构中该处同样为 3 bp 的碱基配对,但在左端茎第 一、二位碱基对之间存在一单核苷酸胞嘧啶插入形 成 的 凸 出 , 而 红 原 鸡 该 处 则 只 有



图 6 rRNA 二级结构变化区比较图 Fig. 6 The variable regions of rRNA secondary structures among the species compared

1 bp 的碱基配对, 且为弱的 AC 错配(图 6d); 地山 雀茎 35 和 36 被认为是一个具有多凸出的连续结 构, 至少存在 8 bp 的碱基配对才能满足这种排列所 需的最小自由能(Hickson et al, 1996), 在五彩绿咬 鹃和红原鸡中也有同样的发现。

lrRNA:由于缺乏鸟类 lrRNA 二级结构资料,本研究参考非洲爪蟾和黄牛的 lrRNA 二级结构进行预测。地山雀 lrRNA 二级结构骨架与非洲爪蟾和黄牛相似,但局部存在许多差异,包括:茎19,非洲爪蟾形成一个17 bp 碱基配对的茎,黄牛该处则为11 bp 碱基配对,同时环区比非洲爪蟾大,地山

雀该处则形成了具有发夹结构的颈环,碱基配对数 介于非洲爪蟾和黄牛之间(图 6e);茎 24,地山雀仅 形成 2 bp 碱基配对,黄牛该处没有形成配对的茎, 而非洲爪蟾对应的茎,则形成了 6 bp 的配对,且对 应的下端内部环黄牛和非洲爪蟾要比本实验的地 山雀要大得多(图 6f)。结构域 III 中的茎 32 在所比 较的三种物种中变异性很大,呈现出不同的排列形 式。变异性较大的区域还有茎 45 的顶端环。结构 域 IV 和 V 包 含 核 糖 体 肽 基 转 移 酶 中 心 (peptidyltransferase center)的一部分(Zimmerman et al, 1990),并且证实紧密连接这两个结构域的是一 种三级结构相互作用(tertiary interaction)(Stiege et al, 1983)。Gutell & Woese(1990)同样发现了该位置上 UU 代替 CC 的共变。Larsen(1992)发现了对应于地 山雀线粒体 IrRNA 基因二级结构的茎 49 的发夹环 和茎 51 的 3′端未配对区之间的三级结构相互作 用,我们的研究支持雀形目鸟类中这种三级结构的 相互作用(相关发生三级结构之处已在图 1 和图 2 中标出)。

3.4 控制区

地山雀和绝大多数鸟类一样有一个控制区,位于 tRNA^{Glu}和 tRNA^{Phe}之间。但是在近来相继出现 了关于具有两个控制区的报道,Singh et al(2008)对 声莺 (Acrocephalus scirpaceus)和黑头莺 (Sylvia atricapilla)的线粒体基因组的描述中存在两个完全 相同的控制区,Abbott et al(2005)对 5 种信天翁 (Thalassarche spp.)的全线粒体描述中也有类似双控 制区的报道。

控制区结构方面,先前报道的包括鸟类在内的 脊椎动物线粒体控制区结构可分为高变 I 区、中央 保守 II 区和保守序列 III 区 3 个结构域。绝大多数 鸟类线粒体控制区中央保守区(central conserved

参考文献:

- Abbott CL, Double MC, Trueman JW, Robinson A, Cockburn A. 2005. An unusual source of apparent mitochondrial heteroplasmy:Duplicate mitochondrial control regions in *Thalassarche albatrosses* [J]. *Mol Ecol*, 14(11): 3605-3613.
- Avise JC, Ankney CD, Nelson WS. 1990. Mitochondrial genetrees and the evolutionary relationship of mallard and black ducks [J]. *Evolution*, 44: 1109-1119.
- Bonfield JK, Smith KF, Staden R. 1995. A new DNA sequence assembly program [J]. Nucleic Acids Res, 23(24): 4992-4999.
- Boore JL. 1999. Animal mitochondrial genomes [J]. Nucleic Acids Res, 27(8): 1767-1780.
- Burk A, Douzery EJP, Springer MS. Springer. 2002. The secondary structure of mammalian mitochondrial 16S rRNA molecules: refinements based on a comparative phylogenetic approach [J]. J Mammal Evol, 9(3): 225-252.
- Dang JP, Liu N, Ye W, Huang Y. 2008. Complete mitochondrial genome sequence of *Gastrimargus marmoratus* (Thunberg) (Orthoptera : Acridoidea) [J]. Acta Entomol Sin, 51(7): 671-680. [党江鹏, 刘 念, 叶 伟, 黄 原. 2008. 云斑车蝗线粒体基因组全序列测定与分析. 昆虫学报, 51(7): 671-680.]
- Desjardins P, Morais R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. A novel gene order in higher vertebrates [J]. J Mol Biol, 212(4): 599-634.
- Dimcheff DE, Drovetski SV, Mindell DP. 2002. Phylogeny of Tetraoninae and other galliform birds using mitochondrial 12S and ND2 genes [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 24(2): 203-215.

Dirheimer G, Keith G, Dumas F, Westhof E. 1995. Primary, Secondary and

domain) 均 可 发 现 保 守 域 (conserved sequence blocks, CSB)B、D、F, 部分鸟类发现 C、E 区。 本 文 根 据 Randi & Lucchini(1998) 对 石 鸡 属 (*Alectoris*)鸟类、Eberhard et al (2001)对 3 种亚马逊 鹦鹉(*Amazona* spp.)、Quinn & Wilson(1993)对雪雁 (*Anser caerulescens*)以及 Ruokonen & Kvist(2002)对 68 个鸟类物种控制区的分析,预测了地山雀的线粒 体控制区中央保守区结构域的情况(图 3 所示)。

以红原鸡和蓝灰蚋鹩为基准序列所预测的地 山雀控制区 CSB-1 结构域(图 4a,b),结果显示:图 4b 所预测的结构域序列长度要比图 4a 所预测的情 况长得多,为46~48 bp 之多。红原鸡和蓝灰蚋鹩 基准序列的 5'端均为 TATTTA,比对的 12 种鸟类 Block-1 区 3'端序列大体一致,并且核苷酸保守位点 几乎全部位于此端。综合比较发现,与红原鸡相比, 其他 11 种雀形目鸟类均多出一段长度为 19~21 bp 的序列,如图 4c 所示。目前,已有学者分析得出 雀形目鸟类鸦科、山雀科、莺科、旋木雀科和雀科 中,该区存在被 14~21 bp 序列插入所阻断的现象, 并推测真正行使 CSB-1 功能的序列长度约 20 bp (Ruokonen & Kvist, 2002)。

tertiary Structures of tRNAs [M]//. Hill WE, Dahlbert A, Garrett RA, Moore PB, Schlessinger D, Warner JR. tRNA: Structure, Biosynthesis and Function. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 93-126.

- Eberhard JR, Wright TF, Bermingham E. 2001. Duplication and concerted evolution of the mitochondrial control region in the parrot genus Amazona [J]. *Mol Biol Evol*, **18**(7): 1330-1342.
- Ericson PGP, Johansson US, Parsons TJ. 2000. Major divisions in oscines revealed by insertions in the nuclear gene c-myc: A novel gene in avian phylogenetics [J]. Auk, 117(4): 1069-1078.
- Espinosa de los Monteros A. 2003. Models of the primary and secondary structure for the 12S rRNA of birds: A guideline for sequence alignment [J]. *DNA Seq*, **14** (4): 241-256.
- Gao YK, Miao YW, Su XQ, Chi ZF, Yu B, Jiang F. 2009. A comprehensive analysis on 74 avian mitochondrial genome base compositions [J]. J Yunnan Agric Univ, 24(1): 51-58. [高英凯, 苗永旺, 苏小茜, 池振奋, 俞 贇, 姜 枫. 2009. 74 种鸟类线粒体基因组碱基组成及特征分 析. 云南农业大学学报, 24(1): 51-58.]
- Gutell RR, Woese CR. 1990. Higher order structural elements in ribosomal RNAs: pseudo-knots and the use of noncanonical pairs [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 87(2): 663–667.
- Hanada T, Suzuki T, Watanabe K. 2000. Translation activity of mitochondrial tRNA with unusual secondary structure [J]. Nucleic Acids Symp Ser, 44: 249-250.
- Hälid A, Janke A, Arnason U. 1997. The mtDNA sequence of the ostrich and the divergence between paleognathous and neognathous birds [J]. *Mol Biol Evol*, **14**(7): 754-761.

- Harrison GL, McLenachan PA, Phillips MJ, Slack KE, Cooper A, Penny D. 2004. Four new avian mitochondrial genomes help get to basic evolutionary questions in the late cretaceous [J]. *Mol Biol Evol*, 21(6): 974-983.
- Hickson RE, Simon C, Cooper A, Spicer GS, Sullivan J, Penny D. 1996. Conserved sequence motifs, alignment and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA [J]. *Mol Biol Evol*, **13**: 150-169.
- James HF, Ericson PGP, Slikas B, Lei FM, Gill FB and Olson SL. 2003. *Pseudopodoces humilis*, a misclassified terrestrial tit (Aves: Paridae) of the Tibetan Plateau: Evolutionary consequences of shifting adaptive zones [J]. *Ibis*, **145**: 185-202.
- Li QW, Li S, Tian CY, Wang YJ, Guo YM. 2002. Molecular evolution and variability in mitochondrial DNA in 10 species of Passeriforme [J]. *Acta Zool Sin*, **48** (5): 625-632. [李庆伟,李 爽,田春宇,王勇军, 郭玉梅. 2002. 雀形目10种鸟类线粒体的DNA变异及分子进化.动物学报, **48** (5): 625-632.]
- Liang G, Zhang W, Lei FM, Yin ZH, Huang Y, Li TX. 2007. Comparison of Cyt b and COI gene sequences from 15 species in Passeriformes [J].
 Acta Zootax Sin, 32(3): 613-620. [梁 刚,张 卫, 雷富民, 尹祚华, 黄 原, 李天宪. 2007. 雀形目 15 种鸟类 COI 与 Cyt b 基因序列的 比较. 动物分类学报, 32(3): 613-620.]
- Larsen N. 1992. Higher order interactions in 23S rRNA [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 89(11): 5044-5048.
- Lowe TM, Eddy SR. 1997. tRNAscan-SE: A program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence [J]. Nucleic Acids Res, 25(5): 955-964.
- Ma YK, Guo HY, Niu LM. 2005. Primers design and PCR optimization for amplifying mitochondrial Cytochrome b gene of 38 Passeriformes [J]. Forest Sci Tech, 30(6): 29-32. [马玉堃, 国会艳, 牛黎明. 2005. 雀形 目 38 种鸟类线粒体 Cyt b 的引物设计及 PCR 优化. 林业科技, 30(6): 29-32.]
- Mindell DP, Sorenson MD, Dimcheff DE. 1998. An extra nucleotide is not translated in mitochondrial ND3 of some birds and turtles [J]. *Mol Biol Evol*, **15**(11): 1568-1571.
- Noller HF. 1984. Structure of ribosomal RNA [J]. Ann Rev Biochem, 53(253): 119-162.
- Quinn MTW. 1997. Molecular Evolution of the Mitochondrial Genome [C]// Mindell DP. Avian Molecular Evolution and Systematics. SanDiego: Academic Press, **5**: 3-28.
- Quinn TW, Wilson AC. 1993. Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds [J]. J Mol Evol, 37(4): 417-425.
- Ramirez V, Savoiel P, Morais R. 1993. Molecular characterization and evolution of a duck mitochondrial genome [J]. J Mol Evol, 37(3): 296-310.
- Randi E, Lucchini V. 1998. Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris* [J]. *J Mol Evol*, 47(4): 449-462.
- Riley JH. 1930. Birds collected in Inner Mongolia, Kansu and Chili by the National Geographic Society's Central China Expediation under the direction of FR Wulsin [J]. *Proc US Nat Mus*, 77: 20-21.
- Ruokonen M, Kvist L. 2002. Structure and evolution of the avian mitochondrial control region [J]. Mol Phylogenet Evol, 23: 422-432.

- Simon C, Frati F, Bekenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a complication of conserved polymerase chain reaction primers [J]. *Ann Etomol Soc Am*, 87: 651-701.
- Singh TR, Shneor O, Huchon D. 2008. Bird mitochondrial gene order: Insight from 3 warbler mitochondrial genomes [J]. *Mol Biol Evol*, 25(3): 475-477.
- Sorenson MD, Ast JC, Dimcheff DE, Yuri T, Mindell DP. 1999. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **12**(2): 105-114.
- Sorenson MD. 2003-02-14 [2010-1-8]. Avian mtDNA Primers [M/OL]. Boston: Boston University, http://people.bu.edu/ msoren/ Bird.mt.Primers.pdf.
- Spicer GS, Dunipace L. 2004. Molecular phylogeny of songbirds (Passeriformes) inferred from mitochondrial 16S ribosomal RNA gene sequences [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **30**(2): 325-335.
- Stiege W, Glotz C, Brimacombe R. 1983. Localisation of a series of intra-RNA cross-links in the secondary and tertiary structure of 23S RNA induced by ultraviolet irradiation of *Escherichia coli* 50S ribosomal subunits [J]. *Nucleic Acids Res*, **11**(6): 1687-1706.
- Stoneking M, Soodyall H. 1996. Human evolution and the mitochondrial genome [J]. Curr Opin Genet Dev, 6(6): 731-736.
- Sun Y, Ma F, Xiao B, Zheng JJ, Yuan XD, Tang MQ, Wang L, Yu YF, Li QW. 2004. The complete mitochondrial genomes sequences of Asio flammeus and Asio otus and comparative analysis [J]. Sci Chn C: Life Sci, 47(6): 510-520.
- Tu JF, Huang YH, Liu SF, Li N. 2009. Complete sequence determination and analysis of Beijing Duck mitochondrial genome [J]. Chn J Zool, 44(2): 28-33. [涂剑锋, 黄银花, 刘三凤, 李 宁. 2009. 北京鸭线粒 体基因组全序列测定和分析. 动物学杂志, 44(2): 28-33.]
- Vawter L, Brown WM. 1993. Rates and patterns of base change in the small subunit ribosomal RNA gene [J]. *Genetics*, 134(2): 597-608.
- Vaurie C. 1959. The Birds of the Palaearctic Fauna: A Systematic Reference, Order Passeriformes[M]. London: HF & G Witherby Limited.
- Woese CR, Magrum LJ, Gupta R, Siegel RB, Stahl DA, Kop J, Crawford N, Brosius J, Gutell R, Hogan JJ, Noller HF. 1980. Secondary structure model for bacterial 16S ribosomal RNA phylogenetic, enzymatic and chemical evidence [J]. *Nucleic Acids Res*, 8(10): 2275-2293.
- Wolstenholme DR, Okimoto R, Macfarlane JL. 1994. Nucleotide correlations that suggest tertiary interactions in the TV-replacement loop-containing mitochondrial tRNAs of the nematodes, *Caenorhabditis elegans* and *Ascaris suum* [J]. *Nucleic Acids Res*, 22(20): 4300-4306.
- Yokobori S, Pääbo S. 1995. Transfer RNA editing in land snail mitochondria [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 92(22): 10432-10435.
- Zarudny N, Loudon HB. 1902. Uber Einteilung des genus Podoces in subgenera [J]. Orn Monatsb, 10: 185.
- Zimmerman RA, Thomas CL, Wower J. 1990. Structure and Function of rRNA in the Decoding Domain and at the Peptidyltransferase Center [M]// Hill WE, Dahlbert A, Garrett RA, Moore PB, Schlessinger D, Warner JR.The Ribosome: Structure, Function and Evolution. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 331-347.