

# 灵长类和反鸟动物生长激素受体的快速进化

侯振芳<sup>①②\*</sup> 李英<sup>②\*</sup> 张亚平<sup>①②†</sup>

( 云南大学省部共建生物资源保护与利用重点实验室, 昆明 650091; 中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化重点实验室, 昆明 650091. \* 同等贡献. † 联系人, zhangyp1@263.net.cn)

**摘要** 在大部分哺乳动物的进化历程中, 垂体生长激素的进化非常缓慢, 各类群之间没有很大的差别, 但在灵长类和反鸟动物的进化过程中却出现了明显的快速进化, 即所谓“插曲式”的进化模式. 我们获得了 4 种灵长类动物的生长激素受体的膜外区序列, 并结合已有的序列数据进行系统的进化分析, 结果表明, 哺乳动物生长激素受体也经历了一种类似垂体生长激素的所谓“插曲式”的进化模式. 考虑到垂体生长激素的生物学效应需要通过其受体的介导才能实现, 结合相关性分析的结果, 推测垂体生长激素受体的这种进化模式可能是与垂体生长激素发生了协同进化的结果.

**关键词** 垂体生长激素 垂体生长激素受体 协同进化

绝大多数哺乳动物的生长发育都受垂体生长激素(growth hormone, GH)的调控, GH 由脑垂体分泌并通过血液被运送到各种组织, 与靶细胞表面的生长激素受体(growth hormone receptor, GHR)结合, 进而产生一系列的信号转导反应, 从而调控相关基因的表达<sup>[1]</sup>. GHR 是细胞因子/造血因子受体超家族成员之一, 这一家族的成员都具有相似的三级结构. GHR 为单次跨膜受体, 可以分为 3 个结构域, 分别是膜外区(extracellular domain, ECD)、跨膜区(transmembrane domain, TMD)和膜内区(intracellular domain, ICD). 人的 GHR 包括 638 个氨基酸, 由第 2~10 外显子编码. 第 2 外显子的绝大部分编码信号肽(signal peptide), 第 2 外显子的后 18 个核苷酸、第 3~7 外显子以及第 8 外显子的前 9 个核苷酸共 738 个核苷酸编码膜外区, 第 8 外显子的其余部分及第 9 和 10 外显子共 1122 个核苷酸编码跨膜区和膜内区<sup>[2,3]</sup>. 其中, 编码膜外区大部分序列的第 3 到第 7 外显子是与 GH 结合、介导 GH 功能的重要部位<sup>[2]</sup>.

GHR 具有物种特异性<sup>[4,5]</sup>. 例如, 人的 GH 能与非灵长类的哺乳动物的 GHR 相互作用, 而来自于其他非灵长类的哺乳动物的 GH 却不能与人的 GHR 相互作用. 不同物种的 GH/GHR 之间虽然差别很大, 但上述的物种特异性却在很大程度上取决于一个位点, 在 GH 是第 171 位氨基酸(His/Asp), 在 GHR 是第 43 位氨基酸(Leu/Arg). 此外, GHR 的 43 位变化先于 GH 的 171 位变化, 即 GH 的变化可能是由于 GHR 的变化导致的<sup>[6]</sup>, 提示 GH 和 GHR 的进化演变之间有着紧密的相互联系.

同时, 前人关于 GH 的研究结果还表明, 在大部分哺乳动物中 GH 的进化速率都很缓慢, 在哺乳动物中的平均速率约为  $(0.22 \pm 0.03) \times 10^{-9}$  氨基酸替换数 · 位点<sup>-1</sup> · 年<sup>-1</sup>, 但在灵长类和反鸟动物中却发生了快速进化, 相当于其他类群的 20~25 倍, 这种在很慢的进化速率中插入了一些类群的快速进化的模式称为“插曲式”的进化模式<sup>[7]</sup>. 由于 GH 和 GHR 的相互作用, 一个自然的猜测是, GHR 膜外区可能也呈现与 GH 类似的进化模式, 即在大部分哺乳动物中以很慢的速率进化, 但在灵长类和反鸟动物中的进化速率却较快<sup>[4,8]</sup>.

为了研究 GHR 的进化, 探讨 GHR 与 GH 的进化之间的关系, 我们通过 PCR 扩增, 进而测定了一些物种的 GHR 膜外区序列, 并结合 GenBank 已有的哺乳动物的 GHR 序列和 GH 序列进行了系统的分析.

## 1 材料和方法

(i) 材料. 灵长类物种的 GHR 序列报道较少, 只有人(Human, *Homo sapiens*), 恒河猴(Macaque, *Macaca macaca*), 绿狒狒(Olive baboon, *Papio anubis*)和松鼠猴(Squirrel monkey, *Saimiri boliviensis*)的, 而且松鼠猴的还不完整. 为了获得更多的序列, 我们选取了另外 4 个灵长类物种, 即川金丝猴(Snub-nosed Golden Monkey, *Rhinopithecus roxellana*), 白臀叶猴(Douc Langur, *Pygathrix nemaeus*), 红吼猴(Red Howler, *Alouatta seniculus*)和白脸僧面猴(White-faced Saki, *Pithecia pithecia*)来进行 GHR 的扩增和测序. PCR 试剂和胶回收试剂盒购自 TaKaRa 公司. 测序 Kit 为 PE 公司生产的 BigDye<sup>TM</sup> Terminator

表1 本研究用引物<sup>a)</sup>

名称	正链引物(5' 3')	反链引物(5' 3')
Exon3w	GTATATCCAACCTGCCTTC	ACATCTCCTCCCAGTCTC
Exon3n	ACAGGGATGACTAATGATTTTC	TCAGTCACTCTCCAGTTAC
Exon4n	TAGCTCTGGTTTCTTAAACAGG	CATTGATTGCATAAAATCACA
Exon5w	TAGGCAGAAGTACCAAACGG	TACAACATGATTTTTGGAAC
Exon5n	TACAACATGATTTTTGGAAC	GCTTCCCCATTIATTTAGTC
Exon6w	AAGTACTCTCTTATAAAGT	GTAAACTGGACAGCAAG
Exon6n	ACTAATGCTCTGTTGAAT	GTGTAAGGTGTAGCAACATC
Exon7n	AGTGTTTCATTGGCATTGAGT	TGGACAACACACTACCAGTG

a) w 为外引物, 离目的片段较远, n 为内引物, 离目的片段较近. 其中白脸僧面猴的第 3~7 外显子, 叶猴的第 4 和 7 外显子, 川金丝猴的第 3, 4, 6 和 7 外显子, 红吼猴的第 3~5 和 7 外显子是用引物 n 获得 PCR 产物的; 而叶猴的第 3, 5 和 6 外显子, 川金丝猴的第 5 外显子以及红吼猴的第 6 外显子则需要用 w 和 n 两对引物进行嵌套 PCR 才能获得

Kit v 2.0. 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成.

(ii) 引物设计. 根据人和小鼠的 GHR 序列设计了 8 对引物(表 1)来对灵长类的第 3~7 外显子进行 PCR 扩增.

(iii) 生长激素受体基因膜外区序列的扩增和测序. PCR 反应的总体积为 50  $\mu$ L, 含 40 mmol/L dNTP, 10 pmol/L 引物, 5  $\mu$ L 10 $\times$ PCR 缓冲液, 0.25 U *TaqE*, 20mmol/L BSA, 20 ng 基因组 DNA, 36  $\mu$ L 灭菌的去离子水. PCR 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C, 3 min; 94  $^{\circ}$ C, 1 min, 55~60  $^{\circ}$ C (依照不同模板不同引物有所变化), 1 min, 72  $^{\circ}$ C, 1 min, 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C, 10 min. 将 PCR 扩增产物用 PCR 回收试剂盒进行回收. 然后将回收后的产物进行测序反应, 反应体系为: 3~5  $\mu$ L 回收 DNA, 2  $\mu$ L Kit, 1  $\mu$ L 引物. 测序反应条件为: 94  $^{\circ}$ C, 10 s, 50  $^{\circ}$ C, 5 s, 60  $^{\circ}$ C, 4 min, 25 个循环. 最后将测序产物进行核苷酸序列测序.

(iv) GHR 膜外区序列的串接. 首先将测序获得的序列用 Seqman<sup>[9]</sup>进行正反链拼接以得到正确的序列, 然后用 Clustal W<sup>[10]</sup>软件把 5 个不同的外显子分别进行比对, 接着用 BioEdit<sup>[11]</sup>剪切掉非编码区序列; 然后分别将 4 个物种按照从 e3 到 e7 的顺序将序列串接起来形成完整的 GHR 膜外区的 cDNA 序列. 从人的序列可以知道 GHR 的第 3 外显子开始于第 71 位核苷酸, 而第 7 外显子终止于第 784 位, 为了避免分析 GHR 膜外区的氨基酸序列时出现的相位的差异, 我们在数据分析时截去了第 2 外显子的前 2 个和第 7 外显子的最后 1 个核苷酸.

(v) GHR 膜外区及其膜内区/跨膜区氨基酸序列的比对和进化分析. 首先从 GenBank 中搜寻获得哺乳动物和鸟类的 GHR 序列, 然后从 GHR 序列中选取

膜外区的序列与本实验获得的膜外区序列一起用 ClustalW<sup>[10]</sup>进行氨基酸序列的比对; 再选膜内和跨膜区的序列进行氨基酸序列的比对分析.

Wallis<sup>[7]</sup>在对 GH 的进化分析中采用了星状系统发育树, 即假设哺乳动物各大类群都是在距今大约 75 Myr 之前同时分化出来的<sup>[12]</sup>. 为了便于和 Wallis<sup>[7]</sup>的结果相比较, 我们同样采用这一假设, 把由 Mega2.1<sup>[13]</sup>获得的膜外区和膜内区/跨膜区的系统发育树的拓扑结构在 TreeView 中进行编辑, 从而获得以短尾灰负鼠、鸡和鸽子为外群的星状系统发育树. 树中所有枝上的氨基酸的 P 距离由 PAML 中的 codeml<sup>[14]</sup>计算得到, 并依据各物种和类群间的分歧时间计算相应的氨基酸替换速率. 最后, 为了进一步量化 GH 与 GHR 进化的相关性, 我们从 GenBank 中搜寻了相应的 GH 的序列, 并对 GH, GHR 膜外区以及 GHR 跨膜/膜内区的氨基酸 P 距离矩阵做皮耳森相关性分析(Pearson's correlation coefficient)<sup>[15]</sup>, 皮耳森相关性分析所使用的软件为 SPSS 10.0.1<sup>[16]</sup>.

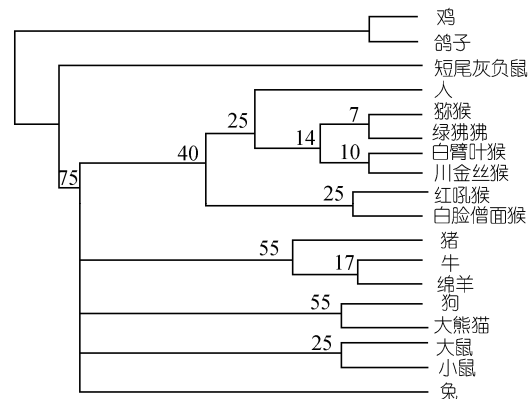


图1 分歧时间(百万年前)

(vi) 分歧时间. 为了便于和 Wallis<sup>[7]</sup>的结果相比较, 我们尽量采用与其一致的分歧时间. 其他物种或类群的分化时间如下(图 1): 新大陆猴(New World Monkey)和旧大陆猴(Old World Monkey): 40 Myr<sup>[17]</sup>; 人(Human)和旧大陆猴(Old World Monkey): 25 Myr<sup>[17]</sup>; 伶猴属(Colobini)和吼猴属(Cercopithecini): 14 Myr<sup>[17]</sup>; 猕猴属(Macaque)和狒狒属(Papio/Olive baboon): 7 Myr<sup>[17]</sup>; 仰鼻猴属(Rhinopithecus/Snub-nosed golden monkey)和白臀叶猴属(Presbytis/Doulangur): 10 Myr<sup>[17]</sup>; 红吼猴(Red howler)和白脸僧面猴(White-faced saki): 25 Myr<sup>[17]</sup>; 牛(Cow)和羊(Sheep): 17 Myr<sup>[18]</sup>; 猪(Pig)和反刍动物(Ruminants): 55 Myr<sup>[18]</sup>; 小鼠(Mouse)和大鼠(Rat): 25 Myr<sup>[19]</sup>; 狗(Dog)和大熊猫(Panda): 55 Myr<sup>[20]</sup>.

## 2 结果和分析

图 2 和图 3 分别表示 GHR 膜外区和跨膜/膜内区氨基酸序列的比对结果.

图 4 和图 5 分别表示 GHR 膜外区和跨膜/膜内区序列的氨基酸替换速率. 综合图 4 和图 5 我们可以看出, 哺乳动物中大部分类群的 GHR 进化速率( $\times 10^{-9}$  替换数/氨基酸位点 $\cdot$ 年 $^{-1}$ )都较慢(在 0~1 之间), 但在灵长类(Branch A/a)、啮齿类(Branch C/c)和反刍动物(Branch B/b)的形成过程中, GHR 的氨基酸替换速率相对于其他类群明显偏高, 相当于其他类群的 2~5 倍. 尽管这一速率差异与 Wallis<sup>[7]</sup>关于 GH 的相比要小得多(GH 在灵长类和反刍动物中的进化速率相当于其他类群的 20~50 倍), 但进化模式是基本一致的, 这提示在 GH 和 GHR 的进化过程中可能有协同进化发生.

通过比较图 4 和图 5, 我们进一步发现多数类群的 GHR 膜外区和跨膜/膜内区的进化速率较接近(膜外区在 0~1 之间, 跨膜/膜内区在 0.5~1 之间); 在 Branch C/c 以及 Branch D/d 和 Branch E/e, 虽然 GHR 的绝对进化速率较快, 但其膜外区和跨膜/膜内区的相对进化速率也几乎是一致的(膜外区分别为 4.16, 1.36 和 2.60, 跨膜/膜内区分别为 4.12, 1.58 和 1.89); 而在 Branch A/a 和 Branch B/b, GHR 膜外区的进化速率却相当于跨膜/膜内区的 2~3 倍之多, 说明在本来应该更加保守的膜外区<sup>[21]</sup>的进化速率相对于跨膜/膜内区进化得更快, 提示 GHR 与 GH 的相关性主要发生在和 GH 结合的膜外区部分, 这进一步支持 GHR 膜外区的显著的快速进化可能是与 GH 协同进化的

结果.

对 GH 和 GHR 的氨基酸 P 距离矩阵做皮耳森相关性分析的结果显示(表 2), GH 和 GHR 膜外区的相关系数为 0.498( $P < 0.01$ ), GH 和 GHR 跨膜/膜内区的相关系数为 0.369( $P < 0.01$ ), GHR 膜外区与 GHR 跨膜/膜内区的相关系数为 0.886( $P < 0.01$ ), 而没有相互作用的配体和受体的相关系数都不超过 0.147( $P < 0.01$ ). 尽管 GH 和 GHR 膜外区以及 GHR 跨膜/膜内区的相关系数值都不是特别高, 但和不具相关性的对照值相比, 已经显示了较好的相关性<sup>[22]</sup>, 这进一步提示 GHR 和 GH 可能存在协同进化关系.

## 3 讨论

由于 GH 的生物学效应要通过 GHR 的介导才能实现, 而 GH 与 GHR 直接作用的区域是 GHR 的膜外区, 因此, 如果 GHR 与 GH 发生了协同进化, 那么我们应该能检测到 GHR 和 GH 有类似的进化模式, 且这种模式在 GHR 的膜外区应该会更加明显. 我们的结果很清楚的验证了这一假设, 同时皮耳森相关性检验的结果也进一步支持了 GHR 与 GH 的协同进化关系, 这使得我们更加确信发生在灵长类和反刍动物的 GHR 的快速进化很有可能是与 GH 发生了协同进化的结果.

此外我们还发现, 在灵长类内部的 Branch F/f 和 Branch G/g, 尽管其膜外区发生快速进化的程度也更明显(相当于跨膜/膜内区的 2~3 倍), 但因为没有相应的 GH 的数据, 我们无法对其协同进化关系作出判断. 在 Branch H, Branch I, Branch J 和 Branch K, 进化速率在也相当的快, 但同样, 因为没有对应的 GHR 膜内区和跨膜区的序列以及相应的 GH 的数据, 在此不做讨论.

一般认为快速进化发生的动力机制有 2 种: 一种是正选择的作用, 一种是纯化选择压力的放松<sup>[23,24]</sup>. 从图 4 和图 5 的比较中我们可以看出, GHR 在灵长类和反刍动物的形成过程中发生了快速进化, 但在之后, GHR 的进化速率又明显减慢, 纯化选择压力放松的作用无法解释这种现象, 因此认为纯化选择压力放松可能不是主要的因素<sup>[7]</sup>. 如果快速进化是由于正选择作用的结果, 考虑到 GHR 和 GH 的相互作用, 以及内外环境变化对于 GHR 的影响, 就可以解释速度加快之后又突然见减慢这一现象. 因此我们认为, 正选择作用可能是发生在灵长类和反刍动物的 GHR 的快速进化的主要因素.

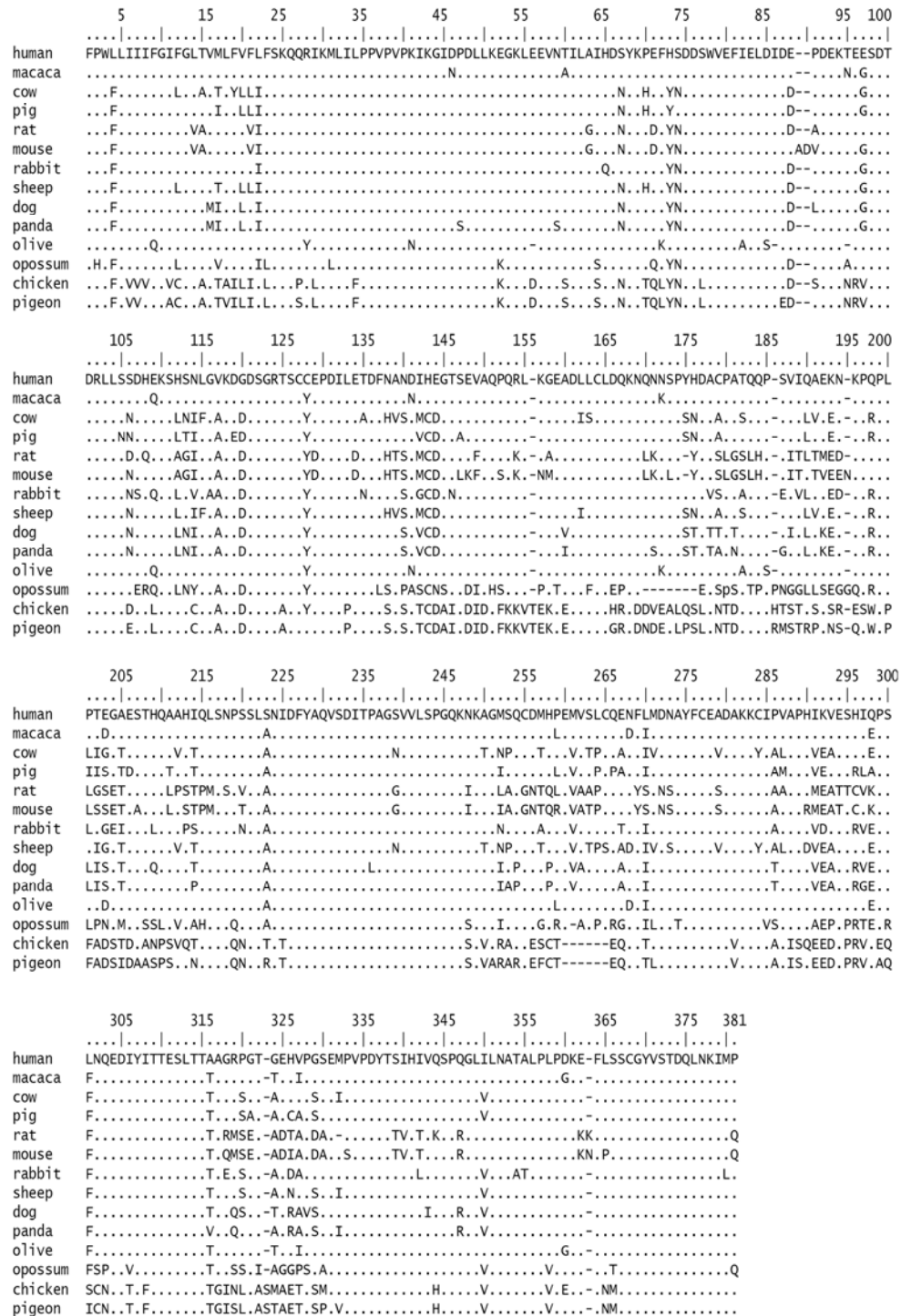


图2 哺乳动物和鸟类生长激素受体膜外区的氨基酸序列比对

比对所用 GHR 的序列在 GenBank 中的序列号分别为: 人(human)GHR, NM\_000163; 猕猴(macaque)GHR, AF209081; 牛(cow)GHR, NM\_176608; 猪(pig)GHR, AF238492; 大鼠(rat)GHR, NM\_017094; 小鼠(mouse)GHR, NM\_008117; 兔(rabbit)GHR, AF015252; 绵羊(sheep)GHR, M82912; 狗(dog)GHR, NM\_001003123; 大熊猫(panda)GHR, AF395535; 绿狒狒(olive/olive baboon)GHR, AF150751; 短尾灰负鼠(opossum/gray short-tailed opossum)GHR, AF238491; 鸡(chicken)GHR, NM\_001001293; 鸽子(pigeon)GHR, U20353. 本文所提交 GHR 序列在 GenBank 中的序列号为: 白臀叶猴(douc/douc langur)GHR e3~e7, AY958705, AY958709, AY958713, AY958717, AY958721; 川金丝猴(snub/snub-nosed golden monkey)GHR e3~e7, AY958706, AY958710, AY958714, AY958718, AY958722; 红吼猴(howler/red howler)GHR e3~e7, AY958707, AY958711, AY958715, AY958719, AY958723; 白脸僧面猴(saki/white-faced saki)GHR e3~e7, AY958708, AY958712, AY958716, AY958720, AY958724. 下同

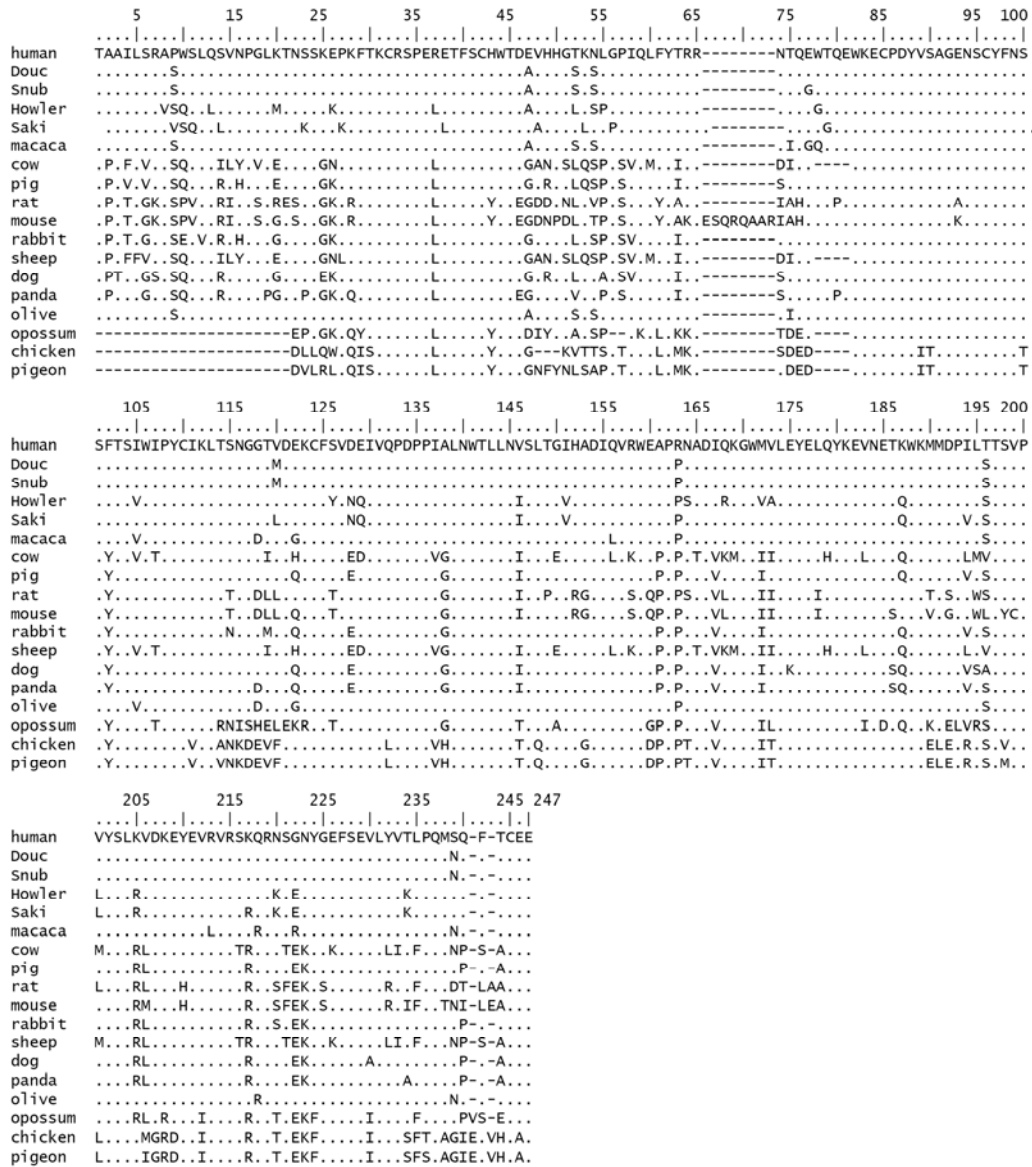


图 3 哺乳动物和鸟类生长激素受体跨膜区和膜内区的氨基酸序列比对

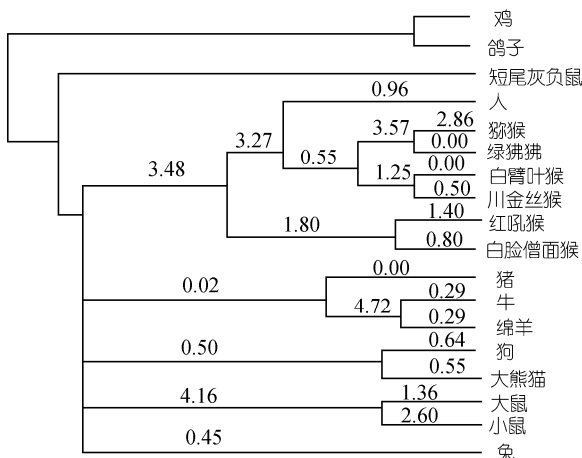


图 4 哺乳动物和鸟类生长激素受体膜外区的氨基酸替换速率( $\times 10^{-9}$  替换数·氨基酸位点 $^{-1}$ ·年 $^{-1}$ )

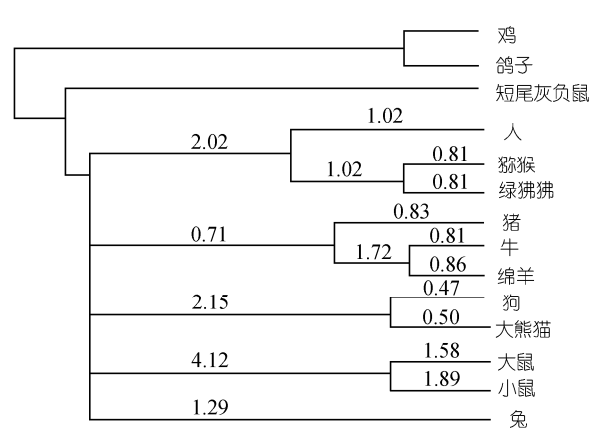


图 5 哺乳动物和鸟类生长激素受体跨膜区和膜内区的氨基酸替换速率( $\times 10^{-9}$  替换数·氨基酸位点 $^{-1}$ ·年 $^{-1}$ )

表2 皮耳森相关系数<sup>a)</sup>

检测对和对照	相关系数 <i>r</i>	双尾检测 <i>P</i>
GH 和 GHR 膜外区	0.498	0.000
对照	0.001	0.994
GH 和 GHR 其他区	0.369	0.006
对照	0.121	0.380
GHR 膜外区和其他区	0.886	0.000
对照	0.147	0.284

a) *r* 表示皮耳森相关系数, *P* 表示相关系数的显著性. 对照为从相应的比较对中随机选取的确定没有相关性的受体与配体对. 由于 GenBank 中没有绿狒狒、短尾灰负鼠和鸽子的 GH 序列, 我们仅使用除这 3 个物种以外的序列进行皮耳森相关系数的计算. 计算所用的 GH 序列在 GenBank 中的序列号分别为: 人(human)GH, BC075012; 猕猴(macaque)GH, L16556; 牛(cow)GH, V00111; 猪(pig)GH, M22761; 大鼠(rat)GH, U62779; 小鼠(mouse)GH, X02891; 兔(rabbit)GH, Z38127; 绵羊(sheep)GH, S50877; 狗(dog)GH, AF069071; 大熊猫(panda)GH, AF540936; 鸡(chicken)GH, M35609. 对应的 GHR 的序列号见图 2 注

根据本研究的结果, 我们将发生在灵长类这一谱系上的快速进化界定在了从灵长类产生到新旧大陆猴分化之前的时间之内, 而另一篇关于 GH 的研究结果<sup>[25]</sup>则提示 GH 在这一谱系上发生快速进化的时间是在新旧大陆猴分化之前、原始猴和新大陆猴分化之后. 在本研究中我们没能获得原始猴的 GHR 序列, 因此无法判断 GHR 的快速进化是否也发生在原始猴和新大陆猴分化之后. 同样的原因也许会导致我们在计算氨基酸的替换速率的时候因为过大的估计了快速进化发生的时间而使得所估计的替换速率偏小.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号: ?)和云南省科技厅(批准号: )资助项目.

参 考 文 献

- 1 Miller W L, Eberhardt N L. Structure and evolution of the growth hormone gene family. *Endocr Rev*, 1983, 4: 97~130
- 2 Leung D W, Spencer S A, Cachianes G, et al. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning and expression. *Nature*, 1987, 330: 537~543
- 3 Zogopoulos G, Nathanielsz P, Hendy G N, et al. The baboon: A model for the study of primate growth hormone receptor gene expression during development. *J Mol Endocrinol*, 1999, 23: 67~75
- 4 Souza S C, Frick G P, Wang X, et al. A single arginine residue determines species specificity of the human growth hormone receptor. *Proc Nat Acad Sic USA*, 1995, 92: 959~963
- 5 Behncken S N, Rowlinson S W, Rowland J E, et al. Asparate 171 is the major primare-specific determinant of human growth hormone. Engineering porcine growth hormone to activate the human receptor. *J Biol Chem*, 1997, 272: 27077~27083
- 6 Liu J-C, Makova K D, Adkins R M, et al. Episodic evolution of growth hormone in primates and emergence of the species specificity of human growth hormone receptor. *Mol Biol Evol*, 2001, 18(6): 945~953

- 7 Wallis M. Variable evolutionary rates in the molecular evolution of mammalian growth hormones. *J Mol Evol*, 1994, 38: 619~627
- 8 Forsyth I A, Wallis M. Growth Hormone and Prolactine: Molecular and functional evolution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2002, 17(3): 291~312
- 9 Schnabel G, Schnabel E L, Jones A L. Characterization of Ribosomal DNA from *Venturia inaequalis* and Its Phylogenetic Relationship to rDNA from Other Tree-Fruit venturia Species. *Phytopathology*, 1998, 89: 100~108
- 10 Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The Clustal X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nuc Acids Res*, 1997, 24: 4876~4882
- 11 HALL T A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nuc Acids Symp Ser*, 1999, 41: 95~98
- 12 Graur D. Molecular phylogeny and the higher classification of eutherian mammals. *Trends Ecol Evol*, 1993, 8: 141~147
- 13 Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA2: Molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 2001, 17(12): 1244~1245
- 14 Yang Z. PAML, a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood. *CABIOS*, 1997, 13: 555~556
- 15 Press W H, Teukolsky S A, Vetterling W T, et al. *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, 1988
- 16 SPSS Base 10.0 for Windows User's Guide. SPSS Inc., Chicago IL, 1999(建议作脚注)
- 17 Goodman M, Porter C A, Czelusniak J, et al. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Mol Pylogenet Evol*, 1998, 9(3): 585~598
- 18 Novacek M J. Information for molecular studies from anatomical and fossil evidence on higher eutherian phylogeny. In: (作者名?)ed. *Goodman Med Macromolecular Sequences in Systematic and Evolutionary Biology*. New York: Plenum Press, 1982, 3~41
- 19 O'hUigin C, Li W H. The molecular clock ticks regularly in murid rodents and hamsters. *J Mol Evol*, 1992, 35: 377~384
- 20 Wayne R K, Valkenburgh B V, O'Brien S J. Molecular distance and divergence timein carnivores and primates. *Mol Bio Evol*, 1991, 83: 297~319
- 21 Feysot B, Goffin V, Edery M, et al. Prolactin (PRL) and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*, 1998, 19(3): 225~268
- 22 Goh C S, Bogan A A, Joachimiak Marcin, et al. Co-evolution of Proteins with their Interaction Partners. *J Mol Biol*, 2000, 299: 283~293
- 23 Kimura M. *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge: Cambridge University Press, 1983.
- 24 Li W H, Gojobori T. Rapid evolution of goat and sheep globin genes following gene duplication. *Mol Biol Evol*, 1983, 1: 94~108
- 25 Wallis O C, Zhang Y P, Wallis M. Molecular evolution of GH in primates: Characterization of the GH genes from slow loris and marmoset defines an episode of rapid evolutionary change. *J Mol Endocrinol*, 2001, 26: 249~258

(2005-01-13 收稿, 2005-03-21 收修改稿)