

综 述

动物线粒体 DNA 研究及在鱼类种群遗传结构研究中的应用

THE STUDY OF ANIMAL MITOCHONDRIAL DNA AND ITS APPLICATION TO THE STUDY ON FISH POPULATION GENETIC STRUCTURE

夏德全 王文君

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081)

XIA De-Quan, WANG Wen-Jun

(Freshwater Fisheries Research Center, CAFS, Wuxi 214081)

关键词 动物线粒体 DNA, 限制性酶切技术, 鱼类种群遗传结构

KEYWORDS Animal mitochondrial DNA, Enzyme restriction technique, Fish population genetic structure

mtDNA 是核外遗传物质, 呈母系遗传 [Bresch 1984]。由于其结构简单, 易于分离, 进化较快等特点 [Brown 1974], 在动植物种群遗传结构分析、物种及品系鉴定方面得到了广泛的应用。线粒体 DNA 酶切技术在国外已被遗传学家用于鱼类种群遗传结构及品种鉴定的研究 [Carvalho 和 Hauser 1994]。国内研究者对哺乳类动物 mtDNA 的研究做了许多工作 [张亚平等 1989; 兰宏等 1993], 鱼类 mtDNA 的研究起步较晚, 对其酶切图谱、基因定位 [申宗候等 1993]、片段克隆 [刘子铎等 1993] 和结构分析 [王钢锋和吴乃虎 1991] 已有一些研究, 而且更多在于 mtDNA 限制性内切酶酶谱分析, 涉及到应用于鱼类种群遗传结构研究报道极少。本文叙述动物 mtDNA 的结构、特点和限制性酶切原理, 最后分析了该技术在鱼类种群遗传结构研究中的应用。

1 动物 mtDNA 的结构

动物 mtDNA 是一种环状、共价闭合的超螺旋分子 [Britten 和 Kohne 1968], 分子量在 1×10^7 道尔顿左右, 分子大小约为 17kb, 处于限制性内切酶的分析范围。mtDNA 复制方式相对简单, 结构基因排列紧凑, 几乎没有间隔顺序和内含子 [Anderson 等 1981、1982, Bibb 1981], 可编码两种核糖体 RNA 分子, 22 种 tRNA 分子和 13 种 mRNA 分子。绝大多数的蛋白质编码基因及两个 rRNA 基因模板均在 H 链上, 由于其基因组结构相对比较简单和稳定, 因此便于结果分析 [Brown 1974]。

2 动物 mtDNA 的特点

2.1 无组织特异性

在 mtDNA 研究中,对同一个体的肾、心、肝、胎盘和皮肤等不同组织的比较表明, mtDNA 的结构没有组织特异性[Awise 和 Lansman 1983, Denao 1981, Fransisco 1979]。这就有利于用限制性内切酶进行分析。不同组织 mtDNA 反映在含量和断裂的程度有所不同,肝脏提取 mtDNA 最容易,新鲜组织提取 mtDNA 受核 DNA 污染少,易纯化。

2.2 母系遗传

高等动物的 mtDNA 一般都是母系遗传的。虽然在某些高等生物的受精过程中,精子可以全部进入卵细胞,但精子只含有 100 个左右的 mtDNA 拷贝,而卵细胞内却含有 108 个以上的 mtDNA 分子[Michaclis 1982]。因此,来自父系的 mtDNA 并不对遗传作出重要贡献[Bresch 1984]。而且,用限制性酶切技术不可能检测到低于总量 1%~5% 的 mtDNA 分子[Brown 1974]。Lansman[1983]用放射性自显影技术证明,在高等动物中,父系 mtDNA 所占比例不超过 0.004%。由于严格的母系遗传,一个个体就可以代表一个母系集团,在进行酶切分析时,通过几个随机的动物个体样本就可以了解一个群体的遗传结构[Bresch 1984],这也可减少供试动物的数量。

2.3 进化速度快

mtDNA 是单拷贝核 DNA 的 5~10 倍[Brown 1983]。群体内变异大,近缘种间解析的灵敏度很高。其进化速度快的原因:(1)选择压力小。细胞核承担了有关细胞的生长发育和新陈代谢的绝大部分功能,线粒体只是细胞内分子进行呼吸的一个细胞器。核 DNA 承担了绝大部分的选择压力,对 mtDNA 的选择压力相对较小,因而其突变容易固定下来。(2)受诱变的影响大。mtDNA 没有与之结合的核蛋白,在某种意义上说,mtDNA 是裸露于诱变剂之中。因为线粒体作为氧化磷酸化和许多代谢反应的场所,自由基和一些代谢中间物如烷化剂,就在其中积累。这些物质都是强诱变剂,可以使 mtDNA 的突变率增高。(3)代谢增补时间短。由于代谢过程中被损伤与破坏的线粒体需要不断补充,mtDNA 表现快速增殖,为碱基的突变提供了更多的机会,使突变能不断传递下去。(4)复制无校对修复。脊椎动物 mtDNA 复制酶 α -多聚酶不具备校对能力[Ciarrocechi 1979],且线粒体缺乏修复机制[Clayton 1984; Lansman 和 Clayton 1975]。实际上在已发现的脊椎动物的 mtDNA 中,每 1 000 个脱氧核苷酸中就掺有 1~2 个随机分布的核糖核酸[Brennicke 和 Clayton 1981]。

2.4 提取方法简单,结果重复性高

每个细胞中 mtDNA 有 1 000~10 000 个拷贝,因其分子量小,又具有线粒体双层膜的保护,mtDNA 的提取相对核 DNA 来说容易得多,不需繁复的保护步骤就可获得完整的 mtDNA 分子。mtDNA 的提取方法主要有氯化铯超速离心法、柱层析法、DNase 法及碱变法[Britten 和 Kohno 1968; Borst 和 Grivell 1981; Clary 和 Wolstenholme 1985; 李筱平 1986; Welter 等 1991; 王文和施立明 1993]。

利用 mtDNA 限制片段长度多态技术(RFLP)可研究种内及种间的系统发生和亲缘关系。根据种内或种间 mtDNA 的歧异程度计算遗传距离,可推算出群体间的亲缘关系,分歧年代和演化过程。利用 mtDNA 研究种群的亲缘关系可为形态学上难以确定的分类关系提供有价值的线索,而且在种内关系的研究中,mtDNA 多态分析尤为灵敏。

3 mtDNA 限制性酶切原理

mtDNA 限制性酶切技术是利用识别特定碱基序列的限制性内切酶对 mtDNA 进行单酶消化、双酶消化

或不完全酶消化,琼脂糖凝胶电泳将各消化片段分开,测定各片段的迁移距离,计算各片段的大小。分析结果可确定限制酶在 mtDNA 上的消化位点的位置,构建出该 mtDNA 的限制性酶切图谱。

各种动物的 mtDNA 的遗传学和分子生物学的研究表明,尽管高等动物的 mtDNA 的基因组成在进化上是保守的,但动物 mtDNA 的一级结构却存在大量的趋异[Avise 和 Vruenhoek 1987]。因此不同物种的 mtDNA 各有其特异性限制酶切图谱,用这种方法可以比较种内及种间的差异,且具有快速、经济和可靠等优点[Brown 1985]。

构建某种动物的 mtDNA 限制性酶切图谱,就可以将它与其它动物的已构建的图谱加以比较,并根据它们限制性位点的共享度计算其遗传距离。用于比较的两种动物 mtDNA 所共享的位点越多,两者 mtDNA 序列的相似性就越高,它们的亲缘关系也就越近。

4 mtDNA 限制性酶切技术在鱼类种群遗传结构研究中的应用

不同渔业生产活动对鱼类群体的遗传结构产生不同程度的影响。比如人工养殖的鱼类,由于大部分苗种是由有限繁育群体产生的,存在着不同程度的近交现象而导致近交衰退,遗传瓶颈(Genetic neck)和遗传漂变(Genetic drift)将使鱼类基因库损失大量的遗传变异。为增加某些濒危鱼类(如中华鲟)的种群数量而进行人工增殖放流时,将可能增加那些对养殖条件最适应的基因型频率。而对野生种群的遗传结构的“纯洁性”造成污染。过度捕捞及由于人类活动而造成的栖息环境的改变将导致种群的遗传结构的变化。上述这些变化如不经测定无法察觉,需要一套有效的定性和定量的遗传学方法。目前,运用 mtDNA 限制性酶切技术,已在海洋鱼类及淡水鱼类群体遗传结构研究方面取得了一些有益的结果。

鱼类群体遗传学研究中采用 mtDNA 限制性酶切片分析技术有以下几个优点:(1)脊椎动物 mtDNA 是一种大小约为 17kb 的共价闭环分子。mtDNA 共编码 37 种基因,这些基因紧密地排列在一起,其间不但没有内含子,有些编码序列甚至出现重叠的情形[Ferris 和 Whitt 1983]。因此,mtDNA 虽仅占真核细胞 DNA 总量的 1%,但能够提供有关群体遗传结构的丰富的信息。(2)mtDNA 具有严格的母系遗传方式,一个个体就能代表一个母系集团,只需少量材料就可反映群体的遗传结构,因而便于进行群体分析,同时严格的母系遗传方式又使 mtDNA 成为可靠的分子遗传标记。(3)虽然高等动物 mtDNA 分子的大小、功能和基因的排列顺序高度保守,其基本序列的进化速度却是单拷贝核 DNA 的 5~10 倍[Avise 和 Lansman 1983],因而能为群体间和近缘种间的细微差别提供一个放大的视野。

国外有关这方面的研究主要为海洋鱼类,Smolenski 等[1993]分析了南半球大西洋胸棘鱼(*Hoplostethus atlanticus*)群体基因型的同源性。当用识别六碱基对的限制酶分析时未发现东南澳洲(Southeastern Australian)海域存在大西洋胸棘鱼的生殖隔离群体。而用识别三碱基对的酶分析时发现新南威尔士州(New South Wales)海域的鱼同南澳洲(South Australian)和塔斯马尼亚岛(Tasmanian)(澳大利亚一地区)海域的鱼存在至少是部分的基因型分离。这为新南威尔士州海域大西洋胸棘鱼亚群的存在提供了生物学依据。用识别四碱基的酶对东南康佳(Southeastern Kangarw)岛屿海域不同年份大西洋胸棘鱼样本分析时亦发现基因型存在差异。

Camper 等[1993]对墨西哥湾的紫红笛鲷(*Lutjanus campechanus*)群体的 mtDNA 分析后发现,虽检出 29 种基因型,但以其中一种为主。不同地点来源的群体基因型差异不明显。这些结果符合以前提出的假设,即墨西哥湾紫红笛鲷形成单一的随机交配群体。这种基因的同源性表明,在墨西哥湾紫红笛鲷群体间存在广泛的基因渐渗。同样的现象也发现于太平洋和大西洋的鲉(*Katsuwonus pelamis*)[Gray 1982]。鲉中存在广泛的 mtDNA 多态,但却没有任何一种类型分布于特定区域,即两大洋的鲉不存在 mtDNA 的序列趋异,这提示两大洋的群体间近期或现在存在广泛的遗传接触,有足够的遗传交换发生,以致群体间未见有明显的遗传差异。

Gyllensten 和 Erlich[1985]对几种鲑科鱼类的 mtDNA 的研究表明:(1)自然群体中拥有中等水平的 mtDNA 变异;(2)在养殖群体中可能发生遗传多样性减少的现象;(3)基于 mtDNA 酶切片数据而得到的种系发生关系,在很大程度上与前人的结论相吻合。

国外有关淡水鱼类的报道则较为鲜见。Genette 等[1993]对加拿大魁北克地区 James 流域和 St. Lawrence 流域的黄鲟(*Acipenser fulvescens*)mtDNA 进行限制酶片段分析后发现,James 流域的黄鲟 mtDNA 异质性较大,

而 St. Lawrence 流域异质性较小, 这可能因为后者受到过度捕捞和人们定居于此而造成的人为影响较大有关。

相比之下, 国内类似的工作起步较晚, 迄今只对草鱼、乌鱼、团头鲂、银鲫、白鲫、鲫、鲤、鲢、鳙和长吻、鲇、黄颡鱼、鳊鲴和黄鲮等 10 多种淡水鱼 mtDNA 作了限制性内切酶的酶切分析, 且都限于少数几种酶的酶切图谱构建, 在应用于鱼类种群遗传结构研究方面还未开展。

已报道的鱼类 mtDNA 分子大小见表 1。

表 1 已报道鱼类 mtDNA 分子大小

Tab. 1 Reported molecular lengths of the mtDNA in fish species

鱼 类	分子大小(bp)	参考文献
蓝鳃太阳鱼(<i>Lepomis macrochirus</i>)	16, 200	Avise 等[1984]
鳊(<i>Katsuwonus pelamis</i>)	16, 900	Graves 等[1984]
大鳞大麻哈鱼(<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	16, 670 16, 500±500	Berg 和 Ferris[1984] Thomas 等[1986]
虹鳟(<i>Salmo gairdneri</i>)	16, 670 16, 500±500	Berg 和 Ferris[1984] Thomas 等[1986]
鳟鱼(<i>Salmo trutta</i>)	16, 670	Berg 和 Ferris[1984]
美洲红点鲑(<i>Salvelinus fontinalis</i>)	16, 670	Berg 和 Ferris[1984]
斑点鲈(<i>Scorpaena guttata</i>)	19, 500±300	Beckwitt 和 Petruska[1985]
平鲈(<i>Sebastes atrovirens</i>)	17, 300±400	Beckwitt 和 Petruska[1985]
铜平鲈(<i>Sebastes caurinus</i>)	17, 400±400	Beckwitt 和 Petruska[1985]
黑点平鲈(<i>Sebastes melanostictus</i>)	17, 200±400	Beckwitt 和 Petruska[1985]
蓝平鲈(<i>Sebastes mystinus</i>)	16, 900±400	Beckwitt 和 Petruska[1985]
日本鲭(<i>Scomber japonicus</i>)	17, 200±400	Beckwitt 和 Petruska[1985]
大西洋鲑(<i>Salmo salar</i>)	16, 700	Birt 等[1986]
银大麻哈鱼(<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	16, 500±500	Thomas 等[1986]
红大麻哈鱼(<i>Oncorhynchus nerka</i>)	16, 500±500	Thomas 等[1986]
细鳞大麻哈鱼(<i>Oncorhynchus gorbusha</i>)	16, 500±500	Thomas 等[1986]
大麻哈鱼(<i>Oncorhynchus keta</i>)	16, 500±500	Thomas 等[1986]
大湖红点鲑(<i>Salvelinus namaycush</i>)	16, 860±200	Grewé 和 Hebert[1987]
加拿大梭鲈(<i>Stizostedion canadense</i>)	16, 700±260	Billington 和 Hebert[1986]
暗斑梭鲈(<i>Stizostedion lucioperca</i>)	16, 740±280	Billington 和 Hebert[1986]
大眼梭鲈(<i>Stizostedion vitreum</i>)	16, 860±160 18, 520±110 18, 540±160	Billington 和 Hebert[1988] Billington 和 Hebert[1988] Billington 和 Hebert[1988]
草鱼(<i>Ctenopharyngodon idellus</i>)	16, 300 17, 169±70	吴乃虎等[1991] 崔建勋等[1992]
乌鳢(<i>Ophiocephalus argus</i>)	16, 200 17, 200	刘子铎等[1993] 张四明和龙 华[1991]
团头鲂(<i>Megalobrama amblycephala</i> Yih)	16, 600 16, 210	申宗候等[1993] 张四明和龙 华[1996]
银鲫(<i>Carassius auratus gibelio</i>)	15, 990±90	张四明等[1992]
白鲫(<i>Carassius auratus cuvieri</i>)	16, 600±130	张四明等[1992]
鲫(<i>Carassius auratus auratus</i>)	15, 540±140	张四明等[1992]
鲫(<i>Carassius auratus</i>)	15, 210 16, 100±220	陈关君等[1984] Beckwitt 和 Aoyagi[1987]
鲤(<i>Cyprinus carpio</i>)	16, 990 16, 400	陈关君等[1984] 吴乃虎等[1991]
鲢(<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)	16, 820±90 15, 930±220	崔建勋等[1992] 宋 平等[1994]

续表

鱼 类	分子大小 (bp)	参考文献
鳙 (<i>Aristichthys nobilis</i>)	16, 200 ± 90 16, 400 16, 650 ± 150	崔建勋等[1992] 樊连春等[1994] 宋平等[1994]
长吻 (<i>Leiocassis longirostris</i>)	16, 690	戴建华等[1994a]
鲇 (<i>Silurus asotus</i>)	17, 540	戴建华等[1994b]
黄颡鱼 (<i>Pseudobagrus fulvidraco</i>)	16, 420	戴建华等[1994c]
鳗鲡 (<i>Anguilla japonica</i>)	16, 440	戴建华等[1994d]
黄鳝 (<i>Monopterus albus</i>)	16, 270	戴建华和殷文莉[1994e]

参 考 文 献

- 王 文, 施立明. 1993. 一种改进的动物线粒体 DNA 提取方法. 动物学研究, 14(2): 197~ 198.
- 王钢锋, 吴乃虎. 1991. 鲤鱼线粒体 URFA6L 基因和 tRNA^{Lys}基因的结构分析. 中国科学(B 辑), 6: 609~ 614.
- 申宗侯, 李凌云, 王鄂生等. 1993. 武昌鱼肝线粒体 DNA 限制性内切酶酶切图谱与 12S rRNA 基因的初步定位. 水生生物学报, 17(2): 174~ 179.
- 兰 宏, 熊习昆, 林世英等. 1993. 云南黄牛和大额牛的 mtDNA 多态性研究. 遗传学报, 20(5): 419~ 425.
- 李筱平. 1986. 动物线粒体 DNA 的快速制备及鉴定. 遗传, (1): 44~ 46.
- 刘子铎, 申宗侯, 王鄂生等. 1993. 乌鱼肝 mtDNA 限制性内切酶图谱及 1.8kb EcoRiv/BamHiv 片段的克隆. 武汉大学学报(自然科学版), (1): 77~ 84.
- 宋 平, 李小迎, 熊全沫. 1994. 鲢、鳙线粒体 DNA 的九种限制性内切酶酶切图谱的比较. 水产学报, 18(3): 221~ 230.
- 吴乃虎, 王钢锋, 阎景智等. 1991. 草鱼和鲤鱼线粒体 DNA 的分离纯化及其 C_oiv 基因的分子克隆. 动物学报, 37(4): 375~ 381.
- 张四明, 龙 华. 1991. 乌鳢线粒体 DNA 限制性内切酶酶切分析. 淡水渔业, (4): 38~ 39.
- 张四明, 龙 华, 张兴忠. 1992. 方正银鲫、白鲫与鲫线粒体 DNA 限制性内切酶酶切比较. 水产学报, 16(2): 120~ 129.
- 张四明, 龙 华. 1996. 湖北淤泥湖团头鲂 mtDNA 限制性片段长度多态性的研究. 水产学报, 20(4): 289~ 293.
- 张亚平, 张 冰, 施立明. 1989. 蜂猴和树鼩 mtDNA 10 种限制酶物理图谱. 动物学研究, 10(增刊): 79~ 88.
- 陈关君, 陈彩云, 王尔中. 1984. 鲤、鲫肌细胞线粒体 DNA 的限制性内切酶酶切图谱比较. 遗传学报, 11(2): 141~ 146.
- 崔建勋, 俞其兴, 陈修海. 1992. 三种鱼 mtDNA 的限制性内切酶分析. 动物学研究, 13(3): 256~ 262.
- 樊连春, 崔建勋, 俞其兴等. 1994. 鳙鱼线粒体 DNA 的限制性内切酶图谱. 武汉大学学报(自然科学版), (1): 121~ 125.
- 戴建华, 殷文莉, 杨代淑等. 1994a. 长吻 肝脏线粒体 DNA 的研究. 武汉大学学报(自然科学版), (1): 115~ 120.
- 戴建华, 殷文莉, 杨代淑等. 1994b. 鲇鱼线粒体 DNA 的酶切图谱. 水产学报, 18(4): 312~ 320.
- 戴建华, 殷文莉, 杨代淑等. 1994c. 黄颡鱼线粒体 DNA 多态性及酶切图谱的研究. 中国动物学会成立 60 周年纪念陈 桢教授诞辰 100 周年论文集. 北京: 中国科学技术出版社. 168~ 174.
- 戴建华, 殷文莉, 宋 平等. 1994d. 鳗鲡线粒体 DNA 的研究. 遗传, 16(5): 6~ 9.
- 戴建华, 殷文莉. 1994e. 黄鳝 mtDNA 的分离纯化及多态性检测. 湖北师范学院学报(自然科学版), 14(3): 77~ 82.
- Anderson S, Debruijn M H L, Coulson A R. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA: conserved features of the mammalian mitochondrial genome. J Mol Biol, 156: 683~ 717.
- Anderson S, Bankier A T, Barrell B G, et al. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. Nature, 290: 457~ 465.
- Avise J C, Lansman R A. 1983. Polymorphism of mitochondrial DNA in populations of high animals. In: Nei and Koehn, R. K. (eds), Evolution of genes and protoins, Sanderland. 65~ 138.
- Avise J C, Bermincham E, Kessler L G, et al. 1984. Characterization of mitochondrial DNA variability in a hybrid swarm between sub-species of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). Evolution, 38: 931~ 941.
- Avise J C, Vruenhoek R C. 1987. Mode of inheritance and variation of mitochondrial DNA in hybridogenetic fishes of genus *Poeciliopsis*. Mol Biol Ecol, 4: 514~ 525.

- Beckwitt R, Aoyagi S. 1987. Mitochondrial DNA sequence variation in domesticated goldfish, *Crassius auratus*. *Copeia* 1987: 219~ 222.
- Beckwitt R, Petrucka J. 1985. Variation in mitochondrial DNA genome size among fishes of the family Scorpaenidae. *Copeia* 1985: 1056~ 1058.
- Berg W, Ferris S D. 1984. Restriction endonuclease analysis of salmonid mitochondrial DNA. *Can J Fish Aquat Sci*, 41: 1041~ 1047.
- Bibb M J. 1981. Sequenogwand gene organization of mouse mitochondrial DNA. *Cell*, 26: 167~ 180.
- Billington N, Hebert P D N. 1986. Stock discrimination in walleye based on divergence in the mitochondrial genome. Tech. Rep. to OMNR (ORRRGP), 58 p. (Copies available from Great Lakes Institute, University of Windsor, Windsor, Ont. N9B 3P4).
- Billington N, Herbert P D N. 1988. Mitochondrial DNA variation in Great Lakes walleyes (*Stizostedium vitreum*) populations. *Can J Fish Aquat Sci*, 45: 643~ 654.
- Birt T M, Green J M, Davidson W S. 1986. Analysis of mitochondrial DNA in allopatric anadromous and nonanadromous Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Can J Zool*, 64: 118~ 120.
- Borst P, Grivell L A. 1981. Small is beautiful-portrait of a mitochondrial genome. *Nature*, 290: 443~ 444.
- Brennicke A, Clayton D A. 1981. Nucleotide assignment of alkil+ sensitive sites in mouse mitochondrial DNA. *J. Biol. Chem. life history pattern. Proc. Natl Acad Sci, USA*, 83: 4350~ 4353.
- Bresch H F. 1984. Hybridization and introgresion among species of sunfish(lepomis): analysis by mitochondrial DNA and allozyme markers. *Genetics*, 108: 237~ 255.
- Britten R J, Kohne D E. 1968. Repeated sequence in mitochondrial DNA. *Science*, 161: 529~ 540.
- Brown W M. 1974. Restriction endonuclease cleavag maps of animal mitochondrial DNAs. *Proc. Natl Acad Sci. USA*, 71: 4617~ 4634.
- Brown W M. 1983. Evolution of animal mitochondrial DAN. In: Nei, M. and P. K. Koehn (eds). *Ecolution of Genes and Proteins*. Sinarer Associates, Sunderland, Mass 62~ 68.
- Brown W M. 1985. The mitochondrial DNA genome of animals. In: MacIntgre, R. J. (ed). *Molecular Evolutionary Genetics*, New York.
- Camper J D, et al. 1983. Mitochondrial DNA variation among red snapper (*Lutjanus Campechanus*) from the Gult of Mexico. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 2(3); 154~ 161.
- Carvalho G R, Hauser L. 1994. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. *Rev Fish Biol Fish*, 4: 326~ 350.
- Ciarroechi G. 1979. Further characterization of a cell-free system for measuring replicative and repair synthesis with culture human fibroblasts and evidence for the involvement of DNA polymerase in DNA repair. *Nuclei Acids. Res.*, 7: 1205~ 1219.
- Clary D O, Wolstenholme D R. 1985. The mitochondrial DNA molecules of *Drosophila yacuba*: nucleotide sequence, gene organization and genetic code. *J MolEvl*, 22: 252~ 272.
- Clayton D A. 1984. Transcription of the mammalian mitochondrial genome. *Annu Rev Biochem*, 53: 573~ 594.
- Denao M. 1981. Ethnic variation in Hpa IV endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 78: 5768~ 5772.
- Ferris S D, Whitt G S. 1983. Mitochondrial DNA evolution in mice. *Genetic*, 105: 681~ 721.
- Francisco J F. 1979. Further studies on type A and type B rat mtDNAs cleavage maps and evidence for cytoplasmic inheritance in mammals. *Plasmid*, 2: 426~ 436.
- Genette S, et al. 1993. Mitochondrial DNA variation in lake sturgeon from the St. Laurence river and James Bay drainage basins in Quebec, Canada. *CAN J Fish Aquat Sci*, 50(3): 659~ 664.
- Graves J E, Ferris S D, Dizen A D. 1984. Close genetic similarity of Atlantic and Pacific skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) demonstrated with restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. *Mar Biol*, 79: 315~ 319.
- Gray M W. 1982. Mitochondrial genome diversity and the evolution of the mitochondrial DNA. *Can J Biochem*, 60: 157~

- Grewé P M, Hebert P D N. 1987. Mitochondrial DNA diversity among brood stocks of the lake trout *Salvelinus namaycush*. *Tech Rep to Great Lakes Fishery Commission*. 53 p. (Copies available from Great Lakes Institute, University of Windsor, Windsor, Ont. N9B 3P4).
- Gyllenstein Y, Erlich H. 1985. Maternal inheritance of mitochondrial DNA during backcrossing of two species of mice. *J. Hered.* 76: 321~ 324.
- Lansman R A, Clayton D A. 1975. Selective nicking in mammalian mitochondrial DNA in vivo: photosensitization by incorporation of 5-bromodeoxyuridine. *J Mol Biol*, 99: 761~ 776.
- Lansman R A. 1983. Critical experiment test of the possibility of "paternal leakage" of mitochondrial DNA. *PNAS. USA*, 80: 1969~ 1971.
- Michaclis G S. 1982. Mitochondrial DNA copy number in a bovine oocytes and somatic cell. *Dev Biol*, 97: 246~ 261.
- Smolenski A J, Ovenden J R, White R W G. 1993. Evedence of stock separation in southern hemisphere orange roughy from restriction-enzyme analysis of mitochondrial DNA. *Mar Biol*, 116(2): 219~ 230.
- Thomas W K, Withler R E, Beckenbach A T. 1986. Mitochondrial DNA analysis of Pacific salmonid evolution. *Can J Zool*, 64: 1058~ 1064.
- Welter N, et al. 1991. A rapid protocol for the purification of mitochondrial DNA suitable for studying restriction fragment length polymorphism. *Gene*, 120: 169~ 171.