果子狸苦味受体 Tas2R2 基因的克隆与序列分析

李世宗[1], 陈应梅[2], 姚永芳[2], 徐怀亮[2]
(1.云南森林自然中心, 云南 昆明 650224; 2.四川农业大学动物科技学院, 四川 雅安 625014)

摘 要:采用 PCR 和克隆测序方法首次从果子狸基因组中获得一全长为 1 037 bp 的苦味受体 Tas2R2 基因 DNA 序列。该序列含有完整的 1 个外显子(无内含子),大小为 915 bp,编码 304 个氨基酸残基。其蛋白质等电点为 9.84,分子量为 34.87 ku。高级结构预测显示果子狸 Tas2R2 蛋白由 4 个胞外区、7 个跨膜区和 4 个胞内区组成, 该蛋白上含有 N 糖基化位点、丝氨酸磷酸化位点、色氨酸磷酸化位点各 3 个和酪氨酸磷酸化位点 1 个。亲水性/疏水性分析表明,果子狸 Tas2R2 蛋白质为疏水性蛋白,其亲水性区段所占比例较小。种间同源性比较显示,果子狸 Tas2R2 基因与猫、犬、大熊猫、牛、马、黑猩猩和小鼠的 cDNA 序列同源性分别为 93.0%、89.4%、89.9%、85.4%、85.9%、84.6%、72.2%;氨基酸序列同源性分别为 88.8%、81.1%、83.2%、75.9%、77.8%、75.5%、61.3%。果子狸、猫、犬、大熊猫、牛、马、黑猩猩和小鼠的 Tas2R2 基因编码序列构建的进化树表明果子狸与猫的亲缘关系最近。

关键词:果子狸; 苦味受体; Tas2R2 基因; 克隆; 序列分析
中图分类号:Q751 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-874X(2013)06-0143-05

Cloning and sequence analysis of bitter taste receptor Tas2R2 gene in the Masked palm civet(Paguma larvata)

LI Shi-zong[1], CHEN Ying-mei[2], YAO Yong-fang[2], XU Huai-liang[2]
(1. Yunnan Forest Nature Center, Kunming 650224, China;
2. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China)

Abstract: In this study, an approximately 1 037 bp DNA sequence of bitter taste receptor Tas2R2 gene was obtained by PCR and cloning technique from genomic DNA sample of Masked palm civet (Paguma larvata), which contained complete single exon (without intron), 915 bp in size, encoding 304 amino acid residues. The pI of the protein is 9.84 and its molecular weight is 34.87 ku. High structure prediction shows this Tas2R2 protein comprises 7 transmembrane regions,4 extracellular regions and 4 intracellular regions, and contains three N-glycosylation sites, three serine phosphorylation sites,three tryptophan phosphorylation sites and one tyrosine site. The Tas2R2 is a hydrophobic protein with less hydrophilic components. The homology analysis of the Tas2R2 gene sequences by Clustal W indicated that the cDNA sequence homologies of Tas2R2 gene of Masked palm civet with cat, dog, giant panda, cow, horse, chimpanzee and mouse is 93.0%、89.4%、89.9%、85.4%、85.9%、84.6%、72.2%, respectively and the homologies of corresponding amino acid sequence is 88.8%、81.1%、83.2%、75.9%、77.8%、75.5%、61.3%, respectively. In addition, phylogenetic tree of Tas2R2 gene from these eight species shows that Masked palm civet is the most close to cat.

Key words: Paguma larvata; bitter taste receptor; Tas2R2 gene; cloning; sequence analysis

果子狸(Paguma larvata)又名花面狸、香狸、白鼻狗、花面棕榈猫等,为哺乳纲食肉目灵猫科果子狸属动物。主要分布于中国大陆、台湾、马来西亚、缅甸、印度、不丹、尼泊尔等地区,在中国大陆分布广泛,北起北京西郊、山西大同、陕西秦岭山地、四川西部一直到西藏南部的喜马拉雅山区,南到海南岛和云南,生活于海拔 200~1 000 m 的山林中[1]。果子狸是我国珍贵的毛皮和肉用野生动物之一,其皮可制裘,是我国传统的大宗出口毛皮之一;针毛是制作高档毛笔和画笔的原料; 脂肪是化妆品的高级原料,还是医治烫伤的良药;肉鲜滋糯,质细嫩,富含油脂,味香美[2]。已被国家林业局列入《国家保护的有益的或者有重要经济、科学研究价值的陆生野生动物名录》中。长期以来,由于猎捕过度致使野生资源数量急减。近年来,为加强野生动物的资源保护和利用,陕西、湖南、湖北、广西等地区已进行了果子狸规模化养殖, 市场供不应求,获得了明显的经济效益。由于养殖技术较成熟,果子狸被列入国家林业局 2003 年 8 月发布的 54 种《商业性经营利用驯养繁殖技术成熟的陆生野生动物名单》中。目前,果子狸研究主要集中于行为生态、人工饲养繁殖和疾病防治等方面[3-8],尚缺乏遗传方面的研究。

味觉是哺乳动物的重要感觉之一,它是动物口腔内味觉器官的化学感受系统对食物刺激而产生的一种感觉,有助于动物判断所摄取食物的特性和质量。哺乳动物的味觉包括 5 种:酸、甜、苦、咸、鲜,其中苦味感知是机体防止摄入有毒物质和致命性生物碱的一种自我保护机制[9-10]。自然界中的苦味物质具有不同的化学结构,还包括多种天然生物碱,如奎宁、咖啡因、尼古丁、吗啡。苦味受体(Taste receptor type2, T2R) 与苦味感知的传导和表达密切相关。T2Rs 是由一个含有多个成员的基因家族所编码, 属于 G 蛋白偶联受体超家族,在不同的物种中往往具有不同的成员数[11-16]。通过 T2Rs 家族的基因序列的比较发现:小鼠的苦味受体基因簇排列在第 6 条染色体远端, 包括 Soa, Rua,Cyx,Glb 和 Qui。人类的 T2Rs 基因家族分别位于

收稿日期:2013-01-11
作者简介:李世宗(1966-),男,工程师,E-mail:kmlzr001@126.com
通讯作者:徐怀亮(1968-),男,博士,教授,E-mail:huailxu@yahoo.com

7q31、12p13、5p15 号染色体上，由 40~80 个成员组成[17]。Tas2R2 基因为 T2Rs 基因家族的成员之一，在人类中为假基因，在大多数哺乳动物中为推导性功能基因，基因内部无内含子，即只有 1 个外显子[18-19]。果子狸在动物分类学上隶属于食肉目动物，但食性独特，与其他食肉目动物不同，主要吃植物，尤喜食水果，动物性食物是次要食物，因而了解果子狸苦味受体基因对于阐明味觉识别的分子机理及深入开展繁育工作具有重要意义。为此，我们通过克隆测序果子狸苦味受体 Tas2R2 基因 DNA 序列，分析该基因的核苷酸及其 cDNA 所编码蛋白的序列特征，了解 Tas2R2 基因特性，为进一步研究该基因的结构、功能、遗传变异规律及其与食物鉴别的关系提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试样品为云南野生动物救护中心提供的果子狸血液样品，约 2 mL，-70℃保存于四川农业大学野生动物保护实验室。pMD18-T 载体、10×Buffer、dNTP、LaTaq DNA 聚合酶、大肠杆菌 DH5α 等购自宝生物工程(大连)有限公司；PCR 产物纯化回收试剂盒、重组质粒抽提试剂盒购自上海生物工程技术服务有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 **DNA** 提取　血液中 DNA 的提取采用小量全血 DNA 抽提试盒(北京艾德莱生物科技有限公司)，严格按其说明书操作，1%琼脂糖凝胶检测提取基因组 DNA 完整性。

1.2.2 引物设计　根据 GenBank 中已公布的犬、猫和大熊猫的 Tas2R2 基因全序列，利用 Primer 5.0 设引物，序列为：Tas2R2f：5′-AGATCAGATTTCTCAGGGCTGTATG-3′(正向)，Tas2R2′：5′-AATTAGTGCTTCACCTGTCCTGGG-3′(反向)，由上海生物工程技术服务有限公司合成。

1.2.3 **PCR** 扩增　以果子狸基因组 DNA 为模板，采用 20 μL 反应体系进行 PCR 扩增，即基因组 DNA 2 μL(30 ng/μL)、10×Buffer Ⅱ 2 μL、dNTP(2.5 mmol/L) 1.6 μL、MgCl2 (25 mmol/L)2 μL、上下引物(10 μmol/L)各 1 μL、Taq DNA Polymerase (5 U/μL) 0.2 μL、ddH2O 10.2 μL。PCR 反应程序为：94℃预变性 5 min；94℃变性 35 s，54℃退火 30 s，72℃延伸 45 s，共 30 个循环；72℃延伸 5 min，4℃保存。PCR 产物在 1%琼脂糖凝胶中电泳并观察结果。

1.2.4 **PCR** 产物克隆及序列测定　PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳后，用 PCR 产物纯化回收试剂盒对凝胶产物进行回收提纯，连接 pMD18-T 载体，反应体系为：纯化 PCR 产物 5.0 μL、pMD18-T 载体 1.0 μL、连接缓冲液 4.0 μL，16℃过夜。连接产物转化大肠杆菌 DH5a，涂布于含有氨苄青霉素的 LB 培养基上。筛选阳性菌落进行扩大培养，经 PCR 鉴定，并将筛选的重组阳性质粒送至上海生工生物工程技术服务有限公司测序。

1.3 数据处理与分析

采用 Chromosoma 1.62 软件和 DNAStar 软件包中的 SeqMan 程序(DNASTARInc，1996)对所测得的序列进行人工校对、编辑，以确保序列无误。Blast 同源性搜索在 NCBI 网站上进行，序列分析由 DNAman 软件完成，蛋白质的预测和疏水性分析采用 DNAman。果子狸 Tas2R2 蛋白质的糖基化位点、磷酸化位点用 ExPASy Proteomics Server 软件(http://au.expasy.org)完成。跨膜域预测由 TMHMM 程序(http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM) 完成。采用 MEGA5.0 软件分析序列特征，计算序列间碱基对的差异、变异位点、简约信息位点、碱基组成。运用 Kimura 双参数模型构建系统进化树，搜索方法为 NJ (Neighbor-Joining)法。从 GenBank 中下载了另外 7 种哺乳动物种类的 Tas2R2 基因序列进行数据分析，分别是：猫 (Felis catus，ACBE01074008)、犬 (Canis familiaris，AB249685)、大熊猫 (Ailuropoda melanoleuca，FJ346563)、牛(Bos taurus，AB249704.1)、马(Equus caballus，NW_001867413.1)、黑猩猩(Pan troglodytes，AB713202.1)和小鼠(Mus musculus，AC121573)。

2 结果与分析

2.1 测序结果

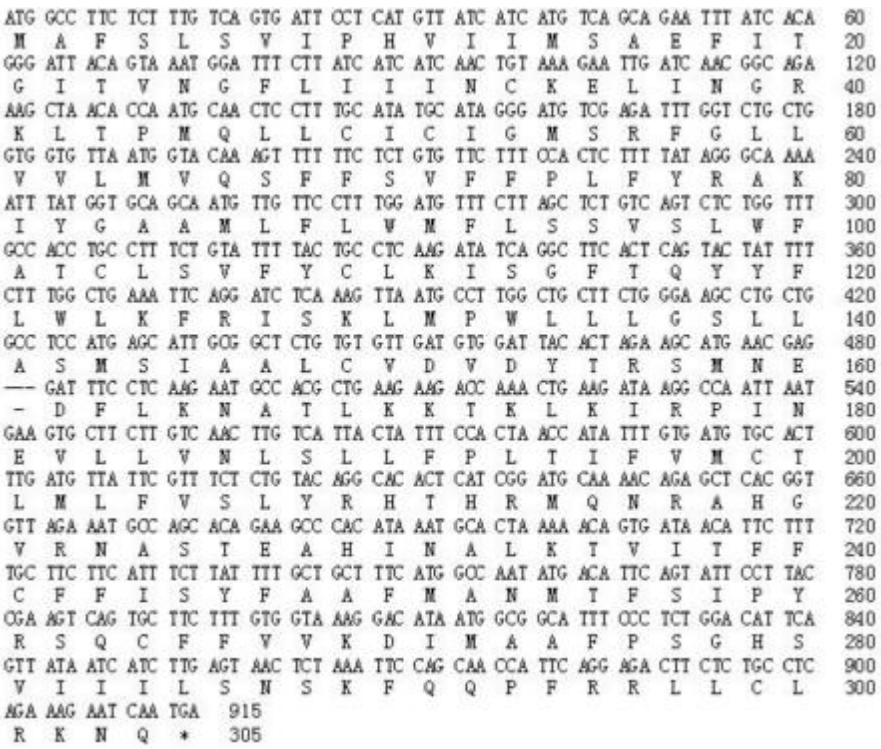
测序后经人工校对、序列拼接，除去质粒载体序列和引物序列，获得长度为 1 037 bp 的果子狸 Tas2R2 基因的完整序列。通过 NCBI 的 ORF Finder 分析，确定该基因含有 1 个完整的开放阅读框(ORF)、长度为 912 bp，共编码 303 个氨基酸(图 1)。1~76 为 5'端侧翼区，989~1 037 为 3'端侧翼区。A、T、G、C 的平均含量分别为 26.21%、33.11%、19.52%、21.16%，A+T 含量为 59.32%，高于 G+C 含量 40.68%，说明果子狸 Tas2R2 基因的 cDNA 序列碱基中 A 和 T 的含量比 G 和 C 的含量丰富。

2.2 序列比对

将所得的果子狸 Tas2R2 基因的蛋白质编码区序列(CDS)与 GenBank 中猫、犬、大熊猫、牛、马、黑猩猩和小鼠的 Tas2R2 基因序列进行核苷酸序列同源性比较 (表 1)。同源性分别为 93.0%、89.4%、89.9%、85.4%、85.9%、84.6%、72.2%。采用相应的推导性氨基酸序列进行同源性比较，则分别为 88.8%、81.1%、83.2%、75.9%、77.8%、75.5%、61.3%(表 1)。这表明不同物种间该基因具有高度的保守性。进一步进行 8 个物种间 Tas2R2 基因核苷酸序列和氨基酸序列变异位点的统计，在编码区核苷酸序列(915 bp)的比对中，共发现 400 个核苷酸变异位点，占分析位点总数的 43.71%。其中简约信息位点为 140 个，占变异位点总数的 35.0%，单一变异位点为 259 个，占变异位点总数的 64.75%；在推导性氨基酸序列(304 AA)的比较中，共发现 170 个氨基酸变异位点，占分析位点总数的 55.92%。其中简约信息位点为 67 个，占变异位点总数的 39.41%，单一变异位点为 102 个，占变异位点总数的 60.0%。另外，当分别按胞外区、跨膜区、胞内区进行分析时(表 2)，可明显看出胞外区的变异位性远大于其余两个区域(跨膜区和胞内区)。

2.3 蛋白质特性

利用 Proteomics Server 软件对果子狸 Tas2R2 蛋白质预测分析发现：该蛋白的分子量为 34.87 ku，pI 为 9.84，在



* 为终止密码子

图 1　果子狸 Tas2R2 基因编码区序列和由此推导的氨基酸序列

表 1　8 个物种的 Tas2R2 基因的核苷酸序列和氨基酸序列的同一性

物种	果子狸	猫	犮	大熊猫	牛	马	黑猩猩	小鼠
果子狸		0.930	0.894	0.899	0.854	0.859	0.846	0.722
猫	0.888		0.906	0.911	0.853	0.866	0.84	0.723
犮	0.811	0.835		0.923	0.857	0.862	0.848	0.728
大熊猫	0.832	0.848	0.848		0.855	0.863	0.85	0.725
牛	0.759	0.756	0.752	0.74		0.841	0.816	0.712
马	0.778	0.789	0.785	0.786	0.752		0.848	0.721
黑猩猩	0.755	0.756	0.752	0.756	0.706	0.772		0.759
小鼠	0.613	0.621	0.610	0.605	0.567	0.613	0.646	

注:上三角内为核苷酸序列同一性,下三角内为氨基酸序列同一性。

表 2　果子狸 Tas2R2 基因不同区域核苷酸(DNA)及其氨基酸(AA)序列的总长度及变异位点数

序列	完整编码区			胞外编码区			跨膜编码区			胞内编码区		
	TS	VS	VS%	TS	VS	VS%	TS	VS	VS%	TS	VS	VS%
DNA	915	400	43.71	189	100	52.91	483	182	37.68	237	115	48.52
AA	304	170	55.92	63	50	79.36	161	70	43.47	79	50	63.29

注:TS 为各区域总位点数,VS 为各区域变异位点数,VS%为各区域变异位点数占该区域总长度的百分比。

pH 值 7.0 时的带电荷量为 20.594，含 9 个带负电荷的氨基酸残基(天冬氨酸和谷氨酸)和 29 个带正电荷的氨基酸残基(赖氨酸和精氨酸),其余氨基酸均为中性;从氨基酸极性来看,该蛋白含有 81 个极性氨基酸残基(天冬酰胺、半胱氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸)和 143 个非极性氨基酸残基(丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、缬氨酸)。该蛋白含有 4 种类型共 10 个功能位点,即 3 个 N-糖基化位点(166NATL、223NAST、253NMTF)、3 个丝氨酸磷酸化位点(6SVI、224STE、287SNS)、3 个色氨酸磷酸化位点(43TPM、210THR)、1 个酪氨酸磷酸化位点(154YTK)。

通过 TMHMM Server V.2.0 分析跨膜结构域发现,果子狸 Tas2R2 分子是由 4 个胞外区 (1aa-9aa、78aa-86aa、153aa-183aa、250aa-263aa，共 63 个氨基酸)、7 个跨膜区(10aa-32aa、55aa-77aa、87aa-109aa、130aa-152aa、184aa-206aa、227aa-249aa、264aa-286aa，共 161 个氨基酸) 和 4

个胞内区 (33aa-54aa、110aa-129aa、207aa-226aa、287aa-303aa,共 79 个氨基酸)组成的膜蛋白(图 2)。采用 DNAman 软件按默认值参数对果子狸 Tas2R2 蛋白质氨基酸序列进行疏水性分析,结果表明,果子狸 Tas2R2 蛋白质氨基酸序列的大部分区段都为疏水区, 亲水区段只有 15 个, 所有亲水性氨基酸残基数(96 个)占总氨基酸残基数(303 个)的比例为 31.68%。结合胞内外所处位置,在 15 个亲水区段中, 有 3 个区段位于胞外区域,4 个区段位于跨膜区域,4 个区段均位于胞内区域(图 3)。

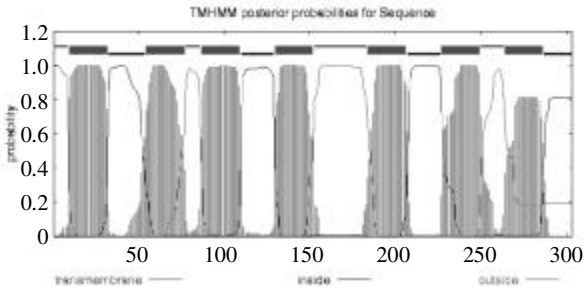
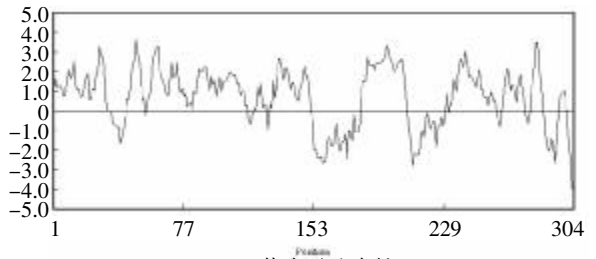


图 2 果子狸 Tas2R2 蛋白的跨膜结构分析图

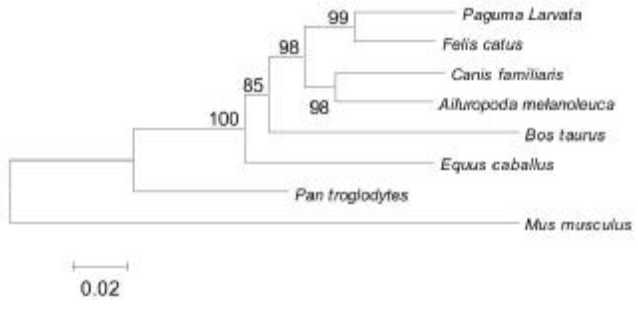


正值表示疏水性

图 3 果子狸 Tas2R2 蛋白的疏水性分析

2.4 基于 Tas2R2 基因编码序列构建的进化树

将测序得到的果子狸 Tas2R2 基因编码序列与 GeneBank 中的犬、猫、大熊猫、牛、马、黑猩猩和小鼠的同源序列,利用 MEGA 5.0 软件构建 Tas2R2 基因进化树(图 4)。从图 4 可以看出,同属于食肉目的果子狸和猫聚为一个支系,大熊猫和犬聚为另一个支系,这两个支系形成姊妹对后,依次与牛、马、黑猩猩聚在一起,最后与小鼠聚在一起。进化树表明,在这 8 个物种中,果子狸与猫的亲缘关系最近,与犬、大熊猫、牛、马、黑猩猩的亲缘关系依次较近,而与小鼠的亲缘关系最远,显示出与同源性比较相类似的结果。



分枝节点上的数字为大于 50%的自展值

图 4 8 个物种 Tas2R2 基因编码序列构建的 NJ 树

3 结论与讨论

果子狸在动物分类上属于食肉目灵猫科动物,主要吃植物,动物性食物是次要食物,为杂食性动物,这与其它典型的食肉动物如犬、猫、虎、豹等(只吃动物性食物)相比,食性较为独特,可能与其独特味觉感知相关。本研究通过 PCR、克隆和测序技术从果子狸中获得了与感受苦味物质相关的一个 Tas2R2 基因的完整序列。研究结果表明,果子狸苦味受体 Tas2R2 基因的结构与犬、猫、牛、马、黑猩猩、大熊猫和小鼠等其他哺乳动物一样, 基因内部无内含子,即整个基因由 1 个外显子组成。蛋白质高级结构预测表明, 果子狸 Tas2R2 蛋白质为跨膜蛋白, 由 7 个跨膜区、4 个细胞外区和 4 个细胞内区组成, 这与 G 蛋白偶联受体的特征一致。果子狸和其余 7 个物种间核苷酸和氨基酸序列同源性均较高,分别为(72.2%~93%)和(61.3%~88.8%),特别是与猫的核苷酸序列同源性高达 93%, 表明果子狸与其他物种间,特别是与同为食肉目的犬、猫、大熊猫在该基因编码区核苷酸序列上具有较高的保守性。从来自 8 个物种的 Tas2R2 基因编码的氨基酸序列的同源性比对可以看出,种间变异位点主要发生在胞外区和胞内区,跨膜区则相对较保守。表明跨膜螺旋区由于主要介导胞内外信号传导作用,在物种间的功能较稳定,而胞外区和胞内区在不同物种中可能介导结合不同的苦味物质,其种间高变异性表现出对不同功能的适应[20-21]。果子狸 Tas2R2 基因序列中间未发现有终止密码子出现,表明其是一个功能性基因,编码 304 个氨基酸,这与猫、大熊猫的 Tas2R2 同源基因相似,但与犬、牛、马、小鼠的在长度上略有差别。如犬和小鼠为 912 bp,马为 906 bp,除去终止密码子,他们分别编码 303 和 302 个氨基酸; 牛 Tas2R2 同源基因为 909 bp,且在序列的中间有 1 个终止密码子提前出现,以致于牛的 Tas2R2 基因为一个假基因,即不具有功能,这可能是 Tas2R 基因家族成员在哺乳动物中表现出生-灭进化(birth-and-death evolution)的结果[22]。不同物种 Tas2R2 基因编码氨基酸数量的差异,必定造成其蛋白质一级结构甚至于高级结构的差异,这是否是对介导不同苦味物质的一种适应值得进一步探讨。

食肉目是哺乳动物的第 4 大目, 包含的物种种类繁多,包括陆生和海生哺乳动物,由 11 科 280 物种组成[23]。目前,依据已有的形态学证据,食肉目可分成两大单源超科:猫型超科和犬型超科[24-25]。在该归类中,果子狸和猫均属于猫形超科(Feliformia),大熊猫和犬均属于犬形超科(Caniformia)。本研究中采用果子狸、犬、猫、大熊猫、牛、马、黑猩猩和小鼠 8 个物种的 Tas2R2 基因编码序列构建的 Tas2R2 基因进化树显示,果子狸和猫聚为一个支系,大熊猫和犬聚为另一个支系,强烈地支持了依据形态学特征的归类。

本研究分析了果子狸 Tas2R2 基因的核苷酸及其 cDNA 所编码蛋白的序列特征,并与其他哺乳动物物种进

行比较分析，为进一步对 Tas2R2 基因的表达调控、基因多态性及果子狸属动物味觉受体的分子进化适应等方面的研究奠定了基础，也为果子狸遗传资源的保护与开发利用提供了科学依据。但是，苦味受体基因是一个由多成员组成的基因家族，Tas2R2 基因仅是其中的成员之一，要全面揭示果子狸独特食性的的遗传基础，还有待于进一步更加深入的研究。

参考文献：

[1] 高耀亭.中国动物志(兽纲 食肉目)[M].北京:科学出版社,1987.

[2] 胡锦矗,王酉之.四川资源动物志(第二卷 兽类)[M].成都:四川科学技术出版社,1984.

[3] 余冠军,李堃,陈燃,等.湖北五峰后河国家级自然保护区果子狸秋冬季栖息地选择[J].野生动物,2011,32(4):194-198.

[4] 王健,刘群秀,唐登奎,等.湖北后河自然保护区果子狸栖息地选择的初步研究[J].兽类学报,2009,29(2):216-222.

[5] 邵昱昊,韩宗玺,陈露菲,等.果子狸源呼肠孤病毒的分离鉴定[J].病毒学报,2008,27(5):376-382.

[6] 安亚兰,薛其荣.姜赫男.果子狸绿脓杆菌性子宫炎的诊断[J].中国畜禽种业,2012,8(4):45-45.

[7] 车利锋,裴俊峰,蒋志武.果子狸幼兽育成期饲料配方的筛选[J].特种经济动植物，2011(7):3-5.

[8] 贾志云,段恩奎,蒋志刚.笼养雌性果子狸同性数量对发情状态的影响及繁殖季节尿液雌激素浓度的变化 [J]. 动物学报,2002,48(5):612-624.

[9] Wong G T, Gannon K S, Margolskee R F. Transduction of bitter and sweet taste by gustducin [J]. Nature, 1996,381(6585): 796-800.

[10] 张敏,魏书磊,刘振辉.哺乳动物的味觉受体及其介导的信号途径研究进展[J].鲁东大学学报(自然科学版)，2012,28(2): 160-166.

[11] Adler E, Hoon M A, Mueller K L, et al. A novel family of mammalian taste receptors[J]. Cell, 2000, 100(6): 693-702.

[12] Striem B J, Pace U, Zehavi U, et al. Sweet tastants stimulate adenylate cyclase coupled to GTP-binding protein in rat tongue membranes[J]. Biochem J, 1989,260(1):121-126.

[13] Shi P, Zhang J, Yang H, et al. Adaptive diversification of bitter taste receptor genes in Mammalian evolution [J]. Mol Biol Evol, 2003,20(5):805-814.

[14] Dong D, Jones G, Zhang S. Dynamic evolution of bitter taste receptor genes in vertebrates[J]. BMC Evol Biol,2009(9):12.

[15] Ferreira AM, Araújo S S, Sales-Baptista E,et al.Identification of novel genes for bitter taste receptors in sheep (Ovis aries)[J]. Animal,2012(21):1-8.

[16] Groenen M A, Archibald A L, Uenishi H,et al. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution [J]. Nature, 2012,491(7424):393-398.

[17] 叶萍,程斌.苦味受体及其传导机制的研究进展[J].国外医学口腔医学分册,2003,30(6):453-469.

[18] 胡玲玲,施鹏.苦味受体基因家族功能和演化研究的最新进展[J].科学通报,2009,54(17):2472-2482.

[19] 施鹏,黄京飞,张亚平.苦味受体与甜味、鲜味受体具有不同的进化途[J].遗传学报,2005,32(4):346-353.

[20] Imai H, Suzuki N, Ishimaru Y, et al. Functional diversity of bitter taste receptor TAS2R16 in primates [J]. Biol Lett,2012,8(4):652-656.

[21] Wooding S. Signatures of natural selection in a primate bitter taste receptor[J]. J Mol Evol,2011,73(5-6):257-65.

[22] Go Y. Lineage-specific expansions and contractions of the bitter taste receptor gene repertoire in vertebrates [J]. Mol Biol Evol,2006,23(5):964-972.

[23] Nowark R M.Walker's Mammals ofthe Wodd[M].Baltimore:Johns Hopkins Univ Press, 1999.

[24] Flynn J J,Nedbal M A.Phylogeny of the Carnivora(Mammalia): congruencevs incompatibility among multiple data sets [J]. Mol Phylogenet Evol,1998, 9(3):414-426.

[25] 于黎,张亚平.食肉目哺乳动物的系统发育学研究概述[J].动物学研究，2006,27(6):657-665.