

芍药 *AP1*(*APETALA 1*)基因密码子使用的偏好性分析

吴彦庆, 葛金涛, 陶俊*

(扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 在前期克隆芍药 *AP1* 基因(登录号为 KC354376)的基础上, 运用 CHIPS、CUSP 和 CodonW 在线程序, 分析芍药 *AP1* 基因的密码子偏好性, 并与其他物种的 *AP1* 基因以及模式生物的基因组进行比较。结果表明, 芍药 *AP1* 基因大部分偏好使用以 A/T 结尾的密码子, 29 种偏好密码子(RSCU 值>1)中, 偏好性较强的有 CCA、AGG、TCA、GTT(RSCU 值 > 2); 通过比较 12 种植物的 *AP1* 基因密码子偏好性, 发现 *AP1* 基因在芒果和梨中的表达水平相对较高, 而在芍药和牡丹等植物中的表达水平一般, 并且大多偏好以 A/T 结尾的密码子, 这可能与该基因的特殊功能有关; 聚类分析结果表明, 芍药科中芍药与牡丹聚为一类, 梨和碧桃聚为一类; 在密码子的使用频率上, 芍药 *AP1* 基因与酵母基因组的差异小于与大肠杆菌和拟南芥基因组的差异, 酵母真核表达更适合作为芍药 *AP1* 基因的外源表达系统。本研究结果可为芍药 *AP1* 基因在遗传改良中选择合适的受体植物、选择较佳的外源表达系统以及提高该基因的表达水平提供参考依据。

关键词: 芍药; *AP1* 基因; 密码子偏好性

中图分类号: Q943.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2015)06-0610-06

Analysis the codon bias of *AP1* gene in *Paeonia lactiflora*

Wu Yanqing, Ge Jintao, Tao Jun*

(College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: *AP1* (*APETALA 1*) gene might be associated with regulation of floral organ development in *Paeonia lactiflora*. To understand codon bias features of *AP1* gene and for further selecting appropriate expression systems, *AP1* gene was analyzed via online programs of Codon W, CHIPS and CUSP on the basis of previous molecular cloning of *P. lactiflora* (the accession number: KC354376), it was also compared among *AP1* genes and other 12 plant species and genomes in model organisms. The results showed that most of the *AP1* genes had bias toward the synonymous codons with A and T at the third codon position. There were 29 biased codons with the RSCU value larger than 1, and among of them, the stronger biased codons were CCA, AGG, TCA and GTT with the RSCU value larger than 2. By comparison the bias of *AP1* genes with that of 12 plant species, it also found that gene expression levels in *Mangifera indica* and *Pyrus pyrifolia* were higher, while they showed common in *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa* with the bias toward the synonymous codons with A and T at the third codon position, which was related to specific functions of the gene. The results from the clustering analysis showed that *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa* belonged to Paoniaceae, while *Pyrus pyrifolia* and *Prunus persica* belonged to another. The differences in codon usage frequency between *AP1* gene and yeast genome were less than those of other two kinds of model organisms' genomes. Therefore, the eukaryotic yeast expression systems might be more suitable for the expression of *AP1* gene. This study could provide certain theoretical base for selecting the appropriate receptor plant and expression systems in genetic improvement, as well as improving the expression level of *AP1* gene.

Keywords: *Paeonia lactiflora*; *AP1* gene; codon bias

通用遗传密码包括61种有义密码子和3种终止密码子,是联系基因核苷酸序列与蛋白质氨基酸序列的途径,其中编码同一种氨基酸的不同密码子称为同义密码子(synonymous codon),而某一特定基因或物种对某种或多种同义密码子的使用偏好,称为密码子偏好性(codon bias)。密码子使用偏好性现象广泛存在于原核和真核生物中。密码子偏性分析对了解转录和翻译进程中的调控机制、预测外源基因的最适宿主和通过改良外源基因来提高基因的表达水平等具有重要意义^[1]。密码子偏性研究起初主要针对原核和低等真核生物^[2],后来开始关注哺乳动物、人和植物,目前已有关于水稻、柑橘、玉米等高等植物中密码子用法分析的报道^[3-5]。近年来植物的密码子偏性研究更倾向于同类基因家族或单个功能基因^[1,5]。芍药*API*(*APETALA 1*)基因属于花分生组织特征基因,调控花序分生组织向花分生组织的转变,又是花器官形态特征基因,决定萼片和花瓣的形成,也能激活B类基因的表达^[7]。本课题组前期利用RACE克隆技术成功获得了*API*基因编码序列。本研究中进一步运用CHIPS、CUSP和CodonW在线程序,分析芍药*API*基因的密码子偏好性,并与不同物种*API*基因的密码子使用偏性进行比较,旨在为该基因在遗传改良中选择合适的受体宿主提供参考依据。在转基因研究中,外源基因密码子和受体基因组密码子的使用偏性不同易引起甲基化,从而引发转基因沉默或基因表达量降低^[8]。本研究中同时选择拟南芥、大肠杆菌以及酵母菌等模式生物,分析*API*基因与模式生物基因组的密码子使用偏性差异,选择最佳外源表达系统,为将*API*基因转入模式生物进行功能验证提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 目的基因的获取与 CDS 序列的筛选

芍药*API*基因由本课题组采用RACE克隆技术获得,其CDS序列已经提交GenBank数据库(登录号为KC354376)。牡丹、葡萄以及芒果等11个植物的*API*基因序列均来源于GenBank,登录号见表1。根据文献[9]中的筛选原则(1条以ATG为起始密码子,以TAA、TAG或TGA为终止密码子的完整CDS序列的长度大于300 bp)对11个物种*API*基因的CDS序列进行筛选。

表 1 供试植物的 *API* 基因序列登录号

Table 1 Accession number of <i>API</i> genes	
物种	序列登录号
芍药(<i>Paeonia lactiflora</i>)	KC354376
牡丹(<i>Paeonia suffruticosa</i>)	HM143943
葡萄(<i>Vitis vinifera</i>)	NM_001281281
芒果(<i>Mangifera indica</i>)	GQ152892
甜橙(<i>Citrus sinensis</i>)	AY338974
烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)	JQ686939
文心兰(<i>Oncidium hybrid</i>)	KC426946
梨(<i>Pyrus pyrifolia</i>)	KP164004
荷花(<i>Nelumbo nucifera</i>)	KF361315
碧桃(<i>Prunus persica</i>)	EU079377
核桃(<i>Juglans regia</i>)	FJ593640
咖啡树(<i>Coffea Arabica</i>)	KJ483237

1.2 密码子偏好性指标计算

利用 EMBOSS(<http://vmbioinfo.toulouse.inra.fr/emboss>)软件包中的 CHIPS、CUSP 和 CodonW 在线程序对 *API* 基因密码子偏好性进行分析,主要计算以下指标:

1) 有效密码子数(effective number of codon, ENC)、整个 CDS 序列的 GC 含量和第 3 位碱基上的 GC 含量(GC3s)。

2) 同义密码子相对使用度(relative synonymous codon usage, RSCU, 指某一特定密码子使用频率与其无偏使用时预期频率的比值,是衡量密码子偏好性程度的有效指标^[10]。

3) 密码子使用频率(frequency)。

1.3 基于密码子使用偏性和 CDS 序列的聚类分析

运用 CodonW 在线程序计算每个植物 *API* 基因 CDS 区的 RSCU 值,并以每个物种作为一个对象,将每个密码子的 RSCU 值作为变量,利用 SPSS 18.0 软件,采用离差平方和法(Ward's method)进行聚类分析,同时在 MEGA 5.0 软件中基于 Maximum Composite Likelihood 方法计算物种间的遗传距离,并构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 芍药 *API* 基因的 ENC 和 GC 含量

有效密码子数(ENC)是 1 个基因的密码子使用频率与同义密码子平均使用频率偏差的量化值,是目前公认的评价基因密码子偏好性的最具参考价

值的参数,普遍通过比较 ENC 来确定内源基因表达量的相对高低(ENC 值越小,则对应的内源基因表达量往往越高^[11])。整个 CDS 序列的整体 GC 含量往往反映了方向性突变的强弱,而密码子各个位上的 GC 含量可以用来统计其与密码子用法的关联,尤其是同义密码子的主要差别体现在第 3 位碱基上(GC3s)。应用 CHIPS 和 CodonW 在线程序计算芍药 *API* 的 ENC 值、GC 含量和 GC3s 值分别为 55.42、0.437 和 0.429,可见,ENC 值偏大,表明芍药 *API* 各密码子在编码氨基酸时出现的频率比较一致;*API* 编码区 GC 含量较低,而 GC3s 值更低,表明 *API* 偏好使用以 A/T 结尾的密码子,且在整个编码区序列中 A + T 的含量大于 G + C 的含量。

2.2 芍药 *API* 密码子的偏性分析

密码子使用频率表示某一特定密码子在编码区总密码子中所占的比例。计算不同物种间的密码子使用频率可以分析密码子使用偏性差异。该比值等于或小于 0.5,或等于或大于 2.0 时表明 2 个物种对该密码子使用偏性的差异较大,而比值为 0.5 ~ 2.0 时表明密码子使用偏性较接近。芍药 *API* 基因的 RSCU 值和密码子使用频率计算结果表明,在芍药 *API* 的密码子中,有 29 种密码子的 RSCU 值 > 1.0,为 *API* 基因的偏好性密码子,其中偏好性较强的有 CCA、AGG、TCA、GTT(RSCU 值 > 2)。大多数密码子(约 20 个密码)以 A/T 碱基结尾,且 Fraction 值也较大,为 *API* 的偏好密码子。编码 Ala 的密码子 GCC、GCT,编码 Asp 的密码子 GAC、GAT,编码 Trp 的密码子 TGG 的 RSCU 值均等于 1,说明在 *API* 基因中 Ala、Asp 和 Trp 的使用没有偏好性。

2.3 芍药 *API* 与其他植物 *API* 的密码子偏性比较

2.3.1 ENC 值和 RSCU 值及 GC 含量

表 2 结果表明,牡丹、文心兰、荷花、核桃以及咖啡树 *API* 的 ENC 值均大于 55,而葡萄、芒果等其他植物的 ENC 值为 48~52,均小于 55。一般来说,ENC 值越小,表明该基因的表达水平越高;ENC 值小于 30 和大于 55 的基因可分别被预测为高表达和低表达基因^[10]。从数据看,*API* 基因在芒果中的表达水平相对较高;在核桃中的表达水平相对较低。12 种植物 *API* 的 GC 含量和 GC3s 含量大部分均低于 0.5,仅文心兰、梨、荷花和碧桃的 GC3s

含量略大于 0.5,表明大多数植物 *API* 均对 A/T 有一定的偏好。RSCU 值计算结果表明,大多数植物以 A/T 碱基结尾(RSCU 值大于 1 的密码子占多数),表明 *API* 基因在大多数植物中偏向以 A/T 碱基结尾。该结果与 GC 含量和 GC3s 含量计算结果一致。

表 2 12 个物种 *API* 的 ENC 值和 GC 含量及 GC3s 含量

物种	ENC 值	GC 含量	GC3s 含量
芍药	55.42	0.437	0.429
牡丹	56.81	0.442	0.438
葡萄	50.83	0.454	0.485
芒果	48.07	0.470	0.496
甜橙	52.85	0.461	0.498
烟草	49.35	0.401	0.373
文心兰	56.01	0.459	0.522
梨	48.54	0.453	0.504
荷花	57.93	0.481	0.521
碧桃	52.31	0.464	0.543
核桃	60.73	0.466	0.498
咖啡树	58.28	0.437	0.455

2.3.2 基于密码子使用偏性和 CDS 序列的聚类分析

利用 MEGA 5.0 软件基于 Maximum Composite Likelihood 方法构建不同植物 *API* 基因序列的系统进化树,结果(图 1)表明,芍药和牡丹的遗传距离最接近;基于 59 个密码子(除去 ATG、TGG 以及 3 个终止密码子)的相对使用度,进一步利用 SPSS 18.0 对 12 个物种的 *API* 基因密码子相对使用度进行聚类分析,结果(图 2)表明芍药与牡丹(均属于芍药科)聚为一类,梨和碧桃聚为一类。该分析结果与基于 *API* 基因 CDS 序列构建的系统进化树分析结果(图 1)相一致,基于 CDS 序列的系统进化树更符合 12 个物种的真实系统分类,这表明功能相似的基因以及亲缘关系较近的物种,它们的密码子使用偏性也比较相似,但某些物种仍存在一定的差异,同时 *API* 基因

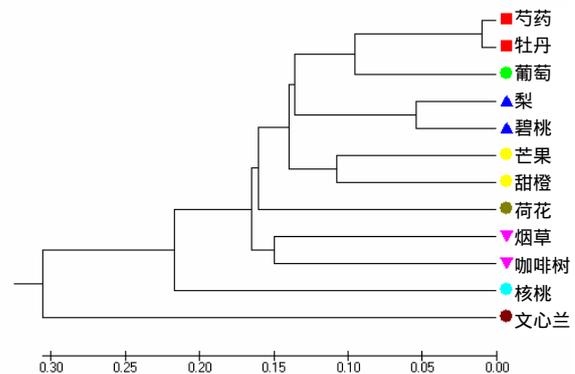


图 1 基于 *API* 基因 CDS 序列的聚类分析结果

Fig. 1 A dendrogram of CDS sequences of *API* genes

CDS序列差异的大小与物种亲缘关系的远近有一定的关联。

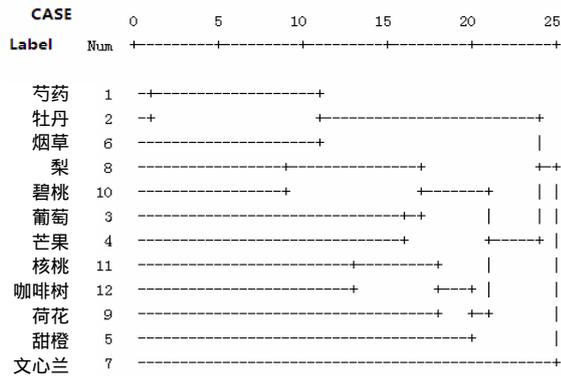


图 2 基于 *API* 基因密码子相对使用度 RSCU 的聚类

Fig. 2 Clustering tree based on RSCU values of *API* genes

2.4 与大肠杆菌、酵母、拟南芥基因组密码子偏性的比较

本研究所用的酵母菌(*Yeast*)、大肠杆菌(*E. coli*)以及拟南芥(*Arabidopsis*)等模式生物基因组的密码子使用频率均来源于密码子使用数据库 Codon Usage Database。表3列出了芍药*API*与3种不同模式生物中不同密码子的使用频率及其使用频率的比值。表3结果表明：芍药*API*基因与大肠杆菌基因组中偏性差异较大的密码子有24个，与酵母基因组中偏性差异较大的密码子有17个，而与拟南芥中偏性差异较大的密码子只有18个，表明酵母和拟南芥表达系统优于大肠杆菌表达系统。

表 3 芍药 *API* 与模式生物密码子的使用频率及使用频率的比值

Table 3 Comparison the codon bias of *API* with other representative organisms

密码子	氨基酸	使用频率				A/B	A/C	A/D
		芍药 <i>API</i> (A)	大肠杆菌基因组(B)	酵母基因组(C)	拟南芥基因组(D)			
GCA	A	20.58	20.60	16.10	17.47	1.00	1.28	1.18
GCC	A	12.35	25.50	12.50	10.34	<u>0.48</u>	0.99	1.19
GCG	A	4.12	31.70	6.10	9.03	<u>0.13</u>	0.68	<u>0.46</u>
GCT	A	12.35	15.60	21.10	28.32	0.79	0.59	<u>0.44</u>
TGC	C	4.12	6.90	4.70	7.16	0.60	0.88	0.58
TGT	C	8.23	5.50	8.00	10.54	1.50	1.03	0.78
GAC	D	16.46	18.60	20.20	17.22	0.88	0.81	0.96
GAT	D	16.46	32.10	37.80	36.65	0.51	<u>0.44</u>	<u>0.45</u>
GAA	E	37.04	38.20	48.50	34.34	0.97	0.76	1.08
GAG	E	65.84	17.70	19.10	32.24	<u>3.72</u>	<u>3.45</u>	<u>2.04</u>
TTC	F	8.23	16.90	18.20	20.66	<u>0.49</u>	<u>0.45</u>	<u>0.40</u>
TTT	F	16.46	23.20	26.10	21.81	0.71	0.63	0.75
GGA	G	20.58	9.00	10.90	24.16	<u>2.29</u>	1.89	0.85
GGC	G	12.35	27.90	9.70	9.15	<u>0.44</u>	1.27	1.35
GGG	G	12.35	11.30	6.00	10.18	1.09	<u>2.06</u>	1.21
GGT	G	12.35	24.40	24.00	22.18	0.51	0.51	0.56
CAC	H	8.23	9.80	7.70	8.72	0.84	1.07	0.94
CAT	H	12.35	13.60	13.70	13.79	0.91	0.90	0.90
ATA	I	24.69	54.00	17.80	12.60	<u>0.46</u>	1.39	1.96
ATC	I	8.23	24.20	17.00	18.53	<u>0.34</u>	<u>0.48</u>	<u>0.44</u>
ATT	I	20.58	29.80	30.40	21.49	0.69	0.68	0.96
AAA	K	28.81	33.20	42.20	30.79	0.87	0.68	0.94
AAG	K	49.38	10.70	30.70	32.68	<u>4.61</u>	1.61	1.51
CTA	L	12.35	4.00	13.30	9.87	<u>3.09</u>	0.93	1.25
CTC	L	20.58	11.00	5.40	16.09	1.87	<u>3.81</u>	1.28
CTG	L	20.58	50.90	10.40	9.83	<u>0.40</u>	1.98	<u>2.09</u>
CTT	L	28.81	11.70	12.10	24.12	<u>2.46</u>	<u>2.38</u>	1.19
TTA	L	8.23	13.90	26.70	12.70	0.59	<u>0.31</u>	0.65
TTG	L	20.58	14.00	27.00	20.87	1.47	0.76	0.99
ATG	M	37.04	27.00	20.90	24.53	1.37	1.77	1.51

表 3(续)

密码子	氨基酸	使用频率				A/B	A/C	A/D
		芍药 <i>API</i> (A)	大肠杆菌基因组(B)	酵母基因组(C)	拟南芥基因组(D)			
AAC	N	24.69	21.40	24.90	20.93	1.15	0.99	1.18
AAT	N	28.81	18.60	36.30	22.30	1.55	0.79	1.29
CCA	P	16.46	8.50	18.20	16.15	1.94	0.90	1.02
CCC	P	0.00	5.80	6.80	5.31	0.00	0.00	0.00
CCG	P	0.00	21.80	5.30	8.62	0.00	0.00	0.00
CCT	P	8.23	7.30	13.60	18.68	1.13	0.61	<u>0.44</u>
CAA	Q	49.38	15.00	27.50	19.45	<u>3.29</u>	1.80	<u>2.54</u>
CAG	Q	32.92	29.50	12.10	15.24	1.12	<u>2.72</u>	<u>2.16</u>
AGA	R	12.35	2.90	21.30	18.97	<u>4.26</u>	0.58	0.65
AGG	R	24.69	1.90	9.20	10.96	<u>12.99</u>	<u>2.68</u>	<u>2.25</u>
CGA	R	16.46	3.90	3.00	6.29	<u>4.22</u>	<u>5.49</u>	<u>2.62</u>
CGC	R	0.00	21.00	2.60	3.78	0.00	0.00	0.00
CGG	R	4.12	6.30	1.70	4.87	0.65	<u>2.42</u>	0.85
CGT	R	12.35	20.30	6.50	9.02	0.61	1.90	1.37
AGC	S	4.12	16.00	9.70	11.34	<u>0.26</u>	<u>0.42</u>	<u>0.36</u>
AGT	S	4.12	9.50	14.20	14.01	<u>0.43</u>	<u>0.29</u>	<u>0.29</u>
TCA	S	37.04	7.80	18.80	18.28	<u>4.75</u>	1.97	<u>2.03</u>
TCC	S	8.23	8.90	14.20	11.20	0.92	0.58	0.73
TCG	S	0.00	8.70	8.50	9.33	0.00	0.00	0.00
TCT	S	20.58	8.70	23.50	25.17	<u>2.37</u>	0.88	0.82
ACA	T	16.46	8.20	17.80	15.67	<u>2.01</u>	0.92	1.05
ACC	T	4.12	22.80	12.60	10.34	<u>0.18</u>	<u>0.33</u>	<u>0.40</u>
ACG	T	8.23	14.80	7.90	7.74	0.56	1.04	1.06
ACT	T	12.35	9.10	20.30	17.52	1.36	0.61	0.70
GTA	V	0.00	11.10	11.80	9.92	0.00	0.00	0.00
GTC	V	8.23	15.10	11.60	12.77	0.55	0.71	0.64
GTG	V	4.12	25.50	10.60	17.36	<u>0.16</u>	<u>0.39</u>	<u>0.24</u>
GTT	V	16.46	18.50	22.00	27.24	0.89	0.75	0.60
TGG	W	8.23	15.20	10.30	12.48	0.54	0.80	0.66
TAC	Y	20.58	12.10	14.60	13.73	1.70	1.41	1.50
TAT	Y	12.35	16.50	18.90	14.63	0.75	0.65	0.84
TAA	*	0.00	2.00	1.00	0.95	0.00	0.00	0.00
TAG	*	0.00	0.30	0.50	0.53	0.00	0.00	0.00
TGA	*	4.12	1.10	0.70	1.17	<u>3.75</u>	<u>5.89</u>	<u>3.52</u>

“*”表示终止密码子，下划线：表示2个物种密码子比较具有明显偏差(0.5, 2)的分值。

3 结论与讨论

通过CodonW和EMBOSS综合分析芍药*API*基因的密码子用法特征,发现该基因偏好使用以A/T结尾的密码子,对29种密码子具有偏好性,其中使用频率最高的是TCA(3.00),其次是CCA(2.67)。在不存在自然选择压力的条件下,一定方向的突变压力会影响序列本身的碱基组成,而这一效应同时会反映在同义密码子的第3位碱基上,如果AT到GC

突变压力高,那么就会导致密码子的第3位是A或者是T^[12]。本研究中发现GC3s值较低,表明芍药*API*基因偏好使用以A/T结尾的密码子,结合*API*基因功能,可进一步推断芍药花器官在发育过程中AT到GC的突变压力比GC到AT的突变压力高,这可能跟该基因的特殊功能有关。由于芍药基因组序列尚未公布,所以,芍药*API*基因与芍药基因组密码子偏好性的比较还有待研究。

在对新基因的开发研究中,对基因编码蛋白的原核表达和真核表达进行分析具有重要意义。大肠杆菌作为原核表达系统,酵母作为真核表达系统已广泛应用于基因表达研究中。本研究中通过分析芍药 *API* 与 3 种不同模式生物基因组中不同密码子用法的差异,发现芍药 *API* 基因与大肠杆菌基因组密码子偏好性的差异大于与酵母和拟南芥基因组密码子偏好性的差异,其中与酵母基因组偏性的差异最小,因此,酵母真核表达系统更适合作为 *API* 基因的外源表达系统。转基因研究常常需要进行基因的异源表达,而不同物种基因间密码子用法存在较大差异,因此,分析外源基因与宿主系统的密码子特性,并对一些密码子进行改造,采用符合宿主基因组的密码子,对提高转录、翻译效率,进而对提高基因的表达量具有重要意义^[5]。本研究中分析了 12 种不同植物 *API* 基因的密码子使用特性,发现大多数植物以 A/T 碱基结尾, RSCU 值大于 1 的密码子占多数,表明 *API* 基因在大多数植物中偏向以 A/T 碱基结尾。这可能与 *API* 基因的特殊功能有关。此外, ENC 值分析结果表明, *API* 基因在芒果中的表达水平相对较高,而在芍药和牡丹等植物中的表达水平一般,这进一步提示人们可以参照高表达植物密码子使用特性对芍药 *API* 基因密码子进行优化设计,从而提高其在芍药中的表达水平。密码子偏好性分析既可以为基因表达选择合适的宿主表达系统,也可为通过改造密码子提高基因的表达量提供参考依据。

参考文献:

- [1] 刘庆坡, 谭军, 薛庆忠. 籼稻品种 93-11 同义密码子的使用偏性[J]. 遗传学报, 2003, 30(4): 335-340.
- [2] 胡桂兵, 张上隆, 徐昌杰, 等. 柑橘密码子用法分析[J]. 果树学报, 2006, 23(3): 479-485.
- [3] 刘汉梅, 何瑞, 赵耀, 等. 玉米密码子用法分析[J]. 核农学报, 2008, 22(2): 141-147.
- [4] 郭秀丽, 王玉, 杨路成, 等. 茶树 *CBF1* 基因密码子使用特性分析[J]. 遗传, 2012, 34(12): 1614-1623.
- [5] Gustafsson C, Govindarajan S, Minshull J. Codon bias and heterologous protein expression[J]. Trends Biotechnol, 2004, 22(7): 346-353.
- [6] 晁岳恩, 吴政卿, 杨会民, 等. 11 种植物 *psbA* 基因的密码子偏好性及聚类分析[J]. 核农学报, 2011, 25(5): 927-932.
- [7] Ge J, Zhao D, Han C, et al. Cloning and expression of floral organ development-related genes in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.)[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(10): 6493-6503.
- [8] 张乐, 金龙国, 罗玲, 等. 大豆基因组和转录组的核基因密码子使用偏好性分析[J]. 作物学报, 2011, 37(6): 965-974.
- [9] Sharp P M, Cowe E. Synonymous codon usage in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Yeast, 1991, 7(7): 657-678.
- [10] Sharp P M, Li W H. An evolutionary perspective on synonymous codon usage in unicellular organisms[J]. J Mol Evol, 1986, 24(1/2): 28-38.
- [11] Wright F. The "effective number of codons" used in a gene[J]. Gene, 1990, 87(1): 23-29.
- [12] November J A. Accounting for background nucleotide composition when measuring codon usage bias[J]. Mol Biol Evol, 2002, 19(8): 1390-1394.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 王 库