

刀鲚类Tc1转座子的分子特征及拷贝数变化的意义

刘东, 李盈盈, 唐文乔*, 杨金权, 郭弘艺

(上海海洋大学鱼类研究室, 上海市海洋动物系统分类与进化重点实验室, 上海 201306)

摘要: 为了探讨刀鲚2种不同生活史种群的遗传结构差异以及成因, 本研究利用分子克隆及转座子展示技术, 从刀鲚基因组中分离、鉴定出一类新的、命名为Cn-Tc1的转座子。该转座子全长1896 bp, 为鯀科鱼类第一类被挖掘的Tc1转座子。Cn-Tc1自身包含另一个长度为1040 bp的类Tc1, 表明Cn-Tc1在基因组内的转座经历过多次迸发。Cn-Tc1的5'和3'末端反向重复序列长度分别为64和83 bp, 转座插入位点具有“TATA”基序。预测的Cn-Tc1转座酶具有与DNA结合的保守结构, 提示其仍具有转座潜能。Cn-Tc1插入位点侧翼序列的GC含量呈不均匀分布, 均值低于AT含量。运用荧光定量PCR方法, 估算了靖江、象山、洞庭湖、鄱阳湖、太湖以及崇明等水域刀鲚种群基因组中Cn-Tc1拷贝数, 分别为 3.140×10^3 、 2.992×10^3 、 6.876×10^3 、 5.205×10^3 、 5.531×10^3 和 3.046×10^3 个。单因素方差分析发现, 象山、崇明、靖江种群间的拷贝数差异性不显著, 而与其他种群的差异性均显著; 鄱阳湖、太湖和洞庭湖种群之间差异性亦不显著, 但与其他种群均呈显著性差异。研究结果表明, Cn-Tc1促进了遗传结构的改变, 为刀鲚种群的适应性进化提供了自然选择的基础。

关键词: 刀鲚; 转座子; 类Tc1; 拷贝数; 种群

中图分类号: Q 785; S 965

文献标志码: A

刀鲚(*Coilia nasus*)是分布于太平洋中西部水域的一种小型鱼类, 隶属于鲱形目(Clupeiformes)、鯀科(Engraulidae)^[1]。分布于长江流域的刀鲚包括2种生态类型: 一类为洄游型, 成鱼春季由海洋经河口溯江而上进入江、湖中产卵繁殖, 孵化后的幼鱼随江流返回海洋育肥; 另一类为淡水定居型, 如定居于太湖的种群, 其繁殖、生长及育肥等生活史都在同一水域^[2-3]。渔业上, 定居型刀鲚是低值渔品, 而溯江洄游中的刀鲚自古就与长江鲥鱼、河鲀并称“长江三鲜”, 是名贵经济鱼类。近年来, 洄游型刀鲚的资源日益衰竭, 而淡水定居型的种群数量却大规模增长^[4]。造成这种现象的原因, 除了生物学特征及捕捞强度等的差异以外, 还应从遗传多样性水平及其遗传结构差异、进化历史和种群恢复潜力等

方面探讨。

转座子(transposon)是一种广泛存在于各种生物基因组中的散布重复序列, 能从染色体的一个位点转移到另一个位点, 引起生物基因或基因组的重组和变异, 加速生物多样性和进化速率^[5]。根据转座机制, 转座子可分为2类: 一类是反转录转座子, 由RNA介导, 依靠反转座酶实现复制性转座; 另一类是DNA转座子, 由DNA介导, 依靠转座酶催化转座^[6]。本课题组已从刀鲚基因组内获得第一类短散布重复序列(SINE), 其中2个SINE插入位点发生于刀鲚种化后的历程中, 但却在鄱阳湖和太湖的种群中丢失, 表明刀鲚不同种群基因组对SINE插入位点产生了选择作用^[7]。

类Tc1转座子属第二类转座子中最为丰富、

收稿日期: 2015-04-24 修回日期: 2015-07-20

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203065); 国家自然科学基金(31172407, 31472280); 高等学校博士学科点科研专项(20123104110006); 上海高校水产学高峰学科

通信作者: 唐文乔, E-mail: wqtang@shou.edu.cn

最为普遍的一个家族^[8]。依靠自身携带的基因编码转座酶,通过“剪切-粘贴”机制在基因组中进行转移,实现拷贝数的扩增^[6]。在硬骨鱼类基因组中,类Tc1转座子约为1000~32 000份拷贝^[9]。但作为宿主的生物缺乏对插入转座子的清除能力,因此转座子插入位点是一种非常理想的分子标记^[10]。本研究试图在探索性发掘刀鲚类Tc1转座子的基础上,分析不同地理群体的类Tc1转座子拷贝数,阐述不同生态型之间转座子的差异及其在生态型形成中的可能作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料和DNA提取

刀鲚样本采自长江靖江段和崇明段,象山渔港,洞庭湖,鄱阳湖和太湖。除象山港的样本从渔港的渔市购买外,其余样本均采用渔网直接捕捞,新鲜样本用95%的酒精保存后带回实验室。样本经形态鉴定确认后,剪取背部肌肉30 mg并充分研磨,参照上海生工试剂盒DNA提取方法进行总DNA的提取。1%琼脂糖凝胶电泳,EB染色检测DNA的质量,紫外分光光度计测定DNA的浓度。

1.2 类Tc1转座子的克隆

参照鱼类已知的类Tc1转座子序列^[11],利用

Primer premier 6.01软件^[12],设计寡核苷酸引物IR(表1)。以刀鲚DNA为模板,IR PCR扩增程序:94 °C预变性4 min;94 °C 30 s、60 °C 30 s、72 °C 2 min,共35个循环;最后72 °C延伸10 min。20 μL的反应体系包含:10 μM的IR引物1 μL, Taq聚合酶0.5 μL(5 U/μL),0.2 μM的dNTP 1 μL,10×PCR buffer 2 μL, DNA 200 ng。PCR扩增产物采用1%琼脂糖凝胶电泳分离,EB染色观察,参照上海生工的胶回收试剂盒说明书进行回收和纯化目的片段,目的片段与pMD19-T载体(TaKaRa)连接,转化至大肠杆菌DH5α,蓝白斑筛选,随机选择阳性克隆送上海生工测序。

1.3 类Tc1两端反向重复序列及侧翼序列的克隆

依据IR PCR克隆、测序获得的刀鲚类Tc1转座子序列,利用Primer premier 6.01软件^[12],设计刀鲚类Tc1转座子的5'端特异引物GSL1和GSL2,以及3'端特异引物GSR1和GSR2(表1)。运用转座子展示技术(TE display)^[13],即限制性内切酶Hinf II (TaKaRa)酶切基因组DNA,酶切产物纯化回收;纯化后的DNA片段,在T₄ DNA连接酶(TaKaRa)的作用下,两端加上泡状接头(表1);具接头的DNA片段为模板,利用巢式PCR扩增,第1次以接头引物Ad1与GSL1/GSR1进行PCR扩增,20 μL的反应体系同1.2;扩增程序:94 °C预变性3 min;94 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 2 min,

表 1 引物及接头序列信息

Tab. 1 The information on primers and adaptors

引物和接头 primer and adaptor	序列(5'-3') sequence	退火温度/°C anneal temperature
IR 引物 IR primer	TACAGTGCCCTTGATAAGTATTCACC	60
泡状接头 bubble-like adaptor	up CTCTCCCTTCTCGAATCGTAACCGTTCGTACGAGAATCGCTGTCCTC CTCCTTG	
	down CGCAAGGAGAGGACGCTGTCTGTGCGAAGGTAAGGAACGGACGAG AGAAGGGAGAG	
接头引物 adaptor primer	Ad1 CGAATCGTAACCGTTCGTACGAGAATCGCT	
	Ad2 GTACGAGAATCGCTGTCCTC	
Tc1特异引物 Tc1-specific primer	5' GSL1 CCTGTGTGGCAATTTGATCAGTGG	60
	GSL2 GTCATTGTTGTAACCAGAGGGCAC	59
	3' GSR1 GAAGGTGGTGGCAGCATCAATCAT	60
	GSR2 ACAGCAAGACAATGACCCAAAGC	59
荧光定量PCR引物 real-time PCR primer	UF CCACCAGGACACCTCTGACTACTC	55
	FR GATTGATGCTGCCACCACCTTCTT	55

共25个循环；最后72 °C延伸10 min；PCR产物稀释1000倍作为模板，第2次以接头引物Ad2与GSL2/GSR2进行PCR扩增，20 μL的反应体系同1.2；扩增程序：94 °C预变性3 min；94 °C 30 s，59 °C 30 s，72 °C 2 min，共35个循环；最后72 °C延伸10 min。PCR产物的检测、回收、克隆和测序同1.2。

1.4 荧光定量PCR测定类Tc1的拷贝数

运用real-time quantitative PCR (qRT-PCR)的方法，计算刀鲚基因组中类Tc1的拷贝数。构建刀鲚类Tc1的pMD19-T的重组质粒并作为参照样品，刀鲚种群基因组DNA为检测样品，样品梯度稀释后作为模板，qRT-PCR的引物为UF和FR(表1)，20 μL反应体系：10 μL Master Mix，2 μL DNA模板，引物各0.5 μL。反应程序：95 °C预变性5 min；95 °C 10 s，55 °C 20 s，72 °C 30 s，共30个循环。实验重复3次。使用SPSS 17.0软件的单因素方差分析种群间拷贝数差异的显著性。

1.5 数据分析和蛋白结构预测

用Jellyfish2.0软件对测序后的序列进行拼接和分析，ClustalX1.83软件进行多序列比对。序列经Blast程序在NCBI数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov)

进行同源性分析。SWISS-MODEL程序(<http://swissmodel.expasy.org>)在线预测氨基酸序列的三级结构，PSORT II程序(<http://psort.ims.utokyo.ac.jp>)预测转座酶的核算定位信号。

2 结果

2.1 类Tc1转座子的序列特征

通过IR PCR扩增，获得的重组克隆序列长度为1768~1771 bp，经Blastn程序在NCBI数据库中搜索，发现与河鲈(*Perca fluviatilis*)的类Tc1(DQ778529)具有81%的相似性(592/734 bp， $E=2e-149$)。根据命名规则，新的类Tc1转座子命名为Cn-Tc1，其各元件(Access No. KJ534286-89、KJ634676-77)与一致性序列的变异为0.4%~0.7%，变异位点39个，插入和缺失突变各为7.6%，碱基替换为84.8%。69.2%的变异位点分布在Cn-Tc1的转座酶基因内，10.2%分布在两端100 bp区间，21.6%分布在基因与反向重复的间隔区。

通过巢式PCR，经序列拼接，获得Cn-Tc1的末端(反向重复，ITR)及侧翼序列。Cn-Tc1的全长序列为1896 bp，末端具“TA”结构，5'-及3'-ITR分别为83和64 bp，序列相似性为64.4%(图1)。生物信息学分析发现，Cn-Tc1的内部插入了

```

TATAAAAAGTATTCACCCCCTTGGATGTCTACTGTTTTATGTCTTTTATAAATCAATCATGCTCAACATAATTAGTTT
TTTTTAAACCAAAATGCAGATAACAGATAACAGATAAAACAGATAACAGATAAAAAGCTGAAATATAATTTGCTTATTA
CAGTGCCTCTGGTTACAACAAATGACACCAAATTCATGGGGCTTATTCACAATGTTGTCTTGTATCATATGACCAAAAT
TTGGTAATGATGTGTTAAAGTGTGOCAGATATAAGCTTACAAACACTTCCACTGATCAAATGOCACACAGTTTCTT
GTATAAGGCTTGTCTGAAGATTATATTTAOCAGTTGCGGGAAGTTGGGCAAAATTTGTGAOCTTTTTCACGTTTGT
GAAAATGTAGTTTCACTTTATTTTGA AAAATGGCGGAACATTTTCCACCCATAAAATGACGTCATACAGTTAAATGAAC
TCGGCTTGATCCAAGGATTCCAAGTTTTTGAAAATTGATGTACGGATCAAAGTTACGTAGACATGAAAACCTTCAACT
GTCTGAGTCAGTGTGCAAAATTTCAAAAACGTTTTACCAATTGGTTCTATGGGCTGTCATAGACTCCCATGGAGGAAAA
ATAAATAAAGAAGAATAATACAAAAGCTAGAAACACAATGGGTGCTTTCGACGCTTTCCTGCTTGGCCCCAATAATGA
TTTCAACAAAGTAGACAAATAAA TAAAAAATATGTAATATAAAATAAGTGATTGCATAACTATTCACCCCCTT//AAGAC
GGTGAATACCTTATGCAATTACTCATTTTTATGTTGTAGACTTTT TATTTCATTGACATTAATGAAAATGGTTTTCAATTT
GACATTAAGAGGATTTTTTGTCAAAAAAGCCTAAATGTGTGGGACATGATTGATTTAAAAAGCAAAATGAAGGTGAGTAT
TTTTCTA

```

图1 刀鲚Cn-Tc1转座子的序列特征(5'-3')

单、双下划线分别表示Cn-Tc1及其内部的类Tc1的末端反向重复；黑体和斜黑体“TA”分别表示Cn-Tc1和类Tc1的靶位点；“//”表示省略的核苷酸序列

Fig. 1 Characters of transposon sequence of Cn-Tc1 in *C. nasus* (5'-3')

Single lines under nucleotides denote the inverse repeat of Cn-Tc1, and double underlines denote that of the Tc1-like transposon inserted into Cn-Tc1; the black TA indicate a site Cn-Tc1 inserted, and the oblique-black TA indicate a site Tc1-like transposon inserted; double slash show the omitted nucleotides

一个新的类Tc1, 全长1040 bp, 两端反复重复均为47 bp, 末端具“TA”结构(图1)。插入的类Tc1与黑口新鰕虎鱼(*Neogobius melanostomus*)的类Tc1转座子序列(DQ778518.1)具有高度相似性(81%), 表明插入的类Tc1在物种间发生了水平转移。

2.2 Cn-Tc1转座酶氨基酸序列分析

除去内部16个终止子, Cn-Tc1转座酶基因预测编码237个氨基酸。PSORT II 分析发现, 序列的第3位点(RKKR)和第4位点(KKRH)分别有1个pat4-type核酸定位信号。氨基端DNA结合域^[12]的42~112区间具“螺旋-转角-螺旋(HTH)”的保守结构; 羧基末端发现具催化作用的“DD34E”结构。Cn-Tc1与鳎(*Pleuronectes platessa*)的具活性的PPTN转座酶(CAC28060)的相似性为56%, HTH结构也高度相似(图2), 表明Cn-Tc1转座酶具有转座潜能, 在其他催化性转座酶辅助的情况下, 可能会促使Cn-Tc1转座。

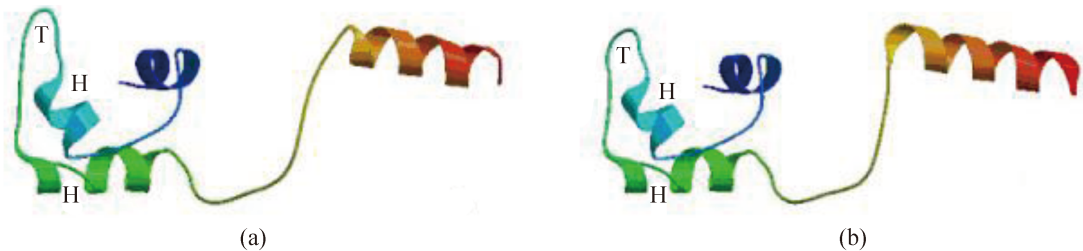


图2 刀鲚Cn-Tc1预测的转座酶(a)与鳎PPTN转座酶(b)序列的三级结构

Fig. 2 The three-dimensional structure in the predicted transposases of Cn-Tc1 (a) in *C. nasus* and PPTN (b) in *P. platessa*

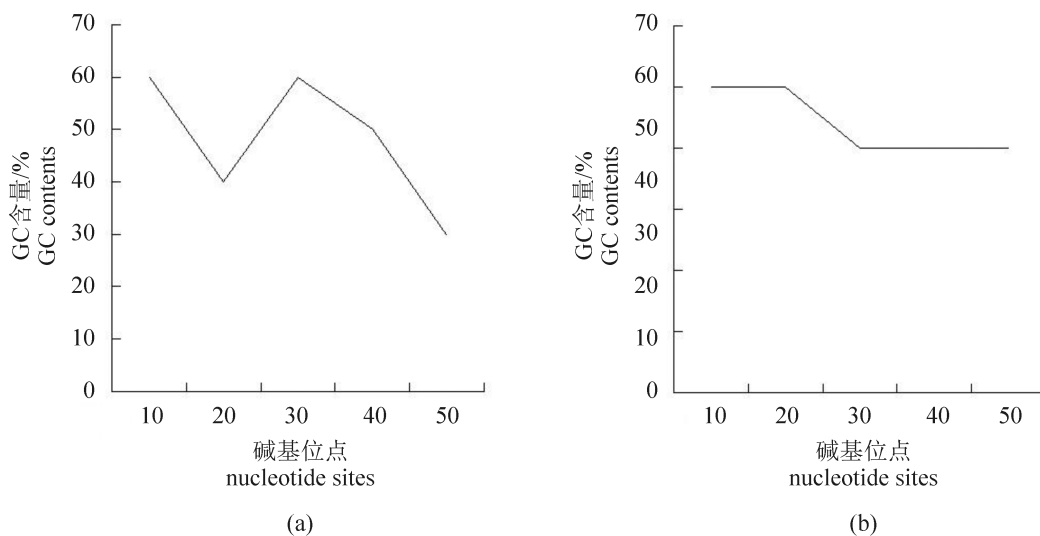


图3 刀鲚Cn-Tc1插入位点的左侧翼(a)和右侧翼(b)序列的GC含量

Fig. 3 The GC content change curve of the flanking sequence of Cn-Tc1 in *C. nasus* insertion site at the left (a) and the right (b)

2.3 Cn-Tc1位点侧翼序列分析

分析Cn-Tc1的侧翼序列发现, 以插入位点为0记数, 其-188 bp位点处具有一个非完整型的微卫星(GT)₁₆-(GA)₁₆, +154 bp位点处具有一个完整型的微卫星(GA)₇。两侧翼的GC含量分析, 以每10个碱基为单位, 在50 bp的长度范围内, 近插入位点均具有最高的GC含量, 随后左侧翼的GC含量波动分布(图3-a), 右侧翼先下降后趋于平稳(图3-b), 表明Cn-Tc1在刀鲚基因组内为随机分布。这种插入位点侧翼序列GC含量的分布特点, 使转座子易被宿主同化, 为生物提供新的遗传物质。

2.4 Cn-Tc1拷贝数的多态性分析

Cn-Tc1的重组质粒作为标准样, 以10倍递次稀释, 3个终浓度进行qRT-PCR分析。拷贝数的对数值为横坐标, 阈值循环数(threshold cycles)为纵坐标, 构建标准曲线。结果显示, Cn-Tc1的质

粒标准样的扩增效率为92.378%，拟合标准曲线方程： $y=-3.519X+61.80$ ，相关系数0.965，扩增效率和相关系数符合qRT-PCR绝对定量要求。通过标准曲线方程，以刀鲚基因组大小 $3.534 \text{ pg}^{[14]}$ 为依据，刀鲚的靖江、象山、洞庭湖、鄱阳湖、太湖以及崇明等种群的Cn-Tc1拷贝数分别约为 3.140×10^3 、 2.992×10^3 、 6.876×10^3 、 5.205×10^3 、 5.531×10^3 和 3.046×10^3 个(图4)。种群间拷贝数的方差分析表明，靖江、象山、崇明种群之间的差异均不显著($P > 0.05$)，混合这3个种群后，与其他种群的差异显著($P < 0.05$)。洞庭湖、鄱阳湖与太湖种群之间的差异亦不显著($P > 0.05$)，混合后与其他种群均呈显著性差异($P < 0.05$)。

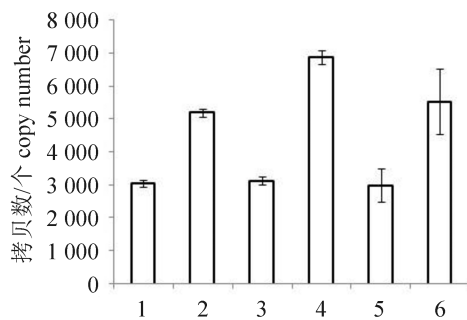


图4 Cn-Tc1在刀鲚不同种群中的拷贝数($n=3$)

1.崇明; 2.鄱阳湖; 3.靖江; 4.洞庭湖; 5.象山; 6.太湖

Fig. 4 The copy numbers of Cn-Tc1 in *C. nasus* populations

1. Chongming; 2. Poyang Lake; 3. Jingjiang; 4. Dongting Lake; 5. Xiangshan; 6. Taihu Lake

3 讨论

类Tc1转座子是DNA转座子超级家族中最丰富、最普遍的一类，在真菌、植物、原生动物、鱼类、蛙类和哺乳类基因组中均有发现^[15]。其结构特征表现为两侧具有ITR(inverted terminal repeat)结构，中间为转座酶编码基因。本研究利用寡核苷酸IR引物，扩增出具有类Tc1家族典型特征的Cn-Tc1，为鲢科鱼类中首个克隆的类Tc1转座子。Cn-Tc1两端具有较为完整的ITR结构，以及侧翼“TA”双核苷酸序列的特点，表明其遵循类Tc1转座子的“剪切-粘贴”机制进行转座和插入，在插入基因组的过程中，以“TATA”为受体位点^[5]。本研究发现，Cn-Tc1自身的“TATA”序列可作为受体位点，被类Tc1从其他物种水平转移后插入^[11]，导致Cn-Tc1转座失活，

有利于成为新的遗传物质。有研究证实，类Tc1插入的受体位点的侧翼序列，具有核苷酸组成和物理特征，但其DNA结构而非特异性的碱基配对决定了受体位点的选择性^[16]。本研究通过对Cn-Tc1的侧翼序列前50个碱基GC含量的统计分析，发现GC含量局部的变化幅度较大，总体含量偏低，而AT含量偏高。这表明除了上述选择性，类Tc1插入靶位点还具有富含AT区域的偏好性。

相关研究表明，转座子入侵宿主的历史越长，宿主基因组内的拷贝数就越多，例如Tdr1在斑马鱼(*Danio rerio*)基因组内具有3000个拷贝^[17]。宿主对入侵的转座子存在一种选择的机制，保留无害插入而清除有害插入。通过选择作用，宿主维持了基因组内转座子的“新增-丢失”的平衡^[18]。另一方面，转座子演化进程中，随着时间的推移，其各个拷贝间的序列趋异性升高。例如，斑马鱼Tdr1转座子元件序列差异为4%~6%^[17]，湖红点鲑(*Salvelinus namaycush*)Tsn1元件序列差异为7.8%~10%^[19]，而河鲈(*Salmo trutta fario*)的类Tc1歧化为两型转座子^[20]。转座子入侵后，进化过程中序列发生了突变，导致拷贝间序列的差异。本研究的Cn-Tc1序列差异为0.3%~0.7%，明显低于Tdr1和Tsn1，可能的原因在于Cn-Tc1入侵刀鲚基因组的时间较晚。

mtDNA的中央控制区全序列分析显示，长江及其邻近水域的刀鲚具有2个谱系及多个支系，其分化可能发生于约3.5~4.7万年前的更新世末期，目前正处于谱系排序状态^[21]。刀鲚的核糖体蛋白S7基因和核糖体转录间隔的序列分析发现，不同的种群曾发生一定的基因交流阻隔，造成种群间核苷酸替换速率的变化^[22]。Gao等^[23]认为西太平洋沿岸分布的刀鲚，因不同海域的盐度差异，隔离了刀鲚种群间的基因交流，促进了种群分化。长江刀鲚与黄河刀鲚在形态学已有显著差别^[24]。最近研究发现，长江刀鲚的不同生活史种群之间具有相互混杂的现象^[25-26]，表明刀鲚正处在种群分化的阶段。本研究结果显示，Cn-Tc1转座子在洞庭湖、鄱阳湖和太湖等定居型种群的拷贝数显著高于崇明、靖江和象山等洄游型种群。这可能由于洄游型种群在适应淡水环境的过程中，迫于环境压力，转座子迸发活性，Cn-Tc1进行了大量的“剪切-粘贴”，从而拷贝数显著增多。大量转座子的插入，可引起生

物基因组发生大量的染色体重排, 导致刀鲚基因组发生分化。这类Tc1转座子的活动为研究长江刀鲚不同生态型分化的原因提供了新思路。

参考文献:

- [1] Whitehead P J P, Nelson G J, Wongratana T. FAO species catalogue, Clupeoid fishes of the world (Suborder Clupeoidei). Part 2. Engraulidae [C]. FAO Fisheries Synopsis, 1988: 305-579.
- [2] 唐文乔, 胡雪莲, 杨金权. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性[J]. 生物多样性, 2007, 15(3): 224-231.
- Tang W Q, Hu X L, Yang J Q. Species validities of *Coilia brachygnathus* and *C. nasus taihuensis* based on sequence variations of complete mtDNA control region [J]. Biodiversity Science, 2007, 15(3): 224-231 (in Chinese).
- [3] 袁传宓, 林金榜, 秦安龄, 等. 关于我国鲚属鱼类分类的历史和现状——兼谈改造旧鱼类分类学的几点体会[J]. 南京大学学报(自然科学版), 1976(2): 1-12.
- Yuan C M, Lin J B, Qin A L, et al. The history and present situation of *Coilia* classification in China [J]. Journal of Nanjing University: Natural Science, 1976(2): 1-12 (in Chinese).
- [4] 刘恩生, 鲍传和, 万全. 太湖湖鲚渔获量及年龄结构变化与环境间的相互关系[J]. 水产学报, 2008, 32(2): 229-235.
- Liu E S, Bao C H, Wan Q. The changes of the catch and age structure of lake anchovy and the relationship with environmental variation in Lake Taihu [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(2): 229-235 (in Chinese).
- [5] 刘东, 唐文乔, 杨金权, 等. 类Tc1转座子研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2011, 41(2): 87-96.
- Liu D, Tang W Q, Yang J Q, et al. Recent advancements in Tc1-like transposons [J]. Scientia Sinica Vitae, 2011, 41(2): 87-96 (in Chinese).
- [6] Finnegan D J. Transposable elements in eukaryotes [J]. International Review of Cytology, 1985, 93: 281-326.
- [7] Liu D, Li Y Y, Tang W Q, et al. Population structure of *Coilia ectenes* in the Yangtze River revealed by insertion of short interspersed elements [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2014, 54: 103-112.
- [8] Aziz R K, Breitbart M, Edwards R A. Transposases are the most abundant, most ubiquitous genes in nature [J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(13): 4207-4217.
- [9] Nandi S, Peatman E, Xu P, et al. Repeat structure of the catfish genome: A genomic and transcriptomic assessment of Tc1-like transposon elements in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Genetica, 2007, 131(1): 81-90.
- [10] Korswagen H C, Durbin R M, Smits M T, et al. Transposon Tc1-derived, sequence-tagged sites in *Caenorhabditis elegans* as markers for gene mapping [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(25): 14680-14685.
- [11] Pocwierz K A, Burzynski A, Wenne R. Family of Tc1-like elements from fish genomes and horizontal transfer [J]. Gene, 2007, 390(1-2): 243-251.
- [12] Lalitha S. Primer premier 5 [J]. Biotech Software & Internet Report, 2000, 1(6): 270-272.
- [13] Van den Broeck D, Maes T, Sauer M, et al. Transposon display identifies individual transposable elements in high copy number lines [J]. The Plant Journal, 1998, 13(1): 121-129.
- [14] 徐钢春, 董晶晶, 聂志娟, 等. 刀鲚不同组织的乳酸脱氢酶同工酶及DNA含量研究[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(4): 481-488.
- Xu G C, Dong J J, Nie Z J, et al. Studies on lactate dehydrogenase isozymes and DNA content in different tissues of *Coilia ectenes* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(4): 481-488 (in Chinese).
- [15] Plasterk R H A, Izsvák Z, Ivics Z. Resident aliens: The Tc1/mariner superfamily of transposable elements [J]. Trends in Genetics, 1999, 15(8): 326-332.
- [16] Vigdal T J, Kaufman C D, Izsvák Z, et al. Common physical properties of DNA affecting target site selection of sleeping beauty and other Tc1/mariner transposable elements [J]. Journal of Molecular Biology, 2002, 323(3): 441-452.
- [17] Izsvák Z, Ivics Z, Hackett P B. Characterization of a Tc1-like transposable element in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Molecular and General Genetics MGG, 1995, 247(3): 312-322.
- [18] Le Rouzic A, Deceliere G. Models of the population genetics of transposable elements [J]. Genetics Research, 2005, 85(3): 171-181.
- [19] Reed K M. Tc1-like transposable elements in the genome of lake trout (*Salvelinus namaycush*) [J]. Marine

- Biotechnology, 1999, 1(1): 60-67.
- [20] 郭秀明, 李福贵, 蒋霞云, 等. 亚东鲑基因组中*Tc1-like*转座子的序列歧化特征分析[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(1): 15-21.
Guo X M, Li F G, Jiang X Y, *et al.* Evolution analysis of Tc1-like transposon in *Salmo trutta fario* genome [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(1): 15-21 (in Chinese).
- [21] 杨金权, 胡雪莲, 唐文乔, 等. 长江口邻近水域刀鲚的线粒体控制区序列变异与遗传多样性[J]. 动物学杂志, 2008, 43(1): 8-15.
Yang J Q, Hu X L, Tang W Q, *et al.* mtDNA control region sequence variation and genetic diversity of *Coilia ectenes* in Yangtze River estuary and its adjacent waters [J]. Chinese Journal of Zoology, 2008, 43(1): 8-15 (in Chinese).
- [22] Liu D, Guo H Y, Tang W Q, *et al.* Comparative evolution of S7 intron 1 and ribosomal internal transcribed spacer in *Coilia ectenes* (Clupeiformes: Engraulidae) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(3): 3085-3100.
- [23] Gao T X, Wan Z Z, Song N, *et al.* Evolutionary mechanisms shaping the genetic population structure of coastal fish: insight from populations of *Coilia ectenes* in Northwestern Pacific [J]. Mitochondrial DNA, 2014, 25(6): 464-472.
- [24] 王丹婷, 杨健, 姜涛, 等. 不同水域刀鲚形态的分析比较[J]. 水产学报, 2012, 36(1): 78-90.
Wang D T, Yang J, Jiang T, *et al.* A comparative study of the morphology of different geographical populations of *Coilia ectenes* [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(1): 78-90 (in Chinese).
- [25] 徐钢春, 顾若波, 刘洪波, 等. 长江短颌鲚耳石Sr/Ca值变化特征及其江海洄游履历[J]. 水产学报, 2014, 38(7): 939-945.
Xu G C, Gu R B, Liu H B, *et al.* Fluctuation of Sr/Ca in otoliths of *Coilia ectenes* in the Yangtze River and the validation for the anadromous migratory history [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(7): 939-945 (in Chinese).
- [26] 姜涛, 周昕期, 刘洪波, 等. 鄱阳湖刀鲚耳石的两种微化学特征[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 239-244.
Jiang T, Zhou X Q, Liu H B, *et al.* Two microchemistry patterns in otoliths of *Coilia ectenes* from Poyang Lake, China [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 239-244 (in Chinese).

Molecular characters of Tc1-like transposon isolated from *Coilia nasus* and implication of the copy number variation

LIU Dong, LI Yingying, TANG Wenqiao*, YANG Jinquan, GUO Hongyi

(Laboratory of Fishes, Shanghai Ocean University, Shanghai Key Laboratory of Marine Animal System Evolution and Classification, Shanghai 201306, China)

Abstract: *Coilia nasus* occurs as two different ecotypes in Yangtze River. To investigate the cause of the difference between population structures, we performed molecular clone and transposon displaying technology to obtain a novel Tc1-like transposon, named Cn-Tc1, from *C. nasus*. Cn-Tc1 with full length of 1 896 bp is the first Tc1-like transposon reported in Engraulidae fishes. Cn-Tc1 itself harbored an insertion of Tc1-like transposon of 1040 bp, suggesting that burst of Cn-Tc1 occurred in genome for several times. The lengths of inverted terminal repeats at the 5' and 3' ends of Cn-Tc1 were 64 and 83 bp, respectively. The sites at the insertions have a "TATA" motif. The predicted transposase showed a conserved DNA-binding structure, indicating that maybe Cn-Tc1 has potential for transposition. GC contents of the flanking sequence are higher than that of AT, showing an uneven distribution. A real-time PCR method was used to calculate the copy numbers of Cn-Tc1 in different populations including Jingjiang (JJ) in Jiangsu province, Xiangshan (XS) in Zhejiang province, Dongting Lake (DT), Poyang Lake (PY), Taihu Lake (TH), and Chongming (CM) in Shanghai. The copy numbers per haploid genome are 3.140×10^3 , 2.992×10^3 , 6.876×10^3 , 5.205×10^3 , 5.531×10^3 , 3.046×10^3 , respectively. With One-Way ANOVA analysis, there is no difference among XS, CM and JJ. When the three populations incorporated into one group of the migration, the difference among the group and other populations is significant. There is no difference among PY, TH and DT, but when incorporated into one group of the residence, the difference between the residence and the migration is significant. Our results indicated that the mutation of genetic structure caused via Cn-Tc1 facilitated the adaptive evolution of *C. nasus* populations by natural selection of genetic mutation.

Key words: *Coilia nasus*; transposon; Tc1-like transposon; copy number; population

Corresponding author: TANG Wenqiao. E-mail: wqtang@shou.edu.cn

Funding Projects: Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201203065); National Natural Science Foundation of China (31172407, 31472280); Ministry of Education's Doctoral Discipline Foundation in Higher Educational Institutions (20123104110006); Shanghai Universities Peak Disciplines Project of Fisheries