

DOI: 10.1360/yc-007-0829

## 圆斑星鲽及相关种类线粒体 DNA 控制区结构分析

赫崇波<sup>1</sup>, 曹洁<sup>1,2</sup>, 刘卫东<sup>1</sup>, 周遵春<sup>1</sup>, 葛陇利<sup>1,2</sup>, 高祥刚<sup>1</sup>, 王效敏<sup>3</sup>

1. 辽宁省海洋水产科学研究院, 辽宁省海洋水产分子生物学重点实验室, 辽宁省应用海洋生物技术开放实验室, 大连 116023;
2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 大连 116023;
3. 辽宁师范大学实验分析中心, 大连 116029

**摘要:**采用 PCR 产物直接测序法测定了圆斑星鲽(*Verasper variegatus*)的 24 个个体的线粒体控制区(Control region)核苷酸全序列,并进行了结构分析。结果表明,圆斑星鲽线粒体控制区核苷酸全序列具有长度多态性,得到 4 种长度单元型,主要表现为控制区中的串联重复序列的长度不同。对鲽形目鱼类如鲽科的条斑星鲽(*Verasper moseri*)、黄盖鲽(*Limanda feruginea*)、马舌鲽(*Reinhardtius hippoglossoides*),美洲拟庸鲽(*Heppoglossoides platessoides*)和鲆科的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)以及鳎科的欧洲鳎(*Solea solea*)、塞内加尔鳎(*S. senegalensis*)和沙鳎(*S. lascari*)的控制区的比较研究发现,鲽形目鱼类的线粒体控制区均存在相似的结构,即线粒体控制区可分为终止相关序列区(ETAS)、中央保守区(包括 CSB-A、CSB-B、CSB-C、CSB-D、CSB-E、CSB-F)以及保守序列区(CSB1、CSB2、CSB3)和重复序列区(Repeat region)4 个区域。通过与脊椎动物各个纲线粒体控制区序列的比较分析,发现只有鲽形目(包括鲆、鲽类和鳎类)鱼类和两栖纲的无尾类在 CSB-3 之后存在相似的串联重复序列。

**关键词:**圆斑星鲽;线粒体控制区;串联重复序列;结构分化

## Structure analysis of mtDNA control region of spotted halibut (*Verasper variegatus*) and its related species

HE Chong-Bo<sup>1</sup>, CAO Jie<sup>1,2</sup>, LIU Wei-Dong<sup>1</sup>, ZHOU Zun-Chun<sup>1</sup>, GE Long-Li<sup>1,2</sup>, GAO Xiang-Gang<sup>1</sup>, WANG Xiao-Min<sup>3</sup>

1. Liaoning Ocean and Fisheries Science Research Institute, Liaoning Key Laboratory of Marine Fishery Molecular Biology, Liaoning Open Lab of Applied Marine Biotechnology, Dalian 116023 China;
2. College of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China;
3. Experiment Center, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

**Abstract:** Spotted halibut (*Verasper variegatus*) is the only one species of Genus *Verasper* in China. The fish was naturally distributed in Yellow Sea and Bohai Sea in northern China and Kyushu in Japan and in Korean sea area. Using PCR product direct sequencing, mitochondrial control region sequences of 24 individuals of spotted halibut was confirmed and analyzed. 4 control region haplotypes, resulting from length heteroplasmy of the tandem repeat region, was obtained from these 24 fish. Sequence analysis demonstrated that there were four similar structures in the control region, i.e., extended terminal associated sequences (ETAS), central conserved sequence block (CSB), conserved sequence block (CSB), and repeat region, in V.

收稿日期: 2006-10-31; 修回日期: 2007-04-03

基金项目: 国家海洋经济规划实施的科技推进平台与运行项目(编号: 2005-2007)和国家自然科学基金(编号: 30571410)资助 [Supported by the State Oceanic Administration(No.2005-2007) and Nature Science Foundation of China (No.30571410)]

作者简介: 赫崇波(1961-), 男, 满族, 博士, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 水产分子遗传学。Tel: 0411-81787087;

E-mail: hechongbo@hotmail.com

曹洁(1983-), 女, 辽宁省鞍山市人, 硕士研究生, 专业方向: 动物分子遗传学。

赫崇波, 曹洁并列第一作者。

*moseri*, *Limanda ferruginea*, *Reinhardtius hippoglossoides*, *Heppoglossoides platessoides*, *Paralichthys olivaceus*, *Solea solea*, *S. senegalensis*, and *S. lascari*. By comparing with other vertebrates, we found that there were similar repeated sequences immediately after the CSB-3 in all of the anuran species.

**Keywords:** Spotted halibut *Verasper variegatus*; mtDNA control region; tandem repeat; structure analysis

线粒体控制区是线粒体DNA(mtDNA)中进化最快、变化最复杂的研究热点区域。对控制区结构和功能的研究不仅将有助于了解DNA复制、转录的机制和进化规律，而且有助于养殖和野生生物群体的遗传多样性水平的研究<sup>[1]</sup>。在人类和一些哺乳动物的线粒体控制区中识别了终止相关序列(ETAS)、中央保守序列(CSB-A、CSB-B、CSB-C、CSB-D、CSB-E、CSB-F)和保守序列(CSB1、CSB2、CSB3)等<sup>[2~6]</sup>。但是，在现在所研究的鱼类中尚未识别出中央保守区的CSB-A、B、C<sup>[7~13]</sup>。

圆斑星鲽(*Verasper variegatus*)是分布于我国北部的黄、渤海及日本九州、朝鲜海域的大形珍贵优质鲽类，其肉质细嫩鲜美，营养价值很高，具有广阔的开发前景，国内外学者先后进行了圆斑星鲽生物学<sup>[14]</sup>、繁殖生物学<sup>[15,16]</sup>和分子生物学<sup>[17]</sup>的研究，我们已经完成了圆斑星鲽线粒体基因组全序列测定及其结构的研究(另文报道)。为了进一步开展圆斑星鲽分子遗传结构方面的基础研究，在此基础上，设计 1 对特异性引物，对 24 个圆斑星鲽控制区进行扩增和测序，研究圆斑星鲽控制区的长度异质性特点，通过与GenBank中鲽形目以及其它相关鱼类控制区序列进行比对分析，首次识别了鲽形目控制区的终止序列区、中央保守区、保守序列区和串联重复区(Tandem repeat region)的各个保守结构。本研究为探讨鱼类控制区特点及其进化规律，以及进一步研究脊椎动物线粒体控制区结构和功能提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

圆斑星鲽样品取自辽宁省海洋水产研究院旅顺海珍品繁育中试基地，是 2005 年 5~7 月从大连沿海捕捞的用于苗种繁育的野生圆斑星鲽成鱼。用于线粒体基因组测序的圆斑星鲽 1 尾，雌性，体长 34 cm，体重 1.25 kg，用于线粒体控制区分析的样品 23 尾，体重在 1.15~1.85 kg，体长在 32~45 cm，体无损伤，生长正常。

### 1.2 基因组的提取

用于线粒体基因组测序的圆斑星鲽，取其背部肌肉组织约 500 mg；用于线粒体控制区测序的圆斑星鲽，取其尾鳍少许，按常规酚/氯仿抽提方法<sup>[18]</sup>提取总DNA。

### 1.3 引物设计及控制区扩增

根据我们已经测定的圆斑星鲽线粒体基因组序列(GenBank Acc. No. DQ403797)，设计一对控制区特异性引物，扩增线粒体控制区，引物序列 DL-F: 5'-CATTAGTAGCTCAGTGTGTAG-3'，DL-R: 5'-CGACAGTAAAGTCAGACCAA-3'。PCR 反应体积为 25 μL，其中含基因组 DNA 1 μL(约 100 ng), 10 μmol/L 的上、下游引物各 1 μL, 5 U/μL 的 Ex-Taq 酶 0.25 μL, 10 μmol/L dNTPs 2.5 μL, 10×PCR 缓冲液 2.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 16.75 μL。PCR 扩增在 Eppendorf ep gradient 扩增仪上进行，程序为：96℃预变性 3 min, 30 个循环包括 96℃ 2 min、60℃ 1 min、72℃ 2 min，最后 72℃延伸 6 min。在 PCR 扩增时，设阴性对照以检测其可靠性。

### 1.4 PCR 产物直接测序与分析

PCR 产物经过回收和纯化后，委托宝生物工程(大连)有限公司利用扩增引物直接进行双链测序，测通全部序列。利用 ClustalX1.83 和 MEGA3.1<sup>[19]</sup>进行序列分析，确定重复序列长度多态性。

### 1.5 鲽形目其他种类控制区序列的获得

为了研究鱼类及其它脊椎动物控制区的结构特点，从 GenBank 下载了鲽形目条斑星鲽(*Verasper moseri*)、黄盖鲽(*Limanda ferruginea*)、马舌鲽(*Reinhardtius hippoglossoides*)、美洲拟庸鲽(*Heppoglossoides platessoides*)和鲆科的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)以及鳎科的欧洲鳎(*Solea solea*)、塞内加尔鳎(*S. senegalensis*)和沙鳎(*S. lascari*)控制区序列。用 ClustalX1.83 和 MEGA3.1 和 FastPCR v3.6 等生物信息学软件进行控制区核苷酸组成和序列

分析, 研究重复序列的保守区域和变异特点。

## 2 结果

### 2.1 圆斑星鲽控制区长度多态性

对圆斑星鲽线粒体的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳结果表明, 圆斑星鲽 24 个个体 mtDNA 控制区序列具有 4 种长度多态性(图 1)。对这 24 个产物进行测序后发现, 所有产物均可以准确测序, 而没有出现任何套峰现象, 说明圆斑星鲽个体内控制区序列没有长度异质性(多态性)现象。对所测得序列进行比对分析后共得到长度差异仅为 61 bp 的 4 个序列单元型, 分别为 1,450 bp、1,511 bp、1,572 bp 和 1,633 bp, 其中, 单元型 1,633 bp 包含 9 个个体, 1,572 bp 单元型包含 6 个个体。圆斑星鲽的串联重复区的长度多态性是 mtDNA 长度差异的主要原因。圆斑星鲽控制区 4 个单元型序列的 GenBank 登录号码分别为 DQ834444、DQ834445、DQ834446 和 DQ834447。

圆斑星鲽的线粒体控制区的 4 种单元型序列结构和核苷酸组成基本相同, 核苷酸组成为 A33.7%、T28.4%、C24.9% 和 G13.0%。控制区中有一个长度为 305 bp 的终止相关序列区(ETAS)、6 个中央保守序列区(CSB-A、CSB-B、CSB-C、CSB-D、CSB-E、CSB-F)、3 个保守序列区(CSB-1、2、3)以及串联重复区。

### 2.2 终止序列区

圆斑星鲽的终止序列区(ETAS)长度为 305 bp(图 2), 包含与 DNA 复制终止相关的一个 TAS 和 6 个重复的核心序列 ATGT 及其 2 个反向互补序列 ACAT。通过比较鲽形目鲆科、鲽科和鳎科 8 种鱼控制区序列, 发现鲽形目鱼类的 TAS 只有 1 个, 一般长度为 44 bp, 其序列通式为 T-CAT-T-TGTA-T---CACCAT--ATATA-TAA-----。

### 2.3 中央保守区

根据哺乳动物和其它鱼类的序列<sup>[9,10,20]</sup>, 我们识别了圆斑星鲽控制区的中央保守区包括 CSB-A、CSB-B、CSB-C、CSB-D、CSB-E、CSB-F。CSB-F 的关键序列为 ATGTAGTAAGAGCCTACCAACCGG, 它是区分终止序列区和中央保守区的标志。鲽形目的 CSB-F 通式为----A-TAAGAG-CTACCA----G。紧接着其后的是 CSB-E, 序列为 AGGGACAGAAATC-GTGGGGG, 识别的标志是关键序列“AGGG----GTGGGGG”框的存在, 鲽形目的一个形式为 AGGGACA-A-AT-G-TGGGGG。在 CSB-E 之后是 CSB-D, 圆斑星鲽的序列为 TATT CCTGGCAT-TTGGTTCTTA, 鲽形目的通式为 TATT CCTGGCAT-TGG-TC---A。圆斑星鲽的 CSB-C 序列为 CTTGCATAAGTTAACGT, 在鲽形目中变异较大, 其通式为 CT-CAT----T-ATG-; CSB-B 在鲽形目非常保守, 序列为 CATACGACTCGTTACCCA, 但是在其它鱼类中变异较大<sup>[9]</sup>, 圆斑星鲽的 CSB-A 序列为 AGCGGGTAAGGGTTCTCTTT, 鲽形目的通式为 AGCG---AAGGGTTCTCTTT。

### 2.4 保守序列区

鲽形目的保守序列区包括 CSB-1、CSB-2 和 CSB-3, CSB-1 变异较大, CSB-2 和 CSB-3 非常保守。圆斑星鲽的 CSB-1 序列为 ATTAAAGGATATCATGT-GCATAA。圆斑星鲽的 CSB-2 序列是 TAAAACCCC-CCCTACCCCCCTAA, 在鱼类则较为保守, 容易识别, 但在个别鱼类中有一定变异<sup>[10]</sup>。圆斑星鲽 CSB-3 为 TG-AAACCCCCCGGAAACAGGACA, 鲽形目 CSB-3 的通式为 TG-AAACCCCCCGGAAACAG-A-A。

### 2.5 串联重复序列区

圆斑星鲽控制区 CSB-3 下游有一串长的(321~504 bp)串联重复序列。这段重复序列包含 5~8 个

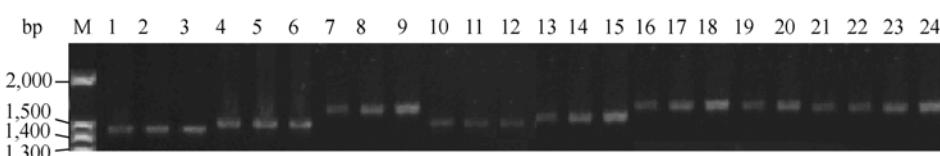


图 1 圆斑星鲽 24 个个体的控制区重复序列的 PCR 扩增  
M: DL 2000 DNA marker; 1~24: 圆斑星鲽个体。

**Fig. 1 PCR products of repeat sequences from control region of *Verasper variegatus***  
M: DL 2000 DNA marker, 1 - 24: Individuals of *V. variegatus*.

图 2 鲈形目 9 种鱼类线粒体控制区的保守序列结构

“|”表示各个区的分界,其中,在 ETAS 区中,黑体部分表示 TAS 序列,无下划线阴影表示核心序列及其反向互补序列;CSB-F、E、D、C、B、A 和 CSB-1、2、3 分别代表中央保守区的 6 个保守序列和保守序列区的 3 个保守序列;本图没有显示串联重复序列部分。VV: 圆斑星鲽 (*V. variegatus*); VM: 条斑星鲽 (*V. moseri*); LF: 黄盖鲽 (*Limanda feruginea*); RH: 马舌鲽 (*Reinhardtius hippoglossoides*); HP: 美洲拟庸鲽 (*Heppoglossoides platessoides*); PO: 牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*); SSE: 塞内加尔鲳 (*S. senegalensis*); SSO: 欧洲鲳 (*Solea solea*); SL: 沙鲳 (*S. lascaris*)。

Fig. 2 The structure of control region of *Verasper variegatus*.

**Fig. 2** The structure of control region of *Verasper variegatus*. Vertical bars above the sequence indicates the division of regions. In the ETAS, bold letters represent sequences of TAS, the shadow sequence without underline are conserved sequence of ETAS, and the sequences in the boxes without shadow are the reverse complementary sequences; CSB-F, E, D, C, B, and A and CSB-1, 2, and 3 represent the consensus sequences of F, E, D, C, B, and A in central conserved domain and consensus sequences of I, II, and III in conserved sequences blocks. This figure does not show the tandem repeat regions of these control regions. VV (*V. variegatus*), VM(*V. moseri*), LF(*Limanda feruginea*), HL(*Hippoglossoides platessoides*), PH(*Reinhardtius hippoglossoides*), PO(*Paralichthys olivaceus*), SSE(*S. senegalensis*), SSO (*Solea solea*), SL(*S. lascari*).

61 bp 的完整重复单元和一个 16 bp 的不完全重复单元, 它们的存在使得圆斑星鲽控制区序列要比其他已知鱼类更长一些(与其同属的条斑星鲽除外, 1,888 bp)。除去这些重复序列, 控制区的长度在鱼类中变化不大, 都在 1 kb 左右。

对鲽形目鲆、鲽类和鳎类控制区的比较分析表明, 所有鲽形目种类在 CSB-3 的下游均存在长串联重复序列区, 重复序列大小在 300~800 bp。正是这些重复序列使得它们的控制区比其他鱼类的更长些。要是没有这些重复序列, 控制区大小在鱼类中没有什么差别, 都在 1 kb 左右。通过对哺乳类、鸟类、爬行类、两栖类和其它鱼类 mtDNA

控制区的比较分析显示, 只有鲽形目鱼类和无尾两栖类如红腹铃蟾 (*Bornbina bombina*, AY585338)、马岛曼蛙 (*Mantella madagascariensis*, AB212225)、施氏树蛙 (*Rhacophorus schlegelii*, AB202078)、*Buergeria buergeri* (AB127977) 和黑斑蛙 (*Rana nigromaculata*, AB043889) 的控制区 CSB-3 之后有相似的串联重复序列, 在这些具有较大重复单元的鱼类中, 同时还发现重复序列区的最后 1 个重复单元之后都有一段序列与重复单元的前部序列是完全重合的, 这些序列在不同鱼类中的长短不同, 从 2 bp 到 36 bp 不等(图 3), 这种结构的产生及其功能尚不清楚。

|                           |  |    |
|---------------------------|--|----|
| <i>V. variegatus</i>      | AACTTTCAACCTAAAAATACCACTAG TAAACCACAAGCCACAGTTGTTTAATAATGG     | 61 |
|                           | AACTTTCAACCTAA   |    |
| <i>V. moseri</i>          | G TACTTTCAACCTAAAATATCACTAATCAACCATAAGCTCACCAG TTGTTTAATAATG   | 61 |
|                           | G TACTTTCAACCTAA   |    |
| <i>L. ferruginea</i>      | ATTCCAACCTAAAAATAACCG TGACCTAACCCAGACTTCCAATTATTGTAATAATGTTAAT | 62 |
|                           | ATTCCAACCTAAAAATAACCG TGACCTAACCC                              |    |
| <i>P. americanus</i>      | TACTTTCAACCTAAAAATAGCGG TAGGCCAACCCAGCTTACOGATTATTGTAATAATGT   | 62 |
|                           | TACTTTCAACCTAAAAATAGCGG TAGGCCAACCC                            |    |
| <i>R. hippoglossoides</i> | TACTTTCAACCTAAAAATACCOCTGACCAAAGATAAGGCCACAGTATTAAATAATGG      | 60 |
|                           | TACTTTCAACCTAAAAATACCOCTGAC                                    |    |
| <i>P. olivaceus</i>       | TCACTCTCATCTCACCTAACATGGGTTAGACTTACCTAACCTTCCOCCTTTAATGATTTC   | 67 |
|                           | TCACTCTCATCTCACCTAACATGGGTTA                                   |    |
| <i>S. solea</i>           | TAT TACAA  | 8  |
|                           | TAT  |    |
| <i>S. lascaris</i>        | TTATATACATGTA  | 13 |
|                           | TT   |    |
| <i>S. senegalensis</i>    | ATTATAATTTACAATATTACAATATAGCAATGCTATATTATAGTATTCAATAACACCAAC   | 60 |
|                           | ATTATAATTTACAGTATTACA  |    |

图 3 鲽形目 9 种鱼类的最后 1 个重复单元序列及其后面的 1 段序列比较

框内为最后 1 个重复单元序列的前部分序列以及与之相接的相同序列; 阴影部分为鲆鲽科鱼类所共有保守序列。

**Fig. 3 The comparison of the last repeat sequence unit and adjacent sequence in the repeat region of 9 species of Pleuronectoidei**  
Sequences in the blocks represent the front part of the last repeat unit and the sequences adjacent to it; Sequences in shadow are the conserved sequence in the Paralichthyidae and Pleuronectidae.

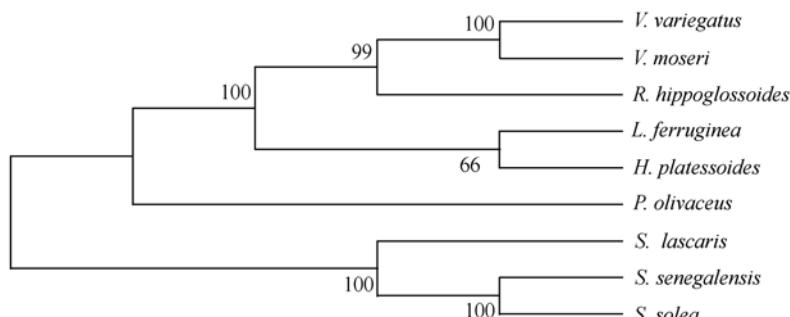


图 4 鲽形目 9 种鱼线粒体控制区序列的 UPGMA 法聚类图

**Fig. 4 Dendrogram of control region sequences from 9 species of Pleuronectoidei constructed by UPGMA**

## 2.6 聚类分析

采用 MEGA 3.1 分析软件的 *P*-distance 距离模型 UPGMA 法构建的 9 种蝶形鱼类控制区的聚类图(图 4)。它们分为 3 个支:即蝶科(包括圆斑星鲽、条斑星鲽、黄盖鲽、马舌鲽、美洲拟庸鲽, 鲱科的牙鲆以及鲳科的欧洲鲳、塞内加尔鲳和沙鲳。这也说明蝶形目鱼类的线粒体控制区序列包含了重要的系统发育信息。

## 3 讨论

### 3.1 蝶形目线粒体控制区的保守序列结构

Southern 等<sup>[5]</sup>首次在哺乳动物中识别了 mtDNA 控制区的 CSB-B、CSB-C、CSB-D、CSB-E 和 CSB-F。Randi 等<sup>[21]</sup>发现保守序列 CSB-C、CSB-D、CSB-E 和 CSB-F 在鸟类中存在。然而, 在鱼类中仅识别了 CSB-D、CSB-E 和 CSB-F<sup>[9,13,22~24]</sup>。在蝶形目鱼类中, 中央保守区相对较为保守, 我们识别了 6 个保守序列(CSB-A、CSB-B、CSB-C、CSB-D、CSB-E 和 CSB-F), 这也是首次在鱼类中识别了中央保守区的全部 6 个保守序列, CSB-F 是区分终止序列区和中央保守区的标志性序列, CSB-D、CSB-E 和 CSB-F 序列通式与其他已研究的鱼类基本一致, CSB-A、CSB-B 和 CSB-C 的序列为蝶形目鱼类所特有。

CSB-1 与 mtDNA 的复制起点相关<sup>[25]</sup>, 在哺乳动物中高度保守<sup>[5,6,26]</sup>, 其一般形式为 ATT-AATT-AATG-T-GCAGGACATA。在不同鱼类中变异很大<sup>[9,22~24]</sup>, 但是其中的 GACATA 框最为保守<sup>[21,22]</sup>, 可以帮助识别 CSB-1。如在鱚鱼类 CSB-1 的序列为 AT--CTGGATAT-CAAGAGCATAAA, 然而, 在蝶形目的 CSB-1 中我们却没有发现此保守序列 GACATA, 圆斑星鲽的 CSB-1 关键序列是 ATTAAAGGATATCATGTGCATAA。鱼类的 CSB-2 和 CSB-3 非常保守, 我们识别的蝶形目 CSB-2 和 CSB-3 序列与其它鱼类的 CSB-2 和 CSB-3 基本一致<sup>[9,13,22~24]</sup>。

### 3.2 蝶形目线粒体控制区的串联重复序列

在脊椎动物 mtDNA 控制区中, 可以通过普遍存在的 CSB-3, 来判断其下游是否存在重复序列。通过对哺乳类、鸟类、爬行类、两栖类和鱼类 mtDNA 的分析发现, 一些脊椎动物的控制区也存在串联重复序列, 但是这些重复序列主要发生在控制区的 ETAS 区和中央保守区之间<sup>[27]</sup>, 如中华鲟(*Acipenser sinensis*)和中华鳖(*Pelodis sinensis*)<sup>[28]</sup>, 或者是发生在 CSB-2 之前, 如

港海豹(*Phoca vitulina*, X63726)<sup>[29]</sup>和斑海豹(*Phoca largha*, AM181031)<sup>[30]</sup>。无尾两栖类如红腹铃蟾(*Bornbina bombina*, AY585338)、马岛曼蛙(*Mantella madagascariensis*, AB212225)、施氏树蛙(*Rhacophorus schlegelii*, AB202078)、*Buergeria buergeri* (AB127977) 和黑斑蛙(*Rana nigromaculata*, AB043889)控制区 CSB-3 之后也有与蝶形目鱼类相似的长串联重复序列。因此, 有人认为线粒体控制区的串联重复序列与蝶形目鱼类的低代谢水平有关, 因为蝶形目鱼类都是温和性鱼类, 活动迟缓、代谢水平相对较低<sup>[7]</sup>。所以线粒体控制区串联重复序列的功能尚需作进一步研究和探讨。

### 参考文献(References):

- [1] SUN YU-Hua, WANG Wei, LIU Si-Yang, HE Shun-Ping, SHAO Xue-Ling, XIE Zhi-Xiong, DENG Feng-Jiao, LIU Yong, TONG Jin-Gou, WU Qing-Jiang. Genetic diversity of mitochondrial D-loop region of Chinese sucker (*Myoxo-cyprinus asiaticus*). *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(9): 787~790.
- [2]孙玉华, 王伟, 刘思阳, 何舜平, 邵雪玲, 谢志雄, 邓凤姣, 刘勇, 童金苟, 吴清江. 中国胭脂鱼线粒体控制区遗传多样性分析. 遗传学报, 2002, 29(9): 787~790.
- [3] Doda JN, Wright CT, Clayton DA. Elongation of displacement-loop strands in human and mouse mitochondrial DNA is arrested near specific template sequences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78(10): 6116~6120.
- [4] Walberg MW, Clayton DA. Sequence and properties of the human KB cell and mouse L cell D-loop regions of mitochondrial DNA. *Nucleic Acid Res*, 1981, 9(20): 5411~5421.
- [5] Saccone C, Attimonelli M, Sbisa E. Structural elements highly preserved during the evolution of the D-loop-containing region in vertebrate mitochondrial DNA. *J Mol Evol*, 1987, 26(3): 205~211.
- [6] Southern SO, Southern PJ, Dizon AE. Molecular characterization of a cloned dolphin mitochondrial genome. *J Mol Evol*, 1988~1989, 28(1~2): 32~42.
- [7] Sbisa E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: Identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 1997, 205(1~2): 125~140.
- [8] Saitoh K, Hayashizaki K, Yokoyama Y, Asahida T, Toyohara H, Yamashita Y. Complete nucleotide sequence of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) mitochondrial genome: structural properties and cue for resolving teleostean relationships. *J Hered*, 2000, 91(4): 271~278.

- [8] Manchado M, Catanese G, Infante C. Complete mitochondrial DNA sequence of the Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *Fish Sci*, 2004, 70(1): 68–73.
- [9] Lee WJ, Conroy J, Howell WH, Kocher TD. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *J Mol Evol*, 1995, 41(1): 54–66.
- [10] Chen IS, Hsu CH, Hui CF, Shao KT, Miller PJ, Fang LS. Sequence length and variation in the mitochondrial DNA control region of two freshwater fishes belong to Rhinogobius (*Teleostei Gobioidei*). *J Fish Biol*, 1998, 53(1): 179–191.
- [11] Lee JS, Miya M, Lee YS, Kim CG. The complete DNA sequence of the mitochondrial genome of the self-fertilizing fish *Rivulus marmoratus* (*Cyprinodontiformes, Rivulidae*) and the first description of duplication of a control region in fish. *Gene*, 2001, 280(1-2): 1–7.
- [12] ZHANG Yan, ZHANG E, HE Shun-Ping. Studies on the Structure of the control region of the Bagridae in China and its Phylogenetic significance. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(5): 463–467.  
张燕, 张鄂, 何瞬平. 中国鲿科鱼类线粒体DNA控制区结构及其系统发育分析. 水生生物学报, 2003, 27(5): 463–467.
- [13] ZHAO Jin-Liang, WANG Wei-Wei, LI Si-Fa, CAI Wan-Qi. Structure of the mitochondrial DNA control region of the siniperine fishes and their phylogenetic Relationship. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33 (9): 793–799.  
赵金良, 王伟伟, 李思发, 蔡完其. 鲈类鱼类的线粒体DNA 控制区结构及其系统发育分析. 遗传学报, 2006, 33 (9): 793–799.
- [14] CHEN Si-Qing, YU Dong-Xiang, MA Ai-Jun, LIU Xue-Zhou, JIANG Kai-Lian, ZHANG Shao-Hua, SONG Zong-Cheng. A study on biological characteristics of spotted halibut *Verasper variegatus* Temminck et Schegel. *Modern Fisheries Information*, 2002, 17(10): 25–27.  
陈四清, 于东祥, 马爱军, 柳学周, 姜开莲, 张少华, 宋宗城. 圆斑星鲽 *Verasper variegatus*(Temminck et Schegel)生物学特性研究. 现代渔业信息, 2002, 17(10): 25–27.
- [15] WANG Kai-Shun, ZHANG Zhi-Feng, KANG Qin-Bo, ZHANG Quan-Qi, ZHANG Fu. Embryonic and larval development in *Verasper variegatus*. *Journal of Fishery Science of China*, 2003, 6(6): 451–456.  
王开顺, 张志峰, 康庆浩, 张全启, 张福. 圆斑星鲽胚胎及仔鱼发育的观察. 中国水产科学, 2003, 6(6): 451–456.
- [16] ZHANG Yong-Zhong, XU Yong-JIANG, LIU Xue-Zhou, HU Jia-Hui, XU Yu-Yan. Fine structure of spotted halibut *Verasper variegatus* spermatozoon with particular reference to the anterior vesicle and pit of the nucleus. *Acta Zoologica Sinica*, 2004, 50(4): 630–637.  
张永忠, 徐永江, 柳学舟, 胡家会, 许玉艳. 圆斑星鲽精子的超微结构及核前区特殊结构. 动物学报, 2004, 50(4): 630–637.
- [17] GAO Tian-Xiang, CHEN Si-Qing, LIU Jin-Xian, ZHANG Ya-Ping. Comparative analysis of mitochondrial DNA sequences between *Verasper variegatus* and *Vmoseri*. *High Technology Letters*, 2004, 14(Suppl.): 329–334.  
高天翔, 陈四清, 刘进贤, 张亚平. 圆斑星鲽与条斑星鲽线粒体 DNA 部分片段的序列比较研究. 高技术通讯, 2004, 14(增刊): 329–334 .
- [18] Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd edition, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.  
詹母布鲁克 J, 拉塞尔 D.W. 著 (黄培堂等译). 分子克隆实验指南. 第三版. 北京: 科学出版社, 2002.
- [19] Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics*, 2004, 5(2): 150–163.
- [20] Randi E, Lucchini V. Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*. *J Mol Evol*, 1998, 47(4): 449–462.
- [21] Broughton RE, Dowling TE. Length variation in mitochondrial DNA of the minnow *Cyprinella spiloptera*. *Genetics*, 1994, 138(1): 179–90.
- [22] LIU Huan-Zhang. The structure and evolution of the mtDNA control region in fish: taking example for Acheilognathinae. *Progress in Natural Science*, 2002, 12(3): 266–270.  
刘焕章. 鱼类线粒体 DNA 控制区的结构与进化: 以鳞破鱼类为例. 自然科学进展, 2002, 12(3): 266–270.
- [23] GUO Xin-Hong, LIU Shao-Jun, LIU Qiao, LIU Jun. New progress on mitochondrial DNA in fish. Comparative analysis of the mitochondrial DNA control region in cyprinids with different ploidy level. *Acta genetica Sinica*, 2004, 31(9): 983–1000.  
郭新红, 刘少军, 刘巧, 刘筠. 鱼类线粒体研究新进展. 遗传学报, 2004, 31(9): 983–1000.
- [24] ZENG Qing-Lan, LIU Huan-Zhang. Study on mitochondrial DNA control region of the *Ictalurus cypriellus*. *Journal of Hubei University (Natural Science Edition)*, 2001, 23(3): 261–264.  
曾青兰, 刘焕章. 大口胭脂鱼线粒体 DNA 控制区序列的研究. 湖北大学学报(自然科学版), 2001, 23(3): 261–264.
- [25] Chang DD, Clayton DA. Identification of primary transcriptional start sites of mouse mitochondrial DNA : accurate in vitro initiation of both heavy and light strand

- transcripts. *Mol Cell Biol*, 1986, 6(5): 1446–1453.
- [26] Saccone C, Pesole G, Sbisa E. The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA. Structure-function model and evolutionary pattern. *J Mol Evol*, 1991, 33(1): 83–91.
- [27] ZHANG Si-Ming, WU Qing-Jiang, ZHANG Ya-Ping. Tandem repeats of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) and related species and its significance in evolution. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2000, 16(4): 458–461.  
张四明, 吴清江, 张亚平. 中华鲟(*Acipenser sinensis*)及相关种类的mtDNA控制区串联重复序列及其进化意义. 中国生物化学与分子生物学报, 2000, 16(4): 458–461.
- [28] PENG Qiao-Ling, PU You-Guang, WANG Zhi-Fang, NIE Liu-Wang. Complete mitochondrial genome sequence analysis of Chinese softshell turtle (*Pelodiscus sinensis*). *Chin J Biochem Mol Biol*, 2005, 21(5): 591–596.  
彭巧玲, 蒲友光, 王志方, 聂刘旺. 中华鳖线粒体基因组序列分析. 中国生物化学与分子生物学报, 2005, 21(5): 591–596.
- [29] Arnason U, Johnsson E. The complete mitochondrial DNA sequence of the harbor seal, *Phoca vitulina*. *J Mol Evol*, 1992, 34(6): 493–505.
- [30] Arnason U, Gullberg A, Janke A, Kullberg M, Lehman N, Petrov EA, Vainola R. Pinniped phylogeny and a new hypothesis for their origin and dispersal. *Mol Phylogenet Evol*, 2006, 41(2): 345–354.

## 《金鱼的变异与遗传》新书推介

程光潮

(中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

中国科学院遗传与发育生物学研究所王春元研究员撰写的新书《金鱼的变异与遗传》于 2007 年 5 月由中国农业出版社出版发行。李振声院士作序。这是一部关于我国特产金鱼的学术专著。作者概述了我国 1000 多年来关于金鱼起源、家化的历史和金鱼文化形成的资料, 搜集了我国乃至日本学者有关金鱼科学的研究成果, 是迄今为止在金鱼的研究方面最系统全面的鸿篇之作。对金鱼文化的发展做出了突出的贡献。

全书近 30 万字, 分列 16 章, 内容涉及金鱼的起源、品种形成及系统演化, 金鱼的变异和遗传, 金鱼外周血细胞的形态, 金鱼的性腺发育及受精与胚胎发育, 金鱼的性别决定及人工控制, 金鱼品种的分类系统和命名方法, 名贵品种介绍, 金鱼的新品种培育(包括生物高新技术在育种中的应用)等等, 是一部金鱼百科全书, 具有较高的学术价值和实际意义。

本书的创新之处在金鱼品种形成的理论问题上, 作者为了坚持真理, 敢于修正和摈弃前人的结论, 大胆提出自己的观点。这是难能可贵的。被誉为金鱼遗传学研究鼻祖, 中国金鱼之父的陈桢教授根据历史考证, 1954 年发表了“金鱼家化史与品种形成的因素”这篇著名论文, 提出金鱼品种形成的因素有两个: “一是生活条件的改变, 二是人工选择”。陈桢教授这个金鱼品种形成的论点在我国影响深远, 其后在一些金鱼著作、科普读物及科学画廊宣传中都被广为引用。本书作者根据自己多年的资料积累和观察分析, 认为生活条件并没有传递任何遗传信息, 所以不能决定遗传性状, 因而否定和修正了自己导师的结

论, 指出“突变、杂交和人工选择才是金鱼品种形成的三大因素”, “突变是基础, 杂交和人工选择是手段(1983, 1985, 1994)”。书中对这些有精辟的论述。从现代遗传学理论看, 无疑作者的论点是符合客观实际的。

此外, 作者在书中还有一个创新, 就是提出了金鱼的分类系统和命名标准(1983, 1984, 1998)。本书作者参照前人结果, 又针对我国现有 330 多个金鱼品种命名十分混乱的现状, 并根据自己的调查资料, 结合生物学分类方法, 建立了一套金鱼品种分类系统和命名方法, 并制定出一份金鱼品种分类检索表, 从表中可以方便地查到你所要知道的金鱼品种名称及其分类地位。便于品种名称的统一、查考和研究, 对促进金鱼事业的发展具有积极推动作用。其次, 作者根据自己和其他学者在细胞遗传学、蛋白质多态性方面的研究结果, 对现有 44 个品系金鱼的系统演化关系绘制出一张金鱼发育系谱图(1983)。这对研究金鱼品种的起源分化、遗传变异关系具有理论意义, 对指导金鱼新品种培育也有导向作用。作者在专业学术刊物上发表的这套金鱼品种分类命名方法会随着时间的推移得到有关专家学者和业界人士的认同, 2000 年中国金鱼名称审定委员会编制《中国金鱼名录》时, 基本采用此方法。

总之, 该书内容十分丰富, 文字翔实, 除附有 170 幅彩照对金鱼各品种美丽外貌一览无遗外, 书中还有近 50 幅研究插图和大量表格。这是作者 40 多年来研究金鱼遗传学的心血结晶, 是一部十分精美的学术大作。适合生物科学尤其水产学科的教学和研究工作者及广大金鱼爱好者阅读参考。