

逆转座子序列插入

——海湾扇贝过氧化物还原酶 V 第 1 内含子分析

李 娟^{1,2}, 李 莉¹, 张国范¹

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

摘要: 根据海湾扇贝(*Argopecten irradians*)过氧化物还原酶 V(AiPrxV)的 cDNA 序列和部分基因组 DNA 序列设计引物, 采用基因组步移方法扩增获得其第 1 内含子(I1)完整序列, 并通过 Blast 比对、DNAMAN 和 RepFind 搜索进行序列分析。AiPrxV I1 长 8 565bp, 占 AiPrxV 基因全长的 68%, AT%显著高于 GC%。在 5 900~6 700bp 的区域中包含了不完整的编码区, 经分析与文昌鱼、海胆的逆转录酶有极高的相似性, 其 N 端与多种动植物逆转座子的逆转录酶 C 端具有相似特征。此外, 发现 AiPrxV I1 中包含 283 个重复序列, 在 3 500~4 000bp 和 6 800~7 200bp 区域尤为密集。以上特点提示海湾扇贝过氧化物还原酶 V 第 1 内含子可能是由一个非长末端重复元件逆转座子(non-LTR retrotransposons)插入, 逐渐演变而形成的。

关键词: 海湾扇贝(*Argopecten irradians*); 过氧化物还原酶 V; 内含子; 逆转座子; 非长末端重复元件
中图分类号: S917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2013)02-0001-06

内含子是真核生物基因组中的组成部分, 并在基因的演化过程中起着重要的作用。尽管 30 多年来对内含子的研究已逐步改变了人们最初所认为其是“垃圾序列”的认识, 但对于动力及机制仍存在许多争论与疑问。关于内含子的起源, 有“先成说”(Introns-Early)和“后成说”(Introns-Late)两种主要观点。“先成说”1978年由 Doolittle^[1]和 Darnel^[2]首先提出, 该观点认为内含子是极为原始的遗传元件, 在原核生物和真核生物分化之前, 生命产生之初就存在, 而原核生物的内含子逐渐丢失。“后成说”由 Cavalier-Smith^[3]、Palmer 和 Logsdon^[4]在 1991 年提出, 支持者认为内含子产生于真核生物基因组, 远晚于真核生物与原核生物分化之时。“后成说”对我们理解内含子/外显子结构的演化过程的一项重要贡献在于它认为内含子是可以移动的元件, 能在一个基因中插入或丢失。这一观点的证据来源于不同生物的同源基因中内含子的转移变化, 而这种变化在进化历史的同一时期内是极少发生的。然而对于内含子起源时间, 目前并没有确凿的证据。事实上, 至今还没有发现不含内含子的真核生物。在被认为是最小真核生物的微孢子生物(microsporidia) *Encephalitozoon cuniculi*^[5], 甚至类原生藻类生物(cryptomonad) *Guillardia theta*^[6]的基因组中都发现了内含子的存在。到目前为止, 人们只确定了为数不

多内含子的来源, 例如大米中过氧化氢酶(catalase) A 编码区中的逆转座子短散布元件(short interspersed elements, SINE)插入^[7], 摇蚊球蛋白(globin)与具有内含子旁系同源基因的交流而形成内含子^[8]。此外, 对线虫中新出现的内含子的研究发现其插入可能也是由于转座子引起的^[9]。

海湾扇贝 *Argopecten irradians* Lamarck 自然分布于美国的东海岸和墨西哥湾沿岸, 于 1982 年首次成功引入我国, 之后又多次引种, 现已成为我国主要海水养殖贝类^[10-11]。近年来, 贝类学研究逐渐从形态生物学研究逐步走向分子生物学、分子遗传学层面的研究。但目前人们对贝类的基因结构还知之甚少。在对海湾扇贝抗氧化酶系统中的重要成员过氧化物还原酶 V (peroxiredoxin V, PrxV)的研究中, 我们发现该基因中外显子的数目和断裂位置与已知的哺乳动物中该基因的结构十分相似, 而不同于果蝇中的结构。根据之前获得的海湾扇贝 PrxV (AiPrxV)部分内含子序列推测该基因的第 1 内含子(I1)很可能远大于人 PrxV 第 1

收稿日期: 2012-01-12; 修回日期: 2012-04-21

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(3-35); 国家自然科学基金项目(30800842); 国家高技术研究发展计划项目(863 计划, 2010AA10A401)

作者简介: 李娟(1981-), 女, 博士研究生, 研究方向: 海洋生物学, E-mail: lijuan@qdio.ac.cn; 李莉, 通信作者, 研究员, E-mail: lili@qdio.ac.cn

内含子(1347bp), 为了更好地了解 AiPrxV 的基因信息, 进行同源基因结构比较以了解该基因演变过程, 我们采用基因组步移技术(genome walking)进行 AiPrxV II 全长的扩增并研究其特点。

1 材料与方法

1.1 基因组 DNA 的提取

剪取健康海湾扇贝(壳长 60 mm)的闭壳肌 50 mg, 采用传统“酚-氯仿”方法进行基因组 DNA 的提取, 通过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测其质量。要求 DNA 不含有大量蛋白质, 否则可能影响酶切等后续实验。使用 Beckman 紫外分光光度计检测 DNA 溶液浓度及吸光度比值以检测 DNA 质量(260 nm/280 nm, 1.7~1.9 之间为好), 在确保质量的情况下, 以高浓度冷冻保存于-20℃。

1.2 基因组步移文库的构建

(1)首先采用 Dra I 限制性酶切验证所提取 DNA 样品的纯度是否满足酶切要求, 若 DNA 样品质量很好, 则可见到酶切后弥散片段。

酶切体系如下:

10×Dra I buffer	2.5 μL
DNA 样品	1 μg
Dra I	1.5 μL
H ₂ O 补足, 总体积	25 μL。

37℃ 孵育过夜。电泳检测。

(2)基因组 DNA 的酶切。

分别采用 Dra I、EcoR V、Pvu II、Stu I、Ssp I、Sma I 6 种平末端限制性内切酶对海湾扇贝基因组 DNA 进行酶切, 酶切体系按照说明书设定, 基本同上(Dra I 限制性酶切体系)。37℃ (Sma I 为 30℃) 孵育 2 h, 稍微混匀, 酶切过夜。酶切结束后, 85℃ 20 min 失活限制性内切酶, 取 5 μL 反应液进行凝胶电泳检测酶切效果。

(3)DNA 片段与接头(adaptor)的连接。

a)在 6 个不同酶切体系剩余的 20 μL 反应液中分别加入接头和 T4 连接酶进行连接反应:

GenomeWalker Adaptor(25 μmol/L)	1.9 μL
10×连接 buffer	1.6 μL
T4 DNA 连接酶(6 U/μL)	1 μL

GenomeWalker Adaptor 及 PCR 扩增通用引物 AP1、AP2 均根据 GenomeWalker™ Universal Kit User Manual(Clontech)合成, 见图 1。

b)16℃ 连接过夜;

c)85℃ 反应 5 min, 终止连接反应;

d)每个反应体系中加 75μL TE 稀释。

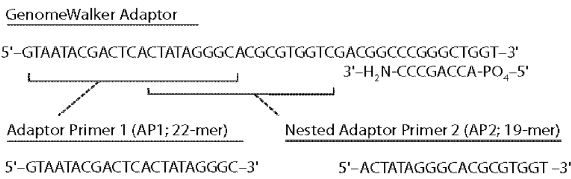


图 1 引物 GenomeWalker Adaptor 及 PCR 扩增的通用引物 AP1、AP2(出自 GenomeWalker™ Universal Kit User Manual, Clontech)

Fig. 1 GenomeWalker Adaptor and universal primers AP1, AP2 (quoting from GenomeWalker™ Universal Kit User Manual, Clontech)

表 1 基因组步移 PCR 所用引物及序列
Tab. 1 Sequences of primers for genome walking PCR amplifications

引物名称	引物序列(5'-3')
P 2GhSP1	ACACAGTTAACAGATTTTACACCCTTGGC
P 2GhSP2	TGAAAAGTCCTCAATGTAGCCAGGAAGGTG
P 3GhSP1	AGTAAAGGGAAGCCAGAGTACCCACAGAA
P 3GhSP2	CATGTGAGATTCTAATTCCAGCTTCTTGG
P 4GhSP1	CTCCTGGAGTTCAAACCTCTCTGACAGACAA
P 4GhSP2	GTGTGCATGGACATCAATCTCTGAATACCT
P 5GhSP1	GAAAGCACCAAGGTACGCCGAAGA
P 5GhSP2	GGTTCCTGGGTCGTTCTCAAATA
P IN1F1	ACGGCAGATGCTTCAGTAGGACA

1.3 基因组步移 PCR

根据已知的 cDNA 外显子序列和部分 DNA 序列利用 Primer Premier 5.0 软件设计 2 条特异引物(1 次 walking), 使用两步法 touchdown 程序进行反应。第一轮 PCR 使用外侧特异引物与通用引物 AP1 反应条件如下: 94℃ 变性 2 min 后, 94℃ 25 s、72℃ 3 min, 7 个循环; 94℃ 25 s、67℃ 3 min, 32 个循环, 最后 67℃ 延伸 7 min。将第一轮 PCR 产物稀释 20 倍后取 1 μL 作为模板进行巢式 PCR, 第二轮 PCR 使用内侧特异引物与通用引物 AP2, 反应条件同第一轮。

1.4 PCR 产物的克隆与测序

(1)PCR 产物纯化: PCR 产物在 1.2% 的琼脂糖凝胶中进行电泳, 经过凝胶成像系统(VDS)观察照相后切下特异目的条带, 用 PCR 产物凝胶回收试剂盒(Axygen)回收, 方法参考试剂盒说明手册, 最后将产物溶解于 TE 中, -20℃ 保存备用。

(2)连接 T 载体与转化及阳性克隆筛选:

取 4 μ L PCR 回收产物, 加入 1 μ L pMD18-T vector(TaKaRa)和 5 μ L 的连接产物转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞。感受态细胞的制备和转化参照分子克隆实验指南(第三版)的方法进行。在含有 Amp、IPTG 和 X-gal 的 LB 平板上培养过夜后挑出白色菌落, 筛选阳性克隆。将含阳性质粒的单菌落扩大培养, 送往上海桑尼生物科技公司进行测序。

1.5 序列分析

使用 DNAMAN5.2.2 软件根据所得各序列的重叠区进行序列拼接, 从而得到完整的 AiPrxV I1。

序列拼接后进行数据分析, 利用 NCBI 网站的 Blast 工具进行序列比对, 并搜索 Conserved Domain Database(CDD)查找保守结构域。把基因组 DNA 和同源性较高的序列片段使用 ClustalW 比对并使用 DNAMAN5.2.2 输出。使用 RepFind (<http://zlab.bu.edu/repfind/>) 结合 DNAMAN5.2.2 进行重复序列查找。

2 结果

2.1 海湾扇贝 PrxV 基因结构和第 1 内含子全长

海湾扇贝 PrxV 基因组序列全长 12 575bp(以起始密码子 ATG 为起点), 由 6 个外显子和 5 个内含子构成, 其中第 1 内含子最长, 为 8 565bp, 占全长的

68%。全部内含子都位于开放阅读框(ORF)内, 外显子和内含子的结合处序列遵循- GT/AG-原则。这是真核生物较普遍存在的内含子结构方式。序列已提交 GenBank, 序列号: HM461988。

2.2 序列分析

AiPrxV I1 序列中四种碱基组成为 31.9% A, 17.1% C, 16.4% G, 34.7% T, AT%显著高于 GC%。在 5 900~6 700bp 区域中发现了不完整的编码区, 通过 Blastx 比对发现根据这段序列推导的氨基酸序列与海胆 *Strongylocentrotus purpuratus* 中预测为逆转录酶的序列(GenBank 序列号: XP_793714.2)和 *Branchiostoma floridae* 逆转录酶(GenBank 序列号: AAL40415.1)有很高的相似性, 分别为 $1e^{-50}$ 和 $1e^{-48}$ (图 2)。这段序列并不是按照同一编码框所推测的氨基酸序列, 而是有一个碱基的移码。此处是否为测序错误还有待证实。进一步在 AiPrxV I1 经 Blastx 比对预测的编码序列中查找保守结构域, 发现其 N 端与多个被预测为逆转录酶中逆转录酶保守区的 C 端序列有较高的同源性, CDD 分值 88.5(图 3)。

根据以上信息推测 AiPrxV I1 很可能存在 5' 被截断的逆转录酶, 而这一区域两侧分别存在重复序列密集区(图 4)。通过 RepFind 和 DNAMAN 发现在 AiPrxV I1 中包含诸多重复序列及由同一序列突变产生的相关序列。在 8 565bp 中搜索到 283 个重复片段,

AiPrxV I1	5905	LADWEKRRKMEFHPQKCNVLSITKTKHSIKHNYYLHGHCLEHTDKAKYPGVTIQHDEKWDSEHTSYTCTANKTLALLDETSKLIKRLK	6174
Sp RT	137	LAEMSSSEMMELNTDKCKTITVSRKKSQIRHQYILNNTPLEAVSSTKYLGHTITSDIKWDKHTSICQKANNLAFLLRNLRINSPLK	226
Bf RT	803	LALWEQKNIMS FHPKCTIVHMSRSRQKMEREDLHGHCLEHTDKAKYPGVTIQHDEKWDSEHTSYTCTANKTLALLDETSKLIKRLK	885
AiPrxV I1	6170	RTSIYKSLVLEPTLEYACTVWDPPYQKGDINKLEMVQRRARVYVTRFHTNTSSVSDMLEHLEWPSLSARRKNARISMLFKITHGIVAINKDQ	
Sp RT	225	KSTAYKALVRPLIEYSSVWDPSSANHTHQLEMVQRRARVYVTRFHTNTSSVSDMLEHLEWPSLSARRKNARISMLFKITHGIVAINKDQ	
Bf RT	891	REVAYKALVRPLIEYSSVWDLTYTDKDTMTIEKVRQRRARVYVTRFHTNTSSVSDMLEHLEWPSLSARRKNARISMLFKITHGIVAINKDQ	
AiPrxV I1		..YLTSQLRPTRHSHTLAYQHCHYCRDTSRKHSFFPRTIQDWNLSLPQDLIISKSLDSEK	6607
Sp RT		..YINPVTREPSRTAAHASYQILRSRTEQHKOSFFPRTVRSWNLLSETVCASSVNAFR	370
Bf RT		PPTVKRQTLTRNVHPLTYVTPRCRTYRQMSFFPRTILEWNSLPAETVTVPSIAAFR	1038

图 2 AiPrxV I1 与 *S. purpuratus* 逆转录酶(Sp RT)、*B. floridae* 逆转录酶(Bf RT)比对结果

Fig. 2 The Blastx result of AiPrxV I1 with reverse transcriptase from *S. purpuratus* (Sp RT) and *B. floridae* (Bf RT)

AiPrxV I1	5905	-----LADWEK-----rwKMEFHPQKCNVlsitktkhsikhnyylhghclehtdkAKYPGVTI	6064
At nLTR	1010	ghq-----wsiegVINVFKEFag-----rsGLQISLEKSTiylagvsasdrvq-----tlssfpfangqlpVRYLGLPL	1073
Ca nLTR	683	nkn-----dgerIQQLLEDFgr-----esGLYLNNKTEvcyfdipeisf-----lpyvskklqlekLTYLGVP	743
Os nLTR	555	ats-----eqanvVMNVLADYaw-----ctGQLINQEKCSimfgeasppdvqes-----vrsvlvgstsfddKYLGFPT	619
Ce nLTR	297	hpn-----taskmLQELVQKCse-----vGLEINTGKTKvlrnrfadpskvyf-----gspsttqlddvdeYIYLGRQI	361
Gt nLTR	546	-----dSHKDLQEMvykaeyigriLGLFNPSKCAImdiphdkkrtpilvngemikcvgkadpYKYLGTFR	612

图 3 AiPrxV I1 与不同物种非长末端重复元件逆转录酶 C 端比对结果

Fig. 3 The comparison of AiPrxV I1 with C terminal sequences of reverse transcriptase covered in non-long terminal repeated retrotransposons from several species

方框代表同源性区域, 两个 “#” 表示酶活性位点保守氨基酸

The conserved domains predicted are boxed and two “#” indicate the preserved amino acid residues for activity

At nLTR: *Arabidopsis thaliana*, AAC33226.1; Ca nLTR: *Candida albicans*, EAK91055.1; Os nLTR: *Oryza sativa*, ABA98898.1; Ce nLTR: *Caenorhabditis elegans*, H88671; Gt nLTR: *Girardia tigrina*, AAP69990.1



图 4 AiPrxV I1 结构示意图

Fig. 4 Schematic representation of AiPrxV I1
浅灰区域为重复片段密集区, 中间网格区域为逆转录酶片段。
The grey boxes depict the regions with abundant repeats, and the grid area indicates the 5'-truncated reverse transcriptase.

长于 10bp 的重复片段 232 个, 长于 20bp 的重复片段

57 个, 其中最长片段为 155bp, 共出现 2 次。3 500~4 000bp 和 6 800~7 200bp 区域中重复片段出现最为密集。部分重复序列见表 2。这些特点提示 AiPrxV I1 可能是由一非长末端重复元件逆转座子(non-LTR retrotransposons)插入演变而来。这种情况在脊椎动物中不存在。使用同样的方法对人 PrxV、牛 PrxV 和斑马鱼 PrxV 的相应内含子进行分析, 都没有找到非长末端重复元件的典型特征。

表 2 部分重复序列及其重复次数和 *P* 值

Tab. 2 Some repeated sequences with their numbers of repeats and the *P*-value

<i>P</i> 值	重复次数	重复序列 5'-3'
2.22E-16	9	TCATACAT
2.22E-16	3	ACTTTGTTGATTCATTGT
2.22E-16	3	ACTTTGTTGATTCATTGT
7.77E-16	8	GTGACTT
0	15	TGATTCAT
0	11	TTTGACTTTG
0	13	ACTTTGTTGATTCAT
0	6	TACTTTGTTGATTCATACATA
0	15	TAATTTGTACTTTGTTGATTCAT
0	3	GATTCATACATAATTTGTACTTTGTT
0	4	AATTTGTACTTTGTTGATTCATACAT
0	4	TACTTTGTTGATTCATACATAATTTGTACTTT
0	2	TTTGACTTTGTTGATTCATACATAATTTGTACTTTGTTGATTCAT
0	2	GGTGACTTACTAGTAATATTGATCCTGGTGACTTACTAGTAATATTGATC...(155bp)

3 讨论

在脊索动物中, Prx 基因的内含子、外显子结构是非常保守的, 都是由 6 个外显子和 5 个内含子构成, 在人和小鼠中内含子插入的位置都是高度保守的^[12]。海湾扇贝与它们也有很好的一致性。尽管 PrxV 基因编码区大小变化不大, 但不同的内含子长度使不同物种的 Prx 基因差别迥异。海湾扇贝 Prx 基因最大, 而其第 1 内含子长度是人 PrxV 中相应内含子的 6.2 倍, 斑马鱼 PrxV 中相应内含子的 3.4 倍。果蝇的 PrxV 基因最小, 并且只有 3 个外显子和 2 个内含子构成, 第 1 内含子仅为 194bp。由此可见, 随着基因演化, 内含子在各物种的演化中有增大或缩小不同方向的发展。我们研究发现 AiPrxV I1 在基因演化过程中很可能经历过逆转座元件的插入, 而其他物种的相应内含子又丢失了这种插入。这为深入开展贝类基因组结构和无脊椎动物基因的演化研究提供了有价值的信息, 贝类基因组中很可能存在许多

类似的逆转座元件。随着牡蛎基因组的深入研究, 我们会获得更确切的信息。

转座子(transposable elements, TEs)是一类可移动的多拷贝重复 DNA 序列。根据其作用方式, 转座子分为两大类: 以 DNA—DNA 方式转座的转座子和以 DNA—RNA—DNA 方式转座的逆转座子(retrotransposons)。前者一般不会对基因组大小有影响, 而后者复制插入的过程不仅增加了本身的拷贝数, 同时也导致了其寄主基因组的扩大^[13]。逆转座子由诺贝尔奖得主 McClintock 于 1948 年在玉米中首次发现。在人类基因组中有 40%是逆转座子及其部分序列, 在一些植物中达到 50%~80%, 在小麦中甚至达到 90%^[14-16]。而贝类中, 关于逆转座子鲜有报道。根据逆转座子的结构特点, 又划分为短散布元件(short interspersed elements, SINEs), 长末端重复元件(long terminal repeats, LTRs)和非长末端重复元件逆转座子(non-LTR retrotransposons)(也被称作长散布元件 LINEs)。除 SINEs, 逆转座子都自主编码转座

移动所需要的酶类, 包括逆转录酶。现在普遍的观点认为作为这类“寄生”于基因组的逆转座元件能够通过特定的方式在寄主基因组中移动。逆转座子插入会对真核生物基因的大小、结构、功能都有影响, 并且对基因组的进化产生重要作用。尽管它们在生物体中产生许多中立或负面影响, 但其所诱导的基因突变和基因组重建是不可或缺的内在动力, 对进化具有积极而显著的贡献^[17]。而关于逆转座子活动机制的研究会为人们提供更多基因操作的思路和方法。

参考文献:

- [1] Doolittle W F. Genes in pieces: were they ever together? [J]. *Nature*, 1978, 272(5654): 581-582.
- [2] Darnell J E. Implications of RNA. RNA splicing in evolution of eukaryotic cells [J]. *Science*, 1978, 202(4374): 1257-1260.
- [3] Cavalier-Smith T. Intron phylogeny: a new hypothesis [J]. *Trends in Genetics*, 1991, 7(5):145-148.
- [4] Palmer J D, Logsdon J M, Jr. The recent origins of introns [J]. *Current Opinion in Genetics & Development*, 1991, 1(4): 470-477.
- [5] Katinka M D, Duprat S, Cornillot E, et al. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi* [J]. *Nature*, 2001, 414(6862): 450-453.
- [6] Douglas S, Zauner S, Fraunholz M, et al. The highly reduced genome of an enslaved algal nucleus [J]. *Nature*, 2001, 410(6832): 1091-1096.
- [7] Iwamoto M, Maekawa M, Saito A, et al. Evolutionary relationship of plant catalase genes inferred from exon-intron structures: isozyme divergence after the separation of monocots and dicots [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 97(1-2): 9-19.
- [8] Hankeln T, Friedl H, Ebersberger I, et al. A variable intron distribution in globin genes of *Chironomus*: evidence for recent intron gain [J]. *Gene*, 1997, 205(1-2): 151-160.
- [9] Roy S W. The origin of recent introns: transposons? [J]. *Genome Biology*, 2004, 5(12): 251.
- [10] 张福绥, 何义朝, 刘祥生, 等. 海湾扇贝的引种、育苗与试养 [J]. *海洋与湖沼*, 1986, 17(5):367-374.
- [11] 张福绥, 何义朝, 杨红生. 海湾扇贝引种工程及其综合效应 [J]. *中国工程科学*, 2002, 2(2): 30-35.
- [12] Nguyen-nhu N T, Berck J, Clippe A, et al. Human peroxiredoxin 5 gene organization, initial characterization of its promoter and identification of alternative forms of mRNA [J]. *Biochimica et Biophysica Acta: Gene Structure and Expression*, 2007, 1769(7-8): 472-483.
- [13] Kidwell M G, Lisch D R. Perspective: Transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution [J]. *Evolution*, 2001, 55(1): 1-24.
- [14] International Human Genome Mapping C. A physical map of the human genome [J]. *Nature (London)*, 2001, 409(6822): 934-941.
- [15] Kashkush K, Feldman M, Levy A A. Transcriptional activation of retrotransposons alters the expression of adjacent genes in wheat [J]. *Nature Genetics*, 2003, 33(1): 102-106.
- [16] McCarthy E M, Liu J D, Lizhi G, et al. Long terminal repeat retrotransposons of *Oryza sativa* [J]. *Genome Biology*, 2002, 3(10): research 0053.I-0053.II
- [17] Han J S. Non-long terminal repeat (non-LTR) retrotransposons: mechanisms, recent developments, and unanswered questions [J]. *Mobile DNA*, 2010, 1(1): 15.

A retrotransposon-like insertion—Characterization of Intron 1 in peroxiredoxin V from bay scallop *Argopecten irradians*

LI Juan^{1,2}, LI Li¹, ZHANG Guo-fan¹

(1. Institution of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2 . Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Jan.,12,2012

Key words: Bay scallop (*Argopecten irradians*); Peroxiredoxin V; Intron; Retrotransposon; non-LTR

Abstract: Intron 1 (I1) of peroxiredoxin V (PrxV) from bay scallop was amplified following the genome walking method with primers designed based on the known PrxV cDNA and genomic DNA sequences. Blast, DNAMAN and RepFind programs were used for the analysis of AiPrxV I1. The length of AiPrxV I1 is 8 565 bp, which is 68% of the total AiPrxV length and the AT% is significantly higher than GC%. There is an incomplete coding region existing in the 5 900~6 700bp region, which shares high similarity with the reverse transcriptases from amphioxus and sea urchin. In addition, the N terminal sequence of the coding region is similar with the C terminal sequences of several reverse transcriptases involved in retrotransposons. Moreover, 283 repeated sequences were found in AiPrxV I1, which are mainly located in the regions of 3 500~4 000 bp and 6 800~7 200bp. The characteristics indicate that the AiPrxV I1 of bay scallop might originate from a non-long terminal repeat (non-LTR), a type of retrotransposable elements.

(本文编辑: 张培新)