

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.20002

文蛤 *CDK1* 基因在选育与自然群体早期生长阶段中的表达特征

陈素华¹, 吴杨平¹, 陈爱华¹, 张雨¹, 曹奕¹, 田镇², 张志东², 李秋洁²

1. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 为探究细胞周期素依赖性激酶 1(CDK1)在选育群体红文蛤和自然群体黄文蛤(*Meretrix meretrix*)苗种生长发育中的作用, 本实验采用 RACE 技术克隆获得文蛤 *CDK1* 基因(*MmCDK1*)的 cDNA 序列, 该基因 cDNA 序列全长为 1623 bp, 其中包括 353 bp 的 5'末端非翻译区(UTR), 370 bp 的 3'UTR, 900 bp 的开放阅读框(ORF), 共编码 299 个氨基酸。预测氨基酸序列具有较高的保守性, 包含 STKc-CDK1-euk 结构域、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族特征序列 DLKPQN 和 G/V-T/S-X-X-Y/F-X-A-P-E、与 cyclin B 结合相关的保守序列 PSTAIRE, 以及与 ATP 相结合的保守序列 GXGXXG 和 K33。组织表达结果显示, *MmCDK1* 基因在各个组织中广泛表达, 其中性腺中的表达量最高, 其次是外套膜。不同条件(光照、饵料)培育实验中, 光照强度分别为 2.16~778 Lux 和 1.48~70.6 Lux, 饵料密度分别为 20×10^4 ind/mL 和 5×10^4 ind/mL, 结果显示, 红文蛤苗种表现出比黄文蛤苗种更快的生长速度; 各养殖条件下 *MmCDK1* 基因的差异表达结果与生长数据呈正相关关系, 各组中红文蛤 *MmCDK1* 的表达量显著高于黄文蛤 ($P < 0.05$)。由此推测, *MmCDK1* 基因在文蛤苗种生长中发挥重要作用, 且选育后的红文蛤较黄文蛤拥有更好的生长性能。本实验将为进一步研究文蛤生长发育相关机制提供参考, 也为文蛤新品种选育奠定理论基础。

关键词: 文蛤; *CDK1* 基因; 早期生长阶段; 生长性能; 差异表达

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)09-1042-10

细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin dependent kinases, CDKs)属于丝/苏氨酸蛋白激酶家族, 目前所发现的 CDKs 家族基因有十几种, 主要参与调控真核生物细胞增殖过程, 驱动细胞周期有序地进行 DNA 合成及有丝分裂, 促进细胞的生长和增殖^[1-2]。其中 CDK1 是促进细胞从 G2 向 M 期转化的关键因子, 在有丝分裂和减数分裂过程中承担着非常重要的角色: 在 G2 期, CDK1 能与细胞周期素 B(Cyclin B)结合形成成熟促进因子复合体; 在 G2 后期和 M 前期, CDK1 与细胞周期素 A(Cyclin A)结合后启动细胞向 M 期推进^[3-4]。哺

乳动物中, 沉默 *CDK1* 基因的小鼠, 其体细胞和生殖细胞的增殖速度减慢; 敲除 *CDK1* 基因的小鼠无法存活, 丢失 CDK1 的胚胎成纤维细胞在 G2 期停止生长^[5-6]; CDK1 也被证明在小鼠卵母细胞的减数分裂中起重要作用^[7]。因此, CDK1 与生物体细胞的生长和增殖有着密不可分的关系。此外, 人类快速增殖的癌细胞中磷酸化 CDK1 表达上调, 可作为癌细胞免疫组织化学表达的有用检测指标, 也是抗癌药物主要抑制细胞周期过程的治疗靶点^[8-9]。水生动物中, 已在多个物种中进行了 *CDK1* 基因克隆及表达分析, 如拟穴青蟹(*Scylla*

收稿日期: 2020-01-17; 修订日期: 2020-03-10.

基金项目: 江苏省渔业科技类重大项目(D2018-1); 江苏省自然科学基金面上项目(BK20181201); 水产良种保种及更新项目(2019-SJ-006); 南通市科技局基础科学研究项目(JC2018026); 江苏省科技项目(BM2018029); 江苏省科技厅苏北专项(SZ-YC2018064).

作者简介: 陈素华(1992-), 女, 硕士研究生, 研究实习员, 研究方向为贝类遗传育种. E-mail: chensh2030@163.com

共同第一作者: 吴杨平, 副研究员, 研究方向为贝类遗传育种与增养殖技术. E-mail: uyping@163.com

通信作者: 陈爱华, 研究员, 研究方向为贝类遗传育种与种苗工程. E-mail: chenah540540@aliyun.com

paramamosain)、大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)、红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)等^[10-12]。贝类中仅见长牡蛎(*Crassostrea gigas*) *CDK1* 克隆与表达的报道^[13]。

文蛤(*Meretrix meretrix*)是中国重要的养殖贝类之一。近年来,随着国内外市场需求的增加,文蛤养殖热度不断提升,但由于天然附苗场消失,“海上无苗”现象日益严重。目前及今后一段时间通过繁育人工苗种并开展池塘养殖是文蛤养殖的发展趋势。养殖实践表明,未经选育的文蛤壳色偏黄,养殖周期长,抗逆性差,已无法满足产业良性发展的需求。因此,选育适合池塘养殖的文蛤新品种对提高养殖产量和效益具有重要意义。江苏省文蛤良种场通过连续多年选育培育出一个红壳色文蛤新品系,该品系在生长速度和抗逆性上均优于文蛤自然群体。为探讨红壳色文蛤新品系生长优势,从构建的文蛤转录组文库中筛选到 *CDK1* 基因中间片段,采用 RACE 技术克隆获得 cDNA 基因全长序列,比较红壳色文蛤新品系与自然群体黄文蛤苗种在不同的光照和饵料培育条

件下的生长情况,并使用荧光定量 PCR 检测相应条件下 *CDK1* 基因的差异表达。目前,文蛤中尚未有 *CDK1* 基因克隆的报道,本研究比较选育群体红文蛤与自然群体黄文蛤苗种 *CDK1* 基因的表达差异,以期为研究文蛤生长发育相关功能和机制提供参考,也为文蛤新品种的开发奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 *MmCDK1* 基因 cDNA 全长克隆

采用 RACE 技术克隆获得 *MmCDK1* 基因 cDNA 序列全长。使用 RNA 提取试剂盒(天根)提取文蛤性腺总 RNA,使用 Clontech RACE 试剂盒合成 cDNA 第一条链。在本实验室构建的文蛤转录组文库中获得 *MmCDK1* EST 序列,在已知的中间片段上设计 3'RACE 和 5'RACE 特异性引物(表 1),PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测并切胶回收,将纯化产物与 pMD18-T 载体进行连接并导入 DH5 α 大肠杆菌感受态细胞,37℃过夜培养,经阳性克隆筛选后,将含有目的基因片段的菌液送至上海生工生物工程有限公司测序。

表 1 文蛤 *CDK1* 基因克隆及荧光定量所用引物
Tab.1 Primers used for *MmCDK1* mRNA cloning and qPCR reactions of *Meretrix meretrix*

引物 primer	序列 (5'-3') sequence (5'-3')	功能 application
<i>CDK1</i> 5'-RACE	TGTCCACTTGGTATTGTGTCCAT	5'-RACE
<i>CDK1</i> 3'-RACE	AATGCTGATATACGACCCTTCCC	3'-RACE
Q-F	CAAGGAACTGCAACATCCAAACA	荧光定量引物 primers for qPCR
Q-R	AAGATCACGATGTAGGACACGAC	荧光定量引物 primers for qPCR
β -actinF	TTGTCTGGTGGTTCAACTATG	荧光定量内参 control for qPCR
β -actinR	TCCACATCTGCTGGAAGGTG	荧光定量内参 control for qPCR

1.2 序列分析

序列拼接后,使用 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)寻找 *MmCDK1* 基因开放阅读框,并翻译成相应的氨基酸,用 NetPhos 3.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)进行磷酸化位点分析,用 SMART 软件(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)进行蛋白结构域和功能域的预测和分析,利用 ExPASy 软件(http://web.expasy.org/compute_pi/)预测氨基酸序列的理论等电点及

分子量,利用 MEGA 5.0 构建系统进化树。

1.3 RNA 提取及 *MmCDK1* 基因组织表达分析

8 月份选取野生活体文蛤,壳长(35.62 $\pm$ 2.60) mm,用于不同组织表达实验。选取 4 个文蛤置于冰上麻醉,分别取其肝胰腺、鳃、闭壳肌、外套膜、斧足、性腺等 6 个组织样品,用 1 $\times$ PBS(磷酸盐缓冲盐水,0.01 mol/L)洗涤后,液氮速冻,-80℃冰箱冻存,用于 RNA 提取。使用 RNA 提取纯化试剂盒(天根)获取各个组织的总 RNA,测

定 OD_{260}/OD_{280} 值及 1.2% 琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 浓度和质量, 使用反转录试剂盒(天根)将总 RNA 反转录为 cDNA, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

使用 Applied Biosystems 荧光定量 PCR 仪分析 *MmCDK1* 的表达量, 根据天根荧光定量预混试剂盒说明书配置如下扩增体系: 总体积 $20\text{ }\mu\text{L}$, 其中 cDNA $1\text{ }\mu\text{L}$ (100 ng), $2\times\text{SuperReal Premix Plus}$ $10\text{ }\mu\text{L}$, $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 特异性正向和反向引物各 $0.6\text{ }\mu\text{L}$ (表 1), $50\times\text{ROX}$ 参考染料 $2\text{ }\mu\text{L}$, ddH_2O $5.8\text{ }\mu\text{L}$ 。反应条件: $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温浴 15 min , 活化 Hot Start Taq DNA 聚合酶, 然后按 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 s 、 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s 进行 40 个循环。每个 cDNA 样品做 3 个重复, $\beta\text{-actin}$ 基因作为内参基因, 每次 PCR 分析结束时进行扩增产物的解离曲线分析。

1.4 光照、饵料密度实验及其 *MmCDK1* 差异表达分析

实验所用红壳色文蛤为江苏省文蛤良种场选育的新品系, 黄壳色文蛤为如东海区野生未选育群体(以下分别简称红文蛤和黄文蛤)。两种文蛤均为江苏省文蛤良种场 2018 年 7 月同时繁育获得的幼贝, 常规培养; 实验开始时红文蛤和黄文蛤平均壳长分别为 $(1.13\pm 0.18)\text{ mm}$ 、 $(1.32\pm 0.16)\text{ mm}$ 。实验在 1.5 t 的圆形缸中进行, 缸内铺设海沙, 播苗密度约 $1\times 10^4\text{ ind/m}^2$, 24 h 连续充气, 定期换水, 投喂叉鞭金藻(*Dicrateria*)等人工饵料。

1.4.1 光照实验 光照培育条件为室外阳光棚和室内遮光两组, 使用华谊照度计测量光照强度, 两组的光照强度范围分别为: $2.16\sim 778\text{ Lux}$ (强光组), $1.48\sim 70.6\text{ Lux}$ (弱光组), 其余条件保持一致, 设置 3 组平行。

1.4.2 饵料实验 饵料密度为 $20\times 10^4\text{ ind/mL}$ 和 $5\times 10^4\text{ ind/mL}$ 两组, 以下简称高饵料组和低饵料组, 其余条件保持一致, 设置 3 组平行。

实验从 9 月 1 日开始, 9 月、10 月每隔半个月取一次样, 具体取样时间为 9 月 15 日、9 月 30 日、10 月 15 日、10 月 30 日; 11 月、12 月由于温度降低, 文蛤幼贝生长速度比前期慢, 间隔一个月取一次样, 具体取样时间为 11 月 15 日、12 月 15 日。每次随机取样 50 粒, 用数显游标卡尺测量

壳长, 并计算各组壳长增长量。

1.4.3 *MmCDK1* 差异表达分析 光照和饵料实验结束时, 分别取各实验组文蛤的全组织, 组织样本均用 $1\times\text{PBS}$ (磷酸盐缓冲盐水, 0.01 mol/L) 洗涤后, 液氮速冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存。RNA 提取及荧光定量具体步骤同 1.3。

1.5 数据处理与分析

荧光定量数据根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算相对拷贝数^[14], 所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差表示 ($\bar{x}\pm\text{SD}$)。通过统计分析软件 SPSS 20.0 对结果进行单因素方差 (one-way ANOVA) 分析, $P<0.05$ 认为结果差异显著。

2 结果与分析

2.1 *MmCDK1* 基因 cDNA 全长序列的克隆与分析

采用 RACE 技术克隆获得文蛤 *CDK1* 基因 cDNA 的全长序列 (GenBank: MN881779), 共 1623 bp, 其中 5' 非翻译区 (untranslated regions, UTR) 为 353 bp, 3' UTR 为 370 bp, 开放阅读框 (open reading frame, ORF) 为 900 bp, 共编码 299 个氨基酸 (图 1)。预测蛋白分子量为 34.33 kD, 理论等电点 pI 为 7.68, 相对分子质量为 34323.75。*MmCDK1* 的预测氨基酸序列包含 STKc-CDK1-euk 结构域, 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族特征序列 DLKPQN 和 G/V-T/S-X-X-Y/F-X-A-P-E, 27 个磷酸化位点 (9 Ser, 13 Thr 和 5 Try), 与 cyclin B 结合相关的保守序列 PSTAIRE 以及与 ATP 结合相关的保守序列 GXGXXG 和 K33。氨基酸序列比对结果和系统进化树分析结果显示, 文蛤 *CDK1* 基因与虾夷扇贝 (*Mizuhopecten yessoensis*) 等软体动物类聚为一支, 软体动物又与甲壳类聚为非脊椎动物一支, 哺乳动物和鱼类聚成脊椎动物一支 (图 2, 图 3)。

2.2 *MmCDK1* 基因的组织表达

采用荧光定量 PCR 检测 *CDK1* 基因在文蛤 6 个不同组织中的表达情况, 如图 4 所示。文蛤 *CDK1* 基因在被检测的各个组织中均有表达, 在性腺中的表达量最高 ($P<0.05$), 其次是外套膜, 在鳃、肝胰腺、闭壳肌等表达量较低, 在斧足中的表达量最低。

```

1 ctaaggagcggcaagaagagacacaaagcaagaagaagcacgtaatttcatcaagtttttaattttgatgatattttgatttttag
91 tagcgtgaaacaggcatctgcaaaactgagtcataatcttttccgctgtaaattcttcatttgtattgtgtactagtgtattgttaag
181 gccagcggaagtcacgaaaactgtttactttgacaacggagaggtgggaatcactgggttacactggaatcgactttctaaccaaaat
271 atactggaatcgacttttccattatcggaatcgactagttaagctattttatgtattaaattgtataaaatagaaacaattATGGATG
1 M D
361 ACTATACGAAAAATAGAGAAAATCGAGAGGGTACATATGGGGTTGTATACAAGGGTAAAAACAAGAAGACAGGTAACTTGTGGCTCTTA
3 D Y T K I E K I G E G T Y G V V Y K G K N K K T G K L V A L
451 AAAAGATCCGCTCGAGAGTGAAGATGAAGGTGTACCATCAACGGCCATACGTGAGATCTCCCTTCTCAAGGAAGTCAACATCCAAACA
33 K I R L E S E D E G V P S T A I R E I S L L K E L Q H P N
541 TTGTCTGTTTGAAGATGCTTGTATGCAAGAGAATAAGTTATACCTTGTTTTGAATTCTATCAATGGACCTGAAAAAATATATGGACA
63 I V C L E D V L M Q E N K L Y L V F E F L S M D L K K Y M D
631 CAATACCAAGTGGACAGTATATGGACAAAATGCTGGTGAAGAGTTACACATATCAGATAATACAAGGAATCTGTCTGCCACCAACGTC
93 T I P S G Q Y M D K M L V K S Y T Y Q I I Q G I L F C H Q R
721 GTGTCCTACATCGTGATCTTAAACCTCAAAATCTGCTCATCGACAATAATGGGGTTATTAACCTTGCCGATTTTGGTCTTGCTAGAGCTT
123 R V L H R D L K P Q N L L I D N N G V I K L A D F G L A R A
811 TTGGGATTCCAGTAAGAGTTTATACACACGAGGTGTGTACACTGTGGTACAGAGCCCGAGAAATCTGCTTGGTTCACAAAGGTACTCCA
153 F G I P V R V Y T H E V V T L W Y R A P E I L L G S Q R Y S
901 CACCTGTGTATGTGAGAGTGTAGGATGCATCTTTGCTGAAATGGTCACCAAGCGACCGCTTTTCCATGGTGATTGAGAAATGATCAAC
183 T P V D V W S V G C I F A E M V T K R P L F H G D S E I D Q
991 TCTTCAGAAATTTTGAACGCTGACCACACCCACAGAAGATACTGGCCAGGAGTGCCAGTATGCCTGACTATAAACCAACATTTCCTAA
213 L F R I F R T L T T P T E D T W P G V S S M P D Y K P T F P
1081 ACTGGAAGACAAACCAGCTAGCAACAGTGTCAAACAGCTTGATAACAATGGTCTTGATCTCTTACAGCAATGCTGATATACGACCCTT
243 N W K T N Q L A N S V K Q L D N N G L D L L Q Q M L I Y D P
1171 CCCTCAGACTGACAGCAAGGGATGCCTTAAATCACCATACTTTGCTAACTTGGACAAATCAGCATTACCTGCCAATCTGTAAcatttgc
273 S L R L T A R D A L N H P Y F A N L D K S A L P A N L *
1261 aaacttgtgtgagataaataacttacttgggttttgcagagtgaacatttttatttcatttagatttgaatcatgtgtacattcaag
1351 cagtgtgtgttccaagaatttaggatttatttttcatcattaaatgtgtttttaccttacctcaaggtgagcttttgtgattgcct
1441 gtgttcagcagctggcatcaactttttccattaaacatcatctccttagtcttaaccactcagtcataaattgatgaaattaaccaggaa
1531 ttttccttgcataagctcttcccaaatgttcaaggaattgtattcagtgcaaaagctggtttagcaacaaaaaaaaaaaaaaaaaa
1621 aaa

```

图1 文蛤 *CDK1* 基因 cDNA 序列及其预测的氨基酸序列

开放阅读框用大写字母表示, 非编码区用小写字母表示, 终止密码 TAA 下方加*表示, 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族特征序列下加双下划线标注, 方框表示 ATP 结合位点, 灰色底纹表示 cyclin 结合位点保守序列。

Fig. 1 Nucleotide and deduced amino acid sequences of *MmCDK1* of *Meretrix meretrix*

Open reading frame (ORF) are shown by capital letters; 3' untranslated region (UTR) and 5' UTR are listed with lowercase letters.

The predicted stop codon of translation is marked with an asterisk. The sequence of serine/threonine protein kinases family are marked with double underlining. ATP interaction site is boxed. Cyclin binding site is marked with shadow.

2.3 不同培育条件下 *MmCDK1* 的表达情况

在不同光照、饵料密度下红、黄文蛤的生长对比实验均显示红文蛤生长快于黄文蛤(图5)。强光和弱光条件下, 红文蛤新品系的壳长增长量明显高于同一条件下的黄文蛤($P<0.05$), 且强光组生长明显快于弱光组($P<0.05$)。高低饵料密度下, 红文蛤新品系的壳长增长量也明显高于同一条件下的黄文蛤($P<0.05$), 且 20×10^4 ind/mL 高密度组的红文蛤均生长快于其他组别($P<0.05$)。

进一步使用 qPCR 检测分析了 *CDK1* 基因在不同养殖条件下红、黄文蛤中的表达差异。结果如图6所示。在强光组, 红、黄文蛤的 *CDK1* 基

因均有较高的表达量, 两者存在明显差异($P<0.05$); 弱光条件下, 红文蛤的 *CDK1* 基因表达量极显著高于黄文蛤($P<0.01$)。在不同饵料浓度下, 红、黄文蛤的表达量存在显著性差异, 红文蛤的 *CDK1* 表达量均显著高于黄文蛤($P<0.05$)。由此可见, 红文蛤快速生长与 *CDK1* 基因表达量存在一定联系。

3 讨论

3.1 *MmCDK1* 基因序列特征

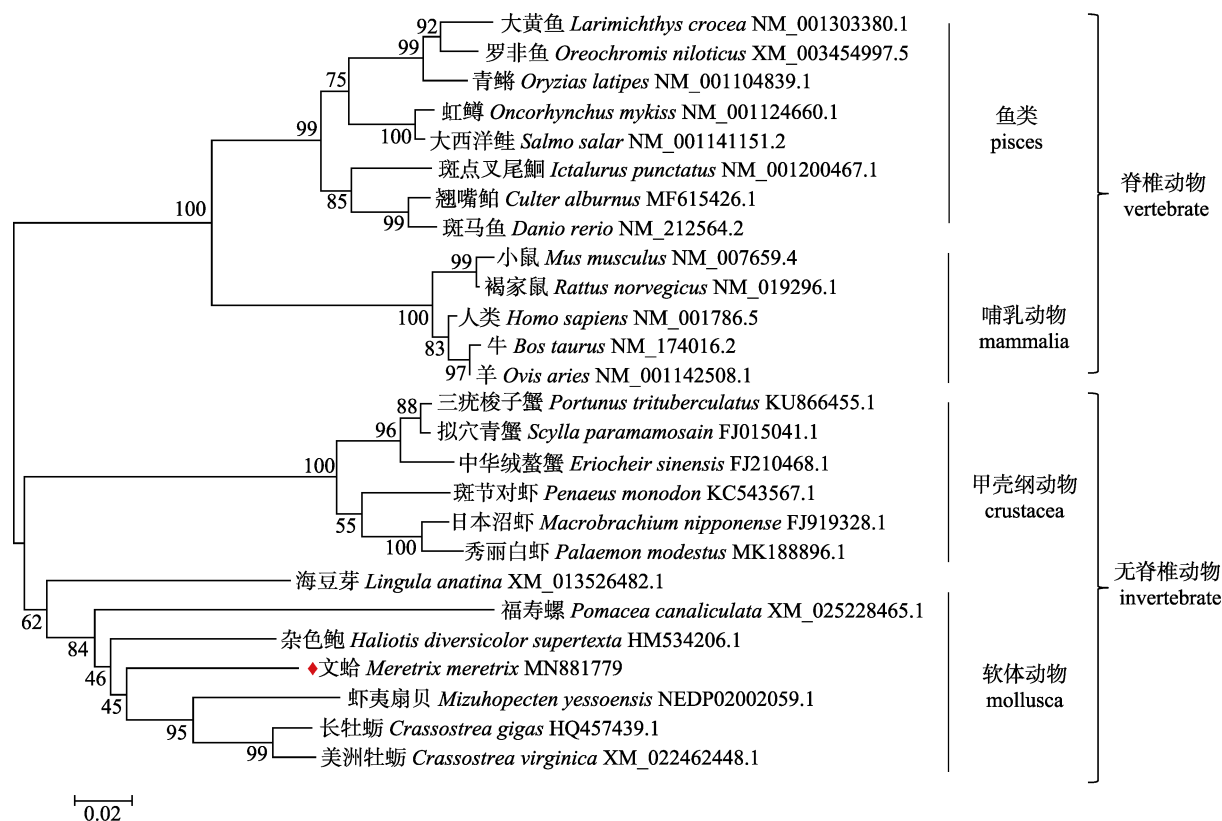
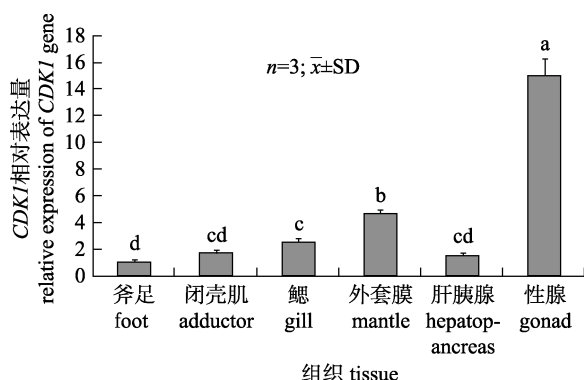
本实验采用 RACE 技术首次克隆获得文蛤 *CDK1* 基因的 cDNA 全长序列, 通过比对分析, 该

文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	MDDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRNKKTKGKLVALKKIRLESEDEGVPSTAREISLLKEIQH	60
虾夷扇贝 <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHKKSNRTVALKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIQH	60
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRNKKSGRIVALKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIQH	60
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	MDDYMRIEKIGEGTYGVVYKAKNRKTGRVAMKKIRLENEEGVPSTAREISLLKEIQH	60
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	MDDYTRIEKIGEGTYGVVYKAKSRKTGKEVAMKKIRLENEEGVPSTAREISLLKEIQH	60
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	MDDYLRIEKIGEGTYGVVYKGRNKTGQVAMKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIQH	60
大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	MEDYLRIEKIGEGTYGVVYKGRHKTGQVAMKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIQH	60
人类 <i>Homo sapiens</i>	MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHKTGQVAMKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIRH	60
小鼠 <i>Mus musculus</i>	MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHRTGQVAMKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIRH	60
牛 <i>Bos taurus</i>	MEDYTKIEKIGEGTYGVVYKGRHKTGQVAMKKIRLESEEGVPSTAREISLLKEIRH	60
Consensus	m dy i k gegtygvv k va kkirle e egvpsta re sll el h	
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	PNIVGLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
虾夷扇贝 <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	PNIVGLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	PNIVGLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPDGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
人类 <i>Homo sapiens</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
小鼠 <i>Mus musculus</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
牛 <i>Bos taurus</i>	PNIVMLEEDVLMQENKLYLFEFFLSMDLKKYMDTTPSGQYMDKMLVKSXYQIITQIGILEFCH	120
Consensus	pn v l dvlm l l feffl mdlk y d g d lvksy q ch	
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
虾夷扇贝 <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
人类 <i>Homo sapiens</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
小鼠 <i>Mus musculus</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
牛 <i>Bos taurus</i>	QRRVLHRDLKPQNLLIDNNGVVIKADFGFLARAFGIPVRVYTHEVVTWLYRAPEVLLGSQR	180
Consensus	rrvlhrdlkpqnlli g ik adfgflara f p rvythevvtlwyr pe llg	
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
虾夷扇贝 <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
人类 <i>Homo sapiens</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
小鼠 <i>Mus musculus</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
牛 <i>Bos taurus</i>	YSTPVDVWSVGCIFAEVMVTKRPLFHGDSEIDQLFRIFRILTTPTEDTWEFVSSMPDYKPT	240
Consensus	ys pvd ws g ifae tk plfhgdseidqlfrifr l tp wp v dy	
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
虾夷扇贝 <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
人类 <i>Homo sapiens</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
小鼠 <i>Mus musculus</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
牛 <i>Bos taurus</i>	FFNWKTNQLANSVKQDNDNGLDILQOMLIYDFSRILTARDALNHEFYFANLDKSAIPANL.	299
Consensus	fp w l v d d l l y p r a yf ld	
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i>	...	299
虾夷扇贝 <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	APT	303
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	TS.	302
中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	...	299
秀丽白虾 <i>Palaemon modestus</i>	...	299
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	KI.	302
大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	NKI	303
人类 <i>Homo sapiens</i>	...	297
小鼠 <i>Mus musculus</i>	...	297
牛 <i>Bos taurus</i>	...	296
Consensus	...	

图 2 文蛤 *CDK1* 基因与其他物种的氨基酸序列比对

不同颜色表示氨基酸序列保守性的高低,深蓝色表示序列的高保守性,粉色其次,浅蓝色保守性最低。

Fig. 2 Multiple alignment of *Meretrix meretrix* *MmCDK1* gene deduced amino acid sequences with other species
The fully conserved residues are indicated in dark blue and strongly conserved residues are shown in pink;
the low conserved residues are marked in light blue.

图3 文蛤与其他物种 *CDK1* 氨基酸序列的系统进化树分析Fig. 3 The phylogenetic tree based on the amino acid sequences of *CDK1* in *Meretrix meretrix* and other organisms图4 文蛤 *CDK1* 在各个组织中的表达不同的字母表示不同组织间差异显著 ($P < 0.05$).Fig. 4 The expression levels of *MmCDK1* in different tissuesDifferent letters indicate significant difference between different tissues ($P < 0.05$).

基因所推导的氨基酸序列与其他物种的氨基酸序列一致性达 84.21%, 且都具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族特有的结构域和位点。系统进化树分析结果显示, 与文蛤亲缘关系最近的是虾夷扇贝、长牡蛎等软体动物, 软体动物门又与甲壳类聚为无脊椎动物一支, 而哺乳动物的 *CDK1* 基因

与鱼类又聚为脊椎动物一大分支, 符合生物进化规律。本研究结果说明 *CDK1* 基因的氨基酸序列具有较高的保守性, 且文蛤 *CDK1* 基因可能发挥着与其他物种相似的功能。

3.2 *MmCDK1* 基因组织表达分析

细胞周期依赖性蛋白激酶(CDKs)是细胞周期调控的核心, *CDK1* 通过磷酸化细胞周期中的功能蛋白, 对细胞的生长、增殖起到重要的调控作用, 以保障细胞分裂的有序进行^[15]。细胞分裂广泛存在于生物体各个组织, 但在不同的物种中, 组织表达量有所差异。郭佳伟等^[11]发现 *CDK1* 基因在大菱鲂各个组织中均有表达, 在性腺、肾脏等生长发育较快的组织中表达量较高; 该基因在其他鱼类的组织表达中也有着相似的规律, 如大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[16]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[17]; 王桐^[13]研究发现 *CDK1* 基因在长牡蛎各个组织中均有表达, 其中在性腺中的表达量最高, 其次是血淋巴, 在闭壳肌和外套膜中表达量最少。本研究结果显示文蛤 *CDK1* 基因在各个

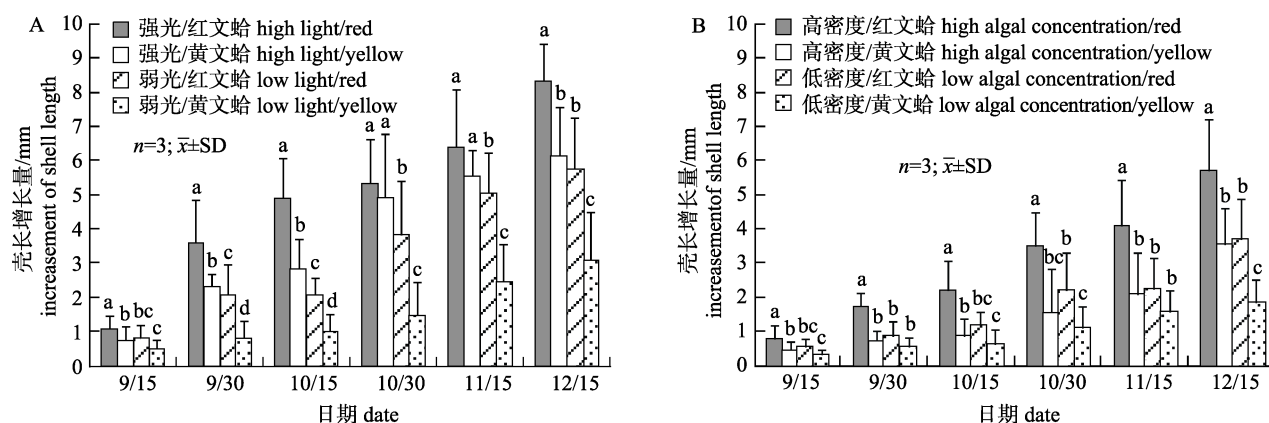


图 5 不同光照强度(A)和不同饵料密度(B)下红文蛤与黄文蛤的壳长增长量比较
 强光和弱光的光强度分别为 2.16~778 Lux 和 1.48~70.6 Lux, 高饵料和低饵料组的饵料密度分别为 20×10^4 ind/mL 和 5×10^4 ind/mL。
 同一时间各实验组不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 5 Comparisons of shell length increment between the red clams and yellow clams in different light intensity(A) and algal concentration(B)
 Light intensities of high light group and low light group are 2.16~778 Lux and 1.48~70.6 Lux, respectively. Algal concentrations of high algal concentration group and low algal concentration group are 20×10^4 ind/mL and 5×10^4 ind/mL, respectively.
 Different letters between experimental groups at the same time indicate significant difference ($P < 0.05$).

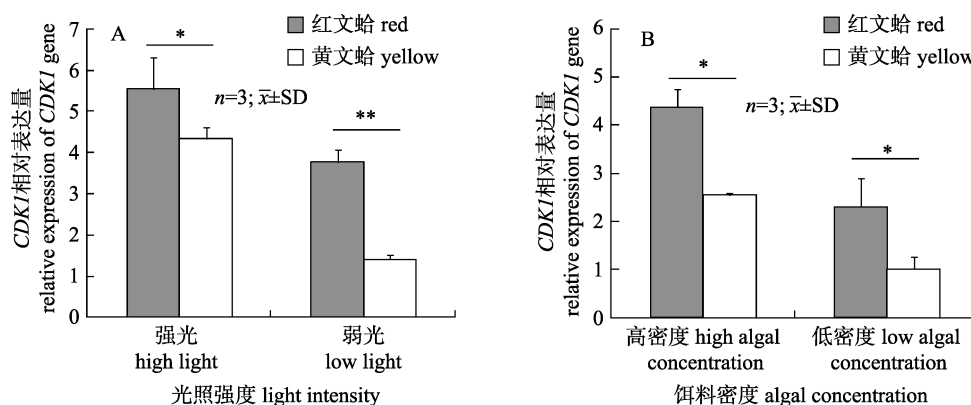


图 6 不同光照强度(A)和不同饵料密度(B)下文蛤 *CDK1* 基因的表达差异
 强光和弱光的光强度分别为 2.16~778 Lux 和 1.48~70.6 Lux, 高密度和低密度饵料组的饵料密度分别为 20×10^4 ind/mL 和 5×10^4 ind/mL。
 * 表示两组之间的显著性差异 ($P < 0.05$); **表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

Fig. 6 Expression levels of *MmCDK1* in different light intensity(A) and algal concentration(B)
 Light intensities of high light group and low light group are 2.16~778 Lux and 1.48~70.6 Lux, respectively. Algal concentrations of high algal concentration group and low algal concentration group are 20×10^4 ind/mL and 5×10^4 ind/mL, respectively.
 * means significant difference ($P < 0.05$) and ** means highly significant difference between the two groups ($P < 0.01$).

组织中广泛表达, 这说明 *CDK1* 基因在文蛤各个组织中都发挥着重要的功能。*MmCDK1* 在性腺中表达量最高, 其次是外套膜, 这可能与本实验所取的文蛤样本正处于繁殖期有关, *CDK1* 基因在细胞分裂旺盛的部位表达量高, 文蛤繁殖期性腺细胞减数分裂旺盛, 因此表达量最高; 外套膜与文蛤的生长息息相关, 处于生长期的文蛤外套膜细胞分裂旺盛, 表达量相对较高。

3.3 *MmCDK1* 基因与文蛤生长的相关性分析

水生生物体的生长、发育和存活率等明显受到光照和饵料的影响, 偏离生物体自然光周期的光照条件, 不仅会造成生物生长速度减慢, 还对生物体幼体的生长、变态和存活都起到负作用, 如蛙形蟹(*Ranina ranina*)^[18]和克氏双锯鱼(*Amphiprion clarkii*)^[19]。在生物体长期进化过程中, 生物体均具有所需的最适光照强度, 缢蛏(*Sinonovacula*

constricta) 稚贝生长实验表明, 适宜的光照强度有利于稚贝的生长, 过高或过低的光照强度则会对稚贝的生长产生抑制^[20]; 在九孔鲍(*Haliotis diversicolor aquatilis*)^[21]、番红砗磲(*Tridacna crocea*)^[22]等其他贝类中也有相似的结论, 即适宜的光照强度有助于贝类的生长、存活和代谢。水体中饵料的缺乏或不足使得贝类通过滤水获得的饵料降低, 导致贝类在一段时间内口的开启状态降低或过滤活动停止, 这又引起贝类氧气吸收量的降低, 新陈代谢也会下降, 都能使贝类生长停滞或停止^[23-25]。本实验中, 光照和饵料影响了红、黄两种文蛤苗种的生长, 低光照强度和低饵料浓度对两种文蛤的生长有抑制作用, 但红文蛤的生长速度始终快于黄文蛤, 说明选育后的红文蛤比黄文蛤有较好的生长优势及抗逆能力。

CDK1 基因在各组实验条件下的表达情况与红、黄文蛤的壳长生长情况呈正相关关系, 文蛤苗种处于高速生长发育时期, 细胞有丝分裂旺盛, 需大量 *CDK1* 进行调控。生长受抑制的条件下, *CDK1* 基因的转录水平也受到抑制, 由此推测 *CDK1* 基因在文蛤早期苗种生长中发挥了重要作用。目前有关 *CDK1* 基因功能的研究多集中于哺育动物, 人体中 *CDK1* 在病变细胞中表达增强, 可作为癌细胞增殖和肿瘤病变的诊断标志^[26-28]; 绵羊(*Ovis aires*)、牛(*Bos Taurus*)、小鼠(*Mus musculus*)等生殖细胞发育周期的分子机制与 *CDK1* 密不可分^[29-31]。贝类中的研究仅见长牡蛎该基因与性腺发育的关系, 贝类中该基因与生长的关系还未见报道, 本研究初步探究了 *CDK1* 基因与早期文蛤生长之间的关系, 其深入的分子调控网络还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Li C, Huang J. Cell cycle and regulation[J]. Fujian Medical Journal, 2013, 35(5): 146-147, 176. [李春, 黄警. 细胞周期及其调控[J]. 福建医药杂志, 2013, 35(5): 146-147, 176.]
- [2] Gao Y, Lin L P, Ding J. A review: Cell cycle regulation[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2005, 17(4): 318-322. [高燕, 林莉萍, 丁健. 细胞周期调控的研究进展[J]. 生命科学, 2005, 17(4): 318-322.]
- [3] Petrone A, Adamo M E, Cheng C, et al. Identification of candidate cyclin-dependent kinase 1 (Cdk1) substrates in mitosis by quantitative phosphoproteomics[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2016, 15(7): 2448-2461.
- [4] Chen J, Liu P, Li Z, et al. The cloning of the *cdk2* transcript and the localization of its expression during gametogenesis in the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(8): 4781-4790.
- [5] Bashir T, Pagano M. Cdk1: the dominant sibling of Cdk2[J]. Nature Cell Biology, 2005, 7(8): 779-781.
- [6] Diril M K, Ratnacaram C K, Padmakumar V C, et al. Cyclin-dependent kinase 1 (Cdk1) is essential for cell division and suppression of DNA re-replication but not for liver regeneration[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(10): 3826-3831.
- [7] Adhikari D, Zheng W, Shen Y, et al. Cdk1, but not Cdk2, is the sole Cdk that is essential and sufficient to drive resumption of meiosis in mouse oocytes[J]. Human Molecular Genetics, 2012, 21(11): 2476-2484.
- [8] Bury M, Le Calvé B, Lessard F, et al. NFE2L3 controls colon cancer cell growth through regulation of DUX4, a CDK1 inhibitor[J]. Cell Reports, 2019, 29(6): 1469-1481.
- [9] Yuan Q, Dong C D, Ge Y, et al. Proteome and phosphoproteome reveal mechanisms of action of atorvastatin against esophageal squamous cell carcinoma[J]. Aging, 2019, 11(21): 9530-9543.
- [10] Han K H, Dai Y B, Zou Z H, et al. Molecular characterization and expression profiles of *cdc2* and cyclin B during oogenesis and spermatogenesis in green mud crab (*Scylla paramamosain*)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 163(3-4): 292-302.
- [11] Guo J W, Zhu X P, Wu Z H, et al. Cloning and expression analysis of *cdk1* and *cdk6* in *Scophthalmus maximus*[J]. Marine Sciences, 2016, 40(4): 11-21. [郭佳伟, 朱香萍, 吴志昊, 等. 大菱鲆周期蛋白依赖激酶基因 *cdk1*、*cdk6* 克隆及表达分析[J]. 海洋科学, 2016, 40(4): 11-21.]
- [12] Wang L M, Zuo D, Lv W W, et al. Characterization of Cdc2 kinase in the red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*): Evidence for its role in regulating oogenesis[J]. Gene, 2013, 515(2): 258-265.
- [13] Wang T. Cloning and tissue expression analysis of the key cell cycle regulator *cdk1* and cyclin B3 genes from Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)[D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Sciences, 2011. [王桐. 长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) *cdk1* 和 cyclin B3 基因的克隆及其在性腺发育中作用的初步研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2011.]

- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [15] Nurse P, Thuriaux P. Regulatory genes controlling mitosis in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*[J]. *Genetics*, 1980, 96(3): 627-637.
- [16] Cai M Y, Zhou P, Han K H, et al. Characterization and tissue expression profiles of *cyclin B1* and *cdc2* in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2014, 53(1): 132-141. [蔡明夷, 周鹏, 韩坤煌, 等. 大黄鱼 *cyclin B1* 和 *cdc2* cDNA 序列特征及组织表达分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2014, 53(1): 132-141.]
- [17] Qiu G F, Ramachandra R K, Rexroad C E, et al. Molecular characterization and expression profiles of cyclin B1, B2 and Cdc2 kinase during oogenesis and spermatogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Animal Reproduction Science*, 2008, 105(3-4): 209-225.
- [18] Minagawa M. Effects of photoperiod on survival, feeding and development of larvae of the red frog crab, *Ranina ranina*[J]. *Aquaculture*, 1994, 120(1-2): 105-114.
- [19] Ye L, Hu J, Wang Y, et al. Effects of light on survival, development and growth of larvae of *Amphiprion clarkii*[J]. *Journal of Qiongzhou University*, 2014, 21(5): 78-86. [叶乐, 胡静, 王雨, 等. 光周期和光照强度对克氏双锯鱼仔鱼存活、生长和发育的影响[J]. 琼州学院学报, 2014, 21(5): 78-86.]
- [20] Miao Z Q, Liu Z H, Xu J L, et al. Effects of light intensity on growth of juvenile *Sinonovacula constricta* (Lamarck, 1818) [J]. *Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition)*, 2016, 29(2): 1-5. [缪志前, 刘知欢, 徐继林, 等. 光照强度对缢蛏稚贝生长的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2016, 29(2): 1-5.]
- [21] Yan Z L, Chen J H, Wu P R, et al. The influence of light intensity on the growth and survival of the larvae and juvenile abalone of *Haliotis diversicolor aquatilis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 25(4): 336-341. [严正凛, 陈建华, 吴萍茹, 等. 光照强度对九孔鲍幼虫及幼鲍生长存活的影响[J]. 水产学报, 2001, 25(4): 336-341.]
- [22] Liu C S, Liu X X, Wang H, et al. Effects of light intensity and spectra on metabolism of ammonia, active phosphates, and oxygen consumption in *Tridacna Crocea*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2018, 49(2): 313-318. [刘春胜, 刘小霞, 汪浩, 等. 光照强度和光色对番红砗磲(*Tridacna crocea*)氨氮、活性磷酸盐及氧代谢的影响[J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(2): 313-318.]
- [23] Riisgård H U, Kittner C, Seerup D F. Regulation of opening state and filtration rate in filter-feeding bivalves (*Cardium edule*, *Mytilus edulis*, *Mya arenaria*) in response to low algal concentration[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2003, 284(1-2): 105-127.
- [24] Bao Y B, You Z J. Influences of several environmental factors on growth in marine shellfish larvae[J]. *Fisheries Science*, 2004, 23(12): 39-41. [包永波, 尤仲杰. 几种环境因子对海洋贝类幼虫生长的影响[J]. 水产科学, 2004, 23(12): 39-41.]
- [25] Wang Y C, Ye X F. Effects of feeding algae on molluscan shellfish breeding[J]. *Shandong Fisheries*, 2003, 20(11): 6-8, 12. [王扬才, 叶显峰. 饵料藻类对贝类育苗的影响[J]. 齐鲁渔业, 2003, 20(11): 6-8, 12.]
- [26] Santamaria D, Barrière C, Cerqueira A, et al. Cdk1 is sufficient to drive the mammalian cell cycle[J]. *Nature*, 2007, 448(7155): 811-815.
- [27] Shao F J, Cheng J, Ma Y J, et al. Effect of augment of liver regeneration on gene expression of cyclin-dependent kinase 1[J]. *Chinese Journal of Liver Diseases (Electronic Version)*, 2013, 5(2): 10-13. [邵凤娟, 成军, 马英骥, 等. 肝再生增强因子对细胞周期素依赖性激酶 1 基因表达的影响[J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2013, 5(2): 10-13.]
- [28] Zhang P, Kawakami H, Liu W Z, et al. Targeting CDK1 and MEK/ERK overcomes apoptosis resistance in BRAF-mutant human colorectal cancer[J]. *Molecular Cancer Research*, 2018, 16(3): 378-389.
- [29] Wei Z, Greaney J, Zhou C X, et al. Cdk1 inactivation induces post-anaphase-onset spindle migration and membrane protrusion required for extreme asymmetry in mouse oocytes[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 4029.
- [30] Dong L Y, Li Q F, Qu X G, et al. Expression levels of *Cdc2* and *Cdc25A* mRNA in cattle, yak, and cattle-yak testis[J]. *Hereditas*, 2009, 31(5): 495-499. [董丽艳, 李齐发, 屈旭光, 等. 黄牛、牦牛和犏牛睾丸组织中 *Cdc2*、*Cdc25A* 基因 mRNA 表达水平[J]. 遗传, 2009, 31(5): 495-499.]
- [31] Ma Y J, Lu Z K, Zhang Q W, et al. Expression and cellular localization of CDK1 and CyclinB1 in the sheep (*Ovis aries*) testes of different months[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2016, 24(3): 342-348. [马友记, 卢曾奎, 张全伟, 等. CDK1 和 CyclinB1 在不同月龄绵羊睾丸中的表达与定位[J]. 农业生物技术学报, 2016, 24(3): 342-348.]

Expression analysis of the *CDK1* gene between selected and natural populations of juvenile *Meretrix meretrix*

CHEN Suhua¹, WU Yangping¹, CHEN Aihua¹, ZHANG Yu¹, CAO Yi¹, TIAN Zhen², ZHANG Zhidong², LI Qiujie²

1. Jiangsu Institute of Marine Fisheries, Nantong 226007, China;

2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Cyclin-dependent kinases (CDKs) are members of the serine/threonine protein kinase family and key regulators of the cell cycle transitions in eucaryon. CDK1, also known as Cdc2 or p34cdc2, is the first documented CDK and is vital for mitosis and meiosis. CDK1 functions as a catalytic subunit by binding with its regulatory subunit cyclin B to form a complex at the transition from G2 to M phase. The *CDK1* gene has been described in several species, but investigations in mollusks are lacking. To study the function of the *CDK1* gene in juveniles of selected (red clams) and natural (yellow clams) populations of *Meretrix meretrix*, we cloned a complete cDNA sequence of the *CDK1* gene via rapid amplification of cDNA ends (RACE). The *MmCDK1* cDNA is 1623 bp long and contains a 353 bp 5' untranslated region (UTR), a 370 bp 3' UTR, and a 900 bp open reading frame (ORF) encoding 299 amino acids. The predicted amino acid sequence of *MmCDK1* exhibited several conserved characteristics, including a STKc-CDK1-euk domain, specific sequences of the CDK family DLKPQN and G/V-T/S-X-X-Y/F-X-A-P-E, the cyclin B binding site PSTAIRE, and ATP-coupled-sites GXGXXG and K33. Sequence alignments revealed that *MmCDK1* shares significant homology with the *CDK1* kinases from other species. The tissue distribution analyses showed that *MmCDK1* is expressed in all of the tested tissues. The highest expression was in the gonad, followed by the mantle, suggesting that *CDK1* plays an important role in the cells with active division in the gonad and mantle. In different aquaculture conditions experiments, the red clams grew faster than the yellow clams under high and low light and under high and low algal concentrations. The expression profiles of *MmCDK1* under different aquaculture conditions were consistent with the growth results that *MmCDK1* expression level was also higher in the red clams. Therefore, we speculate that *MmCDK1* is closely related to early juvenile growth and that the light and algal concentrations also play important roles (inappropriate conditions may inhibit juvenile growth). The red clams may possess better growth and development characteristics than the yellow clams. The results of this study contribute to a better understanding of the mechanisms of growth and provide basic information for breeding new varieties of *M. meretrix*.

Key words: *Meretrix meretrix*; *CDK1* gene; juveniles; growth performance; differential expression

Corresponding author: CHEN Aihua. E-mail: chenah540540@aliyun.com