

磷虾类线粒体基因组的特征和基因排列比较

申 欣^{1,2} 王海青² 王敏晓² 刘 斌²

(¹淮海工学院海洋学院, 连云港 222005)

(²中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘 要 利用长 PCR 扩增获得太平洋磷虾的线粒体 DNA, 结合鸟枪法和引物步移法测定太平洋磷虾的线粒体基因组。结果表明, 太平洋磷虾线粒体基因组全长为 16 898 bp, 在最大非编码区中存在一个串联重复区域(4.7×154 bp)。在 15 个主编码基因中, 变异位点数最多的是 *nad5* 基因(319~321 个), 其次为 *nad4* 基因(284~285 个)和 *cox1* 基因(232~233 个)。因此, *nad5* 基因和 *nad4* 基因可以作为候选的分子标记, 用于分析磷虾类不同的物种和群体之间的生物多样性。对比泛甲壳动物的原始排列, 太平洋磷虾和南极磷虾线粒体基因组共享 3 个转运 RNA 基因(*tRNA^{Leu(CUN)}*、*tRNA^{Leu(UUR)}* 和 *tRNA^{Trp}*)的易位。与太平洋磷虾线粒体基因组相比, 南极磷虾线粒体基因组存在 1 个转运 RNA 基因(*tRNA^{Asn}*)的重复和 1 个转运 RNA 基因(*tRNA^{Ile}*)的易位。太平洋磷虾和南极磷虾之间的基因排列并不完全一致, 说明在磷虾类内部线粒体基因组的基因排列顺序并不保守。

关键词 磷虾 长 PCR 线粒体基因组 基因重排 分子标记

中图分类号 Q915.819⁺.6 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)02-0049-07

Comparison of the characteristics and gene order in mitochondrial genomes of krills

SHEN Xin^{1,2} WANG Hai-qing² WANG Min-xiao² LIU Bin²

(¹College of Marine Science, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005)

(²Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The mitochondrial genomic DNA of *Euphausia pacifica* was obtained by long PCR amplification, and was then sequenced using shotgun and primer-walking strategies. The mitochondrial genome of *E. pacifica* is 16,898 bp in length. The largest non-coding region in *E. pacifica* mitochondrial genome contains one section with tandem repeats (4.7×154 bp). *Nad5* gene has the largest number of different loci (319~321), followed by *nad4* (284~285) and *cox1* (232~233) gene. Therefore, *nad5* and *nad4* genes can be used as alternative molecular markers to analyze genetic diversity among krills species and populations. Translocation of three tRNAs (*tRNA^{Leu(CUN)}*, *tRNA^{Leu(UUR)}* and *tRNA^{Trp}*) is shared by *E. pacifica* and *E. superba* mitochondrial genomes when compared with the pancrustacean ground pattern. The du-

江苏省“青蓝工程”人才基金(苏教师[2010]27号)、江苏省海洋生物技术重点实验室基金(2009HS13)和淮海工学院自然科学基金(Z2009048)共同资助

收稿日期:2011-07-09;接受日期:2011-12-01

作者简介:申 欣(1981-),男,博士,副教授,主要从事线粒体基因组学的研究。E-mail:shenthin@163.com

plication of *tRNA^{Asn}* and translocation of *tRNA^{Ile}* were found in the mitochondrial genome of *E. superba* when compared with the *E. pacifica* mitochondrial genome. Gene orders are not identical between *E. pacifica* and *E. superba* mitochondrial genomes, indicating that gene order is not conserved among euphausiids mitochondrial genomes.

KEY WORDS Krill Long PCR Mitochondrial genome Gene rearrangement
Molecular marker

磷虾 Krills 隶属于甲壳动物亚门 Crustacea、软甲纲 Malacostraca、真虾总目 Eucarida、磷虾目 Euphausiacea, 是一类大型海洋浮游甲壳动物, 在海洋生态系统中占据重要地位。磷虾类具有分布广、数量大等特点, 不仅是众多经济鱼类和须鲸类的主要饵料, 在海洋食物链中发挥重要作用, 同时可以作为直接渔业捕捞的对象, 在食品工业和生物活性物质提取等方面具有重要价值(孙松等 2001; 孙松 2002; 王荣等 2003)。太平洋磷虾 *Euphausia pacifica* 是我国黄、东海海域浮游动物中的优势种群, 在海洋生态系统中发挥着不可替代的作用(王荣等 2003)。

线粒体基因组具有单基因所不可比拟的诸多优势, 在过去的十几年中已经成为研究动物类群系统演化和群体遗传的理想工具(Shen *et al.* 2007)。GenBank 数据库中目前有两个南极磷虾 *E. superba* 的线粒体基因组, 分别采自南极普里兹湾(Prydz Bay, PB)(Shen *et al.* 2010)和威德尔海(Weddell Sea, WS)(Machida *et al.* 2004)。在本研究中, 首先通过长 PCR 获得太平洋磷虾的线粒体 DNA, 综合鸟枪法和引物步移法测定了太平洋磷虾的线粒体基因组; 随后, 结合两个南极磷虾的线粒体基因组, 初步分析了磷虾类线粒体基因组的基本特征、基因变异位点和基因排列等。

1 材料和方法

1.1 样品采集和 DNA 提取

太平洋磷虾鲜活个体采自黄海海域, 用无水乙醇固定后带回实验室。将样本去壳, 用双蒸水清洗 3~5 次, 室温晾干, 取 50mg 肌肉组织置于研钵中, 用手术剪剪碎后充分研磨 3~5 min。按照 DNA 提取试剂盒(Promega)的实验流程获得太平洋磷虾的全基因组 DNA, 通过琼脂糖凝胶电泳(0.6%)检测 DNA 质量。

1.2 长 PCR 扩增

参考南极磷虾线粒体基因组 *cox3* 和 *srRNA* 的基因序列, 设计引物 *cox3F* 和 *srRNAR*(表 1)对太平洋磷虾基因组 DNA 进行长 PCR 扩增, 获得 10kb 左右的 PCR 产物。PCR 的反应体系为: 3.0 μ l 10 \times Buffer(Mg²⁺ plus)、0.6 μ l dNTP(10 mmol/L)、2.0 μ l primerF(5 μ mol/L)、2.0 μ l primerR(5 μ mol/L)、1.0 μ l 模板、0.2 μ l LA-Taq 酶(5U/ μ l)和 21.2 μ l 双蒸水。PCR 的反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 然后 35 个循环(94 $^{\circ}$ C 20 s、52 $^{\circ}$ C 50 s 和 65 $^{\circ}$ C 16 min), 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

将得到的长 PCR 产物纯化后双向测序, 根据测得的序列, 进一步设计 PCR 引物 *srRNAF* 和 *cox3R*(表 1), 组合扩增得到约 7 kb 的 PCR 产物。PCR 的反应体系为: 2.5 μ l 10 \times Buffer(Mg²⁺ plus)、0.5 μ l dNTP(10 mmol/L)、2.0 μ l primerF(5 μ mol/L)、2.0 μ l primerR(5 μ mol/L)、0.5 μ l 模板、0.2 μ l LA-Taq 酶(5U/ μ l)和

表 1 长 PCR 扩增用到的引物名称和序列

Table 1 Primers and sequences used in long PCR amplification

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'-3')
<i>cox3F</i>	GCACACGGATTTACACATA
<i>srRNAR</i>	TTTGGCGGTGTCTTAGTCTAG
<i>srRNAF</i>	GAATGAGAGCGACGGCAATGTGT
<i>cox3R</i>	TCCTTGAAGTGTGTGTGATT

17.3 μ l 双蒸水。PCR 的反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 然后 35 个循环(94 $^{\circ}$ C 20 s、58 $^{\circ}$ C 50 s 和 68 $^{\circ}$ C 10

min),最后 72 °C 延伸 10 min。

1.3 文库构建和测序

长 PCR 反应扩增得到的两个线粒体 DNA 片段,经超声波仪破碎至 2~3 kb 后构建质粒文库,选取阳性克隆测序。所有的测序反应均送至上海生物工程技术服务有限公司进行。

1.4 序列拼接及基因预测

使用 PhredPhrap 软件(Ewing *et al.*, 1998)对测序得到的峰图进行拼接,并用 CONSED 软件(Gordon *et al.*, 1998)仔细检查,以避免出现拼接错误。蛋白质编码基因和核糖体 RNA 基因的位置通过 DOGMA 软件(Wyman *et al.*, 2004)进行预测和注释。另外,通过 tRNAscan-SE search server (Lowe *et al.*, 1997)预测和注释转运 RNA 基因。

1.5 串联重复区特征及基因变异位点

通过 Tandem Repeats Finder 软件(Benson 1999)分析了太平洋磷虾线粒体基因组的串联重复区特征。通过 Clustal X 软件(Thompson *et al.*, 1997)对 15 个主编码基因(蛋白质编码基因和核糖体 RNA 基因)的核苷酸序列进行序列比对。基于 DnaSP 软件(Rozas *et al.*, 2003)分析了 15 个基因的变异位点情况。

2 结果和讨论

2.1 线粒体基因组的基本特征

太平洋磷虾的线粒体基因组全长为 16 898 bp,包括 13 个蛋白质编码基因、22 个转运 RNA 基因和两个核糖体 RNA 基因(图 1)。 α 链的 A+T 含量(72.0%)明显高于两个南极磷虾 α 链的 A+T 含量(67.7%~68.1%)(表 2)。太平洋磷虾 *lrRNA* 基因的长度为 1 326bp,与两个南极磷虾 *lrRNA* 基因的长度相同,而 A+T 含量略高。太平洋磷虾的 *srRNA* 基因的长度为 801bp,略短于南极磷虾(PB)的 *srRNA* 基因(808bp),但 A+T 含量略高于南极磷虾(PB)的 *srRNA* 基因;而南极磷虾(WS)的 *srRNA* 基因不完整,仅有 618bp。磷虾类线粒体基因组的基因组特征详见表 2。

2.2 蛋白质编码基因

在磷虾类线粒体基因组中,*cox1*、*cox2*、*atp6*、*atp8*、*cox3*、*nad3*、*nad6*、*cob* 和 *nad2* 9 个基因是在 α 链上编码,*nad5*、*nad4*、*nad4L* 和 *nad1* 4 个基因则在 β 链上编码(图 1)。由于线粒体基因组基因排列紧凑,在磷虾类线粒体基因组中出现两个开放阅读框的重叠(*atp6/atp8* 和 *nad4/nad4L*)。基因重叠现象在其他软甲纲线粒体基因组中也较为常见(Miller *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2006; Shen *et al.*, 2007)。在太平洋磷虾的线粒体基因组中,*cob*、*cox3*、*atp6*、*nad4L* 和 *nad4* 5 个蛋白质编码基因的起始密码子为“ATG”,同时 *nad1* 和 *cox2* 基因的起始密码子为“ATA”,*nad2*、*nad3* 和 *nad6* 基因的起始密码子为“ATT”,*cox1*、*atp8* 和 *nad5* 基因分别以“ACG”、“ATC”和“GTG”起始(表 3)。与太平洋磷虾线粒体基因组相比,南极磷虾 *nad5* 基因的起始密码子存在差异,以“ATG”而不是“GTG”起始,南极磷虾(PB)和南极磷虾(WS)线粒体基因组蛋白质编码基因的起始密码子则全部相同(表 3)。

在太平洋磷虾线粒体基因组中,*cox1*、*cob*、*atp6*、*atp8*、*nad1-4*、*nad4L*、*nad5* 和 *nad6* 等 11 个基因使用完全终止密码子“TAA”,而 *cox3* 和 *cox2* 基因以“TA-”终止。与太平洋磷虾相比,南极磷虾(PB)和南极磷虾(WS)的终止密码子出现较大变化(表 3)。

磷虾类线粒体基因组蛋白质编码基因的长度具有高度保守性。与太平洋磷虾和南极磷虾(WS)*nad2* 基因相比,南极磷虾(PB)*nad2* 基因的长度略短。除此之外,其余 12 个蛋白质编码基因的长度则完全相同(表 3)。

表2 磷虾类线粒体基因组的基因组特征

Table 2 Main characteristics of krill mitochondrial genomes

物种 Species		太平洋磷虾 <i>E. pacifica</i>	南极磷虾(PB) <i>E. superba</i> (PB)	南极磷虾(WS) <i>E. superba</i> (WS)	
α链 α strand	长度 Length (bp)	16 898	15 498 *	14 606 *	
	A+T 含量 A+T content (%)	72.0	68.1	67.7	
	氨基酸数量 † Number of Amino acids	3 714	3 711	3 714	
蛋白质编码基因 Protein coding genes		所有位点 All positions	69.8	66.2	66.3
	A+T 含量	第一位点 First codon position	61.0	58.8	58.8
	A+T content (%)	第二位点 Second codon position	62.7	62.2	62.3
		第三位点 Third codon position	85.6	77.7	77.9
<i>lrRNA</i> 基因 <i>lrRNA</i> gene	长度 Length (bp)	1 326	1 326	1 326	
	A+T 含量 A+T content (%)	78.0	75.7	75.8	
<i>srRNA</i> 基因 <i>srRNA</i> gene	长度 Length (bp)	801	808	618	
	A+T 含量 A+T content (%)	76.3	75.0	74.6	
<i>tRNA</i> 基因 <i>tRNA</i> gene	长度 Length (bp)	1 485	1 551	1 234	
	A+T 含量 A+T content (%)	68.8	68.5	67.7	
控制区 Control region	长度 Length (bp)	2 132	456	—	
	A+T 含量 A+T content (%)	80.2	73.2	—	

注: * 基因组序列不完整; † 不包括终止密码子

Note: * Incomplete genome sequence; † Does not include the stop codon

表3 磷虾类线粒体蛋白质编码基因的氨基酸长度、起始密码子及终止密码子

Table 3 Amino acids amount, initiation and termination codons in the 13 protein-coding genes of krill mitochondrial genomes

物种 Species		<i>atp6</i>	<i>atp8</i>	<i>cob</i>	<i>cox1</i>	<i>cox2</i>	<i>cox3</i>	<i>nad1</i>	<i>nad2</i>	<i>nad3</i>	<i>nad4</i>	<i>nad4L</i>	<i>nad5</i>	<i>nad6</i>
太平洋磷虾 <i>E. pacifica</i>	长度 Length	224	52	378	512	229	264	312	333	117	445	99	576	173
	起始子 I codon	ATG	ATC	ATG	ACG	ATA	ATG	ATA	ATT	ATT	ATG	ATG	GTG	ATT
	终止子 T codon	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	T-	TAA	TAA	TAA	TAA	TAA	TAA	TAA
南极磷虾(PB) <i>E. superba</i> (PB)	长度 Length	224	52	378	512	229	264	312	330	117	445	99	576	173
	起始子 I codon	ATG	ATC	ATG	ACG	ATA	ATG	ATA	ATT	ATT	ATG	ATG	ATG	ATT
	终止子 T codon	TAA	TAA	TAA	TAA	T-	T-	TAG	T-	TAA	TAA	TAA	TAA	TAA
南极磷虾(WS) <i>E. superba</i> (WS)	长度 Length	224	52	378	512	229	264	312	333	117	445	99	576	173
	起始子 I codon	ATG	ATC	ATG	ACG	ATA	ATG	ATA	ATT	ATT	ATG	ATG	ATG	ATT
	终止子 T codon	TA-	T-	TAA	TAA	T-	T-	TAG	T-	TA-	TAA	T-	TA-	TA-

2.3 非编码区

在太平洋磷虾线粒体基因组中,最大的非编码区(长度 1 943 bp)处于 *tRNA^{Leu}* 和 *srRNA* 之间(图 1),经分

析,在太平洋磷虾线粒体基因组最大的非编码区中存在一个 4.7×154 bp 的串联重复区域。这个串联重复区的存在,导致了太平洋磷虾线粒体基因组比其他大多数软甲纲动物线粒体基因组要长(Shen *et al.* 2007)。而南极磷虾线粒体基因组最大非编码区的位置发生易位,处于 $tRNA^{Asn}$ 和 $tRNA^{Ile}$ 之间。由于目前未能获得南极磷虾最大非编码区的全部序列,所以对于其是否存在串联重复区尚不能确定。

2.4 变异位点特征

表 4 分析了太平洋磷虾与两个南极磷虾线粒体基因组单个基因之间的变异位点和相似度比较。在 15 个主编码基因中,相似性最高的为 $srRNA$ 基因(90.886%~91.262%),其次为 $lrRNA$ 基因(88.160%~88.235%),然后是 $cox1$ 、 $cox2$ 和 $cox3$ 基因(84.470%~85.153%)。变异位点数最多的是 $nad5$ 基因(319~321 个),其次为 $nad4$ 基因(284~285 个)和 $cox1$ 基因(232~233 个)。因此,本研究建议 $nad5$ 基因和 $nad4$ 基因作为候选的分子标记,用于分析磷虾类不同物种和群体之间的生物多样性。

表 4 太平洋磷虾和南极磷虾线粒体基因组的变异位点分析

Table 4 Mutation sites analysis between *E. pacifica* and *E. superba* mitochondrial genomes

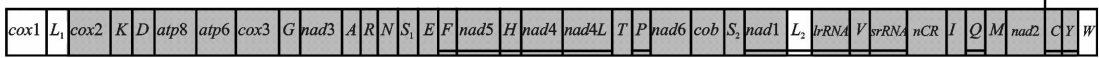
基因 Gene	太平洋磷虾-南极磷虾(PB)			太平洋磷虾-南极磷虾(WS)		
	长度 Length(bp)	变异位点数 Different loci	相似性 Similarity (%)	长度 Length(bp)	变异位点数 Different loci	相似性 Similarity (%)
<i>atp6</i>	672	114	83.036	672	112	83.333
<i>atp8</i>	156	34	78.205	156	34	78.205
<i>cob</i>	1 127	186	83.496	1 134	185	83.686
<i>cox1</i>	1 536	232	84.896	1 536	233	84.831
<i>cox2</i>	687	105	84.716	687	102	85.153
<i>cox3</i>	792	120	84.848	792	123	84.470
<i>nad1</i>	936	157	83.226	936	155	83.440
<i>nad2</i>	990	224	77.374	999	204	79.580
<i>nad3</i>	351	73	79.202	351	74	78.917
<i>nad4</i>	1 335	284	78.727	1 335	285	78.652
<i>nad4L</i>	297	48	83.838	297	47	84.175
<i>nad5</i>	1 728	319	81.539	1 728	321	81.424
<i>nad6</i>	519	113	78.227	519	116	77.649
<i>srRNA</i>	801	73	90.886	618	54	91.262
<i>lrRNA</i>	1 326	157	88.160	1 326	156	88.235

2.5 基因排列

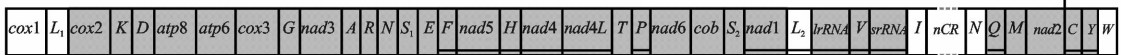
泛甲壳动物(Pancrustacea, 六足动物+甲壳动物)线粒体基因组的原始基因排列是完全一致的(图 1)(Boore *et al.* 1998; Shen *et al.* 2007, 2009)。与泛甲壳动物线粒体基因组的原始排列相比,太平洋磷虾的线粒体基因组存在 3 个保守的基因区块,分别为:(1) $cox2-tRNA^{Lys}-tRNA^{Asp}-atp8-atp6-cox3-tRNA^{Gly}-nad3-tRNA^{Ala}-tRNA^{Arg}-tRNA^{Asn}-tRNA^{Ser(AGN)}-tRNA^{Glu}-tRNA^{Phe}-nad5-tRNA^{His}-nad4-nad4L-tRNA^{Thr}-tRNA^{Pro}-nad6-cob-tRNA^{Ser(UCN)}-nad1$, (2) $lrRNA-tRNA^{Val}-srRNA-nCR-tRNA^{Ile}-tRNA^{Gln}-tRNA^{Met}-nad2$ 和 (3) $tRNA^{Cys}-tRNA^{Tyr}$ 。而在南极磷虾线粒体基因组中,具有太平洋磷虾线粒体基因组第 1 和第 3 个保守区块;由于 $tRNA$ 基因的重复和易位,将第 2 个保守区块分为两个较小的基因区块:(1) $lrRNA-tRNA^{Val}-srRNA$ 和 (2) $tRNA^{Gln}-tRNA^{Met}-nad2$ 。对比泛甲壳动物的原始排列,两个磷虾线粒体基因组共享 3 个 $tRNA$ 基因($tRNA^{Lys}$ 、 $tRNA^{Gly}$ 、 $tRNA^{Ser(UCN)}$)。

eu(*CUN*)、*tRNA^{Leu(UUR)}* 和 *tRNA^{Trp}*) 的易位。这种共享的基因易位也从基因组层次上支持磷虾类的单系起源。据此推测, 3 个转运 RNA 基因的易位, 可能是磷虾类线粒体基因组共有的衍征, 而且这些易位在它们的共祖中就已经出现。与太平洋磷虾线粒体基因组相比, 南极磷虾线粒体基因组存在 1 个 *tRNA* 基因(*tRNA^{Asn}*) 的重复和 1 个 *tRNA* 基因(*tRNA^{Ile}*) 的易位(图 1)。

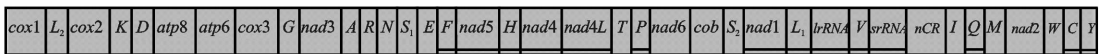
太平洋磷虾 *E. pacifica*



南极磷虾 *E. superba*



泛甲壳动物的原始排列



注: 阴影部分为保守的基因区块, 下划线标注的基因在 β 链上编码

Note: Shaded boxes highlight conserved gene blocks, and genes encoded on β strand are indicated by underline

图 1 磷虾类线粒体基因组的基因排列

Fig. 1 Gene order of krill mitochondrial genomes

3 结论

本研究通过长 PCR 获得太平洋磷虾的线粒体 DNA, 结合鸟枪法和引物步移两种策略测定了太平洋磷虾的线粒体基因组全序列。太平洋磷虾的线粒体基因组全长为 16 898 bp, 包括 13 个蛋白质编码基因、22 个转运 RNA 基因和两个核糖体 RNA 基因。 α 链的 A+T 含量(72.0%)明显高于两个南极磷虾 α 链的 A+T 含量(67.7%~68.1%)。两个磷虾线粒体基因组蛋白质编码基因在起始密码子和终止密码子的使用上存在差异, 而蛋白质编码基因的长度具有高度保守性。太平洋磷虾线粒体基因组中, 最大的非编码区处于 *tRNA^{Ile}* 和 *srRNA* 之间, 存在一个 4.7×154 bp 的串联重复区域。在 15 个主编码基因中, 变异位点数最多的是 *nad5* 基因, 其次为 *nad4* 和 *cox1* 基因。因此 *nad5* 基因和 *nad4* 基因可以作为候选的分子标记, 用于分析磷虾类不同物种和群体之间的生物多样性, 为磷虾类生物多样性的保护及合理利用其生物资源提供基础资料。与泛甲壳动物的原始排列相比, 太平洋磷虾的线粒体基因组存在 3 个保守的基因区块。对比泛甲壳动物的原始排列, 两个磷虾线粒体基因组共享 3 个 *tRNA* 基因(*tRNA^{Leu(CUN)}*)、*tRNA^{Leu(UUR)}* 和 *tRNA^{Trp}*) 的易位。与太平洋磷虾线粒体基因组相比, 南极磷虾线粒体基因组存在 1 个 *tRNA* 基因(*tRNA^{Asn}*) 的重复和 1 个 *tRNA* 基因(*tRNA^{Ile}*) 的易位。太平洋磷虾和南极磷虾之间的基因排列并不完全一致, 说明在磷虾类内部线粒体基因组的基因排列顺序并不保守。

参 考 文 献

- 王 荣, 陈亚瞿, 左 涛, 王 克. 2003. 黄、东海春秋季磷虾的数量分布及其与水文环境的关系. 水产学报, 27(21): 31~38
- 孙 松. 2002. 南极磷虾. 世界科技研究与发展, 24: 57~60
- 孙 松, 严小军. 2001. 南极大磷虾的生物活性物质及其用途研究进展. 极地研究, 13(3): 213~216
- Benson, G. 1999. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. Nucleic Acids Res. 27(2): 573~580
- Boore, J., L., Lavrov, D. V., and Brown, W. M. 1998. Gene translocation links insects and crustaceans. Nature, 392: 667~668
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M. C., and Green, P. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. Genome Res. 8: 175~185
- Gordon, D., Abajian, C., and Green, P. 1998. Consed: a graphical tool for sequence finishing. Genome Res. 8: 195~202
- Lowe, T. M., and Eddy, S. R. 1997. tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. Nucleic

Acids Res. 25(5):955~964

- Machida, R. J., Miya, M. U., Yamauchi, M. M., Nishida, M., and Nishida, S. 2004. Organization of the mitochondrial genome of Antarctic krill *Euphausia superba* (Crustacea: Malacostraca). *Mar. Biotechnol.* 6(3): 238~250
- Miller, A. D., and Austin, C. M. 2006. The complete mitochondrial genome of the mantid shrimp *Harpisquilla harpax*, and a phylogenetic investigation of the Decapoda using mitochondrial sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 38(3): 565~574
- Miller, A. D., Murphy, N. P., Burridge, C. P., and Austin, C. M. 2005. Complete mitochondrial DNA sequences of the decapod crustaceans *Pseudocarcinus gigas* (Menippidae) and *Macrobrachium rosenbergii* (Palaemonidae). *Mar. Biotechnol.* 7(4): 339~349
- Rozas, J., Sanchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., and Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18):2 496~2 497
- Shen, X., Ren, J. F., Cui, Z. X., Sha, Z. L., Wang, B., Xiang, J. H., and Liu, B. 2007. The complete mitochondrial genomes of two common shrimps (*Litopenaeus vannamei* and *Fenneropenaeus chinensis*) and their phylogenomic considerations. *Gene*, 403(1-2): 98~109
- Shen, X., Sun, M. A., Wu, Z. G., Tian, M., Cheng, H. L., Zhao, F. Q., and Meng, X. P. 2009. The complete mitochondrial genome of the ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda* Holthuis, 1950 (Crustacean: Decapoda: Palaemonidae) revealed a novel rearrangement of tRNA genes. *Gene*, 437(1-2): 1~8
- Shen, X., Wang, H. Q., Ren, J. F., Tian, M., and Wang, M. X. 2010. The mitochondrial genome of *Euphausia superba* (Prydz Bay) (Crustacea: Malacostraca: Euphausiacea) reveals a novel gene arrangement and potential molecular markers. *Mol. Biol. Rep.* 37(1):771~784
- Sun, H. Y., Zhou, K. Y., and Song, D. X. 2005. Mitochondrial genome of the Chinese mitten crab *Eriocheir japonica sinensis* (Brachyura: Thoracotremata: Grapsoidea) reveals a novel gene order and two target regions of gene rearrangements. *Gene*, 349: 207~217
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins, D. G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25(24):4 876~4 882
- Wyman, S. K., Jansen, R. K., and Boore, J. L. 2004. Automatic annotation of organellar genomes with DOGMA. *Bioinformatics*, 20(17):3 252~3 255