

DOI:10.3969/j.issn.1000-7083.2011.02.032

鸟类的逆转座子 CR1 及其作为遗传标记的研究进展

刘兆枫¹, 何莉炜², 苑红刚¹, 岳碧松¹, 李静^{1*}

(1. 四川大学生命科学学院, 四川省濒危野生动物保护生物学重点实验室, 成都 610064;

2. 河北科技师范学院, 河北秦皇岛, 066004)

摘要: CR1 (Chicken repeat 1) 是广泛分布于鸟类基因组中的一种非长末端重复逆转座子 (non-LTR), 属于长散布元件 (LINEs), 同时也是原鸡基因组中数量最丰富的重复序列, 占基因组的 6.4%。CR1 不仅是基因组的重要组成部分, 也是导致鸟类进化和基因组多样性产生的重要原因。作为遗传标记, CR1 具有非平行演化、垂直传代、多态性插入位点祖先状态确定等优点, 从而逐渐成为研究鸟类系统进化和种群遗传学的有力工具。本文主要对近年来国外在鸟类 CR1 的结构、特征及其作为遗传标记应用于鸟类系统进化的研究进行综述, 旨在为这一新的遗传标记的广泛应用奠定基础。

关键词: 逆转座子; CR1; 遗传标记**中图分类号:** Q959.7; Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2011)02-0315-05

Progress on Avian CR1 Retroposons and their Applications as Genetic Markers

LIU Zhao-feng¹, HE Li-wei², YUAN Hong-gang¹, YUE Bi-song¹, LI Jing^{1*}

(1. Sichuan Key Laboratory of Conservation Biology on Endangered Wildlife, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao, Hebei Province 066004, China)

Abstract: The most abundant repeat elements known in the chicken genome to date are non-LTR retroposons of the chicken repeat 1 (CR1) family which belongs to long interspersed elements (LINEs) and comprises 6.4% of the total chicken genome. CR1 are also enriched in other avian genomes. There are several advantages in using CR1 retroposons as genetic markers. For example, they are essentially free of homoplasy; moreover, the ancestral state of any given locus can be determined unambiguously as the absence of the retroposon insertion. Recently, CR1 retroposons have been recognized as powerful tools in avian phylogenetics and population genetic studies. The present review focuses on recently published works about the structures and characteristics of CR1 and their applications as genetic markers in avian phylogenetic studies.

Key words: retroposons; CR1 (Chicken repeat 1); genetic markers

真核生物中存在着两大类可移位因子 (transposable element), 根据它们在基因组中复制方式的不同, 可以分为: DNA 转座子 (transposon) 和逆转座子 (retroposons)。这些可移位因子不仅存在于低等真核细胞 (如酵母) 中, 也同样存在于各种高等真核生物 (如玉米和果蝇) 中。DNA 转座子是最早发现的一类可移位因子, 能够直接以 DNA-DNA 方式进行转座, 其典型的机制是在基因组中进行“剪切和粘贴” (Smit & Riggs, 1996; Pace & Feschotte, 2007), 即从基因组的一个位点切下后插入基因组的另一个位点从而引起基因突变或重排, DNA 转座子的转座一般不改变基因组的大小。

逆转座子的转座通过 DNA-RNA-DNA 的方式进行, 需要 RNA 介导, 转座机制通常是采用“复制和粘贴”的方式 (Osterberg & Kazazian, 2001; Deininger & Batzer, 2002), 即 DNA 先转录出一段 RNA, 后经逆转录酶介导合成 cDNA, 该 cDNA 再插入基因组某个新的位置。逆转座子的这种转座机制能够

导致基因组大小发生改变, 再加上插入、转座以及整合后各逆转座子之间的重组等过程, 可使基因组形成广泛的多样性。因此逆转座子是生物进化过程中遗传多样性形成的重要因素 (Abrusan *et al.*, 2008)。根据是否具有编码逆转录酶的能力, 逆转座子可分为两大类: 自主性逆转座子 (autonomous element) 和非自主性逆转座子 (non-autonomous element)。前者本身能够编码转座酶而进行转座, 后者则要在自主性逆转座子存在时才能实现转座。自主性逆转座子包括内源性反转录病毒 (endogenous retroviruses, ERV)、长末端重复逆转座子 (long terminal repeat, LTR) 及长散布元件 (long interspersed nuclear elements, LINEs); 非自主性逆转座子包括短散布元件 (short interspersed nuclear elements, SINEs) 及修饰性逆转录假基因 (processed retropseudogene) 等 (Pavlicek *et al.*, 2002)。

CR1 是在鸟类基因组中发现的一类逆转座子, 属于

收稿日期: 2010-07-18 接受日期: 2010-09-01

作者简介: 刘兆枫 (1987~), 男, 硕士研究生, 研究方向: 细胞分子生物学, E-mail: lzlf68-2005@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: ljtf71@hotmail.com

LINEs 家族,是鸟类基因组中数量最丰富的重复序列。近年来国外已对反转座子 CR1 的结构、起源、转座机制及其作为遗传标记应用于鸟类系统进化研究等方面开展了大量的工作,而迄今国内尚未有关于鸟类反转座子方面的研究报道。本文将着重介绍 CR1 的结构、特征及其作为遗传标记在鸟类系统进化方面的研究。

1 反转座子 CR1 的特征

1.1 CR1 的结构特征

CR1 是一种 non-LTR 反转座子,属于 LINEs 家族。一个完整的 CR1 元件全长 4558 bp (Haas *et al.*, 1997),其结构包括一个富含 G + C 的内部启动子和两个开放阅读框 ORF1 和 ORF2 (图 1),ORF2 编码内切酶和逆转录酶来催化逆转录过程;ORF1 的功能还不是很清楚,但已知其含有一个酯酶活性域和一个锌指结构 (Salem *et al.*, 2005)。与其他的 non-LTR 反转座子不同,CR1 元件内不含 A- 或 AT 丰富区 (Silva & Burch, 1989),其 3'UTR (Untranslated Regions) 通常伴随 2~4 个 8 bp 的重复片段,在原鸡中为 (ATTCTRTG)_n,扁嘴天鹅 *Coscoroba coscoroba* 中为 (TTCTGTGA)_n,末端也不存在 polyA 尾巴 (Ray *et al.*, 2006; St John & Quinn, 2008a)。全长的 CR1 在鸟类基因组中的数量非常少,在原鸡基因组中目前仅发现一个完整的 CR1,所以还不清楚 CR1 在原鸡基因组中是否仍具有转座活性 (Hillier *et al.*, 2004)。由于绝大多数的 CR1 在扩增过程中都发生了 5' 端切断,因而基因组中绝大部分都是这种不完整的 CR1,这也使得不同 CR1 其 5'UTR 具有较高的多样性并且丧失了转座活性。据统计,原鸡基因组中 98% 的

CR1 长度都小于 2000 bp,这其中的大部分长度还小于 1000 bp (Wicker *et al.*, 2005)。与其 5'UTR 的多样性不同,CR1 元件的编码区和 3'UTR 处于选择压力下,因此它们的相似性很高,保守性非常显著 (Vandergon & Reitman, 1994)。与其它的重复杂序列一样,鸟类基因组中的 CR1 不是随机分布的,研究显示它们主要存在于 G + C 丰富区 (Olofsson & Bernardi, 1983; Conley *et al.*, 2005),但也有研究认为年轻的 CR1 更倾向于 G + C 含量低的区域 (St John & Quinn, 2008a)。

在原鸡基因组中,CR1 是数量最多的一类重复序列,拷贝数超过 200 000 份,占据了其散布重复序列的 80%、基因组全序列的 6.4% (Hillier *et al.*, 2004)。Abrusan 等 (2008) 的研究认为 CR1 对鸟类基因组的进化和多样性的产生起着较大的影响。CR1 是起源较早的一类逆转录元件,它们在鸟类和爬行类动物分化之前就已出现,并且普遍存在于各种鸟类物种中。关于反转座子 CR1 在基因组中的扩增机制至今仍未了解不多,一些研究认为 CR1 元件是利用主宰基因模式 (master gene model) 进行增殖,主宰基因是基因组中一些完整的 CR1 元件,它们仍然保留有转座活性,可以间歇性地产生新的子代元件并且插入不同基因组中。由于不同的主宰基因可以产生不同的子代 CR1,从而形成了不同 CR1 亚家族 (Vandergon & Reitman, 1994; Shedlock & Okada, 2000)。目前在原鸡基因组中的 CR1 可划分为至少 22 个亚家族 (Hillier *et al.*, 2004)。不同的 CR1 亚家族并不是起源于一个相同的 CR1 元件,而是由多个主宰基因产生,并且不同的主宰基因在基因组中的扩增速率各不相同,相互独立进化 (Vandergon & Reitman, 1994)。



图 1 原鸡基因组中完整 CR1 的结构,其中 \rightarrow 表示正向重复序列,参考 Haas 等 (1997)

Fig. 1 The structure of a complete CR1 element in the chicken genome. Arrow represents forward repeat sequence (Haas *et al.*, 1997)

1.2 反转座子作为遗传标记的优点

早在 20 世纪 90 年代,反转座子就作为一种新的遗传标记开始应用于动物系统进化研究 (Batzer & Deininger, 1991; Batzer *et al.*, 1991; Perna *et al.*, 1992; Minghetti & Dugaiczky, 1993)。与传统的分子标记,如单核苷酸多态性 (SNPs)、微卫星 (microsatellite) 或限制性内切酶片段长度多态性 (RFLPs) 等相比,反转座子的优点表现在以下几方面:第一,反转座子是一种非平行演化 (free of homoplasy) 的遗传标记,具有垂直传代 (identity by descent) 的特点,即如果在不同物种基因组的同一点位发现有相同的反转座子插入,就说明它们拥有共同的祖先 (Salem *et al.*, 2005; Ray *et al.*, 2006)。这是由于两个不同的反转座子插入基因组中同一个位置的可能性几乎为零,即使有这种情况,即两个反转座子插入了同一位置,也能够通过插入的转座子类型和插入部位的反向重复序列 (TSDs) 而识别出来 (Conley *et al.*, 2005); 同时,反转座子一旦经转座插入到基因组后即会固定下来,除非含有该

反转座子的染色体片段缺失,否则该反转座子不会缺失 (Van de Lagemaat *et al.*, 2005)。而其他遗传标记,如 SNPs 在不同个体间可能独立地获得相同的基因型,从而影响对于物种进化关系的分析。第二,任何一个座位的反转座子,其在祖先类群中的基因型都是确定的,表现为缺失 (absent) 状态,这使得我们在构建系统进化树时不必做额外的假设,因而基于反转座子的亲缘关系和种群分析常常较其它的遗传标记更为准确和容易操作。第三,与大多数分子标记不同,基于反转座子的系统进化与种群遗传学分析并不直接依赖于复杂的 DNA 序列多态性比对,其多态性仅仅表现为插入或缺失,因此通过常规的分子生物学设备和 PCR 技术即可检测不同的基因型。与其它的反转座子一样,CR1 作为遗传标记也具备了上述的优势,并已成功应用于雁形目 (St John *et al.*, 2005)、企鹅目 (Watanabe *et al.*, 2006)、雀形目 (Treplin & Tiedemann, 2007) 及鸡形目 (Kaiser *et al.*, 2007) 等鸟类的系统进化分析,逐渐成为研究鸟类系统发生和种群遗

传学的有力工具,对揭示鸟类物种间的亲缘关系有着重要的价值。

2 CR1 亚家族的研究情况

2.1 CR1 亚家族的划分

现存于鸟类基因组中的 CR1 元件绝大部分是已固定在基因组中不能再移动的元件,仅有极少量的 CR1 仍然保留着一定的转座活性。这些仍然具有转座活性的 CR1 元件能随着动物的进化不断插入到基因组中,并不断累积突变。来源于不同祖先主宰基因的 CR1 形成不同的 CR1 亚家族。尽管它们插入基因组后其 5'UTR 由于被切断而具有较高的多样性,但其 3'UTR 的序列却相对保守,因此依据 CR1 3'UTR 的核苷酸突变情况,可以区分来源于不同祖先的 CR1,将为数众多的 CR1 划分为不同的亚家族。在原鸡的全基因组序列公布之前,Vandergon 和 Reitman (1994)根据 CR1 序列 3'端的 217 个碱基序列差异研究 CR1,将其至少划分为 6 个亚家族:A、B、C、D、E、F。不同的亚家族之间保守序列的变异程度都很高,说明它们可能是来自于不同的祖先主宰基因,而不同亚家族内部成员的核苷酸变异程度则较低。其中 B 亚家族内部成员的核苷酸变异程度 < 4%,C 亚家族内部成员的核苷酸变异程度为 5.1% ~ 8.4%,D、F 亚家族内部成员的核苷酸变异程度分别为 17%、7%,这表明 B 亚家族插入到基因组的时间较晚,是最年轻的亚家族。

随着 2004 年原鸡基因组全序列的公布,对 CR1 的研究也逐渐增多,一些新的亚家族陆续被发现,对 CR1 的序列结构也有了新的认识。ICGSC(International Chicken Genome Sequencing Consortium)将原鸡基因组中 CR1 元件的 ORF2 的 3'末端的序列进行比对,将这些元件归为 22 个亚家族,在原有 CR1-A ~ F 的基础上,新增加了 CR1-H、CR1-C3、CR1-C4、CR1-G、CR1-X 和 CR1-Y 等亚家族。同时对原有的亚家族也开始细化,如 CR1-C 细化出 CR1-C3 和 CR1-C4。通过同源座位的 PCR 扩增发现,这些不同的亚家族成员不仅存在于原鸡中,也广泛存在于其它鸟类基因组中,且在不同的鸟类物种中,相同的亚家族成员的序列具有较高的相似性。之后 Liu 等(2009)对原鸡和火鸡基因组中的 17 441 个 CR1 元件的 ORF2 的 3'末端的 465 个碱基进行比对分析,将这些元件归为 58 个亚家族,在原有的 22 个亚家族基础上又增加了 35 个新的亚家族和 1 个火鸡特有的亚家族:FO_T。此外,Watanabe 等(2006)从企鹅及近缘物种基因组中筛选到 379 个 CR1 序列,根据其序列差异划分为 3 个亚家族:企鹅 CR1 Sph I 型、Sph II A 型和 Sph II B 型;St John 和 Quinn(2008b)从雁形目的扁嘴天鹅中筛选到 143 个 CR1 位点,通过 3'UTR 序列比对,将其划分为 6 个亚家族:CR1-I ~ VI。目前,CR1 亚家族的划分还没有完全统一,随着研究物种数量的增加和研究方法的改进,将会有更多的物种特有的 CR1 亚家族被发现,CR1 亚家族的划分也将更加清晰。

2.2 CR1 的转座活性

由于逆转座子可以改变基因组的大小和结构,因此研究逆转座子的转座活性对了解基因组的进化有重要意义。通过序列比对发现原鸡中不同 CR1 亚家族之间的核酸突变率是不同的,表明它们的转座活性也各不相同(Vandergon & Reitman,1994)。将原鸡基因组中 ORF2 的 3'端序列进行比对后,通过 NJ 树分析发现最近活跃的 CR1 亚家族为 CR1-B 和 CR1-F(Hillier *et al.*, 2004)。除原鸡外,通过 PCR 扩增的方法发现在企鹅的进化中不同的 CR1 亚家族在不同时期的扩增速率也是不同的(Watanabe *et al.*, 2006)。与前人基于序列比对的研究方法不同,Kriegs 等(2007)采用了一种新的方法 TinT(transposition in transposition character)来研究不同 CR1 亚家族的转座活性。TinT 的研究原理为:在特定的时间内只有具有转座活性的 CR1 才可以插入到本身或其他亚家族的 CR1 中,也就是说宿主 CR1 比嵌套 CR1(nested CR1)更早整合到基因组中,利用生物信息学技术计算这种 TinT 在基因组中出现的频率和 CR1 的类型就可以得出不同亚家族 CR1 的相对插入时间和转座活性。他们分析了 1978 个嵌套 CR1,结果认为最古老的 CR1 亚家族包括:Y4、D、X2、E、C4、Y、F2、D2 和 X,它们已基本丧失了转座的活性;较古老的 CR1 亚家族有 Y2、C3、G、F2、X1、D2、H、Y4、E 和 C,而较年轻的 CR1 亚家族有 H2、F0、B2、F2、D2 和 C2,它们仍然具有一定的转座活性。

3 基于 CR1 的鸟类系统进化研究

基于序列分析的传统系统进化研究方法有时候很难解决一些物种间进化树的拓扑结构,尤其当新的进化支从过去很短的时间内分化出来的时候,突变、进化率不一致以及碱基组成偏好等都能够影响树的拓扑结构(Ray *et al.*, 2005)。逆转座子由于其独特的特征,基于逆转座子的研究技术近年来已成功应用于解决从低等脊椎动物到高等脊椎动物各分类阶元间的系统进化关系,如热带淡水鱼(Takahashi *et al.*, 2001;Terai *et al.*, 2003)、海龟(Sasaki *et al.*, 2004)以及灵长目动物(Ray *et al.*, 2005)等。作为鸟类基因组中数量最多的逆转座子,CR1 作为遗传标记也开始应用于鸟类的系统进化研究。

St John 等(2005)利用一个新近插入的 CR1 位点阐明了雁形目中天鹅 *Coscoroba coscoroba* 和澳洲灰雁 *Cereopsis novaehollandiae* 的系统进化地位。他们发现了一个 CR1 仅插入到天鹅和澳洲灰雁的乳酸脱氢酶 B 基因的第 3 个内含子中,而在其近缘种野鸭 *Anas platyrhynchos*、雪雁 *Anser caerulescens* 和苔原天鹅 *Cygnus columbianus* 等的该位点却没有这一 CR1 的插入。该位点在不同基因组中的多态性表明天鹅和澳洲灰雁相对其他雁形目物种可能是分化更晚的物种,而且天鹅和澳洲灰雁可能具有共同的祖先、更近的亲缘关系。

Watanabe 等(2006)则第一次从非原鸡的鸟类——企鹅的基因组中筛选其特有的 CR1 来研究 5 个企鹅物种间的系统进化关系。从企鹅及其近缘物种中筛选到了 379 个 CR1,

通过序列比对将其划分为 3 个亚型: Sph I 型、Sph II A 型和 Sph II B 型。Sph I 型和 Sph II A 型在 5 个企鹅物种中均能成功扩增, 推测这两个亚型的 CR1 是在企鹅目物种共同的祖先分化之前插入企鹅基因组的。因此这两类 CR1 位点可用于研究企鹅目与其它目的系统进化关系, 他们选择了其中的 8 个位点较好地确立了企鹅目在鸟纲中的系统进化地位。Sph II B 型只能在企鹅目的部分物种中扩增出, 推测该类 CR1 的转座事件可能是发生在企鹅目不同物种分化的进化阶段, 因此该类 CR1 位点可用于研究企鹅种间的系统进化关系。

Treplin 和 Tiedemann (2007) 利用 CR1 位点来研究雀形目物种间的系统进化关系, 通过 CR1 探针从渡鸦 *Corvus corax* 中筛选出两个 CR1 位点: Cor1-CR1、Cor2-CR1, 在 14 个雀形目物种中进行 PCR 扩增并测序后, 发现它们不仅存在于鸦科的典型代表物种松鸦 *Cyanocitta stelleri*、渡鸦及其亲缘物种中, 而且还存在于西非岩鹫属物种中, 构建系统进化树分析表明岩鹫科和鸦科有着更近的亲缘关系。同时, 测序后的序列比对发现 CR1 序列本身也含有系统进化信息。

鸡形目是鸟纲中具有较高经济价值和保护意义的重要类群, 由于其较短的分化时间, 鸡形目鸟类的系统进化关系一直是研究的热点。近年来基于 CR1 遗传标记的技术也已开始应用于鸡形目的系统进化研究。Kaiser 等(2007) 首次通过从原鸡基因组和火鸡 BAC 序列中筛选逆转座子 CR1 作为遗传标记对鸡形目鸟类的系统进化关系进行了分析。他们选取了 27 个鸡形目物种, 采用生物信息学的方法筛选了 48 个 CR1 位点, 其中有 20 个可以用于构建系统进化树, 将 27 个鸡形目物种分为 10 个进化枝, 其中 5 个进化分枝有两个以上的 CR1 位点支持。该进化树的拓扑结构与之前的形态学和基于线粒体基因组和核基因的结果大致相似, 此外他们还提出了原鸡处于雉科系统进化的基部, 其进化地位比鹌鹑 *Coturnix coturnix* 还古老, 这与之前的研究结果不一致 (Smith *et al.*, 2005)。Kriegs 等(2007) 采用 TinT 方法研究 CR1 转座活性时筛选到 25 个含有系统进化信息的位点, 利用这 25 个位点对 22 个物种进行系统进化分析, 将它们划分为 10 个分枝, 发现 CR1-E 亚家族仅在鸡形目 Galliformes 和雁形目 Anseriformes 鸟类中存在; CR1-Y2 和 CR1-X2 亚家族存在于除家雉科 Megapodiidae 外所有的鸡形目鸟类基因组中, 珠鸡科 Numididae、林鹑科 Odontophoridae 和雉科 Phasianidae 共享 8 个 CR1 逆转座子 (CR1-F2 亚家族 2 个、CR1-D2 亚家族 3 个、CR1-X2 亚家族 2 个、CR1-Y4 亚家族 1 个); 林鹑科 Odontophoridae 和雉科 Phasianidae 共享一个同源性 CR1-H2 位点; 有 4 个 CR1 座位仅存在于雉科物种中 (CR1-B2 亚家族 2 个、CR1-C2 亚家族 1 个、CR1-C 亚家族 1 个)。他们的研究表明 CR1 亚家族中的 E、Y2、X2、Y4、F2、D2、H2、C、C2、B2、H 和 G 是在鸡形目物种分化阶段内较活跃的亚家族, 适合用于鸡形目各类群的系统进化分析。

和所有的分子标记一样, CR1 作为遗传标记也存在着问

题, 如谱系分选 (lineage sorting)、并行插入 (parallel insertion)、精确缺失 (precise excision) 和同源插入 (paralogous insertions) 等。在 Kaiser 等(2007) 的研究中发现 5 个 CR1 位点在鹌鹑中存在缺失的情况, 表明在鹌鹑谱系中存在着不同寻常的高缺失突变。在进行系统进化关系分析时, 这些潜在的因素都能够导致偏差并使结果混淆 (Hillis, 1999; Ray *et al.*, 2006)。不过目前的研究证实这些事件发生的几率很小, 并且可以通过测序和细致的数据分析来解决这些问题 (Shedlock & Okada, 2000; Shedlock *et al.*, 2004), 同时充足的信息位点和不同分类群采样也可以提高结果的支持率 (Waddell *et al.*, 2001)。

4 展望

综上所述, 已有研究表明逆转座子 CR1 作为遗传标记已成功解决了一些鸟类的系统进化问题, 以逆转座子 CR1 作为遗传标记的实验技术将为鸟类系统进化的研究提供有力的支持。目前的 CR1 标记大多是从原鸡和火鸡基因组中筛选到的, 因此在分析其它物种时存在一定的局限性。随着更多鸟类基因组序列及 BAC 序列的公布, 以及寻找物种特异的 CR1 位点的研究技术的发展, 更多的逆转座子将被应用于物种间的亲缘关系分析, 从而构建更清晰的鸟类系统进化关系, 并有助于解决更深拓扑结构水平上的系统进化关系。随着对 CR1 研究的深入, CR1 自身的序列结构、分类以及所含有的遗传信息也将被逐步阐明, 这将为应用 CR1 解决系统进化问题奠定坚实的基础, 作为遗传标记, CR1 的应用也将会更加广泛。

5 参考文献

- Abrusan G, Krambeck HJ, Junier T, *et al.* 2008. Biased distributions and decay of long interspersed nuclear elements in the chicken genome [J]. *Genetics*, 178: 573 ~ 581.
- Batzer MA, Deininger PL. 1991. A human-specific subfamily of Alu sequences [J]. *Genomics*, 9: 481 ~ 487.
- Batzer MA, Gudi VA, Mena JC, *et al.* 1991. Amplification dynamics of human-specific (HS) Alu family members [J]. *Nucleic Acids Res*, 19: 3619 ~ 3623.
- Conley ME, Partain JD, Norland SM, *et al.* 2005. Two independent retrotransposon insertions at the same site within the coding region of BTK [J]. *Hum Mutat*, 25: 324 ~ 325.
- Deininger PL, Batzer MA. 2002. Mammalian retroelements [J]. *Genome Res*, 12: 1455 ~ 1465.
- Haas NB, Grabowski JM, Sivitz AB, *et al.* 1997. CR1 elements, which define an ancient family of vertebrate non-LTR retrotransposons, contain two closely spaced open reading frames [J]. *Gene*, 197: 305 ~ 309.
- Hillier LW, Miller W, Birney E, *et al.* 2004. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution [J]. *Nature*, 432: 695 ~ 716.
- Hillis DM. 1999. SINEs of the perfect character [J]. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 96: 9979 ~ 9981.
- Kaiser VB, Tuinen MV, Ellegren H. 2007. Insertion Events of CR1 Retrotransposable Elements Elucidate the Phylogenetic Branching Order in Galliform Birds[J]. *Mol Biol Evol*, 24(1): 338 ~ 347.
- Kriegs JO, Matzke A, Churakov G, *et al.* 2007. Waves of genomic hitchhikers shed light on the evolution of gamebirds (Aves: Galliformes)[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1): 190 ~ 221.
- Liu GE, Jiang L, Tian F, *et al.* 2009. Calibration of mutation rates reveals diverse subfamily structure of galliform CR1 repeats[J]. *Genome Biology and Evolution*, 1: 119 ~ 130.
- Minghetti PP, Dugaiczky A. 1993. The emergence of new DNA repeats and the divergence of primates[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 1872 ~ 1876.
- Olofsson B, Bernardi G. 1983. The distribution of CR1, an Alu-like family of interspersed repeats, in the chicken genome[J]. *Bioch Biophys Acta*, 740: 339 ~ 341.
- Ostertag EM, Kazazian Jr HH. 2001. Biology of mammalian L1 retrotransposons[J]. *Annu Rev Genet*, 35: 501 ~ 538.
- Pace JK, Feschotte C. 2007. The evolutionary history of human DNA transposons; evidence for intense activity in the primate lineage[J]. *Genome Res*, 17: 422 ~ 432.
- Pavlicek A, Paces J, Elleder D, *et al.* 2002. Processed pseudogenes of human endogenous retroviruses generated by LINEs: their integration, stability, and distribution[J]. *Genome Res*, 12(3): 391 ~ 399.
- Perna NT, Batzer MA, Deininger PL, *et al.* 1992. Alu insertion polymorphism: a new type of marker for human population studies[J]. *Hum Biol*, 64: 641 ~ 648.
- Ray DA, Xing J, Hedges DJ, *et al.* 2005. Alu insertion loci and platyrrhine primate phylogeny[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 35: 117 ~ 126.
- Ray DA, Xing J, Salem AH, *et al.* 2006. SINEs of a nearly perfect character[J]. *Syst Biol*, 55: 928 ~ 935.
- Salem AH, Ray DA, Batzer MA. 2005. Identity by descent and DNA sequence variation of human SINE and LINE elements[J]. *Cytogenet Genome Res*, 108: 63 ~ 72.
- Sasaki T, Takahashi K, Nikaido M, *et al.* 2004. First application of the SINE (short interspersed repetitive element) method to infer phylogenetic relationships in reptiles: an example from the turtle superfamily Testudinoidea[J]. *Mol Biol Evol*, 21: 705 ~ 715.
- Shedlock AM, Okada N. 2000. SINE insertions: powerful tools for molecular systematics[J]. *BioEssays*, 22: 148 ~ 160.
- Shedlock AM, Takahashi K, Okada N. 2004. SINEs of speciation: tracking lineages with retrotransposons[J]. *Trends Ecol Evol*, 19: 545 ~ 553.
- Silva R, Burch JBE. 1989. Evidence that chicken CR1 elements represent a novel family of retrotransposons[J]. *Mol Cell Biol*, 9: 3563 ~ 3566.
- Smit AF, Riggs AD. 1996. Tiggers and DNA transposon fossils in the human genome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 1443 ~ 1448.
- Smith EJ, Shi L, Tu Z. 2005. *Gallus gallus* agreecan gene-based phylogenetic analysis of selected avian groups[J]. *Genetica*, 124: 23 ~ 32.
- St John J, Cotter JP, Quinn TW. 2005. A recent chicken repeat 1 retrotransposition confirms the Coscoroba-Cape Barren goose clade[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 37: 83 ~ 90.
- St John J, Quinn TW. 2008a. Recent CR1 non-LTR retrotransposon activity in coscoroba reveals an insertion site preference[J]. *BMC Genomics*, 9: 567 ~ 572.
- St John J, Quinn TW. 2008b. Identification of novel CR1 subfamilies in an avian order with recently active elements[J]. *Mol Phylogenet Evol*, 49: 1008 ~ 1014.
- Takahashi K, Nishida M, Yuma M, *et al.* 2001. Retroposition of the AFC family of SINEs (short interspersed repetitive elements) before and during the adaptive radiation of cichli fishes in Lake Malawi and related inferences about phylogeny[J]. *Mol Evol*, 53: 496 ~ 507.
- Terai Y, Takahashi K, Nishida M, *et al.* 2003. Using SINEs to probe ancient explosive speciation: hidden radiation of African cichlids? [J]. *Mol Biol Evol*, 20: 924 ~ 930.
- Treplin S, Tiedemann R. 2007. Specific chicken repeat 1 (CR1) retrotransposon insertion suggests phylogenetic affinity of rockfowls (genus *Picathartes*) to crows and ravens (Corvidae) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 43: 328 ~ 337.
- Van de Lagemaat LN, Gagnier L, Medstrand P, *et al.* 2005. Genomic deletions and precise removal of transposable elements mediated by short identical DNA segments in primates[J]. *Genome Res*, 15: 1243 ~ 1249.
- Vandergon TL, Reitman M. 1994. Evolution of chicken repeat 1 (CR1) elements: evidence for ancient subfamilies and multiple progenitors [J]. *Mol Biol Evol*, 11: 886 ~ 898.
- Waddell PJ, Kishino H, Ota R. 2001. A phylogenetic foundation for comparative mammalian genomics[J]. *Genome Inform Ser Workshop Genome Inform*, 12: 141 ~ 154.
- Watanabe M, Nikaido M, Tsuda TT, *et al.* 2006. The rise and fall of the CR1 subfamily in the lineage leading to penguins[J]. *Gene*, 365: 57 ~ 66.
- Wicker T, Robertson JS, Schulze SR, *et al.* 2005. The repetitive landscape of the chicken genome[J]. *Genome Res*, 15: 126 ~ 136.