

doi: 10.7541/2016.99

大黄鱼 *CCTα* 基因的克隆及其表达量随稚鱼生长发育的变化

冯硕恒 蔡佐楠 麦康森 艾庆辉

(中国海洋大学农业部水产动物营养与饲料重点实验室, 海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003)

摘要: 研究旨在克隆大黄鱼磷脂酰胆碱合成关键基因磷脂酰胆碱胞苷转移酶 α (*CCTα*)基因全长, 并检测其表达量随稚鱼生长发育的变化。利用同源克隆技术和RACE技术从大黄鱼肝脏中成功扩增出*CCTα*的全长。同时应用real-time PCR法检测不同日龄大黄鱼稚鱼*CCTα*的表达变化。序列分析表明, *CCTα*全长2419 bp (GenBank登录号: KF006239.1), 包括273 bp的5'端非编码区, 1107 bp的开放阅读框, 1010 bp的3'端非编码区, 共编码369个氨基酸。系统进化树分析表明, 相比其他物种, 大黄鱼*CCTα*基因与红鳍东方鲀的亲缘关系较近。定量结果表明, 孵化后, 大黄鱼仔稚鱼*CCTα*的表达量随日龄的变化先显著升高, 在15日龄时达到最大值, 随后显著下降并趋于平稳, *CCTα*基因表达量的变化趋势与大黄鱼稚鱼消化系统的发育密切相关。

关键词: 大黄鱼; 磷脂; 合成代谢; 个体发育; 磷脂酰胆碱胞苷酰基转移酶

中图分类号: Q344⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2016)04-0752-06

磷脂又称“极性脂”, 是分子中含有磷酸的复合脂, 是生物膜的重要功能成分, 也是动植物细胞不可缺少的成分^[1]。磷脂在水产动物, 尤其是仔稚鱼上起着极为重要的作用。首先, 磷脂是细胞膜的重要组成部分^[2], 对维持细胞膜功能的完善起着重要作用; 其次, 鱼类利用极性脂的能力要高于中性脂, 因此在胚胎和稚鱼早期阶段, 磷脂可以作为脂肪的一种可以提供能量^[3-5]; 此外磷脂分解代谢还能产生类二十烷酸、二脂酰甘油和肌醇等生物活性物质, 对维持鱼类正常的生理活动具有重要的意义^[6]。目前, 国内外诸多研究已证明外源添加磷脂对仔稚鱼正常生长的必要性。然而, 磷脂分子的多样性、磷脂代谢的复杂性以及仔稚鱼阶段研究的难度系数大等原因, 使得国内水产动物上磷脂代谢的研究较少。

磷脂酰胆碱(PC)是生物体内含量最丰富的磷脂, 对维持生物正常的生命活动起着重要的作用。高等动物的肝脏可以通过胞苷三磷酸(CDP)-胆碱和磷脂酰乙醇胺(PE)途径合成PC^[7]。肝脏PC的合成中CDP-胆碱途径合成的占70%^[8, 9], 而研究表明

磷脂酰胆碱胞苷转移酶(CCT)是CDP-胆碱途径的关键酶^[2]。在哺乳动物中, CCT有三种亚型, 由两个基因编码而成, 分别是*Pyc11a*和*Pyc11b*, 其中*Pyc11a*编码CCT α , *Pyc11b*在人类中编码CCT β 1和CCT β 2, 在小鼠中编码CCT β 2和CCT β 3, 其中主要表达的CCT亚型为CCT α ^[2]。Holub和Leslie等^[10, 11]在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肝脏微粒体和金鱼(*Carassius auratus* L.)的脑中检测到CCT α 的活力。尽管磷脂从头合成途径在鱼类上没有得到广泛的研究, 但是磷脂合成必需的酶和蛋白质家族在红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)和斑马鱼(*Danio rerio*)上都有报道^[7]。因此, 磷脂酰胆碱胞苷转移酶(CCT α)作为PC合成的限速酶在鱼类上逐渐得到重视, 然而关于CCT α 转录调控的研究依然较少。近年来, 随着生物技术的发展, 在大西洋鲑*Salmo salar* (ACI34248.1)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*) (XP_003438043.1)、青鳉(*Oryzias latipes*) (XP_004079211.1)、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*) (XP_003975731.1)、斑马鱼(*Danio rerio*) (NP_001017634.1)和半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)

收稿日期: 2016-02-29; 修订日期: 2016-04-21

基金项目: 国家自然科学基金“大黄鱼仔稚鱼磷脂营养代谢研究”(31172425)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China “Study on Phospholipids Metabolism of Large Yellow Croaker Larvae” (Grant No. 31172425)]

作者简介: 冯硕恒(1988—), 男, 山东潍坊人; 硕士研究生; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: bdwgl@126.com

通信作者: 艾庆辉, 教授; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: qhai@ouc.edu.cn

(KC477399.1)上克隆到 *CCTα* 基因。因此, 本实验克隆了大黄鱼磷脂合成代谢关键酶 *CCTα* 的全长, 从 mRNA 水平上分析了磷脂合成代谢关键酶的表达量随大黄鱼仔稚鱼生长发育的变化, 为海水鱼类仔稚鱼发育阶段磷脂酰胆碱合成调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼与管理

实验地点为福建省宁德水产技术推广站。所用鱼苗为该推广站人工繁育的大黄鱼鱼苗。试验期间所用海水经室外蓄水池沉淀, 2级砂滤池滤过, 进育苗池前再经过滤袋过滤。将3000尾刚孵化出的大黄鱼鱼苗平均分配到3个桶内, 每个桶水容积约为500 L。从3—8日龄投喂轮虫(*Brachionus plicatilis*), 6—11日龄投喂卤虫无节幼体, 10—16日龄投喂鲜活桡足类, 之后到40日龄投喂冷藏桡足类, 每天饱食投喂5次(06:00、08:30、12:00、14:30和17:00)。在试验期间, 水温22—23℃, pH 7.8—8.0, 盐度21‰—22‰。

1.2 取样

在1、3、7、11、15、19、25、30、35和40日龄分别从3个养殖桶内随机取50尾鱼, 样品保存在-80℃。在40日龄时, 随机取6尾大黄鱼仔稚鱼的肝脏, 取后马上置于液氮中, 并储存于-80℃中, 用于 *CCTα* 基因的克隆。

1.3 RNA提取、cDNA合成和 *CCTα* 基因的克隆

大黄鱼稚鱼全鱼及肝脏总RNA提取采用Trizol法, 通过1.2%琼脂糖凝胶电泳检测RNA完整性, 并用分光光度计检测总RNA的浓度及纯度。采用TAKARA反转录用PrimerScript RT[®] reagent Kit合成第一链。参考斑马鱼、大西洋鲑、尼罗罗

非鱼、青鳞、红鳍东方鲀、人和鼠等物种的氨基酸序列, 利用CODHOP (<http://bioinformatics.weizmann.ac.il/blocks/codehop.html>)设计兼并引物CCT 01F和CCT 01R(表1), 通过PCR扩增反应, 克隆大黄鱼 *CCTα* 核心片段。CCT 5'端和3'端非编码区的扩增采用特异性引物: CCT 02F和CCT 02R(表1), 并通过Clontech SMART[™] RACE cDNA扩增试剂盒, 按照说明书进行操作。将获得的PCR产物经纯化后克隆到pEASY-T1载体上, 转化为大肠杆菌感受态细胞上, 挑选阳性克隆送往上海博尚生物科技有限公司(Shanghai, China)进行测序。

1.4 序列分析和进化树构建

应用BLAST工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)将克隆的基因在不同物种间进行同源性比对分析, 并推断其开放阅读框和编码的氨基酸序列。使用软件TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services>)来预测基因的跨膜域。使用SMART (<http://smart.emblheidelberg.de/>)和PROSITE软件(<http://kr.expasy.org/prosite/>)来预测氨基酸序列中的功能位点或氨基酸结构域。使用ProtParam program (<http://www.expasy.ch/tools/protparam.html>)来计算氨基酸序列的物理和化学参数。根据选择的相关基因序列使用CLUSTAL X1.83^[10]和MEGA 4.0^[11]软件来构建物种间 *CCTα* 的物种系统发生关系。使用邻位相连法(neighbor-joining)构建进化树^[12]。

1.5 *CCTα* 的定量表达

采用实时定量PCR来检测 *CCTα* 的表达量随大黄鱼仔稚鱼生长发育的变化。实时定量引物序列详见表1。

定量PCR体系如下: 上游引物(10 μmol/L) 1 μL; 下游引物(10 μmol/L) 1 μL; 第一链cDNA 1 μL; 2×SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II (TaKaRa, Japan) 12.5 μL;

表1 本研究中用到的引物

Tab. 1 Primers used in the study

引物 Primer	序列 Sequence (5'-3')	引物信息 Sequence information
CCT 01F	CACATCAAGGAGGCCGGNATGTTYGC	兼并引物
CCT 01R	TACRANGTYCGGTAGAGGGGGTTCG	兼并引物
CCT 02F	CGTGGACAAGGTGAAGAGGAAGGTGC	特异性引物
CCT 02R	CCCGCTGAGGAGTATGGGATGTCGT	特异性引物
CCT 03 F	CGCCAGAGTTTCTCGCAAGACATCG	定量引物
CCT 03R	CGTGGACAAGGTGAAGAGGAAGGTGC	定量引物
UPM	CTAATACGACTCACTATAGGGC	5'RACE primer
NUP	AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT	5'RACE primer
M13 F	TGAAAACGACGGCCAGT	Vector primer
M 13 R	CAGGAAACAGCTATGACC	Vector primer

无菌水9.5 μL ; 总体积25 μL 。

定量仪器为实时定量PCR仪(Mastercycler ep realplex, Eppendorf, Germany)。实时定量的程序为: 预变性阶段95 $^{\circ}\text{C}$ 2min, 一个循环; 扩增阶段95 $^{\circ}\text{C}$ 10s, 58.7 $^{\circ}\text{C}$ 10s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 20s, 共计40个循环。之后, 进行熔解曲线反应以检验每个PCR反应产物的单一性。对每一个稀释模板, 都用目的基因和内参基因的定量引物进行扩增得到CT值, 每个模板重复三次。以Lg(相对模板拷贝数)为横坐标, 以平均Ct为纵坐标, 得到一条回归直线。RT-qPCR反应的扩增效率(Efficiency, E)可以从回归直线上计算得到 $[E=10^{-(1/\text{斜率})-1}]$ 。然后以Lg(相对模板拷贝数)为横坐标, 以平均 ΔCt 目的-内参为纵坐标, 建立目的基因和内参基因的模板浓度梯度稀释扩增产物的 ΔCt 曲线。通过判断 ΔCt 曲线的斜率绝对值来判断目的基因和内参基因的E是否一致。在本实验中CCT α 的扩增效率为0.9461, β -actin的扩增效率为0.9783。 $\Delta\text{Ct}_i=(\text{目的基因}-\beta\text{-actin})$, 由于 ΔCt_i 的绝对值为0.025, 约等于0, 表明目的基因和内参基因扩增效率基本一致, 采用 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 方法测定目的基因的表达量^[13]。

1.6 统计分析

结果采用SPSS 16.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) 软件进行统计分析, 在单因素方差分析(ANOVA) 达到显著水平时($P<0.05$), 采用Tukey's检验进行多重比较, 数据表示为平均值 \pm 标准误。

2 结果

2.1 基因序列特征分析

CCT α 全长2419 bp, 含5'端非编码区273 bp, 开放阅读框(ORF) 1107 bp, 3'端非编码区1010 bp, 共编码369个氨基酸, 预测得到该氨基酸分子量为42.26 kD, 理论等电点6.69 (GenBank登录号: KF006239.1)。PHD分析软件预测, 该蛋白在8和197位点有两个豆蔻酰化位点。在206位点有一个酪氨酸激酶磷酸化位点, 在20、55、69、199、224、323和360位点有7个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点。在12、116、192、224、313和332位点有6个蛋白激酶C磷酸化位点。在66位点存在cAMP和cGMP依赖型的蛋白激酶磷酸化位点。在229位点存在一个N糖基化位点。

2.2 序列比对和进化树分析

推导的大黄鱼CCT α 氨基酸序列与其他鱼类CCT的氨基酸序列具有极高的同源性。这些物种

包括斑马鱼 *Danio rerio* (84.28%)、尼罗罗非鱼 (93.22%)、红鳍东方鲀 *Takifugu rubripes* (92.68%)、大西洋鲑 *Salmo salar* (87.53%)、半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* (90.79)和青鳞(92.58%)。与人类CCT α 也有超过78%的相似性。然而, 大黄鱼CCT α 氨基酸序列与斑马鱼、红鳍东方鲀、青鳞尼罗罗非鱼和人类CCT β 的氨基酸序列比对发现相似度都低于70%。系统进化树关系显示, 大黄鱼CCT α 氨基酸序列与上述鱼类CCT α 的氨基酸序列聚为一支, 鱼类CCT β 的氨基酸序列聚为另一支(图1)。因此, 可以断定本实验克隆到的大黄鱼中的CCT确实属于 α 类型。

2.3 CCT表达量随大黄鱼稚鱼生长发育的变化

实验结果表明, 孵化后, 大黄鱼仔稚鱼CCT α 的表达量随日龄的变化先显著升高后, 在15日龄时达到最大值, 随后显著下降并趋于平稳($P<0.05$) (图2)。

3 讨论

CCT是磷脂合成的关键限速酶, CCT的催化是磷脂合成过程中最慢的一步, 它决定磷酸胆碱的合成^[2]。在哺乳动物中, CCT有三种亚型, 由两个基因编码而成, 分别是 *Pyct1a*和*Pyct1b*, 其中*Pyct1a*编码CCT α , *Pyct1b*在人类中编码CCT β 1和CCT β 2, 在小鼠中编码CCT β 2和CCT β 3, 其中主要表达的CCT亚型为CCT α ^[2]由于CCT α 的重要作用, 使得CCT α 得到广泛的研究, 但是多集中于高等动物上。虽然在许多鱼类上已经克隆到CCT α 基因序列, 但是关于CCT α 调控的研究相对较少。本研究, 首次采用同源克隆和RACE技术克隆到大黄鱼CCT α 的全长。通过序列比发现N-端和C端差异较大, 而连接N-端和C-端的中间区域高度保守。从进化树上分析发现大黄鱼CCT与其他鱼类CCT α 同属一支, 而与CCT β 相聚较远, 证实克隆到的为大黄鱼的CCT α 。已有的研究发现, CCT基因包括核定位信号域、催化区域、膜结合区域(α 螺旋)和磷酸化区域四部分^[12, 13]。通过NLS Mapper软件(http://nls-mapper.iab.keio.ac.jp/cgi-bin/NLS_Mapper_form.cgi)预测发现, 本实验得到的大黄鱼CCT α 的核定位信号域可能在9—41个氨基酸处。除此之外, 还发现HxGH和RTEGISTS两个高度保守的模序。HxGH是核苷酸转移酶的象征^[14], 参与核苷酸的结合, 同样的在胞苷酸酰基转移酶中HxGH起着同样的作用^[15]。Veitch首次提出了HxGH在CCT α 催化过程中的重要性^[16, 17]。RTEGISTS在胞苷酸酰基转移酶中也起

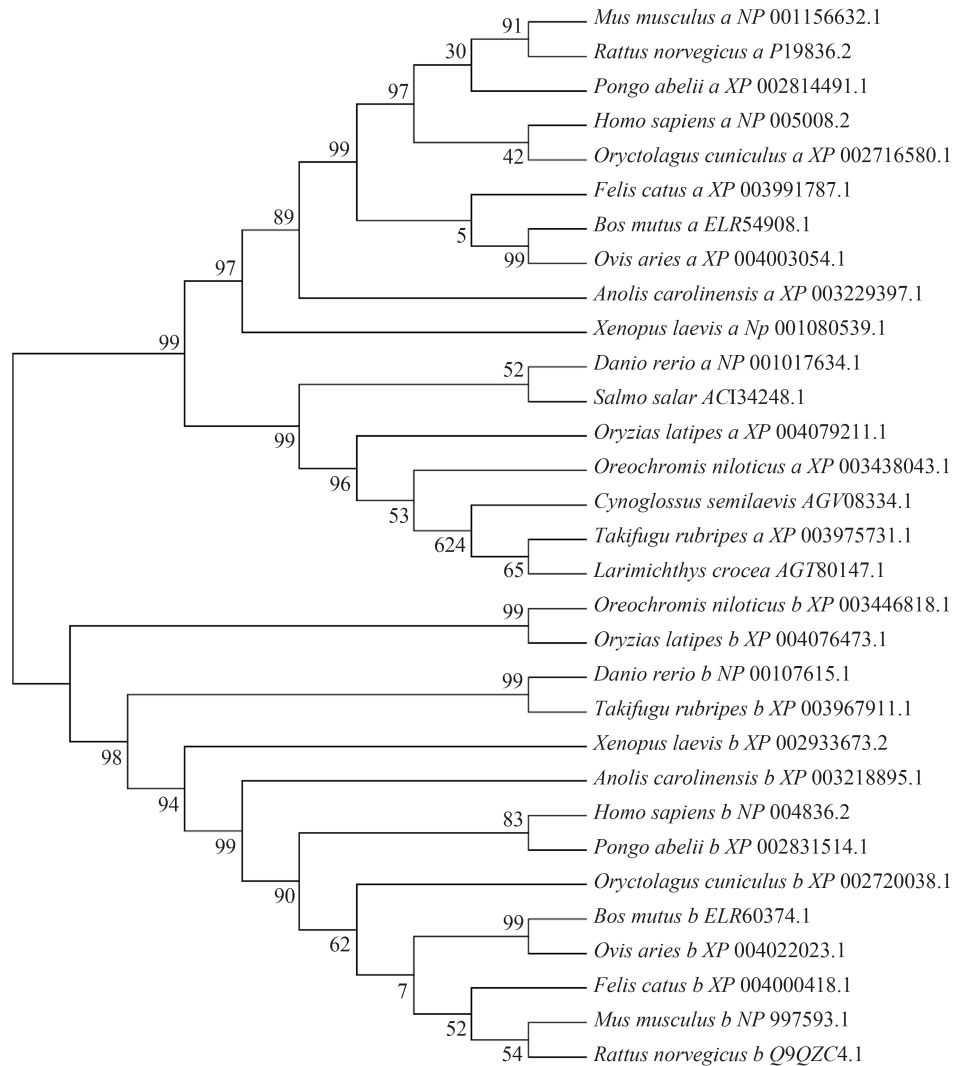


图 1 来自不同物种的系统进化树分析

Fig. 1 Phylogenetic tree based the amino acid sequences of CCT and 30 other available CCT
进化树采用邻位相连法构建, 用MEGA4.0分析软件完成, 标尺0.05

The amino acid sequences were derived from the GenBank under the following species: *Homo sapiens*, *Pongo abelii*, *Ovis aries*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Oryctolagus cuniculus*, *Felis catus*, *Bos mutus*, *Anolis carolinensis*, *Xenopus laevis*, *Cynoglossus semilaevis*, *Oryzias latipes*, *Salmo salar*, *Takifugu rubripes*, *Oreochromis niloticus*, *Danio rerio* and *Larmichthys crocea*. Sequences were aligned using the CLUSTAL W algorithm and were analyzed by phylogenetic analysis using the neighbor-joining distance method

着重要的作用, 它与HxGH环结合调节甘油三磷酸-胞苷酸转变为的过渡状态^[18]。

大黄鱼仔稚鱼处于快速生长期, 细胞分裂加快, 因此磷脂作为细胞膜的重要成分在保证细胞分裂以及组织生长中必然起到重要作用。目前, 有关CCT α 的表达量随仔稚鱼生长发育变化的研究尚未见报道。本实验中, 大黄鱼仔稚鱼CCT α 的表达量在7日龄时逐渐升高, 在15日龄时达到最大, 之后显著下降, 最后趋于平稳。CCT α 基因表达量的上升可能是大黄鱼肝细胞分裂需要合成大量细胞膜的一种适应性的调节。PC合成的最后一步是以甘油

二酯和CDP-胆碱为底物, 在CPT催化下进行。已有报道表明, 饲料脂肪中甘油三酯经肠道脂肪酶水解后的产物甘油一酯重新酰化后产生的甘油二酯是PC合成的重要底物^[20]。在15日龄以后, 大黄鱼的生物饵料由鲜活桡足类变为冰鲜桡足类, 而根据文献报道冰鲜桡足类的营养成分远远不如生物饵料, 尤其是脂肪含量偏低^[21], 这会导致大黄鱼仔稚鱼摄入的甘油三酯及偏低, 进而减少其水解产物甘油一酯以及重酰化产物甘油二酯。而甘油二酯缺乏可能导致CDP-胆碱的异常积累, 从而负反馈调节CCT的表达, 这可能是导致CCT α 表达量在15日龄以后显

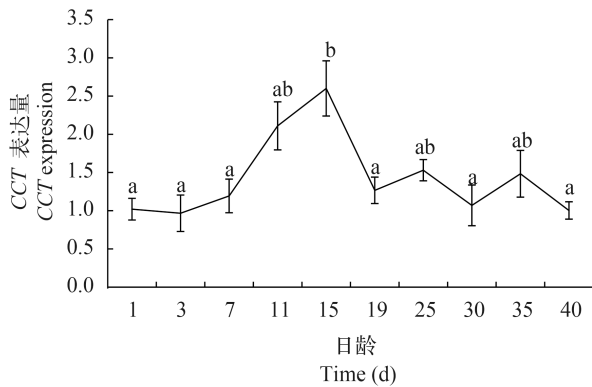


图2 大黄鱼稚鱼CCT基因表达量随日龄的变化

Fig. 2 The expression of CCT over time in larval large yellow croaker

图中标有相同英文字母的表示没有显著性差异($P>0.05$)

Values are means \pm SEM ($n=3$). Broken line graph bearing with same letters are not significantly different by Tukey's test ($P>0.05$)

著下降的原因。由此可见,合适的饵料对维持大黄鱼仔稚鱼正常的生长发育起到至关重要的作用。

综上所述,本文首次在大黄鱼上克隆到PC合成关键酶CCT α cDNA的全长,并检测了CCT α 转录水平随大黄鱼仔稚鱼生长发育的变化。研究表明,CCT α 转录水平在大黄鱼仔稚鱼发育过程中的变化情况可以作为大黄鱼仔稚鱼发育及饵料利用情况的辅助指标。

参考文献:

- [1] Kanazawa A. Essential phospholipids of fish and crustaceans [A]. In: Kaushik S J, Luquet P (Eds.), Fish Nutrition in Practice [M]. Paris: INRA. 1993, 519519—530
- [2] Fagone P, Jackowski S. Phosphatidylcholine and the CDP-choline cycle [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2013, **1831**(3): 523—532
- [3] Fraser A J, Gamble J C, Sargent J R. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*) [J]. *Marine Biology*, 1988, **99**(3): 307—313
- [4] Rainuzzo J R, Reitan K I, Jørgensen L. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1992, **103**(1): 21—26
- [5] Tocher D R, Fraser A J, Sargent J R, et al. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.) [J]. *Lipids*, 1985, **20**(2): 69—74
- [6] Tocher D R, Bendiksen E Å, Campbell P J, et al. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish [J]. *Aquaculture*, 2008, **280**(1): 21—34
- [7] Lykidis A. Comparative genomics and evolution of eukaryotic phospholipid biosynthesis [J]. *Progress in Lipid Research*, 2007, **46**(3): 171—199
- [8] Sundaram M, Yao Z. Recent progress in understanding protein and lipid factors affecting hepatic VLDL assembly and secretion [J]. *Nutrition & Metabolism*, 2010, **7**(1): 1
- [9] Yao C, Kong P, Wang Z, et al. Cloning and expression analysis of two alternative splicing toll-like receptor 9 isoforms A and B in large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, **25**(5): 648—656
- [10] Holub B J, Nilsson K, Piekarski J, et al. Biosynthesis of lecithin by the CDP-choline pathway in liver microsomes of rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 1975, **32**(9): 1633—1637
- [11] Leslie J M, Buckley J T. Phospholipid composition of goldfish (*Carassius auratus* L.) liver and brain and temperature-dependence of phosphatidyl choline synthesis [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1976, **53**(3): 335—337
- [12] Clement J M, Kent C. CTP: Phosphocholine cytidyltransferase: insights into regulatory mechanisms and novel functions [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, **257**(3): 643—650
- [13] Kent C. CTP: phosphocholine cytidyltransferase [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 1997, **1348**(1—2): 79—90
- [14] Delarue M, Moras D. The aminoacyl-tRNA synthetase family: Modules at work [J]. *Bioessays*, 1993, **15**(10): 675—687
- [15] Bork P, Holm L, Koonin E V, et al. The cytidyltransferase superfamily: Identification of the nucleotide-binding site and fold prediction [J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 1995, **22**(3): 259—266
- [16] Veitch D P, Gilham D, Cornell R B. The role of histidine residues in the HXGH site of CTP: phosphocholine cytidyltransferase in CTP binding and catalysis [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1998, **255**(1): 227—234
- [17] Veitch D P, Cornell R B. Substitution of serine for glycine-91 in the HXGH motif of CTP: phosphocholine cytidyltransferase implicates this motif in CTP binding [J]. *Biochemistry*, 1996, **35**(33): 10743—10750
- [18] Park Y S, Gee P, Sanker S, et al. Identification of functional conserved residues of CTP: glycerol-3-phosphate cytidyltransferase role of histidines in the conserved HXGH in catalysis [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, **272**(24): 15161—15166
- [19] Mai K, Yu H, Ma H, et al. A histological study on the development of the digestive system of *Pseudosciaena*

- crocea* larvae and juveniles [J]. *Journal of Fish Biology*, 2009, **67**: 1094—1106
- [20] Li K, Eolsen R, Ostensen M. Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae can biosynthesis phospholipid de novo from 2-oleoyl-glycerol and glycerol precursors [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, **42**(1): 137—147
- [21] Ma H, Cahu C, Zambonino-Infante J, *et al.* Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. *Aquaculture*, 2005, **245**: 239—248

MOLECULAR CLONING AND GENETIC ONTOGENY OF CCT α DURING THE DEVELOPMENT OF LARGE YELLOW CROAKER LARVAE (*LARIMICHTHYS CROCEA*)

FENG Shuo-Heng, CAI Zuo-Nan, MAI Kang-Sen and AI Qing-Hui

(The Key Laboratory of Mariculture (Ministry Education of China), Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: In the present study, the full length of CCT α (CTP: choline phosphate cytidyltransferase) cDNA from large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) was obtained by homology-based cloning and rapid amplification of cDNA ends (RACE) techniques. Sequence analysis showed that the full length of CCT α cDNA (GenBank accession No. KF006240.1) was 2419 bp, which consisted of 1107 bp open-reading frame (ORF) encoding 369 amino acids, a 273 bp 5'-untranslated region (5'UTR) and a 1010 bp 3'-untranslated region (3'UTR). Phylogenetic tree analysis showed that the CCT α gene of large yellow croaker had a closer relationship with *Takifugu rubripes* than others. The expression of CCT α increased significantly at first, and then decreased, and peaked at 15 day after hatching. The genetic ontogeny of CCT α was related to the development of large yellow croaker digestive system.

Key words: Large yellow croaker; Phospholipid; Anabolism; Development; Choline phosphate cytidyltransferase (CTP)