

基于血液转录组研究野外和迁地保护区两种生活环境对长江江豚听觉的影响



刘旺^a, 尹登花^b, 刘凯^{a,b}

^a南京农业大学无锡渔业学院, 无锡, 214081

^b农业农村部长江下游渔业资源环境科学观测实验站中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡, 214081

实验背景

长江江豚是一类次生性水生哺乳动物, 为了适应水生生活, 它们的视觉、嗅觉和味觉均已退化, 日常活动高度依赖于听觉系统。在众多影响听觉功能的因素中, 环境因素一直备受关注。为了深入探究不同生活环境对长江江豚听觉功能的影响, 本研究采集生活于野外(CJ)和迁地保护区(XJ)的长江江豚血液样本进行转录组学分析, CJ组受到噪声、水污染等环境胁迫, XJ组不受环境胁迫。

①CJ组: 野外

②XJ组: 迁地保护区

血液转录组



结果

表1 长江江豚血液转录组测序和比对结果

Sample	Total Raw Reads (M)	Total Clean Reads (M)	Total Clean Bases (Gb)	Clean Reads Q20(%)	Clean Reads Q30(%)	Total Mapping (%)	Uniquely Mapping (%)
CJ_1	59.93	58.21	5.82	98.02	94.36	78.56	41.76
CJ_2	72.27	70.90	7.09	97.98	94.28	83.50	53.97
CJ_3	101.56	100.27	10.03	98.03	94.43	87.75	63.36
XJ_1	66.32	64.62	6.46	98.02	94.09	77.62	41.93
XJ_2	69.75	67.55	6.76	98.09	94.28	73.90	34.36
XJ_3	85.73	83.27	8.33	98.09	94.28	77.75	43.38

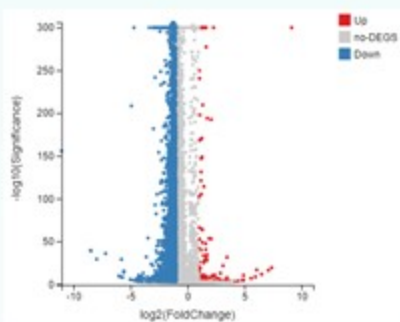


图1 两组长江江豚差异表达基因火山图。CJ组和XJ组共鉴定差异表达基因4613个, 128个在XJ组上调, 4485个在XJ组下调。

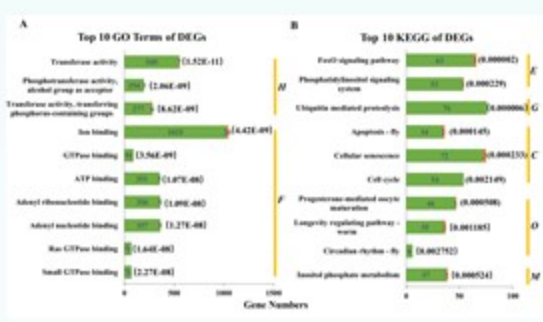


图2 差异表达基因富集中显著性最强的前十条GO条目和KEGG通路。H: 催化活性; F: 结合; E: 环境信息处理; G: 遗传信息处理; C: 细胞过程; O: 有机系统; M: 代谢。

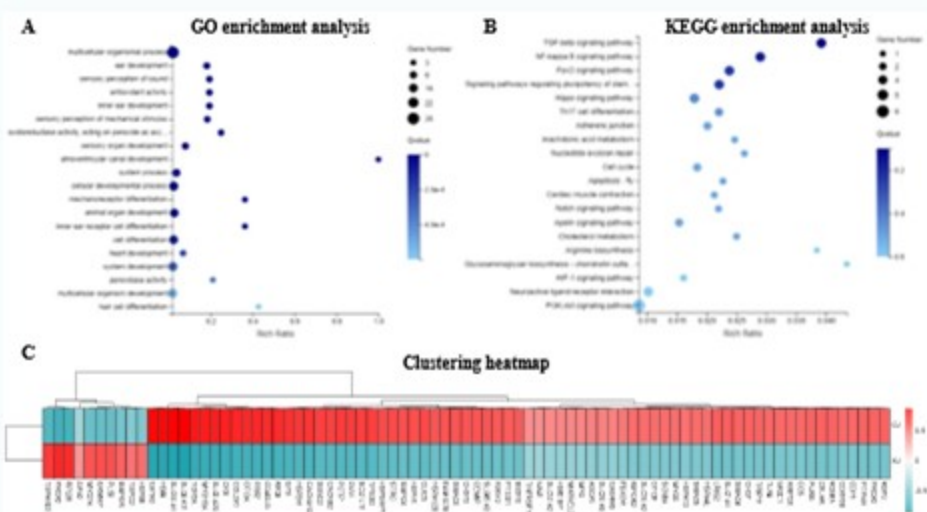


图3 听觉基因热图及富集分析结果。(A) 81个听觉基因GO富集分析结果; (B) 81个听觉基因KEGG富集分析结果; (C) 81个听觉基因聚类热图。

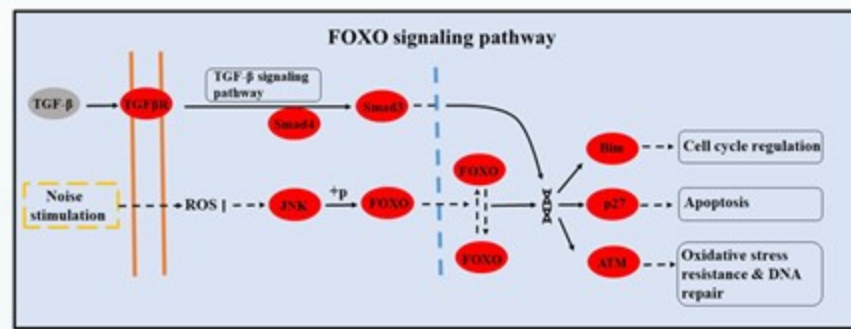


图4 噪声刺激下FOXO通路上的重要基因变化情况。红色表示在CJ组上调表达, 灰色表示在CJ组和XJ组没有显著表达差异。

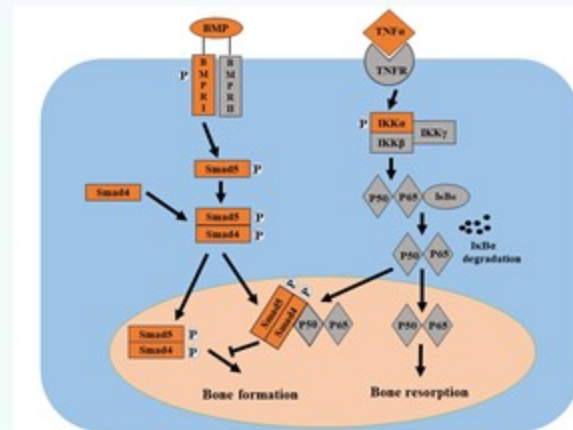


图5 TGF-beta 通路和 NF-Kappa B 通路在骨发育上的调控机制。左边为TGF-beta 通路, 右边为NF-Kappa B 通路, 红色表示在CJ组上调表达, 灰色表示在CJ组和XJ组没有显著表达差异。骨是长江江豚听觉器官的重要组成部分, 下颌骨、听小骨、耳蜗等听觉器官的骨骼结构与骨密度对于声信号的感知和传导十分重要。

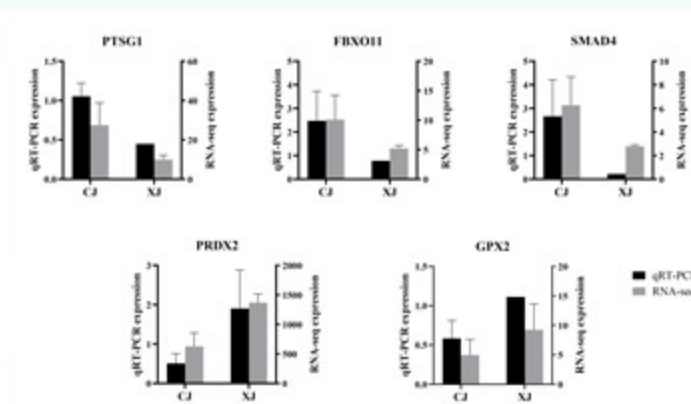


图6 qRT-PCR验证结果。荧光定量PCR验证的差异基因表达情况与转录组测序结果基本一致, 表明本研究中转录组测序结果可靠。

结论

1. 绝大多数抗氧化基因和热休克蛋白基因在CJ组上调表达, 抗氧化通路FOXO pathway在该组激活, 说明长期生活在噪声环境下的长江江豚可能依靠上调抗氧化基因的表达和激活FOXO pathway以消除噪声引起的大量活性氧, 依靠上调热休克蛋白基因的表达以阻止噪声引起的细胞死亡。
2. 本研究检测到5个重要的听觉结构基因(MYO15A、FBX011、CLIC5、SMAD3、SMAD4)在CJ组上调表达, 骨发育相关通路TGF-beta pathway和NF-kappa B pathway在该组激活, 表明当长江江豚面临环境胁迫时, 可能通过完善听觉结构的发育以增强听觉功能, 提高环境适应力。