



菲律宾蛤仔在副溶血弧菌刺激下自噬作用机制初步研究

于婕^{1,2}, 聂鸿涛*^{1,2}, 闫喜武^{1,2}

¹大连海洋大学水产与生命学院, 大连116023;

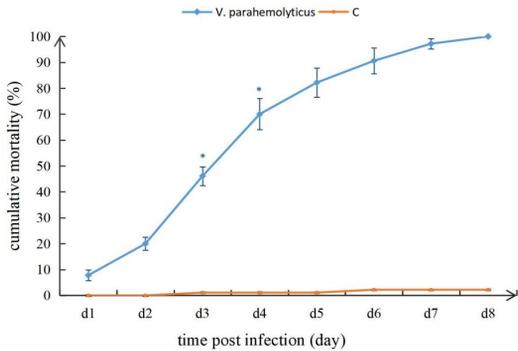
²辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 大连116023

研究内容

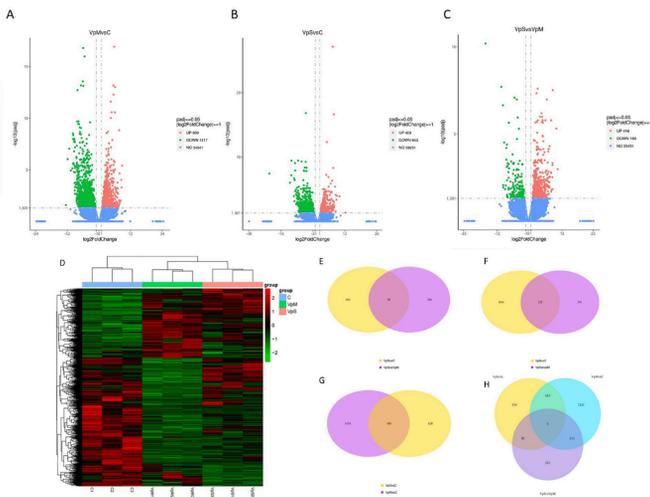
- ◆ 菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 是目前最具商业价值的双壳贝类之一, 然而由于致病副溶血弧菌的存在, 近年来蛤仔养殖业面临着巨大的挑战。
- ◆ 在本研究中, 我们用高通量测序分析了在副溶血弧菌感染后抗性个体(存活组, VpS)和易感个体(死亡组, VpM)的蛤仔肝胰腺组织的转录组。开展副溶血弧菌慢性刺激蛤仔的实验, 持续10天将蛤仔浸泡在 2×10^{-7} CFU/mL浓度的副溶血弧菌过滤海水中, 检测自噬通路基因的表达情况。检测自噬相关基因在蛤仔七个组织分布情况, 确定后续实验取样的组织。在蛤仔注射ATG16L1基因的siRNA后检测血细胞中ATG16L1基因及自噬通路下游基因的表达情况, 透射电镜观察血细胞自噬情况。为研究菲律宾蛤仔在副溶血性弧菌胁迫下的自噬作用机制提供了新见解。

实验结果

1. 2×10^{-7} CFU/mL的副溶血弧菌刺激后蛤仔死亡率

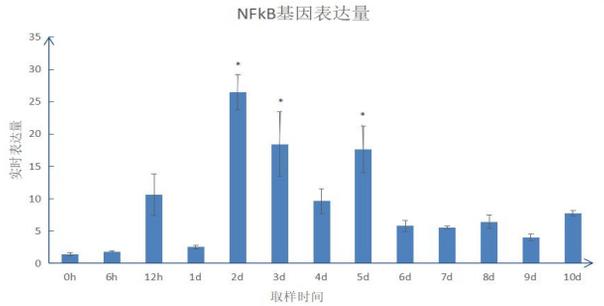
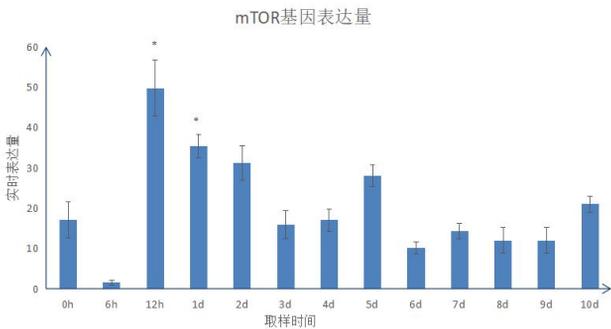


2. 转录组学分析副溶血弧菌刺激后蛤仔基因表达差异

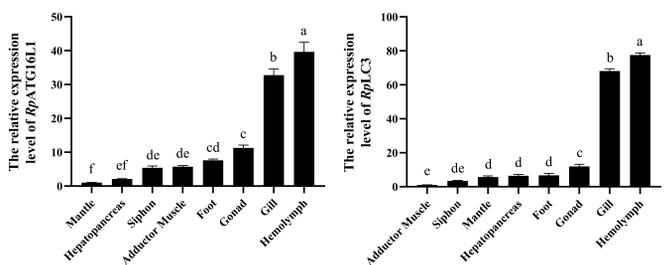


A-C差异基因火山图谱。D, 差异表达的基因聚类热图。横坐标为样本名称, 纵坐标为差异基因FPKM的归一化值。从绿色到红色的颜色强度表示差异表达的大小。红色和绿色分别表示上调和下调。E-H, 差异基因维恩图。不同的颜色表示不同的比较组合。

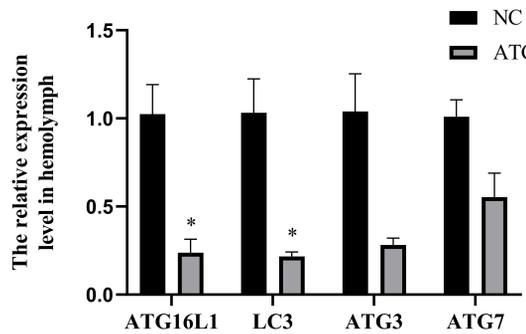
3. 副溶血弧菌刺激慢性实验自噬相关基因表达量变化



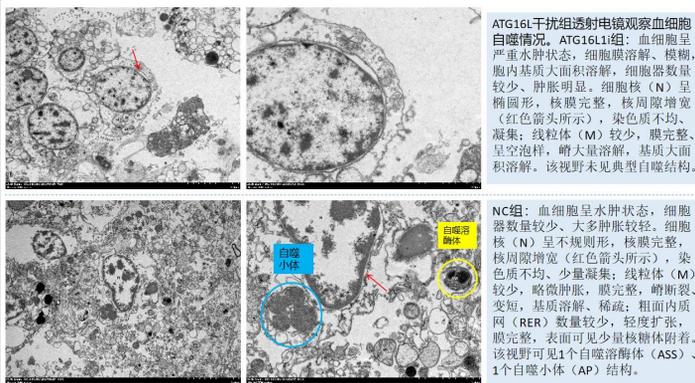
4. 自噬相关基因在蛤仔中的组织分布



5. ATG16L1基因siRNA干扰后在血细胞中基因表达情况



6. 透射电镜观察血细胞自噬情况



结论总结

我们通过对副溶血弧菌感染后菲律宾蛤仔肝胰腺的转录组分析, 研究其先天免疫机制。通过KEGG分析, 我们发现AMPK/mTOR信号通路与自噬和凋亡效应相关, 表明该信号通路的调控与炎症、自噬和凋亡等病理过程有关。在副溶血弧菌胁迫下的菲律宾蛤仔中检测到14个免疫相关基因, 表明C1q基因在副溶血性弧菌感染的抗菌过程中起着重要作用。持续10天将菲律宾蛤仔浸泡在副溶血弧菌海水中, 发现ATG16L1、mTOR、CTSL和Nfkb等基因在不同时间内均显著升高。ATG16L1和LC3基因在蛤仔8个组织中的表达分布显示, 在血细胞中显著表达。在蛤仔注射ATG16L1基因的siRNA后血细胞中ATG16L1基因的表达显著下调, 自噬通路下游基因LC3、ATG3和ATG7基因也显著下调, 透射电镜观察血细胞显示干扰组自噬受到抑制, 对照组自噬显著。菲律宾蛤仔在副溶血弧菌刺激后, ATG16L1基因对自噬作用起到的关键的调节作用, 本研究的结果为研究菲律宾蛤仔在副溶血性弧菌胁迫下的免疫功能提供了新见解。