



转录组分析高温胁迫下菲律宾蛤仔miRNA的表达规律

一、引言

菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 是我国一种常见的经济贝类, 具有重要的商业价值。然而随着近年来全球气候变暖, 海水温度升高已经成为海洋生物生存所面临的严重问题之一。因此, 高温条件对蛤仔养殖的威胁越来越严峻, 了解菲律宾蛤仔耐高温能力具有重要意义。

miRNA是一类长度为21-24 nt的内源性非编码RNA, miRNA能够通过种子序列与特定的靶基因位点相结合, 引起降解或抑制翻译, 从而对靶基因的表达起到调节作用。目前, 关于miRNA介导高温胁迫的调节机制在水生生物中进行了广泛研究。因此本研究通过转录组测序技术发掘菲律宾蛤仔在高温胁迫下的差异miRNA参与调控的关键通路, 探讨miRNA在菲律宾蛤仔中响应高温胁迫中的潜在调控机制, 为筛选菲律宾蛤仔抗逆关键指标提供理论支持。

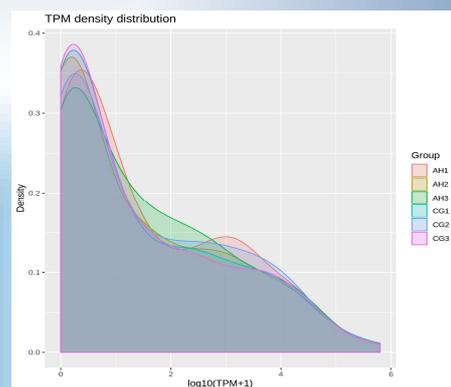
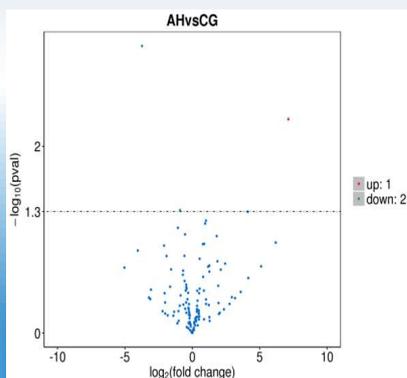
二、材料和方法

1. 样品采集与处理
2. 总RNA的提取与质量检测
3. 文库制备与测序
4. 序列分析
5. 差异基因筛选
6. 差异基因GO和KEGG富集分析

三、结果

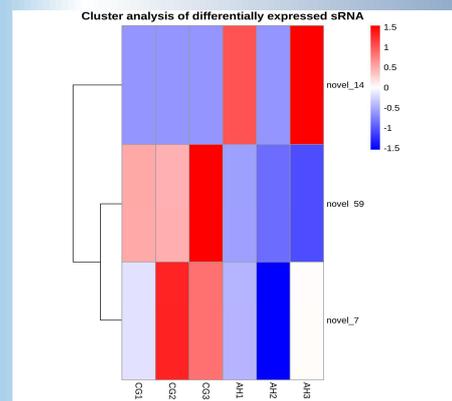
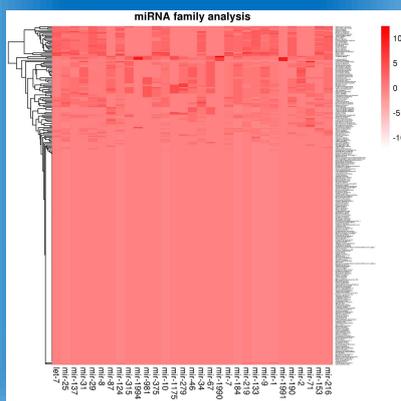
数据过滤情况汇总

Sample	total reads	N% > 10%	low quality	5' adapter contaminate	3' adapter null or insert null	with polyA/T/G/C	clean reads
CG1	11588283 (100.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	445 (0.00%)	96423 (0.83%)	2655 (0.02%)	11488760 (99.14%)
CG2	11665483 (100.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	564 (0.00%)	101662 (0.87%)	2178 (0.02%)	11561079 (99.11%)
CG3	11363763 (100.00%)	112 (0.00%)	0 (0.00%)	578 (0.01%)	82142 (0.72%)	1195 (0.01%)	11279736 (99.26%)
AH1	11914044 (100.00%)	124 (0.00%)	0 (0.00%)	2412 (0.02%)	166504 (1.40%)	2521 (0.02%)	11742483 (98.56%)
AH2	11497881 (100.00%)	119 (0.00%)	0 (0.00%)	515 (0.00%)	65104 (0.57%)	1399 (0.01%)	11430744 (99.42%)
AH3	12703449 (100.00%)	83 (0.00%)	0 (0.00%)	622 (0.00%)	106427 (0.84%)	2271 (0.02%)	12594046 (99.14%)



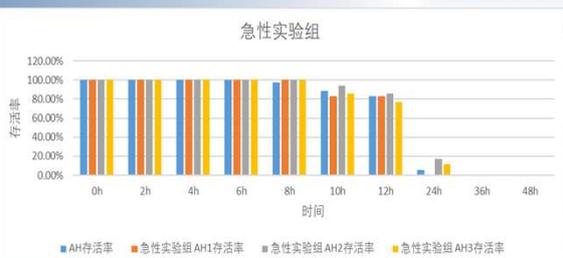
差异miRNA火山图

TPM密度分布图

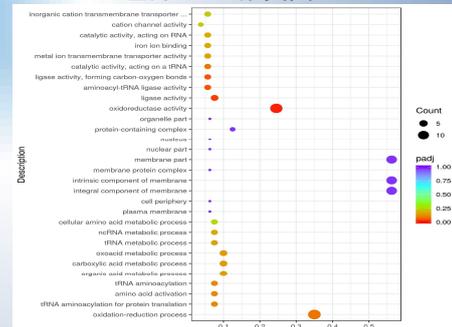
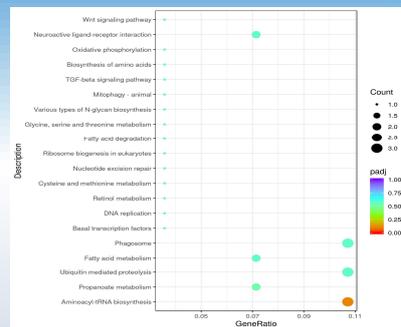


Lgi-miRNA-family heatmap

差异miRNA聚类图



高温胁迫下蛤仔存活率



靶基因KEGG富集散点图

GO富集分析散点图

结论: 实验组菲律宾蛤仔存活率在12-24h急剧下降, 在24-36h存活率为0, 而对照组存活率一直稳定97%以上。对照组和实验组共鉴定出46个已知的miRNAs和80个新的miRNAs。对样品间差异表达的miRNAs进行分析, 共鉴定出3个差异表达的miRNAs, 其中2个下调, 1个上调。得到各组比较间的差异表达miRNA后, 根据miRNA与其靶基因间的对应关系, 对每组差异表达miRNA的靶基因的集合进行KEGG富集分析, 其主要富集在氨酰基tRNA生物合成 (Aminoacyl-tRNA biosynthesis)、丙酸代谢 (Propanoate metabolism)、泛素介导的蛋白水解 (Ubiquitin mediated proteolysis)、脂肪酸代谢 (Fatty acid metabolism)、吞噬体 (Phagosome)、TGF-β信号通路 (TGF-beta signaling pathway)、Wnt信号通路 (Wnt signaling pathway) 等途径上。