

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)长期暴露于17β-雌二醇：性别比例变化和基因表达变化

肖嘉鑫, 霍忠明*, 刘洋, 方蕾, 李冬冬, 杨雯雯, 吴启迪, 李壮, 谷晶, 秦艳杰, 闫喜武*
大连海洋大学, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁, 大连 116023



1.摘要:

为研究菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)在雌二醇处理条件下对性别分化的影响。使用雌二醇处理菲律宾蛤仔两个月后,通过组织切片的方法对雌二醇处理的菲律宾蛤仔进行切片显微观察并统计各组的雌雄比,在实验组中出现3个雌雄同体蛤仔,比例为2%,高于自然环境中的雌雄同体比例(约千分之一),表明雌二醇对蛤仔性别分化产生影响,存在诱导部分蛤仔性别分化为雌性的现象。此外,对空白组及实验组中性腺成熟的雌、雄蛤仔进行转录组分析发现,DEG在泛素化途径、核糖体、吞噬体和细胞色素P450代谢途径中富集。在差异基因中筛选出如SOX-30、TSK-1、FOSXN5等性别相关基因。同时也发现一些基因如Cullin-4B、BIRC7等基因参与泛素化通路过程,直接参与菲律宾蛤仔性别相关基因的表达。

2.性腺发育比较

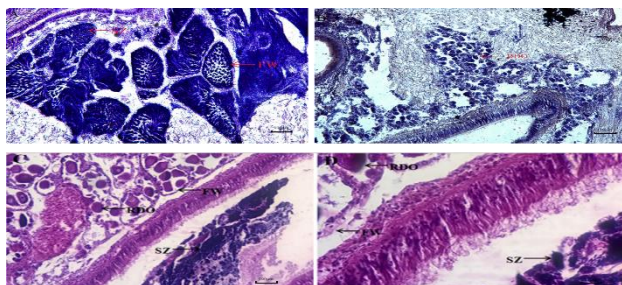


图1.不同表型性别菲律宾蛤仔性腺切片。

3.转录组差异基因分析

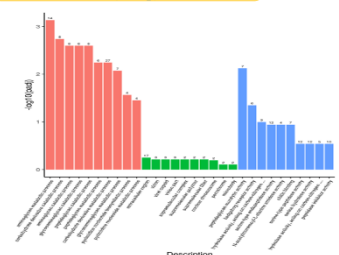


图4.实验组与对照组雌性DEGs GO富集结果

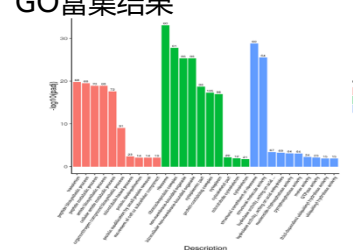


图5.实验组与对照组雄性DEGs GO富集结果

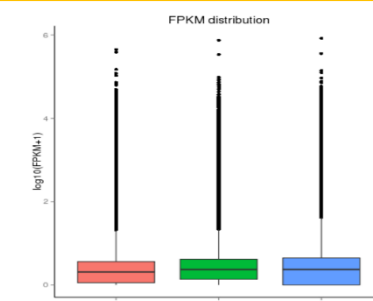


图2 不同处理组基因表达水平比较

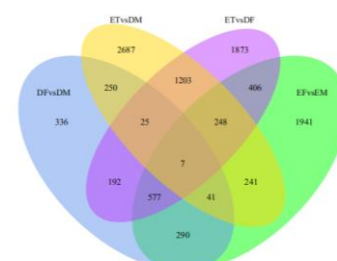


图3.差异基因维恩图

表1 雌二醇处理组性别比例

	对照组	10μg/L雌二醇组
雄性	73	61
雌性	68	85
雌雄同体	0	3
性别比例	0.93	1.39

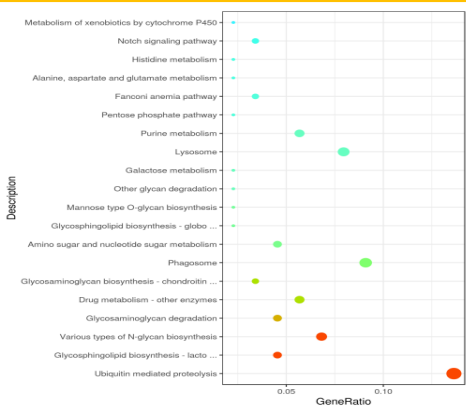


图6 对照组雌性与雄性DEGs KEGG前二十条富集结果

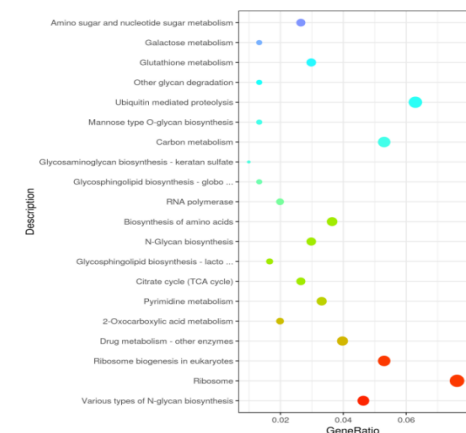


图7 实验组雌雄与雄性DEGs KEGG前二十条富集结果

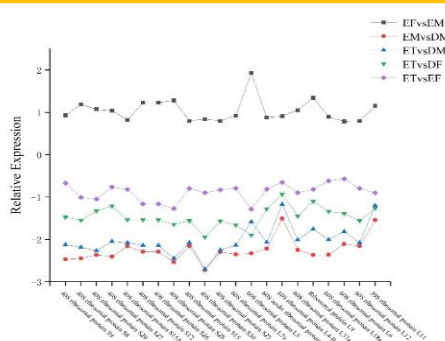


图8.五个比较组合核糖体差异表达基因

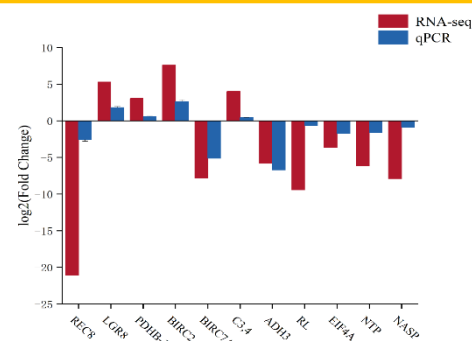


图9.部分qPCR验证结果

4.研究结果:

- (1) 雌二醇处理组性别比例发生较大改变,且出现雌雄同体个体(图1,表1);
- (2) 在对照组(D)、实验组(E)、实验组雌雄同体(ET)三组中,约有15%的基因log₁₀(FPKM)集中在0到0.6之间,平均值为0.3.其余85%的基因log₁₀(FPKM)范围为1.5到6,最大值为6,在实验组的三种性别(雌、雄雌雄同体)中均检测到该值(图2);
- (3) DF v DM, EF v EM, ET v DM, ET v DF四种比较组合中存在7个共同的差异基因(图3);
- (4) EF v DF比较组合的GO富集主要集中在多糖代谢、肽聚糖溶壁活性等生物过程和分子功能;EM v DM比较组合的GO富集主要集中在蛋白合成和核糖体结构、核糖体相关蛋白合成等。(图4,图5)
- (5) 在对照组雌雄比较中,KEGG分析主要富集在泛素化介导的蛋白水解及各种类型的N-糖合成;在实验组雌雄比较中,还包括核糖体的生物合成。(图6、图7、图8);
- (6) 分别选取4个雌性偏向基因和7个雄性偏向基因进行qPCR验证(图9);