

Mn-LIPA基因在日本沼虾性激素调节和性腺发育中的作用

Role of *Mn-LIPA* in Sex Hormone Regulation and Gonadal Development in the Oriental River Prawn, *Macrobrachium nipponense*

Pengfei Cai, Wenyi Zhang, Sufei Jiang, Yiwei Xiong, Hui Qiao, Huwei Yuan, Zijian Gao, Yongkang Zhou, Shubo Jin* and Hongtuo Fu*

南京农业大学无锡渔业学院; 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心

汇报人: 郜子鉴

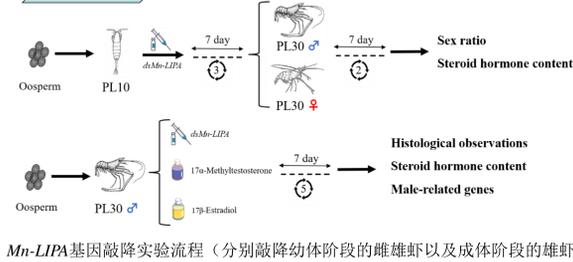
研究背景

作为我国重要的经济物种,日本沼虾的“秋繁”(雌虾进入繁殖期后性快熟)特性易导致其多代同塘,养殖密度过高,饲料消耗增多等问题,进而可能导致其出塘规格下降,影响其经济效益。研究日本沼虾性别发育相关基因有助于实现该物种的单一养殖,解决上述生产问题。

脂肪酶A(LIPA)基因参与催化溶酶体内的胆固醇酯或甘油三酯的水解过程。有研究报道该基因参与类固醇生物合成相关过程,并在日本沼虾雌性与雄性性腺中存在表达差异。

本研究采用RNAi干扰技术对*Mn-LIPA*基因进行敲降,以探究其在雌雄日本沼虾性腺发育中的功能。

实验流程



Mn-LIPA基因序列分析

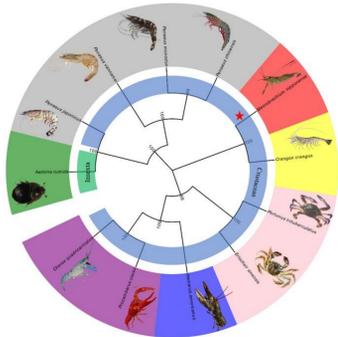
```

1 ATGATCAAGCTTATATGATTAAGTTGTTGAACAAATTTCTCATTCGAGT
61 TTGATGAATGGCAAAATGATTTGGCCCACTGCTGGATTTGCTTGAAAACCT
121 GGTCGGAAGACTACATATGTTGGCATTCAATGGGCAACACATTTCTTGCTCTT
181 ATGACCTCACACTGATACCAAGAGGAATTGCATCGTGGTCCCTGGCTCGGTA
61 M V A L A P V
241 GCACAGTCAAGCATCAGTTCACCTATCAATATTTAGCCAGCTGTTATGATATA
81 A T V T S I S S P I K Y L A P V V N D I
301 CAGTTTCTCTGAGATTGGAATGATGAGGAGTTCAGACAATCCTTACTCATT
101 Q F V L R L F G N D E E F M T N P L L I
361 TCTTTGGGACCTTACAGGATGCAAGTAACTCAAGCATTATGGAATCTTCAGTTC
121 S L W D P Y K A C S N Q A L C E N L Q F
421 TTGATACTGATTGATCCCAAGAGTGCAGCAGTTCAGCAGTTCCTCATTCTGACG
141 L I T G F D P S R A D Q T M V P I I L T
481 CATAACCTGCTGGATCTTCCACTCAACACTCTCCACTTTGCCAAGAAATTTCTCA
161 H N P A G S S T Q T L F H F A Q G I S S
541 GGTCGATTCAACAATTTGACCATGGAAGATTAGAGAATGAAAGTATGACCAACA
181 G R F Q Q F D H G R L E N M K V Y G Q P
601 ACACCCGAGATATGATGTTGCAAGATAAAATCCCATCACCATTATTTGGGCTAAT
201 T P P E Y D V A K I K I P I T L F W A N
661 AATGATGGCTACTGCTCAAAAGGACATCTCCACTTGGAAAACAGCTGCCCTTTA
221 N D W L T S Q K D I L H L E N Q L P L L
721 AAGGAGTATAGGATCTACTCTATATTTAGCCACTGGACTCTTTGGGCACT
241 K G S Y K V S N P I F S H L D F L W A T
781 GATCAAGCCCTGCTCTAGAGAGATTGATGCTCAAGGACTTTGGGATGAC
261 D A K P L V Y E K I F D A L K D F V D D
841 AGTGTATGA
281 S V *
    
```

*Mn-LIPA*基因结构

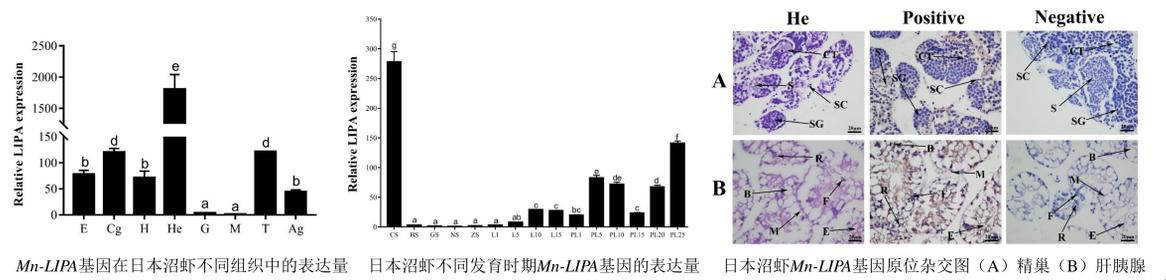


*Mn-LIPA*基因产物同源物种比对结果

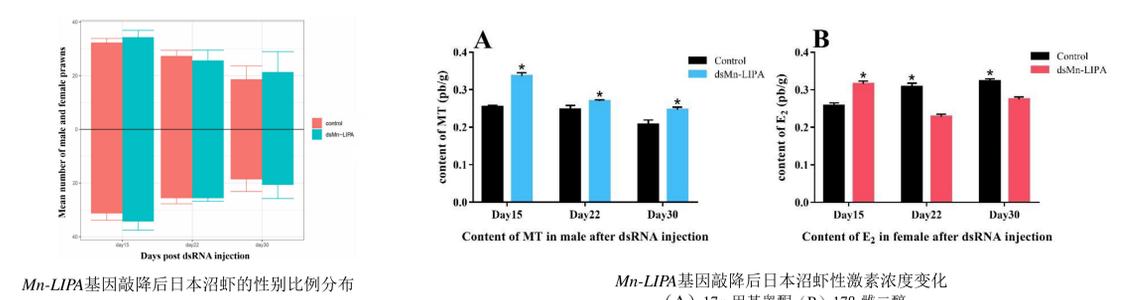


*Mn-LIPA*基因系统发育树

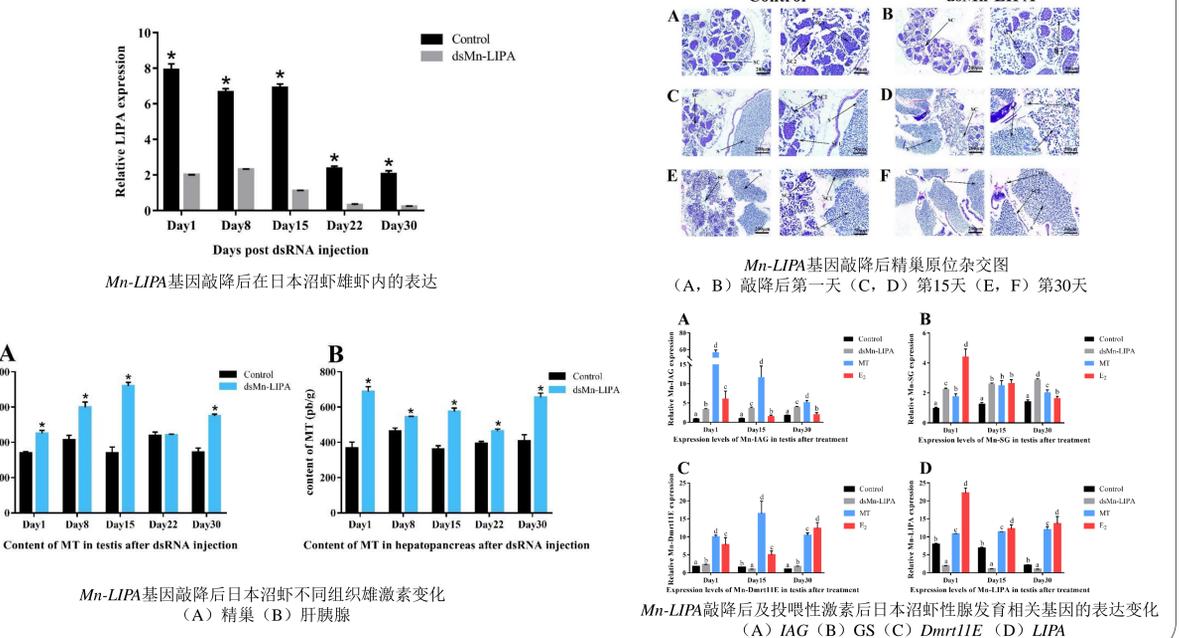
Mn-LIPA基因在日本沼虾中的表达



Mn-LIPA基因敲降对雌、雄日本沼虾幼体的影响



Mn-LIPA基因敲降对雄性日本沼虾成体的影响



研究结论

原位杂交实验显示,在精巢和肝胰腺中存在强烈的*Mn-LIPA*信号,这表明该基因在类固醇合成(如胆固醇、脂肪酸、胆固醇酯和甘油三酯)和精子成熟中有重要作用。

虽然通过RNAi干扰降低*Mn-LIPA*在雌、雄日本沼虾幼体(PL10)中的表达并不能引起该物种的性逆转,但该基因的表达下降对日本沼虾体内相应的性激素浓度产生了影响;该基因虽然不能直接控制性激素的产生,但其可能通过调控水解甘油三酯和胆固醇的过程为性激素的合成与分泌过程提供能量,间接对日本沼虾的雌、雄性腺发育产生影响。

雄性日本沼虾成体(PL30)在*Mn-LIPA*敲降后,雄性特异性基因如胰岛素样雄激素腺激素(*IAG*)、精子明胶酶(*SG*)和单克隆抗体-3相关转录因子(*Dmrt11E*)的表达水平显著提升;在组织学层面上能够观察到*Mn-LIPA*敲降后雄性日本沼虾的精子发育和成熟被明显抑制。

这些研究结果对*Mn-LIPA*在日本沼虾中的后续功能研究打下了基础;对进一步理解甲壳类动物性别分化和性腺发育的机制提供了新的视野;同时也为日本沼虾单性别育种的实现提供了重要的理论依据。