



中华绒螯蟹肌质网钙泵SERCA基因的克隆与功能研究



于俊杰^a, 冯文荣^b, 陈雪^b, 苏胜彦^{ab}, 葛家春^b, 唐永凯^{ab*}

^a南京农业大学, 无锡渔业学院, 无锡 214081;

^b农业和农村部淡水渔业与种质资源利用重点实验室, 中国水产科学院淡水渔业研究中心, 无锡214081

摘要: 钙离子在信号转导中起重要作用, 调节细胞的各种生理功能。钙离子从胞浆到肌浆或内质网腔的主动转运是通过肌质网钙泵(sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase, SERCA)实现的。在本研究中, 我们从中华绒螯蟹的Y器官中克隆了SERCA基因的cDNA全长序列。qPCR分析结果显示, *Es-SERCA*在眼柄、肌肉、鳃、肝胰腺、肠、心脏、Y器官中均有表达, 不同组织中*Es-SERCA*表达的阶段性变化表明*Es-SERCA*在钙稳态中起着重要的调节作用。蜕皮周期中Y器官中*ES-SERCA*的相对表达量与血淋巴中蜕皮激素含量的变化规律相似, 表明钙离子信号刺激Y器官蜕皮激素的合成。本研究为进一步研究中华绒螯蟹蜕皮的分子机制提供了参考。

关键词: 中华绒螯蟹; SERCA; 蜕壳; 钙离子信号

实验方法

RNA的提取

Trizol试剂提取

*Es-SERCA*基因cDNA全长序列的获得

RT-PCR技术和5', 3' RACE PCR技术

qPCR检测

蜕皮激素浓度的检测

ELISA技术

实验结果

1 *Es-SERCA* 基因cDNA全长序列的获得与分析



图1 中华绒螯蟹*Es-SERCA*蛋白质氨基酸序列推导

Fig 1 The complete nucleotide and deduced amino acid sequence of *Es-SERCA*

图2 中华绒螯蟹与其他物种SERCA氨基酸序列比对分析

Fig 2 Alignment of the sequence of SERCA from *E. sinensis* with other SERCAs from other species

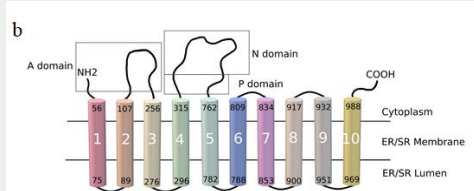
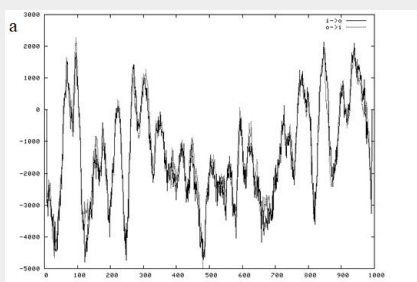


图3 a *ES-SERCA*蛋白的疏水性图谱 b *ES-SERCA*蛋白的跨膜结构域预测
Fig 3 a Hydrophobicity plot of *Es-SERCA* protein. b The predicted transmembrane domine of the *Es-SERCA* protein.

实验结果

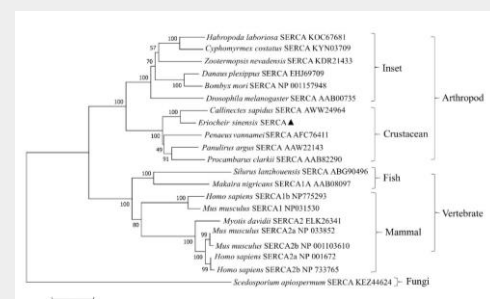


图4 *Es-SERCA*氨基酸序列系统发育树
Fig 4 Phylogenetic analysis of *Es-SERCA* amino acid sequence.

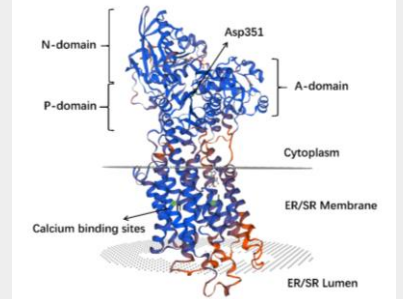


图5 *Es-SERCA*蛋白三级结构预测
Fig 5 Tertiary structure prediction of *Es-SERCA* protein

2 蜕壳间期中*Es-SERCA*基因在不同器官的相对表达

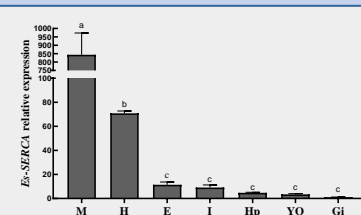


图6 在中华绒螯蟹蜕皮间期组织中*ES-SERCA*的相对表达量。
Fig 6 *Es-SERCA* relative expression in tissues of Chinese mitten crab in the intermolt stage.

3 蜕壳周期中*Es-SERCA*基因在不同器官的表达

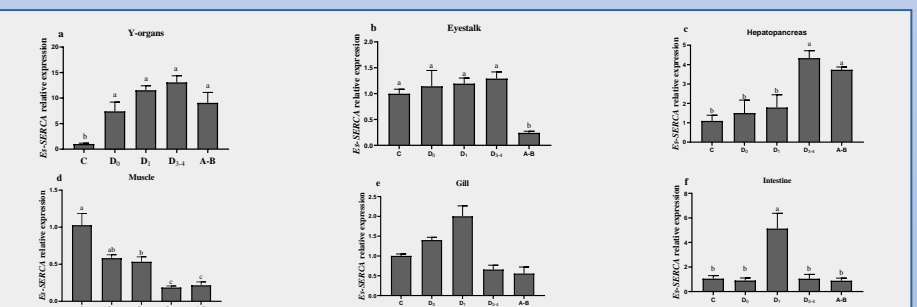


图7 在中华绒螯蟹蜕皮周期中不同组织*Es-SERCA*的相对表达量。
Fig 7 Relative expression of *Es-SERCA* in the tissues of Chinese mitten crab during a natural molting cycle.

4 蜕壳周期中血淋巴内蜕皮激素浓度

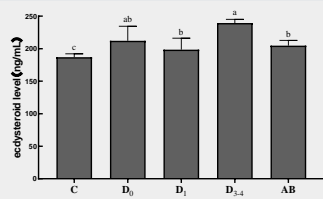


图8 在中华绒螯蟹蜕皮周期中血淋巴内蜕皮激素浓度
Fig 8 Ecdysteroid levels in hemolymph during a natural molting cycle.

讨论

*Es-SERCA*基因的核苷酸和氨基酸序列分析表明, *Es-SERCA*与其他物种的SERCA有较高的同源性。表明SERCA具有进化保守性。

*Es-SERCA*在中华绒螯蟹的神经(眼柄)和非神经(肌肉、鳃、肝胰腺、肠道、心脏和Y器官)组织中广泛分布。在肌肉和心脏的相对表达水平显著高于其他组织, 可能是由于Ca²⁺在启动和维持肌肉收缩和松弛过程中所起的重要作用。

*Es-SERCA*基因在Y器官中相对表达量与血淋巴中蜕皮激素浓度的变化规律相似, 这些结果表明Ca²⁺信号可能促进Y器官产生蜕皮激素。

*Es-SERCA*的相对表达量在蜕皮周期中以不同的模式发生变化, 表明*Es-SERCA*在组织中的动态调节与蜕皮有密切联系。