

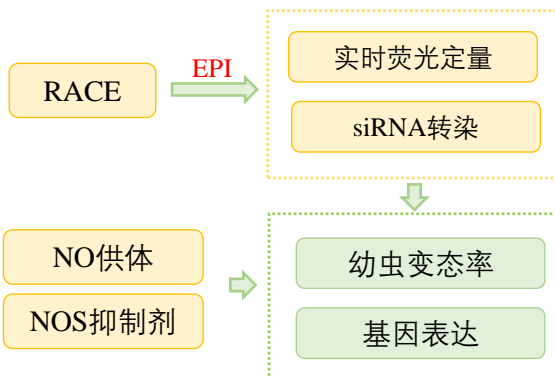
刘志显^{a, b}, 梁邻利^{a, b}, 梁箫^{a, b}, 竹攸汀^{a, b}, 杨金龙^{a, b, c*}

^a国家海洋生物科学国际联合研究中心, 上海海洋大学, 上海, 201306; ^b上海市水产动物良种创制与绿色养殖协同创新中心, 上海, 201306; ^c南方海洋科学与工程广东省实验室(广州), 广东 广州 511458

摘要

为探究细胞凋亡及其效应基因caspase-3在海洋贝类变态中的作用, 本研究通过 RACE 技术克隆并鉴定了厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) caspase-3 家族 3 个基因的 cDNA 全长, 并分别将其命名为 *McCaspase 3-2*、*3-3* 和 *3-4*。利用实时荧光定量 PCR 技术对其在幼虫变态不同时期的潜在功能进行了分析, 并通过抑制剂及 RNA 干扰实验分别验证了 3 个 caspase 基因在变态过程中的作用。结果显示, *McCaspase 3-2* 和 *McCaspase 3-4* 均参与了幼虫的早期变态过程, 但 *McCaspase 3-2* 在其中的作用更强, *McCaspase 3-3* 则几乎不在变态过程中发挥作用。上述研究结果将有助于理解细胞凋亡在厚壳贻贝幼虫变态中的作用以及贝类变态的分子机制。

方法



结果

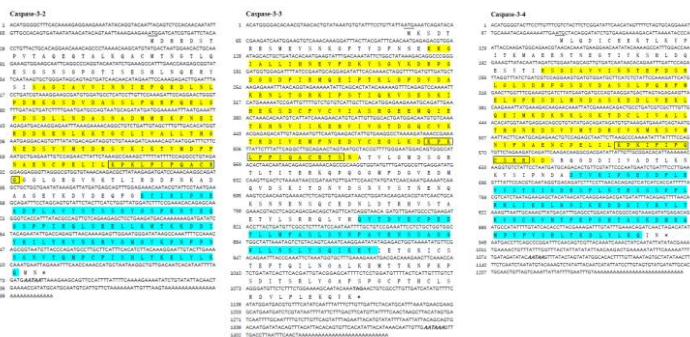


Fig. 1 厚壳贻贝Caspase-3 cDNA全长及氨基酸序列

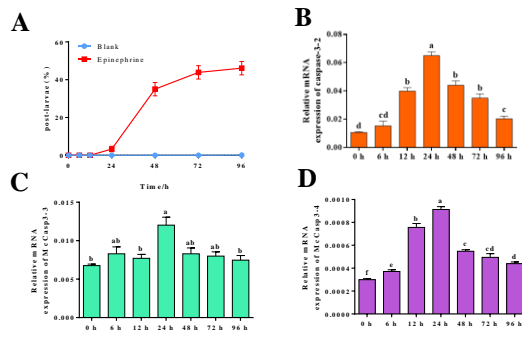


Fig. 2 EPI诱导眼点幼虫后Caspase-3基因表达

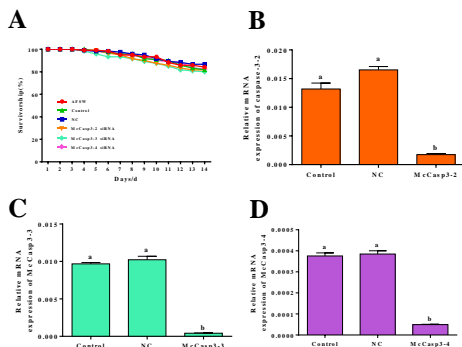


Fig. 3 siRNA 转染后幼虫存活率和基因表达

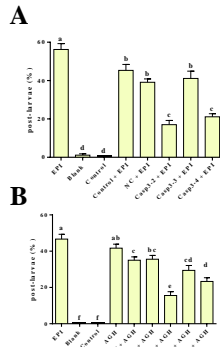


Fig. 4 siRNA 转染后幼虫变态率

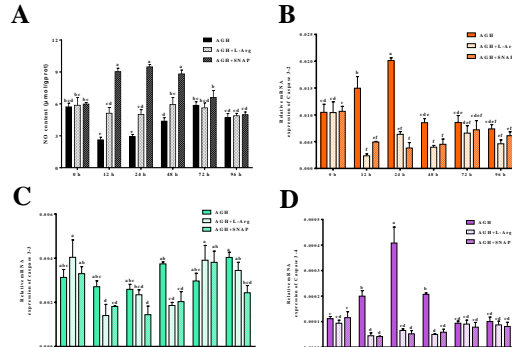


Fig. 5 NOS抑制剂及NO供体刺激眼点幼虫后 NO 含量的变化和 Caspase-3 的基因表达

结论

本研究通过肾上腺素诱导厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 眼点幼虫变态, 荧光定量结果表明Caspase-3可能参与了眼点幼虫的变态; 通过siRNA转染成功敲降了Caspase-3基因的表达, 且干扰Caspase-3后的眼点幼虫变态率显著减少, 较为充分的证明了Caspase-3参与调控眼点幼虫的变态。通过NOS抑制剂AGH及NO供体(L-Arg & SNAP)刺激眼点幼虫, 检测变态过程中 NO 含量的变化和 3 个 Caspase-3 的基因表达情况, 表明一氧化氮调节厚壳贻贝幼虫变态过程中三种 caspase-3 发挥着不可或缺的作用。

基金项目: 国家自然科学基金(32002410); 上海市优秀学术带头人计划(20XD1421800); 南方海洋科学与工程广东省实验室人才团队引进重大专项(GML2019ZD0402); 国家重点研发计划项目(2020YFD0900804); 上海市科技创新行动计划—青年科技英才扬帆计划(19YF1419500)