

草鱼 *gsdf* 基因在精巢的表达特征与分析

杨晓静^{1,2}, 叶欢², 岳华梅², 黄玲², 屈紫玲², 李创举²

1 上海海洋大学 水产与生命学院 上海 201306; 2 中国水产科学研究院 长江水产研究所 湖北 武汉 430023

背景

*gsdf*基因 (gonadal soma derived factor) 为 *TGF-β* 超家族成员, 主要在性腺体细胞中表达, 在鱼类性别决定、分化和生殖细胞的增殖过程中发挥重要的作用。草鱼是我国重要的经济鱼类, 其年产量常居淡水养殖鱼类首位, 雌雄生长具有二态性。本文通过研究 *gsdf*基因在草鱼精巢的表达特征及细胞定位, 为解析其在草鱼性别分化及性腺发育过程中的调控作用奠定基础, 从而加快草鱼单性苗种的培育进程。

结果

1. 草鱼 *Gsdf* 蛋白质多重比对分析

克隆得到了草鱼*gsdf*基因全长cDNA序列, 编码194个氨基酸; 多重序列比对分析表明, 草鱼与异育银鲫序列的一致性最高, 为64.82%。

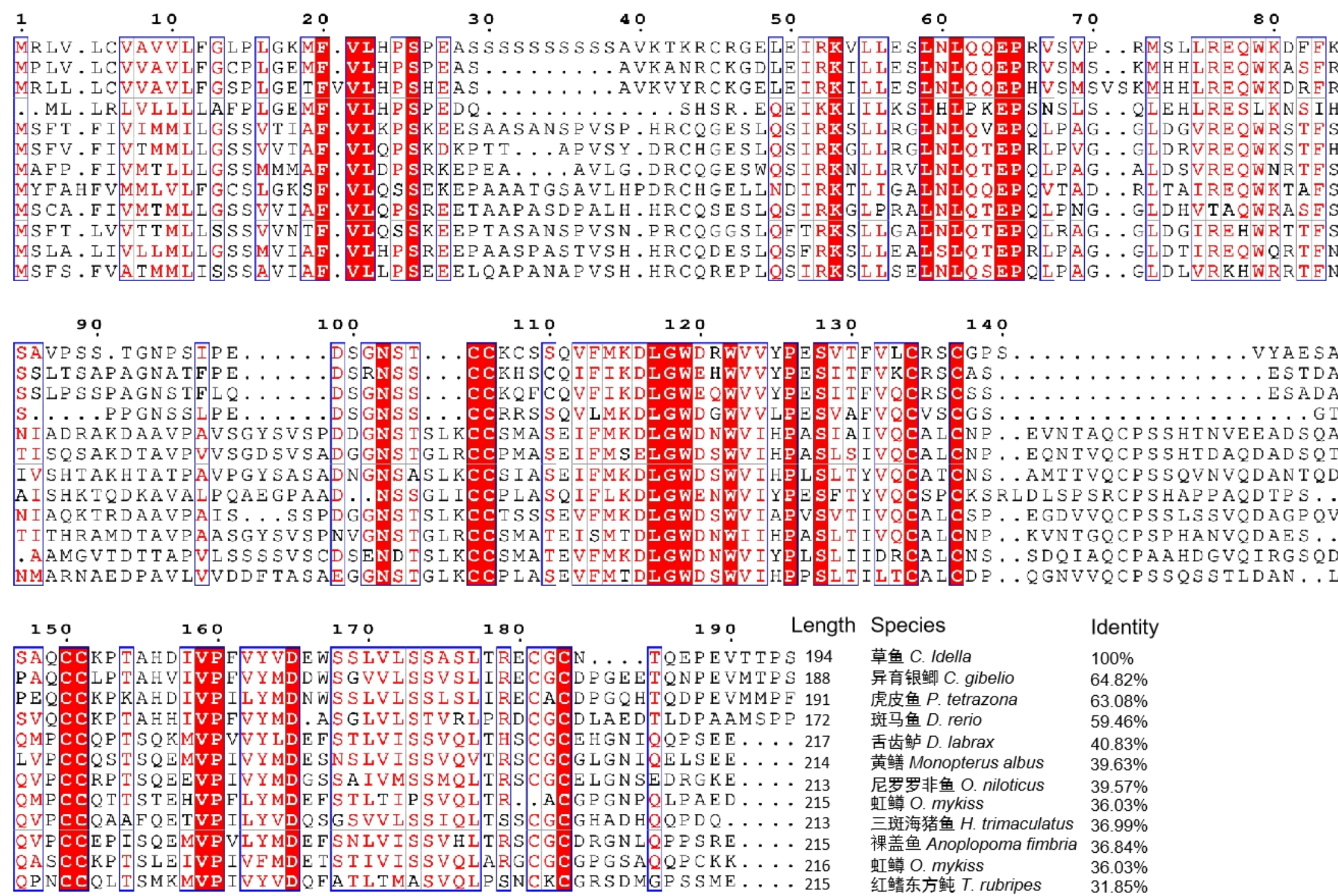


图1 草鱼 *Gsdf* 蛋白序列的多重比对分析

2. 草鱼 *Gsdf* 系统进化分析

利用NJ法进行系统发育分析, 发现鱼类*gsdf*单独聚为一支, 与超家族内的其他成员分开; 草鱼与虎皮鱼的亲缘关系较近, 先聚为一支, 然后再与其他鱼类聚在一类。

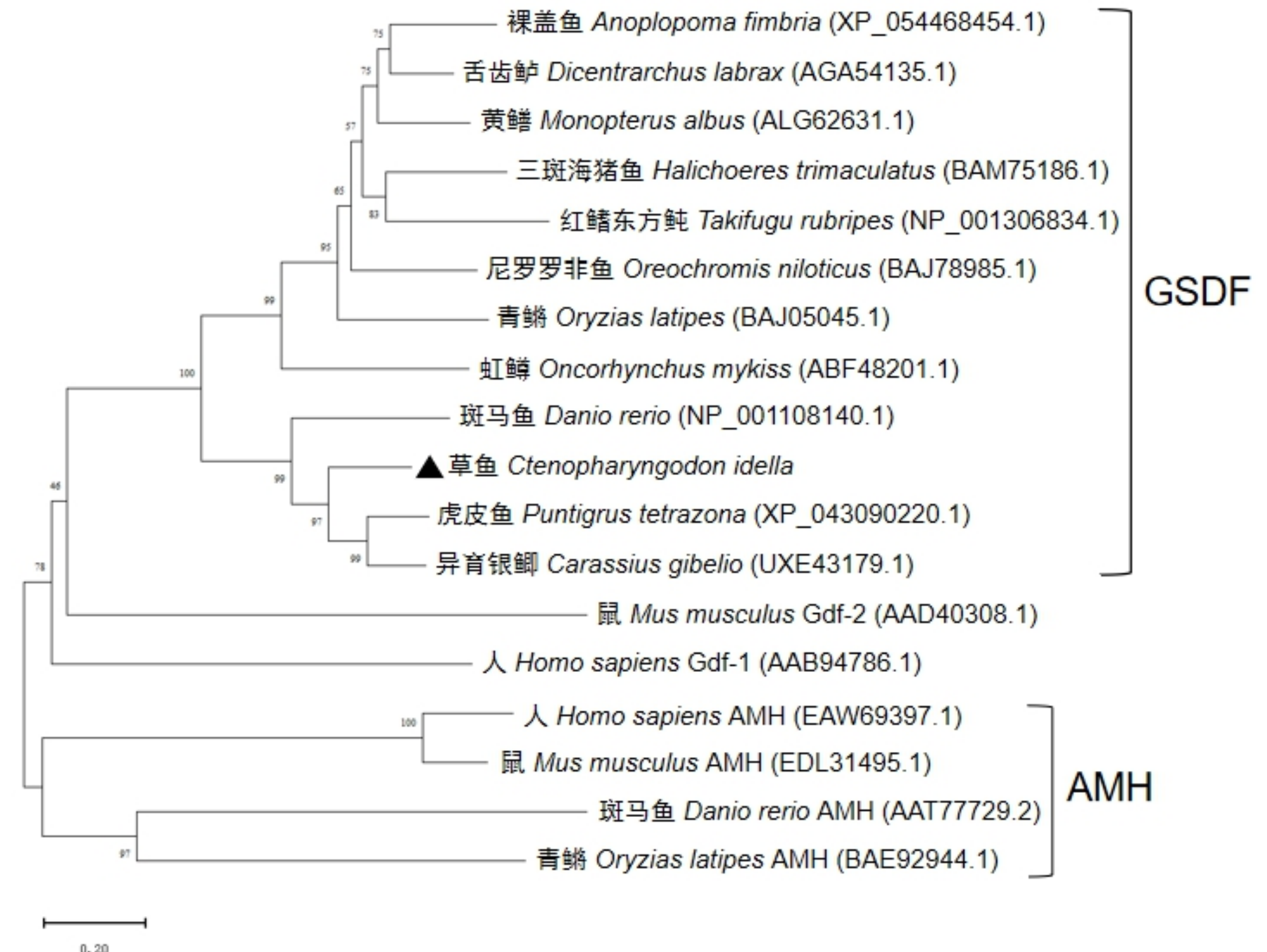


图2 草鱼 *Gsdf* 与 *TGF-β* 超家族成员系统进化分析

3. 草鱼 *gsdf* 基因在不同组织表达特征研究

利用RT-qPCR检测发现, 草鱼*gsdf*基因特异的在性腺表达, 且在精巢的表达量显著高于卵巢 ($p < 0.05$)。

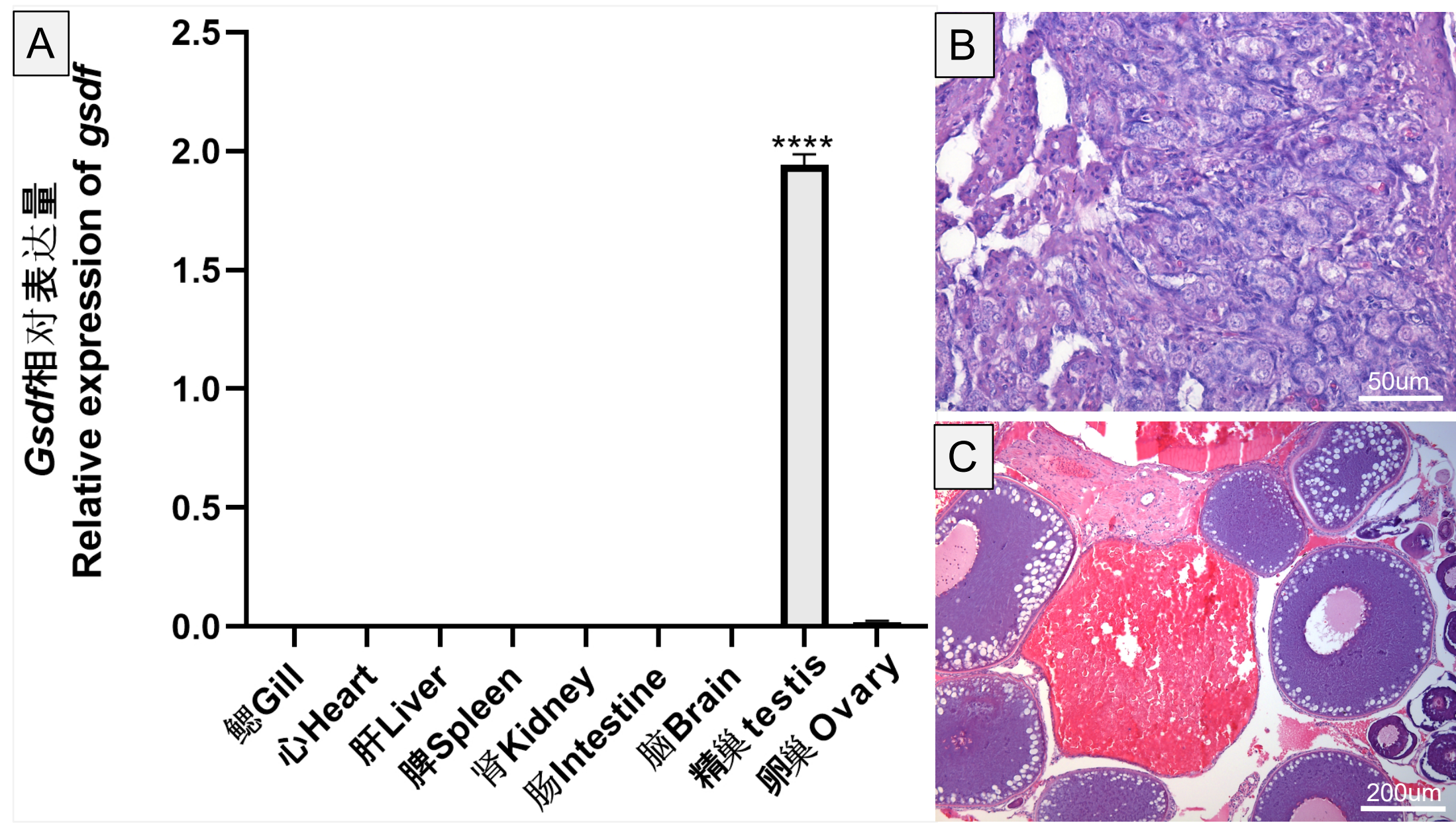


图3 草鱼*gsdf*基因在不同组织的表达特征

A *gsdf*基因定量PCR结果; B 精巢组织结构特征; C 卵巢组织结构特征。

4. 草鱼 *gsdf* 基因在不同发育时期精巢的表达特征研究

RT-qPCR研究结果表明, 草鱼*gsdf*基因在有丝分裂时期的精巢中表达量最高, 随着精子发生的进行, 表达量显著降低 ($p < 0.05$)。

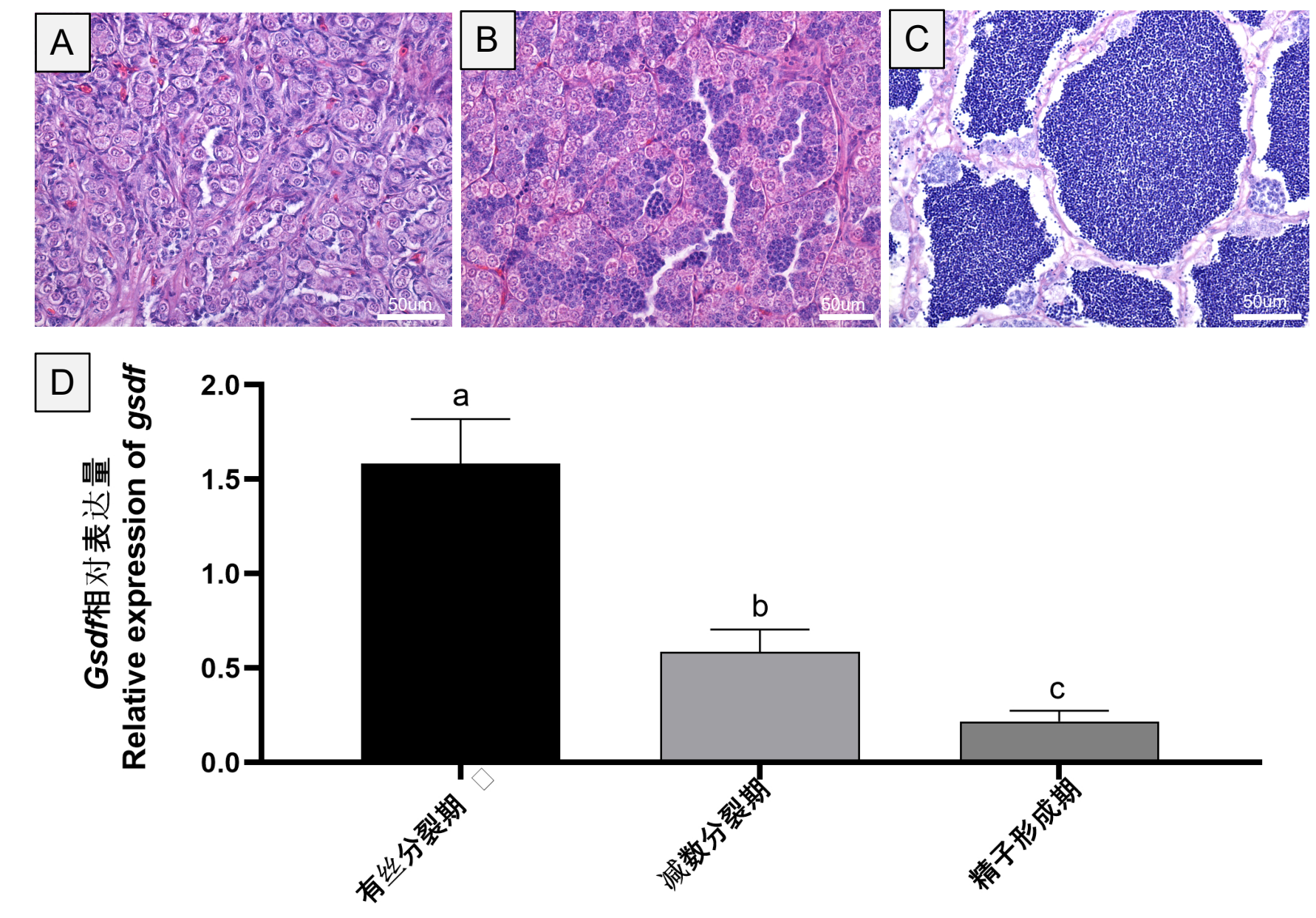


图4 草鱼*gsdf*基因在不同发育时期精巢的表达特征

A 有丝分裂期; B 减数分裂期; C 精子生成期。

5. 草鱼 *gsdf* 基因在精巢细胞的表达定位

利用RNA原位杂交技术研究发现, 草鱼*gsdf*基因在精原细胞周围的支持细胞中特异表达。

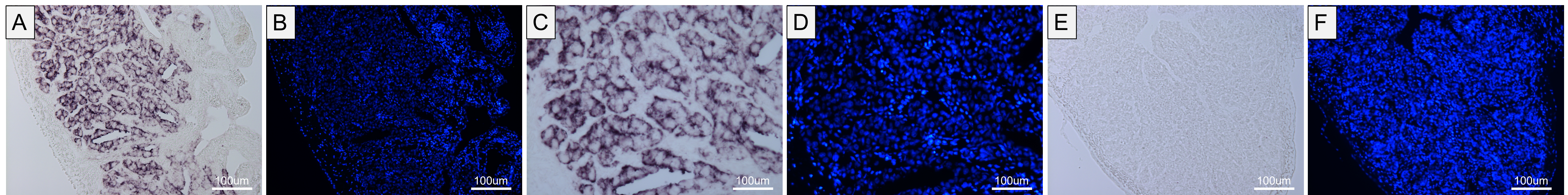


图5 草鱼*gsdf*基因在精巢细胞的表达定位

A和C为*gsdf* mRNA反义探针的信号; E为*gsdf* mRNA正义探针的信号; B、D和F均为DAPI染色。

结论

草鱼*gsdf*基因在性腺中特异表达, 且精巢的表达水平显著高于卵巢; 随着精子发生的进行, *gsdf*基因的表达水平逐渐降低。*gsdf*基因在草鱼精原细胞周围的支持细胞中特异表达, 表明其调控着生殖细胞的发育, 为后续研究其在草鱼性别分化及性腺发育的作用奠定基础。