

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20220413001

http://www.yykxjz.cn/

李雨, 凌乐妍, 金鸿浩, 李哲, 高源, 刘蕃, 罗辉, 叶华. 基于转录组测序技术挖掘长吻鲢生长关键基因. 渔业科学进展, 2023, 44(5): 125–136

LI Y, LING L Y, JIN H H, LI Z, GAO Y, LIU F, LUO H, YE H. Mining of key genes related to growth of Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*) based on transcriptome analysis. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(5): 125–136

基于转录组测序技术挖掘长吻鲢生长关键基因*

李雨 凌乐妍 金鸿浩 李哲 高源 刘蕃 罗辉 叶华^①

(西南大学水产学院 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室 重庆 402460)

摘要 为挖掘我国名优鱼类长吻鲢(*Leiocassis longirostris*)生长相关基因,本研究运用 Illumina 高通量测序技术比较分析了快速生长组[平均体质量为(534.02±53.68) g]和缓慢生长组[平均体质量为(108.41±4.96) g]各9尾长吻鲢的脑组织基因表达谱。测序共获得267 404 674个高质量测序片段(clean reads),通过2种不同生长速率长吻鲢脑组织转录组比较筛选出518个差异表达基因,其中,412个基因表达量上调,106个基因表达量下调。对12个差异表达基因进行实时荧光定量PCR验证的结果与转录组测序结果一致。GO功能分类显示,大量差异表达基因富集到生长(growth)、生长因子活性(growth factor activity)和激素介导的信号通路(hormone-mediated signaling pathway) GO条目中。KEGG富集分析显示,一些差异表达基因在MAPK信号通路(MAPK signaling pathway)、转化生长因子β信号通路(TGF-beta signaling pathway)、钙离子信号通路(calcium signaling pathway)和神经活性配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)等途径中富集。根据GO功能注释和KEGG富集分析,筛选出*gnrh*、*thr*、*egr1*、*fgf18*、*sst*、*gipr*、*cart*和*crf*等基因是调控长吻鲢生长发育的关键候选基因。本研究结果为后续深入研究长吻鲢生长调控机制提供了重要的参考资料。

关键词 长吻鲢; 鱼类生长; 转录组测序; 神经内分泌因子

中图分类号 S917 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2023)05-0125-12

生长是养殖水产动物最具经济价值的性状之一,生长性能高的养殖鱼类往往能在满足人类食物需求的同时带来直接的经济效益。与哺乳动物相似,鱼类生长包括了能量代谢和肌肉生长等多种过程,主要受环境、基因以及基因与环境相互作用的影响,是一个复杂的数量性状(Dai *et al.*, 2015)。目前,研究者们从肌肉生成和肝脏代谢过程的角度出发,已挖掘出多种鱼类的生长相关基因和生长调控机制。如王兰梅等(2021)确定了*mb*、*myl2b*和*tnnl1*等6个基因为福瑞鲤2号(*Cyprinus carpio*)肌肉生长的关键基因;Li等(2022)初步证明禾花鲤(*Cyprinus carpio*)生长差异可

能是由于蛋白质沉积引起肌纤维肥大所致,进而表明了泛素-蛋白酶体途径是影响禾花鲤生长的重要因素;Zhang等(2021)在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)肝脏组织中鉴定出的*ghr*、*igf1*和*igf1r*主要在PI3K-Akt和mTOR信号通路中参与生长调控。然而,下丘脑可直接或间接地对机体生理节律、摄食、繁殖和生长等生命活动进行调控,是代谢过程和内分泌活动的重要神经调节中枢(Piorkowska *et al.*, 2020)。一些神经内分泌因子(GH、GnRH、NPY、THR、CCK和SST等)和神经调控轴也对鱼类的生长调节起着不可或缺的作用(Canosa *et al.*, 2007、2020; Dai *et al.*, 2015;

* 国家自然科学基金(31402302)、重庆市自然科学基金(cstc2021jcyj-msxmX0837)、重庆市水产科技创新重点攻关项目和重庆市大学生创新创业训练计划(S202110635274)共同资助。李雨, E-mail: aliyu0208@163.com

① 通信作者: 叶华, 教授, E-mail: yhlh2000@126.com

收稿日期: 2022-04-13, 收修改稿日期: 2022-06-01

Li *et al.*, 2010; Christian *et al.*, 2007; Peng *et al.*, 1997)。因此,利用脑组织开展鱼类生长的研究有利于分析生长相关的神经内分泌调控网络及关键基因。

转录组测序技术有助于深入探究细胞中基因的转录和转录调控。近年来,转录组学技术已广泛应用于水产动物免疫应答(Xue *et al.*, 2021)、生长发育(Liu *et al.*, 2020)、生物进化(Schunter *et al.*, 2014)和环境适应(Yao *et al.*, 2021)等方面的研究,有效地进行了功能基因挖掘、特异性状主效基因搜索和基因表达调控等研究(Ye *et al.*, 2018; 罗辉等, 2015)。转录组测序技术的运用在很大程度上满足了水产动物生长发育相关功能基因和调节机制研究的需要,已在多种鱼类中确定了与生长相关的候选基因及其表达模式(王兰梅等, 2021; Lu *et al.*, 2020; Tian *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2019)。

长吻鲢(*Leiocassis longirostris*)是我国名贵淡水经济鱼类之一,曾广泛分布于辽河、黄河、淮河、长江、珠江和岷江(Xiao *et al.*, 2009)。因其肉质鲜美、口感爽滑、无肌间刺、含肉率高,且肌肉中粗蛋白和鲜味氨基酸总量高于青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、草鱼和鳊鱼(*Aristichthys nobilis*)等常见食用鱼类,而深受广大消费者的喜爱(张升利等, 2013)。2020年我国长吻鲢年产量接近 2.12 万 t (农业农村部渔业渔政管理局等, 2021),在名优经济鱼类养殖中占有重要地位。目前,关于长吻鲢的报道多见于对养殖环境条件的免疫应答(Han *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2009; Han *et al.*, 2005)和营养与饲料等方面(Su *et al.*, 2020; Pei *et al.*, 2015; Dong *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2005),其生长相关的关键基因未见报道,生长的分子调控机制尚不清晰。本课题组近两年在长吻鲢染色体水平基因组组装(He *et al.*, 2021)、生长相关 SNP 标记开发(Zhao *et al.*, 2020)以及形态性状与体质量的关系(李哲等, 2021)方面做了大量工作。在此基础上,本研究拟采用高通量测序技术对生长速率呈现极端差异的长吻鲢个体脑组织转录组进行比较分析,旨在筛选出与长吻鲢生长相关的候选基因,以期为长吻鲢生长性状改良以及后续基因的功能研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼与样品采集

实验用长吻鲢采自四川省农科院水产研究所宜宾基地。随机选取 200 尾 30 月龄同一批次繁殖、同一个池塘养殖的长吻鲢,依次用低剂量 MS-222 麻醉后,称量体重并记录数据。根据体质量选取其中 9 尾极大个体作为快速生长组(fast-growing, FG), 9 尾极

小个体作为缓慢生长组(slow-growing, SG)(表 1)。解剖判定性别后,快速分离出脑组织,充分浸泡于 Sample Protector for RNA/DNA (TaKaRa)中,过夜后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

表 1 长吻鲢体质量测定结果(g, 平均值±标准差)
Tab.1 Body mass of *L. longirostris* (g, Mean±SD)

| 项目 Items | 雌性 Female | 雄性 Male | 均值 Mean |
|-------------|---------------|---------------|--------------|
| 快长组 FG | 534.38±64.98 | 515.30±21.57 | 534.02±53.68 |
| 慢长组 SG | 105.72±4.75 | 111.78±2.88 | 108.41±4.96 |
| 均值 Mean | 344.44±233.16 | 284.71±216.06 | |

1.2 长吻鲢脑组织总 RNA 提取

参照 TRIzol 试剂(Invitrogen, 美国)的操作说明提取 18 尾长吻鲢脑组织的总 RNA,并用 DNase I (TaKaRa)去除总 RNA 中的基因组 DNA。使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测 RNA 完整性及总量, Qubit[®] 2.0 Fluorometer (Life Technologies, 美国)测定总 RNA 浓度。所提取的总 RNA 一部分用于转录组测序,另一部分用于后续实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)验证。

1.3 cDNA 文库构建与测序

分别从 2 个组中随机选择 3 个个体 RNA 等量混合,通过带有 Oligo (dT)的磁珠富集 mRNA 后,用 Fragmentation Buffer 将 mRNA 随机打断,再以片段化的 mRNA 为模板合成 cDNA 第一链和第二链。合成的双链 cDNA 经纯化后,先进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头,再用 AMPure XP beads 筛选 370~420 bp 左右的 cDNA 片段进行 PCR 扩增并纯化扩增产物,最终构建长吻鲢 FG 组和 SG 组脑组织文库各 3 个,标记为 FG1、FG2、FG3 和 SG1、SG2、SG3。质检合格的文库最终进行 Illumina NovaSeq 6000 上机测序,测序读长为双端 150 bp。文库构建和转录组测序工作均由诺禾致源生物信息科技有限公司(天津)完成。

1.4 转录组测序质量控制

测序获得的原始数据(raw reads)中包含少量带有接头或测序质量较低的 reads,为保证转录组分析质量及有效性,需对原始数据进行过滤。具体包括:剔除由于测序仪器误差和人为因素导致的低质量 reads ($Q_{\text{Phred}} \leq 20$ 的碱基数占整个 read 长度的 50%以上);去除含 N (无法确定碱基信息)比率超过 10%的 reads;识别并切除带有接头序列的 reads。

1.5 基因功能注释和基因差异表达分析

使用 HISAT2(v2.0.5)软件将 clean reads 与长吻鮠参考基因组(He *et al*, 2021)进行比对, 以获取 reads 在参考基因组上的定位信息。根据 FPKM (fragments per kilobase of exon model per million mapped reads) 值估计 FG 组和 SG 组的基因表达量。利用 DEGseq2 (v1.20.0)软件进行 FG 组和 SG 组之间的差异表达分析, 差异基因筛选阈值为 $P < 0.05$ 且 $|\log_2(\text{fold change})| > 1$ 。通过 clusterProfiler (v3.4.4)软件实现差异表达基因的 GO 功能注释和 KEGG 富集分析。

1.6 qRT-PCR 验证

选取 12 个差异倍数较大的差异表达基因进行 qRT-PCR, 验证测序结果的准确度, 相关引物见表 2。参照 PrimeScript™ RT-PCR (TaKaRa)试剂盒说明书进

行逆转录, 获得对应 cDNA, 以 β -actin 为内参基因, 在 ABI QuantStudio 3 Real-Time PCR 系统上进行, 每个样品的技术重复均为 3。反应体系为 10 μ L: 5 μ L 2 \times TB Green Premix Ex Taq II (TaKaRa), 0.2 μ L ROX Reference Dye II (50 \times), 3 μ L 灭菌水, 1 μ L cDNA 模板和上下游引物各 0.4 μ L (10 μ mol/L)。反应条件: 预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s。

1.7 数据统计及分析

体质量测定数据均以平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示, 并采用 SPSS 26.0 软件进行独立样本 T 检验, $P < 0.05$ 表示差异极显著。qRT-PCR 验证数据以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量, 并采用 SPSS 26.0 软件对结果进行统计分析。

表 2 验证所用引物信息
Tab.2 The information of primers used for validation

| 基因 ID Gene ID | 基因名称 Primer name | $\log_2(\text{FG}/\text{SG})$ | 引物序列 Primer sequence (5'~3') |
|--------------------|--|-------------------------------|--|
| Llo_GLEAN_10001713 | 内参基因(β -actin) Beta-actin | -0.012 | F: GAATCCCAAAGCCAACAG R: CAGAGCGTAACCCCTCGTAG |
| Llo_GLEAN_10019213 | 脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白基因(<i>afabp</i>) Adipocyte-type fatty acid-binding protein | 4.703 | F: ATTTAGCCAAGCCAAGTCT R: TTACCATCCACCAGTTTCA |
| Llo_GLEAN_10007485 | 同源异型盒蛋白基因(<i>msx2</i>) Homeobox protein MSX-2 | 4.469 | F: GCAAGGTATGAGCACGGAGTT R: TGGAGCAGACGGCTGGTAT |
| Llo_GLEAN_10010013 | 成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 基因(<i>fgfbp1</i>) Fibroblast growth factor binding protein 1 | 4.563 | F: GGCATCACCTGATTCTT R: GTGCTGCTGGATTGGA |
| Llo_GLEAN_10007293 | 成纤维细胞生长因子 18 基因(<i>fgf18</i>) Fibroblast growth factor 18-like | 4.337 | F: CGCCACGGGAGAAGATG R: GGCTTTCCTGCCAACCA |
| Llo_GLEAN_10023206 | 小脑肽 2 基因(<i>cbln2</i>) Cerebellin-2-like | -3.539 | F: AACCGACAGACCATCCA R: GTTACTTGCCGCTCAC |
| Llo_GLEAN_10012820 | 含 DEP 结构域的蛋白 7 基因(<i>depdc7</i>) DEP domain containing 7 | -3.866 | F: CAAACACCTCGCCAGTC R: AATCTCATCCACCAACTCTT |
| Llo_GLEAN_10013292 | 神经胶质蛋白基因(<i>gldn</i>) Gliomedin | -4.576 | F: ACGAGAACATCATGGTGGCG R: CCTGCTTTGCTCTTCGGGTA |
| Llo_GLEAN_10008392 | 转录中介复合物亚基 31 基因(<i>med31</i>) Mediator complex subunit 31 | -4.242 | F: AGAGGCTACCTACGAGAAA R: TCATCTATAAACTTGGCACA |
| Llo_GLEAN_10001361 | NADH 泛醌氧化还原酶亚基 10 基因(<i>ndufa10</i>) NADH: Ubiquinone oxidoreductase subunit A10 | -4.592 | F: TTTCAGCGATGTGGTGT R: CCTTTCAGATGCCTTG |
| Llo_GLEAN_10009731 | 生长激素抑制基因(<i>sst</i>) Somatostatin | -7.343 | F: GAGTCGGAGTTTCAGGAGA R: GAGGTGGAAGGATGTTGG |
| Llo_GLEAN_10018348 | 叉头框转录因子 D3 基因(<i>foxd3</i>) Forkhead box D3 | -4.999 | F: AACTCCATCCGCCACAA R: GGGTCCAGCGTCCAGTA |
| Llo_GLEAN_10022216 | 可卡因-安非他明调节转录肽基因(<i>cart</i>) Cocaine- and amphetamine- regulated transcript protein | -4.575 | F: GGCACAGGAGGAAAGAG R: TCTCAGCGGATGGACTT |

注: FG: 快长组; SG: 缓长组。

Note: FG: Fast-growing group; SG: Slow-growing group.

2 结果

2.1 长吻鲩体质量测定结果

所选 18 尾长吻鲩中, FG 组包含 6 尾雌性个体和 3 尾雄性个体, SG 组包含 5 尾雄性个体和 4 尾雌性个体。实验鱼体质量数据的独立样本 *T* 检验结果表明, 雄性长吻鲩和雌性长吻鲩体质量的平均值无显著差异, 且同一生长速率组中, 雌、雄个体体质量平均值无显著差异; FG 组和 SG 组各 9 尾长吻鲩体质量的平均值差异显著($P < 0.05$) (表 1)。

2.2 转录组测序结果

经转录组测序获得的 FG 和 SG 文库的 raw reads 分别为 134 682 652 和 137 487 704。质控后获得的 clean reads 分别为 132 315 488 和 135 089 186。碱基质量及组成分析显示, 各组 GC 含量区间为 45.04%~45.64%, 各样品 Q30 的碱基质量值比例均大于 92% (表 3), 表明转录组测序数据质量高, 可以用于后续分析。长吻鲩 FG 和 SG 组脑组织的转录组测序结果已提交至 NCBI 的 SRA 数据库(PRJNA833735)。

2.3 差异表达基因统计及表达模式分析

基于表达量指标 FPKM, 以 $P < 0.05$ 、 $|\log_2(\text{fold change})| > 1$ 为阈值, 对同一基因在 FG 组和 SG 组中的表达进行统计分析。与 SG 组相比, FG 组中有 412 个基因表达量上调, 106 个基因表达量下调(图 1)。进一步对 FG 组和 SG 组间的 518 条差异基因进行层次聚类(hierarchical clustering)分析(图 2)。聚类结果显示, 这些差异基因在 2 个比较组间的表达模式相差较大, 而在组内不同样品间的表达模式比较相似。

2.4 差异表达基因的 GO 功能分类和 KEGG 富集分析

通过 clusterProfiler (v3.8.1)软件对差异表达基因进行 GO 和 KEGG 富集分析, 在 GO 功能分类体系中, 518 条差异表达基因共获得 463 个 GO 功能注释。其中, 生物学过程类别(biological process, BP) 215 个, 细胞组分(cell composition, CC) 51 个, 分子功能类别(molecular function, MF) 197 个。由前 30 个显著富集的 GO terms 可见, 在生物学过程类型中, 大量上调基因富集到免疫反应(immune response)、免疫系统过程(immune system process)和细胞死亡(cell death)等; 细胞组分类别中, 质膜部分(plasma membrane part)、细胞质膜(plasma membrane)和质膜蛋白复合物(plasma membrane protein complex)富集到的差异表达基因最多; 涉及到分子功能的差异表达基因主要参与的生命过程有四吡咯结合(tetrapyrrole binding)、血红素结合(heme binding)以及辅因子结合(cofactor binding)等(图 3)。此外, 有部分差异表达基因在生长(growth)、生长因子活性(growth factor activity)和激素介导的信号通路(hormone-mediated signaling pathway) GO terms 中富集。

差异基因 KEGG 富集分析结果显示, 长吻鲩脑组织的差异表达基因富集到 82 条特定的代谢通路, 其中, 发生显著富集的 KEGG 通路有细胞因子与细胞因子受体相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)、产生 IgA 的肠道免疫网络(intestinal immune network for IgA production)、吞噬体(phagosome)、C 型凝集素受体信号通路(C-type lectin receptor signaling pathway)和细胞粘附分子(cell adhesion molecules)(图 4)。此外, 分别有 17、21、16 和 7 个差异表达基因在丝裂原活化

表 3 RNA-Seq 数据统计
Tab.3 Summary of RNA-Seq data

| 样本 Sample | 快速生长组 1 | 快速生长组 2 | 快速生长组 3 | 缓慢生长组 1 | 缓慢生长组 2 | 缓慢生长组 3 |
|---|------------------------|------------|------------|------------------------|------------|------------|
| | FG1 | FG2 | FG3 | SG1 | SG2 | SG3 |
| 原始数据 Raw reads | 46 373 260 | 42 249 428 | 46 059 964 | 48 830 808 | 47 627 744 | 41 029 152 |
| 质控数据 Clean reads | 45 530 416 | 41 536 800 | 45 248 272 | 48 096 834 | 46 631 078 | 40 361 274 |
| 质控碱基 Clean bases/GB | 6.83 | 6.23 | 6.79 | 7.21 | 6.99 | 6.05 |
| 错误率 Error rate/% | 0.03 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.03 | 0.03 |
| GC 含量 GC content/% | 45.39 | 45.04 | 45.64 | 45.46 | 45.09 | 45.42 |
| 测序质量值大于 30 的碱基比例 Q30/% | 93.89 | 93.97 | 92.71 | 96.04 | 93.91 | 93.88 |
| 原始数据总和/平均值 Total/Average raw reads | 134 682 652/44 894 217 | | | 137 487 704/45 829 235 | | |
| 质控数据总和/平均值 Total/Average clean reads | 132 315 488/44 105 163 | | | 135 089 186/45 029 729 | | |

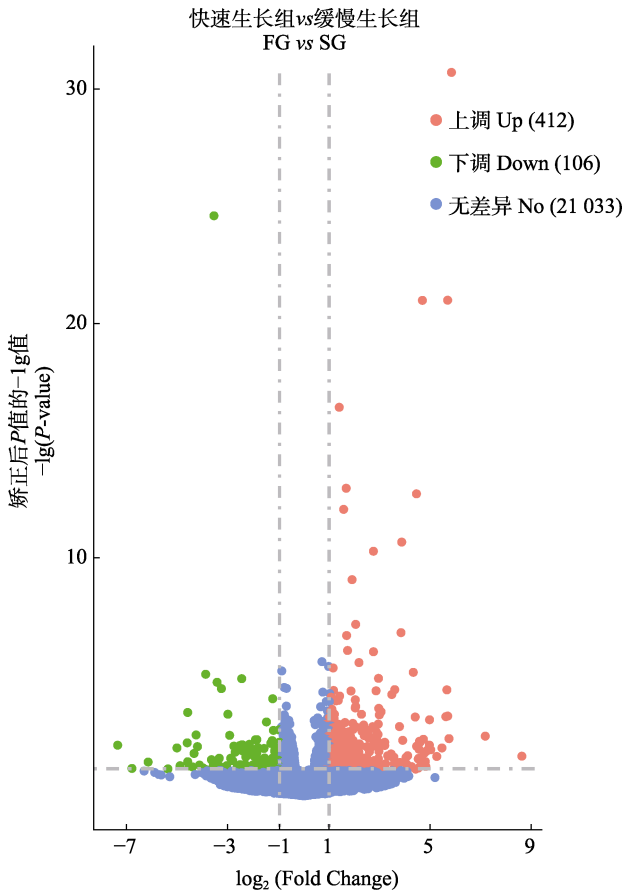


图 1 长吻鲩脑组织差异表达基因火山图

Fig.1 Volcano plot of *L. longirostris* brain transcriptome differentially expressed genes

蛋白激酶信号通路(MAPK signaling pathway)、神经活性配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)、钙信号通路(calcium signaling pathway)和 TGF- β (TGF-beta signaling pathway)途径中富集。

参考脊椎动物生长信号通路调控模式和差异基因的功能,并根据差异表达基因的 GO 功能分类和 KEGG 富集分析,在相应的调控通路中初步筛选出 19 个与长吻鲩生长相关的基因(图 5)。其中,参与神经活性配体-受体相互作用信号通路的有胃抑制多肽受体基因(*gipr*)、可卡因-安非他明调节转录肽(*cart*)和生长激素释放抑制激素(*sst*)等 8 个基因。参与丝裂原活化蛋白激酶信号通路的有成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 (*fgfbp1*)、成纤维细胞生长因子 18 (*fgf18*)和 E3 泛素连接酶 TRIM25 等 6 个基因。参与 TGF- β 信号通路的有骨形态发生蛋白 1 (*bmp1*)、骨形态发生蛋白 4 (*bmp4*)和肌肉生长抑素(*mstn*)等 4 个基因。另外,促性腺激素释放激素受体(*gnrhr*)除了在促性腺激素释放激素信号通路(GnRH signaling pathway)发挥作用外,还参与到神经活性配体-受体相互作用信号通路。

2.5 qRT-PCR 结果

用于 qRT-PCR 验证的差异表达基因包括 4 个上调基因:脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白、同源异型盒蛋白、成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 和成纤维细胞生长因子 18; 8 个下调基因:小脑肽 2、含 DEP 结构域的蛋白 7、神经胶质蛋白、转录中介复合物亚基 31、NADH 泛醌氧化还原酶亚基 10、生长激素抑制素、叉头框转录因子 D3 以及可卡因-安非他明调节转录肽。qRT-PCR 验证结果显示,这 12 个差异表达基因的表达趋势与转录组测序结果基本一致(图 6),说明 RNA-Seq 分析结果可信。

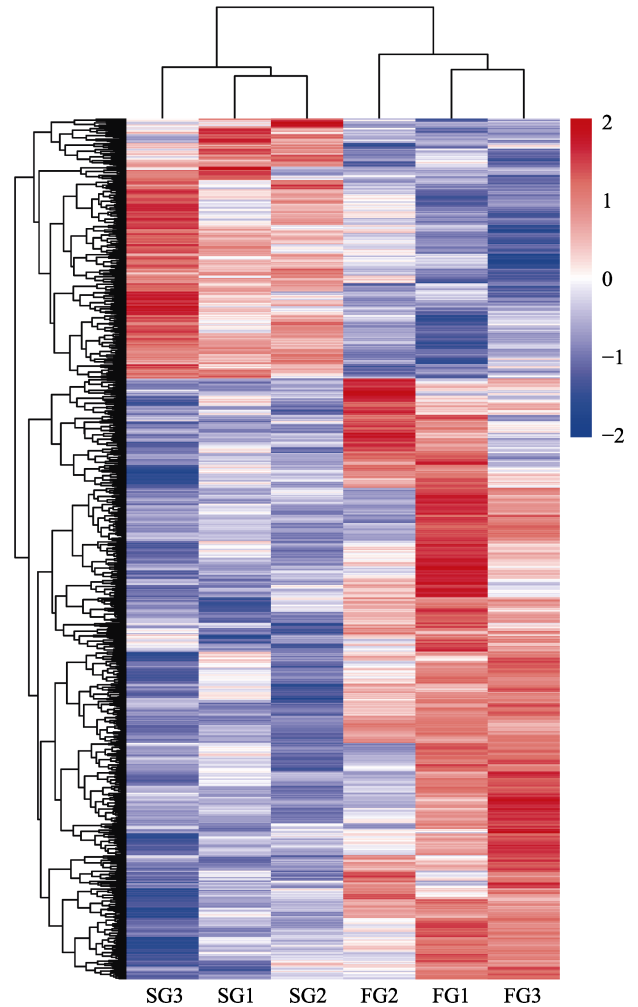


图 2 差异表达基因聚类热图

Fig.2 Heat-map of differentially expressed genes

图中每行代表一个基因,每列代表一个样品;不同颜色区域分别代表不同的聚类分组信息,颜色由红到蓝表示差异表达基因的表达量由高到低。

In the heat-map, each row represents one gene and each column represents one sample; Different color areas represent different clustering information, the color from red to blue represents the expression intensity of differentially expressed genes from high to low.

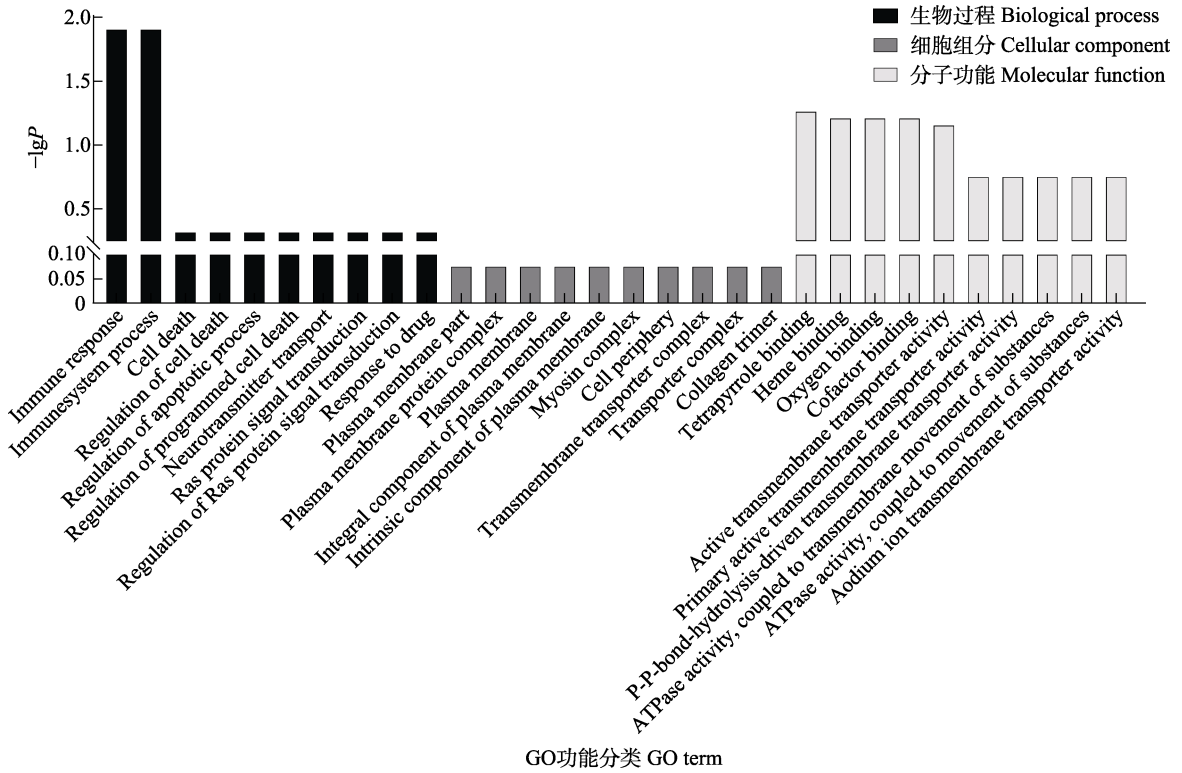


图 3 长吻鲩脑组织差异表达基因 GO 富集分析
Fig.3 Gene ontology assignment of differentially expressed genes of *L. longirostris*

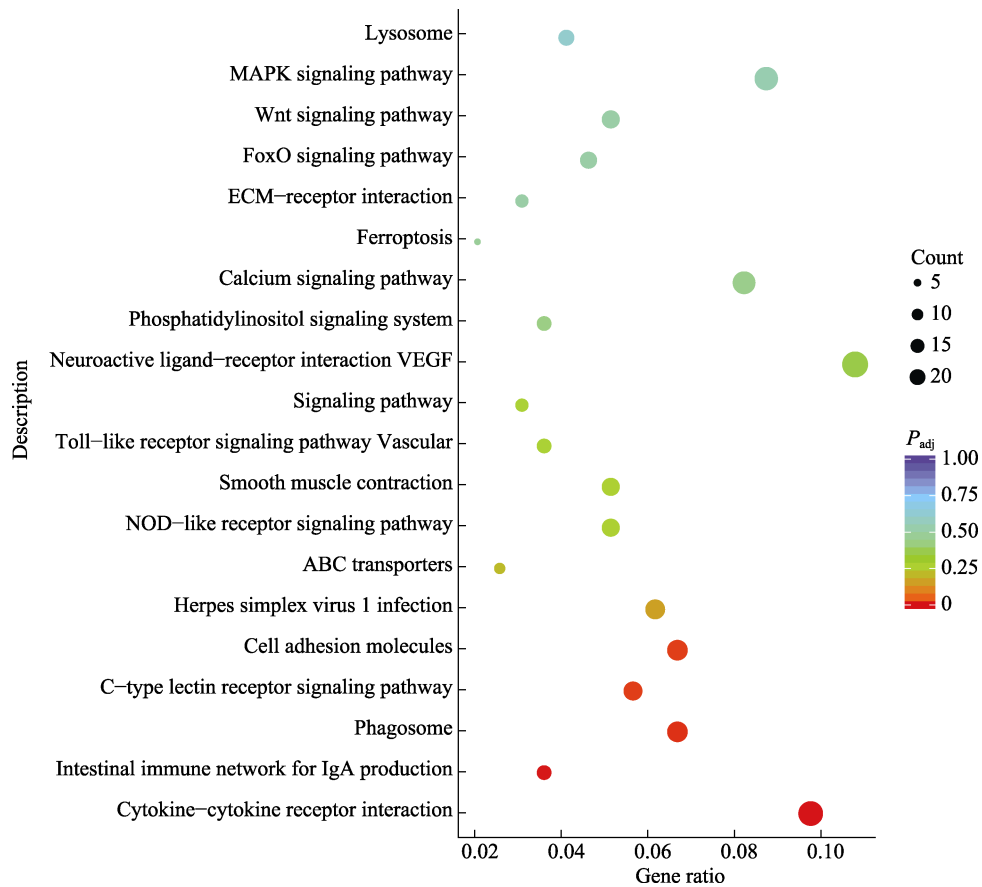


图 4 长吻鲩脑组织差异表达基因 KEGG 通路图
Fig.4 KEGG pathway of differentially expressed genes of *L. longirostris*

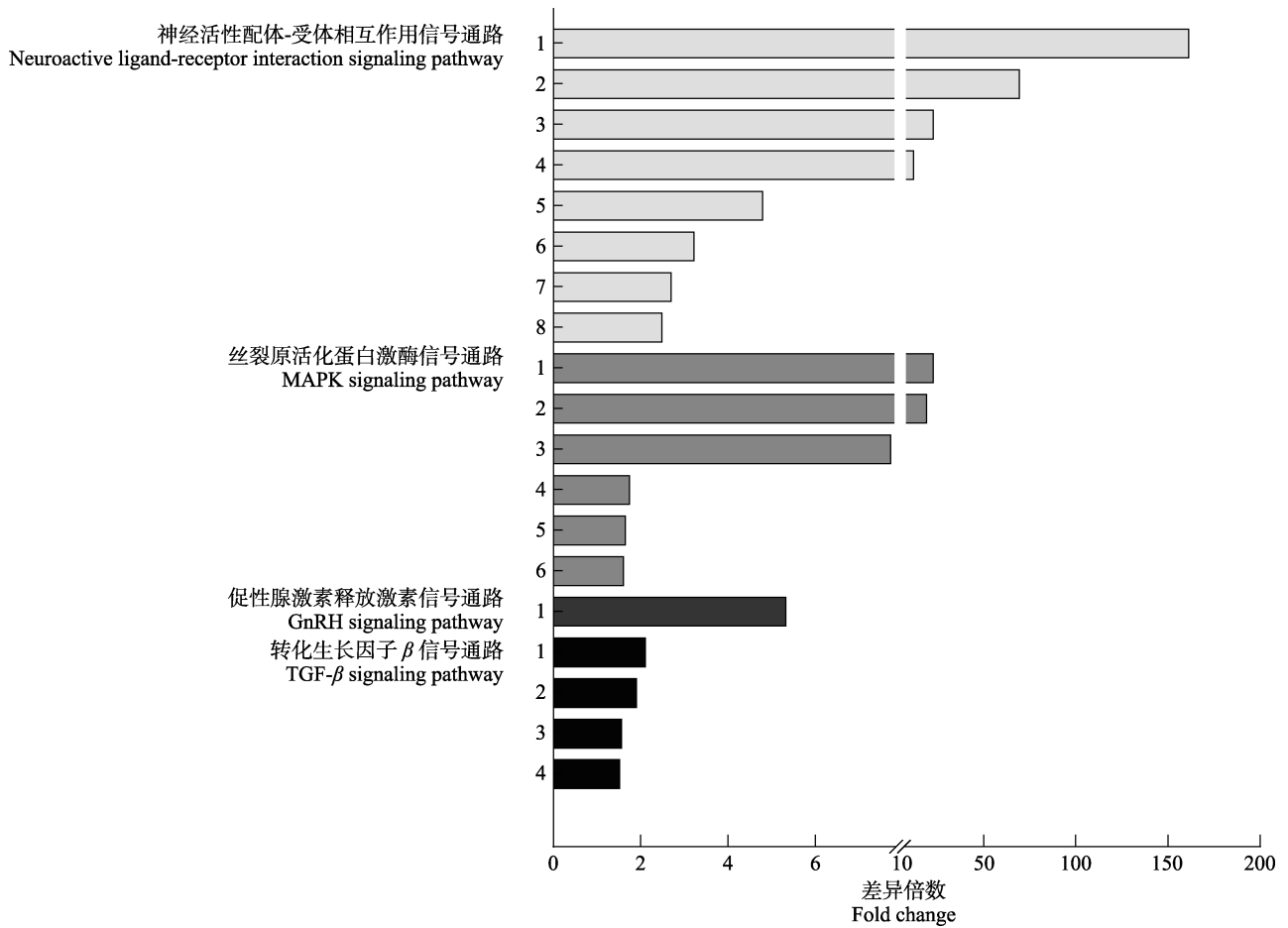


图 5 筛选到的长吻鮠生长相关基因

Fig.5 Screening of genes related to growth of *L. longirostris*

x 轴表示差异表达基因的差异倍数, y 轴表示 4 个通路上的生长相关基因。其中, 神经活性配体-受体相互作用信号通路: 1. 生长激素释放抑制激素基因(*sst*); 2. 催乳素基因(*prl*); 3. 可卡因-安非他明调节转录肽基因(*cart*); 4. 胃抑制多肽受体基因(*gipr*); 5. 生长抑素和血管紧张素样肽受体基因; 6. 促肾上腺皮质激素释放激素基因(*crf*); 7. 5-羟色氨受体基因(*5-htr*); 8. 促甲状腺激素释放激素受体基因(*trhr*)。丝裂原活化蛋白激酶信号通路: 1. 成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 基因(*fgfbp1*); 2. 成纤维细胞生长因子 18 基因(*fgf18*); 3. E3 泛素连接酶 TRIM25 基因; 4. 促血管生成素 2 基因(*ang2*); 5. 胰岛素样生长因子 II 基因(*igf II*); 6. 促红细胞生成素产生肝细胞配体 A1 基因(*ephrin-a1*)。促性腺激素释放激素信号通路: 1. 促性腺激素释放激素受体基因(*gnrhr*)。转化生长因子 β 信号通路: 1. 骨形态发生蛋白 1 基因(*bmp1*); 2. 骨形态发生蛋白 4 基因(*bmp4*); 3. 肌肉生长抑素基因(*mstn*); 4. Persephin 基因(*pspn*)。

The x-axis represents the fold change of the differentially expressed genes, and the y-axis represents the growth-related genes of four pathways. For neuroactive ligand-receptor interaction signaling pathway: 1. Somatostatin (*sst*); 2. Prolactin (*prl*); 3. Cocaine- and amphetamine- regulated transcript protein (*cart*); 4. Gastric inhibitory polypeptide receptor (*gipr*); 5. Somatostatin- and angiotensin-like peptide receptor; 6. Corticotropin-releasing factor (*crf*); 7. 5-hydroxytryptamine receptor (*5-htr*); 8. Thyrotropin-releasing hormone receptor (*trhr*). For MAPK signaling pathway: 1. Fibroblast growth factor binding protein 1 (*fgfbp1*); 2. Fibroblast growth factor 18 (*fgf18*); 3. E3 ubiquitin/ISG15 ligase TRIM25; 4. Angiopoietin-2 (*ang2*); 5. Insulin-like growth factor II (*igf II*); 6. Ephrin-A1 (*ephrin-a1*). For GnRH signaling pathway: 1. Gonadotropin-releasing hormone receptor (*gnrhr*). For TGF- β signaling pathway: 1. Bone morphogenetic protein 1 (*bmp1*); 2. Bone morphogenetic protein 4 (*bmp4*); 3. Myostatin (*mstn*); 4. Persephin (*pspn*).

3 讨论

目前, 运用转录组测序技术对水产动物生长发育进行的研究主要是针对肌肉生成和肝脏代谢过程。如 Zhang 等(2020)和 Lu 等(2020)分别构建了不同生长速

率的青鱼和草鱼的肝脏以及肌肉转录组文库, 筛选了几个与生长发育相关的关键基因和代谢途径; 而对鱼类脑组织进行的转录组分析主要为了探究脑组织基因表达与生殖发育(Cardoso *et al*, 2018; Saaristo *et al*, 2017; Partridge *et al*, 2016)、生物学特性(Vu *et al*, 2021;

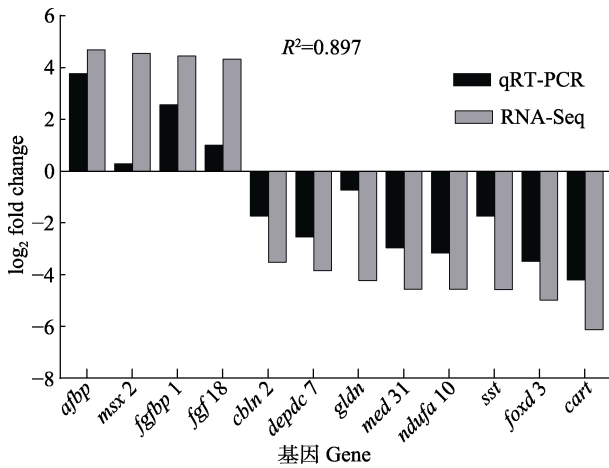


图6 差异表达基因的转录组测序和 qRT-PCR 比较 (β -actin 为内参基因)

Fig.6 Comparison of differentially expressed genes by RNA-Seq and qRT-PCR (β -actin was used as an internal gene)

Wei *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2020)以及环境适应能力 (Bao *et al.*, 2021; Feng *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020)的关系。鱼体的正常生理活动和生化过程是在神经系统的主导下实现的。脑作为中枢神经系统的重要组成部分,对神经内分泌轴上生长相关激素的合成和分泌具有不可替代的调控作用。除此之外,鱼类的生长涉及到复杂的调控网络,生长轴上的基因在调控鱼类的生长和代谢过程中扮演着关键的角色,而生长轴往往是处于脑的支配下参与鱼类生长过程。然而,目前鲜有通过鱼类脑组织挖掘生长相关基因的研究报道。现有研究主要有:Li 等(2021)通过高通量测序,初步阐明了三倍体鲫鱼(*Carassius auratus*)生长快、抗病能力强的分子机制与基因表达水平升高密切相关;Robledo 等(2017)分析了不同生长速率大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)肌肉和脑组织基因表达谱,但在脑组织中只检测到几个差异表达基因,这些基因在先前的研究中被证实与鱼类感觉调控有关;Lin 等(2021)对不同生长速率黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)肝脏、肌肉和脑组织的混合样本进行了转录组测序,旨在挖掘生长相关候选基因和调控途径,但其结果尚不能说明黑鲷脑组织与其生长之间的关联。由此,仍需进一步明确鱼类脑组织与生长之间的关系和潜在的分子机制。因此,为探明长吻鲈个体生长速率差异较大的原因,本研究选用不同生长速率的长吻鲈脑组织构建文库进行转录组测序分析,拟筛选出与长吻鲈生长相关的关键候选基因,以为长吻鲈生长性状改良以及后续功能基因研究提供参考依据。此外,将本研究结果与现有的以肌肉生长和肝脏代谢为主的鱼类生长调控模式研究进行对比,发掘更多潜在的关键基因和相关通

路并深入了解长吻鲈生长发育的内分泌调控机制。

鱼类的生长和发育受体内各种激素及其相互作用的调节,其中生长激素-胰岛素样生长因子轴(growth hormone-insulin like growth factor axis, GH-IGFs)是调控鱼类生长的内分泌核心(代向燕等, 2014), GH 的合成和分泌是该过程的重要基础。在内分泌调节活动中,激素本身与相应受体匹配是其发挥作用的关键环节,促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)和促甲状腺激素释放激素(thyrotropin-releasing hormone, TRH)主要是通过相应受体来介导并发挥生理功能。在本研究 FG 组和 SG 组脑组织的差异表达基因中,促性腺激素释放激素受体基因(gonadotropin-releasing hormone receptor, *gnrhr*)和促甲状腺激素释放激素受体基因(thyrotropin-releasing hormone receptor, *trhr*)高表达于 FG 组,提示可能有大量 *gnrh* 和 *trh* 与这些受体结合,并参与刺激长吻鲈脑垂体释放 GH,进而增强新陈代谢、细胞生长等过程的调节,最终达到促进长吻鲈生长的目的。此外,在差异表达基因基因中,还筛选到生长激素释放抑制激素(somatostatin, SST)。SST 是一种最早从绵羊下丘脑中分离获得的神经肽类激素(Brazeau *et al.*, 1973),对 GH 的分泌起着最主要的抑制作用,在对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、金鱼(*Carassius auratus*)、红鲑鱼(*Oncorhynchus nerka*)和鲤鱼等的研究中, *sst* 均被证明可以抑制 GH 的分泌(Fontaine *et al.*, 2020)。本研究中, *sst* 基因在 SG 组长吻鲈脑组织中表达上调,表明该基因可能是导致长吻鲈生长缓慢的主要因子之一。

除与生长激素调控相关的内分泌因子外,在差异表达基因中还筛选到了胰岛素样生长因子 II (insulin-like growth factor II, *igf II*)、成纤维细胞生长因子 18 (fibroblast growth factor 18, *fgf18*)、成纤维细胞生长因子结合蛋白 1 (fibroblast growth factor-binding protein 1, *fgfbp1*)和早期生长反应蛋白 1 (early growth response protein, *egr1*)等生长相关基因以及 NGFI-A 结合蛋白 2 基因(NGFI-A-binding protein 2, *nab2*)。FGF 家族 *nab2* 是 *egr1* 的特异性抑制剂,可通过抑制 *egr1* 的转录调控过程来有效减少 *egr1* 的表达(陈子翔, 2016)。*egr1* 是转录因子锌指蛋白家族的重要成员之一,可正向调控 *igf II* 和 *fgf* 的表达,以达到促进机体生长发育的作用(Liu *et al.*, 1996)。本研究中, *igf II*、*fgf18* 和 *fgfbp1* 的表达趋势与 *egr1* 一致,均在 FG 组中上调表达,表明这几个基因可能是影响长吻鲈生长性状的重要功能基因;而相较于 FG 组, *nab2* 在 SG 组中上调表达,进一步说明在 SG 组中,该基因可能抑制了 *egr1* 的表达,从而导致长吻鲈生长速率减慢,再次表明

egr1 可能与长吻鲈生长密切相关。

本研究还鉴定了胃抑制多肽受体基因(gastric inhibitory polypeptide receptor, *gipr*)、可卡因-苯丙胺调节转录肽基因(cocaine- and amphetamine-regulated transcript, *cart*)和促肾上腺皮质激素释放激素基因(corticotropin-releasing factor, *crf*)。相关研究指出,*gipr* 基因作为肥胖、脂代谢紊乱及代谢综合征的易感基因(晋梦诗, 2014), 可直接作用于脂肪组织, 促进脂质沉积,*gipr* 基因敲除或缺失的小鼠通过改变其能量消耗和脂肪代谢, 以抵抗高脂饮食引起的肥胖(Boer *et al*, 2021; Miyawaki *et al*, 2002)。*cart* 最早在大鼠弓状核中分离得到(Douglass *et al*, 1995), 是一种可作用于下丘脑的厌食肽(Valassi *et al*, 2008), 参与哺乳动物机体的进食行为和体重调节。相对于野生型小鼠,*cart* 基因敲除小鼠在正常饮食条件下体重明显增加(Wierup *et al*, 2005)。该基因在金鱼中同样被证明是一种厌食因子(Hélène *et al*, 2000), 在大西洋鲑(*Salmo salar*)中发挥抑制食欲的功能(Murashita *et al*, 2009)。*Crf* 为 CRF 系统中的一员, 可作用于下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴, 刺激垂体释放促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ATCH)进而调控动物的摄食行为(齐锦雯等, 2018)。在对金鱼(De Pedro *et al*, 1993)和虹鳟(Ortega *et al*, 2013)的研究中, 发现注射 CRF 后实验鱼的摄食量减少, 推测 CRF 可能通过中枢调控影响鱼类的摄食行为。Wang 等(2014)发现, 齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)在长期禁食(7 d)条件下, 其下丘脑 *crf* 基因的表达量明显下降, 复食后则回升, 表明 *crf* 可能作为厌食欲因子调控鱼类摄食。此外, Smith 等(2004)对大鼠的研究表明 *crf* 可上调 *cart* 参与厌食欲作用。因此, 推测 *crf* 可能同样可与 *cart* 互作共同调控鱼类的摄食行为。本研究中, *gipr* 在 FG 组长吻鲈脑组织中高表达, 推测 *gipr* 基因或为一种长吻鲈生长和肥胖的调节因子, 但其作用机制有待于进一步研究。而 *cart* 和 *crf* 在 SG 组中的表达量明显高于 FG 组, 说明 *cart* 和 *crf* 可能通过影响长吻鲈摄食而使其营养物质的消化吸收发生改变, 进而导致其生长表现差异化。

值得关注的是, 我们发现参与生长调节的激素基因大多在神经活性配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction)和 GnRH 信号通路(GnRH signaling pathway)中富集, 表明这些基因可能作为神经内分泌调节因子, 对长吻鲈的生长进行调控。另外, 在 FG 组中上调表达的多数差异基因在部分免疫相关的通路中富集, 推测长吻鲈的生长性能与其免疫能力

具有一定程度的耦合关系, 但其作用机制尚不明确, 值得进一步深入研究。本研究比较分析了不同生长速率长吻鲈脑组织的转录组图谱, 筛选出长吻鲈生长相关候选基因, 为长吻鲈下一步功能基因的挖掘以及生长调控的分子机制提供了基础资料。

参 考 文 献

- BAO M, SHANG F, LIU F, *et al*. Comparative transcriptomic analysis of the brain in *Takifugu rubripes* shows its tolerance to acute hypoxia. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, 47(5): 1669–1685
- BOER G A, KEENAN S N, MIOTTO P M, *et al*. GIP receptor deletion in mice confers resistance to high-fat diet-induced obesity via alterations in energy expenditure and adipose tissue lipid metabolism. *AJP-Endocrinology and Metabolism*, 2021, 320(4): E835–E845
- BRAZEAU P, VALE W, BURGUS R, *et al*. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 1973, 179(4068): 77–79
- Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2021. Beijing: China Agriculture Press, 2021 [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2021]
- CANOSA L F, BERTUCCI J I. Nutrient regulation of somatic growth in teleost fish: The interaction between somatic growth, feeding and metabolism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2020, 518: 111029
- CANOSA L F, CHANG J P, PETER R E. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 2007, 151(1): 1–26
- CARDOSO S D, GONÇALVES D, GOESMANN A, *et al*. Temporal variation in brain transcriptome is associated with the expression of female mimicry as a sequential male alternative reproductive tactic in fish. *Molecular Ecology*, 2018, 27(3): 789–803
- CHEN Z X. Investigation of the correlation between the expression of *Egr-1*, *Nab2* and *cav-1* and scar hyperplasia. Master's Thesis of Guangxi Medical University, 2016 [陈子翔. 探讨 *Egr-1*、*Nab2* 和 *cav-1* 的表达与瘢痕增生的相关性研究. 广西医科大学硕士研究生学位论文, 2016]
- CHRISTIAN D S, DEAN R J. Candidate growth genes in finfish—Where should we be looking? *Aquaculture*, 2007, 272(1/2/3/4): 22–38
- DAI X Y, ZHANG W, ZHOU Z J, *et al*. Neuroendocrine regulation of somatic growth in fishes. *Science China Life Sciences*, 2015, 58(2): 137–147
- DAI X Y, ZHANG W, ZHUO Z J, *et al*. Neuroendocrine control of fish growth. *Scientia Sinica (Vita)*, 2014, 44(12): 1213–

- 1226 [代向燕, 张玮, 卓子见, 等. 鱼类生长的神经内分泌调控. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(12): 1213–1226]
- DE PEDRO N, ALONSO-GÓMEZ A L, GANCEDO B, *et al.* Role of corticotropin-releasing factor (CRF) as a food intake regulator in goldfish. *Physiology and Behavior*, 1993, 53(3): 517–520
- DONG X L, LEI W, ZHU X M, *et al.* Effects of dietary oxidized fish oil on growth performance and skin colour of Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(4): e861–e868
- DOUGLASS J, MCKINZIE A, COUCEYRO P. PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. *Journal of Neuroscience*, 1995, 15(3): 2471–2481
- FENG C, LI X, SHA H, *et al.* Comparative transcriptome analysis provides novel insights into the molecular mechanism of the silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) brain in response to hypoxia stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and proteomics*, 2021, 41: 100951
- FONTAINE R, CIANI E, HAUG T M, *et al.* Gonadotrope plasticity at cellular, population and structural levels: A comparison between fishes and mammals. *General and Comparative Endocrinology*, 2020, 287: 113344
- HAN D, XIE S Q, LEI W, *et al.* Effect of light intensity on growth, survival and skin color of juvenile Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). *Aquaculture*, 2005, 248(1/2/3/4): 299–306
- HAN D, XIE S Q, ZHU X M, *et al.* Physiological responses of Chinese longsnout catfish to water temperature. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2011, 29(3): 633–639
- HE W P, ZHOU J, LI Z, *et al.* Chromosome-level genome assembly of the Chinese longsnout catfish *Leiocassis longirostris*. *Zoological Research*, 2021, 42(4): 417–422
- HÉLÈNE V, PETER R E. Effects of cart peptides on food consumption, feeding and associated behaviors in the goldfish, *Carassius auratus*: Actions on neuropeptide Y- and orexin A-induced feeding. *Brain Research*, 2000, 887(1): 125–133
- JIN M S. Association study of GIP and *gipr* gene polymorphism with abdominal obesity and metabolic syndrome. Master's Thesis of Zhejiang University, 2014 [晋梦诗. GIP 及 *gipr* 基因多态性与腹型肥胖及代谢综合征的相关性研究. 浙江大学硕士研究生学位论文, 2014]
- LI S N, ZHOU Y, YANG C H, *et al.* Comparative analyses of hypothalamus transcriptomes reveal fertility-, growth-, and immune-related genes and signal pathways in different ploidy cyprinid fish. *Genomics*, 2021, 113(2): 595–605
- LI W S, LIN H R. The endocrine regulation network of growth hormone synthesis and secretion in fish: Emphasis on the signal integration in somatotropes. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(4): 462–470
- LI Z, DU X S, WEN L T, *et al.* Transcriptome analysis reveals the involvement of ubiquitin-proteasome pathway in the regulation of muscle growth of rice flower carp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2022, 41: 100948
- LI Z, JING T S, LI Y, *et al.* Effects of morphological traits on the body mass of *Leiocassis longirostris*. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(4): 98–105 [李哲, 敬庭森, 李雨, 等. 长吻鲢形态性状对体质量的影响. 渔业科学进展, 2021, 42(4): 98–105]
- LIN G, THEVASAGAYAM N M, WAN Z Y, *et al.* Transcriptome analysis identified genes for growth and omega-3/-6 ratio in saline tilapia. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10: 244
- LIN Z J, ZHANG Z Y, SOLBERG M F, *et al.* Comparative transcriptome analysis of mixed tissues of black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*) with differing growth rates. *Aquaculture Research*, 2021, 52(11): 5800–5813
- LIU C, CALOGERO A, RAGONA G, *et al.* *EGR-1*, the reluctant suppression factor: *EGR-1* is known to function in the regulation of growth, differentiation, and also has significant tumor suppressor activity and a mechanism involving the induction of TGF-beta1 is postulated to account for this suppressor activity. *Critical Reviews in Oncogenesis*, 1996, 7(1/2): 101–125
- LIU X G, ZENG S, LIU S, *et al.* Identifying the related genes of muscle growth and exploring the functions by compensatory growth in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*). *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 553563
- LU X, CHEN H M, QIAN X Q, *et al.* Transcriptome analysis of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) between fast- and slow-growing fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2020, 35: 100688
- LUO H, YE H, XIAO S J, *et al.* Application of transcriptomics technology to aquatic animals research. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(4): 598–607 [罗辉, 叶华, 肖世俊, 等. 转录组学技术在水产动物研究中的运用. 水产学报, 2015, 39(4): 598–607]
- MIYAWAKI K, YAMADA Y, BAN N, *et al.* Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. *Nature Medicine*, 2002, 8(7): 738
- MURASHITA K, KUROKAWA T, EBBESSON L, *et al.* Characterization, tissue distribution, and regulation of agouti-related protein (AgRP), cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) and neuropeptide Y (NPY) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *General and Comparative Endocrinology*, 2009, 162(2): 160–171
- ORTEGA V A, LOVEJOY D A, BERNIER N J. Appetite-suppressing effects and interactions of centrally administered corticotropin-releasing factor, urotensin I and serotonin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Frontiers in Neuroscience*, 2013, 7: 196
- PARTRIDGE C G, MACMANES M D, ROSEMARY K, *et al.*

- Brain transcriptional profiles of male alternative reproductive tactics and females in bluegill sunfish. *PLoS One*, 2016, 11(12): 1–21
- PEI Z H, XIE S Q, LEI W, *et al.* Comparative study on the effect of dietary lipid level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). *Aquaculture Nutrition*, 2015, 10(4): 209–216
- PENG C, PETER R E. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion and growth in fish. *Zoological Studies*, 1997, 36(2): 79–89
- PIÓRKOWSKA K, ŻUKOWSKI K, POŁTOWICZ K, *et al.* Identification of candidate genes and regulatory factors related to growth rate through hypothalamus transcriptome analyses in broiler chickens. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 1–12
- QI J W, WU Y B, WANG S Y, *et al.* Corticotropin releasing factor: Suppression effects on fish feed intake. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(4): 1279–1285 [齐锦雯, 吴源冰, 王书瑶, 等. 促皮质激素释放激素对鱼类摄食的抑制作用. *动物营养学报*, 2018, 30(4): 1279–1285]
- ROBLEDO G, RUBIOLO J A, CABALEIRO S, *et al.* Differential gene expression and SNP association between fast- and slow-growing turbot (*Scophthalmus maximus*). *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 12105
- SAARISTO M, WONG B M, MINCARELLI L, *et al.* Characterisation of the transcriptome of male and female wild-type guppy brains with RNA-Seq and consequences of exposure to the pharmaceutical pollutant, 17 alpha-ethinyl estradiol. *Aquatic Toxicology*, 2017, 186: 28–39
- SCHUNTER C, VOLLMER S V, MACPHERSON E, *et al.* Transcriptome analyses and differential gene expression in a non-model fish species with alternative mating tactics. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 167
- SMITH S M, VAUGHAN J M, DONALDSON C J, *et al.* Cocaine- and amphetamine-regulated transcript activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis through a corticotropin-releasing factor receptor-dependent mechanism. *Endocrinology*, 2004, 145(11): 5202–5209
- SU J Z, MEI L Y, XI L W, *et al.* Responses of glycolysis, glycogen accumulation and glucose-induced lipogenesis in grass carp and Chinese longsnout catfish fed high-carbohydrate diet. *Aquaculture*, 2020, 533: 736146
- TIAN C X, LIN X H, SAETAN W, *et al.* Transcriptome analysis of liver provides insight into metabolic and translation changes under hypoxia and reoxygenation stress in silver sillago (*Sillago sihama*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2020, 36: 100715
- VALASSI E. Neuroendocrine control of food intake. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2008, 18(2): 158–168
- VU T D, IWASAKI Y, OSHIMA K, *et al.* Data of RNA-seq transcriptomes in the brain associated with aggression in males of the fish *Betta splendens*. *Data in Brief*, 2021, 38: 107448
- WANG L M, ZHU W B, FU J J, *et al.* De novo transcriptome analysis and comparison of the FFRC No.2 strain common carp *Cyprinus carpio* associated with its muscle growth. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(1): 79–87 [王兰梅, 朱文彬, 傅建军, 等. 福瑞鲤 2 号不同生长速率个体肌肉组织转录组分析. *水产学报*, 2021, 45(1): 79–87]
- WANG M, XU G, TANG Y, *et al.* Transcriptome analysis of the brain provides insights into the regulatory mechanism for *Coilia nasus* migration. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 410
- WANG T, ZHOU C W, YUAN D Y, *et al.* *Schizothorax prenanti* corticotropin-releasing hormone (CRH): Molecular cloning, tissue expression, and the function of feeding regulation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2014, 40(5): 1407–1415
- WEI Y L, WEN B, GAO J Z, *et al.* Brain transcriptome analysis reveals genes involved in parental care behavior in discus fish (*Symphysodon haraldi*). *General and Comparative Endocrinology*, 2021, 309: 113793
- WIERUP N, RICHARDS W G, BANNON A W, *et al.* CART knock out mice have impaired insulin secretion and glucose intolerance, altered beta cell morphology and increased body weight. *Regulatory Peptides*, 2005, 129(1/2/3): 203–211
- XIAO M S, YANG G. Isolation and characterization of 17 microsatellite loci for the Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*). *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9(3): 1039–1041
- XUE T, LIU Y P, CAO M, *et al.* Transcriptome analysis reveals deep insights into the early immune response of turbot (*Scophthalmus maximus*) induced by inactivated *Aeromonas salmonicida* vaccine. *Fish and Shellfish Immunology*, 2021, 119: 163–172
- YAO Z L, CHEN H J, ZHAO Y, *et al.* A time course transcriptome analysis of brains from sex-undifferentiated Nile tilapia discloses genes associated with high-temperature-induced masculinization. *Aquaculture*, 2021, 530: 735762
- YE H, LIN Q S, LUO H. Applications of transcriptomics and proteomics in understanding fish immunity. *Fish and Shellfish Immunology*, 2018, 77: 319–327
- ZHANG J H, SHEN Y B, XU X Y, *et al.* Transcriptome analysis of the liver and muscle tissues of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) of different growth rates. *Marine Biotechnology*, 2020, 22(5): 706–716
- ZHANG L, LI X H, YU Y L, *et al.* Comparative analyses of liver transcriptomes reveal the effect of exercise on growth-, glucose metabolism-, and oxygen transport-related genes and signaling pathways in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 2021, 262: 111081

- ZHANG S L, SUN X J, ZHANG X, *et al.* The dressing rate and nutrient components in muscle of *Leiocassis longirostris*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2013, 28(1): 83–88 [张升利, 孙向军, 张欣, 等. 长吻鮠含肉率及肌肉营养成分分析. *大连海洋大学学报*, 2013, 28(1): 83–88]
- ZHANG Y, ZHANG P J, YU P, *et al.* Transcriptome analysis reveals the mechanism of fluorine exposure on memory loss of common carp. *Environmental Pollution*, 2020, 265(Pt A): 114927
- ZHAO H Y, HAN D, XIE S Q, *et al.* Effect of water temperature on the growth performance and digestive enzyme activities of Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther): Temperature on growth and digestive enzyme. *Aquaculture Research*, 2009, 40(16): 1864–1872
- ZHAO W, ZHOU J, LI Z, *et al.* Characterization of 55 SNP markers in Chinese longsnout catfish *Leiocassis longirostris*. *Conservation Genetics Resources*, 2020, 12(3): 427–432
- ZHU X M, XIE S Q, LEI W, *et al.* Compensatory growth in the Chinese longsnout catfish, *Leiocassis longirostris* following feed deprivation: Temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Aquaculture*, 2005, 248(1/2/3/4): 307–314

(编辑 冯小花)

Mining of Key Genes Related to Growth of Chinese Longsnout Catfish (*Leiocassis longirostris*) Based on Transcriptome Analysis

LI Yu, LING Leyan, JIN Honghao, LI Zhe, GAO Yuan, LIU Fan, LUO Hui, YE Hua^①

(Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 402460, China)

Abstract The Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*) is a rare and valuable freshwater fish widely distributed throughout China. Fish growth is one of the most economically important traits in fish farming. Cultured fish with high growth performance can often bring direct economic benefits while meeting human food demand. The hypothalamus is an important regulatory organ in fish metabolic processes and endocrine activities, directly or indirectly regulating fish growth. Although significant research on *L. longirostris* has been reported, the molecular mechanisms and key genes involved in its growth are still unclear. Therefore, we performed comparative transcriptomics analysis using Illumina high throughput sequencing technology and analyzed transcript profiles of the brains from fast-growth (FG) with average body mass of (534.02±53.68) g, and slow-growth (SG) with average body mass of (108.41±4.96) g *L. longirostris* individuals. A total of 267 404 674 clean reads were generated, and 518 differentially expressed genes were identified, of which 412 genes were up-regulated and 106 genes were down-regulated in fast-growth fishes. Then, we subjected all these differentially expressed genes to GO term enrichment and KEGG pathway analysis to find the underlying function annotation. Based on Gene Ontology analysis, plenty of differentially expressed genes were enriched in growth, growth factor activity, and hormone-mediated signaling pathway. KEGG enrichment analysis indicated that some differentially expressed genes involved in MAPK signaling pathway, TGF-beta signaling pathway, calcium signaling pathway, and neuroactive ligand-receptor interaction were enriched. With the differentially expressed genes identified from GO and KEGG enrichment analysis, several key genes related to the growth of *L. longirostris* were screened, such as *gnrh*, *thr*, *egr1*, *fgf18*, *sst*, *gipr*, *cart*, and *crf*. The results of this study enriched the gene resources and provided valuable references for further study on the regulation mechanism of growth of *L. longirostris*.

Key words *Leiocassis longirostris*; Fish growth; Transcriptome sequencing; Neuroendocrine factors

① Corresponding author: YE Hua, E-mail: yhlh2000@126.com