

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20220804001

http://www.yykxjz.cn/

杨凡, 李治平, 董迎辉, 任建峰. 缢蛭 ABC 转运蛋白基因家族成员全基因组鉴定及表达模式分析. 渔业科学进展, 2024, 45(1): 172-184

YANG F, LI Z P, DONG Y H, REN J F. Genome-wide identification and expression pattern of ABC transporters in razor clam (*Sinonovacula constricta*). Progress in Fishery Sciences, 2024, 45(1): 172-184

缢蛭 ABC 转运蛋白基因家族成员 全基因组鉴定及表达模式分析*

杨凡^{1,3#} 李治平^{1,3#} 董迎辉² 任建峰^{1,3①}

(1. 上海海洋大学 科技部海洋生物科学国际联合研究中心 上海 201306;

2. 浙江万里学院生物与环境学院 浙江省水产种质资源高效利用技术研究重点实验室 浙江 宁波 315000;

3. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室 上海 201306)

摘要 腺苷三磷酸结合盒转运蛋白(ATP binding cassette transporter, ABC transporter)家族是最古老的膜蛋白家族之一,广泛存在于原核生物和真核生物体内,利用ATP水解释放的能量对氨基酸、脂质、抗生素等物质进行跨膜运输,参与生物体内多种生理活动。目前,对软体动物ABC转运蛋白家族的鉴定,仅在虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)和长牡蛎(*Crassostrea gigas*)3种双壳类中有系统研究,对缢蛭(*Sinonovacula constricta*)ABC转运蛋白家族的鉴定和表达模式分析尚未见报道。利用缢蛭基因组和转录组数据,运用本地及NCBI在线BLAST程序、FGENESH+、SMART、ExpASy、MEGA X、Mev 4.90和MapInspect等生物信息学分析工具,在全基因组水平系统地鉴定出52个缢蛭ABC转运蛋白,并对转运蛋白基因外显子数目、染色体定位等信息进行分析;通过系统进化分析,将缢蛭ABC转运蛋白家族分为8个亚家族,即ABCA~ABCH;通过比较分析不同物种ABC转运蛋白家族,推测基因串联复制事件对软体动物ABC转运蛋白家族成员数目的增加有影响。ABC转运蛋白基因在缢蛭不同发育时期和组织的表达分析显示,ABCC和ABCG亚家族多个基因在缢蛭稚贝时期表达量达到最高值,ABC转运蛋白基因在鳃、肝胰腺和性腺中表达种类较多。软体动物作为第二大动物类群,目前仅有3个物种的ABC转运蛋白得到了系统分类,缢蛭ABC转运蛋白基因家族的系统鉴定与表达模式分析为研究软体动物ABC转运蛋白基因的进化和缢蛭ABC转运蛋白功能提供了基础资料。

关键词 缢蛭; ABC转运蛋白; 序列分析; 表达模式

中图分类号 Q786 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2024)01-0172-13

腺苷三磷酸结合盒转运蛋白(ATP binding cassette transporter, ABC transporter)是一类广泛存在于原核生物和真核生物体内的膜蛋白,对糖类、氨基

酸、脂质、外毒素、药物等多种物质具有转运功能,几乎所有真核生物的ABC转运蛋白都是向外转运蛋白(侯文韬等,2018)。人类ABC转运蛋白基因突变与

* 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项(2018YFD0901405)和宁波市“科技创新2025”重大专项(2019B10005)共同资助。#同等贡献作者:杨凡, E-mail: y19121697280@163.com; 李治平, E-mail: 1470081826@qq.com

① 通信作者:任建峰, 副研究员, E-mail: jfren@shou.edu.cn

收稿日期: 2022-08-04, 收修改稿日期: 2022-11-02

多种疾病相关, 如 ABCD1 功能紊乱会引起超长链脂肪酸在组织中累积(侯文韬等, 2018); ABCG7 是一种离子转运通道蛋白, 该蛋白基因的突变会导致囊性纤维化(Zhang *et al*, 2016); ABCB1、ABCG2 和 ABCC1 能够将抗癌药物转运至胞外, 与癌症的耐药性有关(Robey *et al*, 2018)等。ABC 转运蛋白家族特定成员通过介导多型异源物质抗性(multixenobiotic resistance, MXR)机制, 将环境毒素和致病病原体等逆浓度运输至胞外, 对软体动物具有保护作用(Xu *et al*, 2011; Jeong *et al*, 2017), 如 ABCG2 在印度岩牡蛎(*Saccostrea forskali*)中发挥转运有机污染物三丁基氟化锡的作用(Kingtong *et al*, 2007); ABCB1 和 ABCC5 在缢蛏感染副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)中发挥屏障作用, 其功能可能与缢蛏固有免疫的组成有关(Fu *et al*, 2019)。

根据结构域组成, ABC 转运蛋白可分为 3 类, 其中, 全转运蛋白(full transporter, FT)由 2 个核苷酸结合结构域(nucleotide binding domain, NBD)和 2 个跨膜结构域(transmembrane domain, TMD)组成; 半转运蛋白(half transporter, HT)由 1 个 NBD 和 1 个 TMD 组成, 2 个半转运蛋白结合为二聚体后才具备转运功能(Ford *et al*, 2019)。其他 ABC 转运蛋白只具有 NBD 或 TMD 结构域, 如 ABCE 和 ABCF 亚家族, 它们不含 TMD, 但在一条肽链中有 2 个 NBD, 不具备转运功能。NBD 结构域序列很保守, 功能为结合并水解 ATP; TMD 结构域决定底物的特异性并构成底物运输的通路, 保守性相对 NBD 较差。

根据序列同源性和结构相似性, ABC 转运蛋白分为 ABCA~ABCH 8 个亚家族。ABCH 亚家族目前仅在节肢动物和斑马鱼(*Danio rerio*)、金鱼(*Carassius auratus*)等少数硬骨鱼类及部分双壳类软体动物中发现(Dean *et al*, 2005; Popovic *et al*, 2010; 刘含梅等, 2020; Wang *et al*, 2021), 在哺乳动物、真菌和植物中没有发现。

在无脊椎动物中, ABC 转运蛋白家族鉴定工作在节肢动物中开展较多, 如对昆虫纲、蛛形纲及甲壳纲中的家蚕(*Bombyx mori*)、二点叶螨(*Tetranychus urticae*)、虎斑猛水蚤(*Tigriopus japonicus*)等多个物种进行了 ABC 转运蛋白家族的鉴定分类(Liu *et al*, 2011; Dermauw *et al*, 2013; Jeong, 2014)。在软体动物中, 目前仅对双壳类的虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)和长牡蛎(*Crassostrea gigas*)的 ABC 转运蛋白家族进行了系统鉴定与分类。缢蛏(*Sinonovacula constricta*)是软体动

物门双壳纲中的重要经济物种, 广泛分布于西太平洋沿岸的潮间带和河口水域(Zhao *et al*, 2017), 是我国传统的四大海水养殖贝类之一。研究发现, 在铜离子胁迫的福建牡蛎(*Crassostrea angulata*)中, ABCB1 可能发挥保护细胞的作用(Shi *et al*, 2015); 斑马贻贝(*Dreissena polymorpha*)中, 汞可诱导 ABCB1 与 ABCC 家族基因表达, 参与细胞应激反应(Navarro *et al*, 2012); 在地中海贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)鳃与胰腺腺组织中, ABCB 和 ABCC 亚家族蛋白可能通过外排镉离子发挥保护作用(Torre *et al*, 2014)。对山东(孙珊等, 2017)与辽东(宋永刚等, 2016)地区海水重金属的检测发现, 部分水域毒性重金属超标或存在超标风险, 威胁当地贝类的生产养殖工作。ABC 转运蛋白通过介导机制发挥排毒解毒功能, 对缢蛏 ABC 转运蛋白功能的研究或有助于缢蛏的健康养殖和优质水产品的供应。对缢蛏 ABC 转运蛋白家族的鉴定和表达模式分析尚未见报道。本研究对缢蛏 ABC 转运蛋白基因家族进行系统鉴定、进化树构建和表达模式分析, 旨在为理解软体动物 ABC 转运蛋白基因的进化和缢蛏 ABC 转运蛋白功能的研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 缢蛏 ABC 转运蛋白家族成员鉴定

用于鉴定缢蛏 ABC 转运蛋白的数据来源于已发表的缢蛏基因组和转录组数据(Ran *et al*, 2019; Dong *et al*, 2020)。利用人类(*Homo sapiens*)、二点叶螨(Dermauw *et al*, 2013)、虾夷扇贝、栉孔扇贝和长牡蛎 ABC 转运蛋白家族蛋白序列(Wang *et al*, 2021)作为查询序列, 通过本地 BLASTP 程序在缢蛏基因组蛋白数据库进行搜索比对, E 值设置为 1×10^{-5} ; 同时, 利用虾夷扇贝、栉孔扇贝和长牡蛎 ABC 转运蛋白家族蛋白序列作为查询序列, 通过本地 TBLASTN 程序在缢蛏基因组和转录组数据库中进一步搜索比对, E 值设置为 1×10^{-5} 。缢蛏 ABC 转运蛋白 CDS 与蛋白序列已上传至 Figshare 网站(https://figshare.com/articles/dataset/52_razor_clam_ABC/21454542)。

1.2 ABC 转运蛋白结构域分析

利用 SMART 网站(<http://smart.embl.de/>)预测缢蛏 ABC 转运蛋白结构域, 通过 Softberry 网站(<http://www.softberry.com/>)的 FGENESH+工具(Solovyev, 2007)对缢蛏 ABC 转运蛋白结构域不完整的序列, 以虾夷扇贝蛋白序列为参考进行同源预测来补全序列, 并重新利用 SMART 网站预测蛋白结构域。

1.3 ABC 转运蛋白基因在染色体的定位

利用 NCBI 网站下载的缢蛭基因组序列(Dong *et al.*, 2020), 通过本地 BLASTN 程序进行 ABC 转运蛋白家族基因的染色体定位, 使用 MapInspect 软件完成作图。

1.4 ABC 转运蛋白基因结构分析

通过本地 BLASTN 程序将缢蛭 ABC 转运蛋白 CDS 序列映射至基因组, 得到基因结构信息。利用 GSDS 网站(<http://gsds.gao-lab.org/>)(Hu *et al.*, 2015)绘制基因结构示意图。

1.5 缢蛭 ABC 转运蛋白家族系统进化树构建

选取虾夷扇贝、栉孔扇贝、长牡蛎和缢蛭的 ABC 转运蛋白序列, 通过 ClustalW (Thompson *et al.*, 1997) 程序进行多序列比对, 然后利用 MEGA X (Kumar *et al.*, 2018)软件的最大似然法(maximum likelihood, ML)构建系统进化树, 选择 JTT 矩阵模型(Jones *et al.*, 1992), 自展值(bootstrap)设置为 1 000。

1.6 不同物种间 ABC 转运蛋白家族种类与数量的比较

选取 6 种脊椎动物, 即人类(Dean *et al.*, 2001)、小鼠(*Mus musculus*)、非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)、金鱼(刘含梅等, 2020)、斑马鱼(Annilo *et al.*, 2006)和海七鳃鳗(*Petromyzon marinus*)(Ren *et al.*, 2015)和 7 种无脊椎动物, 即柑橘木虱(*Diaphorina citri*)(Wang *et al.*, 2019)、二点叶螨(*Dermauw et al.*, 2013)、瓜实蝇

(*Zeugodacus cucurbitae*)(Xu *et al.*, 2021)、虾夷扇贝、栉孔扇贝、长牡蛎(Wang *et al.*, 2021)和缢蛭, 进行 ABC 转运蛋白亚家族种类与数量比较分析。小鼠与非洲爪蟾 ABC 转运蛋白家族信息检索自 Ensembl 数据库(<http://www.ensembl.org/index.html>)。

1.7 ABC 转运蛋白基因表达模式分析

利用已发表的缢蛭不同发育时期和成体不同组织的转录组数据(Dong *et al.*, 2020), 使用软件 Mev 4.90 绘制缢蛭鳃、足、闭壳肌、肝胰脏、外套膜、水管、卵巢与精巢 8 个成体不同组织和卵子、4 细胞期、囊胚、原肠胚、担轮幼虫、D 形幼虫、壳顶幼虫和稚贝 8 个不同发育时期的 ABC 转运蛋白基因表达热图。

2 结果

2.1 缢蛭 ABC 转运蛋白家族成员鉴定与特征描述

利用缢蛭基因组和转录组数据经过序列同源比对分析, 在全基因组水平上鉴定出 52 个 ABC 转运蛋白基因, 分布在 8 个亚家族(A~H), 其中, 7 个 ABCA、10 个 ABCB、13 个 ABCC、3 个 ABCD、1 个 ABCE、3 个 ABCF、14 个 ABCG 和 1 个 ABCH(表 1)。根据蛋白结构域, 分为 24 个全转运蛋白、24 个半转运蛋白以及 4 个非转运蛋白。ABC 转运蛋白编码基因长度区间为 1 588~7 224 bp, 预测蛋白序列长度跨度为 382~2 408 aa。

表 1 缢蛭 52 个 ABC 转运蛋白信息
Tab.1 Information of 52 ABC transporters in razor clam

蛋白名称 Protein name	蛋白长度 Protein length/aa	结构域 Domain structure	外显子数目 Exon number	编码区状态 CDS status	编码区长度 CDS length/bp	染色体定位 Gene locations on chromosomes
ABCA1	1 992	(TMD-NBD) ₂	34	部分 Partial	5 979	Chr01
ABCA2a	2 225	(TMD-NBD) ₂	39	完整 Complete	6 678	Chr01
ABCA2b	1 929	(TMD-NBD) ₂	36	部分 Partial	5 787	Chr18
ABCA3a	1 539	(TMD-NBD) ₂	18	部分 Partial	4 617	Chr05
ABCA3b	1 733	(TMD-NBD) ₂	21	完整 Complete	6 696	Chr11
ABCA5	1 557	(TMD-NBD) ₂	30	完整 Complete	4 617	Chr05
ABCA12	2 408	(TMD-NBD) ₂	44	完整 Complete	7 224	Chr05
ABCB1a	1 339	(TMD-NBD) ₂	24	完整 Complete	4 966	Chr12
ABCB1b	1 323	(TMD-NBD) ₂	22	完整 Complete	3 969	Chr12
ABCB1c	1 235	(TMD-NBD) ₂	27	完整 Complete	3 705	Chr16
ABCB1d	1 309	(TMD-NBD) ₂	16	完整 Complete	4 662	Chr03
ABCB6	832	TMD-NBD	16	完整 Complete	2 499	Chr12
ABCB7	777	TMD-NBD	15	完整 Complete	2 331	Chr06
ABCB8	635	TMD-NBD	17	部分 Partial	1 908	Chr04

续表

蛋白名称 Protein name	蛋白长度 Protein length /aa	结构域 Domain	外显子数目 Exon number	编码区状态 CDS status	编码区长度 CDS length /bp	染色体定位 Gene location on chromosomes
ABCB9	708	TMD-NBD	13	部分 Partial	2 127	Chr15
ABCB10a	628	TMD-NBD	14	部分 Partial	2 978	Chr15
ABCB10b	630	TMD-NBD	11	部分 Partial	1 890	Chr02
ABCC1a	1 541	(TMD-NBD) ₂	28	完整 Complete	4 626	Chr05
ABCC1b	1 552	(TMD-NBD) ₂	29	完整 Complete	4 659	Chr09
ABCC1c	1 315	(TMD-NBD) ₂	25	完整 Complete	3 576	Chr08
ABCC1d	1 439	(TMD-NBD) ₂	30	完整 Complete	4 320	Chr02
ABCC1e	1 459	(TMD-NBD) ₂	24	完整 Complete	4 380	Chr19
ABCC1f	1 492	(TMD-NBD) ₂	31	完整 Complete	4 479	Chr17
ABCC1g*	1 239	(TMD-NBD) ₂	–	部分 Partial	3 720	–
ABCC4	1 476	(TMD-NBD) ₂	24	完整 Complete	4 428	Chr13
ABCC5a	1 169	(TMD-NBD) ₂	24	完整 Complete	3 510	Chr07
ABCC5b	1 313	(TMD-NBD) ₂	26	完整 Complete	3 939	Chr07
ABCC5c	1 180	(TMD-NBD) ₂	24	完整 Complete	3 543	Chr07
ABCC8	1 601	(TMD-NBD) ₂	32	完整 Complete	4 803	Chr15
ABCC10	1 470	(TMD-NBD) ₂	18	完整 Complete	4 410	Chr02
ABCD2	619	TMD-NBD	8	部分 Partial	1 859	Chr11
ABCD3	657	TMD-NBD	18	完整 Complete	1 826	Chr01
ABCD4	635	TMD-NBD	8	完整 Complete	2 196	Chr02
ABCE1	609	NBD-NBD	12	完整 Complete	1 830	Chr07
ABCF1	811	NBD-NBD	21	完整 Complete	2 433	Chr18
ABCF2	618	NBD-NBD	13	完整 Complete	1 857	Chr12
ABCF3	717	NBD-NBD	16	完整 Complete	2 154	Chr16
ABCG1a	667	NBD-TMD	16	完整 Complete	2 001	Chr09
ABCG1b	382	TMD	13	部分 Partial	2 122	Chr12
ABCG1c	624	NBD-TMD	14	完整 Complete	2 118	Chr10
ABCG1d	561	NBD-TMD	12	完整 Complete	1 683	Chr10
ABCG1e	639	NBD-TMD	12	完整 Complete	1 917	Chr15
ABCG1f	535	NBD-TMD	10	完整 Complete	1 605	Chr15
ABCG1g	522	NBD-TMD	8	完整 Complete	2 020	Chr17
ABCG1h	555	NBD-TMD	12	完整 Complete	1 667	Chr17
ABCG2**	529	NBD-TMD	13	完整 Complete	1 588	–
ABCG5a	639	NBD-TMD	10	完整 Complete	1 917	Chr02
ABCG5b	647	NBD-TMD	12	完整 Complete	1 941	Chr02
ABCG5c	658	NBD-TMD	11	完整 Complete	1 974	Chr02
ABCG5d	646	NBD-TMD	14	完整 Complete	2 366	Chr02
ABCG8	635	NBD-TMD	11	完整 Complete	1 905	Chr02
ABCH1	749	NBD-TMD	16	完整 Complete	2 945	Chr09

*: *ABCC1g* 基因鉴定于缢蛏转录组数据, 故缺少外显子数目和染色体定位信息; **: 由于未在缢蛏染色体搜索出对应序列而缺少 *ABCG2* 定位信息。

*: Exon number and chromosome location information of *ABCC1g* was missed as it was identified from transcriptome data of razor clam; **: Chromosome location information of *ABCG2* was missed as there was no searched corresponding sequence in chromosomes of razor clam.

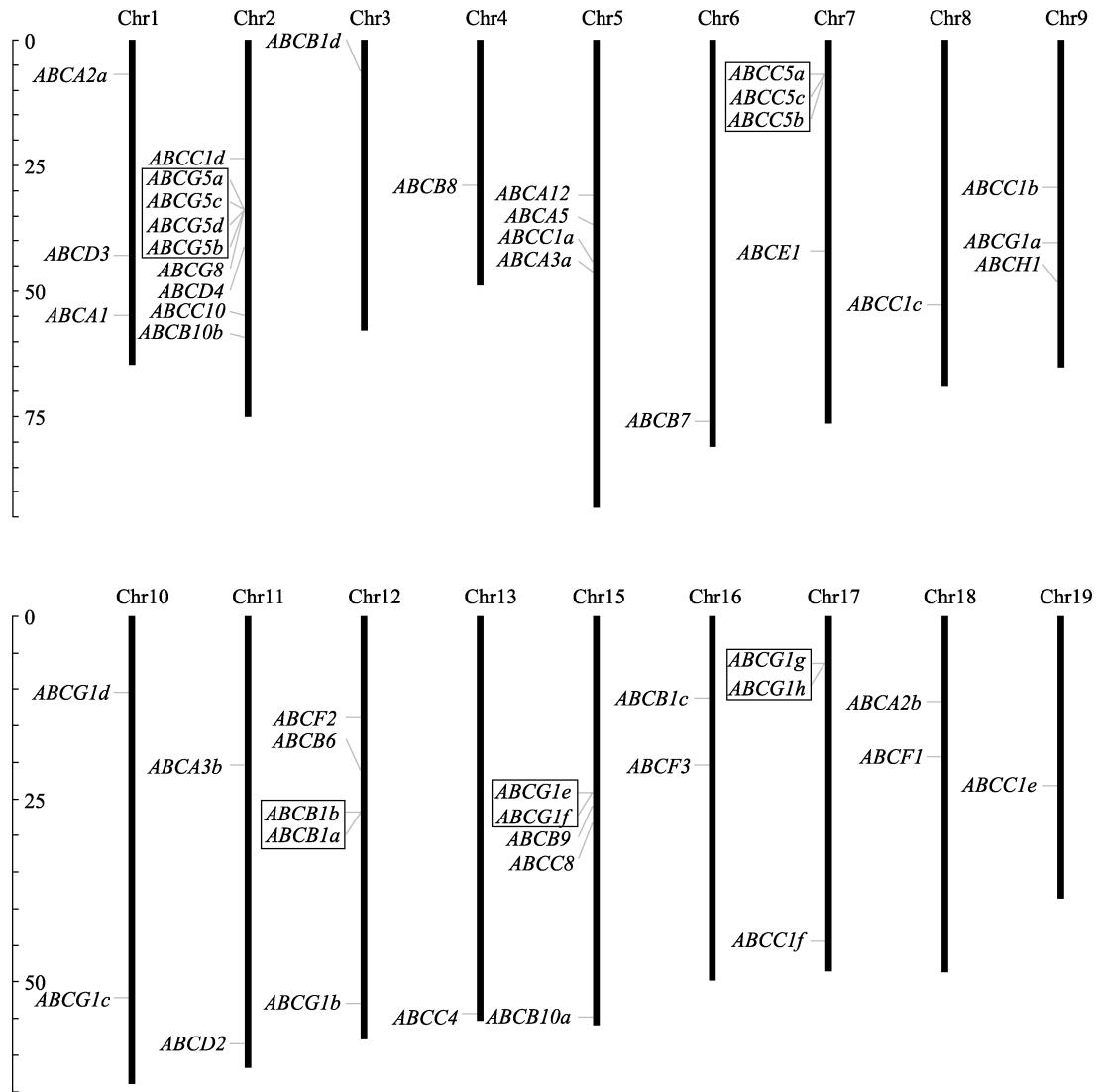


图1 缢蛏 ABC 转运蛋白基因染色体位置图示

Fig.1 Graphical representation of *ScABCs* locations on chromosomes

方框内标注的基因可能发生过串联复制，最左侧为染色体相对长度(Mb)示意标尺。

Genes within the rectangle box are putatively tandem duplicated, the scale (in megabase) on the left depicts the relative lengths of the different chromosomes in razor clam.

对 ABC 转运蛋白基因在染色体的定位研究显示(图 1), 来自 *ABCB*、*ABCC* 与 *ABCG* 亚家族的部分基因可能在进化过程中发生过串联复制。对串联重复基因的结构进一步研究发现, 发生串联复制的基因编码的蛋白同源性很高, 进化树分支支持率在 95% 以上, 且蛋白长度相近; 每组串联复制基因长度存在一定差异, 但外显子数目接近, 最多相差 4 个。

ABC 转运蛋白基因外显子数目为 8~44 个, 全转运蛋白编码基因的外显子数目总体多于半转运蛋白编码基因, 不同基因间 UTR 长度差距明显, 如 *ABCC4* 的 5'UTR 长度明显长于其他基因(图 2)。

A 亚家族包括 1 个 *ABCA1*、2 个 *ABCA2*、2 个 *ABCA3*、1 个 *ABCA5* 和 1 个 *ABCA12*, 共 7 个成员, 均为全转运蛋白。B 亚家族包括 4 个全转运蛋白, 即 *ABCB1a*~*ABCB1d*, 以及 6 个半转运蛋白, 即 *ABCB6*~*ABCB9* 和 2 个 *ABCB10*, 共 10 个成员。C 亚家族包括 7 个 *ABCC1*、1 个 *ABCC4*、3 个 *ABCC5*、1 个 *ABCC8* 和 1 个 *ABCC10*, 共 13 个成员, 均为全转运蛋白。

D 亚家族包括 *ABCD2*~*ABCD4*, 共 3 个成员, 该家族成员结构域全部为 TMD-NBD, 属于半转运蛋白。E 亚家族和 F 亚家族为非转运蛋白, 均由 2 个

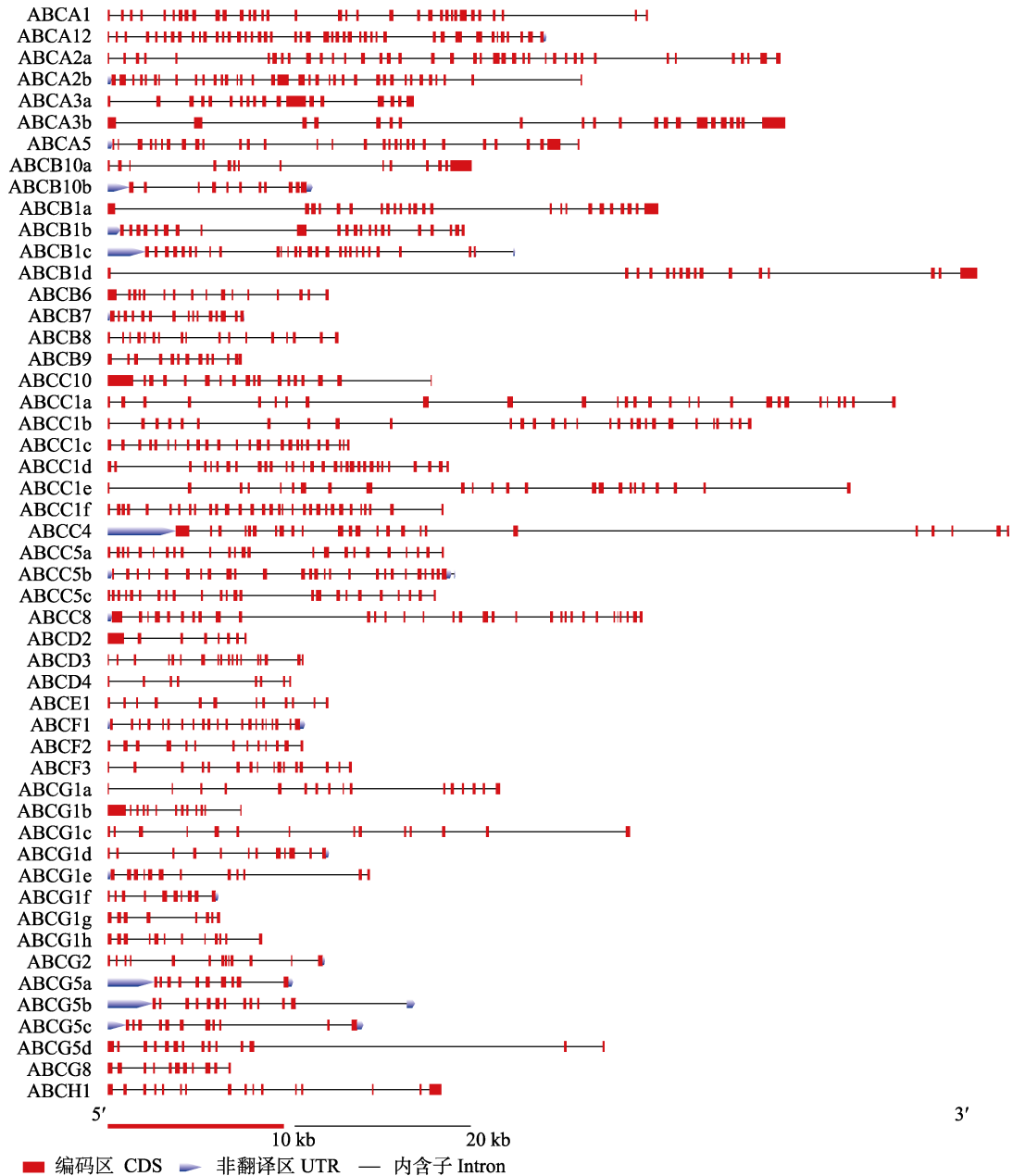


图 2 缢蛏 ABC 转运蛋白基因结构
Fig.2 Gene structure of *ScABCs*

NBD 构成,不包含 TMD,E 亚家族包含 1 个 ABCE1, F 亚家族包括 ABCF1~ABCF3,共 3 个成员。G 亚家族包括 8 个 ABCG1、1 个 ABCG2、4 个 ABCG5 和 1 个 ABCG8,共 14 个成员; ABCH 亚家族共鉴定出 1 个成员 ABCH1, ABCG 与 ABCH 家族成员全部为半转运蛋白,其结构域均为反向结构域,即 NBD-TMD。

2.2 贝类 ABC 转运蛋白亚家族成员进化分析

依据虾夷扇贝、栉孔扇贝、长牡蛎与缢蛏 ABC 转运蛋白序列的同源性,绘制 4 种双壳类 ABC 转运

蛋白家族系统进化树(图 3)。双壳类物种 ABC 转运蛋白各亚族成员聚合良好,虾夷扇贝与栉孔扇贝的 ABC 转运蛋白往往先以很高的支持率聚于分支最内侧,再与缢蛏或长牡蛎的序列相聚。

对双壳类物种 ABC 转运蛋白成员数目差异进行比较,发现虾夷扇贝 ABC 转运蛋白数量为 67,栉孔扇贝为 64,长牡蛎为 58,而缢蛏为 52。ABCA 亚家族中,除栉孔扇贝外,其他贝类均含有 1 个 ABCA12; B 亚家族中,缢蛏、2 种扇贝、长牡蛎各具有不同的 ABCB1 数量,栉孔扇贝与长牡蛎 ABCB6 数量为 2,

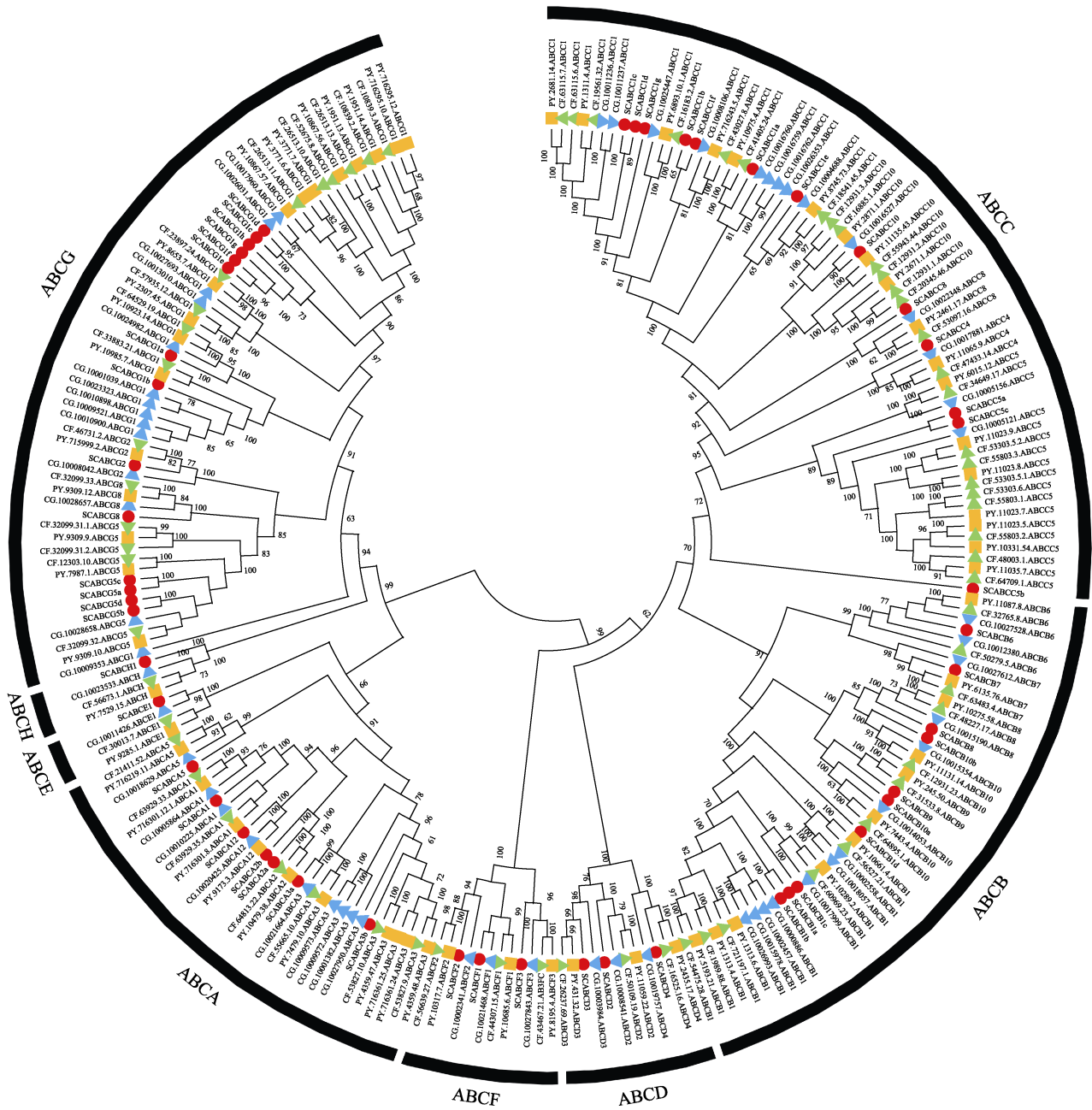


图3 4种双壳类ABC转运蛋白家族系统进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of ABC transporters from four bivalves

物种及缩写: PY: 虾夷扇贝(橙色正方形); CF: 栉孔扇贝(绿色正三角形);

CG: 长牡蛎(蓝色倒三角形); SC: 缢蛏(红色圆点)

Species and abbreviations: PY: *Patinopecten yessoensis* (orange squares); CF: *Chlamys farreri* (green triangles);

CG: *Crassostrea gigas* (blue inverted triangles); SC: *Sinovacula constricta* (red dots)

缢蛏与虾夷扇贝 ABCB6 数量为 1; C 亚家族中, ABCB1 和 ABCB5 在 4 种贝类中均有多个拷贝, 而 ABCB10 仅在 2 种扇贝体内为多拷贝; 4 种贝类 D、E、F 和 H 亚家族成员种类与数量一致; 在 G 亚家族中, ABCG1 为多拷贝基因, ABCG5 在长牡蛎中为单拷贝基因, 在其他贝类中存在 3~4 个拷贝。不同贝类间基

因数目的差异, 提示双壳类生物进化过程中可能发生基因增加或丢失事件。

2.3 不同物种间 ABC 转运蛋白家族成员比较研究

选取 6 种脊椎动物和 7 种无脊椎动物, 脊椎动物包括哺乳动物人类与小鼠, 两栖动物非洲爪蟾, 鱼类

的金鱼和斑马鱼, 无颌类的海七鳃鳗; 无脊椎动物包括节肢动物柑橘木虱、二点叶螨和瓜实蝇, 软体动物长牡蛎、虾夷扇贝、栉孔扇贝与缢蛭, 对各个物种的 ABC 转运蛋白基因家族成员的数量进行了比较分析 (表 2)。结果显示, ABC 转运蛋白家族总数量在脊椎动物中较为保守, 在节肢动物中数量变化很大, 部分物种 ABC 转运蛋白基因数量多达一百以上。人类 ABC 转运蛋白家族中 A 与 C 亚家族含有的基因数量最多,

小鼠和非洲爪蟾的 A 与 B 亚家族含有基因数量最多, 金鱼、斑马鱼和海七鳃鳗的 B 与 C 亚家族含有最多基因, 而二点叶螨、瓜实蝇、长牡蛎、虾夷扇贝、栉孔扇贝以及缢蛭基因数目最高的亚家族为 C 和 G。与脊椎动物相比, 节肢动物和软体动物的 ABCG 基因家族成员数量更多; 鱼类和软体动物只含有 1 个 ABCH, 节肢动物含有多个 ABCH; 无脊椎动物中柑橘木虱含有 4 个 ABCF 家族基因, 其他动物 ABCF 家族基因数目为 3 个。

表 2 13 个物种 ABC 转运蛋白基因家族比较
Tab.2 Comparison of ABC transporter gene family among 13 species

ABC 亚家族 ABC subfamily	人类 <i>H. sapiens</i>	小鼠 <i>M. musculus</i>	非洲爪蟾 <i>X. laevis</i>	金鱼 <i>C. auratus</i>	斑马鱼 <i>D. Rerio</i>	海七鳃鳗 <i>P. marinus</i>	二点叶螨 <i>T. urticae</i>	柑橘木虱 <i>D. citri</i>	瓜实蝇 <i>Z. cucurbitae</i>	长牡蛎 <i>C. gigas</i>	虾夷扇贝 <i>P. yessoensis</i>	栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>	缢蛭 <i>S. constricta</i>
A	12	16	9	10	9	7	9	4	7	9	10	7	7
B	11	12	11	14	12	10	4	4	7	13	11	12	10
C	12	11	7	13	16	10	39	5	10	14	18	24	13
D	4	4	3	5	6	3	2	2	2	3	3	3	3
E	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
F	3	3	3	4	4	3	3	4	3	3	3	3	3
G	5	6	5	7	8	3	23	18	16	14	17	16	14
H	0	0	0	1	1	0	22	15	3	1	1	1	1
总数 Total	48	53	39	55	57	37	103	53	49	58	64	67	52

2.4 ABC 转运蛋白基因组织和发育时期表达模式分析

缢蛭成体不同组织基因表达热图显示 (图 4A), 转运蛋白基因在鳃、肝胰腺、水管与精巢中表达种类较多, ABCD2 仅在肝胰腺与性腺中出现高表达量; ABCG5、ABCB8 在缢蛭肝胰腺中特异性高表达; 缢蛭鳃与精巢中较多 ABCA 亚家族成员出现较高表达量, ABCB 亚家族多个成员和 ABCE-F 亚家族成员在 8 个组织中普遍高表达。Luckenbach 等(2008)发现, ABCB 基因在加州贻贝 (*Mytilus californianus*) 鳃部细胞发挥外排环境毒素以保护细胞的生理功能, Fu 等 (2019) 研究发现, 缢蛭 ABCB1 与 ABCC5 在缢蛭鳃部发挥对病原菌感染的屏障作用。在缢蛭鳃组织中观察到 ABCB1、ABCB6、ABCB9 与 ABCC5 基因的高表达, 鳃作为持续性暴露于海水和进行呼吸代谢的器官, 推测上述基因的高表达对缢蛭具有重要免疫保护意义。

缢蛭不同发育时期基因表达热图显示 (图 4B), 部分 ABCC1、ABCC5 和 ABCC8 等多个基因表达量在缢蛭稚贝时期达到最高值, 而 ABCC10 表达量随缢蛭发

育而下降; ABCG 亚家族多个成员在壳顶幼虫期出现最高表达量; 缢蛭由卵子发育至囊胚期间, 除 ABCB8 外, 绝大部分基因表达量无明显变化; 进入原肠胚时期后, ABCA2b、ABCB10a 和 ABCG1b 基因表达量升高, ABCA1、ABCA3b、ABCA5 和 ABCB8 等基因表达量下降明显; ABCH1 在各个发育时期均维持较低表达量; A、B、C、G 亚家族部分成员和 E、F 亚家族全部成员在 8 个发育阶段中普遍维持高表达量。

Wang 等(2021)对 ABC 转运蛋白基因在虾夷扇贝与栉孔扇贝成体组织中的表达进行了研究, 比较发现, ABCE 与 ABCF 亚家族基因在 2 种扇贝的成体组织中同样维持高表达量, 提示 E、F 亚家族基因发挥管家基因作用; 3 种贝类的外套膜中均发现高表达量的 ABCG1 基因, 鳃中均存在高表达量的 ABCB1 基因, ABCG5 和 ABCG8 基因在 3 种贝类肝胰腺中特异性高表达; ABCB 亚家族多个成员在缢蛭及 2 种扇贝性腺中有较高表达量, 不同的是, 大部分 ABCA 亚家族成员在缢蛭精巢中出现高表达量, 在 2 种扇贝体内表达量较低; 2 种扇贝鳃部 ABCC 家族基因表达量普遍低, 而缢蛭鳃中观察到 ABCC1 与 ABCC5 的较高表达量。

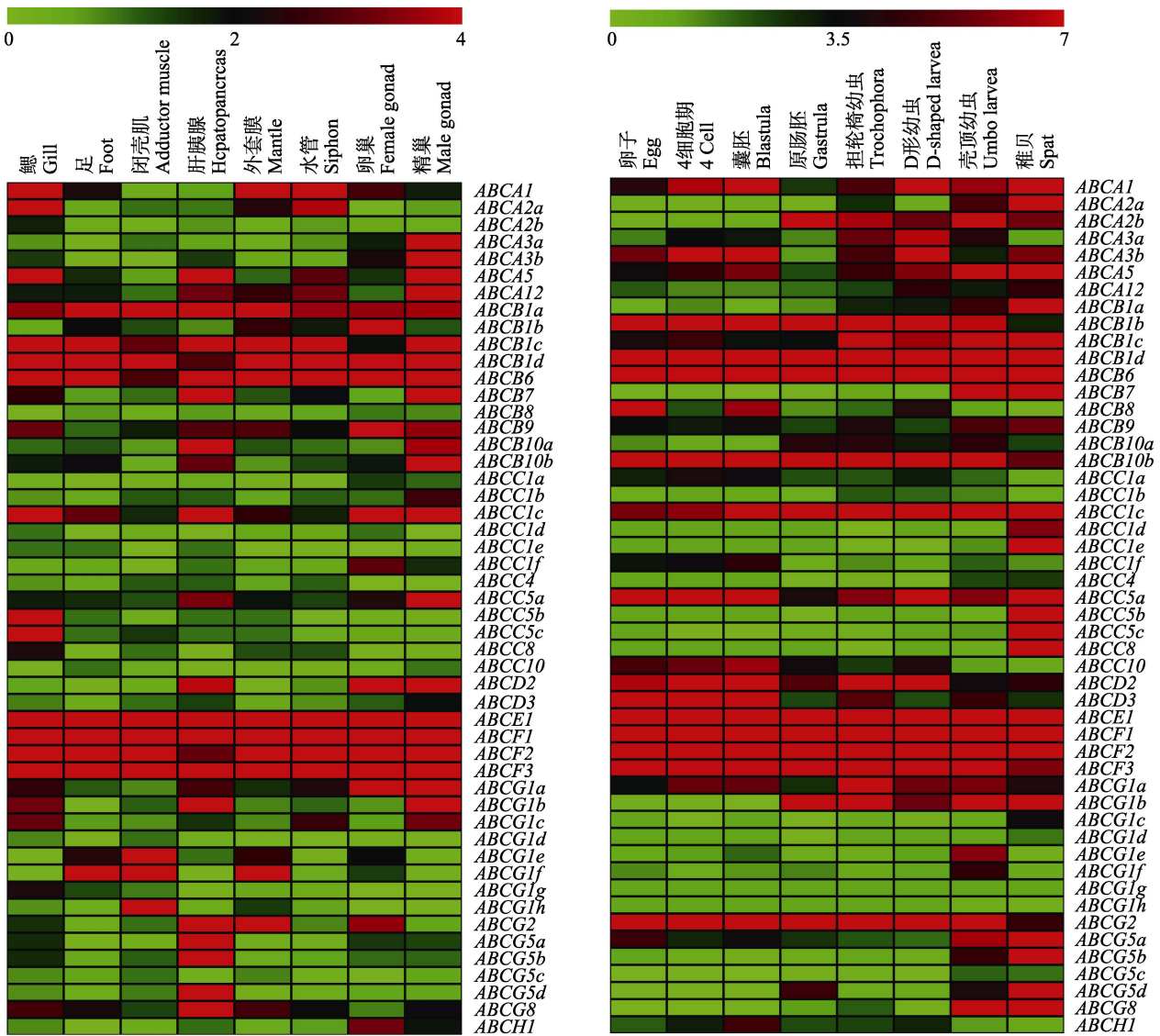


图4 缢蛏成体不同组织(A)和不同发育时期(B) ABC 转运蛋白基因表达谱

Fig.4 Expression profiles of ABC transporter genes in different tissues (A) and during development stages (B) of razor clam

3 讨论

利用缢蛏 2 个基因组蛋白数据库结合全长转录组数据共鉴定出 52 个 ABC 转运蛋白, 分属 A~H 8 个亚家族。通过对缢蛏 ABC 转运蛋白基因进行系统分析, 及基因在染色体上的定位分析和不同物种 ABC 转运蛋白家族数量比较, 发现软体动物的多个 ABC 转运蛋白基因为串联重复基因。部分基因序列通过本地 BLASTN 程序未在缢蛏染色体上搜索出对应序列, 因此缺乏染色体定位或外显子数量信息(*ABCC1g* 和 *ABCG2*); 由于基因组注释不够完整, 一部分基因缺少 3'UTR 或 5'UTR 信息; 进行成体不同组织和不同发育时期的表达谱分析时, 由于发现基因组未注释到 *ABCC1g* 和 *ABCD4* 基因, 因此未提供转录表达数据。

对虾夷扇贝、栉孔扇贝、长牡蛎与缢蛏 ABC 转运蛋白家族数量进行比较发现, 虾夷扇贝 ABC 转运蛋白数量为 64 个, 栉孔扇贝 67 个, 长牡蛎 58 个, 而缢蛏只鉴定出 52 个蛋白。虾夷扇贝、栉孔扇贝与缢蛏染色体数目均为 $2n=38$ (赵洋等, 2006; Ran *et al.*, 2019), 长牡蛎为 $2n=20$ (Qi *et al.*, 1999), 造成不同双壳类物种间基因成员数目差异的可能原因如下: 1) 进化地位不同, 导致基因在进化过程中发生增加或缺失; 虾夷扇贝与栉孔扇贝同属扇贝科, 亲缘关系近, 基因数目相近; 长牡蛎属牡蛎科, 与扇贝科更近; 缢蛏属竹蛏科, 与扇贝、牡蛎关系较远; 2) 缢蛏基因组组装不完整, 尚存在未鉴定到的基因。

脊椎动物含有较为保守的 ABC 转运蛋白家族总数量, 除金鱼和斑马鱼各含有 1 个 ABCH 外, 其他

物种不含有 ABCH; 节肢动物中 ABC 转运蛋白家族数量变化很大, ABCH 亚家族均含有多个成员, 推测与 ABCH 运送脂质至外表皮形成防水蜡质层的功能有关(Broehan *et al*, 2013; Dermauw *et al*, 2013); 与脊椎动物相比, 无脊椎动物的 ABCG 亚家族成员数量更高。双壳类中 ABC 转运蛋白基因家族部分成员存在多个拷贝, 如 *ABCB1*、*ABCG1* 等均为至少 2 个拷贝, 这可能与基因的起源有关, 这些基因可能是由串联复制(tandem duplication)产生的。软体动物多种参与环境响应和免疫防御的基因均发生过独立扩增(Takeuchi *et al*, 2016), 研究发现, 缢蛭 *ABCB1* 和 *ABCC5* 对病原感染发挥屏障作用(Fu *et al*, 2019), 而这 2 个基因在缢蛭、虾夷扇贝、栉孔扇贝和长牡蛎中均存在多个拷贝, 故推测软体动物的基因串联复制增加了部分 ABC 转运蛋白的拷贝数量, 且这对于海洋双壳类对病原生物的屏障作用和毒素的排出具有积极作用。

对缢蛭 ABC 转运蛋白基因在成体不同组织和不同发育时期的表达谱进行分析, 发现 ABC 转运蛋白基因在缢蛭不同组织存在差异表达, 在肝脏和鳃表达量较高, 在足和闭壳肌中表达量低, 可能与 ABC 转运蛋白在缢蛭体内对毒素等异物的外排生理功能有关; 多个 ABC 转运蛋白基因表达量随缢蛭发育而增加, 在稚贝时期达到最高, 这可能有助于缢蛭适应不同发育时期的生活环境改变。

4 结论

综上, 本研究对缢蛭 ABC 转运蛋白进行了鉴定、结构域预测和进化分析, 通过对比 13 种动物的 ABC 转运蛋白亚家族种类与数量, 探讨其在物种进化过程中的变化, 并对 ABC 转运蛋白基因在缢蛭不同组织和不同发育时期的差异表达进行分析, 为缢蛭 ABC 转运蛋白在生理学、毒理学、环境适应与进化方向的研究提供了基础资料。

参 考 文 献

- ANNILO T, CHEN Z Q, SHULENIN S, *et al*. Evolution of the vertebrate ABC gene family: Analysis of gene birth and death. *Genomics*, 2006, 88(1): 1–11
- BROEHAN G, KROEGER T, LORENZEN M, *et al*. Functional analysis of the ATP-binding cassette (ABC) transporter gene family of *Tribolium castaneum*. *BMC Genomics*, 2013, 14: 6
- DEAN M, ANNILO T. Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2005, 6: 123–142
- DEAN M, RZHETSKY A, ALLIKMETS R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Research*, 2001, 11(7): 1156–1166
- DERMAUW W, OSBORNE E J, CLARK R M, *et al*. A burst of ABC genes in the genome of the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. *BMC Genomics*, 2013, 14: 317
- DONG Y H, ZENG Q F, REN J F, *et al*. The chromosome-level genome assembly and comprehensive transcriptomes of the razor clam (*Sinonovacula constricta*). *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 664
- FORD R C, BEIS K. Learning the ABCs one at a time: Structure and mechanism of ABC transporters. *Biochemical Society Transactions*, 2019, 47(1): 23–36
- FU J, ZHAO X, SHI Y, *et al*. Functional characterization of two ABC transporters in *Sinonovacula constricta* gills and their barrier action in response to pathogen infection. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 443–453
- HOU W T, WANG L, XU D, *et al*. ABC transporters and human diseases. *Journal of University of Science and Technology of China*, 2018, 48(10): 853–861 [侯文韬, 王亮, 徐达, 等. ABC 转运蛋白与人类疾病. *中国科学技术大学学报*, 2018, 48(10): 853–861]
- HU B, JIN J P, GUO Y A, *et al*. GSDS 2.0: An upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 2015, 31(8): 1296–1297
- JEONG C B, KIM B M, LEE J S, *et al*. Genome-wide identification of whole ATP-binding cassette (ABC) transporters in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus*. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 651
- JEONG C B, KIM H S, KANG H M, *et al*. ATP-binding cassette (ABC) proteins in aquatic invertebrates: Evolutionary significance and application in marine ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 2017, 185: 29–39
- JONES D T, TAYLOR W R, THORNTON J M. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Computer Applications in the Biosciences*, 1992, 8(3): 275–282
- KINGTONG S, CHITRAMVONG Y, JANVILISRI T. ATP-binding cassette multidrug transporters in Indian-rock oyster *Saccostrea forskali* and their role in the export of an environmental organic pollutant tributyltin. *Aquatic Toxicology*, 2007, 85(2): 124–132
- KUMAR S, STECHER G, LI M, *et al*. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547–1549
- LIU H M, CUI W Y, SONG S Y, *et al*. Identification and analysis of ABC transporter gene family in goldfish (*Carassius auratus* var.). *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(1): 1–10 [刘含梅, 崔文耀, 宋诗颖, 等. 金鱼

- ABC 转运蛋白基因家族成员鉴定及分析. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(1): 1–10]
- LIU S, ZHOU S, TIAN L, *et al.* Genome-wide identification and characterization of ATP-binding cassette transporters in the silkworm, *Bombyx mori*. BMC Genomics, 2011, 12: 491
- LUCKENBACH T, EPEL D. ABCB- and ABCC- type transporters confer multixenobiotic resistance and form an environment-tissue barrier in bivalve gills. American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2008, 294(6): R1919–1929
- NAVARRO A, WEIBBACH S, FARIA M, *et al.* *Abcb* and *Abcc* transporter homologs are expressed and active in larvae and adults of zebra mussel and induced by chemical stress. Aquatic Toxicology, 2012, 122/123: 144–152
- POPOVIC M, ZAJA R, LONCAR J, *et al.* A novel ABC transporter: The first insight into zebrafish (*Danio rerio*) ABCH1. Marine Environmental Research, 2010, 69(Suppl): S11–13
- QI H Y, LIU M X, ZHU H X, *et al.* Karyotype and meiosis of oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Ostreidae). Journal of Liaocheng University (Natural Science), 1999(1): 51–55
- RAN Z, LI Z, YAN X, *et al.* Chromosome-level genome assembly of the razor clam *Sinonovacula constricta* (Lamarck, 1818). Molecular Ecology Resources, 2019, 19(6): 1647–1658
- REN J F, CHUNG-DAVIDSON Y W, YEH C Y, *et al.* Genome-wide analysis of the ATP-binding cassette (ABC) transporter gene family in sea lamprey and Japanese lamprey. BMC Genomics, 2015, 16(1): 436
- ROBEY R W, PLUCHINO K M, HALL M D, *et al.* Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. Nature Reviews Cancer, 2018, 18(7): 452–464
- SHI B, XIANG X, KE Y Z, *et al.* *Abcb1* gene expression pattern and function of copper detoxification in Fujian oyster, *Crassostrea angulata*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2015, 190: 8–15
- SOLOVYEV V V. Statistical approaches in eukaryotic gene prediction in handbook of statistical genetics (eds. BALDING D, CANNINGS C, AND BISHOP M). Wiley-Interscience, 2007, 3rd edition, 1616
- SONG Y G, WU J H, SHAO Z W, *et al.* Evaluation of heavy metal pollution in the offshore surface seawater of the Liaodong Bay. Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(3): 14–19 [宋永刚, 吴金浩, 邵泽伟, 等. 辽东湾近岸表层海水重金属污染分析与评价. 渔业科学进展, 2016, 37(3): 14–19]
- SUN S, ZHAO Y T, WANG L M, *et al.* Status of heavy metal pollution in the shellfish culture area of Shangdong Province and the risk analysis of heavy metal elements in the shellfish. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(4): 118–125 [孙珊, 赵玉庭, 王立明, 等. 山东省主要贝类养殖区重金属环境状况及贝类安全风险. 渔业科学进展, 2017, 38(4): 118–125]
- TORRE D C, BOCCI E, FOCARDI S E, *et al.* Differential *ABCB* and *ABCC* gene expression and efflux activities in gills and hemocytes of *Mytilus galloprovincialis* and their involvement in cadmium response. Marine Environmental Research, 2014, 93: 56–63
- TAKEUCHI T, KOYANAGI R, GYOJA F, *et al.* Bivalve-specific gene expansion in the pearl oyster genome: Implications of adaptation to a sessile lifestyle. Zoological Letters, 2016, 2: 3
- THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, *et al.* The CLUSTAL_X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876–4882
- WANG H, LIU S, XUN X, *et al.* Toxin- and species-dependent regulation of ATP-binding cassette (ABC) transporters in scallops after exposure to paralytic shellfish toxin-producing dinoflagellates. Aquatic Toxicology, 2021, 230: 105697
- WANG Z, TIAN F, CAI L, *et al.* Identification of candidate ATP-binding cassette transporter gene family members in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) via adult tissues transcriptome analysis. Scientific Reports, 2019, 9(1): 15842
- XU H Q, MA M, MA Y P, *et al.* Identification and expression characterization of ATP-binding cassette (ABC) transporter genes in melon fly. Insects, 2021, 12(3): 270
- XU W F, QIAO K, HUANG S P, *et al.* Quantitative gene expression and *in situ* localization of scygonadin potentially associated with reproductive immunity in tissues of male and female mud crabs, *Scylla paramamosain*. Fish and Shellfish Immunology, 2011, 31(2): 243–251
- ZHANG Z, CHEN J. Atomic structure of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. Cell, 2016, 167(6): 1586–1597
- ZHAO X, DUAN X, WANG Z, *et al.* Comparative transcriptome analysis of *Sinonovacula constricta* in gills and hepatopancreas in response to *Vibrio parahaemolyticus* infection. Fish and Shellfish Immunology, 2017, 67: 523–535
- ZHAO Y, BAO Z M, BI K, *et al.* Karyotypes of hybrid scallop (hybridizing cross the female *Patinopecten yessoensis* with the male *Chlamys farreri*) and their parents. Haiyang Xuebao, 2006(1): 100–105 [赵洋, 包振民, 毕克, 等. 雌性虾夷扇贝与雄性栉孔扇贝杂交子代及其亲本的核型研究. 海洋学报(中文版), 2006(1): 100–105]

Genome-Wide Identification and Expression Pattern of ABC Transporters in Razor Clam (*Sinonovacula constricta*)

YANG Fan^{1,3#}, LI Zhiping^{1,3#}, DONG Yinghui², REN Jianfeng^{1,3①}

(1. International Research Center for Marine Biosciences, Ministry of Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Germplasm Resource of Zhejiang, College of Biological and Environmental Sciences, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315000, China; 3. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract The razor clam (*Sinonovacula constricta*) is an economically important species and one of China's four traditional mariculture mollusks. The ABC transporter family is one of the oldest membrane protein families, widespread across prokaryotes and eukaryotes. By utilizing the energy released by ATP hydrolysis, ABC transporters function to transfer amino acids, lipids, antibiotics, and many other substances across membranes, thereby participating in various physiological processes such as nutrition uptake, antigen presentation, drug excretion, and lipid homeostasis in living organisms. ABC transporters can be classified as full transporters, which contain two nucleotide-binding domains (NBDs) and two transmembrane domains (TMDs), a half-transporter (composed of one NBD and one TMD), and a non-transporter (composed of either two NBDs or two TMDs incapable of transporting). The NBD domain is responsible for binding and hydrolyzing ATP, whereas the TMD domain determines substrate specificity. NBD domain sequences are relatively more conserved. Several investigations of heavy metal pollution were conducted in mollusk culture areas, and it was found that the concentrations of some ions exceeded the limits. Previous studies have reported that the multixenobiotic resistance (MXR) mechanism in bivalves is mediated by ABC transporters from the ABCB, ABCC, and ABCG subfamilies, which are important for the cellular efflux of noxious metallic ions. Obtaining a greater understanding of ABC transporters may contribute to the development of a healthier and more scientific method of mollusk culture. Until now, the identification of the ABC transporter family in mollusks has only been systematically performed in three bivalves: *Patinopecten yessoensis*, *Chlamys farreri*, and *Crassostrea gigas*. The analysis and expression pattern of the ABC transporter family of the razor clam have not yet been reported. To systematically study ABC transporters and facilitate an understanding of the evolution and function of ABC transporters in razor clams and mollusks, depending on the genome and transcriptome data, 52 ABC transporter proteins were identified using the local and NCBI BLASTP, TBLASTN programs, and the ExPASy website. The SMART (simple modular architecture research tool) website and FGENSESH+ were used to further predict the domain of ABC transporters. After applying the local BLASTN program to the published genome data of the razor clam, the MapInspect software and the CSDS (gene structure display server) website were used to generate graphical representation of the locations of ABC transporter genes on chromosomes and gene structures, respectively. Six vertebrates (*Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Xenopus laevis*, *Carassius auratus*, *Danio rerio*, and *Petromyzon marinus*) and seven invertebrates (*Diaphorina citri*, *Tetranychus urticae*, *Zeugodacus cucurbitae*, *Patinopecten yessoensis*, *Chlamys farreri*, *Crassostrea gigas*, and *Sinonovacula constricta*) were chosen to compare and discuss the differences in subfamilies among species of various evolutionary status. Using the Mev 4.90 software, based on transcriptome data, the heat map of ABC transporter genes expression levels in

① Corresponding author: REN Jianfeng, E-mail: jfren@shou.edu.cn

eight tissues (gill, foot, adductor muscle, hepatopancreas, mantle, siphon, female gonad, and male gonad) and eight development stages (egg, cell, blastula, gastrula, trochophora, d-shaped larvae, umbo larvae, and spat) of the razor clam was completed. Based on sequence similarity, MEGA X software was used to divide the 52 ABC transporters into eight subfamilies, namely ABCA~ABCH, and phylogenetic trees of ABC transporters from four bivalves were drawn. The total of 52 ABC transporter genes was divided into 7 ABCA, 10 ABCB, 13 ABCC, 3 ABCD, 1 ABCE, 3 ABCF, 14 ABCG, and 1 ABCH. The ORF lengths of these genes ranged in size from 1 588 to 7 224 bp, the number of exons ranged from 8 to 44, and the deduced proteins were between 455 and 4 560 amino acids in length. Based on the composition of the protein domain, 52 ABC transporters could be divided into 24 full transporters, 24 half transporters, and four non-transporters. The ABCA subfamily consisted of 1 ABCA1, 2 ABCA2, 2 ABCA3, 1 ABCA5, and 1 ABCA12, all of which were full transporters. The ABCB subfamily consisted of four complete transporters, namely ABCB1a~ABCB1d, and six half transporters, namely ABCB6~ABCB9 and ABCB10a~ABCB10b. The ABCC subfamily comprised 7 ABCC1, 1 ABCC4, 3 ABCC5, 1 ABCC8, and 1 ABCC10, all of which were full transporters. The ABCD subfamily included ABCD2~ABCD4, all of which were half transporters. Non-transporters were observed in the ABCE and ABCF subfamilies, namely ABCE1 and ABCF1~ABCF3. The ABCG subfamily, consisting of 8 ABCG1, 1 ABCG2, 4 ABCG5, and 1 ABCG8, was the largest subfamily and its members were all half transporters. The ABCH subfamily contained only one member, ABCH1, which was a half-transporter. The comparison of ABC subfamilies between different species revealed that tandem duplication events might have resulted in an increase in the numbers of several ABC transporter genes during molluscan evolution and that some genes with functions related to immunity, such as *ABCB1* and *ABCC5*, had multiple copies, indicating a positive influence on the environmental adaptation of mollusks. The analysis of the expression level of ABC transporter genes in different tissues and developmental stages of razor clam showed that the gill and hepatopancreas have relatively more expressed genes, which may be because of their detoxification function. The expression of ABCA and ABCG subfamily genes increased with razor clam development, and the expression levels of many ABCC and ABCG subfamily genes peaked in the spat stage. In general, several members of the ABCB subfamily, as well as all ABCE and ABCF subfamily genes, remained highly expressed in all eight tissues and all eight development stages. The ABC transporter gene family has only been investigated in three species of mollusks. Systematic identification and expression pattern analysis of ABC transporters in razor clams can promote our understanding of the evolution of ABC transporters in mollusks and provide an essential foundation for functional research on ABC transporters in mollusks, which may contribute to healthier mollusk culture.

Key words *Sinonovacula constricta*; ABC transporter; Sequence analysis; Gene expression pattern