



· 综述 ·

鳃的功能组学研究进展和趋势

宋朝伟, 李文笙*

(中山大学生命科学学院, 中山大学水生经济动物研究所,
有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广东省水生经济动物良种繁育重点实验室,
广东省重要经济鱼类健康养殖工程技术研究中心, 广东 广州 510275)

摘要: 鳃是水生动物主要的呼吸器官。虽然部分水生动物的鳃结构不同(如鱼和虾蟹), 但其主要功能均为气体交换和渗透压调节等。本文旨在对近年来鳃的功能组学的主要研究结果进行归纳和总结, 特别是不同的环境因子(重金属的污染物、寄生虫和细菌、盐度、亚硝酸盐等)胁迫下水生动物鳃的转录组测序分析, 以及鳃在不同环境因子胁迫下的蛋白组学和代谢组学的研究, 揭示环境因子改变对水生动物鳃相关的基因表达变化、生理生化状态变化、分子通路和生理功能的影响, 从而为鱼类的健康养殖提供新的思路和方向。

关键词: 水生动物; 鳃; 转录组学; 蛋白组学; 代谢组学

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

在水生动物体中, 鳃具备呼吸、酸碱平衡、渗透压调节和排泄、免疫调节等众多生理功能, 同时也是水生动物与外界环境直接接触的器官之一^[1], 水环境变化会直接影响鳃乃至水生动物的生理状态。鳃对水环境的理化性质改变非常敏感, 既是水环境中污染物的主要感知器官, 也是生态毒理学研究中评价环境风险的重要模型^[2]。水体具有高度复杂性和不确定性, 其中包含多种多样的物质并且含量悬殊。近年来, 越来越多的研究聚焦于不同的水环境因子对水生动物的生理状态影响以及水生动物适应水环境变化的调节机制。

随着组学技术和工具的不断发展, 为了深刻理解水生动物应对水环境变化的分子调节机制, 研究者大多采用组学技术来探究鳃适应环境胁迫因子的机制, 如生物毒理、免疫通路调节等, 寻找有效提高水生动物应对不利环境的方法。各种

组学研究中, 转录组学分析的使用最为广泛, 也包含部分蛋白组学和代谢组学。从 2004 年 6 月到 2022 年 3 月, 关于鳃的所有组学论文共有 230 篇, 其中转录组学有 183 篇, 蛋白组学和代谢组学分别有 40 和 7 篇、单细胞转录组学 1 篇。转录组测序结果会随着生理状态、外界环境变化而变化, 因此转录组分析成为了研究鳃应对水环境变化的调节机制的有力工具^[3]。

目前, 针对水生动物鳃的组学研究越来越多, 比如在亚硝酸盐的胁迫下, 对鳙 (*Aristichthys nobili*)^[4] 鳃的比较转录组分析发现, 差异表达基因在 II 类主要组织相容性复合体 (MHC)、凋亡信号通路和免疫系统过程中富集, 该结果更深入地揭示了鳙应对水环境中的亚硝酸盐急性升高的调节机制。与转录组学相比, 蛋白组学可以捕捉蛋白活性变化, 从而弥补转录组分析中缺失的生物体

收稿日期: 2022-08-04 修回日期: 2022-10-30

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0900101); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-46); 国家自然科学基金 (32072968); 农业农村部科研杰出人才项目 (2016—2020)

第一作者: 宋朝伟 (照片), 从事罗非鱼鳃方面研究, E-mail: songchw@mail2.sysu.edu.cn

通信作者: 李文笙, 从事鱼类生理学、神经内分泌等方面研究, E-mail: lsslws@mail.sysu.edu.cn



生理状态变化的信息^[5]。从三种不同病原体感染的牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)^[6] 的鳃中提取蛋白质进行蛋白质组学分析, 可以得到感染后鱼鳃的蛋白表达规律(不同致病源和靶器官具有不同的蛋白表达谱), 从而根据不同病原体的特点预防病害。代谢组学通过对生物体内的代谢物进行定量分析, 寻找代谢物和生理或病理变化的关系^[7]。在化学污染物丁草胺的胁迫下, 对金鱼 (*Carassius auratus*)^[8] 的鳃进行代谢组分析, 从分子水平阐明丁草胺对水生动物的危害。研究人员在对大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[9] 的研究中, 模拟其生活史(从淡水到海水), 采用单细胞测序技术, 鉴定出鳃组织的 20 种细胞类型, 并发现鳃组织中的 4 种免疫细胞 (T 细胞、髓样细胞、树突状细胞、淋巴细胞) 的数量显著下降, 免疫细胞中的 *cd3e*、*csflr*、*il10rb* 和 *fit3* 等免疫基因显著下调。因此, 本文从鳃的转录组、蛋白组和代谢组相关的研究结果进行了综述, 便于读者更好地了解鳃的组学研究进展和趋势。

1 鳃的转录组学研究

通过转录组分析可以对基因功能进行注释、基因差异表达分析、GO 富集分析等, 由此对水生动物鳃环境胁迫的调节机制有更加深入的了解, 本文汇总了部分组学分析结果(表 1)。转录组学在鳃的组学研究中占大部分, 关于鳃的转录组学研究通常会涉及到对实验对象不同的处理, 本文统计了各种不同的变量(图 1), 可分为三大类进行具体的分析: 环境因子、环境污染物、病原生物。

1.1 环境因子

盐度 水生动物生活在水环境中, 鳃组织与水环境直接且密切接触, 水环境中盐度的变化会影响鳃的生理生化状态。关于盐度胁迫的鳃的转录组分析数量最多, 盐度胁迫的实验对象以鱼类为主, 也包括甲壳动物(蟹类)、软体动物等。研究涉及的鱼类包括广盐性鱼类和洄游性鱼类等, 这些鱼类对于水环境中较大幅度的盐度变化可以保持一个适应性稳态^[33], 利于研究盐度胁迫的机制, 但目前并没有一个特定的盐度胁迫研究的模式生物。盐度胁迫研究的处理方法: 大多采用实验动物的幼体, 对水生动物所处水环境进行高盐和低盐处理, 胁迫时间主要分为短期(7 d 之内)或长期(15 d 以上)。在对水生动物进行盐度胁迫处

理时, 无论是高渗或低渗处理, 鳃的转录组分析结果表明, 差异表达基因主要富集的通路均包含能量代谢、离子运输、渗透调节、免疫反应、信号传导等, 而高渗处理中富集的特异通路有抗氧化活性、细胞周期、ATP 生物合成等, 低渗处理中特异富集的为遗传信息通路。

对广盐性鱼类进行盐度胁迫时, 广盐性的鱼类差异表达基因主要富集的通路有新陈代谢(能量代谢)、离子调节。代谢通路中的糖酵解、糖异生、脂肪酸代谢的激活可以为离子运输提供相应的能量, 从而适应外界高渗透压的环境。为了维持广盐性鱼类的渗透压平衡, 渗透压调节中大部分离子通道基因都会产生差异表达, 如水通道蛋白 1 (*aqp1*)、碳酸酐酶 (*ca*)、囊性纤维化跨膜调节因子 (*cftr*)、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATP 酶 (*nka*)。还涉及其他的基因, 如在低渗时, 长颌鲂^[10] 的催乳素 (*prl*) 表达下调以达到减少离子分泌的效果, 在高渗时, 生长激素表达上调来促进离子分泌。在孔雀花鲈^[12] 中, 氧化磷酸化的途径被激活上调最多。尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*)^[36] 中, 离子渗透调节相关的基因, 如 *nka*、*cftr*、钠氢离子交换器 (*nhe*) 等离子通道受体、*aqp1*、催乳素受体 (*prlr*) 等都会随着盐度胁迫而发生表达变化, 细胞因子间的相互作用、细胞外基质 (ECM) 受体相互作用、糖异生、亚油酸代谢等通路在面对盐度胁迫时也发挥了重要作用。

洄游性鱼类的生活环境在淡水和海水中转换, 其生活史不同时期面对不同盐度的水体环境, 所以可以作为一个研究盐度胁迫的模型。当洄游性鱼类进入高渗水体环境时, 差异表达基因主要富集在渗透调节、免疫应激反应、代谢通路、组织器官形态等通路, 当大西洋鲑^[15] 受到高渗胁迫时, 鱼体的免疫系统发生一系列变化, 几种 MHC 类基因都剧烈下调, 而免疫球蛋白则有瞬时表达上调的趋势; 在淋巴细胞中发挥重要作用的基因也被下调(如 *cd2*、*cd28*、*il-4* 等)。一些研究将鳃组织中的铺路细胞 (PVC) 和氯细胞进行分离, 再进行转录组测序, 从而准确地研究高渗胁迫下不同细胞的变化。在对日本鳗鲡^[16] 的鳃细胞进行分选之后, 在转录组测序中发现, C 反应蛋白 (CRP) 基因在 PVC 细胞中表达, *il-1r2* 在 PVC 和氯细胞中均有表达, 高盐度条件下氯细胞中 *tlr2* 显著下调, 这都暗示了鳃组织不同细胞在高渗胁迫下免疫系统的变化。在对日本鳗鲡^[37] 的高渗研究中还发现, PVC 以碳水化合物代谢为主, 氯细胞以氨

表 1 鳃功能组学分析结果汇总

Tab. 1 Summary of functional genomics analysis of gill

物种 species	环境因子 environment factors	主要差异表达基因/蛋白 different expressed genes/proteins	富集通路/生物学过程 enrichment pathways/biological process
长颌鲚 ^[10] <i>Coilia nasus</i>	低渗/高渗	<i>prl, nka, gh, ca</i>	糖酵解、脂肪酸代谢、离子调节
青鳉 ^[11] <i>Oryzias melastigma</i>	低渗/高渗	<i>sod3, atp10b, apol3</i>	cAMP、TNF、AMPK、HIF-1信号通路
孔雀花鱂 ^[12] <i>Poecilia reticulata</i>	高渗	<i>v-atpase, calreticulin, slc9a2</i>	代谢过程; 炎症、免疫反应; 氧化磷酸化
莫桑比克罗非鱼 ^[13] <i>Oreochromis mossambicus</i> (♀) × <i>O. urolepis hornorum</i> (♂)	高渗	<i>ca, camk2, aqp1, prlr</i>	渗透调节、IL-17信号通路、细胞周期、代谢
莫桑比克罗非鱼 ^[14] <i>O. mossambicus</i>	低渗/高渗	<i>aqp3, nka, nhe, angptl7, ghr2</i>	渗透调节、细胞周期、能量代谢、信号转导
大西洋鲑 ^[15] <i>S. salar</i>	高渗	<i>mhc1, mhc2, cd28, cd53, il-4</i>	免疫
日本鳗鲡 ^[16] <i>Anguilla japonica</i>	高渗	<i>crp, tlr2, il-1r2</i>	免疫
尖吻鲈 ^[17] <i>Lates calcarifer</i>	高渗	<i>acth, nka, prl, claudin</i>	渗透调节、细胞体积调节、组织重塑、能量代谢
银鲑 ^[18] <i>Oncorhynchus kisutch</i>	高渗	<i>pfkm, itg2, cdc2, ccl2</i>	免疫、生长、代谢
大鳞大麻哈鱼 ^[19] <i>O. tshawytscha</i>	高温	<i>hsp70, hsp90</i>	SMAD蛋白信号转导、蛋白质折叠
半滑舌鳎 ^[20] <i>Cynoglossus semilaevis</i>	高温	<i>hsps, hif-1, caspase8, stat</i>	JAK/STAT信号通路、Nod样受体信号通路
奥尼亚罗非鱼 ^[21] <i>O. aureus</i>	低温	<i>gpia, ldha, tbib, pgam1a</i>	细胞间相互作用、蛋白酶体、糖酵解
鲢 ^[22] <i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	缺氧	<i>irs-1, irs-2, sgk1</i>	FoxO通路
大黄鱼 ^[23] <i>Larimichthys crocea</i>	缺氧	<i>clqs, ccl3, ccr9, nos, slc4a4</i>	先天免疫过程、糖酵解、三羧酸循环、离子运输
多鳞鱚 ^[24] <i>Sillago sihama</i>	缺氧	细胞色素P450、谷胱甘肽S-转移酶	代谢、类固醇合成、氨基酸生物合成
中华绒螯蟹 ^[25] <i>Eriocheir sinensis</i>	酸胁迫	<i>hsp70, toll样受体, caspase8, cathepsin a</i>	PI3K-Akt、趋化因子、Toll样受体信号通路、凋亡
凡纳滨对虾 ^[26] <i>Litopenaeus vannamei</i>	酸胁迫	<i>kent2, ae, ca, aqp1, clca</i>	GPCR、MAPK和AMPK信号转导、细胞凋亡
凡纳滨对虾 ^[27] <i>L. vannamei</i>	碱胁迫	<i>igsf, hsp, gst, sod, alf</i>	cAMP、cGMP-PKG、PI3K-Akt信号通路
鳙 ^[4] <i>Aristichthys nobilis</i>	亚硝酸盐	<i>gnmt, hsp70, caspase3, tnf-a</i>	氮代谢、氧化应激、免疫系统、凋亡信号通路
弹涂鱼 ^[28] <i>Periophthalmus cantonensis</i>	氨胁迫	<i>nkcc, ca2, ca15, nhe</i>	蛋白质、氨基酸代谢; 氨排泄
泥蚶 ^[29] <i>Tegillarca granosa</i>	重金属铜	<i>cnga3, ncx1, ncx2, pip5k</i>	内吞作用、嗅觉传导、细胞进入、运输和解毒
中华绒螯蟹 ^[30] <i>E. sinensis</i>	重金属铜	凝集素、蛋白酶L、 <i>rab7</i> 和 <i>hsp70</i>	mTOR、PI3K-Akt、Toll样受体、T细胞受体信号通路
克氏原螯虾 ^[31] <i>Procambarus clarkii</i>	重金属铜	<i>cuzn-sod, cat, idh1, phyh</i>	嘌呤代谢、Toll、PI3K-Akt、Hippo信号通路
红鳍东方鲀 ^[32] <i>Takifugu rubripes</i>	刺激隐核虫	<i>ap-1, p38, il-1b, hsp90, pla</i>	Toll样受体、MAPK、溶酶体受体、NOD样受体信号通路
大西洋鲑 ^[33] <i>S. salar</i>	鳃痘病毒 gill poxvirus	<i>rtp3, caspase8, mhc, traip, tcr</i>	促凋亡和增殖、黏膜免疫、离子通道、黏蛋白
凡纳滨对虾 ^[34] <i>L. vannamei</i>	白斑综合症病毒 white spot syndrome virus (WSSV)	钙蛋白、热休克蛋白、泛素、胰蛋白酶	无
斑马鱼 ^[35] <i>Danio rerio</i>	嗜水气单胞菌 <i>Aeromonas hydrophila</i>	组蛋白H4、甘油醛3-磷酸脱氢酶、补体成分5	无

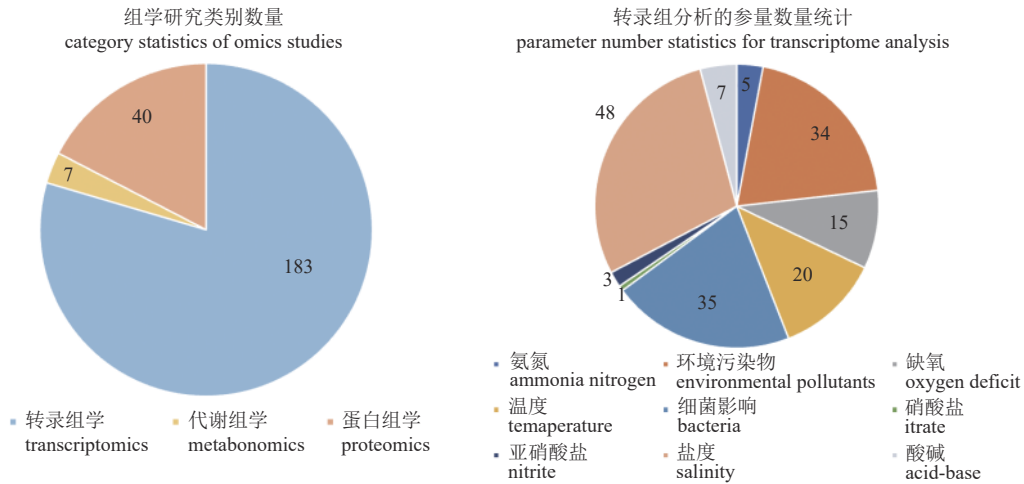


图 1 组学研究类别与转录组分析的参量数量统计

Fig. 1 Statistics on the number of histological study categories and covariates in transcriptome analysis

基酸和核酸代谢为主, 因为鳃细胞有较多的线粒体。PVC 高表达的基因涉及参与紧密连接和细胞骨架调控的基因、肿瘤坏死因子和白细胞介素。

温度 在水产养殖中, 水温的变化时刻影响着水生动物的生理状态和行为, 这种影响具有种类特异性。全球的气候变化也让更多的研究关注于水生动物如何应对外界温度的变化及深层次的分子调节机制。温度胁迫的实验对象主要集中在鱼类, 实验设计除了进行直接的温度胁迫之外, 部分研究还会对实验对象进行“筛选”, 通过预实验选出同一属的耐高温和非耐高温的物种, 进行比较转录组学分析, 从而探究温度耐受性的分子机制。在高温胁迫下, 热休克蛋白基因 (*hsp*) 的表达普遍提高, 差异表达基因主要富集在蛋白质合成和加工途径、免疫反应、脂质代谢和氨基酸代谢等通路; 低温胁迫时, 差异表达基因主要富集在免疫通路 (抗原的加工和呈递)、新陈代谢 (氧化磷酸化、氮代谢和硫代谢)。可见, 热应激和冷应激对于鱼类的影响差异较大。但总的来说, 在热应激下鱼类适应外界温度变化的分子机制主要是通过提高热休克蛋白的表达以及调节蛋白质合成和加工的相关过程来实现的。在大鳞大麻哈鱼^[19]的高温胁迫中, 通过转录组分析, 可以看到鳃组织中 *hsp70*、*hsp90* 的高表达, SMAD 蛋白 (*smad* protein) 信号转导、蛋白定位和折叠、ECM、细胞连接以及糖酵解相关的基因也高度表达。Nitzan 等^[21]在对奥利亚罗非鱼的研究中, 筛选出耐寒和非耐寒的鱼, 同时对其进行低温胁迫, 发现耐寒和非耐寒的鱼在受到低温胁迫时, 都会下调细胞

间相互作用的基因, 上调蛋白酶体、各种细胞内蛋白水解活性基因。但在糖酵解和葡萄糖生成的过程中, 耐寒鱼会下调参与代谢的基因, 而非耐寒鱼则相反。

缺氧 水生动物的鳃在缺氧应激反应中起着重要作用。在受到缺氧应激之后, 水生动物的免疫相关基因 (趋化因子、白细胞介素、补体因子) 表达下调^[38], 这可能是缺氧条件下水生动物易受到病原体感染的原因。在低氧胁迫下, 差异表达基因还富集在渗透压或离子转运调节、能量代谢、信号传导等通路, 这些通路对于水生动物适应外界低氧环境发挥着重要作用。低氧胁迫下, 在拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*)^[39]和大黄鱼^[23]的鳃组织转录组分析中, 均发现参与糖酵解途径的基因上调, 可能是缺氧条件下, 机体需要更多的能量进行气体运输从而适应应激环境。对卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*)^[38]缺氧胁迫之后进行复氧处理, 发现溶解氧恢复组中与吞噬作用和蛋白质降解有关的基因变化数量上调, 这暗示恢复氧供应之后, 鱼体通过清除错误折叠的蛋白质来修复损伤。Mu 等^[23]在大黄鱼的缺氧压力研究中发现, 补体成分 (*c2*、*c3*、*c1qs* 等)、趋化因子 (*ccl13*、*ccl17* 等) 及其受体和一氧化氮合成酶 (*nos*) 明显下调, 暗示着先天免疫过程的抑制。在多鳞鱖^[24]的缺氧胁迫中, 发现了细胞色素 P450 和谷胱甘肽 S-转移酶 2 个基因家族对代谢功能的调控。

酸碱 水体的 pH 值对于生活在水中的动物而言是一个重要的环境因子。酸性环境胁迫下, 在中华绒螯蟹^[25]的鳃转录组研究中, 差异表达基

因集中在免疫反应和代谢通路中。在凡纳滨对虾^[26]中, 差异表达基因主要富集在消化系统、其他次级代谢物的生物合成、运输和代谢通路中。在中华绒螯蟹和凡纳滨对虾体内都可以看到代谢通路的改变, 这也暗示了代谢通路在应对酸胁迫时的重要作用。在中华绒螯蟹^[25]的转录组研究中, 可以看到 Toll 样受体、对病原体的先天免疫反应的相关基因表达水平上调; 代谢通路中, 柠檬酸循环也会受到影响。而在碱性胁迫下, 从尼罗罗非鱼^[40]、凡纳滨对虾^[26]和克氏原螯虾^[41]的鳃组织的转录组分析中发现, 差异表达基因普遍富集在能量代谢、免疫系统、离子调节和信号传导通路过程。凡纳滨对虾在面对高 pH 胁迫时, 热休克蛋白、免疫球蛋白超家族、谷胱甘肽转移酶等转录免疫的因子表达都发生了变化^[27]。

1.2 环境污染

氨氮和亚硝酸盐 在养殖环境中, 氨氮和亚硝酸盐是常见的污染物, 它们对水生动物生理生化状态有剧烈的影响。在面对氨胁迫时, 鳃的蛋白质代谢、氨基酸代谢、脂质代谢通路发生较大改变, 参与鳃内离子转运的相关基因表达水平普遍升高。另外, 在部分水生动物中发现, 免疫功能、凋亡相关的基因也发生明显的表达变化, 缙蛭 (*Sinonovacula constricta*)^[42]、大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*)^[43]、弹涂鱼^[28]体内, 氨胁迫会导致蛋白质和氨基酸等能量代谢发生明显变化。在弹涂鱼^[28]体内, 一些参与氨排泄的基因会发生表达上调 [如钠钾氯共转运体 ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-Cl}^-$ cotransporter)、*nkcc*、*ca2*、*nhe* 等]。在克氏原螯虾^[44]体内, 氨胁迫使鳃的免疫相关基因 (*map3k7*、*hsp70* 和 *ctsf* 等) 都发生明显的上调。

在亚硝酸盐的影响下, 鳃转录组的结果显示, 机体的免疫系统、氧化应激、代谢应激和凋亡通路都发生明显的变化。亚硝酸盐胁迫会影响鳃内的免疫相关基因如 *hsp70*、*caspase3*、*tnf-a* 和白细胞介素 *IL-1* 受体相关激酶介导的免疫应答^[4]。在凡纳滨对虾中, 亚硝酸盐胁迫可以激活氧化磷酸化途径和三羧酸循环相关基因的表达^[45]。

重金属 水环境中的化学物质, 如重金属 (镉、铜、铬)、微塑料和化学污染物等, 均会对水生动物产生巨大的影响。在重金属污染中, 重金属铜通常会导致鳃的免疫、代谢、氧化应激、 Cu^{2+} 平衡调节、抗氧化和解毒过程的基因表达有显著差异。在中华绒螯蟹^[30]体内, 铜胁迫会改变

吞噬和凋亡关键基因 (凝集素、蛋白酶 L、*rab7* 和 *hsp70*) 的表达模式。在克氏原螯虾^[31]体内, 铜胁迫会使鳃的过氧化物酶体途径中的 *cuzn-sod*、*cat*、*idh1*、*phyh* 和 *decr2* 的表达显著上调, 暗示调节机制与氧化应激功能有关。镉对水生动物产生胁迫时, 鳃转录组分析结果发现差异基因主要富集在氧化应激、免疫和凋亡、氧化磷酸化等通路。在泥蚶^[29]被镉胁迫的模型中, 筛选出了 4 个镉富集的相关功能基因 (*cnga3*、*ncx1*、*ncx2* 和 *pip5k*), 并且描述了镉进入细胞、细胞内运输和储存的过程。在对缙蛭^[46]的研究中, 发现 *hsp32*、金属硫蛋白等与 ROS 产生相关的基因都会发生差异表达, 进而破坏 DNA 诱导凋亡反应。

1.3 病原生物

细菌和病毒 在复杂的水环境中, 水生动物鳃组织极易受到环境中的细菌或病毒感染。通过对鳃转录组学分析, 发现鳃主要通过调节免疫、炎症、凋亡等相关过程的基因表达应对外来胁迫。牙鲆被爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染后, 差异表达基因主要富集在白细胞跨内皮迁移信号通路、B 细胞受体信号通路、Wnt 信号通路和凋亡信号通路, 凋亡和免疫相关基因的表达发生显著变化^[47]。大西洋鲑感染了鳃痘病毒 (SGPV) 之后, 先天性免疫反应强烈上调, 趋化因子表达上调, 与之相反的, 参与黏膜保护的基因下调^[33], 暗示鳃痘病毒损害了鱼体黏膜保护。在牙鲆感染淋巴囊肿病毒 (LCDV) 后, 差异表达基因富集在细胞凋亡、溶酶体、Toll 样受体信号通路等^[48]。

寄生虫 水生动物在水环境中极易受到寄生虫的侵袭, 而首当其冲的组织就是鳃。寄生虫大多会寄生在鳃组织中, 通过转录组学分析发现, 寄生虫主要影响水生动物鳃的免疫功能, 会增加 *il-1b*、*hsp90* 等基因的表达和 Toll 样受体信号通路相关基因。有关黄斑篮子鱼 (*Siganus oramin*)^[49] 和卵形鲳鲹^[49] 对刺激隐核虫抵抗力差异的研究发现, 刺激隐核虫的感染会导致鳃组织 Toll 样受体信号通路等免疫相关的通路基因表达提高, 卵形鲳鲹调动中性粒细胞参与免疫防御, 而黄斑篮子鱼在诱导特异性免疫过程与卵形鲳鲹有所不同。在代谢过程中, 黄斑篮子鱼主要与葡萄糖和脂质代谢相关, 而卵形鲳鲹主要途径为氨基酸代谢, 代谢能量较黄斑篮子鱼可能不足, 暗示免疫和代谢影响了鱼类对刺激隐核虫的抵抗力。

2 其他功能组学研究

2.1 鳃的蛋白组学研究

如前文所述, 对水生动物环境因子胁迫的研究主要集中于转录组分析, 然而蛋白质水平的变化更能直接反映出机体对环境因子改变的应对。因此, 为了更加准确地理解水生动物适应外界环境的分子机制, 蛋白组学的研究非常必要。有关鳃的蛋白组学研究不多, 从 2006 年 1 月到 2021 年 10 月, 共有 40 篇相关研究, 下面举例介绍具有代表性的研究。

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[50] 在缺氧的情况下, Toll 样受体 4、环氧化物水酶 (ephx1)、异柠檬酸脱氢酶、GTP 结合核蛋白 Ran 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶的表达上调, 下调的蛋白有 I 型细胞角蛋白、柠檬酸合酶和原肌球蛋白。分析处于低渗反应的日本鳗鲡^[51] 的鳃蛋白组学, Na⁺-K⁺-ATP 酶、V 型质子 ATP 酶、热休克蛋白 90 表达上调。在处于高渗反应的香鱼 (*Plecoglossus altivelis*)^[52] 体内, 热休克蛋白 70、丙酮酸激酶、3-磷酸甘油酯脱氢酶表达下调, 而肌动蛋白解聚因子 Cofilin 则被上调, 调节的蛋白与离子运输、紧密连接、细胞骨架有关。

牙鲆^[6] 在被副乳链球菌 (*Streptococcus parauberis*) 感染后, 角蛋白、钙调素和肌动蛋白等与细胞骨架结构相关的蛋白表达上调。在被灿烂弧菌 (*Vibrio splendidus*) 感染的紫贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*)^[53] 体内发现, 细菌感染会损伤细胞骨架结构, 并且还会调节氧化应激反应。Chen 等^[34] 发现, 凡纳滨对虾被 WSSV 感染时, 上调的蛋白包含具有伴侣功能的钙蛋白、Hsp70、泛素、丝氨酸蛋白酶、胰蛋白酶。Valentim-Neto 等^[54] 发现, WSSV 感染时, 凡纳滨对虾的泛素表达上调, 半胱氨酸天冬氨酸-2 (caspase-2) 和 F1-ATP 合成酶提高。

2.2 鳃的代谢组学研究

迄今为止, 有关水生动物鳃代谢组学的研究只有 7 篇, 这些研究旨在探究代谢物与相关生理病理变化之间的关系。在重金属胁迫下, 水生动物主要表现为氨基酸代谢或脂质代谢的变化。三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)^[55] 在砷的胁迫下, 上调精氨酸、鸟氨酸、赖氨酸以及甘油磷脂和其他脂类, 氨基酸代谢和花生四烯酸代谢受到影响。紫贻贝^[56] 在受到镉的胁迫后, 脂质代谢也

会被扰乱。在丁草胺胁迫下, 金鱼^[8] 鳃中的谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和甲烷二羧酸醛 (MDA) 的水平提高, 提示鱼体的抗氧化系统被扰乱。三疣梭子蟹^[57] 在感染溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*) 后, 主要的代谢变化特征包括葡萄糖的耗竭、乳酸和单磷酸腺苷的积累, 这预示了能量代谢系统的紊乱。

3 鳃的功能组学研究展望

组学技术已广泛应用于水生动物鳃的研究, 转录组学聚焦于鳃组织的 mRNA 水平, 蛋白组学则关注细胞或组织内蛋白的表达水平, 代谢组学旨在寻找代谢物与生理病理变化之间的联系。目前, 有关水生动物应对环境因子胁迫的研究仍然以转录组学为主要技术手段, 然而仅仅通过 mRNA 水平来探究水生动物鳃对环境胁迫的适应机制有局限之处, 毕竟是蛋白质直接决定细胞或组织的表型。因此, 多组学联合分析是发展趋势之一, 将转录组和蛋白组数据进行整合分析, 可以更加准确地阐明鳃适应环境胁迫的潜在调控机制。此外, 单细胞转录组测序技术可以反映细胞的异质性, 分析每个细胞的表达特征和表达谱, 从而确定在环境因子胁迫下鳃组织中的哪一类细胞发挥主要的调节适应作用。还有近年来发展较快的空间组学技术, 可以测定组织和细胞中的蛋白质和代谢物的种类、含量和空间分布, 并聚焦产生蛋白表达、代谢物变化的具体区域。随着更多新兴、前沿、综合的组学技术手段的发展和运用, 将有助于阐明鳃面对环境胁迫的响应机制。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Evans D H, Piermarini P M, Choe K P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste[J]. *Physiological Reviews*, 2005, 85(1): 97-177.
- [2] Nunes B, Antunes S C, Gomes R, et al. Acute effects of tetracycline exposure in the freshwater fish *Gambusia holbrooki*: antioxidant effects, neurotoxicity and histological alterations[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, 68(2): 371-381.

- [3] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(1): 57-63.
- [4] Miao L H, Lin Y, Pan W J, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals the gene expression profiling in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) in response to acute nitrite toxicity[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 79: 244-255.
- [5] Rodrigues P M, Silva T S, Dias J, *et al.* PROTEOMICS in aquaculture: applications and trends[J]. *Journal of Proteomics*, 2012, 75(14): 4325-4345.
- [6] Lee A R, Kim H, Jeon K Y, *et al.* Differential proteome profile of gill and spleen in three pathogen-infected *Paralichthys olivaceus*[J]. *Genes & Genomics*, 2021, 43(7): 701-712.
- [7] Alseekh S, Fernie A R. Metabolomics 20 years on: what have we learned and what hurdles remain?[J]. *The Plant Journal*, 2018, 94(6): 933-942.
- [8] Xu H D, Wang J S, Li M H, *et al.* ¹H NMR based metabolomics approach to study the toxic effects of herbicide butachlor on goldfish (*Carassius auratus*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 159: 69-80.
- [9] West A C, Mizoro Y, Wood S H, *et al.* Immunologic profiling of the Atlantic salmon gill by single nuclei transcriptomics[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 669889.
- [10] Gao J, Xu G C, Xu P. Gills full-length transcriptomic analysis of osmoregulatory adaptive responses to salinity stress in *Coilia nasus*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 226: 112848.
- [11] Liang P P, Saqib H S A, Lin Z Y, *et al.* RNA-seq analyses of marine medaka (*Oryzias melastigma*) reveals salinity responsive transcriptomes in the gills and livers[J]. *Aquatic Toxicology*, 2021, 240: 105970.
- [12] Chen X X, Gong H, Chi H S, *et al.* Gill transcriptome analysis revealed the difference in gene expression between freshwater and seawater acclimated guppy (*Poecilia reticulata*)[J]. *Marine Biotechnology*, 2021, 23(4): 615-627.
- [13] Su H H, Ma D M, Zhu H P, *et al.* Transcriptomic response to three osmotic stresses in gills of hybrid tilapia (*Oreochromis mossambicus* female \times *O. urolepis hornorum* male)[J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 110.
- [14] Lam S H, Lui E Y, Li Z J, *et al.* Differential transcriptomic analyses revealed genes and signaling pathways involved in iono-osmoregulation and cellular remodeling in the gills of euryhaline Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 921.
- [15] Johansson L H, Timmerhaus G, Afanasyev S, *et al.* Smoltification and seawater transfer of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is associated with systemic repression of the immune transcriptome[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 58: 33-41.
- [16] Gu J, Dai S Y, Liu H T, *et al.* Identification of immune-related genes in gill cells of Japanese eels (*Anguilla japonica*) in adaptation to water salinity changes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 73: 288-296.
- [17] Vij S, Purushothaman K, Sridatta P S R, *et al.* Transcriptomic analysis of gill and kidney from Asian seabass (*Lates calcarifer*) acclimated to different salinities reveals pathways involved with euryhalinity[J]. *Genes*, 2020, 11(7): 733.
- [18] Houde A L S, Schulze A D, Kaukinen K H, *et al.* Transcriptional shifts during juvenile Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) life stage changes in freshwater and early marine environments[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2019, 29: 32-42.
- [19] Bowen L, von Biela V R, McCormick S D, *et al.* Transcriptomic response to elevated water temperatures in adult migrating Yukon River Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)[J]. *Conservation Physiology*, 2020, 8(1): coaa084.
- [20] Guo L, Wang Y M, Liang S J, *et al.* Tissue-overlapping response of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) to thermostressing based on transcriptome profiles[J]. *Gene*, 2016, 586(1): 97-104.
- [21] Nitzan T, Kokou F, Doron-Faigenboim A, *et al.* Transcriptome analysis reveals common and differential response to low temperature exposure between tolerant and sensitive blue tilapia (*Oreochromis aureus*)[J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10: 100.
- [22] Chen G, Pang M X, Yu X M, *et al.* Transcriptome sequencing provides insights into the mechanism of hypoxia adaptation in bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part D: Genomics and Proteomics*, 2021, 40: 100891.

- [23] Mu Y N, Li W R, Wei Z Y, *et al.* Transcriptome analysis reveals molecular strategies in gills and heart of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) under hypoxia stress[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 104: 304-313.
- [24] Saetan W, Tian C X, Yu J W, *et al.* Comparative transcriptome analysis of gill tissue in response to hypoxia in silver sillago (*Sillago sihama*)[J]. *Animals*, 2020, 10(4): 628.
- [25] Luo B Y, Qian H L, Jiang H C, *et al.* Transcriptional changes revealed water acidification leads to the immune response and ovary maturation delay in the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part D: Genomics and Proteomics*, 2021, 39: 100868.
- [26] Li H M, Meng Q L, Chen T, *et al.* Transcriptomic response to low pH stress in gills of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(1): 175-186.
- [27] Huang W, Li H M, Cheng C H, *et al.* Analysis of the transcriptome data in *Litopenaeus vannamei* reveals the immune basis and predicts the hub regulation-genes in response to high-pH stress[J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0207771.
- [28] You X X, Chen J M, Bian C, *et al.* Transcriptomic evidence of adaptive tolerance to high environmental ammonia in mudskippers[J]. *Genomics*, 2018, 110(6): 404-413.
- [29] Zhang Y, Chen C F, Shen W L, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals the biological mechanism of selective cadmium enrichment in *Tegillarca granosa*[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 21: 100960.
- [30] Tang D, Liu R B, Shi X L, *et al.* Toxic effects of metal copper stress on immunity, metabolism and pathologic changes in Chinese mitten crab (*Eriocheir japonica sinensis*)[J]. *Ecotoxicology*, 2021, 30(4): 632-642.
- [31] Tang D, Shi X L, Guo H Y, *et al.* Comparative transcriptome analysis of the gills of *Procambarus clarkii* provides novel insights into the immune-related mechanism of copper stress tolerance[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 96: 32-40.
- [32] Cheng J X, Xia Y Q, Liu Y F, *et al.* Transcriptome analysis in *Takifugu rubripes* and *Dicentrarchus labrax* gills during *Cryptocaryon irritans* infection[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2021, 44(3): 249-262.
- [33] Gjessing M C, Krasnov A, Timmerhaus G, *et al.* The atlantic salmon gill transcriptome response in a natural outbreak of salmon gill pox virus infection reveals new biomarkers of gill pathology and suppression of mucosal defense[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 2154.
- [34] Chen L H, Lin S W, Liu K F, *et al.* Comparative proteomic analysis of *Litopenaeus vannamei* gills after vaccination with two WSSV structural proteins[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 49: 306-314.
- [35] Lü A J, Hu X C, Wang Y, *et al.* iTRAQ analysis of gill proteins from the zebrafish (*Danio rerio*) infected with *Aeromonas hydrophila*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 36(1): 229-239.
- [36] Root L, Campo A, Macniven L, *et al.* Nonlinear effects of environmental salinity on the gill transcriptome versus proteome of *Oreochromis niloticus* modulate epithelial cell turnover[J]. *Genomics*, 2021, 113(5): 3235-3249.
- [37] Lai K P, Li J W, Gu J, *et al.* Transcriptomic analysis reveals specific osmoregulatory adaptive responses in gill mitochondria-rich cells and pavement cells of the Japanese eel[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 1072.
- [38] San L Z, Liu B S, Liu B, *et al.* Transcriptome analysis of gills provides insights into translation changes under hypoxic stress and reoxygenation in golden pompano, *Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758)[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 763622.
- [39] Jie Y K, Cheng C H, Wang L C, *et al.* Hypoxia-induced oxidative stress and transcriptome changes in the mud crab (*Scylla paramamosain*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2021, 245: 109039.
- [40] Zhao Y, Zhang C S, Zhou H T, *et al.* Transcriptome changes for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in response to alkalinity stress[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part D: Genomics and Proteomics*, 2020, 33: 100651.
- [41] Ali M Y, Pavasovic A, Mather P B, *et al.* Analysis, characterisation and expression of gill-expressed carbonic anhydrase genes in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*[J]. *Gene*, 2015, 564(2): 176-187.
- [42] Sun G G, Sun C S, He J, *et al.* Characterizing the role of *Glutamine synthetase* gene on ammonia nitrogen detoxification metabolism of the razor clam *Sinonovacula con-*

- stricta*[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 793118.
- [43] Shang Z H, Huang M, Wu M X, *et al.* Transcriptomic analyses of the acute aerial and ammonia stress response in the gill and liver of large-scale loach (*Paramisgurnus dabryanus*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2021, 250: 109185.
- [44] Shen C C, Tang D, Bai Y Z, *et al.* Comparative transcriptome analysis of the gills of *Procambarus clarkii* provide novel insights into the response mechanism of ammonia stress tolerance[J]. *Molecular Biology Reports*, 2021, 48(3): 2611-2618.
- [45] Xiao J, Luo S S, Du J H, *et al.* Transcriptomic analysis of gills in nitrite-tolerant and -sensitive families of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2022, 253: 109212.
- [46] Wang Z H, Shao Y N, Li C H, *et al.* RNA-seq analysis revealed ROS-mediated related genes involved in cadmium detoxification in the razor clam *Sinonovacula constricta*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 57: 350-361.
- [47] Li Z, Liu X M, Cheng J, *et al.* Transcriptome profiling provides gene resources for understanding gill immune responses in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 72: 593-603.
- [48] Wu R H, Sheng X Z, Tang X Q, *et al.* Transcriptome analysis of flounder (*Paralichthys olivaceus*) gill in response to lymphocystis disease virus (LCDV) infection: novel insights into fish defense mechanisms[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1): 160.
- [49] Sun J L, Jiang T, Gu Y, *et al.* Differential immune and metabolic responses underlie differences in the resistance of *Siganus oramin* and *Trachinotus blochii* to *Cryptocaryon irritans* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 120: 166-179.
- [50] Xu Z N, Zheng G D, Wu C B, *et al.* Identification of proteins differentially expressed in the gills of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after hypoxic stress by two-dimensional gel electrophoresis analysis[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(2): 743-752.
- [51] Tse W K F, Sun J, Zhang H M, *et al.* iTRAQ-based quantitative proteomic analysis reveals acute hypo-osmotic responsive proteins in the gills of the Japanese eel (*Anguilla japonica*)[J]. *Journal of Proteomics*, 2014, 105: 133-143.
- [52] Lu X J, Chen J, Huang Z A, *et al.* Proteomic analysis on the alteration of protein expression in gills of ayu (*Plecoglossus altivelis*) associated with salinity change[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part D: Genomics and Proteomics*, 2010, 5(3): 185-189.
- [53] Saco A, Panebianco A, Blanco S, *et al.* Integration of transcriptomics and proteomics improves the characterization of the role of mussel gills in a bacterial waterborne infection[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 735309.
- [54] Valentim-Neto P A, Fraga A P M, Marques M R F. Differential expression of proteins in the gills of *Litopenaeus vannamei* infected with white spot syndrome virus[J]. *Aquaculture International*, 2014, 22(5): 1605-1620.
- [55] 刘鹤, 李焕军, 张秀珍, 等. 基于代谢组学技术的无机砷对三疣梭子蟹鳃组织的毒性作用机制研究[J]. *中国水产科学*, 2021, 28(5): 602-613.
- Liu G, Li H J, Zhang X Z, *et al.* Research on toxicity mechanism of inorganic arsenic on *Portunus trituberculatus* gill tissue revealed by metabolomics[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(5): 602-613 (in Chinese).
- [56] Wu H F, Xu L L, Yu D L, *et al.* Differential metabolic responses in three life stages of mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium[J]. *Ecotoxicology*, 2017, 26(1): 74-80.
- [57] Ye Y F, Xia M J, Mu C K, *et al.* Acute metabolic response of *Portunus trituberculatus* to *Vibrio alginolyticus* infection[J]. *Aquaculture*, 2016, 463: 201-208.

Progress and prospect of functional genomics studies on gills

SONG Chaowei, LI Wensheng*

(State Key Laboratory of Biocontrol, Guangdong Province Key Laboratory for Aquatic Economic Animals, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center for Healthy Breeding of Important Economic Fish, Institute of Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Gills are the main respiratory organ of aquatic animals. Different gill structures have existed in aquatic animals like fish, shrimp and crab, but they all hold similar functions in gas exchange, osmotic pressure regulation, etc. Currently, there is an increasing number of studies on functional genomics in gills of aquatic animals. The aim of this paper is to summarize the main findings on gill functional genomics in recent years, especially the transcriptome sequencing analysis of aquatic animal gills under the stress of different environmental factors, like pollutants of heavy metals, parasitic bacteria, salinity, nitrite, etc., as well as the proteomics and metabolomics of gills under the stress of different environmental factors. The study reveals the impacts of environmental factors on gill-related gene expression, physiological and biochemical status changes, molecular pathways and physiological functions in aquatic animals, so as to provide potential new ideas and directions for healthy fish farming.

Key words: aquatic animals; gill; transcriptomics; proteomics; metabolomics

Corresponding author: LI Wensheng. E-mail: lsslws@mail.sysu.edu.cn

Funding projects: National Key Research and Development Program (2018YFD0900101); National Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-46); National Natural Science Foundation of China (32072968); Outstanding Scientific Research Talents Project of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs (2016-2020)