

真蛸 *FAXDC2* 基因的克隆及其表达分析

肖懿哲¹, 姚成杰², 朱友芳¹, 孙玉龙³, 张子平³, 王艺磊²

(1. 莆田市水产科学研究所, 福建 莆田 351100; 2. 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 3. 福建农林大学 动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: *FAXDC2*(fatty acid hydroxylase domain-containing protein 2)是脂肪酸羟化酶家族中的成员, 在脂肪酸的合成与代谢中发挥重要功能。真蛸(*Octopus vulgaris*)是中国南方近海的经济种类, 为了研究饥饿对真蛸 *FAXDC2*(*OvFAXDC2*)基因表达的影响, 本研究从课题组真蛸转录组数据库中筛选获得 *OvFAXDC2* 基因序列。采用从头至趾方法进行验证, 最终获得 *OvFAXDC2* 的 cDNA 全长序列共 1384 bp。它包含 100 bp 的 5'非编码区(UTR)、228 bp 的 3'UTR 和 1056 bp 的开放阅读框(ORF), ORF 共编码 351 个氨基酸, 预测其分子量为 3.98 kDa, 理论等电点为 8.93。系统进化树分析显示, 真蛸和加州双斑蛸 (*O. bimaculoides*)聚为一支, 而与其他无脊椎动物分开。实时荧光定量 PCR 分析表明, *OvFAXDC2* 在消化腺中表达量最高, 在鳃和鳃心中次之。在幼体饥饿试验中, 随着时间的推移, *OvFAXDC2* 表达量先升后降, 在第三天达到最高, 表明 *OvFAXDC2* 表达量的变化趋势可作为幼体代谢是否正常的一个指标。

关键词: 真蛸(*Octopus vulgaris*); *FAXDC2* 基因; 克隆; 组织表达; 饥饿; 实时荧光定量 PCR
中图分类号: Q785; S968.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2019)08-0056-08
DOI: 10.11759/hyxx20190419003

真蛸(*Octopus vulgaris*)别名母猪章、章鱼、八爪鱼, 隶属于软体动物(Mollusca)、头足纲(Cephalopods)、八腕目(Octopoda)、蛸科(章鱼科, Octopodidae)、蛸亚科(章鱼亚科, Octopodinae)、蛸属(章鱼属, *Octopus*), 属世界暖水性种, 广泛分布于日本以南太平洋、印度洋、大西洋和地中海海域^[1-2]。真蛸肉质鲜美、营养丰富、生长速度快^[3], 已成为一种极具养殖潜力的种类。研究人员在真蛸分子生物学方面开展了部分研究: 采用分子生物学的方法对野生真蛸幼体所摄食的食物进行种类鉴定^[4]; 对真蛸谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶基因克隆、序列特性进行分析^[5]等。

脂肪酸羟化酶结构域蛋白 2(Fatty Acid Hydroxylase domain-containing protein 2: *FAXDC2*)是脂肪酸羟化酶家族的成员, 与机体相关脂肪代谢途径相关, 同时它们具有完整的膜蛋白结构^[6-8]。目前已克隆了几种软体动物的 *FAXDC2* 基因, 如加州双斑蛸 (*O. bimaculoides*)、虾夷扇贝 (*Mizuhopecten yessoensis*)、霸王莲花青螺 (*Lottia gigantea*)、太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、美洲牡蛎 (*C. virginica*)等, 但这几种软体动物 *FAXDC2* 基因的结构特征及真蛸的 *FAXDC2* 基因(*OvFAXDC2*)序列尚未见报道。为了研究真蛸幼体在饥饿的情况下脂肪代谢情况, 为今后

的真蛸幼体培育提供一些基础数据, 本研究从真蛸转录组数据库中筛选获得 *OvFAXDC2* 序列, 采用从头至趾的方法验证序列的准确性, 进行了生物信息学分析, 研究了 *OvFAXDC2* 在真蛸不同组织中的表达及刚孵出的真蛸幼体在不同的饥饿时间 *OvFAXDC2* 表达量的变化。

1 材料与方法

1.1 实验用的真蛸样品

用于验证 *OvFAXDC2* 序列的准确性及测定 *OvFAXDC2* 在真蛸不同组织中的表达情况的真蛸样品采集于福建省莆田南日海区, 体质量 1.5 kg~2.0 kg, 共 6 只, 解剖取消化腺、肌肉、鳃、鳃心、胃和唾液腺等组织储存于液氮中, 随后进行 RNA 提取。用于不同的饥饿时间对 *OvFAXDC2* 表达量的影响的幼体培育水温 22.5±0.5℃, 试验在 100 L 的水体中进行,

收稿日期: 2019-04-19; 修回日期: 2019-06-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41676161, 31672681)

[Foundation: the Natural Science Foundation of China, No.41676161, 31672681]

作者简介: 肖懿哲(1964-), 男, 福建莆田人, 大学本科, 主要从事水产养殖技术工作, 电话: 0594-6298821, E-mail: yzxiao@scsio.ac.cn; 王艺磊, 通信作者, E-mail: ylwang@jmu.edu.cn

每组放入刚孵出的真蛸幼体 1 000 只, 从真蛸幼体孵出时开始计时, 不投喂任何饵料, 设置 3 个平行组, 采集不同时相的样品, 每个时相各 3 份样品储存于液氮中。

1.2 实验方法

1.2.1 真蛸总 RNA 的提取及模板制备

用 Omega(上海)总 RNA 试剂盒提取真蛸消化腺、肌肉、鳃、鳃心、胃、唾液腺等组织及不同时相幼体的 RNA, 采用 ND-1000 超微量紫外分光光度计及凝胶电泳系统检测 RNA 质量, 逆转录用的 M-MLV 酶从 Promega 公司采购。

1.2.2 *OvFAXDC2* 序列准确性验证

在本课题组完成的真蛸转录组高通量测序数据中筛选获得 *OvFAXDC2* 全长序列, 引物设计采用 Primer Premier5 软件, 采用的验证引物为: *OvFAXDC2*-F: AAGCACATCGGAGCATCT, *OvFAXDC2*-R: CAGGACTGGCAGGGAACA, 实验用的引物由上海捷瑞生物工程技术有限公司合成。

1.2.3 *OvFAXDC2* 生物信息学分析

参照李文辉等^[9]方法进行序列的多重比对、三维结构和系统进化树构建。采用 ExPASy 软件预测蛋白质的等电点及分子量。采用 NetPhos 2.0 Server 预测磷酸化位点。三级结构的预测所用软件为 SWISS-MODEL。序列的多重比对采用 BioEdit 软件, 系统进化树的构建采用 MEGA5.0 软件。

1.2.4 *OvFAXDC2* 的荧光定量 RT-PCR

采用罗氏公司 LightCycler 480 实时定量 PCR 仪进行样品表达检测, 每个测定样品均设定 3 个平行, 使用真蛸 β -actin 作为内参基因(β -actin-qPCR-F:

TGATGGCCAAGTTATCACCA, β -actin-qPCR-R: TG GTCTCATGGATACCAGCA), 目的基因正反向引物为: *OvFAXDC2*-qPCR-F: TTCTGCATCACCCAGCCTTA, *OvFAXDC2*-qPCR-R: GGTGATGGGAGAAAAGGGGAA。参照肖懿哲等^[10]测定方法进行测定, 采用 SPSS 20.0 软件进行显著性检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 真蛸总 RNA 的提取及 *OvFAXDC2* 序列准确性验证

提取的真蛸总 RNA 样品利用 1%的琼脂糖凝胶电泳和 ND-1000 超微量紫外分光光度计测 OD 值, 电泳检测结果表明该 RNA 提取质量好, 满足后续试验的需要。采用验证引物所得 ORF 序列与高通量转录组测序时所得 ORF 序列完全相符。

2.2 *OvFAXDC2* 序列分析

OvFAXDC2 cDNA 全序列长度为 1 384 bp(图 1), 其中包含 1 056 bp 的开放阅读框(ORF), 编码 351 个氨基酸, 100 bp 的 5'非编码区(UTR), 228 bp 的 3'UTR, 3'UTR 含有一个 AATAA 多聚核苷酸化信号序列。预测的蛋白质的相对分子量(MW)为 3.98 kDa, 理论等电点(pI)为 8.93。在该序列中发现了 17 个丝氨酸磷酸化位点, 10 个苏氨酸磷酸化位点和 4 个酪氨酸磷酸化位点。有 2 个糖基化位点, 无信号肽。多重序列比对显示 *OvFAXDC2* 有 4 个跨膜螺旋区域(37 aa~59 aa, 87 aa~109 aa, 145 aa~164 aa, 244 aa~266 aa)。且由 SEG 程序检测到在 88 aa~101 aa 范围内存在 1 个低组合复杂性的区域。

```

1 TTTCGTTTCTGCTGCACAGGGGAAAGCACATCGGAGCATCTGGCACTGGCACATAATT 60
61 TGAATTTTCTGACCAAAATTTACAGCCAAAAAAGAATatggctgattgtaacacaaa 120
1 M A D C N I K 7
121 acctggaccctgtatcgcaagaaaactcctctgggggtcagccagcagagaaaatgaatta 180
8 P G P C I A K K T P G G Q P A E K M N Y Z
181 ttcacaactttttgagctgtgtaaagaagccgcttttggttggtgactgctttgcttgt 240
28 S Q L F E S V K K A A F V V G T A L L V 47
241 atttgcagctagaacactattacatggcacatgcaagattttgggggtccttctgg 300
48 F A A A R N T I T W H M Q R F W G A S G 67
301 agacttttggcaaacacatggaacaacatctatagttgttcaatgaagatgaaatggt 360
68 D F W Q T T W N N I Y S L F N E D E M L 87
361 agttggtgttaggaacaactatgtttacattacggattttggttggcaaacagttt 420
88 V G V V G T T M F T F T V F W L A S F 107
421 tcctatatattttggatgtcactggtatgccttcgtcattgttgcgtacaaagtccagcc 480
108 L I F L D V T G M P S L L R Y K V Q P 127
481 tgataaaaataccccgcttgcaatgaaggatttgaagaaaatttgcctgagagctttgtt 540
128 D K N T P L A M K D L K K I C L R A L F 147
    
```

```

541 taaccaaacagtgtgtgccctgccaatgagctttgtacttgcttagttatgaaatggag 600
148 N Q T V V A L P M S F C T C L V M K W R 167
601 aggatgctctgttagtggagacctgccaaccttcagtggttctcttgaaattgccgt 660
168 G C P V S G D L P T F Q W V L L E I A V 187
661 attcactcttattgaagaactgggattttactactcccacagacttctgcatcaccagc 720
188 F T L I E E L G F Y Y S H R L L H H P A 207
721 cttatacaaatagcttcacaagatacatcatgaatggactgctccagttggccttgatc 780
208 L Y K Y V H K I H H E W T A P V G L V S 227
781 tgcctatgctcaccacttgaacacgtcatgagtaacatgctgccaccagttcttgacc 840
228 V Y A H P L E H V M S N M L P P V L G P 247
841 catcattatgggatctcatctggcaacatcttggtctggttcgctctggttttgctgtc 900
248 I I M G S H L A T S W L W F A L V L L S 267
901 caccacagtagcacacagtggttatcatttcccctttctcccatcacctgaagctcatga 960
268 T T V A H S G Y H F P F L P S P E A H D 287
961 ttttcatcacctcaagttcaacaaaactatggcattctcgagctcttgatcgtcttca 1020
288 F H H L K F N Q N Y G I L G V L D R L H 307
1021 tggcaccgataatctgttccgtgccagtcctcatatgagcgtcacattcttttgcttc 1080
308 G T D N L F R A S P A Y E R H I L L L S 327
1081 tagagtaccatgctctgtgagcagtcacccgattcttcacctaagaatcaaccaagaatga 1140
328 R V P M S V Q Y P D S S P K K S T K N E 347
1141 agagaaaactgaataaATAAATTAATTAATTGATTAATTAATAAATAAATAAATAAAGAA 1200
348 E K T E * 51
1201 CCAATGAAAATGAAAACACAAAGAGAAAGCTAAAACTTAATGAAAAATAATCCCAGG 1260
1261 AGTCTAGAAGACCAATTATATTATTGTTAAATCTTGCTTCTCTATTCTCTAAAAAT 1320
1321 GTCCAGCACACTCCATTAATAAATAAATAAAGGCATTGCTAGCTCCTGCCACCAGTAT 1380
1381 TATC 1384
    
```

图1 *OvFAXDC2* 基因全长 cDNA 及氨基酸序列

Fig. 1 The full-length cDNA and the deduced amino acid sequence of *OvFAXDC2*

注: 5'和 3'非编码区序列分别用大写英文字母表示, 小写碱基代表开放阅读框, 丝氨酸的 17 个磷酸化位点用三角形标记, 苏氨酸的 10 个磷酸化位点用圆圈标记, 酪氨酸的 4 个磷酸化位点用箭头标记; 起始密码子(ATG)和终止密码子(TAA)以粗体表征。4 个跨膜螺旋区域(37 aa~59)(aa, 87 aa~109)(aa, 145 aa~164)(aa, 244 aa~266)(aa)分别用灰色背景, 下划线, 单波浪线, 双波浪线标记。多聚核苷酸化信号序列(AATAA)以下划线和粗体标示。

2.3 *OvFAXDC2* 空间结构模拟

图 2 为 *OvFAXDC2* 推导的氨基酸构建的三维结构, 预测 *OvFAXDC2* 由 2 个 α 螺旋组成, 1 个 β 折叠以及 1 个无规则卷曲组成。

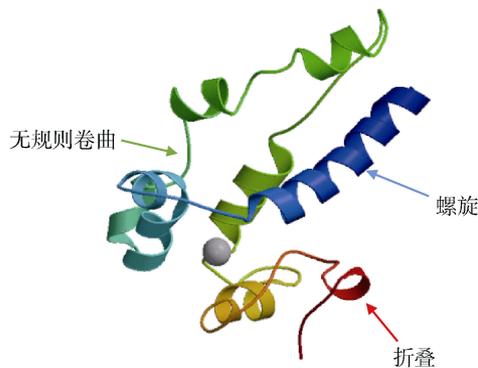


图 2 *OvFAXDC2* 空间结构模拟

Fig. 2 The predicted three-dimensional structure of *OvFAXDC2*

2.4 *OvFAXDC2* 同源性分析和系统发育分析

将 *OvFAXDC2* 的氨基酸序列与 NCBI 中已有的其他物种 FAXDC2 蛋白进行多重序列比对分析, 发现 *OvFAXDC2* 蛋白与头足类动物加州双斑蛸的 FAXDC2 蛋白有最高的同源性, 一致性为 97.6%, 与虾夷扇贝、霸王莲花青螺、海蜗牛(*Aplysia californica*)、热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*)、墨西哥脂鲤(*Astyanax mexicanus*)、切叶蚁(*Acromyrmex echinatior*)的一致性为 53%~63% (图 3)。

根据已在 NCBI 上注册的 FAXDC2 氨基酸序列信息, 使用 MEGA7.0 软件以 N-J 法构建 12 种生物 FAXDC2 系统进化树(图 4), 具体多重比对及系统发育分析所用到的各物种名称及序列号见表 1, 结果为: 爬行类与鱼类聚为一大支同属于脊椎动物, 真蛸和加州双斑蛸聚为一支而后和同为软体动物的虾夷扇贝、美洲牡蛎、太平洋牡蛎聚为一支, 而与其他无脊椎动物分开。

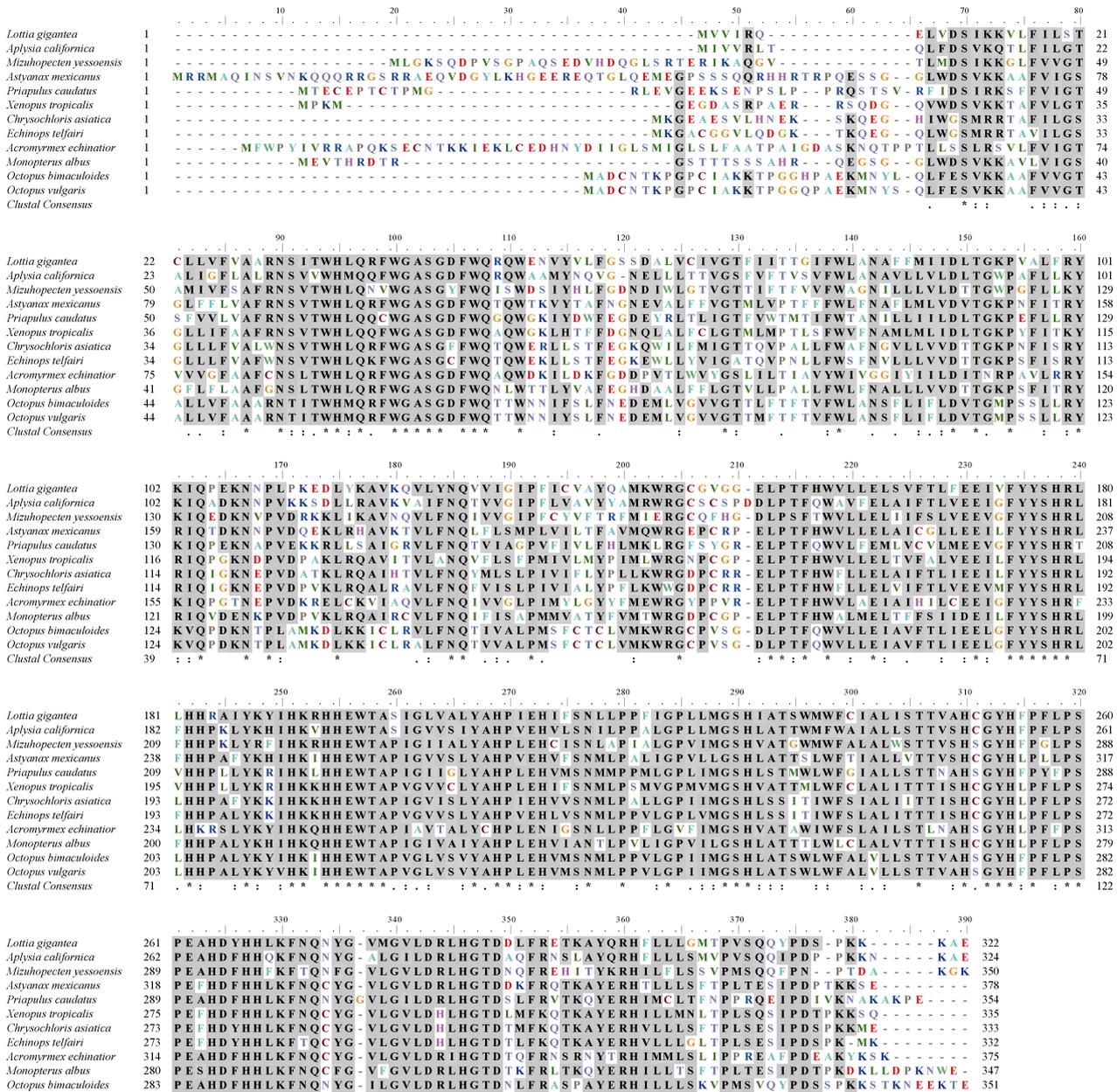


图3 *OvFAXDC2* 和其他物种 *OvFAXDC2* 氨基酸序列多重比对

Fig. 3 Multiple alignment of the FAXDC2 amino acid sequence between *O. vulgaris* and other species

*. 一致的氨基酸
*. The same amino acid

2.5 真蛸各组织荧光定量 PCR 分析

实时荧光定量 PCR 结果显示, *OvFAXDC2* 在所有检测的组织中均有表达, 在消化腺中表达水平最高, 在鳃和鳃心中表达量次之, 在肌肉、唾液腺和胃中的表达量较低(图 5)。

2.6 刚孵出的真蛸幼体不同的饥饿时间的 *OvFAXDC2* 表达量分析

由图 6 可看出幼体在饥饿过程中, 随着时间的

推移, *OvFAXDC2* 表达量先升后降, 在第三天达到最高。在试验第三天幼体发白, 活力下降。

3 讨论

序列分析显示 *OvFAXDC2* 有四个跨膜螺旋区域 (37 aa~59aa, 87 aa~109aa, 145 aa~164aa, 244 aa~266aa), 为真蛸和头足类动物加州双斑蛸共有的位点, 这些位点可能在真蛸中具有某种功能, 具体功能尚需进一步验证。*OvFAXDC2* 蛋白与加州双斑蛸的

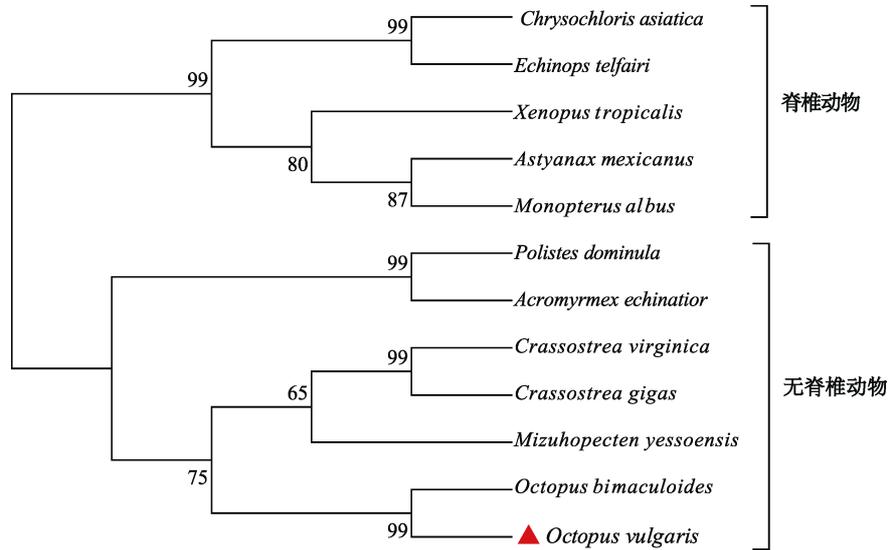


图 4 FAXDC2 系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree analysis of the FAXDC2 amino acid sequences between *O. vulgaris* and other species

表 1 FAXDC2 多重比对及系统进化分析所用到的各物种名称及序列号

Tab. 1 Names and GenBank accession numbers of species used in multiple alignment and phylogenetic analysis of FAXDC2

物种名称	基因登录号
热带爪蟾(<i>Xenopus tropicalis</i>)	XP_002932361.1
金毛鼯(<i>Chrysochloris asiatica</i>)	XP_006863977.1
小马岛猬(<i>Echinops telfairi</i>)	XP_004696805.1
墨西哥脂鲤(<i>Astyanax mexicanus</i>)	XP_007232192.2
黄鳢(<i>Monopterus albus</i>)	XP_020467607.1
美洲牡蛎(<i>Crassostrea virginica</i>)	XP_022321751.1
太平洋牡蛎(<i>Crassostrea gigas</i>)	XP_011422523.1
虾夷扇贝(<i>Mizuhopecten yessoensis</i>)	XP_021339048.1
造纸胡蜂(<i>Polistes dominula</i>)	XP_015172058.1
切叶蚁(<i>Acromyrmex echinator</i>)	EGI67593.1
真蛸(<i>Octopus vulgaris</i>)	
霸王莲花青螺(<i>Lottia gigantea</i>)	XP_009065425.1
海蜗牛(<i>Aplysia californica</i>)	XP_005105015.1
尾叶蜂(<i>Priapulul caudatus</i>)	XP_014665690.1
加州双斑蛸(<i>Octopus bimaculoides</i>)	XP_014786293.1

FAXDC2 蛋白有最高的同源性，一致性为 97.6%，在其他物种中的相似性为 53%~63%，且在结构域范围内相似度最高，这暗示着 *OvFAXDC2* 功能的保守。系统发育分析得出爬行类与鱼类聚为一大支同属于脊椎动物，而真蛸和加州双斑蛸聚为一支而后和同为软体动物的虾夷扇贝、美洲牡蛎、太平洋牡蛎聚为一支，而与其他无脊椎动物分开，这些结果也充分表明本研究所得到的基因序列为 *OvFAXDC2* 并且

OvFAXDC2 蛋白进化与传统的物种进化系统一致。

在鱼类与脂肪代谢有关的基因如大黄鱼(*Larimichthys crocea*)PPARs9(过氧化物酶体增殖物激活受体)和 LPL(脂蛋白脂肪酶)基因^[11]、真鲷(*Pagrus major*)UCP2(解偶联蛋白)基因^[12]等的研究中，得出了在肝脏中其表达量最高的结论，分析认为与鱼类肝脏是脂类合成与分解代谢的主要场所有关。本次试验结果表明：*OvFAXDC2* 在真蛸 6 个组织中均表达，

在消化腺中相对表达量显著高于其他组织($P<0.05$), 在鳃和鳃心中次之, 在肌肉、唾液腺和胃中的表达量较低。这表明消化腺作为一个重要的代谢器官, 在脂肪酸代谢过程中扮演着重要角色, 参与了脂肪代谢与免疫相关的生理调节, 这为后续相关代谢研究提供了相应分子生物学基础。

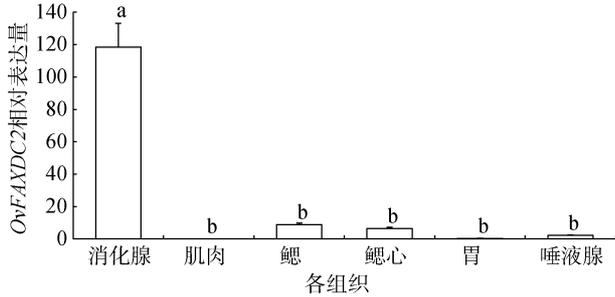


图5 *OvFAXDC2* 基因在各组织相对表达量

Fig. 5 Distribution pattern of *OvFAXDC2* in different tissues of *O. vulgaris*

字母不同表示有显著性差异($P<0.05$), $n=6$

Different letters showed significant difference ($P<0.05$), $n=6$

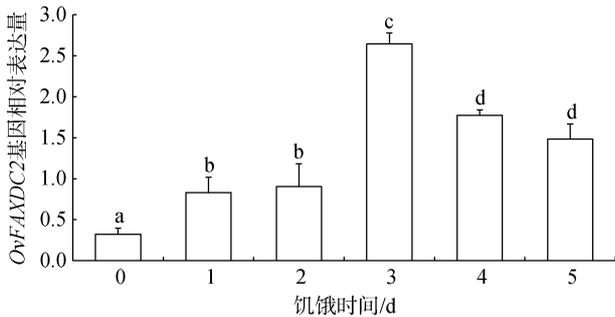


图6 不同的饥饿时间 *OvFAXDC2* 基因相对表达量

Fig. 6 Relative expression level of *OvFAXDC2* gene at different starvation times

字母不同表示有显著性差异($P<0.05$), $n=3$

Different letters showed significant difference ($P<0.05$), $n=3$

已有研究表明, 饥饿胁迫会改变尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、非洲鲶 (*Clarias gariepinus*) 等鱼类机体肌肉及肝脏等组织脂肪酸的组成模式, 降低机体脂肪含量、血清甘油三酯等^[13, 14]。然而, 饥饿胁迫下的脂肪水平及生理生化物质的变化与基因层次的表达量上升或者降低的关系还有待深入研究。因此, 从分子层面探讨脂肪的分解利用及生物合成有助于阐明饥饿胁迫下脂肪代谢的过程。在虎龙斑(为斜带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*)和棕点石斑鱼(*E.fuscoguttatus*)杂交种)^[15]和瓦氏黄颡鱼^[16] (*Pelteobagrus vachelli*)饥饿试验表明, 随着试验时间

的延长, 与脂肪代谢相关的基因先上调后下降。真鲷中的 *OvFAXDC2* 同样也存在这一现象, 在饥饿过程中, 随着时间的推移, *OvFAXDC2* 表达量先升后降, 在饥饿第三天时表达量最高, 随后逐渐降低, 这说明真鲷幼体在饥饿过程中大量消耗体内脂肪, *OvFAXDC2* 表达量升高, 后因脂肪无法持续供应, *OvFAXDC2* 表达量开始下降, 这也同样说明 *OvFAXDC2* 在真鲷发育早期的脂肪代谢过程中起到了重要作用。

在饥饿过程中, 多数水生动物首先动用糖原和脂肪, 如黑鲷(*Acanthopagrus schlegeli*)^[17]、欧州鳗鲡 (*Anguillaanguilla*)^[18]及狗鱼(*Esox lucius*)^[19]等, 但真鲷在饥饿时首先动用蛋白质后再消耗脂肪^[20], 本次饥饿试验第三天苗体发白, 活力下降, 与 *OvFAXDC2* 表达量最高相吻合, 说明试验第三天苗体已动用了体内脂肪作为能量, 幼体开始因能量即将耗尽而衰竭, 因此 *OvFAXDC2* 表达量的变化趋势可作为幼体代谢是否正常的一个指标。

对小鼠的 *FAXDC2* 研究表明, *FAXDC2* 是脂肪酸羟化酶家族中的成员之一, 脂肪合成在巨核分化中发挥重要功能, 其异常低表达可能与白血病的形成相关^[21]; 在干姜附子肉桂汤引起大鼠溃疡的研究中, 发现大鼠口腔溃疡时 *FAXDC2* 表达量明显上调^[22]。可见 *FAXDC2* 的上调或下降会引起机体相应的病理变化, 至于 *FAXDC2* 的表达异常会引起真鲷哪些病理变化有待于今后的进一步研究。

参考文献:

[1] 董正之. 中国近海头足类的地理分布[J]. 海洋与湖沼, 1978, 1: 108-118.
Dong Zhengzhi. On the geographical distribution of the cephalopods in the Chinese water[J]. Oceanologia et limnologia Sinica, 1978, 1: 108-118.

[2] 马之明, 徐实怀, 贾晓平. 蛸类渔业概况及增殖研究现状与展望[J]. 南方水产, 2008, 5: 69-73.
Ma Zhiming, Xu Shihuai, Jia Xiaoping. Research status and exploitation prospect in production basic biology and aquaculture of *Octopus*[J]. South China Fisheries Science, 2008, 5: 69-73.

[3] 王晓晴, 章俊. 1994年和1995年夏季浙江渔场头足类资源量评估[J]. 浙江水产学院学报, 1998, 2: 6-11.
Wang Xiaoqing, Zhang Jun. Evaluation the cephalopod biomass in the Zhejiang fishing ground in the summers of 1994 and 1995[J]. Journal of Zhejiang College of Fisheries, 1998, 2: 6-11.

- [4] Álvaro Roura, Ángel F, González, Fisheries, molecular prey identification in wild *Octopus vulgaris* paralarvae[J]. Marine Biology, 2012, 159: 1335-1345.
- [5] 洪婧妮, 苏永全, 毛勇, 等. 真蛸谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶基因克隆、序列特性分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2014, 53(3): 573-580.
Hong Jingni, Su Yongquan, Mao Yong, et al. Molecular cloning and sequence analysis of glutathione peroxidase and catalase gene from *Octopus vulgaris*[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2014, 53(3): 573-580.
- [6] Arthington B A, Bennett L G, Skatrud P L. Cloning, disruption and sequence of the gene encoding yeast C-5 sterol desaturase[J]. Gene, 1991, 102: 39-44.
- [7] Bard M, Bruner D A, Pierson C A. Cloning and characterization of ERG25, the *Saccharomyces cerevisiae* gene encoding C-4 sterol methyl oxidase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93: 186-190.
- [8] Aarts M G, Keijzer C J, Stiekema W J. Molecular characterization of the *CER1* gene of arabidopsis involved in epicuticular wax biosynthesis and pollen fertility[J]. Plant Cell, 1995, 7: 2115-2127.
- [9] 李文辉, 张鑫, 朱友芳, 等. 杂色鲍精氨酸激酶基因的克隆及其在不同应激条件下的表达[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2015, 54(3): 315-323.
Li Wenhui, Zhang Xin, Zhu Youfang, et al. Cloning and differential expression of arginine kinase in *Haliotis diversicolor* under different stresses[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2015, 54(3): 315-323.
- [10] 肖懿哲, 朱友芳, 孙玉龙, 等. 施氏鲟 *Asnanos1* 基因序列分析及其在雌雄不同组织中表达[J]. 海洋科学, 2017, 41(4): 17-23.
Xiao Yizhe, Zhu Youfang, Sun Yulong, et al. Sequence and differential expression analysis of *Asnanos1* gene in different tissues of *Aclpenser schrenckii* in male and female[J]. Marine Sciences, 2017, 41(4): 17-23.
- [11] 周旋. 大黄鱼部分脂肪代谢相关基因的克隆及其表达分析[D]. 厦门: 集美大学, 2009.
Zhou Xuan. Cloning and analysis of partial lipid-related genes from large yellow croaker[D]. Xiamen: Jimei University, 2009.
- [12] Liang X F, Ogata H Y, Oku H, et al. Abundant and constant expression of uncoupling protein 2 in the liver of red sea bream *Pagrus major*[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2003, 136(3): 655-661.
- [13] Halver J E, Hardy R W. Fish Nutrition (3rd edition)[M]. Amsterdam: Academic Press, 2002, 181-257.
- [14] Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. Effect of starvation and environmental temperature on proximate and fatty acid composition of *Tilapia nilotica*[J]. Bulletin of Japanese Society of Fisheries Science, 1984, 50(1): 79-84.
- [15] 王文谦, 苏泽玲, 吴永丽, 等. 饥饿和复投喂对虎龙斑生长及 LPL、HL 基因表达的影响[J]. 海南热带海洋学院学报, 2018, 25(5): 8-12.
Wang Wenqian, Su Zeling, Wu Yongli, et al. Effects of starvation and re-feeding on the growth and expression of LPL and HL genes in tiger-dragon grouper[J]. Journal of Hainan Tropical Ocean University, 2018, 25(5): 8-12.
- [16] 覃川杰, 邵婷, 杨洁萍, 等. 饥饿胁迫对瓦氏黄颡鱼脂肪代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2015, 39(1): 58-65.
Qin Chuanjie, Shao Ting, Yang Jieping, et al. The effect of starvation on lipid metabolism of darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(1): 58-65.
- [17] 龙章强, 彭士明, 陈立侨, 等. 饥饿与再投喂对黑鲷幼鱼体质量变化、生化组成及肝脏消化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(4): 606-614.
Long Zhangqiang, Peng Shiming, Chen Liqiao, et al. Effects of starvation and re-feeding on body weight, tissue biochemical composition and hepatic digestive enzyme activity in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(4): 606-614.
- [18] Larsson A, Lewander K. Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla*[J]. Comp Biochem Physiol, 1973, 44: 3767-3774.
- [19] Bernard W I, Alan T. The effect of starvation and force-feeding on the metabolism of the Northern pike, *Esox lucius* L.[J]. J Fish Biol, 1976, 8(1): 79-88.
- [20] Lee P G. Nutrition of cephalopods: fueling the system[J]. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 1995, 25: 1-3.
- [21] 金奇. *STAT1* 与 *FAXDC2* 在巨核细胞生成中的功能和机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2016.
Jin Qi. The function and mechanism study of *STAT1* and *FAXDC2* in megakaryopoiesis[D]. Wuhan: Wuhan University, 2016.
- [22] 季巾君, 焦一凤, 陈仙英, 等. 干姜附子肉桂汤诱导口腔溃疡的机制研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2018, 42(10): 775-781
Ji Jinjun, Jiao Yifeng, Chen Xianying, et al. Study on the mechanism of oral ulcer induced by excessive shang-huo in rats induced by ganjiang fuzi rougui decoction[J]. Journal of Zhejiang Chinese Medical University, 2018, 42(10): 775-781.

Cloning and expression of *FAXDC2* in *Octopus vulgaris*

XIAO Yi-zhe¹, YAO Cheng-jie², ZHU You-fang¹, SUN Yu-long³, ZHANG Zi-ping³,
WANG Yi-lei²

(1. Putian Municipal Institute of Fishery Science, Putian 351100, China; 2. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 3. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Received: Apr. 19, 2019

Key words: *Octopus vulgaris*; *FAXDC2*; cloning; tissue expression; starvation; real-time fluorescence quantitative PCR

Abstract: Fatty acid hydroxylase domain-containing protein 2 (*FAXDC2*) belongs to the fatty acid hydroxylase superfamily and plays vital roles in fatty acid synthesis and metabolism. *Octopus vulgaris* is an economically important species found in the coastal waters of southern China. This study investigated the effects of starvation on *OvFAXDC2* expression in *O. vulgaris* using the cDNA sequence (1384 bp) of *OvFAXDC2* obtained from the transcriptome database of *O. vulgaris* and confirmed by PCR in a head-to-toe manner. This sequence contains a 100-bp 5' untranslated region (UTR), 228-bp 3'UTR, and 1056-bp open reading frame encoding 351 amino acids. The molecular weight of the protein is 3.98 kDa, and its theoretical isoelectric point is 8.93. Phylogenetic tree analysis revealed that *O. vulgaris* and *O. bimaculoides* were clustered and separated from other invertebrates. Real-time fluorescence quantitative PCR revealed that *OvFAXDC2* showed the highest expression in the digestive gland, followed by the gill and gill heart. During larval starvation, *OvFAXDC2* expression increased initially and then decreased, reaching the highest level on the third day. Results of this study suggest *OvFAXDC2* expression patterns can be used as an indicator of normal larval metabolism.

(本文编辑: 谭雪静)