

文章编号: 1674 - 5566(2014)05 - 0641 - 08

## 牙鲆胚后发育阶段 *HDAC1* 基因的空间表达

李 慧<sup>1</sup>, 徐义平<sup>2</sup>, 鲍宝龙<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 乐清市水产科学研究所, 浙江 乐清 325600)

**摘 要:** 组蛋白去乙酰化酶(HDACs)可通过调节染色质结构和抑制特异性转录因子活性来调控细胞生长和分化。鉴于 HDACs 在蝌蚪变态发育过程中的作用,本研究克隆了牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)*HDAC1* 基因全长 cDNA 序列,并调查了其在牙鲆变态前和变态阶段的空间表达。牙鲆 *HDAC1* 全长 cDNA 序列为 2 540 bp,包含长度为 126 bp 的 5'UTR,1 470 bp 的 ORF 和 944 bp 的 3'UTR。*HDAC1* 基因在牙鲆变态前以及变态阶段均有表达,这和蝌蚪中仅在变态前表达的现象不同。*HDAC1* 在冠状幼鳍上的表达是随着幼鳍原基的生长发育逐渐增强的,直至冠状幼鳍分化成形后,基因表达减弱;随着牙鲆仔鱼肠道的变粗变短,*HDAC1* 在肠壁的表达强度逐渐增强,孵化后第 16 天(16DAH)开始减弱并最终消失;鳍褶中 *HDAC1* 在 9DAH 开始表达,18DAH 时主要在鳍褶基部表达,进入变态阶段,*HDAC1* 可见在支鳍骨上表达,在变态高峰期表达最为强烈。在整个变态发育期 *HDAC1* 在鳃上均表达,变态开始后表达逐渐增强,而到变态后期表达减弱。牙鲆变态前及变态阶段的 *HDAC1* 基因表达模式表明, *HDAC1* 参与了牙鲆冠状幼鳍、鳍条、肠道等多种器官的发育调控以及变态阶段眼睛移动的过程。

**研究亮点:** HDACs 只在蝌蚪变态前表达,抑制变态相关基因的转录。本研究则发现 *HDAC1* 在牙鲆变态前和变态阶段均表达,表明在牙鲆胚后发育过程中, *HDAC1* 发挥着不同于其在蝌蚪变态中的作用。

**关键词:** 牙鲆; *HDAC1* 基因; 变态; 冠状幼鳍

**中图分类号:** Q 785; S 917

**文献标志码:** A

核小体组蛋白的翻译后修饰是真核基因转录调控中的关键步骤,组蛋白的乙酰化/去乙酰化主要由组蛋白乙酰化酶(histone acetylases, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)催化完成。组蛋白乙酰化和去乙酰化与基因的表达调控密切相关,HATs 和 HDACs 之间的动态平衡控制着染色质的结构和基因的表达<sup>[1-2]</sup>。一般情况下,组蛋白的乙酰化有利于 DNA 与组蛋白八聚体的解离,核小体结构松弛,从而使各种转录因子和协同转录因子能与 DNA 结合位点特异性结合,激活基因的转录。而 HDACs 使组蛋白去乙酰化,组蛋白与带负电荷的 DNA 紧密结合,染色质致密卷曲,基因的转录受到抑制<sup>[3]</sup>。在蝌蚪早期发育过程,变态前的 TR/

RXR 在没有甲状腺激素 T3 存在时,TRE 区域富集一些包括 HDACs 的抑制因子,抑制与此后变态相关的基因;变态阶段 T3 浓度升高后,TR/RXR 构象改变,抑制因子解离,转录因子被富集,激活变态相关的基因导致变态<sup>[4]</sup>。

比目鱼类(鲽形目)从仔鱼向稚鱼的转变过程是一个明显的变态过程,其中一只眼睛会移动到身体的另一侧;身体偏转 90 度从浮游生活到底栖生活;体色左右不对称等<sup>[5]</sup>。比目鱼的变态也是由甲状腺激素调控<sup>[6-9]</sup>,为了了解 HDACs 在牙鲆变态中的可能作用,本文克隆了牙鲆 *HDAC1* 全长 cDNA 序列,并利用 RNA 整体原位杂交技术调查了其在变态前和变态阶段的表达情况。

收稿日期: 2014-03-22 修回日期: 2014-04-28

基金项目: 国家自然科学基金(31072201);乐清市科技发展计划项目(20130701)

作者简介: 李 慧(1986—),女,硕士研究生,研究方向为鱼类发育生物学。E-mail:foreverihui1116@163.com

通信作者: 鲍宝龙,E-mail:blbao@shou.edu.cn

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

牙鲆鱼苗购自烟台黄海水产有限公司,在养殖基地饲养至变态期结束。牙鲆变态过程分为6个阶段:(1)变态前:眼睛开始移动前,左右眼完全对称;(2)阶段E:眼睛刚刚开始移动;(3)阶段F:从左侧可以看见右侧的眼睛,右眼上缘还没到达头顶;(4)阶段G:变态高峰期,右眼移到头顶,从左侧恰好看到右眼上缘;(5)阶段H:右眼刚好位于头顶;(6)阶段I:眼睛完全移过头顶<sup>[10-11]</sup>。所取样品一部分用液氮速冻后存于-80℃备抽提总RNA,另一部分用4%PFA固定后换成甲醇保存于4℃以备RNA整体原位杂交。

### 1.2 HDAC1 基因全长 cDNA 的克隆

取-80℃保存的牙鲆样本于液氮中研磨,按Invitrogen的TRIzol说明书抽提总RNA<sup>[12]</sup>。利用M-MLV反转录酶,以总RNA为模版,反转录合成cDNA,利用SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kit合成RACE-Ready-cDNA,-20℃保存备用。

根据GenBank中斑马鱼(*Danio rerio*)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、大西洋鲑(*Salmo salar*)、非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)氨基酸序列的保守型和牙鲆密码子偏好性,设计上下游简并引物Hdac-1-F(TGCTGCACTACGGCCTGTACAAGAAGAT)和Hdac-1-R(TGGTGCAGGCCG CCGGCCAGTT),以17DAH的牙鲆cDNA为模板,退火温度61℃克隆获得298bp的序列。

按照SMARTer™ RACE cDNA Amplication Kit(Clontech公司)说明书操作,步骤如下:以5'-RACE-Ready cDNA为模板,以通用引物UPM(CTAATACGACTCACTATAGGGCAAGCACTGGTATCAACGCAGAGT)和5'特异引物GSP1(CAGCACCGGCAACAGAGCCTCCCCCTGA)扩增5'末端序列。以3'-RACE-Ready cDNA为模板,以通用引物UPM和3'特异引物GSP2(CCGTCCGCACAAAGCCAGCGGAGAGGAG)扩增3'末端序列。PCR产物用1.0%琼脂糖凝胶电泳

回收正确大小的片段后连接到pGEM-T载体,转化至大肠杆菌Top10感受态细胞,挑阳性克隆测序。

### 1.3 序列分析

测序后得到的3'和5'末端序列用ContigExpress软件拼接,得到牙鲆HDAC1基因全长cDNA序列,通过DNASTAR软件预测和翻译开放阅读框。用NCBIblast分析序列的结构域和同源性;利用MEGA4.0中的邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建系统进化树;利用Ex-PASy-Tools(<http://www.expasy.ch/tools/>)在线软件预测HDAC1的氨基酸组成、分子量、等电点和结构域等。

### 1.4 RNA 整体原位杂交

分别用限制性内切酶Nco I和Not I线性化含298bp长的HDAC1质粒,分别用SP6和T7RNA聚合酶体外转录合成地高辛标记的RNA探针<sup>[13]</sup>。牙鲆仔鱼RNA杂交检测之前的预处理步骤参考文献[14]进行。分别加入地高辛标记的反义链和正义链探针,45℃杂交过夜,洗脱后用地高辛抗体4℃下过夜,用RED FAST显色液室温下遮光显色。具体杂交步骤参考文献[15]。

## 2 结果

### 2.1 牙鲆 HDAC1 全长序列分析

牙鲆HDAC1cDNA序列全长2540bp(图1),包括126bp5'UTR,1470bpORF编码489个氨基酸,944bp3'UTR。该基因编码的蛋白分子量为55.6ku,等电点5.42,包含一个Histone deacetylase 1结构域。

系统发育树分析表明(图2),牙鲆HDAC1和红鳍东方鲀的histone deacetylase 1-like、尼罗罗非鱼的histone deacetylase 1-B-like以及大西洋鲑鱼的histone deacetylase 1-B相似性达99%,和斑马鱼的HDAC1相似性达89%。牙鲆HDAC1首先和尼罗罗非鱼HDAC1-B类聚,再与青鳉HDAC1类聚,最后和红鳍东方鲀HDAC1类聚。

```

1   ctaatacgaactcactataggccaagcagtggtatcaacgcagagtacatgggggtcgctg
61  ctggttgcctgctggagtgtagtggtgagcgagtgagcgagtgaaacgcagcctaaaaag
121 accaaa
127 ATGGCGCTCACTTCCCAGGGAACAAAAGAAAAAGTTTGGCTACTACTATGACGGTGATGCT
    M A L T S Q G T K K K V C Y Y Y D G D A
187 GAAATTACTATGGTCAGGGCCATCCCATGAAGCCCCACGCATACGCATGACACAC
    G N Y Y Y G Q G H P M K P H R I R M T H
247 AACCTGTTGCTCAACTATGGCCTCTACAGAAAGATGGAGATATACCGTCCGCACAAAGCC
    N L L L N Y G L Y R K M E I Y R P H K A
307 AGCGGAGAGGAGATGACCAAGTATCACAGCGATGACTACATCAAATTCCTGCGTTC AATC
    S G E E M T K Y H S D D Y I K F L R S I
367 CGACCTGACAACATGTCTGAGTACAGCAAACAAATGCAGAGATTTAATGTTGGGGAGGAC
    R P D N M S E Y S K Q M Q R F N V G E D
427 TGTCCAGTGTTCGATGGGTTGTTTGTGATTTCTGCCAGCTCTCAGGGGGAGGCTCTGTTGCC
    C P V F D G L F E F C Q L S G G G V A
487 GGTGCTGTAAAATGAAACAAACAGCAGACGGACATCGCCATCAACTGGGCTGGGGGCCTG
    G A V K L N K Q Q T D I A I N W A G G L
547 CATCACGCCAAAAAGTCTGAGGCCTCTGGGTTCTGCTATGTCAACGACATGTCTCGGCT
    H H A K K S E A S G F C Y V N D I V L A
607 ATTTTGAATTACTGAAGTACCACCAGAGAGTTCTGTACATAGATATGACATCCATCAT
    I L E L L K Y H Q R V L Y I D I D I H H
667 GCGACGGTGTGAGGAGGCCCTTCTACACCAAGACCGTGTATGACCGTTTCTTCCAC
    G D G V E E A F Y T T D R V M T V S F H
727 AAGTATGGAGAGTACTTCCCTGGCACAGGAGATCTGAGGGACATCGGAGCTGGGAAGGGT
    K Y G E Y F P G T G D L R D I G A G K G
787 AAATCTACGCGTGAATTATCCACTGAGGGATGGGATTGATGATGATGATGATGATGATG
    K Y Y A V N Y P L R D G I D D E S Y E A
847 ATTTTCAAACCTATCATGGCCAAGGTGATGGAGATGTACCAGCCCAGTGTCTGTTGTTCTA
    I F K P I M A K V M E M Y S P S A V V L
907 CAGTGTGGAGCCGATTCTTTGTGAGGAGACAGGCTCGGCTGCTTTAACCTCACCATTAA
    Q C G A D S L S G D R L G C F N L T I K
967 GGCCATGCTAAGTGTGTGGAGTACATGAAAAAGCTTCAACCTCCCCCTGTGTGATGTTGGGT
    G H A K C V E Y M K S F N L P L L M L G
1027 GGAGGAGCTACACCATCCGTAAGCTGGCACGCTGCTGGACCTATGAACTGCTGTAGCC
    G G G Y T I R N V A R C W T Y E T A V A
1087 CTTGATTCCTCCATCCCTAATGAGCTCCCATACAACGACTACTTTGAGTACTTTGGGGCCG
    L D S S I P N E L P Y N D Y F E Y F G P
1147 GACTTCAAACGACATCAGCCCTCCAACATGACCAACCAGAACACCAACGACTACCTG
    D F K L H I S P S N M T N Q N T N D Y L
1207 GAGAAGATCAAGCAGCGCTTGTTCGAGAAGCTTGCATGCTGCCTCAGCCAGGAGTGC
    E K I K Q R L F E N L R M L P H A P G V
1267 CAGATGCAGGCCATCCCAGAAGACGCTGTACAGGAGGATAGTGGAGATGAGGAGGAAGAC
    Q M Q A I P E D A V Q E D S G D E E D
1327 GACCCCAACAAACGCATCTCCATCCGTGCTGACAAGAGGATAGCATGTGAGGAGGAGTCT
    D P N K R I S I R A D K R I A C E E F
1387 TCTGACTCGGAGGATGAAGCGAAGGAGGCCCGAGAAACGCAGCCAGCTTCAAGAAAGCC
    S D S E D E G E G G R R N A A S F K K A
1447 CTTGATTCCTCCATCCCTAATGAGCTCCCATACAACGACTACTTTGAGTACTTTGGGCCG
    K R A K T E G E K E G E K E K K G E E
1507 GAAAACAAAAGAAAGTAAAACAGAGGAGAAGTACCAGAGGAGGAGAAAAATGGACACATCA
    E T K E V K T E E K V P E E E K M D T S
1567 AAGCCAAAAGAGGAATCCAAGACACCTTGA
    K P K E E S K T P *
1597 ggtgctcagcaccaatgatgccagtgtagtgatcagaacggatcacacatttttagat
1657 caattatcatccaagggtgctggcctatggaaatcagtgaggacaaacctttgtattga
1717 aacatccttctcctctgaataggaggaggctcttatcatglttttctaggacaactttt
1777 caactttgctggtttatggactggeggttttcttgagctcttgatgtttttgtatgcttt
1837 ttcatttttggctcctcaatcttttgaagegggtgacacttctcctccttttggtaag
1897 caactctgtacaaaattgcttaattacatgtgtgcttttatatactgactgatttaatt
1957 tatttaaatcatagatatttttggctattctgctttattatgctttcagcccccacttt
2017 agccctgtgctttttgaaatgtagttcaagcatggtttgtacaatagatcttttctg
2077 attacattcgtgtcactggctcttgctgttaaggtcaccagaatggttaagagggtcgt
2137 ctaaacctataaccctctacgtgtcagtgctatttacattcttatattttaggttatga
2197 taggacgtgtcctctactgacacatcactttttctttgttaaatttgtgaccagaata
2257 taaaaaaatgttttgggtccagtatcaggctgaggacttgaatgtccaatatactgtgta
2317 gtactgtgtgagtactatacagtataatatacaatccagcagctactcttttagtaccagt
2377 gtacaatatgaggccatgcaagaatlaattcatttgttgtatataattatctgata
2437 aacataagcaaaaagtgtccacatgagagatcgcaaatgtcatttaaattgtgacagctt
2497 tgggtgtgtttgtacacattttaaaccaataaaaaatctgccc tcaaaaaaaaaaaaaaaaa
2557 aaaaaaaaaa

```

图1 牙鲆 *HDAC1* 基因全长 cDNA 序列以及推测出的氨基酸序列分析Fig.1 Full-length cDNA and deduced amino acid sequences of *P. olivaceus HDAC1* gene

小写字母代表3'、5'端非翻译区;大写字母为编码区,上面为核苷酸序列,下面为氨基酸序列,Histone deacetylase 1 结构域用方框标出,\*表示终止密码子。

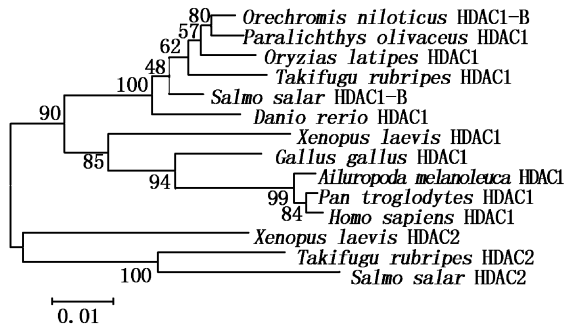
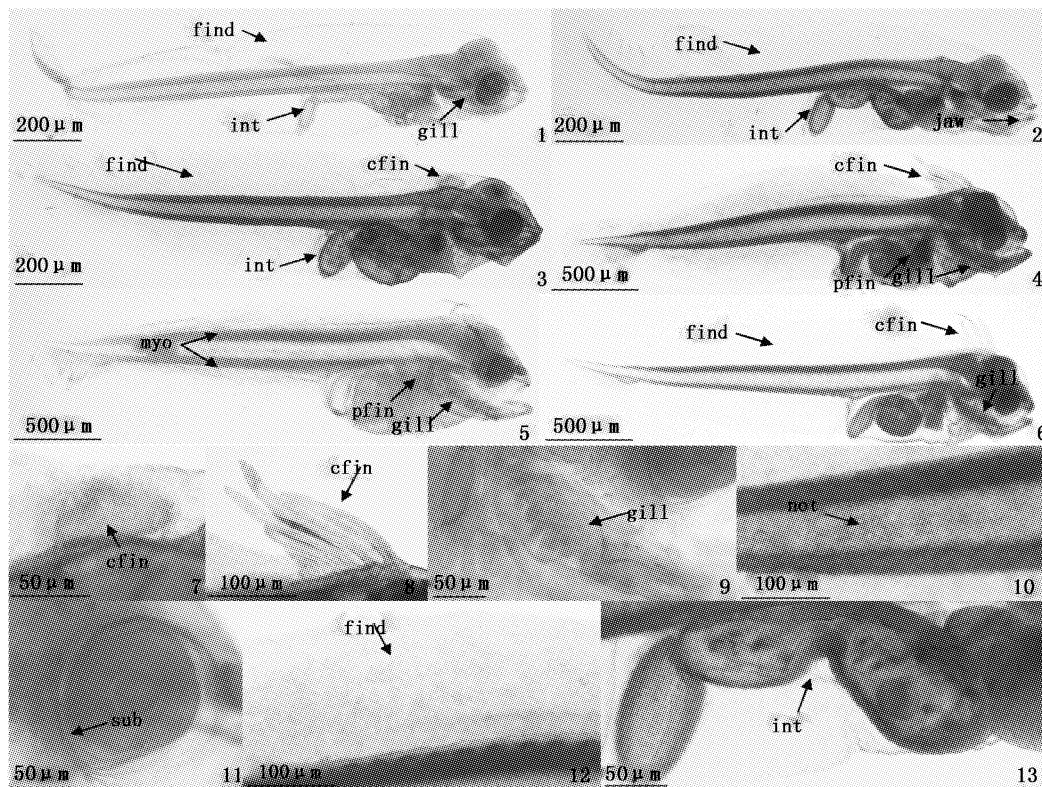


图2 HDAC1 氨基酸序列系统发育树  
Fig. 2 A phylogenetic tree constructed by the Neighbour-Joining method for amino acid sequences of HDAC1

尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* HDAC1-B (XP\_003446230.1); 青鳉 *Oryzias latipes* HDAC1 (XP\_004082433.1); 红鳍东方鲀 *Takifugu rubripes* HDAC1 (XP\_003962463.1), HDAC2 (XP\_003977374.1); 大西洋鲑 *Salmo salar* HDAC1-B (NP\_001265940.1), HDAC2 (NP\_001265942.1); 斑马鱼 *Danio rerio* HDAC1 (AAH85375.1); 非洲爪蟾 *Xenopus laevis* HDAC1 (NP\_001079396.1), HDAC2 (NP\_001084011.1); 原鸡 *Gallus gallus* HDAC1 (AAB99850.1); 大熊猫 *Ailuropoda melanoleuca* HDAC1 (XP\_002921911.1); 黑猩猩 *Pan troglodytes* HDAC1 (XP\_519834.2); 人 *Homo sapiens* HDAC2 (NP\_001518.3); 牙鲆 *Paralichthys olivaceus* HDAC1。

## 2.2 牙鲆变态前 HDAC1 的表达分布

牙鲆在变态前 HDAC1 基因主要在冠状幼鳍、上下颌、鳃、肠道以及鳍褶等组织表达(图版 I), 阴性对照未见信号(图版 I - 6)。仔鱼初期 HDAC1 在上下颌表达不明显, 13DAH 时表达明显增强, 随后开始减弱。HDAC1 在鳃上的表达随着仔鱼的长大逐渐增强(图版 I - 9)。在鳍褶上, 3DAH 的牙鲆无 HDAC1 表达, 9DAH 该基因的表达逐渐增强且均匀分布, 16DAH 时 HDAC1 表达强度从鳍褶基部向边缘逐渐减弱, 呈现出不均匀分布(图版 I - 12), 18DAH 基因表达则主要集中在鳍褶基部。9DAH 的牙鲆仔鱼出现冠状幼鳍原基且有 HDAC1 基因的表达(图版 I - 2), 随着仔鱼的变大, 冠状幼鳍原基上的表达信号增强(图版 I - 7), 16DAH 时仔鱼冠状幼鳍发育成形(图版 I - 8), HDAC1 表达开始减弱。随着牙鲆仔鱼肠道的变粗变短, HDAC1 在肠壁的表达强度逐渐增强(图版 I - 13), 到 16DAH 开始减弱。18DAH, 基因在眼眶周围开始表达(图版 I - 11)。



图版 I 牙鲆变态前 HDAC1 的表达分布

### Plate I Expressional pattern of HDAC1 gene before metamorphosis of *P. olivaceus*

1. 3DAH; 2, 13. 9DAH; 3, 7. 13DAH; 4, 6, 8, 10, 12. 16DAH; 5, 9, 11. 18DAH; 1, 2, 3, 4, 5. 实验组全身右面观; 6. 对照组全身右面观; 7. 冠状幼鳍原基的放大观; 8. 冠状幼鳍的放大观; 9. 鳃的放大观; 10. 脊索的放大观; 11. 眼睛的放大观; 12. 背鳍褶的放大观; 13. 肠道的放大观; find. 鳍褶; int. 肠道; gill. 鳃; jaw. 上下颌; cfin. 冠状幼鳍; pfin. 胸鳍; myo. 肌节; not. 脊索; sub. 眶下组织; 红色为 HDAC1 信号。

### 2.3 牙鲆变态期 *HDAC1* 的表达分布

牙鲆变态阶段, *HDAC1* 基因表达逐渐增强, 变态高峰期表达最为强烈, 后期表达减弱。变态初期(E 期), 该基因在鳃、眼眶周围、上下颌、鳍条、侧线等部位都有表达(图版 II - 1), 阴性对照未见信号(图版 II - 2)。变态阶段 F 期的表达模式与 E 期相似, 但表达强度比 E 期明显增强, 在鳃、侧线处的信号更加清晰(图版 II - 3)。变态阶段 G 期, 基因在侧线上的表达减弱, 但在眼眶周围、鳃、鳍条部位的表达依然很强烈(图版 II - 4)。变态即将结束的 H 期, 基因表达模式与 G 期相似, 但表达强度明显减弱(图版 II - 5)。变态结束 I 期, *HDAC1* 基因只在鳃等部位有少量表达(图版 II - 6)。

各个组织在变态阶段信号分布的变化具体表现为变态初期鳍条开始出现, 可见基因在鳍条、支鳍骨、侧线和眼眶周围均有表达; 变态高峰期, 该基因在侧线上的表达明显增强, 在背臀鳍的表达则主要集中在支鳍骨(图版 II - 7, 8); 变态后期, 侧线和支鳍骨上的表达开始减弱; 变态结束, 基因表达微弱, 只在鳃处有少量表达。在整个变态期, *HDAC1* 在鳃组织都有表达, 变态结束时, 表达明显变弱(图版 II - 1, 3, 4, 5)。 *HDAC1* 在眼眶周围的表达在变态初期逐渐增强, 变态高峰期表达最强(图版 II - 9), 变态后期开始减弱, 变态结束该基因在眼眶周围不表达。上下颌和鼻孔上 *HDAC1* 的表达在变态 E 期和 F 期都比较强(图版 II - 3, 4, 10), G 期开始减弱。

## 3 讨论

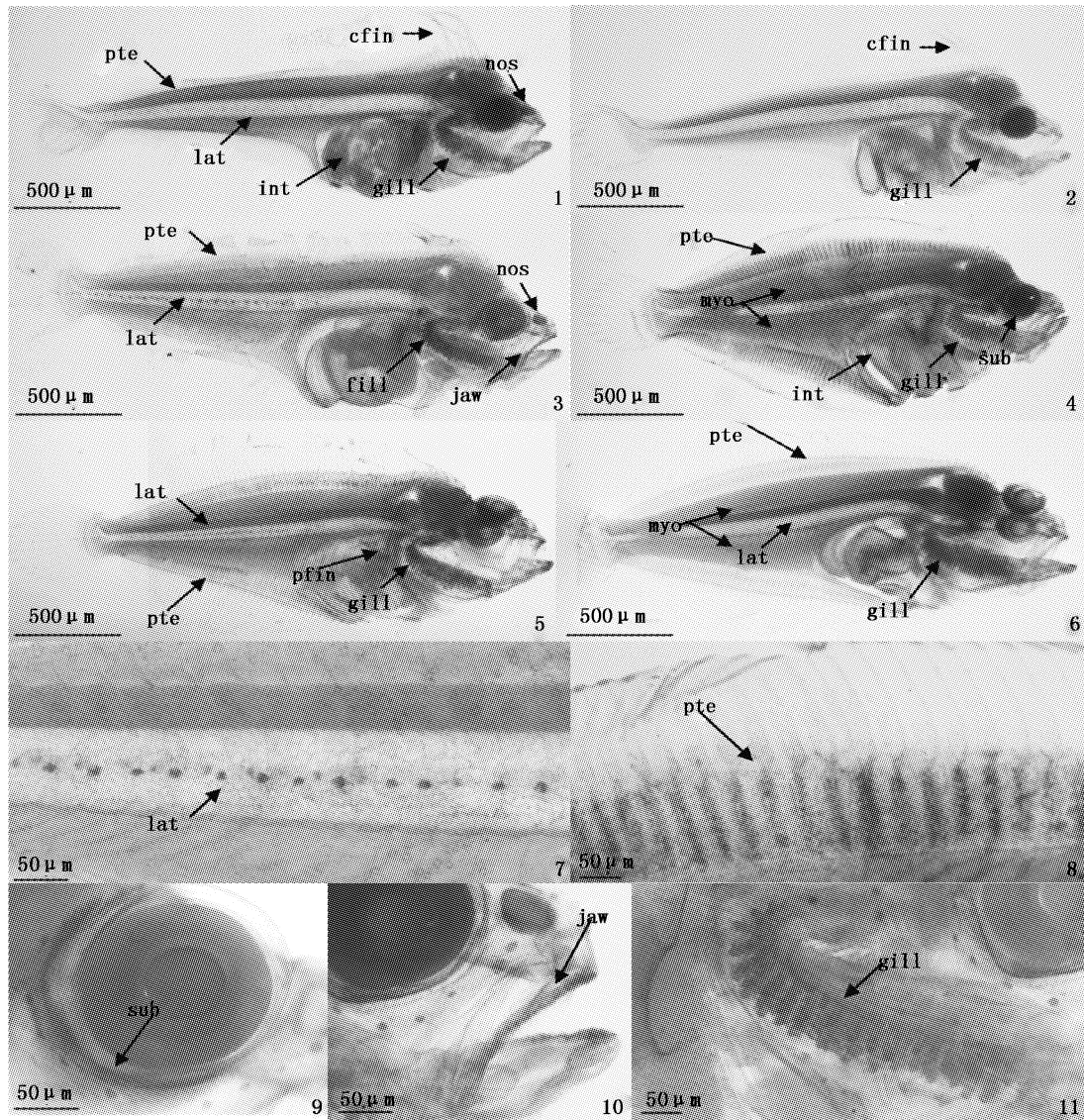
本研究获得了牙鲆 *HDAC1* 基因的全长 cDNA 序列, 其编码的氨基酸序列与尼罗罗非鱼 *HDAC1-B* 具有较高的同源性, 系统发育树也表明牙鲆 *HDAC1* 首先和尼罗罗非鱼 *HDAC1-B* 聚类。牙鲆 *HDAC1* 氨基酸序列包含一个 Histone deacetylase 1 结构域, 该结构域可以催化组蛋白的去乙酰化, 与组蛋白乙酰化酶配合在一起实现对组蛋白乙酰化程度的调控<sup>[16]</sup>。

牙鲆从初孵到开始变态, *HDAC1* 基因的表达较为广泛, 在上下颌、鳃、肠道、鳍褶等部位均有表达。冠状幼鳍是大多数比目鱼类早期生长发

育中出现的一种结构, 其具体功能还不清楚。9DAH 牙鲆仔鱼冠状幼鳍原基开始出现, 呈三角形, 在背鳍褶前端的基部, 16DAH 冠状幼鳍原基已分化成 5 根鳍条, 末端未游离。冠状幼鳍长度达到最长时, 仔鱼进入变态期, 此后随着冠状幼鳍的退化和消失, 鱼苗逐渐完成变态<sup>[17]</sup>。 *HDAC1* 基因在冠状幼鳍原基上已经开始表达, 随着原基的生长分化, 信号表达逐渐增强。到了 18DAH 冠状幼鳍分化成 5 根末端游离的鳍条, *HDAC1* 表达开始减弱, 表明其参与了牙鲆冠状幼鳍的发育过程。

鳍条的发育对牙鲆的生长是至关重要的, 牙鲆在变态结束后, 其生活方式发生了极大改变, 从浮游型变为底栖埋伏型, 鳍条均倒向一侧, 使其更有利于水底匍匐和捕食<sup>[11, 18]</sup>。其侧卧匍匐的生态习性, 使牙鲆的奇鳍成为主要的运动器官<sup>[19]</sup>。16DAH 时, 牙鲆背、臀鳍褶出现鳍条原基, 随后鳍条逐渐发育完整并骨化分节<sup>[20]</sup>。初孵阶段, *HDAC1* 基因在鳍褶上表达微弱, 之后随着仔鱼的生长发育, 该基因的表达逐渐增强且均匀分布; 牙鲆仔鱼背、臀鳍褶出现鳍条原基后, *HDAC1* 表达主要集中在原基上; 随着鳍条的骨化, *HDAC1* 在支鳍骨上表达, 并在变态高峰期表达最为明显, 变态后期开始减弱。表明 *HDAC1* 基因在牙鲆奇鳍的支鳍骨和鳍条的发育过程中也可能发挥重要作用。

比目鱼在变态过程中最显著的变化就是眼睛移动到身体的一侧, 已有研究证明比目鱼眼睛的移动是由甲状腺激素依赖的眶下皮肤细胞分裂推动的结果<sup>[21-24]</sup>。牙鲆变态阶段, 在右眼(移动眼)下方的皮肤组织中检测到 *HDAC1* 基因的表达, 其表达模式与牙鲆变态阶段细胞分裂信号的表达模式相似<sup>[22, 25-26]</sup>, 表明 *HDAC1* 基因可能通过调控细胞分裂参与牙鲆的眼睛移动过程。此外, 牙鲆在变态过程中头骨向右眼侧扭曲变形, 外部形态从两侧对称变成了左右不对称, 其上下颌骨也会变形使得嘴偏向身体的一侧更利于捕食<sup>[18]</sup>。 *HDAC1* 基因空间表达分布显示, 变态初期和高峰会 *HDAC1* 在上下颌有明显的表达, 随后开始减弱, 变态结束后没有表达, 说明其在牙鲆变态阶段上下颌骨的发育中有重要作用。

图版 II 牙鲆变态阶段 *HDAC1* 的表达分布Plate II Expressional pattern of *HDAC1* gene during metamorphosis of *P. olivaceus*

1,2. 变态 E 期; 3,7,10,11. 变态 F 期; 4,8,9. 变态 G 期; 5. 变态 H 期; 6. 变态 I 期; 1,3,4,5,6. 实验组全身右面观; 2. 对照组全身右面观; 7. 侧线的放大观; 8. 支鳍骨的放大观; 9. 眼睛的放大观; 10. 上下颌的放大观; 11. 鳃的放大观; cfin. 冠状幼鳍; int. 肠道; gill. 鳃; lat. 侧线; pte. 支鳍骨; nos. 鼻孔; jaw. 颌; pfin. 胸鳍; myo. 肌节; sub. 眶下组织; 红色为 *HDAC1* 表达信号。

总之, *HDAC1* 基因在牙鲆变态前和变态阶段的表达分布模式提示我们, 不同于其在两栖类变态中的表现, *HDAC1* 可能参与牙鲆鳍、鳃、肠道、上下颌等的发育, 与眼睛移动也有密切关系, 需要在今后的研究中深入研究 *HDAC1* 的具体功能。

## 参考文献:

- [1] 徐谷峰, 王红梅, 滕脉坤. 组蛋白乙酰化/去乙酰化作用与真核基因转录调控[J]. 生命的化学, 2001, 21(5): 347-349.  
[2] 管晓翔. 组蛋白乙酰化修饰在基因表达调控中的作用机

制[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(4): 307-310.

- [3] ROPERO S, ESTELLER M. The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer[J]. Molecular Oncology, 2007, 1(1): 19-25.  
[4] BUCHHOLZ D R, PAUL B D, FU L, et al. Molecular and developmental analyses of thyroid hormone receptor function in *Xenopus laevis*, the African clawed frog[J]. General and Comparative Endocrinology, 2006, 145(1): 1-19.  
[5] 王吉桥, 许建和, 张弼. 比目鱼体色异常的机理与对策[J]. 海洋科学, 2002, 26(2): 27-30.  
[6] MIWA S, INUI Y. Effects of various doses of thyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of flounder

- (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1987, 67(3):356-363.
- [7] INUI Y, MIWA S. Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1985, 60(3):450-454.
- [8] MIWA S, TAGAWA M, INUI Y, et al. Thyroxine surge in metamorphosing flounder larvae [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1988, 70(1):158-163.
- [9] TAGAWA M, MIWA S, INUI Y. Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of the flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Zoological Science*, 1990, 7:93-96.
- [10] 张孝威, 何桂芬, 沙学绅. 牙鲆和条鳎卵子及仔、稚鱼的形态观察[J]. *海洋与湖沼*, 1965, 7(2): 159-180.
- [11] 李乐康, 鲍宝龙. 牙鲆变态发育过程中 *epigen* 基因的空间表达分布[J]. *上海海洋大学学报*, 2012, 21(6): 929-934.
- [12] 杨琳琳, 蒋燕, 杨桂梅, 等. 银鲳皮肤和肌肉组织的基因表达谱分析[J]. *上海水产大学学报*, 2008, 17(4): 390-395.
- [13] 温宗华, 张艳, 吴自劼, 等. 地高辛标记斑马鱼 *cd99l2* 基因 RNA 探针的制备[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(5): 969-972.
- [14] 陈文君, 鲍宝龙. 牙鲆纤维蛋白原相关蛋白(*FREPI*)基因的克隆和表达分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(4): 488-495.
- [15] BAO B L, YANG G M, LIU Z J, et al. Isolation of *SFRS3* gene and its differential expression during metamorphosis involving eye migration of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, 1725(1): 64-70.
- [16] 刘芳, 格日力. 藏羚羊组蛋白去乙酰化酶 1 基因编码区的克隆与序列分析[J]. *兽类学报*, 2011(4): 396-403.
- [17] 蔡文超, 柳学周, 马学坤, 等. 半滑舌鳎早期发育阶段鳃和冠状幼鳍的生长发育规律研究[J]. *海洋水产研究*, 2006, 27(2): 94-98.
- [18] 柯中和. 比目鱼类变态过程中细胞分裂的作用和甲状腺素受体时空表达图式[D]. 上海:上海海洋大学, 2011.
- [19] 林华英. 牙鲆骨骼结构与生态习性统一性的研究[J]. *海洋科学*, 1985, 9(3): 28-31.
- [20] 陈朴贤. 犬齿牙鲆胚胎及仔、稚、幼鱼形态发育观察[J]. *海洋科学*, 2012, 36(6): 64-71.
- [21] 鲍宝龙. 比目鱼类的眼睛移位和不对称的进化起源[J]. *上海海洋大学学报*, 2012, 21(5): 728-736.
- [22] BAO B, KE Z, XING J, et al. Proliferating cells in suborbital tissue drive eye migration in flatfish [J]. *Developmental Biology*, 2011, 351(1): 200-207.
- [23] BASSETT J H, HARVEY C B, WILLIAMS G R. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2003, 213(1): 1-11.
- [24] INUI Y, YAMANO K, MIWA S. The role of thyroid hormone in tissue development in metamorphosing flounder [J]. *Aquaculture*, 1995, 135(1/3): 87-98.
- [25] 张臻宇, 鲍宝龙. 鱼类早期发育阶段甲状腺激素的作用[J]. *上海水产大学学报*, 1999, 8(1): 68-75.
- [26] 鲍宝龙, 张臻宇, 龚小玲, 等. 外源甲状腺素及可的松对牙鲆早期发育阶段生长、发育和变态的影响[J]. *上海水产大学学报*, 1999, 8(3): 242-246.

## Different expression pattern of *HDAC1* before and during the process of metamorphosis in *Paralichthys olivaceus*

LI Hui<sup>1</sup>, XU Yi-ping<sup>2</sup>, BAO Bao-long<sup>1</sup>

(1. The Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Yueqing Fisheries Science Institute, Yueqing 325600, Zhejiang, China)

**Abstract:** Histone deacetylase (HDACs) can control cell proliferation and differentiation by regulating the chromatin structure and inhibiting the activity of specific transcription factor. In view of the function *HDAC1* played in the process of metamorphosis of tadpole, the expression of *HDAC1* during metamorphosis of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) was investigated in this study. The full-length cDNA of *HDAC1* gene with 2 540 bp was obtained from *P. olivaceus*, containing 126 bp-length 5'UTR, 1 470 bp-length ORF, and 944 bp-length 3' UTR. Expression of *HDAC1* in coronary dorsal fin is gradually enhanced with the growth of coronary dorsal fin. Its expression on the fin fold was first found from 9 days after hatching (DAH), and later in 18 DAH larvae, mainly was found in the base of fin fold. The gene expression of *HDAC1* in intestine increased with the intestinal being shorter and thicker. Then, it began to weaken at 16 DAH and eventually disappeared. The difference of *HDAC1* expression between *P. olivaceus* and tadpole is its expression throughout the process of metamorphosis while only before metamorphosis in tadpole as reported in previous study. During the metamorphosis of *P. olivaceus*, *HDAC1* gene was mainly expressed in pterygiophore, gill and skin around eyes. It expressed higher at the early stages of metamorphosis than later stages. The expression pattern of *HDAC1* before and during the process of metamorphosis in *P. olivaceus* indicates it participating in the development of coronary dorsal fin and intestine, as well as the eye migration during metamorphosis.

**Key words:** *Paralichthys olivaceus*; *HDAC1*; metamorphosis; coronary dorsal fin