

花鲈半乳糖凝集素基因家族的鉴定及在不同环境因子胁迫下表达响应*

郑 圆¹, 温海深¹, 李吉方¹, 方 秀², 王灵钰¹, 张 冲¹, 陶泽鑫¹, 张永航¹, 李 昀^{1**}

(1. 海水养殖教育部重点实验室(中国海洋大学), 山东 青岛 266003; 2. 福建省花鲈育种重点实验室, 福建 福鼎 355200)

摘 要: 为探究在花鲈(*Lateolabrax maculatus*)响应环境因子胁迫中半乳糖凝集素(Galectins)发挥的作用,本研究通过全基因组水平鉴定获得了花鲈的 14 个 Galectin 基因(LGALS1、LGALS2a、LGALS2b、LGALS3a、LGALS3ba、LGALS3bb、LGALS4、LGALS8a、LGALS8b、LGALS9、LGALS17、GRPa、GRPb 和 GRPc)。通过系统发育、拷贝数、共线性和基因结构分析证实了基因注释的准确性和结构上的保守性。利用转录组测序数据进行 Galectin 基因的组织表达及在多种环境因子胁迫下的表达模式分析。研究表明, Galectin 家族各基因在花鲈的 7 个组织(肝、鳃、脾、胃、脑、精巢和卵巢)中广泛表达,且有 6 个基因(LGALS3ba、LGALS4、LGALS8a、LGALS9、LGALS17 和 GRPa)表现出明显的组织特异性。Galectin 家族的不同成员在 4 种环境因子胁迫下(低氧、碱度、高温及盐度适应)表现不同程度的表达响应,其中 LGALS3a、LGALS3ba、LGALS4、LGALS17 和 GRPb 在 4 种环境胁迫中表现出显著的差异表达,表明其广泛参与了对环境胁迫的响应与调控。

关键词: 花鲈; Galectin 基因家族; 表达分析; 胁迫响应

中图法分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2024)01-035-13

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20220380

引用格式: 郑圆, 温海深, 李吉方, 等. 花鲈半乳糖凝集素基因家族的鉴定及在不同环境因子胁迫下表达响应[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2024, 54(1): 35-47.

Zheng Yuan, Wen Haishen, Li Jifang, et al. Identification of the Galectin genes in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) and their expressions under different environmental stressing[J]. Periodical of Ocean University of China, 2024, 54(1): 35-47.

凝集素(Lectin)是一类具有广泛生物学功能的碳水化合物结合蛋白,在病毒、细菌和动植物中均广泛分布,其介导的蛋白质-碳水化合物间的相互作用在先天免疫如病原体识别中扮演着重要角色^[1-3]。半乳糖凝集素(Galectins)是凝集素超家族中的一个较为保守的 β -半乳糖苷结合蛋白家族,其特点为具有一个保守、可特异性识别 β -半乳糖苷的碳水化合物识别结构域(Carbohydrate-recognition domain, CRD),但缺少信号肽,是一类非经典的分泌型蛋白质^[4]。根据 CRD 的结构和数量特征,人的 Galectins 可划分为三种类型:原型(Prototype),仅含一个 CRD,多以单体或同型二聚体的形式存在,包括 Galectin-1 (LGALS1)、Galectin-2 (LGALS2)、Galectin-5 (LGALS5)、Galectin-7 (LGALS7)、Galectin-10 (LGALS10)、Galectin-11 (LGALS11)、Galectin-13 (LGALS13)、Galectin-14 (LGALS14)、Galectin-15 (LGALS15)、Galectin-16

(LGALS16)、Galectin-17 (LGALS17)以及 Galectin-related protein (GRP)^[5-7];串联重复型(Tandem repeat-type),为单体凝集素,通过短链多肽连接两个 CRD,包括 Galectin-4 (LGALS4)、Galectin-6 (LGALS6)、Galectin-8 (LGALS8)、Galectin-9 (LGALS9)和 Galectin-12 (LGALS12);嵌合型(Chimeric type),同为单体凝集素,在 N-末端具有富含脯氨酸和甘氨酸的结构域,在 C-末端含有 CRD,其连接到一个非凝集素氨基末端区域,可形成五聚体结构,仅包括 Galectin-3 (LGALS3)^[8]。

诸多研究表明 Galectins 可参与多种生物学过程,如癌细胞的转化、迁移、侵袭与转移^[9],炎症和免疫反应^[10],以及个体发育等^[11]。在哺乳动物中, Galectins 广泛分布于免疫器官和免疫细胞中,参与免疫反应和肿瘤发生^[12]。近年来,越来越多的研究表明水生生物中 Galectins 可作为抗菌和非自我识别分子在先天性

* 基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFD0900204);国家现代农业产业技术体系项目(CARS-47)资助

Supported by the National Key Research and Development Program of China(2020YFD0900204);the China Modern Agriculture Research System(CARS-47)

收稿日期:2022-08-31; 修订日期:2022-10-10

作者简介:郑 圆(1998—),男,硕士生,研究方向:鱼类生理学。E-mail:zhengyuanhn@163.com

** 通信作者:E-mail:yunli0116@ouc.edu.cn

免疫中发挥着至关重要的作用^[13]。例如,在斑马鱼(*Danio rerio*)中,当传染性造血器官坏死病病毒(Infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV)感染时,可在细胞外观察到 Galectins 以碳水化合物结合的方式直接与上皮细胞表面的 IHNV 的糖基化包膜和多糖相互作用,从而显著降低病毒的粘附^[14]。当尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)感染无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)5 d 后, LGALS8 在脾脏中的表达显著上调,表明其参与了抗细菌感染的免疫反应^[15]。条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)的重组蛋白 Gal2 具有血凝性,对乳糖和半乳糖表现出亲和力,可凝集和结合潜在致病菌和纤毛虫,增强免疫能力^[16]。

此外, Galectins 在响应环境胁迫中发挥着重要作用,被认为是细胞应激反应的生物标志物^[17]。例如,在体外和体内试验中,证明了小鼠 LGALS3 在缺氧和营养匮乏的微环境应激中可通过上调表达来提高胶质瘤细胞的存活能力^[18]。在氧化胁迫(30% H_2O_2 , 37 °C 培养 16 h)下,管圆线虫(*Angiostrongylus cantonensis*)的 LGALS10 的表达水平显著增加,且体外原核表达的管圆线虫 GAL10 蛋白可在小鼠小胶质细胞系中激活其小鼠小胶质细胞来响应氧化胁迫^[19]。通过 RNA 干扰技术来沉默中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*) LGALS1 的表达,发现在氧化应激下相关抗氧化基因出现显著差异表达,表明 LGALS1 参与了氧化应激响应,能够提高抗氧化损伤的抵抗力^[20]。鱼类作为生活在水环境中的低等脊椎动物,易遭受多种类型的环境因子胁迫,养殖过程中常见的有温度、盐碱度、溶解氧等^[21]。胁迫会打破个体与环境间的平衡状态,导致鱼体生理机能紊乱,免疫防御能力下降,严重时可导致死亡^[22]。因此,研究 Galectins 对于提高机体免疫能力和解析环境胁迫应答机制具有重要意义。自从在电鳗(*Electrophorus electricus*)的发电器官中发现了第一个硬骨鱼的半乳糖凝集素-电凝集素(Electrolectin)以来^[23], Galectins 在许多鱼类中被鉴定出来。到目前为止,分别在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)和红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)中完成了对 Galectin 基因家族的鉴定^[24-26],然而这些研究多集中于该家族在免疫应答功能方面的研究,对其在响应环境因子胁迫中的功能机制尚未见报道。

花鲈(*Lateolabrax maculatus*)又称中国花鲈,俗称海鲈、寨花、七星鲈等,隶属于鲈形目(Perciformes) 鲈科(Serranidae)花鲈属(*Lateolabrax*)。其广泛分布于中国、越南与韩国沿海地区,具有营养价值高、口感好的特点,是中国养殖产量高的海产经济鱼类之一^[27-28]。随着近年来养殖规模的不断扩大,花鲈养殖被愈来愈多的环境因素所制约,严重影响了其养殖产

量和经济效益。本研究对花鲈 Galectin 基因家族进行了全基因组水平的系统鉴定,并开展了拷贝数、系统发育、共线性及基因结构特征等分析。此外,利用转录组数据绘制了花鲈 Galectin 基因家族的组织表达图谱,并分析了其在低氧、盐度、碱度及高温胁迫下的基因表达特征。本研究结果为阐明在多种环境因子胁迫下花鲈 Galectins 的功能机制提供理论基础,并为花鲈抗逆性状的良种选育工作的开展提供了候选分子。

1 材料与方法

1.1 花鲈 Galectin 基因的全基因组鉴定和序列分析

从 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库中检索下载人(*Homo sapiens*)、斑马鱼和尼罗罗非鱼 Galectin 家族全部成员的氨基酸序列,通过 TBtools 软件的 TBLASTN(1×10^{-5})方法对花鲈全基因组数据库(PRJNA408177)和转录组数据库(SRR4409341和 SRR4409397)进行比对,初步获得花鲈候选 Galectin 基因的核苷酸序列。通过 ORF Finder(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)工具对花鲈候选 Galectin 的氨基酸序列进行预测,在 NCBI 非冗余蛋白数据库(NR)中通过 BLASTP 工具对获得的预测序列进行确认。此外,利用 ExPASy Prot-Param(<https://web.expasy.org/protparam/>)工具预测 Galectin 蛋白的分子量(Molecular Weight, MW)和理论等电点(isoelectric point, pI),通过 DTU Health Tech(<https://www.healthtech.dtu.dk/english>)中的 NetPhos-3.1 工具对 Galectin 蛋白的磷酸化位点进行预测。

1.2 花鲈 Galectin 基因系统发育和同源性分析

为构建系统发育树,在 NCBI 数据库中检索下载人、小鼠(*Mus musculus*)、鸡(*Gallus gallus*)、牛(*Bos taurus*)、斑马鱼、尼罗罗非鱼、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)、红鳍东方鲀和斑点叉尾鲷的 Galectin 氨基酸序列。通过 MEGA11.0 软件(<https://www.megasoftware.net/>)中 ClustalW 算法(默认参数)进行多重序列比对,运用 Neighbor-Joining(NJ)法和 Jones-Taylor-Thornton(JTT)模型构建系统发育树,每个分支上的 bootstrap 值重复 1 000 次^[29]。利用在线网站 ITOL(<http://itol.embl.de/>)对发育树进行可视化。

通过共线性分析来进一步确定基因的同源性。使用多重共线性扫描工具包(MCScanX)的默认参数^[30]分析花鲈与斑马鱼、尼罗罗非鱼物种间的共线性关系,利用 Circos^[31]对花鲈基因组内的共线性基因进行可视化,并将 Galectin 基因定位到花鲈染色体上。斑马鱼(GRCz11)和尼罗罗非鱼(UMD_NMBU)参考基因组数据从 NCBI 数据库中下载,物种间的共线性分析通过

Multiple Synteny Plot 工具进行 (<https://github.com/CJ-Chen/TBtools>)。

1.3 花鲈 *Galectin* 基因的基因结构与保守基序分析

通过 NCBI 的 CDD 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd/>) 预测花鲈 *Galectin* 蛋白的保守结构域。利用在线网站 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 对花鲈 *Galectin* 蛋白的保守基序 (Motif) 进行分析。将上述所获结果通过 TBtools 软件进行可视化^[32]。

1.4 花鲈 *Galectin* 基因的组织表达谱分析

为探究花鲈 *Galectin* 基因在不同组织中的表达模式,从 NCBI 中下载 1 龄花鲈 7 个组织的 RNA-seq 数据集 (肝-SRR7528886、鳃-SRR7528883、脾-SRR752888、胃-SRR7528884、脑-SRR7528887、精巢-SRR7528885、卵巢-SRR2937376)。下载原始测序数据 (Raw data) 后,通过 FastQC v0.11.9 软件进行质检 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>),利用 trimmomatic v0.39 对原始数据进行过滤,去除接头和低质量序列,获得高质量 clean reads^[33]。使用 Hisat2 v2.2.1 的默认参数^[34]将 clean reads 比对到花鲈参考基因组 (PRJNA407434) 中,利用 samtools 1.6 进行排序^[35],通过 StringTie v2.1.7 进行基因表达量标准化,结果以 FPKM (Fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped) 的形式表示^[36]。取 $\log_2(\text{FPKM}+1)$,通过 TBtools 软件绘制 *Galectin* 基因的表达量热图。

1.5 环境因子胁迫试验

为探究花鲈 *Galectin* 基因在不同环境因子胁迫下的表达特征,对已有的 4 个环境胁迫试验:低氧、盐度、碱度及高温胁迫处理后测得的转录组数据库进行基因表达模式分析。胁迫试验流程如下文所示。

1.5.1 低氧胁迫试验 试验前将 60 尾花鲈 (体质量为 (178.25 ± 18.56) g,体长为 (48.76 ± 4.26) cm) 进行 2 周暂养 (溶解氧为 (6.89 ± 0.25) mg/L)。试验开始前 30 min 向 3 个 400 L 平行圆桶连续快速注入氮气降低溶氧量,当溶氧量下降并稳定在预实验所获临界值 (1.10 ± 0.14) mg/L (溶氧仪 YSI DO200) 时,将花鲈迅速转移至 3 个圆桶内 (每桶随机均分 20 尾) 进行低氧胁迫试验。试验过程中,通过气石输入空气,使花鲈呼吸消耗的氧气与通入的空气维持平衡,保持溶解氧相对稳定。于胁迫前 (0 h) 及胁迫后 3、6 和 12 h 共 4 个时间点各随机选取 9 尾花鲈采集鳃组织样品 (每个平行圆桶随机采集 3 尾)。

1.5.2 盐度胁迫试验 试验前将 108 尾花鲈 (体质量为 (127.35 ± 15.31) g) 随机均分于 9 个 120 L 平行方桶进行一周盐度驯化 (盐度为 30)。暂养结束后将其中

3 个方桶盐度于 12 h 内逐渐调整至 0 (设为淡水 FW 组),3 个方桶盐度调至 12 (设为半咸水 BW 组),剩余 3 个方桶盐度保持 30 (设为海水 SW 组)。试验周期为 30 d,期间其余试验条件保持不变,每日喂食一次。养殖结束后每组各取 18 尾鱼的鳃组织样品 (每个平行方桶各随机采集 6 尾)。

1.5.3 碱度胁迫试验 试验前将 36 尾 1 龄花鲈 (体质量为 (140.32 ± 2.56) g) 进行 2 周暂养,然后立即将其转移到 3 个 400 L 装有碱度水体的平行圆桶 (碳酸盐浓度为 (18.0 ± 0.2) mmol/L, pH = 9.0 ± 0.2) 进行急性碱度胁迫试验。碱度水体由 NaHCO_3 (12.8 mmol/L) 和 Na_2CO_3 (2.6 mmol/L) 配制而成,在试验前对水体进行 24 h 曝气处理。于胁迫前 (0 h) 及胁迫后 12、24 和 72 h 共 4 个时间点各采集 9 尾鱼的鳃组织样品 (每个平行圆桶各随机采集 3 尾)。

1.5.4 高温胁迫试验 试验前将 60 尾花鲈 (体质量为 (38.96 ± 2.01) g,体长为 (13.33 ± 0.24) cm) 随机均分于 3 个 120 L 平行方桶中进行 2 周暂养。试验开始前 3 个平行方桶水温为 25 °C,随后以 1 °C/h 升温速率升至目标温度 32 °C 并保持至试验结束。分别于 0 h (升温前)、10 h (热应激后 3 h)、13 h (热应激后 6 h)、19 h (热应激后 12 h) 以及 31 h (热应激后 24 h) 共 5 个时间点各采集 9 尾鱼的肝组织样品 (每个方桶内各随机采集 3 尾)。

1.6 花鲈 *Galectin* 基因在环境因子胁迫下的表达模式分析

采用 TRIZOL 法 (Invitrogen, 美国) 对以上样品总 RNA 进行提取,并用 NanoDrop 2000 核酸定量仪 (Thermo Scientific, 美国) 和琼脂糖凝胶电泳对总 RNA 进行质量检测。质检合格后,低氧胁迫试验中来自同一圆桶的 3 尾鱼的 RNA 样本进行等质量混合,共构建 12 个测序文库 (4 个采样时间点 $\times$ 3 个重复),利用 Illumina HiSeq 4000 测序平台对各文库进行测序 (PRJNA408177);盐度胁迫试验中来自同一方桶的 3 尾鱼的 RNA 样本进行等质量混合,共构建 9 个测序文库 (3 个试验组 $\times$ 3 个重复),利用 Illumina Novaseq™ 6000 测序平台对各文库进行测序 (PRJNA515986);碱度胁迫试验中来自同一圆桶的 3 尾鱼的 RNA 样本进行等质量混合,共构建 12 个测序文库 (4 个采样时间点 $\times$ 3 个重复),利用 Illumina HiSeq X Ten 测序平台对各文库进行测序 (PRJNA611641);高温胁迫试验中来自同一方桶的 3 尾鱼的 RNA 样本进行等质量混合,共构建 15 个测序文库 (5 个采样时间点 $\times$ 3 个重复),利用 Illumina Novaseq™ 6000 测序平台对各文库进行测序 (未发表数据)。

下载原始测序数据后,参考 1.4 中 RNA-seq 数据分析流程,得到花鲈特定组织在 4 种不同环境因子胁

迫下 *Galectin* 基因的 FPKM 值。其中在 clean reads 比对到花鲈参考基因组后,使用 featurecount v2.0.1 统计基因 reads 数^[37],随后将原始计数数据(Raw counts data)导入 DESeq2 v1.30.1(<http://www.biocductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html>)进行差异表达统计分析,以 $P < 0.05$ 表示差异显著。取 $\log_2(\text{FPKM} + 1)$,通过 TBtools 软件展示 *Galectin* 基因的聚类表达热图。

2 结果与分析

2.1 花鲈 *Galectin* 基因鉴定及序列分析

本研究在花鲈基因组中共鉴定出 14 个 *Galectin* 基因,根据现有的分类方式进一步分为 3 类(见表 1): (1) 原型,包括 *LGALS1*、*LGALS2a*、*LGALS2b*、*LGALS17*、*GRPa*、*GRPb* 和 *GRPc*; (2) 串联重复型,包括 *LGALS4*、*LGALS8a*、*LGALS8b* 和 *LGALS9*; (3) 嵌合型,包括 *LGALS3a*、*LGALS3ba* 和 *LGALS3bb*。各 *Galectin* 基因序列的 ORF 长度范围为 396~1221 bp,编码蛋白质的氨基酸数目为 131~406,预测分子量为 15.90~44.86 kDa,等电点为 4.69~9.69,磷酸化位点个数为 8~41。以上基因信息及 Genbank 序列号在表 1 中列出。

表 1 花鲈 *Galectin* 基因家族成员的序列特征
Table1 Summary of sequence characteristics of *Galectin* gene family members in spotted sea bass

基因名 Gene name	亚家族 Subfamily	开放阅读框长度 ORF length	预测氨基酸数目 Predicted amino acid number	分子量 Molecular weight/kDa	等电点 Isoelectric point	磷酸化位点 Phosphorylation sites	GenBank 序列号 GenBank accession number
<i>LGALS1</i>	<i>LGALS1</i>	432	143	15.90	4.87	9	ON366510
<i>LGALS2a</i>	<i>LGALS2</i>	528	175	19.89	5.19	12	ON366511
<i>LGALS2b</i>	<i>LGALS2</i>	396	131	15.06	6.29	8	ON366512
<i>LGALS3a</i>	<i>LGALS3</i>	1 170	389	38.86	4.69	17	ON366513
<i>LGALS3ba</i>	<i>LGALS3</i>	732	243	25.84	9.12	14	ON366514
<i>LGALS3bb</i>	<i>LGALS3</i>	1 014	337	36.21	8.18	33	ON366515
<i>LGALS4</i>	<i>LGALS4</i>	1 047	348	37.94	5.72	20	ON366516
<i>LGALS8a</i>	<i>LGALS8</i>	960	319	34.92	8.26	27	ON366517
<i>LGALS8b</i>	<i>LGALS8</i>	1 056	351	39.55	8.43	30	ON366518
<i>LGALS9</i>	<i>LGALS9</i>	1 221	406	44.86	9.19	41	ON366519
<i>LGALS17</i>	<i>LGALS17</i>	840	279	31.26	6.60	36	ON366520
<i>GRPa</i>	<i>GRP</i>	546	181	20.55	5.95	17	ON366521
<i>GRPb</i>	<i>GRP</i>	438	145	16.17	7.77	8	ON366522
<i>GRPc</i>	<i>GRP</i>	528	175	19.71	9.69	9	ON366523

2.2 花鲈 *Galectin* 基因系统发育分析

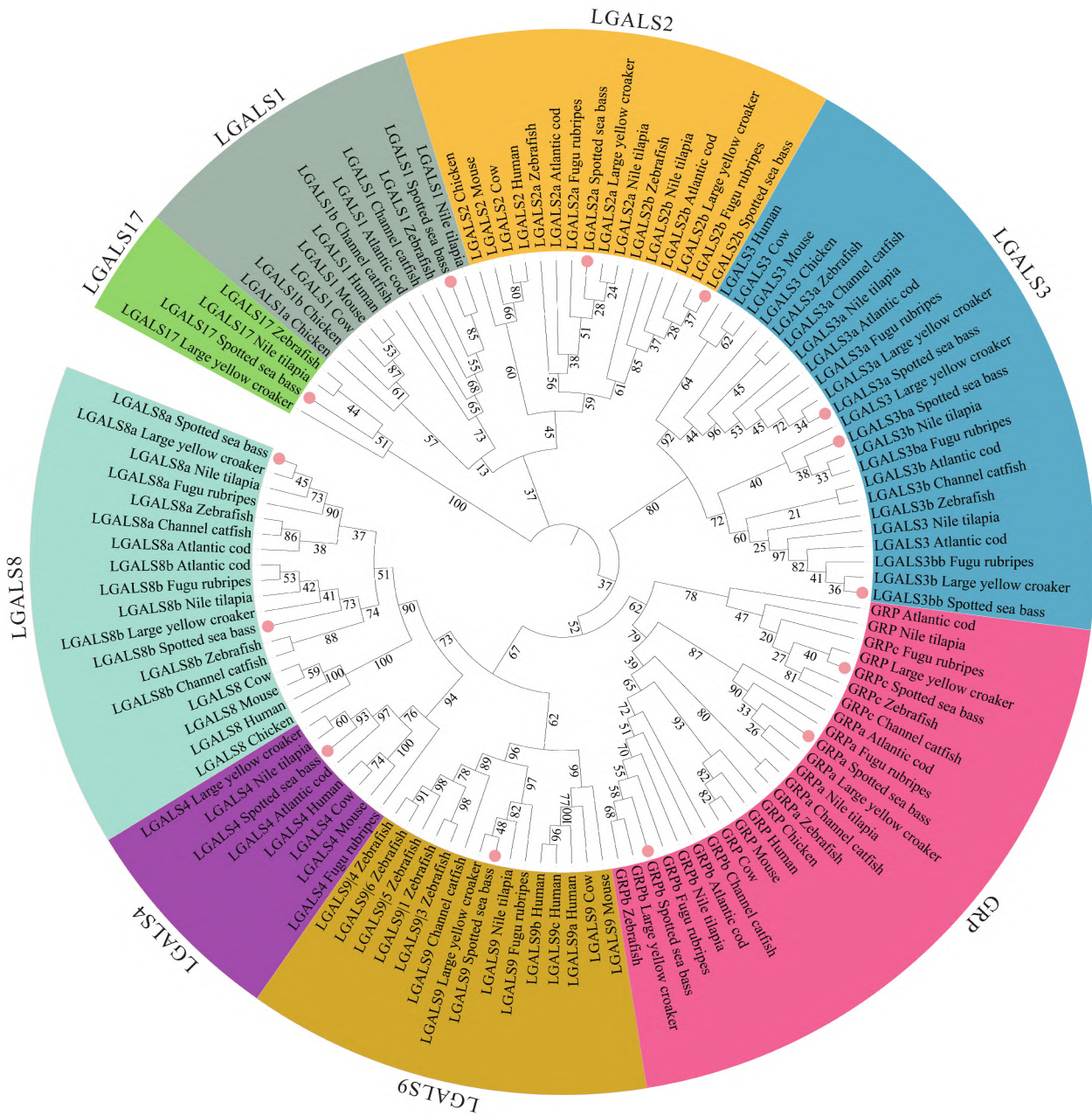
为进一步验证花鲈 *Galectin* 基因注释的准确性,选取人、鼠、鸡、牛、斑马鱼、尼罗罗非鱼、大黄鱼、大西洋鳕鱼、红旗东方鲀、斑点叉尾鮰以及花鲈 *Galectin* 氨基酸序列构建系统发育树。如图 1 所示,根据系统发育关系, *Galectin* 基因可聚为 8 个分支,分别为 *LGALS1*、*LGALS2*、*LGALS3*、*LGALS4*、*LGALS8*、*LGALS9*、*LGALS17* 和 *GRP*。其中硬骨鱼同种 *Galectin* 基因聚为一枝,后与其他高等脊椎动物的相应基因共聚为一枝。花鲈 *Galectin* 基因与在分类地位上亲缘关系较近的硬骨鱼聚为一枝,聚类效果良好(见图 1)。

2.3 花鲈 *Galectin* 基因拷贝数分析

对 *Galectin* 基因在人、小鼠、鸡、牛、斑马鱼、尼罗罗非鱼、大黄鱼、大西洋鳕鱼、红鳍东方鲀、斑点叉尾鮰和花鲈共 11 种脊椎动物中的拷贝数进行了比较(见表 2)。结果显示,不同物种的 *Galectin* 基因数量从 8 到 16 不等。具体而言,人和斑马鱼有 16 个 *Galectin* 基因,为检测物种中数量最多,鸡的数量最少,只有 8 个。*LGALS7* 和 *LGALS12* 为哺乳动物所特有。在硬骨鱼中,均含有 2 个 *LGALS8* 基因和 3 个 *GRP* 基因,而高等脊椎动物中均各只含一个。此外, *LGALS2*、*LGALS3* 在硬骨鱼的基因组也普遍存在多拷贝现象,

而高等脊椎动物仅含有一个基因拷贝。值得一提的是,尼罗罗非鱼的 *Galectin* 基因数量与本研究中华花鲈

鉴定得到的相同,这也印证了两个物种在分类地位上的相近。



(分支节点上的数字表示 bootstrapping 值,红色圆圈表示花鲈 *Galectin* 基因,不同颜色圆环表示 *Galectin* 基因不同的亚家族。Numbers on node denote the bootstrapping values, red circles denote *Galectin* genes of spotted sea bass, and different colored rings denote different subfamilies of *Galectin* genes.)

图 1 *Galectin* 基因系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree of *Galectin* genes

2.4 花鲈 *Galectin* 基因染色体分布及共线性分析
通过 Circos 对花鲈 *Galectin* 基因在染色体上的分布进行展示。如图 2 所示,花鲈的 *Galectin* 基因分别分布于 chr1、chr3、chr10、chr11、chr17、chr22、chr24 和未能挂载在染色体的 scaffold_158 上。其中,chr22 上含有 3 个 *Galectin* 基因: LGALS3ba、LGALS8b 和

GRPb,是所有染色体中最多的。chr1、chr3、chr10 和 chr17 均包含 2 个 *Galectin* 基因,chr11、chr24 和 scaffold_158 仅含 1 个 *Galectin* 基因。
如图 3 所示,在尼罗罗非鱼与花鲈的共线性分析中,共得到 22 个尼罗罗非鱼和花鲈的 *Galectin* 基因有直系同源关系的共线性区块,分别位于尼罗罗非鱼的

表 2 几种代表性脊椎动物中 *Galectin* 基因的拷贝数

Table 2 Copy numbers of *Galectin* genes among several representative vertebrate species

基因 Gene	人 Human	小鼠 Mouse	牛 Cow	鸡 Chicken	斑马鱼 Zebrafish	斑点 叉尾鲷 Catfish	红鳍 东方鲀 Fugu	尼罗 罗非鱼 Nile tilapia	大黄鱼 Large yellow croaker	大西洋 鳕鱼 Atlantic cod	花鲈 Spotted sea bass
<i>LGALS1</i>	1	1	1	2	1	2	0	1	0	1	1
<i>LGALS2</i>	1	1	1	1	2	0	2	2	2	2	2
<i>LGALS3</i>	1	1	1	1	2	2	3	3	3	3	3
<i>LGALS4</i>	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
<i>LGALS6</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>LGALS7</i>	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>LGALS8</i>	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
<i>LGALS9</i>	3	1	1	0	5	2	1	1	1	0	1
<i>LGALS12</i>	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>LGALS13</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>LGALS14</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>LGALS16</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>LGALS17</i>	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1
<i>GRPa</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>GRPb</i>	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
<i>GRPc</i>	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
合计 Total	16	11	10	8	16	11	12	14	13	12	14

chr4、chr6、chr13、chr14、chr15 和 chr19 以及花鲈的 chr1、chr3、chr10、chr11、chr17 和 chr22 染色体上。而在斑马鱼与花鲈的共线性分析中,共得到 11 个斑马鱼和花鲈的 *Galectin* 基因有直系同源关系的共线性区块,分别位于斑马鱼的 chr1、chr3、chr6、chr13、chr15 和 chr17 以及花鲈的 chr1、chr3 和 chr22 染色体上。

2.5 花鲈 *Galectin* 基因结构分析

图 4 对花鲈 *Galectin* 基因的预测保守结构域(Domain)和保守基序(Motif)进行可视化。利用 CDD 数据库预测得到 6 种类型的保守结构域,包括 GLECT、Gal-bind_lectin、PRK07764 超家族、Ig 超家族、IG_like 和 Cytadhesin_P30 超家族结构域。其中 GLECT 结构域在 *LGALS1*、*LGALS2b* 和 *LGALS9* 中预测获得;*LGALS2a*、*LGALS3a*、*LGALS3ba*、*LGALS3bb*、*LGALS4*、*LGALS8a*、*LGALS8b*、*LGALS9*、*GRPa*、*GRPb* 和 *GRPc* 含有 Gal-bind_lectin 结构域;仅 *LGALS17* 预测出 Ig 超家族和 IG_like 结构域;PRK07764 超家族和 Cytadhesin_P30 超家族结构域分别在 *LGALS3bb* 和 *LGALS9* 中预测获得。通过 MEME 数据库预测共获得 7 个 Motif,其中 *LGALS1*、*LGALS2a* 和 *LGALS2b* 均含有

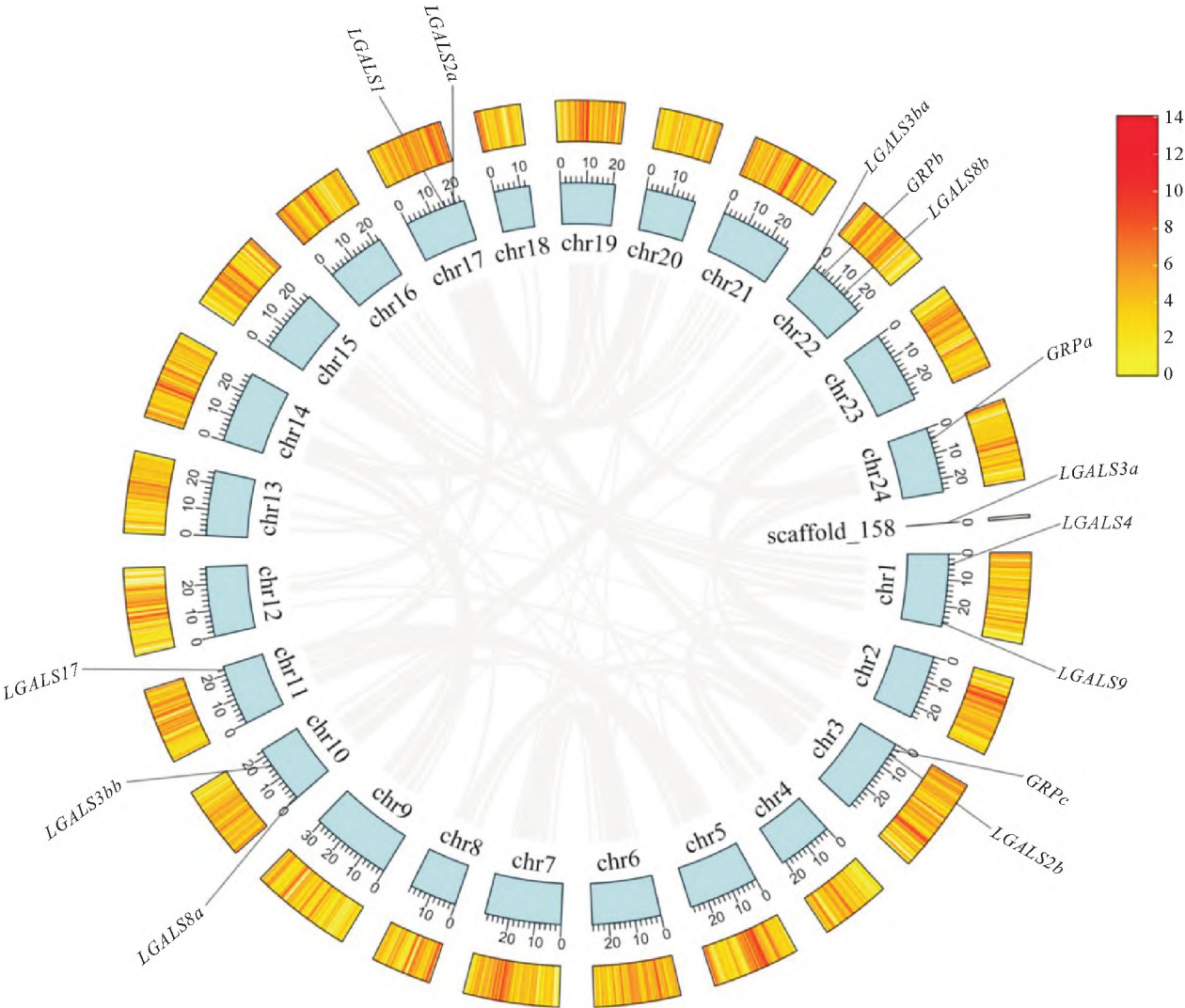
Motif 2、3、4、5; *LGALS3a*、*LGALS3ba*、*LGALS3bb*、*GRPa*、*GRPb* 和 *GRPc* 均含有 Motif1、2、3、4;而 *LGALS4*、*LGALS8a*、*LGALS8b* 和 *LGALS9* 都含有这 7 个 Motif(见图 4)。

2.6 花鲈 *Galectin* 基因组织表达分析

本研究对花鲈(1 龄)7 个成体组织(肝、鳃、脾、胃、脑、精巢和卵巢)中 *Galectin* 基因的表达量进行了聚类分析(见图 5)。如图 5 所示,*LGALS8a*、*LGALS9* 和 *LGALS17* 在 7 个组织中广泛表达,且在鳃、脾、胃、肝脏和精巢中均呈现高表达,且 *LGALS9* 和 *LGALS17* 在脾中表达最高,鳃中次之。除此之外,*LGALS3ba* 在鳃中表达量最高,胃和脾中次之,*LGALS4* 仅在胃中高表达,*GRPa* 仅在脾和脑中表达较高,而其余 *Galectin* 基因在上述 7 个组织中表达量较低。

2.7 花鲈 *Galectin* 基因在多种环境因子胁迫下的表达分析

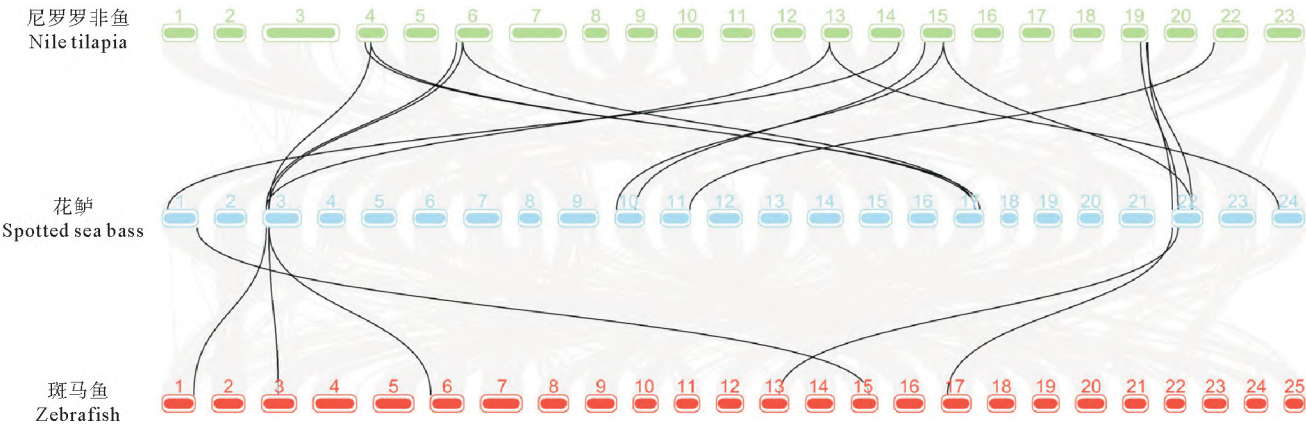
为研究花鲈 *Galectin* 基因在多种环境胁迫下的表达模式,对多个胁迫试验的特定组织的转录组数据进行分析,结果表明,在低氧胁迫下的花鲈鳃组织中 *LGALS3a*、*LGALS17*、*GRPb* 和 *GRPc* 显著差异表达。



(灰线表示花鲈基因组的共线性区块,蓝色方块表示花鲈染色体,外环表示基因密度。图示的标尺中“0~14”表示基因组中基因数量与基因组长度的比值。The gray line denotes the genome collinearity block of spotted sea bass, the blue square denotes the chromosome of spotted sea bass, and the outer ring denotes the gene density. The ratio of gene number to genome length is presented by “0~14” of scale legend.)

图2 花鲈 *Galectin* 基因的染色体分布和共线性关系

Fig. 2 Chromosomal distribution and homologous relationships of *Galectin* genes in spotted sea bass



(灰线表示物种间的共线性区块,黑线表示花鲈 *Galectin* 基因的共线性区块,不同颜色方块表示不同物种的染色体。The gray lines denote the collinearity block between species, the black lines denote the collinearity block of spotted sea bass *Galectin* genes, and different colored ring squares denote the chromosomes of different species.)

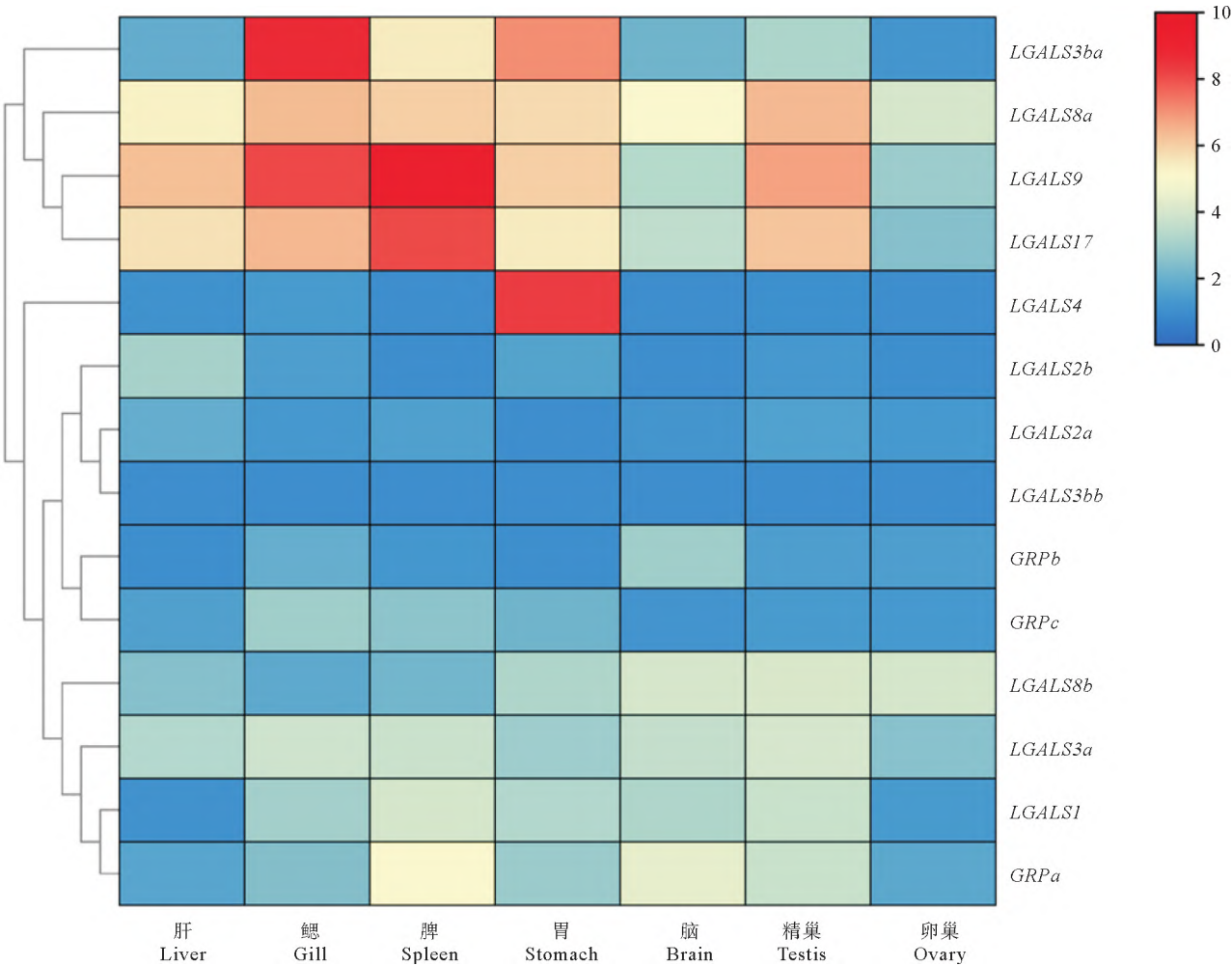
图3 尼罗罗非鱼、斑马鱼和花鲈 *Galectin* 基因的共线性分析

Fig. 3 Synteny analysis of *Galectin* genes among Nile tilapia, zebrafish and spotted sea bass



图 4 花鲈 *Galectin* 基因结构可视化分析

Fig. 4 Visualization analysis of *Galectin* genes structure of spotted sea bass



(图示的标尺中“0~10”表示 $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 值。The value of $\log_2(\text{FPKM}+1)$ is presented by “0~10” of scale legend.)

图 5 花鲈 *Galectin* 基因的组织表达模式

Fig. 5 Expression patterns of *Galectin* genes in different tissues of spotted sea bass

其中, *LGALS17* 的表达量呈短暂降低的趋势, 且在 3 h 时显著降低(为 0 h 的 62%), 并在 12 h 恢复到了 0 h 的水平; *LGALS3a*、*GRPb* 和 *GRPa* 的表达量呈短暂升高的趋势, *LGALS3a* 在 6 h 时表达量显著升高(为 0 h 的 1.11 倍), 并在 12 h 恢复到了 0 h 的水平; *GRPb* 在 12 h 时表达量显著升高(为 0 h 的 1.71 倍); *GRPa* 在 3 和 6 h 时表达量显著升高(分别为 0 h 的 1.34 和 1.50 倍)。而 *LGALS1*、*LGALS2a*、*LGALS2b*、*LGALS3bb*、*LGALS4*、*LGALS8b* 和 *GRPc* 在整个过程中一直保持较低的表达水平(FPKM 值在各时间点均小于 10 且无显著差异); *LGALS3ba*、*LGALS8a* 和 *LGALS9* 虽然表达水平较高(FPKM 值在各时间点均大于 70), 但在各时间点间不存在显著差异(见图 6A)。

在不同盐度环境下的花鲈鳃组织中, 相较于海水组(SW), 半咸水组(BW)中的 *LGALS4* 表达量显著升高(为 SW 组的 1.61 倍), 淡水组(FW)的 *LGALS4* 表达量显著降低(为 SW 组的 60%), 而 *LGALS3a*、*LGALS3ba*、*GRPb* 和 *GRPa* 的表达量显著升高(分别为 SW 组的 1.22、1.17、1.31 和 1.35 倍)。 *LGALS2a* 和 *LGALS3bb* 几乎检测不到表达(FPKM < 1), 而 *LGALS1*、*LGALS2b*、*LGALS8a*、*LGALS8b*、*LGALS9*、*LGALS17* 和 *GRPc* 表达水平在各盐度组并未出现明显差异(见图 6B)。

在碱度胁迫下的花鲈鳃组织中, *LGALS17* 和 *GRPa* 的表达量在整个胁迫过程中显著升高, 并在 72 h 仍处于持续升高的状态。其中 *GRPa* 的上调程度最显著, 72 h 表达量为 0 h 的 4.42 倍。 *LGALS2b* 在 12 h 时的表达量呈短暂升高的趋势(为 0 h 的 2.47 倍), 并在 24 h 恢复到初始水平。 *LGALS3ba* 和 *LGALS4* 的表达量则在整个胁迫过程中均处于显著降低的状态。其中 *LGALS4* 的降低程度最显著, 72 h 表达量为 0 h 的 34%。除此之外, *GRPb* 和 *LGALS8a* 在 72 h 时才表现出表达量的显著改变(分别升高为 0 h 的 1.37 倍和降低为 0 h 的 88%, 见图 6C)。

在高温胁迫下的花鲈肝脏组织中, *LGALS8b*、*LGALS17* 以及 *GRPb* 的表达量在整个胁迫过程中显著降低, 且在 24 h 时仍处于显著降低的状态。而 *LGALS8b* 降低程度最显著, 在 12 h 时降低为 0 h 的 5%。 *LGALS2a*、*LGALS3a*、*LGALS3ba*、*LGALS4* 和 *GRPa* 的表达量在胁迫过程中呈短暂升高的趋势。其中, *LGALS3a* 分别在 3 和 12 h 发生显著升高(分别为 0 h 的 1.38 和 3.31 倍); *LGALS3ba* 和 *LGALS4* 在 6 h 时达到最高点(分别为 0 h 的 20.5 和 8.5 倍), 且在 24 h 恢复到了 0 h 的水平; *LGALS2a* 分别在 12 和 24 h 发生显著升高(分别为 0 h 的 1.65 和 3.71 倍); *GRPa* 则在 24 h 发生显著升高(为 0 h 的 1.41 倍)。

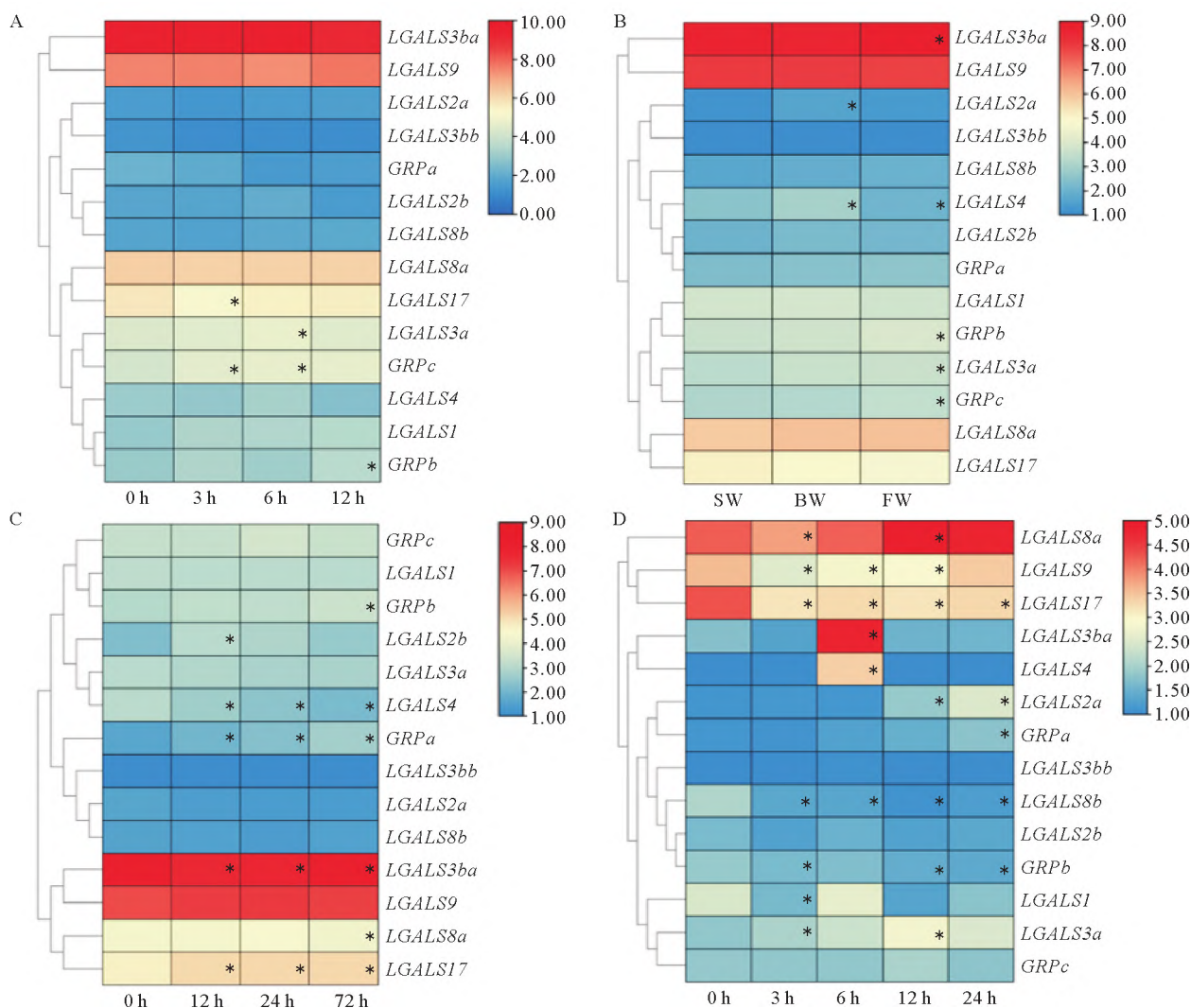
LGALS1 和 *LGALS9* 则恰好相反, 在胁迫过程中出现了短暂的降低趋势, 均在 3 h 达到最低点(分别为 0 h 的 29% 和 39%), 并在 24 h 恢复到 0 h 的水平。此外, *LGALS8a* 的表达量呈先降低后升高趋势, 其中 3 h 的表达量显著降低(为 0 h 的 69%), 而 12 h 的表达量显著升高(为 0 h 的 1.69 倍)。 *LGALS2b*、*LGALS3bb* 和 *GRPc* 在整个高温胁迫过程中几乎检测不到表达(FPKM < 1)(见图 6D)。

3 讨论

Galectins 是一个较为保守的 β -半乳糖苷结合蛋白的凝集素家族, 从真菌到脊椎动物中均有发现^[38]。然而, 大多数的基因都是通过数据库比对分析来进行注释的, 这使得许多基因的命名变得混乱, 尤其是在 *Galectin* 家族的鉴定中^[24]。例如, 在斑马鱼中三个 *LGALS3* 基因都带有类似 Galectin-3-like 的注释, 这使得进一步的基因功能分析变得十分困难^[13]。本研究在花鲈中对 *Galectin* 基因家族进行完整的系统鉴定, 为阐明 Galectins 在响应环境胁迫过程中的功能机制提供理论基础。

本研究共鉴定了 14 个 *Galectin* 基因, 系统发育分析结果验证了基因注释的准确性(见图 1)。此外, 拷贝数分析结果表明, 花鲈 *Galectin* 基因数量与分类地位较近的尼罗罗非鱼相同, 且与其他硬骨鱼类相近(见表 2)。同时在硬骨鱼中, *LGALS2*、*LGALS8* 和 *GRP* 数量一致。除此之外, *Galectin* 的多拷贝基因并不是串联重复排列, 而是分布在不同的染色体上(见图 2), 这表明花鲈中 *Galectin* 基因的多拷贝现象可能是由于硬骨鱼中额外的全基因组复制(Whole genome duplications, WGD)事件产生的^[39]。共线性分析中, 花鲈 *Galectin* 基因与尼罗罗非鱼、斑马鱼具有良好的直系同源关系(见图 4): 22 个尼罗罗非鱼和花鲈 *Galectin* 基因共线性区块、11 个斑马鱼和花鲈 *Galectin* 基因共线性区块, 这进一步说明了其基因注释的正确和结构上的保守。

Galectins 广泛存在于大多数生物体中^[40], 能识别病毒、细菌和原生动物寄生虫表面的碳水化合物^[41-42]。本研究中, 组织表达模式分析显示 14 个 *Galectin* 基因在花鲈 7 个组织(肝、鳃、脾、胃、脑、精巢和卵巢)中广泛表达。 *Galectin* 基因这种广泛的组织表达分布在其他鱼类中也有发现。比如, 大菱鲆中 13 个 *Galectin* 基因在脑、皮肤、肠、鳃、肝、脾、血以及头肾中均有表达^[24]。在斑点叉尾鲷中, 12 个 *Galectin* 基因广泛表达于脑、体肾、肌肉、肠、头肾、脾、肝、鳃和皮肤中^[25]。红鳍东方鲀中 12 个 *Galectin* 基因在脑、肾、心脏、皮肤、鳃、肌肉、脾、肠和肝中均有表达^[26]。同时, *LGALS3ba*、



(A:低氧胁迫下鳃中的表达模式;B:不同盐度胁迫下鳃中的表达模式;C:碱度胁迫下鳃中的表达模式;D:高温胁迫下肝中的表达模式。图示的标尺表示 $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 值; * 表示显著差异 ($P < 0.05$)。A: Expression patterns of gill under hypoxia stress; B: Expression patterns of gill under different salinity stresses; C: Expression patterns of gill under alkalinity stress; D: Expression patterns of liver under heat stress. The value of $\log_2(\text{FPKM}+1)$ is presented by the scale legend; * denotes the significant differences ($P < 0.05$).)

图6 花鲈 Galectin 基因在多种环境胁迫下的表达模式

Fig. 6 Expression patterns of Galectin genes in spotted sea bass under various environmental stresses

LGALS8a、LGALS9 和 LGALS17 在花鲈脾脏中高表达,而脾脏为鱼类的主要免疫器官,表明这些基因可能在花鲈免疫应答时发挥着重要作用。而 LGALS3、LGALS8 和 LGALS9 的免疫功能在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)、尼罗罗非鱼和鳊 (*Siniperca chuatsi*) 等硬骨鱼中也得到了验证^[15,43-44]。

鱼类对环境胁迫的响应大致分为三个阶段^[45-46]: 初级阶段(如神经内分泌反应和皮质类固醇-儿茶酚胺释放),次级阶段(如代谢、细胞、血液和免疫反应)和三级阶段(整个生物体的生理和行为应激反应)。Galectin 家族是在先天免疫系统中发挥重要作用的一个家族,本文针对其在花鲈响应环境因子胁迫的表达情况进行了分析。LGALS17 的表达水平在短期胁迫(高温、低氧和碱度)中均发生显著变化,且均出现在胁迫

12 h 之内甚至 3 h 以前,而长期盐度试验中未发现其表达量变化。在基因结构分析中,对 LGALS17 预测得到 Ig superfamily 和 IG-like 保守结构域。IG 作为具有抗体活性的免疫球蛋白,在免疫系统对防御致病菌和病毒具有着重要作用^[47],推测 LGALS17 是在短期胁迫中进行快速的免疫应答来完成胁迫响应。LGALS4 的表达模式在短期胁迫(高温和碱度)和长期盐度胁迫中存在显著差异。LGALS4 作为串联重复型凝集素,其两个结构域(CRD)可同时与不同的配体结合,在许多生物学过程中成为关键的交联剂和调节因子,具有增强脂筏稳定性、参与糖蛋白转运、促进肠道创伤愈合和促进神经元轴突发育及髓鞘形成等生理功能,对维持生理平衡起着重要作用^[48]。推测 LGALS4 在短期和长期胁迫中能通过维持生理平衡来进行胁迫响应。

有研究表明 *LGALS3* 和 *GRPb* 在细菌感染过程中可作为细胞表面的附着点或促进粘附的交联因子^[49-52]。在尼罗罗非鱼中, *LGALS3* 和 *GRPb* 可通过调节单核巨噬细胞的活性来完成免疫应答^[52-53]。本研究中国 *LGALS3a*、*LGALS3ba* 和 *GRPb* 在短期和长期胁迫中均差异表达, 其可能通过免疫应答来实现胁迫响应。综合分析发现, *LGALS3a*、*LGALS3ba*、*LGALS4*、*LGALS17* 和 *GRPb* 可能在环境因子胁迫的应答时发挥着潜在作用。在关于 *Galectin* 基因的研究中, 也发现其在响应胁迫中扮演着重要角色。比如, 小鼠 *LGALS3* 可通过协调内质网和线粒体来保证线粒体网络形态的完整性, 以启动细胞应激反应来提高上皮细胞对环境变化的适应与防御能力^[54]。在鹿角杯形珊瑚 (*Pocillopora damicornis*) 中, *LGALS1* 通过调节病原体与共生藻的识别来响应高温胁迫下的珊瑚白化^[55]。虽然 *Galectin* 基因在环境因子胁迫下的表达调控机制尚未完全阐明, 但其可能以不同的调控模式在抗逆胁迫中发挥着潜在作用。

4 结语

本研究在花鲈中共鉴定出 14 个 *Galectin* 基因, 通过系统发育、拷贝数、共线性和基因结构分析验证了基因注释的准确性和结构上的保守性。*Galectin* 基因在花鲈多个组织中广泛表达, 且有 6 个基因 (*LGALS3ba*、*LGALS4*、*LGALS8a*、*LGALS9*、*LGALS17* 和 *GRPb*) 表现出了组织特异性。在不同环境因子胁迫中, 花鲈 *Galectin* 基因在不同组织中的表达量发生变化, 这表明其参与了胁迫响应并发挥了潜在作用。其中, *LGALS3a*、*LGALS3ba*、*LGALS4*、*LGALS17* 和 *GRPb* 变化更显著、更迅速, 其可能在响应环境胁迫中起着更重要的作用。本研究提供了花鲈 *Galectin* 基因的结构与表达信息, 为进一步研究硬骨鱼中 *Galectin* 基因的功能提供了重要的基础数据。

参考文献:

- [1] Ballarin L, Cammarata M, Franchi N, et al. Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications[M]. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2013.
- [2] Ogawa T, Watanabe M, Naganuma T, et al. Diversified carbohydrate-binding lectins from marine resources[J]. Journal of amino acids, 2011, 2011: 838914.
- [3] Vasta G R, Nita-Lazar M, Giomarelli B, et al. Structural and functional diversity of the lectin repertoire in teleost fish: Relevance to innate and adaptive immunity[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2011, 35(12): 1388-1399.
- [4] Liu F T, Rabinovich G A. Galectins: Regulators of acute and chronic inflammation[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1183(1): 158-182.
- [5] Cooper D N W. Galectinomics: Finding themes in complexity[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1572(2-3): 209-231.
- [6] Zhou D, Sun J, Zhao W, et al. Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray characterization of the GRP carbohydrate-recognition domain from *Homo sapiens*[J]. Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2006, 62(5): 474-476.
- [7] Jeschke U, Hutter S, Heublein S, et al. Expression and function of galectins in the endometrium and at the human feto-maternal interface[J]. Placenta, 2013, 34(10): 863-872.
- [8] Vladioiu M C, Labrie M, St-Pierre Y. Intracellular galectins in cancer cells: Potential new targets for therapy[J]. International Journal of Oncology, 2014, 44(4): 1001-1014.
- [9] Song L, Tang J, Owusu L, et al. Galectin-3 in cancer[J]. Clinica Chimica Acta, 2014, 431: 185-191.
- [10] Tribulatti M V, Carabelli J, Prato C A, et al. Galectin-8 in the onset of the immune response and inflammation[J]. Glycobiology, 2020, 30(3): 134-142.
- [11] Leffler H, Carlsson S, Hedlund M, et al. Introduction to galectins[J]. Glycoconjugate Journal, 2002, 19(7): 433-440.
- [12] Rabinovich G A, Baum L G, Tinari N, et al. Galectins and their ligands: Amplifiers, silencers or tuners of the inflammatory response? [J]. Trends in Immunology, 2002, 23(6): 313-320.
- [13] Vasta G R, Ahmed H, Du S J, et al. Galectins in teleost fish; Zebrafish (*Danio rerio*) as a model species to address their biological roles in development and innate immunity[J]. Glycoconjugate Journal, 2004, 21(8): 503-521.
- [14] Nita-Lazar M, Ravindran C, Giomarelli B, et al. Zebrafish galectins bind to the infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) glycoprotein and modulate adhesion to the host cell surface[J]. Glycobiology, 2013, 23(11): 1343-1343.
- [15] Unajak S, Pholmanee N, Songtawee N, et al. Molecular characterization of Galectin-8 from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.) and its response to bacterial infection[J]. Molecular Immunology, 2015, 68(2): 585-596.
- [16] Thulasitha W S, Umasuthan N, Wan Q, et al. A proto-type galectin-2 from rock bream (*Oplegnathus fasciatus*): Molecular, genomic, and expression analysis, and recognition of microbial pathogens by recombinant protein[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2017, 71: 70-81.
- [17] Timoshenko A V. Towards molecular mechanisms regulating the expression of galectins in cancer cells under microenvironmental stress conditions[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2015, 72(22): 4327-4340.
- [18] Ikemori R Y, Machado C M L, Furuzawa K M, et al. Galectin-3 up-regulation in hypoxic and nutrient deprived microenvironments promotes cell survival[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e111592.
- [19] Liu L, He H J, Lv Z, et al. The mRNA level of the galectin-10 of *Angiostrongylus cantonensis* induced by reactive oxygen stress[J]. Parasitology Research, 2013, 112(3): 933-943.
- [20] Wang L, Wang C, Li H, et al. Isolation of *AccGalectin1* from *Apis cerana cerana* and its functions in development and adverse stress response[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(1): 671-684.
- [21] 洪磊, 张秀梅. 环境胁迫对鱼类生理机能的影响[J]. 海洋科学进

- 展, 2004(1): 114-121.
- Hong L, Zhang X M. Effects of environmental stress on physiological function of fish[J]. *Advances in Marine Science*, 2004(1): 114-121.
- [22] Reid C H, Patrick P H, Rytwinski T, et al. An updated review of cold shock and cold stress in fish[J]. *Journal of Fish Biology*, 2022, 100(5): 1102-1137.
- [23] Teichberg V I, Silman I, Beitsch D D, et al. A beta-D-galactoside binding protein from electric organ tissue of *Electrophorus electricus*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1975, 72(4): 1383-1387.
- [24] Tian M, Xu D, Fu Q, et al. Galectins in turbot (*Scophthalmus maximus* L.): Characterization and expression profiling in mucosal tissues[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 109: 71-81.
- [25] Zhou S, Zhao H, Thongda W, et al. Galectins in channel catfish, *Ictalurus punctatus*: Characterization and expression profiling in mucosal tissues[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 49: 324-335.
- [26] Chen M, Liu X, Zhou J, et al. Molecular characterization and expression analysis of galectins in Japanese pufferfish (*Takifugu rubripes*) in response to *Vibrio harveyi* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 347-354.
- [27] 温海深, 李昀, 张美昭, 等. 花鲈——家喻户晓的中国海鲈[J]. *中国水产*, 2020(8): 110-111.
- Wen H S, Li Y, Zhang M Z, et al. Spotted sea bass—the well-known Chinese sea bass[J]. *China Fisheries*, 2020(8): 110-111.
- [28] 温海深, 于朋, 李昀, 等. 花鲈南北方养殖群体的形态学比较研究[J]. *中国水产*, 2020(4): 81-84.
- Wen H S, Yu P, Li Y, et al. A comparative morphological study of the southern and northern breeding populations of the spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) [J]. *China Fisheries*, 2020(4): 81-84.
- [29] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [30] Wang Y, Tang H, DeBarry J D, et al. MCSanX: A toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 40(7): 49.
- [31] Krzywinski M, Schein J, Birol I, et al. Circos: An information aesthetic for comparative genomics[J]. *Genome Research*, 2009, 19(9): 1639-1645.
- [32] Chen C, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [33] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [34] Kim D, Langmead B, Salzberg S L. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(4): 357-360.
- [35] Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(16): 2078-2079.
- [36] Pertea M, Pertea G M, Antonescu C M, et al. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads[J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(3): 290-295.
- [37] Liao Y, Smyth G K, Shi W. Feature counts: An efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(7): 923-930.
- [38] Vasta G R, Feng C, González-Montalbán N, et al. Functions of galectins as ‘self/non-self’-recognition and effector factors[J]. *Pathogens and Disease*, 2017, 75(5): 46.
- [39] Glasauer S M K, Neuhauss S C F. Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2014, 289(6): 1045-1060.
- [40] Barondes S H, Cooper D N W, Gitt M A, et al. Structure and function of a large family of animal lectins[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(33): 20807-20810.
- [41] Aciksari G, Uygun T, Yilmaz Y, et al. Association between galectin-3 levels and isolated coronary artery ectasia[J]. *Cardiovascular Journal of Africa*, 2020, 31(3): 147-152.
- [42] Stowell S R, Arthur C M, Dias-Baruffi M, et al. Innate immune lectins kill bacteria expressing blood group antigen[J]. *Nature Medicine*, 2010, 16(3): 295-301.
- [43] Zhu D, Huang R, Chu P, et al. Characterization and expression of galectin-3 in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 104: 103567.
- [44] Liang Z G, Li L, Chen S N, et al. Expression and antibacterial analysis of galectin-8 and -9 genes in mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 107: 463-468.
- [45] Donaldson M R, Cooke S J, Patterson D A, et al. Cold shock and fish[J]. *Journal of Fish Biology*, 2008, 73(7): 1491-1530.
- [46] Barton B A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42(3): 517-525.
- [47] Pillai S, Netravali I A, Cariappa A, et al. Siglecs and immune regulation[J]. *Annual Review of Immunology*, 2012, 30: 357-392.
- [48] Cao Z Q, Guo X L. The role of galectin-4 in physiology and diseases[J]. *Protein & Cell*, 2016, 7(5): 314-324.
- [49] Quattroni P, Li Y, Lucchesi D, et al. Galectin-3 binds *Neisseria meningitidis* and increases interaction with phagocytic cells[J]. *Cellular Microbiology*, 2012, 14(11): 1657-1675.
- [50] Fowler M, Thomas R J, Atherton J, et al. Galectin-3 binds to *Helicobacter pylori* O-antigen: It is upregulated and rapidly secreted by gastric epithelial cells in response to H. pylori adhesion[J]. *Cellular Microbiology*, 2006, 8(1): 44-54.
- [51] Altman E, Harrison B A, Latta R K, et al. Galectin-3-mediated adherence of *Proteus mirabilis* to Madin-Darby canine kidney cells[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 2001, 79(6): 783-788.
- [52] Niu J, Luo G, Liu X, et al. Characterization and functional analysis of a galectin-related protein B from Nile tilapia involved in the immune response to bacterial infection[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2021, 44(2): 171-180.
- [53] Niu J, Huang Y, Liu X, et al. Functional characterization of galectin-3 from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its regulatory role on monocytes/macrophages[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 95: 268-276.
- [54] Coppin L, Jannin A, Ait Yahya E, et al. Galectin-3 modulates epithelial cell adaptation to stress at the ER-mitochondria inter-

- face[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11(5): 1-18.
- [55] Wu Y, Zhou Z, Wang J, et al. Temperature regulates the recognition activities of a galectin to pathogen and symbiont in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2019, 96: 103-110.

Identification of the *Galectin* Genes in Spotted Sea Bass (*Lateolabrax maculatus*) and Their Expressions Under Different Environmental Stressing

Zheng Yuan¹, Wen Haishen¹, Li Jifang¹, Fang Xiu², Wang Lingyu¹,
Zhang Chong¹, Tao Zexin¹, Zhang Yonghang¹, Li Yun¹

(1. Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266003, China;
2. Fujian Provincial Key Laboratory of Breeding of *Lateolabrax japonicus*, Fuding 355200, China)

Abstract: To investigate the roles of *Galectin* genes of spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in responding different environmental stressing, 14 *Galectin* genes (*LGALS1*, *LGALS2a*, *LGALS2b*, *LGALS3a*, *LGALS3ba*, *LGALS3bb*, *LGALS4*, *LGALS8a*, *LGALS8b*, *LGALS9*, *LGALS17*, *GRPa*, *GRPb* and *GRPc*) were identified in this study from its genome. The accuracy of gene annotation and structural conservation were verified by phylogenetic, copy number, collinearity and gene structure analyses. RNA-seq data were used to analyze their tissue-specific expressions and their expressional response to different environmental stressing. Tissue-specific expression profiles indicated that the *Galectin* genes were widely expressed in 7 tissues (liver, gill, spleen, stomach, brain, testis and ovary), and 6 genes (*LGALS3ba*, *LGALS4*, *LGALS8a*, *LGALS9*, *LGALS17* and *GRPa*) showed obvious tissue specificity. Different members of the *Galectin* gene family showed different levels of expression in responding four environmental factor stresses (hypoxia, alkalinity, heat and salinity acclimation), among them *LGALS3a*, *LGALS3ba*, *LGALS4*, *LGALS17* and *GRPb* showed significantly differential expression in the four environmental stresses, indicating that their extensive involvement in the response and regulation of environmental stresses.

Key words: spotted sea bass; *Galectin* gene family; expression analysis; stress response

责任编辑 朱宝象