

文章编号: 1674 - 5566(2015)02 - 0167 - 07

## 斑马鱼尾加压素 II 受体基因组织表达的研究

胡聪聪, 吕为群

(上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 尾加压素 II 受体(Urotensin II receptor, UT)是一种 7 次跨膜 G 蛋白偶联受体,是目前发现的具有最强收缩血管作用的尾加压素 II 的特异性受体。斑马鱼中存在 4 种不同的 UT-like 基因(*uts2r1*, *uts2r2*, *uts2r3* 和 *uts2r4*),分别位于斑马鱼 4 条不同染色体上。这 4 种 *uts2r* 基因核苷酸序列各不相同,*uts2r1* 位于 3 号染色体上,其与 12 号染色体上的 *uts2r2* 基因蛋白序列相似度最高为 47%,与 6 号染色体上的 *uts2r3* 和 16 号染色体上的 *uts2r4* 蛋白相似度分别是 41.6% 和 33%。通过设计特异引物检测每种 *uts2r* 基因在斑马鱼成鱼各组织中的表达情况,结果显示 3 号染色体上的 *uts2r1* 基因在肾脏中表达量最高,6 号染色体上的 *uts2r2* 基因在脊髓中表达量最高,12 号染色体上的 *uts2r3* 基因在心脏中表达量最高,而 16 号染色体上的 *uts2r4* 基因在背肌中表达量最高。

**研究亮点:** 目前关于 UT 的研究大多都集中在 12 号染色体上,有关它们不同拷贝在鱼类发育过程中的生理功能和作用机制的研究还相对缺乏。本实验对斑马鱼不同拷贝 *uts2r* 在各组织中的表达进行研究,为深入研究上述基因的生理功能及调控机制提供基础资料。

**关键词:** 斑马鱼; 染色体; *uts2r* 基因; 基因表达

**中图分类号:** S 917

**文献标志码:** A

尾加压素 II 受体(UT)最初是通过逆向药理学方法筛选出来的一种 7 次跨膜 G 蛋白偶联受体<sup>[1]</sup>(G-protein coupled receptor14, GPR14),同源性比较发现与生长抑素和阿片肽受体具有很高的同源性<sup>[2]</sup>。UT 有着很短的 N 末端,在每个跨膜结构有一个高度保守的残基, D/ERY 基序(超二级结构)位于第 3 个跨膜结构域和第 2 个胞内环的交界处, NPFLY 基序在第 7 个跨膜结构域处,在 UT 的胞质尾区有潜在的丝氨酸和苏氨酸磷酸化位点<sup>[3]</sup>。UT 在 N 末端结构域有两个潜在的 N 糖基化位点,在第一和第二个胞外环有两个半胱氨酸残基,可能参与二硫键的形成<sup>[4]</sup>。

作为 UT 特异性配体的 U II(尾加压素 II)最早是从硬骨鱼的脊髓尾部下垂体中分离出的生长抑素样环肽。U II/UT 系统在其他动物中的研究主要集中在平滑肌收缩<sup>[5]</sup>、心血管活性<sup>[6-7]</sup>和自主活性<sup>[6]</sup>等方面,在鱼类中对其的研究主要集

中在渗透压调节功能上<sup>[8]</sup>,例如在罗非鱼中抑制催乳素的释放<sup>[9]</sup>和青鳉鱼中通过鳃上皮的 NaCl 转运方面<sup>[10]</sup>。越来越多的研究表明 U II/UT 系统具有广泛的生物学功能,其中 U II/UT 系统研究得最为透彻的作用是在正常和病理条件下对心血管系统的调节。Ca<sup>2+</sup> 通路、酪氨酸激酶、p38MAPK、ERK1/2, RhoA/ROCK 和 PKC/CPI-17 系统都参与了由 UT 激活诱导的缩血管效应<sup>[11-14]</sup>。因此人们大胆地推测,UT 活化会引起大量的钙增敏,这就能解释为什么 U II 是迄今为止最有效的肌收缩剂。

U II 及其受体 UT 因其在人类多种疾病中的作用而成为近年来医学研究的热点,而在最先发现 U II 的物种——鱼中却少有报道,对其在鱼中的生理功能更是知之甚少。由于斑马鱼具有生殖周期短,繁殖能力强等特点<sup>[15]</sup>,使其在与人类疾病相关的基因及其功能和人类疾病模型的研究

收稿日期: 2014-09-03 修回日期: 2014-12-10

基金项目: 国家自然科学基金(31072228、41376134); 高等教育博士点基金(201113104110002); 上海市高校知识服务平台项目(ZF1206); 上海高校水产学一流学科建设项目

作者简介: 胡聪聪(1988—),女,硕士研究生,研究方向为鱼类环境适应生理学。E-mail: hcc-love@163.com

通信作者: 吕为群, E-mail: wqlv@shou.edu.cn

究中显示出重要的意义。研究表明斑马鱼中存在 4 种 *uts2r* 基因<sup>[16]</sup>, 本文主要以斑马鱼为模型, 旨在研究斑马鱼中 4 种 *uts2r* 基因的表达, 并为以后深入研究作为 U II 受体的 *uts2r* 基因在鱼类中的生理功能打下坚实基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验动物为 Tubingen 品系斑马鱼, 源自中国海洋大学段存明教授实验室, 培养在自动循环水养殖系统中, 光照黑暗比为 14:10。胚胎通过正常交配受精获得, 在 28.5 °C 胚胎培养液中控光培养, 分别取 3 条雌性成年斑马鱼的脑、眼睛、鳃、心脏、胃、肝脏、脾、肠、肾、卵巢、前脊、尾部神经系统 (caudal neurosecretory system, CNSS) 和背侧肌肉组织, 置于 RNA 提取液 RNAiso plus (TaKaRa) 中转移至 -80 °C 低温保存备用。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 总 RNA 的提取和 cDNA 的合成

取 -80 °C 保存的样品用研磨棒于冰上研磨, 参照 RNAiso plus 说明书抽提 RNA, 用 DNase I 去除基因组 DNA 污染, 所得的 RNA 保存于 -80 °C。利用 Promega 反转录系统, 以总 RNA 为模板, oligo(dT) 为引物于 65 °C 反应 10 min, 冰上放置 5 min 后, 加入 M-MLV 反转录酶和 buffer、抑制剂等反转成 cDNA, 保存于 -80 °C 冰箱备用。

#### 1.2.2 UT 生物信息学分析

斑马鱼中查找到了 4 种 *uts2r* 基因, 分别位于 3、6、12 和 16 号染色体上, 通过 <http://www.ensembl.org/> 查找到了每种序列包含的外显子、内含子情况, 并对这 4 种序列进行了对比和同源性分析。通过 DNAMAN 软件, 推导出其相对应的氨基酸序列, 并对这 4 种蛋白序列进行了同源性比对。

#### 1.2.3 qRT-PCR 分析

qRT-PCR 分析所用仪器为 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪。应用 primer 5.0 引物设计软件根据 UT 基因、斑马鱼  $\beta$ -actin 和 18S rRNA 序列设计特异性引物 (表 1)。PCR 反应体系 20  $\mu$ L, 包括 cDNA 模板 2  $\mu$ L, 上下游引物各 0.4  $\mu$ L, SYBR ExTaq 10  $\mu$ L 和 Rox Reference Dye II 0.4  $\mu$ L, 剩下的体积用灭过菌的双蒸水补足。反应条件为 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 延伸 34 s,

40 个循环, PCR 反应结束后, 对扩增产物进行熔解曲线分析, 检测反应特异性, 确定产物是否是单一的目的片段, 根据  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  算法进行相对定量分析。

表 1 基因引物序列

Tab.1 Primer pair sequences used for real-time qPCR amplifications

基因 gene	序列 (5' - 3') sequence
<i>uts2r1</i>	F: TCTGGCCGACCTGCTGTA R: ACGGCAAGGCGAGGATAA
<i>uts2r2</i>	F: CTGGCAACCTCTACACCC R: TCCAAACTCAACAGCACC
<i>uts2r3</i>	F: TGAATCAGTTCACGCCACA R: ATGACAAGGAGCGACGAGGT
<i>uts2r4</i>	F: ATAAATCGCATCCTCACA R: GTCCTTCTGCTGCTCCTT
18S rRNA	F: GGACACGGAAAGGATTGACA R: CGTTATCGGAATGAACCAGAC
$\beta$ -actin	F: GCTGCCTCTTCTCTCTCC R: ATGTCACGTCGCACTTC

注: 基因命名根据雨果基因命名委员会的指导方针 (<http://www.genenames.org/>)。

Note: Gene nomenclature follows the HUGO Nomenclature Committee (HGNC) guidelines (<http://www.genenames.org/>).

### 1.3 数据处理与统计分析

实验数据均用平均值  $\pm$  标准误 (Mean  $\pm$  SE) 表示, 采用 SPSS 17.0 统计软件对指标进行分析。若有显著性差异, 再用 LSD 法 (最小差异显著法) 和 Duncan 氏法进行多重比较, 以  $P < 0.05$  为显著差异; 用 GraphPad Prism 5.0 软件作图。

## 2 结果

### 2.1 斑马鱼 UT 蛋白序列比对和同源性分析

根据 TOSTIVINT 等报道的斑马鱼 4 种 *uts2r* 基因, 进行了生物信息学分析, 结果表明斑马鱼 3 号染色体上 *uts2r1* mRNA 全长 1 140 bp, 1 071 bp 的 ORF 编码 356 个氨基酸; 6 号染色体上的 *uts2r2* mRNA 全长 1 505 bp, 包括 268 bp 5'UTR, 1 020 bp ORF 编码 339 个氨基酸, 217 bp 3'UTR; 12 号染色体上的 *uts2r3* mRNA 全长 2 459 bp, 包括 388 bp 5'UTR, 1 143 bp ORF 编码 380 个氨基酸, 928 bp 3'UTR; 16 号染色体上的 *uts2r4* mRNA 全长 1 817 bp, 包括 350 bp 3'UTR, 1 161 bp ORF 编码 386 个氨基酸, 290 bp 3'UTR。通过 <http://www.ensembl.org/> 网站, 我们查找到了 3 号和 6 号染色体上的 *uts2r* 基因均有一个外显子, 无内含

子序列,12 号染色体上的 *uts2r* 基因有两个外显子和一个内含子序列,16 号染色体上的 *uts2r4* 基因有两个剪接变异体,其中一个只有一个外显子无内含子,而另外一个有两个外显子和一个内含子(图 1)。UT 包含 7 个跨膜结构区,分别用 TMD1-7 表示,(E/D)RY 和 NPx2-3Y 基序也标注在了蛋白序列对比图中(图 2)。同源性分析发现:3 号染色体上的 UT 蛋白序列与 12 号、6 号和 16 号染色体上的蛋白相似度分别是 47%、41.6% 和 33%(图 3)。

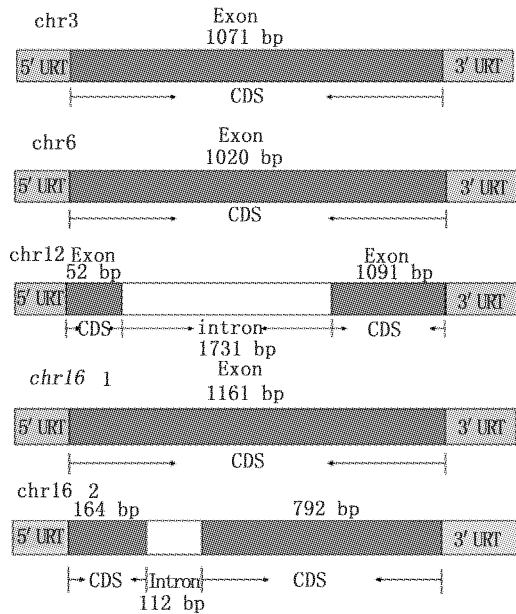


图 1 4 组染色体上 UT 内含子外显子分布情况

Fig.1 Exon and intron distribution of four different UT genes on different chromosomes

白色的部分表示内含子区域,浅灰色部分表示非编码区,深灰色的部分表示蛋白编码区。

The white part represents intron region, light gray part represents the non-coding region, dark part represents the protein coding region.

## 2.2 斑马鱼 *uts2r* 基因的组织表达

荧光定量 PCR 结果显示斑马鱼 *uts2r* 在雌性成鱼各组织中均有一定量的表达,但表达量最高的组织各不相同,其中 3 号染色体上 *uts2r* 基因在肾脏中表达量最高,相对于其他组织均有显著性差异( $P < 0.05$ ),其次是在脑组织中表达较高,卵巢、CNSS 和背肌组织之间表达量也无显著性差异,眼、鳃、心、胃、肝、脾、肠、卵巢、脊髓和背肌组织表达量无显著性差异(图 4a)。6 号染色体上 *uts2r* 基因在脊髓中表达量最高,其次是在卵巢、

CNSS 和背肌组织中表达较高,脑、眼、鳃、心、胃、肝、脾、肠组织之间表达量无显著性差异(图 4b)。12 号染色体上 *uts2r* 基因在心脏中表达量最高,其次是在背肌、眼和鳃组织中表达较高,脑、胃、肝、脾、肠、肾、卵巢、脊髓、CNSS 组织间表达量无显著性差异(图 4c)。而 16 号染色体上 *uts2r* 基因却在背肌中表达量最高,其次是在鳃、肾、脊髓和脑组织中表达较高,脑、鳃、肾之间表达量无显著性差异,脑、脊髓之间表达量无显著性差异,眼、心、胃、肝、脾、肠、卵巢、CNSS 之间表达无显著性差异(图 4d)。

## 3 讨论

来自斑马鱼的 4 个 *uts2r* 基因,分别位于不同染色体上,编码不同的氨基酸序列。有研究表明 *uts2r* 基因家族通过基因局部复制来增加家族成员<sup>[16]</sup>,因此分析了斑马鱼 4 个 *uts2r* 基因蛋白的同源性,比对结果发现,3 号染色体与 12 号染色体上的 UT 蛋白序列的相似度最高为 47%,这两种 *uts2r* 基因来自同一原始 *uts2r* 的可能性最大,而与 6 号和 16 号染色体上 UT 蛋白序列相似度分别为 41.6% 和 33%(图 3),低同源性可能带来生理功能的分化。由于 UT 属于 A 类 G 蛋白偶联受体家族,这个家族有一个特性是在第 7 个跨膜结构域包含 NPFLY 基序,而 3 号和 12 号染色体上的 UT 恰好符合这一特性,可能 3 号和 12 号染色体上的 *uts2r* 基因在斑马鱼中作为一种 A 类 G 蛋白偶联受体发挥一定的生理作用。

在对鱼类 CNSS 早期的研究中发现渗透压调节中起到了一定的作用,U II 作为 CNSS 的主要分泌物之一也必然参与到了渗透压的调节中。有研究称欧洲川鲈在海水中的血浆 U II 浓度明显高于淡水中的 U II 浓度,并且当将川鲈从海水转到淡水时,在鳃和肾中,UT mRNA 的表达量会降低,而当鱼从淡水转入海水时,UT mRNA 在肾中的表达量会升高,这些变化也与血浆中的渗透压和离子浓度的变化一致<sup>[17-19]</sup>。荧光定量 PCR 结果显示,3 号染色体上的 *uts2r1* 基因在肾中的表达量最高,可能该基因在渗透压调节方面起着主要作用,而鳃中表达量相对较高的 12 号和 16 号染色体上的 *uts2r* 基因可能在渗透压调节中发挥着辅助作用。在大鼠、小鼠和人中,UT 在脑和脊髓中有广泛的表达<sup>[20-21]</sup>,本研究结果显示,6 号染

chr3	.....MEADDHFSLNISAAFTNISPTVTGPVK	27
chr6	.....MSNAANSS	8
chr12	MLNVCLLGATPSVESNQEMTIVSVEPIVAMVEKISNVTES	40
chr16	.....MDIPGSTSLFSSPSPSYTFFFFTNLSPSS	31
N terminal		
chr3	SAPPSSYDMLI[SILGTT[FMCLVGLTGNVYTHLIVNTS	67
chr6	STAGVAGVWVWVPLLGATVIMCVLGLTGNLYTHIRIMRSA	48
chr12	PVESPEDMAAFETIGTIFSLMCLVGVSGNIVYTHVVMCHS	80
chr16	PSSLSPSPSVASALFCFF[SLLSL[SILGNLYTHVWLLLR	71
TMD1		
chr3	VRVT.GSMYVYIVNLAL.....	83
chr6	TLRRAGSMYVFIINLAT.....	65
chr12	MRSA.ASMYIYIINLAM.....	96
chr16	RRMSRRRHTAPMCCYSLSCLGSSSPSFSFSPSSSPTSS	111
chr3	.....ADLIVLSTHPEVWVCTYFAKIDWYEGD	108
chr6	.....ADLIVLSTHPEVWVCTYFAKIDWYEGE	90
chr12	.....ADLIVLSTHPEVWVCTHFLKGVWYEGD	121
chr16	SSSSSLHLQVLSLALADLIVLSTHPEVWVYDLSLWYEGE	151
TMD2		
chr3	VGCRLEESLDFITMHSALFDLIVMSERYLAVVNELDTEG	148
chr6	MGCRVLSLDFITMHSALFDLVMSERYRAVALEFRARL	130
chr12	IGCRLEESLDFITMHSALFDLIVMSERYFAVLKELDTVK	161
chr16	LGCRLEESLDFITMHSALFDLVMSERYRAVALELATT	191
TMD3		
chr3	RSRRYRAVTELVWLFSLILALPSMILIDLKIDVHNGVEK	188
chr6	STARGHMMALGIWIAAFILITLPMVMIRLREGPATVGL	170
chr12	RSKSYRKAIALLVWTASLILITLPMIISVQLMTMNSKQMCN	201
chr16	TPSSGLLRVALAWGFALSLPMMITLHLEDGENHEGKLC	231
TMD4		
chr3	RMCH..PTWQMTAYRVYIVLIVNTCILRGLIIGYVYLRK	226
chr6	VKRICFPTWTPEAFKAYLIALPFTSMILPCLLMVGLYAG	210
chr12	PTLS..PLSYKIYISFLEGTIV...APGVIGYLVIR	235
chr16	VPAWDEQSS....KAYLSILFCTSLIGGLAIGHYAL	266
TMD5		
chr3	ERLYWLSQTSVFPSPREVKRCPKQKVLV...MIFTIIVLTY.	262
chr6	ERLYWAAQSNLARGSSSSFRRRRLKHKVVGMIPIVWAY.	249
chr12	ERLYWLSQTETFKQTKKLPN..QKVLV...LIFTIVLLF.	269
chr16	ERLYWVWVSTQPAWAGGNAYPPRAPRPKVLLILIGIVLTF	306
chr3	WACFLPEWLNQLLSIYHYAHGGLSSYTVVYINFEV.WTQEA	301
chr6	WACFLPEWLNQMAKLFSSSLRSLSPAHTYVNFVTCIT	289
chr12	WACFLPEWLNQFNQFQPTLDLSTKAKRNINYL..TQIT	307
chr16	WACFLPEWLNQLLPLYQPEVLRVVPVGTQVTINRILTQIT	346
TMD6		
chr3	YENSCHNFFLITLIRNYQEVVDRQKNSVEFKKRVRLSS	341
chr6	YENSCHNELLITLIRNYRDLAQGGSSSGSSRVDQGSAA	329
chr12	YENSCHNFFLITLIRNYKEYLRRQRTWTAGSYLNRNR	347
chr16	YENSCHNFFLITLIGKRRRISRKTIISAAAPLCQKGSSEQ	386
TMD7 C terminal		
chr3	QRSLSLFRANSSVIL.....	356
chr6	AVNMIHQIG.....	339
chr12	FQSPRRSLSSSSQQCTESFVLAHTSRTNNS	379
chr16	.....	386

图2 斑马鱼4条染色体上的UT蛋白序列对比图

Fig. 2 Protein sequence alignment of zebrafish UT from four chromosomes

TMD1-7 表示 7 个跨膜结构区,实框表示 E/DRY 基序,虚框表示第七个跨膜结构区中的 NPx2-3Y 基序,深灰色表示蛋白序列完全重合,浅灰色表示蛋白序列重合度为 75%。

TMD1-7 refers to UT seven transmembrane domain, solid frame is marked E / DRY motif, virtual box represents the NPx2-3Y motif in the seventh transmembrane region, the amino acid residues that are identical are shaded in dark grey, while light gray portion indicates the degree of protein sequence overlap of 75%.

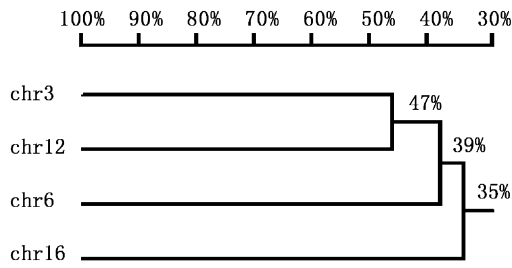


图3 4条染色体上的UT蛋白序列相似度  
Fig.3 Protein sequence homology of UTs on four chromosomes

染色体上的 *uts2r2* 基因在脊髓和 CNSS 中有着高表

达量,3号染色体上的 *uts2r1* 基因在脑和 CNSS 中表达量较高,这暗示着这两个基因可能与运动机能中的调节作用有关。U II 是目前发现的最强的血管收缩剂,U II 的收缩血管效应是直接由其特异性受体 UT 介导的,12号染色体上的 *uts2r3* 基因在心脏中表达量最高,表明该基因功能可能与心血管功能十分相关。而16号染色体上的 *uts2r4* 基因在肌肉中表达量最高,可能该基因与斑马鱼运动功能相关。但是这4个基因究竟在斑马鱼中发挥着单独生理作用或者共同作用来行使生理功能还需要进一步研究和验证。

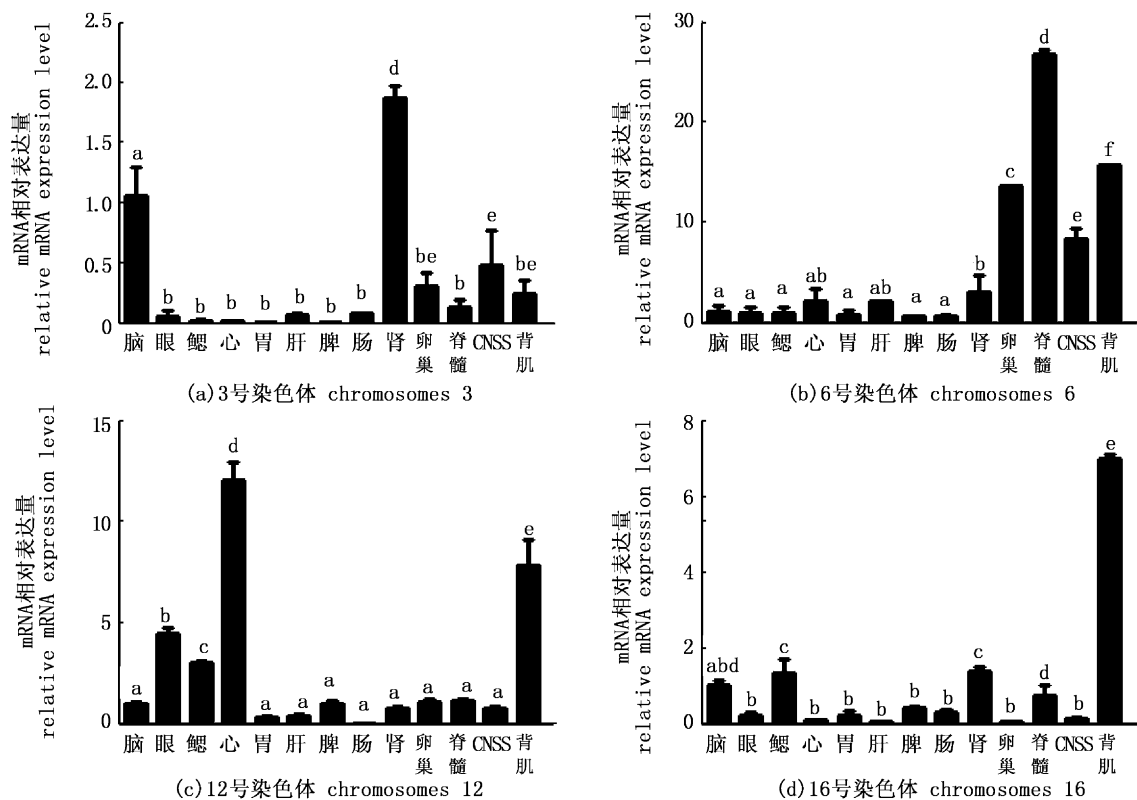


图4 成年雌性斑马鱼各UT基因在不同组织中的表达谱

Fig.4 Tissue distribution of UT mRNA in adult female zebrafish

结果以平均值  $\pm$  标准误表示,不同的字母代表存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

The result is expressed as mena  $\pm$  SE, there are significant differences between different letters ( $P < 0.05$ ).

#### 参考文献:

- [1] LIU Q, PONG S S, ZENG Z, et al. Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1999, 266 (1): 174 - 178.
- [2] MARCHESI A, HEIBER M, NGUYEN T, et al. Cloning

and chromosomal mapping of three novel genes, GPR9, GPR10 and GPR14, encoding receptors related to interleukin 8, neuropeptide Y, and somatostatin receptors [J]. Genomics, 1995, 29(12): 335 - 344.

- [3] ONAN D, HANNAN R D, THOMAS W G. Urotensin II: the old kid in town [J]. Trends in Endocrinology and

- Metabolism, 2004, 15(4): 175 – 182.
- [4] PROULX C D, HOLLERAN B J, LAVIGNE P, et al. Biological properties and function determinants of the urotensin II receptor[J]. Peptides, 2008, 29(5): 691 – 699.
- [5] BERN H A, PEARSON D, LARSON B A, et al. Neurohormones from fish tails: the caudal neurosecretory system. I. “Urophysiology” and the caudal neurosecretory system of fishes[J]. Recent Progress in Hormone Research, 1985, 41(5): 533 – 552.
- [6] LE MEVEL J C, LANCIEN F, MIMASSI N, et al. Central and peripheral cardiovascular, ventilatory, and motor effects of trout urotensin-II in the trout[J]. Peptides, 2008, 29(5): 830 – 837.
- [7] NOBATA S, DONALD J A, BALMENT R J, et al. Potent cardiovascular effects of homologous urotensin II (U II)-related peptide and U II in unanesthetized eels after peripheral and central injections[J]. American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2011, 300(2): R437 – R446.
- [8] VAUDRY H, DO REGO J C, LE MEVEL J C, et al. Urotensin II, from fish to human[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1200(1): 53 – 66.
- [9] SEALE A P, YAMAGUCHI Y, JOHNSTONE W M III, et al. Endocrine regulation of prolactin cell function and modulation of osmoreception in the Mozambique tilapia[J]. General and Comparative Endocrinology, 2013, 192: 191 – 203.
- [10] EVANS D H, HYNDMAN K A, CORNWELL E, et al. Urotensin II and its receptor in the killifish gill; regulators of NaCl extrusion[J]. Journal of Experimental Biology, 2011, 214(23): 3985 – 3991.
- [11] XU S, WEN H, JIANG H. Urotensin II promotes the proliferation of endothelial progenitor cells through p38 and p44/42 MAPK activation[J]. Molecular Medicine Reports, 2012, 6(1): 197 – 200.
- [12] ROSSOWSKI W J, CHENG B L, TAYLOR J E, et al. Human urotensin II-induced aorta ring contractions are mediated by protein kinase C, tyrosine kinases and Rho-kinase: inhibition by somatostatin receptor antagonists[J]. European Journal of Pharmacology, 2002, 438(3): 159 – 170.
- [13] RUSSELL F D, MOLENAAR P. Investigation of signaling pathways that mediate the inotropic effect of urotensin-II in human heart[J]. Cardiovascular Research, 2004, 63(4): 673 – 681.
- [14] SAUZEAU V, LE MELLIONNEC E, BERTOGLIO J, et al. Human urotensin II-induced contraction and arterial smooth muscle cell proliferation are mediated by RhoA and Rho-kinase[J]. Circulation Research, 2001, 88(11): 1102 – 1104.
- [15] 孙智慧, 贾顺姬, 孟安明. 斑马鱼: 在生命科学中畅游[J]. 生命科学, 2006, 18(5): 431 – 436.  
SUN Z H, JIA S J, MENG A M. Zebrafish swimming in life sciences[J]. Chinese Bulletin of Life Science, 2006, 18(5): 431 – 436.
- [16] TOSTIVINT H, OCAMPO D, BERGQVIST C A, et al. Molecular evolution of GPCRs: Somatostatin/urotensin II receptors[J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2014, 52(3): 61 – 86.
- [17] WINTER M J, HUBBARD P C, MCCROHAN C R, et al. A homologous radioimmunoassay for the measurement of urotensin II in the euryhaline flounder, *Platichthys flesus* [J]. General and Comparative Endocrinology, 1999, 114(2): 249 – 256.
- [18] BOND H, WINTER M J, WARNE J M, et al. Plasma concentrations of arginine vasotocin and urotensin II are reduced following transfer of the euryhaline flounder (*Platichthys flesu*) from seawater to fresh water[J]. General and Comparative Endocrinology, 2002, 125(1): 113 – 120.
- [19] LU W, GREENWOOD M, DOW L, et al. Molecular characterization and expression of urotensin II and its receptor in the flounder (*Platichthys flesus*): a hormone system supporting body fluid homeostasis in euryhaline fish [J]. Endocrinology, 2006, 147(8): 3692 – 3708.
- [20] JEGOU S, CARTIER D, DUBESSY C, et al. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system [J]. The Journal of Comparative Neurology, 2006, 495(1): 21 – 36.
- [21] DUBESSY C, CARTIER D, LECTEZ B, et al. Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction[J]. Journal of Neurochemistry, 2008, 107(2): 361 – 374.

## The studies of urotensin II receptor gene expression in zebrafish tissues

HU Congcong, LÜ Weiqun

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Urotensin II receptor is a seven-transmembrane G protein-coupled receptor, and it is a specific receptor for urotensin II which is the most potent mammalian vasoconstrictor to date. There are four different UT-like genes (*uts2r1*, *uts2r2*, *uts2r3* and *uts2r4*) in zebrafish, located on four different chromosomes, while the nucleotide sequence of these *uts2r* gene varies, UT of chromosome 3 and chromosome 12 shared the highest homology of 47%, and shared 41.6% and 33% homology with the *uts2r* gene from 6th chromosome and 16th chromosome, respectively. Specific primers were designed for each gene analyzing mRNA expression of different adult fish tissues. Quantitative PCR results showed that *uts2r1* gene on chromosome 3 has the highest expression level in the kidney, *uts2r2* gene on chromosome 6 has the highest expression level in the spinal cord, and *uts2r3* gene on chromosome 12 expressed the highest level in the heart, while the highest peak of *uts2r4* mRNA on 16th chromosome expression emerged in the dorsal muscles.

**Key words:** zebrafish; chromosome; *uts2r* gene; gene expression