

文章编号: 1674-5566(2024)03-0543-09

DOI: 10.12024/jsou.20240104411

3种不同海拔裂腹鱼肾脏转录组比较

汤先湖^{1,2}, 郝恬^{1,2}, 江守文^{3,4}, 吴智超^{3,4}, 许强华^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 国家海洋生物科学国际联合研究中心, 上海 201306; 4. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 裂腹鱼亚科鱼类长期生活在青藏高原缺氧环境, 是研究低氧适应机制的天然生物模型。对3种裂腹鱼: 高海拔(>3 600 m)的孤唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼与低海拔(<700 m)齐口裂腹鱼的主要渗透调节器官肾脏进行转录组分析。通过对孤唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼与齐口裂腹鱼的肾脏转录组进行比较分析, 分别筛选出504个和478个差异表达基因, 其中有199个共同差异表达基因。对共同差异基因进行GO (Gene Ontology) 和KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 的富集分析发现, 两组共同差异基因主要富集在糖酵解/糖原生成过程、脂质生物合成过程和血管生成等通路上。其中*eno3*、*fbp1α*、*prpf19*和*ctsz*等基因的高表达可能在高海拔裂腹鱼长期适应低氧环境中起着重要作用。本研究为揭示高原鱼类长期低氧适应提供了新思路。

关键词: 高原; 裂腹鱼; 转录组; 糖代谢; 低氧

中图分类号: S 917.4 **文献标志码:** A

青藏高原位于中国西南部, 是全世界范围海拔最高, 面积最大的高原。青藏高原的隆升源自于大约5 000万年前印度板块和欧亚大陆板块的碰撞^[1]。由于青藏高原海拔高, 空气中氧气含量低, 造就了青藏高原独特的低温、缺氧等环境特点^[2]。尽管如此, 青藏高原水体中仍然蕴藏着丰富的淡水和渔业资源, 如: 适应青藏高原极端环境的鲤科鱼类多样性丰富, 其主要类群为裂腹鱼亚科鱼类, 又称“山鲤”, 广泛分布于青藏高原及其周边水域^[3]。

裂腹鱼亚科由15个属组成, 大约有100多种, 其中青藏高原特有属12个, 共70多种裂腹鱼^[4]。根据栖息海拔高度和形态特征的特化程度不同, 将裂腹鱼分成原始型、特化型和高度特化型3种, 原始型分布在海拔1 000 m左右的边缘区域, 特化型和高度特化型在青藏高原海拔3 000 m以上区域混合分布^[5]。

孤唇裂腹鱼 (*Schizothorax curviliabatus*, Sc)

和巨须裂腹鱼 (*Schizothorax macropogon*, Sm) 都属于鲤科、裂腹鱼亚科, 对高原极端环境适应力强, 均属于高度特化型裂腹鱼。孤唇裂腹鱼主要分布于雅鲁藏布江下游干支流及察隅河、丹巴曲, 栖息于岸边激流或河叉附近^[6], 巨须裂腹鱼主要分布在雅鲁藏布江中游河段, 为雅鲁藏布江特有鱼类, 是当地著名土著鱼类^[7]。齐口裂腹鱼 (*Schizothorax prenanti*, Sp) 隶属于鲤科、裂腹鱼亚科、裂腹鱼属, 是一种原始型裂腹鱼, 主要分布在长江流域、岷江、青衣江等地, 是四川雅安主要的经济鱼类^[8]。

肾脏是鱼体重要器官之一, 参与许多免疫和调节过程, 包括体液平衡和电解质调节、血压和血容量的控制、含氮废物的排泄以及鱼体体内酸碱平衡。KAPTANER等^[9]通过对塔氏油白鱼 (*Alburnus tarichi*) 的肾脏开展组织学研究, 发现肾脏在鱼类免疫过程中也发挥着重要作用。ZHU等^[10]研究了4种尼罗罗非鱼对盐度的调节反应,

收稿日期: 2024-01-29

修回日期: 2024-02-19

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD2400800, 2018YFC0310600); 国家自然科学基金面上项目(31772826)

作者简介: 汤先湖(1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为分子生物学。E-mail: 3433606231@qq.com

通信作者: 许强华, E-mail: qhxu@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

发现所有罗非鱼血浆渗透压都随着盐度升高而升高,且肾脏组织中 Na^+/K^+ -ATPase的活性显著增加。ZHOU等^[11]通过研究了低温胁迫对罗非鱼肾脏组织的影响,发现低温胁迫导致罗非鱼的肾脏功能紊乱;肾脏转录组分析结果显示,低温胁迫下调了肾脏的免疫信号通路。*ndrg1 α* 在肾脏和离子细胞中表达,这些细胞类型使用大量ATP来维持离子稳态。PARK等^[12]构建了*ndrg1 α* 斑马鱼突变体,发现其在常氧下可以存活,并且发育正常;但在长期缺氧后,突变体的存活率和肾功能相对于野生型胚胎会降低。这提示肾脏对鱼类适应低氧环境具有重要作用。

随着转录组高通量测序技术的普及,对裂腹鱼以及其他青藏高原特有物种的转录组测序分析已经确定了参与高原适应的多种生物过程和基因^[13]。通过对厚唇裸重唇鱼(*Gymnodiptychus pachycheilus*)进行转录组分析,确定了*bysl*,*hsf1*和*yes1*等参与能量代谢变化以及低氧适应的相关基因^[14]。ZHANG等^[15]通过对高原鼠兔肺进行转录组研究分析,确定了与肺血管动脉压相关的通路,包括基于差异表达基因的血管平滑肌收缩和HIF-1信号传导等通路,以及参与低氧适应相关基因。ZHOU等^[16]对来自青藏高原的14种裂腹鱼亚科总计183个样本进行转录组分析,为研究裂腹鱼亚科适应青藏高原和物种形成提供信息。因此,通过转录组分析对不同裂腹鱼进行比较分析,揭示其对极端环境的适应机制具有十分重要的作用。

为研究青藏高原裂腹鱼肾脏组织在适应极端低氧环境中的作用,本研究对弧唇裂腹鱼、巨须裂腹鱼与齐口裂腹鱼开展肾脏转录组研究,比较揭示随着海拔的增高肾脏组织在高原裂腹鱼适应极端低氧环境中的特殊信号通路以及适应机制。

1 材料与方法

1.1 材料

在两个不同海拔高度地点采集裂腹鱼样本。其中,在西藏自治区拉萨附近湖泊(29°41'N, 91°00'E)海拔3 650 m采集弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼作为高海拔组样本;在四川省眉山附近湖泊(30°04'N, 103°47'E)海拔650 m处采集齐口裂腹鱼,作为低海拔对照组样本。采集到样本后麻醉

致死进行解剖,分离肾脏组织,每种鱼共解剖3条,共计9个肾脏样本。收集肾脏样本放入-80℃超低温冰箱保存以便进行后续实验。

1.2 方法

1.2.1 总RNA提取及文库构建与测序

使用Trizol裂解肾脏组织RNA,然后使用氯仿萃取RNA,异丙醇沉淀RNA,最后使用75%乙醇清洗RNA后用RNAase free water溶解RNA。将收集到的RNA利用凝胶琼脂糖电泳检测完整性,使用NanoDrop检测RNA的浓度和纯度。使用TruSeq™ RNA sample preparation Kit (Illumina, San Diego, CA)文库制备试剂盒构建cDNA文库。随后,利用Illumina HiSeq™ 2000测序仪对裂腹鱼肾脏组织样本进行转录组双端测序。

1.2.2 转录组数据处理

通过Trimmomatic 0.33软件对数据进行处理^[17],获得高质量数据(Clean reads)。具体参数:AVGQUAL为20,TRAILING为20,MINEN为50。通过数据质量评估后,使用HISAT2^[18]软件将剪切和过滤后的序列映射到澜沧裂腹鱼(*Schizothorax lantsangensis*)参考基因组(GCA_027422415.1)进行注释,使用同源基因查找软件OrthoMCL^[19]筛选得到了3个物种的同源基因聚类。根据同源基因的序列比对以及过滤处理后结果,使用Cuffliks^[20]对基因转录本表达量水平进行评估定量,标准化处理。

1.2.3 差异表达基因分析

通过Cuffliks软件,计算每个样本的基因表达水平,以确定每个基因每千个碱基转录物中每百万个映射片段的reads (Fragments per kilobase of exon model per million)即FPKM值。根据计算出的表达量结果,用R语言的EdgeR程序包^[21]根据基因表达量进行后续分析研究,对不同分组的裂腹鱼进行差异表达基因分析。

通过比较弧唇裂腹鱼和齐口裂腹鱼以及巨须裂腹鱼和齐口裂腹鱼肾脏组织,由此得到2组不同海拔高度裂腹鱼的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。在差异基因表达分析中,以差异表达相异倍数的绝对值大于1即 $\log_2(\text{foldchange}) > 1$,以及 P 小于0.05作为差异基因筛选标准。

1.2.4 差异表达基因富集分析

针对裂腹鱼各分组的差异表达基因,进行

GO (Gene Ontology) 富集分析和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 富集分析。选择 P 值小于 0.05 的 GO 项或 KEGG 通路作为显著富集。使用 R 语言中的 ggplots2 (3.3.2) 软件包绘制 GO 富集图和 KEGG 富集图。

2 结果与分析

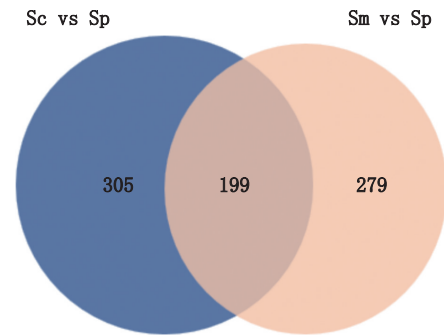
2.1 差异基因的筛选

如表 1 所示,弧唇裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼总共筛选出 504 个差异表达基因,其中上调基因有 252 个,下调基因有 252 个;巨须裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼总共筛选出 478 个差异表达基因,其中上调基因有 223 个,下调基因有 255 个。如图 1 韦恩图所示,两组数据总共有 199 个共同差异表达基因,在共同差异表达基因中,有 97 个上调差异表达基因和 102 个下调差异表达基因。

2.2 GO 功能富集分析

通过对筛选到的共同差异基因进行 GO 功能富集分析(图 2),结果表明共同差异表达基因显著富集在生物过程中的心脏发育(4 个),碳水化合物代谢(4 个),去磷酸化(3 个),血管生成(3 个),脂质生物合成过程(2 个)。有丝分裂染色体凝聚(2 个),激活 MAPK 活性(2 个),内胚层生成(2 个),表皮生长素受体信号通路(2 个),细胞对雌激素刺激反应(2 个),调节细胞凋亡过程(2

个),糖酵解过程(2 个)和生物合成过程(2 个)等主要信号通路。



Sc vs Sp 是弧唇裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼, Sm vs Sp 是巨须裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼。

Sc vs Sp is *Schizothorax curvlabiatus* vs *Schizothorax prenanti*, Sm vs Sp is *Schizothorax macropogon* vs *Schizothorax prenanti*.

图 1 差异表达基因韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of differential gene

低氧适应相关通路中的基因表达变化如表 2 所示。糖酵解过程中, *eno3* 基因的表达在弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼中都显著上调, *eno2* 基因的表达则都显著下调;脂质生物合成过程中, *prpf19* 基因的表达在弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼中都显著上调, *fdft1* 基因的表达则都显著下调;在血管生成通路中, *ctsz* 基因的表达在弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼中都显著上调, *hspg2* 和 *kdr* 基因的表达则都显著下调。

表 1 差异表达基因个数统计表

Tab. 1 Statistical table for the number of DEGs

组别 Groups	总差异基因数 Total DEGs number	上调差异基因数 Up-regulated DEGs	下调差异基因数 Down-regulated DEGs
弧唇裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼 Sc vs Sp	504	252	252
巨须裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼 Sm vs Sp	478	223	255
共同差异表达基因 DEGs	199	97	102

2.3 KEGG 功能富集通路分析

对共同差异表达基因进行 KEGG 富集分析,结果如图 3 所示,共同差异表达基因主要显著富集到 Toll 样受体信号通路(4 个),糖酵解/糖原生成(3 个),药物代谢-细胞色素 P450(2 个)和细胞凋亡(5 个)等通路。

在这些信号通路中与低氧适应具有密切关系的糖代谢通路及相关基因表达如表 3 所示, *eno3* 和 *fbp1 α* 基因相对于齐口裂腹鱼在弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼中表达显著上调, *eno2* 基因则显

著下调。

2.4 重要基因热图分析

为更深刻的理解不同海拔高度鱼类的低氧适应机制,对重要富集通路上的基因进行聚类分析。如图 4 所示,在弧唇裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼和巨须裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼肾脏转录组分析中 *eno3*、*fbp1 α* 、*prpf19* 和 *ctsz* 4 个基因表达显著上调, *eno2*、*fdft1*、*hspg2* 和 *kdr* 4 个基因表达则显著下调。

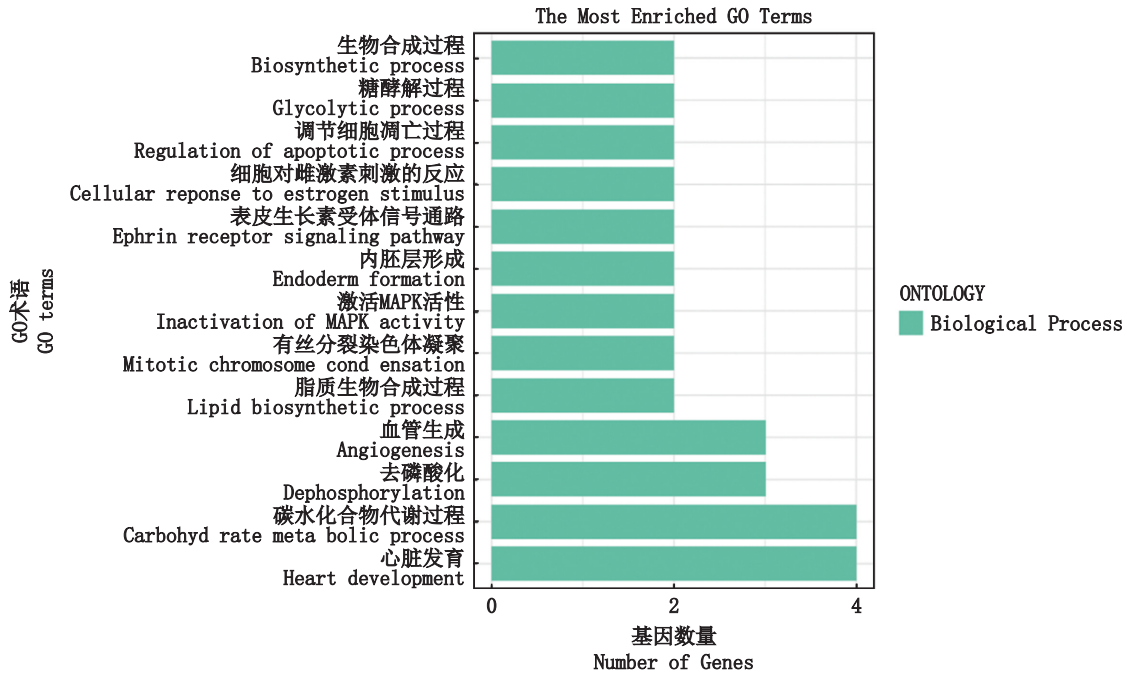


图2 共同差异表达基因 GO 富集分析

Fig. 2 GO enrichment analysis of common DEGs

表2 GO主要富集通路分析

Tab. 2 Analysis of the Main Enrichment Pathways of GO

GO通路 GO pathway	基因 Gene	基因ID Gene ID	Sc vs Sp 表达量 Sc vs Sp logFC	P	Sm vs Sp 表达量 Sm vs Sp logFC	P	上/下调 Up/Down
糖酵解过程 Glycolytic process	<i>eno3</i>	ENSDARG00000039007	2.483 331	0.003 148	2.335 582	0.002 501	上调
	<i>eno2</i>	ENSDARG00000014287	-6.083 700	0.001 179	-5.794 810	0.002 417	下调
脂质生物合成过程 Lipid biosynthetic process	<i>prpf19</i>	ENSONIG00000004880	1.418 845	0.000 722	1.276 289	0.001 450	上调
	<i>fdft1</i>	ENSDARG000000101062	-2.501 680	0.022 938	-2.187 530	0.045 100	下调
血管生成 Angiogenesis	<i>ctsz</i>	ENSDARG00000043081	1.983 344	0.000 196	1.983 141	0.000 153	上调
	<i>hspg2</i>	ENSDARG00000076564	-1.479 020	0.002 059	-1.042 720	0.029 543	下调
	<i>kdr</i>	ENSDARG00000017321	-1.879 130	0.001 951	-1.590 930	0.004 729	下调

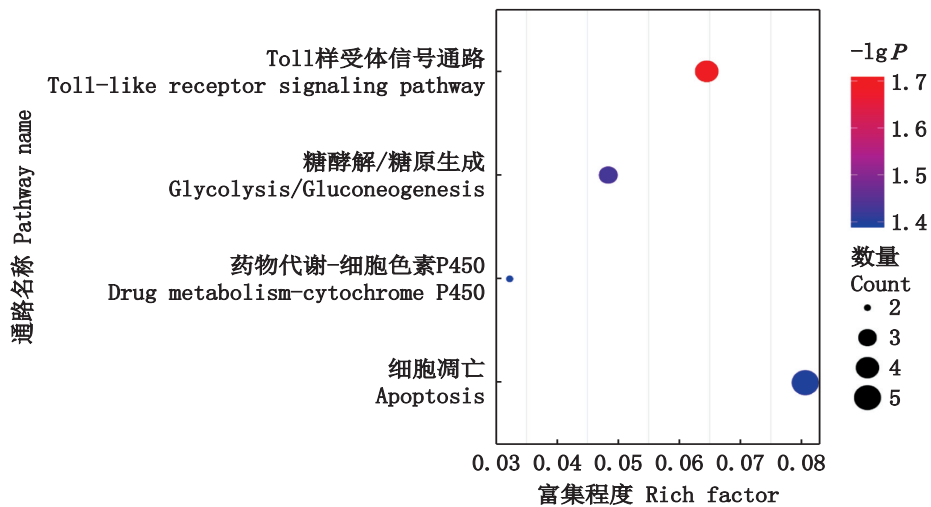


图3 共同差异表达基因 KEGG 富集分析

Fig. 3 KEGG enrichment analysis of common DEGs

表3 KEGG 主要富集通路分析
Tab. 3 Analysis of main enrichment pathways of KEGG

KEGG 通路 KEGG pathway	基因 Gene	基因 ID Gene ID	Sc vs Sp 表达量 Sc vs Sp logFC	P	Sm vs Sp 表达量 Sm vs Sp logFC	P	上/下调 Up/Down
糖酵解/糖原生成 Angiogenesis	<i>eno3</i>	ENSDARG00000039007	2.483 331	0.003 148	2.335 582	0.002 501	上调
	<i>fbp1a</i>	ENSDARG00000021366	2.389 289	0.000 001	1.721 563	0.002 130	上调
	<i>eno2</i>	ENSDARG00000014287	-6.083 700	0.001 179	-5.794 81	0.002 417	下调

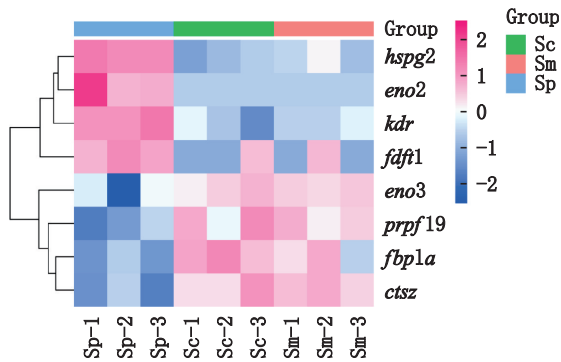


图4 重要基因表达变化

Fig. 4 Changes in expression of important genes

3 讨论

水中的溶解氧是维持鱼类生存的最重要的环境因子之一^[22]。鱼类生存环境中溶解氧含量降低不仅会影响鱼类正常的生长发育,还会导致鱼类产生缺氧应激现象,甚至会导致鱼类的死亡^[23],长期处于低氧环境,鱼类由于摄入氧气含量不足,鱼体会产生大量的自由基(ROS),会对鱼体产生不可逆的损伤甚至死亡^[24]。青藏高原作为地球上海拔最高的高原,造就了其低温,缺氧等独特的地理环境,由于特殊的地理环境,许多分布在青藏高原及其周边地区的高原物种在长期进化的过程中逐渐形成独特的适应机制以适应恶劣的环境^[25]。因此,高原鱼类作为青藏高原特有鱼类,是研究高原低氧适应性和物种形成的良好模式生物。如WANG等^[26]通过对一种青藏高原特有种达里湖高原鳅(*Triplophysa dalaica*)进行转录组分析,发现了13个参与低氧反应的基因以及 *HIF-1 α* 和 *HIF-2 α* 两个候选基因。QI等^[27]通过对花斑裸鲤(*Gymnocypris eckloni*)进行转录组分析,发现花斑裸鲤从代谢途径的重组和有氧化转变成无氧糖酵解;抑制需要能量的过程,如细胞生长增殖和蛋白质合成过程;加强抗氧化系统,最大程度减少对缺氧的缺血性损伤3个途径适应低氧环境。LUO等^[28]对纳木湖裸鲤

(*Gymnocypris namensis*)进行全长转录组分析研究,第一次对纳木湖裸鲤DNA序列进行分析,为基因注释,分子标记开发和lncRNA预测提供了可靠的信息。由此可见,转录组分析对研究高原鱼类适应极端环境开辟了新的方法。许多鱼类能够通过一套复杂的分子策略来应对或者适应缺氧环境^[27],本文通过高原鱼类肾脏组织对低氧的反应,为了解高原鱼类在低氧环境下的适应机制提供新的见解。

在缺氧环境下,鱼类会通过以下几种方式来应对低氧环境。降低新陈代谢率以适应能量供应的减少和应对减少后的能量供应或者是保持新陈代谢率,通过无氧代谢即糖酵解途径提供需要的能量(ATP)^[29];改变自身的代谢方式降低糖代谢,脂质代谢成为适应低氧环境的主要代谢方式^[30];诱导自身血管生成以维持组织供氧同时防止机体缺氧^[31]。本文通过比较低海拔(<1 000 m)原始型齐口裂腹鱼(*S. prenanti*)、高海拔(>3 600 m)弧唇裂腹鱼(*S. curvilabiatu*s)和巨须裂腹鱼(*S. macropogon*)3种不同海拔高度的裂腹鱼肾脏转录组,筛选出总共199个共同差异表达基因,在共同差异表达基因中,有97个上调差异表达基因和102个下调差异表达基因。经过GO富集分析,这些共同差异表达基因主要富集到与糖代谢相关途径(糖酵解通路)、脂质代谢相关途径(脂质生物合成过程)和血管生成相关途径(血管生成)等通路上,这些信号通路和鱼类适应长期低氧环境息息相关,在这些通路中 *eno3*、*fbp1 α* 、*prpf19*、*ctsz* 和 *hspg2* 等基因的高表达可能在裂腹鱼长期适应低氧环境中起着重要作用,KEGG富集分析也证实了这一点。

所有的鱼类都需要氧气通过氧化磷酸化产生ATP以维持机体的能量需求,但是在缺氧的情况下,会导致ATP供应不足,ATP的缺乏会导致离子泵无法维持,导致细胞去极化,会进一步导致细胞凋亡,从而导致鱼体死亡^[32]。低氧诱导因

子(HIF)是一种DNA结合转录因子,其与特异性核辅因子结合反式激活多种基因,触发适应性反应,提高缺氧条件下可用氧气的利用率,低氧诱导因子的激活会调整鱼体内各种生物过程,以促进鱼体在低氧环境下持续生存。因此,在缺氧条件下低氧诱导因子的激活会导致鱼体从氧化磷酸化转变为需氧量更少的糖酵解过程,分解糖原产生ATP,以弥补机体所需的ATP^[33]。在弥补ATP的过程中主要是依赖低氧诱导因子上调糖酵解相关基因来实现的^[34]。Eno3是烯醇化酶(ENO)家族中的一员,它是一种糖酵解酶,可以催化2-磷酸甘油酸转化为磷酸烯醇丙酮酸,在糖酵解途径中发挥重要作用,eno3的高表达会促进细胞的糖酵解途径^[35];fbp1 α 是糖原生成途径中糖异生途径的一个重要基因^[36],fbp1 α 的高表达会促进糖原生成。Eno2也是一种糖酵解酶,有研究表明,抑制eno2的转录可以抑制细胞有氧糖代谢过程^[37]。在两种高海拔裂腹鱼和低海拔裂腹鱼肾脏转录组分析中,与糖代谢相关的eno3和fbp1 α 基因在两种高海拔裂腹鱼中的表达显著提高,eno2基因的表达显著降低,说明高原裂腹鱼在长期缺氧环境中,会抑制有氧代谢,促进自身的糖酵解途径,分解糖原提供机体所需的氧气。同时也会促进糖异生途径,在机体内积累糖原含量,来供应糖酵解过程,维持机体适应长期缺氧环境。

氧气的缺乏和机体内脂质平衡密切相关,缺氧应激也会促进一些和脂质合成相关的基因的上调,低氧诱导因子-2(HIF-2)是脂质代谢的重要调节因子,它能增加脂质储存能力^[38]。法尼基二磷酸法尼基转移酶1(fdfi1)是类固醇激素合成过程中的一种编码限速酶,有研究表明,fdfi1调节类固醇激素的生物合成在应对缺氧损伤中发挥重要作用^[39]。弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼长期生存在低氧环境中,因此鱼体内低氧诱导因子会高度表达,从而影响脂质合成通路上一些相关基因的表达,相比于齐口裂腹鱼,弧唇裂腹鱼和巨须裂腹鱼脂质合成生物过程中prpf19基因的高表达和fdfi1基因的低表达可能和低氧适应状态下的鱼体的脂质平衡相关。尤其是prpf19基因的高表达在鱼类长期适应低氧过程中起到十分重要的作用,具体作用机制需要进一步研究。

低氧诱导因子(HIF α)亚基有3种异构体

(HIF-1 α 、HIF-2和HIF-3 α)。HIF-1和HIF-2在调节红细胞生成、血管生成、细胞增殖和凋亡方面发挥着重叠的作用^[40]。在各种细胞类型中,血管内皮生长因子(VEGF)会在缺氧条件下被显著诱导,从而促进血管增殖,增加氧气的供应。由于VEGF的启动子区域含有缺氧反应元件(HRE),可以促进低氧诱导因子-1(HIF-1)的转录^[41]。缺氧条件下,点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)会促进体内VEGF的表达,从而促进血管增生,增加氧气的输送^[42]。组织蛋白酶Z(ctsz)是一种溶酶体半胱氨酸蛋白酶,ctsz被完全抑制会导致VEGF表达被抑制,从而影响血管生成^[43]。本文中ctsz基因在两种高原裂腹鱼中的表达显著提高,可能会促进两种高原裂腹鱼体内血管生成,增加氧气的输送,更好地应对低氧环境。Notch信号转导是一种进化上高度保守的信号通路,在血管发育中起着重要作用,hspg2基因是Notch信号的下流基因,Notch信号可以通过调节hspg2基因调控血管发育,所以hspg2基因在血管发育中起到十分重要的作用^[44]。kdr是VEGF调节血管发育的受体,其产生1个特别的信号,通过将纽带蛋白组装成黏着斑以及黏着斑激酶(FAK)和桩蛋白的酪氨酸磷酸化来调节细胞黏附,从而影响细胞迁移^[45]。综上所述,ctsz、hspg2和kdr 3个基因在血管发育中起到重要作用,两种高原裂腹鱼ctsz基因的高表达,hspg2和kdr基因的低表达可能会影响鱼体血管生成,促使高原裂腹鱼更好地长期适应低氧环境。

4 小结

通过弧唇裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼和巨须裂腹鱼 vs 齐口裂腹鱼肾脏转录组比较分析,总共筛选出199个共同差异表达基因,这些差异表达基因大多富集在糖代谢,脂质代谢合成生物过程和血管生成等与低氧适应相关的代谢通路,并且挖掘到了一系列与低氧适应相关的基因,尤其是eno3、fbp1 α 、prpf19和ctsz等基因的高表达可能在高原裂腹鱼长期适应低氧环境中起着重要作用。本研究揭示高原裂腹鱼适应低氧环境的内在机制变化,为进一步研究生物在低氧适应方面的生理变化过程提供了一种新的方法且为高原裂腹鱼是如何适应极端缺氧环境提供了新的见解。

参考文献:

- [1] ROYDEN L H, BURCHFIEL B C, VAN DER HILST R D. The geological evolution of the Tibetan Plateau [J]. *Science*, 2008, 321(5892): 1054-1058.
- [2] SCHEINFELDT L B, TISHKOFF S A. Living the high life: high-altitude adaptation [J]. *Genome Biology*, 2010, 11(9): 133.
- [3] LI Y L, REN Z M, SHEDLOCK A M, et al. High altitude adaptation of the schizothoracine fishes (Cyprinidae) revealed by the mitochondrial genome analyses [J]. *Gene*, 2013, 517(2): 169-178.
- [4] CHAN J, LI W W, HU X X, et al. Genetic diversity and population structure analysis of Qinghai-Tibetan plateau schizothoracine fish (*Gymnocypris dobula*) based on mtDNA D-loop sequences [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2016, 69: 152-160.
- [5] HE D K, CHEN Y F. Molecular phylogeny and biogeography of the highly specialized grade schizothoracine fishes (Teleostei: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2007, 52(6): 777-788.
- [6] 西藏自治区水产局. 西藏鱼类及其资源 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
Xizang Autonomous Region Fisheries Bureau. Fishes and fish resources in Xizang, China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995.
- [7] 李雷, 马波, 金星, 等. 西藏雅鲁藏布江中游裂腹鱼类优先保护等级定量评价 [J]. *中国水产科学*, 2019, 26(5): 914-924.
LI L, MA B, JIN X, et al. Quantitative assessment of the priority conservation of Schizothoracinae fishes in the middle Yarlung Zangbo River, Tibet [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(5): 914-924.
- [8] 石艳平, 李彦红, 廖茂雯, 等. 镉对齐口裂腹鱼抗氧化性能的影响 [J]. *生态学杂志*, 2020, 39(11): 3715-3721.
SHI Y P, LI Y H, LIAO M W, et al. Effects of cadmium on antioxidant properties of *Schizothorax prenanti* [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(11): 3715-3721.
- [9] KAPTANER B, ÜNAL G, DOĞAN E, et al. Histology of corpuscles of stannius in Lake Van fish (*Alburnus tarichi* Gildenstädt, 1814) (Cyprinidae) [J]. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 2021, 50(2): 404-410.
- [10] ZHU H P, LIU Z G, GAO F Y, et al. Characterization and expression of Na⁺/K⁺-ATPase in gills and kidneys of the Teleost fish *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis urolepis hornorum* and their hybrids in response to salinity challenge [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2018, 224: 1-10.
- [11] ZHOU T, GUI L, LIU M L, et al. Transcriptomic responses to low temperature stress in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 1145-1156.
- [12] PARK J S, GABEL A M, KASSIR P, et al. N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) functions as a molecular switch for cellular adaptation to hypoxia [J]. *eLife*, 2022, 11: e74031.
- [13] YU M C, ZHANG D S, HU P, et al. Divergent adaptation to Qinghai-Tibetan Plateau implicated from transcriptome study of *Gymnocypris dobula* and *Schizothorax nukiangensis* [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2017, 71: 97-105.
- [14] YANG L D, WANG Y, ZHANG Z L, et al. Comprehensive transcriptome analysis reveals accelerated genic evolution in a tibet fish, *Gymnodiptychus pachycheilus* [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2015, 7(1): 251-261.
- [15] ZHANG X Z, FU L, ZOU X Y, et al. Lung transcriptome analysis for the identification of genes involved in the hypoxic adaptation of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2022, 41: 100943.
- [16] ZHOU C W, XIAO S J, LIU Y C, et al. Comprehensive transcriptome data for endemic Schizothoracinae fish in the Tibetan Plateau [J]. *Scientific Data*, 2020, 7(1): 28.
- [17] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [18] CHOUGULE K M, WANG L Y, STEIN J C, et al. Improved RNA-seq workflows using CyVerse cyberinfrastructure [J]. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2018, 63(1): e53.
- [19] LI L, STOECKERT JR C J, ROOS D S. OrthoMCL: identification of ortholog groups for eukaryotic genomes [J]. *Genome Research*, 2003, 13(9): 2178-2189.
- [20] TRAPNELL C, WILLIAMS B A, PERTEA G, et al. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation [J]. *Nature Biotechnology*, 2010, 28(5): 511-515.
- [21] ROBINSON M D, MCCARTHY D J, SMYTH G K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 139-140.
- [22] ECLANCHER B, DEJOURS P. Control of respiration in teleostean fishes: existence of chemoreceptors, physiologically analogous to those of higher vertebrates [J]. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L'academie des Sciences. Serie D: Sciences Naturelles*, 1975, 280(4): 451-453.
- [23] 徐贺, 陈秀梅, 王桂芹, 等. 低氧胁迫在水产养殖中的研究进展 [J]. *饲料工业*, 2016, 37(2): 33-37.
XU H, CHEN X M, WANG G Q, et al. Research progress

- of hypoxia on aquaculture [J]. *Feed Industry*, 2016, 37(2): 33-37.
- [24] LEONARDUZZI G, SOTTERO B, POLI G. Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: the antioxidant concept revisited [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 128(2): 336-374.
- [25] WEN L Y. Uplift of the Tibetan Plateau influenced the morphological evolution of animals [J]. *Journal of Agricultural Science*, 2014, 6(12): 244-250.
- [26] WANG Y, YANG L D, WU B, et al. Transcriptome analysis of the plateau fish (*Triplophysa dalaica*): implications for adaptation to hypoxia in fishes [J]. *Gene*, 2015, 565(2): 211-220.
- [27] QI D L, CHAO Y, WU R R, et al. Transcriptome analysis provides insights into the adaptive responses to hypoxia of a schizothoracine fish (*Gymnocypris eckloni*) [J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 1326.
- [28] LUO H, LIU H P, ZHANG J, et al. Full-length transcript sequencing accelerates the transcriptome research of *Gymnocypris namensis*, an iconic fish of the Tibetan Plateau [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 9668.
- [29] ZHONG X P, WANG D, ZHANG Y B, et al. Identification and characterization of hypoxia-induced genes in *Carassius auratus* blastulae embryonic cells using suppression subtractive hybridization [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 152(2): 161-170.
- [30] MA J L, QIANG J, TAO Y F, et al. Multi-omics analysis reveals the glycolipid metabolism response mechanism in the liver of genetically improved farmed Tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*) under hypoxia stress [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 105.
- [31] SHI Y, LIU Z, ZHANG Q, et al. Phosphorylation of seryl-tRNA synthetase by ATM/ATR is essential for hypoxia-induced angiogenesis [J]. *PLoS Biology*, 2020, 18(12): e3000991.
- [32] NILSSON G E, ÖSTLUND-NILSSON S. Does size matter for hypoxia tolerance in fish? [J]. *Biological Reviews*, 2008, 83(2): 173-189.
- [33] PALMER B F, CLEGG D J. Oxygen sensing and metabolic homeostasis [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2014, 397(1/2): 51-58.
- [34] LIU J W, PLAGNES-JUAN E, GEURDEN I, et al. Exposure to an acute hypoxic stimulus during early life affects the expression of glucose metabolism-related genes at first-feeding in trout [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 363.
- [35] CHEN J Y, ZHANG Z Z, NI J J, et al. ENO3 promotes colorectal cancer progression by enhancing cell glycolysis [J]. *Medical Oncology*, 2022, 39(6): 80.
- [36] LU K, WU J Q, ZHANG Y P, et al. Role of phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (*pck1*) in mediating nutrient metabolism in zebrafish [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2023, 23(1): 67.
- [37] PAN G T, ZHANG P, CHEN A Y, et al. Aerobic glycolysis in colon cancer is repressed by naringin via the *HIF1A* pathway [J]. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 2023, 24(3): 221-231.
- [38] SUZUKI T, SHINJO S, ARAI T, et al. Hypoxia and fatty liver [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(41): 15087-15097.
- [39] LIN X, WANG H Y, PU X Y. Protective mechanism of *fdft1* in steroid hormone synthesis pathway in SD rats with acute hypoxic injury [J]. *Genes & Genomics*, 2020, 42(11): 1319-1326.
- [40] MAJMUNDAR A J, WONG W J, SIMON M C. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress [J]. *Molecular Cell*, 2010, 40(2): 294-309.
- [41] ZHU C D, WANG Z H, YAN B. Strategies for hypoxia adaptation in fish species: a review [J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2013, 183(8): 1005-1013.
- [42] YU R M K, NG P K S, TAN T F, et al. Enhancement of hypoxia-induced gene expression in fish liver by the aryl hydrocarbon receptor (AhR) ligand, benzo [*a*] pyrene (BaP) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, 90(3): 235-242.
- [43] BÜHLER A, BERGER S, BENGSCHE F, et al. Cathepsin proteases promote angiogenic sprouting and laser-induced choroidal neovascularisation in mice [J]. *Experimental Eye Research*, 2013, 115: 73-78.
- [44] ZHAO X C, ZHANG T M, YAN Y Q, et al. Notch signaling regulates vessel structure and function via Hspg2 [J]. *Gene*, 2022, 826: 146439.
- [45] SATO Y, KANNO S, ODA N, et al. Properties of two VEGF receptors, Flt-1 and KDR, in signal transduction [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 902(1): 201-207.

Transcriptome comparative analysis of kidney tissues of three plateau Schizothoracinae fish species at different altitudes

TANG Xianhu^{1,2}, HAO Tian^{1,2}, JIANG Shouwen^{3,4}, WU Zhichao^{3,4}, XU Qianghua^{1,2,3}

(1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Ocean Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 3. International Research Center for Marine Biosciences, Ministry of Science and Technology, Shanghai 201306, China; 4. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Subfamily has lived in the anoxic environment of Qinghai-Tibet Plateau for a long time, which is a natural biological model to study the adaptation mechanism of hypoxia. Transcriptome analysis was made on the kidneys of three species of *Schizothorax curvilabiatus* and *Schizothorax macropogon* at high altitude (> 3 600 m) and *Schizothorax prenanti* at low altitude (< 700 m). By comparing and analyzing the renal transcriptome of *Schizothorax unicornis*, *Schizothorax megacephalus* and *Schizothorax homostoma*, 504 and 478 differentially expressing genes were screened out respectively, among which 199 genes were commonly differentially expressed. The enrichment analysis of common differential genes by GO (Gene Ontology) and KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) showed that the two groups of common differential genes were mainly enriched in glycolysis/glycogen production, lipid biosynthesis, and angiogenesis. Among them, the high expression of *eno3*, *fbp1 α* , *prpf19*, and *ctsz* may play an important role in the long-term adaptation of *Schizothorax* at high altitude to hypoxic environment. This study provides a new idea for revealing the long-term hypoxia adaptation of plateau fish.

Key words: plateau; schizothoracine; transcription analysis; carbohydrate metabolism; hypoxia