

管角螺触角转录组及嗅觉受体基因研究

吴傲欢^{1,2}, 陈晓玲³, 孙敬锋¹, 张文文², 吴梅生⁴, 王江勇²

1. 天津农学院, 天津 300384

2. 惠州学院, 广东 惠州 516007

3. 广东省农业技术推广中心, 广东 广州 510145

4. 惠州市吉泰蚝苗培育基地有限公司, 广东 惠州 516353

摘要: 管角螺 (*Hemifusus tuba* Gmelin) 是一种具有重要经济价值的海洋腹足类生物, 其嗅觉感受机制尚未阐明。本研究采用高通量测序平台 (Illumina HiSeq) 对管角螺触角进行转录组测序、序列组装、功能注释及差异表达基因分析, 通过测序数据组装、注释、数据库序列检索、序列比对及差异表达基因分析等生物信息学分析, 共获得 61 114 条 Uni-genes, 平均长度为 1 115 bp, N50 为 1 599 bp, GC 含量为 42.9%。鉴定出 10 个嗅觉受体基因 (*HetOR1*—*HetOR10*), qRT-PCR 分析显示这些基因具有组织特异性表达模式: *HetOR2*、*HetOR3*、*HetOR7*—*HetOR10* 在触角中高表达; *HetOR1* 在鳃中高表达; *HetOR5* 在腹足中高表达; *HetOR6* 在肝胰腺中高表达; *HetOR4* 在触角和外套膜中高表达。结果表明: 管角螺嗅觉受体基因可能参与不同组织的特定功能调控, 为理解腹足类化学感受的分子机制提供了基础数据。

关键词: 管角螺; 嗅觉受体基因; 触角; 转录组

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Study on antennal transcriptome and olfactory receptor genes of *Hemifusus tuba*

WU Aohuan^{1,2}, CHEN Xiaoling³, SUN Jingfeng¹, ZHANG Wenwen², WU Meisheng⁴, WANG Jiangyong²

1. Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

2. Huizhou University, Huizhou 516007, China

3. Agricultural Technology Extension of Guangdong Province, Guangzhou 510145, China

4. Huizhou Jitai Oyster Seedling Cultivation Base Co., Ltd., Huizhou 516353, China

Abstract: *Hemifusus tuba* Gmelin is a marine gastropod species of significant economic importance, whose olfactory sensing mechanisms remain to be elucidated. The antennae of *H. tuba* were subjected to transcriptome sequencing using the Illumina HiSeq high-throughput sequencing platform. Bioinformatics analyses, including sequence assembly, functional annotation, database sequence retrieval, sequence alignment, and differential gene expression analysis, were performed to identify olfactory genes. The transcriptome sequencing generated 61 114 unigenes with an average length of 1 115 bp, an N50 of 1 599 bp, and a GC content of 42.9%. Through homology comparison, 10 olfactory receptor genes were identified and systematically named *HetOR1*—*HetOR10*. qRT-PCR analysis reveals tissue-specific expression patterns: *HetOR2*, *HetOR3*, *HetOR7*—*HetOR10* exhibited relatively high expression levels in the antennae; *HetOR1* was highly expressed in the gill; *HetOR5* showed elevated expression in

收稿日期: 2025-03-25; 修回日期: 2025-05-26

基金项目: 广东省教育厅海洋贝类生态养殖与病害防控创新团队项目 (2021KCXTD057); 广东省现代化海洋牧场适养品种核心技术攻关项目 (2024-MRB-00-001); 惠州学院教授、博士启动项目 (15604220001)

作者简介: 吴傲欢 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物学。E-mail: wah0410@163.com

通信作者: 王江勇 (1971—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为贝类病害。E-mail: wjy104@163.com

the foot; *HetOR6* was predominantly expressed in the hepatopancrea; *HetOR4* displayed high expression in both the antennae and mantle. The results suggest that the olfactory receptor genes in *H. tuba* might be involved in tissue-specific functional regulation, which provides fundamental data for understanding the molecular mechanisms of chemoreception in gastropods.

Keywords: *Hemifusus tuba* Gmelin; Olfactory receptor genes; Antennal; Transcriptome

管角螺 (*Hemifusus tuba* Gmelin) 属软体动物门、腹足纲、新腹足目、盔螺科、角螺属, 是一种浅海经济腹足类生物^[1], 主要分布于中国东南沿海。我国于 20 世纪 90 年代开始研究管角螺^[2], 在人工育苗^[3-4]、繁殖生物学^[5-7]、遗传多样性^[8-9]等方面均取得了一定成果。管角螺营养丰富, 味道鲜美, 经济价值高, 具有良好的人工养殖前景。近年来, 其自然资源匮乏问题愈发严重, 海区污染现象也愈发频繁。对于长期主要依靠人工打捞获取的管角螺, 其数量远不能满足市场需求, 故迫切需要对其开展系统性研究。

嗅觉是一种感官, 在生物生存过程中具有不可或缺的作用。嗅觉器官可感知气味分子以获取周围环境的信息, 通过识别这些外源性化学物质, 调控生物的栖息地选择、食物定位、求偶、交配和防御天敌等行为^[10]。研究表明, 腹足类的触角是其接收周围环境信息、进行化学感受的化学感受器官之一^[11]。腹足类的触角通常位于头部两侧, 在接受外界环境信息时会明显伸长并伴有摆动。在对腹足类触角的研究中, Horvath 等^[12]对静水椎实螺 (*Lymnaea stagnalis*) 的触角、腹足前端等部位利用高效液相色谱及质谱联用进行分析, 发现受检区域均有低分子质量信号分子存在。随后采用免疫组织化学双标记法观察受检区域, 发现神经元和外源性 5-羟色胺纤维在轴突树突型、轴突胞体型和轴突轴突型 3 种突触处紧密排列。腹足类嗅觉的基础依赖于配体-受体识别系统, 分布于嗅上皮的嗅觉神经元通过嗅觉受体与周围环境中的化学分子结合, 触发 G 蛋白介导的跨膜信号转导, 最终将化学信号转变为电信号传递至神经中枢。整个过程中, 嗅觉受体的配体结合域多样性决定了气味识别的广泛程度, 是构成嗅觉行为的重要分子基础^[13]。Buck 和 Axel^[14]于 1991 年首次在褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 中鉴定出嗅觉受体基因超家族。G 蛋白偶联受体家族占据现代临床药物靶点的 40%, 在药物研究与开发领域同样占有重要地位^[15]。嗅觉受体不仅存在于嗅觉器官, 还广泛存在于生物体的

其他组织中并发挥着重要作用, 该现象称为异位现象^[16]。近年来, 研究人员在非嗅觉组织中发现嗅觉受体的异位表达现象增多^[17], 在非嗅觉组织中, 同一细胞上存在多个嗅觉受体同时进行表达, 并且不同的嗅觉受体在同一细胞中发挥不同的功能, 分别介导不同的信号通路。同一嗅觉受体在非嗅觉组织中, 甚至同一细胞中, 其受体构象、信号枢纽和功能输出也不相同^[18]。哺乳动物的精子中也有嗅觉受体基因的表达, 并且该嗅觉受体与精子鞭毛的调节存在密切关系, 据此推断该嗅觉受体对精子活力具有重要作用^[19]。不仅如此, 近年肿瘤基因组学研究揭示, 嗅觉受体在多种恶性肿瘤中呈现谱系特异性异位表达模式, 其异常激活与致癌转化进程密切相关。临床样本分析证实, OR51E2 (前列腺癌)、OR2AT4 (慢性淋巴细胞白血病)、OR1D2 (结直肠癌) 等受体亚型在相应肿瘤组织中均呈显著高表达, 且其表达水平与临床分期正相关 ($p < 0.01$)^[20]。嗅觉受体的异位表达涉及生物学功能、恶性肿瘤、药物靶点等多个领域, 具有较高的研究价值。

本研究对管角螺嗅觉感知系统进行深度解析, 突破了管角螺研究多集中于形态分类和生态分布的局限, 利用高通量测序技术对管角螺主要嗅觉器官——触角进行测序分析, 从分子层面解析嗅觉受体基因的表达特征。通过同源比对鉴定嗅觉受体基因, 揭示管角螺嗅觉受体基因家族的特异性表达规律, 为进一步了解贝类嗅觉系统生理功能和分子机制提供理论基础, 以填补腹足类嗅觉研究的空白。

1 材料与方法

1.1 实验设计

实验在广东省揭阳市惠来县进行。实验用管角螺于 2024 年 3 月购自惠州市吉泰蚝苗培育有限公司, 体质量 (62.25 ± 29.46) g, 壳长 (135.78 ± 8.82) mm, 壳宽 (62.37 ± 2.97) mm, 壳高 (57.92 ± 2.48) mm, 将 20 只螺统一放于水泥池一侧。实验组管角螺在经过 5 d 的饥饿处理后投喂牡蛎肉, 取受到饵料刺激有捕食倾向的管角螺 9 只, 取其触角、腹足、外套

膜、肝胰腺和鳃;空白对照组管角螺则经过 5 d 饥饿处理后直接取上述动物组织。所取得的样品经过液氮速冻后放入 -80 ℃ 冰箱保存备用。

1.2 总 RNA 提取与质量检测

所取样品设 3 个生物学重复,用液氮充分研磨,用 TRIzol 法提取总 RNA。用核酸蛋白仪 Nano Drop 2000 检测 RNA 样品的浓度和纯度,1% (w) 琼脂糖凝胶检测 RNA 完整性。

1.3 cDNA 文库构建与测序

对上文中经过浓度和质量检测的管角螺触角 RNA 使用 Oligo (dT) 磁珠富集其中带有 poly-A mRNA,借助超声仪将 mRNA 片段化,以任意六聚体引物启动第一链 cDNA 合成,经 RNase H 介导的模板切换合成双链 cDNA,随后进行双链 cDNA 的纯化,纯化后的双链 cDNA 与 Illumina 平台特异性接头连接后,PCR 扩增以生成 RNA-seq 文库,之后在 Illumina Novaseq 6000 平台采用 PE150 完成测序。cDNA 文库的构建与测序由广州基迪奥生物科技有限公司进行。

1.4 转录本的拼接和组装

借助 fastp 软件对原始下机数据 raw reads 过滤,去除包含接头及长度小于 50 bp、平均质量 Q20 以下的 reads,得到 clean reads,对分析碱基的组成及质量分布展开分析。借助 Trinity 软件对 clean reads 进行组装,通过 N50 数值对组装结果予以评估。对组装的 Unigene 进行长度分布统计。运用 BUSCO 软件 (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) 评估组装的完整性。Unigene 基本注释主要通过 BLASTUnigene 序列比对到 Nr (Non-redundant proteins)、SwissProt、KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)、GO (Gene Ontology) 和 KOG (euKaryotic Orthologous) 五大数据库获得。

1.5 嗅觉受体基因鉴定

基于转录组测序结果,利用基迪奥生物 Omic-smart 平台 (<https://www.omicsmart.com/>),在基因表达量分析中,以每千个碱基的转录每百万映射读取的 fragments (Transcripts per kilobase of exonmodel per million mapped reads, TPM) 评估表达量。采用 edgeR 软件以 $\log_2$ Foldchange>1 或 F 显著性 $p<0.05$ 作为筛选差异表达基因的条件。以 olfactory recertor (OR) 或 G protein-coupled receptor (GPCR) 作为嗅觉基因关键词对差异基因注释结果

进行筛选,再结合已知相近物种的嗅觉受体基因序列进行 blast 本地比对进行验证,以 e 值 $\leq 1\times 10^{-5}$ 、一致性百分比 (Percent identity)>90% 作为鉴定标准,最终确定是否为嗅觉基因。

1.6 荧光定量 RT-PCR

各组织的 RNA 提取方法详见 1.2。反转录过程选用宝日医生物技术 (北京) 有限公司的 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒合成 cDNA,具体操作严格按照试剂盒说明书执行。根据转录组测序获得鉴定出的嗅觉受体基因的序列,借助 Primer Premier 5.0 软件设计引物 (表 1),并在 NCBI 中使用 primer BLAST 以验证引物的特异性,选用 *Gapdh* 基因作为内参基因,荧光定量 PCR 过程选用南京诺唯赞生物科技股份有限公司的 ChamQ SYBR Color qPCR Master Mix

表1 引物信息
Table 1 Primer information

引物名称 Primer name	引物序列 (5'—3') Primer sequence (5'—3')
HETOR1 F	GCCTTGCTCCTGCCTGATGA
HETOR1 R	ATCCACGGAGCGTTTCTGC
HETOR2 F	GCTCCCTCTACACCCACTTCG
HETOR2 R	GGCAGCGGACATCATCTTTA
HETOR3 F	GCCTCGTTACTGCCTGTTTG
HETOR3 R	TTCTTCCCTTTGCCCTTCAT
HETOR4 F	GCGTGTCTTCCTGAGCATCC
HETOR4 R	CCTGGTGGTGAGGTCGTCT
HETOR5 F	GCCTTGCTCCTGCCTGATGA
HETOR5 R	ATCCACGGAGCGTTTCTGC
HETOR6 F	AATCATTCACATACGACACCG
HETOR6 R	GGCTTTGCATTACAGGCTAC
HETOR7 F	CCACAACAACCGCAAGCC
HETOR7 R	TCCAGTTCGCCGTGCTCC
HETOR8 F	GATGCCCCGCTACTGTCTG
HETOR8 R	CGTCAATCTCGCCCTCT
HETOR9 F	ACCAACGAGTACCACAACAACC
HETOR9 R	GCTCCCTCAGTCCAGAATG
HETOR10 F	CACCTGAGTCCCAACACCTATG
HETOR10 R	GTCGCCGTTTGCCTTCT
GAPDH F	TGTTTGTGGCGTAAACGCAG
GAPDH R	AGTTAGTGGTGACGAAGCA

(Low ROX Premixed), 具体操作严格按照试剂盒说明书执行。实验设置 3 个生物学重复, 每个样品做 3 个技术重复。

2 结果

2.1 管角螺触角转录组测序质量统计结果

由表 2 可知, 转录组测序共获得 41 023 678 条 raw reads, 去除带接头和低质量的 reads 后, 共得到有效读段 42.35 Gb, 40 826 862 条高质量的 clean reads, Q20 碱基百分比为 97.61%, Q30 碱基百分比为 93.64%。运用 Trinity 对总 clean reads 进行组装, 共得到 Unigenes 61 114 条, 平均长度为 1 115 bp, N50 为 1 599 bp, GC 含量为 42.93%, Unigenes 长度分布情况如表 3 所示, 按照数量多少由高到低排序依次为: 501~800 bp (15 128 条, 24.75%)、801~1 500 bp (14 888 条, 24.36%)、301~500 bp (13 566 条, 22.20%)、1 501~2 500 bp (7 431 条, 12.16%)、

>2 500 bp (5 495 条, 8.99%)、201~300 bp (4 606 条, 7.54%)。利用 BUSCO 对转录组组装完整性进行评估得分, 结果显示组装完整性较好。

表2 管角螺触角转录组组装结果
Table 2 Antennal transcriptome assembly results of *H. tuba*

项目 Item	数值 Value
原始读数 Raw reads	41 023 678
有效读数 Clean reads	40 826 862
总数据量 Total base/Gb	42.35
Q20 占比 Proportion of Q20/%	97.61
Q30 占比 Proportion of Q30/%	93.64
GC 含量 GC content/%	42.93
Unigenes 数量 Unigenes number	61 114
Unigenes 平均长度 Mean length of Unigenes/bp	1 115
Unigenes N50 长度 Unigenes N50 length/bp	1 599

表3 管角螺触角转录组序列长度统计结果
Table 3 Statistics results of antennal transcriptome sequence length of *H. tuba*

项目 Item	长度范围 Length range/bp					
	201~300	301~500	501~800	801~1 500	1 501~2 500	>2 500
数量 Number	4 606	13 566	15 128	14 888	7 431	5 495
占比 Proportion/%	7.54	22.20	24.75	24.36	12.16	8.99

2.2 转录组基因注释

对组装完成的 Unigenes, 依次与 Nr、Swiss-Port、KEGG、GO 和 KOG 五大数据库开展比对分析, 注释到 GO 数据库 16 258 条, 数量最多, 注释到 KEGG 数据库 4 986 条, 数量最少; 在所有数据库中均注释成功的 Unigenes 有 846 条, 至少成功注释到一个数据库的 Unigenes 有 8 859 条。

基于 Nr 数据库的注释信息, 能够明晰转录本序列与相关物种间的相似程度。通过对同源序列的分析, 可进一步推断基因所具有的功能。管角螺触角转录组共有 16 118 条 (26.37%) Unigenes 注释到 Nr 数据库中, 其中与福寿螺 (*Pomacea canaliculata*) 的相似度最高, 占比 50.57%, 其后依次为古氏滩栖螺 (*Batillaria attramentaria*)、红鲍 (*Haliotis rufescens*)、海蜗牛 (*Aplysia californica*)、神盾螺 (*Gigantopelta aegis*)、太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、三边海天牛 (*Elysia marginata*)、海参 (*Apostichopus japonicus*)、绿叶海蛞蝓 (*Plakobranthus ocellatus*) 和

厚壳玉黍螺 (*Littorina littorea*), 其他物种共占比 17.36% (图 1)。

2.3 Unigenes 功能分类

基于 GO 数据库的功能注释结果显示 (图 2), 16 258 个 Unigenes 被成功注释到细胞组分 (Cellular component)、分子功能 (Molecular function) 以及生物过程 (Biological process) 的 55 个亚类。细胞组分中, 被注释为细胞解剖实体 (Cellular anatomical entity) 的 Unigenes 最多 (13 785 条), 其次为含蛋白质复合物 (Protein-containing complex); 分子功能中, 被注释为结合 (Binding) 的 Unigenes 最多 (11 158 条), 其次为催化活动 (Catalytic activity); 生物过程中, 被注释为细胞过程 (Cellular process) 的 Unigenes 最多, 共 14 889 条, 其次为代谢过程 (Metabolism process)。在 GO 数据库的注释中, 共有 47 个 Unigenes 被注释为 G 蛋白偶联受体。

KEGG 数据库比对分析后获得被注释的 Unigenes 15 364 条, 注释到代谢 (Metabolism)、遗

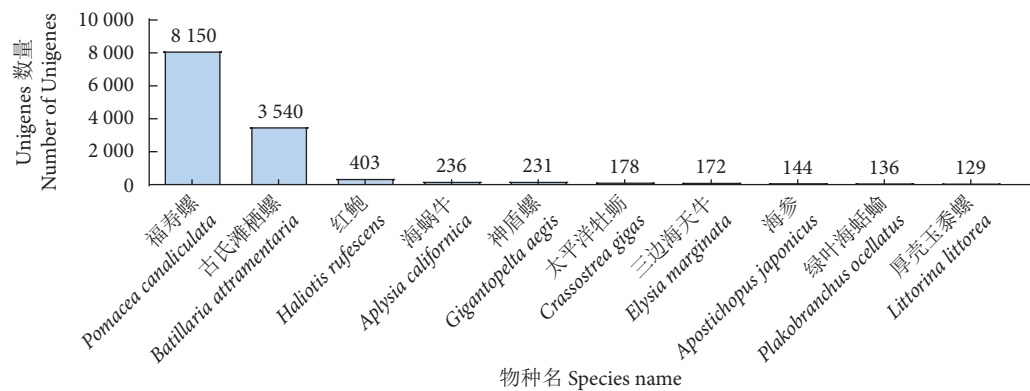


图1 Nr 数据库中注释的管角螺 Unigenes 的物种分布图

Fig. 1 Species distribution of *H. tuba* in Nr database

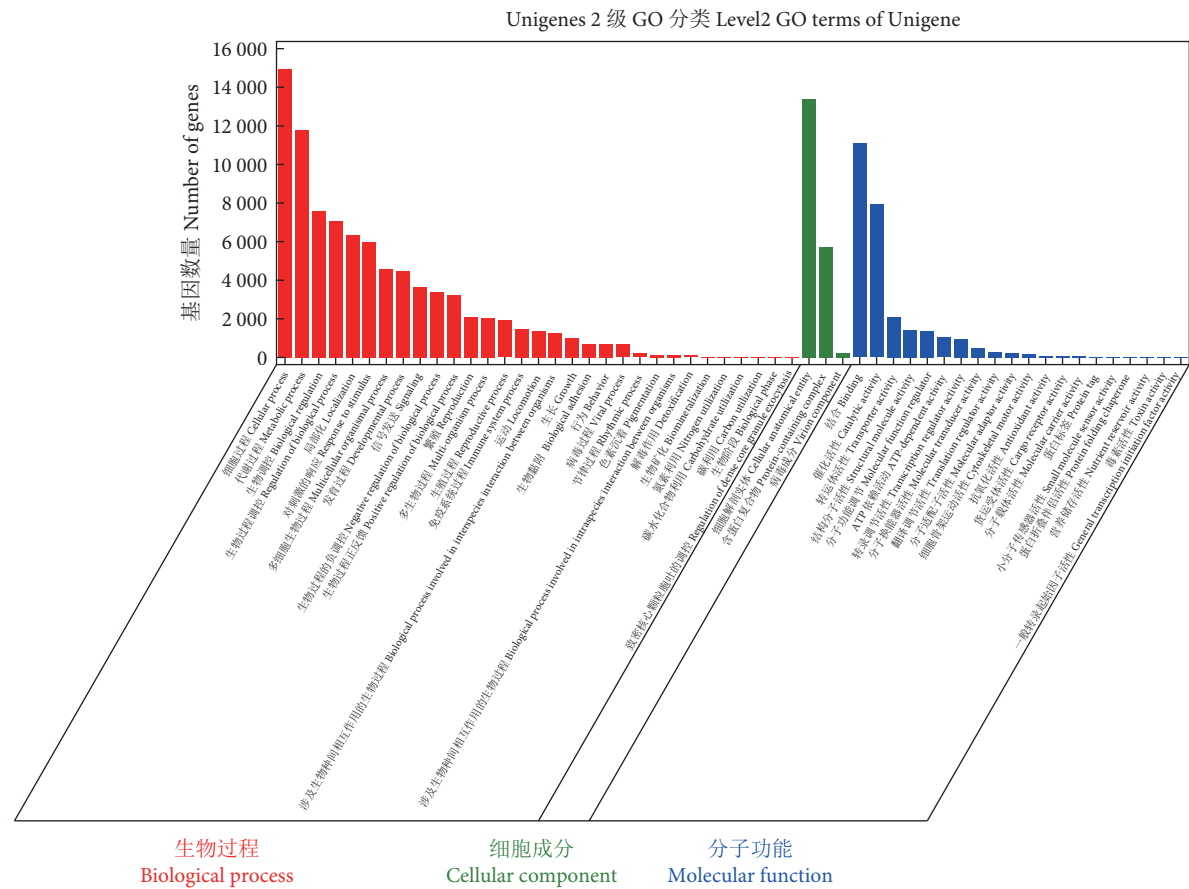


图2 管角螺 Unigenes 的 GO 分类

Fig. 2 GO classification of Unigenes of *H. tuba*

传信息处理 (Genetic information processing)、环境信息处理 (Environmental information processing)、细胞过程 (Cellular process) 和有机系统 (Organismal systems) 5 大通路中。将 5 大通路中各个通路由高到低依次排序为: 代谢 (3 421 条)、遗传信息处理 (1 997 条)、环境信息处理 (1 125 条)、细胞过程 (1 065 条) 和有机系统 (415 条)。按照所注释到的 Unigenes 数量对其进行排序, 数量最多的前 5 条通路分别是代谢通路中的全局与概述

图谱 (Global and overview maps)、遗传信息处理通路中的翻译 (Translation)、细胞过程中的运输和分解代谢 (Transport and catabolism)、环境信息处理中的信号传导 (Signal transduction) 和有机系统中的折叠、分拣、降解 (Folding, sorting, degradation) (图 3)。

通过 KOG 比对注释 COG, 共预测了 9 115 条 Unigenes 的功能 (图 4), 其中与信号传导机制相关的有 1 633 条, 占比 17.92%。

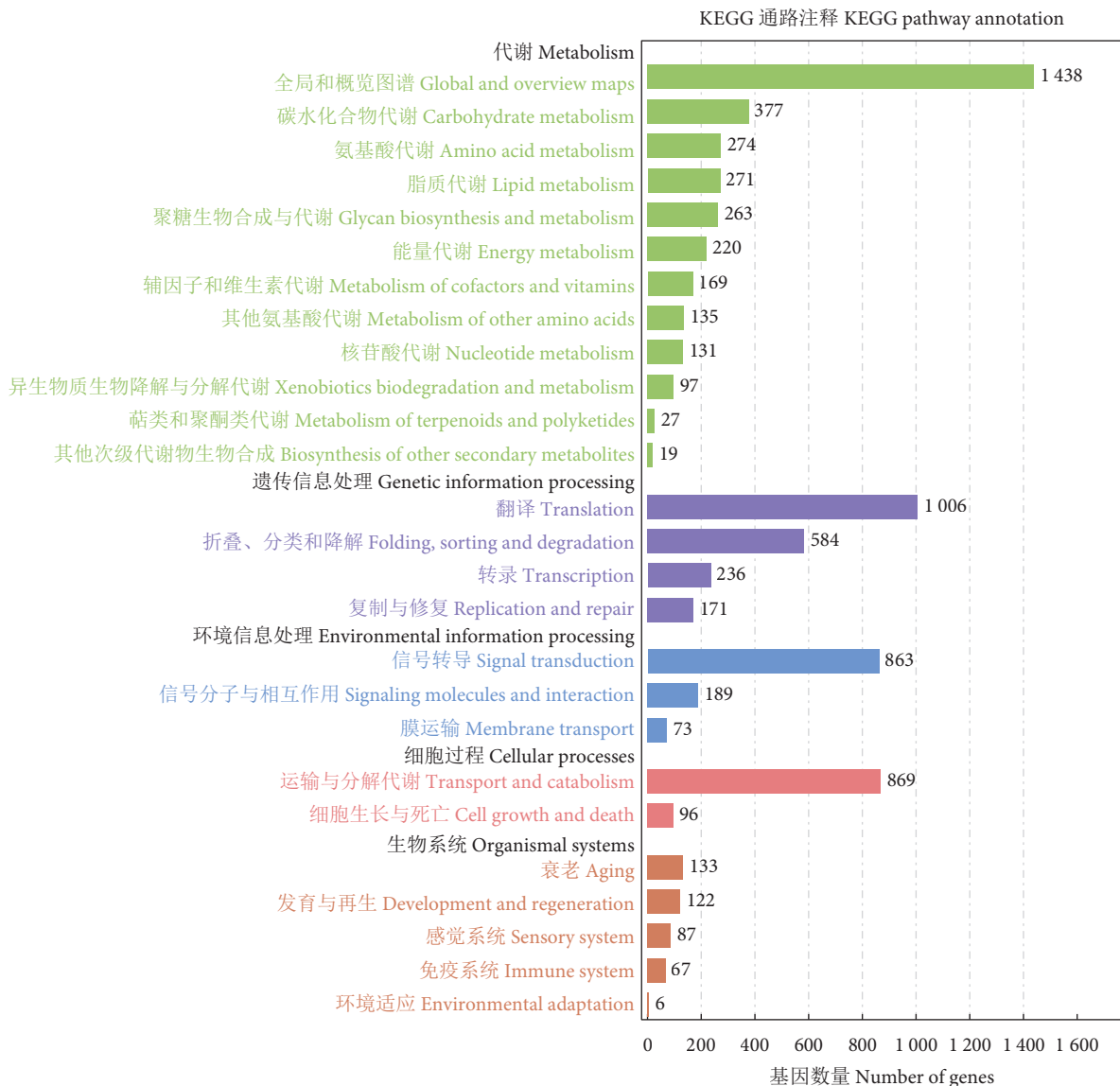


图3 管角螺 Unigenes 的 KEGG 功能分类
Fig. 3 Functional classification of Unigenes KEGG of *H. tuba*

2.4 差异基因及 KEGG 通路分析

利用 TPM 值对管角螺触角组织进行差异基因表达量分析,触角中表达量较高的 ($\text{TPM} \geq 1$) 有 26 062 个,不表达基因 ($\text{TPM}=0.001$) 有 11 237 个。采用 DESeq 进行分析,实验组和对照组之间共筛选到 5 746 个差异基因,其中有 556 个上调表达基因,5 190 个下调表达基因,上、下调表达基因数量差异较大。

对 KEGG 差异通路分析,结果显示磷脂酰肌醇信号通路 (Phosphatidylinositol signal pathway) 存在差异。该通路管角螺嗅觉相关。通路中磷脂酶 C (PLC) 和蛋白激酶 C (PKC) 活性显著上升。

2.5 嗅觉受体相关基因的筛选

通过同源筛选策略,本研究成功鉴定出 10 个

候选嗅觉受体基因,系统命名为 *HetOR1*—*HetOR10*,其开放阅读框 (ORF) 均完整。对其氨基酸等电点进行预测,最终获得 3 个酸性受体: *HetOR1* (pI 4.74)、*HetOR2* (pI 4.21)、*HetOR5* (pI 3.88); 7 个碱性受体 *HetOR3* (pI 9.69)、*HetOR4* (pI 8.96)、*HetOR6* (pI 9.71)、*HetOR7* (pI 10.07)、*HetOR8* (pI 9.42)、*HetOR9* (pI 9.87)、*HetOR10* (pI 10.57)。所有候选嗅觉受体基因均未预测到 N 端信号肽 (表 4)。

2.6 管角螺嗅觉受体基因在不同组织的分布表达

利用荧光定量 RT-PCR 技术对管角螺不同组织中的嗅觉受体基因进行分布表达检测,结果表明 (如图 5),管角螺的 10 个嗅觉受体基因具有组织特异性表达现象。其中 *HetOR2*、*HetOR3*、*HetOR7*—*HetOR10* 在触角中相对表达量较高; *HetOR1* 在鳃

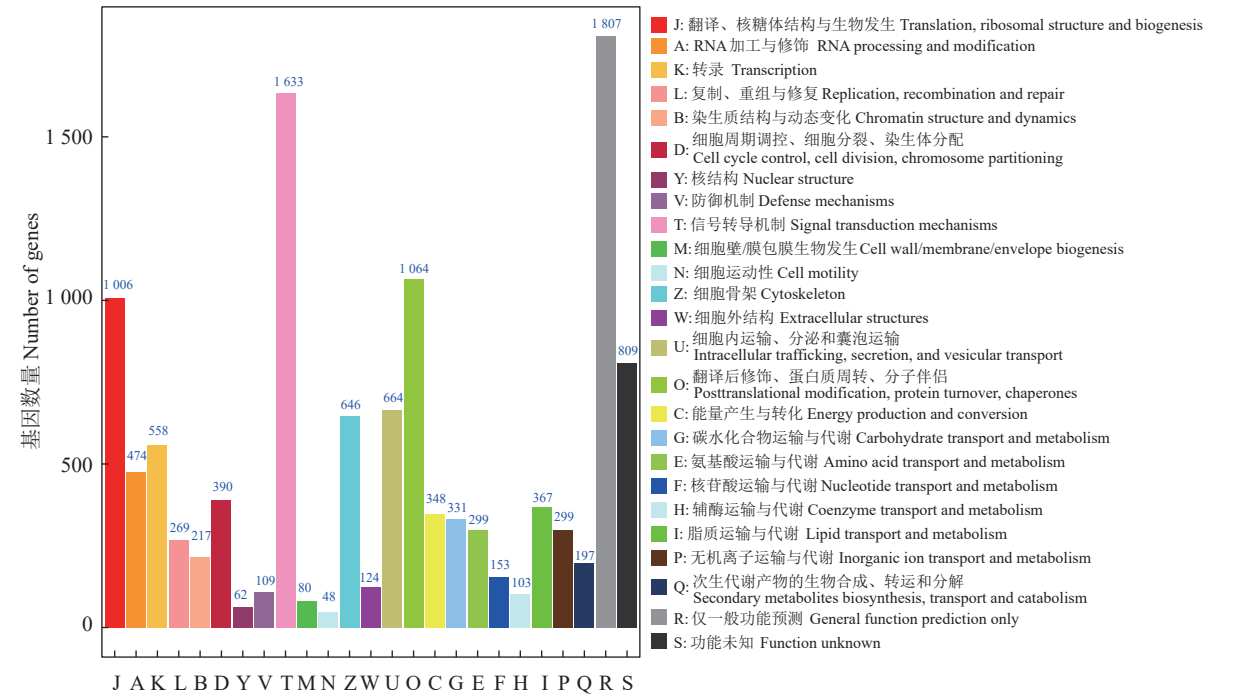


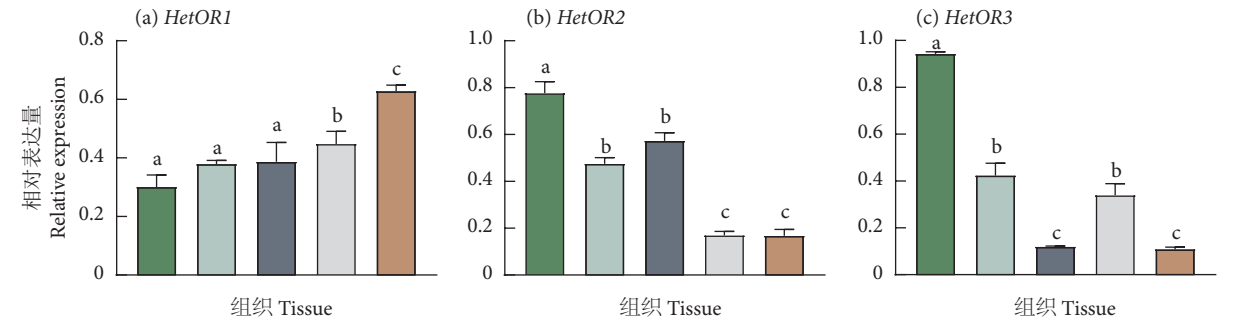
图4 管角螺 Unigenes 的 KOG 分类图

Fig. 4 KOG classification map in Unigenes of *H. tuba*

表4 管角螺嗅觉受体基本信息统计表

Table 4 Statistical table of basic information of olfactory receptors in *H. tuba*

受体名称 Receptor name	氨基酸数 Amino acid number	ORF 是否完整 Whether ORF is complete	分子质量 Molecular mass/kDa	等电点 Isoelectric point	信号肽 Signal peptide
HetOR1	153	是	16.57	4.74	NO
HetOR2	156	是	16.72	4.21	NO
HetOR3	189	是	20.95	9.69	NO
HetOR4	236	是	27.35	8.96	NO
HetOR5	99	是	10.90	3.88	NO
HetOR6	328	是	35.95	9.71	NO
HetOR7	394	是	43.21	10.07	NO
HetOR8	134	是	15.39	9.42	NO
HetOR9	62	是	7.11	9.87	NO
HetOR10	131	是	14.16	10.57	NO



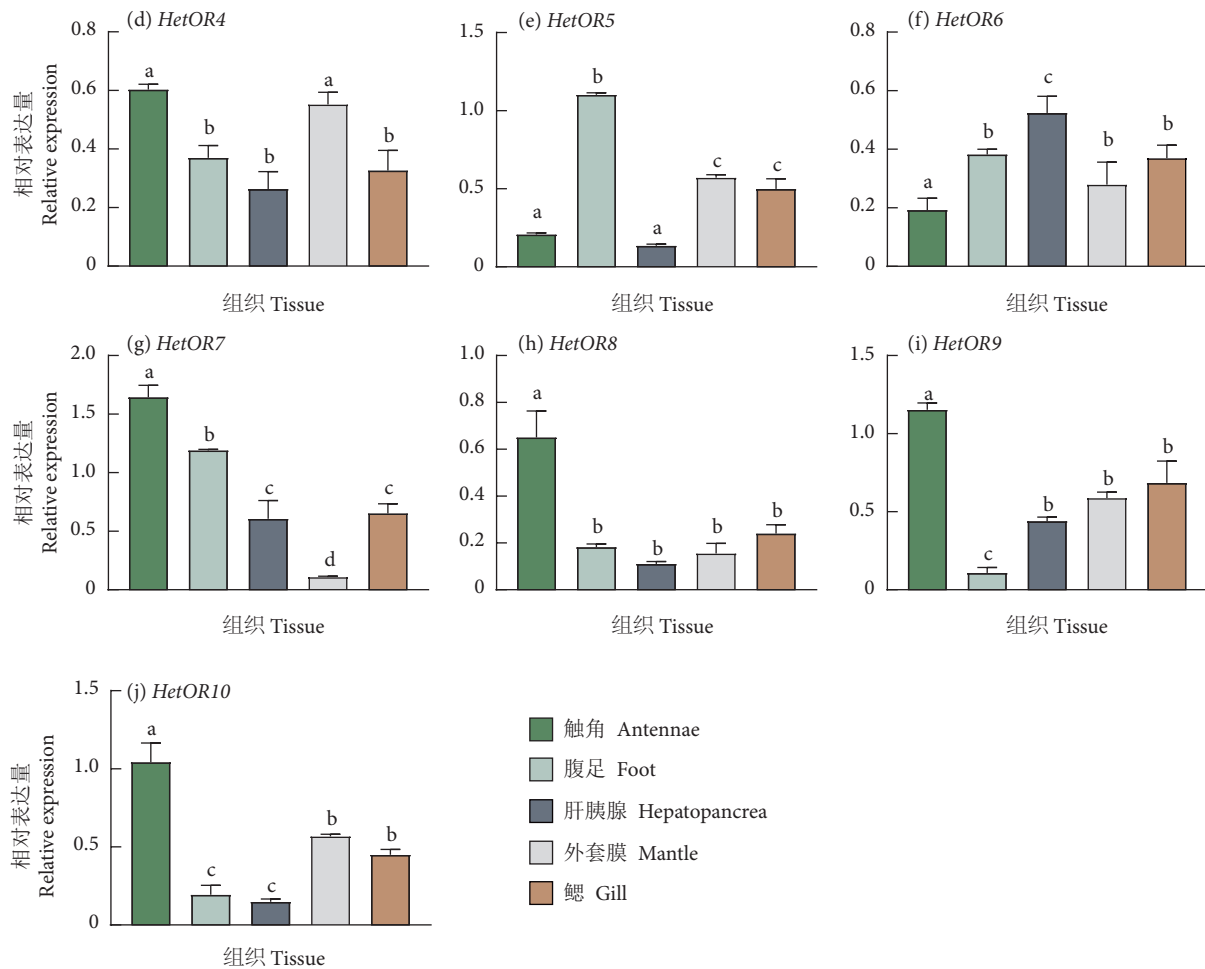


图5 管角螺 *HetOR* 基因在不同组织中的表达分布图

注：不同小写字母表示实验组间差异显著 ($p < 0.05$)。

Fig. 5 Expression distribution map of *HetOR* gene in different tissues of *H. tuba*

Note: Different lowercase letters represent significant differences among the experimental groups ($p < 0.05$).

中表达量高；*HetOR5* 在腹足中表达量较高；*HetOR6* 在肝胰腺中表达量较高；*HetOR4* 在触角和外套膜上表达量较高。

3 讨论

3.1 管角螺触角转录组组装结果及功能注释

近年来，随着高通量测序技术的普及和组学研究的日益兴盛，多个学科得到了快速发展与革新^[21]。通常情况下，转录组组装结果中 N50 与组装完整性有关，Q30 达到 80% 以上时，说明测序质量较高^[22]。对管角螺触角转录组测序得到的 clean reads 进行组装，获得 61 114 个 Unigenes，Q30 达到 93.64%；这说明测序数据质量好、完整度高，组装结果良好，具有较高可信度。但本次测序分析结果中，未被注释的 Unigenes 数量有 44 856 个 (73.39%)。未被注释的 Unigenes 数量较多，推测原

因是该转录组为无参转录组，且与数据库中物种的序列同源性不高，没有达到阈值；另外，还可能与部分长度过短的序列无法比对、部分 Unigenes 属于非编码序列或未知基因等有关^[23]。结合 Nr 数据库进行同源序列比对，注释结果显示与福寿螺的相似度最高。福寿螺属于陆生腹足类动物，其所处环境与管角螺具有较大差异，两者相似度较高的原因推测是 Nr 数据库中海洋贝类的数据较少，大量与管角螺相近的物种尚未录入数据库，这从侧面反映了开展海洋贝类基因组学和转录组学研究的迫切性。KEGG 注释了 15 364 条 Unigenes，其中注释 Unigenes 数量排名前几位的通路包含信号传导通路，据此推测管角螺触角在感受和传递信息分子刺激信号方面发挥重要作用^[24]。通过 TPM 值评估对照组和实验组中的差异表达基因，表达丰度较高的 ($TPM \geq 1$) 共 26 062 个，其中包含 112 个上调基因和

4 397 个下调基因, 这反映了管角螺触角在不同环境下生理过程中的差异特性。

3.2 管角螺触角磷脂酰肌醇信号通路差异分析

对差异基因定位的信号通路进行分析, 结果表明与管角螺嗅觉系统关系密切的磷脂酰肌醇 (PI) 信号通路存在差异。磷脂酰肌醇信号通路主要涉及 G 蛋白偶联受体的激活, 该信号通路由磷脂酰肌醇、其被激活后生成的肌醇三磷酸 (IP₃)、DAG 及 Gq 型蛋白构成。信号通路的主要步骤为: 激素或神经递质等外界信号结合 G 蛋白偶联受体, 使其构象产生变化, 进而激活 Gq 蛋白; Gq 蛋白的 Gαq 亚基再激活 PLC-β, 催化磷酸化形式的磷脂酰肌醇 (PIP₂) 水解为肌醇三磷酸和二酰基甘油; 肌醇三磷酸扩散至内质网后与其受体相结合, 提高细胞内 Ca²⁺ 的浓度, 二酰基甘油则与细胞内的 Ca²⁺ 共同激活 PKC^[25]。此外, 磷脂酰肌醇信号通路还能与其他通路进行交互, 例如磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 生成 PIP₃, 参与细胞增殖、凋亡和代谢的调控。不仅如此, 一些疾病也与该通路相关, 例如, PI3K 突变和 PKC 的异常活化致使肿瘤细胞增殖, 引起乳腺癌等^[26]; IP₃ 的异常与阿尔茨海默症中的钙信号紊乱相关^[27]。需注意的是, 赵晞临^[28] 在香螺 (*Neptunea cumingii*) 的差异通路中发现了与嗅觉相关的 cAMP 信号通路存在差异, 本研究结果与这一结论不符, 推测不同贝类之间嗅觉传导方式存在差异, 有待进一步研究。

3.3 管角螺嗅觉受体基因鉴定及理化性质预测

嗅觉系统是管角螺识别、传递外界信号的重要部分, 在管角螺生长繁殖、环境适应等重要生命活动中具有不可或缺的作用。冯威^[29] 和赵晞临^[28] 利用与本研究相同的方法在方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 和香螺中分别鉴定出 13 和 5 个嗅觉受体相关基因, 而 Yu 等^[30] 基于脉红螺 (*Rapana venosa*) 基因组进行同源比对, 共鉴定出 403 个嗅觉受体相关基因, 这说明还有大量嗅觉受体尚未被发掘。通过对管角螺触角转录组测序结果进行同源性比对, 共发现了 10 个嗅觉受体相关基因, 预测其对应蛋白的等电点在 3.88~10.57 之间, 其中有 3 个酸性蛋白、7 个碱性蛋白, 信号肽预测中 10 个蛋白均未检测到 N-末端信号肽序列, 嗅觉受体所属的 G 蛋白偶联受体为跨膜蛋白, 依赖内部锚定序列而非 N-末端信号肽^[31]。冯威在方斑东风螺中鉴定的

13 个嗅觉受体中同样未检测出 N-末端信号肽序列, 本研究结果与该结论一致。

3.4 不同组织中嗅觉受体基因表达分布

嗅觉受体在触角外的组织中印证了嗅觉受体的异位表达现象。近年来, 嗅觉受体的异位表达现象受到广泛关注。部分研究认为, 通常情况下嗅觉受体在嗅觉组织中高度表达, 且在嗅觉神经元中呈现丰富的多样性。但值得注意的是, 单个嗅觉神经元上的嗅觉受体遵循严格的单表达模式; 而在非嗅觉组织中, 同一细胞可同时表达多个嗅觉受体, 且不同嗅觉受体在同一细胞中发挥不同功能, 分别介导不同的信号通路^[32]。这些细胞会根据周围内源性化学物质的不同, 在特定的外源性刺激下表现出不同功能^[20]。HetOR2、HetOR3、HetOR7—HetOR10 在触角中呈显著高表达 ($p<0.05$), 结合其所在嗅觉器官的组织特异性, 推测这些受体可能延续了嗅觉神经元特有的严格单表达特征; HetOR1 和 HetOR6 在非嗅觉组织中高表达 ($p<0.05$), 凸显了嗅觉受体基因的异位表达现象; HetOR4 在触角与外套膜中均显著高表达 ($p<0.05$), 推断 HetOR4 能同时在嗅觉组织与非嗅觉组织中发挥作用, 但具体功能机制是否一致, 有待进一步研究。

4 结论

本研究采用高通量测序技术对管角螺的触角进行转录组分析, 成功进行了基因注释、功能分类以及嗅觉受体基因的鉴定。其中 Unigenes 注释到 GO 数据库 3 大类的 55 个亚类; KEGG 富集到 43 条通路上, 其中磷脂酰肌醇信号通路与嗅觉信号的传导有密切关系; 通过同源比对鉴定 10 个嗅觉受体基因, 系统命名为 HetOR1—HetOR10, 并利用荧光定量 PCR 测定了 10 个嗅觉受体基因在不同组织中的表达情况。HetOR2、HetOR3、HetOR7—HetOR10 在触角中相对表达量较高; HetOR1 在鳃中表达量高; HetOR5 在腹足中表达量较高; HetOR6 在肝胰腺中表达量较高; HetOR4 在触角和外套膜上表达量较高。研究为进一步了解管角螺嗅觉系统生理功能和分子机制提供了理论基础。

参考文献:

- [1] 罗杰, 王中铎, 曹伏君. 温度及饵料对管角螺繁殖力的影响[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(1): 77-79.
- [2] HAN Z R, JIANG X M, HAN Q X, et al. Changes in intracapsular

- fluid nutritional composition during the early development of the marine gastropod *Hemifusus tuba* Gmelin[J]. *Aquac Res*, 2022, 53(8): 3048-3058.
- [3] 阮鹏, 蒋霞敏, 彭瑞冰, 等. 管角螺规模化人工育苗技术研究[J]. 宁波大学学报(理工版), 2015, 28(4): 11-15.
- [4] 张林林, 母昌考, 李荣华, 等. 管角螺育苗及种螺物质代谢规律研究[J]. 生态科学, 2012, 31(5): 525-529.
- [5] 罗杰, 刘皓, 李锋, 等. 滩涂围网、网箱及水泥池养殖管角螺的比较[J]. 水产养殖, 2016, 37(12): 1-6.
- [6] 张维. 管角螺自然海区养殖技术的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013: 51-52.
- [7] 王兵兵, 王梅芳, 李双波, 等. 管角螺幼螺网笼吊养技术初探[J]. 热带生物学报, 2012, 3(1): 83-87.
- [8] 陈丹阳. 副溶血弧菌感染管角螺后组织学观察及转录组学研究[D]. 钦州: 北部湾大学, 2024: 21-22.
- [9] 潘英, 慕翠敏, 李琪, 等. 管角螺遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2013, 43(4): 58-62.
- [10] 吴俊仪, 梁君, 李雪琰, 等. 水生动物性信息素的研究进展[J]. 应用生态学报, 2025(3): 1-11.
- [11] KAMIO M, DERBY C D. Finding food: how marine invertebrates use chemical cues to track and select food[J]. *Nat Prod Rep*, 2017, 34(5): 514-528.
- [12] HORVATH R, BATTONYAI I, MAASZ G, et al. Chemical-neuroanatomical organization of peripheral sensory-efferent systems in the pond snail (*Lymnaea stagnalis*) [J]. *Brain Struct Funct*, 2020, 225(8): 2563-2575.
- [13] 刘畅, 赵永馨, 葛蓓蓓, 等. 异位嗅觉受体的功能及其作为药物靶点的研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2024, 55(3): 412-419.
- [14] BUCK L, AXEL R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition[J]. *Cell*, 2011, 65(1): 175-187.
- [15] CONG X J, REN W W, PACALON J, et al. Large-scale G protein-coupled olfactory receptor-ligand pairing[J]. *ACS Cent Sci*, 2022, 8(3): 379-387.
- [16] 唐文. 人类精子中的嗅觉受体及其在芳香疗法中的潜在应用[J]. *香料香精化妆品*, 2022(6): 113-116.
- [17] HE Z W, WANG D W. Olfactory receptor 2 activation in macrophages: novel mediator of atherosclerosis progression[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 247.
- [18] 陈倩, 唐智, 赖陈岑. 嗅觉受体在非嗅觉组织和细胞中的作用及其机制[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2020, 47(2): 91-104.
- [19] GALIBERT F, AZZOUZI N. Are the olfactory receptors present at the sperm membrane involved in reproduction[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(14): 11277.
- [20] RALLI S, JONES S J, LEACH S, et al. Gene and pathway based burden analyses in familial lymphoid cancer cases: rare variants in immune pathway genes[J]. *PLoS One*, 2023, 18(6): e287602.
- [21] 张子敬, 刘燕蓉, 张顺进, 等. 第三代测序技术的方法原理及其在生物领域的应用[J]. *中国畜牧杂志*, 2020, 56(6): 11-15.
- [22] 彭光源, 史雪涛, 肖衍, 等. 基于转录组学解析水温对长江鲟仔稚鱼生长、免疫和消化的影响[J]. *中国饲料*, 2025(1): 101-111.
- [23] ZHU X Y, XU J W, LI L L, et al. Analysis of chemosensory genes in *Semiothisa cinerea* reveals sex-specific contributions for type-II sex pheromone chemosensation[J]. *Genomics*, 2020, 112(6): 3846-3855.
- [24] 柳大军, 付淑慧, 郭青枝, 等. 离缘蝽的触角转录组和嗅觉相关基因[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2024, 39(2): 10-16.
- [25] 王晶, 李方方, 朱宇旌, 等. 磷脂酰肌醇信号通路对动物采食的调节及作用机制[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(4): 1020-1026.
- [26] LI M, SCHWEIGER M W, RYAN D J, et al. Olfactory receptor 5B21 drives breast cancer metastasis[J]. *Science*, 2021, 24(12): 103519.
- [27] HAMPEL H, HARDY J, BLENNOW K. et al. The amyloid- β pathway in Alzheimer's disease[J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26: 5481-5503.
- [28] 赵唏临. 香螺摄食相关感觉器官组织学观察及嗅觉基因研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2024: 27.
- [29] 冯威. 方斑东风螺触角和水管显微观察及嗅觉基因研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023: 66-68.
- [30] YU Z L, FENG J, SONG H, et al. Identification and characterization of olfactory receptor genes and olfactory perception in *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) during larval settlement and metamorphosis[J]. *Gene*, 2022(30): 146403.
- [31] REN H W, ZHANG R J, ZHANG H B, et al. Ecnomotopic olfactory receptors in metabolic regulation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 179: 117403.
- [32] PATEL A, PERALTA Y P. Olfactory receptors as an emerging chemical sensing scaffold biochemistry[J]. *PLoS One*, 2023, 62(2): 187-195.