

刘莉芳, 罗丽飞, 陈宇龙, 等. 雌激素受体基因调控团头鲂生长和性腺发育的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 179-185.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.01.017

雌激素受体基因调控团头鲂生长和性腺发育的初步研究

刘莉芳^{1,2}, 罗丽飞^{1,2}, 陈宇龙^{1,2,3}, 高泽霞^{1,2,3}

1. 华中农业大学水产学院/农业农村部淡水生物繁育重点实验室/

农业动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室/湖北省名优鱼育种与健康养殖工程技术研究中心, 武汉 430070;

2. 湖北洪山实验室, 武汉 430070; 3. 长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心, 武汉 430070

摘要 通过基因克隆获得了团头鲂 3 种雌激素受体(estrogen receptor, ER)基因的 CDS(coding sequence)序列: ER α (1 904 bp)、ER β 1(1 842 bp)和 ER β 2(2 609 bp), 比较不同物种间的 ERs 基因的同源性, 结果显示团头鲂 ERs 与鲤、金鱼和斑马鱼具有较高的同源性。为分析 ERs 对团头鲂性腺与生长发育的调控作用, 分别以团头鲂不同年龄阶段的生长快慢群体为研究对象, 比较分析 ERs 在不同年龄阶段生长快慢个体肌肉和性腺组织中的表达量。结果显示, 在 1 龄到 3 龄团头鲂肌肉中, ER α 和 ER β 1 在生长快组(FG)中的表达量整体高于生长慢组(SG)($P < 0.05$), 并且 ER α 在 1 龄 FG 和 SG 团头鲂中的表达量差异比 2 龄和 3 龄团头鲂更为明显($P < 0.05$)。ER β 2 在 FG 和 SG 团头鲂中的表达量差异与 ER α 和 ER β 1 相反($P < 0.05$), 且在 3 龄雄性团头鲂中, ER β 2 在 FG 组中的表达量极显著高于 SG 组。在 1 龄和 2 龄雌性团头鲂中, 雌激素受体基因 ER α 、ER β 1 和 ER β 2 在 FG 组的表达量显著高于 SG 组。在雄性团头鲂中, ER α 在 1 龄 FG 组的性腺中的表达量高于 SG 组; 1 龄和 2 龄雌性团头鲂性腺中, ER β 2 在 FG 组的表达量显著低于 SG 组, 但在 3 龄雄性性腺中, ER β 2 在 FG 组的表达量显著高于 SG 组。以上研究结果表明, ERs 在一定程度上可促进鱼类生长和性腺发育, ER α 、ER β 1 和 ER β 2 可能组成一个复杂的调控体系, 彼此相互影响, 并共同调节机体生长和性腺发育。

关键词 团头鲂; 雌激素受体基因; 生长; 性腺发育; 基因表达

中图分类号 Q 78; Q 959.46⁺8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)01-0179-07

雌激素(estrogen)是促进性腺发育和维持生殖功能必不可少的类固醇激素, 也在调节能量代谢和生长发育方面起着关键的作用^[1-2]。在鱼类中, 已有研究表明雌二醇(estrogen 2, E2)可通过 GH/IGF 轴调控 IGF 的表达, 也可通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)调控 IGF 的表达从而影响生长发育^[3]。ER 是介导雌激素在多个组织器官中发挥调节作用的关键受体^[4-5]。哺乳动物只有 ER α 和 ER β 两个雌激素受体基因^[6]。由于基因组复制, 多数硬骨鱼具有 ER α 、ER β 1 和 ER β 2 三个雌激素受体基因^[7-9]。

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*), 是中国特有的淡水养殖鱼类, 具有很高的经济价值。自 1960 年推广养殖至今, 已成为中国第六位大宗养殖淡水鱼类^[10]。目前, 关于雌激素受体与团头鲂生长

发育的关系尚未报道。因此, 本研究克隆获得了雌激素受体基因(ER α 、ER β 1 和 ER β 2)的核心序列, 并对其在 3 个年龄段的团头鲂生长快慢个体肌肉和性腺组织中的表达情况进行定量分析, 以期研究雌激素受体基因在调节生长与生殖发育过程中的潜在影响提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用的团头鲂人工繁殖样品来自湖北省黄冈市百荣水产良种公司。其中, 挑选出同一家系中 3 个年龄段的团头鲂: 1 龄(性腺未成熟)团头鲂、2 龄(性腺初次成熟)团头鲂、3 龄(性腺第 2 次成熟)团头鲂。在不同年龄段中, 各选取 6 尾生长快(fast growth, FG)的和生长慢(slow growth, SG)的团

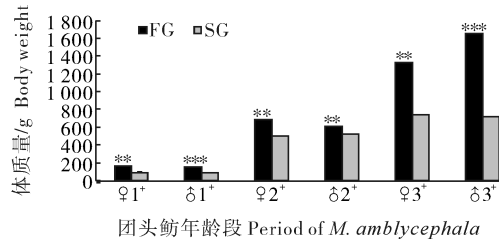
收稿日期: 2021-05-20

基金项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项(2018YFD0900205); 国家自然科学基金项目(31872559); 国家大宗淡水鱼类产业技术体系建设项目(CARS-45-08)

刘莉芳, E-mail: 893336643@qq.com

通信作者: 高泽霞, E-mail: gaozx@mail.hzau.edu.cn

头鲂(雌雄各 3 尾),其生长数据见图 1。鱼体经 100 mg/L MS-222(Tricaine methanesulfonate)麻醉后,冰上采集肌肉、性腺组织,液氮速冻后转至 -80°C 保存。



FG 代表快速生长组,SG 代表慢速生长组;FG 和 SG 之间的显著性差异由 * ($P<0.05$)、* * ($P<0.01$)、* * * ($P<0.001$) 表示。FG stands for fast-grow group,SG stands for slow-grow group; the The significant difference between FG and SG is represented by * ($P<0.05$), * * ($P<0.01$), * * * ($P<0.001$) respectively.

图 1 不同年龄快速生长和慢速生长的团头鲂体质量比较

Fig.1 Comparison of body weight between FG and SG groups of *M. amblycephala* at different ages

1.2 总 RNA 提取及 cDNA 合成

采用 Trizol 法(TaKaRa,大连)提取总 RNA,

并用琼脂糖凝胶电泳和 Nano Drop 2000 核酸蛋白仪(Thermo,美国)分别检测总 RNA 完整性和浓度。按照 HiScript © II Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)试剂盒(Vazyme,南京)说明书合成 cDNA 的第一条链,稀释 5 倍后保存于 -20°C 待用。

1.3 团头鲂 ER 基因克隆

通过 NCBI 下载斑马鱼 ER 基因的 cDNA 序列,与笔者所在课题组已获得的团头鲂转录组序列进行 Blast,获得多个 ER 基因亚型片段。利用 NCBI 的 primer design tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>)设计用于拼接的引物(表 1),引物由武汉擎科生物科技有限公司合成。以合成的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,电泳检测扩增产物,将条带单一的扩增产物送武汉擎科生物科技有限公司测序。测序获得的目的基因片段用 Mega 6.0 软件进行拼接,并与斑马鱼基因序列进行比对,确定团头鲂各 ER 基因亚型的核心序列。

表 1 基因克隆引物

Table 1 Primers for gene clone

引物名称 Primer name	PCR 引物序列(5'-3') Primer sequences	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ Annealing temperature	扩增片段长度/bp Amplified length
ER α -F1	AACTCTCGCCCATGTACCCC	60	406
ER α -R1	TCAGTCGCACTGCACAACAC	60	
ER β 1-F1	ATCAGTGCGGCAGTCTCTAAG	60	486
ER β 1-R1	ACGCCATGGTAACCACTC	60	
ER β 1-F2	ATGAGGTGGTTACCATGGCG	60	573
ER β 1-R2	CCCATACCAGAGCATCCGTC	60	
ER β 1-F3	TGAGTTCGTCTGAGGGAGGA	60	447
ER β 1-R3	GGCATCCGTGATGTTTTCAAC	60	
ER β 1-F4	ACAACATTGAACTTGTCGGCC	60	450
ER β 1-R4	CTGCTACCCTCTTACCAGT	60	
ER β 2-F1	TGACCACGCCTCTGGGTATC	60	442
ER β 2-R1	TGCCTCCAGAATACAGTTCACC	60	
ER β 2-F2	ACTGACGCTCTGGTTGGAG	60	343
ER β 2-R2	TCTCCTGGTCGCTCTCTCTC	60	
ER β 2-F3	CCAGAATGAGCTTCTCCCT	60	481
ER β 2-R3	TTACCCACAATGCCTGGTGAA	60	

1.4 团头鲂 ER 基因分析及进化树构建

通过 NCBI 的 ORF finder 程序(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>)分析团头鲂 ER β 1 基因的开放阅读框信息。使用 ProtPara 程序(<https://web.expasy.org/protparam/>)分析 ER β 1 的分子质量及等电点等理化性质,同时使用 DNAMAN

软件对团头鲂 ER β 1 基因与其他脊椎动物进行氨基酸序列比对。使用 Mega 6.0 软件构建 ER 基因系统进化树。

1.5 qRT-PCR

基于获得的团头鲂 ER 基因序列信息,利用 NCBI 的 primer design tool 设计定量引物(表 2),

并由武汉擎科生物科技有限公司合成。选择团头鲂 β -actin 作为内参基因,以团头鲂 3 个年龄阶段 2 个组织的 cDNA 为模板,按照 Hieff © qPCR SYBR

Green Master Mix(Low Rox)试剂盒(翊圣,上海)说明书进行 qRT-PCR 反应。

表 2 qRT-PCR 引物
Table 2 Primers of qRT-PCR

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequences	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增片段长度/bp Amplified length
ER α -F	GGCTGTCTGTTTCACGTCAGA	60	178
ER α -R	CAGCCAAGAGCTCTCCAACA	60	
ER β 1-F	CACCAGACTAGCCCATCTGC	60	169
ER β 1-R	GGAGTGAGACAGACGTGAGC	60	
ER β 2-F	GTCTGGTCATGTGAGGGGTG	60	183
ER β 2-R	ACAGAAAAGGGATAGGCGGC	60	
β -actin-F	ACCCACACCGTGCCCATCTA	60	172
β -actin-R	CGGACAATTTCTCTTCGGCTG	60	

1.6 数据分析

各基因的相对表达水平以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算,使用 SPSS Statistics 22 和 GraphPad Prism 8 软件进行数据分析及作图。采用独立样本 t 检验进行显著性分析。将 $P > 0.05$ 描述为统计学差异不显著(用“ns”表示), $P < 0.05$ 描述为统计学差异显著(用“*”表示), $P < 0.01$ 描述为统计学差异极显著(用“**”表示), $P < 0.001$ 描述为统计学差异极显著(用“***”表示)。

2 结果与分析

2.1 团头鲂 ER 理化性质分析

利用同源克隆拼接核心序列,获得了部分团头鲂 ER α 和 ER β 2 的 CDS(coding sequencing)序列,以及团头鲂 ER β 1 基因的完整的 CDS 序列。Prot-Param 软件预测结果显示,团头鲂 ER β 1 基因的开放阅读框为 1 704 bp,其编码的蛋白质由 567 个氨基酸残基构成,分子质量为 63.75 ku,理论等电点(pI)为 7.54,为碱性蛋白。氨基酸残基中 Leu(11.6%)、Ser(10.8%)、Pro(6.2%)、Glu(5.8%)、Gly(5.8%)的频率较高,极性氨基酸占 59.6%,非极性氨基酸占 40.4%(图 2)。消光系数($M^{-1}cm^{-1}\gamma = 280\text{ nm}$)为 62.225,其不稳定系数为 61.78,属不稳定蛋白。疏水指数为 77.72,平均亲水性为 -0.30,属可溶性蛋白。

2.2 团头鲂 ER 同源性分析

使用 DNAMAN 软件对人(*Homo sapiens*)、小鼠(*Mus musculus*)、鸡(*Gallus gallus*)、团头鲂及

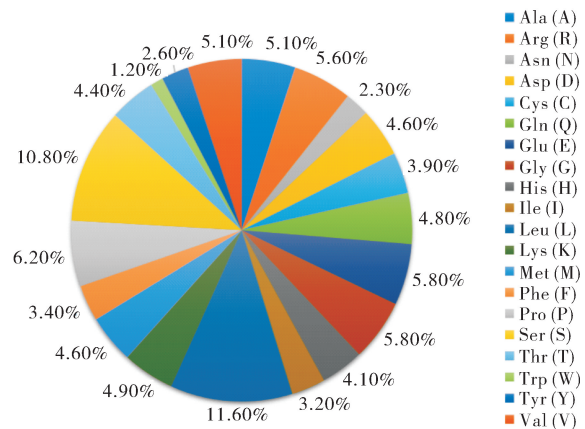
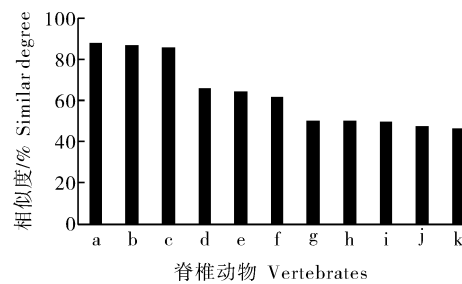


图 2 ER β 1 氨基酸频率分布图

Fig.2 Amino acid frequency distribution of ER β 1



a: 鲤 *Cyprinus carpio*; b: 金鱼 *Carassius auratus*; c: 斑马鱼 *Danio rerio*; d: 大西洋鲑 *Salmo salar*; e: 日本青鳉 *Oryzias latipes*; f: 大黄鱼 *Larimichthys crocea*; g: 小鼠 *Mus musculus*; h: 非洲爪蟾 *Xenopus tropicalis*; i: 欧亚野猪 *Sus scrofa*; j: 鸡 *Gallus gallus*; k: 人 *Homo sapiens*.

图 3 团头鲂 ER β 1 与其他脊椎动物的同源性比较

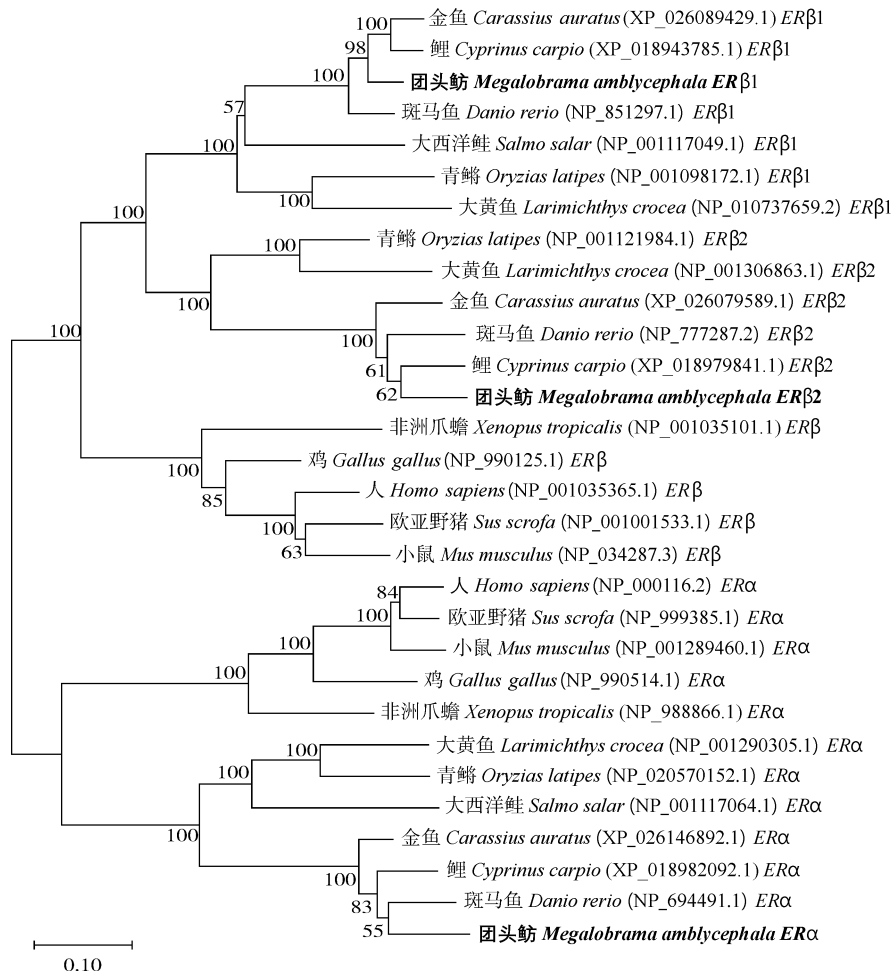
Fig.3 Comparison of homology between ER β 1 in *M. amblycephala* and other vertebrates

其他鱼类 ER 氨基酸序列进行同源性分析,并使用 Mega 软件构建系统进化树。结果显示,团头鲂 ER β 1 蛋白的氨基酸序列与鲤(88.43%)、金鱼(87.37%)和斑马鱼(86.39%)具有较高的同源性,与大西洋鲑(66.72%)、日本青鳉(65.14%)和大黄鱼(62.06%)具有中度同源性,与小鼠(50.96%)、非洲爪蟾(50.87%)、欧亚野猪(50.00%)、鸡(47.99%)和人(46.95%)具有低度同源性(图 3)。系统进化树中 ER α 和 ER β 亚型各聚成一类,形成两大分支。团头鲂 ER 基因各亚型分别与鲤、金鱼和斑马鱼中相应亚型的同源性较高,在进化树中距离最

近(图 4)。

2.3 ER 基因在生长快慢个体各组织中的表达

1) 雌激素受体基因在肌肉中的表达。在 1 龄到 3 龄团头鲂肌肉中,ER α 和 ER β 1 在生长快组(FG)中的表达量整体高于生长慢组(SG)($P < 0.05$),并且 ER α 在 1 龄 FG 组和 SG 组团头鲂中的表达量差异比 2 龄和 3 龄团头鲂更为明显($P < 0.05$)。然而,ER β 2 在 FG 组和 SG 组团头鲂中的表达量差异与 ER α 和 ER β 1 相反($P < 0.05$)。在 3 龄雄性团头鲂中,ER β 2 在 FG 组中的表达量显著高于 SG 组($P < 0.001$)(图 5)。



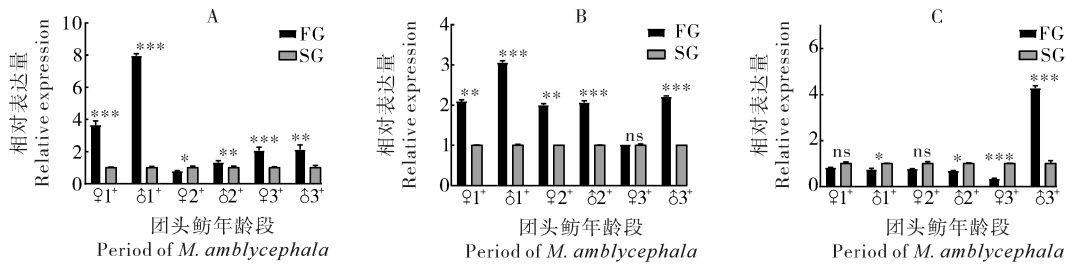
团头鲂 ER β 2 为部分 CDS 序列 *Megalobrama amblycephala* ER β 2 is part of the CDS sequence.

图 4 基于氨基酸序列的 ER 基因的系统进化分析

Fig.4 Phylogenetic analysis of ER genes based on their amino acid sequences

2) 雌激素受体基因在性腺中的表达。在 1 龄和 2 龄雌性团头鲂中,雌激素受体基因 ER α 、ER β 1 和 ER β 2 在 FG 组的表达量显著高于 SG 组。在雄性团头鲂中,ER α 在 1 龄 FG 组的性腺中的表达量高于 SG 组;在 2 龄阶段,FG 组的性腺中的表达

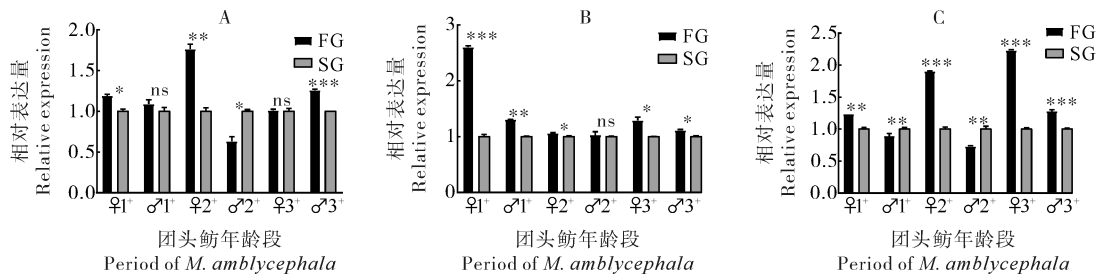
量低于 SG;在 3 龄阶段,FG 组的性腺中的表达量高于 SG 组。1 龄和 2 龄雄性团头鲂性腺中,ER β 2 在 FG 组的表达量显著低于 SG 组,但在 3 龄雄性性腺中,ER β 2 在 FG 组的表达量显著高于 SG 组。



A: $ER\alpha$, B: $ER\beta1$, C: $ER\beta2$; FG: 快速生长组, SG: 慢速生长组; FG 与 SG 之间的统计学差异由“ns”($P > 0.05$), “*”($P < 0.05$), “**”($P < 0.01$), “***”($P < 0.001$)表示。下同。FG stands for fast-grow group, SG stands for slow-grow group; the significant difference between FG and SG was represented by “ns”($P > 0.05$), “*”($P < 0.05$), “**”($P < 0.01$), “***”($P < 0.001$), respectively. The same as below.

图 5 雌激素受体基因在肌肉中的表达

Fig.5 Expression of estrogen receptor genes in the muscle tissue



A: $ER\alpha$; B: $ER\beta1$; C: $ER\beta2$.

图 6 雌激素受体基因在性腺中的表达

Fig.6 Expression of estrogen receptor genes in the gonad tissue

3 讨论

同源性在一定程度上反映了物种之间的亲缘关系, 本研究中团头鲂 ER 基因与鲤科鱼类同源性较高, 与其他科鱼类次之, 与其他脊椎动物同源性较低。说明 ER 基因同源性高低与物种亲缘关系有关, 在亲缘关系接近的物种中具有较高的同源性, 奥利罗非鱼的同源性比对结果证实了这一推测^[11]。本研究中系统进化分析结果表明 $ER\alpha$ 和 $ER\beta$ 亚型分成 2 类。 $ER\beta$ 亚型中 $ER\beta1$ 和 $ER\beta2$ 各聚成一类, 与张民等^[12]对海水青鲂的研究结果一致。

已有研究表明, 莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 在性腺切除术后出现生长迟缓的现象, 在异位性腺移植后生长恢复^[13], 表明内源雌激素一定程度上促进了鱼体生长, 这种促进作用主要通过 ER 介导, 推测 ERs 表达上调对于性腺已发育成熟的团头鲂具有一定的促进生长的作用。因此, 我们挑选不同年龄阶段中生长快 (FG) 和生长慢 (SG) 的团头鲂, 检测了雌激素受体基因 $ER\alpha$ 、 $ER\beta1$ 和 $ER\beta2$ 在肌肉和性腺组织中的表达情况。结果显

示, 在性腺发育早期 (1 龄团头鲂), $ER\alpha$ 在 FG 组的性腺和肌肉中的表达量显著高于 SG 组 ($P < 0.05$), 但是在 FG 组和 SG 组的肌肉中, $ER\alpha$ 的表达量差异显著高于在性腺中的表达量差异 ($P < 0.001$)。表明在性腺早期发育过程中, $ER\alpha$ 更倾向于在生长方面而不是性腺方面发挥作用。在性腺发育成熟时期 (2 龄团头鲂), $ER\alpha$ 在 FG 组和 SG 组中的表达量差异在性腺中更明显。该结果表明, 在性腺中期发育过程中, $ER\alpha$ 更倾向于在性腺发育方面发挥作用; 并且 $ER\beta1$ 替代了 $ER\alpha$ 在生长方面的作用。在性腺发育成熟后 (3 龄团头鲂), $ER\alpha$ 和 $ER\beta1$ 同时在生长方面发挥作用, 但是 $ER\beta1$ 只在雄性个体中发挥作用, 而 $ER\alpha$ 在雄性和雌性个体中均发挥作用。此外, $ER\beta2$ 与 $ER\alpha$ 、 $ER\beta1$ 的表达结果相反, 在性腺发育早期和中期, $ER\beta2$ 在雄性 FG 组的肌肉和性腺中表达量显著低于 SG 组, 但是在性腺发育早期的雌性个体中, $ER\beta2$ 在 FG 组的性腺中的表达量显著高于 SG 组, 与肌肉中的结果相反 ($P < 0.05$)。其结果表明 $ER\beta2$ 的作用与 $ER\alpha$ 和 $ER\beta1$ 相反, 在性腺发育早期和中期, 对生长起到抑制作用。因此我们

推测, $ER\alpha$ 和 $ER\beta 1$ 在肌肉组织中的上调可一定程度上促进肌肉生长, 而 $ER\beta 2$ 的功能可能与 $ER\alpha$ 、 $ER\beta 1$ 存在一定拮抗作用。有研究结果显示, 对小鼠使用 $ER\alpha$ 的激动剂丙吡唑三醇(propylpyrazole triol), 可促进糖脂代谢通路中重要基因的表达^[14], 这表明 $ER\alpha$ 在生长代谢方面发挥作用。

综上, 本研究克隆了团头鲂 ER 基因的 CDS 序列, 该序列与鲤科鱼类具有较高的同源性。对 ERs 在团头鲂 3 个年龄阶段生长快慢个体的肌肉和性腺组织中的表达情况进行分析, 结果表明 ERs 在一定程度上可促进性腺已发育成熟的鱼类生长, 对尚未性成熟的鱼类则偏向于促进其性腺发育。同时 $ER\alpha$ 、 $ER\beta 1$ 和 $ER\beta 2$ 可能组成一个复杂的调控体系, 彼此相互影响, 在生长发育过程中共同调节机体生长和性腺发育。

参考文献 References

- [1] MAUVAIS-JARVIS F, CLEGG D J, HEVENER A L. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis[J]. *Endocrine reviews*, 2013, 34(3): 309-338.
- [2] 张庆红, 姚咏明. 雌激素影响物质和能量代谢的中枢机制[J]. *生理科学进展*, 2010, 41(5): 347-351. ZHANG Q H, YAO Y M. The central mechanism for estrogen receptor to mediate nutrients and energy metabolism[J]. *Progress in physiological sciences*, 2010, 41(5): 347-351 (in Chinese with English abstract).
- [3] 张克伟. 金钱鱼胰岛素样生长因子(IGF)的克隆及雌二醇对其表达的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2018. ZHANG K W. Molecular cloning and gene expression of insulin-like growth factors 1 and 2 and regulation by estradiol-17 β in spotted scat (*Scatophagus argus*) [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [4] WANG H P, WANG J J, WU T T, et al. Molecular characterization of estrogen receptor genes in *Gobiocypris rarus* and their expression upon endocrine disrupting chemicals exposure in juveniles[J]. *Aquatic toxicology*, 2011, 101(1): 276-287.
- [5] HOGAN N S, CURRIE S, LEBLANC S, et al. Modulation of steroidogenesis and estrogen signalling in the estuarine killifish (*Fundulus heteroclitus*) exposed to ethinylestradiol[J]. *Aquatic toxicology*, 2010, 98(2): 148-156.
- [6] TREMBLAY G B, TREMBLAY A, COPELAND N G, et al. Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor beta[J]. *Molecular endocrinology*, 1997, 11(3): 353-365.
- [7] WANG D S, SENTHILKUMARAN B, SUDHAKUMARI C C, et al. Molecular cloning, gene expression and characterization of the third estrogen receptor of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Fish physiology and biochemistry*, 2005, 31(2/3): 255-266.
- [8] 李丹阳, 罗丽飞, 曹文怡, 等. 雌激素受体基因对泥鳅雌雄和倍性生长差异的表达调控作用[J]. *华中农业大学学报*, 2020, 39(6): 164-172. LI D Y, LUO L F, CAO W Y, et al. Regulation of ER genes expression on growth differences of sex and ploidy in *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2020, 39(6): 164-172 (in Chinese with English abstract).
- [9] ZHANG Y Y, WANG H P, QIN F, et al. Molecular characterization of estrogen receptor genes in loach *Paramisgurnus dabryanus* and their expression upon 17 α -ethinylestradiol exposure in juveniles[J]. *General and comparative endocrinology*, 2012, 178(2): 194-205.
- [10] GAO Z X, LUO W, LIU H, et al. Transcriptome analysis and SSR/SNP markers information of the blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42637 [2012-05-20]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042637>.
- [11] 兰滔, 卢迈新, 杨丽萍, 等. 奥利亚罗非鱼雌激素 β 受体两种亚型 cDNA 的克隆、组织分布及雌激素对其表达的影响[J]. *水产学报*, 2010, 34(1): 8-18. LAN T, LU M X, YANG L P, et al. Molecular cloning, tissue distribution of two estrogen receptor β cDNAs of blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and effects of estrogen on their expression [J]. *Journal of fisheries of China*, 2010, 34(1): 8-18 (in Chinese with English abstract).
- [12] 张民, 安哲, 彭会. 海水青鳉雌激素受体基因的克隆、组织表达特性及环境雌激素 EE2 对其表达的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2018, 33(2): 158-168. ZHANG M, AN Z, PENG H. Molecular cloning, tissue distribution and 17 α -ethinylestradiol (EE2) exposure effect on mRNA expression of three estrogen receptor genes in marine medaka *Oryzias melastigma* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2018, 33(2): 158-168 (in Chinese with English abstract).
- [13] BHATTA S, IWAI T, MIURA C, et al. Gonads directly regulate growth in teleosts[J]. *PNAS*, 2012, 109(28): 11408-11412.
- [14] GAO H, FALT S, SANDELIN A, et al. Genome-wide identification of estrogen receptor α -binding sites in mouse liver[J]. *Molecular endocrinology*, 2008, 22(1): 10-22.

Expression and regulation of estrogen receptor genes on growth and sexual maturation in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*

LIU Lifang^{1,2}, LUO Lifei^{1,2}, CHEN Yulong^{1,2,3}, GAO Zexia^{1,2,3}

1. Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Laboratory of Agricultural Animal Genetics, Breeding and Reproduction of Ministry of Education/Engineering Technology Research Center for Fish Breeding and Culture in Hubei Province, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Hubei Hongshan Laboratory, Wuhan 430070, China;
3. Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education, Wuhan 430070, China

Abstract Estrogen is an essential steroid hormone that promotes fish gonad development and maintains reproductive function, contributing to regulate energy metabolism and growth development. Estrogen receptors (*ERs*) are the key receptor that mediate estrogen regulation in multiple tissues and organs. Therefore, *ERs* may be related to fish growth and gonadal development. In this study, we cloned the coding sequences (CDS) of estrogen receptor genes in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*), including *ER α* (1 904 bp), *ER β 1* (1 842 bp) and *ER β 2* (2 609 bp). Through comparing the homology of *ERs* among different species, we found that the *ERs* of *M. amblycephala* share high similarity with carp, goldfish and zebrafish. To analyze the relationship between *ERs* and gonad and growth, we collected one-year, two-year, and three-year old *M. amblycephala*, and selected individuals with fast growth (FG) and slow growth (SG) at each age stage. The expression of *ERs* in the gonad and muscles of *M. amblycephala* at different ages was analyzed. The results showed that in the early stage of gonadal development, *ER α* tended to play an important role in growth rather than gonad development. At the metaphase of gonadal development, *ER α* had an effect on gonad development, and *ER β 1* replaced the effect of *ER α* in growth. After gonadal maturation, the expression of *ER α* and *ER β 1* in the FG group was significantly higher than the SG group, but the expression difference of *ER β 1* between FG and SG groups was only shown in males, while *ER α* affected both males and females. In addition, the expression difference of *ER β 2* between FG and SG groups was contrary to that of *ER α* and *ER β 1*, which inhibit growth in the early and middle stages of gonadal development. Taken together, *ERs* could promote the gonads and growth of fish to a certain extent. Meantime, *ER α* , *ER β 1* and *ER β 2* might form a complex regulatory system to influence with each other and jointly regulate body growth and gonadal development.

Keywords *Megalobrama amblycephala*; estrogen receptor gene; growth; gonadal development; gene expression

(责任编辑:边书京)