

中华蛸章鱼胺受体 *OARβ2R* 基因克隆及表达分析

肖懿哲¹, 陈小灵², 孙玉龙³, 张子平³, 王艺磊², 朱友芳¹

(1. 莆田市水产科学研究所, 福建 莆田 351100; 2. 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 3. 福建农林大学 动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 为了解中华蛸(*Octopus sinensis*)受精卵的孵化及幼体发育机制, 本研究对其章鱼胺受体基因(*OsOARβ2R*)进行克隆和生物信息学分析, 同时研究了 *OsOARβ2R* 在不同组织/器官、刚孵出的幼体不同饥饿时间及不同的胚胎发育时期表达水平的变化。结果为: *OsOARβ2R* 开放阅读框全长为 1 158 bp, 编码 385 个氨基酸, 有 7 个跨膜结构域, 具有 G 蛋白偶联受体的共性, 其中 TM3、TM5、TM6、TM7 4 个跨膜结构相对保守。经氨基酸同源对比及构建系统进化树分析, 其与加州双斑蛸(*O. bimaculoides*)的 *OAR* 的一致性最高。荧光定量 PCR 结果显示, 在成体 10 个组织/器官中, *OsOARβ2R* 在后唾液腺中表达水平最高, 其次是脑和小肠; 在幼体饥饿实验中, 随着饥饿时间的推移, *OsOARβ2R* 的表达水平在饥饿 2 d 后显著降低, 在饥饿 3 d 时表达水平显著升高, 且表达水平达到最高, 之后表达水平开始回落; *OsOARβ2R* 在中华蛸整个胚胎发育周期均可检测到, 且在多细胞期表达水平最高, 后显著下降, 黑珠期显著高于红珠期及初孵幼体。这些结果为研究中华蛸受精卵的孵化及幼体发育机制、提高人工育苗效率提供了基础资料。

关键词: 中华蛸(*Octopus sinensis*); 章鱼胺受体; 饥饿; 胚胎发育

中图分类号: Q785; S968.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)09-0109-08

DOI: 10.11759/hyxx20211227003

中华蛸(*Octopus sinensis*), 原名真蛸(*O. vulgaris*), 近年来根据形态学和分子生物学的差异将中华蛸和真蛸分开^[1-2], 主要分布在北太平洋西部的浅温带水域, 特别是在中国、韩国和日本沿海, 具有生命周期短、产卵量大、食物转化率高等优点, 被认为具人工养殖潜力的优良海水种类^[3-6]。但在人工养殖条件下, 存在着幼体生长缓慢, 死亡率高等问题, 限制了养殖业的进一步发展^[7-9]。章鱼胺受体(octopamine receptor, *OAR*)是典型的 G 蛋白偶联受体, 参与生物体包括生长、代谢、发育、免疫等多种至关重要的生理学过程^[10]。现已证明章鱼胺不仅在昆虫的生理活动中扮演重要角色^[11], 在海洋无脊椎动物中也发挥很大的作用, COON 等^[12, 13]发现章鱼胺能够诱导太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)的附着变态; *OARs* 已经从软体动物腹足类的椎实螺属和海兔螺属中被鉴定出来, 且发现其在生命活动中能够行使控制行为发生、参与新陈代谢以及信号转导等多种生理功能^[14]; PRYCE 等^[15]在美洲牡蛎(*C. virginica*)的鳃、外套膜、心脏、血淋巴以及神经系统中检测到了章鱼胺和 *OARs* 的存在, 并证实了其在美洲牡蛎的心脏活动中行使重要功能。这些研究结果表明 *OAR* 在海洋无脊椎动物中发挥的作用与昆虫有许多类似性, 但尚未

看到中华蛸 *OAR* 基因(*OsOARβ2R*)的研究报道。本研究克隆了 *OsOARβ2R*, 并进行了生物信息学分析, 研究了 *OsOARβ2R* 在不同组织中的表达、刚孵出的幼体在不同的饥饿时间及不同的胚胎发育时期表达水平的变化。这些结果可为研究中华蛸受精卵的孵化及幼体发育机制、提高人工育苗生产效率提供一些基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验用的中华蛸组织样品 2021 年 7 月采自福建省莆田市南日海区。采集肌肉、脑、鳃、鳃心、消

收稿日期: 2021-12-27; 修回日期: 2022-05-08

基金项目: 中央引导地方科技发展专项(020L3011); 福建省科技厅项目(2021S21010093); 莆田市科技局项目(2020NJJ005)

[Foundation: Special Funds Provided by the Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China to Guide the Development of Science and Technology in Fujian Province, No. 2020L3011; The Project of Department of Science and Technology of Fujian Province, No. 2021S21010093; The Project of Putian Science and Technology Bureau of Fujian Province, No. 2020NJJ005]

作者简介: 肖懿哲(1964—), 男, 福建莆田人, 本科, 主要从事水产养殖技术工作, 电话: 0594-6298821, E-mail: yzxiaoxyz@163.com; 朱友芳(1964—), 通信作者, 主要从事水产养殖及病害防治研究, E-mail: e365cn@163.com

化腺、小肠、唾液腺、肾脏、眼、心脏等 10 个组织/器官,用于 *OsOARβ2R* 在各组织中的分布研究。

饥饿时间对 *OsOARβ2R* 表达水平的影响采样时间为 2019 年 5 月, 试验水温为 22.5±0.5℃, 试验水体 100 L, 设置 3 个平行组, 每组放养刚孵出的中华蛸幼体 1 000 只。幼体孵出时为 0 h, 不投喂饵料, 饥饿天数分别为 0、1、2、3、4 和 5 d, 每个时相取 6 份样品储存于液氮中。

不同的胚胎发育时期的样品 2021 年 3~4 月采自在莆田南日海区的网箱, 母蛸在产卵巢中产卵并护

卵, 自然水温孵化, 孵化水温 14.7~20.8℃, 采集多细胞期(multi-cell stage)、红珠期(red-bead stage)、黑珠期(black-bead stage)和初孵幼体(newly-hatched larvae)共 4 个时期的胚胎, 每个时相取 6 份样品储存于液氮中。

1.2 中华蛸 *OsOARβ2R* 基因克隆

利用课题组中华蛸转录组数据库筛选获得的 *OsOARβ2R* cDNA 序列, 采用从头到趾引物(表 1)扩增、测序验证开放阅读框(ORF)序列的准确性。本研究中所用引物均由捷瑞(上海)生物工程有限公司合成。

表 1 本研究所用引物序列

Tab. 1 Primers used in this study

引物名称	引物序列(5'-3')	用途
<i>OARβ2R</i> -F	TTTTGTTGGCTCCGATAGATA	ORF 验证
<i>OARβ2R</i> -R	TGTTAGCACGCATTTTACCTC	
<i>qOARβ2R</i> -F	TCGCAGACAAGAGCACGCTATTC	定量 PCR
<i>qOARβ2R</i> -R	CGTATCCGTATATCGACTTCCGTTGG	
<i>qPCR-β-actin</i> -F	TGATGGCCAAGTTATCACCA	内参基因
<i>qPCR-β-actin</i> -R	TGGTCTCATGGATACCAGCA	

ORF 区扩增的模板为脑 cDNA, 反应体系为: 2 μL 的 2.5 mmol/LdNTP Mix, 2.5 μL 的 10×EX Taq buffer, 0.1 μL 的 5 U/μLEX Taq DNA 聚合酶, 1 μL 的 cDNA 模板, 1 μL 的 10 μmol/L*OsOARβ2R*-F, 1 μL 的 10 μmol/L*OsOARβ2R*-R 引物, 反应总体积为 25 μL, 扩增产物纯化后 PCR 产物由捷瑞(上海)生物工程有限公司测序。

1.3 *OsOARβ2R* 基因及其氨基酸序列分析

根据测序结果分析获得 *OsOARβ2R* 的 ORF, *OsOARβ2R* 分析采用 NCBI 的 BLAST 软件, *OsOARβ2R* 翻译采用 EXPASY 网站的 Translate 软件。蛋白质结构域分析采用 NCBI 的 CDD 软件, 通过 SWISS-MODEL 网站进行三维模型构建。OAR 序列多重比对采用 DNAMAN 软件, 系统进化树采用 MEGA-X 软件的邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建。

1.4 *OsOARβ2R* 基因的定量

以 *β-actin* 作为内参基因, 引物序列见表 1。qRT-PCR 采用 biosharp® SYBR Green Master Mix 试剂盒(兰杰柯科技, 广州), 反应体系: 模板 4.5 μL, 引物(*qOARβ2R*-F、*qOARβ2R*-R, 10 μmol/L)各 0.25 μL, SYBR Green Realtime PCR Master Mix 5 μL。反应过程: 95℃变性 1 min, 40 个循环; 95℃变性 5 s; 60℃退

火 10 s; 72℃延伸 15 s; 结束后根据熔解曲线, 分析产物的特异性。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算中华蛸不同组织、幼体不同饥饿时间和不同发育阶段 *OsOARβ2R* 基因相对表达水平, 使用 SPSS 23 软件进行显著性差异分析。 $P < 0.05$ 表示差异显著。数据以平均值±标准误差(mean ± SE, $n=6$)表示。

2 结果

2.1 *OsOARβ2R* 序列分析

OsOARβ2R 的 ORF 长度 1 158 bp, 编码 385 个氨基酸, 预测的蛋白质的相对分子量为 44.536 kDa, 等电点为 8.58。利用 NCBI 的 CDD 软件预测 *OsOARβ2R* 的蛋白质(*OsOARβ2R*)具有 7 个跨膜结构域(TM1-7)(图 1)。预测的 *OsOARβ2R* 蛋白质三级结构显示, 其含有 9 个 α-螺旋, 2 个 β-折叠(图 2)。

2.2 *OsOARβ2R* 序列多重比对和系统进化树分析

选取加州双斑蛸(*O. bimaculoides*, 登录号: XP_014771877.1)、欧洲大扇贝(*Pecten maximus*, 登录号: XP_033757386.1)、福寿螺(*Pomacea canaliculate*, 登录号: XP_025094782.1)、加州海兔(*Aplysia californica*, 登录号: NP_001191606.1)、海天牛

```

1  atgcaataaatacaaaactgcaagccgaacaaacatggctgactttacaacgaaacttatgtagaggaatcttca 75
1  M Q I N Q T A S R T N M A D F T N E T Y V E E S S 25
76  cttgatttccctcttatttttagtctatagcaatgggtgctataatgggtgctgctgttttcgggaactttctg 150
26  L D F L F I F R S I A M V A I M V C A V F G N F L 50
151  gtcataattagcgtgtataaattctatcgtctacgagtgttaacgaactatttcattgtgctcattggcgtttgca 225
51  V I I S V Y K F Y R L R V L T N Y F I V S L A F A 75
226  gacttattagtcgctttaatggctcatgccgttttagtgcctagatcgaatcatgaacggccaatgggttttcggc 300
76  D L L V A L M V M P F S A S I E I M N G Q W F F G 100
301  cgtactatgtgtgataatttaatgcgaacgacgttcttttcagtcacgcttccattttgcatctttgttcac 375
101  R T M C D I F N A N D V L F S T A S I L H L C C I 125
376  agtatggatcgcttacatagctataatgtatccgttaaaatgatgtcatatgacaagggtacgagtattagtg 450
126  S M D R Y I A I M Y P L K Y D C H M T R V R V L V 150
451  atgctcgtttataacatgggtgtcttcagtggtatattcttaccattccagttcattctcagctctacaccacaaa 525
151  M L V I T W V S S V C I S Y I P V H S Q L Y T T K 175
526  gaaaatgttttggagctgtacaatgcaacgaacacgtgtccgttcgtagtcacactcaatgacagttatgtcg 600
176  E N V L E L Y N A T N T C P F V V N T Q Y A V M S 200
601  tcttctgtttcgttttggatacctgggtcgataatgggtttgtttgtatgtaaaaatataatttggagctcgaga 675
201  S F V S F W I P G A I M V C L Y V K I Y L E A R R 225
676  caagagcagctattcaatcgacagtgatgcttcacacgaactatcatagtgccctattggccaacggaagtcga 750
226  Q E H A I Q S T V M L H T N Y H S G L L A N G S R 250
751  tatacggatagctcagaacaaagaaatgaacgaaagcgaataaaagcgtgaacataaagcagctaaaacgctgggg 825
251  Y T D T S E Q R N E R K R I K R E H K A A K T L G 275
826  atcataatgggagcatttcttctgtttttatgccgttcttctcctggtatgtaatacacaacatctgccaaag 900
276  I I M G A F L A C F M P F F S W Y V I T N I C Q E 300
901  gcttgcccttatcccccgctatttgagttcgacactattctggatcggttactttaattctctgctaaacctata 975
301  A C P Y P P V L S S T L F W I G Y F N S C L N P I 325
976  atctatgcttacttcaatagagactttagaaatgctttcatcaaacgctcaaacgtgaaaatgccgttgtttc 1050
326  I Y A Y F N R D F R N A F I K L L K L E K C R C F 350
1051  cggcaagattccgacgctgcttatttaaacactgctacgaatattctcagaccacaagacatgacaagcgttcat 1125
351  R Q D S D V V H L N Y A T N I S D H K D M T S V H 375
1126  ctaagtgtagacaccggaggaaccagataaa 1158
376  L S V D T R R Q P V * 385
    
```

图 1 *OsOARβ2R* 的序列及推导的氨基酸序列

Fig. 1 ORF and amino acid sequences of *OsOARβ2R*

小写字母为核苷酸序列，大写字母为对应编码的氨基酸序列；起始密码子 atg 和终止密码子 taa 用加粗表示；下划线部分表示 7 个跨膜结构域 Lowercase letters represent the nucleotide sequence, and capital letters below the nucleotide sequence are the corresponding encoded amino acid sequence; The initiation codon (atg) and the stop codon (taa) are shown in bold; The underlined parts represent the seven transmembrane domains (TMs)

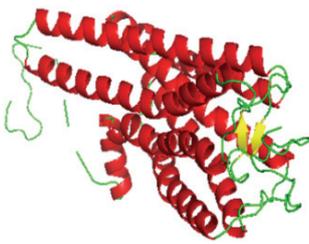


图 2 *OsOARβ2R* 蛋白质三级结构

Fig. 2 Tertiary structure of the *OsOARβ2R* protein

(*Plakobranchnus ocellatus*, 登录号: GFN90552.1)、美洲牡蛎(登录号: XP_022286284.1)等 12 种无脊椎动物 OAR 与 *OsOARβ2R* 进行氨基酸序列一致性的比较(图 3), 结果显示, *OsOARβ2R* 与加州双斑蛸 OAR 的一致性最高, 达 81.50%, 与福寿螺、海天牛、加州海兔的 OAR 分别达到 48.24%、47.36%和 46.48%, 其中, TM3 最保守。系统进化树结果显示(图 4), *OsOARβ2R* 与软体动物门的加州双斑蛸聚为一支, 再与软体动物门的

其他物种聚为一大支, 另一大支为节肢动物门(表 2)。

2.3 *OsOARβ2R* 在不同组织/器官、不同饥饿时间及不同胚胎发育时期的表达水平

QRT-PCR 结果显示: 在成体 10 个组织/器官中, *OsOARβ2R* 均有表达, 在后唾液腺中的表达水平最高, 其次是脑和小肠(图 5)。饥饿对中华蛸幼体的存活、体态和游动行为有显著的影响。随着饥饿时间的增加, 饥饿第 3 天时, 中华蛸体色变浅, 趋光性变弱, 部分沉入桶底。至饥饿第 5 天, 出现体色发白, 绝大多数死亡的现象; 在幼体饥饿实验中, 随着饥饿时间的推移, *OsOARβ2R* 的表达水平在饥饿 2 d 后显著降低, 紧接着在饥饿 3 d 时表达水平显著升高, 且表达水平达到最高, 之后表达水平开始回落(图 6)。 *OsOARβ2R* 在中华蛸整个胚胎发育周期中均可检测到, 且在多细胞期表达水平最高, 后显著下降, 黑珠期显著高于红珠期及初孵幼体(图 7)。

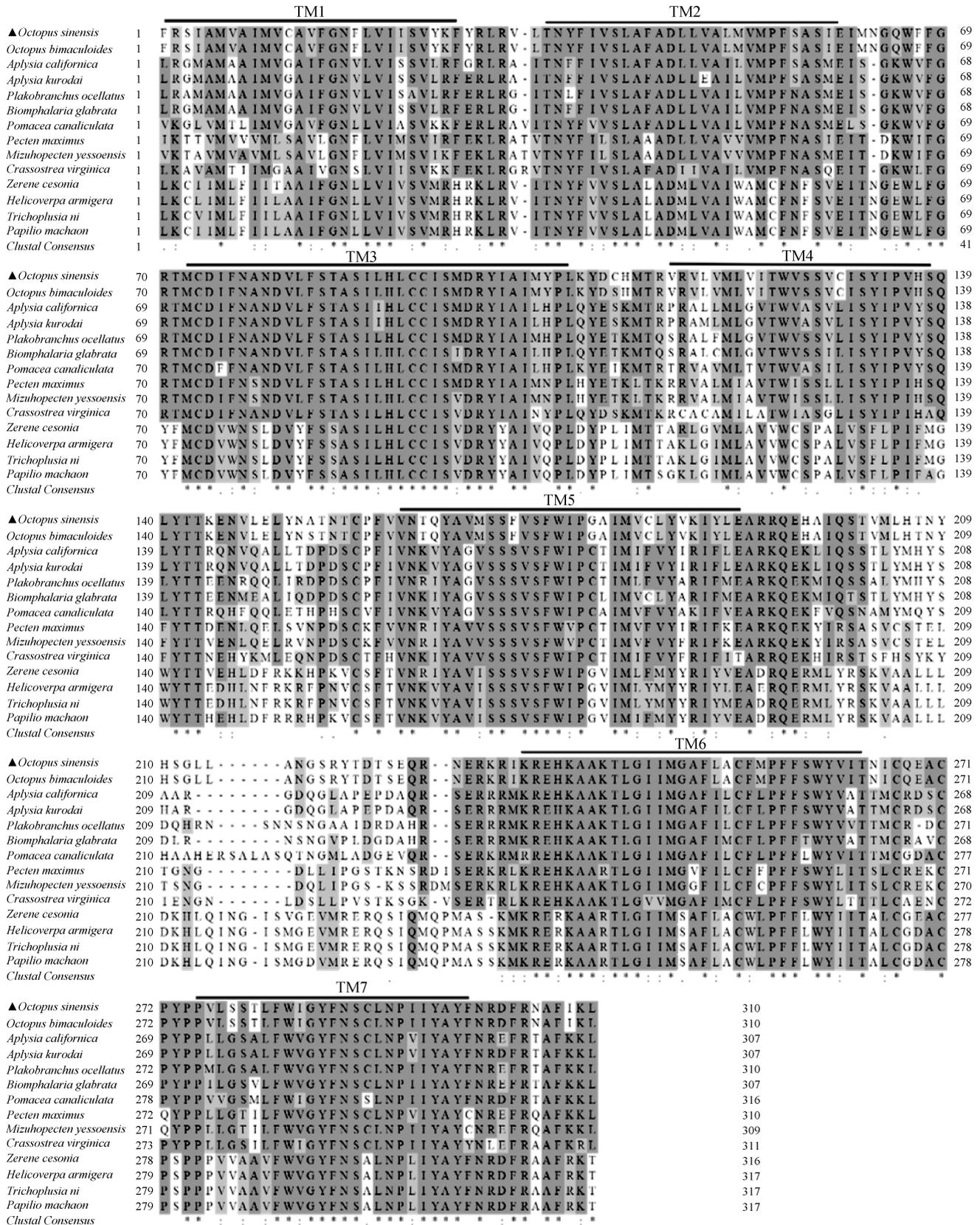


图3 *OsOARβ2R* 与其他动物 OAR 氨基酸序列的比对

Fig. 3 Alignment of the amino acid sequence of *OsOARβ2R* and other invertebrate OAR

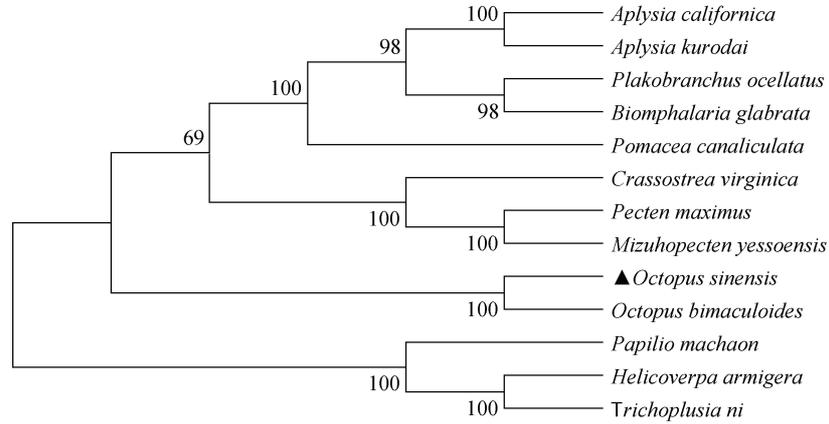


图 4 不同物种 OAR 系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of OAR from different species

表 2 OAR 多重比对及系统进化分析所用到的物种
Tab. 2 Species used in multiple alignments and phylogenetic analysis of OAR

物种名称	基因登录号
加州海兔(<i>Aplysia californica</i>)	NP_001191606.1
黑斑海兔(<i>Aplysia kurodai</i>)	AAF28802.1
海天牛(<i>Plakobranthus ocellatus</i>)	GFN90552.1
光滑双脐螺(<i>Biomphalaria glabrata</i>)	XP_013096128.1
福寿螺(<i>Pomacea canaliculate</i>)	XP_025094782.1
美洲牡蛎(<i>Crassostrea virginica</i>)	XP_022286284.1
欧洲大扇贝(<i>Pecten maximus</i>)	XP_033757386.1
虾夷扇贝(<i>Mizuhopecten yessoensis</i>)	XP_021378407.1
中华蛸(<i>Octopus sinensis</i>)	XP_029646079.2
加州双斑蛸(<i>Octopus bimaculoides</i>)	XP_014771877.1
金凤蝶(<i>Papilio machaon</i>)	KPJ13529.1
棉铃虫(<i>Helicoverpa armigera</i>)	XP_021187626.1
粉纹夜蛾(<i>Trichoplusia ni</i>)	XP_026729368.1

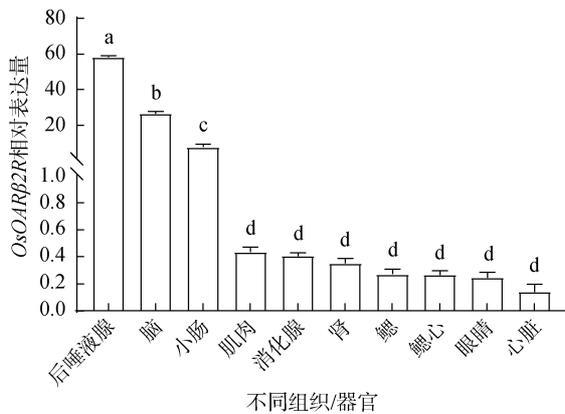


图 5 *OsOARβ2R* 在不同组织/器官的表达情况

Fig. 5 Expression of *OsOARβ2R* in different tissues/organs
不同的字母表示差异显著, 下同
Different letters indicate a significant difference at $P < 0.05$, the same below

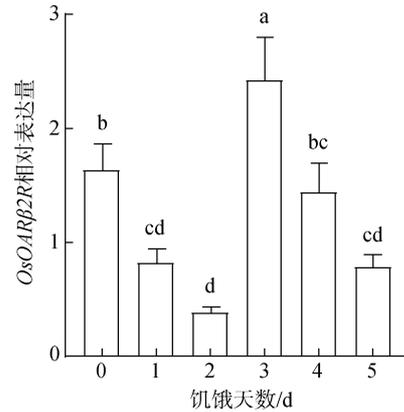


图 6 *OsOARβ2R* 在幼体饥饿过程中的表达情况

Fig. 6 Expression of *OsOARβ2R* during larval starvation

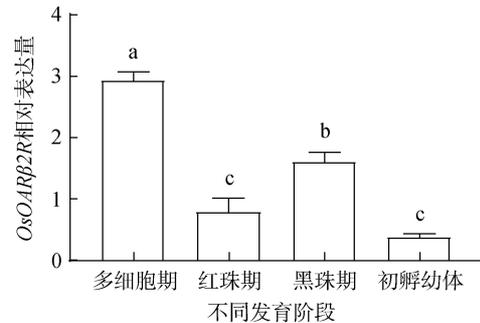


图 7 *OsOARβ2R* 在不同发育时期的表达情况

Fig. 7 Expression of *OsOARβ2R* at different stages of development

3 讨论

本研究克隆了 *OsOARβ2R*, 该序列编码 385 个氨基酸, 包含 7 个跨膜结构域。已知 G 蛋白偶联受体 7 个跨膜结构分别扮演不同的功能, TM1 参与受体的构象活化过程及与配基的结合; TM2 影响 G 蛋白的

偶联和信号的产生; TM3 在受体的活化、磷酸化、结构的完整性、表达等方面发挥重要的作用; TM4 参与配基结合和信号传递; TM5 对受体组装、表达和信号产生有一定影响; TM6 参与受体的表达及其与配基的结合; TM7 对配基的传递和信号传导产生一定的影响^[10]。中华蛸 *OsOARβ2R* 跨膜结构 TM3、TM5、TM6、TM7 相对保守, 推测具有识别配体, 激活 G 蛋白的功能。跨膜结构域 TM4 最不保守, 其可能与识别不同的 G 蛋白如 Gi 与 Gq 蛋白有关。多重序列比对结果显示, *OsOARβ2R* 与加州双斑蛸的 OAR 的一致性达 81.50%; 系统进化树结果显示, *OsOARβ2R* 与软体动物门的加州双斑蛸聚为一支, 再与软体动物门的其他物种聚为一大支, 系统进化关系与传统进化关系一致, 这些结果充分表明本研究所得到的基因序列为 *OsOARβ2R*。

蔡英亚等^[16]认为八腕目的唾液腺有分泌蛋白酶和淀粉酶等各种消化酶及蛋白毒素的功能; 长蛸(*O. variabilis*)的唾液腺能够分泌具有黏合食物、润滑消化道的黏多糖, 同时能够分泌消化酶及毒素^[17]。中华蛸雌蛸的护卵行为是卵孵化率较高的前提保证, 其护卵行为使受精卵免受病、敌害的侵害, 在无雌蛸的看护下, 密集的卵群易遭受病、敌害如水霉菌、原生动物和桡足类等的侵袭^[18]。章鱼胺与 OAR 控制着昆虫的许多生理行为, 过高的章鱼胺浓度影响着昆虫的正常生理行为, 达到驱杀的目的^[11]; 章鱼胺与 OAR 也参与厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)的免疫反应^[14]。荧光定量 PCR 结果显示, *OsOARβ2R* 在 10 个组织/器官中均有表达, 在后唾液腺中的表达水平显著高于其他组织, 据此推测中华蛸唾液蛋白毒素中章鱼胺含量较高, 护卵雌蛸分泌唾液保护受精卵免遭病、敌害的侵袭。

本实验中, 饥饿对中华蛸幼体的存活有显著的影响。饥饿第 3 天, 中华蛸体色变浅, 趋光性变弱, 部分沉入桶底, 至饥饿第 5 天, 出现体色发白, 绝大多数死亡的现象, 因此, 幼体不可逆点为饥饿后第 3 天, *OsOARβ2R* 的表达水平可作为幼体代谢是否正常的一个指标。

在中华蛸幼体饥饿实验中, 随着饥饿时间的推移, *OsOARβ2R* 的表达水平在饥饿 2 d 后显著降低, 紧接着在饥饿 3 d 时表达水平显著升高, 且表达水平达到最高, 之后表达水平开始回落。这一趋势与课题组先前关于饥饿后中华蛸幼体中的糖酵解基因 *PK*、*GPI* 和脂肪代谢基因 *GOT2*、*MTTP*、*PLPP1*^[19]及

FAXDC2^[20]的相关表达结果一致。OAR 作为典型的 G 蛋白偶联受体, 参与机体的众多生命代谢活动, 推测 OAR 参与了饥饿条件下幼体的糖酵解及脂质代谢过程, 在维持机体生命活动的过程中起重要作用。

本次试验是在有母蛸护卵的情况下进行的。不同的胚胎发育时期 *OsOARβ2R* 表达水平测定结果表明: *OsOARβ2R* 在中华蛸整个发育周期均可检测到, 且在多细胞期表达水平最高, 后显著下降, 黑珠期显著高于红珠期及初孵幼体。詹萍萍等^[21]研究长蛸胚胎发育可溶性蛋白中发现, 可溶性蛋白含量随着长蛸胚胎的发育逐渐减少。在多细胞期时, 需要大量的活性蛋白以满足机体细胞分裂与分化, *OsOARβ2R* 在加工与修饰蛋白维持机体发挥很大的作用, 因此, 表达水平最高; 伴随机体发育, 从红珠期开始, 胚胎已发育出的各种组织与器官^[22-24], 能满足基本的物质循环与能量流动, 表达水平显著下降。在黑珠期胚胎发生一次反转^[22], 需要消耗较多的能量, 黑珠期 *OsOARβ2R* 表达水平显著高于红珠期及初孵幼体。

生产中作者发现, 在中华蛸受精卵孵化过程中, 在红珠期前, 没有雌蛸护卵的受精卵会腐烂死亡, 有护卵的则能正常发育, 而从红珠期后母蛸有没有护卵, 受精卵均能正常孵出。推测在红珠期前, 需由母蛸唾液中的章鱼胺来维持幼体 *OsOARβ2R* 表达在正常的水平范围内, 母蛸唾液中的章鱼胺使受精卵不但可以抵御病原生物的侵袭, 同时也维持胚胎的正常代谢及发育, 从红珠期开始, 胚胎发育已形成幼体雏形, 胚胎自身可产生的足够量的章鱼胺以抵御病原生物的侵袭, 有无雌蛸护卵均可正常发育。不同发育时期 *OsOARβ2R* 表达水平的变化, 将为今后无雌蛸护卵的受精卵孵化技术的研究提供一个基础数据。

参考文献:

- [1] AMOR M D, NORMAN M D, CAMERON H E, et al. Allopatric speciation within a cryptic species complex of Australasian octopuses[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98982.
- [2] IAN G. *Octopus sinensis* d'Orbigny, 1841 (Cephalopoda: Octopodidae): Valid species name for the commercially valuable East Asian common octopus[J]. *Species Diversity*, 2016, 21(1): 31-42.
- [3] IGLESIAS J, SÁNCHEZ F J, BERSANO J, et al. Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends[J]. *Aquaculture*, 2007, 266(1-4): 1-15.

- [4] 马之明, 徐实怀, 贾晓平. 蛸类渔业概况及增殖研究现状与展望[J]. 南方水产, 2008, 4(5): 5.
MA Zhiming, XU Shihuai, JIA Xiaoping. Research status and exploitation prospect in production basic biology and aquaculture of Octopus[J]. South China Fisheries Science, 2008, 4(5): 5.
- [5] 任静, 何卫彤, 王丽华, 等. 中华蛸寄生丛集球虫(顶复亚门: 丛集球虫科)新种的形态学与分子生物学研究[J]. 海洋与湖沼, 2021, 52(5): 1323-1331.
REN Jing, HE Weitong, WANG Lihua, et al. Morphological and molecular characterization of a new species of aggregate (apicomplexa: aggregatidae) infecting *Octopus sinensis*[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2021, 52(5): 1323-1331.
- [6] LI F H, LIU Y Y, QIN B, et al. Sequence and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome for the East Asian common octopus, *Octopus sinensis* (Octopodidae: Octopoda)[J]. Mitochondrial DNA Part B, 2021, 6(8): 2120-2122.
- [7] SHIGEKI D, SHODAI S, ARATA T, et al. Changes in behavioural patterns from swimming to clinging, shelter utilization and prey preference of East Asian common octopus *Octopus sinensis* during the settlement process under laboratory conditions[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2021, 539: 151537.
- [8] 叶守建, 周劲望, 杨铭霞, 等. 全球头足类资源开发现状分析及发展建议[J]. 渔业信息与战略, 2014, 29(1): 7.
YE Shoujian, ZHOU Jinwang, YANG Mingxia, et al. Exploitation of cephalopod resources in the world and development suggestion[J]. Fishery Information & Strategy, 2014, 29(1): 7.
- [9] GAO Y M, NATSUKARI Y. Karyological studies on seven cephalopods[J]. Venus, 1990, 49(2): 126-145.
- [10] 郭志云, 张怀渝, 梁龙. G 蛋白偶联受体的结构与功能[J]. 生命的化学, 2004, 24(5): 412-414.
GUO Zhiyun, ZHANG Huaiyu, LIANG Long. Structures and functions of G protein-coupled receptors[J]. Chemistry of Life, 2004, 24(5): 412-414.
- [11] 李慧敏. 桔小实蝇章鱼胺受体基因 *BdOctβ1R* 和 *BdOctβ2R* 的生理功能及药理学特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.
LI Huimin. Studies on the physiological function and pharmacological properties of *BdOctβ1R* and *BdOctβ2R* in *Bactrocera dorsalis*(Hendel)[D]. Chongqing: Southwest University, 2017.
- [12] COON S L, BONAR D B. Pharmacological evidence that alpha 1-adrenoceptors mediate metamorphosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*[J]. Neuroscience, 1987, 23(3): 1169-1174.
- [13] COON S L, FITT W K, BONAR D B. Competence and delay of metamorphosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. Marine Biology, 1990, 106(3): 379-387.
- [14] 陈艳文. 章鱼胺受体 *McOAR2* 在厚壳贻贝发育及免疫过程的作用研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
CHEN Yanwen. Effect of Octopamine receptor *McOAR2* on metamorphosis and immunoreactions in *Mytilus coruscus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [15] PRYCE K, SAMUEL D, LAGARES E, et al. Presence of octopamine and an octopamine receptor in *Crassostrea virginica*[J]. Vivo, 2015, 37(1): 16.
- [16] 蔡英亚, 张英, 魏若飞. 贝类学概论[M]. 上海: 上海科技出版社, 1982: 54-56.
CAI Yingya, ZHANG Ying, WEI Ruofei. Conspectus of mollusca[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1982: 54-56.
- [17] 崔龙波, 赵华. 长蛸唾液腺和消化腺的组织学与组织化学研究[J]. 海洋科学, 2001, 25(7): 38-40.
CUI Longbo, ZHAO Hua. Histological and histochemical studies on salivary glands and digestive glands of *Octopus variabilis* SASAKI[J]. Marine Sciences, 2001, 25(7): 38-40.
- [18] 林国清, 黄健, 胡荣炊, 等. 真蛸人工繁殖初步试验[J]. 福建水产, 2008, 9(3): 16-20.
LIN Guoqing, HUANG Jian, HU Rongchui, et al. Preliminary experimentation artificial propagation of *Octopus vulgaris*[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2008, 9(3): 16-20.
- [19] SUN Y L, YAO C J, ZHU Y F, et al. Metabolism response of fasting in *Octopus sinensis* paralarvae revealed by RNA-seq[J]. Aquaculture, 2022, 550: 737859.
- [20] 肖懿哲, 姚成杰, 朱友芳, 等. 真蛸 *FAXDC2* 基因的克隆及其表达分析[J]. 海洋科学, 2019, 43(8): 56-63.
XIAO Yizhe, YAO Chengjie, ZHU Youfang, et al. Cloning and expression of *FAXDC2* in *Octopus vulgaris*[J]. Marine Sciences, 2019, 43(8): 56-63.
- [21] 詹萍萍, 王春琳, 张晓梅, 等. 长蛸胚胎发育过程中可溶性蛋白含量及组成变化[J]. 海洋学研究, 2010, 28(4): 65-69.
ZHAN Pingping, WANG Chunlin, ZHANG Xiaomei, et al. Variation of the content and composition of soluble proteins during embryonic development of *Octopus variabilis*[J]. Journal of Marine Sciences, 2010, 28(4): 65-69.
- [22] 郑小东, 刘兆胜, 赵娜, 等. 真蛸(*Octopus vulgaris*) 胚胎发育及浮游期幼体生长研究[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(2): 317-323.
ZHENG Xiaodong, LIU Zhaosheng, ZHAO Na, et al. Embryonic development and paralarval growth of *Octopus vulgaris*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2011, 42(2): 317-323.
- [23] 刘兆胜. 真蛸基础生物学和繁育技术研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
LIU Zhaosheng. Studies on fundamental biology and

artificial reproductive technique of *Octopus vulgaris*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.

[24] 蔡厚才, 庄定根, 叶鹏, 等. 真蛸亲体培育、产卵及孵化试验[J]. 海洋渔业, 2009, 31(1): 58-65.

CAI Houcai, ZHUANG Dinggen, YE Peng, et al. Experiment on stock culturing spawning and hatching of *Octopus vulgaris*[J]. Marine Fisheries, 2009, 31(1): 58-65.

Cloning and expression analysis of *OARβ2R* gene from *Octopus sinensis*

XIAO Yi-zhe¹, CHEN Xiao-ling², SUN Yu-long³, ZHANG Zi-ping³, WANG Yi-lei², ZHU You-fang¹

(1. Putian Municipal Institute of Fishery Science, Putian 351100, China; 2. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 3. College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Received: Dec. 27, 2021

Key words: *Octopus sinensis*; *OARβ2R*, starvation; embryonic development

Abstract: To understand the mechanism of hatching and larval development in *Octopus sinensis*, we cloned its *OsOARβ2R* gene and performed a bioinformatics analysis. Meanwhile, the expression of *OsOARβ2R* in different tissues/organs after different periods of starvation in newly hatched larvae and at different stages of embryonic development was analyzed. The results revealed that the open reading frame of *OsOARβ2R* is 1158 bp long, encodes 385 amino acids, and contains 7 transmembrane domains (TMs), which have commonality with G protein-coupled receptors. Among the TMs, TM3, TM5, TM6, and TM7 are relatively conserved. According to the amino acid homology comparison and phylogenetic tree analysis, *OsOARβ2R* shares the highest identity with the OAR of *O. bimaculoides*. The results of quantitative polymerase chain reaction revealed that the expression of *OsOARβ2R* was widespread in the 10 examined tissues/organs, with the highest expression level in the posterior salivary gland, followed by the brain and intestine. In the larval starvation experiment, the expression of *OsOARβ2R* decreased significantly after 2 days of starvation; increased significantly, reaching a peak at 3 days of starvation; and then declined to normal levels. *OsOARβ2R* could be detected throughout the embryonic development cycle, and its expression level was the highest at the multicellular stage, decreasing significantly thereafter. *OsOARβ2R* expression was also significantly higher in the black-bead stage than in the red-bead stage and in newly hatched larvae. These results provide basic data for studying the hatching and larval development mechanisms of fertilized *O. sinensis* eggs and for improving the efficiency of artificial seeding with *O. sinensis*.

(本文编辑: 谭雪静)