

笠贝 *soxb*、*mox* 基因的鉴定及在足原基发育中的表达模式*

王倩^{1,3} 郇聘^{1,3} 刘保忠^{1,2,3}

(1. 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学重点实验室 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋生物学与生物技术功能实验室 青岛 266000; 3. 中国科学院大学 北京 100049)

摘要 足是软体动物最重要的器官之一, 目前对其发育机制尚不了解。软体动物的足由神经和肌肉两部分构成, 研究足部神经和肌肉系统在发育早期的动态变化, 对于了解足的形态建成机制具有重要意义。本文利用电镜研究了笠贝(*Lottia goshimai*)足的早期发育过程。克隆了 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 基因, 整装原位杂交表明这两个基因分别表达在早期笠贝幼虫的神经外胚层和中胚层, 可作为足发育过程的分子标记。不同发育阶段幼虫的原位杂交结果表明, 神经外胚层和中胚层细胞在足发育的起始阶段尚未重叠, 而在后续发育阶段, 二者相向运动并重叠在一起。结果提示组成贝类足部的神经和肌肉细胞起源于早期胚胎不同的部位, 在发育过程中逐渐互相接近并重叠, 至担轮幼虫晚期共同作用形成足原基。本研究展示了足原基的早期形成过程, 为深入研究软体动物足的发育机制提供了基础信息。

关键词 笠贝; 足; 发育; 整装原位杂交

中图分类号 Q344 **doi:** 10.11693/hyhz20190100023

软体动物是仅次于节肢动物的第二大动物门类, 依不同的分类标准, 可分为七至八个纲(Smith *et al.*, 2011; Wanninger *et al.*, 2019)。软体动物成体形态多样化, 典型类群之间如头足纲(乌贼等)、腹足纲(螺类)、双壳纲(扇贝等)外部形态差别显著。然而, 这些动物实际上有类似的身体构成, 均包括贝壳、内脏团、足等几部分(Haszprunar *et al.*, 2012)。各个纲之间的差别主要来自这些结构不同程度的特化, 例如贝壳可以形成螺旋状(腹足纲)或分作两片(双壳纲)或者完全消失(多数头足纲及部分腹足纲)等。足是除贝壳外软体动物最重要的器官之一, 不同软体动物的足也表现出极大的形态多样性, 例如在腹足纲动物中足多为腹侧一宽大的扁平肌肉组织, 双壳纲动物的足则多形成侧扁的挖掘器官, 掘足类动物的足呈圆锥形, 头足类中足则特化为腕(Lee *et al.*, 2003; Haszprunar *et al.*,

2012)。因此, 足是理解软体动物的身体构造、生存方式和发育的重要方面。另外, 足在许多经济软体动物中是主要的经济价值部位, 如鲍、蛤等。解析足的发育和生长等机制对于认识软体动物的形态建成机制, 开发其潜在经济价值有重要的意义。

软体动物在担轮幼虫期即开始出现足原基, 至面盘幼虫阶段足已经非常明显(Wanninger *et al.*, 2001; Kay *et al.*, 2002)。足原基在幼虫腹侧形成, 随着发育的进行逐渐长大, 并发育出类群特异性的外部形态, 如扁平状、侧扁形、圆锥形等。变态前, 幼虫以足附着到基质上爬行, 此时的足在形态上与成体的足已无显著的差别。从组织构成的角度来讲, 软体动物的足分为神经和肌肉两个主要组成部分, 他们分别起源于原肠胚时期的外胚层和中胚层。这两类组织在胚胎发育中如何迁移, 最终相互作用形成足原基是研

* 国家自然科学基金项目, 41776157 号; 山东省重大科技创新工程专项课题, 2018SDKJ0302-1 号。王倩, 硕士研究生, E-mail: wqtianming@163.com

通信作者: 刘保忠, 博士生导师, 研究员, E-mail: bzliu@qdio.ac.cn

收稿日期: 2019-01-25, 收修改稿日期: 2019-03-12

究足发育的重要方面,但至今调控此过程的分子机制尚不清楚。

soxb 基因属于 Sox 转录因子基因家族,在早期胚胎的神经外胚层细胞中表达,在神经系统的发育中起重要作用(Focareta *et al*, 2016)。*mox* 基因属于同源异形基因家族,在中胚层细胞的早期发育中起重要作用(Candia *et al*, 1992; Cossu *et al*, 1996; Baylies *et al*, 1998)。软体动物足的神经和肌肉组织来自于早期发育中的神经外胚层和中胚层细胞,*soxb* 和 *mox* 可以分别作为其标记基因。研究表明,软体动物早期发育中 *soxb* 和 *mox* 基因分别在神经外胚层及中胚层中表达,参与足部神经和肌肉系统发育的调控过程(Hinman *et al*, 2002; Le Gouar *et al*, 2004)。然而这些研究多关注发育晚期的幼虫阶段,或仅关注神经发育,缺乏其在早期足原基的发育过程中的表达信息。本研究鉴定了笠贝(*Lottia goshimai*)的 *soxb* 和 *mox* 基因,研究了它们在早期幼虫神经和肌肉系统中的表达模式动态变化,为理解软体动物足的发育过程提供了重要参考。

1 材料与方法

1.1 笠贝幼虫的培养及固定

成体笠贝采集自青岛沿海,待其自然排卵产精,收集成熟的卵细胞在塑料器皿中,加入精子悬液进行人工授精,受精卵于 25°C 培养。分别取受精后 10h、12h (hpf, hours post fertilization)担轮幼虫样品,经 4% 多聚甲醛溶液固定后梯度甲醇脱水,于-20 保存。

1.2 *soxb* 和 *mox* 同源基因的克隆和鉴定

利用长牡蛎 *soxb*、*mox* 的序列信息,从笠贝转录组中比对得到同源序列,获得笠贝 *soxb* 和 *mox* 同源基因的 cDNA 全长,并分别命名为 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox*。通过与已知 *soxb*、*mox* 基因进行序列比对,确认所获序列包含完整的 CDS。

1.3 *soxb* 和 *mox* 同源基因序列特征和聚类分析

分别对 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 编码的氨基酸序列特征进行了生物信息学分析,利用 ExPASy 网站提供的工具(http://web.expasy.org/compute_pi/)预测了分子量和等电点,使用 SMART 在线工具(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)预测了蛋白结构域,利用 NCBI 中 CD-Search 在线工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)鉴定蛋白质保守结构域。利用 MEGA 软件分别对 *lgo-soxb*、*lgo-mox* 编码蛋白序列及其他种属动物的同源序列进行了聚类分析,并以

Neighbor-Joining 法构建了演化树。

1.4 整装原位杂交

以带有 T7 启动子序列的引物扩增笠贝的 cDNA 作为探针模板,引物序列: *lgo-soxb*-F (TTGCGACCG ATCCTAGAGTGA)、*lgo-soxb*-R (TCCGTCTGTGGT GGCTTGT), *lgo-mox*-F (GGAAGATCCAGAGAGAA TGAATGCT)、*lgo-mox*-R (GTCCATCAACTCTATCT TTACCT ACTTTCG)。以上述反应的产物为模板,使用地高辛标记的 NTP 混合物和 T7 RNA 聚合酶通过体外转录合成地高辛标记的 RNA 探针。整装原位杂交参照 Thisse 报道的方法进行(Thisse *et al*, 1993)。

1.5 扫描电子显微镜观察

笠贝幼虫在 2.5%戊二醛中固定后梯度脱水至 100%乙醇,然后经 1:1 乙醇/乙酸异戊酯混合液过渡后转移至乙酸异戊酯中,经二氧化碳临界点法干燥后喷金,置于 Hitachi S-3400N 扫描电子显微镜下观察记录。

2 结果

2.1 笠贝足原基的形成过程

笠贝的足原基最早在担轮幼虫阶段开始形成。我们选取了担轮幼虫阶段的两个时期,观察了幼虫腹侧足原基的形成过程。如图 1 所示,在受精后 10h 的幼虫中,足原基尚未形成,腹侧组织主要是神经外胚层

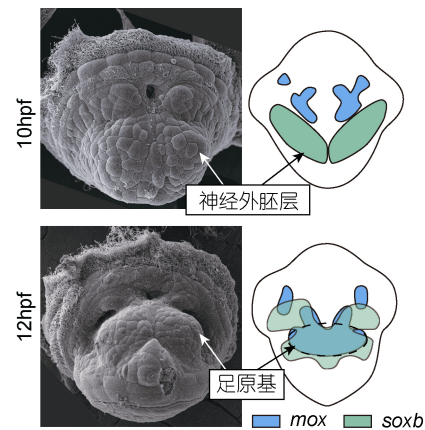


图 1 笠贝担轮幼虫的电镜图片与 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 基因腹侧表达模式示意图

Fig.1 Scanning electronic microscopic image of the trochophores of *L. goshimai* and the schematic diagrams showing the ventral expression of *lgo-mox* and *lgo-soxb*

注:在电子显微镜下,幼虫腹侧的神经外胚层(neuroectoderm)和足原基(foot anlage)很显著。由于中胚层组织不在幼虫表面,在电镜照片中不易确定其准确位置。10 hpf、12 hpf 分别代表受精后 10 和 12 小时的幼虫。右侧基因表达示意图由原位杂交结果总结而来(见下文)

组织, 中央部分的凹陷的中线组织(midline)将其分为对称分布的两部分。在受精后 12h 的幼虫中, 中线组织已经消失, 腹侧组织愈合并显著隆起, 即为足原基。

2.2 笠贝 *soxb* 和 *mox* 基因序列特征

lgo-soxb 基因编码区全长 1041bp, 编码一个长 346 个氨基酸的前体蛋白, 其理论分子量为 38.70kDa, 理论等电点 9.57。预测其中第 79—149 个氨基酸位点为 HMG DNA 结合结构域(图 2a)。多序列比对表明, *lgo-soxb* 编

码多肽的 HMG 结构域与 SoxB 亚家族分子有更高的序列相似性, 而与其他亚家族如 SoxC、SoxD、SoxF 等的相似性稍低(图 3a)。*lgo-mox* 基因编码区全长 771bp, 编码一个长 256 个氨基酸的前体蛋白, 其理论分子量为 29.52kDa, 理论等电点 8.83。预测其中第 149—211 个氨基酸位点为同源异形结构域(homeodomain) (图 2b)。多序列比对表明该部分的氨基酸序列组成与其余同源异形基因如 Hox 等十分相似(图 3b)。

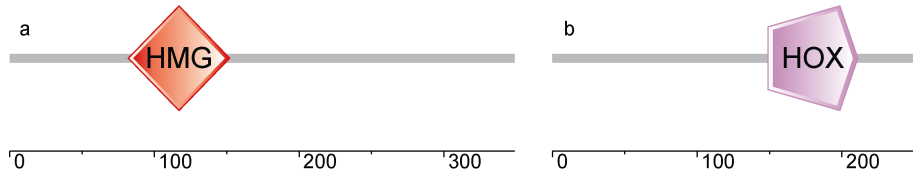


图 2 *lgo-soxb* (a)和 *lgo-mox* (b)基因所编码多肽的结构示意图
Fig.2 Schemes of the peptides encoded by *lgo-soxb* (a) and *lgo-mox* (b)

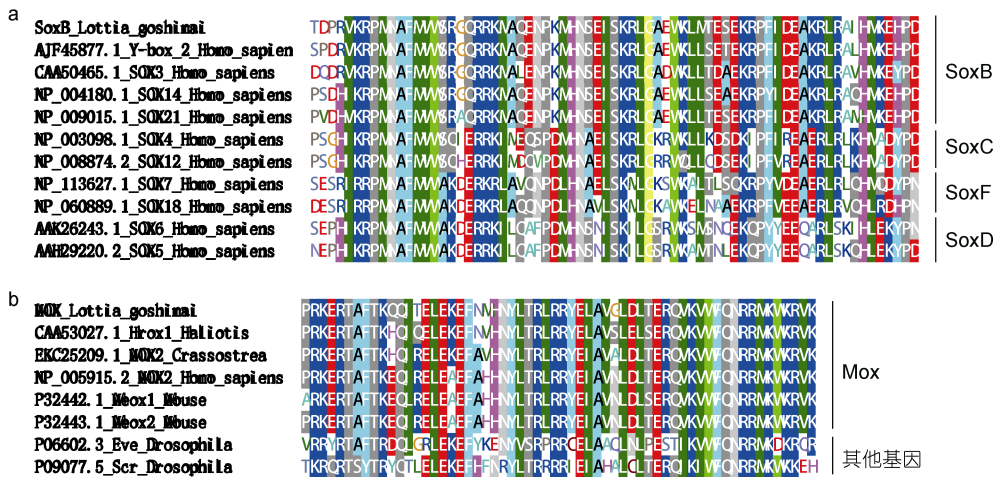


图 3 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 基因分别编码的 HMG 结构域(a)和同源异形结构域(b)的多序列比对分析
Fig.3 Multi-alignment of the HMG box from Lgo-Soxb (a) and the homeodomain from Lgo-Mox (b)

2.3 聚类分析

对笠贝中 *lgo-soxb* 和其他物种中的同源序列进行聚类分析, 以 NJ 法构建了演化树(图 4)。聚类分析确认 Lgo-Soxb 基因属于 SoxB 家族成员。如图 4 所示, Lgo-Soxb 先与牡蛎等其他软体动物的 Soxb 基因聚为一支, 再与人 Soxb1 基因(在哺乳动物中对应 Sox1、Sox2、Sox3)分支聚在一起, 而其他的 Sox 基因家族成员分别聚为几支。

对笠贝 *lgo-mox* 基因和其他同源异形基因如 *evx* 和 *scr* 进行了聚类分析, 构建了 NJ 树。如图 5 所示, 聚类分析确认 Lgo-Mox 属于 Mox 基因。Lgo-Mox 先与其他腹足类软体动物的 Mox 基因聚为一支, 再与双

壳纲软体动物的 Mox 基因形成一支; 其他人、鼠等脊椎动物的 Mox 基因聚为一支, 果蝇的 Mox 基因(称作 Btn)则单独聚为一支。而 *Evx* 基因和 *Scr* 基因则各自聚成两个分支, 与 Mox 基因分开。

2.4 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 在笠贝早期发育中的表达分析

我们利用原位杂交技术观察了笠贝担轮幼虫时期(10hpf 和 12hpf) *soxb* 和 *mox* 基因的表达规律。结果如图 6 所示。10hpf 幼虫中 *lgo-mox* 在腹侧内部区域表达(图 6b, c), 呈“Y”字形对称表达, 而在背侧无表达(图 6a); 发育到 12hpf 时, 在腹侧 *lgo-mox* 基因在足原基附近内部略有表达(图 6e, f), 区域相比于 10hpf 的位置略偏下且范围更大, 而在背侧出现了新的表达(图 6d)。

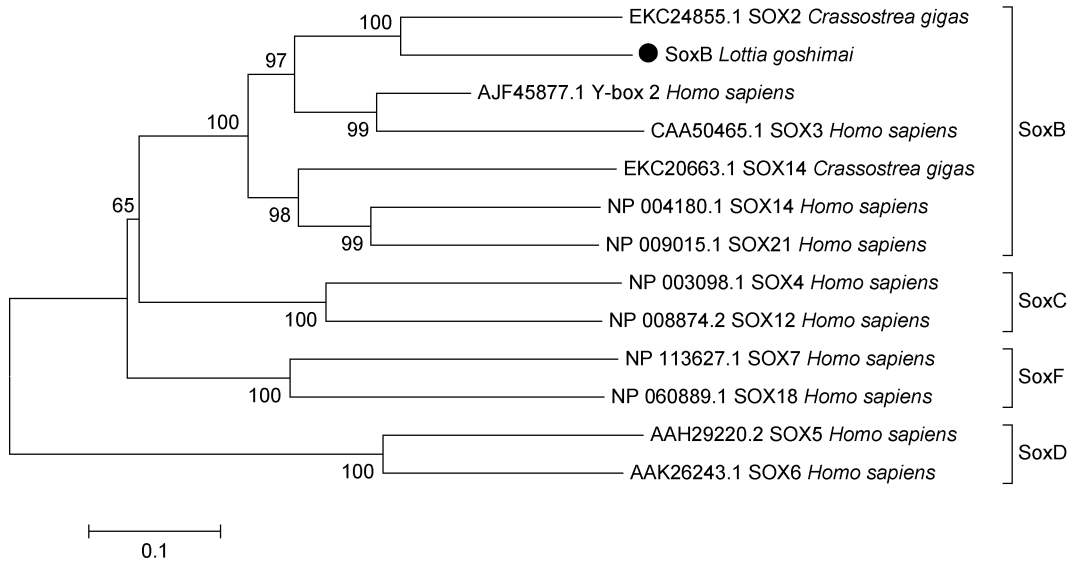


图 4 Neighbor-joining 法构建的 *lgo-soxb* 的演化树

Fig.4 The phylogenetic tree of *lgo-soxb* built by neighbor-joining method
注: 节点处的数值表示 1000 次重复抽样所得的自举(bootstrap)值

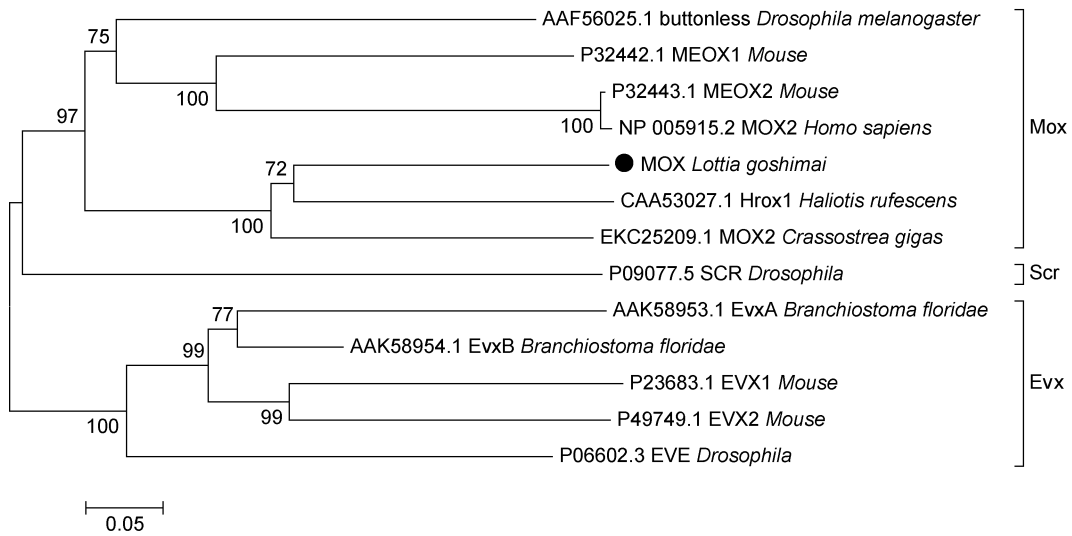


图 5 NJ 法构建的 *lgo-mox* 的演化树

Fig.5 The phylogenetic tree of *lgo-mox* built by neighbor-joining method
注: 节点处的数值表示 1000 次重复抽样所得的自举(bootstrap)值

lgo-soxb 基因在 10hpf 幼虫中主要在腹侧呈现对称的两部分表达(图 6h, i), 在担轮环前部区域有表达(图 6g, h, i); 发育到 12hpf 时, *lgo-soxb* 基因在腹侧足原基部位对称表达(图 6k, l), 呈现出随时间推移表达区域变大以及上移的特点; 其在担轮环前部区域仍有表达(图 6j, k, l), 而且在背侧也出现了新的表达(图 6j)。

2.5 笠贝胚胎形态变化与基因表达的一致性

在这两个发育阶段, 笠贝 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 在

腹侧的表达展示出和足发育的相关性, 其示意图如图 1 所示。与扫描电子显微镜观察揭示的形态学变化相符, 10hpf 时足原基尚未形成, *lgo-mox* 表达区域的下部和 *lgo-soxb* 表达区域的上部邻近但不重叠, 提示此时神经外胚层和中胚层的细胞并未混合在一起。幼虫发育至 12hpf 时, 足原基已经形成, 与之对应的是 *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 在腹侧的表达互相靠拢且呈现大片重叠区域, 提示此时中胚层细胞和神经外胚层细胞混合在一起, 共同组织形成了足原基。

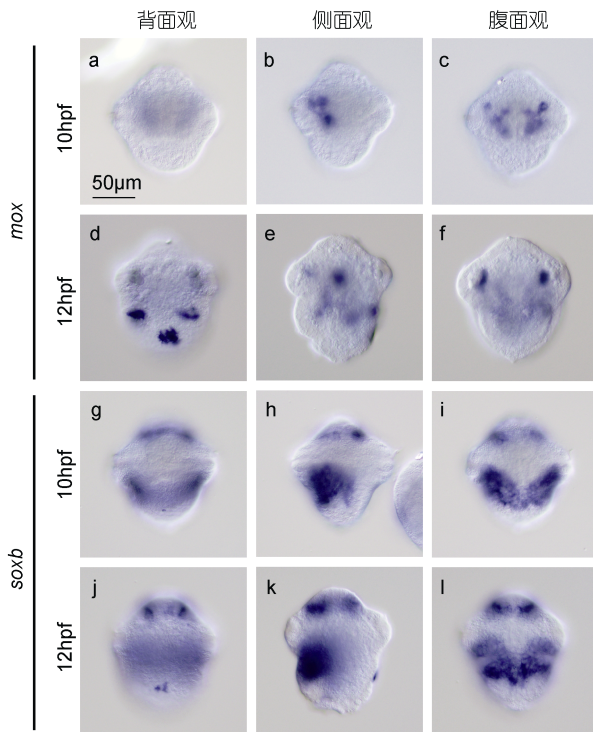


图 6 *lgo-mox* 和 *lgo-soxb* 基因在笠贝幼虫中的表达模式

Fig.6 Expression patterns of *lgo-mox* and *lgo-soxb* in *L. goshimai* larvae

注: 10hpf、12hpf 分别代表受精后 10h 和 12h 的幼虫

3 讨论

神经和肌肉分别来自动物胚胎早期分化形成的神经外胚层和中胚层细胞, *soxb* 和 *mox* 分别是介导早期神经外胚层和中胚层分化的重要基因。有研究表明, 这两个基因在软体动物神经外胚层及中胚层中表达, 可能参与足部的发育(Hinman *et al*, 2002; Le Gouar *et al*, 2004)。因此作者选取了 *soxb* 基因和 *mox* 基因作为标记基因, 通过分析它们表达模式研究早期幼虫中神经和肌肉系统动态变化。尽管面盘幼虫期才出现明显的足, 然而前期观察表明足的发育起始于更早的发育阶段, 因此作者选取了处于 10hpf 和 12hpf 的笠贝担轮幼虫。结果表明, 在该时期中神经和肌肉标记基因的表达表现出显著的动态变化, 可能是足早期发育的关键时期, 为了解足的发育模式提供了重要参考。

10hpf 的担轮幼虫代表了足发育的起始阶段。如图 1 和图 6 所示, 在该时期, 神经外胚层和中胚层细胞尚未重叠。这表明, 组成贝类足部的神经和肌肉细胞起源于早期胚胎不同的部位, 这也和细胞谱系分析的结果相一致(Dictus *et al*, 1997)。在后续发育阶段,

二者相向运动并重叠在一起, 展示了原始的神经和肌肉组织迁移并重组形成足原基的动态过程, 这是对腹足类动物足发育最初阶段发育细节的首次描述, 在其他类群软体动物中是否遵循这种规律尚需进一步研究。尽管不同软体动物的同源器官(如足和贝壳)差别很大, 但它们的早期发育可能有很多相似之处。例如贝壳的结构和形态差别极大, 然而不同软体动物贝壳早期的发育过程十分相似, 均来自原肠胚背部的一部分外胚层细胞, 甚至在担轮幼虫阶段的贝壳结构都极为相似(Wanninger *et al*, 2001; Nederbragt *et al*, 2002a; Mouëza *et al*, 2006)。由于足均来自腹侧的外胚层和中胚层细胞, 可以推测, 不同类群软体动物的足可能有一些共同的发育机制。另外, 有理由相信, 存在一个完善的信号系统协同调控这两类细胞的相向运动。组成足原基的神经和肌肉组织藉由何种信号迁移, 是研究足发育的下一个重要问题。与此同时, 神经外胚层和中胚层(肌肉)细胞必须有机的组织在一起才能形成功能性的足。在后续的发育中这两类细胞如何协同作用, 以至于互相调控对方的分化、增殖和迁移, 也是重要的研究方向。

作为广泛的神经外胚层和中胚层分化的调节基因, *lgo-soxb* 和 *lgo-mox* 的表达不局限于足原基的部位, 提示其还参与了其他发育过程。例如, 幼虫担轮环前部位置 *lgo-soxb* 的表达表明这些部位存在正在分化的神经组织, 这些细胞可能与眼及脑神经节的发育相关。担轮环后部表达 *lgo-soxb* 的细胞除参与足原基形成外, 可能还参与其他躯干部位神经组织(如咽部神经节、脏神经节等)的形成。对于 *lgo-mox* 基因, 其早期表达部位与已知的中外胚层部位大体相符(Nederbragt *et al*, 2002b; Kozin *et al*, 2016), 提示其可能调控外胚层来源的中胚层组织。中外胚层是包括软体动物在内的螺旋卵裂动物(Spiralia)发育中十分重要的组织, 是这类动物中胚层组织的两大来源之一(另一个是中内胚层)(Boyer *et al*, 1996; Lyons *et al*, 2014; Osborne *et al*, 2018)。研究表明, 中外胚层细胞并不表达一些典型的中胚层标记基因如 *brachyury* 等, 但是却又同时表达 *twist*、*mox* 等重要的中胚层分化相关基因, 体现出这类组织不同于典型中内胚层组织的一些特色之处(Nederbragt *et al*, 2002b; Lyons *et al*, 2014)。我们的结果表明, 这些中胚层细胞起源于胚孔上方两侧的两团细胞, 可能来自于卵裂期的 3a 和 3b 细胞, 与已有的认识相符(Lyons *et al*, 2014)。我们的结果展示了这些细胞的迁移过程, 可为中胚层细胞

的分化命运研究提供参考。例如,一些表达 *lgo-mox* 基因的细胞分布在担轮环前部,可能参与幼虫面盘肌肉和其他中胚层来源组织的发育(Wanninger *et al*, 1999; Osborne *et al*, 2018)。

4 结论

软体动物的足来自于发育早期的外胚层和中胚层细胞, *soxb* 和 *mox* 基因可以作为标记基因来研究这两类组织的迁移、分化等发育过程。笠贝中这两个基因的表达变化表明,将要形成足的神宫外胚层和中胚层细胞起源于不同部位,在发育过程中逐渐互相接近并重叠,至担轮幼虫晚期共同作用形成足原基。这些结果展示了足原基最初阶段的形成过程,为深入了解软体动物足的发育机制提供了重要的支撑。

参 考 文 献

- Baylies M K, Bate M, Gomez M R, 1998. Myogenesis: a view from *Drosophila*. *Cell*, 93(6): 921—927
- Boyer B C, Henry J Q, Martindale M Q, 1996. Dual origins of mesoderm in a basal spiralian: cell lineage analyses in the polyclad turbellarian *Hoploplana inquilina*. *Developmental Biology*, 179(2): 329—338
- Candia A F, Hu J, Crosby J *et al*, 1992. *Mox-1* and *Mox-2* define a novel homeobox gene subfamily and are differentially expressed during early mesodermal patterning in mouse embryos. *Development*, 116(4): 1123—1136
- Cossu G, Tajbakhsh S, Buckingham M, 1996. How is myogenesis initiated in the embryo? *Trends in Genetics*, 12(6): 218—223
- Dictus W J A G, Damen P, 1997. Cell-lineage and clonal-contribution map of the trochophore larva of *Patella vulgata* (Mollusca). *Mechanisms of Development*, 62(2): 213—226
- Focareta L, Cole A G, 2016. Analyses of Sox-B and Sox-E family genes in the cephalopod *Sepia officinalis*: revealing the conserved and the unusual. *PLoS One*, 11(6): e0157821
- Haszprunar G, Wanninger A, 2012. Molluscs. *Current Biology*, 22(13): R510—R514
- Hinman V, Degan B, 2002. *Mox* homeobox expression in muscle lineage of the gastropod *Haliotis asinina*: evidence for a conserved role in bilaterian myogenesis. *Development Genes and Evolution*, 212(3): 141—144
- Kay M C, Emlet R B, 2002. Laboratory spawning, larval development, and metamorphosis of the limpets *Lottia digitalis* and *Lottia asmi* (Patellogastropoda, Lottiidae). *Invertebrate Biology*, 121(1): 11—24
- Kozin V V, Filimonova D A, Kupriashova E E *et al*, 2016. Mesoderm patterning and morphogenesis in the polychaete *Alitta virens* (Spiralia, Annelida): Expression of mesodermal markers *Twist*, *Mox*, *Evx* and functional role for MAP kinase signaling. *Mechanisms of Development*, 140: 1—11
- Le Gouar M, Guillou A, Vervoort M, 2004. Expression of a *SoxB* and a *Wnt2/13* gene during the development of the mollusc *Patella vulgata*. *Development Genes and Evolution*, 214(5): 250—256
- Lee P N, Callaerts P, De Couet H G *et al*, 2003. Cephalopod *Hox* genes and the origin of morphological novelties. *Nature*, 424(6952): 1061—1065
- Lyons D C, Henry J Q, 2014. Ins and outs of spiralian gastrulation. *The International Journal of Developmental Biology*, 58(6—8): 413—428
- Mouëza M, Gros O, Frenkiel L, 2006. Embryonic development and shell differentiation in *Chione cancellata* (Bivalvia, Veneridae): an ultrastructural analysis. *Invertebrate Biology*, 125(1): 21—33
- Nederbragt A J, Lespinet O, Van Wageningen S *et al*, 2002b. A lophotrochozoan twist gene is expressed in the ectomesoderm of the gastropod mollusk *Patella vulgata*. *Evolution and Development*, 4(5): 334—343
- Nederbragt A J, Van Loon A E, Dictus W J A G, 2002a. Expression of *Patella vulgata* Orthologs of *engrailed* and *dpp-BMP2/4* in adjacent domains during molluscan shell development suggests a conserved compartment boundary mechanism. *Developmental Biology*, 246(2): 341—355
- Osborne C C, Perry K J, Shankland M *et al*, 2018. Ectomesoderm and epithelial-mesenchymal transition-related genes in spiralian development. *Developmental Dynamics*, 247(10): 1097—1120
- Smith S A, Wilson N G, Goetz F E *et al*, 2011. Resolving the evolutionary relationships of molluscs with phylogenomic tools. *Nature*, 480(7377): 364—367
- Thisse C, Thisse B, Schilling T F *et al*, 1993. Structure of the zebrafish *snail1* gene and its expression in wild-type, *spadetail* and *no tail* mutant embryos. *Development*, 119(4): 1203—1215
- Wanninger A, Haszprunar G, 2001. The expression of an engrailed protein during embryonic shell formation of the tusk-shell, *Antalis entalis* (Mollusca, Scaphopoda). *Evolution & Development*, 3(5): 312—321
- Wanninger A, Ruthensteiner B, Lobenwein S *et al*, 1999. Development of the musculature in the limpet *Patella* (Mollusca, Patellogastropoda). *Development Genes and Evolution*, 209(4): 226—238
- Wanninger A, Wollesen T, 2019. The evolution of molluscs. *Biological Reviews*, 94(1): 102—115

EXPRESSION PATTERNS OF *SOXB* AND *MOX* GENES IN *LOTTIA GOSHIMAI* DURING THE FORMATION OF MOLLUSCAN FOOT

WANG Qian^{1,3}, HUAN Pin^{1,3}, LIU Bao-Zhong^{1,2,3}

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266000, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Foot is one of the important organs of mollusks. At present, the mechanisms underlying molluscan foot development remain largely unknown. Given that the molluscan foot comprises mainly of neural and muscular tissues, the dynamics of these two types of tissues may provide crucial information to understand foot morphogenesis. Because *soxb* and *mox* are expressed in the neuroectoderm and mesoderm of mollusks, respectively, they can be used as markers to track the development of neural and muscular tissues in the early development. We identified the orthologs of the two genes (*lgo-soxb* and *lgo-mox*) from the gastropod mollusk *Lottia goshimai* and investigated their expression in early larval stages using whole mount *in situ* hybridization. The results reveal that the *soxb*- and *mox*-positive cells did not overlap with each other at the initial stage of foot development, indicating that the neuroectodermal and mesodermal tissues of foot have different origins. In the subsequent developmental stage, the two tissues moved toward and overlapped with each other, which may contribute to the formation of the foot anlage. This study provides important information of the initial stage during foot morphogenesis and may enrich the knowledge of molluscan foot development.

Key words *Lottia goshimai*; foot; development; whole mount *in situ* hybridization