

干露胁迫对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*) HSP70 和 ferritin 基因表达的影响*

王琦^{1,2} 李健² 李吉涛² 潘鲁青¹ 杨爱国³

(1. 中国海洋大学 青岛 266100; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;
3. 青岛汇泉海洋科技开发有限公司 青岛 266003)

提要 采用常规急性实验方法,研究了不同干露胁迫条件对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)成活率的影响。结果表明,保持虾体湿润并用冰块降温的P组干露胁迫12h后成活率为75%,显著高于其它各实验组($P < 0.05$)。采用实时荧光定量PCR方法研究了不同干露胁迫条件对脊尾白虾血细胞和肝胰腺组织中热休克蛋白70(HSP70)和ferritin基因表达的影响。干露胁迫能诱导脊尾白虾血细胞、肝胰腺HSP70基因的表达上调,肝胰腺中的高表达时间相对血细胞中出现的较早;干露胁迫能诱导湿润低温P组脊尾白虾血细胞和肝胰腺ferritin基因的表达上调,并显著高于对照组($P < 0.05$),而且各组织ferritin基因表达的上调时间具有差异性,血细胞最先上调。其余实验组脊尾白虾各组织ferritin基因表达均下调,并显著低于对照组($P < 0.05$)。上述结果表明,在脊尾白虾受干露胁迫的耐受范围内,HSP70和ferritin基因发挥抗氧化功能。

关键词 脊尾白虾; 干露; 成活率; HSP70; Ferritin

中图分类号 Q346

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)隶属长臂虾科(Palaemonidae)、长臂虾属(*Palaemon*)、白虾亚属(*Exopalaemon*),系黄、渤海区底栖虾类,是我国特有的三种经济虾类之一,其产量仅次于中国对虾和中国毛虾。其具有生长速度快、繁殖能力强、环境适应性广、食性杂和经济价值高等优点。目前,已报道的脊尾白虾相关研究主要集中在生物学(徐加涛等,2007;梁俊平等,2012)、人工养殖(王兴强等,2010)及病害诊治(许文军等,2010)等方面。

离水干露是虾类养殖和运输过程中一种常见的胁迫,干露条件会造成低氧胁迫,低氧胁迫会阻碍对虾的代谢能力,最终引起死亡(Madenjian *et al.*, 1987)。HSP70(heat shock protein 70)是热休克蛋白家族中高度保守、功能非常重要的一类蛋白。HSP70

与细胞保护相关,生物体处于严重的环境胁迫下,如高温、干旱、病原入侵、重金属、饥饿等因子刺激下,HSP70表达水平都会上调,能够介导生物增强抵抗环境胁迫的能力(Ravaux *et al.*, 2007; Carpenter *et al.*, 2000)。铁蛋白(ferritin)是一种与铁结合和存储相关的一类蛋白,铁蛋白通过截获细胞中过量的铁,阻止铁参与Fenton反应,避免产生具有强氧化性的羟自由基,从而保护细胞免受因各种环境胁迫而导致的细胞氧化性损伤(袁小红等,2002)。

目前水产动物关于干露胁迫的研究主要集中于软体动物(于瑞海等,2006;潘英等,2008),而甲壳动物的研究较少。Johnson等(1985)研究表明滨蟹(*Carcinus maenas*)和天鹅绒梭子蟹(*Liocarcinus puber*)在15℃干露条件下体重明显降低,渗透压明显升高,

* 国家高技术研究发展计划课题项目“主要养殖甲壳类良种培育”(2012AA10A409);国家虾产业技术体系(CARS-47);公益性行业(农业)科研专项(201103034);农业科技成果转化资金项目(2010GB23260589)和中央级公益性科研院所基本科研业务费(20603022012021)。王琦, E-mail: ocean_qq@163.com

通讯作者: 李健, 研究员, E-mail: lijian@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2012-07-09, 收修改稿日期: 2012-09-16

耗氧率明显低于在水中的耗氧率。韩俊英等(2011)研究发现温度、pH 和氨氮等胁迫对脊尾白虾 HSP70 基因表达有一定的诱导效果,但胁迫的时间过长则抑制其表达。干露胁迫下基因表达分析的研究尚未见报道,本文采用常规急性实验方法,研究了不同离水干露胁迫对脊尾白虾成活率和组织中 HSP70 和 ferritin 基因表达水平的影响,旨在认识脊尾白虾耐干露的机理,为脊尾白虾的离水运输提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

脊尾白虾 400 尾,取自青岛胶州,体长(5.4±0.3) cm,体重(1.21±0.18)g。暂养于 200L 的 PVC 桶中,每桶 30 尾。暂养海水水温 23℃,盐度 23, pH 8.2,持续充氧。每天投喂 3 次,每天换水 1/3,暂养时间 7d。

SYBR[®] Premix Ex Taq[™]、DEPC 水、Oligo(dT)₁₈、M-MLV、DNase、DNA 分子量 Marker 购自 TaKaRa 公司; Trizol Reagent 购自 Invitrogen 公司;寡聚核苷酸引物由上海生工合成。

1.2 实验方法

1.2.1 实验处理及分组 实验在封闭无风的实验室中进行,室温 22—24℃,室内湿度 62%—65%。实验分为 4 个实验组和 1 个对照组,每组设 3 个平行。实验组一为湿润组(PG 组):每隔 1h 用装暂养海水的喷壶喷洒实验用虾,使虾体表面有层水雾,保持虾体周围湿度 70%—75%。实验组二为湿润低温组(P 组):在实验组一的基础上在解剖盘底下垫上冰袋,每隔 1h 更换 1 次,保持实验用虾一直处于低温状态(5—8℃)。实验组三为干燥组(CG 组):将虾直接放在解剖盘上干燥,不做任何处理。实验组四为干燥低温组(C 组):在实验组三的基础上在解剖盘底下垫上冰袋,保持实验用虾一直处于低温状态(5—8℃)。对照组:在暂养海水中充氧养殖。在实验后 0h、1.5h、3h、6h、12h 随机挑选 6 尾虾取血淋巴和肝胰腺,保存在液氮中。在实验 3h 后,每隔 2h 记录每个实验组的死亡个数,死亡标准为实验虾侧翻,碰触不动,放入暂养海水沉底为死亡,并计算存活率。

1.2.2 脊尾白虾总 RNA 的提取 取健康脊尾白虾组织放入液氮中研磨,按 Trizol 法提取总 RNA。总 RNA 的完整度用 1%凝胶电泳进行检测。RNA 经 DNase 处理后,用 M-MLV Program 产品进行第一链 cDNA 合成,将反转录产物置于-20℃冰箱保存备用。

1.2.3 脊尾白虾 HSP70 基因 mRNA real-time PCR 定

量检测 利用本实验室克隆得到的脊尾白虾 HSP70(GenBank 登录号: HQ185257)和 Ferritin 基因(GenBank 登录号: JN104389)设计引物 HSP70-F/R 和 FerritinF/R(表 1)。以脊尾白虾的 18S 序列(GQ369794)为内参基因,设计引物 18S F/R(表 1)。HSP70 基因荧光定量 PCR(ddCt 法)扩增体系为 20μl,包括: SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (2×), 10μl; PCR Forward Primer (10μmol/L), 0.8μl; PCR Reverse Primer (10μmol/L), 0.8μl; ROX Reference Dye (50×)*3, 0.4μl; cDNA 模板, 2.0μl; DEPC 水, 6.0μl。反应程序为: 95℃ 30s; 95℃ 5s, 60℃ 34s, 40 个循环; 95℃ 15s, 60℃ 1min, 95℃ 15s。脊尾白虾 ferritin 基因按 25μl 体系配制反应液。分别加入 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (2×) 12.5μl, PCR 正反引物(10μmol/L)各 1μl, ROX Reference Dye 0.5μl, 稀释好的 cDNA 模板 2μl, 灭菌水 8μl。荧光定量 PCR 反应条件: 95℃ 预变性 30s, 95℃ 变性 5s, 60℃ 退火 34s, 反应进行 40 个循环。同一样品的目的基因和内参基因均在同一个 96 孔板上进行,每个样品做 3 个平行。实验仪器为 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR, 数据分析采用 2^{-ΔΔCt} 法,公式如下:

$$\Delta CT_{\text{样本}} = CT_{\text{目的基因}} - CT_{\text{管家基因}};$$

$$\Delta CT_{\text{对照}} = CT_{\text{目的基因}} - CT_{\text{管家基因}};$$

$$\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{样本}} - \Delta CT_{\text{对照}};$$

$$\text{目的基因的表达量} = 2^{-\Delta\Delta Ct}.$$

显著性分析用 spss11.0 软件进行分析。

表 1 实验中所用的引物序列
Tab.1 Primer sequences used in this study

引物名称	引物序列(5'—3')
HSP70F	GGACCTGTTGCTGTTGGACG
HSP70R	TTGGTGGGGATGGTGGTGT
FerritinF	GCTTTGGATTTGAGAAGAACG
FerritinR	TATGAATGGCGTCTACCTGTTC
18S-F	TATACGCTAGTGGAGCTGGAA
18S-R	GGGGAGGTAGTGACGAAAAAT

2 结果与分析

2.1 脊尾白虾不同离水干露条件下 12h 的存活率

试验从早上 7:00 开始。实验组虾刚离水放入解剖盘时活蹦乱跳,约 5—10min 后基本都安静下来,此后随着干露时间的延长,实验组虾陆续出现侧翻、死亡现象。在试验开始 3h、6h 分别统计死亡个数,随后每隔 1h 统计 1 次,记录死亡累加数,并计算存活率,结果见表 2。

表 2 干露胁迫对脊尾白虾存活率的影响
Tab.2 Effects of dry exposure on survival rate of *E. carinicauda*

离水时间	湿润常温(60 尾)	湿润低温(60 尾)	干燥常温(60 尾)	干燥低温(60 尾)
3h	0 (100.0%)	0 (100.0%)	0 (100.0%)	0 (100.0%)
6h	9 (85.0%)	5 (91.7%)	48 (20.0%)	17 (71.7%)
7h	13 (78.3%)	8 (86.7%)	60 (0.0%)	21 (65.0%)
8h	13 (78.3%)	9 (85.0%)	—	23 (61.7%)
9h	25 (58.3%)	11 (81.7%)	—	26 (56.7%)
10h	31 (48.3%)	13 (78.3%)	—	33 (45.0%)
11h	39 (35.0%)	13 (78.3%)	—	41 (31.7%)
12h	50 (16.7%)	15 (75.0%)	—	44 (26.7%)

注: 表中数据表示为死亡个体数(存活率%)

2.2 干露胁迫对脊尾白虾 HSP70 基因表达的影响

2.2.1 干露胁迫对脊尾白虾血细胞 HSP70 基因表达的影响 干露胁迫对脊尾白虾血细胞 HSP70 基因表达的影响如图 1 所示: 干露胁迫 1.5h 后, P 组表达量与对照组无明显差异, 3h 后 P 组表达量开始上升, 并在 6h 达峰, 是对照组的 2.56 倍, 12h 略有降低。CG 组在 1.5h 后开始迅速上调, 3h 后达到对照组的 3.23 倍, 随后在 6h 迅速下调, 显著低于对照组($P<0.05$)。C 组、和 PG 组均从 1.5h 开始迅速上调, 显著高于对照组和 P 组($P<0.05$), 6h 后开始下调, 并显著低于对照组和 P 组($P<0.05$)。

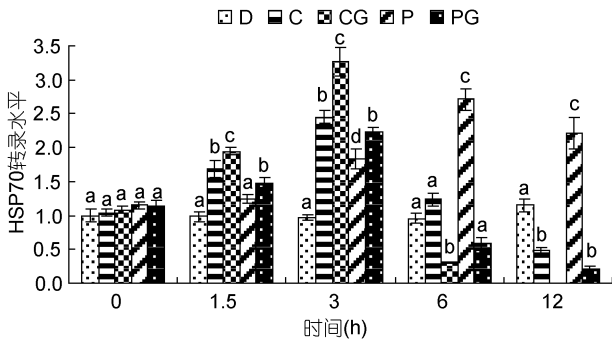


图 1 干露胁迫对脊尾白虾血细胞 HSP70 基因表达变化
Fig.1 Expression of HSP70 gene in *E. carinicauda* haemolymph after dry exposure
D. 对照组, C. 干燥低温, CG. 干燥室温, P. 湿润低温, PG. 湿润室温

2.2.2 干露胁迫对脊尾白虾肝胰腺 HSP70 基因表达的影响 干露胁迫对脊尾白虾肝胰腺 HSP70 基因表达的影响如图 2 所示: 干露胁迫 1.5h 后, P 组表达量成缓慢上调趋势, 并在 12h 达到对照组的 3.45 倍。C 组、CG 组和 PG 组均从 1.5h 开始迅速上调, 显著高于对照组和 P 组($P<0.05$), CG 组和 C 组、PG 组分在 6h 和 12h 时出现下调, 并显著低于对照组和 P

组($P<0.05$)。与图 1 比较可以看出, 1.5h 脊尾白虾肝胰腺 HSP70 基因表达量高于血细胞中 HSP70 基因的表达量。

2.3 干露胁迫对脊尾白虾 ferritin 基因表达的影响

2.3.1 干露胁迫对脊尾白虾血细胞 ferritin 基因表达的影响 干露胁迫对脊尾白虾血细胞 ferritin 基因表达的影响如图 3 所示: 干露胁迫 1.5h 后, CG 组显

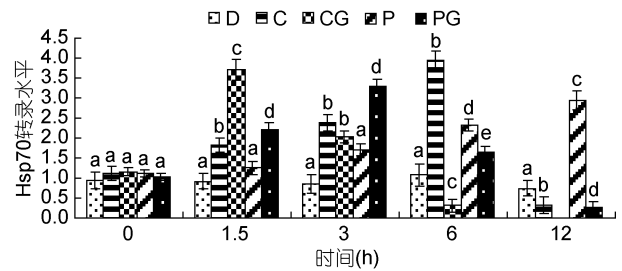


图 2 干露胁迫对脊尾白虾肝胰腺 HSP70 基因表达变化
Fig.2 The expression of HSP70 gene in *E. carinicauda* hepatopancreas after dry exposure
D. 对照组, C. 干燥低温, CG. 干燥室温, P. 湿润低温, PG. 湿润室温

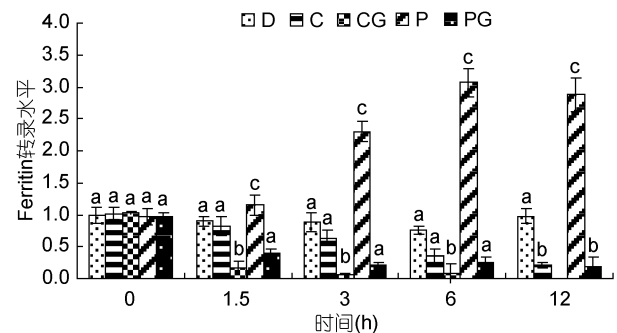


图 3 干露胁迫对脊尾白虾血细胞 ferritin 基因表达变化
Fig.3 Expression of ferritin gene in *E. carinicauda* haemolymph after dry exposure
D. 对照组, C. 干燥低温, CG. 干燥室温, P. 湿润低温, PG. 湿润室温

著表达量显著低于对照组和其它各实验组,并在其后的 6h 内保持较低的水平,在 6h 是对照组的 0.03 倍 ($P < 0.05$)。P 组血细胞 ferritin 基因表达水平在 1.5h 后表达量开始上调,并在 6h 达到对照组的 3.06 倍,在 12h 表达量略有下调,但仍显著高于对照组 ($P < 0.05$)。C 组和 PG 组在 1.5h 后表达量持续缓慢下调,并在 12h 达到最低,分别是对照组的 0.11 倍和 0.09 倍。

2.3.2 干露胁迫对脊尾白虾肝胰腺 ferritin 基因表达的影响 干露胁迫对脊尾白虾肝胰腺 ferritin 基因表达的影响如图 4 所示,干露胁迫 1.5h 后各实验组表达水平均出现下调,3h 后 C 组、CG 组和 PG 组表达量受到抑制并显著低于对照组 ($P < 0.05$),CG 组在 6h 时是对照组的 0.15 倍,显著低于其它实验组 ($P < 0.05$)。P 组在 3h 后铁蛋白基因表达量迅速上调,在 12h 是对照组的 3.30 倍,显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

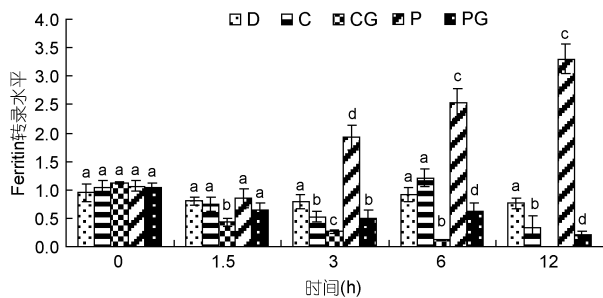


图 4 干露胁迫对脊尾白虾肝胰腺 ferritin 基因表达变化
Fig.4 Expression of ferritin gene in *E. carinicauda* hepatopancreas after dry exposure
D. 对照组, C. 干燥低温, CG. 干燥室温, P. 湿润低温, PG. 湿润室温

3 讨论

3.1 干露胁迫对脊尾白虾成活率的影响

对于水产动物干露胁迫的研究多集中在贝类,如对海湾扇贝、太平洋牡蛎和管角螺等贝类的干露刺激研究发现,贝类在离水后的成活率受其所处环境因素的影响,如温度、湿度等(于瑞海等, 2006; 潘英等, 2008)。张义浩等(1996)对虾蛄离水干露进行研究发现低温条件下虾蛄保持湿润状态可大大提高虾蛄干露运输的成活率,常温湿润条件下虾蛄可耐干露 12—14h。齐静涛(1996)在对日本对虾活体干法运输的研究中发现,运用充氧包装法运输 3h 日本对虾平均运输成活率达到 90.6%,运用木屑包装法运输 3h 日本对虾平均运输成活率达到 95.3%。本实验结果表明在保持温度 22—24℃,湿度 70%—75%条件下,保持

虾体湿润并以冰块降低温度的 P 组在离水 3h 后成活率 100%, 12h 后其成活率可达到 75%,与张义浩等(1996)和齐静涛(1996)的研究结果比较表明:脊尾白虾对干露胁迫的耐受力高于日本对虾而低于虾蛄,可以在低温、湿润状态下对虾进行运输。梁俊平等(2012)在对脊尾白虾窒息点与耗氧率的试验观察中发现脊尾白虾的耗氧量随温度的升高而增大。暴露于空气中的虾体是通过鳃丝表面的水分进行呼吸的,空气中氧溶入鳃丝表面水分里,再以溶氧的形式被虾体呼吸利用(张义浩等, 1996)。本实验中湿润低温的 P 组干露胁迫下脊尾白虾成活率明显高于仅保持湿润的 PG 组、仅冰块降温的 C 组和没有任何处理措施的 CG 组。其原因可能是 P 组处理的脊尾白虾处于一个相对低温的状态,降低了脊尾白虾的耗氧率,同时 P 组处理的脊尾白虾处于一个相对湿度高的环境,鳃丝表面水分以溶氧的形式被虾体呼吸利用,而其它实验组脊尾白虾鳃丝表面水分晾干后无法呼吸而死亡,因此湿润低温的条件可以显著提高干露胁迫下脊尾白虾的成活率。

3.2 干露胁迫对脊尾白虾 HSP70 基因表达的影响

细胞在受热和其它理化因素(如缺血、缺氧、重金属离子、病毒感染、DNA 损伤等)作用后发生热休克反应(Heat shock response, HSR),合成热休克蛋白,其中以 HSP70 最重要。HSP70 可提高细胞对应激原的耐受性,当细胞受到应激时 HSP70 的表达水平升高,且其升高程度与耐受应激水平的能力呈正相关(张红波等, 2009)。在虾体组织缺氧条件下,呼吸代谢酶 SDH 和 CCO 活力随胁迫时间的延长而持续下降,同时机体也因抗氧化酶 SOD 活力降低而造成了氧化损伤(管越强等, 2010)。HSP70 可直接释放和增加内源性过氧化酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平,由于 SOD 能催化氧自由基发生歧化反应,故有细胞保护作用(杜立银等, 2003)。有研究发现 SOD mRNA 水平的增高与 HSP70mRNA 表达的增高相一致(Gullo *et al.*, 2004)。

本研究发现,干露胁迫下脊尾白虾各组织 HSP70 基因都出现上调,但是肝胰腺中表达的上调时间相对血细胞中出现的较早。这可能是由于肝胰腺作为机体营养代谢的中心,随着代谢增强其体内活性氧产生的越多,对该组织的氧化伤害也就越严重。因此肝胰腺中 HSP70 作为保护蛋白会比其它组织最先上调,来消除氧自由基对肝胰腺的伤害。韩俊英等(2011)研究了脊尾白虾受氨氮、pH 胁迫后各组织

HSP70 基因表达情况, 结果表明温度、pH 和氨氮胁迫都可以引起该基因的上调表达, 而且肝胰腺中的上调表达时间相对肌肉出现较早。本实验与韩俊英等(2011)研究结果一致, 从表达时间上看, 干露胁迫诱导 HSP70 基因的表达早于 pH 和氨氮胁迫, 说明 HSP70 基因对干露胁迫的敏感性大于 pH 和氨氮胁迫, 原因可能是 pH 和氨氮胁迫是水体理化指标的变化, 而干露胁迫是将虾完全脱离水体, 使虾体所处的环境更为复杂和多变, 较 pH 和氨氮这种单一理化指标的改变也更强烈, 虾体在干露胁迫下所作出的应激反应也就越早, 因而对干露胁迫 HSP70 基因表达的诱导效果更明显。在本试验中干露胁迫 3h 后, 除了湿润低温 P 组, 其余实验组各组织 HSP70 基因的表达水平开始降低, 这可能由于脊尾白虾在最初 3h 内通过提高 HSP70 的表达水平来提高机体的抗氧化能力, 但随着胁迫时间的延长, 体内产生的活性自由基对机体的氧化损伤超过了机体的抗氧化能力, 细胞损伤严重, 抑制了 HSP70 的表达。而湿润低温 P 组, 由于相对保持虾体湿润使得本实验组的脊尾白虾在一定的时间范围内得以维持正常的呼吸代谢, 并在对低温应激下, 体内 HSP70 表达水平持续升高, 提高了虾体细胞对刺激原的耐受性。由此可知, 保持虾体低温湿润, 有助于提高脊尾白虾体内 HSP70 基因的表达水平, HSP70 在脊尾白虾耐干露胁迫中发挥重要的抗氧化功能。

3.3 干露胁迫对脊尾白虾 ferritin 基因表达的影响

有研究发现, 寒冷、干旱、机械损伤、衰老、强光照等各种胁迫下, 植物中铁蛋白基因的转录量都有增加, 并在机体内发现有大量铁蛋白的存在, 这个过程在不同程度上都与氧化胁迫相关联(Lobréaux *et al*, 1991)。铁蛋白是一种储存铁的蛋白质, 并广泛存在于各种生物体内, 其功能不仅可以储存大量可被生物体利用的铁, 而且可以抵抗环境胁迫对生物体的氧化性伤害(Andrews *et al*, 1992)。Steven(1995)认为 ferritin 可以与血浆铜蓝蛋白(ceruloplasmin)结合从而执行“抗氧化剂”的功能。

本研究发现, 干露胁迫下, P 组脊尾白虾血淋巴和肝胰腺的 ferritin 基因表达水平均在 1.5—3h 后迅速上调, 12h 后显著高于对照组。其原因是铁蛋白作为急性时相反应蛋白, 在虾体组织受到干露胁迫的条件下, 机体 ferritin 基因的表达水平升高, 以抵抗环境胁迫对生物体的损害, 发挥抗氧化剂的功能。本研究中各组织 ferritin 基因表达的上调时间具有差异性,

血细胞最先上调, 可能的原因是血细胞对干露胁迫较血细胞更为敏感。Omiya 等(2009)研究发现, 与健康小鼠心肌细胞相比, 在心脏衰竭的小鼠心肌细胞中, 铁蛋白的表达受到抑制, 铁蛋白的含量水平的减低引起对小鼠机体的氧化损伤和细胞坏死。本实验中, 发现除 P 组 ferritin 基因表达水平出现上调外, 其它各实验组均呈下调趋势。结合各实验组的成活率可知, CG 组在 6h 后全部死亡, 而 C 组和 PG 组在 12h 后成活率在 30%以下, 由其原因可能是在干露胁迫的条件下, 虾体离水后新陈代谢异常, 组织细胞受到损伤, 铁蛋白的表达受到抑制。而保持湿润低温的 P 组, 在一定时间范围内可以保持鳃等各项组织细胞的正常生理功能, 在干露胁迫的刺激下, 机体 ferritin 基因的表达水平升高, 以抵抗干露胁迫对生物体的氧化损害。综合各实验组干露胁迫 12h 的成活率和 ferritin 基因表达水平可以得出, ferritin 基因的表达水平可以作为脊尾白虾抗干露强度的生理指标。

本研究通过对不同干露胁迫条件下脊尾白虾成活率及 HSP70 和 ferritin 基因表达水平的影响进行了初步研究, 发现干露胁迫对脊尾白虾 HSP70 和 ferritin 基因的表达均有直接影响, HSP70 基因和 ferritin 基因表达量在湿润低温组中均有显著上升, 在其它实验组中 HSP70 基因表达量上升而 ferritin 基因表达量下降, 说明 HSP70 和 ferritin 基因在干露胁迫中均发挥着抗氧化作用, HSP70 基因占据主导地位; 并确定了脊尾白虾的离水运输方案: 脊尾白虾活体运输过程中, 应尽量选择透风小、可以保持温度恒定的容器, 如泡沫箱, 用冰袋或其它降温设施保持低温, 并且要每隔不超过 1.5h 均匀喷洒等渗海水, 在此措施下, 脊尾白虾可在干露时间 12h 内保持较好的成活率。

参 考 文 献

- 于瑞海, 王昭萍, 孔令锋等, 2006. 不同发育期的太平洋牡蛎在不同干露状态下的成活率研究. 中国海洋大学学报, 36(4): 617—620
- 王兴强, 曹 梅, 2010. 低盐和低温对脊尾白虾生长和能量收支的影响. 水生态学杂志, 3(2): 66—71
- 齐静涛, 1996. 日本对虾活体干法运输技术研究. 齐鲁渔业, 13(5): 47—48
- 许文军, 谢建军, 施 慧等, 2010. 池塘养殖脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)感染血卵涡鞭虫的研究. 海洋与湖沼, 41(3): 396—402
- 杜立银, 田文儒, 曹荣峰, 2003. 哺乳动物热休克蛋白 70 表达的基因调控与生物学功能. 动物科学与动物医学, 11(20): 18—20

- 张义浩, 梅文骧, 王春琳, 1996. 活虾脱离水干露实验. 浙江水产学院学报, 15(1): 44—48
- 张红波, 万亚涛, 王莲哲等, 2009. 在细胞应激反应中 HSP70 的保护与调节作用. 中国实用医药, 14(4): 228—229
- 袁小红, 杨星勇, 罗小英等, 2002. 豌豆铁蛋白的纯化及其抗血清的制备. 中国生物化学与分子生物学报, 18(5): 614—618
- 徐加涛, 徐国成, 于斌等, 2007. 脊尾白虾繁殖生物学及人工育苗生产技术. 中国水产, (4): 52—55
- 梁俊平, 李健, 刘萍等, 2012. 脊尾白虾生物学特性与人工繁育的研究进展. 中国农学通报, 28(17): 109—116
- 韩俊英, 李健, 李吉涛等, 2011. 脊尾白虾热休克蛋白 HSP70 基因的克隆及其表达分析. 水产学报, 35(8): 1130—1138
- 管越强, 李利, 王慧春等, 2010. 低氧胁迫对日本沼虾呼吸代谢和抗氧化能力的影响. 河北大学学报, 30(3): 301—306
- 潘英, 陈锋华, 李斌等, 2008. 管角螺对几种环境因子的耐受性试验. 水产科学, 27(11): 567—569
- Andrews S C, Arosio P, Bottke W *et al*, 1992. Structure, function and evolution of ferritins. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 47: 161—174
- Carpenter C M, Hofmann G E, 2000. Expression of 70kDa heat shock proteins in Antarctic and New Zealand notothenioid fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125: 229—238
- Gullo C A, Teoh G, 2004. Heat shock proteins: to present or not, that is the question. *Immunol Lett*, 94: 1—10
- Johnson I, Uglow R F, 1985. Some effects of aerial exposure on the respiratory physiology and blood chemistry of *Carcinus maenas* (L.) and *Liocarcinus puber* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 94(1—3): 151—165
- Lobréaux S, Briat J F, 1991. Ferritin accumulation and degradation in different organs of pea (*Pisum sativum*) during development. *Biochemical Journal*, 274: 601—606
- Madenjian C M, Rogers G L, Fast A W, 1987. Predicting night-time dissolved oxygen loss in prawn pond of Hawaii: Part I. Evaluation of traditional methods. *Aquaculture Engineering*, 6(3): 191—208
- Omiya S, Hikoso S, Imanishi Y *et al*, 2009. Down regulation of ferritin heavy chain increases labile iron pool, oxidative stress and cell death in cardiomyocytes. *Mol Cell Cardiology*, 46: 59—66
- Ravaux J, Toullec J Y, Leger N *et al*, 2007. First hsp70 from two hydrothermal vent shrimps, *Mirocaris fortunata* and *Rimicaris exoculata*: Characterization and sequence analysis. *Gene*, 386: 162—172
- Steven D A, 1995. Ferritin as a source of iron and protection from iron-induced toxicities. *Toxicology Letters*, 82—83: 941—944

THE EFFECT OF DRY EXPOSURE ON HSP70 AND FERRITIN GENE EXPRESSION LEVEL IN *EXOPALAEON CARINICAUDA*

WANG Qi^{1,2}, LI Jian², LI Ji-Tao², PAN Lu-Qing¹, YANG Ai-Guo³

(1. Ocean University of China, Qingdao, 266100; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071; 3. Qingdao Huiquan Ocean Science and Technology Development Company Limited, Qingdao, 266003)

Abstract The conventional acute test method was applied to detect the effect of dry exposure on survival rates in *Exopalaemon carinicauda* of different groups. The results showed that survival rate of group P was 75% after dry exposure for 12h, which was significantly higher than that of other groups ($P < 0.05$). Quantitative real-time PCR was applied to detect the expression profiles of heat shock protein (HSP70) and ferritin gene in haemocytes and hepatopancreas of *E. carinicauda* after challenged by different dry exposure stress conditions. The results showed that Dry exposure stress could induce HSP70 gene expression in haemocytes and hepatopancreas of *E. carinicauda*, and HSP70 gene expression up-regulating time in hepatopancreas was significantly earlier than that in haemocytes ($P < 0.05$). Dry exposure stress could induce ferritin gene expression of group P (wet and low temperature) in blood cells and hepatopancreas of *E. carinicauda*, which was significantly higher than that of control group, and ferritin gene expression up-regulating time in blood cells was significantly earlier than that in hepatopancreas ($P < 0.05$). The expression levels of ferritin gene in other groups were significantly down-regulated, significantly lower than that of control group P ($P < 0.05$). These results suggested that HSP70 and ferritin gene play important roles under dry exposure stresses by serving as antioxidant in *E. carinicauda*.

Key words *Exopalaemon carinicauda*; dry exposure; survival; HSP70; ferritin