

## 调控鱼类性腺分化基因的研究进展

郑尧<sup>1</sup> 王在照<sup>2</sup> 陈家长<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部长江下游渔业资源环境科学观测实验站, 中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 无锡 214081; 2. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西省农业分子生物学重点实验室, 杨凌 712100)

**摘要:** 鱼类种类繁多, 其性别决定机制也几乎涵盖了所有的动物类型。近几年来, 随着分子生物学技术的不断更新, 关于鱼类性别决定机制的研究, 尤其是对调控性腺分化基因的克隆、表达及功能验证取得了突破性进展。文章从性腺分化、核受体家族、类固醇合成酶类和卵母细胞结构基因 4 个方面综述了调控鱼类性腺分化基因的研究进展。

**关键词:** 性腺分化; 核受体; 类固醇合成; 性别决定机制; 基因

中图分类号: Q344<sup>+</sup>.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2015)04-0798-13

雌雄异体鱼类的性别决定类型主要分为遗传决定型(Genetic Sex Determination, GSD)和环境决定型(Environment Sex Determination, ESD), 后者以温度决定型(Temperature Sex Determination, TSD)的研究居多。不同于存在 *Sry* 的哺乳动物, 温度依赖型的爬行类以及存在性别决定 *Dmrt1* 基因的鸟类, 鱼类不仅是物种分布度最广的低等脊椎动物(包含 32900 种, 其中中国有 3862 种), 且其性别决定机制也几乎涵盖了所有的动物类型<sup>[1]</sup>。某些鱼类具有性染色体或者雌雄特异性的性别决定基因, 也有一些鱼类是通过常染色体控制的。水温、pH、光照、养殖密度、溶氧、盐度、食物丰度、群体信号和环境内分泌干扰物等都可以在不同程度上影响鱼类性别<sup>[1]</sup>。但也有些鱼类, 如银鲫 *Carassius auratus gibelio* 存在雌核发育和两性生殖双重生殖方式<sup>[2]</sup>, 不但增加了性别决定机制研究的复杂性, 也进一步验证了低等鱼类性别决定和性别分化的可塑性。不管怎样, 外界因素对性腺分化的影响最终可能是通过影响性腺分化相关基因的表达来实现的<sup>[3]</sup>。

关于鱼类性别决定与分化分子机制的研究主要

借鉴哺乳动物展开, 研究的主要目的是找寻鱼类中雌雄特异基因, 偏好性基因或者为维持内源性激素平衡而调控芳香化酶 *cyp19a* 的转录因子。目前发现的性别决定基因有青鳉 *Oryzias latipes dmrt1bY*<sup>[4]</sup>及 *Gsdf*<sup>[5]</sup>、*sox3*、银汉鱼 *Odontesthes hatcheri Amhy*<sup>[6]</sup>、河豚 *Takifugu rubripes amhr2*<sup>[7]</sup>和虹鳟 *Oncorhynchus mykiss sdY*<sup>[8]</sup>等。目前大多数研究是通过同源克隆方法获得鱼类基因组中的性别决定与分化相关基因, 随后进行功能研究和验证, 但对起关键作用的基因或者染色体区域还不是很清楚。本文从性腺分化、核受体家族、类固醇合成酶类和卵母细胞结构基因四大类对调控鱼类性腺分化基因的研究进展进行综述, 为水产学科鱼类的性腺分化机制研究提供基础性资料。

### 1 性腺分化基因

#### 1.1 DM 结构域转录因子 1 *dmrt1*

*dmrt1*(Doublesex and mab-3-related transcription factor, number 1) 果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 *doublesex* 基因和线虫的 *mab3* 基因编码一种转录因

收稿日期: 2014-09-29; 修订日期: 2015-03-02

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-49); 国家科技支撑计划(2015BAD13B03)资助

作者简介: 郑尧(1986—), 男, 安徽太湖人; 助理研究员; 主要从事水产品质量安全监测方面工作。E-mail: zhengy@ffrc.cn

通信作者: 陈家长, E-mail: chenjz@ffrc.cn

子, 该转录因子含有一个保守锌指样结构的 DNA 结合结构域, 称之为 DM 结构域(DNA-binding domain)。鱼类中含有 6 个 *dmrt* 家族成员: *dmrt1*、*dmrt5* 和 *dmrt2b*, 其中 *dmrt1* 基因在性别控制、性别分化调节和雄性不育等方面有重要作用, 其拷贝 *dmrt1bY* 是青鳉两个属(*Oryzias latipes* 和 *O. curvinotus*) 的性别决定基因<sup>[4]</sup>。青鳉 *dmrt1bY* 基因是一个进化上年轻的雄性性别决定基因, 依靠常染色体上 *dmrt1* 基因复制、转移到 Y 染色体上而形成, 在鱼类中不存在普遍性, 而在其他一些近缘物种中只存在不具备雄性决定的 *dmrt1bY* 假基因。*dmrt1bY* 基因能诱导遗传雌性个体(XX)性反转为雄性。野生青鳉种群中约存在 1% 性反转个体(XY 雌性), 证实它们中一部分是由携带突变的 *dmrt1bY* 基因引起, 另一部分是由于 *dmrt1bY* 的低水平表达所致。最近有人证实青鳉与其近缘种浅红青鳉(*O. dancena*) 的性染色体是各自独立起源的。

目前雄性罗非鱼 *Oreochromis aureus dmo* (*dmrt1* 的一个拷贝)、鲫 *Carassius auratus* 精巢 *dmrt3*<sup>[9]</sup> 及牙鲆 *Paralichthys olivaceus dmrt4* 精巢表达量远高于卵巢, 以及 *dmrt4* 在雌性奥尼罗非鱼 *Oreochromis aureus* 中特异存在<sup>[10]</sup>。而在斑马鱼 *Danio rerio* 中, 已确认有 5 个 *dmrt* 基因家族成员的存在, 且有 13 个不同亚型在稀有鮎鲫 *Gobiocypris rarus* 中被克隆到, 在黄鳝 *Monopterus albus* 中发现 8 个 *dmrt* 基因, 在刺鳅 *Mastacembelus aculeatus* 中发现 6 个 *dmrt* 基因, 在大鳞副泥鳅 *Paramisgurnus dabryanus* 中发现 3 个 *dmrt* 基因, 在红鳍东方鲀 *Fugu rubripes* 中发现 3 个 *dmrt* 基因。本课题组在彭泽鲫 *Carassius auratus var. pengze* 中发现 *dmrt1* 基因的 3 种不同亚型<sup>[11]</sup>。这些结果不仅表明 *dmrt1* 在很多鱼类中呈现雄性偏好性表达, 即在性腺分化时专一性地在精巢中表达<sup>[12]</sup>, 而在卵巢中没有表达, 同时也从侧面说明 *dmrt* 家族在鱼类中确实存在诸多拷贝。基因敲除实验证实 *dmrt1* 对小鼠 *Mus musculus* 睾丸分化是必须的, 但对于卵巢的发育不是必须的。也有学者发现 *dmrt1* 在斑马鱼精巢和卵巢发育过程中都有表达, 这可能意味着 *dmrt1* 不只与精巢发育相关, 还与卵巢发育有关, 后在大鳞副泥鳅 *Paramisgurnus dabryanus* 中得到证实。一方面 *dmrt1* 呈现偏好型表达, 另一方面, 利用雄激素诱导 XX 尼罗罗非鱼幼鱼发生性逆转, 在其性腺中也能检测到 *dmrt1* 的表达, 且雌激素能

抑制其表达。已经在黑鲷 *Sparus macrocephalus*<sup>[13]</sup>、黄鳝、银汉鱼、尼罗罗非鱼<sup>[14]</sup>、石斑鱼 *Epinephelus coioides*、细棘海猪鱼 *Halichoeres bleekeri*、鲇 *Silurus meridionalis*、青鳉<sup>[15]</sup>、剑尾鱼 *Xiphophorus helleri*、银鲫<sup>[16]</sup> 和红鳍东方鲀 *Takifugu rubripes* 等鱼类中开展了 *dmrt1* 基因的克隆和鉴定工作。这些结果都表明 *dmrt1* 对鱼类性别决定和精巢的功能维持都起着重要作用, 而其他部分成员对已分化性腺的正常发育和功能维持可能也具有重要作用。

## 1.2 抗缪勒氏管激素 *amh*

抗缪勒氏管激素(*amh*, Anti-Müllerian Hormone)是转化生长因子 TGF- $\beta$  超家族的一员, 不仅在雄性胚胎形成时期起始缪勒氏管的退化, 而且还能够阻止雌性生殖器官的发生, 且在雄性性别分化中起到重要作用。*amh* 专一性地在性腺中表达, *amh* 主要通过 Amh/Amh II 通路在性腺分化和发育中发挥作用。2002 年 Miura 等从日本鳗鲡 *Anguilla japonica* 中分离出一种精子发生相关物质 21(eSR21), 它具有抑制精子形成的作用并被归类为 *amh* 的同源基因。到目前为止, *amh* 的同源基因已在很多鱼类中被克隆到, 例如日本鳗鲡、牙鲆、虹鳟、斑马鱼、青鳉、欧鲈 *Dicentrarchus labrax*、罗非鱼<sup>[17]</sup>, 和彭泽鲫<sup>[18]</sup>等, 不仅呈现出保守的表达模式, 且在它们的性别决定调控中具有重要作用。Amh 之所以吸引研究者兴趣就在于, 只有某些古老的鱼类如鲟 *Acipenser gueldenstaedti* 才存在缪勒氏管结构, 近代硬骨鱼类中不存在此结构。目前关于 *amh* 基因及在 AmhR-II 信号通路中的功能在鱼类中的研究还较少, 需要进一步的研究。

## 1.3 叉头框样蛋白 2 *foxl2*

叉头框样蛋白 2 (*foxl2*, Forkhead transcriptional factor 2)是 Forkhead/HNF-3 相关转录因子家族中的一员, 它参与卵巢分化过程和许多包括细胞分化在内的发育过程。Foxl2 通过它的叉头结构与 Ad4BP/SF1 的配体结合区域相结合成为异源二聚体, 强化和促进 *cyp19a1a* 的转录表达<sup>[19]</sup>。*foxl2* 功能缺失雌性小鼠表现不育, 导致生成睾丸小管和精原细胞的形成, *foxl2* 抑制那些可以启动 *sox9* 表达的调控元件来抑制精巢分化及性反转。*foxl2* 是颗粒细胞分化和卵巢的维持所必须的, 目前已在虹鳟、尼罗罗非鱼、青鳉、斑马鱼、欧洲鲤 *Scaphirhynchus platyrhynchus*、三斑海猪鱼 *Halichoeres trimaculatus*<sup>[20]</sup>、

南方鲇 *Clarias gariepinus*<sup>[21]</sup>、稀有鮡鲫 *Gobiocypris rarus*<sup>[22]</sup>、黑鲟 *Acanthopagrus schlegelii*<sup>[23]</sup>、朝鲜石头鱼 *Sebastes schlegelii*<sup>[24]</sup>、裸盖鱼 *Anoplopoma fimbria*<sup>[25]</sup>、大西洋鲑<sup>[26]</sup>、暗色颌须鲷 *Gnathopogon caerulescens*<sup>[27]</sup> 和黄鳍 *Monopterus albus*<sup>[28]</sup> 等鱼类中开展了基因克隆和鉴定工作, 在各自性腺中的表达量要高于其他组织中的表达量, 且有卵巢中的表达量高于精巢的趋势。如 *foxl2* 基因在南方鲇不仅呈现出性别二态性的表达方式(卵巢远高于精巢)<sup>[29]</sup>, 还可通过雌性特有方式调控 *cyp19a* 的表达<sup>[19]</sup>。因此, *foxl2* 已被证明是雌性发育过程中的一个关键因子, 是目前发现的脊椎动物卵巢决定和分化的一个标志性启动基因<sup>[29]</sup>。

#### 1.4 *sox* 基因家族

*sox* 基因家族 (SRY-related HMG box) 含有一个 SRY 样的 HMG 盒结构(High mobility group box), 其结构高度保守<sup>[30]</sup>。目前 *sox* 基因家族已经广泛地在哺乳类、鸟类、爬行类、昆虫及鱼类中被克隆得到, 在雌雄性别个体的基因组中都存在。该基因家族的很多成员被鉴定为转录因子, 其表达又具有组织特异性, 且能在不同发育过程均能表达。*sox4*、*sox5*、*sox6* 和 *sox9* 基因在雄性中的表达与精子发生相关, 其中 *sox9* 最为重要。已有研究表明 *sox9* 主要在性腺分化时期精巢中表达, 对哺乳动物的睾丸分化具有重要作用, 能使支持细胞的前体细胞分化成有功能的塞托利细胞。与哺乳动物不同, 斑马鱼中存在 2 个 *sox9* 同源基因: *sox9a* 和 *sox9b*, 可能是硬骨鱼类种系发生过程中的一次大规模基因组复制导致。斑马鱼 *sox9a* 和 *sox9b* 基因的组织表达图谱具有差异性, 前者在脑和精巢组织中广泛表达, 而后者只在卵巢中表达。后来也在黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco*、鲤、黄鳍 *Monopterus albus* 和河豚等的卵巢中也同时分离到 *sox9a* 和 *sox9b* 基因。这说明 *sox* 基因家族成员尤其是 *sox9* 可能在性腺分化和发育中起重要作用。

#### 1.5 DEAD-box RNA 解旋酶 *vasa*

DEAD-box RNA 解旋酶(*vasa*)是一个依赖 ATP 的 RNA 解旋酶大家族, 该家族是以具有保守的 DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 序列来命名的, *Vasa* 蛋白是 DEAD-box 蛋白家族的重要成员, 是决定生殖系发育的重要调控因子之一, *vasa* 在果蝇 *Drosophila melanogaster* 中首次报道, 并发现其是腹节形成和

生殖细胞发育过程所必需的成分之一。由于该基因仅在大多数物种的生殖细胞中特异表达, 因此已经被作为一种分子标记物来研究原始生殖细胞 (Primordial germ cells, PGCs) 的起源、迁移、分化及配子发生过程。斑马鱼 *vasa* 在 PGCs 中特异性表达, 与其受精卵的早期分化及性腺发育过程有关, 这一结果也在青鳉上得到验证<sup>[31]</sup>。目前已在异育银鲫、青鳉、草鱼<sup>[32]</sup>、稀有鮡鲫<sup>[33]</sup>、欧鲈<sup>[34]</sup>、大西洋鳕 *Gadus morhua*<sup>[35]</sup>、罗非鱼<sup>[36]</sup>、舌鳎 *Cynoglossus semilaevis*<sup>[37]</sup> 和牙鲆 *Paralichthys olivaceus*<sup>[38]</sup> 等鱼类中进行了 *vasa* 克隆和鉴定工作, 且胚胎发育早期 *vasa* 表达量较为丰富。此外, 研究还发现罗非鱼 *vasa* 基因在两性生殖细胞发育过程中的表达存在明显差异, 表明 *vasa* 不仅与生殖质迁移相关, 还对鱼类精、卵子的发生具有调控作用。

#### 1.6 威廉姆斯瘤基因 *wt1*

*wt1* 基因是从 Wilms' 瘤细胞染色体 11p13 分离的一种抑癌基因。由于鱼类特有的基因组复制, 其具有两个 *wt1* 拷贝(*wt1a* 和 *wt1b*), 它们都有多种不同的选择性剪接产物, 且从胚胎期开始就在肾脏和性腺中表达(在孵化后 5d 表现出明显的性别差异)。Wt1 蛋白可能直接调节或通过不同类型、甚至不同的剪切形式在雌雄性腺中分别调节 *foxl2* 和 *dmrt1* 的表达间接调节 *cyp19a* 基因的表达和雌激素的生成。

目前已经从黄鳍<sup>[39]</sup>、半滑舌鳎<sup>[40]</sup>等鱼类中克隆获得了 *wt1* 基因, *wt1* 在性腺、肾、肠、脾和心脏等组织中都有表达。半滑舌鳎性腺中 *wt1* 表达量极显著高于其他组织中的表达量<sup>[40]</sup>, 黄鳍 *wt1* 在各时期雌性、间性和雄性性腺中的表达量有先升高后降低的表达趋势<sup>[39]</sup>, 而在半滑舌鳎雄鱼中的表达量显著高于雌鱼中的表达量, 雌鱼中的表达量显著高于伪雄鱼中的表达量<sup>[40]</sup>。由此说明 *wt1* 可能对性腺的分化过程并不起决定作用<sup>[40]</sup>。

## 2 核受体家族

核受体(Nuclear receptor)超家族成员包含类固醇受体 Steroid receptor、前列腺素受体、甲状腺素受体、维生素 D3 受体、孤儿受体 Orphan receptor 以及异生物质受体等, 它们是一类配体依赖性的转录因子, 在核受体信号通路中发挥作用。其中类固醇受体包括雌激素受体(Estrogen receptor, ER)、雄激素受体(Androgen receptor, AR)、盐皮质激素受体、

糖皮质激素受体、孕激素受体等, 且其成员在进化上相当保守, 主要有4个不同的结构域: N-末端转录激活域, 高保守的 DNA 结合域(DNA-binding domain, DBD), 铰链区, 配体结合域(Ligand-binding domain, LBD)<sup>[41]</sup>。

### 2.1 雌激素受体 Estrogen Receptor

在鱼体内, 普遍存在三种雌激素受体(ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 1 和 ER $\beta$ 2, 分别由 *esr1*、*esr2b*、*esr2a* 编码)进行雌激素介导作用, 参与鱼类的生殖发育。从人乳腺癌细胞中成功克隆得到第一种雌激素受体 ER $\alpha$ , 而鱼类第一个 ER $\alpha$  是从虹鳟中克隆得到的。随着研究的深入, ER $\beta$  相继从各种鱼中被克隆到, 在对虹鳟的研究中, 后又发现了 ER $\alpha$  的一个亚型 ER $\alpha$ 2。雌激素受体家族蛋白的一级结构从 N 端到 C 端依次可分成 6 个不同的功能结构域 A/B、C、D、E 和 F, 具有转录激活或阻遏、核定位、DNA 结合、激素结合等多种功能, 其中, C 结构域 DBD 和 E 结构域 LBD 在不同物种之间是很保守的, 具有基因和物种的特异性。目前, 除虹鳟以外, 研究报道的鱼类 ER 已达到 10 余种, 如不同品种罗非鱼(*O. aureus*、*O. niloticus*、*O. mossambicus*)、斑点叉尾鲷*Ictalurus punctatus*、金鱼、斑马鱼、黑头软口鲮 *Pimephales promelas* 和底鳉 *Fundulus heteroclitus* 等<sup>[41]</sup>。研究表明, 在大多数鱼类中存在 3 种 ER 亚型 ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 1 和 ER $\beta$ 2; 只在虹鳟 *Oncorhynchus mykiss*、大西洋鲑 *Salmo salar*、蓝鳃太阳鱼 *Lepomis macrochirus*、鲫 *C. auratus*、倒刺鲃 *Spinibarbus denticulatus* 等鱼类中发现 ER $\alpha$  的亚型(ER $\alpha$ 1 和 ER $\alpha$ 2)。

### 2.2 雄激素受体 Androgen Receptor

雄激素在组织和细胞发挥作用首先要和靶细胞膜上或核内的 AR 结合, 由 AR 介导, 通过不同的途径将信号传入细胞内从而产生一系列生物学效应。雄激素介导的 AR 信号途径对雄性胚胎发育、雄性性成熟及雄激素依赖性靶组织的分化发育是必需的。AR 同样是一种配体依赖型的转录因子, 不仅在结构和功能上高度相似, 而且可作为一种调节蛋白。脊椎动物 AR 发现存在 2 种亚型, 称为 AR $\alpha$  和 AR $\beta$ , 最早报道见于非洲爪蟾。在鱼类已发现存在两种亚型的并不多, 已有报道在硬骨鱼类中虹鳟、日本鳊、食蚊鱼 *Gambusia affinis* 等鱼发现了亚型, 而在鲫、彭泽鲫等中只存在一种亚型<sup>[42]</sup>。

### 2.3 X 染色体上剂量敏感性反转和先天性肾上腺发育不全决定区基因 1 *dax1*

X 染色体上剂量敏感性反转和先天性肾上腺发育不全决定区基因 1 [*dax1*, dosage sensitive sex-reversal (DSS), adrenal hypoplasia congenital (AHC) critical region on the X-chromosome, gene 1]是位于 X 染色体上剂量敏感性反转决定区上的一个候选基因, 又称为 *nr0b1* (Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 1), 是孤核受体超家族(Orphan nuclear receptor)中的一员。人 Xp21 染色体上 *dax1* 基因重复可导致剂量敏感性的性反转综合症 DSS, 产生由雄性向雌性的性反转现象, 并在小鼠上得到证实, 且可以调控许多类固醇合成相关酶类的产生。此外, *dax1* 基因突变还会引起先天性肾上腺皮质发育不全 AHC 现象, 后来在其他哺乳类、鸟类、爬行类、两栖类和鱼类中也发现了该基因。之前的研究表明, *Dax1* 可以作为一种转录抑制子与雌或雄激素受体参与调节性腺和肾上腺中的类固醇合成能力和发育过程。*dax1* 在鱼类中表达与哺乳动物相似, 在成鱼的多数组织中都有表达。鱼类 *dax1* 基因结构中较为保守且在多种鱼类的性别决定时期都被检测到, 如处于精巢发育中虹鳟、罗非鱼等。目前已在罗非鱼、斑马鱼、狼鲈和青鳉等硬骨鱼类上进行了 *dax1* 基因的相关研究<sup>[18, 43, 44]</sup>, 但 *dax1* 的作用机制还不是很清楚。

### 2.4 类固醇调控因子 1 *sf1*

类固醇调控因子 1 (*sf1*, steroidogenic factor-1), 即 *ftz-f1* 基因, 属于核受体超家族成员, 最早在控制果蝇体节分化基因 *fushi-tarazu* 中被发现<sup>[45]</sup>。相继克隆得到的 *sf1* 同源基因命名为不同的名字, 包括肾上腺 4 结合蛋白(Adrenal4-binding protein, *ad4bp*)和肝脏受体激素 1 基因(Liver receptor hormone-1, *lrh1*)等。后来被归为 *nr5a* 基因亚家族, 含有两个 *ftz-f1* 家族成员(*nr5a1* 与 *nr5a2*)。*nr5a1* 包括与类固醇的合成 *sf1* 相关基因, 参与性腺分化期间的精巢决定途径<sup>[46]</sup>。*nr5a2* 基因在肝脏、胰腺和肠中进行表达, 参与调节与雌激素结合的  $\alpha$ -胎球蛋白<sup>[47]</sup>, 可能主要参与胆固醇代谢过程而不是类固醇的合成和性别决定过程。硬骨鱼类 *Ad4BP/sf1* 可以通过与 *cyp19a* 基因启动子部分结合, 调控芳香化酶基因的表达, 进而调节性激素的生成<sup>[48]</sup>。在稀有鮎鲫、尼罗罗非鱼和海鲈等 *cyp19a1a* 的启动子区域, 预测到了 *sf1* 的结

合位点<sup>[43, 49, 50]</sup>, *sf1* 同时也是 *amh* 基因的转录调节因子, 提示该基因与性别分化和雄性生殖系统的发育相关联。

### 3 类固醇合成酶类基因

#### 3.1 芳香化酶基因 Aromatase

芳香化酶基因 *cyp19a1* 对于脊椎动物的性腺分化和发育起到重要作用<sup>[1, 51]</sup>, 其编码的芳香化酶 Aromatase 属细胞色素 P450 家族成员, 是雌性激素生物合成过程中的限速酶, 催化某些雄激素(如睾酮和雄烯二酮)转化为雌激素。除鳗鲡外, 硬骨鱼类芳香化酶基因的两个亚型, 分为主要在性腺中表达的 *cyp19a1a* 和主要在脑中表达的 *cyp19a1b*, 它们不仅具有独特的功能, 且其表达特异受到不同调节因子的影响。芳香化酶基因 *cyp19a1a* 已经在许多种硬骨鱼中被分离得到<sup>[52]</sup>, 并在卵巢发育过程中有重要作用, 被认为是鱼类卵巢分化一个可信的早期生物标志物<sup>[51]</sup>。目前 *cyp19a1a* 已在青鳉、狼鲈、罗非鱼、斑马鱼、稀有鮡鲫<sup>[49]</sup>和石斑鱼等鱼类中被发现。有证据表明 *cyp19a1a* 基因只在卵巢中表达, 而在精巢中基本上没有表达, 且 *cyp19a1* 表达水平及活性与雌激素的合成紧密相连。

#### 3.2 其他细胞色素 P450 酶类

游离胆固醇需经线粒体外膜转运至内膜, 在细胞色素 P450 胆固醇侧链裂解酶(*cyp11a1*, Cytochrome P450-mediated side-chain cleavage enzyme)的作用下发生羟化和侧链裂解。目前此基因在青鳉<sup>[53]</sup>、pejerrey<sup>[54]</sup>、斑马鱼、大西洋鲑、海葵、黄貂鱼、日本鳗鲡和稀有鮡鲫<sup>[55]</sup>等鱼类上获得了克隆, 且在性腺(尤其是精巢)中的表达量较高, 发现 *cyp11a2* 基因在斑马鱼类固醇合成起始和维持中发挥重要作用<sup>[56]</sup>。*Cyp11a1* 催化孕酮成孕烯醇酮, 孕酮经过 17 $\alpha$  羟化酶/17,20 碳链裂解酶 P450c17 (*cyp17a1*, 17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase 1)的催化作用, 被催化成为雄烯二酮<sup>[57]</sup>。*cyp17a1* 是一种微粒体细胞色素 P450 酶, 具有两种催化功能, 即 17 $\alpha$ , $\beta$ -羟化酶和 17,20-裂解酶的活性, 在皮质醇和性激素的生物合成中起着重要作用。目前已经在韩国石头鱼<sup>[58]</sup>、牙鲆<sup>[59]</sup>、条斑星鲽<sup>[60]</sup>、半滑舌鲷<sup>[61]</sup>、青鳉和罗非鱼<sup>[43]</sup>等鱼类上获得了克隆且在精巢中表达量较高, 且跟性腺组织的甲基化模式相关<sup>[59, 62]</sup>。余红仕研究发现, 黄鳝 *cyp17a1* 除在脑中有少量表达外, 在其他组织中没有表达,

表明该基因与性别发育相关。该基因在雌雄黄鳝中都表达, 而在间性表达量较低, 说明该基因不是雄性发育或是雌性发育特异的基因, 而是性腺发育所必需且功能不同的基因。

#### 3.3 羟基类固醇脱氢酶

3 $\beta$  羟基类固醇脱氢酶(3 $\beta$ HSD, 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, 由 *3bhsd* 编码)属于膜结合蛋白, 参与激素生成组织中固醇类激素第 3 位酮基(3-keto group)与羟基(Hydroxy group)之间的相互转换, 因具有较多亚型在不同组织中表达也有所差异, 雄激素能抑制肾上腺皮质细胞和睾丸间质细胞 *3bhsd* 表达。目前已经在斑马鱼、黄貂鱼、罗非鱼<sup>[43]</sup>、青鳉和稀有鮡鲫<sup>[55]</sup>等上获得了克隆。11 $\beta$  羟基类固醇脱氢酶(11 $\beta$ HSD, 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, 由 *11bhsd* 编码)为糖皮质激素的代谢酶, 它催化糖皮质激素 C11 位的酮基与羟基之间的氧化还原反应, 目前在稀有鮡鲫<sup>[63]</sup>、斑马鱼<sup>[64]</sup>、pejerrey<sup>[65]</sup>、南方鲇<sup>[66]</sup>等上获得了克隆。11 $\beta$ HSD 是决定盐皮质激素受体特异性的关键因素, 并与遗传性表现盐皮质激素增多症(Apparent mineralocorticoid excess, AME)有关, 该酶分为 11 $\beta$ HSD1 和 11 $\beta$ HSD2 两型, 调节组织中的皮质醇浓度, 进而调节糖皮质激素受体和盐皮质激素受体的激活, 起到控制血压及水、电解质平衡的作用。

雄烯二酮在 17 $\beta$  羟化类固醇脱氢酶(17 $\beta$ -HSD, 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, 由 *17bhsd* 编码)的作用下被催化成了 T, 在雌鱼体内, 睾酮被芳香化酶芳香化成了雌激素 E2<sup>[67]</sup>, 在精巢中, 睾酮被 11 $\beta$  羟化酶 (*cyp11b1*, P45011 $\beta$ -hydroxylase) 和 11 $\beta$ -HSD 催化成雄鱼特有的 11-KT<sup>[68]</sup>, 最后合成可以被利用的 E2 和 11-KT 等激素。雌素酮(Estrone)和 E2 的互相转化时需要 17 $\beta$ -HSD 催化。17 $\beta$ hds 能在雌雄虹鳟鱼的中特异性表达, 且在不同时期肝脏中的表达出现差异<sup>[69]</sup>。20 $\beta$  羟化类固醇脱氢酶(20 $\beta$ HSD)是卵巢中卵细胞成熟的催化酶, 主要作用是催化 17 $\alpha$ -羟基孕酮转化成 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -双羟孕酮(17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one)<sup>[70]</sup>, 此激素诱导卵母细胞生发泡破裂进而促进排卵。作为一种在糖(肾上腺)皮质激素代谢中发挥特殊功能的新基因<sup>[71]</sup>, 在斑马鱼应激代谢中发挥重要功能<sup>[72]</sup>。这类固醇代谢酶类基因目前已在其他鱼类物种中被相继克隆, 研究这些基因在性腺分化中的功能将成为未来一段时期研究的热点。

## 4 卵母细胞结构基因

### 4.1 组蛋白 H3 伴侣蛋白 *hira*

在彩鲫<sup>[73, 74]</sup>、银鲫<sup>[73—75]</sup>和红鲫<sup>[76]</sup>等雌核发育鲫属的研究中, 组蛋白 H3 伴侣蛋白 *hira* 在精核解凝和胚胎发育中发挥重要作用。研究发现母源性组蛋白 H2a 的变体 *H2aflo* 和乙酰化组蛋白 H4 可能是导致异源精核在银鲫卵细胞中不能解除浓缩状态的原因<sup>[75, 77]</sup>, 利用 Morpholino 敲除证明 *hira* 对斑马鱼发育必不可少<sup>[77]</sup>。

### 4.2 卵黄原蛋白 *vitellogenin*

卵黄原蛋白(Vtg, vitellogenin)即卵黄蛋白的前体, 是一种大分子量的磷酸酯糖蛋白。E<sub>2</sub> 刺激下 Vtg 能在肝脏中合成, 通过血液运输, 最后被运送到卵巢中作为胚胎发育的营养源。鱼类生殖细胞发育成熟间接受外源或者内源的促性腺激素的促进作用, 主要是直接通过类固醇激素来实现的。比如在雌鱼的卵黄形成期, 垂体分泌促性腺激素作用于卵巢滤泡, 在滤泡膜细胞层合成雄烯二酮, 雄烯二酮再转化为可芳香化的雄激素。睾酮再扩散到滤泡颗粒细胞层, 在芳香化酶的作用下转化为 E<sub>2</sub> 随即从卵巢中释放出来, 刺激肝脏合成和释放 Vtg。最后 Vtg 在促性腺激素作用下进入发育的卵母细胞形成卵黄颗粒。在鱼类中, 一般认为 Vtg 是雌鱼的特异蛋白, 但是雄鱼的肝脏中也有 *vtg* 基因的存在, 因此, 雌二醇、乙炔雌二醇和雌酮等雌激素可以诱导雄鱼肝脏合成 Vtg 并且发挥作用。

### 4.3 透明带蛋白 *zona pellucida*

透明带蛋白(ZP, Zona pellucida)主要在顶体反应等与生殖相关的生命活动中发挥作用, 包含 4 种亚型: ZP1(ZPB)、ZP2(ZPA)、ZP3(ZPC)和 ZPX。在硬骨鱼类中, 对 *zpb* 和 *zpc* 基因及其功能的研究相对较多。一般说来, 卵母细胞能够合成 ZP 蛋白, 且在体内无卵母细胞存在时, 机体也能够合成 ZP 蛋白。在硬骨鱼中, ZP 蛋白主要在肝脏和卵巢中合成, 其表达模式分为卵巢特异性表达、肝脏特异性表达或在卵巢和肝脏组织中共同表达。雌激素能够调控青鳉肝脏中 ZP 蛋白的合成; 斑马鱼卵巢 ZP 蛋白表达则较为灵活, 受雌激素的调控影响较小。*zp* 表达与卵细胞的发生有重要的关系, 青鳉中卵巢特异性表达的 *zp* 在卵细胞直径达到 45  $\mu\text{m}$  时就可检测到表达; 鲤 *zpb* 的表达在卵黄囊泡阶段就有较高水平的表达。雄性青鳉肝脏

特异性表达的 *zp* 基因在正常情况下几乎不表达, 当受到雌激素影响时, ZP 蛋白会被诱导有较高的表达。

## 5 展望

虽鱼类性别决定机制复杂, 参与性别决定的基因很多, 基因表达又受多因素调控, *dmrt1* 基因往往处于级联反应的上游, 但 *dmrt1* 新成员的发现及如何通过实验验证其功能? 类固醇合成途径在雄激素向雌激素转化途径及鱼类特有雄激素 11-KT 合成中发挥重要作用, 部分性腺分化基因、胰岛素样生长因子<sup>[42]</sup>也都能调控类固醇合成酶类基因的表达, 但怎么调控? 核受体是一类配体依赖性转录因子超家族, 与机体的生长发育、细胞分化等众多生理、代谢过程息息相关, 但孤儿核受体是否也存在相应配体以及它们的转录活性是否也受可逆结合配体的调节? 当前更加急迫的是, 工业生产(造纸、钢铁等行业)、畜禽规模化养殖、农药大量使用等带来的污水, 以及人类生活污水的肆意排放, 造成水体中存在大量有毒有害的内分泌干扰物(Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs)。EDCs 不仅会影响鱼类的生殖发育, 也能通过鱼体富集被食用最终对人体造成伤害, 在水产品质量安全方面存在潜在的隐患。本课题组以稀有鮡鲫<sup>[22, 48, 54, 63]</sup>和雌核发育物种彭泽鲫<sup>[11, 18, 41, 78]</sup>为研究对象对调控性腺分化基因进行了克隆, 并从基因表达层面证实这些基因的表达易收到 EDCs 的影响<sup>[78]</sup>, 并发现试验动物体内激素水平发生紊乱, 鱼类的生殖细胞受到不同程度的抑制<sup>[63]</sup>。当然, EDCs 在体内可通过葡糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyl-transferase, UGT) 和磺基转移酶(Sulfotransferase enzymes, SULT)来进行代谢和转运, 但找到调控网络中的关键节点分子尚需时日。从居民消费水产品的质量安全方面来看, 海、淡水主要养殖水产品, 地域性及进出口水产品品种的安全管控体系亟待建立和完善。因此, 对水产养殖全过程中风险危害因子的排查, 水体中有毒有害物质的检测及其对鱼类生殖毒害的分子生物学机制研究, EDCs 在鱼体内的残留及消除规律、次生代谢产物的检测以及探究有毒有害物质的降解途径将变得十分有意义。因此, 随着基因编辑<sup>[79]</sup>、测序技术和基因组学研究的推进, 利用好这些技术将有利于破译转录因子、辅激活和抑制因子、DNA 等之间形成的复杂调控网络, 加速研究进程。

表 1 部分调控鱼类性腺分化基因及功能汇总表  
Tab. 1 Summary on some genes and their functions in the sex differentiation

| 编号<br>No.                              | 基因名<br>Name of gene | 基因功能<br>Gene function                         | 物种名及参考文献<br>Organism and related references                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 性腺分化 Sex differentiation related genes |                     |                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 1                                      | <i>dmrt1</i>        | 参与性别决定的转录因子家族成员, 参与雄性生殖发育及精子维持, 调控精原细胞向精母细胞发育 | 日本青鳉 <i>Oryzias latipes</i> 、弓背青鳉 <i>O. curvinotus</i> 、 <i>O. dancena</i> 、奥利亚罗非鱼 <i>Oreochromis aurea</i> 、稀有鮡鲫 <i>Gobiocypris rarus</i> 、彭泽鲫 <i>Carassius auratus</i> var. Pengze、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、虹鳉 <i>Oncorhynchus mykiss</i> 、斑马鱼 <i>Danio rerio</i> 、大鳞副泥鳅 <i>Paramisgurnus dabryanus</i> 、胡子鲶 <i>Clarias fuscus</i> 、黑棘鲷 <i>Acanthopagrus schlegeli</i> Bleeker、黄鳝 <i>Monopterus albus</i> 、银汉鱼 <i>Odontesthes bonariensis</i> 、点带石斑鱼 <i>Epinephelus coioides</i> 、细棘海猪鱼 <i>Halichoeres tenuispinis</i> 、红剑尾鱼 <i>Xiphophorus maculatus</i> 、红鳍东方鲀 <i>Takifugu rubripes</i> 、异育银鲫 <i>C. auratus gibelio</i> 、高身丽脂鲤 <i>Astyanax altiparanae</i> 、绿天使 <i>Astatotilapia burtoni</i> 、牙鲆 <i>Plecoglossus altivelis</i> 、许氏平鲉 <i>Sebastes schlegeli</i> 、蓝鰺 <i>Etheostoma caeruleum</i> 、牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i> 、颌须鲉 <i>Gnathopogon caerulescens</i> 、腋孔蟾鱼 <i>Halobatrachus didactylus</i> 、银鲳 <i>Anoplopoma fimbria</i> 、花鳍海猪鱼 <i>H. poecilopterus</i> 、西伯利亚鲟 <i>Acipenser baerii</i> 、大西洋鳕 <i>Gadus morhua</i> 、黑鲷 <i>A. schlegeli</i> 、细棘海猪鱼 <i>H. tenuispinis</i> 等 |
| 2                                      | <i>dmrt2</i>        | 调节体节形成                                        | 斑马鱼 <i>D. rerio dmrt2b</i> 、大西洋鳕 <i>G. morhua dmrt2a</i> 和 <i>dmrt2b</i> 、红鳍东方鲀 <i>T. rubripes dmrt2a</i> 和 <i>dmrt2b</i> 、青鳉 <i>O. latipes dmrt2</i> 、吕宋青鳉 <i>O. luzonensis</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 3                                      | <i>dmrt3</i>        | 神经系统发育, 可能参与性腺发育调控                            | 鲫 <i>Carassius auratus</i> 、大西洋鳕 <i>G. morhua</i> 、青鳉 <i>O. latipes</i> 、红旗东方鲀 <i>T. rubripes</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 4                                      | <i>dmrt4</i>        | 参与调控嗅觉系统的神经形成                                 | 扁口鱼 <i>P. olivaceus</i> 、奥尼罗非鱼 <i>O. aurea</i> 、罗非鱼 <i>O. aureus</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、红旗东方鲀 <i>T. rubripes</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 5                                      | <i>dmrt5</i>        | 脑发育及调控精子发生                                    | 大西洋鳕 <i>G. morhua</i> 、红旗东方鲀 <i>T. rubripes</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 6                                      | <i>amh</i>          | 雄性性别分化                                        | 日本鳗鲡 <i>Anguilla japonica</i> 、扁口鱼 <i>P. olivaceus</i> 、虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、欧鲈 <i>Dicentrarchus labrax</i> 、鲨 <i>Squalus alburnoides</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. Pengze、鲈 <i>Lateolabrax japonicus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 7                                      | <i>foxl2</i>        | 卵巢分化及功能维持                                     | 虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、阿拉巴马铲鲷 <i>Scaphirhynchus platyrhynchus</i> 、三斑海猪鱼 <i>H. trimaculatus</i> 、尖齿胡鲶 <i>Clarias gariepinus</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、黑鲷 <i>A. schlegeli</i> <sup>[23]</sup> 、许氏平鲉 <i>S. schlegeli</i> 、银鲳 <i>A. fimbria</i> 、大西洋鳕 <i>Salmo salar</i> 、 <i>G. caerulescens</i> 、 <i>M. albus</i> 、吕宋青鳉 <i>O. luzonensis</i> 、金钱鱼 <i>Scatophagus argus</i> 、蜂巢石斑鱼 <i>E. merra</i> 、小点猫鲨 <i>Scyliorhinus canicula</i> 、牙鲆 <i>P. olivaceus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. pengze 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 8                                      | <i>sox3</i>         | 中枢神经系统发育和卵子发生                                 | 黑鲷 <i>A. schlegeli</i> 、点带石斑鱼 <i>E. coioides</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 9                                      | <i>sox9</i>         | 性腺分化和发育                                       | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i> 、鲤 <i>Cyprinus carpio</i> 、 <i>M. albus</i> 、虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、红鲫 <i>C. auratus</i> red variety、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. pengze、 <i>C. carpio</i> 、西伯利亚鲟 <i>A. baerii</i> 、脂鲤 <i>A. altiparanae</i> 、吕宋青鳉 <i>O. luzonensis</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 10                                     | <i>vasa</i>         | 原始生殖细胞标志                                      | 异育银鲫 <i>C. auratus gibelio</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellu</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、欧鲈 <i>D. labrax</i> 、大西洋鳕 <i>G. morhua</i> 、奥利亚罗非鱼 <i>O. aureus</i> 、半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 、牙鲆 <i>P. olivaceus</i> 、罗非鱼 <i>O. Niloticus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 11                                     | <i>wt1a</i>         | 肾脏和性腺发育                                       | 半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 、 <i>M. albus</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 核受体 Steroid receptors                  |                     |                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 12                                     | <i>era</i>          | 参与雌激素受体信号通路                                   | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i> 、欧鲈 <i>D. labrax</i> 、青鳉 <i>O. latipes</i> 、牙鲆 <i>P. olivaceus</i> 、 <i>G. morhua</i> 、鲫 <i>C. auratus</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、塔氏油白鱼 <i>Alburnus tarichi</i> 、绵鳚 <i>Zoarces viviparus</i> 、粗唇龟鲷 <i>Chelon labrosus</i> 、 <i>O. bonariensis</i> 、 <i>P. dabryanus</i> 、泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i> 、 <i>Sparus aurata</i> 、 <i>Andrias japonicus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. Pengze 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 13                                     | <i>erβ1</i>         | 雌激素受体信号通路, 脑发育                                | 欧鲈 <i>D. labrax</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、半滑舌鲷 <i>S. schlegelii</i> 、青鳉 <i>O. latipes</i> 、 <i>G. morhua</i> 、银汉鱼 <i>O. bonariensis</i> 、斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. Pengze 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 14                                     | <i>erβ2</i>         | 雌激素受体信号通路, 脑发育                                | 欧鲈 <i>D. labrax</i> 、斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、半滑舌鲷 <i>S. schlegelii</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、 <i>G. morhua</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. Pengze 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

续表

| 编号<br>No.             | 基因名<br>Name of<br>gene | 基因功能<br>Gene function | 物种名及参考文献<br>Organism and related references                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 核受体 Steroid receptors |                        |                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 15                    | ar                     | 参与雄性发育                | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、斑点雀鳉 <i>Lepisosteus oculatus</i> 、大西洋鲑 <i>S. salar</i> 、斑纹隐小鳉 <i>Kryptolebias marmoratus</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、食蚊鱼 <i>Gambusia affinis</i> 、三刺鱼 <i>Gasterosteus aculeatus</i> 、 <i>I. furcatus</i> 、斑点叉尾鲟 <i>I. punctatus</i> 、齿蝶鱼 <i>Pantodon buchholzi</i> 、斑马宫丽鱼 <i>Maylandia zebra</i> 、伯氏朴丽鱼 <i>Haplochromis burtoni</i> 、女王燕尾 <i>Neolamprologus brichardi</i> 、澳洲彩虹 <i>Melanotaenia fluviatilis</i> 、呆鲦 <i>Pimephales promelas</i> 、鲫 <i>C. auratus</i> 、 <i>A. japonica</i> 、 <i>A. fimbria</i> 、波纹绒须石首鱼 <i>Micropogonias undulatus</i> 、 <i>M. albus</i> 、虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、 <i>G. morhua</i> 、 <i>E. coioides</i> 、欧鲈 <i>D. labrax</i> 、大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i> 、云纹犬牙石首鱼 <i>Cynoscion nebulosus</i> 、 <i>Pagrus major</i> 、黑鲷 <i>A. schlegelii</i> 、 <i>S. aurata</i> 、西氏拟隆头鱼 <i>Pseudolabrus sieboldi</i> 、剑尾鱼 <i>X. hellerii</i> 、 <i>X. maculatus</i> 、 <i>O. dancena</i> 、红背天使 <i>Pundamilia nyererei</i> 、半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 、白斑狗鱼 <i>Esox lucius</i> 、胡瓜鱼 <i>Osmerus mordax</i> 、鲟 <i>A. ruthenus</i> 、史氏鲟 <i>A. schrenckii</i> 、 <i>A. ruthenus</i> x <i>Huso huso</i> 、墨西哥丽脂鲤 <i>A. mexicanus</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、倒刺鲃 <i>Spinibarbus denticulatus</i> 、 <i>A. anguilla</i> 、猫鲨 <i>Chiloscyllium punctatum</i> 、盲鳗 <i>Myxine glutinosa</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. <i>Pengze</i> 等                                                      |
| 16                    | dax1                   | 生殖发育调控                | 半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、大西洋鲑 <i>S. salar</i> 、 <i>M. albus</i> 、腔棘鱼 <i>Latimeria menadoensis</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> ssp. 'Pengze'、欧鲈 <i>D. labrax</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 17                    | sf1                    | 性腺分化及调控、<br>调节激素      | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、欧鲈 <i>D. labrax</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、 <i>P. nyererei</i> 、斑鲷 <i>I. punctatus</i> 、尖齿胡鲶 <i>C. gariepinus</i> 、虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. <i>pengze</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、 <i>L. japonicas</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 类固醇合成 Steroidogenesis |                        |                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 18                    | cyp19a1                | 雄激素向雌<br>激素转化         | 大西洋鳕 <i>G. morhua</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、腹大眼非鲫 ( <i>Ophthalmotilapia ventralis</i> 、 <i>O. nasuta</i> 、红金天使 <i>Callochromis macrops</i> 、杜氏颅盔丽鱼 <i>Aulonocranus dewindti</i> 、黑颧龙王鲷 <i>Xenotilapia melanogenys</i> 、达氏橙腹鲷 <i>Limnotilapia dardennii</i> 、多齿岩丽鱼 <i>Petrochromis polyodon</i> 、红珍珠蝴蝶鲷 <i>Simochromis babaulti</i> 、十二间虎 <i>Lobochilotes labiatus</i> 、红身蓝首鱼 <i>Tropheus moorii</i> 、拟扁鼻丽鱼 <i>Pseudosimochromis curvifrons</i> 、慈鲷 <i>Boulengerochromis microlepis</i> 、橙色尖嘴丽鱼 <i>Julidochromis ornatus</i> 、女王燕尾 <i>N. pulcher</i> 、青鳉 <i>O. latipes</i> 、黑点青鳉 <i>O. melastigma</i> 、底鳉 <i>Fundulus heteroclitus</i> 、银汉鱼 <i>O. bonariensis</i> 、布隆迪六间鱼 <i>Cyphotilapia gibberosa</i> 、全颌颌丽鱼 <i>Gnathochromis permaxillaris</i> 、慈鲷 <i>G. pfefferi</i> 、航空母舰 <i>Benthochromis tricoti</i> 、格氏渊丽鱼 <i>Bathybates graueri</i> 、缘边孔丽鱼 <i>Trematocara marginatum</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、赤图塔露虹剑沙 <i>Cyprichromis leptosoma</i> 、勒氏亮丽鲷 <i>Lamprologus lemairei</i> 、凯利贝 <i>L. callipterus</i> 、霍氏栉丽鱼 <i>Ctenochromis horei</i> 、蓝点狐狸 <i>Eretmodus cyanostictus</i> 、小鳞奇齿丽鱼 <i>Perissodus microlepis</i> 、黄金鲈 <i>Perca flavescens</i> 、驼背鲈 <i>Cromileptes altivelis</i> 、 <i>M. undulatus</i> 、 <i>Gobiodon histrio</i> 、 <i>Boleophthalmus pectinirostris</i> 、 <i>Lates calcarifer</i> 、鲤 <i>C. carpio</i> 、 <i>A. anguilla</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus</i> var. <i>pengze</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、欧鲈 <i>D. labrax</i> 等 |
| 19                    | cyp11a1                | 胆固醇侧链羟化               | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、大西洋鲑 <i>S. salar</i> 、 <i>F. heteroclitus</i> 、斑点叉尾鲟 <i>I. punctatus</i> 、南美江魮 <i>Potamotrygon motoro</i> 、银汉鱼 <i>O. bonariensis</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 、胡鲶 <i>C. batrachus</i> 、锯隆头鱼 <i>Tautoglabrus adspersus</i> 、 <i>A. japonica</i> 、 <i>Amphiprion clarkia</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 20                    | cyp17a1                | 皮质醇和性激素的<br>生物合成      | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、 <i>Sebastes schlegelii</i> 、牙鲆 <i>P. olivaceus</i> 、 <i>Verasper moseri</i> 、半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 、日本牙鲆 <i>O. latipes</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、 <i>T. rubripes</i> 、 <i>G. aculeatus</i> 、 <i>L. japonicus</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 21                    | 3 $\beta$ hsd          | 固醇类激素酮基与<br>羟基转化      | 南美江魮 <i>Potamotrygon motoro</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、 <i>Ictidomys tridecemlineatus</i> 、 <i>Lipotes vexillifer</i> 、 <i>Orcinus orca</i> 、虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、 <i>Balaenoptera acutorostrata scammoni</i> 、日本青鳉 <i>O. latipes</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 22                    | 11 $\beta$ hsd         | 雄激素(11-KT)<br>合成      | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、银汉鱼 <i>O. bonariensis</i> 、 <i>L. oculatus</i> 、女王燕尾 <i>N. brichardi</i> 、 <i>H. burtoni</i> 、 <i>P. nyererei</i> 、 <i>M. zebra</i> 、 <i>A. japonica</i> 、大西洋鲑 <i>S. salar</i> 、虹鳉 <i>O. mykiss</i> 、尖齿胡鲶 <i>C. gariepinus</i> 、蓝鲶 <i>I. furcatus</i> 、呆鲦 <i>P. promelas</i> 、脂鲤 <i>P. notatus</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 23                    | 17 $\beta$ hsd         | 雄激素的催化                | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、胡鲶 <i>C. batrachus</i> 、鲟 <i>S. trutta fario</i> 、 <i>O. mykiss</i> 、 <i>A. japonica</i> 、河鲈 <i>Perca fluviatilis</i> 、稀有鮡鲫 <i>G. rarus</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

续表

| 编号<br>No.             | 基因名<br>Name of<br>gene | 基因功能<br>Gene function | 物种名及参考文献<br>Organism and related references                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 类固醇合成 Steroidogenesis |                        |                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 24                    | 20 $\beta$ hsd         | 卵细胞成熟                 | 虹鳟 <i>O. mykiss</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、尖齿胡鲶 <i>C. gariepinus</i> 、 <i>S. aurata</i> 、 <i>A. latus</i> 、网纹花鳞种 <i>Poecilia reticulata</i> 、地中海鲷 <i>Solea senegalensis</i> 、香鱼 <i>P. altivelis</i> 、斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、鲤 <i>C. carpio</i> 、黄颡鱼 <i>Tachysurus fulvidraco</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 结构基因 Structure genes  |                        |                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 25                    | <i>hira</i>            | 精核解凝                  | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、鲫 <i>C. auratus</i> 、墨西哥丽脂鲤 <i>A. mexicanus</i> 、女王燕尾 <i>N. brichardi</i> 、维多利亚湖慈鲷 <i>P. nyererei</i> 、红鳍东方鲀 <i>T. rubripes</i> 、斑点雀鲷 <i>L. oculatus</i> 、异育银鲫 <i>C. auratus gibelio</i> 、 <i>M. zebra</i> 、 <i>H. burtoni</i> 、大西洋鲑 <i>S. salar</i> 、 <i>E. lucius</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus var. pengze</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 26                    | <i>vlg</i>             | 卵母细胞发育, 生长发育营养源供给     | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、北方蓝鳍金枪鱼 <i>Thunnus thynnus</i> 、斑点雀鲷 <i>L. oculatus</i> 、美洲狼鲈 <i>Morone americana</i> 、剑尾鱼 <i>X. hellerii</i> 、海鲈 <i>D. labrax</i> 、 <i>P. reticulata</i> 、食蚊鱼 <i>G. affinis</i> 、太阳鱼 <i>X. maculatus</i> 、艾氏异仔鲃 <i>Xenotoca eiseni</i> 、鲮 <i>Mugil cephalus</i> 、 <i>O. aureus</i> 、维多利亚湖慈鲷 <i>P. nyererei</i> 、女王燕尾 <i>N. brichardi</i> 、小长臀鰕虎鱼 <i>Pomatoschistus minutus</i> 、溪鲮 <i>G. chalcogrammus</i> 、蛇河精斑鲃 <i>O. clarkii</i> 、鲤 <i>C. carpio</i> 、黑线鲮 <i>Melanogrammus aeglefinus</i> 、大西洋大比目鱼 <i>Hippoglossus hippoglossus</i> 、条斑星鲈 <i>Verasper moseri</i> 、弓背青鲈 <i>F. heteroclitus</i> 、青鲈 <i>O. latipes</i> 、 <i>M. zebra</i> 、青沙鲈 <i>Sillago japonica</i> 、黄鳍刺鰕虎鱼 <i>Acanthogobius flavimanus</i> 、红点鲃 <i>Salvelinus leucomaenis</i> 、稀有鲃 <i>G. rarus</i> 、金丝鱼 <i>Tanichthys albonubes</i> 、日本鲃 <i>A. japonica</i> 、大菱鲈 <i>Scophthalmus maximus</i> 、黑双锯鱼 <i>Amphiprion melanopus</i> 、黑尾红茶壶 <i>P. latipinna</i> 、褐菖鲈 <i>K. marmoratus</i> 、黑点青鲈 <i>O. melastigma</i> 、大口黑鲈 <i>Micropterus salmoides</i> 、呆鲈 <i>P. promelas</i> 、朝鲜鲃 <i>Rhodeus uyekii</i> 、鲮 <i>Cirrhinus molitorella</i> 、卡特拉鱼 <i>Catla catla</i> 、朝鲜鲃 <i>Acheilognathus yamatsutae</i> 、尖头鲃 <i>Phoxinus oxycephalus</i> 、墨西哥脂鲤 <i>A. mexicanus</i> 、大头蓴麻鰕鲈 <i>C. macrocephalus</i> 、大西洋鲱 <i>Clupea harengus</i> 、 <i>S. salar</i> 、虹鳟 <i>O. mykiss</i> 、印度丽丽 <i>Colisa fasciata</i> 、大黄鱼 <i>L. crocea</i> 、 <i>A. hasta</i> 、韩国冷冻星鰕 <i>Conger myriaster</i> 、黄尾蓝魔 <i>Chrysiptera parasema</i> 、鲫 <i>C. auratus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus var. pengze</i> 等 |
| 27                    | <i>zp</i>              | 顶体反应及受精作用, 卵母细胞功能维持   | 斑马鱼 <i>D. rerio</i> 、罗非鱼 <i>O. niloticus</i> 、斑点雀鲷 <i>L. oculatus</i> 、女王燕尾 <i>N. brichardi</i> 、 <i>H. burtoni</i> 、 <i>M. zebra</i> 、青鲈 <i>O. latipes</i> 、 <i>P. nyererei</i> 、墨西哥丽脂鲤 <i>A. mexicanus</i> 、剑尾鱼 <i>X. maculatus</i> 、稀有鲃 <i>G. rarus</i> 、 <i>A. japonica</i> 、虹鳟 <i>O. mykiss</i> 、太平洋鲱 <i>Clupea pallasii</i> 、 <i>O. masou</i> 、青鲈 <i>F. heteroclitus</i> 、黑点青鲈 <i>O. melastigma</i> 、非洲凤凰 <i>Melanochromis auratus</i> 、鲮 <i>Engraulis japonicus</i> 、鲤 <i>C. carpio</i> 、遮目鱼 <i>Chanos chanos</i> 、大西洋鲑 <i>S. salar</i> 、鲮 <i>O. dancena</i> 、鲮 <i>O. javanicus</i> 、 <i>K. marmoratus</i> 、 <i>S. aurata</i> 、大西洋狮子鱼 <i>Liparis atlanticus</i> 、半滑舌鲈 <i>C. semilaevis</i> 、欧洲鰕 <i>A. anguilla</i> 、短鳍南乳鱼 <i>G. brevipinnis</i> 、埃氏南乳鱼 <i>Galaxias eldoni</i> 、平头南乳鱼 <i>G. depressiceps</i> 、大鼻南乳鱼 <i>G. macronasus</i> 、 <i>G. anomalus</i> 、 <i>G. argenteus</i> 、 <i>G. vulgaris</i> 、 <i>Galaxias</i> sp. D (Allibone et al., 1996)、大洋洲南乳鱼 <i>G. gollumoides</i> 、翘嘴鲈 <i>Culter alburnus</i> 、异育银鲫 <i>C. auratus gibelio</i> 、海鲈 <i>D. labrax</i> 、鲈 <i>Liza haematocheila</i> 、黄盖鲈 <i>Pseudopleuronectes</i> sp. Bicolor、 <i>H. sp.</i> 44、美洲拟鲈 <i>Pseudopleuronectes americanus</i> 、海鲈 <i>Muraenesox cinereus</i> 、鲫 <i>C. auratus</i> 、彭泽鲫 <i>C. auratus var. pengze</i> 等                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

## 参考文献:

- [1] Devlin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences [J]. *Aquaculture*, 2002, **208**: 191—364
- [2] Gui J F, Zhou L. Genetic basis and breeding application of clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio* [J]. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(4): 409—415
- [3] Leet J K, Lesteberg K E, Schoenfuss H L, et al. Sex-specific gonadal and gene expression changes throughout development in fathead minnow [J]. *Sex Development*, 2013, **7**(6): 303—307
- [4] Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, et al. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish [J]. *Nature*, 2002, **417**: 559—563
- [5] Myosho T, Otake H, Masuyama H, et al. Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis* [J]. *Genetics*, 2012, **191**(1): 163—170
- [6] Hattori R S, Murai Y, Oura M, et al. A Y-linked anti-mullerian hormone duplication takes over a critical role

- in sex determination [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, **109**: 2955—2959
- [7] Kamiya T, Kai W, Tasumi S, *et al.* A trans-species missense SNP in *Amhr2* is associated with sex determination in the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (Fugu) [J]. *PLoS Genetics*, 2012, **8**: e1002798
- [8] Yano A, Guyomard R, Nicol B, *et al.* An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Current Biology*, 2012, **22**(15): 1423—1428
- [9] Wang J, Luo C. Molecular cloning and expression analysis of *dmrt3* in goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(3): 548—555 [王佳, 罗琛. 鲫 *Dmrt3* 基因的克隆和表达分析. 水生生物学报, 2014, **38**(3): 548—555]
- [10] Cao J, Chen J, Wu T, *et al.* Molecular cloning and sexually dimorphic expression of DMRT4 gene in *Oreochromis aureus* [J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, **37**(6): 2781—2788
- [11] Zheng Y, Liang H, Xu P, *et al.* Molecular cloning of *Pcc-dmrt1s* and their specific expression patterns in Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze) affected by 17 $\alpha$ -methyltestosterone [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2014, **40**(4): 1141—1155
- [12] Deng S P, Wang J J, Wu T L, *et al.* cDNA cloning and expression analysis of *dmrt1* in *Clarias fuscus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(4): 610—617 [邓思平, 王静杰, 吴天利, 等. 胡子鲇 *Dmrt1* 基因全长 cDNA 克隆及其表达分析. 水生生物学报, 2012, **36**(4): 610—617]
- [13] Wu G C, Chiu P C, Lin C J, *et al.* Testicular *dmrt1* is involved in the sexual fate of the ovotestis in the protandrous black porgy [J]. *Biology of Reproduction*, 2012, **86**(2): 41
- [14] Li M H, Yang H H, Li M R, *et al.* Antagonistic roles of *Dmrt1* and *Foxl2* in sex differentiation via estrogen production in tilapia as demonstrated by TALENs [J]. *Endocrinology*, 2013, **154**(12): 4814—4825
- [15] Masuyama H, Yamada M, Kamei Y, *et al.* *Dmrt1* mutation causes a male-to-female sex reversal after the sex determination by *Dmy* in the medaka [J]. *Chromosome Research*, 2012, **20**: 163—176
- [16] Li X Y, Zhang X J, Li Z, *et al.* Evolutionary history of two divergent *Dmrt1* genes reveals two rounds of polyploidy origins in gibel carp [J]. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 2014, **78**: 96—104
- [17] Poonlaphdecha S, Pepey E, Canonne M, *et al.* Temperature induced-masculinisation in the Nile tilapia causes rapid up-regulation of both *dmrt1* and *amh* expressions [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, **193**: 234—242
- [18] Li M, Wang L, Wang H, *et al.* Molecular cloning and characterization of *amh*, *dax1* and *cyp19a1a* genes in pengze crucian carp and their expression patterns after 17 $\alpha$ -methyltestosterone exposure in juveniles [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 2013, **157**: 372—381
- [19] Wang D S, Kobayashi T, Zhou L Y, *et al.* Foxl2 up-regulates aromatase gene transcription in a female-specific manner by binding to the promoter as well as interacting with ad4 binding protein/steroidogenic factor 1 [J]. *Molecular Endocrinology*, 2007, **21**: 712—725
- [20] Kobayashi Y, Horiguchi R, Nozu R, *et al.* Expression and localization of forkhead transcriptional factor 2 (Foxl2) in the gonads of protogynous wrasse, *Halichoeres trimaculatus* [J]. *Biology of Sex Differences*, 2010, **1**(1): 3
- [21] Sridevi P, Senthikumar B. Cloning and differential expression of FOXL2 during ovarian development and recrudescence of the catfish, *Clarias gariepinus* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, **174**(3): 259—268
- [22] Wang H, Wu T, Qin F, *et al.* Molecular cloning of Foxl2 gene and the effects of endocrine-disrupting chemicals on its mRNA level in rare minnow, *Gobiocypris rarus* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, **38**(3): 653—664
- [23] Wu G C, Tomy S, Lee M F, *et al.* Sex differentiation and sex change in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. *General Comparative and Endocrinology*, 2010, **167**(3): 417—421
- [24] Mu W J, Wen H S, Li J F, *et al.* Cloning and expression analysis of Foxl2 during the reproductive cycle in Korean rockfish, *Sebastes schlegelii* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, **39**(6): 1419—1430
- [25] Smith E K, Guzmán J M, Luckenbach J A. Molecular cloning, characterization, and sexually dimorphic expression of five major sex differentiation-related genes in a Scorpaeniform fish, sablefish (*Anoplopoma fimbria*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 2013, **165**(2): 125—137
- [26] von Schalburg K R, Gowen B E, Rondeau E B, *et al.* Sex-specific expression, synthesis and localization of aromatase regulators in one-year-old Atlantic salmon ovaries and testes [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 2013, **164**(4): 236—246
- [27] Ashida H, Ueyama N, Kinoshita M, *et al.* Molecular identification and expression of FOXL2 and DMRT1 genes from willow minnow *Gnathopogon caeruleus* [J]. *Reproduction Biology*, 2013, **13**(4): 317—324
- [28] He Z, Li Y, Wu Y, *et al.* Differentiation and morphogenesis of the ovary and expression of gonadal development-related genes in the protogynous hermaphroditic ricefield eel *Monopterus albus* [J]. *Journal of Fish Biology*, 2014, Aug 13. doi: 10.1111/jfb.12488. [Epub ahead of print]
- [29] Raghuveer K, Senthikumar B, Sudhakumari C C, *et al.* Dimorphic expression of various transcription factor and

- steroidogenic enzyme genes during gonadal ontogeny in the air-breathing catfish, *Clarias gariepinus* [J]. *Sex Development*, 2011, **5**: 213—223
- [30] Guo W J, Yu X M, Tong J G. Cloning and sequence evolution analysis of *Sox* genes in bighead carp (*aristichthys nobilis*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(4): 664—668 [郭稳杰, 俞小牧, 童金苟. 鳙 *Sox* 基因克隆及序列进化分析. 水生生物学报, 2014, **38**(4): 664—668]
- [31] Yuan Y, Li M, Hong Y. Light and electron microscopic analyses of *Vasa* expression in adult germ cells of the fish medaka [J]. *Gene*, 2014, **545**(1): 15—22
- [32] Li C J, Liu L, Chen X H, *et al.* Identification of a *vasa* homologue gene in grass carp and its expression pattern in tissues and during embryogenesis [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 2010, **157**(2): 159—166
- [33] Cao M, Yang Y, Xu H, *et al.* Germ cell specific expression of *Vasa* in rare minnow, *Gobiocypris rarus* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology* 2012, **162**(3): 163—170
- [34] Blázquez M, González A, Mylonas C C, *et al.* Cloning and sequence analysis of a *vasa* homolog in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): tissue distribution and mRNA expression levels during early development and sex differentiation [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, **170**(2): 322—333
- [35] Presslauer C, Nagasawa K, Fernandes J M, *et al.* Expression of *vasa* and *nanos3* during primordial germ cell formation and migration in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. *Theriogenology*, 2012, **78**(6): 1262—1277
- [36] Xiao J, Luo Y, Chen L, *et al.* Molecular cloning of *vasa* gene and the effects of LHRH-A on its expression in blue tilapia *Oreochromis aureus* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, **39**(4): 931—940
- [37] Wang Z, Gao J, Song H, *et al.* Sexually dimorphic expression of *vasa* isoforms in the tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *PLoS ONE*, 2014, **9**(3): e93380
- [38] Wu X, Wang Z, Jiang J, *et al.* Cloning, expression promoter analysis of *vasa* gene in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 2014, **167**: 41—50
- [39] Hu Q, Yang J Y, Gao Y, *et al.* Sequence analysis and expression of the Wilms' tumor suppressor gene (*WT1*) during sex reversal in rice field eel, *Monopterus albus* [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2014, **33**(1): 73—79 [胡青, 杨娇艳, 高宇, 等. 黄鳝 *WT1* 基因序列分析及在性腺发育过程中的表达. 华中农业大学学报, 2014, **33**(1): 73—79]
- [40] Zhang H, Chen S L, Liu Y, *et al.* *WT1a* gene molecular cloning and expression analysis during gender differentiation in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, **21**(1): 26—36
- [张红, 陈松林, 刘洋, 等. 半滑舌鳎 *WT1a* 基因的克隆与性别分化期的表达分析. 中国水产科学, 2014, **21**(1): 26—36]
- [41] Segner H, Casanova-Nakayama A, Kase R, *et al.* Impact of environmental estrogens on fish considering the diversity of estrogen signaling [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, **191**: 190—201
- [42] Zheng Y, Wang L, Li M, *et al.* Molecular characterization of five steroid receptors from pengze crucian carp and their expression profiles of juveniles in response to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and 17 $\alpha$ -methyltestosterone [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, **191**: 113—122
- [43] Li M, Wu F, Gu Y, *et al.* Insulin-like growth factor 3 regulates expression of genes encoding steroidogenic enzymes and key transcription factors in the Nile tilapia gonad [J]. *Biology of Reproduction*, 2012, **86**(5): 1—10, 163
- [44] Yajima Y, Vestergaard M C, Takagi M. Damage in brain development by morpholino knockdown of zebrafish *dax1* [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, **113**(6): 683—688
- [45] Kuroiwa A, Hafen E, Gehring W J. Cloning and transcriptional analysis of the segmentation gene *fushi tarazu* of *Drosophila* [J]. *Cell*, 1984, **37**: 825—831
- [46] Ikeda Y, Lala D S, Luo X, *et al.* Characterization of the mouse FTZ-F1 gene, which encodes a key regulator of steroid hydroxylase gene expression [J]. *Molecular Endocrinology*, 1993, **7**: 852—860
- [47] Galarneau L, Paré J F, Allard D, *et al.* The alpha1-fetoprotein is activated by a nuclear receptor of the *Drosophila* FTZ-F1 family [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1996, **16**: 3853—3865
- [48] Zhang W, Li X, Zhang Y, *et al.* cDNA cloning and mRNA expression of a FTZ-F1 homologue from the pituitary of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* [J]. *Journal of Experimental Zoology Part A-Ecological Genetics and Physiology*, 2004, **301**: 691—699
- [49] Wang J, Liu X, Wang H, *et al.* Expression of two cytochrome P450 aromatase genes is regulated by endocrine disrupting chemicals in rare minnow *Gobiocypris rarus* juveniles [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 2010, **152**: 313—320
- [50] Navarro-Martín L, Viñas J, Ribas L, *et al.* DNA methylation of the gonadal aromatase (*cyp19a*) promoter is involved in temperature-dependent sex ratio shifts in the European sea bass [J]. *PLoS Genetics*, 2011, **7**(12): e1002447
- [51] Guiguen Y, Fostier A, Piferrer F, *et al.* Ovarian aromatase and estrogens: a pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, **165**(3): 352—366
- [52] Shanthanagouda A H, Patil J G, Nuggeoda D. Ontogenic and sexually dimorphic expression of *cyp19* isoforms in the

- rainbow fish, *Melanotaenia fluviatilis* (Castelnau 1878) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology*, 2012, **161**: 250—258
- [53] Nakamoto M, Fukasawa M, Orii S, *et al.* Cloning and expression of medaka cholesterol side chain cleavage cytochrome P450 during gonadal development [J]. *Development Growth & Differentiation*, 2010, **52**(4): 385—395
- [54] Blasco M, Fernandino J I, Guilgur L G, *et al.* Molecular characterization of *cyp11a1* and *cyp11b1* and their gene expression profile in pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) during early gonadal development [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology*, 2010, **156**(1): 110—118
- [55] Liu S, Qin F, Wang H, *et al.* Effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and bisphenol A on steroidogenic messenger ribonucleic acid levels in the gonads of the rare minnow *Gobiocypris rarus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2012, **122**—**123**: 19—27
- [56] Parajes S, Griffin A, Taylor A E, *et al.* Redefining the initiation and maintenance of zebrafish interrenal steroidogenesis by characterizing the key enzyme *cyp11a2* [J]. *Endocrinology*, 2013, **154**(8): 2702—2711
- [57] Skolness S Y, Durhan E J, Garcia-Reyero N, *et al.* Effects of a short-term exposure to the fungicide prochloraz on endocrine function and gene expression in female fathead minnows (*Pimephales promelas*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, **103**: 170—178
- [58] Mu W J, Wen H S, He F, *et al.* Cloning and expression analysis of the cytochrome P450c17s enzymes during the reproductive cycle in ovoviviparous Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. *Gene*, 2013, **512**(2): 444—449
- [59] Ding Y, He F, Wen H, *et al.* Polymorphism in exons CpG rich regions of the *cyp17-II* gene affecting its mRNA expression and reproductive endocrine levels in female Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, **179**(1): 107—114
- [60] Jin G X, Wen H S, He F, *et al.* Molecular cloning, characterization expression of P450c17-I and P450c17-II and their functions analysis during the reproductive cycle in males of barfin flounder (*Verasper moseri*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, **38**(3): 807—817
- [61] [61] Chen C F, Wen H S, Wang Z P, *et al.* Cloning and expression of P450c17-I (17 $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase) in brain and ovary during gonad development in *Cynoglossus semilaevis* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2010, **36**(4): 1001—1012
- [62] Ding Y, He F, Wen H, *et al.* DNA methylation status of *cyp17-II* gene correlated with its expression pattern and reproductive endocrinology during ovarian development stages of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Gene*, 2013, **527**(1): 82—88
- [63] Liu S, Wang L, Qin F, *et al.* Gonadal development and transcript profiling of steroidogenic enzymes in response to 17 $\alpha$ -methyltestosterone in the rare minnow *Gobiocypris rarus* [J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, **143C**: 223—232
- [64] Alderman S L, Vijayan M M. 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in zebrafish brain: a functional role in hypothalamus-pituitary-interrenal axis regulation [J]. *Journal of Endocrinology*, 2012, **215**(3): 393—402
- [65] Fernandino J I, Hattori R S, Kishii A, *et al.* The cortisol and androgen pathways cross talk in high temperature-induced masculinization: the 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase as a key enzyme [J]. *Endocrinology*, 2012, **153**(12): 6003—6011
- [66] Rasheeda M K, Kagawa H, Kirubakaran R, *et al.* Cloning, expression and enzyme activity analysis of testicular 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase during seasonal cycle and after hCG induction in air-breathing catfish *Clarias gariepinus* [J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, **120**(1): 1—10
- [67] Callard G V, Tarrant A M, Novillo A, *et al.* Evolutionary origins of the estrogen signaling system: Insights from amphioxus [J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, **127**: 176—188
- [68] Baker M E. 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase-type 2 evolved from an ancestral 17 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase-type 2 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 215—220
- [69] Castro L F, Rocha M J, Lobo-da-Cunha A, *et al.* The 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase 4: Gender-specific and seasonal gene expression in the liver of brown trout (*Salmo trutta* f. fario) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 2009, **153**(2): 157—164
- [70] Jeng S R, Yueh W S, Lee Y H, *et al.* 17, 20 $\beta$ , 21-Trihydroxy-4-pregnen-3-one biosynthesis and 20 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase expression during final oocyte maturation in the protandrous yellowfin porgy, *Acanthopagrus latus* [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, **176**: 192—200
- [71] Tokarz J, Mindnich R, Norton W, *et al.* Discovery of a novel enzyme mediating glucocorticoid catabolism in fish: 20beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2012, **349**(2): 202—213
- [72] Tokarz J, Norton W, Möller G, *et al.* Zebrafish 20 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is important for glucocorticoid catabolism in stress response [J]. *PLoS ONE*, 2013, **8**(1): e54851
- [73] Du X Z. Cloning and experssion analysis of *hira* gene in gibel carp and colored crucian carp [D]. Huazhong Normal University. Wuhan 2006 [杜新征. 银鲫和彩鲫 *hira* 基因的克隆及表达分析. 华中师范大学. 武汉. 2006]
- [74] Du X Z, Zhou L, Zhao H B, *et al.* Identical sequences but

- different expression patterns of *Hira* gene in gynogenetic and gonochoristic crucian carps [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2008, **34**(2): 175—184
- [75] Wang M Y. The effects of HIRA knockdown on embryogenesis in gibel carp [D]. Huazhong Normal University. Wuhan. 2011 [王孟雨. *HIRA* 敲降对银鲫胚胎发育的影响. 华中师范大学. 武汉. 2011]
- [76] Liu Z P. Characteristics of *Hira* gene and its promoter, and its annual expression during the development on ovary in crucian carp, *Carassius auratus* var. *Pingxiangnensis* [D]. Nanchang University. Nanchang. 2012 [刘志鹏. 萍乡红鲫 *Hira* 基因及其启动子的特征和在卵巢周年发育中的研究. 南昌大学. 南昌. 2012]
- [77] Li W. The role of *Hira* gene in the development of zebrafish [D]. Huazhong Normal University. Wuhan. 2012 [李卫. *Hira* 基因在斑马鱼发育中的作用. 华中师范大学. 武汉. 2012]
- [78] Zheng Y. Expression profiling for genes related to ovarian development in response to 17 $\alpha$ -methyltestosterone and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and molecular mechanism underlying gender differences in pengze crucian carp [D]. Northwest A&F University. Yangling. 2014 [郑尧. MT 和 EE2 对彭泽鲫卵巢发育相关基因表达及雌雄鱼差异的分子机理研究. 西北农林科技大学. 杨凌. 2014]
- [79] Mei J, Gui J F. Genetic basis and biotechnological manipulation of sexual dimorphism and sex determination in fish [J]. *Science China Life Science*, 2014, **44**(12): 1198—1212 [梅洁, 桂建芳. 鱼类性别异形和性别决定的遗传基础及其生物技术操控. 中国科学生命科学, 2014, **44**(12): 1198—1212]

## PROGRESSES ON THE STUDY OF SEX DIFFERENTIATION GENES IN FISH

ZHENG Yao<sup>1</sup>, WANG Zai-Zhao<sup>2</sup> and CHEN Jia-Zhang<sup>1</sup>

(1. Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of the Changjiang River, Ministry of Agriculture; Key Open Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 2. Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** Due to the high diversity in fish species, their sex-determination mechanisms can be identified in almost all animals. Thanks to the advanced molecular biology techniques, there have been ground-breaking findings on the mechanisms of sex determination in fish, especially on the sex-differentiation genes in terms of the cloning, expression and the verification of their functions. In this article we reviewed the recent progress on the research of the sex-differentiation genes, the family of nuclear receptors, the steroidogenic enzyme-encoding genes, and the oocyte structure-related genes.

**Key words:** Sex-differentiation; Nuclear receptor; Steroidogenesis; Mechanism of sex determination; Gene