

doi: 10.7541/2018.061

文蛤 *SRBI* 基因克隆及其在不同壳色群体中的差异表达

崔宝月^{1,2} 董迎辉² 赵家熙² 胡凌威² 李晓英³ 姚韩韩² 林志华²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 浙江万里学院, 浙江省水产种质资源高效利用技术研究重点实验室, 宁波 315100; 3. 淮海工学院, 江苏省海洋生物技术重点实验室, 连云港 222000)

摘要: 为了研究 *SRBI* 基因的结构、功能以及在贝类壳色形成中的作用, 利用 SMART RACE 技术克隆得到文蛤 (*Meretrix meretrix*) *SRBI* (*Mm-SRBI*) 基因的全长序列, 并对其内含子特征及不同组织、不同壳色群体外套膜中的表达差异进行了分析。结果表明: *Mm-SRBI* 基因 cDNA 全长 1676 bp, 开放阅读框 1515 bp, 编码 504 个氨基酸, 结构域预测发现有一个 CD36 结构域; 氨基酸序列比对发现, 与华贵栉孔扇贝的同源性最高 (55%), 与其他物种的相似性在 34%—40%, 表明该基因变异较大; 在 *Mm-SRBI* 基因中扩增出 12 个内含子, 均存在于开放阅读框中, 且都遵循 GT-AG 原则; 荧光定量 PCR (qRT-PCR) 结果表明, *Mm-SRBI* 在闭壳肌、外套膜、斧足、鳃、内脏团和水管 6 个组织均有表达, 其中在外套膜中表达量显著高于其他组织 ($P < 0.01$), 这可能与外套膜中类胡萝卜素含量较高有关; 不同壳色群体外套膜中基因表达分析表明, *Mm-SRBI* 在白斑和红壳文蛤中的表达量显著高于白壳文蛤 ($P < 0.05$)。实验结果为文蛤壳色形成研究奠定了基础。

关键词: 文蛤; *SRBI*; 基因克隆; 内含子; 壳色

中图分类号: S968.3; Q785

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2018)03-0488-06

SRB I (Scavenger receptor class B type I, B 类 I 型清道夫受体) 是 B 型清道夫受体中的成员之一, 作为类胡萝卜素吸收过程的关键基因^[1], 主要是通过介导高密度脂蛋白 (High density lipoprotein, HDL) 影响胆固醇酯的选择性吸收进而影响类胡萝卜素在体内的吸收和转运^[2]。迄今为止 *SRBI* 基因已在家蚕 (*Bombyx mori*)^[3]、小鼠 (*Mus musculus*)^[4]、仓鼠 (*Mesocricetus auratus*)^[5] 等模式动物中进行了大量的研究。在海洋贝类中, 仅开展过少量相关研究, 如 Liu 等^[6] 通过转录组比对分析, 发现 *SRB-Like-3* 基因在华贵栉孔扇贝 (*Chlamys nobilis*) 橙色个体中表达量高; 雷超等^[7] 分析了马氏珠母贝 (*Pinctada fucata martensii*) 的 B 型清道夫受体的基因序列特征, 荧光定量分析发现在鳃、中央膜、闭壳肌、肝胰脏均有表达, 其中肝胰脏中表达量最高。但在文蛤中尚未见到关于 *SRBI* 的相关报道。

文蛤 (*Meretrix meretrix*) 是我国重要的经济贝类之一, 其壳色变异丰富并且可以遗传给后代。已有研究表明, 红壳文蛤外套膜内比其他壳色文蛤含有更为丰富的类胡萝卜素, 并推测类胡萝卜素与壳色形成密切相关^[8, 9]。目前, 已有多位学者开展了文蛤组蛋白去乙酰化酶^[10]、生长因子受体结合蛋白^[11]、C 型凝集素^[12] 等生长和免疫相关基因的克隆和表达特征分析, 而与文蛤壳色相关的基因尚未见报道。本研究获得红壳文蛤 *SRBI* (*Mm-SRBI*) 基因的 cDNA 全长以及多段内含子序列, 并分析了它在不同组织和不同壳色群体中的表达差异, 为后续深入研究文蛤壳色形成机理奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验文蛤材料均取自宁波市鄞州区丹艳养殖

收稿日期: 2017-04-13; 修订日期: 2017-06-14

基金项目: 国家自然科学基金 (31772846); 浙江省自然科学基金 (Y16C190015); 江苏省海洋生物技术重点实验室开放基金 (HS16001); 浙江新苗计划项目 (2017R420004) 资助 [Supported by National Natural Science Foundation of China (31772846); Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (Y16C190015); Open-end Funds of Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology (HS16001); Zhejiang Xinmiao Talents Program (2017R420004)]

作者简介: 崔宝月 (1991—), 女, 河南商丘人; 硕士研究生; 主要从事海洋贝类分子遗传育种研究。E-mail: 13122257597@163.com

通信作者: 林志华 (1965—), 研究员; 博导; 主要从事贝类遗传育种研究。E-mail: zhihua9988@126.com

基地。随机选择4种壳色(暗纹、白壳、红壳和黑斑)文蛤活体成贝各8枚,并解剖获得外套膜边缘组织,液氮速冻,−80℃保存,样品供以后实验所用。随机选择红壳文蛤10枚,迅速获取6个组织(斧足、外套膜、水管、鳃、内脏团和闭壳肌)样品,液氮迅速冷冻,−80℃保存待用。

1.2 实验方法

***Mm-SRBI*基因cDNA全长克隆** 用Trizol法提取红壳文蛤外套膜组织的总RNA,然后用试剂盒(Clontech)合成*Mm-SRBI*基因cDNA。根据文蛤转录组文库中*SRBI*基因的EST序列,分别设计3'和5'端特异性引物*SRBI* F和*SRBI* R (表 1),用SMART

RACE试剂盒(Clontech)扩增*Mm-SRBI*基因的cDNA全长。PCR产物经电泳检测、割胶回收,回收产物与T1(Trans)载体连接,然后转化至大肠杆菌中培养过夜,挑取白斑摇菌检测,将阳性结果进行测序。测序结果进行比对和拼接,得到*Mm-SRBI*基因的cDNA全长。

为了确保*Mm-SRBI*基因cDNA全长的准确性,将已经获得的基因的cDNA全长作为模板,分别设计*SRBI* F1和*SRBI* R1为引物(表 1),进行扩增和测序,后续实验同上。

***Mm-SRBI*基因的序列及进化分析** 利用BLAST软件将5'-RACE片段和3'-RACE片段序列拼

表 1 本实验所用引物及其序列

Tab. 1 Primers and their sequences of the experiments

引物Primers	引物序列Sequences (5'—3')	引物信息Information of primers
SRBIF	TCCTGATCTCATTGGGTGCCCTTTGTGCT	RACE克隆
SRBIR	GGCAATGAGTCAGACCTTTTCGTAGCAC	
SRBIF1	CTTTGGAATACTAAAACAGCGTGG	全长验证
SRBIR1	ATTGTCACCATGACTTGTTACCTG	
qRT-F	GCTGCCATAGATGACAAGAATGC	qRT-PCR引物
qRT-R	CCAATGAGATCAGGACGATCTCT	
18s-F	CTTTCAAATGTCTGCCCTATCAACT	qRT-PCR内参引物
18s-R	TCCCGTATTGTTATTTTCGTCAC	
NSRBIF1	ACTAAAACAGCGTGGAATGGT	内含子1扩增
NSRBIR1	GGTAGATTGGAACAGGAGGGTC	
NSRBIF2	ATGACTACTGGCTGGACC	内含子2扩增
NSRBIR2	AAGGTCTGACTCATTGCC	
NSRBIF3	TTACAGGAGTGTGCCAGG	内含子3扩增
NSRBIR3	TGTCTTTGGGTAAGTATGGTGG	
NSRBIF4	AAGGAACTGATTTGGGGCTACA	内含子4扩增
NSRBIR4	AAGTATGGTGAGCCGAGAGT	
NSRBIF5	ATGAGTCAGACCTTTTCGTAGCAC	内含子5扩增
NSRBIR5	TGTCTTTGGGTAAGTATGGTGG	
NSRBIF6	ATGAGTCAGACCTTTTCGTAGCAC	内含子6扩增
NSRBIR6	TGTCTTTGGGTAAGTATGGTGG	
NSRBIF7	CTCTCGGTCCACCATACTTAC	内含子7扩增
NSRBIR7	GGTGTTAGCAGCAGATTGAAA	
NSRBIF8	TGGAGCAGGAGTTGTGAACATTAG	内含子8扩增
NSRBIR8	ACAGGTTCTAAGTCTATCA	
NSRBIF9	CAGTAGCCATATCATTTCCACAC	内含子9扩增
NSRBIR9	TCTAACTCACTGAAAGACCAAGG	
NSRBIF10	TTACAGGAGTGTGCCAGG	内含子10扩增
NSRBIR10	CTGCTCCAAGACAGTTTT	
NSRBIF11	CAGAGAGACATTGGGCATAAAGC	内含子11扩增
NSRBIR11	GAACCTTCATTGCTCACTATAGGT	
NSRBIF12	CAGAGAGACATTGGGCATAAAGC	内含子12扩增
NSRBIR12	GAACCTTCATTGCTCACTATAGGT	

接,获得*Mm-SRBI*基因cDNA全长;使用DNAMAN6.0软件预测其氨基酸序列,并推测其理化性质;用ORF Finder搜索*Mm-SRBI*基因的开放性阅读框;Clustal X进行氨基酸多序列比对;利用ExPASy软件推测该蛋白理化特性;Smart软件进行蛋白质功能域预测;利用TMHMM和SignalP分别进行蛋白质跨膜区和信号肽区域分析;使用软件Swiss Model进行蛋白质高级结构预测;用Motif Scan搜索工具对*SRBI*序列进行功能位点检测;MEGA 6.0软件NJ法构建系统进化树。

***Mm-SRBI*基因在不同壳色和不同组织群体中的表达差异分析** 取上述4种壳色的外套膜和红壳文蛤的6个组织,提取RNA之后按照反转录试剂盒(TAKARA)合成cDNA,并作为荧光定量PCR(qRT-PCR)的模板,用PRIMER设计引物qRT-F和qRT-R(表1),以18SrRNA基因(表1)为内参,用ABI 7500fast进行荧光定量PCR。数据处理采用相对值 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行计算,用软件SPSS 17.0进行统计数据得到各个组织和不同壳色群体的差异分析结果。

基因的内含子克隆 提取文蛤外套膜的基因组DNA,根据已获得的*Mm-SRBI*基因的cDNA序列设计特异性引物进行PCR扩增。PCR产物经1%的琼脂糖电泳检测、割胶回收和连接转化,选取阳性克隆送测序。

2 结果

2.1 *Mm-SRBI*基因的cDNA全长与序列分析

*Mm-SRBI*基因的cDNA全长为1676 bp (GenBank登录号: KY434116),开放阅读框(ORF) 1515 bp,编码504个氨基酸,5'-UTR长50 bp,3'-UTR为112 bp,包含1个终止密码子TGA和25 bp的polyA尾。

2.2 *Mm-SRBI*基因编码的蛋白结构预测

SignalP软件预测显示,该蛋白质没有明显的信号肽;ExPASy ProtScale软件预测发现,该蛋白极性氨基酸所占的比例较高,表现亲水性;ExPASy Compute推导出*Mm-SRBI*蛋白的理论等电点 $pI=6.27$,分子量为56.87 kD。TMHMM软件预测在结构域两端有2个跨膜蛋白。功能域预测结果表明,*Mm-SRBI*蛋白含有1个CD36功能域,其含有455个氨基酸(14—469 aa)。Swiss model软件预测显示,*Mm-SRBI*蛋白的二级结构由271个H键、18个螺旋和43个转角组成。

2.3 *Mm-SRBI*基因与其他物种的同源性比对及进化分析

利用MEGA6.0软件的NJ法构建系统进化树,文蛤和其他10个物种*SRBI*进行了氨基酸序列比

对。结果发现,文蛤与华贵栉孔扇贝(*Mimachlamys nobilis*, AJM13628.1)的同源性最高为55%,与太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*, XP_011432626.2)、海蜗牛(*Aplysia californica*, XP_005103573.2)、囊舌虫(*Saccoglossus kowalevskii*, XP_006815324.1)、日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*, AKO62849.1)、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*, XP_003444373.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, NP_113729.1)、人(*Homo sapiens*, NP_005496.4)、牛(*Bos taurus*, NP_777022.1)、野猪(*Sus scrofa*, NP_999132.1)等物种的同源性为34%—51%。从构建的系统进化树中可以看出(图1),文蛤与同为无脊椎动物的瓣鳃纲、腹足纲亲缘关系较近,与哺乳纲、鱼纲和甲壳纲的亲缘关系较远。

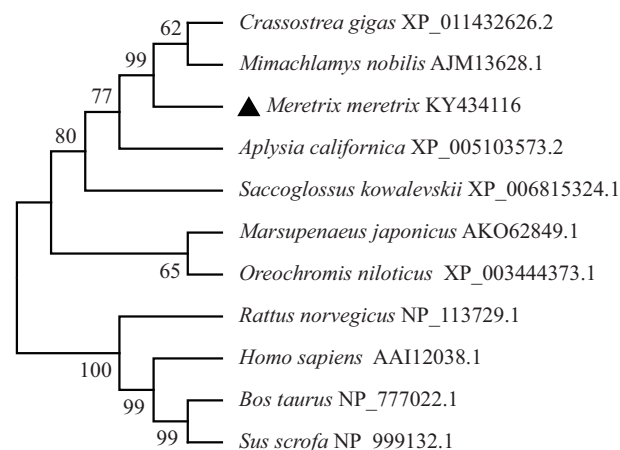


图1 采用MEGA6.0软件NJ法构建的进化树

Fig. 1 The NJ phylogenetic tree constructed by MEGA6.0 software

2.4 不同组织和不同壳色群体表达差异分析

qRT-PCR检测结果表明,*Mm-SRBI*在6个组织中(闭壳肌、外套膜、足、鳃、内脏团和水管)均有表达,其中外套膜表达量最高,与其他各组织间存在极显著差异($P<0.01$)(图2)。*Mm-SRBI*基因在不同壳色文蛤的外套膜中也均有不同程度的表达,在壳色较深的黑斑文蛤、红壳文蛤中表达量较高,而在白壳文蛤中表达量最低,且它们之间有显著性的差异($P<0.05$)(图3)。

2.5 *Mm-SRBI*基因内含子序列分析

*Mm-SRBI*基因共有13个外显子和12个内含子,序列总长度为9272 bp,且外显子和内含子的连接处遵循AT/GT原则,即均属于GT-AG内含子。从序列长度来看,4号外显子最长为201 bp,6号外显子最短,为49 bp,其余的在51—201 bp;8号内含子最长,为1020 bp,6号内含子最短,为119 bp,其余内含子长度在396—1001 bp(图4)。

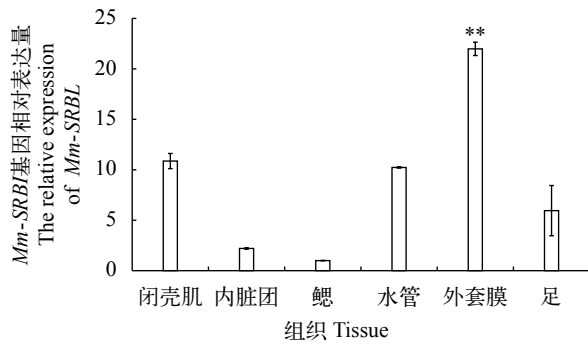


图2 *Mm-SRBI*基因在红壳文蛤不同组织中的表达差异分析 ($n=3$)

Fig. 2 The expression of *Mm-SRBI* gene in different tissues of red shell of *M. meretrix* ($n=3$)

**代表极显著差异, $P<0.01$

** represents highly significant differences, $P<0.01$

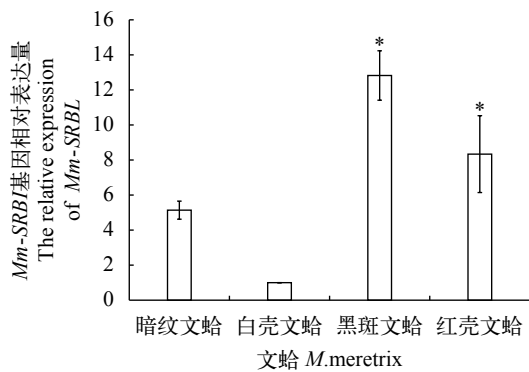


图3 *Mm-SRBI*基因在不同壳色文蛤外套膜中的表达差异分析 ($n=3$)

Fig. 3 The expression of *Mm-SRBI* gene in shells colors of *M. meretrix* ($n=3$)

*代表显著差异, $P<0.05$

* represents significant differences, $P<0.05$

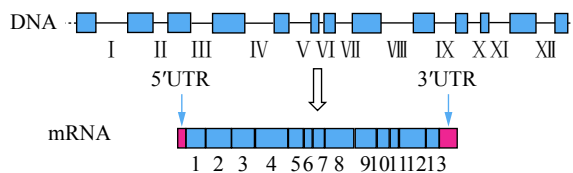


图4 *Mm-SRBI*基因结构图

Fig. 4 The structure of *Mm-SRBI* gene

外显子、内含子分别用方框和线条表示, 1—13代表外显子, I—XII代表内含子

The boxes and lines represent the exons and introns respectively

3 讨论

B类 I 型清道夫是膜受体蛋白, 能高亲和力地结合 HDL^[13, 14]、ox-LDL (氧化修饰低密度脂蛋白) 和 ac-LDL^[5, 15] (乙酰化低密度脂蛋白) 等, 还参与

炎症反应、清除凋亡细胞和宿主防御等生理反应^[16—21]。目前关于 *SRBI* 基因的研究主要集中在哺乳动物和模式动物, 如在果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 中研究了 *SRBI* 基因在类胡萝卜素转运中的生理功能^[22, 23]、在家蚕中研究了黄茧的形成^[19]。本实验首次获得文蛤 *Mm-SRBI* 基因的 cDNA 全长序列 1676 bp, 开放阅读框 1515 bp, 编码 504 个氨基酸, 这与马氏珠母贝 *SRB* 基因的开放阅读框有 1443 bp、编码 480 个氨基酸的结果大致相当^[7]。 *Mm-SRBI* 蛋白含一个 CD36 结构域, 编码 455 个氨基酸 (14—469)。 *Mm-SRBI* 的 CD36 结构域包含 C 端和 N 端的两个跨膜区 (1—29AA 和 449—504AA), 一个胞外区, 有多个糖基化、蛋白激酶磷酸化等多种位点, 这与已报道的家蚕^[3] 和马氏珠母贝^[7] B 型清道夫受体大致相同, 因此说明 *Mm-SRBI* 属于含有 CD36 结构域的 B 类清道夫受体家族。

已有研究证明, 类胡萝卜素是维生素 A 的前体, 动物不能从头合成只能从食物中获取^[24]。 *SRBI* 基因是通过识别与高密度脂蛋白和低密度脂蛋白结合的类胡萝卜素, 并将其转运到细胞^[18, 19]。已有研究发现, *SRBI* 基因在贝类中参与壳色的形成^[8], 如在华贵栉孔扇贝中发现橘色贝的类胡萝卜素含量高于白色贝, 且与 B 类清道夫受体基因的高表达相关, 通过 RNA 干扰对该基因下调, 发现血液中性胡萝卜素含量显著降低, 为 B 类清道夫受体基因与类胡萝卜素累积有关提供证据^[6]。本实验通过 qRT-PCR 技术证明红壳文蛤 *Mm-SRBI* 基因在各个组织均有表达, 其中在外套膜的表达量最高; 不同壳色群体之间 *Mm-SRBI* 基因的表达量存在着较大的差异, 白壳的表达量较低而红壳却表达量显著。先前的研究证明, 在红壳文蛤外套膜中富含丰富的类胡萝卜素, 其含量是白壳文蛤的 3 倍多^[8]。据此推测 *Mm-SRBI* 基因参与文蛤类胡萝卜素的转运和在外套膜上的富集, 从而影响红壳色的形成。

大部分真核生物的基因都是由若干个编码区和非编码区组成的断裂基因, 编码区序列为外显子, 断裂基因中的非编码区序列为内含子。诸多研究发现, 在生物体有极少数内含子参与了机体内的基因表达调节, 如果蝇组织中的长内含子在其两侧外显子, 拼接之前通过共转录参与机体的表达调控^[20]; 小鼠血小板生成素基因 (TPO) 的第 5 内含子, 可以提高 TPO 的表达^[25]; 文蛤长链脂肪酸-CoA 连接酶 (ACSL) 内含子中, 有 5 个 SNP 与生长性状显著相关^[26]。本研究克隆得到 *Mm-SRBI* 基因 7596 bp 的内含子序列, 分析表明内含子核苷酸序列均符合“GT 开头, AG 结尾”的原则, 是真核生物 RNA 剪切的识别位

点。文蛤与其他物种报道的*SRBI*基因的内含子数量略有不同,如家蚕*SRBI*基因有10个外显子和9个内含子^[27],人的*SRBI*由13个外显子和12个内含子组成等^[21, 28]。而在文蛤*Mm-SRBI*基因中扩增得到12个内含子,均存在于开放阅读框,与其他物种相差不大。至于*Mm-SRBI*基因的内含子是否对壳色形成有影响,还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Jin Q, Bi Y L, Liu X M, *et al.* Recent advances on research of carotenoid metabolism and functions [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, **26**(12): 3561—3571 [靳青, 毕宇霖, 刘晓牧, 等. 类胡萝卜素代谢及功能研究进展. 动物营养学报, 2014, **26**(12): 3561—3571]
- [2] Tsuchida K, Sakudoh T. Recent progress in molecular genetic studies on the carotenoid transport system using cocoon-color mutants of the silkworm [J]. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 2015, **572**: 151—157
- [3] Dong Z P, Chai C L, Dai F Y, *et al.* Identification, phylogenetic and expressional analyses of class B scavenger receptor genes in silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Science of Sericulture*, 2010, **36**(5): 743—753 [董占鹏, 柴春利, 代方银, 等. 家蚕B型清道夫受体基因的鉴定及系统发生与表达分析. 蚕业科学, 2010, **36**(5): 743—753]
- [4] Akita N, Tsujita M, Yokota T, *et al.* High density lipoprotein turnover is dependent on peroxisome proliferator-activated receptor α in mice [J]. *Journal of Atherosclerosis & Thrombosis*, 2010, **17**(11): 1149—1159
- [5] Acton S L, Scherer P E, Lodish H F, *et al.* Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, **269**(33): 21003—21009
- [6] Liu H, Zheng H, Zhang H, *et al.* A de novo transcriptome of the noble scallop, *Chlamys nobilis*, focusing on mining transcripts for carotenoid-based coloration [J]. *BMC Genomics*, 2015, **16**(1): 2—13
- [7] Lei C, Bei W L, Zheng Z, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of *PmSR-B* gene from pearl oyster *Pinctada fucata martensii* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2017, **37**(1): 7—14 [雷超, 贝伟烈, 郑哲, 等. 马氏珠母贝B型清道夫受体*PmSR-B*基因克隆与表达性分析. 广东海洋大学学报, 2017, **37**(1): 7—14]
- [8] Qi X Y. The analysis of molecular mechanisms of shell color formation for *Meretrix meretrix* [D]. Ningbo University. 2014 [齐晓艳. 文蛤(*Meretrix meretrix*)壳色花纹性状的分子遗传基础研究. 宁波大学. 2014]
- [9] Zhan Y L. Identification of shell color and the related gene and microRNA research of *Meretrix meretrix* [D]. Zhejiang Wanli University. 2015 [詹艳玲. 文蛤(*Meretrix meretrix*)壳色的鉴定及其相关基因和microRNA研究. 浙江万里学院. 2015]
- [10] Gao X Y, Dong Y H, Yao H H, *et al.* Cloning, spatiotemporal expression and SNPs identification of *HDAC1* gene in hard clam *Meretrix Meretrix* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, **40**(3): 601—608 [高晓艳, 董迎辉, 姚韩韩, 等. 文蛤*HDAC1*基因克隆、时空表达及生长相关SNP位点筛查. 水生生物学报, 2016, **40**(3): 601—608]
- [11] Gao X Y, Dong Y H, Shi S J, *et al.* Cloning, spatiotemporal expression and SNPs identification of *GRB2* gene in hard clam *Meretrix meretrix* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, **39**(9): 1324—1332 [高晓艳, 董迎辉, 施沈佳, 等. 文蛤生长因子受体结合蛋白2(*GRB2*)基因克隆、时空表达及SNP位点筛查. 水产学报, 2015, **39**(9): 1324—1332]
- [12] Li M, Zhou S M, Liu L, *et al.* Molecular clone and expression of C-TYPE lectin in *meretrix meretrix* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2015, **46**(5): 1186—1192 [李猛, 周素明, 刘璐, 等. 文蛤(*Meretrix meretrix*) C-型凝集素基因的分子克隆及表达分析. 海洋与湖沼, 2015, **46**(5): 1186—1192]
- [13] Acton S, Rigotti A, Landschulz K T, *et al.* Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor [J]. *Science*, 1996, **271**(5248): 518—520
- [14] Trigatti B L, Fuller M. HDL signaling and protection against coronary artery atherosclerosis in mice [J]. *The Journal of Biomedical Research*, 2016, **30**(2): 94—100
- [15] Seizer P, Schiemann S, Merz T, *et al.* CD36 and macrophage scavenger receptor a modulate foam cell formation via inhibitory 19n of lipid-laden platelet phagocytosis [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2010, **36**(2): 157—162
- [16] Cai L, Ji A L, de Beer F C, *et al.* SR-BI protects against endotoxemia in mice through its roles in glucocorticoid production and hepatic clearance [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2008, **118**(1): 364—375
- [17] Mouss M, Landrier J F, Reboul E, *et al.* Lycopene absorption in human intestinal cells and in mice involves scavenger receptor class B type I but not Niemann-Pick C1-like 1 [J]. *The Journal of Nutrition*, 2008, **138**(8): 1432—1436
- [18] Georg Lietz, Anthony Oxley, Christine Boesch-Saadatmandi, *et al.* Importance of β, β -carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1) and β, β -carotene 9',10'-dioxygenase 2 (BCDO2) in nutrition and health [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2012, **56**(2): 241—250
- [19] Kiefer C, Sumser E, Wernet M F, *et al.* A class B scavenger receptor mediates the cellular uptake of carotenoids in *Drosophila* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, **99**(16): 10581—10586
- [20] Georgomanolis T, Sofiadis K, Papantonis A. Cutting a long intron short: recursive splicing and its implications [J]. *Frontiers in Physiology*, 2016, **7**: 1—5

- [21] Niemsiri V, Wang X, Pirim D, *et al.* Genetic contribution of *SCARB1* variants to lipid traits in African Blacks: a candidate gene association study [J]. *BMC Medical Genetics*, 2015, **16**(1): 1—30
- [22] Voolstra O, Kiefer C, Martin Hoehne, *et al.* The Drosophila class B scavenger receptor NinaD-I is a cell surface receptor mediating carotenoid transport for visual chromophore synthesis [J]. *Biochemistry*, 2006, **45**: 13429—13437
- [23] Dong ZP, Chai C L, Dai F Y, *et al.* Expression pattern and tissue localization of the class B scavenger receptor BmSCRQB4 in *Bombyx mori* [J]. *Insect Science*, 2015, **22**(6): 739—747
- [24] Kaestner K H, Ntambi J M, Kelly, T J Jr, *et al.* Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes. A second differentially expressed gene encoding stearyl-CoA desaturase [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1989, **264**(25): 14755—14761
- [25] Li Y, Zhou M, Zhou H, *et al.* The last intron of the human thrombopoietin gene enhances expression in milk of transgenic mice [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2014, **14**(1): 229—236
- [26] Dai P, Huan P, Wang H, *et al.* Characterization of a long-chain fatty acid-CoA ligase 1 gene and association between its SNPs and growth traits in the clam *Meretrix meretrix* [J]. *Gene*, 2015, **566**(2): 194—200
- [27] Dong Z P, Chai C L, Dai F Y, *et al.* Cloning, Expression Feature, and Tissue Location of BmSCRQB1, a Class B Scavenger Receptor in *Bombyx mori* (L.) [J]. *Annals of The Entomological Society of America*, 2013, **106**(4): 503—509
- [28] Cao G, Garcia C K, Wyne K L, *et al.* Structure and localization of the human gene encoding SR-BI/CLA-1. Evidence for transcriptional control by steroidogenic factor 1 [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, **272**(52): 33068—33076

CLONING AND EXPRESSION ANALYSIS OF *SRBI* GENE IN DIFFERENT SHELL-COLOR STRAINS OF *MERETRIX MERETRIX*

CUI Bao-Yue^{1,2}, DONG Ying-Hui², ZHAO Jia-Xi², HU Ling-Wei², LI Xiao-Ying³, YAO Han-Han² and LIN Zhi-Hua²

(1. College of Fishery and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Germplasm Resource of Zhejiang, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China; 3. Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222000, China)

Abstract: To explore the molecular structure and biological function of *SRBI* in the process of carotenoids accumulation in *Meretrix meretrix*, we cloned cDNA of *Mm-SRBI* by SMART RACE technique and conducted the bioinformatics, expression analysis and intron amplification. The full length cDNA of *Mm-SRBI* is 1723 bp that contains a complete 1515 bp ORF encoding 504 amino acids with one functional domain of Mm-SRBI protein (CD36). *Mm-SRBI* is highly homologous with *Mimachlamys nobilis* and shares 55% similarity in amino acid sequence. It shares 34%—40% similarity with vertebrates. We also amplified 12 introns of *Mm-SRBI*, which followed the principle of GT-AG. *Mm-SRBI* gene expressed in all six tested tissues with the highest level in mantle ($P < 0.01$), suggesting that *Mm-SRBI* gene maybe relate to high carotenoid in mantle. Moreover, the expression of *Mm-SRBI* gene in red shell strain was significantly higher than that of white shell strain ($P < 0.05$). In conclusion, this study provides helpful foundation to explore the shell colors on this species.

Key words: *Meretrix meretrix*; *SRBI*; Gene cloning; Intron; Shell color