

## 十足目甲壳动物卵黄蛋白原的生化特性及生物合成

蔡生力\*, 刘红

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 十足目在甲壳动物中种类最多, 经济价值最大, 分为枝鳃亚目(对虾类)和腹胚亚目(真虾、螯龙虾、蟹类)两大类。十足目种类卵黄蛋白原基因 cDNA 全长基本都在 8 kb 左右, 编码 2500~2600 个氨基酸组成的多肽, 具有高度保守性。然而这两类生物的卵黄发生机制却存在显著差异。人工育苗过程中, 对虾类卵巢不易发育, 通常需要切除眼柄促熟, 而腹胚亚目种类容易成熟甚至需要控制早熟。对虾类的卵黄蛋白原由卵巢和肝胰腺共同合成, 一般卵巢贡献更大。尤其在卵巢发育前期, 卵巢合成卵黄蛋白原较肝胰腺显著旺盛, 具有“卵巢内源基因表达型”的特征。在真虾等腹胚亚目种类中, 卵巢虽然也参与合成卵黄蛋白原, 但以肝胰腺为主, 绝大多数种类肝胰腺的贡献率超过 90%。本文探讨了两类甲壳动物在卵黄发生机制中的显著差异与其在人工控制条件下性腺发育的不同表现之间的相互关系。

**关键词:** 甲壳动物; 卵黄蛋白原; 卵巢发育; 生化特性

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

十足目是甲壳动物中种类最多(8000~10 000 种)、进化位阶最高、经济价值最大的一个生物类群<sup>[1]</sup>, 目前开展人工养殖的种类几乎全都出自十足目如: 枝鳃亚目(Dendrobranchiata)的对虾类(Penaeioidea)、腹胚亚目的真虾类(沼虾、白虾)、螯龙虾类以及蟹类等。一个非常值得关注的现象是属于枝鳃亚目的对虾类中的多数种类如斑节对虾(*Penaeus monodon*)、日本囊对虾(*Marsapenaeus japonicus*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)等, 在人工控制条件下卵巢发育非常困难, 生产上通常需要切除眼柄才能促使亲虾卵巢发育成熟, 而腹胚亚目的种类如真虾类(Caridea)、螯虾类(Astacidea)、龙虾类(Palinura)、短尾类(Brachyura)卵巢很容易成熟, 生产上还常因为其卵巢过早成熟, 需要通过控制温度和营养来调控。显然这两类十足目动物在卵黄蛋白积累、卵黄发生机制上有着显著的差异, 但至今仍未明确这一现象发生的原因。

卵黄蛋白(vitellin, Vn)的前身卵黄蛋白原(vitellogenin, Vg)存在于几乎所有卵生动物雌体, 其来源既有内源性的即卵巢内卵母细胞或滤泡细胞合成, 也有外源性的即卵巢外组织如肠细胞(线虫)、脂肪体(昆虫、甲壳类)、消化道细胞和体腔细胞(海胆)、肝胰腺(甲壳类、鱼类、两栖类、爬行类及鸟类)等<sup>[2-4]</sup>合成。外源性Vg一经合成即被释放至血液, 运输至卵巢, 通过滤泡细胞转运、加工成为Vn进而被卵母细胞吸收、积累<sup>[5-7]</sup>。

绝大多数卵生动物中, Vg都是一种大型的糖脂蛋白。十足目甲壳动物Vg的生化结构与脊椎动物载脂蛋白(vertebrate apoB)和昆虫载脂蛋白(insect apoLp-II/I)有高度关联性, 如保守的序列基序、3个共同的保守结构域以及相同的能被枯草杆菌蛋白酶内切的部位<sup>[8-10]</sup>。

本文将通过对近几十年来的相关研究文献进行系统梳理, 总结分析十足目不同种类Vg和Vn的生化结构、生物合成部位和发生机制, 探

收稿日期: 2015-10-23 修回日期: 2016-08-04

资助项目: 上海市教育委员会重点科研创新项目(12ZZ160)

通信作者: 蔡生力, E-mail: slcai@shou.edu.cn

讨枝鳃亚目(对虾类)和腹胚亚目(真虾类、螯虾类、蟹类等)卵巢发育难易的原因。

## 1 十足目卵黄蛋白原和卵黄蛋白的生化特性

Vn是由Vg通过蛋白水解产生并最后在卵母细胞积累。Vg和Vn虽然存在部位有所不同, 生化结构、分子量也有区别, 但作为其主干构造的蛋白质多肽组成基本相似, 因此具有相同的免疫原性。表1是部分十足目甲壳动物Vg cDNA序列和氨基酸组成情况及Vn亚基和分子量

情况, 表中对虾或真虾的Vg基因cDNA全长基本都在8 kb左右, 其开放性阅读框编码一个由2500~2600个氨基酸组成的多肽, 可见十足目动物Vg基因cDNA的高度保守性。各种类分类地位越接近, 其Vg基因cDNA序列和氨基酸组成的相似度越高, 如墨吉对虾与短沟对虾的相似度为91.4%<sup>[13]</sup>, 与斑节对虾的相似度为86%<sup>[16]</sup>, 与凡纳滨对虾的相似度超过85%<sup>[17]</sup>等。通过RT-PCR技术扩增推导出的十足目Vg cDNA序列及氨基酸组成与从卵巢组织纯化所得的卵黄蛋白高度相似, 这也反映了Vg作为Vn前体的特性和两者具有相同的免疫原性的原因。

表1 十足目甲壳动物卵黄蛋白原(Vg)和卵黄蛋白(Vn)的生化特性

Tab. 1 Biological characteristics of vitellogenin (Vg) and vitellin (Vn) in Decapoda, Crustacean

种类 speace	种名 name	Vg和Vn生化特性 character	文献来源 reference
对虾类 Penaeioidea	中国明对虾 <i>Fenneropenaeus chinensis</i>	Vg cDNA编码7942 nt, 2587个AA。两种Vn: Vn1分子量380 ku, 有5个亚基, Vn2分子量500 ku, 有3个亚基	[11-12]
	墨吉对虾 <i>F. meiguensis</i>	Vg cDNA编码7961 nt, 2586个AA。Vn有2个亚基, 分子量分别为: 87和78 ku	[13-14]
	日本对虾 <i>Masupenaeus japonicus</i>	Vg cDNA有2587个AA	[15]
	斑节对虾 <i>Penaeus monodon</i>	Vg cDNA为7.8 kb。14个内涵子, 和15个外涵子	[16]
	凡纳滨对虾 <i>Litopenaeus vannamei</i>	Vg cDNA具2587个AA	[17]
	短沟对虾 <i>Penaeus semisulcatus</i>	Vg cDNA编码7920 nt, 2569个AA。Vg: 2个亚基, Vn: 3个亚基	[8-9]
	刀额新对虾 <i>Metapenaeus ensis</i>	2种类型的Vg。Vg 1 编码7.8 kb, Vg2 编码2.3 kb。Vg 2主要在肝胰腺表达。Vg 2可能从Vg1演化而来	[18-20]
真虾类 Caridea	罗氏沼虾 <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Vg有2537个AA, 可形成3个亚基: A、B、C/D, 并转化成VnA, VnB, VnC/D	[10]
	<i>Macrobrachium mallcolmsonii</i>	Vg具3个多肽亚基, 分子量分别为89, 100和170 ku, 只有89是脂质糖多肽	[21]
	<i>Pandalus hypsinotus</i>	Vg约8 kb。Vn四种类型: Vn A, Vn B, Vn C, Vn D	[22]

十足目甲壳动物Vg和Vn的氨基酸组成高度相似, 但在组织中的存在形式有较大的差异。通常都有2~5个不等的亚基组成。如墨吉对虾的Vn有2个亚基, 分子量分别为87和78 ku<sup>[14]</sup>; 凡纳滨对虾的Vg可裂解为5种类型的高密度脂质蛋白多肽, 分子量分别为179、113、78、61、42 ku<sup>[17]</sup>; 中国对虾的Vn有Vn1和Vn2两种类型, 分子量分别为380和500 ku, 前者可裂解为5个亚基, 后者为3个<sup>[12]</sup>。

值得关注的是, 短沟对虾的Vg有2个亚基, 而Vn则有3个亚基, Vg和Vn亚单位N-末端序列中有一个能被类枯草杆菌蛋白酶内切的共有内切位点, 而Vn还拥有一个额外的能被一种特殊内切酶切割的位点, 因此Avarre等<sup>[8-9]</sup>认为, 短沟对

虾的卵黄发生机制有其独特性, 提出了“内源基因表达(intraovarian gene expression)”的概念。

罗氏沼虾Vg在肝胰腺合成后, 又被枯草杆菌蛋白酶切分为2个亚基: Vg A和Vg proB, 随后进入血液, proB进一步被分为B和C/D 2个亚基。3种Vg亚基被卵母细胞吸收后, 进一步加工成为VnA、VnB、VnC/D<sup>[10]</sup>。一般认为Vg合成后在通过血液转移的过程中多次被裂解、加工再合成, 最后才成为卵母细胞的卵黄营养物质<sup>[22]</sup>。

## 2 十足目卵黄蛋白原的合成部位及特性

有关十足目甲壳动物Vg生物合成部位的研究已有几十年历史, 大致可分为2个阶段。第一

阶段始于20世纪80年代,至20世纪末,采用的方法主要有组织学、免疫学、免疫组织化学、离体培养技术等<sup>[23-32]</sup>,主要是定性研究各类十足目动物Vg合成部位。2000年以后,随着分子生物技术的进步,对Vg的生物合成研究进入了分子和基因水平。通过纯化卵巢和肝胰腺得到Vn,研究其氨基酸序列,分析得出与之相关的Vg cDNA全序列,进一步通过克隆cDNA,建立实时荧光PCR检测技术(RT-PCR),结合Northern杂交技术对不同发育阶段的十足目甲壳动物卵巢、肝胰腺等进行定性、定量检测,取得了大量的研究成果<sup>[13, 15-17, 33-51]</sup>。这一阶段研究,不但对十足类动物的Vg合成做了更为精确的定性,而且还利用半定量PCR技术和RT-PCR技术定量检测Vg的mRNA表达量,实现了相对定量研究,并且厘清了前期研究的一些不确定性甚至误区。表2汇总了近30年的相关研究成果。

尽管早期有研究认为枝鳃亚目对虾类的Vg合成仅发生在卵巢<sup>[24]</sup>,但随后绝大多数研究结果表明,肝胰腺在对虾类卵黄发生中也起重要作用。随着基因水平研究的深入,肝胰腺和卵巢在对虾类Vg合成中共同发挥作用已无异议。

Tsutsui等<sup>[15, 36]</sup>发现日本囊对虾卵黄发生早期Vg合成主要依靠卵巢,在中后期肝胰腺合成才逐渐旺盛。而且切除眼柄后,卵巢的Vg表达迅速增加,而对肝胰腺影响很小。Okuma等<sup>[42]</sup>对日本对虾的研究结果与之相似,他发现肝胰腺与卵巢对Vn积累的贡献大致相当,但肝胰腺Vg mRNA表达比卵巢启动得晚,而且卵巢成熟后,下降得快。因此认为在对虾卵黄发生期间,肝胰腺和卵巢所受的调控机制有差异。Raviv等<sup>[17]</sup>也发现,切除眼柄后凡纳滨对虾卵巢的Vg表达比肝胰腺显著高,是Vg合成的主要贡献者。Phiriyangkul等<sup>[41]</sup>对墨吉对虾的研究结果与上述相似,肝胰腺的Vg合成主要在次级卵黄发生期,而且卵巢的Vg mRNA表达水平在整个卵巢发育阶段都比肝胰腺高,因此他认为对虾类卵黄发生机制与腹胚亚目种类明显不同,有其特殊性,属于“内源卵巢基因表达型”<sup>[41]</sup>。这一观点支持了Avarre等<sup>[8]</sup>在研究短沟对虾的卵黄发生机制时所提出的对虾的卵黄发生机制有其独特性,属于“内源卵巢基因表达型”的见解。最近,Urtgam等<sup>[7]</sup>在研究斑节对虾卵黄发生机制时发现,人工控制条件下,斑节对虾的Vn从滤泡细胞向卵母细胞转移

过程中很慢,他认为这可能是人工育苗过程中斑节对虾难以成熟的内在原因<sup>[7]</sup>。Hiransuchalert等<sup>[50]</sup>研究也发现未切除眼柄的斑节对虾卵巢发育很慢,前期(I-III期)Vg合成主要依赖肝胰腺,而切除眼柄后,卵巢的Vg mRNA表达量快速增加,在II期就达到高峰。显然切除眼柄对卵巢的作用更为显著。

Boucard等<sup>[34]</sup>对印度明对虾的研究结果稍有差异,认为肝胰腺在初级卵黄发生期,合成较旺盛,而至GSI达3.4后,则下降很快,后期合成主要依赖卵巢了,但研究也明确提示,肝胰腺不足以支撑印度明对虾的卵巢成熟,卵巢在卵黄蛋白原合成上起主要作用。在中国明对虾和凡纳滨对虾的研究中都发现,对虾类的Vg合成起主要作用的是卵巢,卵巢的Vg mRNA表达启动要早于肝胰腺,肝胰腺的作用主要在卵巢发育的中后期<sup>[37, 45-46]</sup>。根据对Vg mRNA相对表达量的计算,卵巢的总贡献率约占80%,而肝胰腺仅占20%。因此认为,对虾类的Vg合成主要依赖于卵巢,与腹胚亚目的真虾类、螯虾类和短尾类主要依赖肝胰腺显著不同,这可能是前者卵巢容易成熟,而后者难以成熟的重要原因之一<sup>[49]</sup>。

相比将受精卵直接产于水中的对虾类,有抱卵习惯的腹胚亚目种类的Vg合成部位差异十分明显,几乎所有的研究者都发现肝胰腺是Vg合成的主要部位甚至是唯一部位,但Lee等<sup>[31]</sup>例外。Chen等<sup>[5]</sup>指出免疫学、免疫组织化学和分子生物技术都清楚证明肝胰腺是罗氏沼虾Vg的合成部位。Jasmani等<sup>[35]</sup>则发现罗氏沼虾Vg只能在肝胰腺中表达,卵巢中几乎检测不到。而Ara等<sup>[48]</sup>的研究结果表明罗氏沼虾Vg虽然也可在卵巢中检测到,但其表达量比肝胰腺低很多,因此认为Vg表达依赖特定组织和卵巢发育阶段。李媛媛等<sup>[46]</sup>也发现,虽然罗氏沼虾两种组织都能检测到Vg的表达,但肝胰腺明显占主导地位。通过计算两者相对表达量,得出肝胰腺对Vg合成的贡献率大于90%,因此,研究认为以肝胰腺为Vg主要合成组织的十足目种类卵巢易于发育,在人工控制条件下,无需采取促熟措施,有时甚至要采取措施(降低温度,调节营养)抑制其早熟。高翔刚等<sup>[38]</sup>对另一真虾种类日本沼虾的研究也证实,卵巢和肝胰腺都能合成Vg,但肝胰腺贡献率更高。

在对另一类腹胚亚目种类螯虾类的卵黄发

表 2 各类十足目甲壳动物卵黄蛋白原的合成部位及特性

Tab. 2 Synthesis site and characteristics of vitellogenin in Decapoda, Crustacean

种类 speace	种名 name	Vg生物合成部位及特性 character	文献来源 reference	
对虾类 Penaeoidea	中国对虾 <i>Fenneropenaeus chinensis</i>	(1) 卵巢和肝胰腺, 卵巢略占优 (2) 肝胰腺和卵巢 (3) 卵巢和肝胰腺, 卵巢占优 (4) 卵巢和肝胰腺	[37] [45]	
	墨吉对虾 <i>F. meiguensis</i>	(1) 肝胰腺和卵巢 (2) 肝胰腺对卵黄积累的贡献较低 (3) 卵巢Vg合成高峰在初级卵黄发生期, 而肝胰腺在中后期, 卵巢在各阶段都高于肝胰腺, 对虾Vg合成机制特殊	[13] [14] [41]	
	日本对虾 <i>Masupenaeus japonicus</i>	(1) 肝胰腺和卵巢互为补充, 早期卵巢较高, 后期肝胰腺较高 (2) 切眼柄后, 卵巢的Vg表达显著增加, 而肝胰腺增加几乎可忽略 (3) 肝胰腺和卵巢相当, 前者启动晚, 排卵后下降快 (4) 肝胰腺和卵巢 (5) 卵巢是Vg合成的唯一部位	[15] [36] [42] [40] [24]	
	斑节对虾 <i>Penaeus monodon</i>	(1) 肝胰腺和卵巢贡献相近, 在GSI为4%~8%时, Vg合成最旺盛 (2) 卵黄发生早期, 肝胰腺为主, 而后期则以卵巢为主 (3) 肝胰腺和卵巢 (4) 肝胰腺和卵巢, 人工控制条件下亲虾卵巢的Vn从滤泡细胞向卵母细胞转移时较慢, 不如自然亲虾 (5) 切眼柄, 卵巢Vg合成在II期即达高峰, 未切眼柄时, 肝胰腺在I-III期, Vg的合成是卵巢的20~40倍	[16] [50] [33] [7] [51]	
	凡纳滨对虾 <i>Litopenaeus vannamei</i>	(1) 卵巢的Vg合成比肝胰腺显著高 (2) 肝胰腺和卵巢 (3) 肝胰腺和卵巢 (4) 肝胰腺和卵巢, 卵巢贡献率约80%	[17] [52] [25] [49]	
	短沟对虾 <i>Penaeus semisulcatus</i>	(1) 独特的内源性卵黄发生机制(卵巢为主) (2) 外源和内源发生 (3) 肝胰腺和卵巢	[8] [28] [27]	
	印度明对虾 <i>Fenneropenaeus indicus</i>	(1) 肝胰腺Vg合成在早期旺盛, 只起补充作用, 后期(GSI 3.4~4.1)不是主要合成部位 (2) 卵巢	[34] [26]	
	刀额新对虾 <i>Metapenaeus ensis</i>	(1) 卵巢和肝胰腺Vg合成机制不同, 前者7.8 kb为主, 后者2.3 kb为主 (2) 卵巢和肝胰腺	[18] [19]	
	岩虾 <i>Sicyonia ingentis</i>	(1) 肝胰腺和卵巢	[52]	
	真虾类 Caridea	罗氏沼虾 <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	(1) 肝胰腺为主, Vg表达量约为卵巢的10倍 (2) 肝胰腺为主, 卵巢表达量比肝胰腺低得多。 (3) 肝胰腺 (4) 肝胰腺 (5) 肝胰腺	[53] [46] [48] [5] [35]
日本沼虾 <i>Macrobrachium nipponense</i>		(1) 卵巢和肝胰腺, 肝胰腺显著占优势	[38]	
<i>Macrobrachium mallcolmsonii</i>		(1) 肝胰腺为主	[21]	
<i>Pandalus hypsinotus</i>		(1) 肝胰腺为主	[22]	
螯龙虾类 crayfish		克氏原螯虾 <i>Procambarus clarkii</i>	(1) 肝胰腺为主, >90%	[54]
<i>Cherax quadricarinatus</i>		(1) 肝胰腺为主	[55]	
美洲龙虾 <i>Homarus americanus</i>	(1) 肝胰腺为主, 卵黄发生早期较低, 其后一直增加至高峰, 卵巢合成量较低	[44]		
短尾(蟹)类 Brachyuran	中华绒螯蟹 <i>Eriocheir sinensis</i>	(1) 肝胰腺贡献率占99%, 卵巢仅1% (2) 肝胰腺为主, 卵巢也可能参与合成 (3) 肝胰腺和卵巢	[47] [39] [32]	
	蓝蟹 <i>Callinectes sapidus</i>	(1) 卵巢(免疫反应法)	[31]	
	蜘蛛蟹 <i>Libinia emarginata</i>	(1) 肝胰腺	[23]	
	锯缘青蟹 <i>Scylla serrata</i>	(1) 肝胰腺, 卵巢也可能参与合成	[56]	

生研究也与真虾类有相似的结果, 美洲龙虾的Vg合成主要在肝胰腺, 卵巢虽有合成, 但水平较低<sup>[44]</sup>。刘红等<sup>[54]</sup>同样发现, 克氏原螯虾肝胰腺对Vg的合成贡献率达99%, 卵巢的贡献率可以忽略不计。Ferre等<sup>[55]</sup>对淡水螯虾(*Cherax quadricarinatus*)的卵黄发生研究结果相似, 认为Vg主要在肝胰腺中合成, 然后释放至血液运输到卵巢, 被卵母细胞吸收。

短尾类是腹胚亚目另一大类甲壳动物, 现有的研究表明肝胰腺同样是Vg合成的主要组织<sup>[32, 47, 56]</sup>。邱凉等<sup>[47]</sup>的定量研究发现中华绒螯蟹卵黄发生中, 肝胰腺的贡献率高达99%, 卵巢的贡献几乎忽略不计。

综合上述有关十足目甲壳动物卵黄蛋白原合成部位和特性的研究结果, 可总结得出如下4点:

(1)肝胰腺和卵巢都可能是十足类动物Vg的合成部位。

(2)在腹胚亚目种类(真虾类、螯虾类、短尾类)中, 几乎所有种类Vg的主要合成部位是肝胰腺, 其贡献率超过90%, 卵巢只起辅助作用。

(3)在枝鳃亚目种类(对虾类)中, 卵巢和肝胰腺对Vg的合成都有贡献, 但以卵巢为主, 尤其是在卵黄发生早期, 卵巢的作用更大。

(4)眼柄激素GIH调控的靶器官主要是卵巢, 切除眼柄后, 对虾卵巢的Vg合成迅速增加, 而对肝胰腺影响相对较小。肝胰腺和卵巢所受的内分泌调控机制有差异。

从卵黄蛋白的合成组织看, 同是卵生动物的鱼类、两栖类、鸟类的卵黄蛋白均由肝脏组织合成。昆虫由脂肪体合成, 甲壳动物则较为复杂, 等足目由脂肪体合成<sup>[2-4]</sup>, 十足目主要由卵巢和肝胰腺合成, 而且对虾类主要依赖卵巢, 而真虾等主要依赖肝胰腺。从比较生物学角度看, 卵黄合成组织有一个从脂肪体到卵巢再到肝胰腺的变化过程, 显示了与生物进化从低阶元到高阶元相类似的现象。

枝鳃亚目对虾类在人工育苗中卵巢不易发育, 这与其卵黄发生机制的特殊性即内源基因表达型相关<sup>[8, 41]</sup>。首先, 对虾的Vg合成主要依赖于卵巢, 尤其是卵巢发育前期, 而卵巢的Vg合成受到眼柄激素GIH的抑制, 使得卵巢发育受阻。一旦眼柄切除, 卵巢Vg合成迅速增加, 卵巢发育也加快<sup>[17, 36, 51]</sup>。其次, 由于对虾类特殊

的内源基因表达型卵黄发生机制, 导致Vn在滤泡细胞加工向卵母细胞转移过程中速度较慢<sup>[7]</sup>, 影响了卵母细胞Vn的积累, 致使卵巢发育困难。而GIH对肝胰腺的Vg合成影响则相对较小<sup>[15, 36]</sup>, 肝胰腺和卵巢所受的内分泌调控机制有差异<sup>[42]</sup>。腹胚亚目种类的Vg合成主要依赖肝胰腺, 因此其卵巢发育比对虾类容易。有关对虾卵巢难以发育谜目前尚未完全解开, 眼柄激素对卵巢Vg合成的调控机制以及对虾“内源基因表达型”的机理等尚存许多问题有待进一步探讨。

#### 参考文献:

- [1] 堵南山. 甲壳动物学[M]. 北京: 科学出版社, 1993: 675-760.  
Du N S. Crustacean Biology[M]. Beijing: Science Press, 1993: 675-760 (in Chinese).
- [2] Meusy J J, Zerbib C, Dacheux F, *et al.* Subcellular localization of vitellogenin in crustacean adipocytes by the unlabelled antibody enzyme method[J]. Tissue and Cell, 1983, 15(2): 301-310.
- [3] Souty C, Picaud J L. Vitellogenin synthesis in the fat body of the marine crustacean Isopoda, *Idotea balthica basteri*, during vitellogenesis[J]. Reproduction Nutrition Développement, 1981, 21(1): 95-101.
- [4] 田海峰, 孟彦, 肖汉兵. 水生动物卵黄蛋白原研究新进展[J]. 南方水产科学, 2014, 10(4): 91-96.  
Tian H F, Meng Y, Xiao H B. Advances in vitellogenin research of aquatic animals[J]. South China Fisheries Science, 2014, 10(4): 91-96 (in Chinese).
- [5] Chen Y N, Tseng D Y, Ho P Y, *et al.* Site of vitellogenin synthesis determined from a cDNA encoding a vitellogenin fragment in the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Molecular Reproduction and Development, 1999, 54(3): 215-222.
- [6] Tiu S H K, Chan S M, Tobe S S. The effects of farnesic acid and 20-Hydroxyecdysone on vitellogenin gene expression in the lobster, *Homarus americanus*, and possible roles in the reproductive process[J]. General and comparative Endocrinology, 2010, 166(2): 337-345.
- [7] Urtgam S, Treerattrakool S, Roytrakul S, *et al.* Correlation between gonad-inhibiting hormone and vitellogenin during ovarian maturation in the domesticated *Penaeus monodon*[J]. Aquaculture, 2015, 437: 1-9.

- [8] Avarre J C, Khayat M, Babin P, *et al.* Molecular characterization and gene expression of two proteins from penaeid shrimp (*Penaeus semisulcatus*) ovaries during oocyte development[J]. Israeli Journal of Aquaculture/Bamidheh, 2003, 55(4): 240.
- [9] Avarre J C, Michelis R, Tietz A, *et al.* Relationship between vitellogenin and vitellin in a marine shrimp (*Penaeus semisulcatus*) and molecular characterization of vitellogenin complementary DNAs[J]. Biology of Reproduction, 2003, 69(1): 355-364.
- [10] Okuno A, Yang W J, Jayasankar V, *et al.* Deduced primary structure of vitellogenin in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and yolk processing during ovarian maturation[J]. Journal of Experimental Zoology, 2002, 292(5): 417-429.
- [11] Xie S, Sun L N, Liu F, *et al.* Molecular characterization and mRNA transcript profile of vitellogenin in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(2): 389-397.
- [12] Chang C F, Jeng S R, Lin M N, *et al.* Purification and characterization of vitellin from the mature ovaries of prawn, *Penaeus Chinensis*[J]. Invertebrate Reproduction & Development, 1996, 29(2): 87-93.
- [13] Phiriyangkul P, Utarabhand P. Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin in the banana shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) merguensis* and sites of vitellogenin mRNA expression[J]. Molecular Reproduction and Development, 2006, 73(4): 410-423.
- [14] Auttarat J, Phiriyangkul P, Utarabhand P. Characterization of vitellin from the ovaries of the banana shrimp *Litopenaeus merguensis*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 143(1): 27-36.
- [15] Tsutsui N, Kawazoe I, Ohira T, *et al.* Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*[J]. Zoological Science, 2000, 17(5): 651-660.
- [16] Tiu S H K, Hui J H L, Mak A S C, *et al.* Equal contribution of hepatopancreas and ovary to the production of vitellogenin (PmVg1) transcripts in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*[J]. Aquaculture, 2006, 254(1-4): 666-674.
- [17] Raviv S, Parnes S, Segall C, *et al.* Complete sequence of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea Decapoda) vitellogenin cDNA and its expression in endocrinologically induced sub-adult females[J]. General and Comparative Endocrinology, 2006, 145(1): 39-50.
- [18] Tiu S H K, Hui J H L, He J G, *et al.* Characterization of vitellogenin in the shrimp *Metapenaeus ensis*: Expression studies and hormonal regulation of *MeVg1* transcription in vitro[J]. Molecular Reproduction and Development, 2006, 73(4): 424-436.
- [19] Kung S Y, Chan S M, Hui J H L, *et al.* Vitellogenesis in the sand shrimp, *Metapenaeus ensis*: The contribution from the hepatopancreas-specific vitellogenin gene (*MeVg2*)[J]. Biology of Reproduction, 2004, 71(3): 863-870.
- [20] Tsang W S, Quackenbush L S, Chow B K C, *et al.* Organization of the shrimp vitellogenin gene: Evidence of multiple genes and tissue specific expression by the ovary and hepatopancreas[J]. Gene, 2003, 303: 99-109.
- [21] Shanju S, Geraldine P. Biochemical characterization of vitellin from the freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*[J]. Invertebrate Reproduction & Development, 2010, 54(1): 41-52.
- [22] Tsutsui N, Saido-Sakanaka H, Yang W J, *et al.* Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin in the coonstriped shrimp, *Pandalus hypsinotus* and site of vitellogenin mRNA expression[J]. Journal of Experimental Zoology-Part A: Comparative Experimental Biology, 2004, 301A(10): 802-814.
- [23] Paulus J E, Laufer H. Vitellogenocytes in the hepatopancreas of *Carcinus maenas* and *Libinia emarginata* (Decapoda brachyura)[J]. International Journal of Invertebrate Reproduction and Development, 1987, 11(1): 29-44.
- [24] Yano I, Chinzei Y. Ovary is the site of vitellogenin synthesis in Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry, 1987, 86(2): 213-218.
- [25] Quackenbush L S. Vitellogenesis in the shrimp, *Penaeus vannamei*: *In vitro* studies of the isolated hepatopancreas and ovary[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry, 1989, 94(2): 253-261.
- [26] Mendoza R, Fauvel C. Study of crustacean vitellogenesis by vitellogenin assay: The particular case of a penaeid

- shrimp[C]. France: European Aquaculture Society, 1989.
- [27] Browdy C L, Fainzilber M, Tom M, *et al.* Vitellin synthesis in relation to oogenesis in intro-incubated ovaries of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae)[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1990, 255(2): 205-215.
- [28] Shafir S, Tom M, Ovadia M, *et al.* Protein, vitellogenin, and vitellin levels in the hemolymph and ovaries during ovarian development in *Penaeus semisulcatus* (de Haan)[J]. *Biology Bulletin*, 1992, 183(3): 394-400.
- [29] Chen C C, Chen S N. Isolation and partial characterization of vitellin from the egg of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1993, 106(1): 141-146.
- [30] 李怀梅, 张乃禹. 中国对虾卵母细胞发育的初步研究[J]. *海洋与湖沼*, 1994, 25(3): 243-247.
- Li H M, Zhang N Y. A preliminary study on development of oocyte of *Penaeus chinensis* (Osbeck) [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1994, 25(3): 243-247 (in Chinese).
- [31] Lee C Y, Umphrey H R, Watson R. Developmental changes in the level of vitellin-immunoreactive proteins in hemolymph and tissues of the blue crab *Callinectes sapidus*: Relation to vitellogenesis[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1996, 16(1): 1-9.
- [32] Du N, Lai W, Chen P C, *et al.* Studies on vitellogenesis of *Eriocheir sinensis*[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1999, 45(1): 88-92.
- [33] Tseng D Y, Chen Y N, Kou G H, *et al.* Hepatopancreas is the extraovarian site of vitellogenin synthesis in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2001, 129(4): 909-917.
- [34] Boucard C G V, Levy P, Ceccaldi H J, *et al.* Developmental changes in concentrations of vitellin, vitellogenin, and lipids in hemolymph, hepatopancreas, and ovaries from different ovarian stages of Indian white prawn *Fenneropenaeus indicus*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2002, 281(1-2): 63-75.
- [35] Jasmani S, Ohira T, Jayasankar V, *et al.* Localization of vitellogenin mRNA expression and vitellogenin uptake during ovarian maturation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Experimental Zoology-Part A: Comparative Experimental Biology*, 2004, 301A(4): 334-343.
- [36] Tsutsui N, Kin Y K, Jasmani S, *et al.* The dynamics of vitellogenin gene expression differs between intact and eyestalk ablated kuruma prawn *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*[J]. *Fisheries Science*, 2005, 71(2): 249-256.
- [37] 张成锋, 刘红, 高祥刚, 等. 中国明对虾卵黄蛋白原合成部位的初步研究[J]. *海洋水产研究*, 2006, 27(6): 7-13.
- Zhang C F, Liu H, Gao X G, *et al.* Studies on site of vitellogenin synthesis in the shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Marine and Fisheries Research*, 2006, 27(6): 7-13 (in Chinese).
- [38] 高祥刚, 刘红, 徐佳念, 等. 日本沼虾卵黄蛋白原合成部位的初步研究[J]. *生物技术通报*, 2006(S): 438-444.
- Gao X G, Liu H, Xu J N, *et al.* Study on site of vitellogenin synthesis in the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2006(S): 438-444 (in Chinese).
- [39] Li K, Chen L Q, Zhou Z L, *et al.* The site of vitellogenin synthesis in Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, 143(4): 453-458.
- [40] Aida K. Hormonal control of vitellogenin synthesis in the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*[J]. *Bulletin of Fisheries Research Agency*, 2006(S5): 21-24.
- [41] Phiriyangkul P, Puengyam P, Jakobsen I B, *et al.* Dynamics of vitellogenin mRNA expression during vitellogenesis in the banana shrimp *Penaeus (Fenneropenaeus) merguensis* using real-time PCR[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2007, 74(9): 1198-1207.
- [42] Okumura T, Yamano K, Sakiyama K. Vitellogenin gene expression and hemolymph vitellogenin during vitellogenesis, final maturation, and oviposition in female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2007, 147(4): 1028-1037.
- [43] Wong Q W L, Mak W Y, Chu K H. Differential gene expression in hepatopancreas of the shrimp *Metapenaeus ensis* during ovarian maturation[J]. *Marine*

- Biotechnology, 2008, 10(1): 91-98.
- [44] Tiu S H K, Hui H L, Tsukimura B, *et al.* Cloning and expression study of the lobster (*Homarus americanus*) vitellogenin: Conservation in gene structure among decapods[J]. General and Comparative Endocrinology, 2009, 160(1): 36-46.
- [45] 程翔, 蔡生力, 刘红, 等. 中国明对虾卵黄蛋白原 mRNA 在卵巢和肝胰腺中的表达量的实时荧光定量 PCR 检测[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(1): 1-6.
- Cheng X, Cai S L, Liu H, *et al.* Determination of vitellogenin mRNA expression in ovary and hepatopancreas of shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(1): 1-6 (in Chinese).
- [46] 李媛媛, 蔡生力, 刘红. 实时荧光定量 PCR 检测凡纳滨对虾和罗氏沼虾卵黄蛋白原 mRNA 在卵巢和肝胰腺中的表达[J]. 水产学报, 2012, 36(11): 1667-1674.
- Li Y Y, Cai S L, Liu H. Quantitative analysis of vitellogenin mRNA expression in *Litopenaeus vannamei* and *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(11): 1667-1674 (in Chinese).
- [47] 邱凉, 刘红, 蔡生力. 中华绒螯蟹卵黄蛋白原基因 cDNA 序列的克隆与结构分析[J]. 上海海洋大学学报, 2013, 22(4): 531-537
- Qiu L, Liu H, Cai S L. Cloning and structural analysis of the vitellogenin cDNA of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 22(4): 531-537 (in Chinese).
- [48] Ara F, Damrongphol P. Vitellogenin gene expression at different ovarian stages in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and stimulation by 4-nonylphenol[J]. Aquaculture Research, 2014, 45(2): 320-326.
- [49] Tiu H K. Vitellogenesis and vitellogenin receptor in shrimp: From the sites of synthesis to the final storage in the ovary[D]. Hong Kong: The University of Hong Kong, 2007.
- [50] Hiransuchalert R, Thamniemdee N, Khamnamtong B, *et al.* Expression profiles and localization of vitellogenin mRNA and protein during ovarian development of the giant tiger shrimp *Penaeus monodon*[J]. Aquaculture, 2013, 412-413: 193-201.
- [51] Tseng D Y, Chen Y N, Liu K F, *et al.* Hepatopancreas and ovary are sites of vitellogenin synthesis as determined from partial cDNA encoding of vitellogenin in the marine shrimp, *Penaeus vannamei*[J]. Invertebrate Reproduction & Development, 2002, 42(2-3): 137-143.
- [52] Tsukimura B. Crustacean vitellogenesis: Its role in oocyte development[J]. American Zoologist, 2001, 41(3): 465-476.
- [53] Soroka Y, Milner Y, Sagi A. The hepatopancreas as a site of yolk protein synthesis in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Invertebrate Reproduction & Development, 2000, 37(1): 61-68.
- [54] 刘红, 崔俊, 颜婕, 等. 克氏原螯虾卵黄蛋白原受体 cDNA 部分序列的克隆及 mRNA 表达量的相对定量[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(6): 83-89.
- Liu H, Cui J, Yan J, *et al.* Cloning and relative quantification analysis of expression of the partial vitellogenin receptor cDNA/mRNA of the crayfish *Procambarus clarkii*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(6): 83-89 (in Chinese).
- [55] Ferré L E, Medesani D A, García C F, *et al.* Vitellogenin levels in hemolymph, ovary and hepatopancreas of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) during the reproductive cycle[J]. Revista de Biología Tropical, 2012, 60(1): 253-261.
- [56] Rani K, Subramoniam T. Vitellogenesis in the mud crab *Scylla serrata*-an *in vivo* isotope study[J]. Journal Crustacean Biology, 1997, 17(4): 659-665.



## Biological characteristics and synthesis of vitellogenin in Decapoda, Crustacean

CAI Shengli\*, LIU Hong

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The order Decapoda, with most species and high economic value in crustaceans, was divided to two sub-orders: Dendrobranchiata (Penaeidea etc.) and Pleocyemata (Caridea, Astacidea, Palinura, and Brachyura etc.). The full length of vitellogenin cDNA in Decapoda is about 8 kilobases (kb) in size, and encoded 2500-2600 amino acid residues. Vg gene organization and expression pattern in Decapods is highly conserved. But the site and model of vitellogenesis is obviously different. In the artificial control conditions, there is a distinguished different exhibition between the Penaeidea shrimps and Caridea or Brachyura, etc.. The ovary of Penaeid shrimps is difficult to mature, and usually people have to remove their eye-stalk to promote the gonad (ovary) development, however, the species in Pleocyemata like Caridea or Brachyura are very easy to mature, even people need to inhibit their ovary to develop early with control temperature and nutrition. Vg in Penaeidea shrimps is synthesized in ovary and hepatopancreas coordinately, and ovary contributes more than hepatopancreas usually, especially during the early stage of the gonadal development. So penaeid shrimps may constitute a unique model for vitellogenesis, showing intra-ovarian gene expression and synthesis of yolk protein. However, in Pleocyemata such as Caredea, Brachyura etc., the ovary also joins the vitellogenesis, but the hepatopancreas plays the major role and its contribution rate accounts for more than 90%. Why so big difference of vitellogenesis mechanism and gonad maturation in captive condition exists in these two groups of crustacean is discussed in this paper.

**Key words:** Crustacean; vitellogenin; gonadal development; biological characteristics

**Corresponding author:** CAI Shengli. E-mail: slcai@shou.edu.cn

**Funding projects:** The Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission to SC(12ZZ60)