



· 综述 ·

lncRNA 在水产动物中的研究进展

宋飞彪¹, 俞贞贞², 董在杰^{2,3}, 王兰梅³, 田雪¹,
吴利敏¹, 董传举¹, 李学军^{1*}

(1. 河南师范大学水产学院, 河南 新乡 453007;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214128;

3. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业农村部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要: 长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 是一类全长超过 200 个核苷酸的 RNA, 其转录本缺少开放阅读框和保守密码子, 无编码能力。lncRNA 能够与 RNA、DNA 或蛋白质相互作用来介导靶基因的调控, 可以在转录水平、转录后水平和表观遗传水平发挥作用。大量研究表明, lncRNA 在生殖、胚胎发育、性别分化、免疫和代谢等方面起着关键作用。近年来, 关于 lncRNA 在水产动物上的研究已取得一定成果, 但是国内外尚缺乏对其进行全面总结的报道。鉴于此, 本文主要对 lncRNA 的定义及分类、生物学特性、作用机制及在水产动物中的研究进展等方面进行综述, 并对其在水产动物中的研究前景进行了展望, 以期以后深入开展 lncRNA 在水产动物上的功能研究提供参考。

关键词: 水产动物; lncRNA; 生物学功能; 研究进展

中图分类号: Q 786; S 917.4

文献标志码: A

生物体内存在着两种不同的 RNA, 一种是具备编码蛋白质能力的编码 RNA (protein-coding RNA), 即信使 RNA (message RNA, mRNA); 一种是不具备编码蛋白质能力的非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA)^[1]。依据长度的不同可以将非编码 RNA 分为两类: 一类是短链非编码 RNA (microRNAs, miRNAs), 一类是长链非编码 RNA (long noncoding RNAs, lncRNAs)。lncRNA 是由 RNA 聚合酶 II 转录生成的副产物, 最开始被认为不具备生物学功能, 只是基因转录时生成的“噪音”。自从 Brown 等^[2]和 Lee 等^[3]研究发现, lncRNA *Xist* 和 miRNA *lin-4* 参与哺乳动物 X 染色体失活的调控, 开启了人们对非编码 RNA 的研究历程。随着高通量测序技术的发展和广泛应

用, 人们对分子生物学的研究也越来越深入, 大量的 lncRNA 被发现和挖掘。到目前为止, 已经在人 (*Homo sapiens*)、小鼠 (*Mus musculus*)、斑马鱼 (*Danio rerio*) 及秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 等物种中发现了数万个 lncRNAs^[4]。lncRNA 虽然没有编码蛋白质的能力, 但有与 mRNA 相似的序列特征, 并且参与了生物功能。现有研究表明, lncRNA 在干细胞的维持、表观遗传、转录和转录后基因表达、信号转导、细胞增殖和分化、代谢和个体发育等方面起着关键作用^[5-8]。近年来, 关于 lncRNA 在水产动物上的研究已取得一定成果, 但是国内外尚缺乏对其全面总结的报道。鉴于此, 本文综述了 lncRNA 在水产动物中的研究进展, 旨在为以后深入研

收稿日期: 2019-11-07 修回日期: 2019-12-31

资助项目: 国家自然科学基金 (31702316)

通信作者: 李学军, E-mail: xjli@htu.cn

究 lncRNA 在水产动物上的功能提供参考。

1 lncRNA 的定义及分类

lncRNA 最早于 1989 年在小鼠中被发现,但是当时并没有明确的定义和归类^[9]。随着分子生物学技术的不断发展,人们在不同物种上对 lncRNA 进行了大量挖掘以及功能研究,但是仍然未对 lncRNA 给出明确的定义。目前,一般将其定义为一类全长超过 200 个核苷酸、转录本缺少开放阅读框和保守密码子、无编码能力的 RNA^[10]。与 mRNA 相比,虽然 lncRNA 不具有典型的起始密码子、开放阅读框、终止密码子等结构,不能编码蛋白质,但近几年的研究发现,部分 lncRNA 具有编码多肽的能力,并且通过编码的多肽发挥功能^[11-12]。此外,大多数的 lncRNA 由 RNA 聚合酶 II 转录,经剪接后具有多聚腺苷酸尾和启动子结构,存在可变剪接,在表达上具有组织和时空特异性^[13]。

在动物中, lncRNA 主要由 RNA 聚合酶 II 和 III 转录形成,大多经可变剪切后发挥作用^[10]。在植物中,除了 RNA 聚合酶 II 和 III 外,还有植物特有的 RNA 聚合酶 IV 和 V 可以参与 lncRNA 的产生^[14]。lncRNA 种类繁多、数量庞大,按其在基因组中与蛋白质编码基因的相对位置,可以分为六大类(图 1): ①正义 lncRNA(sense lncRNA),位于正义链,与蛋白编码基因转录方向一致。其序列可能部分与编码蛋白基因序列重叠,也可能覆盖整个编码蛋白基因序列。②反义 lncRNA(antisense lncRNA),位于反义链,与蛋白编码基因转录方向相反。其序列可能转录自与编码蛋白基因内含子完全对应的那部分反义链,序列中也可能有一个外显子与正义链上的一个外显子或者编码基因完全相对应。③双向 lncRNA(bidirectional lncRNA),可与邻近基因组 2 条互补链同时表达产生转录本的 RNA。其序列位于与编码蛋白基因转录起始点相距至少 1 000 bp 处,它与编码蛋白基因的转录方向相反。④基因间 lncRNA(lincRNA),位于两个基因之间的 lncRNA。其空间序列并不覆盖任何编码蛋白基因,可以是位于同一条链上或不同链上不同编码蛋白基因之间。⑤内含子 lncRNA(intronic lncRNA),由基因的内含子产生的 RNA。⑥增强子 lncRNA(enhancer lncRNA),由蛋白质编码基因的增强子区域或是转录因子的结合位点转录而来的 RNA,

<https://www.china-fishery.cn>

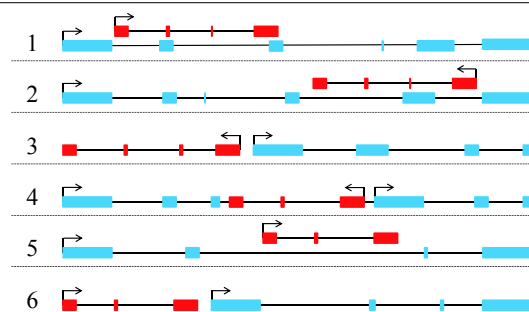


图 1 lncRNA 分类

1. 正义 lncRNA; 2. 反义 lncRNA; 3. 双向 lncRNA; 4. 基因间 lncRNA; 5. 内含子 lncRNA; 6. 增强子 lncRNA

Fig. 1 Classification of lncRNA

1. sense lncRNA; 2. antisense lncRNA; 3. bidirectional lncRNA; 4. large intergenic noncoding RNA; 5. intronic transcript lncRNA; 6. enhancer lncRNA

主要通过招募转录激活因子或转录抑制因子及控制染色质的拓扑异构体形式来调节转录活动^[15-18]。

2 lncRNA 的生物学特性

lncRNA 可以在转录水平、转录后水平和表观遗传水平发挥作用,其能够与 RNA、DNA 或者蛋白质相互作用来介导靶基因的调控,进而发挥功能^[19]。在转录水平上,一些 lncRNAs 可与转录因子结合形成复合物而干扰下游基因启动子与转录因子的结合来调节下游基因 mRNA 的正常转录。例如 lncRNA *CAS5* 和 DNA 损伤激活相关的 *CDKN1A* 启动子反义序列可直接与转录因子结合,从而影响靶基因与转录因子的结合^[20-21]; 在小鼠中, lncRNA *Dlx6os1* 能够通过顺式作用和反式作用调控 *Dlx6* (distal-less homeobox6)、*Dlx5* (distal-less homeobox 5) 及 *Gad1* (glutamate decarboxylase 1) 的表达^[22]。除了直接在转录水平抑制或者激活靶基因的转录外,许多 lncRNAs 还可以在转录后水平通过选择性剪接和 RNA 编辑等过程调节 mRNA 的加工,从而影响靶基因在细胞内的表达。例如,小鼠中翻译转录本 lncRNA *Uchl1 AS* (ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1) 可以通过重复元件 SINEB2 (short interspersed nuclear elements) 增加 *Uchl1* 蛋白的合成^[23]。lncRNA *MALAT1* 通过调节活性丝氨酸/精氨酸的蛋白水平改变 mRNA 内源性前体的选择性剪接^[24]。在表观遗传水平,一些 lncRNAs 能够影响 DNA 甲基化水平,进而影响组蛋白修饰、染色质构型重塑等过程^[25]。例如在哺乳动物中, lncRNA *Xist* 可以诱导哺乳动物 X 染色体失活,招募 PRC2

(polycomb repressive complexes 2) 到失活的 X 染色体 (inactive X-chromosomes, Xi) 沉默基因表达, 而 lncRNA *Xist* 在 Xi 上高表达^[26]。此外, lncRNA *HOTAIR* 可招募多梳复合体至 HoxD 位点, 使得组蛋白 H3 赖氨酸-27 甲基化, 从而抑制基因表达^[27]。

3 lncRNA 的作用机制

lncRNA 的作用机制非常复杂, 至今尚未完全清楚。根据目前的研究, lncRNA 的作用机制主要有五个方面: 一是作为信号分子。研究发现, 在不同的刺激条件和信号通路下, 一些 lncRNA 将会被特异性的转录, 并会作为信号传导分子参与特殊信号通路的传导, 如在 DNA 损伤反应过程中, 许多 lncRNA 被诱导表达^[28]。因此, lncRNA 可以作为信号分子, 以响应不同的刺激^[29]。二是作为诱饵分子。有些 lncRNA 在转录后可以与 DNA 和蛋白结合, 抑制转录因子的功能, 阻断靶基因的转录, 从而阻断了该分子的作用和信号通路^[30]。三是作为蛋白间的支架分子。lncRNA 可以将多种蛋白质聚集在一起形成核糖核蛋白复合物, 即多个相关的转录因子都可以结合在这个 lncRNA 分子上。在多条信号通路被激活后, 可以通过结合的同一个人 lncRNA 对信息进行整合, 从而实现不同信号通路之间的信号传递^[31]。四是作为引导分子。lncRNA 可以引导核蛋白、染色质修饰酶或其他调节因子结合到或离开特定作用位点, 从而调控下游分子的转录, 这种调控模式既可以是顺式调控也可以是反式调控^[32]。五是编码功能性小肽 (图 2)。lncRNA 虽然不能编码蛋白质, 但是具有编码功能性小肽的能力, 通过编码的小肽行使生物学功能^[11-12]。

4 lncRNA 在水产动物中的研究现状

lncRNA 作为重要的基因表达以及转录活性调控元件, 几乎参与机体所有的生物学过程。此部分主要论述了两栖类、甲壳类、主要养殖鱼类及模式生物斑马鱼等水产动物 lncRNA 在生殖、胚胎发育、性别分化、免疫、代谢及体色分化等方面的研究进展。详细 lncRNA 测序物种、组织及筛选出的重要 lncRNA 等信息见表 1。

4.1 lncRNA 在生殖中的研究

性腺发育是水产动物生殖的基础, 而水产动物的性腺发育是一个复杂的过程, 包括性腺发生和性细胞逐渐成熟, 其调控机制研究一直

是水产动物研究的重点。在水产动物的性腺发育调控机制中, lncRNA 扮演着重要角色。*igf3* 基因是在鱼类中新发现的在调控鱼类性腺发育中起重要作用的基因。Song 等^[33]对 *igf3* 基因被干扰前后的鲤 (*Cyprinus carpio*) 性腺组织进行高通量测序, 共发现 14 199 个 lncRNAs, 124 个差异表达, 其中 69 个表达上调, 55 个表达下调, 这些差异表达的 lncRNAs 可能对鲤性腺发育起重要作用。来自异源四倍体的二倍体鲤精子比来自普通鲤的单倍体精子具有更长的快速和慢速进行性运动的持续时间^[34]。对异源四倍体鲤和普通鲤的精巢组织进行高通量测序, 分别在异源四倍体鲤和普通鲤精巢鉴定出 1 575 个和 939 个特异表达的 lncRNAs, 为四倍体鲤精巢的变异和多倍体精子运动的调控机制提供了依据^[35]。长牡蛎具有一个复杂的生殖系统, 包括雌雄异体、个别个体的性逆转和偶发性的雌雄同体^[36]。Yue 等^[37]对长牡蛎不同配子发生阶段的雌、雄性腺进行转录组测序, 发现一个与精巢发育相关的关键 lncRNA, lncRNA LOC105321313。通过对 lncRNA LOC105321313 共表达的与精巢发育相关的基因进行 GO 和 KEGG 富集分析发现, 顶端富集的 GO 项是精子鞭毛和运动所必需的, 糖酵解和糖异生途径显著富集, 被认为是产生精子运动 ATP 的途径。基于此, 作者认为 lncRNA LOC105321313 是生精过程中的潜在调控因子, 并且通过基因表达的表观遗传修饰在精子发生过程中发挥潜在的调节作用。目前, 关于 lncRNA 在水产动物生殖中的研究才刚刚起步, 对关键 lncRNA 的发掘及功能研究还十分缺乏, 随着研究的逐步深入, 其中具体的调控机制将会逐渐明确。

4.2 lncRNA 在胚胎发育中的研究

lncRNA 与编码基因具有很强的关联性, 并且在不同的发育阶段差异表达, 使其可以通过正向或者负向调控决定细胞的分化方向, 这表明 lncRNA 在胚胎发育过程中起着非常重要的作用^[38-41]。Pauli 等^[42]对斑马鱼胚胎早期发育的 8 个阶段进行 RNA 测序, 在 28 912 个基因座中重建了 56 535 个高可信转录物, 识别出数千个新的亚型和表达位点, 同时揭示 lncRNA 在斑马鱼胚胎发育时间表达谱中的两个新特性: ① lncRNA 表达时间窗口比蛋白质编码基因窄, 并且在胚胎发育早期特异性富集; ② 一些 lncRNAs 呈现组

织特异性和明显的亚细胞定位。Forouzmand 等^[43]对非洲爪蟾胚胎进行高通量测序, 鉴定了 5 689 个 lncRNAs, 通过筛选和荧光定量 PCR (qPCR) 验证, 鉴定出 8 个在背侧或腹侧中胚层特异性表达的 lncRNAs, 并且这些 lncRNAs 可能参与调控生殖层特异基因的表达, 进而在早期胚胎发育过程中发挥调控作用。研究发现, 亲本遗传 lncRNA 在胚胎发育阶段起重要作用^[44]。这些在胚胎发育早期特异性富集的 lncRNA 可能是来自配子, 在完成受精后逐渐降解。在斑马鱼中, 关于 lncRNA 在胚胎发育中的具体功能研究较多。Gao 等^[45]通过显微注射吗啉代寡核苷酸技术敲除斑马鱼胚胎中 lncRNA *rps25*。结果发现, 敲除 lncRNA *rps25* 可导致斑马鱼胚胎运动神经元发育缺陷, 表现为游泳活性降低。敲除 lncRNA *rps25* 还可引起 *Olig2* (oligodendrocyte transcription factor 2) 基因的表达下调, 而通过过表达 *Olig2* 基因可挽救由 lncRNA *rps25* 敲除引起的胚胎运动神经元发育缺陷, 表明 lncRNA *rps25* 在斑马鱼运动神经元的发育中起着重要作用。lncRNA *malat-1* 是 lncRNA 家族的重要成员, 对细胞的增殖、迁移有重要影响。qPCR 或者原位杂交结果表明, lncRNA *malat-1* 在斑马鱼胚胎发育过程中有动态表达, 在成年鱼的脑、眼、心脏和肌肉中均有表达。敲除 lncRNA *malat-1* 后, 斑马鱼胚胎的体形变小、眼睛变小、心包增大、色素沉着减少, 同时耳囊发育出现缺陷。这些结果表明, lncRNA *malat-1* 可能在斑马鱼胚胎神经系统发育中起关键作用^[46]。Sarangdhar 等^[44]通过对斑马鱼精子、卵母细胞和 2 细胞期的受精卵进行高通量测序发现一个保守的 lncRNA *cyrano*。敲除 lncRNA *cyrano*

可导致发育 24 h 的胚胎中脑和后脑脑室开放严重畸形, 48 h 的胚胎脑结构改变, 但是这些缺陷可通过注射 lncRNA *cyrano* 或 *cyrano* 突变体部分修复。这表明 lncRNA *cyrano* 在斑马鱼胚胎大脑发育中具有重要作用。lncRNA *durga* 是起源于斑马鱼 *kalirin* 基因反义方向的第一个外显子的非编码 RNA, 在受精后 24 h 的胚胎中表达量逐渐升高。过表达 lncRNA *durga* 可使 *kalrlna* 基因的表达量增加, 同时导致胚胎神经元细胞树突数量明显减少, 树突长度明显缩短^[47]。*PRC1* 基因在发育和基因沉默中的重要作用被认为涉及到非编码 RNA。Ray 等^[48]采用 RNA 免疫共沉淀方法筛选出一个与 *PRC1* 共表达的长链非编码 RNA, 命名为 lncRNA *CAT7*, 干扰 lncRNA *CAT7* 可引起斑马鱼胚胎发育缺陷, 但是这种缺陷可以通过注射人 *CAT7* RNA 进行修复。lncRNA 还能调控鱼类胚胎血管发育。*tie-1* 基因是血管生成素配体的细胞表面酪氨酸激酶受体, 在脊椎动物的血管发育中起作用^[49-52]。在斑马鱼胚胎中, lncRNA *tie-1* 转录本在体内与其靶基因 *tie-1* 在时间和空间上共同表达, lncRNA *tie-1* 可以选择性的与 *tie-1* 结合, 调节 *tie-1* 的转录水平, 进而调节斑马鱼胚胎血管发育等生理过程^[53]。Wang 等^[54]通过在斑马鱼胚胎中产生 lncRNA *CNIB1* 缺失等位基因, 证明 lncRNA *CNIB1* 对斑马鱼生长发育和视觉活动有重要作用, 并发现 lncRNA *CNIB1* 在视觉活动中的作用通过眼发育调节因子 *lmx1bb* 介导。这些研究结果表明, lncRNA 在斑马鱼胚胎发育过程中具有重要作用, 可以影响胚胎的大脑发育、体型大小、眼睛、耳囊血管等一系列生理过程, 精确地调控早期胚胎细胞发育, 是生物生长发

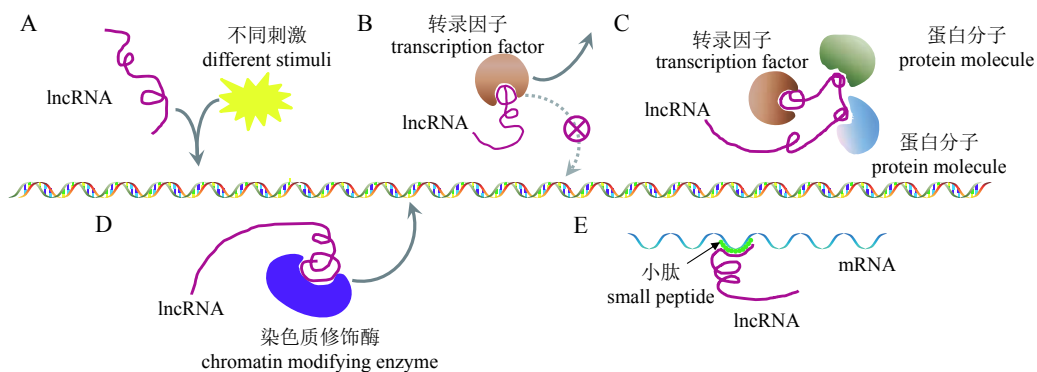


图 2 lncRNA 作用机制

A. 信号分子; B. 诱饵分子; C. 支架分子; D. 引导分子; E. 编码功能性小肽

Fig. 2 Action mechanism of lncRNA

A. signal molecule; B. decoy molecule; C. scaffold molecule; D. guide molecule; E. coding small peptide

表 1 水产动物的 lncRNA
Tab. 1 lncRNA in aquatic animals

物种 spscies	组织 tissues	lncRNA总数/ number of lncRNA	重要lncRNA principal lncRNA	功能 function	参考文献 references
鲤 <i>C. carpio</i>	未分化性腺	14 199	124个lncRNAs在实验组和对照 组差异表达	性腺发育	[33]
异源四倍体鲤 <i>C. auratus red</i> × <i>C. Carpio</i>	精巢	1 575			[35]
普通鲤 <i>C. carpio</i>		939			
长牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	精巢、卵巢(不同发育阶段)		lncRNA <i>LOC105321313</i>	精巢发育	[37]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>	胚胎(不同发育阶段)	56 535		胚胎发育	[42]
非洲爪蟾 <i>Xenopus tropicalis</i>	胚胎(不同发育阶段)	59 970		胚胎发育	[43]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>rps25</i>	运动神经元发育	[44]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>malat-1</i>	胚胎神经系统发育	[45]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>	精子、卵母细胞和2细胞期受 精卵	1 908	lncRNA <i>cyrano</i>	胚胎大脑发育	[46]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>durga</i>	胚胎神经系统发育	[47]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>CAT7</i>	胚胎发育	[48]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>tie-1</i>	胚胎血管发育	[53]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>CNIB1</i>	生长发育和视觉活动	[54]
中华鳖 <i>Pelodiscus sinensis</i>	精巢	5 062	从卵巢和精巢中分别获得932和 449个性别特异性lncRNAs	性别分化	[59]
	卵巢	5 545			
尼罗罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i>	精巢		lncRNA <i>TCONS_02477925</i>	卵母细胞发育和性别 分化	[60]
	卵巢				
红耳龟 <i>Trachemys scripta</i>			lncRNA <i>Dmrt1</i>	性别分化	[64]
尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	RU486诱导性腺			性别分化	[65]
	正常性腺				
拟穴青蟹 <i>Scylla paramamosain</i>	精巢、卵巢	233 078	147个lncRNAs在性别间有差异 表达	性别分化	[66]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>	肝脏、脾脏(不同浓度β-二酮 类抗生素处理)		6.25和12.5 mg/L的处理后, 44 和39个lncRNAs显著差异表达	免疫	[68]
虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	全鱼(抗病、对照、易感3个 遗传品系用嗜冷黄杆菌处理)	31 195	不同遗传系与不同感染状态的 成对比较共鉴定出556个差异 lncRNAs	免疫	[69]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			反义lncRNA <i>PU.1</i>	免疫	[70]
尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	腹腔巨噬细胞(无乳链球菌和 HSP70处理)	797		免疫	[71]
青蛙 <i>Rana temporaria</i>	后肢第一指(有蛙病毒 <i>Ranavirus</i> 感染病史和无蛙病 毒 <i>Ranavirus</i> 感染病史)	502 961	407个lncRNAs在实验组和对照 组差异表达	免疫	[72]
长牡蛎 <i>C. gigas</i>	鳃(感染和未感染感染牡蛎疱 疹病毒变种)		101个lncRNAs在实验组和对照 组差异表达	免疫	[73]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>			lncRNA <i>malat-1</i>	反应汞污染	[75]

· 续表 1 ·

物种 species	组织 tissues	lncRNA总数/ number of lncRNA	重要lncRNA principal lncRNA	功能 function	参考文献 references
半滑舌鳎 <i>Cynoglossus semilaevis</i>	肝脏(饲料中添加不同DHA和EPA处理)	1 427		代谢	[76]
虹鳟 <i>O. mykiss</i>	肝脏(全植物蛋白饲料和对照组处理)		142个独特的反义lncRNA在不同组间差异表达	脂质代谢和免疫	[77]
虹鳟 <i>O. mykiss</i>	肠(不同放养密度)	4 919		调节内稳态	[78]
虹鳟 <i>O. mykiss</i>	肠(饲料中添加益生菌和对照组)	9 947		调节肠道内稳态	[79]
刺参 <i>Apostichopus japonicus</i>	体腔细胞、血细胞、放射器	8 752		调控脂多糖刺激	[80]
海参 <i>Holothuria glaberrima</i>	官复合体等组织(注射脂多糖和对照组)	8 199			
虹鳟 <i>O. mykiss</i>	背部肌肉(三倍体不育系和二倍体雌性)		1 160个lncRNAs组间差异表达	肌肉生长	[81]
虹鳟 <i>O. mykiss</i>	肌肉(不同品质性状)	2 580	1 280个lncRNAs组间差异表达	肌肉品质	[82]
锦鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	皮肤(黑、红、白)	77 159	3种颜色皮肤中筛选到92个显著差异表达lncRNAs	体色分化	[83]
长牡蛎 <i>C. gigas</i>	外套膜(白色壳、黑色壳、金色壳、正常色壳)	12 243	427个lncRNAs在不同壳色间差异表达	色素合成	[84]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>	脑(不同生长阶段)	50 524	17 702个lncRNAs在胚胎发生到成鱼之间差异表达	昼夜节律	[85]

育不可缺少的遗传物质。但是,具体的调控机制研究还有待探索。目前,关于lncRNA在胚胎发育中的功能研究仅停留在模式生物斑马鱼上,对于经济水产动物的研究还十分缺乏,有待进一步开展。

4.3 lncRNA在性别分化中的研究

在脊椎动物中,鱼类性别决定和性别分化主要受遗传和环境两种因素的影响,并且鱼类性别决定的基础仍然是遗传因素^[55]。在哺乳动物中,lncRNA已经被证明在性别分化中起着重要作用^[56-58]。但是在鱼类中,lncRNA对性别分化作用的研究还停留在性别决定相关lncRNA的发现上。Zhang等^[59]对孵化后30d的中华鳖进行全转录分析,筛选获得大量性别相关的lncRNAs。其中,从卵巢和精巢中分别获得932和449个性别特异性lncRNAs,通过顺式和反式调节作用于靶基因,并且多数参与性腺分化过程。这些发现为深入研究lncRNAs在性别分化中的作用提供了新的视角,并为将来的研究提供了一组候选的lncRNAs。彭锐等^[60]通过转录组测序获得了尼罗罗非鱼雌、雄性腺中呈现差异表达的lncRNAs,并发现lncRNA *TCONS_02477925*在罗非鱼卵母细胞发育和性别分化中可能有重要作用。红耳龟(*Trachemys* sp.)是一种温度依赖型性别决定的生物,孵化温度的高低决定子代的性别,低温孵化

(26 °C)产生全雄子代,高温孵化(32 °C)产生全雌子代。*Dmrt1*基因在雌性个体中的异位表达能够启动雄性分化,是雄性性别决定的关键基因^[61-63]。Chojnowski等^[64]对红耳龟在胚胎发育的温度敏感期进行测序,发现lncRNA *Dmrt1*在雄性孵化温度下表现出更高的表达量,在红耳龟的性别分化中发挥重要作用。Cai等^[65]利用RNA-Seq技术对XX/XY和米非司酮(RU486)诱导的性逆转XX尼罗罗非鱼性别偏向性腺lncRNA表达谱进行了比较研究,发现大量与性别分化相关的lncRNAs,qPCR和原位杂交证明,在RU486处理过程中表现出剧烈波动的lncRNAs在早期性别分化过程中表现出性别二态性,这些lncRNAs的表达变化可能是通过表观遗传修饰导致性逆转的部分原因。Yang等^[66]对拟穴青蟹雌、雄个体性腺进行转录组测序,发现147个在雌、雄个体性腺之间差异表达的lncRNAs,qPCR结果显示,9个lncRNAs对8个性别相关基因的表达呈负调控,提示这些lncRNAs在性别分化中具有潜在的作用,这些发现将为进一步研究甲壳动物的性别分化和调控机制提供基础资料。以上结果表明,lncRNA可能影响鱼类、甲壳类等水产动物的性别分化,但是目前的研究还停留在差异lncRNA的筛选上,对于关键lncRNA的功能研究还有待进一步开展。

4.4 lncRNA 在免疫中的研究

水产动物的免疫系统一般被分为特异性免疫和非特异性免疫, 非特异性免疫通常先于特异性免疫而激活并决定特异性免疫的性质和特点, 因此, 非特异性免疫在机体抗病中发挥着更重要的作用。目前 lncRNA 在水产动物免疫方面的研究主要集中在环境污染物、细菌和病毒感染前后一些免疫相关差异表达 lncRNA 及其靶基因的发现等方面。 β -二酮类抗生素 (DKAs) 暴露可对斑马鱼产生免疫毒性和神经毒性^[67]。Wang 等^[68]对 DKAs 处理过的斑马鱼肝脏和脾脏组织进行转录组测序, 在不同 DKAs 处理组中鉴定到多个差异表达 lncRNAs, 其靶基因涉及到多个免疫基因。总的来说, DKAs 暴露导致一些 lncRNAs 及其潜在靶基因的异常表达, 这些基因可能在斑马鱼的免疫功能中发挥作用。Paneru 等^[69]对 3 个虹鳟遗传系 (抗病、对照和易感) 在嗜冷黄杆菌 (*Flavobacterium psychrophilum*) 感染前后进行 RNA 测序, 不同遗传系与不同感染状态之间的两两比较共鉴定出 556 个差异 lncRNAs。一些差异表达的 lncRNAs 与它们重叠的、邻近的和远距离的免疫相关蛋白编码基因表现出强烈的正相关和负相关表达。相关表达和全基因组共定位表明, 某些 lncRNAs 可能参与了免疫相关蛋白编码基因的调控。转录因子 *PU.1* 在免疫系统的发育中起着关键作用, 并且 *PU.1* 基因座存在双向转录和正/反义转录调控两种方式。Wei 等^[70]研究发现, *PU.1* 基因及其反义长链非编码 RNA (AS lncRNA *PU.1*) 的敲降能导致斑马鱼肾脏中免疫相关基因表达量发生变化, 并且 *PU.1* mRNA 和 AS lncRNA *PU.1* 对斑马鱼免疫相关基因表达的影响是相反的, 认为 AS lncRNA *PU.1* 是一个新的与免疫相关的 lncRNA。Luo 等^[71]对无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*) 和重组罗非鱼热休克蛋白 70 (recombinant tilapia heat shock protein 70, HSP 70) 处理过的罗非鱼腹腔巨噬细胞进行转录组测序, 发现多个与免疫相关的 lncRNAs, 为罗非鱼免疫相关 lncRNA 的筛选和功能研究提供了数据。蛙病毒 Ranavirus 是两栖动物中一种致命的、新出现的传染病。Campbell 等^[72]采用 RNA-Seq 技术对有蛙病毒感染病史和无蛙病毒感染病史的普通青蛙测序, 发现大量的差异 lncRNAs, 提供了 lncRNA 在两栖动物对病毒反应中可能发挥作用的初步证据。Sun 等^[73]对感染牡蛎疱疹病毒变

种 (ostreid herpesvirus 1 variant, OsHV-1 μ Var) 和未感染的长牡蛎鳃组织进行测序, 共鉴定出 101 个差异表达的 lncRNAs, 经过 GO 和基因共表达分析推测, 这些差异 lncRNAs 广泛参与牡蛎抗病毒先天免疫系统。现有研究证实, 在免疫过程中, 细胞的 miRNA 可以通过作用于病毒基因或有利于病毒基因复制的宿主基因来抑制病毒的增殖^[74]。因此, 在水产动物的免疫反应中, 上述发生显著差异表达的 lncRNA, 很可能具有与 miRNA 相似的功能。研究 lncRNA 在水产动物免疫反应中的分子机制, 有助于我们阐明水产动物疾病的病原和发病机制, 进而为从源头上防治这些疾病提供一个新的切入点, 因此, 有必要开展深入研究。

4.5 lncRNA 在代谢中的研究

环境污染特别是水污染严重影响水产动物的生长、发育和繁殖。传统方法只能从动物对污染物剂量的反应关系中得出污染物对水产动物的毒性, 难以揭示内在机制。随着分子生物学的发展, 在分子水平上水产动物响应污染物毒性的研究已经开展。为了揭示汞毒性在斑马鱼胚胎中的表观遗传机制, 探索新的特异性汞毒理学生物标记物, Cao 等^[75]通过汞暴露实验在几个候选 lncRNAs 中鉴定出一个汞响应 lncRNA *malat1*。lncRNA *malat1* 在暴露于汞化合物中的斑马鱼胚胎发育的脑、眼睛和脊索中高度表达, 可作为汞污染的新型生物标记物。

lncRNA 已成为脂肪代谢的重要调节因子, 但在鱼类中, 特别是在非模式鱼类中相关信息很少。通过对半滑舌鳎的饲养实验和转录组分析, Xu 等^[76]探讨了饲料中不同水平 DHA 和 EPA 对肝脏 lncRNA 和 mRNA 表达的影响。在不同 DHA/EPA 比例实验组对比中, 发现多个与代谢相关的 lncRNAs, 共表达的 lncRNA 和 mRNA 涉及到代谢过程、细胞内细胞器、催化活性和氧化还原酶活性等多个生物过程、细胞组分和生物学功能。Abernathy 等^[77]对饲养 12 周全植物蛋白和对照组的虹鳟肝组织进行 RNA 测序, 共有 142 个独特的反义 lncRNA 在不同组间差异表达, 其中 60 个可定位于一个基因。这些 lncRNAs 的靶基因在脂质代谢和免疫过程中表达, 推测这些 lncRNAs 在代谢和免疫中发挥作用。同时, 在不同放养密度下, 虹鳟肠组织中存在大量差异

表达的 lncRNAs, 可能在维持鱼类的内稳态中起到关键作用^[78]。此外, 在饲料中添加益生菌饲喂虹鳟, 也能改变肠道中 lncRNAs 的表达量, 提示这些 lncRNAs 在调节虹鳟肠道稳态与宿主健康有关^[79]。Mu 等^[80]对脂多糖处理和健康组的刺参、海参进行 RNA 测序, 发现多个差异表达的 lncRNAs。构建的编码—非编码基因调控网络暗示, lncRNA-mRNA 相互作用可以调控几个应对脂多糖刺激的重要基因, 包括 *TLR1*(oll-like receptor 1) 和 *TGM1*(transglutaminase-1) 等。虽然在水产动物中有关 lncRNA 参与代谢的研究尚少, 根据 lncRNA 的作用机制可以分析发现, lncRNA 可能通过与靶基因作用影响代谢过程, 从而调节水产动物内稳态, 维持宿主健康。开展此方面的研究对于理解 lncRNA 的多功能性和解析水产动物应对环境污染代谢和营养物质的代谢均具有重要意义。

4.6 lncRNA 在其他生理功能中的研究

除了上述功能, lncRNA 还广泛参与生长、肌肉品质、体色及昼夜节律等多种生理功能。为了确定与性成熟造成的肌肉萎缩相关的非编码基因, Paneru 等^[81]对虹鳟三倍体不育系和二倍体雌性成熟虹鳟背部肌肉进行转录组测序, 共发现 1 160 个差异表达的 lncRNAs, 分析发现, 这些 lncRNA 的作用模式为 lncRNA-mRNA、lncRNA-microRNA 和 lncRNA-蛋白质 3 种类型。Ali 等^[82]对不同肌肉质量和品质性状的虹鳟肌肉组织进行转录组测序, 共得到 240 和 1 280 个差异表达的 mRNA 和 lncRNA, 并发现 3 个与已知影响肌肉品质性状的基因共表达的反义 lncRNAs, 44 个差异表达 lncRNAs 与 miRNA 具有潜在的 miRNA sponge(miRNA 海绵)功能, 能够影响虹鳟肌肉生长和品质性状。Luo 等^[83]对锦鲤不同颜色(黑、红、白)皮肤 lncRNA 特征进行了研究, 在 3 种颜色皮肤中筛选到 92 个显著差异表达 lncRNAs, 差异表达 lncRNA 及 mRNA 功能注释富集到色素沉积、细胞分化调控、细胞迁移等过程; 黑色素合成、酪氨酸酶代谢、视黄醇代谢等通路, 为锦鲤 lncRNA 介导的色素沉着和分化机制提供新的认识。Feng 等^[84]对不同壳色的长牡蛎进行 RNA 测序, 成对比较共鉴定出 427 个和 349 个差异表达 lncRNAs 和 mRNAs, 主要涉及生物矿化和色素沉着等功能。此外, 总共预测了 6 个 mRNA 和其对应的顺式 lncRNA 参与黑色素、类胡萝卜素、四吡咯或眼色素的合成。其中, 绒毛膜过

氧化物酶及其顺式作用的 lncRNA *TcNux* 0.95105 参与了黑色素合成。Park 等^[85]研究发现, lncRNA 还能影响斑马鱼的昼夜节律变化, 并且这种影响是由昼夜节律 lncRNA 的变化介导的异染色质的变化产生的。

5 展望

综上所述, lncRNA 在水产动物的生殖、胚胎发育、性别分化、免疫和代谢等方面起着关键作用。深入开展水产动物 lncRNA 的功能研究, 有助于加强对水产动物重要功能基因在转录水平、转录后水平和表观遗传水平调控机制的认识, 更好地阐释水产动物生理过程的调控机制。但是, 目前对于大多数水产动物 lncRNA 的研究尚未开始, 只是在虹鳟等养殖鱼类中开展了 lncRNA 的测序工作, 并且只停留在相关 lncRNA 的发现上。虽然在模式动物斑马鱼中已经开展了一些 lncRNA 的功能研究, 但是其具体调控途径和调控机制还未见报道, 有关 lncRNA 在水产动物特别是水产经济动物中具体功能的深度解析还十分缺乏^[86]。因此, 对于水产动物 lncRNA 的研究仍需从以下几个方面深入开展: ①筛选关键 lncRNA。目前, 对于水产动物某一生理学功能仅仅是开展转录组测序, 统计差异 lncRNA, 缺乏关键 lncRNA 的筛选, 应采用生物信息学方法筛选关键 lncRNA。②关键 lncRNA 的功能和调控机制研究。虽然有些研究中发现了关键的 lncRNA, 但是对其功能研究还不够深入。应采用过表达、敲除、RNA pull-down 等技术在细胞和个体水平上深入开展关键 lncRNA 的功能和分子机制。③开展 lncRNA 分子标记研究。lncRNA 可作为分子标记反应某一生理过程状态^[87]。研究与生殖、免疫、代谢和生长等重要经济性状相关的 lncRNA 分子标记, 可以为水产动物种质改良和新品种选育提供分子生物学依据。因此, 利用新型分子生物学技术深入开展水产动物 lncRNA 的功能研究, 加速重要功能性 lncRNA 的鉴定及其调控基因的分子机理研究对水产动物经济性状的遗传改良具有重要意义。

参考文献 (References):

- [1] Eddy S R. Non-coding RNA genes and the modern RNA world[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2001, 2(12): 919-929.

- [2] Brown C J, Hendrich B D, Rupert J L, *et al.* The Human *XIST* Gene: analysis of a 17 kb inactive X-specific RNA that contains conserved repeats and is highly localized within the nucleus[J]. *Cell*, 1992, 71(3): 527-542.
- [3] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [4] Zhao Y, Li H, Fang S S, *et al.* NONCODE 2016: an informative and valuable data source of long non-coding RNAs[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(D1): D203-D208.
- [5] Larsson L, Castilho R M, Giannobile W V. Epigenetics and its role in periodontal diseases: a state-of-the-art review[J]. *Journal of Periodontology*, 2015, 86(4): 556-568.
- [6] Yang G D, Lu X Z, Yuan L J. LncRNA: a link between RNA and cancer[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 2014, 1839(11): 1097-1109.
- [7] Dianatpour A, Ghafouri-Fard S. Long non coding RNA expression intersecting cancer and spermatogenesis: a systematic review[J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 2017, 18(10): 2601-2610.
- [8] Liu Y R, Zhang R F, Ying K J. Long non-coding RNAs: novel links in respiratory diseases (review)[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 11(6): 4025-4031.
- [9] Brannan C I, Dees E C, Ingram R S, *et al.* The Product of the H19 gene may function as an RNA[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1990, 10(1): 28-36.
- [10] Novikova I V, Hennelly S P, Tung C S, *et al.* Rise of the RNA machines: exploring the structure of long non-coding RNAs[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2013, 425(19): 3731-3746.
- [11] Nelson B R, Makarewich C A, Anderson D M, *et al.* A peptide encoded by a transcript annotated as long non-coding RNA enhances SERCA activity in muscle[J]. *Science*, 2016, 351(6270): 271-275.
- [12] Anderson D M, Anderson K M, Chang C L, *et al.* A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance[J]. *Cell*, 2015, 160(4): 595-606.
- [13] Bergmann J H, Spector D L. Long non-coding RNAs: modulators of nuclear structure and function[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2014, 26(1): 10-18.
- [14] Wierzbicki A T, Haag J R, Pikaard C S. Noncoding transcription by RNA polymerase Pol IVb/Pol V mediates transcriptional silencing of overlapping and adjacent genes[J]. *Cell*, 2008, 135(4): 635-648.
- [15] Lam M T Y, Li W B, Rosenfeld M G, *et al.* Enhancer RNAs and regulated transcriptional programs[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2014, 39(4): 170-182.
- [16] Hung T, Chang H Y. Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms[J]. *RNA Biology*, 2010, 7(5): 582-585.
- [17] Zhao X Y, Lin J D. Long noncoding RNAs: a new regulatory code in metabolic control[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2015, 40(10): 586-596.
- [18] St Laurent G, Wahlestedt C, Kapranov P. The landscape of long noncoding RNA classification[J]. *Trends in Genetics*, 2015, 31(5): 239-251.
- [19] Wang K C, Chang H Y. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs[J]. *Molecular Cell*, 2011, 43(6): 904-914.
- [20] Hung T, Wang Y L, Lin M F, *et al.* Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters[J]. *Nature Genetics*, 2011, 43(7): 621-629.
- [21] Kino T, Hurt D E, Ichijo T, *et al.* Noncoding RNA Gas5 is a growth arrest- and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor[J]. *Science Signaling*, 2010, 3(107): ra8.
- [22] Feng J C, Bi C M, Clark B S, *et al.* The *Eyf-2* noncoding RNA is transcribed from the *Dlx-5/6* ultraconserved region and functions as a *Dlx-2* transcriptional coactivator[J]. *Genes & Development*, 2006, 20(11): 1470-1484.
- [23] Carrieri C, Cimatti L, Biagioli M, *et al.* Long non-coding antisense RNA controls *Uchl1* translation through an embedded SINEB2 repeat[J]. *Nature*, 2012, 491(7424): 454-457.
- [24] Tripathi V, Ellis J D, Shen Z, *et al.* The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation[J]. *Molecular Cell*, 2010, 39(6): 925-938.
- [25] Huang Y, Nayak S, Jankowitz R, *et al.* Epigenetics in breast cancer: what's new?[J]. *Breast Cancer Research*, 2011, 13(6): 225.

- [26] Da Rocha S T, Boeva V, Escamilla-Del-Arenal M, *et al.* Jarid2 is implicated in the initial Xist-induced targeting of PRC2 to the inactive X chromosome[J]. *Molecular Cell*, 2014, 53(2): 301-316.
- [27] Rinn J L, Kertesz M, Wang J K, *et al.* Functional demarcation of active and silent chromatin domains in Human *HOX* Loci by noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1311-1323.
- [28] Sahu A, Singhal U, Chinnaiyan A M. Long noncoding RNAs in cancer: from function to translation[J]. *Trends in Cancer*, 2015, 1(2): 93-109.
- [29] Schmitt A M, Garcia J T, Hung T, *et al.* An Inducible long noncoding RNA amplifies DNA damage signaling[J]. *Nature Genetics*, 2016, 48(11): 1370-1376.
- [30] Martianov I, Ramadass A, Barros A S, *et al.* Repression of the human dihydrofolate reductase gene by a non-coding interfering transcript[J]. *Nature*, 2007, 445(7128): 666-670.
- [31] Lee J T. Lessons from X-chromosome inactivation: long ncRNA as guides and tethers to the epigenome[J]. *Genes & Development*, 2009, 23(16): 1831-1842.
- [32] Zappulla D C, Cech T R. Yeast telomerase RNA: a flexible scaffold for protein subunits[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(27): 10024-10029.
- [33] Song F B, Wang L M, Zhu W B, *et al.* Long noncoding RNA and mRNA expression profiles following *igf3* knockdown in common carp, *Cyprinus carpio*[J]. *Scientific Data*, 2019, 6: 190024.
- [34] Duan W, Xu K, Hu F Z, *et al.* Comparative proteomic, physiological, morphological, and biochemical analyses reveal the characteristics of the diploid spermatozoa of allotetraploid hybrids of red crucian carp (*Carassius auratus*) and common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Biology of Reproduction*, 2016, 94(2): 35.
- [35] Hu F Z, Xu K, Zhou Y F, *et al.* Different expression patterns of sperm motility-related genes in testis of diploid and tetraploid cyprinid fish[J]. *Biology of Reproduction*, 2017, 96(4): 907-920.
- [36] Guo X M, Hedgecock D, Hershberger W K, *et al.* Genetic determinants of protandric sex in the pacific oyster, *Crassostrea gigas* thunberg[J]. *Evolution*, 1998, 52(2): 394-402.
- [37] Yue C Y, Li Q, Yu H. Gonad transcriptome analysis of the pacific oyster *Crassostrea gigas* identifies potential genes regulating the sex determination and differentiation process[J]. *Marine Biotechnology*, 2018, 20(2): 206-219.
- [38] Batista P J, Chang H Y. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease[J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1298-1307.
- [39] Cesana M, Cacchiarelli D, Legnini I, *et al.* A long non-coding RNA controls muscle differentiation by functioning as a competing endogenous RNA[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 358-369.
- [40] Rinn J L, Chang H Y. Genome regulation by long non-coding RNAs[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2012, 81: 145-166.
- [41] Wang Y, Xu Z Y, Jiang J F, *et al.* Endogenous miRNA sponge lincRNA-RoR regulates Oct4, Nanog, and Sox2 in human embryonic stem cell self-renewal[J]. *Developmental Cell*, 2013, 25(1): 69-80.
- [42] Pauli A, Valen E, Lin M F, *et al.* Systematic identification of long noncoding RNAs expressed during Zebrafish embryogenesis[J]. *Genome Research*, 2012, 22(3): 577-591.
- [43] Forouzmand E, Owens N D L, Blitz I L, *et al.* Developmentally regulated long non-coding RNAs in *Xenopus tropicalis*[J]. *Developmental Biology*, 2017, 426(2): 401-408.
- [44] Sarangdhar M A, Chaubey D, Bhatt A, *et al.* A novel long non-coding RNA, durga modulates dendrite density and expression of Kalirin in Zebrafish[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2017, 10: 95.
- [45] Gao T H, Li J Y, Li N, *et al.* *Lncrps25* play an essential role in motor neuron development through controlling the expression of *Olig2* in Zebrafish[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2020, 235(4): 3485-3496.
- [46] Wu M L, Zhang S Q, Chen X, *et al.* Expression and function of lncRNA MALAT-1 in the embryonic development of Zebrafish[J]. *Gene*, 2019, 680: 65-71.
- [47] Sarangdhar M A, Chaubey D, Srikakulam N, *et al.* Parentally inherited long non-coding RNA cyrano is involved in Zebrafish neurodevelopment[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(18): 9726-9735.
- [48] Ray M K, Wiskow O, King M J, *et al.* CAT7 and Cat7l long non-coding rnas tune Polycomb repressive complex 1 function during human and Zebrafish development

- ment[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(37): 19558-19572.
- [49] Puri M C, Partanen J, Rossant J, *et al.* Interaction of the TEK and TIE receptor tyrosine kinases during cardiovascular development[J]. *Development*, 1999, 126(20): 4569-4580.
- [50] Puri M C, Rossant J, Alitalo K, *et al.* The receptor tyrosine kinase TIE is required for integrity and survival of vascular endothelial cells[J]. *The EMBO Journal*, 1995, 14(23): 5884-5891.
- [51] Sato T N, Qin Y, Kozak C A, *et al.* Tie-1 and Tie-2 define another class of putative receptor tyrosine kinase genes expressed in early embryonic vascular system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(20): 9355-9358.
- [52] Sato T N, Tozawa Y, Deutsch U, *et al.* Distinct roles of the receptor tyrosine kinases Tie-1 and Tie-2 in blood vessel formation[J]. *Nature*, 1995, 376(6535): 70-74.
- [53] Li K G, Blum Y, Verma A, *et al.* A noncoding antisense RNA in *tie-1* locus regulates *tie-1* function *in vivo*[J]. *Blood*, 2010, 115(1): 133-139.
- [54] Wang F, Ren D L, Liang X L, *et al.* A long noncoding RNA cluster-based genomic locus maintains proper development and visual function[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(12): 6315-6329.
- [55] 王德寿, 吴天利, 张耀光. 鱼类性别决定及其机制的研究进展[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2000, 25(3): 296-304.
- Wang D S, Wu T L, Zhang Y G. Fish sex determination and its mechanisms : a review[J]. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 2000, 25(3): 296-304(in Chinese).
- [56] McHugh C A, Chen C K, Chow A, *et al.* The *Xist* lncRNA interacts directly with SHARP to silence transcription through HDAC3[J]. *Nature*, 2015, 521(7551): 232-236.
- [57] Mulvey B B, Olcese U, Cabrera J R, *et al.* An interactive network of long non-coding RNAs facilitates the *Drosophila* sex determination decision[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 2014, 1839(9): 773-784.
- [58] Zhang L, Lu H, Xin D Z, *et al.* A novel ncRNA gene from mouse chromosome 5 trans-splices with *Dmrt1* on chromosome 19[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010, 400(4): 696-700.
- [59] Zhang J, Yu P, Zhou Q Y, *et al.* Screening and Characterisation of sex differentiation-related long non-coding RNAs in Chinese soft-shell turtle (*Pelodiscus sinensis*)[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 8630.
- [60] 彭锬, 宋凌云, 乔栖梧, 等. 尼罗罗非鱼雌性性腺关键 lncRNA 的鉴定和表达分析[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2019, 44(6): 40-45.
- Peng K, Song L Y, Qiao X W, *et al.* Identification and expression analysis of a key lncRNA in the gonads of female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 2019, 44(6): 40-45(in Chinese).
- [61] 葛楚天, 孙伟, 桑亚鹏, 等. 中华鳖 *Dmrt1* 基因的克隆、表达及在性逆转中的变化分析[J]. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44(11): 1173-1182.
- Ge C T, Sun W, Sang Y P, *et al.* Molecular cloning and expression pattern of *Dmrt1* and its expression change in sex reversal in *Pelodiscus sinensis*[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2014, 44(11): 1173-1182(in Chinese).
- [62] 孙伟, 史思瑞, 蔡晗, 等. 中华鳖 *Dmrt1* 基因在雄性性别分化中的功能分析[J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45(9): 881-889.
- Sun W, Shi S R, Cai H, *et al.* Function analysis of *Dmrt1* in male sexual differentiation in *Pelodiscus sinensis*[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2015, 45(9): 881-889(in Chinese).
- [63] 张一, 张海艳, 张辉皇, 等. *Dmrt1* 基因在红耳龟温度依赖性性别决定中的功能研究[J]. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46(6): 735-743.
- Zhang Y, Zhang H Y, Zhang H H, *et al.* Functional analysis of *Dmrt1* in temperature dependent sex determination in *Trachemys scripta*[J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2016, 46(6): 735-743(in Chinese).
- [64] Chojnowski J L, Braun E L. An unbiased approach to identify genes involved in development in a turtle with temperature-dependent sex determination[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 308.
- [65] Cai J, Li L, Song L Y, *et al.* Effects of long term antiprogesterone mifepristone (RU486) exposure on sexually dimorphic lncRNA expression and gonadal masculinization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 215: 105289.
- [66] Yang X L, Ikhwanuddin M, Li X C, *et al.* Comparative transcriptome analysis provides insights into differen-

- tially expressed genes and long non-coding RNAs between ovary and testis of the mud crab (*Scylla paramamosain*)[J]. *Marine Biotechnology*, 2018, 20(1): 20-34.
- [67] Sheng Z G, Huang W, Liu Y X, *et al.* Ofloxacin induces apoptosis via $\beta 1$ integrin-EGFR-Rac1-Nox2 pathway in microencapsulated chondrocytes[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013, 267(1): 74-87.
- [68] Wang X D, Lin J B, Li F H, *et al.* Screening and functional identification of lncRNAs under β -diketone antibiotic exposure to zebrafish (*Danio rerio*) using high-throughput sequencing[J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 182: 214-225.
- [69] Paneru B, Al-Tobasei R, Palti Y, *et al.* Differential expression of long non-coding RNAs in three genetic lines of rainbow trout in response to infection with *Flavobacterium psychrophilum*[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 36032.
- [70] Wei N, Pang W J, Wang Y, *et al.* Knockdown of PU.1 mRNA and as lncRNA Regulates expression of immune-related genes in zebrafish *Danio rerio*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2014, 44(2): 315-319.
- [71] Luo H L, Yang H Z, Lin Y, *et al.* LncRNA and mRNA profiling during activation of tilapia macrophages by HSP70 and *Streptococcus agalactiae* antigen[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 98455-98470.
- [72] Campbell L J, Hammond S A, Price S J, *et al.* A Novel approach to wildlife transcriptomics provides evidence of disease-mediated differential expression and changes to the microbiome of amphibian populations[J]. *Molecular Ecology*, 2018, 27(6): 1413-1427.
- [73] Sun W M, Feng J X. Differential lncRNA expression profiles reveal the potential roles of lncRNAs in antiviral immune response of *Crassostrea gigas*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 81: 233-241.
- [74] 李法君, 李明爽, 付春鹏, 等. MicroRNA在水产动物中的研究进展[J]. *水产学报*, 2016, 40(6): 976-992.
- Li F J, Li M S, Fu C P, *et al.* Research progress of miRNA in aquatic animals[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(6): 976-992(in Chinese).
- [75] Cao M X, Song F, Yang X, *et al.* Identification of potential long noncoding RNA biomarker of mercury compounds in zebrafish embryos[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2019, 32(5): 878-886.
- [76] Xu H G, Cao L, Sun B, *et al.* Transcriptomic analysis of potential "lncRNA-mRNA" interactions in liver of the marine teleost *Cynoglossus semilaevis* fed diets with different DHA/EPA ratios[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 331.
- [77] Abernathy J, Overturf K. Expression of antisense long noncoding RNAs as potential regulators in rainbow trout with different tolerance to plant-based diets[J]. *Animal Biotechnology*, 2019, 30(1): 87-94.
- [78] Teresa Gonçalves A, Núñez-Acuña G, Détrée C, *et al.* Coding/non-coding cross-talk in intestinal epithelium transcriptome gives insights on how fish respond to stocking density[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2019, 29: 14-23.
- [79] Núñez-Acuña G, Détrée C, Gallardo-Escárate C, *et al.* Functional diets modulate lncRNA-coding RNAs and gene interactions in the intestine of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Marine Biotechnology*, 2017, 19(3): 287-300.
- [80] Mu C, Wang R J, Li T Q, *et al.* Long non-coding RNAs (lncRNAs) of sea cucumber: large-scale prediction, expression profiling, non-coding network construction, and lncRNA-microRNA-gene interaction analysis of lncRNAs in *Apostichopus japonicus* and *Holothuria glaberrima* during LPS challenge and radial organ complex regeneration[J]. *Marine Biotechnology*, 2016, 18(4): 485-499.
- [81] Paneru B, Ali A, Al-Tobasei R, *et al.* Crosstalk among lncRNAs, microRNAs and mRNAs in the muscle 'degradome' of rainbow trout[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 8416.
- [82] Ali A, Al-Tobasei R, Kenney B, *et al.* Integrated analysis of lncRNA and mRNA expression in rainbow trout families showing variation in muscle growth and fillet quality traits[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 12111.
- [83] Luo M K, Wang L M, Yin H R, *et al.* Integrated analysis of long non-coding RNA and mRNA expression in different colored skin of koi carp[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 515.
- [84] Feng D D, Li Q, Yu H, *et al.* Transcriptional profiling of long non-coding RNAs in mantle of *Crassostrea gigas* and their association with shell pigmentation[J]. *Sci-*

- entific Reports, 2018, 8(1): 1436.
- [85] Park J, Belden W J. Long non-coding RNAs have age-dependent diurnal expression that coincides with age-related changes in genome-wide facultative heterochromatin[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 777.
- [86] 王智诚, 周晓旭, 王昊泽, 等. 长链非编码RNA及其在斑马鱼中的研究进展[J]. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(2): 248-254.
- Wang Z C, Zhou X X, Wang H Z, *et al.* Long non-coding RNA and its research advances in zebrafish *Danio rerio*: a review[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2017, 32(2): 248-254(in Chinese).
- [87] 王昱文, 成秉林, 张淑君. LncRNA的生物标记作用及MEG3在肿瘤中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(2): 308-311.
- Wang Y W, Cheng B L, Zhang S J. Research progress of the role of lncRNA as biomarkers and MEG3 in tumors[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2017, 25(2): 308-311(in Chinese).

Research progress of lncRNA in aquatic animals

SONG Feibiao¹, YU Zhenzhen², DONG Zaijie^{2,3}, WANG Lanmei³, TIAN Xue¹,
WU Limin¹, DONG Chuanju¹, LI Xuejun^{1*}

(1. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214128, China;

3. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Freshwater Fisheries Research Centre of Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: Long non-coding RNA (lncRNA) is a kind of RNA with the length over 200 bp and lack of open reading frame and conserved codon, without the potential of protein-coding. lncRNA can interact with RNA, DNA or proteins to mediate the regulation of target genes and play its role at the transcriptional, posttranscriptional and epigenetic levels. A lot of researches have shown that lncRNA plays a key role in reproduction, embryo development, sex differentiation, immunity and metabolism. Recently, numerous research findings about lncRNAs in aquatic animals have achieved certain results. However, no comprehensive summary has been reported in this aspect so far. In view of this, this paper mainly reviews the definition and classification, biological characteristics, mechanism of action and research progress of lncRNAs in aquatic animals. The aim of this review is to provide basic references for analyzing prospects of further development about lncRNAs in aquatic animals.

Key words: aquatic animals; lncRNA; biological function; research progress

Corresponding author: LI Xuejun. E-mail: xjli@htu.cn

Funding projects: National Natural Science Funding of China (31702316)