



黄少聪, 李莉珍, 徐豪, 等. 大黄鱼视蛋白的鉴定、进化及表达分析 [J]. 水产学报, 2026, 50(5): 059111.

Huang S C, Li L Z, Xu H, *et al.* Identification, evolution, and expression analysis of OPN in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2026, 50(5): 059111 (in Chinese).

大黄鱼视蛋白的鉴定、进化及表达分析

黄少聪^{1,2}, 李莉珍^{1,2}, 徐豪¹, 吉群¹, 吴彤彤^{1,2},
吴龙浩^{1,3}, 宋炜^{1,2,3*}

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 浙江海洋大学国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 舟山 316022)

摘要: 【目的】视蛋白 (OPN) 是介导鱼类光信号感受与传导的蛋白, 在视觉发育、摄食行为及环境适应中发挥重要作用。本研究解析了大黄鱼视蛋白基因家族的组成特征、进化规律及其表达模式。【方法】采用生物信息学方法鉴定大黄鱼 *opsin* 基因家族成员, 分析其理化性质、保守基序、结构域特征及系统发育关系, 并通过 qRT-PCR 技术检测其在早期发育阶段的表达模式及不同光色处理下的响应特征。【结果】大黄鱼共鉴定出 25 个 *opsin* 基因, 编码区长度为 334~540 个氨基酸, 预测分子质量为 37.1~62.3 ku, 等电点为 5.95~9.57, 均定位于细胞膜。所有 OPN 蛋白均含有 7 个保守基序和典型的 7 次跨膜结构域 (7tm_1), 归属于 Class A 型 G 蛋白偶联受体超家族, 二级结构以 α -螺旋 (30.07%~40.41%) 和无规则卷曲 (44.54%~55.93%) 为主。系统发育分析显示, 大黄鱼 *opsin* 基因可分为视觉型和非视觉型两大类, 视觉型 *opsin* 包括 *rho*、*opn1lw1*、*opn1sw2* 和 *rh2a*; 非视觉型 *opsin* 包括 *opn3*、*opn4*、*opn5* 等多个亚型。转录组分析显示, 大黄鱼 *opsin* 基因在 1~35 日龄发育阶段整体表达水平较低, 其中 *rho* 和 *opn1lw1* 在 15 日龄显著上调。光谱胁迫结果表明, 蓝光可显著上调 *rh2a* 和 *opn1sw2* 的表达, 提示其在视觉形成及光谱调控中发挥核心作用。【结论】大黄鱼 *opsin* 基因家族在结构上高度保守, 并在发育过程中呈现阶段性和光谱依赖性的表达特征。本研究可为优化人工育苗中的饵料投喂及育苗技术的提升提供科学依据。

关键词: 大黄鱼; *opsin* 基因家族; 光谱响应; 视觉发育

中图分类号: Q 785; S 917.4

文献标志码: A

视觉系统在鱼类环境适应过程中发挥着关键作用, 直接影响其摄食行为与逃避天敌等过程^[1]。视蛋白 (OPN) 是一类光敏性 G 蛋白偶联受体 (G

protein-coupled receptors, GPCRs), 是视觉系统的核心组成部分, 在鱼类光信号感受与传导过程中发挥关键作用^[2]。根据功能的不同, 视蛋白可分

收稿日期: 2025-11-29 修回日期: 2026-01-25

资助项目: 国家重点研发计划 (2022YFD2401102, 2023YFC2812105); 青岛海洋科技中心山东省专项经费 (2022QNL30001); 国家海洋设施养殖工程技术研究中心开放课题 (NERC202413); 中国水产科学研究院基本科研业务费 (2023TD82)

第一作者: 黄少聪, 从事鱼类发育生物学研究, E-mail: 2254593169@qq.com

通信作者: 宋炜, 从事海洋鱼类繁殖生物学, E-mail: songw@ecsf.ac.cn



为视觉视蛋白和非视觉视蛋白两大类^[3]。视觉视蛋白主要分布于视网膜的杆细胞和锥细胞,负责介导明暗视觉与色觉感知^[4];非视觉视蛋白广泛分布于松果体、脑、皮肤等组织,参与昼夜节律调控、内分泌调节及光适应性行为反应^[5]。

鱼类 *opsin* 基因家族经历了多次复制与丢失事件,不同物种通过基因结构与表达调控的差异适应各自的水环境^[6]。这一光环境驱动分子适应机制为海水养殖条件下鱼类对人工光照的生理响应提供了理论参考。由于人工育苗光谱与天然水体存在差异,视觉系统的发育水平直接影响仔、稚鱼的开口摄食与饵料识别效率^[7]。因此,从 *opsin* 基因家族层面解析其组成与表达特征,对于育苗技术的提升具有重要意义。

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 隶属于鲈形目 (Perciformes) 石首鱼科 (Sciaenidae)^[8]。2024 年我国大黄鱼养殖产量达 29.26 万 t,是我国重要的海水养殖经济鱼类之一^[9],然而,其在人工育苗过程中饵料投喂及育种技术仍有待提升^[10]。尽管已有研究关注大黄鱼的骨骼发育^[11]、营养需求^[12-13]、肌原纤维蛋白结构^[14]、品质评价^[15] 及环境因子胁迫响应^[16-18] 等方面,但关于其视觉发育的研究仍然有限,尤其是对视蛋白功能与进化的探索尚显不足。

本研究基于大黄鱼基因组和转录组测序数据,对大黄鱼视蛋白基因家族进行系统鉴定与分析,并利用 qRT-PCR 技术检测该基因家族在不同发育阶段和光谱条件下的表达调控模式,旨在为大黄鱼视蛋白基因家族的进化特征及其功能研究提供理论基础,为优化人工育苗中的饵料投喂及育苗技术的提升提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用大黄鱼仔、稚鱼由福建省宁德市某良种场提供。实验鱼自孵化起在 24.5~25.5 °C 的养殖条件下饲养。自孵化开始连续 40 d,每日上午 9:00 进行行为观察,以监测视觉反应的发育过程。选取孵化后 1、7、15、24 和 35 日龄 5 个代表性发育阶段进行后续分析。

选取 15 日龄大黄鱼仔鱼进行光谱实验,设置 3 个平行组,实验 4 种 LED 光谱处理:白光、

蓝光(波峰 449 nm)、绿光(波峰 516 nm)和红光(波峰 635 nm)。所有光源均采用相同型号 LED 灯具,并在相同安装高度、照射范围内进行处理。灯具光谱采用分光光度计(柯尼卡美能达 CS-2000)测定。实验场地及材料由中国水产科学研究院东海水产研究所福鼎研究中心提供。

实验设置 4 个水箱,每个水箱放置 3 个相同的养殖盒,LED 灯悬挂于水箱中心正上方。光照实验持续 72 h,其间通过加热棒和水浴系统维持水温在 24 °C,保持充分曝气,并每日更换 50% 水体。水箱外部使用遮光布遮挡外界光线,光周期设置为 24 L : 0 D。

实验结束后立即采集样品,实验部分样品固定于 Bouin 氏液,经 70% 乙醇漂洗后,置于 4 °C 保存;一部分样品液氮速冻,置于 -80 °C 保存。每组取 3 个生物学重复的样品,并按要求进行处理和保存。所有实验操作均严格遵循中国科学院动物实验伦理委员会的相关指导原则(IACUC 批准编号: 160413)。本研究未涉及任何濒危或受保护物种。所有大黄鱼实验个体均按照批准的实验流程进行麻醉和安乐处置,以最大程度减少动物痛苦。

1.2 RNA 提取与 cDNA 合成

从 5 个不同发育时期的转录组样品中,每个实验组挑选 3 尾个体采集眼组织,使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen, 美国) 提取总 RNA,操作严格按照厂家说明进行。随后,对 mRNA 进行纯化与片段化,并利用 Illumina mRNA-Seq 文库构建试剂盒 (Illumina, 美国) 反转录生成 cDNA 文库。

对于光谱实验样品,总 RNA 使用 RNA Easy Fast 动物组织/细胞总 RNA 提取试剂盒 [天根生化科技(北京)有限公司] 提取。提取的 RNA 浓度通过超微量分光光度计 (NanoDrop OneC, 赛默飞世尔科技公司, 美国) 测定, RNA 完整性使用 1% 琼脂糖凝胶电泳验证,以确保符合 PCR 扩增及 qRT-PCR 要求。随后,使用 FastKing 一步法除基因组 DNA 的 cDNA 第一链合成预混试剂 [天根生化科技(北京)有限公司] 将 RNA 反转录为 cDNA,用于后续定量分析。

1.3 转录组测序分析

测序工作由上海英拜生物科技有限公司完成。在 Illumina HiSeq 2000 平台进行双端测序 (2 × 100

bp), 平均插入片段大小为 (300 ± 50) bp。根据测序结果筛选获得大黄鱼视蛋白家族基因的表达量 (FPKM)。

1.4 视蛋白基因家族的全基因组筛选、鉴定及进化分析

从本实验室构建的大黄鱼转录组数据库中筛选 *opsin* 基因序列, 并从 NCBI 数据库中下载大黄鱼基因组序列和注释文件 (GCF_000972845.2), 使用 TBtools 可视化 *opsin* 基因家族在染色体上的位置和保守结构域, 蛋白基序使用 MEME 预测; 利用 ExPASy 软件分析其理化性质; 通过 Cell-PLoc 2.0 软件预测 OPN 蛋白的亚细胞定位; 采用 SMART 软件分析蛋白结构域特征; 通过 SOPMA 软件预测 OPN 蛋白的二级结构; 并使用 SWISS-MODEL 软件建立蛋白质三级结构模型; 为明确大黄鱼 *opsin* 基因家族成员的系统发育关系, 本研究选取模式鱼类斑马鱼 (*Danio rerio*) 中注释完善的 OPN 蛋白序列作为参考, 与大黄鱼候选 OPN 蛋白序列联合构建系统发育树。蛋白序列经 MEGA 11 软件 (邻接法) 比对分析。依据斑马鱼 *opsin* 亚型的聚类结果, 对大黄鱼 *opsin* 基因的分类归属进行判定; 将大黄鱼 *Lc-rh2a* 和 *Lc-opn1hw1* 的氨基酸序列与斑马鱼对应 OPN 氨基酸序列进行多序列比对。比对结果按照牛视紫红质编号体系进行编号, 并对视黄醛结合口袋周围的关键氨基酸位点 (第 83、122、265 和 292 位点) 进行分析。

1.5 组织学观察

样品经 Bouin 氏液固定后, 按常规方法进行石蜡包埋和切片 (厚度 6~8 μm)。切片经脱蜡复水后进行苏木精-伊红 (H.E) 染色, 并在尼康光学显微镜 (ECLIPSE E100) 下观察和拍照记录组织结构形态特征。

1.6 荧光定量实验

挑选视蛋白基因 (表 1), 以 β -actin 作为内参基因进行实时荧光定量 PCR 实验, 通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的相对表达量。

qRT-PCR 反应体系为 20 μL , 其中包括 $2 \times$ FastReal qPCR premix (SYBR Green) 10 μL 、上下游引物各 0.6 μL 、dd H_2O 7.8 μL 、cDNA 模板 1 μL 。反应条件: 95 $^\circ\text{C}$ 预变性 2 min、95 $^\circ\text{C}$ 变性 5 s; 52 $^\circ\text{C}$ 退火 10 s; 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 15 s; 共 40 个循环, 最后采用熔解曲线法检测引物是否特异性。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primers used for sequencing

引物名称 primer	引物序列(5'~3') sequence of primer(5'~3')
<i>β-actin-F</i>	TCGTGCGTGACATCAAGGAGAA
<i>β-actin-R</i>	ACCGAGGAAGGATGGCTGGAA
<i>Lc-opn1hw1-F</i>	CTGGGTCTGGTCAGCAGTTTGG
<i>Lc-opn1hw1-R</i>	ACATCAGGTCCGCAAGAGGTCT
<i>Lc-rh2a-F</i>	CATCCTGGTCAACCTGGCTGTG
<i>Lc-rh2a-R</i>	GCAGGCAGTGGCTCCAAGAAT
<i>Lc-opn1sw2-F</i>	CAGTGCTCCTGTGGTCCAGACT
<i>Lc-opn1sw2-R</i>	CTTGTGCCTTCGCTGCCAGTT

1.7 数据分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析。所有数据均来源于 3 个独立的生物学重复, 以平均值 \pm 标准差表示。对于早期发育阶段的仔鱼样品, 每个生物学重复由 3 尾同一条条件下的仔鱼混合构成。在进行统计分析前, 首先采用 Shapiro-Wilk 检验对数据进行正态性检验, 并采用 Levene 检验检验方差齐性。对于符合正态分布且满足方差齐性的样本数据, 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行组间差异比较, 并使用 Tukey's honestly significant difference (HSD) 多重比较检验分析各组之间的显著性差异。显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。采用 GraphPad Prism 9.0 软件绘制图表。

2 结果

2.1 大黄鱼 *opsin* 基因家族的染色体分布

在大黄鱼中共鉴定出 *Lc-opn1hw1*、*Lc-opn1sw2*、*Lc-rh2a*、*Lc-rho*、*Lc-opn3*、*Lc-opn4xa*、*Lc-opn4xb*、*Lc-opn5*、*Lc-opn6a*、*Lc-opn7a*、*Lc-opn7b*、*Lc-opn7d*、*Lc-opn8a*、*Lc-opn8b*、*Lc-opn8c*、*Lc-parapinopsina*、*Lc-parapinopsinb*、*Lc-parietopsin*、*Lc-rrh*、*Lc-tmtops2b*、*Lc-tmtops3a*、*Lc-tmtops3b*、*Lc-tmtopsa*、*Lc-tmtopsb*、*Lc-valopa* 共 25 个 *opsin* 基因。大黄鱼 *opsin* 基因家族 25 个成员分别位于大黄鱼的 1、2、3、5、6、9、11、12、15、18、21、22 及 23 号染色体上 (图 1), 其中染色体 3、6、11 及 15 号染色体含有基因数量最多。

2.2 大黄鱼 *opsin* 基因家族理化性质和亚细胞定位预测

25 个大黄鱼 *opsin* 基因的编码区长度整体相

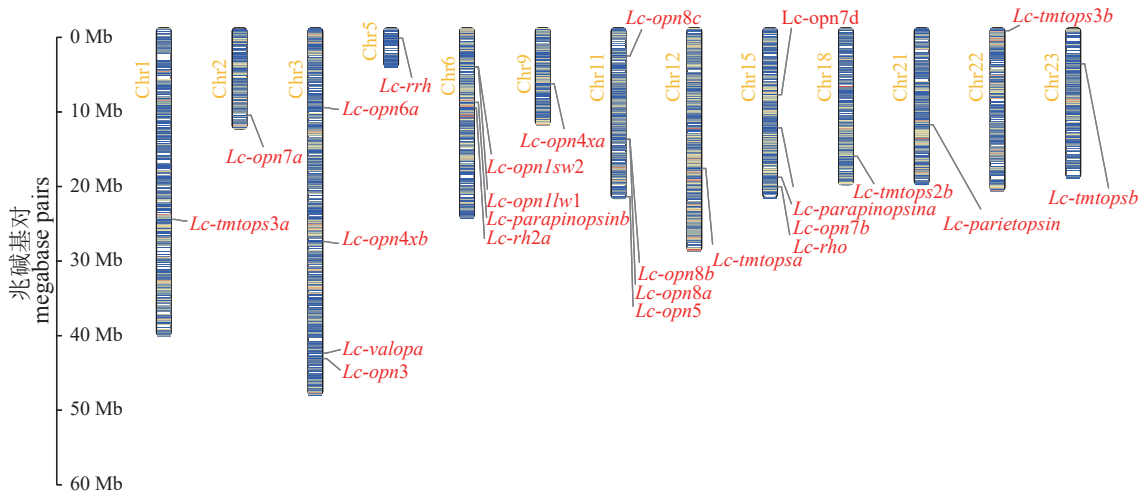


图 1 *opsin* 家族基因在大黄鱼染色体上的分布

Fig. 1 Distribution of *opsin* family genes in chromosome of *L. crocea*

差不多，最长的为 *Lc-opn4xa*，可编码 540 个氨基酸，最短的为 *Lc-rrh*，可编码 334 个氨基酸。大黄鱼 *opsin* 基因的预测分子质量范围为 37.1~62.3 ku。预测等电点范围为 5.95~9.57(表 3)。对大黄鱼 OPN 蛋白进行亚细胞定位预测，发现视蛋白均位于细胞膜(表 3)。

2.3 大黄鱼 *opsin* 基因家族结构分析

针对大黄鱼 OPN 蛋白共鉴定出 10 个保守的 motif，分别命名为 motif 1~10，分析发现大黄鱼 OPN 中 motif 的数量和类型是相对保守的，motif 1、2、3、4、5、6、8 在所有的大黄鱼 OPN 中均存在，且排列顺序都是 motif 8、4、3、1、6、5、2(表 4)。另外，相同的亚家族成员具有十分相似的 motif 组成(图 2)。

结构域分析结果显示，大黄鱼所有 OPN 均检测到典型的 7 次跨膜结构域 7tm_1 (Pfam: PF00001)，归属于视紫红质样 G 蛋白偶联受体家族 (Rhodopsin-like GPCR, Class A) (图 3)。不同亚型的结构域分化，视觉 OPN 主要检测到与光谱敏感性相关的结构域类型，如 SWS2_opsin(蓝光敏感型)和 LWS_opsin(红光敏感型)。非视觉 OPN(如 OPN4、OPN5 等)则检测到功能特异性结构域 7tmA_Melanopsin 与 7tmA_Opsin5_neuroopsin。且共有 23 个 *opsin* 基因检测到 PHA03087、PHA02638 和 PHA02834 等家族结构域。

2.4 大黄鱼 *opsin* 基因家族二级结构和三级结构预测

二级结构预测分析表明，大黄 *opsin* 家族 25

个成员的二级结构组成高度相似。所有蛋白均不含 β -折叠， α -螺旋(占 30.07%~40.41%)和无规则卷曲(占 44.54%~55.93%)是其结构元件。基于对大黄鱼 *opsin* 基因家族蛋白的二级结构预测(表 3)，发现该基因家族的蛋白质三级结构主要由无规则卷曲、延伸链及 α -螺旋组成(图 4)。

2.5 *opsin* 基因家族系统发育分析

为探讨大黄鱼 *opsin* 基因家族的进化关系，以斑马鱼已注释的 OPN 氨基酸序列为参考，从 NCBI 数据库下载氨基酸序列(表 2)，与大黄鱼候选 OPN 氨基酸序列进行多序列比对。基于比对结果，利用 MEGA11 软件采用邻接法构建系统发育树(Bootstrap = 1000)(图 5)。系统发育树结果显示，鱼类 *opsin* 家族可分为 3 大主要分支 (Branch I~III)。Branch I 由 *opn4* 家族成员 (黑视蛋白基因，Melanopsin) 单独形成，显示其在进化上独立分化，代表典型的非视觉光感受亚型；Branch II 包含多个非视觉 *opsin* 亚群，其中 *opn6* 单独聚为一支，*opn5*、*opn7* 与 *opn8* 共同形成一支，*rrh* 则构成另一独立分支；Branch III 主要由视觉相关 *opsin* 组成，包括 *opn1lw1*、*opn1lw2*、*rho*、*opn1sw2*、*opn1sw1* 和 *rh2a* 等，这些基因共同聚为一支。此外，*valopa* 与视觉 *opsin* 聚为同一分支。*parapinopsina* 与 *parapinopsinb* 形成独立亚支，而 *parietopsin* 则位于该分支外侧，与其他松果体相关 *opsin* 保持较近亲缘关系。大黄鱼 *opsin* 基因家族在系统发育树上与斑马鱼 *opsin* 呈现良好的同源聚类关系，视觉 *opsin* 与非视觉 *opsin* 明显分化。

表 2 系统发育树构建中使用的 *opsin* 氨基酸序列Tab. 2 *opsin* amino acid sequences used in phylogenetic tree construction

基因 gene	物种 species	登录号 accession number	基因 gene	物种 species	登录号 accession number
<i>Lc-opn1lw1</i>	大黄鱼	XP_010754331.1	<i>Dr-valopa</i>	斑马鱼	NP_571 661.1
<i>Lc-opn1sw2</i>	<i>L. crocea</i>	XP_010754316.1	<i>Dr-valopb</i>	<i>D. rerio</i>	NP_001103750.1
<i>Lc-rh2a</i>		XP_019118059.2	<i>Dr-opn1lw1</i>		NP_001300644.1
<i>Lc-rho</i>		XP_010740392.1	<i>Dr-opn1lw2</i>		NP_001002443.1
<i>Lc-opn3</i>		XP_010732894.1	<i>Dr-opn4a</i>		XP_073775997.1
<i>Lc-opn4xa</i>		XP_010736394.3	<i>Dr-opn4b</i>		NP_001245153.1
<i>Lc-opn4xb</i>		XP_010730783.2	<i>Dr-opn6a</i>		NP_001073125.2
<i>Lc-opn5</i>		XP_019132520.1	<i>Dr-opn7b</i>		NP_001303878.1
<i>Lc-opn6a</i>		XP_010728177.2	<i>Dr-opn8a</i>		NP_001303876.1
<i>Lc-opn7a</i>		XP_019117643.2	<i>Dr-opn8b</i>		NP_001303874.1
<i>Lc-opn7b</i>		XP_027144743.1	<i>Dr-opn8c</i>		NP_001304693.1
<i>Lc-opn7d</i>		XP_027144624.1	<i>Dr-parapinopsina</i>		NP_001304685.1
<i>Lc-opn8a</i>		XP_027140091.1	<i>Dr-parapinopsinb</i>		NP_001428334.1
<i>Lc-opn8b</i>		XP_019125404.1	<i>Dr-rho</i>		NP_571 159.2
<i>Lc-opn8c</i>		XP_010744502.3	<i>Dr-rrh</i>		NP_001004654.3
<i>Lc-parapinopsina</i>		XP_010746869.2	<i>Dr-tmtopsa</i>		NP_001112371.1
<i>Lc-parapinopsinb</i>		XP_010736993.3	<i>Dr-opn1mw1</i>		NP_571 328.2
<i>Lc-parietopsin</i>		XP_010755635.2	<i>Dr-opn1mw2</i>		NP_878 311.1
<i>Lc-rrh</i>		XP_010755153.2	<i>Dr-opn1mw3</i>		NP_878 312.1
<i>Lc-tmtops2b</i>		XP_010745564.3	<i>Dr-opn1mw4</i>		NP_571 329.1
<i>Lc-tmtops3a</i>		XP_010727954.3	<i>Dr-opn1sw1</i>		NP_571 394.2
<i>Lc-tmtops3b</i>		XP_027129101.1	<i>Dr-opn1sw2</i>		NP_571 267.1
<i>Lc-tmtopsa</i>		XP_027129101.1	<i>Dr-opn3</i>		NP_001104634.1
<i>Lc-tmtopsb</i>		XP_010750768.3	<i>Dr-opn5</i>		XP_073788979.1
<i>Lc-valopa</i>		XP_010753558.1	<i>Dr-opn7a</i>		NP_001303877.1
			<i>Bt-rho</i>	牛 <i>Bos taurus</i>	NP_001014890.1

2.6 *rh2a* 和 *opn1lw1* 关键光谱调控位点的氨基酸特征分析

基于牛视紫红质编号体系, 对大黄鱼中 *Lc-opn1lw1* 和 *Lc-rh2a* 的关键光谱调控位点进行了氨基酸比对分析。在 *Lc-opn1lw1* 中, 与牛视紫红质第 122 位同源的位置在大黄鱼和斑马鱼中均由谷氨酸 (E) 替换为异亮氨酸 (I), 而其他关键位点未观察到明显差异。该结果表明, 红色 *opsin* 在该位点上发生了相同的氨基酸替换, 可能反映了在长波光感知功能上的共同分子特征, 而非物种特异性的光谱偏移 (图 6); 在 *Lc-rh2a* 中, 与牛视紫红质第 83 位同源的位置为甘氨酸 (G), 与斑马鱼 *Dr-opn1mw1*、*Dr-opn1mw2*、*Dr-opn1mw3*、*Dr-opn1mw4* 保持一致, 表现出较高的保守性。在第 122 位同源位置上, 大黄鱼 *Lc-rh2a* 为谷氨酸 (E),

与斑马鱼 *Dr-opn1mw3* 一致, 而不同于 *Dr-opn1mw1*、*Dr-opn1mw2* 和 *Dr-opn1mw4* 中的谷氨酰胺 (Q) 替换 (图 7)。在 *rh2a* 和 *opn1lw1* 氨基酸序列中, 大黄鱼在关键光谱调控位点上均未表现出指示显著蓝移或红移的特征性氨基酸组合。

2.7 大黄鱼早期发育阶段视网膜的组织学特征

1 日龄仔鱼视网膜分层尚未完全形成, 各层结构界限不清, 外核层 (ONL) 与神经节细胞层 (GCL) 分化不明显。至 7 日龄时, 视网膜已呈现较为清晰的层状结构, 可辨识色素上皮层 (RPE)、感光细胞层 (PRL)、外核层 (ONL)、内核层 (INL) 及神经节细胞层 (GCL)。此阶段视杆与视锥细胞外节开始出现, 排列相对规整, RPE 细胞核呈细长扁平状。15 日龄仔鱼视网膜进一步发育, ONL 层厚度明显增加, 而 GCL 层相对变薄; 感光细胞层

表 3 大黄鱼 OPN 蛋白理化性质

Tab. 3 Physicochemical properties of OPN proteins in *L. crocea*

基因 gene	氨基酸数量 number of amino acids	蛋白分子量/u molecular weight	等电点 theoretical pI	亚细胞定位 subcellular location	α -螺旋/% α -helix	β -折叠/% β -turn	无规则卷曲/% random coil	延伸链/% extended strand
<i>Lc-opn1lw1</i>	358	40 127.80	6.75	细胞膜 cell membrane	37.99	0	45.25	16.76
<i>Lc-opn1sw2</i>	352	39 263.38	6.74	细胞膜 cell membrane	37.78	0	47.16	15.06
<i>Lc-opn4xb</i>	552	62 281.54	9.57	细胞膜 cell membrane	30.07	0	58.33	11.59
<i>Lc-opn5</i>	356	40 243.33	8.51	细胞膜 cell membrane	36.52	0	48.03	15.45
<i>Lc-opn7a</i>	411	45 947.27	7.02	细胞膜 cell membrane	32.36	0	52.80	14.84
<i>Lc-opn8a</i>	339	37 881.89	7.67	细胞膜 cell membrane	40.41	0	44.54	15.04
<i>Lc-opn8b</i>	351	39 360.77	9.22	细胞膜 cell membrane	38.18	0	46.72	15.10
<i>Lc-opn8c</i>	514	57 745.05	9.70	细胞膜 cell membrane	30.16	0	52.72	17.12
<i>Lc-parapinopsina</i>	347	38 434.30	6.97	细胞膜 cell membrane	38.04	0	47.26	14.70
<i>Lc-parietopsin</i>	359	40 398.88	8.00	细胞膜 cell membrane	38.44	0	47.91	13.65
<i>Lc-rh2a</i>	353	38 822.49	6.45	细胞膜 cell membrane	39.09	0	45.04	15.86
<i>Lc-rrh</i>	334	37 017.77	7.54	细胞膜 cell membrane	40.12	0	44.91	14.97
<i>Lc-tmtops2b</i>	379	42 069.86	9.41	细胞膜 cell membrane	34.30	0	52.51	13.19
<i>Lc-tmtops3a</i>	391	43 075.52	9.37	细胞膜 cell membrane	34.02	0	51.41	14.58
<i>Lc-tmtops3b</i>	377	41 156.50	8.12	细胞膜 cell membrane	33.69	0	52.25	14.06
<i>Lc-tmtopsa</i>	407	44 318.27	7.31	细胞膜 cell membrane	32.68	0	53.81	13.51
<i>Lc-tmtopsb</i>	402	44 338.30	7.73	细胞膜 cell membrane	31.84	0	52.49	15.67
<i>Lc-valopa</i>	387	43 374.00	9.32	细胞膜 cell membrane	35.14	0	51.16	13.70
<i>Lc-opn3</i>	386	43 924.94	9.00	细胞膜 cell membrane	34.46	0	51.81	13.73
<i>Lc-opn4xa</i>	540	61 389.79	6.88	细胞膜 cell membrane	34.44	0	55.93	9.63
<i>Lc-opn6a</i>	412	46 680.33	7.10	细胞膜 cell membrane	32.77	0	52.18	15.05
<i>Lc-opn7b</i>	405	44 576.44	6.87	细胞膜 cell membrane	36.30	0	50.62	13.09
<i>Lc-opn7d</i>	405	44 453.80	6.75	细胞膜 cell membrane	37.04	0	50.12	12.84
<i>Lc-parapinopsinb</i>	337	37 066.88	6.86	细胞膜 cell membrane	40.95	0	45.99	13.06
<i>Lc-rho</i>	350	39 059.74	5.95	细胞膜 cell membrane	38.86	0	47.43	13.71

表 4 OPN 蛋白 motif 信息

Tab. 4 OPN protein motif information

保守序列 conserved motif	宽度 width	最佳匹配 best match
1	29	SWLYSLVWAVPPLLGWSSYGPEGYGTSCS
2	29	SAIPALFAKSSTVYNPIIYVFMNKQFRRC
3	29	CVWYGFAGSLFGIVSLITLAVJSVERYJV
4	21	KFKKLRTPNLNLLJVNLAVSDL
5	21	KVTKMVVVMVIGFLVAWSPYA
6	15	FCFILPLGVIIICYG
7	21	TGYPLSFASSLQGRWLLGRTG
8	21	VVAVYVFFIGVLSLLGNGLVL
9	15	VCKPLGGVKFSSKHA
10	18	KEAAAQQQESESTQKAER

(PRL) 厚度明显增加。至 24 日龄稚鱼阶段, 视网膜结构高度完善, ONL 层与 PRL 层进一步增厚, INL 层与 RPE 层的界限清晰, GCL 层结构趋于稳定。35 日龄时, 稚鱼视网膜各层结构基本稳定, 整体组织形态与 24 日龄相比变化不大 (图 8)。

2.8 大黄鱼 *opsin* 基因在早期发育阶段的表达分析

对 *opsin* 基因的表达模式进行系统分析。通过韦恩图分析不同发育时期差异表达基因的分布特征, 结果显示 *opsin* 基因表达呈现明显的阶段性变化: 3 个基因在 1~7 日龄显著下调, 3 个基因在 1~15 日龄持续下调, 2 个基因在 7~15 日龄显著上调, 1 个基因在 15~24 日龄显著上调, 8 个基



图 2 大黄鱼 *opsin* 基因家族成员的保守 motif 分析

Fig. 2 Conserved motif analysis of *opsin* gene family members in *L. crocea*

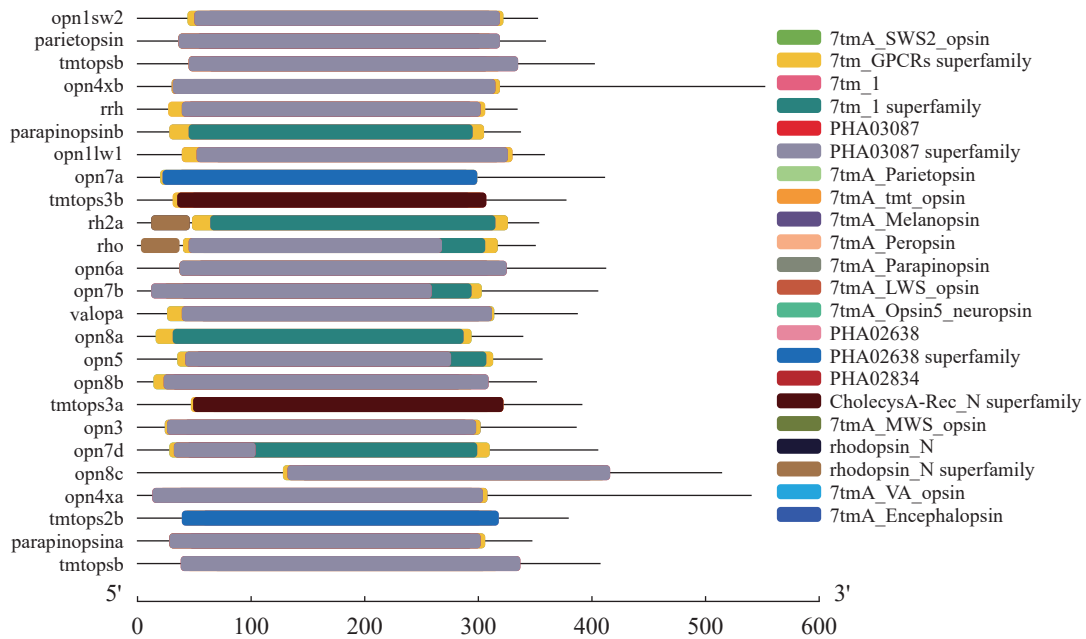


图 3 大黄鱼 OPN 蛋白结构域预测

Fig. 3 Predicted domain architecture of OPN proteins in *L. crocea*

因在 15~24 日龄上调, 1 个基因在 24~35 日龄上调 (图 9-a, b)。

进一步对转录组数据进行处理, 将 *opsin* 基

因的 FPKM 值加 0.1 后取对数 \log_2 (FPKM + 0.1), 并以热图形式展示其在不同发育阶段的相对表达模式 (图 9-c)。结果显示, 不同 *opsin* 基因在发育

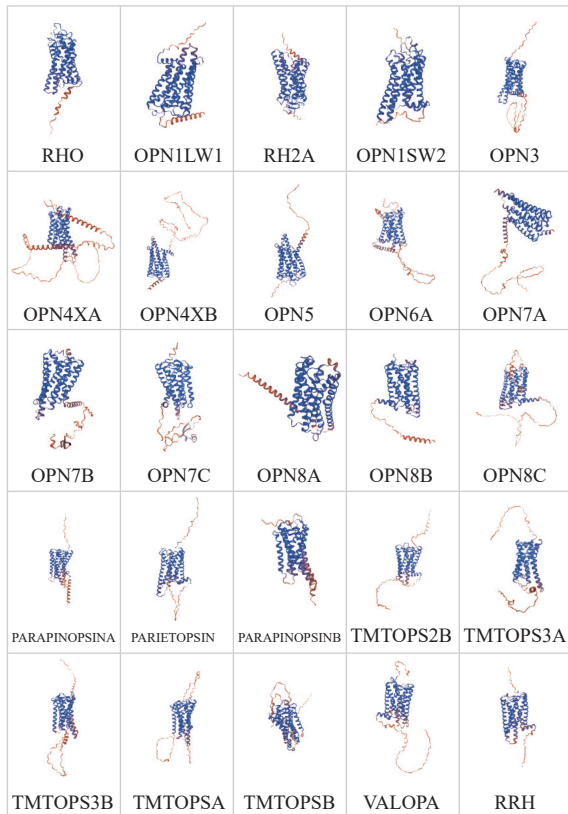


图 4 大黄鱼 OPN 蛋白三级结构预测模型

Fig. 4 Three-dimensional structure prediction model of OPN protein in *L. crocea*

过程中呈现出明显的阶段性表达差异。在 1~15 日龄, 大多数 *opsin* 基因维持在较低且相对稳定的表达水平, 提示此时期视觉相关转录程序尚未显著启动。其中, 非视觉 *opsin* 在整个早期发育阶段均未表现出明显的表达增强趋势。随着发育进行, 部分视觉 *opsin* 基因的表达水平出现阶段性上升。其中, *rho* 和 *opn1lw1* 自 15 日龄起表达量显著增加, 呈现出明确的上调趋势, 反映了视觉系统发育和光感知功能逐步建立的过程。

为验证转录组测序结果的可靠性, 选取 *opn1lw1*、*opn1sw2* 和 *rh2a* 进行 qPCR 分析, 其表达变化趋势与转录组数据高度一致 (图 9-d, f, h), 进一步证实了测序结果的可靠性。

2.9 不同光色下大黄鱼 *opsin* 基因表达分析

选取 15 日龄仔鱼为研究对象, 在不同光色 (红光、绿光和蓝光) 处理条件下比较 *opsin* 基因的表达差异, 结果显示, 不同光色处理条件下对视觉相关 *opsin* 基因的表达水平存在显著影响 (图 9-e, g, i)。其中长波敏感型基因 *opn1lw1* 在红光处理组中的表达水平与其他处理组相比未表现出显著

差异; 中波敏感型基因 *rh2a* 在绿光和蓝光处理组中均呈现较高的表达水平, 且蓝光处理组的表达量显著高于绿光处理组 ($P < 0.05$); 短波敏感型基因 *opn1sw2* 在蓝光处理条件下的表达水平显著高于其他光色处理组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 大黄鱼 *opsin* 基因家族的组成特征与结构保守性

本研究基于大黄鱼基因组数据, 系统鉴定出 25 个 *opsin* 基因。染色体定位发现, 大黄鱼 *opsin* 基因家族成员位于不同的染色体上, 在斑马鱼和红鳍笛鲷 (*Lutjanus erythropterus*) 中也存在类似的分布^[19]。所有成员均包含 7 个相同的保守基序, 且均含典型的 7 次跨膜结构域 (7tm_1), 归属于 Class A 型 G 蛋白偶联受体 (GPCR) 超家族, 表明其在光信号转导功能上具有高度保守性^[20]。蛋白二级结构分析显示, α -螺旋占 30.07%~40.41%, 无规则卷曲占 44.54%~55.93%, 且缺乏 β -折叠结构。这一结构特征与其他脊椎动物 OPN 高度一致^[2], 反映其在光受体信号传导中的进化约束。 α -螺旋构成的疏水环境为视黄醛结合提供稳定支撑, 而无规则卷曲则赋予蛋白必要的柔性, 确保光激活后有效启动下游 G 蛋白信号^[20]。视蛋白的光谱敏感性受视黄醛结合口袋周围关键氨基酸位点调控。本研究基于牛视紫红质编号体系, 对大黄鱼 *Lc-rh2a* 和 *Lc-opn1lw1* 的关键光谱调控位点进行了比较分析。结果显示, 2 种 OPN 在第 83、122、265 和 292 位整体较为保守。*Lc-rh2a* 在第 122 位保持为谷氨酸 (E), 不同于与蓝移相关的 E 替换为 Q, *Lc-opn1lw1* 在该位点与斑马鱼一致, 都将 E 替换为 I, 且其余位点未见明显差异。上述结果表明, 大黄鱼 *opsin* 未表现出指示显著蓝移或红移的特征性氨基酸组合, 其光谱调控可能更多依赖于表达调节而非关键位点的结构性改变^[21]。

3.2 *opsin* 基因家族的系统发育关系与功能分化

大黄鱼 *opsin* 基因可分为视觉型与非视觉型两大类^[19]。其中视觉 *opsin* 形成独立分支, 与非视觉 *opsin* 分离, 体现出视觉蛋白在光谱感知功能上的特异性差异^[22]。大黄鱼保留的 4 种主要视觉 *opsin* (*rho*、*opn1lw1*、*opn1sw2*、*rh2a*) 分别对应不同波段的光敏感性: *rho* 介导暗光视觉, *opn1lw1*

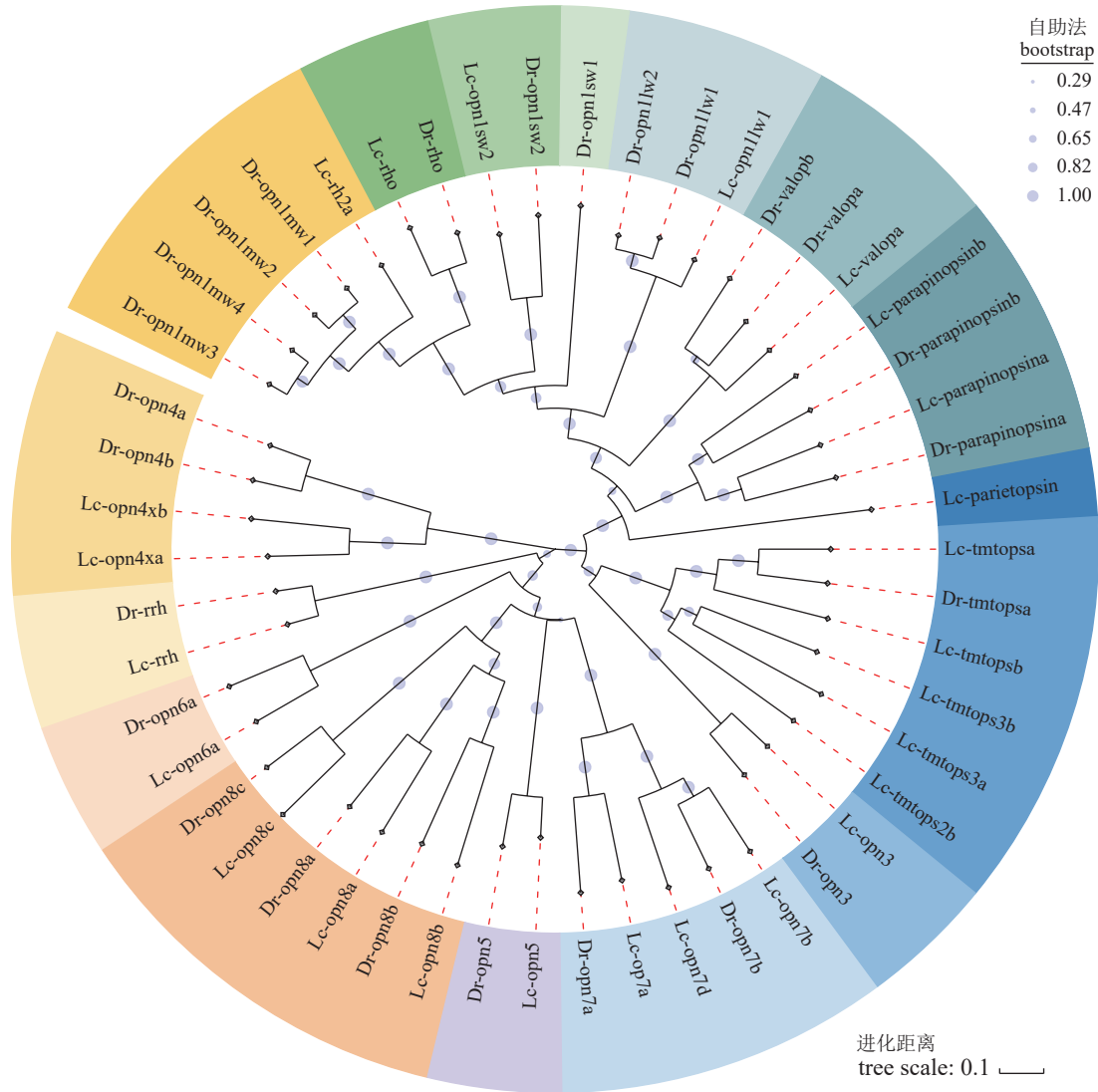


图 5 OPN 蛋白家族系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree of OPN protein family

感受长波红光, *opn1sw2* 对短波蓝光敏感, *rh2a* 则负责中波绿光感知^[4]。

非视觉 *opsin* 呈现明显多样化, 包括 *opn3*~*opn8* 以及多个 *tmtops* 与 *parapinopsin* 亚型^[23]。系统发育结果表明, *opn4* 独立成支, 具有高度保守性与功能重要性, 其中 *opn4* 是调控昼夜节律的关键光感受器, 主要分布于视网膜神经节细胞和松果体, 可感知环境光信号并调节褪黑素合成与生物钟基因表达^[24]。

本研究鉴定出 *opn4xa* 与 *opn4xb* 两个亚型, 推测二者在不同组织中具有互补功能。*opn5*~*opn8* 聚为一支, 其功能在鱼类中尚未完全明确。已有研究表明, *opn5* 参与紫外光感知和昼夜节律调控^[5], *opn6* 与 *opn7* 可能与光驱动的行为反应相

关^[22], 而 *opn8* 与深海光环境适应相关^[25]。此外, 大黄鱼中还鉴定出 *parapinopsina*、*parapinopsinb* 与 *parietopsin* 基因, 它们在系统发育树上形成独立亚支, 推测与松果体光周期感知及生殖调控相关^[26]。

3.3 *opsin* 基因的进化特征与生态适应机制

本研究的组织学结果表明, 大黄鱼视网膜在仔稚鱼发育过程中呈现出明显的阶段性变化。1~7 日龄, 视网膜虽已形成基本层状结构, 但光感受细胞层尚处于初步分化状态。至 15 日龄时, 外核层和感光细胞层厚度明显增加, 部分视杆和视锥细胞已可被识别, 提示光感受细胞进入快速分化阶段^[27]。此后至 24 日龄, 视网膜结构进一步

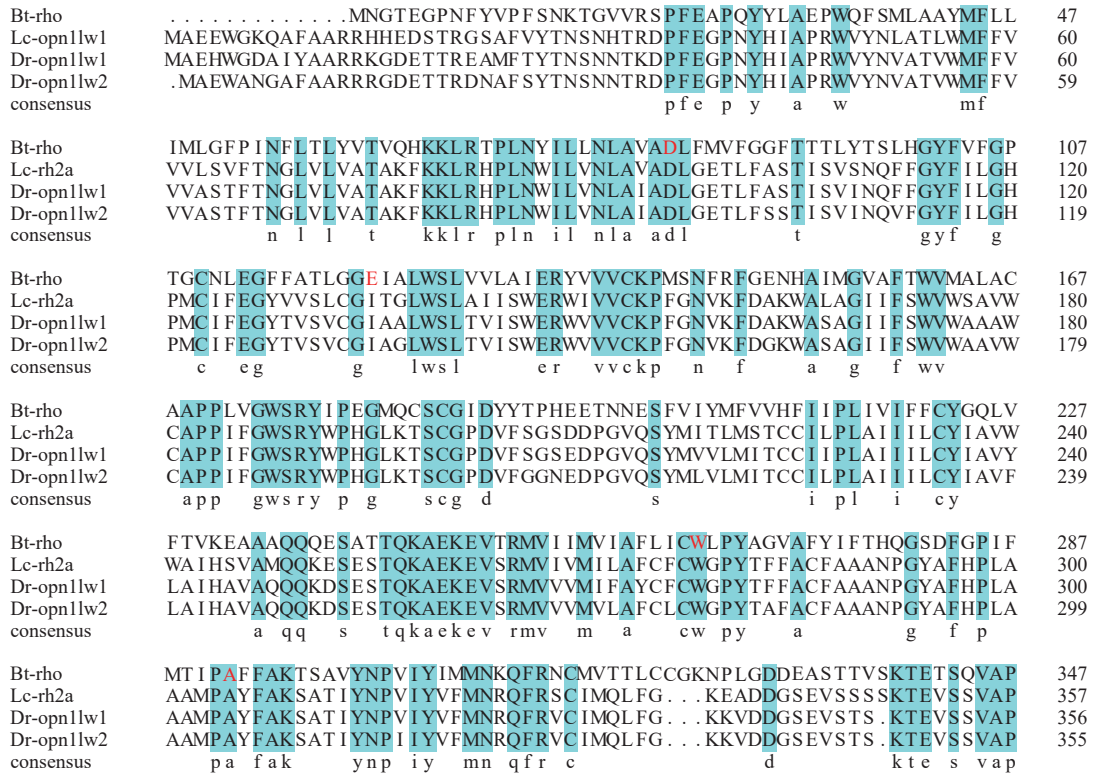


图 6 *opn1lw1* 关键光谱调控位点的多序列比对分析

蓝色背景表示不同物种间保守的氨基酸序列，红色标注的氨基酸残基对应牛视紫红质编号体系下的关键光谱调控位点(第 83、122、265 和 292 位)，下同。

Fig. 6 Multiple sequence alignment of key spectral tuning sites in *opn1lw1*

Amino acid residues highlighted with a blue background indicate conserved sequences among species, while residues marked in red correspond to key spectral tuning sites at positions 83, 122, 265, and 292 based on bovine rhodopsin numbering, the same below.

完善并趋于稳定。上述组织学特征表明，15 日龄对应大黄鱼视网膜光感受细胞大量分化和视觉功能启动的重要窗口期，为后续视觉相关基因表达的变化提供了明确的形态学基础。

大黄鱼 *opsin* 基因在 1~35 日龄发育阶段整体处于相对基础表达水平，尤其是非视觉 *opsin*(如 *opn4*、*opn5* 等)在早期发育过程中持续维持较低且稳定的转录水平。相比之下，视觉 *opsin* 随发育进程逐步上调，反映出仔、稚鱼阶段视觉系统由启动向功能完善过渡的动态发育特征。卵黄囊吸收前主要依赖内源营养，对光刺激反应较弱^[28]；当外源性摄食开始后，视觉系统逐步成熟，视蛋白基因表达显著上升^[1]。其中，*rho* 与 *opn1lw1* 在 15 日龄显著上调，此时大黄鱼仔鱼完全摄食运动性较好的桡足类^[29]，并且在大黄鱼育苗实践中需要在 15 日龄左右泼洒底泥、降低水体的浑浊度，这一操作可能是因为大黄鱼在 15 日龄视觉功能开始变化导致的。从摄食行为、养殖应用、分子调控的角度综合分析，此时视蛋白基因的上调，提示

该阶段正处于视觉功能快速发育的重要时期，正对应仔鱼摄食转变的关键节点，表明视觉系统发育与摄食行为的建立具有密切联系。*rho* 的优先表达有助于暗光环境下的视觉形成，而 *opn1lw1* 的上调则有助于增强长波红光敏感性，提高仔、稚鱼在红光主导环境中对饵料及捕食者的识别能力^[30]。

除经典视觉基因外，本研究还系统鉴定了多种非视觉基因，其在发育过程中的表达模式呈现出明显的类型分化。大黄鱼非视觉 *opsin* 基因在 1~35 日龄早期发育中呈现明显的分化表达模式，可分为 2 类：一部分基因在仔鱼向稚鱼过渡阶段逐步上调，另一部分基因维持低丰度表达。*opn6a*、*opn3*、*opn4xa*、*opn4xb*、*tmtopsa*、*valopa*、*tmtops2b*、*opn7d* 和 *tmtopsb*，其表达水平随发育推进呈上升趋势，在 15 日龄显著增强。*opn3*、*opn4xa*、*opn4xb* 在脊椎动物中广泛分布，主要参与昼夜节律调节和光依赖性生理反应，其逐步上调提示非视觉光信号通路在仔鱼阶段开始参与基础神经调控^[31]。*opn6a* 表达在光感受器层中，伴

Bt-rhoMNGTEGPNFYVPF SNKTVVRSPFEAPQYYLAE PWQFSMLAAYMFL IMLG	51
Lc-rh2a	MAWDGGGHDANGTEGKNFY I PMSNRTGVVRSPFEYNOYYMVD PMTYKLLAFYMFLL I CTG	60
Dr-opn1mw1MNGTEGPNFY I PMSNRTGLVRSPTYDYTOYYLAE PWKFKA LAFYMFLL I IFG	51
Dr-opn1mw2MNGTEGPNFY I PMSNRTGLVRSPTYDYTOYYLAD PWQFKALAFYMFLL I CFG	51
Dr-opn1mw3MNGTEGPNFY I PMSNRTGLVRSPTYDYTOYYLAE PWQFKL LAFYMFLL I CLG	51
Dr-opn1mw4MNGTEGPNFY I PMSNRTGLVRSPTYDYTOYYLAE PWQFKL LAFYMFLL MCFG	51
consensus	ng teg nfy p sn tg rsp qyy p la ymf l g	
Bt-rho	FPINFLTLVVTVAQHKKLRPLNY I LLNLA VADLFM VFGGFTTTLYTSLHG YFVFGPTGCN	111
Lc-rh2a	TPINGLTLLVTAQNKLLRQPLNY I LLNLA VAGL IMCAF GFTITITSALNGYF ILGATACA	120
Dr-opn1mw1	FPINVLTLVVTVAQHKKLRQPLNY I LLNLA VAGT IMV IFGFTV SFYCSLVGYMALGPLGCV	111
Dr-opn1mw2	LPINVLTLVVTVAQHKKLRQPLNY I LLNLA VAGT IMAFFGFTVTFYCS INGYMALGPTGCA	111
Dr-opn1mw3	FPINGLTLLVTAQNKLLRQPLNF I LLNLA VAGT IMVCFGFTVTFYTA INGYFVLGPTGCA	111
Dr-opn1mw4	FPINGLTLLVVTVAQHKKLRQPLNF I LLNLA VAGT IMVCFGFTVTFYTA INGYFVLGPTGCA	111
consensus	pin ltl vt q kklr pln il nla a m gft gy g c	
Bt-rho	LEGFFATLGG EIALWSLVLA I ERYV VVCKPMSN FRF GENHAI MGVAFTWMMALACAAPP	171
Lc-rh2a	VEGFMATLGG E VALWSLVLA V ERY I VVCKPMGS FRFTGTHAAAGV VFTWIMAFSCAGPP	180
Dr-opn1mw1	MEGFFATLGGQVALWSLVLA I ERY I VVCKPMGS FKFSANHAMAG I AFTWFMACSCAVPP	171
Dr-opn1mw2	I EGFATLGGQVALWSLVLA I ERY I VVCKPMGS FKFSANHAMAG I AFTWFMACSCAVPP	171
Dr-opn1mw3	I EGFATLGG E VALWSLVLA V ERY I VVCKPMGS FKFSASHAFAGCAF TWMMAMACAAPP	171
Dr-opn1mw4	I EGFATLGGQ I SLWSLVLA I ERY I VVCKPMGS FKFSNHAFAG I GFTWIMALACAAPP	171
consensus	egf atlgg l wslv lva ery vvckpm f f ha g ftw ma c s ca pp	
Bt-rho	LVGWSRY I PEGMQC SCGIDYYT PHEETNNE SFV I YMFV VHF I I PL I V I F F C Y G Q L V F T V K	231
Lc-rh2a	LFGWSRY L PEGMQC SCGPDYYT LAPGNNE SYV I YMFV VHF I I PVFL I F F T Y G S L V L T V K	240
Dr-opn1mw1	LFGWSRY L PEGMQT SCGPDYYT LNPEY NNE SYVM YMF SCHFC I PVTT I F F T Y G S L V C T V K	231
Dr-opn1mw2	LFGWSRY I PEGMQT SCGPDYYT LNPEY NNE SYV L YMF SCHFC V PVTT I F F T Y G S L V C T V K	231
Dr-opn1mw3	LVGWPRY I PEGMQC SCGPDYYT LNPEY NNE SYV L YMF I CHF I L PVT I I F F T Y G R L V C T V K	231
Dr-opn1mw4	LVGWSRY I PEGMQC SCGPDYYT LNPDY NNE SYV L YMF CCHF I F PVTT I F F T Y G R L V C T V K	231
consensus	l gw ry pegmq scg dyyt nnes v ymf hf p iff yg lv tvk	
Bt-rho	AAAAQQQESAT TQKA EKVTRMVI IMV I AFLICWLPYAGVAFY I FTHQGSDFGP I FMT I P	291
Lc-rh2a	AAAAQQQES E STQKA ERVTRM CVLMV FGLVAWVPYATFAGWI FMNKGA YFSAMT AALP	300
Dr-opn1mw1	AAAAQQQES E STQKA ERVTRM I LMV LGLFVAWVPYASFAAWI FFNRGA AFSAQAMA VP	291
Dr-opn1mw2	AAAAQQQES E STQKA ERVTRM I LMV LGLFVAWVPYASFAAWI FFNRGA AFSAQAMA I P	291
Dr-opn1mw3	AAAAQQQES E STQKA ERVTRM I LMV LGLFVAWVPYATVAAWI FFNRGA AFSAQFMAVP	291
Dr-opn1mw4	AAAAQQQES E STQKA ERVTRM I LMV LGLFVAWVPYASVAAWI FFNRGA AFSAQFMAVP	291
consensus	aaaqqqes tqkae evtrm mv fl w pya a if g f p	
Bt-rho	AFFAKTS AVYNPVIY I IMM NKQFRNCMVT LCCGKNPLGDDEAS . TTVSKTETS QVAPA	348
Lc-rh2a	AFFAKS SALYNPI IYVLF NKQFRNCMLSTVGMGG . MVDD E S S . VSASKTEV S SVS . .	353
Dr-opn1mw1	AFFSKTS AVFNPI IYVLL NKQFRNCMLNTLFCGKSP LGGDESS SVSTSKTEV S SVSPA	349
Dr-opn1mw2	AFFSKASALFNPI IYVLL NKQFRNCMLNTLFCGKSP LGGDESS SVSTSKTEV S SVSPA	349
Dr-opn1mw3	AFFSKTSALYNPVIYVLL NKQFRNCMLNTLFCGKNPLGDDESS TVSTSKTEV S SVSPA	349
Dr-opn1mw4	AFFSKSS I FNPI IYVLL NKQFRNCMLNTLFCGKNPLGDDESS TVSTSKTEV S SVSPA	349
consensus	aff k s np iy nkqfr cm t g dde s skte s v	

图 7 rh2a 关键光谱调控位点的多序列比对分析

Fig. 7 Multiple sequence alignment of key spectral tuning sites in rh2a

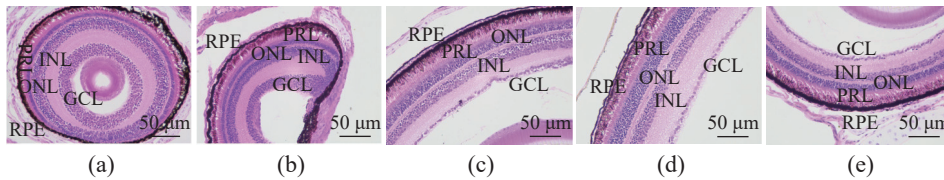


图 8 不同发育阶段大黄鱼仔、稚鱼视网膜的组织学结构特征

GCL. 神经节细胞层, INL. 内核层, ONL. 外核层, PRL. 感光细胞层, RPE. 色素上皮层。

Fig. 8 Histological characteristics of the retina in larval and juvenile *L. crocea* at different developmental stages

(a) 1 dph, (b) 7 dph, (c) 15 dph, (d) 24 dph, (e) 35 dph. GCL. ganglion cell layer, INL. inner nuclear layer, ONL. outer nuclear layer, PRL. photoreceptor layer, RPE. retinal pigment epithelium.

随着经典感光细胞的出现, 其在 15 日龄的表达增强可能与光环境感知需求增加相关^[32]。tmtopsa、tmtops2b、tmtopsb 及 opn7d、valopa 基因与脑深部光感受及光周期信息整合相关, 其同步上调表明大黄鱼在该时期开始建立环境光周期相关的非视觉光感知分子网络, 15 日龄可能对应感觉系统与

神经网络快速完善的关键发育窗口^[33]。parapinopsinb、parietopsin、tmtops3b、opn5、opn7a、opn8b、和 opn8c 等基因, 在 1~35 日龄维持低丰度表达。parapinopsin、parietopsin 和 opn5 主要与松果体光感受相关, 参与紫外光感知和生物节律调控^[34]。且 opn7 和 opn8 亚家族成员表现出高度

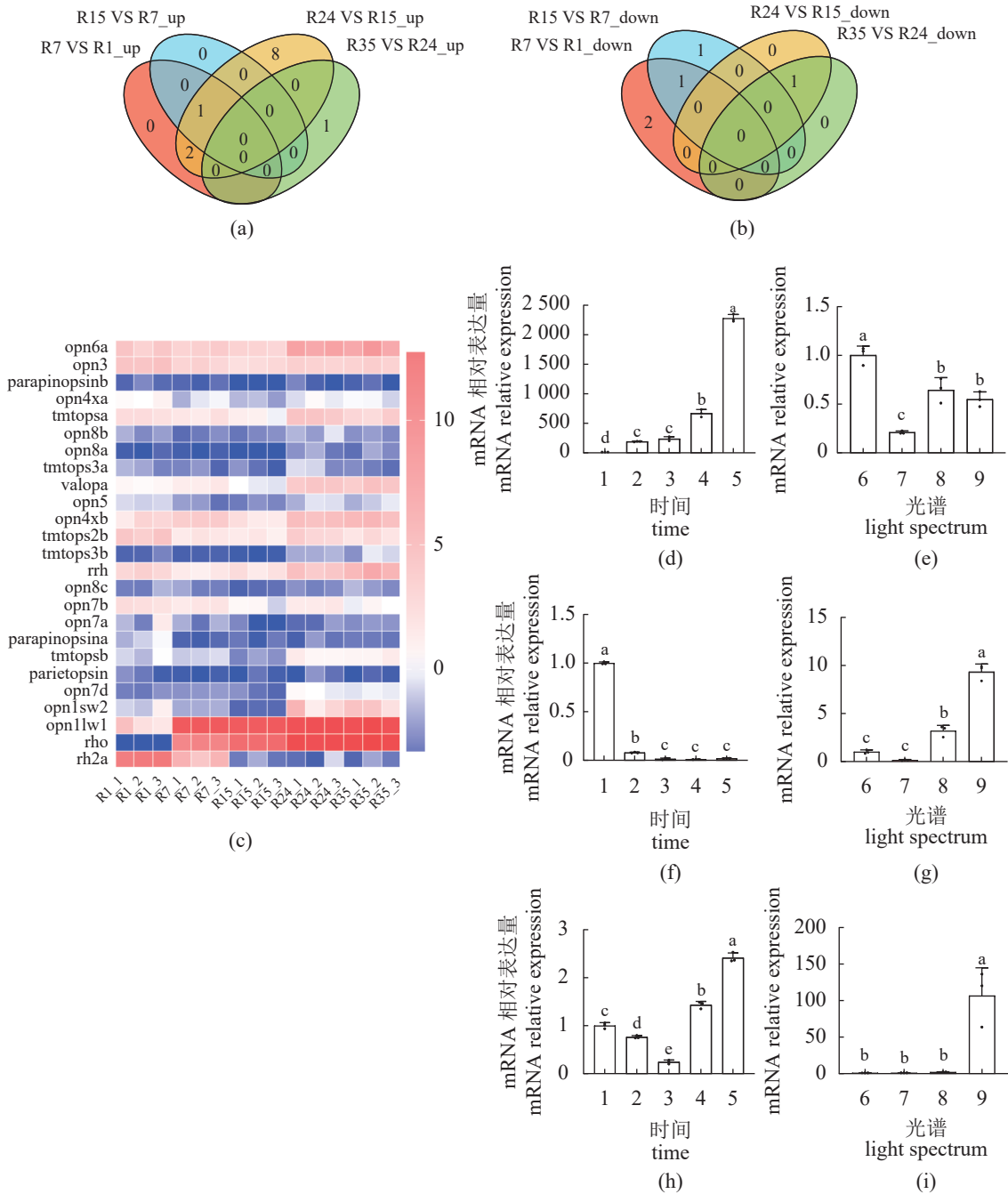


图 9 大黄鱼早期发育阶段及不同光谱条件下 *opsin* 基因的表达模式

(a) 不同发育阶段 *opsin* 基因家族的上调情况, (b) 不同发育阶段 *opsin* 基因家族的下调情况, (c) 大黄鱼各发育阶段 *opsin* 基因家族表达热图, (d) (f) (h) 代表 *opsin* 基因 (*opn1lw1*、*rh2a*、*opn1sw2*) 的实时荧光定量 PCR 验证结果, (e) (g) (i) 代表不同光谱处理下 *opn1lw1*、*rh2a*、*opn1sw2* 基因的相对表达量。6. 白光, 7. 红光, 8. 绿光, 9. 蓝光。不同字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 9 Expression analysis of *opsin* genes in *L. crocea* during early developmental stages and under different light spectra

(a) upregulated *opsin* genes across developmental stages, (b) downregulated *opsin* genes across developmental stages, (c) heatmap of *opsin* gene expression profiles during early development in *L. crocea*. (d) (f) (h) mean qPCR validation results of representative *opsin* genes (*opn1lw1*, *rh2a*, *opn1sw2*). (e) (g) (i) mean relative expression levels of *opn1lw1*, *rh2a*, *opn1sw2* genes in 15 dph larvae under different light spectra. 1. 1 dph, 2. 7 dph, 3. 15 dph, 4. 24 dph, 5. 35 dph, 6. full, 7. red, 8. green, 9. blue. Different letters indicate significant differences among treatments for the same gene ($P < 0.05$).

多样化特征。这些基因未表现出明显启动, 提示其功能可能在成鱼阶段或特定生理状态 (如性腺发

育、季节性洄游) 时激活^[35]。综上, 大黄鱼非视觉 *opsin* 基因呈现分阶段启动特征: 以 *opn3*、

opn6a 为代表的基因在仔鱼向稚鱼过渡阶段率先上调, 参与基础非成像光感知与神经调控; 而 *parapinopsin*、*parietopsin* 等保持低水平表达, 功能可能在后续发挥作用。

大黄鱼视觉 *opsin* 基因在不同光谱处理下呈现差异化的表达响应模式。以 15 日龄仔鱼为研究对象的光色处理实验显示, 在蓝光处理条件下, *rh2a* 与 *opn1sw2* 的表达水平均显著高于其他光色处理组 ($P < 0.05$); 在绿光处理条件下, *rh2a* 的表达水平亦显著升高; 而红光处理条件下 *opn1lw1* 的表达水平未表现出显著变化。上述结果表明, 不同光谱环境下, 大黄鱼视觉相关 *opsin* 基因的表达模式存在明显差异。需要指出的是, 本研究在实验设计中未对不同光谱处理条件下的实际辐射功率或光子通量密度进行量化与归一化控制。因此, 短波长蓝光条件下观察到的 *opsin* 基因表达量升高, 可能同时反映了光谱条件差异、光子输入量差异, 或高能光子引发的附加生理效应, 其具体调控机制有待进一步研究。相应地, 绿光条件下 *rh2a* 表达升高亦应理解为与中波光环境相关的响应现象, 而非严格意义上的光谱特异性转录调控。

在生态学层面, 红光对 *opn1lw1* 表达影响较弱的现象, 可能与大黄鱼主要栖息于近海浑浊水体、长波光在水体中衰减较快的光环境特征有关^[36], 但这一推测仍需结合光环境实测数据与功能实验进一步验证。此外, 尽管本研究从转录水平揭示了不同光谱条件下视觉相关基因的响应差异, 但这些变化是否能够转化为视觉功能的增强, 仍需结合视网膜组织学、生理指标及行为学实验加以系统评估。已有研究表明, 过量蓝光暴露可能对鱼类视网膜产生潜在光损伤, 对视觉系统的长期健康产生不利影响^[37]。因此, 不同光谱光环境在人工育苗中的应用仍需从生理效益与潜在风险之间进行权衡。本研究结果为后续在严格量化光照条件下开展光环境优化研究提供了基础数据和研究线索。

大黄鱼 *opsin* 基因与斑马鱼具有较高的同源性^[38], 其 *opsin* 基因家族的组成及系统发育特征反映了对近海浑浊水域光环境的适应策略。研究表明, 短波敏感型 *opsin* 在不同鱼类中存在明显的功能分化, 其中 *opn1sw1* 主要介导紫外波段光感知, 而 *opn1sw2* 主要响应短波蓝光^[39]。在大黄鱼中, *opn1sw2* 得到保留并对短波蓝光产生响应, 尽管

在最新发布的大黄鱼端粒到端粒 (T2T) 基因组中已鉴定到 *opn1sw1* 类型基因 (GWHGDII00000000.1)^[40], 但该基因组目前尚未在公共数据库中完成系统、明确的功能注释, 相关基因结构及转录本信息仍不完善, 且在早期发育阶段的转录组数据中未检测到 *opn1sw1* 的可靠转录信号, 可能与注释局限或其在该阶段表达水平较低有关。从生态适应角度看, 紫外光在近海浑浊水体中衰减迅速, 紫外敏感型视蛋白所承受的选择压力相对较弱; 相比之下, *opn1sw2* 的保留有助于维持对短波蓝光的感知能力, 使个体能够更好地适应蓝光主导的水下光环境, 从而实现光谱感知能力的适应性优化^[41]。本研究的大黄鱼早期发育阶段转录组测序结果显示, *opn1sw2* 在整个发育过程中持续表达, 并在蓝光处理条件下显著上调, 表现出明确的光响应特征。综上所述, 在分析大黄鱼 *opsin* 基因的表达特征及功能分化时, 有必要综合考虑基因组完整性、公共数据库注释现状及环境光谱特征。本研究结果进一步支持了大黄鱼在短波光感受能力方面的适应性调控机制。

4 结论

本研究系统鉴定了大黄鱼 *opsin* 基因家族, 揭示其在结构、功能与光谱响应方面的保守性与分化特征。25 个 *opsin* 基因均含典型 7 次跨膜结构域, 显示其光信号传导功能的进化稳定性; 系统发育分析揭示了视觉与非视觉 *opsin* 的清晰分化, 反映了光感受功能的多样化与环境适应性; 表达分析显示视觉 *opsin* 在发育中期显著上调, 尤其在蓝光刺激下的表达增强, 提示其在视觉形成及光谱调控中发挥核心作用。本研究可为大黄鱼人工育苗中的饵料投喂优化及育苗技术的提升提供指导。

(作者声明本文无利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Villamizar N, Blanco-Vives B, Migaud H, et al. Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: a review[J]. *Aquaculture*, 2011, 315(1-2): 86-94.
- [2] Terakita A. The opsins[J]. *Genome Biology*, 2005, 6(3): 213.
- [3] Peirson S N, Halford S, Foster R G. The evolution of irradiance detection: melanopsin and the non-visual opsins[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B*,

- Biological Sciences, 2009, 364(1531): 2849-2865.
- [4] Yokoyama S. Evolution of dim-light and color vision pigments[J]. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2008, 9: 259-282.
- [5] Kojima D, Mori S, Torii M, *et al.* UV-sensitive photoreceptor protein OPN5 in humans and mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26388.
- [6] Musilova Z, Cortesi F, Matschiner M, *et al.* Vision using multiple distinct rod opsins in deep-sea fishes[J]. *Science*, 2019, 364(6440): 588-592.
- [7] Bhat I A, Rather M A, Ahmad I, *et al.* Impact of shifting abiotic factors in aquaculture on fish breeding and reproduction: a review[J]. *Blue Biotechnology*, 2025, 2(1): 3.
- [8] 宋炜, 殷雷明, 陈雪忠, 等. 基于超声波标志法的浅海围栏养殖大黄鱼行为研究 [J]. *海洋渔业*, 2019, 41(4): 494-502.
- Song W, Yin L M, Chen X Z, *et al.* On behavioral characteristics of *Larimichthys crocea* by ultrasound pinger system of fence farming in shallow sea[J]. *Marine Fisheries*, 2019, 41(4): 494-502 (in Chinese).
- [9] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴: 2025[M]. 北京: 中国农业出版社, 2025.
- Fishery and Fishery Administration Bureau of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Aquaculture Technology Promotion Center, Chinese Fisheries Society. China fishery statistical yearbook: 2025[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2025 (in Chinese).
- [10] 宋炜, 李莉珍, 谢伟铭, 等. 我国大黄鱼养殖产业现状与发展途径探究 [J]. *中国水产*, 2024: 17-21.
- Song W, Li L Z, Xie W M, *et al.* The current situation and development explorations of large yellow croaker aquaculture industry in China[J]. *China Fisheries*, 2024: 17-21 (in Chinese).
- [11] 黄伟卿, 宋炜, 刘铮, 等. 大黄鱼仔、稚鱼期的脊椎骨及附肢骨生长发育研究 [J]. *海洋渔业*, 2024, 46(6): 751-757.
- Huang W Q, Song W, Liu Z, *et al.* Study on the growth and development of vertebrae and appendicular skeleton in larval and juvenile *Larimichthys crocea*[J]. *Marine Fisheries*, 2024, 46(6): 751-757 (in Chinese).
- [12] 王一凡, 赵增琦, 陈范, 等. 不同脂肪酸对大黄鱼碳水化合物反应元件结合蛋白 (ChREBP) 的调控作用 [J]. *水产学报*, 2025, 49(8): 089613.
- Wang Y F, Zhao Z Q, Chen F, *et al.* Regulation of different fatty acids on carbohydrate response element binding protein (ChREBP) in *Larimichthys crocea*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2025, 49(8): 089613. (in Chinese).
- [13] 吉群, 曾霖, 熊逸飞, 等. 低盐驯化对急性低盐胁迫下大黄鱼能量代谢和线粒体自噬的影响机制 [J]. *中国水产科学*, 2024, 31(10): 1141-1150.
- Ji Q, Zeng L, Xiong Y F, *et al.* Mechanistic studies on the effect of low-salinity acclimation on energy metabolism and mitochondria of *Larimichthys crocea* under acute low-salinity stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2024, 31(10): 1141-1150 (in Chinese).
- [14] 任中阳, 崔雅清, 陈玉峰, 等. pH 对大黄鱼肌原纤维蛋白结构性质及乳化性的影响 [J]. *水产学报*, 2024, 48(3): 039816.
- Ren Z Y, Cui Y Q, Chen Y F, *et al.* Effect of pH on the structural properties and emulsification of myofibrillar proteins of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2024, 48(3): 039816 (in Chinese).
- [15] 郑家浪, 严小军, 伍源源, 等. 大黄鱼品质的等级评价 [J]. *水产学报*, 2025, 49(8): 089618.
- Zheng J L, Yan X J, Wu Y Y *et al.* Evaluation of *Larimichthys crocea* quality grades[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2025, 49(8): 089618 (in Chinese).
- [16] 王永红, 王武卿, 曾霖, 等. 升温驯化对温度胁迫下大黄鱼幼鱼能量代谢的影响 [J]. *海洋渔业*, 2024, 46(5): 599-607.
- Wang Y H, Wang W Q, Zeng L, *et al.* Effects of heat acclimation on energy metabolism of juvenile *Larimichthys crocea* under temperature stress[J]. *Marine Fisheries*, 2024, 46(5): 599-607 (in Chinese).
- [17] 李莉珍, 张惠, 曾霖, 等. 盐度胁迫对大黄鱼肝脏氧化损伤的作用机制 [J]. *海洋渔业*, 2024, 46(3): 334-342.
- Li L Z, Zhang H, Zeng L, *et al.* Mechanism of salinity stress on oxidative damage in the liver of *Larimichthys crocea*[J]. *Marine Fisheries*, 2024, 46(3): 334-342 (in Chinese).
- [18] Ji Q, Xie Z L, Li L Z, *et al.* A characterization of the RNA modification response to starvation under low temperatures in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Fishes*, 2024, 9(1): 41.
- [19] Liang Q L, Afriyie G, Cheng Z Z, *et al.* Analysis of opsin gene family of crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*)[J]. *Gene*, 2022, 807: 145960.
- [20] Hofmann K P, Scheerer P, Hildebrand P W, *et al.* A G protein-coupled receptor at work: the rhodopsin model[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2009, 34(11): 540-552.
- [21] Hagen J F D, Roberts N S, Johnston Jr R J. The evolutionary history and spectral tuning of vertebrate visual opsins[J]. *Developmental Biology*, 2023, 493: 40-66.
- [22] Tang S L, Liang X F, Li L, *et al.* Genome-wide identification and expression patterns of opsin genes during larval development in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*)[J]. *Gene*, 2022, 825: 146434.
- [23] Davies W I L, Tamai T K, Zheng L, *et al.* An extended family of novel vertebrate photopigments is widely expressed and dis-

- plays a diversity of function[J]. *Genome Research*, 2015, 25(11): 1666-1679.
- [24] Panda S, Provencio I, Tu D C, *et al.* Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice[J]. *Science*, 2003, 301(5632): 525-527.
- [25] 张丽. 鳊视蛋白、黑视蛋白基因组鉴定、序列分析及昼夜表达 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2023.
Zhang L. Genomic identification, sequence analysis and diurnal expression of *opsin* and *melanopsin* genes in *Siniperca chuatsi*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2023 (in Chinese).
- [26] Soni B G, Philp A R, Foster R G, *et al.* Novel retinal photoreceptors[J]. *Nature*, 1998, 394: 27-28.
- [27] Bouheraoua N, Fouquet S, Marcos-Almaraz M T, *et al.* Genetic analysis of the organization, development, and plasticity of corneal innervation in mice[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2019, 39(7): 1150-1168.
- [28] Norland S, Gomes A S, Rønnestad I, *et al.* Light conditions during Atlantic salmon embryogenesis affect key neuropeptides in the melanocortin system during transition from endogenous to exogenous feeding[J]. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 2023, 17: 1162494.
- [29] Van Der Meeren T, Olsen R E, Hamre K, *et al.* Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish[J]. *Aquaculture*, 2008, 274(2-4): 375-397.
- [30] Nik L, Monika K, Veronika T, *et al.* Developmental changes of opsin gene expression in ray-finned fishes (Actinopterygii)[J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2022, 289(1986): 20221855-20221855.
- [31] Policarpo M, Fogg L G, Cortesi F, *et al.* Evolution of the non-visual and visual opsin gene repertoire in ray-finned fishes[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2025, 17(7): evaf129.
- [32] Man L L H, Storey S S, Bertolesi G E, *et al.* Cell-type expression and activation by light of neuropsins in the developing and mature *Xenopus* retina[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2023, 17: 1266945.
- [33] Sato K, Nwe Nwe K, Ohuchi H. The Opsin 3/Teleost multiple tissue opsin system: mRNA localization in the retina and brain of medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Journal of Comparative Neurology*, 2021, 529(10): 2484-2516.
- [34] Calligaro H, Dkhissi-Benyahya O, Panda S. Ocular and extraocular roles of neuropsin in vertebrates[J]. *Trends in Neurosciences*, 2022, 45(3): 200-211.
- [35] Saiz N, Alonso-Gómez Á L, Bustamante-Martínez S, *et al.* Is there direct photoentrainment in the goldfish liver? Wavelength-dependent regulation of clock genes and investigation of the opsin 7 family[J]. *Journal of Comparative Physiology A*, 2025, 211(2): 149-162.
- [36] Chang C H, Yan H Y. Plasticity of opsin gene expression in the adult red shiner (*Cyprinella lutrensis*) in response to turbid habitats[J]. *PloS One*, 2019, 14(4): e0215376.
- [37] Zhang B, Feng Y D, Lv M Q, *et al.* Adaptive loss of shortwave-sensitive opsins during cartilaginous fish evolution[J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 7684.
- [38] Glasauer S M K, Neuhauss S C F. Whole-genome duplication in teleost fishes and its evolutionary consequences[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2014, 289(6): 1045-1060.
- [39] Ogawa Y, Corbo J C. Partitioning of gene expression among zebrafish photoreceptor subtypes[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 17340.
- [40] Xu S Y, Liu Q, Yang T Y, *et al.* A telomere-to-telomere genome assembly of the large yellow croaker provides insights into evolution of golden-yellow coloration[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2025, 52(11): 1401-1412.
- [41] Cortesi F, Musilová Z, Stieb S M, *et al.* Ancestral duplications and highly dynamic opsin gene evolution in percomorph fishes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(5): 1493-1498.

Identification, evolution, and expression analysis of OPN in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

HUANG Shaocong^{1,2}, LI Lizhen^{1,2}, XU Hao¹, JI Qun¹, WU Tongtong^{1,2},
WU Longhao^{1,3}, SONG Wei^{1,2,3*}

(1. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: Opsins are light-sensitive G protein-coupled receptors that mediate photoreception and phototransduction in fish and play essential roles in visual development, light-dependent behavior, and adaptation to aquatic environments, and in teleosts the expansion and diversification of the *opsin* gene family are considered key molecular mechanisms underlying spectral tuning to complex underwater light conditions; however, comprehensive characterization of opsins in the economically important large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) remains limited. The present study aimed to systematically identify the *opsin* gene family in *L. crocea*, elucidate its structural and evolutionary features, and clarify developmental and light spectrum-dependent expression patterns. Genome-wide bioinformatics analyses were performed to identify *opsin* genes, followed by characterization of physicochemical properties, conserved motifs, transmembrane domains, secondary structure composition, subcellular localization, and phylogenetic relationships, while transcriptomic data and quantitative real-time PCR (qRT-PCR) were used to examine expression dynamics during early development (1-35 days post-hatching, dph) and transcriptional responses under different monochromatic light treatments. A total of 25 *opsin* genes were identified, encoding proteins of 334-540 amino acids with predicted molecular weights of 37.1-62.3 ku and isoelectric points ranging from 5.95 to 9.57, all of which were predicted to localize to the cell membrane and contained seven highly conserved motifs and the canonical seven-transmembrane (7tm_1) domain characteristic of Class A G protein-coupled receptors. Secondary structure prediction revealed that α -helices (30.07%-40.41%) and random coils (44.54%-55.93%) were the predominant structural elements. Phylogenetic analysis classified these genes into visual *opsins*, including *rho*, *opn1lw1*, *opn1sw2*, and *rh2a*, and non-visual *opsins*, including *opn3*, *opn4*, *opn5*, and related subtypes. Transcriptome profiling showed that most *opsin* genes exhibited relatively low expression levels throughout early development, whereas *rho* and *opn1lw1* displayed pronounced upregulation at 15 dph, suggesting a critical window for rapid visual system maturation. Furthermore, light spectrum experiments demonstrated that blue light exposure significantly upregulated the expression of *rh2a* and *opn1sw2* compared with other light treatments ($P < 0.05$), indicating high sensitivity of these opsins to short-wavelength light and their involvement in spectral regulation. Collectively, these results demonstrate that the *opsin* gene family of *L. crocea* is structurally conserved yet exhibits distinct stage-specific and spectrum-dependent expression patterns, providing molecular evidence for visual development and spectral adaptation and offering practical implications for optimizing light environments, feeding strategies, and larval rearing protocols in aquaculture production.

Key words: *Larimichthys crocea*; *opsin* gene family; spectral response; visual development

Corresponding author: SONG Wei. E-mail: songw@ecsf.ac.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2022YFD2401102, 2023YFC2812105); Shandong Provincial Special Fund for the Qingdao Marine Science and Technology Center (2022QNLM30001); Open Research Fund of the National Engineering Research Center for Marine Aquaculture (NERC202413); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2023TD82)