



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20230069

孤雌卤虫雌激素相关受体基因(*ERR*)的表达特性分析

刘雪, 韩学凯, 欧阳雪梅, 隋丽英
(天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

摘要: 雌激素通过其相关受体进而影响动物的生殖发育与成熟。为了探究雌激素相关受体基因 *ERR* 在孤雌卤虫卵巢发育和成熟过程中发挥的作用, 本研究对孤雌卤虫 (*Artemia parthenogenetica*) 的 *ERR* 基因进行了克隆及相关生物信息学分析, 并对该基因在不同组织(卵巢、头部、躯干)和卵巢在不同发育时期[卵黄发生早期(early oocytes, EO)、卵黄发生晚期(late oocytes, LO)、早期胚胎(early embryos, EE)、晚期胚胎(later embryos, LE)]的表达特征进行了探究。结果显示, *ERR* 基因的开放阅读框(ORF)长 1 536 bp, 共编码 521 个氨基酸, 编码蛋白质的相对分子质量和等电点分别为 5.7114×10^4 和 5.06, 该蛋白质具有两个结构域, 没有信号肽和跨膜结构。蛋白质的二级结构主要以无规则卷曲(46.97%)和 α -螺旋(40.7%)为主, 三级结构与二级结构的结果一致。在 NJ 系统进化树中, 孤雌卤虫 (*A. parthenogenetica*) 与大型溞 (*Daphnia magna*) 和苏拉威西秀体溞 (*Diaphanosoma celebensis*) 最为相近, 而与湿木白蚁 (*Zootermopsis nevadensis*)、台湾乳白蚁 (*Coptotermes formosanus*) 的亲缘关系较远。表达特征结果显示, *ERR* 基因在孤雌卤虫头部组织中的表达量显著高于卵巢组织和躯干组织中的表达量, 且随着卤虫卵巢的发育, 表达量逐渐上升, 在 EE 达到最高, 随后在 LE 显著下降 ($P < 0.01$)。

关键词: 孤雌卤虫; 雌激素相关受体; 生物信息学特征; 基因表达; 卵巢发育

中图分类号: Q74 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2024)02-0034-08

Analysis of Expression Characteristics of Estrogen-Related Receptor Gene (*ERR*) in *Artemia parthenogenetica*

LIU Xue, HAN Xuekai, OUYANG Xuemei, SUI Liying

(College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Estrogen affects the development and maturation of reproductive system of animals through their interactions with estrogen-related receptors. In order to explore the role of estrogen-related receptor gene *ERR* in ovarian development and maturation of *Artemia parthenogenetica*, the *ERR* gene was cloned and analyze by bioinformatics. Moreover, the expression characteristics of this gene in different tissues (ovaries, head and trunk) and gonads at different developmental stages of *A. parthenogenetica* (early oocytes (EO), late oocytes (LO), early embryos (EE) and later embryos (LE)) were further studied. The results showed that the ORF length of *ERR* gene was 1 536 bp, encoding 521 amino acids, and the relative molecular weight and isoelectric point of encoded protein were 5.7114×10^4 and 5.06, respectively. The protein had two domains with no signal peptide and transmembrane structure. Irregular volumes (46.97%) and α -helix (40.7%) dominated the secondary structure and the tertiary structure corresponded to the secondary structure. In the NJ phylogenetic tree, *A. parthenogenetica* was found to be most closely related to *Daphnia magna* and *Diaphanosoma celebensis*, but was distant from *Zootermopsis nevadensis* and *Coptotermes formosanus*. Analysis of the expression characteristic showed that the expression level of *ERR* gene in head tissues was significantly higher than that in ovarian and trunk and with the maturation of *A. parthenogenetica* ovary, the expression level of *ERR* gene was up-regulated gradually, reaching the highest level in EE, and then significantly

收稿日期: 2023-03-23; 修回日期: 2023-05-22

基金项目: 天津市自然科学基金项目(18JCQNJC78500); 教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目(IRT-17R81)

作者简介: 刘雪(1999—), 女, 河南鹤壁人, 硕士研究生; 通信作者: 隋丽英, 教授, suily@tust.edu.cn

down-regulated in LE ($P < 0.01$).

Key words: *Artemia parthenogenetica*; estrogen-related receptors; bioinformatics characteristics; gene expression; ovarian development

引文格式:

刘雪,韩学凯,欧阳雪梅,等.孤雌卤虫雌激素相关受体基因(ER)的表达特性分析[J].天津科技大学学报,2024,39(2):34-41.

LIU X, HAN X K, OUYANG X M, et al. Analysis of expression characteristics of estrogen-related receptor gene(ER) in *Artemia parthenogenetica*[J]. Journal of Tianjin university of science & technology, 2024, 39(2):34-41.

卤虫(*Artemia*),也称为盐水虾,是一种小型的甲壳类动物,遍及全球的沿海盐池和内陆盐湖,它们不仅构建了卤水生态系统的营养链,而且对该生态系统的平衡具有至关重要的调节作用^[1]。卤虫具有繁殖周期短、体型小、繁殖方式独特(胎生和卵生)、遗传变异性高、易于实验室处理等优点^[2],因此被广泛应用于遗传学、发育生物学等领域的研究^[3-4]。与此同时,卤虫无节幼体作为活饵料已被广泛应用于海洋动物体养殖^[5]。随着海水鱼及甲壳类孵化场生产规模的扩大,卤虫卵的年消费量从20世纪70年代的100 kg增加到目前的3 500~4 000吨,支撑着价值超过20亿美元、数量达9 000多亿尾的甲壳类和鱼类种苗产业。卤虫作为一种自然资源,其产量随着盐度、温度、食物供应等环境条件的变化以及收获管理的不同而波动^[6]。近年来卤虫卵的产量不稳定,难以满足水产育苗业的需求,除了过度捕捞和生境改变,卤虫种质下降所造成卤虫卵产量和质量的下降也是重要原因之一。因此,选育繁殖能力强、产卵质量好的优良卤虫品种,推进卤虫人工养殖进程,促进卤虫产业持续健康发展成为研究热点。

雌激素(estrogen)是一种类固醇激素,一般通过与雌激素受体(estrogen receptor, ER)相互作用影响动物生殖系统的发育、性腺分化、成熟和维持等过程^[7]。Giguère等^[8]利用雌激素受体 α (estrogen receptor, ER α)DNA结合域的保守序列,从人类cDNA文库中筛选得到并命名雌激素相关受体(estrogen-related receptor, ER)。ER被称为“孤儿核受体”,是指当没有配体存在时,ER通过与共激活子产生相互作用,从而对下游靶基因的表达起关键调控作用^[8-10]。

在许多哺乳动物、昆虫、软体动物、甲壳动物中都发现ER基因的存在。ER基因对罗氏沼虾的卵巢发育具有重要调控作用,主要作用于卵母细胞的减数分裂过程和生殖相关激素的合成与释放过程^[11]。ER基因在脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)^[12]

和日本青鳉(*Oryzias latipes*)^[13]的卵巢发育过程中也发挥关键作用。同时,ER基因还参与调控白斑乌贼(*Sepia latimanus*)的生殖发育和性成熟过程^[14],并与三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)^[15]和中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)^[16]的蜕皮以及卵原生殖细胞的增殖过程密切相关。在卤虫属中,已经报道了与生殖发育相关的基因和调控因子,如鳞翅类性别相关基因Masc同源基因^[17]、p90 RSK^[4]、小热休克蛋白p26^[18]、Piwi^[19]等。但对于ER基因在卤虫中,尤其是孤雌卤虫中的研究还未见报道。因此,本研究以孤雌卤虫(*A. parthenogenetica*)为研究对象,开展ER基因的生物信息学研究,利用定量反转录PCR(qRT-PCR)分析孤雌卤虫不同组织和卵巢在不同发育时期的基因表达模式,为阐述ER基因在卤虫生殖过程中作用和生殖发育调控机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选取新疆艾比湖的孤雌卤虫(*Artemia parthenogenetica*)作为研究对象,在28℃、光照条件下充气培养(培养密度为每升卤水200只),投喂新鲜盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*),投喂频率为3次/天。根据孙瑜霞^[20]对雌性卤虫胚胎发育时期的区分,解剖收集雌性卤虫不同发育时期的卵巢组织〔卵黄发生早期(early oocytes, EO)、卵黄发生晚期(late oocytes, LO)、早期胚胎(early embryos, EE)、晚期胚胎(later embryos, LE)〕以及胚胎早期的孤雌卤虫的不同组织(卵巢、头部、躯干)样品,用液氮速冻处理后储存于-80℃冰箱中。

1.2 总RNA的提取及反转录

对孤雌卤虫组织样品进行总RNA提取(Trizol法),检测RNA质量后,将符合要求的样品放置于-80℃冰箱保存。将RNA样品反转录为cDNA(TaKaRa试剂盒)存于-20℃冰箱备用。

1.3 孤雌卤虫 *ERR* 基因的克隆与引物合成

从孤雌卤虫转录组数据库中筛选得到 *ERR* 基因,设计基因特异性引物 ERR-F1 和 ERR-R1,测序得到 *ERR* 基因完整开放阅读框(ORF)序列。根据测序结果设计实时荧光定量 PCR 引物 RTERR-F 和

RTERR-R(表 1),用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳判断 PCR 扩增的目的基因条带,将条带单一且明亮的 PCR 产物进行测序。引物的合成工作及序列测序均由北京华大基因科技有限公司完成。

表 1 引物信息

Tab. 1 Primer information

引物名称	引物序列(5'-3')	退火温度/°C	序列长度/bp	目的
ERR-F1	CCATTTATTGAGAATGCCACA	61	1 852	基因扩增
ERR-R1	ATCGGACTGTCATAGGGAGC			
RTERR-F	GCCTGACATGCTTCCGTCTTCTTT	63	271	qPCR
RTERR-R	CGGGCTTTCATTATGGTGTGCTTC			
β -actin-F	GTGTGACGATGATGTTGCGG	60	282	qPCR
β -actin-R	GCTGTCTTTTGACCCATTC			

1.4 孤雌卤虫 *ERR* 基因的生物信息学分析

利用 ORF Finder NCBI 预测 ORF, ExPASy-ProtParam 和 ExPASy-ProtScale 进行理化性质、亲水性和疏水性分析, TMHMM Server V 2.0、SignalP-5.0 Server 和 PSORT II Prediction 进行跨膜区、信号肽预测以及亚细胞定位预测, CDD 预测保守结构域, SOPMA 和 SWISS-MODEL 预测二级结构和三级结构。使用 DNAMAN 对序列进行编辑拼接后,在 NCBI 数据库中对 *ERR* 基因的氨基酸序列进行 BLAST 比对,并分析其与其他物种间的序列相似性。同时,利用 MEGA5.0 软件构建 NJ 系统进化树。

1.5 *ERR* 基因在孤雌卤虫不同组织和卵巢不同发育时期的表达分析

通过 qRT-PCR 对胚胎发育早期卤虫的卵巢、头部、躯干以及卵巢不同发育时期组织中的表达水平进行检测(TB Green Premix Ex Taq II 试剂盒), β -actin 作为内参基因。每个组织样本设置 3 个生物学重复和 3 个技术重复。PCR 程序条件为: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 40 个循环。计算不同组织样品中目的基因的相对表达量 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法), 并通过 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析, 并基于 LSD 模型进行多重比较。不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.01$)。

2 结果与分析

2.1 *ERR* 基因 ORF 序列的扩增及测序

对 *ERR* 基因的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测, 条带清晰且单一。拼接比对后发现, 扩增序列长度与目的基因相符, 经过验证后得到孤雌卤虫

ERR 基因 ORF 序列, 序列长度为 1 536 bp, 共编码 521 个氨基酸。

2.2 *ERR* 基因的序列相似性及系统发育分析

氨基酸序列比对结果显示, 孤雌卤虫 *ERR* 蛋白同其他物种的 *ERR* 蛋白具有较高的相似性, 与昆虫纲、甲壳纲(节肢动物门)中的百符跳虫(*Folsomia candida*)、大型溞(*Daphnia magna*)等相关物种的 *ERR* 基因氨基酸序列相似性较高; 同人(*Homo sapiens*)和小鼠(*Drosophila melanogaster*)的相似性较低(表 2)。

孤雌卤虫 *ERR* 基因氨基酸序列与其他物种的 DNA 结合结构域(DBD)和配体结合结构域(LBD)具有很高的同源性(图 1)。这说明 DBD 和 LBD 关键区域在不同物种中有很高的进化保守性。基于氨基酸序列构建 NJ 系统进化树(图 2), 结果显示孤雌卤虫(*A. parthenogenetica*)同大型溞(*Daphnia magna*)、苏拉威西秀体溞(*Diaphanosoma celebensis*)最为相近, 而与湿木白蚁(*Zootermopsis nevadensis*)、台湾乳白蚁(*Coptotermes formosanus*)的关系较远。

2.3 *ERR* 基因编码蛋白的理化性质、亲水性和疏水性分析

孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白含有 521 个氨基酸, 分子式为 $C_{2482}H_{3954}N_{688}O_{795}S_{30}$, 相对分子质量为 5.7114×10^4 , 理论等电点为 5.06, 不稳定指数为 58.10。丝氨酸是 *ERR* 基因编码蛋白含量最多的氨基酸(11.5%), 其次是亮氨酸(9.4%)。带负电荷的氨基酸总数(天冬氨酸和谷氨酸)为 71 个, 带正电荷的氨基酸总数(精氨酸和赖氨酸)为 56 个。

孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白质的亲水性和疏水性分析结果如图 3 所示。

表2 ERR基因氨基酸序列的相似性比较

Tab. 2 Comparison of amino acid sequence similarity of ERR genes

Table with 3 columns: 序列号 (Accession number), 物种名称 (Species name), 相似性/% (Similarity %). Lists various species and their similarity percentages to the reference sequence.

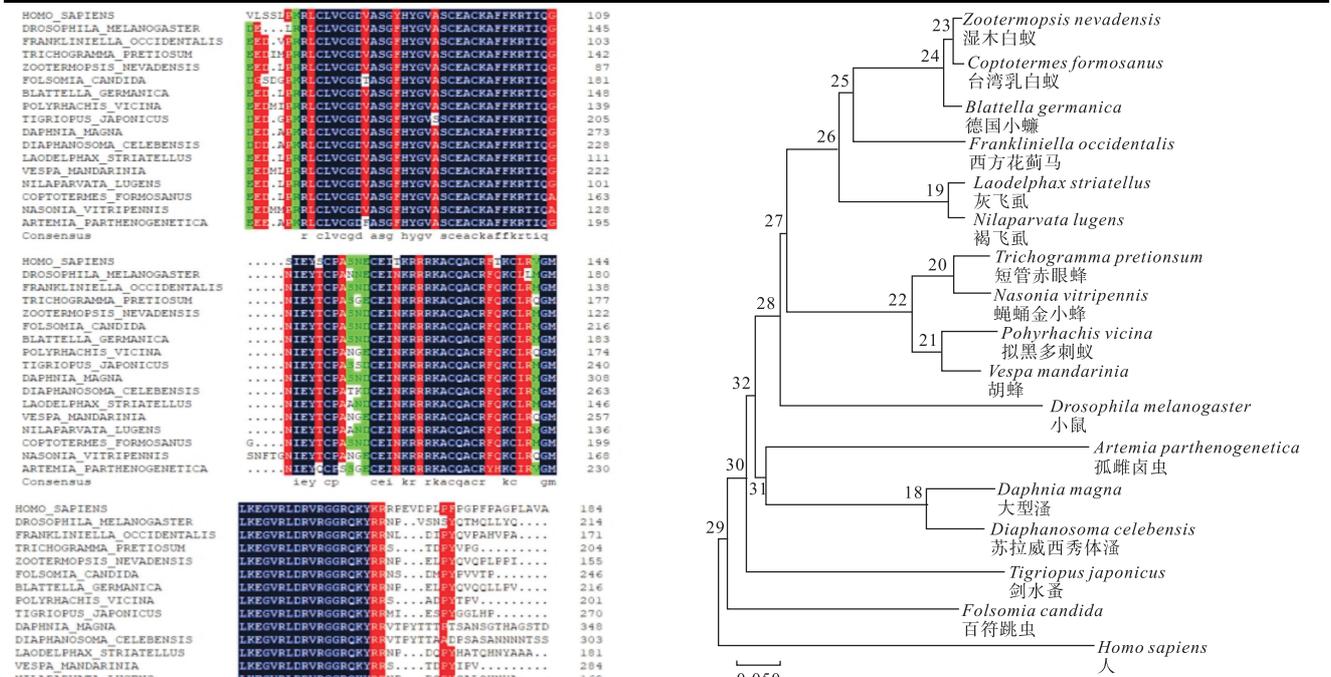


图2 基于氨基酸序列构建的NJ系统进化树

Fig. 2 NJ phylogenetic tree based on the amino acid sequence

注:不同颜色表示不同程度的氨基酸序列一致性,深蓝色表示100%,红色表示75%,绿色表示75%以下。

图1 孤雌卤虫与其他物种的ERR基因氨基酸序列对比及结构分析

Fig. 1 Amino acid sequence alignment and structural analysis of the ERR genes of Artemia parthenogenetica and selected species

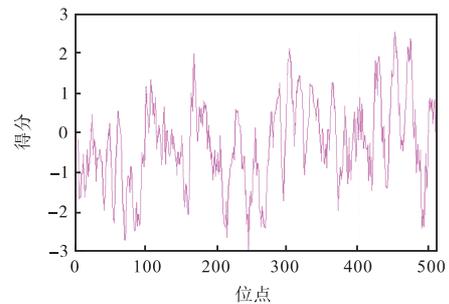
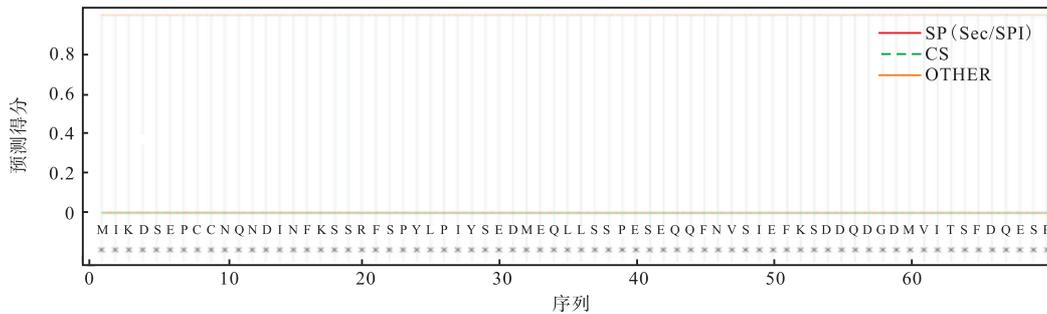


图3 孤雌卤虫ERR基因编码蛋白质的亲水性和疏水性分析 Fig. 3 Hydrophilic and hydrophobic analysis of protein encoded by ERR genes in Artemia parthenogenetica

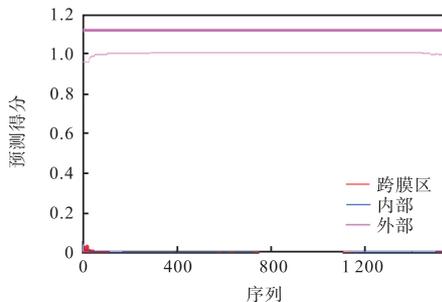
该蛋白为亲水性蛋白,总平均亲水性-0.344(小于 0)。残基分布结果显示,最高峰值为 2.489(450 位点处的亮氨酸),最小峰值为-2.989(245 位点处的谷氨酰胺)。

2.4 *ERR* 基因编码蛋白的信号肽、亚细胞定位及跨膜结构预测

孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白的信号肽和跨膜结



(a) 信号肽



(b) 跨膜结构

图 4 孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白的信号肽和跨膜结构预测

Fig. 4 Prediction of signal peptide and transmembrane structure of protein encoded by *ERR* genes in *Artemia parthenogenetica*

构预测结果如图 4 所示。由图 4(a)可知:*ERR* 基因编码蛋白无信号肽。亚细胞定位发现该蛋白主要分布在细胞质内(34.8%),其次为线粒体(26.1%)、内质网(8.7%)、高尔基体(8.7%),细胞壁(4.3%)、分泌系统的小泡和细胞核(4.3%)分布最少。由图 4(b)可知,*ERR* 蛋白不存在跨膜结构。

2.5 *ERR* 基因编码蛋白的保守结构域预测

通过 SMART 预测 *ERR* 基因编码蛋白的保守结构域,发现该蛋白共包含 2 个结构域:第 161—第 249 位氨基酸为 NR_DBD_*ERR* 结构域,第 274—第 508 位氨基酸为 NR_LBD super family 结构域(图 5),其中 NR_DBD_*ERR* 结构域包含一个锌指结构域。

2.6 *ERR* 基因编码蛋白的高级结构预测

孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白高级结构预测结果如图 6 所示。二级结构预测结果显示,*ERR* 蛋白的二级结构元件主要包括 4 种类型: α -螺旋、延伸链、 β -转角、无规则卷曲,数量分别为 208 个(占比 40.70%)、

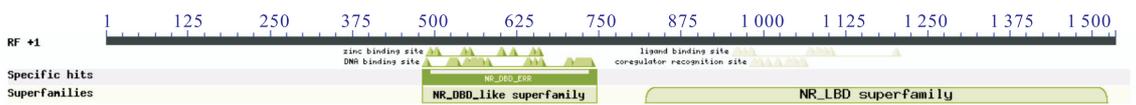
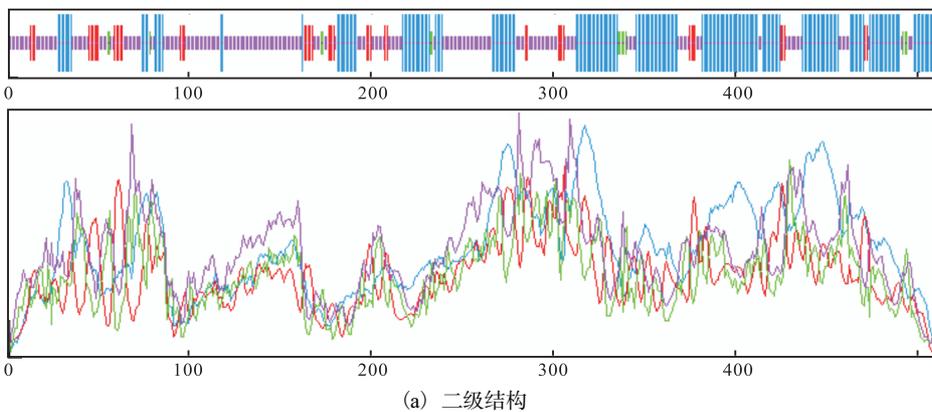
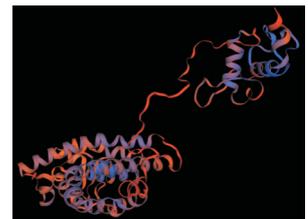


图 5 孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白保守结构域预测

Fig. 5 Prediction of conserved domain of protein encoded by *ERR* genes in *Artemia parthenogenetica*



(a) 二级结构



(b) 三级结构

图 6 孤雌卤虫 *ERR* 基因编码蛋白高级结构预测结果

Fig. 6 Prediction results of advanced structure of protein encoded by *ERR* genes in *Artemia parthenogenetica*

48个(占比9.39%)、15个(占比2.94%)和240个(占比46.97%)。*ERR*基因编码蛋白的三级结构模型与二级结构预测结果相符。

2.7 *ERR*基因在孤雌卤虫卵巢不同发育时期的表达分析

*ERR*基因在卤虫卵巢不同发育时期中的表达如图7所示。*ERR*基因在卤虫发育过程的相对表达量先上升后下降,在胚胎发生早期(EE)达到最高,其次是晚期胚胎时期(LE),均显著高于卵黄发生早期(EO)和卵黄发生晚期(LO) ($P < 0.01$)。

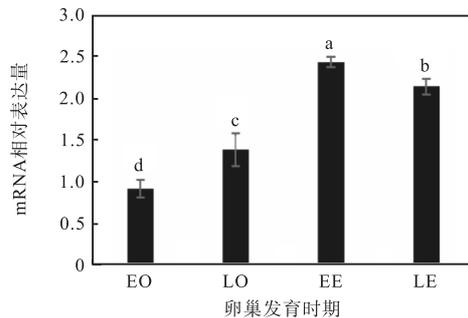


图7 *ERR*基因在卤虫卵巢不同发育时期的表达

Fig.7 Expression of *ERR* genes in ovary of *Artemia parthenogenetica* at different developmental stages

2.8 *ERR*基因在孤雌卤虫不同组织中的表达分析

*ERR*基因在孤雌卤虫胚胎发育早期不同组织中的表达如图8所示。*ERR*在3个组织中的表达量均较高,且在头部组织中的表达量显著高于卵巢组织和躯干组织 ($P < 0.01$)。

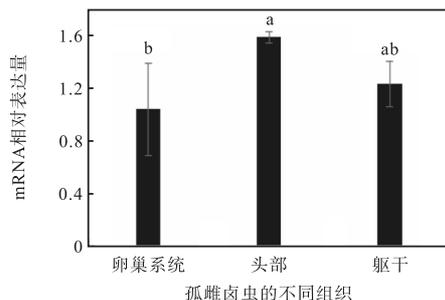


图8 *ERR*基因在孤雌卤虫胚胎发育早期不同组织中的表达

Fig.8 Expression of *ERR* genes in different tissues during early embryos of *Artemia parthenogenetica*

3 讨论

孤雌卤虫 *ERR* 基因的 ORF 片段总长度为 1536 bp, 编码 521 个氨基酸, 和菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*)^[21]、脊尾白虾 (*Exopala-*

mon carinicauda)^[12]、拟黑多刺蚁 (*Polyrhachis vicina* Roger)^[22]等物种的 *ERR* 基因序列片段大小相似。通过生物信息学分析,孤雌卤虫 *ERR* 蛋白分子属于稳定的酸性亲水性蛋白,含有包含一个锌指结构域的 NR_DB_D_ ERR 结构域和 NR_LBD super family 结构域。雌激素相关受体基因是孤儿核受体家族成员之一,由于其缺乏内源性配体,因此必须先与辅调节因子结合形成复合物,才能与目标调控基因上的 *ERE* 或 *ERRE* 位点发生相互作用,从而启动下游靶基因的表达,参与雌激素受体信号通路的调控^[18,23]。序列比对结果显示,孤雌卤虫 *ERR* 氨基酸序列与其他物种的 DNA 结合结构域 (DBD) 和配体结合结构域 (LBD) 具有很高的同源性。在 NJ 系统进化树中的自展值也较低,这可能是由于 *ERR* 基因在不同物种中进化保守性较高。

ERR 基因在不同物种中均有较高的表达量。在哺乳动物,如小鼠体内,*ERR* 基因在生殖细胞中持续表达,直到性别分化^[24];在鱼类的脑部和性腺^[25-26]、甲壳动物的卵巢^[27]及软体动物的性腺^[28]中,也发现 *ERR* 基因具有高表达。孤雌卤虫中雌激素相关受体 *ERR* 基因在胚胎早期不同组织中(卵巢、头部、躯干)检测到广泛表达,这表明了 *ERR* 基因具有广泛的生理功能。另外,随着孤雌卤虫的发育,到胚胎发育晚期时,*ERR* 基因在卵巢组织中大量表达,这表明 *ERR* 基因参与了孤雌卤虫卵巢的发育过程。在孤雌卤虫头部组织中发现 *ERR* 基因的表达,与罗氏沼虾的相关研究结果类似,赵苗鑫等^[28]猜测这种现象可能与体内存在的雌激素相关的反馈调节过程有关。

在脊索动物中发现,*ERR* 基因的功能参与动物的很多生理过程,如脑细胞的增殖和分化、脂肪的贮存和利用等,还与线粒体生物发生过程有关,同时对动物的性腺成熟和性激素的产生也发挥一定作用^[29]。Lü 等^[30]将曼氏无针乌贼 (*Sepiella japonica*) 的 *ERR* 基因敲除后发现,其体内与卵巢发育相关的基因及编码蛋白(如卵黄蛋白原、*CDK1* 和 *Cyclin B* 等)的表达发生明显下调。除此之外,当家蚕雌激素相关受体 (BmERR) 被干扰后,糖酵解限速酶基因的表达被抑制,血糖水平提高,家蚕胚胎发育过程产生延迟^[31]。*ERR* 基因在小鼠早期发育过程中的胚胎干细胞以及原始生殖细胞中发挥特定的功能,从而调节原始细胞的正常发育^[32],并会影响小鼠胚胎干细胞自我更新,促进重新编程^[33]。对孤雌卤虫卵巢不同发育时期的分析可知,在卵黄发育早期、卵黄发育晚期、

早期胚胎、晚期胚胎都有较高的表达量,在胚胎发育早期表达量最高,且显著高于其他3个时期,并且呈现先上升后下降的趋势。这种表达趋势与许多甲壳动物的表达趋势是一致的。例如,在罗氏沼虾卵巢发育过程中,*ERR* 基因的表达量在卵巢发育早期最大,呈现先上升后下降的趋势,猜测其对罗氏沼虾卵巢发育早期很重要^[29]。在脊尾白虾中也发现,*ERR* 基因在卵巢发育过程中表达量具有相似的趋势^[12]。因此,猜测 *ERR* 基因可能在孤雌卤虫的卵巢发育早期发挥重要作用。

本研究对孤雌卤虫的雌激素相关受体 *ERR* 基因进行了生物信息学分析,发现不同物种中的 *ERR* 基因较为保守。通过 qRT-PCR 揭示了 *ERR* 基因在孤雌卤虫不同组织及卵巢不同发育时期的表达模式。结果发现,*ERR* 基因参与了孤雌卤虫的卵巢发育过程,可能在孤雌卤虫的卵巢发育早期发挥重要作用。本研究为后期开展 *ERR* 基因的分子机制和功能研究奠定了基础,并对完善甲壳动物生殖发育调控基础理论及推进卤虫的遗传育种工作具有重要意义。

参考文献:

- [1] DATTILO A M, BRACCHINI L, CARLINI L, et al. Estimate of the effects of ultraviolet radiation on the mortality of *Artemia franciscana* in naupliar and adult stages[J]. International journal of biometeorology, 2005, 49(6): 388–395.
- [2] MANFRA L, SAVORELLI F, DI LORENZO B, et al. Intercalibration of ecotoxicity testing protocols with *Artemia franciscana*[J]. Ecological indicators, 2015, 57: 41–47.
- [3] BAXEVANIS A D, KAPPAS I, ABATZOPOULOS T J. Molecular phylogenetics and asexuality in the brine shrimp *Artemia*[J]. Molecular phylogenetics and evolution, 2006, 40(3): 724–738.
- [4] DUAN R B, ZHANG L, CHEN D F, et al. Two *p90* ribosomal S6 kinase isoforms are involved in the regulation of mitotic and meiotic arrest in *Artemia*[J]. Journal of biological chemistry, 2014, 289(23): 16006–16015.
- [5] SORGELOOS P, DHERT P, CANDREVA P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture [J]. Aquaculture, 2001, 200(1/2): 147–159.
- [6] HAN X K, REN Y Z, OUYANG X M, et al. Construction of a high-density genetic linkage map and QTL mapping for sex and growth traits in *Artemia franciscana*[J]. Aquaculture, 2021, 540: 736692.
- [7] LÜ Z M, LIU W, LIU L Q, et al. Cloning, characterization, and expression profile of estrogen receptor in common Chinese cuttlefish, *Sepiella japonica* [J]. Journal of experimental zoology part A: ecological genetics and physiology, 2016, 325(3): 181–193.
- [8] GIGUÈRE V, YANG N A, SEGUI P, et al. Identification of a new class of steroid hormone receptors[J]. Nature, 1988, 331(6151): 91–94.
- [9] MANGELSDORF D J, EVANS R M. The RXR heterodimers and orphan receptors[J]. Cell, 1995, 83(6): 841–850.
- [10] HORARD B, VANACKER J M. Estrogen receptor-related receptors: orphan receptors desperately seeking a ligand[J]. Journal of molecular endocrinology, 2003, 31(3): 349–357.
- [11] 刘金磊, 邓思平, 江东能, 等. *ERR*-dsRNA 对罗氏沼虾卵巢中 *ERR* 及生殖相关基因表达的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(3): 8–16.
- [12] 张春霞, 李健, 李吉涛, 等. 脊尾白虾 *EcERR* 基因的克隆与表达分析[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(2): 185–193.
- [13] 张照斌, 胡建英, 赛思翔, 等. 青鳉鱼 *ERRα* 的克隆、序列分析、组织表达及其对不同 EDCs 暴露的响应[J]. 环境科学, 2008(11): 3153–3158.
- [14] 庞赞, 张瑶, 刘立芹, 等. 2 种乌贼雌激素相关受体基因的克隆与表达特性分析[J]. 中国渔业质量与标准, 2019, 9(2): 16–23.
- [15] 陆洋, 吴旭干, 潘桂平, 等. 三疣梭子蟹雌激素相关受体基因在蜕皮过程中的表达分析[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(3): 321–328.
- [16] 黄静茹, 李文杏, 黄辉洋, 等. 中国鲎 (*Tachypleus tridentatus*) 雌激素相关受体基因的克隆与分析[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(6): 779–786.
- [17] LI D R, YE H L, YANG J S, et al. Identification and characterization of a *Masculinizer* (*Masc*) gene involved in sex differentiation in *Artemia*[J]. Gene, 2017, 614: 56–64.
- [18] KING A M, MACRAE T H. The small heat shock protein p26 aids development of encysting *Artemia* embryos, prevents spontaneous diapause termination and protects against stress[J]. PLOS ONE, 2017, 7(8): e43723
- [19] 任翊卓, 韩学凯, 左佳俊, 等. *Piwi* 基因参与两性卤虫 (*Artemia franciscana*) 的生殖调控研究[J]. 海洋与湖沼, 2021, 52(6): 1567–1576.

- [20] 孙瑜霞. 卤虫休眠胚胎形成过程中相关基因分子克隆及功能研究[D]. 杭州:浙江大学,2014.
- [21] 刘佩佩,苗晶晶,刘力铷,等. 菲律宾蛤仔雌激素相关受体基因克隆及互作蛋白筛选[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),2019,49(S1):9-15.
- [22] ZHANG J J, XI G S, ZHAO J. Vitellogenin regulates estrogen-related receptor expression by crosstalk with the JH and IIS-TOR signaling pathway in *Polyrhachis vicina* Roger (*Hymenoptera*, *Formicidae*) [J]. *General and comparative endocrinology*, 2021, 310: 113836.
- [23] 陈健,周度金. 雌激素受体相关受体研究进展[J]. 生命的化学,2001(6):487-489.
- [24] PARK E, KUMAR S, LEE B, et al. Estrogen receptor-related receptor γ regulates testicular steroidogenesis through direct and indirect regulation of steroidogenic gene expression[J]. *Molecular and cellular endocrinology*, 2017, 452: 15-24.
- [25] CHEUNG N K M, CHEUNG A C K, YE R R, et al. Expression profile of oestrogen receptors and oestrogen-related receptors is organ specific and sex depend-ent: the Japanese medaka *Oryzias latipes* model[J]. *Journal of fish biology*, 2013, 83(2):295-310.
- [26] TARRANT A M, GREYTAK S R, CALLARD G V, et al. Estrogen receptor-related receptors in the killifish *Fundulus heteroclitus*: diversity, expression, and estrogen responsiveness[J]. *Journal of molecular endocrinology*, 2006, 37(1):105-120.
- [27] NAGASAWA K, TREEN N, KONDO R, et al. Molecular characterization of an estrogen receptor and estrogen-related receptor and their autoregulatory capabilities in two *Mytilus* species[J]. *Gene*, 2015, 564(2):153-159.
- [28] 赵苗鑫,陈华谱,刘金磊,等. 罗氏沼虾雌激素相关受体(*ERR*)基因原核表达与纯化[J]. 广东海洋大学学报,2017,37(1):108-112.
- [29] ÖSTBERG T, JACOBSSON M, ATTERSAND A, et al. A triple mutant of the *Drosophila* *ERR* confers ligand-induced suppression of activity[J]. *Biochemistry*, 2003, 42(21):6427-6435.
- [30] LÜ Z, ZHU K, PANG Z, et al. Identification, characterization and mRNA transcript abundance profiles of estrogen related receptor(*ERR*) in *Sepiella japonica* imply its possible involvement in female reproduction [J]. *Animal reproduction science*, 2019, 211: 106231.
- [31] LONG W, WU J, SHEN G, et al. Estrogen-related receptor participates in regulating glycolysis and influences embryonic development in silkworm *Bombyx mori*[J]. *Insect molecular biology*, 2020, 29(2):160-169.
- [32] OKAMURA E, TAM O H, POSFAI E, et al. Esrrb function is required for proper primordial germ cell development in presomite stage mouse embryos[J]. *Developmental biology*, 2019, 455(2):382-392.
- [33] FESTUCCIA N, OWENS N, NAVARRO P. Esrrb, an estrogen-related receptor involved in early development, pluripotency, and reprogramming[J]. *FEBS Letters*, 2018, 592(6):852-877.

责任编辑:郎婧