

虾蟹类卵黄蛋白原的研究进展

水燕¹, 周鑫^{1,2*}, 徐增洪¹, 赵朝阳¹

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 无锡 214081;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 无锡 214081)

摘要: 简述了十足目动物中重要虾蟹类卵黄蛋白原 (vitellogenin) 的基因克隆及分子相关研究进展。分别从分子的合成转运、分子结构特征、分子进化、表达和激素调控、生物学功能等几个方面展开介绍, 整理回顾了目前已被克隆鉴定的十足目动物 Vg 分子特征; 指出了同源蛋白间存在的结构和功能的相似性; 分析了分子间的系统进化关系; 归纳了十足目 Vg 种间蛋白的主要特征, 并且提出一些区别于其它物种的独特之处。以期为进一步深入开展卵黄蛋白分子研究积累资料, 同时为虾蟹类卵巢发育机制研究提供理论依据。

关键词: 十足目; 卵黄蛋白原 Vg; 基因

中图分类号: Q958.8; Q343.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)02-0177-07

Research progress on vitellogenin gene of crustaceans

SHUI Yan¹, ZHOU Xin^{1,2}, XU Zeng-hong¹, ZHAO Chao-yang¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081;

2. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081)

Abstract: The present paper summarizes the biological research progress of vitellogenin gene in decapod crustaceans, mainly including protein synthesis, molecular structure, phylogenetic evolution, hormonal regulation of gene expression and biological functions. We introduced the molecular characteristics of identified Vg proteins as well as their similarities on structure and function. Also from the evolutionary point of view, we analyzed the phylogenetic relationships and put forward some similarities and differences among the homologous proteins. We hope this paper could offer some help for the further study of Vg gene, especially on control mechanism in ovarian development of crustaceans.

Key words: decapod; vitellogenin; gene

卵黄蛋白原 (vitellogenin, Vg) 是大型脂质转运蛋白 (large lipid transfer protein, LLTP) 超家族的成员^[1-2]。它是一种大分子磷脂糖蛋白, 其分子量大小在 200~700 ku 之间, 含有共价键连接的糖和磷酸根以及非共价键相连的脂类, 是非哺乳类卵生动物中卵黄蛋白 (vitellin, Vn) 的前体^[3]。Vn 和 Vg 是组成雌性卵黄的主要成分, 在卵黄发生期迅速积累并储存在卵中, 是胚胎和幼体早期发育主要的营养来源。Vg 作为“雌性特异性”蛋白, 在雄性体内含量极低或没有, 但某些雄性和幼体在外源性雌激素或类

雌激素的诱导下, 卵巢外器官也能合成微量的 Vg^[4]。但由于雄性缺乏卵巢, 使得新合成的 Vg 无法被有效吸收并利用而积存于血液中。Vg 广泛存在于脊索动物、棘皮动物、两栖类、爬行类、鱼类、鸟类和昆虫等卵生动物中。从无脊椎动物到脊椎动物, 它们在结构和功能上具有一定的类似性, 但是也有许多不同点。十足目 (Decapoda) 是节肢动物软甲纲的一目, 常见的有各种虾类、蟹类、寄居蟹类等, 多数可供食用, 是经济意义最大的一类甲壳动物。有关十足目动物 Vg 的研究最早可追溯到 20

收稿日期: 2011-08-26

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费(201003070)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金(2011JBF02)共同资助。

作者简介: 水燕, 女, 博士, 助理研究员。E-mail: shuiy@ffrc.cn

* 通讯作者: 周鑫, 研究员, 硕士生导师。E-mail: zhoux@ffrc.cn

世纪60年代,由Horn等^[5]在雌性蓝蟹 *Callinectes sapidus* 体内首次观察到 Vn 和 Vg 蛋白。到目前为止,国内外已经先后报道了10余种甲壳动物的 Vg 分子结构,部分已获得纯化的重组蛋白。本文主要就十足目虾蟹类 Vg 蛋白的合成转运途径、分子结构特征、同源进化、表达调控、生理功能等方面作一综述。

1 Vg 的合成和转运

Vg 的合成和转运与卵黄发生 (vitellogenesis) 密切相关。甲壳动物的卵黄发生是一个各类营养物质(蛋白质、脂类、碳水化合物等)的形成以及在卵母细胞中积累的过程,是卵母细胞发育成熟的必要条件。

在卵黄发生的初期阶段,卵黄形成的原料主要来源于卵母细胞本身,即所谓内源性卵黄合成 (autosynthesis)。正在发育的卵母细胞内开始合成 Vg,但是在细胞内的合成途径因动物种类而稍有差异。虾类的卵巢为管状结构,卵母细胞位于基底膜的生发带内,并有中胚层包围,卵黄颗粒的积累一般发生在粗面内质网。在锯缘青蟹 *Scylla serrata*, 卵巢内大量活跃增殖的卵原细胞形成多核共质体,在粗面内质网组成的囊泡中可见 Vg 的生成^[6]。

随着卵黄发生的不断进行,外源性卵黄合成 (heterosynthesis) 开始介入。卵巢外器官在雌性雌激素 (estrogen) 的刺激下合成 Vg,随即被分泌到血液中利用循环系统运输到卵巢,被卵母细胞通过受体 (vitellogenin receptor, VgR) 介导的胞饮作用摄取,在细胞内被酶解修饰成几种较小分子量的卵黄相关蛋白,从而发挥其营养源作用^[7]。因此,在卵黄发生的后期,在甲壳动物的血淋巴中可以检测到高浓度的 Vg。

现已被研究的甲壳动物 Vg 合成部位主要集中在肝胰腺^[8]、卵巢^[9]、血细胞及皮下脂肪组织^[10]。脂肪体是公认的昆虫 Vg 合成的位点,而肝胰腺被认为是甲壳类动物卵巢外最主要的 Vg 合成部位^[8]。虾蟹类中有关卵母细胞自身合成 Vg 的报道相对比较少,一般可归纳为两种主要方式: Vg 在肝胰腺和卵巢中表达; Vg 仅在肝胰腺中表达^[11]。

在不同种类的甲壳动物中, Vg 的合成部位有所区别;在同一物种中也发现 Vg 在不同部位表达的情况。蓝蟹的血细胞参与了 Vg 的合成^[6];在罗氏沼虾 *Macrobrachium rosenbergii*, Vg 仅特异性地在肝胰腺中表达^[12-13];而在首次成熟的红螯螯虾 *Cherax quadricarinatus* 的卵黄发育后期,卵巢和肝胰腺中

都能检测到 Vg 的表达,并且两者在氨基酸序列上存在一定的差异^[14]。高背长额虾 *Pandalus hypsinotus* 的 Vg 合成比较特殊,因其具雌雄同体性,个体先发育为雄性再发育为雌性,所以在雄性期和未成熟雌性期 Vg 不表达,随着雄腺的不断退化,慢慢可以在血淋巴中检测到 Vg 的产生^[15]。

2 分子结构

甲壳动物 Vg 是一种高分子量的磷酸脂糖蛋白,一般含有糖和类胡萝卜素成分,由多个多肽亚基(2~11个不等,以3个亚基居多)组成,不同物种间其分子量差异很大。在大多数已被研究的物种中, Vg 分子结构可大致分为3部分:位于N端的脂磷蛋白 I 部分;位于中间的由富含磷酸化丝氨酸的高磷蛋白部分;位于C端的脂磷蛋白 II 部分、卵黄磷蛋白和卵黄糖蛋白部分^[16]。

Vg 在卵母细胞内被水解酶(如组织蛋白酶 D) 酶切修饰后,加工成卵黄磷蛋白 (lipovitellin, Lv) 和卵黄高磷蛋白 (phosvitin, Pv)。Lv 由一条重链 (LvH) 和 (LvL) 一条轻链组成,是一类含脂的大分子蛋白,为胚胎发育提供氨基酸和脂类等营养物质。Pv 富含磷酸化丝氨酸,可以结合磷酸盐和钙离子,具有脂类运输的功能。此外在个别物种, Vg 还可被水解释放出 $\beta 1$ 组分蛋白,它是一种不含有卵磷脂的小分子量卵黄蛋白^[17]。

到目前为止,已经在 GenBank 数据库中登录的 Vg 核苷酸序列有 5 300 余条,其中,甲壳动物的 Vg 序列有 83 条,包括十足目的核苷酸序列 35 条;双甲目 (Diplostraca) 8 条;管口水蚤目 (Siphonostomatoida) 3 条。在已报道的十足目中,具备完整的 Vg 核苷酸序列及氨基酸序列信息有 16 条(表 1)。值得一提的是,刀额新对 *Metapenaeus ensis* 的 Vg 前体全长基因 MeVg1 被首次克隆^[18],长度约为 10 kb,由 15 个外显子和 14 个内含子组成。在蛋白结构域中没有发现多聚丝氨酸区域,相似的情况也发生在三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* 中(其丝氨酸残基的含量也非常低),而该区域在其它物种中被认为在受体介导的识别和结合过程中发挥重要作用。由此可以推测,多聚丝氨酸的结构域对于同样也是受体介导的甲壳动物 Vg 进入卵母细胞的胞饮作用可能不是必须的,在甲壳动物中,或许存在着不同于昆虫等的 Vg-VgR 受体识别结合机制。这其中的机理目前还不了解,期待着更多的实验研究能深入开展。

这些同源蛋白的开放阅读框编码氨基酸残基数

都在 2 580 aa 左右, 分子序列具有较高的相似性和同一性, 但是不同物种之间 Vg 的分子差异较大。经过同源蛋白氨基酸序列的比对分析, 发现有许多保守性很强的基序, 例如研究较多的 R-X-K/R-R 剪切位点。它是一种类似于枯草蛋白酶的内切蛋白酶识别位点, 保守位置大致位于第 740~760 位氨基酸之间 (图 1)。这个保守基序也存在于昆虫类 Vg 序列中。一般情况下, 一条 Vg 氨基酸残基序列中往往含有数个 R-X-K/R-R 剪切位点, 如罗氏沼虾的 Vg 含有 3 个 R-X-R-R 剪切位点^[21], 三疣梭子蟹的 Vg 序列被认为含有 11 个位点, 而高背长额虾的 Vg

序列仅有一个位点^[15]。

内切酶在多个剪切位点作用的结果或许可以解释卵巢内一些除 Vn 蛋白外的小分子量多肽片段的出现。但是也存在不同的观点, 认为这些小片段是 Vg 自身的不稳定性所致。在对锯缘青蟹的研究中, 发现 Vg 具有蛋白酶作用效应, 能自身切割为一些小的多肽片段, 在血淋巴的输送过程中, Vg 结合了某种未知保护因子, 以避免其在运输和胞饮过程中发生降解^[27]。目前对于 Vg 的加工修饰过程的相关研究还是比较少, 其研究将有待于深入。

表 1 GenBank 中登录的十足目物种 Vg 序列检索结果

Table 1 Search results on Vg sequences of species (Crustacea: decapoda) in GenBank

收录时间 Record time (y)	GenBank No. Nuc./Pro.	物种 Species 中文 (拉丁) 学名	常用名 Used name	ORF (aa)	亚基(n) Subunit	信号肽 剪切位点	文献来源 Reference
2002	AF306784/ AAG17936	红螯螯虾 <i>Cherax quadricarinatus</i>	澳洲淡水龙虾	2 584	4	?	Abdu et al, 2002 ^[8]
2003	AF548364/ AAN40701	刀额新对虾 <i>Metapenaeus ensis</i>	基围虾、泥虾	2 592	?	?	Tsang et al, 2003 ^[18]
2004	AB117524/ BAD11098	高背长额虾 <i>Pandalus hypsinotus</i>	富山虾	2 534	?	18-19	Tsutsui et al, 2004 ^[15]
2005	AB176641/ BAD98732	日本囊对虾 <i>Marsupenaeus japonicus</i>	花虾、竹节虾、 斑节虾	2 587	3	18-19	Tsutsui et al, 2005 ^[19]
2005	AY321153/ AAP76571	凡纳滨对虾 <i>Litopenaeus vannamei</i>	南美白对虾	2 587	3	?	Raviv et al, 2006 ^[20]
2006	AB056458/ BAB69831	罗氏沼虾 <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	淡水长臂大虾	2 537	3	17-18	Okuno et al, 2002 ^[21]
2006	DQ000638/ AAX94762	三疣梭子蟹 <i>Portunus trituberculatus</i>	梭子蟹、枪蟹	2 560	3	?	?
2007	AY051318/ AAL12620	短沟对虾 <i>Penaeus semisulcatus</i>	黑节虾、缘虎虾	2 587	?	?	Avarre et al, 2003 ^[22]
2007	DQ314748/ ABC41925	蓝蟹 <i>Callinectes sapidus</i>	蓝蟹、游水蟹	2 563	?	?	Zmora et al, 2007 ^[23]
2007	DQ288843/ ABB89953	斑节对虾 <i>Penaeus monodon</i>	草虾、虎虾	2 584	4	?	Tiu et al, 2006 ^[24]
2007	EF422415/ ABO09863	美洲螯龙虾 <i>Homarus americanus</i>	波士顿龙虾	2 583	3	?	?
2008	AB365125/ BAF91417	大螯蛄虾 <i>Upogebia major</i>	螯蛄虾	2 568	2	18-19	Kang et al, 2008 ^[19]
2009	DQ354690/ ABC86571	中国明对虾 <i>Fenneropenaeus chinensis</i>	对虾、白虾	2 587	2	?	Xie et al, 2009 ^[25]
2009	AY724676/ AAU93694	锈斑蟳 <i>Charybdis feriatius</i>	花蟹、红蟹、十 字蟹	2 579	2	?	Mak et al, 2005 ^[26]
2010	FJ644568/ ACV32381	墨吉明对虾 <i>Fenneropenaeus merguensis</i>	明虾、黄虾、香 蕉虾	2 587	?	?	?
2010	FJ812090/ AC036035	拟穴青蟹 <i>Scylla paramamosain</i>	和乐蟹、蟳	2 560	?	?	?

注: 上表所列为完整 mRNA 序列的十足目 Vg 基因检索结果。“?”表示目前没有相关信息或无法确定。

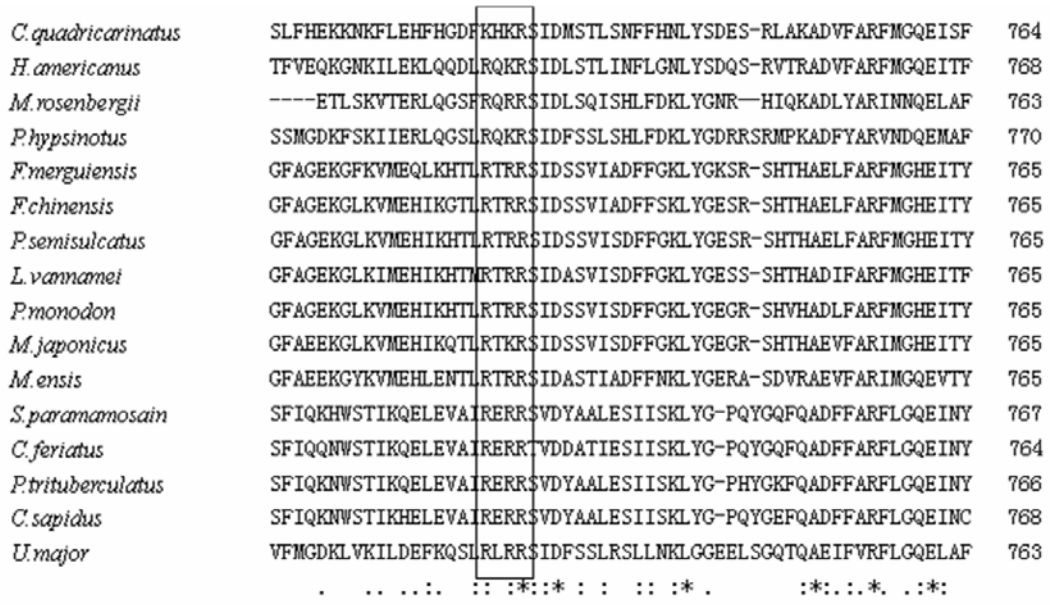
Note: Species (decapoda) that only full-length of Vg mRNA sequences has been identified, are listed above.“?” represents there is no information or can not be determined.

以罗氏沼虾的 Vg 核苷酸和氨基酸序列为参照序列, 分别利用 BLASTx 和 tBLASTn 程序进行同源性检索比对。结果显示 (表 2), 在 E 值均为 0.0

的前提下, 不同物种的 Vg 序列在分子结构上存在较高 (或一定程度) 的相似性。与罗氏沼虾的 Vg 同源性程度最高的是高背长额虾和日本仿长额虾,

分别达到 61%和 78%，其余物种的相似度均要低于这两者。而在另一项研究中指出，凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 的 Vg 蛋白某部分亚基能够被

短沟对虾 *Penaeus semisulcatus* 和斑节对虾 *Penaeus monodon* Vg 的多抗识别^[28]。这些都在一定范围内暗示蛋白在生物学功能上的相似性。



一致性氨基酸序列、高保守和低保守的氨基酸序列分别用“*”、“:”、“.”表示

Asterisks, double dots and single dots denoted fully conserved, strongly conserved and weakly conserved amino acid residues, respectively.

图 1 十足目动物 Vg 蛋白一级结构中 R-X-K/R-R 基序之一

Figure 1 One of the R-X-K/R-R box in primary structure of Vg proteins

表 2 罗氏沼虾 *M. rosenbergii* Vg 基因的 BLASTx 和 tBLASTn 比对检索结果

Table 2 BLASTx and tBLASTn results on Vg sequence of *M. rosenbergii*

GenBank No. (Pro./Nuc.)	物种 Species	分值 Score (x/n)	相似度 (x%/n%) Similarity	
			同一性 Identity	确信度 Degree of belief
BAD11098/AB117524	高背长额虾 <i>P. hypsinotus</i>	3159/3275	61/61	78/78
ACU51164/GQ476736	日本仿长额虾 <i>P. japonica</i>	3138/3263	61/61	78/78
AAG17936/AF306784	红螯螯虾 <i>C. quadricarinatus</i>	1911/1966	40/40	60/60
ABO09863/EF422415	美洲螯龙虾 <i>H. americanus</i>	1860/1914	39/39	59/59
BAB01568/AB176641	日本囊对虾 <i>M. japonicus</i>	1826/1876	38/38	59/59
ABC86571/DQ354690	中国明对虾 <i>F. chinensis</i>	1783/1831	38/38	58/58
ACV32381/FJ644568	墨吉明对虾 <i>P. merguensis</i>	1764/1821	38/38	58/58
AAL12620/AY051318	短沟对虾 <i>P. semisulcatus</i>	1746/1807	37/38	58/58
AAP76571/AY321153	凡纳滨对虾 <i>L. vannamei</i>	1744/1778	37/37	58/58
AAN40700/AF548364	刀额新对虾 <i>M. ensis</i>	1741/1748	37/37	58/58
ABB89953/DQ288843	斑节对虾 <i>P. monodon</i>	1715/1758	37/37	58/58
BAF91417/AB365125	大螯蛄虾 <i>U. major</i>	1553/1570	36/36	56/56
AAX94762/DQ000638	三疣梭子蟹 <i>P. trituberculatus</i>	1471/1499	34/?	55/?
ACO36035/FJ812090	拟穴青蟹 <i>S. paramamosain</i>	1456/1482	34/?	54/?
ABC41925/DQ314748	蓝蟹 <i>C. sapidus</i>	1423/1437	34/?	55/?
AAU93694/AY724676	锈斑蟊 <i>C. feriatius</i>	1414/1440	33/?	54/?

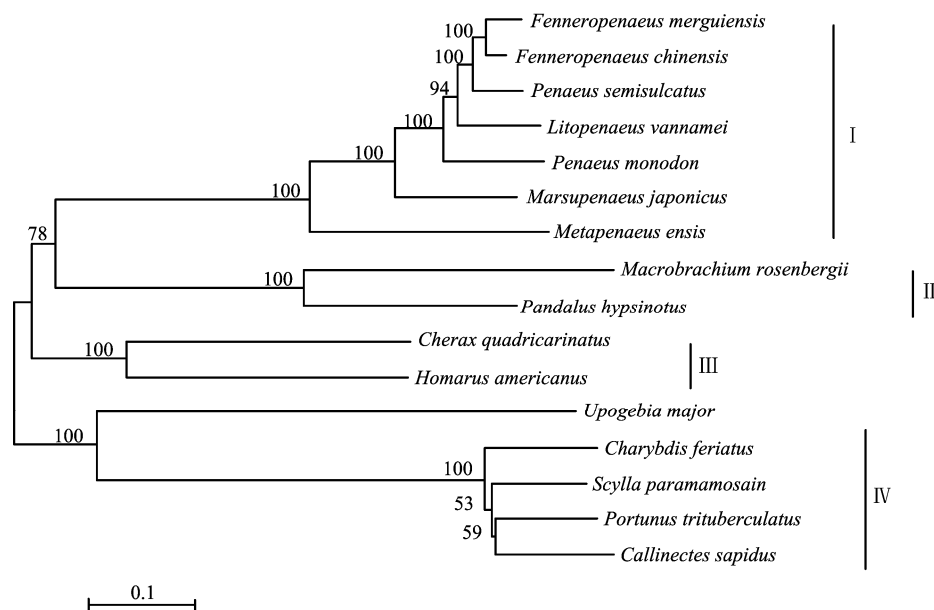
注：上表所列部分同源性检索结果，所有的比对结果 E 值为 0.0。“x”表示通过 BLASTx 搜索获得的分值和相似度，对应氨基酸序列的 GenBank 登录号，“n”表示通过 tBLASTn 搜索获得的分值和相似度，对应核苷酸序列的登录号。“?”表示搜索没有得出结果。

Note: only a fraction of results that were obtained from NCBI, are listed above. The E values of all of the sequence alignment are 0.0. “x” represents the scores and identities obtained by BLASTx, corresponding to GenBank accession no. of amino acid sequences. “n” represents the scores and identities obtained by tBLASTn, corresponding to GenBank accession no. of nucleotide sequences. “?” represents no result obtained by alignment search.

3 系统进化关系

对上述 16 种 Vg 同源蛋白氨基酸序列构建系统进化树。氨基酸和核苷酸序列比对采用 Clustal X 程序, 然后基于氨基酸序列比对文件, 采用 MEGA 4.0 分析软件通过最大似然法 (maximum likelihood, ML) 建树。设定重复次数 (replications) 为 1 000 次。相对进化速率计算采用 *T* test, *T* test 所用的 χ^2 统计对应的 *P* 值小于 0.05 时, 通常可认为分支进化速率有显著差异 (结果未显示)。

从图 2 中可以将进化树划分为 4 个分枝: 罗氏沼虾 (长臂虾科) 和高背长额虾 (长额虾科)、红螯螯虾 (拟龙虾科) 和美洲螯龙虾 *H. americanus* (龙虾科) 分别成为独立的 2 枝; 三疣梭子蟹、拟穴青蟹 *S. paramamosain*、蓝蟹 *C. sapidus*、锈斑蟳 *C. feriatius* 归纳为一枝, 这其中大螯蛄虾 *U. major* 也被归于此类; 其余的 7 个物种 (对虾科) 被归于第 4 枝。Vg 分子进化分析的结果与物种在分类学上的地位是基本一致的。



主要分枝上标注了 Bootstrap 验证的可信度

Bootstrap values are shown above major branches; the scale bar represents 0.1 substitutions per site

图 2 基于 Vg 基因氨基酸序列数据进行系统发生分析获得的最大似然树

Figure 2 The ML tree based on the amino acid dataset of Vg genes

4 基因表达和激素调控

在 Vg 的外源性合成中, 雌性激素的诱导起着关键性作用, 而雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 在识别和结合激素形成激素/受体二聚体的过程中起了重要的作用。类固醇类激素 17- β -雌二醇 (E_2) 是一种典型的雌性激素, 在已被研究的物种中, 它通过多种途径诱导 Vg 基因的表达^[29]。Vg 基因的调控区存在一个雌激素反应元件 (estrogen receptor element, ERE), 能被激素/受体二聚体识别并结合, 诱导相应 mRNA 的合成^[30]。Vg mRNA 的上游调控取决于激素及其受体的水平, 而 ER 的 mRNA 水平也受激素调控。在对某些鱼类的研究中, 发现雄鱼和雌鱼都含有 Vg 基因, 但是只在繁殖期的性成熟雌鱼中高表达。在雄鱼中, 只有在外源雌激素诱导

下才能表达 Vg, 因此 Vg 已成为检测环境雌激素的一个良好的生物标记物^[31]。

除了上述类固醇类激素, 在甲壳动物中, 眼柄的 X 器官-窦腺复合体合成分泌的性腺抑制激素 (gonad-inhibiting hormone, GIH) 和中枢系统的脑、胸神经节分泌的性腺刺激激素 (gonad-stimulating hormone, GSH) 作为多肽类激素的代表也参与调控卵巢发育及卵黄发生^[32]。此外, 十足目甲壳动物的大颚器合成的类萜类激素甲基法尼酯 (methyl farnesoate, MF) 在一定浓度时也能引发卵黄发生^[33]。但是对多肽类激素和类萜类激素对甲壳类 Vg 基因调控的研究还相对较少, 对各类激素的作用机制的了解还很不够。

5 生物学功能

Vg 的主要功能是为胚胎发育提供氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素、硫、磷等营养和功能性物质,促进卵母细胞的生长分化。由基因家族编码的 Vg 可以作为生物大分子载体,携带许多脂肪成分,可能在卵母细胞分裂过程中作为生物膜的基本结构组成;还能与类胡萝卜素、维生素 A、核黄素等结合,并转运至卵母细胞。Vg 能结合 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mg^{2+} 等金属离子,对于卵巢组织内部金属离子的积累具有重要的作用。在脊椎动物中,Vg 结合钙的能力与胚胎的骨骼发育有密切关系。此外,在已经纯化鉴定的甲壳动物 Vg 中发现了一些特殊的功能,如: Soderhall 等发现在美洲螯龙虾中存在一种凝集蛋白 (clotting protein) 属于 Vg 超家族,这种凝集蛋白在免疫防御机制中发挥作用^[34]; 螯虾以及鳗鲡 *Anguilla japonica* 的 Vg 被研究证明具有潜在的钙离子依赖性的蛋白酶活性,并且只有在 Vg 被卵内有蛋白酶活性的低密度脂蛋白 (LDL) 降解后才能显示蛋白裂解的活性^[35]。

6 小结

甲壳动物雌性相关蛋白的来源问题至今尚未完全清楚,但是其特异性抗血清是一个很重要的生物探针,可用来检测这些蛋白在动物体内的产生、运输以及利用的全部过程。今后的研究重点可以放在 Vg 的合成机理研究,以抗血清为指示物,揭示十足目主要经济虾蟹类的卵黄发生机制,以期真正达到人工干预亲本繁殖与成熟的目的。

此外,Vg 是由一个基因家族编码的,这个家族还编码很多低密度的脂蛋白、脂蛋白受体和载脂蛋白等,这些蛋白基本上在动物体内参与了脂类运输和代谢,所以对 Vg 的基因结构进行研究比较,有助于了解脂类代谢的机理和运载蛋白的进化过程。Vg 是在激素的严格调控下进行合成的,Vg 的产生机制实际上体现了以激素为配基分子通过与激素受体的结合,从而控制 Vg 基因的表达的过程,因此为 Vg 作为研究激素诱导基因表达和蛋白合成的研究对象提供了可能性。

参考文献:

- [1] Avarre J C, Lubzens E, Babin P J. Apolipoprotein, formerly vitellogenin, is the major egg yolk precursor in decapod crustaceans and is homologous to insect apolipoprotein II/I and vertebrate Apo B[J]. BMC Evol Biol, 2007, 7: 3.
- [2] Babin P J, Gibbons G F. The evolution of plasma cholesterol: direct utility or a "spandrel" of hepatic lipid metabolism?[J]. Prog Lipid Res, 2008, 48(2): 73-91.
- [3] Shi X, Zhang S, Pang Q. Vitellogenin is a novel player in defense reactions [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2006, 20(5): 769-772.
- [4] Goodwin A E, Grizzle J M, Bradley J T, et al. Monoclonal antibody-based immunoassay of vitellogenin in the blood of male channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Comp Biochem Physiol B, 1992, 101(3): 441-446.
- [5] Horn E C, Kerr M S. The hemolymph proteins of the blue crab, *Callinectes Sapidus*-I. Hemocyanins and certain other major protein constituents [J]. Comp Biochem Phys, 1969, 29(2): 493-508.
- [6] 成永旭, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹卵黄发生期卵母细胞和卵泡细胞之间的结构变化[J]. 动物学报, 2002, 48(1): 80-92.
- [7] Hiramatsu N, Hara A. Relationship between vitellogenin and its related egg yolk proteins in Sakhalin taimen (*Hucho perryi*) [J]. Comp Biochem Physiol A, 1996, 115(3): 243-251.
- [8] Abdu U, Davis C, Khalaila I, et al. The vitellogenin cDNA of *Cherax quadricarinatus* encodes a lipoprotein with calcium binding ability, and its expression is induced following the removal of the androgenic gland in a sexually plastic system [J]. Gen Comp Endocrinol, 2002, 127(3): 263-272.
- [9] Kang B J, Nanri T, Lee J M, et al. Vitellogenesis in both sexes of gonochoristic mud shrimp, *Upogebia major* (Crustacea): Analyses of vitellogenin gene expression and vitellogenin processing [J]. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol, 2008, 149(4): 589-598.
- [10] Tufail M, Takeda M. Vitellogenin of the cockroach, *Leucophaea maderae*: nucleotide sequence, structure and analysis of processing in the fat body and oocytes [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 32(11): 1469-1476.
- [11] Tsutsui N, Kawazoe I, Ohira T, et al. Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus* [J]. Zoological Science, 2000, 17(5): 651-660.
- [12] Yang W J, Ohira T, Tsutsui N, et al. Determination of amino acid sequence and site of mRNA expression of four vitellins in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. J Exp Zool, 2000, 287: 413-422.
- [13] Jasmani S, Ohira T, Jayasankar V, et al. Localization of vitellogenin mRNA expression and vitellogenin uptake during ovarian maturation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. J Exp Zool A, 2004, 301(4): 334-343.
- [14] Serrano-pinto V, Landais I, Ogliaastro M H, et al. Vitellogenin mRNA expression in *Cherax quadricarinatus* during secondary vitellogenesis at first maturation females [J]. Mol Reprod Dev, 2004, 69(1): 17-21.
- [15] Tsutsui N, Saido-sakanaka H, Yang W J, et al. Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin in the coon/striped shrimp, *pandalus hypsinotus* and site of vitellogenin mRNA expression [J]. J Exp Zool A: Com-

- parative Experimental Biology, 2004, 301(10): 802-814.
- [16] Tufail M, Takeda M. Molecular characteristics of insect vitellogenins[J]. J Insect Physiol, 2008, 54(12): 1447-1458.
- [17] Sawaguchi S, Koya Y, Yoshizaki N, et al. Multiple vitellogenins(Vgs) in mosquitofish(*Gambusia affinis*): Identification and characterization of three functional Vg genes and their circulating and yolk protein products[J]. Biol Reprod, 2005, 72: 1045-1060.
- [18] Tsang W S, Quackenbush L S, Chow B K C, et al. Organization of the shrimp vitellogenin gene: evidence of multiple genes and tissue specific expression by the ovary and hepatopancreas[J]. Gene, 2003, 303: 99-109.
- [19] Tsutsui N, Kim Y K, Jasmani S, et al. The dynamics of vitellogenin gene expression differs between intact and eyestalk ablated kuruma prawn *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus*[J]. Fish Sci, 2005, 71: 249-256.
- [20] Raviv S, Parnes S, Segall C, et al. Complete sequence of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) vitellogenin cDNA and its expression in endocrinologically induced sub-adult females[J]. Gen Comp Endocrinol, 2006, 145(1): 39-50.
- [21] Okuno A, Yang W J, Jayasankar V, et al. Deduced primary structure of vitellogenin in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and yolk processing during ovarian maturation[J]. Journal of Experimental Zoology, 2002, 292(5): 417-429.
- [22] Avarre J C, Michelis R, Tietz A, et al. Relationship between vitellogenin and vitellin in a marine shrimp (*Penaeus Semisulcatus*) and molecular characterization of vitellogenin complementary DNAs [J]. Biology of Reproduction, 2003, 69(1): 355-364.
- [23] Zmora N, Trant J, Chan S M, et al. Vitellogenin and its messenger RNA during ovarian development in the female blue crab, *Callinectes sapidus*: gene expression, synthesis, transport, and cleavage[J]. Biol Reprod, 2007, 77(1): 138-146.
- [24] Tiu S H K, Hui J H L, Mak A S C, et al. Equal contribution of hepatopancreas and ovary to the production of vitellogenin (PmVg1) transcripts in the tiger shrimp, *Penaeus monodon*[J]. Aquaculture, 2006, 254(1/4): 666-674.
- [25] Xie S, Sun L, Liu F, et al. Molecular characterization and mRNA transcript profile of vitellogenin in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Mol Biol Rep, 2009, 36(2): 389-397.
- [26] Mak A S C, Choi C L, Tiu S H K, et al. Vitellogenesis in the red crab *Charybdis feriatus*: Hepatopancreas-specific expression and farnesoic acid stimulation of vitellogenin gene expression [J]. Mol Reprod Dev, 2005, 70(3): 288-300.
- [27] Warriar S R, Subramoniam T. Instability of crab vitellogenin and its immunological relatedness with mammalian atherogenic lipoproteins [J]. Mol Reprod Dev, 2003, 64(3): 329-340.
- [28] Tom M, Fingerma M, Hayes T K, et al. A comparative study of the ovarian proteins from two penaeid shrimps, *Penaeus semisulcatus* de haan and *Penaeus vannamei*(boone)[J]. Comp Biochem Physiol B, 1992, 102(3): 483-490.
- [29] Loomis A K, Thomas P. Effects of estrogens and xenoestrogens on androgen production by Atlantic croaker testes in vitro: evidence for a nongenomic action mediated by an estrogen membrane receptor [J]. Biol Reprod, 2000, 62(4): 995-1004.
- [30] Denslow N D, Lee H S, Bowman C J, et al. Multiple responses in gene expression in fish treated with estrogen [J]. Comp Biochem Physiol Mol Biol, 2001, 129(2/3): 277-282.
- [31] Mitsui N, Tooi O, Kawahara A. Sandwich ELISAs for quantification of *Xenopus laevis* vitellogenin and albumin and their application to measurement of estradiol-17 β effects on whole animals and primary-cultured hepatocytes[J]. Comp Biochem Physiol C: Toxicology & Pharmacology, 2003, 135(3): 305-313.
- [32] Pateraki L E, Stratakis E. Synthesis and organization of vitellogenin and vitellin molecules from the land crab *Potamon potamios*[J]. Comp Biochem Physiol Part B, 2000, 125(1): 53-61.
- [33] Jo Q T, Laufer H, Biggers W J, et al. Methyl farnesoate induced ovarian maturation in the spider crab, *Libinia emarginata*[J]. Invertebrate Reproduction and Development, 1999, 36(1/3): 79-85.
- [34] Soderhall K. Defence reactions in a crustacean [J]. Dev Comp Immunol, 1997, 21(2): 137.
- [35] Komatsu M, Matsumoto W, Hayashi S. Protease activity appeared after trypsin treatment of the purified vitellogenin from eel *Anguilla japonica*[J]. Comp Biochem Physiol B, 1996, 113(3): 561-571.