

doi: 10.7541/2016.10

马氏珠母贝 *Sox11* 基因的克隆及时序表达模式分析

于非非¹ 王梅芳¹ 桂建芳² 周莉² 余祥勇¹

(1. 广东海洋大学水产学院, 湛江 524088; 2. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 为探究 *Sox* (SRY-related HMG-box genes) 基因家族在马氏珠母贝个体发育及性别分化中的作用, 研究首先利用兼并引物从马氏珠母贝基因组中克隆到一个 HMG 框 (high mobility group box), 利用 RACE-PCR 技术从 SMART cDNA 文库中克隆到一个 *Sox* 基因的 cDNA 全长, 通过 Clustal X 和 MEGA 4 软件对该序列进行比对分析并构建系统进化树; 通过荧光定量 PCR 技术对该基因在不同组织及发育不同时期性腺中的表达情况进行分析。结果显示, 马氏珠母贝该 *Sox* 基因的 cDNA 全长为 1579 bp, 其中开放阅读框 (ORF) 为 1008 bp, 编码 336 个氨基酸, 5' 非编码区为 126 bp, 3' 非编码区为 445 bp。同源性分析表明, 马氏珠母贝 *Sox* 基因与太平洋牡蛎 *Sox11* 基因的同源性 (Identity) 最高, 为 80%, 故命名为 *pmSox11*; 系统进化树分析也显示 *pmSox11* 与太平洋牡蛎 *Sox11* 基因的亲缘关系最近。荧光定量 PCR 分析组织表达特异性显示, *pmSox11* 在马氏珠母贝神经节分布较多的组织如外套膜、鳃、足、消化盲囊等大量表达, 在神经节相对较少的闭壳肌和卵巢中表达量较少; 时序表达图谱显示, *pmSox11* 在 3 月龄幼贝性腺和 1 年龄发育早期精巢中表达量最高, 在 2 年龄成熟精巢和 2 年龄性转换性腺中表达量降低, 而在 2 年龄卵巢中表达量最低。研究表明, *pmSox11* 基因可能在马氏珠母贝早期神经系统发育和性别发育的调控方面起到重要作用。

关键词: 马氏珠母贝; *pmSox11*; 基因克隆; 时序表达模式

中图分类号: Q344⁺.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2016)01-0071-05

Sox (SRY-related HMG-box genes) 基因家族是近年来引起人们广泛关注的一个基因家族。其编码的蛋白是一类重要的转录调控因子, 其共同特点是都包含一个约 79 个氨基酸的高度保守的 HMG 盒区^[1, 2]。HMG 结构域能够识别特异的 DNA 位点, 并在其他转录因子的相互作用下与 DNA 结合, 从而参与了性别决定、骨组织的发育、血细胞生成、神经系统的发育等多种发育过程^[3-5]。迄今为止, 已有 20 多个 *Sox* 基因家族成员被鉴定出来, 并根据其结构和功能的不同被分为 A-H 8 个亚族^[6, 7]。*Sox11* 基因是 *SoxC* 亚族的成员之一^[8], 广泛表达于发育过程的中枢神经系统 (CNS) 和周围神经系统 (PNS) 中, 目前主要认为参与了神经系统的发育^[9]。近年来, 多种脊椎动物的 *Sox11* 基因被相继克隆出

来, 如小鼠 (*Mus musculus*)^[10]、人 (*Homo sapiens*)^[11]、鸡 (*Gallus gallus*)^[12]、爪蟾 (*Xenopus oocytes*)^[13]、斑马鱼 (*Danio rerio*)^[14] 等, 但在无脊椎动物中报道较少。在贝类中, 除牡蛎的 *Sox11* 基因已被克隆外 (XP_011 445203.1), 未见其他相关报道。

马氏珠母贝 [*Pinctada matensii* (Dunker)], 属软体动物门 (Mollusca), 瓣鳃纲 (Lamellibranchia), 珍珠贝科 (Pteriidae), 是我国人工培育海水珍珠的最主要母贝, 其所产珍珠量占整个海水珍珠产量的 95% 以上, 具有很高的生产价值^[15, 16]。高度保守的 *Sox* 基因家族及其成员 *Sox11*, 是否存在于马氏珠母贝中, 是否也参与了马氏珠母贝发育过程的调控是亟待解决的问题。

基于上述研究目的, 本研究利用兼并引物在马

收稿日期: 2015-04-16; 修订日期: 2015-09-09

基金项目: 广东海洋大学优秀青年骨干教师培养项目 (2014004); 广东省海洋渔业科技推广专项项目 (A201308A11); 广东海洋大学博士科研启动基金 (E15041) 资助 [Supported by the Outstanding Young Teacher Foundation of Guangdong Ocean University (2014004); the Technology Extension Foundation of Marine Fishery in Guangdong Province (A201308A11); the Doctoral Scientific Research Foundation of Guangdong Ocean University (E15041)]

作者简介: 于非非 (1980—), 女, 山东威海人; 博士; 主要从事贝类遗传育种和分子生物学的研究。E-mail: yufeifei2000@163.com

通信作者: 余祥勇 (1966—), 男, 湖北武汉人; 教授; 主要从事水产动物育种及养殖技术的研究和开发。E-mail: topearly@126.com

氏珠母贝中克隆了*Sox11*基因的HMG框,采用RACE技术从SMART cDNA文库中获得了*Sox11*基因的全长序列;构建系统进化树,分析了马氏珠母贝*Sox11*基因的进化地位;利用RT-PCR技术,探讨*Sox11*基因的组织标点特异性及在不同时期性腺中的表达差异。

1 材料与方 法

1.1 材料

马氏珠母贝,采捕自湛江市流沙湾养殖群体。

1.2 方法

HMG框的克隆 利用E.Z.N.A Tissue DNA Kit试剂盒(OMEGA 公司)提取马氏珠母贝雄性性腺的基因组DNA。根据*Sox11*基因家族保守的HMG box的氨基酸序列,设计简并引物,正向引物为:5'-CACGTC AAG(A/C)G(A/G)CC(G/C)ATGAACGC-3';反向引物为:5'-AGTC(A/G/T)GGGT(G/A)GTCTTTCTT(G/A)TGC-3'^[17]。以马氏珠母贝的基因组为模板,扩增HMG box,PCR反应条件为:97℃预变性5min,进行35个循环,每个循环包括94℃变性40s,54℃复性40s,72℃延伸40s,最后一个循环结束后72℃延伸10min^[17]。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳分离、纯化,与pMD18-T载体连接过夜,转化进DH5 α 感受态细胞,37℃倒置培养过夜。筛选阳性克隆进行测序。

SMART cDNA的合成和全长cDNA的克隆

摘取发育早期的雄性马氏珠母贝的精巢,利用SV Total RNA Isolation System试剂盒(Promega 公司)提取其总RNA。参照SMART cDNA library construction Kit(Clontech 公司)操作手册,合成马氏珠母贝发育早期精巢的SMART cDNA。

根据马氏珠母贝HMG框序列,设计了*Sox*基因特异的3'RACE引物:5'-TCGAACGAAGGAAAATATCGG-3',利用SMART cDNA文库的3'锚定引物5'-GTATCAACGCAGAGTACTTTTTTTT-3',以稀释20倍的SMART cDNA为模板进行扩增,获得*Sox* cDNA的3'端^[17]。退火温度为51℃,72℃延伸1min30s,38个循环。在马氏珠母贝的3'非保守序列内,设计了*Sox*基因特异的5'RACE引物:5'-CTCTGCGTTGTGCATATCGG-3',利用SMART cDNA文库的5'锚定引物5'-AACGCAGAGTACGCGGG-3'进行扩增,获得*Sox* cDNA的5'端^[17]。复性温度为53℃,72℃延伸1min,38个循环。3'和5'PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳分离纯化、连接、克隆并测序。3'端序列与5'端序列拼接获得*Sox* cDNA全长序列。将所获得*Sox*基因全长在NCBI上进行同源

基因的搜寻,推导的氨基酸序列用Clustal X (1.8)软件排序,用MEGA4.1软件构建系统进化树。

RNA的提取和RT-PCR检测 分别取马氏珠母贝的腮、外套膜、闭壳肌、消化盲囊、精巢和卵巢各三个,取幼贝性腺(3月龄)、早期精巢(1年 龄)、成熟期精巢(2年 龄)、雄性向雌性转化期性腺(2年 龄天然性转换个体,性腺中有精细胞、精子和卵母细胞)、发育早期卵巢(1年 龄)、成熟期卵巢(2年 龄)各3个,提取其总RNA,用M-MLV 逆转录酶(Gibco BRL) (Promega 公司)和寡聚(dT)15 反转录合成第一链cDNA。

运用荧光定量PCR分析马氏珠母贝不同组织*Sox*基因的表达水平。分别设计内参 β -actin基因的引物为actin-F (5'-GTGCACTGGTCTTCAGGGGTT-3') 和actin-R (5'-GGGAAGTGGATGCGTGGGTAT-3');*Sox11*基因的引物为*pmSox*-F(5'-ACACGGACGCTACTCAGTGC-3') 和*pmSox*-R (5'-ACTACAGACTTAGCCTTCTTCCTCG-3')。以马氏珠母贝的闭壳肌为对照,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算*Sox*基因在马氏珠母贝外套膜、腮、闭壳肌、消化盲囊、足、精巢和卵巢中的表达水平,每组设3个重复。

2 结果

2.1 HMG框的克隆及序列分析

利用简并引物扩增马氏珠母贝HMG框,得到了1条特异的条带。挑选了30个阳性克隆测序,获得了1个大小为206 bp,编码68个氨基酸HMG box序列。氨基酸序列比对发现,该片段与太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)*Sox11*基因的HMG框同源性(Identity)最高,为95%;与沙蚕(*Platynereis dumerilii*) *Sry*的HMG框同源性为89%;与茧蜂(*Fopius arisanus*)*Sox4*基因的HMG框同源性为84%,与印度跳蚁(*Harpegnathos saltator*) *Sox14*的HMG框同源性为82%。这表明在马氏珠母贝的基因组中确实存在*Sox*基因家族,且*Sox*基因家族不同成员的HMG框间高度保守。

2.2 Sox全长cDNA的克隆及序列分析

采用RACE-PCR技术克隆了马氏珠母贝*Sox*基因家族中一个成员(登录号KR061388)。该基因cDNA全长为1579 bp,其中开放阅读框(ORF)为1008 bp,编码336个氨基酸,5'非编码区为126 bp,3'非编码区为445 bp。序列比对发现,该基因与太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)*Sox11*基因的同源性最高为80%,与海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)、茧蜂(*Apis mellifera*)和小鼠(*Mus musculus*)的*Sox11*

基因也存在较高的同源性, 分别为38%、30%和31%, 且同源性最高的序列位于HMG box范围内, 故命名为 *pmSox11*。

分别选取太平洋牡蛎、海胆、斑马鱼(*Danio rerio*)、爪蟾(*Xenopus laevis*)、鸡(*Gallus gallus*)、小鼠等的 *Sox11* 基因与马氏珠母贝的 *Sox11* 基因编码的氨基酸进行聚类分析(图 1), Neighbor-joining (NJ) 树所示结果与传统的进化分类学相吻合。马氏珠母贝和太平洋牡蛎都属于双壳类, 两者的 *Sox11* 基因同源性最高, 聚为一个小的进化分支。马氏珠母贝和海胆的 *Sox11* 基因的同源性也较高, 暗示着软体动物可能和棘皮动物的亲缘关系较近。脊椎动物类斑马鱼、爪蟾、鸡和小鼠的 *Sox11* 基因聚为一个较大的进化分支, 与马氏珠母贝展示较低的同源性, 可能是因为脊椎动物是较进化的类群, 在物种演化过程中分化较迟, 与马氏珠母贝等贝类相比有更远的进化历史。

2.3 *pmSox11* 基因的时序表达模式分析

以马氏珠母贝各种组织的cDNA第一链为模板, 利用 *pmSox11* 基因引物进行组织表达特异性分析。结果显示, 在鳃、外套膜、闭壳肌、消化盲囊、足、精巢和卵巢中都可以检测到 *pmSox11* 转录本的存在, 其中在鳃、外套膜、足、消化盲囊和精巢中的表达量较高, 在闭壳肌和卵巢中表达量明显少于其他组织(图 2a)。

通过时序表达模式分析发现, *pmSox11* 基因在3月龄幼贝性腺、1年龄精巢、2年龄精巢、2年龄雄性向雌性转化期性腺、1年龄卵巢、2年龄卵巢中都有表达, 但在3月龄幼贝和1年龄精巢中表达量最高, 随着个体的发育, 在2年龄精巢中表达量降

低。在性别转换时期表达量较低, 而在卵巢中表达量最低(图 2b)。在雄性性腺和雌性性腺中的差异表达, 暗示了 *pmSox11* 可能也参与了马氏珠母贝性别发育的调控。

3 讨论

3.1 *pmSox11* 的序列和同源性分析

自1990年Sinclair等^[1]克隆了 *Sry* (Sex-determining region Y) 基因后, 人们用 *Sry* 基因为探针, 在其他多个物种中发现了 *Sry* 的同源基因 *Sox* (*sry* related HMG box) 及其家族成员。 *Sox* 基因家族被分

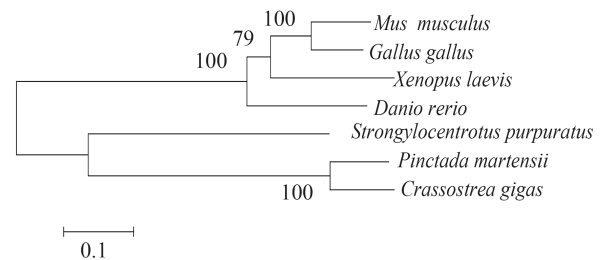


图 1 马氏珠母贝 *Sox11* 基因与其他物种同源蛋白的系统发育 NJ 树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Sox11* from *pinctada martenssi* and other homologues

利用Mega4.1软件对马氏珠母贝(*Pinctada martensii*)、太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*, XP_011445203.1)、海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*, XP_798084.1)、斑马鱼(*Danio rerio*, CAB87379.1)、爪蟾(*Xenopus laevis*, AAH70707.1)、鸡(*Gallus gallus*, BAA25297.1)、小鼠(*Mus musculus*, AAB82425.1)的 *Sox11* 基因构建 NJ 进化树

The NJ tree was made among *Pinctada martensii*, *Crassostrea gigas*, *Strongylocentrotus purpuratus*, *Danio rerio*, *Xenopus laevis*, *Gallus gallus* and *Mus musculus* by Mega (4.1) programs

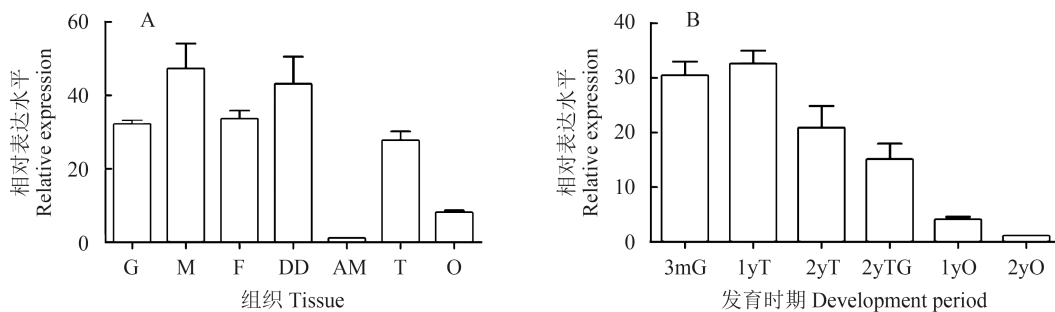


图 2 *pmSox11* 基因在各种组织和性腺发育不同时期的表达水平

Fig. 2 The expression of *pmSox11* in different tissues and various stages of gonad of *Pinctada matensii*

A. *pmSox11* 基因在各种组织的表达情况。G. 鳃; M. 外套膜; AM. 闭壳肌; DD. 消化盲囊; F. 足; T. 精巢; O. 卵巢。B. *pmSox11* 基因在性腺发育不同时期的表达情况。3mG. 3月龄性腺; 1yT. 1年龄精巢; 2yT. 2年龄精巢; 2yTG. 2年龄雄性向雌性转化期性腺; 1yO. 1年龄卵巢; 2yO. 2年龄卵巢

A. The expression of *pmSox11* in different tissues. G. gill; M. mantle; AM. adductor muscle; DD. digestive diverticulum; F. foot; T. testis; O. ovary. B. The expression of *pmSox11* in various stages of gonad. 3mG. 3-month-old gonad; 1yT. 1-year-old testis; 2yT. 2-year-old testis; 2yTG. 2-year-old transitional gonad; 1yO. 1-year-old ovary; 2yO. 2-year-old ovary

为A-H 8个亚族^[6, 7], 其中SoxC亚族有Sox4、Sox11和Sox12三个成员, 他们都包括两部分功能结构: 位于N端的HMG框(HMG-box)和位于C端的转录激活结构域(transactivation domain, TAD)。

本研究利用RACE技术从马氏珠母贝性腺中克隆了Sox11基因, 序列分析发现其氨基酸序列的N端含高度保守的HMG框, C端的同源性较低。对cDNA全长的同源性分析显示, *pmSox11*与其他物种Sox11基因的同源性较高, 特别是与太平洋牡蛎Sox11基因的同源性达到80%。这说明Sox11基因在贝类中是高度保守的, 也暗示着该基因在贝类个体发育过程中起重要作用。

3.2 *pmSox11*的表达特征及功能分析

Sox11基因在生物的生长发育过程中作用广泛。Bergsland等^[18]报道, Sox11大量表达于发育时期的神经系统, 在神经形成和神经细胞的生长过程中起重要作用。Sock等^[10]发现Sox11缺失的小鼠表现出骨骼畸形、器官发育不全的症状, Sox11突变也易导致人类畸形综合征(Malformation syndromes)的产生, 认为Sox11基因参与了组织形成和重塑过程。最近的研究发现, Sox11基因能够作为一种调控因子, 阻断成熟B细胞的分化, 调控干细胞的发育命运^[19]。Sox11基因还在所有的套细胞淋巴瘤(Mantle cell lymphoma, MCL)中都表达, 可以作为临床上MCL诊断标志^[20]。以上对于Sox11基因功能的研究多以脊椎动物为研究对象, 而Sox11在贝类等无脊椎动物中是否具有相似或者其他更多的功能, 目前没有深入的研究。

软体动物的神经系统由4对神经节和与之联络的神经构成。脑神经节1对, 位于食道背侧; 足神经节1对, 位于足的前部; 侧神经节1对, 派出神经至外套膜和鳃; 脏神经节1对, 派出神经至各内脏器官^[21]。各神经节之间有神经连索, 遍布各个组织器官。根据组织特异性表达结果分析, *pmSox11*基因在鳃、外套膜、足、消化盲囊、闭壳肌、精巢和卵巢中都有表达, 在鳃、外套膜、足、消化盲囊等神经节丰富的组织(分别对应侧神经节、足神经节、脑神经节)表达量较高^[21], 在闭壳肌等神经节不丰富的组织表达量较低, 这在一定程度上印证了Sox11基因在神经系统中的作用。

通过时序表达模式分析, *pmSox11*在3月龄幼贝和1年龄发育早期精巢中表达量最高, 在2年龄成熟精巢中表达量降低, 主要原因可能是该基因参与了个体发育过程。这与已有的Sox11基因只在发育时期的组织中表达, 在成体组织中消失的报道相吻合^[22]。另外, 时序表达模式还显示, *pmSox11*基因在

马氏珠母贝卵巢中的表达明显低于精巢。虽然在哺乳动物中未见Sox11基因参与性别分化的报道, 但因为Sox11基因所属的SoxC亚族和Sox3所属的SoxB亚族及Sox9基因所属的SoxE亚族间存在较高的同源性^[23], 且后两者被大量报道在多个物种的性别决定和分化中起到关键作用^[24, 25], 所以本文推测*pmSox11*可能也参与了马氏珠母贝性别发育的调控过程。

参考文献:

- [1] Sinclair A H, Betra P, Palmer M S, *et al.* A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif [J]. *Nature*, 1990, **346**(6281): 240—244
- [2] Guo W J, Yu X M, Tong J G. Cloning and sequence evolution analysis of Sox genes in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(4): 664—668 [郭稳杰, 俞小牧, 童金苟. 鳊Sox基因克隆及序列进化分析. 水生生物学报, 2014, **38**(4): 664—668]
- [3] Kamachi Y, Kondoh H. Sox proteins: regulators of cell fate specification and differentiation [J]. *Development*, 2013, **140**(20): 4129—4144
- [4] Jiang T, Hou C C, She Z Y, *et al.* The Sox gene family: function and regulation in testis determination and male fertility maintenance [J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, **40**(3): 2187—2194
- [5] Abdelalim E M, Emar M M, Kolatkar P R. The Sox transcription factors as key players in pluripotent stem cells [J]. *Stem Cells and Development*, 2014, **23**(22): 2687—2699
- [6] Luo Y S, Hu W, Liu X C, *et al.* Molecular cloning and mRNA expression pattern of Sox9 during sex reversal in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. *Aquaculture*, 2010, **306**(1): 322—328
- [7] Bowles J, Schepers G, Koopman P. Phylogeny of the Sox family of developmental transcription factors based on sequence and structural indicators [J]. *Developmental Biology*, 2000, **227**(2): 239—255
- [8] Pillai-Kastoori L, Wen W, Morris A C. Keeping an eye on Sox C proteins [J]. *Developmental Dynamics*, 2015, **244**(3): 367—376
- [9] Hong C S, Saint J P. Sox proteins and neural crest development [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2005, **16**(6): 694—703
- [10] Sock E, Rettig S D, Enderich J, *et al.* Gene targeting reveals a widespread role for the high-mobility group transcription factor Sox11 in tissue remodeling [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2004, **24**(15): 6635—6644
- [11] Liu D T, Peng Z, Han J Y, *et al.* Clinical and prognostic significance of Sox11 in breast cancer [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, **15**(13): 5483—5486
- [12] Sinkkonen S T, Starlinger V, Galaiya D J, *et al.* Serial analysis of gene expression in the chicken otocyst [J]. *Journal of*

- Association for Research in Otolaryngology*, 2011, **12**(6): 697—710
- [13] Brugmann S A, Pandur P D, Kenyon K L, *et al.* Six1 promotes a placodal fate within the lateral neurogenic ectoderm by functioning as both a transcriptional activator and repressor [J]. *Development*, 2004, **131**(23): 5871—5881
- [14] De M S, Yan Y L, Jowett T, *et al.* Expression of *Sox11* gene duplicates in zebrafish suggests the reciprocal loss of ancestral gene expression patterns in development [J]. *Developmental Dynamics*, 2000, **217**(3): 279—292
- [15] Yu F F, Gui J F, Zhou L, *et al.* Cloning and expression characterization of *Dmrt5* in *Pinctada martensii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, **33**(5): 844—850 [于非非, 桂建芳, 周莉, 等. 马氏珠母贝*Dmrt5*基因的克隆及时序表达模式分析. 水生生物学报, 2009, **33**(5): 844—850]
- [16] Wang M F, Yu X Y, Liu Y, *et al.* Study on cryopreservation of spermatozoa in *Pinctada martensii* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006, **30**(2): 170—174 [王梅芳, 余祥勇, 刘永, 等. 马氏珠母贝精子的超低温保存. 水产学报, 2006, **30**(2): 170—174]
- [17] Yu F F. Cloning and temporal and spatial expression patterns analysis of *Dmrt* and *Sox* in *Pinctada martensii* [D]. Thesis for Master of Science, Guangdong Ocean University, Zhanjiang. 2007 [于非非. 马氏珠母贝*Dmrt*和*Sox*基因的克隆及时空表达分析. 硕士学位论文, 广东海洋大学, 湛江. 2007]
- [18] Bergsland M, Werme M, Malewicz M, *et al.* The establishment of neuronal properties is controlled by *Sox4* and *Sox11* [J]. *Genes & Development*, 2006, **20**(24): 3475—3486
- [19] Zeng W, Fu K, Quintanilla-Fend L, *et al.* Cyclin D1-negative blastoid mantle cell lymphoma identified by SOX11 expression [J]. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2012, **36**(2): 214—219
- [20] Vegliante M C, Palomero J, Perez-Galan P, *et al.* *Sox11* regulates *Pax5* expression and blocks terminal B-cell differentiation in aggressive mantle cell lymphoma [J]. *Blood*, 2013, **121**(12): 2175—2185
- [21] Li X. Aquatic Animal Embryology [M]. Beijing: China Agriculture Press. 2005, 82 [李霞. 水产动物组织胚胎学. 北京: 中国农业出版社. 2005, 82]
- [22] Xu W, Li J Y. SOX11 expression in mantle cell lymphoma [J]. *Leukemia & Lymphoma*, 2010, **51**(11): 1962—1967
- [23] Koopman, P. The molecular biology of SRY and its role in sex determination in mammals [J]. *Reproduction Nutrition Development*, 1995, (7): 713—722
- [24] Zhou L, Gui J F. Molecular mechanisms underlying sex change in hermaphroditic groupers [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2010, **36**(2): 181—193
- [25] Jiang T, Hou C C, She Z Y, *et al.* The *Sox* gene family: function and regulation in testis determination and male fertility maintenance [J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, **40**(3): 2187—2194

MOLECULAR CLONING AND EXPRESSION PATTERNS OF SOX11 GENE IN *PINCTADA MARTENSII*

YU Fei-Fei¹, WANG Mei-Fang¹, GUI Jian-Fang², ZHOU Li² and YU Xiang-Yong¹

(1. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: To evaluate the expression of *Sox* (SRY-related HMG-box) gene during development and sex differentiation of *Pinctada martensii*, we cloned and characterized the HMG box and the full-length cDNA of *Sox* gene in *Pinctada martensii*. DNA sequences and phylogenetic tree were analyzed. RT-PCR was used to measure the expression of *Sox* gene in different tissues and in gonads of different phases of *Pinctada martensii*. The results showed that the full-length cDNA of *Sox* was 1579 bp, including a 5'UTR of 126 bp, a 3'UTR of 445 bp and an open reading frame of 1008 bp, which encoded a deduced protein of 336 amino acids. Sequence comparison indicated that *Sox* in *Pinctada martensii* (*pmSox11*) and *Sox11* in *Crassostrea gigas* (*CgSox11*) had 80% homology. Phylogenetic analysis demonstrated that *pmSox11* was clustered with *CgSox11*. *pmSox11* expressed highly in mantle, gill, foot and digestive diverticulum with more ganglia distribution and lowly in adductor muscle and female gonad with fewer ganglia distribution. Moreover, *pmSox11* expressed highest in 3-month-old gonad and 1-year-old testis, modest in 1-year-old testis and 2-year-old testis, and lowest in 2-year-old ovary. The results indicated that *pmSox11* might be involved in development of early nervous system and regulation of sex differentiation in *Pinctada martensii*.

Key words: *Pinctada martensii*; *pmSox11*; Gene cloning; Temporal expression patterns