

# 二氯异氰尿酸钠胁迫下菲牛蛭GST基因分子克隆及表达规律研究

周维海<sup>1\*</sup>, 李焕华<sup>1</sup>, 王重阳<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>广西科康科技集团有限公司, 广西 南宁

<sup>2</sup>北部湾大学海洋学院广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室, 广西 钦州

收稿日期: 2023年9月15日; 录用日期: 2023年12月21日; 发布日期: 2023年12月29日

## 摘要

谷胱甘肽转移酶(GST)是一种重要的解毒酶, 在抗氧化和细胞解毒中起着重要作用。二氯异氰尿酸钠属于含氯消毒剂, 常用于养殖行业、自来水、医院等杀灭细菌。为了研究菲牛蛭GST基因在应对二氯异氰尿酸钠胁迫中的作用, 本研究对菲牛蛭GST基因进行了克隆和表达规律研究。结果表明, 菲牛蛭GST基因编码区全长是654 bp, 编码217个氨基酸, 其蛋白质序列与红鲍螺, 红鲍, 绿叶海蛞蝓, 角突臂围轮虫, 紫贻贝相应序列相似性分别为97%, 97%, 97%, 96%, 96%。实时荧光定量PCR结果显示GST基因在胁迫后表达量先下降后升高, 在12 h表达量达到最低, 48 h表达量最高, 是12 h表达量的93倍。研究结果显示菲牛蛭GST基因参与了二氯异氰尿酸钠胁迫的解毒过程, 为今后菲牛蛭人工养殖过程中含氯消毒剂的合理使用, 及解析GST在生物体内排毒机制提供了参考。

## 关键词

菲牛蛭, GST, 二氯异氰尿酸钠

# Cloning and Expression of GST Gene in *Poecilobdella manillensis* under Sodium Dichloroisocyanurate Stress

Weihai Zhou<sup>1\*</sup>, Huanhua Li<sup>1</sup>, Chongyang Wang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Guangxi Kekang Technology Group Co., Ltd, Nanning Guangxi

<sup>2</sup>Guangxi Key Laboratory of Beibu Gulf Marine Biodiversity Conservation, College of Oceanology, Beibu Gulf University, Qinzhou Guangxi

Received: Sep. 15<sup>th</sup>, 2023; accepted: Dec. 21<sup>st</sup>, 2023; published: Dec. 29<sup>th</sup>, 2023

\*通讯作者。

文章引用: 周维海, 李焕华, 王重阳. 二氯异氰尿酸钠胁迫下菲牛蛭 GST 基因分子克隆及表达规律研究[J]. 水产研究, 2023, 10(4): 167-175. DOI: 10.12677/ojfr.2023.104020

## Abstract

Glutathione transferase (GST) is an important detoxification enzyme, which plays an important role in antioxidant and cellular detoxification. Sodium dichloroisocyanurate is a chlorine-containing disinfectant, which is often used to kill bacteria in aquaculture industry, tap water, hospitals, etc. In order to study the role of GST gene in coping with sodium dichloroisocyanurate stress, the cloning and expression of GST gene in *Poecilobdella manillensis* were studied. The results showed that the total length of the GST gene coding region of the *Poecilobdella manillensis* was 654 bp, and the protein sequences were edited with 217 amino acids, and the protein sequences were 97%, 97%, 97%, 96% and 96% of the corresponding sequences of *Haliotis rufescens*, *Haliotis rubra*, *Plakobranthus ocellatus*, *Brachionus angularis* and *Mytilus galloprovincialis*. The real-time PCR results showed that the expression of GST gene decreased first and then increased after stress, reaching the lowest expression at 12 h and the highest expression at 48 h, which was 93 times the expression at 12 h. The results showed that the *Poecilobdella manillensis* GST gene participated in the detoxification process of sodium dichloroisocyanurate stress, which provided a reference for the rational use of chlorine-containing disinfectants in the artificial breeding process of Fifei bull leech in the future, and the analysis of the detoxification mechanism of GST in organisms.

## Keywords

*Poecilobdella manillensis*, GST, Sodium Dichloroisocyanurate

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

菲牛蛭(*Poecilobdella manillensis*), 又名马尼拟医蛭, 俗称金边蚂蟥, 属环节动物门, 蛭纲, 医蛭科, 牛蛭属, 高等无脊椎动物, 雌雄同体[1]; 以吮吸家畜与人等脊椎动物血液为生, 体形较大, 在国内广泛分布于广东、广西、海南岛、福建等地区, 在国外分布于越南、泰国、印度、菲律宾等国家, 喜生活在沼泽、沟渠、池塘、稻田等阴暗湿热环境中[2]。水蛭是我国一味传统中药材, 据《神农本草经》记载, 其具有破血、散瘀、通经的功效; 主治血瘀经闭腹痛、症瘕积聚, 对治疗跌打损伤也有良好效果[3]。

水蛭素是存在于水蛭唾液腺中的一种生物活性成分, 具有抗凝血和血栓的作用, 且作用专一, 相对于市面上常用的肝素、重组水蛭素等, 其具有特异性强、抑制效果好、无副作用等优势, 是一种安全的天然凝血酶抑制剂[4] [5] [6]。

二氯异氰尿酸钠是一种高效、广谱的新型杀菌剂, 常用于养殖行业杀灭细菌, 起到消毒作用的成分主要为水解后的次氯酸[7]。二氯异氰尿酸钠有强腐蚀性, 高浓度对黏膜、皮肤等有灼伤危险, 误服后可出现呕吐等症状[8]。

谷胱甘肽 S-转移酶(Glutathione S-transferase, GSTs)是同或异形二聚体, 含有多个亚基, 属于多基因家族, 是重要的解毒酶, 存在于多种动植物体内。GSTs 可以对内、外源性化合物进行解毒, 产生水溶性代谢物, 并将其排出体外, 以减少有毒物质在体内造成的损害[9]。主要有谷胱甘肽 S-烷基转移酶、谷胱甘肽 S-芳基转移酶、谷胱甘肽 S-芳烷基转移酶、谷胱甘肽 S-环氧化物转移酶、谷胱甘肽 S-烯炔转移酶五大类。淡水鱼类的 GST 表达量与抗微囊藻毒素能力呈现高程度的相关性, 用稀释不同倍数的磺胺嘧啶刺

激三疣梭子蟹, 其 GST 表达水平在下降后又上升[10], 对外界压力表现出了高度的敏感性, 说明 GST 基因与生物体的排毒代谢息息相关, 未来有可能作为衡量水体污染程度的指标。然而在菲牛蛭的研究上, 大多集中在养殖、营养成分及水蛭素等方面[11] [12] [13], 因此本研究开展了菲牛蛭 GST 基因的克隆与表达分析, 为菲牛蛭养殖提供理论基础。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

实验材料为活力较高的菲牛蛭幼体, 于 2023 年 5 月在广西玉林采集, 由科康集团提供, 选取体型大小较为一致, 平均体重  $1.01 \pm 0.1$  g 的菲牛蛭幼体进行实验, 实验开始前 7 天暂养于曝气的淡水中, 温度、pH 和溶解氧分别保持在在  $25^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ 、7.5~8.0 和 6.8~7 mg/L。养殖容器为圆柱形透明塑料罐, 底边直径和高为 15 cm、20 cm, 暂养及实验时加入 1 L 水。

### 2.2. 菲牛蛭胁迫实验

将 60 条菲牛蛭幼苗随机分为两组, 对照组和实验组, 每组 30 条。在实验组中加入终浓度为 6 mg/L 的二氯异氰尿酸钠, 并于 3、6、9、12、24 和 48 h 取对照组和实验组存活小水蛭全体。

### 2.3. 菲牛蛭总 RNA 的提取和 cDNA 合成

采用 TRIzol 法提取菲牛蛭的总 RNA, 并利用 NanoDrop2000 在 260 nm 处测量吸光度来估计其浓度。通过电泳检查 RNA 完整性, 并将样品保存在  $-80^{\circ}\text{C}$  以备后用。逆转录反应使用带有 gDNA 橡皮擦(TaKaRa, 产品编号: RR047A)的 Prime Script™RT 试剂盒进行。我们采用厂家推荐的反应条件, 分为以下两步: 第一步去除 gDNA, 第二步将 RNA 逆转录为 cDNA。第一步反应条件为  $42^{\circ}\text{C}$  反应 5 min, 第二步反应条件为  $37^{\circ}\text{C}$  反应 60 min,  $85^{\circ}\text{C}$  反应 5 min, 然后保持  $4^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.4. 基因克隆

利用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)克隆 GST 基因编码区序列。利用 Oligo6.0 软件设计 GST 特异性扩增引物(表 1)。将扩增的 cDNA 片段连接到 pEASY®-Blunt Simple Cloning vectors (TransGenBiotech, China)上, 通过蓝/白筛选和 PCR 鉴定重组菌。采用含有插入的 GST 片段的质粒作为模板进行 DNA 测序。

### 2.5. 生物信息学分析

同源序列比对使用国家生物技术信息中心(NCBI)的 BLAST 程序, Expert Protein Analysis System (EXPASY)服务器(<https://web.expasy.org/protparam/>)用于氨基酸组成分析、分子质量和等电点预测。Softberry 程序(<http://linux1.softberry.com/>)用于预测亚细胞定位, Signalp 程序用于预测 n 端信号肽。通过 Motif Scan ([https://myhits.sib.swiss/cgi-bin/motif\\_scan](https://myhits.sib.swiss/cgi-bin/motif_scan))对蛋白功能位点进行检测和分析。用 Clustalx 软件比较氨基酸序列。使用 MEGA 10.0 进行序列比对和系统发育分析(邻居连接法, 有 1000 个假重复), I-TASSER 程序 (<http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>)进行蛋白质三级结构预测, 并使用 PyMOL 软件进行三级结构比较。使用 NCBI 保守结构域搜索(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)检测保守蛋白结构域。

### 2.6. GST 基因在不同组织中的相对表达

实时定量 RT-PCR (qRT-PCR)分析在实时 PCR 系统(美国 BIO-RAD CFX Connect)上进行, 使用 SYBR PreMix ExTaq™ (Takara, 大连, 中国)。新鲜组织(菲牛蛭幼体)作为实验材料。RNA 提取和 cDNA 获取的实验条件同 2.2 节。用定量引物 GSTdl (表 1)扩增 GST 片段, 用 Efl (Efl-dl)定量引物(表 1)扩增对照内

参基因。

**Table 1.** Primer sequences

**表 1.** 引物序列

引物	序列	用途
GST F	GGCAGATTGATTGGCTTAA	克隆
GST R	CCCTCAAACCTCATAGCAAT	
GST dIF	GCCTGCTCCTTAGAGTTCAAA	定量
GST dIR	GCCCAAAAAGTCAATCCTTGTT	
<i>E1f</i> dIF	TAAGAAGATGGAAGACAACCCTC	定量
<i>E1f</i> dIR	ATACTCAGCAAACGACTCTACGC	

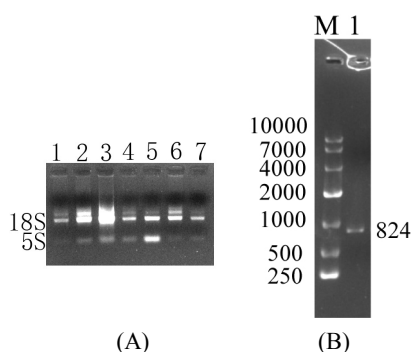
## 2.7. 统计分析

采用对比 CT 法相对定量靶基因表达水平, 定量归一化至对照基因 *E1f*。实验组个体的靶基因相对于对照组个体的靶基因表达量为  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。所有数据均以均数  $\pm$  标准差表示, 采用 SPSS Statistics 26 进行统计分析。采用 Duncan 法对不同胁迫时间组间实验数据进行比较, 以  $p \leq 0.05$  为显著差异标准。

## 3. 结果

### 3.1. GST 基因的克隆及序列分析

提取菲牛蛭总 RNA 后进行电泳, 如图 1A, 在电泳图中 18S 和 5S 都较清晰存在, 说明我们的实验得到了良好的结果, 并且已经得到了能够进入下一步逆向转录的优质 RNA。GST 基因扩增结果如图 1B 所示, 其长度为 824 bp。



注: (A) 菲牛蛭总 RNA 电泳图; (B) M 为 DL10000 DNA Marker, 1 为样品 RT-PCR GST 扩增产物。

**Figure 1.** Total RNA extraction and GST gene amplification in *Poecilobdella manilensis*

**图 1.** 菲牛蛭总 RNA 提取与 GST 基因扩增

### 3.2. 菲牛蛭 GST 基因编码蛋白质的修饰位点预测

菲牛蛭 GST 基因的 Motif 位点如图 2 所示, GST 蛋白包含 2 个 N-肉豆蔻酰化位点( $^{47}$ GLTFGQ $^{52}$ ),

<sup>155</sup>GLLEAL<sup>160</sup>); 1 个糖基化位点(<sup>138</sup>NGSN<sup>141</sup>); 1 个 ATP 结合位点(<sup>76</sup>AHNLYGKT<sup>83</sup>); 2 个磷酸化位点(<sup>88</sup>TKVD<sup>91</sup>, <sup>184</sup>TMSE<sup>187</sup>); 1 个酪蛋白激酶 C 磷酸化位点(<sup>198</sup>TRK<sup>200</sup>) (如图 2 所示)。

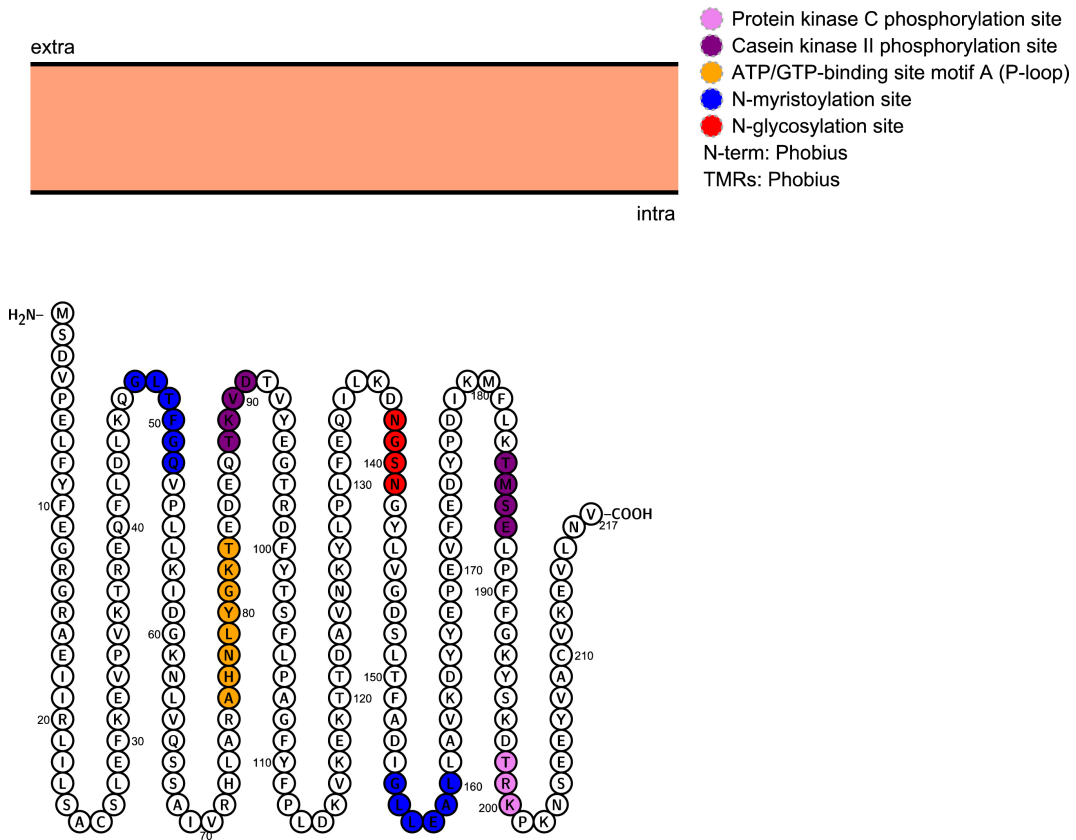


Figure 2. Map of *Poecilobdella manillensis* active sites  
图 2. 菲牛蛭活性位点图

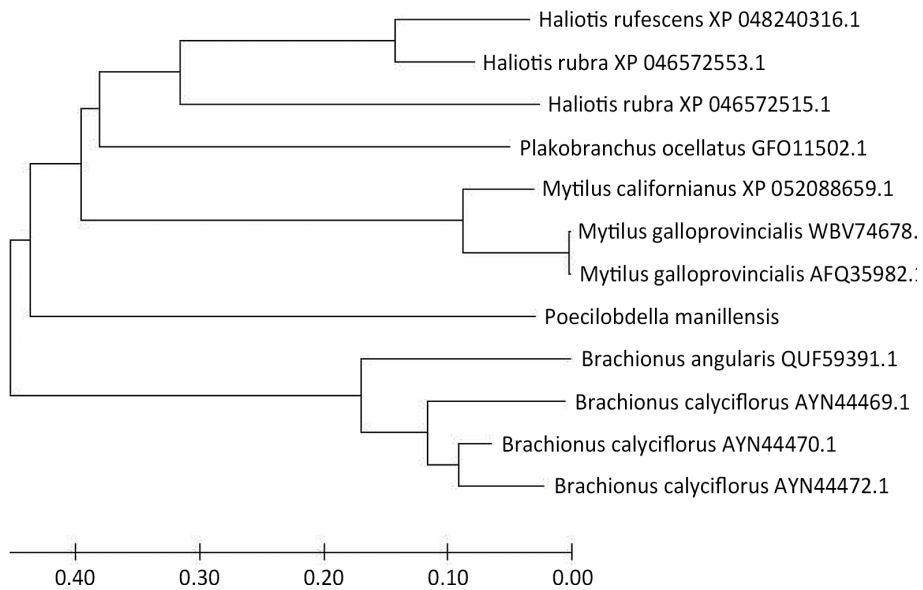


Figure 3. *Poecilobdella manillensis* with other species GST evolutionary tree  
图 3. 菲牛蛭与其他物种 GST 进化树

### 3.3. 构建菲牛蛭 GST 基因的系统进化树

菲牛蛭与其他物种 GST 基因的系统进化树如图 3 所示, 其 GST 蛋白质序列与红鲍螺, 红鲍, 绿叶海蛞蝓, 角突臂围轮虫, 紫贻贝相应序列相似性分别为 97%, 97%, 97%, 96%, 96%, 从侧面反映了该基因在多种无脊椎动物的生活中具有重要意义且在进化的过程中高度保留。

### 3.4. 菲牛蛭 GST 基因其他生物信息学分析结果

EXPASY 分析结果如图 4 所示, GST 基因编码 217 个氨基酸, 理论上编码区全长是 654 bp, 氨基酸组成的分子化学方程式为  $C_{1136}H_{1760}N_{278}O_{334}S_5$ , 其中, 亮氨酸(Leu)含量最多, 为 12%, 其次为赖氨酸(Lys)含量为 9.2%, 含量最少的是半胱氨酸(Cys), 含量为 0.9%, GST 为弱酸性蛋白, 等电点为 5.15, 理论分子量为 24816.43 Da。

```

1      ATGTCGTGATGTACCTGAATTATTTTATTTTGGAGGGAAGGAAGAGCAGAGATCATCAGATTGATTCTGAGTGCCTGCTCCTTAGAGTTC
1      M S D V P E L F Y F E G R G R A E I I R L I L S A C S L E F
91     AAAGAGGTTCCGTCAAGACTAGAGAGCAGTTTCTTGATTTAAAACAAGGATTGACTTTTGGGCAGGTGCCACTTCTTAAATCGATGGA
31     K E V P V K T R E Q F L D L K Q G L T F G Q V P L L K I D G
181    AAAAATCTAGTCCAGTCAAGTGTATTGTGAGACATCTTGCTAGAGCTCACAACTCTATGGTAAAACCTGAAGATGAGCAAACCAAGTG
61     K N L V Q S S A I V R H L A R A H N L Y G K T E D E Q T K V
271    GATACTGTCTACGAGGGGACCAGAGATTTTATACGTCGTTCTTGCCCTGCAGGCTTCTACTTTCCATTGGACAAAGTTAAGGAAAAACA
91     D T V Y E G T R D F Y T S F L P A G F Y F P L D K V K E K T
361    ACAGATGCAGTGAACAAATATTTGCCATTGTTTCGAGCAGATCCTTAAAGATAATGGTAGTAATGGATATCTTGTGGAGATTCTTACT
121    T D A V N K Y L P L F E Q I L K D N G S N G Y L V G D S L T
451    TTTGCTGACATTGGATTGCTCGAAGCTCTTCTAGCAGTAAAAGATTACTACGAACCCGAGGTGTTTGAGGACTATCCTGATATAAAAAATG
151    F A D I G L L E A L L A V K D Y Y E P E V F E D Y P D I K M
541    TTTTGAAGACTATGAGTGAAGTGCCTTTCTTTGTAAGTACTCAAAGATACAAGAAAGCCCAAAAATTCAGAGGAATATGTGGCTTGT
181    F L K T M S E L P F F G K Y S K D T R K P K N S E E Y V A C
631    GTGAAGGAAGTCTCAATGTTAG
211    V K E V L N V *

```

Figure 4. Amino acid sequence prediction of *Poecilobdella manillensis* GST gene

图 4. 菲牛蛭 GST 基因及氨基酸序列预测

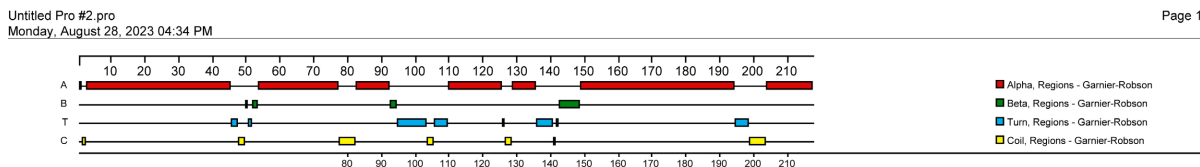


Figure 5. Secondary structure prediction of GST protein in *Poecilobdella manillensis*

图 5. 菲牛蛭 GST 蛋白质二级结构预测

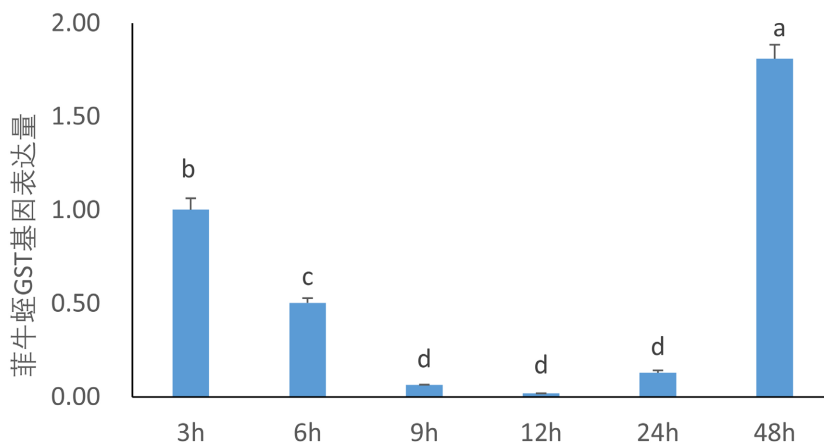


Figure 6. GST expression in *Poecilobdella manillensis* at different time points under sodium dichloroisocyanurate stress

图 6. 二氯异氰尿酸钠胁迫下不同时间点菲牛蛭中 GST 表达量

利用 Softberry 服务器系统研究和分析了菲牛蛭 GST 蛋白的亚细胞定位情况, Extracellular 的分值是 1.3, 可以进行测序进而分析其所编码的蛋白质的二级结构, 通过 DNA Star 软件中的 Protean 程序, 结果见图 5, 菲牛蛭 GST 蛋白质的二级结构包含了  $\alpha$ -螺旋 7 个,  $\beta$ -折叠 4 个, T-转角 8 个与 7 个无规则卷曲。

### 3.5. 菲牛蛭不同组织中 GST 基因表达分析

该实验利用 QRT-PCR 技术以 Efla 作为内参考基因对菲牛蛭 GST 基因在胁迫实验中不同时间点的表达进行了全面系统的研究。GST 基因表达量先下降后升高, 在 12 h 表达量最低, 48 h 表达量最高, 是 12 h 表达量的 93 倍(图 6)。

## 4. 讨论

谷胱甘肽转移酶(GST)是多功能酶, 参与许多毒素的解毒过程, 包括除草剂, 杀虫剂和药物。因此, GST 的基因表达情况经常被用作环境研究中的生物标志[14]。目前 GST 基因的研究主要集中在黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) [15]、冈比亚疟蚊(*Anopheles gambiae*) [16], 在许多水生动物中 GST 基因也被鉴定和表征, 如近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis*) [17]、太平洋斯氏柔鱼(*Ommastrephes sloani pacificus*) [18]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) [19]等, 这些研究主要集中在致病性和毒性化学物质胁迫下的生理生化特征和表达谱。然而, 对环节动物中 GST 基因的研究较少, 尤其是水蛭。在这项研究中, 我们从菲牛蛭体内克隆出 GST 基因。

本实验从菲牛蛭中提取总 RNA 后, 纯化得到了优质 RNA, CDS 长度达到 654 bp 与预期效果相近。生物信息学分析结果为, GST 基因编码 217 个氨基酸, 编码区全长 654 bp, 氨基酸组成的分子化学方程式为  $C_{1136}H_{1760}N_{278}O_{334}S_5$ , 其中, 亮氨酸(Leu)含量最多, 为 12%, 其次为赖氨酸(Lys)含量为 9.2%, 含量最少的是半胱氨酸(Cys), 含量为 0.9%, GST 为弱酸性蛋白, 等电点为 5.15, 理论分子量为 24816.43 Da, 与孙盛明等人发现的在团头鲂中 GST 基因 CDs 长度为 654 bp, 编码 218 个蛋白, 蛋白分子量为 25.95 kD, 等电点(pI)为 5.44 的结果相一致[20]。

GST 在抗氧化和细胞解毒中起着重要作用[21], 这可能存在于易受感染的生物系统。本研究分析了 GST 基因在菲牛蛭在二氯异氰尿酸钠胁迫下不同时间点的表达量的变化模式。qRT-PCR 结果表明, 二氯异氰尿酸钠胁迫后 GST 基因表达量先下降后升高, 在 12 小时表达量达到最低, 并在 48 小时达到最高, 可能是在免疫前期表达量较高, 中期由其他免疫基因发挥拮抗作用, 后期表达量又升高, 再次发挥免疫作用。

消毒剂在水产养殖中有着重要作用, 主要用于池塘、水体清塘消毒, 苗种下塘前药浴, 疾病防治等, 在科学指导下, 合理使用消毒剂能有效消灭养殖环境与过程中的病原微生物等致病因素, 防止疾病的发生[22]。目前对消毒剂的研究主要集中在了氯氰菊酯[23]、高锰酸钾[24]、三唑酮[25], 对于二氯异氰尿酸钠的研究较少。

## 5. 结论

菲牛蛭作为一种药用、经济价值高的经济物种, 其应用领域涉及医用、保健、美容等多个领域, 并且还在不断拓展。由于菲牛蛭天然水蛭素含量远高于其他水蛭, 且天然水蛭素在药效、安全性等多个方面远远优于肝素和重组水蛭素, 这使得菲牛蛭的越来越受到市场和养殖户的青睐。本研究探讨了二氯异氰尿酸钠对菲牛蛭幼体胁迫后不同时间点 GST 基因表达量变化, 为菲牛蛭养殖过程中含氯消毒剂的合理使用提供了参考。

## 基金项目

玉林市科学研究与技术开发计划(玉市科 20204337)。

## 参考文献

- [1] 陈琛, 戚敏, 杨秀娟. 菲牛蛭体成分和养殖技术的研究进展[J]. 饲料工业, 2021, 42(20): 59-64.
- [2] 王德斌, 杨黎江, 徐幼虹, 等. 云南蛭类的种类分布和区系组成初探[J]. 动物学研究, 2000, 21(4): 334-336.
- [3] 韩瑾, 宋研博, 孙永康, 等. 水蛭药理作用及其在脑病中的应用[J/OL]. 中华中医药学刊: 1-11. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1546.R.20230828.1143.006.html>, 2023-12-13.
- [4] 李阳, 顾福根, 郭桃桃, 等. 菲牛蛭抗凝提取物活性成分的研究[J]. 中药材, 2021, 44(12): 2850-2855.
- [5] 刘操. 珍珠鸡、贵妃鸡和雉鸡肌肉营养成分和风味物质的对比研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [6] 苗艳丽, 方富永, 宋文东. 中药菲牛蛭化学成分的分析[J]. 中成药, 2007, 29(8): 1248-1250.
- [7] 罗扬灵. 利用 ATP 荧光检测法分析不同消毒剂对猪场的消毒效果[J]. 甘肃畜牧兽医, 2018, 48(12): 90-92.
- [8] 杨莉. 1 例二氯异氰尿酸钠中毒合并急性呼吸窘迫综合征病人的护理[J]. 全科护理, 2020, 18(15): 1918-1920.
- [9] Dou, W., et al. (2010) Characterization of the Purified Glutathione S-Transferases from Two Psocids *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila*. *Agricultural Sciences in China*, **9**, 1008-1016. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60184-X](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60184-X)
- [10] 冯艳艳, 李健, 张德宁, 等. 三疣梭子蟹 GST 基因的 cDNA 克隆及表达分析[J]. 中国水产科学, 2015, 22(2): 224-232.
- [11] 单会荃, 郑雅琳, 闫秀营, 等. 菲牛蛭在幼年、青年和成年不同生长阶段差异表达基因比较研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2022, 41(7): 1427-1439.
- [12] 杨秀娟, 曹志勇, 黄伟, 等. 不同体重菲牛蛭氨基酸及水蛭素含量的差异性研究[J]. 饲料工业, 2020, 41(8): 40-47.
- [13] 张涛, 于翔, 龚元. 菲牛蛭粗提物冻干粉保护剂的优化[J]. 辽东学院学报(自然科学版), 2022, 29(1): 1-5.
- [14] 阮海灯, 牛东红, 谢淑梅, 等. 中国和越南两个缙蛭种群天然免疫 GST 基因的特征及比较(英文) [J]. 海洋渔业, 2020, 42(3): 341-351.
- [15] Chonticha, S., Jantana, W. and Ketterman, A.J. (2012) A Preliminary Characterization of the Cytosolic Glutathione Transferase Proteome from *Drosophila melanogaster*. *The Biochemical Journal*, **442**, 181-190. <https://doi.org/10.1042/BJ20111747>
- [16] Marimo, P., Hayeshi, R. and Mukanganyama, S. (2016) Inactivation of *Anopheles gambiae* Glutathione Transferase  $\epsilon 2$  by Epiphylloumarin. *Biochemistry Research International*, **2016**, Article ID: 2516092. <https://doi.org/10.1155/2016/2516092>
- [17] 邹颖. 谷胱甘肽转移酶在近江牡蛎耐受腹泻性贝毒中的作用研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 暨南大学, 2015.
- [18] Tomarev, S., Zinovieva, R., Guo, K. and Piatigorsky, J. (1993) Squid Glutathione S-Transferase. Relationships with Other Glutathione S-Transferases and S-Crystallins of Cephalopods. *Journal of Biological Chemistry*, **268**, 4534-4542. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)53643-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)53643-7)
- [19] Contreras-Vergara, C.A., Harris-Valle, C., Sotelo-Mundo, R.R., et al. (2004) A Mu-Class Glutathione S-Transferase from the Marine Shrimp *Litopenaeus vannamei*: Molecular Cloning and Active-Site Structural Modeling. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **18**, 245-252. <https://doi.org/10.1002/jbt.20033>
- [20] 孙盛明, 朱健, 戈贤平, 等. 团头鲂谷胱甘肽 S-转移酶基因的克隆及其在氨氮胁迫中的表达分析[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(1): 295-305.
- [21] 瞿春梅, 梁旭方, 张进, 等. 日本沼虾 mu 型可溶性谷胱甘肽 S-转移酶的克隆与表达[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(2): 103-108.
- [22] 程剑, 罗鸣钟, 魏巍, 等. 4 种常用水产消毒剂对黑斑蛙蝌蚪的急性毒性[J]. 水产学杂志, 2020, 33(2): 59-65.
- [23] Xu, P. and Huang, L. (2017) Effects of  $\alpha$ -Cypermethrin Enantiomers on the Growth, Biochemical Parameters and Bioaccumulation in *Rana nigromaculata* Tadpoles of the Anuran Amphibians. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **139**, 431-438.
- [24] 伍广涛, 蒲红宇, 张蓉, 等. 高锰酸钾胁迫及毒后恢复对锦鲤肝脏组织的影响[J]. 河北渔业, 2021(2): 1-5, 27.



- 
- [25] Zhang, W., Lu, Y., Huang, L., *et al.* (2018) Comparison of Triadimefon and Its Metabolite on Acute Toxicity and Chronic Effects during the Early Development of *Rana nigromaculata* Tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **156**, 247-254. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.009>