

doi: 10.3969/j. issn. 2095 - 0780. 2014. 04. 015

·综述·

## 水生动物卵黄蛋白原研究新进展

田海峰, 孟彦, 肖汉兵

(中国水产科学院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223)

**摘要:** 卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG)是卵生动物卵黄中主要成分的前体。文章简述了水产动物如鱼类、两栖类及甲壳类动物中卵黄蛋白原基因的鉴定及其基因家族的分类及进化研究,介绍了VTG分子的生物学新功能,以及VTG作为标记分子在环境雌激素监测、反映雌性动物性腺成熟度、区分雌雄性别等方面的应用,以期为VTG在水产动物中的研究以及繁殖中的应用提供参考。

**关键词:** 卵黄蛋白原, 生物学新功能, 标记分子, 进化

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

文章编号: 2095 - 0780 - (2014)04 - 0091 - 06

## Advances in vitellogenin research of aquatic animals

TIAN Haifeng, MENG Yan, XIAO Hanbing

(Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China)

**Abstract:** Vitellogenins (VTG) are precursors of major components of female yolk proteins in oviparous animals. The paper briefly reviews the VTG gene characterization in aquatic animals such as fish, amphibian and crustaceans as well as the classification and evolution of their gene families, introduces the new physiological functions of VTG, and summarizes their usages as biomarker in monitoring environmental endocrine disruption, predictive factor of gonad maturity and effective marker in gender discrimination. Thus, the review provides references for researches on VTG in aquatic animals and breeding of aquatic animals.

**Key words:** vitellogenin; new physiological function; biological marker; evolution

卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG)是卵生动物雌性卵黄蛋白的前体, 主要作为分子载体运输多种营养物质到卵细胞。但近年来的基因克隆揭示了其更为广泛的存在, 分子系统发生分析研究揭示了卵黄蛋白原基因多拷贝存在的原因以及其在后生动物中的进化路线。近年来在生物学功能方面的研究显示VTG还可调节卵细胞渗透压, 作为重要的免疫分子抵御病原微生物, 甚至还可协助精子受精等。值得注意的是, VTG分子可作为多种不同的标记分子, 如在鱼类发现血清中的VTG含量可以反映动物卵巢的成熟度和卵细胞直径, 在一些外部性征不明显的动物中也可以作为有效的性别标记分子和环境雌激素标记分子。文章对水生动物中VTG的这些研究进展做一综述, 以期为VTG在水产动物

的繁殖发育研究中的应用提供参考。

### 1 卵黄蛋白原的分布、分离鉴定、分子结构及其进化

#### 1.1 卵黄蛋白原的分布

卵黄蛋白原是高分子量(200~600 kDa)的磷酸脂糖蛋白, 是雌性卵生动物卵黄中卵黄高磷蛋白(phosvitin, Pv)和脂卵黄蛋白(lipovitellin, Lv)等成分的前体, 是胚胎发生和早期幼体的主要营养来源。VTG自20世纪即从多种脊椎动物如鱼类、两栖类、爬行类和鸟类, 及多种无脊椎动物如甲壳类动物(如虾蟹类)中分离鉴定出来。近些年随着卵黄蛋白原基因克隆和物种基因组测序的完成, 不仅在原始的

收稿日期: 2013-07-19; 修回日期: 2014-01-17

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203086); 长江水产研究所所长基金(SZ2012-02)

作者简介: 田海峰(1980-), 男, 博士, 助理研究员, 从事大鲵遗传学与繁育研究。E-mail: tianhf@yfi.ac.cn

通信作者: 肖汉兵(1963-), 男, 研究员, 从事水产养殖技术研究。E-mail: xiaohb@yfi.ac.cn

棘皮动物 (Echinoderms) 如海星亚门 (Asterozoa) 的海胆 (*Strongylocentrotus purpuratus*) 中鉴定到假基因化的卵黄蛋白原基因<sup>[1]</sup>, 也在更为原始的刺胞类动物 (Cnidaria) 如珊瑚 (*Galaxea fascicularis*)、扁盘类动物 (Placozoa) 如丝盘虫 (*Trichoplax adherens*) 乃至单孔目哺乳动物鸭嘴兽 (*Ornithorhynchus anatinus*) 基因组中都发现卵黄蛋白原基因存在的证据<sup>[2-3]</sup>。这些研究表明 VTG 的分布要比之前认识的更为广泛, 是一种古老的卵黄蛋白组分。

## 1.2 VTG 的合成与其受体系统

VTG 的合成主要受类固醇类激素  $17\beta$ -雌二醇 (estradiol- $17\beta$ , E<sub>2</sub>) 的调控。脊椎动物中 VTG 主要在肝脏合成, 经分泌进入血液后运送到卵巢, 通过与卵细胞膜上的受体结合经内吞途径进入卵母细胞, 称为外源合成途径<sup>[4]</sup>。但近来在斑马鱼 (*Danio rerio*) 和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 中还发现白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 具有 VTG 的表达与翻译<sup>[5]</sup>。尤为值得注意的是在斑马鱼中还证实卵巢滤泡 (ovarian follicle) 可合成 VTG<sup>[6]</sup>, 表明脊椎动物中亦具有内源性合成途径。在甲壳类动物如拟穴青蟹 (*Scylla paramosain*) 中肝胰腺、卵巢等部位都是 VTG 的主要合成部位<sup>[7]</sup>, 但在贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 则仅于卵巢合成<sup>[8]</sup>。在白鲈 (*Morone americana*) 中发现有着 3 种不同的 VTG 受体, 研究显示它们对不同的 VTG 分子具有不同的结合能力, 提示在硬骨鱼中可能存在一个复杂的 VTG 受体系统, 它们可能分别负责不同 VTG 分子的结合与后续加工<sup>[9]</sup>。

## 1.3 卵黄蛋白原基因的基因克隆与其进化路线图

起初通过蛋白分离鉴定发现不同物种间 VTG 在亚基组成上差别很大, 尤其是在甲壳类动物及昆虫中亚基数目很大, 认为可能是分离方法或是分离过程中造成的裂解所致。但很多物种克隆鉴定到多拷贝的卵黄蛋白原基因, 如刀额新对虾 (*Metapenaeus ensis*) 克隆鉴定到 2 个卵黄蛋白原基因<sup>[10]</sup>, 在鱼类中亦克隆鉴定到多拷贝的卵黄蛋白原基因<sup>[11]</sup>。脊椎动物中卵黄蛋白原基因的结构为 Lv 重链、Pv、Lv 轻链和 von Willebrand factor type D (vWFD) 结构域串联, vWFD 在鸟类中保持完整形式, 称为 YGP40, 但在硬骨鱼中则裂解为  $\beta'$ -组分和 C 末端编码区。序列分析显示脊椎动物与甲壳类的 VTG 相比在结构上不尽相同, 脊椎动物多拷贝的卵黄蛋白原基因来自于不同水平的基因复制, 无脊椎动物中多拷贝的卵黄蛋白原基因则可能来自于逆转座 (retrotransposition)<sup>[12-13]</sup>, 这些多拷贝基因的发现部分回答了不同物种中 VTG 亚基数目上的差异来源。通过对卵黄蛋白原基因进行表达分析发现, 不同 VTG 编码基因有着不同的组织或时空特异性表达, 如刀额新对虾和栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 中的 2 个卵黄蛋白原基因分别在肝胰腺和卵巢表达<sup>[10,14]</sup>, 抑或在卵巢成熟与胚胎发育的不同阶段行使不同的功能<sup>[15]</sup>。

基于序列结构比对和分子系统发生分析, 人们发现甲壳纲动物中以前所谓的 VTG 与昆虫的 apolipoporphin II/I

(apoLp-II/I) 和脊椎动物的载脂蛋白 B (apolipoprotein B-100) 在序列上更为相似, 被重新命名为 apolipocrustacein (apoCr), 同属于 APO 家族; 而甲壳类动物中与血液凝集有关的凝集蛋白 (clotting protein, CP) 才是脊椎动物与昆虫中 VTG 的真正直系同源物 (ortholog), 同属于 VTG/CP 家族<sup>[16]</sup> (图 1)。这 2 个家族与微粒体甘油三酯转运蛋白 (microsomal triglyceride transfer protein, MTP) 同属于大型脂转运蛋白 (large lipid transfer proteins, LLTP) 超家族。分析显示 LLTP 超家族在扁盘动物 (Placozoa) 和刺胞动物 (cnidaria) 分化前就已存在, 在两侧对称动物 (bilateria) 分化产生后经由基因重复分化为 VTG、APO 和 MTP 家族, 它们通过功能分化执行不同的功能<sup>[13,17]</sup> (图 1)。值得注意的是, 与甲壳纲动物所谓的卵黄蛋白是 APO 家族成员的情形类似, 棘皮动物和双翅目 (Diptera) 中卵黄蛋白也不是 VTG, 分别为 transferrin-like 蛋白和 lipophorin<sup>[18-19]</sup>, 这表明不同动物间卵黄蛋白的前体分子在进化上可能属于不同的蛋白质家族, 显示 LLTP 超家族在进化过程中的复杂性。

## 2 卵黄蛋白原的生物学新功能

### 2.1 调节卵细胞渗透压

VTG 除作为分子载体为卵细胞提供各种蛋白质、脂肪、维生素等生物大分子以及多种金属离子外, 近年来在硬骨鱼中的研究还发现 VTG 可通过降解为氨基酸调节卵细胞渗透压, 为其提供浮力。在硬骨鱼中, 多拷贝的 VTG 进入卵细胞后, 在酶切作用下可以发生不同的降解, 如在产浮性卵 (pelagophils) 的海水鱼中, VTG 裂解产物 LvH 会继续彻底降解为游离的氨基酸, 为卵细胞提供了较高的渗透压, 使得卵细胞可储存大量水分, 这可能是大部分海水鱼产生浮性卵的机制<sup>[12]</sup>。相对而言, 在产沉性卵的海水鱼及淡水鱼中则都不具有这种现象, 如条纹鲈 (*Morone saxatilis*) 中的 3 个参与形成卵黄蛋白的 VTG 都只有部分降解<sup>[20]</sup>。这些研究表明 VTG 分子可以通过不同程度的降解为卵细胞提供不同的渗透压以适应不同环境。

### 2.2 作为免疫因子抵御病原微生物

最初在文昌鱼 (*Branchiostoma japonicum*) 中发现 VTG 具有抗微生物的活性<sup>[21]</sup>。后来在鲤鱼中发现 VTG 可以抑制大肠杆菌和金黄色酿脓葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 活性, 可以与革兰氏阴性细菌的脂多糖 (LPS) 结合, 具有抵抗细菌的功能<sup>[22]</sup>。结果显示 VTG 可以通过与革兰氏阴性细菌的 LPS、革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的肽糖 (peptidoglycan, PGN)、革兰氏阴性菌的脂磷壁酸 (lipoteichoic acid, LTA) 以及真菌的葡聚糖 (glucan) 等结构来识别各类病原分子<sup>[23]</sup>。与此相一致的是 VTG 也发现具有不同的脂多糖、肽糖、脂磷壁酸结合位点, 而且电镜观察还显示 VTG 可以破坏细菌和真菌的细胞壁结构<sup>[24]</sup>。最近在斑马鱼中发现 Pv 可以为模式识别受体在胚胎时期抵抗各类细菌, 并且体外试验证实重组 Pv (rPv) 分子可以杀死革兰氏阴性菌及阳性菌<sup>[25]</sup>。

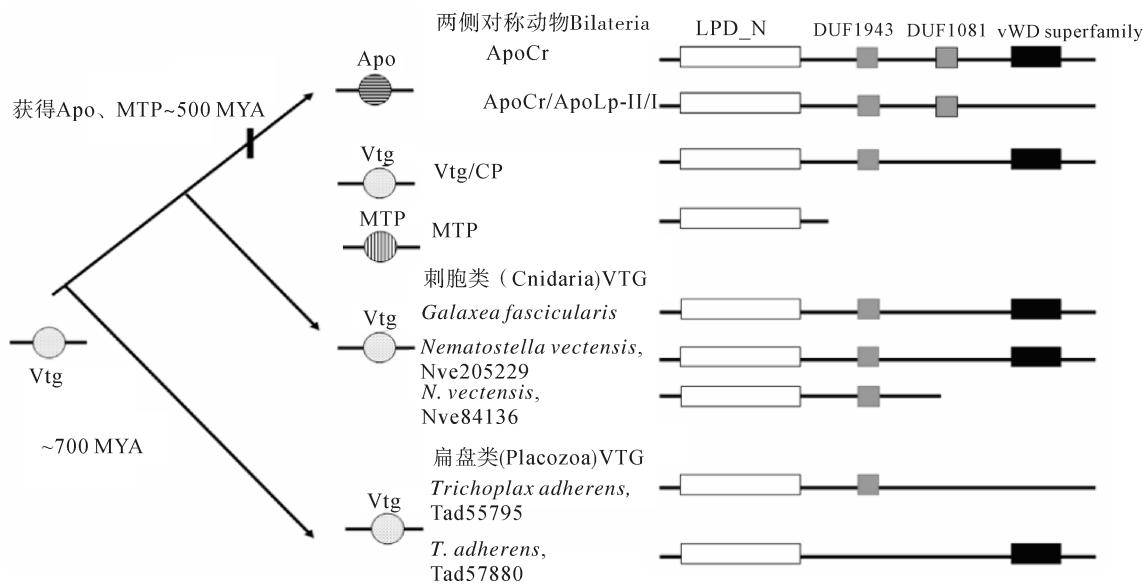


图1 LLTP超家族的进化及各家族成员的功能结构域组成示意图

白框(LPD\_N). 脂蛋白氨基端; 灰框(DUF1943 和 DUF1081). DUF1943 和 DUF1081 功能结构域;

黑框(vWD superfamly). vonWillebrand factor type D 结构域(修自[17])

Fig. 1 Schematic figure of evolutionary path of LLTP superfamily and structure of VTG, Apo and MTP families

white boxes (LPD\_N). domains of lipoprotein amino terminal regions; grey boxes (DUF1943 and DUF1081). DUF1943 and DUF1081 domains; black boxes (vWD superfamly). vonWillebrand factor type D domains (revised from Reference[17])

有趣的是，注射 LPS 或 LTA 在雄性斑马鱼中可诱导 VTG 的表达，并可抑制细菌的增殖，提示 VTG 亦可作为动物体内的应急分子来抵御病原<sup>[26]</sup>。

另外，近来在大西洋鲑中还发现 VTG 可以中和传染性胰腺坏死病毒 (infectious pancreatic necrosis virus, IPNV)<sup>[27]</sup>，在斑马鱼中证实 Pv 可以抑制淋巴囊肿病毒 (lymphocystis disease virus, LCDV) 引起的细胞病变、降低病毒数量<sup>[28]</sup>。这些研究表明，在鱼类中 VTG 及其裂解产物是重要的免疫分子，具有抵御细菌及病毒的功能。

### 2.3 参与受精过程

VTG 还可以协助精子受精。在真海鞘 (*Halocynthia roretzi*) 中发现 VTG 的羧基端(包括 vWF-D 和 CT 结构域)定位于卵黄被 (vitellin coat)，可与精子中的 2 个酶 (HrProacrosin and HrSpermoin) 结合，能参与精子进入卵细胞过程的受精过程<sup>[29]</sup>，进一步的研究显示其在受精前定位于 VC 下的囊泡，但受精后则与其解离，提示参与受精过程中的配子结合<sup>[30]</sup>。

### 2.4 其他生物学功能

此外还发现 VTG 对于蜜蜂的多种社会性特征，如劳动时间分工、觅食专业化、激素的动态调控、味觉反应性的变化等方面起着作用<sup>[31]</sup>，并在蜜蜂及线虫中都发现还可以通过捕获自由基以降低氧化压力的功能<sup>[32]</sup>。

## 3 性腺成熟度标记、环境激素标记及性别标记分子及其检测方法

研究表明动物血清中的 VTG 水平在繁殖季节波动，这

与卵细胞的发育阶段密切相关。在东部箱龟 (*Terrapene carolina carolina*)、哲罗鲑 (*Hucho taimen*) 及红鳌螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 血液中 VTG 水平在繁殖周期内呈现波动，尤其以生殖期 VTG 的表达显著升高<sup>[33-35]</sup>。在斑马鱼中发现 VTG 含量与成熟指数 (maturity index) 密切相关<sup>[36]</sup>，在斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*) 中也发现血液中 VTG 的水平与卵直径直至产卵有着线性相关关系<sup>[37]</sup>。因此，通过监测血液的 VTG 蛋白水平可以反映水产动物的性腺成熟度及卵母细胞发育状况。

VTG 受雌激素调控表达，在雌性动物中大量表达，可用于区分外部性征不显著物种的雌雄性别。如生活于亚马逊河流域的巨骨舌鱼 (*Arapaima gigas*) 从外观难以辨识性别，通过酶免疫测定 (EIA) 方法检测 VTG 可以准确区分 6 龄鱼的雌雄性别，并且试验表明可用于 3.5 至 4 龄鱼的性别鉴定<sup>[38]</sup>，在小体鲟 (*Acipenser ruthenus*) 中也可通过酶联免疫吸附剂测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清中的 VTG 含量来区分性别<sup>[39]</sup>，如在两栖纲美洲隐鳃鲵 (*Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis*) 中也成功鉴定雌雄性别<sup>[40]</sup>。有研究显示 VTG 可能在雄性个体中有表达，但进一步的研究显示雌雄个体间 VTG 的基础值仍然有着显著差异，如繁殖季节新西兰海鲈 (*Polyprion oxygeneios*) 雌雄个体间的 VTG 含量有着显著差异<sup>[41]</sup>。因此，VTG 可以用于鉴定水产动物的性别，尤其适用于外部性征不明显的水产动物。

另外，各种类雌激素、杀虫剂、持久性污染物等内分

泌干扰物 (endocrine disrupting chemicals, EDC) 及重金属都具有雌激素效应, 如 DDT、壬基酚 (NP)、1-萘酚、双酚 A、全氟辛烷磺酸 (perfluorooctane sulfonate, PFOS)、金属铬等在多种水产动物如林蛙、斑马鱼、食蚊鱼中诱导卵黄蛋白原基因表达<sup>[42-43]</sup>, 因此通过检测肝组织的 VTG mRNA 水平已成为检测多种环境雌激素或污染物的方法<sup>[44-45]</sup>, 也用于了多个不同水域环境激素污染情况调查研究<sup>[46]</sup>。

VTG 作为有潜力的标记分子, 建立其灵敏快捷的测定方法十分必要。已有间接方法如通过碱不稳定性蛋白结合磷法测定磷含量来反应血液中的 VTG 蛋白浓度<sup>[47]</sup>, 或是通过 EIA、ELISA、时间分辨免疫荧光测定方法等直接对 VTG 进行测定<sup>[38-39, 48-49]</sup>。然而不同物种间 VTG 在免疫学上具有物种特异性, 如鲑属不同物种间 VTG 的抗体不能很好反应<sup>[50]</sup>, 因此在实际工作中需要针对不同物种开发特异的抗体及检测技术。相比而言, RT-PCR 或荧光实时定量 PCR 技术灵敏度更高<sup>[51]</sup>, 适用于以小型水生动物评价环境雌激素或不同污染物的影响, 但在大型珍稀濒危水产动物中, 使用 PCR 方法则在取样时难免需要牺牲个体, 这制约了其应用。此外, 已有使用 VTG 启动子构建调节绿色荧光蛋白表达的重组酵母和转基因斑马鱼来评价环境雌激素污染的系统<sup>[52-53]</sup>, 是基于卵黄蛋白原基因对于环境雌激素的响应机制而发展起来, 具有响应灵敏应用方便的优点。另外采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 进行质谱测序确认<sup>[54]</sup>, 或采用高效液相色谱-电喷雾串联质谱 (HPLC-ESI-MS/MS) 结合, 都可直接完成 VTG 的分离及测序及定量分析<sup>[55]</sup>, 这些新技术的应用都提高了 VTG 鉴定的速度与准确性。

#### 4 小结与展望

VTG 作为雌性卵生动物卵黄组成前体, 其合成除受 E<sub>2</sub> 调控外还受到多种雌激素的调控, 如在甲壳动物中受到性腺抑制激素 (gonad-inhibiting hormone, GIH) 和中枢系统脑、胸神经节分泌的性腺刺激激素 (gonad-stimulating hormone, GSH) 及类萜类激素甲基法尼酯 (methyl farnesoate, MF) 等激素的调节, 但调控机制以及如何进一步调控参与卵巢的发育及卵黄发生都不清楚。对这些机制进行深入研究有助于认识水产动物的卵黄发生与成熟机制, 必将有助于经济水产动物的人工繁殖。

近来的研究显示 VTG 除了作为营养物质载体外, 更具有多种生物学功能, 甚至在蜜蜂和线虫中研究发现其还具有抗氧化、延长寿命以及调节社会行为等功能<sup>[56]</sup>, 尤其值得注意的是 VTG 及其裂解产物还具有免疫功能, 可以识别并杀死细菌、真菌以及病毒等微生物的活性, 这使其在水产动物领域有着巨大的潜在应用价值。继续研究 VTG 的诱导表达机制, 设法增加亲本的 VTG 表达, 将可以增强亲本个体的免疫力, 而且还可以传递给子代在胚胎发育时期抵御各类病原侵害, 这将极大提高各类水产动物亲本以及幼

苗的成活率<sup>[57]</sup>。

此外, VTG 分子作为性腺成熟度标记和性别标记分子在水产动物的繁殖工作中有着极大的应用前景。通过研究认识养植物种 VTG 表达量与卵巢成熟度以及卵细胞直径的关系, 就可以在生产中通过检测血液中的 VTG 含量来判断雌性动物的性腺成熟度, 甚至可以用来预测产卵情况; 另外通过研究弄清楚 VTG 的表达量, 可以用于如大鲵 (*Andrias davidianus*) 这类副性征不明显的动物的雌雄性别鉴定。这些都需要建立对 VTG 快速而灵敏的检测方法。虽然液谱、质谱等仪器的运用, 或者荧光实时定量 PCR 检测体系都可以快速鉴定出 VTG 蛋白或基因的表达并可实现定量分析, 但它们都需要复杂的设备, 并不便于现场分析。因此, 针对特定养植物种使用多克隆抗体或单克隆抗体开发物种特异的 ELISA 检测试剂盒, 在繁殖工作中有着较大应用前景。

#### 参考文献:

- [1] PROWSE T A, BYRNE M. Evolution of yolk protein genes in the Echinodermata [J]. *Evol Dev*, 2012, 14(2): 139-151.
- [2] HAYAKAWA H, ANDOH T, WATANABE T. Precursor structure of egg proteins in the coral *Galaxea fascicularis* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 344(1): 173-180.
- [3] BABIN P J. Conservation of a vitellogenin gene cluster in oviparous vertebrates and identification of its traces in the platypus genome [J]. *Gene*, 2008, 413(1/2): 76-82.
- [4] 马杰, 张土瑾. 卵黄蛋白的结构和功能 [J]. 鲁东大学学报: 自然科学版, 2012, 28(3): 252-260.
- [5] TINGAUD-SEQUERA A, KNOLL-GELEIDA A, ANDRE M, et al. Vitellogenin expression in white adipose tissue in female teleost fish [J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(2): 38.
- [6] LIU K C, WU R S S, GE W. Luteinizing hormone receptor (lh-crgr) as a marker gene for characterizing estrogenic endocrine-disrupting chemicals in zebrafish ovarian follicle cells [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2013, 192: 89-94.
- [7] JIA X, CHEN Y, ZOU Z, et al. Characterization and expression profile of vitellogenin gene from *Scylla paramosain* [J]. *Gene*, 2013, 520(2): 119-130.
- [8] AGNESE M, VERDERAME M, De MEO E, et al. A network system for vitellogenin synthesis in the mussel *Mytilus galloprovincialis* (L.) [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(3): 547-555.
- [9] READING B J, HIRAMATSU N, SULLIVAN C V. Disparate binding of three types of vitellogenin to multiple forms of vitellogenin receptor in white perch [J]. *Biol Reprod*, 2011, 84(2): 392-399.
- [10] TSANG W S, QUACKENBUSH L S, CHOW B K, 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.
- [11] 刘春, 李凯彬, 耿冬雨, 等. 剑尾鱼 2 种卵黄蛋白原全长 cD-

- NA的克隆及序列分析[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 31–43.
- [12] FINN R N, KRISTOFFERSEN B A. Vertebrate vitellogenin gene duplication in relation to the "3R hypothesis": correlation to the pelagic egg and the oceanic radiation of teleosts[J]. PLoS ONE, 2007, 2(1): e169.
- [13] WU L T, HUI J H, CHU K H. Origin and evolution of yolk proteins: expansion and functional diversification of large lipid transfer protein superfamily[J]. Biol Reprod, 2013, 88(4): 102.
- [14] 李昀. 植孔扇贝(*Chlamys farreri*)两个卵黄蛋白原转录本的发育表达图式[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [15] LAFLEUR G J, Jr., RALDUA D, FABRA M, et al. Derivation of major yolk proteins from parental vitellogenins and alternative processing during oocyte maturation in *Fundulus heteroclitus*[J]. Biol Reprod, 2005, 73(4): 815–824.
- [16] AVARRE J C, LUBZENS E, BABIN P J. Apolipoproteasein, formerly vitellogenin, is the major egg yolk precursor protein in decapod crustaceans and is homologous to insect apolipophorin II/I and vertebrate apolipoprotein B[J]. BMC Evol Biol, 2007, 7: 3.
- [17] HAYWARD A, TAKAHASHI T, BENDENA W G, et al. Comparative genomic and phylogenetic analysis of vitellogenin and other large lipid transfer proteins in metazoans[J]. FEBS Lett, 2010, 584(6): 1273–1278.
- [18] BROOKS J M, WESSEL G M. The major yolk protein in sea urchins is a transferrin-like, iron binding protein[J]. Dev Biol, 2002, 245(1): 1–12.
- [19] SAPPINGTON T W. The major yolk proteins of higher diptera are homologs of a class of minor yolk proteins in lepidoptera[J]. J Mol Evol, 2002, 55(4): 470–475.
- [20] WILLIAMS V N, READING B J, HIRAMATSU N, et al. Multiple vitellogenins and product yolk proteins in striped bass, *Morone saxatilis*: molecular characterization and processing during oocyte growth and maturation[J]. Fish Physiol Biochem, 2014, 40(2): 395–415.
- [21] ZHANG S, SUN Y, PANG Q, et al. Hemagglutinating and antibacterial activities of vitellogenin[J]. Fish Shellfish Immunol, 2005, 19(1): 93–95.
- [22] LIU Q H, ZHANG S C, LI Z J, et al. Characterization of a pattern recognition molecule vitellogenin from carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Immunobiology, 2009, 214(4): 257–267.
- [23] LI Z, ZHANG S, LIU Q. Vitellogenin functions as a multivalent pattern recognition receptor with an opsonic activity[J]. PLoS ONE, 2008, 3(4): e1940.
- [24] LI Z, ZHANG S, ZHANG J, et al. Vitellogenin is a cidal factor capable of killing bacteria via interaction with lipopolysaccharide and lipoteichoic acid[J]. Mol Immunol, 2009, 46(16): 3232–3239.
- [25] WANG S, WANG Y, MA J, et al. Phosvitin plays a critical role in the immunity of zebrafish embryos via acting as a pattern recognition receptor and an antimicrobial effector[J]. J Biol Chem, 2011, 286(25): 22653–22664.
- [26] TONG Z, LI L, PAWAR R, et al. Vitellogenin is an acute phase protein with bacterial-binding and inhibiting activities[J]. Immunobiology, 2010, 215(11): 898–902.
- [27] GARCIA J, MUNRO E S, MONTE M M, et al. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) serum vitellogenin neutralises infectivity of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV)[J]. Fish Shellfish Immunol, 2010, 29(2): 293–297.
- [28] SUN C, HU L, LIU S, et al. Antiviral activity of phosvitin from zebrafish *Danio rerio*[J]. Dev Comp Immunol, 2013, 40(1): 28–34.
- [29] AKASAKA M, HARADA Y, SAWADA H. Vitellogenin C-terminal fragments participate in fertilization as egg-coat binding partners of sperm trypsin-like proteases in the ascidian *Halocynthia roretzi*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 392(4): 479–484.
- [30] AKASAKA M, KATO K H, KITAJIMA K, et al. Identification of novel isoforms of vitellogenin expressed in ascidian eggs[J]. J Exp Zool B Mol Dev Evol, 2013, 320(2): 118–128.
- [31] WANG Y, BRENT C S, FENNERN E, et al. Gustatory perception and fat body energy metabolism are jointly affected by vitellogenin and juvenile hormone in honey bees[J]. PLoS Genet, 2012, 8(6): e1002779.
- [32] SEEHUUS S C, NORBERG K, GIMSA U, et al. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(4): 962–967.
- [33] CURRYLOW A F, TIFT M S, MEYER J L, et al. Seasonal variations in plasma vitellogenin and sex steroids in male and female eastern box turtles, *Terrapene carolina carolina*[J]. Gen Comp Endocrinol, 2013, 180: 48–55.
- [34] 王凤, 张颖, 佟广香, 等. 哲罗鲑生殖周期中血清卵黄蛋白原浓度的ELISA检测[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(6): 673–679.
- [35] FERRE L E, MEDESANI D A, GARCIA C F, et al. Vitellogenin levels in hemolymph, ovary and hepatopancreas of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) during the reproductive cycle[J]. Rev Biol Trop, 2012, 60(1): 253–261.
- [36] BAUMANN L, HOLBECH H, KEITER S, et al. The maturity index as a tool to facilitate the interpretation of changes in vitellogenin production and sex ratio in the fish sexual development test[J]. Aquat Toxicol, 2013, 128/129: 34–42.
- [37] CHATAKONDI N G, KELLY A M. Oocyte diameter and plasma vitellogenin as predictive factors to identify potential channel catfish, *Ictalurus punctatus*, suitable for induced spawning[J]. J World Aquac Soc, 2013, 44(1): 115–123.
- [38] CHU-KOO F, DUGUÉ R, AGUILAR M A, et al. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 $\beta$ -estradiol, and 11-ketotestosterone levels[J]. Fish Physiol Biochem, 2009, 35(1): 125–136.
- [39] 齐茜, 曲秋芝, 张颖, 等. 小体鲟血清卵黄蛋白原和Ca<sup>2+</sup>浓

- 度与卵巢发育的关系[J]. 中国水产科学, 2009, 16(6): 967 -974.
- [40] BURGMEIER N G, UNGER S D, MEYER J L, et al. Health and habitat quality assessment for the eastern hellbender (*Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis*) in Indiana, USA[J]. J Wildl Dis, 2011, 47(4): 836 -848.
- [41] KOHN Y Y, LOKMAN P M, KILIMNIK A, et al. Sex identification in captive hapuku (*Polyprion oxygeneios*) using ultrasound imagery and plasma levels of vitellogenin and sex steroids[J]. Aquaculture, 2013, 384/385/386/387: 87 -93.
- [42] 杨丽丽, 张晶, 方展强, 等. 雌二醇、壬基酚、多氯联苯、镉和锌及其混合物对唐鱼的雌激素效应比较[J]. 水产学报, 2011, 35(6): 838 -845.
- [43] 王宏元, 巨荣菊, 白瑶, 等. 壬基酚对雄性中国林蛙肝细胞中雌激素受体和卵黄蛋白原的影响[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 39(6): 54 -59.
- [44] 谢勇平, 方展强. 利用食蚊鱼目标基因转录水平评价东莞寒溪河雌/雄激素物质污染现状[J]. 水生生物学报, 2013, 37 (4): 691 -697.
- [45] 顾海龙, 陈彩芳, 林志华等. 水生生物卵黄蛋白原在内分泌干扰物检测中的应用[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2013 (2): 12 -16.
- [46] 宋双双, 安立会, 郑丙辉, 等. 浑河流域野生鲫鱼卵黄蛋白原基因表达[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(1): 121 -129.
- [47] 张艳珍, 陈细华, 危起伟, 等. 中华鲟血清卵黄蛋白原水平的初步观察[J]. 淡水渔业, 2008, 38(5): 10 -14.
- [48] 李育培, 刁晓明, 盛晓洒, 等. 瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)卵黄蛋白原的纯化、性质鉴定及ELISA检测方法的建立[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(1): 91 -98.
- [49] PECK K A, LOMAX D P, OLSON O P, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for quantifying vitellogenin in Pacific salmon and assessment of field exposure to environmental estrogens[J]. Environ Toxicol Chem, 2011, 30(2): 477 -486.
- [50] WATTS M, PANKHURST N W, PRYCE A, et al. Vitellogenin isolation, purification and antigenic cross-reactivity in three teleost species [J]. Comp Biochem Physiol B, 2003, 134(3): 467 -476.
- [51] 程翔, 蔡生力, 刘红, 等. 中国明对虾卵黄蛋白原 mRNA 在卵巢和肝胰腺中表达量的实时荧光定量 PCR 检测[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(1): 1 -6.
- [52] 陈浩, 杨健, 王跃祥, 等. 卵黄蛋白原1(vtg1)启动子调控绿色荧光蛋白表达的转基因斑马鱼的构建[J]. 生物化学与生物物理进展, 2006, 33(10): 965 -970.
- [53] 武佳. 利用唐鱼卵黄蛋白原启动子检测环境雌激素的研究[D]. 广州: 华南师范大学, 2011.
- [54] OM A D, JASMANI S, ISMAIL N, et al. Application MALDI TOF on protein identification of vitellogenin in giant grouper (*Epinephelus lanceolatus*) [J]. Fish Physiol Biochem, 2013, 39(5): 1277 -1286.
- [55] RIDEOUT R M, MORGAN M J, LAMBERT Y, et al. Oocyte development and vitellogenin production in Northwest Atlantic Greenland halibut *Reinhardtius hippoglossoides* [J]. J Northw Atl Fish Sci, 2012, 44: 15 -30.
- [56] HAVUKAINEN H, MÜNCH, D, BAUMANN A, et al. Vitellogenin recognizes cell damage through membrane binding and shields living cells from reactive oxygen species[J]. J Biol Chem, 2013, 288(39): 28369 -28381.
- [57] ZHANG S, WANG S, LI H, et al. Vitellogenin, a multivalent sensor and an antimicrobial effector[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2011, 43(3): 303 -305.