

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00294

四溴联苯醚对菲律宾蛤仔组织解毒代谢基因表达的影响

潘鲁青, 官晓莉, 许超群, 王琳

中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003

摘要: 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)样本壳高(2.76±0.18) cm, 壳长(4.11±0.22) cm; 四溴联苯醚(BDE-47)梯度设置为 0.25、6.25 μg/L, 以海水组为对照, 取样测定时间为 0、1、3、6、10、15 和 21 d。结果表明: BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃丝和消化盲囊 AhR、CYP4、GST-pi 和 Pgp mRNA 表达影响显著($P<0.05$), 而对对照组无明显变化。在实验时间内, 各处理组鳃丝和消化盲囊 AhR 基因表达呈峰值变化, 分别于第 6 天、第 1 天时达到最大值和最小值, 然后恢复至对照组水平; 各处理组组织 CYP4 和 GST-pi 基因表达均呈峰值变化, 分别于第 3 天、第 1 天达到最小值和最大值, 其中消化盲囊 CYP4 基因表达在 3 d 后保持稳定, 且被显著抑制, 而组织 GST-pi 基因表达则在 6 d 后趋于稳定, 0.25、6.25 μg/L 处理组表现为高于和低于对照组水平; 各处理组鳃 Pgp 基因表达在实验时间内呈峰值变化, 分别于第 1 天、第 10 天达到最大值, 均显著高于对照组水平, 而 0.25、6.25 μg/L 处理组消化盲囊 Pgp 基因表达在 21d 内分别呈逐渐升高和峰值变化, 6 d 后表现为被诱导和抑制。由此可见, 菲律宾蛤仔在 BDE-47 胁迫下组织解毒代谢基因表达均被显著诱导或抑制, 其中 GST-pi 基因在低浓度处理组被诱导, 高浓度组被抑制, 表现出明显的时间效应性, 可作为 BDE-47 污染评价的生物效应指标。

关键词: 四溴联苯醚; 菲律宾蛤仔; 鳃丝; 消化盲囊; 解毒代谢; 基因表达

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)02-0294-07

多溴联苯醚 (Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs) 是一类新型溴系阻燃剂, 广泛应用于纺织、电子和建筑材料等产品中^[1-3], 具有内分泌、生殖、神经、免疫等生物毒性^[4-6]。根据溴原子在苯环上的数目和位置的不同, PBDEs 共有 209 种同系物, 2009 年 5 月在《关于持久性有机污染物(POPs)的斯德哥尔摩公约》缔约方大会上将含有 4~7 个溴原子的 4 种 PBDEs 列入受控范围。PBDEs 可通过工业污水、废水排放和大气沉降等方式进入海洋环境中, 目前海洋 PBDEs 污染日益加重^[7]。已有研究证明海洋环境中 PBDEs 的污染以低溴联苯醚(含 3~5 个溴原子)为主^[8-11], 在海洋生物体内以四溴联苯醚(BDE-47)的含量为最高^[12]。

生物体细胞、生物化学和分子水平上的变化

可最先反映污染物的毒性作用, 为环境污染提供早期的预警作用, 这些揭示污染物存在或生物体响应的指标被称为生物标志物。目前关于 PBDEs 海洋环境污染的研究刚刚起步, 主要集中在 PBDEs 在表层沉积物中的含量和贝类、鱼类中累积量测定方面的研究^[13-15], 而有关 PBDEs 对水产动物毒性效应与评价的研究很少。菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)营滤食性生活、代谢率低, 对有机污染物具有很强的生物富集作用, 常被用作海洋环境监测的指示生物。作者研究了 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃丝和消化盲囊解毒代谢基因表达的影响, 探讨了双壳贝类在 PBDEs 胁迫下的解毒代谢机制, 初步筛选了用于 PBDEs 毒性评定的分子生物标志物, 为中国海洋 PBDEs 污染

收稿日期: 2011-06-21; 修订日期: 2011-07-27.

基金项目: 国家自然科学基金项目(30972237); 国家海洋公益性行业科研专项课题(201105013-03); 山东省科技发展计划项目(2008GG1005010).

作者简介: 潘鲁青(1966-), 男, 教授, 主要从事水产动物环境生理学的研究. E-mail: panlq@ouc.edu.cn

监测提供了科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用菲律宾蛤仔于 2009 年 11 月购于青岛市红岛贝类养殖场, 壳高(2.76±0.18) cm, 壳长(4.11±0.22) cm。实验前采用自然海水暂养 10 d, 海水盐度为 31, pH 为 8.1, 温度为(9.0±0.5)°C, 连续充气, 日换水两次, 换水量为 1/2~2/3, 养殖密度为 8~10 个/L, 并投喂螺旋藻粉。

1.2 实验梯度设置

经 HPLC 检测, 实验用青岛近岸自然海水 BDE-47 的含量为 0.013 ng/L, 实验梯度的设置主要依据中国香港近岸海水、表层沉积物中 PBDEs 和 BDE-47 水平分别高达 448.5 pg/L、72.1pg/L 和 53.6 ng/g、4.60 ng/g(DW)^[14,16]以及 BDE-47 溶解度 10.9 μg/L, BDE-47 梯度设置为 0.25、6.25 μg/L。实验所用 BDE-47 为 Accustandard 公司的产品, 采用丙酮作为助溶剂, 各处理组丙酮质量分数均为 0.002%, 并以自然海水组作为对照组, 所有的实验梯度均设 3 个平行组。经预实验表明菲律宾蛤仔在自然海水组和含有 0.002%丙酮处理组中解毒代谢酶基因表达均无显著差异。

实验在 50 cm×40 cm×30 cm 的塑料水槽内进行, 将暂养在自然海水中健康的菲律宾蛤仔随机分别移入各实验梯度中, 每个水槽放菲律宾蛤仔 90 只, 实验期间的养殖管理与暂养期间完全相同, 换水时分别加入对应各实验梯度的养殖用水。实验期间菲律宾蛤仔无死亡现象, 实验的取样时间为暴露后第 0、1、3、6、10、15 和 21 天。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备 每个水槽随机取 12 只菲律宾蛤仔置于冰盘中, 解剖取出鳃丝和消化盲囊, 去除多余的组织块, 分别放入液氮中充分研磨, 称取 70~100 mg 粉末于 DEPC 处理过的 1.5 mL 的离心管中, 保存于-80°C 冰箱中。

1.3.2 鳃丝、消化盲囊总 RNA 的提取 按照 Trizol 试剂(Invitrogen 公司)法^[17-18]分别取 80 mg 鳃丝和消化盲囊组织样品, 加入 1 mL trizol 提取总

RNA。测定 RNA 浓度以及 A₂₆₀ A₂₈₀, 并且要求(A₂₆₀ A₂₈₀) 1.8; 用 1%琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 完整性。并加入 RNA 酶抑制剂 RNasin, 置于-80°C 保存。

1.3.3 cDNA 模板制备 采用 20 μL 反转录体系, 以上述制备的总 RNA 为模板, oligo dT 为引物合成 cDNA。产物保存在-20°C 备用。

1.3.4 解毒代谢酶基因(AhR、CYP4、GST-pi 和 Pgp)mRNA 表达的测定 采用 β-actin 作为内参, 根据本实验室提交的菲律宾蛤仔芳烃受体基因(AhR, FJ516743)、细胞色素 P450 第四亚族(CYP4, FJ516740) 基因、谷胱甘肽硫转移酶基因(GST-pi, FJ516741)、P-糖蛋白基因(Pgp, FJ612109)全序列和部分序列设计引物, 并由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, 具体序列见表 1。以上述合成的 cDNA 为模板, 参照李彦飞等^[17]和岳峰等^[18]实验方法优化得到适宜的实验参数, 确立 AhR、CYP4、GST-pi 和 Pgp 基因及 β-actin 的 PCR 扩增反应体系为: 10×Taq Buffer 2.5 μL, 2.5 mmol/L dNTP Mixture 2 μL, 上、下游引物各 1 μL, cDNA 模板 2 μL, Taq DNA 聚合酶 0.5 μL, 加灭菌超纯水至 25 μL; 反应条件为: 95°C 预变性 3 min, 94°C 变性 30 s, 58°C(AhR)/54°C(CYP4)/ 55°C(GST-pi)/ 60°C(Pgp)/56°C(β-actin)退火 45 s, 72°C 延伸 45 s, AhR、CYP4、GST-pi、Pgp 和 β-actin 循环数依次为 38、30、30、32 和 28, 72°C 延伸 7 min 后冷却至 4°C。反应结束后, 取 8 μL PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳, 利用 AlphaEaseFC 分析软件对 PCR 产物进行分析, 以目的基因灰度值/内参 β-actin 灰度值的比值表示各个基因 mRNA 的相对表达水平。

1.4 数据处理与分析

所有数据均以 3 个平行组数据的平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 并采用 SPSS 11.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan 检验法进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃和消化盲囊 AhR 基因表达的影响

由图 1 可见, BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃丝和消

表 1 菲律宾蛤仔解毒代谢基因和 β -actin 引物序列
 Tab.1 Sequence of primers for metabolic enzymes gene in *V. philippinarum*

基因 gene	引物序列 primer	PCR 产物/bp PCR products
AhR	Forward primers: 5'-ACTGTACGGTTTCTGTTTGTG-3' Reverse primers: 5'-ACAGGGGAGAGAAGTCCATTTT-3'	473
CYP4	Forward primers: 5'-GCCAAGTACCCGGAATATCA-3' Reverse primers: 5'-CCTGCTGAAAAAGGCACAAA-3'	356
GST-pi	Forward primers: 5'-GGGTATATCGAGAACCTGTTCA-3' Reverse primers: 5'-TCCATTGACGGGCATTTT-3'	228
Pgp	Forward primers: 5'-GCCAAGGTTATGGTTAGAT-3' Reverse primers: 5'-CACGCATTTGTTGTAGTTC-3'	298
β -actin	Forward primers: 5'-CTCCCTCACGCTATCCTCC-3' Reverse primers: 5'-CTGGGCACCTGAACCTTTCG-3'	177

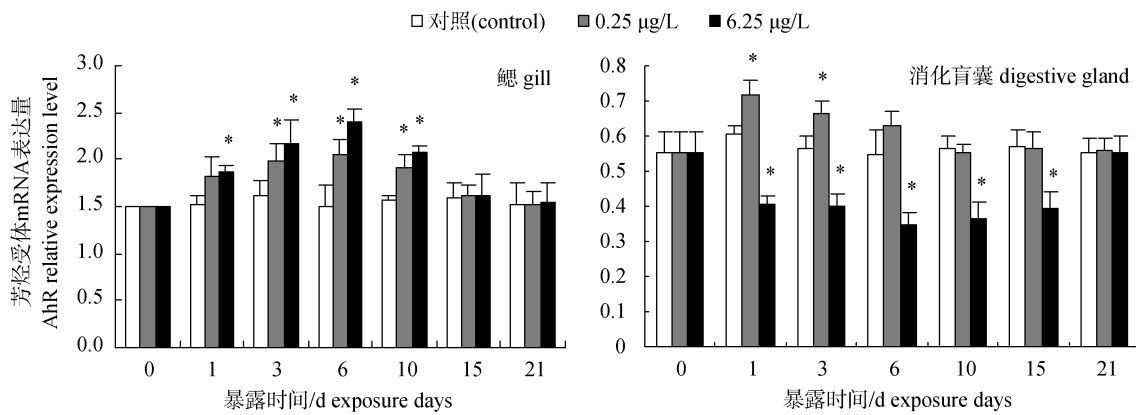


图 1 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃和消化盲囊芳烃受体基因表达的影响($n=3, \bar{x} \pm SD$)
 星号表示与相应对照组差异显著($P < 0.05$).

Fig. 1 Influences of BDE-47 on AhR mRNA contents in gill and digestive gland of *V. philippinarum* ($n=3, \bar{x} \pm SD$)
 Asterisks indicate significant difference compared with control($P < 0.05$).

化盲囊 AhR 基因表达影响显著($P < 0.05$), 而对照组无明显变化。各处理组鳃丝和消化盲囊 AhR 基因表达均呈峰值变化, 分别于第 6 天、第 1 天时达到最大值和最小值, 其中鳃的 AhR 基因表达在 15 d 后恢复至对照组水平, 而 0.25、6.25 $\mu\text{g/L}$ 处理组消化盲囊 AhR 基因表达分别于暴露后第 10 天、第 21 天恢复至对照组水平。

2.2 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃和消化盲囊 CYP4、GST-pi 基因表达的影响

如图 2 所示, 菲律宾蛤仔在 BDE-47 胁迫下鳃和消化盲囊 CYP4、GST-pi 基因表达变化显著, 而对照组无明显变化。各处理组鳃 CYP4 基因表达呈峰值变化, 于第 3 天时达到最小值或最大值,

其中 0.25 $\mu\text{g/L}$ 处理组仅在第 3 天时低于对照组水平, 6.25 $\mu\text{g/L}$ 处理组 10 d 后恢复至对照组水平; 0.25、6.25 $\mu\text{g/L}$ 处理组消化盲囊 CYP4 基因表达分别呈逐渐下降和先升高后下降趋势, 暴露 3 天后均保持稳定, 且被显著抑制。各处理组鳃和消化盲囊 GST-pi 基因表达均呈峰值变化, 分别于暴露后第 3 天和第 1 天、第 3 天时达到最大值或最小值, 6 d 后保持稳定, 且 0.25、6.25 $\mu\text{g/L}$ 处理组分别高于和低于对照组水平。

2.3 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃和消化盲囊 Pgp 基因表达的影响

图 3 表明, BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃和消化盲囊 Pgp 基因表达具有明显的影响($P < 0.05$), 而对

对照组无显著变化。各处理组鳃 Pgp 基因表达在实验时间内呈峰值变化, 分别于第 1 天、第 10 天时达到最大值, 均显著高于对照组水平, 其中 0.25

$\mu\text{g/L}$ 处理组在 3 d 后保持稳定; 0.25、6.25 $\mu\text{g/L}$ 处理组消化盲囊 Pgp 基因表达在 21 d 内分别呈逐渐升高和峰值变化, 6 d 后表现为被诱导和抑制。

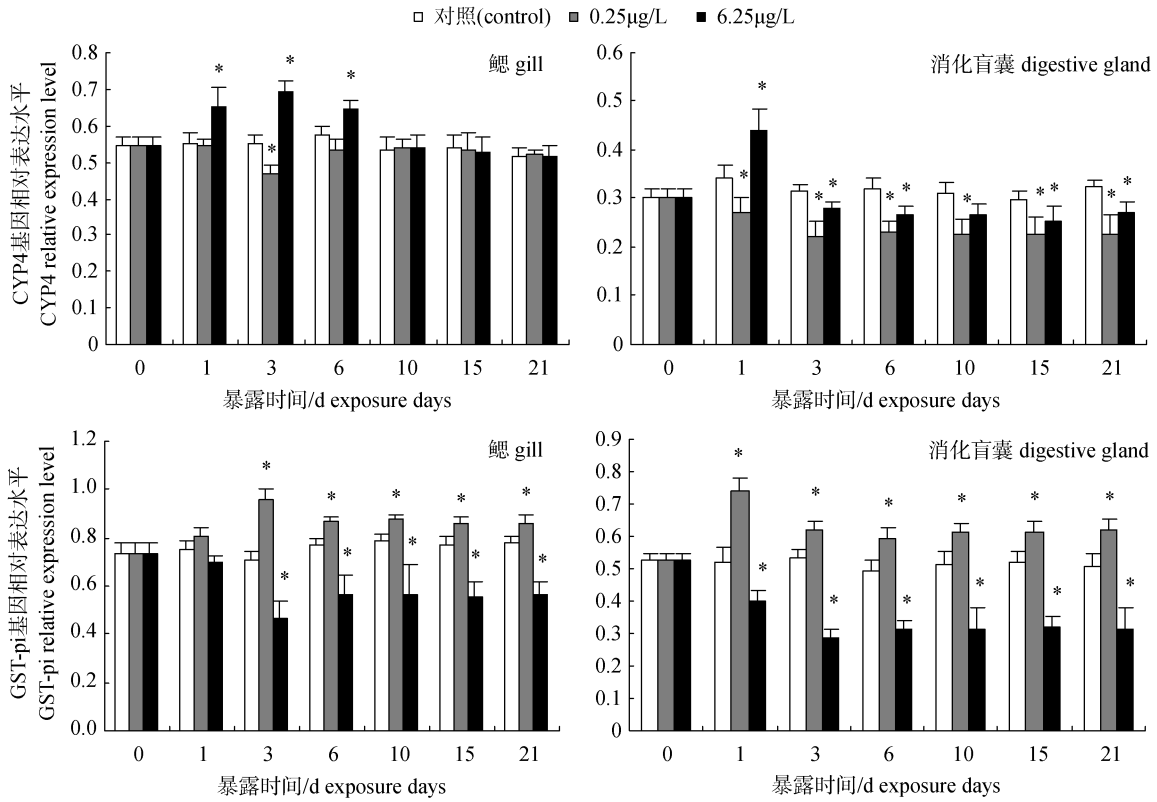


图 2 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃及消化盲囊 CYP4 和 GST-pi 基因表达的影响($n=3, \bar{x} \pm \text{SD}$)

星号表示与相应对照组差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 2 Influences of BDE-47 on CYP4 and GST-pi mRNA contents in gill and digestive gland of *V. philippinarum* ($n=3, \bar{x} \pm \text{SD}$)
Asterisks indicate significant difference compared with control ($P < 0.05$).

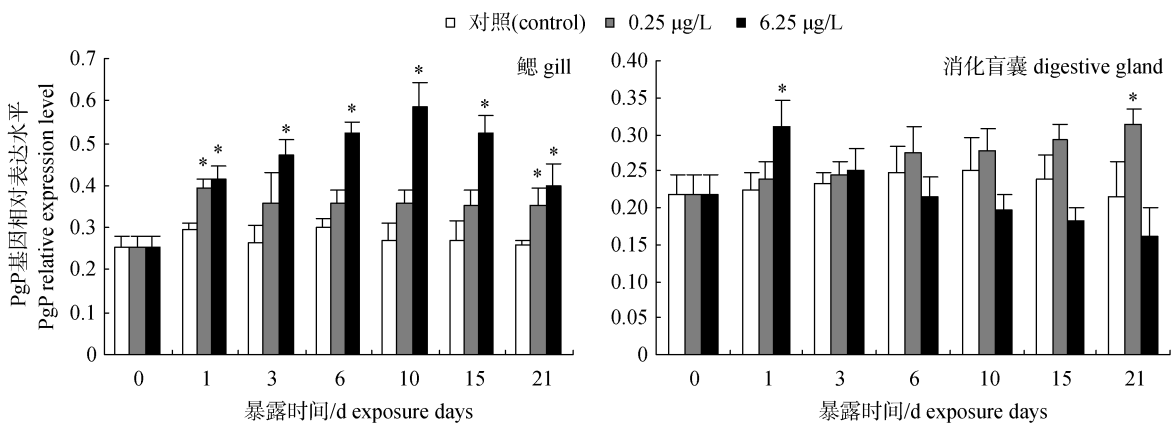


图 3 BDE-47 对菲律宾蛤仔鳃及消化盲囊 PgP 基因表达的影响($n=3, \bar{x} \pm \text{SD}$)

星号表示与相应对照组差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 3 Influences of BDE-47 on PgP mRNA contents in gill and digestive gland of *V. philippinarum* ($n=3, \bar{x} \pm \text{SD}$)
Asterisks indicate significant difference compared with control ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 BDE-47 对菲律宾蛤仔组织解毒代谢基因表达的影响

已有研究表明, POPs 进入生物体细胞内一方面首先与受体蛋白(如芳烃受体蛋白)结合进入细胞核内, 介导 相代谢酶基因如 CYP4 基因的表达, 从而合成相应的酶或蛋白, 将污染物转化为更具极性的代谢中间产物, 这些代谢产物会诱导

相代谢酶基因如 GST-pi 的表达, 合成如谷胱甘肽硫转移酶等蛋白催化与内源物质分子结合, 加速代谢产物排出体外^[19-21]; 另一方面 POPs 入侵可以激活机体发生保护性的反应, 诱导以 Pgp 为代表的 ABC 跨膜转运蛋白基因表达升高, 合成 P-糖蛋白将外源物质的转运至胞外^[22]。

薄军等^[23]研究表明, 将真鲷(*Pagrus major*)暴露于 0.1~1.5 $\mu\text{g/L}$ 苯并芘(B[a]P)中, 48 h 内肝脏 AhR2 基因表达被显著诱导, 且与 B[a]P 的暴露浓度呈明显的剂量-效应关系; 据周驰等^[24]和许超群等^[25]报道多氯联苯(PCBs)和 B[a]P 可分别诱导翡翠贻贝(*Perna viridis*)CYP4 基因、菲律宾蛤仔 GST-pi 基因的表达, 而且 CYP4、GST-pi 基因表达都与污染物浓度呈明显相关性; Nicholas 等^[22]研究发现海虱 (*Lepeophtheirus salmonis*)在杀虫剂-甲氨基阿维菌素苯甲酸盐作用下, 10 $\mu\text{g/L}$ 处理组 PgP1 基因被诱导的程度是对照组的 5 倍, 而 30 $\mu\text{g/L}$ 处理组 PgP1 基因被诱导的程度低于 10 $\mu\text{g/L}$ 。本研究表明在 BDE-47 染毒时间内, 菲律宾蛤仔鳃丝和消化盲囊 AhR、CYP4、GST-pi 和 PgP 基因表达均被显著诱导或抑制, 表现出明显的时间效应性, 这与上述研究结果不尽相同。由此表明, 菲律宾蛤仔在 BDE-47 胁迫下 AhR 的介导通路和 P-糖蛋白物质输出途径均参与了解毒代谢反应。作者认为 BDE-47 对菲律宾蛤仔解毒代谢基因表达的影响, 不仅与作用浓度和时间有关, 而且不同的组织器官解毒代谢基因表达表现出不同的变化过程, 其中组织 GST-pi 基因在低浓度处理组被诱导, 高浓度组被抑制, 表现出明显的时间效应性, 可作为 BDE-47 污染评价的生物效应指标。

实验还表明菲律宾蛤仔解毒代谢基因表达水平为鳃丝>消化盲囊, 其中鳃丝基因表达与 BDE-47 染毒浓度基本呈正相关性, 而消化盲囊基因表达在低浓度处理组诱导升高, 高浓度组被抑制, 这可能与鳃丝和污染物直接接触有关, 也与机体的解毒机制相关。作者认为 POPs 等污染物主要通过贝类摄食的水流进入鳃丝和消化道, 通过血淋巴循环到达各组织器官(主要是消化盲囊), 菲律宾蛤仔在 BDE-47 作用下组织解毒代谢基因的表达变化不仅反映了解毒代谢过程, 也显示出机体所受的胁迫状态。

3.2 菲律宾蛤仔在 BDE-47 胁迫下组织解毒代谢基因表达的调控机制

Weiss 等^[20]通过研究 TCDD 体外胁迫小鼠肝癌细胞(Hepa1)发现 AhR 可以与 ARNT 在核内形成二聚体, 诱导 相和 相解毒代谢酶基因的表达; 据 Wahl 等^[21]报道 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 BDE-47 可以通过芳烃受体 AhR 的介导途径来影响斑马鱼 (*Danio rerio*)CYP1A1 基因的表达。本研究表明菲律宾蛤仔在 BDE-47 作用下消化盲囊 AhR 与 GST-pi 基因表达的变化基本一致, 而鳃丝 AhR 基因仅在低浓度处理组与 GST-pi 基因表达的变化趋势相近, 并且 2 种组织 AhR 基因均在高浓度组与 CYP4 基因表达趋于一致, 这与上述结果类似。同时实验还表明鳃的 AhR 基因与 PgP 基因表达在 15 d 后表现为恢复至对照组水平和诱导升高, 而消化盲囊在低浓度处理组 10 d 后 AhR 基因和 PgP 基因表达与鳃丝类似, 而在高浓度处理组均表现为被抑制。由此作者推测菲律宾蛤仔在 BDE-47 作用下可通过 AhR 通路介导 GST-pi 基因表达, 而是否介导 CYP4 基因的表达尚需进一步验证, 也可能 CYP4 基因受其他受体蛋白的调控; 同时在 BDE-47 胁迫下鳃中以 P-糖蛋白物质输出途径为主排出 BDE-47, 而消化盲囊中 BDE-47 的代谢途径与胁迫浓度相关, 两条代谢途径相辅相成, 共同促进机体对外源物质的代谢。

参考文献:

- [1] Guvenius D M, Bergman A, Noren K. Polybrominated di-

- phenyl ethers in Swedish human liver and adipose tissue [J]. *Environ Contam Toxicol*, 2001, 40: 564–570.
- [2] Haddow J E, Palomaki G E, Allan W C, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent psychological development in the child [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341: 549–555.
- [3] Johnson A, Olson N. Analysis and occurrence of polybrominated diphenyl ethers in Washington State freshwater fish [J]. *Environ Contam Toxicol*, 2001, 41: 339–344.
- [4] Branchii I, Capone A, Vimlone, et al. Early developmental exposure to BDE-99 or Aroclor 1254 affects neurobehavioural profile: Interference from the Administration Route [J]. *Neuro toxicology*, 2005, 26(2): 183–192.
- [5] Kalantzi O I, Martin F L, Thomas GO, et al. Different levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and chlorinated compounds in breast milk from two U. K. regions [J]. *Environ Health Persp*, 2004, 112 (10): 1085–1091.
- [6] Lindstrom G, Wingrors H, Dam M, et al. Identification of 19 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) from the Atlantic[J]. *Environ Contam Toxicol*, 1999, 36: 355–363.
- [7] Zegers B N, Lewis W E, Boon J P. Levels of some polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants in dated sediment cores [J]. *Organoh Comp*, 2000(47): 229–32.
- [8] Wurl O, Obbard J P. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Singapore coastal marine sediments [J]. *Chemosphere*, 2005, 58(7): 925–933.
- [9] Wurl, O, Lam P K, Obbard J P. Occurrence and distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the dissolved and suspended phases of the seasurface microlayer and seawater in Hong Kong, China [J]. *Chemosphere*, 2006, 65 (9): 1660–1666.
- [10] 陈社军, 麦碧娴, 曾永平, 等. 珠江三角洲及南海北部海域表层沉积物中的多溴联苯醚的分布特征[J]. *环境科学学报*, 2005, 25(9): 1265–1271.
- [11] 周明莹, 张惠珍, 夏斌, 等. 多溴联苯醚在胶州湾养殖水域含量水平与分布[J]. *海洋环境科学*, 2010, 29(6): 884–888.
- [12] Ikononou M, Rayne S, Fischer M, et al. Occurrence and congener profiles of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental samples from coastal British Columbia, Canada [J]. *Chemosphere*, 2002, 46 (5): 649–663.
- [13] 郭英, 唐洪磊, 孟祥周等. 多溴联苯醚在桂花鱼体内的分布[J]. *环境科学*, 2007, 18(12): 2806–2810.
- [14] Liu Y, Gene J Y, Yu H X, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediments and mussel tissues from Hong Kong marine waters [J]. *Mar Poll Bull*, 2005, 50(11): 1173–1184.
- [15] 杨永亮, 潘静, 李悦, 等. 青岛近岸沉积物中持久性有机污染物多氯萘和多溴联苯醚[J]. *科学通报*, 2003(48): 2244–2251.
- [16] Oliver Wurl, Paul Kwan Sing Lam, Jeffrey Philip Obbard. Occurrence and distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the dissolved and suspended phases of the sea-surface microlayer and seawater in Hong Kong, China[J]. *Chemosphere*, 2006, 65: 1660–1666.
- [17] 潘鲁青, 李彦飞. 注射病原菌对凡纳滨对虾血蓝蛋白合成、酚氧化酶活力的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2009, 39(5): 889–896.
- [18] 岳峰, 潘鲁青, 谢鹏, 等. 氨氮胁迫对三疣梭子蟹酚氧化酶原系统和免疫指标的影响[J]. *中国水产科学*, 2010, 17(4): 762–770.
- [19] Godowsky D L, Yoke W. Typical Dioxin concentrations in agriculture soils of Washington state and potential sources *Environ [J]. Sci Technol*, 2005(39): 5170–5176.
- [20] Weiss C, Faust D, Durk H, et al. TCDD induces c-jun expression via a novel Ah (dioxin) receptor-mediated p38-MAPK-dependent pathway [J]. *Oncogene*, 2005(24): 4975–4983.
- [21] M. Wahla, B. Lahnib, R. Guenthera, et al. A technical mixture of 2, 2', 4, 4'-tetrabromo diphenyl ether (BDE47) and brominated furans triggers aryl hydrocarbon receptor (AhR) mediated gene expression and toxicity [J]. *Chemosphere*, 2008(73): 209–215.
- [22] Nicholas D, Tribble, John F, et al. Evidence for changes in the transcription levels of two putative P-glycoprotein genes in sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*) in response to emamectin benzoate exposure [J]. *Mol Bioch Paras*, 2007, 153: 59–65.
- [23] 薄军, 吴世军, 李裕红, 等. 苯并[α]芘(BaP)对真鲷细胞色素 P450 和芳香烃受体基因表达的影响[J]. *中山大学学报*, 2010, 49(3): 0529–0579.
- [24] 周驰, 李纯厚, 张为民, 贾晓平. 翡翠贻贝肾 CYP4 基因表达受多氯联苯影响的研究[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(22): 9418–9422.
- [25] Chaoqun Xu, Luqing Pan, Na Liu, et al. Cloning, characterization and tissue distribution of a pi-class glutathione S-transferase from clam (*Venerupis philippinarum*): Response to Benzo[α]pyrene exposure [J]. *Comp Biochem Physiol C*, 2010, 152: 160–166.

Effects of tetrabromodiphenyl ether(BDE-47)on the metabolic gene expression in the gills and digestive glands of *Ruditapes philippinarum*

PAN Luqing, GONG Xiaoli, XU Chaoqun, WANG Lin

The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract: Effects of BDE-47 on gene expression levels of AhR, CYP4, GST-pi and Pgp of the gills and digestive glands of clam *Ruditapes philippinarum* were studied in a 21-day exposure test. The results showed that the expression levels of all the 4 genes showed no significant change in the control clams during the exposure. AhR mRNA expression levels reached maximum and minimum at day 6 and day 1. CYP4 and GST-pi mRNA gene expression reached the peak value at day 3 and day 1. CYP4 mRNA gene expression levels in digestive gland were inhibited and kept stable after day 3. GST-pi mRNA expression levels in 0.25 $\mu\text{g/L}$ BDE-47 group are significantly higher than control levels, while in 6.25 $\mu\text{g/L}$ BDE-47 treatments are significantly lower than control level. Pgp mRNA expression levels in all BDE-47 treatment groups are significantly higher than control level. Significant dose and time-dependent relationship between the expression levels of GST-pi mRNA and BDE-47 exposure doses were found in the results, indicating that GST-pi mRNA expression in the gills and digestive glands of *Ruditapes philippinarum* can be considered as a potential biomarker which can be used to evaluate BDE-47 pollution in seawater.

Key words: BDE-47; *Ruditapes philippinarum*; gills; digestive glands; metabolic; gene expression