

大黄鱼 Rab11 基因的克隆与表达分析

张宇^{1,2}, 韩芳^{1,2}, 刘岚萍^{1,2}, 王志勇^{1,2}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

[摘要] 克隆了大黄鱼小 G 蛋白家族中的 Rab11 基因, 测序查明其 cDNA 序列全长 1373 bp, 其中 5' 非编码区为 129 bp, 3' 非编码区为 587 bp, 开放阅读框为 657 bp, 编码 218 个氨基酸; 其氨基酸序列与罗非鱼、斑马鱼等鱼类 Rab11 蛋白序列同源性在 95% 左右, 与人类、大熊猫等物种的同源性也达到 90% 以上。Rab11 基因在大黄鱼脾脏、鳃、肾脏、皮肤、肝脏、血液、肠、心脏和胃 9 个组织中均有表达, 在血液、肝脏中表达量最高, 在胃中表达量最低; 溶藻弧菌刺激后大黄鱼肝脏、肾脏和脾脏组织中 Rab11 基因的表达量均明显上调, 提示 Rab11 在大黄鱼的抗病免疫反应中有着重要的作用。

[关键词] 大黄鱼; Rab11 基因; 免疫; 表达差异

[中图分类号] Q 943

[文献标志码] A

Cloning and Expression of Rab11 Gene in Large Yellow Croaker *Larimichthys crocea*

ZHANG Yu^{1,2}, HAN Fang^{1,2}, LIU Lan-ping^{1,2}, WANG Zhi-yong^{1,2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory of
Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture, Xiamen 361021, China)

Abstract: Large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) is one of the most important and largest yield mari-culture fish species in China. However, in recent years, infectious diseases caused by various pathogens are more and more severe. There is an urgent need to understand the mechanism of innate immune in large yellow croaker to control the diseases and for long-term sustainability. In this investigation, a Rab11 (LycRab11) gene was obtained from the large yellow croaker. The full length of Rab11 cDNA was 1373 bp, containing a 129 bp 5' -untranslated region (UTR), a 587bp 3' -UTR and a 657 bp open reading frame (ORF) which encoded 218 amino acids. The sequence of large yellow croaker Rab11 protein shared up to 95% identities with those of many fish, such as tilapia and zebrafish, and 90% identities with those of human and panda. Quantitative real-time RT-PCR analysis revealed the highest expression of LycRab11 gene in blood and liver and the weakest expression in stomach. Time course analysis revealed that LycRab11 expression was obviously up-regulated (after 12 h) in liver, kidney and spleen after immunization with *Vibrio parahaemolyticus* ($P < 0.05$). These results suggested that Rab11 protein might play an important role in the immune response in large yellow croaker and this will establish the foundation for the further study of char-

[收稿日期] 2015-12-18

[修回日期] 2016-03-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (31402339); 福建省科技项目 (JK2013026); 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室开放基金项目 (LSF2013-01); 集美大学创新团队科研基金项目 (2010A02); 李尚大基金项目 (ZC2014006)

[作者简介] 张宇 (1988—), 男, 硕士生, 主要从事分子遗传学研究。通信作者: 王志勇 (1963—), 男, 教授, 博导, E-mail: zywang@jmu.edu.cn。

acter and function of the Rab11 gene in the large yellow croaker.

Keywords: large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) ; Rab11 gene; immunization; gene expression

0 引言

小 G 蛋白与异源 G 蛋白 (也被称为大 G 蛋白) 共称为 G 蛋白 (也称 GTP 结合蛋白或 GTP 酶)。G 蛋白在免疫中发挥着重要作用, 很多人类疾病与 G 蛋白偶联受体相关, 据统计, 在所有现代药物中, 有 40% 以上是以 G 蛋白偶联受体作为靶点的^[1]。小 G 蛋白是一类小分子的蛋白质, 分子量只有 20 ~ 30 ku, 根据结构主要分为 Rac/Rho/Cdc42、Ran、Rab、Ras 和 Arf 五个亚家族^[2]。参与机体内多种生理过程, 包括信号传递、细胞生长、基因表达、细胞骨架重组、囊泡运输等。Rab 蛋白是小 G 蛋白家族中最大的亚家族, 也是目前研究最深入的小 G 蛋白, 现已在果蝇体内发现有 26 种, 在人体中存在近 70 种。它们定位在细胞胞浆面的各个亚细胞器中, 通过局部微调囊泡的转运来调控细胞吞噬作用^[3]。研究发现, Rab11 与胞质分裂、蛋白质分泌、吞噬作用及信号传递等细胞内重要的生命活动有关^[4-6]。作为内吞再循环过程的关键因子, Rab11 调控内体的再循环和运输^[7], 引导膜泡锚定, 实现受体和脂质的循环利用^[8]。此外, Rab11 的突变或缺失还与多种疾病的发生密切相关^[9]。但关于鱼类 Rab11 功能的研究目前还未见报道。

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 是中国重要的海洋经济鱼类, 为传统“四大海产”之一。它主要分布在我国黄海南部至南海北部沿海, 养殖区域主要集中在福建、广东和浙江三省, 超过 85% 的养殖大黄鱼来自福建东部^[10]。目前, 病害是大黄鱼养殖过程中最大的难题, 尤其是细菌性疾病尤为严重, 急需解决^[11-12]。据报道, 目前对养殖大黄鱼危害最严重的“白点病”, 主要是由于隐核虫感染刺激后引起继发性细菌感染而导致大黄鱼死亡^[13], 且养殖过程中随季节、温度和海区不同而变化^[14]。部分渔民病急乱用药、滥用药而导致了环境污染、药物残留和食品安全等一系列问题。因此, 迫切需要对大黄鱼的免疫机制有深入的了解以便采取科学合理的防治措施^[15-16]。

文献 [17] 发现 RabGTP 参与了大黄鱼的抗病免疫作用。为了进一步了解 Rab 亚家族基因在鱼类中的作用及其机制, 本研究克隆了大黄鱼的 Rab11 基因, 分析其在大黄鱼不同组织中的表达情况以及免疫刺激后 Rab11 在不同组织中表达量的变化, 为进一步研究阐明 Rab11 在大黄鱼免疫中所起到的作用奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集

实验用大黄鱼来自福建省宁德市海区养殖网箱, 平均每尾体长 (16.80 ± 2.10) cm, 体重 (66.62 ± 4.55) g。实验前在室内水泥池中驯养 3d。通过断尾取血收集血液, 将血液和血液抗凝剂 (0.48% 柠檬酸、1.32% 柠檬酸钠和 1.47% 葡萄糖 (质量分数)) 按照体积比 1:2 进行稀释, 并放入 RNA 保护液 (Bioteke, 北京) 中 4 ℃ 保存。选 3 尾大黄鱼剖取其肾、肠、脾、肝、鳃、皮肤、心脏和肌肉等组织, 置液态氮中冷冻运回实验室后存放于 -80 ℃ 下, 作为提取 RNA 的组织样本。

用于免疫刺激实验的大黄鱼, 实验前在室内水泥池中驯养两周以上使其适应室内环境, 然后分为两组, 每组 5 尾。第一组为对照组, 在腹腔内注射 0.5 mL 的 PBS; 第二组为实验组, 在腹腔注射 $0.5 \text{ mL } 1 \times 10^8 \text{ cfu/mL}$ 的副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 进行攻毒。然后分别在注射后 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 h, 收集肝脏、脾脏和肾脏组织 (每个时点设 3 个生物学重复), 用于基因表达量检测。

1.2 总 RNA 的提取及目的基因获取

总 RNA 提取及 cDNA 合成采用试剂盒 (Invitrogen, USA), 参照产品说明进行。用 RNase-free DNase 酶 (Promega, USA) 去除基因组 DNA 的干扰。在 M-MLV 逆转录酶 (Promega, USA) 作用下, 利用 oligo (dT) 作为引物, 以总 RNA 为模板合成 cDNA 第一链^[18]。

1.3 Rab11 的克隆和序列分析

从本实验室大黄鱼转录组测序数据库中通过序列功能注释信息找到 Rab11 序列。经目的基因扩增后进行测序验证, 具体步骤: 设计正反向引物 Rab11-F1 和 Rab11-R1 (见表 1), 以混合 cDNA 作模板进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为: 94 ℃ 变性 3 min; 94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 复性 30 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 30 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min^[19]。PCR 产物克隆到 PMD-18T vector (TaKaRa, 大连, 中国), 挑选含有阳性克隆的菌落送到华侨大学基因科技有限公司用 Sanger 测序法测序。

表 1 实验中所用引物
Tab.1 Sequence and experimental conditions for primers

引物 Primers	序列 Sequences(5′-3′)	退火温度 Annealing temperature/℃
Rab511-F	CGCGGATCCATGGGGAACCGAGACG	57
Rab511-R	CCGGAATTCTCACAGGCTCTGGCAGC	58
β-actin-F	TTATGAAGGCTATGCCCTGCC	60
β-actin-R	TGAAGGAGTAGCCACGCTCTGT	60
Rab11-QF	TACGACATCGCCAAGCAC	55
Rab11-QR	CGGAGGCTCGCTCTTGT	55

1.4 生物信息学分析

用 BLAST 程序(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行序列同源性分析, 用 EXPASY(<http://www.expasy.org/>)预测蛋白质等电点及分子量, 用 Simple Modular Architecture Research Tool (SMART) 软件(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)预测大黄鱼的 Rab11 蛋白的功能域^[20], 用 Clustal W(<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>)对大黄鱼 Rab11 氨基酸序列与其他物种进行多重比对分析, 用 MEGA 4.1(<http://www.megasoftware.net>)构建 Rab11 的进化树。

1.5 实时荧光定量 PCR 反应体系和条件

实时荧光定量 PCR 是以稀释的 cDNA 第一条链为模板, 以 β-actin 为内参基因。反应体系中包含 1 μL 2 × SYBR Green Real-time PCR Master Mix (Tiangen, China), 1 μL 稀释的 cDNA, 正向和反向引物各 0.5 μL (10 μM), 8 μL nuclease-free 水。

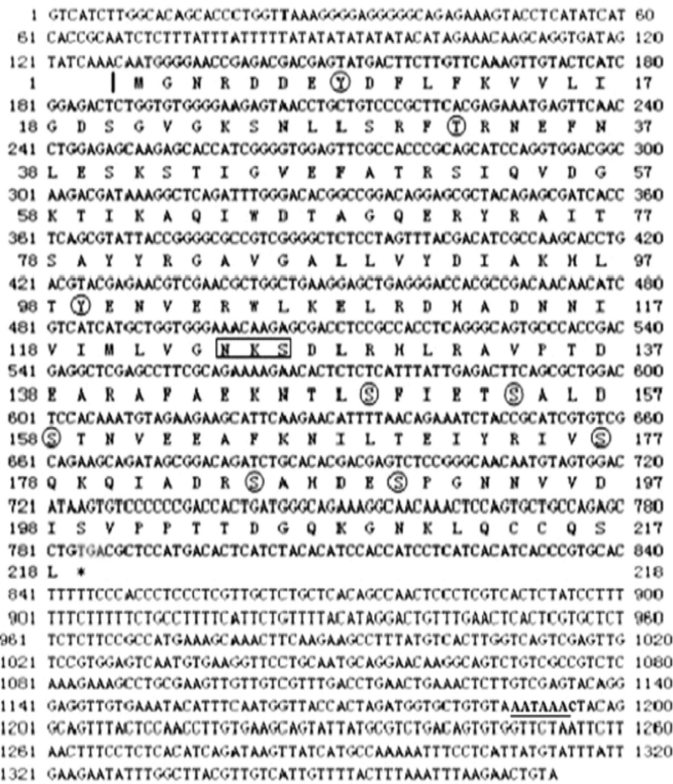
实时荧光定量 PCR 反应程序为: 95 ℃ 变性 1 min; 95 ℃ 变性 15 s, 60 ℃ 退火 1 min, 40 个循环。仪器为 ABI-7500 (Applied Biosystems, USA)。

RT-qPCR 程序结束后, 数据用 SPSS 20.0 软件进行分析。为了保持一致性, 基线由软件自动设置。用 CT 比较方法 (2^{-ΔΔCT}方法) 分析 Rab11 的表达水平^[21]。每个样本做 3 次重复, 对获得的数据进行 *t* 检验分析。

2 结果与分析

2.1 Rab11 基因序列特征

Rab11 基因的全长为 1373 bp, 包括一个开放阅读框 (ORF) 657 bp, 编码含 218 个氨基酸的蛋白质 (见图 1)。序列分析显示, Rab11 甲硫氨酸起始密码子周围的碱基序列为 AACATGT, 符合 Kozak 法则^[22]。5′端非翻译区 (UTR) 为 129bp, 3′端 UTR 为 587bp 伴随终止密码子 (TAA)。对基因组序列扩增产物测序, 获得大黄鱼 Rab11 基因组序列 5561 bp, 包含完整的开放阅读框。大黄鱼 Rab11 基因包含 4 个内含子和 5 个外显子, 其内含子序列遵循 GT-AG 规则, 与其他硬骨鱼 Rab11 的基因组结构相似 (见图 2)。



说明：*—终止密码；下划线—polyA 加尾信号；圆圈—磷酸化位点（S：丝氨酸磷酸化位点，T：苏氨酸磷酸化位点，Y：缬氨酸磷酸化位点）；方框—糖基化位点

Notes：*—termination codon;line—polyA signal;round—sites ofphosphorylation(S: serine phosphorylation,T:Threonine phosphorylation,Y:Valine phosphorylation); square frame—sites of glycosylation.

图 1 Rab11 基因 cDNA 全长及氨基酸序列

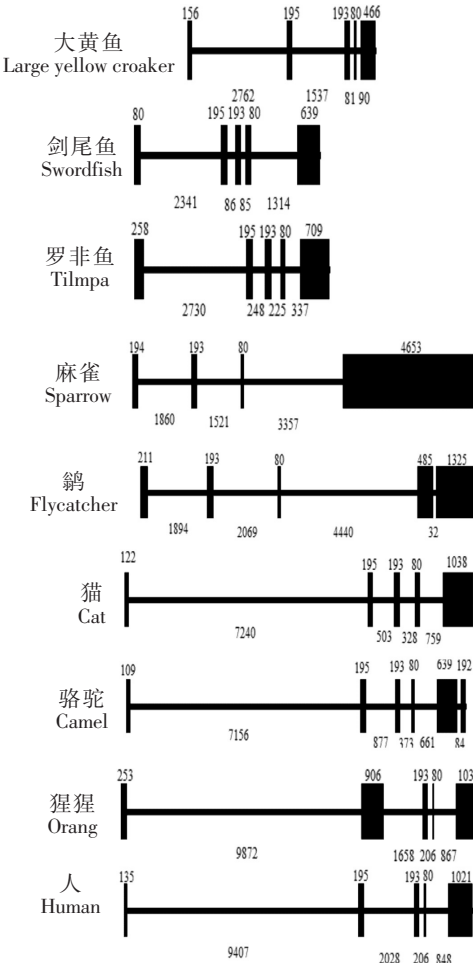


图 2 Rab11 基因组结构图

Fig.1 Nucleic acid and amino acid sequences of Rab11 gene

Fig.2 Genomic structure of Rab11

2.2 大黄鱼 Rab11 氨基酸结构及功能分析

通过 SMART 软件分析大黄鱼 Rab11 蛋白功能域。分析发现，位于氨基酸第 12 到第 175 位上，有一个典型的 RAB 区域。预测的大黄鱼 Rab11 蛋白分子量为 24.45 ku，等电点约为 5.64。经软件预测分析没有发现信号肽和跨膜区。磷酸化位点分析显示大黄鱼 Rab11 有 6 个丝氨酸磷酸化位点，1 个苏氨酸磷酸化位点，2 个酪氨酸磷酸化位点。糖基化位点（N-X-S/T）在 N¹²⁴的区域（见图 1）。

2.3 Rab11 的系统发育树

Rab11 的氨基酸序列相当保守，大黄鱼 Rab11 氨基酸序列与绿河鲀（*Tetraodon nigroviridis*）、花鲈（*Poecilia formosa*）、大西洋鲑（*Salmo salar*）、石斑鱼（*Epinephelus coioides*）、猎鹰（*Falco cherrug*）、绿头鸭（*Anas platyrhynchos*）、鸡（*Gallus gallus*）、刺猬（*Erinaceus europaeus*）、猴子（*Otolemur garnettii*）、牛（*Bos mutus*）、人（*Homo sapiens*）、爪蟾（*Xenopus tropicalis*）和扬子鳄（*Alligator sinensis*）的 Rab11 序列的吻合度分别达到 97%、97%、95%、95%、93%、94%、93%、90%、90%、90%、91%、90%、90%（见图 3）。

从 NCBI 数据库中下载从鱼类到哺乳动物的 Rab11 蛋白序列，使用 NJ（Neighbor-Joining）法构建系统发育树。结果（见图 4）显示，大黄鱼与绿河鲀、花鲈、大西洋鲑和石斑鱼亲缘关系最近，与哺乳动物包括刺猬、熊猫、猴子、牛和人亲缘关系较远；其他脊椎动物如猎鹰、绿头鸭和鸡被分别归入到相应的子群，扬子鳄和爪蟾被归类另外一个支序。由此可见，本文所得结果与传统的分类方法所得结果一致。

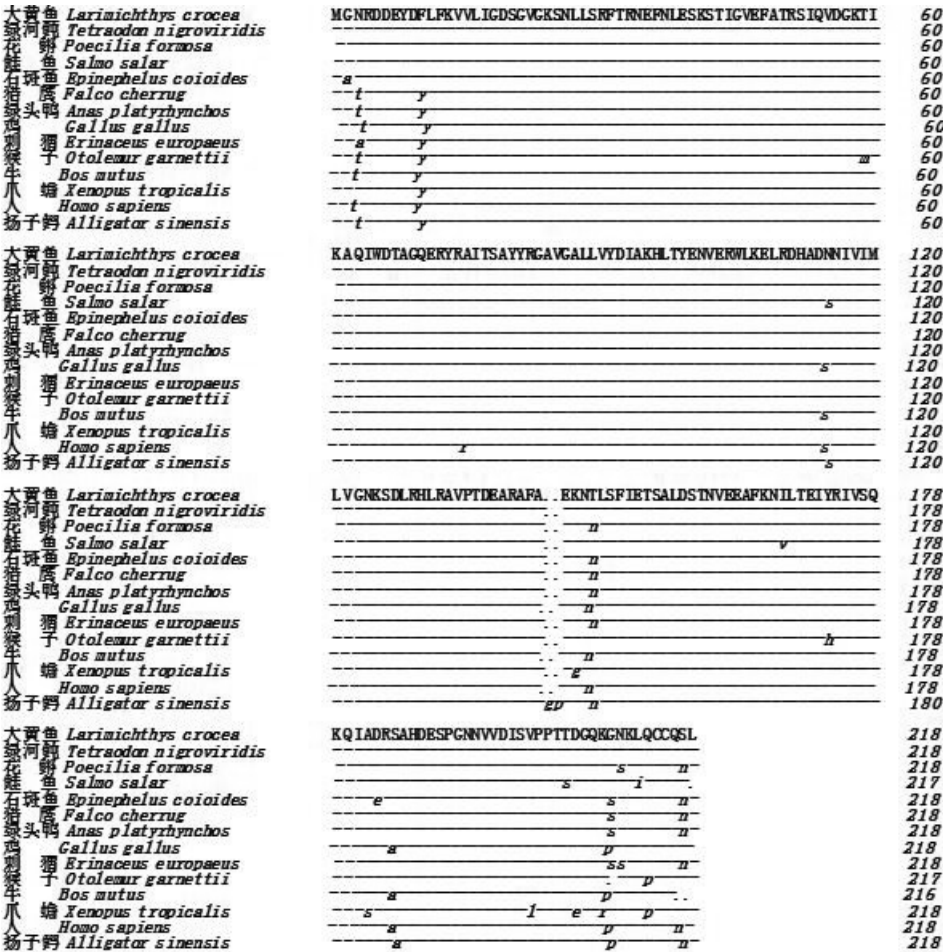


图 3 不同物种 Rab11 蛋白序列比对

Fig.3 Multiple alignment of Rab11 protein with other known vertebrate and invertebrate Rab11 proteins

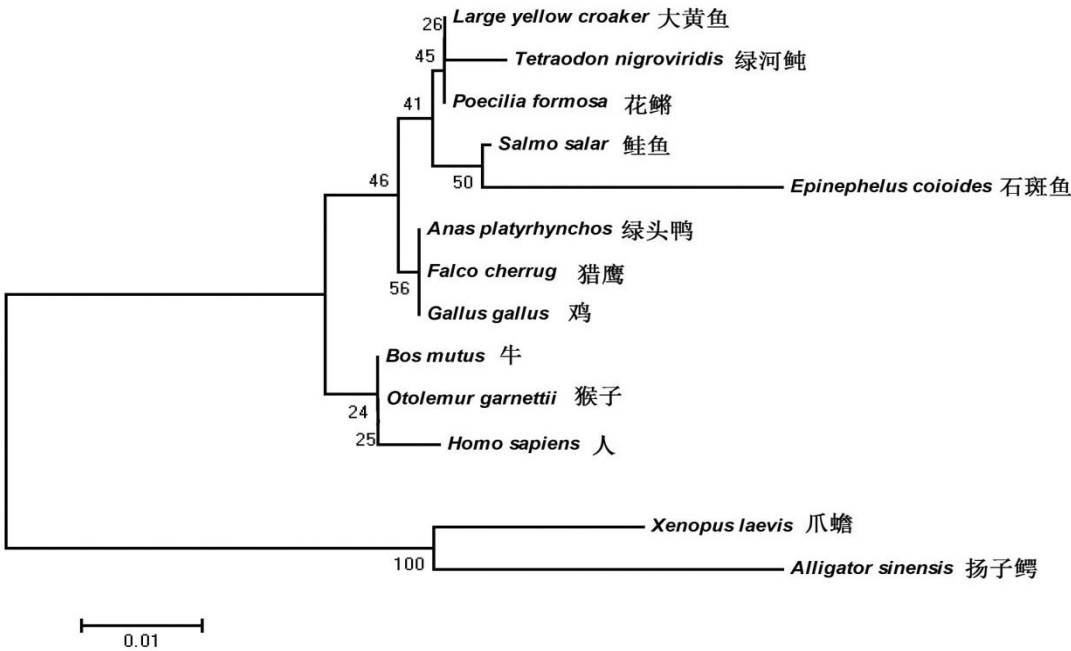


图 4 根据 Rab11 基因编码的氨基酸绘制的 NJ 系统树

Fig.4 Neighbor Jioning phylogenetic tree constructed with the amino acid sequences of Rab11 genes

2.4 大黄鱼 Rab11 基因的组织表达谱

通过 RT-qPCR 方法检测大黄鱼 Rab11 基因在脾脏、鳃、肾脏、皮肤、肝脏、血液、肠、心脏和胃的表达量，结果（见图 5）显示：Rab11 基因在全部检测的组织中广泛表达，但不同组织的表达程度差异明显，在血液中表达量最高，肝脏次之，然后是肾脏、脾脏、肠道、心脏、皮肤和鳃，在胃中的表达量最低。

2.5 大黄鱼 Rab11 基因在免疫刺激后的表达变化

结果表明，受到弧菌刺激后，各组织中 Rab11 基因的表达水平比对照组显著提高，在肝脏组织中 Rab11 基因表达水平在刺激后不断增强，并在刺激后 72 h 时达到峰值。肾脏组织则在刺激后 12 h 时表达量达到最高水平，之后逐渐下降，至 72 h 时恢复到正常水平。脾脏组织在刺激后的 24 h 内表达水平随着时间的延长而升高，并在 24 h 时达到最高，此后下降，至 72 h 时恢复正常（见图 6）。

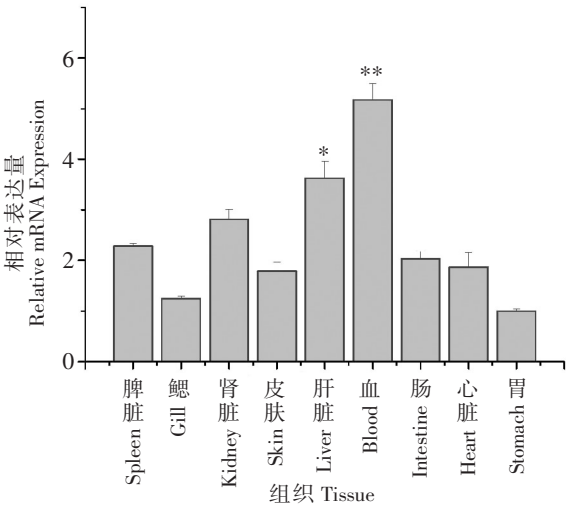


图 5 大黄鱼 Rab11 基因的组织表达谱
Fig.5 Quantity PCR analysis of the Rab11 gene expression from different tissues

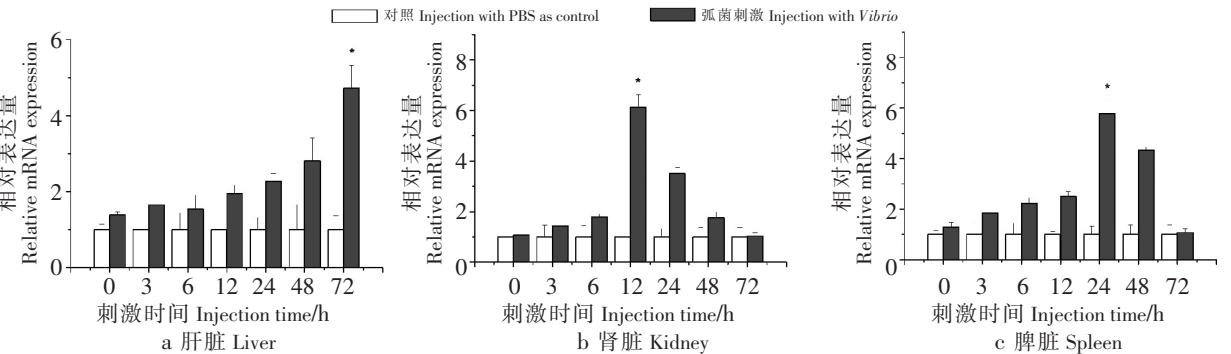


图 6 弧菌刺激后 Rab11 基因在内脏的表达变化
Fig.6 The expression change of Rab11 gene in viscus after stimulation by *Vibrio parahaemolyticus*

3 讨论

目前已经克隆的哺乳动物 Rab 家族基因有 70 多个^[23]。已有的研究表明，Rab 蛋白作为细胞内囊泡运输的分子开关，与其上游调控子和下游特定的效应子相互作用，并与 GTP 的结合和水解过程相藕联，在囊泡运输的不同阶段发挥作用^[24-25]。Rab11 蛋白在受体再循环、胞质分裂、分泌中发挥信号传导作用，在免疫中与吞噬作用密切相关^[26-27]。但是关于 Rab 基因参与鱼类的免疫防御过程的研究尚属空白。

本研究首次从大黄鱼体内克隆 Rab11 基因，得到大黄鱼 Rab11 的 cDNA 全长为 1373 bp，其中 ORF 为 657 bp 编码 218 个氨基酸，与在人类（AK312994）、斑马鱼^[28]和鲶鱼^[29]中报道的 Rab11 大小一致。生物信息学分析结果显示，大黄鱼 Rab11 蛋白具有与 GTP 结合有关的高度保守的序列及高度可变的 N 端和 C 端，与其他物种的 Rab11^[30-31]具有较高的氨基酸序列一致性，与鲈形目其他鱼类相似性高达 93% 以上，与鲤形目、鲶形目相似性高达 88% 以上，与人类的相似度也高达 82%，这表明 Rab11 基因在进化上具有较高的保守性。

Rab 基因在所检测的 9 个大黄鱼的器官/组织中均有表达，属于广谱型表达，这与斑马鱼^[32]中报道的结果一致。但其在不同组织的表达量差异明显，在血液中表达量最高，其次是肝脏、脾脏和肾

脏,而在胃中表达量最低。由于表达量较高的器官/组织(血液、肝脏、脾脏和肾脏)均属于免疫器官/组织,内含大量免疫细胞,表明 Rab11 可能参与免疫应答。本研究免疫刺激实验的结果显示,大黄鱼 Rab11 基因受弧菌刺激后在肝脏、肾脏和脾脏中的表达明显上调,这进一步说明它参与了大黄鱼的免疫反应,这也与对虾 Rab11 受 WSSV 病毒刺激后上调的表达模式类似^[33]。实验中免疫刺激后 12~72 h,脾脏、肾脏和肝脏 3 个器官中的 Rab11 表达量均达到峰值,说明 Rab11 在大黄鱼早期免疫中可能发挥着重要作用。

[参 考 文 献]

- [1] BOULARAN C, KEHRL J H. Implications of non-canonical G-protein signaling for the immune system. *Cellular signaling*, 2014, 26(6): 1269-1282. DOI:10.1016/j.cellsig.2014.02.010.
- [2] SCHEELE J S, MARKS R E, BOSS G R. Signaling by small GTPases in the immune system. *Immunological reviews*, 2007, 218(1): 92-101. DOI:10.1111/j.1600-065X.2007.00530.x.
- [3] WU W, ZHANG X. Characterization of a Rab GTPase up-regulated in the shrimp *Peneaus japonicus* by virus infection. *Fish & shellfish immunology*, 2007, 23(2): 438-445. DOI:10.1016/j.fsi.2007.01.001.
- [4] GUICHARD A, MCGILLIVRAY S M, CRUZ-MORENO B, et al. Anthrax toxins cooperatively inhibit endocytic recycling by the Rab11/Sec15 exocyst. *Nature*, 2010, 467(7317): 854-858. DOI:10.1038/nature09446.
- [5] LI X, SAPP E, VALENCIA A, et al. A function of huntingtin in guanine nucleotide exchange on Rab11. *Neuroreport*, 2008, 19(16): 1643-1647. DOI:10.1097/WNR.0b013e328315cd4c.
- [6] HAN F, WANG X, HUANG X, et al. Molecular cloning and functional characterization of a Rab GTPase in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Gene*, 2011, 473(2): 125-132. DOI:10.1016/j.gene.2010.11.007.
- [7] ROETH J F, SAWYER J K, WILNER D A, et al. Rab11 helps maintain apical crumbs and adherens junctions in the *Drosophila* embryonic ectoderm. *PLoS one*, 2009, 4(10): e7634. DOI:10.1371/journal.pone.0007634.
- [8] BALLMER-HOFER K, ANDERSSON A E, RATCLIFFE L E, et al. Neuropilin-1 promotes VEGFR-2 trafficking through Rab11 vesicles thereby specifying signal output. *Blood*, 2011, 118(3): 816-826. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-01-328773>.
- [9] TAKAHASHI S, KUBO K, WAGURI S, et al. Rab11 regulates exocytosis of recycling vesicles at the plasma membrane. *Journal of cell science*, 2012, 125(17): 4049-4057. DOI:10.1242/jcs.102913.
- [10] 农业部渔业局. 中国渔业年鉴 2013. 北京: 中国农业出版社, 2014: 59-60.
- [11] NING Y, LIU X, WANG Z Y, et al. A genetic map of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*, 2007, 264(1): 16-26. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.12.042.
- [12] MU Y, LI M, DING F, et al. De novo characterization of the spleen transcriptome of the large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and analysis of the immune relevant genes and pathways involved in the antiviral response. *PLoS one*, 2014, 9(5): 1-12. DOI:10.1371/journal.pone.0097471.
- [13] 刘振勇, 谢友仨, 林小金, 等. 感染刺激隐核虫的大黄鱼对低溶氧量的耐受力研究. *福建水产*, 2012, 34(6): 471-475.
- [14] ROTHMAN J E, WIELAND F T. Protein sorting by transport vesicles. *Science*, 1996, 272(5259): 227-234. DOI: 10.1126/science.272.5259.227.
- [15] 刘家富, 余祚澍, 林永添, 等. 大黄鱼假单胞菌病的初步研究. *海洋科学*, 2004, 28(2): 5-7.
- [16] LI S, AO J, CHEN X. Molecular and functional characterization of a cystatin analogue in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Molecular immunology*, 2009, 46(8): 1638-1646. DOI:10.1016/j.molimm.2009.02.027.
- [17] HAN F, WANG XQ, YAO CL, et al. Molecular characterization of Ran gene up-regulated in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) immunity. *Fish & shellfish immunology*, 2010, 29(2): 327-333. DOI:10.1016/j.fsi.2010.04.005.
- [18] HAN F, XIAO S, ZHANG Y, et al. Molecular cloning and functional characterization of a QM protein in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Fish & shellfish immunology*, 2015, 44(1): 187-194. DOI:10.1016/j.fsi.2015.01.

015.

- [19] GREEN M R, SAMBROOK J. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012: 895 - 909.
- [20] LETUNIC I, COPLEY R R, PILS B, et al. SMART 5: domains in the context of genomes and networks. Nucleic acids research, 2006, 34(1): D257-D260. DOI:10.1093/nar/gkj079.
- [21] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. methods, 2001, 25(4): 402-408. DOI:10.1006/meth.2001.1262.
- [22] KOZAK M. An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs. Nucleic acids research, 1987, 15(20): 8125-8148. DOI:10.1093/nar/15.20.8125.
- [23] BHUIN T, ROY J K. Rab proteins: the key regulators of intracellular vesicle transport. Experimental cell research, 2014, 328(1): 1-19. DOI:10.1016/j.yexcr.2014.07.027.
- [24] YU L, HUICHEN F, CHEN Y, et al. Differential expression of RAB5A in human lung adenocarcinoma cells with different metastasis potential. Clinical & experimental metastasis, 1999, 17(3): 213-219. DOI: 10.1023/A:1006617016451.
- [25] STENMARK H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. Nature reviews molecular cell biology, 2009, 10(8): 513-525. DOI:10.1038/nrm2728.
- [26] KARPUSHEV A V, LEVCHENKO V, PAVLOV T S, et al. Regulation of ENaC expression at the cell surface by Rab11. Biochemical and biophysical research communications, 2008, 377(2): 521-525. DOI:10.1016/j.bbrc.2008.10.014.
- [27] GORSKA M M, LIANG Q, KARIM Z, et al. Uncoordinated 119 protein controls trafficking of Lck via the Rab11 endosome and is critical for immunological synapse formation. The journal of immunology, 2009, 183(3): 1675-1684. DOI: 10.4049/jimmunol.0900792.
- [28] MUTO A, ARAI KI, WATANABE S. Rab11-FIP4 is predominantly expressed in neural tissues and involved in proliferation as well as in differentiation during zebrafish retinal development. Developmental biology, 2006, 292(1): 90-102. DOI:10.1016/j.ydbio.2005.12.050.
- [29] BOOTH N J, BILODEAU-BOURGEOIS A L. Proteomic analysis of head kidney tissue from high and low susceptibility families of channel catfish following challenge with *Edwardsiella ictaluri*. Fish & shellfish immunology, 2009, 26(1): 193-196. DOI:10.1016/j.fsi.2008.03.003.
- [30] REN M, XU G, ZENG J, et al. Hydrolysis of GTP on Rab11 is required for the direct delivery of transferrin from the pericentriolar recycling compartment to the cell surface but not from sorting endosomes. Proceedings of the national academy of sciences, 1998, 95(11): 6187-6192. DOI:10.1016/j.ydbio.2005.12.050.
- [31] SÖNNICHSEN B, DE RENZIS S, NIELSEN E, et al. Distinct membrane domains on endosomes in the recycling pathway visualized by multicolor imaging of Rab4, Rab5, and Rab11. The journal of cell biology, 2000, 149(4): 901-914. DOI:10.1083/jcb.149.4.901.
- [32] CLARK B S, WINTER M, COHEN A R, et al. Generation of Rab-based transgenic lines for *in vivo* studies of endosome biology in zebrafish. Developmental dynamics, 2011, 240(11): 2452-2465. DOI:10.1002/dvdy.22758.
- [33] HAN F, ZHANG X. Characterization of a ras-related nuclear protein (Ran protein) up-regulated in shrimp antiviral immunity. Fish & shellfish immunology, 2007, 23(5): 937-944. DOI:10.1016/j.fsi.2007.01.022.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 马 英)