

大黄鱼 *trim38* 基因的克隆及其表达分析

苟涛^{1,2}, 王志勇^{1,2}

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

[摘要] 由变形假单胞菌 (*Pseudomonas plecoglossicida*) 引起的大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 内脏白点病的死亡率可达 50% ~ 80%。对抗病相关基因 *trim38* 进行了分子及表达特征等分析。结果显示: 该基因开放阅读框 (ORF) 1623 bp, 编码 540 个氨基酸, 预测蛋白分子量为 61.58 ku, 等电点 6.99。qRT-PCR 的结果表明, 在所有检测的组织中都发现了 *trim38* 的转录产物, 但在肾脏中的相对表达量最高。变形假单胞菌攻毒刺激后, 大黄鱼脾脏中该基因持续表达, 在 120 h 达到峰值; 肝脏中 3 h 显著表达, 之后相对表达量降低; 肾脏中该基因相对表达量变化不大, 在 96 h 左右达到最大值。上述结果表明 *trim38* 基因参与了大黄鱼应对变形假单胞菌感染的抗病免疫过程。

[关键词] 大黄鱼; 内脏白点病; *trim38* 基因; 表达

[中图分类号] S 917.4

Study on the Immune Function of *trim38* Gene in *Larimichthys crocea*

GOU Tao^{1,2}, WANG Zhiyong^{1,2}

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

Abstract: Visceral white spot disease caused by *Pseudomonas plecoglossicida* is one of the main diseases of large yellow croaker cultured. The infection rate reaches more than 50%. In this study, a candidate disease-resistance-related gene *trim38* was screened from the above-located major regions, and its molecular and expression characteristics were analyzed. The results showed that the gene open reading frame (ORF) was 1623 bp, encoding 540 amino acids, the predicted protein molecular weight was 61.58 ku, and the isoelectric point was 6.99. The results of qRT-PCR showed that *trim38* mRNA transcripts were found in all detected tissues, but the highest relative expression was in the kidney. After challenge with *P. plecoglossicida*, the gene was continuously expressed in the spleen of large yellow croaker and reached a peak at 120 h; it was significantly expressed in the liver at 3 h and then decreased; the relative expression of the gene in the kidney did not change much and reached the maximum at about 96 h value. These results indicated that *trim38* was involved in the immune process of large yellow croaker in response to *P. plecoglossicida* infection.

Keywords: large yellow croaker (*Larimichthys crocea*); visceral white spot disease; *trim38* gene; expression

0 引言

2020 年全国大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 养殖总产量 25.41 万吨, 育苗量约 24 亿尾, 均居于我

[收稿日期] 2022-03-15

[基金项目] 国家自然科学基金重点支持项目 (U1705231); 厦门市科技项目 (3502Z20193052)

[作者简介] 苟涛 (1996—), 男, 硕士生, 从事鱼类遗传育种研究。通信作者: 王志勇 (1963—), 男, 教授, 博导, 从事水生生物遗传育种与生物技术方向研究。

国海水养殖鱼类首位^[1]。经研究,福建和浙江近几年发生的大黄鱼内脏白点病,基本上是由恶臭假单胞菌属的变形假单胞菌(*Pseudomonas plecoglossicida*)引起的^[2-5]。研究者们建立了 LAMP 等特异性快速检测方法^[6-8],这有利于尽早介入治疗。变形假单胞菌引起的大黄鱼内脏白点病对大黄鱼养殖产业造成了很大的影响。该病在大黄鱼各养殖区广泛流行,病死率可达 50% 以上,病鱼体表无明显症状,直到有病死或濒死的个体上浮到海面才会被发觉,此时网箱中多数个体已严重感染,病鱼陆续死亡,严重时整排网箱的鱼几乎死亡殆尽^[9-12]。

基于内脏白点病对大黄鱼的危害严重,本实验室通过对 817 尾人工攻毒幼鱼进行基因组重测序,挖掘获得近 1×10^7 个 SNP,以攻毒后发病时间作为抗病力表型值进行 GWAS 分析,精细定位了抗病相关区域,并从上述定位的主效区域中筛选出 1 个抗病相关基因 *trim38*。*trim38* 是 TRIM 家族蛋白的一员,该家族蛋白是一类存在于胞浆中、含有保守结构域的蛋白质,目前已经发现 70 多个成员,它们参与细胞增殖、分化、致癌和程序性死亡等多种细胞活动。近年的研究^[13]表明 TRIM 蛋白在人和小鼠等物种中具有很重要的抗菌抗病毒功能。2010 年,刘新蕾等^[14]首次发现 *trim38* 可能作为一个负向调控天然免疫的分子,*trim38* 可以通过与 RIG-1 相互作用抑制其与下游效应分子 IPS-1、TBK1 的结合,从而对于干扰素信号通路起到负向调节的作用。*trim38* 可以激活 NF- κ B 的宿主蛋白^[15-17]。*trim38* 可以促进 K63 和 K48 相关的细胞蛋白泛素化,可在病毒感染过程中被降解^[18]。2014 年,胡明明等^[19]发现 *trim38* 是肿瘤坏死因子(TNF- α)和白细胞介素-1(IL-1)触发信号的关键负调节因子。

本研究克隆了大黄鱼 *trim38* 基因的 ORF 序列全长,利用实时荧光定量 PCR 技术检测该基因在大黄鱼不同组织的表达情况以及经变形假单胞菌感染后不同时间的表达情况,为阐明大黄鱼在应对变形假单胞菌感染过程中的抗病机制提供了基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用大黄鱼于 2019 年 2 月采集于福建省宁德市金铃水产科技有限公司,体重为 (28.0 ± 8.0) g。攻毒前,所有鱼在水温 18℃,盐度 25 左右的条件下驯养 1 周。动物实验操作遵循集美大学水产学院动物伦理委员会的要求进行。

人工攻毒实验所用变形假单胞菌菌株分离于自然发病鱼,由集美大学水产学院鄢庆枇教授惠赠。攻毒前,将 -80℃ 条件下保存的菌株复苏并接种于含 2% NaCl 的 LB 液体培养基,在恒温摇床中 180 r/min、37℃ 培养至 OD 值 A_{600} 为 1.0 左右。用紫外可见分光光度计测量菌液浓度。

1.2 实验试剂

RNA 提取试剂盒(TransZol Up Plus RNA Kit)购自北京全式金生物技术有限公司;逆转录试剂盒(GoScript™ reverse transcription system protocol, promega)购自上海泰京生物技术有限公司;琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒和无内毒素质粒小量提取试剂盒购自北京天漠科技开发有限公司;高保真酶(2 × Phanta® Max Master Mix)、一步克隆试剂盒(ClonExpress® II One Step Cloning Kit)和荧光定量染料(ChamQ™ Universal SYBR® qPCR Master Mix)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;引物由厦门铂瑞生物科技有限公司合成。

1.3 实验方法

1.3.1 大黄鱼样品采集

组织表达谱分析:从暂养群体中随机选取 6 个正常个体,用丁香酚麻醉后,将鱼体置于冰上,用 75% 酒精擦拭体表,依次剪取鳃、鳍条组织;随后立即将鱼体解剖,依次取脾脏、肝脏、肠、肾脏和头肾组织;最后沿大黄鱼头部中线剪开,采集脑组织。将所有样品放置于 RNA 保护液中, -80℃ 保存备用。

变形假单胞菌攻毒实验:将培养至 1.0×10^9 CFU/mL 的变形假单胞菌菌液均匀泼洒到攻毒实验

池(池子面积4 m×2 m×0.8 m,水深20 cm)中,至池中菌液终浓度为 1.0×10^6 CFU/mL,使细菌与鱼充分接触,并保留一部分不予以攻毒的鱼作为对照组。细菌感染过程持续3 h之后,将所有攻毒实验鱼转移到装有洁净曝气海水的池子中,维持攻毒前的水温和盐度继续养殖,分别在攻毒后3,6,12,24,48,72,96,120 h,在对应的时间点从攻毒组随机捞取6尾大黄鱼,用丁香酚麻醉后快速解剖取其肾脏、脾脏和肝脏,置于RNA保护液中,保存在-80℃的冰箱中备用。

1.3.2 总RNA提取及cDNA的合成

采用TransZol Up Plus RNA Kit试剂盒提取大黄鱼组织样品及经变形假单胞菌感染后的总RNA,使用逆转录试剂盒合成cDNA的第一条链。用大黄鱼管家基因 β -actin检测反转录效果。引物见表1。

表1 本研究中使用的引物

Tab.1 Primers used in the present study

引物名称 Primer name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	作用 Usage	引物名称 Primer name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	作用 Usage
<i>qtrim38</i> -F	ACTCCAGACTCCCAACTT	qRT-PCR	M13-47	CGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC	阳性克隆鉴定 Positive
<i>qtrim38</i> -R	AGACCAGCGACTCTATGA		RV-M	AGCGGATAACAATTTACACAGGA	clone identification
β -actin-F	TTATGAAGGCTATGCCCTGCC		<i>trim38</i> -F	ATGGAATATCTGAGAAGTCTGCTGTCG	ORF 扩增
β -actin-R	TGAAGGAGTAGCCACGCTCTGT		<i>trim38</i> -R	AGTTACAGCTGTTATGACGAGAGGC	ORF amplification

1.3.3 大黄鱼 *trim38* 基因的克隆

从本实验室的大黄鱼基因组测序数据库中获得 *trim38* 基因的开放阅读框(ORF)序列,据此设计 *trim38*-F/R 引物(序列见表1),以大黄鱼肾脏 cDNA 为模板扩增 *trim38*。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳验证后,用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒进行回收并连接入 pMD19-T,转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,挑取阳性菌落送到厦门铂瑞生物科技有限公司进行测序,以验证序列结构。用 DNAMAN 软件对测序结果和参考序列进行比对分析,并使用 Primer Premier 5.0 软件(<http://www.premierbiosoft.com>)设计荧光定量 PCR 引物 *qtrim38*-F/R(序列见表1)。

1.3.4 大黄鱼 *trim38* 基因的生物信息学分析

在网站 <http://Web.expasy.org/cgi-bin/protparam> 上分析蛋白质的物理参数;在网站 <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/> 上预测信号肽;用 DNAMAN 软件分析序列同源性;在网站 http://smart.embl-heidelberg.de/smart/set_mode.cgi 上预测蛋白结构域;用 BioEidt 软件做氨基酸多重序列比对;用 MEGA 6.06 软件构建系统进化树。

1.3.5 实时荧光定量 PCR

根据 *trim38* cDNA 序列设计实时荧光定量 PCR 引物 *qtrim38*-F/R,用稀释 50 倍的 cDNA 为模板,选择大黄鱼 β -actin 基因作为内参基因进行荧光定量 PCR(引物序列见表1),按照荧光定量染料 ChamQTM niversal SYBR[®] qPCR Master Mix 说明书进行操作,反应体系:ChamQTM Universal SYBR[®] qPCR Master Mix 10.0 μ L, *qtrim38*-F/R 各 0.5 μ L, cDNA 模板 4.0 μ L,加 ddH₂O 至 20.0 μ L。每个样品进行 3 个生物学重复,3 个技术重复,以确保数据的稳定性。在 StepOnePlus 荧光定量 PCR 仪(美国 Application Biosystems 公司)上进行 qRT-PCR 反应,扩增程序为:95℃预变性 30 s,然后 95℃变性 10 s,60℃退火 30 s,40 个循环。

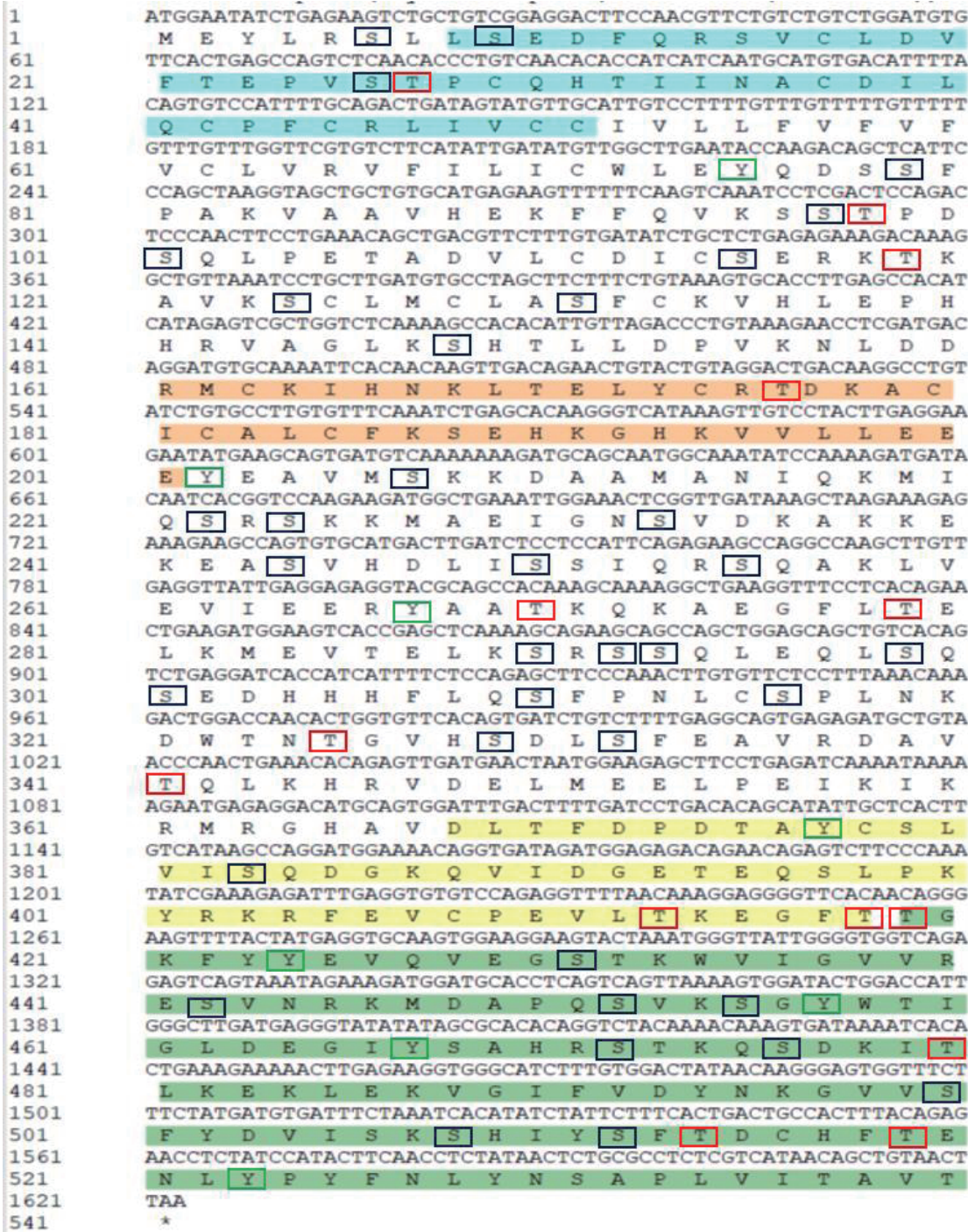
对实时荧光定量 PCR 结果,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算每个样品目的基因的相对表达量。

2 结果

2.1 *trim38* 基因的结构

克隆获得大黄鱼 *trim38* 基因 ORF 长度为 1623 bp,编码 540 个氨基酸(见图1),蛋白理论大小

为 61.58 ku，等电点 6.99。SignalP-5.0 Server 和 TMHMM Server V.2.0 预测结果发现 TRIM38 蛋白没有信号肽和跨膜区。



(*)表示终止密码子;蓝色阴影表示 RING;橙色阴影表示 B-box;黄色阴影表示 PRY;绿色阴影表示 SPRY;蓝色框表示丝氨酸(Ser)磷酸化位点;红色框表示苏氨酸(Thr)磷酸化位点;绿色框表示酪氨酸(Tyr)磷酸化位点

The stop codons were indicated with (*), RING is highlighted with blue shading, B-box is highlighted with orange shading, PRY is highlighted with yellow shading, SPRY is highlighted with green shading, blue boxes indicate serine (Ser) phosphorylation sites, the red box indicates the threonine (Thr) phosphorylation site, and the green box indicates the tyrosine (Tyr) phosphorylation site

图 1 大黄鱼 trim38 基因 ORF 核酸序列及对应的氨基酸序列

Fig.1 Nucleic acid sequence of the ORF and corresponding amino acid sequence of trim38 gene of L. crocea

NetPhos 3.1 Server 预测出 TRIM38 蛋白含有 58 个磷酸化位点, 其中包括 36 个丝氨酸 (Ser) 磷酸化位点, 14 个苏氨酸 (Thr) 磷酸化位点, 8 个酪氨酸 (Tyr) 磷酸化位点 (见图 1)。通过 SMART 预测表明, TRIM38 蛋白从 N 端到 C 端依次排列, 分别含有 1 个 RING 结构域、1 个 B-box 结构域和一个 PRYSPRY 结构域 (见图 2)。表 2 为大黄鱼与其他物种 *trim38* 氨基酸序列比较分析结果, 从表 2 中可见, 黄姑鱼 *trim38* 基因与大黄鱼 *trim38* 基因同源性最高, 为 86.86%; 其次是棘头梅童鱼 (84.96%) 和鳊鱼 (68.63%)。系统进化树 (见图 3) 分析结果显示, 鱼类和哺乳类的 *trim38* 各自聚为一支, 大黄鱼 *trim38* 与黄姑鱼的亲缘关系最近。



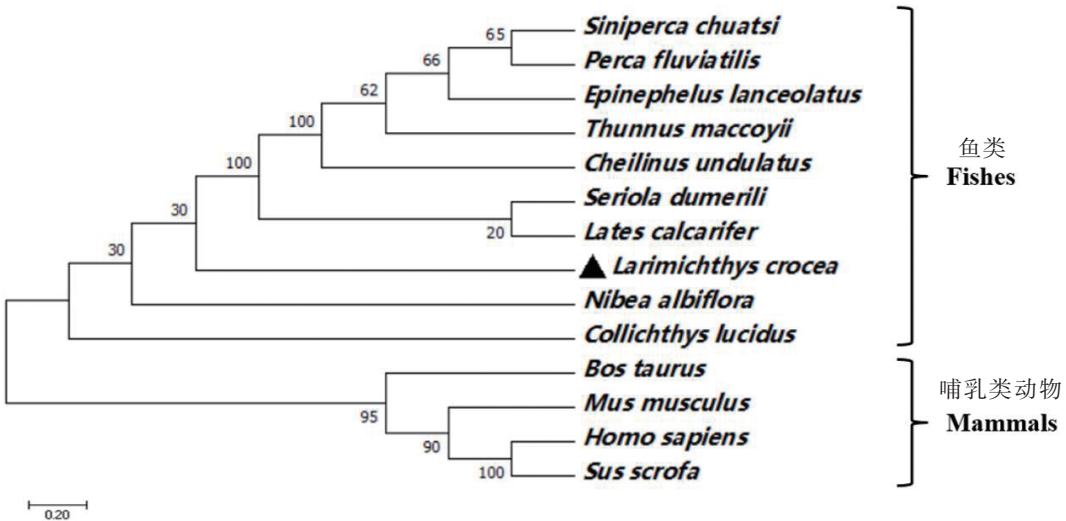
图 2 大黄鱼 *trim38* 基因的蛋白结构域

Fig.2 Protein domain of *trim38* gene of *L. crocea*

表 2 大黄鱼与其他物种 *trim38* 氨基酸序列的同源性分析

Table 2 Homology of *trim38* amino acid sequence of *L. crocea* with other species

物种 Species	相似度 Identity/%	GenBank 登录号 GenBank accession numbers	物种 Species	相似度 Identity/%	GenBank 登录号 GenBank accession numbers
黄姑鱼 <i>Nibea albiflora</i>	86.86	KAG8005608.1	高体鲷 <i>Seriola dumerili</i>	63.46	XP_022605088.1
棘头梅童鱼 <i>Collichthys lucidus</i>	84.96	TKS65205.1	波纹唇鱼 <i>Cheilinus undulatus</i>	57.04	XP_041636212.1
龙胆石斑鱼 <i>Epinephelus lanceolatus</i>	66.31	XP_033470412.1	人 <i>Homo sapiens</i>	43.48	NP_006346.1
金枪鱼 <i>Thunnus maccoyii</i>	65.23	XP_042259368.1	小鼠 <i>Mus musculus</i>	25.41	NP_001025106.1
鳊鱼 <i>Siniperca chuatsi</i>	68.63	XP_044041494.1	野猪 <i>Sus scrofa</i>	27.65	XP_020954082.1
河鲈 <i>Perca fluviatilis</i>	66.67	XP_039648391.1	牛 <i>Bos taurus</i>	29.16	NP_001029746.1
尖吻鲈 <i>Lates calcarifer</i>	62.54	XP_018526461.1			



节点处数字是 bootstrap 算法重复计算 1000 次计算出的支持率(100%); 比例尺表示遗传距离

The number at the node is the support rate (100%) calculated by the bootstrap algorithm repeated 1000 replicates, the scale bar represents the genetic distance

图 3 大黄鱼 *trim38* 与其他物种 *trim38* 的系统进化分析

Fig.3 Phylogenetic analysis of *trim38* in *L. rocea* and other species *trim38*

2.2 trim38 基因在不同组织的表达分析

以大黄鱼 β -actin 基因为内参，利用实时荧光定量 PCR 检测大黄鱼 *trim38* 基因在鳃、鳍、头肾、脑、脾、肝、肠和肾共八个组织/器官中的表达情况，结果如图 4 所示。大黄鱼 *trim38* 基因在肾脏中相对表达量最高，其次为肝脏和头肾，在其他组织中的相对表达量较低。

2.3 trim38 基因在经变形假单胞菌感染后不同时间的表达分析

利用实时荧光定量 PCR 检测大黄鱼 *trim38* 基因经变形假单胞菌感染 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 h 后的相对表达量，结果如图 5 所示。在变形假单胞菌攻毒后，*trim38* 在大黄鱼肝脏与脾脏中的相对表达量迅速提升。在肝脏 3 h 的相对表达量就达到高峰且达对照组的 5.7 倍，其后迅速下降，12 h 后又逐渐增高，72 h 时约增加到开始时的 3.0 倍，形成 1 个次高峰，其后又逐渐下降。在脾脏中，攻毒后 3 h 相对表达量迅速增加到开始时的 4.2 倍，其后略有下降，但一直维持在开始时的 2 倍乃至 3 倍以上，在 120 h 又大幅度增加到开始时的 6.8 倍，达到峰值。在肾脏中 3 h 的相对表达量显著降低，6 h 之后恢复至正常水平，其后在起始值的 0.5 ~ 1.3 倍之间波动，在 96 h 达到最大值，为起始时的 1.3 倍。

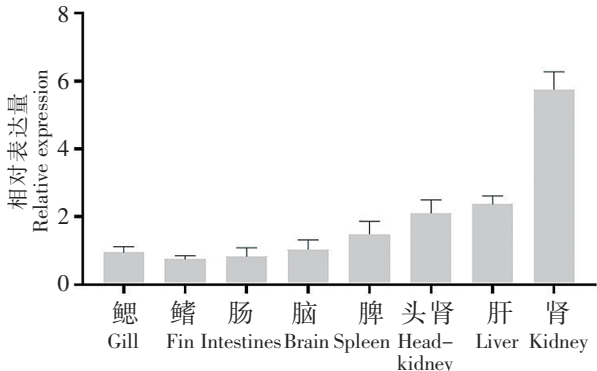


图 4 大黄鱼 *trim38* 基因在各组织中的相对表达
Fig.4 Relative expression of *trim38* gene of *L. crocea* in various tissues

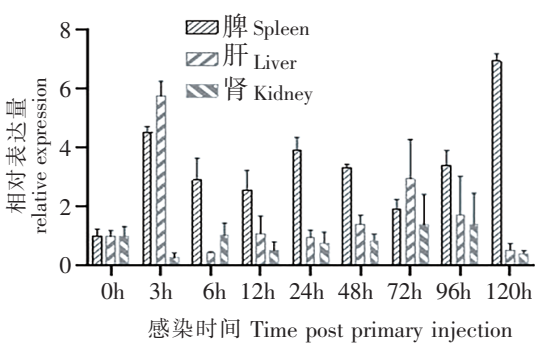


图 5 大黄鱼 *rim38* 基因在经变形假单胞菌感染后不同时间相对表达量
Fig.5 The relative expression of *trim38* gene in *L. crocea* at different times after infection by *P. plecoglossicida*

3 讨论

本研究首次克隆出大黄鱼 *trim38* 开放阅读框 (ORF) 全长，其 ORF 长度为 1623 bp，编码 540 个氨基酸，理论等电点为 6.99。生物信息学分析结果表明，*trim38* 具有 TRIM 家族的主要特征：RING 结构域、B-box 结构域和 PRYSPRY 结构域，从 N 端到 C 端依次排列。RING 结构域是介导蛋白泛素化^[21]，可以激活 RIG-I 信号通路；B-box 结构域能结合锌离子；PRYSPRY 结构域的功能是介导蛋白质之间相互作用^[22]。系统进化分析发现鱼类和哺乳类的 *trim38* 各自聚为一支。大黄鱼 *trim38* 基因与同属于石首鱼科的黄姑鱼和棘头梅童鱼 *trim38* 基因同源性较高，与哺乳动物 *trim38* 基因同源性相对较低。这可能是由于不同物种所处环境不同，面对不同的环境选择压力，导致不同的进化速度和进化方向^[23]。

荧光定量 PCR 结果显示，*trim38* 基因的 mRNA 广泛分布于所检测的大黄鱼 8 种组织或者器官中，在肾脏中相对表达量最高，其次为肝脏和头肾。说明大黄鱼 *trim38* 基因在免疫相关组织中高度表达。其同家族基因在大黄鱼中也有类似的作用，例如周真真等^[24]报道，大黄鱼 TRIM25 蛋白在肝脏和头肾相对表达量高。肾脏和肝脏是鱼类的重要免疫器官，上述结果提示 *trim38* 在大黄鱼免疫应答过程中发挥着重要作用。

研究发现，TRIM 蛋白家族具有很重要的抗菌抗病毒功能，在病毒感染的先天免疫反应中发挥重要作用^[25-26]。如 *trim38* 通过靶向 TRIF 降解负性调节 TLR3 介导的 IFN- β 信号^[27]。TRIM25 泛素化可通过正调控激活 IRF1 促使 IFN- β 的产生，且能显著激活 RIG-I 信号通路上的 RIG-I 和 MAVS 等基因的

上调。TRIM25 泛素化激活发挥了抗病毒作用^[28]。TRIM37 可能通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路从而抑制肿瘤的生产^[29]。TRIM22 在胶质母细胞瘤中可以通过激活 PI3K/AKT 信号通路和 EMT 过程来推动肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移^[30]。本研究大黄鱼感染变形假单胞菌后主要的病变组织器官是脾脏、肝脏和肾脏。在脾脏中,攻毒 3 h 后相对表达量迅速增加到开始时的 4.2 倍,其后略有下降,但一直维持在开始时的 2 倍乃至 3 倍以上,到高表达后仍持续表达,在 120 h 又大幅度增加到开始时的 6.8 倍,达到峰值。该基因在脾脏中表达显著,可能与脾脏作为大黄鱼应对变形假单胞菌感染的主要靶器官有关^[3,31]。在肝脏,攻毒 3 h 时相对表达量就达到高峰,达对照组的 5.7 倍,其后迅速下降,12 h 后又逐渐增高,72 h 时约增加到开始时的 3.0 倍,形成 1 个次高峰,然后又逐渐下降。在肾脏中,攻毒 3 h 时相对表达量降低,3 h 之后相对表达量上升,在 96 h 达到最大值,为起始时的 1.3 倍。初步推测大黄鱼 *trim38* 基因有可能参与了大黄鱼抗内脏白点病的免疫应答。

蛋白质泛素化与许多重要的生命过程有密切关系,现已知道其参与信号传导、细胞免疫、炎症反应和调控基因转录等等。研究发现, *trim38* 是一种天然免疫调节剂^[32]。作为负调控因子, *trim38* 蛋白介导赖氨酸 48 (K48) 连接的 TNF 受体相关因子 6、TRIF 和 NF- κ B 激活激酶相关蛋白 1 的泛素化,促进其蛋白酶体降解,从而抑制 TLR 和 RLR 通路。此外, *trim38* 促进溶酶体依赖的 TAK1 结合蛋白 2 (TAB2) 在 TNF 和 IL-1 β 触发的信号中降解,不依赖于它的 E3 泛素连接酶活性^[18]。

但是,关于 *trim38* 基因在大黄鱼应对变形假单胞菌感染的免疫应答过程中行使怎样的功能,以及具体的免疫抗病机制,还需进一步的研究阐明。本文为深入研究 *trim38* 基因在大黄鱼应对变形假单胞菌感染的抗病免疫机制提供了基础资料。

[参 考 文 献]

- [1] 董金和. 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.
- [2] 沈锦玉, 余旭平, 潘晓艺, 等. 网箱养殖大黄鱼假单胞菌病原的分离与鉴定 [J]. 海洋水产研究, 2008, 29(1): 1-6.
- [3] 胡娇, 张飞, 徐晓津, 等. 大黄鱼内脏白点病病原分离鉴定及致病性研究 [J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(2): 409-417.
- [4] 徐春霞. 网箱养殖大黄鱼内脏白点病病原菌分离鉴定及致病性研究 [J]. 水产科学, 2021, 40(5): 670-678.
- [5] 刘年锋, 郭睿, 江小斌, 等. 福州地区大黄鱼变形假单胞菌的分离与鉴定 [J]. 渔业研究, 2016, 38(1): 14-20.
- [6] 袁雪梅, 葛明峰, 安树伟, 等. 大黄鱼致病香鱼假单胞菌对环境因子的响应及其感染检测的分析 [J]. 应用海洋学学报, 2015, 34(4): 549-553.
- [7] 周涛, 张继挺, 王国良. 香鱼假单胞菌 SYBR Green I 荧光定量 PCR 检测方法的建立 [J]. 中国预防兽医学报, 2015, 37(1): 35-39.
- [8] 崔晓莹, 李泽宇, 李完波, 等. 一种定量检测大黄鱼感染变形假单胞菌方法的建立与应用 [J]. 集美大学学报 (自然科学版), 2019, 24(5): 328-334.
- [9] 许斌福, 王凡, 陈永聪, 等. 宁德地区大黄鱼内脏结节病的流行病学调查 [J]. 福建畜牧兽医, 2017, 39(1): 5-6.
- [10] ZHANG J T, ZHOU S M, AN S W, et al. Visceral granulomas in farmed large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Richardson), caused by a bacterial pathogen, *Pseudomonas plecoglossicida* [J]. J Fish Dis, 2014, 37(2): 113-121.
- [11] 张杰, 毛芝娟. 大黄鱼内脏白点病病原杀香鱼假单胞菌及其毒力因子研究进展 [J]. 浙江万里学院学报, 2015, 28(6): 69-81.
- [12] MAO Z, LI M, CHEN J. Draft genome sequence of *Pseudomonas plecoglossicida* strain NB2011, the causative agent of white nodules in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Genome Announc, 2013, 1(4): e00586-13.
- [13] 张新尚. 鱼类 TRIM 基因系统进化分析及免疫功能研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [14] 刘新蕾. TRIM38 调节天然免疫的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2010.
- [15] MATSUDA A, SUZUKI Y, HONGDA G, et al. Large-scale identification and characterization of human genes that activate NF-kappaB and MAPK signaling pathways [J]. Oncogene, 2003, 22(21): 3307-3318.

- [16] OSHIUMI H, MATSUMOTO M, HATAKEYAMA S, et al. Riplet/RNF135, a RING finger protein, ubiquitinates RIG-I to promote interferon-beta induction during the early phase of viral infection [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(2): 807-817.
- [17] ZHAO WEI, WANG LIJUAN, ZHANG MENG, et al. Tripartite motif-containing protein 38 negatively regulates TLR3/4- and RIG-I-mediated IFN- β production and antiviral response by targeting NAP1 [J]. *Journal of Immunology*, 2012, 188 (11): 5311-5318.
- [18] JIA X Z, ZHAO C, ZHAO W. Emerging roles of MHC class I region-encoded E3 ubiquitin ligases in innate immunity [J]. *Front Immunol*, 2021, 10(7): 102-110.
- [19] HU M M, YANG Q, ZHANG J, et al. TRIM38 inhibits TNF α - and IL-1 β -triggered NF- κ B activation by mediating lysosome-dependent degradation of TAB2/3 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(4): 1509-1514.
- [20] 陈健. 大黄鱼 *Nrdp1*、*March4* 和 *Rnf115* 基因的分子特征与免疫功能的初步研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2015.
- [21] LORICK K L, JENSEN J P, FANG S, et al. RING fingers mediate ubiquitin-conjugating enzyme (E2) -dependent ubiquitination [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(20): 11364-11369.
- [22] NISOLE S, STOYE J P, SAIB A. TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3 (10): 799-808.
- [23] SARDIELLO M, CAIRO S, FONTANELLA B, et al. Genomic analysis of the TRIM family reveals two groups of genes with distinct evolutionary properties [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2008, 8: 225.
- [24] 周真真, 景斐, 魏可, 等. 大黄鱼 TRIM25 基因克隆和表达分析 [J]. *水生生物学报*, 2019, 43(6): 1189-1196.
- [25] DIAZ-GRIFFERO F, KAR A, LEE M, et al. Comparative requirements for the restriction of retrovirus infection by TRIM5 alpha and TRIMCyp [J]. *Virology*, 2007, 369(2): 400-410.
- [26] ZHA J K, HAN K J, XU L G, et al. The ret finger protein inhibits signaling mediated by the noncanonical and canonical IkappaB kinase family members [J]. *J Immunol*, 2006, 176(2): 1072-1080.
- [27] XUE Q H, ZHOU Z, LEI X B, et al. TRIM38 negatively regulates TLR3-mediated IFN- β signaling by targeting TRIF for degradation [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e46825. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0046825.
- [28] 顾天天. 鸭 TRIM25 泛素化介导 RLR 信号通路调控 IFN- β 的产生 [D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- [29] 刘雅雯. TRIM37 通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路促进宫颈癌细胞增殖和侵袭 [D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
- [30] 冯爽, 陈正新, 仇文进, 等. TRIM22 通过 PI3K/AKT 信号通路调控胶质母细胞瘤增殖、侵袭和迁移的研究 [J]. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2018, 38(6): 728-733.
- [31] GE X, WANG F, ZHAO L M, et al. Integration of RNA-seq and RNAi provides a novel insight into the effect of *pvdE* gene to the pathogenic of *Pseudomonas plecoglossicida* and on the immune responses of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. *Aquaculture*, 2020, 529: 735695.
- [32] HU M M, SHU H B. Multifaceted roles of TRIM38 in innate immune and inflammatory responses [J]. *Cell Mol Immunol*, 2017(14): 331-8.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)