

日本鳗鲡 *mavs* 基因的克隆及表达模式分析

游俊伟¹, 焦致远¹, 黄文树^{1,2,3}, 黄 贝^{1,2,3}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 福建 厦门 361021;
3. 福建省水产生物育种与健康养殖工程研究中心, 福建 厦门 361021)

[摘要] 利用 PCR 技术克隆获得了日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 线粒体抗病毒信号蛋白 (mitochondrial antiviral signaling, mavs) 基因 (*Ajmavs*), 其开放阅读框有 1368 bp, 编码 456 个氨基酸。序列结构分析结果显示, *Ajmavs* 含有 3 个保守结构域, 分别为氨基端半胱天冬酶募集结构域、富含脯氨酸的结构域, 以及羧基端跨膜结构域。系统发育树结果显示, *Ajmavs* 与鱼类的 mavs 聚为一支, 哺乳类、两栖类、鸟类及爬行类聚为一支。实时定量 PCR (qPCR) 结果显示, *Ajmavs* 在日本鳗鲡各组织中均有表达, 其中脑组织中的表达量最高, 心脏其次, 而性腺最低。用 Poly I:C (病毒 RNA 类似物) 刺激 12 h 后, 头肾、脾脏、肠组织中 *Ajmavs* 的表达水平显著增加, 是对照组的 21.31、30.33 和 15.96 倍, 暗示 *Ajmavs* 参与了日本鳗鲡的抗病毒免疫反应过程。

[关键词] 日本鳗鲡; *mavs* 基因; 序列分析; 表达水平

[中图分类号] S 917.4

Cloning and Expression Analysis of *mavs* Gene in Japanese Eel (*Anguilla japonica*)

YOU Junwei¹, JIAO Zhiyuan¹, HUANG Wenshu^{1,2,3}, HUANG Bei^{1,2,3}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Engineering Research Center of the Modern Industry Technology for Eel, Ministry of Education, Xiamen 361021, China;

3. Engineering Research Center of Aquaculture Breeding and Healthy of Fujian, Xiamen 361021, China)

Abstract: In this study, the mitochondrial antiviral signaling protein (mavs) encoding gene was cloned from the Japanese eel, *Anguilla japonica* (*Ajmavs*), using polymerase chain reaction. The transcript of *Ajmavs* contains an open reading frame (ORF) of 1 368 bp, encoding 456 amino acids. Sequence structure analysis revealed the presence of three conserved structural domains within *Ajmavs*: the N-terminal caspase activation and recruitment domains (CARD), the proline-rich region (PRR), and the C-terminal transmembrane domain (TM). Phylogenetic analysis results showed that *Ajmavs* clustered with fish mavs, while mavs from mammals, amphibians, birds and reptiles clustered together. Gene expression results revealed that *Ajmavs* was expressed in all tissues examined, showing the highest levels in brain tissue, followed by the heart, and the lowest levels in the gonads. After 12 hours following stimulation of the viral RNA analogue Poly I:C, there was a significant increase in *Ajmavs* expression in the head kidney, spleen, and intestine, being 21.31, 30.33 and 15.96 folds

[收稿日期] 2024-05-29

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (32073011); 福建省自然科学基金项目 (2021J02047)

[通信作者] 黄贝 (1982—), 博士, 教授, 博导, 主要从事水产动物免疫学、水产动物疾病防控研究。E-mail: huangbei@jmu.edu.cn

compared to the control group. Taken together, this results suggest an important role of *Ajmavs* in eel's antiviral immune response.

Keywords: Japanese eel(*Anguilla japonica*); *Ajmavs* gene; sequence analysis; expression level

0 引言

线粒体抗病毒信号蛋白 (mitochondrial antiviral signaling, Mavs) 是抗 RNA 病毒免疫应答的关键接头蛋白。当宿主细胞受到病毒感染时, 病毒 RNA 会被宿主细胞内的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别, 如视黄酸诱导基因蛋白 I (retinoic acid inducible protein 1, Rig-I) 和黑色素瘤分化相关蛋白 5 (melanoma differentiation associated protein 5, Mda5), 进而激活 Mavs^[1-3]。Mavs 通过招募下游信号转导蛋白来诱导干扰素的产生, 从而触发宿主抗病毒免疫反应, 抑制病毒复制^[4-5]。Mavs 由三个保守的结构域组成^[6], 分别为氨基端半胱天冬酶募集结构域 (caspase activation and recruitment domains, CARD)、富含脯氨酸的结构域 (proline-rich region, PRR), 以及羧基端跨膜结构域 (transmembrane domain, TM)。这些结构域在调节干扰素产生和抗病毒免疫反应中发挥着重要作用。其中: 跨膜结构域 TM 与 Mavs 的线粒体定位和抗病毒活性密切相关, 该结构域缺失会破坏 Mavs 在线粒体上的定位和抗病毒能力^[7-8]; 富含脯氨酸的结构域 PRR 负责下游信号转导; 半胱天冬酶募集结构域 CARD 是 Mavs 与 Rig-I 结合的关键结构域, 该结构域缺失则会影响 Mavs 对 Rig-I 的招募与激活, 从而破坏 Mavs 自身的多聚化并影响下游 Ifns 的表达^[8-9]。已有研究表明, 在应对病毒感染时, Mavs 寡聚化后招募肿瘤坏死因子受体相关因子 (tumor necrosis factor receptor-associated factor, Traf) 以激活抗病毒信号转导。Mavs 有三个潜在的 Traf 相互作用基序 (TRAF-interacting motifs, TIMs), 分别为 Traf2/3 结合基序 (T2/3BM,¹⁴³ PVQDT¹⁴⁷) 及 Traf6 结合基序 1 和 2 (T6BM1,¹⁵³ PGENSE¹⁵⁸; T6BM2,⁴⁵⁵ PEENEY⁴⁶⁰)。其中 T2/3BM 和 T6BM1 位于 Mavs 的脯氨酸富区, 而 T6BM2 靠近跨膜结构域^[10]。

目前基因 *mavs* 已在多种硬骨鱼类中被克隆与鉴定, 包括大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[11]、青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*)^[12]、斑马鱼 (*Danio rerio*)^[13]、鲫 (*Carassius auratus*)^[14]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[15]、褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*)^[16] 等, 其中一些鱼类的 *mavs* 被证实与哺乳动物的在抗病毒信号通路中所发挥的功能类似^[14,17]。最近通过对小鼠和斑马鱼的研究发现, *mavs* 蛋白存在琥珀酰化修饰和乙酰化修饰, 且这两种修饰发生在 *mavs* 蛋白的同一个位点 (7-赖氨酸)^[18]。去乙酰化酶 3 (SIRT3) 通过去除 *mavs* 蛋白的乙酰化修饰来激活 *mavs*, 起到“油门”的作用; 而乙酰化酶 5 (STIR5) 则通过去除 *mavs* 蛋白的琥珀酰化修饰来抑制其活性, 起到“刹车”的作用。这两种去酰基化修饰相互协调、相互制约, 共同调节 *mavs* 的活性和抗病毒免疫应答。

日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 是我国重要水产养殖品种。福建省是鳗鲡的主产区, 占全国鳗鲡产量的近 50%^[19]。福建省现已形成了集饲料生产、鳗鱼养殖、鳗鱼加工、出口外贸为一体年近百亿的大规模产业链^[20-21]。近些年来日本鳗鲡病害发生概率的增高, 其中病毒性疾病的危害呈上升趋势, 制约了日本鳗鲡养殖产业的发展^[22]。目前, 针对鳗鲡的抗感染性疾病研究主要集中在细菌性和寄生虫性疾病, 而有关鳗鲡病毒性疾病领域的研究鲜有报道。陈燕桑等^[23]首次报道了从患开口病鳗鲡中分离获得正粘病毒。葛均青等^[24]利用蔗糖密度梯度离心方法, 从患“脱黏症”欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 内脏器官中分离纯化疱疹病毒粒子。对于水产动物病毒性疾病, 迄今尚无明确有效的抗病毒药物, 目前以免疫预防为主, 因此深入解析鳗鲡免疫应答机制对于制定有效防治策略非常重要。

本研究拟克隆日本鳗鲡 *mavs* 基因, 并对其基因结构、系统发育关系, 及其在各组织中的表达模式进行分析, 为揭示 *Ajmavs* 在抗病毒免疫应答中的作用机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

日本鳎鲷（(180 ± 20) g）购自福建省福清市一家养殖场。实验前两周暂养于温度为（26 ± 1）℃ 的循环水养殖箱中。实验组：腹腔注射 Poly I: C（1 mg/100 g）；对照组：腹腔注射磷酸盐缓冲液（phosphate buffer solution, PBS）。每组 6 尾鱼，注射后 6、12、24、48 h 采集样品。利用丁香酚（终体积分数：0.05%）进行麻醉，解剖收集脑、心脏、肝脏、脾脏、肾、皮肤、肌肉、肠等组织后置于 1.5 mL 离心管中，并加入 TRIzol 试剂，放入液氮罐中迅速冷冻后于 -80 ℃ 保存备用。实验过程中严格遵守动物实验伦理规范，并按照集美大学动物伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 实验试剂

总 RNA 提取试剂购于广州美基生物科技有限公司（Magen）；琼脂粉购于兰博利德商贸有限公司；反转录试剂和胶回收试剂盒购于南京诺唯赞生物科技有限公司（Vazyme）；荧光定量 PCR 定量预混液和反转录试剂购于爱博泰克生物科技有限公司；Ex Taq 酶、pMD19-T 载体和 T4 连接酶购于 Takara 公司。引物合成和菌液测序均于生工生物工程（上海）股份有限公司进行。

1.3 实验方法

1.3.1 总 RNA 提取及反转录

采用 Trizol 方法提取日本鳎鲷各组织中的总 RNA。利用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性，并利用 NanoDrop 2000 型分光光度计检测 RNA 的质量和浓度。以 1 μg 的总 RNA 反转录成 cDNA 样品，并于 -80 ℃ 冰箱保存。

1.3.2 引物设计与基因克隆

将斑马鱼 *mavs* 基因（NP_001314802.1）作为种子序列与日本鳎鲷数据库（GCA_000470695.1）进行比对。根据比对结果设计 *Ajmavs*（MZ501818.1）开放阅读框的引物（见表 1）。利用日本鳎鲷脾脏组织的 cDNA 作为模板，通过 PCR 扩增的方法进行实验，PCR 反应体系和反应程序参照 Ex Taq 酶使用说明书。PCR 产物使用 1% 琼脂糖进行核酸电泳，电泳条件为：电压 100 V，时间 20 min。电泳完毕后切取对应大小条带胶块，使用胶回收试剂盒回收核酸电泳产物，并将回收产物与 pMD19-T 载体相连。连接体系如下：4 μL PCR 产物，5 μL Buffer，1 μL pMD19-T 载体。16 ℃ 连接 1 h。将连接产物经热激活转化至感受态（*Escherichia coli* DH5α）中，挑取单克隆，经 PCR 检验的阳性克隆送至生工生物工程（上海）股份有限公司测序。

表 1 本研究所用引物
Tab.1 Primers used in the present study

引物名称	序列(5'-3')	用途
<i>Ajmavs</i> -F	GTATGGGCCACTGAACTGAAGCACTGAACT	基因克隆
<i>Ajmavs</i> -R	GAGCAAATGTGTAATCATACGGCCT	
<i>Ajβ-actin</i> -qF	TCACCACCACAGCCGAAAGG	荧光定量 qPCR
<i>Ajβ-actin</i> -qR	CGCAGGATTCCATTCCCAGGA	
<i>Ajmavs</i> -qF	AGCCCCAGAGCTCCTGTG	
<i>Ajmavs</i> -qR	CTCGTTATTGACAGGGGCTCG	

1.3.3 qPCR 检测

根据 2 × Universal SYBR Green Fast qPCR Mix Reagent Kit 说明书，在 Light-Cycler 480 real-time PCR 系统（Roche，瑞士）进行 qPCR 分析。所用引物见表 1。使用两步法进行扩增：94 ℃ 预变性 5 min；

94 ℃ 变性 5 min, 60 ℃退火 20 s, 72 ℃延伸 30 s, 运行 40 个循环。所有样品均重复 3 次, 并通过仪器配套软件自动生成循环域值 (cycling threshold value) C_p 。选用日本鳗鲡 *Ajβ-actin* 为内参基因^[25], 用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法计算目的基因的相对表达水平^[26], 并利用 GraphPad Prism 绘图。

1.3.4 序列分析

使用 NCBI 网站的 Conserved Domains(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 进行蛋白结构域预测; 利用在线网站 TMHMM 工具 (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>) 预测跨膜结构域。其他物种 Mavs 氨基酸序列从 NCBI 数据库中搜寻得到 (见表 2)。通过 CLUSTALW 网站 (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) 进行多重序列比对; 用 MEGA11.0 的邻接法 (neighbor joining, NJ) 构建系统进化树。

2 实验结果与分析

2.1 *Ajmavs* 的基因序列分析

Ajmavs 的开放阅读框全长有 1368 个碱基, 编码 456 个氨基酸, cDNA 全长为 2604 bp, 包含 100 bp 的 5'-非编码区 (untranslated region, UTR) 和 1133 bp 的 3'-UTR。结构域分析显示, 日本鳗鲡 *mavs* 蛋白包括了三个主要的结构域: N 端的 CARD 结构域、中间 PRR 结构域、C 端的 TM 结构域。跨膜结构域预测结果表明, *AjMavs* 存在跨膜结构域, 在 436 到 451 氨基酸区域为跨膜区, 这表明 *AjMavs* 为跨膜蛋白 (见图 1~3)。

2.2 *AjMavs* 的序列多重比对

将 *AjMavs* 与斑马鱼、大西洋鲑、斑点雀鲷、草鱼、小鼠和人的 Mavs 氨基酸序列进行相似性分析, 结果显示与 *AjMavs* 氨基酸相似度最高的为草鱼 Mavs (39.62%), 其他物种 Mavs 按相似度由大到小依次为斑点雀鲷 (38.04%)、大西洋鲑 (34.83%)、斑马鱼 (34.29%)、鼠 (26.70%)、人 (26.63%)。多重比对结果显示, *AjMavs* 的 T2/3BM (²²⁴PVQEC²²⁸)、T6BM1 (²³⁹PVENSD²⁴⁴) 和 T6BM2 (³⁶⁴PEEDHY³⁶⁹) 都较为保守 (见图 4)。

表 2 本文所用 Mavs 的序列信息
Tab.2 Sequence information of Mavs used in this study

物种	学名	登录号
人	<i>Homo sapiens</i>	NP_065797.2
小鼠	<i>Mus musculus</i>	NP_001193314.1
原鸡	<i>Gallus gallus</i>	XP_046796232.1
合趾猿	<i>Symphalangus syndactylus</i>	XP_063489580.1
水牛	<i>Bubalus bubalis</i>	XP_006072990.1
双峰驼	<i>Camelus bactrianus</i>	XP_010971046.1
褐家鼠	<i>Rattus norvegicus</i>	NP_001005556.1
撒丁雨蛙	<i>Hyla sarda</i>	XP_056409490.1
鸿雁	<i>Anser cygnoides</i>	XP_047915674.1
家朱雀	<i>Haemorhous mexicanus</i>	XP_059701427.1
非洲爪蟾	<i>Xenopus tropicalis</i>	XP_031751105.1
陆龟	<i>Goodes thornscrub</i>	XP_030419380.1
湾鳄	<i>Crocodylus porosus</i>	XP_019408900.1
壁蜥	<i>Podarcis raffonei</i>	XP_053258048.1
蜥蜴	<i>Zootoca vivipara</i>	XP_034958990.1
草鱼	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	XP_051772344.1
墨西哥脂鲤	<i>Astyanax mexicanus</i>	XP_007236481
斑马鱼	<i>Danio rerio</i>	NP_001314802.1
斑点雀鲷	<i>Lepisosteus oculatus</i>	XP_015199284.1
大西洋鲑	<i>Salmo salar</i>	CAX48606.1
鲤鱼	<i>Cyprinus carpio</i>	XP_018927761.1
虹鳟	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NP_001182110.1
日本鳗鲡	<i>Anguilla japonica</i>	UYB76977.1



图 1 *AjMavs* 蛋白结构示意图
Fig.1 Schematic diagram of *AjMavs* protein

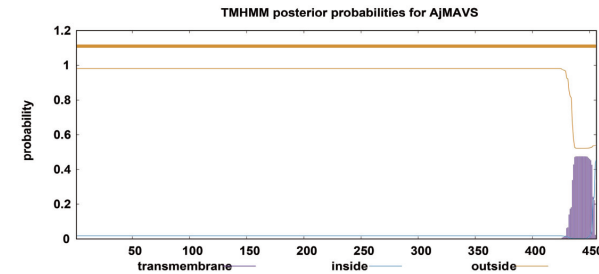
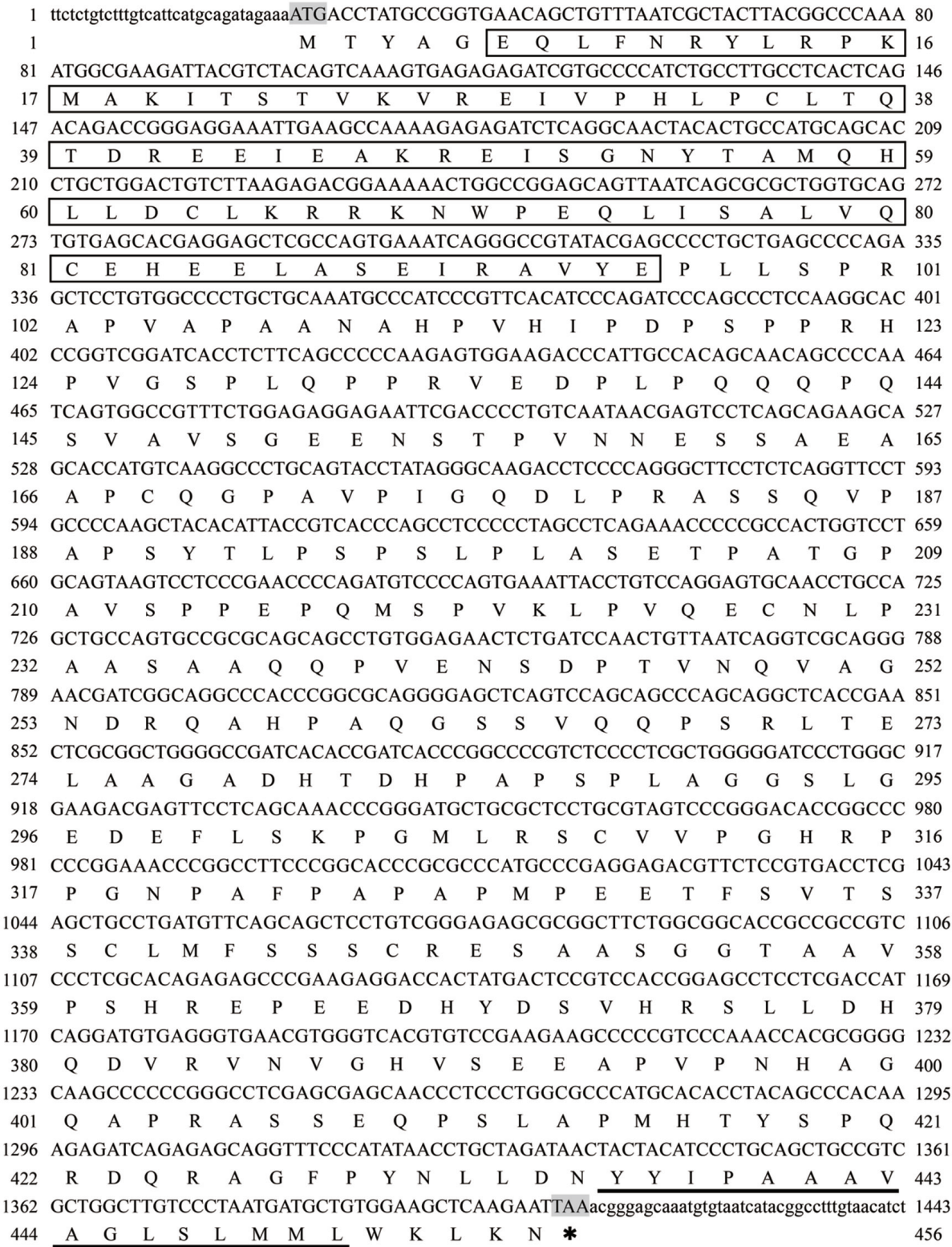


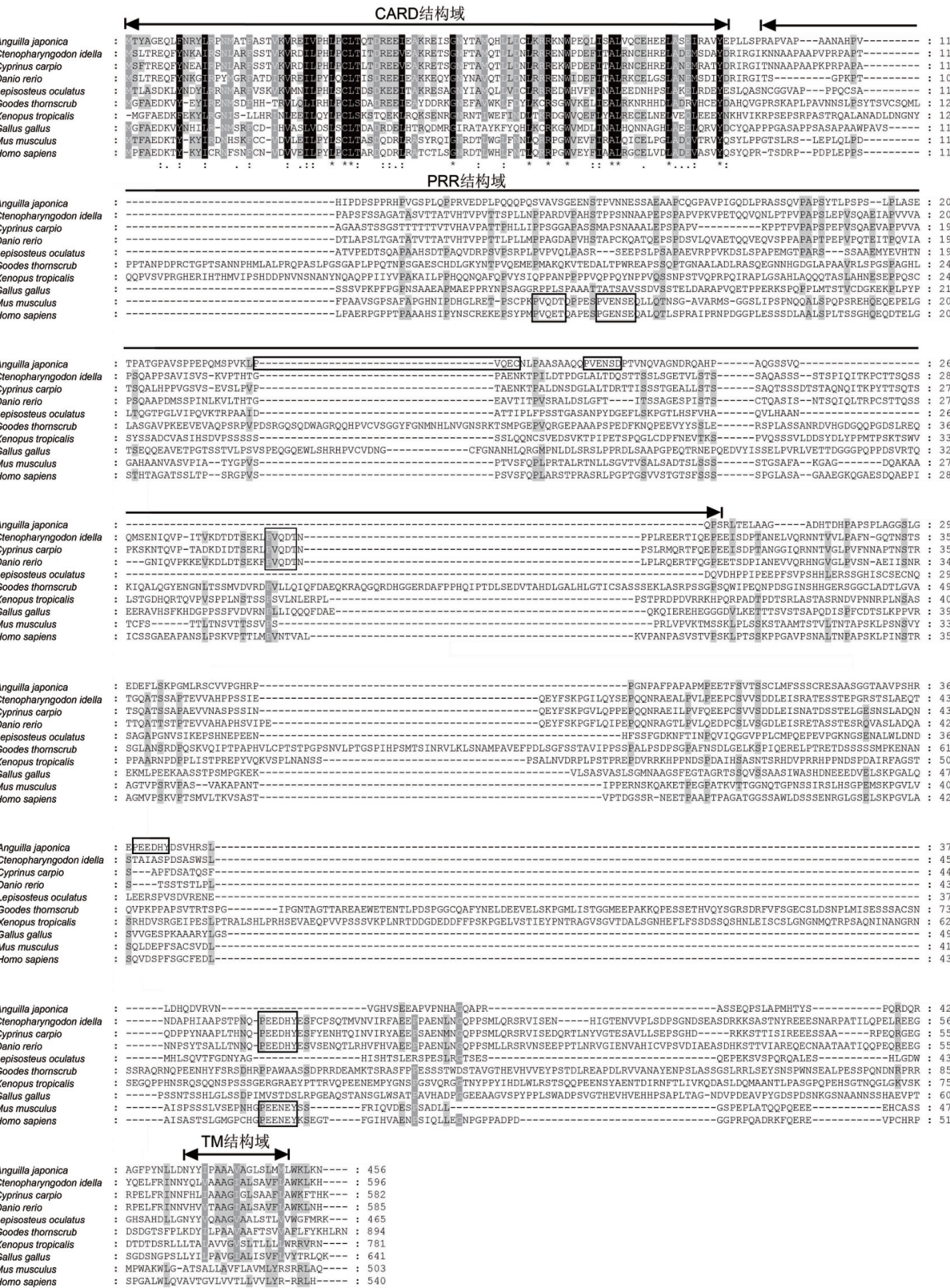
图 2 TMHMM 预测 *AjMavs* 跨膜结构域
Fig.2 TMHMM prediction of *AjMavs* transmembrane domain



两侧的数字分别为核苷酸(上)和氨基酸(下)的编号;大写字母代表编码区序列,小写字母代表非编码区序列;阴影部分表示起始密码子(ATG)和终止密码子(TAA);CARD 结构域用方框标记,跨膜结构域用下划线表示。

图 3 *Ajmavs* 基因序列及推测的氨基酸序列

Fig.3 cDNA and deduced amino acid sequences of *Ajmavs* in *A. japonica*

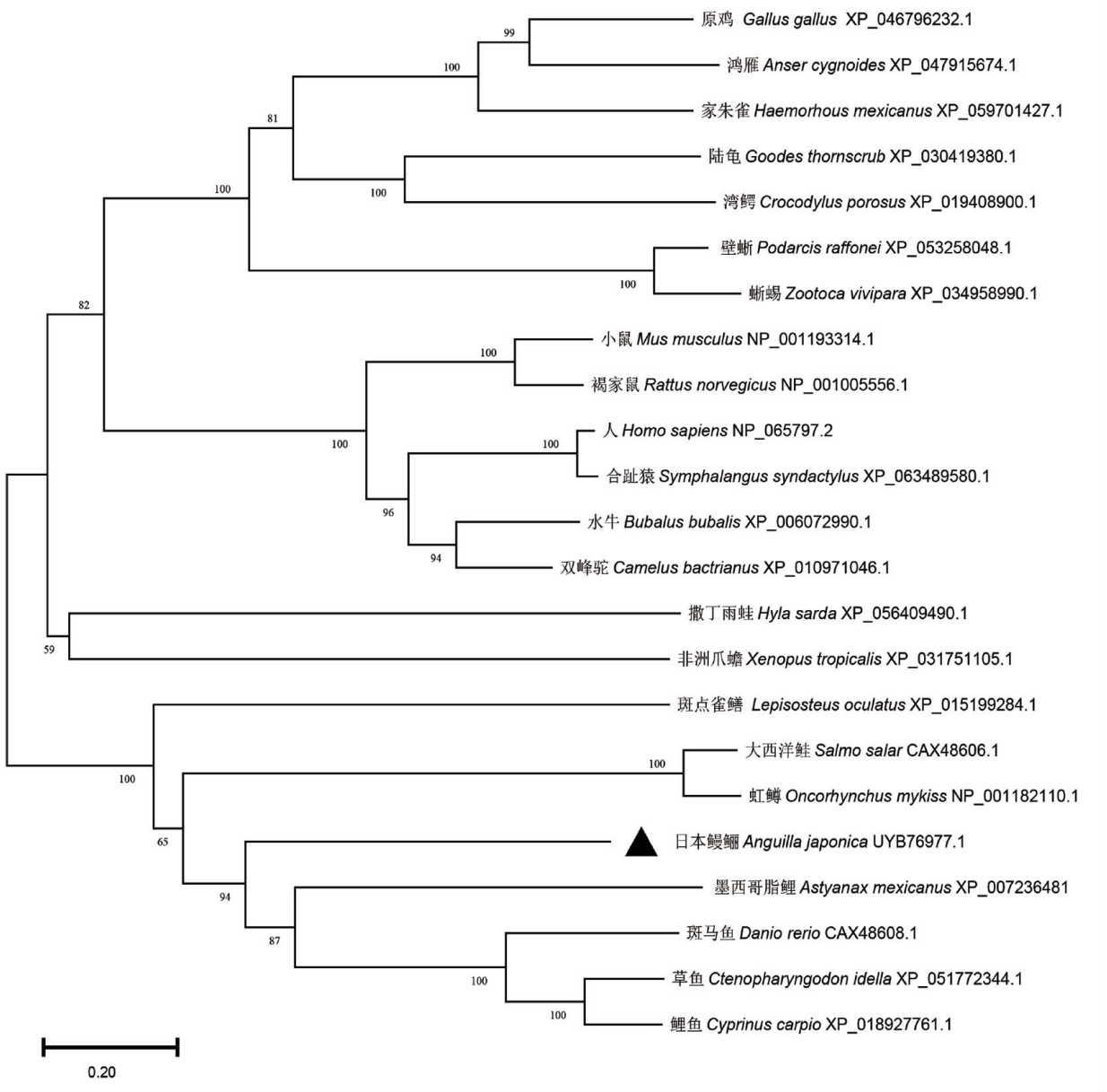


箭头和直线表示结构域范围;“*”表示与 *AjMavs* 相同的氨基酸序列;方框表示 TIM 基序。

图4 *AjMavs* 的多重序列比对
Fig.4 Multiple sequence alignment for *AjMavs*

2.3 *AjMavs* 系统发育分析

建树所用序列信息详见表 2。系统发育树分析结果显示：两栖动物、爬行动物、鸟类、哺乳类的 *Mavs* 聚为一支；鱼类 *Mavs* 聚为一支。其中日本鳗鲡主要与斑马鱼、草鱼、鲤和墨西哥脂鲤 *Mavs* 聚为一支，节点置信值为 94（见图 5）。



节点上的数字代表置信度; *AjMavs* 用 ▲ 标出。

图 5 *Mavs* 系统进化树
Fig.5 Phylogenetic tree of *Mavs*

2.4 *Ajmvms* 表达模式分析

使用 qPCR 技术分析了 *Ajmvms* 在日本鳗鲡不同组织器官中表达的情况。结果显示，*Ajmvms* 在所有检测的组织中均有表达。其中脑组织中的表达量最高，为性腺中的 135.30 倍；其他组织中的表达量由高到低依次为心脏、皮肤、肠、脾脏、鳃、肝脏、头肾、肌肉和鳃（见图 6）。这表明 *Ajmvms* 在日本鳗鲡各组织器官中存在着不同的表达水平，这种差异可能与其在不同组织中的功能和作用密切相关。

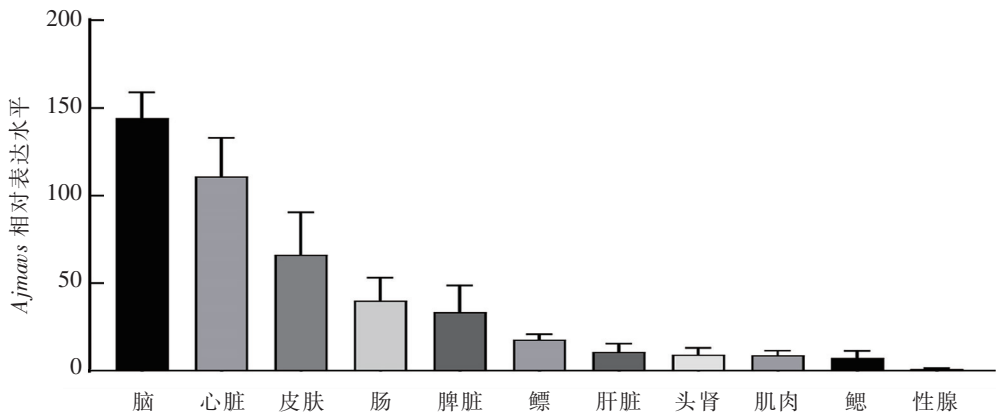
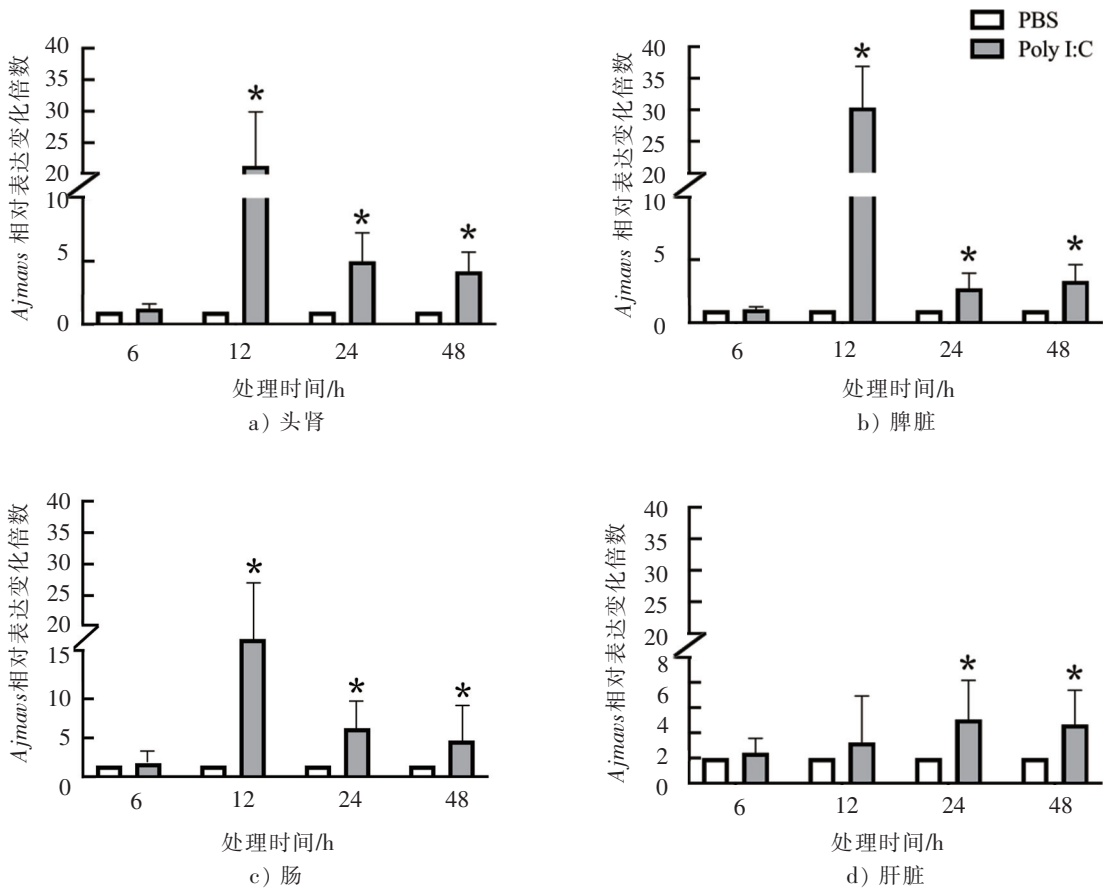
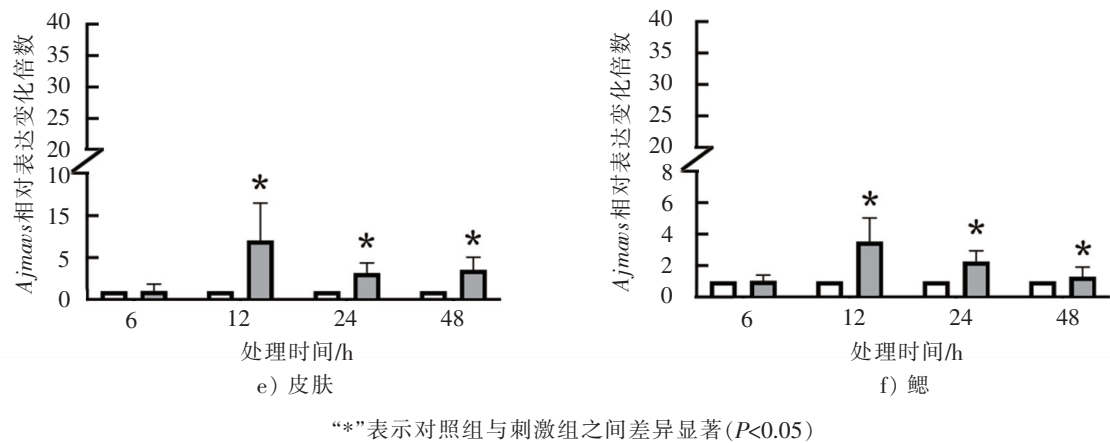


图6 *Ajmavs* 基因在日本鳗鲡不同组织中的相对表达量

Fig.6 Relative expression of *Ajmavs* in different tissues of Japanese eel

Poly I: C 是病毒双链 RNA 的类似物, 可作为病毒感染相关的分子模式, 用于激活宿主抗 RNA 病毒感染的信号转导。为探究 *Ajmavs* 在抗病毒免疫反应中的潜在作用, 本研究分析了在 Poly I: C 刺激后, 日本鳗鲡头肾、脾脏、鳃、肝脏、皮肤、肠组织中 *Ajmavs* 的 mRNA 水平。实验结果显示, 在所检测组织中, Poly I: C 刺激可显著增强日本鳗鲡在头肾、脾脏和肠组织中 *Ajmavs* 的表达水平 (见图 7), 表明 Poly I: C 对这些组织中 *Ajmavs* 的表达有较显著的影响。在头肾中, *Ajmavs* 的 mRNA 水平在刺激 6、12、24 和 48 h 后分别为对照组的 1.23、21.31、4.98、4.19 倍。在脾脏中分别为对照组的 1.05、30.33、2.72、3.30 倍; 在肠组织中分别为对照组的 1.54、15.96、5.61、4.17 倍 (见图 7)。





“*”表示对照组与刺激组之间差异显著($P<0.05$)

图 7 Poly I:C 刺激后 *Ajmavs* 的表达情况

Fig.7 Expression analysis of *Ajmavs* after Poly I:C stimulation

3 讨论

3.1 *Ajmavs* 基因结构特征分析

本研究对日本鳗鲡的 *mavs* 基因进行了克隆，并且对其基因结构特征和表达模式进行了分析。虽然 *AjMavs* 与哺乳动物和鱼类 *Mavs* 的氨基酸相似度较低，最高仅为 39.62%；但其与哺乳动物、鱼类 *Mavs* 的结构域组成相同，都具备 N 端的 CARD 结构域、PRR 结构域、C 端的 TM 结构域。并且在三个结构域中，CARD 结构域最为保守的，存在多个保守位点和基序，如“LPCLT”基序和 Val26、Leu33、Gly52、Leu64、Arg67、Trp70、Leu86 和 Tyr94 位点在比对的物种中均存在较高的保守性。而“DREE”基序仅在鱼类和爬行类中存在保守性，在哺乳动物和非洲爪蟾中并不存在该特征。并且哺乳动物中保守的翻译后修饰位点 Lys7 和 Trp56，在鱼类中均被谷氨酰胺代替。推测 *Mavs* 在鱼类和哺乳类动物中存在不一样的翻译后修饰的位点。

在哺乳动物中，CARD 结构域不仅是 Rig- I 进行信号转导的关键结构域，也是 *Mavs* 聚集和激活的关键结构域^[9]。*AjMavs* 序列中相应位点保守，提示 *AjMavs* 可能通过相似的机制发挥信号转导功能和控制自身活性。研究表明，鱼类和哺乳动物 *Mavs* 依靠 C 端的 TM 结构域定位在线粒体的膜上^[7,13]；斑马鱼的 *Mavs_tv1*（含 TM 结构域）和 *Mavs_tv2*（不含 TM 结构域）的定位结果显示，在斑马鱼胚胎成纤维细胞（ZF4）中前者定位于线粒体上而后者定位于细胞质中^[27]。并且线粒体定位对于 *Mavs* 发挥免疫功能是必不可少的，缺失 TM 结构域的 *Mavs* 对 RLR 下游信号没有激活作用^[28]。本研究发现 *AjMavs* 具有 TM 结构域，推测其与哺乳动物 *Mavs* 和斑马鱼 *Mavs_tv1* 类似，为线粒体定位蛋白。

3.2 *Ajmavs* 基因表达模式分析

Ajmavs 基因在日本鳗鲡各组织中均有表达，这与人和石斑鱼 *mavs* 的表达模式类似^[29-30]。然而，在尖吻鲈（*Lates calcarifer*）的研究中发现，*mavs* 基因在脾脏和肾脏中有较高的表达^[31]；而 *Ajmavs* 基因在脑、皮肤和心脏中的表达量较高；表明 *mavs* 基因在硬骨鱼中的表达存在种属特异性，或是 *Mavs* 除作为 Rig- I 信号通路接头蛋白外，可能还具有其他生理功能，需要更进一步的探究。

Poly I: C 刺激后，*Ajmavs* 在免疫相关器官中的表达量均有上调，且在头肾、脾脏、肠中上调水平较为显著。在其他研究^[5,13-14,32]中发现，鱼类受病毒感染时也会导致 *mavs* 基因的表达量增加。此外，有研究^[33]报道了病毒针对 *Mavs* 进行免疫逃逸的机制，SVCV-N 通过靶向 *Mavs* 进行 K48 连接的泛素化从而促进 *Mavs* 蛋白的降解，阻断了 *Mavs* 激活 IFN α 1，达到免疫逃逸的目的，表明 *Mavs* 在宿主的抗病毒免疫应答中扮演着至关重要的角色。然而，对于 *Ajmavs* 在日本鳗鲡免疫应答中的具体作用机制，目前仍存在较多的不明确之处，亟待进一步深入研究和探讨。

4 结论

本研究克隆获得了日本鳗鲡的 *mavs* 基因。利用系统进化树分析发现, *Ajmavs* 基因与其他脊椎动物 *Mavs* 氨基酸相似度较低,但都具备相似的结构域和保守的基序列。进一步的实验显示, *Ajmavs* 在不同组织中均有表达,经 Poly I:C 刺激后头肾、脾脏、肠等免疫器官中 *Ajmavs* 的 mRNA 水平显著上调,推测 *Ajmavs* 参与了日本鳗鲡抗病毒免疫应答。

[参考文献]

- [1] TAKEUCHI O, AKIRA S. Pattern recognition receptors and inflammation [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 805-820. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.022.
- [2] BRISSE M, LY H. Comparative structure and function analysis of the RIG- I-like receptors: RIG- I and MDA5 [J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1586. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01586.
- [3] MOGENSEN T H. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2009, 22(2): 240-273. DOI: 10.1128/CMR.00046-08.
- [4] ZHANG L, CHEN W Q, HU Y W, et al. TBK1-like transcript negatively regulates the production of IFN and IFN-stimulated genes through RLRs-MAVS-TBK1 pathway [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 135-143. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.04.002.
- [5] LU L F, LI S, LU X B, et al. Functions of the two zebrafish MAVS variants are opposite in the induction of IFN1 by targeting IRF7 [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 45(2): 574-582. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.05.019.
- [6] KUMAR H, KAWAI T, KATO H, et al. Essential role of IPS-1 in innate immune responses against RNA viruses [J]. *The Journal of experimental medicine*, 2006, 203(7): 1795-1803. DOI: 10.1084/jem.20060792.
- [7] SETH R B, SUN L J, EA C K, et al. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF3 [J]. *Cell*, 2005, 122(5): 669-682. DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.012.
- [8] XIAO J, YAN C Z, ZHOU W, et al. CARD and TM of MAVS of black carp play the key role in its self-association and antiviral ability [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 63: 261-269. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.02.023.
- [9] THORESEN D, WANG W S, GALLS D, et al. The molecular mechanism of RIG- I activation and signaling [J]. *Immunological Reviews*, 2021, 304(1): 154-168. DOI: 10.1111/imr.13022.
- [10] SHI Z B, ZHANG Z, ZHANG Z Z, et al. Structural Insights into mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS)-tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6) signaling [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(44): 26811-26820. DOI: 10.1074/jbc.M115.666578.
- [11] LAUKSUND S, SVINGERUD T, BERGAN V, et al. Atlantic salmon IPS-1 mediates induction of IFN α 1 and activation of NF-kappaB and localizes to mitochondria [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2009, 33(11): 1196-1204. DOI: 10.1016/j.dci.2009.06.012.
- [12] ZHOU W, ZHOU J, LV Y, et al. Identification and characterization of MAVS from black carp *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 43(2): 460-468. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.01.016.
- [13] BIACCHESI S, LEBERRE M, LAMOUREUX A, et al. Mitochondrial antiviral signaling protein plays a major role in induction of the fish innate immune response against RNA and DNA viruses [J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(16): 7815-7827. DOI: 10.1128/JVI.00404-09.
- [14] ZHANG J, ZHANG Y B, WU M, et al. Fish MAVS is involved in RLR pathway-mediated IFN response [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 41(2): 222-230. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.09.002.
- [15] SU J G, HUANG T, YANG C R, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of interferon- β promoter stimulator 1 (IPS-1) gene from grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30(1): 317-323. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.11.010.
- [16] SIMORA R M C, OHTANI M, HIKIMA J, et al. Molecular cloning and antiviral activity of IFN- β promoter stimulator-1 (IPS-1) gene in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(6): 979-986. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.08.012.
- [17] ZOU P F, CHANG M X, LI Y, et al. Higher antiviral response of RIG- I through enhancing RIG- I/MAVS-mediated signa-

- ling by its long insertion variant in zebrafish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 43(1): 13-24. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.12.001.
- [18] LIU X, ZHU C C, JIA S K, et al. Dual modifying of MAVS at lysine 7 by SIRT3-catalyzed deacetylation and SIRT5-catalyzed desuccinylation orchestrates antiviral innate immunity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2024, 121(17): e2314201121. DOI: 10.1073/pnas.2314201121.
- [19] 刘新中. 2023 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023: 33.
- [20] 罗鸣钟, 关瑞章, 靳恒. 五种鳊鲮的含肉率及肌肉营养成分分析[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(4): 714-722.
- [21] 张婷婷, 赵峰, 张涛, 等. 中国鳊鱼产业发展及其资源保护建议[J]. *渔业信息与战略*, 2019, 34(4): 235-343. DOI: 10.13233/j.cnki.fishis.2019.04.001.
- [22] 钟全福, 叶小军, 陈斌, 等. 鳊鲮工业化循环水养殖的病害特点及防控策略[J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(增刊2): 357-361. DOI: 10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2021.S2.094.
- [23] 陈燕桑, 谢军, 李伟. 鳊鲮开口病的病毒分离及特性研究[J]. *水生生物学报*, 1999, 23(2): 155-160.
- [24] 葛均青, 杨金先, 龚晖, 等. 鳊鲮疱疹病毒的分离与鉴定[J]. *水产学报*, 2014, 38(9): 5. DOI: 10.3724/SP.J.1231.2014.49163.
- [25] 周晓玲, 李东利, 黄文树, 等. 日本鳊鲮心脏细胞系的建立及其在鳊鲮免疫应答研究中的应用[J]. *水生生物学报*, 2024, 48(增刊1): 1-11. DOI: 10.7541/2024.2024.0139.
- [26] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- [27] CHEN W Q, HU Y W, ZOU P F, et al. MAVS splicing variants contribute to the induction of interferon and interferon-stimulated genes mediated by RIG-I-like receptors[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 49(1): 19-30. DOI: 10.1016/j.dci.2014.10.017.
- [28] LAD S P, YANG G, SCOTT D A, et al. Identification of MAVS splicing variants that interfere with RIG-I/MAVS pathway signaling[J]. *Molecular Immunology*, 2008, 45(8): 2277-2287. DOI: 10.1016/j.molimm.2007.11.018.
- [29] HUANG Y H, ZHANG J C, OUYANG Z L, et al. Grouper MAVS functions as a crucial antiviral molecule against nervous necrosis virus infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 72: 14-22. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.10.035.
- [30] FAGERBERG L, HALLSTRÖM B M, OKSVOLD P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2014, 13(2): 397-406. DOI: 10.1074/mcp.M113.035600.
- [31] KRISHNAN R, GIRISH BABU P, JEENA K, et al. Molecular characterization, ontogeny and expression profiling of mitochondrial antiviral signaling adapter, MAVS from Asian seabass *Lates calcarifer*, Bloch(1790) [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 79: 175-185. DOI: 10.1016/j.dci.2017.10.019.
- [32] KASTHURI S R, WAN Q, WHANG I, et al. Functional characterization of the evolutionarily preserved mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS) from rock bream, *Oplegnathus fasciatus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 40(2): 399-406. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.07.034.
- [33] LU L F, LI S, LU X B, et al. Spring viremia of carp virus N protein suppresses fish IFN ϕ 1 production by targeting the mitochondrial antiviral signaling protein [J]. *Journal of Immunology*, 2016, 196(9): 3744-3753. DOI: 10.4049/jimmunol.1502038.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)