

鱼类干扰素功能及信号转导研究

Function and signal transmission of fish interferon

毛明光¹, 刘宗柱¹, 张培军²

(1. 青岛农业大学, 山东 青岛 266109; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: Q249

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)02-0085-06

1957年 Isaacs 和 Lindenmann 在用鸡胚研究流感病毒干扰现象时发现了干扰素 (Interferon, IFN)^[1], 其后人们迅速地对干扰素的性质、诱生原理以及与其相关的细胞因子等进行了广泛的研究。在 20 世纪后 20 年, 哺乳类 IFN 系统的分子研究取得了重大进展, 随之对低等脊椎动物的 IFN 系统基因及其分子机制也展开了研究。作为变温动物的鱼类, 其非特异性免疫应答受到温度的影响较大, 而干扰素作为先天性免疫系统的一种关键因子, 在鱼类抵抗病毒感染中发挥了非常重要的作用, 因此对 IFN 的研究及其作用机制的深入了解, 对于鱼类病毒性疾病的防治研究具有重要的理论和实际意义。

1 鱼类干扰素的理化性质

干扰素一般由 170 个左右的氨基酸组成, N 端信号肽一般有 23~30 个氨基酸, 分子质量在 26~94 ku 之间, 不被 DNA 酶或 RNA 酶破坏, 但可以被胰蛋白酶灭活。干扰素分为两族: Ⅰ型干扰素和 Ⅱ型干扰素。Ⅰ型包括 IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IFN- ω 和 IFN- κ , 一般在 56 30 min 不能被灭活, -20 可长期保存, 在 pH 2~10 中很稳定; Ⅱ型主要是指 IFN- δ , 对 pH 2.0 不稳定, 56 30 min 被破坏^[2]。

在鱼类中的研究主要是针对 Ⅰ型 IFN- α / β , 而对鱼类 IFN- δ 的研究文献较少, 仅见报道过河豚 (*Takifugu rubripes*) IFN- δ 类似物。干扰素近几年陆续在虹鳟 (*Salmo gairdneri*)、鲤 (*Cyprinus carpio*)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*)、鲫鱼 (*Carassius auratus*)、大马哈鱼 (*Oncorhynchus keta*)、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*)、斑马鱼 (*Brachydanio rerio*)、大西洋鲑 (*Salmo salar*) 等鱼体或培养细胞系检测到干扰素活性物质^[3-9]。1992 年日本学者 Tamai 等^[6]在牙鲆的白细胞中诱导纯化了 IFN 类似物, 但随后 Magor^[10]发现它与其他动物干扰素差别较大而遭到质疑。2002 年 Altmann 等^[9]对斑马鱼的干扰素分子功能进行了分析, 发现斑马鱼 IFN (zfIFN) 由 185 个

氨基酸组成, 含有一个 22 个氨基酸组成的信号肽。国内, 邵健忠等^[11]首次对草鱼血清 IFN 进行了分离纯化及部分理化和生物学性质研究, 结果表明, 草鱼干扰素分子质量为 38 ku, 对酸、碱、热均不敏感, 在 pH 2~10 范围内活性稳定, 对 60 具有明显的耐受性。虽然已在多种鱼体培养细胞中诱导出干扰素物质, 但因干扰素在体内分泌少, 降解较快, 分离纯化比较困难, 所以在此方面报道还很缺乏。

2 干扰素的生物学功能

干扰素不仅使细胞处于抗病毒状态, 而且在细胞的生长分化和免疫调节中也具有重要意义。Ⅰ型干扰素主要活性是: 抑制病毒复制; 抑制细胞的增殖 (如肿瘤细胞等); 加强自然杀伤性细胞杀伤病毒感染细胞的能力; 增强 Ⅰ类主要组织相容性复合体分子的表达, 而抑制 Ⅱ类主要组织复合体分子的表达。Ⅰ型干扰素抗病毒活性较 Ⅱ型低, 但它在免疫调节和抗细胞增殖方面作用较强。在鱼类中有对 IFN 的抗病毒活性和免疫调节的报道, 而对鱼类干扰素的其他功能的报道少见。

2.1 抗病毒活性

鱼类与哺乳类在干扰素的抗病毒机制上有很多相同之处。干扰素无直接杀灭病毒的作用, 当病毒或人工合成的双链 RNA 分子 poly(I:C)^[5]作用在细胞时, 干扰素表达并分泌到细胞外, 此时干扰素作为一种信号分子与相邻细胞表面上的受体结合, 从而引起细胞内的信号传递, 最终导致抗病毒蛋白的表达, 主要的抗病毒蛋白有: 2-5 寡聚腺苷合成酶系统

收稿日期 2007-07-25; 修回日期: 2007-12-11

基金项目: 农业部公益性行业 (农业) 科研专项经费 (nyhyzx07-046-鲆鲽)

作者简介: 毛明光 (1982-), 男, 山东青岛人, 硕士, 研究方向: 生物化学与分子生物学; 张培军, 通讯作者, 电话: 0532-82898551, E-mail: pjzhang@ms.qdio.ac.cn

(2-5A system),其受到病毒核酸激活后酶促三磷酸腺苷(ATP)多聚化,形成长度不定的寡聚核苷酸,而寡聚核苷酸又能活化细胞处于潜伏状态的核酸酶F,可特异性切开病毒 mRNA 并使其降解;蛋白激酶(protein kinase),它在被 dsRNA 及 ATP 激活下使病毒合成的“起始因子 2”(eIF2)发生磷酸化而失活,从而阻断病毒蛋白的合成;M_x 蛋白,它是干扰素诱导下宿主细胞快速表达的抗病毒蛋白,其作用机制可能与它结合病毒转录酶有关^[12]。2-5 寡聚腺苷合成酶系统和蛋白激酶在鱼类当中尚未见报道,而对 M_x 蛋白上的研究就多。

2.2 免疫调节功能

鱼类巨噬细胞(M)和淋巴细胞与高等脊椎动物的类似,在吞噬入侵的病原体、合成抗体和进行细胞免疫等过程中发挥极其重要的作用。在哺乳动物 M 活化机制研究中发现,当 M 受抗原或细胞因子等的激发后,可出现呼吸爆发(Respiratory burst)作用而产生大量 O₂⁻ 和 H₂O₂,同时细胞内溶酶体被激活,从而共同完成对病原菌的杀灭作用。进一步研究证实,鱼类 M 存在同样的活化机制^[13],O₂⁻、H₂O₂ 和抗原提呈细胞(APC)也是反映鱼类 M 活化水平的重要指标^[14]。

目前,国内只有邵健忠等^[15]对草鱼干扰素(Grass carp interferon, GcIFN)的免疫调节功能展开了一系列研究,发现 GcIFN 对草鱼巨噬细胞具有显著的激活作用,它能提高 M 内 O₂⁻、H₂O₂ 和 APC 的活性与含量,促进 M 的吞噬和杀菌作用。GcIFN 还能调节草鱼抗体的产生,这种调节作用与干扰素注射的相对时间有关,在注射抗原后 24 h 注射高剂量的干扰素可以促进草鱼抗体的合成。

3 鱼类干扰素和 M_x 蛋白基因

虽然 Tamai 等^[6]首先宣称发现鱼类 IFN 基因并克隆了牙鲈 IFN cDNA,但是与哺乳类 IFN 比较,同源性很低,类似研究难以在其他鱼类重现。2002 年,Altmann 等^[9]率先从斑马鱼表达序列标签(EST)数据库中鉴定了一个与鸡 IFN- α 基因同源性约 36% 的斑马鱼干扰素基因(*DrIFN*),体外表达证明其培养物能激活抗病毒蛋白 M_x 基因的启动子。利用 *DrIFN* 序列从河鲢(*Tetraodon fluviatilis*)全基因组鉴定出河 IFN 基因,随后大西洋鲑、金鱼 IFN 基因相继被成功克隆。国内张义兵等^[16]诱导鲫鱼培养细胞(CAB)上产生 IFN,并建立了病毒诱导 CAB 细

胞的差减 cDNA 文库。由于不同物种的干扰素基因同源性比较低,增加了设计有效的 PCR 引物和探针的难度,并且干扰素 mRNA 的极不稳定性也增加了其扩增的难度。目前,大多数研究者已把鱼类干扰素下游元件的出现作为其表达的证据^[17-19],其中 M_x 蛋白已得到深入的研究。

M_x 蛋白是干扰素诱导表达的蛋白家族中的成员之一,其转录产物 mRNA 较稳定,已作为鱼类 IFN 系统存在的第一个直接的分子证据。相继在多种鱼类中得到克隆,如:牙鲈、斑马鱼、虹鳟、大西洋鲑、大菱鲈(*Scophthalmus maximus*)、沟鲈(*Ictalurus punctatus*)、庸鲈(*Hippoglossus hippoglossus*)、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)等^[19-25]。1988 年 Staeheli 等^[26]根据小鼠 M_x 蛋白的 cDNA 设计探针,从河鲈基因组 DNA 中克隆出一个 2.35 kb 的 DNA 片段,与小鼠 M_x 基因相应片段相比较极其保守并有很高的同源性。2002 年,红鳍东方鲀 M_x 基因被克隆^[27],从转录起始位点到多聚腺苷酸信号的总长度 3.4 kb,由 12 个外显子和 11 个内含子组成。2003 年,Plant 等^[28]利用快速分离 cDNA 末端法在沟鲈中获得了一个 2.5 kb 的 M_x 全长 cDNA。后来从大西洋鲑、牙鲈、虹鳟等鱼体中也相应克隆出 M_x 基因。国内,中国水产科学研究院先后对鲫鱼、草鱼、鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)的 M_x 基因进行了克隆和测序^[29-31]。M_x 基因序列克隆的成功将为研究其在培养细胞内的抗病毒活性和体外表达及干扰素的检测等打下坚实的基础,具有重要的意义。

4 IFN 的表达调控及信号转导

4.1 IFN 的表达调控及信号转导分子机制

病毒感染诱导 IFN- γ 及时表达,并表现出抗病毒反应,此过程可经两步传导途径完成。第一步是病毒或 dsRNA 诱导干扰素的表达;第二步是干扰素激活基因(IFN-stimulated gene, ISG)的表达,这两步途径的分子机理简述如下。

第一步途径,细胞表面上的受体,如 toll 样受体,接受病原相关分子(Pathogen-associated molecular pattern, PAMP)后将此信号传递给细胞核内,不同类型干扰素的表达调控机理有所不同,现以 IFN- γ 为例简要说明。IFN- γ 基因的表达是由多种因子调控,它们位于病毒反应元件 B(virus responsive element B, VRE-B)上的正调控区(positive regulatory domains, PRDs)。VRE-B 主要包括可以识别 PRD

区和 PDR 区的干扰素调节因子 1 (interferon regulatory factor-1, IRF-1)^[32,33];可识别 PDR 的核因子 NF- κ B;结合在 PRD 区的 ATF-2。当 NF- κ B 和 ATF-2 复合物结合后就会被大量高迁移率蛋白(high mobility group of proteins, HMGI)利用,并把 VRE-B 上的结合因子组装成高度有序的核蛋白复合物“增强核蛋白体”(enhanceosome),它就可以增强 IFN- γ 基因的转录^[34,35]。第二步途径,所有的 IFN- α/β 都共用一套受体即 IFNAR1 和 IFNAR2,其结构在细胞内的部分与酪氨酸蛋白激酶 Janus 家族、Tyk2 和 Jak1 密切相关。IFN- α/β 与 IFNAR 结合后会引发 Jak 激酶相互激活,继而使 IFNAR1、胞内信号传递因子 Stat1 和 Stat2 发生磷酸化,这些 Stats 结合到 IFNAR 形成两种不同的转录活化子,即 IFN- α 活化子(AAF)和干扰素刺激因子 3(ISGF3)。AAF 和 ISGF3 被转运至细胞核与特异的 IFN- α 激活基因序列(GAS)和干扰素诱导反应元件(IFN-stimulated response element, ISRE)分别结合,这种信号最终导致上百种目标基因的活化,其中包括 2-5A system、蛋白激酶和 Mx 蛋白^[36-40]。

在这两步途径中涉及到几种关键因子,如 toll 样受体、IRFs 和 ISRE,在近几年成为研究的热点。下文将对鱼类 toll 样受体、IRFs 和 ISRE 的研究进展情况进行阐述。

4.2 Toll 样受体

根据目前对 TLRs 的了解显示,TLRs 是机体激活先天性免疫和诱导适应性免疫对抗病原微生物的重要因素,作为连接天然免疫与特异性免疫的关键环节发挥着极为重要的作用。在诱导干扰素机制方面,TLR3 识别病毒双链 RNA 和 Poly(I-C),它在诱导 IFN- α/β 发挥了主要的作用。目前在人类已经发现有 10 个 TLRs,在小鼠有 9 个 TLRs,其中 7 个已找到其相应的配基^[41]。TLR2 能识别多种病原相关分子模式,包括细菌脂多糖、肽聚糖和胞壁酸;TLR4 可识别细菌的脂多糖;TLR5 识别细菌鞭毛蛋白;TLR9 识别病毒和细菌未甲基化 CpG DNA 基序^[42]。TLR7 和 TLR8 功能也相继被报道。

不同物种 TLRs 的种类也不一样,这可能是由于不同种类的动物处在不同环境下进化的结果,在鱼类中,Oshiumi 等^[43]从日本河豚中鉴定了 TLRs,其中的 TLR1 与人类的 TLR1 和 TLR6 几乎相同。Stafford 等^[44]最近分离出了鲫鱼 TLR,并发现它与河豚的 TLR22 基本相同。Hirono 等^[45]从日本牙鲆

中克隆得到两种 TLRs,分别是 *JFTLR2* 和 *JFTLR22*。TLR3 类似物已相继从斑马鱼、沟鲈中得到克隆和分析^[46,47]。2005 年,Rodriguez 等^[48]对虹鳟的 TLR3 基因(*rtTLR3*)进行了分析和鉴定,*rtTLR3*与人类的 TLR3 具有很高的同源性,在病毒和 Poly(I-C)诱导的虹鳟肾和脾都有表达,说明 *rtTLR3* 在抗病毒过程中起到一定的作用,这将有助于进一步阐明鱼类免疫系统。

4.3 干扰素调节因子

到目前为止,IRFs 家族的 9 种因子已在哺乳动物中得到确认,它们存在着许多重要的功能,如抵抗病毒侵染、免疫调节和生长控制。IRF-1 最初被认为是干扰素基因和干扰素诱导基因的活化因子。IRF-2 通常被认为是一种与 IRF-1 抵抗的转录抑制因子。IRF-4 和 IRF-8 通常在淋巴组织中表达。IRF-3, IRF-5 以及 IRF-7 在病毒介导的信号中被认为是直接的传感器,IRF-7 被认为是 I 型 IFN 依赖性免疫反应的主要调控因子^[49]。在结构方面,所有的 IRF 家族成员氨基酸序列 N 端都有一段相同的 115 个氨基酸序列,包含 DNA 结合区上的色氨酸重复序列。

牙鲆 IRF 是鱼类最先克隆的 IFN 系统基因之一,编码蛋白具有保守的 5 个色氨酸组成的特征性 N 端 DNA 结合区。此外,在河豚和虹鳟中也分别鉴定出 IRF 基因,分子进化树分析证实,它们都属于 IRF1 亚家族^[50]。虹鳟 IRF2 是第一个鉴定的鱼类 IRF2 基因^[51],IRF1 和 IRF2 在调节 IFN 的表达中发挥重要作用。鲫鱼 CaIRF7 基因的成功鉴定不仅是鱼类而且是整个低等脊椎动物鉴定的第一个 IRF7 基因^[52]。与哺乳动物相比,鱼类在 IRF 方面研究非常有限,对 IRF 家族成员多样性和功能的研究尚待进一步开展^[53]。

4.4 干扰素诱导反应元件

干扰素诱导基因转录激活的信号传递途径与许多激素不同,由于其受体自身缺乏激酶活性,所以必须借助于胞质中与其连接的酪氨酸激酶,才能完成信号传递。干扰素通过其受体和相应的酪氨酸激酶作用,使特定的胞质蛋白——信号转导活化蛋白(Stat)的酪氨酸磷酸化,Stat 经过磷酸化而被激活后,移位至细胞核,同干扰素诱导基因的顺式作用序列结合,继而启动该基因的转录^[54]。

除了细胞膜上的 IFN 受体,IFN 的信号转导主要有 Janus 激酶家族和 Stat 家族成员负责。已在河

豚中鉴定到 Janus 激酶家族的 4 个成员基因分别为 *Jak1*, *Jak2*, *Jak3* 和 *Tyk2*^[55]。最早鉴定的鱼类 Stat 的基因是斑马鱼的 *Stat1* 和 *Stat3*, 并发现 *Stat1* 能够补救人 *Stat1* 基因缺陷细胞株的 IFN 信号放大功能^[56]。最近,河豚 *Stat5* 的 DNA 结构也得到了细致分析^[57]。张义兵等^[58]从病毒诱导产生 IFN 的 CAB 细胞系统中鉴定出了鲫鱼 *CaStat1* 和 *CaTak1* 基因, 并进行了较系统的信号功能分析, 证明了鱼类 IFN 的信号放大也依赖 Tak-Stat 信号途径。说明鱼类与哺乳类在细胞内信号传导机制上存在许多共同之处。

5 鱼类干扰素的应用展望

随着水产养殖业的发展, 高密度养殖技术的普及和养殖产量的迅速增加, 水产养殖动物疾病的发生越来越频繁、越来越严重, 由此造成的损失逐年增加。每年有 1/10 的养殖面积受到病害的影响, 2004 年水产养殖因病害造成的经济损失已达 140 亿 ~ 150 亿元。尤其是病毒性疾病, 是在鱼类养殖至今都无法有效控制的世界性难题。病毒病的病原体微小, 在宿主细胞内复制, 潜伏期长短不一、症状复杂多变、传染性强、死亡率高, 严重危害水生动物的养殖, 迄今已发现的鱼类病毒有 70 多种^[59]。

各种鱼类抗病毒相关基因的克隆成功, 为转基因技术培育抗病毒新品种提供了依据, 情景广阔。前提是在保证对环境和人类健康无害的基础上, 来评价对受体鱼实施基因转移研究的可行性。到目前为止, 还没有将鱼类干扰素相关基因转化的报道。干扰素作为一种体内诱导分泌蛋白, 如果在体内过量表达必然会带来分泌调节失衡。邹钧等^[60]的研究结果显示, 外源基因无论以游离形式存在, 还是整合到受体基因组中都可表达, 但过量的外源基因拷贝积累和表达产物的存在, 会导致受体胚胎的异常或夭折。

利用基因工程技术在原核生物或真核生物中制备外源性鱼类干扰素, 并应用于鱼类抗病中, 将会带来很高的经济效益。目前已获得人干扰素基因工程产物, 并在临床上的治疗效果显著, 而在鱼类上尚无与此相关的项目展开。基因工程产物应用到鱼类也会存在若干现实的问题, 干扰素蛋白作为饲料添加剂使用后, 是否会被肠道中的酶降解而失去活性? 干扰素存在种属特异性, 用一种鱼的干扰素基因获得的基因工程产物应用到其他鱼种中是否会具有相

同的效果? 这都有待于进一步验证。

相比较而言, 通过调节鱼类内源性干扰素水平, 达到建立抗病毒状态的目的, 可能是目前障碍较小的可行性途径。Eaton^[5]曾用聚肌胞对 4 种鲑鱼通过注射和浸泡两种途径进行处理, 结果发现, 鱼体都能明显抵抗感染性出血坏死病毒 (IHNV) 和红细胞坏死病毒 (ENV) 的感染, 用聚肌胞浸泡鱼体的方法显然要比注射经济实用。目前, 聚肌胞相关制剂已在人药中得到应用并取得了一定的效果, 而在其他脊椎动物中还处于试验阶段, 其在鱼类的抗病毒应用中尚未见有报道, 只在实验室条件下将聚肌胞当作类病毒来使用。聚肌胞合适的起效剂量、给药途径以及可能的毒副作用等基本药理、药效问题还有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] Issacs A, Lindenman J. Virus interference I: the interferon[J]. *Proc R Soc Lond*, 1957, 147:258-263.
- [2] 孙亚萍, 王英明, 乔守怡. 干扰素及其最新研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2006, 22(7):676-679.
- [3] Gravel M, Marlsbenger R G. A permanent cell line from the fathead minnow (*Pimephales promelas*) [J]. *Ann NY Academy Sci*, 1965, 126:555-565.
- [4] De-kinkelin P, Dorson M. Interferon in rainbow trout (*Salmo gairdri*) experimentally infected with egtded virus[J]. *J Gen Viral*, 1973, 19:125-127.
- [5] Eaton W D. Anti-viral activity in four species of salmonids following exposure to poly inosinic:cytidylic acid [J]. *Disease of Aquatic Organisms*, 1990, 9(12):193-198.
- [6] Tamai T, Shirahata S, Sato N, et al. Purification and characterization of interferon-like antiviral protein derived from flatfish (*Paralichthys olivaceus*) lymphocytes immortalized by oncogens[J]. *Cytotechnology*, 1993, 11(2):1-6.
- [7] Long S, Wilson M, Bengten E, et al. Identification of a cDNA encoding channel catfish interferon [J]. *Glycoconjugate Journal*, 2001, 18(6):439-447.
- [8] 张义兵, 俞小牧. 鱼类干扰素的研究进展[J]. *水产科学*, 2003, 7(3):97-101.
- [9] Altmann S M, Mellon M T, Distel D L, et al. Molecular and functional analysis of an interferon gene from the zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Virology*, 2003, 77(6):3890.
- [10] Magor B G, Magor K E. Evolution of effectors and receptors of innate immunity[J]. *Dev Comp Immunol*, 2001, 25:651-682.

研究综述

REVIEWS

- [11] 邵健忠, 项黎新. 草鱼干扰素的分离纯化及某些理化生物学特性[J]. 2000, 24(1):11-17.
- [12] Basler C F, Garcia-Sastre A. Viruses and the type I interferon antiviral system: induction and evasion[J]. **Int Rev Immunol**, 2002, 21:305-337.
- [13] Graham S, Jeffries A H, Secombes C J. A novel assay to detect macrophage bactericidal activity in fish: factors influencing the killing of *Aeromonas salmonicida*[J]. **Fish Diseases**, 1988, 11:389-396.
- [14] Enane N A, Frenel K, Oconnor J M, et al. Biological markers of macrophage activation: applications for fish phagocytes[J]. **Immunol**, 1993, 80:68-72.
- [15] 邵健忠, 项黎新. 草鱼干扰素的免疫调节功能[J]. 动物学报, 2001, 47(4):404-411.
- [16] 张义兵, 石耀华, 桂建芳. 鱼类培养细胞抗病毒基因差减 cDNA 文库的构建[J]. 水生生物学报, 2003, 27(2):113-118.
- [17] Kim C H, Johnson M C, Drennan J D, et al. DNA vaccines encoding viral glycoproteins induce nonspecific immunity and Mx protein synthesis in fish[J]. **J Virol**, 2000, 74:7 048-7 054.
- [18] Trobridge G D, Chiou P P, Kim C H, et al. Induction of the Mx protein of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in vitro and in vivo with poly I C and infectious hematopoietic necrosis virus [J]. **Dis Aquat**, 1997, 30:91-98.
- [19] Trobridge G D, Leong J C. Characterization of a rainbow trout *Mx* gene [J]. **J Interferon Cytokine Res**, 1995, 15: 691-702.
- [20] Lee J Y, Hirono I, Aoki T. Cloning and analysis of expression of *Mx* cDNA in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. **Dev Comp Immunol**, 2000, 24(4): 407-415.
- [21] Trobridge G D, Chiou P P, Leong J C. Cloning of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Mx2* and *Mx3* cDNAs and characterization of trout Mx protein expression in salmon cells [J]. **J Virol**, 1997, 71: 5 304-5 311.
- [22] Robertsen B, Trobridge G D, Leong J. Molecular cloning double-stranded RNA inducible *Mx* genes from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. **Dev Comp Immunol**, 1997, 21:392-412.
- [23] Kocabas A, Li P, Cao D, et al. Expression profile of the channel catfish spleen: analysis of genes involved in immune functions[J]. **Marine Biotechnology**, 2002, 4:526-536.
- [24] Yap W H, Brenner S, Venkatesh B. Molecular cloning of the pufferfish (*Takifugu rubripes*) *Mx* gene and functional characterization of its promoter[J]. **Immunogenetics**, 2003, 54:705-713.
- [25] Nygaard R, Husgard S, Sommer A I, et al. Induction of Mx protein by interferon and double-stranded RNA in salmonid cells [J]. **Fish Shellfish Immunol**, 2000, 10: 435-450.
- [26] Staeheli P, Yu Y S, Grob R, et al. A double-stranded RNA-introducible fish gene homologous to the marine influenza virus resistance gene *Mx*[J]. **Mol Cell Biol**, 1989, 9:3 117-3 121.
- [27] Plant K P, Thune R L. Cloning and characterization of a channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *Mx* gene [J]. **Fish Shellfish Immunol**, 2004, 16(3):391-405.
- [28] Plant K P, Thune R L. Cloning and characterisation of a channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *Mx* gene [J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2004, 16(3):391-405.
- [29] 张义兵, 桂建芳. 干扰素诱导的鱼类 Mx 蛋白[J]. 中国病毒学, 2001, 16(4):291-298.
- [30] 王伟, 白俊杰, 劳海华, 等. 草鱼 Mx 蛋白基因的克隆与原核表达[J]. 中国水产科学, 2003, 10(5):365-369.
- [31] 吴海峰, 白俊杰, 劳海华, 等. 鳙鱼 Mx 蛋白全长 cDNA 的克隆和序列分析[J]. 中国病毒学, 2004, 19(3):271-275.
- [32] Fujita T, Sakakibara J, Sudo Y, et al. Evidence for a nuclear factor (s), IRF-1, mediating induction and silencing properties to human *IFN γ* gene regulatory elements[J]. **EMBO J**, 1988, 7:3 397-3 405.
- [33] Harada H, Fujita T, Miyamoto M, et al. Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes[J]. **Nature**, 1989, 337:270-272.
- [34] Falvo J V, Thanos D, Maniatis T. Inversion of intrinsic DNA bends in the *IFN γ* gene enhancer by transcription factors and the architectural protein HMG I (Y) [J]. **Cell**, 1995, 83:1 101-1 111.
- [35] Thanos D, Maniatis T. Virus induction of human *IFN γ* gene expression requires the assembly of an enhancosome[J]. **Cell**, 1995, 71:1 091-1 100.
- [36] Marie I, Durbin J E, Levy D E. Differential viral induction of distinct interferon γ genes by positive feedback through interferon regulatory factor-7[J]. **EMBO J**, 1998, 17:6 660.
- [37] Sato M, Hata N, Asagiri M, et al. Positive feedback regulation of type I IFN genes by the IFN-inducible transcription factor IRF-7[J]. **FEBS Lett**, 1998, 441:

研究综述
REVIEWS

- 106.
- [38] Miettinen M, Sareneva T, Julkunen I, *et al.* IFNs activate toll-like receptor gene expression in viral infections[J]. **Genes Immun**, 2001, 2:349.
- [39] Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, *et al.* The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA induced innate antiviral responses[J]. **Nat Immunol**, 2004, 5:730.
- [40] Doly J, Civas A, Nararroa S, *et al.* Type I interferons: expression and signalization[J]. **CMLS Cell Mol Life Sci**, 1998, 54:1109-1121.
- [41] Underhill D M, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection [J]. **Curr Opin Immunol**, 2002, 14:103-110.
- [42] Takeuchi O, Akira S. Genetic approaches to the study of toll-like receptor function [J]. **Microbes Infect**, 2002, 4(9): 887-895.
- [43] Oshiumi H, Tsujita T, Shida K, *et al.* Prediction of the prototype of the human Toll-like receptor gene family from the pufferfish, *Fugu rubripes*, genome [J]. **Immunogenetics**, 2003, 54:791-800.
- [44] Stafford J L, Ellestad K K, Magor K E, *et al.* A toll-like receptor (*TLR*) gene that is up-regulated in activated goldfish macrophages [J]. **Dev Comp Immunol**, 2003, 27:685-698.
- [45] Hirono I, Takami M, Miyata M, *et al.* Characterization of gene structure and expression of two toll-like receptors from Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. **Immunogenetics**, 2004, 56 (1):38-46.
- [46] Meijer A H, Krens S F G, Rodriguez I A M, *et al.* Expression analysis of the toll receptor and TIR domain adaptor families of zebrafish [J]. **Mol Immunol**, 2004, 40:773-783.
- [47] Bilodeau A L, Waldbieser G C. Activation of TLR3 and TLR5 in channel catfish exposed to virulent *Edwardsiella ictaluri* [J]. **Dev Comp Immunol**, 2005, 29(8):713-721.
- [48] Rodriguez M F, Wiens G D, Purcell M K, *et al.* Characterization of Toll-like peceptor 3 gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Immunogenetics**, 2005, 57:510-519.
- [49] Honda K, Ohba Y, Yanai H, *et al.* Spatiotemporal regulation of MyD88 - IRF - 7 signaling for robust type - I interferon induction [J]. **Nature**, 2005, 434:1035-1040.
- [50] Yabu T, Hirose H, Hirono I, *et al.* Molecular cloning of a novel Interferon regulatory factor in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. **Mol Mar Biol Biotechnol**, 1998, 7:138-144.
- [51] Collet B, Hovens G C, Mazzoni D, *et al.* Cloning and expression analysis of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* interferon regulatory factor 1 and 2 (IRF1 and IRF2) [J]. **Dev Comp Immunol**, 2003, 27:111-126.
- [52] Zhang Y B, Hu C Y, Zhang J, *et al.* Molecular cloning and characterization of crucian carp (*Carassius auratus* L.) interferon regulator factor 7 [J]. **Fish Shellfish Immunol**, 2003, 15:453-466.
- [53] Sun B J, Chang M X, Chen D L, *et al.* Gene structure and transcription of IRF-2 in the mandarin fish *Siniperca chuatsi* with the finding of alternative transcripts and microsatellite in the coding region [J]. **Immunogenetics**, 2006, 58:774-784.
- [54] Muller M, Briscoe J, Laixton C, *et al.* The protein tyrosine kinase JAK1 complements defects in interferon- α/β and γ signal transduction [J]. **Nature**, 1993, 366:129-135.
- [55] Leu J H, Yah S J, Lee T F, *et al.* Complete genomic organization and promoter analysis of the round-spotted pufferfish *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, and *TYK2* genes [J]. **DNA Cell Biol**, 2000, 19:431-446.
- [56] Oates A C, Wollberg P, Partt S J, *et al.* Zebrafish *stat3* is expressed in restricted tissues during embryogenesis and *stat1* rescues cytokine signaling in a *STAT12* deficient human cell line [J]. **Dev Dynam**, 1999, 215:352-370.
- [57] Sung S C, Fan T J, Chou C M, *et al.* Genomic structure, expression and characterization of a STAT5 homologue from pufferfish (*Tetraodon fluviatilis*) [J]. **Eur J Biochem**, 2003, 270:239-252.
- [58] Zhang Y B, Gui J F. Molecular characterization and IFN signal pathway analysis of *Carassius auratus* CaSTAT1 identified from the cultured cells in response to virus infection [J]. **Dev Comp Immunol Mar**, 2004, 28 (3):211-275.
- [59] 刘新建, 李贵生. 国内鱼类病毒病研究进展 [J]. **生态科学**, 2004, 23:282-285.
- [60] 邹钧, 刘东, 谢岳峰, 等. 外源基因在鱼类胚胎发育过程中的表达 [J]. **水生生物学报**, 1991, 15(4):372-374.

(本文编辑:刘珊珊)