

## 鳊鱼 Mx 蛋白全长 cDNA 的克隆和序列分析\*

吴海峰<sup>1,2</sup>, 白俊杰<sup>1</sup>, 劳海华<sup>1</sup>, 叶星<sup>1</sup>, 简清<sup>1</sup>, 罗建仁<sup>1\*\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 中国水产科学研究院热带亚热带鱼类选育与养殖重点开放实验室, 广东广州 510380; 2. 上海水产大学, 上海 200090)

### Cloning and Sequencing of the Full-length cDNA of Mx Protein

#### from Mandarinfish

WU Hai-feng<sup>1,2</sup>, BAI Jun-jie<sup>1</sup>, LAO Hai-hua<sup>1</sup>, YE Xing<sup>1</sup>, JIAN Qing<sup>1</sup>, LUO Jian-ren<sup>1\*\*</sup>

(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Key Lab. of Tropical & Subtropical Fish Breeding & Cultivation, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380; 2. Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

**Abstract:** Mx protein is one of the classes of antiviral proteins induced by type I interferons (IFN). A full-length cDNA of mandarinfish (*Siniperca chuatsi*) Mx gene was obtained using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and RACE (rapid amplification of cDNA ends) polymerase chain reaction (PCR) amplification of total RNA extracted from liver of a mandarinfish which was infected with Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) (GenBank accession No. AY392097). The result of sequence analysis indicates that the 2.4kb mandarinfish Mx cDNA contains an open reading frame (ORF) of 1881nt encoding a 627 amino acid protein whose deduced protein molecular weight is 71.5kDa. The alignment of the deduced mandarinfish Mx protein amino acid sequence with that of other species shows that the Mx protein of mandarinfish contains a tripartite guanosine-5'-triphosphate (GTP)-binding motif (GXXXSGKS/T, DXXG, T/NKXD), a signature of the dynamin family (LPRGS/KGIVTR), and a highly conserved leucine zipper motif in the C-terminal region of the protein, which are conserved in all IFN-induced Mx proteins of vertebrates.

**Key words:** *Siniperca chuatsi*; Mx protein; RACE; Full-length cDNA; Sequence analysis

**摘要:** Mx 蛋白是一类由 I 型干扰素诱导表达的抗病毒蛋白。本研究以感染了鳊传染性脾肾坏死病毒 (Infectious spleen and kidney necrosis virus, ISKNV) 的鳊鱼为材料, 提取肝脏总 RNA, 通过逆转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 扩增出 Mx 蛋白基因的核心片段序列, 再应用 3' 和 5' 快速扩增 cDNA 末端 (RACE) 方法 PCR 扩增 Mx 蛋白 cDNA 末端, 最终获得鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 序列 (GenBank 登陆号: AY392097)。序列分析表明: 鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 含有 2391bp, 其中编码区长 1881bp, 编码 627 个氨基酸残基, 推测蛋白质分子量大小为 71.5kDa。鳊鱼 Mx 蛋白具有脊椎动物 Mx 蛋白共有的结构特征: 一个三联体 GTP 结合区域 (GXXXSGKS/T, DXXG, T/NKXD); 一个发动蛋白家族的典型结构特征序列 (LPRGS/KGIVTR); 以及 C 端高度保守的 Leu 拉链结构域。鳊鱼 Mx 蛋白全基因的获得为下一步研究鱼类 Mx 蛋白的抗病毒活性、作用机制, 以及干扰素的检测奠定了基础。

**关键词:** 鳊鱼; Mx 蛋白; RACE; 全长 cDNA; 序列分析

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1003-5152 (2004) 03-0271-05

Mx (Myxovirus resistance) 蛋白是一类由 I 型干扰素 (IFN) 诱导表达的抗病毒蛋白, 当机体或细胞受到病毒感染时, 能与其它干扰素诱导的蛋白一起形成体内抗病毒感染的防线, 以达到抗病毒的

收稿日期: 2003-11-17, 修回日期: 2003-12-19

\* 基金项目: 中国水产科学研究院基金项目 (99-08-03)

作者简介: 吴海峰 (1979-), 男, 汉族, 浙江义乌籍, 硕士生, 从事鱼类生物技术研究。

\*\* 通讯作者: 罗建仁 (1956-), 男, 汉族, 广东省籍, 研究员, 从事鱼类遗传育种研究。Corresponding author. E-mail: fishlo@163.net

目的<sup>[1]</sup>。现有的研究表明, Mx 蛋白具有特异的抗病毒活性, 如小鼠 Mx1 蛋白证明能抑制正粘流感病毒<sup>[2]</sup>、Dhori 病毒<sup>[3]</sup>、Thogoto 病毒<sup>[4]</sup>及 Batken 病毒的复制; 小鼠 Mx2、大鼠 Mx2 蛋白能抑制棒状疱疹性口炎病毒的复制<sup>[5-8]</sup>; 人 MxA 蛋白能抑制麻疹副粘病毒<sup>[9]</sup>、棒状疱疹性口炎病毒、Bunya 病毒、白蛉病毒、汉坦病毒<sup>[10]</sup>、3 型腺病毒<sup>[11]</sup>的复制; 鸡 Mx 蛋白也发现具有抗流感病毒和疱疹性口炎病毒(VSV)<sup>[12]</sup>活性。鱼类 Mx 蛋白的研究还较少, 研究表明其具有 Mx 蛋白家族的共同特征, 然而, 现有的研究还没有发现其具有抗病毒活性<sup>[13,14]</sup>。

在鱼类 Mx 蛋白基因研究中, 1989 年, Staehel 等首次检测到鱼类 Mx 基因以来, 目前已在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[13,15]</sup>、大西洋鲑(*Salmo salar*)<sup>[16]</sup>、褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)<sup>[17]</sup>、庸鲈(*Hippoglossus hippoglossus*)、斑马鱼(*Danio rerio*)、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)<sup>[18]</sup>、鲫鱼(*Carassius auratus*)、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[19]</sup>克隆得到 Mx 蛋白全长 cDNA; 然而国内研究很少, 目前仅见张义兵等对鲫鱼 Mx3 蛋白进行了少量报道<sup>[20]</sup>, 以及本实验室对草鱼 Mx 蛋白的一些研究<sup>[21]</sup>。

干扰素是机体非特异性免疫的重要组成部分, 检测干扰素的表达对研究机体非特异性免疫有着重要的作用<sup>[22]</sup>, 然而, 鱼类干扰素的直接检测至今仍无有效的方法。鱼类 Mx 蛋白因其表达量大<sup>[23]</sup>、半衰期长、没有反馈抑制且容易检测, 可以间接地作为干扰素(IFN)产生的有效标识<sup>[24]</sup>。本研究对鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 进行了克隆及序列分析, 为下一步鳊鱼 Mx 蛋白的抗病毒活性研究, 以及干扰素的检测奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

实验用感染了鳊传染性脾肾坏死病毒(ISKNV)的鳊鱼肝脏组织由本所鱼病研究室提供, RT-PCR、RACE 所用试剂盒 TaKaRa RNA LA PCR Kit (AMV) Ver1.1、TaKaRa 5'&3'-Full RACE core kit 为宝生物工程(大连)有限公司产品; pGEM-T Easy Vector 系统、总 RNA 提取试剂盒 SV Total RNA Isolation System 为 Promega 公司产品; PCR 有关试剂及限制性内切酶购自华美生物工程公司等。PCR 引物均由上海生工生物工程公司合成。大肠杆菌 DH5 $\alpha$  由本室保存。

### 1.2 肝脏总 RNA 的提取

按试剂盒方法提取鳊鱼肝脏总 RNA。

### 1.3 RT-PCR

以鳊鱼肝脏总 RNA 为模板进行 RT-PCR。按试剂盒方法反转录合成鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 第一链; 另外根据已知鱼类 Mx 蛋白基因序列, 在包含 GTP 结合区域和发动蛋白家族典型结构特征序列的较保守区域(核心区域)设计核心片段引物, 正向引物 P<sub>1</sub> 为: 5'TATGAGGAGAAGGTGCGTCCCTGCA TCGACCT-3'; 反向引物 P<sub>2</sub> 为 5'CCCCTGCACCTG ACG(T)ATCATGTAGC-3'。以 cDNA 第一链为模板进行 PCR 扩增, 产物克隆入 T 载体, 经酶切鉴定后, 测定序列。

### 1.4 5'&3'RACE

根据核心片段序列及试剂盒要求设计 5'RACE 反转录引物(RTprimer): 5'-P-GCTTATCTTTCCG-3' 和两对巢式引物(1st S1、1st A1、2nd S2、2nd A2) 1st S1: 5'-GCCGTGATTGGAGACCAAAGC-3'; 1st A1: 5'-CGATAGCAGGCAGAGCCAAGT-3'; 2nd S2: 5'-TGGCTCTGCCAAGAGGAAGT-3'; 2nd A2: 5'-CAGAGCCAAGTCCTTCTCCAC-3'; 3'RACE 上游引物 P3: 5'-CATCAGCCTGGTGGTTGTTTC-3', 同时 2nd S2 也用作 3'RACE 的上游引物, 下游引物用试剂盒引物。5'RACE 根据试剂盒方法 PCR 扩增, 产物经纯化后, 直接测序; 3'RACE 应用巢式 PCR 扩增, 产物经克隆、酶切鉴定后, 测定序列。

### 1.5 序列测定和分析

使用 ABI PRISM<sup>TM</sup> 377 全自动荧光测序仪进行序列测定。在 NCBI 网站中收集鱼类、哺乳类、鸟类的 Mx 蛋白基因序列, 同源性比较用 BLAST 程序以及 DNA 分析软件 Vector NTI suite 6.0 进行, 序列分析用 Vector NTI suite 6.0 软件完成。

## 2 结果

### 2.1 RNA 提取

将提取的鳊鱼肝脏总 RNA 进行电泳检测, 电泳显示 28S、18S rRNA 条带清晰, 浓度比约为 2:1 (图未显示), 说明提取的 RNA 完整性良好, 符合 RACE 扩增的要求。

### 2.2 RT-PCR 扩增结果

应用 P<sub>1</sub> 和 P<sub>2</sub> 引物 PCR 扩增, 电泳结果显示, 在约 700bp 处有一明显的目的带, 与预期的鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 核心片段大小相符(图 1)。测序结果得到一个 713bp 的序列, 该序列包含了 Mx 蛋白 GTP 结合区域和发动蛋白家族典型结构特征序列, 是预期的 Mx 蛋白 cDNA 核心片段序列。

### 2.3 5'&3'RACE

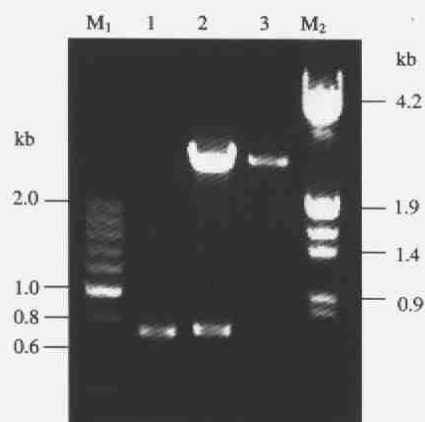


图1 鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 核心片段 RT-PCR 扩增和重组质粒的酶切鉴定

Fig.1 RT-PCR product and recombinant plasmid digested by *EcoR* I

M<sub>1</sub>, 200bp DNA markers; 1, RT-PCR product; 2, pGEM-T Mx / *EcoR* I; 3, pGEM-T / *EcoR* I; M<sub>2</sub>,  $\lambda$  DNA/*EcoR* I + *Hind* III

5'RACE 用 RTprimer 反转录合成第一链 cDNA, 再以此为模板用 1st 和 2nd 两对引物进行巢式 PCR 扩增。电泳结果显示, 在约 130bp 处有一条明显的目的带, 与预期大小相符 (图 3); 3'RACE 用 2ndS2 和 P3 两个引物进行半巢式 PCR 扩增, 电泳结果显示, 在约 1.8Kb 处有一明显的目的带 (图 2)。序列测定得到鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 5' 和 3' 末端序列。

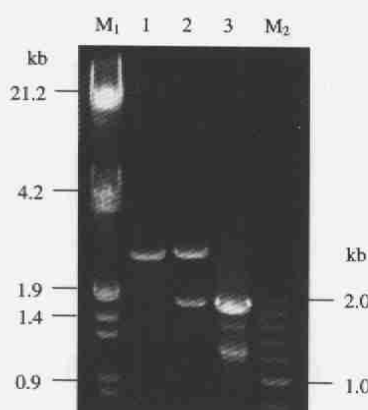


图2 鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 3'RACE PCR 扩增和重组质粒的酶切鉴定

Fig.2 3'RACE PCR product and recombinant plasmid digested by *EcoR* I

M<sub>1</sub>,  $\lambda$  DNA/*EcoR* I + *Hind* III; 1, pGEM-T / *EcoR* I; 2, pGEM-T Mx 3' RACE product / *EcoR* I; 3, 3'RACE PCR product; M<sub>2</sub>, 200bp DNA markers.

## 2.4 鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 序列

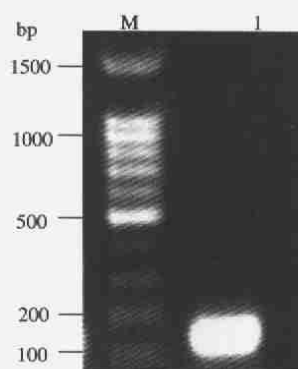


图3 5'RACE PCR 扩增产物电泳图

Fig.3 Agrose gel electrophoresis of PCR products of 5'RACE M, 100bp DNA markers; 1, 5'RACE PCR product.

经过 RT-PCR、5' RACE、3' RACE 扩增, 获得鳊鱼 Mx 蛋白全长 cDNA 序列 (图 4), 该序列含有 2391bp, 包含了起始密码子 ATG 和终止密码子 TAG, 以及 AATAAA 的 PolyA 信号, 其中编码区长 1881bp, 编码 627 个氨基酸残基, 推测蛋白质分子量为 7.15kD。该序列具有脊椎动物 Mx 蛋白共有的结构特征: 一个三联体 GTP 结合区域 (GXXXSGKS/T、DXXG、T/NKXD); 一个发动蛋白家族的典型结构特征序列 (LPRGS/KGIVTR); 以及 C 端高度保守的 Leu 拉链结构域。该序列已登录 GenBank 数据库, 登录号为 AY392097。

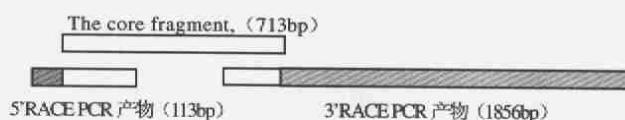


图4 扩增的鳊鱼 Mx 蛋白 cDNA 片段模式图

Fig.4 The map of three amplified mandarinfish Mx cDNA fragments

## 2.5 鳊鱼与其它鱼类 Mx 蛋白的氨基酸序列比较

将鳊鱼 Mx 蛋白与目前已知的鱼类 Mx 蛋白进行氨基酸序列同源性比较 (表 1), 结果表明它们的同源性在 49.9%~82.0% 之间, 其中与斑马鱼 Mx<sub>E</sub> 和鲫鱼 Mx 同源性较差, 分别只有 50.5% 和 49.9%; 而与褐牙鲈 Mx 的同源性最高, 达 82.0%。本实验室已报道的草鱼 Mx 蛋白基因 (722bp)<sup>[21]</sup> 与鳊鱼 Mx 蛋白相应片段 (核心片段) 的氨基酸序列同源性为 69.2%。

## 3 讨论

经过鱼类 Mx 蛋白氨基酸序列比较 (表 1) 表

明: 鱼类 Mx 蛋白在氨基酸水平的同源性平均在 75% 左右, 是一种比较保守的蛋白, 尤其是在蛋白的两个功能区域 (N 端的调节区域和 C 端的效应区域) 保守性较高: 已知鱼类 Mx 蛋白的 GTP 结合位

点序列完全相同, 发动蛋白家族特征序列仅有一个氨基酸残基不同; 而亮氨酸拉链结构也只有两个氨基酸残基存在差异。

表 1 鱼类 Mx 蛋白氨基酸序列的同源性比较 (%)  
Table 1 Comparison of Mx amino acid sequences of several fish species (%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1.Mandarin Mx													
2.Rainbow t.Mx1	81.8												
3.Rainbow t.Mx2	79.1	86.5											
4.Rainbow t.Mx3	81.4	96.2	86.3										
5.Atlantic s.Mx1	81.5	95.8	86.5	97.9									
6.Atlantic s.Mx2	81.1	95.2	85.8	97.3	99.4								
7.Atlantic s.Mx3	81.8	96.3	86.5	95.8	97.1	96.5							
8.Zebrafish Mx	68.0	69.5	68.5	70.1	70.1	69.7	69.7						
9.Zebrafish MxE	50.5	50.9	49.6	50.6	50.8	50.6	50.6	47.7					
10.Atlantic h.Mx	79.1	76.4	73.1	76.4	76.4	76.1	76.7	65.2	50.3				
11.Goldfish Mx3	49.9	51.2	50.8	51.6	51.5	51.3	51.2	47.3	80.3	50.1			
12.Fugu Mx	77.5	76.3	73.3	76.2	76.9	75.8	76.6	66.9	50.6	73.2	48.8		
13.J.flounder Mx	82.0	77.8	74.4	77.7	77.7	77.4	78.0	65.3	49.7	88.6	50.1	76.4	
14.C.catfish Mx	72.2	74.2	72.5	75.3	75.3	74.6	75.6	68.6	49.1	70.1	48.5	70.7	70.1

1, Mandarinfish (*Siniperca chuatsi*); 2&3&4, Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); 5&6&7, Atlantic salmon (*Salmo salar*) 8&9; Zebrafish (*Danio rerio*); 10, Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*); 11, Goldfish (*Carassius auratus*); 12, Fugu rubripes (*Takifugu rubripes*); 13, Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*); 14, Channel catfish (*Ictalurus punctatus*).

在鱼类 Mx 蛋白基因研究中, 有的鱼类发现有不同的 Mx 蛋白。如虹鳟和大西洋鲑都有 Mx1、Mx2、Mx3。通过比较发现, 虹鳟和大西洋鲑的 Mx 基因之间有较高同源性: 虹鳟 Mx1 在氨基酸水平与虹鳟 Mx2、虹鳟 Mx3 的同源性分别为 86.5%、96.2%<sup>[13]</sup>; 大西洋鲑 Mx1 和大西洋鲑 Mx2 只有 4 个氨基酸的差异, 同源性高达 99.4%, 可能是同一个位点上的两个等位基因, 大西洋鲑 Mx1 与大西洋鲑 Mx3 有 17 个氨基酸不同, 大西洋鲑 Mx3 可能代表另一个基因位点, 但是虹鳟和大西洋鲑都是四倍化的鱼类, 鱼体内存在多种 Mx 蛋白是否是由于它们的染色体组加倍现象<sup>[16]</sup>, 还有待进一步的研究证明; 不过在斑马鱼上也发现有 Mx 和 MxE 两种类型, 但令人意外的是, 它们两者之间的同源性却很低, 只有 47.7%, 不可能是一对等位基因。我们将已知鱼类 Mx 蛋白氨基酸序列进行同源性比较, 发现斑马鱼 MxE 与鲫鱼 Mx3 的同源性却很高, 达 80.3%, 而且从表 1 阴影部分可以看出这两种 Mx 蛋白 (斑马鱼 MxE、鲫鱼 Mx3) 的比较结果明显低于其它 12 种 Mx 蛋白, 其结果甚至还没有哺乳动物与其它 12 种鱼类 Mx 的同源性高, 如鳊鱼 Mx 蛋白与斑马鱼 MxE、鲫鱼 Mx3 的同源性分别为 50.5%、49.9%, 而与人 MxA、小鼠 Mx2、Mx3 的同源性为 52.3%、51.6%、51.4%, 均略高于其与斑马鱼 MxE、鲫鱼

Mx3 的同源性。

那么, 是否别的鱼类也存在这种现象? 本研究也试图用 Southern 杂交、PCR 检测等方法寻找鳊鱼是否存在其它类型的 Mx 蛋白, 结果没有找到; Jong-Young Lee 等 (2000) 在褐牙鲈白血球 cDNA 文库中用 DNA-DNA 杂交印迹只发现一种褐牙鲈 Mx 蛋白<sup>[17]</sup>; Wai Ho Yap 等 (2003) 也曾用 Southern 杂交及登陆鲑染色体组数据库对比查询的方法来证实红鳍东方鲀是否存在不同类型的 Mx 蛋白, 结果也只发现一种 Mx 蛋白<sup>[18]</sup>。在本研究中, 获得鳊鱼 Mx 蛋白全长 cDNA 序列前, 分别获得了三个序列片段 (核心片段序列、5' RACE 序列、3' RACE 序列), 三个片段间存在相互重叠的区域, 如果鳊鱼存在多种 Mx 蛋白基因, 则它们的序列在此重叠区域会存在差异, 然而测序结果表明, 除了引物处的序列, 重叠区域的序列是完全相同的; 进一步分析其它存在多种类型 Mx 蛋白的鱼类, 如虹鳟、大西洋鲑, 结果发现该重叠区域的碱基序列都存在一定的差异; 这表明本研究获得的碱基序列来自同一鳊鱼 Mx 蛋白基因。

目前, 我们已获得了鳊鱼 Mx 蛋白的完整开放阅读框 (ORF) 克隆, 并将其插入表达载体, 用于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。

## 参考文献

- [1] 张义兵, 桂建芳. 干扰素诱导的鱼类 Mx 蛋白[J]. 中国病学, 2001, 16(4):291-298.
- [2] Staeheli P, Haller O, Boll W, *et al.* Mx protein: constitutive expression in 3T3 cells transformed with cloned Mx cDNA confers selective resistance to influenza virus [J]. Cell, 1986, 44: 147-158.
- [3] Thimme R, Frese M, Kochs G, *et al.* Mx1 but not MxA confers resistance against tick-borne Dhori virus in mice[J]. Virology, 1995, 211: 296-301.
- [4] Haller O, Frese M, Rost D, *et al.* Tick-borne Thogoto virus infection in mice is inhibited by the orthomyxovirus resistance gene produce Mx1[J]. J Virol, 1995, 69: 2596-2601.
- [5] Pavlovic J, Zurcher T, Haller O, *et al.* P, Resistance to influenza virus and vesicular stomatitis virus conferred by expression of human MxA protein[J]. J Virol. 1990, 64: 3370-3375.
- [6] Meier E, Kunz G, Haller O, *et al.* H. Activity of rat Mx protein against a rhabdovirus[J]. J Virol. 1990, 64: 6263-6269.
- [7] Zurcher T, Pavlovic J, Staeheli P. Mechanism of human MxA protein action: Variants with changed antiviral properties[J]. EMBO J, 1992, 11: 1657-1661.
- [8] Zurcher T, Pavlovic J, Staeheli P. Mouse Mx2 protein inhibits vesicular stomatitis virus but not influenza virus[J]. Virology, 1992, 187: 796-800.
- [9] Schneider-Schaulies S, Schuster A, Schneider-Schaulies J, *et al.* Cell type-specific MxA-mediated inhibition of measles virus transcription in human brain cells[J]. J Virol. 1994, 68: 6910-6917.
- [10] Frese M, Kochs G, Feldmann H, Hertkorn C, *et al.* Inhibition of bunyaviruses, phleboviruses, and hantaviruses by human MxA protein[J]. J Virol, 1996, 70: 915-923.
- [11] 贡海蓉, 徐 仑, 杨吉成, 等. 腺病毒 3 型诱导 MxA 蛋白产生及其抗病毒作用的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2002, 18: 536-538.
- [12] Ko J H, Jin H K, Asano A, *et al.* Polymorphisms and the differential antiviral activity of the chicken Mx gene[J]. Genome Res, 2002, 12(4): 595 - 601.
- [13] 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: 5304-5311.
- [14] Nygaard R, Husgard S, Sommer AI, *et al.* Induction of Mx protein by interferon and double-stranded RNA in salmonid cells [J]. Fish Shellfish Immunol, 2000, 10: 435-450.
- [15] Trobridge G D, Leong J C. Characterization of a rainbow trout Mx gene[J]. J Interferon Cytokine Res, 1995, 15: 691-702.
- [16] 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.
- [17] Lee J Y, Hirono I, Aoki T. Cloning and analysis of expression of Mx 048-7054.cDNA in Japanese flounder, *paralichthys olivaceus* [J]. Dev Comp Immunol, 2000, 24(4): 407-415.
- [18] Yap W H, Brenner S, Venkatesh B. Molecular cloning of the puff-erfish (*Takifugu rubripes*) Mx gene and functional characterization of its promoter[J]. Immunogenetics, 2003, 54: 705-713.
- [19] 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.
- [20] 张义兵, 张奇亚, 徐德全, 等. 从灭活病毒诱导的培养细胞中鉴定鱼类抗病毒相关基因[J]. 科学通报, 2003, 48(5): 457-463.
- [21] 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.
- [22] 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]. J Virol, 2003, 77(3): 1992-2002.
- [23] Chaleston B, Stewart H j. An interferon-induced Mx protein:cDNA equence and high level expression in the endometrium of pregnant sheep[J]. Gene, 1993, 137: 321-327.
- [24] Carol H K, Marc C J, John D D, *et al.* DNA vaccines encoding viral glycoproteins induce nonspecific immunity and Mx protein synthesis in fish[J]. J Virol, 2000, 74(15): 7048-7054.