

条纹斑竹鲨 *IRF-1* 基因的克隆和特征分析

甘小妮^{1,2} 陈新文¹

(1. 中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

CLONING AND CHARACTER ANALYSES OF *IRF-1* GENE OF *CHILOSCYLLIUM PLAGIOSUM*

GAN Xiao-Ni^{1,2} and CHEN Xin-Wen¹

(1. Institute of Wuhan Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;
2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词: *IRF-1*; 条纹斑竹鲨; 克隆; 特征分析

Key words: *IRF-1*; *Chiloscyllium plagiosum*; Cloning; Character analyses

中图分类号: Q781 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2011)01-0194-03

鱼类中 *IRF-1* 基因的克隆测序目前仅局限于辐鳍鱼类^[1,2], 而在软骨鱼类中未见报道。*IRF-1* 是干扰素调节因子家族的成员之一^[3]。除作为干扰素的转录调节因子外^[4], 还具有其他功能^[5-10]。作为天然免疫重要的调节因子其基因在哺乳类中得到了广泛的克隆和分析。*IRF-1* 与其他家族成员一样, 在氨基末端前115个氨基酸都具较高同源性, 具有色氨酸重复特征且包围在 DNA 结合域周围。而在蛋白质羧基末端区域的序列更具多变性。除 *IRF-1* 和 *IRF-2* 以外, 所有干扰素家族成员都有 *IRF* 结合域(IAD), 有赖于此家族成员或转录因子与其他因子之间相互作用。然而 *IRF-1* 和 *IRF-2* 包含了不同的结合域(IAD2), IAD2 主要与 *IRF-8* 发生相互作用^[11,12]。比较进化不同阶段特别是原始物种的 *IRF-1* 基因序列有助于我们了解其进化过程。板鳃类即软骨鱼类是脊椎动物进化过程中的重要环节。为了解低等脊椎动物中 *IRF* 基因的结构和特征, 我们通过简并引物扩增 *IRF-1* 基因的保守片段, 然后 RACE 克隆测序获得条纹斑竹鲨 *IRF-1* 基因的全长。目前鱼类中的 *IRF* 家族基因测序仅在硬骨鱼中有零星报道, 且局限于少数种类, 例如仅在鳊鱼中的 *IRF-1*, 乌鳢中的 *IRF-1*、*IRF-2*

和 *IRF-7*, 河豚^[13](*Fugu rubripes*) 和日本鳎鱼^[14](*Paralichthys olivaceus*)中的 *IRF-1*, 鲫鱼的 *IRF-7* 的相似序列^[15]被克隆测序。然而鱼类中 *IRFs* 方面的知识与哺乳动物的相比还非常有限。该研究首次报道了软骨鱼类中 *IRF-1* 基因序列, 填补了软骨鱼类中 *IRF* 基因研究的空白。

1 材料与方法

1.1 标本采集和鉴定

条纹斑竹鲨的标本购自武汉水产市场, 标本的鉴定在中国科学院水生生物研究所水生生物博物馆进行。

1.2 总 RNA 提取和 RACE 克隆测序

条纹斑竹鲨总 RNA 从肾、脾、肝、肠、鳃组织中提取。使用 Trizol 试剂盒(Invitrogen, USA)。第一链 cDNA 合成使用逆转录 M-MLV 试剂盒(Invitrogen, USA)。*IRF-2* 基因 cDNA 序列保守区简并引物的设计是在比对所有已知 *IRF-1* 基因 cDNA 序列后完成的。正向引物: (5'-CARATHCCNTGGATGCAYGC-3'); 反向引物: (5'-GCYTTCCAKGTYTTNGGRTC-3')。PCR 反应的总体积为 50 μ L, 其中含 100 ng cDNA, 10 $\times$ 缓冲液 5 μ L (Ta-

收稿日期: 2009-05-19; 修订日期: 2010-01-02

基金项目: 国家 973 计划(HCV2009CB522500)资助

作者简介: 甘小妮(1964—), 女, 四川人; 在读博士; 主要从事分子生物学方面研究。E-mail: ganxn@ihb.ac.cn

通讯作者: 陈新文, E-mail: chenxw@whiov.ac.cn

参考文献:

- [1] Sun B, Chang M, Chen D, *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
- [2] Jia W, Guo Q. Gene structures and promoter characteristics of interferon regulatory factor 1 (IRF-1), IRF-2 and IRF-7 from snakehead *Channa argus* [J]. *Molecular Immunology*, 2008, **45**: 1419—1428
- [3] Mamane Y, Heylbroeck C, Genin P, *et al.* Interferon regulatory factors: the next generation [J]. *Gene*, 1999, **237**: 1—14
- [4] Barnes B, Lubyova B, Pitha P M. On the role of IRF in host defense [J]. *Journal of Interferon Cytokine Research*, 2002, **22**: 59—71
- [5] Vaughan P S, Azia F, Van Wijnen A J, *et al.* Activation of a cell cycle regulated histone gene by the oncogenic transcription factor IRF-2 [J]. *Nature*, 1995, **377**: 362—365
- [6] Luo W, Skalnik D G. Interferon regulatory factor-2 directs transcription from the gp91phox promoter [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, **271**: 23445—23451
- [7] Jesse T L, LaChance R, Iademarco M F, *et al.* Interferon regulatory factor-2 is a transcriptional activator in muscle where it regulates expression of vascular cell adhesion molecular [J]. *Journal of Cell Biology*, 1998, **140**: 1265—1276
- [8] Xi H, Blanck G. The IRF-2 DNA binding domain facilitates the activation of the class II transactivator (CII TA) type IV promoter by IRF-1 [J]. *Molecular Immunology*, 2003, **39**: 677—684
- [9] Oshima S, Nakamura T, Mamiki S, *et al.* Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) and IRF-2 distinctively up-regulate gene expression and production of interleukin-7 in human intestinal epithelial cells [J]. *Molecular Cell Biology*, 2004, **24**: 6298—6310
- [10] Cha Y, Deisseroth A B. Human Interferon Regulatory Factor 2 Gene [J]. *Journal of Biology Chemistry*, 1994, **268**: 5279—5287
- [11] Schaper F, Kirchhoff S, Posern G, *et al.* Functional domains of interferon regulatory factor 1 (IRF-1) [J]. *Biochemistry Journal*, 1998, **335**: 147—157
- [12] Meraro D, Hashmueli S, Koren B, *et al.* Protein-protein and DNA-protein interactions affect the activity of lymphoid-specific IFN regulatory factor [J]. *Journal of Immunology*, 1999, **162**: 6468—6478
- [13] Yabu T, Hirose H, Hirono I, *et al.* Molecular cloning of a novel interferon regulatory factor in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Molecular Marine Biological Biotechnology*, 1998, **7**: 138—144
- [14] Richardson M P, Tay B H, Goh B Y, *et al.* Molecular cloning and genomic structure of a gene encoding interferon regulatory factor in the pufferfish (*Fugu rubripes*) [J]. *Marine Biotechnology* (NY), 2001, **3**: 145—151
- [15] Shi Y, Zhao Z, Zhang Y B, *et al.* Preliminary investigation on crucian carp interferon regulatory factor 1 role in fish interferon system [J]. *Acata Hydrobiologica Sinica*, 2008, **32**(4): 509—514 [史燕, 赵哲, 张义兵, 等. 鲫鱼干扰素调节因子 1 功能初步研究. 水生生物学报, 2008, **32**(4): 509—514]
- [16] Zhang Y B, Hu C Y, Zhang J, *et al.* Molecular cloning and characterization of crucian carp (*Carassius auratus* L.) interferon regulatory factor 7 [J]. *Fish Shellfish Immunology*, 2003, **15**: 453—466
- [17] Wang Z P, Zhang S C. Maternal transfer and protective roles of immune-relevant factors in fish [J]. *Acata Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(2): 426—430 [王志平, 张士瑾. 鱼类免疫因子的母体传递及其对子代的保护作用. 水生生物学报, 2010, **34**(2): 426—430]