

翟文娅,李博,王济秀,等. 团头鲂SOCS家族基因的分子特征及其对嗜水气单胞菌胁迫的响应[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(6): 222-229.  
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.06.026

## 团头鲂SOCS家族基因的分子特征及其对嗜水气单胞菌胁迫的响应

翟文娅,李博,王济秀,王焕岭,刘红

华中农业大学水产学院/农业农村部淡水生物繁育重点实验室/  
长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心,武汉 430070

**摘要** 为探究团头鲂细胞因子信号转导抑制因子(suppressor of cytokine signaling, SOCS)家族基因的序列特征和功能,从NCBI数据库获取 *socs1*、*socs2*、*socs3a*、*socs3b*、*socs4*、*socs5a*、*socs5b*、*socs6*、*socs7*、*socs9* 共10个 *socs* 基因的cDNA序列,利用ExPASy、SMART等在线网站对其进行生物信息学分析,预测团头鲂10个SOCS的理论分子质量、理论等电点与结构域等分子特性。系统进化(MEGA 6软件)分析结果显示,10个SOCS可分为2个亚族: I型亚族包括SOCS4、SOCS5a、SOCS5b、SOCS6、SOCS7与SOCS9, II型亚族包括SOCS1、SOCS2、SOCS3a与SOCS3b。半定量PCR结果显示,健康团头鲂10个 *socs* 基因在被检测组织中具有明显的组织特异性, *socs1*、*socs2*、*socs3* 在多个组织中表达量较高。在嗜水气单胞菌感染后,采用实时定量PCR检测团头鲂 *socs* 基因在脾脏、体肾、头肾中的表达量,其中 *socs1*、*socs2*、*socs3a*、*socs3b* 表达量均显著上调。结果表明,团头鲂SOCS家族基因的表达模式各不相同,预示其功能的多样性,其中 *socs1*、*socs2*、*socs3* 在免疫应答中发挥重要作用。

**关键词** 团头鲂; 嗜水气单胞菌; *socs* 基因; 细菌性败血症; 抗细菌感染; 免疫应答

**中图分类号** Q959.46<sup>+</sup>8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)06-0222-08

细胞因子信号转导抑制因子(suppressor of cytokine signaling, SOCS)家族成员是重要的细胞因子受体信号反馈抑制因子<sup>[1]</sup>,可以通过对细胞因子诱导的信号通路进行负调控从而防止过多的信号干扰免疫系统发育及其功能调控<sup>[2]</sup>。细胞因子诱导的含SH2结构域蛋白(cytokine-inducible SRC homology 2 domain protein, CISH)在1995年被发现,它是SOCS家族中第一个被发现的成员<sup>[3]</sup>;随后在1997年,人们发现了SOCS1<sup>[4]</sup>;至今,人们在哺乳动物中共发现了8个SOCS家族成员,分别为SOCS1~SOCS7与CISH<sup>[5]</sup>;在鱼类中,还发现了SOCS3b、SOCS5b、SOCS8以及SOCS9<sup>[6-7]</sup>等鱼类特有的成员。

目前,在哺乳动物中对SOCS家族基因功能已有深入研究,已有大量研究探究了SOCS家族基因的主要功能<sup>[8-10]</sup>。但是在鱼类中,有关SOCS家族基因的研究有限,目前仅在半滑舌鲷(*Cynoglossus semi-*

*laevis*)<sup>[11]</sup>、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)<sup>[12]</sup>、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[13]</sup>等部分水产动物中验证了其在免疫应答方面发挥着至关重要的作用。

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)属鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲂亚科(Culterinae)、鲂属(*Megalobrama*),因其具有肉质较嫩、个体规格适于中国家庭消费、生长速度较快、易于养殖且养殖成本不高等优点而备受广大养殖户的青睐。但是近年来,不合理的养殖结构和布局及滥用药物等,严重阻碍了其养殖业的持续健康发展。其中由嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)引发的细菌性败血症每年都会导致大量的团头鲂死亡,造成巨大经济损失。团头鲂抗嗜水气单胞菌感染的相关基因的研究已有很多<sup>[14-16]</sup>,本研究一方面通过对团头鲂SOCS家族基因进行生物信息学分析来确定其分子特征;另一方面探究SOCS家族基因在健康团头鲂

收稿日期: 2022-05-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972781); 现代农业产业技术体系国家大宗淡水鱼产业技术体系建设专项(CARS-45-01)

翟文娅, E-mail: 2021809400@qq.com

通信作者: 刘红, E-mail: liuhong59@mail.hzau.edu.cn

各组织与嗜水气单胞菌感染后的表达模式,旨在为进一步探究团头鲂 SOCS 家族在抵抗嗜水气单胞菌感染中发挥的免疫功能提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所用团头鲂均采集于湖北省洪湖市洪湖水产鱼种养殖场,幼鱼体质量为(50±10)g,成鱼体质量为(500±20)g。将试验鱼转移到华中农业大学水产学院实验基地中暂养,水温为25~28℃,24h不间断充氧,早晚各换水1次,换水量为总体积的1/4,暂养14d后开始试验。

### 1.2 团头鲂 SOCS 的生物信息学分析

首先检索NCBI数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov)获得团头鲂 *socs1*、*socs3a*、*socs3b* 基因(GenBank 登录号:MK101316.1, MH107241.1, MH107242.1)与斑马鱼(*Danio rerio*) *socs2*、*socs4*、*socs5a*、*socs5b*、*socs6*、*socs7*、*socs9* 基因(登录号:NM\_001114550.1, NM\_001111225.1, NM\_001113758.2, NM\_001113797.1, EF195764.1, NM\_001287077.1, NM\_001113801.1)的cDNA序列,并利用斑马鱼 *socs* 基因的cDNA序列通过本地 Blast 从团头鲂转录组(登录号:PRJ-NA716731)中获取对应的团头鲂序列。

通过 ORF Finder (www.ncbi.nlm.nih.gov/orf-finder) 预测10个团头鲂 *socs* 基因的ORF及氨基酸序列;利用 ExPASy (http://web.expasy.org/compute\_pi/) 预测其蛋白质的理论分子质量(MWs)与理论等电点(pI);使用 SMART (http://smart.embl.de/) 预测其蛋白质结构域,并使用 IBS 1.0.3 进行绘图;从 GenBank 数据库获取斑马鱼、青鳉(*Oryzias latipes*)、小鼠(*Mus musculus*)和人(*Homo sapiens*)等脊椎动物物种已有的SOCS蛋白序列,利用 MEGA 6 使用邻接法(Neighbour-Joining, NJ法)构建进化树。

### 1.3 试验样品采集

为了确定团头鲂 *socs* 基因的组织表达模式,分别取3尾健康团头鲂成鱼的心脏、肝脏、脾脏、体肾、头肾、脑、血液、肠道、肌肉和鳃10个组织(器官)。

为了探究嗜水气单胞菌感染后团头鲂 *socs* 基因的组织表达模式,以团头鲂幼鱼为试验对象,随机设置对照组与感染组2个处理组,每一处理设置3个生物学重复(每个生物学重复取3尾鱼)。感染试验中,对感染组团头鲂每尾腹腔注射0.1 mL浓度为 $6.7 \times 10^6$  CFU/mL的嗜水气单胞菌,对照组腹腔注射等量

PBS缓冲液。在注射后的0、4、12、24、72 h分别采集感染组和对照组的脾脏、体肾和头肾组织<sup>[17]</sup>。

上述样品快速分离后置于液氮中,冻存24 h后转入-80℃冰箱中保存备用。

### 1.4 总RNA的提取及cDNA合成

组织总RNA提取采用 Trizol 法,具体步骤参照 Trizol 试剂(Invitrogen)说明书。提取的RNA浓度通过紫外分光光度计(Nanodrop 2000,美国)进行测定, RNA的完整性与纯度通过琼脂糖凝胶电泳法测定。使用 PrimeScript™ RT reagent Kit (TaKaRa,日本)试剂盒按照说明书对提取的RNA进行反转录,将获得的cDNA保存于-20℃冰箱。

### 1.5 半定量PCR及荧光定量PCR(qRT-PCR)

通过半定量PCR方法检测 *socs* 基因在健康团头鲂不同组织的表达量。PCR反应体系为10.0 μL,包括cDNA模板1.0 μL、ddH<sub>2</sub>O 7.1 μL、10×Taq PCR Buffer 1.0 μL、上下游引物各0.3 μL、dNTP 0.15 μL、Taq DNA 酶0.15 μL。反应程序:94℃预变性5 min后,94℃变性30 s、58℃退火30 s、72℃延伸20 s,30个循环,最后72℃延伸5 min。扩增后,取5.5 μL PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

通过荧光定量PCR(qRT-PCR)评估团头鲂 SOCS 家族基因在嗜水气单胞菌刺激后脾脏、体肾与头肾中的表达。qRT-PCR反应总体体系为20.0 μL,包括SYBR混合试剂10.0 μL、ddH<sub>2</sub>O 7.4 μL、cDNA模板1.0 μL、上下游引物各0.8 μL。反应程序:95℃预变性5 min后,95℃变性10 s、60℃退火20 s、72℃延伸15 s,进行40个循环。

选择 18S rRNA 为内参基因,使用 primer premier 5.0 软件对团头鲂 *socs* 设计特异性上下游引物(表1),并由武汉擎科生物科技有限公司合成。

### 1.6 数据处理

基因的表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算,使用 SPSS Statistics 24.0 软件对数据进行分析,采用 Duncan's 进行多重比较,数值均采用“平均值±标准误”(mean ± SE)表示, $P < 0.05$ 为统计学差异显著, $P < 0.01$ 为统计学差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 团头鲂10个 *socs* 基因序列分析

通过本地 Blast 比对 NCBI 中获得的斑马鱼 SOCS 家族基因与检索 NCBI 中团头鲂 SOCS 家族基因,共获得 *socs1*、*socs2*、*socs3a*、*socs3b*、*socs4*、

表1 本研究用到的引物  
Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	用途 Usage
SOCS1-f	CGCTAAAACGACAGATGAACCT	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS1-r	GCCTTGATTCCCTTCCACTG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS2-F	CATTAGCACCCATTATCA	半定量PCR
SOCS2-R	TCAAGCCCAAACCTCAAGCA	半定量PCR
SOCS2-f	TCATTGTAGTCCACGCTGTT	qRT-PCR
SOCS2-r	GACAGCGTCGTCCATCTT	qRT-PCR
SOCS3a-f	GCTCAAGGTTTGTGCGTAG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS3a-r	TCCGAGTTCAACAGGTGG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS3b-f	CAAAGACGGACTGCTGAAGATAA	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS3b-r	TTGGCAAGAAGCAGTGGA	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS4-f	CTCTTCGCAACCACC	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS4-r	TGTGAGTGCCGTGTTT	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS5a-f	GTTTTCGAAAAAATGCTATCA	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS5a-r	GGGAAGAAATGCCAACGG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS5b-f	GTGGTGGTGCCTGGTGAG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS5b-r	ACTTGAGGCTGACAGGCGA	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS6-f	ACGAATCTTCCAGACGGTT	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS6-r	AACAGGATTGGTCAGTCTAACA	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS7-f	GCCTCCTCTTCATTCAACC	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS7-r	GCTCCCTCCGTATCCGTAG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS9-f	TTCGGGTTTGCTTCCAG	半定量PCR、qRT-PCR
SOCS9-r	CAGCATCGGATTCACACTCAA	半定量PCR、qRT-PCR
18S rRNA -f	TCGTCCACC GCAAATGCTTCTA	半定量PCR、qRT-PCR
18S rRNA-r	CCGTCACCTTACC GTTCCAGT	半定量PCR、qRT-PCR

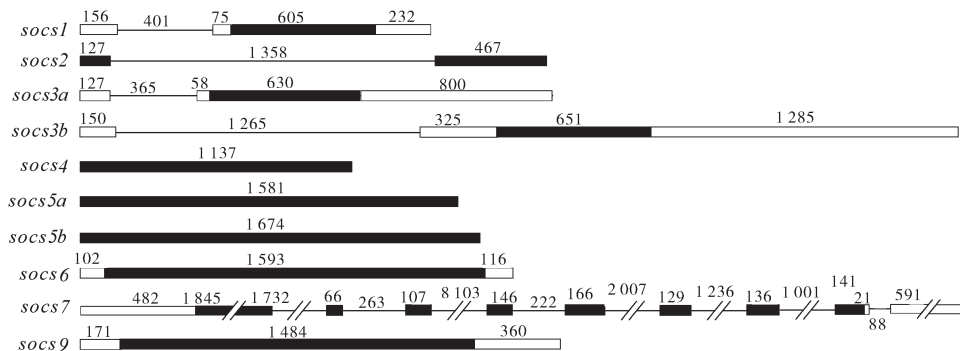
*socs5a*、*socs5b*、*socs6*、*socs7*、*socs9*共10个团头鲂 *socs* 基因序列,分别编码201、197、209、216、378、526、557、530、744、494个氨基酸,等电点(pI)分布在5.69~9.37,平均等电点为7.85,蛋白分子质量为22.3~80.97 ku,具体信息见表2。

预测团头鲂10个 *socs* 基因结构,结果如图1所示:团头鲂SOCS家族基因具有1~8个外显子,其

中大部分 *socs* 基因仅具有1个外显子,但 *socs7* 具有7个外显子。对其蛋白结构域进行预测,结果如图2所示,显示其均含有2个保守结构域,分别是SOCS BOX 特异性蛋白结构域与SH2中心结构域。

## 2.2 SOCS的系统进化分析

通过MEGA构建SOCS系统进化树,结果如图3



线条代表内含子,长方形代表外显子,黑色区域为ORF区。Lines represent introns, rectangles represent the exons, and black areas are ORF areas.

图1 团头鲂 *socs* 基因结构图  
Fig.1 Gene structure of *socs* in *M. amblycephala*

表 2 团头鲂 SOCS 家族基因特征  
Table 2 Features of SOCS family genes identified in *M. amblycephala*

基因名 Gene name	ORF 长度/bp ORF length	编码蛋白 Encoded protein		
		氨基酸长度 Amino acids	等电点 pI	分子量/kDa Molecular weight
<i>socs1</i>	606	201	9.37	23.04
<i>socs2</i>	594	197	8.39	22.31
<i>socs3a</i>	630	209	9.26	23.83
<i>socs3b</i>	651	216	7.76	23.79
<i>socs4</i>	1 137	378	8.85	43.23
<i>socs5a</i>	1 581	526	7.34	58.45
<i>socs5b</i>	1 674	557	8.71	62.10
<i>socs6</i>	1 593	530	5.69	59.24
<i>socs7</i>	2 235	744	6.33	80.97
<i>socs9</i>	1 485	494	6.75	55.34

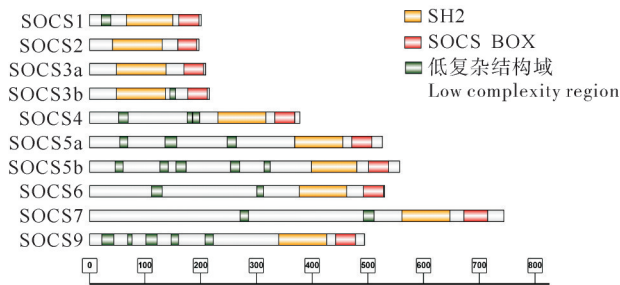


图 2 团头鲂 SOCS 家族蛋白结构域

Fig.2 Protein domains of SOCS family in *M. amblycephala*

所示。团头鲂与草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)、斑马鱼亲缘关系较近,然后与其他硬骨鱼类聚为一支,与哺乳动物亲缘关系较远,这与传统形态学上的物种分类地位一致。进化树分为 2 个主要分支:一支 (I 型) 包括 SOCS4、SOCS5a、SOCS5b、SOCS6、SOCS7 与 SOCS9,另一支 (II 型) 包括 SOCS1、SOCS2、SOCS3a 与 SOCS3b。

### 2.3 SOCS 家族基因在健康团头鲂组织中的表达

半定量 PCR 结果 (图 4) 显示在健康团头鲂成鱼中, *socs1* 基因在脑组织中的表达量最高,其次在血液和心脏表达量较高,在肠、体肾、脾脏、头肾组织中也有不同程度表达,在其余组织的表达量较低或未表达; *socs2* 基因在体肾与血液中的表达量最高,其次为心脏、鳃、肝脏、脾脏与肠; *socs3a* 基因在脑中的表达量最高,其次为血液和脾脏,在肝脏和体肾中也有一定程度的表达; *socs3b*、*socs4*、*socs5a*、*socs5b* 基因在团头鲂各组织中表达量均不高; *socs6* 与 *socs7* 在脾脏、体肾、头肾、脑与血液中表达量均较高; *socs9* 在脾脏

中表达量最高,其次为心脏,在除肌肉与鳃以外的组织中也有一定量的表达。总体而言,10 个团头鲂 *socs* 基因在体表组织 (鳃、肠) 表达量较低,在脾脏、体肾、脑与血液中表达量较高; 团头鲂 *socs1*、*socs2*、*socs3a*、*socs6*、*socs7* 与 *socs9* 表达量相对其他 4 个基因较高。

### 2.4 嗜水气单胞菌感染后 SOCS 家族基因的表达

通过 qRT-PCR 结果可知,嗜水气单胞菌感染后,团头鲂脾脏中 *sosc5a*、*sosc5b*、*sosc6*、*sosc9* 表达量无明显差异, *sosc1*、*sosc3a*、*sosc3b* 表达量在嗜水气单胞菌感染后呈现先上升后下降的趋势,且均在 12 h 达到峰值; *sosc2*、*sosc7* 表达量在嗜水气单胞菌感染后 4 h 均出现显著下调, *sosc2* 表达量在 12 h 出现短暂回升并于感染后 24 h 再次显著下调, *sosc7* 表达量则是在 24 h 出现上调表达后于 72 h 恢复至初始水平; *sosc4* 表达量在嗜水气单胞菌感染后先显著下调后逐渐回升至初始水平 (图 5A)。

嗜水气单胞菌感染后,团头鲂体肾中 *sosc4*、*sosc5b*、*sosc9* 表达量无明显差异, *sosc1*、*sosc3a*、*sosc3b* 表达量变化趋势与脾脏中一致,其中 *sosc1* 与 *sosc3a* 在感染后 12 h 达到峰值, *sosc3b* 在感染后 24 h 达到峰值; *sosc6*、*sosc7* 表达量呈现先上升后下降的趋势; *sosc2* 在 4 h 表达显著上调,在 12 h 出现短暂回落并于感染后 24 h 再次显著上调,在 72 h 恢复至初始水平; *sosc5a* 表达量在在嗜水气单胞菌感染后出现下调,24 h 出现短暂轻微上调后再次下调 (图 5B)。

嗜水气单胞菌感染后,团头鲂头肾中 *sosc2*、*sosc5a* 表达量无明显差异, *sosc1*、*sosc3a*、*sosc3b*、*sosc6* 表达量仍呈现先上升后下降的趋势,均在感染后 12 h 时达到峰值; *sosc4*、*sosc5b*、*sosc9*、*sosc7* 表达量在嗜水气单胞菌感染后出现下调现象,其中 *sosc4* 在感染后 24 h 出现短暂回升但未恢复至初始水平,72 h 再次出现下调趋势; *sosc7* 在短暂下调后 24 h 出现回升,72 h 后恢复至初始水平 (图 5C)。

## 3 讨论

细胞因子具有多效性,它在免疫调节、细胞增殖以及受损组织修复等多个过程中发挥着重要作用<sup>[18]</sup>。SOCS 蛋白可通过多种机制减弱细胞因子信号转导,对细胞因子发挥负调控作用<sup>[13]</sup>。已有研究发现,SH2 中心结构域可与 N 区协同,通过结合特定细胞因子受体识别目标蛋白,从而调节细胞因子信号转导<sup>[19]</sup>,SOCS BOX 特异性蛋白结构域可以结合泛素蛋白对其降解。因此,在信号传递过程中,

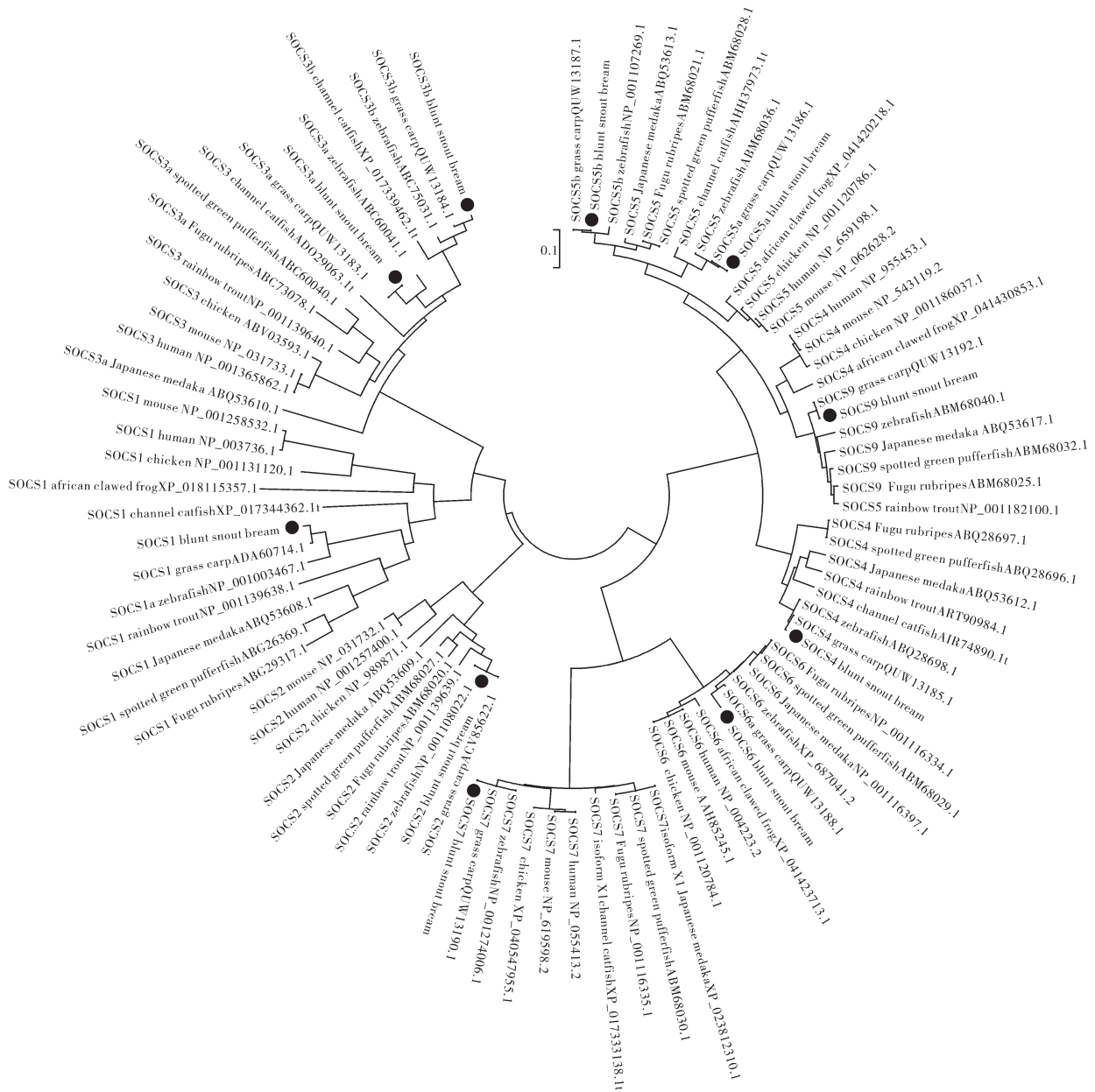


图3 脊椎动物 SOCS 系统进化树

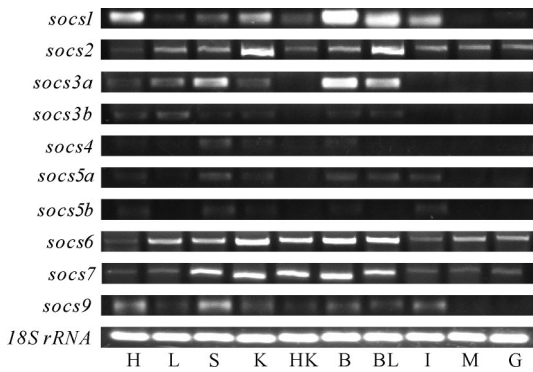
Fig.3 Phylogenetic analysis of SOCS in vertebrates

SOCS 蛋白主要是由 SH2 中心结构域特异性识别目标蛋白后通过 SOCS BOX 特异性蛋白结构域使其降解。此外,在草鱼、梭鱼(*Liza haematocheila*)等鱼类中,SOCS 家族基因蛋白具有高度保守的 SH2 中心结构域和 SOCS BOX 特异性蛋白结构域<sup>[20-21]</sup>,本研究中的团头鲂 SOCS 蛋白均含有这 2 个特征蛋白结构域,此结果与已有研究相同,表明这 10 个 SOCS 蛋白结构相对保守。

系统进化分析表明,10 个 SOCS 可分为 2 个亚族: I 型家族中包括 SOCS4、SOCS5a、SOCS5b、SOCS6、SOCS7 与 SOCS9, II 型家族包括 SOCS1、

SOCS2、SOCS3a 与 SOCS3b,这与梭鱼等物种中已有研究结果一致<sup>[21-22]</sup>。在果蝇中只存在 I 型亚族的类似基因<sup>[23]</sup>,因此可推测在进化过程中,II 型亚族成员可能是由 I 型亚族成员基因复制产生,硬骨鱼类中特有的几种 *socs* 基因也表明类似的基因复制也发生在鱼类进化的过程中<sup>[18]</sup>。

健康团头鲂半定量 PCR 结果显示,*socs1* 和 *socs9* 在心脏中表达量较高;*socs3a*、*socs6* 与 *socs3b* 在肝脏中表达量较高,细胞因子在葡萄糖代谢、脂肪代谢以及蛋白质代谢过程中均有参与,那么 SOCS 作为细胞因子信号抑制蛋白的 1 种,在团头鲂重要代谢器官

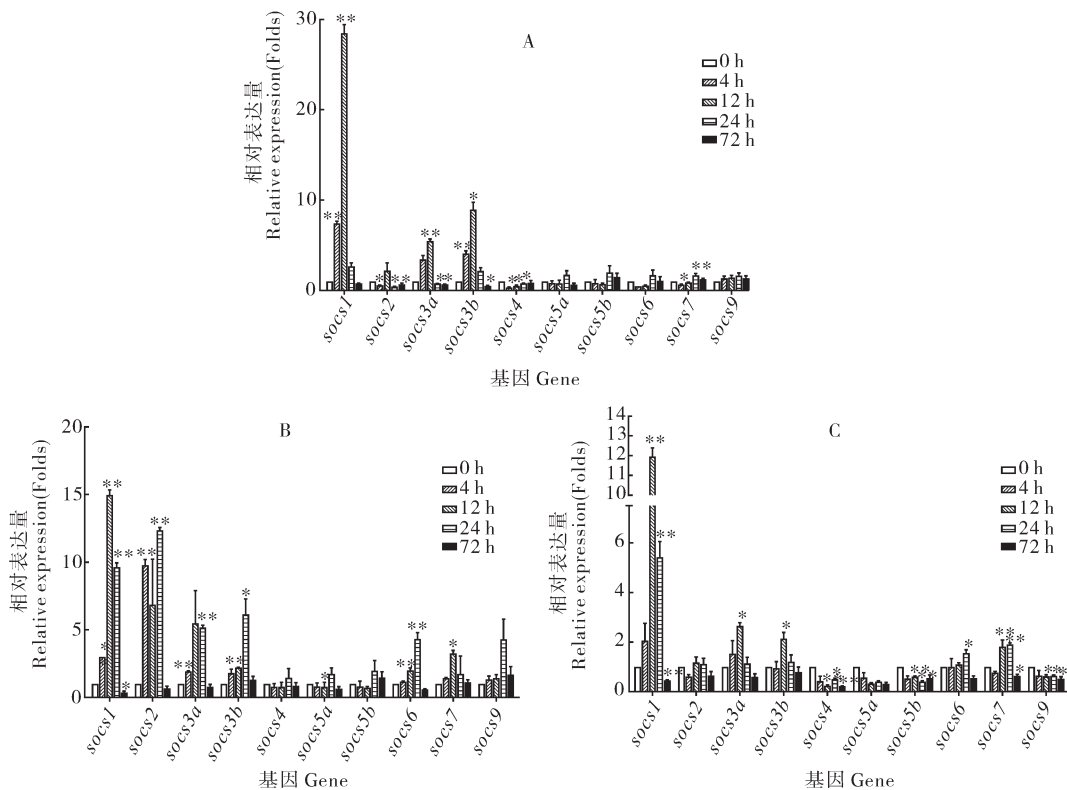


H: 心脏; L: 肝脏; S: 脾脏; K: 体肾; HK: 头肾; B: 脑; BL: 血液; I: 肠; M: 肌肉; G: 鳃。H: Heart; L: Liver; S: Spleen; K: Kidney; HK: Head-kidney; B: Brain; BL: Blood; I: Intestine; M: Muscle; G: Gill.

图4 SOCS家族基因在团头鲂不同组织中的表达

Fig.4 Expressions of 10 SOCS family genes in various tissues of *M. amblycephala*

肝脏中具有高表达可能与此有一定关系。脾脏与体肾是鱼体重要的免疫器官<sup>[24]</sup>, 在本研究中, *socs1*、*socs3a*与*socs9*在脾脏中表达量较高, *socs1*与*socs2*在体肾中表达量较高, 这表明其可能在免疫应答中发挥着重要作用。在脑中, *socs1*和*socs3a*高表达, 暗示其可能在血脑屏障的建立中起着一定作用<sup>[21]</sup>; *socs2*具有调节神经祖细胞分化的功能, 同时也可以影响神经元与中间神经元间的信息传递<sup>[25]</sup>, 符合其在脑中有一定表达量的研究结果; *socs7*基因缺失小鼠相较于野生型小鼠体质量轻, 同时约有50%的小鼠在出生后2周头盖骨会出现畸形, 大脑皮层变薄并最终死亡<sup>[10]</sup>, 这意味着它在大脑发育过程中发挥着不可或缺的作用, 与其在脑中高表达结果相一致。



差异通过单因素方差分析(ANOVA)确定。18s为内参基因。“\*”表示差异显著( $P < 0.05$ ), “\*\*”表示差异极显著( $P < 0.01$ )。The difference was determined by ANOVA. 18S is the internal reference gene. “\*” means significant difference ( $P < 0.05$ ), while “\*\*” means extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

图5 嗜水气单胞菌感染后SOCS家族基因在团头鲂脾脏(A)、体肾(B)和头肾(C)中的表达量

Fig.5 Relative expression of SOCS family gene in spleen (A), kidney (B) and head kidney (C) of *M. amblycephala* after infection by *Aeromonas hydrophila*

在鱼类中, Poly(I:C)、LPS和细菌已被证明能够影响*socs*基因的表达<sup>[26-27]</sup>。本研究中, 团头鲂在嗜

水气单胞菌感染后的4 h内, 部分*socs*基因出现差异表达现象, 表明在急性反应期间SOCS家族基因会

发挥一定作用。在嗜水气单胞菌感染后, *socs2* 在头肾中无显著性变化, 在脾脏中显著下调, 而在体肾中显著上调, 推测这与 *socs2* 在不同组织中发挥作用不同有关; *socs1*、*socs3a* 与 *socs3b* 在团头鲂头肾、脾脏、体肾中的总体变化趋势相同, 均为显著上调。据报道, 溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 感染卵形鲳鲅 (*Trachinotus ovatus*) 后在 3 个免疫组织 (头肾、肝脏、脾脏) 中 *socs1*、*socs3* 的表达量均显著升高<sup>[13]</sup>; 爱德华氏菌 (*Edwardsiella ictaluri*) 感染 3 h 后, 斑点叉尾鲴肠道中 *socs1* 表达量显著上调; 迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染后, 半滑舌鳎肝脏、体肾与脾脏中 *socs1* 表达量在所检测时间点均出现显著上调<sup>[11]</sup>, 这些研究结果与本试验研究结果均表明 *socs1*、*socs3a* 与 *socs3b* 在细菌感染后机体免疫过程中发挥了重要功能。 *socs4* 在感染后表达量小幅度降低但仍有统计学差异, 这意味着其可能以低表达量协同参与调控过程。 *socs5a*、*socs5b* 表达量在感染前后几乎无显著差异, 这暗示了它们可能不参与机体免疫防御过程。 *socs6* 在头肾中表达量出现了显著上调, *socs7* 在 3 个组织中同样出现了显著上调, 这意味着其可能在抵抗嗜水气单胞菌感染过程中也发挥了一定的功能。

综上所述, 本研究初步探究了团头鲂 10 个 SOCS 分子特征, 分析了其在健康团头鲂中的组织分布及嗜水气单胞菌胁迫下的表达模式, 可为进一步研究团头鲂 SOCS 家族基因功能奠定基础。

## 参考文献 References

- [1] YASUKAWA H, SASAKI A, YOSHIMURA A. Negative regulation of cytokine signaling pathways [J]. Annual review of immunology, 2000, 18(10): 143-164.
- [2] FLETCHER T C, DIGIANDOMENICO A, HAWIGER J. Extended anti-inflammatory action of a degradation-resistant mutant of cell-penetrating suppressor of cytokine signaling 3 [J]. The Journal of biological chemistry, 2010, 285(24): 18727-18736.
- [3] YOSHIMURA A, OHKUBO T, KIGUCHI T, et al. A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH<sub>2</sub>-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors [J]. The EMBO journal, 1995, 14(12): 2816-2826.
- [4] NAKA T, NARAZAKI M, HIRATA M, et al. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor [J]. Nature, 1997, 387(6636): 924-929.
- [5] HILTON D J, RICHARDSON R T, ALEXANDER W S, et al. Twenty proteins containing a C-terminal SOCS box form five structural classes [J]. PNAS, 1998, 95(1): 114-119.
- [6] SHUAI K, LIU B. Regulation of JAK - STAT signalling in the immune system [J]. Nature reviews immunology, 2003, 3(11): 900-911.
- [7] CROKER B A, KIU H, NICHOLSON S E. SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway [J]. Seminars in cell & developmental biology, 2008, 19(4): 414-422.
- [8] METCALF D, MIFSUD S, DI RAGO L, et al. Polycystic kidneys and chronic inflammatory lesions are the delayed consequences of loss of the suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS-1) [J]. PNAS, 2002, 99(2): 943-948.
- [9] YASUKAWA H, MISAWA H, SAKAMOTO H, et al. The JAK-binding protein JAB inhibits Janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop [J]. The EMBO journal, 1999, 18(5): 1309-1320.
- [10] LI L, GRÖNNING L M, ANDERSON P O, et al. Insulin induces SOCS-6 expression and its binding to the p85 monomer of phosphoinositide 3-kinase, resulting in improvement in glucose metabolism [J]. Journal of biological chemistry, 2004, 279(33): 34107-34114.
- [11] HAO L X, SUN L. Comparative analysis of the expression patterns of eight suppressors of cytokine signaling in tongue sole, *Cynoglossus semilaevis* [J]. Fish & shellfish immunology, 2016, 55: 595-601.
- [12] THANASAKSIRI K, HIRONO I, KONDO H. Identification and expression analysis of suppressors of cytokine signaling (SOCS) of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. Fish & shellfish immunology, 2016, 58: 145-152.
- [13] YAO J, MU W J, LIU S K, et al. Identification, phylogeny and expression analysis of suppressors of cytokine signaling in channel catfish [J]. Molecular immunology, 2015, 64(2): 276-284.
- [14] 张建, 王济秀, 吴晓丽, 等. 团头鲂 TYK2 基因的克隆与表达分析 [J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(2): 197-205. ZHANG J, WANG J X, WU X L, et al. Molecular cloning and expression of TYK<sub>2</sub> in *Megalobrama amblycephala* [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(2): 197-205 (in Chinese with English abstract).
- [15] 柴欣. 团头鲂 MHC II α 基因的 SNP 位点开发、鉴定及与抗病性状关联分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2017. CHAI X. SNPs screening and identification of MHC II A gene in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) and their association with disease resistance trait [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [16] 张建. 团头鲂 JAK 家族基因的鉴定和表达分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2020. ZHANG J. Identification and expression analysis of JAK family genes in *Megalobrama amblycephala* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020 (in Chinese with English abstract).
- [17] WANG G W, SUN Q H, WANG H L, et al. Identification and characterization of circRNAs in the liver of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) infected with *Aeromonas hydrophila* [J/OL]. Developmental & comparative immunology, 2021, 124: 104185 [2022-05-31]. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104185>.
- [18] JIN H J, SHAO J Z, XIANG L X, et al. Global identification and comparative analysis of SOCS genes in fish: insights into the molecular evolution of SOCS family [J]. Molecular immunology, 2008, 45(5): 1258-1268.
- [19] 刘春来, 刘红雨, 陈军. SOCS 家族分子在肿瘤发生发展中的作用 [J]. 中国肺癌杂志, 2016, 19(9): 620-625. LIU C L, LIU H Y, CHEN J. The role of SOCS in the development of tumors [J].

- Chinese journal of lung cancer, 2016, 19(9): 620-625 (in Chinese with English abstract).
- [20] XU T B, SU J G. Genome-wide identification, evolution, and transcriptome-based expression profiling analysis of suppressors of cytokine signaling (SOCS) in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J/OL]. *Aquaculture*, 2021, 536: 736484 [2022-05-31]. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736484>.
- [21] 宋云杰. 梭鱼 SOCS 家族基因的克隆与表达分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019. SONG Y J. Identification and expression analysis of suppressors of cytokine signaling (SOCS) from soiny mullet (*Liza haematocheila*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [22] LI J, ZHANG Y, ZHANG Y H, et al. Cloning and characterization of three suppressors of cytokine signaling (SOCS) genes from the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2015, 44(2): 525-532.
- [23] RAWLINGS J S, RENNEBECK G, HARRISON S M W, et al. Two *Drosophila* suppressors of cytokine signaling (SOCS) differentially regulate JAK and EGFR pathway activities [J/OL]. *BMC cell biology*, 2004, 5(1): 38 [2022-05-31]. <https://doi.org/doi: 10.1186/1471-2121-5-38>.
- [24] 罗智文, 董志祥, 林连兵, 等. 鱼类重要免疫器官抗菌机制的研究进展[J]. *水产科学*, 2021, 40(4): 624-634. LUO Z W, DONG Z X, LIN L B, et al. Advances on immunological mechanisms of important immune organs against pathogenic microorganisms in fish: a review [J]. *Fisheries science*, 2021, 40(4): 624-634 (in Chinese).
- [25] TURNLEY A M. Role of SOCS<sub>2</sub> in growth hormone actions [J]. *Trends in endocrinology & metabolism*, 2005, 16(2): 53-58.
- [26] WANG T H, GAO Q, NIE P, et al. Identification of suppressor of cytokine signalling (SOCS) 6, 7, 9 and CISH in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and analysis of their expression in relation to other known trout SOCS [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2010, 29(4): 656-667.
- [27] 谢业扬. 卵形鲳鲹 II 型 SOCS 基因的克隆与表达分析[D]. 南宁: 广西大学, 2020. XIE Y Y. Identification and expression analysis of type II SOCS genes from golden pompano (*Trachinotus ovatus*) [D]. Nanning: Guangxi University, 2020 (in Chinese with English abstract).

## Molecular characterization of SOCS family genes in *Megalobrama amblycephala* and their responses to *Aeromonas hydrophila* infection

ZHAI Wenya, LI Bo, WANG Jixiu, WANG Huanling, LIU Hong

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University/ Key Lab of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/ Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education, Wuhan 430070, China

**Abstract** Suppressor of cytokine signaling (SOCS) plays an important role in inhibiting cytokine receptors in the signaling pathway of JAK/STAT. The cDNA sequences of 10 *socs* genes including *socs1*, *socs2*, *socs3a*, *socs3b*, *socs4*, *socs5a*, *socs5b*, *socs6*, *socs7* and *socs9* were obtained from the transcriptome of *Megalobrama amblycephala* to study the sequence characteristics and function of SOCS family genes in *M. amblycephala*. The theoretical molecular weight, theoretical isoelectric point and functional domain of 10 SOCS in *M. amblycephala* were predicted with bioinformatics using online websites including ExPASy and SMART. Phylogenetic analysis showed that 10 SOCS were divided into type I subfamily including SOCS4, SOCS5a, SOCS5b, SOCS6, SOCS7 and SOCS9, and type II subfamily including SOCS1, SOCS2, SOCS3a and SOCS3b. The results of semi-quantitative RT-PCR showed that the 10 *socs* genes in healthy *M. amblycephala* had obvious tissue specificity in the tissues tested. The expression levels of *socs1*, *socs2* and *socs3* were high in most tissues tested, followed by *socs9*, while the expression of other genes was low in all tissues tested. The relative expressions of 10 *socs* genes in spleen, trunk kidney and head kidney of *M. amblycephala* were detected after infected with *Aeromonas hydrophila*. Results showed that the relative expressions of *socs1*, *socs2*, *socs3a* and *socs3b* were up-regulated significantly at certain time point. It is indicated that the expression patterns of the 10 *socs* genes in *M. amblycephala* are different, the functions of the 10 *socs* genes in *M. amblycephala* are diverse, and some genes including *socs1*, *socs2*, *socs3* play an important role genes in immune response. It will lay a foundation for further studying their function.

**Keywords** *Megalobrama amblycephala*; *Aeromonas hydrophila*; *socs* genes; bacterial septicemia; anti-bacterial infection; immune response

(责任编辑: 边书京)