

· 综述 ·

## 鱼类免疫球蛋白重链基因与基因座的研究进展

肖凡书, 聂品\*

(中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072)

**摘要:** 归纳了脊椎动物中报道的所有的免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)的种类, 重点阐述了鱼类免疫球蛋白重链(heavy chain, H)基因及其基因座的研究进展。硬骨鱼类中目前已发现有 IgM、IgD、IgZ/IgT 以及一个嵌合体 IgM-IgZ, 软骨鱼类中目前只报道了3种免疫球蛋白基因, 即 IgM、IgNAR 和 IgW。已报道的硬骨鱼类 IgH 基因座并非都是以传统的“易位子”排列方式进行排列, 一般以  $(V_H)_n - (D)_n - (J_H)_n - (C\zeta) - (D)_n - (J_H)_n - (C\mu) - (C\delta)$  的形式排列, 不同硬骨鱼类的 IgH 基因座的结构特点、基因座中重链基因的数目以及基因座的拷贝数都存在一定差异。软骨鱼类中 IgH 基因座则是以“多簇”形式排列, 即  $V_H - D - D - J_H - C_H$  区段或  $V_H - D - D - D - J_H - C_H$  区段在基因组中作为统一体多次复制。在不同种类的硬骨鱼类中, Ig 表达器官或组织方面的研究结果并不完全相同, 但一般在免疫器官如胸腺、头肾和脾脏中均有表达。目前对鱼类免疫球蛋白的研究尚不全面, 要全面阐明鱼类 B 细胞个体发生、鱼类免疫球蛋白的结构、抗体产生的规律以及这些不同抗体在免疫反应中的作用等, 都需要进一步的研究。

**关键词:** 鱼类; 基因; 免疫球蛋白; 免疫球蛋白重链基因座

**中图分类号:** Q 352; S 917

**文献标识码:** A

免疫可以分为先天性免疫(innate immune)和适应性免疫(adaptive immune)<sup>[1]</sup>, 适应性免疫系统只在有颌类脊椎动物中存在, 它们通过免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)和 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)来识别抗原(antigen, Ag)<sup>[1-2]</sup>。Ig 是指具有抗体活性及化学结构与抗体相似的一类球蛋白, Ig 具有分泌型(secreted Ig, sIg)和膜结合型(membrane Ig, mIg)两种形式, 前者主要存在于血清和其他体液中, 具有抗体的各种功能; 后者是 B 细胞表面的抗原识别受体<sup>[1]</sup>。

与其他脊椎动物一样, 鱼类也存在先天性免疫和适应性免疫。近几十年来, 随着鱼类养殖业的发展, 渔业生产获得了较快的发展, 但高密度的养殖模式也引起鱼类病害的频繁发生。在长期的鱼类病害防治过程中, 人们逐步认识到通过鱼类的适应性免疫系统进行病害免疫防治的重要性。

由于 Ig 是鱼类适应性体液免疫应答中最主要的介质, 因此, 有关鱼类 Ig 的研究对鱼类病害的免疫防治显得尤为重要。此外, 鱼类是在进化上最早具有 Ig 的脊椎动物, 对鱼类 Ig 的研究也有助于认识脊椎动物 Ig 的进化规律。本文主要对鱼类免疫球蛋白重链基因(immunoglobulin heavy chain gene, IgH)及其基因座的相关研究作一综述。

### 1 Ig 的结构

所有类型的 Ig 单体分子结构都是相似的。Ig 单体分子的典型结构是由 4 条肽链组成, 其中 2 条分子量相对较高的肽链称为重链(heavy chain, H 链), 2 条分子量相对较低的肽链称为轻链(light chain, L 链), 一些类型的 Ig 还含有其他辅助成分, 分别是 J 链(joining chain)和分泌片

收稿日期:2010-07-02 修回日期:2010-08-10

资助项目:国家重点基础研究发展计划资助(2009CB118703)

通讯作者:聂品, E-mail:pinnie@ihb.ac.cn

(secretory piece)<sup>[3]</sup>。

Ig 单体中四条肽链两端游离的氨基或羧基的方向是一致的,分别命名为氨基端(N端)和羧基端(C端)。在Ig分子L链和H链的N端,L链1/2和H链约1/4处区域,氨基酸的种类和排列顺序随抗体特异性不同而有所变化,称为可变区(variable region,V区),它赋予抗体以特异性;在Ig分子L链和H链的C端,轻链的其余1/2及重链的约3/4处,这个区的氨基酸种类和排列顺序及含糖量都比较稳定,故称为恒定区(constant region,C区)<sup>[4]</sup>。

L链和H链的V区分别称为V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>。在V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>中各有3个高变区(hypervariable region,HVR),高变区中的氨基酸组成和排列顺序比较多变,它是与抗原决定簇结合的部位,因此也称为互补决定区(complementarity determining region,CDR)。在V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>区其他的非CDR区域的氨基酸残基称为构架区/framework region,FR),其顺序很少变化,FR的功能为支持CDR,并维持V区三维结构的稳定性,在V<sub>L</sub>和V<sub>H</sub>中各有4个FR<sup>[3]</sup>。

Ig分子可被木瓜蛋白酶水解,生成2个相同的Fab片段和1个Fc片段,Fab片段即抗原结合片段(antigen binding fragment),1个Fab片段含1条完整的L链和部分H链,Fab段仍具有抗原结合活性,但结合能力较弱,只有一价。Fc段即可结晶片段(crystallizable fragment),为2条H链C端剩余的部分,在一定条件下可形成结晶,无抗原结合活性,是抗体分子与效应分子或细胞相互作用的部分<sup>[3]</sup>。

## 2 四足动物 IgH 的种类

哺乳动物主要具有五种免疫球蛋白类型,即IgG、IgM、IgA、IgE和IgD五大类,重链分别为 $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\alpha$ 、 $\epsilon$ 和 $\delta$ 。此外,最近在比较古老的哺乳动物鸭嘴兽(*Ornithorhynchus anatinus*)中报道了一种新的免疫球蛋白类型,即IgO<sup>[5]</sup>。哺乳动物IgM均具有4个恒定区。而不同哺乳动物中IgD的恒定区数目和结构则存在差异:鼠(*Mus musculus*)的IgD只有2个恒定区和1个铰链区<sup>[6]</sup>;人(*Homo sapiens*)、牛(*Bos Taurus*)、羊(*Ovis aries*)和猪(*Sus scrofa*)的IgD都含3个恒定区和2个铰链区(hinge region)<sup>[7]</sup>;人IgD的 $\delta 1$ 与 $\mu 1$ 相似

性较低,而牛、羊、猪中IgD的 $\delta 1$ 与 $\mu 1$ 的相似性很高,推测其中的 $\delta 1$ 是由 $\mu 1$ 复制而来的,此外,牛的IgD还存在一种特殊的转录本,这个转录本中除了含有一个与 $\mu 1$ 类似的 $\delta 1$ 外,还包含一个 $\mu 1$ ,这种在IgD的转录本中存在 $\mu 1$ 的特征与鱼的IgD的转录本特征类似<sup>[7-8]</sup>。鸭嘴兽的IgD与其他哺乳动物IgD明显不同,它具有10个恒定区,无铰链区,这种多恒定区的特征与鱼类、两栖类的IgD类似<sup>[5]</sup>。哺乳动物IgA具有3个恒定区,无单独的外显子编码铰链区,但具有功能性的铰链区<sup>[9]</sup>。IgG和IgE分别具有3、4个恒定区,其中IgG具有由单独的外显子编码的铰链区,而IgE无铰链区。有学者认为哺乳类IgG和IgE是由两栖类、鸟类中的IgY进化形成的<sup>[10]</sup>。新报道的IgO包含4个恒定区,在CH2的5'端存在一个功能性的铰链区,IgO在结构上表现为IgY与哺乳动物IgG的中间体形式<sup>[5]</sup>。

鸟类中目前只报道了3种免疫球蛋白,即IgM、IgY和IgA。这3种免疫球蛋白均具有4个恒定区<sup>[11]</sup>。鸡IgY重链基因的基因组序列中,CH1和CH2之间没有内含子,即4个恒定区由2个内含子隔开<sup>[12]</sup>。在所有的有腭类脊椎动物中几乎都有IgD的存在,唯独在鸟类中尚未发现有IgD的存在。

爬行类中除了有IgM外,最近几年,在豹纹壁虎(*Eublepharis macularius*)、安乐蜥(*Anolis carolinensis*)和中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)中分别报道了IgD和IgY的存在<sup>[13-15]</sup>,此外,在豹纹壁虎还报道了一种与IgA类似的免疫球蛋白,命名为IgA-like<sup>[16]</sup>。爬行类IgM与其他脊椎动物IgM一样,具有4个恒定区。而爬行类IgD在不同种类中存在一定的差异:豹纹壁虎中具有两种IgD,其中一种IgD的重链基因包含11个恒定区,另外一种IgD重链基因只有7个恒定区,这两种IgD的恒定区中都不存在串联复制,而且这两种IgD的CH1-CH4的相似性很高,推测其中一种IgD是由另一种IgD复制形成的<sup>[15]</sup>;中华鳖IgD具有6个恒定区,同样不存在串联重复<sup>[13]</sup>;安乐蜥IgD的重链基因的基因组中具有11个恒定区,但只有前4个恒定区被转录形成膜结合型IgD<sup>[17]</sup>。爬行动物的IgY都具有4个恒定区<sup>[17]</sup>。豹纹壁虎IgA-like也包含4个恒定区,其中CH1、CH2与IgY相似性较高,CH3、CH4则与IgM存

在同源性<sup>[16]</sup>。

无尾两栖类具有 IgM、IgX、IgD、IgF 及 IgY 5 类免疫球蛋白分子,有尾两栖类中报道了 IgM、IgY 和 IgP 的存在<sup>[18]</sup>。两栖类 IgM、IgX 和 IgY 都具有 4 个恒定区,两栖类 IgX 类似于鸟类和哺乳类中的 IgA<sup>[19]</sup>。爪蟾中首次报道了 IgF 和 IgD 的存在,IgF 具有 2 个恒定区和 1 个由独立外显子编码的铰链区,这是非哺乳动物中首次报道的含独立外显子编码的铰链区的免疫球蛋白<sup>[20]</sup>。爪蟾 IgD 中含 8 个恒定区,且 CH5 - CH6 与 CH7 - CH8 相似性很高,可能存在基因内复制<sup>[20]</sup>。有尾两栖类欧非肋突鳃 (*Pleurodeles waltl*) 中报道了 IgP 的存在,IgP 具有 4 个恒定区,IgP 的 CH1、CH2 与 IgX、IgY 存在相似性,CH3 和 CH4 与其他 Ig 的恒定区无明显的相似性<sup>[18]</sup>。

### 3 鱼类 IgH 的种类

硬骨鱼类中目前已发现有 IgM、IgD、IgZ/IgT、IgM-IgZ 及从红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 中报道的新型 IgH。软骨鱼类中目前只报道了 3 种免疫球蛋白基因,即 IgM、IgNAR 和 IgW。

#### 3.1 IgM

IgM 已先后从多种鱼类中克隆到,如软骨鱼类中的角鲨 (*Heterodontus francisci*) 和猬鳐 (*Raja erinacea*)<sup>[21]</sup>,硬骨鱼类硬鳞总目中的弓鳍鱼 (*Amia calva*) 和长吻雀鳢 (*Lepisosteus osseus*)<sup>[22]</sup>,海鲢目中的海鲢 (*Elops saurus*)、鲑形目的大西洋鲑 (*Salmo salar*) 和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*),鲤形目的鲤 (*Cyprinus carpio*)、斑马鱼 (*Danio rerio*)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*),鲶形目的斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*),鲈形目中的斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 和鳊 (*Siniperca chuatsi*),鲹形目中的牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*),鳕形目中的大西洋鳕 (*Gadus morhua*) 等<sup>[23]</sup> 多种养殖鱼类和具有重要进化地位的种类以及模式生物。

IgM 在所有鱼类中都存在分泌型和膜结合型两种形式。硬骨鱼类和软骨鱼类分泌型 IgM 都由 4 个恒定区组成,但在软骨鱼类护士鲨 (*Ginglymostoma cirratum*) 中存在两种分泌型 IgM,一种 IgM 具 4 个恒定区,另外一种 IgM 只有 3 个恒定区,缺失了 CH2 恒定区<sup>[24]</sup>。大多数硬骨鱼类的分泌型 IgM 以独特的四聚体形式存在,但也有以单体形式存在的 IgM。而软骨鱼类、肺鱼

的分泌型 IgM,则与四足动物分泌型 IgM 一样,都以五聚体形式存在<sup>[25]</sup>。软骨鱼类的膜结合型 IgM 与四足动物膜结合型 IgM 类似,都是由跨膜外显子 TM1 与 CH4 中一个剪接供体部位拼接形成,而大部分硬骨鱼的 IgM 的 CH4 中缺乏剪切位点,它们的膜结合型是由 TM1 直接剪接到 CH3 外显子的末端,从而剪除了整个 CH4,使得膜结合型外显子只含有 3 个恒定区<sup>[26]</sup>。原始的辐鳍类弓鳍鱼和雀鳢不但具有上述两种剪接方式,而且弓鳍鱼中还存在第三种剪接方式,即在 CH3 外显子的中游还有另一个剪接供体部位,可产生膜结合形式的 IgM<sup>[26]</sup>。

#### 3.2 IgD

IgD 已经在多种鱼类中报道过,如大西洋鲑、虹鳟、斑点叉尾鲷、草鱼、大西洋鳕、鳊、红鳍东方鲀、牙鲆 和 大 西 洋 庸 鲽 (*Hippoglossus hippoglossus*) 等<sup>[26-29]</sup>。

与其他脊椎动物 IgD 相比,鱼类 IgD 存在两大特点:第一,鱼类 IgD 的转录本是嵌合体结构,它与 IgM 共用  $\mu 1$  作为第一个恒定区,原因可能是鱼类  $\delta 1$  外显子中缺乏合适的半胱氨酸介导 L 链的结合,只有通过  $\mu 1$  来形成链间二硫键,从而实现与 L 链的结合<sup>[30]</sup>。第二,鱼类 IgD 的恒定区数目较多,一般存在外显子的复制,并且在一些不同的鱼类中恒定区的复制数目存在明显差异。大西洋鲑、斑点叉尾鲷、大西洋庸鲽和草鱼中 IgD 的结构形式是  $VDJ - \mu 1 - \delta 1 - (\delta 2 - \delta 3 - \delta 4)_2 - \delta 5 - \delta 6 - \delta 7 - TM1 - TM2$ ,都存在一次“ $\delta 2 - \delta 3 - \delta 4$ ”的复制<sup>[26,28]</sup>;红鳍东方鲀中则存在“ $\delta 1 - \delta 6$ ”的复制,即  $VDJ - \mu 1 - (\delta 1 - \delta 2 - \delta 3 - \delta 4 - \delta 5 - \delta 6)_2 - \delta 7 - TM1 - TM2$ <sup>[31]</sup>;虹鳟中缺失了“ $\delta 5 - \delta 6$ ”两个恒定区,在  $\delta 4$  后面存在一个  $\delta 2$  的复制,其结构形式为  $VDJ - \mu 1 - \delta 1 - \delta 2a - \delta 3a - \delta 4a - \delta 2b - \delta 7 - TM1 - TM2$ <sup>[29]</sup>,大西洋鳕缺失  $\delta 3 - \delta 6$  4 个恒定区,只存在“ $\delta 1 - \delta 2$ ”的复制,且被  $\delta y$  隔开,其独特的形式为  $VDJ - \mu 1 - \delta 1A - \delta 2A - \delta y - \delta 1B - \delta 2B - \delta 7 - \delta M1 - \delta M2$ ,牙鲆和鳊中存在 7 个  $\delta$  外显子,外显子中不存在串联复制形式<sup>[27]</sup>。

除斑点叉尾鲷外,所有硬骨鱼类都只有膜结合型 IgD,而在斑点叉尾鲷中不仅有膜结合型的 IgD,还存在分泌型的 IgD<sup>[32]</sup>。与鱼类分泌型和膜结合型 IgM 的形成方式不同,斑点叉尾鲷两种形式的 IgD 并非是通过不同的剪接方式形成,而

是具有各自的基因组序列,由各自的基因组序列直接转录形成分泌型和膜结合型 IgD<sup>[33]</sup>。

### 3.3 IgZ、IgT、新型 IgH 和 IgM-IgZ

自 2005 年以来,在硬骨鱼类中报道了除 IgM 和 IgD 以外的新的免疫球蛋白。从斑马鱼中首次报道了 IgZ 的存在,重链基因为  $\zeta$ ,由 4 个恒定区组成,最近从草鱼中也报道了 IgZ 的存在,由 4 个恒定区组成<sup>[28]</sup>。从虹鳟中也报道的免疫球蛋白,命名为 IgT,其结构形式与 IgZ 类似,也包含 4 个恒定区<sup>[29]</sup>,此外,在三棘刺鱼 (*Gasterosteus aculeatus*) 中也报道了 IgT 的存在,但三棘刺鱼 IgT 只具有 3 个恒定区<sup>[34]</sup>。红鳍东方鲀中报道了一种新型 IgH,其重链由 2 个恒定区组成<sup>[35]</sup>。鲤中报道了一种 IgM-IgZ 嵌合体,只具有 2 个恒定区,第 1 个恒定区由鲤 IgM 的 CH1 构成,第二个恒定区与斑马鱼 IgZ 的 CH4 有很高的相似性,但没有扩增到编码 IgM-IgZ 重链基因的基因组序列,因此推测这种 Ig 是在转录过程中由鲤 IgM 和 IgZ 嵌合而成<sup>[36]</sup>。

在斑马鱼、虹鳟、三棘刺鱼和河豚中报道的这几种免疫球蛋白,虽然在恒定区的数目上存在差异,但在序列上存在较高的相似性,而且其重链基因在基因座中都是排列在  $\mu$  基因的 5' 端。在系统进化树中,这几种免疫球蛋白以较高的支持率聚为一枝(图 1),因此推测这几种 Ig 应该是同一种免疫球蛋白,即 IgZ。

IgZ 存在分泌型和膜结合型两种形式,其中膜结合型是由膜外显子 TM1 与在最后一个恒定区外显子中的剪切位点剪接而成,与哺乳动物  $\mu$  链的剪切方式类似<sup>[28]</sup>。

### 3.4 IgW、IgX、IgNARC 和 NAR

在软骨鱼类中,先后从猬鳐 (*Raja erinacea*)、晶吻鳐 (*Raja eglanteria*)、高鳍真鲨 (*Carcharhinus plumbeus*) 和护士鲨中分别报道了 IgX、IgW 和 IgNARC 的存在,Anderson 等<sup>[37]</sup>通过构建进化树等方法,认为 IgX、IgW 和 IgNARC 应该属于同一种类型的免疫球蛋白,即 IgW。此外,硬骨鱼中肉鳍鱼亚纲的肺鱼 (*Protopterus aethiopicus*) 中也报道了 IgW 的存在<sup>[38]</sup>。

IgW 也存在分泌型和膜结合型形式。分泌型 IgW 根据恒定区数目的不同分为两种:一种为长分泌型 IgW,这种长分泌型 IgW 在所有的软骨鱼类中只具有 6 个恒定区,而在肺鱼中则具有 7 个

恒定区;另一种为短分泌型 IgW,它在软骨鱼类及肺鱼中都只具有 2 个恒定区,这种短分泌型 IgW 最先在斑鳐 (*Raja kenoei*) 的血清中以蛋白形式发现,曾命名为 IgR<sup>[38]</sup>。Rumfelt 等<sup>[39]</sup>首次报道了 IgW 具有两种膜结合型形式,分别具有 2 个恒定区和 4 个恒定区。此外,肺鱼 IgW 与爪蟾 IgD 有很高的相似性,可能起源于同一种 Ig<sup>[20,40]</sup>。

软骨鱼类护士鲨和须鲨 (*Orectolobus maculatus*) 中克隆到了一种抗原受体,命名为 NAR (new or nurse shark antigen receptor),后来称为 IgNAR。IgNAR 具有 5 个恒定区,后 4 个恒定区与 IgW 的重链恒定区具有较高的相似性。IgNAR 没有相应的轻链,直接由 2 条相同的重链分子组成,这是惟一一种不具备轻链的只有重链分子的 Ig 类型<sup>[41-42]</sup>。并且,与其他 Ig 和 TCR 分子不同的是,IgNAR 的两条重链并不形成紧密结合的二聚体,而是以相对独立的,松散的形式存在<sup>[43]</sup>。IgNAR 也具有分泌型和膜结合型两种形式,分泌型具有 5 个恒定区,膜结合型有两种,一种具有 5 个恒定区,另一种具有 3 个恒定区<sup>[39]</sup>。

## 4 IgL 的种类

IgL 基因由  $V_L$ 、 $J_L$  以及紧接其后的  $C_L$  基因片段构成,根据  $C_L$  区氨基酸组成和结构的不同,因而抗原性不同,可以将轻链分为不同的类型。哺乳动物和爬行类 IgL 都存在  $\kappa$  和  $\lambda$  型,鸟类中只存在  $\lambda$  型轻链,两栖类中存在 3 种 IgL,即  $\kappa$ 、 $\sigma$  和  $\lambda$  型。硬骨鱼类中存在 4 种 IgL,即 L1 型、L2 型、L3 型和一种类似于  $\lambda$  型的轻链。L1 型和 L3 型被认为是  $\kappa$  的原型,而 L2 型与两栖类的  $\sigma$  型存在同源性,与其他高等动物的 IgL 没有明显同源性,最近在大西洋鲑和大西洋鳕中报道了一种 IgL,与  $\lambda$  型轻链具有同源性<sup>[44]</sup>。软骨鱼类中主要存在四种轻链类型,即 I 型 (NS5), II 型 (NS3)、III 型 (NS4) 和一种类似于  $\sigma$  型的轻链, I 型是软骨鱼所特有的,系统进化分析表明软骨鱼的 I 型与爪蟾的  $\sigma$  型存在一定的联系,但又并非同一类,因此称为  $\sigma$ -cart 型, II 型与  $\lambda$  存在同源性,而 III 型与  $\kappa$  存在同源性,第四种轻链类型,与爪蟾的  $\sigma$  型存在同源性<sup>[45]</sup>。

## 5 脊椎动物 Ig 的进化关系

为了阐述硬骨鱼类各种 Ig 的关系,以及脊椎

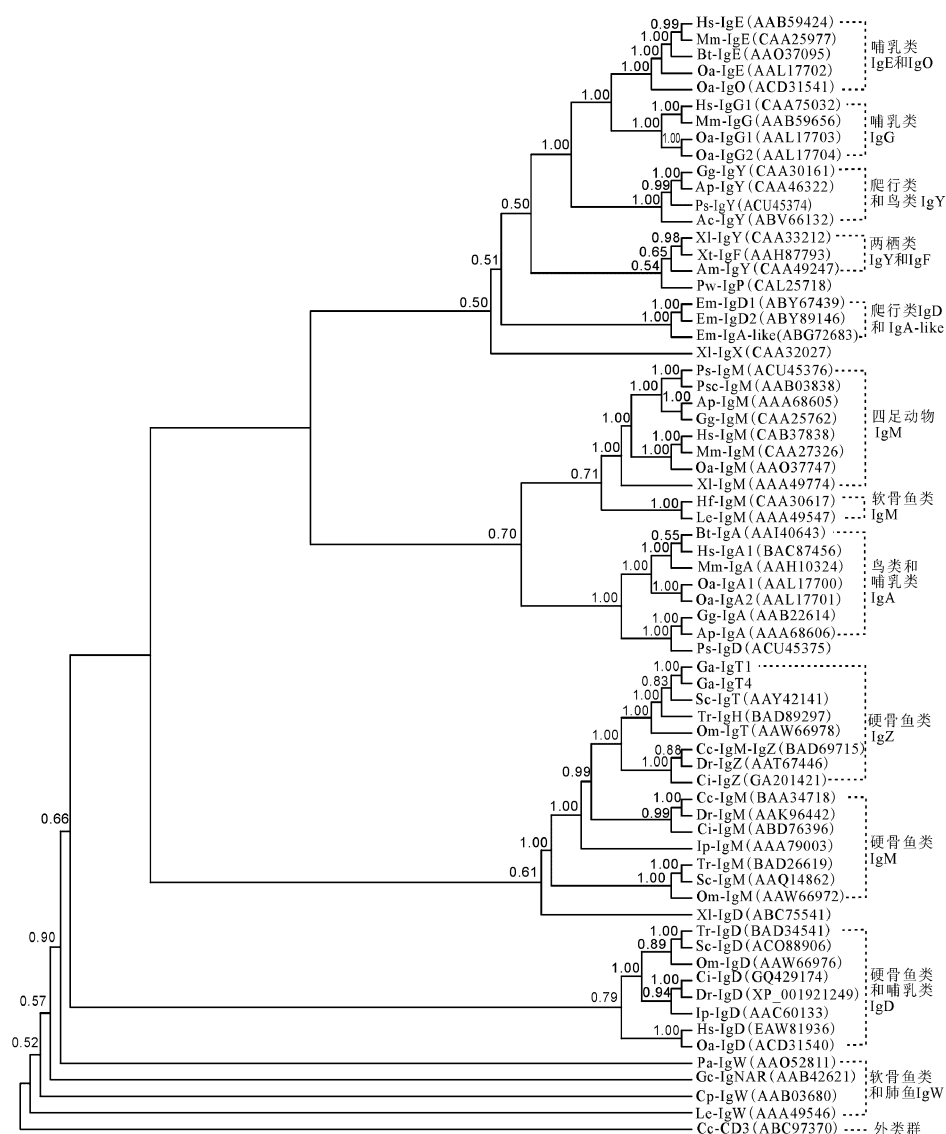


图1 基于脊椎动物免疫球蛋白重链基因构建的系统发育树

采用贝叶斯法构建系统进化树,以鲤 CD3 为外类群,枝上数字为 1 000 次 bootstrap 的置信度值(只显示在 50% 以上的值)。建树所用序列为重链基因的全部恒定区氨基酸序列(鱼类 IgD 基因去除了  $\mu$ 1 的序列),除三棘刺鱼的 IgT1、IgT4 的序列来自所发表论文的正文外<sup>[34]</sup>,其余序列均来自 GenBank,序列的登录号见系统发育树中的括号内。Hs, 人; Mm, 小鼠; Bt, 牛; Oa, 鸭嘴兽; Gg, 鸡; Ap, 绿头鸭; Ps, 中华鳖; Ac, 安乐蜥; Xt, 非洲爪蟾; Xt, 热带爪蟾; Am, 美西螈; Pw, 欧非肋突螈; Em, 豹纹壁虎; Psc, 红耳龟; Hf, 角鲨; Le, 鳐; Ga, 三棘刺鱼; Sc, 鳊; Tr, 红鳍东方鲀; Om, 虹鳟; Cc, 鲤; Dr, 斑马鱼; Ci, 草鱼; Ip, 斑点叉尾鲷; Pa, 肺鱼; Gc, 护士鲨; Cp, 沙洲鲨。

Fig. 1 Phylogenetic relationship of immunoglobulin heavy chain genes in vertebrates

The tree was inferred by Bayesian approach with common carp CD3 used as the outgroup. Bayesian posterior probabilities ( $> 50\%$ ) are shown at branch nodes. The tree was constructed by using complete constant region amino acid sequences, except that  $\mu$ 1 was not used in fish IgD. Except for the three-spined stickleback fish IgT1 and IgT4 which were obtained directly from the publication<sup>[34]</sup>, all other sequences used in the phylogenetic analysis were taken from the GenBank database, with their accession numbers shown in parentheses. Hs, *Homo sapiens*; Mm, *Mus musculus*; Bt, *Bos taurus*; Oa, *Ornithorhynchus anatinus*; Gg, *Gallus gallus*; Ap, *Anas platyrhynchos*; Ps, *Pelodiscus sinensis*; Ac, *Anolis carolinensis*; Xt, *Xenopus laevis*; Xt, *Xenopus tropicalis*; Am, *Ambystoma mexicanum*; Pw, *Pleurodeles waltli*; Em, *Eublepharis macularius*; Psc, *Pseudemys scripta*; Hf, *Heterodontus Francisci*; Le, *Leucoraja erinacea*; Ga, *Gasterosteus aculeatus*; Sc, *Siniperca chuatsi*; Tr, *Takifugu rubripes*; Om, *Oncorhynchus mykiss*; Cc, *Cyprinus carpio*; Dr, *Danio rerio*; Ci, *Ctenopharyngodon idellus*; Ip, *Ictalurus punctatus*; Pa, *Protopterus aethiopicus*; Gc, *Ginglymostoma cirratum*; Cp, *Carcharhinus plumbeus*.

动物中 Ig 的进化关系,本文采用贝叶斯法对脊椎动物的 Ig 恒定区氨基酸序列构建了系统进化树(图 1)。结果显示斑马鱼中的 IgZ 先与鲤中的 IgM-IgZ 聚在一起,随后与草鱼 IgZ 聚在一起,这一枝又与虹鳟、鳊和三棘刺鱼的 IgT 以及红鳍东方鲀中的新型 IgH 聚在一起,这进一步表明硬骨鱼类中报道的 IgZ、IgT 以及红鳍东方鲀中的新型 IgH 应该为同一类型的免疫球蛋白。此外,所有硬骨鱼类的 IgM 以较高的支持率聚为一枝,而软骨鱼类、两栖类、爬行类、鸟类和哺乳类的 IgM 则另聚为一枝,并且这两枝的距离较远,加上硬骨鱼类 IgM 独特的膜结合型方式也与其他脊椎动物 IgM 的膜结合型方式完全不同<sup>[26]</sup>,这些结果表明硬骨鱼类 IgM 与其他脊椎动物 IgM 并非单系起源,而鱼类 IgM 和 IgZ/T 以及 IgM-IgZ 和 IgH 都聚为一枝表明 IgM 和 IgZ/T 可能具有共同的起源。

系统进化树中(图 1)硬骨鱼类 IgD 以较高的支持率聚在一起,随后与哺乳类 IgD 聚在一起,但两栖类、爬行动物 IgD 则与硬骨鱼类、哺乳类 IgD 相距较远,这可能与不同种类的 IgD 在进化的过程中有较大的结构变化有关。此外,哺乳类 IgE 与鸭嘴兽 IgO 聚为一枝,接着与哺乳类 IgG 聚为一大枝,随后分别与爬行类、鸟类 IgY 以及两栖类 IgY 聚类,这一结果也证实了哺乳类 IgG 和 IgE 是由两栖类、鸟类中的 IgY 进化而成。

## 6 Ig 的表达调控

Ig 的转录活性是由两个顺式作用元件即启动子和增强子来调节的。启动子位于每个 V 基因区段的上游,由几个保守的 DNA 元件构成,在高等脊椎动物 Ig 的重链和轻链中,V 基因区段上游都含有 8 个保守的核苷酸序列 ATGCAAAT (或它的反向序列)和一个 TATA 盒,这两个元件几乎在所有的硬骨鱼类辐鳍亚纲中的鱼类中都存在,如红鳍东方鲀<sup>[46]</sup>、斑马鱼<sup>[47]</sup>和草鱼<sup>[28]</sup>等。但在硬骨鱼类总鳍亚纲的腔棘鱼 (*Latimeria chalumnae*) 中,V 基因区段上游的八聚体序列为“ATGCAAAG”,与传统保守的八聚体相比,最后一个核苷酸序列发生了变化<sup>[48]</sup>。而在软骨鱼纲板鳃类的角鲨和鳐的 V 基因区段的上游则缺乏保守的八聚体或它的反向序列<sup>[49-50]</sup>

人和小鼠的重链和  $\kappa$  轻链中发现有增强子,

增强子作用方式与启动子不同,呈方向非依赖方式,即可作用于被转录基因的上游或下游。E-box 是增强子的基序之一,其保守序列是 CANNTG。哺乳类中具有多个增强子,最重要的增强子位于  $J_H - \mu CH1$  之间的内含子中,号  $E_{\mu 3}$ <sup>[51]</sup>。鱼类中在  $J_H - \mu CH1$  之间也能找到与增强子相关的基序,如斑点叉尾鲷、虹鳟、鳊等,但后来的研究表明在斑点叉尾鲷 IgH 基因座中,虽然能在  $J_H - \mu CH1$  之间的内含子找到潜在的调节基序,但这个区域的基序似乎并不具备任何增强子的活性,而  $\mu CH4 - \delta CH1$  之间的一段区域具有增强子活性,并将这一增强子称为  $E_{\mu 3'}$ <sup>[52]</sup>。同样地,在斑马鱼  $J_H - \mu CH1$  和  $\mu CH4 - \delta CH1$  区域也都存在增强子基序,且斑马鱼  $J_H - \mu CH1$  区域也不具备增强子活性,具有增强子活性的是  $\mu CH4 - \delta CH1$  区域的基序<sup>[53]</sup>。与哺乳动物相比, $E_{\mu 3'}$  和  $E_{\mu}$  并没有序列相似性<sup>[52-53]</sup>。突变实验研究发现斑点叉尾鲷  $E_{\mu 3'}$  的活性则主要依赖于 2 个不规范的八聚体基序 (ATGtAAAT) 和 1 个 E-box 基序 (CAGGTG),而斑马鱼中  $E_{\mu 3'}$  的活性主要依赖于 2 个 E-box 基序 (CAGATG 和 CAGGTG)<sup>[53-54]</sup>。在草鱼的  $\mu CH4 - \delta CH1$  区域间类似  $E_{\mu 3'}$  的区域里也存在 3 个基序,其中包含一个 E-box 基序 (CAGATG) 和一个不规范的八聚体基序 (ATGtAAAT),它们已经在斑马鱼或斑点叉尾鲷中被证实能起到增强转录的作用<sup>[52-53]</sup>,因此表明草鱼中的这个区域也许就是草鱼 Ig 增强子的核心区域,并且推测在草鱼中起转录增强作用的是 E-box 基序 (CAGATG) 和不规范的八聚体基序 (ATGtAAAT)<sup>[28]</sup>。Hikima 等<sup>[52]</sup> 比较了大西洋鲑、鳕、牙鲆以及红鳍东方鲀中  $\mu - \delta$  区域潜在的增强子基序,没有在斑马鱼和斑点叉尾鲷中确认起增强作用的 E-box 的存在,但在大西洋鲑和红鳍东方鲀中各存在 1 个八聚体基序 (ATGtAAAT),这个八聚体基序是在斑点叉尾鲷中确认起增强作用的基序。

## 7 IgH 基因座

硬骨鱼类 IgH 基因座是复杂的,不同硬骨鱼类的 IgH 基因座并不一定完全相同。多个  $V_H$ 、D 和  $J_H$  区段依次排列在编码恒定区的基因区段的 5'端,这种基因组织形式称为“易位子”排列,即  $(V_H)_n - (D)_n - (J_H)_n - (C_H)_n$ 。直到 2005 年

之前,人们普遍认为所有硬骨鱼类的 IgH 基因座都是采取哺乳类中典型的“易位子”排列<sup>[55]</sup>,如斑点叉尾鲷 IgH 基因座是“易位子”排列,并且存在 3 个 C $\mu$  基因或假基因和 3 个 C $\delta$  基因<sup>[56]</sup>。但随后的研究表明大部分硬骨鱼类的 IgH 基因座并非是以传统的“易位子”方式进行排列,如斑马鱼、红鳍东方鲀和草鱼 IgH 基因座都是以 (V<sub>H</sub>)<sub>n</sub> - (D)<sub>n</sub> - (J<sub>H</sub>)<sub>n</sub> - (C $\zeta$ ) - (D)<sub>n</sub> - (J<sub>H</sub>)<sub>n</sub> - (C $\mu$ ) - (C $\delta$ ) 的形式排列<sup>[28,34]</sup>;虹鳟 IgH 基因座的排列方式与上述斑马鱼等硬骨鱼类 IgH 基因座类似,但在虹鳟 IgH 基因座中,C $\zeta$  后面还有两个额外的 V<sub>H</sub> 基因区段;三棘刺鱼 IgH 基因座也与斑马鱼 IgH 基因座类似,但三棘刺鱼 IgH 基因座含有 4 个区域,前三个区域都包含 C $\zeta$ 、C $\mu$  和 C $\delta$ ,第四个区域只包含 C $\delta$ <sup>[34]</sup>。

不同硬骨鱼类的 IgH 基因座中重链基因的数目以及 IgH 基因座的拷贝数都存在一定差异。在斑点叉尾鲷的同一 IgH 基因座中存在 3 个 C $\mu$  基因和 3 个 C $\delta$  基因<sup>[56]</sup>,在三棘刺鱼的同一 IgH 基因座中,存在 3 个 C $\mu$  基因,3 个 C $\delta$  基因和 4 个 C $\zeta$  基因<sup>[34]</sup>,这种情形可能是由于大量的复制所引起。此外,虹鳟中可能至少存在具有 2 个 IgH 的基因座<sup>[29]</sup>。大西洋鲑具有两个同种型 IgM 基因,而且在每个  $\mu$  基因的下游都存在  $\delta$  基因,推测这也是存在两个 IgH 基因座的原因引起的<sup>[57]</sup>。鲤中存在 3 个 IgM 同种型基因<sup>[58]</sup>,同样地,在褐鳟 (*Salmo trutta*) 中也存在两个不同的 IgM cDNA 序列<sup>[57]</sup>。这说明有些硬骨鱼类具有至少 2 个 IgH 基因座。

软骨鱼类中 IgH 基因座则是以“多簇”形式排列,即 V<sub>H</sub> - D - D - J<sub>H</sub> - C<sub>H</sub> 区段 (IgM/W) 或 V<sub>H</sub> - D - D - D - J<sub>H</sub> - C<sub>H</sub> (IgNAR) 区段在基因组中作为统一体多次复制<sup>[21]</sup>。此外,总鳍亚纲中的腔棘鱼 (*Latimeria menadoensis*) 中,V<sub>H</sub> - D 区段也以聚簇形式存在,但 J<sub>H</sub> 和 C 的定位尚不明确<sup>[48]</sup>。

胚系 IgH 基因座中众多的 V<sub>H</sub>、D 和 J<sub>H</sub> 基因区段是引起鱼类免疫球蛋白多样性的主要原因,鱼类中 V<sub>H</sub> 基因家族的数目及多样性与哺乳动物基本相当,但在不同种类中存在着显著差异。V<sub>H</sub> 基因区段根据其序列的相似性划分为不同的家族,核苷酸序列同一性大于 80% 的划为同一家族,不同家族之间的 V<sub>H</sub> 基因的核苷酸序列同一性 <

70%。斑点叉尾鲷中至少有 13 个 V<sub>H</sub> 基因家族,包含大约 200 个 V<sub>H</sub> 基因片段,以及至少 3 个 D 基因片段,11 个 J<sub>H</sub> 基因片段<sup>[56]</sup>。斑马鱼中则含 14 个 V<sub>H</sub> 基因家族,7 个 D 基因片段和 7 个 J<sub>H</sub> 基因片段<sup>[47]</sup>。虹鳟中有 13 个 V<sub>H</sub> 基因家族<sup>[59]</sup>,与虹鳟亲缘关系较近的北极鲑 (*Salvelinus alpinus*) 和大西洋鲑中分别有 8、9 个 V<sub>H</sub> 基因家族,其中大西洋鲑中的 7 个 V<sub>H</sub> 基因家族与虹鳟,北极鲑的 V<sub>H</sub> 基因家族同源性较高<sup>[60-61]</sup>。西伯利亚鳟 (*Acipenser baeri*) 中有 3 个 V<sub>H</sub> 基因家族<sup>[62]</sup>。

## 8 Ig 的转录表达

关于 Ig 的转录表达,已经在多种鱼类中开展了研究,如斑马鱼、红鳍东方鲀、鳊和草鱼等。在不同鱼类中,Ig 表达的器官或组织并不完全相同,但一般在免疫器官胸腺、头肾和脾脏中均有表达。RT-PCR 检测结果表明,在斑马鱼中,IgM 在胸腺、肾脏、脾脏和肠等组织中均有表达,而 IgZ 几乎只在头肾、肾脏和胸腺中有表达,在脾脏中没有表达<sup>[47]</sup>。通过 Northern 印迹法检测,红鳍东方鲀 IgM 在免疫器官胸腺、肾脏和脾脏中的表达量最高,且在皮肤、鳃中有较低的表达<sup>[63]</sup>,RT-PCR 结果表明,红鳍东方鲀中 IgH 在所检测的脾脏、肾脏、肝、肠和鳃中均有表达<sup>[35]</sup>。而在草鱼中,应用 RT-PCR 的方法检测到草鱼 IgM 和 IgZ 在头肾、肾脏、脾脏、鳃、肠和肝脏中均有表达,而 IgD 主要在头肾、肾脏和脾脏中表达<sup>[28]</sup>。

在软骨鱼类中,Northern 分析结果表明,护士鲨中 IgM、IgW 和 IgNAR 膜结合型比分泌型的转录表达量要低<sup>[39]</sup>,具体地讲,mIgW 的长型和短型都主要在脾脏、胰腺、外周血淋巴细胞中表达,在性腺中有少量表达;sIgW 的长型在脾脏、性腺上器官和精巢中有大量表达,sIgW 的短型在胰腺中有大量表达,在肝脏、鳃、肾脏、食道、精巢中有少量表达;sIgNAR 和 sIgM 几乎在所检测的组织中都有表达,如脾脏、胰腺、肝脏、鳃、肾脏、性腺上器官、外周血淋巴细胞、食道、精巢和嗅球;mIgNAR 在脾脏和外周血淋巴细胞中表达;mIgM 在胸腺和外周血淋巴细胞中表达<sup>[39]</sup>。

## 9 结语

研究鱼类 Ig 的组成及其产生规律,对认识具有丰富物种多样性的不同鱼类的免疫系统,以及

利用鱼类的获得性免疫进行免疫保护,选择和改进养殖鱼类免疫接种方法具有实际意义。要揭示一种鱼类的免疫球蛋白基因的组成,可以采用同源克隆,或者筛选基因组文库的方法,也可以采用从血清或者从其它体液中分离抗体方法,从而在基因或者蛋白水平认识鱼类的获得性免疫系统。研究表明经口腔和腹腔免疫可明显刺激系统免疫应答,而经浸泡免疫更适宜于诱导机体的黏膜免疫反应。另外,佐剂也可增强鱼体抗疾病的免疫反应。此外,随着鱼类年龄的增长,对胸腺依赖性抗原的体液免疫应答水平可能有所下降。环境,包括季节、温度胁迫等也会对鱼体内 Ig 的产生有一定的影响;一般认为在一定范围内温度越高,生成 Ig 的效价越高,产生应答的速度越快<sup>[64]</sup>。

近几年来,免疫球蛋白的研究已取得了一定进展,在鱼类、两栖类、爬行类和哺乳类中相继报道了一些新的免疫球蛋白的存在。其中,在几种硬骨鱼类中都报道了 IgZ/IgT 的存在,其 IgH 基因座也逐步得到阐明,这些研究成果不仅丰富了鱼类免疫球蛋白的内容,奠定了鱼类病害免疫防治的基础,而且为揭示脊椎动物 Ig 的进化提供了基础。已有的研究表明,硬骨鱼类的 IgH 基因座中重链基因的数目以及 IgH 基因座的拷贝数都存在一定差异,且大部分具有重要经济价值的鱼类的 IgH 基因座尚未被阐明,这些都有待更进一步的研究。此外,关于鱼类 B 细胞的个体发生方面的研究,已在一些鱼类中得以开展,但由于不同鱼类在孵化时和淋巴器官发育方面有可能存在差异,要总结出 B 细胞个体发生规律,还需要对多种鱼类的 B 细胞个体发生进行进一步研究。最近,Zhang 等<sup>[65]</sup>研究表明虹鳟 IgT 的功能与哺乳类 IgA 一样,主要是粘膜免疫的作用。但目前对有关鱼类粘膜免疫的理化特性、免疫特性及和血清 Ig 之间的关系等方面的了解还远远不够。全面认识鱼类的获得性免疫系统的组成及其功能尚需付出更多的努力。

#### 参考文献:

- [1] Janeway C A, Paul T, Walport M, *et al.* Immunobiology: the Immune System in Health and Disease [M]. New York: Current Biology Publications/Garland Publishers, 2001.
- [2] Flajnik M F. Comparative analyses of immunoglobulin genes: surprises and portents [J]. Nature Reviews Immunology, 2002, 2(9): 688 - 698.
- [3] 周光炎. 免疫学原理 [M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2007.
- [4] 杨汉春. 动物免疫学 [M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.
- [5] Zhao Y F, Cui H T, Whittington C M, *et al.* *Ornithorhynchus anatinus* (Platypos) links the evolution of immunoglobulin genes in eutherian mammals and nonmammalian tetrapods [J]. Journal of Immunology, 2009, 183: 3285 - 3293.
- [6] Zhao Y F, Hammarström L. Cloning of the complete rat immunoglobulin  $\delta$  gene: evolutionary implications [J]. Immunology, 2003, 108(3): 288 - 295.
- [7] Zhao Y F, Kacsokovics I, Pan Q, *et al.* Artiodactyl IgD: the missing link [J]. Journal of Immunology, 2002, 169(8): 4408 - 4416.
- [8] Zhao Y F, Pan-Hammarström Q, Kacsokovics I, *et al.* The porcine Ig  $\delta$  gene: unique chimeric splicing of the first constant region domain in its heavy chain transcripts [J]. Journal of Immunology, 2003, 171(3): 1312 - 1318.
- [9] Senior B W, Woof J M. The influences of hinge length and composition on the susceptibility of human IgA to cleavage by diverse bacterial IgA1 proteases [J]. Journal of Immunology, 2005, 174(12): 7792 - 7799.
- [10] Warr G W, Magor K E, Higgins D A. IgY: clues to the origins of modern antibodies [J]. Immunology Today, 1995, 16(8): 392 - 398.
- [11] Lundqvist M L, Middleton D L, Hazard S, *et al.* The immunoglobulin heavy chain locus of the duck: genetic organization and expression of D, J, and C region genes [J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(50): 46729 - 46736.
- [12] Zhao Y, Rabbani H, Shimizu A, *et al.* Mapping of the chicken immunoglobulin heavy-chain constant region gene locus reveals an inverted  $\alpha$  gene upstream of a condensed  $\nu$  gene [J]. Immunology, 2000, 101(3): 348 - 353.
- [13] Xu Z, Wang G L, Nie P. IgM, IgD and IgY and their expression pattern in the Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis* [J]. Molecular Immunology, 2009, 46(10): 2124 - 2132.
- [14] Deza F G, Espinel C S, Mompó S M. The immunoglobulin heavy chain locus in the reptile *Anolis carolinensis* [J]. Molecular Immunology, 2009, 46(8-9): 1679 - 1687.
- [15] Gambón-Deza F, Espinel C S. IgD in the reptile



- leopard gecko [J]. *Molecular Immunology*, 2008, 45 (12): 3470–3476.
- [16] Gambón Deza F, Sánchez Espinel C, Valdueza Beneítez J. A novel IgA-like immunoglobulin in the reptile *Eublepharis macularius* [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2007, 31 (6): 596–605.
- [17] Wei Z G, Wu Q, Ren L M, *et al.* Expression of IgM, IgD, and IgY in a reptile, *Anolis carolinensis* [J]. *Journal of Immunology*, 2009, 183 (6): 3858–3864.
- [18] Schaerlinger B, Bascove M, Frippiat J P. A new isotype of immunoglobulin heavy chain in the urodele amphibian *Pleurodeles waltl* predominantly expressed in larvae [J]. *Molecular Immunology*, 2008, 45(3): 776–786.
- [19] Mußmann R, Du Pasquier L, Hsu E. Is *Xenopus* IgX an analog of IgA? [J]. *European Journal of Immunology*, 1996, 26(12): 2823–2830.
- [20] Zhao Y F, Pan-Hammarström Q, Yu S Y, *et al.* Identification of IgF, a hinge-region-containing Ig class, and IgD in *Xenopus tropicalis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(32): 12087–12092.
- [21] Dooley H, Flajnik M F. Antibody repertoire development in cartilaginous fish [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2006, 30 (1–2): 43–56.
- [22] Wilson M R, van Ravenstein E, Miller N W, *et al.* cDNA sequences and organization of IgM heavy chain genes in two holostean fish [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 1995, 19 (2): 153–164.
- [23] Wang X X, Sun B J, Chang M X, *et al.* The sequence and expression of the immunoglobulin M heavy chain cDNA of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(1): 13–20.
- [24] Rumpfelt L L, Avila D, Diaz M, *et al.* A shark antibody heavy chain encoded by a nonsomatically rearranged VDJ is preferentially expressed in early development and is convergent with mammalian IgG [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98 (4): 1775–1780.
- [25] Wilson M R, Warr G W. Fish immunoglobulins and the genes that encode them [J]. *Annual Review of Fish Diseases*, 1992, 2: 201–221.
- [26] Solem S T, Stenvik J. Antibody repertoire development in teleosts—a review with emphasis on salmonids and *Gadus morhua* L [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2006, 30 (1–2): 57–76.
- [27] 王改玲, 骆彦萍, 孙宝剑, 等. 鳊免疫球蛋白 D 重链基因的克隆与表达分析 [J]. *中国水产科学*, 2010, 17(1): 11–20.
- [28] Xiao F S, Wang Y P, Yan W, *et al.* Ig heavy chain genes and their locus in grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29 (4): 594–599.
- [29] Hansen J D, Landis E D, Phillips R B. Discovery of a unique Ig heavy-chain isotype (IgT) in rainbow trout: implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102 (19): 6919–6924.
- [30] Wilson M, Bengtén E, Miller N W, *et al.* A novel chimeric Ig heavy chain from a teleost fish shares similarities to IgD [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94(9): 4593–4597.
- [31] Saha N R, Suetake H, Kikuchi K, *et al.* Fugu immunoglobulin D: a highly unusual gene with unprecedented duplications in its constant region [J]. *Immunogenetics*, 2004, 56(6): 438–447.
- [32] Bengtén E, Quiniou S M A, Stuge T B, *et al.* The IgH locus of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, contains multiple constant region gene sequences: different genes encode heavy chains of membrane and secreted IgD [J]. *Journal of Immunology*, 2002, 169(5): 2488–2497.
- [33] Bengtén E, Quiniou S, Hikima J, *et al.* Structure of the catfish IGH locus: analysis of the region including the single functional IGHM gene [J]. *Immunogenetics*, 2006, 58(10): 831–844.
- [34] Gambón-Deza F, Sánchez-Espinel C, Magadán-Mompó S. Presence of an unique IgT on the IGH locus in three-spined stickleback fish (*Gasterosteus aculeatus*) and the very recent generation of a repertoire of VH genes [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2010, 34(2): 114–122.
- [35] Savan R, Aman A, Sato K, *et al.* Discovery of a new class of immunoglobulin heavy chain from fugu [J]. *European Journal of Immunology*, 2005, 35 (11): 3320–3331.
- [36] Savan R, Aman A, Nakao M, *et al.* Discovery of a

- novel immunoglobulin heavy chain gene chimera from common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Immunogenetics, 2005, 57(6):458-463.
- [37] Anderson M K, Strong S J, Litman R T, *et al.* A long form of the skate IgX gene exhibits a striking resemblance to the new shark IgW and IgNARC genes[J]. Immunogenetics, 1999, 49(1):56-67.
- [38] Ota T, Rast J P, Litman G W, *et al.* Lineage-restricted retention of a primitive immunoglobulin heavy chain isotype within the Dipnoi reveals an evolutionary paradox[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(5):2501-2506.
- [39] Rumpfelt L L, Diaz M, Lohr R L, *et al.* Unprecedented multiplicity of Ig transmembrane and secretory mRNA forms in the cartilaginous fish[J]. Journal of Immunology, 2004, 173(2):1129-1139.
- [40] Ohta Y, Flajnik M. IgD, like IgM, is a primordial immunoglobulin class perpetuated in most jawed vertebrates[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(28):10723-10728.
- [41] Nuttall S D, Krishnan U V, Hattarki M, *et al.* Isolation of the new antigen receptor from wobbegong sharks, and use as a scaffold for the display of protein loop libraries [J]. Molecular Immunology, 2001, 38(4):313-326.
- [42] Greenberg A S, Avila D, Hughes M, *et al.* A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks[J]. Nature, 1995, 374(6518):168-173.
- [43] Roux K H, Greenberg A S, Greene L, *et al.* Structural analysis of the nurse shark (new) antigen receptor (NAR): Molecular convergence of NAR and unusual mammalian immunoglobulins [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(20):11804-11809.
- [44] Edholm E S, Wilson M, Sahoo M, *et al.* Identification of Ig $\sigma$  and Ig $\lambda$  in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, and Ig $\lambda$  in Atlantic cod, *Gadus morhua* [J]. Immunogenetics, 2009, 61(5):353-370.
- [45] Wu Q, Wei Z, Yang Z, *et al.* Phylogeny, genomic organization and expression of  $\lambda$  and  $\kappa$  immunoglobulin light chain genes in a reptile, *Anolis carolinensis* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2010, 34(5):579-589.
- [46] Peixoto B R, Brenner S. Characterization of approximately 50 kb of the immunoglobulin VH locus of the Japanese pufferfish, *Fugu rubripes* [J]. Immunogenetics, 2000, 51(6):443-451.
- [47] Danilova N, Busmann J, Jekosch K, *et al.* The immunoglobulin heavy-chain locus in zebrafish: identification and expression of a previously unknown isotype, immunoglobulin Z[J]. Nature Immunology, 2005, 6(3):295-302.
- [48] Amemiya C T, Ohta Y, Litman R T, *et al.* VH gene organization in a relict species, the coelacanth *Latimeria chalumnae*: evolutionary implications [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1993, 90(14):6661-6665.
- [49] Harding F A, Cohen N, Litman G W. Immunoglobulin heavy chain gene organization and complexity in the skate, *Raja erinacea* [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(4):1015-1020.
- [50] Kokubu F, Litman R, Shambloot M J, *et al.* Diverse organization of immunoglobulin VH gene loci in a primitive vertebrate [J]. EMBO Journal, 1988, 7(11):3413-3422.
- [51] Magor B G, Ross D A, Pilstrom L, *et al.* Transcriptional enhancers and the evolution of the IgH locus [J]. Immunology Today, 1999, 20(1):13-17.
- [52] Hikima J I, Lennard M L, Wilson M R, *et al.* Conservation and divergence of the E $\mu$ 3' enhancer in the IGH locus of teleosts [J]. Immunogenetics, 2006, 58(2):226-234.
- [53] Ellestad K K, Magor B G. Evolution of transcriptional enhancers in the immunoglobulin heavy-chain gene: functional characteristics of the zebrafish E $\mu$ 3' enhancer [J]. Immunogenetics, 2005, 57(1):129-139.
- [54] Hsu E, Pulham N, Rumpfelt L L, *et al.* The plasticity of immunoglobulin gene systems in evolution [J]. Immunological Reviews, 2006, 210(1):8-26.
- [55] Warr G W. The immunoglobulin genes of fish [J]. Developmental and Comparative Immunology, 1995, 19(1):1-12.
- [56] Bengtén E, Clem L W, Miller N W, *et al.* Channel catfish immunoglobulins: repertoire and expression [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2006, 30(1-2):77-92.
- [57] Hordvik I, Berven F S, Solem S T, *et al.* Analysis of two IgM isotypes in Atlantic salmon and brown trout

- [J]. *Molecular Immunology*, 2002, 39 ( 5 - 6 ): 313 - 321.
- [58] Nakao M, Moritomo T, Tomana M, *et al.* Isolation of cDNA encoding the constant region of the immunoglobulin heavy-chain from common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1998, 8(6):425 - 434.
- [59] Brown G D, Kaattari I M, Kaattari S L. Two new *Ig VH* gene families in *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Immunogenetics*, 2006, 58(11):933 - 936.
- [60] Solem S T, Hordvik I, Killie J-E A, *et al.* Diversity of the immunoglobulin heavy chain in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is contributed by genes from two parallel *IgH* isoloci[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2001, 25 ( 5 - 6 ): 403 - 417.
- [61] Andersson E, Matsunaga T. Evolutionary stability of the immunoglobulin heavy chain variable region gene families in teleost [J]. *Immunogenetics*, 1998, 47 (3):272 - 277.
- [62] Lundqvist M L, Strömberg S, Pilström L. *Ig* heavy chain of the sturgeon *Acipenser baeri*: cDNA sequence and diversity[J]. *Immunogenetics*, 1998, 48 (6):372 - 382.
- [63] Saha N R, Suetake H, Suzuki Y. Analysis and characterization of the expression of the secretory and membrane forms of *IgM* heavy chains in the pufferfish, *Takifugu rubripes* [J]. *Molecular Immunology*, 2005, 42(1):113 - 124.
- [64] 张立颖, 赵萌. 鱼类免疫球蛋白的研究进展[J]. *水产科学*, 2009, 28(11):701 - 705.
- [65] Zhang Y A, Salinas I, Li J, *et al.* *IgT*, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity [J]. *Nature Immunology*, 2010 ( 11 ): 827 - 835.

## Immunoglobulin heavy chain genes and their loci in fish: progress and perspectives

XIAO Fan-shu, NIE Pin\*

(*State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology,  
Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China*)

**Abstract:** Immunoglobulins (Igs), which bind antigens with high specificity, are important molecules in adaptive immune system of jawed vertebrates. This article summarizes all immunoglobulin isotypes reported in all vertebrate species, and focused on the current knowledge regarding isotypes and their loci in fish. Teleost fishes are found to express the isotypes of IgM, IgD, IgZ/IgT and a chimera IgM-IgZ. In cartilaginous fish, three immunoglobulin isotypes, IgM, IgW and IgNAR have been identified, and IgW was reported also in lungfish. Furthermore, the genomic organization of IgH locus has been revealed in several species of teleost fish. The genome organization of IgH locus in channel catfish is a translocon arrangement, with three  $\delta$  genes linked to a  $\mu$  gene or pseudogene, and the loci in zebrafish, fugu and grass carp follow the pattern of genomic organization:  $V_n - D_n - J_n - C_\zeta - D_n - J_n - C_\mu - C_\delta$ . The organization of the IgH locus in rainbow trout is, in general, similar to that of zebrafish, fugu and grass carp, except that two  $V_H$  genes are found downstream of the  $C_\zeta$ . The IgH loci organization in cartilaginous fishes are multi-clusters, each consisting of a few gene segments ( $V_H - D - D - J_H - C_H$ ) or ( $V_H - D - D - D - J_H - C_H$ ). In different species of teleost fish, it is at least to some extent difficult or probably impossible to summarize a pattern in the expression of different Ig isotypes. Overall, these Ig isotypes are in general expressed in immune organs, such as thymus, head kidney and spleen. Despite the recent progress on the Ig genes and their loci in several species of teleost fish, many aspects such as the ontogeny of B lymphocytes, the pattern of antibody responses and the role of these different antibodies, and even the exact Ig gene composition and their loci may need to be further investigated either in different species or in greater detail.

**Key words:** fish; gene; immunoglobulin (Ig); IgH locus

**Corresponding author:** NIE Pin. E-mail: pinnie@ihb.ac.cn