

## 对虾 Toll 受体及其在虾类营养免疫评价中的应用

黄旭雄\*, 罗词兴, 郭腾飞, 华雪铭, 温 文, 周洪琪

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: Toll 受体是一类跨膜蛋白, 其胞外区能够识别仅表达在病原微生物上的高度保守的结构基序(motifs)——病原相关的分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 并将病原入侵的信号传递到细胞内, 诱导产生一系列的免疫效应因子和免疫反应。Toll 受体是机体对入侵病原微生物产生免疫效应的关键分子。多种对虾中存在 Toll 受体, 但对虾 Toll 受体在虾类营养免疫研究中的应用尚未得到发掘。本文综述了 Toll 信号途径及对虾 Toll 受体的研究进展, 并探讨了 Toll 受体在虾类营养免疫评价中的应用价值, 认为对虾 Toll 受体表达量的变化可以反映机体对入侵病原识别的灵敏性, 在今后的营养免疫学研究中具有重要价值, 并提出了今后对虾 Toll 受体研究的方向。

关键词: Toll 受体; 对虾; 营养免疫评价

中图分类号: S 917

文献标志码: A

Toll 受体蛋白是 1980 年国外学者在果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 胚胎中发现的<sup>[1]</sup>, 它在果蝇分化形成胚胎背腹轴和免疫中起着重要作用。近年来, 先后在果蝇中发现有 9 种 Toll 受体, 果蝇通过 Toll 蛋白能感知入侵的病原体, 并在此基础上诱导果蝇分泌抗菌肽等免疫因子<sup>[2]</sup>。随后陆续发现冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*) 有 11 种<sup>[3]</sup>、家蚕 (*Bombyx mori*) 有 11 种<sup>[4-5]</sup>、蜜蜂(*Apis mellifera*) 有 5 种 Toll 蛋白<sup>[6]</sup>。此外, 在埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)<sup>[7]</sup> 和烟草天蛾(*Manduca sexta*)<sup>[8]</sup> 中也克隆出了 Toll 受体。同时, 科学家在人类和其他后口动物身上发现了进化保守的, 与果蝇的 Toll 蛋白家族在结构上有高度同源性的多种 Toll 样蛋白, 并命名为 Toll-Like Receptors (TLRs)。如在人体中发现 11 种 TLRs, 在小鼠中发现 13 种 TLRs<sup>[9-10]</sup>。大量的研究证实, Toll 受体/TLRs 是目前发现的能够识别仅表达在病原微生物上的高度保守的结构基序(motifs)——病原相关的分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 的一组蛋白。在动物的早期先天免疫中, TLRs 在识别入侵病原微生物中

发挥重要作用。TLRs 受 PAMPs 刺激而启动信号级联反应导致细胞因子的产生和协同刺激因子的表达, 在天然免疫和获得性免疫中起到了桥梁的作用。人类的 TLRs 的结构、分布、功能及与疾病的关系已有较深入的了解<sup>[11]</sup>。甲壳动物的 Toll 受体目前也备受关注。本文综述了 Toll 信号途径及对虾 Toll 受体的研究进展, 并探讨了 Toll 受体在虾类营养免疫学研究中的应用。

### 1 Toll 信号途径及其激活

在昆虫等无脊椎动物中发现了多类模式识别受体, 主要包括肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan-recognition proteins, PGRPs)、革兰氏阴性菌结合蛋白(gram-negative-binding proteins, GNBNPs)、 $\beta$ -葡聚糖结合蛋白( $\beta$ -glucan-binding proteins, BGBPs)、凝集素(agglutinin)和含硫脂蛋白, 其中 PGRPs 和 GNBNPs 是果蝇的两类主要的模式识别受体。

通过分析 Toll 受体 cDNA 序列的结构, 发现昆虫 Toll 受体是一类跨膜蛋白受体, 可分为 3 个部分: 胞外区、跨膜区和胞内区, 其 Toll 受体胞外区是一

收稿日期: 2011-10-18

修回日期: 2012-02-22

资助项目: 上海市科委项目(08DZ1981000); 上海高校创新团队(第二期)建设项目

通讯作者: 黄旭雄, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

个富含亮氨酸的结构域, 而胞内区与白介素-1 受体(interleukin-1 receptors, IL-1R)的胞内区相似的结构域, 被称为 TIR(Toll/ IL-1 receptor homologous region, TIR)结构域<sup>[12]</sup>。Toll 受体胞外区的主要功能是识别外来病原体表面的 PAMPs, 然后通过跨膜区将病原侵扰信息从细胞外传递到细胞内。胞内区 TIR 主要功能是通过一系列的信号传导, 介导机体启动先天免疫反应<sup>[14]</sup>。进化分析表明 Toll 信号途径是一个进化保守的信号传递途径。相对于胞外结构的进化, 胞内区 TIR 进化保守性更强<sup>[14]</sup>。

以果蝇为例, Toll 信号途径中, 参与信号传导并形成一系列级联反应(cascade)的信号因子有: Spaetzle 蛋白, Toll 蛋白, Tube 和髓样分化因子 88 (MyD88)、Pelle 蛋白、Cactus、Dorsal 和 Dif 转录调控因子。

Spaetzle 蛋白是一种胞外信号因子, 分子结构上是一个胱氨酸节(cystine-knot), 其结构与哺乳类的神经营养因子相类似。Spaetzle 蛋白的前体为 Spaetzle 蛋白原, Spaetzle 蛋白原不具备生物学活性, 但在病菌入侵时能被模式识别受体(如 GNBPs)诱导的蛋白水解级联反应活化成有生物学活性的 Spaetzle 蛋白<sup>[15-16]</sup>。具有全部生物学活性的 Spaetzle 蛋白的分子量为 12 ku, 是一个二聚体蛋白, 与 Toll 受体的胞外结构域具有很强的亲和力, 一个 Spaetzle 二聚体蛋白能够结合两个 Toll 受体的胞外结构域<sup>[17]</sup>。

Toll 受体的胞内结构域(TIR)能够与 3 种细胞因子(分别为 Tube 和 MyD88、Pelle 激酶)相互作用。这 3 种细胞因子都是有死亡结构域(death domain)的蛋白。其中 Tube 和 MyD88 受体为连接物蛋白(adaptor protein)。Pelle 蛋白具有丝氨酸-苏氨酸激酶结构域<sup>[18]</sup>。

在微生物感染过程中, Toll 信号途径中各成分的作用尚未完全清楚, 但能够调节抗菌肽多肽的表达。由 Toll 传导到细胞内的入侵信号通过 Tube、MyD88 受体和 Pelle 蛋白从锚蛋白重复序列抑制蛋白 Cactus 中依次经过信号依赖的磷酸化作用和蛋白酶体的降解作用分解出核转录因子(NF-kB), 如 DIF 因子(Dorsal-related immunity factor)和 Dorsal 蛋白<sup>[19-20]</sup>。DIF 因子和 Dorsal 蛋白作为转录因子进入细胞核后, 调控果蝇抗真菌肽基因(Drosomycin gene)和其他免疫相关的下游基因的表达量(图 1)。

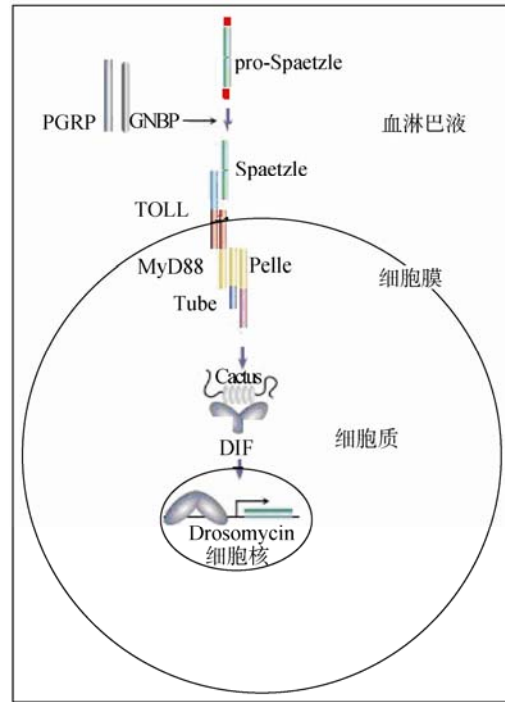


图 1 Toll 信号途径控制果蝇抗微生物多肽基因表达示意图

Fig. 1 The Toll pathway in the control of genes encoding antimicrobial peptides

当 Toll 受体及其细胞内信号分子 Tube 和 Pelle 发生缺陷时, Drosomycin 的合成量明显下降。在微生物感染时, Toll 信号途径中的许多组成成分能以 Toll 依赖性形式自我上调表达, 进而抑制 Cactus 的表达, 建立该途径的一个负反馈调节过程。基因芯片的检测表明, 在感染激活 Toll 信号途径后, 数百种基因的表达得到了显著上调<sup>[21-22]</sup>。

在果蝇的基因组中鉴定出的 9 个编码 Toll 蛋白的基因, 其编码的 Toll 蛋白具有不同的生物学功能, 其中 Toll-2 参与对细菌的免疫应答, Toll-1 和 Toll-5 参与对真菌的免疫应答<sup>[23]</sup>。

## 2 对虾 Toll 受体研究进展

随着分子生物学技术的发展和水产养殖研究的深入, Toll 受体在虾中的研究也有一定的进展, 自 2007 年以来, 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)<sup>[24-25]</sup>、斑节对虾(*Penaeus monodon*)<sup>[26]</sup>、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)<sup>[27]</sup> 和中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)<sup>[28]</sup>等多种虾的 Toll 受体基因被克隆出来。国内外已经将 Toll 受体基因的表达水平作为衡量虾类免疫机能的一项重要分子水平指标。

Yang 等<sup>[24]</sup>克隆了凡纳滨对虾的 Toll 受体 (LvToll) 的 cDNA 全长为 3 456 bp, 开放阅读框 2 781 bp, 编码一个 926 个氨基酸残基的蛋白, 包括细胞外富含亮氨酸重复的结构域(134-642 氨基酸残基)、跨膜片段(708-730 氨基酸残基)和胞内 TIR 结构域(761-898 氨基酸残基)。对比研究发现 LvToll 的 TIR 结构域与蜜蜂和埃及伊蚊的 Toll 胞内结构域的相似性分别为 59.9%和 55.8%。对 LvToll 的组织分布研究表明, LvToll 在凡纳滨对虾的血细胞、鳃组织、心脏等组织中有高表达, 肝胰脏和眼柄中有低表达。而叶旻玉等<sup>[25]</sup>也对凡纳滨对虾 Toll 受体基因的 cDNA 片段进行了克隆, 研究表明所得序列与斑节对虾等无脊椎动物的 Toll 受体基因 TIR 区域的氨基酸序列有较高的相似性。Han-Ching 等<sup>[26]</sup>研究表明, 凡纳滨对虾在受到哈维弧菌(*Vibrio harveyi*)攻击后, 其 LvToll 基因的表达显著升高, 表明 LvToll 基因参与抗弧菌的免疫反应。但不参与 WSSV 的免疫反应。Labreuche 等<sup>[27]</sup>研究发现凡纳滨对虾 LvToll 不参与 dsRNA 病毒的免疫反应。本课题组在检测凡纳滨对虾 Toll 受体 mRNA 组织表达差异性时, 发现血淋巴和鳃中 Toll 受体 mRNA 相对表达量较高, 而肝胰脏中表达量很低(图 2)。最近, Wang 等<sup>[28]</sup>研究发现凡纳滨对虾中存在 3 种 LvToll。在溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)攻击后, LvToll-1 的表达会上调, 而 LvToll-2 和 LvToll-3 的表达没有变化; 但在 WSSV 感染后, LvToll-1、LvToll-2 和 LvToll-3 的表达均会上调。

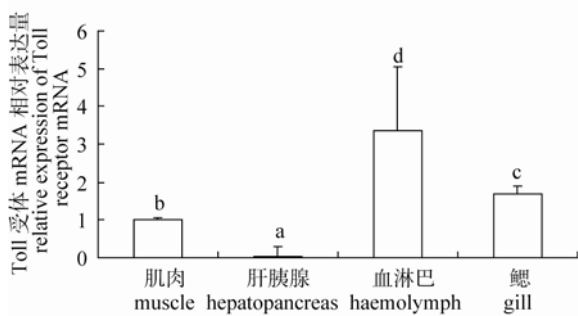


图 2 凡纳滨对虾肌肉、肝胰脏、血淋巴和鳃组织中溶藻酶 mRNA 相对表达量

Fig. 2 Lysozyme mRNA expression levels in muscle, hepatopancreas, haemolymph and gill of *L. vannamei*

Arts 等<sup>[29]</sup>克隆了斑节对虾(*P. monodon*)的 Toll 受体(PmToll)的 cDNA 全长为 744 bp, 具有一个保守的胞内 TIR 结构域(nt 452-793), 跨膜结构域(nt

294-348)、胞外富含亮氨酸重复 C-末段(LRR-CT)结构域(nt 132-229)和富含亮氨酸重复序列的结构域(nt 33-101), 其编码的 Toll 蛋白氨基酸序列与意大利蜜蜂(*A. mellifera*)的 Toll 蛋白氨基酸序列有 59%的相似。对 PmToll 基因组结构的分析发现其有 5 个外显子和 4 个内含子。斑节对虾的 PmToll 基因在鳃、肠和肝胰脏中有表达, 同时发现 PmToll 不参与抗病毒的免疫防御。斑节对虾 PmToll 与凡纳滨对虾 LvToll 核苷酸序列的相似度高达 92%, 其分别编码的氨基酸相似度达 96.9%<sup>[30]</sup>。

Mekata 等<sup>[30]</sup>从日本囊对虾中克隆出一种新型的 Toll 样受体 (MjToll) 基因, 其 cDNA 全长为 3 095 个核苷酸, 编码 1 009 氨基酸。MjToll 基因的核苷酸序列与凡纳滨对虾的 LvToll 基因和斑节对虾的 PmToll 基因的相似度分别为 66.8%和 66.6%。MjToll 基因编码的氨基酸序列与凡纳滨对虾的 LvToll 基因和斑节对虾的 PmToll 基因编码的氨基酸序列的相似度分别为 59.1%和 59.8%。MjToll 在鳃、肠、淋巴器官、心脏、造血器官和血细胞等组织都有组成性表达。肽聚糖处理 9 到 12 h 后, MjToll 基因的表达显著升高; 但脂多糖处理不能使 MjToll 基因的表达上调。

Yang 等<sup>[31]</sup>研究发现中国明对虾的 Toll 样受体 (FcToll)cDNA 全长为 4 115 bp, 包含一个 16 bp 的 poly-A 尾部。开放阅读框 2 793 bp, 编码一个 931 个氨基酸的蛋白, 该蛋白由一个细胞外结构域、23 个氨基酸组成的跨膜区和 139 个氨基酸残基组成的胞内 TIR 结构域组成。细胞外结构域由信号肽、16 富含亮氨酸的重复序列(LRR)、两个 LRR-C 末端基序和两个 LRR-N 末端基序组成。对 FcToll 基因组结构的分析发现其与凡纳滨对虾的 LvToll 相似性很高, 同样有 5 个外显子和 4 个内含子。FcToll 在多种组织中有表达, 尤以鳃和淋巴器官中表达水平相对较高, 在肝胰脏和胃中表达较低。给中国明对虾注射鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)后, FcToll 的表达显著上调, 并且在注射后 23 h 达到高峰, 而注射白斑综合症病毒(WSSV)的组 FcToll 的表达立刻显著下调。表明 FcToll 可能参与对细菌免疫防御, 但不参与对病毒免疫防御。

上述研究表明对虾含有 Toll 受体, 但其 cDNA 序列、编码的蛋白组成及在不同组织中的表达丰度存在种的差异性。Toll 受体在虾类非特异免疫过程

中, 参与弧菌感染后的免疫信号的传递和免疫效应因子的调控。

### 3 Toll 受体在虾类营养免疫学研究中的应用

营养免疫关系的研究是营养学研究的新热点。营养和免疫作为生物机体的两个重要生理代谢活动, 相互之间存在密切的影响。一方面, 营养水平会影响机体的免疫机能发挥。营养素影响对虾免疫机能的研究已有广泛报道, 蛋白水平<sup>[32]</sup>、维生素水平<sup>[33-36]</sup>、微量元素水平<sup>[37-38]</sup>、饲料能量水平<sup>[39]</sup>及免疫多糖<sup>[40-44]</sup>等均会影响对虾的免疫机能和抗菌能力。另一方面, 机体免疫机能的发挥也会影响机体对营养素的需求水平。Shiau 等<sup>[45]</sup>研究表明斑节对虾获得最大生长时对饵料中锌的需求量为 32~34 mg Zn/kg 饲料; 然而其获得最佳免疫机能时对饵料中锌的需求量为 35~48 mg Zn/kg 饲料。Lee 等<sup>[37]</sup>认为斑节对虾在饵料铜含量为 15~21 mg Cu/kg 饲料时可获得最大生长速度, 而在 10~30 mg Cu/kg 饲料时可获得最佳免疫机能。

有关营养素影响对虾 Toll 受体基因表达的研究目前刚刚起步。冯伟等<sup>[46]</sup>研究表明中国明对虾饲料中添加 2%Vc 能上调鳃组织中 Toll 样受体和 NF- $\kappa$ B 这两个免疫基因的表达量, 适量的 Vc 能提高中国明对虾的免疫应答能力。饲料中的铜、锌添加水平对凡纳滨对虾的 Toll 受体基因的表达有显著影响。在基础饲料中添加不同水平蛋氨酸锌(添加水平分别为 0、50、150 mg Zn/kg)并饲喂凡纳滨对虾。养殖 14 d 后, 添加 50 mg Zn/kg 组(锌含量为 73.25 mg Zn/kg 饲料)对虾鳃组织中的 Toll 受体 mRNA 和溶菌酶 mRNA 表达量均显著高于未添加锌组和添加 150 mg Zn/kg 组( $P<0.05$ )。添加 50 mg Zn/kg 组对虾肌肉、肝胰腺和血淋巴中溶菌酶活性显著高于未添加锌组( $P<0.05$ )。添加 50 mg Zn/kg 组对虾肝胰腺和血淋巴中的 SOD 活性也显著高于未添加锌组。经溶藻弧菌人工急性感染后, 添加 50 mg Zn/kg 组对虾半致死时间和全致死时间大于未添加锌组和添加 150 mg Zn/kg 组。表明相比摄食未添加锌组饲料和添加 150 mg Zn/kg 组饲料, 凡纳滨对虾的免疫抗菌机能在摄取添加 50 mg Zn/kg(锌含量为 73.25 mg Zn/kg 饲料)饲料时得到改善<sup>[47]</sup>。当在饲料中添加 0、30 和 50 mg Cu/kg 饲

料的蛋氨酸铜, 投喂凡纳滨对虾 7、14 和 21 d, 则凡纳滨对虾鳃组织中 Toll 受体 mRNA 表达水平显著受影响。第 7 天时凡纳滨对虾 Toll 受体 mRNA 表达水平随着饲料铜水平升高而显著升高( $P<0.05$ ); 第 14 和 21 天时, Toll 受体 mRNA 表达水平在摄食添加 30 mg Cu/kg 组最高。人工急性感染溶藻弧菌实验表明, 第 7 天时, 摄食添加 50 mg Cu/kg 组凡纳滨对虾在全致死时间和半致死时间长于未添加铜组和添加 30 mg Cu/kg 组, 但在第 14 天, 摄食添加 30 mg Cu/kg 组的全致死时间和半致死时间最长。表明饲料铜添加水平也会改变 Toll 受体 mRNA 表达水平, 从而影响机体的抗弧菌能力<sup>[48]</sup>。

### 4 展望

近年来, 在高密度集约化养殖条件下, 养殖环境污染、种质退化、饲料质量下降等因素降低了对虾免疫性能, 增加了其对病原微生物的易感性, 从而导致传染性病害爆发, 使世界对虾养殖业遭受巨大的经济损失。通过营养途径调控虾体免疫抗病机能是一条防治虾类病害爆发的新途径, 不仅可减少使用抗生素和化学药物, 保护养殖环境, 还能生产出绿色无公害水产食品, 因而具有重要的理论价值和广阔的应用前景。免疫防病的根本途径是提高机体的免疫力, 提高机体免疫力的关键不是单纯提高某个免疫指标的水平, 而是提高机体免疫的灵敏性和平衡性, 即机体对侵入体内的异物能够迅速产生充分的反应并在异物清除后能恢复正常状态<sup>[48]</sup>。Toll 受体是跨膜信号传递系统, 能够将异物入侵的信号从胞外传递到胞内, 从而引起胞内信号级联反应, 介导细胞启动先天免疫反应。对机体进行攻毒试验能直观地反应出机体对该病菌的抗感染能力, 同时也能体现出机体的免疫机能<sup>[48]</sup>。对虾体进行弧菌感染试验, 发现都会使机体的 Toll 受体基因表达水平升高<sup>[26,28,31]</sup>, 因此, 对虾类 Toll 受体基因的表达水平可以在一定程度上反映机体的免疫灵敏性, 在今后的营养免疫学研究中具有重要价值。

有关对虾 Toll 基因的应用研究刚刚起步, 更多的营养素对对虾 Toll 基因表达的影响, 仍需进一步深入研究。此外在满足营养需求的情况下, 饲料蛋白原料的替代是否也会对对虾 Toll 基因的表达产生影响? 能否或如何应用对虾 Toll 受体基因

的表达水平来判断饲料配方的营养免疫学价值？上述科学问题有待今后进一步的深入研究。

#### 参考文献:

- [1] Nüsslein-Volhard C, Lohs-Schardin M, Sander K, *et al.* A dorso-ventral shift of embryonic primordia in a new maternal-effect mutant of *Drosophila* [J]. *Nature*, 1980, 283: 474-476.
- [2] Medzhitow R, Janeway Jr C A. An ancient system of host defense [J]. *Current Opinion in Immunology*, 1998, 10(1): 12-15.
- [3] Christophides G K, Zdobnov E, Barillas-Mury C, *et al.* Immunity-related genes and gene families in *Anopheles gambiae* [J]. *Science*, 2002, 298(5591): 159-164.
- [4] Imamura M, Yamakawa M. Molecular cloning and expression of a Toll receptor gene homologue from the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*, 2002, 1576(3): 246-254.
- [5] Cheng T C, Zhang Y L, Liu C, *et al.* Identification and analysis of Toll-related genes in the domesticated silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(5): 464-475.
- [6] Aronstein K, Saldivar E. Characterization of a honey bee Toll related receptor gene Am18w and its potential involvement in antimicrobial immune defense [J]. *Apidologie*, 2005, 36(1): 3-14.
- [7] Shin S W, Bian G, Raikhel A S. A toll receptor and a cytokine, Toll5A and Spz1C, are involved in toll antifungal immune signaling in the mosquito *Aedes aegypti* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(51): 39388-39395.
- [8] Ao J, Ling E, Yu X Q. A Toll receptor from *Manduca sexta* is in response to *Escherichia coli* infection [J]. *Molecular immunology*, 2008, 45(2): 543-552.
- [9] Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling [J]. *Nature*, 2004, 430(6996): 257-263.
- [10] West A P, Koblansky A A, Ghosh S. Recognition and signaling by toll-like receptors [J]. *Annual Review of Cell and Biology*, 2006, 22: 409-437.
- [11] 唐深, 冷静. TLR 家族及其功能研究进展[J]. *微生物学免疫学进展*, 2004, 32(2):42-45.
- [12] Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, *et al.* The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults [J]. *Cell*, 1996, 86: 973-983.
- [13] Hashimoto C, Hudson K L, Anderson K V. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein [J]. *Cell*, 1988, 52(2): 269-279.
- [14] Ligoxygakis P, Pelte N, Hoffmann J A, *et al.* Activation of *Drosophila* Toll during fungal infection by a blood serine protease [J]. *Science*, 2002, 297(5578): 114-121.
- [15] Mizuguchi K, Parker J S, Blundell T L, *et al.* Getting knotted: a model for the structure and activation of Spatzle [J]. *Trends in Biochemical Science*, 1998, 23: 239-243.
- [16] DeLotto Y, DeLotto R. Proteolytic processing of the *Drosophila* Spatzle protein by easter generates a dimeric NGF-like molecule with ventralising activity [J]. *Mechanisms of Development*, 1998, 72: 141-148.
- [17] Weber A N R, Tauszig-Delamasure S, Hoffmann J A, *et al.* Binding of the *Drosophila* cytokine Spatzle to Toll is direct and establishes signaling [J]. *Nature Immunology*, 2003, 8: 794-800.
- [18] Hoffmann J A. The immune response of *Drosophila* [J]. *Nature*, 2003, 426: 33-38.
- [19] Nicolas E, Reichhart J M, Hoffmann J A, *et al.* In vivo regulation of the I $\kappa$ B homologue cactus during the immune response of *Drosophila* [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273: 10463-10469.
- [20] Fernandez N Q, Grosshans J, Goltz J S, *et al.* Separable and redundant regulatory determinants in Cactus mediate its dorsal group dependent degradation [J]. *Development*, 128: 2963-2974.
- [21] De Gregorio E, Spellman P T, Rubin G M, *et al.* Genome-wide analysis of the *Drosophila* immune response by using oligonucleotide microarrays [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98: 12590-12595.
- [22] Irving P, Troxler L, Heuer T S, *et al.* A genome-wide analysis of immune responses in *Drosophila* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98: 15119-15124.
- [23] Ooi J Y, Yagi Y, Hu X D, *et al.* The *Drosophila* Toll-9 activates a constitutive antimicrobial defense [J]. *EMBO Report*, 2002, 3(1):82-87.
- [24] Yang L S, Yin Z X, Liao J X, *et al.* A Toll receptor in shrimp [J]. *Molecular immunology*, 2007, 44(8): 1999-2008.
- [25] 叶旻玉, 刘利平, 戴习林, 等. 凡纳滨对虾 Toll 样受体基因 cDNA 片段的克隆及序列分析[J]. *上海水产大学学报*, 2008, 17(3): 263-267.
- [26] Han-Ching W K, Tseng C W, Lin H Y, *et al.* RNAi knock-down of the *Litopenaeus vannamei* Toll gene (LvToll) significantly increases mortality and reduces bacterial clearance after challenge with *Vibrio harveyi* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2010, 34(1): 49-58.
- [27] Labreuche Y, O'Leary N A, de la Vega E, *et al.* Lack of evidence for *Litopenaeus vannamei* Toll receptor (IToll) involvement in activation of sequence-independent antiviral immunity in shrimp [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2009, 33: 806-810.

- [28] Wang P H, Liang J P, Gu Z H, *et al.* Molecular cloning, characterization and expression analysis of two novel Tolls (LvToll2 and LvToll3) and three putative Spätzle-like Toll ligands (LvSpz1–3) from *Litopenaeus vannamei* [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2012, 36(2): 359–371.
- [29] Arts J A J, Cornelissen F H J, Cijssouw T, *et al.* Molecular cloning and expression of a Toll receptor in the giant tiger shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, 23(3): 504–513.
- [30] Mekata T, Kono T, Yoshida T, *et al.* Identification of cDNA encoding Toll receptor, MjToll gene from kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 24(1): 122–133.
- [31] Yang C J, Zhang J Q, Li F H, *et al.* A Toll receptor from Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* is responsive to *Vibrio anguillarum* infection [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 24(5): 564–574.
- [32] Pascual C, Zenteno E, Cuzon G, *et al.* *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary protein [J]. *Aquaculture*, 2004, 236: 431–450.
- [33] Lee M H, Shiau S Y. Dietary vitamin C and its derivatives affect immune responses in grass shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2002, 12(2): 119–129.
- [34] Lee M H, Shiau S Y. Increase of dietary vitamin C improves haemocyte respiratory burst response and growth of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, fed with high dietary copper [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2003, 14: 305–315.
- [35] Lee M H, Shiau S Y. Vitamin E requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2004, 16(4): 475–485.
- [36] 周歧存, 丁熹, 郑石轩, 等. 维生素 C 对凡纳滨对虾生长及抗病力的影响[J]. *水生生物学报*, 2004, 28(6): 592–598.
- [37] Lee M H, Shiau S Y. Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2002, 13(4): 259–270.
- [38] Yeh S T, Liu C H, Chen J C. Effect of copper sulfate on the immune response and susceptibility to *Vibrio alginolyticus* in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2004, 17: 437–446.
- [39] Pascual C, Arena L, Cuzon G, *et al.* Effect of a size-based selection problem on blood metabolites and immune response of *Litopenaeus vannamei* juveniles fed different dietary carbohydrate levels [J]. *Aquaculture*, 2004, 230: 405–416.
- [40] 刘岩, 江晓路, 吕青, 等. 聚甘露糖酸对中国对虾免疫相关酶活性和溶菌溶血活性的研究[J]. *水产学报*, 2000, 24(6): 549–553.
- [41] Chang C F, Su M S, Chen H Y, *et al.* Dietary  $\beta$ -1,3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2003, 15(4): 297–310.
- [42] Chang C F, Chen H Y, Su M S, *et al.* Immunomodulation by dietary  $\beta$ -1,3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2000, 10(6): 505–514.
- [43] López N, Cuzon G, Gaxiola G, *et al.* Physiological, nutritional, and immunological role of dietary  $\beta$  1-3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. *Aquaculture*, 2003, 224: 223–243.
- [44] Huang X X, Zhou H Q, Zhang H. The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharides extracts on the ability on anti-disease and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20: 750–757.
- [45] Shiau S Y, Jiang L C. Dietary zinc requirements of grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on immune responses [J]. *Aquaculture*, 2006, 254(1-4): 476–482.
- [46] 冯伟, 李健, 李吉涛. Vc 对中国对虾非特异免疫因子及 TLR/NF-kB 表达量的影响[J]. *水产学报*, 2011, 35(2): 200–208.
- [47] 郭腾飞, 黄旭雄, 苏明, 等. 饲料锌添加水平对凡纳滨对虾免疫抗菌机能和溶菌酶 mRNA 及 Toll 受体 mRNA 表达的影响[J]. *水产学报*, 2011, 35(7): 1081–1089.
- [48] 郭腾飞, 黄旭雄, 苏明, 等. 饲料铜水平对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)免疫抗菌能力及 Toll 受体 mRNA 和溶菌酶 mRNA 表达的影响[J]. *水生生物学报*, 2012.
- [49] 黄旭雄, 周洪琪. 甲壳动物免疫机能的衡量指标及科学评价[J]. *海洋科学*, 2007, 31(7): 90–96.

## Toll receptor in prawn and its application in nutrition-immunity assessing on prawn

HUANG Xu-xiong\*, LUO Ci-xing, GUO Teng-fei, HUA Xue-ming, WEN Wen, ZHOU Hong-qi  
(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Toll receptor is a kind of transmembrane protein. The extracellular domain of Toll receptor can recognize the highly conserved components of pathogens, termed pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), which is only expressed on pathogen microbe. The signal on pathogen invasion is transmitted into cell by Toll receptor and then induce cascades on production of immune effectors and immune reactions. Toll receptor is vital for innate immunity of organism. The existence of Toll receptor has been verified in some kinds of shrimp. But the application of Toll receptor in nutrition-immunity study of shrimp is scarce. This paper reviews the signal pathway of Toll and research advance on prawn Toll. The application of Toll receptor in nutrition-immunity assessing on prawn is also elucidated. The variation on expression of Toll receptor gene may reflect the sensitivity of organism to invading pathogen. Expression of Toll receptor gene should be a valuable parameter for assaying nutrition-immunity of shrimp. However, more research should be conducted in future to interpret the effects of dietary nutrients on expression of Toll receptor gene. Whether expression of Toll receptor gene of shrimp could reflect the immunological function of the diet should also be studied.

**Key words:** prawn; Toll receptor; nutrition-immunity assessing

**Corresponding author:** HUANG Xu-xiong. E-mail: xxhuang@shou.edu.cn