



### 3 种黄颡鱼 *SOCSs* 基因分子特性及致病菌胁迫下的表达模式

孙亦如<sup>1</sup>, 张红燕<sup>1</sup>, 毕宜慧<sup>1</sup>, 马思思<sup>1</sup>, 张凯<sup>1</sup>,  
暨杰<sup>1</sup>, 王涛<sup>1</sup>, 贾永义<sup>2</sup>, 尹绍武<sup>1\*</sup>

(1. 南京师范大学海洋科学与工程学院,

江苏省特色水产育种与绿色高效养殖技术工程研究中心, 江苏 南京 210023;

2. 浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001)

**摘要:** 细胞因子信号传导抑制因子 (SOCS) 是 JAK/STAT 信号通路中细胞因子信号受体的重要抑制因子。为探究 SOCS 在鱼类免疫应答过程中的作用, 本研究以杂交黄颡鱼“黄优 1 号”及其母本黄颡鱼和父本瓦氏黄颡鱼为对象, 克隆了杂交黄颡鱼“黄优 1 号”3 个免疫相关基因 (*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3*), 并对其生物信息学进行了比较分析; 采用 qRT-PCR 技术研究了 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因分别在 3 种黄颡鱼感染嗜水气单胞菌和鲶爱德华氏菌后的表达模式。结果显示, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的全长分别为 561、735 和 672 bp, 分别编码 186、244 和 223 个氨基酸, 其预测的蛋白结构均含有保守的 SH2 结构域和 SOCS 盒。黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的表达在被检的 8 个不同组织中呈现组织特异性。在两种致病细菌感染后, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”及其双亲的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在肝脏、鳃和头肾组织中的表达量均在前 24 h 显著升高, 随后逐渐恢复至正常水平。此外, 鲶爱德华氏菌感染后, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的表达量显著高于双亲, 表现出较双亲更强的免疫调节能力且具有病原特异性。该结果为进一步解析黄颡鱼 *SOCS* 家族免疫防御调控机制提供了参考依据。

**关键词:** 杂交黄颡鱼; *SOCS* 基因; 致病菌; 表达模式

**中图分类号:** Q 785; S 917.4

**文献标志码:** A

鱼类作为世界上最丰富的动物蛋白质来源之一, 其消费量与日俱增。其中, 黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 和瓦氏黄颡鱼 (*P. vachelli*) 作为重要的淡水经济鱼类, 2019 年的产量已经超过了 53 万 t<sup>[1]</sup>, 而且呈不断上升的趋势<sup>[2]</sup>。黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼均属于鲶形目 (Siluriformes) 鲶科 (Bagridae) 黄颡鱼属 (*Pelteobagrus*), 因其具有无肌间刺、肉质鲜美、营养价值高等优点, 已成为我国出口创汇的优良品种<sup>[3-4]</sup>。和许多养殖品种类似,

黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼在经历了多年人工养殖之后, 种质资源退化的现象日渐明显, 其表现主要包括鱼肉品质下降、病害频发、抗病力下降、个体小型化等<sup>[5]</sup>。良好的种质资源是水产养殖业可持续发展的重要保障, 因此人们亟需采取积极有效的措施来解决种质资源退化的问题。培育高产优质的新品种是解决种质资源退化最有效的方式之一, 而杂交育种则是改良鱼类品质、提高鱼类产量的重要途径<sup>[6]</sup>。

收稿日期: 2020-10-29 修回日期: 2021-03-05

资助项目: 浙江省淡水水产研究所开放课题 (ZJK202003); 江苏省农业科技自主创新资金 [CX(19)2034]; 江苏省农业重大新品种创制项目 (PZCZ201742); 江苏省重点研发计划 (BE2017377)

第一作者: 孙亦如 (照片), 从事水生动物种质资源与遗传育种研究, E-mail: 540671859@qq.com

通信作者: 尹绍武, 从事鱼类抗逆性状的遗传基础与调控机制研究, E-mail: yinshaowu@163.com



我国关于黄颡鱼属鱼类杂交育种的报道较多。其中以黄颡鱼为母本,瓦氏黄颡鱼为父本杂交得到的杂交黄颡鱼“黄优1号” [*P. vachell* (♂) × *P. fulvidraco* (♀), “Huangyou-1”], 于2018年经全国水产原种和良种审定委员会审定为新品种(品种号GS-02-001-2018), 其具有体色诱人、生长快速、抗病力强、当年苗种达上市规格等优势<sup>[7]</sup>。目前关于杂交黄颡鱼“黄优1号”的研究主要集中在遗传分析、生长发育及营养价值等方面。

关于杂交黄颡鱼“黄优1号”抗病力的相关报道较少。胡大雁等<sup>[8]</sup>比较了黄颡鱼和杂交黄颡鱼抗鲷爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)感染的的能力, 结果表明鲷爱德华氏菌对杂交黄颡鱼的半致死浓度明显高于黄颡鱼, 死亡率显著低于黄颡鱼, 说明杂交黄颡鱼的抗细菌病的能力优于普通黄颡鱼。Zhang等<sup>[9]</sup>通过注射嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)和鲷爱德华氏菌, 比较分析了杂交黄颡鱼“黄优1号”与双亲自交子代幼鱼的存活率、免疫相关酶活性及基因的表达情况, 结果显示杂交黄颡鱼“黄优1号”的中亲优势率为43.54%, 超亲优势率为24.21%, 其相比于亲本具有更好的免疫应答能力。本实验前期的研究表明, *SOCS*基因在杂交黄颡鱼“黄优1号”及其父母本中的表达存在差异, 推测其可能在抗病原菌入侵过程中发挥免疫调控作用, 有待进一步研究<sup>[10]</sup>。

细胞因子信号传导抑制因子(suppressor of cytokine signaling, *SOCS*)是JAK/STAT(the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription)信号通路中细胞因子信号受体最重要的抑制因子之一。在哺乳动物中, *SOCS*家族蛋白的结构域可以分为3个区域, 即具有不同长度和一级序列的N末端区域、中心SH2结构域和羧基末端*SOCS*盒<sup>[11]</sup>。其中, SH2结构域和*SOCS*盒是*SOCS*蛋白功能的关键结构域, 其功能是特异性识别磷酸化酪氨酸残基, 从而使含有SH2结构域的蛋白质定位于酪氨酸磷酸化位点。由于N末端区域的差异, *SOCS*家族被分为2个亚家族: I型含有*SOCS*4-7, II型含有CISH、*SOCS*1-3<sup>[12]</sup>。目前, 已在多个物种中报道了*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3的鉴定和分析。但与哺乳动物相比, 水产动物*SOCS*基因的研究水平仍然有限。最新的研究表明, 在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)<sup>[13]</sup>、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)<sup>[14]</sup>、斑点叉尾鲟(*Ictalurus punctatus*)<sup>[15]</sup>等水产动物中, *SOCS*基因在调节细菌感染或病原菌刺激后的免疫应答方面发挥着至关重要的作用。然而, 杂交黄颡鱼“黄优1号”及其双

亲在受到病原菌刺激后, 其*SOCS*基因如何响应免疫应答目前尚不明确。

本研究首先对黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”的*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因的基因结构、保守功能结构域、进化关系及motif进行了预测和比对分析。随后探究了3种黄颡鱼在鲷爱德华氏菌和嗜水气单胞菌的侵染下*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因在各组织中的表达模式, 为进一步揭示黄颡鱼*SOCS*家族的免疫防御和调控机制提供新见解。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象

实验鱼均来自南京市水产科学研究所, 包括健康黄颡鱼[4月龄, 体长(9.82±0.61)cm, 体质量(15.4±1.45)g]、瓦氏黄颡鱼[4月龄, 体长(11.4±0.29)cm, 体质量(17.96±1.32)g]、杂交黄颡鱼“黄优1号”[4月龄, 体长(10.88±0.52)cm, 体质量(20.11±3.43)g]。将每种鱼随机转移到9个200L循环水养殖水族箱中, 流速为5L/min, 水温控制在25~26℃, 正常光周期(14h光照, 10h黑暗)。每天2次(8:00—9:00和20:00—21:00)投喂含有40.0%蛋白质的黄颡鱼专用饲料(扬州宏达饲料有限公司, 中国)。黄颡鱼暂养3周后开始实验。

### 1.2 黄颡鱼*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因序列分析

杂交黄颡鱼“黄优1号”及其父母本*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因序列的比较分析。首先检索NCBI数据库获得母本黄颡鱼*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因(GenBank登录号: XM\_027156836.1、MK335758.1和MK335759.1)的序列, 随后在瓦氏黄颡鱼(GenBank登录号: GSE118627)和杂交黄颡鱼转录组中检索*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因, 获得与母本黄颡鱼*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因相似度高的候选序列。通过ExPASy(<http://web.expasy.org/protparam/>)对3种黄颡鱼*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3氨基酸序列的蛋白质分子量(MWs)和理论等电点(pI)进行预测。使用SMART(<http://smart.embl.de/>)预测黄颡鱼*SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3的蛋白序列结构域。

### 1.3 *SOCS*1、*SOCS*2和*SOCS*3基因系统进化树构建与结构分析

从NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库

中检索了7个脊椎动物 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因序列, 分别为尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)、斑点雀鳢 (*Lepisosteus oculatus*)、青鳉 (*Oryzias latipes*)、红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*)、斑马鱼 (*Danio rerio*)、小鼠 (*Mus musculus*) 和人 (*Homo sapiens*), 具体信息见表1。

表1 7种脊椎动物 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因登录号

Tab. 1 *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* gene accession numbers of 7 vertebrates

物种名 species	基因名 gene names	基因登录号 NCBI reference sequence
人 <i>H. sapiens</i>	<i>HsSOCS1</i>	NM_003745.1
	<i>HsSOCS2</i>	NM_003877.5
	<i>HsSOCS3</i>	NM_001378933.1
小鼠 <i>M. musculus</i>	<i>MmSOCS1</i>	NM_001271603.1
	<i>MmSOCS2</i>	XM_030245030.1
	<i>MmSOCS3</i>	XM_011248707.3
斑马鱼 <i>D. rerio</i>	<i>DrSOCS1</i>	AJ972922.1
	<i>DrSOCS2</i>	XM_005164748.4
	<i>DrSOCS3</i>	FR750000.1
斑点雀鳢 <i>L. oculatus</i>	<i>LoSOCS1</i>	XM_015360090.1
	<i>LoSOCS2</i>	XM_015352373
	<i>LoSOCS3</i>	XM_015356751.1
青鳉 <i>O. latipes</i>	<i>OISOCS1</i>	NM_001122923.1
	<i>OISOCS2</i>	XM_023952356.1
	<i>OISOCS3</i>	NM_001278866.1
尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	<i>OnSOCS1</i>	XM_003454927.5
	<i>OnSOCS2</i>	XM_019346356.2
	<i>OnSOCS3</i>	XM_003450130.4
红鳍东方鲀 <i>T. rubripes</i>	<i>TrSOCS1</i>	NM_001098640.1
	<i>TrSOCS2</i>	XM_029825542.1
	<i>TrSOCS3</i>	NM_001078628.1

通过MEGA X软件中MUSCLE程序对上述7种脊椎动物和3种黄颡鱼 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因家族成员氨基酸序列进行比对, 并通过邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建系统进化树, Bootstrap 设为100。通过Gsds 2.0程序 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 对黄颡鱼 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 序列进行基因结构可视化。将8种脊椎动物 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 蛋白序列通过MEME v5.1.1程序 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 鉴定 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因保守 motif。

#### 1.4 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因共线性分析

由于杂交黄颡鱼“黄优1号”与其母本黄颡鱼

具有更高的相似度, 通过 Genomicus 82.01 软件 ([https://www.genomicus.biologie.ens.fr/genomicus-82.01/cgi-bin/search.pl?tdsourcetag=s\\_pctim\\_aiomsg](https://www.genomicus.biologie.ens.fr/genomicus-82.01/cgi-bin/search.pl?tdsourcetag=s_pctim_aiomsg)) 查找人、斑点雀鳢和斑马鱼的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因家族成员在染色体中的位置及上下游基因。通过黄颡鱼基因组数据查找黄颡鱼 *SOCS* 基因家族成员在染色体中的位置及上下游基因。将人、斑点雀鳢、斑马鱼与黄颡鱼 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的位置及上下游基因进行共线性比对分析。

#### 1.5 病原菌的培养

嗜水气单胞菌购于北京微生物菌种保存中心 (ATCC 7966), 鲷爱德华氏菌由浙江省淡水水产研究所提供。细菌的培养和扩增、鉴定、浓度的调节基于参考文献中描述的方法<sup>[9, 16]</sup>。

于-80 °C 冻存的甘油菌吸出 50 μL 进行平板涂布, 将其放在 28 °C 的恒温培养箱中过夜培养, 随后挑选出单菌落放入 LB 液体培养基中, 再于 28 °C 恒温培养箱中过夜培养。将生长有病原菌的液体培养基于 2000 r/min、室温条件下离心 20 min, 弃上清液, PBS 缓冲液重悬浮, 分光光度计 OD<sub>600</sub> 值为 0.2 时, 获得浓度为 10<sup>7</sup> CFU/mL 的菌液, 并按照后续实验所需浓度进行稀释。

#### 1.6 病原菌感染实验

将3种健康的黄颡鱼分为3组, 每组包括母本黄颡鱼、父本瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”, 第1个实验组的3种黄颡鱼按照体质量分别腹腔注射 0.01 mL/g, 浓度为 1×10<sup>6</sup> CFU/mL 的嗜水气单胞菌; 第2个实验组的3种黄颡鱼按照体质量分别腹腔注射 0.01 mL/g, 浓度为 5×10<sup>5</sup> CFU/mL 的鲷爱德华氏菌; 第3个实验组作为对照组, 腹腔注射等量的 PBS 缓冲液。每个处理设置3个平行。分别在注射后的 0、6、12、24、48 和 72 h 选取 3 种黄颡鱼各 3 尾。使用 100 mg/L 的 MS-222 麻醉, 并快速分离肝脏、鳃、头肾 3 种组织, 放入液氮, 存于-80 °C 冰箱中备用。

#### 1.7 总 RNA 提取和 cDNA 合成

组织 RNA 的提取采用高纯总 RNA 快速抽提试剂盒 (离心柱型, 北京百泰克生物技术有限公司, RP1202)。通过 NanoDrop (ND-1000, 光密度 260/280 比率, 1.90~2.05) 测定提取的 RNA 的质量。用 1% (W/V) 琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 的完整性。

使用 HiScript™ QRT SuperMix (Vazyme 上海) 合成单链 cDNA。随后将新合成的 cDNA 1 : 10 稀释并储存在 -20 °C。

### 1.8 荧光定量 PCR (qRT-PCR)

通过 qRT-PCR 评估 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 在健康的 3 种黄颡鱼的不同组织中的分布情况和菌刺激后的时间表达谱。根据制造商的说明书 (Roche 瑞士), 用 SYBR Green Master 试剂盒测量样品。用 Primer Premier 5.0 软件设计基因特异性上下游引物, 并由上海生工生物工程股份有限公司合成。通过 qRT-PCR 测定 mRNA 水平的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 表达, 并选择  $\beta$ -actin 作为管家基因<sup>[17]</sup>。使用 ABI StepOnePlus™ (Applied Biosystems 美国) 试剂盒进行实验, 重复 3 次, 总体积为 20  $\mu$ L, 包含 10  $\mu$ L 的 SYBR green, 4  $\mu$ L 的 cDNA (500 ng) 和 3  $\mu$ L 的正向和反向引物 (2 mmol/L)。表 2 列出了本研究中使用的引物。

### 1.9 数据分析

采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算实时荧光定量 PCR 分析后的目的基因的相对表达量。为了反映出 3 种黄颡鱼在正常生理状态下相对于菌刺激后免疫指标 (基

表 2 引物列表

Tab. 2 Description of primers used in this study

引物名称 primer names	引物序列 primer sequences (5'-3')
<i>SOCS1</i> -F	AGAACCGTCAATGTTCCCCC
<i>SOCS1</i> -R	CTGAAGTGCCTGACGCTGCT
<i>SOCS2</i> -F	TGAGTGCCGCGAGTGCTTCAT
<i>SOCS2</i> -R	AGCCTGCGCTCCTTTAGTCC
<i>SOCS3</i> -F	TTCCCGACAGCACCACCTTT
<i>SOCS3</i> -R	ATCAAGGATGGCTCAACGGG
$\beta$ -actin-F	TCCCTGTATGCCTCTGGTCGT
$\beta$ -actin-R	AAGCTGTAGCCTCTCTCGGTC

表 3 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”中 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因特征

Tab. 3 Features of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* genes identified in *P. vachell* (♂) × *P. fulvidraco* (♀) “Huangyou-1”

基因名 gene names	ORF 长度/bp ORF length	编码蛋白 encoded protein		
		氨基酸长度 amino acid length	等电点 pI	分子质量/ku molecular mass
<i>H_SOCS1</i>	561	186	9.81	21.37
<i>H_SOCS2</i>	735	244	6.45	27.49
<i>H_SOCS3</i>	672	223	8.35	24.48

因在 mRNA 水平的表达) 的变化情况, 用注射过嗜水气单胞菌或鮈爱德华氏菌的各个群体的免疫指标的数值, 除以相应时间点其自身群体的免疫指标数值, 对数据进行标准化处理, 得到各群体的免疫指标相对值并进行分析<sup>[18]</sup>。

实验数据在标准化处理后所得的数值均使用平均值±标准差的方式表示, 所有数据均用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。利用方差分析 (One-Way ANOVA) 进行显著性检验, 用最小显著极差法 (LSD) 分析不同黄颡鱼群体之间基因表达的差异 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果

### 2.1 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的鉴定和序列分析

根据鱼类 *SOCSs* 基因的生物信息学分析, 共鉴定出 3 个 *SOCSs* 基因, 分别为 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3*。表 3 显示了 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因结构以及编码蛋白信息。杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因 ORF 全长分别为 561、735 和 672 bp, 分别编码 186、244 和 223 个氨基酸。对杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 蛋白进行结构域预测 (图 1), 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCSs* 蛋白均含有 2 个保守结构域, 为 Src 同源结构域 (Src homology domain, SH2) 和 SOCS 盒。

### 2.2 黄颡鱼 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因系统进化分析

各物种 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 各聚为一大支, 且 *SOCS1* 和 *SOCS3* 的同源性更高。在 *SOCS1* 和 *SOCS3* 基因簇中, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”都与父母本聚为一支。*SOCS2* 基因中, 杂交黄颡鱼首先与母本黄颡鱼聚为一支, 随后与父本瓦氏黄颡鱼聚为一支, 说明相较于父本, 杂交黄颡鱼“黄

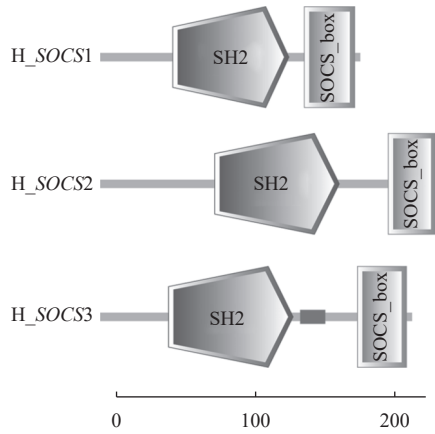


图 1 杂交黄颡鱼“黄优 1 号” *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 蛋白保守结构域

图中线段代表蛋白长度, 单位为氨基酸

Fig. 1 Conserved domains of *P. vachelli* (♂) × *P. fulvidraco* (♀) “Huangyou-1” *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* proteins

The line segments in the figure represent protein lengths. Unit: amino acid

“黄优 1 号”与母本的亲缘关系更近 (图 2)。

### 2.3 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 结构分析

使用 MEME 软件鉴定了 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 蛋白的保守 motif, 共发现 6 个不同的保守 motif (图 3)。这些保守 motif 长度为 21~50 个氨基酸。在 8 种脊椎动物 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 蛋白中均发现了 motif1、motif3 和 motif4。此外, *SOCS1* 存在一个特有的 motif6。

### 2.4 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因共线性分析

由于杂交黄颡鱼“黄优 1 号”暂无全基因组数据, 而其基因特征与母本黄颡鱼较接近, 因此本

研究对人、斑点雀鳢、斑马鱼和黄颡鱼基因组中的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因进行共线性分析 (图 4, 不同图案代表不同基因)。结果显示, 黄颡鱼和斑马鱼 *SOCS1* 和 *SOCS3* 的上下游基因表现出极高的一致性, 与人和斑点雀鳢也存在一定的相似性。而黄颡鱼的 *SOCS2* 基因与其他 3 个物种相比没有表现出任何的共线性。

### 2.5 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”与双亲 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在不同组织中的表达

通过 qRT-PCR 检测了 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因分别在黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”8 种不同组织中的表达, 黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因具有广泛表达的特点, 在被检的鳃、心脏、肌肉、脑、头肾、肝脏、肠和脾脏等 8 个组织中均有分布, 并存在一定的组织特异性 (图 5)。

黄颡鱼 *SOCS1* 基因在鳃组织中的表达量最高, 其次是心脏和脾脏, 在其余组织中的表达量较低。*SOCS2* 基因在肌肉和头肾组织中的表达量较高, 在其余组织中的表达量较低。*SOCS3* 基因在肝脏和心脏组织中的表达量最高, 其次是脑和肌肉, 在其余组织中的表达量较低。

瓦氏黄颡鱼的 *SOCS1* 基因在鳃组织中的表达量最高, 其次是头肾、心脏、肠、肌肉, 在其余组织中低表达。*SOCS2* 基因在头肾组织中的表达量最高, 其次是脑组织, 在其余组织中表达量较低。*SOCS3* 基因在头肾和心脏组织中的表达量最高, 肌肉和鳃中次之, 在其余组织中低表达。

杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的 *SOCS1* 基因在头肾组织中的表达量最高, 在脑组织中的表达量最低。

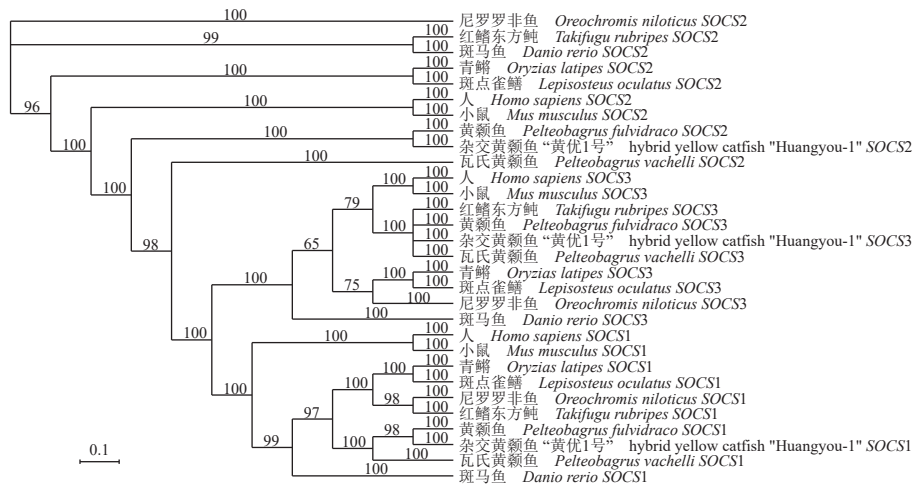


图 2 8 种脊椎动物 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree analysis of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* in 8 vertebrates

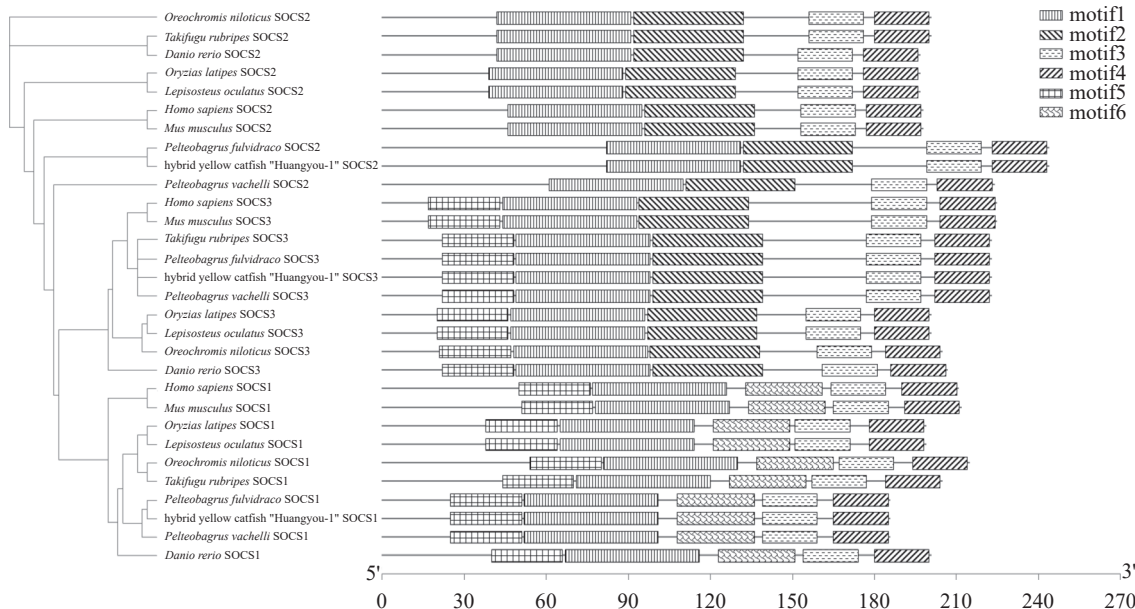


图 3 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 蛋白的保守 motif 分析

Fig. 3 Conserved motif analysis of SOCS1, SOCS2 and SOCS3 proteins according to the phylogenetic relationships

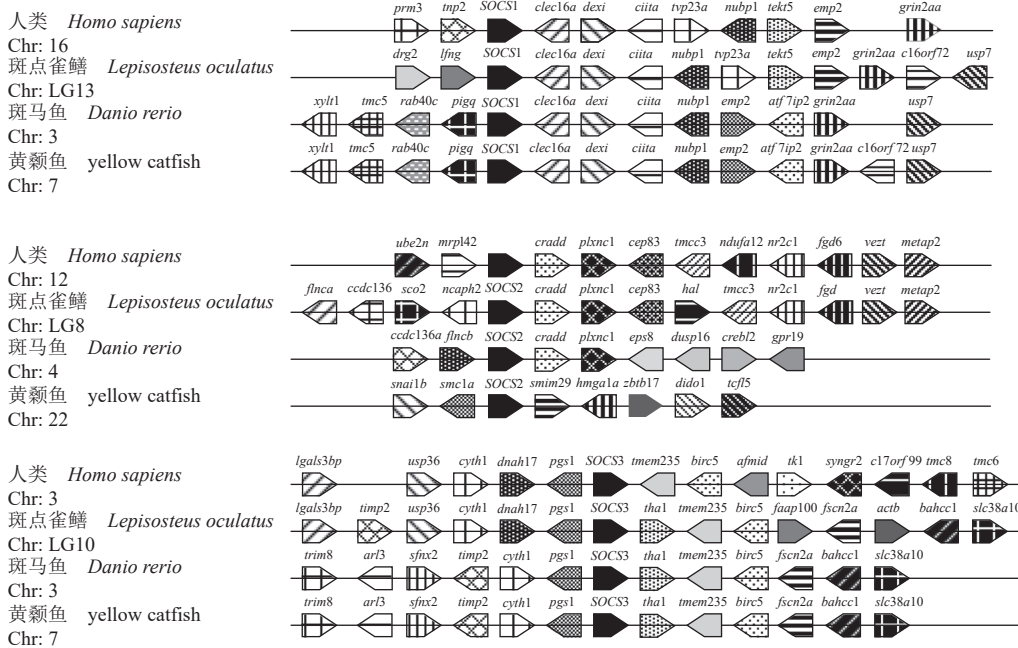


图 4 人、斑点雀鲷、斑马鱼和黄颡鱼的 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 基因共线性分析

Fig. 4 Collinear analysis of SOCS1, SOCS2 and SOCS3 genes between *H. sapiens*, *L. oculatus*, *D. rerio* and yellow catfish

SOCS2 基因在脾脏、肌肉和肠组织中的表达量最高，肝脏组织次之，在其余组织中低表达。SOCS3 基因在肝脏组织中的表达量最高，其次是鳃和心脏组织，在其余组织中表达量较低。

### 2.6 嗜水气单胞菌和鲷爱德华氏菌感染后杂交黄颡鱼“黄优 1 号”与双亲肝脏组织 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 基因的表达分析

在注射嗜水气单胞菌后，3 种黄颡鱼肝脏组

织的 SOCS1、SOCS2 和 SOCS3 相对于对照组的增加倍数均呈现出先升高再下降的趋势(图 6)。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 24 h 后，瓦氏黄颡鱼在细菌感染 48 h 后，SOCS1 的相对表达量分别达到峰值。黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的 SOCS2 分别在细菌感染 12、48 和 24 h 后，其相对表达量分别达到峰值。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 24 h 时，而瓦氏黄颡鱼在细菌感染 48 h 时，SOCS3 的相对

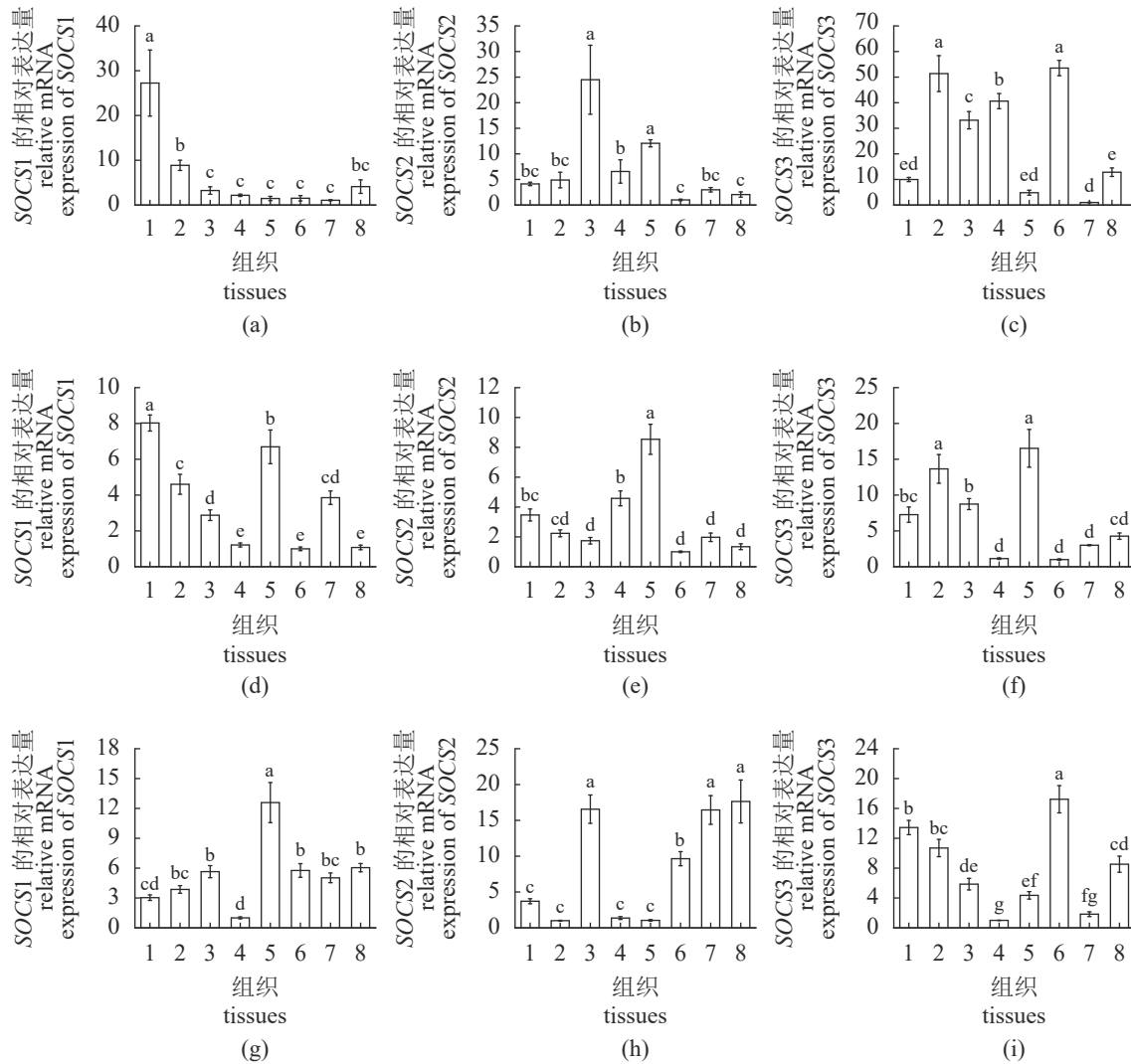


图5 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在 3 种黄颡鱼不同组织中的表达

1. 鳃, 2. 心脏, 3. 肌肉, 4. 脑, 5. 头肾, 6. 肝脏, 7. 肠, 8. 脾脏, 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。 (a)~(c) 黄颡鱼, (d)~(f) 瓦氏黄颡鱼, (g)~(i) 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”

Fig. 5 *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* gene expressions in various tissues of three species of yellow catfish

1. gill, 2. heart, 3. muscle, 4. brain, 5. head kidney, 6. liver, 7. intestine, 8. spleen. Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). (a)~(c) *P. fulvidraco*, (d)~(f) *P. vachelli*, (g)~(i) *P. vachelli* (♂) × *P. fulvidraco* (♀) “Huangyou-1”

表达量分别达到峰值。在整个病原菌感染过程中, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”肝脏组织 *SOCS1* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数显著高于父本瓦氏黄颡鱼, *SOCS2* 表达量的增加倍数显著高于母本黄颡鱼和父本瓦氏黄颡鱼 ( $P < 0.05$ )。

在注射鲷爱德华氏菌后, 3 种黄颡鱼肝脏组织中 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 相对于对照组的增加倍数均呈现出先升高再下降的趋势 (图 6)。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 12 h 后, 瓦氏黄颡鱼在细菌感染 24 h 后, *SOCS1* 相对表达量分别达到峰值。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 12 h 后, 瓦氏黄颡鱼在细菌感染 6

h 后, *SOCS2* 相对表达量分别达到峰值。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 12 h 时, 瓦氏黄颡鱼在细菌感染 48 h 时, *SOCS3* 相对表达量分别达到峰值。在整个病原菌感染过程中, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”肝脏组织中 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数显著高于双亲 ( $P < 0.05$ )。

## 2.7 嗜水气单胞菌和鲷爱德华氏菌感染后杂交黄颡鱼“黄优 1 号”与双亲鳃组织 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的表达分析

在注射嗜水气单胞菌后, 3 种黄颡鱼鳃组织的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 相对于对照组的增加

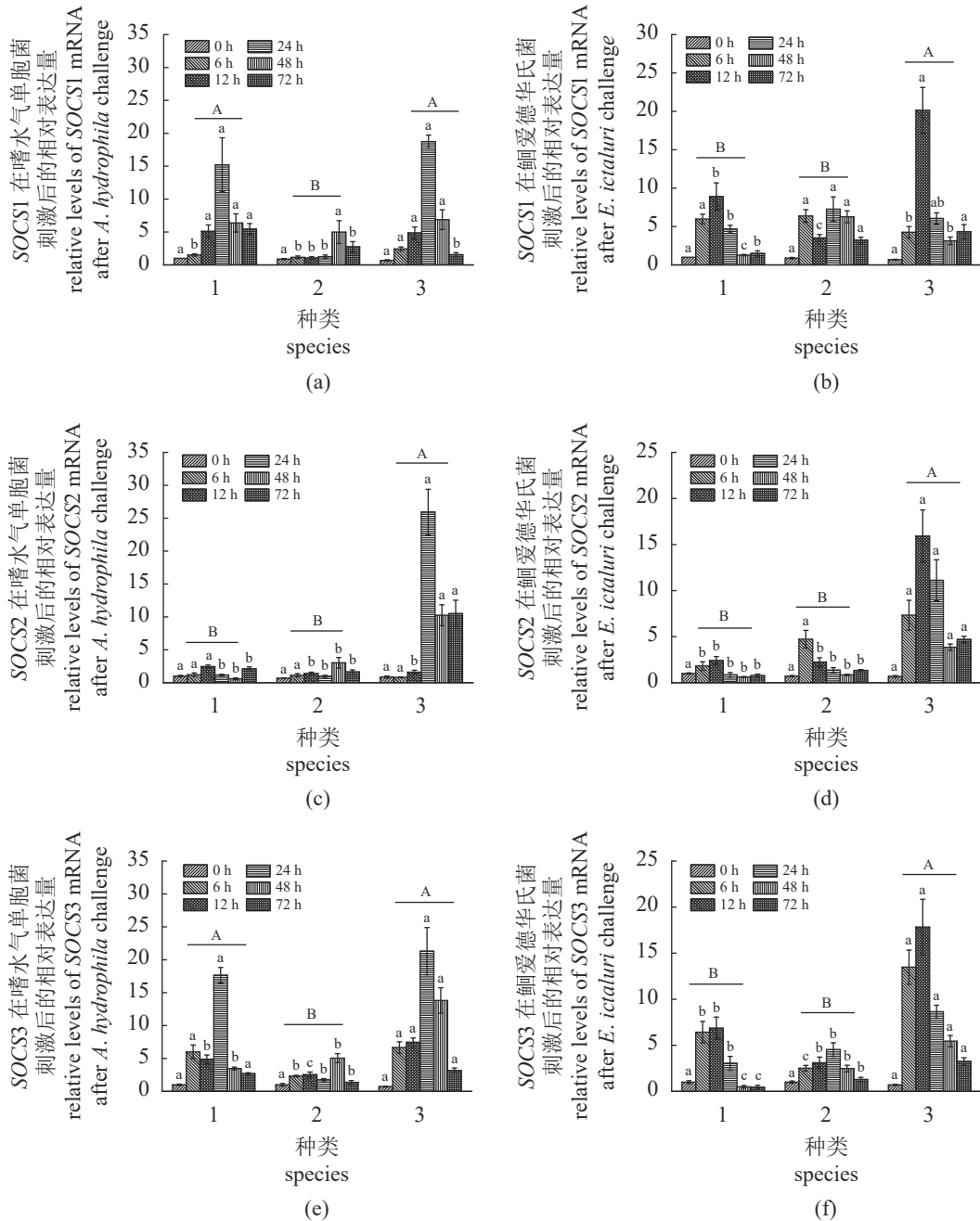


图 6 3 种黄颡鱼肝脏组织的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在嗜水气单胞菌或鮰爱德华氏菌感染后的表达量

1. 黄颡鱼, 2. 瓦氏黄颡鱼, 3. 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”; 不同大写字母表示不同群体间 *SOCS* 基因在 mRNA 水平表达量增加倍数有显著差异 ( $P < 0.05$ ); 不同小写字母表示不同群体在同一时间 *SOCS* 基因在 mRNA 水平表达量增加倍数有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下同

Fig. 6 qRT-PCR analysis of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* in liver of three species of yellow catfish after *A. hydrophila* or *E. ictaluri* challenge

1. *P. fulvidraco*, 2. *P. vachelli*, 3. *P. vachell* (♂) × *P. fulvidraco* (♀) “Huangyou-1”; different capital letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) in *SOCS*s at transcription level among different populations; different lowercase letters indicate the *SOCS*s at transcription level of fold differences from their respective control groups among different populations at the same sampling time ( $P < 0.05$ ), the same below

倍数均呈现出先升高再下降的趋势 (图 7)。黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的 *SOCS1* 分别在细菌感染 6、24 和 48 h 时达到峰值。黄颡鱼 *SOCS2* 的表达量在细菌感染 6 h, 瓦氏黄颡鱼和杂

交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 24 h 时达到峰值。黄颡鱼 *SOCS3* 的表达量在细菌感染 6 h 时, 瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在细菌感染 24 h 时达到峰值。在整个病原菌感染过程中, 杂交黄



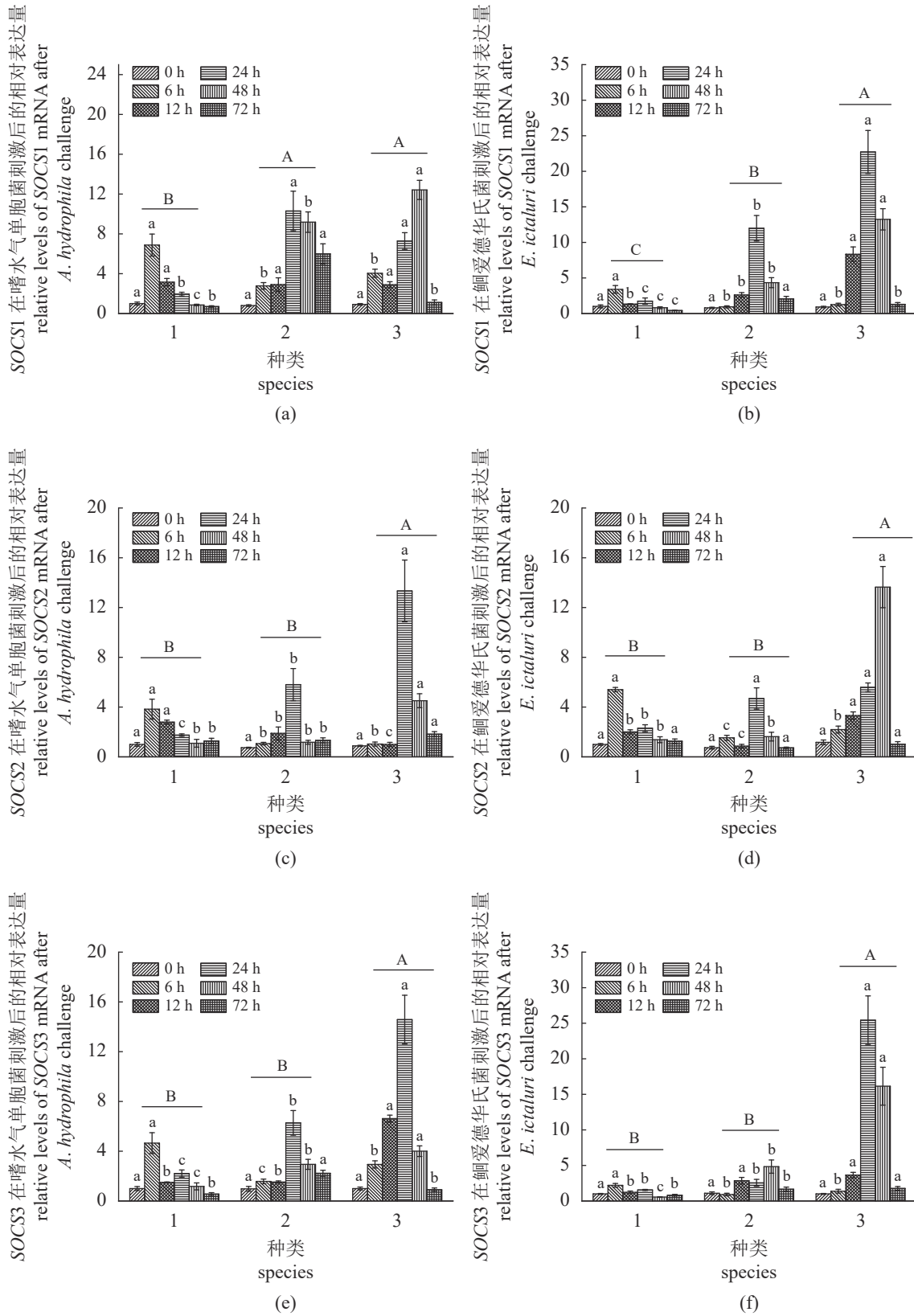


图7 3种黄颡鱼鳃组织中的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在嗜水气单胞菌或鮰爱德华氏菌感染后的表达量

Fig. 7 qRT-PCR analysis of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* in gill of three species of yellow catfish after *A. hydrophila* or *E. ictaluri* challenge

鲩鱼“黄优1号”鳃组织 *SOCS1* 表达量的增加倍数显著高于母本黄颡鱼, *SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数显著高于母本黄颡鱼和父本瓦氏黄颡鱼。

在注射鲩爱德华氏菌后, 3种黄颡鱼鳃组织中的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 相对于对照组的增加倍数均呈现出先升高再下降的趋势。黄颡鱼 *SOCS1* 的表达量在细菌感染 6 h, 瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”在细菌感染 24 h 时达到峰值。黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS2* 的表达量分别在细菌感染 6、24 和 48 h 时到达峰值。黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS3* 的表达量分别在细菌感染 6、48 和 24 h 时达到峰值。在整个病原菌感染过程中, 杂交黄颡鱼“黄优1号”鳃组织中 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数显著高于双亲。

## 2.8 嗜水气单胞菌和鲩爱德华氏菌感染后杂交黄颡鱼“黄优1号”与双亲头肾组织中 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的表达分析

在注射嗜水气单胞菌后, 3种黄颡鱼头肾组织中的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 相对对照组的增加倍数均呈现出先升高再下降的趋势(图8)。黄颡鱼 *SOCS1* 的表达量在细菌感染 24 h, 瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”在细菌感染 12 h 时到达峰值。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS2* 的表达量在细菌感染 12 h 时, 瓦氏黄颡鱼在细菌感染 48 h 时到达峰值。3种黄颡鱼 *SOCS3* 的表达量均在细菌感染 12 h 时到达峰值。在整个病原菌感染过程中, 杂交黄颡鱼“黄优1号”头肾组织 *SOCS1* 表达量的增加倍数显著高于母本黄颡鱼, *SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数则与双亲无显著差异。

在注射鲩爱德华氏菌后, 3种黄颡鱼头肾组织的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 相对于对照组的增加倍数均呈现出先升高再下降的趋势。黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼 *SOCS1* 的表达量在细菌感染 24 h, 杂交黄颡鱼“黄优1号”在细菌感染 12 h 时达到峰值。黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS2* 的表达量在细菌感染 6 h 时达到峰值, 瓦氏黄颡鱼在细菌感染 6~24 h 都具有较高的表达。黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS3* 的表达量分别在细菌感染 24、12 和 6 h 时达到峰值。在整个病原菌感染过程中, 杂交黄颡鱼“黄优1号”头肾

组织 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数显著高于双亲。

## 3 讨论

水产动物病害是制约水产养殖业健康可持续发展的重要因素之一。由于水产动物特殊的生长环境, 其在患病初期较难发觉, 待发现个体出现病症时已较难治疗。若通过内服药物进行治疗, 操作难度较大; 若外用药物, 常因养殖水体过大导致药物浓度难以控制。因此, 培育抗病的新品种是解决水产动物病害防控难的有效措施之一<sup>[19]</sup>。刘巧玲<sup>[20]</sup>研究发现, 草鱼 [*Ctenopharyngodon idella* (♀)] 和赤眼鳟 [*Scardinius erythrophthalmus* (♂)] 的杂交子代, 在感染草鱼出血病毒后存活率显著高于双亲。此外, 以日本群体和台湾群体九孔鲍 (*Halotis diversicolor*) 为亲本的杂色九孔鲍“东优1号”在病原菌胁迫后存活率也显著高于亲本<sup>[18]</sup>。梁爽<sup>[21]</sup>的研究表明, 杂色九孔鲍“东优1号”在病原菌胁迫后 *HSP70* 基因的表达量高于亲本, 且 ROS 含量低于亲本。以上结果证明, 培育优质新品种可以提高子代的抗病能力, 有望减轻水产病害造成的损失。

### 3.1 杂交黄颡鱼“黄优1号”的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因鉴定

本研究在杂交黄颡鱼“黄优1号”中鉴定了3个 *SOCSs* 基因 (*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3*)。系统进化分析表明, *SOCS1* 和 *SOCS3* 聚为一支, 具有较近的亲缘关系。杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS1* 基因与其他鱼类聚为一支且置信度高, 说明 *SOCS1* 基因在进化过程中较为保守。*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在与父母本聚集后并没有表现出此趋势, 而表现出与哺乳动物更近的亲缘关系, 说明不同基因的保守程度不同。杂交黄颡鱼“黄优1号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因蛋白结构类似, 均由 N 区、SH2 区和 C 段的 SOCS 盒组成。已有研究表明, SH2 结构域可以协同 N 区, 通过与特定细胞因子受体结合来识别目标蛋白, 调节细胞因子信号转导<sup>[22]</sup>。基因家族中 motif 的组成和结构多样化对其进化和功能起重要作用。Motif 预测结果表明, 检测的 8 种脊椎动物中, *SOCSs* 基因的 motif 类型和数量相同(图3), 而基因 motif 的复制有助于基因家族的形成<sup>[23]</sup>。此外, 在梭鱼 (*Liza haematocheila*) 中, *SOCSs* 基因蛋白结构也具有高

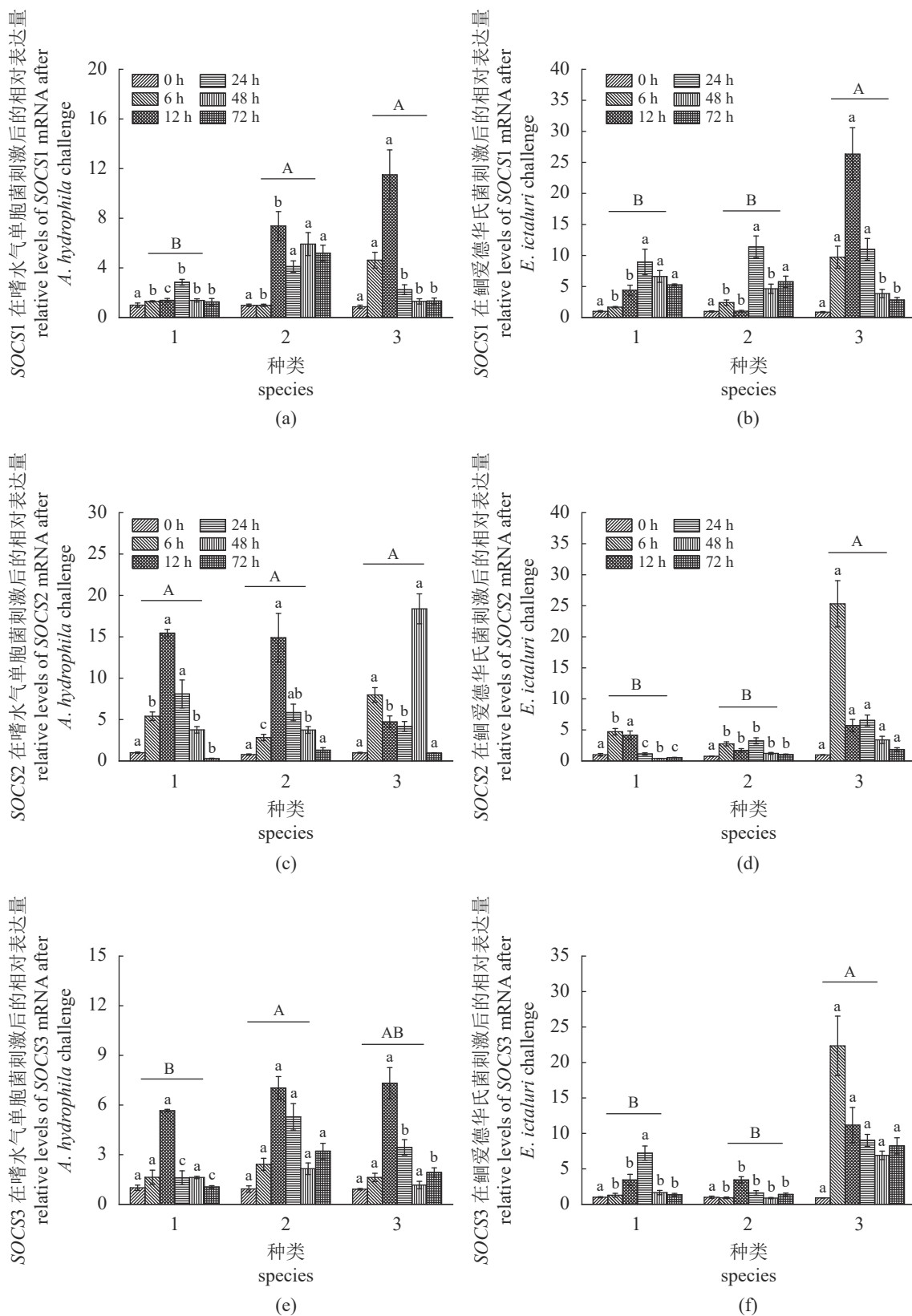


图 8 3种黄颡鱼头肾组织中的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在嗜水气单胞菌或鮭爱德华氏菌感染后的表达量

Fig. 8 qRT-PCR analysis of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* in head kidney of three species of yellow catfish after *A. hydrophila* or *E. ictaluri* challenge

度保守的 SH2 区和 SOCS 盒<sup>[24]</sup>, 与本实验的研究结果相同, 表明 *SOCSs* 基因家族结构的保守。

### 3.2 黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 组织分布表达模式

本研究采用 qRT-PCR 技术对杂交黄颡鱼“黄优 1 号”与其双亲的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在 8 个不同组织中的表达情况进行分析。结果表明, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”与其双亲的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在检测的 8 个组织中广泛分布, 且具有不同的组织表达模式。

黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼的 *SOCS1* 基因在鳃组织中表达量最高, 这种表达模式与暗纹东方鲀(*T. obscurus*)<sup>[25]</sup> 和尼罗罗非鱼<sup>[26]</sup> 类似。杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1* 基因在头肾组织中的表达量最高。头肾作为鱼类重要的免疫器官, 含有多种免疫细胞如淋巴细胞和吞噬细胞<sup>[14]</sup>。*SOCS1* 基因在鳃或头肾组织中的高表达表明其可能在鱼类的先天免疫系统中起重要作用。黄颡鱼的 *SOCS2* 基因在肌肉和头肾组织中的表达量最高, 在大西洋鲑(*Salmo salar*)<sup>[27]</sup> 中也发现了类似的表达模式。另外, *SOCS2* 在组成型组织如肌肉、心脏和脑组织中的表达量相对较高, 表明 *SOCS2* 可能与鱼的生长相关。通过比较后发现, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS2* 基因在头肾组织中的表达量较低, 而在肠和脾脏组织中的表达量较高, 这与双亲的表达模式呈相反趋势。可见 *SOCS2* 表达方式的改变预示着其功能也可能发生了变化。杂交黄颡鱼“黄优 1 号”及其母本黄颡鱼的 *SOCS3* 基因均在肝脏组织中的表达量最高, 而父本瓦氏黄颡鱼肝脏中 *SOCS3* 的表达量显著低于其他各组织, 表现出杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS3* 表达的母本偏向性。这种表达偏向性在鱼类的异源二倍体和异源多倍体中均已证实, 亲本的显性表达会影响杂交子代中转录水平的变化, 进而产生杂种优势<sup>[28]</sup>。杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的组织表达情况与其双亲存在一定的差异, 且其在免疫组织(肝脏、鳃和头肾)中高表达, 说明其可能参与了杂交黄颡鱼“黄优 1 号”抵御病原菌入侵的免疫应答过程。

*SOCS1* 基因在杂交黄颡鱼“黄优 1 号”和瓦氏黄颡鱼头肾组织中的表达量较高, 而在黄颡鱼头

肾组织中的表达量较低。*SOCS2* 基因在杂交黄颡鱼“黄优 1 号”和黄颡鱼肌肉组织中的表达量较高, 在瓦氏黄颡鱼肌肉组织中的表达量较低。*SOCS3* 基因在杂交黄颡鱼“黄优 1 号”和黄颡鱼肝脏组织中的表达量较高, 在瓦氏黄颡鱼肝脏组织中的表达量很低。以上结果表明杂交黄颡鱼“黄优 1 号”的部分性状遗传自父本或母本, 这可能是其在抗病能力方面表现出杂种优势的原因。

### 3.3 嗜水气单胞菌或鲷爱德华氏菌感染后 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的表达模式

在硬骨鱼类中已证明, *SOCS* 基因可以在 LPS 或革兰氏阴性菌诱导下参与免疫应答过程<sup>[29-30]</sup>。本实验在嗜水气单胞菌或鲷爱德华氏菌感染后, 3 种黄颡鱼 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的表达在多种免疫组织中均显著增加, 表明 *SOCS* 基因参与鱼类的免疫防御调节。

肝脏组织在鱼类中间代谢、氧化防御、中和并分解有毒物质等情况下起着至关重要的作用<sup>[31]</sup>。在嗜水气单胞菌刺激后, 本研究中杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因表达均显著升高, 并在 24 h 时达到峰值, 随后缓慢降低并在 72 h 恢复至正常水平。这种表达模式同父本瓦氏黄颡鱼有显著区别 ( $P < 0.05$ )。*SOCS1* 和 *SOCS3* 基因表达同母本黄颡鱼表现出相似的趋势。这一结果表现出杂交黄颡鱼“黄优 1 号”在嗜水气单胞菌感染后表达模式的偏向性。在鲷爱德华氏菌感染后, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”同黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼的表达差异显著, 说明 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在机体免疫应答过程中起重要作用, 表现出杂种优势。此外, 这 3 个基因对鲷爱德华氏菌的响应更为敏感, 并在 12 h 时杂交黄颡鱼“黄优 1 号”表达达到峰值。类似的结果也在病原菌感染后的半滑舌鳎中发现, 相较于哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*) 感染, 半滑舌鳎的 *SOCS* 基因对鲷爱德华氏菌的感染更为敏感<sup>[14]</sup>。虽然嗜水气单胞菌和鲷爱德华氏菌均为革兰氏阴性菌, 但它们具有不同的感染机制, 在本次的实验结果中有很好的体现, 3 种黄颡鱼在感染鲷爱德华氏菌之后, 相较于感染嗜水气单胞菌, *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因增加倍数的峰值到达的更早。

鳃组织中包含许多与鳃相关的淋巴组织和较大的黏膜表面, 其免疫功能包括免疫屏障(免疫反应和炎症反应)和物理屏障(紧密连接)等<sup>[32]</sup>。据报

道, 鱼鳃可以吸收鱼的病原体以及杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 等细菌, 且鳃淋巴组织中多种免疫细胞分泌的溶菌酶和酸性磷酸酶 (ACP) 能够杀灭病原菌, 这可能是鳃组织的 *SOCS* 基因在病原体感染后高表达的原因<sup>[32]</sup>。本研究中检测了 3 种黄颡鱼鳃组织 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 的表达丰度后发现, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”表达量的增加倍数显著高于双亲 (除 *SOCS1* 在嗜水气单胞菌感染后仅高于母本), 这一现象也同样证实了 *SOCS* 基因在杂交黄颡鱼“黄优 1 号”中表现出的杂种优势。鳃组织中两种病原菌感染后的免疫应答响应时间较为相似。

头肾组织包含多种免疫细胞如 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞和各种粒细胞, 是硬骨鱼类重要的淋巴器官和造血器官<sup>[33-34]</sup>。在头肾组织中, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1* 在嗜水气单胞菌感染后表达量的增加倍数显著高于母本, 而 *SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数与双亲无显著差异, 表明在相同的菌感染后, *SOCS* 的不同成员可能在 3 种黄颡鱼的免疫反应中发挥不同的作用。而在鲷爱德华氏菌感染后, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 表达量的增加倍数显著高于双亲, 说明细菌感染 *SOCS* 基因的不同表达也与病原体种类有关。

此外, *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 在嗜水气单胞菌或鲷爱德华氏菌感染后, 倾向于在早期表达量升高, 在后期下调, 这可能与细菌感染后趋化因子的大量表达有关。作为细胞因子的超家族, 趋化因子负责调节炎症和正常的生理功能<sup>[35]</sup>。此外, 在肝脏和头肾组织中, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因到达峰值的时间早于母本黄颡鱼或父本瓦氏黄颡鱼, 说明相较于鳃, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”肝脏和头肾组织对病原菌的感染更为敏感, 即细菌感染后 *SOCS* 基因表达的敏感性具有组织特异性。

## 4 结论

杂交黄颡鱼“黄优 1 号”与其双亲的 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因在 8 种不同组织中均有分布, 但存在一定的组织特异性。且鲷爱德华氏菌感染后, 杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因表达量的增加倍数均高于双亲, 表现出在先天免疫中的杂种优势。本实验初步探究了杂交黄颡鱼“黄优 1 号”*SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 基因的

分子特征, 并分析了 *SOCS1*、*SOCS2* 和 *SOCS3* 在 3 种黄颡鱼先天免疫系统中的表达模式, 这为进一步研究黄颡鱼 *SOCS* 的功能奠定了理论基础。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [1] 中华人民共和国农业农村部渔业局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2020.  
The People's Republic of China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Fisheries Bureau, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2020[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020 (in Chinese).
- [2] 朱松泉. 中国淡水鱼类检索 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1995.  
Zhu S Q. The synopsis of freshwater fishes of China[M]. Nanjing: Phoenix Science Press, 1995 (in Chinese).
- [3] Zhang G S, Mao J Q, Liang F F, et al. Modulated expression and enzymatic activities of darkbarbel catfish, *Pelteobagrus vachelli* for oxidative stress induced by acute hypoxia and reoxygenation[J]. Chemosphere, 2016, 151(1): 271-279.
- [4] Zhang H Y, Pei X Y, Hu Y D, et al. Immune responses of three *SOCS* genes in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) challenged with *Aeromonas hydrophila* or *Edwardsiella ictaluri*[J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2020, 20(7): 531-540.
- [5] Liu J Y, Li A H, Zhou D R, et al. Isolation and characterization of *Edwardsiella ictaluri* strains as pathogens from diseased yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson) cultured in China[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(12): 1835-1844.
- [6] 曹义虎, 张桂芳, 陈文静, 等. 鱼类杂交育种及其在鲃属鱼类中的应用[J]. 江西水产科技, 2016(1): 41-42.  
Cao Y H, Zhang G F, Chen W J, et al. Fish crossbreeding and its application in *Culter Basilewsky*[J]. Jiangxi Fishery Science and Technology, 2016(1): 41-42 (in Chinese).
- [7] 何尧平, 曾洁, 冯军, 等. 瓦氏黄颡鱼与长吻鮠杂交养殖试验[J]. 水产养殖, 2008(5): 33-34.  
He Y P, Zeng J, Feng J, et al. Hybrid culture experiment of *Pelteobagrus vachelli* and *Leiocassis longirostris*[J].

- Journal of Aquaculture*, 2008(5): 33-34 (in Chinese).
- [8] 胡大雁, 周志金, 朱强, 等. 杂交黄颡鱼和普通黄颡鱼抗鲈鱼爱德华氏菌病能力的评价[J]. *科学养鱼*, 2016(11): 54-55.  
Hu D Y, Zhou Z J, Zhu Q, *et al.* Evaluation of the resistance of hybrid yellow catfish and *Pelteobagrus fulvidraco* to *Edwardsiella ictaluri*[J]. *Scientific Fish Farming*, 2016(11): 54-55 (in Chinese).
- [9] Zhang J J, Pei X Y, Wu Z W, *et al.* A comparative study of immune response between hybrid yellow catfish “Huangyou-1” and its parental populations after challenge with *Aeromonas hydrophila* or *Edwardsiella ictaluri*[J]. *Aquaculture International*, 2019, 27(3): 859-873.
- [10] Zhang G S, Yin S W, Mao J Q, *et al.* Integrated analysis of mRNA-seq and miRNA-seq in the liver of *Pelteobagrus vachelli* in response to hypoxia[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22907.
- [11] Starr R, Willson T A, Viney E M, *et al.* A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling[J]. *Nature*, 1997, 387(6636): 917-921.
- [12] Maehr T, Vecino J L G, Wadsworth S, *et al.* Four CISH paralogues are present in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: differential expression and modulation during immune responses and development[J]. *Molecular Immunology*, 2014, 62(1): 186-198.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] Wang L, Wu Z Q, Wang X L, *et al.* Immune responses of two superoxide dismutases (SODs) after lipopolysaccharide or *Aeromonas hydrophila* challenge in pufferfish, *Takifugu obscurus*[J]. *Aquaculture*, 2016, 459: 1-7.
- [17] 张国松. 瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*) 应对低氧胁迫的分子机制研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2017.  
Zhang G S. Study on the molecular mechanism of *Pelteobagrus vachelli* in response to hypoxia stress[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2017 (in Chinese).
- [18] 梁爽. 杂色鲍杂交种耐低温和抗病杂种优势的生理基础和分子机制研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2017.  
Liang S. Physiological and molecular basis of cold and disease resistance heterosis in *Haliotis diversicolor* hybrid[D]. Xiamen: Xiamen University, 2017 (in Chinese).
- [19] Wang J, Xia D. Studies on fish heterosis with DNA fingerprinting[J]. *Aquaculture Research*, 2002, 33(12): 942-947.
- [20] 刘巧林. 草鱼与赤眼鳟杂交 F<sub>1</sub> 遗传特征及对草鱼呼肠孤病毒抗性的研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.  
Liu Q L. Studies on genetic characteristics and grass carp reovirus resistance of F<sub>1</sub> hybrids between grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and barbel chub (*Squaliobarbus curriculus*)[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [21] Liang S, Luo X, You W W, *et al.* The role of hybridization in improving the immune response and thermal tolerance of abalone[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 39(1): 69-77.
- [22] 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).
- [23] Zhang J Z. Evolution by gene duplication: an update[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2003, 18(6): 292-298.
- [24] 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).
- [25] Wang D, Wen X, Zhang X Y, *et al.* Molecular characterization and expression of suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1, 2 and 3 under acute hypoxia and reoxygenation in pufferfish, *Takifugu fasciatus*[J]. *Genes & Genomics*, 2018, 40(11): 1225-1235.
- [26] Liu C Z, He A Y, Chen L Q, *et al.* Molecular characterization and immune response to lipopolysaccharide (LPS) of the suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1, 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- 2 and 3 genes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 50: 160-167.
- [27] Skjesol A, Liebe T, Iliiev D B, *et al.* Functional conservation of suppressors of cytokine signaling proteins between teleosts and mammals: atlantic salmon SOCS1 binds to JAK/STAT family members and suppresses type I and II IFN signaling[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2014, 45(1): 177-189.
- [28] Zhang G S, Li J, Zhang J J, *et al.* Integrated analysis of transcriptomic, miRNA and proteomic changes of a novel hybrid yellow catfish uncovers key roles for miRNAs in heterosis[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2019, 18(7): 1437-1453.
- [29] Shungo M, Kyuma S, Shun W, *et al.* Maturation-associated changes in the non-specific immune response against *Flavobacterium psychrophilum* in ayu *Plecoglossus altivelis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 76: 167-173.
- [30] Shepherd B S, Spear A R, Philip A M, *et al.* Effects of cortisol and lipopolysaccharide on expression of select growth-, stress- and immune-related genes in rainbow trout liver[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 74: 410-418.
- [31] Philip A M, Jørgensen E H, Maule A G, *et al.* Extended fasting does not affect the liver innate immune response in rainbow trout[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 79: 67-74.
- [32] Rebl A, Verleih M, Köbis J M, *et al.* Transcriptome profiling of gill tissue in regionally bred and globally farmed rainbow trout strains reveals different strategies for coping with thermal stress[J]. *Marine Biotechnology*, 2013, 15(4): 445-460.
- [33] 刘小玲, 葛海燕, 顾泽茂. 黄颡鱼头肾的组织发生与组织结构研究[J]. *水生态学杂志*, 2009, 2(3): 108-110.
- Liu X L, Ge H Y, Gu Z M. Ontogeny and structure of head kidney of *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2009, 2(3): 108-110 (in Chinese).
- [34] 雷雪彬, 常藕琴, 吴淑勤, 等. 草鱼头肾的组织发生 [C]//2012 年中国水产学会学术年会论文集. 深圳: 中国水产学会, 2012: 153.
- Lei X B, Chang O Q, Wu S Q, *et al.* Ontogeny of the head kidney in grass carp[C]//China Society of Fisheries, Conference Paper Abstract. Shenzhen: China Society of Fisheries, 2012: 153 (in Chinese).
- [35] Wang T H, Secombes C J. Rainbow trout suppressor of cytokine signalling (SOCS)-1, 2 and 3: molecular identification, expression and modulation[J]. *Molecular Immunology*, 2008, 45(5): 1449-1457.

## Molecular characteristics and expression pattern analysis under pathogen stress of SOCSs genes in three species of yellow catfish

SUN Yiru<sup>1</sup>, ZHANG Hongyan<sup>1</sup>, BI Yihui<sup>1</sup>, MA Sisi<sup>1</sup>, ZHANG Kai<sup>1</sup>,  
JI Jie<sup>1</sup>, WANG Tao<sup>1</sup>, JIA Yongyi<sup>2</sup>, YIN Shaowu<sup>1\*</sup>

(1. Jiangsu Province Engineering Research Center for Aquatic Animals Breeding and Green Efficient Aquacultural Technology,  
College of Marine Science and Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China;

2. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China)

**Abstract:** Suppressor of cytokine signaling (SOCS) is a class of intracellular proteins that inhibited cytokine signaling in JAK/STAT pathway. To explore the function of SOCS in fish immune response, hybrid yellow catfish “Huangyou-1” and its female parent *Pelteobagrus fulvidraco* and male parent *P. vachell* were selected as the research object in this study. The immune related genes *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* of hybrid yellow catfish “Huangyou-1” were cloned and preliminarily analyzed by bioinformatics. The Quantitative Real-time PCR (qRT-PCR) technology was used to detect the expression patterns of these three genes after infection of *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella ictaluri* into hybrid yellow catfish “Huangyou-1” and its parents. The results show that the ORF length of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* genes of hybrid yellow catfish “Huangyou-1” was 561, 735 and 672 bp, encoding 186, 244 and 223 amino acids respectively, and prediction results revealed that *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* proteins contained SH2 conserved domains and SOCS box. The expression pattern of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* genes showed tissue specificity in hybrid yellow catfish “Huangyou-1”, *P. fulvidraco* and *P. vachell*. After being challenged with *A. hydrophila* or *E. ictaluri*, the transcripts of *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* were all significantly increased, reached the peak at 24 h and then gradually returned to normal levels in liver, gill and head kidney in hybrid yellow catfish “Huangyou-1” and its parents ( $P < 0.05$ ). In addition, compared with parent *P. fulvidraco* and *P. vachell*, hybrid yellow catfish “Huangyou-1” had higher mRNA levels in *SOCS1*, *SOCS2* and *SOCS3* after the infection of *E. ictaluri*, showing a stronger immune regulation ability and having pathogen specificity. Our study provides a basis for the analysis of the immune defense regulation mechanism of the SOCS family of *Pelteobagrus*.

**Key words:** *Pelteobagrus vachell* (♂) × *P. fulvidraco* (♀) “Huangyou-1”; *SOCS* genes; pathogenic bacterium; expression patterns

**Corresponding author:** YIN Shaowu. E-mail: yinshaowu@163.com

**Funding projects:** Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries (ZJK202003); Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund [CX(19)2034]; Creation Project of Major New Species of Agriculture in Jiangsu Province (PZCZ201742); Key Research and Development Program of Jiangsu Province (BE2017377)