

## 撤稿声明

撤稿文章名: 鲤鱼整合素 $\beta$  1基因的克隆及其组织表达谱分析  
作者: 孙佳鑫, 贾智英, 姜晓娜  
通讯作者邮箱: Zijia2010@163.com

期刊名: 环境保护前沿 (AEP)  
年份: 2020  
卷数: 10  
期数: 2  
页码 (从X页到X页): 147-157  
DOI (to PDF): <https://doi.org/10.12677/AEP.2020.102016>  
文章ID: 1750693  
文章页面:  
<https://www.hanspub.org/journal/PaperInformation.aspx?paperID=34958>  
撤稿日期: 2020-06-22

### 撤稿原因 (可多选):

- 所有作者  
 部分作者:  
 编辑收到通知来自于  
○ 出版商  
○ 科研机构:  
○ 读者:  
○ 其他:  
撤稿生效日期: 2019-11-21



### 撤稿类型 (可多选):

- 结果不实  
○ 实验错误  
○ 数据不一致  
○ 其他:  
 结果不可再得  
 未揭示可能会影响理解与结论的主要利益冲突  
 不符合道德  
 欺诈  
○ 编造数据  
 抄袭  
 侵权  
○ 虚假出版  
○ 自我抄袭  
○ 其他法律相关:  
 编辑错误  
○ 操作错误  
 其他原因  
○ 分析错误  
○ 内容有失偏颇  
 其他:  
○ 重复抄袭  
 重复发表 \*  
○ 决策错误  
○ 其他:  
○ 无效评审

### 出版结果 (只可单选)

- 仍然有效.  
 完全无效.

### 作者行为 失误(只可单选):

- 诚信问题  
 学术不端  
 无 (不适用此条, 如编辑错误)

\* 重复发表: "出版或试图出版同一篇文章于不同期刊."

历史

作者回应:

- 是, 日期: yyyy-mm-dd  
 否

信息改正:

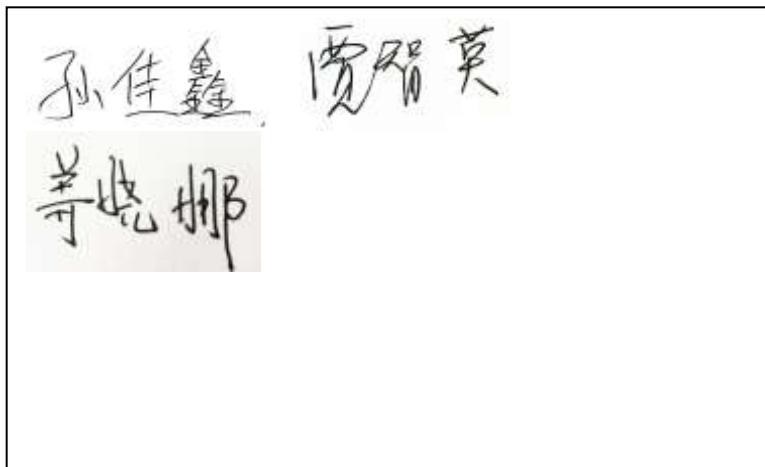
- 是, 日期: yyyy-mm-dd  
 否

说明:

“鲤鱼整合素 $\beta$  1 基因的克隆及其组织表达谱分析”一文刊登在 2020 年 4 月出版的《环境保护前沿》2020 年第 10 卷第 2 期第 147-157 页上。因文章实验数据有误, 作者主动要求撤稿。根据国际出版流程, 编委会现决定撤除此稿件, 保留原出版出处:

孙佳鑫, 贾智英, 姜晓娜. 鲤鱼整合素  $\beta$ 1 基因的克隆及其组织表达谱分析[J]. 环境保护前沿, 2020, 10(2): 147-157. <https://doi.org/10.12677/AEP.2020.102016>

所有作者签名:



# Cloning and Expression Profiling of Integrin $\beta 1$ in Common Carp (*Cyprinus Carpio*)

Jiaxin Sun<sup>1,2</sup>, Zhiying Jia<sup>1,2\*</sup>, Xiaona Jiang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai

<sup>2</sup>Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Harbin Heilongjiang

Email: sjxyzu@163.com, Zyjia2010@163.com

Received: Mar. 7<sup>th</sup>, 2020; accepted: Apr. 2<sup>nd</sup>, 2020; published: Apr. 9<sup>th</sup>, 2020

## Abstract

In order to obtain the carp integrin  $\beta 1$  gene sequence and clarify its expression in different tissues, the carp integrin  $\beta 1$  gene sequence was cloned by RT-PCR method, and the expression characteristics of the integrin  $\beta 1$  gene were analyzed by fluorescent quantitative PCR. The results showed that the obtained full-length carp integrin  $\beta 1$  cDNA was 3835bp and the open reading frame (ORF) sequence was 2394bp. In addition, the similarity between the cloned sequence and Roche's lip is 97.37%, the similarity with Gram fish is 96.26%, the similarity with catfish is 95.86%, and the similarity with red fish is 94.61%, which is considered highly conservative in evolution. Tissue expression profiling analysis showed that integrin  $\beta 1$  gene was expressed in all carp tissues tested, especially in the intestine. The expression level was significantly higher than other tissues ( $P < 0.05$ ). This study successfully obtained the carp integrin  $\beta 1$  gene sequence and proved its specific expression in the intestine, which provides a basis for further studying the role of integrin  $\beta 1$  gene in the immune response of carp.

## Keywords

Integrin  $\beta 1$ , Common Carp, Clone, Expression

# 鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因的克隆及其组织表达谱分析

孙佳鑫<sup>1,2</sup>, 贾智英<sup>1,2\*</sup>, 姜晓娜<sup>2</sup>

<sup>1</sup>上海海洋大学水产与生命学院, 上海

<sup>2</sup>中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨

Email: sjxyzu@163.com, Zyjia2010@163.com

收稿日期: 2020年3月7日; 录用日期: 2020年4月2日; 发布日期: 2020年4月9日

\*通讯作者。

## 摘要

为获得鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因序列，并明确其在不同组织的表达情况，通过RT-PCR方法克隆了鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因序列，利用荧光定量PCR分析了整合素 $\beta 1$ 基因的表达特征。结果表明：所得鲤鱼整合素 $\beta 1$ 全长cDNA为3835bp，开放阅读框(ORF)序列2394bp。另外，该克隆序列与罗氏唇瓣的相似度为97.37%，与革兰鱼的相似度为96.26%，与鲫鱼的相似度为95.86%，与红鱼的相似度为94.61%，在进化上被认为是高度保守的。组织表达谱分析显示，integrin $\beta 1$ 基因在所有被检测的鲤鱼组织中均表达，尤其是在肠道中的表达水平显著高于其他组织( $P < 0.05$ )。本研究成功获得了鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因序列，证明其在肠道中的特异性表达，为进一步研究整合素 $\beta 1$ 基因在鲤鱼免疫应答中的作用提供了基础。

## 关键词

整合素 $\beta 1$ ，鲤鱼，克隆，表达

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

整合素是一种跨膜糖蛋白，普遍存在于细胞中，是介导细胞与细胞外基质(ECM)相互作用的最主要的分子，是一类细胞膜表面手提，可以识别、结合细胞外基质中相应的配体，为细胞黏附提供附着点，调控细胞的生长、运动、增值、凋亡和分化[1] [2]。根据整合素识别配体的特异性，可以将整合素大致分为精氨酸—甘氨酸—天冬氨酸肽序列整合素，层黏连蛋白链接整合素，白细胞整合素和胶原蛋白链接整合素。整合素是由 $\alpha$ 和 $\beta$ 两个亚单位形成的异二聚体跨膜糖蛋白。至今在人类中至少发现18种 $\alpha$ 亚基和8种 $\beta$ 亚基，可形成24种功能不同的整合素分子[3]。

不同的亚基之间相互组合形成的整合素功能也不同，按 $\beta$ 亚基可分为 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$ 这几个亚家族。 $\beta 1$ 亚家族又称为VLA (very late activation antigen)家族，VLA-1和2作为T细胞的后期活化抗原而被鉴定。含 $\beta 1$ 亚基的整合素主要介导细胞与细胞外基质成分之间的黏附。 $\beta 2$ 亚家族(CD18抗原)，主要表达于各种白细胞表面，主要介导细胞间的相互作用，研究表明它可通过抑制NF-KB途径和提升p38蛋白激酶的活化来抑制Toll样受体的信号传导，从而调控炎症反应程度[4]。 $\beta 3$ 亚家族成为细胞黏附素，参与细胞的凋亡，能上调基质金属蛋白酶(MMPs)的表达，它的高表达可以降解ECM，从而有利于细胞迁移。整合素 $\alpha \beta 3$ 在机体转移肿瘤、动物的胚胎发育一级细胞免疫应答等多种生理过程中扮演着重要作用[5]，并已被证明是多种病毒分子侵染细胞的表明识别、结合的特异性靶点，对促进病毒感染宿主细胞有明显的促进作用[6] [7]。

随着水产养殖业中高密度精养模式的发展，病害影响日益严重，人们已开始关注鱼类免疫防御机制的研究，因此揭示整合素 $\beta 1$ 在重要经济鱼类免疫中的作用具重要意义。近年来，国内外学者对整合素进行了相关研究，例如沈力等[8]，研究了原发性放射抵抗喉癌细胞中分析鞘糖脂微结构域1相关磷酸化蛋白(PAG1)与整合素 $\beta 1$ 的相互作用情况，并对PAG1与整合素 $\beta 1$ 的结合基序进行了比较。黄永塔等[9]对整合素 $\beta 1$ (integrin $\beta 1$ , ITGB1)在鼻咽癌组织中的表达进行了研究，结论得出，整合素 $\beta 1$ 在鼻咽癌组织的表达明显高于正常黏膜组织，整合素 $\beta 1$ 表达水平与肿瘤远处转移、T分期及临床分期密切相关。杜华等

[10]对整合素 $\beta 1$ 、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)与细胞骨架结构改变的关系及其对人脑胶质瘤细胞的生物学行为的影响和作用机制进行了分析。对整合素 $\beta 1$ 基因的研究大多体现在医疗上,与之相比对鱼类整合素 $\beta 1$ 的研究还相对较少。本研究克隆获得了鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因序列,分析了序列特征,并利用定量RT-PCR评价了其在10种组织中的表达,为进一步研究鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因的功能奠定基础。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 实验设计

本研究通过RACE克隆试剂盒技术克隆了鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因序列,利用荧光定量PCR对整合素 $\beta 1$ 基因的表达特征进行分析。基于不同整合素 $\beta 1$ 基因的保守序列设计一对引物integrin b1-F和integrin b1-R,完成cDNA第一链合成、PCR反应、连接产物转化、巢式PCR等一系列反应根据kit说明书,使用基因特异性引物对于扩增部分鲤鱼整合素 $\beta 1$ cDNAs。

### 2.2. 实验鱼及样品采集

采集新鲜的健康鲤鱼组织(肠、鳃、头肾、肝、心、眼、脑、脾、睾丸和卵巢),均随机各采集3尾,且每组设两组平行,所有采集样本的内脏组织均立即储存RNAlater当中,在4℃温度下12小时之后储存在-20℃温度,之后转移至实验室-80℃超低温冰箱中保存备用。采集样本进行RNA提取。

### 2.3. 主要试剂及仪器

组织DNA试剂盒(MagPure Tissue DNA KF Kit);  
2×Ex Tag Master Mix(康为世纪生物公司,产品号CW0690);  
QIAGEN RNA提取试剂盒(RNeasy lipid tissue mini kit);  
逆转录试剂盒康为世纪(Super Quick RT cDNA Kit);  
SYBR Green I 荧光染料试剂盒(康为世纪Ultra SYBR Mixture (high ROX));  
美国BIO-RAD PCR仪C1000;  
Nanovue微量分光光度计;  
Agilent Mx3005P 荧光定量PCR仪;  
RACE试剂盒(Invitrogen, Shanghai)。

### 2.4. 基因组序列的克隆

鲤鱼整合素 $\beta 1$ 基因的克隆采用鲤鱼肝脏组织总RNA,并对总RNA纯度、浓度和质量进行检测。利用反转录试剂盒合成cDNA第一链,合成的cDNA于-20℃保存备用。根据不同整合素 $\beta 1$ 基因的保守序列设计了三对引物(整合素 $\beta 1$ -F和整合素 $\beta 1$ -R,如表1所示)。使用RACE试剂盒(Invitrogen, Shanghai)采用基因特异性引物(3-RC606-F3、3-RC606-F4、5-RC606-R4、5-RC606-R3、5-RC606-RT3、5-RC606-RT2)扩增鲤鱼整合素 $\beta 1$ 的部分cDNA。联合引物(5.3'外,5.3'内,3'接合器,5'接合器)和扩增对引物( RC606-246F, RC606-1281R, RC606-1113F, RC606-2507R, RC606-2393F, RC606-3534R)分别用于巢式PCR反应和中间序列扩增。PCR反应体系为25 μL, 2×Ultra SYBR Mixture (highROX) 12.5 μL, 上游引物(10 μmol/L) 0.5 μL, 下游引物(10 μmol/L) 0.5 μL, dNTP (2.5 mM) 4 μL, Taq酶(5 U/μL) 0.2 μL, 基因组cDNA 1 μL, ddH2O补足25 μL。PCR反应程序:95℃预变性3 min; 94℃变性30 s, 58℃退火30 s, 72℃延伸1 min, 33个循环; 72℃最终延伸7 min。扩增产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测后,用DNA回收试剂盒回收目的条带。将PCR产物克隆到pMD18-T easy载体中。所有产品均经测

序分析验证。所有引物见表 1。

**Table 1.** Primers list  
**表 1.** 引物列表

引物名 Primers	引物序列(5'-3') Sequences (5'-3')	克隆片段 Cloning fragment
Integrin $\beta$ 1	F:GCMAACTCCAGCAA R:ACGGGCRCCTCTGTAA	保守序列扩增
RC606-246F RC606-1281R	F:ACAGCAAGAGGGCAACGGAGT R:CACATTGCTGGAGTTGGCTG	
RC606-1113F RC606-2507R	F:CCATTATTACGATTACCCCTCCAT R:TCCCACTTGGCGTTCATCTT	中间序列扩增
RC606-2393F RC606-3534R	F:CAGGCATCGTCTGATTGGTC R:AAATGACTGCATCTGCCGATT	
3-F3	F:AAGTTACGGTGCAAAGGCATCCTTGAAT	3'-race
3-F4	F:ATCCCTCCCAAAAACATCAAATGTCA	
5-R3	R:TGCGGTTGGTCACCGCTTGT	
5-R4	R:CGGCGTCGCAGCCTCTCTCAT	
5-RT2	R:CTGGTCAGTTTCAGCACGTTCT	5'-race
5-RT3	R:GGTGCAGTTGGTCCCCT	
3' adaptor	GCTGTCAACGATACTGCTACGTAACGGCATGACAGTGTAAAAA TTTTTTTTTT	
5' adaptor	GCTGTCAACGATACTGCTACGTAACGGCATGACAGTGGGIIGGG IIGGGIIG	接头引物
5.3' outer	GCTGTCAACGATACTGCTACGTAAC	
5.3' inner	GCTACGTAACGGCATGACAGTG	
18s RNA	F:TCTGCCCTAACCTTCGATGGTA R:AATTTCGCGCCCTGCTGCCCTTT	内参基因

## 2.5. 序列和系统发育分析

应用 DNASTar6.0 软件对整合素  $\beta$ 1 的预测氨基酸序列、分子特征、二级结构和抗原表面分析进行了分析。利用在线 ExPASy (<http://web.ExPASy.org/compute-pI/>) 计算预测氨基酸序列的分子量和等电点(pI)。利用国家生物技术信息中心(<http://blast.NCBI.nlm.nih.gov/blast>)预测了整合素  $\beta$ 1 的保守结构域，利用 SignalP 4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测了信号肽。通过 protoscale 测定整合素  $\beta$ 1 的疏水性(<https://web.expasy.org/protscale/>)。用 DNAMAN 软件对整合素  $\beta$ 1 的氨基酸序列进行了比较分析。利用 clustalX1.83 工具完成多序列比对。利用 MEGA7 程序，采用 1000 个 bootstrap 复制的邻域连接方法，构建整合素  $\beta$ 1 的进化树[11]。

## 2.6. 实时荧光定量 PCR

鲤鱼整合素  $\beta$ 1 基因的组织表达分析分别提取鲤鱼肠、鳃、头肾、肝、心、眼、脑、脾、睾丸和卵巢等组织的总 RNA，以 18sRNA 作为内参基因，采用荧光定量 PCR 检测鲤鱼整合素  $\beta$ 1 基因 mRNA 在各组织中的表达情况。

所有引物均由生工生物上海有限公司提供，引物信息见表 1，实时荧光定量 PCR 反应体系为 25 μL，2×UItra SYBR Mixture (high ROX) 12.5 μL，上游引物(10 μmol/L) 0.5 μL，下游引物(10 μmol/L) 0.5 μL，基因组 RNA 1 μL/cDNA 0.5 μL，ddH<sub>2</sub>O 补足 25 μL。上机程序：(1) 循环数 1，UNG 酶启动，50℃ 10 min；(2) 循环数 1，预变性，95℃ 1 min；(3) 循环数 40，变性：95℃ 30 s，退火：60℃ 1 min；(4) 溶解曲线：95℃ 1 min，55℃ 30 s，95℃ 1 min。所有样本均进行了三次重复，每个样品的 Ct 值为三次重复的均值，病毒载量研究中以去离子水为空白对照，去除假阳性可能。

## 2.7. 数据统计与分析

使用 2-ΔΔCt 法[12]处理荧光定量实验数据计算出相对表达量。所有实验均在三个生物重复试验中进行。采用 SAS 9.1 中的 Bonferroni t 检验，用两组比较的方法评价两组间的显著性。数据显示为三个重复的平均值 ± 标准差。在 p < 0.05 时(\*P < 0.05 表示差异显著；\*\*P < 0.01 和\*\*\*P < 0.001 表示差异极显著)具有统计学意义。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 序列与特征分析

测序结果表明，鲤鱼整合素 β1 全长 cDNA 为 3835 bp。使用 DNAstar (Editseq) 软件，我们怀疑整合素 β1 含有 223 bp 的 5'-UTR，1236 bp 的 3'-UTR 和假定的多聚腺苷酸化一致信号(AATAAA)，2394 bp 的开放阅读框(ORF)。ORF 编码 796 个氨基酸的多肽，预测分子质量为 88.42 kDa (图 1(a))。整合素 β1 蛋白包括 92 种强碱性氨基酸(K, R)、104 种强酸性氨基酸(D, E)、219 种疏水性氨基酸(A, I, L, F, W, V)、257 种极性氨基酸(N, C, Q, S, T, Y)。为了了解整合素 β1 的结构特点，本研究利用生物分析软件对其氨基酸序列进行了分析。预测整合素 β1 包含三个主要的二级结构模体(α-螺旋、β-折叠片、β-旋转)和随机螺旋，其中主要包含两个主要的识别模体 α-螺旋、β-旋转(图 1(b))。

预测保守结构域结果显示整合素 β1 涉及三个保守结构域(图 2(a))。利用神经网络模型预测信号肽的分泌途径和裂解位点。当预测值标记为 S 评分时，整合素 β1 具有信号肽，信号肽的裂解位点可能在 N 末端的第 20 和第 21 个氨基酸之间(图 2(b))。整合素 β1 还包含一个跨膜结构域，跨膜结构域位于 728~750 个氨基酸之间(图 2(c))。结果表明，整合素 β1 在蛋白质转运过程中可能需要跨膜转运。

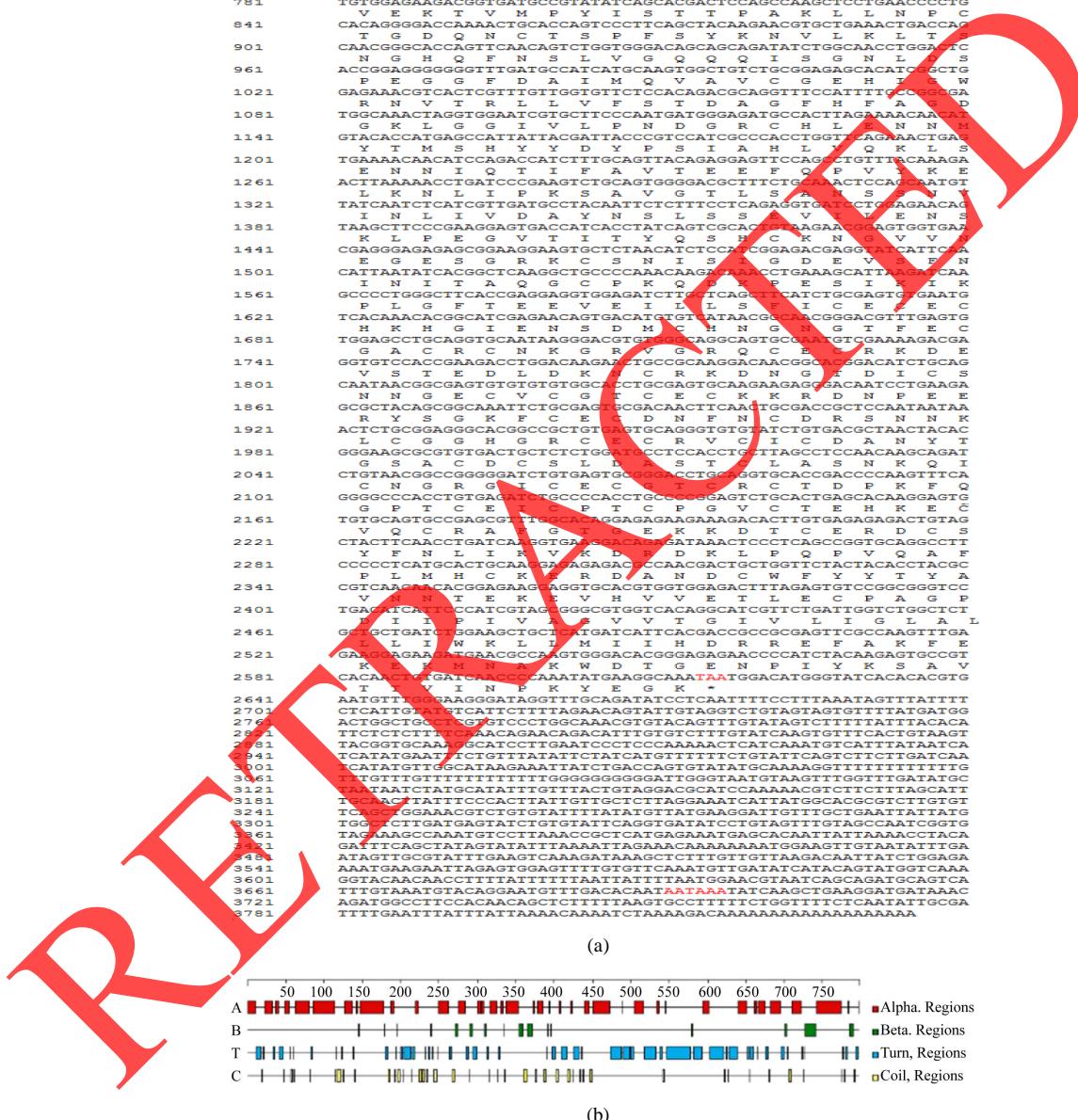
### 3.2. 系统发育分析

所推导的整合素 β1 的氨基酸序列与其他物种具有高度的相似性(图 3)。结果表明，整合素 β1 与罗氏唇瓣的相似度为 97.37%，与革兰鱼的相似度为 96.26%，与鲫鱼的相似度为 95.86%，与红鱼的相似度为 94.61%。因此，鲤鱼整合素 β1 在进化上被认为是高度保守的。

为了确定分子进化关系，在 NCBI 中获得许多物种(多骨鱼、人和小鼠)的整合素 β1 mRNA 序列，然后使用 MEGA7 软件进行进化树(图 4)。将系统发育树分为两大类(整合素 β 亚家族和整合素 α 亚家族)，结果表明，普通鲤的整合素 β1 与其它不同种提交的序列分析结果相似。此外，鲤鱼整合素 β1 的 mRNA 序列与斑马鱼整合素 β1 (NM\_1)、血吸虫整合素 β (MG792792.1) 相似，并与斑马鱼整合素 β1 成簇 α。

### 3.3. 鲤鱼整合素 β1 mRNA 的组织表达

为了确定整合素 β1 在鲤鱼体内的分布，对 10 个组织进行了实时 PCR 检测(图 5)。结果表明，整合素 β1 在肠道中的相对表达最高，其次是鳃、头肾、肝、心、眼、脑、脾、睾丸和卵巢。值得注意的是，整合素 β1 在肝、心、眼、脑、脾中的相对表达相对一致，而在性腺中的相对表达最低。



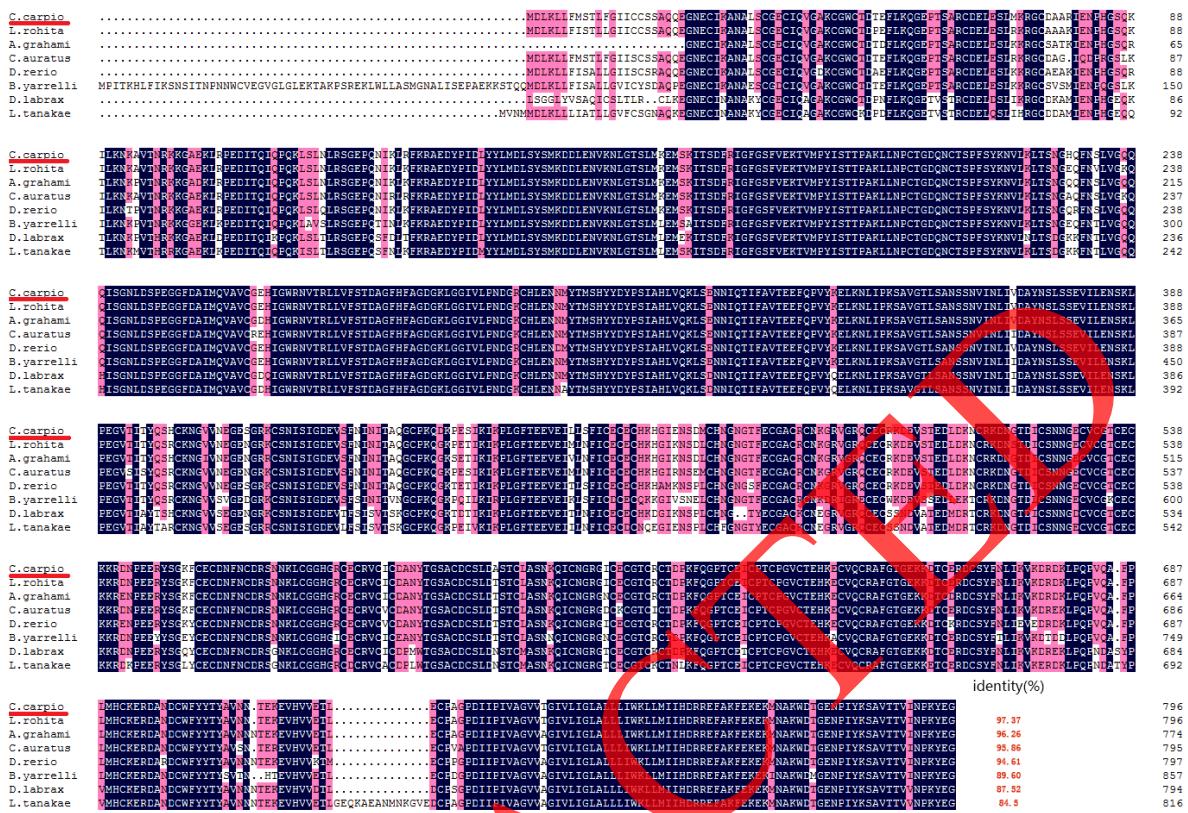
**Figure 1.** (a) The nucleotide and deduced amino acid sequence of the integrin  $\beta 1$  gene in common carp, star codon (ATG) and the stop codon (TAA). (b) The secondary structural prediction of the integrin  $\beta 1$  protein in common carp (A:  $\alpha$ -helix, B:  $\beta$ -pleated sheet, T:  $\beta$ -turn, C: random coil). The amino acids sequence of integrin  $\beta 1$  contain three main secondary structural motifs and random coil

**图 1.** (a) 整合蛋白  $\beta 1$  基因、密码子(ATG)和密码子(TAA)的核苷酸和达米诺酸序列推导; (b) 整合蛋白  $\beta 1$  蛋白聚糖(A:  $\alpha$ -螺旋, B:  $\beta$ -折叠片, T:  $\beta$ -旋转, C: 随机化线圈)。氨基酸序列整合蛋白  $\beta 1$  包含三个不安全的结构基序和随机化线圈。



**Figure 2.** (a) The secondary structural prediction of the integrin  $\beta 1$  protein in common carp (A:  $\alpha$ -helix, B:  $\beta$ -pleated sheet, T:  $\beta$ -turn, C: random coil). The amino acids sequence of integrin  $\beta 1$  contains three main secondary structural motifs and random coil. (b) The prediction of conserved domains in integrin  $\beta 1$  protein of common carp, involving three conserved domains. (c) Transmembrane domain analysis of integrin  $\beta 1$  protein in common carp (transmembrane: penetrate cell membrane; inside: intracellular membrane; outside: extracellular membrane)

**图 2.** (a) 保守的主成分  $\beta 1$  保护的预测，包括三个被保护的区域。(b) 整合素  $\beta 1$  蛋白的信号肽在公共领域的预测。预测值被标记为评分。(c) 整合蛋白  $\beta 1$  蛋白共鲤的跨膜域分析(跨膜：穿透细胞膜；内：细胞膜内；外：细胞膜外)



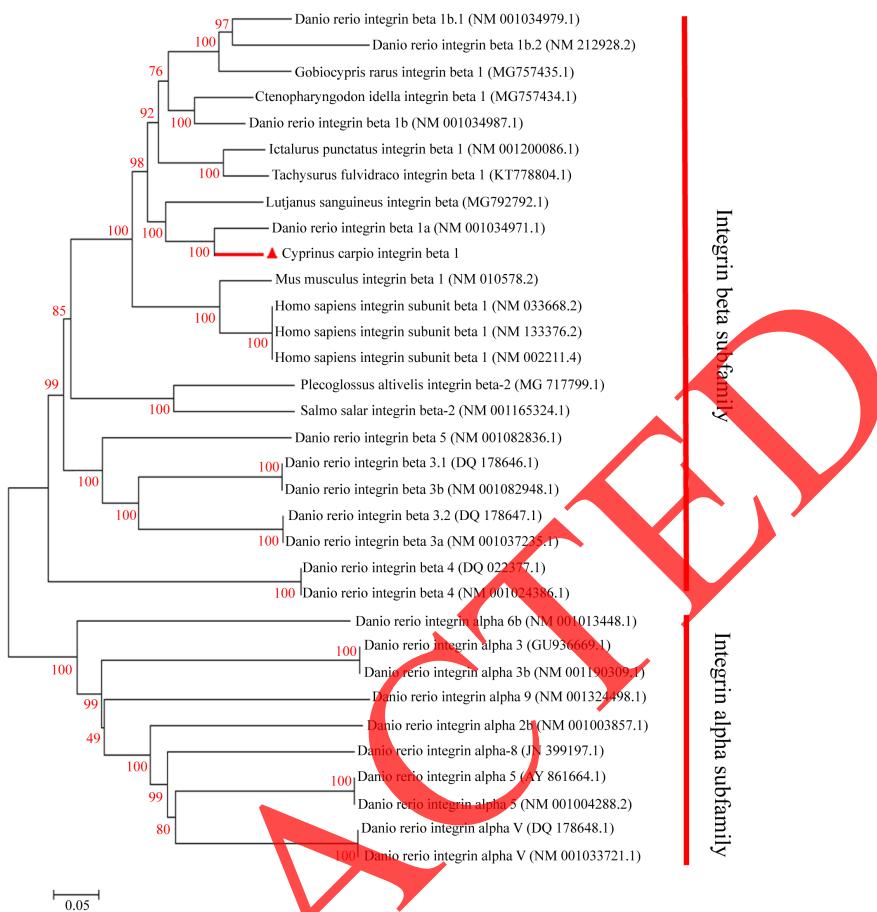
**Figure 3.** Multiple alignments of deduced amino acid sequences of common carp integrin β1 (*C. carpio*) with other species. The Navy blue represented 100% identity, pink represented 80% identity.

**图 3.** 与其他物种的鲤鱼整合素 β1 (*C. carpio*)的达米诺酸序列推断的多重标记。平均值代表 100% 的同一性, Pinkre 代表 80% 的同一性

#### 4. 讨论

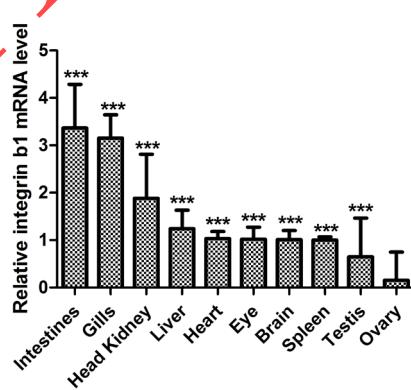
整合素介导在细胞增殖、调节细胞周期和细胞迁移方面发挥了重要作用[13] [14]。它们作为信号转导受体发挥作用, 可以控制细胞内调节细胞存活、增殖和细胞命运的途径[15] [16]。此外, 有报道的研究表明, 整合素介导的细胞粘附对免疫应答和发育必不可少[17]。已在几种鱼类中鉴定出整合素 β1, 但在鲤鱼中还没有鉴定出整合素 β1 的证据。本研究首次克隆了鲤鱼整合素 β1 基因全长 cDNA, ORF 为 2394bp, 编码 797 个氨基酸的多肽。众所周知, 蛋白质的功能与其结构有着密不可分的关系。本研究的结果表明, 随机的线圈位移将有助于识别和分配翻译后修饰残基[18]。此外, 大多数蛋白质-蛋白质相互作用由三个主要识别基序(α-螺旋、β-旋转或 β-链)介导[19] [20]。此外, 信号肽主要由疏水性氨基酸组成, 疏水性氨基酸是一种短肽链, 引导新合成的蛋白质值转移到分泌通道, 对蛋白质运输产生影响[21]。整合素 β1 具有跨膜区和信号肽, 其亲水性强于疏水性, 表明其蛋白可能是一种与信号转导相关的膜受体蛋白, 这与之前的研究一致[22] [23] [24]。预测了整合素 β1 的二级结构, 包括二级结构元件、信号肽位点、保守结构域、跨膜区和疏水性, 为蛋白质研究提供了重要信息。

研究还表明, 鲤鱼整合素 β1 的氨基酸序列与以前报道的其它鲤鱼整合素 β1 的氨基酸序列有很高的相似性, 结果表明: 鲤鱼整合素 β1 与罗氏唇瓣的相似性为 97.37%, 与革兰鱼的相似性为 96.26%, 与鲫鱼的相似性为 95.86%, 与丹鱼的相似性为 94.61% 重播。在系统发育树分析中, 分子进化树显示整合素 β1 系统地分为两大类。值得注意的是, 系统发育树分析结果表明, 斑马鱼的整合素 β1 和整合素 β1a 彼此最近接, 成簇。



**Figure 4.** Phylogenetic tree analysis of integrin  $\beta 1$  protein from common carp. The phylogenetic tree was constructed by using MEGA7 program based on neighbor-joining method with 1000 replications of bootstrap. The Genbank accession numbers for the integrin sequences are shown in the brackets next to each species

**图 4.** 系统发育树分析异整合素  $\beta 1$  蛋白鲤。使用基于 8 种或 8 种接合方法的 Mega7 程序和 1000 个陷阱复制构建的系统发育树。每个物种的序列的 genbank 访问数在希伯来语中都是相邻的



Note: Marked \* different indicates significant differences within groups  
(\*P < 0.05, \*\*P < 0.01)

注：标记\*不同表示组内存在显著性差异(\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001)

**Figure 5.** Comparison expression of integrin  $\beta 1$  in different infection tissue (intestines, gills, kidney, liver, heart, eye, brain, spleen, testis, ovry) of carp

**图 5.** 整合素  $\beta 1$  基因在鲤鱼不同组织(肠、鳃、肾、肝、心、眼、脑、脾、睾丸和卵巢)中相对表达情况

组织表达谱分析表明，整合素  $\beta 1$  在大肠和鳃组织中广泛分布，相对表达水平较高。肠道是一个多功能器官，负责鱼类的营养吸收、病原体识别和肠道微生物群的调节[25] [26]。此外，鱼鳃作为呼吸和粘膜免疫器官[27]，直接接触水中，与水中病原体接触的机会远大于其他器官。整合素  $\beta 1$  在鲤鱼鳃和肠中的高表达提示其可能参与了外界刺激信号的传递，激活和参与鲤鱼的免疫应答。

综上所述，首次获得鲤鱼整合素  $\beta 1$  的全长序列，对其表达谱的一系列特征进行了生物信息学分析。对整合素  $\beta 1$  基因在肠、鳃、肾、肝、心脏、眼、脑、脾、睾丸和卵巢 10 种组织中的表达情况进行了全面的检测，发现在各组织中均有表达，其中整合素  $\beta 1$  在鲤鱼的肠、鳃和头肾中高表达，提示整合素  $\beta 1$  可能在鲤鱼的免疫应答中起重要作用。本研究通过生物信息学及组织表达分析，对进一步探索整合素  $\beta 1$  在鲤鱼中的免疫作用机制以及整合素  $\beta 1$  基因在鱼类免疫过程中发挥的作用提供了重要的理论依据，为鱼类先天性免疫研究奠定了基础。

## 参考文献

- [1] Cabodi, S., Di Stefano, P., Leal, M.P., et al. (2010) Integrins and Signal Transduction. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **674**, 43-54. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6060-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6060-5_5)
- [2] Goodman, S.L. and Picard, M. (2012) Integrins as Therapeutic Targets. *Trends in Pharmacological Sciences*, **33**, 405-412. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.04.002>
- [3] Takada, Y.K., Yu, J., Fujita, M., et al. (2017) Direct Binding to Integrins and Loss of Disulfide Linkage in Interleukin-1beta (IL-1beta) Are Involved in the Agonistic Action of IL-1beta. *The Journal of Biological Chemistry*, **292**, 20067-20075. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.818302>
- [4] Yee, N.K. and Hamerman, J.A. (2013) Beta(2) Integrins Inhibit TLR Responses by Regulating NF-kappaB Pathway and P38 MAPK Activation. *European Journal of Immunology*, **43**, 779-792. <https://doi.org/10.1002/eji.201242550>
- [5] Li, D.F., Zhang, M.C., Yang, H.J., et al. (2007) Beta-Integrin Mediates WSSV Infection. *Virology*, **368**, 122-132. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.06.027>
- [6] Gavrilovskaya, I.N., Brown, E.J., Ginsberg, M.H., et al. (1999) Cellular Entry of Hantaviruses Which Cause Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Is Mediated by Beta3 Integrins. *Journal of Virology*, **73**, 3951-3959. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.5.3951-3959.1999>
- [7] Larson, R.S., Brown, D.C., Ye, C., et al. (2005) Peptide Antagonists That Inhibit Sin Nombre Virus and Hantaan Virus Entry through the Beta3 Integrin Receptor. *Journal of Virology*, **79**, 7319-7326. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.12.7319-7326.2005>
- [8] 沈力, 彭峰, 柯青, 等. PAG1与整合素  $\beta 1$  的相互作用及其位点分析[J]. 湖北医药学院学报, 2018, 37(3): 199-202.
- [9] 黄永塔, 叶秋容, 翁敬锦, 等. 整合素  $\beta 1$  在鼻咽癌的表达与 5 年生存情况的关系[J]. 广东医学, 2018, 39(14): 2134-2137.
- [10] 杜华, 钟延丰, 袁宏伟, 等. 整合素-B1、PKC 与胶质瘤细胞骨架结构改变及侵袭性的实验研究[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(10): 1543-1548.
- [11] Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- [12] Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Method. *Methods*, **25**, 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- [13] Campbell, I.D. and Humphries, M.J. (2011) Integrin Structure, Activation, and Interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **3**, a004994. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004994>
- [14] Gahmberg, C.G., Gronholm, M., Madhavan, S., et al. (2019) Regulation of Cell Adhesion: A Collaborative Effort of Integrins, Their Ligands, Cytoplasmic Actors, and Phosphorylation. *Quarterly Reviews of Biophysics*, **52**, e10. <https://doi.org/10.1017/S0033583519000088>
- [15] Cheng, S.Y., Sun, G., Schlaepfer, D.D., et al. (2014) Grb2 Promotes Integrin-Induced Focal Adhesion Kinase (FAK) Autophosphorylation and Directs the Phosphorylation of Protein Tyrosine Phosphatase Alpha by the Src-FAK Kinase Complex. *Molecular and Cellular Biology*, **34**, 348-361. <https://doi.org/10.1128/MCB.00825-13>
- [16] Morris, M.A., Laverick, L., Wei, W., et al. (2018) The EBV-Encoded Oncoprotein, LMP1, Induces an Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) via Its CTAR1 Domain through Integrin-Mediated ERK-MAPK Signalling. *Cancers (Basel)*, **10**, 130. <https://doi.org/10.3390/cancers10050130>

- [17] Ginsberg, M.H. (2014) Integrin Activation. *BMB Reports*, **47**, 655-659. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2014.47.12.241>
- [18] Conibear, A.C., Rosengren, K.J., Becker, C., et al. (2019) Random Coil Shifts of Post-Translationally Modified Amino Acids. *Journal of Biomolecular NMR*, **73**, 587-599. <https://doi.org/10.1007/s10858-019-00270-4>
- [19] Kozakov, D., Hall, D.R., Chuang, G.Y., et al. (2011) Structural Conservation of Druggable Hot Spots in Protein-Protein Interfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 13528-13533. <https://doi.org/10.1073/pnas.1101835108>
- [20] Moreira, I.S., Fernandes, P.A. and Ramos, M.J. (2007) Hot Spots—A Review of the Protein-Protein Interface Determinant Amino-Acid Residues. *Proteins*, **68**, 803-812. <https://doi.org/10.1002/prot.21396>
- [21] Schittenhelm, J., Tabatabai, G. and Sipos, B. (2016) The Role of Integrins in Primary and Secondary Brain Tumors. *Histology and Histopathology*, **31**, 1069-1078.
- [22] Canel, M., Serrels, A., Frame, M.C., et al. (2013) E-Cadherin-Integrin Crosstalk in Cancer Invasion and Metastasis. *Journal of Cell Science*, **126**, 393-401. <https://doi.org/10.1242/jcs.100115>
- [23] De Franceschi, N., Hamidi, H., Alanko, J., et al. (2018) Integrin Traffic—The Update. *Journal of Cell Science*, **128**, 839-852. <https://doi.org/10.1242/jcs.161653>
- [24] Lilja, J. and Ivaska, J. (2018) Integrin Activity in Neuronal Connectivity. *Journal of Cell Science*, **131**, jcs212803. <https://doi.org/10.1242/jcs.212803>
- [25] Llewellyn, M.S., Boutin, S., Hoseinifar, S.H., et al. (2014) Teleost Microbiomes: The State of the Art in Their Characterization, Manipulation and Importance in Aquaculture and Fisheries. *Frontiers in Microbiology*, **5**, 207. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00207>
- [26] Lokka, G., Austbo, L., Falk, K., et al. (2014) Immune Parameters in the Intestine of Wild and Reared Unvaccinated and Vaccinated Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Developmental & Comparative Immunology*, **47**, 6-16. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.06.009>
- [27] Salinas, I. (2015) The Mucosal Immune System of Teleost Fish. *Biology (Basel)*, **4**, 525-539. <https://doi.org/10.3390/biology4030525>

RETRACED