

大菱鲆 CD55 负调控补体激活及其广谱细菌结合能力

吴 蒙^{1,2}, 李墨非³, 孙 黎^{1,2}

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 天津师范大学 生命科学学院 天津市动植物抗性重点实验室, 天津 300387)

摘要: CD55 蛋白在哺乳动物中是一种补体调控因子, 但其在鱼类中的功能未知。本研究探索了大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) CD55 (SmCD55) 蛋白的功能。结果表明, SmCD55 蛋白由 344 个氨基酸残基构成, 含有一个 N 端信号肽和 3 个补体调控蛋白 (CCP) 功能域。SmCD55 基因在大菱鲆多种组织中均有表达, 其中, 在肌肉中表达量最低, 在脑组织的表达量最高。通过原核表达获得了重组的 SmCD55 (rSmCD55) 蛋白, 发现 rSmCD55 蛋白能够抑制大菱鲆血清的溶血活性和杀菌活性, 表明其负调控补体系统的激活。此外, 本研究还发现 rSmCD55 蛋白可以结合包括重要水产病原菌迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*)、荧光假单胞杆菌 (*Pseudomonas fluorescens*)、鳃弧菌 (*Vibrio anguillarum*)、哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 和海豚链球菌 (*Streptococcus iniae*) 在内的多种细菌, 其中与哈维氏弧菌的结合能力最强。以上这些研究结果丰富了鱼类补体系统的理论知识, 加深了对鱼类补体激活调控的了解。

关键词: 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*); CD55 蛋白; 补体激活; 细菌结合

中图分类号: S917.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)07-0024-08

DOI: 10.11759/hyxx20220410001

补体系统是免疫系统重要的组成部分, 在先天性免疫反应和适应性免疫反应中发挥着至关重要的作用^[1]。补体系统由 30 多种存在于血清、组织液和细胞膜表面的蛋白质构成, 主要通过经典途径、旁路途径和凝集素途径这 3 种方式激活^[2]。C3 的活化是所有补体激活途径中的关键步骤, 在 3 条补体激活途径中共生成两种类型的 C3 转化酶, 即经典途径和凝集素途径生成的 C3 转化酶为 C4b2a 以及旁路途径生成的 C3 转化酶 C3bBb^[3]。C3 转化酶进一步激活后续的补体通路^[4]。补体系统激活后能够在靶细胞表面组装形成膜攻击复合物 (MAC), 从而引起靶细胞裂解死亡^[5]。在正常情况下, 补体系统通过严谨的激活调控机制可以清除入侵机体的病原微生物, 但在补体系统功能失调的情况下, 补体系统的激活会危害宿主自身的健康细胞^[6]。为了防止损伤自身细胞, 宿主体内存在多种补体调控蛋白可以调节补体系统的激活, 如 CD55、C1 抑制剂 (C1INH)、CD35、CD46 和 CD59, 这些调控蛋白能够防止补体的异常激活, 从而保护自身细胞^[7]。CD55 蛋白, 也被称为补体衰变加速因子 (DAF), 哺乳动物中 CD55 蛋白是一种大约 40 kDa 的细胞外糖蛋白, 通过糖基磷脂酰肌醇

(GPI) 连接固定在细胞膜上, 广泛分布在不同的组织细胞表面和细胞分泌物中^[8]。在哺乳动物的研究中表明, CD55 蛋白能够通过加速 C3 转化酶和 C5 转化酶中 C2a 和 Bb 因子的衰变解离而抑制补体系统激活^[9], 从而阻止 MAC 在细胞膜上的生成。CD55 蛋白在体内表达异常可引起自身免疫性疾病, 如阵发性夜间血红蛋白尿症^[10]。另外, 细胞表面的 CD55 蛋白可以作为病原微生物 (如致病性大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 和埃可病毒 (echovirus) 等) 感染细胞的受体^[11]。目前, 针对 CD55 蛋白的研究主要集中在哺乳动物中, 在硬骨鱼还未见有相关的研究报道。

大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 是中国主要水产养殖鱼类之一, 具有重要的经济价值。本研究以大菱鲆 CD55 (SmCD55) 蛋白为研究对象, 首次在硬骨鱼

收稿日期: 2022-04-10; 修回日期: 2022-04-29

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0900500)

[Foundation: National Key Research and Development Program of China, No. 2018YFD0900500]

作者简介: 吴蒙 (1996—), 男, 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要从事鱼类固有免疫方面的研究, 电话: 17865528977, E-mail: 251300798@qq.com; 李墨非 (1986—), 通信作者, 电话: 15969820960, E-mail: limofei@tjnu.edu.cn; 孙黎 (1965—), 通信作者, 电话: 0532-82898829, E-mail: lsun@qdio.ac.cn

用聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法检测纯化得到的蛋白。

1.2.4 检测 rSmCD55 蛋白处理后血清的溶血活性和杀菌活性

将大菱鲆血清用 Hank's 平衡盐溶液稀释 8 倍、16 倍和 32 倍, 分别与 rSmCD55 蛋白、rSumo 蛋白或 PBS(对照)混合, rSmCD55 蛋白和 rSumo 蛋白的终质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。室温下孵育 1 h。在溶血试验中, 将羊血红细胞用 Hank's 平衡盐溶液洗涤并制备细胞浓度为 1×10^9 细胞/mL 的重悬液。在 96 孔板中, 将 10 μL (约 10^7 细胞)的羊红细胞重悬液与 100 μL 蛋白或 PBS 处理后的不同稀释度的血清混合, 22 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, 然后离心 10 min(4 000 r/min), 缓慢吸出上清并测定 OD₄₅₀。为方便比较, 将血清稀释 8 倍时对照组的溶血活性设为 100%, 以此计算其他组的溶血活性。在杀菌试验中, 将大肠杆菌用 Hank's 平衡盐溶液洗涤并制备浓度为 1×10^6 CFU/mL 的细菌重悬液。取 300 μL 蛋白或 PBS 处理后的不同稀释度的血清与等体积的细菌重悬液均匀混合, 室温下孵育 1 h。孵育完成后, 将混合液进行梯度稀释并均匀涂布到 LB 固体平板上, 随后将平板倒置放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中, 12 h 后进行平板计数。为方便比较, 将血清稀释 8 倍时对照组的杀菌活性设为 100%, 以此计算其他组的杀菌活性。

1.2.5 检测 rSmCD55 蛋白结合细菌以及对细菌生存的影响

将大肠杆菌、迟缓爱德华氏菌、荧光假单胞杆菌、鳃弧菌、哈维氏弧菌、海豚链球菌、枯草芽孢杆菌和藤黄微球菌进行接种培养至 OD₆₀₀ 为 0.8, 细菌离心后用 PBS 清洗并重悬于 PBS 至 10^8 CFU/mL。细菌与蛋白质的相互作用按照之前的报道用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测^[15]。为了检测 rSmCD55 蛋白对细菌生存的影响, 将细菌悬液与终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 rSmCD55 蛋白、rSumo 蛋白或 PBS 在 22 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 2 h。然后稀释混合液, 均匀涂布到含琼脂的培养平板上, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 或 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 24 h, 计数细菌数量。

2 结果

2.1 SmCD55 蛋白序列分析

SmCD55 蛋白由 344 个氨基酸残基组成, 理论分子量为 36.8 kDa, 预测等电点(pI)为 7.85。结构

预测分析表明, SmCD55 蛋白序列 N-端 1~26 位氨基酸残基为信号肽(Signal peptide)序列, 其后有 3 个补体调控蛋白(CCP)结构域(28~86 氨基酸残基、91~143 氨基酸残基和 148~204 氨基酸残基)。选取硬骨鱼和哺乳动物 CD55 蛋白的同系物与 SmCD55 蛋白进行序列比对, 结果表明, SmCD55 蛋白与所选同系物序列的相似性在 27%~68%(图 1), 其中 SmCD55 蛋白与射水鱼(*Toxotes jaculatrix*)CD55 蛋白相似性最高(68%), 在硬骨鱼中与虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)CD55 蛋白相似性最低(37%), 在哺乳动物中与人类(*Homo sapiens*)的 CD55 蛋白相似性最低(27%)。构建的进化树分析表明, SmCD55 蛋白与硬骨鱼类 CD55 蛋白分子在进化上关系较近, 与射水鱼关系最近, 与虹鳟关系较远(图 2)。用于和 SmCD55 蛋白序列进行比对和进化树分析的物种包括: *Toxotes jaculatrix*, XP_040890444.1; *Seriola dumerili*, XP_022617127.1; *Sander lucioperca*, XP_031157844.1; *Sparus aurata*, XP_030277131.1; *Epinephelus lanceolatus*, XP_033483710.1; *Cynoglossus semilaevis*, XP_024915538.1; *Oreochromis niloticus*, XP_005458494.1; *Oncorhynchus mykiss*, XP_021425213.2; *Rattus norvegicus*, XP_006249779.1; *Homo sapiens*, ANF06964.1。

2.2 SmCD55 基因的组织特异性表达谱

在健康大菱鲆中, 利用 qRT-PCR 技术检测 SmCD55 基因在大菱鲆各个组织中的表达情况。实验结果表明, 大菱鲆肌肉、肠、鳃、头肾、心、脾、血、肝和脑组织中均有 SmCD55 基因的表达, 其中在脑组织中表达量最高(图 3)。

2.3 rSmCD55 蛋白对补体激活的影响

为了研究 SmCD55 蛋白在补体激活中的作用, 作者利用原核表达系统纯化出了 rSmCD55 蛋白和 rSumo 蛋白(图 4)。采用不同浓度的 rSmCD55 蛋白、rSumo 蛋白或 PBS (对照组)处理大菱鲆血清, 然后检测血清的溶血活性和杀菌活性。实验结果表明, 在血清稀释 8 倍和 16 倍时, 用 rSmCD55 蛋白处理后血清的溶血活性显著低于对照组, 8 倍和 16 倍稀释血清的溶血活性分别下降了 5%和 21%; 而用对照蛋白 rSumo 处理的血清在溶血活性方面没有显著变化(图 5a)。在血清稀释 8 倍、16 倍和 32 倍时, 用 rSmCD55 蛋白处理后血清的杀菌活性显著降低; 相比对照组, rSmCD55 蛋白处理后的 8 倍、16 倍和 32 倍稀释血清的杀菌活性分别下降了 45%、75%和 46%(图 5b)。

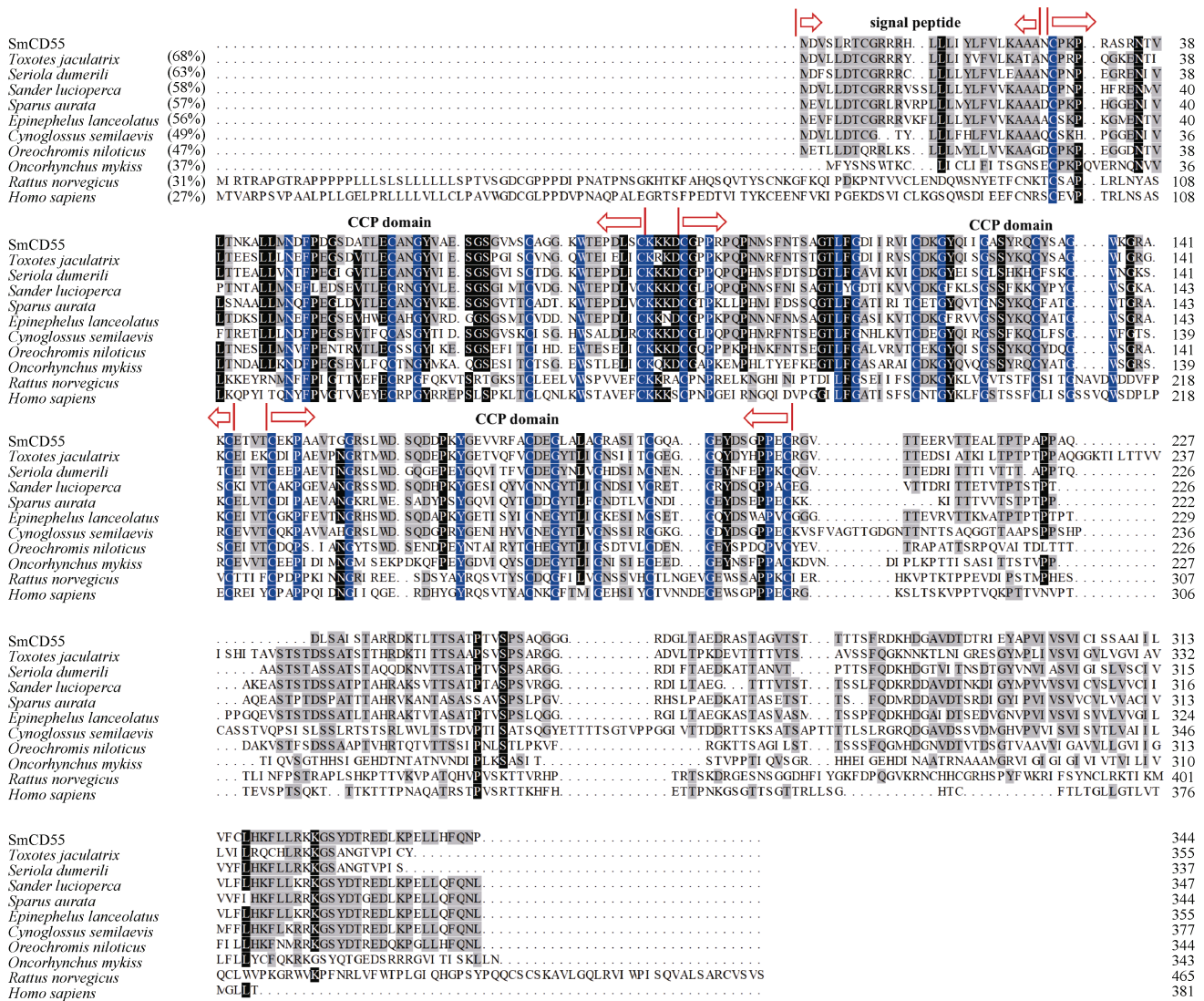


图 1 SmCD55 蛋白同系物序列的比对

Fig. 1 Alignment of the SmCD55 protein homologous sequences

括号中的数字表示 SmCD55 蛋白和被比较序列的整体相似度。完全相同的氨基酸残基用蓝色标记，相似度 $\geq 75\%$ 的氨基酸残基用黑色标记，相似度 $\geq 50\%$ 的氨基酸残基用灰色标记。Signal peptide 和 CCP (complement control protein) 结构域用红色箭头在图中标记。The numbers in parentheses represent the overall similarity between SmCD55 protein and the sequence being compared. Identical amino acid residues were marked in blue, those with similarity $\geq 75\%$ were marked in black, and those with similarity $\geq 50\%$ were marked in gray. The signal peptide and CCP (Complement Control Protein) domains are marked with red arrows.

2.4 rSmCD55 结合细菌情况

为了检测 rSmCD55 蛋白是否能够与细菌相互作用，将不同浓度的 rSmCD55 蛋白或 rSumo 蛋白与大肠杆菌、迟缓爱德华氏菌、荧光假单胞杆菌、鳃弧菌、哈维氏弧菌、海豚链球菌、枯草芽孢杆菌或藤黄微球菌孵育。ELISA 结果显示，rSmCD55 蛋白能够以浓度依赖的方式结合所有检测的细菌(图 6)。与 rSmCD55 蛋白结合最强的细菌是哈维氏弧菌，结合最弱的细菌是迟缓爱德华氏菌。进一步检测了 rSmCD55 蛋白是

否对细菌具有杀伤作用。结果显示，rSmCD55 蛋白对这些细菌没有明显的杀伤作用(数据未展示)。

3 讨论

本研究对 SmCD55 蛋白进行了序列分析、组织分布和生物功能的研究。序列分析表明，SmCD55 蛋白氨基酸序列与射水鱼 CD55 蛋白相似度最高，在进化上与硬骨鱼 CD55 蛋白同系物距离最近。预测的 SmCD55 蛋白氨基酸序列中含有一个信号肽和 3 个

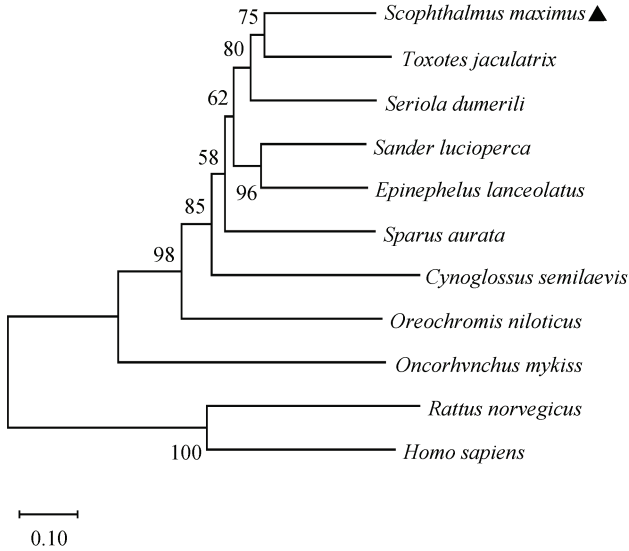


图2 SmCD55蛋白的系统进化分析

Fig. 2 Phylogenetic analysis of SmCD55 protein

利用 MEGA 6.0 软件, 使用邻位相连法构建系统进化树, 测定了大菱鲆 SmCD55 蛋白与其他硬骨鱼和哺乳动物 CD55 蛋白在进化上的关系

The phylogenetic tree of turbot SmCD55 protein was constructed by ortho-linkage method using MEGA 6.0 software, and the evolutionary relationship between SmCD55 protein and other teleost and mammals was determined

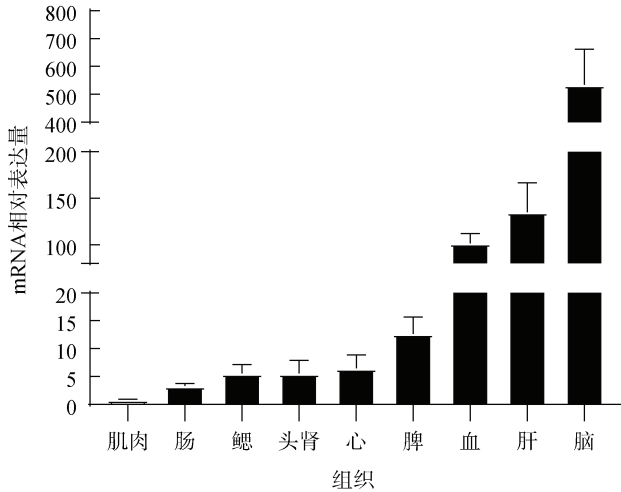


图3 SmCD55 基因在健康大菱鲆组织中的表达情况

Fig. 3 SmCD55 expression in tissues of healthy *Scophthalmus maximus*

利用实时荧光定量 PCR 方法, 检测健康大菱鲆肌肉、肠、鳃、头肾、心、脾、血、肝和脑组织中 SmCD55 基因的表达。为了便于各组织间比较, 作者将肌肉组织表达水平设为 1。数据是 3 次实验数据的平均值, 用±表示标准误差

The expression of SmCD55 gene in muscle, intestine, gill, head kidney, heart, spleen, blood, liver and brain of healthy turbot was detected by real-time quantitative PCR. In order to facilitate the comparison between tissues, the authors set the expression level of muscle tissue as 1. Data are the means of three independent assays and presented as means±SEM

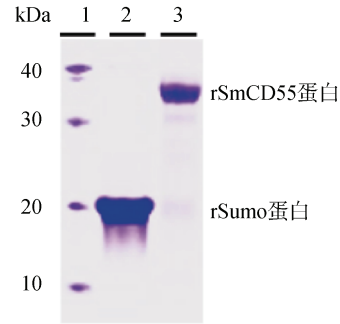


图4 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析 rSmCD55 蛋白

Fig. 4 SDS-PAGE analysis of rSmCD55 protein

泳道 1 为蛋白标准 Marker, 泳道 2 为 rSumo 蛋白, 泳道 3 为 rSmCD55 蛋白。将纯化后的蛋白利用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析, 利用考马斯亮蓝 R-250 染色进行观察

Lane 1 was the protein standard Marker, lane 2 was rSumo protein, and lane 3 was rSmCD55 protein. The purified protein was analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis and observed by Coomassie bright blue R-250 staining

CCP 功能域。之前的研究表明, 哺乳动物 CD55 蛋白中存在 4 个 CCP 功能域, 其中第 2、3 和 4 个 CCP 功能域可以特异性地结合旁路途径的 C3 转化酶 (C3bBb), 引起 Bb 片段与 C3b 结合的不稳定性, 从而释放 Bb 片段, 造成 C3 转化酶的衰变解离^[16, 17]。CCP 功能域在 SmCD55 蛋白的保守性存在表明, SmCD55 蛋白可能在补体激活调控中具有与哺乳动物 CD55 蛋白相似的生物学功能。CD55 蛋白在哺乳动物体内分布十分广泛, 存在于粒细胞、单核细胞、淋巴以及许多上皮细胞的表面^[8, 18]。在本研究中, 作者发现 SmCD55 基因在所有被检测的 9 种大菱鲆组织中都表达, 说明 SmCD55 蛋白可能与哺乳动物 CD55 蛋白类似, 在保护自身组织细胞免受补体损伤中发挥作用。

已有报道表明, 从人红细胞中纯化的天然 CD55 蛋白可以插入兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 和羊 (*Ovis aries*) 的红细胞膜中, 并抑制人类补体对兔和羊红细胞的裂解能力^[9], 这种抑制作用是通过 CD55 蛋白加速 C3 转化酶的衰变解离造成的^[18]。CD55 蛋白异常可导致疾病, 例如, 阵发性夜间血红蛋白尿症是一种以红细胞对补体溶血活性异常敏感为特征的自身免疫性疾病, 红细胞表面 CD55 蛋白表达缺陷是造成这种疾病的主要原因^[19-21]。在我们的研究中, 发现用 rSmCD55 蛋白处理的大菱鲆血清的溶血活性和杀菌活性明显降低, 说明 rSmCD55 蛋白抑制了大菱鲆补体系统的激活, 是一种补体激活的负调控因子。

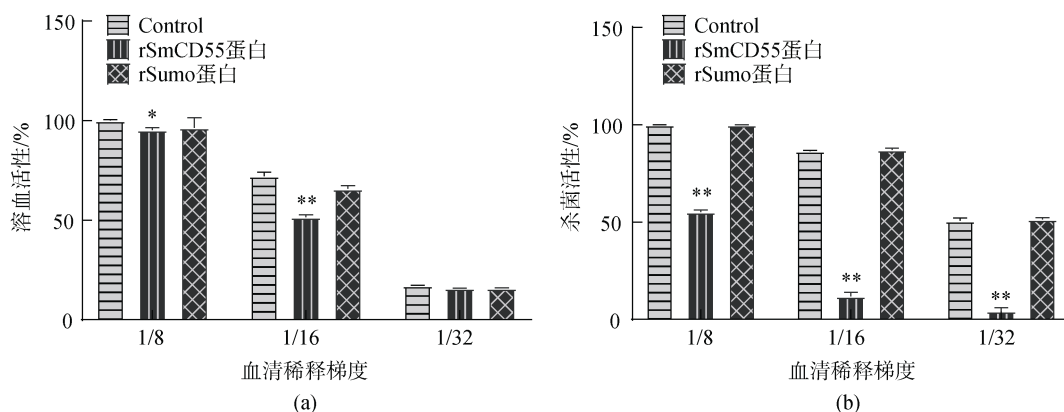


图 5 rSmCD55 蛋白对补体激活的影响

Fig. 5 Effect of rSmCD55 protein on complement activation

用 rSmCD55 蛋白、rSumo 蛋白或 PBS (对照) 处理不同稀释度的大菱鲆血清, 随后测定血清的溶血活性(a)和杀菌活性(b)。数据以平均值±表示标准误差(n=3)表示。n 为实验次数。*。P<0.05, **。P<0.01

The serum of turbot was treated with rSmCD55 protein, rSumo protein or PBS (Control), and the hemolytic activity (a) and bactericidal activity (b) of the serum were determined. Data are shown as means±SEM (n = 3). n, the number of times the experiment was performed. *。P<0.05, **。P<0.01

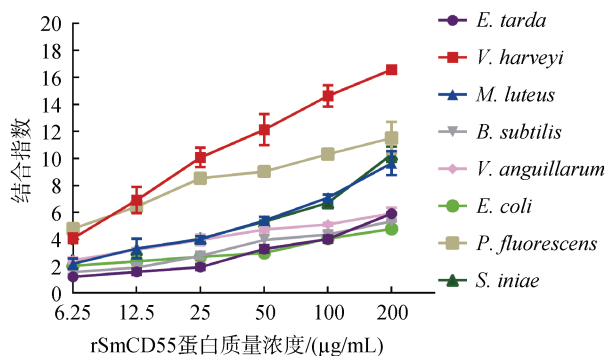


图 6 rSmCD55 蛋白与细菌的结合情况

Fig. 6 Binding of rSmCD55 protein to bacteria

将大肠杆菌、迟缓爱德华氏菌、荧光假单胞杆菌、鳃弧菌、哈维氏弧菌、海豚链球菌、枯草芽孢杆菌和藤黄微球菌分别与不同浓度的 rSmCD55 蛋白孵育, 对照组细菌与 PBS 孵育, 利用 ELISA 法检测细菌与蛋白的结合。数据是 3 次独立实验的平均值, 用±表示标准误差

Escherichia coli、*Edwardsiella tarda*、*Pseudomonas fluorescens*、*Vibrio anguillarum*、*Vibrio harveyi*、*Streptococcus iniae*、*Bacillus subtilis* and *Micrococcus luteus* were incubated with different concentrations of rSmCD55 protein, respectively. The control group was incubated with PBS, and the binding between bacteria and protein was detected by ELISA. Data are the means of three independent assays and presented as means±SEM

人类 CD55 蛋白在所有暴露于血清的细胞上都高水平表达。这种广泛性表达使得 CD55 蛋白被某些病原微生物利用, 成为微生物感染宿主细胞的受体^[22]。NOWICKI 等^[23-24]首次报道了人类 CD55 蛋白可以被泌尿系统致病性大肠杆菌结合并充当细菌感染细胞的受体。幽门螺杆菌是一种人类常见病原菌, 其诱导

多种胃部疾病。研究表明, 在幽门螺杆菌感染后, 胃组织细胞中 CD55 蛋白表达增加, 并且与幽门螺杆菌结合, 在宿主-病原体的相互作用中充当病原的细胞受体^[11]。在本研究中, ELISA 结果显示 rSmCD55 蛋白可以结合多种革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌, 包括常见的鱼类病原菌, 但这种结合作用并不影响细菌的生存与繁殖。鉴于上述哺乳动物 CD55 蛋白在几种病原体黏附和入侵宿主细胞中的作用, 我们推测, SmCD55 蛋白有可能作为病原菌感染大菱鲆组织细胞的受体, 病原菌能够通过结合 CD55 蛋白逃逸鱼类血清的杀伤作用, 达到感染宿主细胞的目的。这种推测的正确性有待将来的研究检验。

4 结论

综上所述, 研究结果表明, SmCD55 蛋白是哺乳动物 CD55 蛋白的同系物, 在健康大菱鲆的多种组织中呈组成型表达。rSmCD55 蛋白可以抑制大菱鲆补体系统的激活, 显著降低血清补体的溶血活性和杀菌活性。另外, rSmCD55 蛋白可以与包括水产致病菌在内的多种细菌结合。这些结果表明大菱鲆 CD55 蛋白在补体系统的激活中起负调控作用, CD55 蛋白也可能作为病原菌在细胞表面的受体, 协助病原菌逃逸宿主补体的杀伤。因此, CD55 蛋白不仅在鱼类自身免疫调控中发挥重要作用, 而且可能参与病原感染过程。这些结果为鱼类补体激活调控机制提供了新的认知。

参考文献:

- [1] DUNKELBERGER J R, SONG W C. Complement and its role in innate and adaptive immune responses[J]. *Cell Research*, 2010, 20(1): 34-50.
- [2] SIM R B, LAICH A. Serine proteases of the complement system[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2000, 28(5): 545-550.
- [3] NICHOLSON-WELLER A, BURGE J, FEARON D T, et al. Isolation of a human erythrocyte membrane glycoprotein with decay-accelerating activity for C3 convertases of the complement system[J]. *Journal of Immunology*, 1982, 129(1): 184-189.
- [4] WU M, JIA B B, LI M F. Complement C3 and activated fragment C3a are involved in complement activation and anti-bacterial immunity[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13.
- [5] GASQUE P. Complement: a unique innate immune sensor for danger signals[J]. *Molecular Immunology*, 2004, 41(11): 1089-1098.
- [6] 周绪霞, 李卫芬, 余颂东. 衰变加速因子结构及其功能研究进展[J]. *免疫学杂志*, 2003, 32(3): 110-113. ZHOU Xuxia, LI Weifen, YU Songdong. Research progress on structure and function of decay acceleration factor[J]. *Immunological Journal*, 2003, 32(3): 110-113.
- [7] QIAN Y M, QIN X, MIWA T, et al. Identification and functional characterization of a new gene encoding the mouse terminal complement inhibitor CD59[J]. *Journal of Immunology*, 2000, 165(5): 2528-2534.
- [8] STORRY J R, LOMAS-FRANCIS C. The Cromer blood group system: an update[J]. *Immunohematology*, 2021, 37(3): 118-121.
- [9] MEDOF M E, KINOSHITA T, NUSSENZWEIG V. Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay-accelerating factor (DAF) into their membranes[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 1984, 160(5): 1558-1578.
- [10] PANGBUM M K, SCHREIBER R D, MÜLLER-EBERHARD H J. Deficiency of an erythrocyte membrane protein with complement regulatory activity in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1983, 80(17): 5430-5434.
- [11] O'BRIEN D P, ISRAEL D A, KRISHNA U, et al. The role of decay-accelerating factor as a receptor for helicobacter pylori and a mediator of gastric inflammation[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(19): 13317-13323.
- [12] DANG W, SUN L. Determination of internal controls for quantitative real time RT-PCR analysis of the effect of *Edwardsiella tarda* infection on gene expression in turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2011, 30(2): 720-728.
- [13] 陈晨, 李墨非, 孙黎. 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)CD80 的基因表达以及重组 CD80 与外周血淋巴细胞的结合分析[J]. *生物学杂志*, 2013, 35(2): 12-16. CHEN Chen, LI Mofei, SUN Li. Expression of CD80 gene and binding analysis of recombinant CD80 to peripheral blood lymphocytes in *Cynoglossus semilaevis*[J]. *Journal of Biology*, 2013, 35(2): 12-16.
- [14] LI M F, SUI Z H, SUN L. A teleost CD46 is involved in the regulation of complement activation and pathogen infection[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 15028.
- [15] LI M F, CHEN C, LI J, et al. The C-reactive protein of tongue sole *Cynoglossus semilaevis* is an acute phase protein that interacts with bacterial pathogens and stimulates the antibacterial activity of peripheral blood leukocytes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(2): 623-631.
- [16] BRODBECK W G, LIU D, SPERRY J, et al. Localization of classical and alternative pathway regulatory activity within the decay-accelerating factor[J]. *Journal of Immunology*, 1996, 156(7): 2528-2533.
- [17] KUTTNER-KONDO L, MEDOF M E, BRODBECK W, et al. Molecular modeling and mechanism of action of human decay-accelerating factor[J]. *Protein Engineering*, 1996, 9(12): 1143-1149.
- [18] LUBLIN D M, ATKINSON J P. Decay-accelerating factor: biochemistry, molecular biology, and function[J]. *Annual Review of Immunology*, 1989, 7: 35-58.
- [19] DHO S H, LIM J C, KIM L K. Beyond the role of CD55 as a complement component[J]. *Immune Network*, 2018, 18(1): e11.
- [20] Hillmen P, Lewis S M, Bessler M, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. *The New England Journal of Medicine*, 1995, 333(19): 1253-1258.
- [21] BRODSKY R A. Advances in the diagnosis and therapy of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. *Blood Reviews*, 2008, 22(2): 65-74.
- [22] LEA S. Interactions of CD55 with non-complement ligands[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2002, 30(Pt 6): 1014-1019.
- [23] NOWICKI B, MOULDS J, HULL R, et al. A hemagglutinin of uropathogenic *Escherichia coli* recognizes the Dr blood group antigen[J]. *Infection and Immunity*, 1988, 56(5): 1057-1060.
- [24] SERVIN A L. Pathogenesis of human diffusely adhering *Escherichia coli* expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): current insights and future challenges[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2014, 27(4): 823-869.

Turbot *Scophthalmus maximus* CD55 negatively regulates complement activation and binds a variety of bacteria

WU Meng^{1, 2}, LI Mo-fei³, SUN Li^{1, 2}

(1. CAS Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Tianjin Key Laboratory of Animal and Plant Resistance, College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China)

Received: Apr. 1, 2022

Key words: *Scophthalmus maximus*; CD55; complement regulation; bacterial binding

Abstract: Turbot (*Scophthalmus maximus*) is an important commercial fish species in China. CD55 protein is known to be a complement regulator in mammals, but its function in fish is unknown. In this study, we examined the function of turbot CD55 (SmCD55) protein. The results showed that SmCD55 protein consisted of 344 amino acid residues and contained an N-terminal signal peptide and three complement control protein domains. *SmCD55* gene was expressed in several tissues of turbot, with the lowest expression level in muscle and the highest expression level in brain. A recombinant SmCD55 (rSmCD55) protein was obtained from a prokaryotic expression system. rSmCD55 protein significantly inhibited the hemolytic and bactericidal activities of turbot serum, suggesting that rSmCD55 negatively regulates complement activation. In addition, rSmCD55 protein is bound to a variety of bacteria, including the aquaculture pathogens *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio harveyi*, and *Streptococcus iniae*. Of these bacteria, *V. harveyi* exhibited the strongest binding ability to rSmCD55 protein. These results add new insight into the complement system in fish and promote our understanding of complement activation and regulation in fish.

(本文编辑: 谭雪静)