

中国明对虾 Rel/NF- κ B 家族基因 在弧菌刺激下的表达*

阎 慧^{1,2} 李富花¹ 王 兵¹ 张继泉¹ 马洪明¹ 相建海¹

(1. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院 北京 100049)

提要 利用 RT-PCR 和 RACE 技术获得了中国明对虾 Rel/NF- κ B 家族成员 FcRel 基因的部分 cDNA 片段, 并研究了该基因在弧菌刺激条件下的转录表达变化。结果表明, 该 cDNA 编码 320 个氨基酸, 包含一个完整的 RHD 结构域和部分 IPT-NF κ B 结构域。FcRel 基因的 RHD 结构域与其它物种的 RHD 结构域的分子系统学分析表明, 中国明对虾的 FcRel 与果蝇的 Relish 聚在一起, 然后与疟蚊、烟草天蛾等其它节肢动物的 Relish 聚为一类。在弧菌刺激时, FcRel 在血细胞和淋巴器官中的转录表达显示出不同的变化模式。在弧菌注射后 3h 和 5h, 血细胞中 FcRel 的转录表达出现明显下调; 而弧菌注射引起淋巴器官中 FcRel 基因明显的上调表达。说明 FcRel 基因的表达与弧菌刺激密切相关, 提示 Relish 可能参与了对虾抗菌反应的信号转导通路。

关键词 中国明对虾, Rel/NF- κ B, 基因表达, 弧菌刺激

中图分类号 Q789

对虾是我国重要的经济水产养殖动物, 在水产养殖中起着举足轻重的作用。由于病害的频发, 特别是 1993 年以来开始爆发的病毒性疾病, 使我国对虾养殖的产量由 1992 年的 20 多万吨减至 1993—1994 年的 5—6 万吨, 给对虾养殖业的发展造成了巨大损失(相建海, 2001)。近年来, 尽管通过养殖技术的改进和虾病防治手段的不断提高以及新的对虾养殖种类如凡纳滨对虾的引进和养殖使对虾养殖产量明显提高, 但是作为我国土著种——中国明对虾的养殖, 由于其对 WSSV 病毒的易感性较高, 养殖规模萎缩严重, 养殖产量在对虾养殖产量中占的比例极小。我国水产科技工作者通过遗传选育技术在中国明对虾的选育方面进行了许多卓有成效的工作, 取得了明显进展, 将为恢复中国明对虾在我国的养殖起到重要作用。但到目前为止, 尚未找到有效的病害防治策略来对付对虾病害的发生。研究对虾对病原感染的免疫应答机制, 可以为有效地进行对虾的病害防治提供

重要的理论指导。

对虾属于无脊椎动物, 只依靠先天性免疫来对付外界病原的刺激。先天性免疫一般包括以下几个重要阶段: 免疫识别、信号转导、效应分子的产生。Rel/NF- κ B 作为一类重要的核转录因子, 广泛存在于多细胞动物, 在介导动物先天性免疫反应过程中起着重要作用(Pal *et al*, 2008)。在哺乳动物中已经鉴定了 Rel/NF- κ B 家族的 5 个成员, 包括 p65 (RelA)、RelB、c-Rel、p50/p105 和 p52/p100, 在果蝇中已经鉴定了 3 个成员, 包括 Relish、Dorsal 和 Dif (Ghosh *et al*, 1998)。在哺乳动物中已经证明这些 Rel/NF- κ B 家族成员能够对免疫和炎症反应、生长和发育以及细胞凋亡等细胞过程的重要基因起调节作用(Karin, 2006)。果蝇的 Relish、Dorsal 和 Dif 在调节不同类型的抗菌肽基因的表达方面起着关键性的作用(Lemaitre *et al*, 1995; Hedengren *et al*, 1999; Meng *et al*, 1999; Rutschmann *et al*, 2000)。由于海水养殖无脊椎动物在

* 国家重点基础研究发展规划项目(973)“对虾对病原感染的免疫应答机制”, 2006CB101804 号; 国家高技术研究发展计划项目(863)“对虾对环境胁迫应答重要基因的鉴定及利用”, 2006AA09Z424 号。阎 慧, E-mail: imyem828@163.com

通讯作者: E-mail: fhli@ms.qdio.ac.cn, jhxiang@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2007-07-15, 收修改稿日期: 2007-09-30

水产养殖中所处的重要地位, 对于其免疫防御机制的研究引起大家越来越多的关注。有关海水养殖重要无脊椎动物转录因子的研究, 自 2004 年在牡蛎中鉴定了第一个 Rel/NF- κ B 类似物基因以来(Montagnani *et al*, 2004), 相继在鲍(Jiang *et al*, 2007)和珠母贝(Wu *et al*, 2007)中报道了 Rel/NF- κ B 家族成员的存在, 并证实了它们在其免疫反应中起着重要作用。尽管 Rel/NF- κ B 家族成员在无脊椎动物的先天免疫过程中起着非常重要的作用, 但是直至目前, 尚未见到有关对虾 Rel/NF- κ B 家族成员的报道。

本文首次在中国明对虾中证实了 Rel/NF- κ B 家族成员的存在, 并研究了该基因在弧菌刺激情况下的表达, 确定了该基因在对虾免疫过程的重要作用, 为深入系统了解对虾的先天性免疫机制奠定了重要基础。

1 材料与方法

1.1 实验对虾

中国明对虾[体长(14.5 ± 0.6)cm]购于青岛即墨对虾养殖场。实验前在水族箱中充气暂养 7 天, 并投以对虾配合饵料饲喂, 使其适应实验室内养殖环境。随机取出 6 条虾, 用注射器从第一腹节基部腹窦抽取血淋巴, 并加入等体积抗凝剂, 离心收集血细胞用于总 RNA 提取。

1.2 弧菌刺激实验

选取暂养过的健康对虾进行弧菌刺激实验, 实验用鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)(中国科学院海洋研究所莫照兰博士惠赠)于实验前一天活化菌种, 在 2216E 培养基上 28 °C 培养 24h, 使用前用无菌生理盐水冲洗, 收集菌液; 将培养的鳃弧菌利用高温高压灭活后用 PBS 配成 10⁷ cells/ml 备用。随机选取 60 尾健康虾, 从对虾尾节注射灭活的鳃弧菌溶液, 每只虾注射 20 μ l, 作为实验组养殖在 0.6m³ 养殖池中。同时另取 60 尾虾, 按以上操作分别注射 20 μ l PBS 溶液作为对照组。在注射前从暂养的中国明对虾中随机取出 4 尾虾, 收集血细胞和淋巴器官, 作为零点的样品冻存在液氮中用于 RNA 提取。在注射后的 45min、70min、2h、3h、5h、8h、14h、23h 各个时间点, 从对照组和实验组各随机取 4 尾虾, 收集血细胞和淋巴器官, 放在液氮中保存, 用于 RNA 提取。

1.3 总 RNA 的提取和 cDNA 合成

利用 Unizol 试剂盒(上海博星公司)提取中国明对虾血细胞或淋巴器官的总 RNA, 方法参照使用说明

书。提取的总 RNA 用紫外分光光度计进行定量检测, 然后进行 MOPS 琼脂糖凝胶电泳, 确认 RNA 完整无降解后, -80 °C 保存备用。在进行反转录之前, 使用 RQ1 RNase-Free DNase (Promega, USA)去除总 RNA 中残留的基因组 DNA。cDNA 合成体系如下: 在 25 μ l 的反应体系中加入 2 μ g 总 RNA, 1 \times MMLV 缓冲液, 0.5mmol/L dNTP, 0.4mmol/L oligo-dT(或六聚体随机引物), 20units RNase 抑制剂(Promega)和 200units MMLV 反转录酶(Promega)。cDNA 产物使用无核酸酶水(Promega)稀释 5 倍备用(用于特异性基因片段克隆的 cDNA, 用 oligo-dT 进行反转录, 用于基因表达定量分析的 cDNA, 用随机引物六聚体进行反转录)。

1.4 Rel/NF- κ B 家族基因 cDNA(FcRel)片段的克隆

通过分析已经发表的相关 Relish 序列, 选择与中国明对虾同属于节肢动物门的六种昆虫: 果蝇(AAF20137)、刺舌蝇(AAZ91474)、象白蚁(AAZ08474)、埃及伊蚊(AAM97895)、疟蚊(XP_308993)和桑蚕(BAF74126)的 Relish 蛋白序列中高度保守的部分设计简并引物 Relish F(ATGGGCATCATWCAYACIGCIAAGAA)和 Relish R(ATGGCATAYTGRTGRTGIACRTC), 以中国明对虾血细胞 cDNA 为模板, 扩增中国明对虾 Rel/NF- κ B 家族基因片段。PCR 反应条件为 94 °C 变性 4min; 94 °C 变性 50s, 50 °C 退火 50s, 72 °C 延伸 1min, 共 35 个循环; 72 °C 延伸 10min; 4 °C 保温。扩增片段克隆到 PMD18-T 载体(大连宝生物公司)中, 重组质粒转化到大肠杆菌 TOP10 菌株, 产生的阳性克隆经 PCR 验证后进行测序。

1.5 cDNA 5 端的扩增

利用 mRNA 纯化试剂盒(Clontech)从血细胞的总 RNA 中纯化 mRNA, 具体操作步骤参照试剂盒说明书进行, 并按照 Clontech 公司 SMARTTM-RACE cDNA 扩增试剂盒的使用说明, 合成用于 5' RACE 扩增的 cDNA。以 UPM(CTAATACGACTCACTATAGG GC)和 Rel5R1(CCAGTTGTGGCATTCTTTAGG)为引物进行 PCR 扩增。PCR 扩增采用 Touchdown 程序: 94 °C 变性 4min, 在循环即将结束的时候加入 *Taq* 酶, 进行热启动; 94 °C 变性 1min, 65 °C 退火 1min, 72 °C 延伸 2min, 10 个循环, 退火温度每循环降低 1 °C; 94 °C 变性 1min, 55 °C 退火 1min, 72 °C 延伸 2min, 30 个循环; 72 °C 延伸 10min, 1 个循环; 4 °C 保温。扩增产物经过电泳检测之后, 将特异性扩增片段进行克隆测序。

1.6 生物信息学分析

cDNA 序列使用 NCBI BLASTX 程序(<http://>

www.ncbi.nlm.nih.gov/blast)进行比对分析,并利用这些序列进行基因同源性的比较,系统进化分析采用MEGA3.1软件。使用ClustalX软件进行聚类分析。

1.7 基因转录表达检测

利用 Real-time PCR 检测中国明对虾血细胞和淋巴器官 FcRel 基因在鳃弧菌注射不同时间后转录水平的表达。取实验组和对照组不同时间点取样保存的血细胞或淋巴器官的样品,按前述方法分别提取总 RNA 并反转录成 cDNA 后用于定量 PCR 检测。利用正向引物 Rel3F1(5 CCTGTGAAGACATTAGGAGGAGTA3)和反向引物 Rel5R1(5 CCAGTTGTGGCATTCTTTAGG3)进行转录表达检测。扩增片段大小为 208bp,同时利用中国明对虾 18S rRNA 作为参考基因,其正向引物为 18S-F(5 -GCCTGAGAAACGGCTACCACATC-3)、反向引物为 18S-R(5 -GTAGTAGC GACGGGCGGTGTGT-3),扩增产生 136bp 的 cDNA 片段。定量 PCR 仪采用 Eppendorf realplex 4S, Real-time PCR 反应程序为:94 变性 2min, 1 个循环;94 变性 30s, 56 退火 30s, 72 延伸 40s, 40 个循环。数据处理采用 2^{-CT} 法,最后利用 SPSS 软件对同一时间点注射鳃弧菌和注射生理盐水的基因表达水平进行单因素方差分析。

MVRGDRGGMSSPYSGESASPYSDHSAGVPSPTVVVTAYNRPYEAVHHDGAFIQILEQPO
SKFRFRYKSEMVGTHGQLKADRSDKNKAVFPAVKLAKWNHGPVIRLMLYTAEDNINQ
RKRHVHELKSGKQCKKETGICEVVVDEKVDYTAVFQNLGIIHTAKKDTKDIIQRKKEELIT
HARLRKPHLSCEDIRRSITQSDNKRMEEEAEKKNMDLNKVVLRFOAFQYDKKIESYRP
VTLPVDSDIVYNLKNATTGELKIVRMSACSAAPCTGGTEJWLLVEKVRNNVQIKFELDE
NDREVWSGYGDFSDTDVHHOYA

图 1 中国明对虾 FcRel 的部分氨基酸序列及功能域分析

Fig.1 Partial amino acid sequence of FcRel and analysis on the functional domain
注:单下划线的部分为 RHD 结构域,双下划线的部分为 IPT 的部分结构域

2.3 注射灭活弧菌后 FcRel 基因在中国明对虾血细胞中的转录表达

为了解弧菌对中国明对虾 FcRel 基因转录表达变化的影响,作者设置了对照组和弧菌注射组。利用 real-time PCR 检测了对虾在注射后不同时间血细胞中 FcRel 基因转录表达的变化(图 3)。结果表明,不论是注射生理盐水还是注射灭活的弧菌,在注射的早期(45min—2h),对虾血细胞中 FcRel 基因的表达均出现明显的下调表达。对照组在注射后 3h,血细胞中 FcRel 的转录水平明显提高,并高于注射前的水平;注射后 5h,其基因转录恢复到注射前的水平;在 8—

2 结果

2.1 中国明对虾 FcRel 的部分 cDNA 片段的克隆

通过 PCR 扩增以及 5' RACE 扩增获得了 1133bp 的 cDNA 片段,经过 NCBI 数据库 BlastX 比对,发现它与 Rel/NF- κ B 家族基因具有很高的同源性,此段 cDNA 编码 320 个氨基酸。通过功能域分析发现此肽段含有一个完整的 RHD 结构域和部分 IPT-NF κ B 结构域(图 1)。

2.2 中国明对虾 FcRel 的 RHD 结构域与已报道的其它物种 RHD 结构域的比较

通过网上搜索其同源序列,利用 MEGA3.1 软件对不同物种的 RHD 结构域进行了分子系统学分析,在构建系统发生树的基础上研究中国明对虾 FcRel 的 RHD 和其它物种的 Rel/NF κ B 的 RHD 功能域的进化关系(图 2)。结果显示,中国明对虾的 FcRel 首先与果蝇的 Relish 聚在一起,然后与疟蚊、烟草天蛾的 Relish 聚在一类。随后再与海鞘的 NF κ B,高等哺乳动物的 P100、P105 聚为一类。与果蝇的 Dorsal、Dif 分属于不同的类群。特别值得一提的是,在水产养殖种类无脊椎动物——牡蛎中报道 Rel 蛋白与果蝇的 Dorsal 和 Dif 关系较近(Montagnani *et al*, 2004)。

23h, FcRel 基因的表达与注射前比较明显下调。而在实验组,在 3—23h 血细胞中 FcRel 一直呈明显的下调表达。在每一时间的实验组和对照组比较,发现除在 45min、3h、8h,对照组中 FcRel 的表达高于实验组之外,在其它时间点并无显著差异。概括之,弧菌注射在个别时间会引起血细胞 FcRel 基因的下调表达。

2.4 灭活弧菌注射后 FcRel 基因在中国明对虾淋巴器官中的转录表达

除检测了对虾血细胞 FcRel 基因的表达变化外,又检测了对虾淋巴器官 FcRel 基因表达的变化(图 4)。结果表明,对虾淋巴器官中 FcRel 基因表达呈现完全

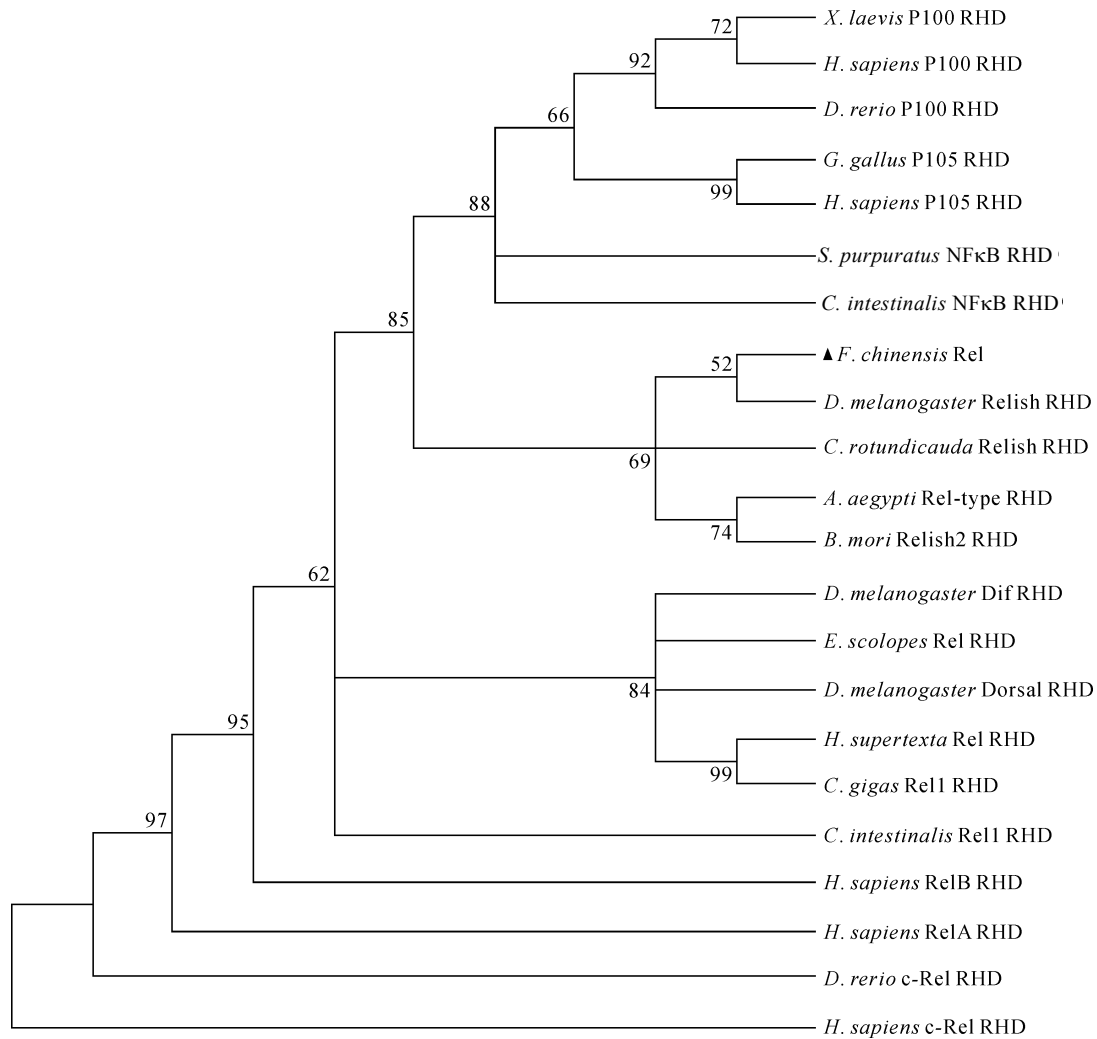


图 2 中国明对虾的 FcRel 的 RHD 结构域和其它物种 Rel/NFκB 家族不同成员的 RHD 构建的系统进化树

Fig.2 The phylogenetic tree based on the amino acid sequence of RHDs from FcRel and Rel/NFκB family members of other species

注：图中的三角形表示本研究中的物种

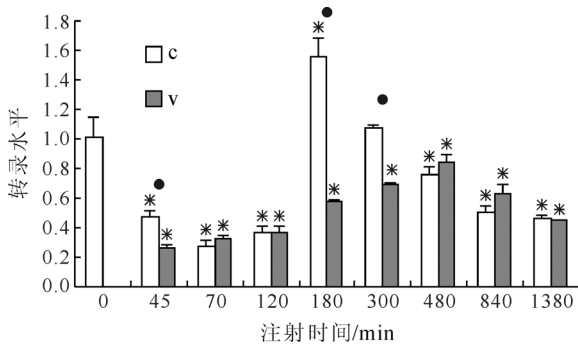


图 3 对虾血细胞 FcRel 基因在弧菌刺激不同时间转录水平的变化

Fig.3 The profile of transcription of FcRel in hemocytes of shrimp challenged with *Vibrio*

注：c 为对照组, v 为实验组。*表示在此时间的转录表达与注射前比较有显著性差异($P < 0.05$); 表示同一时间点的对照组和实验组之间存在显著性差异。图中横坐标 120、180、300、480、840、1380min 分别表示 2h、3h、5h、8h、14h、23h

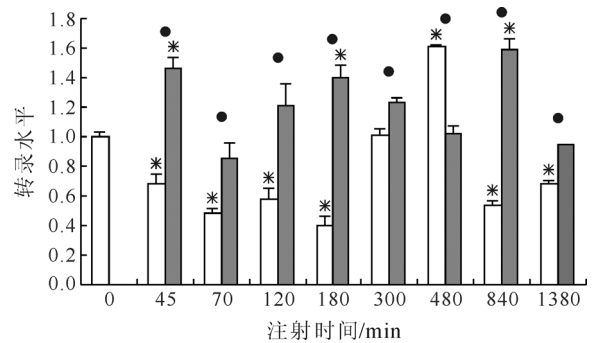


图 4 对虾淋巴器官 FcRel 基因在弧菌刺激不同时间转录水平的变化

Fig.4 The profile of transcription of FcRel in lymphoid organ of shrimp challenged with *Vibrio*

注：图例同图 3。*表示在此时间的转录表达与注射前比较有显著性差异($P < 0.05$); 表示同一时间点的对照组和实验组之间存在显著性差异。图中横坐标 120、180、300、480、840、1380min 分别表示 2h、3h、5h、8h、14h、23h

不同的表达模式。在对照组,注射后 45min—3h, FcRel 基因呈现明显的下调表达,至 5h 恢复到注射前的水平,在 8h 时明显高于正常水平,随后又出现明显下调表达,至 23h 仍维持在较低水平。而在实验组, FcRel 基因在 45min 呈现明显的上调表达,在 70min—2h,恢复到正常水平。随后呈现明显的波浪式变化,在 3h、14h 时明显高于注射前的水平,而在其它时间点,与注射前的水平相近。将每一时间点的对照组与实验组比较,可以看出,除了在 8h,对照组中 FcRel 的表达明显高于实验组外,在所有其它时间点,实验组 FcRel 的表达明显高于对照组。弧菌注射引起对虾淋巴器官中 FcRel 的转录表达明显上调。

3 讨论

Rel/NF κ B 家族成员的一个共同特征是含有一个 RHD 结构域,此结构域在不同物种之间高度保守,其功能是参与 Rel/NF κ B 蛋白与 DNA 的结合以及蛋白的二聚体化(Ghosh *et al.*, 1998)。RHD 也含有一个核定位信号,负责将蛋白从细胞质转入细胞核内。本文获得的中国明对虾的 Rel/NF κ B 基因 FcRel 的 cDNA 片段所推导的氨基酸序列含有一个完整的 RHD 结构域,经过聚类分析发现它与果蝇的 Relish 亲缘关系最近,说明本文获得的 FcRel 基因很可能是中国明对虾的 Relish。目前在海洋无脊椎动物牡蛎、鲍、珠母贝中报道的 Rel 蛋白与果蝇的 Dorsal 聚为一类,与本文获得的中国明对虾 FcRel 基因不属于一类。

在昆虫的抗感染反应中,有三条主要的信号通路参与了抗菌肽基因的激活,包括 Toll、Imd 和 JNK 途径。Dif 和 Dorsal 参与了 Toll 信号转导通路,而 Relish 参与 Imd 信号途径。多数抗菌肽基因的表达是通过 Imd-Relish 途径激活的(Uvell *et al.*, 2007)。因而推测 FcRel 很可能参与了对虾的抗菌免疫,对虾中可能存在 Imd 信号途径。本文利用定量 PCR 分析研究的结果表明,对虾淋巴器官 FcRel 基因在弧菌感染后出现明显的上调表达,说明 FcRel 很可能参与了对虾的抗菌免疫。淋巴器官作为对虾重要的免疫器官,在清除外源物质方面起着重要作用。通常认为,淋巴器官是血淋巴中外源物质的过滤器官,血淋巴在进入循环系统之前,首先需要经过淋巴器官的过滤(van de Braak *et al.*, 2002)。据报道,淋巴器官中许多免疫基因的转录在弧菌刺激条件下呈现明显的上调表达,例如中国明对虾淋巴器官中谷氨酰胺转移酶的表达在弧菌刺激时明显上调(Liu *et al.*, 2007); Toll 受

体在淋巴器官中的转录表达也在 8h 以后呈现明显的上调表达(Yang *et al.*, 2008)。细菌注射诱导 Relish 转录表达上调的情况也在疟蚊中有过报道(Shin *et al.*, 2002)。本研究结果与已经报道的结果类似。目前在中国明对虾中已经报道了至少 3 种类型的抗菌肽: penaeidin (Kang *et al.*, 2004)、ALF (Liu *et al.*, 2005)、Crustin (Zhang *et al.*, 2007),但是每一种抗菌肽的转录激活与哪些转录因子相关,目前尚不清楚,正在进一步研究之中。通过获得全长的 FcRel cDNA 序列,并研究该基因在蛋白水平的表达,确定它与不同抗菌肽基因表达的关系,进一步推动对虾免疫信号通路的研究,为对虾免疫病害防治提供理论指导。

参 考 文 献

- 相建海, 2001. 海水养殖生物病害发生与控制. 北京: 海洋出版社, 1—200
- Ghosh S, May M J, Kopp E B, 1998. NF- κ B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 16: 225—260
- Hedengren M, Asling B, Dushay M S *et al.*, 1999. Relish, a central factor in the control of humoral but not cellular immunity in *Drosophila*. *Mol Cell*, 4: 827—837
- Jiang Y S, Wu X Z, 2007. Characterization of a Rel/NF- κ B homologue in a gastropod abalone, *Haliotis diversicolor supertexta*. *Dev Comp Immunol*, 31: 121—131
- Kang C J, Wang J X, Zhao X F *et al.*, 2004. Molecular cloning and expression analysis of Ch-penaeidin, an antimicrobial peptide from Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish Shellfish Immunol*, 16: 513—525
- Karin M, 2006. NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. *Mol Carcinog*, 45(6): 355—361
- Lemaitre B, Meister M, Govind S *et al.*, 1995. Functional analysis and regulation of nuclear import of dorsal during the immune response in *Drosophila*. *EMBO J*, 14: 536—545
- Liu F S, Liu Y C, Li F H *et al.*, 2005. Molecular cloning and expression profile of putative anti-lipopolysaccharide factor (ALF) in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Marine Biotechnology*, 7(6): 600—608
- Liu Y C, Li F H, Dong B *et al.*, 2007. Molecular cloning, characterization and expression analysis of a putative C-type lectin (Fclectin) gene in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Mol Immunol*, 44: 598—607
- Meng X, Khanuja B S, Ip Y T, 1999. Toll receptor-mediated *Drosophila* immune response requires Dif, an NF-kappaB factor. *Genes Dev*, 13(7): 792—797
- Montagnani C, Kappler C, Reichhart J M *et al.*, 2004. Cg-Rel, the first Rel/NF- κ B homolog characterized in a mollusk, the

- Pacific oyster *Crassostrea gigas*. FEBS Letters, 561: 75—82
- Pal S, Wu J L, Wu L P, 2008. Microarray analyses reveal distinct roles for Rel proteins in the *Drosophila* immune response. Dev Comp Immunol, doi: 10.1016/j.dci.2007.04.001
- Rutschmann S, Jung A C, Hetru C *et al*, 2000. The Rel protein DIF mediates the antifungal but not the antibacterial host defense in *Drosophila*. Immunity, 12: 569—580
- Shin S W, Kokoza V, Ahmed A *et al*, 2002. Characterization of three alternatively spliced isoforms of the Rel_{NF- κ B} transcription factor Relish from the mosquito *Aedes aegypti*. PNAS, 99: 9978—9983
- Uvell H, Engström Y, 2007. A multilayered defense against infection: combinatorial control of insect immune genes. TRENDS in Genetics, 23(7): 342—349
- van de Braak C B, Botterblom M H, Taverne N *et al*, 2002. The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp. Fish Shellfish Immunol, 3: 293—309
- Wu X, Xiong X H, Xie L P *et al*, 2007. Pf-Rel, a Rel/Nuclear Factor- κ B Homolog Identified from the Pearl Oyster, *Pinctada fucata*. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 39(7): 533—539
- Yang C J, Zhang J Q, Li F H *et al*, 2008. A Toll receptor unveils a role in the immune system of Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. Fish Shellfish Immunol, 24: 564—574
- Zhang J Q, Li F H, Wang Z Z *et al*, 2007. Cloning and recombinant expression of a crustin-like gene from Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. J Biotechnol, 127: 605—614

EXPRESSION OF Rel/NF- κ B FAMILY FcRel GENE IN *VIBRIO*-CHALLENGED CHINESE SHRIMP *FENNEROPENAEUS CHINENSIS*

YAN Hui^{1,2}, LI Fu-Hua¹, WANG Bing¹, ZHANG Ji-Quan¹, MA Hong-Ming¹, XIANG Jian-Hai¹

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071;

2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049)

Abstract Rel/NF- κ B is a group of nuclear transcription factors, and very important in mediating innate immune reactions in animals. RT-PCR and RACE techniques were applied in this study to produce partial cDNA fragments of FcRel—a member of Rel/NF- κ B family from Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. The cDNA fragment encoded 320 amino acids, including a whole RHD domain and a partial IPT-NF κ B domain. Phylogenetic analysis on RHDs from different species shows that FcRel is categorized with the Relish of *Drosophila melanogaster* first, and then joined the Relish of *Aedes aegypti* and *Bombyx mori*. Real-time PCR analysis revealed different expression profiles of FcRel gene between hemocytes and lymphoid organ of shrimp when they were challenged by *Vibrio*. The transcription of FcRel in hemocytes showed down-regulation 3h and 5h post-challenge, while that of FcRel in lymphoid organ showed apparent up-regulation post-challenge. It was indicated that the expression of FcRel was closely related to *Vibrio* challenge. Therefore, it is deduced that Relish may be involved in the signal transduction pathway of antibacterial response in shrimp.

Key words *Fenneropenaeus chinensis*, Rel/NF- κ B, Gene expression, *Vibrio* challenge