

大竹蛭(*Solen grandis*)翻译控制肿瘤蛋白(TCTP)基因的分子克隆和表达特征分析*

韦秀梅¹ 杨顶珑¹ 杨建敏¹ 杨嘉龙² 徐洁¹ 刘相全¹ 张艳敏³

(1. 山东省海洋水产研究所 山东省海洋生态修复重点实验室 烟台 264006; 2. 中国科学院烟台海岸带研究所 烟台 264003; 3. 山东商务职业学院 烟台 264670)

提要 本研究克隆得到了一个大竹蛭(*Solen grandis*)翻译控制肿瘤蛋白(TCTP)基因(SgTCTP)的cDNA全长,其序列全长为1055bp,5'和3'端的非编码区(UTR)分别为54和461bp,开放阅读框(ORF)540bp,编码179个氨基酸,理论等电点为4.50,预测分子量大小19.96kDa。通过荧光定量PCR法检测了SgTCTP在健康大竹蛭各组织中和病原相关分子模式(PAMPs)刺激后的表达规律,结果表明:SgTCTP在检测组织外套膜、鳃、性腺、血细胞、肌肉和肝胰腺中都有表达,其中在肝胰腺中的表达量最高。脂多糖(LPS)、肽聚糖(PGN)和葡聚糖(β -1,3-glucan)刺激都能诱导SgTCTP的表达量上调,SgTCTP的表达量分别在LPS和PGN刺激后6和3h达到最高,为空白对照的3.64和3.36倍; β -1,3-glucan刺激后SgTCTP的表达量上升幅度最大,在12h达到最高,为空白对照的11.76倍。SgTCTP可能作为急性时相蛋白参与大竹蛭的免疫应答。

关键词 大竹蛭; 翻译控制肿瘤蛋白; 免疫应答; 荧光定量PCR

中图分类号 S968.3

翻译控制肿瘤蛋白(translationally controlled tumor protein, TCTP)最先发现于小鼠(*Mus musculus*)肿瘤细胞中,被认为是一类生长相关蛋白(Yenofsky *et al.*, 1983);随后发现其在肿瘤中表达量较高并在翻译水平方面受调控,因而得名翻译控制肿瘤蛋白(Gross *et al.*, 1989)。TCTP虽然最先发现于小鼠肿瘤细胞中,并在肿瘤组织中表达明显增强(Chitpatima *et al.*, 1988),但TCTP同时也存在于酵母、植物、除肾脏以外的动物各组织正常细胞中,并保持相对的稳定性,其结构和表达的稳定性可能与其在细胞生命周期中行使极其重要的生物学功能密切相关。各个物种的TCTP基因间保持较高的同源性(Bommer *et al.*, 2004),其中只有酵母的TCTP和一小类分子伴侣蛋白有一定的相似性(Thaw *et al.*, 2001),而其余物种的TCTP和其它蛋白家族并没有共同特征。研究发现TCTP具有许多非

常重要的生物学功能,包括调节细胞生长、分裂和凋亡(Gachet *et al.*, 1999; Venugopal, 2005),参与重金属和热休克引起的应激反应(Gnanasekar *et al.*, 2009; Mak *et al.*, 2007),并与机体对病原微生物的防御相关(Wang *et al.*, 2009; He *et al.*, 2005; 周怡等, 2012)。

近年来,现代分子生物学技术的进步带动了海洋无脊椎动物免疫学的发展,TCTP在海洋无脊椎动物防御病原微生物过程中的功能吸引了越来越多的关注,随着研究的深入,目前已取得了一些进展,例如在对印度对虾(*Penaeus indicus*)、中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)和斑节对虾(*Penaeus monodon*)的研究中发现,TCTP在对虾受到对虾白斑综合征病毒(WSSV)刺激后其表达量上调,但是当斑节对虾出现死亡时,TCTP的表达量出现明显的减少,暗示TCTP可能在其先天性免疫中发挥重要作用

* 山东省农业良种工程课题“优质高产抗逆贝类良种选育”,2009—2013;国家自然科学基金项目资助,31202025号;水生动物营养与饲料“泰山学者”岗位经费资助。韦秀梅,博士,助理研究员,E-mail:xiumeiwei@hotmail.com

通讯作者:刘相全,E-mail:lxq6808@163.com

收稿日期:2012-03-19,收修改稿日期:2012-05-06

(Bangrak *et al*, 2004; Rajesh *et al*, 2010; 王帅, 2010¹⁾)。2010 年, 研究者首次在软体动物菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)中发现了 TCTP, 实验证明 TCTP 的表达量在菲律宾蛤仔受到鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)刺激后 48h 上调, TCTP 可能参与菲律宾蛤仔对于鳃弧菌的免疫应答(Li *et al*, 2010)。与人类等高等动物相比, 海洋无脊椎动物 TCTP 的研究还处于起步阶段, 仅见少数几种 TCTP 的报道。大竹蛭(*Solen grandis*)隶属软体动物门、瓣鳃纲, 在渤海、黄海、东海、南海沿海均有分布, 其肉质鲜美, 出肉率高, 营养丰富, 是珍贵的海产经济贝类。本研究以大竹蛭 TCTP 为研究对象, 从前期构建的大竹蛭 cDNA 文库中克隆大竹蛭 TCTP 基因的 cDNA 全长, 通过荧光定量 PCR 法检测其 mRNA 在健康大竹蛭不同组织中的表达分布以及大竹蛭受到各种病原相关分子模式(PAMPs)刺激后的表达规律, 从而进一步了解软体动物 TCTP 在其防御病原微生物的免疫应答中发挥的功能。

1 材料与方法

1.1 cDNA 全长的克隆

对本课题组前期工作构建的大竹蛭(*Solen grandis*)cDNA 文库中的 2038 条 EST 序列进行 BLAST 分析, 获得一个 TCTP 基因的 EST 序列, 将该序列对应的质粒转化 *Trans5 α* 感受态细胞(全式金), 挑取单菌落, 使用 pBluescript II SK*载体的通用引物 M13F 和 M13R 对其进行重新测序, 拼接获得 SgTCTP 的 cDNA 序列全长。

1.2 序列分析

用 BLAST 软件进行序列同源性比对和相似性搜索(Altschul *et al*, 1990); 在 <http://www.expasy.org/>进行蛋白等电点和分子量预测; 使用 SingalP (Nielsen *et al*, 1997)查找信号肽; 采用 SMART 4.0 软件查找蛋白特征模体 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>); 以软件 NetPhos 2.0 预测氨基酸磷酸化位点; 采用 ClustalW 程序 (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>)进行多序列比对; 使用 Mega 4.1 软件, 以邻接法(Neighbor-joining)构建系统进化树。

1.3 RNA 的提取和 cDNA 模板的合成

实验用海捕大竹蛭购自山东省烟台市, 个体平均大小为 85mm, 于 20—22℃海水中暂养一周后, 随机取暂养后大竹蛭 5 只抽取血淋巴, 在 4℃下

4000r/min 离心 5min 获得血细胞; 解剖大竹蛭取肌肉、外套膜、性腺、肝胰腺、鳃, 用 Trizol(Invitrogen)试剂盒按照说明书提取各组织的 RNA, 样品经 DNA 酶(Promega)降解 DNA 后, 用 M-MLV 反转录酶(Promega)反转获得 cDNA 模板, 存入-80℃超低温冰箱待用。

1.4 荧光定量 PCR 检测 SgTCTP 在健康大竹蛭各组织中的表达规律

使用 Mastercycler ep realplex (Eppendorf)荧光定量 PCR 仪进行 PCR 扩增。反应体系 25 μ L, 含 cDNA 模板 100 倍稀释液 2.5 μ L, 12.5 μ L 2 \times SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems), 正反引物各 1 μ L 和 8 μ L 水。SgTCTP 的正反向引物分别是 5'-AACCGAAG-ACAAGACTTGCATCC-3'和 5'-GCGAGAATGCCG-CTGACTTTA-3'; 内参基因 β -actin的正反向引物分别是 5'-TGTACGCCAACACTGTCTCTGTC-3'和 5'-CATC-GTATTCTGCTTGCTGATC-3'。反应程序为: 50℃ 2min, 95℃ 10min; 94℃ 30s, 60℃ 60s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行数据分析, 用 *t* 检验对结果进行显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

1.5 荧光定量 PCR 检测 SgTCTP 在大竹蛭受到 PAMPs 刺激后的表达规律

取 200 只暂养后的大竹蛭随机分为五组, 每组 40 只。以 PBS (0.14mol/L NaCl, 3mmol/L KCl, 8mmol/L Na₂HPO₄, 1.5mmol/L KH₂PO₄, pH 7.4)分别溶解脂多糖(LPS)、肽聚糖(PGN)和葡聚糖(β -1,3-glucan), 使其浓度分别为 0.5、0.8 和 1.0mg/mL, 每只大竹蛭肌肉注射 50 μ L, 第 1—3 组分别注射 LPS、PGN 和 β -1,3-glucan, 第 4 组注射 PBS 作为阴性对照, 第 5 组未作任何处理为空白对照。分别于注射后 3、6、12、24 和 48h 从实验组和对照组中各随机取 5 只大竹蛭, 抽取血淋巴, 4℃ 800g 离心 5min, 收集血细胞, 以 1ml TRIzol 重悬, 提取总 RNA, 合成 cDNA, 用于荧光定量 PCR 分析。实验数据以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行分析, 采用 *t* 检验进行显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 SgTCTP 的 cDNA 全长及其序列分析

SgTCTP 的 cDNA 全长为 1055bp (GenBank 登录号: KC478352), 5'和 3'非编码区(UTR)分别为 54 和 461bp, 开放阅读框(ORF)540bp, 编码 179 个氨基酸。

1) 王 帅, 2010. 对虾抗病毒相关蛋白的分子克隆与功能研究. 济南: 山东大学博士学位论文, 1—145

利用 SignalP 软件预测, 没有发现信号肽序列。3'UTR 区域包括一个 Poly(A)尾巴, 并包含多个 AT 和 ATTTA 区域, 这是 TCTP 的典型特征。ExPASy 预测的理论等电点 pI 为 4.50, 分子量大小为 19.96kDa。经软件 NetPhos 2.0 预测氨基酸磷酸化位点, SgTCTP 的氨基酸序列中含有 3 个丝氨酸(22、53、82aa)和 1 个酪氨酸的磷酸化位点(84aa), 没有苏氨酸磷酸化位点(图 1)。

2.2 SgTCTP 的多序列比对

同源性分析显示 SgTCTP 与菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 和达氏按蚊 (*Anopheles darlingi*) 的 TCTP 相似度最高, 分别为 46% 和 39%, 将 SgTCTP 与小鼠 (*Mus musculus*)、人 (*Homo sapiens*)、紫贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*)、家蚕 (*Bombyx mori*)、达氏按蚊和菲律宾蛤仔的 TCTP 进行了多序列比对, 超过 60% 相同的以黑色显示 (图 2)。

2.3 SgTCTP 系统进化分析

以 SgTCTP 和菲律宾蛤仔、达氏按蚊、小鼠、人、果蝇 (*Drosophila mojavensis*)、石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)、非洲蟾蜍 (*Xenopus tropicalis*)、刺参 (*Apostichopus japonicus*)、斑节对虾 (*Penaeus*

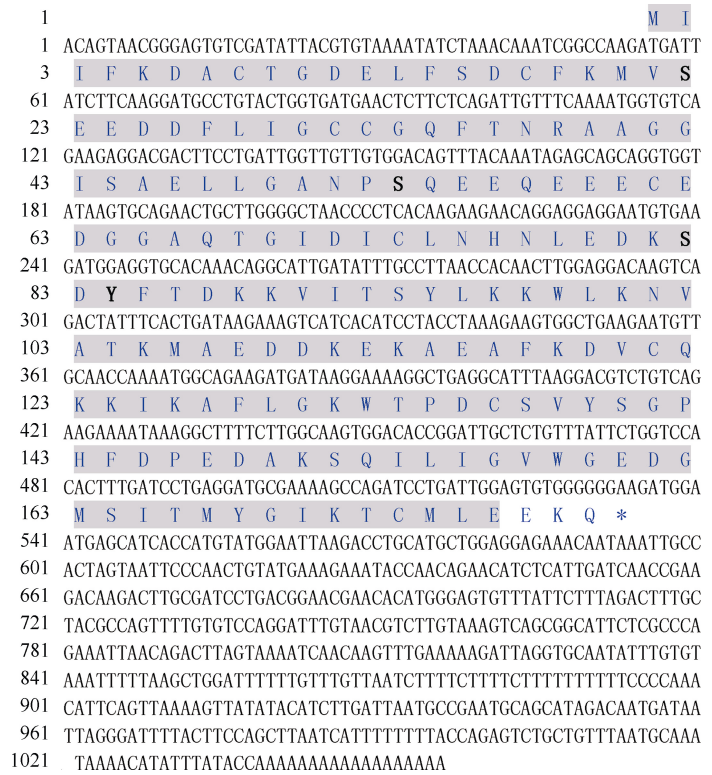


图 1 SgTCTP 的核苷酸及其编码氨基酸序列

Fig.1 Nucleotide and deduced amino acid sequences of SgTCTP
注: 阴影表示 TCTP 结构域, 黑体表示丝氨酸和酪氨酸磷酸化位点



图 2 SgTCTP 与其它物种 TCTP 的多序列比对结果

Fig.2 Multi sequence alignment of SgTCTP with TCTPs from other species

注: SgTCTP 与其它物种 TCTP 的多序列比对结果, 其它物种包括: 小鼠(BAE35188)、人(AAQ01550)、紫贻贝(AEV41412)、家蚕(NP_001037572)、达氏按蚊(EFR22670)和菲律宾蛤仔(ACU83235)

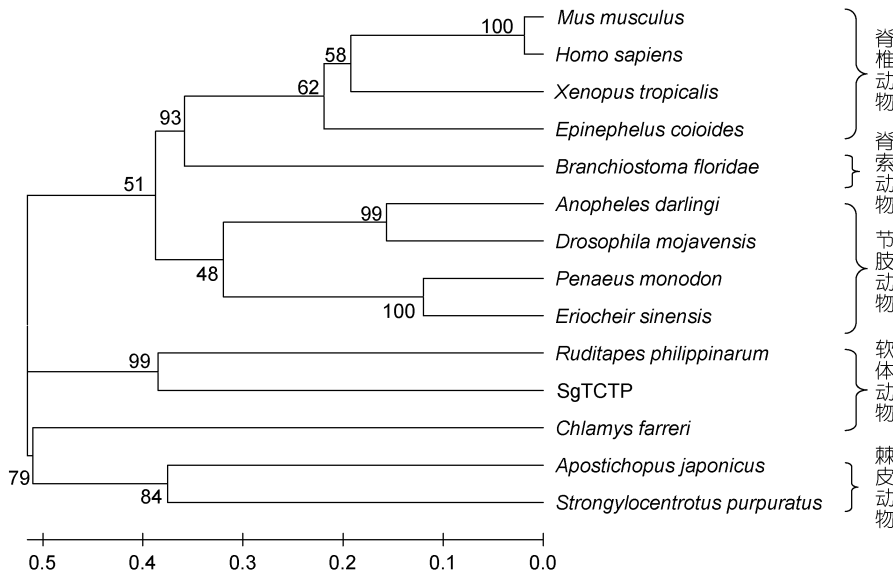


图3 SgTCTP 与其它物种 TCTP 的系统进化树

Fig.3 Phylogenetic tree based on sequences of SgTCTP with TCTPs from other species
注: 采用 MEGA 4.1 软件的邻接法构建 NJ(Neighbor-joining)系统树, 所用 TCTP 的 GenBank 登录号如下: 人(AAQ01550)、小鼠(BAE35188)、非洲蟾蜍(NP_001192267)、石斑鱼(AEG78396)、文昌鱼(EEN61468)、达氏按蚊(EFR22670)、果蝇(XP_001998386)、斑节对虾(AAO61938)、中华绒螯蟹(AEF32710)、菲律宾蛤仔(ACU83235)、栉孔扇贝(ADF45337)、刺参(ABC87996)和紫海胆(XP_795619)

monodon)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)、文昌鱼(*Branchiostoma floridae*)、紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)和栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)的 TCTP 序列, 用 Mega4.1 软件构建了系统进化树, SgTCTP 与菲律宾蛤仔和栉孔扇贝的 TCTP 聚成软体动物分支, 达氏按蚊、果蝇、斑节对虾和中华绒螯蟹聚成节肢动物分支, 刺参和紫海胆, 小鼠、石斑鱼、人和非洲蟾蜍分别聚成棘皮动物和脊椎动物分支, 文昌鱼单独构成脊索动物分支(图 3)。

2.4 SgTCTP 在健康大竹蛭各组织中的表达规律

使用荧光定量 PCR 方法检测了 SgTCTP 在健康大竹蛭各个组织的表达转录规律, 结果表明: SgTCTP 在所有检测的组织中都有表达, 其中在肝胰腺中的表达量最高, 为肌肉中表达量的 334.7 倍; 在外套膜、鳃、血细胞和性腺中的表达量较高, 分别为肌肉中的 112.0、88.4、45.8 和 39.6 倍; 在肌肉中的表达量最低(图 4)。

2.5 SgTCTP 在大竹蛭受到 PAMPs 刺激后的表达规律

采用荧光定量 PCR 方法检测了大竹蛭受到 LPS、PGN 和 β -1,3-glucan 刺激后 SgTCTP 的表达转录规律, 结果表明: SgTCTP 的表达量在大竹蛭受到 LPS 刺激后 6h 达到最高($P < 0.01$), 为空白对照的 3.64 倍, 随后

降低, 并在 48h 达到空白对照的 0.52 倍; PGN 刺激也能使 SgTCTP 的表达量出现上调, 在 3 和 6h 其表达量就分别达到空白对照的 3.36 和 3.02 倍($P < 0.05$); β -1,3-glucan 刺激使 SgTCTP 的表达量上调幅度最大, 在 3h 就急剧上升为空白对照的 7.9 倍, 6h 小幅度下降后, 又在 12h 达到最高, 为空白对照的 11.76 倍($P < 0.01$), 随后显著降低, 在 48h 其表达量为空白对照的 4.16 倍(图 5)。

3 讨论

自最早从小鼠肿瘤细胞中发现 TCTP 以来, 在许多物种中都相继出现了 TCTP 的报道, 并发现其具有多种生物学功能。本研究克隆得到了一个大竹蛭 TCTP (SgTCTP)的 cDNA 全长, 同源性分析显示 SgTCTP 与双壳贝类菲

律宾蛤仔 TCTP 的相似度最高, 多序列比对和进化分析的结果表明其为 TCTP 家族成员。利用荧光定量 PCR 法研究了 TCTP 在健康大竹蛭各个组织以及大竹蛭受到 LPS、PGN 和 β -1,3-glucan 三种 PAMPs 刺激后的表达规律, 旨在探讨 SgTCTP 在大竹蛭抵御病原微生物过程中发挥的功能。

对于哺乳动物 TCTP 的研究发现, TCTP 表达广

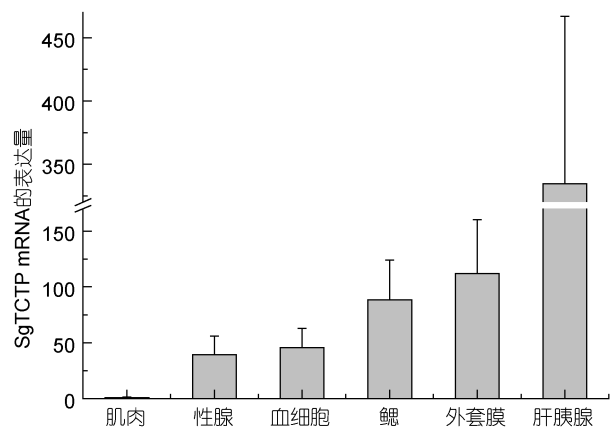


图4 SgTCTP mRNA 在组织中的表达水平

Fig.4 mRNA expression level of SgTCTP in different tissues
注: 荧光定量 PCR 检测肌肉、性腺、血细胞、鳃外套膜和肝胰腺中 SgTCTP mRNA 的表达水平

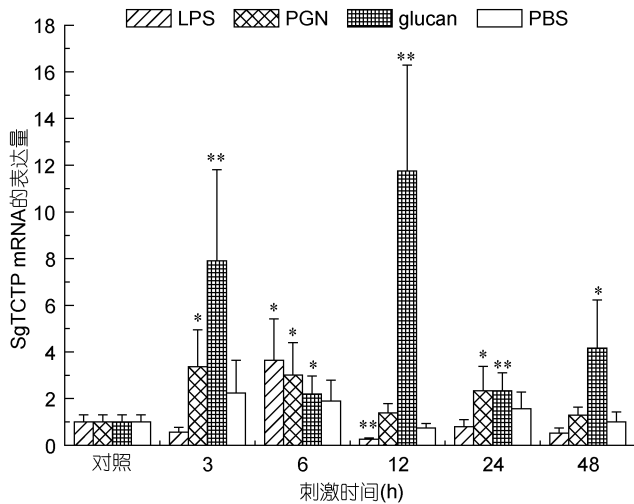


图5 SgTCTP mRNA在PAMPs刺激后的表达规律

Fig.5 mRNA expression pattern of SgTCTP after PAMPs stimulation

注: 荧光定量PCR检测LPS、PGN和 β -1,3-glucan刺激后3、6、12、24和48h SgTCTP的mRNA在血细胞中的表达水平。

*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$

泛,除了肿瘤细胞,大部分正常细胞也都有表达,但不同组织细胞的表达水平各有差异。Sanchez等(1997)发现TCTP在红细胞、肝细胞、巨噬细胞、红白血病细胞、角质瘤细胞、淋巴瘤细胞等中均有表达。Li等(2001)发现TCTP在人各组织中均有表达,尤以肝、肾、睾丸等组织中最为丰富。对于海洋无脊椎动物TCTP的研究取得了类似的结果,中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)TCTP在血细胞、肝胰腺、鳃和肠等组织中都有表达,并且在肝胰腺中的表达量最高(Wang *et al.*, 2009)。本研究对SgTCTP在大竹蛭各个组织中表达检测的结果也发现其在肝胰腺中的表达量最高。肝胰腺是软体动物重要的先天性免疫相关组织(Zhang *et al.*, 2008),TCTP在肝胰腺中的高表达暗示了其可能与大竹蛭先天性免疫相关。虽然其在另一个免疫相关组织血细胞中的表达量相对较低,但是在在大竹蛭受到PAMPs刺激后,其在血细胞中的表达量显著上升。

研究发现,TCTP在抗WSSV的日本对虾(*Penaeus japonicus*)血细胞中过量表达(He *et al.*, 2005),斑节对虾TCTP是可以防止病毒感染的血细胞死亡的重要相关基因(Bangrak *et al.*, 2004),中国对虾TCTP也在其病毒感染过程中显著上调,参与中国对虾抗病毒的免疫反应。软体动物菲律宾蛤仔的TCTP在受到鳃弧菌刺激后上调,暗示其作为急性时相蛋白参

与菲律宾蛤仔的免疫应答(Li *et al.*, 2010)。为了分析TCTP在大竹蛭免疫应答中的作用,本研究以PAMPs刺激健康大竹蛭,并用荧光定量PCR法检测了PAMPs刺激后SgTCTP的表达规律。PAMPs是存在于病原微生物表面的一些共有的高度保守的分子结构,如LPS、PGN和 β -1,3-glucan,是病原微生物生存和致病必需的成分。LPS、PGN和 β -1,3-glucan刺激都能够诱导SgTCTP在大竹蛭血细胞中的表达显著上调。这与对虾和菲律宾蛤仔TCTP研究中的结果一致,TCTP可能作为一种急性时相蛋白参与大竹蛭对于多种病原微生物的免疫应答。 β -1,3-glucan刺激后,SgTCTP的表达量上调最为显著,暗示TCTP表达量更容易被真菌诱导。菲律宾蛤仔TCTP的表达量在其受到鳃弧菌刺激后48h达到最高,而本研究中SgTCTP的表达量在大竹蛭受到LPS和PGN刺激后6h和3h就分别达到最高,这可能是刺激物和实验物种不同造成的差异。本研究为TCTP参与软体动物免疫应答提供了新的证据,并为下一步研究其作用机制奠定了基础。

参 考 文 献

- 周 怡, 张文兵, 麦康森, 2012. 凡纳滨对虾翻译控制肿瘤蛋白Fortilin的毕赤酵母表达及其对血细胞免疫反应的影响. 中国海洋大学学报, 42(1): 54—58
- Altschul S F, Gish W, Miller W *et al.*, 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 215: 403—410
- Bangrak P, Graidist P, Chotigeat W *et al.*, 2004. Molecular cloning and expression of a mammalian homologue of a translationally controlled tumor protein (TCTP) gene from *Penaeus monodon* shrimp. *J Biotechnol*, 108: 219—226
- Bommer U A, Thiele B J, 2004. The translation controlled protein (TCTP). *Int J Biochem Cell B*, 36: 379—385
- Chitpatima S, Makrides S, Bandyopadhyay R *et al.*, 1988. Nucleotide sequence of a major messenger RNA for a 21 kilodalton polypeptide that is under translational control in mouse tumour cells. *Nucleic Acids Res*, 16(5): 2350—2350
- Gachet Y, Tournier S, Lee M *et al.*, 1999. The growth-related, translationally controlled protein P23 has properties of a tubulin binding protein and associates transiently with microtubules during the cell cycle. *J Cell Sci*, 112: 1257—1271
- Gnanasekar M, Thirugnanam S, Zheng G *et al.*, 2009. Gene silencing of translationally controlled tumor protein (TCTP) by siRNA inhibits cell growth and induces apoptosis of human prostate cancer cells. *Int J Oncol*, 34: 1241—1246
- Gross B, Gaestel M, Bohm H *et al.*, 1989. cDNA sequence coding for a translationally controlled human tumor protein. *Nucl*

- Acids Res, 17: 8367
- He N, Qin Q, Xu X, 2005. Differential profile of genes expressed in hemocytes of white spot syndrome virus-resistant shrimp (*Penaeus japonicus*) by combining suppression subtractive hybridization and differential hybridization. *Antiviral Res*, 66: 39—45
- Li C H, Qiu L M, Ning X X *et al*, 2010. The first molluscan TCTP in *Venerupis philippinarum*: Molecular cloning and expression analysis. *Fish Shellfish Immun*, 29: 530—533
- Li F, Zhang D, Fujise K, 2001. Characterization of fortilin, a novel antiapoptotic protein. *J Biol Chem*, 276(50): 47542—47549
- Mak C H, Poon M W, Lun H M *et al*, 2007. Heat-inducible translationally controlled tumor protein of *Trichinella pseudospiralis*: cloning and regulation of gene expression. *Parasitol Res*, 100: 1105—1111
- Nielsen H, Engelbrecht J, Brunak S *et al*, 1997. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. *Protein Eng*, 10: 1—6
- Rajesh S, Kiruthiga C, Rashika V *et al*, 2010. Molecular cloning, sequence analysis and tissue expression of translationally controlled tumor protein from the WSSV-infected Indian shrimp *Penaeus indicus*. *Aquac Res*, 41: 545—551
- Sanchez J C, Schaller D, Ravier F *et al*, 1997. Translationally controlled tumor protein: a protein identified in several nontumoral cells including erythrocytes. *Electrophoresis*, 18: 150—155
- Thaw P, Baxter N J, Hounslow A M *et al*, 2001. Structure of TCTP reveals unexpected relationship with guanine nucleotide-free chaperones. *Nature Structural Biology*, 8: 701—704
- Venugopal T, 2005. Evolution and expression of translationally controlled tumour protein (TCTP) of fish. *Comp Biochem Physiol B*, 142: 8—17
- Wang S, Zhao X, Wang J, 2009. Molecular cloning and characterization of the translationally controlled tumor protein from *Fenneropenaeus chinensis*. *Mol Biol Rep*, 36: 1683—1693
- Yenofsky R, Cereghini S, Krowczyńska A *et al*, 1983. Regulation of mRNA utilization in mouse erythroleukemia cells induced to differentiate by exposure to dimethyl sulfoxide. *Mol Cell Biol*, 3: 1197—1203
- Zhang H, Song L S, Li C H *et al*, 2008. A novel C1q-domain-containing protein from Zhikong scallop *Chlamys farreri* with lipopolysaccharide binding activity. *Fish Shellfish Immun*, 25: 281—289

MOLECULAR CLONING AND EXPRESSION ANALYSIS OF A TRANSLATIONALLY CONTROLLED TUMOR PROTEIN (TCTP) GENE FROM *SOLENI GRANDIS*

WEI Xiu-Mei¹, YANG Ding-Long¹, YANG Jian-Min¹, YANG Jia-Long²,
XU Jie¹, LIU Xiang-Quan¹, ZHANG Yan-Min³

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Fishers Research Institute, Yantai, 264006; 2. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, 264003; 3. Shandong Business Institute, Yantai, 264670)

Abstract In the present study, a translationally controlled tumor protein (TCTP) gene was identified from *Solen grandis* (designated as SgTCTP). The full-length cDNA of SgTCTP was of 1055bp, containing a 5' untranslated region (UTR) of 54bp, a 3' UTR of 461bp with a poly (A) tail, and an open reading frame (ORF) of 537bp encoding a polypeptide of 179 amino acids with the predicted molecular weight of 19.96kDa. The expression patterns both in tissues and towards pathogen associated molecular patterns (PAMPs) stimulation were then characterized by real-time PCR. SgTCTP was constitutively expressed in all tested tissues, including mantle, gill, gonad, hemocyte, muscle, and hepatopancreas, and it was highly expressed in hepatopancreas. The mRNA expression of SgTCTP could be induced by stimulation of β -1,3-glucan, LPS and PGN. The expression level of SgTCTP reached the peak at 12h and 3h post LPS and PGN stimulation, respectively. After β -1,3-glucan stimulation, SgTCTP expression reached the maximal level at 12h post stimulation, which was 11.76-fold compared with the blank group. All these results indicated that SgTCTP was an acute-phase protein involved in the immune response of *S. grandis*.

Key words *Solen grandis*; TCTP; Immune response; Real-time PCR