

鸡 γ -干扰素基因的克隆与序列分析

敖艳华, 任 涛, 孔令辰

(农业部养禽与禽病防治重点开放实验室, 华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 为了研究鸡 γ -干扰素 (ChIFN- γ) 基因的功能并进一步探究其在控制家禽传染病方面的应用, 根据 GenBank 已发表的 ChIFN- γ cDNA 基因序列自行设计引物, 应用反转录-聚合酶链式反应 (RT-PCR) 技术从伴刀豆球蛋白 A (ConA) 刺激培养鸡脾淋巴细胞中提取的总 RNA 中扩增得到 ChIFN- γ , 然后连接到 pMD18-T 载体上并转化到 Top10 感受态细胞中, 获得阳性重组质粒并进行正确性序列测序。核苷酸序列结果表明, 试验得到了长为 513 bp 的 ChIFN- γ 基因, 与原鸡 (*Gallus*) IFN- γ 的同源性可高达 100%, 其含有 1 个 495 bp 的开放性阅读框架, 编码 164 个氨基酸, 推测其成熟蛋白的相对分子质量约为 18 000。

关键词: 鸡 γ -干扰素; 克隆; 序列分析

中图分类号: S852.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2006)04-0086-04

Cloning and Sequencing of Interferon- γ from Chicken Spleen Cells

AO Yan-hua, REN Tao, KONG Ling-chen

(Key Lab of Poultry Feeding and Disease Control, Ministry of Agriculture,
College of Veterinary Medicine, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: To provide a basis for further investigation of the chicken interferon- γ (ChIFN- γ), a pair of primers specific to ChIFN- γ were designed and synthesized according to the known sequences from GenBank, and were used to amplify ChIFN- γ cDNA by RT-PCR from total RNA of chicken spleen cells induced by ConA. RT-PCR product was cloned into pMD18-T vector. The recombinant plasmid was identified by digestion with restriction endonucleases and the nucleotide sequence was determined. The ChIFN- γ gene was 513 bp in length, with a 495 bp open reading frame encoding a polypeptide of 164 amino acids. It was predicted that ChIFN- γ can produce a mature protein with the relative molecular mass of approximately 18 000.

Key words: chicken interferon- γ ; clone; sequence analyzing

禽类细胞因子包括淋巴细胞因子 (lymphokines)、单核因子 (monokines) 以及干扰素 (IFN) 等, 它们对动物机体的免疫应答, 对疾病的发生发展具有十分重要的作用。其中禽类干扰素具有相对的种属特异性, 也具有微弱的抗原性, 它按照抗原特异性可分为 I 型和 II 型 2 类, I 型包括 IFN- α 、IFN- β 等, II 型又称免疫干扰素即 IFN- γ ^[1], 其中对 IFN- γ 的研究很广泛, 包括抗微生物的免疫性作用^[2]、通过融合作为 DNA 疫苗佐剂^[3], 甚至某些疾病的治疗例如结核^[4]等。目前人的干扰素基因已相继克隆和表达,

并在临床上得到相应的应用^[5]。在我国, 尤其是对猪干扰素的研究比较深入, 猪干扰素 α 、 β 、 γ 基因的分子克隆与序列分析已获得成功^[6-7]。与之相比, 禽类干扰素分子水平的研究起步较晚, 1995 年 Schultz 等^[8-9]报道了鸭 I 型 IFN 基因及 IFN- γ 基因, 夏青等^[10]、吴光志等^[11]分别报道了北京鸭 I 型及 II 型 IFN 基因, 为进行北京鸭干扰素生物制品的研究、从而为更好地促进养鸭业提供了坚实的理论基础。近几年, 程坚等^[12]对鸡的 γ -干扰素也进行了较深入的研究。参考众多学者的研究, 本试验采用 RT-PCR 技术,

收稿日期: 2005-11-09

作者简介: 敖艳华 (1979—), 女, 硕士研究生; 通讯作者: 任涛 (1968—) 男, 副教授, 博士, E-mail: rentao@scau.edu.cn
基金项目: 广东省科技计划项目 (2004B20201030)

基因工程制剂成为可能,从而能够更好地为养殖业服务,给禽类传染性疾病的防治带来新的希望。

参考文献:

- [1] SAMUEL C E. Antiviral actions of interferon: Interferon-regulated cellular proteins and their surprisingly selective antiviral activities[J]. *Virology*, 1991, 183:1-11.
- [2] SHTRICHMAN R, SAMUEL C E. The role of gamma interferon in antimicrobial immunity[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2001, 4(3): 251-259.
- [3] SONALI N, McCORMICK A L. An interferon gamma-gp120 fusion delivered as a DNA vaccine induces enhanced priming[J]. *Vaccine*, 2005, 23:3984-3990.
- [4] PAI M, RILEY L W, COLFORD J M, et al. Interferon gamma assays for tuberculosis[J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2005, 5:325-327.
- [5] CHENEY I W, LAI V C, ZHONG W, et al. Comparative analysis of antihepatitis C virus activity and gene expression mediated by alpha, beta, and gamma interferons[J]. *J Virol*, 2002, 76:1148-1154.
- [6] 葛丽, 李震, 于瑞嵩, 等. 猪 α -干扰素基因在毕赤酵母中的分泌表达[J]. *中国兽医学报*, 2005, 25(3):289-292.
- [7] 曹瑞兵, 包晶晶, 陈涛言, 等. 猪 β -干扰素的原核表达及其对猪流行性腹泻病毒的抑制作用研究[J]. *中国病毒学*, 2004, 19(4):364-368.
- [8] SCHULTZ U, CHISARI F V. Recombinant duck interferon: a new reagent for studying the mode of interferon action against hepatitis B virus[J]. *Virology*, 1995, 212, 641-649.
- [9] SCHULTZ U, CHISARI F V. Recombinant duck interferon gamma inhibits duck hepatitis B virus replication in primary hepatocytes[J]. *J Virol*, 1999, 73(4):3162-3168.
- [10] 夏青, 万建青, 吴志光, 等. 鸭 I 型干扰素基因分子克隆与序列分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2000, 31(6):567-570.
- [11] 吴志光, 夏青, 汪明, 等. 北京鸭 II 型干扰素基因分子克隆与序列分析[J]. *中国兽医科技*, 2001, 31(3):7-10.
- [12] 程坚, 刘秀梵, 彭大新, 等. 表达鸡 II 型干扰素基因的重组鸡痘病毒的构建[J]. *农业生物技术学报*, 2002, 10(2):152-155.
- [13] 时秀梅, 李慧玲, 高华方, 等. 兽用干扰素诱生剂对人工感染 IBDV 和 ILTV 的临床防治效果[J]. *中国畜禽传染病*, 1998, 20(1):50-51.
- [14] BALARAMAN S, TEWARY P, SINGH V K, et al. Leishmania donovani induces interferon regulatory factor in murine macrophages: a host defense response[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, 317(2):639-647.
- [15] RAMANI W, TIM P, SUSAN B, et al. Cloning, expression, purification, and biological activity of five feline type I interferons[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2002, 89:13-27.
- [16] 廖明, 张春红, 丘鹤英, 等. 家禽免疫学基础[M]. 广州:广东科技出版社, 1998:16-17.
- [17] 戴建华, 秦爱建, 许金俊, 等. 鸡 γ -干扰素基因的克隆及其在原核和真核系统中的表达[J]. *中国预防兽医学报*, 2003, 25(4):249-253.
- [18] 贾立军, 刘秀梵. 鸡 γ -干扰素对 H5 亚型禽流感疫苗的免疫增强作用[J]. *农业生物技术学报*, 2004, 12(4):427-430.

【责任编辑 柴 焰】