

## 斑点叉尾鮰趋化因子 SCYA126 基因及其可变剪接

鲍宝龙<sup>1</sup>, 李家乐<sup>1</sup>, 汪桂玲<sup>1</sup>, 刘占江<sup>1, 2</sup>

(1. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090; 2. 奥本大学 水产养殖系, 阿拉巴马州 36849, 美国)

**摘要:** 通过探针杂交筛选斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*) BAC 基因组文库, 利用引物步移的方法对阳性克隆 BAC 047\_K12 进行序列测定, 得到 2 815 bp 的 SCYA126 基因组序列。序列分析表明, SCYA126 基因由 2 个外显子和 1 个内含子组成; 外显子拼接的序列与 SCYA126 cDNA 序列完全一致, 编码 92 个氨基酸, 在 N 端含有 2 个相邻的半胱氨酸(CC)和 2 个不相邻的半胱氨酸, 为典型的 CC 趋化因子亚家族成员; 其上游调控序列包含 TATA 框启动子序列和一些与免疫相关的转录因子结合位点。另外, 根据与 GenBank 接收号为 BM029630 的 EST 序列的比较分析, 发现 SCYA126 基因组中的内含子没有被剪接, 导致翻译后可能产生 N 端部分缺失的 SCYA126 蛋白。在胰脏和肝脏中确认了高表达的包含内含子的 mRNA 的存在, 而且其表达量要明显高于正常剪接的 SCYA126 mRNA。[ 中国水产科学, 2007, 14(1): 1—7 ]

**关键词:** 斑点叉尾鮰; 趋化因子; SCYA126; RNA 可变剪接

**中图分类号:** Q959.499 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2007)01-0001-07

相对于高等脊椎动物, 鱼类获得性免疫系统并不完善。因此, 鱼类在抗病过程中更为依赖于反应较快的先天免疫系统。趋化因子是高等脊椎动物先天免疫的重要组成部分, 能诱导免疫细胞至感染部位<sup>[1-3]</sup>。最近的研究表明, 一些趋化因子在小鼠发育过程也起重要作用<sup>[4-5]</sup>。一般在趋化因子 N 端都含有 4 个保守的半胱氨酸残基, 此区域是受体活动的重要区域。根据 N 端半胱氨酸残基的相对位置<sup>[6]</sup>, 趋化因子被分为 4 个亚家族: (1)CXC 类趋化因子, N 端 Cys 中的第 1 个与第 2 个之间含有任意一个氨基酸; (2)CC 类趋化因子, N 端 2 个半胱氨酸之间无任何氨基酸; (3)C 类趋化因子; (4)CX3C 类趋化因子。在人类中已发现 24 个 CC 趋化因子亚家族的成员<sup>[7]</sup>。CC 类趋化因子主要作用于单核巨噬细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞及 NK 细胞, 诱导它们的迁移和功能活化。近年来, 在条纹狗鱼 (*Triakis scyllia*)、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 等鱼类中也已经有 CC 趋化因子基因的分析报道<sup>[8-11]</sup>。在斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*) 和蓝叉尾鮰 (*Ictalurus furcatus*) 中, 根据 cDNA 序列分析, 目前共发现 26 个 CC

趋化因子, 分别命名为 SCYA101—SCYA126<sup>[12-13]</sup>。本研究克隆了斑点叉尾鮰 SCYA126 基因, 并对其基因结构进行分析, 发现该基因存在可变剪接现象。

### 1 材料与方法

#### 1.1 BAC 基因组文库筛选和 BAC 分离

利用 overgo 杂交探针筛选斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*) BAC (Bacterial Artificial Chromosome) 基因组文库<sup>[14]</sup>。文库筛选过程分为 2 个步骤: 第 1 步, 把代表斑点叉尾鮰所有 CC 趋化因子家族的 overgo 引物进行标记, 混合后与高密度膜进行杂交; 第 2 步, 把阳性克隆从文库中挑选出来后重新点在尼龙膜上, 然后用同位素标记的 SCYA126 cDNA 探针进行验证。

overgo 引物根据斑点叉尾鮰 cDNA 序列设计而成<sup>[12-13]</sup>, 25 个代表 CC 趋化因子的 overgo 引物等量混合, 然后在室温下用 <sup>32</sup>P-dATP 和 <sup>32</sup>P-dCTP (Amersham 公司) 标记 1 h, 用 Sephadex G50 柱去除多余的 <sup>32</sup>P-dATP 和 <sup>32</sup>P-dCTP。探针首先 95 °C 变性 10 min, 然后加入 50 mL 杂交液 (1% BSA, 1 mmol/L EDTA pH 8.0, 7% SDS, 0.5 mmol/L 磷

收稿日期: 2006-02-13; 修订日期: 2006-06-20。

基金项目: 上海市教委重点学科项目 (Y1101); 上海市科委基础重大项目 (06dj14003); 上海市高校水产养殖 E-研究支持项目 (E03009)。

作者简介: 鲍宝龙 (1970—), 博士, 教授, 主要从事基因组学和发育生物学研究。E-mail: blbao@shfu.edu.cn

通讯作者: 刘占江。E-mail: zliu@acesaq.auburn.edu

酸钠, pH 7.2) 中, 在 54 °C 与高密度膜 (CHORI Oakland, CA) 杂交 18 h。洗涤液 (30 mmol/L NaCl, 3 mmol/L 柠檬酸钠, 0.1% SDS) 洗涤后, 高密度膜在 -80 °C 放射自显影 2 d, 最后显影和定影。

通过 25 个代表斑点叉尾鮰 CC 趋化因子家族的 overgo 探针的杂交, 把所有阳性克隆挑选出来重新培养后, 每个克隆以 2 个拷贝形式, 分别在尼龙膜上点样, 自然干燥。用变性液 (0.5 mol/L NaOH, 1.5 mol/L NaCl) 浸泡 8 min 后, 分别用中和液 (1.5 mol/L NaCl, 0.5 mol/L Tris-HCl pH7.2, 1 mmol/L EDTA) 洗 2 次, 空气干燥后用紫外交连仪固定 DNA。

cDNA 探针标记采用质粒作模板<sup>[13]</sup>。探针采用随机引物标记试剂盒 (Roche 公司) 提供的方法进行标记。尼龙膜先用预杂交液 [50% 甲酰胺, 5×SSC, 0.1% SDS (w/v), 5×Denhardt's, 100 μg/mL 鲑精 DNA] 预杂交 2 h, 然后在加有探针的杂交液

(50% 甲酰胺, 5×SSC, 0.1% SDS, 100 μg/mL 鲑精 DNA) 中 42 °C 下杂交 16 h 以上, 尼龙膜用 2×SSC 洗 10 min, 再用 0.2×SSC 在 45 °C 下洗 15 min。在 -80 °C 放射自显影 2 d, 然后显影和定影。

阳性克隆的 DNA 采用 Prep 96 BAC DNA 抽提试剂盒 (Qiagen 公司) 抽提, 具体操作按照试剂盒说明书进行。

## 1.2 基因组 DNA 序列测定

利用引物步移法直接测序, 采用的引物见表 1。在 BAC 直接测序之前, 需要用 DyeEx 2.0 Spin 试剂盒 (Qiagen 公司) 纯化分离的 BAC DNA 作模板, 参考 BigDye Terminator v3.0 试剂盒 (Applied Biosystems 公司) 的说明书, 用 ABI PRISM 3130XL DNA 自动测序仪分析 (Applied Biosystems 公司) 进行测序反应。

表 1 研究中所采用引物及其序列

Tab 1 Primers and their sequences used in this study

引物名称 Primer	序列(5' - 3') Sequence(5' - 3')	用途 Utilization
AU75159A	CAGGGCTGTTTTGCTGGAC	BAC 047_K12 测序引物
AU75159B	CTCCAGAA TGCTCAC AACGAC	BAC 047_K12 测序引物
AU50833	CCAAGGTAAACATGGGACTGTG	BAC 047_K12 测序引物
AU50813	TTCTACAGCGCCACTGAGTCGA	BAC 047_K12 测序引物
AU75281	CAGCCTGACTTACTGATTCATGAATAC	BAC 047_K12 测序引物
AU75305	AAGGTAAATAAGGTGTAAGACAAAACAGG	BAC 047_K12 测序引物
AU75306U	CTGCCAGTGTGTCATTCTGATTAG	BAC 047_K12 测序引物
Overgo-U	CTCGTGCTGCTTATTCGTGGAAAG	Overgo 探针
Overgo-L	TTGGTGCGCACAAATCTCTTTCCAC	Overgo 探针
AU50787ova	GTCGTTGTGAGCATTCTGGAG	RT-PCR 和 BAC 047_K12 测序引物
AU50614ovb	CATTGGTGCGCACAAATCTCTTTCC	RT-PCR 引物
Actin upper	AGAGAGAAATTGTCGGTGACATC	RT-PCR 内标引物
Actin lower	CTCCGATCCAGACAGAGTATTTG	RT-PCR 内标引物

## 1.3 RNA 提取和 RT-PCR

采用 Trizol 试剂 (Invitrogen) 抽提脾脏和肝脏的总 RNA, 具体步骤按照使用说明书。1 μg 的总 RNA 先被逆转录为单链的 cDNA (共 20 μL), 取

1 μL 单链的 cDNA 作模板, 10 μL PCR 反应体系为: 1 μL 10×PCR buffer, 0.6 μL 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 各 0.7 μL 100 ng/mL RT-PCR 引物, 各 0.3 μL 100 ng/mL 内标引物 (表 1), 1 μL 10 mmol/L 的 dNTP

和 *U Taq* 酶。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min, 然后 94 °C 15 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 5 min。RT-PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 拍照。

#### 1.4 序列分析

利用 TFSEARCH 软件预测转录因子结合位点<sup>[15]</sup>, 选用“脊椎动物”数据库, 缺损值为 90。用 Compute PI/Mw tool 软件预测蛋白的等电点和分子量<sup>[16]</sup>, 用 GENO3D Release 2 软件分析蛋白的三级结构<sup>[17]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 杂交筛选 BAC 基因组文库的结果

利用 25 个代表 CC 趋化因子基因的 *overgo* 混合探针, 筛选斑点叉尾鮰 BAC 基因组文库, 共筛选到 232 个阳性克隆, 然后再用代表 *SCYA126* cDNA 探针进行菌落杂交, 共筛选到 11 个阳性克隆, 它们分别为 099 \_ C4, 142 \_ A8, 045 \_ L17, 105 \_ B8, 144 \_ H14, 102 \_ J7, 121 \_ I22, 129 \_ P14, 119 \_ E18, 062 \_ I3, 047 \_ K12。杂交结果见图 1。

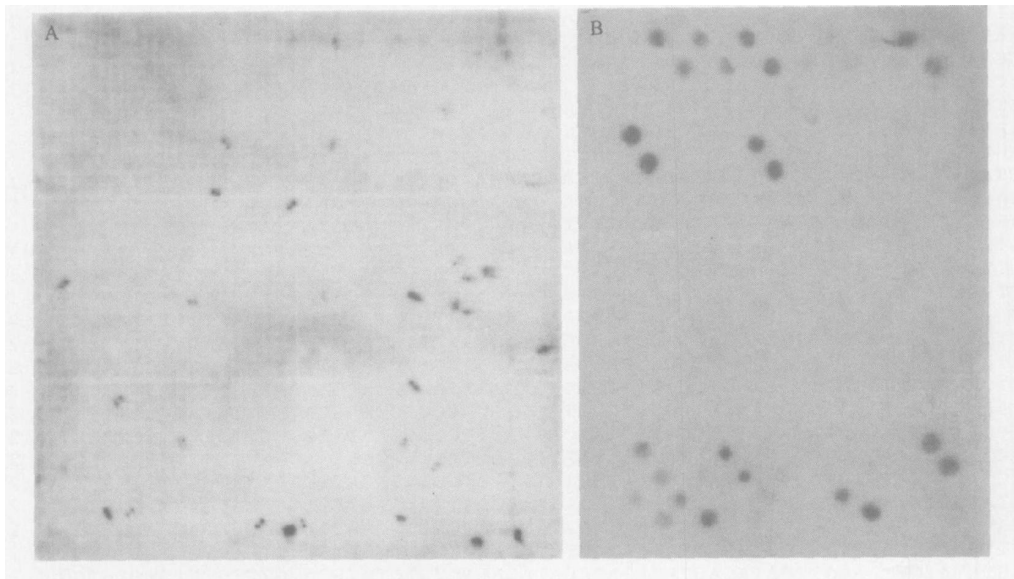


图 1 杂交筛选 BAC 基因组文库的结果

A, 利用 25 个代表 CC 趋化因子基因的 *overgo* 混合探针筛选基因组文库高密度膜的杂交结果; B 利用 *SCYA126* cDNA 探针进行菌落杂交的结果; 黑色为阳性信号。

Fig. 1 Screening results of BAC genome library using *overgo* probes and *SCYA126* cDNA probe  
A, Positive clones shown in high density filter by hybridizing with a pool of *overgo* probes representing 25 CC chemokines; B, Positive clones shown in nylon filter containing *SCYA126* gene by hybridizing with *SCYA126* cDNA probe. Black dots represent positive clones.

### 2.2 *SCYA126* 基因组序列的分析

通过对 BAC 047 \_ K12 测序, 获得 *SCYA126* 基因序列, 其长度包括上游调控序列总共为 2 815 bp (图 2), 此序列已经提交 GenBank (接收号: DQ173298)。上游调控序列中, 通过 TFSEARCH 软件分析, 发现存在 Ikaros 1 (IK-1) 和 Ikaros 2 (IK-2) 等转录因子结合位点, 另外在 -470 ~ -494 发现了 TATA 框 (图 2、表 2)。

*SCYA126* 基因由 2 个外显子和 1 个内含子组成, 内含子长度为 88 bp。基因编码 92 个氨基酸, 在 N 端含有 2 个相邻的半胱氨酸和 2 个不相邻的半胱氨酸, 为典型的 CC 亚家族的趋化因子。去除内含子序列后, 其编码区的序列和此前报道的 *SCYA126* 基因的 cDNA 序列<sup>[13]</sup> 完全一致。在基因组序列的下游, 分别存在 1 个 (TAA)<sub>9</sub> 和 1 个 (GT)<sub>17</sub> 的微卫星序列, 可用作多态性标记筛选。

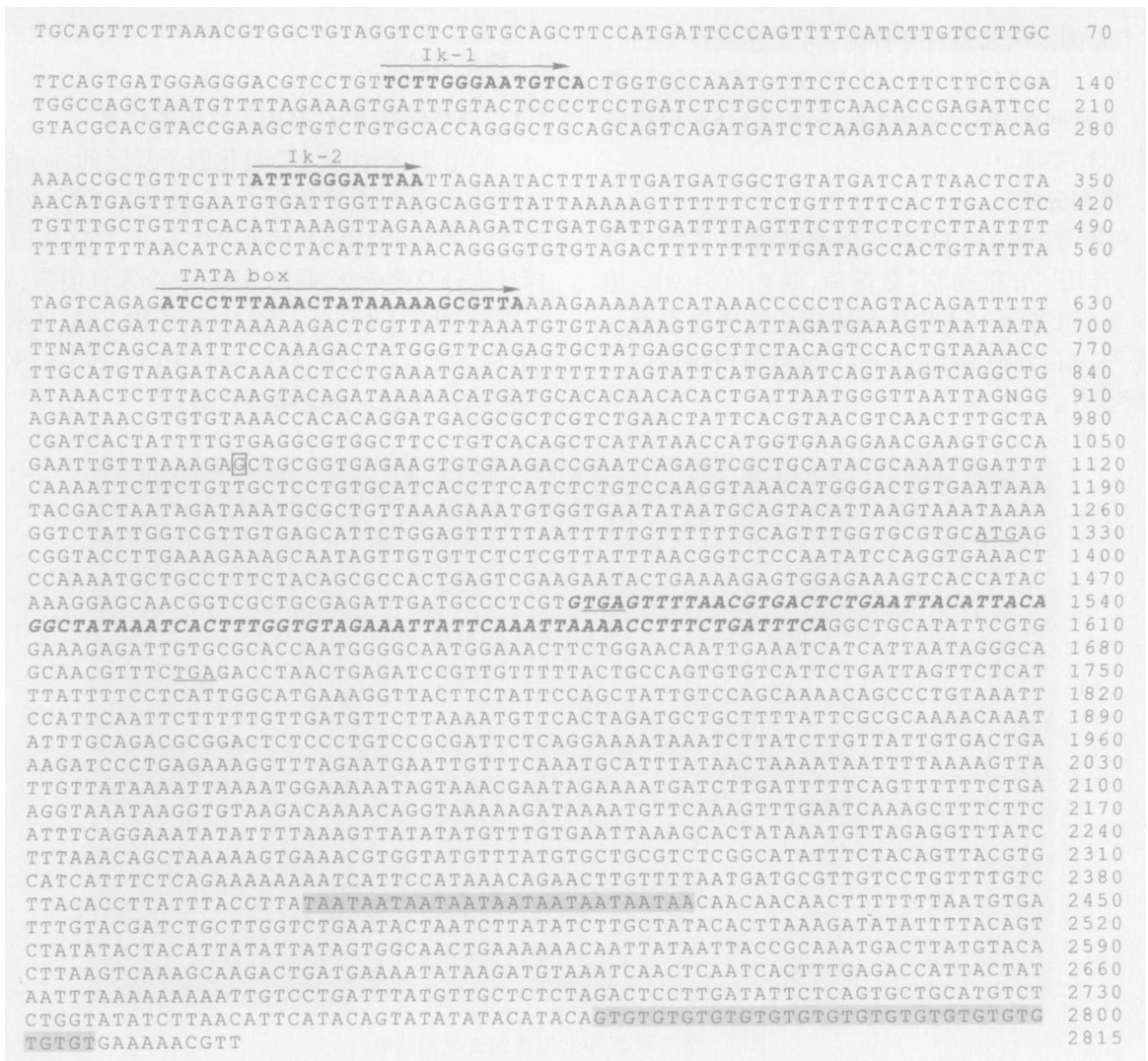


图2 SCY126 基因序列

注: 方框表示转录起始点; 翻译起始和终止密码子用下划线表示; 内含子用黑斜体表示; 微卫星区域用灰色背景显示; 箭头所示的黑体区域分别表示转录因子结合位点.

Fig. 2 Nucleotide sequence of SCY126 gene

Note: Initial transcription G is shown in rectangle. The translation start codon ATG and termination codon TAA are both underlined. The intron is in bold font and in italic. Microsatellite area is shown in gray background. The arrows showed with bold font areas represent putative transcription factor binding sites Ik-1, Ik-2 and TATA box.

表2 SCY126 基因上游序列的转录因子结合位点

Tab. 2 Putative transcription factor binding sites within the upstream sequences of the SCY126 gene

转录因子 Transcription factor	位置 Position
Ik-1	- 957 ~ - 969
Ik-2	- 757 ~ - 768
GATA-1	- 732 ~ - 741
CdxA	- 755 ~ - 762, - 502 ~ - 508, - 364 ~ - 370, - 167 ~ - 173
TATA	- 470 ~ - 494
SRY	- 463 ~ - 470
GATA-X	- 193 ~ - 203
GATA-1	- 194 ~ - 206

### 2.3 SCYA126 基因的可变剪接

利用 SCYA126 基因组序列, 在 GenBank 中进行 BLAST N 搜索, 发现 1 个含有 SCYA126 内含子序列的 EST (Expressed Sequence Tag, 表达序列标签) (GenBank 登录号: BM029630), 由于内含子中含有终止密码子 (TGA), 此 EST 编码的氨基酸序列与正常的 SCYA126 的氨基酸序列相比, 其 N 端有 31 个氨基酸缺失, 其中包括 1 个半胱氨酸, 因此推测其没有 SCYA126 蛋白的正常功能。

用跨越内含子的 1 对引物 (图 3), 对脾脏和肝脏组织 mRNA 进行 RT-PCR 检测, 扩增出 1 条比较亮的条带和 1 条很弱的条带, 其长度分别符合 SCYA126 内含子被剪接前的长度 (364 bp) 和被剪

接后的长度 (275 bp) (图 4), 表明 SCYA126 基因存在可变剪接现象, 而且包含内含子的 mRNA 在组织中的表达水平很高。

利用 Compute PI/Mw tool 生物信息软件对蛋白进行预测, SCYA126 蛋白的等电点为 9.89, 分子量为 10 331.21 D, 而 N 端缺失 31 个氨基酸的 SCYA126T 蛋白, 其等电点为 9.16, 分子量为 6 712.84 D。用 GENO3D Release 2 生物信息软件对此 2 个蛋白的三级结构进行预测, 发现 SCYA126 蛋白与小鼠的趋化因子 CCL20 (或称 MIP-3a 蛋白) 的结构类似, 而 N 端缺失 31 个氨基酸的 SCYA126T 蛋白, 没有发现与之结构相似的蛋白, 表明其没有 SCYA126 蛋白的功能。



图 3 SCYA126 基因不同剪接后所编码 cDNA 序列和氨基酸序列

I: 不含内含子的 mRNA 序列; II: 内含子未被剪切的 mRNA 序列; 半胱氨酸 (C) 用下划线表示; 箭头所示的是 RT-PCR 引物

Fig. 3 cDNA and amino acid sequences of SCYA126 gene

I: mRNA without intron. II: mRNA with one intron. C (Cys) are underlined. Arrows show RT-PCR primers.

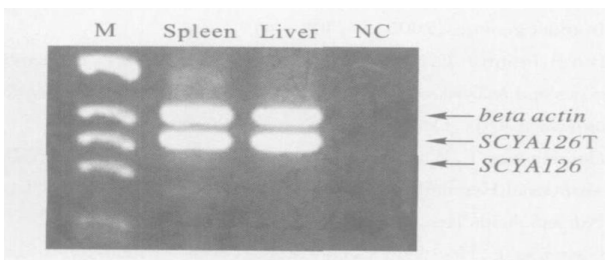


图 4 SCYA126 基因在脾脏和肝脏组织的表达

注: M 为 DNA 分子量 Marker; NC 为阴性对照。

Fig. 4 Gene expression of SCYA126 in spleen and liver tissues

Note. M, DNA marker; NC, negative control.

### 3 讨论

斑点叉尾鮰 CC 趋化因子亚家族目前已被鉴定出 26 个基因<sup>[12-13]</sup>, 本研究报道的 SCYA126 是其中之一。由于 CC 趋化因子的序列同源性比较低, 一般在 20%~30% 之间, 所以目前很难得知其在其他物种的同源基因, 对斑点叉尾鮰 CC 趋化因子亚家族成员也是随机命名的, 现报道的 SCYA126 并不对应于人类的 CCL26。目前鉴定的绝大多数 CC 趋化因子的基因结构是由 3 个外显子和 2 个内含子组成, 或由 4 个外显子和 3 个内含子组成<sup>[14]</sup>, 而斑

点叉尾<sup>SCYA126</sup> 基因结构是由 2 个外显子和 1 个内含子组成,这是比较少见的。通过对基因和氨基酸的一级结构分析发现,大多数斑点叉尾<sup>CC</sup>趋化因子亚家族成员在物种进化以后才进化而来的<sup>[14-18]</sup>,因此,对于多数的斑点叉尾<sup>CC</sup>趋化因子来说,很难确定在其他物种的同源基因。本研究对基因编码蛋白的三级结构进行了初步的预测,发现斑点叉尾<sup>SCYA126</sup>与小鼠的 CCL20 的结构类似,这可能对今后进一步分析斑点叉尾<sup>CC</sup>趋化因子亚家族其他成员的同源性有一定的借鉴作用。此外,由于 SCYA126 cDNA 序列虽然有完整的开放阅读框,但没有完整的 3' 端序列,所以在本研究中难以确定第二个外显子的大小。

Ikaros 是一种锌指结构的 DNA 结合蛋白,为淋巴细胞的正常发育所必需。人 VPAC-1 和 VPAC-2 这 2 种在免疫组织中高度表达和协调 T 细胞多种功能的蛋白,在其上游调控序列中也发现含有 Ikaros 1(Ik-1)和 Ikaros 2(Ik-2)结合位点,并已明确 VPAC-1 和 VPAC-2 受 Ikaros 调控<sup>[19]</sup>。在斑点叉尾<sup>SCYA126</sup> 基因上游序列中也发现 Ikaros 1(Ik-1)和 Ikaros 2(Ik-2)结合位点,提示其转录可能也受 Ikaros 的调控。

可变剪接指 RNA 剪接过程中外显子或内含子有目的地被去除,从而产生各种成熟的 mRNA<sup>[20]</sup>。40%~60% 的人类基因发现有可变剪接现象,可变剪接已成为实现人类基因组功能复杂性的主要途径之一<sup>[21]</sup>。在人趋化因子 CCL14 中,也发现存在可变剪接现象<sup>[22]</sup>。在人类精巢组织中,至少检测到趋化因子超家族成员 CKLFSF1 基因的 23 种可变剪接产物<sup>[23]</sup>。本研究发现,在斑点叉尾<sup>SCYA126</sup> 基因中也存在可变剪接现象。由于内含子没有被剪接,使内含子中的终止密码子 TGA 提前终止了完整 SCYA126 基因的翻译,最终导致 SCYA126T 蛋白功能的缺失。值得注意的是,包含内含子的 mRNA 在免疫组织如胰脏和肝脏中的表达量,要明显高于内含子被剪接的 mRNA。目前对此现象的解释是,过量的趋化因子的表达,可能会造成免疫组织自身的损伤,可变剪接可能在其中起一定的调节作用,但实际的情况需要今后进一步的验证。

#### 参考文献:

[1] Neville L F, Mathiak G, Bagasra O. The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10kD (IP-10): a novel, pleiotropic

member of the C-X-C chemokine superfamily [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 1997, 8: 207-219.

- [2] Moser B, Loetscher P. Lymphocyte traffic control by chemokines [J]. Nat Immunol, 2001, 2: 123-128.
- [3] Laing K J, Secombes C J. Trout CC chemokines; comparison of their sequences and expression patterns [J]. Mol Immunol, 2004, 41: 793-808.
- [4] David N B, Sapede D, Saint-Etienne L, et al. Molecular basis of cell migration in the fish lateral line; role of the chemokine receptor CXCR4 and of its ligand, SDF1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 16 297-16 302.
- [5] Molyneux K A, Zinsner H, Kunwar P S, et al. The chemokine SDF1/CXCL12 and its receptor CXCR4 regulate mouse germ cell migration and survival [J]. Development, 2003, 130: 4 279-4 286.
- [6] Murphy P M, Baggiolini M, Charo I F, et al. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors [J]. Pharmacol Rev, 2000, 52: 145-176.
- [7] Bacon K, Baggiolini M, Broxmeyer H, et al. Chemokine/chemokine receptor nomenclature [J]. Cytokine, 2003, 21: 48-49.
- [8] Inoue Y, Saito T, Endo M, et al. Molecular cloning and preliminary expression analysis of banded dogfish (*Triakis scyllia*) CC chemokine cDNAs by use of suppression subtractive hybridization [J]. Immunogenetics, 2005, 56: 722-734.
- [9] Khattiyi R, Ohira T, Hirano I, et al. Identification of a novel Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) CC chemokine gene and an analysis of its function [J]. Immunogenetics, 2004, 55: 763-769.
- [10] Dixon B, Shum B, Adams E J, et al. CK-1, a putative chemokine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Immunol Rev, 1998, 166: 341-348.
- [11] Laing K J, Secombes C J. Chemokines [J]. Dev Comp Immunol, 2004b, 28: 443-460.
- [12] He G, Peatman E, Baoprasertkul P, et al. Multiple CC chemokines in channel catfish and blue catfish as revealed by analysis of expressed sequence tags [J]. Immunogenetics, 2004, 56: 379-387.
- [13] Peatman E, Bao B, Baoprasertkul P, et al. *In silico* identification and expression analysis of 12 novel CC chemokines in catfish [J]. Immunogenetics, 2005, 57: 409-419.
- [14] Bao B, Peatman E, Xu P, et al. Characterization of 23 CC chemokine genes and analysis of their expression in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Dev Comp Immunol, 2006, 30: 783-796.
- [15] Heinemeyer T, Wingender E, Reuter I, et al. Databases on Transcriptional Regulation; TRANSFAC, TRRD, and COMPEL [J]. Nucleic Acids Res, 1998, 26: 364-370.
- [16] Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, et al. Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server [M] // Walker J M. The Proteomics Protocols Handbook. Totowa; Humana Press, 2005.
- [17] Combet C, Jambon M, DeFage G, et al. Geno3D an automated protein modelling Web server [J]. Bioinformatics, 2002, 18: 213

- 214.
- [18] Peatman E, Bao B, Xu P, et al. Catfish CC chemokines: genomic clustering duplications and expression after bacterial infection with *Edwardsiella ictaluri* [J]. *Mol Genet Genomics*, 2006, 275: 297—309.
- [19] Dorsam G, Goetzl E J. Vasoactive Intestinal Peptide Receptor-1 (VPAC-1) Is a Novel Gene Target of the Hemolymphopoietic Transcription Factor Ikaros [J]. *Biol Chem*, 2002, 277: 13 488—13 493.
- [20] Lopez A J. Alternative splicing of pre-mRNA: developmental consequences and mechanisms of regulation [J]. *Annu Rev Genet*, 1998, 32: 279—305.
- [21] Modrek B, Lee C. A genomic view of alternative splicing [J]. *Nat Genet*, 2002 30: 13—19.
- [22] Hiller M, Huse K, Platzer M, Backofen R. Creation and disruption of protein features by alternative splicing—a novel mechanism to modulate function [J]. *Genome Biology*, 2005, 6: R581—R588.
- [23] Wang L, Wu C, Zheng Y, et al. Molecular cloning and characterization of chemokine-like factor super family member 1 (CKLFSF1), a novel human gene with at least 23 alternative splicing isoforms in testis tissue [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(8) : 1 492—1 501.

## Characterization of chemokine gene *SCYA126* and its alternative splicing in channel catfish (*Ictalurus punctatus*)

BAO Bao-long<sup>1</sup>, LI Jia-le<sup>1</sup>, WANG Gui-ling<sup>1</sup>, LIU Zhan-jiang<sup>1, 2</sup>

(1. The Key Laboratory Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Ecology (AGRA), Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China; 2. Department of Fisheries and Allied Aquacultures and Program of Cell and Molecular Biosciences, Aquatic Genomics Unit, Auburn University, Auburn, AL 36849, USA)

**Abstract:** High-density BAC DNA filter of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) was initially screened with pooled overgo probes representing 25 CC chemokines, and then dot blot was conducted with the *SCYA126* cDNA probe. Eleven BAC clones containing *SCYA126* gene were identified, one clone of which, 047\_K12, was partially sequenced using primer-walking strategy to obtain the *SCYA126* gene sequence. Analysis of the 2 815 bp sequence of *SCYA126* gene revealed that the gene is comprised of two exons and one intron. The gene encodes 92 amino acids with typical arrangement of the first two cysteines together and a total of four cysteine residues. The upstream of *SCYA126* gene contained a TATA box and some immune-related transcription factor binding sites, such as Ik-1 and Ik-2. In addition to this transcript, an alternative spliced variant of *SCYA126* was identified from the GenBank (accession number BM 029630), previously submitted as an EST sequence. This splice variant would encode a truncated *SCYA126* that may not have the same function as the normal *SCYA126*. Moreover, there was no similar protein of the truncated *SCYA126* found in other organisms. The unspliced mRNA was also detected in spleen and liver tissues using RT-PCR, and its expression level was higher than that of normal spliced *SCYA126* mRNA in this research. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 1—7]

**Key words:** catfish; *Ictalurus punctatus*; chemokine; *SCYA126*; RNA alternative splicing

**Corresponding author:** LIU Zhan-jiang. E-mail: zliu@acesaq.auburn.edu