

中华鲟免疫分子 CD22 的克隆及生物信息学挖掘

来璇^{1,2} 金钰婷^{1,2} 金语嫣^{1,2} 廖志勇^{1,2*}

(¹温州大学生命与环境科学学院,浙江温州 325035; ²浙江省水环境与海洋生物资源保护重点实验室)

摘要 为研究中华鲟免疫分子 CD22 的结构及其可能对应的功能,克隆中华鲟 CD22 cDNA (*CsCD22*),进行生物信息学分析,根据结构推测功能。结果表明,成功克隆中华鲟 CD22 cDNA 序列,该序列全长 1 748 bp,包含 1 个 1 170 bp 的开放阅读框,共编码 389 个氨基酸,包含 3 个 Ig 超家族结构域和 3 个潜在的 N-糖基化位点。综上所述,中华鲟 CD22 分子具有高度保守的结构特征,推测其具有与其他动物 CD22 分子相似的免疫学功能。

关键词 中华鲟;CD22;序列分析;功能预测

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2019)09-0204-03

Cloning and Bioinformatics Mining of CD22, an Immune Molecule of *Acipenser sinensis*

LAI Xuan^{1,2} JIN Yu-ting^{1,2} JIN Yu-yan^{1,2} LIAO Zhi-yong^{1,2*}

(¹ College of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Wenzhou Zhejiang 325035; ² Zhejiang Provincial Key Laboratory of Water Environment and Marine Biological Resources Protection)

Abstract In order to study the structure of CD22 and its possible corresponding functions, the *Acipenser sinensis* CD22 cDNA (*CsCD22*) was cloned and analyzed by bioinformatics. The results showed that the CD22 cDNA sequence of *Acipenser sinensis* was successfully cloned. The full length of the sequence was 1 748 bp and it contained a 1 170 bp open reading frame encoding a total of 389 amino acids, including three Ig superfamily domains and three potential N-glycosylation sites. In summary, the *Acipenser sinensis* CD22 molecule has a highly conserved structural feature and is presumed to have immunological functions similar to those of other animal CD22 molecules.

Key words *Acipenser sinensis*; CD22; sequence analysis; functional prediction

CD 是位于细胞膜上的一类分化抗原的总称,是白细胞(以及血小板、血管内皮细胞等)分化为不同谱系和分化成熟的不同阶段及活化过程中出现的细胞表面标志^[1]。CD22 为 II 型跨膜蛋白,是唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素家族成员^[2]。在哺乳动物体内,CD22 维持 B 细胞抑制的基线水平,以控制体液免疫^[3]。CD22 限制了 BCR 的信号传递,使其在强直信号传递、对病原体的反应和自身免疫的预防之间达到平衡^[4]。

作为 B 细胞受体的抑制性共受体,CD22 对中华鲟 B 细胞激活信号具有负性调节作用,特别是抑制细胞内 Ca²⁺ 信号^[5]。中华鲟免疫分子 CD22 对于控制 B 细胞的信号传导阈值特别是对 B 细胞早期发育起重要调节作用,对其凋亡的调控及阴性选择尤为重要^[6]。此外,能够与包含 2-2,6 连接唾液酸的糖蛋白配体特异性结合,抗原激活 BCR,也使 CD22 胞质区免疫受体酪氨酸抑制基序中的酪氨酸迅速磷酸化,并激活下游信号分子抑制钙离子内流而减弱 BCR 信号。CD22 参与 B 细胞的归巢过程。因 CD22 相对特异地表达于 B 细胞表面,已成为调节 B 细胞免疫以及治疗某些 B 细胞肿瘤的良好靶标^[7]。

中华鲟(*Acipenser sinensis*)在动物分类上隶属于鱼纲鲟形目鲟科鲟属,别名鲟鱼、鳊鱼、苦腊子、鳊等^[8],是上垩纪遗留至今的古老鱼种,已有 1.4 亿年的历史,是我国独有的古老珍稀物种,也是脊椎动物中较原始鱼类,在其身上能够探寻出物种进化的陈迹,中华鲟被人们称为鱼类始祖的“活化石”^[9]。鲟鱼肉质鲜美,营养丰富,具有极高的食用价值与药用价值。中华鲟在食品、科研等方面的大规模应用使其在现代社会中的经济价值逐渐凸显。中华鲟主要分布于我国东

南沿海的大陆架水域和长江中下游的干流内^[9];喜好在粗糙的河床底质产卵,需要有一定速度的水流,对环境条件的要求较高,这是中华鲟在长期进化过程中产生的生态适应^[10]。然而,随着栖息地的减少、环境的恶化,中华鲟新产卵地的有效繁殖种群数量和环境容量减少^[11],许多中华鲟品种面临灭绝的危险。为了保护生态多样性,自 1983 年开始,国家明令禁止对长江中华鲟的商业捕捞,1984 年从葛洲坝下捕捞的中华鲟亲鱼的人工繁殖获得成功,开始人工放流并且持续至今^[12],在这些过程中疾病防治问题不可避免。对中华鲟免疫的研究不仅有利于加强人们对免疫学的了解,还能为中华鲟人工养殖、野生保护过程中出现的疾病防治问题提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验试剂

RNeasy Plus Mini Kit(Qiagen,德国),SMART cDNA library construction kit(Clontech,美国),DH10B Competent cell(Tiagen,北京),Vitagene 96-easy plasmid Miniprep kit(Vitagene,意大利),其他化学试剂均为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 中华鲟脾脏 CD22 基因克隆。于 -80 °C 取出中华鲟脾脏组织,在液氮中充分研磨,称取 100 mg 左右脾脏组织于 1.5 mL 无菌离心管,加入 1 mL TRIpure 充分混匀;FORTEX 涡旋振荡 15 s 充分混匀,于室温静置 5 min,从而保证核蛋白充分裂解;4 °C,最高速 11,000×g 离心 10 min,小心吸取上清至新的无核酸酶离心管中,加 0.2 mL 氯仿,盖紧管盖,涡旋振荡 15 s,室温静置 3 min;4 °C,最高速冷冻离心 15 min,离心后的混合液分为 3 层(由下至上),第 1 层为红色有机苯酚氯仿层(蛋白质),第 2 层为 DNA,第 3 层为无色水样层(RNA);将水样层转移至无核酸酶离心管中,加入等体积异丙醇,上下颠倒混匀 5~10 次,室温静置 10 min;4 °C,最高速

基金项目 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(2018R429034)。

* 通信作者

收稿日期 2019-01-11

11,000xg 冷冻离心 3 min,弃上清;重复离心步骤 1 次,小心用移液枪吸出多余液体;室温静置 3 min,晾干沉淀,加入 50 μL 无核酸酶充分溶解 RNA,利用 NanoDrop 2000 测 RNA 浓度及 OD₂₆₀/OD₂₈₀;抽提的 RNA 于 -70 °C 保存,避免降解。

1.2.2 中华鲟 CD22 cDNA(CsCD22)文库构建。使用 SMART cDNA library construction kit 构建中华鲟脾脏全长 cDNA 文库。将长度大于 500 bp 的 cDNA 片段连接至 pDNR-LIB 载体,转化 DH10B 感受态细胞。随机挑取 cDNA 阳性克隆菌,直接接种于含有 1 mL YT 培养基的 96 孔板中,37 °C 孵育过夜。利用 Vitagene 96-easy plasmid Miniprep kit 抽提菌液中的 DNA,送往上海生工生物公司完成测序工作。使用 T7 引物,从 5' 端测序,筛选中华鲟 CD22 cDNA 序列^[3]。

1.2.3 生物信息学分析。用 Bioxm 软件分析中华鲟 CsCD22 cDNA 序列开放阅读框;通过 SMART(<http://smart.emblhei-delberg.de>)在线分析 CsCD22 功能结构域;通过 <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>在线预测 CsCD22 糖基化位点;通过 NetNGlyc 1.0 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>)在线预测 CsCD22 的磷酸化位点;通过 <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>在线预测 CsCD22 信号肽序列;通过 ExPASy-COILS 进行 CsCD22 的蛋白质卷曲螺旋预测(embnet.vital-it.ch/software/COILS_form.html);利用 BioEdit 软件进行氨基酸同源性比对及保守结构的分析;CsCD22 蛋白空间结构模型由 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/>)在线预测。

2 结果与分析

2.1 CsCD22 cDNA 序列及功能域分析

CsCD22 全长为 1748 bp,其中包括 1 个 65 bp 的 5'非编码区、1 170 bp 的开放阅读框和 488 bp 的 3'非编码区。3'端有 1 个典型的 polyA 尾巴,其上游附近有 1 个加尾信号(AA-TAAA)。CsCD22 的开放阅读框编码 389 个氨基酸(图 1),预测其等电点为 4.78、分子量为 42.8 kDa。同时,其 N 端包含 1 个

(图 2),CsCD22 含有 3 个 Ig 超家族结构域(Ig superfamily),该结构域提供与不同球状结构多肽或化学基团粘附的部位,从而发挥免疫学功能。

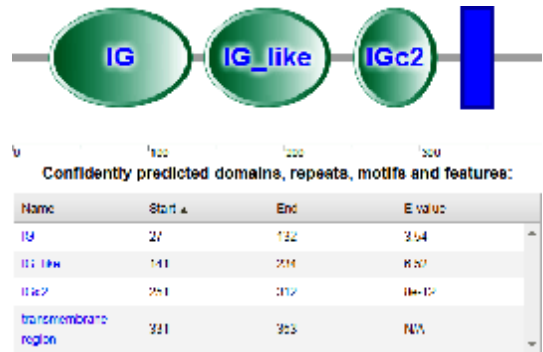


图 2 CsCD22 功能结构域分析

2.2 CsCD22 糖基化位点预测

通过 NetNGlyc 1.0 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>)在线预测 CsCD22 的糖基化位点。结果如图 3、4 所示,96、315、374 位天冬酰胺处的信号超过了临界值,是潜在的糖基化位点。

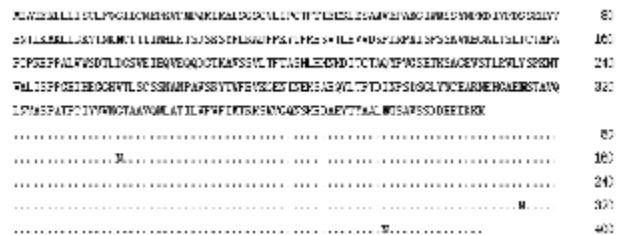


图 3 CsCD22 氨基酸序列中可能的糖基化位点

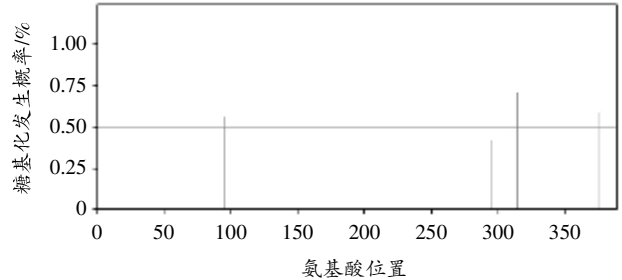


图 4 CsCD22 糖基化位点预测结果

2.3 CsCD22 磷酸化位点预测

引入磷酸基团之后,CsCD22 的分子构象发生变化,造成酶活力的缺失或者获得。磷酸化导致 CsCD22 核内特定基因的表达,成功完成对外界信号的应激性。利用 NetNGlyc 1.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>)在线预测 CsCD22 的磷酸化位点,结果如图 5 所示。

2.4 CsCD22 信号肽序列及蛋白质卷曲螺旋预测

CsCD22 的信号肽位于疏水氨基酸区上游,长约 11 个氨基酸残基。负责把 CsCD22 引导到细胞内不同膜结构的亚细胞器内,这与它跨膜的性质相吻合。利用 Coils Server 在线(https://embnet.vital-it.ch/software/COILS_form.html)进行 CsCD22 蛋白质卷曲螺旋预测,将序列与已知的平行双链卷曲螺旋数据库进行比较,得到相似性得分,并据此算出序列形

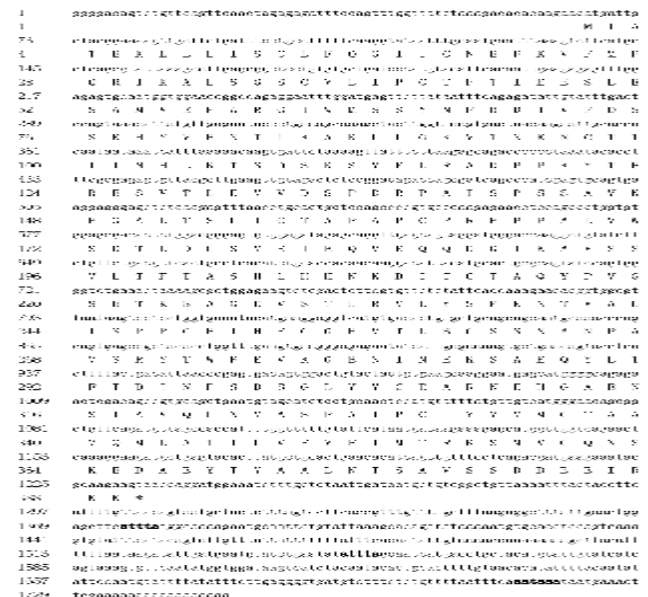


图 1 CsCD22 cDNA 序列及氨基酸序列分析

由 11 个氨基酸组成的信号肽。SMART 在线预测结果显示

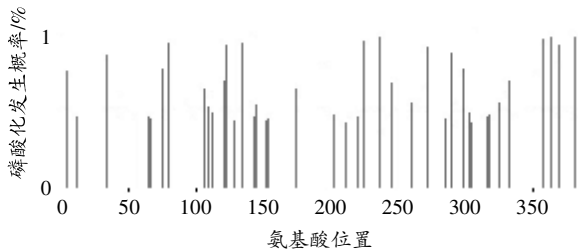


图5 CsCD22 磷酸化位点预测结果

成卷曲螺旋的概率,结果如图6、7所示。在比较过程中,CsCD22的信号并不强烈,只有在氨基酸序列370~395位有微小的峰值,因而推测形成卷曲螺旋的概率较小。

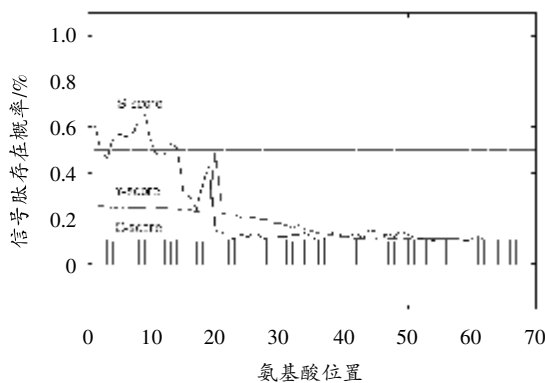


图6 CsCD22 信号肽序列预测结果

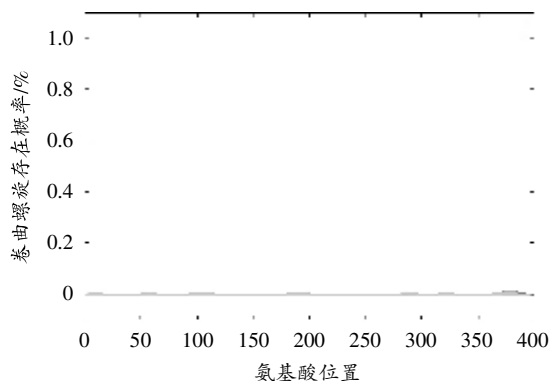


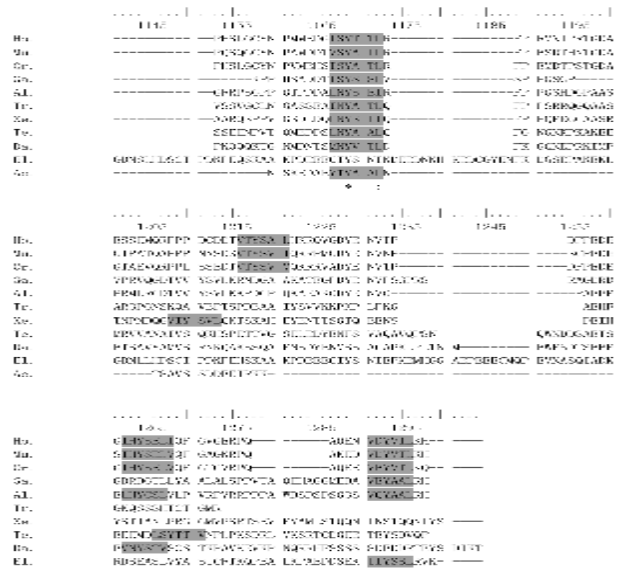
图7 CsCD22 蛋白质卷曲螺旋预测

2.5 CsCD22 三维结构模型分析

CD22 氨基酸多序列比对结果如图8所示,可以看出,CD22 氨基酸在进化过程中是保守的。多物种中具有典型的ITIM 结构域,这与使信号通路上的分子去磷酸化,从而向细胞内传递抑制性信号达到下调细胞的活性作用密切相关,也是 CD22 分子具有免疫活性的关键所在。基于序列保守性这一前提,模拟了 CD22 的三维结构模型(图9)。

3 结论与讨论

通过分子生物学、生物信息学研究手段,鉴定得知 CsCD22 cDNA 全长为 1 748 bp,其开放阅读框有 1 170 bp,共编码 389 个氨基酸。CsCD22 的开放阅读框编码 389 个氨基酸,预测其等电点为 4.78、分子量为 42.8 kDa,包含 3 个 Ig 超家族结构域和 3 个潜在的 N-糖基化位点。生物信息学结果显示,96、315、374 位天冬酰胺是 CsCD22 的潜在糖基化位点。CsCD22 的信号肽位于疏水氨基区上游,长约 11 个氨基酸残



注:Ho 为人;Mu 为家鼠;Or 为家兔;Ga 为鸡;Al 为扬子鳄;Tr 为中华老鳖;Xe 为非洲爪蟾;Te 为日本河豚;Da 为斑马鱼;El 为大象;Ac 为中华鲟。

图8 CD22 氨基酸多序列比对

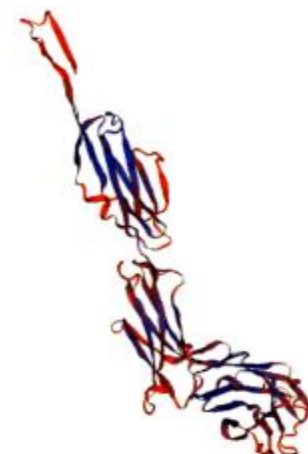


图9 CsCD22 三维结构模型

基。氨基酸多序列对比及功能域分析结果显示,CsCD22 在物种进化过程中高度保守,与其他物种的 CD22 具有较高的同源性,其中具有典型的 ITIM 结构域,这与使信号通路上的分子去磷酸化,从而向细胞内传递抑制性信号达到下调细胞的活性作用密切相关,暗示它们在免疫防御方面的功能可能是相近的。

4 参考文献

- [1] 邓子新,陈峰.微生物学[M].北京:高等教育出版社,2017:245.
- [2] 徐洪来,肖敏,刘强,等.CD22 分子机制的研究进展[J].医学综述,2015,21(15):2720-2722.
- [3] EREÑO-ORBEA,J,SICARD,T,CUI,H,et al.Molecular basis of human CD22 function and therapeutic targeting[J].Nature Communications,2017,8(1):1-11.
- [4] DEPOIL,D,DUSTIN,M L.Agile CD22 nanoclusters run rings around fenced BCR[J].The EMBO Journal,2016,35(3):237-238.
- [5] CHEN,J,WANG,H,XU,W,et al.Besides an ITIM/SHP-1-dependent pathway,CD22 collaborates with Grb2 and plasma membrane calcium-ATPase in an ITIM/SHP-1-independent pathway of attenuation of Ca²⁺ signal in B cells[J].Oncotarget,2016,7(35):56129-56146.
- [6] 葛新顺,廖晓龙.CD22 分子的生物学功能研究进展[J].交通医学,

(下转第 210 页)

又免疫现象,临床症状基本相同。每个血清型又包含若干个亚型。根据世界口蹄疫中心公布,口蹄疫亚型已有 80 多个,且不断有新亚型出现。我国主要有 A、O、亚洲 I 型。口蹄疫病毒对外界环境的抵抗力强、耐干燥,在自然条件下,污染的饲料、饲草、皮毛及土壤中病毒在数日甚至数周内仍有感染性,在-50~-70℃条件下可保存数年;高温和直射阳光(紫外线)对其有杀灭作用;其对酸、碱都特别敏感,2%~4%氢氧化钠、3%~5%福尔马林溶液、5%氨水、0.2%~0.5%过氧乙酸或 5%次氯酸钠等都是口蹄疫病毒的良好消毒剂。②感染对象。在自然条件下,口蹄疫病毒可感染多种动物,以偶蹄动物易感性最高。黄牛、奶牛最易感,牦牛、水牛和猪次之,再次为绵羊、山羊、骆驼等。多种野生动物如黄羊、鹿、野牛、野猪、驼羊、野山羊等均可感染。人对本病有易感性,儿童发病严重,成人较轻。③传染源及感染途径。患病及带毒动物是本病最主要的传染源。本病可经消化道、呼吸道以及损伤的皮肤和黏膜感染。口蹄疫病毒可经直接或间接接触传播。空气也是重要的传播媒介。④潜伏期。口蹄疫发病潜伏期为 1~7 d。其流行有一定周期性,约 3 年流行 1 次。⑤主要症状及发病季节。其临床特征是口腔黏膜、四肢下端及乳房等处皮肤形成水泡和烂斑。该病发病季节不明显,四季均可发病。

5.3.2 疫情形势。安徽省有案可查的口蹄疫疫情共 6 次,即 1932—1933 年、1935 年、1964 年、1970 年、1976—1985 年、1990 年。口蹄疫血清型有 A 型和 O 型。由于各级各地高度

(上接第 203 页)

DPPH、超氧自由基、羟基自由基,具备显著的抗氧化能力^[5];而黄连素也被证实能够降低脂质过氧化、蛋白氧化,具有强抗氧化活性^[6]。结合结果及相关报道,证实了基于 Lorke 法评价油酸、化香果树序及黄连素抗镉减毒活性的方法具有一定的应用价值。

4 参考文献

- [1] YUE Shiqiu, WANG Junran, ZOU Jinhua, et al. Cadmium localization and its toxic effects on root tips of barley[J]. *Zemdirbyste-agriculture*, 2016, 103(2): 151-158.
- [2] STAFFORD A D, ALAN S P, PARAMSOTHY J, et al. Soil cadmium and New Zealand dairy farms: impact of whole-farm contaminant variability on environmental management[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2018, 254: 282-291.
- [3] ZUGRAVU C A, PARVU M, PATRASCU D, et al. Cadmium pollution of some animal origin foods from Brasov and Dambovit County[J]. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 2008, 65(2): 453-458.
- [4] ZHANG Runxiang, WANG Lisha, ZHAO Jianing, et al. Effects of selenium and cadmium on ion profiles in the brains of chickens[J]. *Biological Trace Element Research*, 2016, 174(1): 1-8.
- [5] RAGHUVANSHI R, CHAUDHARI A, KUMAR G N. Amelioration of cadmium-and mercury-induced liver and kidney damage in rats by genetically engineered probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 producing pyrroloquinoline quinone with oral supplementation of citric acid[J]. *Nutrition*, 2016, 32(11/12): 1285-1294.
- [6] SHI L, CAO H, LUO J, et al. Effects of molybdenum and cadmium on the oxidative damage and kidney apoptosis in Duck[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017, 145: 24-31.
- [7] 杨自军. 镉的污染及对动物的危害与防治[J]. *中国动物保健*, 2008(5): 55-60.
- [8] 陈爽, 侯振中, 管延杰, 等. 亚硒酸钠对小鼠的半数致死量测定[J]. *东北农业大学学报*, 2012, 43(3): 91-94.
- [9] 沈洁, 谢海棠, 孙瑞元. 定量药理学: 一个促进药物开发及转换型研究严谨思考的多学科领域[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2008, 13(5): 481-493.
- [10] DIETRICH L. A new approach to practical acute toxicity testing[J]. *Archives of Toxicology*, 1983, 54(4): 275-287.
- [11] 王靖雯, 陈泽娜, 高健, 等. 油酸对小鼠急性镉中毒的缓解作用及镉残留的影响[J]. *生物学杂志*, 2018, 8(24): 1-6.
- [12] 刘莉莉, 林岚, 殷霄, 等. 镉毒性研究进展[J]. *中国职业医学*, 2012, 39(5): 445-447.
- [13] WANG Jingwen, ZHANG Yuanyuan, FANG Zhijia, et al. Oleic acid alleviates cadmium-induced oxidative damage in rat by its radicals scavenging activity[J]. *Biological Trace Element Research*, 2018, 18: 1-6.
- [14] 陈美先. 无机型离子交换树脂去除几种中成药中超标铅镉汞砷的研究[D]. 郑州: 河南大学, 2016.
- [15] 陈易彬, 张益, 陈奎. 化香果树序多糖抗氧化性[J]. *食品科技*, 2010, 35(2): 141-143.
- [16] ZHANG Benjian, XU Dan, GUO Yu, et al. Protection by and anti-oxidant mechanism of berberine against rat liver fibrosis induced by multiple hepatotoxic factors[J]. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology*, 2008, 35(3): 303-309.
- [17] HUANG Z, WANG L. Yangtze Dams increasingly threaten the survival of the Chinese sturgeon[J]. *Curr Biol*, 2018, 28(22): 3640-3647.
- [18] 肖慧. 葛洲坝水利枢纽与珍稀鱼类保护的实践[M]. 黄真. 21 世纪长江大型水利工程中的生态与环境保护. 北京: 中国环境科学出版社, 1998: 199-209.
- [19] 刘榴, 石君玲, 尤修玲, 等. 大鲵泛素结合酶 *cgsUBE2L3* 基因克隆及其在免疫应答中的表达分析[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(22): 93-97.

(上接第 206 页)

2007(1): 24-26.

- [7] 吴剑峰. 中华鲟的过去, 现在和将来[J]. *生物学教学*, 1993(7): 36-38.
- [8] 云文. “活化石”: 中华鲟[J]. *中国钓鱼*, 1995(2): 41.
- [9] 张辉, 危起伟. 命运堪忧的中华鲟[J]. *大自然*, 2016(6): 8-11.
- [10] 常剑波, 曹文宣. 中华鲟物种保护的历史与前景[J]. *水生生物学报*, 1999(6): 712-720.

重视疫苗及佐剂的广泛应用,近年来安徽省没有暴发口蹄疫疫情。

5.3.3 疫病诊断。依据临床症状和病理剖检特点,可初步诊断,确诊需做病毒分离和血清学诊断。病毒分离一般采用组织培养、实验动物和鸡胚 3 种方法。血清学诊断有补体结合试验、乳鼠血清中和试验、免疫扩散沉淀试验、免疫荧光抗体试验、反向间接血凝试验、酶联免疫吸附试验等方法。

5.3.4 疫情防控。①综合防控。一是加强检疫,对购进的动物及其产品、饲料、生物制品等进行严格检疫;二是建立严格规范的消毒制度;三是定期注射防疫疫苗。②疫情处置。发生口蹄疫疫情时,必须依法规范立即处置疫情。最后 1 头病畜死亡或扑杀后 14 d,经彻底消毒后,可报请县级以上人民政府解除封锁。

6 参考文献

- [1] 周维翰. 安徽省畜禽疫病录[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [2] 陈博言. 兽医传染病学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [3] 中国动物疫病预防控制中心. 布鲁氏菌病结核病防控知识问答[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008.
- [4] 李金祥. 人畜共患病释义[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- [5] 王功民, 马世春. 兽医公共卫生[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [6] 中国动物疫病预防控制中心组织. 你问我答话布病[M]. 北京: 化学工业出版社, 2018.
- [7] 世界动物卫生组织. 国际动物卫生法典(2002)[M]. 中国农业出版社, 2003.
- [8] 孔繁瑶. 家畜寄生虫学(修订版)[M]. 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2014.
- [9] 王靖雯, 陈泽娜, 高健, 等. 油酸对小鼠急性镉中毒的缓解作用及镉残留的影响[J]. *生物学杂志*, 2018, 8(24): 1-6.
- [10] 刘莉莉, 林岚, 殷霄, 等. 镉毒性研究进展[J]. *中国职业医学*, 2012, 39(5): 445-447.
- [11] WANG Jingwen, ZHANG Yuanyuan, FANG Zhijia, et al. Oleic acid alleviates cadmium-induced oxidative damage in rat by its radicals scavenging activity[J]. *Biological Trace Element Research*, 2018, 18: 1-6.
- [12] 陈美先. 无机型离子交换树脂去除几种中成药中超标铅镉汞砷的研究[D]. 郑州: 河南大学, 2016.
- [13] 陈易彬, 张益, 陈奎. 化香果树序多糖抗氧化性[J]. *食品科技*, 2010, 35(2): 141-143.
- [14] ZHANG Benjian, XU Dan, GUO Yu, et al. Protection by and anti-oxidant mechanism of berberine against rat liver fibrosis induced by multiple hepatotoxic factors[J]. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology*, 2008, 35(3): 303-309.
- [15] HUANG Z, WANG L. Yangtze Dams increasingly threaten the survival of the Chinese sturgeon[J]. *Curr Biol*, 2018, 28(22): 3640-3647.
- [16] 肖慧. 葛洲坝水利枢纽与珍稀鱼类保护的实践[M]. 黄真. 21 世纪长江大型水利工程中的生态与环境保护. 北京: 中国环境科学出版社, 1998: 199-209.
- [17] 刘榴, 石君玲, 尤修玲, 等. 大鲵泛素结合酶 *cgsUBE2L3* 基因克隆及其在免疫应答中的表达分析[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(22): 93-97.