

文章编号 :1000 - 0615(2006)05 - 0633 - 07

牙鲆 MHC class II B 基因多态性及其与鱼体抗病力关系的分析

张玉喜^{1,2}, 陈松林¹

(1. 中国水产科学院黄海水产研究所农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 山东 青岛 266071;
2. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

摘要 :用 fmhcN1 和 fmhcC1 引物分别从 42 尾感病个体和 42 尾抗病个体的基因组 DNA 中扩增 MHC 基因片段, 扩增产物长度为 268/280 bp。在 268/280 bp 的核苷酸序列中, 有 32 个(11.4%)核苷酸位点是多态的。在其编码的 61 个氨基酸位点中, 有 13 个位点是多态的, 其中有 6 个位点发生在多肽结合位点上。对核苷酸替代的类型及位点进行分析, 发现非多肽结合位点的非同义碱基替代率与同义碱基替代率的比值(d_N/d_S)(0.523)远远小于多肽结合位点的非同义碱基替代率与同义碱基替代率的比值(d_N/d_S)(23.091), 表明氨基酸替换集中出现在 exon2 多肽结合位点上。分析 84 个个体的 411 个阳性克隆的测序结果, 发现有 13 个不同的 MHC class II B 等位基因, 并且分别编码 13 个不同的氨基酸序列。其中大部分等位基因如 *a, b, c, d, e, f, j, k, i, m* 是两个群体共有的, 等位基因 *d* 在感病群体中出现的频率(23.80%)显著高于在抗病群体中出现的频率(7.14%)。而等位基因 *g* 和 *h* 只出现在 13 个抗病个体中, 其频率分别为 21.4% 和 9.52%, 等位基因 *l* 只出现在感病群体中, 其频率为 19.05%。

关键词 :主要组织相容性复合体; MHC II 多态性; 抗病力; 牙鲆

中图分类号 :S 917; S 94

文献标识码 :A

Major histocompatibility complex class II B allele polymorphism and its association with resistance/susceptibility to *Vibrio anguillarum* in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*

ZHANG Yu-xi^{1,2}, CHEN Song-lin¹

(1. Key Lab for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources of the Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
2. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract : 13 different MHC class II B alleles which encoded 13 different amino acid sequences were identified among 411 clones from 42 resistant Japanese flounder individuals and 42 susceptible Japanese flounder individuals using the primer pairs of fmhcN1 and fmhcC1. Among the PCR products of 280(268) nucleotides, 32(11.4%) nucleotide positions were variable. Among the putative 61 amino acid sequence, 13 amino acid positions were polymorphic and 6(46.15%) positions occurred in PBR region. Comparison of the ratio of non-synonymous substitutions and synonymous substitutions(d_N/d_S) in the PBR(23.091) and in the Non-PBR(0.523) indicated that the selection for amino acid replacement occurred mainly at the PBR region. Phylogenetic analysis using MEGA2.0 software showed that the putative 13 MHC class II B amino acid sequences of Japanese flounder assembled together as a cluster firstly. The phylogenetic relationship with the corresponding sequence of striped sea bass was relatively near, and the phylogenetic relationship

收稿日期 2005-11-08

资助项目 :国家重点基础研究发展规划(973)项目(2004B117403); 国家 863 项目(2002AA626010); 国家自然科学基金项目(30413240)

作者简介 :张玉喜(1977-), 女, 山东聊城人, 博士研究生, 主要从事海洋生物学研究。Tel 0532-85844606

通讯作者 :陈松林, E-mail :chensl@ysfri.ac.cn

with that of mammalian, such as with mouse and human, was relatively distant. With analysis of the occurrence percentages about the 13 different alleles in resistant and susceptible stock, most alleles such as Paol-allele * a, Paol-allele * f, Paol-allele * j, Paol-allele * k, Paol-allele * i, Paol-allele * m were commonly found in both stocks. Using Chi-square Test, Paol-allele * d was significantly more prevalent in individuals from susceptible stock than in individuals from resistant stock, and their percentages were 23.80% and 7.14%, respectively. In addition, the Paol-allele * g and Paol-allele * h only occurred in 13 individuals from 42 resistant individuals, and their percentages were 21.4% and 9.52%, respectively. While Paol-allele * l was only found from 42 susceptible individuals, its percentage is 19.05%.

Key words: major histocompatibility complex class II B MHC II polymorphism; disease resistance; *Paralichthys olivaceus*

主要组织相容性复合体(MHC)基因编码细胞表面糖蛋白,编码的糖蛋白能与抗原多肽结合,通过与T细胞的相互作用,形成一个三元复合体,诱导和调节机体的免疫应答,激发机体特异性免疫反应。鱼类的MHC II类分子是由 α 链和 β 链组成的异二聚体。自1990年Hashimoto等在鲤中第一次报道MHC基因,至今几乎对所有脊椎动物的MHC I、II α 和II β 基因进行了研究,如软骨鱼类^[1]、硬骨鱼类^[2,3]、两栖类^[4]、爬行类^[5]、鸟类^[6]和哺乳类^[7]。MHC基因是目前已知多态性最丰富的一个基因系统,存在大量的基因座位,每个基因座位都存在着大量的等位基因,这种多态性导致了每个个体都能结合和呈递相当数量的、与免疫反应有直接功能相关性的多肽,其中多态性位点主要在外显子2上。对不同种类动物的研究表明,MHC II基因存在大量的分子多态性,并且这种多态性与机体的抗病力相关。这一现象在多种脊椎动物,如鸡^[8]、鼠^[9]、羊^[10]、人^[11]和鲑科鱼类中^[12]都有过报道。

牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)是名贵的海产鱼类,也是黄、渤海区适于发展养殖的优良品种之一。目前,水产养殖中高密度集约化增加了病原微生物感染和疾病暴发的机会,给养殖生产带来巨大危害。为了控制疾病的发生,筛选抗病相关基因标记,培育抗病优良品种显得极为重要。为此,近几年来,我们进行了牙鲆抗病品种选育工作,并对牙鲆抗病群体MHC II基因的分子多态性进行了分析,研究了MHC II基因分子多态性与牙鲆抗病力之间的关系,为建立牙鲆抗病分子育种技术奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

牙鲆抗病群体和感病群体,系本实验室采用自然选择和人工选择的方法获得,具体方法参照

文献[13]。具体来说,抗病牙鲆个体是经病原菌-鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)感染后不出现发病症状也一直不死亡的个体;感病牙鲆个体是经病原菌感染后出现腹部肿胀,体色发黑、游动迟缓直至死亡的个体。本研究共用了42尾抗病牙鲆个体和42尾感病牙鲆个体,分别抽取两种牙鲆的血液,迅速转移到-80℃冰箱保存备用。

1.2 引物设计

根据本实验室克隆的牙鲆MHC class II B全长cDNA序列(Gen Bank accession no.: AY848955)^[14],在外显子1和外显子2上设计1对基因特异性引物:fmhcN1(5'-CTCCCTCTTCTTCATCACGGT-3')和fmhcC1(5'-TCCAAACTCAGTGTATCCAACG-3'),用于牙鲆MHC class II B基因的多态性分析。

1.3 DNA提取和PCR扩增

牙鲆血液DNA用Blood Genome DNA Extraction Kit(Takara)试剂盒提取,具体步骤参照Liu等^[13]的方法进行。PCR参照ExTaq PCR试剂盒(Takara)说明书进行。其中正、反引物各添加10 pmol,模板DNA添加量为40 ng,PCR反应总体积为25 μ L。PCR反应条件:94℃ 5 min,94℃ 1 min,55℃ 30 s,72℃ 1 min,共35个循环,最后72℃延伸10 min。所有PCR反应均在PTC-200型PCR仪上进行。

1.4 PCR产物的克隆与测序

100 μ L的PCR产物,经1%的琼脂糖凝胶电泳,切下目的片段,用QIAEX II Gel Extraction Kit(QIAGEN)回收试剂盒进行回收。将回收产物按3:1的比例与pMD18-T(Takara)载体进行连接。连接产物5 μ L用于转化*E. coli* DH5 α ,根据蓝白斑原理,筛选白色菌斑,提取质粒,经BamHI和HindIII双酶切反应和PCR两种方法鉴定含插入片段的质粒。在上海博亚生物工程有限公司用ABI 3730测序仪进行测序。

1.5 序列多态性分析

用 DnaSP 4.0 软件分析碱基替换及颠换,并辅以人工校对,确定变异位点和不同序列。用 Clustal W^[15]进行多序列比较。用 MEGA 2.0^[16]中的邻位相联法(neighbor-joining, NJ)方法构建进化树。用改良的 Nei 和 Gojobori (p-distance)^[17]方法统计非同义碱基替换(d_N)和同义碱基替换(d_S)。用卡方检验(Chi-square Test)各个基因型在抗病群体和感病群体中的分布频率。

2 结果

2.1 MHC class II B 基因多态性分析

本试验共对 84 个个体的 411 个阳性克隆进行了测序,结果表明有 13 种不同的 MHC class II B 核苷酸序列,分别编码 13 种不同的 MHC class II B 氨基酸序列(Paol-allele * a-Paol-allele * m)(图 1)。在 13 种不同的核苷酸序列中,有 5 种不同的内含子 1 序列(图 2),其中有 12 个核苷酸插入/缺失突变,2 个核苷酸转换和 2 个核苷酸颠换。在 84 个个体中,有 59 个个体表现 2 种或 2 种以上不同序列,占总个体数的 70.2%;59 个个体中有 5 个个体表现出 3 个以上的不同序列,占 8.47%;5 个个体中有 1 个个体表现出 5 种不同序列。411 个阳性克隆质粒中的 280/268 bp 外源序列,去除

中间的内含子序列,共编码 61 个氨基酸,通过与人类 MHC class II B 的氨基酸序列比对,确定本研究所得 MHC class II B 基因的氨基酸区段对应位点为 22~82,其中多肽结合位点分别为第 35、37、39、56、58、60、65、66 和第 75 位,有 6 个位点是多态的,占总多肽结合位点的 66.7%。在 280/268 bp 的核苷酸序列中,32 个核苷酸在外显子 1 内,编码 10 个氨基酸,其中未发现有核苷酸变异;96/84 bp 的内含子 1 序列;152 bp 的外显子 2 序列,编码 51 个氨基酸,有 25 个核苷酸变异位点,其中 14 个颠换,10 个转换,1 个既有转换又有颠换。在推测出的编码区内,多态性氨基酸位点 13 个,其中多肽结合位点 6 个,占总多态位点的 46.15%。对核苷酸替换的类型及位点进行分析,发现非多肽结合区域非同义碱基替换与同义碱基替换的比值(d_N/d_S)(0.523)远远小于多肽结合位点的 d_N/d_S (23.091),表明氨基酸替换集中出现在抗原结合区附近(表 1)。用 MEGA2.0^[16]中的邻位相联法(neighbor-joining, NJ)构建进化树(图 3),结果表明 13 个等位基因聚成一个分支,与鲈的同源关系最近,与丽鱼、真鲷同源关系次之,与软骨鱼鲨鱼、小鼠和人的同源关系最远。

	22	32	42	52	62	72	82
Paol-allele*a	SLFFITVCTADGFRYYMVADCEFNSSKLN	IEFTLSFYFNKLEFIRFSSSVGKYVGYTEFG					
Paol-allele*bH...T.....Y.Q.Y.....Y.....Y.....F.....		
Paol-allele*cH...T.....Y.....Y.....Y.....F.....		
Paol-allele*dH.T.T.....Y.E.Y.....KIV.....F.....			
Paol-allele*eLH.V.T.....Y.E.Y.....I.....F.....			
Paol-allele*fH.V.NN.....Y...Y.....I.....F.....			
Paol-allele*gLH.T.NS.....Q.Y.....IV.....				
Paol-allele*hH.T.GS.....Y.E.Y.....KIV.....F.....			
Paol-allele*iLH.V.DS.....YIY.H.....Y.....F.....			
Paol-allele*jF.V.T.....YIY.H.....Y.....				
Paol-allele*kH.T.DS.....YIY.H.....YV.....				
Paol-allele*lLH.A.NS.....Y.Q.Y.....IV.....				
Paol-allele*mH.T.TS.....Y...Y..T.....I.....				
PBR		***		***	**		*
Polymorphic		pp p pp		ppp p	ppp		p

图 1 推测出的 13 种不同的 MHC class II B 核苷酸序列编码的氨基酸序列

Fig.1 Thirteen putative different MHC class II B amino acid sequences

* 示多肽结合位点(PBR) p 示多态位点

The PBR sites were marked with “*”, the polymorphic sites were indicated with “p”

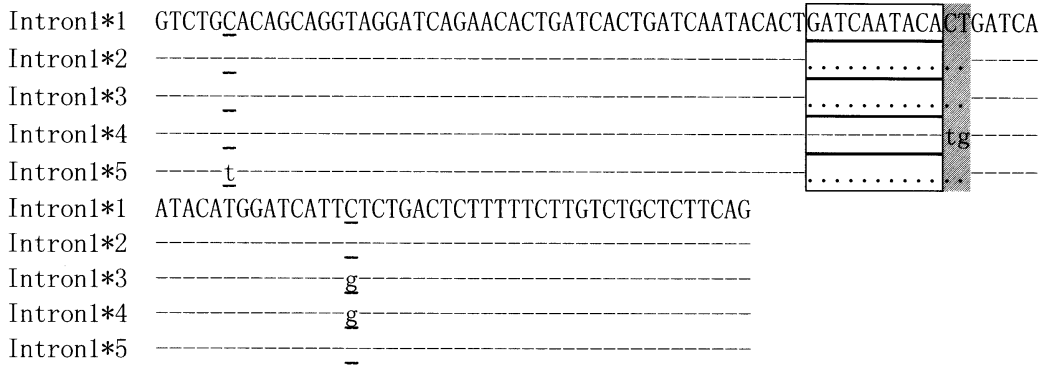


图2 5种不同的内含子1序列

Fig.2 Five different intron1 sequences

方框示插入/缺失突变 阴影示转换；_示颠换

Box denoted insert mutation and deletion mutation ;Shade represented transition and ripple line marked transversion

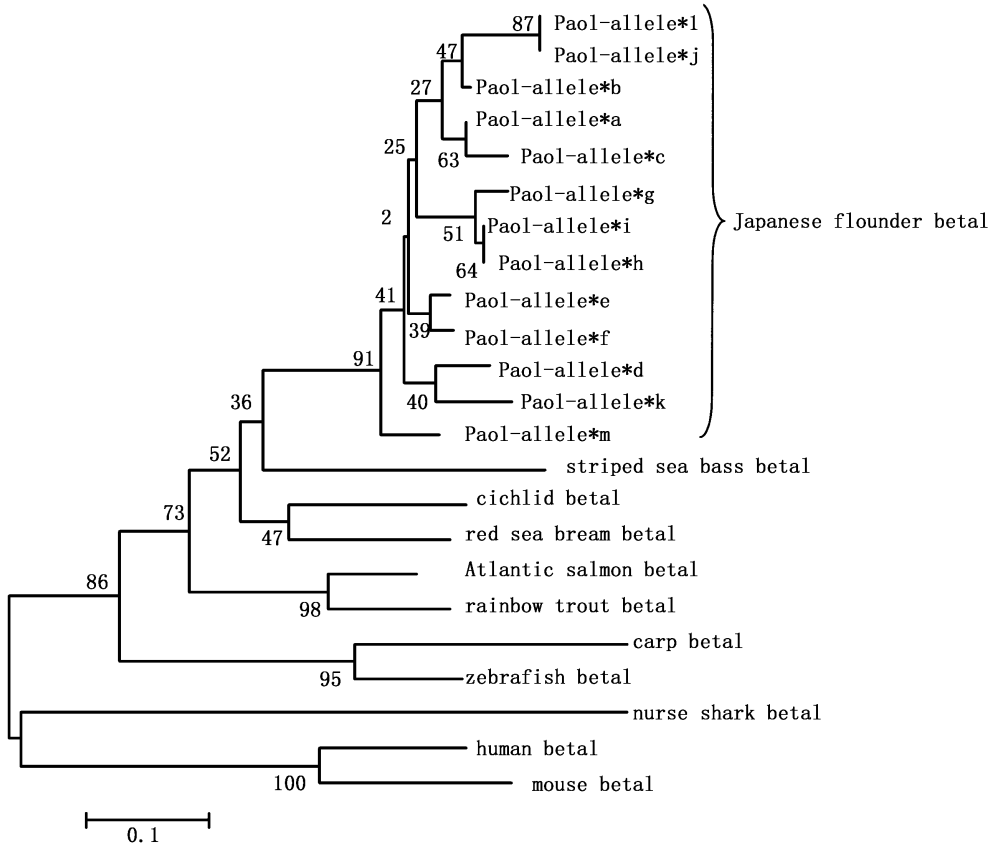


图3 采用邻位相联法，以 MEGA2.0 软件构建系统进化树，表示牙鲆 13 个不同的 MHC class II B 基因型与其他生物对应序列的进化关系

Fig.3 Phylogenetic tree was constructed by neighbor-joining methods using MEGA version 2.0 , which showed the relationship between 13 different MHC class II B alleles of Japanese flounder and the corresponding sequences of other known MHC class II B

表 1 牙鲆 13 个不同的 MHC class II B 外显子 2 序列上的每个核苷酸位点的同义碱基替换 (d_s) 和非同义碱基替换 (d_N) 分析结果

Tab.1 Synonymous (d_s) and non-synonymous (d_N) substitutions per nucleotide of 13 different MHC class II B exon 2 sequences in Japanese flounder

编码区 coding region	编码的氨基酸数目 no. of coding	同义碱基替换 d_s	非同义碱基替换 d_N	d_N/d_s
非多肽结合位点 non-PBR	52	0.065 (0.028)	0.034 (0.014)	0.523
多肽结合位点 PBR	9	0.011 (0.010)	0.254 (0.076)	23.091
共计 total	61	0.040 (0.018)	0.061 (0.017)	1.525

注 括号中数字为标准误差

Notes : S. E. (Standard error) given in parentheses

2.2 MHC class II B 等位基因的多态性及与抗病力的关系

在 13 种不同的氨基酸序列 (Paol-allele * a-Paol-allele * m) 中 , Paol-allele * a-Paol-allele * f 和 Paol-allele * j , Paol-allele * k , Paol-allele * i , Paol-allele * m 是抗病群体和感病群体所共有的。不同等位基因在感病群体分布与抗病群体分布频率示于图 4 , 经卡方检验 (chi-square Test) , 等位基因 d 在感病群体中出现的频率 (23.80%) 显著高于抗病群体中出现的频率 (7.14%) , 而等位基因 g 和 h 只出现在 13 个抗病个体中 , 它们的频率分别为 21.4% 和 9.52% , 等位基因 l 只出现在感病个体中 , 其频率为 19.05% (表 2) 。

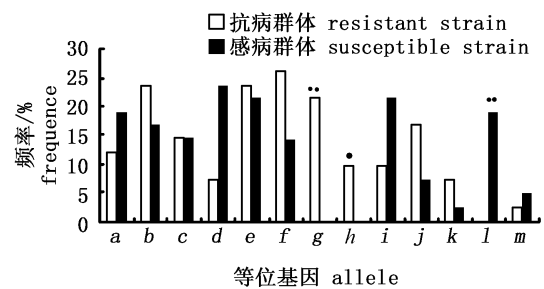


图 4 不同 MHC class II B 等位基因在抗病群体和感病群体中的分布频率

Fig.4 Distribution of 13 different MHC class II B alleles in resistant stock (white bars) and susceptible stock (black bars) of Japanese flounder

* : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$

表 2 不同等位基因在感病群体与抗病群体的分布频率 (%) 及卡方检验

Tab.2 Percentages of the class II B alleles in resistant stock and susceptible stock of Japanese flounder and Chi-square test result (p)

等位基因 Paol-allele *	a	b	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m
抗病群体 resistant stock	11.90	23.80	7.14	23.80	26.19	21.4	9.52	9.52	16.67	7.14	0.0	2.38
感病群体 susceptible stock	19.05	16.67	23.80	21.43	14.29	0.0	0.0	21.43	7.14	2.38	19.05	4.76
卡方检验 p 值 Chi-square (p)	0.3655	0.4152	0.0347*	0.7942	0.1745	0.0015**	0.0404*	0.1315	0.1778	0.3055	0.0029**	0.3795

注 : * 为 $P < 0.05$; ** 为 $P < 0.01$

Notes : * for $P < 0.05$; ** for $P < 0.01$

3 讨论

主要组织相容性复合体基因是脊椎动物体内与机体免疫功能密切相关的一个基因家族 , 是基因组中多态性最丰富的区域之一 , 这表现为群体内相当数量的等位基因和等位基因间的高多态性。Robert 等^[18]指出 , MHC 基因多态性被限制在

明显的功能性位点 , 它主要集中在多肽结合位点 (PBR) 并通过平衡选择保持着。MHC 在此方面的应用潜能依赖于它的两个特征 : 多态性、与疾病的连锁或连锁不平衡。正是因为 MHC 基因在鱼类免疫调节中具有重要意义 , 所以自 1990 年以来 , 各国已对虹鳟^[19]、鲤^[20]、斑马鱼^[21]、大西洋鲑^[22]和鲈^[23]等 30 多种鱼类的 MHC 基因序列进

行了研究,发现 MHC class II B 基因不仅在种间存在多态性,而且种内不同个体间也存在相当丰富的多态性,且多态性多存在于外显子 2 两个半胱氨酸形成的 PBR 位点上。因此可以在细胞外结构域的两个半胱氨酸形成的链内二硫键的上游和下游设计引物,进行 MHC class II B 序列的 PCR 扩增,从而研究牙鲈不同个体之间或不同群体之间的多态性。例如 Grimholt 等^[22]在大西洋鲑的研究中发现了 MHC I 和 MHC II 类基因的多态性与抗病力之间存在密切的联系。本实验室克隆到牙鲈 MHC class II B 基因的全长 cDNA 序列^[14],这为研究牙鲈 MHC class II B 基因多态性及其与牙鲈抗病力的关系奠定了重要基础,本文研究了 84 个牙鲈个体(42 尾抗病个体和 42 尾感病个体)的 411 个阳性克隆,测序结果表明有 13 个不同的 MHC class II B 序列,表现了 MHC class II B 基因的高度多态性,且 84 个个体中有 59 个个体表现 2 种或 2 种以上不同序列,并且其中有一个个体表现 5 种不同的序列,提示这些个体具有较高的杂合度或是这些序列不是来自单一的基因座位,至少存在 3 个不同的基因座位。并且非多肽结合区域非同义碱基替代率与同义碱基替代率的比值(d_N/d_S) (0.523) 远远小于多肽结合位点的 d_N/d_S (23.091) 这表明氨基酸替换集中出现在抗原结合区附近,正向选择起到了促进其多态性增加的作用,而这也是具有抗原呈递作用的蛋白质基因的典型特征^[12,24]。而有关牙鲈 MHC class II B 基因的多态性在种群遗传学和抗病品种筛选方面的研究工作尚有待进一步进行。

MHC 基因在免疫反应中具有重要作用,并且特殊的 MHC II 等位基因与抗病力有关,在鱼类上只在鲑科鱼中有过报道。Palti 等^[12]在虹鳟中利用 SSCP 技术发现 MHC II 等位基因的多态性与对 IHN 病毒的抗性密切相关;Lohm 等^[25]发现大西洋鲑的 MHC 位点也是高度多态的,并且这种多态性的维持依赖于对感染性病原体的依赖性选择,同时,他们还定性地分析了含有不同 MHC 等位基因的大西洋鲑个体在对细菌 *Aeromonas salmonicida* 免疫反应上的不同,发现了 MHC 位点的高度多态性和对病原体的抗病能力之间的相关关系。另外,不同个体之间在发病过程中也存在着差异,这不仅与鱼体自身的状况有关,也可能是由于 MHC 基因的表达产物广泛参与各种外源抗

原的识别,其遗传背景的差异可导致不同个体间抗病能力和自身免疫的差异。本研究初步筛选到 2 个与牙鲈抗病密切相关的基因型,即只出现在抗病个体中的等位基因 *g* 和 *h*,其出现频率分别为 21.4% 和 9.52%,而等位基因 *l* 只出现在感病群体中,其频率为 19.05%,这为进一步筛选牙鲈抗病相关基因标记和利用抗病基因型进行抗病牙鲈的选育奠定了良好基础。

参考文献:

- [1] Bartl S, Weissman I L. Isolation and characterization of major histocompatibility complex class IIB genes from the nurse shark [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1994, 91(1): 262-266.
- [2] Chen S L, Xu M Y, Hu S N, et al. Analysis of immune-relevant genes expressed in red sea bream (*Chrysophrys major*) spleen [J]. Aquaculture, 2004, 240: 115-130.
- [3] Chen S L, Zhang Y X, Xu M Y, et al. Molecular polymorphism and expression analysis of MHC class II β gene from red sea bream (*Chrysophrys major*) [J]. Dev Comp Immunol, 2006, 30(4): 407-418.
- [4] Liu Y, Kasahara M, Rumpfelt L L, et al. Xenopus class II a genes: studies of genetics, polymorphism, and expression [J]. Dev Comp Immunol, 2002, 26: 735-750.
- [5] Grossberger D, Parham P. Reptilian class I major histocompatibility complex genes reveal conserved elements in class I structure [J]. Immunogenetics, 1992, 36: 166-174.
- [6] Wittzell H, Madsen T, Westerdahl H, et al. MHC variations in birds and reptiles [J]. Genetics, 1999, 104: 301-309.
- [7] Trowsdale J. Both man & bird & beast: comparative organization of MHC genes [J]. Immunogenetics, 1995, 41: 1-17.
- [8] Briles W E, Briles R W, Taffs R E, et al. Resistance to a malignant lymphoma in chickens is mapped to subregion of major histocompatibility (B) complex [J]. Science, 1983, 219: 977-979.
- [9] Medina E, North R J. Resistance ranking of some common inbred mouse strains to *Mycobacterium tuberculosis* and relationship to major histocompatibility complex haplotype and Nramp1 genotype [J]. Immunol, 1998, 93: 270-274.
- [10] Paterson S, Wilson K, Pemberton J M. Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1998, 95: 3714-3719.
- [11] Hill A V S, Allsopp C E M, Kwiatkowski D, et al. Common West African HLA antigens associated with protection from severe malaria [J]. Nature, 1991, 352: 595-600.
- [12] Palti Y K M, Nichols K, Waller J E, et al. Association between DNA polymorphisms tightly linked to MHC class II

- genes and IHN virus resistance in backcrosses of rainbow and cutthroat trout [J]. *Aquac* , 2001 , 194 (3 - 4) : 283 - 289 .
- [13] Liu Y G , Chen S L , Li B F . Assessing the genetic structure of three Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) stocks by microsatellite markers [J]. *Aquac* , 2005 , 243 : 103 - 111 .
- [14] 张玉喜 , 陈松林 . 牙鲆 MHC II B 基因 cDNA 克隆及其组织表达特异性分析 [J]. *高技术通讯* 2004 增刊 : 309 - 315
- [15] Thompson J D , Higgins D G , Gibson T J . Clustal W : improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting , positions-specific gap penalties and weight matrix choice [J]. *Nucleic Acid Res* , 1994 , 22 : 4673 - 4680 .
- [16] Kumar S , Tamura K , Jakobsen I , *et al* . MEGA2.0 : molecular evolutionary genetics analysis software [J]. *Bioinformatics* , 2001 , 17 : 1244 - 1245 .
- [17] Nei M , Gojobori T . Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions [J]. *Mol Biol Evol* , 1986 , 3 : 418 - 426 .
- [18] Robert G , Colm O ' hUigin , Vladimir V , *et al* . Trans-species polymorphism of class II Mhc loci in *danio* fishes [J]. *Immunogenetics* , 1996 , 44 : 36 - 48 .
- [19] Glamann J . Complete coding sequence of rainbow trout Mhc II beta chain [J]. *Scand J Immunol* , 1995 , 41 : 365 - 372 .
- [20] van Erp S H M , Egberts E , Stet R J . Characterization of class II A and B genes in a gynogenetic carp clone [J]. *Immunogenetics* , 1996 , 44 (3) : 192 - 202 .
- [21] Sultmann H , Mayer W , Figueroa F , *et al* . Organization of Mhc class II B genes in the zebrafish (*Brachydanio rerio*) [J]. *Genomics* , 1994 , 23 : 1 - 14 .
- [22] Grimholt U , Olsaker I , Lindstrom C V , *et al* . A study of variability in the MHC class II β 1 and class I α 2 domain exons of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Animal Genetics* , 1994 , 25 : 147 - 153 .
- [23] Walker R B , McConnell T J , Walker R A . Variability in an MHC Mosa class II beta chain-encoding gene in striped bass (*Morone saxatilis*) [J]. *Dev Comp Immunol* , 1994 , 18 (4) : 325 - 342 .
- [24] Miller K M , Withler R E . Sequence analysis of polymorphic Mhc class II gene in *Pacific salmon* [J]. *Immunogenetics* , 1996 , 43 : 337 - 351 .
- [25] Lohm J M , Grahn Å , Langefors ϕ , *et al* . Experimental evidence for major histocompatibility complex-allele-specific resistance to a bacterial infection [J]. *Proceedings Royal Society* , 2002 , 269 : 2029 - 2033 .

欢迎订阅 2007 年《水产学报》

《水产学报》是中国水产学会主办、上海水产大学承办的以水产科学技术为主的国家级学术刊物,创刊于 1964 年。主要刊载渔业资源、水产养殖与增殖、水产捕捞、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器以及水产基础研究的论文、简报和综述,并酌登学术动态和重要书刊的评价等。

本刊为双月刊,大 16 开,国内外公开发行。每期定价 25 元,全年定价 150 元(含邮费)。国内统一刊号:CN 31-1283/S;国际标准刊号:ISSN 1000-0615。国内邮发代号:4-297,国外发行代号:Q-387。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅。

编辑部地址:上海市军工路 334 号,上海水产大学 48 信箱,邮编 200090

联系电话和传真:021-65710232。

E-mail: jfc@shfu.edu.cn 或 scxuebao@online.sh.cn