

张建,王济秀,吴晓丽,等. 团头鲂 TYK2 基因的克隆与表达分析 [J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(2): 197-205.

DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.02.021

## 团头鲂 TYK2 基因的克隆与表达分析

张建, 王济秀, 吴晓丽, 刘红

华中农业大学水产学院/农业农村部淡水生物繁育重点实验室, 武汉 430070

**摘要** 以团头鲂为研究对象, 克隆获得酪氨酸激酶 2 (tyrosine kinase 2, TYK2) 基因的 ORF 序列, 该序列长 3 489 bp, 编码 1 162 aa。团头鲂 TYK2 基因包含 23 个外显子和 22 个内含子, 与大多数脊椎动物的基因结构相似。蛋白质结构域预测结果显示, TYK2 包含 4 个结构域: B41、SH2、TyrKc (假激酶区) 和 TyrKc (酪氨酸激酶区)。氨基酸多序列比对和系统进化分析结果均显示, TYK2 在进化过程中非常保守。荧光定量 PCR 结果显示, 在健康成鱼中, TYK2 在中肾的表达量最高, 其次是血液、脾脏和头肾, 在肠道、脑、鳃、心脏、肌肉和肝脏中的表达量较低。感染嗜水气单胞菌后, TYK2 在脾脏和肠中有相似的表达模式: 在感染后 4 h 显著降低并达到最小值, 在 12 h 显著上升且达到最大值 ( $P < 0.05$ ); 在中肾中, 在 24 h 极显著上升且到达最大值, 在 36 h 极显著降低并达到最小值。以上研究结果表明, TYK2 基因在团头鲂抗嗜水气单胞菌感染的过程中发挥着重要的作用。

**关键词** 团头鲂; 酪氨酸激酶 2; 嗜水气单胞菌; 基因表达; 分子克隆; 抗病育种; 抗细菌感染

**中图分类号** S 917; Q 959.46<sup>+</sup>8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)02-0197-09

Janus 激酶/信号转导与转录因子 (the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT) 信号通路是由多种细胞因子<sup>[1]</sup>、干扰素<sup>[2]</sup>、生长因子<sup>[3]</sup>和相关分子<sup>[4]</sup>介导的高度保守的信号通路, 其广泛参与免疫<sup>[5]</sup>、细胞增殖<sup>[6]</sup>、生长、分化、迁移和细胞凋亡<sup>[7]</sup>等过程。JAK/STAT 信号通路由 3 个重要因子组成, 包括细胞表面的受体、JAK 家族成员和 STAT 家族成员<sup>[8]</sup>。JAK 激酶是一种非受体型酪氨酸激酶, 广泛存在于哺乳动物、鸟类、昆虫和鱼类<sup>[9]</sup>, 在哺乳动物中, 包括 JAK1、JAK2、JAK3、TYK2 等 4 个成员<sup>[10]</sup>。TYK2 是 JAK 家族里第一个被鉴定的成员, 被证明在细胞因子转导过程中起着关键作用<sup>[11]</sup>。TYK2 蛋白包含 4 个不同的蛋白结构域: N 端的 B41、SH2、假激酶区和 C 末端的激酶区<sup>[12-13]</sup>。TYK2 被证明对 I 型干扰素介导的通路应答起着重要的作用<sup>[14]</sup>。在之前的小鼠模型的研究表明, 除了 I 型 IFN 和 IL-12 外, TYK2 还对 IL-6 信号的转导也有重要的作用<sup>[15-16]</sup>。在缺失 IFN 的人类细胞系中, 过表达

IFN- $\alpha$  后, 在细胞中鉴定出 TYK2 基因, 表明 TYK2 是 I 型干扰素信号通路的关键成分<sup>[17]</sup>。

目前, 关于 TYK2 的研究涉及的鱼类比较少, 在大西洋鲑 (*Salmo salar*) 中, 过表达 TYK2 增强 IFN 诱导的 *Mx* 基因的转录水平<sup>[18]</sup>; 在草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 的 CIK 细胞中, 过表达受体 CRFB5 能促进 TYK2 蛋白的磷酸化<sup>[19]</sup>; 用一定浓度的瘦素处理黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 肝脏细胞<sup>[20]</sup>和矛尾复虎虾鱼 (*Synechogobius hasta*)<sup>[21]</sup>的肝脏细胞, 都能上调细胞中 TYK2 基因的表达。但关于团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) TYK2 的研究尚未见报道。团头鲂是我国重要的淡水经济养殖鱼类。目前, 由嗜水气单胞菌感染引起的细菌性败血症是团头鲂主要的病害。笔者所在研究室在前期进行的团头鲂其他抗病基因<sup>[22-23]</sup>研究的基础上, 克隆团头鲂的 TYK2 基因, 检测其在健康团头鲂的组织分布情况和感染嗜水气单胞菌后免疫相关组织中的表达情况, 旨在为深入研究 TYK2 在团头鲂抗嗜水气单胞菌感染过

收稿日期: 2020-05-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31972781); 现代农业产业技术体系国家大宗淡水鱼产业技术体系建设专项 (CARS-46-08)

张建, E-mail: 715561702@qq.com

通信作者: 刘红, E-mail: liuhong59@mail.hzau.edu.cn

程中的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验鱼与样品收集

本试验所用的团头鲂均购自湖北百容水产良种有限公司。试验所用幼鱼规格为 45~55 g, 健康成鱼的规格为 480~520 g。将鱼运回华中农业大学水产学院实验基地暂养 2 周, 待其适应环境后, 进行试验。试验随机设置对照组和感染组 2 个处理, 每一处理 3 个生物学重复。为了确定团头鲂 *TYK2* 基因的空间表达模式, 分别采取健康团头鲂成鱼的心脏、肝脏、脾脏、中肾、头肾、脑、血液、肠道、肌肉和鳃等 10 个组织。感染试验中, 用浓度为  $6.7 \times 10^6$  cfu/mL 嗜水气单胞菌对试验鱼进行腹腔注射, 每尾鱼注射 100  $\mu$ L。对照组注射 100  $\mu$ L 的磷酸盐缓冲液。在感染注射后的 0、4、12、24、72 和 120 h 分别采集试验组和对照组的肝脏、脾脏、中肾和肠道组织, 每个时间点每个生物学重复取 5 尾鱼。上述所取样品立即放在液氮中冻存 24 h, 随后保存于  $-80$   $^{\circ}$ C 冰箱待用。

### 1.2 总 RNA 的提取及 cDNA 合成

利用 Trizol 法提取各组织的总 RNA, 具体步骤参考 Trizol 试剂 (Invitrogen) 说明书。用紫外分光光度计 (Nanodrop 2000, 美国) 测定所提取的 RNA 浓度, 另外用琼脂糖凝胶电泳法检测 RNA 的完整度和纯度。将所提取的 RNA 按照 PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent Kit (TaKaRa, 日本) 试剂盒说明书进行反转录, 获得 cDNA 第一条链。

### 1.3 序列验证和生物信息学分析

在 NCBI 数据库 (www.ncbi.nlm.nih.gov) 中搜索获得斑马鱼 *TYK2* 基因的 cDNA 序列, 通过本地

Blast 从实验室已有的团头鲂转录组中获取团头鲂 *TYK2* 基因的序列, 用 ORF Finder (www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder) 分析获得其 ORF 序列。用 Primer premier 6.0 软件设计特异性引物 *TYK2*-ORF-F/*TYK2*-ORF-R (表 1), 以团头鲂中肾 cDNA 为模板, 通过 PCR 扩增目的片段, 利用 DNA 快速回收纯化试剂盒回收 DNA 片段, 之后将 DNA 片段和 Pet-32a 载体在  $37$   $^{\circ}$ C 水浴中双酶切过夜, 再次利用 DNA 快速回收纯化试剂盒, 将上述目的片段和载体回收。取 2  $\mu$ L 目的片段和 1.5  $\mu$ L 的 Pet-32a 载体进行过夜 (12 h) 连接, 转化导入感受态 DH5 $\alpha$  中, 菌液 PCR 验证后, 送武汉擎科生物公司测序。

序列验证正确后, 通过 ORF Finder (www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder) 预测其氨基酸序列, 在线网站 (web.expasy.org/protscale) 分析其蛋白质的理论分子质量, 在线网站 SMART (smart.embl-heidelberg.de/smart) 预测其蛋白质结构域, 用 DNAMAN 软件进行 *TYK2* 蛋白质的多序列对比。最后, 利用 MEGA 6 构建多个物种的 *TYK2* 蛋白质的系统进化树。

### 1.4 荧光定量 PCR

为了检测 *TYK2* 基因在健康团头鲂成鱼中的组织分布情况和嗜水气单胞菌感染后在免疫相关组织中的表达变化, 采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 方法, 选择 18S rRNA 为内参基因, 所用引物见表 1。qRT-PCR 反应体系为 20  $\mu$ L, 包括 SYBR 混合试剂 10  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 7.4  $\mu$ L、上下游引物各 0.8  $\mu$ L、cDNA 模板 1  $\mu$ L。qRT-PCR 程序为:  $95$   $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后  $95$   $^{\circ}$ C 变性 10 s,  $60$   $^{\circ}$ C 退火 20 s,  $72$   $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 共 40 个循环。

表 1 本研究所用的引物信息

Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 (5'→3') Primer sequences (5'→3')	用途 Use
<i>TYK2</i> -ORF-F	GGAATTCATATGATGTCTAGACGAGGACGTACAAGA	ORF 序列扩增
<i>TYK2</i> -ORF-R	CCGGAATTCGCGATGGTTGAGCTGAGC	ORF sequence amplification
m <i>TYK2</i> -q-F	CTGACAAGGTTCCGTATTTCGC	qRT-PCR
m <i>TYK2</i> -q-R	GAGTAGGTTACAGTTTACGGTTT	
18S-F	TCGTCCACCGCAAATGCTTCTA	qRT-PCR
18S-R	CCGTCACCTTACCGTTCCAGT	

### 1.5 数据分析

研究中的所有数据均表示为 3 个独立试验样本的平均值  $\pm$  标准误, 并使用 SPSS Statistics 17.0 和

GraphPad 5.0 软件进行数据分析及做图。采用单因素方差分析和 *t* 检验来检测数据的显著性, 将  $P < 0.05$  描述为统计学差异显著,  $P < 0.01$  描述为统

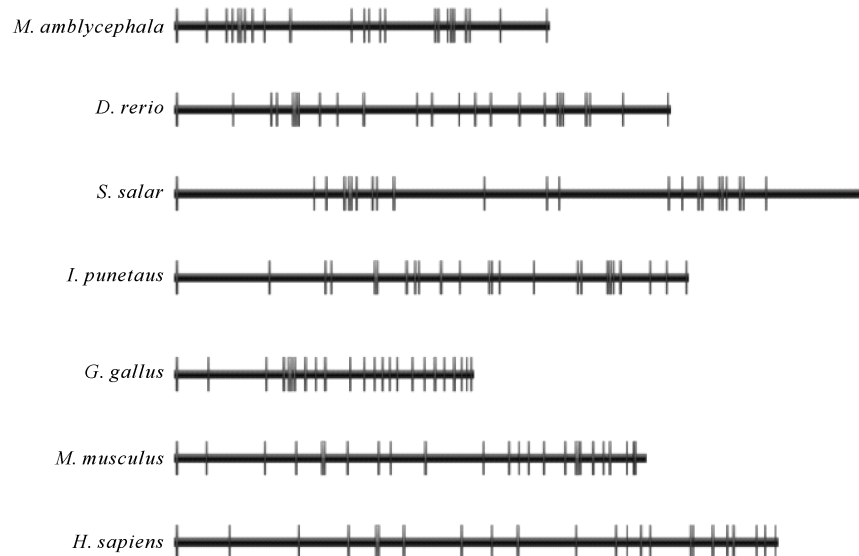
计学差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 团头鲂 *TYK2* 的序列分析

经克隆、测序验证, 获得团头鲂 *TYK2* 基因的 ORF 全长 3 489 bp, 编码 1 162 个氨基酸, 在线网站预测其理论分子质量为 131.7 ku, 理论等电点为 6.86。将团头鲂和斑马鱼、大西洋鲑及人等其他脊椎动物的 *TYK2* 的 ORF 序列与其基因组 DNA 序列进行比对分析, 所对比物种均具有 23 个外显子和 22 个内含子, 且相对应的外显子长度相似, 内含子

大小则差别较大(图 1)。*TYK2* 蛋白的氨基酸多序列比对结果如图 2 所示, 团头鲂和鲤(*Cyprinus carpio*) 相似性最高(85.89%), 其次是草鱼(81.85%)和斑马鱼(78.71%), 最低的是小鼠(47.82%); 所有物种 *TYK2* 蛋白的磷酸化位点一致, 说明其高度保守。*TYK2* 蛋白系统进化分析如图 3, 鱼类的 *TYK2* 聚为一支, 其中团头鲂的 *TYK2* 和草鱼的亲缘性最近, 其次是鲤、斑马鱼和斑点叉尾鲷, 与大黄鱼的亲缘性最远; 另外, 哺乳动物则聚为另外一支。



竖线段表示外显子, 竖线段之间的横线段表示内含子, 竖线段的宽度和横线段的长度表示核苷酸的长度。The vertical lines represent exons, the horizontal lines between them represent introns, and the width and length of the vertical and horizontal lines represent the length of the nucleotide, respectively.

图 1 脊椎动物 *TYK2* 基因结构图

Fig.1 The structure of *TYK2* genes in vertebrates

### 2.2 *TYK2* 在健康团头鲂各组织中的表达

通过 qRT-PCR 检测 *TYK2* 基因在健康团头鲂成鱼不同组织中的分布情况, 结果如图 4 所示。*TYK2* 在中肾中的表达量最高, 其次是血液、脾脏和头肾, 在肠道、脑、鳃、心脏、肌肉和肝脏中的表达量较低。

### 2.3 感染嗜水气单胞菌后团头鲂 *TYK2* 的表达

感染嗜水气单胞菌后, 在团头鲂脾脏中, *TYK2* 的表达在感染后 4 h 极显著下调, 并达到最小值(0.46 倍,  $P < 0.01$ ); 在 12 h 极显著上调, 并达到最

大值(1.78 倍,  $P < 0.01$ ); 之后显著下调。在中肾中, *TYK2* 在感染后 24 h 极显著上调, 并达到最大值(2.22 倍,  $P < 0.01$ ); 在 72 h 显著下调并达到最小值(0.26 倍,  $P < 0.01$ )。在肠道中, *TYK2* 在感染后 4 h 极显著下调表达, 并达到最小值(0.42 倍,  $P < 0.01$ ); 在 12 h 显著上调, 并达到最大值(1.39 倍,  $P < 0.05$ ); 在 72 h 和 120 h 极显著下调。*TYK2* 在免疫相关组织中的表达变化表明, 它可能在团头鲂感染嗜水气单胞菌后的免疫过程中发挥着一定的作用。



**B41**

*M. amblycephala* MLKLTFMELGRQLCGKMKR...QRKAEMTVPTVMKGLIEHYFLPDHQLVEYFKDCHTAEDLQVEAARRCHISPLCHNLFALYEE SQDLWYAPHNHFVITEE 98  
*C. idella* MLKLTVMELGRQLCGKMKR...QRKAEMTVPTVMKGLIEHYFLPDHQLVEYFKDCHTAEDLQVEAARRCHISPLCHNLFALYEE SQDLWYAPHNHFVITEE 98  
*D. rerio* MFLAVLMDLGRQLCVKMKR...QRKAEMTIFTAMKGLIEHYFLADTHQLVEFFRACVYTAEDLQVEAARRCHISPLCHNLFALYEE SQDLWYAPHNHFVITEE 98  
*S. salar* MFSGLVMEGRQLCGKMRFRRAEAGVFTVEMR...GLEHYFLPDHHLFLKDSHTAEHLQVEAARRCYVYSPICNHLGELYDYNQWYAPHNHFVITEE 98  
*C. seilavis* MFTLVMEGRQLCGKMRFRRAEAGVFTVEMR...GLEHYFLPDHHLFLKDSHTAEHLQVEAARRCYVYSPICNHLGELYDYNQWYAPHNHFVITEE 100  
*T. fulvidraco* MFKLVMEGRQLCGKMKR...QRKVELAVPAVMRGLIEFFYTPETHQLEFYFKGCHTAEDLQVEAARRCHISPLCHNLFALYEE SQDLWYAPHNHFVITEE 98  
*P. olivaceus* MPTWVMEGRQLCGKMRKNRAQISSSPTSSWGLEIHYFYPELQLEFYFKG...CFYVELQVDAARRCHISPLCHNLFALYEVGTGIVYFNPFYEFVITEE 99  
*I. punctatus* MFKLVMEGRQLCGKMKR...QRKVELAIPAIMKGLIEHYFLPDHQLVEYFKDCHTAEDLQVEAARRCHISPLCHNLFALYEE SQDLWYAPHNHFVITEE 98  
*L. crocea* MFTLVMEGRQLCGKMRFRRAEAGVFTVEMR...GLEHYFLPDHHLFLKDSHTAEHLQVEAARRCYVYSPICNHLGELYDYNQWYAPHNHFVITEE 87  
*X. laevis* .....MFAFCARMRSSKKELEVDIAARDG...LEVHYFLPKRTATYYPQGEFTAENLQIAAALHGNISPLCHNLFALYENRDIQYSPHNFHIDSN 100  
*G. gallus* MQLVNWEDCKAMAFCAKMRSTRKSEVNLEAQHQGLVFLYIQDKSPICYTSGETSEELQTEAQCKSTISPLCHNLFALFENRRLWYAPHNHFVITEE 100  
*M. musculus* MQLVINIKEDCNAMAFCAKMRSFKTEVQVPEFPGVIEVYLLDREPFLRGSGETAEELQIRAAQCSTISPLCHNLFALYDEKTLWYAPHNHFVITEE 100  
*H. sapiens* MQLVINIKEDCNAMAFCAKMRSSKKELEVDIAARDG...LEVHYFLPKRTATYYPQGEFTAENLQIAAALHGNISPLCHNLFALYENRDIQYSPHNFHIDSN 100

**B41**

*M. amblycephala* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKQGVL...NSQKQPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAPVHTPQSEVELHEIENECLGMAVALATH 197  
*C. idella* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKQGVL...NSQKQPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAPVHTPQSEVELHEIENECLGMAVALATH 197  
*D. rerio* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKQGVL...NSQKQPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAPVHTPQSEVELHEIENECLGMAVALATH 197  
*S. salar* TCIKLYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...GPKRAPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 197  
*C. seilavis* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...GPKRAPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 199  
*T. fulvidraco* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKQG...GCKYDGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAPVHTPQSEVELHEIENECLGMAVALATH 193  
*P. olivaceus* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...GAKQPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAPVHTPQSEVELHEIENECLGMAVALATH 199  
*I. punctatus* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKQG...GCKYDGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAPVHTPQSEVELHEIENECLGMAVALATH 193  
*L. crocea* TNLKLYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...SPQKPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 199  
*X. laevis* VSLNLYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...RDGYD...KRNQPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 185  
*G. gallus* TSQPLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...KLAPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 199  
*M. musculus* TSIRLHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...KRVPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 199  
*H. sapiens* MSLRHYRMRFYFTNHWGTSSESEPVWRHSLSKLGG...KKTPEGTPLDAAISLDYLAQCCYDFLRGLAVVCPQSEAEQHEIENECLGMAVALATH 199

**B41**

*M. amblycephala* HAKGNDLPLSAGAEYSYRRFIDSLNRTIKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 297  
*C. idella* HAKGNDLPLSAGAEYSYRRFIDSLNRTIKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 297  
*D. rerio* HAKSNLPLSAGAEYSYRRFIDSLNRTIKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 297  
*S. salar* YAMREIPLSTASNEISYRRFIEKLNKRIKRNLTIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 297  
*C. seilavis* YNMITSVNP...SNDISYRRFIEKLNKRIKRNLTIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 297  
*T. fulvidraco* HAKSNLPLSAGAEYSYRRFIDSLNRTIKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 293  
*P. olivaceus* YSMNFAIAS...NEISYRRFIEKLNKRIKRNLTIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 295  
*I. punctatus* HAKSNLPLSAGAEYSYRRFIDSLNRTIKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 293  
*L. crocea* YDMKNMGTS...NENSYRRFIEKLNKRIKRNLTIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 296  
*X. laevis* YAMKRNQIHDLPKDIYKHYIPELTKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 285  
*G. gallus* YAMKRNQIHDLPKDIYKHYIPELTKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 299  
*M. musculus* YAMKRNQIHDLPKDIYKHYIPELTKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 299  
*H. sapiens* YAMKRNQIHDLPKDIYKHYIPELTKRNFTHIRINNVRNLFNEFSKTIQDSNITLYDLKVKYLSTLETLTQGLREIPEPKSVKSGSEG 299

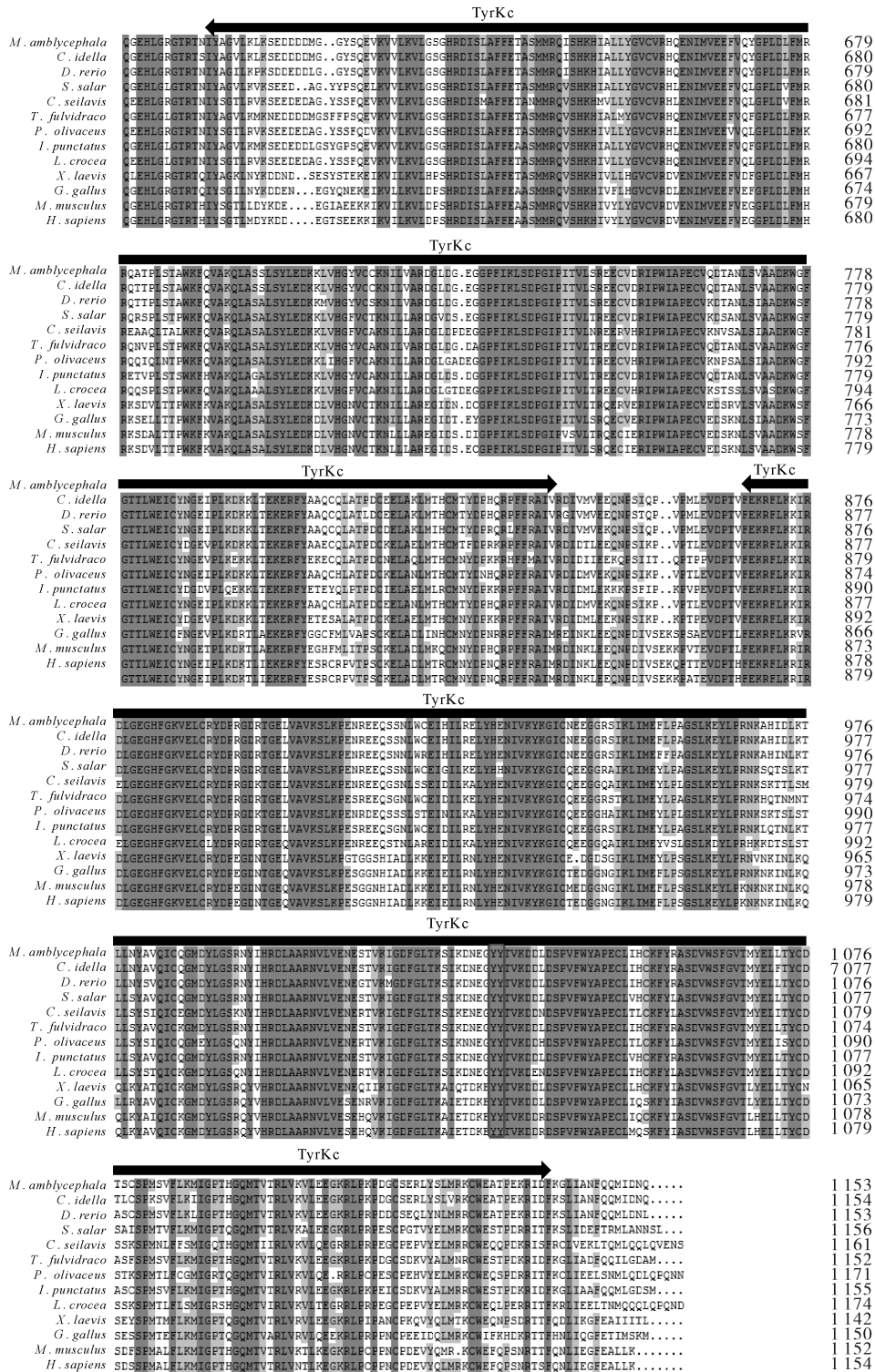
*M. amblycephala* SPT.....HTPLGDDG.....LVYEVQISGTTGISWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...KETGTLSDYEITHTIVIKESONTY 381  
*C. idella* SPA.....HTPLGDDG.....LVYEVQISGTTGISWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...KETGTLSDYEITHTIVIKESONTY 382  
*D. rerio* SPA.....QMLPDGNG.....MGYEVQVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...KDSGTLSDYEITHTIVIKESONTY 381  
*S. salar* MGG.....LSDGFESS.....LAMEVQVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...DTSQVTLSDYEITHTIVIKESONTY 383  
*C. seilavis* SIG...YNGYVQVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...EAYEVQVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK... 387  
*T. fulvidraco* CLT.....HTPGMDEG.....QAYEVQVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...NNNDGMLSDYEITHTIVIKESONTY 377  
*P. olivaceus* ISEGNVYYSQKQGNQSNVVTSHNQLVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...DANDGVVTLSDYEITHTIVIKESONTY 393  
*I. punctatus* SPA.....HTPSMGDEG.....HAYEVQVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...DASNGITLSDYEITHTIVIKESONTY 380  
*L. crocea* CNQGGYVYYSQKQGNQSNVVTSHNQLVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...EADGMLSDYEITHTIVIKESONTY 395  
*X. laevis* NGFN.....NGDYDSMHY.....EVSVTNGVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...IKWTKLSDYEITHTIVIKESONTY 370  
*G. gallus* NRFN.....CGDGEIIFLY.....EVSVTNGVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...KKSCLKIKDEYVTRDLNNSYFPEITHTIVIKESONTY 379  
*M. musculus* SRCH.....SNDGMLY.....EMVVTNGVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...KKSCLKIKDEYVTRDLNNSYFPEITHTIVIKESONTY 385  
*H. sapiens* NWFH.....SNDGMLY.....EMVVTNGVGTGTSWRKHEIPNVLVDRPKSKKNKADNRK...NEK...KKSCLKIKDEYVTRDLNNSYFPEITHTIVIKESONTY 385

**SH2**

*M. amblycephala* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 481  
*C. idella* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAVHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 482  
*D. rerio* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 481  
*S. salar* RQDNIMVQLEFKGALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYANQKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 483  
*C. seilavis* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 486  
*T. fulvidraco* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 477  
*P. olivaceus* RQDNIMEMQMSRAEALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 493  
*I. punctatus* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 480  
*L. crocea* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 495  
*X. laevis* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 470  
*G. gallus* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 479  
*M. musculus* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 485  
*H. sapiens* RQDNIMEIDLRYDAALSEAALVGYFRITVDAHHYLCTEVAFSSVQNLQNGCHGPICTEYAIHKLRQEGNEETVLRWSCDTYNYIIMTVVGCIED 485

**SH2**

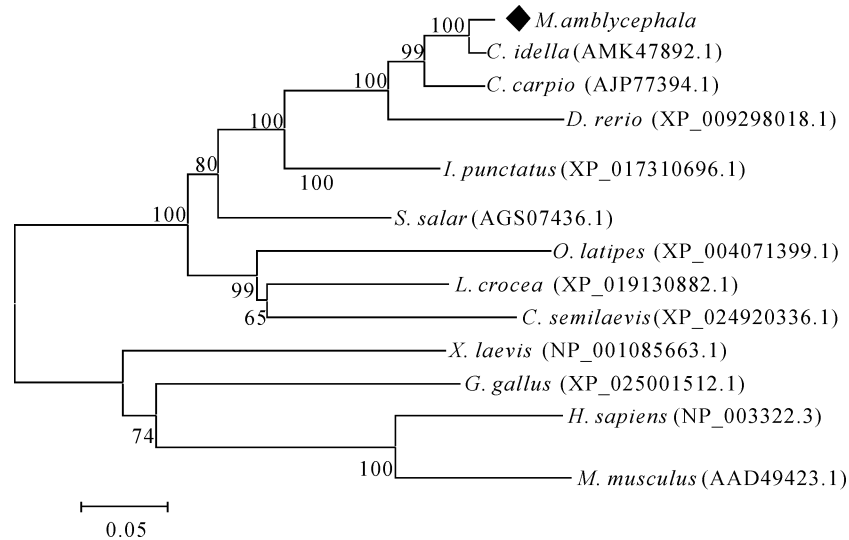
*M. amblycephala* LCESRFVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 581  
*C. idella* LCESRFVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 582  
*D. rerio* LCESRFVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 581  
*S. salar* LCESRFVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 583  
*C. seilavis* LNEPFRVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 582  
*T. fulvidraco* LCQSRVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 577  
*P. olivaceus* PKEFRVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 593  
*I. punctatus* LCQSRVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 580  
*L. crocea* LRESRFVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 595  
*X. laevis* QYDSKCLKYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 569  
*G. gallus* E...MINNSVQYKNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 577  
*M. musculus* E...VLGQKFRNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 583  
*H. sapiens* EQVQGAQKFRNFQIHTSPQGYRFTETFRPTKELLEHLQCGSRLTENLRQLRCCPHQPREISNLLVMTINREPAPQGRQCVSLSHRIKREEIV 584



\* 间隙用短横线表示。所有的氨基酸一致用灰色表示，75%一致用浅灰色表示。方框表示磷酸化位点。\* Gaps are indicated by dashes. Identical amino acids are shaded in gray, and the light gray represent 75% similarity. The square marks the phosphorylation site. 物种登录号：草鱼 *Ctenopharyngodon idella* (AMK47892.1); 斑马鱼 *Danio rerio* (XP\_009298018.1); 大西洋鲑 *Salmo salar* (AGS07436.1); 半滑舌鲷 *Cynoglossus semilaevis* (XP\_024920336.1); 黄颡鱼 *Tachysurus fulvidraco* (ALJ92431.1); 牙鲆 *Paralichthys olivaceus* (XP\_019950262.1); 斑点叉尾鲷 *Ictalurus punctatus* (XP\_017310696.1); 大黄鱼 *Larimichthys crocea* (XP\_019130882.1); 非洲爪蟾 *Xenopus laevis* (NP\_001085663.1); 原鸡 *Gallus gallus* (XP\_025001512.1); 小鼠 *Mus musculus* (AAD49423.1); 人 *Homo sapiens* (NP\_003322.3)。

图 2 团头鲂和其他脊椎动物 TYK2 氨基酸多序列比对

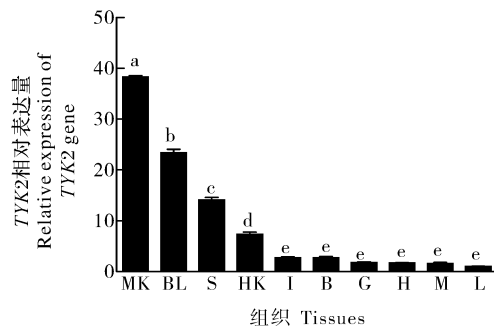
Fig.2 Multiple sequence alignment of TYK2 from blunt snout bream and other vertebrate species



物种名:草鱼 *Ctenopharyngodon idella*, 鲤 *Cyprinus carpio*, 斑马鱼 *Danio rerio*, 斑点叉尾鲷 *Ictalurus punctatus*, 大西洋鲑 *Salmo salar*, 青鳉 *Oryzias latipes*, 大黄花 *Larimichthys crocea*, 半滑舌鲷 *Cynoglossus semilaevis*, 非洲爪蟾 *Xenopus laevis*, 原鸡 *Gallus gallus*, 人 *Homo sapiens*, 小鼠 *Mus musculus*.

图 3 脊椎动物 TYK2 蛋白的系统进化分析

Fig.3 Phylogenetic analysis of TYK2 in vertebrates



MK:中肾 Mid-kidney; BL:血液 Blood; S:脾脏 Spleen; HK:头肾 Head-kidney; I:肠 Intestine; B:脑 Brain; G:鳃 Gill; H:心脏 Heart; M:肌肉 Muscle; L:肝脏 Liver.柱上不同的字母表示显著性差异( $P < 0.05$ ). Different letters above pillar indicate statistically significance ( $P < 0.05$ ).

图 4 团头鲂 TYK2 在健康成鱼组织中的相对表达量

Fig.4 Relative expression of TYK2 gene

in different tissues of healthy adult blunt snout bream

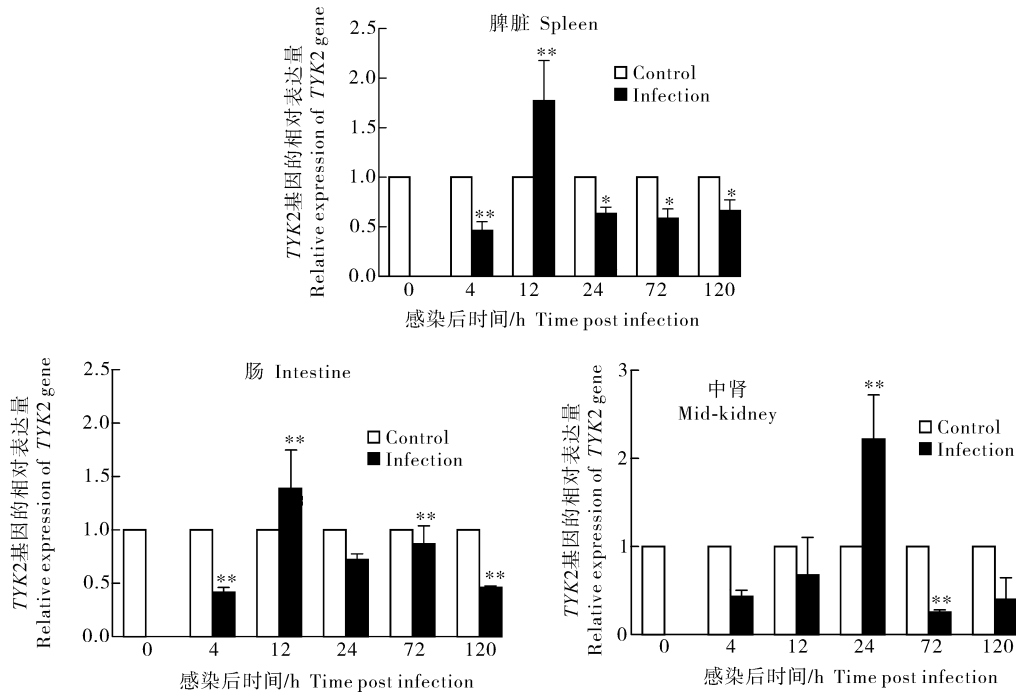
### 3 讨论

基因结构分析显示团头鲂 TYK2 基因由 23 个外显子和 22 个内含子组成,与其他几种鱼类及人等脊椎动物物种的比较发现,不同物种该基因的外显子和内含子数目相同,对应外显子的核酸数目也基本一致,但是内含子大小差异显著,说明 TYK2 基因在进化中高度保守<sup>[24]</sup>。该基因编码 1 162 个氨基酸,含有 4 个蛋白质结构域,B41 结构域、SH2 结构

域、假激酶结构域和络氨酸激酶结构域<sup>[25]</sup>。经过氨基酸多序列比对分析,这些蛋白结构域在不同物种中具有高度的保守性。已有研究发现,JAK 家族蛋白被细胞膜上的受体激活,使 JAK 家族蛋白位于激酶结构域的磷酸化位点被激活,进而激活下游蛋白<sup>[26]</sup>。在系统进化分析中,团头鲂首先与草鱼聚在一起,然后与其他鱼类聚为一支,其他脊椎动物物种则聚为另一支,与其分类地位一致。

健康团头鲂的组织表达结果显示,TYK2 在中肾中的表达量最高,在其他免疫相关组织(脾脏和头肾)以及血液中表达较高,在其他组织中的表达量比较低。类似的,在其他鱼类中,鳊的 TYK2 在心脏、血液和免疫相关组织(鳃、脾脏、肠、中肾和头肾)中的表达量较高<sup>[26]</sup>;在大西洋鲑中,TYK2 在脾脏、头肾和肌肉中高表达<sup>[18]</sup>;在黄颡鱼中,TYK2 在中肾、头肾、脾脏和肠中高表达,而在肌肉中的表达较低<sup>[20]</sup>;在矛尾复虾虎鱼中,TYK2 在脑、心脏和免疫组织(鳃、肠和中肾)中高表达,在肌肉中低表达<sup>[21]</sup>;有趣的是,鲤 TYK2 在皮肤中表达最高,其次是肠和血液,在其他免疫相关组织(脾脏、中肾和头肾)的表达较低,这种表达的差异性可能受鱼体自身及其养殖环境的影响<sup>[27]</sup>。在哺乳动物中,人的 TYK2 基因在淋巴组织和免疫细胞中大量表达<sup>[28]</sup>;在鸭的研究中,TYK2 在组织中广泛表达,在心脏和肝脏的表达量较高,在肌肉和胃中的表达量较低<sup>[25]</sup>。在





\* 显著性差异 ( $P < 0.05$ ) ; \*\* 极显著性差异 ( $P < 0.01$ )。 \* Statistical difference ( $P < 0.05$ ) ; \*\* Extremely statistical difference ( $P < 0.01$ )。

图 5 团头鲂 *TYK2* 基因在嗜水气单胞菌感染后的脾脏、中肾和肠道中的表达

Fig.5 Relative expression of *TYK2* in spleen, mid-kidney and intestine after infection of *A. hydrophila* in blunt snout bream

哺乳动物和鱼类中, *TYK2* 均在免疫相关组织中高表达, 表明其功能和自身的免疫过程可能有一定的关联。

*TYK2* 是一种非受体型络氨酸激酶, 不直接参与物种的免疫过程。在物种免疫过程中, 细胞因子和细胞受体结合形成三聚体将 *TYK2* 磷酸化, *TYK2* 将下游的基因磷酸化, 进而作用于免疫相关的基因<sup>[9]</sup>。

本研究中团头鲂 *TYK2* 基因在中肾、脾脏、头肾和肠的表达量较高, 但感染嗜水气单胞菌后, *TYK2* 在头肾中的表达没有显著性变化, 这可能与头肾的组织特异性或者受到实验环境影响有关。感染嗜水气单胞菌后, 相对于对照组, 团头鲂 *TYK2* 基因在脾脏和肠道中均在 4 h 显著下降并达最小值, 在 12 h 显著性上升并达最大值。在中肾中, 团头鲂 *TYK2* 基因在 24 h 极显著性上调并达最大值, 在 72 h 极显著性下调并达最小值。这说明 *TYK2* 在团头鲂抵抗嗜水气单胞菌的过程中起着重要的作用。在脾脏中, *TYK2* 在 24、72 和 120 h 相对于对照组显著降低, 表达恢复稳定。在中肾和

肠中, 相对于对照组, *TYK2* 达到最大值后, 表达仍在变化, 说明 *TYK2* 可能在肠和中肾的作用时间较长。团头鲂 *TYK2* 基因在中肾中的基因表达量最大值的时间点相对于在脾脏和肠的时间点晚一些, 说明中肾可能在团头鲂抗嗜水气单胞菌的过程中, 作用时间稍晚。另外, 团头鲂 *TYK2* 在肠道中的表达趋势与 *TYK2* 在斑点叉尾鲷的肠道中的表达趋势相似, 表达相对于对照降低<sup>[29]</sup>。 *TYK2* 基因在细胞层面的研究较多, 例如在缺失 *IFN* 的人类细胞系中, 过表达 *IFN- $\alpha$*  后, 在细胞中鉴定出 *TYK2* 基因, 表明 *TYK2* 是 I 型干扰素信号通路的关键成分<sup>[17-18]</sup>。在草鱼 CIK 细胞中, 过表达受体 *CRFB5* 能促进 *TYK2* 蛋白的磷酸化<sup>[20]</sup>。

综上, 本研究克隆获得团头鲂 *TYK2* 基因, 其在进化上有较高的保守性。在健康团头鲂中, *TYK2* 在免疫相关组织(中肾、脾脏和头肾)和血液中的表达量较高; 感染嗜水气单胞菌后, 在免疫相关组织(中肾、脾脏和肠)中均有显著变化。这些结果均说明团头鲂 *TYK2* 基因可能在团头鲂抗细菌感染的免疫过程中发挥着重要的作用。

## 参考文献 References

- [1] BAKER S J, RANE S G, REDDY E P. Hematopoietic cytokine receptor signaling[J]. *Oncogene*, 2007, 26(47): 6724-6737.
- [2] SCHINDER C, PLUMLEE C. Interferons and the JAK-STAT pathway[J]. *Seminars in cell & developmental biology*, 2008, 19: 311-318.
- [3] SIMS N A. Cardiotrophin-like cytokine factor 1 (CLCF1) and neuropoietin (NP) signalling and their roles in development, adulthood, cancer and degenerative disorders[J]. *Cytokine & growth factor reviews*, 2015, 26: 517-522.
- [4] DEY G, RADHAKRISHNAN A, SYED N, et al. Signaling network of oncostatin M pathway[J]. *Journal of cell communication and signaling*, 2013, 7: 103-108.
- [5] WANG X, LUPARDUS P, LAPORTE S L, et al. Structural biology of shared cytokine receptors[J]. *Annual review of immunology*, 2009, 27: 29-60.
- [6] SCHRODER K, HERTZOG P J, RAVASI T, et al. Interferon- $\gamma$ : an overview of signals, mechanisms and functions[J]. *Journal of leukocyte biology*, 2004, 75: 163-189.
- [7] YOUNG H A, HARDY K J. Role of interferon- $\gamma$  in immune cell regulation[J]. *Journal of leukocyte biology*, 1995, 58: 373-381.
- [8] KIU H, NICHOLSON S E. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways[J]. *Growth factors*, 2012, 30: 88-106.
- [9] RAWLINGS J S, ROSLER K M, HARRISON D A. The JAK/STAT signaling pathway[J]. *Journal of cell science*, 2004, 117: 1281-1283.
- [10] YAMAOKA K, SAHARINEN P, PESU M, et al. The janus kinases (jaks)[J]. *Genome biology*, 2004, 5: 1329-1336.
- [11] VELAZQUEZ L, FELLOUS M, STARK G R, et al. A protein tyrosine kinase in the interferon  $\alpha$   $\beta$  signaling pathway[J]. *Cell*, 1992, 70(2): 313-322.
- [12] KREINS A Y, CIANCANELLI M J, OKADA S, et al. Human TYK2 deficiency: mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome[J]. *Journal of experimental medicine*, 2015, 212(10): 1641-1662.
- [13] WALLWEBER H J, TAM C, FRANKE Y, et al. Structural basis of recognition of interferon- $\alpha$  receptor by tyrosine kinase 2[J]. *Nature structural & molecular biology*, 2014, 21(5): 443-448.
- [14] FERRAO R, LUPARDUS P J. The Janus kinase (JAK) FERM and SH2 domains: bringing specificity to JAK-receptor interactions[J/OL]. *Frontiers in endocrinology*, 2017, 8: 71 [2020-05-03]. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00071>.
- [15] WATFORD W T, OSHEA J J. Human tyk2 kinase deficiency: another primary immunodeficiency syndrome[J]. *Immunity*, 2006, 25(5): 695-697.
- [16] MINEGISHI Y, SAITO M, MORIO T, et al. Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity[J]. *Immunity*, 2006, 25(5): 745-755.
- [17] YEH T C, DONDI E, UZE G, et al. A dual role for the kinase-like domain of the tyrosine kinase Tyk2 in interferon- $\alpha$  signaling[J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2000, 97(16): 8991-8996.
- [18] SOBHKEZ M, HANSEN T, ILIEV D B, et al. The Atlantic salmon protein tyrosine kinase Tyk2: molecular cloning, modulation of expression and function[J]. *Developmental & comparative immunology*, 2013, 41(4): 553-563.
- [19] HOU Q H, GONG R Y, LIU X C, et al. Poly I:C facilitates the phosphorylation of *Ctenopharyngodon idellus* type I IFN receptor subunits and JAK kinase[J]. *Fish & shellfish immunology*, 2017, 60: 13-20.
- [20] WU K, TAN X Y, XU Y H, et al. JAK and STAT members of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* and their roles in leptin affecting lipid metabolism[J]. *General and comparative endocrinology*, 2016, 226: 14-26.
- [21] WU K, TAN X Y, XU Y H, et al. JAK family members: molecular cloning, expression profiles and their roles in leptin influencing lipid metabolism in *Synechogobius hasta* [J]. *Comparative biochemistry and physiology part B: biochemistry and molecular biology*, 2017, 203: 122-131.
- [22] 范君, 张锋, 王卫民, 等. 团头鲂补体因子 Bf/C2 的克隆和表达分析[J]. *华中农业大学学报*, 2019, 38(2): 30-37. FAN J, ZHANG F, WANG W M. Cloning and expression of complement factor B and C2(Bf/C2) gene in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2019, 38(2): 30-37 (in Chinese with English abstract).
- [23] 孙千惠, 田万平, 罗航, 等. 团头鲂 hepcidin 基因单核苷酸多态性及与抗病性状的相关性[J]. *华中农业大学学报*, 2019, 38(2): 38-44. SUN Q H, TIAN W P, LUO H, et al. Single nucleotide polymorphisms and its association with disease-resistant trait of hepcidin gene in *Megalobrama amblycephala* [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2019, 38(2): 38-44 (in Chinese with English abstract).
- [24] DING M, FAN J, WANG W, et al. Molecular characterization, expression and antimicrobial activity of complement factor D in *Megalobrama amblycephala* [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2019, 89: 43-51.
- [25] GUAN A, LIU D, YANG J, et al. Molecular cloning and functional characterization of duck TYK2[J/OL]. *Developmental & comparative immunology*, 2020, 102: 103471 [2020-05-03]. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103474>.
- [26] GUO C J, ZHANG Y F, YANG L S, et al. The JAK and STAT family members of the mandarin fish *Siniperca chuatsi*: molecular cloning, tissues distribution and immunobiological activity [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2009, 27(2): 349-359.
- [27] 吴平, 高谦, 刘德立, 等. 鲤 TYK2 基因的克隆鉴定及组织表达分析[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(1): 229-233. WU P, GAO Q, LIU D L, et al. Molecular identification of tyrosine kinase 2



- (tyk2) gene from common carp *Cyprinus carpio* and its expression pattern[J]. *Acta hydrobiologica sinica*, 2015, 39(1): 229-233(in Chinese with English abstract).
- [28] VALENTION L, PIERRE J. JAK/STAT signal transduction: regulators and implication in hematological malignancies[J]. *Biochemical pharmacology*, 2006, 71(6): 713-721.
- [29] JIN Y L, ZHOU T, LI N, et al. JAK and STAT members in channel catfish: identification, phylogenetic analysis and expression profiling after *Edwardsiella ictaluri* infection[J]. *Developmental and comparative immunology*, 2018, 81: 334-341.

## Molecular cloning and expression of *TYK2* in *Megalobrama amblycephala*

ZHANG Jian, WANG Jixiu, WU Xiaoli, LIU Hong

Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Lab of Freshwater Animal Breeding/  
College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** Jak kinase is a non-receptor type tyrosine kinase, which is broadly found in mammals, birds, insects and fish. It is an important factor in Janus kinase/signal transduction and transcription factor signaling pathway, which is widely involved in the processes of immunity, cell proliferation, growth, differentiation, migration and apoptosis. TYK2 is the first member of the Jak family to be identified and has been confirmed to play a key role in cytokine transduction. In this article, the ORF sequence of the *TYK2* gene in *Megalobrama amblycephala* was cloned and analyzed. Results showed that the ORF sequence of the *TYK2* gene in *M. amblycephala* was 3 489 bp in length encoding 1 162 aa. The *M. amblycephala* *TYK2* (*MamTYK2*) is consisted of 23 exons and 22 introns, similar to other vertebrate species. The *MamTYK2* protein is composed of 4 domains including B41, SH2, TyrKc (pseudokinase domain) and TyrKc (tyrosine kinase domain). *TYK2* is highly conserved through evolution. Based on the results of quantitative real-time PCR (qRT-PCR), among healthy adult tissues, *TYK2* is highly expressed in the middle kidney, followed by the blood, spleen, and head kidney, and lowly expressed in other tissues including the intestine, brain, gill, heart, muscle, and liver. After infected by *Aeromonas hydrophila*, the *TYK2* mRNA showed a similar expression pattern in the spleen and intestine: significantly decreased at 4 hpi (hour post infection) ( $P < 0.05$ ) and reached a minimum, and significantly increased at 12 hpi ( $P < 0.05$ ) and reached a maximum. It significantly increased and reached the maximum value at 24 hpi ( $P < 0.01$ ), and significantly decreased and reached the minimum value at 36 hpi ( $P < 0.01$ ) in the mid-kidney. It is indicated that the *MamTYK2* gene may play an important role in the process of *M. amblycephala* resistance against *A. hydrophila*.

**Keywords** *Megalobrama amblycephala*; tyrosine kinase 2; *Aeromonas hydrophila*; gene expression; molecular cloning; breeding for disease resistance; anti-bacterial infection

(责任编辑: 边书京)