

引用格式:王一涵,张宏莉,张慧,等.红嘴鸥 *IRF7* 基因克隆与生物信息学分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2025,54(4):513–521.
WANG Y H, ZHANG H L, ZHANG H, et al. Cloning and bioinformatics analysis of *IRF7* gene in *Larus ridibundus*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2025,54(4):513–521.

红嘴鸥 *IRF7* 基因克隆与生物信息学分析

王一涵, 张宏莉, 张 慧, 马俊蕊, 项 勋, 段 纲, 常 华
(云南农业大学动物医学院, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】探究红嘴鸥(*Larus ridibundus*)干扰素调节因子 7(interferon regulatory factor 7, *IRF7*)基因的相关信息,为研究 *IRF7* 蛋白在抗病毒反应中的功能提供依据。【方法】克隆 *IRF7* 基因,运用 MegAlign 工具和 MEGA 11.0 软件分析其序列,运用 Rare Codon Callor 工具、ProtParam 工具、NetNGlyc 1.0 工具、NetPhos 3.1 工具、TMHMM 2.0 工具、SignalP 4.1 工具、ProtScale 工具、PSORT Prediction 软件、SOPMA 和 SWISS-MODEL 软件分析其编码蛋白的稀有密码子特征、理化性质、N-糖基化位点、磷酸化位点、跨膜区域、信号肽、亲水性、疏水性、亚细胞定位、二级结构和三级结构。【结果】红嘴鸥与三趾鸥(*Rissa tridactyla*)亲缘关系最近,*IRF7* 基因长度为 1 242 bp,*IRF7* 是亲水性蛋白,不属于跨膜蛋白或分泌蛋白,其分子质量约为 46 ku,主要存在于细胞核,无信号肽和跨膜结构域。*IRF7* 二级结构主要由无规则卷曲构成,其三级结构与翻石鹑(*Arenaria interpres*)*IRF7* 蛋白(模型蛋白)的相似性为 78.73%。【结论】*IRF7* 基因的保守性较差。

关键词: 红嘴鸥; 干扰素调节因子 7; 克隆; 生物信息学分析; 病毒防御

中图分类号: S852

文献标识码: A

文章编号: 1671-5470(2025)04-0513-09

DOI: 10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).202409035



开放科学(资源服务)
标识码(OSID)

Cloning and bioinformatics analysis of *IRF7* gene in *Larus ridibundus*

WANG Yihan, ZHANG Hongli, ZHANG Hui, MA Junrui, XIANG Xun, DUAN Gang, CHANG Hua
(College of Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: 【Objective】This study focused on the relevant information of interferon regulatory factor 7 (*IRF7*) gene in *Larus ridibundus*, to provide a basis for the functional study of protein *IRF7* in antiviral response. 【Method】The *IRF7* gene was cloned, and its sequence was analyzed using MegAlign and MEGA 11.0 software. The biological characteristics of protein *IRF7*, including rare codon characteristics, physicochemical properties, N-glycosylation sites, phosphorylation sites, transmembrane regions, signal peptides, affinity, hydrophobicity, subcellular localization, secondary structure and tertiary structure, were analyzed by software like Rare Codon Callor tool, ProtParam tool, NetNGlyc 1.0 tool, NetPhos 3.1 tool, TMHMM 2.0 tool, SignalP 4.1 tool, ProtScale tool, PSORT Prediction, SOPMA and SWISS-MODEL. 【Result】*L. ridibundus* was closest to *Rissa tridactyla* in genetic relationship. The *IRF7* gene was 1 242 bp in length, and encoded a hydrophilic protein *IRF7* which was without signal peptide or transmembrane domain. *IRF7* had a molecular weight of about 46 ku, mainly located in the nucleus, and was predicted to be neither transmembrane protein nor secretory protein. The secondary structure of *IRF7* was mainly composed of random coils, and its tertiary structure was 78.73% similar to the model protein *IRF7* of *Arenaria interpres*. 【Conclusion】The conservation of *IRF7* gene is poor.

Key words: *Larus ridibundus*; interferon regulatory factor 7; clone; bioinformatics analysis; virus defense

红嘴鸥(*Larus ridibundus*)属于鸥形目(Lariformes)鸥科(Laridae)鸥属(*Larus*),是一种广泛分布于全球各大洲的鸟类,其繁殖地主要集中于古北

界区域,随着季节变化,红嘴鸥会南迁至印度及东南亚各国^[1]。在中国,红嘴鸥分布广泛,无论是内陆湖泊还是沿海地带,均可见其身影,是最为常见

收稿日期:2024-09-26 修回日期:2024-12-28

基金项目: 云南省重大科技专项(202302AA310020,202202AE090024); 云南农业大学教育教学改革研究类项目(YNAUKCSZJG2023009); 云南农业大学第二批校级一流本科课程(2021YLKC017); 云南农业大学第四批校级一流本科课程(A1010103001)。

通信作者: 常华(1982—),女,副教授,博士。研究方向:分子生物学。Email:changhuaxx@126.com。

的候鸟种类之一^[2]。1985 年,云南省昆明市凭借得天独厚的自然生态与气候条件,首次迎来大批红嘴鸥的冬季栖息,这些候鸟夜间主要聚集于滇池周边区域,白昼时飞抵昆明市区的大观河、翠湖等水域寻觅食物,其间频繁穿梭于人群之中,形成独特的人鸥共融景象^[3]。昆明红嘴鸥的主要迁徙范围较广,从蒙古国乌布苏湖与吉尔吉斯湖周边水系,直至俄罗斯贝加尔湖南缘,并延伸至中国新疆博斯腾湖流域,展现了跨越国界的迁徙壮举^[3]。红嘴鸥抵达昆明后,展现出广泛的活动区域,也显示出高度的生态适应性。红嘴鸥在野外湖泊与城市湖泊之间的迁徙,极大地增加了其所携带病原体的传播机会,对人类健康产生潜在风险^[4-5]。因此,研究红嘴鸥的迁徙行为及其对生态环境和公共健康的影响具有重要的现实意义。

干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)是核心转录因子家族的重要成员,是 I 型干扰素(interferon- I, IFN- I)及干扰素诱导基因表达的关键调控者^[6]。研究表明,IRF 家族在分子层面展现出多功能性,成为连接多种信号通路及基因表达调控网络的枢纽,涉及免疫、肿瘤发生、代谢、细胞分化和凋亡等多个生物过程^[7]。其中,IRF7 是 IFN- I 对抗病毒感染的重要免疫调节因子^[8],参与抗病毒感染和遏制肿瘤生成等过程^[9]。在免疫反应中,当 Toll 样受体 7(toll-like receptor 7, TLR7)或 Toll 样受体 9(toll-like receptor 9, TLR9)被激活时,IRF7 的表达量显著上调^[10]。在病毒侵袭的情况下,TLR7 与 TLR9 通过依赖髓样分化因子 88(myeloid differentiation primary response 88, MyD88)启动信号传导通路,IRF7 的表达量随着 TLR7 或 TLR9 受体的激活而升高。尽管 IRF7 基因的半衰期较短,但它能够瞬时调控干扰素 α (IFN- α)产生,进而激活干扰素激活因子,加速并强化抗病毒免疫反应^[11-12]。

据报道,鸡的 IRF7 能够诱导 IFN- I 基因表达,促进鸡胚成纤维细胞对新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)的免疫应答及其他转录因子的表达^[13]。由于禽类缺乏干扰素调节因子 3(interferon regulatory factor 3, IRF3),主要通过 IRF7 发挥 IFN- I 的转录激活功能,因此研究鸟类 IRF7 有利于进一步探究其在免疫应答中的重要作用^[14-16]。

目前,家禽 IRF7 基因功能的研究较多^[17-19],但关于野生鸟类,特别是红嘴鸥 IRF7 基因的研究相对较少。红嘴鸥 IRF7 参与干扰素调控的机制尚不明确。

本研究扩增了红嘴鸥 IRF7 基因,并通过生物信息学手段对其进行详尽分析,为深入探讨红嘴鸥 IRF7 蛋白在抗病毒中的具体作用及其潜在的分子机制提供依据,也为理解红嘴鸥乃至更广泛生物体的抗病毒免疫策略提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

鸡外周血淋巴细胞分离试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)、cDNA 反转录试剂盒(北京金全生物技术有限公司)、胶回收试剂盒和质粒小提试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]、RPMI 1640 培养基(Hyclone 公司);凝胶成像系统(GelDoc-It[®] 2310, Haier 公司)、PCR 仪(PTC-1148, Bibby Scientific 公司)。

1.2 RNA 提取

于云南省昆明市翠湖区域采集红嘴鸥的外周血样本,随后进行淋巴细胞分离操作。分离得到的淋巴细胞在 RPMI 1640 培养基中培养 24 h^[20]。培养结束后,利用细胞刮将细胞刮下,并采用氯仿抽提法提取 RNA^[21]。使用琼脂糖凝胶电泳技术对 RNA 进行检测。

1.3 引物设计

根据 GenBank 中红嘴鸥 IRF7 基因全序列(登录号:OR145972),利用软件 Primer 6.0 设计一对特异性引物,将引物序列提交至生工生物工程(上海)股份有限公司进行合成。预扩增片段长度为 1 242 bp,引物序列如下:

F:5'-GGAATTCATGTTTCAATGCGGGAGG-
ACCACT-3'

R:5'-CAAGCTTGTCTAGTCCATCTGCATGCTGT-
ACTGCTCGA-3'

1.4 IRF7 基因的克隆与测序

利用 cDNA 反转录试剂盒将提取的 RNA 逆转录为互补 DNA(complementary DNA, cDNA),并用特异性引物进行扩增。扩增体系:2×PCR Master Mix 12.5 μ L, ddH₂O 9.5 μ L, cDNA 模板 1 μ L, 上下

游引物各 1 μL。反应程序:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 30 s,69 ℃ 退火 50 s,72 ℃ 延伸 1 min,共 35 个循环,72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。采用琼脂糖凝胶电泳技术对扩增产物进行验证。

利用胶回收试剂盒对扩增产物进行回收与纯化。借助 TA 克隆(TA cloning)技术^[21],将经过纯化的 PCR 片段精准地插入到 pMD18-T 载体中,构建重组质粒。将连接产物转化入 DH5α 大肠杆菌感受态细胞中,并在 LB 培养基上过夜培养,随后挑取白色的克隆菌落进行扩大培养。通过菌液 PCR 和双酶切技术(*EcoR* I 和 *Hind* III)初步确认重组质粒的正确性。利用质粒小提试剂盒提取高质量质粒 DNA,并提交至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.5 相似性比对及系统进化树构建

在 NCBI 数据库中对红嘴鸥 *IRF7* 基因序列进行 BLAST 比对,利用 DNASTar 软件中的 MegAlign 工具对选取的 15 个相似性较高的基因序列进行分析^[22]。使用 MEGA 11.0 软件构建系统进化树^[22]。

1.6 *IRF7* 的生物信息学分析

利用 ProtParam 工具([http:// web.expasy.org/ protparam](http://web.expasy.org/protparam))分析 *IRF7* 蛋白的理化性质;利用 NetNGlyc 1.0([https:// services.healthtech.dtu.dk/service.php? NetNGlyc-1.0](https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetNGlyc-1.0))和 NetPhos 3.1 工具([https:// services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/](https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/))预测 *IRF7* 蛋白的 N-糖基化位点和磷酸化位点;运用 ProtScale([https:// web.expasy.org/ protscale/](https://web.expasy.org/protscale/))、SignalP 4.1([https:// services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-4.1/](https://services.healthtech.dtu.dk/services/SignalP-4.1/))及 TMHMM 2.0 工具([https:// services.healthtech.dtu.dk/service.php? TMHMM-2.0](https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0))分析 *IRF7* 蛋白的亲水性、疏水性、信号肽切割位点和跨膜区;采用 Rare Codon Caltor 工具([https:// people.mbi.ucla.edu/sumchan/caltor.html](https://people.mbi.ucla.edu/sumchan/caltor.html))预测 *IRF7* 蛋白的稀有密码子;利用 PSORT Prediction 软件([https:// www.genscript.com/psort.html](https://www.genscript.com/psort.html))进行亚细胞定位;利用 SOPMA([https:// npsa.lyon.inserm.fr/cgi -bin/npsa_ automat. pl? page =/NPSA/npsa_ sopma.html](https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html))和 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/>)软件预测 *IRF7* 蛋白的二级结构和三级结构^[22]。

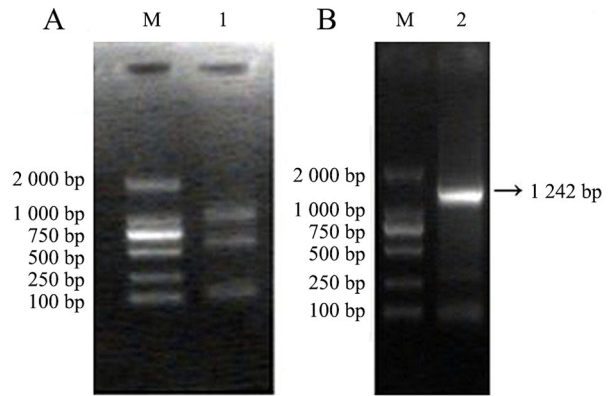
2 结果与分析

2.1 RNA 完整性分析

通过 1%的琼脂糖凝胶电泳检测,观察到 3 个特征性条带(28S、18S 及 5S)(图 1A),证明所提取的 RNA 具有较好的完整性,可用于后续试验。

2.2 *IRF7* 基因克隆及序列分析

通过扩增技术成功获得了与预期大小一致的单目标条带,该条带的长度约为 1 242 bp(图 1B)。经过转化、菌落筛选和测序鉴定后,确认成功克隆出红嘴鸥的 *IRF7* 基因。测序分析显示,红嘴鸥 *IRF7* 基因长度为 1 242 bp,与扩增结果相符。该序列包含 39 个稀有密码子(6 个 CGG、2 个 AGG、1 个 AGA、2 个 GGA、8 个 GGG、18 个 CCC,以及 2 个 ACG)。此外,该基因序列中还发现了一段连续的稀有密码子序列(CGGGGG)。



M.DL2000 DNA 分子标记;1.RNA;2.*IRF7* 基因。
M.DL2000 DNA marker; 1.RNA; 2.*IRF7* gene.
图 1 红嘴鸥淋巴细胞 RNA(A)与 *IRF7* 基因(B)的琼脂糖凝胶电泳检测

Fig.1 Agarose gel electrophoresis of lymphocyte RNA (A) and *IRF7* gene (B) of *L.ridibundus*

2.3 基因序列相似性及进化树分析

红嘴鸥 *IRF7* 基因序列与 GenBank 数据库中的苍鹰(*Accipiter gentilis*)、帝企鹅(*Aptenodytes forsteri*)、烟囱雨燕(*Chaetura pelagica*)、双领鸻(*Charadrius vociferus*)、原鸽(*Columba livia*)、黄爪隼(*Falco naumanni*)、美洲鹤(*Grus americana*)、加州兀鹫(*Gymnogyps californianus*)、美洲角雕(*Harpia harpyja*)、褐拟鹇(*Mesitornis unicolor*)、朱鹮(*Nipponia nippon*)、白腰雪雀(*Onychostruthus taczanowskii*)、阿德利企鹅(*Pygoscelis adeliae*)、棕颈雪雀(*Pyrgilauda ruficollis*)、三趾鸥(*Rissa tridactyla*)的 *IRF7* 基因相似性分别为 74.5%、85.8%、78.2%、82.6%、68.6%、73.8%、73.3%、

75.2%、75.0%、85.2%、89.2%、34.6%、78.4%、68.9%、79.0%(图 2)。其中,与帝企鹅、褐拟鹑、朱鹀相似性较高。进化树显示,红嘴鸥与三趾鸥和双领鸻存在较近的进化关系,与帝企鹅、阿德利企鹅、美洲角雕、

加州兀鹫的亲缘关系较远(图 3)。*IRF7* 基因的相似性和亲缘性之间存在差异,表明该基因的保守性较差,在不同物种间表现出较大差异。

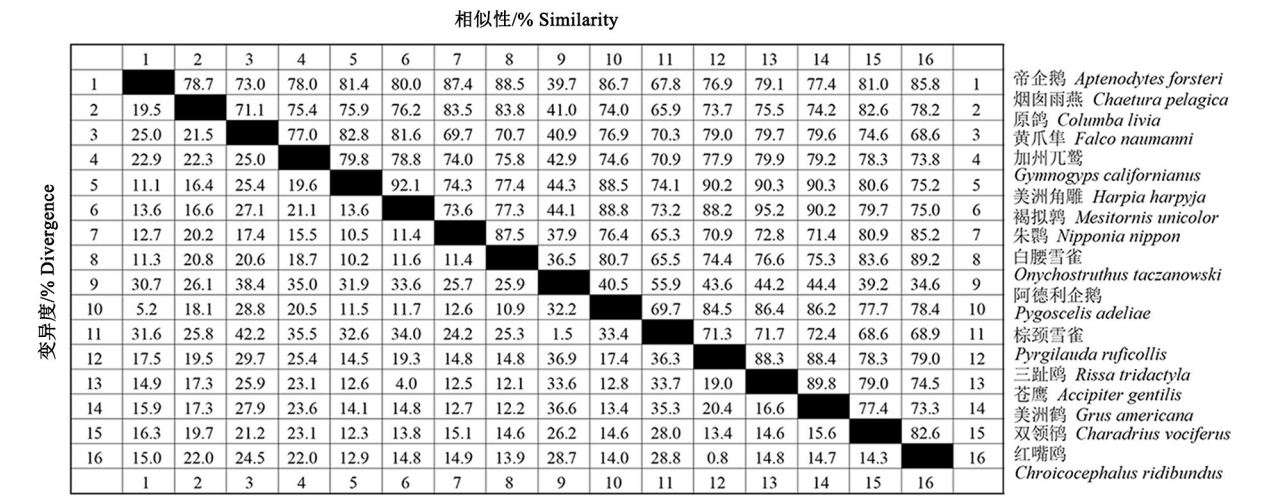


图 2 不同物种间 *IRF7* 基因相似性比对

Fig.2 Similarity comparison of *IRF7* gene between different species

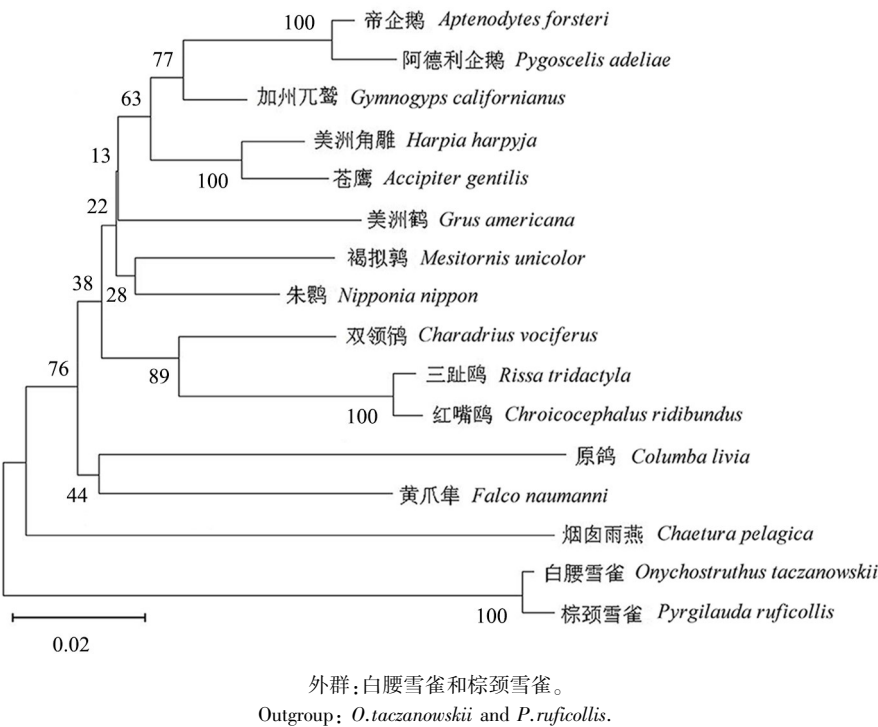


图 3 基于邻接法构建 *IRF7* 基因的系统进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of *IRF7* gene based on neighbour joining

2.4 生物信息学分析

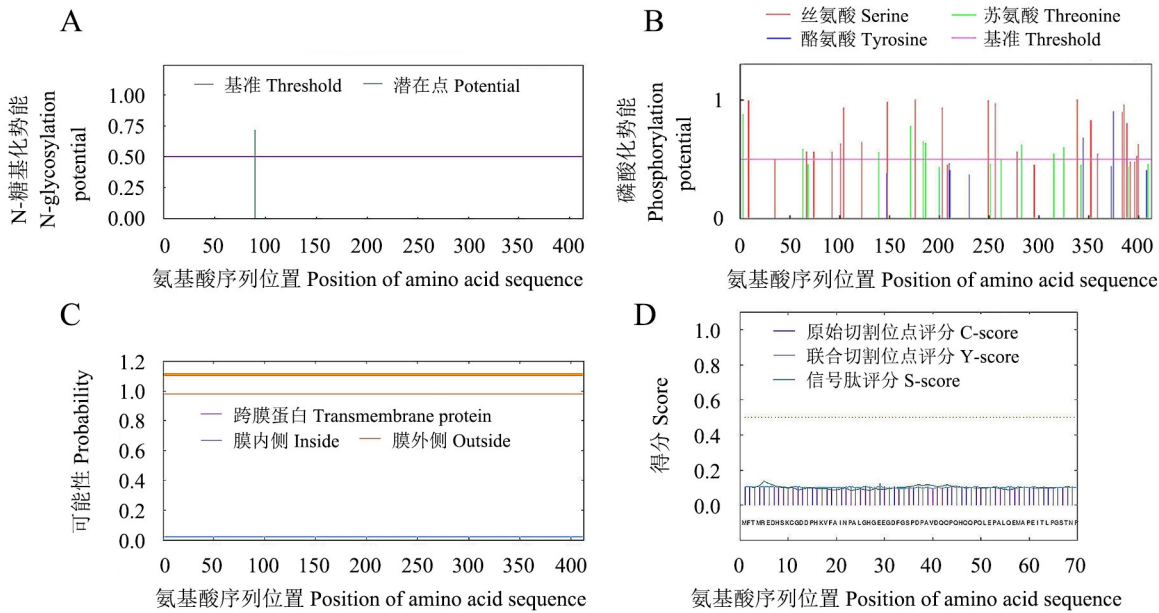
2.4.1 *IRF7* 蛋白的理化性质 *IRF7* 基因长度为 1 242 bp,该序列编码 1 个包含 413 个氨基酸残基的多肽链,其蛋白质分子质量约为 46 ku,理论等电点为 4.79,分子式为 C_{2 058}H_{3 152}N₅₄₈O₆₁₇S₂₁,总原子数为 6 396 个。通过不稳定指数计算,得出值为

58.36(显著高于阈值 40),预测 *IRF7* 蛋白在表达过程中表现出较高的不稳定性。在氨基酸组成中,脯氨酸(Pro)含量为 12.8%,显著高于其他氨基酸;其次是亮氨酸(Leu),含量为 10.9%;谷氨酰胺(Gln)含量为 6.4%;色氨酸(Trp)与酪氨酸(Tyr)的含量分别为 1.2%和 1.9%。

2.4.2 IRF7 蛋白的 N-糖基化位点和磷酸化位点预测 IRF7 蛋白结构的关键特征是其氨基酸序列第 90 位存在 1 个 N-糖基化修饰位点(图 4A)。此外,IRF7 蛋白具有丰富的磷酸化修饰潜力,共识别 32 个磷酸化位点。其中,有 21 个丝氨酸磷酸化位点,分别位于 9、67、74、92、101、104、122、148、176、203、249、256、278、338、352、359、384、385、388、398、400 位氨基酸处。酪氨酸磷酸化位点有 2 个,位于 344 位和 375 位氨基酸处。苏氨酸磷酸化位点有 9 个,

分布在 3、63、139、171、184、186、283、315、325 位氨基酸处(图 4B)。

2.4.3 IRF7 蛋白的跨膜区和信号肽位点预测 通过对 IRF7 蛋白多肽链结构的预测,得出预测值为 0,说明 IRF7 蛋白不包含跨膜区域(图 4C),进一步支持其作为非跨膜蛋白的特性。使用 SignalP 4.1 工具进行分析,结果显示,IRF7 蛋白序列中未检测到信号肽切割位点(图 4D)。



A.N-糖基化位点预测;B.磷酸化位点预测;C.跨膜区预测;D.信号肽切割位点预测。

A.N-glycosylation site prediction; B.Phosphorylation site prediction; C.Transmembrane region prediction; D.Prediction of signal peptide cleavage site.

图 4 IRF7 蛋白的 N-糖基化位点、磷酸化位点、跨膜区和信号肽切割位点预测

Fig.4 Prediction of N-glycosylation site, phosphorylation site, transmembrane region and signal peptide cleavage site of protein IRF7

2.4.4 IRF7 蛋白的亲水性与疏水性分析 IRF7 蛋白包含 7 个疏水性区域和 14 个亲水性区域。疏水性区域主要分布在 82~89、171~186、203~209、224~233、264~271、289~295、387~406 位氨基酸处。其中,第 269 位的丙氨酸(Ala)是疏水性最强的氨基酸,值为 1.878。亲水性区域主要位于 5~19、25~54、64~74、90~100、103~134、164~170、187~202、212~223、242~263、272~280、298~318、322~341、350~359、371~386 位氨基酸处。其中,第 45 位的谷氨酰胺(Gln)和第 46 位的组氨酸(His)是亲水性最强的氨基酸,值为-3.044。在多肽链构象中,亲水性区域占据主导地位,其数量明显超过疏水性区域,说明 IRF7 蛋白属于亲水性蛋白(图 5)。

细胞质,分别占 21.7%和 8.7%。

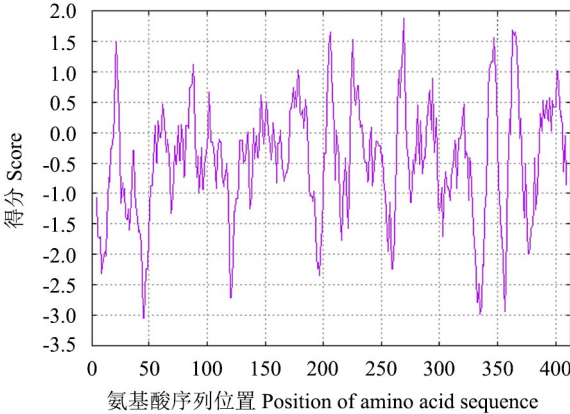


图 5 IRF7 蛋白的亲水性与疏水性预测

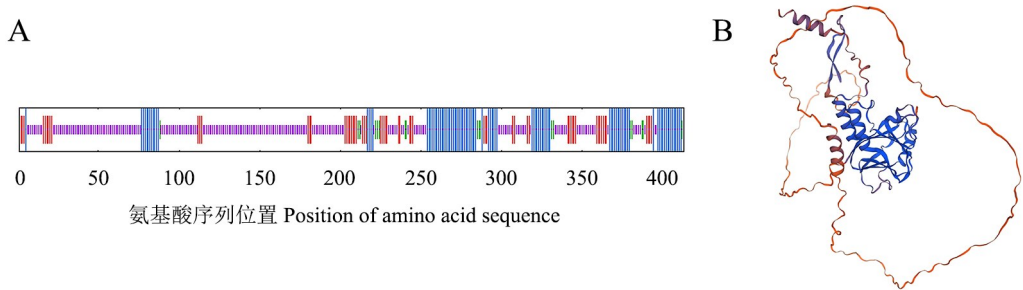
Fig.5 Prediction of affinity and hydrophobicity of protein IRF7

2.4.5 IRF7 蛋白的亚细胞定位 IRF7 蛋白主要分布在细胞核内,占比高达 69.6%。其次是线粒体和

2.4.6 IRF7 蛋白的二级结构和三级结构预测 二级结构预测结果(图 6A)显示,IRF7 蛋白的 α -螺旋

构象占 23.00%,无规则卷曲占据主导地位,占比高达 57.63%,延伸链和 β -转角分别占 15.01% 和 4.36%。三级结构预测结果(图 6B)显示,其主体结构也以无规则卷曲为主,这与二级结构的预测结果

高度一致。此外,该预测模型与翻石鹬(*Arenaria interpres*) IRF7 蛋白在结构上表现出高度相似性,相似度为 78.73%。



A 图内蓝色代表 α -螺旋;绿色代表 β -折叠;紫色代表无规则卷曲;红色代表延伸链。
Blue represents α -helix; green represents β -turn; purple represents random coil; red represents extended chain in figure A.

图 6 IRF7 蛋白的二级结构(A)和三级结构(B)预测

Fig.6 Prediction of secondary (A) and tertiary (B) structure of protein IRF7

3 讨论

红嘴鸥携带多种病原体,这些病原体在迁徙过程中对人畜健康构成潜在威胁^[23]。因此,深入探究红嘴鸥的抗病毒机制具有重要意义。

IRF(干扰素调节因子)家族在抗病毒免疫应答中扮演着关键角色,尤其是在调控 IFN- I 生成方面。家族中除了 IRF6,其他成员都参与了 IFN 的表达调控,并在免疫系统中发挥多重功能^[24]。IRF7 被认为是其中最为关键的成员,它在调控 IFN- I 的生成和依赖于 IFN 的免疫应答中起核心作用。研究表明,IRF7 缺失的小鼠对病毒的易感性更高,显示了 IRF7 在抗病毒中的重要性^[25]。此外,IRF7 还调控其他病毒诱导的细胞因子的表达,如调节激活正常 T 细胞表达分泌因子(regulated upon activation normal T cell expressed and secreted, RANTES)等,增强宿主的抗病毒免疫应答。

多种病毒模型,如 4 型禽腺病毒^[26]、传染性法氏囊病毒^[27]、马立克氏病病毒^[28]以及新城疫病毒^[29],均验证了 IRF7 的抗病毒效能,这些病毒感染导致 IRF7 基因表达上调。然而,鸭 PIAS2 蛋白与 IRF7 蛋白相互作用抑制 IRF7 诱导的 INF- β 启动子激活,从而负向调控 IRF7 的抗病毒功能,抑制 RIG- I 触发的天然免疫应答^[30]。这说明 IRF7 是宿主抗病毒机制中的重要调控因子,其功能性缺失会显著减弱宿主的抗病毒能力。

研究表明,IRF7 基因长度在不同动物之间存在显著差异。例如:鸡 IRF7 基因全长为 1 495 bp,

编码 491 个氨基酸^[31];鸭 IRF7 基因全长为 1 536 bp,编码 512 个氨基酸^[32]。而红嘴鸥 IRF7 基因长度为 1 242 bp,较鸡和鸭更短,这反映了物种间的遗传多样性,并暗示鸟类 IRF7 基因长度可能存在进一步的变异。相似性分析显示,红嘴鸥 IRF7 基因与帝企鹅、褐拟鹑和朱鹀的 IRF7 基因具有较高的相似性,分别为 85.8%、85.2%和 89.2%。说明这些物种之间的 IRF7 基因可能具有相似的生物学功能。然而,进化树分析显示,红嘴鸥与三趾鸥和双领鸽的亲缘关系较近,这表明 IRF7 基因的保守性较差。

红嘴鸥 IRF7 基因中有 39 个稀有密码子,并包含 1 个连续的稀有密码子序列,这可能会降低外源基因表达效率和产物产量。因此,在后续的体外表表达试验中,为了提升 IRF7 蛋白的表达量,需要优化表达条件,并慎重选择高效表达载体或宿主菌^[20]。

红嘴鸥 IRF7 蛋白定位于细胞核内,与鸭的 IRF7 蛋白^[33]相同,由于缺乏信号肽和跨膜结构域,推测其为胞内蛋白,主要在合成部位存在并发挥功能。此外,红嘴鸥 IRF7 蛋白还包含一个 N-糖基化修饰位点和 32 个磷酸化位点。糖基化在蛋白质的生物合成、转运及定位过程中起关键作用^[34],N-糖基化位点的变异能够增强或减弱细胞及体液免疫反应,而磷酸化则参与细胞信号传导、基因表达调控和细胞分裂等生理活动^[35]。推测这些修饰在红嘴鸥 IRF7 蛋白的抗病毒功能中发挥重要作用。后续可进一步分析这些修饰位点的动态变化,以解析

其在抗病毒过程中的作用机制。

在 *IRF7* 蛋白的二级结构方面,红嘴鸥与双领鸱均以无规则卷曲为主。在 *IRF7* 蛋白的三级结构方面,红嘴鸥与翻石鹀(模型蛋白)相似性为 78.73%,双领鸱与其 *IRF3* 蛋白(模型蛋白)的相似性为 95.52%。因此,*IRF7* 蛋白结构稳定性较差,亲缘较近的物种间二级结构一致性较高,可能具有相似生理功能。三级结构也具有一定相似性,可以推测红嘴鸥与双领鸱 *IRF7* 蛋白在免疫应答中具有相似的功能且替代了 *IRF3* 蛋白的相关免疫功能。

综上所述,深入分析红嘴鸥 *IRF7* 基因序列和蛋白质预测结果,为构建其原核表达系统提供基础。这将有助于提高蛋白表达效率,为科学研究提供试验数据与理论支撑,并为后续探讨红嘴鸥 *IRF7* 蛋白的抗病毒作用机制奠定基础。

参考文献 (References)

- [1] 陈秀,何江波,任祺,等.昆明越冬红嘴鸥粪便潜在病原细菌及耐药基因与毒力因子组成[J].微生物学通报, 2024, 51(6): 1898–1916. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.231072.
- CHEN X, HE J B, REN Z, et al. Potential pathogenic bacteria, antibiotic resistance genes, and virulence factors from the feces of *Chroicocephalus ridibundus* overwintering in Kunming[J]. Microbiology China, 2024, 51(6): 1898–1916. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.231072.
- [2] 郑光美.中国鸟类分类与分布名录[M].2版.北京:科学出版社,2011.
- ZHENG G M. A checklist on the classification and distribution of the birds of China[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2011.
- [3] 梁良,姜志诚,王方,等.中国红嘴鸥研究进展[J].野生动物学报, 2019, 40(2): 484–490. DOI: 10.19711/j.cnki.issn2310-1490.2019.02.032.
- LIANG L, JIANG Z C, WANG F, et al. Research on black-headed gull in China[J]. Chinese Journal of Wildlife, 2019, 40(2): 484–490. DOI: 10.19711/j.cnki.issn2310-1490.2019.02.032.
- [4] AHLSTROM C A, VAN TOOR M L, WOKSEPP H, et al. Evidence for continental-scale dispersal of antimicrobial resistant bacteria by landfill-foraging gulls[J]. Science of the Total Environment, 2021, 764: 144551. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.144551.
- [5] LIN Y F, DONG X H, SUN R, et al. Migratory birds—one

- major source of environmental antibiotic resistance around Qinghai Lake, China[J]. Science of the Total Environment, 2020, 739: 139758. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139758.
- [6] 曹永浩,张仕坚,周元聪.干扰素调节因子家族和免疫调控[J].生命的化学, 2006, 26(5): 387–389. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1336.2006.05.001.
 - CAO Y H, ZHANG S J, ZHOU Y C. IRF family and immune regulation[J]. Chemistry of Life, 2006, 26(5): 387–389. DOI: 10.3969/j.issn.1000-1336.2006.05.001.
 - [7] MA W, HUANG G, WANG Z, et al. IRF7: role and regulation in immunity and autoimmunity[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1236923. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1236923.
 - [8] NING S, PAGANO J S, BARBER G N. IRF7: activation, regulation, modification and function[J]. Genes and Immunity, 2011, 12(6): 399–414. DOI: 10.1038/gene.2011.21.
 - [9] NAM S, LIM J S. Essential role of interferon regulatory factor 4 (IRF4) in immune cell development[J]. Archives of Pharmacal Research, 2016, 39(11): 1548–1555. DOI: 10.1007/s12272-016-0854-1.
 - [10] WANG Z X, NING Z Y, SUN M H, et al. Interferon regulatory factor 7-(IRF7-) mediated immune response affects *Newcastle disease virus* replication in chicken embryo fibroblasts[J]. Acta Veterinaria Hungarica, 2014, 62(4): 500–511. DOI: 10.1556/AVet.2014.023.
 - [11] UPRETI M, RATH P C. Expression and DNA binding activity of the recombinant interferon regulatory factor-1 (IRF-1) of mouse[J]. Molecular Biology Reports, 2005, 32(2): 103–116. DOI: 10.1007/s11033-004-6940-3.
 - [12] UEMATSU S, SATO S, YAMAMOTO M, et al. Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR)₇-and TLR9-mediated interferon- α induction[J]. The Journal of Experimental Medicine, 2005, 201(6): 915–923. DOI: 10.1084/jem.20042372.
 - [13] 韩春来,汪明,王茂荣.鸡干扰素受体基因在外周血淋巴细胞和组织中的表达[J].家禽科学, 2005(10): 12–15. DOI: 10.3969/j.issn.1673-1085.2005.10.003.
 - HAN C L, WANG M, WANG M R. Expression of interferon receptor genes in peripheral blood leukocyte and tissues of chicken[J]. Poultry Science, 2005(10): 12–15. DOI: 10.3969/j.issn.1673-1085.2005.10.003.
 - [14] SANTHAKUMAR D, RUBBENSTROTH D, MARTIN-

- EZ-SOBRIDO L, et al. Avian interferons and their antiviral effectors[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8:49. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00049.
- [15] 刘永振. 鸡马立克氏病病毒调控 DNA 受体信号通路逃避宿主天然免疫反应的分子机制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- LIU Y Z. Molecular mechanism of Marek's disease virus regulating DNA receptor signaling pathway to escape host's natural immune response[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019.
- [16] KARPALA A J, STEWART C, MCKAY J, et al. Characterization of chicken Mda5 activity: regulation of IFN- β in the absence of RIG-I functionality[J]. *Journal of Immunology*, 2011, 186(9): 5397–5405. DOI: 10.4049/jimmunol.1003712.
- [17] 王致远. 传染性法氏囊病病毒 VP3 蛋白与 IRF7 互作及 VP5 蛋白促进病毒免疫逃逸的机制研究[D]. 南宁: 广西民族大学, 2024.
- WANG Z Y. Study on the interaction between infectious bursal disease virus VP3 protein and IRF7 and the mechanism of VP5 protein in promoting viral immune escape [D]. Nanning: Guangxi Minzu University, 2024.
- [18] 杨福领. 干扰素调节因子 7 (IRF7) 基因在抗鸡 ALV-J 作用的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2019. DOI: 10.27345/d.cnki.gsnvu.2019.000649.
- YANG F L. Study on the role of interferon regulatory factor 7 (IRF7) gene in anti-chicken ALV-J [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2019. DOI: 10.27345/d.cnki.gsnvu.2019.000649.
- [19] 何怡宁, 戴锦龙, 谢智文, 等. 鸡传染性支气管炎病毒 M41 株感染对干扰素调节因子 7 的影响[J]. *中国家禽*, 2016, 38(15): 15–20. DOI: 10.16372/j.issn.1004–6364.2016.15.004.
- HE Y N, DAI J L, XIE Z W, et al. Effect of infectious bronchitis virus M41 strain infection on interferon regulatory factor 7 in chicks [J]. *China Poultry*, 2016, 38(15): 15–20. DOI: 10.16372/j.issn.1004–6364.2016.15.004.
- [20] 常华, 段纲, 阮谦, 等. 红嘴鸥 TLR7 基因克隆与生物信息学分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(1): 43–52. DOI: 10.16431/j.cnki.1671–7236.2022.01.005.
- CHANG H, DUAN G, RUAN Q, et al. Cloning and bioinformatics analysis of TLR7 gene in *Larus ridibundus* [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 49(1): 43–52. DOI: 10.16431/j.cnki.1671–7236.2022.01.005.
- [21] 许晓改, 樊冰冰, 余磊, 等. 牛 LncRNA FABP3 AU 基因克隆、生物信息学分析及组织表达研究[J]. *中国畜禽种业*, 2025, 21(3): 45–53. DOI: 10.19543/j.cnki.1673–4556.2025.03.008.
- XU X G, FAN B B, YU L, et al. Cloning, bioinformatics analysis and tissue expression of bovine LncRNA FABP3 AU gene[J]. *China Livestock and Poultry Breeding Industry*, 2025, 21(3): 45–53. DOI: 10.19543/j.cnki.1673–4556.2025.03.008.
- [22] 张建永, 邢岗, 杨凯, 等. 关中奶山羊 Caspase-3 基因克隆、生物信息学分析及组织表达研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2025, 61(6): 167–173. <https://doi.org/10.19556/j.0258-7033.20240709-06>.
- ZHANG J Y, XING G, YANG K, et al. Cloning, bioinformatics analysis and tissue expression study of Caspase-3 gene in Guanzhong dairy goats[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*, 2025, 61(6): 167–173. <https://doi.org/10.19556/j.0258-7033.20240709-06>.
- [23] JARMA D, SÁNCHEZ M I, GREEN A J, et al. Faecal microbiota and antibiotic resistance genes in migratory waterbirds with contrasting habitat use[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 783:146872. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.146872.
- [24] 赵心怡. 连翘酯苷 A 调节 IRF7 的表达和抑制牛病毒性腹泻病毒的复制研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2022. DOI: 10.27756/d.cnki.gzjlx.2022.000143.
- ZHAO X Y. Study on the regulation of IRF7 expression and inhibition of replication of bovine viral diarrhea virus by forsythoside A [D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2022. DOI: 10.27756/d.cnki.gzjlx.2022.000143.
- [25] HONDA K, YANAI H, NEGISHI H, et al. IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses [J]. *Nature*, 2005, 434(7034): 772–777. DOI: 10.1038/nature03464.
- [26] YEOW W S, AU W C, JUANG Y T, et al. Reconstitution of virus-mediated expression of interferon α genes in human fibroblast cells by ectopic interferon regulatory factor-7[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(9): 6313–6320. DOI: 10.1074/jbc.275.9.6313.
- [27] 魏宁波, 刘琪, 徐良, 等. 禽腺病毒流行株 FAdV-4-AH-F41 的分子特征及对细胞因子的诱导作用[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2024, 52(4): 10–20, 27. DOI: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2024.04.002.
- WEI N B, LIU Q, XU L, et al. Molecular characterization of an endemic strain of avian adenovirus FAdV-4-

- AH-F41 and its induction of cytokines[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2024, 52(4): 10–20, 27. DOI: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2024.04.002.
- [28] SHAH U A. 鸡 IBDV 家禽体内传播机制的研究及病毒调控的 microRNAs 对宿主 STING/TBK1 信号通路的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2021. DOI: 10.27244/d.cnki.gnjnu.2021.000055.
- SHAH U A. Transmission route of infectious bursal disease virus in chicken and virus influenced microRNAs effect on host STING/TBK1 pathway[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021. DOI: 10.27244/d.cnki.gnjnu.2021.000055.
- [29] 冯春. cGAS-STING 信号通路 with 马立克氏病病毒复制关系的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2020. DOI: 10.27441/d.cnki.gyzdu.2020.001038.
- FENG C. Study on the relationship between cGAS-STING signaling pathway and Marek's disease virus replication [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020. DOI: 10.27441/d.cnki.gyzdu.2020.001038.
- [30] 周鹏. 鸭源 NDV 感染对鸡和鸭免疫相关分子影响的研究[D]. 荆州: 长江大学, 2018.
- ZHOU P. Effects of NDV infection from ducks on immune-related molecules in chickens and ducks[D]. Jingzhou: Yangtze University, 2018.
- [31] 祖少坡. 鸭 PIAS2 蛋白调控 RIG-I 介导的天然免疫应答及对禽流感病毒复制的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020. DOI: 10.27152/d.cnki.ghanu.2020.000050.
- ZU S P. Duck PIAS2 regulates RIG-I mediated innate immune response and the replication of avian influenza virus[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020. DOI: 10.27152/d.cnki.ghanu.2020.000050.
- [32] 刘梦岚, 赵彦频, 蒋传美, 等. 鸡干扰素调节因子 7 的分子特征及其组织表达特性分析[J]. 南方农业学报, 2022, 53(12): 3510–3519. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1191.2022.12.022.
- LIU M L, ZHAO Y P, JIANG C M, et al. Molecular characteristics and tissue expression analysis of chicken interferon regulatory factor 7[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(12): 3510–3519. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1191.2022.12.022.
- [33] 邓志超, 章程, 罗沛, 等. 鸭干扰素因子 7 基因克隆及组织表达特异性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(7): 2606–2616. DOI: 10.16431/j.cnki.1671–7236.2023.07.002.
- DENG Z C, ZHANG C, LUO P, et al. Cloning and tissue expression specificity analysis of interferon regulatory factor 7 gene in ducks[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2023, 50(7): 2606–2616. DOI: 10.16431/j.cnki.1671–7236.2023.07.002.
- [34] SCHJOLDAGER K T, NARIMATSU Y, JOSHI H J, et al. Global view of human protein glycosylation pathways and functions[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2020, 21(12): 729–749. DOI: 10.1038/s41580-020-00294-x.
- [35] 孙诗雨, 李金岚, 邢佳妮, 等. 简州大耳羊 *CKMT2* 基因克隆、生物信息学分析及时空表达研究[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(6): 2342–2353. DOI: 10.16431/j.cnki.1671–7236.2024.06.009.
- SUN S Y, LI J L, XING J N, et al. Cloning, bioinformatics analysis and spatiotemporal expression of *CKMT2* gene in Jianzhou big-eared goats[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 51(6): 2342–2353. DOI: 10.16431/j.cnki.1671–7236.2024.06.009.

(责任编辑: 吴显达)