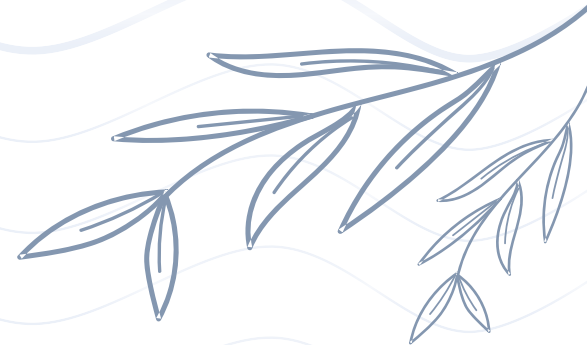




中国农业科学院

CHINESE ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES



罗非鱼 β -防御素基因的序列分析与系统进化

Molecular Characterization and Phylogenetic Evolution of β -Defensin Genes in Tilapia

G01成员: 郜心怡、代雨萌、邵梦宇、王瑞昭

汇报人: 王瑞昭

2026.01.10



目录

C O N T E N T S

01 研究背景

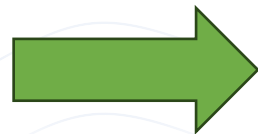
02 基因序列与蛋白结构

03 进化分析

04 总结与下一步计划

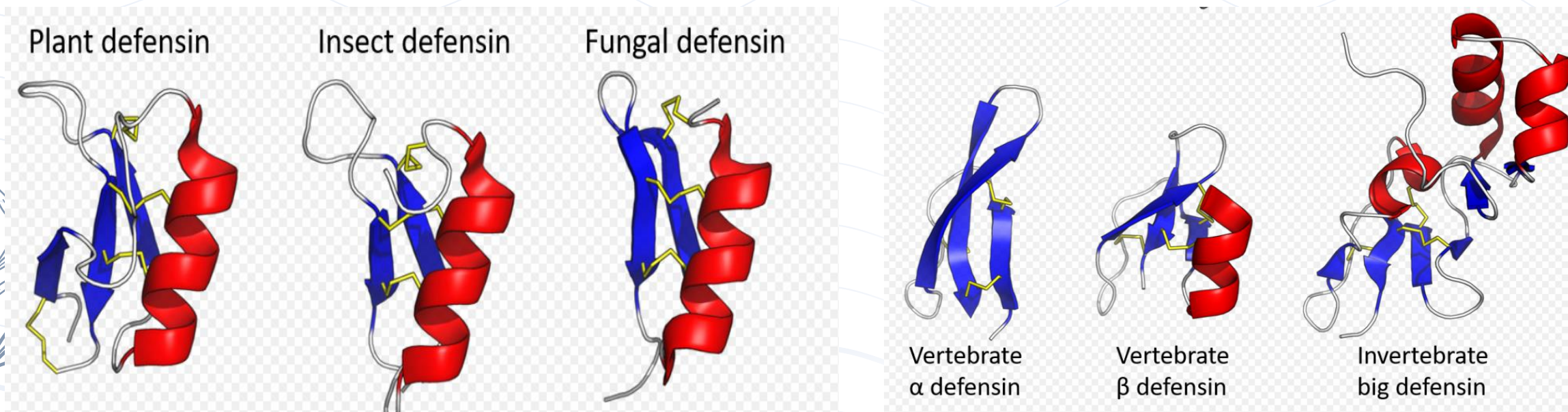
01 研究背景

- 罗非鱼是全球范围内至关重要的水产养殖品种，以其产量巨大、环境适应性强、经济价值高等特点，在世界渔业中占据重要地位
- 随着养殖模式向高密度、集约化发展，养殖环境压力增大，导致疾病暴发风险显著增加，严重威胁产业可持续发展
- 主要病害威胁：1.细菌性疾病；2.病毒性疾病；3.寄生虫感染
- 目前主要依靠抗生素和疫苗，但存在明显短板：1.耐药性问题；2.药物残留；3.生态风险
- 未来方向：亟需研发绿色、安全、高效的免疫增强策略，以保障罗非鱼养殖业的健康发展



01 研究背景

- 防御素是机体抵御外界病原微生物入侵的第一道防线，属于先天免疫系统的重要效应分子
- 具有显著的广谱抗菌活性，可有效抵抗多种病原类型，包括革兰氏阳性/阴性菌、酵母菌、真菌、原生生物和病毒
- 是一类富含半胱氨酸、带正电荷的小分子抗菌肽，根据分子内二硫键的连接方式可以将防御素分为三类： α -防御素、 β -防御素以及 θ -防御素
- 罗非鱼是全球重要的水产养殖品种，但病害（如链球菌病）造成巨大经济损失。研究其自身的免疫分子，是开发新型病害防控策略的基础。
- β -防御素作为先天免疫系统的重要效应分子，在鱼类免疫防御中发挥关键作用，因此，对罗非鱼 β -防御素基因进行序列与系统进化研究，将有助于深入认识其免疫功能基础。



02 基因序列与蛋白结构

登录号：KF294753.1， β -防御素基因序列高度保守，其ORF共编码66个氨基酸（GenBank: AGW83444.1），蛋白质的分子量约7.12 kDa，等电点(pI)为8.23。序列中保留了典型 β -防御素六个保守半胱氨酸残基，推测可能形成三对二硫键，从而稳定蛋白空间构象。

```

*** * * *** ** * ***** *** ***** ***** *****
MSCQRFVVLALLVFFLLNVVENEAAASFPWSCPSLSGVCRKVCLPTELEFFGPLGCGKGFLLCCVSHFL
MSCQRFVVLALLVFFLLNVVENEAAASFPWSCPSLSGVCKKVCLPTELEFFGPLGCGKGFLLCCVSHFL
MSCYRVVVLALLVLLLNVVENEAAASFPWSCPSLSGVCRKVCLPTELEFFGPLGCGKGFLLCCVSHFL
MSCQRVLLLVLLVFLSLNIVQNEAAASFPFSCPTLSGVCRKVCLPTELEFFGPLGCGKGFLLCCVSHFL
  
```

User-provided sequence:

```

      10      20      30      40      50      60
MFCYRVVLA LLVLLLNVA QNEAASFPWS CLSLSGVCRK VCLPTELEFF PLGCGKGLC
  
```

CVSHFL

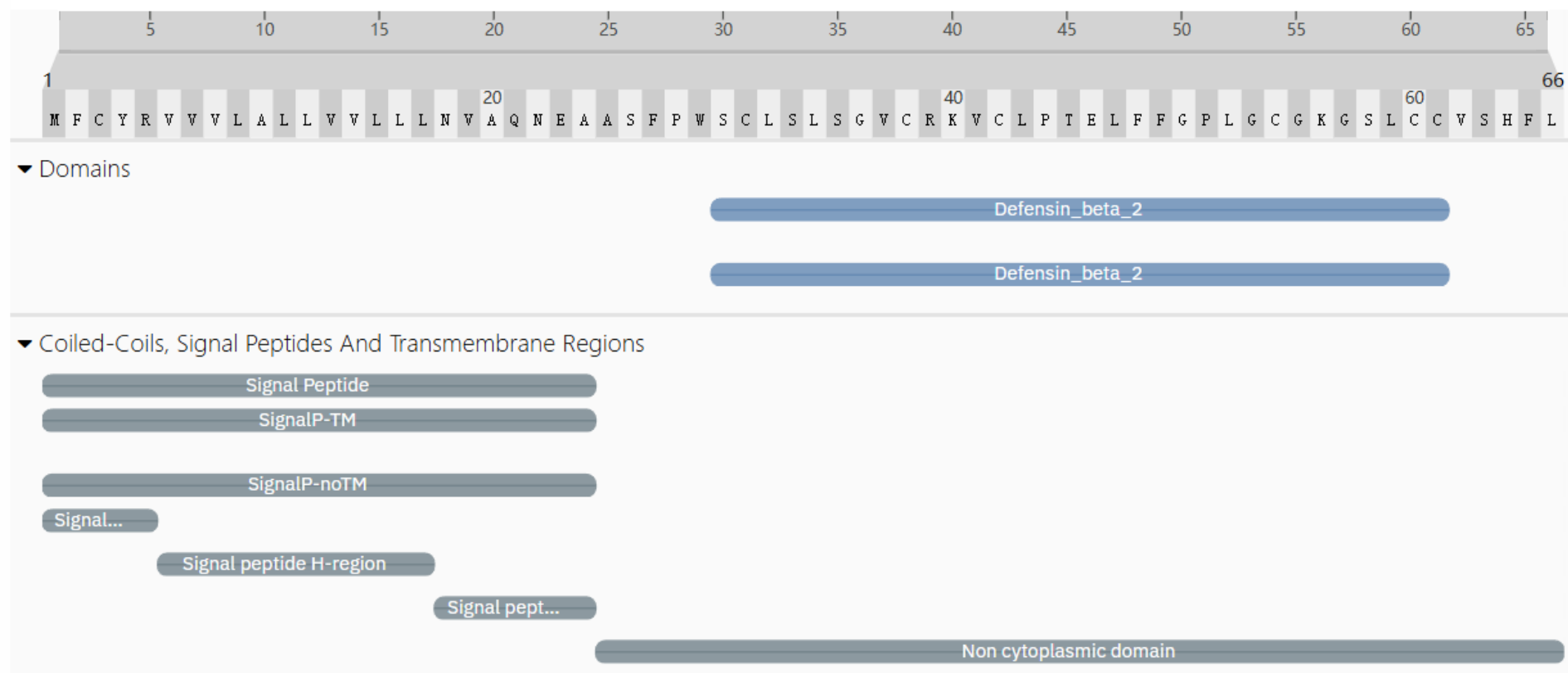
[\[Documentation / Reference\]](#)

Number of amino acids: 66
Theoretical pI: 8.23
Molecular weight: 7124.65

Species	Scientific name	Accession	AA Length
Bird	Eleginops maclovinus	K7N5M6	146 AA
Mackerel icefish	Champscephalus gunnari	O93541	331AA
Frog	Xenopus laevis	O42601	373AA
Homo	Homo sapiens	Q9Y2B1	443 AA

02 基因序列与蛋白结构

在线保守结构域分析



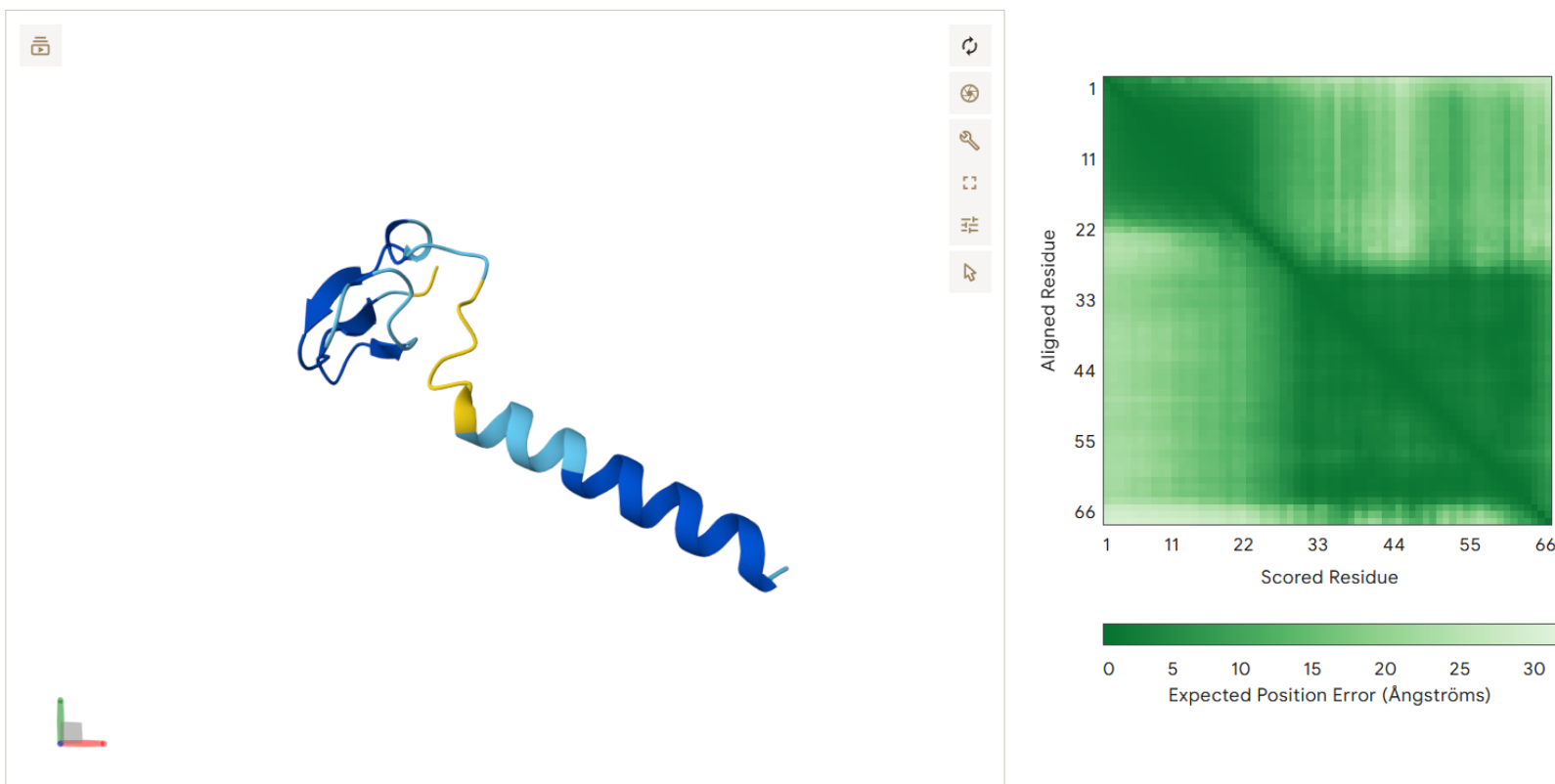
结论：该蛋白结构组成高度符合典型 β -防御素分泌型抗菌肽特征，为其免疫功能提供结构基础。该蛋白含有明显的信号肽结构，提示其可能通过分泌途径进入胞外环境，从而发挥抗菌免疫功能。

02 基因序列与蛋白结构

AlphaFold预测蛋白质三维结构

AlphaFold Server Server About FAQ & Guides ▾

ipTM = - pTM = 0.5 [learn more](#)



β -折叠结构 (β -sheet) 分布于蛋白头部致密结构域, 而尾部则形成较为完整的 α -螺旋区域。该结构组成与二级结构预测结果一致。

软件: AlphaFold

BLAST: 序列设置

BLASTP programs search protein databases using a protein query. more...

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) [?](#) [Clear](#)

```
>AGW83444.1 beta-defensin 1 [Oreochromis niloticus]
MFCYRVVVLALLVLLLNVAQNEAASFPWSCLSLSGVCRKVCPLTEFFGPL
GCGKGSLLCCVSHFL
```

Query subrange [?](#)

From

To

Or, upload file [?](#)

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search [?](#)

Align two or more sequences [?](#)

Choose Search Set

Database [?](#)

Organism Optional exclude

Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown. [?](#)

Exclude Optional Models (XM/XP) Non-redundant RefSeq proteins (WP) Uncultured/environmental sample sequences

Entrez[®] Query Optional

Enter an Entrez query to limit search [?](#)

Program Selection

Algorithm

Quick BLASTP (Accelerated protein-protein BLAST)

blastp (protein-protein BLAST)

PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST)

PHI-BLAST (Pattern Hit Initiated BLAST)

DELTA-BLAST (Domain Enhanced Lookup Time Accelerated BLAST)

Choose a BLAST algorithm [?](#)

BLAST: 序列设置

General Parameters

Max target sequences	100 ▾	Select the maximum number of aligned sequences to display ?
Short queries	<input checked="" type="checkbox"/> Automatically adjust parameters for short input sequences ?	
Expect threshold	0.05	?
Word size	5 ▾	?
Max matches in a query range	0	?

Scoring Parameters

Matrix	BLOSUM62 ▾	?
Gap Costs	Existence: 11 Extension: 1 ▾	?
Compositional adjustments	Conditional compositional score matrix adjustment ▾	?

Filters and Masking

Filter	<input type="checkbox"/> Low complexity regions ?	
Mask	<input type="checkbox"/> Mask for lookup table only ?	
	<input type="checkbox"/> Mask lower case letters ?	

BLAST Search **database nr** using **Blastp (protein-protein BLAST)**

Show results in a new window

03 进化分析

BLAST结果

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show ?

select all 100 sequences selected [GenPept](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [Multiple alignment](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	beta-defensin 1 [Oreochromis niloticus]	Oreochromis niloti...	130	130	100%	3e-39	100.00%	66	AGW83444.1
<input checked="" type="checkbox"/>	beta-defensin-like 1 [Periophthalmus magnuspinnatus]	Periophthalmus m...	108	108	100%	3e-30	77.27%	86	XP_055082313.1
<input checked="" type="checkbox"/>	unnamed protein product [Knipowitschia caucasica]	Knipowitschia cau...	106	106	100%	8e-30	80.30%	66	CAL9685689.1
<input checked="" type="checkbox"/>	beta-defensin 1 [Solea senegalensis]	Solea senegalensis	105	105	100%	2e-29	84.85%	65	KAG7515141.1
<input checked="" type="checkbox"/>	TPA: defensin-like protein 1 [Tetraodon nigroviridis]	Tetraodon nigrovir...	103	103	100%	1e-28	80.30%	64	CAJ57644.1
<input checked="" type="checkbox"/>	defensin, beta-like 1 [Fundulus heteroclitus]	Fundulus heterocli...	101	101	100%	5e-27	78.79%	109	XP_035999134.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hypothetical protein EPR50_G00136570 [Xyrichtys novacula]	Xyrichtys novacula	97.4	97.4	100%	4e-26	84.85%	66	CAJ1064151.1
<input checked="" type="checkbox"/>	unnamed protein product [Pleuronectes platessa]	Pleuronectes plat...	96.7	96.7	100%	7e-26	84.85%	66	CAB1422041.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hypothetical protein PBY51_003235 [Eleginops maclovinus]	Eleginops maclovi...	96.7	96.7	100%	9e-26	86.36%	66	KAK5859148.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hypothetical protein NQZ68_030868 [Dissostichus eleginoides]	Dissostichus elegi...	97.4	97.4	100%	2e-25	84.85%	117	KAI9527416.1
<input checked="" type="checkbox"/>	beta-defensin-like 1 [Pseudochaenichthys georgianus]	Pseudochaenicht...	96.7	96.7	100%	2e-25	84.85%	90	XP_033954366.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hypothetical protein D9C73_018011 [Collichthys lucidus]	Collichthys lucidus	95.5	95.5	100%	2e-25	87.88%	66	TKS83898.1
<input checked="" type="checkbox"/>	hypothetical protein CesofcFv8_016511 [Champscephalus esox]	Champscephalu...	95.5	95.5	100%	2e-25	84.85%	66	KAK5887959.1
<input checked="" type="checkbox"/>	defensin, beta-like 1 [Lates japonicus]	Lates japonicus	94.7	94.7	100%	4e-25	92.42%	66	GLD46938.1
<input checked="" type="checkbox"/>	uncharacterized protein V6R79_008273 [Siganus canaliculatus]	Siganus canalicul...	94.0	94.0	100%	1e-24	84.85%	66	KAM3601135.1
<input checked="" type="checkbox"/>	beta-defensin-like 1 [Salvelinus sp. IW2-2015]	Salvelinus sp. IW...	93.6	93.6	100%	1e-24	80.30%	66	XP_070289783.1

进化结果分析

1. beta-defensin 在鱼类中高度保守

所有比对结果的 E 值极低 ($3e-39$ 至 $1e-24$)，表明这些匹配在统计学上高度显著，并非随机相似。

序列同一性较高，介于 77.27% 至 100% 之间（查询序列自身为 100%），说明 beta-defensin 在鱼类中具有较高的保守性，尤其是在核心结构或功能区域。

2. 进化关系的体现

不同鱼类之间的序列同一性差异（如 77.27% 至 92.42%）可能反映了它们之间的进化距离或分类关系。

例如，与查询序列（*Oreochromis niloticus*）亲缘较近的物种（如 *Lates japonicus*, 92.42%）相似度更高，而较远物种（如 *Periophthalmus magnuspinnatus*, 77.27%）相似度较低，符合系统发育预期。

进化结果分析

3. 蛋白序列高度保守

与多种硬骨鱼类（如日本晚鲈）的序列一致性普遍 $> 80\%$ ，表明其核心结构（特别是半胱氨酸骨架）在进化中高度稳定。

4. 揭示广泛进化关系

同源物广泛分布于**鲈形目**、**鲷形目**、**豚形目**等多个主要类群，证实该基因家族起源于硬骨鱼类早期祖先。

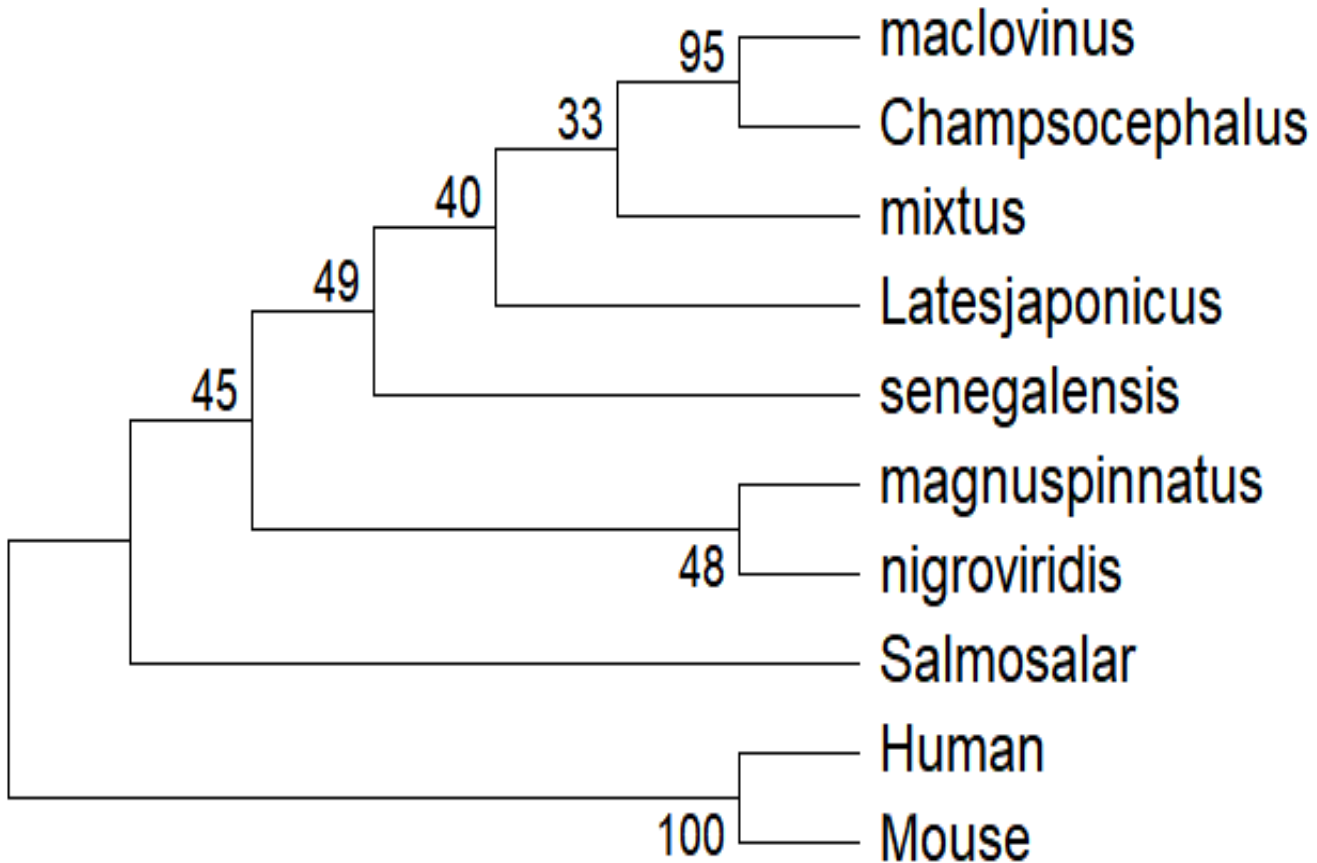
5. 功能重要性的直接证据

极高的保守性强烈暗示该蛋白在鱼类**先天免疫防御**中具有关键且不可替代的基础功能，其**阳离子抗菌肽**的特性预计广泛存在。

6. 为深度分析提供优质数据

获得的同源序列覆盖物种广、质量高且**E值极其显著**，为后续构建可靠的**系统发育树**和深入的功能演化研究奠定了坚实基础。

进化树



- ◆ Human与Mouse形成独立分支， Bootstrap值为100， 表明哺乳动物 β -防御素进化分化明显且高度保守。
- ◆ 鱼类 β -防御素聚为另一大分支， 其中 maclovinus与Champscephalus 亲缘关系最近 (Bootstrap=95) 。
- ◆ 其他鱼类物种间亦存在较近系统关系， 但部分分支支持度较低。
- ◆ 总体来看， β -防御素在脊椎动物中广泛保守， 但不同类群间已形成明显进化分化。

04 总结与下一步计划

总结:

- 本研究对罗非鱼 β -防御素基因进行了序列分析、蛋白结构预测及系统进化研究。
- 结果表明, 该基因具有典型 β -防御素特征结构域, 并在鱼类中高度保守。
- 系统发育分析显示罗非鱼 β -防御素与其他硬骨鱼类亲缘关系较近, 提示其功能具有进化保守性。
- 研究结果为进一步阐明罗非鱼先天免疫机制及抗病分子基础提供了理论依据。

下一步计划:

- ✓ 基因表达分析

 - 检测 β -防御素在不同组织中的基础表达水平

- ✓ 免疫刺激实验

 - 研究在病原相关刺激（如LPS、Poly I:C）作用下的表达变化

- ✓ 感染模型验证

 - 分析细菌或病毒感染条件下的诱导表达模式

- ✓ 体外抗菌活性评估

 - 表达并纯化蛋白，检测其抗菌谱及抑菌能力

- ✓ 功能机制研究

 - 探讨其在鱼类免疫系统中的实际作用及调控途径

小组成员



郜心怡：PPT制作，资料与数据整理

代雨萌：PPT汇总及修改

邵梦宇：PPT制作

王瑞昭：讲解

THANKS

