

## 專題報導

### 蝦白點症(white spot syndrome)研究之重大突破：發現草蝦內質網緊迫基因PmERP15 (Penaeus monodon ER-stress responsive protein 15)

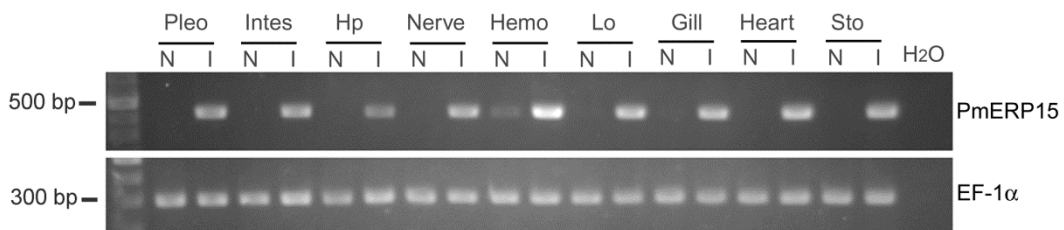


海洋生物研究所  
呂健宏老師

蝦白點症(white spot syndrome)為一種具有高度傳染性和致命性的對蝦病毒性疾病，本校海生所呂健宏老師隸屬於本中心的「石斑魚疾病防治與分子育種」團隊，在海洋中心支持下進行蝦類白點症病毒(shrimp white spot syndrome virus)致病機制之研究，於蝦白點症病蝦選殖出一個草蝦新穎的內質網緊迫基因PmERP15 (Penaeus monodon ER-stress responsive protein 15)，該文章發表於Developmental and Comparative Immunology國際期刊，該期刊影響因子為3.705，在動物學領域153個期刊中排名第四。

白點症(white spot syndrome)是一種具有高度傳染性和致命性的對蝦病毒性疾病，急性感染時，發病後三至七天就會造成養殖池中的蝦子全數死亡。其病源—白點症病毒 (white spot syndrome virus, WSSV)—為一大型雙股DNA病毒，基因體大小約為300 kbp；其病毒粒子具有封套，外型為桿狀、略帶橢圓，粒子的一端具有非常細長的延伸物。WSSV是一種系統性病原體，會感染多種組織和器官，並在感染後期造成壞死，病蝦最後可能會因為多種重要器官的功能衰竭而死亡。白點症病毒感染後，宿主細胞會進行凋亡，但病毒本身具有抑制細胞凋亡的基因，使得病毒能成功完成複製。

在這個研究中，我們藉由微晶片和即時定量PCR，從草蝦的總中篩選到一個會因白點症病毒感染而大量表現的功能未知基因，其受病毒誘導表現的倍數可達1000倍，而根據其基因的特性及蛋白質分子量大小，我們將此一基因命名為Penaeus monodon ER stress-responsive protein 15，簡稱PmERP15。PmERP15的全長cDNA為732 bp，所含的5' 和3' UTR分別為120和198 bp，開放譯讀區大小為414 bp，轉譯出的蛋白質大小為137個氨基酸，預測分子量為15 kDa。蛋白質序列分析顯示，PmERP15除了具有一或兩個可能的穿膜區(transmembrane domain)外，並無任何可供辨認的特殊結構或功能區位(functional domain)。在NCBI資料庫中進行胺基酸序列比對後，發現PmERP15蛋白與一些昆蟲的未知蛋白相似，相似度為54% ~ 59%，但未與其他的蝦類蛋白質相似。RT-PCR分析顯示PmERP15在健康草蝦的血細胞、心臟和淋巴器官中有較高的表現量，而白點症病毒感染後，所有檢測的器官和組織的PmERP15的表現量均會大量增加(圖一)。

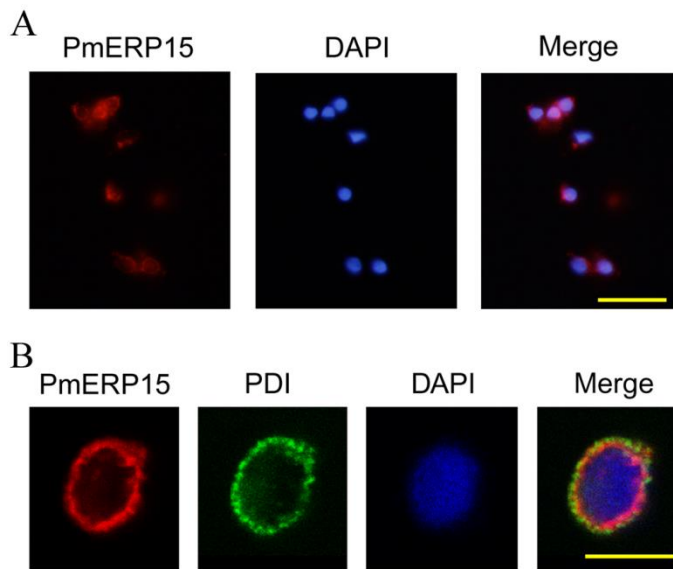


圖一. WSSV感染後，會誘發PmERP15基因在各種器官和組織中大量表現。N: 正常蝦；I: WSSV感染蝦。Pleo:泳足；Intes: 腸；Hp: 肝胰臟；Hemo: 血細胞；Lo: 類淋巴器官；Sto: 胃。EF-1a 為internal control gene。摘自Leu et al., 2015。

# 海洋中心電子報

CENTER OF EXCELLENCE FOR THE OCEANS

製備出PmERP15抗體後，西方點墨法分析顯示PmERP15蛋白在受白點症病毒感染後亦是會大量表現。在受白點症病毒感染的蝦血細胞中，經由免疫螢光染色分析發現，PmERP15的螢光訊號與內質網標誌蛋白protein disulfide isomerase (PDI)相同(圖二)，而在昆蟲細胞Sf9中，PmERP15-EGFP 融合蛋白與ER-Tracker™ Red dye在細胞中的位置相同；這些結果顯示PmERP15為一內質網蛋白。GRP78為內質網緊迫標誌蛋白，RT-PCR分析顯示白點症病毒會誘發GRP78基因的表現，表示白點症病毒感染會引發內質網緊迫現象。草蝦注射內質網緊迫誘發劑 tunicamycin或 dithiothreitol 後，GRP78 和PmERP15的表現均會上升，證明PmERP15為一內質網緊迫基因。注射PmERP15基因的dsRNA 至草蝦體內，可以成功停止PmERP15的表現，而PmERP15被停止表現後，受白點症病毒感染的草蝦，其死亡速度較快，且累積死亡率增加，但白點症病毒基因體的數目在感染後48小時並無明顯改變。以上結果顯示：PmERP15為一內質網緊迫所誘發表現的內質網蛋白，其在白點症病毒感染蝦中的大量表現乃是因為白點症病毒感染所產生的內質網緊迫所造成；而此基因雖然與白點症病毒複製無關，但能降低內質網緊迫造成之不良影響，因此能增進草蝦受白點症病毒感染後的生存能力。



圖二. A. PmERP15蛋白在WSSV受感染蝦的血細胞中表現的位置。B. PmERP15蛋白在血細胞中與 PDI位置相同。DAPI染細胞核的位置。摘自Leu et al., 2015。

※本研究發表於：

Leu J.H\*, Liu K.F., Chen K.Y., Chen S.H., Wang Y.B., Lin C.Y., Lo C.F. 2015. The novel white spot syndrome virus-induced gene, PmERP15, encodes an ER stress- responsive protein in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Developmental and Comparative Immunology*. 49:239-248.

## 中心業務報告

海洋中心核心儀器室-流式細胞儀Flow cytometry(BD biosciences Aria)儀器謹訂於6/9~6/16進行設備升級操作，屆時將另行舉辦儀器教育訓練，相關訊息請見海洋中心網站(<http://www.ceo.ntou.edu.tw/>)。