

毕可然, 韩凯凯, 李 银, 等. 樱桃谷鸭 *OASL* 基因全长 cDNA 的克隆及其生物信息学分析[J]. 江苏农业学报, 2017, 33( 2 ): 373-378.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.02.021

## 樱桃谷鸭 *OASL* 基因全长 cDNA 的克隆及其生物信息学分析

毕可然, 韩凯凯, 李 银, 刘青涛, 赵冬敏, 刘宇卓, 黄欣梅, 杨 婧

(江苏省农业科学院兽医研究所/农业部兽用生物制品工程技术重点实验室/国家兽用生物制品工程技术研究中心, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为了获得樱桃谷鸭寡腺苷酸合成酶样蛋白质基因(*OASL*)全长 cDNA, 并且初步了解其生物学特性, 采用 RT-PCR 和 RACE 方法从鸭脾脏组织总 RNA 中扩增 *OASL* 基因 cDNA 片段, 应用生物信息学方法, 系统分析鸭 *OASL* 的遗传进化以及蛋白质的理化性质、二级结构和亚细胞定位。结果表明, 樱桃谷鸭 *OASL* 基因( GenBank 登录号: KX255654) 全长 1 630 bp, 其中包含 19 bp 的 5'UTR(Untranslated region, UTR)、99 bp 的 3'UTR(Untranslated region, UTR) 和 PolyA 尾巴、1 512 bp 的编码区(Coding region, CDS), 翻译编码 504 个氨基酸多肽。鸭 *OASL* 蛋白具有寡腺苷酸合成酶(*OAS*)蛋白家族的典型特征, 即 N 端为寡腺苷酸合成酶样结构域(*OAS-like domain*, OLD), C 端为 2 个串联的泛素化样结构域(*Ubiquitin-like domains*, UBLs), 不具有信号肽和跨膜区。序列比对和系统进化分析结果表明, *OASL* 氨基酸序列在同种之间比较保守, 与已报道的鸭 *OASL* 的同源性高达 100%, 与鹅同源性为 78%, 与人、鼠和猪等哺乳动物的同源性仅为 43%~45%。

**关键词:** 樱桃谷鸭; *OASL* 基因; RACE; 生物信息学分析

**中图分类号:** S858.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)02-0373-06

## Cloning and bioinformatics analysis of cherry valley duck oligoadenylate synthase-like gene(*OASL*)

BI Ke-ran, HAN Kai-kai, LI Yin, LIU Qing-tao, ZHAO Dong-min, LIU Yu-zhuo, HUANG Xin-mei, YANG Jing

( *Institute of Veterinary Medicine, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Veterinary Biological Engineering and Technology, Ministry of Agriculture/National Center for Engineering Research of Veterinary Bioproducts, Nanjing 210014, China* )

**Abstract:** To analyze the biological characteristics of oligoadenylate synthase-likely gene (*OASL*) in cherry valley duck, the complete cDNA of duck *OASL* gene was obtained by RT-PCR, 5'RACE and 3'RACE methods. The genetic evolutionary relationships, physical and chemical characteristics, second structure and subcellular localization of *OASL* were analyzed by bioinformatics tools. Results were as follows. The full-length cDNA sequence of *OASL* gene is 1 630 bp in size, including a 19-bp 5' UTR, a 99-bp 3'UTR with the poly (A) tail ( GenBank accession No. KX255654) and an open reading

frame (ORF) of 1 512 bp in length, and encodes a predicted protein of 504 amino acids. *OASL* protein shared some typical characteristics of *OAS* family which is one *OAS-like domain* in the N-terminal and two tandem ubiquitin-like (UBL) domains in the C terminated. No putative signal peptide and transmembrane domain were predicted. Sequence alignment and phylogenetic analysis showed that duck *OASL* was highly conserved among the same popula-

收稿日期: 2016-07-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 ( 31172345 ); 江苏省自然科学基金项目 ( BK20160064 ); 国家博士后基金项目 ( 2016M590430 )

作者简介: 毕可然 ( 1978- ), 女, 内蒙古赤峰人, 博士, 讲师, 主要从事水生生物病原学和遗传免疫学研究。 ( E-mail ) bikeran@126.com

通讯作者: 李 银, ( E-mail ) muziyin08@126.com

tion, which shared 100% homology of aminoacid sequence with *Anas platyrhynchos*, 78% with *Anser cygnoides*.

**Key words:** cherry valley duck; *OASL*; RACE; bioinformatics analysis

随着中国养鸭业的迅猛发展,养殖规模不断扩大,养殖密度不断提高。目前,鸭饲养量超过  $5.25 \times 10^8$  只,位居世界之首。但是,饲养方式落后,鸭疫病防御体系不健全,每年因疾病死亡造成的直接经济损失可达到  $1.8 \times 10^9$  元。在众多疫病之中,病毒病是影响养鸭业健康发展的重要疫病之一。

寡腺苷酸合成酶(*OAS*)是一种具有广谱抗病毒活性的蛋白质,并受 I 型干扰素诱导,在几乎所有脊椎动物中均有表达。该酶最早由 Kerr 等<sup>[1]</sup>在干扰素处理后的人体细胞中发现,随后人们在鼠、猪、牛和低等生物如海绵动物体内也均发现了 *OAS* 系统<sup>[2-3]</sup>。人 *OAS* 基因家族包括 4 个基因: *OAS1*、*OAS2*、*OAS3* 和 *OASL*,其编码蛋白质 *OAS1* 和 *OASL* 具有 1 个复制单元,而 *OAS2* 和 *OAS3* 分别具有 2 个和 3 个复制单元<sup>[4]</sup>。*OAS1* ~ *OAS3* 都具有 2'-5'寡腺苷酸合成酶活性,可通过经典的 *OAS*/RNaseL 途径降解感染细胞中的 RNA,能有效阻止 RNA 病毒的复制,而 *OASL* 缺少该酶活性,但可通过 N 端的寡腺苷酸合成酶样结构域和 C 端的泛素化结构域共同激活宿主 RIG-I 信号通路,降解感染细胞中的 RNA,也具有抗病毒的作用<sup>[5]</sup>。*OASL* 此功能可为开发治疗包括流感病毒、丙肝病毒等一系列病毒感染的疗法提供希望<sup>[6]</sup>。

本课题组在前期试验中发现鸭感染坦布苏病毒后 *OASL* 蛋白表达水平上调,同时发现 *OASL* 蛋白对坦布苏病毒复制有一定的抑制作用,但有关鸭 *OASL* 基因全长 cDNA 的组成以及编码的蛋白质结构信息至今未见报道。本研究以鸭感染坦布苏病毒感染樱桃谷鸭脾脏为试验材料,通过 RT-PCR 和 RACE 方法克隆鸭 *OASL* 基因全长,并对其编码蛋白质结构进行生物信息学预测,分析 *OASL* 基因同源性,构建系统进化树,为深入研究鸭 *OASL* 抗病毒机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

樱桃谷鸭幼鸭购自南京水禽交易市场,鸭坦布苏病毒(DTMUV)JS804 株为本实验室保存毒株。

### 1.2 主要试剂

HP Total RNA 提取试剂盒购自 Omega 公司,

RACE 试剂盒、M-MLV 反转录酶和随机引物等购自大连宝生物有限公司,Tag DNA 聚合酶、DNA marker、pEASY®-T1 载体、琼脂糖凝胶回收试剂盒等购自北京全式金生物技术有限公司,其他试剂均为进口分装或国产分析纯。

### 1.3 RNA 提取和 cDNA 的合成

将从鼠脑中分离的鸭坦布苏病毒肌肉注射健康鸭,12 h 和 24 h 后分别取其脾脏组织在液氮中研磨,研磨后的脾脏组织用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA。提取的总 RNA 分别利用 M-MLV 反转录酶和 RACE 试剂盒进行反转录,获得 cDNA。

### 1.4 RT-PCR 扩增和序列测定

以 M-MLV 反转录酶反转录获得的 cDNA 为 PCR 模板,根据 GenBank 公布的鹅(*Anser cygnoides*, XM\_013191918.1) *OASL2* 全长 mRNA 序列和鸭(*Anas platyrhynchos*, XM\_005027069.2) 部分序列设计引物 *OASL*-F/*OASL*-R(表 1),进行 PCR 扩增,扩增体系为 50  $\mu$ l。扩增条件为:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 35 个循环, 72  $^{\circ}$ C 终延伸 10 min。将扩增的产物切胶纯化后连接到 pEASY®-T1 载体,经卡那霉素和 PCR 筛选后,将扩增片段大小正确的菌液送上海英俊公司测序。

### 1.5 RACE 反应扩增 *OASL* 基因全长

基于已验证的北京鸭 *OASL* 基因部分序列设计 5'-RACE 和 3'-RACE 特异性引物(表 1)。5'-RACE 和 3'-RACE 的 PCR 反应按照 RACE 试剂盒说明书进行,经过 2 次降落 PCR 扩增后,扩增出的片段分别切胶纯化,连接到 pEASY®-T1 载体,经菌落 PCR 筛选后各挑取 10 个克隆送上海英俊公司测序。

### 1.6 基因序列生物信息学分析

运用 DNASTAR 软件包中的 Seqman 软件对测序得到的序列片段进行拼接以获得 *OASL* 基因全长 cDNA 序列。将所获得 *OASL* 基因全长 cDNA 经 BLAST 与 GenBank 中的非冗余蛋白质数据库进行同源性比对,应用 MEGA 5.0 软件构建 NJ 系统进化树,运用 ProtParam 工具(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>)分析氨基酸序列组成及理化性质,应用 Scan Prosite facility 软件(

pasy.ch/tools/scanprosite/) 预测编码的氨基酸序列结构域,应用 signalP4.1 工具 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 和 Smart-Model 软件 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 分别对 *OASL* 基因编码的氨基酸残基进行信号肽区域和跨膜结构预测,通过 PredictProtein (<http://www.predictprotein.org/>) 在线工具预测编码蛋白质的二级结构,通过 PSORT II 软件 (<http://psort.nibb.ac.jp>) 预测蛋白质的亚细胞定位,通过 STRING 在线工具 ([http://string.embl.de/newstring.cgi/show\\_input\\_page.pl](http://string.embl.de/newstring.cgi/show_input_page.pl)) 预测鸭 *OASL* 蛋白质与其他蛋白质的相互作用。

表 1 本研究所使用的引物  
Table 1 The primers used in this study

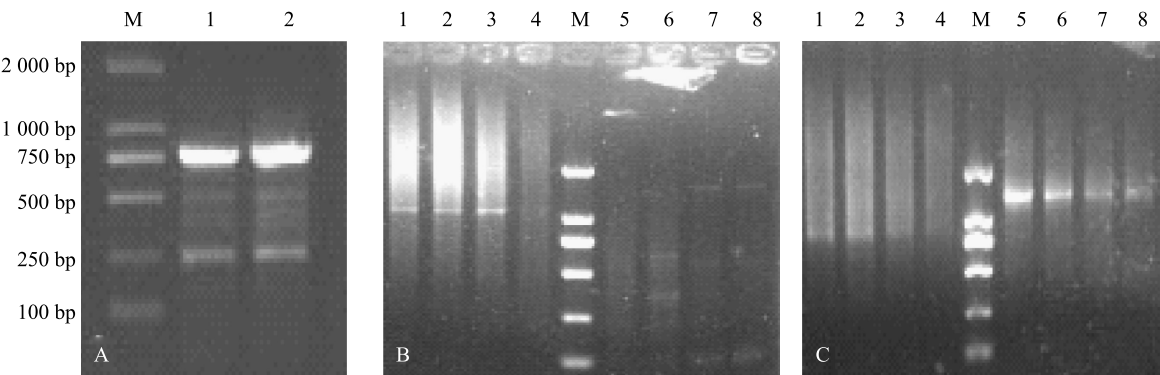
引物名称	引物序列(5'→3')
OASL-F	5'-CAAATACGCCCTGGAGCTG-3'
OASL-R	5'-GGAGTCGTAGGTCAGGCGCT-3'
3R1	5'-CAAATACGCCCTGGAGCTG-3'
3R2	5'-GCATCTACTGGAGAGGTACTA-3'
3R3	5'-CTGGCAGCTGAAGGAAGAGAT-3'
5R1	5'-GGAGTCGTAGGTCAGGCGCT-3'
5R2	5'-GTGTCGTAGTAGATGCCGTAG-3'
5R3	5'-CCCAATTCTTGCTGATCTCTTCCT-3'

2 结果与分析

2.1 樱桃谷鸭 *OASL* 基因全长 cDNA 的克隆

以鸭脾脏总 RNA 为模板,经逆转录后得到 cDNA。用引物 OASL-F/R 进行 RT-PCR 扩增,PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测,在 750 bp 左右可见明亮的条带,条带大小与设计的目的片段长度相符(图 1)。将该片段回收后克隆到 pEASY®-T1 载体中,经测序后获得该片段的核苷酸序列,经与其他物种的 *OASL* 基因比对,确认获得的序列为鸭 *OASL* 基因编码区部分序列。

以鸭脾脏总 RNA 为模板,经过 5'-RACE 和 3'-RACE 各两轮降落 PCR 扩增,分别得到预期的条带(图 1)。将上述 2 个片段切胶回收后克隆到 pEASY®-T1 载体中,经菌落 PCR 验证后送测序公司测序。测序获得的核苷酸序列与寡核苷酸合成酶样蛋白基因进行比对,确认正确的序列利用 DNASTar 软件包中的 SeqMan 软件拼接校对,最终得到的鸭 *OASL* 基因全长 1 630 bp,其中包含 19 bp 的 5'UTR(Untranslated region, UTR)、99 bp 的 3'UTR(Untranslated region, UTR)和 PolyA 尾巴、1 512 bp 的编码区(Coding region, CDS),翻译编码 504 个氨基酸多肽。GenBank 登录号:KX255654。



M 为 DL2000 marker。图 A 中 1 和 2 泳道分别为鸭坦布苏病毒感染 12 h 和 24 h 的脾脏 cDNA RT-PCR 结果。图 B、C 中,1、2 泳道为以病毒处理 12 h 后鸭脾脏 cDNA 为模板进行的 5'-RACE,3、4 泳道为以病毒处理 24 h 后鸭脾脏 cDNA 为模板进行的 5'-RACE,5、6 泳道为以病毒处理 12 h 后鸭脾脏 cDNA 为模板进行的 3'-RACE,7、8 泳道为以病毒处理 24 h 后鸭脾脏 cDNA 为模板进行的 3'-RACE。B 为一次 PCR 结果,C 为二次 PCR 结果。

图 1 鸭 *OASL* 基因 RT-PCR 和 RACE 扩增结果  
Fig.1 Agrose gel electrophoresis patterns of duck *OASL* gene by RT-PCR and RACE

2.2 樱桃谷鸭 *OASL* 基因序列系统进化分析

将获得的樱桃谷鸭 *OASL* 基因 ORF 序列在 NC-

BI 数据库中进行序列比对搜索。结果显示:在核苷酸水平,与鸭 (*Anas platyrhynchos*, XM\_005027069.2

和 KJ126991.1) 部分 mRNA 序列相似性为 100%, 与鹅 (*Anser cygnoides*, XM\_013191918.1)、猎隼 (*Falco cherrug*, XM\_005432734.2) 和鸡 (*Gallus gallus*, XM\_015293006.1) 等 mRNA 全序列相似性依次为 89%、78% 和 77%, 与其他禽类 mRNA 全序列相似性均为 74% 以上; 在氨基酸水平上, 与鹅 (XP\_013047372.1) 氨基酸序列相似性最高 (为 78%), 与其他已报道的

禽类氨基酸序列相似性在 58% 至 69% 之间, 与哺乳类氨基酸序列相似性为 43% ~ 45%。基于 NCBI 已有物种 OASL 氨基酸序列, 利用 Mega5.0 软件构建了 14 个物种寡腺苷酸合成酶样蛋白的分子进化树 (图 2)。鸭和鹅首先聚为一支 (自引导值为 100%), 再与其他禽类聚为一簇, 而所有哺乳动物单独聚为一簇。

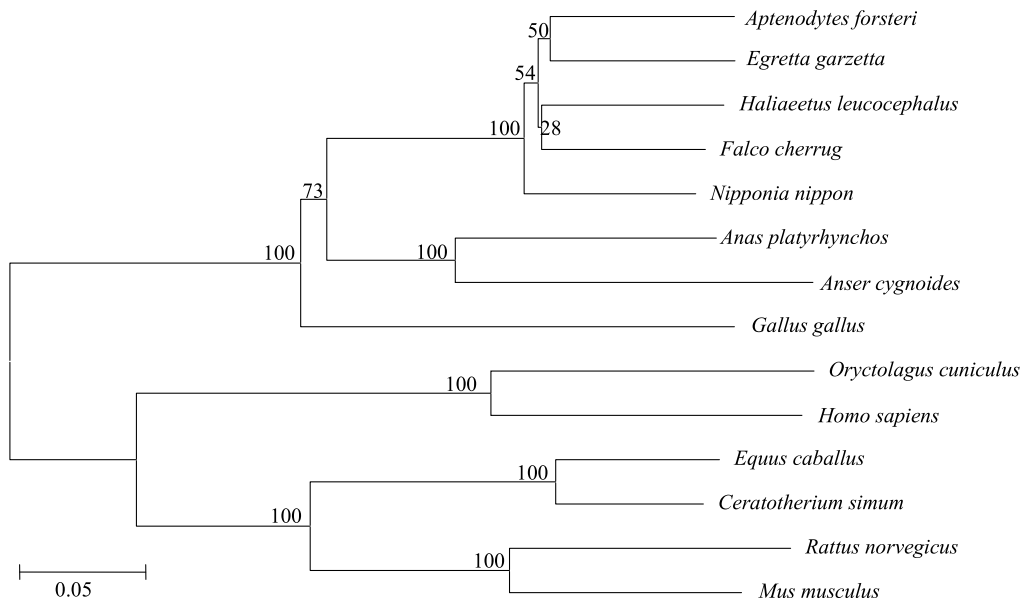


图 2 鸭和其他物种 OASL 氨基酸序列的系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of cherry valley duck and other species based on OASL amino acid sequences

### 2.3 樱桃谷鸭 OASL 编码蛋白质的基本理化性质

樱桃谷鸭 OASL 蛋白的理论分子量为  $5.72 \times 10^4$ , 理论等电点为 9.09。在氨基酸组成中, 亮氨酸 (Leu) 含量最高 (11.5%, 58 个), 其次为谷氨酰胺 (Gln) (7.2%, 36 个); 极性氨基酸 (Q、T、K、S、R、E、D、Y、N、C、H) 274 个, 疏水氨基酸 (L、P、V、G、I、A、F、W、M) 229 个; 碱性氨基酸 (K、R、H) 72 个, 酸性氨基酸 (D、E) 49 个; 负电荷氨基酸 (Asp+Glu) 49 个, 正电荷氨基酸 (Arg+Lys) 63 个; 不稳定系数为 46.65 ( $>40.0$ ), 属于不稳定蛋白质; 由 8100 个原子组成, 分子式为  $C_{2565}H_{4067}N_{707}O_{742}S_{19}$ ; 总平均亲水性为 -0.411。蛋白质疏水性预测结果表明, OASL 蛋白 N 端前部的疏水区域比较弱 (分值  $<1.5$ ), 其疏水最大值为 2.578, 处于第 78 个氨基酸位置; 最小值 -2.478, 处于第 87 个氨基酸位置。

### 2.4 樱桃谷鸭 OASL 蛋白质结构

OASL 基因编码 504 个氨基酸。利用 NCBI 在线工具 BLAST 和 SMART 分析保守结构域, 发现 OASL 基因编码蛋白质具有哺乳动物寡腺苷酸合成酶样蛋白家族的典型结构域 (图 3), 即 N 端为寡腺苷酸合成酶样结构域 (OAS-like domain, OLD), 位于第 154~333 氨基酸间, C 端为 2 个串联的泛素化样结构域 (Ubiquitin-like domains, UbLDs), 分别位于第 337~412 和 417~488 氨基酸间。应用 SignalP-4.1 在线工具对 OASL 蛋白质 N 末端信号肽进行预测, 结果显示, 此蛋白质不含信号肽位点。应用 TM-HMM 在线工具对鸭 OASL 蛋白质进行跨膜区预测, 结果表明, 鸭 OASL 蛋白质没有跨膜区, 不是跨膜蛋白。通过 PSORT II 软件预测鸭 OASL 蛋白质的亚细胞定位情况, 结果表明, 鸭 OASL 蛋白质主要位于

细胞核内。进一步用 PredictProtein 在线工具预测鸭 OASL 蛋白质结构域,结果显示无规则卷曲(C)占 48.11%, $\alpha$ -螺旋(H)占 31.61%, $\beta$  折叠(E)占 20.28%。应用 STRING 在线工具参考人类蛋白质库预测鸭 OASL 蛋白质与其他蛋白质的相互作用,结果表明,鸭 OASL 蛋白质可与 IRF7 和 ISG15 直接发生作用(图 4)。同源建模结果显示,C 末端 UBQ 结构域与人 UBQ 结构域相似性为 96.2%,N 端 OLD 结构域相似性为 40.4%。



图 3 鸭 OASL 蛋白质结构域预测

Fig.3 The prediction of protein domain of duck OASL

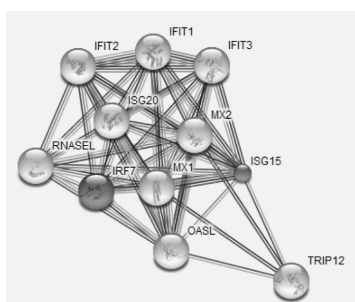


图 4 鸭 OASL 蛋白质相互作用模型

Fig.4 The predicted functional partners of duck OASL protein

### 3 讨论

人寡腺苷酸合成酶样基因于 1998 年被发现和鉴定,因为其与寡腺苷酸合成酶 1 基因具有较高的序列相似性,但不具有 2'-5'寡腺苷酸合成酶活性,故被命名为寡腺苷酸合成酶样蛋白 OASL<sup>[7]</sup>。2008 年,Marques 等在推断 OASL 蛋白质是否具有抗病毒特性的研究中发现,OASL 蛋白对单链 RNA 病毒(小核糖核酸病毒和脑心肌炎病毒)具有抗病毒特性,但对较大的 DNA 病毒(单纯性疱疹病毒)没有抗病毒特性,当 OASL 蛋白缺失 C 端泛素化结构域后,OASL 蛋白的抗病毒特性随之丢失<sup>[8]</sup>。2015 年,

Iben 等在分析人 OASL 蛋白质结构和功能中发现,OASL 蛋白质的抗病毒特性不仅依赖于 C 端泛素化结构域,还依赖于 N 端的寡腺苷酸合成酶样结构域(OLD),OLD 结构域氨基酸能够折叠形成双链 RNA 可结合的凹槽,当凹槽的关键区域被突变后,OASL 蛋白质的抗病毒特性丢失<sup>[9]</sup>。樱桃谷鸭 OASL 蛋白质与人 OASL 蛋白质的 C 端 UBQ 结构域相似性高达 96.2%,N 端 OLD 结构域相似性为 40.4%。生物信息学分析结果表明鸭 OASL 蛋白质具有与人源 OASL 蛋白质相似的抗病毒途径,这为进一步分析鸭 OASL 蛋白质抗病毒分子机理提供了指导理论。

在禽类 OAS 蛋白家族研究中,Sokawa 等 1984 年首次发现鸡、鹅和鸽子的红细胞中含有此类蛋白质,并且鸡的红细胞裂解物与 ATP 孵育 20 h 后,70%的 ATP 被转换成 2'-5'寡腺苷酸分子<sup>[10]</sup>。2000 年,Tatsumi 等进一步证实,鸡 OASL 基因具有 2 个等位基因 OAS-A ( $5.8 \times 10^4$ ) 和 OAS-B ( $5.4 \times 10^4$ ),二者编码的蛋白质均具有人 OAS1 蛋白质的催化区和 OASL 蛋白质的泛素化结构域<sup>[11]</sup>。2012 年,日本学者 Hassan 等证实鸡 OASL 蛋白质可以抑制黄病毒属尼罗河病毒的复制<sup>[12]</sup>。最近,一些研究结果表明,当北京鸭被新城疫病毒 Herts33 (Newcastle disease virus, NDV) 感染后,其肝、肺和脾脏组织 OAS 基因表达明显上调<sup>[13]</sup>;当樱桃谷鸭被鸭坦布苏病毒感染后,OAS 蛋白质也明显上调<sup>[14]</sup>。本课题组前期基于鸭坦布苏病毒感染组和非感染组进行了鸭差异性蛋白组学分析,在感染组中也发现 OASL 蛋白质表达水平上调,同时初步试验发现 OASL 对鸭坦布苏病毒复制有一定的抑制作用。但有关鸭 OASL 基因组成、特点和功能至今未见报道。本研究从樱桃谷鸭脾脏中克隆了鸭 OASL 基因全长,利用多种在线生物学工具对鸭 OASL 蛋白质的结构及其所蕴含的生物学信息进行了预测和分析。结果表明,鸭 OASL 蛋白质既无跨膜区也无信号肽,属于非分泌型蛋白质,这为我们下一步应用原核细胞表达该蛋白质奠定了理论基础。结构域分析结果显示,它的结构域为 154~333 氨基酸之间的 N 端 OLD 和 337~412 及 417~488 氨基酸之间的 UBQ 结构域。亚细胞定位结果显示,OASL 蛋白质主要分布在细胞核中。这些为下一步研究 OASL 真核表达及免疫共沉淀提供了重要参考。

本研究还将鸭 OASL 基因与其他物种基因进行

了比对和同源性分析,发现 *OASL* 基因在同一种属内高度保守,但不同物种之间的差异性较大,这表明 *OASL* 基因是某一物种固有的特异性天然免疫基因,另一方面也提示各物种的天然免疫系统可能存在明显的差异,这些差异将影响宿主对不同病原微生物的敏感性。这一特点为深入探讨鸭 *OASL* 抗病毒感染机制及与病毒的跨物种传播机制具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] KERR I, BROWN R, BALL L. Increased sensitivity of cell-free proteinsynthesis to double-stranded RNA after interferon treatment [J]. *Nature*, 1974, 250(461): 57-59.
- [2] PERELYGIN A, ZHARKIKH A, SCHERBIK S, et al. The mammalian 2'-5' oligoadenylatesynthetase gene family: evidence for concerted evolution of paralogous *OasI* genes in Rodentia and Artiodactyla [J]. *J Mol Evol*, 2006, 63(4): 562-576.
- [3] SCHRODER H, NATALIO F, WIENS M, et al. The 2'-5'-oligoadenylate synthetase in the lowest metazoan: isolation, cloning, expression and functional activity in the sponge *Lubomirskia baicalensis* [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45(4): 945-953.
- [4] MELCHJORSEN J, KRISTIANSEN H, CHRISTIANSEN R, et al. Differential regulation of the *OASL* and *OAS* genes in response to viral infections [J]. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 2009, 29(4): 199-208.
- [5] SADLER A J, WILLIAMS B R. Interferon-inducible antiviral effectors [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(7): 559-568.
- [6] ZHU J, ZHANG Y, GHOSH A, et al. Antiviral activity of human OASL protein is mediated by enhancing signaling of the RIG-I RNA sensor [J]. *Immunity*, 2014, 40(6): 936-948.
- [7] HARTMANN R, OLSEN H S, WIDDER S, et al. p59OASL, a 2'-5' oligoadenylatesynthetase like protein: a novel human gene related to the 2'-5' oligoadenylatesynthetasefamily [J]. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26(18): 4121-4128.
- [8] MARQUES J, ANWAR J, ESKILDSEN-LARSEN S, et al. The p59 oligoadenylatesynthetase like protein possesses antiviral activity which requires the C terminal ubiquitin-like domain [J]. *J Gen Virol*, 2008, 89(11): 2767-2772.
- [9] IBEN M, GAD H, ANDERSEN L, et al. Structural and functional analysis reveals that human OASL binds dsRNA to enhance RIG-I signaling [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(10): 5236-5248.
- [10] SOKAWA J, SHIMIZU N, SOKAWA Y. Presence of (2'-5') oligoadenylatesynthetase in avian erythrocytes [J]. *J Biochem*, 1984, 96: 215-222.
- [11] TATSUMI R, HAMADA K, SEKIYA S, et al. 2'-5'-oligoadenylate synthetase gene in chicken: gene structure, distribution of alleles and their expression [J]. *Biochem Biophys Acta*, 2000, 1494: 263-268.
- [12] HASSAN T E D H, SASAKI N, MORITOH K, et al. The chicken 2'-5' oligoadenylatesynthetase A inhibits the replication of West Nile virus [J]. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 2012, 60(2-3): 95-103.
- [13] CHENG Y, SUN Y, WANG H, et al. Cloning, expression and functional analysis of the duck Toll-like receptor 5 (TLR5) gene [J]. *J Vet Sci*, 2015, 16(1): 37-46.
- [14] LI N, WANG Y, LI R, et al. Immune responses of ducks infected with duck Tembusu virus [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(425): 1-7.

(责任编辑:张震林)