

참돔(*Pagrus major*) Interleukin 7 receptor alpha chain (IL-7R α) 유전자의 분자유전학적 특성 및 발현분석

손민영 · 최광민 · 주민수 · 박찬일[†]
경상대학교(학생) · [†]경상대학교(교수)

Molecular Characterization and Expression Analysis of the Interleukin 7 Receptor Alpha Chain (IL-7R α) Gene from Red Sea Bream (*Pagrus major*)

Min-Young SON · Kwang-Min CHOI · Min-Soo JOO · Chan-Il PARK[†]
Geongsang National University(student) · [†]Geongsang National University(professor)

Abstract

When a wound is infected by bacteria, macrophages recognize bacteria and release interleukin 7 receptor alpha chain (IL-7R α). IL-7R α released at this time activates T cells and releases IL and other similar proteins to activate various immune cells to remove bacteria. We described the molecular characteristics of PmIL-7R α identified in red sea bream through NGS analysis and observed the tissue-specific expression of PmIL-7R α . As a result, PmIL-7R α showed the highest expression in the spleen among the tissues used in the experiment, and significant expression changes in the gills and kidneys after pathogen infection. We therefore believe that PmIL-7R α plays an important role in the red sea bream's immune system.

Key words : Interleukin 7 receptor alpha chain, Red sea bream, Molecular characteristics, Tissue specific expression, Immune system

I. 서 론

참돔(*Pagrus major*)은 우리나라 전 연안 해역에 분포하며 주로 남해안에서 양식되는 온대성 어류(Ricardo et al., 1999)로 높은 시장 가치와 수요로 인해 세계에서 경제적으로 양식 되는 중요한 해양 어종 중 하나이다. 특히 일본과 한국에서 참돔 양식업이 급속도로 넓게 확대되고 있다(Hossain et al., 2016). 수산양식기술이 발달하고 양식품종이 다양화되면서 국내 양식 생산량은 크게 증가하였고 이와 함께 해산어 양식과정에서

발생하는 각종 질병에 의한 대량폐사가 빈발하여 양식어가에서 많은 피해를 입고 있다(Noman Reza et al., 2018). 질병에 대한 대책으로, 오늘날까지 대부분 항생제를 이용해왔지만 오·남용으로 인한 약제내성균의 증가와 어체 내 약제의 잔류에 의한 식품위생상의 문제 등이 대두 되고 있다. 이러한 질병 발생과 여러 가지 문제를 해결하기 위해서는 참돔의 면역 시스템에 대한 이해와 연구가 필요하다.

어류는 하등 척추동물로서 무척추동물과 고등 척추동물 사이에 위치한다고 보고되어 있고

[†] Corresponding author : 055-772-9153, vinus96@hanmail.net

* 이 논문은 2019년 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원 '포스트게놈다부처유전체사업(No. 20180430)' 과 '양식어류 건강성 신속진단을 위한 기술개발(No. 20150592)'의 지원을 받아 수행된 연구임.

(Bergliot et al., 2006), 이들의 면역체계는 대식세포와 림프구 등에 의한 비특이적 면역과 림프구에 의한 특이적 면역체계를 가지고 있다. 특히 어류는 비특이적 면역체계가 비교적 발달하고 많은 비중을 차지하고 있는데, 이는 어류가 살아가는 수생환경에서 지속적으로 노출되는 미생물과 관련이 있다.

비특이적 면역체계의 사이토카인 중, Interleukin 7 (IL-7)은 림프구의 성장과 생존을 촉진하여 면역체계 발달과 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다(Gregory et al., 2007). 이러한 사이토카인은 세포가 세포를 활성화시키는 단백질이며 면역반응과 조혈기능, 조직회복, 세포의 발달, 성장 등에 중요한 기능을 하며, 항원에 대한 항체생산을 유도하고 방어체계를 제어하는 역할을 수행한다. 또한 사이토카인에 포함된 Interleukin (IL)은 백혈구로부터 생성되며, 상처 부위에 세균감염 시 대식세포가 세균을 인식하여 IL-7 수용체(Interleukin 7 receptor alpha chain, IL-7R α)를 방출하게 된다. 이때 방출된 IL-7R α 는 T세포를 활성화시키고, IL과 다른 유사한 단백질을 방출하여 여러 면역세포를 활성화시켜 세균을 제거한다. IL-7의 기능은 IL-7R α 를 통해 매개되며, 이는 또한 공통 사이토카인 수용체-감마체와 IL-7R α 를 활성화시킨다(van Haarlem et al., 2009). 포유동물 IL-7 수용체(IL-7R)는 2개의 chain으로 구성된다: IL-7R α (CD127)과 IL-7R γ (CD132). IL-7R α 는 type 1 사이토카인 수용체 패밀리에 속하며(Javvaji et al., 2019), 기형세포와 상피세포, 골수에서 추출한 수지상세포와 같은 여러 가지 세포에서 분비되거나 제시된다. IL-7은 림프구에 작용하는 많은 다른 사이토카인과 달리 T세포에 의해 분비되고 조절된다고 보고되어 있다(Bao et al., 2018).

이번 연구에서는 참돔으로부터 IL-7R α (PmIL-7R α)를 분리 및 동정하여 분자적 특징에 대해 확인하였으며, 정상 어체에서 PmIL-7R α 유전자의 조직 특이적 발현 분석과 참돔 양식 산업에서 막

대한 피해를 주는 *Edwardsiella piscicida* (*E. piscicida*) 또는 *Streptococcus iniae* (*S. iniae*), red seabream iridovirus (RSIV)를 인위 감염시킨 후 유전자 발현양상을 확인하였다.

II. 연구 방법

1. Next Generation Sequencing (NGS) 분석

Lipopolysaccharide (LPS)로 자극시킨 참돔의 간으로부터 Next Generation Sequencing (NGS) 분석을 통해 PmIL-7R α 의 Open reading frame (ORF) sequence를 확보하였다.

2. 분자적 특성

동정된 PmIL-7R α ORF의 서열과 예상되는 아미노산 서열은 GENETYX ver. 8.0 program (SDC Software Development, Tokyo, Japan)과 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 BLASTX program (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)을 이용하여 분석하였다. 분자중량(Molecular weight, MW)과 등전점(Isoelectric point, pI)은 ExPASy Proteomics Serve의 ProtParam tool (<http://web.expasy.org/protparam/>)을 이용하여 예측하였으며, 특정 도메인은 Simple Modular Architecture Research Tool (SMART) (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)로 확인하였다. NCBI의 peptide sequence database에 등록되어있는 다른 종들의 IL-7R α 아미노산 서열과의 multiple sequence alignment는 ClustalW (<http://www.genome.jp/tools/clustalw/>)를 이용하여 분석하였다. 또한 PmIL-7R α 의 계통발생학적 분석은 MEGA 4 program의 neighbor-joining (NJ)법을 이용하여 제작하였으며, bootstrap sampling은 2,000번 반복 수행하였다.

3. 유전자 발현분석

1) 정상 어체에서의 조직별 발현분석

(1) 조직 분리

실험어는 경상남도 수산자원연구소로부터 체장 14.3 ± 1 cm, 체중 68.5 ± 10 g인 것을 제공받아 사용하였다. 실험에 사용 전 0.5 ton 수조에 20-23 °C에서 2주간 순치하였으며, 사료는 상업용 사료를 구매하여 1일 1회 포만감이 들 때까지 총 분히 급이 하였다. 조직 적출을 위해 임상병리학 적으로 건강한 참돔 세 마리를 Benzocaine (Sigma, St. Louis, MO, USA)로 마취하여 체신, 두신, 비장, 간, 장, 아가미, 눈, 뇌, 근육, 심장, 피부, 위를 무균적으로 적출하였다. 이 때, 세 마리 각 장기는 같은 위치에 있는 조직을 사용하였다.

(2) Total RNA 분리와 cDNA 합성

참돔 세 마리로부터 적출한 조직들은 TRIzol 기반의 RNAiso (TaKaRa, Shiga, Japan)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. 간단하게 설명하자면, 먼저 각 샘플에 RNAiso 600 μ L를 첨가하고 homogenizer로 마쇄하여 균질화 하였다. 그리고 chloroform (Deajong, Republic of Korea)를 100 μ L 첨가하여 vortex한 후, 14,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 분리된 상청액은 새로운 e-tube에 옮긴 후 PCI (Phenol:Chloroform:Isoamylalcohol = 25:24:1) (Biosesang, Republic of Korea)를 동량 첨가하여 14,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. Genomic DNA의 제거를 위해 상청액은 Recombinant DNase I (TaKaRa)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 DNase처리하였으며, 상청액을 새로운 e-tube에 옮긴 후, isopropanol (Sigma, St.

Louis, MO, USA) 500 μ L, Dr.Gen (TaKaRa) 5 μ L, 3M sodium acetate (TaKaRa) 50 μ L를 첨가하여 14,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 분리된 상청액을 모두 제거한 후, 세척을 위해 75% DEPC ethyl alcohol 600 μ L를 첨가하여 14,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 세척 후 남은 상청액의 제거를 위해 상온에서 10-15분 자연 건조한 후, DEPC DW (Bioneer, Republic of Korea)를 적당량 첨가하여 완전히 용해하였다. cDNA를 합성하기 전, total RNA는 농도와 순도를 측정하기 위해 NanoVue (GEhealthcare, USA)를 이용해 측정하였고, PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 cDNA로 합성하였다. 즉 DNase 처리한 total RNA 1 μ L과 Oligo dT primer 1 μ L, dNTP mixture 1 μ L, RNase free water 7 μ L를 포함하는 총량 10 μ L를 혼합하여 65 °C에서 5분간 반응 후, 얼음상에서 5분간 반응시켰다. 그리고 위의 반응액에 5×Script Buffer 4 μ L와 RNase Inhibitor 0.5 μ L, Primer Script RTase 1 μ L, RNase free water 4.5 μ L를 혼합한 총 량 20 μ L를 30 °C에서 10분간 반응 후, 42 °C에서 60분, 95 °C에서 5분간 반응시켰다.

(3) Primer design

Quantitative real-time PCR (RT-qPCR)에 사용된 primer는 PmIL-7R α 의 cDNA full-length sequece에 기초하여 Primer3 ver. 0.4.0 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)을 이용하여 디자인하였다(<Table 1>).

<Table 1> PCR Primers used in this study

Target	Usage	Primer Sequence (5'-3')
IL7R α	Real-time F	TGATGAAGCTGACGGCATAG
	Real-time R	TGAGCCGTCACATTGAAGAG
EF-1 α	Real-time F	CCTTCAAGTACGCCTGGGTG
	Real-time R	CTGTGTCCAGGGGCATCAAT

(4) Quantitative real-time PCR

건강한 참돔에서 PmIL-7R α 의 발현수준을 알아보기 위해, TB Green Master Mix (TaKaRa)를 이용하여 제조사의 메뉴얼에 따라 RT-qPCR을 수행하였다. 즉, cDNA template 1 μ L와 forward·reverse primers 각각 1 μ L, TB Green 12.5 μ L, DDW 9.5 μ L를 총 량 25 μ L이 되도록 혼합하였다. 증폭조건은 50 $^{\circ}$ C에서 4분간 그리고 95 $^{\circ}$ C에서 10분간 initial denaturation, 후에 95 $^{\circ}$ C에서 20초, 60 $^{\circ}$ C에서 1분을 1회로 하여 총 45회 반응시켰으며, 마지막으로 95 $^{\circ}$ C에서 15초, 60 $^{\circ}$ C에서 30초, 95 $^{\circ}$ C에서 15초 final dissociation 하였다. 최종적으로 확인된 PmIL-7R α 의 Ct (Threshold cycle) 값은 EF-1 α mRNA의 Ct값과 비교하여 $2^{-\Delta\Delta CT}$ method (Livak and Schmittgen, 2001)에 의해 계산하였다. 모든 실험은 세반복씩 수행하였고, 모든 데이터는 평균 \pm 표준편차로 표현하였다. 조직들 간의 유의적 차이는 one-way analysis of variance (ANOVA) test에 의해 확인되었다(* p < 0.05, ** p

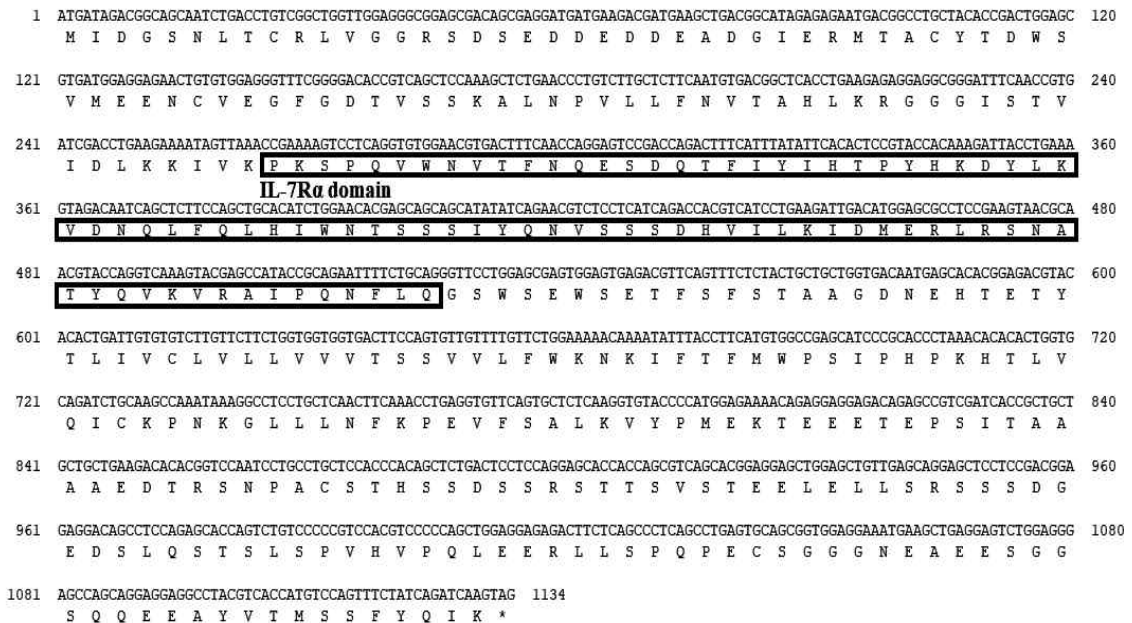
< 0.01, *** p < 0.001).

2) 병원체 인위감염 후 시간별 발현분석

(1) 병원체 인위감염

병원체에 인위감염 후 PmIL-7R α 의 발현특성을 확인하기 위해 준비된 그람양성세균인 *S. iniae*와 그람음성세균 *E. piscicida*, RSIV를 각각 1.5×10^5 cells/fish와 1.5×10^5 cells/fish, 1×10^5 copies/fish가 되도록 PBS에 현탁한 뒤, 참돔의 복강에 주사 하였고, 대조구는 동량의 PBS를 복강 주사 하였다. 각 실험구와 대조구는 1.5 ton 수조에 90마리씩 수용하였으며, 수온은 23-26 $^{\circ}$ C로 유지하였다. 병원체와 PBS를 주사한 후 1시간과 12시간, 1일, 3일, 5일, 7일 차에 각각의 실험구와 대조구로부터 무작위로 세 마리를 선정하여 아가미와 간, 신장, 비장 조직을 무균적으로 적출하였다. 적출한 조직은 실험에 사용하기 전까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

Total RNA 분리와 cDNA 합성은 위의 정상 어체에서 설명한 것과 같은 방법으로 수행되었다.



[Fig. 1] cDNA of the PmIL-7R α and the deduced amino acid sequence PmIL-7R α FN3 domain are boxed.

IL7R domain



[Fig. 2] Multiple alignments of PmIL-7Ra with other species IL-7R amino acid sequences. NCBI accession numbers of dicentracin are as follows: Ocellaris clownfish, XP_023152321; Nile tilapia XP_005470653; Mangrove rivulus XP_017288088; Japanese rice fish XP_023816612; Southern platyfish XP_023193715; Rainbow trout XP_021458472; House mouse AAA39304; Human XP_005248356; European rabbit XP_002714181.

(2) Quantitative real-time PCR

다양한 병원체 인위감염에 의한 PmIL-7R α 의

발현분석을 위해, 위에 설명한 것과 같은 방법으로 RT-qPCR을 수행하였다. 그리고 각 유전자의

발현수준은 위의 기술사항과 동일하게 $2^{-\Delta\Delta CT}$ method에 의해 계산되었으며, 모든 데이터는 평균 \pm 표준편차로 표현하였다. 통계처리는 one-way ANOVA test로 수행되었다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

III. 연구 결과

1. 분자적 특성

1) Sequence 분석

PmIL-7R α cDNA의 ORF는 1134 bp로 377개의 amino acid (aa)을 암호화하였고([Fig. 1]), PmIL-7R α 의 아미노산은 PmIL-7R α domain (89 - 175 aa)을 포함하고 있었다[Fig. 1]. PmIL-7R α 의 등전점(pI)은 5.01, 분자중량은 92.8 kDa으로 예측되었다.

2) Multiple sequence alignment 분석

PmIL-7R α 의 아미노산 서열과 다른 어류 및 포유류 IL-7R α 의 아미노산 서열과의 multiple alignments 분석한 결과 PmIL-7R α 는 *Ocellaris clownfish*의 IL-7R α 와 60%로 가장 높은 상동성

을 보였으며, 어류에서는 Rainbow trout IL-7R α 와는 38%의 비교적 낮은 상동성을 보였다. 한편 포유류에서는 European rabbit IL-7R α 와 27%의 낮은 상동성을 확인할 수 있었다([Fig. 2]).

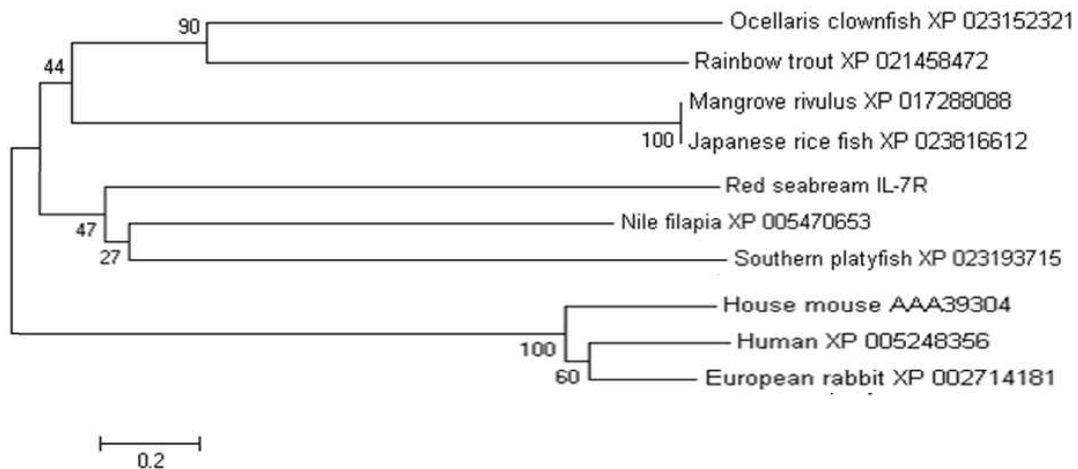
3) 계통발생학적 분석

PmIL-7R α 의 계통발생학적 분석결과 어류의 IL-7R α 는 포유류와 차별된 별개의 cluster로 나뉘어 있었으며, PmIL-7R α 는 어류 IL-7R α 의 cluster에 포함되어 있었다. 또한 *Ocellaris clownfish*와 Nile tilapia의 IL-7R α 와 가장 밀접한 유연관계를 보였다([Fig. 3]).

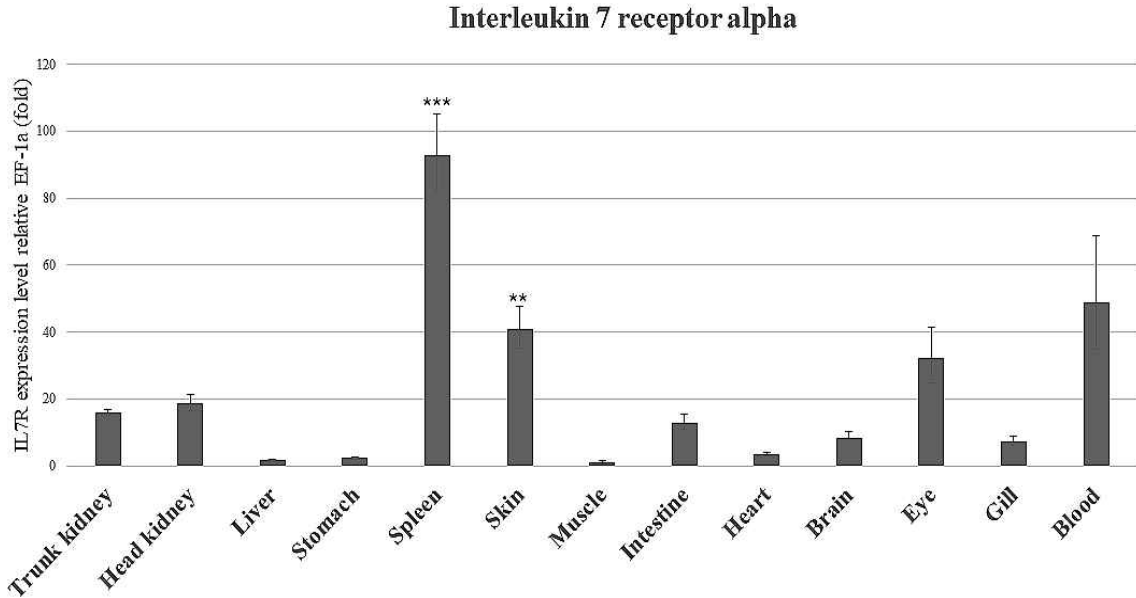
2. 유전자 발현분석

1) 정상 어체에서의 조직별 발현분석

건강한 참돔에서의 조직 특이적 발현분석 결과 PmIL-7R α 의 mRNA는 가장 낮게 발현된 근육을 기준으로 비장과 혈액, 피부에서 유의적으로 가장 높은 발현을 보였다([Fig. 4]). 하지만 비교적 근육과 간, 위, 심장에서는 낮은 발현수준을 보였다.



[Fig. 3] Phylogenetic analysis of deduced PmIL-7R amino acid sequences with IL-7R of other species. The phylogenetic tree was constructed using the neighbour-joining method within MEGA 4 software. Bootstrap sampling was performed with 2,000 replicates. The scale bar is equal to 0.2 change per amino acid position.



[Fig. 4] Detection of PmIL-7Ra genes in different tissues of healthy red sea bream by real-time PCR. EF-1 α was used for normalizing the real-time PCR results. Data are presented as the mean \pm SD from three independent cDNA samples with three replicates from each sample. Asterisks indicate significant differences (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001) compared to muscle.

2) 병원체 인위감염 후 시간별 발현분석

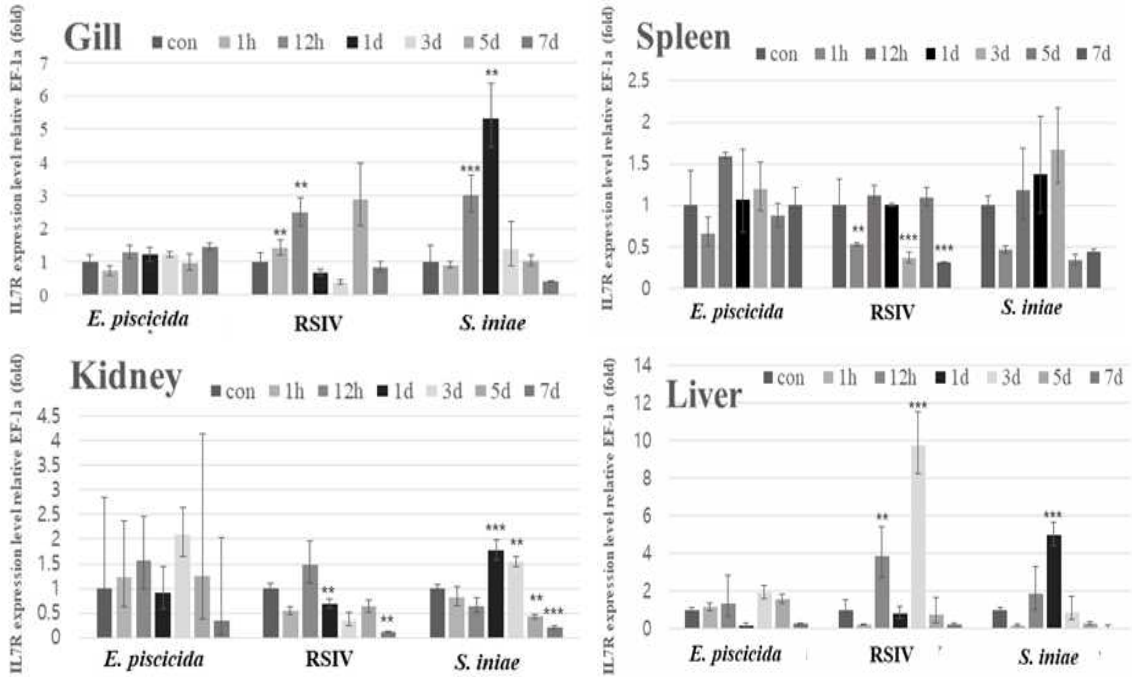
세균과 바이러스를 참돔에 인위감염 시킨 후 아가미, 간, 신장, 비장에서 PmIL-7R α 유전자의 발현 패턴을 RT-qPCR을 이용하여 확인하였다. *S. imiae*를 감염시킨 그룹에서의 PmIL-7R α 발현결과 아가미에서는 12시간과 1일째에 유의적으로 높은 발현하였고, 특히 1일째에 가장 높은 발현이 나타났다. 신장에서는 1일째와 3일째에 유의적으로 높은 발현을 나타냈고 1일째에 가장 높은 발현이 나타났다. 간에서는 1일째에 유의적으로 높은 발현이 나타났다. 한편 RSIV를 인위감염 시킨 후 아가미는 1시간과 12시간째에 발현이 유의적으로 증가하였고 비장에서는 1시간과 3일째, 7일째에 발현이 유의적으로 감소하였다. 신장에서는 1일째와 7일째에 유의적으로 발현이 감소하였고 7일째에 가장 낮은 발현이 나타났다. 간에서는 1일째에 발현이 유의적으로 증가하였다. 하지만 *E. piscicida*를 인위감염 시킨 후에는 모든 조

직에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다([Fig. 5]).

IV. 고찰

이번 연구에서는 비특이적 면역유전자인 PmIL-7R α 을 NGS분석을 이용해 참돔으로부터 분리 및 동정하여 분자생물학적 특성과 발현 분석적 특징에 대해 확인하였다. 이전 연구에서 포유류 IL-7R α 의 서열은 FN3 도메인에 GXWSXWS 모티프를 포함한다고 보고되어 있고(van Haarlem et al., 2009), 이번 연구결과에서도 마찬가지로 PmIL-7R α 유전자는 FN3 도메인에 잘 보존된 GXWSXWS 모티프를 확인할 수 있었다([Fig. 2]).

이전의 연구에서 FN3 도메인은 다양한 세포 외 단백질에서 발견된다고 알려져 있고, Fibronectin domain은 혈전증과 염증, 종양 전이와 관련된 다양한 생물학적 반응을 조절하는데 이는 FN3 도메인에 위치한 GXWSXWS 모티프와 관련 있다



[Fig. 5] Gene expression of PmIL-7R α in the gill, liver, kidney and spleen after infection with *E. piscicida* (A), *S. iniae* (B) and RSIV (C). Levels of PmIL-7R α transcripts were quantified relative to that of EF-1 α levels. Data are presented as the mean \pm SD from three independent cDNA samples with three replicates for each sample. Asterisks represent significant differences compared to the control (PBS) group by ANOVA (* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001).

고 보고되어 있다(Mazzucchelli et al., 2007). 이러한 결과를 보아, PmIL-7R α 에서 FN3 도메인과 잘 보존된 GXWSXWS 모티프가 기능적으로 중요한 역할을 수행할 것으로 생각된다. 또한 계통 발생학적 분석결과 PmIL-7R α 는 다른 어류의 IL-7R α 와 한 cluster를 이루며 높은 유연관계를 확인할 수 있었다([Fig. 3]). 이는 PmIL-7R α 가 어류의 진화과정에서 잘 보존되어 온 것으로 생각된다.

이전 연구들에 따르면 포유동물의 IL-R α 는 비장에서 높은 mRNA 발현이 확인되었고, 특히 T 세포가 풍부한 림프 기관에서 나타났다고 보고되어 있다. 이번 연구의 조직별 발현분석에서는 참돔의 여러 조직에서 PmIL-7R α 의 mRNA 발현이 나타나는 모습을 볼 수 있었고, 이 중 특히 비장

과 혈액, 피부에서 가장 높은 발현을 확인할 수 있었다([Fig. 5]). 어류의 림프구 기능에서 중요한 기관인 비장 및 혈액에서 높은 수준으로 발현됨을 보여 주었으며, 이 결과는 연어 IL-1에 대한 연구와 일치한다(Husain et al., 2012). 또한 피부는 처음 병원체가 침입하는 경로로 박테리아에 직접적으로 노출되어 숙주 방어 메커니즘의 중요한 부위로 알려져 있다(Li et al., 2012). 이러한 결과는 참돔의 비장에서 PmIL-7R α 가 면역 반응에 있어서 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

참돔 양식 산업에서 중요한 병원체인 세균과 바이러스 감염에 따른 참돔의 PmIL-7R α 의 아가미와 비장, 신장, 간에서의 조직별 발현분석 결과 그람음성균인 *E. piscicida*의 감염 후 PmIL-7R α 는 모든 조직에서 유의적인 변화가 없는 것을 확인

하였다(Fig. 5).

하지만 *S. iniae*의 인위감염에 의해 12시간째 아가미에서 발현이 증가하여 1일째에 가장 높은 발현량을 보였고, 신장에서는 1일째에 가장 높은 발현량이 관찰되었다. 이전 연구에서, 인간의 IL-7은 세균세포벽 유래성분인 LPS의 자극으로 인해 발현이 유도되지 않는 것으로 보고되었고 (Szot et al., 2017), 바이러스인 HIV의 감염에 의해 발현이 유도되어 면역체계에 중요한 것으로 보고되었다(Chahroudi et al., 2010). 이러한 결과로 보았을 때 PmIL-7R α 은 그람음성균보다 그람양성균과 반응하여 면역관련 조직에서 발현이 상향 조절 되는 것을 예측할 수 있다. 또한 바이러스 인위감염 후 대부분의 면역관련 조직에서 발현이 상향조절 된 것을 보고 종합해 보면 PmIL-7R α 또한 참돔의 비특이적 면역체계에서 면역 단백질으로써 중요한 역할을 할 것이라 생각된다.

본 연구에서는 참돔으로부터 PmIL-7R α 를 분리 및 동정하였고, 분자적 특성과 발현분석을 수행하였다. 또한 세균·바이러스성 질병에 인위감염된 참돔의 면역관련 조직에서 PmIL-7R α mRNA의 발현조절을 확인할 수 있었다. 이러한 PmIL-7R α 의 발현은 병원체의 감염에 대해 면역 단백질을 면역학적 기능을 수행할 것으로 생각된다. 하지만 이러한 mRNA의 발현수준으로는 참돔에서 PmIL-7R α 의 명확한 기능적 특성에 대해 이해할 수 없으므로, 추후 재조합 단백질 제작을 통한 기능분석이 수행되어야 할 것이다.

References

- Bao C, Wang B, Yang F and Chen L(2018). Blockade of Interleukin-7 Receptor Shapes Macrophage Alternative Activation and Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury, *Neuroscience* 371, 518~527.
- Bergliot M(2006). Innate immunity of fish (overview), *Fish and Shellfish Immunology* 20(2), 137~151. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.006>
- Chahroudi A and Silvestri G(2010). Interleukin-7 in HIV pathogenesis and therapy, *John Libbey EUROTEXT* 21(3), 202~207.
- Gregory SG, Schmidt S, Seth P, Oksenberg JR, Hart J, Prokop A, Caillier SJ, Ban M, Goris A, Barcellos LF, Lincoln R, McCauley JL, Sawcer SJ, Compston DA, Dubois B, Hauser SL, Garcia-Blanco MA, Pericak-Vance MA and Haines JL(2007). Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis, *Nature genetics* 39(9), 1083~1091.
- Hossain MS, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S and Sony NM(2016). Dietary effects of adenosine monophosphate to enhance growth, digestibility, innate immune responses and stress resistance of juvenile red sea bream, *Pagrus major*, *Fish and Shellfish Immunology* 56, 523~533. <http://lps3.doi.org.libproxy.gnu.ac.kr/10.1016/j.fsi.2016.08.009>
- Husain M, Bird S, can Zwieten R, Secombes CJ and Wang T(2012). Cloning of the IL-1 β 3 gene and IL-1 β 4 pseudogene in salmonids uncovers a second type of IL-1 β gene in teleost fish, *Developmental and Comparative Immunology* 38(3), 431~446. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2012.07.010>Get rights and content
- Javvaji PK, Dhali A, Francis JR, Kolte AP, Mech A, Sathish L and Roy SC(2019). Interleukin-7 improves in vitro maturation of ovine cumulus-oocyte complexes in a dose dependent manner, *Cytokine* 113, 296~304. <http://lps3.doi.org.libproxy.gnu.ac.kr/10.1016/j.cyto.2018.07.025>
- Li C, Zhang Y, Lu J, Nandi S, Mohanty S, Terhune J, Liu Z and Peatman E(2012). RNA-seq analysis of mucosal immune responses reveals signatures of intestinal barrier disruption and pathogen entry following *Edwardsiella ictaluri* infection in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, *Fish and Shellfish Immunology* 32(5), 216~827. <http://lps3.doi.org.libproxy.gnu.ac.kr/10.1016/j.fsi.2012.02.004>
- Mazzucchelli R and Durum SK(2007). Interleukin-7 receptor expression: intelligent design, *Nature reviews immunology* 7, 144~154.
- Noman Reza MA, Mohapatra S, Shimizu S, Kitamura

- SI, Harakawa S, Kawakami H, Nakayama K, Sawayama E, Matsubara T, Ohta K and Chakraborty T(2018). Molecular cloning, characterization and expression analysis of complement components in red sea bream (*Pagrus major*) after *Edwardsiella tarda* and red sea bream Iridovirus (RSIV) challenge, *Fish and Shellfish Immunology* 82, 286~295.
- Ricardo PE, Mootohiro T and Nobuhiko T(1999). Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA marker, *Aquaculture* 173(1~4), 413~423.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00469-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00469-4)
- Szot P, Franklin A, Figlewicz DP, Beuca TP, Bullock K, Hansen K, Banks WA, Raskind MA and Peskind ER(2017). Multiple lipopolysaccharide (LPS) injections alter interleukin 6 (IL-6), IL-7, IL-10 and IL-6 and IL-7 receptor mRNA in CNS and spleen, *Neuroscience* 355(4), 9~21.
<http://lps3.doi.org.libproxy.gnu.ac.kr/10.1016/j.neuroscience.2017.04.028>
- van Haarlem DA, van Kooten PJ, Rothwell L, Kaiser P and Verveide L(2009). Characterisation and expression analysis of the chicken interleukin-7 receptor alpha chain, *Developmental and Comparative Immunology* 33(9), 1018~1026.
<http://lps3.doi.org.libproxy.gnu.ac.kr/10.1016/j.dci.2009.05.001>
-
- Received : 24 February, 2020
 - Revised : 16 March, 2020
 - Accepted : 04 April, 2020