

참돔(*Pagrus major*)에서 분리된 CD74a의 분자적 특징과 병원체별 발현 분석

우원식 · 최광민 · 조동희 · 주민수 · 허민진 · 강경식 · 박찬일[†]
경상대학교(학생) · [†]경상대학교(교수)

Analysis of Molecular Characteristics and Pathogen Expression of CD74a Isolated from Red sea bream(*Pagrus major*)

Won-Sik WOO · Kwang-Min CHOI · Dong-Hee CHO · Min-Soo JOO · Min Jin HEO ·
Gyoung Sik KANG · Chan-il PARK[†]

Gyeongsang National University(student) · [†]Gyeongsang National University(professor)

Abstract

When pathogens invade fish, MHC class II and CD74 bind to the Golgi apparatus of antigen-presenting cells and are transcribed, causing an immune response. Through NGS analysis, the molecular characteristics and tissue-specific expression of PmCD74a identified in red sea bream were confirmed. As a result, PmCD74a showed high expression in the gills and intestines, and showed downward expression after pathogen infection, and then upward expression. The results of this study suggest that CD74a will play an important role in the immune process of red sea bream.

Key words : MHC class II, Red sea bream, Invariant chain, CD74a

I. 서론

해양수산자원은 인류의 식량자원으로서 그 중요성이 점차 커지고 있다. 2018년 기준 세계 1인당 수산물 소비량은 19.2kg이었으며, 동물성 단백질에서 수산물이 차지하는 비율도 세계 평균 16.3%로 수산물이 먹거리에서 차지하는 비중이 높은 편이다(FAO, 2018). 그러나 인류의 주요 식량자원인 세계 해양의 수산자원은 상당 부분이 남획과 해양환경 악화 등 잘못된 관리로 인해 주요 어종의 자원량이 현저히 감소하였고, 자원상태도 감소하는 추세이다. 또한, 대부분의 Major histoco-

mpatibility complex (MHC)는 구조적 적합성 복합체라고 불리며(Klein, 1986), 이중이량체를 이루고 있는 복합체를 형성한 당단백질이다(Bjorkman et al., 1990). MHC는 I, II, III으로 구분되며, 이 중 MHC class II 는 CD74를 포함하는 복합체 형성과 분해과정을 항원 제시 세포 내에서 수행하고 펩타이드와 결합한 뒤 세포 표면으로 운반되어 CD4⁺ T 세포에 펩타이드를 제시한다(Cresswell, 1994; Al-Daccak et al., 2004). MHC class II와 결합한 CD74는 MHC class II의 항원 결합 부위를 차단하게 되어 복합체의 생성과정이나 세포 내에서의 이동 과정에서 다른 펩타이드의 결합을 방지

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

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

하기 때문에 엔도솜과 리보솜에서의 이동 과정에서 MHC class II와 CD74의 상호작용은 필수적이다(Collins et al., 1984).

CD74 또는 invariant chain은 1970년대에 MHC class II의 2차원 전기영동에서 처음 확인되었으며(Jones et al., 1979), 1983년에 처음 인간에서 복제되었다(Claesson et al., 1983). CD74는 주로 MHC class II를 통한 외인성 항원을 제시하는 대식세포, B 세포, 수지상 세포와 같은 면역 세포에서 발견되는 것으로 보고되었다(Momburg et al., 1986). 척추동물에서 MHC class II의 유전자는 다양한 항원 제시를 위하여 매우 다형적이며, 다 유전자적인 특징을 가지고 있다(Maccari et al., 2017). CD74는 MHC class II의 다형성과는 상관없이 결합하며(Koch et al., 2007), 잘린 구조를 이용하여 MHC class II의 펩타이드 결합 부위에 결합하기 위한 class II-associated li chain peptide (CLIP) 부위는 81 - 104 amino acid를 이루고 있다. 이 CLIP은 CD74와 MHC class II 사이의 중요한 결합 유전자이다(Bijlmakers et al., 1994).

인간에서 최초로 발견된 이후로부터 지속해서 연구가 진행 중인 CD74는 현재 MHC class II에서 CD74의 역할 뿐 아니라 CD74 자체의 역할에 관해서도 연구되고 있다. 인간의 장 염증 동안 CD74가 활성화되어 점막으로 이루어진 장벽을 보호하는 것으로 보고되었으며(Farr et al., 2020), 암이나 염증 같은 면역 질환에서 macrophage migration inhibitory factor (MIF)와 CD74 복합체가 새로운 치료법으로 활용이 되기 위해 CD74 단백질을 높은 수율로 얻어 MIF와 결합하는 부위를 확인하는 연구가 있다(Kok et al., 2018).

어류에서는 1990년대 CD74의 보고가 있었으며(Yoder et al., 1999), 경골어류에서 CD74는 특이하게도 CD74a와 CD74b가 확인하였지만, 각각의 기능 차이는 보고되지 않았다(Dijkstra et al., 2003). 어류 CD74의 기능은 MHC class II와 관련하여 세포 내 수송 및 펩타이드 결합방지와 같이 포유류와 유사한 기능을 할 것으로 보고되었다(C

riscitiello et al., 2012). 그러나 인간 CD74와 같이 어류 CD74의 자체 기능에 관한 연구는 극히 적은 실정이다.

참돔은 주로 북서 태평양에 서식하며 수심 10 - 200m에 서식하는 경골어류이며, 국내 양식산업에서 경제적으로 중요한 어종이다. 그러나 참돔에 관한 연구는 성장에 관한 연구로 제한적이며(Duy Khoa et al., 2020), 면역학적인 연구는 상대적으로 부족한 실정이다. 참돔은 양식 과정 중에 다양한 병원체에 노출되어 감염으로 인한 폐사 가능성이 높기 때문에 면역학적 연구는 참돔 양식 산업에서 생산성 향상에 중요하며, 특히 적응 면역(adaptive immunity)에서 중요한 MHC class II와 연관된 CD74의 연구를 통해 추후 백신에 관련된 연구에 충분한 기초자료로서 충분히 활용될 수 있을 것이다.

이번 연구에서는 어류 CD74의 기능에 관한 기초적인 자료를 축적하고, 면역학적인 이해의 증진을 위하여 참돔에서 분리된 CD74a 유전자의 분자적 특성을 분석하였고, 병원체별 발현 양상을 확인하였다.

II. 연구 방법

1. Next-Generation Sequencing (NGS) 분석

Lipopolysaccharide (LPS)로 자극한 참돔의 간으로부터 Next-Generation Sequencing (NGS) 분석을 통해 참돔 CD74a (PmCD74a)의 cDNA full-length를 확보하였다.

2. 분자적 특성 분석

NGS 분석을 통해 동정된 PmCD74a의 ORF (Open Reading Frame) 아미노산 서열은 Genetyx 7 (SDC Software Development)와 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 BLASTX program (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)을 이용하여 분석하였다. 특이적 도메인의 위치는 Simple

Modular Architecture Research Tool (SMART) (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)로 확인하였으며, 분자중량(molecular weight)과 등전점(theoretical isoelectric point, pI)은 ProtParam tool (<http://web.expasy.org/protparam/>)을 이용하여 예측하였다. NCBI의 sequence database에 등록된 다른 어류들의 CD74 서열 multiple sequence alignment는 ClustalW (<http://www.genome.jp/tools/clustalw/>)를 이용하여 분석하였으며, 분석한 다중염기서열의 공통된 motif를 찾기 위해 Multiple Em for Motif Elicitation (MEME) (<http://meme-suite.org/>)를 이용하여 예측하였다. 계통 발생학적 분석은 Mega-X program의 neighbor-joining (NJ)법을 이용하여 분석하였다.

3. 정상어체 유전자 발현 분석

가. 발현분석용 조직 분리

실험에 사용된 참돔은 경상남도 수산자원연구소로부터 제공받아 사용하였다. 체장과 체중은 각각 14.8 ± 2 cm, 68.9 ± 9 g 이었으며, 실험에 사용 전 2주간 20°C 수조에 순치하였다. 조직 적출을 위해 건강한 참돔 3마리를 무작위로 선정하고, Benzocaine (Sigma)으로 마취한 뒤 체신, 두신, 장, 근육, 비장, 아가미, 위, 뇌, 간, 심장, 피부, 눈을 무균적으로 적출하였다. 적출된 조직은 total RNA 추출하기 전까지 -80°C에서 보관하였다.

나. Total RNA 추출 및 cDNA 합성

적출한 조직들의 total RNA 추출은 Son(2020)의 방법을 참고하여 수행하였다. RNAiso (TaKaRa) 600 μ L를 첨가 후 homogenizer를 이용해 균질

화시켰다. 그리고 chloroform (Deajong)을 100 μ L 첨가하여 vortexing한 뒤 14,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 분리된 상층액은 새로운 e-tube에 옮긴 후 PCI (Biosesang)를 동량 첨가하여 14,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하고, Genomic DNA의 제거를 위해 상층액은 Recombinant DNase I (TaKaRa)를 이용하여 DNase 처리하였다. 상층액을 새로운 e-tube에 옮긴 후, isopropanol (Sigma) 500 μ L, 3M sodium acetate (TaKaRa) 50 μ L, Dr.Gen (TaKaRa) 5 μ L 를 첨가하여 14,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 분리된 상층액을 모두 제거한 후, 세척을 위해 75% DEPC ethyl alcohol 600 μ L를 첨가하여 14,000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 세척 후 남은 상층액의 제거를 위해 상온에서 10-15분 자연 건조한 후, DEPC DW (Bioneer)를 적당량 첨가하여 완전히 용해하였다. cDNA를 합성하기 전, total RNA는 농도와 순도를 측정하기 위해 NanoVue (GEhealthcare)를 이용해 측정하였고, PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 cDNA로 합성하였다.

다. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) 분석
정상 참돔에서 PmCD74a의 발현수준을 알아보기 위하여 TB green master mix (TaKaRa)를 사용해 설명서에 따라 qRT-PCR을 수행하였으며, 수행한 qRT-PCR의 조건과 primer는 <Table 1>에 표시하였다. PmCD74a와 EF-1 α 의 Ct (Threshold cycle)값을 서로 비교하여 $2^{-\Delta\Delta CT}$ method (Livak and Schmittgen, 2001)에 의하여 계산되었다.

<Table 1> PCR primers and qRT-PCR condition in this study

Target	Usage	Primer Sequence (5'- 3')	qRT-PCR condition
CD74a	qRT-PCR F	GAGCTTTGAGACCTGGATGC	95°C for 10 min followed by 45 cycles at 95°C for 20 s and 60°C for 1 min
	qRT-PCR R	CACACTGGGGCTTGTAGGAT	
EF-1 α	qRT-PCR F	CCTCAAGTACGCCTGGGTG	95°C for 20 s and 60°C for 1 min
	qRT-PCR R	CTGTGTCCAGGGGCATCAAT	

4 병원체별 유전자 발현분석

가. 병원체 인위감염

인위감염 후 PmCD74a의 발현특이성을 확인하기 위하여 참돔을 *Streptococcus iniae* (1×10^6 CFU/mL)와 *Edwardsiella piscicida* (1×10^6 CFU/mL), Red sea bream iridovirus (1×10^6 copies/mL)를 3개의 실험군으로 각각 수조에 30마리씩 나누어 100 μ L씩 복강투여 하였고, 대조군으로 동량의 PBS를 투여하였다. 복강주사 후 1시간, 12시간, 1, 3, 5, 7일 차에 각각의 실험군과 대조군으로부터 무작위로 3마리씩 신장, 비장, 간 조직을 무균적으로 적출하고, 실험에 사용하기 전까지 -80°C의 초저온 냉장고에 보관하였다.

나. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) 분석

병원체 감염 후 추출한 조직의 total RNA와 cDNA 합성 그리고 qRT-PCR 분석은 정상어체 발현분석시에 사용한 방법과 같은 방법으로 수행하였다. 각 유전자의 발현수준 역시 $2^{-\Delta\Delta CT}$ method로 계산되었다.

5. 통계분석

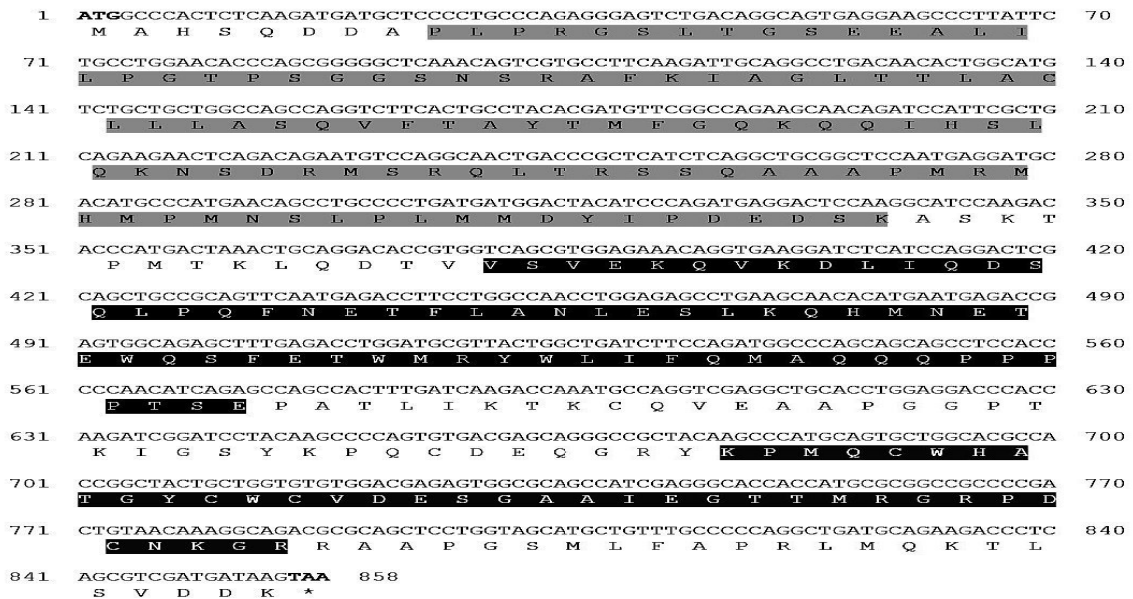
모든 실험은 3번 반복하여 수행하였다. 실험을 통하여 확인된 모든 데이터 결과는 \pm 표준편차로 표현하였으며, 유의적 차이는 one-way analysis of variance (ANOVA) test에 의해 확인되었다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

III. 연구 결과

1. PmCD74a의 분자적 특성

가. Open reading frame (ORF)

PmCD74a cDNA의 ORF는 858 bp로 285개의 amino acid (aa)를 암호화하고 있었으며, 분자 중량과 등전점은 각각 70 kDa와 5.04로 예측되었다. PmCD74a의 도메인은 MHC2-interact (9 - 113 aa), MHCassoc trimer (127 - 191 aa), Tyroglbulin type I repeats (216 - 262 aa)을 포함하고 있었다([Fig. 1]).



[Fig. 1] The cDNA and deduced amino acid of PmCD74a. MHC2-interact domain are gray boxed. MHCassoc_trimer domain are black boxed. Tyroglbulin type I repeat in PmCD74a are dark gray boxed.

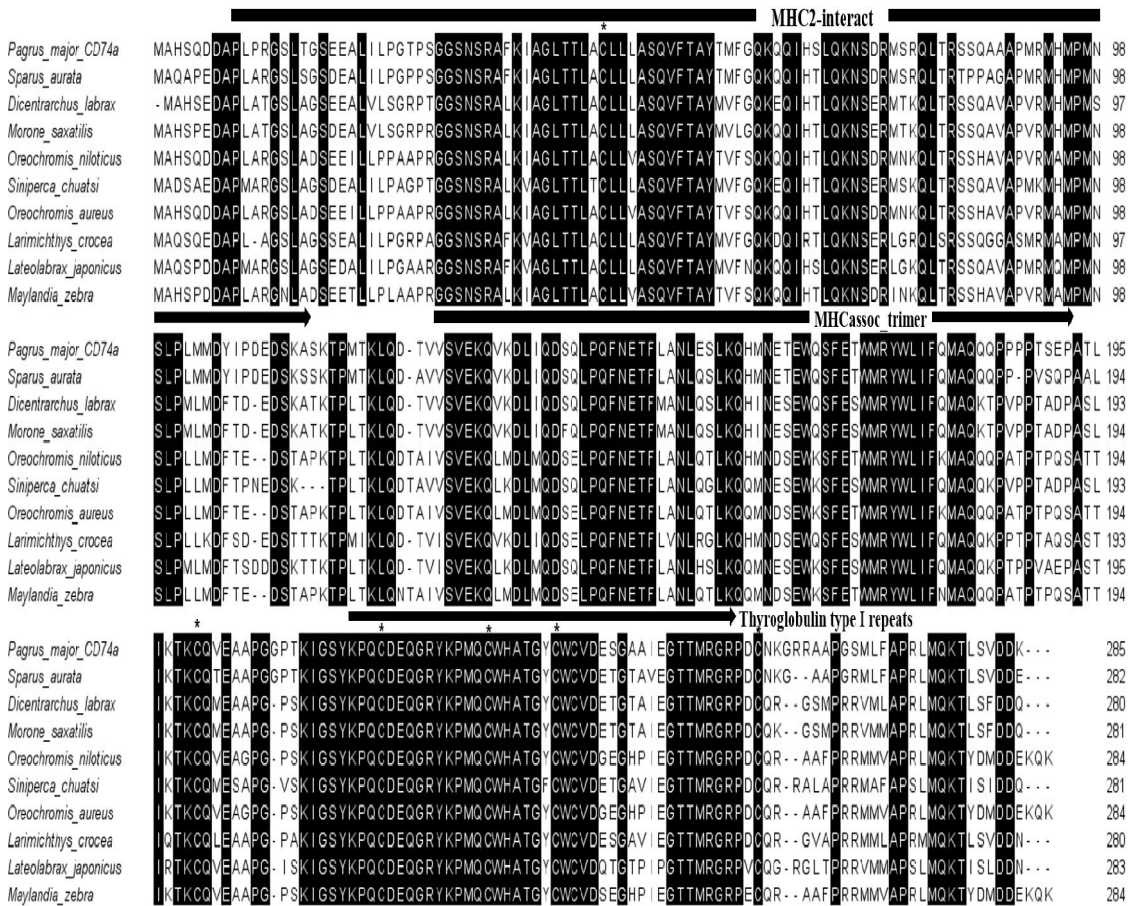
참돔(*Pagrus major*)에서 분리된 CD74a의 분자적 특징과 병원체별 발현 분석

나. Multiple sequence alignment (다중염기서열)

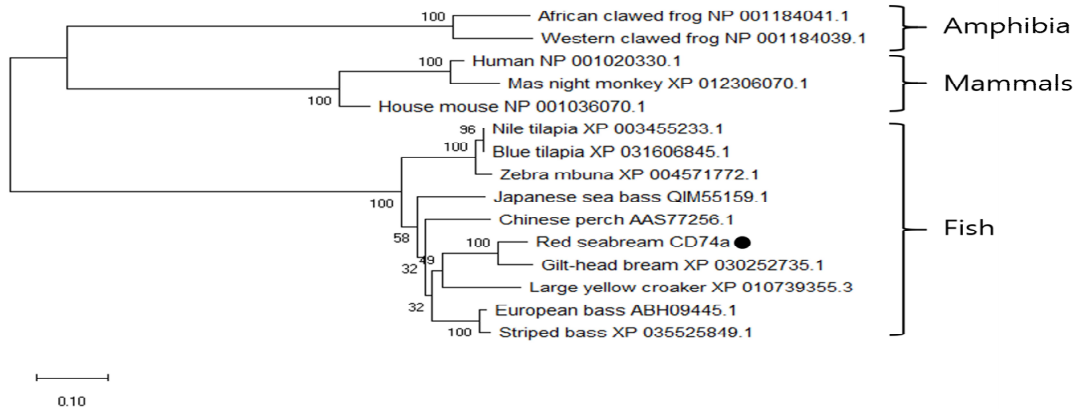
PmCD74a와 다른 어류의 CD74a 서열을 비교하여 다중염기서열 분석을 수행한 결과 전체적인 상동성의 범위는 74 - 90%였다. PmCD74a는 Gilt-head bream (*Sparus aurata*)의 CD74a와 90%로 가장 높은 상동성을 보였으며, Zebra mbuna (*maylandia zebra*)의 CD74a가 74.83%로 가장 낮은 상동성을 보였다([Fig. 2]).

공통적으로 보존된 motif를 확인한 결과 3개의

motif가 보존되어있는 것을 확인하였으며, 각 motif의 서열은 (KIGSYKPCDEQGRYKPMQC WHA TGYCWCVDETGAPIEGTTMRGRPCQR), (VEKQ VKDLIQDSZLPQFNETFLANLQSLKQHMANESEWQ SFESWMRYWLIF), (PRGGSNSRA LKIAG LTTLA CLLLASQVFTAYMVFQKQKIHTLQKNSERM) 이었다. 또한 5개의 cysteine이 보존되어있는 것을 확인하였다.



[Fig. 2] Multiple alignments of PmCD74a with other vertebrates. NCBI accession numbers of dicentracin are as follows: *Sparus aurata*, XP_030252735.1; *Dicentrarchus labrax*, ABH09445.1; *Morone saxatilis*, XP_035525849.1; *Oreochromis niloticus*, XP_003455233.1; *Siniperca chuatsi*, AAS77256.1; *Oreochromis aureus*, XP_031606845.1; *Larimichthys crocea*, XP_010739355.3; *Lateolabrax japonicus*, QIM55159.1; *Maylandia zebra*, XP_004571772.1.



[Fig. 3] Phylogenetic analysis of deduced PmCD74a amino acid sequences with other species. The phylogenetic tree was constructed using the neighbour-joining method within MEGA X software. Bootstrap sampling was performed with 1,000 replicates. The scale bar is equal to 0.1 change per amino acid position.

다. Phylogenetic analysis (계통 발생학적 분석)

PmCD74a의 계통 발생학적 분석결과 포유류의 CD74와 별개의 cluster가 어류 CD74a에 나타난 것을 확인하였다. PmCD74a는 어류의 CD74a의 cluster에 포함되어 있었으며, gilt-head sea bream과 밀접한 유연관계를 보였다([Fig. 3]).

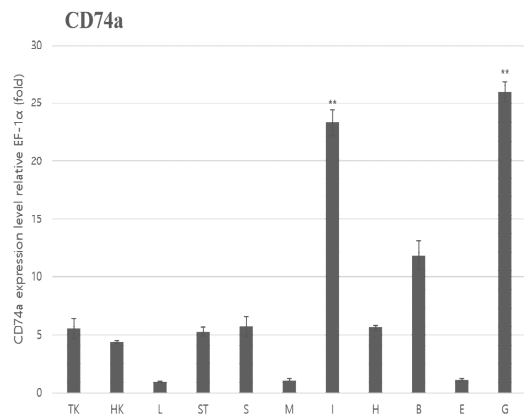
2. PmCD74a의 유전자 발현 분석

가. 정상어체의 조직별 발현 분석

정상적인 참돔에서 PmCD74a의 조직 특이적 발현 분석결과 조직에서 모두 발현을 보인 것을 확인하였다. 가장 낮은 발현을 보인 간을 기준으로 아가미와 장에서 유의적으로 높은 발현을 보였으며, 근육과 눈에서 비교적 낮은 발현을 보였다([Fig. 4]).

나. 병원체 감염 후 조직별 발현 분석

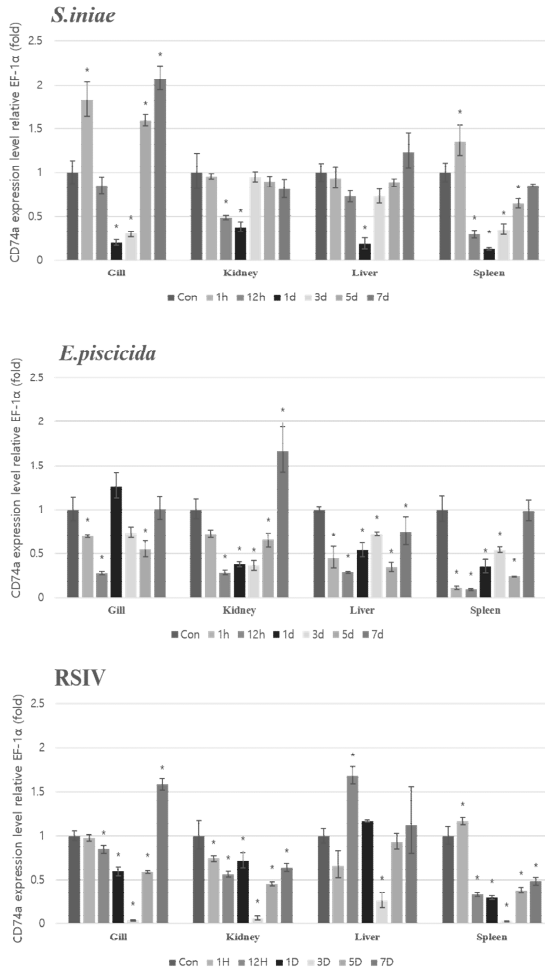
병원체 감염 후 간, 아가미, 비장, 신장에서 PmCD74a의 발현을 qRT-PCR을 통해 확인하였다. *E. piscicida*를 감염시킨 실험군에서 모든 조직에서 시간에 따라 하향발현 후 상향발현을 보였으며, 감염 후 12시간째에 유의적으로 가장 낮은 발현을 보이는 것을 확인하였다.



[Fig. 4] Tissue distribution of PmCD74a. Vertical bars represent the mean \pm SD. Error bars represent the standard error of three replicates. Asterisks indicate significant differences (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) compared to liver.

*S. iniae*에 감염시킨 실험군은 모든 조직에서 초기에 상향발현 후 1일 차에 유의적으로 가장 낮은 발현을 보이고 그 후로 다시 상향발현을 보이는 패턴을 보여주었다. RSIV에 감염된 실험군에서 역시 모든 조직에서 하향발현 후 상향발현을 보였으며, 감염 후 3일 차에 유의적으로 가장 낮

은 발현을 보인 후 상향발현을 시작하였다(Fig. 5).



[Fig. 5] Induced PmCD74a expression after infection *E. piscicida*, *S. iniae* and RSIV. Vertical bars represent the mean \pm SD. Error bars represent the standard error of three replicates. Asterisks indicate significant differences (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) compared to control (0 h).

IV. 결론

경골어류의 CD74는 CD74a와 CD74b로 분류되

어 있지만, 아직 각각의 기능에 대한 명확한 보고는 매우 적다. 이번 연구에서 참돔의 MHC class II을 이용한 면역 시스템에서 중요한 CD74a의 분자생물학적 특성과 병원체별 감염 후 발현 분석을 수행하여 유전자의 특징을 확인하였다.

Invariant chain인 CD74의 도메인으로 보고된 MHC2-interact는 MHC class II에 관련된 invariant chain과 CLIP에서 발견되는 도메인으로 MHC class II 면역 과정에서 MHC class II 복합체와의 연결에 필요한 도메인이다(Zhu et al., 2003). 새롭게 합성된 MHC class II 이량체가 소포체로 이동한 후 invariant chain과 결합하여 삼량체를 형성하게 되는데 MHCassoc_trimer는 이때 삼량체를 이루게 해주는 도메인이며, 이렇게 형성된 삼량체는 이량체보다 구조적으로 안정화되어 MHC의 조립 및 항원 처리에 매우 중요한 역할을 수행하게 한다(Jasanoff et al., 1998). Tyroglubulin type I은 갑상선에서 발현하는 특이적인 당단백질로 알려져 있지만 MHC class II와 invariant chain에서도 발견되는 도메인이다(Koch et al., 1987). PmCD74a에서도 선행연구들과 같이 3개의 도메인을 확인하였으며(Fig. 1), PmCD74a 역시 기존 연구에서 보고된 CD74 기능과 유사하게 MHC class II 면역 과정에 기여를 할 것으로 여겨진다. 다중염기서열의 motif 분석에서 3개의 motif가 고도로 보존된 것을 확인할 수 있으며[Fig. 2], 계통 발생학적 분석을 통해 다른 어류들과 같은 cluster를 이룬 것을 보았을 때 PmCD74a가 어류의 진화과정에서 보존이 잘되어 있고 유사한 역할을 할 것으로 생각된다(Fig. 3).

정상어체에서 PmCD74a의 발현을 조사한 결과, 아가미와 장에서 높은 발현을 보인 것을 확인하였다(Fig. 4). 아가미와 장은 병원체에 노출도가 매우 높고, 면역반응이 활발하게 일어나는 장기로 알려져 있으며, 선천 면역과 적응면역에서 중요한 장기이다. 이번 연구의 결과로 미루어보아 PmCD74a는 참돔의 면역반응에서 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 선행연구에서 칼상어(dabry's

sturgeon)는 아가미에서 가장 높게 발현한다고 보고되었고(Chen et al., 2020), 초어(grass carp)의 CD74 발현은 신장에서 가장 높은 발현 값을 보였으며(Chen et al., 2017), 철갑상어(chinese sturgeon)에서는 비장에서 높은 발현이 보고되었다(Li et al., 2017). 이러한 CD74의 정상어체 발현결과를 보았을 때 어종에 따라 발현의 차이가 있는 것으로 여겨지며 좀 더 다양한 종에 관한 분석이 필요하다고 생각된다.

병원체 별 발현 분석에서 PmCD74a는 *E. piscicida*에서 12시간째, *S. iniae*에서 1일 차에, RSIV에서 3일 차까지 하향발현 후 다시 상향발현을 보이는 결과를 나타냈다(Fig. 5). 그러나 선행연구에서 철갑상어 CD74의 *Vibrio anguillarum* 감염 시 MHC class II와 같이 상향 발현하는 것이 보고되었고(Li et al., 2017), 칼상어에서는 *Edwardsiella tarda*에 감염 후 간에서 상향발현 후 점차 하향발현을 보였으며, 두신과 비장에서 12시간과 24시간째에 하향발현을 보였다(Chen et al., 2020). 현재까지 각 병원체 임위감염 후 CD74의 발현 변화에 관한 연구 보고가 적은 실정이기 때문에 이들의 기능에 대하여 명확하게 정의를 내리기는 힘들 것이다. 그럼에도 불구하고 이번 PmCD74a의 인위감염에 사용된 *S. iniae*의 특정 bacteriocin인 Sil이 세포의 면역 반응을 억제하며(Li et al., 2014), RSIV가 속한 Megalocytivirus 속이 경골어류의 miRNA (microRNA)를 이용하여 감염 초기 단계에서 바이러스의 복제를 촉진시키고, 인터페론 조절 인자와 같은 면역인자를 특이적으로 억제하였다고 보고되었다(Zjage et al., 2016). 그 외에도 원생동물 기생충인 *Toxoplasma gondii*이 지속적인 감염을 일으키기 위해 CD74의 주요 구성 요소의 발현을 조절하여 MHC class II의 발현을 억제한다는 연구가 있었다(Leroux et al., 2015). 이처럼 병원체들은 원활한 숙주감염을 위하여 여러 가지 면역 회피 작용을 하며, 특히 면역유전자를 이용하여 면역을 회피하는 경우가 많다. 이러한 선행연구들을 보았을 때 감염 후 병원체들

의 감염력이 강한 12시간부터 CD74a의 발현이 낮아진 결과는 MHC class II의 면역 시스템을 억제하거나 회피하기 위해 병원체들이 CD74a의 활성을 억제하여 감염에 유리하게 하기 위한 면역 회피 작용으로 인한 결과로 보이지만, 좀 더 관련 연구가 필요하고 생각된다.

본 연구에서 분리 및 동정된 참돔의 CD74a의 분자적 특성과 발현 분석결과 invariant chain 특이적 도메인을 확인하였고, 정상조직과 질병에 인위감염시 PmCD74a의 면역 관련 조직에서의 mRNA 발현조절을 확인하였다. 이러한 PmCD74a의 발현은 참돔의 MHC class II 면역 시스템에서 면역학적인 기능을 할 것으로 예상하지만, 종간의 차이에 따라 발현수준이 달라지는 것과 어류 CD74에 관한 연구가 적어 아직 명확한 이해가 부족하므로 이번 연구의 자료를 기초로 하여 추후 재조합 단백질 제작을 통해 기능분석까지 수행한다면 어류 CD74 연구의 기초자료로써 사용될 수 있을 것이다.

References

- Al-Daccak R, Mooney N and Charron D(2004). MHC class II signaling in antigen-presenting cells. *Curr. Opin. Immunol.* 16, 108~113.
- Bijlmakers MJ, Benaroch P and Ploegh HL(1994). Mapping functional regions in the luminal domain of the class II-associated invariant chain, *J. Exp. Med.*, 180, 623~629.
- Bjorkman PJ and Parham P(1990). Structure, function, and diversity of class I major histocompatibility complex molecules. *Annu Rev Biochem.* 59:253~288. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.59.070190.001345>
- Chen FF, Lin HB, Li JC, Wang Y, Li J and Yu W (2017). Grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) invariant chain of the MHC class II chaperone protein associates with the class I molecule. *Fish Shellfish Immunol.* 63:1~8. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.01.030>.
- Chen Y, Liu Y, Song M, Lai J, Sun J and Gong Q (2020). Molecular polymorphism and expression of

- MHC I α , II α , II β and II invariant chain in the critically endangered Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*). *Dev Comp Immunol.*, 103:103494
<https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.103494>.
- Cresswell P(1994). "Assembly, transport, and function of MHC class II molecules". *Annual Review of Immunology*. 12: 259~93.
<https://doi.org/10.1146/annurev.iy.12.040194.001355>. PMID 8011283.
- Crisciatiello MF, Ohta Y, Graham, MD, Eubanks J.O, Chen PL and Flajnik MF(2012). Shark class II invariant chain reveals ancient conserved relationships with cathepsins and MHC class II. *Dev. Comp. Immunol.*, 36, 521~533.
- Claesson L, Larhammar D, Rask L, and Peterson PA (1983). cDNA clone for the human invariant gamma chain of class II histocompatibility antigens and its implications for the protein structure, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 80, 7395~7399.
- Collins T, Korman AJ, Wake CT, Boss JM, Kappes DJ, Fiers W, Ault KA, Gimbrone Jr MA, Strominger JL and Pober JS(1984). Immune interferon activates multiple class II major histocompatibility complex genes and the associated invariant chain gene in human endothelial cells and dermal fibroblasts, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 81, 4917~4921.
- Duy Khoa TN, Waqalevu V, Honda A, Shiozaki K and Kotani T(2020). Comparative study on early digestive enzyme activity and expression in red sea bream (*Pagrus major*) fed on live feed and micro-diet, *Aquaculture*. 519,
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734721>.
- Dijkstra JM, Kiryu I, Kollner B, Yoshiura Y and Otake M(2003). MHC class II invariant chain homologues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 15, 91~105.
- Farr L, Ghosh S, Jiang N, Watanabe K, Parlak M, Bucala R and Moonah S(2020). CD74 Signaling Links Inflammation to Intestinal Epithelial Cell Regeneration and Promotes Mucosal Healing, *CMGH.*, vol: 10(1) 101~112.
<https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2020.01.009>.
- Jasanoff A, Wagner G, and Wiley DC (1998). Structure of a trimeric domain of the MHC class II-associated chaperonin and targeting protein Ii. *EMBO J.* 17(23) 6812~818.
<https://doi.org/10.1093/emboj/17.23.6812>.
- Jones PP, Murphy DB, Hewgill D and McDevitt H.O (1979). Detection of a common polypeptide chain in I - A and I - E sub-region immunoprecipitates, *Mol. Immunol.*, 16, 51~60.
- Klein J(1986). "Seeds of time: Fifty years ago Peter A. Gorer discovered the H-2 complex". *Immunogenetics*. 24 (6) 331~338.
<https://doi.org/10.1007/bf00377947>. PMID 3539775.
- Koch N, Lauer W, Habicht J and Dobberstein B(1987). Primary structure of the gene for the murine Ia antigen-associated invariant chains (Ii). An alternatively spliced exon encodes a cysteine-rich domain highly homologous to a repetitive sequence of thyroglobulin. *EMBO J.* 6(6) 1677~1683.
- Koch N, McLellan AD and Neumann J(2007). A revised model for invariant chain-mediated assembly of MHC class II peptide receptors. *Trends Biochem. Sci.*, 32, 532~537.
- Kok T, Wasiel A, Dekker F, Poelarends G and Cool R(2018). High yield production of human invariant chain CD74 constructs fused to solubility-enhancing peptides and characterization of their MIF-binding capacities. *Protein Expr Purif.* Aug;148:46~53.
<https://doi.org/10.1016/j.pep.2018.03.008>.
- Leroux LP, Nishi M, El-Hage S, Fox BA, Bzik DJ and Dzierszinski FS(2015). Parasite Manipulation of the Invariant Chain and the Peptide Editor H2-DM Affects Major Histocompatibility Complex Class II Antigen Presentation during *Toxoplasma gondii* Infection. *Infect Immun.* 83(10):3865~3880.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00415-15>.
- Li X, Du H, Liu L, You X, Wu M and Liao Z(2017). MHC class II alpha, beta and MHC class II-associated invariant chains from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) and their response to immune stimulation. *Fish Shellfish Immunol.* 70:1~12. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.08.042>.
- Li MF, Zhang BC, Li J and Sun L(2014). Sil: a Streptococcus *iniae* bacteriocin with dual role as an antimicrobial and an immunomodulator that inhibits innate immune response and promotes *S. iniae* infection. *PLoS One.* Apr 29;9(4):e96222.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096222>. PMID: 24781647; PMCID: PMC4004548.
- Maccari, G, Robinson, J. Ballingall, K. Guethlein, L

- A, Grimholt, U. Kaufman, J. Ho, CS. de Groot, N G. Flicek, P and Bontrop RE(2017). IPD-MHC 2.0: An improved inter-species database for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic Acids Res.* 45, D860 - D864.
- Momburg F, Koch N, Moller P, Moldenhauer G, Butcher GW and Hammerling GJ(1986). Differential expression of Ia and Ia-associated invariant chain in mouse tissues after in vivo treatment with IFN-gamma. *J. Immunol.*, 136, 940~948.
- Roche PA, Marks MS and Cresswell P(1991). Formation of a nine-subunit complex by HLA class II glycoproteins and the invariant chain. *Nature.* 354(6352):392~394.
<https://doi.org/10.1038/354392a0>.
- Son MY, Choi KM, Joo MS and Park CI(2020). Molecular Characterization and Expression Analysis of the Interleukin 7 Receptor Alpha Chain (IL-7R α) Gene from Red Sea Bream (*Pagrus major*). *JOURNAL OF FISHRIES AND MARINE SCIENCES EDUCATION*, 32(2), 560~569.
<https://doi.org/10.13000/JFMSE.2020.4.32.2.560>.
- Yoder, JA. Haire, RN. Litman and GW(1999). Cloning of two zebrafish cDNAs that share domains with the MHC class II-associated invariant chain. *Immunogenetics*, 50, 84~88.
- Zhang B, Zhou Z and Sun L(2016). pol-miR-731, a teleost miRNA upregulated by megalocytivirus, negatively regulates virus-induced type I interferon response, apoptosis and cell cycle arrest. *Sci Rep* 6, 28354. <https://doi.org/10.1038/srep28354>.
- Zhu Y, Rudensky AY, Corper AL, Teyton L and Wilson IA(2003). Crystal structure of MHC class II I-A β in complex with a human CLIP peptide: prediction of an I-A β peptide-binding motif. *J Mol Biol.* 326(4):1157~1174.
[https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(02\)01437-7](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(02)01437-7).
-
- Received : 27 August, 2020
 - Revised : 16 October, 2020
 - Accepted : 23 October, 2020