

Shi S, Wang Z X, Xiao W H, *et al.* Molecular characteristics and functions of the *SMYD3* gene in antiviral immunity in *Siniperca chuatsi* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(4): 042615. [石帅, 王子旋, 肖武汉, 等. 鳊SMYD3基因的分子特征及其在抗病毒免疫中的功能 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(4): 042615.]

鳊SMYD3基因的分子特征及其在抗病毒免疫中的功能

石 帅^{1,2*} 王子旋^{2*} 肖武汉^{1,2,3#} 刘 兴^{1,2,3#}

(1. 大连海洋大学水产与生命学院, 大连 116023; 2. 水产品种创制与高效养殖全国重点实验室, 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为了研究鳊(*Siniperca chuatsi*)赖氨酸甲基转移酶SMYD3 (SET and MYND Domain Containing 3)基因的分子特征及其在抗病毒免疫中的功能, 首先通过氨基酸序列比对、蛋白质结构预测及进化树分析表明, 鳊SMYD3基因在进化过程中具有较高的保守性。本文克隆了鳊SMYD3基因, 其全长1332个核苷酸, 编码443个氨基酸。荧光定量qRT-PCR结果表明, 在感染鳊弹状病毒SCRV (*Siniperca chuatsi* Rhabdovirus)后, 过表达鳊SMYD3显著抑制抗病毒基因的表达, 并且促进SCRV病毒的复制。分子机制解析表明, 鳊SMYD3和干扰素调节因子3和7 (IRF3和IRF7)之间存在相互作用, 随后通过荧光素酶报告基因实验证明, 鳊SMYD3抑制由IRF3和IRF7激活的干扰素启动子和干扰素刺激响应元件ISRE的活性。为了研究SMYD3在SCRV病毒感染过程中的在体生物学功能, 利用模式生物斑马鱼作为模型, 对野生型斑马鱼和smyd3缺失的斑马鱼进行了SCRV的攻毒实验, 发现smyd3缺失的斑马鱼抗SCRV病毒感染的能力显著增强。这些研究结果表明鳊SMYD3负调控抗病毒先天免疫信号通路, 为深入解析鳊抗病毒免疫的分子调控机制提供依据, 同时为培育抗病毒鳊新种质提供了分子靶标。

关键词: 赖氨酸甲基转移酶SMYD3; 基因表达; 鳊弹状病毒SCRV; 先天免疫; 鳊

中图分类号: S941.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)04-042615-11

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0373 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0373



鳊(*Siniperca chuatsi*)是鲈形目鲈科鳊属鱼类, 俗称桂花鱼、季花鱼, 具有肉质细嫩、营养丰富、无肌间刺、蛋白质含量高等优点, 是我国一种具有重要商业价值的淡水鱼类^[1,2]。然而, 随着养殖规模的扩大以及对高养殖效益的追求, 人们过往疏忽了对鳊人工繁殖选育的科学管理, 这导致鳊的抗病性下降, 严重影响育种效益、质量和安全^[3]。因此, 对鳊养殖中病害发病机制的解析及鳊抗病新品种的培育受到越来越多的重视, 相关的研究也取得了

一系列的进展。

近年来, 病害的暴发给鳊养殖业带来巨大损失, 尤其是由病毒感染引起的病毒病, 已成为影响鳊养殖业可持续发展的主要制约因素^[4-5]。鳊弹状病毒SCRV (*Siniperca chuatsi* Rhabdovirus)是一种鳊的重要病毒病原^[6], 其感染会导致鳊在体表、鳍部以及鳃、肝脏和肠道等器官出现点状出血的临床症状, 且致死率极高^[7-9]。通过组织病理学检查, 感染SCRV的病鱼样本中可以观察到鳊的脾、肝和肾出

收稿日期: 2025-10-23; **修订日期:** 2025-12-22

基金项目: 湖北省自然科学基金(2022CFA110); 国家重点研发计划(2022YFF1000302); 国家自然科学基金(32273171、32430108和U25A20721); 国家资助博士后研究人员计划和中国博士后科学基金(BX20250008)资助 [Supported by the Natural Science Foundation of Hubei Province of China (2022CFA110); the National Key Research and Development Program of China (2022YFF1000302); the National Natural Science Foundation of China (32273171, 32430108 and U25A20721); the Postdoctoral Fellowship Program and China Postdoctoral Science Foundation (BX20250008)]

作者简介: 石帅, 男, 硕士研究生; 主要从事鱼类抗逆抗病机理研究。E-mail: shishuai@ihb.ac.cn 王子旋, 女, 博士; 主要从事鱼类抗逆抗病机理研究。E-mail: wangzixuan@ihb.ac.cn *共同第一作者

通信作者: 肖武汉, 男, 研究员; 主要从事鱼类抗逆抗病机理研究。E-mail: w-xiao@ihb.ac.cn 刘兴, 男, 研究员; 主要从事鱼类抗逆抗病机理研究。E-mail: liuxing@ihb.ac.cn #共同通信作者

现严重的病理变化,包括坏死和细胞核收缩等^[7]。1999年中国科学院水生生物研究所团队首次通过电子显微镜在受感染的鳊组织中观察到SCRV,并从患病鳊的组织中分离出SCRV毒株^[10-11]。SCRV属于弹状病毒科,是一种单股负链RNA病毒,呈现出子弹状形态,病毒颗粒的长度约为110—130 nm,直径在80—100 nm^[12]。其基因组约为11 kb,包含5种结构蛋白,分别是核蛋白(N)、磷蛋白(P)、基质蛋白(M)、糖蛋白(G)和聚合酶蛋白(L)^[12-16]。探究SCRV的感染及鳊抗病毒免疫的调控机制,在此基础上培育具有抗病性状的鳊新品系,有望突破SCRV对鳊养殖业健康发展的极大制约。

先天免疫系统是鱼类抵御病原感染的重要防线^[17,18]。其激活过程核心在于模式识别受体(PRRs)识别病原体保守的病原相关分子模式(PAMPs),进而触发复杂的细胞内信号转导^[19]。RLR (RIG-I-like receptors, RIG-I样受体)信号通路是细胞质中识别病毒RNA并启动抗病毒先天免疫反应的关键途径。当RNA病毒入侵细胞并在胞质内复制时,会产生病毒特异性RNA并被模式识别受体RIG-I或MDA5识别。随后,激活的RIG-I或MDA5与位于线粒体外膜的接头蛋白MAVS发生相互作用,并招募下游信号分子,如TANK结合激酶1 (TBK1)等形成复杂的信号复合物。TBK1磷酸化转录因子IRF3和IRF7,磷酸化的IRF3/IRF7转入细胞核启动I型干扰素等基因的转录,发挥抗病毒免疫的生物学功能^[20,21]。干扰素调节因子IRF3和IRF7是先天免疫应答中的主要转录因子,可驱动I型干扰素基因的表达。IRF3和IRF7都由N端的DNA结合结构域(DBD)、中央反式激活结构域(TAD)及C端区域组成。C端区域会发生多种翻译后修饰,从而影响IRF3和IRF7的二聚化、定位和功能的调控^[22,23]。

SMYD3是SMYD 赖氨酸甲基转移酶家族的一员,SMYD3的结构域包括SET结构域、MYND (myeloid-Nervy-DEAF-1)结构域和CTD (Carboxyl-Terminal Domain)结构域。其中,SET结构域被MYND结构域一分为二,前面是pre-SET结构域,后面是富含半胱氨酸的post-SET结构域^[24]。SMYD3发挥甲基转移酶活性需要pre-SET结构域和post-SET结构域相结合,因此pre-SET和post-SET结构域在SMYD3底物识别和酶活性中发挥关键作用^[25,26]。SMYD3作为重要的赖氨酸甲基转移酶,被报道介导了多种组蛋白和非组蛋白底物的甲基化修饰,从而调控这些底物蛋白的表达和功能^[27-29]。已有研究表明,SMYD3在抗病毒免疫中发挥重要功能,特别是SMYD3在应答病毒感染时的表达变化^[30,31]及

在IFN诱导中的抑制作用^[32-34]。此外,SMYD3与病毒蛋白,如丙型肝炎病毒(HCV) NS5A蛋白和乙型肝炎病毒(HBV) X蛋白之间的相互作用已有报道^[35-38]。然而,鳊SMYD3在抗病毒免疫应答中的作用和机制仍不清楚,需要进一步研究。

本研究发现在SCRV感染时,鳊SMYD3通过与鳊IRF3和IRF7的相互作用,显著抑制抗病毒先天免疫反应。进一步以模式生物斑马鱼作为模型,通过在体实验证明,*smyd3*缺失的斑马鱼幼鱼具有更强的抗SCRV感染的能力。本研究不仅为理解鳊SMYD3在SCRV等鳊重要病毒病原感染中如何调控抗病毒免疫应答提供了关键理论依据,也深化了对SMYD3在不同物种中功能与作用机制的认识。

1 材料与方法

1.1 细胞、质粒、病毒和斑马鱼

EPC 细胞使用含10% 胎牛血清的 M-199培养基,在 28℃, 5% CO₂培养箱中培养; HEK293T 细胞使用含10% 胎牛血清的 DMEM培养基,在 37℃, 5% CO₂培养箱中培养。Sc-SMYD3 (NCBI登录号: XP_044046134.1)、Sc-IRF3 (NCBI登录号: XP_044035778.1)和Sc-IRF7 (NCBI登录号: XP_044049076.1)分别克隆到 pCMV-HA和pCMV-Flag 载体中。用于质粒构建的引物列如表 1 所示,使用 NeoFect (#TF20121201)试剂将质粒转染到细胞中。EPC细胞和HEK293T细胞来自美国保藏中心(ATCC),SCRV病毒由中国科学院水生生物研究所柯飞博士馈赠。*smyd3*缺失斑马鱼的建立和相关信息已在之前发表的论文中详细描述^[39]。

1.2 组织或细胞总RNA提取、cDNA合成、荧光定量PCR

从细胞或组织中使用TRIzol法提取总RNA。使用NanoDrop微量分光光度计分析RNA的完整性、质量和纯度,以及RNA的浓度。所有RNA的 A_{260}/A_{280} 比值均在1.8—2.0。使用DNase I (Fermentas, #EN0521)处理RNA,然后将等量RNA (每20 μL 反应体系中加入1.5 μg RNA)用于cDNA合成,根据反转录试剂盒(TransGen Biotech, #AE311-03)的说明书进行具体操作。使用RT-Mix (TransGen Biotech, #AQ601-02)进行qRT-PCR检测,最后进行熔解曲线分析。qRT-PCR程序在CFX Connect实时PCR系统(Bio-Rad Laboratories)上运行,包括无模板对照和3个技术重复。用于qRT-PCR检测的引物见表 1。

1.3 免疫印迹与免疫共沉淀

在HEK293T细胞中转染 HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7,以及Flag-Sc-SMYD3 或 Flag 空载体作为对

照(每个10 cm细胞培养皿每种质粒转染5 μ g)。使用含有以下成分的RIPA缓冲液提取总细胞蛋白: 50 mmol/L Tris (pH 7.4)、1% Nonidet P-40、0.25% 脱氧胆酸钠、1 mmol/L EDTA (pH 8.0)、150 mmol/L NaCl、1 mmol/L NaF、1 mmol/L PMSF、1 mmol/L Na_3VO_4 、1:100稀释磷酸酶抑制剂混合液(Bimake)及1:100稀释的蛋白酶抑制剂混合液(Bimake)。使用anti-Flag偶联的琼脂糖珠(Sigma-Aldrich)进行免

表 1 所用引物序列

Tab. 1 Primers sequences used in this study

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'—3')	实验技术 Assay technique
<i>Sc-SMYD3-F</i>	ATGTGGAGGGAAAACATG GTACTGAG	PCR
<i>Sc-SMYD3-R</i>	TTAGTGACTGCTGGATGA CTGTTGAA	PCR
<i>Sc-IRF3-F</i>	ATGCCTCAGGAATCTCAG GAGGG	PCR
<i>Sc-IRF3-R</i>	TCAGTACATCTCCATCATC TCTTCGAGC	PCR
<i>Sc-IRF7-F</i>	ATGCAATGCCCTCCCAAGC	PCR
<i>Sc-IRF7-R</i>	TCAGAGCTGGTGTGTA AGCCG	PCR
<i>Zebrafish-β-actin-RT-F</i>	TACAATGAGCTCCGTGTT GC	qRT-PCR
<i>Zebrafish-β-actin-RT-R</i>	ACATACAATGGCAGGGGT GTT	qRT-PCR
<i>Zebrafish-<i>ifn1</i>-RT-F</i>	GAGCACATGAACTCGGTG AA	qRT-PCR
<i>Zebrafish-<i>ifn1</i>-RT-R</i>	TGCGTATCTTGCCACACAT T	qRT-PCR
<i>Zebrafish-<i>lta</i>-RT-F</i>	AAGCCAAACGAAGGTCA	qRT-PCR
<i>Zebrafish-<i>lta</i>-RT-R</i>	AACCCATTTCAGCGATTGT C	qRT-PCR
<i>Zebrafish-<i>mxr</i>-RT-F</i>	GAGGCTTCACTTGGCAAC TC	qRT-PCR
<i>Zebrafish-<i>mxr</i>-RT-R</i>	TTGTTCCAATAAGGCCAA GC	qRT-PCR
<i>EPC-β-actin-RT-F</i>	CACTGTGCCCATCTACGA G	qRT-PCR
<i>EPC-β-actin-RT-R</i>	CCATCTCCTGCTCGAAGTC	qRT-PCR
<i>EPC-<i>ifn</i>-RT-F</i>	ATGAAAACCTCAAATGTGG ACGTA	qRT-PCR
<i>EPC-<i>ifn</i>-RT-R</i>	GATAGTTTCCACCCATTTC CTTAA	qRT-PCR
<i>EPC-<i>isg15</i>-RT-F</i>	CAGCCTTGAGGATGATTC CAG	qRT-PCR
<i>EPC-<i>isg15</i>-RT-R</i>	TGCCGTGTAAATCAGTC G	qRT-PCR
<i>EPC-<i>viperin</i>-RT-F</i>	AGCGAGGCTTACGACTTC TG	qRT-PCR
<i>EPC-<i>viperin</i>-RT-R</i>	GCACCAACTCTCCAGAA AA	qRT-PCR
<i>SCRV-G-RT-F</i>	ATGAAATCAATCATTGCA CTTACGT	qRT-PCR
<i>SCRV-G-RT-R</i>	TTAGGGAACAAATTGATA CTGCTGC	qRT-PCR
<i>SCRV-N-RT-F</i>	ATGGAAAACCAAATCATC AAGAG	qRT-PCR
<i>SCRV-N-RT-R</i>	TCACAAAGCTTGGTGTTC AG	qRT-PCR
<i>SCRV-M-RT-F</i>	ATGCCTCTGTTTAAGAAG AGCAACA	qRT-PCR
<i>SCRV-M-RT-R</i>	TTAATGCCAGCTATGACC AGGGTC	qRT-PCR

疫沉淀。使用RIPA缓冲液洗beads 3次, 通过SDS-PAGE分离后, 转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF)上, 用5% (w/v)脱脂奶粉封闭, 然后用对应的一抗(anti-Flag 抗体, 1:1000, Sigma, #F1804; anti-HA 抗体, 1:1000, Biolegend, #901515)和相应的二抗进行孵育, 通过ECL Western blot检测试剂进行孵育显色, 并使用富士胶片LAS4000 mini发光成像分析仪进行拍照。

1.4 免疫荧光

将细胞接种于玻璃底培养皿中, 将Flag-Sc-SMYD3和HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7质粒共转染至HEK293T细胞(每个小皿每种质粒转染500 ng)。转染24h后, 弃去培养基, 并立即使用4%的多聚甲醛进行细胞固定。随后, 用PBS清洗细胞3次, 并向培养皿中加入封闭液, 封闭10min。接着, 使用兔单克隆anti-HA抗体(Cell Signaling Technology, #3724), 以1:1000的稀释度对HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7进行检测; 同时, 使用小鼠单克隆anti-Flag抗体(Sigma, #F1804), 以1:1000的稀释度对Flag-Sc-SMYD3进行检测。二抗分别为Alexa 488偶联抗体(Invitrogen, #A11008)和Alexa 594偶联抗体(Invitrogen, #A11005), 稀释度为1:1000。DAPI用于细胞核染色。最后, 使用激光扫描共聚焦荧光显微镜(Leica SP8)拍摄图像。

1.5 双荧光素酶报告基因实验

将EPC细胞接种在24孔板中培养24h后, 将EPC-IFN-luc reporter或ISRE-reporter(每个孔每种质粒转染200 ng)、Flag-Sc-SMYD3和HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7质粒(每个孔每种质粒转染200 ng), 以及pCMV-Renilla(每个孔每种质粒转染10 ng), 共转染至EPC细胞。转染后24h, 使用双荧光素酶报告基因检测试剂盒(Promega, #E1960)测量荧光素酶活性。

1.6 SCRV病毒感染

病毒感染细胞 EPC细胞被接种于6孔板中, 向每个孔中加入50 μ L SCRV病毒, 感染8h后, 收集细胞用于qRT-PCR实验。

病毒感染斑马鱼 将受精后3d的斑马鱼幼鱼放入一次性培养皿(直径6 cm)中, 培养皿中装有3.5 mL水, 然后向每个培养皿中加入1.5 mL SCRV。随后, 统计斑马鱼死亡情况并进行拍照处理。

1.7 统计学处理

统计分析使用GraphPad Prism 10.4.0软件进行。实验组与对照组之间的差异通过t检验或双因素方差分析来确定。生存曲线的统计分析采用对数秩检验(Mantel-Cox)。统计分析结果以均值 $\pm$ 标

准差(SD)表示。 $P < 0.05$ 被视为具有统计学意义。统计显著性如下所示: $P > 0.05$ 表示差异不显著, $*P < 0.05$ 表示差异显著, $**P < 0.01$ 表示差异极显著;所有相关实验至少重复3次。

2 结果

2.1 鳊SMYD3基因的分子特征

鳊SMYD3编码序列(NCBI登录号:XP_044046134.1)包含1332个碱基,编码443个氨基酸残基。通过氨基酸序列比对,发现SMYD3在人、小鼠、斑马鱼和鳊中具有较高保守性。通过SWISS MODEL(<https://www.swissmodel.expasy.org/>)在线软件,预测人、小鼠、斑马鱼和鳊SMYD3蛋白的二级结构(图1A),同样的,SMYD3蛋白的结构在物种间高度保守。进一步对来自多个不同物种的SMYD3蛋白的氨基酸序列构建进化树(图1B)。这些结果表明,鳊SMYD3可能具有保守的生物学功能。

2.2 鳊SMYD3抑制SCRV感染时干扰素等抗病毒基因的表达,并且促进病毒的复制

本文构建了SMYD3的表达载体,并在EPC细胞中转染了带有Flag标签的鳊SMYD3的质粒,进一步利用免疫荧光检测外源过表达鳊SMYD3的亚细胞定位。实验结果表明,鳊SMYD3主要在细胞质内表达,但是细胞核内也有少量的表达(图2A)。随后对转染了鳊SMYD3的细胞进行了SCRV的攻毒,并利用实时定量PCR检测I型干扰素 ifn 及干扰素诱导基因 $viperin$ 和 $isg15$ 的mRNA水平。结果显示,鳊SMYD3可以抑制SCRV感染条件下细胞内I型干扰素 ifn 及干扰素诱导基因 $viperin$ 和 $isg15$ 的表达

(图2B—2D)。同时检测了同样条件下SCRV病毒基因的表达式,发现鳊SMYD3显著增强了SCRV病毒的复制(图2E—2G)。

2.3 鳊SMYD3与转录因子IRF3和IRF7相结合

为了探究鳊SMYD3抑制抗病毒免疫应答的分子机制,本文分析了鳊SMYD3与抗病毒免疫应答通路中的关键转录因子IRF3和IRF7相互作用的情况。将Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7共同转染到HEK293T细胞中,通过免疫共沉淀实验分析,发现Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7之间存在相互作用(图3A和3B)。通过进行免疫荧光染色实验,结果表明Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7之间存在共定位的现象(图3C和3D)。以上实验表明,鳊SMYD3与转录因子IRF3和IRF7可以相互结合。

2.4 鳊SMYD3抑制IRF3或IRF7激活的ISRE活性

既然鳊SMYD3可以与转录因子IRF3和IRF7相互结合,接下来本文探究了鳊SMYD3是否可以抑制转录因子IRF3或IRF7对下游信号通路的激活。已有研究报道,抗病毒先天免疫信号通路激活后,可诱导干扰素和干扰素刺激响应元件(ISRE)依赖性基因的表达,从而建立抗病毒状态^[40,41]。首先,本文检测了鳊SMYD3对IFN启动子的影响,鳊SMYD3显著抑制了由鳊IRF3或IRF7激活的IFN启动子的活性(图4A)。ISRE报告基因系统被广泛应用于检测干扰素通路活性,将ISRE基序与荧光素酶基因相连,通过测定荧光素酶的表达水平,即可反映先天免疫信号通路的激活程度^[41—43]。因此,本研究进一步采用ISRE报告基因评估鳊SMYD3在抗病毒免疫应答中的调控作用,以揭示其潜在分子机

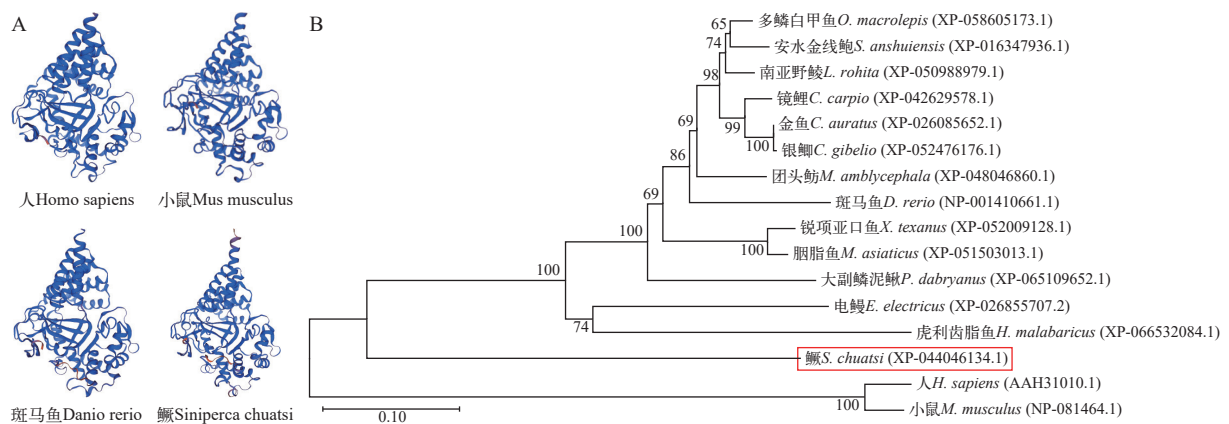


图1 鳊SMYD3的保守性分析

Fig. 1 Conservation analysis of *Siniperca chuatsi* SMYD3

A. 人SMYD3、小鼠Smyd3、斑马鱼smyd3、鳊SMYD3的蛋白二级结构预测; B. 鳊SMYD3的系统进化树

A. Prediction of the secondary structure of *Homo sapiens* SMYD3, *Mus musculus* Smyd3, *Danio rerio* smyd3, and *Siniperca chuatsi* SMYD3 proteins; B. Phylogenetic tree analysis of the SMYD3 amino acid sequence from different vertebrate species

制。将Flag-Sc-SMYD3分别与HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7, 以及相应的报告质粒共同转染到EPC细胞中, 24h后, 进行了荧光素酶报告基因分析, 检测了

报告基因ISRE reporter的活性。结果表明, Flag-Sc-SMYD3可以抑制HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7激活的ISRE报告基因的活性(图 4B)。因此, 鳊SMYD3可

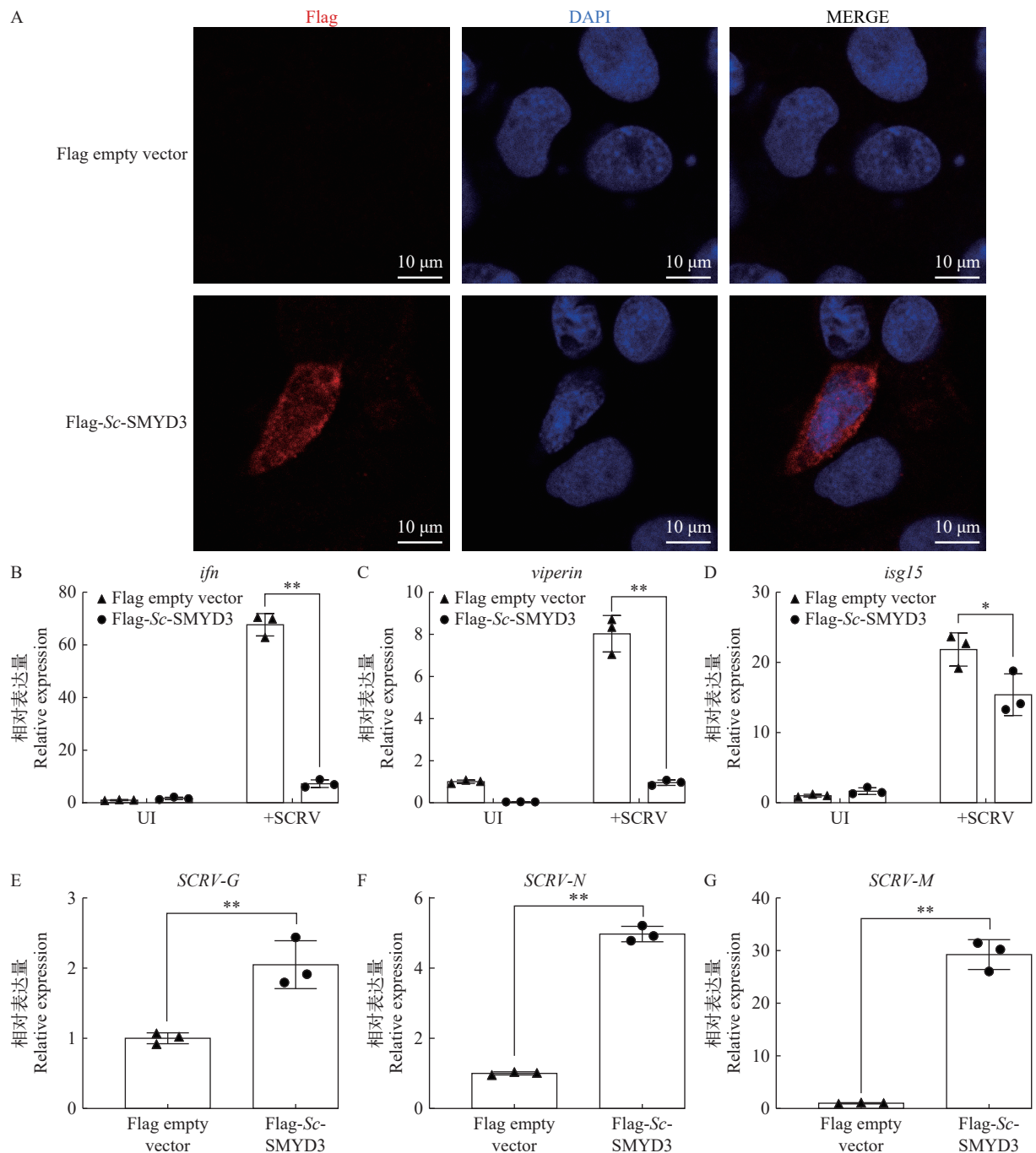


图 2 鳊SMYD3抑制SCR-V感染时干扰素等基因的表达, 并且促进病毒的复制

Fig. 2 Sc-SMYD3 suppresses *ifn*, *viperin* and *isg15* gene expression and enhances SCR-V genes replication during SCR-V infection

A. 免疫荧光分析外源过表达 Flag-Sc-SMYD3的亚细胞定位; B—D. EPC细胞中转染Flag-Sc-SMYD3或以Flag空载体为对照, 转染24h后, 分别进行感染或不感染SCR-V的处理8h, 检测*ifn* (B), *viperin* (C)和*isg15* (D)的表达; E—G. EPC细胞中转染Flag-Sc-SMYD3或以Flag空载体为对照, 转染24h后, 分别进行感染或不感染SCR-V的处理8h, 检测*SCR-V-G* (E), *SCR-V-N* (F)和*SCR-V-M* (G)的表达; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; 下同

A. Immunofluorescence analysis of the subcellular localization of exogenous Flag-Sc-SMYD3; B—D. qRT-PCR assays for the expression of *ifn* (B), *viperin* (C), and *isg15* (D) in the control (Flag empty vector) or SMYD3-overexpressed (Flag-Sc-SMYD3) EPC cells infected without (UI) or with SCR-V; E—G. qRT-PCR assays for the expression of *SCR-V-G* (E), *SCR-V-N* (F), and *SCR-V-M* (G) in the control (Flag empty vector) or SMYD3-overexpressed (Flag-Sc-SMYD3) EPC cells infected with SCR-V; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; The same applies below

能是通过结合转录因子IRF3和IRF7, 并抑制这些转录因子对下游通路激活, 从而抑制抗病毒免疫应答。

2.5 *smyd3*的缺失增强斑马鱼对SCRV感染的抵抗力

为了探究SMYD3在SCRV病毒感染过程中的在体生物学功能, 以模式生物斑马鱼作为模型进行了相关的研究。在先前的研究工作中已成功构

建了*smyd3*缺失的斑马鱼^[39]。本研究将受精后3d的野生型斑马鱼和*smyd3*缺失的斑马鱼幼鱼感染SCRV, 并在病毒感染后21h拍照记录幼鱼死亡数量(图5A)。同时记录不同时间点斑马鱼的死亡情况, 结果显示, 在SCRV病毒感染后17h野生型斑马鱼开始出现死亡, 而*smyd3*缺失的斑马鱼开始出现死亡

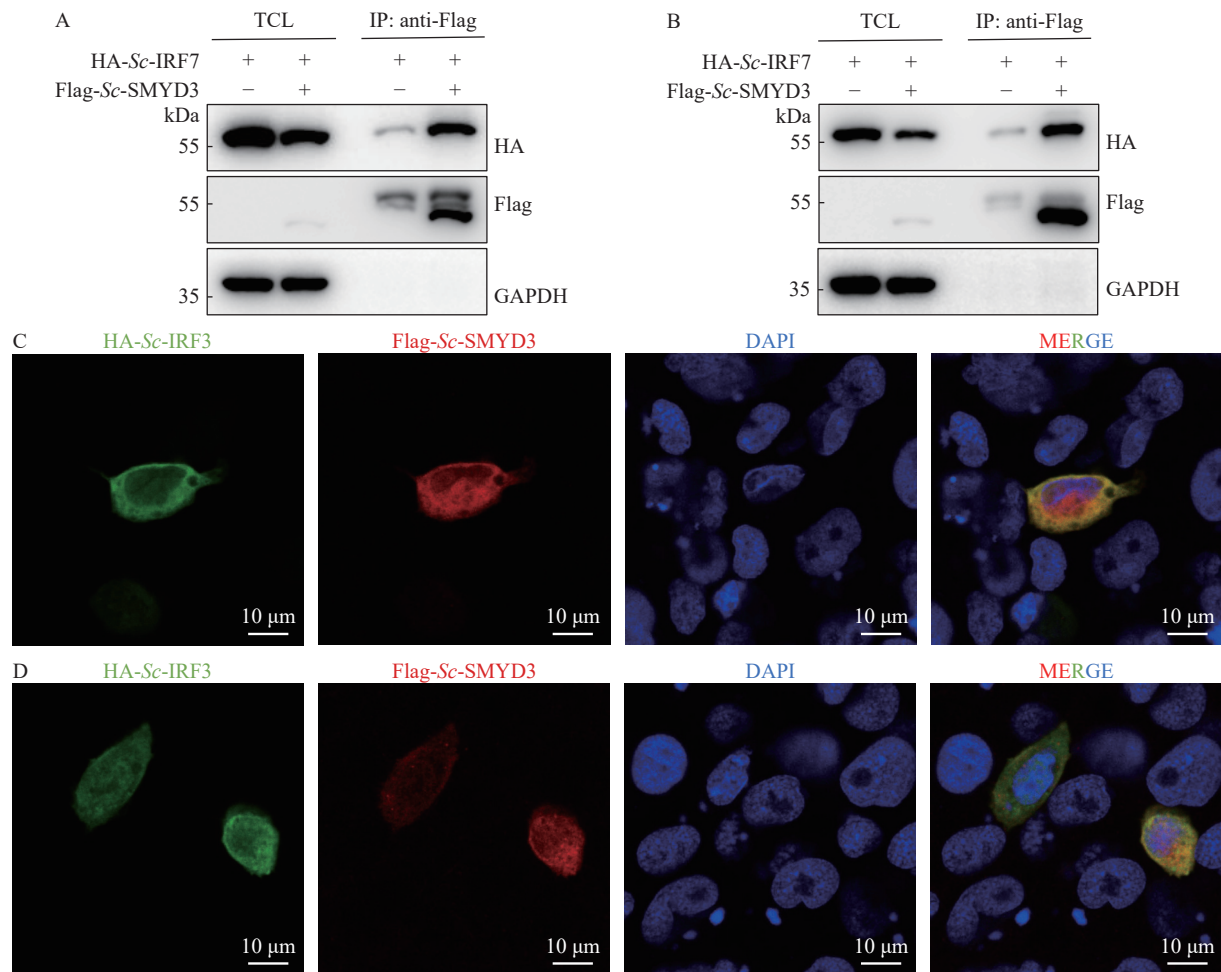


图3 鳊SMYD3与IRF3或IRF7相互结合

Fig. 3 Sc-SMYD3 interacts with IRF3 or IRF7

A. Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF3的免疫共沉淀实验; 在HEK293T细胞中, 共转染HA-Sc-IRF3与Flag-Sc-SMYD3或Flag空载体质粒24h后, 用anti-Flag抗体偶联的琼脂糖进行免疫沉淀, 用免疫印迹法检测相互作用; B. Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF7的免疫共沉淀实验; 在HEK293T细胞中, 共转染HA-Sc-IRF7与Flag-Sc-SMYD3或Flag空载体质粒24h后, 用anti-Flag抗体偶联的琼脂糖进行免疫沉淀, 用免疫印迹法检测相互作用; C. 在HEK293T细胞中, 共转染Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF3质粒24h后, 使用相应的抗体进行免疫荧光, 检测Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF3之间的共定位情况; D. 在HEK293T细胞中, 共转染Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF7质粒24h后, 使用相应的抗体进行免疫荧光, 检测Flag-Sc-SMYD3与HA-Sc-IRF7之间的共定位情况; 图C和D中的比例尺为10 μm, 细胞核通过DAPI复染标记

A. Co-immunoprecipitation of Flag-Sc-SMYD3 with HA-Sc-IRF3. HEK293T cells are co-transfected with HA-Sc-IRF3 together with Flag-Sc-SMYD3 or Flag empty vector as a control for 24h; Anti-Flag antibody conjugated agarose beads are used for immunoprecipitation, and the interaction is detected by immunoblotting with the indicated antibodies; B. Co-immunoprecipitation of Flag-Sc-SMYD3 with HA-Sc-IRF7. HEK293T cells are co-transfected with HA-Sc-IRF7 together with Flag-Sc-SMYD3 or Flag empty vector as a control for 24h. Anti-Flag antibody conjugated agarose beads are used for immunoprecipitation, and the interaction is detected by immunoblotting with the indicated antibodies; C. HEK293T cells are co-transfected with Flag-Sc-SMYD3 together with HA-Sc-IRF3 for 24h, and immunofluorescence analysis of the co-localization of Flag-Sc-SMYD3 and HA-Sc-IRF3 with the indicated antibodies; D. HEK293T cells are co-transfected with Flag-Sc-SMYD3 together with HA-Sc-IRF7 for 24h, and immunofluorescence analysis of the co-localization of Flag-Sc-SMYD3 and HA-Sc-IRF7 with the indicated antibodies. Scale bar=10 μm, and nuclei are counterstained with DAPI in C and D

是在感染后19h; 野生型斑马鱼在感染后23h全部死亡, *smyd3*缺失的斑马鱼仍有存活(图 5B)。随后通

过实时荧光定量PCR检测了野生型和*smyd3*缺失的斑马鱼体内免疫下游基因的mRNA水平, 结果显示,

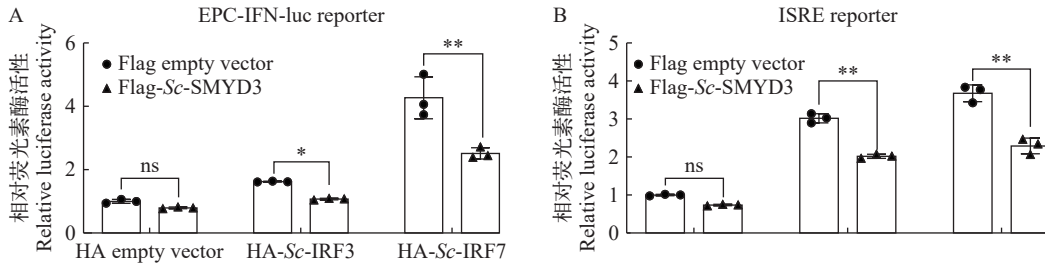


图 4 鳊SMYD3抑制IRF3或IRF7激活的IFN和ISRE的活性

Fig. 4 Sc-SMYD3 suppresses the IFN promoter or ISRE reporter activity activated by IRF3 and IRF7

A. 将EPC细胞接种到24孔板, 24h后, 将Flag-Sc-SMYD3和HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7质粒, 以及EPC-IFN-luc和pCMV-Renilla共转染到EPC细胞内(分别以Flag和HA空载体为对照), 检测EPC-IFN-luc的活性; B. 将EPC细胞接种到24孔板, 24h后, 将Flag-Sc-SMYD3和HA-Sc-IRF3或HA-Sc-IRF7质粒, 以及ISRE-reporter和pCMV-Renilla共转染到EPC细胞内(分别以Flag和HA空载体为对照), 检测ISRE reporter的活性

A. Relative luciferase activities of the EPC-IFN-luc reporter activated by overexpressed HA-Sc-IRF3 or HA-Sc-IRF7 when the control (Flag empty vector) or Flag-Sc-SMYD3 is co-transfected into EPC cells; B. Relative luciferase activities of the ISRE reporter activated by overexpressed HA-Sc-IRF3 or HA-Sc-IRF7 when the control (Flag empty vector) or Flag-Sc-SMYD3 is co-transfected into EPC cells

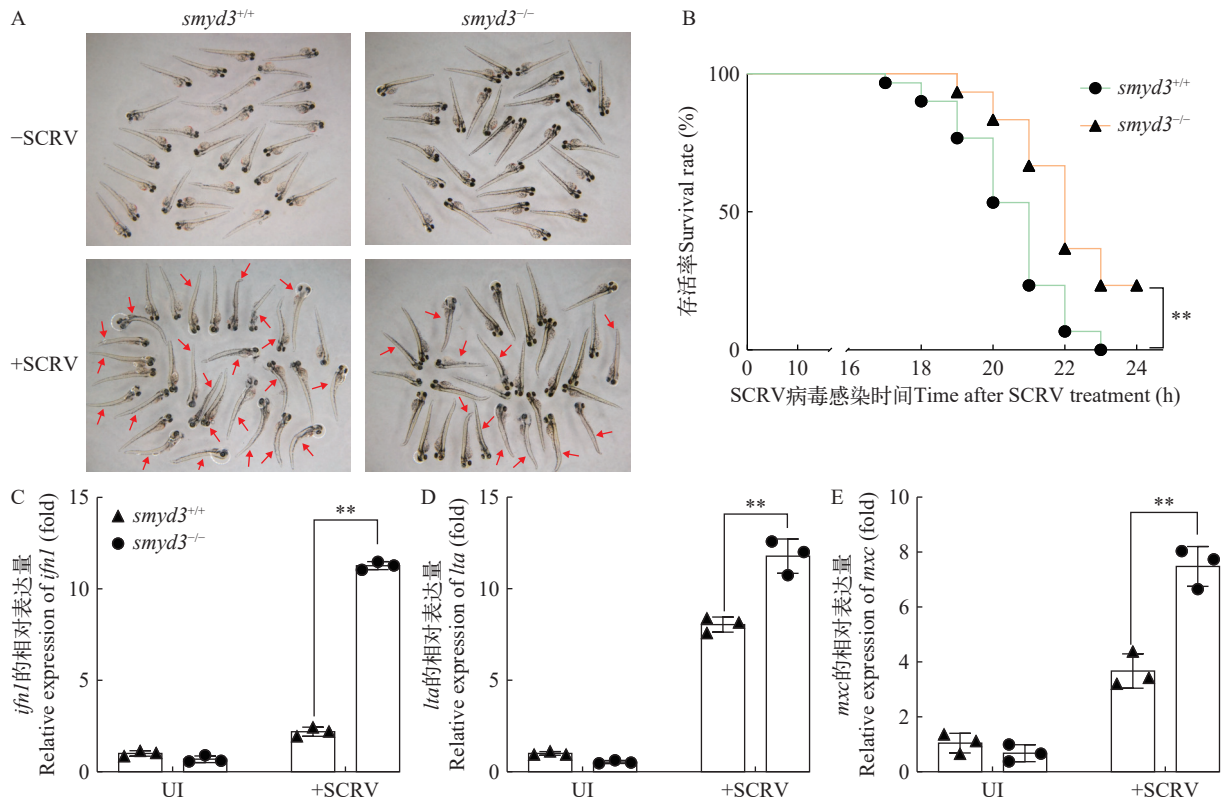


图 5 *smyd3*缺失的斑马鱼抗SCRV感染能力增强

Fig. 5 *smyd3*-deficient zebrafish exhibit enhanced resistance to SCR infection

A. 将*smyd3*缺失的斑马鱼和野生型斑马鱼(3 dpf)(*n*=30)分为对照组和实验组, 实验组加入SCRV病毒。死亡的斑马鱼幼鱼表现出血液循环停止、心脏停止跳动及身体弯曲等行为, 如箭头所示; B. 在不同的时间点内记录*smyd3*缺失的斑马鱼和野生斑马鱼的存活率; C—E. qRT-PCR检测未感染或感染SCRV的斑马鱼幼鱼体内抗病毒相关基因*ifn1*(C)、*lta*(D)和*mxc*(E)的表达量

A. *smyd3*-deficient and wild-type zebrafish (3 dpf) (*n*=30) are treated with or without SCR infection; The dead zebrafish exhibit circulation cessation, heart stoppage, and body bending, as indicate by the arrows; B. The number of deaths of both SMYD3-deficient and wild-type zebrafish is recorded at various time points; C—E. qRT-PCR analysis of the expression levels of antiviral genes, such as *ifn1* (C), *lta* (D), and *mxc* (E) in zebrafish larvae upon treatment with or without SCR infection; Data are shown as mean ± SD; Two-way ANOVA test

在SCRV病毒感染条件下, *smyd3*缺失的斑马鱼体内抗病毒相关基因的表达量更高(图 5C—5E)。这表明*smyd3*的缺失会增强斑马鱼对SCRV感染的抵抗能力。

3 讨论

3.1 SMYD3在病毒感染过程中的生物学功能

作为一个重要的赖氨酸甲基转移酶, SMYD3的功能被报道与病毒感染密切相关。一方面, SMYD3与病毒蛋白存在相互作用。SMYD3与丙型肝炎病毒的NS5A蛋白有相互作用, 作为病毒颗粒产生的负调控因子诱导激活蛋白1活化^[35, 36]。同样, SMYD3与乙型肝炎病毒X蛋白相互作用, 进而诱导激活蛋白1活化^[37]。此外, 埃博拉病毒核蛋白招募SMYD3促进病毒mRNA转录^[38]。另一方面, SMYD3与干扰素激活和抗病毒途径有关^[32—34]。在HPV阴性的鳞状细胞癌中, SMYD3已被证明通过组蛋白甲基化抑制I型干扰素应答^[32]。在硬骨鱼中, SMYD3已被证明可促进TAK1降解, 从而抑制抗病毒反应^[33]。但是, 鳊SMYD3是否在鳊的病毒病原感染时发挥重要的作用仍不十分清楚。

在本研究中, 通过序列比对和进化树分析, 证实鳊SMYD3在进化上具有高度的保守性, 其编码的氨基酸序列与斑马鱼、小鼠和人类中的SMYD3的功能结构域高度相似。通过机制解析, 发现鳊SMYD3与IRF3和IRF7相互作用, 从而抑制IRF3和IRF7介导的干扰素通路的激活。进一步发现*smyd3*缺失的斑马鱼抗SCRV感染的能力显著增强, 从活体层面进一步证明SMYD3在SCRV感染中发挥重要的负调控作用。该研究结果, 与在哺乳动物和其他鱼类中发现的SMYD3的功能是一致的^[34]。因此, 鳊SMYD3通过保守的分子机制负调控SCRV感染时的抗病毒免疫反应, 这为理解鳊SMYD3的免疫调控功能提供了重要依据。

3.2 SMYD3作用于IRF3/IRF7的分子机制

作为先天免疫信号通路中的关键转录因子, IRF3和IRF7的翻译后修饰已被广泛研究, 这些修饰可以增强或抑制IRF3和IRF7的活化^[44—56]。在SeV, VSV或HSV-1感染的抗病毒先天免疫应答中, IRF3的单甲基化修饰对其转录活性至关重要^[50]。相反, IRF3的二甲基化会抑制SeV、VSV或HSV-1感染时的抗病毒先天免疫应答^[34]。此外, 去乙酰化酶SIRT1对IRF3和IRF7的DNA结合结构域的去乙酰化对它们的激活至关重要^[56]。由于IRF3和IRF7的激活是一个连续的过程, 包括磷酸化、二聚化和随后的核易位^[57], 病毒刺激通常通过干扰这些步骤来

影响IRF3和IRF7的激活。而本研究揭示了鳊SMYD3能够抑制由IRF3和IRF7诱导的ISRE以及IFN的活性。目前尚不清楚鳊SMYD3是否影响IRF3和IRF7的磷酸化、二聚化和随后的核转位, 从而抑制其活性。深入研究鳊SMYD3是否可以催化鳊IRF3和IRF7上赖氨酸的甲基化修饰, 以及鉴定其修饰位点, 将有助于深入理解鳊SMYD3在抗病毒先天免疫中的分子机制。此外发现鳊SMYD3与IRF3和IRF7存在相互作用, 而鳊SMYD3的关键结构域在互作中的具体作用尚不可知。已有研究报道, 哺乳动物SMYD3的SET结构域和CTD结构域在与底物结合过程中发挥着重要作用^[34, 58]。构建鳊SMYD3关键结构域缺失突变体, 将有利于揭示鳊SMYD3各个结构域在与IRF3和IRF7互作中的具体作用, 从而深化对鳊SMYD3的生物学功能的理解。

3.3 SMYD3是培育鳊抗病新品种的潜在靶标

鳊是名特优养殖对象, 具有重要的经济价值, 然而多种病毒性病害, 包括RNA病毒如鳊弹状病毒SCRV和DNA病毒如传染性脾肾坏死病毒ISKNV、鳊蛙虹彩病毒MRV等严重制约了其养殖产业的健康发展^[59, 60]。在先天免疫信号通路中, 转录因子IRF3和IRF7作为核心转录因子, 在抗病毒应答中发挥着关键作用。无论是RNA病毒还是DNA病毒感染, 最终均可通过激活IRF3和IRF7, 从而诱导干扰素等抗病毒相关基因的表达, 激活机体的抗病毒免疫反应^[21, 61]。因此, 探究IRF3/IRF7的调控因子对于机体抵抗RNA病毒和DNA病毒侵染具有重要意义。本研究聚焦于鳊SMYD3在抗病毒免疫中的功能, 研究结果表明其通过调控IRF3/IRF7的转录活性参与抗病毒关键通路的调节, 为理解鳊抗RNA病毒和DNA病毒免疫机制提供了新的视角, 也为病害防控策略的开发奠定了理论基础。

此外, 以斑马鱼作为模式生物的研究结果表明, *smyd3*缺失的斑马鱼, 其正常生理功能并未表现出明显的缺陷, 但是其抗病毒能力却得到了显著的提升。因此, 利用基因编辑技术, 对鳊SMYD3进行敲除或定点突变, 有望获得抗SCRV及其他鳊重要病毒病原的新种质。因此, 本研究不仅深化了对鳊抗病毒先天免疫调控机制的理解, 也为鳊抗病新品种的培育提供了潜在的分子靶标。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Zheng J, Yao Y, Rui Q, *et al.* Effect of different feeding regimens on physiological indicators, intestinal transcriptome, and bacterial flora of mandarin fish (*Siniperca*

- chuatsi) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2024(52): 101301.
- [2] Zhang Z, Yuan X, Wu H, *et al.* The effect of short-term artificial feed domestication on the expression of oxidative-stress-related genes and antioxidant capacity in the liver and gill tissues of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) [J]. *Genes*, 2024, **15**(4): 487.
 - [3] Sun C F, Sun H L, Dong J J, *et al.* Correlation analysis of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) growth hormone gene polymorphisms and growth traits [J]. *Journal of Genetics*, 2019, **98**(2): 58.
 - [4] Huang Y, Wang R, Gao T, *et al.* Transcriptome analysis of immune response against *Siniperca chuatsi* rhabdovirus infection in mandarin fish *Siniperca chuatsi* [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2021, **44**(6): 675-687.
 - [5] He J G, Deng M, Weng S P, *et al.* Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus [J]. *Virology*, 2001, **291**(1): 126-139.
 - [6] Zhang Q Y, Ke F, Gui L, *et al.* Recent insights into aquatic viruses: Emerging and reemerging pathogens, molecular features, biological effects, and novel investigative approaches [J]. *Water Biology and Security*, 2022, **1**(4): 100062.
 - [7] Ma B, Li J, Zhang M, *et al.* Tissue factor pathway inhibitors disrupt structures of rhabdovirus/ranairidovirus and inhibit viral infection in Chinese perch, *Siniperca chuatsi* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024(149): 109553.
 - [8] Liang H R, Ma S Y, Fu X Z, *et al.* Establishment of multiple PCR assay for detecting infectious spleen and kidney necrosis virus, *Siniperca chuatsi* ranairidovirus and *Siniperca chuatsi* rhabdovirus [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2021, **49**(11): 17-24. [梁红茹, 马赛亚, 付小哲, 等. 传染性脾肾坏死病毒、鳊鱼蛙病毒和鳊弹状病毒三重PCR检测方法的建立 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2021, **49**(11): 17-24.]
 - [9] Li H F, Lv J Q, Yue Z Q, *et al.* Development of real-time PCR assay detecting ranavirus, family Iridoviridae [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2008, **27**(2): 172-176. [李惠芳, 吕建强, 岳志芹, 等. 虹彩病毒蛙病毒属病毒实时荧光PCR检测方法的建立 [J]. *华中农业大学学报*, 2008, (02): 172-176.]
 - [10] Zhang Q, Li Z. Three different viruses observed from the tissues of diseased mandarin fish *Siniperca chuatsi* [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1999, **44**(5): 437-441.
 - [11] Liu X, Zhang X, Xu Z, *et al.* Isolation, genomic and biological characterizations of a rhabdovirus from mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) [J]. *Aquaculture*, 2023(563): 738894.
 - [12] Tao J J, Gui J F, Zhang Q Y. Isolation and characterization of a rhabdovirus from co-infection of two viruses in mandarin fish [J]. *Aquaculture*, 2007, **262**(1): 1-9.
 - [13] Fu X, Lin Q, Liang H, *et al.* The biological features and genetic diversity of novel fish rhabdovirus isolates in China [J]. *Archives of Virology*, 2017, **162**(9): 2829-2834.
 - [14] Liu F, Tian S, Feng Y, *et al.* First report of a CMTV-like ranavirus in farmed *Percocypris pingi* in China [J]. *Aquaculture*, 2023(574): 739701.
 - [15] Zhang Q S, Ye C M, Niu Y J, *et al.* Identification of interaction between SCR-V-N protein and Sc-c-Myc and its regulation of glutamine metabolism [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2024, **48**(5): 56-64. [张秋爽, 叶彩媚, 牛银杰, 等. 鳊弹状病毒N蛋白与鳊c-Myc互作调控谷氨酰胺代谢机制 [J]. *水产学报*, 2024, **48**(5): 56-64.]
 - [16] Tao J J, Zhou G Z, Gui J F, *et al.* Genomic sequence of mandarin fish rhabdovirus with an unusual small non-transcriptional ORF [J]. *Virus Research*, 2008, **132**(1/2): 86-96.
 - [17] Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, **20**(2): 137-151.
 - [18] Ortega-Villaizán M D M, Chico V, Perez L. Fish innate immune response to viral infection-an overview of five major antiviral genes [J]. *Viruses*, 2022, **14**(7): 1546.
 - [19] Medzhitov R. Pattern recognition theory and the launch of modern innate immunity [J]. *Journal of Immunology*, 2013, **191**(9): 4473-4474.
 - [20] Rehwinkel J, Gack M U. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2020, **20**(9): 537-551.
 - [21] Chathuranga K, Weerawardhana A, Dodantenna N, *et al.* Regulation of antiviral innate immune signaling and viral evasion following viral genome sensing [J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2021, **53**(11): 1647-1668.
 - [22] Panthi A, Ferretti M B, Howard O, *et al.* Alternate isoforms of IRF7 differentially regulate interferon expression to tune response to viral infection [J]. *bioRxiv*, 2025. DOI:10.1101/2025.03.10.642367.
 - [23] Ma W, Huang G, Wang Z, *et al.* IRF7: role and regulation in immunity and autoimmunity [J]. *Frontiers in Immunology*, 2023(14): 1236923.
 - [24] Xu S, Wu J, Sun B, *et al.* Structural and biochemical studies of human lysine methyltransferase Smyd3 reveal the important functional roles of its post-SET and TPR domains and the regulation of its activity by DNA binding [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, **39**(10): 4438-4449.
 - [25] Bottino C, Peserico A, Simone C, *et al.* SMYD3: an oncogenic driver targeting epigenetic regulation and signaling pathways [J]. *Cancers*, 2020, **12**(1): 142.
 - [26] Foreman K W, Brown M, Park F, *et al.* Structural and functional profiling of the human histone methyltransferase SMYD3 [J]. *PLoS One*, 2011, **6**(7): e22290.
 - [27] Zhang H, Zheng Z, Zhang R, *et al.* SMYD3 promotes hepatocellular carcinoma progression by methylating S1PR1 promoters [J]. *Cell Death & Disease*, 2021(12): 731.
 - [28] Zhao W W, Gao Y, Zhu Y T, *et al.* SMYD3 plays a

- pivotal role in mediating the epithelial-mesenchymal transition process in breast cancer [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2025(749): 151363.
- [29] Hamamoto R, Silva F P, Tsuge M, *et al.* Enhanced SMYD3 expression is essential for the growth of breast cancer cells [J]. *Cancer Science*, 2006, **97**(2): 113-118.
- [30] Yang L, He J, Chen L, *et al.* Hepatitis B virus X protein upregulates expression of SMYD3 and C-MYC in HepG2 cells [J]. *Medical Oncology*, 2009, **26**(4): 445-451.
- [31] Guo N, Chen R, Li Z, *et al.* Hepatitis C virus core upregulates the methylation status of the RASSF1A promoter through regulation of SMYD3 in hilar cholangiocarcinoma cells [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2011, **43**(5): 354-361.
- [32] Nigam N, Bernard B, Sevilla S, *et al.* SMYD3 represses tumor-intrinsic interferon response in HPV-negative squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Cell Reports*, 2023, **42**(7): 112823.
- [33] Qu Z, Sun Y, Zhou X, *et al.* Smyd3 negatively regulates the anti-viral pathway by promoting TAK1 degradation in teleost fish [J]. *Journal of Virology*, 2023, **97**(11): e01306-23.
- [34] Wang Z, Chen X, Zhu C, *et al.* Direct lysine dimethylation of IRF3 by the methyltransferase SMYD3 attenuates antiviral innate immunity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2025, **122**(3): e2320644122.
- [35] Eberle C A, Zayas M, Stukalov A, *et al.* The lysine methyltransferase SMYD3 interacts with hepatitis C virus NS5A and is a negative regulator of viral particle production [J]. *Virology*, 2014(462/463): 34-41.
- [36] Chen M, Gan X, Yoshino K I, *et al.* Hepatitis C virus NS5A protein interacts with lysine methyltransferase SET and MYND domain-containing 3 and induces activator protein 1 activation [J]. *Microbiology and Immunology*, 2016, **60**(6): 407-417.
- [37] Hayashi M, Deng L, Chen M, *et al.* Interaction of the hepatitis B virus X protein with the lysine methyltransferase SET and MYND domain-containing 3 induces activator protein 1 activation [J]. *Microbiology and Immunology*, 2016, **60**(1): 17-25.
- [38] Chen J, He Z, Yuan Y, *et al.* Host factor SMYD3 is recruited by Ebola virus nucleoprotein to facilitate viral mRNA transcription [J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2019, **8**(1): 1347-1360.
- [39] Wang Z, Chen X, Fan S, *et al.* Methyltransferase SMYD3 impairs hypoxia tolerance by augmenting hypoxia signaling independent of its enzymatic activity [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2022, **298**(12): 102633.
- [40] Teijaro J R. Type I interferons in viral control and immune regulation [J]. *Current Opinion in Virology*, 2016(16): 31-40.
- [41] Uccellini M B, García-Sastre A. ISRE-reporter mouse reveals high basal and induced type I IFN responses in inflammatory monocytes [J]. *Cell Reports*, 2018, **25**(10): 2784-2796.
- [42] Tan X, Sun L, Chen J, *et al.* Detection of microbial infections through innate immune sensing of nucleic acids [J]. *Annual Review Microbiology*, 2018(72): 447-478.
- [43] Sheikh S Z, Kobayashi T, Matsuoka K, *et al.* Characterization of an interferon-stimulated response element (ISRE) in the IL23a promoter [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(2): 1174-1180.
- [44] Chattopadhyay S, Kuzmanovic T, Zhang Y, *et al.* Ubiquitination of the transcription factor IRF-3 activates RIPA, the apoptotic pathway that protects mice from viral pathogenesis [J]. *Immunity*, 2016, **44**(5): 1151-1161.
- [45] Wang Z, Sheng C, Yao C, *et al.* The EF-hand protein CALML6 suppresses antiviral innate immunity by impairing IRF3 dimerization [J]. *Cell Reports*, 2019, **26**(5): 1273-1285.
- [46] Sato M, Suemori H, Hata N, *et al.* Distinct and essential roles of transcription factors IRF-3 and IRF-7 in response to viruses for IFN- α/β gene induction [J]. *Immunity*, 2000, **13**(4): 539-548.
- [47] Huai W, Liu X, Wang C, *et al.* KAT8 selectively inhibits antiviral immunity by acetylating IRF3 [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2019, **216**(4): 772-785.
- [48] Li Z, Fan S, Wang J, *et al.* Zebrafish F-box protein fbxo3 negatively regulates antiviral response through promoting K27-Linked polyubiquitination of the transcription factors irf3 and irf7 [J]. *Journal of Immunology*, 2020, **205**(7): 1897-1908.
- [49] Cai Z, Zhang M X, Tang Z, *et al.* USP22 promotes IRF3 nuclear translocation and antiviral responses by deubiquitinating the importin protein KPNA2 [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2020, **217**(5): e20191174.
- [50] Wang C, Wang Q, Xu X, *et al.* The methyltransferase NSD3 promotes antiviral innate immunity via direct lysine methylation of IRF3 [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2017, **214**(12): 3597-3610.
- [51] Xiao J, Li W, Zheng X, *et al.* Targeting 7-dehydrocholesterol reductase integrates cholesterol metabolism and IRF3 activation to eliminate infection [J]. *Immunity*, 2020, **52**(1): 109-122.
- [52] Long L, Deng Y, Yao F, *et al.* Recruitment of phosphatase PP2A by RACK1 adaptor protein deactivates transcription factor IRF3 and limits type I interferon signaling [J]. *Immunity*, 2014, **40**(4): 515-529.
- [53] Yang Q, Tang J, Pei R, *et al.* Host HDAC4 regulates the antiviral response by inhibiting the phosphorylation of IRF3 [J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2019, **11**(2): 158-169.
- [54] Zhou Y, Li M, Xue Y, *et al.* Interferon-inducible cytoplasmic IncLrrc55-AS promotes antiviral innate responses

- by strengthening IRF3 phosphorylation [J]. *Cell Research*, 2019, **29**(8): 641-654.
- [55] Wang J, Hua H, Wang F, *et al.* Arginine methylation by PRMT2 promotes IFN- β production through TLR4/IRF3 signaling pathway [J]. *Molecular Immunology*, 2021(139): 202-210.
- [56] Qin Z, Fang X, Sun W, *et al.* Deactylation by SIRT1 enables liquid-liquid phase separation of IRF3/IRF7 in innate antiviral immunity [J]. *Nature Immunology*, 2022, **23**(8): 1193-1207.
- [57] Petro T M. IFN regulatory factor 3 in health and disease [J]. *Journal of Immunology*, 2020, **205**(8): 1981-1989.
- [58] Fu W, Liu N, Qiao Q, *et al.* Structural basis for substrate preference of SMYD3, a SET domain-containing protein lysine methyltransferase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, **291**(17): 9173-9180.
- [59] Luo Z, Zhan Z, Qin X, *et al.* Interaction of teleost fish TRPV4 with DEAD box RNA helicase 1 regulates iridovirus replication [J]. *Journal of Virology*, 2023, **97**(6): e00495-23.
- [60] Li C, Qin X, Liang M, *et al.* Genome-wide identification, characterization, and expression analysis of the transient receptor potential gene family in mandarin fish *Siniperca chuatsi* [J]. *BMC Genomics*, 2024, **25**(1): 848.
- [61] Wang M M, Zhao Y, Liu J, *et al.* The role of the cGAS-STING signaling pathway in viral infections, inflammatory and autoimmune diseases [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2024, **45**(10): 1997-2010.

MOLECULAR CHARACTERISTICS AND FUNCTIONS OF THE SMYD3 GENE IN ANTIVIRAL IMMUNITY IN *SINIPERCA CHUATSI*

SHI Shuai^{1,2}, WANG Zi-Xuan², XIAO Wu-Han^{1,2,3} and LIU Xing^{1,2,3}

(1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. State Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Interferon regulatory factor 3 and 7 (IRF3 and IRF7), which serve as key transcription factors in IFN activation, are tightly regulated to fulfill normal physiological functions. In this study, we found that SMYD3 (SET and MYND domain containing 3), a lysine methylase, exerts a negative regulatory effect on antiviral innate immunity in *Siniperca chuatsi*. Firstly, amino acid sequence alignment, protein structure prediction, and phylogenetic analysis indicated that the SMYD3 gene in *Siniperca chuatsi* exhibits high evolutionary conservation. Furthermore, overexpression of Sc-SMYD3 significantly suppressed antiviral gene expression upon *Siniperca chuatsi* Rhabdovirus (SCRV) infection. Mechanistically, SMYD3 interacts with the key transcription factors IRF3 and IRF7 and inhibits the activity to activate interferon promoter and interferon-sensitive response element (ISRE) reporters. Finally, using zebrafish as a model, we found that *smyd3*-deficient zebrafish exhibited enhanced resistance to SCRV infection compared to wild-type zebrafish. Our results reveal a novel function of the lysine methyltransferase SMYD3 during SCRV infection and identify SMYD3 as a potential target for breeding new *Siniperca chuatsi* strains with anti-SCRV ability.

Key words: SMYD3; Gene expression; SCRV; Innate immunity; *Siniperca chuatsi*