

# 绵羊 *LHB* 基因生物信息学分析

王维民, 李发弟, 潘香羽

(甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 利用生物基因组学数据库, 对绵羊促黄体生成素 $\beta$  (Luteinizing hormone beta, *LHB*)基因进行生物信息学分析。结果表明, 绵羊*LHB*基因含有1个426 bp的开放阅读框, 编码141个氨基酸; *LHB*蛋白分子质量为15.2 KD, 理论等电点为7.47; *LHB*编码产物的二级结构主要以 $\beta$ 折叠和无规则卷曲为主, 主要位于细胞质中, 作为一种激素参与机体的生殖调控。

**关键词:** 绵羊; 促黄体素 $\beta$ 基因; 生物信息学分析

**中图分类号:** S826; Q57 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2013)10-0014-03

**doi:**10.3969/j.issn.1001-1463.2013.10.005

## Bioinformatics Analysis of Sheep *LHB* Gene

WANG Wei-min, LI Fa-di, PAN Xiang-yu

(College of Animal Science and Technology, Gansu Agriculture University, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** This study aimed to bioinformatics analysis of sheep *LHB* gene. The physicochemical characteristics, structures and functions of ovine *LHB* were predicted and analyzed with software tools and database. Meanwhile, the phylogenetic tree of *LHB* and related proteins was constructed. The results showed that the ORF of *LHB* was 426 bp which encoded 141 amino acids. The sheep protein of *LHB* was 15.2 KD in molecular weight, 7.47 in isoelectric point. The secondary structure of *LHB* showed that it mainly constituted of  $\beta$ -sheet and coils, and important role in reproductive regulation as a hormone in cytoplasm.

**Key words:** Sheep; Luteinizing hormone beta gene; Bioinformatics analysis

促黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)是一种由垂体前叶嗜碱性粒细胞合成并分泌的糖蛋白生殖激素, 由促性腺激素刺激释放, 通过血液循环到达性腺及其它组织, 与卵泡刺激(Follicle stimulating hormone, FSH)一同以顺序和协同的方式作用于这些组织器官, 以促进动物性成熟和保持周期性的繁殖能力<sup>[1]</sup>。LH与FSH均是诱发排卵的主要因素之一, LH参与内膜细胞合成雌激素, 与FSH协同促进卵泡生长成熟, 诱发排卵, 促进黄体生成。不仅促进雄性动物副性腺的发育和精子的成熟<sup>[2]</sup>, 而且诱导雌性动物卵泡内卵母细胞成熟分裂的恢复和提高卵母细胞成熟后胚胎发育能力<sup>[3]</sup>。促黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、促甲状腺素(TSH)和促性腺素(CG)4种糖蛋白激素均由 $\alpha$ 和 $\beta$ 2个亚基共轭结合而组成, 在同一种内甚至是所有哺乳动物中,  $\alpha$ 亚基为它们共有, 而 $\beta$ 亚基具

有物种和激素的特异性<sup>[4]</sup>, 因此, 对糖蛋白激素的研究重点在于 $\beta$ 亚基。在对绵羊和猪的研究中已发现, 高繁殖力品种与低繁殖力品种间LH的分泌以及血液LH水平存在差异<sup>[5-9]</sup>。我们以生物基因组数据库调取的绵羊*LHB*的序列为基础, 利用生物信息学方法对*LHB*基因及其编码产物的理化性质、序列特征、蛋白质结构以及生物学功能进行预测和分析, 以期为深入研究*LHB*基因及其编码蛋白的基本结构和生物学功能提供理论基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 序列来源

数据资料来源于NCBI网站的GenBank数据库, 包括绵羊(NM\_001009380.1)、牛(NM\_173930.1)、人(NM\_000894.2)、小鼠(NM\_008497.2)、大鼠(NM\_001033975.1)、猪(NM\_214080.1)、斑马鱼(NM\_205622.2)。

收稿日期: 2013-09-22

基金项目: 甘肃省重大科技专项“高繁殖力优质肉羊新品种培育及产业化开发”(1102NKDH023)部分内容

作者简介: 王维民(1984—), 男, 湖北广水人, 助教, 主要从事绵羊遗传育种与繁殖工作。联系电话: (0931)7631225。

E-mail: wangwm@gsau.edu.cn

通讯作者: 李发弟(1963—), 男, 甘肃民勤人, 教授, 博士生导师, 主要从事绵羊生产学研究。联系电话: (0931)7631225。

E-mail: lifd@gsau.edu.cn

1.2 研究方法

绵羊LHβ基因开放阅读框(Open reading frame, ORF) 参照Kozak法则, 采用NCBI的ORF Finder程序分析 [10]。LHβ编码产物的理化性质采用Bioedit及DNASar分析软件预测, 亚细胞定位采用PSORT II 预测 [11], 功能域及功能分类采用ProtFun预测 [12~13], 跨膜区域的预测采用TMHMM程序, 二级结构采用SSpro分析预测。多序列比对及同源性分析采用DNAMAN软件分析。

2 结果与分析

2.1 绵羊 LHβ 基因开放阅读框分析

图1分析结果表明, 绵羊LHβ基因序列中有1条长426 bp的ORF, 起始密码子位于8 bp处, 终止密码子位于433 bp处, 推测编码141个氨基酸残基。

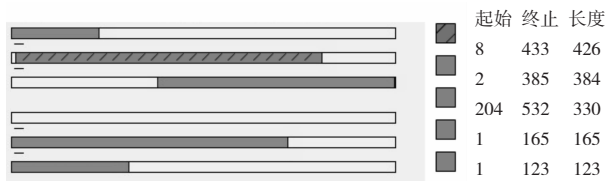


图1 绵羊LHβ基因序列的ORF分析

2.2 绵羊 LHβ 编码产物的理化性质分析

蛋白质的基本性质包括相对分子质量、氨基酸组成和等电点等。用Bioedit及DNASar分析软件对绵羊LHβ基因编码产物的理化性质进行预测, 得出LHβ基因编码的141个氨基酸, 组成最多的为Leu(亮氨酸), 所占比例为14.9%, 其理论分子量约为15.2 KD, 理论等电点为7.47(图2)。

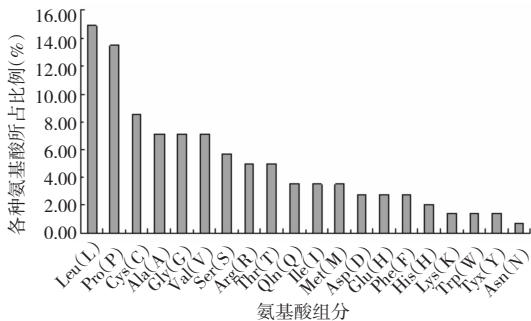


图2 绵羊LHβ编码产物氨基酸组成

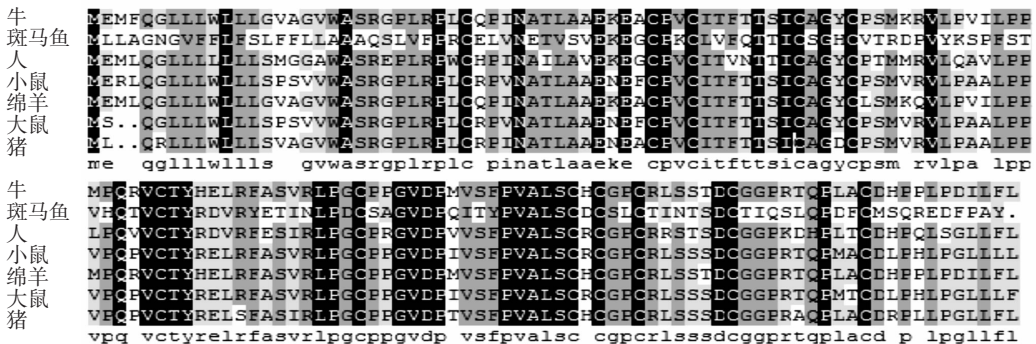


图3 7个物种的LHβ基因编码产物序列的同源性分析

2.3 绵羊 LHβ 编码产物序列同源性分析

LHβ在很多物种中都有表达。从图3可以看出, 在对绵羊、牛、人、猪、大鼠、小鼠、斑马鱼等7个物种的LHβ基因编码产物同源性分析得出, 绵羊与牛的LHβ氨基酸序列同源性较高, 达98%, 说明在进化过程具有较近的亲缘关系。LHβ编码产物系统发育树(图4)证明, 绵羊和牛在系统发育树中的距离最近。

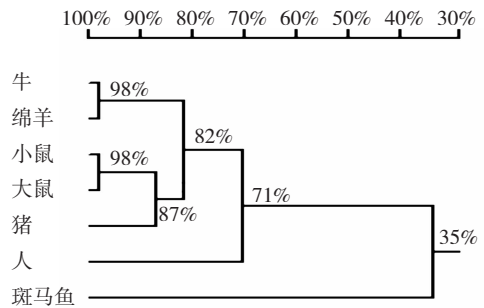


图4 7个物种的LHβ基因编码产物的系统发育树

2.4 绵羊 LHβ 编码产物亚细胞定位分析

从表1可知, 通过工具PSORT II 预测LHβ编码产物的亚细胞定位, 其分布在细胞质的可能性为34.8%, 分布在细胞核的可能性为21.7%, 分布在线粒体的可能性为17.4%, 分布于内质网的可能性为13.0%。由此可以推断, 绵羊LHβ编码产物主要在细胞质中发挥生物学作用。

表1 LHβ编码产物的亚细胞定位预测结果

亚细胞定位	可能性 (%)
细胞质	34.8
细胞核	21.7
线粒体	17.4
内质网(腔内)	13.0
囊泡的分泌系统	4.3
高尔基体	4.3

2.5 绵羊 LHβ 编码产物结构功能预测与分析

通过Protfun分析软件对LHβ编码产物预测的结果(表2)可知, 该蛋白具有激素功能的可能性最高, 几率为0.193, 由此推断LHβ可能作为一种激

素参与机体的生物学调控。已有研究报道LHβ是由垂体前叶嗜碱性粒细胞合成并分泌的糖蛋白生殖激素，与本研究结果相验证。

表2 LHβ编码产物结构功能分析

GO功能类别	几率	GO功能类别	几率
激素	0.193	免疫应答	0.011
信号传感器	0.105	阳离子通道	0.010
受体	0.068	离子通道	0.009
胁迫应答	0.057	金属离子转移	0.009
转录	0.038	生长因子	0.005
转录调控	0.034	结构蛋白	0.003
运载体	0.025	电压门控通道	0.002

2.6 绵羊 LHβ 编码产物跨膜区域的预测与分析

由图5可知，LHβ编码产物跨膜区域的数量为1个，跨膜结构域的位置位于序列的6~26位之间，其侧翼序列为序列1~5位位于胞内，27~141位位于胞外。据此推断，绵羊LHβ极可能是一个跨膜蛋白，分为跨膜域、胞外域和胞内域3部分。

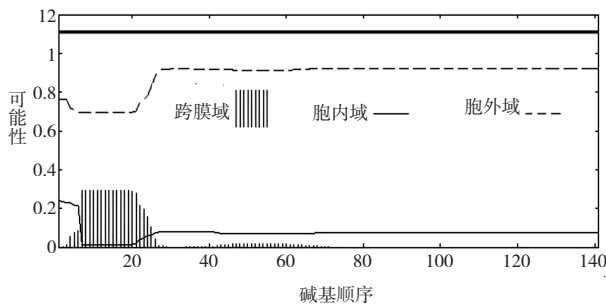


图5 TMHMM程序分析LHβ编码产物的跨膜区域结果

2.7 绵羊 LHβ 编码产物跨膜区域的预测与分析

通过表3可以看出，绵羊LHβ编码产物是由11.348% α-螺旋、41.844%无规则卷曲及46.809% β-折叠组成。由此可以推测，β-折叠是绵羊LHβ最主要的蛋白质二级结构元件，无规则卷曲和α-螺旋则散布于整个蛋白质中。

表3 LHβ编码产物二级结构

二级结构	可能性 (%)
α-螺旋	11.348
β-折叠	46.809
无规则卷曲	41.844

3 小结

研究试验结果表明，绵羊LHβ基因ORF长度为426 bp，编码141个氨基酸残基，Leu(亮氨酸)所占比例最高，为14.9%，其理论分子量约为15.2 KD，理论等电点为7.47。LHβ在很多物种中都有表达，其中绵羊与牛LHβ编码的氨基酸序列同源性较

高，在系统发育树中的距离最近。绵羊LHβ基因编码产物的二级结构主要以β折叠和无规则卷曲为主，主要位于细胞质中，作为一种激素参与机体的生物学调控。

参考文献:

- [1] MARSHALL J C, KELCH R P. GnRH: role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction[J]. N. Eng. J. Med., 1986, 315: 1459-1468.
- [2] 杨筱珍, 陈耀星, 王子旭, 等. 生殖激素对雄性生殖细胞凋亡调控的研究进展 [J]. 动物医学进展, 2003, 24(6): 7-10.
- [3] ZUELKE K A, BRACKETT B G. Luteinizing hormone-enhanced in vitro maturation of bovine oocytes with and without protein supplementation [J]. Biol. Reprod., 1990, 43(5): 784-787.
- [4] PIERCE J G, PARSONS T F. Glycoprotein hormones: structure and function[J]. Annu. Rev. Biochem., 1981, 50: 465-495.
- [5] PRUNIER A, CHOPINEAU M. Sexual maturation of Meishan gilts[A]. Chinese Pig Symposium[C]. Toulous, France, 1990, 37-40.
- [6] 焦淑贤, 王瑞祥, 蔡正华, 等. 枫泾和长白猪发情期促卵泡素、促黄体素含量动态变化研究[J]. 中国农业科学, 1992, 25 (6): 80-85.
- [7] 郑亦辉, 张德福, 马恒东. 湖羊和美利奴羊发情期外周血浆中促性腺激素脉冲分泌的差异[J]. 中国畜牧杂志, 1991, 27(2): 23-24.
- [8] 张英杰, 刘月琴, 储明星. 小尾寒羊高繁殖力和常年发情内分泌机理的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2001, 32 (6): 510-516.
- [9] MCNATTY K P, HUDSON N, HENDERSON K M, et al. Differences in gonadotrophin concentration and pituitary responsiveness to GnRH between Booroola ewes which were homozygous(FF) and non-carriers(++) of a major gene influencing their ovulation rate[J]. J. Reprod Fertil, 1987, 80: 577-588.
- [10] 罗 轶. 鸡FATP1基因cDNA的克隆、组织表达及其生物信息学分析[D]. 四川农业大学动物科学技术学院, 2008.
- [11] NAKAI K, HORTON P. PSORT: a program for detecting sorting signals in proteins and predicting their sub-cellular localization [J]. Trends Biochem. Sci., 1999 (24): 34-36.
- [12] JENSEN L J, GUPTA R, BLOM N, et al. Prediction of human protein function from post-translational modifications and localization features[J]. Journal of Molecular Biology, 2002, 319: 1257-1265.
- [13] JENSEN L J, STRFELDT H H, BORUNAK S. Prediction of human protein function according to gene ontology categories [J]. Bioinformatics, 2003, 19(5): 635-642.

(本文责编: 陈 伟)