

# 牦牛 MT-3 基因生物信息学分析

李 洁, 王建福

(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, 对牦牛金属硫蛋白 3 基因进行生物信息学分析, 从而预测 MT-3 基因编码产物的理化性质以及功能结构域, 并构建 MT-3 同源基因的系统进化树。结果表明, 牦牛 MT-3 基因含有 1 个 513 bp 的 ORF, 编码 170 个氨基酸。MT-3 蛋白分子质量约为 17 556.37 Da, 理论等电点为 5.68。MT-3 编码产物的二级结构主要以  $\beta$  折叠和无规则卷曲为主, 推测是非酶类蛋白质。MT-3 具有神经生长抑制活性, 通过清除自由基和 NO, 从而起到保护脑细胞的作用。

**关键词:** 牦牛; 金属硫蛋白 3 基因; 生物信息学分析

**中图分类号:** S826; Q57

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2018)02-0058-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.02.016

## Bioinformatics Analysis of Wild Yak MT-3 Gene

LI Jie, WANG Jianfu

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

**Abstract:** This study aimed to study the bio-information of Wild yak MT-3 gene. The physicochemical characteristics, structures and functions of ovine MT-3 are predicted with software tools and database. Meanwhile, the phylogenetic tree of MT-3 and related proteins is constructed. The results show that the ORF of MT-3 is 513 bp which encoded 170 amino acids. The Wild yak protein of MT-3 is 17 556.37 Da in molecular weight, isoelectric point is 5.68. The secondary structure of MT-3 shows that it is mainly constituted of  $\beta$ -pleated sheet and coils, the encoding production conjecturally belongs to non-enzyme protein. MT-3 has an inhibitory activity on nerve growth, by scavenging free radicals and NO, it plays a role in protecting brain cells.

**Key words:** Wild yak; Metallothionein 3 gene; Bioinformatics analysis

MT-3 是一种金属硫蛋白, 又称神经生长抑制因子, 其广泛存在于哺乳动物的各种组织中, 但

收稿日期: 2017-09-28

基金项目: 甘肃省农牧厅生物技术子课题(GNSW-2011-27)。

作者简介: 李 洁(1982—), 女, 河南商丘人, 实验师, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作。联系电话: (0931)7631225。E-mail: lijie@gsau.edu.cn。

通信作者: 王建福(1982—) 男, 河南商丘人, 讲师, 主要从事水产养殖工作。联系电话: (0931)7631225。E-mail: wangjf@gsau.edu.cn。

增产率 14.0%; 金穗 607 折合产量 8 585.9 kg/hm<sup>2</sup>, 较对照品种金穗 3 号增产 13.7%; 金穗 606 较对照品种金穗 3 号增产 12.4%。

张雷等人<sup>[5]</sup>认为全膜双垄沟播栽培玉米可在海拔 2300 m 以内的区域内种植。本试验通过对供试玉米品种的性状、生育期及产量结果进行综合分析, 建议在安定区海拔 2 100~2 300 m 区域扩大武科早 304、武科早 303、金穗 607 及金穗 606 的种植面积, 其他品种可在海拔 2 100 m 以下区域进一步试验。

### 参考文献:

[1] 刘广才, 杨祁峰, 李来祥, 等. 旱地玉米全膜双垄沟

播技术增产效果研究[J]. 农业现代化研究, 2009, 30(6): 739-743.

[2] 牛建彪. 半干旱区小麦玉米雨水高效利用技术模式[J]. 甘肃农业科技, 2005(5): 22-23.

[3] 杨祁峰, 岳 云, 熊春蓉, 等. 不同覆膜方式对陇东旱塬玉米土壤湿度的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(1): 114-118.

[4] 王承义, 李继明. 不同地膜与覆膜期对全膜双垄沟播玉米的影响[J]. 甘肃农业科技, 2016(7): 54-56.

[5] 张 雷, 牛建彪, 赵 凡, 等. 旱作玉米提高降水利用率率的覆膜模式研究[J]. 干旱地区农业研究, 2006, 24(2): 8-11.

(本文责编: 陈 伟)

主要表达于脑组织,在神经胶质细胞和雄性生殖系统中也有表达<sup>[1]</sup>。MT-3 的 N 端高度保守,而 C 端的氨基酸则相对变化较大<sup>[2]</sup>。据报道,表达 MT-3 的细胞保护 DNA 免受 ROS 破坏的能力更强,能更有效的保护单链 DNA 免受羟自由基的破坏<sup>[3]</sup>。在  $\gamma$  射线引起的氧化应激时,MT-3 抑制了 8- 羟基鸟苷在细胞中的积累和基因突变,表现出抗癌和神经保护的作用<sup>[4-5]</sup>。在含有 MT-3 的神经元中能够调节儿茶酚胺能、谷氨酸能及  $\gamma$ - 氨基丁酸(GABA)能的神经转换。研究表明,MT-3 可拮抗谷氨酸(Glu)对神经元的毒性,通过清除生成的 NO,从而起到神经保护作用<sup>[6]</sup>。目前,MT-3 基因的序列在猪、绵羊、山羊、牦牛、猕猴、家鼠、鸡、牛、人等动物中均已公布,但其蛋白质结构和生物学功能还有待进一步研究。我们以从生物基因组数据库调取了牦牛 MT-3 基因的序列为基础,利用生物信息学相关软件和网页对牦牛 MT-3 基因及其编码产物的理化性质、亚细胞定位、蛋白质结构和生物学功能进行预测和分析,以期为深入研究 MT-3 基因及其编码蛋白的基本结构和生物学功能提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 序列来源

数据资料来源于 NCBI 网站 GenBank 数据库 MT-3 基因的参考序列登录号<sup>[7]</sup>,包括牦牛(XM\_014479472.1)、人(NM\_005954.3)、家鼠(NM\_013603.2)、猪(NM\_214056.1)、牛(NM\_001113304.2)、绵

羊(NM\_001009755.1)、鸡(NM\_001097538.1)、猕猴(XM\_001266138.1)8 个物种的 mRNA 序列。

### 1.2 方法

牦牛 MT-3 基因开放阅读框(Open reading frame, ORF)利用 NCBI 网页中的 ORF Finder 程序对其 mRNA 序列进行识别预测分析。MT-3 基因编码产物的理化性质采用 Bioedit 及 DNASTar 分析软件预测。亚细胞定位采用 PSORT II 预测<sup>[8]</sup>。功能域及功能分类采用 Prot Fun 预测<sup>[9-10]</sup>。跨膜区域的预测采用 TMHMM 程序。二级结构采用 Jpred 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 牦牛 MT-3 基因的 ORF 分析

利用 NCBI 网页中的 ORF Finder 程序对牦牛 MT-3 基因的 mRNA 序列进行预测分析的结果见图 1。从图 1 可以看出,牦牛 MT-3 基因序列中最大的开放阅读框长度为 513 bp,起始密码子位于 55 bp 处,终止密码子位于 567 bp 处,分析有 170 个氨基酸残基构成该编码产物。

### 2.2 牦牛 MT-3 基因编码产物序列同源性分析

利用 DNAMAN 软件对牦牛 MT-3 基因编码产物序列同源性进行分析的结果见图 2。从图 2 可以看出,MT-3 在很多物种中均有表达,尤其与牛、绵羊 MT-3 氨基酸序列同源性较高,推测与牛、绵羊这 2 个物种在进化过程中的亲缘关系较近。从牦牛 MT-3 基因编码产物的系统发育树(图 3)可以看

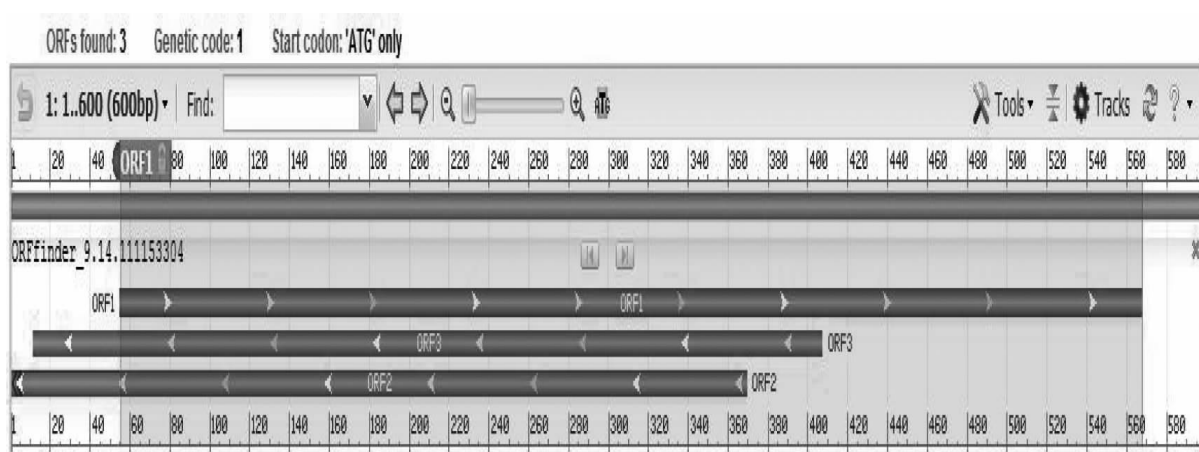


图 1 MT-3 基因序列的 ORF 分析

|           |                                                                                   |     |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 牦牛        | .....MDPETPCPTGGSCCTSDPCKCEGCTCASSKKSCCSCCPAEC.EKCAKDCVCRGGEGAEAEKKKSCCHLTVCI     | 73  |
| 牛         | .....MDPETPCPTGGSCCTSDPCKCEGCTCASSKKSCCSCCPAEC.EKCAKDCVCRGGEGAEAEKKKSCCQ.....     | 68  |
| 绵羊        | .....MDPEACPCPTGGSCCTSDSCKCEGCTCASSKK...SCCPAEC.EKCAKDCVCRGGEGAEAEKKKSCCQ.....    | 65  |
| 人         | .....MSRRAAAGGERA\$PSNWRGLASGRWR.CFYSLGR...GRACQARWAPAPHRARSFRLQAWAP.....         | 62  |
| 猪         | .....MGTGGTRPPALFTHILHGGARPHWQQLHFSSASAPSPPLHTQSLAHFHSAGQQEQQLFLQEVHLH            | 67  |
| 鸡         | .....MDSQDCPCATGGTCTCGENCKCKNCKTSCCKGCCSCCPAGC.ARCAQGCVCRG.....PPSARKSCCK.....    | 63  |
| 家鼠        | MLCMGFHTPEQAAGGGGGGGEDNSCAPPGTPSTIYIG.CVGGSSSL.AAAAFLGLCLGPLTFHTVLGTLTSGRAA       | 78  |
| 猕猴        | .....MEGCFLTRSSCTSLPLPRPPLRLCTHSPWHTSHTPQGSRSSSSSCRRCLNPR..TCRSPRRGRSHQKGRGR      | 70  |
| Consensus |                                                                                   |     |
| 牦牛        | CTVGLVAVAVFIKSCPTLCDPVCDSLPAASSVHGIFQARILGWVAISLSTGTSRLRDQTCVSCLAGGFFTTDPPEKSMGLG | 153 |
| 牛         | .....                                                                             | 68  |
| 绵羊        | .....                                                                             | 65  |
| 人         | .....AHALHLSPAFAVCVHCRGPLAHA.....                                                 | 85  |
| 猪         | PSHIQEPAQVQEPFVGQGVSGMSRGLPLEQV.....                                              | 100 |
| 鸡         | .....                                                                             | 63  |
| 家鼠        | GAAALLAVRAFAALALAFVRAGAGTTSRTGAGLRVHIQSSRRSLVPPGKRMRYVARAAG...GKAFIAPGGGAQAATWR   | 155 |
| 猕猴        | SQGPRSEQQLAENVLLQATGRAAWLVAAG.....GDAFIAPGG.....                                  | 110 |
| Consensus |                                                                                   |     |
| 牦牛        | EVKIGPQPQRPAISSIF...                                                              | 170 |
| 牛         | .....                                                                             | 68  |
| 绵羊        | .....                                                                             | 65  |
| 人         | .....                                                                             | 85  |
| 猪         | .....                                                                             | 100 |
| 鸡         | .....                                                                             | 63  |
| 家鼠        | PPLCHSACSPCVCTAVPSL                                                               | 175 |
| 猕猴        | .....                                                                             | 110 |
| Consensus |                                                                                   |     |

图 2 8 个物种的 MT-3 编码产物的同源分析

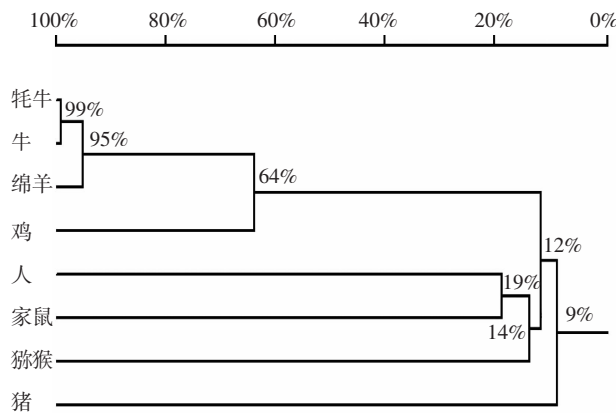


图 3 8 个物种的 MT-3 编码产物的系统发育树

出，牦牛、牛系统发育距离最近与牛的亲缘相似性高达 99%。

### 2.3 牦牛 MT-3 基因编码产物的理化性质分析

氨基酸是蛋白质的基本组成单位，蛋白质的基本性质包括其相对分子质量、氨基酸组成和等电点等<sup>[11-12]</sup>。采用 Bioedit 及 DNASTar 分析软件预测牦牛 MT-3 基因编码产物的氨基酸组成的结果

(图4)表明，MT-3 基因编码 170 个氨基酸，组成最多的氨基酸是 Cys (半胱氨酸)，所占比例为 15.3%。其编码产物的理论分子量约为 17 556.37 Da，理论等电点为 5.68。

### 2.4 牦牛 MT-3 基因编码产物的亚细胞定位分析

从牦牛 MT-3 基因编码产物的亚细胞定位结果(表1)可知，其分布在细胞核中的可能性为 69.6%，分布在细胞质的可能性为 13.0%，分布在线粒体的可能性为 4.3%，分布在细胞骨架的可能性为 12.9%。由此推断，牦牛 MT-3 编码产物主要在细胞核中发挥生物学作用。

表 1 MT-3 编码产物在亚细胞的定位预测

| 亚细胞定位 | 概率 % |
|-------|------|
| 细胞核   | 69.6 |
| 细胞质   | 13.0 |
| 线粒体   | 4.3  |
| 细胞骨架  | 12.9 |

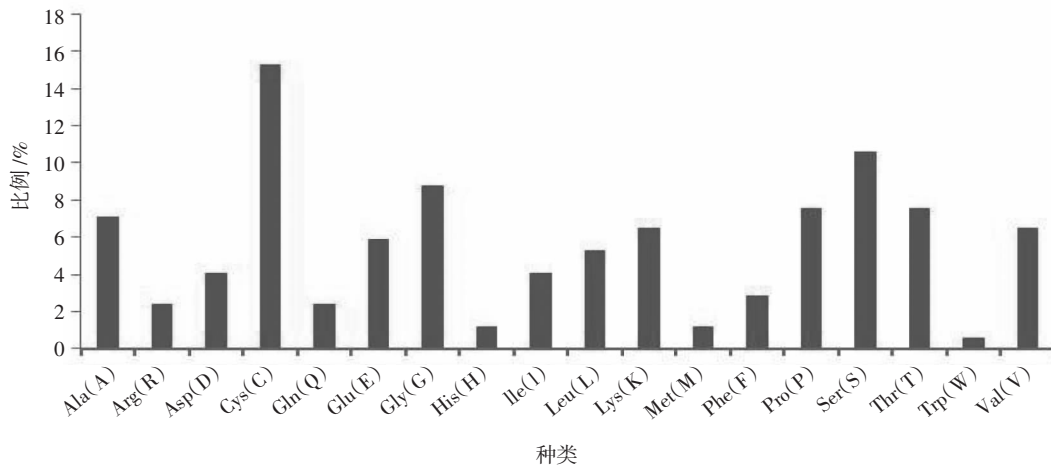


图 4 牦牛 MT-3 基因编码产物氨基酸组成及比例分析

2.5 牦牛 MT-3 基因编码产物结构功能预测与分析

牦牛 MT-3 基因编码产物结构功能分析采用 ProtFun 分析软件进行预测，其结构域是二级蛋白序列片段经过盘曲折叠形成的超二级结构，不同的结构域具有不同的特定的功能作用<sup>[12]</sup>。从表 2 可知，MT-3 主要具有调控功能、转录和复制、翻译和辅酶因子的生物合成的功能，可能性分别为 0.265%、0.194%、0.105%和 0.051%。由此推断该

表 2 MT-3 编码产物的功能预测

| 分类   | 项目        | 概率 %  |
|------|-----------|-------|
| 功能分类 | 氨基酸合成     | 0.011 |
|      | 辅酶因子的生物合成 | 0.051 |
|      | 细胞被膜      | 0.039 |
|      | 细胞过程      | 0.027 |
|      | 代谢中间产物    | 0.042 |
|      | 能量代谢      | 0.023 |
|      | 脂肪酸代谢     | 0.028 |
|      | 调控功能      | 0.265 |
|      | 转录和复制     | 0.194 |
|      | 翻译        | 0.105 |
| 酶/非酶 | 酶         | 0.180 |
|      | 非酶        | 0.820 |
|      | 氨基酸合成     | 0.011 |

蛋白具有调控功能的可能性最高，另外该蛋白在翻译、转录和复制中发挥着重要调节作用。

2.6 牦牛 MT-3 基因编码产物信号肽预测与分析

信号肽序列存在于分泌蛋白基因编码序列中，位于起始密码子之后的一段富含疏水氨基酸多肽的序列。如图 5 所示，预测牦牛 MT-3 基因编码产物不存在信号肽，无跨膜区，为非分泌性蛋白。

2.7 牦牛 MT-3 基因编码产物二级结构的预测与分析

对牦牛 MT-3 氨基酸序列进行二级结构预测采用在线预测工具 Jpred 分析的结果(图 6)所知，牦牛 MT-3 编码产物从 N 端的第 13 个氨基酸才开始出现二级结构，前 12 个氨基酸均没有形成二级结构。MT-3 蛋白二级结构主要由 5 个  $\beta$  折叠和多个无规则卷曲组成，没有  $\alpha$  螺旋。

3 结论

研究结果表明，牦牛 MT-3 基因 ORF 长度为 513 bp，编码 170 个氨基酸残基；组成最多的氨基酸是 Cys(半胱氨酸)，所占比例为 15.3%，其理论分子量约为 17 556.37 Da，理论等电点为 5.68。MT-3 在很多物种中都有表达，其中与绵羊、牛 MT-3 编码的氨基酸序列同源性一致，在系统发育树中的距离最近。MT-3 编码产物的二级结构主要以  $\beta$  折叠和无规则卷曲为主。MT-3 除具有神经生长抑制活性外，还可通过清除自由基和 NO，从而起到神经保护作用。

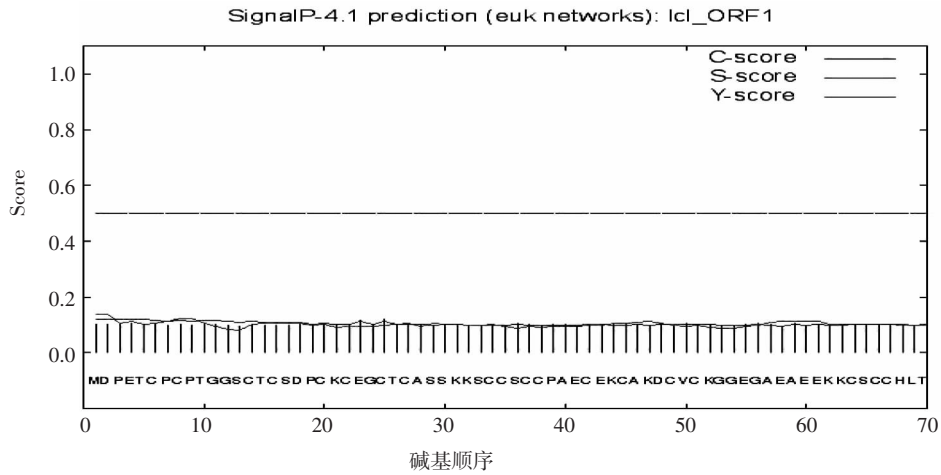


图 5 MT-3 编码产物中信号肽的预测分析图

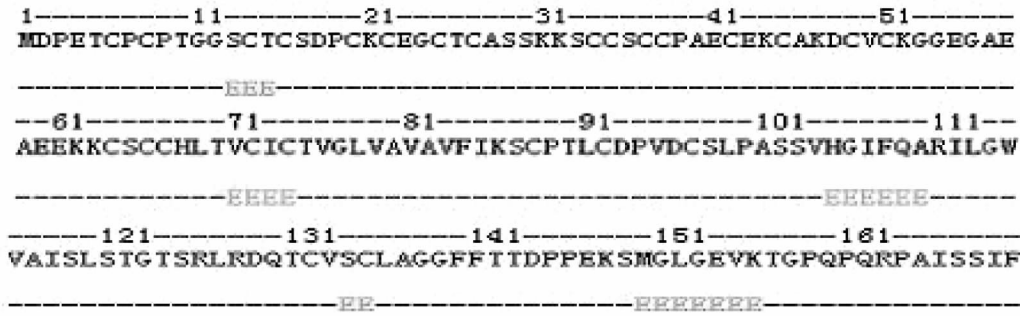
(- 为无规卷曲; E 为  $\beta$  折叠)

图 6 牦牛 MT-3 编码产物二级结构预测

## 参考文献:

- [1] I ELGHAZI, B L MARTIN, I M ARMITAGE. Metallothionein-3 is a component of metal protein complex in the mouse brain[J]. *Exp. Biol. Med.*, 2006, 231: 1500-1506.
- [2] 张容昶. 中国的牦牛[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1988: 42-43.
- [3] ISHIHARA K, HIRANO T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease[J]. *Cytokine Growth Factor. Rev.*, 2002, 13: 357-368.
- [4] GHAZI I E I, MARTIN B L, ARMITAGE I M. Metallothionein-3 is a component of a metal protein complex in the mouse brain[J]. *Exp. Biol. Med.*, 2006, 231: 1500-1506.
- [5] MILES A T, H AWKSWORTH G M, BEATTIE J H, *et al.* Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins[J]. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2000, 35: 35-70.
- [6] MONTOLIU C, MONFORT P, CARRASCO J, *et al.* Metallothionein-III prevents glutamate and nitric oxide neurotoxicity in primary cultures of cerebellar neurons[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2000, 75(2): 266-273.
- [7] 张小雪, 潘香羽, 李发弟, 等. 绵羊 ESR 基因生物信息学分析[J]. *甘肃农业科技*, 2014(9): 30-33.
- [8] GONZALO D H, LAI K K, SHADRACH B, *et al.* Gene expression profiling of serrated polyps identifies annexin A10 as a marker of a sessile serrated adenoma/polyp[J]. *J. Pathol.*, 2013, 230: 420-429.
- [9] RAYNALP, POLLARD H B. Annexins: the problem of assessing the biological role for a gene family of multifunctional calcium and phospholipid-binding proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1197: 63-93.
- [10] GERKEV, MOSS S E. Annexins: from structure to function[J]. *Physiol. Rev.*, 2002, 82: 331-371.
- [11] 张小雪, 潘香羽, 李发弟, 等. 绵羊 GDF9 基因生物信息学分析[J]. *甘肃农业科技*, 2014(8): 18-21.
- [12] 隋景巍. 绵羊 PTGER3 基因生物信息学分析[J]. *乡村科技*, 2017(4): 52-55.

(本文责编: 杨 杰)