

张红利, 李辉, 张慧. 鸡 RB1 基因的生物信息学分析 [J]. 畜牧与兽医, 2017, 49 (9): 13-18.

Zhang H L, Li H, Zhang H. Bioinformatics analysis of chicken RB1 gene [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2017, 49 (9): 13-18.

鸡 RB1 基因的生物信息学分析

张红利, 李辉, 张慧*

(农业部鸡遗传育种重点实验室/黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖
重点实验室/东北农业大学动物科学技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 以鸡的 RB1 基因为研究对象, 运用生物信息学的方法对鸡等 15 种动物的 RB1 蛋白进行了多序列比对分析、分子进化分析及蛋白质结构分析, 同时还比较了鸡、人及鼠的 RB1 基因结构、启动子结构以及 3'端非编码区结构。结果表明: 鸡和人 RB1 基因的进化关系较近, 但是, 从启动子结构、3'端非编码区结构来看, 鸡 RB1 基因与人和小鼠的同源性很低。研究结果可以为下一步鸡 RB1 基因的功能研究提供参考依据。

关键词: 鸡; RB1 基因; 生物信息学

中图分类号: S831.2 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2017)09-0013-06

Bioinformatics analysis of chicken RB1 gene

ZHANG Hongli, LI Hui, ZHANG Hui*

(Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Heilongjiang Province Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction, School of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Chicken RB1 gene was investigated. Multiple sequence alignment, phylogenetic tree and protein structure of RB1 protein from 15 different animals were analyzed by bioinformatics. Furthermore, gene structure, promoter and 3'UTR of RB1 gene were compared among human, mouse and chicken. The results showed that evolution relationship of chicken was close to human, while chicken was distant to human and mouse in promoter and 3'UTR of RB1. This research provides a reference for further studies on the function of RB1 gene in chicken.

Key words: chicken; RB1 gene; bioinformatics

视网膜母细胞瘤 (Retinoblastoma, RB) 蛋白家族有三个组成部分, 分别为 p105、p107 和 p130, 在近三十多年来, RB/p105 由于其重要的作用而成为人们研究的重点, 但是, 它在肿瘤发生中由于突变而处于失活状态^[1-2]。视网膜母细胞瘤基因 1 (Retinoblastoma 1, RB1) 是一个对肿瘤的发生有抑制作用的基因, 最早由 Weinberg^[3] 提出, 在视网膜母细胞瘤、前列腺癌等肿瘤的发生中起到了关键性的作用^[4-5]。前人研究表明 RB1 基因的表达广泛分布于各种组织

中, 比如心脏、肝脏、肌肉和胃等^[6]。RB1 参与多种调控过程, 包括细胞的增殖、分化、凋亡等生长发育过程^[7-8]。近期的研究表明, RB1 基因在脂肪发展和形成过程中扮演着重要的角色, 通过使 RB1 基因沉默, 能够促进 E2F 的转录活动, 从而有利于脂肪形成^[9]。

本研究通过 NCBI 数据库中的氨基酸序列和 mRNA 序列, 应用生物信息学的方法对鸡等 15 种动物的 RB1 蛋白进行了多序列比对分析、分子进化分析、蛋白质结构分析及 Motif 搜索, 同时还比较了鸡、人及鼠的 RB1 基因结构、启动子结构及 3'UTR 结构, 旨在为鸡 RB1 基因的功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人、猴、普通狨、鼠、牛、猪、羊、鸡、珍珠鸡、非洲爪蟾、鲑、斑马鱼、虹鳟、鸭嘴兽等 15 种动物的 RB1 蛋白质序列和 mRNA 序列, 通过美国国家生物信息中心 (NCBI, National center for

收稿日期: 2016-09-24; 修回日期: 2017-07-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301960); 高等学校博士学科点专项科研基金新教师类资助课题 (20132325120016); 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目 (UNPYSCT-2015007); 黑龙江省教育厅面上项目 (12541019); 黑龙江省博士后青年英才计划项目 (QC2016023)

作者简介: 张红利 (1990-), 女, 硕士研究生, E-mail: 471997386@qq.com

* 通信作者: 张慧 (1982-), 女, 副教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: huizhang@neau.edu.cn

biotechnology information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 取得。

1.2 方法

1.2.1 RB1 蛋白质序列分析

利用 EBI 在线多序列比对软件 Clustalw2.0 进行蛋白序列比对分析。利用 MEGA4.1 (Molecular evolutionary genetics analysis) 软件分析, 使用 NJ (Neighbor joining model) 构建系统进化树, 计算距离采用泊松校正 (Poisson correction), 自展检验 (Bootstrap test) 估计 NJ 法所构系统树的可靠性, 重复次数为 5 000 次, 其余参数采用默认值。

1.2.2 RB1 蛋白结构分析

蛋白结构预测采用在线软件 SMART (Simple modular architecture research tool) 分析 RB1 蛋白结构。

1.2.3 RB1 Motif 搜索

利用 ExPASy 在线工具 ScanProsite 对 RB1 中的保守区域进行搜索。

1.2.4 基因结构分析

利用 NCBI 中的 GenBank 数据库分析基因结构。

1.2.5 启动子分析

通过 UCSC 基因组浏览器在线软件分析 CpG 岛, 利用 BDGP: Neural Network Promoter Prediction (http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter.html) 预测核心启动子, 使用 Promoter Scan (<http://www-bimas.cit.nih.gov/molbio/proscan/>) 预测转录因子结合位点。

1.2.6 3'UTR 结构分析

利用 Poly A_ SVM 分析 Poly A 加尾信号, micro RNA 的结合位点采用 miRBase 数据库分析。

2 结果

根据 NCBI 数据库查询动物的全长 RB1 蛋白质序列和 mRNA 序列, 得到 15 种动物的全长 RB1 蛋白序列及其相应的 mRNA 序列 (见表 1)。其中人、猴、牛的 RB1 蛋白序列大小均为 928 aa, 鲑和虹鳟的均为 910 aa, 鸡、珍珠鸡的 RB1 蛋白大小分别为 921 aa 和 1 083 aa, 普通狨、小鼠、大鼠、羊、猪、非洲爪蟾、斑马鱼、鸭嘴兽分别为 927 aa、921 aa、920 aa、858 aa、939 aa、900 aa、903 aa、917 aa。

表 1 不同动物 RB1 基因查询信息

物种	mRNA 序列号	染色体上的位置	蛋白质序列	氨基酸长度/aa
人	NM_000321	Chromosome = "13"	NP_000312	928
猴	NM_001261047	Chromosome = "17"	NP_001247976	928
普通狨	XM_008992037	Chromosome = "1"	XP_008990285	927
小鼠	NM_009029	Chromosome = "14"	NP_033055	921
大鼠	NM_017045	Chromosome = "15"	NP_058741	920
羊	XM_012184449	Chromosome = "10"	XP_012039839	858
牛	NM_001076907	Chromosome = "12"	NP_001070375	928
猪	NM_001285967	Chromosome = "11"	NP_001272896	939
鸡	NM_204419	Chromosome = "1"	NP_989750	921
珍珠鸡	XM_012569673	Chromosome = "1"	XP_012425127	1 083
非洲爪蟾	NM_001282525	-	NP_001269454	900
鲑	NM_001173615	Chromosome = "ssa04"	NP_001167086	910
斑马鱼	NM_001077780	Chromosome = "21"	NP_001071248	903
虹鳟	NM_001124256	-	NP_001117728	910
鸭嘴兽	XM_001514048	-	XP_001514098	917

注: 数据来自 NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

2.1 RB1 蛋白质序列分析

2.1.1 RB1 蛋白质序列比对分析

利用 Clustalw2.0 软件对 15 种动物的全长 RB1 蛋白做序列比对分析 (见表 2), 结果表明, 哺乳类人、猴、普通狨、小鼠、大鼠、牛、羊和猪的 RB1 蛋白序列相似度在 89%~99% 之间, 除了鸭嘴兽, 其中, 人与猴 RB1 蛋白序列相似度高达 99%, 人与普

通狨为 97%, 猴与普通狨为 97%, 小鼠与大鼠为 95%, 牛与羊为 97%。禽类鸡与珍珠鸡的 RB1 蛋白序列相似度为 86%。鱼类鲑与虹鳟为 97%, 鲑与斑马鱼, 斑马鱼与虹鳟均为 70%。但哺乳类人、猴、普通狨、小鼠、大鼠、牛、羊和猪与鸡、珍珠鸡的 RB1 蛋白序列的相似度仅为 69%~75%, 哺乳类与鱼类为 54%~56%, 禽类与鱼类为 55%~58%。

表2 不同动物 RB1 蛋白全长序列多序列比对结果

物种	猴	普通狨	小鼠	大鼠	牛	羊	猪	鸡	珍珠鸡	非洲爪蟾	蛙	斑马鱼	虹鳟	鸭嘴兽
人	99	97	91	90	93	93	93	74	71	60	56	54	55	82
猴		97	91	90	93	93	94	74	71	60	56	54	55	82
普通狨			90	89	92	92	93	73	70	60	56	54	55	81
小鼠				95	90	90	90	72	69	60	55	54	54	80
大鼠					89	89	89	71	69	60	55	54	54	80
牛						97	95	74	71	60	56	54	55	82
羊							94	75	73	60	56	54	55	83
猪								73	71	61	55	54	55	82
鸡									86	63	58	57	57	74
珍珠鸡										61	55	55	55	71
非洲爪蟾											53	55	53	61
蛙												70	97	57
斑马鱼													70	55
虹鳟														57

2. 1. 2 RB1 蛋白分子进化分析

15 种动物的 RB1 蛋白序列的系统进化树通过软件 MEGA4. 1 构建, 如图 1 所示, 总体来看可分为两大组, 一组包括哺乳类组、禽类组和两栖类组, 另一组为鱼类组。哺乳类、禽类和两栖类非洲爪蟾聚在同一组, 这表明三者的亲缘关系比起鱼类更近; 鱼类组中蛙和虹鳟一组, 斑马鱼独自一组。由表 3 可知, 哺乳类人、猴、普通狨、猪、羊、牛、小鼠和大鼠之间的遗传距离在 0. 005~0. 109 之间, 其中人与猴、普通狨为 0. 005~0. 019, 小鼠和大鼠为 0. 051, 牛、羊和猪小于 0. 050, 而人与家畜羊、猪和牛间的遗传距离为 0. 055~0. 062, 人与小鼠、大鼠分别为 0. 081 和 0. 095, 遗传差异较大; 禽类鸡和珍珠鸡的遗传距离为 0. 118; 鱼类斑马鱼、蛙和虹鳟间的遗传距离在 0. 020~0. 187 之间。然而人与禽类间的遗传距离为 0. 267 和 0. 299, 与鱼类间的遗传距离则大于 0. 539, 可见进化关系越远, 遗传距离越大。两栖类非洲爪蟾与哺乳类、禽类动物间的进化距离小于 0. 472, 而与鱼类动物间的遗传距离大于 0. 594, 故未被聚类到鱼类组。

2. 2 RB1 蛋白结构分析

利用蛋白质结构预测工具 SMART 分析 15 种动物全长 RB1 蛋白序列, 发现 RB1 蛋白由低复杂度区域 (Low complexity region)、未知功能结构域 (DUF3452 domain)、A 结构域 (RB_A domain)、CYCLIN 结构域 (CYCLIN domain) 和 C-末端结构域 (Rb_C domain) 组成。绝大多数动物 (人、猴、普通狨、大鼠、牛、猪、鸡及虹鳟) 的 RB1 蛋白都有 1 个 Low complexity region, 但是珍珠鸡有 4 个, 非洲爪蟾有 3 个, 小鼠及斑马鱼有 2 个, 羊、蛙和鸭嘴兽的 RB1 蛋白没有 Low complexity region。另外, 鸡 RB1 蛋白

A 结构域位于氨基酸 363~565, C-末端结构域位于氨基酸 760~920。

2. 3 RB1 Motif 搜索

使用 ExPASy 网站上的 ScanProsite 工具进行鸡 RB1 的 Motif 搜索, 找到 Prosite 位点。其中包括: 8 个 N-豆蔻酰化位点, 位于氨基酸 10~15 (GAarSQ)、21~26 (GGagTA)、22~27 (GAgTAS)、246~251 (GQnrNA)、294~299 (GVvaSN)、425~430 (GQg-cAE)、874~879 (GQdeAD)、912~917 (GNdtSA); 16 个 PKC 磷酸化位点, 位于氨基酸 14~16 (SqR)、53~55 (SvR)、129~131 (StK)、239~241 (StR)、242~244 (TpR)、346~348 (TpR)、383~385 (TdK)、433~435 (SqR)、604~606 (SpK)、630~632 (TqK)、730~732 (TfK)、765~767 (SnR)、787~789 (SpR)、819~821 (TpR)、835~837 (SeK)、899~901 (StR); 15 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点, 位于氨基酸 17~20 (TspE)、32~35 (TrIE)、53~56 (SvrE)、99~102 (TftE)、130~133 (TkvD)、341~344 (SqlE)、381~384 (SatD)、453~456 (SeeE)、493~496 (SqsD)、498~501 (TsaE)、593~596 (TaaD)、618~621 (SnpD)、726~729 (TnqE)、827~830 (SigE)、916~919 (SanE); 2 个 cAMP 和 cGMP 依赖蛋白激酶磷酸化位点, 位于氨基酸 78~81 (KKeT)、607~610 (KKaS); 6 个 N-糖基化位点, 位于氨基酸 237~240 (NGST)、396~399 (NCTV)、462~465 (NFSK)、591~594 (NHTA)、682~685 (NESE)、913~916 (NDTS); 1 个酪氨酸激酶磷酸化位点, 位于氨基酸 309~315 (Kqy. Del. Y); 1 个亮氨酸拉链结构, 位于氨基酸 654~675 (Lhltffr Llsehpd LepIiwTL)。

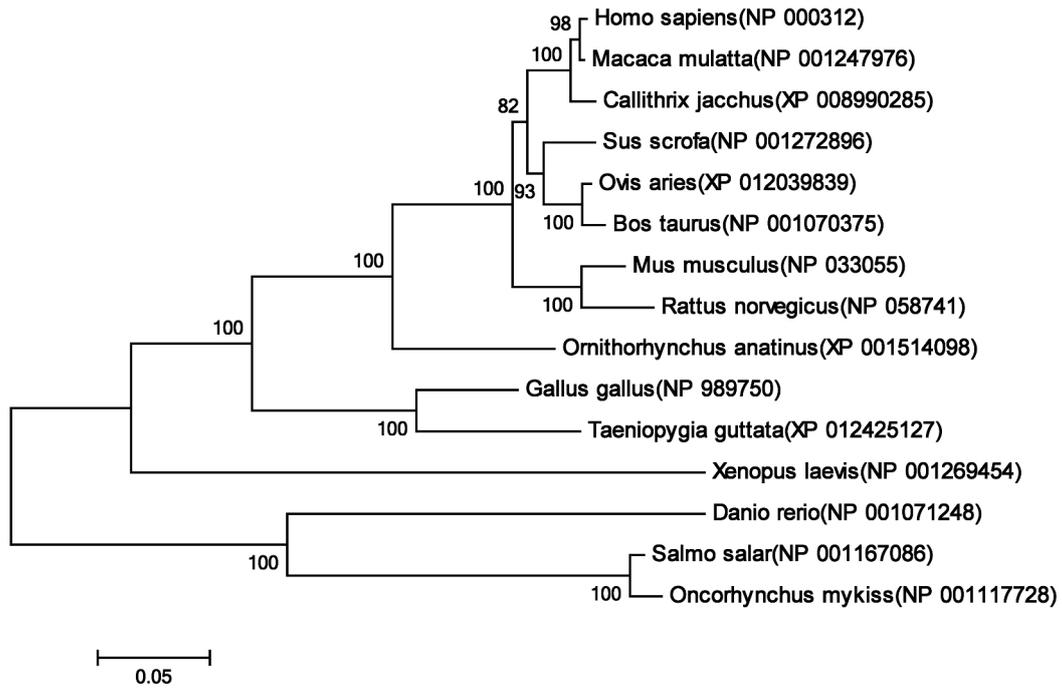


图 1 用邻接法 (NJ) 构建的 15 种动物 RB1 蛋白的系统进化树

表 3 不同动物 RB1 蛋白质分子进化距离矩阵

物种	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
人		0.002	0.005	0.010	0.010	0.008	0.008	0.008	0.019	0.021	0.027	0.028	0.029	0.028	0.014
猴	0.005		0.005	0.010	0.010	0.008	0.008	0.008	0.019	0.021	0.026	0.028	0.029	0.029	0.014
普通狨	0.019	0.016		0.010	0.010	0.009	0.008	0.008	0.019	0.021	0.026	0.028	0.030	0.029	0.014
小鼠	0.081	0.080	0.084		0.008	0.010	0.010	0.011	0.019	0.021	0.027	0.029	0.030	0.029	0.015
大鼠	0.095	0.093	0.097	0.051		0.011	0.011	0.011	0.020	0.022	0.027	0.029	0.029	0.030	0.015
羊	0.055	0.054	0.061	0.088	0.102		0.004	0.007	0.019	0.020	0.026	0.028	0.029	0.028	0.014
牛	0.062	0.061	0.067	0.093	0.109	0.014		0.007	0.019	0.021	0.026	0.028	0.030	0.029	0.014
猪	0.057	0.055	0.058	0.088	0.103	0.044	0.050		0.019	0.021	0.026	0.029	0.030	0.029	0.014
鸡	0.267	0.267	0.271	0.287	0.296	0.259	0.267	0.277		0.013	0.026	0.028	0.028	0.028	0.018
珍珠鸡	0.299	0.299	0.304	0.323	0.333	0.286	0.294	0.297	0.118		0.027	0.029	0.030	0.029	0.020
非洲爪蟾	0.472	0.470	0.470	0.468	0.470	0.464	0.464	0.452	0.433	0.444		0.032	0.030	0.032	0.026
鲑	0.539	0.541	0.543	0.558	0.561	0.535	0.539	0.545	0.518	0.539	0.617		0.021	0.005	0.027
斑马鱼	0.576	0.576	0.581	0.583	0.581	0.572	0.572	0.581	0.539	0.561	0.594	0.348		0.022	0.028
虹鳟	0.545	0.547	0.550	0.567	0.567	0.545	0.550	0.552	0.528	0.550	0.624	0.020	0.351		0.027
鸭嘴兽	0.156	0.157	0.166	0.183	0.187	0.159	0.163	0.162	0.254	0.286	0.450	0.505	0.552	0.511	

注: 左下角数据为两序列间遗传距离 (Pairwise distance calculation), 右上角数据标准差 (Std. Err.), 自展检验, 重复 5 000 次

[1] 人 [2] 猴 [3] 普通狨 [4] 小鼠 [5] 大鼠 [6] 羊 [7] 牛 [8] 猪 [9] 鸡 [10] 珍珠鸡 [11] 非洲爪蟾 [12] 鲑 [13] 斑马鱼 [14] 虹鳟 [15] 鸭嘴兽

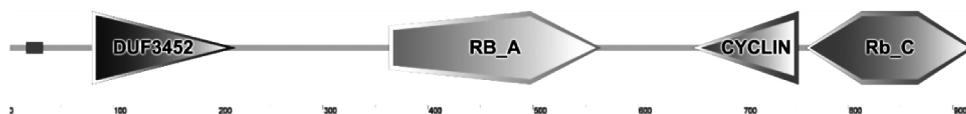


图 2 鸡 RB1 结构域预测

2.4 RB1 基因结构

通过 NCBI 数据库可以得到人、小鼠和鸡的 RB1 mRNA 参考序列 NM_000321、NM_009029、NM_204419 和蛋白质序列 NP_000312、NP_033055、NP_989750。搜索 GenBank 数据库, 结果表明, 人 RB1 基因位于 13 号染色体, 基因全长为 178 144 bp, mRNA 全长为 4 772 bp, 有 27 个外显子和 26 个内含子, 各外显子大小分别为 303、127、116、120、39、68、111、143、78、110、78、88、117、57、32、77、197、119、146、146、105、114、164、31、143、50、1 892 bp。小鼠 RB1 基因位于 14 号染色体, 基因全长为 131 435 bp, mRNA 全长为 4 642 bp, 与人的 RB1 基因结构相同, 同样包括 27 个外显子和 26 个内含子, 各外显子大小分别为 269、127、116、120、39、68、111、143、78、110、78、88、117、57、32、77、197、116、146、146、105、114、164、31、143、50、1 783 bp。鸡 RB1 基因位于 1 号染色体, 基因全长为 83 886 bp, mRNA 全长为 4 464 bp, 同样也包括 27 个外显子和 26 个内含子, 各外显子大

小分别为 147、118、113、135、39、68、111、149、78、110、78、88、117、57、32、77、203、119、146、146、105、114、167、31、143、50、1 726 bp。

2.5 RB1 基因启动子分析

根据 NCBI 数据库中小鼠 (NM_009029)、鸡 (NM_204419) 和人 (NM_000321) 的 mRNA 序列, 利用 UCSC genome browser 在线软件 Genome Browser 预测 CpG 岛, 结果表明, 这三种动物的 RB1 基因转录起始位点附近区域都有一个 CpG 岛, 其中鼠的 CpG 岛最大, 为 1 291 bp, 甲基化区包括第一外显子和部分第一内含子; 鸡的 CpG 岛稍小, 大小为 1 095 bp, 包括第一外显子、第一内含子、第二外显子以及部分第二内含子; 人的 CpG 岛最小, 大小 1 042 bp, 包括第一外显子和部分第一内含子。

利用 UCSC genome browser 在线软件, 分别获取小鼠、鸡以及人的转录起始位点上游 2 kb 的基因组序列, 使用在线软件 BDGP: Neural Network Promoter Prediction 预测核心启动子, 结果如表 4 所示, 其中鸡有 7 个核心启动子区段, 人有 1 个, 鼠有 2 个。

表 4 Neural Network Promoter Prediction 启动子预测结果

物种	起始位置	终止位置	得分	启动子序列
鸡	88	138	0.98	ttccagtattaaaaggggattataaacatgaggggaatcaactttata
鸡	99	149	0.84	aaaaggggattataaacatgaggggaatcaactttataaaaaggtagac
鸡	124	174	0.97	aatcaactttataaaaaggtagacagtgataggacaagggaalgggt
鸡	278	328	0.93	cctggagggtgttaagccagcttggatggggcctgggcaacctgatct
鸡	1 171	1 221	0.96	aagagggccataaaaatgatccaaggatgaaacacctctcctatgagga
鸡	1 292	1 342	0.95	tgaaagggagcaaaaaggggagcagctttagcagggtctgctgtgaca
鸡	1 867	1 917	0.92	tgcgcgcgggtctaaagggcagcgccttggagagggcgtggcgggagcg
人	1 694	1 744	0.86	ttccctatcagaccgggataggatgagggccacagtcacccaccaga
鼠	947	997	0.83	acatcaaggcagaaaataagccagcgttgcacctaccctaagttc
鼠	1 735	1 785	0.82	ctcccagagggcgcggctcctcgcagcggcggccccgcctcggctggc

使用 Promoter Scan 预测转录因子结合位点, 结果表明, 鸡的 1 678-1 928 区段的启动子分值达到了 61.72, 高于阈值 53.0, 预测出 11 种转录因子, 分别为 GCF、AP-2、Sp1、EARLY-SEQ1、JCV-repeated-sequenc、TTR-inverted-repeat、UCE. 2、CP1、myosin-specific、T-Ag 和 E4TF1, 其中的 Sp1、GCF 和 UCE. 2 分别出现了 8、4 和 4 次。人超出阈值 53.0 的区段为 1 410-1 660, 启动子分值为 58.27, 预测出 9 种转录因子, 分别为 JCV-repeated-sequenc、INF. 1、HSV-IE-repeat、UCE. 2、CTF、Sp1、EARLY-SEQ1、T-Ag 和 GCF, 其中 Sp1、JCV-repeated-sequenc 和 GCF 分别出现了 10、2 和 2 次。鼠超出阈值 53.0 的区段为 1 609-1 859, 启动子分值为 56.81, 预测出 15 种转录因子, 分别为 APRT-CHO-US、CAC-BP、AP-2、PuF、JCV-repeated-se-

quenc、PEBP2、Sp1、UCE. 2、E2F、GCF、T-Ag、APRT-mouse-US、EARLY-SEQ1、EGR-1、KROX24, 其中 Sp1、AP-2、GCF、JCV-repeated-sequenc、UCE. 2 和 EARLY-SEQ1 分别出现了 12、6、4、3、3 和 2 次。

2.6 RB1 基因的 3'UTR 区分析

根据 NCBI 数据库中人 (NM_000321)、小鼠 (NM_009029) 和鸡 (NM_204419) 的 mRNA 序列, 分别获得人、鼠和鸡的 RB1 基因的 3'UTR 序列, 其中人的 3'UTR 序列最大, 大小为 1 819 bp, 鼠的次之, 为 1 726 bp, 鸡的最小, 为 1 649 bp。进一步采用 DNAMAN 软件分析 RB1 基因 3'UTR 序列的相似性, 可见鸡与人、鼠的 3'UTR 序列的相似性非常低, 分别为 36.26% 和 37.27%, 而人与鼠的相似性较高, 为 70.18%。

利用 Poly A_SVM 分析人、鼠和鸡的 Poly A 加尾信号 (Poly A-SVM: analysis and prediction of mRNA poly-adenylation sites by Support Vector Machine)。分析结果显示, 人的 3'UTR 序列有三个可能的 Poly A 加尾信号, 分别位于终止密码子下游 113、619 和 1 511 处, 鼠和鸡各有一个 Poly A 加尾信号, 分别位于 1 165 和 1 014 处。

通过 miRBase 数据库 (<http://www.mirbase.org/>) 分析 RB1 基因的 3'UTR 序列的 microRNA 结合位点, 分别分析鸡、人和鼠 RB1 基因的 microRNA 结合位点, 结果表明, 鸡有 12 个 microRNA 结合位点, 人有 29 个 microRNA 结合位点, 鼠有 18 个 microRNA 结合位点, 通过对比发现, 鸡、人和鼠没有共同的 microRNA 结合位点, 但是人和鼠之间具有一个相同的 microRNA 结合位点, 为 gma-miR1514a-3p。

3 讨论

近些年来, 生物信息学得到了广泛的研究, 它不仅仅是处理大量的氨基酸序列、核苷酸序列等生物学数据, 还涉及到了高通量测序、癌症临床测序等方面^[10-11]。本研究通过生物信息学分析表明, 同一种类动物的 RB1 蛋白质序列高度相似, 如哺乳类、禽类和鱼类, 反之, 不同种类动物间蛋白质序列相似度较低, 但是禽类与哺乳类蛋白质序列的相似程度要高于禽类与鱼类以及哺乳类与鱼类, 表明禽类与哺乳类进化关系较近, 这一结果从 RB1 蛋白的系统进化树和分子进化距离亦可看出。通过分析 15 种动物的 RB1 蛋白质结构, 结果表明 RB1 蛋白有三个相同的结构域, 分别为 A 结构域、CYCLIN 结构域和 C-末端结构域, 从而反映了 RB1 蛋白在不同物种上结构上的保守性, 同时说明了功能的重要性。另外, Motif 搜索发现, 鸡 RB1 分子中存在 N-豆蔻酰化、PKC 磷酸化、酪蛋白激酶 II 磷酸化、酪氨酸激酶磷酸化、N-糖基化、cAMP 和 cGMP 依赖蛋白激酶磷酸化等位点, 蛋白质的结构决定其功能, 这也反应了蛋白功能的多样性。

在本研究中, 鸡、人和鼠的 RB1 基因结构分析结果表明, 鸡的 RB1 基因最小, 三者均有一个较大的外显子, 而且鸡的外显子最小。据报道 RB1 基因启动子有着较高的 GC 含量, 从而构成了 CpG 岛^[12]。启动子分析表明, 鸡、人和鼠 RB1 启动子区均存在一个 CpG 岛, 基因的启动子区往往与 CpG 岛有重合。通过 Promoter Scan 预测转录因子结合位点, 一些转录因子集中的区域, 预示着可能为 RB1 基因的核心启动子区域。鸡、人和鼠出现次数较高的转录因子均包括 Sp1 和 GCF, 可见这两种转录因子对于调控 RB1

基因发挥着重要的作用。

3'UTR 功能强大, 能够调控基因表达, 包括 mRNAs 转运出细胞核的调控、亚细胞定位和稳定性^[13]。本研究 3'UTR 区分析表明, 与人和鼠序列的相似性相比, 鸡与人、鼠的 3'UTR 序列的相似性非常低, 而且, 鸡的 microRNA 结合位点最少, 且与人和鼠没有共同的 microRNA 结合位点, 可见鸡 RB1 基因调控功能与人、鼠的不同。

通过对鸡 RB1 基因进行初步的生物信息学分析, 本研究的结果可为鸡 RB1 基因的功能研究提供一定的理论依据, 但是其在鸡脂肪组织中的作用仍需后期实验进一步验证。

参考文献:

- [1] Fiorentino F P, Marchesi I, Giordano A. On the role of retinoblastoma family proteins in the establishment and maintenance of the epigenetic landscape [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228 (2): 276-284.
- [2] Classon M, Kennedy B K, Mulloy R, et al. Opposing roles of pRB and p107 in adipocyte differentiation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97 (20): 10826-10831.
- [3] Weinberg R A. The retinoblastoma gene and gene product [J]. *Cancer Surv*, 1991, 12: 43-57.
- [4] Bookstein R, Shew J Y, Chen P L, et al. Suppression of tumorigenicity of human prostate carcinoma cells by replacing a mutated RB gene [J]. *Science*, 1990, 247 (4943): 712-715.
- [5] Uchida C. The retinoblastoma protein: functions beyond the G1-S regulator [J]. *Curr Drug Targets*, 2012, 13 (13): 1622-1632.
- [6] Bernards R, Schackelford G M, Gerber M R, et al. Structure and expression of the murine retinoblastoma gene and characterization of its encoded protein [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86 (17): 6474-6478.
- [7] Pickard A, Cichon A C, Menges C, et al. Regulation of epithelial differentiation and proliferation by the stroma: a role for the retinoblastoma protein [J]. *J Invest Dermatol*, 2012, 132 (12): 2691-2699.
- [8] Clarke A R, Maandag E R, van Roon M, et al. Requirement for a functional Rb-1 gene in murine development [J]. *Nature*, 1992, 359 (6393): 328-330.
- [9] Hu X, Luo P, Peng X, et al. Molecular cloning, expression pattern analysis of porcine Rb1 gene and its regulatory roles during primary dedifferentiated fat cells adipogenic differentiation [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2015, 214: 77-86.
- [10] Orton R J, Gu Q, Hughes J, et al. Bioinformatics tools for analysing viral genomic data [J]. *Rev Sci Tech*, 2016, 35 (1): 271-285.
- [11] Kato M. [Bioinformatics in Cancer Clinical Sequencing - An Emerging Field of Cancer Personalized Medicine] [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2016, 43 (4): 391-397.
- [12] Zacksenhaus E, Gill R M, Phillips R A, et al. Molecular cloning and characterization of the mouse RB1 promoter [J]. *Oncogene*, 1993, 8 (9): 2343-2351.
- [13] Mignone F, Gissi C, Liuni S, et al. Untranslated regions of mRNAs [J]. *Genome Biol*, 2002, 3 (3): reviews0004. 1.