

绵羊ADRA1B基因生物信息学分析

李娜¹, 王维民^{1,2}, 张德印¹, 张小雪¹

(1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省肉羊繁育生物技术工程实验室, 甘肃 民勤 733300)

摘要: 利用生物信息学数据库及软件, 对绵羊 *ADRA1B* 基因进行生物信息学分析, 初步了解其结构并进行预测。结果表明, 绵羊 *ADRA1B* 基因含有 1 个 1548 bp 的开放阅读框, 编码 515 个氨基酸残基。*ADRA1B* 蛋白分子质量为 56 385.55 KDa, 理论等电点 PI 为 9.53。亚细胞主要定位于质膜, 不属于分泌蛋白。不存在信号肽序列。存在七段跨膜结构且有 2 段低复杂性区域, 二级结构以无规卷曲为主, 三级结构主要由无规卷曲缠绕折叠形成。参与心肌、血管、肌肉的收缩调节。

关键词: 绵羊; *ADRA1B* 基因; 生物信息学分析

中图分类号: S826 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)09-0042-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.09.011

Bioinformatics Analysis of Sheep *ADRA1B* Gene

LI Na¹, WANG Weimin^{1,2}, ZHANG Deyin¹, ZHANG Xiaoxue¹

(1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Engineering Laboratory of Mutton Sheep Breeding and Reproduction Biotechnology in Gansu Province, Minqin Gansu 733300, China)

Abstract: The bioinformatics analysis of sheep *ADRA1B* gene was carried out by using bioinformatics database and software, and its structure was preliminarily understood and predicted. The results showed that sheep *ADRA1B* gene contained an open reading frame of 1 548 bp, encoding 515 amino acid residues. The molecular mass of *ADRA1B* protein was 56 385.55 KDa, and the theoretical isoelectric point PI was 9.53. The subcells were mainly located in plasma membrane and did not belong to secretory protein. There are no signal peptide sequences; There are seven segments of transmembrane structure and two segments of low complexity regions. The secondary structure is mainly random crimp, and the tertiary structure is mainly formed by random crimp, winding and folding. Involved in the regulation of contraction of myocardium, blood vessels and muscles.

Key words: Sheep; *ADRA1B* gene; Bioinformatics analysis

α -1 肾上腺素能受体(alpha-1 B adrenergic receptor, ADRA1B)是 G 蛋白偶联受体家

收稿日期: 2019-07-10

基金项目: 甘肃农业大学学生科研训练计划项目(201904030); 甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金(GSAU-ST-1618); 甘肃省农业生物技术专项(GNSW-2016-10)。

作者简介: 李娜(1998—), 女, 甘肃民勤人, 本科在读, 研究方向为动物科学。联系电话: (0)18219912367。Email: 1626548660@qq.com。

通信作者: 张小雪(1984—), 女, 湖北武汉人, 助教, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作。联系电话: (0931)7631225。Email: zhangxx@gsau.edu.cn。

[5] 张金艳, 赵红艳, 郝苏玉, 等. 铁皮石斛的阶段式培养和栽培模式研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(7): 1599-1601.

[6] 雷颖, 吴利红, 任俞新. 丽格海棠叶片优

化培养高效再生体系的研究[J]. 农业科学研究, 2015, 36(2): 91-93.

(本文责编: 陈伟)

族成员之一,在激活有丝分裂和调节部分细胞的生长和增殖上有重要作用^[1]。受体有主要调节细胞的生长和增殖,刺激活化线粒体的作用^[2-4]。其次还可以激活其他信号转导途径,如花生四烯酸释放等^[3]。*ADRA1B* 基因首次克隆的实现是在仓鼠的平滑肌细胞上^[5]。研究发现,仓鼠 *ADRA1B* 基因由 2 个外显子和 1 个内含子组成,该内含子在鼠体内片段长度至少为 16 kb,人体内为 20 kb,在第六个跨膜结构域中断了编码区^[5-7]。*ADRA1B* 基因除了激活线粒体调节细胞生长增殖外,还可以调节蛋鸡卵巢内卵泡的生长和发育,选择以及成熟^[2-4]。*ADRA1B* 基因位于鸡的 13 号染色体上,广泛分布于机体的各种器官、组织和细胞中,通过 Western 方法发现 *ADRA1B* 蛋白质在脑、心脏分布较高^[8-9]。RNAi 及 Northern 等^[10] 研究表明,人和大鼠的不同组织中其 mRNA 的表达量水平差异显著,其中在人的脾脏与肾脏中表达量最高,而在大鼠中却是在心脏和肝脏中的组织表达量水平较高。在鸡体内的分布和哺乳动物相似,广泛分布在脑和脑外的组织,尤其是肾脏和肝脏^[11]。目前,人、家鼠、牛、狗、猪、绵羊、鸡兔子等动物的 *ADRA1B* 基因序列均已公布,但其结构和功能的研究还有待进一步深入。我们以生物基因组数据库调取的绵羊 *ADRA1B* 的序列为基础,利用生物信息学方法对不同物种 *ADRA1B* 基因系统发育和绵羊 *ADRA1B* 基因 CDS 区序列蛋白质的理化性质、二级结构及多参数预测、蛋白质跨膜结构、信号

肽预测、亚细胞定位和三级结构等进行了分析,以期为深入研究 *ADRA1B* 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 (XM_015096166.2)、牛 (NM_001191139.1)、人 (NM_000679.4)、家鼠 (NM_001284380.1)、猪 (XM_021076921.1)、狗 (NM_001197035.2)、兔子 (NM_001082062.1) 和鸡 (XM_414483.5) 等 8 个物种的 mRNA 序列(括号内为 GenBank 登录号)。

1.2 方法

绵羊 *ADRA1B* 基因开放阅读框 (Open reading frame, ORF) 采用 NCBI 的 ORF Finder 程序分析,参照 Kozak 法则。*ADRA1B* 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^[12]。蛋白潜在信号肽剪切位点预测采用 Signalp3.0 软件。跨膜螺旋区域的预测采用 TMHMM 程序。蛋白保守结构域分析采用 Smart 软件。采用 ProtScale 进行蛋白亲疏水性分析。二级结构采用 Jpred 分析预测。采用 Swiss-model 软件分析蛋白三级结构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 *ADRA1B* 基因开放阅读框分析

通过图 1 开放阅读框分析结果看出,绵羊 *ADRA1B* 基因序列中有 1 条长 1 548 bp

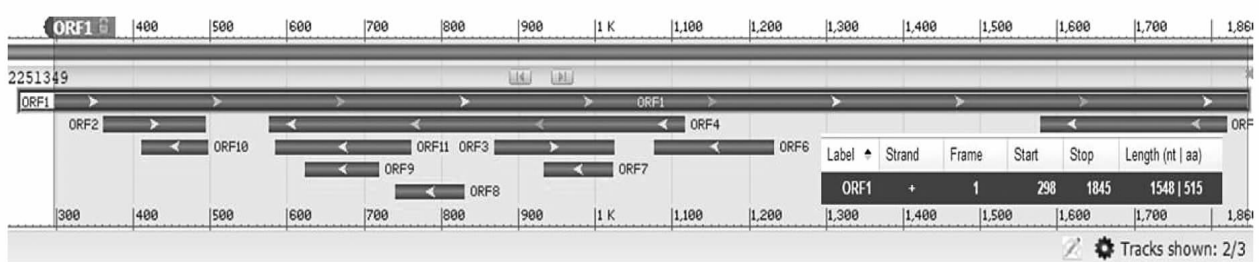


图 1 绵羊 *ADRA1B* 基因序列的 ORF 分析

的 ORF, 起始密码子位于 298 bp 处, 终止密码子位于 1 845 bp 处, 推测编码 515 个氨基酸残基。

2.2 绵羊 *ADRA1B* 编码产物的理化性质分析

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^[13]。对绵羊 *ADRA1B* 基因编码产物理化性质的分析结果表明, 绵羊的 *ADRA1B* 基因编码 515 个氨基酸残基, 其分子式为 $C_{2554}H_{4024}N_{696}O_{702}S_{21}$, 分子质量为 56 385.55 KDa, 理论等电点 PI 为 9.53。其氨基酸组成如图 2 所示, 其中含量最多的氨基酸是 Leu (亮氨酸), 所占比例为 12%; 含量最少的氨基酸是 Met (蛋氨酸), 所占比例 1.2%。负电荷残基总数 (Asp+Glu) 为 37, 正电荷残基总数 (Arg+Lys) 为 59。基因编码产物半衰期和不稳定指数分别为 30 h 和 51.70, 不稳定指数为 $51.70 > 40.00$, 由此可确定该基因编码产物属于不稳定蛋白。

2.3 绵羊 *ADRA1B* 蛋白亚细胞定位

绵羊 *ADRA1B* 基因对蛋白亚细胞的定位结果见表 1。可以看出, 绵羊 *ADRA1B* 蛋白的亚细胞分布于质膜的可能性为 56.5%, 分布于囊泡分泌系统、内质网的可能性为 13.0%, 分布于细胞核的可能性为 8.7%, 分

布于高尔基体、线粒体的可能性为 4.3%。由此推断, 绵羊 *ADRA1B* 基因主要在质膜中发挥生物学作用, 其次在囊泡分泌系统、内质网中发挥作用。

表 1 *ADRA1B* 编码产物的亚细胞定位预测结果

亚细胞定位	概率 /%
质膜	56.5
囊泡分泌系统	13.0
内质网	13.0
细胞核	8.7
高尔基体	4.3
线粒体	4.3

2.4 绵羊 *ADRA1B* 编码产物的同源性比对及系统发育分析

DNAMAN 对 *ADRA1B* 蛋白的多序列比对结果发现, 该基因在多个物种中都有表达, 且绵羊、鸡、家鼠、牛、人、猪、狗的同源性较高, 表明 *ADRA1B* 基因在物种间的表达是相对比较保守的 (图 3)。图 4 所示的系统发育结果表明, 绵羊、鸡、家鼠、牛、人、猪、狗在系统发育树中的距离很近, 由此推测这几个物种的亲缘关系很近。

2.5 绵羊 *ADRA1B* 蛋白潜在信号肽剪切位点预测

信号肽序列是存在于分泌蛋白基因编码序列中、在起始密码子之后的 1 段富含疏水

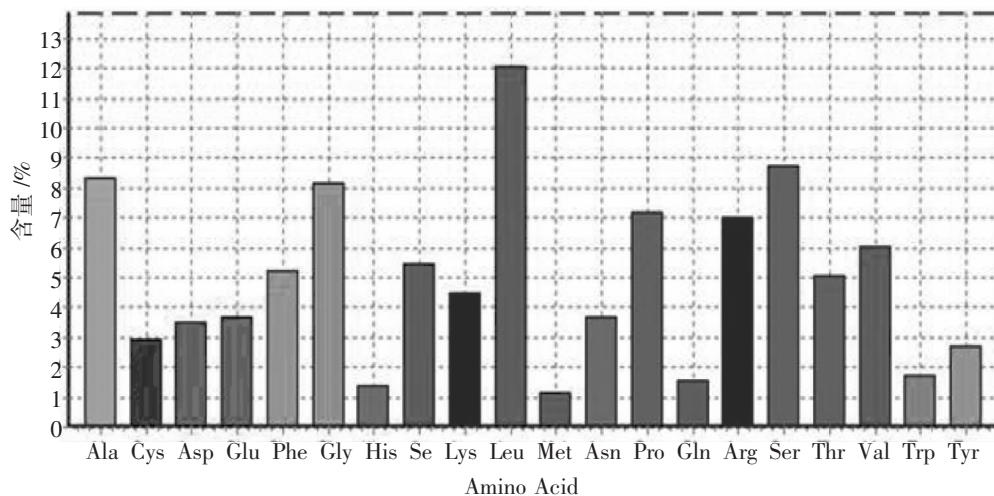


图 2 绵羊 *ADRA1B* 基因编码蛋白的氨基酸组成

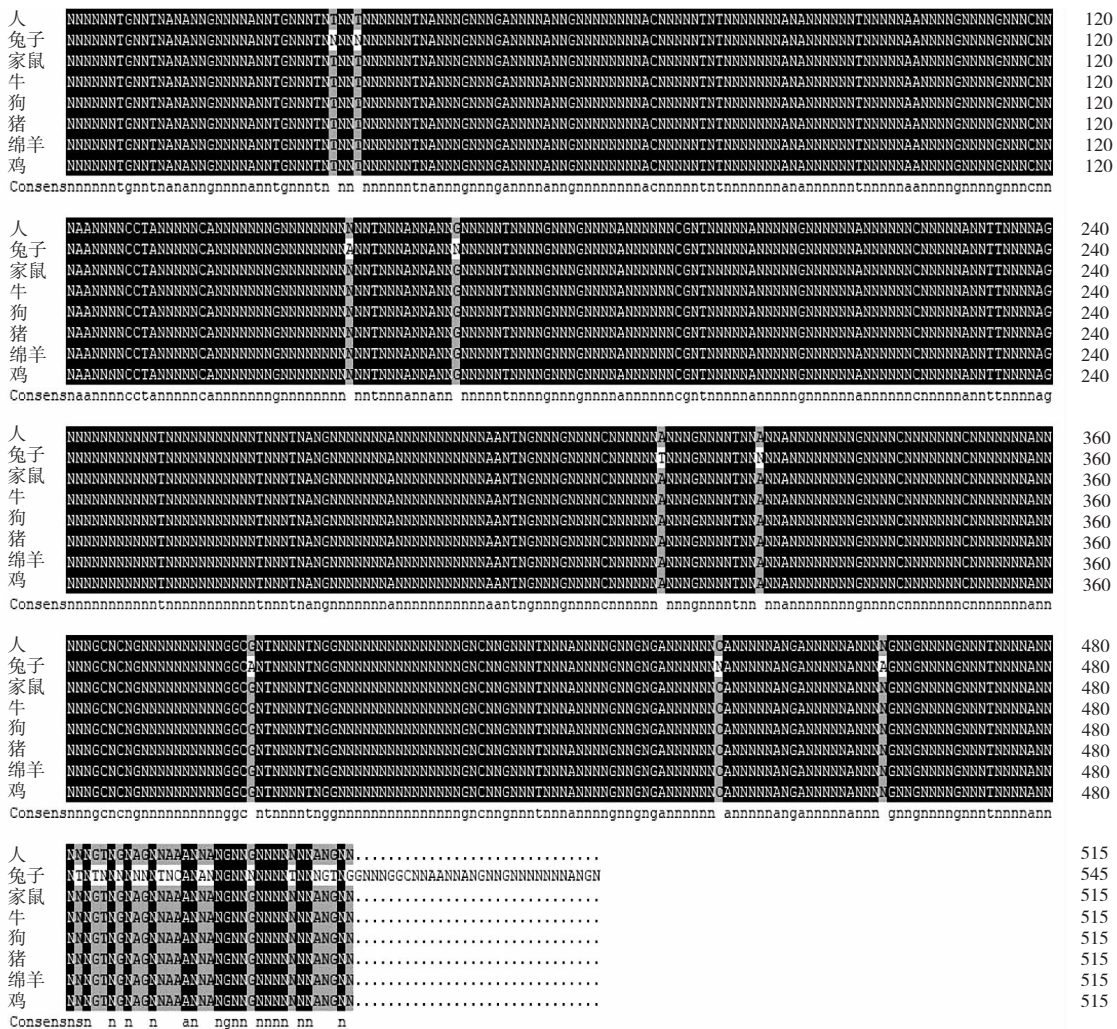


图3 8个物种的ADRA1B基因编码产物序列的同源性分析

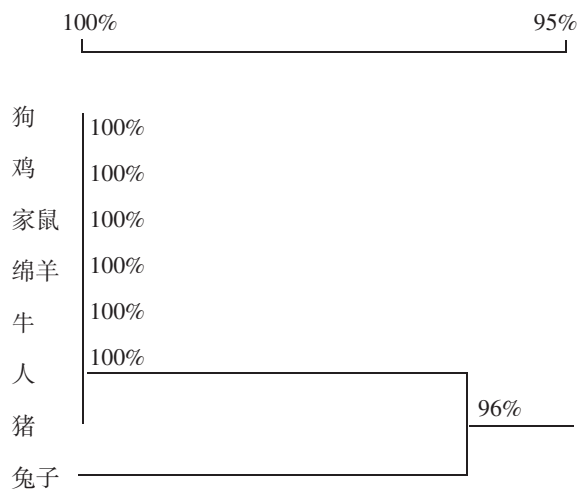


图4 8个物种的ADRA1B基因编码产物序列的系统发育树(8个物种包括人、家鼠、牛、狗、猪、绵羊、鸡、兔子)

氨基酸多肽的序列。通过检测绵羊ADRA1B蛋白潜在信号肽的存在情况可以得知该基因编码的产物是否是分泌蛋白和跨膜蛋白以及跨膜蛋白的基本信息。从图5可以看出,绵羊ADRA1B基因编码产物的C值、Y值和S值分别为0.058、0.074和0.718。因此推断ADRA1B基因的编码产物不存在信号肽,是非分泌性蛋白但发现跨膜区,该蛋白是跨膜蛋白。

2.6 绵羊ADRA1B蛋白跨膜螺旋结构预测

用TMPRED和TMHMM 2.0软件分析的结果显示,该基因编码的蛋白有7段跨膜结构(图6),其中0~47、105~118、185~203、318~331位氨基酸在细胞膜外,其余氨基

酸在细胞质内。

2.7 绵羊 ADRA1B 蛋白保守结构域分析

由 Smart 软件分析得出, 绵羊 *ADRA1B*

第 56 ~ 363 位氨基酸残基存在跨膜区, 第 403 ~ 415 位和第 455 ~ 470 位氨基酸残基均为低复杂性区域(图 7、表 2)。

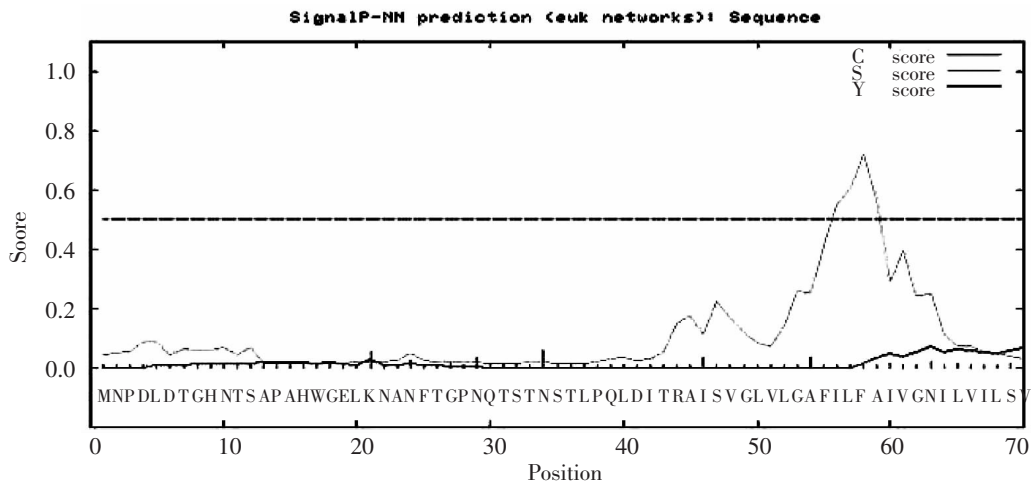


图 5 绵羊 *ADRA1B* 基因蛋白潜在信号肽剪切位点分析结果

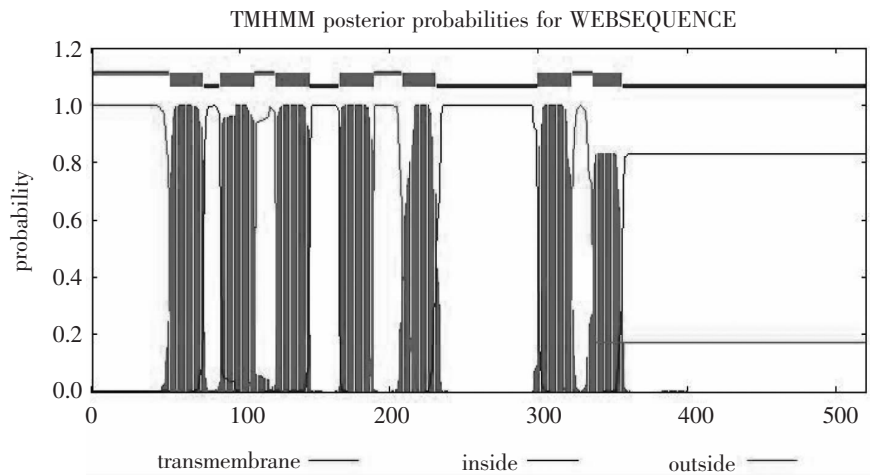


图 6 绵羊 *ADRA1B* 基因蛋白跨膜螺旋结构分析结果

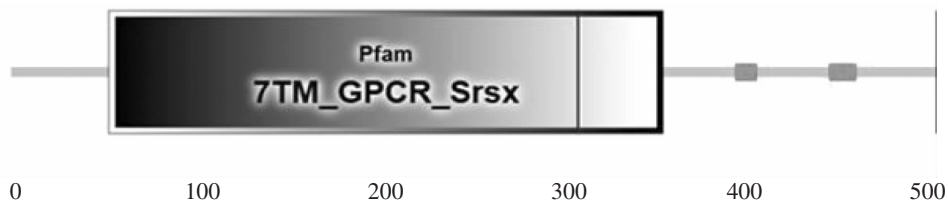


图 7 绵羊 *ADRA1B* 蛋白保守结构域

表 2 绵羊 *ADRA1B* 蛋白保守结构域分析数据

名称	起始位点	终止位点	E值
7TM_GPCR_Srsx	56	363	2.2e-17(HMMER3)
Low complexity region	403	415	N / A
Low complexity region	455	470	N / A

3 小结与讨论

绵羊 *ADRA1B* 基因的 ORF 长度为 1 548 bp, 编码 515 个氨基酸残基; 亮氨酸所占比例最多, 为 12%, 分子质量为 56 385.55 KDa, 理论等电点 PI 为 9.53。ADRA1B 编码的产物为不稳定性蛋白。ADRA1B 蛋白的亚细胞定位在质膜的可能性最大, 为 56.5%。*ADRA1B* 在多种物种中氨基酸序列完全相同, 绵羊、鸡、家鼠、牛、人、猪、狗在系统发育树中距离最近。*ADRA1B* 基因的编码产物中不存在信号肽, 为非分泌性蛋白但发现了跨膜区, 故该蛋白是跨膜蛋白。该基因编码的蛋白有 7 段跨膜结构。ADRA1B 编码的蛋白为疏水蛋白, 富含疏水氨基酸, 多肽序列的长度为 70。绵羊 *ADRA1B* 基因编码产物的二级结构主要以无规则卷曲为主, 三级结构主要由无规卷曲折叠缠绕形成。

参考文献:

- [1] 牟 芳. 鸡 *ADRA1B* 和 *PPARGC1B* 基因在卵泡中的时空表达及其新 SNPs 对产蛋性状的遗传效应[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016, 2-11.
- [2] WALDROP, B. A. D. MASTALERZ, M. T. PIASCIK, et al. Alpha (1B) - and alpha (1D) -Adrenergic receptors exhibit different requirements for agonist and mitogen-activated protein kinase activation to regulate growth responses in rat 1 fibroblasts[J]. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2002, 300: 83-90.
- [3] BALBOA M A, INSEL P A. Stimulation of phospholipase D via alpha-adrenergic receptors in madin-darby canine kidney cells is independently of PKC-alpha and epsilon activation[J]. Mol Pharmacol, 1998, 53: 221-7.
- [4] KODAMA D, A TOGARI. Noradrenaline stimulates cell proliferation by suppressing potassium channels via G (i/o) -protein-coupled a (1B)-adrenoceptors in human osteoblasts[J]. Br. J. Pharmacol, 2013, 168: 1230-1239.
- [5] RAMARAO, C S, J M DENKER, D M PEREZ, et al. Genomic organization and expression of the human alpha 1B-adrenergic receptor [J]. J. Biol. Chem, 1992, 267: 21936-21945.
- [6] GAO B, G KUNOS. Isolation and characterization of the gene encoding the rat alpha 1B adrenergic receptor [J]. Gene, 1993, 131: 243-237.
- [7] PEARSON G, ROBINSON F, BEERS GIBSON T, et al. Mitogen activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions [J]. Endocr Rev, 2001, 22: 153-83.
- [8] 吴 虹, 孙银香. a1-肾上腺素受体亚型的分布及特点[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27 (12): 1728-1731.
- [9] 何星颖. a1-肾上腺素受体的研究进展[J]. 医学分子生物学杂志, 2004, 1(5): 313-315.
- [10] PRICE T, LEFKOWITZ R J, CARON M G, et al. Localization of mRNA for three distinct alpha 1-adrenergic receptor subtypes in human tissues: implication for human adrenergic physiology[J]. Mol Pharmacol, 1994, 45(2): 171-175.
- [11] ANA ALONSO - LLAMAZARES, JESU'S LOPEZ ALONSO, MANUEL DEL BARRIO, et al. Cloning of chicken and mouse alpha adrenergic receptor [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1396: 263-266.
- [12] 张小雪, 李发弟, 王维民. 绵羊 *ANXA10* 基因生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技, 2016(6): 1-4.
- [13] 张小雪, 李发弟, 王维民. 绵羊 *STMN2* 基因生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技, 2016 (7): 58-61.

(本文责编: 陈 伟)