

绵羊 *KCNH1* 基因的生物信息学分析

张小雪, 赵利明, 刘佳, 杨晓斌, 李冲

(甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以绵羊钾电压门控通道 H 亚家族成员 1 (potassium voltage-gated channel subfamily H member 1, *KCNH1*) 基因为研究对象, 利用生物信息学数据库及其相关软件, 对其进行生物信息学分析, 以初步了解其结构和生物学功能。结果表明, 绵羊 *KCNH1* 基因所含最大长度序列为 2 961 bp, 且编码 986 个氨基酸残基。*KCNH1* 基因编码的蛋白质分子式为 $C_{4972}H_{7816}N_{1342}O_{1447}S_{40}$, 其蛋白分子质量为 110 827.28 kDa, 理论等电点 (pI) 为 7.52。亚细胞定位结果表明其编码产物主要可能定位于质膜 (43.5%), 其次为内质网 (34.8%), 属于非分泌蛋白。*KCNH1* 蛋白质中不存在信号肽序列, 但存在 5 段跨膜结构区域, 该蛋白的二级结构以 α 螺旋为主, 三级结构主要由 α 螺旋盘曲缠绕的方式形成。

关键词: 绵羊; *KCNH1* 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(2022)03-0039-07

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2022.03.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2022.03.009)

Bioinformatics Analysis of Sheep *KCNH1* Gene

ZHANG Xiaoxue, ZHAO Liming, LIU Jia, YANG Xiaobin, LI Chong

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

Abstract: In this study, the potassium voltage-gated channel subfamily H member 1 (*KCNH1*) gene of sheep was taken as the research object, and bioinformatics analysis was conducted using bioinformatics software to analyze sheep *KCNH1* gene for understand its structure and predict its function. The results suggested that the maximum length sequence of sheep *KCNH1* gene was 2 961 bp and encoded 986 amino acid residues. The molecular formula of the protein encoded by *KCNH1* gene was $C_{4972}H_{7816}N_{1342}O_{1447}S_{40}$, the molecular weight of the protein was 110 827.28 kDa, and the theoretical isoelectric point (pI) was 7.52. The results of subcellular localization showed that the coding products were mainly located in the plasma membrane (43.5%), followed by the endoplasmic reticulum (34.8%), which were non-secreted proteins. There is no signal peptide sequence in *KCNH1* protein, but there are five transmembrane structure regions. The secondary structure of *KCNH1* protein is dominated by α -helix, and the tertiary structure is mainly formed by the winding of α -helix.

Key words: Sheep; *KCNH1* gene; Bioinformatics analysis

电压门控钾通道 (Kv10.1 钾通道), 又称为 ether-a-go-go 相关基因 1, 由 *KCNH1* (钾电压门控通道), H 亚家族成员 1 编码^[1], 其主要分布于中枢神经系统和癌细胞中。*KCNH1* 通道包含 1 个 N 端 PAS 结构域、1 个 c 端环核苷酸结合同源结构域 (cNBHD), 以及钙调素的 N 端和 c 端结合位点^[2], 且 *KCNH1* 通道受到包括活性氧在内的多种内源信号的调节^[3]。目前有关于 *KCNH1* 基因的研究多见于人类, 如基因 *KCNH1* 突变与综合征性神经发育障碍相关, 且支持 S4 结构域的功能重要性^[1]; *KCNH1* 突变导致 ZLS (指一种发育障碍, 其特征是

面部畸形, 且伴有牙龈增大、智力残疾、指甲和终末趾骨发育不全或发育不全以及多毛症)^[4]; H 亚家族 (eagrelated), 成员 1 (*KCNH1*) 钾通道是潜在的肿瘤标志物和癌症治疗靶点, 被雌激素和人类乳头状瘤病毒 (HPV) 致癌基因上调^[5]; 人类冠状动脉扩张被认为与钾电压门控通道亚家族成员 1 *KCNH1* (编码醚 a-go-go, EAG1 或 Kv10.1 蛋白) 的基因变异有关^[6]; 发育性和癫痫性脑病合并智力残疾 (DEE) 和遗传性广泛性癫痫 (GGE) 都存在着新的 *KCNH1* 突变^[7]; *KCNH1* 通道对肿瘤发展和治疗有重大意义^[8]等, 而有关绵羊 *KCNH1* 基因的结

收稿日期: 2022-02-18

基金项目: 国家畜禽良种联合攻关计划项目 (19210365); 甘肃农业大学伏羲青年英才培养计划项目 (Gaufx-03Y11)。

作者简介: 张小雪 (1984—), 女, 湖北武汉人, 副教授, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究及教学工作。联系电话: (0931)7631225。Email: zhangxx@gsau.edu.cn。

通信作者: 李冲 (1986—), 男, 甘肃崇信人, 副教授, 博士, 主要从事动物营养与饲料科学研究及教学工作。联系电话: (0931)7631225。Email: lichong@gsau.edu.cn。

构和功能研究较少，其生物学作用尚不清楚。

我们基于绵羊生物基因组数据库检索到的 *KCNH1* 基因序列，利用生物信息学方法，对绵羊 *KCNH1* 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了预测和分析，以期为进一步探索 *KCNH1* 基因及其编码蛋白基本结构和生物学功能提供线索。

1 材料与方法

1.1 序列来源

研究所用 10 个物种（绵羊、狗、水牛、鹿、猫、羊驼、兔、灰鼠、猪、人）的 mRNA 序列均来自于 NCBI 网站的 GenBank 数据库。其物种名称及 GenBank 登录号见表 1。

表 1 10 个物种 *KCNH1* 基因的 GenBank 登录号

动物名称	GenBank 登录号
绵羊	XM_004013916.4
狗	XM_038670912.1
水牛	XM_006069663.2
鹿	XM_006988145.2
猫	XM_023248008.1
羊驼	XM_031690001.1
兔	XM_002717533.3
灰鼠	XM_005404511.1
猪	XM_021063876.1
人	XM_017001246.1

1.2 方法

KCNH1 基因的开放阅读框（Open reading frame, ORF）利用 ORF Finder 程序分析，采用 Bioedit 及 ExPASy 分析软件预测其基因编码产物的理化性质。亚细胞定位利用 PSORT II 预测^[9]。采用 Signalp 3.0 软件预测蛋白潜在信号肽剪切位点。

跨膜螺旋区域及蛋白保守结构域分析采用 TMHMM 程序和 Smart 软件完成。蛋白亲疏水性及其二级结构利用 Prot Scale 和 Jpred 分析预测。蛋白三级结构多序列比对及同源性分析利用 Swiss-model 和 DNAMAN 软件分析^[10-12]。

2 结果与分析

2.1 绵羊 *KCNH1* 基因开放阅读框分析

由 NCBI 的开放阅读框查找器程序分析(图1)可知，绵羊 *KCNH1* 基因序列的 ORF 序列长度为 2961 bp，起始密码子为 ATG，共编码 986 个氨基酸。

2.2 绵羊 *KCNH1* 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、等电点 (pI)、半衰期、不稳定系数和总平均亲水性等^[13]。通过 Bioedit 及 ExPASy 软件分析可知，绵羊的 *KCNH1* 基因共编码 986 个氨基酸，分子式为 $C_{4972}H_{7816}N_{1342}O_{1447}S_{40}$ ，分子质量为 110 827.28 KDa，理论等电点 pI 为 7.52。氨基酸组成如图 2 所示，其中 Leu（亮氨酸）含量最多，所占比例为 9.1%；Trp（色氨酸）含量最少，所占比例 1.5%。负电荷残基总数 (Asp+Glu) 为 117，正电荷残基总数 (Arg+Lys) 为 118。基因编码产物半衰期为 30 h，不稳定指数为 45.07，确定绵羊 *KCNH1* 基因编码产物属于不稳定蛋白。

2.3 绵羊 *KCNH1* 编码产物的同源性比对及系统发育分析

采用 DNAMAN 对绵羊、狗、水牛、鹿、猫、羊驼、兔、灰鼠、猪和人的 *KCNH1* 蛋白的多序列比对(图3)表明，*KCNH1* 基因在这 10 个物种中都

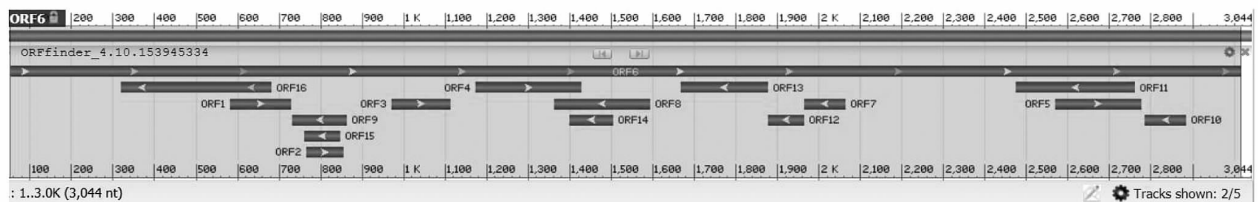


图 1 绵羊 *KCNH1* 基因序列的 ORF 分析

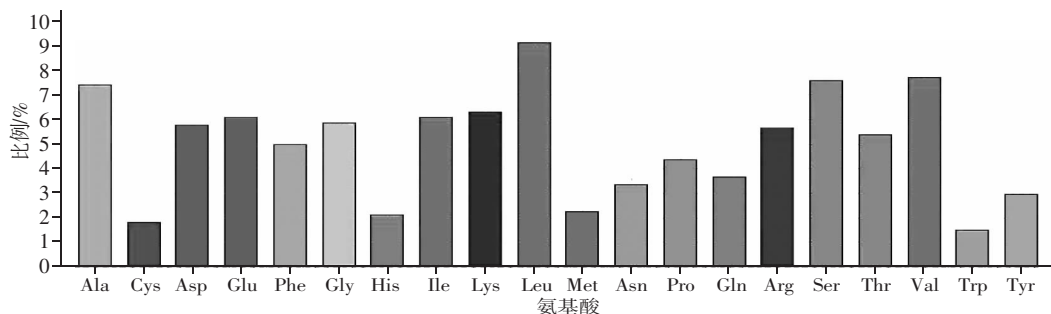


图 2 绵羊 *KCNH1* 基因编码的蛋白氨基酸组成

有表达，且绵羊与水牛的 *KCNH1* 氨基酸序列同源性较为相似，说明它们在进化过程亲缘关系较近。从 *KCNH1* 基因编码产物序列的同源树得出，在分析中选取的 10 个物种中，绵羊和水牛的同源性最高，可达 99%(图4)。

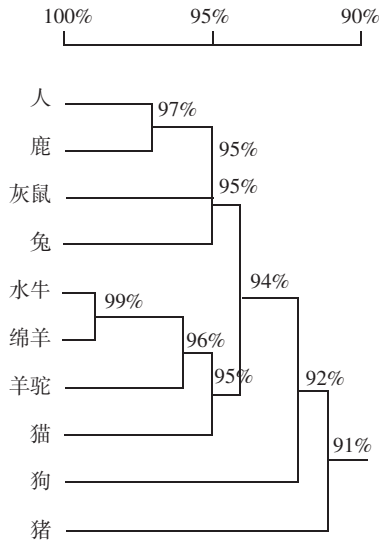


图4 10个物种 *KCNH1* 基因编码产物序列的同源树

2.4 绵羊 *KCNH1* 蛋白亚细胞定位

利用 PSORT II 软件对绵羊 *KCNH1* 基因编码蛋白进行亚细胞定位的结果 (表2)表明，绵羊 *KCNH1* 蛋白有 43.5%的可能分布于质膜，有 34.8%的可能分布于内质网，有 13.0%的可能分布于线粒体，有 4.3%的可能分布于囊泡分泌系统，且有 4.3%的可能分布于细胞核。由此预测，绵羊 *KCNH1* 基因最有可能定位于质膜中发挥生物学作用，其次在内质网中发挥生物学作用。

表2 绵羊 *KCNH1* 编码产物的亚细胞定位预测结果

亚细胞定位	概率 /%
质膜	43.5
内质网	34.8
线粒体	13.0
囊泡分泌系统	4.3
细胞核	4.3

2.5 绵羊 *KCNH1* 蛋白潜在信号肽剪切位点预测

信号肽序列是指存在于分泌蛋白基因编码序列中、在起始密码子之后的一段富含疏水氨基酸多肽，能够指导蛋白质定位的序列。通过检测绵羊 *KCNH1* 蛋白潜在信号肽的存在情况可知该基因

编的产物是否是分泌蛋白和跨膜蛋白的基本信息。用 Signalp 3.0 软件分析得出，绵羊 *KCNH1* 基因的编码产物最大 C 值为 0.088，位于第 46 个氨基酸位点上；最大 Y 值为 0.056，位于第 19 个氨基酸位点上；最大 S 值为 0.422，位于第 1 个氨基酸位点上(图5)。用 PSORT II 软件分析得到，绵羊 *KCNH1* 蛋白是跨膜蛋白，不存在信号肽(图6)。

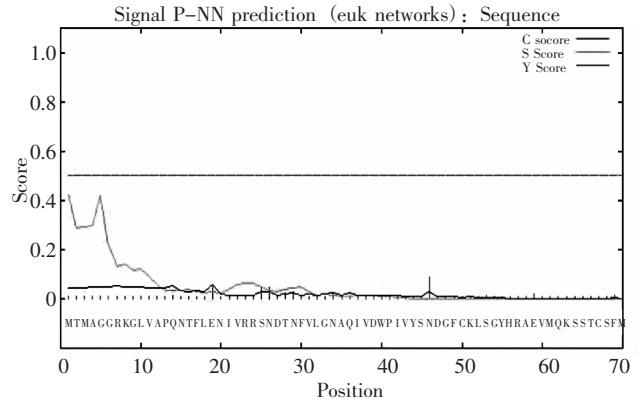


图5 绵羊 *KCNH1* 基因蛋白潜在信号肽剪切位点分析结果

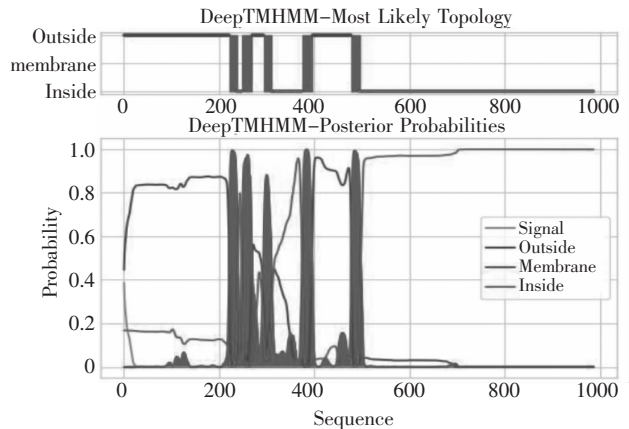


图6 绵羊 *KCNH1* 基因编码蛋白跨膜区结构预测

2.6 绵羊 *KCNH1* 蛋白跨膜螺旋结构预测

从 TMHMM 软件分析的结果(图 7、图8)可知，*KCNH1* 基因编码的蛋白质不存在信号肽，该蛋白是跨膜蛋白，蛋白链的 N 端位于膜内，C 端位于膜外。共有 5 段跨膜区域，分别是 216 ~ 235、251 ~ 269、293 ~ 308、345 ~ 372 和 449 ~ 468。

2.7 绵羊 *KCNH1* 蛋白保守结构域分析

通过 Smart 软件分析(表 3)可知，绵羊 *KCNH1* 有 8 段保守结构域，分别是 PAS(16 ~ 92)、PAC(94 ~ 136)、Pfam: lon_trans (217 ~ 483)、Pfam: lon_trans2 (397 ~ 477)、cNMP (554 ~ 672)、low com-

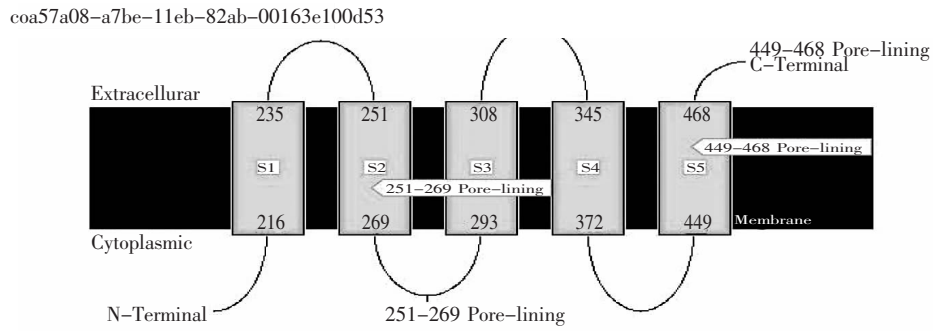


图7 绵羊 KCNHI 基因蛋白跨膜螺旋结构分析结果

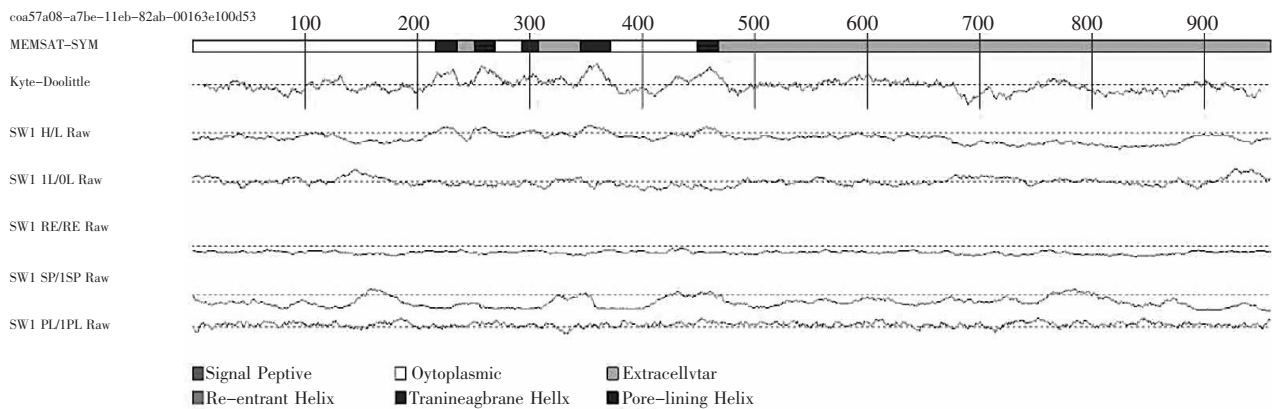


图8 绵羊 KCNHI 基因的 MEMSAT-SVM 关系

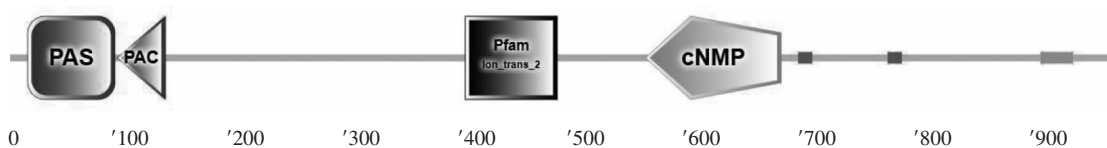


图9 绵羊 KCNHI 蛋白保守结构域

表3 绵羊 KCNHI 蛋白保守结构域分析数据

名称	起始位点	终止位点	E值
PAS	16	92	2.49
PAC	94	136	3.67e-9
Pfam:lon_trans	217	483	7.8e-38
Pfam:lon_trans2	397	477	1.3e-13
cNMP	554	672	2.2e-21
low complexity	687	699	N/A
low complexity	765	777	N/A
coiled coil	898	926	N/A

plexity (687 ~ 699)、low complexity (765 ~ 777)和 coiled coil (898 ~ 926)(图9)。

2.8 绵羊 KCNHI 蛋白亲疏水性分析

采用 Prot Scale 软件分析绵羊 KCNHI 蛋白亲疏水性可知, 该基因编码蛋白疏水性最大疏水值为 3.722, 位于第 382 位氨基酸位点上; 最小疏水值为 -3.278, 位于第 719 位氨基酸位点上。由此确认该基因编码的蛋白属于疏水蛋白(图10)。

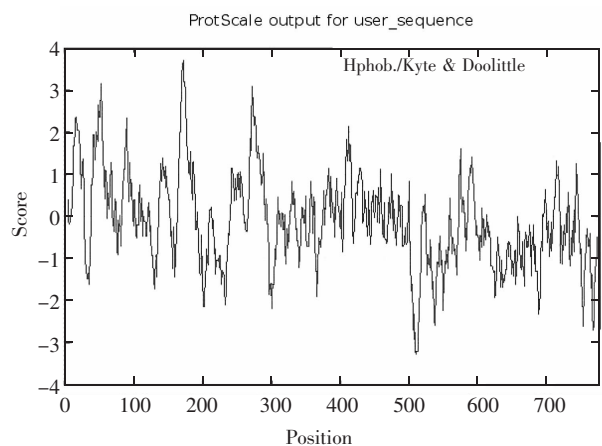


图10 绵羊 KCNHI 基因编码蛋白质疏水性/亲水性预测分析

2.9 绵羊 KCNHI 蛋白二级结构的预测

蛋白质的二级结构 (secondary structure)是指多肽主链骨架原子沿一定的轴盘旋或折叠而形成的特定的局部构象, 不涉及氨基酸残基侧链的空间

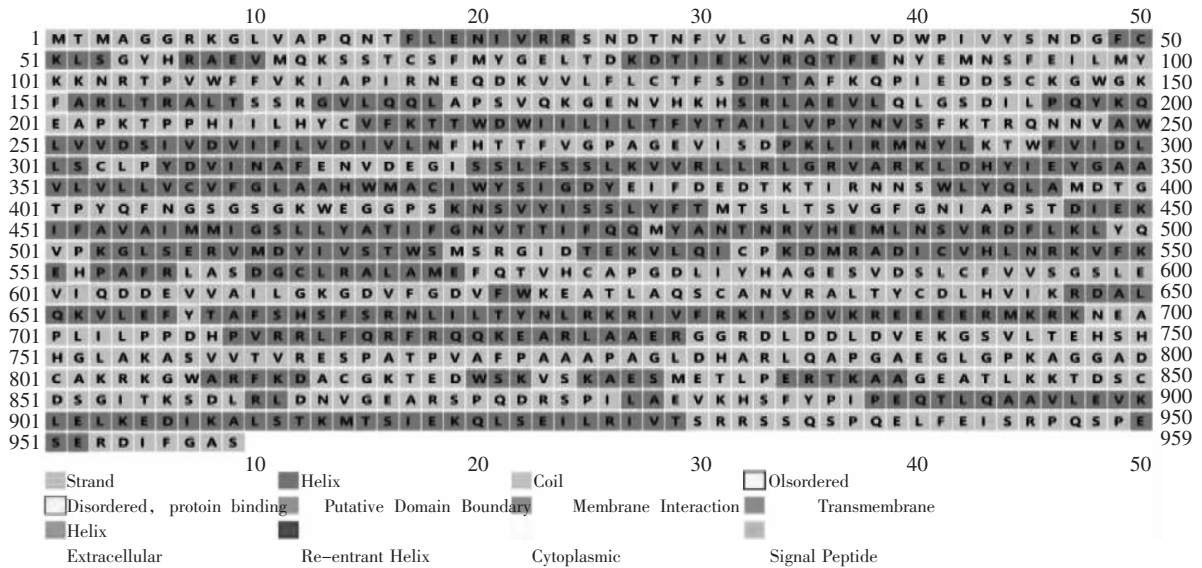


图 11 绵羊 KCNHI 基因编码蛋白质二级结构预测

分布。蛋白质二级结构的主要形式有 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角和无规卷曲^[14]。通过 Jpred 软件分析得出，组成绵羊 KCNHI 蛋白二级结构有 α 螺旋(42.96%)、无规则卷曲(41.50%)、延伸链(12.20%)和 β 转角(3.34%)，分别有 412、398、117 和 32 段，由此推断绵羊 KCNHI 蛋白二级结构主要为 α 螺旋，其次为无规则卷曲(图11)。

2.10 绵羊 KCNHI 蛋白三级结构预测与分析

三级结构(tertiary structure)是指多肽链在二级结构基础上的进一步卷曲折叠，通过借助次级键维系而形成的特定的三维构象。由 Swiss-model 软件分析可知(图12)，绵羊 KCNHI 基因蛋白三级结构中无配基，且为单体蛋白。其中与它同源性最高的蛋白质是 5k7l.1，且待测蛋白与模板蛋白的匹配度为 -2.87。由图 12 可知，同源率为 95.64%，且 KCNHI 基因编码蛋白的三级结构主要由 α 螺旋盘曲折叠形成。

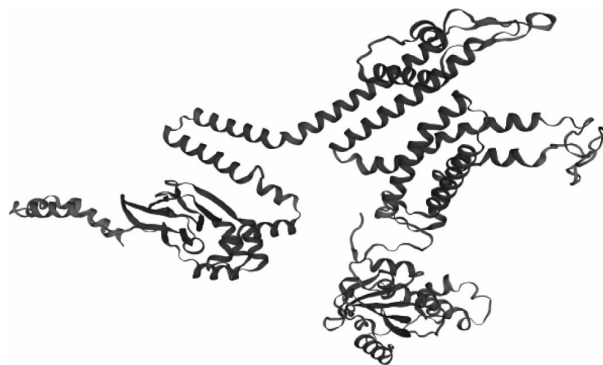


图 12 绵羊 KCNHI 基因编码蛋白的三级结构的分析结果

3 结论

绵羊 KCNHI 基因的 ORF 长度为 2 961 bp，编码 986 个氨基酸残基；亮氨酸所占比例最多，为 9.1%；色氨酸所占比例最少，为 1.5%；目的蛋白质的分子质量为 110 827.28 KDa，理论等电点(pI)为 7.52。KCNHI 基因编码的产物为不稳定性蛋白。亚细胞定位的结果显示其在质膜中的可能性最大，为 43.5%。KCNHI 基因编码的产物在多种物种中氨基酸序列相似程度极高，且绵羊与水牛在系统发育树中距离最近。KCNHI 基因的编码产物中不存在信号肽，为非分泌性蛋白，且发现了跨膜区，故该蛋白是跨膜蛋白。该基因编码的蛋白有 5 段跨膜结构。KCNHI 编码的蛋白为疏水蛋白。绵羊 KCNHI 基因编码产物的二级结构主要以 α 螺旋为主，三级结构主要由 α 螺旋盘曲折叠形成。

参考文献:

- [1] FUKAI R, SAITSU H, TSURUSAKI Y, et al. De novo KCNHI mutations in four patients with syndromic developmental delay, hypotonia and seizures[J]. Journal of Human Genetics, 2016, 1: 381-387.
- [2] SAHOO N, SCHNHERR R, HOSHI T, et al. Cysteines control the N- and C-linker-dependent gating of KCNHI potassium channels[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2012, 1818(5): 1187-1195.
- [3] BO H, TOKAY T, ZHANG G, et al. Eag1 K + Channel: endogenous regulation and functions in nervous system[J]. Oxidative Medicine & Cellular Longevity, 2017,

添加苜蓿和制粒设备对颗粒饲料加工质量的影响

李冲, 杨敏强, 王国秀

(甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 采用双因子试验设计, 以是否添加苜蓿和不同型号制粒设备2个因素进行试验分组, 研究了添加苜蓿和不同制粒设备对颗粒饲料加工质量的影响。结果表明, 添加10%苜蓿显著提高了颗粒饲料的硬度、密度和长度($P<0.05$), 降低了粉化率、淀粉含量和淀粉糊化度($P<0.05$)。不同型号制粒设备对颗粒饲料的质量指标影响不显著($P>0.05$)。添加苜蓿和制粒设备的交互作用对颗粒饲料的质量指标影响均不显著($P>0.05$)。综上所述, 添加10%的苜蓿可提高颗粒饲料产品的紧密程度、成型率和耐久性, 但会降低颗粒的熟化程度。在制粒工艺参数相同的条件下, 不同型号制粒设备对颗粒饲料品质无显著影响。

关键词: 颗粒饲料; 质量; 苜蓿; 饲料加工

中图分类号: S816.8

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2022)03-0045-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2022.03.010

Effects of Alfalfa Addition and Pelleting Equipment on Processing Quality of Pellet Feed

LI Chong, YANG Minqiang, WANG Guoxiu

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

Abstract: In this study, two-factor experimental design, whether to add alfalfa and different types of pelleting equipment into the experimental groups, was adopted to research on the influencing of adding alfalfa and different pelleting equipment on the

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 国家自然科学基金(31660670)。

作者简介: 李冲(1986—), 男, 甘肃崇信人, 副教授, 博士, 研究方向为动物营养与饲料科学。Email: lichong@gsau.edu.cn。

- 2017(2): 7371010.
- [4] KORTÜM, FANNY, CAPUTO V, et al. Mutations in KCNH1 and ATP6V1B2 cause Zimmermann-Laband syndrome[J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(6): 661-667.
- [5] RAMIREZ A, HINOJOSA L M, GONZALES J, et al. KCNH1 potassium channels are expressed in cervical cytologies from pregnant patients and are regulated by progesterone[J]. *Reproduction*, 2013, 146(6): 615-623.
- [6] NOORI M R, ZHANG B, PAN L. Is KCNH1 mutation related to coronary artery ectasia[J]. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2019, 19(1): 1-2.
- [7] WREDE R V, JEUB M, ARIZ I, et al. Novel *kcnh1* mutations associated with epilepsy: broadening the phenotypic spectrum of *kcnh1*-associated diseases[J]. *Genes*, 2021, 12(2): 7-9.
- [8] 王玉琴, 田志龙, 施会彬, 等. 湖羊肌肉营养特点及肌纤维组织学特性[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(8): 2867-2874.
- [9] NAKAI K, HORTON P. PSORT: a program for detecting sorting signals in proteins and predicting their subcellular localization[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 1999, 24(1): 34-36.
- [10] 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.
- [11] 宋雅萍, 李彦霞, 郭文婧, 等. 绵羊 *GP5* 基因的生物信息学分析[J]. *甘肃农业科技*, 2020(10): 54-59.
- [12] 靳泽希, 冯芬, 邓晓银, 等. 绵羊 *NRCAM* 基因的生物信息学分析[J]. *甘肃农业科技*, 2020(12): 19-24.
- [13] 袁媛, 黄璐琦. 中药资源转录组分析操作指南[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2016.
- [14] 孔繁良. 基于二级结构的蛋白质三级结构预测[D]. 济南: 济南大学, 2016.