

绵羊 *ELOVL5* 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: 极长链脂肪酸延伸酶蛋白家族(elongation of very-long-chain fatty acids, ELOVLs)是一类催化脂肪酸合成的限速酶, 主要调控血脂、血糖及一些代谢疾病的发生。为探究绵羊 *ELOVL5* 基因的结构和功能, 本研究对该基因及其编码产物进行了生物信息学分析。结果显示, 绵羊 *ELOVL5* 基因编码 737 个氨基酸, 其编码蛋白质分子式为 $C_{1656}H_{2448}N_{416}O_{415}S_{16}$, 其分子质量为 35 335.39 Daltons, 理论等电点为 9.47, 估计半衰期为 30 h, 不稳定性指数为 33.35。亚细胞定位主要位于内质网中(55.6%), *ELOVL5* 基因编码蛋白没有信号肽序列, 不属于分泌蛋白。该蛋白存在多个跨膜区域, 属于跨膜蛋白, 存在 7 个保守结构域, 并且为亲水性蛋白, 二级结构主要以 α 螺旋和无规则卷曲为主, 三级结构主要由 α 螺旋缠绕折叠而成。

关键词: 绵羊; *ELOVL5* 基因; 生物信息学

中图分类号: S826

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2022)04-0024-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2022.04.005

Bioinformatics Analysis of Sheep *ELOVL5* 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: Very long chain fatty acids extend enzyme protein family (elongation of very long-chain fatty acids, ELOVLs) is a kind of fatty acid catalytic synthesis of speed limit of enzymes. It mainly regulates the occurrence of blood lipid, blood glucose and some metabolic diseases. To explore the structure and function of *ELOVL5* gene in sheep. this gene and its encoding protein were analyzed by bioinformatics. The results showed that the sheep *ELOVL5* gene encoded 737 amino acids, and the formula was $C_{1656}H_{2448}N_{416}O_{415}S_{16}$. The molecular weight of the protein was 35 335.39 Daltons, the theoretical isoelectric point was 9.47, the estimated half-life was 30h, and the instability index was 33.35. The subcellular localization was mainly located in the endoplasmic reticulum (55.6%). The protein encoded by *ELOVL5* gene had no signal peptide sequence and was not secretory protein. This protein was transmembrane protein with multiple transmembrane regions. had 7 conserved domains, and was hydrophilic. The secondary structure mainly consist of alpha helix and random coil, the tertiary structure is mainly composed of winding and folding of α helix.

Key words: Sheep; *ELOVL5* gene; Bioinformatics analysis

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, 甘肃平凉人, 副教授, 主要从事反刍动物营养研究及教学工作。联系电话: (0931)7631225。Email: lichong@gsau.edu.cn。

- [7] 甘肃省水利厅. 2020年甘肃省水资源公报[R/OL]. (2021-10-14)[2021-12-20]. <http://slt.gansu.gov.cn/slt/c106726/c106732/c106773/c106775/202110/1853946.shtml>.
- [8] 曾发琛. 甘肃省黄河流域水资源开发利用存在问题及对策研究[J]. 甘肃水利水电技术, 2016, 52(2): 1-3; 33.
- [9] 甘肃省人民政府办公厅. 甘肃省“十四五”水利发展规划(甘政办发[2021]122号)[R]. 兰州: 甘肃省人民政府办公厅, 2021.
- [10] 甘肃省水利厅. 甘肃省黄河流域水安全保障规划(甘水规计发[2021]405号)[R]. 兰州: 甘肃省水利厅, 2021.
- [11] 甘肃省人民政府办公厅. 甘肃水利“四抓一打通”实施方案(甘政办发[2021]119号)[R]. 兰州: 甘肃省人民政府办公厅, 2021.
- [12] 张平军. 发展节水农业技术提高水资源利用率—西北可持续发展必须建立高效节水型社会(七)[J]. 农田水利, 2015(2): 61-63.
- [13] 杨书君, 高本虎, 赵华. 低压管道输水灌溉技术在灌区节水改造中的设计与应用[J]. 水利技术监督, 2014(1): 61-64.
- [14] 李猛. 西北地区节水农业发展战略研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.

极长链脂肪酸延伸酶(Elongase of very long chain fatty acids, ELOVL)基因家族是哺乳动物中一类编码超长链脂肪酸(Very long chain fatty acids, VL-CFA)延伸酶的基因家族,在哺乳动物中现已发现7个ELOVL基因家族成员,分别为ELOVL1~7^[1]。哺乳动物ELOVL基因家族与酵母ELO基因家族是垂直同源关系,ELOVL基因家族是在ELO基因家族的基础上发现的。ELOVL5与延长单不饱和脂肪酸(C₁₆、C₁₈)及多不饱和脂肪酸(C₁₈、C₂₀、C₂₂)相关^[2],优先延伸C₁₈和C₂₀这两类多不饱和脂肪酸,在对C₂₂多不饱和脂肪酸作用上活性相对较弱,很难作用于C₂₂以上的多不饱和脂肪酸^[3]。ELOVL基因家族成员在哺乳动物很多组织中均有表达且存在组织特异性,ELOVL5基因在哺乳动物肝脏、睾丸、大脑中均有表达^[2],其表达产物多为微粒体酶,在细胞液中、线粒体中和其他微粒体中参与脂肪酸链的延伸反应。酵母ELO基因家族及人类ELOVL5基因家族的编码产物都参与超长链脂肪酸和神经鞘质的形成。ELOVL5参与哺乳动物体内酯类合成和脂肪酸氧化,还能通过调控肝脏脂肪和碳水化合物代谢来影响血糖血脂浓度^[3]。ELOVL5基因全长897 bp,定位于人体6号染色体,共编码299个氨基酸。有研究报道称,ELOVL5基因的g-110 T>C突变位点对日本黑牛的皮下脂肪厚度和产量有显著影响^[4]。王珍梅^[5]利用转录组测序技术(RNA-seq)鉴定出ELOVL5基因为藏猪和大约克猪脂肪沉积性状的关键候选基因,而且其表达水平与背膘厚呈极显著正相关。同样的,胡海龙^[6]采用转录组测序和全长翻译组测序(RNCseq)技术发现,ELOVL5等基因的翻译调控会导致陆川猪与杜洛克猪肌肉组织脂肪含量及肌肉生长速度产生差异。此外,ELOVL5基因与脂肪酸代谢有关,而脂肪酸含量、比例及种类与肉质及风味有直接的关系^[7]。因此,了解ELOVL5基因的生物学功能对畜牧业的生产和发展有着极其重要的作用。然而,目前有关绵羊ELOVL5基因的研究较少,

其生物学功能尚不明确。我们从生物基因组数据库(GenBank 数据库)中查询绵羊ELOVL5基因的序列,利用生物信息学方法对绵羊ELOVL5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,以期为深入研究绵羊ELOVL5基因相关及其编码产物的功能提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 序列来源

所有序列数据均来自于NCBI网站GenBank数据库,包括鸡(XM_040697306.1)、绵羊(XM_012100862.3)、马(NM_023625099.1)、猫(XM_01980732.2)、牛(NM_001046597.1)、山羊(NM_001285628.1)、猪(NM_021098831.1)、人(NM_001242828.2)、黑猩猩(XM_024356979.1)等9个物种ELOVL5基因在NCBI网站GenBank数据库中的mRNA序列。括号内为GenBank数据库登录号。

1.2 分析方法

分析绵羊ELOVL5基因开放阅读框(Open reading frame, ORF)时,采用NCBI的在线分析程序ORF Finder;预测其编码蛋白质的理化性质时,采用Bioedit软件分析进行预测;采用PSORT预测亚细胞定位;采用分子生物学综合应用软件DNAMAN多序列比对及同源性分析;采用Prot Scale工具分析蛋白质的亲疏水性;采用Smart软件对蛋白质保守结构域分析;采用TMHMM Serverv.2.0进行跨膜螺旋区域的预测;采用Signalp软件进行蛋白质潜在信号肽剪切位点预测;采用Jpred分析预测蛋白质二级结构;采用SWISS-MODEL在线工具进行蛋白三级结构的预测^[8-16]。

2 结果与分析

2.1 绵羊ELOVL5基因开放阅读框分析

由绵羊ELOVL5基因开放阅读框分析结果(图1)可知,绵羊ELOVL5基因序列中最大长度的ORF为900 bp,起始密码子位于156 bp处,终止密码子位于1845 bp处,推测其编码737个氨基酸残

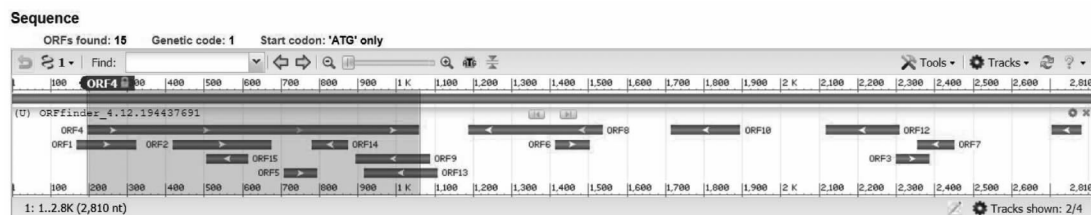


图1 绵羊ELOVL5基因开放阅读框ORF分析结果

基。

2.2 绵羊 ELOVL5 基因编码产物理化性质分析

蛋白质的理化性质分析包括对其相对分子质量、氨基酸组成以及等电点的理化性质分析。从 ELOVL5 基因编码产物的氨基酸组成(图2)可以看出,共编码 299 个氨基酸残基,分子量为 35 335.39 Da。其中 Leu(亮氨酸)占比最高,为 11.04%; Cys(半胱氨酸)占比最少,为 2.01%。

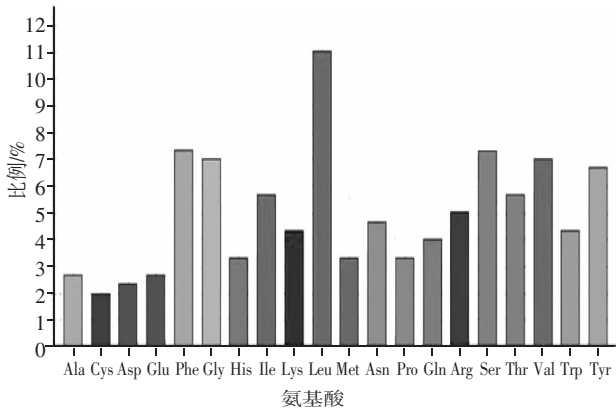


图2 绵羊 ELOVL5 基因编码蛋白质氨基酸组成

2.3 绵羊 ELOVL5 基因蛋白亚细胞定位

从绵羊 ELOVL5 基因蛋白亚细胞定位结果可知, ELOVL5 基因编码蛋白分布在内质网上的可能性为 55.6%; 分布在浆膜上的可能性次之,为

22.2%; 分布于液泡膜和高尔基体的可能性均最小,均为 11.1%。由此推断,绵羊 ELOVL5 基因蛋白主要在内质网中发挥作用。

2.4 不同物种 ELOVL5 基因的多序列比对及同源性分析

在 NCBI 数据库中找到绵羊、鸡、黑猩猩、马、猫、牛、人、山羊以及狗共 9 种动物的 ELOVL5 基因编码的蛋白质序列,通过 DNAMAN 软件进行分析比对,结果如图 3 所示,发现其在 9 种动物中均有表达。通过 9 种生物 ELOVL5 基因编码产物序列的同源树(图4)分析发现,绵羊和牛、山羊的同源性较高,达到了 98%; 与猫、马、鸡的同源性较低,为 84%。

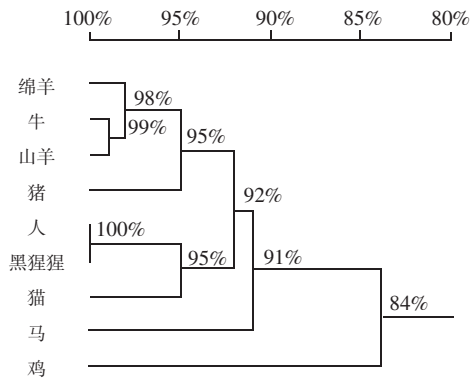


图4 绵羊 ELOVL5 基因编码蛋白质序列同源树

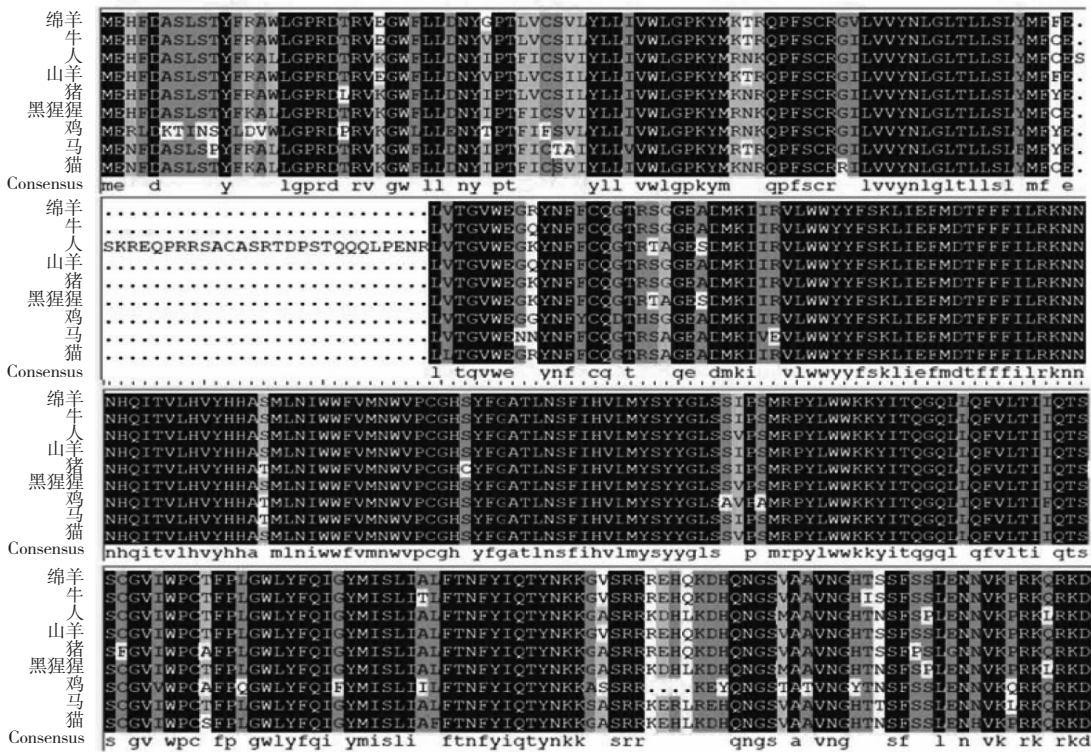


图3 绵羊 ELOVL5 基因 9 种生物多序列比对

3 小结与讨论

随着科技水平的日益提高,生物信息分析越来越多的应用于现代分子生物学研究^[17]。ELOVL5是ELO家族的成员,是一种位于内质网的多道膜蛋白。ELOVL5对长链脂肪酸的延伸很重要,在花生四烯酸、油酸、硬脂酸、棕榈酸、亚麻酸和二十碳五烯酸的延伸反应中起限制作用^[18]。而超长链脂肪酸是脂质介质的前体,也是细胞鞘质、甘油磷脂的组成部分。这些多不饱和脂肪酸参与多种生理过程,不可或缺,还与炎症、过敏反应、免疫系统、心血管系统和皮肤疾病相关的病理过程相关。与超长链脂肪酸代谢相关酶的编码基因发生突变后可能会导致鱼鳞病、脱髓鞘、智力相关遗传病、黄斑变性等,ELOVL5基因编码的组织相容性复合物对免疫反应起到关键作用^[19]。本研究中序列比对及同源性分析结果表明,绵羊ELOVL5基因同源性在所有分析的9种动物中与牛和山羊的关系最近,同为98%,这可能是由于同为反刍动物的原因。与鸡、马、猫同源性最低,为84%。此外,还发现该蛋白为亲水性蛋白,且有7段跨膜区,为跨膜蛋白,表明该蛋白参与信号转导。蛋白高级结构分析表明,其二级结构和三级结构组成一致,均是由 α 螺旋组成。许多研究表明,ELOVL5基因对家畜、家禽的脂肪沉积性状起着重要的作用^[20-24],绵羊ELOVL5基因通过影响超长链脂肪酸的代谢进而影响着绵羊的生长发育过程中诸多方面。绵羊ELOVL5基因及其编码蛋白具体的作用机理及作用方式在绵羊中还有待研究。本试验仅对该基因及其编码产物做了生物信息学分析,可为以后深入研究绵羊ELOVL5基因提供一定的基础,但是其生物学功能还需要深入研究。

绵羊ELOVL5基因最长ORF长度为900bp,起始密码子位于156bp处,终止密码子位于1845bp处;绵羊ELOVL5基因编码蛋白分子式为 $C_{1656}H_{2448}N_{416}O_{415}S_{16}$,分子质量为35335.39Da。在氨基酸组成中,亮氨酸在其中所占比率最高(11.04%),半胱氨酸所占比率最低(2.01%)。理论等电点为9.47,估计半衰期为30h,不稳定性指数为33.35。ELOVL5基因编码产物潜在信号肽剪切位点预测最大C值为0.103,最大Y值为0.074,最大S值为0.630,无信号肽剪切位点,是一种非

分泌蛋白。发现了7段跨膜区,为跨膜蛋白,且该蛋白为亲水性蛋白。其亲水性最大值为2.878,位于第44位;最小值为-3.811,位于第265位。亚细胞定位分布于内质网的可能性最大,为55.6%。该蛋白二级结构主要为 α 螺旋,三级结构由 α 螺旋缠绕折叠形成。

参考文献:

- [1] 张娟,母童,赵平,等. 静原鸡ELOVL5基因遗传多样性研究[J]. 浙江农业学报, 2019, 31(2): 200-206.
- [2] 唐慧,潘志雄,卢立志,等. 超长链脂肪酸延伸酶家族的功能及表达调控[J]. 生命的化学, 2009, 29(6): 898-901.
- [3] 吴晓云,陈叶雨,刘亚,等. 达氏鲟Elov14、Elov15和Elov17克隆、组织分布及饥饿对其表达的影响[J]. 水生生物学报, 2020, 44(6): 1174-1181.
- [4] MATSUMOTO H, SHIMIZU Y, TANAKA A, et al. The SNP in the promoter region of the bovine ELOVL5 gene influences economic traits including subcutaneous fat thickness[J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40(4): 3231-3237.
- [5] 王珍梅. 藏猪和大约克猪脂肪组织代谢模式探索分析[D]. 拉萨: 西藏农牧学院, 2021.
- [6] 胡海龙. 陆川猪与杜洛克猪背最长肌组织的转录组与翻译组比较分析[D]. 南宁: 广西大学, 2021.
- [7] 王莹. 调控黄山黑鸡肌肉中多不饱和脂肪比率的关键基因鉴定及功能验证[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
- [8] 李娜,杨健康. SELL基因与蛋白质的生物信息学分析[J]. 生物技术, 2020, 30(6): 549-554; 583.
- [9] 母童. 静原鸡ELOVL2和ELOVL5基因组织表达特性及生物信息学分析[D]. 银川: 宁夏大学, 2019.
- [10] 张司龙,张小雪,宋其志,等. 绵羊RXRG基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技, 2020(2-3): 31-37.
- [11] 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.
- [12] 刘佳,王祯,代友超,等. 绵羊HTR4基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技, 2020(10): 35-40.
- [13] 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.
- [14] 王晨,杨娟,袁肇方,等. 绵羊ERB基因的生物信息学分析[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2020, 41(1): 33-40.
- [15] 翟刚,杜天宁,张天浩,等. 绵羊KAP1.1基因编码蛋白生物信息学分析[J]. 河北科技师范学院学报, 2019, 33(4): 36-41.
- [16] 郭丽荣,韩高链,张枫惠,等. 绵羊HADHB基因生物信息学分析及营养应激状态下的表达变化[J]. 中国畜牧杂志, 2019, 55(5): 94-98; 162.

兰州百合和大花卷丹远缘杂交胚挽救技术研究

尹 燕, 杨道兰, 冯炜弘, 牛慧婷, 李爱兵, 何 潇, 王 璐

(兰州市农业科技研究推广中心, 甘肃 兰州 73000)

摘要: 利用兰州百合与大花卷丹进行正反交, 研究了花期调控、不同授粉方式、蒴果采收时间及胚挽救培养基配方对杂种胚萌发率及成苗率的影响。结果表明, 兰州百合延后种植及大花卷丹提前种植, 可有效地解决花期不遇的问题; 兰州百合与大花卷丹杂交授粉时, 花期授粉的蒴果膨大率可达 93.3%, 种子有胚率为 2.00%; 大花卷丹与兰州百合杂交授粉时, 切割柱头的授粉膨大率最高, 仅为 7.6%, 但种子有胚率为 0%。兰州百合与大花卷丹杂交授粉后 60~70 d 的蒴果进行胚培养较为适宜。兰州百合与大花卷丹的杂交胚适宜培养基为 MS+0.3 mg/LNAA+0.2 mg/L6-BA。

关键词: 兰州百合; 大花卷丹; 远缘杂交; 胚挽救

中图分类号: S644.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2022)04-0029-05

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2022.04.006](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2022.04.006)

Study on the Embryo Rescue Techniques of the Distant Hybrids of *Lilium davidii* var. *unicolor* and *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*

YIN Yan, YANG Daolan, FENG Weihong, NIU Huiting, LI Aibing, HE Xiao, WANG Lu

(Lanzhou Agricultural Science and Technology Research Extension Center, Lanzhou Gansu 730000, China)

Abstract: The effects of flowering regulation, different pollination methods, capsule harvesting time and embryo rescue medium formula on the germination rate and seedling rate of hybrid embryos were studied by positive and negative cross between *Lilium davidii* var. *unicolor* and *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*. The results showed that delayed planting at different time points of low temperature storage during cold storage of *Lilium davidii* var. *unicolor* and early planting protection measures of *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* could effectively resolve the problem of flowering; Flowering pollination can be used in hybrid pollination of *Lilium davidii* var. *unicolor* × *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*, capsule expansion rate can reach 93.3%, the embryo rate of seeds was 20%; while *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* hybridized with *Lilium davidii* var. *unicolor*, the expansion rate of cutting stigma pollination was the highest, only 7.6%, but the embryo rate of seeds was 0%; It was more suitable for embryo culture of capsules 60 d~70 d after pollination by *Lilium davidii* var. *unicolor* × *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii*; the optimum

收稿日期: 2021-12-30

基金项目: 兰州市人才创新创业项目(2020-RC-144); 陇原青年创新创业人才项目(2022)。

作者简介: 尹 燕(1983—), 女, 甘肃金昌人, 农艺师, 硕士, 研究方向为种质资源选育与采后生物学。Email: 544895391@qq.com。

作者简介: 杨道兰(1970—), 女, 甘肃皋兰人, 农艺师, 研究方向为蔬菜育种。Email: 875516380@qq.com。

- [17] 易继财. 生物类专业生物信息学课程教学探索: 华南农业大学生物类专业生物信息学课程的教改实践与思考[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(26): 231-233.
- [18] JAKOBSSON A, WESTERBERG R, JACOBSSON A. Fatty acid elongases in mammals: their regulation and roles in metabolism[J]. Progress in Lipid Research, 2006, 45(3): 237-249.
- [19] 王海燕, 苏玉虹. 编码极长链脂肪酸延长酶基因家族的结构及其产物的功能[J]. 生命的化学, 2005(1): 29-31.
- [20] 张 娟, 母 童, 虎红红, 等. 静原鸡 *ELOVL5* 基因功能生物信息学分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(12): 5432-5441.
- [21] 母 童, 张 娟, 赵 平, 等. 静原鸡 *ELOVL2* 和 *ELOVL5* 基因表达的组织特异性研究[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(8): 1290-1296.
- [22] 郭鹏程, 戴珊珊, 杨浩然, 等. *ELOVL5* 基因遗传变异与中国荷斯坦奶牛乳质性状的关联分析及功能验证[J]. 中国兽医学报, 2017, 37(4): 741-745.
- [23] 潘开源, 陈建文, 陈 真, 等. 乳腺特异性共表达 4 种脂肪酸合成酶载体及其稳转山羊成纤维细胞系的构建[J]. 安徽农业大学学报, 2015, 42(3): 417-423.
- [24] 马小娅, 庞春英, 邓廷贤, 等. *FADS2* 基因在奶牛乳腺细胞中的过表达和干扰研究[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(3): 652-660.