

# 不同物种 *Mchr1* 基因编码区生物信息学分析

马梦云, 李祥龙\*, 周荣艳, 李兰会

(河北农业大学 动物科技学院, 河北 保定 071001)

**摘要:** 采用比较基因组学和生物信息学的方法分析了人、黑猩猩、玻利维亚灰鼠猴、猕猴、蒙眼貂、裸鼯鼠、佛罗里达海牛、小家鼠、小马岛猬共 9 个物种的黑色素浓集激素受体 1(*Mchr1*) 基因编码区(CDS)的遗传多样性, 并对其氨基酸序列、蛋白结构等进行预测。结果表明, 来自 9 个物种的 44 个 *Mchr1* 基因序列中共检测到多态位点 200 个, 其中单一多态位点 81 个, 单倍型 14 种, *Mchr1* 基因 CDS 在种内表现较为保守, 种间则表现出较丰富的遗传多样性。Mchr1 蛋白为疏水性蛋白, 理论等电点均大于 7, 肽链的不稳定系数介于 36.26~44.21, 均较稳定。Mchr1 蛋白位于细胞质中。

**关键词:** *Mchr1* 基因; 编码区; 生物信息学; 遗传多样性

中图分类号: Q754 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2014)05-0172-04

## Bioinformatics Analysis of Coding Regions of *Mchr1* Gene among Species

MA Meng-yun, LI Xiang-long\*, ZHOU Rong-yan, LI Lan-hui

(College of Animal Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

**Abstract:** The genetic diversity of the CDS of *Mchr1* gene from nine species, including *Homo sapiens*, *Pan troglodytes*, *Saimiri boliviensis*, *Macaca mulatta*, *Mustela putorius*, *Heterocephalus glaber*, *Trichechus manatus*, *Mus musculus* and *Echinops* were analyzed using the method of comparative genomics and bioinformatics. The characteristics of composition of nucleic acid sequences and amino acid sequences were also analyzed. The results showed that a total of 200 polymorphic sites, including 81 single polymorphic sites, which could be sorted into 14 haplotypes detected from 44 sequences of 9 species. CDS was conservative within species, and diverse among species. The amino acid sequences of *Mchr1* presented hydrophobic, theoretical PI was more than 7 mostly. The nature of polypeptide was alkaline and the instability index of polypeptide was between 36.26 and 44.21, the result indicated the polypeptide was stable. *Mchr1* protein located in the cytoplasm.

**Key words:** *Mchr1* gene; coding region; bioinformatics; genetic diversity

黑色素浓集激素(melanin concentrating hormone, Mch)是一种神经肽, 它包含有 19 个氨基酸, 主要存在于下丘脑部位。它有 2 种受体(melanin concentrating hormone receptor, Mchr) *Mchr1* 和 *Mchr2*, 且这 2 种受体的分布情况以及在大脑中的表达作用是基本相似的, 不同的是, *Mchr1* 在周围组织也有分布<sup>[1]</sup>, 而 *Mchr2* 在啮齿动物中不表达<sup>[2]</sup>。研究<sup>[3]</sup>发现, *Mchr1* 位于生长抑制素受体的跨膜区中, 其编码区没有内含子, cDNA 的全长为

1 269 bp, 编码 353 个氨基酸。A-黑色素刺激素(A-MSH)与黑色皮质素受体 1(MCR1)结合, 合成黑色素。Mch 是 A-MSH 的拮抗物, Mch 与 *Mchr1* 结合后, 其产物会抑制黑色素的合成。*Mchr1* 在调节黑素细胞中黑素的合成过程中发挥着重要作用<sup>[4-6]</sup>。

目前, 有关不同物种 *Mchr1* 的遗传多样性研究较少。本研究采用生物信息学的方法对不同物种 *Mchr1* 基因的遗传多样性进行分析, 并对不同物种

收稿日期: 2013-12-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172196)

作者简介: 马梦云(1989-), 女, 河北无极人, 在读硕士研究生, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: mamengyun125@163.com

\* 通讯作者: 李祥龙(1963-), 男, 河北丰南人, 教授, 博士, 主要从事动物遗传育种研究。E-mail: lixianglongen@yahoo.com

*Mchr1* 蛋白的理化性质及其结构进行分析和预测,旨在为深入研究 *Mchr1* 的功能提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

从 GenBank 中下载了人(*Homo sapiens*)、黑猩

猩(*Pan troglodytes*)、玻利维亚灰鼠猴(*Saimiri boliviensis*)、猕猴(*Macaca mulatta*)、蒙眼貂(*Mustela putorius*)、裸鼯鼠(*Heterocephalus glaber*)、佛罗里达海牛(*Trichechus mannlus*)、小家鼠(*Mus musculus*)和小马岛猬(*Echinops*)共 9 个不同物种的 44 条 *Mchr1* 基因编码区序列(表 1)。

表 1 不同物种的 *Mchr1* 基因序列来源

物种	序列数/条	登录号
人	19	CU013094.1, AY562945.1, BA001736, BC021146.1, CR456497.1, DQ895065, DQ893603.2, BT006725.1, AY889459.1, AY889458.1, AB463112.1, AK314857.1, CU01338.2, NM_00529.3, AB063124.1, AF490537.2, NG_029686.1, U71092.1, AY754811.1
黑猩猩	2	NM_001012438.1, XM_00381461.1
玻利维亚灰鼠猴	2	XM_003932845.1, XM_003932846.1
猕猴	2	NM_00103288.1, AY078245.1
蒙眼貂	5	XM_004771272.1, XM_004771271.1, XM_004813750.1, XM_004813749.1, AY112898.1
裸鼯鼠	2	XM_004845541.1, XM_004883526.1
佛罗里达海牛	3	XM_004373889.1, XM_004373888.1, XM_004373887.1
小家鼠	7	NM_0145132.2, AK134867.1, AF498248.1, AF498247.1, BC128286.1, AC102334, AY049011.1
小马岛猬	2	XM_004700268.1, XR_193608.1

1.2 方法

采用 BioEdit 7.0 软件对不同物种的 *Mchr1* 基因序列进行比对分析,用 DnaSP 5.10 软件进行遗传多态性分析并生成单倍型,计算物种间的核苷酸歧义度(Dxy)和遗传分化指数(Gst)<sup>[7-8]</sup>。利用 MEGA 5.05 软件的 UPGMA 方法构建聚类图。

应用 ProtParam 预测 *Mchr1* 蛋白组成及理化性质,用 TargetP 1.1 Server、SignalP 4.0 Server 分析其中的信号肽断裂位点,使用 TMHMM 2.0 Server 预测蛋白跨膜区的结构,通过 PBIL LYON-GERLAND 信息库预测蛋白质二级结构<sup>[9-10]</sup>。

2 结果与分析

2.1 不同物种间的 *Mchr1* 基因编码区核苷酸多样性

2.1.1 多态位点、单倍型 经序列比对分析发现,不同物种的 *Mchr1* 基因共有的编码区序列长度为 980 bp。以共有的序列为研究对象,不同物种的 *Mchr1* 基因编码区有 200 个多态位点,包含 81 个单一多态位点。发现有 14 种单倍型,提示 *Mchr1* 基因的编码区在物种内比较保守。

2.1.2 不同物种 *Mchr1* 基因的遗传分化 分析发现,不同物种 *Mchr1* 基因的 Dxy 值在 0.004 3~0.112 4, Gst 值在 0.057 7~1.000 0,其变化幅度较

大。其中, Dxy 和 Gst 最小值均出现在人与黑猩猩之间,这表明人与黑猩猩的亲缘关系近;小家鼠与其他物种差异最大,表明在进化过程中,小家鼠 *Mchr1* 基因可能发生过较大的分化。

根据不同物种之间的 Dxy 值构建物种间 *Mchr1* 基因聚类图。由图 1 可以看出,人与黑猩猩的亲缘关系较近,佛罗里达海牛和小马岛猬的亲缘关系较近,小家鼠与其他物种的亲缘关系较远。

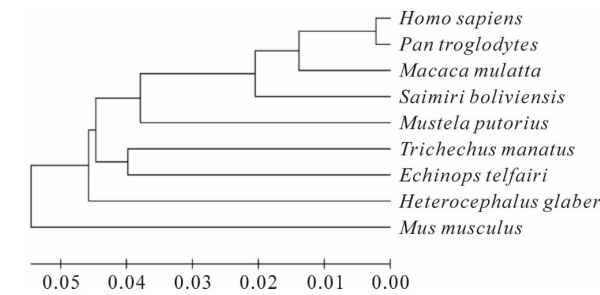


图 1 不同物种的 *Mchr1* 基因聚类分析

2.2 不同物种 *Mchr1* 基因编码的氨基酸序列特征

2.2.1 密码子偏爱性 不同物种 *Mchr1* 基因序列编码区中密码子有效值(ENC)为 51.621(<61),偏爱指标(CBI)为 0.367(>0)。表明 *Mchr1* 基因对密码子有偏爱性。

2.2.2 同义替换和非同义替换 由表 2 可以看出,9 个物种 *Mchr1* 基因的非同义替换位点数均明显高

于同义替换位点数,其中,小家鼠的非同义替换位点数最高。这可能是物种进化过程中正向选择的结果,导致非同义替换速率远远高于同义替换<sup>[11-13]</sup>。推测,这 9 个物种的 *Mchr1* 基因在进化的过程中可能受到正向选择。

表 2 不同物种内 *Mchr1* 基因同义替换和非同义替换位点数

物种	同义替换	非同义替换
人	262.97	715.03
黑猩猩	262.83	715.17
玻利维亚灰鼠猴	264.17	713.83
猕猴	259.50	718.50
蒙眼貂	265.33	712.67
裸鼯鼠	261.00	717.00
佛罗里达海牛	260.17	717.83
小家鼠	253.62	742.38
小马岛猬	269.50	708.50

2.2.3 不同物种 *Mchr1* 基因编码的氨基酸序列预测与分析 由表 3 可以看出,不同物种 *Mchr1* 蛋白理论等电点均高于 7,呈碱性。蛋白质不稳定系数介于 36.26~44.21,蛋白质均比较稳定。利用在线工具 ProtScale 预测其氨基酸序列的疏水性/亲水性,结果显示,疏水区域明显大于亲水区域,表现为疏水性。氨基酸组成中,亮氨酸(Leu)含量最高,高达 10.7%~12.2%。

表 3 不同物种 *Mchr1* 蛋白长度与理化性质

物种	亲水性	氨基酸数量/个	分子量/Da	理论等电点	不稳定系数
人	0.340	422	45 963.6	9.15	41.82
黑猩猩	0.340	422	45 963.2	9.23	41.93
玻利维亚灰鼠猴	0.474	352	38 843.6	9.33	38.43
猕猴	0.492	353	38 971.8	9.24	37.26
蒙眼貂	0.303	426	46 607.5	9.61	38.93
裸鼯鼠	0.341	422	45 706.4	9.12	44.21
佛罗里达海牛	0.522	355	39 094.1	9.33	36.26
小家鼠	0.495	353	39 120.0	9.39	38.55
小马岛猬	0.455	354	39 199.0	9.41	37.51

2.2.4 导肽、信号肽和跨膜结构域的预测与分析 导肽是蛋白质的 N-端信号。9 个物种 *Mchr1* 基因编码的氨基酸序列预测结果显示,均无氨基酸残基裂解位点,推测这些物种 *Mchr1* 蛋白的氨基酸序列均不存在导肽。SignalP 4.0 Server 预测结果显示,9 个物种 *Mchr1* 蛋白的氨基酸序列也不含信号肽,

表明 *Mchr1* 蛋白位于细胞质中。

跨膜结构域一般由 20 个左右的疏水氨基酸残基组成,其主要形成的结构是  $\alpha$ -螺旋<sup>[14]</sup>。研究发现,大多数物种均有 7 个跨膜结构域。其中,人、黑猩猩、裸鼯鼠和小家鼠的跨膜结构域位置相同。利用 TMHMM 2.0 Server 预测其氨基酸序列的跨膜结构域,结果表明,*Mchr1* 蛋白含有跨膜结构域,为膜相关蛋白。

蛋白质的二级结构是指氨基酸残基形成的  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角、 $\beta$ -折叠和无规则卷曲<sup>[12]</sup>。结果显示,9 个不同物种的 *Mchr1* 蛋白质二级结构的主要结构元件是  $\alpha$ -螺旋(42.94%~48.73%)和无规卷曲(39.02%~45.77%),其次是延伸链(11.90%~15.01%)。

### 3 讨论

#### 3.1 不同物种 *Mchr1* 基因的核苷酸分析

从不同物种 *Mchr1* 基因序列多态性信息、单倍型及多样性信息可以看出,各物种的遗传相关参数(单倍型多样性、多态位点数等)不一致,表明 *Mchr1* 基因在种群间存在遗传变异。*Mchr1* 基因序列编码区在种内则较保守,如黑猩猩与人。

在蛋白质编码过程中,密码子存在明显的偏爱性。这不仅在不同物种不同基因中存在,而且在同一物种不同基因中也存在<sup>[15-17]</sup>。同义替换不受自然选择的影响,而非同义替换则易受自然选择的影响<sup>[11]</sup>。本研究中 9 个物种的 *Mchr1* 基因,同义替换位点数均明显低于非同义替换位点数,说明 *Mchr1* 基因在这些种群进化过程中可能受到了正选择。

#### 3.2 不同物种 *Mchr1* 蛋白分析

疏水/亲水性是蛋白质重要的理化性质,不同物种的 *Mchr1* 蛋白均为疏水性蛋白。在不同物种中,*Mchr1* 蛋白的二级结构相似,主要由  $\alpha$ -螺旋和无规卷曲构成的,还含有少量的延伸链。9 个物种的 *Mchr1* 蛋白均存在跨膜结构域,*Mchr1* 蛋白在不同物种之间的跨膜结构域存在一定的差别。

#### 参考文献:

- [1] 袁成福,宋方洲.黑素浓激素受体信号通路与疾病[J].湖北民族学院学报:医学版,2005,22(3):42.
- [2] Bradley R L, Mansfield J P, Maratos-Flier E. Neuropeptides, including neuropeptide Y and melanocortins, mediate lipolysis in murine adipocytes[J]. Obes Res, 2005, 13(4): 653-661.
- [3] Saito Y, Nothacker H P, Wang Z, et al. Molecular characterization of melanin concentrating hormone recep-

- tor1[J]. *Nature*, 1999, 40: 265.
- [4] Chen Y, Hu C, Hsu C K, *et al.* Targeted disruption of the melanin-concentrating hormone receptor-1 results in hyperphagia and resistance to diet-induced obesity [J]. *Endocrinology*, 2002, 143(7): 2469-2477.
- [5] Ghosh T. Studies on codon usage in *Entamoeba histolytica* [J]. *International Journal for Parasitology*, 2000, 30: 715-722.
- [6] Wright F. The effective number of codon's used in a gene[J]. *Gene*, 1990, 87(1): 23-29.
- [7] 魏星灿, 贾青, 陶隽, 等. 猪 *Cbl* 基因的生物信息学分析[J]. *河南农业科学*, 2013, 42(12): 129-132.
- [8] 王丁科, 阎萍, 梁春年, 等. 牦牛 *IGF2* 内含子的遗传多态性及其遗传效应分析[J]. *华北农学报*, 2009, 24(2): 107-111.
- [9] 杨洪一, 孙立娜, 张杰, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒抗原表位预测[J]. *河南农业科学*, 2013, 42(8): 67-70.
- [10] 胡慧艳, 贾青, 陶隽, 等. 家猪 TBP 蛋白结构与理化性质的生物信息学分析[J]. *河南农业科学*, 2014, 43(3): 128-132.
- [11] 李易. 基因进化的同义与非同义替代计算及统计检验的比较分析[J]. *曲靖师范学院学报*, 2006, 25(6): 1-8.
- [12] 董娇, 周军, 辛培尧, 等. 不同植物 *LDOX/ANS* 基因的生物信息学分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2010, 29(5): 815-822.
- [13] 薛永常, 聂会忠, 刘长斌. 木质素合成酶 C3H 基因的生物信息学分析[J]. *生物信息学*, 2009, 7(1): 13-17.
- [14] Shichida Y, Imai H. Visual pigment: G-protein-coupled receptor for light signals[J]. *Cell Mol Life Sci*, 1998, 54: 1299-1315.
- [15] Ebrey T, Koutalos Y. Vertebrate photoreceptors[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2001, 20(1): 49-94.
- [16] Bellingham J, Foster R G. Opsins and mammalian photoreception[J]. *Cell Tissue Res*, 2002, 309: 57-71.
- [17] Bjursell M, Gerdin A K, Ploj K, *et al.* Melanin-concentrating hormone receptor 1 deficiency increases insulin sensitivity in obese leptin deficient mice without affecting body weight[J]. *Diabetes*, 2006, 55(3): 725.

(上接第 166 页) 促进有益菌的繁殖, 通过抑制有害菌的生长, 纠正肠道的功能紊乱, 维持肠道菌群平衡(其机制尚待进一步探讨), 提高机体免疫力, 从而使肉兔发生腹泻病几率减少。肉兔的平均日增体质量提高、料重比降低, 养殖肉兔的经济效益提高。当停饲该制剂后, 试验组粪便中微生物菌群又逐渐接近对照组。说明 Tu-2 制剂在肉兔肠道中具有一定的滞留效应, 但不是常驻菌群。同时也提示应连续饲喂 Tu-2 制剂。

#### 参考文献:

- [1] 向凌云, 张秀江, 刘德海. 预防幼兔腹泻的新概念新方法[J]. *特种经济动植物*, 2008(5): 15-17.
- [2] 周雨霞, 侯先志. 益生菌与肠道疾病[J]. *中国微生物生态学杂志*, 2006, 18(2): 147-148.
- [3] 张燕, 季海峰, 徐炜玲. 益生菌对动物肠道微生物生态学影响的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2007, 34(3): 15-17.
- [4] 许维娜. 益生菌的研究进展[J]. *生物技术世界*, 2012, 54(5): 33.
- [5] 张恒业, 李自刚, 白继武. 免源微生态制剂在豫丰黄幼兔肠道的定植性研究[J]. *郑州牧业工程高等专科学校学报*, 2011, 31(1): 4-6.
- [6] 赵泮峰, 任战军, 王洪阳. 早期断乳幼兔腹泻内因分析[J]. *饲料工业*, 2010, 31(23): 52-54.
- [7] 赵淑集, 吴成业. 水产饲用益生菌的作用机理及功效[J]. *天津农业科学*, 2010(5): 58-62.
- [8] 黄良策, 周凌云, 卜登攀, 等. 益生菌对泌乳后期奶牛生产性能的影响[J]. *华北农学报*, 2012, 27(B12): 406-409.
- [9] 卫龙兴, 戴连群, 陆林才, 等. 仔猪饲喂益生菌制剂效果研究[J]. *现代农业科技*, 2011(1): 326.
- [10] 吴代圣, 吕李明, 丁建华. 复合益生菌发酵饲料饲喂生长育肥猪效果分析[J]. *现代农业科技*, 2011(1): 326.
- [11] 冯凡, 蒋启欢, 曾凯, 等. 益生菌作用机制及筛选方法研究进展[J]. *现代农业科技*, 2011(22): 52-54.
- [12] 仝军, 王建永, 赵超. 益生菌制剂对肉兔应用效果的影响研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(24): 13105-13106, 13108.
- [13] 陈桂银. 益生菌在兔营养中的应用(中)[J]. *中国养兔杂志*, 2007(3): 31-33.
- [14] 郭添福. 酵母培养物对保育猪的生长性能、肠道健康和免疫应答的影响[J]. *江西饲料*, 2010(1): 15.
- [15] Lee K W, Lee S H, Lillehoj H S, *et al.* Effects of direct-fed microbials on growth performance, gut morphometry and immune characteristics in broiler chickens [J]. *Poultry Science*, 2010, 89(2): 203-216.
- [16] LeBon M, Davies H E, Glynn C, *et al.* Influence of probiotics on gut health in the weaned pig[J]. *Livestock Science*, 2010, 133(1-3): 179-181.
- [17] Fuller R. Probiotics in man and animals[J]. *Appl Bacteriol*, 1989(66): 366-378.