

鹅 *DHRS7* 基因克隆、序列分析及其在鹅肥肝形成过程中的表达特点

何桦,潘志雄,刘贺贺,李乐,夏露,胡深强,鲁凯,董霞,李亮,王继文*
(四川农业大学动物遗传育种研究所,成都 611130)

摘要: 为获得鹅 *DHRS7* 基因全长 cDNA,并探讨该基因是否参与鹅肥肝的形成过程。本研究应用抑制消减杂交文库获得鹅 *DHRS7* 基因部分 EST 序列,采用 RACE 技术扩增了鹅该基因全长 cDNA,并对其序列进行了生物信息分析;用荧光定量 PCR 技术检测了 *DHRS7* 在鹅肝脏、皮脂、腹脂等 10 个组织中的差异表达,以及填饲对鹅肝脏中 *DHRS7* 表达变化的影响。结果发现,鹅 *DHRS7* 基因 cDNA 全长 1 279 bp,含一个完整的开放阅读框 1 011 bp (可编码 336 个氨基酸),25 bp 的 5'UTR 和 243 bp 的 3'UTR 序列;生物信息学分析结果显示,鹅 *DHRS7* 含有跨膜结构域以及 NADP 结合位点,且在哪些功能区域变异较少;荧光定量结果显示,*DHRS7* 在鹅肝脏和脂肪组织中都有较高表达,填饲后鹅肝脏中 *DHRS7* 的表达水平显著上调 ($P < 0.05$)。以上结果表明,*DHRS7* 在鹅肥肝形成过程中具有重要的作用。

关键词: 鹅;短链脱氢酶 7(*DHRS7*);RACE;cDNA 全序列;生物信息学分析

中图分类号:S835;S813.3

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2012)09-1385-07

Molecular Cloning and Bioinformatics Analysis of Goose *DHRS7* and Its Expression Characteristics during Goose Fatty Liver Formation

HE Hua, PAN Zhi-xiong, LIU He-he, LI Le, XIA Lu, HU Shen-qiang, LU Kai,
DONG Xia, LI Liang, WANG Ji-wen*
(Institute of Animal Breeding & Genetic, Sichuan Agricultural University,
Chengdu 611130, China)

Abstract: In order to elucidate the roles of *DHRS7* gene in formation of goose fatty liver, the goose *DHRS7* gene full-length cDNA sequence was cloned by RACE method, and then was analyzed by bioinformatics method. Meanwhile, expression of *DHRS7* in goose different tissues and organs was analyzed using qRT-PCR method, as well as the mRNA expression influenced by forcing-feed was analyzed in goose liver. Results showed that the full sequence of goose *DHRS7* gene was 1 297 bp, including an coding domain sequence (CDS) encoding for 336 AA, and a 25 bp 5' UTR and a 243 bp 3' UTR. Results of bioinformatics analysis showed that the geese *DHRS7* posses a transmembrane region and a NADP binding region, on which functional region there is few variants. The *DHRS7* had a higher expression level in geese liver and adipose tissues. And the expression of *DHRS7* up-regulated significantly in geese liver tissues after a force feeding ($P < 0.05$). The results indicate that the goose *DHRS7* gene may play an important role during formation of geese fatty liver.

Key words: geese; *DHRS7*; RACE; full-length cDNA sequence; bioinformatics analysis

DHRS7 属于视黄醇脱氢酶(DHRS)家族成员, *DHRS* 基因家族的主要功能是催化类固醇的生物合成^[1], 与动物肝脏功能的很多方面密切相关。人 *DHRS7* 最早在视网膜和松果体的 EST 文库中分离, 目前对其生物作用还不是很清楚, 已经检测到其在人视网膜、骨骼肌、肝脏、心脏以及脂肪组织中有表达^[2]。近几年的研究证实, *DHRS7* 也同样具备 *DHRS* 基因家族在肝脏中的部分功能。Wang 等在小鼠肝脏切除三分之二后的再生过程中, 利用基因芯片技术对其基因表达情况进行分析, 其中 *DHRS7* 的表达水平上调最高, 为对照组的 968 倍^[3]。Xu 等在研究神经系统在大鼠肝脏部分切除后再生过程中也检测到了 *DHRS7* 的表达^[4]。*DHRS7* 也被证明与动物的糖代谢和脂肪合成关系密切, Lkhagvadori 等的研究表明, 当猪被禁饲高能食物后, 脂肪和肝脏组织中 *DHRS7* 的表达也随之下调^[5]。此外, 在参与糖尿病疾病形成的分子信号途径中, *DHRS7* 大约参与了其中 6 种不同的分子信号途径, 表明 *DHRS7* 在糖代谢中具有重要作用^[6]。以上研究提示, *DHRS7* 在动物肝脏, 尤其是在动物脂肪合成过程中扮演着重要的角色。

本实验室前期研究中, 通过添加脂肪酸诱导鹅肝细胞脂肪变性, 构建变性细胞与正常细胞消减抑制杂交文库(SSH library), 筛选获得鹅 *DHRS7* 基因 208 bp 的 EST(登录号: GW342925)片段, 且发现该基因在脂肪酸诱导细胞变性模型中的表达显著上升^[7], 提示该基因在鹅肝脂肪变性中可能也扮演着重要作用。目前, *DHRS7* 已经在人、老鼠等哺乳动物上获得了序列。人的 *DHRS7* 基因定位于第 14 号染色体, 共有 9 个外显子; 老鼠的 *DHRS7* 基因定位于第 12 号染色体, 共有 7 个外显子。目前, *DHRS7* 在鹅上还未见序列报道, 因此, 克隆鹅 *DHRS7* 基因全序列, 分析其序列特征及其表达特点是揭示该基因在鹅肝脂肪形成过程中的功能的第一步, 为今后深入研究 *DHRS7* 在鹅脂质代谢中的功能奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

试验所需的四川白鹅和朗德鹅由四川农业大学水禽育种场提供。其中, 在 *DHRS7* 组织表达的研究中, 选取同批孵化、相同条件下饲养的 60 日龄四川白鹅(*Anser cygnoides*)6 只。屠宰后, 每只取肝

脏、皮脂、腹脂、小肠、胸肌、腿肌、心脏、肾脏、大脑、性腺 10 个组织, 每个组织样品于液氮中速冻后-80℃保存, 按照 Trizol 试剂盒说明书取组织分别进行总 RNA 提取; 在填饲对鹅肝脏 *DHRS7* 表达影响的研究中, 选用 12 只朗德鹅(*Anser anser*)和 12 只四川白鹅(*Anser cygnoides*)公鹅作为实验群体。2 个品种都对对照组和填饲组, 14 周龄开始填饲, 根据单位体质量填饲等量饲料(平均 $25 \text{ g} \cdot (\text{d} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ BW})^{-1}$)对朗德鹅与四川白鹅进行填饲操作, 填饲 2 周。填饲期间单笼饲养, 整个饲养期间自由饮水。当填饲期结束时, 对填饲组与对照组的鹅称重, 整夜禁食, 自由饮水。第 2 天清早进行屠宰。屠宰放血后立即剖腹, 取肝组织块液氮速冻后于-80℃保存, 以备 RNA 抽提。

1.2 实验材料

Trizol 和总 RNA 反转录酶 M-MLV 购自美国 Invitroge 公司; Gel Extraction Kit 胶回收试剂盒购自 Omega 公司; pMD19-T 载体、Clontech 反转录试剂盒和反转录酶荧光定量 SYBR Green Realtime PCR Master Mix 购自大连 TaKaRa 公司; DH5 α 感受态细胞由本实验室自制。

1.3 试验方法

1.3.1 RACE 法扩增鹅 *DHRS7* 全序列 根据 SSH 文库获得的鹅 *DHRS7* 基因 EST 序列(登录号: GW342925)设计出 RACE 引物^[8](表 1), 由宝生物工程(大连)有限公司合成(PAGE 纯化)。试验所需的 RNA 采用 Trizol 参照试剂说明书提取自四川白鹅肝脏组织。所抽提高质量 RNA 经过 Clontech 反转录试剂盒获得用于 RACE 试验的 cDNA。RACE 50 μL 反应体系为: ddH₂O 34.5 μL , 10 \times Advantage 2 PCR Buffer 5 μL , dNTP Mix(10 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$) 1 μL , 50 \times Advantage 2 聚合酶 Mix 1.0 μL , RACE-Ready cDNA 2.5 μL , GSP 1.0 μL , UPM 5.0 μL ; 反应程序为: 94℃ 30 s, 72℃ 3 min 5 个循环; 94℃ 30 s, 2℃ 30 s, 72℃ 3 min, 5 个循环; 94℃ 30 s, 72℃ 30 s, 68℃ 3 min 共计 35 个循环。

用 Gel Extraction Kit 胶回收试剂盒回收目的片段, 将纯化后的 PCR 产物同 pMD19-T 载体连接并转化到 DH5 α 感受态细胞中, 挑取阳性克隆菌接种, 并进行摇床培养, 菌液 PCR 鉴定后挑选阳性克隆送至上海英骏生物技术有限公司测序。

表 1 鹅 *DHRS7* 基因 RACE 扩增的引物Table 1 The primers for amplifying geese *DHRS7* gene by RACE

引物名称 Name of primer	引物序列(5'-3') Primers information	退火温度/°C Annealing temperature
5'RACE	ATTTGCCCGTTTCTCCTTACTTCAGC	69.5
5'RACE 通用引物	CTAATACGACTCACTATAGGGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT	
3'RACE 通用引物	CTAATACGACTCACTATAGGGC	
3'RACE	GGGCTTGGTGGCTGATGAACAGAATG	71.6

1.3.2 不同组织 *DHRS7* 实时定量表达分析

总 RNA 反转录按照 M-MLV 反转录酶操作说明书进行,得到的 cDNA 置于 -20 °C 保存。本试验根据

鹅 *DHRS7* 基因的 CDS 序列设计荧光实时定量引物,引入 2 个内参基因 $\beta actin$ 和 18SrRNA。定量引物序列如表 2 所示。

表 2 实时定量引物序列

Table 2 Sequences of the primers for qRT-PCR

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer Sequence	片段大小/bp Fragment size	退火温度/°C Annealing temperature
<i>DHRS7</i>	F: TGGCTGATGAACAGAATG R: TTAGTACAAGTAGAGCAGGAAT	109	60
18SrRNA	F: TTGGTGGAGCGATTTGTC R: ATCTCGGGTGGCTGAACG	129	60
$\beta actin$	F: CAACGAGCGGTTTCAGGTGT R: TGGAGTTGAAGGTGGTCTCGT	92	60

1.3.3 填饲对 *DHRS7* 在鹅肝脏中表达的影响

提取保存样品总 RNA,并将反转录得到的 cDNA 置于 -20 °C 保存,同样以 18SrRNA 和 $\beta actin$ 2 个基因为内参,采用 SYBR-Green 法对 *DHRS7* 基因在填饲后四川白鹅和朗德鹅肝脏中的表达量进行定量分析。反应体系、引物序列及试验条件参照 1.3.2。

1.4 数据分析

测序结果经人工校正后,用 DNAMAN 进行序列拼接、同源性分析。同源性分析运用 DNASTAR 分析软件中的 MegAlign 程序,采用 Clustal W 方法进行比对。氨基酸保守结构与磷酸化位点分析通过 NCBI 的 CCD 工具(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>)。利用 NetPhos2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 预

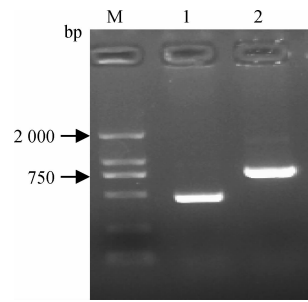
测 *DHRS7* 氨基酸序列存在的磷酸化位点。蛋白质跨膜区与二级结构的预测利用(http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html) 工具进行。用 HNN(http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_mlrc.html) 对鹅 *DHRS7* 氨基酸序列进行二级结构预测。实时定量结果用 Bio-Rad iQ5 软件的比较 Ct 法 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法) 进行分析计算^[9], 结果使用 SAS 程序包 GLM 程序进行显著性比较 ($P < 0.05$), 结果以“平均值 ± 标准误”形式表示。

2 结 果

2.1 鹅 *DHRS7* 基因的克隆与序列分析

通过 5'RACE 和 3'RACE 扩增反应获得了 2 个 RACE 产物片段,电泳检测结果如图 1 所示,3'

RACE 产物约 300 bp, 5' RACE 产物长约 900 bp, 与预期大小一致, 条带单一明亮。运用 DNASTAR 软件, 将 *DHRS7* 克隆测序结果拼接成一段总长度为 1 279 bp 的序列(图 2), 其中起始密码子前 25 个核苷酸为 5' UTR 区, 终止密码子后 243 个核苷酸为 3' UTR 调控区, 预测其开放阅读框长度为 1 011 bp, 有起始密码子 ATG 和终止密码子 TAA, 可编码 336 个氨基酸。对 *DHRS7* 的序列进行了同源性分析(表 3), 发现鹅 *DHRS7* 与鸡的同源性最高, 在核苷酸水平和氨基酸水平都高达 90% 以上。与鱼类的同源性次之, 与哺乳动物人和大鼠比较低, 与两栖类的同源性最低, 都在 60% 以上。



M. DNA 相对分子质量标准; 1. *DHRS7* 基因 3' RACE 产物; 2. *DHRS7* 基因 5' RACE 产物

M. DNA marker 2000; 1. 3' RACE products; 2. 5' RACE products

图 1 鹅 *DHRS7* 基因的 RACE 扩增

Fig. 1 Electrophoresis analysis of RACE products of goose *DHRS7* gene

```

CTGCAGCGCCGGGAGCAGGCAGCCATGGCGTGGGGCTGCGCGCTGTGCCAGCTGCTGGCGGGGGGAGCCCTCTGGCCC
TGCTGGTGACGTGGTCCGCTGGCTGCGGGCCGACGGCAGCTCACGCTGCTGTGGGCCAGTGGCGGGGAAGAAGCCA
GAAATGAACTGCGTGGAAGTTGTCTGGGTGACAGGAGCTTCAAGTGAATTGGAGAAGAGTTGGCCTACCAGTTGTC
AAAGATAGGAGCTTTGCTTGCCATCTCAGCAAGAAGAAGATGAACTGGAAAGAGTAAAAAAGAAATGCCTTCAAATCA
GCAACTTGACCGAAAAAGACATCCTTGTCTGCGTCTGGACTTGACTGATAGAAGCTCTCATGAAGTGAACCAACAGC
GTTATTAAGCATTTGGCAAGATTGATGTTTTGGTCAACAATGGTGGACGTCCCAACGCTCCCTGTTTATGGACACAAA
CCTAGACGCTACAGTGCATAATGAACTTAACCTACCTCGGCACGATCTCTAACAAGCAGTCCTGAAACACATGA
TTGAAAGGAAARAGGAAAGATTGTGACTGTGAGCAGCGTATGGGTATCATGGGAGCCCTCTTGCCCTGGGTACTGT
GCCAGCAAGCATGCTCTGCAGGGCTTTTTAATTCCCTTCGGACGGAGCTGACTGACTACCTGAGATAAGTATTATCAA
CATATGCCAGGACCTGTACAGTCTAAGATTATACAAAATGCTTTACGGAGAATCTTCAAAGTCACTAGAGAACAGCG
GCGACCAGTCCCAACAAGATGCCGACCGACCGCTGTGTCGGCTCACGCTGGTGAGCAGCAACCAACCTGAAGGAAGCC
TGGATCAGCGACACCCTACTGGCCAYCTGTACCTCTGGCAGTACGCGCCCACTTGGGCTTGGTGGCTGTGAAACAG
AATGGGCAAGAGGAGAATACAAAACCTTAAAGAGCGGCTGAGCGCTGTGCTCTTCTCTGAGGAAGCTGAAGTAAAGGAG
AAACGGGCAAAATCTCTGCTCTACTTGTGCTAATGCAGAGAGAACTTTTTACAGTTGCCTGACTGCAAGCAAAAAGCTTTT
TTTTTAATCTGTTGTACCATTTGTCATGTAACCTTGACAACCTCTATCAAGCTGTATACACACTTGGTGRAATAAAAAATC
AGTTTCTAAACATACCTGGTTTTAAAAATGTTTATACTTACACTAACTGAGTACAGAGACCAAGCATTGTAAAAAATC
    
```

单下划线分别为鹅 *DHRS7* 的 5' UTR 和 3' UTR 区域, 黑色加重字母代表鹅 *DHRS7* 最初的核苷酸 EST 序列
 The letters marked by a single underline represent the 5' UTR and 3' UTR, respectively, and the letters bold represent the initial first sequence region of goose *DHRS7*

图 2 鹅 *DHRS7* 基因 cDNA 序列

Fig. 2 The nucleotide sequence of goose *DHRS7* gene

表 3 鹅 *DHRS7* 与其他物种在核苷酸和氨基酸上的同源性

Table 3 Homology of goose *DHRS7* with other species at the nucleotide and amino acid levels

物种名(拉丁名)	核苷酸水平/%	氨基酸水平/%	GenBank 登录号
Species (<i>latin name</i>)	Nucleotide level	Amino acid level	GenBank number
鸡 (<i>Gallus gallus</i>)	90.1	92.6	XM_421423
斑马鱼 (<i>Ostariophysis</i>)	86.0	62.6	NM_001045346
人 (<i>Hominidae</i>)	69.5	67.6	NM_016029
大鼠 (<i>Murinae</i>)	63.9	65.2	NM_025522
非洲爪蛙 (<i>Pipidae Guenther</i>)	60.0	61.1	NM_001092315

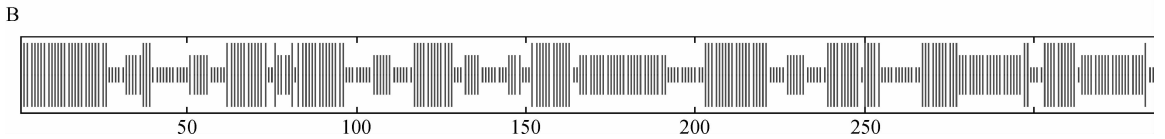
2.2 鹅 *DHRS7* 氨基酸序列的生物信息学分析

本研究对鹅 *DHRS7* 氨基酸序列的功能结构区域进行了预测,结果如图 3A 所示,鹅 *DHRS7* 在其氨基端存在 1 个跨膜区,约由 20 个氨基酸残基组成。在其暴露的 60~240 氨基酸残基位点处,存在 NADP 的结合位点。同时,预测发现鹅 *DHRS7* 存在 16 个磷酸化位点,分别在 Ser(10)、Tyr(3)和 Thr(3)残基上,表明鹅 *DHRS7* 存在着磷酸化调控。

A

```

MAWGCALCQLLAGGALLALLVQLVRWLRADGDLTLLWAEWRGKKPENELRGKVVVWTGASSGIGEEELAYQLSKIGALLAI
SARREDELERVKKKCLQISNLTEKDILVLRDLTDRSSHEAATNSVIKHFGKIDVLVNNNGGRSQRSLFMDTNLDVYSAIM
ELNYLGTISLTKHVLKHMIERKXGKI VTVSSVMGIMGAPLASGYCASKHALQGGFFNSLRTELTDYPEISINICPGVPVQS
KI IQNVFTENLSKSLENSGDQSHKMPTRDCRVRLTLVSTANNLKEAWISDHPYLAXCYLWQYAPTAWWLMNRMGRRIQN
FKSGVVDADASLRRLK.
  
```



A. 鹅 *DHRS7* 氨基酸残基的功能区域分析,其中单下划线代表跨膜区域;双下划线是 NADP 结合位点;黑体氨基酸残基代表磷酸化位点。B. 鹅 *DHRS7* 蛋白质的二级结构,图中长竖线代表 α 螺旋;中等长度竖线为无规则卷曲;短竖线为 β 折叠

A. The prediction of geese *DHRS7* functional motif, the amino acid with a single line represent the transmembrane region, with a double line represent the NADP binding sites, And amino acid residue with black and bold print represent the Phosphorylation sites. B. Secondary structure of geese *DHRS7*, long vertical represent the Alpha-helix, medium vertical represent the Random coil and the short vertical represent the Extended strand

图 3 鹅 *DHRS7* 氨基酸序列的生物信息分析

Fig. 3 Bioinformatics analysis of geese *DHRS7* amino acid sequence

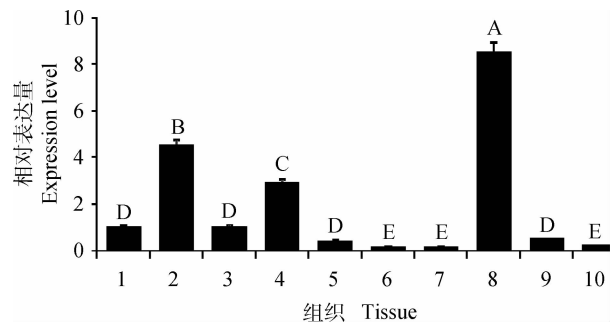
2.3 鹅不同组织 *DHRS7* 基因的表达

对四川白鹅不同组织 *DHRS7* 表达水平进行检测(图 4),发现, *DHRS7* 在肾脏中表达最高,显著高于在其他各组织中的表达水平($P < 0.05$);其次是在皮下脂肪、腹脂和肝脏中都有较高的表达;而在四川白鹅骨骼肌、心肌以及大脑和性腺中的表达量较低,其中在性腺、心脏和腿肌中的表达水平显著低于其他各组织中的表达($P < 0.05$)。

2.4 填饲对不同品种 *DHRS7* 表达的影响

为研究 *DHRS7* 在不同鹅种肝脏中的作用,检测了 *DHRS7* 在 2 个鹅品种肝脏中的表达差异,结果显示(图 5), *DHRS7* 在四川白鹅肝脏中的表达高于其在朗德鹅中的表达。填饲后, *DHRS7* 在 2 种鹅肝脏中的表达水平都显著上调($P < 0.05$),其中在朗德鹅肝脏中的表达水平上调最为明显,大约是其对照组表达水平的 10 倍,而填饲对 *DHRS7* 在四川白鹅中肝脏中的表达影响相对小些,约是对照组

表达水平的 2 倍左右。

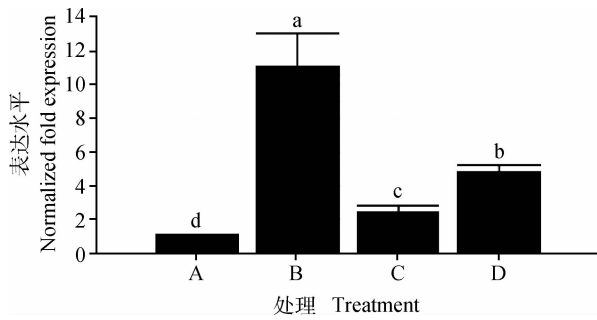


1-10 依次是:肝脏、皮脂、腹脂、小肠、胸肌、腿肌、心脏、肾脏、大脑和性腺。不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著

1-10 represent liver, sebum, abdominal fat, small intestine, breast muscle, leg muscle, heart, kidney, brain, gonad, respectively. Different alphabet represent significant difference at $P < 0.05$ level

图 4 *DHRS7* 在四川白鹅各组织中的表达

Fig. 4 Relative expression profile of *DHRS7* in different tissues and organs in Sichuan White geese



A. 朗德鹅对照组; B. 朗德鹅填饲组; C. 四川白鹅对照组; D. 四川白鹅填饲组。不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著

A. Landes geese control; B. Landes geese forced feeding group; C. Sichuan White geese control; D. Sichuan White geese forced feeding group. Different alphabet represent significant differences at $P < 0.05$ level

图5 填饲对 *DHRS7* 在肝脏中表达的影响

Fig. 5 Influences of forced feeding on expression of *DHRS7* in geese liver

3 讨论

本研究利用实验室前期获得的 *DHRS7* 的 EST 序列设计引物,通过 RACE 技术成功获得了鹅 *DHRS7* 基因 mRNA 全序列。所获得的鹅 *DHRS7* 序列经过物种间同源比对之后,发现与鸡 *DHRS7* 在氨基酸序列与核酸序列上的同源性都大于 90%,与人、大鼠、斑马鱼和非洲爪蛙都具有 60% 以上的同源性,说明 *DHRS7* 在鸟类、哺乳动物、鱼和两栖类中都较保守。这与 Albalat 等发现在物种进化过程中,*DHRS7* 及其连锁的几个基因在脊椎动物中高度保守的研究结果相一致^[10],也证明本研究获得的鹅 *DHRS7* 序列的正确性。

对鹅 *DHRS7* 氨基酸序列的进一步分析发现其具有 1 个跨膜区,1 个 NADP 的结合位点。揭示该蛋白可能与脂质代谢相关,与 *DHRS* 家族的酶通常催化 NAD(P)(H) 依赖的一系列底物包括多元醇、类视黄醇、类固醇、脂肪酸衍生物以及外源性化学物质的反应^[11] 的功能相适应。另外,鹅 *DHRS7* 也存在 16 个磷酸化位点,分别分布在 Ser(10)、Tyr(3) 和 Thr(3) 残基上。磷酸化位点主要参与蛋白质和其底物结合的调节作用,同时,鹅 *DHRS7* 的二级结构中以 α 螺旋为主, β 折叠和无规则卷曲分别占到 29.76% 和 28.87%,二级结构分布情况显示,在中段催化位置,有多个 α 螺旋和 β 折叠,这与 Filling 等发现的 *DHRS* 家族三维结构中 1 个非常典型的

保守结构域(Rossmann 卷曲,即 2 个 $\beta\alpha\beta$ 聚集体连在一起)形成的 $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ 的结构相吻合^[12]。据报道,*DHRS* 家族成员的核苷酸序列一致性很低,但是他们都无一例外拥有共同的互作因子结合位点基序(TGXXXGXC)和催化四分体位点(NSYK)^[12-13]。三维结构有一个非常典型的同源结构域,即 Rossmann 卷曲,2 个 $\beta\alpha\beta$ 聚集体连在一起,形成 $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ 结构^[8]。本研究证实,鹅 *DHRS7* 具有 *DHRS* 基因家族一致的基本结构,这可能成为鹅 *DHRS7* 保持 *DHRS* 基因家族基本功能的结构基础。

目前已经检测到人 *DHRS7* 在视网膜、骨骼肌、肝脏、心脏以及脂肪组织中有表达^[2]。本研究检测了在鹅不同组织和器官中 *DHRS7* 的表达,发现 *DHRS7* 除在上述组织有表达外,还在鹅的肾脏有较高水平的表达,其次在鹅不同的脂肪组织中(皮下脂肪和腹脂)也有较高水平的表达,提示鹅 *DHRS7* 与鹅肝脏功能以及脂肪代谢等有一定关系。为进一步确定 *DHRS7* 是否参与了鹅肝脏脂肪变性过程,检测了填饲后鹅肝脏中 *DHRS7* 的表达情况,研究发现,鹅填饲后肝脏中 *DHRS7* 的表达明显上调,与 Lkhagvadori 等的研究结果相一致^[5],说明 *DHRS7* 在动物肝脏和脂肪形成过程中具有重要作用。另外,生产上一般选用朗德鹅作为鹅肥肝填饲的品种,其填饲后产肝性能一般要优于四川白鹅。本研究中发现,朗德鹅填饲前后 *DHRS7* 表达水平的变化明显大于四川白鹅填饲前后 *DHRS7* 的表达变化。同时,本实验室前期通过构建脂肪酸诱导鹅肝细胞脂肪变性抑制消减杂交文库,筛选到 *DHRS7* 基因表达在脂肪酸诱导鹅肝细胞脂肪变性过程中显著上升^[7],与本研究结果仍一致,暗示该基因在鹅肝脂肪变性中可能扮演着重要作用。

4 结论

本试验以鹅 *DHRS7* 基因的 EST 片段为基础,运用 RACE 技术获得鹅 *DHRS7* 基因 mRNA 全序列 1 279 bp,含一个完整开放阅读框 1 011 bp,可编码 336 个氨基酸,还包括 25 bp 的 5'UTR 和 243 bp 的 3'UTR 调控区。该基因具有跨膜结构域以及 NADP 结合位点,具备 *DHRS* 基因家族的一般特点。*DHRS7* 在鹅肝脏和脂肪组织中都有较高表达,在填饲后的鹅肝脏中表达水平显著上调,表明 *DHRS7* 在鹅肝脂肪变性中可能扮演着重要作用。

参考文献:

- [1] PERSSON B, KALLBERG Y, BRAY J E, et al. The SDR (short-chain dehydrogenase/reductase and related enzymes) nomenclature initiative [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 178(1-3): 94-98.
- [2] HAESELEER F, PALCZEWSKI K. Short-chain dehydrogenases/reductases in retina [J]. *Methods Enzymol*, 2000, 316: 372-383.
- [3] WANG W B, FAN J M, ZHANG X L, et al. Serial expression analysis of liver regeneration-related genes in rat regenerating liver [J]. *Mol Biotechnol*, 2009, 43(3): 221-231.
- [4] XU C, ZHANG X, WANG G, et al. Role of the autonomic nervous system in rat liver regeneration [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2011, 31(4): 527-540.
- [5] LKHAGVADORI S, QU L, CAI W, et al. Gene expression profiling of the short-term adaptive response to acute caloric restriction in liver and adipose tissues of pigs differing in feed efficiency [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, 298(2): R494-R507.
- [6] RASCHE A, AL-HASANI H, HERWIG R. Meta-analysis approach identifies candidate genes and associated molecular networks for type-2 diabetes mellitus [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 310.
- [7] PAN Z, WANG J, KANG B, et al. Screening and identification of differentially expressed genes in goose hepatocytes exposed to free fatty acid [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(6): 1482-1492.
- [8] KAVANAGH K L, JORNVALL H, PERSSON B, et al. Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families: the SDR superfamily; functional and structural diversity within a family of metabolic and regulatory enzymes [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(24): 3895-3906.
- [9] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [10] ALBALAT R, BRUNET F, LAUDET V, et al. Evolution of retinoid and steroid signaling: vertebrate diversification from an amphioxus perspective [J]. *Genome Biol Evol*, 2011, 3: 985-1005.
- [11] BRAY J E, MARSDEN B D, OPPERMAN U. The human short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) superfamily: a bioinformatics summary [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 178(1-3): 99-109.
- [12] FILLING C, BERNDT K D, BENACH J, et al. Critical residues for structure and catalysis in short-chain dehydrogenases/reductases [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(28): 25677-25684.
- [13] JORNVALL H, PERSSON B, KROOK M, et al. Short-chain dehydrogenases/reductases (SDR) [J]. *Biochemistry*, 1995, 34(18): 6003-6013.

(编辑 郭云雁)