

DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201712027](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201712027)

牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因的克隆及在繁殖相关组织中的表达比较研究*

杨绕芬, 杨远潇, 王 琴, 蒲思颖, 字向东**
(西南民族大学 生命科学与技术学院, 四川 成都 610041)

摘要:【目的】孕激素受体膜组分 1 (*PGRMC1*) 在动物繁殖活动中有重要调节作用, 本研究旨在探讨牦牛 *PGRMC1* 基因的序列及其在生殖轴的组织表达特性。【方法】试验采集 5 头牦牛和 5 头黄牛的下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管和子宫, 以 GenBank 上已发布的普通牛 *PGRMC1* 基因序列设计引物, 采用 RT-PCR 方法克隆牦牛和黄牛的 *PGRMC1* 基因, 并使用相关的生物信息学软件对克隆所得序列进行分析; 采用 qRT-PCR 法检测该基因在牦牛和黄牛不同组织中的表达情况。【结果】结果得到牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因 cDNA 序列 (GenBank 登录号: MF803753 和 MF803754), 编码区 (CDS) 全长都为 585 bp, 编码 194 个氨基酸。其编码蛋白中含有 1 个 Cyt-b5 保守结构域。qRT-PCR 结果表明: *PGRMC1* 基因在牦牛和黄牛下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管和子宫都有表达, 牦牛和黄牛的垂体中的 *PGRMC1* 的表达差异显著 ($P<0.05$), 但在其他组织品种间差异不显著; 牦牛 *PGRMC1* 在卵巢和垂体的表达量显著高于其他组织 ($P<0.05$)。【结论】本研究提示 *PGRMC1* 基因可能在牦牛卵泡发育、发情、排卵等繁殖机能调控中发挥重要作用。

关键词: 牦牛; *PGRMC1* 基因; 克隆; 实时定量 PCR

中图分类号: S 823.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2018) 05-0877-07

Cloning of *PGRMC1* Gene and Comparative Analysis of Its Expression in Tissues Related to Reproduction between Yak and Cattle

YANG Raofen, YANG Yuanxiao, WANG Qin, PU Siying, ZI Xiangdong

(School of Life Science and Technology, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

Abstract: [Purpose] Progesterone receptor membrane component 1 (*PGRMC1*) plays important roles in regulation of animal reproduction, therefore, we aimed to study the sequence and expression characteristics of *PGRMC1* gene in yak. [Method] Hypothalami, pituitaries, ovaries, oviducts and uteri were collected from 5 female yaks and 5 cows. The primers were designed by using mRNA sequence of *Bos taurus PGRMC1* gene published in GenBank. The *PGRMC1* gene was cloned by RT-PCR and the sequences were analyzed by using related bioinformatics software. The expression levels of the gene in different tissues were detected by qRT-PCR. [Result] The cDNA sequences of *PGRMC1* gene (GenBank accession No.: MF803753 and MF803754) were cloned for yak and cattle, and the coding area (CDS) was 585 bp in length, encoding 194 amino acids. The encoding protein

收稿日期: 2017-12-19

修回日期: 2018-03-26

网络出版时间: 0018-10-15

*基金项目: 西南民族大学研究生创新型科研项目 (CX2017SZ077)。

作者简介: 杨绕芬 (1994—), 女, 云南祥云人, 硕士研究生, 主要从事动物养殖研究。E-mail: 1724261034@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 字向东 (1963—), 男, 云南云龙人, 硕士, 教授, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: zixd2000@yahoo.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201712027](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201712027)

contained a Cyt-b5 conserved domain. The results of qRT-PCR analysis showed that *PGRMC1* gene was expressed in the hypothalamus, pituitary, ovary, oviduct and uterus of yak and cattle. The expression of *PGRMC1* in the pituitary was significantly different ($P<0.05$) between yak and cattle, but there was no difference in other tissues between these two species. The expression levels of *PGRMC1* in ovary and pituitary of yak were significantly higher than that in other tissues of yaks ($P<0.05$). [Conclusion] The result indicated that *PGRMC1* gene may play an important role in the yak reproduction of follicular development, estrus and ovulation.

Keywords: yak; *PGRMC1* gene; cloning; real-time quantitative PCR

孕激素受体膜组分 1 (progesterone receptor membrane component 1, *PGRMC1*) 属于小分子蛋白。目前在脊椎动物中已鉴定出了两种 *PGRMCs* 亚型 (*PGRMC1* 和 *PGRMC2*), 其中研究较多的是 *PGRMC1*, 二者均属于膜相关孕激素受体家族成员。*PGRMC1* 在进化上保守, 参与抑制缺乏孕激素受体 (progesterone receptor, *PGR*) 的子宫内膜癌细胞的有丝分裂和凋亡^[1]、哺乳动物颗粒细胞的有丝分裂和卵母细胞的减数分裂^[2], 介导卵巢颗粒细胞中孕酮的抗凋亡活动^[3]等许多重要的细胞过程。

PGRMC1 对动物繁殖活动有重要调节作用。在多囊卵巢综合征^[4]或卵巢早衰中 *PGRMC1* 水平降低^[4-5]; 相反, *PGRMC1* 过表达的女性接受促性腺激素刺激卵泡发育获得的大卵泡和回收到的卵子都少^[6]。在不育患者卵巢的颗粒/黄体细胞内检测到 *PGRMC1* 的水平升高。这些结果说明 *PGRMC1* 在调节妇女卵巢正常功能中发挥重要的作用。迄今为止, 已经检测到 *PGRMC1* 在人^[7]、大鼠^[8]、猴子^[9]、牛^[10-11]和绵羊^[12]的卵巢中表达丰度高。*PGRMC1* 主要在卵泡膜细胞、卵巢上皮细胞、颗粒细胞和卵母细胞的质膜和细胞质中表达^[8], 这种表达模式与 *PGRMC1* 在颗粒细胞中作为孕酮作用的中介体是一样的。LUCIANO 等^[11]通过卵母细胞的蛋白表达和共定位等研究发现: *PGRMC1* 可以直接参与调节卵母细胞的生存和功能, 并在染色体分离机制中起重要作用; 相反, 在牛的卵母细胞注射 *PGRMC1* 抗体会影响卵母细胞的正常成熟, 并导致染色体异常分离, 进一步证实了 *PGRMC1* 在卵母细胞成熟中的重要调节作用。*PGRMC1* 参与哺乳动物颗粒细胞的有丝分裂和卵母细胞的减数分裂, 如果抑制 *PGRMC1* 的表达, 则影响颗粒细胞的增殖与卵母细胞的成熟分裂^[2]。另外, 已有研究表明 *PGRMC1* 参与哺乳动

物精子的顶体反应, 并介导卵巢颗粒细胞中孕酮的抗凋亡活动^[3]; PETERSEN 等^[13]研究显示: *PGRMC1* 在哺乳类前腹侧的室旁核 (anteroventral periventricular nucleus, AVPV) 区域表达量很高, 而雌激素受体和雌二醇应答元件大量存在于区域, 暗示着 *PGRMC1* 在 AVPV 区域参与调节哺乳动物的发情活动。

牦牛 (*Bos grunniens*) 是青藏高原及其毗邻地域不可替代的重要畜种, 其提供的肉、乳等畜产品是当地人民赖以生存的生产资料和生活资料。但是, 牦牛繁殖率低 (40%~60%), 且受营养、气候、光照等环境季节性不平衡的影响, 牦牛的繁殖活动也呈现明显的季节变化差异, 是典型的季节性繁殖动物。母牦牛集中在每年 7—9 月发情配种, 翌年 4—6 月产犊^[14]。关于牦牛 *PGRMC1* 基因的研究尚未见报道, 因此, 本研究以常年发情的黄牛和季节性发情的牦牛为研究对象, 对其 *PGRMC1* 基因进行 cDNA 克隆, 并利用 qRT-PCR 技术检测两物种下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管和子宫中 *PGRMC1* mRNA 的表达量, 为深入研究 *PGRMC1* 对牦牛繁殖活动的调控机理提供基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集

在四川广汉市向阳屠宰场选取 5 头母牦牛和 5 头母黄牛, 均为四川省阿坝州天然草地放牧肥育的母牛, 年龄 5 岁左右、二胎经产未孕母牛, 屠宰后立即采集下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管、子宫等组织, 分别放入冷冻管后投入到液氮罐中保存。

1.2 主要试剂

Trizol 为 Invitrogen(美国) 产品, DNA Marker DL2000 和 2×Taq PCR MasterMix 为上海天根生

物科技有限公司产品, DH5 α 感受态细胞是康迪生物技术有限公司产品; 克隆载体 pMD-19Vector、IPTG、X-Gal、氨苄青霉素均为大连宝 TaKaRa 生物工程有限公司产品; Bestar[®] qPCR mastermix (SYBR Green) 试剂为 DBI Bioscience 产品, 反转录试剂盒为 Fermentas (MBI) 公司产品; DNA 凝胶回收试剂盒 Axygen (北京) 公司产品。

1.3 总 RNA 的提取和 cDNA 第一链的合成

采用 Trizol 法提取 5 头牦牛和黄牛 5 种组织(下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管和子宫)的总 RNA。用反转录试剂盒 (Fermentas, MBI) 进行 cDNA 第一链的合成。

表 1 牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因克隆引物序列

Tab. 1 Primers used in *PGRMC1* cloning of yak and cattle

基因 gene	引物序列 (5'→3') primer sequences	扩增产物长度/bp product size	登录号 accession No.
<i>PGRMC1</i>	F: GCCCAACCTTTGCTCCAG R: CCCCTCGCATGTCCAATC	1 404	NM_001075133

1.5 *PGRMC1* 基因的克隆和测序

根据《分子克隆实验指南》(第四版)^[15]的程序进行牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因的克隆、鉴定。基因测序由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司完成。

1.6 *PGRMC1* 基因的生物信息学分析

用 NCBI 在线程序 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 进行 ORF 查找, 确定编码区, 并将编码区翻译成氨基酸序列; ProtParam 程序 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 分析蛋白的一级结构, 理化参数 (分子量、等电点、分子式等); ProtScal 在线程序 (<http://expasy.org/tools/prot-scale.html>) 分析蛋白疏水性; TMHMM 2.0 Server 程序 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 进行跨膜区预测; SMART 在线程序 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 分析结构域; SignalP 4.1 Server 程序 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 预测信号肽; 用 PredictProtein 程序 (<http://www.predictprotein.org/>) 在线预测 *PGRMC1* 蛋白二级结构; 通过 Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) 预测 *PGRMC1* 蛋白分子的三级结构; 通过 DNAMAN 软件对相关物种的 *PGRMC1* 基因序列进行序列对比和同源性比对, 利用 MEGA 6.0 生物软件构建氨基酸系统发生树。

1.7 qRT-PCR 扩增

根据本研究测序得到的牦牛 *PGRMC1* 基因

1.4 引物设计和 PCR 扩增

在 GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NM_001075133) 下载公布的普通牛 *PGRMC1* mRNA 序列 (登录号: NM_001075133), 利用 Primer Premier 5 设计的牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因克隆引物 (表 1)。引物由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成。PCR 反应体系为 25 μ L: cNDA 1.0 μ L, Premix TaqTM DNA 聚合酶 12.5 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 1.0 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 63.5 $^{\circ}$ C/58.8 $^{\circ}$ C (牦牛/黄牛) 退火 35 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 120 s, 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。

序列设计定量引物, 内参基因为 *GAPDH*, 引物序列见表 2。引物由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成。采用 qRT-PCR 检测黄牛和牦牛的下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管、子宫中的 *PGRMC1* 基因的表达。qRT-PCR 反应体系为 15 μ L: SYBR[®] Premix Ex TaqTM II 7.5 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.5 μ L, cNDA 1.0 μ L, 最后 ddH₂O 5.5 μ L 补至 15 μ L; PCR 扩增条件为: 95 $^{\circ}$ C 3 min, 95 $^{\circ}$ C 10 s, 57 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环。每个样本进行 3 次重复, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对定量结果进行分析。

表 2 *PGRMC1* 基因定量引物序列

Tab. 2 *PGRMC1* primers for qPCR

基因 gene	引物序列 (5'→3') primer sequences	扩增产物长度/bp product size
<i>PGRMC1</i>	F: GCCCTATGGAGTCTTTGCTG R: GAGGTCGGAAGGTCATCGT	103
<i>GAPDH</i>	F: CACCCTCAAGATTGTCAGC R: CTTCTGGGTGGCAGTGAT	217

1.8 统计学分析

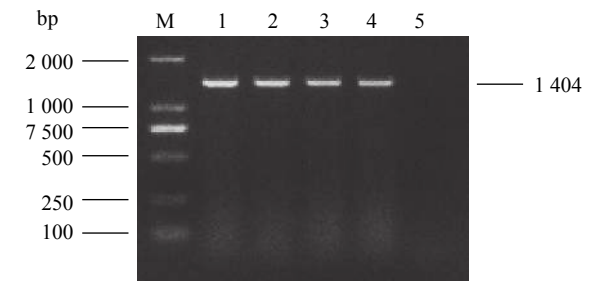
同一组织在两个物种之间的显著性差异用 *t* 检验, 不同组织间的显著性差异用单因子方差分析检验。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增结果

用所合成的引物对牦牛和黄牛基因组 DNA

进行扩增，PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。结果 (图 1) 表明：PCR 产物条带清晰明亮，将其切胶回收并进行克隆测序得到 1 条长度为 1 404 bp 的序列片段，将该序列与 GenBank 中普通牛的 *PGRMC1* 基因进行同源比对，发现二者之间氨基酸序列的同源性高达 98.97%，确定为牦牛 *PGRMC1* 基因序列。将牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因序列提交给 GenBank，登录号分别为 MF803753 和 MF803754。



注：M. DNA Marker DL2000; 1, 2. 牦牛 *PGRMC1* 基因; 3, 4. 黄牛 *PGRMC1* 基因; 5. 阴性对照。
Note: M. DNA Marker DL2000; 1, 2. yak *PGRMC1* gene; 3, 4. cattle *PGRMC1* gene; 5. negative control.

图 1 *PGRMC1* 基因 PCR 产物电泳检测

Fig. 1 Electrophoresis results of *PGRMC1* PCR product

2.2 *PGRMC1* 基因的序列分析

用 DNAMAN 软件对测序所得序列进行比对与拼接，获得黄牛和牦牛的 *PGRMC1* 基因序列，用 NCBI ORF Finder 查找其 ORF，编码区均长 585 bp，编码 194 个氨基酸，两个物种基因只有一处碱基不同：第 397 位黄牛碱基为 G，而牦牛为 A，但并未导致氨基酸的差异。通过 DNAMAN 分析黄牛和牦牛与其他物种的 *PGRMC1* 氨基酸序列同源性，结果表明牦牛与黄牛、普通牛 (NM_001075133)、绵羊 (NM_001308580)、野猪 (NM_213911)、马 (XM_001914705)、小家鼠 (NM_016783)、灰仓鼠 (XM_007611979) 和人 (NM_001282621) 氨基酸序列的同源性分别为 98.9%、98.97%、97.95%、96.41%、95.38%、93.85%、68.21% 和 69.23% (图 2)。

2.3 *PGRMC1* 基因的进化关系分析

利用 Clustal X、MEGA 6.0 对相应物种的 *PGRMC1* 氨基酸序列进行多序列一致性对比，计算出遗传距离，并构建基因 neighbor-joining (NJ) 系统发生树 (图 3)。该聚类反应图中可以看出：普通牛与黄牛首先聚为一小类，再与牦牛聚为一类，

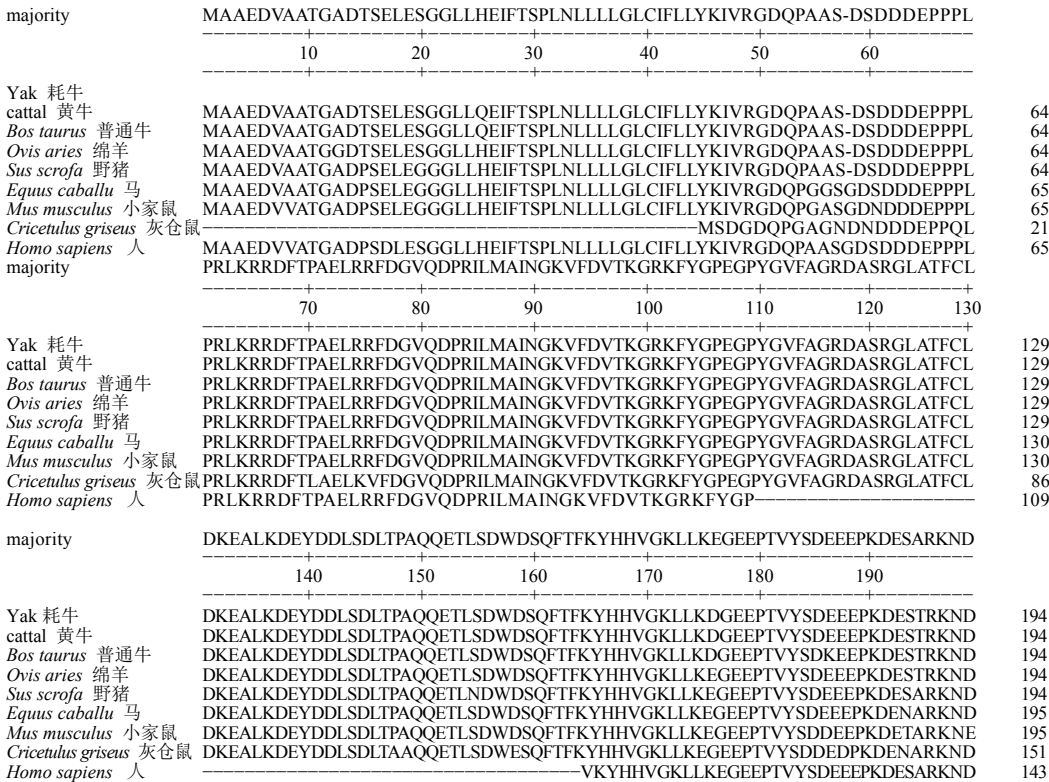


图 2 牦牛与其他物种 *PGRMC1* 基因氨基酸序列对比

Fig. 2 Amino acid sequence alignment of *PGRMC1* gene between yaks and other species

再次与绵羊、马、灰仓鼠、小家鼠、野猪聚为一类、最后与人聚为一类。系统发生树的结果与氨

基酸同源性比对结果一致,符合哺乳动物分类学的结果。

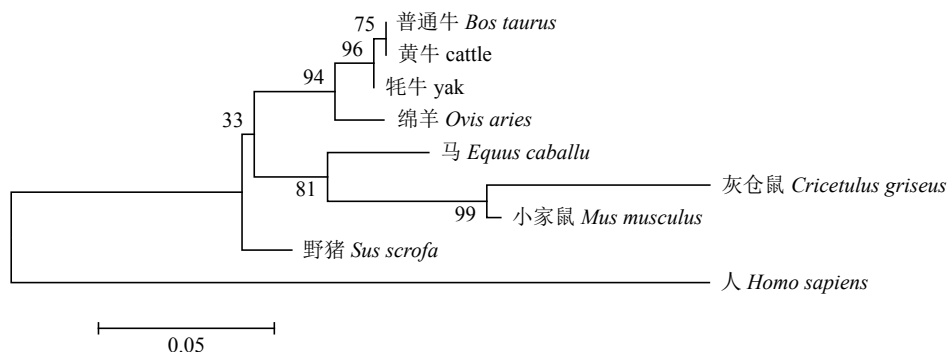


图3 *PGRMC1* 基因氨基酸序列的系统发生树

Fig. 3 The phylogenetic tree of yak *PGRMC1* deduced amino acid

2.4 牦牛 *PGRMC1* 蛋白性质分析

ProtParam 程序分析结果显示: *PGRMC1* 蛋白分子式为 $C_{957}H_{1485}N_{253}O_{310}S_4$; 相对分子质量为 21 623.07; 理论等电点为 4.48; 在哺乳动物红细胞中的半衰期为 30 h; 不稳定指数为 47.81, 属不稳定蛋白; 脂肪系数为 75.46; 平均亲水系数均为 -0.604, 预测 *PGRMC1* 蛋白为亲水蛋白; TMHMM 2.0 Server 程序来预测跨膜区, 发现在 N 端 20~42 位氨基酸残基之间存在 1 个跨膜区域; SMART 在线软件分析牦牛 *PGRMC1* 蛋白的结构域, 结果发现其在 72~170 位氨基酸位置有 1 个 Cyt-b5 结构域, 另外在 51~71 位氨基酸残基位置有 1 个低密度区域; SignalP 4.1 Server 程序预测信号肽, 结果显示没有信号肽。

用 PredictProtein 程序在线预测 *PGRMC1* 蛋白二级结构: 该蛋白包括 α 螺旋 (61 个氨基酸)、延伸链 (24 个氨基酸) 和无规卷曲 3 种模块, 分别占靶蛋白的 31.44%、12.37% 和 56.19%。通过 Phyre2 预测 *PGRMC1* 蛋白分子的三级结构 (图 4), 得到 *PGRMC1* 靶标蛋白, 其残基建模覆盖率 57%, 置信度为 100%。

2.5 *PGRMC1* 基因的组织表达分析

以内参基因 *GAPDH* 作为参照, 利用 qTR-PCR 检测 *PGRMC1* 基因在牦牛和黄牛组织中的表达情况, 结果发现 *PGRMC1* 基因在牦牛下丘脑、垂体、卵巢、子宫和输卵管均有表达 (图 5); 牦牛和黄牛的垂体中的 *PGRMC1* 的表达差异显著 ($P < 0.05$), 而两个物种在卵巢、下丘脑、输卵管和子宫中的表达差异不显著 ($P > 0.05$); 牦牛卵巢和垂体中 *PGRMC1* 的相对表达水平显著高于

其他组织 ($P < 0.05$)。牦牛 *PGRMC1* 基因的组织表达特性基本与黄牛一致。

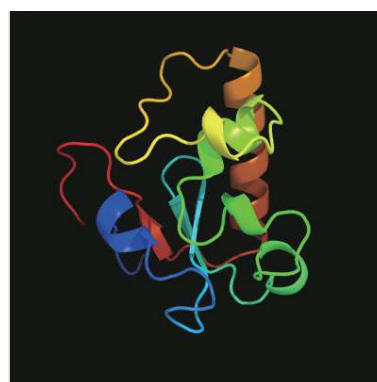
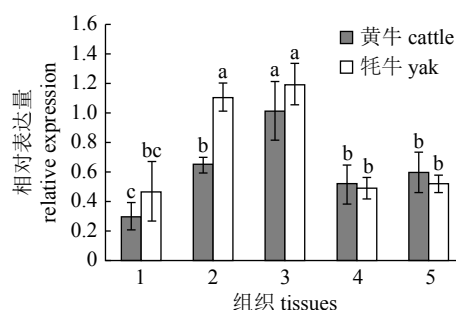


图4 *PGRMC1* 蛋白三级结构

Fig. 4 Three dimensional structure of *PGRMC1* protein



注: 1. 下丘脑, 2. 垂体, 3. 卵巢, 4. 输卵管, 5. 子宫; 相同字母代表差异不显著 ($P > 0.05$), 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: 1. hypothalamic, 2. pituitaries, 3. ovaries, 4. oviducts, 5. uteri; The same letters represent the difference was not significant ($P > 0.05$); different letters represent significant differences ($P < 0.05$).

图5 *PGRMC1* 基因在牦牛和黄牛不同组织中的相对表达量 (mean±SE)

Fig. 5 The expression level of yak and cattle *PGRMC1* gene in different tissues (mean±SE)

3 讨论

本研究运用 RT-PCR 技术首次成功克隆出 *PGRMC1* 基因的 cDNA 全长序列, 生物信息学分析 *PGRMC1* 编码 194 个氨基酸, 分子量为 21 623.07, 平均亲水系数为 -0.604, 推测该蛋白具有亲水性, 不稳定指数为 47.81, 属于不稳定蛋白, TM-HMM 2.0 Server 程序进行跨膜区预测, 结果表明在 N 端存在 1 个跨膜区域, 位置在 20~42 位氨基酸残基之间。该研究结果与高磊等^[12]对绵羊的研究结果基本一致。

含有 Cyt-b5 结构域的 *PGRMC1* 与血红素结合有助于其功能^[16]。已有研究表明: 含 Cyt-b5 结构域蛋白质结合并调节细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP) 蛋白质, 血红素依赖性单加氧酶参与异生体解毒、固醇和类固醇生物合成以及药物代谢^[17]。*PGRMC1* 的疏水性血红素结合口袋受到突变的 2 个保守酪氨酸 (Y107 和 Y113) 残基的影响^[18], 而突变位置 120 上的保守天冬氨酸残基导致 *PGRMC1* 中的甘氨酸 (D120G) 丧失血红素结合能力^[16], 血红素结合缺陷型突变体 *PGRMC1* (D120G) 降低了多柔比星和喜树碱中 MDA-MB-231 乳腺癌细胞的存活率^[16], 表明 *PGRMC1* 在调节化疗药物易感性方面具有血红素结合能力。本研究中牦牛 *PGRMC1* 蛋白含有 1 个 Cyt-b5 结构域, 预测牦牛的 *PGRMC1* 蛋白也会与血红素结合并调节 CYP, 并影响牦牛的繁殖活动。

氨基酸序列同源性比对结果表明: *PGRMC1* 基因与各物种间的同源性较高, 基因在各物种间具有较高的保守性。牦牛与黄牛的 *PGRMC1* 基因序列的同源性最高达 100%, 反映了牦牛与黄牛的亲缘关系最近, 其次是普通牛、绵羊和野猪等, 与牦牛亲缘关系最远的是人。从 *PGRMC1* 系统发育树可以看出: 牦牛先与牛聚为一支, 再与绵羊聚为一支, 最后与人聚为一支, 再次证明了 *PGRMC1* 序列在不同物种间呈高度保守。

PGRMC1 在卵巢、子宫、输卵管^[11]以及下丘脑^[19]中都有表达。本研究通过实时荧光定量 PCR 检测 *PGRMC1* mRNA 在牦牛和黄牛不同组织的表达水平, 显示 *PGRMC1* mRNA 在下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管和子宫中均有表达, 而在卵巢和垂体中的表达量高。该研究结果与对牛^[11]和

绵羊^[12]的研究结果基本一致。在卵巢中, *PGRMC1* 在牛卵母细胞的蛋白表达和共定位研究等表明: *PGRMC1* 可以直接参与调节卵母细胞的存活和功能, 并在染色体分离机制中起重要作用^[11]。*PGRMC1* 作为颗粒细胞中孕酮 (progesterone, P4) 的受体起作用, 改变其表达会导致生殖能力受损^[20]。*PGRMC1* mRNA 和蛋白质在母牛发情期和妊娠期的不同阶段的黄体中的表达量不同, 说明 P4 可能通过 *PGRMC1* 调节黄体功能^[10]。PE-LUSO 等^[20]发现: P4 通过抑制 *PGRMC1* 与 TCF/LEF (T 细胞特异性转录因子/淋巴增强因子) 转录位点的结合来调节基因表达, 从而降低 TCF/LEF 转录活性。由于 TCF/LEF 转录位点位于启动有丝分裂和/或细胞凋亡的基因的启动子内, 因此, P4-*PGRMC1* 介导的对这些 TCF/LEF 调节基因的抑制导致 P4 的抗凋亡作用。不同绵羊品种间生殖轴组织基因表达水平存在一定差异, 无论是发情期还是乏情期, 常年发情的多浪羊子宫、卵巢和松果体中 *PGRMC1* mRNA 水平均高于同期的季节性发情的中国美利奴羊^[12]。但本研究发现: 季节性发情的母牦牛和常年发情的黄牛除垂体中的 *PGRMC1* 的表达差异显著外, 在卵巢、下丘脑、输卵管和子宫中的表达差异均不显著。在大鼠脑的研究表明: 下丘脑的一些细胞核中 *PGRMC1* mRNA 表达量最高^[19], 说明 *PGRMC1* 在大鼠下丘脑神经内分泌调控中发挥重要作用。*PGRMC1* 在输卵管上皮层、肌层和基质层中表达, P4 通过介导 *PGRMC1* 调节输卵管的功能^[21]。牦牛卵巢和垂体中 *PGRMC1* 的相对表达水平显著高于其他组织, 说明该基因可能在调节卵泡发育、排卵、发情和激素分泌等卵巢和垂体机能中发挥重要作用。

4 结论

本研究克隆得到牦牛和黄牛 *PGRMC1* 基因 cDNA 序列, 编码区 (CDS) 全长为 585 bp, 编码 194 个氨基酸。*PGRMC1* 基因在牦牛和黄牛下丘脑、脑垂体、卵巢、输卵管和子宫都有表达, 且在卵巢和垂体中的表达量高。提示 *PGRMC1* 基因可能对卵泡发育与发情排卵等繁殖机能发挥重要调节作用。

[参考文献]

- [1] FRIEL A M, ZHANG L, PRU C A, et al. Progesterone receptor membrane component 1 deficiency attenuates growth while promoting chemosensitivity of human endometrial xenograft tumors[J]. Cancer Letters, 2015, 356(2 Pt B): 434. DOI: [10.1016/j.canlet.2014.09.036](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.09.036).
- [2] TERZAGHI L, TESSARO I, RAUCCI F, et al. PGRMC1 participates in late events of bovine granulosa cells mitosis and oocyte meiosis[J]. Cell cycle, 2016, 15(15): 2019. DOI: [10.1080/15384101.2016.1192731](https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1192731).
- [3] PELUSO J J, ROMAK J, LIU X. Progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) is the mediator of progesterone's antiapoptotic action in spontaneously immortalized granulosa cells as revealed by PGRMC1 small interfering ribonucleic acid treatment and functional analysis of PGRMC1 mutations[J]. Endocrinology, 2008, 149(2): 534. DOI: [10.1210/en.2007-1050](https://doi.org/10.1210/en.2007-1050).
- [4] SCHUSTER J, KARLSSON T, KARLSTRÖM P O, et al. Down-regulation of progesterone receptor membrane component 1 (PGRMC1) in peripheral nucleated blood cells associated with premature ovarian failure (POF) and polycystic ovary syndrome (PCOS)[J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2010, 8: 58. DOI: [10.1186/1477-7827-8-58](https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-58).
- [5] MANSOURI M R, SCHUSTER J, BADHAI J, et al. Alterations in the expression, structure and function of progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) in premature ovarian failure[J]. Human Molecular Genetics, 2008, 17(23): 3776. DOI: [10.1093/hmg/ddn274](https://doi.org/10.1093/hmg/ddn274).
- [6] ELASSAR A, LIU X, SCRANTON V, et al. The relationship between follicle development and progesterone receptor membrane component-1 expression in women undergoing *in vitro* fertilization[J]. Fertility and Sterility, 2012, 97(3): 572. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2011.12.026](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.12.026).
- [7] ENGMANN L, LOSEL R, WEHLING M, et al. Progesterone regulation of human granulosa/luteal cell viability by an RU486-independent mechanism[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2006, 91(12): 4962. DOI: [10.1210/jc.2006-1128](https://doi.org/10.1210/jc.2006-1128).
- [8] PELUSO J J, PAPPALARDO A, LOSEL R, et al. Progesterone membrane receptor component 1 expression in the immature rat ovary and its role in mediating progesterone's antiapoptotic action[J]. Endocrinology, 2006, 147(6): 3133. DOI: [10.1210/en.2006-0114](https://doi.org/10.1210/en.2006-0114).
- [9] BISHOP C V, SATTERWHITE S, XU L, et al. Microarray analysis of the primate luteal transcriptome during chorionic gonadotrophin administration simulating early pregnancy[J]. Molecular Human Reproduction, 2012, 18(4): 216. DOI: [10.1093/molehr/gar073](https://doi.org/10.1093/molehr/gar073).
- [10] KOWALIK M K, REKAWIECKI R, KOTWICA J. Expression and localization of progesterone receptor membrane component 1 and 2 and serpine mRNA binding protein 1 in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and the first trimester of pregnancy[J]. Theriogenology, 2014, 82(8): 1086. DOI: [10.1016/j.theriogenology.2014.07.021](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.07.021).
- [11] LUCIANO A M, CORBANI D, LODDE V, et al. Expression of progesterone receptor membrane component-1 in bovine reproductive system during estrous cycle[J]. European Journal of Histochemistry, 2011, 55(3): e27. DOI: [10.4081/ejh.2011.e27](https://doi.org/10.4081/ejh.2011.e27).
- [12] 高磊, 沈敏, 甘尚权, 等. 绵羊 PGRMC1 蛋白的 cDNA 克隆、序列分析及组织表达[J]. 农业生物技术学报, 2016, 24(1): 52. DOI: [10.3969/j.issn.1674-7968.2016.01.007](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7968.2016.01.007).
- [13] PETERSEN S L, OTTEM E N, CARPENTER C D. Direct and indirect regulation of gonadotropin-releasing hormone neurons by estradiol[J]. Biology of Reproduction, 2003, 69(6): 1771. DOI: [10.1095/biolreprod.103.019745](https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.019745).
- [14] ZI X D. Reproduction in female yaks (*Bos grunniens*) and opportunities for improvement[J]. Theriogenology, 2003, 59(5/6): 1303. DOI: [10.1016/S0093-691X\(02\)01172-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01172-X).
- [15] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. Molecular cloning: a laboratory manual[M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [16] CRUDDEN G, CHITTI R E, CRAVEN R J. Hpr6 (heme-1 domain protein) regulates the susceptibility of cancer cells to chemotherapeutic drugs[J]. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2006, 316: 448.
- [17] NEBERT D W, RUSSELL D W. Clinical importance of the cytochromes P450[J]. Lancet, 2002, 360(9340): 1155. DOI: [10.1016/S0140-6736\(02\)11203-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11203-7).
- [18] MIN L, STRUSHKEVICH NV, HARNASTAI I N, et al. Molecular identification of adrenal inner zone antigen as a heme-binding protein[J]. The FEBS journal, 2005, 272(22): 5832. DOI: [10.1111/j.1742-4658.2005.04977.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04977.x).
- [19] INTLEKOFER K A, PETERSEN S L. Distribution of mRNAs encoding classical progesterone receptor, progesterone membrane components 1 and 2, serpine mRNA binding protein 1, and progesterone and ADIPOQ receptor family members 7 and 8 in rat forebrain[J]. Neuroscience, 2011, 172: 55. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2010.10.051](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.10.051).
- [20] PELUSO J J, PRU J K. Non-canonical progesterone signaling in granulosa cell function[J]. Reproduction, 2014, 147(5): R169. DOI: [10.1530/REP-13-0582](https://doi.org/10.1530/REP-13-0582).
- [21] SAINT-DIZIER M, SANDRA O, PLOYART S, et al. Expression of nuclear progesterone receptor and progesterone receptor membranecomponents 1 and 2 in the oviduct of cyclic and pregnant cows during the post-ovulation period[J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2012, 10: 76. DOI: [10.1186/1477-7827-10-76](https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-76).

责任编辑: 何承刚