引文格式：吴宇, 王荣平, 朱伟, 等. 牛科物种 *THRSP* 基因的分子特征及功能比较分析[J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2024, 39(1): 74−87. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202303006

牛科物种 *THRSP* 基因的分子特征及功能比较分析*

吴　宇[1,2#]，王荣平[3#]，朱　伟[1,2]，范新阳[1,2]，滕晓红[1,2]，苗永旺[1,2**]
(1. 云南农业大学 动物科学技术学院，云南 昆明 650201；
2. 云南农业大学 动物遗传育种研究所，云南 昆明 650201；
3. 云南农业职业技术学院 畜牧兽医学院，云南 昆明 650212)

摘要:【目的】探究牛科物种 *THRSP* 基因的序列特征、功能差异及系统发育关系。【方法】从 NCBI 和 Ensembl 数据库下载常见牛科物种和非牛科物种的 *THRSP* 基因及其编码产物的氨基酸序列，进一步利用比较基因组学和生物信息学方法对所得数据进行比较分析。【结果】牛科物种 *THRSP* 基因转录区的结构相似，编码序列一致性高 (93.2%~96.9%)，但非翻译区和内含子差异较大。牛科 THRSP 蛋白均为亲水性核蛋白，无跨膜区和信号肽，都包含 1 个 Spot_14 或 Spot_14 超家族保守结构域，其参与的生物学路径主要与脂类的生物合成有关，分子功能主要与脂肪酸合酶活性和蛋白同源二聚化活性相关。与牛科 THRSP 互作的蛋白质主要与脂肪酸的合成和 β-氧化、蛋白质代谢和转运、跨细胞膜或细胞器的物质转运、溶酶体与吞噬体的融合等生物学过程有关。牛科 THRSP 蛋白的氨基酸组成、理化特性、基序组成模式、保守结构域、功能修饰位点和高级结构高度相似，但表现出属间差异。系统发育分析表明：牛科物种同属动物间 THRSP 蛋白的亲缘关系更近。【结论】牛科物种 *THRSP* 序列和结构一致性高、功能相似，是一种在细胞核中发挥功能作用的亲水蛋白，推测其参与牛科物种脂合成的调节。

关键词: 牛科物种；*THRSP* 基因；分子特征；功能；生物学路径
中图分类号: S823.2　　**文献标志码:** A　　**文章编号:** 1004–390X (2024) 01−0074−14

Comparison Analysis of Molecular Characteristics and Functions of *THRSP* Gene in Bovidae

WU Yu[1,2]，WANG Rongping[3]，ZHU Wei[1,2]，FAN Xinyang[1,2]，TENG Xiaohong[1,2]，MIAO Yongwang[1,2]
(1. Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Animal Genetics and Breeding Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Department of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural College of Vocational Education, Kunming 650212, China)

Abstract: ［**Purpose**］To explore the sequence characteristics, functional differences and phylogenetic relationships of *THRSP* gene in Bovidae species. ［**Methods**］The sequences of *THRSP* gene and its encoded product in common species of Bovidae and in some species of non-Bovidae were downloaded from NCBI and Ensembl databases, and the obtained sequences were further compared and

收稿日期：2023-03-08　　修回日期：2024-01-18　　网络首发日期：2024-02-28
*基金项目：国家自然科学基金项目 (32260822，31760659)；云南省重大科技专项计划项目 (202202AE090005)。
作者简介：#对本文贡献等同，为并列第一作者。吴宇 (1996—)，女，云南昭通人，在读硕士研究生，主要从事动物分子遗传学研究。E-mail：1565270746@qq.com；王荣平 (1977—)，女，云南禄丰人，硕士，副教授，主要从事动物科学研究。E-mail：2415184531@qq.com
**通信作者 Corresponding author：苗永旺 (1964—)，男，内蒙古通辽人，博士，教授，主要从事动物遗传学研究。E-mail：yongwangmiao1@126.com
网络首发地址：https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20240228.0842.001

analyzed by the methods of comparative genomics and bioinformatics. ［**Results**］The structure of transcription region of *THRSP* gene was similar, with high consistency (93.2%-96.9%) of coding sequence, but the length of untranslated region and intron were different greatly. The THRSP proteins of Bovidae were all hydrophilic nucleoproteins without transmembrane region and signal peptide, and they all contained a Spot_14 or a Spot_14 superfamily conserved domain. The biological pathway of THRSP protein involved was mainly related to lipid biosynthesis, and the molecular function of this protein was mainly related to fatty acid synthase activity and protein homodimerization activity. Proteins interacted with THRSP of Bovidae were mainly involved in biological processes such as fatty acid synthesis and β-oxidation, protein metabolism and transport, material transport across cell membranes or organelles, lysosome and phagosome fusion. The amino acid composition, physicochemical properties, motif composition pattern, conserved domain, functional modification site and advanced structures of THRSP protein were highly similar among the species of Bovidae, but displayed intergeneric differences. Phylogenetic analysis showed that THRSP proteins were more closely related among species of Bovidae. ［**Conclusion**］The sequences and structures of THRSP are highly consistent in Bovidae, and its function is also similar. THRSP may play a functional role as a hydrophilic protein in the nucleus and may be involved in the regulation of lipid synthesis in Bovidae.

Keywords: species of Bovidae; *THRSP* gene; molecular characteristics; functions; biological pathways

甲状腺激素应答 (thyroid hormone responsive，*THRSP*) 基因的编码蛋白 Spot14 (又称 S14) 最初由 SEELIG 等[1]鉴定自大鼠肝脏的体外翻译产物，是 Spot14 家族的重要成员之一。在该家族中，还有 1 个与其序列高度同源的蛋白——Spot14 相关蛋白 (Spot14-R，MIG12)[2]。Spot14 家族成员包含 3 个保守区域，即 N 末端的疏水区、中间的疏水区和 C 末端的亮氨酸拉链区[2-4]。Spot14 和 Spot14-R 依赖亮氨酸拉链结构形成同二聚体 (Spot14/Spot14 和 Spot14-R/Spot14-R) 或异二聚体 (Spot14/Spot14-R) 参与基因的表达调控[4-6]。目前 NCBI 数据库中已有普通牛、水牛、瘤牛、野牛、绵羊、山羊等主要牛科动物及单峰驼、双峰驼、马、驴、人、小鼠、鸡等非牛科动物的 *THRSP* 基因序列信息，有研究表明该基因参与奶牛和山羊的乳脂合成过程，并与奶牛乳脂率和乳品质有关[7-10]。

虽然已有一些关于牛科物种 *THRSP* 基因的研究，但对于牛科家畜 THRSP 分子特征及功能的深入比较分析鲜有报道。本研究从 NCBI 和 Ensembl 数据库下载了主要牛科物种和非牛科物种 *THRSP* 基因及对应的编码氨基酸序列，进一步采用比较基因组学和生物信息学分析方法对牛科物种该基因转录区的结构、编码区 (coding sequence，CDS) 的核苷酸组成、密码子使用偏好性 (codon usage bias，CUB)、编码产物的氨基酸组成、理化特性、结构特征、功能修饰位点、参与的生物学路径、分子功能和系统发育关系进行全面预测和分析，旨在阐明牛科物种 *THRSP* 基因的分子特征及功能差异，为其表达调控研究提供参考。

1　材料与方法

1.1　序列及基因组注释文件的下载

从 NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) 和 Ensembl (https://asia.ensembl.org/index.html) 数据库中下载普通牛、水牛、牦牛、杂交牛、绵羊、山羊等牛科物种的 *THRSP* 基因及对应的编码氨基酸序列；利用 NCBI 网站中的在线 Blast 程序 (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) 进行同源搜索，获取与牛科 *THRSP* 同源的非牛科物种序列；从 NCBI 网站的 Genome 数据库 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=) 中下载各物种的基因组 GTF 格式数据用于分析。对所有序列进行比对和核对，筛除不完整或可能存在错误的序列，进一步对剩余的可靠序列 (表 1) 进行分析。

1.2　核苷酸组成和转录区结构分析

使用 NCBI 数据库中的 ORF Finder 程序 (ht-

表 1 本研究所用序列

Tab. 1 Sequences used in this study

物种 species	基因序列号 accession numbers of gene	蛋白质序列号 accession numbers of protein	编码区长度/bp length of coding sequences
水牛 *Bubalus bubalis*	XM_006077389.3	XP_006077451.1	471
普通牛 *Bos taurus*	NM_001040533.1	NP_001035623.1	453
杂交牛 *Bos indicus×Bos taurus*	XM_027531692.1	XP_027387493.1	471
牦牛 *Bos mutus*	XM_005908067.2	XP_005908129.1	471
绵羊 *Ovis aries*	XM_004019431.5	XP_004019480.1	471
山羊 *Capra hircus*	XM_005699494.3	XP_005699551.2	471
弯角剑羚 *Oryx dammah*	XM_040255623.1	XP_040111557.1	453
四川羚羊 *Budorcas taxicolor*	XM_052662536.1	XP_052518496.1	471
单峰驼 *Camelus dromedarius*	XM_010990079.2	XP_010988381.1	471
单峰驼 *Camelus dromedarius*	XM_010990085.2	XP_010988387.1	471
双峰驼 *Camelus bactrianus*	XM_010973453.2	XP_010971755.1	471
双峰驼 *Camelus bactrianus*	XM_010973454.2	XP_010971756.1	471
野骆驼 *Camelus ferus*	XM_006191650.3	XP_006191712.1	471
野骆驼 *Camelus ferus*	XM_014565117.2	XP_014420603.1	471
欧洲马鹿 *Cervus elaphus*	XM_043875526.1	XP_043731461.1	471
布哈拉马鹿 *Cervus hangul bactrianus*	ENSCHYT00000006752.1	NSCHYP00000006052	444
马 *Equus caballus*	XM_005612013.3	XP_005612070.1	453
马 *Equus caballus*	XM_023645649.1	XP_023501417.1	453
驴 *Equus asinus*	XM_014859662.2	XP_014715148.1	453
驴 *Equus asinus*	XM_044751944.1	XP_044607879.1	453
野猪 *Sus scrofa*	NM_001244376.1	NP_001231305.1	471
家猫 *Felis catus*	XM_003992699.6	XP_003992748.1	453
人 *Homo sapiens*	NM_003251.4	NP_003242.1	441
小鼠 *Mus musculus*	NM_009381.3	NP_033407.1	453
原麝 *Moschus moschiferus*	ENSMMST00000007051.1	ENSMMSP00000006409	444
鸡 *Gallus gallus*	NM_213577.3	NP_998742.2	390

tps://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/) 查找已下载的各物种 *THRSP* 基因开放阅读框 (open reading frame，ORF)，以确定每条序列的完整 CDS，使用 Lasergene 软件包 (DNAStar Inc.，USA) 中的 EditSeq 程序分析各物种 *THRSP* 基因 CDS 的碱基组成。在 NCBI 数据库中下载牛科和非牛科物种的基因组数据，并提取 *THRSP* 基因的转录本信息；使用 TBtools[11]软件对各物种 *THRSP* 基因的转录本信息进行完整化处理，进一步使用在线软件 Gene Structure Display Server 2.0 (http://gsds.gao-lab.org/) 呈现各物种 *THRSP* 基因的转录区结构，包括非翻译区 (untranslated region，UTR)、外显子和内含子。

1.3 *THRSP* 基因的 CUB 分析

使用 Codon 程序 (http://codonw.sourceforge.net/) 进行各物种 *THRSP* 基因的 CUB 分析，包括相对同义密码子使用度 (relative synonymous codon usage，RSCU)、有效密码子数 (effective number of codons，ENc 值)、GC 含量和密码子第 3 位的 GC 含量 (GC of silent 3rd codon position，GC3s)，其中，GC3s 为除了蛋氨酸、色氨酸和终止密码子外，G 和 C 出现在密码子第 3 个位置的频率。

1.4 编码蛋白的理化特性和结构特征分析

利用 1.1 节的编码氨基酸序列，使用在线程序 ProtParam (http://web.expasy.org/protparam/) 预测不同物种 THRSP 蛋白的分子质量和理论等电点；使用 SignalP5.0 (https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-5.0) 预测信号肽；使用 TMHMM version 2.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/) 预测跨膜结构域；使用 ProtScale (http://web.expasy.org/ protscale/) 预测疏水性；使用 PROSITE (https://prosite.expasy.org/prosite.html) 预测功能修饰位点；使用 ProtComp 9.0 (http://linux1.softberry.com/berry.phtml) 分析各物种 THRSP 蛋白的亚细胞定位；分别使用 SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) 和 SWISS-MODEL (https://beta.swissmodel.expasy.org/) 分析牛科物种 THRSP 蛋白

的二级结构和三维结构，蛋白三维结构基于同源建模法，以小鼠 Spot 14 蛋白模板 (3ont.1.A) 为最佳模型构建；使用 STRING (https://cn.string-db.org/) 分析蛋白相互作用关系；使用 NCBI Batch Web CD-Serach Tool (https://www.ncbi.nlm/cdd/) 预测各物种 THRSP 的保守结构域；使用在线软件 Meme Suite[12] (https://meme-suite.org) 分析各物种 THRSP 保守基序；使用 TBtools[11]软件的 Gene Structure View (Advance) 工具整合上述分析结果。

1.5　序列一致性和系统发育分析

使用 Lasergene 软件包 (DNAStar Inc.，USA) 中的 MegAlign 程序分析各物种 *THRSP* 基因 CDS 及编码氨基酸的序列一致性；使用 MEGA 7[13]软件输出序列间的差异位点，进一步选用该软件中的最大似然法，基于优化出的 T92+G 和 GTT+G+F 模型分别构建核苷酸序列和氨基酸序列的系统发育树，每个节点处的支持率采用 Bootstrap 方法进行评估 (10000 次重复)。

2　结果与分析

2.1　*THRSP* 基因的核苷酸组成、转录区结构及 CUB 分析

2.1.1　CDS 核苷酸组成和转录区结构

牛科与非牛科哺乳动物间 *THRSP* 基因 CDS 的核苷酸组成相似，但与非哺乳动物鸡的 *THRSP* 基因 CDS 核苷酸组成差异较大，且表现出属内相似性较高的特点；牛科动物中牛属和羊属动物的属内核苷酸组成相似性更高，水牛与牛属和羊属动物之间存在较大差异 (表 2)。不同物种 *THRSP* 基因的转录区结构存在差异，尤其是内含子长度和 UTR 长度的差异；除了骆驼科和马科物种包含 2 个可变剪接转录本外，其他物种都只包含 1 个可变剪接转录本；驴 *THRSP* 基因包含 3 个外显子和 2 个内含子，只有外显子 2 编码蛋白质，而其他物种的 *THRSP* 基因都由 2 个外显子和 1 个内含子组成，且只有外显子 1 编码蛋白质 (图 1)。

2.1.2　*THRSP* 基因 CDS 的 CUB 分析

由表 3 可知：水牛 *THRSP* 基因对 20 种密码子具有偏好性 (RSCU>1)，普通牛 *THRSP* 基因 RSCU>1 的密码子有 22 种，杂交牛有 18 种，牦牛有 20 种，绵羊和山羊分别有 22 和 21 种，人和鸡都有 23 种，小鼠有 24 种。水牛与其他牛科物种共同偏好使用的密码子有 20 种，且对 CUG、AGC、CCC、CGG、ACC、GUG、AUC 等密码子的偏好性较强，水牛与其他牛科物种的 RSCU 值差异较大。牛科物种编码蛋氨酸和色氨酸的密码子 RSCU 值都为 1。由表 4 可知：*THRSP* 基因 ENc 值呈现属内相似、属间差异大的特点，且 ENc 值总体偏小，范围在 33.95~44.22。牛科物种 *THRSP*基因 ENc 值接近 20，与其他非牛科动物存在较大差异，表明 *THRSP* 基因在牛科物种中的 CUB较强；*THRSP* 基因 GC3s 值范围为 0.741~0.832，均大于 0.5，说明 *THRSP* 基因中的密码子比较偏好以 G/C 结尾；GC 含量范围为 0.581~0.625，表明各物种 *THRSP* 基因 CDS 序列中 G+C 碱基的含量大于 A+T 碱基的含量。

2.2　THRSP 蛋白的理化特性和结构

2.2.1　理化特性

牛科物种 THRSP 蛋白的理化特性较为相似，都为定位于细胞核的亲水性蛋白质，不含跨膜区和信号肽，水牛与其他牛科物种的极性氨基酸含量、脂肪族指数、亲水性总平均值等指标差异较大；牛科物种 THRSP 的理化特性与鸡的差异最大，其次是人和小鼠 (表 5)。

2.2.2　THRSP 基序组成模式和保守结构域

THRSP 具有 4 种不同类型的基序组成模式 (图 2)：模式 a 包含 motif1~5，模式 b 比模式 a 缺少 motif5 和 motif3，模式 c 包含 motif1~4，模式 d 只包含 motif1 和 motif2。除普通牛和弯角剑羚外，其他牛科物种 THRSP 基序组成都为模式 a 类型，与非牛科哺乳动物 THRSP 基序模式相似，但牛科与鸡差异较大。THRSP 蛋白包含 2 种保守结构域，牛科物种中普通牛、杂交牛和牦牛以及除了原麝和鸡以外的其他非牛科物种的 THRSP 保守结构域为 Spot_14，水牛、山羊、绵羊、弯角剑羚、四川羚羊、原麝和鸡的保守结构域为 Spot_14 超家族，牛科物种及其他非牛科动物保守结构域的位置大致相同。

2.2.3　牛科物种 THRSP 功能修饰位点

牛科物种 THRSP 蛋白功能修饰位点有 2 种，即酪蛋白激酶Ⅱ磷酸化位点和蛋白激酶 C 磷酸化位点；人和小鼠比牛科物种多了 N-豆蔻酰化位点和 N-糖基化位点，鸡比牛科物种多了 N-豆蔻酰化位点、亮氨酸拉链结构以及 cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化位点；牛科物种及其他非牛

表 2 *THRSP* 基因 CDS 核苷酸组成

Tab. 2 Nnucleotide composition of *THRSP* CDS %

物种及其基因序列号 species and number of gene sequences	A	T	G	C	A+T	G+C
*Bubalus bubalis*_XM_006077389.3	24.63	17.41	31.63	26.33	42.04	57.96
*Bos taurus*_NM_001040533.1	23.40	16.56	32.67	27.37	39.96	60.04
Bos indicus×*Bos taurus*_XM_027531692.1	24.42	16.56	32.06	26.96	40.98	59.02
*Bos mutus*_XM_005908067.2	23.99	16.56	32.27	27.18	40.55	59.45
*Ovis aries*_XM_004019431.5	24.84	16.77	31.21	27.18	41.61	58.39
*Capra hircus*_XM_005699494.3	24.84	16.99	31.21	26.96	41.83	58.17
*Oryx dammah*_XM_040255623.1	23.18	16.11	32.45	28.26	39.29	60.71
*Budorcas taxicolor*_XM_052662536.1	24.42	16.56	31.42	27.60	40.98	59.02
*Camelus dromedarius*_XM_010990079.2_X1	23.78	16.99	32.27	26.96	40.76	59.24
*Camelus dromedarius*_XM_010990085.2_X2	23.78	16.99	32.27	26.96	40.76	59.24
*Camelus bactrianus*_XM_010973453.2_X1	23.78	16.99	32.27	26.96	40.76	59.24
*Camelus bactrianus*_XM_010973454.2_X2	23.78	16.99	32.27	26.96	40.76	59.24
*Camelus ferus*_XM_006191650.3_X1	23.78	17.41	32.27	26.54	41.19	58.81
*Camelus ferus*_XM_014565117.2_X2	23.78	17.41	32.27	26.54	41.19	58.81
*Cervus elaphus*_XM_043875526.1	23.57	14.44	33.12	28.87	38.00	62.00
*Cervus hangul bactrianus*_ENSCHYT00000006752.1	23.42	14.64	33.33	28.60	38.06	61.94
*Equus asinus*_XM_014859662.2_X1	23.40	16.56	32.01	28.04	39.96	60.04
*Equus asinus*_XM_044751944.1_X2	23.40	16.56	32.01	28.04	39.96	60.04
*Equus caballus*_XM_005612013.3_X1	23.40	16.56	32.01	28.04	39.96	60.04
*Equus caballus*_XM_023645649.1_X2	23.40	16.56	32.01	28.04	39.96	60.04
*Sus scrofa*_NM_001244376.1	23.57	17.62	31.63	27.18	41.19	58.81
*Homo sapiens*_NM_003251.4	25.27	16.77	31.00	26.96	42.04	57.96
*Mus musculus*_NM_009381.3	24.26	16.10	31.97	27.66	40.36	59.64
*Felis catus*_XM_003992699.6	25.17	16.78	31.57	26.49	41.94	58.06
*Moschus moschiferus*_ENSMMST00000007051.1	23.42	16.89	32.88	26.80	40.32	59.68
*Gallus gallus*_NM_213 577.3	23.33	14.36	29.49	32.82	37.69	62.31

注：物种及其基因序列号对应的物种中文名见表1；下同。

Note: The Chinese names of species and accession number of gene sequences are shown in Tab.1; the same as below.

科哺乳动物相同功能磷酸化位点所处的位置相似，与鸡的差异较大 (图 3)。

2.2.4 二级结构和三维结构

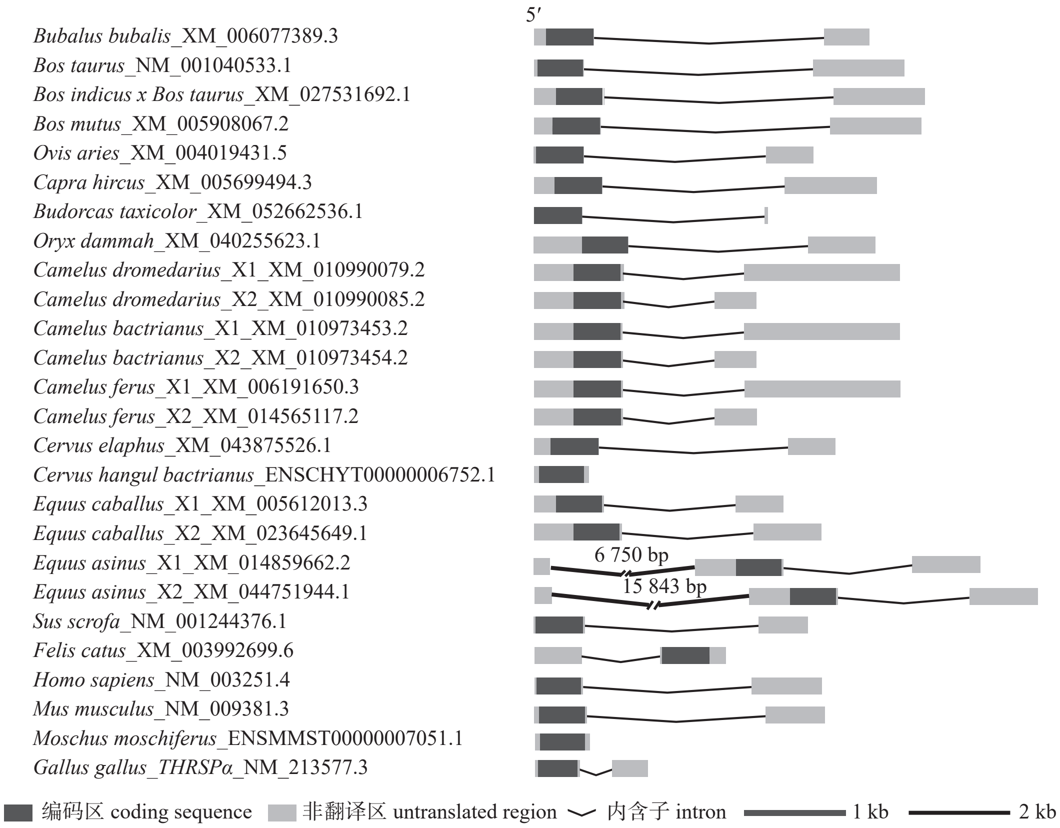
牛科物种间 THRSP 蛋白二级结构元件的氨基酸比例相似，与其他非牛科动物的差异较大 (表 6)。水牛、牦牛和四川羚羊的 THRSP 蛋白三维结构与模板 3ont.1.A 的覆盖率为 96% (AA：7~156)，一致性为 72.00%；杂交牛、绵羊和山羊的三维结构与模板 3ont.1.A 的一致性为 73.33%，覆盖率为 96% (AA：1~156)；普通牛和弯角剑羚的三维结构与模型模板 3ont.1.A 的一致性和覆盖率分别为 73.33% 和 100% (AA：1~150)(图 4)。

2.2.5 蛋白互作、参与的生物学路径和分子功能

各牛科物种与 THRSP 相互作用的蛋白质不尽相同，其中脂肪酸合成酶、甘油-3-磷酸酰基转移酶、乙酰辅酶 A 合成酶 2 和 RAS 癌基因家族成员是与 THRSP 互作的蛋白质 (图 5)。这些蛋白分子主要与脂肪酸的合成和 β-氧化、蛋白质代谢和转运、跨细胞膜或细胞器的物质转运、溶酶体与吞噬体的融合、囊泡介导的物质运输等生物学过程有关。THRSP 蛋白主要参与脂类的生物合成 (GO：0046890)、脂肪酸代谢 (GO：0006631)、乙酰辅酶 A 代谢 (GO：0006084)、酰基辅酶 A 的生物合成 (GO：0071616) 等生物学过程，其分子功能主要与脂肪酸合酶活性 (GO：0004312) 和蛋白质同源二聚化活性 (GO：0042803)相关。

2.2.6 序列一致性和系统发育分析

牛科物种 *THRSP* 基因包含 2 种长度的 CDS (471 和 453 bp)，其编码产物相差 6 个氨基酸。牛科物种间 *THRSP* 基因 CDS 及编码氨基酸序列的一致性高，其中核苷酸序列一致性为 93.2%~96.9%，氨基酸序列一致性为 91.3%~94.0%；牛



注：物种及其基因序列号对应的物种中文名见表 1。

Note: The Chinese names of species and accession number of gene sequences are shown in Tab.1.

图 1　牛科物种及非牛科物种 *THRSP* 转录区的结构

Fig. 1　Structure of *THRSP* gene in the species of Bovidae and non-Bovidae

科物种与非牛科哺乳动物的序列一致性较低，核苷酸和氨基酸的序列一致性分别为 78.6%~95.3% 和 72.0%~94.6%；牛科与鸡的序列一致性最低，核苷酸和氨基酸的序列一致性分别为 51.0%~52.8% 和 32.2%~35.5% (图 6)。序列差异位点分析表明：位点 c.79C、c.162T、c.191A、c.226A、c.423G 和 c.466G 是区分牛属动物与水牛、羊属动物的核苷酸位点；位点 c.91A、c.157A、c.180T、c.222A、c.253C、c.288C 和 c.423T 是区分水牛与牛属、羊属动物的核苷酸位点；水牛特有的氨基酸位点为 p.31S、p.59T、p.74I 和 p.85Q；p.54H、p.64N、p.76M、p.96E 和 p.156V 是区分牛属动物与水牛、羊属动物的氨基酸位点；p.57T 和 p.90L 是区分羊属动物与水牛、牛属动物的氨基酸位点 (图 7)。

基于各物种 *THRSP* 基因核苷酸和编码氨基酸序列构建的系统发育树聚类关系相似，牛科物种聚为一大支，其中水牛和牛属动物聚为一小支，羊属动物聚为单独的一小支；非牛科哺乳动物聚为一支 (图 8)。

3　讨论

牛科家畜能为人类提供丰富的肉类、乳制品等畜产品，同时具有役用价值，在农业生产中具有重要地位。研究表明：*THRSP* 基因与奶牛和山羊乳脂肪酸的从头合成、杂交牛的肌内脂肪和韩国牛的肌肉脂肪酸种类及胴体性状相关，是调节牛科家畜脂合成的重要功能基因，然而，目前关于该基因的研究主要涉及普通牛和山羊等少部分牛科家畜[7-8,14-15]，对其他牛科家畜的研究鲜有报道。基于此，本研究采用比较基因组学和生物信息学分析方法对牛科家畜 *THRSP* 基因及其编码产物的理化特性和结构特征、蛋白互作以及参与的生物学路径与功能等进行了深入的比较分析，旨在阐明牛科动物 THRSP 在分子特征及功能上的差异。

本研究表明：牛科物种间 *THRSP* 基因 CDS 的长度存在差异，但碱基组成和 CUB 一致性

表 3 牛科及非牛科物种 ***THRSP*** 基因密码子的 RSCU 值

Tab. 3 RSCU values of *THRSP* gene codons in Bovidae and non-Bovidae

氨基酸 amino acid	密码子 codon	水牛 *Bubalus bubalis*	普通牛 *Bos taurus*	杂交牛 *Bos indicus×Bos taurus*	牦牛 *Bos mutus*	绵羊 *Ovis aries*	山羊 *Capra hircus*	人类 *Homo spaiens*	小鼠 *Mus musculus*
亮氨酸 leucine	UUA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	UUG	0.63	0.32	0.32	0.32	0.63	0.63	0.00	0.00
	CUU	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.38	0.71
	CUC	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	1.88	1.06
	CUA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.38	0.71
	CUG	3.47	3.79	3.79	3.79	3.47	3.47	3.38	3.53
丝氨酸 serine	UCU	0.86	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	UCC	0.00	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	0.86	0.75
	UCA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.86	0.00
	UCG	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.50
	AGU	0.86	1.20	1.20	1.20	0.00	0.00	1.71	0.75
	AGC	4.29	3.60	3.60	3.60	4.80	4.80	2.57	3.00
精氨酸 arginine	CGU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	0.00
	CGC	1.71	2.25	2.25	2.25	2.25	2.00	0.00	0.75
	CGA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	CGG	2.57	2.25	2.25	2.25	1.50	2.00	3.60	3.00
	AGA	0.86	0.75	0.75	0.75	0.75	0.67	0.00	0.00
	AGG	0.86	0.75	0.75	0.75	1.50	1.33	1.20	2.25
缬氨酸 valine	GUU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.31
	GUC	0.40	0.40	0.40	0.44	0.44	0.44	0.67	0.62
	GUA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.44	0.44	0.00	0.31
	GUG	3.60	3.60	3.60	3.56	3.11	3.11	3.00	2.77
脯氨酸 proline	CCU	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	1.60	1.60
	CCC	4.00	4.00	4.00	4.00	2.00	2.00	1.60	1.60
	CCA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.80
	CCG	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	0.80	0.00
苏氨酸 threonine	ACU	0.89	0.50	0.50	0.50	0.44	0.44	0.00	0.00
	ACC	2.22	2.50	2.50	2.50	2.22	2.22	2.67	2.00
	ACA	0.89	1.00	1.00	1.00	0.89	0.89	0.89	0.80
	ACG	0.00	0.00	0.00	0.00	0.44	0.44	0.44	1.20
丙氨酸 alanine	GCU	1.33	1.07	1.00	0.89	1.07	1.33	0.33	1.60
	GCC	2.13	2.13	2.25	2.00	2.67	2.4	2.67	1.60
	GCA	0.27	0.27	0.25	0.22	0.27	0.27	1.00	0.40
	GCG	0.27	0.53	0.50	0.89	0.00	0.00	0.00	0.40
甘氨酸 glycine	GGU	0.44	0.44	0.50	0.44	0.44	0.44	0.00	0.00
	GGC	0.89	0.89	1.00	0.89	0.89	0.89	1.00	1.14
	GGA	1.33	1.33	1.00	1.33	1.33	1.78	1.50	0.57
	GGG	1.33	1.33	1.50	1.33	1.33	0.89	1.50	2.29
异亮氨酸 isoleucine	AUU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.75	0.75	0.00	0.00
	AUC	2.40	3.00	3.00	3.00	2.25	2.25	3.00	3.00
	AUA	0.60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

表3 (续)

氨基酸 amino acid	密码子 codon	水牛 *Bubalus bubalis*	普通牛 *Bos taurus*	杂交牛 *Bos indicus×Bos taurus*	牦牛 *Bos mutus*	绵羊 *Ovis aries*	山羊 *Capra hircus*	人类 *Homo spaiens*	小鼠 *Mus musculus*
组氨酸 histidine	CAU	1.14	1.00	1.00	1.25	0.75	0.75	0.57	0.33
	CAC	0.86	1.00	1.00	0.75	1.25	1.25	1.43	1.67
谷氨酰胺 glutamine	CAA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.22
	CAG	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.80	1.78
天冬酰胺 asparagine	AAU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.67	0.00
	AAC	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.33	2.00
赖氨酸 lysine	AAA	1.00	0.86	1.00	1.00	1.00	1.00	0.67	1.00
	AAG	1.00	1.14	1.00	1.00	1.00	1.00	1.33	1.00
酪氨酸 tyrosine	UAU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.80
	UAC	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.60	1.20
天冬氨酸 asparticacid	GAU	0.86	0.80	1.00	1.00	1.14	1.14	0.57	0.75
	GAC	1.14	1.20	1.00	1.00	0.86	0.86	1.43	1.25
谷氨酸 glutamate	GAA	0.53	0.38	0.56	0.50	0.63	0.63	0.47	0.94
	GAG	1.47	1.63	1.44	1.50	1.38	1.38	1.53	1.06
半胱氨酸 cysteine	UGU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.67
	UGC	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.00	1.33
苯丙氨酸 phenylalanine	UUU	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	UUC	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00

注：未列出RSCU为1的密码子及终止密码子。

Note: Codons with RSCU=1 and termination codon are not listed.

表 4　*THRSP* 基因密码子 ENc、GC3s 频率和 GC 含量

Tab. 4　ENc, GC3s frequency and GC content of *THRSP* gene codons

物种及对应的基因序列号 species and accession numbers of gene	ENc	GC3s	GC
*Bubalus bubalis*_XM_006077389.3	33.98	0.752	0.581
*Bos taurus*_NM_001040533.1	33.95	0.791	0.602
*Bos indicus×Bos taurus*_XM_027531692.1	34.13	0.778	0.592
*Bos mutus*_XM_005908067.2	34.17	0.771	0.596
*Ovis aries*_XM_004019431.5	38.57	0.757	0.585
*Capra hircus*_XM_005699494.3	38.63	0.743	0.583
*Oryx dammah*_XM_040255623.1	41.69	0.793	0.609
*Budorcas taxicolor*_XM_052662536.1	44.22	0.752	0.592
*Camelus dromedarius*_XM_010990079.2_X1	39.89	0.781	0.594
*Camelus bactrianus*_XM_010973453.2_X1	39.89	0.781	0.594
*Camelus ferus*_XM_006191650.3_X1	39.25	0.772	0.590
*Cervus elaphus*_XM_043875526.1	35.35	0.796	0.622
*Cervus hangul bactrianus*_ENSCHYT00000006752.1	38.16	0.794	0.619
*Equus asinus*_XM_014859662.2_X1	40.36	0.759	0.602
*Equus caballus*_XM_005612013.3_X1	40.36	0.759	0.602
*Sus scrofa*_NM_001244376.1	40.68	0.769	0.590
*Homo sapiens*_NM_003251.4	41.09	0.766	0.598
*Mus musculus*_NM_009381.3	43.05	0.741	0.582
*Felis catus*_XM_003992699.6	42.25	0.764	0.581
*Moschus moschiferus*_ENSMMST00000007051.1	37.97	0.775	0.597
*Gallus gallus*_NM_213577.3	38.46	0.832	0.625

表 5 牛科物种及非牛科物种 THRSP 理化特性

Tab. 5 Physicochemical characteristics of THRSP in the species of Bovidae and non-Bovidae

理化特性 physicochemical characteristics	水牛 *Bubalus bubalis*	普通牛 *Bos taurus*	杂交牛 *Bos indicus*× *Bos taurus*	牦牛 *Bos mutus*	绵羊 *Ovis aries*	山羊 *Capra hircus*	四川羚牛 *Budorcas taxicolor*	弯角剑羚 *Oryx dammah*	人类 *Homo sapiens*	小鼠 *Mus musculus*	鸡 *Gallus gallus*
氨基酸数 number of amino acid	156	150	156	156	156	156	156	150	146	150	129
理论等电点 theoretical isoelectric point	5.45	5.73	5.45	5.73	5.58	5.73	5.43	5.72	4.79	4.90	4.61
分子质量/ku molecular weight	17.72	17.14	17.90	17.75	17.86	17.89	17.73	17.15	16.56	17.09	14.20
强酸性氨基酸 strongly acidic amino acids	15	15	16	16	16	17	15	15	11	14	11
强碱性氨基酸 strongly basic amino acids	22	21	24	22	23	23	23	21	24	25	19
疏水性氨基酸 hydrophobic amino acids	53	51	53	54	51	51	51	49	48	48	37
极性氨基酸 polar amino acids	37	33	33	33	34	33	36	34	36	39	39
脂肪族指数 aliphatic index	88.21	86.53	86.35	85.77	83.85	83.85	80.77	81.93	82.81	86.40	75.66
亲水性总平均值 grand average of hydropathicity	−0.298	−0.333	−0.358	−0.319	−0.391	−0.397	−0.434	−0.430	−0.385	−0.405	−0.601

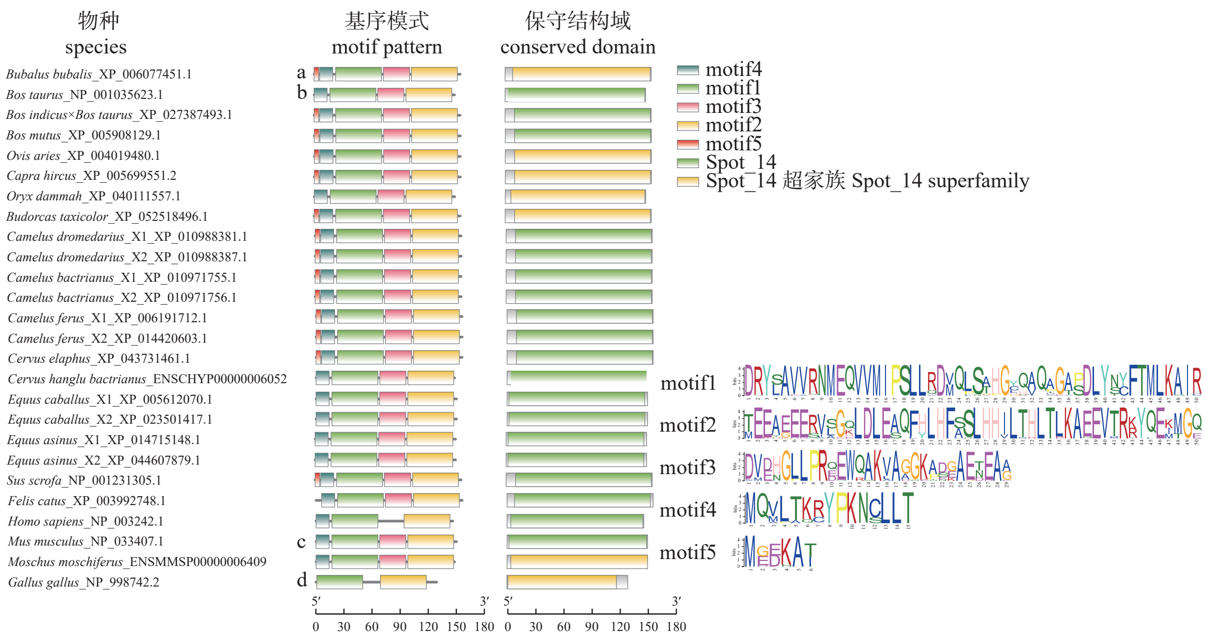


图 2 牛科和非牛科物种 THRSP 的 Motif 组成和保守结构域

Fig. 2 Motif composition and conserved domains of THRSP in the species of Bovidae and Non-Bovidae

高，其编码蛋白的理化特性、二级结构、3-D 结构、基序组成模式、保守结构域、功能位点等高度相似，但呈现属间差异，与其他非牛科物种也具有一定的相似性；系统发育分析表明：牛科 THRSP 蛋白序列聚为一大支，表明牛科该蛋白的功能更为相似。可见，*THRSP* 基因在牛科及非牛

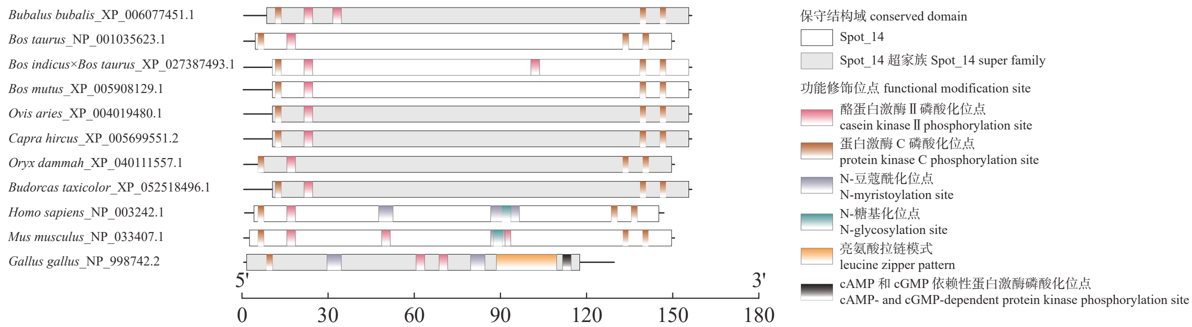


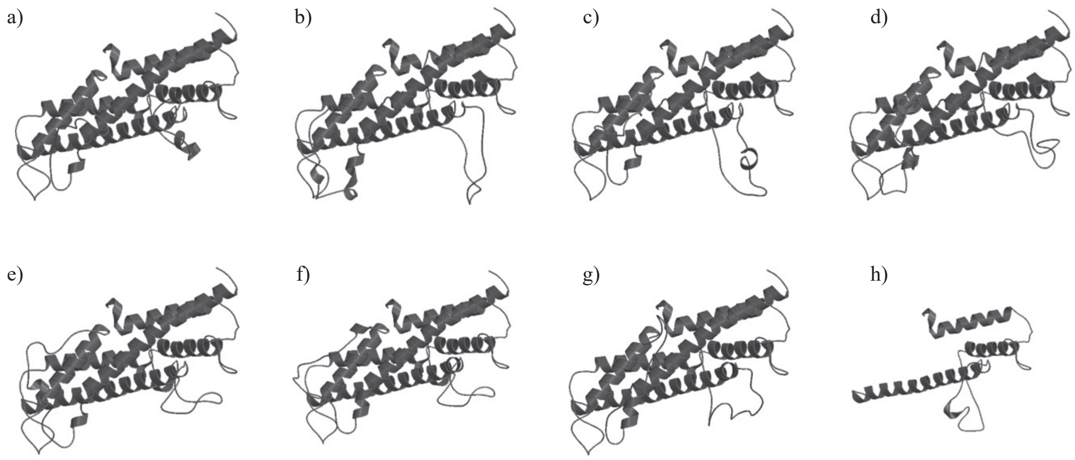
图 3　牛科物种 THRSP 蛋白功能修饰位点

Fig. 3　Functional modification site of THRSP protein in the species of Bovidae

表 6　THRSP 蛋白 4 种二级结构的氨基酸占比

Tab. 6　Amino acid proportion of four secondary structures in THRSP protein　　%

物种及对应的基因序列号 species and accession number of protein sequences	α螺旋 alpha helix	β折叠 beta turn	延伸片段 extended strand	无规则卷 random coil
*Bubalus bubalis*_XP_006077451.1	77.56	1.28	1.92	19.23
*Bos taurus*_NP_001035623.1	68.00	2.00	1.33	28.67
Bos indicus×*Bos taurus*_ XP_027387493.1	75.00	2.56	1.28	21.15
*Bos mutus*_XP_005908129.1	75.00	1.28	1.28	22.44
*Ovis aries*_XP_004019480.1	73.72	1.28	1.28	23.72
*Capra hircus*_XP_005699551.2	75.00	0.64	1.28	23.08
*Oryx dammah*_XP_040111557.1	74.00	2.00	1.33	22.67
*Budorcas taxicolor*_XP_052518496.1	76.28	1.92	1.28	20.51



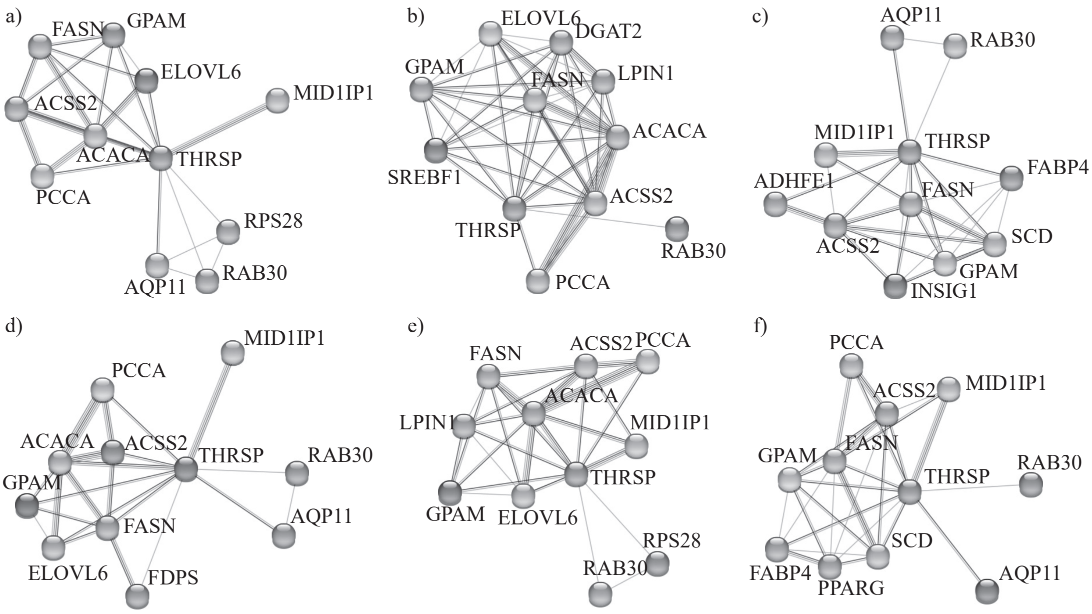
注：a) 水牛；b) 普通牛；c) 杂交牛；d) 牦牛；e) 绵羊；f) 山羊；g) 弯角剑羚；h) 四川羚羊；下同。

Note: a) *Bubalus bubalis*; b) *Bos taurus*; c) *Bos indicus*×*Bos taurus*; d) *Bos mutus*; e) *Ovis aries*; f) *Capra hircus*; g) *Oryx dammah*; h) *Budorcas taxicolor*; the same as below.

图 4　牛科物种 THRSP 蛋白的三维结构

Fig. 4　Three-dimensional structures of THRSP protein in the species of Bovidae

科哺乳动物中功能保守，但牛科家畜间的功能更为相似。已有研究发现：*THRSP* 基因主要表达于肝脏、乳腺、皮下脂肪等组织，它能调节脂肪酸合成基因的转录，参与这些组织中脂肪酸的从头合成过程[2-3, 8, 16-17]。敲低 Spot14 小鼠的乳腺中三酰甘油 (triacylglycerol，TAG) 含量显著降低，表明 Spot14 是泌乳期小鼠乳腺脂肪酸从头合成所必需[2]；Spot14 还与泌乳期小鼠乳腺中中链脂肪酸 (medium chain fatty acids，MCFA) 的合成以及脂肪从头合成关键酶 (fatty acid synthase, *FASN*) 基因



注：网络节点代表蛋白质。

Note: Network nodes represent proteins.

图 5 牛科物种 THRSP 互作蛋白网络

Fig. 5 Interaction protein network of THRSP in the species of Bovidae

a)

一致性/%
percentage of consistency

变异度/%
percentage of variation

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
1		96.9	96.8	96.4	95.8	95.5	93.2	95.3	87.3	87.3	86.8	93.5	87.2	87.2	87.5	82.3	78.6	85.6	95.3	52.1	1	*Bubalus bubalis*_XM_006077389.3
2	3.2		99.8	99.3	95.6	95.4	93.6	94.9	87.0	87.0	86.5	94.1	87.2	87.2	88.3	82.5	77.7	85.9	95.3	51.3	2	*Bos taurus*_NM_001040533.1
3	3.3	0.2		99.2	95.5	95.3	93.4	94.7	86.8	86.8	86.4	93.9	87.2	87.2	88.1	82.5	77.7	85.4	95.0	51.3	3	*Bos indicus×Bos taurus*_XM_027531692.1
4	3.7	0.7	0.9		95.1	94.9	92.9	94.7	86.6	86.6	86.2	93.5	87.0	87.0	87.9	82.3	77.0	84.7	94.6	51.0	4	*Bos mutus*_XM_005908067.2
5	4.4	4.6	4.6	5.1		99.4	95.8	97.9	86.2	86.2	85.8	93.9	88.1	88.1	87.9	82.3	77.9	84.7	94.8	52.3	5	*Ovis aries*_XM_004019431.5
6	4.6	4.8	4.9	5.3	0.6		95.6	97.7	86.2	86.2	85.8	93.7	87.4	87.4	87.7	82.1	77.9	84.5	94.6	52.6	6	*Capra hircus*_XM_005699494.3
7	7.3	6.7	7.0	7.5	4.3	4.6		96.0	86.1	86.1	85.7	93.0	87.9	87.9	88.1	82.1	78.1	85.9	93.2	52.3	7	*Oryx dammah*_XM_040255623.1
8	4.9	5.3	5.5	5.5	2.2	2.4	4.1		86.6	86.6	86.2	94.1	88.1	88.1	87.3	82.8	78.4	85.1	95.0	52.8	8	*Budorcas taxicolor*_XM_052662536.1
9	14.1	14.5	14.7	14.9	15.5	15.5	15.6	14.9		100.0	99.6	85.1	89.0	89.0	89.4	85.3	81.7	85.1	86.0	51.8	9	*Camelus dromedarius*_X1_XM_010990079.2
10	14.1	14.5	14.7	14.9	15.5	15.5	15.6	14.9	0.0		99.6	85.1	89.0	89.0	89.4	85.3	81.7	85.1	86.0	51.8	10	*Camelus bactrianus*_X1_XM_010973453.2
11	14.7	15.0	15.2	15.5	16.1	16.1	16.2	15.5	0.4	0.4		84.7	88.5	88.5	89.0	84.8	81.2	84.7	85.6	52.1	11	*Camelus ferus*_X1_XM_006191650.3
12	6.9	6.1	6.4	6.9	6.4	6.7	7.4	6.2	16.9	16.9	17.5		87.4	87.4	86.7	82.9	78.6	86.7	94.1	51.7	12	*Cervus hanglu bactrianus*_ENSCHYT00000006752.1
13	14.3	14.2	14.2	14.5	13.2	14.0	13.4	13.2	12.1	12.1	12.6	14.0		100.0	89.0	86.8	81.5	88.5	86.5	52.3	13	*Equus asinus*_X1_XM_014859662.2
14	14.3	14.2	14.2	14.5	13.2	14.0	13.4	13.2	12.1	12.1	12.6	14.0	0.0		89.0	86.8	81.5	88.5	86.5	52.3	14	*Equus caballus*_X1_XM_005612013.3
15	13.9	12.8	13.1	13.3	13.3	13.6	13.1	14.1	11.6	11.6	12.1	14.9	12.2	12.2		83.7	80.6	84.5	86.9	50.5	15	*Sus scrofa*_NM_001244376.1
16	20.6	20.3	20.3	20.6	20.6	20.9	20.8	19.9	16.6	16.6	17.3	19.8	14.6	14.6	18.8		84.4	83.4	82.2	50.8	16	*Homo sapiens*_NM_003251.4
17	25.6	27.0	27.0	28.0	26.7	26.7	26.3	26.0	21.3	21.3	21.9	25.7	21.6	21.6	22.8	17.8		79.9	77.5	51.3	17	*Mus musculus*_NM_009381.3
18	16.3	15.9	16.5	17.3	17.4	17.7	15.9	16.8	16.9	16.9	17.5	14.8	12.7	12.7	17.8	19.1	23.8		85.6	50.0	18	*Felis catus*_XM_003992699.6
19	4.9	4.9	5.1	5.6	5.4	5.6	7.1	5.2	15.7	15.7	16.2	6.1	15.1	15.1	14.5	20.7	27.3	16.2		51.7	19	*Moschus moschiferus*_ENSMMST00000007051.1
20	77.6	79.7	79.7	80.4	76.9	76.1	76.9	75.3	77.8	77.8	77.1	78.3	76.3	76.3	81.7	80.7	79.6	84.0	78.1		20	*Gallus gallus*_NM_213577.3
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		

b)

一致性/%
percentage of consistency

变异度/%
percentage of variation

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
1		94.0	93.6	92.9	93.6	94.2	91.3	91.7	76.9	76.9	76.3	89.2	82.0	82.0	79.5	74.7	72.0	74.4	94.6	33.9	1	*Bubalus bubalis*_XP_006077451.1
2	6.3		99.3	98.7	92.7	93.3	90.0	91.3	78.0	78.0	77.3	89.2	81.3	81.3	80.7	74.7	73.3	76.7	93.9	32.2	2	*Bos taurus*_NP_001035623.1
3	6.7	0.7		98.1	92.3	92.9	89.3	90.4	76.9	76.9	76.3	88.5	81.3	81.3	79.5	74.7	73.3	76.3	93.2	32.2	3	*Bos indicus×Bos taurus*_XP_027387493.1
4	7.4	1.3	1.9		91.7	92.3	88.7	91.0	76.3	76.3	75.6	87.8	80.0	80.0	78.2	73.3	72.0	75.6	92.6	32.2	4	*Bos mutus*_XP_005908129.1
5	6.7	7.7	8.1	8.9		99.4	94.7	95.5	76.9	76.9	76.3	89.2	82.0	82.0	79.5	72.6	72.7	75.0	93.2	33.9	5	*Ovis aries*_XP_004019480.1
6	6.0	7.0	7.4	8.1	0.6		94.7	96.2	77.6	77.6	76.9	89.9	81.3	81.3	80.1	73.3	73.3	75.6	93.9	34.7	6	*Capra hircus*_XP_005699551.2
7	9.2	10.8	11.5	12.3	5.5	5.5		94.7	78.7	78.7	78.0	89.2	81.3	81.3	80.7	74.0	73.3	76.0	91.9	33.1	7	*Oryx dammah*_XP_040111557.1
8	8.9	9.2	10.3	9.6	4.6	4.0	5.5		78.2	78.2	77.6	90.5	80.7	80.7	78.2	74.0	73.3	74.4	93.2	35.5	8	*Budorcas taxicolor*_XP_052518496.1
9	27.6	26.1	27.6	28.6	27.6	26.7	25.2	25.8		100.0	99.4	77.7	84.0	84.0	84.0	75.3	76.7	75.0	78.4	32.6	9	*Camelus dromedarius*_X1_XP_010988381.1
10	27.6	26.1	27.6	28.6	27.6	26.7	25.2	25.8	0.0		99.4	77.7	84.0	84.0	84.0	75.3	76.7	75.0	78.4	33.1	10	*Camelus bactrianus*_X1_XP_010971755.1
11	28.6	27.0	28.6	29.5	28.6	27.6	26.1	26.7	0.6	0.6		77.0	83.3	83.3	83.3	74.7	76.0	74.4	77.7	32.2	11	*Camelus ferus*_X1_XP_006191712.1
12	11.7	11.7	12.5	13.3	11.7	10.9	11.7	10.1	26.5	26.5	27.5		80.4	80.4	80.4	75.0	74.3	77.0	89.9	33.6	12	*Cervus hanglu bactrianus*_ENSCHYP00000006052
13	20.6	21.5	21.5	23.3	20.6	21.5	21.5	22.4	18.0	18.0	18.9	22.8		100.0	84.0	77.4	78.0	80.0	81.1	33.1	13	*Equus asinus*_X1_XP_014715148.1
14	20.6	21.5	21.5	23.3	20.6	21.5	21.5	22.4	18.0	18.0	18.9	22.8	0.0		84.0	77.4	78.0	80.0	81.1	33.1	14	*Equus caballus*_X1_XP_005612070.1
15	24.0	22.4	24.0	25.8	24.0	23.1	22.4	25.8	18.1	18.1	18.9	22.8	18.0	18.0		76.7	76.0	77.6	79.7	32.2	15	*Sus scrofa*_NP_001231305.1
16	31.0	31.0	31.0	33.0	34.1	33.0	32.0	32.0	29.9	29.9	31.0	30.4	27.0	27.0	27.9		84.9	72.6	75.0	30.8	16	*Homo sapiens*_NP_003242.1
17	35.1	33.0	33.0	35.1	34.0	33.0	33.0	33.0	28.0	28.0	29.0	31.5	26.1	26.1	29.0	16.9		75.3	73.6	32.2	17	*Mus musculus*_NP_033407.1
18	31.4	28.0	28.6	29.5	30.4	29.5	29.0	31.4	30.4	30.4	31.4	27.5	23.3	23.3	26.7	34.1	30.0		74.3	33.1	18	*Felis catus*_XP_003992748.1
19	5.6	6.4	7.1	7.8	7.1	6.4	8.6	7.1	25.6	25.6	26.5	10.9	21.9	21.9	23.7	30.4	32.5	31.5		34.5	19	*Moschus moschiferus*_ENSMMSP00000006409
20	138.1	146.8	146.8	146.8	138.1	134.0	142.3	130.1	145.0	142.3	146.8	139.4	142.3	142.3	146.8	155.2	146.8	142.3	135.2		20	*Gallus gallus*_NP_998742.2
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		

注：对角线以上为一致性，对角线以下为变异度。

Note: Above the diagonal is the percentage of consistency, below the diagonal is the percentage of variation.

图 6 牛科和非牛科物种 *THRSP* 基因核苷酸 (a) 及编码氨基酸 (b) 的序列一致性

Fig. 6 Consistency of *THRSP* nucleotides (a) and their encoded amino acid (b) sequences in the species of Bovidae and non-Bovidae a)

```
物种 species                                                                                                            111 111 111 111 111 111 111 111 111 111 111
                                                          111 111 111 222 223 444 666 777 788 888 999 222 222 333 444 444 555 555 666 677 777 777
                                              123 456 789 012 345 678 567 890 345 123 345 901 234 123 123 456 012 234 567 123 456 012 901 234 567
Bubalus bubalis_XM_006077389.3                ATG GAA GAT AAA GCC ATC GTG CTG CCC ACT CGG TTG GCC AGC AGT CTT CGG CTG AGC CAT GGG CAG GCG GGC ACC
Bos taurus_NM_001040533.1                     ??? ??? ??? ??? ??? ??? ... ... ... ..C ... C.. ... C.. ... ... ... ... ... ..C ... ..T ... ... G..
Bos indicus×Bos taurus_XM_027531692.1         ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..C ... C.. ... C.. ... ... ... ... ... ..C ... ..T ... ... G..
Bos mutus_XM_005908067.2                      ... ... ... ... ... ... .C. ... ... ..C ... C.. ... C.. ... ... ... ... ... ..C ... ..T ... ... G..
Ovis aries_XM_004019431.5                     ... ... ... ... ... ... ... ... ..T ..C ... ... ... C.. ..C ... .A. .C. ... ... ... ... A.. ... G..
Capra hircus_XM_005699494.3                   ... ... ... ... ... ... ... ... ..T ..C ... ... ..T C.. ..C ... ... .C. ... ... ..A ... A.. ... G..
Oryx dammah_XM_040255623.1                    ??? ??? ??? ??? ??? ??? ... .C. ..T ..C ... ... ... C.. ..C ..C T.. .C. ..T ..C ... ... .T. ..T G..
Budorcas taxicolor_XM_052662536.1             ... ... ... ..T ... ... .C. ..A ..T ... .A. ... ... C.. ..C ... ... .C. ... ... ... ... ... ... G..

                                              111 111 222 222 222 222 222 222 222 222 333 333 333 333 333 333 333 333 333 333 333 333 333 444 444
                                              778 999 111 222 222 333 555 667 777 888 000 111 111 222 223 333 333 444 444 455 888 889 999 222 666
                                              890 012 456 012 678 234 345 890 123 678 789 012 345 234 890 456 789 012 678 901 234 890 456 123 678
Bubalus bubalis_XM_006077389.3                TCT AGC ATC ATA GTG CAC CAG GTG GCA GAC GGA GAG ATG GCT GAG AGC GTG TTG CAG CTG GCT CTT CAT GCT ATG
Bos taurus_NM_001040533.1                     ..C .A. ... ..G A.. ... G.. ... ... ..G ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..G G..
Bos indicus×Bos taurus_XM_027531692.1         ..C .A. ... ..G A.. ... G.. ... ... ..G .A. ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..G G..
Bos mutus_XM_005908067.2                      ..C .A. ... ..G A.. ..T G.. ... ... ..G ... .C. ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ..G G..
Ovis aries_XM_004019431.5                     ..C ... ..T ..G ... ... G.. C.. ... ..T ... ... ... ... ..A ..G ..A ... ..C ... ... ... ..C ..C ...
Capra hircus_XM_005699494.3                   ..C ... ..T ..G ... ... G.. C.. ... ..T ... ... ... ... ..A ..G ..A ... ..C ... ... ... ..C ..C ...
Oryx dammah_XM_040255623.1                    ..C ... ..T C.G ... ... G.. ... ..G ..T ... ... .C. C.. ... ..G ..A .C. ..C ..A ..C ..G ..C ..C ...
Budorcas taxicolor_XM_052662536.1             ..C ... ..T ..G ... ... G.. C.. ... ..T ... ... .C. ... ... ..G ..A .C. ..C ... ... ... ..C ..C ...
```

b)

```
物种 species                                                        11111111
                                                             1234455567789900001115
                                                      12345690514847944650634582466
Bubalus bubalis_XP_006077451.1                        MEDKAIVLRSRLQATSIVQVDGEMASLQM
Bos taurus_NP_001035623.1                             ??????...R..H.ANMME.E.......V
Bos indicus×Bos taurus_XP_027387493.1                 .........R..H.ANMME.EE......V
Bos mutus_XP_005908129.1                              ......A..R..H.ANMME.E.A.....V
Ovis aries_XP_004019480.1                             .........RQP.TA.M.EL.....R.H.
Capra hircus_XP_005699551.2                           .........R.P.TA.M.EL.....R.H.
Oryx dammah_XP_040111557.1                            ??????.P.RWP.VA.L.E....TPRSH.
Budorcas taxicolor_XP_052518496.1                     ...N..A.QR.P..A.M.EL...T.RSH.
```

注：不同字母表示核苷酸或氨基酸替换，“.”表示与参考序列相同，“?”表示信息缺失。

Note: Different letters indicate nucleotide or amino acid substitution, “.” represents the same as the reference sequence, “?” indicates that information is missing.

图 7　牛科和非牛科物种 *THRSP* 基因核苷酸 (a) 及编码氨基酸 (b) 序列的差异位点

Fig. 7　Difference sites in *THRSP* nucleotides (a) and their encoded amino acid (b) sequences in the species of Bovidae and non-Bovidae

的表达相关[18]；Spot14 对人乳腺癌细胞的增殖和乳脂合成具有促进作用，敲低 Spot14 还会诱导细胞凋亡[19]。*THRSP*基因的表达还与牛肌肉[15]、脂肪[14]以及奶牛乳品质有关[7, 9-10]。如：韩国牛 *THRSP* 基因的多态性位点与肌肉大理石纹评分、脂肪酸组成及胴体性状相关联[15]；夏洛莱牛×荷斯坦牛肌内脂肪酸含量与 *THRSP* 基因的表达量正相关[14]；与低乳脂率奶牛相比，高乳脂率奶牛乳腺 *THRSP* 的 mRNA和蛋白的相对表达量显著升高，且过表达牛乳腺上皮细胞中的 *THRSP* 基因，TAG 含量显著增加，并上调 *FASN*、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ，*PPARγ*) 和固醇调节元件结合蛋白 1 (sterol regulatory element binding protein 1，*SREBP1*) 等重要脂肪生成酶基因的表达，提示 *THRSP* 基因能通过调节脂代谢基因的表达进而调节乳脂合成过程，其在乳腺中的表达量可能是奶牛乳脂率的标志[7]；*THRSP* 基因在山羊皮下脂肪组织的表达量最高，在乳腺的相对表达水平极低，但泌乳高峰期的表达量显著高于干奶期，对调节山羊乳腺上皮细胞的脂肪酸从头合成和去饱和过程具有重要作用[8]。

本研究还表明：牛科物种 THRSP 定位于细胞核，无跨膜区和信号肽序列，包含 1 个 Spot_14 或 Spot_14 超家族保守结构域，参与的生物学过程主要与脂类的生物合成、脂肪酸代谢、乙酰辅酶 A 代谢、酰基辅酶 A 的生物合成等相关，分子功能主要与脂肪酸合酶活性及蛋白质同源二聚化活性相关；与之互作的蛋白质分子主要与脂肪酸的合成和 β-氧化、蛋白质代谢和转运、跨细胞

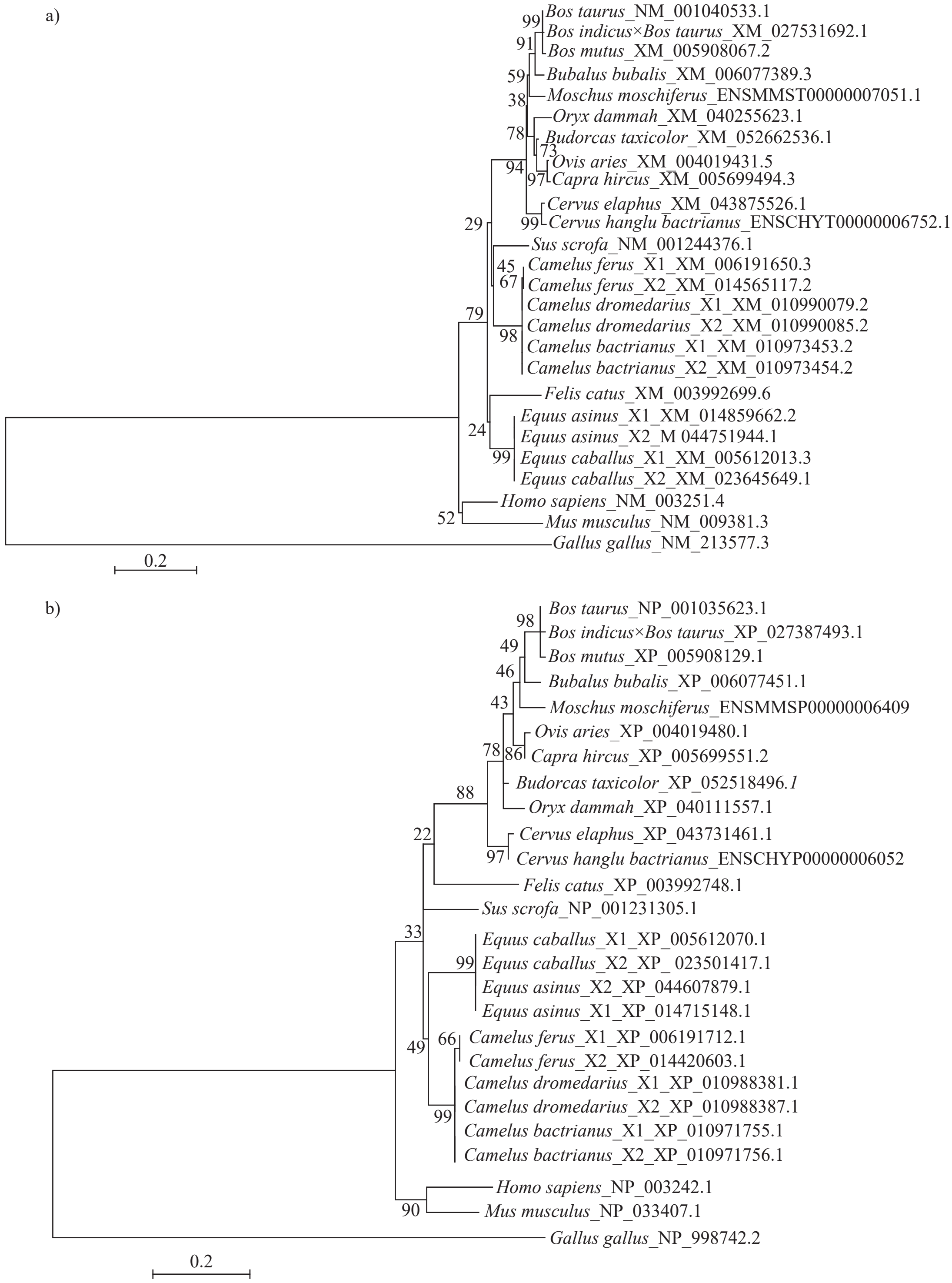


图 8　基于核苷酸序列 (a) 和氨基酸序列 (b) 构建的牛科和非牛科物种 THRSP 系统进化树

Fig. 8　Phylogenetic trees of THRSP between the species of Bovidae and non-Bovidae based on the sequences of nucleotide (a) and amino acid (b)

膜或细胞器的物质转运、溶酶体与吞噬体的融合、囊泡介导的物质运输等生物学过程有关。因此，推测 *THRSP* 基因可能与牛科物种脂肪酸的合成过程相关，特别是参与了乳脂合成过程的调节。

4　结论

牛科物种 *THRSP* 基因转录区的结构、CDS 长度、碱基组成及其编码产物的理化特性和结构

有一定差异，但具有较高的一致性。牛科 THRSP 蛋白均是定位于细胞核的亲水蛋白质，含有 1 个 Spot_14 或 Spot_14 超家族保守结构域，参与的生物学过程主要与脂类的生物合成有关，分子功能主要与脂肪酸合酶活性及蛋白质同源二聚化活性相关。推测 THRSP 蛋白参与了牛科物种脂合成 (包括乳脂合成) 的调节。

[参考文献]

[1] SEELIG S, LIAW C, TOWLE H C, et al. Thyroid hormone attenuates and augments hepatic gene expression at a pretranslational level[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1981, 78(8): 4733. DOI: 10.1073/pnas.78.8.4733.

[2] ZHU Q H, ANDERSON G W, MUCHA G T, et al. The Spot 14 protein is required for *de novo* lipid synthesis in the lactating mammary gland[J]. Endocrinology, 2005, 146(8): 3343. DOI: 10.1210/en.2005-0204.

[3] WANG X F, CARRE W, ZHOU H J, et al. Duplicated *Spot 14* genes in the chicken: characterization and identification of polymorphisms associated with abdominal fat traits[J]. Gene, 2004, 332(1): 79. DOI: 10.1016/j.gene.2004.02.021.

[4] CUNNINGHAM B A, MALONEY M, KINLAW W B. Spot 14 protein-protein interactions: evidence for both homo- and heterodimer formation *in vivo*[J]. Endocrinology,1997,138(12):5184. DOI:10.1210/endo.138.12.5597.

[5] KIM C W, MOON Y A, PARK S W, et al. Induced polymerization of mammalian acetyl-CoA carboxylase by MIG12 provides a tertiary level of regulation of fatty acid synthesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(21): 9626. DOI: 10.1073/pnas.1001292107.

[6] COLBERT C L, KIM C W, MOON Y A, et al. Crystal structure of Spot 14, a modulator of fatty acid synthesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(44): 18820. DOI: 10.1073/pnas.1012736107.

[7] CUI Y J, LIU Z Y, SUN X, et al. Thyroid hormone responsive protein Spot 14 enhances lipogenesis in bovine mammary epithelial cells[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal, 2015, 51(6): 586. DOI: 10.1007/s11626-014-9865-8.

[8] YAO D W, LUO J, HE Q Y, et al. Thyroid hormone responsive (THRSP) promotes the synthesis of medium-chain fatty acids in goat mammary epithelial cells[J]. Journal of Dairy Science, 2016, 99(4): 3124. DOI: 10.3168/jds.2015-10632.

[9] 刘智宇, 李庆章, 高学军, 等. Thrsp 在不同乳品质奶牛乳腺中的表达及其对乳脂合成的影响[J]. 中国乳品工业, 2014, 42(9): 19. DOI: 10.3969/j.issn.1001-2230.2014.09.005.

[10] 孙霞, 曲波, 李庆章, 等. THRSP 在泌乳期高、低乳品质奶牛乳腺组织中的蛋白表达及定位[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(4): 7. DOI: 10.3969/j.issn.1001-2230.2015.04.002.

[11] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194. DOI: 10.1016/j.molp.2020.06.009.

[12] BAILEY T L, JOHNSON J, GRANT C E, et al. The MEME suite[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(W1): W39. DOI: 10.1093/nar/gkv416.

[13] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

[14] SCHERING L, ALBRECHT E, KOMOLKA K, et al. Increased expression of thyroid hormone responsive protein (THRSP) is the result but not the cause of higher intramuscular fat content in cattle[J]. International Journal of Biological Sciences, 2017, 13(5): 532. DOI: 10.7150/ijbs.18775.

[15] OH D Y, LEE Y S, LA B M, et al. Identification of exonic nucleotide variants of the thyroid hormone responsive protein gene associated with carcass traits and fatty acid composition in Korean cattle[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2014, 27(10): 1373. DOI: 10.5713/ajas.2014.14101.

[16] ZHU Q, MARIASH A, MARGOSIAN M R, et al. *Spot 14* gene deletion increases hepatic *de novo* lipogenesis[J]. Endocrinology, 2001, 142(10): 4363. DOI: 10.1210/endo.142.10.8431.

[17] COMPE E, DE SOUSA G, FRANÇOIS K, et al. Spot 14 protein interacts and co-operates with chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor 1 in the transcription of the L-type pyruvate kinase gene through a specificity protein 1 (Sp1) binding site[J]. Biochemical Journal, 2001, 358(1): 175. DOI: 10.1042/0264-6021:3580175.

[18] RUDOLPH M C, WELLBERG E A, LEWIS A S, et al. Thyroid hormone responsive protein Spot14 enhances catalysis of fatty acid synthase in lactating mammary epithelium[J]. Journal of Lipid Research, 2014, 55(6): 1052. DOI: 10.1194/jlr.M044487.

[19] KINLAW W B, QUINN J L, WELLS W A, et al. Spot 14: a marker of aggressive breast cancer and a potential therapeutic target[J]. Endocrinology, 2006, 147(9): 4048. DOI: 10.1210/en.2006-0463.

责任编辑：何謦成