

绵羊*GDF9*基因生物信息学分析

张小雪¹, 潘香羽¹, 李发弟^{1,2}, 王维民^{1,2}

(1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省肉羊繁育生物技术工程实验室, 甘肃 民勤 733300)

摘要: 利用生物基因组学数据库, 对生长分化因子9 (Growth Differentiation Factor 9, *GDF9*) 基因进行生物信息学分析。结果表明, 绵羊*GDF9*基因含有1个1 362 bp的开放阅读框, 编码452个氨基酸; *GDF9*蛋白分子质量为51 773.63 D; *GDF9*基因主要位于细胞膜及膜外, 参与机体的信号转导调控。

关键词: 绵羊; 生长分化因子9; 生物信息学分析

中图分类号: S826; Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2014)08-0018-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2014.08.008

Biological Information Analysis on Sheep's *GDF9* Gene

ZHANG Xiao-xue¹, PAN Xiang-yu¹, LI Fa-di^{1,2}, WANG Wei-min^{1,2}

(1. College of Animal Science Technology, Gansu Agriculture University, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Gansu Province Mutton Sheep Breeding Biotechnology Engineering Laboratory, Minqin Gansu 733300, China)

Abstract: The physicochemical characteristics, structures and functions of ovine *GDF9* were predicted and analyzed using software tools and database of biological genomics. Meanwhile, the phylogenetic tree of *GDF9* and related proteins was constructed. The results showed that the ORF of *GDF9* was 1 362 bp which encoded 452 amino acids. The sheep protein of *LHβ* was 51 773.63 D in molecular weight. The *GDF9* played an important role in signal transducer in membrane.

Key words: Sheep; Growth Differentiation Factor 9 Gene; Bioinformatics analysis

生长分化因子9 (*growth differentiation factor 9*, *GDF9*) 属转化生长因子β (TGFβ) 超家族成员, 对早期卵泡的生长和分化起到重要调节作用。绵羊*GDF9*基因定位于5号染色体上, 全长2.5 kb, 其中包括2个外显子和1个内含子^[1-2]。*GDF9*是由卵母细胞分泌的一种生长因子, 对卵泡的生长分化起重要调节作用, 其mRNA在绵羊卵泡发育的各个阶段都有表达; 卵泡进入生长阶段后, *GDF9*能维持卵泡的正常生长和卵母细胞的发育; 在后期可以促进黄体的形成^[3]。*GDF9*基因缺陷型母羊卵母细胞可发育到正常大小, 但卵巢表面呈“斑纹”状, 上皮颗粒脱落, 有丝分裂不能完成, 并且卵泡周围的颗粒细胞表现异常状态^[1]。我们以生物基因组数据库调取的绵羊*GDF9*的序列为基础, 利用生物信息学方法对*GDF9*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, 以期深入研究*GDF9*基因及其编码蛋白的基本结构和生物学功能提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 序列来源

数据资料来源于NCBI网站GenBank数据库, 包括绵羊(NM_001142888.2)、牛(NM_174681.2)、人(NM_001288824.2)、家鼠(NM_008110.2)、挪威鼠(NM_021672.1)、猪(NM_001001909.1)、犬(NM_001168013.1)、鸡(NM_206988.2)、山羊(NM_001285708.1)、斑马鱼(NM_001012383.1)。

1.2 方法

绵羊*GDF9*基因开放阅读框(Open reading frame, ORF)采用DNAMAN软件进行分析, 参照Kozak法则^[4]。*GDF9*编码产物的理化性质采用

收稿日期: 2014-06-09

基金项目: 甘肃省重大科技专项“高繁殖力优质肉羊新品种培育及产业化开发”(1102NKDH023)部分内容

作者简介: 张小雪(1984—), 女, 湖北武汉人, 助教, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作。联系电话: (0931)7631225。

E-mail: zhangxx@gsau.edu.cn

通讯作者: 李发弟(1963—), 男, 甘肃民勤人, 教授, 博士生导师, 主要从事绵羊遗传育种与繁殖工作。联系电话: (0931)7631225。E-mail: lifd@gsau.edu.cn

Bioedit及DNASTar分析软件预测。亚细胞定位采用PSORT II 预测^[5]。功能域及功能分类采用ProtFun预测^[6-7]。跨膜区域的预测采用TMHMM程序。二级结构采用SSpro分析预测。多序列比对及同源性分析采用DNAMAN软件分析^[8]。

2 结果与分析

2.1 绵羊 GDF 9 基因开放阅读框分析

图1分析结果表明, 绵羊GDF9基因序列中有1条长1 362 bp的ORF, 起始密码子位于1 bp处, 终止密码子位于1 362 bp处, 推测编码452个氨基酸残基。

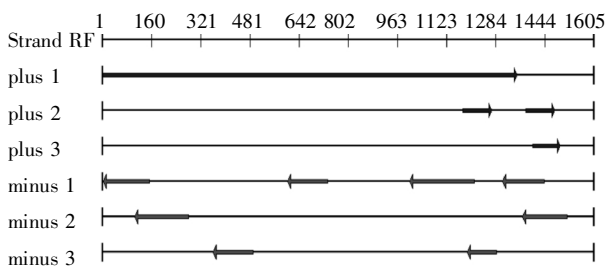


图1 绵羊GDF9基因序列的ORF分析

2.2 绵羊 GDF 9 编码产物的理化性质分析

蛋白质的基本性质包括其相对分子质量、氨基酸组成和等电点等。用Bioedit及DNASTar分析软件对绵羊GDF9基因编码产物的理化性质进行预测, 得出GDF9基因编码的452个氨基酸, 其中组成最多的是Leu(亮氨酸), 所占比例为11.04%。其理论分子量约为51 773.63 D(图2)。

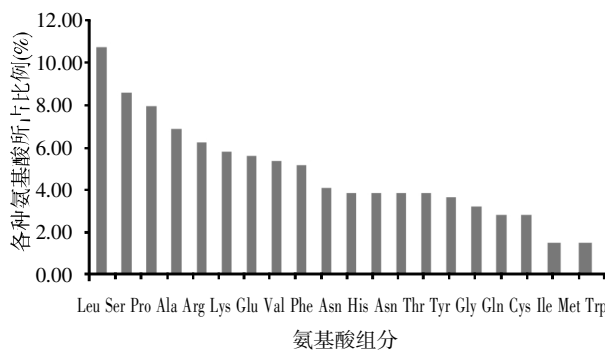


图2 绵羊GDF9基因编码产物氨基酸组成

2.3 绵羊 GDF 9 编码产物序列同源性分析

从图3可以看出, GDF9在很多物种中都有表达, 且绵羊与山羊的GDF9氨基酸序列同源性较高, 说明绵羊与山羊在进化过程具有较近的亲缘关系。GDF9基因编码产物系统发育树(图4)证明, 绵羊和山羊在系统发育树中的距离最近, 同源性达99%。

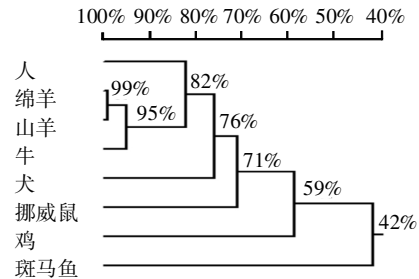


图4 8个物种的GDF9基因编码产物的系统发育树

2.4 绵羊 GDF 9 编码产物亚细胞定位分析

从表1可知, 通过工具PSORT II 预测GDF9编码产物的亚细胞定位, 其分布在细胞膜外(包括细胞膜)的可能性为55.6%, 分布在线粒体的可能性为22.2%, 分布在空泡和细胞核的可能性均为11.1%。由此可以推断, 绵羊GDF9编码产物主要在细胞膜及膜外中发挥生物学作用。

表1 GDF9编码产物的亚细胞定位预测结果

亚细胞定位	可能性 (%)
膜外(包括细胞膜)	55.6
线粒体	22.2
空泡	11.1
细胞核	11.1

2.5 绵羊 GDF 9 编码产物结构功能预测与分析

由Protfun分析软件对GDF9编码产物功能预测分析的结果(表2)可知, 该蛋白具有信号传导功能的可能性最高, 几率为0.257, 由此推断GDF9可能参与机体的信号传导调控。

表2 GDF9编码产物结构功能分析

GO功能类别	几率	GO功能类别	几率
信号传感器	0.257	运载体	0.025
免疫应答	0.116	阳离子通道	0.010
受体	0.066	离子通道	0.009
转录	0.058	金属离子转移	0.009
转录调控	0.047	结构蛋白	0.003
胁迫应答	0.044	激素	0.003
生长因子	0.041		

2.6 绵羊 GDF 9 编码产物跨膜区域的预测与分析

由图5可知, GDF9编码产物跨膜区域的数量为1个, 跨膜结构域的位置位于序列的6~26位,

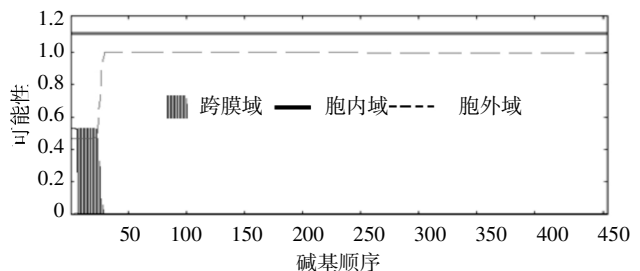


图5 TMHMM程序分析GDF9编码产物的跨膜区域结

绵羊	MALPNKFFLWFCCFAWLCFFPISLDSLPSRGEAQIVARTAL	ESEAETWSLLNHLGGRHR	PGLLSPLLEVLVYDG	74
牛	MALPNKFFLWFCCFAWLCFFPISLDSLPSRGEAQIVARTAL	ESEAETWSLLKHLGGRHR	PGLLSPLLNVLVYDG	74
山羊	MALPNKFFLWFCCFAWLCFFPISLDSLPSRGEAQIVARTAL	ESEAETWSLLNHLGGRHR	PGLLSPLLKLVYDG	74
猪	MALPRKFFLFCFCFAWLCFFPISLDSLPSRGEAQIVARTAL	ESEAEPWSLLRPFDRHR	SGLPSPLFNVLVYDG	74
家鼠	MALPSNFFLGVCCFAWLCFFLSSSLQASTESQSGASENV	ESEADPWSLLLPVDGTR	SGLLPPLFKVLSR	74
鸡	MEGTWRICVCFYGCIIHWLSSSIQCSFRSRDRTPADKVSGL	LGAPELHPLRLRPLKGVSRGYALLPPLLEVLSDQGRQSWES		80
挪威鼠	MAFFPSRFLGVCCFAWLCFLISLSSQASTGESQAGASENL	ESEADPWSLLLPVDGTR	SGLLPPLFKVLSR	74
斑马鱼	MAT.....LFFKCSALCYLPRSLIVLAVLGLSITSSYNFE	NESVEPFDVPLQHGILSPLLKAISEQ	66
犬	MALLSNFFLWFFGLTLLCFPISLGSQVSRGEARAAAGAES	ESVAEPWSLLRPFDRDR	SGFLSPLFKVLVYDG	74
人	0
绵羊	EPFRLQEDDRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFGDLAGTFPFSVDLLENLFRVTVVEHFF		154
牛	EPFRLQEDDRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFGDQAGTILPFSVDLLENLFRVTVVEHFF		154
山羊	EPFRLQEDDRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFGDLAGTFPFSVDLLENLFRVTVVEHFF		154
猪	ETPLRLQEDSRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFGDQVTGTLPSGDIFRNLFRVTAVEHLL		154
家鼠	ETPKLQEDSRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFQESNVQVTGTLPLMVDLLENLFRVTAVEHLL		154
鸡	ETPKLQEDSRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFQESNVQVTGTLPLMVDLLENLFRVTAVEHLL		160
挪威鼠	ETPKLQEDSRALRYMKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCAQHKQAFQESNVQVTGTLPLMVDLLENLFRVTAVEHLL		154
斑马鱼	FTHTKPEPSRYVRMRRLYKQSSKPYRSEAS..FLYNTA	RLITPREECLKQNRFFMQDISYSLRVRVRSQEHLL	139
犬	GTE.....RALRYMKRLYACATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTSCAHTQAFGDQATGSVFPVVDLLENLFRVTAVEHLL		148
人MKRLYAYATKEGTFKSNRRHLYNTV	RLFTPCRHQAFGDQVTGILPFSVELLENLFRITVVEHLL		66
绵羊	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		233
牛	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		233
山羊	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		233
猪	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		233
家鼠	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		233
鸡	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		237
挪威鼠	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		237
斑马鱼	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		226
犬	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		227
人	KSULLYTFNNSISFPFVKICINLVIKPEPFSKTLPRAP	YSFTYNS.QFEFRKKYKWEIDVTAFLPPLVASHKRNHEM		145
绵羊	SVNFTCAEDQLQHPSA..RDSLFNMTLLVAPSLDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		308
牛	SVNFTCAEDQLQHPSA..RDSLFNMTLLVAPSLDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		308
山羊	SVNFTCAEDQLQHPSA..RDSLFNMTLLVAPSLDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		308
猪	SIDFTQVKDQLQHLSA..QESPCNMTLLAPSLDLYLNDT	STQAYHRWYSLPWRKRRPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		299
家鼠	SVNFTCAEDQLQHPSA..RDSLFNMTLLVAPSLDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		296
鸡	AVNFTCLMGNFQHNK..QDNLINV..LVPDLYLNDT	STQAYHRWYSLPWRKRRPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		314
挪威鼠	SVNFTCAEDQLQHPSA..RDSLFNMTLLVAPSLDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		296
斑马鱼	LINLTOVEDMISRPGGQIHKSPVELT.PRSPLDLYLNDT	SEVAYQRRSTQG..RMVDLTSNHWGKS.....T		283
犬	SVNFTCAEDQLQHPSA..RDSLFNMTLLVAPSLDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		302
人	SINFTCMKDKLQHEPSA..QNGLFNMT.LVPSLIDLYLNDT	SACAFHRWHSLSHPKRRKPSQGEDQKRGLSAYFVGEAA...A		219
绵羊	EGVRS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		386
牛	EGVRS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		386
山羊	EGVRS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		386
猪	EGVRS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		377
家鼠	EVERSP..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		374
鸡	QGXRS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		387
挪威鼠	EVERSP..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		373
斑马鱼	LWELTS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		351
犬	EGGRSS..RRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	FPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		380
人	EDGRSSHRRRRRQDESASSELKKPLVPASVNLSEYFKQFL	LPQNECELHDFRFSFSQKLDNWIWAHHRNFRYCKGICP		299
绵羊	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		452
牛	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		452
山羊	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		452
猪	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		443
家鼠	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		440
鸡	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		453
挪威鼠	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		439
斑马鱼	RNVGFYVYGSVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		417
犬	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		446
人	RVVGHRYGSEVHTMVQNIIEKLDSSVPRPFCVPAKYSP	SVLITBEDCSIAKYEBDMIAKTCIC		365

图3 10个物种的GDF9基因编码产物序列的同源性分析

其侧翼序列为序列1~5位位于胞内，27~425位位于胞外。据此推断，绵羊GDF9极可能是一个跨膜蛋白，分为跨膜域、胞外域和胞内域3部分。

3 结论

绵羊GDF9基因ORF长度为1362 bp，编码452个氨基酸残基，Leu(亮氨酸)所占比例最高，为11.04%，其理论分子量约为51773.63 D。GDF9在很多物种中都有表达，其中绵羊与山羊GDF9编码的氨基酸序列同源性较高，在系统发育树中的距离最近。绵羊GDF9基因主要位于在细胞膜及膜外，参与机体信号转导的调控。

参考文献:

[1] 李碧侠, 储明星, 王金玉. 生长分化因子9基因的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2002, 29(6): 33-36.

[2] JUENGL J L, BODENSTEINER K J, HEATH D A, et al. Physiology of GDF 9 and BMP 15 signalling molecules [J]. Animal Reprod Sci., 2004 (82-83): 447-460.

[3] JUENGL J L, HUDSON N L, HEATH D A, et al. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep[J]. Biol. Reprod, 2002(67): 1777-1789.

[4] 罗 轶. 鸡FATP1基因cDNA的克隆、组织表达及其生物信息学分析 [D]. 雅安: 四川农业大学动物科技学院

合水县耕地地力评价研究

王巧菊¹, 杨子凡², 高建军¹, 侯启辉¹, 王永昌¹

(1. 甘肃省合水县农业技术推广中心, 甘肃 合水 745400 2. 甘肃省合水县国土资源局, 甘肃 合水 745400)

摘要: 利用图层叠加求交的方法, 把合水县土壤图、农用地地块图和行政区划图叠加求交, 得到5 487个评价单元。选取2012年 ≥ 10 ℃积温、年降水量、有机质、有效磷、耕层厚度、剖面构型、地貌类型、坡向和坡度作为评价指标, 采用层次分析法建立层次分析模型, 采用特尔斐法和隶属函数拟合法确定各评价指标的隶属度和隶属函数, 最后使用县域耕地资源管理信息系统加法模型计算耕地地力综合指数 IFI , 通过 IFI 大小来划分合水县耕地地力等级。结果一等地综合评价指标 $IFI > 0.920 0$, 占耕地总面积的2.71%; 二等地 IFI 为0.920 0~0.885 0, 占16.93%; 三等地 IFI 为0.885 0~0.725 0, 占45.58%; 四等地 IFI 为0.725 0~0.625 0, 占26.82%; 五等地 $IFI < 0.625 0$, 占7.96%。

关键词: 耕地地力; 评价研究; 合水县

中图分类号: S158 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2014)08-0021-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2014.08.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2014.08.009)

Heshui County's Farmland Fertility Evaluation

WANG Qiao-ju¹, YANG Zi-fan², GAO Jian-jun¹, HOU Qi-hui¹, WANG Yong-chang¹

(1. Heshui Agricultural Technology Extension Center, Heshui Gansu 745400, China; 2. Heshui bureau of land and resources, Heshui Gansu 745400, China)

Abstract: By using the method of the layer stack intersection, put the soil map, agricultural land block diagram and the administrative zoning map of the Heshui county superposition of intersection to get 5 487 evaluation units. The accumulated temperature ≥ 10 °C, annual precipitation, the organic matter, the effective phosphorus, top layer thickness, profile configuration, geomorphic types, slope aspect and degree were selected to be the evaluation index, using analytic hierarchy process to establish the analytic hierarchy model, Delphi method and membership function fitting method to get membership and membership function of each evaluation index. Finally, using cultivated land resource management information system of the county additive model to calculate IFI , according to the number of IFI to divide the farmland productivity level of Heshui county. The first-grade arable land IFI is bigger than 0.920 0, accounting for the total area of cultivated land 2.71%; The second-grade arable land IFI is 0.920 0 ~ 0.885 0, accounting for the total area of cultivated land 16.93%; The third-grade arable land IFI is 0.885 0 ~ 0.725 0, accounting for the total area of cultivated land 45.58%; The fourth-grade arable land IFI is 0.725 0 ~ 0.625 0, accounting for the total area of cultivated land 26.82%; The fifth-grade arable land IFI is smaller than 0.625 0, accounting for the total area of cultivated land 7.96%.

Key words: Cultivated land fertility; Evaluation; Heshui counties

耕地质量是决定农业生产质量和数量的基础, 也是保证农业可持续发展的基础。开展耕地地力

收稿日期: 2014-05-23

基金项目: 甘肃省科技支撑计划项目(1104NKCA093)

作者简介: 王巧菊(1974—), 女, 甘肃合水人, 农艺师, 主要从事农业技术推广工作。E-mail: 337698302@qq.com

执笔人: 杨子凡

院, 2008.

- [5] NAKAI K, HORTON P. PSORT: a program for detecting sorting signals in proteins and predicting their sub-cellular localization[J]. Trends Biochem Sci, 1999(24): 34-36.
- [6] JENSEN L J, GUPTA R, BLOM N, et al. Prediction of human protein function from post-translational modifications and localization features [J]. Journal of Molecular

Biology, 2002(319): 1257-1265.

- [7] JENSEN L J, STRFELDT H H, BORUNAK S. Prediction of human protein function according to gene ontology categories [J]. Bioinformatics, 2003, 19(5): 635-642.
- [8] 王维民, 李发弟, 潘香羽. 绵羊LHB基因生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技, 2013(10): 14-16.

(本文责编: 王建连)