寒旱农业科学 2024,3(3):217-221
Journal of Cold-Arid Agricultural Sciences

绵羊 *MXD3* 基因的生物信息学分析

张晏铭，韩玉玲，马延龙，张小雪
（甘肃农业大学动物科学技术学院，甘肃 兰州 730070）

摘要： MAX 二聚化蛋白 3（MAX dimerization protein 3, MXD3）在肿瘤的增殖、凋亡、侵袭和转移过程中起重要作用，广泛存在于多种动物体内。为探究 *MXD3* 基因在绵羊体内的功能，运用生物信息学数据库及其软件，分析了该基因及其编码的产物。结果发现，绵羊 *MXD3* 基因总共编码了 206 个氨基酸残基，所编码的蛋白质分子式为 $C_{1000}H_{1650}N_{332}O_{315}S_6$，分子质量为 23 556.50 KDa，理论等电点 pI 为 9.32，半衰期为 30 h，不稳定指数为 88.30。通过基本理化性质分析可知，绵羊 MXD3 主要在细胞核发挥作用，不属于分泌蛋白，不存在信号肽序列，不存在跨膜结构，是亲水性蛋白。该蛋白的二级结构主要是以无规卷曲、α 螺旋组成，而三级结构预测结果与二级结构相符。

关键词： 绵羊；*MXD3* 基因；生物信息学分析
中图分类号： S826 **文献标志码：** A **文章编号：** 2097-2172(2024)03-0217-05
doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2024.03.005

Bioinformatics Analysis of Ovine *MXD3* Gene

ZHANG Yanming, HAN Yuling, MA Yanlong, ZHANG Xiaoxue
(College of Animal Science and Technology, Gansu Agriculture University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: MAX dimerized protein 3 (*MXD3*) gene plays an important role in tumor proliferation, apoptosis, invasion and metastasis, which is widely present in a variety of animals. In order to explore the function of *MXD3* gene in sheep, bioinformatics analysis of *MXD3* gene and its encoded products was conducted by using bioinformatics databases and software. The results showed that *MXD3* gene encoded 206 amino acid residues, the protein molecular formula was $C_{1000}H_{1650}N_{332}O_{315}S_6$, the molecular weight was 23 556.50 KDa, isoelectric point pI was 9.32, the half-life was 30 h, and the instability index was 88.30. Sheep *MXD3* protein subcells were mainly located in nucleus, which was not a secreted protein and therefore no signal peptide sequence was detected. No transmembrane structure was found and was regarded as a hydrophilic protein. The secondary structure of the protein was composed of random coil and α helix, and the predicted results of tertiary structure were consistent with the secondary structure.

Key words: Sheep; *MXD3* gene; Bioinformatics analysis

MXD3 基因是 *Mad* 基因家族的一员，*MXD3* 基因的转录组和蛋白质在细胞增殖过程中发挥一定作用。研究发现，人 *MXD3* 基因在肝癌细胞中的表达要高于正常肝细胞中的表达，且高表达 *MXD3* 基因的肝细胞肝癌患者生存率低于低表达 *MXD3* 基因的肝细胞肝癌患者，表明 MXD3 是肝细胞肝癌的潜在生物学标志物和独立的预后指标[1]。人 *MXD3* 基因在髓母细胞瘤细胞中异常高表达，在髓母细胞瘤生物发生、维持和增殖中起重要作用[2-5]。据相关报道，该基因的 siRNA 已被用于神经母细胞瘤和急性 B 淋巴细胞白血病的治疗，而且癌细胞的增殖明显受其抑制[3]。*MXD3* 基因在许多人类肿瘤中有表达，特别是在中枢神经系统肿瘤中，在胶质母细胞瘤中最为显著[4]。*MXD3* 基因在小鼠成神经管细胞瘤模型中也有表达，敲除 *MXD3* 基因后，会减少小鼠成神经管细胞瘤的增生[6]。小鼠 *MXD3* 基因在小脑中的增殖作用及其在小脑肿瘤中的过表达一致。*MXD3* 基因在过渡性 IgD 中表达 - 脾脏中的 B 细胞，其表达在小鼠成熟过程中降低。因此，前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病样品中的高 *MXD3* 基因水平可能反映了白血病细胞的不成熟性质[5]。*MXD3* 基因在小鼠髓母细胞瘤模型表

收稿日期： 2023-11-18；**修订日期：** 2024-01-30
基金项目： 甘肃农业大学大学生创新创业训练计划（202304027）。
作者简介： 张晏铭（2002—），男，河北唐山人，本科在读，研究方向为动物科学。Email: 3339094955@qq.com。
通信作者： 张小雪（1984—），女，湖北武汉人，副教授，主要从事动物遗传育种与繁殖研究及教学工作。Email: zhangxx@gsau.edu.cn。

达水平增多，过多的MXD3蛋白与Max异二聚体竞争结合DNA结合位点，抑制Myc蛋白的作用，由此致使细胞增殖失控和抑癌作用的下降[7-9]。目前，关于*MXD3*基因及其蛋白的结构与功能的研究主要集中于人和小鼠，而对绵羊的研究很少。本文利用NCBI数据库等，结合生物信息学手段对绵羊*MXD3*基因及其编码产物理化性质、蛋白质结构、生物学功能等进行了研究，以探究该基因及其编码产物的结构与生物学功能。

1 材料与方法

1.1 序列来源

数据资料来源于NCBI网站的GenBank数据库，其中包括绵羊(XM_042250364.2, XP_042106298.1)、人(NM_000044.6, NP_000035.2)、兔子(XM_002710426.4, XP_002710472.1)、狗(XM_038663261.1, XP_038519189.1)、牛(NM_001193259.1, NP_001180188.1)、猪(NM_001244104.1, NP_001231033.1)、马(XM_023617137.1, XP_023472905.1)、山羊(XM_018050624.1, XP_017906113.1)等8个物种的mRNA序列与氨基酸序列。括号内为GenBank登录号。

1.2 方法

采用NCBI的ORF Finder程序分析绵羊*MXD3*基因的开放阅读框，使用Bioedit及ProtParam软件分析绵羊*MXD3*基因的理化性质，通过PSORTⅡ软件预测绵羊MXD3蛋白进行亚细胞定位，选择SignalP 3.0软件预测绵羊MXD3蛋白潜在信号肽剪切位点，采用TMHMM程序预测绵羊MXD3蛋白跨膜螺旋区域，通过Smart软件分析绵羊MXD3蛋白保守结构域，使用Prot Scale在线工具分析绵羊MXD3蛋白亲疏水性，采用Jpred软件预测绵羊MXD3蛋白质二级结构，通过Swiss-model在线软件预测绵羊MXD3蛋白三级结构，采用DNAMAN软件分析多序列比对及同源性[10-17]。

2 结果与分析

2.1 绵羊*MXD3*基因开放阅读框分析

对开放阅读框分析得知(图1)，绵羊*MXD3*基因中含有1个最长621 bp的ORF，起始密码子位于604 bp处，终止密码子位于1 224 bp处，编码了206个氨基酸残基。

2.2 绵羊*MXD3*基因编码产物理化性质分析

蛋白质的基本性质包括相对分子质量、氨基酸组成、亲水性平均值、等电点等。采用Prot-Param和Bioedit软件对绵羊*MXD3*基因编码产物的理化性质分析可知，绵羊*MXD3*基因分子式为$C_{1000}H_{1650}N_{332}O_{315}S_6$，编码206个氨基酸残基，相对分子质量为23 556.50 KDa，理论等电点pI为9.32。该蛋白共含31个负电荷残基数(Asp+Glu)、36个正电荷残基数(Arg+Lys)。其氨基酸组如图2所示。其中Arg(精氨酸)和Leu(亮氨酸)含量最高，所占比例为13.59%；Trp(蛋氨酸)含量最少，所占比例为1.20%。该基因编码产物半衰期为30 h，不稳定指数为88.30，属于不稳定蛋白质。

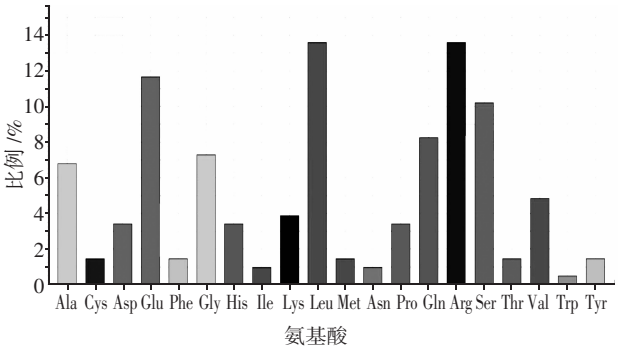

图2 绵羊*MXD3*基因编码的蛋白氨基酸组成

2.3 绵羊MXD3蛋白亚细胞定位

通过PSORTⅡ软件预测得知，绵羊*MXD3*基因编码蛋白的亚细胞分布于细胞核的可能性最大(69.6%)，分布于细胞骨架的可能性次之(13.0%)，

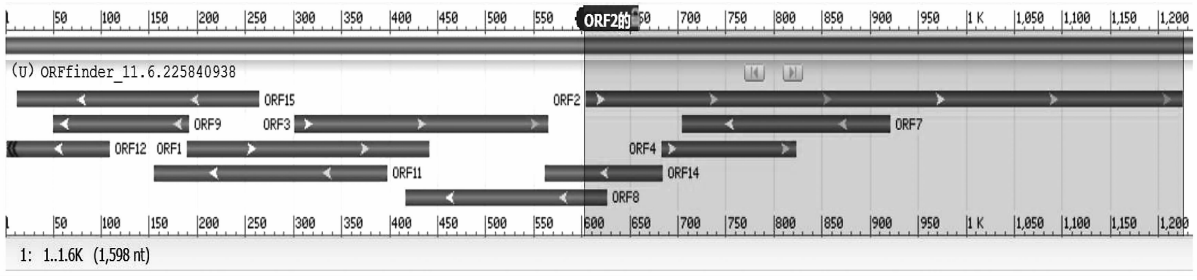

图1 绵羊*MXD3*基因序列的ORF分析

分布于高尔基体、细胞质、质膜、分泌囊泡系统的可能性最小(4.3%)。由此推断，绵羊 *MXD3* 基因主要在细胞核中发挥生物学作用，其次在细胞骨架中发挥作用。

2.4　不同物种 MXD3 蛋白的同源性分析

采用 DNAMAN 软件将人和绵羊、兔子、牛、狗、山羊、猪、马 7 个动物的氨基酸序列进行序列比对。结果表明，MXD3 氨基酸序列在物种间的表达相对保守，山羊和绵羊的同源性趋于一致，为 100%；牛与绵羊同源性次之，为 98%；猪和马仅与绵羊同源性有少量不同，均为 95%；兔子与绵羊同源性为 91%；狗与绵羊同源性更低，为 86%；而人和其余 7 种动物的同源性最低，为 17%(图 3、图4)。

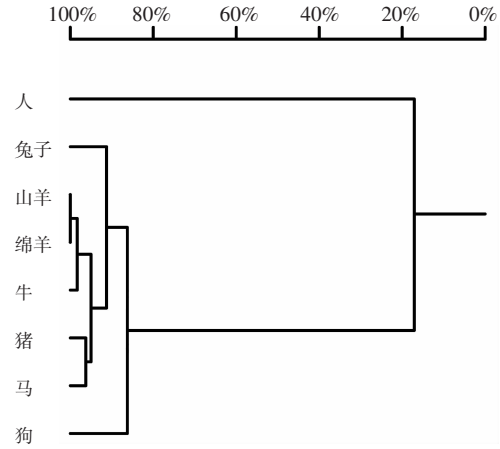

图 4　8 个物种的 *MXD3* 基因编码产物序列的同源树

2.5　绵羊 MXD3 蛋白潜在信号肽剪切位点预测

通过 SignalP 3.0 软件对绵羊 MXD3 蛋白分析

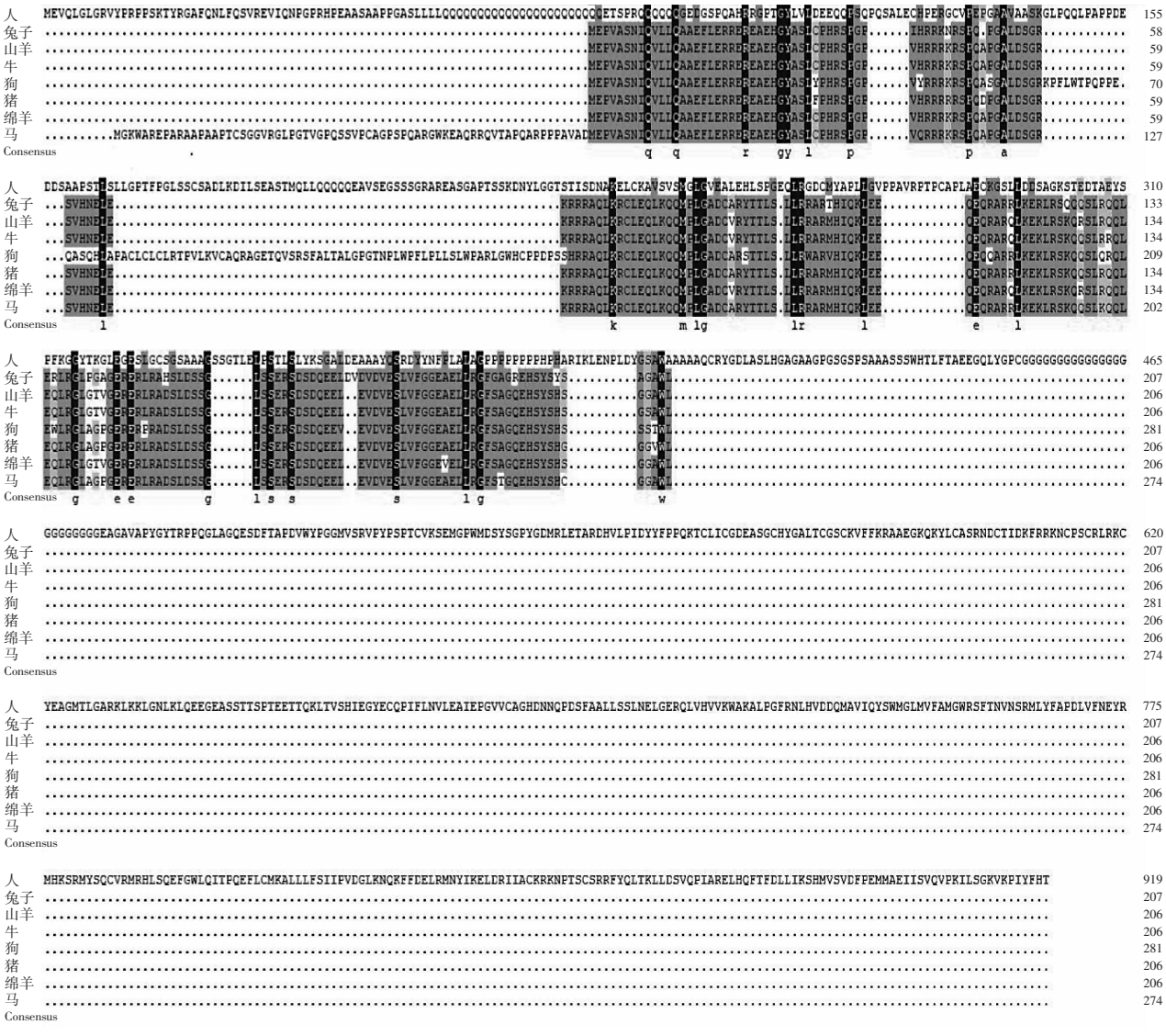

图 3　8 个物种的 *MXD3* 基因编码产物序列的同源性分析

可知，绵羊 *MXD3* 基因编码产物的原始剪切位点（C 值）、综合剪切位点估计值（Y 值）、信号肽位点估计值（S值）分别在第 26 位、第 3 位、第 1 位，最大值分别为 0.124、0.037、0.217（图5）。由此推测，绵羊 *MXD3* 基因编码产物不存在信号肽，是非分泌性蛋白，为不具跨膜区域的非跨膜蛋白。

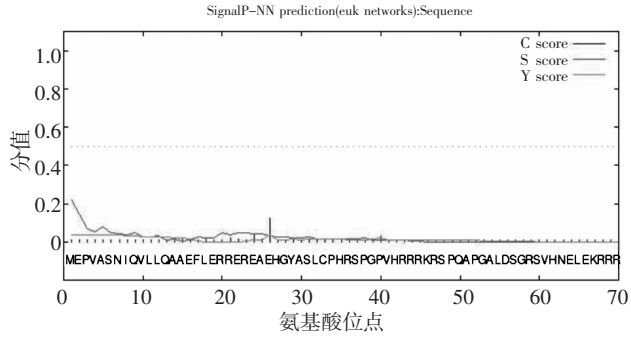

图 5　绵羊 MXD3 基因蛋白潜在信号肽剪切位点分析

2.6　绵羊 MXD3 蛋白跨膜螺旋结构预测

通过 TMHMM Server v.2.0 在线软件进行分析表明，绵羊 *MXD3* 基因编码产物在膜外无任何序列，该蛋白无跨膜结构，为非跨膜蛋白（图 6）。

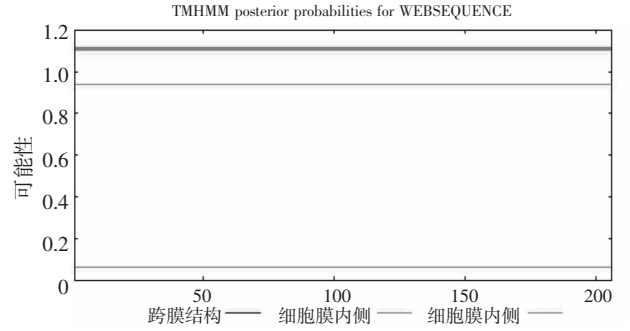

图 6　绵羊 *MXD3* 基因蛋白跨膜螺旋结构分析

2.7　绵羊 MXD3 蛋白保守结构域分析

结构域的位置位于超二级结构和三级结构，有独特的空间构象，是蛋白质三级结构的基本单位。保守结构域是基因的核心，有重要的功能。采用 Smart 软件对绵羊 MXD3 蛋白保守结构域分析的结果（图 7、表1）表明，绵羊 MXD3 蛋白的第 11 ~ 26 位、第 122 ~ 138 位、第 148 ~ 167 位氨基酸残基均为低复杂性区域（Low complexity region）。

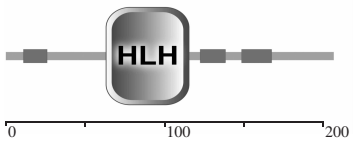

图 7　绵羊 MXD3 蛋白保守结构域分析

表 1　绵羊 MXD3 蛋白保守结构域分析数据

名称	起始位点	终止位点	E值
低复杂性区域	11	26	N/A
HLH	63	115	6.03e−9
低复杂性区域	122	138	N/A
低复杂性区域	148	167	N/A

2.8　绵羊 MXD3 蛋白亲疏水性分析

通过 Prot Scale 软件判断绵羊 MXD3 蛋白亲疏水性发现，绵羊 MXD3 蛋白疏水性在氨基酸第 14 位表现最大值 1.667，在第 46 位表现最小值 −3.444，在 0 以下的氨基酸更加密集（x <0 为亲水性氨基酸），且 |3.444|>|1.667|（图 8），可知绵羊 MXD3 蛋白是亲水性蛋白。

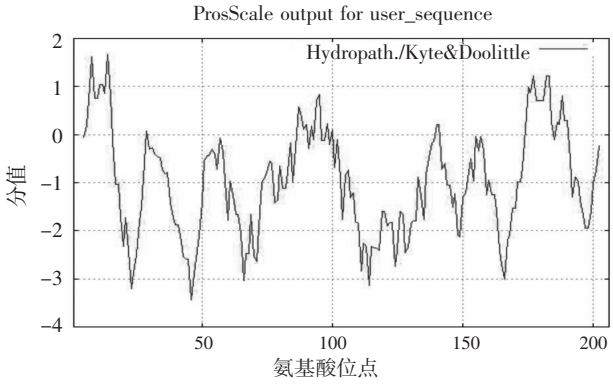

图 8　绵羊 *MXD3* 基因编码蛋白质的疏水性/亲水性预测分析

2.9　绵羊 MXD3 蛋白结构预测

2.9.1　蛋白二级结构预测　采用 Jpred 在线软件对绵羊 MXD3 蛋白二级结构分析预测（图 9）可知，α 螺旋占比为 39.32%，β 折叠占比为 5.34%，无规卷曲占比为 55.34%，无规卷曲占主要地位。

2.9.2　蛋白三级结构预测　蛋白质的三级结构（tertiary structure）是指多肽链借助各种作用力，其进一步折叠卷曲成为复杂的球形分子。利用 Swiss-model 在线软件对绵羊 MXD3 蛋白三级结构空间构象进行预测分析发现，绵羊 *MXD3* 基因编码蛋白的三级结构主要由无规卷曲与 α 螺旋折叠卷曲构成（图 10）。

3　小结

绵羊 *MXD3* 基因中有 1 条全长为 621 bp 的 ORF，编码 206 个氨基酸残基。该蛋白分子质量为 23 556.50 KDa，亮氨酸、精氨酸含量最多，均

图 9　绵羊 *MXD3* 基因编码蛋白质二级结构预测

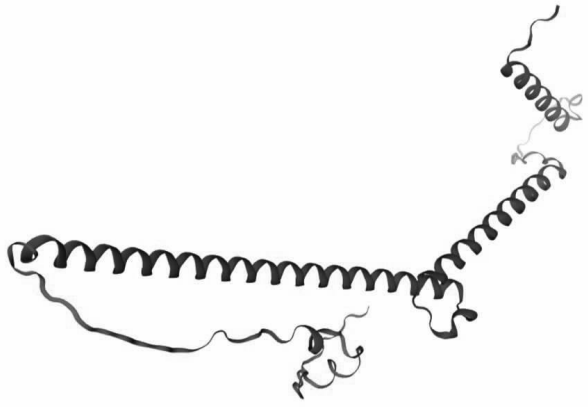

图 10　绵羊 *MXD3* 基因编码蛋白的三级结构的分析

为 13.59%，理论等电点 pI 为 9.32。绵羊 *MXD3* 基因编码蛋白属不稳定蛋白质。亚细胞定位分析，绵羊 *MXD3* 基因主要在细胞核中发挥生物学作用，均为 69.6%。绵羊 *MXD3* 基因的氨基酸序列与多种动物高度相似。绵羊 *MXD3* 基因编码产物中不存在信号肽，不是跨膜蛋白，也不是分泌性蛋白。绵羊 MXD3 蛋白为亲水性蛋白。绵羊 *MXD3* 基因编码产物的二级结构由无规卷曲、α 螺旋和 β 折叠构成，其中无规卷曲占主要地位，三级结构主要由无规卷曲和 α 螺旋折叠卷曲而成。*MXD3* 基因在细胞增殖过程中发挥一定作用，对于肿瘤增殖和癌症患者中表达异常，对于肿瘤和癌症预防，治疗有重要意义，而其在小鼠和人相关方面研究较多，对于绵羊相关 *MXD3* 基因的相关研究有待进一步探索。

参考文献：

[1] 王　宇. MXD3 在肝细胞肝癌中的表达及临床意义[D]. 荆州：长江大学，2023.

[2] BARISONE G A, NGO T, TRAN M, et al. Role of MXD3 in proliferation of DAOY human medulloblastoma cells [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e38508

[3] BARISONE G A, SATAKE N, LEWIS C, et al. Loss of MXD3 induces apoptosis of Reh human precursor B acute lymphoblastic leukemia cells[J]. Blood Cells Mol Dis, 2015, 54(4): 329–335.

[4] DUONG C, YOSHIDA S, CHEN C, et al. Novel targeted therapy for neuroblastoma: silencing the MXD3 gene using siRNA[J]. Pediatr Res, 2017, 82(3): 527–535.

[5] SATAKE N, DUONG C, CHEN C, et al. Targeted therapy with MXD3 siRNA, anti–CD22 antibody and nanoparticles for precursor B–cell acute lymphoblastic leukaemia [J]. Br J Haematol, 2014, 167(4): 487–499.

[6] 郝　丹. 三个黄牛品种生长性状选择的 Mxd3 基因标记研究[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2016.

[7] 黄　艳，张艳亮，段　勇. *MXD3* 基因与肿瘤相关性的研究进展[J]. 实验与检验医学，2017，35(5)：635–637；641.

[8] NAIR S K, BURLEY S K. Structural Aspects of Interactions Within the Myc/Max/Mad Network[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2006, 302: 123–143.

[9] BERNHARD LÜSCHER. Function and regulation of the transcription factors of the Myc/Max/Mad network.[J]. Gene, 2001, 277(1–2): 1–14.

[10] 张小雪，李发弟，王维民. 绵羊 *ANXA10* 基因生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2016(6)：1–4.

[11] 刘　佳，王　祯，代友超，等. 绵羊 *HTR4* 基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2020(10)：35–40.

[12] 陈倩玲，何亚鹏，张引弟，等. 绵羊 *RPS20* 基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2022，53(8)：39–43.

[13] 李　娜，王维民，张德印，等. 绵羊 *ADRA1B* 基因生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2019(9)：42–48.

[14] 张小雪，赵利明，刘　佳，等. 绵羊 *ELOVL5* 基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2022，53(4)：24–29.

[15] 陈占玉，黄永亮，王维民，等. 绵羊 *HSPA1L* 基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2022，53(7)：83–88.

[16] 靳泽希，冯　芬，邓晓银，等. 绵羊 *NRCAM* 基因的生物信息学分析[J]. 甘肃农业科技，2020(12)：19–24.

[17] 代淇佳，马　博，谢　凡，等. 绵羊 *ANO5* 基因的生物信息学分析[J]. 寒旱农业科学，2024，3(1)：37–42.