

鸡甲基转移酶样蛋白 5(METTL5)基因的克隆与表达分析

邢晋祎 李佳莉 朱孟英 苏欣 王国茹

(临沂大学 生命科学学院,山东 临沂 276005)

摘要 为探讨鸡甲基转移酶样蛋白 5(Methyltransferase like protein 5, *METTL5*)基因的序列和结构,采用 RT-PCR 方法克隆该基因,并用生物信息学方法分析该基因的特征;利用定量 PCR(qPCR)方法检测 *METTL5* 基因的组织表达模式和母鸡叶酸缺乏对仔鸡腹脂中该基因表达的影响。结果表明,鸡 *METTL5* 基因的 cDNA 序列长度为 702 bp(Genbank accession:KU351684),编码 212 个氨基酸;进化树分析表明鸡 *METTL5* 氨基酸序列与野鸭和鸿雁的关系较近,与非洲爪蟾的进化关系最远。鸡 *METTL5* 氨基酸序列包含保守的 AdoMet_MTases superfamily 结构域,为亲水蛋白;二级结构主要是 α 螺旋,占 44.81%;该蛋白不存在信号肽,不是分泌蛋白;亚细胞定位显示该蛋白存在于细胞质的概率为 69.6%。qPCR 分析表明,*METTL5* 基因在所检测鸡的 8 种组织均有表达,在腹脂中表达水平最高,在脾脏中的表达水平最低;叶酸缺乏试验表明,母鸡叶酸缺乏对仔鸡腹脂组织 *METTL5* 基因表达水平有增加的趋势,但与对照组相比差异不显著($P>0.05$)。

关键词 肉鸡;*METTL5* 基因;腹脂;表达谱

中图分类号 S 831

文章编号 1007-4333(2016)12-0074-07

文献标志码 A

Molecular cloning and expression patterns analysis of a methyltransferase like protein 5 (*METTL5*) gene in chicken

XING Jin-yi, LI Jia-li, ZHU Meng-ying, SU Xin, WANG Guo-ru

(School of Life Science, Linyi University, Linyi 276000, China)

Abstract To explore sequences and structure of chicken methyltransferase like protein 5 (*METTL5*), the *METTL5* was cloned by RT-PCR, and characterization of *METTL5* was analyzed by bioinformatics methods. The expression patterns in different tissues and effects of folate deficiency in the maternal diets on *METTL5* gene in offspring of broiler breeders were detected by real time RT-PCR. The results indicated that the *METTL5* cDNA was 702 bp (Genbank accession: KU351684) in length, which encoded 212 amino acids. The phylogenetic tree analysis showed that the *METTL5* of chicken was closely related to mallard and swan goose, but distant to African clawed frog. The *METTL5* protein contained conserved AdoMet_MTases superfamily domain and was hydrophilicity protein. The secondary structure of *METTL5* protein displayed that 44.81% of the *METTL5* protein fold into α helix. This polypeptide contained no signal peptide in its amino acids, and was a nonsecretory protein. The residing probability of *METTL5* in the cytoplasmic was 69.6%. mRNA expression levels of chicken *METTL5* were detected by real time PCR in all 8 tissues investigated, and *METTL5* mRNA expression level in abdominal adipose was the highest and in spleen was the lowest. Further qPCR analysis revealed that dietary folate deficiency in the maternal diets has a trend to increase the *METTL5* gene expression levels in abdominal adipose of offspring of broiler breeders, but the difference was not significant compared to control group ($P>0.05$).

Keywords broiler; *METTL5* gene; abdominal adipose; expression patterns

收稿日期: 2016-01-04

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目(ZR2013CL012); 临沂大学国家级大学生创新创业训练计划项目(201510452021); 国家自然科学基金资助项目(31372333)

第一作者: 邢晋祎, 副教授, 博士, 主要从事动物分子遗传学研究, E-mail: xingjinyi@lyu.edu.cn

叶酸在家禽生产等方面的应用日益受到重视,在鸡饲料中添加一定剂量的叶酸在某种程度上可以改善鸡肉的品质。然而,叶酸在鸡体内的代谢是一个复杂过程,涉及到很多酶类。甲基转移酶样蛋白 5(methyltransferase like protein 5, METTL5) 是关键的叶酸代谢酶类之一。因此,克隆鸡 METTL5 基因序列对于研究该基因的结构和功能具有重要意义,同时,也为研究叶酸参与 METTL5 酶的代谢提供依据。

甲基转移酶(methyltransferase)是动物机体内普遍存在的一种重要酶类,它能催化遗传物质 DNA 的甲基化,在基因表达及动物生长、发育中起着重要的调控作用^[1]。依据其结构特征可以分为 3 种亚型(I、II、III)^[2],而依据在甲基转移反应中利用底物的不同,也可以分为蛋白甲基转移酶、DNA 甲基转移酶、天然产物甲基转移酶和非 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)依赖甲基转移酶。甲基转移酶样蛋白是与甲基转移酶相关的一类蛋白家族,属于甲基转移酶超家族, METTL5 是其中的一员。人类 METTL5 基因已经被克隆和报道,被定位在 2 号染色体的 2q31.1 位置^[3],并能在多种组织中表达。然而,鸡的 METTL5 基因序列和结构特征尚未见报道,鸡 METTL5 基因的表达水平尚不明确。本研究以肉鸡为试验材料,拟通过克隆鸡 METTL5 基因编码区,以期对鸡 METTL5 基因序列和结构有初步了解;通过定量 PCR 方法,检测 METTL5 基因在不同组织之间的表达差异;通过叶酸试验,以期了解叶酸调控 METTL5 基因表达的情况,旨在为进一步研究 METTL5 基因的功能和开展叶酸在家禽生产中的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物及样品采集

1.1.1 试验设计

采用单因子试验设计,选择 30 周龄 AA 肉种鸡父母代种鸡各 50 只,按遗传背景相同、体重相近的原则,随机分为 2 个处理组:叶酸正常组(Normal folate, 对照组)和叶酸缺乏组(Folate deficiency, 试验组)。配制玉米-大豆型基础日粮,其中叶酸缺乏组饲喂基础日粮(预混料不加叶酸),对照组饲喂基础日粮添加 2.0 mg/kg 叶酸的饲料。每组设 5 个

重复,每个重复 10 只鸡,笼养,每笼 1 只,按照 AA 肉种鸡产蛋期饲养条件饲养,建立严格的饲养管理制度。种公鸡饲喂正常叶酸饲料。种鸡采用人工授精的方式进行繁殖。试验于 2013 年 9 月 28 日—12 月 20 日在临沂市兰山区义堂镇种鸡场进行,试验期 12 周,最后 3 d 收集种蛋各 90 枚,共 180 枚。

分别选用上述 2 组的种蛋进行孵化,按照每组 80 只挑选孵化后的健康雏鸡,共 160 只,分别饲养,分组同上,每组设 5 个重复,每个重复 16 只。按 1~3 周龄和 4~6 周龄 2 个阶段配置肉仔鸡日粮,饲料营养水平见表 1,饲料中叶酸添加量为 0.66 g/t,在相同环境条件下饲养。

1.1.2 样品采集

于 42 日龄时,仔鸡禁食 12 h,自由饮水,每组随机选取 6 只鸡屠宰(公母各半),分别采集 0.5~1.0 g 腹脂、心脏、胸肌、腿肌、肺脏、肾脏、肝脏和脾脏,置于 1.5 mL 离心管中,液氮保存,然后转到 -80 °C 冰箱备用。

1.1.3 主要试剂

LA Taq DNA 聚合酶、EcoR I 和 Hind III 限制性内切酶、Marker DL2000、RNA 酶抑制剂、dNTP Mix、pMD19-T vector、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒等,以上试剂均购自宝生物工程(大连)有限公司;FastFire qPCR PreMix (SYBR Green)(天根生化科技(北京)有限公司)、Trizol(英杰生物技术有限公司,美国)、M-MLV 反转录酶(普洛麦格生物技术有限公司,美国)。

1.2 试验方法

1.2.1 总 RNA 的抽提及 cDNA 第一链的合成

采用 Trizol 法,按照 Trizol 试剂盒说明书进行。RNA 用灭菌 DEPC 水充分溶解后, -80 °C 冰箱保存备用。cDNA 第一链的合成利用 M-MLV 反转录酶合成,操作方法按照说明书进行。

1.2.2 引物设计及 RT-PCR 扩增

引物设计:根据 GenBank 上预测的鸡 METTL5 基因(XM_001233694)序列,采用 Primer Premier 6.0 软件设计引物 METTL5-F 和 METTL5-R;根据测序得到的序列设计荧光定量 PCR(qPCR)基因表达引物(Exp-F、Exp-R);以鸡管家基因 β actin (Genbank: NM_205518、XM_429312)为内标,设计引物 β -actin-F 和 β -actin-R,由北京鼎国生物技术有限责任公司合成(表 2)。

表1 AA肉鸡基础日粮配方及营养水平(风干基础)
Table 1 Content and nutrition level of the diet for broiler

| 项目 Item | 1~21日龄 Day 1-21 | 21~42日龄 Day 21-42 |
|--|--------------------|----------------------|
| 原料组成 Material Ingredient | | |
| w(玉米)/% Corn | 54.50 | 57.60 |
| w(豆粕)/% Soybean | 32.71 | 30.42 |
| w(鱼粉)/% Fish meal | 3.00 | 2.00 |
| w(贝壳粉)% Shell powder | 1.22 | 1.05 |
| w(磷酸氢钙)/% CaHPO ₄ · 2H ₂ O | 1.70 | 1.60 |
| w(豆油)/% Soybean oil | 3.00 | 4.00 |
| w(麸皮)% Wheat bran | 2.50 | 2.00 |
| w(食盐)/% Salt | 0.20 | 0.19 |
| w(蛋氨酸)/% Met | 0.17 | 0.14 |
| w(预混料)/% ^① Premix compound | 1.00 | 1.00 |
| 合计 Total | 100.00 | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient Level | | |
| w(粗蛋白)/% CP | 21.52 | 20.05 |
| w(钙)/% Ca | 0.97 | 0.89 |
| w(有效磷)/% Available P | 0.45 | 0.40 |
| 代谢能/(MJ/kg)ME | 12.52 | 12.74 |

注:①1~21日龄和21~42日龄两个生长阶段微量元素添加量相同,每kg饲料添加量分别为:锰55mg、锌55mg、铁44mg、铜5.5mg、碘0.44mg、硒0.099mg。1~21日龄每kg饲料中维生素含量为:维生素A880IU,维生素B₁1.1mg,维生素B₂5.5mg,维生素B₆2.2mg,维生素B₁₂0.011mg,维生素D₃275IU,维生素E20mg,维生素K2.2mg,泛酸11mg,烟酸38.5mg,叶酸0.66mg,生物素0.11mg,胆碱500mg,叶黄素33.1mg,抗氧化剂120mg。21~42日龄每kg饲料中维生素含量为:维生素A660IU,维生素B₁1.1mg,维生素B₂4.4mg,维生素B₆1.1mg,维生素B₁₂0.011mg,维生素D₃220IU,维生素E10mg,维生素K2.2mg,泛酸11mg,烟酸33.0mg,叶酸0.66mg,生物素0.11mg,胆碱500mg,叶黄素33.1mg,抗氧化剂120mg。

Note:①Mineral addition is same during day 1-21 and day 21-42, respectively, and the amount of minerals provided per kilogram of diet: Mn 55 mg, Zn 55 mg, Fe 44 mg, Cu 5.5 mg, I 0.44 mg, Se 0.099 mg. Day 1-21, the amount of vitamins in each kilogram of diet were as follows: VA 880 IU, VB₁ 1.2 mg, VB₂ 5.5 mg, VB₆ 2.2 mg, VB₁₂ 0.011 mg, VD₃ 275 IU, VE 20 mg, VK 2.2 mg, pantothenic acid 11 mg, niacin 38.5 mg, folic acid 0.66 mg, biotin 0.11 mg, choline 500 mg, xanthin 33.1 mg, antioxidant 120 mg. Day 21-42, the amount of vitamins in each kilogram of diet were as follows: VA 660 IU, VB₁ 1.1 mg, VB₂ 4.4 mg, VB₆ 1.1 mg, VB₁₂ 0.011 mg, VD₃ 220 IU, VE 10 mg, VK 2.2 mg, pantothenic acid 11 mg, niacin 33.0 mg, folic acid 0.66 mg, biotin 0.11 mg, choline 500 mg, xanthin 33.1 mg, antioxidant 120 mg.

表 2 PCR 引物序列、退火温度、扩增片段大小及用途

Table 2 Primer sequences, annealing temperature, sizes of PCR product and purpose

| 引物名称 Primer name | 引物序列(5'→3') Primer sequence | 退火温度/℃ Annealing temperature | PCR 扩增片段大小/bp Sizes of PCR product | 用途 Usage |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| METTL5-F | GAGAATCATAGGAGAGTGGGA | 60 | 702 | 序列克隆 |
| METTL5-R | TGCTTCAGTTCAGGAGTTTC | | | |
| Exp-F | CAGTCGCAGATTTAGGATG | 55 | 128 | 表达谱 |
| Exp-R | GTCTTCAAGGTTGCTGTTG | | | |
| β -actin-F | GTGACATCAAGGAGAAGC | 55 | 105 | 内参 |
| β -actin-R | CATCAGGGAGTTCATAGC | | | |

PCR 反应体系: $10 \times$ LA PCR buffer 2.5 μ L, $MgCl_2$ (25 mmol/mL) 2.0 μ L, dNTP Mix (2.5 mmol) 2.0 μ L, 克隆引物(20 μ mol/ μ L)各 0.4 μ L, 第一链 cDNA 1.0 μ L, LA *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μ L (1 unit), ddH₂O 加至 25 μ L, 吹打混匀后稍离心片刻。

反应程序: 94 $^{\circ}C$ 5 min, (94 $^{\circ}C$ 40 s, 60 $^{\circ}C$ 40 s, 72 $^{\circ}C$ 1 min) \times 35, 72 $^{\circ}C$ 延伸 8 min, 4 $^{\circ}C$ 保存。

1.2.3 PCR 产物的克隆转化与测序

上述 PCR 产物经琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒纯化回收目的片段, 纯化产物与 pMD19-T Vector 于 4 $^{\circ}C$ 连接过夜, 连接产物转化 JM109 感受态细胞, 然后涂布于含有 Amp、IPTG 和 X-gal 的平板上培养过夜, 挑取白斑菌落于 3 mL LB 培养基中 (Amp 质量浓度为 100 μ g/mL), 37 $^{\circ}C$ 摇 12 h 以上。提取质粒, 经 *Eco*RI 和 *Hind* III 酶切鉴定, 至少挑取 3 个阳性克隆菌液送济南力戈科技有限公司测序。

1.2.4 METTL5 基因生物信息学分析

将测序获得的序列用 DNASTAR 软件预测开放阅读框 (Open read frame, ORF), 预测氨基酸序列, 并比较与其他动物 METTL5 的氨基酸序列相似性; 在 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 上分析保守域等; 用 MEGA 6.06 软件采用邻近法构建进化树。利用 ExPASy (<http://www.expasy.org>) 等网站相关程序预测蛋白质理化特性、疏水性、亲水性、二级结构、跨膜结构域、跨膜螺旋结构和三级结构等信息。

1.2.5 METTL5 基因表达水平分析

采用 SYBR Green I 染料法, 使用 LightCycler 480 荧光定量 PCR 仪 (Roche 公司, 德国) 进行 qPCR 分析, 以鸡管家基因 β actin 为内标, 分析 METTL5 基因 mRNA 表达水平。

qPCR 反应体系: FastFire qPCR PreMix 10 μ L, cDNA (稀释 10 倍) 1 μ L, 表达引物各 0.2 μ L, 灭菌超纯水加至 20 μ L。

qPCR 反应程序: 94 $^{\circ}C$ 2 min; 94 $^{\circ}C$ 10 s, 55 $^{\circ}C$ 10 s, 72 $^{\circ}C$ 1 s, 重复 45 个循环。每个循环后采集荧光生成扩增曲线。为了分析 qPCR 扩增的特异性, 温度从 65 $^{\circ}C$ 缓慢升温到 95 $^{\circ}C$, 连续测定样品的荧光强度以获取溶解曲线。试验对所有样本进行 3 个重复测定, 并在每次试验时设阴性对照。根据荧光曲线的 C_t 值及标准曲线, 以鸡 β actin 基因为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 METTL5 基因的相对表达量。

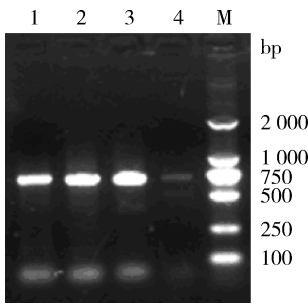
1.3 统计分析

采用 SAS version 8.2 统计软件对试验数据进行统计分析, 结果用“平均值 \pm 标准误”表示。

2 结果与分析

2.1 METTL5 基因 cDNA 序列及氨基酸序列分析

以对照组 42 日龄仔鸡腹脂 cDNA 为模板, 用 METTL5-F 和 METTL5-R 引物扩增出 1 条特异带, 长度约为 750 bp 左右 (图 1)。经测序, 并用 DNASTAR 软件对序列拼接和分析, 结果表明所扩增的鸡 METTL5 基因序列长度为 702 bp (Genbank accession: KU351684), 开放阅读框 639 bp。该序列与 GenBank 上预测的鸡 METTL5 基因 (XM_001233694) 序列仅有 1 bp 的差异, 一致性为 99.86%, 这证实了所克隆的序列为鸡 METTL5 基因序列。该序列编码 212 个氨基酸, 与人、小鼠、大鼠、牛、猪、绵羊、野鸭、鸿雁、非洲爪蟾和斑马鱼 METTL5 氨基酸序列的一致性分别为 80.19%、80.66%、80.19%、82.08%、76.92%、74.43%、94.81%、90.37%、71.83% 和 76.42%。这些结果表明, METTL5 蛋白在鸟类之间具有高度保守性。



1~4 泳道为 *METTL5* 基因 PCR 产物, M: DL2000 DNA maker
 1-4 lines represent PCR products of *METTL5* gene, M represents DL2000 DNA maker

图 1 鸡 *METTL5* 基因 PCR 产物电泳图

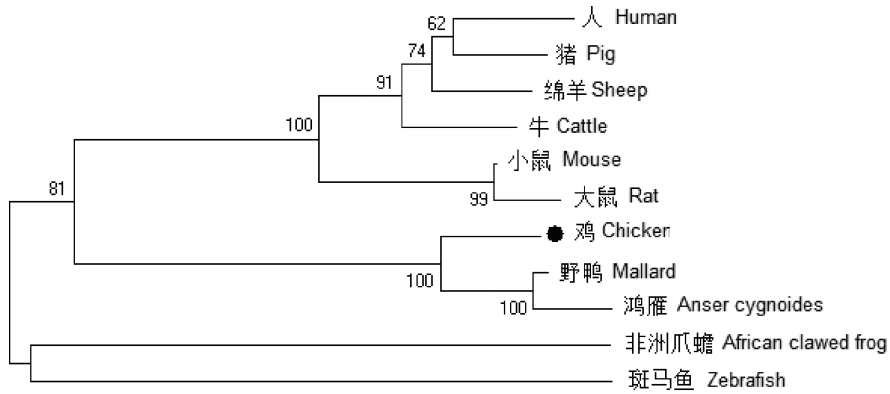
Fig. 1 Agarose gel electrophoresis patterns of the chicken *METTL5* gene PCR products

根据鸡和其他动物 *METTL5* 氨基酸序列, 使用 MEGA 6.06 软件, 采用邻近法构建分子进化树。结果表明, 鸡与野鸭和鸿雁的 *METTL5* 聚为一类, 这也反映了鸡与野鸭和鸿雁的亲缘关系较近 (图 2)。

2.2 *METTL5* 蛋白保守域分析、理化性质和结构预测

2.2.1 *METTL5* 蛋白保守域分析

在 NCBI 网站上 Blast 检索分析 *METTL5* 蛋白保守结构域。结果显示, 肉鸡 *METTL5* 氨基酸序列包含保守的 AdoMet_MTases superfamily 结构域, 该结构域位于 54-129 氨基酸之间, 符合蛋白的特点 (图 3)。



0.02

0.02 代表遗传距离, 每个节点的数字表示 1 000 次重复后的靴带百分比

The scale bar is 0.02 representing genetic distance. The number at each node indicates the percentage of bootstrapping after 1 000 replications

图 2 邻近法构建的鸡 *METTL5* 氨基酸系统发生树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *METTL5* constructed by neighbor-joining (NJ) method using MEGA 6.06

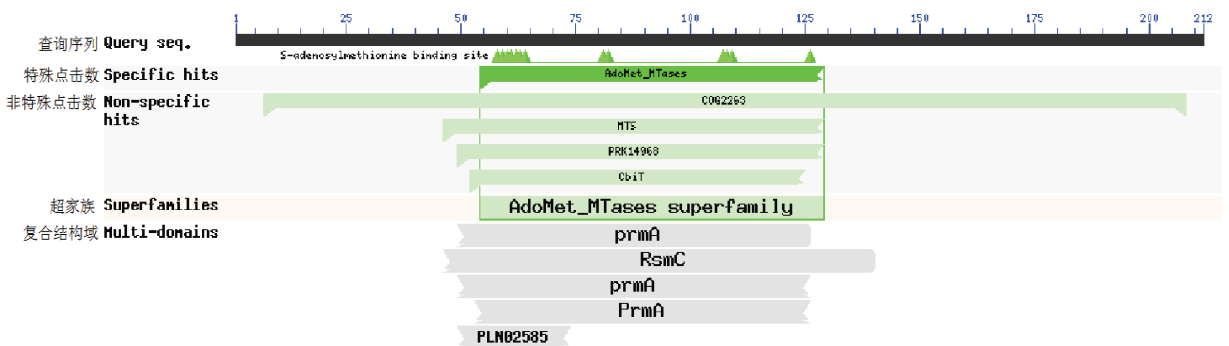


图 3 *METTL5* 蛋白包含保守的 AdoMet_MTases superfamily 结构域

Fig. 3 Conserved AdoMet_MTases superfamily domain of the chicken *METTL5* protein

2.2.2 *METTL5* 蛋白的理化性质及结构预测

在 ExPASy 服务器上使用 Protparam 程序预

测到 *METTL5* 蛋白的理论等电点 (pI) 为 5.26, 分子质量为 23 902.5 u。用 SOSUI 程序进行疏水性

分析,结果显示 METTL5 蛋白平均疏水度 (Average of hydrophobicity) 为 $-0.189\ 623$,所以该蛋白是亲水蛋白。用 TMHMM 程序没有预测到 METTL5 蛋白的任何跨膜螺旋域,这与 METTL5 蛋白是胞外信号分子的特征一致。用 SignalP 4.1 Server 预测信号肽发现该蛋白不是分泌蛋白,不存在信号肽。利用工具 PSORTII 预测 METTL5 蛋白的细胞器定位,其分布概率分别为:细胞质 (cytoplasmic) 69.6%,线粒体 (mitochondrial) 17.4%,细胞核(nuclear)13.0%。用 SOPMA 程序预测 METTL5 二级结构为: α -螺旋占 44.81%,无规卷曲占 28.77%,延伸链占 21.23%, β -转角占 5.19%。利用 SWISS-MODEL 程序预测鸡 METTL5 的三维结构(图 4)。结果表明,三维结构图以 1wy7.4.A($2.20\ \text{\AA}$)为模板,序列一致性为 41.40%。METTL5 蛋白三维结构包含预测序列中的第 13~208 位氨基酸,该肽段覆盖 AdoMet_MTases superfamily 结构域,高度保守(图 3)。

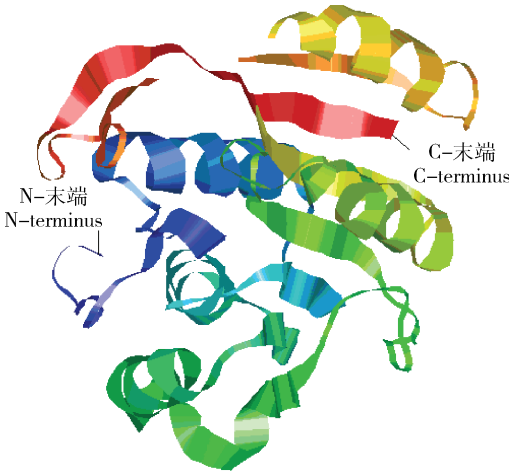


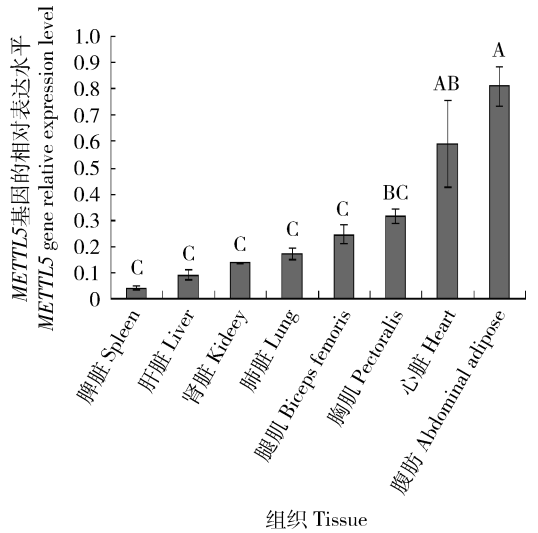
图 4 SWISS-MODEL 程序预测到的鸡 METTL5 蛋白三级结构预测图

Fig. 4 Three-dimensional model prediction of chicken METTL5 protein by SWISS-MODEL

2.3 METTL5 基因 mRNA 表达水平分析

2.3.1 METTL5 基因在不同组织的表达谱

以对照组 42 日龄仔鸡 8 种组织 cDNA 为模板,进行 METTL5 基因 qPCR 分析。结果表明, METTL5 基因 mRNA 在 8 种组织均有表达(图 5),在腹脂中的表达水平最高,在脾脏中的表达水平最低,并且在腹脂中的表达水平显著高于在胸肌、腿肌、肺脏、肾脏、肝脏和脾脏中的表达水平($P < 0.01$)。



数据代表平均数±标准误($n=6$),不同大写字母表示差异显著($P < 0.01$)。

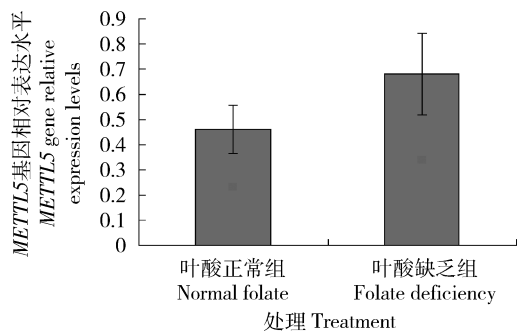
Data are represented as means \pm std error ($n=6$). The uppercase superscripts indicate statistical difference among different tissues ($P < 0.01$).

图 5 鸡 METTL5 基因 mRNA 表达谱

Fig. 5 METTL5 gene mRNA expression patterns in different tissues of the broilers

2.3.2 叶酸缺乏对 METTL5 基因表达水平的影响

以叶酸正常组和叶酸缺乏组 42 日龄仔鸡腹脂 cDNA 为模板,进行 qPCR 分析(图 6)。由图 6 可知,母鸡叶酸缺乏对仔鸡腹脂组织 METTL5 基因表达水平有增加的趋势,但与对照组相比差异不显著($P > 0.05$)。



数据代表平均数±标准误($n=6$)。

Data are represented as means \pm std error ($n=6$).

图 6 叶酸缺乏对 METTL5 基因表达水平的影响

Fig. 6 Effect of folate deficiency on the METTL5 gene expression levels

3 讨论

本研究首次克隆了鸡 *METTL5* 基因编码区,与 Genbank 数据库上计算机预测的序列仅有 1 bp 的差异。*METTL5* 基因核苷酸和氨基酸序列分析表明与野鸭和鸿雁的亲缘关系较近,与非洲爪蟾和斑马鱼的亲缘关系较远。在 42 日龄仔鸡的 8 种组织中均检测到 *METTL5* 基因的表达,与 *METTL5* 基因在人体多种组织广泛表达特性一致 (<http://www.proteinatlas.org/ENSG00000138382-METTL5/tissue>)。本研究丰富了鸡基因组数据库,为进一步研究 *METTL5* 基因的功能和结构奠定了基础。最近研究表明,*METTL3* 和 *METTL14* 可在体外和体内催化 mRNA(和其他细胞核 RNA)的 m6A 甲基化^[4],作为同一家族的 *METTL5* 基因在畜禽上是否有此功能值得进一步探讨。

目前,在人和小鼠等动物体内分别发现 *METTL5* 基因的 3 种转录变体^[3,5]。美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)的 Genbank 数据库上通过计算机预测也发现了鸡的 3 种转录变体,本研究通过试验证实了其中的转录变体 1 序列,另外 2 种转录变体尚需进一步经过试验来验证。最近有人报道,*METTL17* 是雌激素受体(Estrogen receptors,ER)的一种新共激活剂,可能在乳腺癌形成中发挥作用^[6],而 *METTL23* 基因受到破坏能引起中等程度的常染色体隐性智力障碍^[7]。*METTL5* 基因是否也与上述疾病有关,仍然需要探讨。

从 NCBI 网站和 ExPASy(the SIB Bioinformatics Resource Portal,<http://www.expasy.org/>)网站比较鸡 *METTL5* 蛋白与其他哺乳动物 *METTL5* 蛋白发现,其理化性质以及细胞定位、空间结构等方面基本一致,说明该蛋白在进化过程中比较保守,但其进化机制仍不清楚。

尽管如此,对 *METTL5* 基因的研究才刚刚起步,尤其对鸡的 *METTL5* 基因的结构和功能的研究尚未见报道,叶酸是否通过调控 *METTL5* 基因的甲基化进而影响基因的表达更需要进一步探索。

参 考 文 献

[1] 田铃,嵇保中,刘曙雯,金凤,高洁. 甲基转移酶的功能与分类

[J]. 生命的化学,2007(5):425-427

Tian L, Ji B Z, Liu S W, Jin F, Gao J. Function and type of methyltransferase[J]. *Chemistry of life*, 2007(5):425-427

[2] Katz J E, Dlakic M, Clarke S. Automated identification of putative methyltransferases from genomic open reading frames [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2003(2):525-540

[3] Hillier L W, Graves T A, Fulton R S, Fulton L A, Pepin K H, Minx P, Wagner-McPherson C, Layman D, Wylie K, Sekhon M, Becker M C, Fewell G A, Delehaunty K D, Miner T L, Nash W E, Kremitzki C, Oddy L, Du H, Sun H, Bradshaw-Cordum H, Ali J, Carter J, Cordes M, Harris A, Isak A, van Brunt A, Nguyen C, Du F, Courtney L, Kalicki J, Ozersky P, Abbott S, Armstrong J, Belter E A, Caruso L, Cedroni M, Cotton M, Davidson T, Desai A, Elliott G, Erb T, Fronick C, Gaige T, Haakenson W, Haglund K, Holmes A, Harkins R, Kim K, Kruchowski S S, Strong C M, Grewal N, Goyea E, Hou S, Levy A, Martinka S, Mead K, McLellan M D, Meyer R, Randall-Maher J, Tomlinson C, Dauphin-Kohlberg S, Kozlowski-Reilly A, Shah N, Swearingen-Shahid S, Snider J, Strong J T, Thompson J, Yoakum M, Leonard S, Pearman C, Trani L, Radionenko M, Waligorski J E, Wang C, Rock S M, Tin-Wollam A M, Maupin R, Latreille P, Wendl M C, Yang S P, Pohl C, Wallis J W, Spieth J, Bieri T A, Berkowicz N, Nelson J O, Osborne J, Ding L, Meyer R, Sabo A, Shotland Y, Sinha P, Wohldmann P E, Cook L L, Hickenbotham M T, Eldred J, Williams D, Jones T A, She X, Ciccarelli F D, Izaurralde E, Taylor J, Schmutz J, Myers R M, Cox D R, Huang X, McPherson J D, Mardis E R, Clifton S W, Warren W C, Chinwalla A T, Eddy S R, Marra M A, Ovcharenko I, Furey T S, Miller W, Eichler E E, Bork P, Suyama M, Torrents D, Waterston R H and Wilson R K. Generation and annotation of the DNA sequences of human chromosomes 2 and 4 [J]. *Nature*, 2005, 434 (7034):724-731

[4] Fu Y, Dominissini D, Rechavi G, He C. Gene expression regulation mediated through reversible m6A RNA methylation [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2014, 15:293-306

[5] Hansen G M, Marquesich D C, Burnett M B, Zhu Q, Dionne K M, Richter L J, Finnell R H, Sands A T, Zambrowicz B P, Abuin A. Large-scale gene trapping in C57BL/6N mouse embryonic stem cells [J]. *Genome research*, 2008, 18 (10):1670-1679

[6] Du P, Yuan B, Cao J, Zhao J, Ding L, Chen L, Ying S, Jiang L, Lin J, Xu X, Cheng L, Ye Q. Methyltransferase-like 17 physically and functionally interacts with estrogen receptors [J]. *International Union of Biochemistry & Molecular Biology Life*, 2015, 67(11):861-868

[7] Bernkopf M, Webersinke G, Tongsook C, Koyani C N, Rafiq M A, Ayaz M, Müller D, Enzinger C, Aslam M, Naem F, Schmidt K, Gruber K, Speicher M R, Malle E, Macheroux P, Ayub M, Vincent J B, Windpassinger C, Duba H C. Disruption of the methyltransferase-like 23 gene *METTL23* causes mild autosomal recessive intellectual disability [J]. *Human Molecular Genetics*, 2014, 23(15):4015-4023