

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.01591

山羊、绵羊 MT-IV 分子特性研究

王佳¹, 张利平¹, 杨联¹, 费春红¹, 王磊¹, 谢超², 吴建平¹

1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070;

2. 上海交通大学农业与生物学院, 上海兽医生物技术重点实验室, 上海 200240

摘要: 金属硫蛋白(MTs)是一类低分子量、金属和半胱氨酸含量高的细胞质蛋白, 哺乳动物的 MTs 包括 MT-I、MT-II、MT-III 和 MT-IV 4 种亚型, 其中 MT-IV 只在磷状复层扁平上皮细胞中表达, 相关研究报道较少。本研究根据 GenBank 已公布的动物 MT-IV 基因序列, 设计出扩增山羊和绵羊 MT-IV 基因的特异性 PCR 引物 MT-IV_{SP1} 和 MT-IV_{SP2}, 利用 RT-PCR 的方法, 分别从山羊和绵羊的瘤胃组织 mRNA 中, 克隆出山羊和绵羊的 MT-IV 基因编码区序列(均为 189 bp), 序列登录 GenBank, 获得序列号 EF470251 和 EF624067。通过序列分析, 表明山羊和绵羊两个物种 MT-IV 基因编码区全编码均为 189 bp、编码 62 个氨基酸, 其中绵羊的 MT-IV 含有 20 个半胱氨酸, 而山羊第 61 位保守的半胱氨酸被色氨酸所代替。两个物种的 MT-IV 均不含芳香族氨基酸, 含有 MTs 特有的 C-X-C、C-X-X-C、C-C-X-C-C 结构, 无明显的跨膜结构域, 无信号肽, 是一种细胞质蛋白。二级结构分析表明两个物种的 MT-IV 二级结构大多数为无规则卷曲结构, 分别在第 7~9 和第 49~51 氨基酸残基性存在折叠结构, 不存在螺旋结构。三级结构预测结果表明两个物种 MT-IV 的三级结构由 α 和 β 两个结构域组成, 其中 β 结构域相同, α 结构域山羊少一个半胱氨酸残基, 其结构与绵羊存在明显差异, 这一差异可能对山羊 MT-IV 的生理功能产生一定影响, 有必要深入研究。

关键词: 绵羊; 山羊; MT-IV; cDNA; 蛋白质结构

Characteristics of MT-IV in sheep and goat

WANG Jia¹, ZHANG Li-Ping¹, YANG Lian¹, FEI Chun-Hong¹, WANG Lei¹, XIE Chao², WU Jian-Ping¹

1. Faculty of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, 730070, China;

2. School of Agriculture and Biology, Shanghai Municipality Key Laboratory for Veterinary Biotechnology Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: Metallothioneins (MTs) was characterized by its low molecular weight (6 to 7 kDa), high metal content, high content of conserved cysteine(Cys) residues and absence of aromatic amino acids. In mammals there are four isoforms (MT-I—IV), MT-IV was expressed exclusively in stratified squamous epithelia. In this study, according to other animal

收稿日期: 2007-12-17; 修回日期: 2008-03-27

基金项目: 应用分子育种技术选育优质肉毛兼用绵羊品种的研究(编号: GNSW-2005-11)和高等学校博士学科点专项科研基金项目(编号: 2007073302)资助[Supported by Application of Molecular Breeding High Quality Dual Purpose Meat (No.GNSW-2005-11) and Hair Sheep and Point of doctor subject special fund item of University (No.2007073302)]

作者简介: 王佳(1982-), 女, 黑龙江人, 硕士研究生, 专业方向: 分子生物学。E-mail: aimili030312@126.com

张利平(1962-), 女, 甘肃人, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: zhangliping@gsau.edu.cn

王佳、张利平并列第一作者。

通讯作者: 吴建平(1960-), 男, 甘肃人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: wujp@gsau.edu.cn

杨联(1977-), 男, 甘肃人, 博士, 专业方向: 动物遗传育种。E-mail: lanzhrt@yahoo.com.cn

MT-IV gene sequence from GenBank, a pair of special primers (*MT-IV*_{SP1} and *MT-IV*_{SP2}) were designed for cloning the coding sequence of *MT-IV* from rumen organ in both sheep and goat. The *MT-IV* coding sequence in goat and sheep were 189bp, and be submitted to GenBank under Accession Numbers EF470251 and EF624067, respectively. Both goat and sheep *MT-IV* gene coded 62 AAs, including 20 Cys residues in sheep, 19 Cys residues in goat, the 61st conserved Cys was replaced by Trp in goat. *MT-IV* in goat and sheep both have characteristic Cys-x-Cys, Cys-x-y-Cys, and Cys-Cys sequences of *MTs*, where x and y were non-cysteine amino acids, no aromatic AAs, no cross membrane area, and no signal peptide, these information showed *MT-IV* in goat and sheep was a cytoplasmic protein. The second structure of *MT-IV* was coil, except sheet structure in 7–9 AAs and 49–51AAs. The 3 dimension structure was composed by α - and β -domain, the β -domain structure was same between sheep and goat, and same with other species, but α -domain structure in goat was difference with sheep and other species, because it less one Cys in goat than other animals, the structure change maybe alter the biological function, it is necessary to study furtherly.

Keywords: sheep; goat; *MT-IV*; cDNA; protein structure

金属硫蛋白(Metallothioneins, MTs)发现于 1957 年, 是一类低分子量、高金属含量、富含半胱氨酸、不含芳香族氨基酸的细胞质蛋白^[1]。哺乳动物的 MTs 有 MT-I、MT-II、MT-III 和 MT-IV 4 种亚型, MT-I 和 MT-II 广泛分布于动物的各种组织器官, 受金属、激素、细胞因子、炎症因子、应激等化学物质的诱导^[2]。MT-III 主要表达于脑组织星形胶质细胞, 另外, 在神经胶质细胞和雄性生殖系统也有表达^[2]。与 MT-I/II 相比, MT-III 多肽链 N 端第 4 个氨基酸残基后插入一个苏氨酸, 在 C 端插入一个六肽序列^[3], 但 MT-I 的调控因子对 MT-III 不具有调控作用^[4]。而 MT-IV 只特异性的表达于分化的复层鳞状上皮组织^[5]。

目前对 MTs 功能的研究主要集中在 MT-I/II 和 MT-III。普遍认为 MTs 的主要功能与金属离子的平衡有关, 这一功能包括重金属解毒与贮存, 以及针对食物结构和生理状态的改变调控细胞内铜和锌的代谢^[1]。MTs 在细胞增殖与凋亡中发挥了重要作用^[6], 在肿瘤细胞中其表达量与其增殖状态也存在一定相关性^[7]。Thornalley 和 Vasak 首次研究表明 MT 具有清除自由基和过氧化物的作用^[8], 之后大量体内与体外的实验验证了 MT 的抗氧化活性^[9]。采用基因修饰技术研究表明, MT-III 对脑损伤具有保护作用^[3, 10], 且与衰老过程有关^[11]。MTs 发挥生理功能的结构基础是半胱氨酸的-SH 与金属离子结合, 建立其高级结构, 进而实现其生理功能^[12]。与其他 MTs 亚型相比, 由于 MT-IV 特异性的表达于复层扁平上皮, 通过分离、纯化进行蛋白质结构与功能的研究比较困难, 因此, 有关 MT-IV 功能的研究报道较少, 尤其是对 MT-IV 在特异性表达部位所发挥的生理功能了解的甚少。然而, 基因克隆和生物

信息学方法为研究蛋白质结构和功能提供了新的途径。山羊和绵羊均为反刍动物, 其瘤胃上部分布着大量的鳞状复层扁平上皮细胞^[13], 但山羊和绵羊 MT-IV 基因的还未见报道。本研究分别采集绵羊和山羊瘤胃组织, 克隆出 MT-IV 基因编码区序列, 应用生物信息学方法分析蛋白质特征, 以期为进一步研究 MT-IV 的高级结构与功能积累资料。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验样品

实验用样品采自甘肃省华加牧业科技有限公司山羊和绵羊瘤胃。羊只屠宰立即取出瘤胃, 用生理盐水冲洗干净瘤胃表面后投入液氮, 然后置-76℃冰箱保存, 备用。

1.1.2 实验试剂

T4 DNA Ligase 购自 Promega 公司。质粒提取试剂盒 (TIANNprep Mini) 和凝胶回收试剂盒 (TIANGen Midi) 购自天根生化科技(北京)有限公司。X-gal 和 IPTG 购自北京拜尔迪生物技术有限公司。试验用溶液参照分子克隆试验操作指南^[14]配制。pGEM-T 载体购自 Promega 公司, *E. Coli* DH5 α 菌株由甘肃农业大学动物遗传室提供。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 的提取

组织总 RNA 的提取采用 TRIzol 法^[15]。

1.2.2 引物设计

根据 GenBank 已经公布的人(NM032935)、狗

(NM001003150)、黑猩猩(NM114662619)、牛(NM115545473)、家鼠(NM008631)、挪威鼠(XM579881)的MT-IV基因编码区的保守序列,设计PCR引物MT-IV_{SP1}和MT-IV_{SP2},扩增目的片段为189 bp。MT-IV_{SP1}(上游引物): 5'-ATGGACYCCGG-GGAATGTACCT-3'; MT-IV_{SP2}(下游引物): 5'-TCAGGGRCAGCAGCTGCATTG-3',其中Y为C/T,R为C/A,引物由上海生物工程技术有限公司合成,PAGE纯化。

1.2.3 RT-PCR

按RNA PCR Kit(AMV)Ver. 3.0(TaKaRa)试剂盒使用指南,用Oligo-dT primer分别对山羊、绵羊总RNA反转录。反转录体系参照RNA PCR Kit(AMV)Ver. 3.0(TaKaRa)反应体系,然后以反转录产物为模板,利用特异性引物MT-IV_{SP1}和MT-IV_{SP2}进行PCR反应,PCR扩增反应条件为94 2 min,94 30 s,60 30 s,72 1.5 min,40个循环,72 10 min。反应结束后取反应液5 mL进行琼脂糖凝胶电泳检测,确认反应产物。

1.2.4 克隆及测序

纯化加收PCR产物,在T4 DNA连接酶作用下使回收产物与质粒PGEM[®]-T Vector连接,然后转染*E.coli* DH5,经蓝白斑筛选和重组质粒PCR后,选取阳性的重组子送上海生物工程技术有限公司测序。

1.2.5 序列分析

通过BLAST数据库搜索(www.ncbi.nlm.nih.gov),分析核苷酸序列、氨基酸序列的相似性。采用Clustal W在线分析(www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2)进行序列比对,采用MAGE 4.0.1(www.megasoftware.net)软件构建系统进化树。蛋白质的二级结构用Jpred3(www.compbio.dundee.ac.uk/~www-jpred)进行预测,三级结构通过Swiss-Model(<http://swissmodel.expasy.org/>)提交进行分析。

2 结果与分析

2.1 RT-PCR与序列测定

经RT-PCR扩增获得山羊和绵羊的DNA片段均约为200 bp的片段,见图1,与目的片段大小相近。回收PCR产物,克隆,经蓝白斑筛选和菌落PCR(图1b)鉴定,阳性克隆,测序。测序结果表明,山羊和绵羊克隆所得片段长度均为189 bp, BLAST搜索结

果表明分别为山羊和绵羊MT-IV基因的编码区全长序列,提交GenBank,获得序列号分别为EF470251和EF624067。

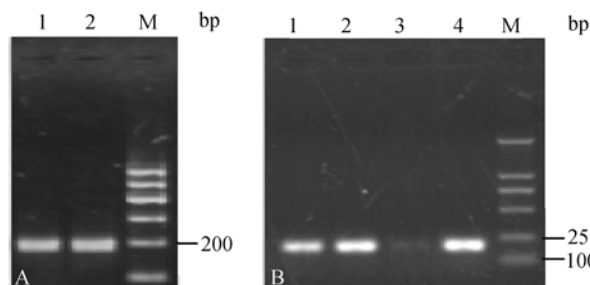


图1 山羊、绵羊RT-PCR检测结果

A: RT-PCR. 1: 山羊; 2: 绵羊; M: Marker; B: 菌落PCR结果。1、2: 山羊; 3、4: 绵羊; M: Marker。

Fig. 1 RT-PCR results in goat and sheep

A: RT-PCR; 1: Goat; 2: Sheep; M: Marker; B: Colony PCR result. 1, 2: Goat; 3, 4: Sheep; M: Marker.

2.2 山羊和绵羊MT-IV氨基酸序列分析

BIOEDIT分析表明,山羊和绵羊的MT-IV基因均编码62个氨基酸,其中山羊含19个半胱氨酸残基,占30.64%;与山羊相比,绵羊MT-IV蛋白多一个半胱氨酸残基,山羊第61位的色氨酸残基被半胱氨酸残基所替代,半胱氨酸占32.26%。山、绵羊MT-IV蛋白质分子量分别为6407.42 Da和6268.26 Da,绵、山羊MT-IV中均不包含芳香族氨基酸,如Phe(苯丙氨酸)、Trp(色氨酸)、Tyr(酪氨酸),表明该蛋白质为低分子量、富含半胱氨酸、不含芳香族氨基酸的蛋白质。

2.3 绵、山羊MT-IV基因CDS序列同源性分析

将山羊MT-IV基因CDS序列在BLAST搜索结果表明,山羊与牛(BC122856)、绵羊(EF624067)、狗(NM_001003150)、人(NM_032935)、猕猴(XM_001096721)、家鼠(NM_008631)和挪威鼠(NM_001126084)的相似性分别为96.2%、98.4%、88.9%、87.9%、86.8%、86.8%和85.8%。绵羊与牛、狗、人、猕猴、家鼠和挪威鼠的相似性分别为97.9%、90.0%、88.9%、87.9%、87.9%和87.4%。说明MT-IV在哺乳动物间高度保守。

2.4 绵、山羊MT-IV氨基酸序列同源性及分子进化分析

将绵羊、山羊、牛、猕猴、人、狗、家鼠和挪威鼠的MT-IV氨基酸序列同源性比较表明,绵羊与山羊、牛、狗、家鼠、人、挪威鼠和猕猴的同源性

分别为 96.8%、96.8%、88.9%、93.7%、88.9%、93.7% 和 88.9%。山羊与牛、狗、家鼠、人、挪威鼠和猕猴的同源性分别为 93.7%、85.7%、90.5%、87.3%、90.5% 和 87.3%。上述 8 种哺乳动物 MT-IV 氨基酸序列比对结果(图 2)表明, MT-IV 氨基酸序列中均含有 MTs 保守的 C-X-C、C-C-X-C-C、C-X-X-C 三肽序列结构域。

用 MEGA 4 软件对牛、绵羊、山羊、狗、家鼠、人和猕猴的 MT-IV 氨基酸序列的分子进化分析(图 3)结果与比较形态学和生理学分类结果一致。

2.5 绵、山羊 MT-IV 蛋白质亲水性、跨膜区和信号肽分析

ProtScale 在线分析结果表明, 绵、山羊 MT-IV 均不存在明显的疏水区。Signal P 软件中 NN 和 HMM 模型对信号肽的分析结果表明, 绵、山羊 MT-IV 都不存在信号肽。TMPred 在线分析表明, 绵、山羊 MT-IV 不存在跨膜区。

2.6 编码区蛋白质二级结构、三级结构预测

Jpred3 对绵、山羊 MT-IV 蛋白质二级结构预测结果表明, 山、绵羊 MT-IV 蛋白质二级结构以不规则卷曲为主, 分别在第 7~9 和第 49~51 氨基酸残基性存在折叠, 不存在螺旋结构。

以 Braun 等^[16]报道的鼠 MT-II 的三级结构

(SWS/UNP ID:4mt2A)为模板, 通过 SWISS-MODEL 分别预测获得了绵羊和山羊 MT-IV 的三级结构, 其中鼠 MT-II 与绵羊、山羊 MT-IV 的氨基酸序列相似性分别为 60.3%和 60.7%。绵羊的 MT-IV 蛋白质三级结构预测结果包含第 5~62 氨基酸残基, 山羊的 MT-IV 蛋白质三级结构预测结果包含第 5~60 氨基酸残基, 绵羊与山羊 MT-IV 三级结构与 MT-II 的结果相似, 其模式如图 4。绵、山羊 MT-IV 的三级结构均由 α 和 β 两个结构域组成, 两个物种的 β 结构域的结构相同, 含有 9 个 Cys, 而 α 结构域 C 端不同, 绵羊的 α 结构域含 11 个 Cys, 而山羊的在 C 端少一个 Cys, 这可能是引起山羊 α 结构域不同的原因。另外, 第 31~33 氨基酸残基(RKS)为连接区, 与其他亚型的 MTs 的连接区(KKS)不同。然而, 由 SWISS-MODEL 预测结果分析二级结构表明, 绵、山羊 MT-IV 的二级结构全为不规则卷曲, 不存在螺旋和折叠结构。

3 讨论

本研究从绵羊和山羊瘤胃组织中采用 RT-PCR 方法克隆获得了绵羊和山羊 MT-IV 基因的编码区全序列, 其编码区序列均由 189 bp 组成, 与人和鼠的 MT-IV 长度一致。编码区序列同源性搜索结果表明哺乳动物间 MT-IV 基因高度保守, 这与 Quaife 等^[5]分析结果一致。

GOAT.MT-4	MDTLE	CTCH	SGGT	CAC	GDN	CKCT	TC	SKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	USD	KCS	CHP
SHEEP.MT-4	MDTGE	CTCH	SGGT	CAC	GDN	CKCT	TC	SKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	USD	KCS	CHP
COW.MT-4	MDSGE	CTCH	SGGT	CAC	GDN	CKCT	TC	SKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	ASD	KCS	CHP
MONKEY.MT-4	MDPRE	CUCM	SGGI	CMC	GDN	CKCT	TC	NKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	SDK	KCS	CHP
HUMAN.MT-4	MDPRE	CUCM	SGGI	CMC	GDN	CKCT	TC	NKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	SDK	KCS	CHP
DOG.MT-4	MDPGE	CTCH	SGGI	CIC	GDN	CKCT	TC	NKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	SDK	KCS	CHP
MOUSE.MT-4	MDPGE	CTCH	SGGI	CIC	GDN	CKCT	TC	SKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	SDK	KCS	CHP
RAT.MT-4	MDPGE	CTCH	SGGI	CIC	GDN	CKCT	TC	SKT	CRKS	CCPCC	PPG	CAK	CARG	CIC	KG	SDK	KCS	CHP

图 2 8 个物种 MT-IV 氨基酸序列比对结果

MT-IV 存在保守的 CXC ---- CXC --- CXC - CXC - C --- CCXCC --- CXXC --- CXC ----- CXCC, X 为非半胱氨酸序列中的氨基酸。

Fig. 2 Alignment of amino acid sequences of MT-IV in eight animal species

Analysis of amino acid sequences of goat, sheep, cattle, monkey, human, dog, mouse and rat. The result showed MT-IV had conserved sequence of MTs, CXC ---- CXC --- CXC - CXC - C --- CCXCC --- CXXC --- CXC ----- CXCC, where x was non-cysteine amino acids.

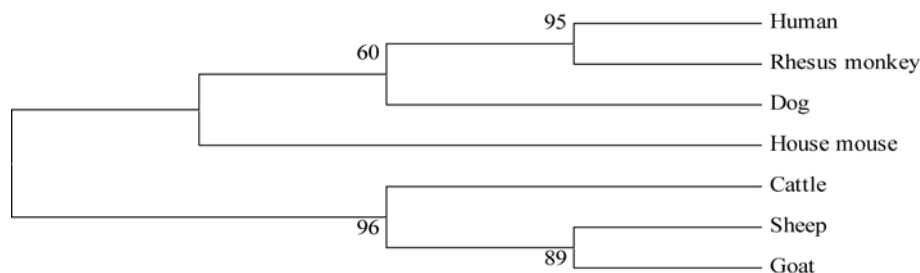


图 3 7 个物种 MT-IV 氨基酸序列 NJ 系统进化树

Fig. 3 The NJ consense tree for cattle, sheep, goat, house mouse, dog, rhesus monkey and human established by MEGA 4

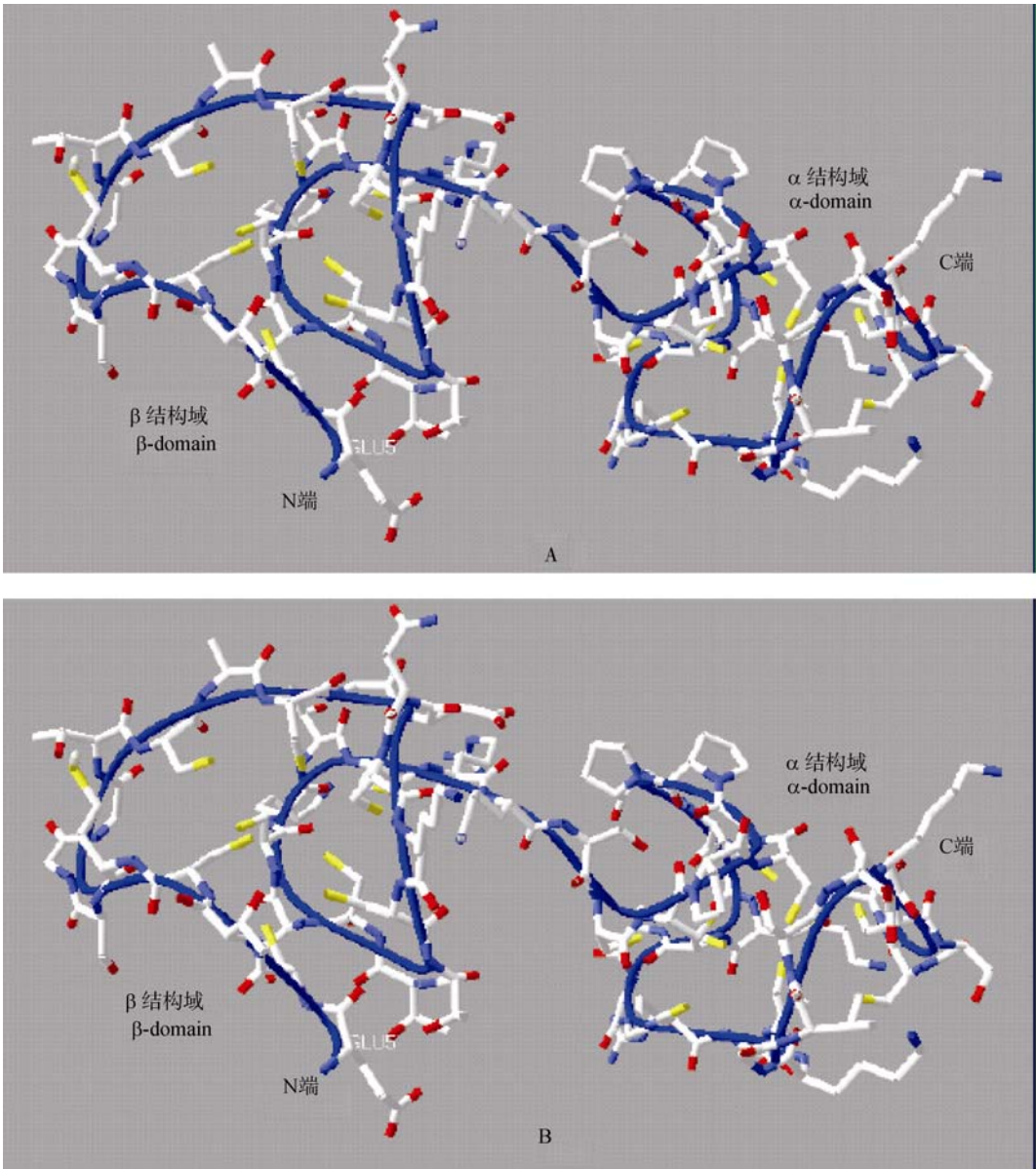


图 4 SWISS-MODEL 预测的绵羊(A)和山羊(B)的 MT-IV 三级结构预测结果
预测结果表明绵、山羊 MT-IV 三级结构均由 α 、 β 两个结构域组成, 其中两个物种的 β 结构域相同, 而 α 结构域 C 端不同。
Fig. 4 Three-dimensional solution structure of sheep (A) and goat (B) predicted by SWISS-MODEL
The result showed the three-dimensional solution structure was compared by both β - and α -domain, the structure of β -domain in both species, but difference in α -domain.

绵、山羊 MT-IV 基因 CDS 均编码 62 个氨基酸, 与 MT-I/-II 相比, 在第 5 位插入一个 Glu, 这与其他哺乳动物氨基酸序列一致^[5], 含有 MTs 特有的 C-X-C、C-C-X-C-C、C-X-X-C 保守序列。根据氨基酸序列分析获得的 7 种哺乳动物的分子进化结果与比较形态学和生理学分类结果一致。绵羊与其他哺乳动物一样, 含有 20 个半胱氨酸残基, 而山羊第 61 位保守的半胱氨酸残基被丝氨酸所替代。研究表明金属硫蛋白通过半胱氨酸与金属离子结合维持正常

的三级结构, 发挥生理功能。山羊 MT-IV 少一个半胱氨酸残基, 可能会影响其与金属或自由基的结合能力, 进而影响其高级结构和生理功能。绵、山羊 MT-IV 二级结构预测结果表明二者不存在差异。三级结构预测结果表明绵、山羊 MT-IV 与 MT-II 相似, 由 α -和 β -两个结构域组成, 两个物种的 β 结构域含有 9 个半胱氨酸, 绵羊的 α 结构域含有 11 个半胱氨酸残基, 与 Gabriele Meloni 等^[17]研究结果一致, 而山羊 α 结构域少一个半胱氨酸残基, 这可能是引起

三级结构与绵羊不同的原因,也有可能引起生理功能发生一些变化,有必要进行山羊 MT-IV 高级结构与功能的研究。另外,与其它亚型不同,MT-IV 连接两个结构域序列为 RKS,而不是 KKS。

参考文献(References):

- [1] Miles AT, Hawksworth GM, Beattie JH, Rodilla V. Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2000, 35(1): 35–70. [\[DOI\]](#)
- [2] Richard DP, Findley SD, Whitmore TE, Durnam DM. MT-III, a brain-special member of the metallothionein gene family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 6333–6337.
- [3] Uchida, Y., K. Takio, K. Titani, Y. Ihara, M. Tomonaga. The growth inhibitory factor that is deficient in the Alzheimer's diseased brain is a 68 amino acid metallothionein-like protein. *Neuron*, 1991, 7(2): 337–347. [\[DOI\]](#)
- [4] Villoslada P, Genain CP. Role of nerve growth factor and other trophic factors in brain inflammation. *Progress in Brain Research*, 2004, 146, 403–414.
- [5] Quaife CJ, Findley SD, Erickson JC, Froelick GJ, Kelly EJ, Zambrowicz BP, Palmiter RD. Induction of a new Metallothionein Isoform(MT-IV) occurs during differentiation of stratified squamous epithelia. *Biochemistry*, 1994, 33: 7250–7259. [\[DOI\]](#)
- [6] Studer R, Vogt CP, Cavigelli M, Hunziker PE, Kägi JH. Metallothionein accretion in human hepatic cells is linked to cellular proliferation. *Biochem J*, 1997, 328, 63–67.
- [7] Haile MH, Cherian MG, Martinez VJ, Veinot LA, Frei JV. Metallothionein as an epithelial proliferative compartment marker for DNA flow cytometry. *Modern Pathol*, 1993, 6, 755–760.
- [8] Thornalley PJ, Vašák M. Possible role for metallothionein in protection against radiation induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim Biophys Acta*, 1985, 827: 36–44.
- [9] Sato M, Bremner I. Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Rad Biol*, 1993, 14: 325–337. [\[DOI\]](#)
- [10] Yuguchi T, Kohmura E, Yamada K, Sakaki T, Yamashita T, Otsuki H, Kataoka K, Tsuji S, Hayakawa T. Expression of growth inhibitory factor mRNA following cortical injury. *J Neurotrauma*, 1995, 12(3):299–306.
- [11] Erickson JC, Hollopeter G, Thomas SA, Froelick GJ, Palmiter RD. Disruption of the metallothionein-III gene in mice: Analysis of brain zinc, behavior, and neuron vulnerability to metals, aging, and seizures. *J Neurosci*, 1997, 17(4):1271–1281.
- [12] Milena P. Metallothioneins are multipurpose neuroprotectants during brain pathology. *FEBS Journal*, 2006, 273:1857–1870. [\[DOI\]](#)
- [13] PENG Ke-Mei, ZHANG Deng-Run. Histology and Embryology. Beijing: China Agriculture Press, 2002. 彭克美, 张登荣. 组织学与胚胎学. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [14] J Sambrook, DW Russel (Translated by HUANG Pei-Tang). Molecular Cloning a Laboratory Manual, 3rd ed. Beijing: Science Press, 2002. 萨姆布鲁克 J, DW 拉塞尔, 黄培堂译. 分子克隆试验指南(第三版). 北京: 科学出版社, 2002.
- [15] Eileen DW, Gilby KL, Howlett SE, Robertson HA. Isolation of total cellular RNA from brain tissue, OXFORD Practical Approach Series, Oxford University, 2001.
- [16] Braun W, Vasák M, Robbins AH, Stout CD, Wagner G, Kägi JH, Wüthrich K. Comparison of the NMR solution structure and the x-ray crystal structure of rat metallothionein-2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 199, 89(21): 10124–10128. [\[DOI\]](#)
- [17] Meloni G, Zovo K, Kzantseva J, Palumaa P, Vasák M. Organization and assembly of metal-thiolate clusters in epithelium-specific metallothionein-4. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(21):14588–14595. [\[DOI\]](#)

•遗传咨询•

假肥大性肌营养不良的遗传

问: 我我儿今年 6 岁了, 诊断患有假肥大性肌营养不良症, 得到这个消息后我心里特难受, 我想咨询一下, 在我们家族中都没有这个病例, 可诊断后医生说是女方携带有病变基因, 这是真的吗? 与男方有关系吗? 请问这种病目前最好的治疗方案是什么? 在哪个医院可以实施该方案? 如果不能治疗, 采取什么样的方式可以避免下一个孩子患同样的疾病?

答: 假肥大性肌营养不良症是一种 X 连锁隐性遗传病, 即由于位于 X 染色体上的 DMD 基因的突变所引起。女性如果携带该致病基因, 一般不发病, 但有 50% 的机会将该基因传递给儿子, 会发病; 传递给女儿, 则也为携带者, 但不发病。所以医生的解释是有道理的。还有一种可能是父母都正常, 但孩子自己的基因发生了突变, 这种情况见于约 1/3 的 DMD 病人, 没有家族史。到底属于哪种情况, 到有条件的医院进行母亲和儿子的基因检查, 可以得出结论。目前 DMD 还没有真正有效的治疗办法。做产前基因诊断, 通过选择性流产, 可以防止患儿的出生, 或者选择生女儿, 可不发病, 但如果遗传了家族中的致病基因, 将来要注意其结婚后下一代患病的可能。

(中国科学院遗传与发育生物学研究所 李巍)