# 牛 FABGL 基因 cDNA 的克隆与序列分析*

马 云[1,2], 许尚忠[2], 高 雪[2], 张英汉[1],
辛亚平[1], 高树新[3], 任红艳[2]

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;
2 中国农业科学院 畜牧研究所, 北京 100094;
3 内蒙古民族大学 动物科技学院, 内蒙古 通辽 028000)

[摘 要] 以中国西门塔尔牛肝脏组织为材料, 运用同源序列克隆技术结合 RT-PCR 和 RACE 技术, 对牛 *FABGL* 基因的 cDNA 进行了克隆与序列分析, 并对推导的 FABGL 蛋白结构与性质进行了初步分析。结果表明, 牛 *FABGL* 基因的 cDNA 序列长 994 bp, 包括 780 bp 的开放阅读框、16 bp 的 5 非翻译区和 198 bp 的完整 3 非翻译区, 由 260 个氨基酸组成。该基因 cDNA 核苷酸编码区序列与猕猴、人、猪和小鼠 *FABGL* 基因的相似性分别为 89%, 89%, 87% 和 86%。推导的氨基酸序列与猕猴、人、猪和小鼠的相似性分别为 89%, 87%, 89% 和 86%。以 *FABGL* 基因 cDNA 编码区序列构建的分子进化树研究结果表明, 牛的 *FABGL* 基因在人、猕猴、猪、鼠等物种中, 与猪的亲缘关系最近。牛的 FABGL 蛋白的三级结构包含 2 个跨膜结构—Cutoff 模体, 分别位于 11～16 位氨基酸和 128～131 位氨基酸处。

[关键词] 牛; β酮酰基还原酶基因(*FABGL*); RT-PCR; RACE; cDNA; 序列分析
[中图分类号] S823.2; Q785 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2006)06-0001-06

类 β酮酰基还原酶基因(FabG like, *FABGL*), 又名 17β羟类固醇脱氢酶 8 基因(17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 8, *HSD* 17*B* 8), 编码依赖于尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸的 17β羟类固醇脱氢酶。β酮酰基还原酶能有效催化无活性的雌酮转变为有生物活性的雌二醇[1]。在性腺组织中, β酮酰基还原酶可以调控类固醇的含量[2]。在猪上的研究[3-5]表明, *FABGL* 基因位于猪淋巴细胞抗原复合体(SLA)所在的 7 号染色体长臂 1 区 1 带。而且在猪 7 号染色体的包含 SLA 的相关区域, 存在影响背脂厚度、平均日增重、体重和繁殖性状的数量性状位点[6-8], 所以 *FABGL* 基因是这些性状的一个功能候选基因。

在牛上, 至今尚无有关 *FABGL* 基因的研究报道。本研究以中国西门塔尔牛的肝脏组织为材料, 利用同源序列克隆技术结合 RT-PCR 和 RACE 技术, 对牛 *FABGL* 基因的 cDNA 进行了克隆与序列分析, 并对其编码的蛋白质的生物学功能进行了预测, 以为从分子水平上进行牛的选择育种提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

1.1.1 组织样 中国西门塔尔牛肝脏组织采自内蒙古自治区通辽市科左中旗新三维肉牛养殖有限公司肉牛育肥场。

1.1.2 主要试剂及菌株 TRIzol 试剂盒购自美国 GIBCO 公司; TaKaRa RNA PCR 试剂盒(AMV) Ver. 3.0、TaKaRa LA *Taq* 聚合酶购自大连宝生物工程有限公司; BD SMART RACE cDNA 扩增试剂盒购自 BD Biosciences 公司; RNA 酶抑制剂、PGEM-T-Easy 载体购自 Promega 公司; DNA 分子质量 Marker Ⅳ(500～7 000 bp)、DNA 快速纯化回收试剂盒购自北京天为时代公司; *Taq* DNA 聚合酶购自北京博大泰克生物公司; $T_4$ DNA 连接酶、IPTG 和 DNA 分子质量 Marker(100～600, 100～1 500 bp)购自 Sigma 公司; 其他试剂均为国产分析纯; 大肠杆菌 DH5α 由中国农业科学院畜牧研究所

* [收稿日期] 2006-03-15
[基金项目] 国家"863"计划项目(2002AA 242011)
[作者简介] 马 云(1974- ), 男, 宁夏平罗人, 在读博士, 主要从事分子遗传与动物育种研究。E-mail: mayun666@yahoo.com.cn
[通讯作者] 许尚忠(1950- ), 男, 河北尚义人, 研究员, 博士生导师, 主要从事牛的遗传育种研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

牛遗传育种研究室保存。

1.1.3 引物 以人的 *FABGL* 基因mRNA (GenBank 登录号: NM 014234) 为信息探针, 在NCBI-EST other 数据库 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov.blast/) 搜寻同源的牛EST, 取同源性大于 90% 的 7 条 ESTs (GenBank 登录号: CO 872046, DN 539397, DN 288341, BE 756834, BM 366387, DN 546608, CB 432600) 构建 EST 连接群。以连接群的一致序列作为引物设计的靶序列, 用 PRIMER 5.0 引物设计软件设计 3 对特异引物(表 1)。其中, A 和 B 配对扩增, 分别为牛 *FABGL* 基因RT-PCR 的上游和下游引物, C 和 D 分别与RACE 试剂盒提供的通用引物UPM 配对后, 用于 *FABGL* 基因 5′和 3′端 cDNA 序列的扩增。引物由北京赛百盛生物技术有限公司合成。

表 1 用于克隆牛 *FABGL* 基因 cDNA 的引物

Table 1 Primers used to clone cDNA of *FABGL* gene

| 引物 Primer | 引物序列 Primer sequence | 退火温度/℃ Annealing temperature | 扩增产物长度/bp Length |
|---|---|---|---|
| A | 5′-TGGCGTCTCCGCTCCGAT-3′ | 58.0 | 835 |
| B | 5′-CAGGAGGCCAGCAGAGCA-3′ | 58.0 | 835 |
| C | 5′-CGCCCGCACCTGTAACCAGGG-3′ | 72.0～68.0 | 120 |
| D | 5′-TGGCAGATGTCGTCGCATTCTTGGC-3′ | 72.0～68.0 | 435 |

1.2 牛总RNA 的提取

利用 TRIzol 试剂盒从西门塔尔牛肝脏组织中提取总RNA, 具体操作依照试剂盒说明书进行。提取的总RNA 用 12 g/L 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 质量完好的RNA 用于反转录第一链 cDNA 的合成及RACE 试验。

1.3 RT 和RACE 第一链 cDNA 的合成

普通 RT-PCR 第一链 cDNA 的合成按照 TaKaRa RNA PCR 试剂盒(AMV) Ver.3.0 说明书进行; RACE-PCR 第一链 cDNA 的合成按照BD SMART RACE cDNA 扩增试剂盒说明书进行。第一链 cDNA 合成后用于后续试验。

1.4 普通RT-PCR 扩增

反应体系为 TaKaRa LA *Taq* 0.25 μL (5 U/μL), GC Buffer Ⅰ(TaKaRa LA *Taq* 试剂盒自带) 12.5 μL, dNTPmix (2.5 mmol/L) 4 μL: 上、下游引物A 和B 各 1 μL (20 μmol/L), RT cDNA 1.5 μL, 灭菌水 3.75 μL, 总体积为 25 μL。PCR 扩增程序为: 94 ℃ 3 min, 94 ℃ 30 s, 58 ℃退火 45 s, 72 ℃ 1 min, 循环 35 次; 最后 72 ℃延伸 5 min。PCR 反应产物用 12 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 RACE-PCR 扩增

在干净的 0.5 mL 管中依次加入 17.25 μL PCR 级水、2.5 μL 10×BD Advantage 2 PCR Buffer、0.5 μL dNTP (10 mmol/L) 和 0.5 μL 50×BD Advantage 2 聚合酶, 构建总体积为 20.75 μL 的混合反应体系用于 5′(3′)RACE-PCR, 或者用 4 μL PCR 级水、GC Buffer Ⅰ 12.5 μL、dNTP (2.5 mmol/L) 4 μL 和 TaKaRa LA *Taq* 聚合酶 0.25 μL 构建总体积为 20.75 μL 的混合反应体系仅用于 5′RACE-PCR; 然后再加入 5′(3′)RACE cDNA 1.25 μL, 通用引物UPM (10×) 2.5 μL, 特异引物C (或D) 0.5 μL, 使反应总体积达到 25.0 μL。然后在 PTC-200 热循环仪上进行 PCR 扩增。以上扩增反应均采用降落 PCR (Touch-down) 程序, 条件为: 95 ℃ 2 min; 94 ℃ 30 s, 72 ℃ 3 min, 4 个循环; 94 ℃ 30 s, 70 ℃ 30 s, 72 ℃ 3 min, 4 个循环; 94 ℃ 30 s, 68 ℃ 30 s, 72 ℃ 3 min, 25 个循环; 94 ℃ 30 s, 66 ℃ 30 s, 72 ℃ 3 min, 5 个循环。反应完成后, 取 2 μL PCR 产物用 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.6 PCR 产物的测序

以上分离的 cDNA 片段均采用克隆方法测序。将纯化回收的 PCR 产物与 PGEM-T-Easy 载体连接后, 转化大肠杆菌DH5α, 蓝白斑筛选挑取单个阳性克隆子, 由上海英骏生物技术公司测序, 每个基因片段至少测两个克隆子。

1.7 牛 *FABGL* 基因 cDNA 序列同源性分析

用美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI) 网站 http://www.ncbi.nlm.nih.gov. 的BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 软件, 将本研究测序获得的 cDNA 序列与 GenBank 数据库中公布的人、鼠、猪、猕猴的 *FABGL* 基因(GenBank 登录号依次为: NM 014234, BC086927, AF146398, DQ 228170) 进行序列同源性分析, 鉴定所获得的 cDNA 序列是否为目的序列。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 1.8　牛 *FABGL* 基因的分子进化分析及其编码蛋白的三级结构分析

利用 Lasergene 99 软件中的 Editseq 程序对经过鉴定的 cDNA 序列的起始密码子、开放阅读框(ORF)以及 ORF 翻译后的氨基酸序列进行分析; 利用 Lasergene 6.0 软件中的 Megalign 程序, 对人、猕猴、猪、小鼠、大鼠的该基因 mRNA 及克隆到的牛 *FABGL* 基因 cDNA 序列进行系统进化分析。并运用在线蛋白质分析软件 Protein Sequence Analysis 按照文献[9-10]介绍的方法, 对由 *FABGL* 基因推导的 FABGL 蛋白作三级结构分析与功能预测。

## 2　结果与分析

### 2.1　牛 *FABGL* 基因 cDNA 的克隆与测序鉴定

由图 1 可知, 扩增片段长度为 835 bp, 与预期结果一致。序列分析结果表明, 该段序列与人、猪和鼠的 *FABGL* 基因的相似性分别为 89%, 87% 和 84%。可以初步判定该序列为牛 *FABGL* 基因的部分序列。由图 2 和图 3 可知, 牛 *FABGL* 基因 5 端 RACE-PCR 产物和 3 端 RACE-PCR 产物长度分别为 120 bp 和 435 bp, 将此两个片段分别测序后进行同源性分析, 结果表明, 牛 *FABGL* 基因 5 端 RACE-PCR 产物和 3 端 RACE-PCR 产物序列与人、猪和鼠同源基因的相似性分别为 91%, 87%, 86% 和 88%, 88%, 84%。可以初步判定 RACE-PCR 扩增产物分别为牛 *FABGL* 基因 5 端和 3 端部分序列。

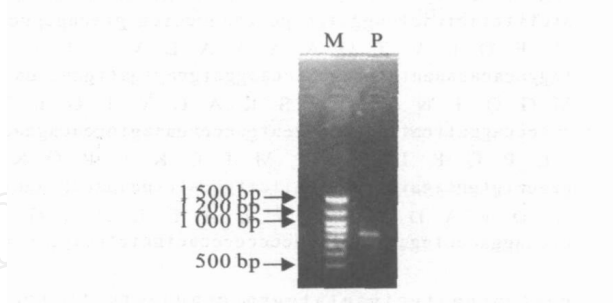


图 1　牛 *FABGL* 基因 RT-PCR 产物的凝胶电泳结果

M. Marker; P. RT-PCR 产物

Fig. 1　Electrophoresis result of RT-PCR product purified from agarose gel

M. DNA marker; P. RT-PCR product

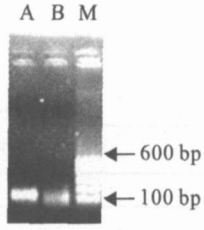


图 2　牛 *FABGL* 基因 5′端 RACE-PCR 产物电泳检测结果

A. 用 TaKaRa LA *Taq* 酶进行 RACE-PCR 扩增的电泳结果; B. 用 BD Advantage 2 Polymerase 进行 RACE-PCR 扩增的电泳结果; M. Marker

Fig. 2　Electrophoresis result of 5′ RACE-PCR product purified from agarose gel

A. The electrophoresis result of 5′ RACE-PCR product with the use of TaKaRa LA *Taq*; B. The electrophoresis result of 5′ RACE-PCR product with the use of BD Advantage 2 Polymerase for DNA; M. DNA marker

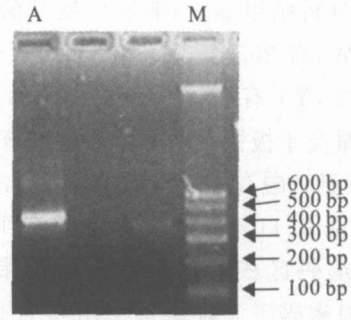


图 3　牛 *FABGL* 基因 3′端 RACE-PCR 产物电泳检测结果

A. 用 TaKaRa LA *Taq* 酶进行 RACE-PCR 扩增的电泳结果; M. Marker

Fig. 3　Electrophoresis results of 3′ RACE-PCR product purified from agarose gel

A. the electrophoresis result of 3′ RACE-PCR product with the use of TaKaRa LA *Taq*; M. Marker

利用 DNAstar 软件中的 Seqman 程序将 RACE-PCR 产物序列与 RT-PCR 产物序列拼接, 获得了长度为 994 bp 的牛 *FABGL* 基因的 cDNA 序列(GenBank 登录号: DQ 355520)。

### 2.2　牛 *FABGL* 基因编码蛋白的结构分析

由图 4 可知, 牛 *FABGL* 基因的 ORF 长为 780 个核苷酸, 编码 260 个氨基酸组成的多肽, 编码序列两翼有 16 bp 的 5′非翻译区和 198 bp 的 3′非翻译

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

区。计算机程序预测, 该蛋白质的相对分子质量约为 273 ku, 等电点为 6.74。

```
ctggccgccggccgtcatggcgtctccgctccgattgcgctccgcgctggccctggttacaggtgcgggcggcggcattggccgcgccatcagcgtgcgc   100
                M A S P L R L R S A L A L V T G A G G G I G R A I S V R
ctcgccgctgagggggccgccgtagccgcttgcgacctggacggggcagcagcacgggagacggtgcagctgctgggagggccggggaccgaggaggggg   200
 L A A E G A A V A A C D L D G A A A R E T V Q L L G G P G T E E G
cgccccgcggagcccacgccgccttccaggctgatgtgtctgaggcaggggccgctaggcgcctgctggagcaagtgcaggcctgcttttctcgcccgcc   300
A P R G A H A A F Q A D V S E A G A A R R L L E Q Y Q A C F S R P P
gtctgtcgttgtgtcctgtgcgggcatcaccagagatgaatttctactccacatgtctgaggacaactgggacaaagtcatagctgtcaacctcaagggc   400
 S V V V S C A G I T R D E F L L H M S E D N W D K V I A V N L K G
atctttctagtcactcaggctgcagcccaagccctcgtgtccagcggctgtcctggctccatcacaacatcagtagcatcataggcaaggtggggaaca   500
 I F Q L V T Q A A A A L V S S G C P G S I I N I S S I I G K V G N
tgggacagacaaactatgcagcatccaaggctggagtgattgggctgacccagtctgcagcccgggaacttggacgacacgggatccgctgtaacagtgt   600
M G Q T N Y A A S K A G Y I G L T Q S A A R E L G R H G I R C N S V
cctcccaggattcattagaacacccatgacccagaaagtgccacagaaagtgctggacaaggttactggaatgatcccaatggcacatatggggaaccct   700
 L P G F I R T P M T Q K V P Q K V L D K V T G M I P M A H M G N P
gaggatgtggcagatgtcgtcgcattcttggcatctgaagacagtggatacatcacaggggcatcagtggaagtcactggaggtcttttcatgtaactgc   800
 E D V A D V V A F L A S E D S G Y I T G A S V E V T G G L F M
ctcaaggaccctggactctgctcacccccccccactgctctgctggcctcctgctgatgaggactcggagttcccaggctacaaaaggggtggctgtgtat   900

ggctcaggaatgctgaatatgggaggcaggggtgcttgtgacccctaataaattccaaaacctcttccctgccaaaaaaaaaaaaa   994
```

图 4 牛 *FABGL* 基因编码区序列及推导的氨基酸序列

推导的氨基酸用单字母符号写在密码子的下面; ▬: 示起始密码子; □: 示终止密码子; ═: 示加尾信号 AATAAA; ▬: 示 Poly(A) 尾巴

Fig. 4 Coding sequence and deduced amino acid sequence of the *FABGL* gene

The deduced amino acid sequence is shown below the nucleotide sequence in a standard single-letter code; ▬: Initiation codons; □: Termination codons; ═: The entailed signal; ▬: The polyadenylation signal

氨基酸分析结果显示, 非极性氨基酸(A, F, I, L, M, P, V, W)有 205 个, 占 78.85%, 极性氨基酸(N, C, Q, S, T, Y)有 55 个, 占 21.15%, 可见非极性氨基酸含量高于极性氨基酸。在构成该多肽的氨基酸中, 酸性氨基酸有 22 个(占 8.49%)、碱性氨基酸有 21 个(占 8.11%)、疏水氨基酸有 107 个(占 41.31%)。编码区核苷酸组成分析结果表明, 牛 *FABGL* 基因密码子 4 种碱基使用频率不平衡, 其平均使用频率分别为 G(31.92%) > C(28.34%) > A(20.51%) > T/U(19.23%), G + C 含量为 60.26%, 远远高于 A + T 含量(39.74%), 说明牛 *FABGL* 基因编码区碱基中 G 和 C 含量远较 A 和 T(U)丰富。

核苷酸序列与推测的氨基酸序列同源性分析结果显示, 牛 *FABGL* 基因编码区核苷酸序列与猕猴、人、猪和小鼠 *FABGL* 基因的相似性分别为 89%, 89%, 87% 和 86%。牛 FABGL 蛋白的氨基酸序列与猕猴、人、猪和小鼠 FABGL 蛋白相应序列的相似性分别为 89%, 87%, 89% 和 86%。

## 2.3 牛 *FABGL* 基因的分子进化分析

由图 5 可知, 牛 *FABGL* 基因与猪 *FABGL* 基因首先聚为一类, 然后再与人、猕猴的聚类结果归为一类; 最后, 人、猕猴, 牛、猪的聚类结果再与大鼠、小鼠的聚类结果归为一类。结果表明, 牛的 *FABGL* 基因与猪的 *FABGL* 基因分子进化距离最近, 亲缘关系最密切。

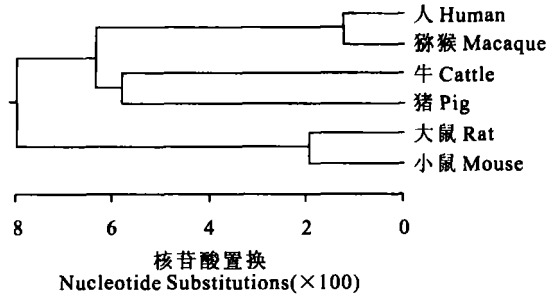


图 5 牛 FABGL 蛋白序列与人及其他动物的 FABGL 蛋白序列分子进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of the amino acid sequences of cattle FABGL and other FABGL proteins in human and other animals

## 2.4 牛 FABGL 蛋白跨膜结构预测

将牛的 FABGL 蛋白的氨基酸序列提交至网站 http://www.cbi.pku.edu.cn/mirror/predictprotein/submit-def.html, 进行牛 FABGL 蛋白的三级结构分析。结果显示, 牛 FABGL 蛋白的三级结构包含 2 个跨膜结构—Cutoff 模体, 分别位于 11~16 位

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

氨基酸和 128～131 位氨基酸处(图 6)。对人、猪、鼠、猕猴等的 FABGL 蛋白分析发现, 它们也都具有 Cutoff 模体组成的跨膜结构, 这可能是 FABGL 蛋白的共同特征。

MASPLRLRSALALVTGAGGGIGRAISVRLAAEGAAVAACDLDGAAARETVQLLGGPGTEEGAPRGAHAAF
QADVSEAGAARRLLEQVQACFSRPPSVVVSCAGITRDEFLLHMSEDNWDKVIAVNLKGIFLVTQAAAQAL
VSSGCPGSIINISSIIGKVGNMGQTNYAASKAGVIGLTQSAARELGRHGIRCNSVLPGFIRTPMTQKVPQKVL
DKVTGMIPMAHMGNPEDVADVVAFLASEDSGYITGASVEVTGGLFM

图 6　牛的 *FABGL* 基因编码蛋白跨膜结构预测结果

═: 示 Cutoff 模体

Fig. 6　Predicted result of potential transmembrane segments for bovine *FABGL* protein

═: The potential transmembrane segments (Cutoff)

## 3　讨　论

### 3.1　关于牛 *FABGL* 基因 cDNA 的克隆

本研究发现, 利用专门扩增高 G+C 含量的 TaKaRa LA *Taq* 酶替代 BD SMART™ RACE cDNA Amplification Kit 中的 BD Advantage 2 Polymerase 进行 RACE-PCR, 取得了优于试剂盒本身的扩增效果。将 RT-PCR 产物序列、5 端和 3 端 RACE-PCR 产物序列用 DNA star 软件中的 Seqman 程序拼接, 获得了长度为 994 bp 的牛 *FABGL* 基因的 cDNA 序列(GenBank 登录号: DQ 355520)。核苷酸序列同源性分析结果表明, 本研究得到的牛 *FABGL* 基因 cDNA 编码区序列与小鼠、大鼠、人的 *FABGL* 基因 cDNA 序列同源性较高, 都在 85% 以上, 从而可确定得到的 cDNA 序列为牛的 *FABGL* 基因序列。

### 3.2　关于 *FABGL* 基因分子系统进化树

本研究结果显示, 牛 FABGL 蛋白与已知猕猴、人、猪和小鼠等典型真核生物 FABGL 蛋白的相似性分别为 89%, 87%, 89% 和 86%, 说明这些真核生物 FABGL 成熟蛋白氨基酸序列具有很高的同源性。根据以上动物 FABGL 成熟蛋白氨基酸序列构建的系统进化树分析显示, 牛与猪、人与猕猴先分别聚在一起, 然后再聚为一类; 最后与鼠聚为一类。这与动物学分类结果一致, 表明以上物种氨基酸组成及序列存在明显进化上的保守性和高度序列同一性, 这种同源性在一定程度上代表着物种亲缘关系的远近, 同时也反映了 FABGL 蛋白在不同物种结构上的稳定性对生物体的功能重要性。在牛与猪、人与猕猴这一类中, 由聚类结果可知, 牛与猪的亲缘关系较牛与人的近, 因此可以根据已知猪的 *FABGL* 基因编码蛋白的生物学功能, 结合蛋白功能预测软件的分析结果对牛 FABGL 蛋白的功能做出推断。已有的有关猪 *FABGL* 基因的研究认为[7-9], 该基因与猪的背脂厚度、平均日增重、体重和繁殖性状有密切关系, 据此可以在牛上探讨 *FABGL* 基因及其编码的蛋白与牛相应生物经济学性状的关系。本研究是对牛 *FABGL* 基因的初步探索, 其研究结果将有利于对牛 *FABGL* 基因及其编码的 FABGL 蛋白的功能进行深入研究, 对进一步了解 *FABGL* 基因对牛脂肪蓄积、肌肉生长的基因效应, 以及利用该基因改良牛肉质性状、繁殖性状及生长性状具有重要意义。

## [参考文献]

[1] Ando, Kikuti Y Y, Shigenari A, et al. cDNA cloning of the human homologues of the mouse *Ke*4 and *Ke*6 genes at the centromeric end of the human MHC region[J]. Genomics, 1996, 35: 600-602.

[2] Fomitcheva J, Baker M E, Anderson E, et al. Characterization of *FABGL*, a new 17β-hydroxysteroid dehydrogenase, and its expression in gonadal tissue[J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273: 22664-22671.

[3] Jacobs K, Mattheeuws M, Van Poucke M, et al. Characterization of the porcine *FABGL* gene[J]. Animal Genetics, 2002, 33: 220-223.

[4] Sudbrak R, Reinhardt R, Hennig S, et al. Comparative and evolutionary analysis of the rhesus macaque extended MHC class Ⅱ region[J]. Immunogenetics, 2003, 54: 699-704.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[5] Chardon P, Rogel-Gaillard C, Peelman L, et al. Physical organization of the pig major histocompatibility complex class Ⅱ region[J]. Immunogenetics, 1999, 50: 344-348.

[6] Rohrer G. Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of backfat and weight in a Meishan-White composite resource population[J]. Journal of Animal Sciences, 2000, 78: 2547-2553.

[7] Wada Y, Akita T, Awata T, et al. Quantitative trait loci(QTL) analysis in a Meishan × Gottingen cross population[J]. Animal Genetics, 2000, 31: 376-384.

[8] Genet C, Renard C, Cabau C, et al. In the QTL region surrounding porcine MHC, gene order is conserved with human genome[J]. Mammalian Genome, 2001, 12: 246-249.

[9] Moller S, Croning M D, Apweiler R. Evaluation of methods for the prediction of membrane spanning reaions[J]. Bioinformatics, 2001, 17(7): 646-653.

[10] Kelley L A, MacCallum R M, Sternberg M J. Enhanced genome annotation using structural profiles in the program 3D-PSSM[J]. J Mol Biol, 2000, 299(2): 499-520.

# Study on the cloning and sequence analysis of bovine *FABGL* gene

**MA Yun[1,2], XU Shang-zhong[2], GAO Xue[2], ZHANG Ying-han[1], XIN Ya-ping[1], GAO Shu-xin[3], REN Hong-yan[2]**

(1 *College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*;
2 *Institute of Animal Science (IAS), The Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Beijing* 100094, *China*;
3 *College of Animal Science and Technology, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia* 028000, *China*)

**Abstract**: The liver tissue from Chinese Simmental cattle was collected to extract RNA and the cDNA of the bovine *FABGL* gene was determined and analyzed by homology cloning approach combined with RT-PCR, 3′ and 5′ RACE in this study. Sequence analysis and bioinformatics study showed that this cDNA contained 994 bp nucleotides, with a 780 bp open reading frame (ORF) flanked by a 16 bp 5′UTR (uncompletely) and a 198 bp 3′UTR. The CDS of the obtained bovine *FABGL* gene showed 89%, 89%, 87% and 86% identity with the corresponding macaque, human, pig and rat respectively. The deduced amino acid sequence (260 AA) showed 89%, 87%, 89% and 86% identity with the corresponding macaque, human, pig and rat respectively. Analyzed results for phylogenetic tree of the amino acid sequences of cattle *FABGL* and other *FABGL* proteins in human and other animals showed that, among all species mentioned above, the nearest relationship existed between cattle and pig compared to the relationship between cattle and other species.

**Key words**: cattle; *FABGL*; RT-PCR; RACE; cDNA; sequence analysis

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net