

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2013.04.03

人类 *Boule* 基因在减数分裂时期的生物信息学分析

孙洋洋¹, 马玉珍^{2*}, 石晶瑜¹

(1. 内蒙古师范大学, 内蒙古 呼和浩特 010000; 2. 内蒙古医院, 内蒙古 呼和浩特 010000)

摘要: *Boule* (*boll*) 基因是 *DAZ* 基因家族的一个新成员, 含有一个 RNA 结合域和一个 *DAZ* 重复域, 是人类精子发生减数分裂过程中主要调控因子。为了研究 *Boule* 基因结构及其功能, 利用生物信息学方法对 *Boule* 蛋白相关结构、相互作用蛋白及其功能进行分析和预测。结果表明, *Boule* 蛋白存在明显的亲水区、疏水区和卷曲螺旋; 不存在信号肽、跨膜结构; 主要分布在细胞质、细胞核、线粒体中; 二级结构以 α -螺旋、延伸链、无规则卷曲所组成, 并含有非正规二级结构区; 作用蛋白主要为 CDC25A 蛋白, 功能域主要包含 RRM 保守域。 *Boule* 蛋白在精子发生过程中第一次减数分裂的生殖细胞中特异性表达, 而在减数分裂完全阻滞的睾丸组织中不表达。因此, *Boule* 蛋白功能可能与雄性生殖细胞减数分裂相关基因表达有关。

关键词: *Boule* 基因; 生物信息学; 减数分裂; 进化树

中图分类号: R978.1+6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-5565(2013)-04-255-09

Bioinformatics analysis of human *boule* gene in meiotic

SUN Yang-yang¹, MA Yu-zhen^{2*}, SHI Jing-yu¹

(1. Inner Mongolia Normal University, Inner Mongolia Hohhot 010000, China; 2. Inner Mongolia Hospital, Inner Mongolia Hohhot, 010000, China)

Abstract: *Boule* (*boll*) gene is a new member of the *DAZ* gene family, which contains an RNA-binding domain and a *DAZ* repeat domain, and is a major regulatory factor in human spermatogenesis during meiosis. In order to study the *Boule* gene structure and its function, we did bioinformatics analysis and prediction of the *Boule* gene structure, proteins interactions and protein functions. The results show that *boule* proteins, have hydrophilic regions, a hydrophobic regions and coiled-coils, but any signal peptides or transmembrane; are mainly distributed in the cytoplasm, nucleus, mitochondria; are consist of α -helix, extended strand, ruleless coiled-coil, and particularly a non-regular secondary structure area. The role of functional domains in CDC25A protein mainly comprise RRM conserved domains. *Boule* protein specifically expresses on germ cell in the first meiotic during spermatogenesis, and has no expression in completely block in meiosis testicular tissue. Therefore, *Boule* protein function may be associated with male germ cell meiosis-related gene expression.

Keywords: *Boule* Gene; Bioinformatics; Meiosis; Phylogenetic Tree

在精子发生这一复杂的生理过程中, 减数分裂时期显得尤为重要。染色体的复制、分离, 基因突变和缺失都可能使精子发生异常, 进而导致男性不育。在与男性不育^[1]相关的众多调控因子当中, *DAZ* 家族就是其中非常重要的调控因子。它包括三个基因成员: *DAZ*、*DAZL*、*Boule*。 *DAZ* 位于 Y 染色体上^[2],

主要在灵长类动物中发现该基因; *DAZL* (Deleted in azoospermia-like) 位于常染色体, 在哺乳动物、脊椎动物中存在; *Boule*^[3] 基因也是位于常染色体上, 在线虫、哺乳动物、果蝇及脊椎动物中存在, 并且在第一次减数分裂时期高表达。 *Boule* 是一个高度保守的基因, 它编码精子发生减数分裂所需要的 RNA 结

收稿日期: 2013-03-25; 修回日期: 2013-05-14.

基金项目: 国家自然科学基金(20080502)项目资助。

作者简介: 孙洋洋, 男, 硕士, 研究方向: 生物信息与数据挖掘; E-mail: sun yang yang.222@163.com.

* 通讯作者: 马玉珍, 女, 研究员, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 医学生殖生物学; E-mail: mayz1964@hotmail.com.

合蛋白。*Boule* 基因全序列为编码区起始于序列的 118, 终止于 322, 存在 CpG 岛, 长度为 205bp。编码区两侧为 254bp 的 5' 非翻译区和 308bp 的 3' 非翻译区, 在 3' 末端的 polyA 尾上游处有一个加尾信号 AATAAA。Kostova^[4] 发现 *Boule* 在睾丸组织中特异性表达的三个转录剪接体, 其 N 末端又由三个选择性剪接外显子编码。尽管调节精子发生的基因发生着迅速的进化, 但是从昆虫到人类的 *Boule* 基因仍维持着保守的功能域^[5], 果蝇的 *Boule* 突变会使精子发生在减数分裂时期受阻从而导致雄性不育。Eugene Yu jun Xu^[5] 等人在因 *Boule* 缺失或突变导致的雄性不育苍蝇睾丸中导入人的 *Boule* 基因转录组, 发现雄性不育果蝇能产生正常的精子。人类与果蝇 *Boule* 基因相似的功能表明人的 *Boule* 基因与果蝇的 *Boule* 基因直系同源, 并且在调节减数分裂上, 它在人类中的功能很可能与果蝇类似。人类精子发生过程中, 减数分裂 M 期的起始是受 M 期启动因子 MPF 控制的, 而 MPF 由细胞周期蛋白 B 和 CDC2 (Cell division cycle 2) 组成。这个复合物是恢复减数分裂必需的, 其活性受可逆磷酸化的调控, Wee1 和 Myt1 激酶使其磷酸化可致其失活, 而 CDC25 磷酸酶可以使其活化, 诱导细胞周期 G2/M 转换的完成^[6]。目前已发现 3 种人类 CDC25 基因, 其中 CDC25A 在睾丸中高表达, 对精子发生至关重要^[7], 特别是在初级和次级精母细胞中表达, 与 *Boule* 蛋白的初始表达阶段一致。在 *Boule* 缺乏的患者中,

CDC25A 磷酸酶基因 mRNA 仍然表达, 有的甚至出现上调, 但并没有翻译成具有功能的蛋白, 而 CDC25A 磷酸酶的缺乏可能导致 MPF 超磷酸化, 使 MPF 完全失活, 这可能是患者精子发生阻滞的主要原因, *Boule* 和 CDC25A 同时缺乏的患者减数分裂发生阻滞。*Boule* 基因在哺乳动物其它组织器官中的功能, 尤其是它在精子发生中的所起的作用尚不完全清楚^[9], 但 *Boule* 是精子生成所不可缺少的一个基因, 它的表达在精子发生过程中起关键作用。

1 材料及其方法

1.1 材料

人 (*Homo sapiens*, AF272858)、斑胸草雀 (*Taeniopygia guttata*, XM_004175306.1)、虹鳟鱼 (*Oncorhynchus mykiss*, HQ696915)、曼氏裂体吸虫 (*Schistosoma mansoni*, XP_002575519.1)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*, NM_111126.3)、黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*, NM_079265)、小鼠 (*Mus musculus*, AF272859)、牛 (*Bos Taurus*, NM_001102115)、松鼠猴 (*Saimiri sciureus*, AJ717408)、倭黑猩猩 (*Pan paniscus*, AJ717405) 等 10 种 *Boule* 基因的 mRNA 序列及其相应的氨基酸序列, 均来自美国国家生物信息中心 (NCBI, National center for biotechnology information) 网址: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>。物种分类如图 1 所示。

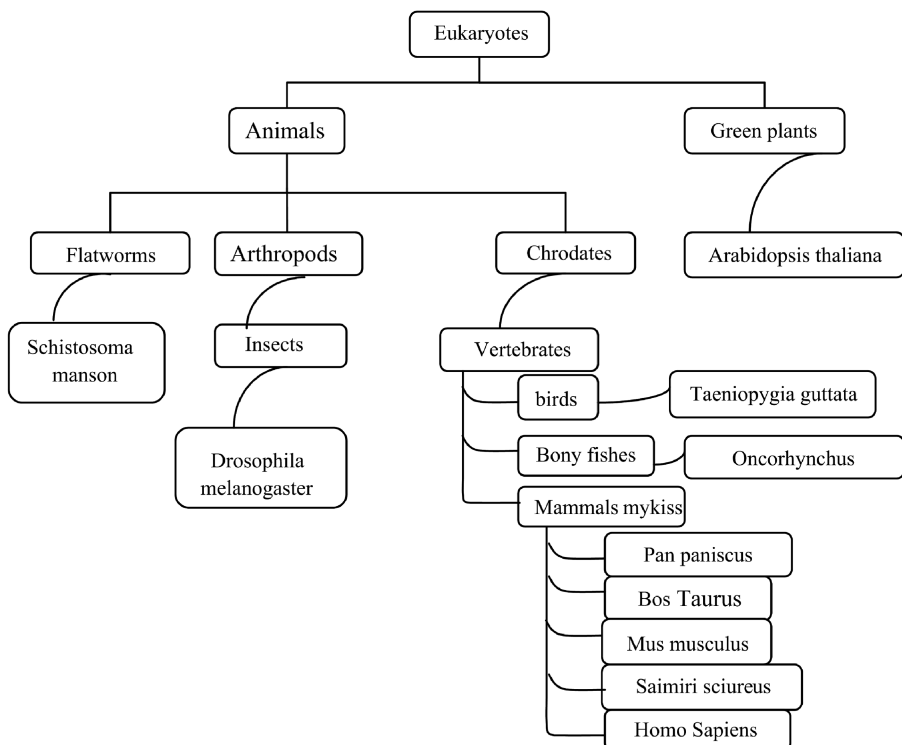


图 1 10 个物种的分类图

Fig.1 The ten species investigated in this study

1.2 方法及其使用的软件

1.2.1 *Boule* 基因的 mRNA 序列和蛋白序列分析

通过 NCBI 网站的 Gene 数据库、Nucleotide 数据库和 Protein 数据库查询人、家蚕等 10 种 *Boule* 基因的 mRNA 序列、氨基酸序列,基因所在的染色体及其蛋白质质量。

1.2.2 *Boule* 蛋白质序列比对分析

利用 EBI(网址: <http://www.ebi.ac.uk>) 网站的 Clustalw Omega(网址: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>),对 10 种动物的 *Boule* 蛋白的氨基酸序列做比对分析。

1.2.3 *Boule* 蛋白分子进化分析

利用分子进化遗传分析软件 MEGA5.05 (Molecular evolutionary genetics analysis) 对 10 种动物的全长 *Boule* 蛋白做序列比对分析。系统进化树采用邻接算法,自检举 5 000 次,采用泊松校验计算距离。

1.2.4 *Boule* 蛋白的氨基酸的理化性质分析

利用 ExPasy(网址 <http://www.expasy.org/>) 的 ProtParam 工具(网址: <http://web.expasy.org/protparam/>) 对人的 *Boule* 蛋白氨基酸序列的相对分子质量、氨基酸组成、等电点(PI)、不稳定系数等物理化学性质进行分析。

1.2.5 疏水性/亲水性的预测和分析

利用 ExPasy 网站的 protscale(网址: <http://web.expasy.org/protscale/>) 在线分析工具对人类 *Boule* 基因编码的蛋白氨基酸序列的疏水性亲水性进行分析。所有的参数按照软件的默认值。

1.2.6 信号肽分析

对人类 *Boule* 蛋白氨基酸序列,利用在线分析工具 SignalP 4.0 Server(网址: <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 分析该氨基酸序列的信号肽的存在位置及序列。

1.2.7 跨膜结构的预测和分析

跨膜结构域常常是由跨膜蛋白的效应区域所展现,一般由 20 个左右的疏水性氨基酸残基组成,主要形成 α -螺旋。利用在线工具 TMHMM Server v. 2.0(网址: <http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对人类 *Boule* 蛋白进行跨膜结构分析。

1.2.8 卷曲螺旋域分析

在很多的天然蛋白质中,都存在卷曲螺旋,该结构具有重要的生物学功能,比如分子识别、运动和调控代谢等。利用在线分析工具 COILS([http://www.](http://www.ch.embnet.org/software/COILS_form.html)

[ch.embnet.org/software/COILS_form.html](http://www.ch.embnet.org/software/COILS_form.html)) 对 *Boule* 蛋白进行卷曲螺旋域分析。

1.2.9 亚细胞定位分析

利用在线亚细胞定位工具 TargetP-1.1 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>),输入 *Boule* 基因编码的蛋白序列,在序列来源选择 Non-plant,其它选项用默认值,确认 *Boule* 基因编码的蛋白主要在细胞中发挥作用的部位。然后再用 PSORT II server(<http://psort.hgc.jp/form2.html/>) 工具进一步分析来验证上述工具分析结果的准确性。

1.2.10 与 *Boule* 蛋白相互作用的蛋白分析

在 STRING 数据库中(<http://string-db.org/>) 查询与 *Boule* 蛋白相关作用的蛋白。主要研究与 *Boule* 蛋白直接或者间接作用的相关蛋白。之所以研究其蛋白之间的相互作用关系,是因为可以通过与其相关蛋白的功能信息,了解和预测该蛋白的功能及其它信息。

1.2.11 *Boule* 蛋白的二级结构预测

利用基于 GOR 算法的 GOR4(http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html) 在线工具预测该蛋白是否具模体、无规则卷曲、 β 转角、 β 折叠及 α 螺旋等结构。进一步用 PredictProtein 软件对 *Boule* 的二级结构进行分析。

1.2.12 *Boule* 蛋白的功能域预测和分析

分析蛋白质的组成及其中所包含的功能域是了解蛋白质功能的重要一步。蛋白质中的功能域是参加蛋白质之间相互作用的结构和功能单位。利用 Pfam 数据库(<http://pfam.janelia.org/search/>) 检测蛋白功能域的组成,主要对其进化过程中的高度保守的特异性区域进行分析。

2 结果分析

2.1 *Boule* 基因的 mRNA 序列和蛋白序列分析

从 NCBI 网站相应的数据库中得到 10 种动物的全长 *Boule* 蛋白序列和 mRNA 序列(见表 1)。不同动物 *Boule* 基因的蛋白质大小不同,位于常染色体上。曼氏裂体吸虫的 *Boule* 蛋白最大,为 509 aa;虹鳟鱼最小,为 194 aa;小鼠的 *Boule* 蛋白是 297 aa;人、松鼠猴、倭黑猩猩的 *Boule* 蛋白质大小相等,均为 283 aa;牛的 *Boule* 蛋白大小是 295 aa;黑腹果蝇的 *Boule* 蛋白大小为 228 aa;野猪则为 293 aa。

表 1 10 种不同动物 *Boule* 基因查询信息Table 1 Information of *Boule* genes in 10 different animals

物种	mRNA 序列号	染色体位置	蛋白质序列号	蛋白质大小(aa)
人 Homo	AF272858	Chromosome = "2"	AAK58689	283
曼氏裂体吸虫 sch	XM_002575473.1		XP_002575519.1	509
虹鳟鱼 Onc	HQ696915		ADW41783	194
拟南芥 Ara	NM_111126.3	Chromosome = "3"	NP_186907	281
黑腹果蝇 Dro	NM_079265	Chromosome = "3"	NP_523989	228
小鼠 Mus	AF272859	Chromosome = "1"	AAK69026	297
牛 Bos	NM_001102115	Chromosome = "2"	NP_001095585	295
斑胸草雀 tae	XM_004175306.1	Chromosome = "7"	XP_004175354.1	276
松鼠猴 Sai	AJ717408	Chromosome = "2B"	CAG30559	283
倭黑猩猩 Pan	AJ717405	Chromosome = "2B"	CAG30556	283

2.2 *Boule* 蛋白质序列比对分析

对 10 种动物的 *Boule* 蛋白氨基酸序列做比对分析(见表 2)。哺乳动物类人、鼠、牛、松鼠猴、倭黑猩猩之间的 *Boule* 蛋白序列的相似度很高,在 90%~99% 之间。其中人与倭黑猩猩的 *Boule* 蛋白相似度很高,高达 99%。哺乳动物与其它类动物 *Boule* 蛋

白序列的相识度比较低,在 31%~52% 之间,其中哺乳动物与黑腹果蝇的 *Boule* 蛋白序列相似度为 31%~37% 之间。曼氏裂体吸虫与拟南芥 *Boule* 蛋白序列相似度最低仅为 1%,表明了 *Boule* 基因在进化中其功能的高度保守性。

表 2 不同物种的 *Boule* 蛋白全长序列多序列比对的结果Table 2 Multiple sequence alignment of *Boule* protein in different animals

物种	拟南芥	斑胸草雀	人	虹鳟鱼	黑腹果蝇	小鼠	牛	松鼠猴	倭黑猩猩
曼氏裂体吸虫	1	29	36	35	32	34	30	36	32
拟南芥		5	4	2	10	2	0	4	4
斑胸草雀			66	38	31	66	67	66	65
人				52	37	90	94	96	99
虹鳟鱼					32	50	51	51	52
黑腹果蝇						35	37	37	39
小鼠							92	91	90
牛								93	93
松鼠猴									96

2.3 *Boule* 蛋白分子进化分析

由分子进化图(见图 2)中可以看出,*Boule* 蛋白在这 10 个物种中,主要分为两大类。拟南芥独自一类,其它 9 个物种为一大类;在哺乳动物中,很明显的又分为两类,小鼠、牛、松鼠猴为一类,人、黑猩猩为一类并且亲缘关系也最近。鸟类、鱼类与哺乳动物的亲缘关系也比较近。

2.4 *Boule* 蛋白的氨基酸的理化性质分析

Boule 蛋白分析表明:*Boule* 蛋白含有 283 个氨基酸,分子质量为 31 299.86 Daltons,含量最丰富的

氨基酸为 Pro、Ser、Val 等(见表 3)。

2.5 疏水性/亲水性的预测和分析

蛋白质能够折叠,主要因为其具有亲水性/疏水性的氨基酸。对其疏水性和亲水性进行分析可以更好地了解蛋白质。该蛋白的疏水区共有 9 处(图 3),分别为 33~36,38~40,123~128,167~169,171~173,205~207,232~234,237~238,265~267。亲水区共有 15 处,分别为 5~8,18~19,21~25,29~30,42~54,57~59,69~72,81~91,94~104,108~111,114~116,135~142,157~161,176~199,241~252。其中

第 168 位最高, 值为 1.733; 第 98 位最低, 值为 -2.622。P 氨基酸分值最高表明其疏水性最强, Y 氨

基酸分值最低表明其亲水性最强。纵观 *Boule* 蛋白, 氨基酸序列存在明显的亲水区和疏水区。

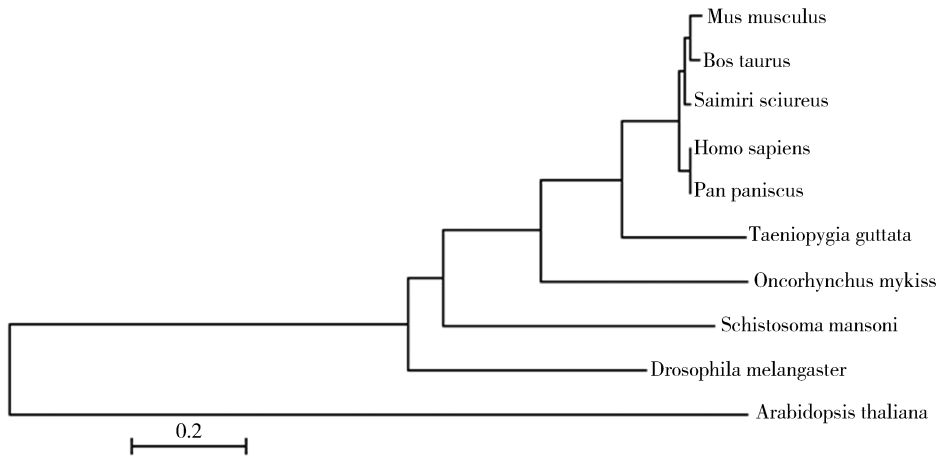


图 2 用邻接法 (NJ) 构建的 10 种动物 *Boule* 蛋白的系统进化树

Fig.2 Phylogenetic tree of *Boule* protein sequence from 10 different animals

表 3 *boule* 蛋白的氨基酸理化性质

Table 3 Physicochemical properties of *boule* protein

分子量 (kD)	等电点 (pI)	含量最丰富的氨基酸 (%)	带正电荷的氨基酸	带负电荷的氨基酸	不稳定系数	总平均疏水性
3.13014	6.59	Pro 12.7 Ser 9.5 Val 8.8 Gin 7.4 Thr 6.7 Tyr 6.7	20	19	61.62	-0.383

2.6 信号肽分析

在核糖体合成蛋白后, 往往需要到达细胞中特定的位置才能发挥其功能。而蛋白能否到达细胞中的特定位置, 则完全由信号肽进行引导。经 SignalP 4.0 预测 *Boule* 蛋白的信号肽序列, 结果见图 4。由图 4 可知, *Boule* 蛋白不存在信号肽, 属于非分泌型蛋白质。与 PredictProtein 数据库 (<http://www.predicprotein.org>) 分析的结果一样。

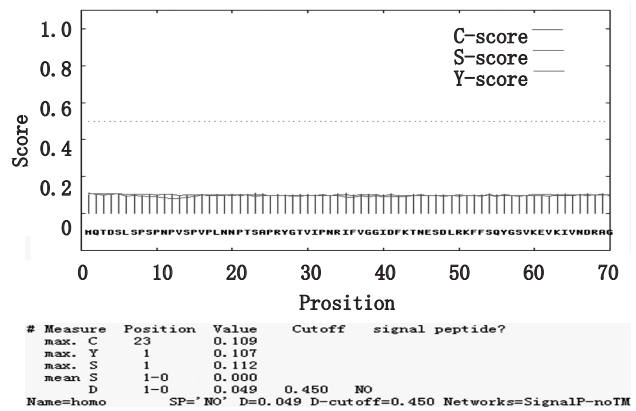


图 4 *Boule* 蛋白信号肽预测

Fig.4 Signal peptide prediction of the *Boule* protein

注: C 值: 原始剪切点的分值; S 值: 信号肽的分值; Y 值: 综合剪切点的分值
Note: C score: Primitive cleavage site score; S score: Signal peptide score; Y score: Synthetic cleavage site score

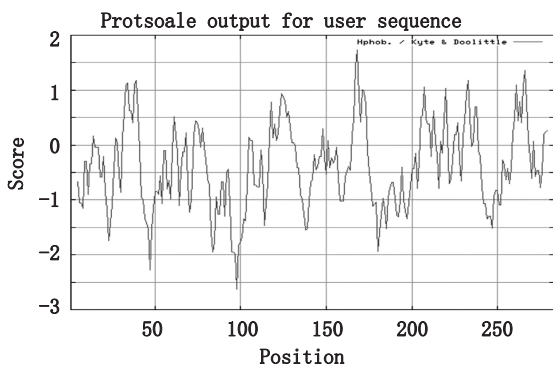


图 3 *Boule* 蛋白氨基酸序列的疏水性/亲水性预测

Fig.3 Hydrophobicity/philicity prediction of the *Boule* protein

2.7 跨膜结构的预测和分析

用在线工具 TMHMM-2.0 对 *Boule* 蛋白进行跨膜结构分析如图所示 (见图 5), 结果表明 *Boule* 蛋白跨膜的可能性为 0, 所以 *Boule* 蛋白不存在跨膜结构域, 属于非跨膜蛋白质类。

```
# gi_14279684_gb_AAK58689.1_Length: 283
# gi_14279684_gb_AAK58689.1_Number of predicted TMHs: 0
# gi_14279684_gb_AAK58689.1_Exp number of AAs in TMHs: 0.03404
# gi_14279684_gb_AAK58689.1_Exp number, first 60 AAs: 0.00048
# gi_14279684_gb_AAK58689.1_Total prob of N-in: 0.01230
# gi_14279684_gb_AAK58689.1_TMHHMM2.0_outside 1 283
```

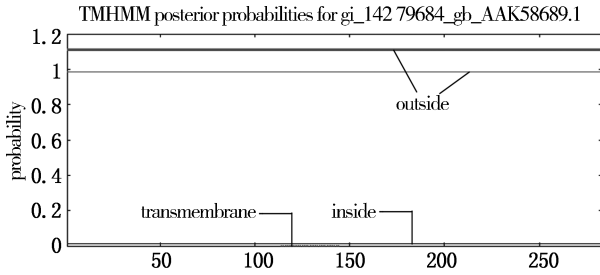


图 5 Boule 蛋白跨膜区域预测

Fig.5 Transmembrane domain prediction of the Boule protein

2.8 卷曲螺旋分析

卷曲螺旋存在于很多天然的蛋白质当中,由图 6 所示,在窗口为 14 和 21 的时候,在 75~100 处可能形成卷曲螺旋。

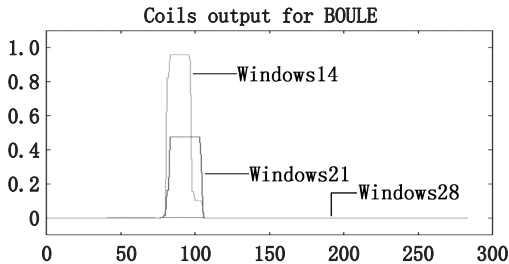


图 6 Boule 蛋白的卷曲螺旋预测

Fig.6 Coiled-coil prediction of the Boule protein

2.9 细胞定位分析

如图 7 所示,Boule 蛋白基本上排除了在分泌途径上的功能,与信号肽分析的结果一致。与日本的 PSORT II server 图 8 比较, Boule 蛋白在细胞质、细胞核和线粒体内表达。文献报道, Boule 蛋白在第一次减数分裂(前中期)的生殖细胞中表达,从细线期精母细胞(Leptotene spermatocytes)开始表达,到偶线期精母细胞(Zygotene spermatocytes)表达量增加,在粗线期精母细胞(Pachytene spermatocytes)表达量达到最高水平,到双线期(Diplotene)表达量显著下降,在圆形精子细胞(Round spermatids)、长形精子细胞(Elongating spermatids)等精子发生更高级阶段的细胞中 Boule 不表达,在胚胎早期、原始生殖细胞(Primordial germ cells)和精原细胞(Spermatogonial cells)中均未检测到 Boule 蛋白的表达^[9], Boule 蛋白在细胞质中特异表达在细胞核或接近减数分裂的染色体中未见表达。人类精子发生过程中,减数分裂 M 期的启动受减数分裂启动因子 MPF 控制,而 MPF 是一个由细胞周期蛋白 B 和 Cdc2(Cell division cycle 2)组成的复合物,这个复合

物对减数分裂的恢复是必需的,其活性受可逆磷酸化的调控,Wee1 和 Myt1 激酶使 MPF 磷酸化可致其失活,而 Cdc25 磷酸酶可以使 MPF 活化,诱导 G2/M 转换的完成。

```
### targetp v1.1 prediction results #####
Number of query sequences: 1
Cleavage site predictions not included.
Using NON-PLANT networks.
```

Name	Len	mTP	SP	other	Loc	RC
gi_14279684_gb_AAK58	283	0.185	0.047	0.836	-	2
cutoff		0.000	0.000	0.000		

图 7 Boule 蛋白的亚细胞定位

Fig.7 Subcellular localization prediction of Boule protein

Results of the *k*-NN Prediction

$k = 9/23$

```
34.8 %: cytoplasmic
34.8 %: nuclear
21.7 %: mitochondrial
4.3 %: cytoskeletal
4.3 %: peroxisomal
```

>> prediction for QUERY is cyt (k=23)

图 8 Boule 蛋白的细胞定位

Fig.8 Cellular localization prediction of Boule protein

2.10 与 Boule 蛋白相互作用蛋白分析

每一种蛋白质并不是孤立地存在于细胞中,而是与其他蛋白质相互作用形成复合体或功能模块,从而在细胞中进行各种不同的生理活动(见图 9)。在果蝇中,PUM2 蛋白与 Boule 蛋白相互作用^[10]。Boule 激活并调控 CDC25A 的表达并且促进 CDC25AmRNA 的翻译,CDC25A 蛋白进一步促使 MPF 中的 Cdc2 磷酸化,激活促成成熟因子(Maturation-promoting factor,MPF),活化的 MPF 启动减数分裂过程 G2PM 的转换,完成减数分裂过程。Boule 蛋白的缺失或突变可能导致雄性不育。

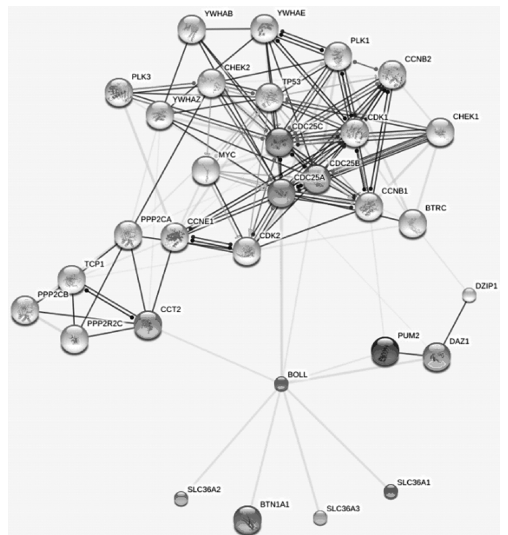


图 9 Boule 蛋白相互作用的蛋白分析

Fig.9 Analysis of protein interaction with Boule

2.11 *Boule* 蛋白的二级结构预测

该蛋白由 9.19% α -螺旋 (Alpha helix)、22.26% 延伸链 (Extended strand) 和 68.55% 无规则卷曲 (Random coil) 所组成。进一步用 PredictProtein 软件

对 *Boule* 的二级结构进行分析, 螺旋 = 7.4%, 股 = 8.8%, 环 = 83.7%, 非正规二级结构区: 92-283 (见图 10)。

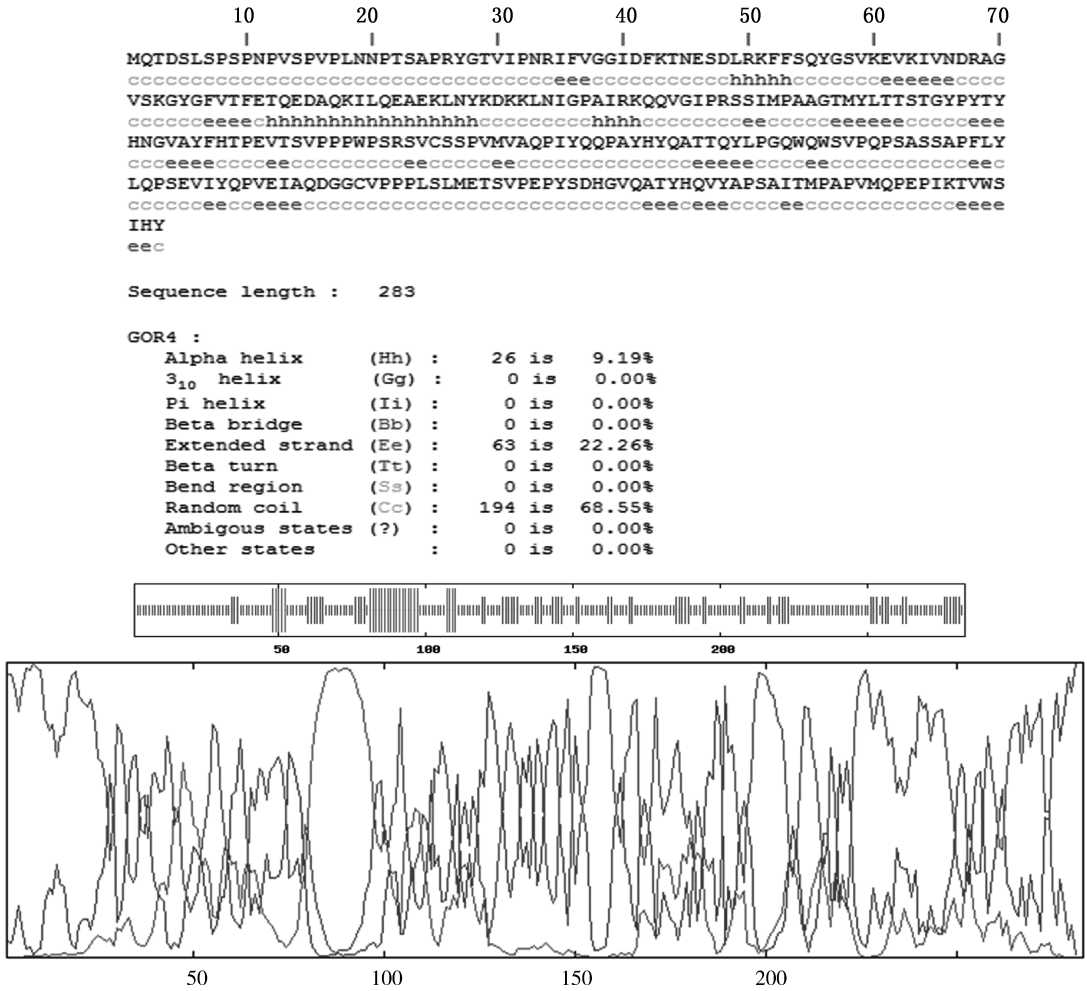


图 10 *Boule* 蛋白的二级结构预测
Fig.10 Secondary structure prediction of the *Boule* protein

2.12 *Boule* 蛋白的功能域预测和分析

在 35 位点开始, 106 位点结束, 存在 RRM (RNA recognition motif) 保守域 (见图 11), 说明 *Boule* 基因

在哺乳动物中具有 RRM 基序、编码 RNA 结合蛋白的特性^[11]。

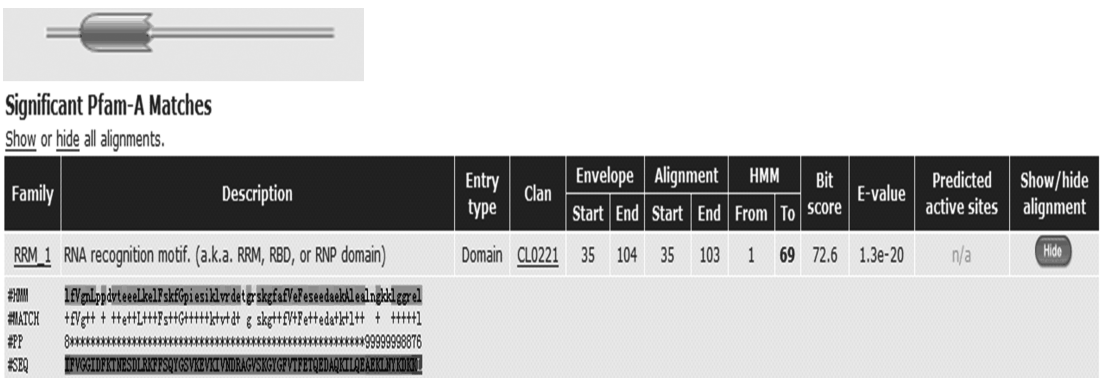


图 11 *Boule* 蛋白结构域预测

Fig.11 Predicted the structure domain of *Boule* protein

RRM 是 RNA 结合蛋白中广泛存在的一种保守结构,它存在很多不同的 RNA 结合蛋白中,如异质性核糖蛋白 (Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs)),在 RRM 基序中含有许多保守的氨基酸以保证对 RNA 的结合活性,但是这一家族的不同蛋白质却能特异地结合各种不同的 RNA 分子。

另外,运行 blastp 程序服务器对 *Boule* 蛋白进行搜索,得到图 12。从图中看到,*Boule* 蛋白属于 RRM (RNA recognition motif) 超家族,具有与 COG0724, PABP-1234, PLN03134, SF-CC1, U2AF_1g, ELAV_HUD_SF, half_pint, hnRNP-R-Q 相似的保守域。

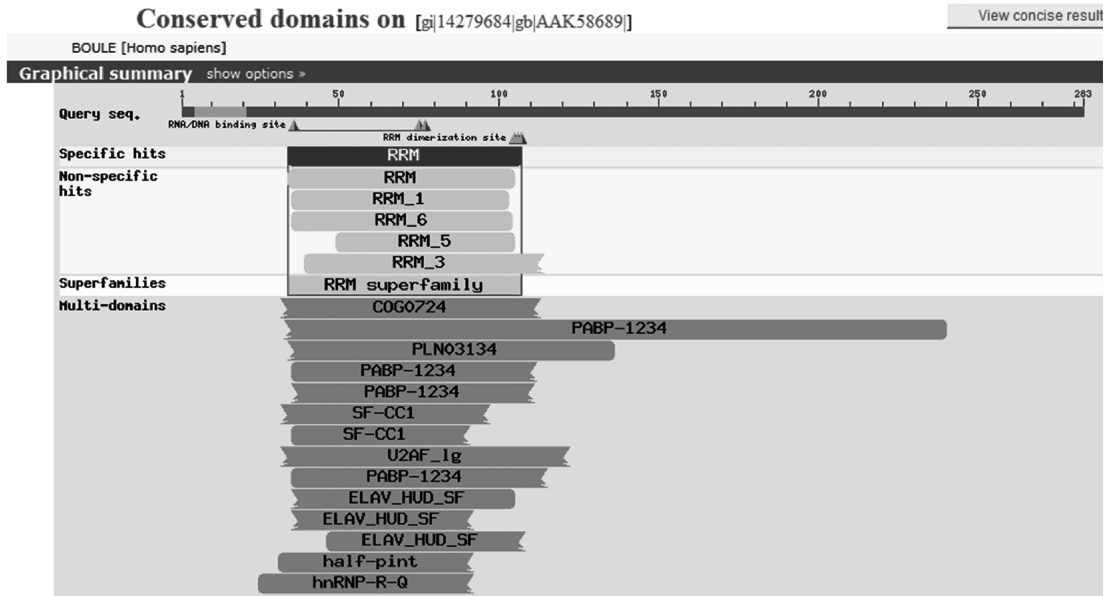


图 12 *Boule* 蛋白结构域预测

Fig.12 Predicted domain site of *Boule* protein

3 讨论

Boule 是果蝇、哺乳动物不育和雄性生殖细胞在阻滞在减数分裂时期的一个高度保守的关键调控因子。在与精子发生障碍相关的不育病人当中,*Boule* 蛋白的表达显著的下降。*Boule* 是 *DAZ* 家族的一个成员,存在于灵长动物、哺乳动物和后生动物中。在果蝇中,研究表明,*Boule* 表达在第一次减数分裂时期,调节 *Twine* (phosphatase of *Cdc25*) 的表达并开始促进成熟细胞因子 (initiate MPF), 比如 *Cdc2/cyclin B* 复合物,这些都是 G2-M 转换和第一次减数分裂时期的关键因子。所以在果蝇中,*Boule* 调节 *Twine* 来控制减数分裂。调节生殖细胞的通路似乎很大程度上是保守的。本文对 *Boule* 基因及其编码蛋白信号肽、二级结构、亲疏水性、结构域及同其它物种的蛋白相似度同源比对等进行了生物信息学分析。结果表明,该蛋白无信号肽,无跨膜结构是亲水性蛋白,在 75~100 处可能形成卷曲螺旋。二级结构以 α -螺旋为主。具有 RRM 功能域。*Boule* 蛋白的同源性分析证明了 *Boule* 功能在动物中是高度保守的^[12]。大量的实验已经表明 *Boule* 在精子形成减数

分裂时期具有重要的调节作用。Xu 等人发现 *Boule* 仅仅在精子发生时是必需的,但是在雌性的 *Boule* 基因缺失或者突变的时候仍可以正常生育。

参考文献 (References)

- [1] Michael A. Crackower, Nadine K. Kolas, Junko Noguchi, Renu Sarao, Kazuhiro Kikuchi, Hiroyuki Kaneko, Eiji Kobayashi, Yasuhiro Kawai, Ivona Kozieradzki, Rushin Landers, Rong Mo, Chi-Chung Hui, Edward Nieves, Paula E. Cohen, Lucy R. Osborne, Teiji Wada, Tetsuo Kunieda, Peter B. Moens, Josef M. Penninger. Essential role of Fkbp6 in male fertility and homologous chromosome pairing in meiosis [J]. *Science*, 2003, 300 (5623) : 1291-1295.
- [2] Renee Reijo, Tien-Yi Lee, Pia salo, Raaji Alagappan, Laura G. Brown, Michael Rosenberg, Steve Rozen, Tom Jafe, Donald Straus, Outi Hovatta, Albert de la Chapelle, SherMan Silber, David C. page. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Ychromosome deletions encompassing a novel RNA2 binding protein gene [J]. *Human Reproduction*, 1996, 11(4) : 27-54.
- [3] Eugene Yujun Xu, Frederick L. Moore, Renee A. Reijo Pera. A gene family required for human germ cell development evolved from an ancient meiotic gene conserved in metazoans [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98 (13) : 7414-7419.
- [4] Yung Ming Lin, Yen Ni Teng, Chia Ling Chung, Wan Ching Tsai, Ying Hung Lin, Johnny Shinn Nan Lin, Pao Lin Kuo. Chung C L, et al. Decreased mRNA transcripts of M2phase promoting factor

- and its regulators in the testes of infertile men [J]. *Human Reproduction*, 2006, 21(1):138-144.
- [5] Eugene Yujun Xu, Douglas F. Lee, Ansgar Klebes, Paul J. Turek, Tom B. Kornberg, Renee A.Reijo Pera. Human boule gene rescues meiotic defects in infertile flies. *Human Molecular Genetics*., 2003, 12(2), 169-175.
- [6] Debra J. Wohlgemuth, Erika Laurion, Karen M. Lele. Regulation of the mitotic and meiotic cell cycles in the male germ line [J]. *Recent Progress in Hormone Research*, 2002, 57(1): 75-101.
- [7] Mei Shya Chen, Jonathan Hurov, Lynn S. White. Absence of apparent phenotype in mice lacking Cdc25C protein phosphatase [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2001, 21(12): 3853-3861.
- [8] Michael J.W. VanGompel, Eugene Yujun Xu, A novel requirement in mammalian spermatid differentiation for the DAZ-family protein Boule, *Human Molecular Genetics*[J], 2010, Vol. 19, No. 12 2360-2369.
- [9] Nicola Reynolds, Howard J Cooke. Role of the DAZ genes in male fertility [J]. *Reproductive Biomedicine Online*, 2005, 10(1):72-80.
- [10] Kiran Padmanabhan, Joel Richter. Regulated Pumilio-2 binding controls RINGO/Spy mRNA translation and CPEB activation [J]. *Genes & development*. 2006; 20(2):199-209.
- [11] Douglas W. Houston, Jian Zhang, Jean Z. Maines, Steven A. Wasserman SA, Mary Lou King. *Xenopus* DAZ-like gene encodes an RNA component of germ plasm and is a functional homologue of *Drosophila* Boule. *Development*, 1998 125(2):171-180.
- [12] Gerald J. Wyckoff, Wen Wang, Chung-I Wu, Rapid evolution of male reproductive genes in the descent of man [J]. *Nature*, 2000, 403(6767), 304-309.