

刘小英, 王昕昕, 赵晗, 等. 猪体外胚胎第一次卵裂前后 3'UTR 组的动态变化 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (6): 13-19.

LIU X Y, WANG X X, ZHAO H, et al. Dynamic change of 3'UTRome of porcine *in vitro* embryos during the first cleavage [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (6): 13-19.

猪体外胚胎第一次卵裂前后 3'UTR 组的动态变化

刘小英, 王昕昕, 赵晗, 杜志强, 杨彩侠*

(长江大学动物科学技术学院, 湖北 荆州 434025)

摘要: 旨在分析猪体外受精 (IVF) 和孤雌激活 (PA) 胚胎第一次卵裂前后 mRNA 的 3'UTR 组动态变化, 为进一步试验揭示 3'UTR 转录后调控母源 mRNAs 的降解分子机制提供参考。利用课题组获得的猪 IVF 和 PA 来源的 1-细胞与 2-细胞期胚胎的单细胞 RNA-seq (scRNA-seq) 数据集, 使用 DaPars 软件分析鉴定 3'UTRs 有差异的 mRNAs 并对其参与的信号通路进行富集, 筛选差异较大的 mRNAs, 对其 3'UTRs 进行整合基因组浏览器 (IGV) 可视化分析, 进一步筛选 3'UTRs 平均长度在卵裂前后有显著差异的 mRNAs, 对其 3'UTRs 中存在的胞质多聚腺苷酸化元件 (CPE)、多聚腺苷酸化信号 (PAS)、microRNA 结合位点和 m⁶A 位点等顺式功能元件进行预测。结果: 猪 IVF 和 PA 胚胎第一次卵裂前后分别有 207 和 117 个 mRNAs 的 3'UTRs 显著差异 ($P < 0.05$), 这些 mRNAs 分别参与不同的基因本体分析 (GO) 和京都基因与基因组百科全书分析 (KEGG) 通路; 进一步分析表明, 猪 IVF 胚胎第一次卵裂前后的核转运蛋白 $\alpha 3$ (KPNA3), 猪 PA 胚胎第一次卵裂前后的高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)、酪蛋白激酶 1 $\gamma 3$ 亚型 (CSNK1G3) 和 Ras 结合结构域家族成员 3 (RASSF3) 的 3'UTRs 的平均长度差异大于 90 nt; 这 4 个 mRNAs 3'UTRs 中包含的 CPE 和 PAS, KPNA3 和 CSNK1G3 3'UTRs 中包含的 microRNA 结合位点, 以及 CSNK1G3 3'UTRs 中包含的 m⁶A 位点的位置、个数和种类存在差异。综上, 猪 IVF 和 PA 胚胎第一次卵裂前后众多 mRNAs 的 3'UTRs 发生了显著的变化, 猪 IVF 胚胎组的 KPNA3, PA 胚胎组的 HMGB1、CSNK1G3 和 RASSF3 3'UTRs 的平均长度在第一次卵裂前后差异较大, 这些 mRNAs 的丰度可能受到 3'UTRs 中包含的功能元件差异的调控。

关键词: 猪; 体外受精胚胎; 孤雌激活胚胎; DaPars; 3'UTR 组

中图分类号: S858 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)06-0013-07

Dynamic change of 3'UTRome of porcine *in vitro* embryos during the first cleavage

LIU Xiaoying, WANG Xinxin, ZHAO Han, DU Zhiqiang, YANG Caixia*

(College of Animal Science and Technology, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: The study aims to analyze the dynamic changes of mRNA 3'UTRome during the first cleavage of porcine embryos derived from *in vitro* fertilization (IVF) or parthenogenetical activation (PA), providing useful reference for experimentally revealing the molecular mechanism of maternal mRNAs decay via 3'UTR at post-transcriptional level. Single-cell RNA-seq (scRNA-seq) data sets of porcine IVF and PA embryos at 1- and 2-cell stages were obtained from our previously published paper. DaPars software was used to identify the mRNAs with 3'UTR difference, and the signal pathways were enriched from these identified mRNAs. The mRNA 3'UTRs with great differences were selected to respectively visualize the length of 3'UTR region. The cis-functional elements cytoplasmic poly (A) element (CPE), poly (A) signal (PAS), microRNA binding sites and m⁶A sites contained in 3'UTRs with significant length difference were predicted using different softwares. The results showed that 207 mRNAs in the porcine IVF embryos and 117 mRNAs in the porcine PA embryos were identified with significantly different 3'UTRs ($P < 0.05$) during the first cleavage. These mRNAs were involved in different GO and KEGG pathways, respectively. Further analysis showed the difference of mean 3'UTR length of KPNA3 in the IVF group and HMGB1, CSNK1G3 and RASSF3 in the PA group to be greater than 90 nt. There were differences in the location, number or types of CPE and PAS contained within 3'UTRs of these 4 mRNAs. Of the microRNA binding sites contained within 3'UTRs of KPNA3 and CSNK1G3, and m⁶A sites were contained within 3'UTRs of CSNK1G3. These results indicated that the dynamic changes of 3'UTRs existed in many mRNAs of porcine IVF and PA embryos during the first cleavage. 3'UTRs of KPNA3 in the IVF group and HMGB1, CSNK1G3 and RASSF3 in the PA group were of great length difference. The abundance of these mRNAs were possibly regulated by the different functional elements contained within their 3'UTRs.

Keywords: pig; IVF embryo; PA embryo; DaPars; 3'UTRome

收稿日期: 2024-06-10; 修回日期: 2025-04-24

第一作者: 刘小英, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 杨彩侠, 教授, 博士, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖, E-mail: caixiayang@yangtzeu.edu.cn.

mRNA 的 3' 端非翻译区 (3 untranslated regions) 简称为 3'UTRs, 其包含 microRNA、lncRNA、RNA 结合蛋白 (RBP) 等多种顺式调控元件, 调控 mRNA 的稳定、运输、胞质定位和翻译, 影响个体的生长发育^[1]。猪成熟卵母细胞在体外与精子结合生成体外受精胚胎, 其两倍体遗传物质一半来源于父本一半来源于母本。猪成熟卵母细胞在体外给予物理和/或化学刺激模拟受精信号促使其转变为孤雌激活胚胎, 其两倍体遗传物质完全来源于母本。尽管体外受精和孤雌激活技术都可以产生猪体外胚胎, 然而这两类胚胎在遗传和分子特性上可能存在差异。本课题组前期单细胞 RNA 测序 (scRNA-seq) 结果表明, 猪次级合子基因组激活 (ZGA) 发生于 1-细胞阶段^[2]。3'UTRs 长度及其包含的功能元件在猪卵母细胞受精或孤雌激活前后的 1-细胞类型的转换过程中存在动态变化^[3]。猪体外受精或孤雌激活来源的 2-细胞胚胎卵裂球之间存在 mRNA 异质性, 具有独特的分子特征^[4]。然而, 猪体外受精或孤雌激活来源的 1-细胞胚胎经过第一次有丝分裂发育到 2-细胞的生物学过程中 mRNAs 的 3'UTR 组是否存在动态变化尚不知晓。

选择多聚腺苷化 (APA) 是前体 RNA 的一种加工机制, 可以选择性地添加多聚腺苷酸, 从而调节 3'UTRs 的长度。基于 RNA-seq 的可变剪接末端多聚腺苷酸化动态分析 (DaPars) 是一种生物信息学软件, 通过比较标准 RNA-seq 数据直接推断动态 APA 位点从而分析差异 3'UTRs^[5]。猪是重要的农业动物, 也是人类疾病研究的生物医学模型, 其卵母细胞体外成熟、体外受精和孤雌激活等生殖技术已建立并广泛应用^[6]。研究猪体外来源的胚胎早期发育过程中 mRNAs 的 3'UTR 组变化对于揭示胚胎发育的分子调控具有重要的参考意义。

本文利用课题组前期存储在公共数据库中猪体外受精和孤雌激活的 1-细胞与 2-细胞的 scRNA-seq 数据集, 使用 DaPars 鉴定动态 APA, 解析第一次卵裂前后 3'UTRs 长度及其包含的多聚腺苷酸化信号 (PAS)、胞质多聚腺苷酸化元件 (CPE)、microRNA 结合位点和 m⁶A 位点功能序列的差异, 为进一步研究猪体外胚胎早期发育调控的分子机制提供切入点。

1 材料与方法

1.1 原始数据质控

从 NCBI GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中下载本课题组已发表文章产生的 scRNA-seq

原始数据 (GSE164812)^[2], 共有体外受精胚胎细胞 (IVE) 组和孤雌激活胚胎细胞 (PA) 组这 2 组数据, 其中 IVF 组有 3 个体外受精 1-细胞胚胎的样本为 IVF1 组, 有 6 个体外受精 2-细胞胚胎的样本为 IVF2 组, PA 组有 3 个孤雌激活 1-细胞胚胎的样本为 PA1 组, 有 6 个孤雌激活 2-细胞胚胎的样本为 PA2 组。用 FastQC 软件对这 18 个样本的原始测序序列的质量、鸟嘌呤-胞嘧啶 (GC) 含量、平均鸟嘌呤-胞嘧啶 (GC) 含量分布、位置 N 的比率、序列的长度分布、重复序列的数量以及 Kmer 含量等进行评估。运用 Fastp (V0.23.2) 过滤长度较短、质量较低和未知 N 较多的序列, 获得质量高的序列 (clean reads)。运用 Hista2 (V2.2.1) 将 clean reads 与猪参考基因组 (Sscrofa11.1) 进行比对, 获得 Sam 文件。使用 Samtools (V1.15.1) 对 Sam 文件进行压缩和排序, 获得 Bam 文件 (二进制压缩文件)。

1.2 DaPars 分析

从 UCSC (<http://www.genome.ucsc.edu/>) 中下载基因模型 (gene.Bed)、转录本 (symbol.map.Txt) 和染色体大小文件 (susScr11.chrom.sizes.txt) 用于数据分析。PDUI (Percentage of Distal poly (A) site Usage Index) 由长 3'UTR 表达量除以长和短 3'UTR 表达量之和计算所得位点。从 DaPars 分析结果中筛选校正 P 值 ($P < 0.05$) 的 3'UTRs 显著差异的 mRNAs。通过 DAVID 数据库 (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 对 3'UTRs 显著差异 mRNAs 进行基因本体分析 (GO) 和京都基因与基因组百科全书分析 (KEGG), 当 $P < 0.05$ 时, 该通路为显著富集通路。

1.3 整合基因组浏览器 (IGV) 分析

利用 IGV 可视化分析选择的差异非常显著的 3'UTRs, 计算 3'UTR 的平均长度。在 IGV 中导入猪的参考基因组文件 (fasta 格式) 和排序后的 bam 文件, 展示和比较序列变化。参考基因组 (Sus_scrofa.Sscrofa11.1.dna.toplevel.fa) 和注释文件 (Sus_scrofa.Sscrofa11.1.110.gtf) 从 ENSEMBL 数据库下载。

1.4 功能元件预测

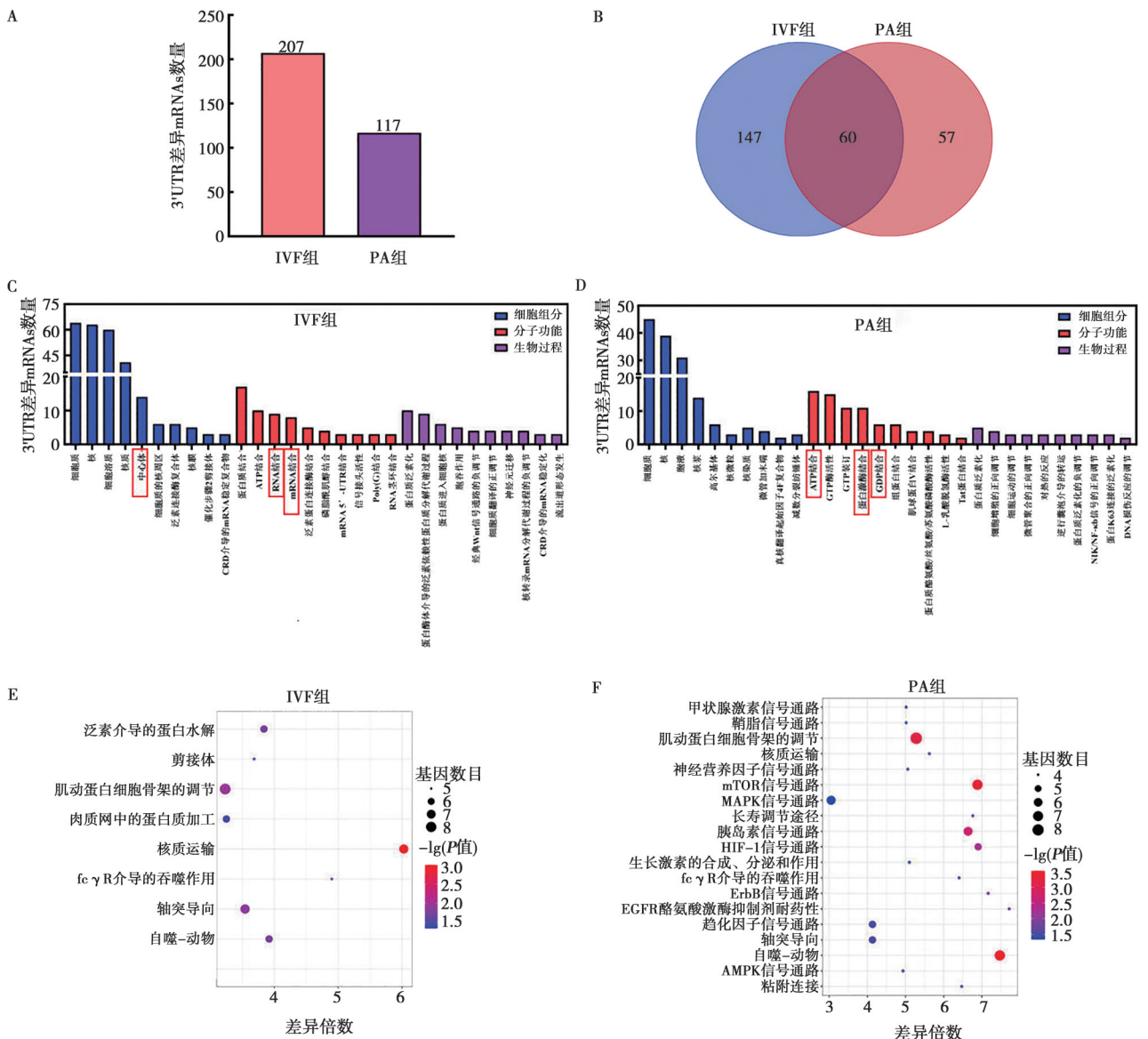
利用在线程序 (<http://genome.crg.es/CPE/server.html>) 预测长度显著差异的 3'UTRs 中 PAS 和 CPE 元件个数、序列和位置。分别使用 Miranda (<http://www.microrna.org/microrna/home.do>) 与 TargetScan (v7.0) 预测长度显著差异 3'UTRs 中的 microRNA 结合位点, 保留 2 种方法预测结果重叠的 microRNA 结合位点。使用 SRAMP (<http://www.Cuilab.cn/sramp>) 预测长度显著差异 3'UTRs 中的潜在 m⁶A 位点。

2 结果

2.1 DaPars 鉴定 3'UTRs 显著差异的 mRNAs

DaPars 鉴定猪 IVF 组中 207 个 mRNAs 的 3'UTRs 存在显著差异 ($P < 0.05$), 而 PA 胚胎第一次卵裂前后有 117 个 mRNAs 存在 3'UTRs 显著差异 (图 1A)。IVF 和 PA 组之间共有的 3'UTRs 显著差异的 mRNA 有 60 个, IVF 组特有 147 个 3'UTRs 显著差异的 mRNA, PA 组特有 57 个 3'UTRs 显著差异的 mRNA (图 1B)。IVF 组的 207 个 3'UTRs 显著差异的 mRNA 显著富集的 GO 通路包括到中心体、鸟苷酸三磷酸水解酶 (GTP 酶) 活性、mRNA 结合、泛素蛋白连接酶结合、mRNA 5'UTR 结合、poly (A) 结合等 (图 1C); 显著富集的 KEGG 通路包括泛素介导的蛋白水

解、拼接体、肌动蛋白细胞骨架、核质运输、内质网中蛋白质加工等信号通路 (图 1E)。PA 组的 117 个 3'UTRs 显著差异的 mRNA 显著富集的 GO 通路包括中心体、胞质微管、腺苷三磷酸/腺苷三磷酸 (ATP/GTP) 结合、丝苏蛋白酶活性等 (图 1D); 显著富集的 KEGG 通路包括雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、缺氧诱导因子-1 (HIF-1) 信号通路和腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 信号通路等 (图 1F)。这些结果表明, 猪体外来源的 IVF 和 PA 胚胎在第一次卵裂发育到 2-细胞过程中多个 mRNAs 的 3'UTRs 存在动态的变化, 这些 mRNAs 参与多个不同的 GO 和 KEGG 信号通路。



A. 3'UTR 显著差异的 mRNAs 数量; B. IVF 和 PA 组 3'UTR 显著差异 mRNA 的共有和特有数量; C、E. IVF 组 3'UTR 显著差异 mRNA 显著富集的 GO 和 KEGG 信号通路; D、F. PA 组 3'UTR 显著差异 mRNA 显著富集的 GO 和 KEGG 信号通路。

图 1 DaPars 鉴定猪体外胚胎卵裂前后 3'UTR 显著差异的 mRNAs

2.2 筛选 3'UTR 差异更大的 mRNAs

设定阈值条件为 $P < 0.05$ 且 $|\Delta PDUI| = |PDUI_{IVF2/PA2} - PDUI_{IVF1/PA1}| \geq 0.30$ 和 $|\log_2(PDUI_{IVF2/PA2}/PDUI_{IVF1/PA1})| \geq 0.59$, 进一步从鉴定的 3'UTR 有显著差异的 mRNAs 中筛选出 3'UTR 有更大差异的 3 个 IVF 组的核转运蛋白 $\alpha 3$ (KPNA3)、类死亡因子 4 样蛋白 2 (MORF4L2) 和丝氨酸/精氨酸富集剪接因子 1 (SRSF1) 和 7 个 PA 组的有丝分裂期复合体 7 (ANAPC7)、酪蛋白激酶 1 $\gamma 3$ 亚型 (CSNK1G3)、延长脂肪酸合成酶 4 (ELOVL4)、高迁移率族蛋白 B1

(HMGB1)、RAS 关联结构域家族成员 3 (RASSF3)、RUNX1 转录因子转录共激活因子 1 (RUNX1T1) 和丝氨酸/精氨酸富集剪接因子 1 (SRSF1) mRNAs。这些 mRNAs 的 3'UTR 位置、PDUI 值及 PDUI 组间差异情况 (表 1) 显示 IVF 组 KPNA3、MORF4L2 和 SRSF1 从 1-细胞发育到 2-细胞其 mRNA 的 3'UTR 呈现动态缩短, 而 PA 组的 CSNK1G3、ELOVL4、HMGB1、RUNX1T1 和 SRSF1 的 mRNA 3'UTR 从 1-细胞发育到 2-细胞呈现动态缩短, ANAPC7 和 RASSF3 的 mRNA 3'UTR 呈现动态延长。

表 1 3'UTR 差异更大 mRNAs 的信息

组别	基因	3'UTR 位置	2-细胞 PDUI	1-细胞 PDUI	组间 PDUI 差值	矫正 P 值
IVF	KPNA3	chr11: 18 033 395~18 033 807	0.32	1.00	-0.68	1.01×10^{-57}
	MORF4L2	chrX: 84 553 771~84 555 328	0.31	0.63	-0.32	6.18×10^{-9}
	SRSF1	chr12: 34 278 364~34 278 693	0.49	0.87	-0.38	2.06×10^{-18}
PA	ANAPC7	chr14: 31 763 584~31 763 880	0.76	0.37	0.39	1.97×10^{-4}
	CSNK1G3	chr2: 127 127 121~127 129 547	0.48	0.85	-0.38	7.77×10^{-188}
	ELOVL4	chr1: 86 194 990~86 195 284	0.53	0.92	-0.40	1.35×10^{-35}
	HMGB1	chr11: 7 195 530~7 195 976	0.16	0.50	-0.34	1.14×10^{-66}
	RASSF3	chr5: 29 113 541~29 113 893	0.51	0.16	0.35	2.45×10^{-34}
	RUNX1T1	chr4: 44 742 266~44 742 589	0.35	0.69	-0.34	2.38×10^{-10}
	SRSF1	chr12: 34 278 364~34 278 693	0.53	0.83	-0.30	2.42×10^{-12}

2.3 IGV 分析筛选 mRNAs 的 3'UTRs

对筛选出来的 mRNAs 的 3'UTRs 进行 IGV 分析, 其中 IVF 组的 KPNA3, PA 组的 HMGB1、CSNK1G3 和 RASSF3 在第一次卵裂前后显示出较大的平均 3'

UTR 长度差异 (>90 nt) (图 2, 表 2)。因此, 这些 mRNAs 的不同长度的 3'UTR 可能包含不同的 microRNA 和/或其他的顺式作用元件, 从而影响 mRNA 的稳定性、定位和翻译。

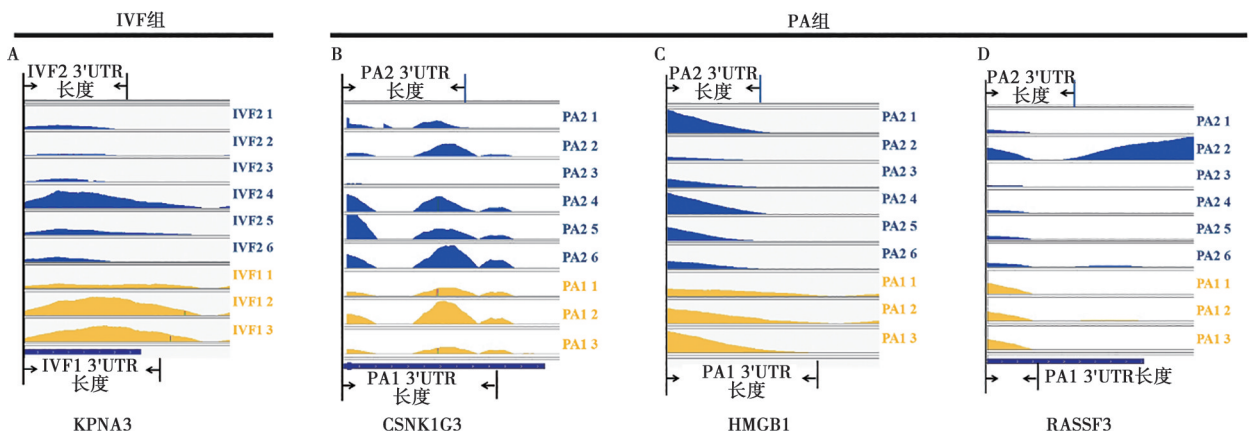


图 2 IGV 鉴定不同基因 mRNAs 的 3'UTR 长度差异

表 2 IGV 鉴定 3'UTR 长度显著差异的 mRNAs

组别	基因	位置	2-细胞 3'UTR		1-细胞 3'UTR		组间 3'UTR 平均长度差异
			位置	平均长度	位置	平均长度	
IVF	KPNA3	chr11: 18 033 395~18 033 807	18 033 395~18 033 714	319	18 033 395~18 033 807	412	-93
	CSNK1G3	chr2: 127 127 121~127 129 547	127 127 121~127 128 717	1 596	127 127 121~127 129 149	2 028	-432
PA	HMGB1	chr11: 7 195 530~7 195 976	7 195 833~7 195 976	143	7 195 530~7 195 976	446	-303
	RASSF3	chr5: 29 113 541~29 113 893	29 113 541~29 113 758	217	29 113 541~29 113 645	104	113

2.4 3'UTR 中功能元件预测

IVF 组 KPNA3 基因的 3'UTR 中 CPE (UUUUAU 或 UUUUAAU) 和 PAS (AUUAAA 或 AAUAAA) 元件的数量和位置鉴定表明 IVF1 中的 3 个样本均包含 1 个 CPE 和 1 个 PAS 元件, 而 IVF2 的 6 个样本中有 2 个样本缺乏 CPE 和 PAS 元件, 4 个样本缺乏 PAS 元件。在 PA 组中, HMGB1 基因的 3'UTR 在 PA1 的 3 个样本均包含 1 个 PAS 元件, 而 PA2 的 6 个样本中只有 1 个样本具有 PAS 元件; CSNK1G3 基因的

3'UTR 中 PA1 的 3 个样本均包含 4 个 PAS 元件, 2 个样本包含 3 个 CPE, 1 个样本包含 2 个 CPE, 而 PA2 的 6 个样本中有 2 个样本包含 4 个 PAS 和 3 个 CPE 元件, 其他 4 个样本缺少不同个数的 CPE 和 PAS; RASSF3 基因的 3'UTR 中 PA1 的 3 个样本和 PA2 的 6 个样本中均包含 1 个 CPE 元件, 而 PA2 的 6 个样本中的 3 个样本还有另外 1 个 CPE 元件, PA2 中的 6 个样本中的 2 个样本还有另外 1 个 PAS 元件 (图 3)。

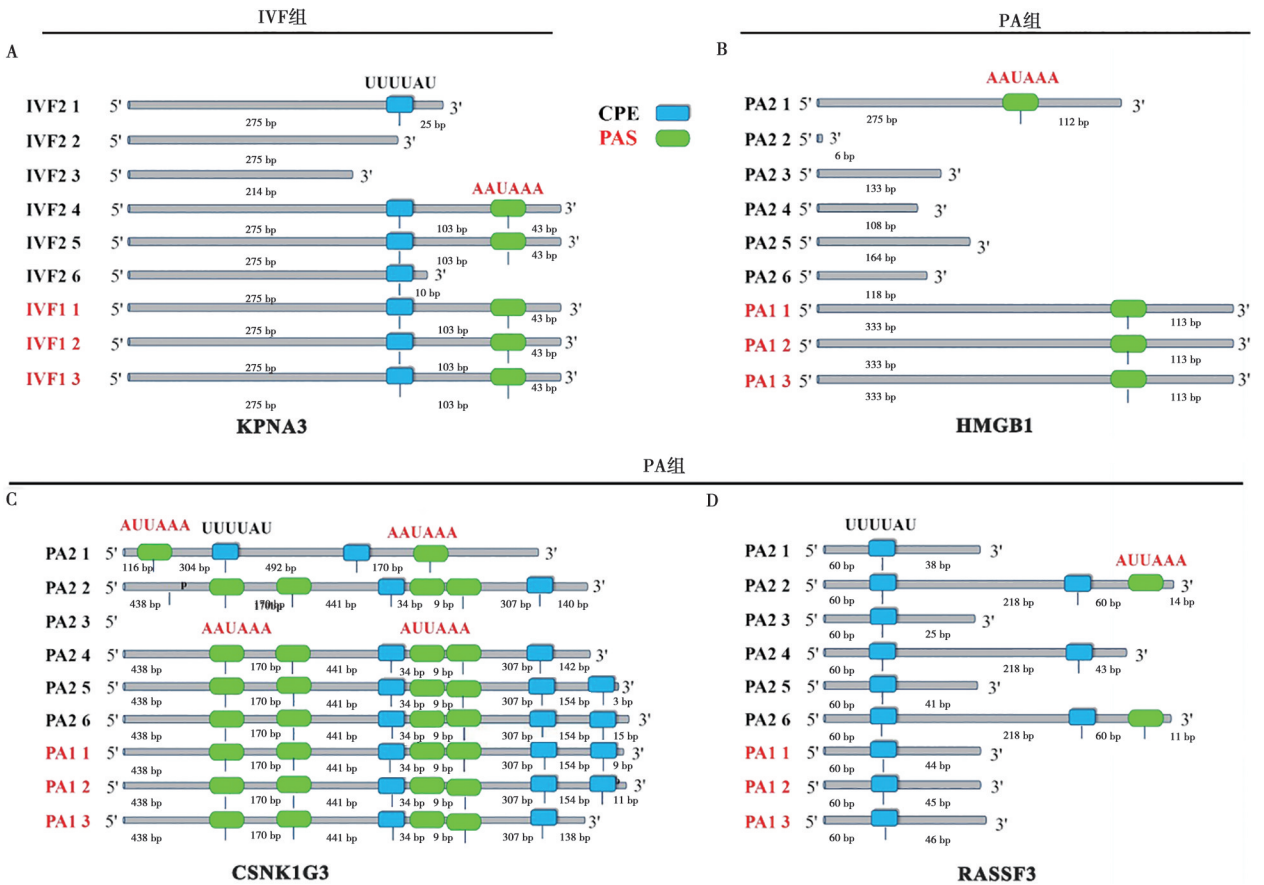


图 3 mRNA 3'UTRs 内的 PAS 和 CPE 元件预测

在真核生物的 3'UTR 区存在不同的 microRNA 结合位点, microRNA 通过结合这些位点来调节 mRNA 的稳定性和翻译。生物信息学预测结果显示, IVF 组 KPNA3 3'UTR 在 IVF1 的 3 个样本均包含 3 个不同的

microRNA 结合位点, 而 IVF2 的 6 个样本中有 1 个样本缺少 1 个 microRNA 结合位点 (图 4A)。PA 组 CSNK1G3 基因的 3'UTR 在 PA1 的 3 个样本和 PA2 的 6 个样本中的 4 个样本都有 22 个不同的 microRNA 结

合位点，而 PA2 中 6 个样本中的 1 个样本缺少 5 个 microRNA 结合位点，另 1 个样本完全缺乏这 22 个 microRNA 结合位点（图 4B）。

进一步预测 m⁶A 位点表明，PA 组 CSNK1G3 3'UTR 中总的 m⁶A 位点数量（图 5A）和 GGACU m⁶A

位点（最常见和保守的 m⁶A 基序）（图 5B）数量在 PA1 的 3 个样本和 PA2 的 6 个样本中的 5 个样本中均相同，而在 PA2 中 6 个样本中的 1 个样本（丢失 22 个 microRNA 结合位点）完全缺失 m⁶A 位点。

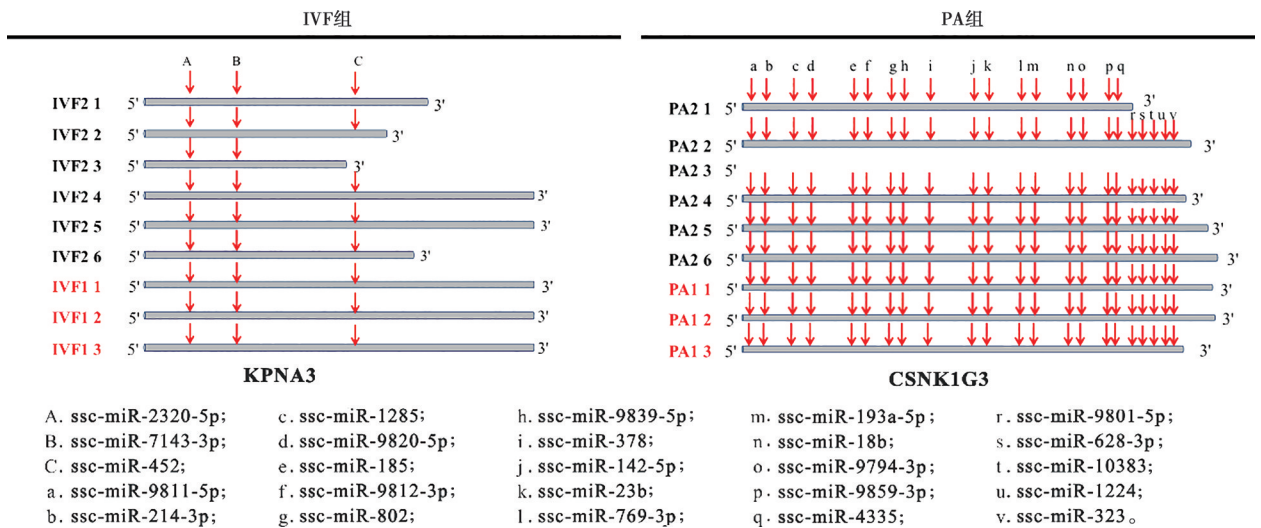
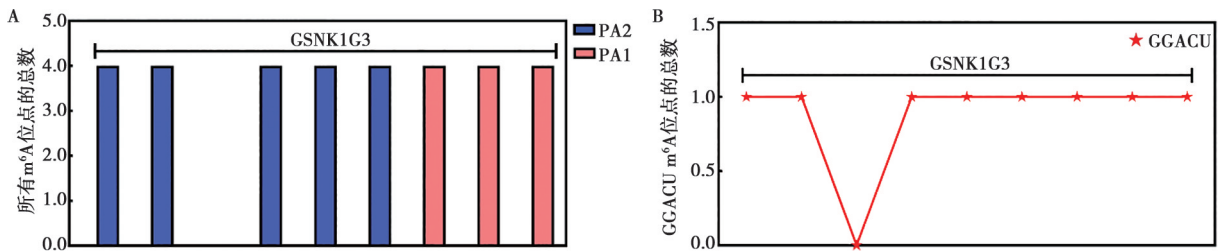


图 4 3'UTR 中 microRNA 结合位点预测



A. CSNK1G3 3'UTR 中 m⁶A 位点总数; B. CSNK1G3 3'UTR 中 GGACU m⁶A 位点数。

图 5 CSNK1G3 3'UTR 中 m⁶A 位点预测

3 讨论

APA 是真核生物基因调控的重要机制。基因转录后通过选择性地使用不同的 poly (A) 位点，从而产生具有不同长度 3'UTR 的 mRNA 亚型。mRNA 的不同长度 3'UTR 通过其包含的顺式元件不同，从而调控 mRNA 的稳定性、定位和翻译，影响基因的丰度和功能^[6]。其中，胞质型多聚腺苷酸化特异因子 (CPSF) 和 CPE 结合蛋白通过与 CPE 和 PAS 相互作用调节 3'UTR 的多聚腺苷酸化，影响 mRNA 的降解和翻译；microRNA 与靶基因 mRNA 3'UTR 中的结合位点结合影响 mRNA 的降解和翻译；m⁶A 位点通过影响剪切因子的结合来调节 mRNA 的剪切、翻译和降解。在人类中约 70% 的基因会通过 APA 产生多种可变 3'UTR^[7]。研究证实 APA 生成的不同转录后调

节影响动物早期发育，microRNA 结合 3'UTR 加速 mRNA 的降解，参与调节斑马鱼发育^[8]。3'UTR 对于果蝇卵母细胞和早期胚胎中 mRNA 定位极其重要^[9-10]。

本文比较研究了猪体外受精胚胎和孤雌激活胚胎从 1-细胞发育到 2-细胞过程中 mRNAs 的 3'UTR 变化，进一步分析了同一 mRNA 不同长度 3'UTR 中的顺式功能元件 (CPE、PAS、microRNA 结合位点和 m⁶A 甲基化位点) 的位置和个数差别。研究结果表明，猪体外受精胚胎和孤雌激活胚胎从 1-细胞发育到 2-细胞过程中多个 mRNAs 的 3'UTRs 存在动态变化，这些 mRNAs 参与不同的 GO 和 KEGG 通路。60 个 3'UTR 显著性差异的 mRNAs 为 IVF 组与 PA 组共有，表明猪 IVF 和 PA 胚胎第一次卵裂前后的 3'UTR 组具有一定的相似性。同时，IVF 组特有 147 个

3'UTR显著差异的mRNAs, PA组特有57个3'UTR显著差异的mRNAs,表明这阶段3'UTR组也具有很大的胚胎类型特异性,其可能与胚胎遗传基因组的差别和/或胚胎产生方式不同有关。

本研究显示猪体外受精胚胎组 KPNA3 基因的 3'UTRs 和孤雌激活胚胎组 HMGB1、RASSF3 和 CSNK1G3 基因的 3'UTRs 存在非常显著的长度差异 (>90 nt)。其中, KPNA3、HMGB1 和 CSNK1G3 在 1-细胞发育到 2-细胞过程中其 3'UTR 长度缩短,而 RASSF3 的 3'UTR 变长。已有研究表明 3'UTRs 的缩短通过促进基因表达与肿瘤细胞的增殖相关^[11],而 3'UTRs 的延长通过抑制基因表达沉默细胞的增殖^[12]。本研究进一步的顺式功能元件分析表明 KPNA3、HMGB1、RASSF3 和 CSNK1G3 基因的 3'UTRs 中 CPE 和 PAS 元件, KPNA3 和 CSNK1G3 基因的 3'UTRs 中 microRNA 结合位点, CSNK1G3 基因的 3'UTRs 中 m⁶A 位点在猪体外胚胎第一次卵裂前后存在位置和个数的不同,暗示 3'UTR 长度变化会导致功能性元件的多样化,从而影响 mRNA 的多聚腺苷酸化、稳定性、翻译和拼接等。KPNA3 是编码一个核胞质转运蛋白,对胞质信号传导、细胞有丝分裂进程和细胞稳态维持有重要的调控作用^[13]。CSNK1G3 编码酪蛋白激酶家族的一个成员,可以磷酸化酪蛋白等酸性蛋白,参与真核细胞的生长和形态发生^[14]。HMGB1 编码一种高度保守的核蛋白,调控转录、DNA 修复,细胞分化和凋亡等多种细胞功能,影响小鼠植入前胚胎发育^[15]。RASSF3 是 RASSF 家族的成员之一,调控细胞周期和细胞凋亡等过程^[16]。因此,鉴于报道的 KPNA3、HMGB1、RASSF3 和 CSNK1G3 重要的生物学作用,暗示本研究鉴定的猪体外胚胎第一次卵裂前后这些 mRNA 3'UTRs 的变化可能在转录后水平调控基因的表达和功能,从而对第一次卵裂及其后续的发育和分化具有重要的调控作用。本研究仅提供了生物信息学分析结果,尚需要进一步的生物学试验来验证这些结果的真实性。

4 结论

猪 IVF 和 PA 胚胎第一次卵裂前后众多 mRNA 的 3'UTRs 发生了显著的变化,这些 mRNA 参与多个 GO 和 KEGG 通路。猪 IVF 胚胎组 KPNA3 基因, PA 胚胎组 HMGB1、CSNK1G3 和 RASSF3 基因 3'UTRs 的平均长度在第一次卵裂前后差异较大,这些 mRNA 的丰度可能受到 3'UTRs 中包含的功能元件 (PAS、CPE、microRNA 结合位点和 m⁶A 位点) 差异

所调控。

参考文献:

- [1] LI M, LI F, LI N, et al. Association of polymorphism rs1053005 in *STAT3* with chronic hepatitis B virus infection in Han Chinese population [J]. *BMC Med Genet*, 2018, 19 (1): 52.
- [2] DU Z Q, LIANG H, LIU X M, et al. Single cell RNA-seq reveals genes vital to *in vitro* fertilized embryos and parthenotes in pigs [J]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1): 14393.
- [3] ZHAO H, WU Z W, ZHANG R, et al. Dynamic changes of 3'UTR length during oocyte-to-zygote transition of *in vitro* pig embryos [J]. *Reprod Domest Anim*, 2023, 58 (5): 605-613.
- [4] FANG T, WANG F, ZHANG R, et al. Single-cell RNA sequencing reveals blastomere heterogeneity of 2-cell embryos in pigs [J]. *Reprod Domest Anim*, 2023, 58 (10): 1393-1403.
- [5] ZHENG X, LAWRENCE A D, THOMAS A C, et al. Dynamic analyses of alternative polyadenylation from RNA-seq reveal a 3'-UTR landscape across seven tumour types [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5274.
- [6] HOU N, DU X, WU S. Advances in pig models of human diseases [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5 (2): 141-152.
- [7] DERTI A, GARRETT-ENGELE P, MACISAAC K D, et al. A quantitative atlas of polyadenylation in five mammals [J]. *Genome Res*, 2012, 22 (6): 1173-1183.
- [8] GIRALDEZ A J, MISHIMA Y, RIHEL J, et al. Zebrafish miR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs [J]. *Science*, 2006, 312 (5770): 75-79.
- [9] MACDONALD P M, STRUHL G. *Cis*-acting sequences responsible for anterior localization of *bicoid* mRNA in *Drosophila* embryos [J]. *Nature*, 1988, 336 (6199): 595-598.
- [10] ZLOTORYNSKI E. RNA: 3'UTR alternatives to protein localization [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16 (6): 327.
- [11] MAYR C, BARTEL D P. Widespread shortening of 3'UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells [J]. *Cell*, 2009, 138 (4): 673e84.
- [12] CHEN M, LYU G, HAN M, et al. 3' UTR lengthening as a novel mechanism in regulating cellular senescence [J]. *Genome Res*, 2018, 28 (3): 285e94.
- [13] MACARA I G. Transport into and out of the nucleus [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2001, 65 (4): 570-594.
- [14] KUSUDA J, HIRAI M, TANUMA R, et al. Cloning, expression analysis and chromosome mapping of human casein kinase I gamma1 (CSNK1G1): identification of two types of cDNA encoding the kinase protein associated with heterologous carboxy-terminal sequences [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 90 (3/4): 298-302.
- [15] CUI X S, SHEN X H, KIM N H. High mobility group box 1 (HMGB1) is implicated in preimplantation embryo development in the mouse [J]. *Mol Reprod Dev*, 2008, 75 (8): 1290-1299.
- [16] KUDO T, IKEDA M, NISHIKAWA M, et al. The RASSF3 candidate tumor suppressor induces apoptosis and G1-S cell-cycle arrest via p53 [J]. *Cancer Res*, 2012, 72 (11): 2901-2911.