



马鹿 *MORF4L2* 组织表达、 基因克隆及生物信息学分析

韩青, 高仰, 吴玄烨, 索婧媛, 金庆梅, 刘学东*

(东北林业大学野生动物与自然保护地学院, 哈尔滨, 150040)

稿件运行过程

收稿日期: 2023-12-04

修回日期: 2024-01-11



关键词: 马鹿;

MORF4L2;

组织表达;

基因克隆;

生物信息学

Keywords: Red deer (*Cervus elaphus*);

MORF4L2;

Tissue expression;

Gene cloning;

Bioinformatics

中图分类号: Q785; S825

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-04-0774-07

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240410

摘要

MORF4L2 是一种转录因子, 通过形成 NuA4 组蛋白乙酰转移酶复合物来参与异染色质组装和组蛋白修饰, 对细胞生长、增殖和凋亡起重要作用。为了探究马鹿 (*Cervus elaphus*) 鹿茸中 *MORF4L2* 所发挥的功能, 使用 qPCR 技术检测鹿茸不同组织中 *MORF4L2* 基因的表达水平, 采用 PCR 克隆马鹿 *MORF4L2* 基因的 CDS 序列, 通过多物种比对 *MORF4L2* 基因 mRNA 序列进行相似性分析并构建系统进化树, 利用生物信息学方法预测分析 *MORF4L2* 编码蛋白的结构与理化性质。结果显示: *MORF4L2* 在马鹿鹿茸的前软骨层中表达量最高; 马鹿 *MORF4L2* 的 mRNA 序列较为保守, 与加拿大马鹿 (*C. canadensis*) 中 *MORF4L2* 的相似性最高; 马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区全长为 864 bp, 编码 287 个氨基酸, 理论等电点为 9.73, 为碱性蛋白; 预测发现马鹿 *MORF4L2* 蛋白不存在信号肽, 有 30 个潜在磷酸化位点; 蛋白质结构主要由无规则卷曲和 α -螺旋构成, 主要定位在细胞核中。研究结果可为 *MORF4L2* 在马鹿鹿茸生长发育过程中所起的作用提供重要基础数据。

Tissue Expression, Gene Cloning and Bioinformatics Analysis of *MORF4L2* Gene in Red Deer

HAN Qing, GAO Yang, WU Xuanye,
SUO Jingyuan, JIN Qingmei, LIU Xuedong*

(College of Wildlife and Protected Area, Northeast Forestry University,
Harbin, 150040, China)

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31671283)

第一作者简介: 韩青(1999—), 女, 硕士研究生; 主要从事野生动物遗传学研究。E-mail: 575760162@qq.com

* 通信作者: 刘学东, E-mail: liuxuedong89@126.com

Abstract: MORF4L2 is a transcription factor involved in heterochromatin assembly and histone modification by forming the NuA4 histone acetyltransferase complex, which plays an important role in cell growth, proliferation, and apoptosis. In order to explore the function of MORF4L2 in red deer (*Cervus elaphus*) velvet antler, qPCR was used to detect the mRNA expression level of *MORF4L2* gene in different tissues of deer antler. The CDS sequence of the *MORF4L2* gene was cloned by PCR. Similarity analysis of mRNA sequences of the *MORF4L2* gene was performed by multiple species comparison and phylogenetic tree was constructed. The structure and physicochemical properties of MORF4L2 encoding protein were predicted and analyzed by bioinformatics method. The results showed that the mRNA relative expression of *MORF4L2* gene was the highest in precartilaginous layer of deer antler. The mRNA sequence of the *MORF4L2* gene in red deer is highly conserved, with the highest similarity to that in *C. canadensis*. The total length of the CDS region of *MORF4L2* gene in red deer is 864 bp, encoding 287 amino acids, and the theoretical isoelectric point is 9.73, which is a basic protein. It was predicted that there was no signal peptide present in the MORF4L2 protein of red deer, and there were 30 potential phosphate sites. The protein structure is mainly composed of random coils and alpha helices, where proteins are mainly located in the nucleus. This study provided basic data for the important role of *MORF4L2* in the growth and development of the red deer velvet antler.

死亡因子4样2(mortality factor 4 like 2, MORF4L2/MRGX)是一种转录因子,其所在的蛋白质家族有7个成员,分别是多个不同辅抑制因子复合物的组成部分^[1]。*MORF4L2*的表达具有组织特异性,在卵巢、大脑等器官中表达较多,且表达量与细胞周期相关^[2]。*MORF4L2*是 NuA4 组蛋白乙酰转移酶复合物的组分,参与异染色质组装和组蛋白修饰,该复合体主要通过核小体组蛋白 H4 和 H2A 的乙酰化参与选定基因的转录激活,能够激活癌基因和原癌基因介导的生长诱导,另一方面激活抑癌基因介导的生长停滞和复制性衰老,从而提高细胞 DNA 修复和抑制凋亡的水平^[3-5]。临床研究发现,在食管癌细胞中, *MORF4L2* 表达量与死亡风险呈正相关^[6];在肿瘤干细胞药物治疗中,存活的肿瘤干细胞展现出更强的耐药性,同时伴随 *MORF4L2* 的表达量显著增高^[4]。这些研究提示了 *MORF4L2* 在维持细胞的生长增殖过程中起重要作用。

鹿茸是目前哺乳动物中发现的唯一可完全再生的器官,为研究哺乳动物骨骼发育和器官再生提供了模型^[7]。处于快速生长期的鹿茸细胞,其增殖速率甚至超过癌变组织,同时鹿茸细胞的凋亡率也较高,从而能够防止肿瘤的发生^[8]。因此研究鹿茸的生长发育机制能够为预防和治疗癌症提供新见解。*MORF4L2* 作为转录因子,能够激活或抑制许多基因的表达,并参与 DNA 修复和调控细胞凋亡,不仅与

鹿茸的生长发育机制有关,对肿瘤的发生、发展也有重要作用,但目前鲜有研究马鹿 (*Cervus elaphus*) *MORF4L2* 蛋白的结构和功能的文献资料。本研究使用实时荧光定量 PCR (real time fluorogenic quantitative PCR, qPCR) 技术检测马鹿鹿茸各组织中 *MORF4L2* 的表达水平,克隆了马鹿 *MORF4L2* 基因的 CDS 区序列,并通过生物信息学软件分析 *MORF4L2* 的蛋白结构和理化性质等特征,为研究该基因在鹿茸生长发育中所发挥的作用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 鹿茸组织采集与保存

在秦皇岛野生动物园采集健康雄性马鹿二杠茸时期的鹿茸作为快速生长期样品。取鹿茸顶端约 5 cm 部分,将鹿茸顶端纵向切开,分离出茸皮层、间充质层、前软骨层和软骨层 4 种组织,将组织切成 0.5 cm³ 的组织块后置于 -80 °C 保存备用^[9]。

1.2 引物设计与合成

使用 NCBI 中 BLAST 功能比对多个物种 *MORF4L2* 基因的 CDS 区,发现该基因 CDS 区较保守。根据 NCBI 中马鹿 *MORF4L2* 基因序列和 *GAPDH* 基因序列,利用 Primer3 和 Oligo 7 软件设计 CDS 区克隆引物和 qPCR 引物(表 1),引物均由北京睿博兴科生物技术有限公司合成。

表1 马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区克隆和 qPCR 引物信息Tab. 1 Cloning primers of the CDS region and qPCR primers of *MORF4L2* gene in red deer

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	退火温度 /°C Annealing temperature	目的片段大小 /bp Product sequence	目的 Objective
<i>MORF4L2</i>	F: 5'-TCTCAAACCTCGTGGACACCA-3'	58	197	qPCR
	R: 5'-TTCCTCACCGATCCTGATGG-3'			
<i>GAPDH</i>	F: 5'-TCACTGCCACCCAGAAGACC-3'	60	100	qPCR
	R: 5'-GCAGCGCCAGTAGAAGCAGG-3'			
<i>MORF4L2</i>	F: 5'-ATGAGTTCCAGAAAGCAGGGTTCTCA-3'	62	864	克隆
	R: 5'-TCACAGGGCTTTGCCGTGG-3'			

1.3 马鹿总 RNA 提取和 cDNA 合成

使用 RNA 提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)分别提取马鹿鹿茸的茸皮层、间充质层、前软骨层和软骨层的总 RNA,提取完成后用 NanoDrop One 分光光度计(美国赛默飞有限公司)鉴定 RNA 的浓度与质量。使用合格的 RNA 样品作为模板,用 cDNA 合成试剂盒(Hifair III 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR,上海翌圣生物科技有限公司)将4种组织的总 RNA 进行反转录合成 cDNA, -20 °C 保存。

1.4 *MORF4L2* 基因在马鹿鹿茸各组织中的 mRNA 相对表达量测定

分别用4种组织的 cDNA 作为模板,以 *GAPDH* 基因做内参对照,利用 qPCR(荧光定量 PCR 仪型号 CFX96,美国 Bio-Rad 公司)测定鹿茸各组织中 *MORF4L2* 基因的 mRNA 表达水平。qPCR 扩增体系(单个孔总体积为 10.0 μ L):模板 1.0 μ L,上、下游引物各 0.4 μ L, ddH₂O 3.2 μ L, 2 \times SYBR Green qPCR Master Mix (Selleckchem 公司) 5.0 μ L。使用软件 Bio-Rad CFX Manager 3.0 中的快速路径 CFX_RT_qPCR+Melt 作为扩增程序。每个样品做 3 孔重复。

1.5 数据统计与分析

以马鹿鹿茸软骨层中 *MORF4L2* 基因的 mRNA 表达值作为对照组,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算鹿茸各组织中 *MORF4L2* 基因的 mRNA 相对表达量,利用 Graph-Pad Prism 8.0.2 软件进行数据分析并作图,采用 *t* 检验进行两两比较, $P < 0.05$ 则表示差异显著。

1.6 马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区的克隆与测序

按照 2 \times Rapid Taq Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)说明书配置 PCR 体系,以软骨层组织总 RNA 合成的 cDNA 为模板扩增 *MORF4L2* 基

因的 CDS 序列(PCR 仪型号 SEDI-G,威泰克有限公司)。PCR 体系(总体积 20 μ L)包括 ddH₂O 6 μ L,上、下游引物各 1 μ L, cDNA 模板 2 μ L, 2 \times Rapid Taq Master Mix 10 μ L。扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测(电泳仪型号 PowerPac HV,美国 Bio-Rad 公司;凝胶成像系统型号 KETA GL,威泰克有限公司), DL5000 DNA marker(宝生物工程(大连)有限公司),在紫外分析仪(型号 WD-9403F,北京六一仪器厂)中切下目的条带所在的凝胶块,根据 DNA 纯化试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)说明书回收凝胶中的目的条带。使用 pMD-19T 载体试剂盒(宝生物工程(大连)有限公司)将回收条带与 pMD-19T 载体连接,体系: ddH₂O 2 μ L, 胶回收产物 2 μ L, pMD-19T 载体 1 μ L, Solution I 5 μ L, 16 °C 反应 30 min。将连接产物转化到 DH5 α 感受态细胞(上海唯地生物技术有限公司)中,涂布在含氨苄的 LB 培养基上, 37 °C 过夜培养后,挑取单个菌落摇菌培养后进行菌液 PCR 鉴定,经验证的菌液送至北京睿博兴科生物技术有限公司测序。

1.7 生物信息学分析工具

从 NCBI 数据库中获得多个物种 *MORF4L2* 的 mRNA 序列,包括马鹿、家犬(*Canis lupus familiaris*)、绵羊(*Ovis aries*)、黄牛(*Bos taurus*)、水牛(*Bubalus bubalis*)、马(*Equus caballus*)、野猪(*Sus scrofa*)、人(*Homo sapiens*)、小家鼠(*Mus musculus*)和加拿大马鹿(*Cervus canadensis*),利用 DNASTar 中的 MegAlign 软件进行相似性分析,用软件 MEGA11 构建 *MORF4L2* 基因系统进化树。

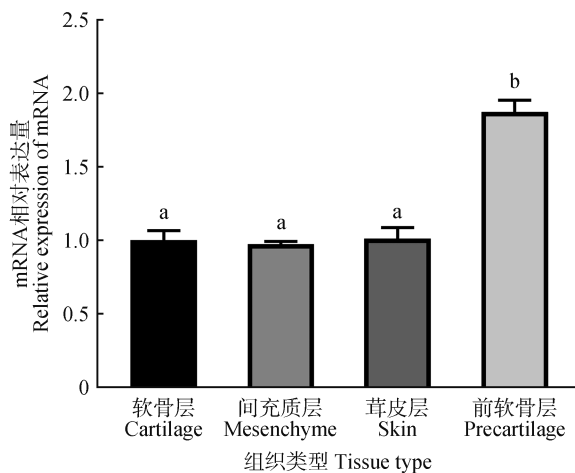
利用在线工具 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>)分析 *MORF4L2* 蛋白的理化性质,利用在线工具 ProtScale (<https://web.expasy.org/>)

protscale/)分析 *MORF4L2* 蛋白的疏水性,使用在线软件 NetPhos-3.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetPhos-3.1>) 预测 *MORF4L2* 蛋白的磷酸化位点,使用在线软件 SignalP-4.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-4.1>) 预测 *MORF4L2* 蛋白信号肽,利用在线工具 WoLF PSORT (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) 对 *MORF4L2* 蛋白进行亚细胞定位分析,使用在线软件 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 构建 *MORF4L2* 蛋白的三级结构,利用在线工具 PRABI-GERLAND (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_seccons.html) 分析 *MORF4L2* 蛋白的二级结构^[9]。

2 结果与分析

2.1 *MORF4L2* 基因在马鹿鹿茸各组织中的相对表达量

检测马鹿鹿茸4种组织中 *MORF4L2* 基因的 mRNA 表达水平,使用 GraphPad Prism 8.0.2 分析 qPCR 数据结果,结果显示:*MORF4L2* 基因在间充质层和茸皮层中表达量较低,在软骨层和茸皮层中表达量略高于间充质层,但不显著 ($P > 0.05$),而在鹿茸前软骨层中表达量最高,显著高于软骨层、茸皮层和间充质层中的表达量 ($P < 0.05$; 图1)。



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

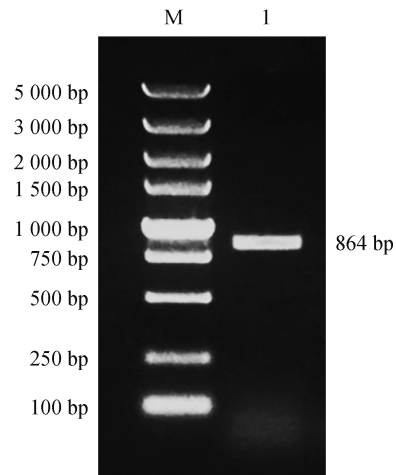
The different letters on the shoulder marker indicate significant differences ($P < 0.05$).

图1 马鹿鹿茸不同组织中 *MORF4L2* 基因 mRNA 的相对表达量

Fig. 1 mRNA relative expression of *MORF4L2* gene in different tissues of red deer velvet antler

2.2 马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区克隆

以马鹿鹿茸软骨层 cDNA 为模板扩增 *MORF4L2* 基因 CDS 区,PCR 完成后通过电泳获得 864 bp 的特异性条带(图2),与预期一致。条带回收后与 pMD-19T 载体连接并转化,经测序并比对后,成功克隆了马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区,在第 273 位碱基与 NCBI 网站预测不同,应将碱基 T 更新为碱基 C,编码氨基酸序列一致。



M. DL5000 DNA marker; 1. *MORF4L2* 基因扩增产物。

M. DL5000 DNA marker; 1. *MORF4L2* gene amplification product.

图2 马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区 PCR 扩增结果

Fig. 2 PCR amplification result of *MORF4L2* gene CDS region in red deer

2.3 生物信息学分析

2.3.1 相似性分析及系统进化树构建

在 NCBI 数据库中收集 10 个物种的 *MORF4L2* 基因序列,使用 MegAlign 软件进行序列比对并做相似性分析,结果显示马鹿与加拿大马鹿 *MORF4L2* 基因的 mRNA 序列相似性最高,为 99.9%;与小家鼠相似性较低,为 84.7%(图3)。使用 MEGA 11 软件,先通过 ClustalW 方法比对这 10 个物种的基因序列,再使用最小进化法 (minimum evolution method) 构建系统进化树,结果显示马鹿与加拿大马鹿之间的遗传距离最近,与小家鼠最远(图4),和序列相似性分析结果一致。

2.3.2 马鹿 *MORF4L2* 蛋白的组成、结构和理化性质

马鹿 *MORF4L2* 基因 CDS 区全长为 864 bp,编码 287 个氨基酸。蛋白理化性质分析结果显示:马鹿 *MORF4L2* 蛋白的分子式为 $C_{1423}H_{2275}N_{415}O_{424}S_8$, 相对分

		相似性/% Percent identity										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
变异度 Divergence	1	■	99.9	97.8	98.0	98.1	91.6	90.4	91.3	90.6	84.7	1 马鹿 <i>Cervus elaphus</i>
	2	0.1	■	97.9	98.1	98.3	91.4	90.5	91.4	90.7	84.6	2 加拿大马鹿 <i>Cervus canadensis</i>
	3	2.2	2.1	■	99.5	98.7	90.9	90.0	91.4	90.0	84.6	3 水牛 <i>Bubalus bubalis</i>
	4	2.0	1.9	0.5	■	99.0	91.1	90.3	91.4	90.3	84.8	4 黄牛 <i>Bos taurus</i>
	5	1.9	1.8	1.3	1.1	■	91.2	89.9	91.9	90.2	84.3	5 绵羊 <i>Ovis aries</i>
	6	9.0	9.2	9.9	9.6	9.5	■	95.8	95.0	95.8	88.0	6 家犬 <i>Canis lupus familiaris</i>
	7	10.4	10.3	10.8	10.5	11.0	4.3	■	94.6	95.0	87.0	7 马 <i>Equus caballus</i>
	8	9.3	9.2	9.2	9.2	8.6	5.2	5.7	■	94.2	87.8	8 野猪 <i>Sus scrofa</i>
	9	10.1	9.9	10.8	10.5	10.6	4.3	5.2	6.0	■	87.8	9 人 <i>Homo sapiens</i>
	10	17.3	17.5	17.5	17.2	17.9	13.1	14.5	13.5	13.5	■	10 小家鼠 <i>Mus musculus</i>
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

图3 马鹿MORF4L2基因 mRNA 序列相似性

Fig. 3 mRNA sequence similarity of MORF4L2 gene in red deer

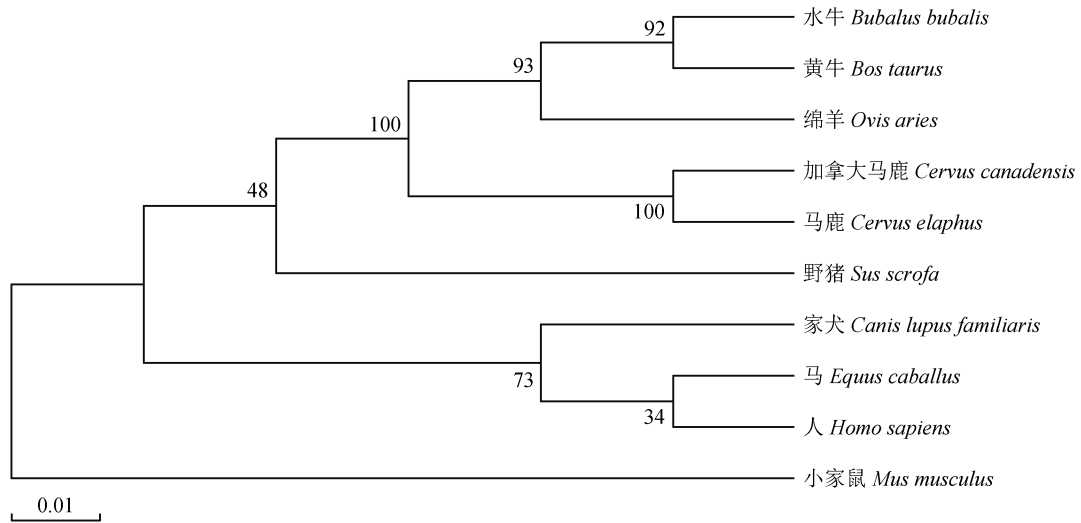


图4 MORF4L2基因系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of MORF4L2 gene

子质量为32 237.72,原子总数为4 545,理论等电点为9.73,为碱性蛋白;MORF4L2蛋白的氨基酸组成如表2所示,其中赖氨酸(Lys)占比最高,半胱氨酸(Cys)占比最低,带正电的残基总数(Arg + Lys)为48个,带负电的残基总数(Asp + Glu)为32个;马鹿MORF4L2蛋白N端第1个氨基酸为甲硫氨酸(Met),体外半衰期为30 h,预测不稳定指数为44.97,为不稳定蛋白;脂溶系数为67.70,平均亲水性为-0.812,为亲水性蛋白。

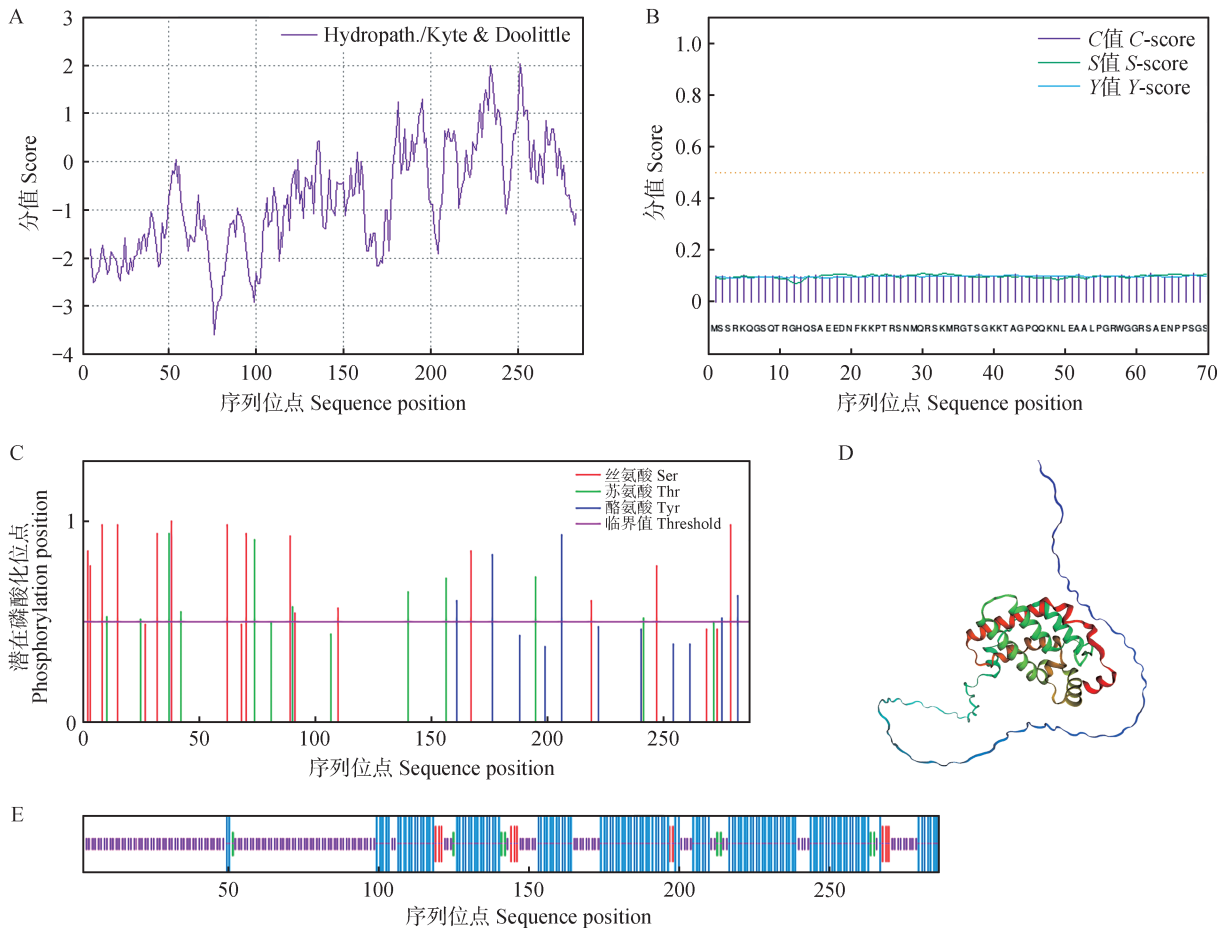
蛋白质的疏水性分析结果见图5A,马鹿MORF4L2蛋白第76位赖氨酸酰胺分值最低(-3.589),其残基亲水性最强;第251位亮氨酸(Leu)分值最高(2.033),其残基疏水性最强,表明马鹿MORF4L2蛋白为亲水性蛋白。使用在线软件

SignalP-4.1预测信号肽,结果表明MORF4L2蛋白中不存在信号肽(图5B)。潜在磷酸化位点预测结果显示,马鹿MORF4L2蛋白中共存在30个潜在磷酸化位点,包括15个丝氨酸(Ser)位点、10个苏氨酸(Thr)位点和5个酪氨酸(Tyr)位点(图5C)。马鹿MORF4L2蛋白的亚细胞定位预测结果为细胞核27、细胞核和细胞质15.5、细胞质2和胞外1,综合来看,MORF4L2蛋白主要定位在细胞核中。使用在线软件SWISS-MODEL构建蛋白的三级结构,模型显示马鹿MORF4L2蛋白以 α -螺旋和无规则卷曲为主(图5D)。分析马鹿MORF4L2蛋白的二级结构发现,MORF4L2蛋白主要由无规则卷曲、 α -螺旋、延伸链和 β -转角组成,分别占48.43%、44.95%、3.83%和2.79%(图5E)。

表2 MORF4L2蛋白的氨基酸组成

Tab. 2 Composition of amino acids of MORF4L2 proteins

氨基酸类别 Amino acid	氨基酸数量/个 Number	占比/% Percent	氨基酸类别 Amino acid	氨基酸数量/个 Number	占比/% Percent
丙氨酸 Ala	26	9.1	亮氨酸 Leu	27	9.4
精氨酸 Arg	19	6.6	赖氨酸 Lys	29	10.1
天冬酰胺 Asn	14	4.9	甲硫氨酸 Met	7	2.4
天冬氨酸 Asp	12	4.2	苯丙氨酸 Phe	8	2.8
半胱氨酸 Cys	1	0.3	脯氨酸 Pro	18	6.3
谷氨酰胺 Gln	15	5.2	丝氨酸 Ser	19	6.6
谷氨酸 Glu	20	7.0	苏氨酸 Thr	13	4.5
甘氨酸 Gly	20	7.0	色氨酸 Trp	3	1.0
组氨酸 His	5	1.7	酪氨酸 Tyr	11	3.8
异亮氨酸 Ile	5	1.7	缬氨酸 Val	15	5.2



A. MORF4L2蛋白疏水性预测; B. MORF4L2蛋白信号肽预测; C. MORF4L2蛋白潜在磷酸化位点预测; D. MORF4L2蛋白三级结构预测; E. MORF4L2蛋白二级结构预测, 其中, 蓝色线代表 α -螺旋, 紫色线代表无规则卷曲, 红色线代表延伸链, 绿色线代表 β -转角。

A. Hydrophobicity prediction of MORF4L2 protein; B. Signal peptide prediction of MORF4L2 protein; C. Prediction of potential phosphorylation sites of MORF4L2 protein; D. Prediction of the tertiary structure of MORF4L2 protein; E. Prediction of the secondary structure of MORF4L2 protein, among them, the blue line represents the α -helix, the purple lines represents the random coil, the red line represents the extended strand, and the green line represents the β -turn.

图5 马鹿MORF4L2蛋白的结构和理化性质

Fig. 5 Analysis of the structure, and physicochemical properties of MORF4L2 proteins in red deer

3 讨论

本研究利用 qPCR 检测马鹿鹿茸不同组织中 *MORF4L2* 的表达量,发现 *MORF4L2* 在前软骨层中表达量最高,在软骨层中表达量较高。前软骨层作为间充质层和软骨层的过渡区域,由快速增殖的状态向分化状态转变^[10],推测 *MORF4L2* 通过与其互作蛋白组成 NuA4 组蛋白乙酰转移酶复合物调控相关基因的表达,调控细胞周期,维持细胞增殖与分化的平衡,同时能够与 TERRA 协作维护端粒长度及稳定性^[11]。在之前的相关研究中,通过 RNA-seq 发现 *MORF4L2* 在驯鹿 (*Rangifer tarandus*) 鹿茸的间充质组织中高表达,作者认为 *MORF4L2* 与复制性衰老、细胞凋亡和 DNA 修复紧密联系,这可能与鹿茸快速生长相关^[12]。此外,在牛胚胎细胞中,*MORF4L2* 的转录水平会随应激程度的变化而有所不同,提示 *MORF4L2* 与代谢组模式和凋亡激活相关联^[13]。

为进一步研究马鹿 *MORF4L2* 基因特征,笔者克隆了其 CDS 序列,该序列全长为 864 bp,编码 287 个氨基酸。通过序列相似性分析并构建进化树,可以观察到 *MORF4L2* 基因在进化过程中较为保守。经过生物信息学软件预测和分析,得到马鹿 *MORF4L2* 编码蛋白的相对分子量为 32 237.72,理论等电点为 9.73,不稳定指数为 44.97,平均亲水性为 -0.812,是不稳定的碱性亲水蛋白。*MORF4L2* 蛋白有潜在磷酸位点 30 个,不存在信号肽,亚细胞定位主要在细胞核中,这与其作为 NuA4 组蛋白乙酰转移酶复合物发挥的功能相关。

MORF4L2 所在的蛋白质家族有 7 个成员,其中 *MORF4*、*MORF4L2* 和 *MRG15* 具有高度相似的编码序列^[2]。*MORF4* 是细胞增殖的抑制剂,而 *MORF4L2* 则会根据不同的细胞类型展现出不同的功能,可能激活或者抑制基因启动子,*MORF4L2* 通过螺旋-环-螺旋和亮氨酸拉链区域与 RB1 蛋白互作,在 EJ 细胞中抑制 *B-myb* 启动子,而在 HeLa 细胞中,激活 *B-myb* 启动子,调控细胞周期和增殖水平^[14]。在马鹿鹿茸前软骨层中,*MORF4L2* 的表达量最高,这可能是前软骨层细胞需要摆脱间充质层细胞的高度增殖状态而转变为分化状态的软骨细胞,需要 *MORF4L2* 调控增殖与分化相关基因的表达水平,以保证鹿茸的正常生长发育,但具体机制仍需进一步探索。

综上,本研究为深入研究马鹿 *MORF4L2* 基因在鹿茸生长发育中所发挥的作用提供重要研究基础数据。

参考文献:

- [1] YOCHUM G S, AYER D E. Role for the mortality factors *MORF4*, *MRGX*, and *MRG15* in transcriptional repression via associations with *Pf1*, *mSin3A*, and *transducin-like enhancer of split*[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, 22(22): 7868-7876.
- [2] BERTRAM M J, BÉRUBÉ N G, HANG-SWANSON X, et al. Identification of a gene that reverses the immortal phenotype of a subset of cells and is a member of a novel family of transcription factor-like genes[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1999, 19(2): 1479-1485.
- [3] JACQUET K, FRADET-TURCOTTE A, AVVAKUMOV N, et al. The TIP60 complex regulates bivalent chromatin recognition by 53BP1 through direct H4K20me binding and H2AK15 acetylation[J]. *Molecular Cell*, 2016, 62(3): 409-421.
- [4] KUO W Y, WU C Y, HWU L, et al. Enhancement of tumor initiation and expression of *KCNMA1*, *MORF4L2* and *ASPM* genes in the adenocarcinoma of lung xenograft after vorinostat treatment[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(11): 8663-8675.
- [5] KOOBLALL K G, STOKES V J, SHARIQ O A, et al. MiR-3156-5p is downregulated in serum of MEN1 patients and regulates expression of *MORF4L2*[J]. *Endocrine-Related Cancer*, 2022, 29(10): 557-568.
- [6] ZHANG L, LI P, LIU E J, et al. Prognostic value of a five-lncRNA signature in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Cell International*, 2020, 20: 386.
- [7] LI C Y, ZHAO H P, LIU Z, et al. Deer antler: a novel model for studying organ regeneration in mammals[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2014, 56: 111-122.
- [8] WANG Y, ZHANG C Z, WANG N N, et al. Genetic basis of ruminant headgear and rapid antler regeneration[J]. *Science*, 2019, 364(6446): eaav6335.
- [9] 吴玄烨, 吴尽, 杨帆, 等. 马鹿 *SCAI* 基因的克隆、生物信息学及组织表达分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2023(17): 128-133; 142. WU X Y, WU J, YANG F, et al. Cloning, bioinformatic and tissue expression analysis of *SCAI* gene in *Cervus canadensis*[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2023(17): 128-133; 142.
- [10] 刘洪运, 韩香玉, 刘明晓, 等. 梅花鹿 *Smad2* 与 *Smad4* 基因的克隆及其在鹿茸顶端组织的表达[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019(3): 6-10; 173. LIU H Y, HAN X Y, LIU M X, et al. Cloning of *Smad2* and *Smad4* genes from sika deer and their expression in antler tissue[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2019(3): 6-10; 173.
- [11] SCHEIBE M, ARNOULT N, KAPPEI D, et al. Quantitative interaction screen of telomeric repeat-containing RNA reveals novel *TERRA* regulators[J]. *Genome Research*, 2013, 23(12): 2149-2157.
- [12] BI X D, ZHAI J C, XIA Y L, et al. Analysis of genetic information from the antlers of *Rangifer tarandus* (reindeer) at the rapid growth stage[J]. *PLoS One*, 2020, 15(3): e0230168.
- [13] SILVA T, SANTOS E C, ANNES K, et al. Morphokinetic-related response to stress in individually cultured bovine embryos[J]. *Theriogenology*, 2016, 86(5): 1308-1317.
- [14] TOMINAGA K, LEUNG J K, ROOKARD P, et al. *MRGX* is a novel transcriptional regulator that exhibits activation or repression of the *B-myb* promoter in a cell type-dependent manner[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(49): 49618-49624.