

学校编码：10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号：21620131152615

UDC \_\_\_\_\_

廈門大學

碩 士 學 位 論 文

福建牡蛎锌富集相关基因功能的研究

Studies on the Function of Genes Related to Zinc

Accumulation of the Fujian Oyster *Crassostrea angulata*

向 旭

指导教师姓名：黄河清教授、柯才焕教授

专 业 名 称：生物化学与分子生物学

论文提交日期：2016年 5 月

论文答辩时间：2016年 5 月

学位授予日期：2016年 月

答辩委员会主席：\_\_\_\_\_

评 阅 人：\_\_\_\_\_

2016年 5月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月

<b>Contents .....</b>	<b>III</b>
<b>摘要.....</b>	<b>1</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>2</b>
<b>第一章 前言 .....</b>	<b>4</b>
1.1 牡蛎生物学概述 .....	4
1.2 Zn <sup>2+</sup> 转运相关基因家族研究进展.....	5
1.2.1 锌元素对人体的重要性 .....	5
1.2.2 ZIP 和 ZnT 基因家族研究进展 .....	6
1.3 研究目的、意义 .....	12
<b>第二章 福建牡蛎锌富集相关基因 cDNA 全长克隆.....</b>	<b>14</b>
2.1 实验材料.....	14
2.1.1 牡蛎样品采集 .....	14
2.1.2 仪器、试剂与溶液配制方法 .....	14
2.2 实验方法 .....	14
2.2.1 锌富集相关基因 cDNA 中间片段获取.....	14
2.2.2 cDNA 两端序列的克隆.....	21
2.2.3 目的基因 cDNA 片段处理和分析.....	29
2.3 结果 .....	30
2.3.1 福建牡蛎锌富集相关基因 cDNA 全长序列分析.....	30
2.3.2 锌富集相关基因蛋白跨膜区分析及三级结构预测.....	45
2.4 讨论 .....	48
2.4.1 ZIP1L 基因 .....	48
2.4.2 ZnT2L 基因 .....	49
<b>第三章 锌暴露条件下锌富集相关基因时空表达模式与干扰研究....</b>	<b>51</b>

3.1 锌暴露条件下牡蛎锌富集相关基因表达模式.....	51
3.1.1 实验材料 .....	51
3.1.2 实验方法.....	51
3.1.3 实验结果.....	55
3.1.4 讨论.....	62
3.2 福建牡蛎 ZIP1L-a 基因的 RNAi 实验.....	65
3.2.1 实验材料.....	65
3.2.2 实验方法 .....	65
3.2.3 实验结果 .....	71
3.2.4 讨论 .....	72
<b>第四章 总结 .....</b>	<b>74</b>
4.1 主要结论 .....	74
4.2 创新点 .....	74
4.3 不足与展望 .....	75
<b>参考文献 .....</b>	<b>76</b>
<b>附录.....</b>	<b>86</b>
附录 1: 本研究所用到主要仪器及其生产厂家 .....	86
附录 2: 本研究所用到的主要试剂 .....	86
附录 3: 主要溶液配制 .....	87
<b>在读期间参与发表的论文 .....</b>	<b>88</b>
<b>致谢.....</b>	<b>89</b>

## Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>1</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>2</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>4</b>
1.1 Biological introduction of Oyster.....	4
1.2 Research progress of zinc transporter gene family .....	5
1.2.1 The importance of zinc on human health .....	5
1.2.2 Research progress of ZIP and ZnT gene family .....	6
1.3 Research purposes, significances and contents of this dissertation .....	12
<b>Chapter 2 The Cloning of the cDNA of Genes Related to Zinc</b>	
<b>Accumulation</b> .....	<b>14</b>
2.1 Materials.....	14
2.1.1 Sample collection .....	14
2.1.2 Instruments, reagents and formula of solution .....	14
2.2 Methods.....	14
2.2.1 The cloning of middle fragment of cDNA .....	14
2.2.2 The cloning of the 3'ends and 5'ends.....	21
2.2.3 Analyses of the purpose sequence .....	29
2.3 Results .....	30
2.3.1 Analyses of the whole length cDNA of Fujian Oysters .....	30
2.3.2 Prediction of transmembrane domians and tertiary structures .....	45
2.4 Discussion .....	48
2.4.1 ZIP1L gene .....	48
2.4.2 ZnT2L gene .....	49

<b>Chapter 3 Temporal and Spatial Research of Genes Expression Pattern Related to Zinc Accumulation under Zinc Exposure and RNAi of ZIP1L-a.....</b>	<b>51</b>
3.1 Expression pattern of Genes Related to Zinc Accumulation under zinc exposure .....	51
3.1.1 Materials .....	51
3.1.2 Methods .....	51
3.1.3 Results .....	55
3.1.4 Discussion.....	62
3.2 The RNAi of ZIP1L-a .....	65
3.2.1 Materials .....	65
3.2.2 Methods .....	65
3.2.3 Results .....	71
3.2.4 Discussion.....	72
<b>Chapter 4 Conclusion and Prospects.....</b>	<b>74</b>
4.1 Conclusion.....	74
4.2 Innovations.....	74
4.3 Deficiency and prospects .....	75
<b>References.....</b>	<b>76</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>86</b>
Tables 1: Instruments used in present study and manufacturers .....	86
Tables 2: Reagents.....	86
Tables 3: Solution formulas .....	87
<b>Projects and Publications.....</b>	<b>88</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>89</b>

## 摘要

牡蛎是我国重要的经济贝类，具有很高的营养价值和保健价值，牡蛎富含人体所需多种微量元素，尤其是锌含量十分丰富。牡蛎同一群体的不同个体间的锌含量有很大差别，但其分子机制迄今尚未阐明。本文研究了福建牡蛎 (*Crassostrea angulata*) 几种锌富集相关基因与锌富集的关系，研究结果可为解析牡蛎对锌的高富集及个体富集差异的分子机制提供新资料。主要研究结果如下：

1、利用 cDNA 末端快速扩增技术 (rapid-amplification of cDNA ends, RACE) 扩增福建牡蛎锌富集相关基因 cDNA 全长。在福建牡蛎中获得三个 ZIP 超家族同源基因 ZIP1L-a、ZIP1L-b、ZIP1L-c 以及一个 ZnT 超家族同源基因 ZnT2L。ZIP1L-a、ZIP1L-b 和 ZIP1L-c 具有明显保守区域，且蛋白可变区均位于第 III 个和第 IV 个跨膜结构域之间，该可变区很可能是金属离子结合位点，参与金属离子的转运和调控。ZnT2L 也具有很多保守区域，其中 TMDIV 和 V 之间的一段富含组氨酸残基的长环结构 (Long loop region) 与 TMD II 和 V 上组氨酸-天冬氨酸残基对形成的四面体锌结合位点参与锌离子转运。

2、锌暴露 (500ppb) 条件下，利用 qPCR 方法检测到 *ZIP1L-a* mRNA 表达水平在外套膜中并不受锌的调控影响，在鳃和闭壳肌中会有短暂上调。*ZIP1L-b* mRNA 在鳃中不受锌的调控影响，在外套膜和闭壳肌中会有上调现象。*ZIP1L-c* 和 *ZnT2L* mRNA 均在外套膜和鳃中不受锌调控，在闭壳肌中会有短暂上调。

3、ZIP1L-a 基因经过 RNA 干扰后，测定其外套膜和鳃中锌含量但并没有发现锌含量有显著变化。推测除 ZIP1L-a 在外套膜和鳃中参与锌转运外，或许还有其他一些广泛表达 ZIP 家族成员如 ZIP3、ZIP6 等在外套膜和鳃中发挥同样的作用。

**关键词：**福建牡蛎；ZIP 基因；ZnT 基因

## Abstract

Oysters which possess highly nutritional and healthy value are one of the most important economic mollusk species of China. It's contains many human essential trace elements, especially zinc. According to statistics, the zinc concentration between individual oysters even among the same group are variation significantly. But the molecular mechanisms remain unknow. Present study investgated the relationship between the genes related to zinc accumulation and zinc burden of Fujian oysters(*Crassostrea angulata*). Results of the present study provide newly references for the mechanisms of oysters highly zinc accumulation and burden differentiation. Main research results present as follow:

Firstly, By the method of the rapid-amplification of cDNA ends(RACE) we get three homologous gene cDNA of ZIP gene which named ZIP1L-a, ZIP1L-b and ZIP1L-c. We also get a ZnT homologous gene named ZnT2L .We find that the ZIP1L-a, ZIP1L-b and ZIP1L-c amino acids all contain the same conserved regions that can find in hZIP1 and mZIP1, also there are variable regions between the transmembrane domains (TMDs) III and TMDIV which are probably zinc binding site. There are also many conserved regions contained in ZnT2L gene. For example, the long loop regions, one of the conserved regions, between TMDIV and V together with the histidine-aspartic acid pairs located in TMD II and V formed a tetrahedron zinc binding site that is crucial for zinc transport.

Secondly, under the condition of zinc exposure (500ppb) we find that *ZIP1L-a* mRNA was not regulated by zinc in the mantles, but there was a transient upregulated in the gills and adductor muscles; ZIP1L-b was not regulated in the gills, but there was a upregulated in the mantles and adductor muscles; we also find that ZIP1L-c and ZnT2L was not regulated by zinc in the mantles and gills, but there was a transient upregulated in the adductor muscles.

Thirdly, we find that zinc concentration have not been obviously changed in the mantles and gills after knock down *ZIP1L-a* mRNA by RNAi. It's indicate that there may be exsited other ZIP family members such as ZIP3, ZIP6 act as the same role in

the mantles and gills.

**Key words:** *Crassostrea angulata*; ZIP gene; ZnT gene.

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 第一章 前言

### 1.1 牡蛎生物学概述

牡蛎俗称蚝，分类学上属软体动物门 (Mollusca)、双壳纲 (Bivalvia)、翼形亚纲 (Pterimorphia)、珍珠贝目 (Pterioida)、牡蛎科 (Ostreidae)，是我国重要的经济贝类。牡蛎养殖在我国具有悠久的历史，早在宋朝就有记载。近几年我国牡蛎养殖产量大约有 400 万吨，占贝类养殖总量的 40% 左右，而且绝对产量每年均有增长。其中福建省牡蛎养殖产量约占全国 40% (中国渔业统计年鉴，2011-2014)。

牡蛎营养丰富，素有“海洋牛奶”之称，尤其是锌 (Zn) 元素含量超高。据分析，每 100g 牡蛎软体干重含锌元素约 70mg。除此之外，牡蛎中还含有多种其他营养物质和微量元素，如蛋白质、脂肪酸、糖类、铁、镁、钙、碘、维生素 A、B1、B12 等，实为上好的海鲜美味。牡蛎除可食用外，还有一定的保健价值，其软体可加工成各类保健食品，对于多种疾病具有显著缓解作用。

牡蛎的生长繁殖对环境和气温要求不高，除某些寒带海域之外，大部分硬质海域均有牡蛎分布。根据徐凤山等 (2008) 描述，我国所知的牡蛎种类大约有 23 种。Ren 等利用线粒体全基因组序列 (Ren et al., 2010) 构建系统发育树，发现本文所研究的福建牡蛎跟太平洋牡蛎进化关系最为接近，并且太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、福建牡蛎 (*Crassostrea angulata*)、熊本牡蛎 (*C. sikamea*)、近江牡蛎 (*C. ariakensis*) 和香港巨牡蛎 (*C. hongkongensis*) 为 5 种分布在我国沿海的巨蛎属牡蛎 (如图 1-1)。

其中福建牡蛎又被称为葡萄牙牡蛎 (Portugal oyster)，国内曾被误订为褶牡蛎和僧帽牡蛎。Wang 等利用 16S rRNA、28S rRNA 和 Cytochrome Oxidase I (CO I) 序列对分布在我国沿海的牡蛎种进行分析，认定广泛分布在中国南方海域的一种小凹杯形的牡蛎跟分布在葡萄牙海域的葡萄牙牡蛎是一个种，且认为葡萄牙牡蛎是太平洋牡蛎的一个亚种 (Wang et al. 2010)。由于葡萄牙牡蛎壳薄、生长快、产量高等优点，已成为福建省牡蛎养殖主要物种。据报道，2010 年我国福建牡蛎养殖面积为 36030 公顷，产量 145.6 万吨 (宁岳等，2011)。可见，福建牡蛎正越来越受到人们的关注和青睐。

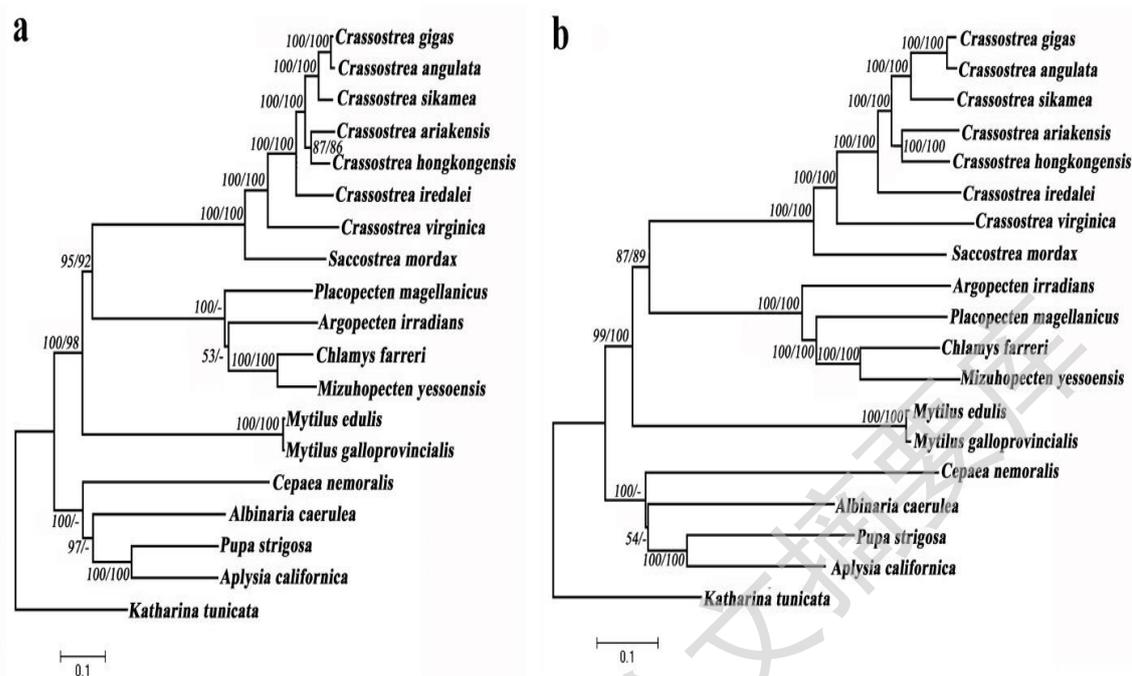


图 1-1 利用线粒体全基因组序列构建的系统发育树（其中图 a 为氨基酸串联序列分析结果，图 b 为核苷酸序列分析结果）（Ren 等，2010）

Fig.1-1 Phylogenetic trees based on the concatenated amino acid(a) and nucleotide sequences (b) (Ren et.al., 2010)

## 1.2 Zn<sup>2+</sup>转运相关基因家族研究进展

### 1.2.1 锌元素对人体的重要性

Zn<sup>2+</sup> 是人体必需的微量元素之一，它在人体代谢中扮有相当重要的角色。首先，锌是体内约 200 种酶的结构和催化活性位点，如锌指核糖核酸酶(Zinc finger nuclease, ZFN)、乙醇脱氢酶 (Alcohol dehydrogenase, ADH)、碳酸酐酶 (Carbonic anhydrase, CA)、羧肽酶 (Carboxypeptida, CPS) 等。而这些酶参与体内稳态维持、新陈代谢、物质合成等重要环节。

其次，锌也是细胞膜结构成分，缺锌会导致细胞膜结构和功能发生改变。几十年来的研究表明，锌在细胞膜中发挥着至关重要的作用。早在 1981 年 Better et al. (1981)就阐述过锌在生物膜上的有三个关键生理作用：1) 通过与酶结合

保证生物膜的完整性；2) 影响生物膜上大分子的组份、调整大分子构象以及改变酶的底物特异性；3) 干预金属催化的脂质过氧化作用。近些年也有深入的研究，如 Cai 等人发现一种蛋白 MG53 在细胞膜损伤修复中发挥重要作用 (Cai et al., 2009)，而 MG53 发挥修复作用的关键所在就是其上有两个锌离子结合位点，只有当 MG53 上结合有两个锌离子时，该蛋白才能行使其修复功能 (Cai et al., 2015)。

另外，锌在人体免疫方面也具有相当重要的作用。很多年前人们就知道锌缺乏会导致实验动物胸腺和淋巴组织萎缩 (Prasad et al., 1971)。接下来研究人员在锌缺乏小鼠研究中不断取得突破，他们不仅发现成年锌缺乏小鼠胸腺萎缩，还发现脾细胞数量减少导致胸腺依赖性抗原和胸腺非依赖性抗原活性降低 (Fernandes et al., 1979; Fraker et al., 1977; Fraker et al., 1978; Fraker, 1984)。Beck 等人 (1997) 利用人类锌缺乏模型研究 TH1 细胞和 TH2 细胞的细胞因子产生，他们认为锌缺乏主体的细胞介导的免疫功能降低的原因是：锌缺乏导致 TH1 细胞和 TH2 细胞之间产生不平衡，从而使初始 T 细胞的得不到补充、杀伤性 T 细胞的所占比例降低进而影响免疫功能。近年来，越来越多的证据表明锌在机体内通过不同途径影响着细胞免疫功能 (Prasad., 2007; Prasad et al., 2008)。因此，缺锌会导致人体许多疾病的产生，如发育不良、免疫力下降、男性不育、记忆力衰退等症状。

### 1.2.2 ZIP 和 ZnT 基因家族研究进展

虽然锌离子在体内有重要的作用，但体内锌离子过量也会对健康产生危害，因此生物体形成了一套锌离子稳态平衡的体系来维持体内锌离子的正常运转。生物体内有许多不同种类的蛋白参与锌渗透以及跨膜运输等环节。人们在动植物体内发现参与锌离子稳态代谢过程的蛋白有两个重要的家族成员，即 SLC30A (solute-linked carrier 30A, SLC30A) 和 SLC39A (solute-linked carrier 39A, SLC39A)。其中 SLC39A 最先被美国威斯康星大学博士 Eide 命名为 ZIP [zinc-regulated transporters (ZRT), iron-regulated transporter (IRT)-like protein, ZIP] 家族。而 SLC30A 又被称为阳离子扩散辅助蛋白 (cation diffusion facilitator, CDF)，SLC30A 基因家族的一个成员最初是被美国华盛

顿大学的 Palmiter 博士等人发现,并将其命名为 ZnT1(zinc transporter1, ZnT1) (Palmiter et al., 1995)。此后人们均沿用 ZnT 来表示 SLC30A 基因家族。

### 1.2.2.1 ZIP 基因家族研究进展

到目前为止,研究人员所确定的 ZIP 家族基因至少有 86 个成员,其中人类 14 个,小鼠 14 个,即 ZIP1-ZIP14,人类 ZIP 基因简称为 hZIP(human ZIP, hZIP),小鼠 ZIP 基因简称为 mZIP(mouse ZIP, hZIP)。大多数 ZIP 蛋白结构具有 8 个跨膜结构域(transmembrane domains, TMDs),即 TMDs I-VIII,其羧基端和氨基端位于细胞膜外或囊泡膜内。ZIP 蛋白家族一个共同特点就是在 TMDsIII和 TMDsIV 之间有一个长环结构,该长环结构有一段富含组氨酸的区域,但其本身序列和长度并不保守(Taylor et al., 2003)。ZIP 蛋白最大的保守区域位于 TMDsIV和 TMDs VIII之间,这两个跨膜结构域具有亲水亲脂两性,各含有一个保守组氨酸残基(Gaither et al., 2001)。目前认为 ZIP 家族主要功能为转运细胞外或囊泡内锌离子进入细胞质基质,其结构和功能模式如图 1-2 所示(Liuzzi et al., 2004)。

最初,科研人员对 ZIP 家族成员的研究探索是在酵母和植物当中进行。1996 年, Eide 等人发现酵母的 ZRT1 (zinc-regulated transporters) 和 ZRT2 基因分别编码两种不同的锌转运蛋白,同年,在植物中又发现一种既能转运锌,又能转运铁、锰等金属离子的蛋白 IRT1(iron-regulated transporter) (Zhao et al., 1996;Zhao et al., 1996;Eide et al., 1996;Korshunova et al., 1999)。得益于此,他们通过对比这两种物种的 ZRT1、ZRT2 和 IRT1 离子转运蛋白确定了人类的一个特异性摄取锌离子的转运蛋白 hZIP2,而这个蛋白也是人们发现的第一个人体锌离子摄取蛋白(Gaither et al., 2000),其表达丰度较低,主要集中在前列腺、子宫、外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)、单核细胞(monocytes)以及子宫颈上皮细胞(Cao et al., 2001;Yamaguchi, 1995)。

跟 hZIP2 不同, hZIP1 在体内各组织均有表达。通过检测转染 hZIP1 表达质粒的 K562 红白血病细胞  $^{65}\text{Zn}$  同位素积累量,发现这种细胞  $^{65}\text{Zn}$  的积累量明显要高于对照组(Gaither et al., 2001),将小鼠 mZIP1 表达质粒转染到 HEK293 细胞中,也发现该细胞锌吸收量要高于对照组(Jodi et al., 2003)。因此, hZIP1

与 mZIP1 也是一个重要的锌离子摄取蛋白。关于对 ZIP1 的研究最近还有很多新发现, 如 ZIP1 蛋白磷酸化能调控酵母减数分裂过程中姐妹染色单体是否交换 (Chen et al., 2015); 在研究矮小儿童实验中, 发现 ZIP1 mRNA 表达水平与生长激素水平呈正相关 (Sun et al., 2013), 推测 ZIP1 基因与生长相关。

在研究 mZIP1 同时, Jodi 等人同样对 HEK293 细胞转染过 mZIP3 表达质粒, 发现该细胞也增加了  $^{65}\text{Zn}$  同位素的积累量。尽管 ZIP3 在许多组织中都有表达, 但在乳腺上皮细胞中, 仅有 ZIP3 来调控  $\text{Zn}^{2+}$  的吸收, 意味着 ZIP 家族参与锌转运具有组织特异性 (Kelleher et al., 2005)。ZIP3 还与胰腺癌的早期病变有关, 美国马里兰大学的 Costello 等人在胰腺癌早期细胞中检测到 ZIP3 的表达量明显降低, 并导致胰腺癌早期细胞锌含量急剧下降, 他们推测锌可能是一种胰腺癌的抑制剂, 而 ZIP3 承担着运输锌的责任 (Costello et al., 2011; 2012)。

哺乳动物 ZIP4 的 mRNA 主要在结肠、空肠、肾脏和胃中表达。研究表明, ZIP4 基因与缺锌引起的肠源性肢端皮炎综合征 (acrodermatitis enteropathica, AE) 有关, 研究人员在 AE 患者中发现 ZIP4 的一些突变, 包括片段缺失和终止密码子的提前出现 (Wang et al., 2001; 2002)。ZIP4 同样具有吸收锌的作用, 在转染过 mZIP4 表达质粒的 HEK293 细胞中发现该细胞对  $^{65}\text{Zn}$  积累量明显增多 (Jodi et al., 2003)。后来随着基因编辑技术的不断成熟, 科研人员得到了 ZIP4 基因敲除小鼠 (Dufner-Beattie et al., 2007; Geiser et al., 2012)。他们发现, 敲除 ZIP4 基因的纯合体很快就会死亡, 但添加额外的膳食锌后, 小鼠能维持一段时间, 但最后终会死去。这些实验结果均证明 ZIP4 对于机体锌吸收具有重要作用。

其他 ZIP 家族基因成员与体内锌吸收也有重要关系, 如 ZIP5 与锌的跨细胞转运有关 (Jodi et al., 2004); ZIP8 与免疫 T 细胞的锌代谢有关 (Aydemir et al., 2009); 然而, ZIP 基因家族除了能转运锌以外, 还参与其他一些二价阳离子的转运, 如: 铁、锰、镉等。有报道称, ZIP 家族成员 IRT2 在拟南芥吸收铁元素的过程中发挥重要作用 (Vert et al., 2001); 玉米 ZIP1、ZIP4、ZIP5 以及 ZIP6 基因对于玉米生长发育过程中铁、锌的摄取至关重要 (Li et al., 2013); ZIP8 在小鼠胚胎成纤维细胞中 (Mouse fetal fibroblast, MFF) 参与锰和镉的转运 (Lei et al., 2006)。ZIP14 在肝细胞参与非转铁蛋白结合铁的吸收调节 (Liuzzi et al., 2006)。因此, ZIP 家族在动植物二价金属元素特别是锌元素

补充获取过程中具有不可替代的作用。

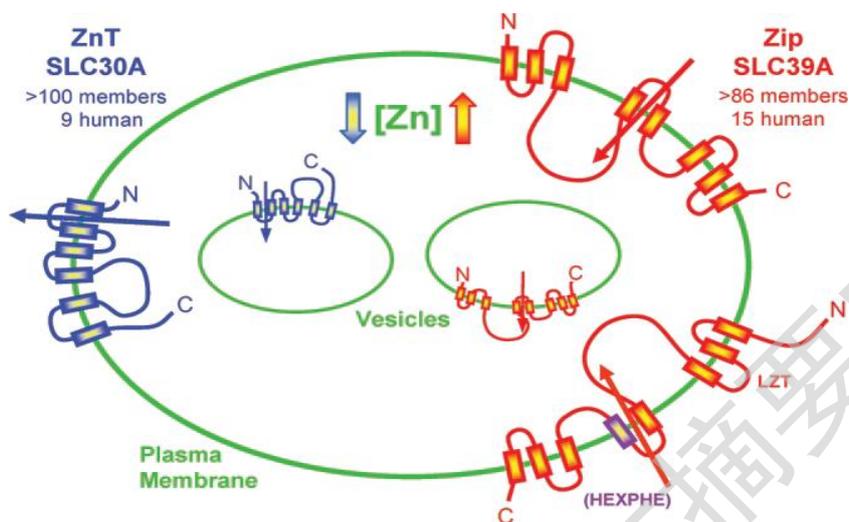


图 1-2 SLC39A/ZIP 和 SLC30A/ZnT 蛋白结构和功能模式图

**Fig.1-2 Structure and function of SLC39A/ZIP and SLC30A/ZnT zinc transporter protein**

The arrows(↑) represent the direction of solute transport. The curve together with the blocks represent Transmembrane domains(TMDs).

#### 1.2.2.2 ZnT 基因家族研究进展

ZnT 家族主要功能是参与锌离子转出细胞的运输过程，该家族分为三个亚家族：亚家族 I、II 和 III (Gaither et al., 2001)，亚家族 I 主要分布在原核生物中，II 和 III 在原核生物和真核生物中均有分布。大多数 ZnT 家族成员具有 6 个跨膜结构域即 TMDs I-VI，但部分成员如：ZnT5 和酵母 MSC2 (meiotic sister chromatid recombination 2) 具有 12 个或更多的跨膜结构域。大多数 ZnT 蛋白的羧基端和氨基端位于细胞内，其金属离子结合位点很可能位于跨膜结构域 IV 和 V 之间的一段富含组氨酸的长环中。TMDs I、II 和 V 具有高度两亲性，其结构非常保守。有研究表明 ZnT 蛋白以二聚体或者三聚体形式行发挥作用 (Bloß et al., 2002; Michalczyk et al., 2002)。ZnT 蛋白结构和功能模式图如图 1-2 所示。

目前为止，哺乳动物中已确定 10 个 ZnT 家族成员，即 ZnT1 - ZnT10。ZnT1

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.