

黄正洋, 孔令琳, 王钱保, 等. 鸡 *Fnip1* 基因克隆、组织表达及生物信息学分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(1): 119-125.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2025.01.014

## 鸡 *Fnip1* 基因克隆、组织表达及生物信息学分析

黄正洋, 孔令琳, 王钱保, 李春苗, 吴兆林, 黄华云, 赵振华  
(江苏省家禽科学研究所, 江苏 扬州 225125)

**摘要:** 为了明确鸡卵泡素相互作用蛋白 1 基因(*Fnip1*)特征及其表达规律,本研究选择苏禽 3 号黄羽肉鸡为试验材料,运用分子克隆技术扩增了鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区序列全长,对其序列特性进行了生物信息学分析,构建了系统进化树;利用 RT-qPCR 方法检测了 *Fnip1* 基因在鸡不同组织中的表达。结果获得鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区,序列开放阅读框为 3 474 bp,位于第 13 号染色体 16 191 415 bp 至 16 251 731 bp 之间,编码 1 157 个氨基酸。生物信息学分析结果显示,*Fnip1* 基因有 20 个外显子, FNIP1 蛋白含有 FNIP\_N、FNIP\_M 和 FNIP\_C 等 3 个结构域;进化树显示,鸡先与鸟类聚为一类,再与哺乳动物聚为一支,在禽类上序列保守。FNIP1 蛋白为亲水性蛋白,相对分子量为 128 310,理论等电点为 5.25。蛋白质二级结构由  $\alpha$ -螺旋(34.40%)、 $\beta$ -折叠(4.06%)、延伸链(13.74%)、无规则卷曲(47.80%)组成。表达分析结果显示,*Fnip1* 基因在鸡的胸肌和腿肌中表达量显著高于其他组织。综上所述,本研究获得了鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区序列全长,发现其在鸡肌肉组织中有较高表达。本研究结果可为进一步研究 *Fnip1* 基因在鸡肌肉生长发育中的分子机制研究奠定数据支撑。

**关键词:** 鸡; *Fnip1*; 基因克隆; 表达分析; 生物信息学分析

**中图分类号:** S831.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-4440(2025)01-0119-07

## Cloning, tissue expression and bioinformatics analysis of chicken *Fnip1* gene

HUANG Zhengyang, KONG Linglin, WANG Qianbao, LI Chunmiao, WU Zhaolin, HUANG Huayun, ZHAO Zhenhua  
(*Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, China*)

**Abstract:** To clarify the characteristics and expression patterns of chicken follistatin-interacting protein 1 gene (*Fnip1*), Suqin No. 3 yellow-feathered broilers were selected as experimental materials in this study, and the full-length sequence of chicken *Fnip1* gene CDS region was amplified by molecular cloning technology. Moreover, the bioinformatics analysis of its sequence characteristics was carried out, and the phylogenetic tree was constructed. The expression of *Fnip1* gene in different tissues of chickens was detected by RT-qPCR. The results showed that the CDS region of chicken *Fnip1* gene was obtained. The open reading frame of the sequence was 3 474 bp, which was located between 16 191 415 bp and 16 251 731 bp on chromosome 13, encoding 1 157 amino acids. Bioinformatics analysis indicated that *Fnip1* gene had 20 exons, and FNIP1 protein contained three domains: FNIP\_N, FNIP\_M and FNIP\_C. The phylogenetic tree showed that chickens were first clustered with birds, and then

clustered with mammals, and the sequence was conserved in birds. FNIP1 protein was a hydrophilic protein with a size of 128 310 and a theoretical isoelectric point of 5.25. The secondary structure of the protein was composed of  $\alpha$ -helix (34.40%),  $\beta$ -sheet (4.06%), extended chains (13.74%) and random coils (47.80%). The expression analysis showed that the expression of *Fnip1* gene in chicken breast muscle and leg muscle was significantly higher than that in other tis-

收稿日期: 2024-07-10

基金项目: 现代农业产业技术体系肉鸡体系项目(CARS-41-Z21); 江苏省种业振兴揭榜挂帅项目[JBGS(2021)109]; 扬州市现代农业项目(YZ2023054)

作者简介: 黄正洋(1987-), 男, 河南信阳人, 博士, 副研究员, 主要从事家禽遗传育种研究。(E-mail) zyhuang@qq.com。孔令琳为共同第一作者。

通讯作者: 赵振华, (E-mail) zzh0514@163.com

sues. In summary, this study obtained the full-length sequence of the chicken *Fnip1* gene CDS region and found that it was highly expressed in chicken muscle tissue. The results of this study can provide data support for further studies on the molecular mechanism of *Fnip1* gene in chicken muscle growth and development.

**Key words:** chicken; *Fnip1*; gene cloning; expression analysis; bioinformatics analysis

卵泡素相互作用蛋白 1 基因 (*Fnip1*) 是一种与肿瘤抑制蛋白卵泡蛋白和磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK) 结合的蛋白质编码基因<sup>[1-3]</sup>。有研究发现 AMPK 信号通路在机体肌肉纤维类型转化以及肿瘤的发生、发展等过程中起着重要作用,对调控生物生长发育至关重要<sup>[4-6]</sup>。FNIP1 作为深度参与该信号通路的核心蛋白质,通过调节雷帕霉素信号通路 (Target of rapamycin, TOR) 中的 AMPK 和靶标参与细胞代谢及营养传感过程<sup>[7]</sup>。FNIP1 及其相关蛋白质与热休克蛋白 90 结合,负向调节其 ATP 酶活性并促进其与卵泡素结合<sup>[8]</sup>。FNIP1 还与许多疾病的发生密切相关,包括免疫力缺陷、肥厚性心肌病等疾病<sup>[9-10]</sup>。

*Fnip1* 基因有多种功能,目前的研究主要集中在其能够调控哺乳动物骨骼肌纤维类型转换、机体器官癌症的发生以及脂肪沉积导致的肥胖等<sup>[11-13]</sup>。周启程研究发现,通过选择小鼠和 C2C12 细胞系作为试验对象,分别建立肥胖诱导试验模型,发现 FNIP1 蛋白在慢肌纤维比例降低过程中起着重要的作用,同时也发现使用二氢杨梅素可通过 FNIP1 抑制肥胖诱导的骨骼肌纤维类型转换<sup>[14]</sup>。付亮亮采用 iTRAQ 技术对饲料效率高低不同的猪骨骼肌差异表达蛋白进行筛选,发现 miR-208b 在肌肉中呈特异性表达,促进慢肌纤维的生成,调控肌肉纤维类型的转换,其中 *Fnip1* 是 miR-208b 发挥功能的关键靶基因<sup>[15]</sup>。刘静<sup>[16]</sup>通过小鼠和细胞试验发现,*Fnip1* 是 miR-499 靶基因,并且发现了 miR-499/*Fnip1* 在 AMPK 通路中调控能量代谢和肌纤维类型转换。这些研究结果均表明,*Fnip1* 基因在动物骨骼肌生长发育过程中,特别是骨骼肌纤维类型转化以及能量代谢过程中发挥重要作用。另外,*Fnip1* 基因在畜禽肌肉纤维类型转换中也有重要作用,因此,在黄羽肉鸡育种工作中研究 *Fnip1* 基因功能,可针对该基因的特性,充分利用其遗传标记特点,缩短育种周期,提高育种效率。

目前,*Fnip1* 基因已经在人以及猪、绵羊和火鸡等动物中被克隆,本研究也运用克隆技术,成功克隆

了鸡 *Fnip1* 基因 CDS 序列全长,并对其核苷酸序列和其编码的蛋白质氨基酸序列进行分析。为进一步研究 *Fnip1* 基因在鸡肌纤维生长发育、纤维类型转换及其在脂肪沉积中的功能等提供数据支持,为肉鸡肌肉品质选育提供新路径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验以苏禽 3 号肉鸡为材料,在均一稳定的环境下饲养,饲养至 10 周龄时,随机挑选 5 只屠宰采样,采集胸肌、腿肌、心、肝、脾和肺等组织样品,样品于 -70 °C 液氮中冻存备用。主要试剂有 TRIzol<sup>®</sup> Plus RNA Purification Kit (美国英杰生命技术有限公司产品)、FastKing-RT SuperMix [天根生化科技(北京)有限公司产品]、PCR 产物切胶回收试剂盒 [天根生化科技(北京)有限公司产品]、SYBR Premix Ex Taq 及 DNA Marker DL5K (日本 TAKARA 公司产品)。

### 1.2 引物设计与合成

根据 NCBI 数据库中鸡 *Fnip1* 基因的预测序列信息 (登录号: NM\_001398212.1),并参考鸡 *Fnip1* 基因 DNA 序列信息 (登录号: NC\_052585.1),利用 Oligo 7.3 软件设计 *Fnip1* 基因 CDS 区克隆引物和 qRT-PCR 引物,如表 1 所示。

表 1 试验中使用到的引物

Table 1 Primers used in the experiment

引物	引物序列 (5'→3')	产物长度 (bp)	作用
<i>Fnip1</i> -F	ATGCCGCCCCACCCTGTTC	3 474	CDS 克隆
<i>Fnip1</i> -R	TTAGAGCAGTATCTGGGCGA		
<i>Fnip1</i> -p1	GAACGGAGTCTTCCCTCGAT	271	定量分析
<i>Fnip1</i> -p2	CAAACCTCGCTGACTGGCATC		
<i>GAPDH</i> -p1	CAGAACATCATCCCAGCGTCCA	136	内参基因
<i>GAPDH</i> -p2	ACGGCAGGTCAGGTCAACAA		

### 1.3 总 RNA 抽提与 cDNA 合成

采用 Trizol 法提取各个组织总 RNA,加入 DNA

酶去除基因组 DNA 杂质,测定 RNA 纯度和完整性后进行反转录试验。取 2  $\mu\text{g}$  总 RNA,根据试剂盒说明书合成 cDNA 第一链。

#### 1.4 鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区克隆与测序

以反转录合成的 cDNA 为模板进行 PCR 反应,RT-PCR 扩增鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区,反应总体积为 50.0  $\mu\text{L}$ ,其中 cDNA 模板 2.0  $\mu\text{L}$ ,10  $\mu\text{mol/L}$  *Fnip1*-F 1.0  $\mu\text{L}$ ,10  $\mu\text{mol/L}$  *Fnip1*-R 1.0  $\mu\text{L}$ ,Platinum<sup>®</sup> PCR SuperMix, High Fidelity 45.0  $\mu\text{L}$ ,ddH<sub>2</sub>O 1.0  $\mu\text{L}$ 。反应程序如下:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2.0 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,62  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,68  $^{\circ}\text{C}$  延伸 3.5 min,38 个循环;1.5%琼脂糖电泳检测 PCR 产物。对 PCR 产物的特异性条带切胶回收,连接 T 载体,转化到 DH5 $\alpha$  后克隆测序。

#### 1.5 *Fnip1* 基因序列生物信息学分析

从 NCBI 数据库下载常见畜禽 *Fnip1* 基因序列,分别为火鸡 (*Meleagris gallopavo*; XP\_010717557)、斑胸草雀 (*Taeniopygia guttata*; XP\_030140124)、岩鸽 (*Columba livia*; XP\_005503553)、朱鹮 (*Nipponia nippon*; XP\_009462610)、黑天鹅 (*Cygnus atratus*; XP\_035416655)、家鹅 (*Anser cygnoides*; XP\_013031284)、牛 (*Bos taurus*; XP\_024850819)、山羊 (*Capra hircus*; XP\_017906211)、马 (*Equus caballus*; XP\_023473512)、绵羊 (*Ovis aries*; XP\_027825758)、藏獒 (*Canis lupus familiaris*; XP\_038537369)、家猪 (*Sus scrofa*; XP\_020941073)、兔子 (*Oryctolagus cuniculus*; XP\_008253207) 以及人 (*Homo sapiens*; NP\_588613.2)。使用 DNASTAR 软件进行序列分析。利用 UCSC 基因组浏览器分析鸡 *Fnip1* 基因结构及在基因组中的定位。使用 EMBL 的序列比对工具 Clustal Omega<sup>[17]</sup> 进行多序列比对分析。利用 MEGA 11.0 软件基于距离参数的邻接法 (NJ)<sup>[18]</sup> 构建系统进化树。利用在线软件 ExPASy 服务器上的 ProtParam、ProtScale 等程序对氨基酸序列的理化特性进行预测。利用 SOPMA 在线软件 ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred\\_sopma\\_f.pl](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/secpred_sopma_f.pl))<sup>[17]</sup> 对 FNIP1 蛋白二级结构进行分析。

#### 1.6 *Fnip1* 基因组织表达分析

分别对各组织中的 *Fnip1* 基因和管家基因 *GAPDH* 进行 qRT-PCR,引物见表 1。qRT-PCR 扩增体系:反应体系总体积为 20.0  $\mu\text{L}$ ;SYBR Premix *Ex* Tap<sup>™</sup> II ( $\times 2$ ) 10.0  $\mu\text{L}$ , PCR Forward Primer (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 0.8  $\mu\text{L}$ , PCR Reverse Primer (浓度为 10

$\mu\text{mol/L}$ ) 0.8  $\mu\text{L}$ , ROX Reference Dye II ( $\times 50$ ) 0.4  $\mu\text{L}$ , cDNA 2.0  $\mu\text{L}$ , RNase-free dH<sub>2</sub>O 6.0  $\mu\text{L}$ 。反应程序如下:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s;95  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 s,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 34 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 20 s,共 40 个循环。

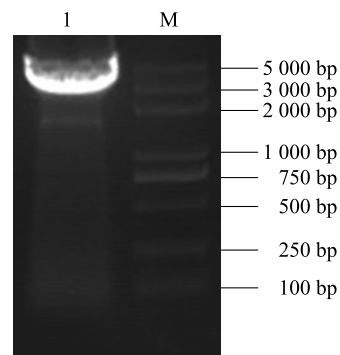
#### 1.7 数据统计与处理

采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法进行组织表达分析。试验结果用平均值 $\pm$ 标准差来表示。基因相对表达差异量用 SPSS 28.0 软件进行显著性检验,以  $P < 0.05$  作为差异显著标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区克隆

鸡 *Fnip1* 基因 PCR 结束后进行电泳分析,结果如图 1 所示,获得的 PCR 产物条带大小约 4 000 bp 左右。切胶回收连接 T 载体,转化 DH5 $\alpha$  培养,扩增后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。



M:DL5K DNA marker;1:*Fnip1* 基因 CDS 区 PCR 扩增产物。

图 1 鸡 *Fnip1* 基因 PCR 扩增产物电泳图

Fig.1 PCR amplification electrophoretogram of *Fnip1* gene in chickens

测序结果表明,*Fnip1* 基因编码区全长 3 474 bp,将其上传至 GenBank(登录号:MW770872),比对基因组序列后发现,鸡 *Fnip1* 基因位于第 13 号染色体 16 191 415 bp 至 16 251 731 bp 之间。由 20 个外显子剪切而成,编码 1 157 个氨基酸残基。对鸡 *Fnip1* 基因序列进行比对后发现,*Fnip1* 基因至少有 4 个可变剪接体。

### 2.2 鸡 FNIP1 氨基酸序列分析及系统进化树的构建

选取 *Fnip1* 基因序列进行标准翻译后,进行多序列比对分析,结果显示鸡 FNIP1 蛋白氨基酸序列与火鸡和鹅的同源性更高,分别为 98.56% 和

95.17%,与其他哺乳动物的同源性较低。对鸡 FNIP1 蛋白保守结构域进行预测,发现不存在信号肽序列,且存在 3 个结构域,分别是41~162 氨基酸区间的 FNIP\_N 结构域,291~538 氨基酸区间的 FNIP\_M 结构域,967~1 153氨基酸区间的 FNIP\_C 结构域,FNIP1 蛋白拥有 FNIP 家族明显特征。选择 15 种脊椎动物代表性物种,使用 EMBL 多序列比对工具进行多序列比对分析。系统进化树分析结果如图 2 所示,鸡与火鸡先聚为一类,然后再与其他鸟类聚为一支,哺乳动物则聚为另外一支。

利用 ExPASy 的 ProtParam 软件对鸡 FNIP1 蛋白

进行理化分析,结果如表 2 所示,鸡 FNIP1 蛋白含有 20 个基本氨基酸,其中含量最高的是丝氨酸(11.93%),其次是亮氨酸(9.16%);FNIP1 蛋白分子式为  $C_{5578}H_{8818}N_{1554}O_{1788}S_{64}$ ,相对分子量为128 310,理论等电点为 5.25;利用 ExPASy 中 ProtScale 程序对苏禽 3 号 FNIP1 蛋白的亲疏水性进行分析,结果如图 3 所示,第 354 位的异亮氨酸疏水性最强,为 3.633 分(最高分值为 4.500),第 221 位的精氨酸亲水性最强,为-3.422 分(最低分值为-4.500),总平均亲水性 GRAVY 值为-0.422,即 FNIP1 为亲水型蛋白质。

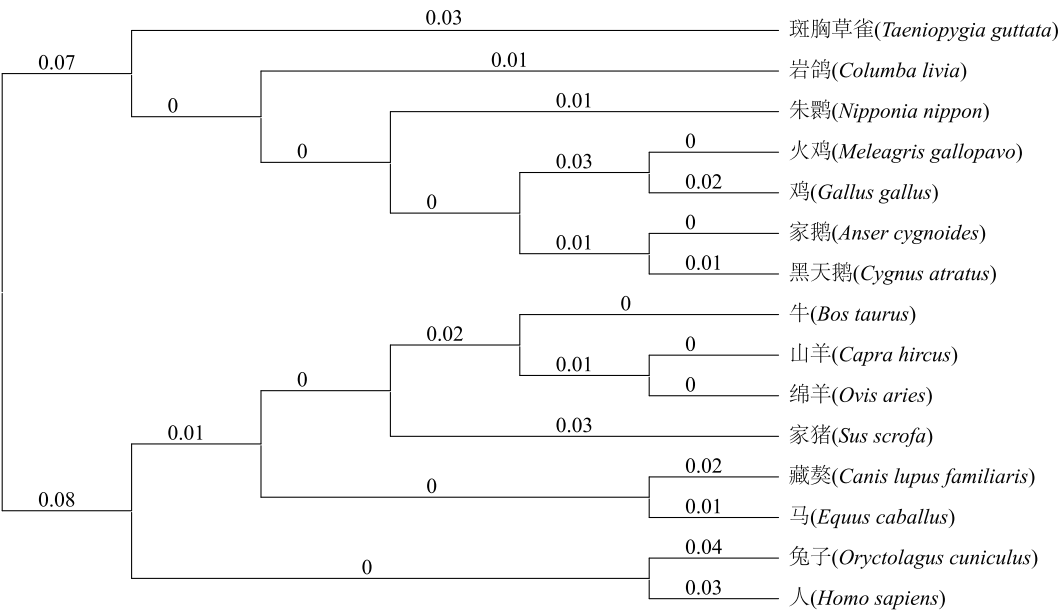


图 2 不同物种 *Fnip1* 基因的系统进化树分析  
Fig.2 Phylogenetic tree analysis of *Fnip1* gene in different species

表 2 鸡 FNIP1 蛋白的氨基酸组成

Table 2 Amino acid composition of FNIP1 protein in chickens					
氨基酸	数量	含量 (%)	氨基酸	数量	含量 (%)
丙氨酸 Ala(A)	73	6.31	甲硫氨酸 Met(M)	34	2.94
半胱氨酸 Cys(C)	30	2.59	天冬酰胺 Asn(N)	54	4.67
天冬氨酸 Asp(D)	66	5.70	脯氨酸 Pro(P)	63	5.45
谷氨酸 Glu(E)	89	7.69	谷氨酰胺 Gln(Q)	52	4.49
苯丙氨酸 Phe(F)	43	3.72	精氨酸 Arg(R)	55	4.75
甘氨酸 Gly(G)	60	5.19	丝氨酸 Ser(S)	138	11.93
组氨酸 His(H)	27	2.33	苏氨酸 Thr(T)	53	4.58
异亮氨酸 Ile(I)	49	4.24	缬氨酸 Val(V)	70	6.05
赖氨酸 Lys(K)	61	5.27	色氨酸 Trp(W)	11	0.95
亮氨酸 Leu(L)	106	9.16	酪氨酸 Tyr(Y)	23	1.99

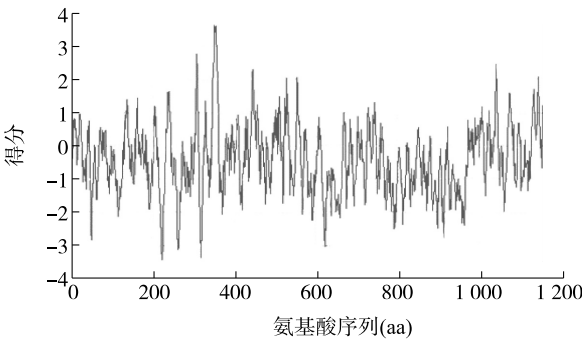


图 3 鸡 FNIP1 蛋白疏水性分析  
Fig.3 Hydrophilic and hydrophobic analysis of FNIP1 protein in chickens

对 FNIP1 蛋白二级结构进行预测,结果如图 4 所示,FNIP1 蛋白主要由  $\alpha$ -螺旋(398 个氨基酸残

基)  $\beta$ -折叠(47 个氨基酸残基),延伸链(159 个氨基酸残基)和无规则卷曲(553 个氨基酸残基)组成,所占比例分别为 34.40%、4.06%、13.74% 和 47.80%。

```

1  MESPLFELNSALSAASSKSEAMLCSSISSKGSWPLPEFDPSQIRLIVYQDCERRGRNVLFDSSAKRKIEDVSVSKLCSDAQVRVFGKCCQLKPGGDSSSSL 100
   hcccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
101 DSSINSSSSFSDAKEQCPKYQGSRCSSDANMLGEMMFVSVAMSYKSTLKIHQIRSPQMLSKVFTARTGSSIIYGLNLTQDSLEFINQDSNTLKPDPHS 200
   ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
201 TIMNGLLGNIVHSNPMMPGREQNEQDRDSGIARSASLSLLITPFPSPGSSFNKSCASSYQRRWRRSQTTSLENGVPFRWSMDESFNLSDDSSGSPGIV 300
   cceechhcecccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
301 RKKKIAIGVIFSLRDEDENNKFNEFFSHFPLFESHMNLKSAIEQLCLVLLICLMLVFKAMKMSRRSADASQSLAYNRIVDALNEFRTTICNLTYMP 400
   httceeeeeeecccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
401 RIGEPVWLTMSGTPEKNQLCHRFMKEFTFLMENAANKQFLPALLTAVLTNHLAWPTVMPNGQPPIRIFLEKHSSQSDMLAKTHPYNPLWAQLGDLYG 500
   cccccceeehtcccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
501 AIGSPVRLAKTVVVGKRHDLVQRLLYFLTYFIRCSELQETHLLENGEDEAIVMPGTVITTTLEKGEVESEYVLVTMHNKRNGLPKESEEMRTPNCSCK 600
   htccccceeeeeeecccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
601 NCKCPISLAQNIIEGVSQQEREDAQNTPKVELETSSDESRTIVPDDGQEDAADGHQPRTCQDTKVESVVTGSSSPEKRVLAESGLEATANMWRNEDVLEA 700
   ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
701 GSQAISATRSPGIAVEKKPPDKLFCDAFPCSAEAQTKVTFLIGDSMSPDSIELRSQAVVEQIARHHSPTAEEGVSAQDQCEAKQTVEDQNRDCGTAE 800
   ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
801 PFPQVASEHQSWNPANAYNAEGMSLFDDNFTDDGSVETRTMDLPGQAAEALLTHNSNLEFSKKLCTKTSKPPSEFCFMDSVRQETYNKCFAEQDQREKI 900
   ccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
901 SIRVPHGDRENAEKKVAPGIDWDIPRNESSDSALGDSESEDAGHELTRPSSNYGGQEDWAEYEIPFPGSKLVEVNSVQPSIANFGRSLLGGYCSSYV 1 000
   eecccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
1 001 PDFVLQIGSDEKLRHCLVSDLSHAVQHPVLDEPIAEAVCIADTDKWTQVASSQRRMIDNKLKKEVLVSSLVSNLLHSTLQLYKHNLSPNFCVMHLED 1 100
   cheeecccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
1 101 RLQELYFKSKMLSEYLGQMRVHVKELGVLGIESSDLPLLAAVASTHSPYVAQILL 1 157
   hhhhhhhhhhhhhhhhhhtttceeeehhtteeecccccceehhhhtccceeeehh

```

h 代表  $\alpha$ -螺旋, t 代表  $\beta$ -折叠, e 代表延伸链, c 代表无规则卷曲。

图 4 鸡 FNIP1 蛋白二级结构分析

Fig.4 Analysis of the secondary structure of FNIP1 protein in chickens

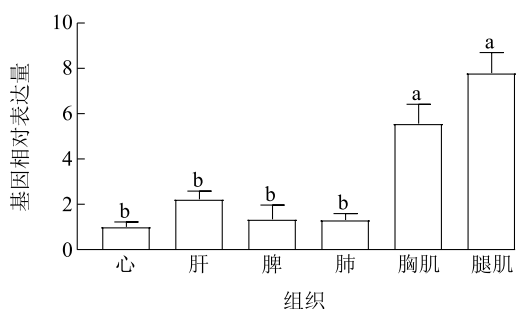
### 2.3 鸡 *Fnip1* 基因在不同组织中的表达

采用 RT-qPCR 方法检测 *Fnip1* 基因在苏禽 3 号肉鸡不同组织中的表达,结果如图 5 所示, *Fnip1* 基因在腿肌和胸肌中的表达量显著高于在心、肝、脾和肺等组织中的表达量 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

家禽肌纤维类型与肌肉品质及生长速度密切相关, *Fnip1* 基因在其他物种和细胞系上的功能已有较多研究。其主要功能是: FNIP1 蛋白抑制热休克蛋白-90 (Hsp90) 的三磷酸腺苷酶 (ATP 酶) 活性, FNIP1 连续磷酸化导致 Hsp90 ATP 酶活性提

高<sup>[8,13]</sup>, FNIP1 的磷酸化可阻止其与 Hsp90 的相互作用,从而促进 FNIP1 泛素化。Siggs 等<sup>[19]</sup>发现 FNIP1 的隐性功能丧失突变体会导致纯合子小鼠具有严重的 B 细胞缺陷,该缺陷可通过抗凋亡蛋白 Bcl2 的过表达而部分恢复。Liu 等<sup>[20]</sup>以哺乳动物小鼠为试验材料,研究发现内含子 miR-499 靶向作用于 *Fnip1* 基因,可能参与调控骨骼肌线粒体功能与肌纤维结构。通过在 *Fnip1* 基因敲除小鼠中特异性回补肌肉中的 FNIP1 蛋白,发现 FNIP1 协同调控了骨骼肌线粒体功能和肌纤维类型。该研究结果揭示了 FNIP1 是肌肉功能关键调节蛋白质,调控肌纤维类型转换,决定骨骼肌健康,为增强肌肉健康以对抗



图柱上不同小写字母表示组织间基因相对表达量差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 5 鸡不同组织 *Fnip1* 基因表达情况

Fig.5 Expression analysis of *Fnip1* gene in different tissues of chickens

各种代谢和肌肉疾病提供了新的线索。Baba 等<sup>[21]</sup>的研究结果表明, FLCN 的 C 末端和 FNIP1 的 300 至 1 166 位氨基酸是 FLCN-FNIP1 结合所必需的。本研究也发现鸡 FNIP1 蛋白氨基酸序列包含 3 个保守结构域, 分别为 FNIP\_N、FNIP\_M 和 FNIP\_C。FLCN 和 FNIP1 可能通过 AMPK 和 mTOR 信号通路参与能量和/或营养感知。Hasumi 等<sup>[22]</sup>使用 HEK293 细胞的免疫共沉淀分析在 FNIP1、FLCN 和 AMPK 蛋白复合物中检测到 FNIP2。FNIP1 和 FNIP2 形成同源和异源二聚体, 进而发挥作用。

本研究聚焦 *Fnip1* 基因在苏禽 3 号黄羽肉鸡中的功能, 了解其基因序列结构, 分析其编码蛋白质特征, 研究其组织表达规律, 发现 *Fnip1* 基因在鸡肌肉组织(腿肌和胸肌)中的表达显著高于心、肝、脾、肺等组织, 且在鸟类中基因序列具有保守性, 这在一定程度上表明, 该基因在肌肉中发挥重要功能。结合 *Fnip1* 基因在其他哺乳动物中的研究结果, 其功能与骨骼肌纤维类型转换深度绑定, 故而可推测其在鸡骨骼肌类型转换中同样起着重要作用。

本研究以苏禽 3 号肉鸡为试验材料, 通过基因克隆方法获得了鸡 *Fnip1* 基因全长序列, 并对其进行了生物信息学分析, 构建了进化树, 发现鸡 *Fnip1* 基因首先与鸟类聚为一类, 再与哺乳动物聚为一支, 在禽类上序列保守, 这与传统的生物进化认知是一致的。对 *Fnip1* 基因在不同组织中的表达进行分析, 结果表明, *Fnip1* 基因可能特异性地在鸡肌肉生长发育中发挥关键作用, 可作为育种中选择不同生长类型品种或品系的标志物。在序列比对过程中发

现, *Fnip1* 基因至少存在 4 种可变剪接体, 这说明该基因在鸡的生长发育过程中发挥多种重要功能。下一步将继续研究 *Fnip1* 基因在中国地方黄羽肉鸡肌肉纤维类型转换中的功能, 建立 *Fnip1* 基因标记辅助选择的方法, 为优质肉鸡育种提供数据和方法支撑。

## 4 结 论

本研究通过基因克隆获得鸡 *Fnip1* 基因 CDS 区序列, 序列全长 3 474 bp, 编码 1 157 个氨基酸残基。构建进化树后发现, 鸡 *Fnip1* 基因与鸟类的聚在一起。组织表达分析结果表明, *Fnip1* 基因在腿肌和胸肌中有较高表达量。本研究结果为进一步研究 *Fnip1* 基因在鸡肌肉生长中的机制提供了基础数据支持。

## 参考文献:

- [1] SAGER R A, WOODFORD M R, MOLLAPOUR M. The mTOR independent function of *Tsc1* and *Fnips* [J]. Trends Biochemical Sciences, 2018, 43 (12): 935-937.
- [2] XIAO L, YIN Y, SUN Z, et al. Ampk Phosphorylation of *Fnip1* (S220) controls mitochondrial function and muscle fuel utilization during exercise [J]. Science Advances, 2024, 10 (6): eadj2752.
- [3] YIN Y, XU D, MAO Y, et al. *Fnip1* regulates adipocyte browning and systemic glucose homeostasis in mice by shaping intracellular calcium dynamics [J]. Journal of Experimental Medicine, 2022, 219 (5): e20212491.
- [4] MALIK N, FERREIRA B I, HOLLSTEIN P E, et al. Induction of lysosomal and mitochondrial biogenesis by AMPK phosphorylation of *Fnip1* [J]. Science, 2023, 380 (6642): eabj5559.
- [5] XIAO L, LIU J, SUN Z, et al. Ampk-dependent and -independent coordination of mitochondrial function and muscle fiber type by *Fnip1* [J]. PLoS Genetics, 2021, 17 (3): e1009488.
- [6] RAMIREZ REYES J M J, CUESTA R, PAUSE A. Folliculin: a regulator of transcription through AMPK and mTOR signaling pathways [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2021, 9: 667311.
- [7] MENG J, FERGUSON S M. GATOR1-dependent recruitment of Fln-Fnip to lysosomes coordinates Rag GTPase heterodimer nucleotide status in response to amino acids [J]. Journal of Cell Biology, 2018, 217 (8): 2765-2776.
- [8] WOODFORD M R, DUNN D M, BLANDEN A R, et al. The FNIP co-chaperones decelerate the Hsp90 chaperone cycle and enhance drug binding [J]. Nature Communications, 2016, 7: 12037.
- [9] ZHOU Q, GU Y, LANG H, et al. Dihydropyridine prevents obesity-induced slow-twitch-fiber reduction partially via FLCN/FNIP1/AMPK pathway [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molec-

- ular Basis of Disease,2017,1863(6):1282-1291.
- [10] SCHMIDT L S, LINEHAN W M. *Fln*; the causative gene for Birt-Hogg-Dubé syndrome[J]. *Gene*,2018,640:28-42.
- [11] GLYKOFRIDIS I E, KNOL J C, BALK J A, et al. Loss of *FLCN-FNIP1/2* induces a non-canonical interferon response in human renal tubular epithelial cells[J]. *Elife*,2021,10:e61630.
- [12] NIEHUES T, ÖZGÜR T T, BICKES M, et al. Mutations of the gene *Fnip1* associated with a syndromic autosomal recessive immunodeficiency with cardiomyopathy and pre-excitation syndrome[J]. *European Journal of Immunology*,2020,50(7):1078-1080.
- [13] SAGER R A, WOODFORD M R, BACKE S J, et al. Post-translational regulation of FNIP1 creates a rheostat for the molecular chaperone Hsp90[J]. *Cell Reports*,2019,26(5):1344-1356.
- [14] 周启程. 二氢杨梅素调控 *flcn-Fnip1/Ampk* 通路抑制肥胖诱导的骨骼肌纤维类型转换[D]. 重庆:第三军医大学,2017.
- [15] 付亮亮. 高低饲料效率猪骨骼肌差异表达蛋白鉴定及肌肉特异表达 *mir-208b* 功能研究[D]. 武汉:武汉华中农业大学,2017.
- [16] 刘 静. 骨骼肌能量代谢与肌纤维结构偶联调控机制研究[D]. 南京:南京大学,2017.
- [17] MADEIRA F, MADHUSOODANAN N, LEE J, et al. The embl-ebl job dispatcher sequence analysis tools framework in 2024[J]. *Nucleic Acids Research*,2024,52(1):521-525.
- [18] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*,2021,38(7):3022-3027.
- [19] SIGGS O M, STOCKENHUBER A, DEOBAGKAR-LELE M, et al. Mutation of *Fnip1* is associated with b-cell deficiency, cardiomyopathy, and elevated *ampk* activity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2016,113(26):3706-3715.
- [20] LIU J, LIANG X, ZHOU D, et al. Coupling of mitochondrial function and skeletal muscle fiber type by a *miR-499/Fnip1/AMPK* circuit[J]. *EMBO Molecular Medicine*,2016,8(10):1212-1228.
- [21] BABA M, HONG S B, SHARMA N, et al. Folliculin encoded by the *BHD* gene interacts with a binding protein, FNIP1, and AMPK, and is involved in AMPK and mTOR signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2006,103(42):15552-15557.
- [22] HASUMI H, BABA M, HASUMI Y, et al. Folliculin-interacting proteins *Fnip1* and *Fnip2* play critical roles in kidney tumor suppression in cooperation with *Fln*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2015,112(13):1624-1631.

(责任编辑:黄克玲)