

高原鼯鼠和高原鼠兔 *CYP3A25* 基因的分子表征及功能分析

谭宇尘¹, 王春霖², 王静², 姚宝辉¹, 师尚礼¹, 苏军虎^{1*}

(1. 甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中一美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070; 2. 兰州职业技术学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要:【目的】探究高原鼯鼠(*Eospalax baileyi*)和高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)*CYP3A25* 基因的分子结构及蛋白质的三维构象差异。【方法】检测高原鼯鼠和高原鼠兔 *CYP3A25* 基因外显子的核苷酸序列情况, 并结合其他 7 种啮齿动物分析其氨基酸序列和蛋白质空间构象差异。【结果】在 PCR 结果检测中成功获得高原鼯鼠和高原鼠兔 *CYP3A25* 基因 CDS 区, 长度均为 1 307 bp, 并检测出基因序列差异及蛋白质空间构象差异。系统发育树构建发现高原鼯鼠与色列盲鼯鼠(*Nannospalax galili*)属于同一分支, 高原鼠兔更趋同于智人(*Homo sapiens*)。对 *CYP3A25* 基因序列差异介导蛋白质空间构象改变分析后, 发现高原鼯鼠和高原鼠兔相较小家鼠都有 3 个氨基酸序列差异导致的蛋白质空间构象改变。【结论】研究表明不同物种 *CYP3A25* 基因存在较大的序列差异, 并且这种序列差异影响了蛋白质的空间构象。说明不同物种在 *CYP3A25* 基因的分子表征和潜在的解毒代谢能力上存在较大差异。研究为理解不同物种的解毒代谢基因差异提供了理论依据。

关键词:高原鼯鼠; 适应能力差异; *CYP3A25* 基因; 氨基酸序列; 蛋白质空间构象。

中图分类号:S812.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)05-0043-08

DOI:10.13817/j.cnki.cyyep.2024.05.005



药物代谢酶系统催化过程是肝脏生物转化能力的重要体现。药物代谢酶系统存在于肝脏微粒体内, 在肝脏对外源性化合物(药物和毒素)和内源性物质进行生物转化过程中起着重要作用^[1-2]。其中细胞色素 P450 酶(cytochrome P450, CYP)家族基因(CYPs)是机体代谢的关键酶^[3-4]。P450 基因家族编码单氧合酶, 催化涉及代谢和合成胆固醇、类固醇和其他脂类的反应, 在肝脏对物质的吸收和代谢中起重要作用^[5]。越来越多的证据表明, P450 基因序列差异可能导致不

同物种对营养吸收和药物代谢产生差异。P450 酶 CYP3A 亚型是动物中最重要的多态性 CYP 酶之一, CYP3A 家族可以由环境持久性化合物以及其他 CYP 异构体诱导^[4]。Kazuki 等^[6]报道, 东京地区耐抗凝血剂类药物的布氏屋顶鼠(*Rattus rattus*), 在给予抗凝血剂类药物后, CYP3A 表达水平较高的布氏屋顶鼠华法林清除率明显升高。2001 年 Dai 等^[7]在实验室用小家鼠(*Mus musculus*)首次鉴定出了 *CYP3A25* 基因型, 并与人类的基因型匹配发现 *CYP3A25* 基因在人体内的表现形式为 *CYP3A4*。国内外常见报道 *CYP3A4* 基因多态性对人体使用抗凝血剂类药物的用药剂量差异和不良反应^[8]。在大鼠体内对 CYP3A 的研究已被广泛应用于药理学、毒理学等许多科学领域, 但是 CYP3A 在核苷酸序列、mRNA 和蛋白表达以及酶活性方面仍然存在不同物种之间的差异^[9]。例如, 有报道称 *CYP1A1* 和 *CYP3A* 基因型显著影响了大鼠还原酶在肝脏中的活性, 导致肝脏的物质代谢能力产生差

收稿日期: 2023-01-10; 修回日期: 2023-04-08

基金资助: 甘肃省高校产业支撑项目(2022CYZC-47); 甘肃省重点研发专项(生态文明建设)(24YFFA058); 甘肃省林草局科技支撑项目(LCJ2021020)

作者简介: 谭宇尘(1994-), 女, 河北唐山人, 博士研究生。

E-mail: sasuke421339218@qq.com

*通信作者。E-mail: jhsu_627@126.com

异。所有这些基因改变都会导致解毒代谢能力差异,所以CYP基因差异被认为是体内药物毒性和代谢差异的原因^[10-11]。而基因型测序,氨基酸和蛋白质空间构象的分析的发展和可用性是对不同物种高分辨率基因组分析经济有效的方法^[4]。因此,明确动物在基因型变化上导致的潜在解毒代谢能力差异是亟待解决的问题。所以,明确不同物种解毒代谢基因和氨基酸序列以及蛋白质空间构象的差异,有助于科学有效的使用组织和索引此类生物信息的数据库,增加对物种间解毒代谢能力差异的了解。目前,尚未对野生高原鼯鼠(*Eospalax baileyi*)和高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)的CYP3A基因型分析、氨基酸序列、蛋白空间构象进行全面检测。

为了促进对不同物种解毒代谢基因型的理解,本文对地上、地下2种不同高原啮齿动物进行了研究。青藏高原冬季环境恶劣,食物资源稀缺^[12]。高原鼯鼠是青藏高原典型的地下食草动物。它大部分时间生活在洞穴中,环境条件恶劣,通过挖掘获取食物^[13-15]。高原鼠兔是青藏高原地上食草动物,通过挖洞筑窝的方式互补相连的洞穴,躲避冷酷的气候。与高原鼯鼠不同的是,高原鼠兔选择在地上取食^[16]。高原鼯鼠和高原鼠兔的这种因生存空间不同而存在取食宽度和取食行为的差异。使它们在生理和遗传上具有其独特的解毒代谢能力,成为研究食草动物解毒代谢基因差异的良好对象。

本研究旨在阐明P450解毒代谢基因在青藏高原的高原鼯鼠和高原鼠兔基因序列差异。检测2种动物CYP3A25基因核苷酸变异情况,通过识别CYP3A25

基因差异来填补这一科学知识空白,为理解青藏高原地区不同物种解毒代谢基因差异提供参考。

1 材料和方法

1.1 样品采集

高原鼯鼠采自天祝藏族自治区(37°21'45.95" N, 102°70'10.72" E),高原鼠兔采自碌曲(34°59'70.42" N, 102°46'67.36" E)。每种动物随机选取3个个体,处死后保留肌肉组织,置于液氮中固定和临时保存,随后转移至-80℃冰箱中长期保存。

1.2 RNA提取和cDNA合成

使用Takara试剂盒按照制造商的说明对高原鼯鼠和高原鼠兔RNA进行提取。提取后的RNA经过紫外线分光光度仪检测得到RNA浓度为130~220 μg/uL,OD值为1.8~2.1,说明RNA完整且浓度合适。使用艾科瑞逆转录试剂盒根据说明对RNA进行cDNA合成,合成后的cDNA保存于-20℃等待后续实验。

1.3 引物设计

通过将转录组数据分析后得到高原鼯鼠与高原鼠兔的DNA序列与在NCBI上已发表的褐家鼠(*Rattus norvegicus*)序列(NM_203335.2)和亲缘关系较近的同科物种色列盲鼯鼠(*Nannospalax galili*)序列(XM_004856224.3)等的CYP3A25基因序列进行序列对比分析。用Primer3Input(Version0.4.0)软件对CYP3A25基因设计引物(表1)。设计序列1为CYP3A25基因外显子2-4区域,序列2为高原鼯鼠外显子6-13区域。引物序列由西安擎科泽西生物科技有限公司合成。

表1 CYP3A2基因引物序列
Table 1 Primer sequence of CYP3A2 gene

物种名称	引物序列	退火温度/℃	片段长度/bp
高原鼯鼠	F:5'-TGAGAGCAAACCTCATGCCA-3'	54.0	837
	R:5'-TATGTTTGGGGCGTACAGCAT-3'		
	F:5'-GATTTGGGACCCGCACACAT-3'	55.5	423
	R:5'-ACAGGTTTGCCTTTCTCTTGC-3'		
高原鼠兔	F:5'-AGCAAGAAGAACAAGGGTAGCA-3'	53.5	837
	R:5'-AGGCTCTGGCCAGTACTTTG-3		
	F:5'-GATTTGGGACCCGCACACAT-3'	55.5	423
	R:5'-ACAGGTTTGCCTTTCTCTTGC-3		

1.4 PCR扩增产物处理及基因型分析

使用聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)对目的基因进行扩增,反应包含10× buffer缓冲液,0.5 μL的dNTP,0.3 μL的TaqDNA聚合酶,1 μL(10 μg/mL)的引物和1 μL的模板DNA,反应体系为25 μL。扩增条件为95℃ 4 min,在35个循环内执行94℃ 40 s,退火40 s,72℃ 30 s,最后72℃延伸10 min结束扩增。PCR扩增产物初步经凝胶电泳检测样本基因序列长度。将成功扩增出的序列送至西安擎科泽西生物科技有限公司进行基因序列测序分析。对测得的两个外显子区域使用MEGA 7.0软件进行拼接,最后得到高原鼯鼠和高原鼠兔的CYP3A25基因的全部CDS序列。

1.5 数据分析

所得CYP3A25基因外显子测序结果和氨基酸差异位点用MEGA 7.0进行编辑比较。在NCBI网站上下载7种啮齿动物的CYP3A25基因序列和智人CYP3A4基因。9种啮齿动物参考序列分别为小家鼠NM_019792.2,鹿鼠(*Peromyscus maniculatus bairdii*) LOC102915864,色列盲鼯鼠LOC103726480,东方田鼠(*Microtus fortis*) LOC126495469,琉球小家鼠(*Mus caroli*) LOC110294273,非洲草鼠(*Arvicanthis niloti-*

cus) LOC117697808,棕背鼯(*Myodes glareolus*) LOC125399858。智人(*Homo sapiens*)参考序列为NM_001202855.3。用DNASTAR软件包(<http://www.dnastar.com/>)中的Megalign软件分析DNA序列和氨基酸序列的相似性(%)。所得差异的氨基酸三维模型使用SWISS-MODEL进行CYP3A25蛋白质三维结构预测细化和评价。

2 结果

2.1 种间CYP3A25基因全序列扩增结果和基因序列拼接

高原鼯鼠CYP3A25基因外显子PCR结果使用琼脂糖凝胶电泳进行检测,得到高原鼯鼠CYP3A25基因CDS区序列部分条带,观察到扩增的2个序列长度在400~500 bp和750~1 000 bp之间,说明测序结果比较理想(图1)。

对高原鼯鼠和高原鼠兔的CYP3A25基因序列外显子区进行了扩增和测序,得到序列长度为420 bp和837 bp。经blast搜索与MEGA比对,得到高原鼯鼠和高原鼠兔CYP3A25基因编码区的部分CDS序列,长度均为1 307 bp。与小家鼠、色列盲鼯鼠的CYP3A25基因序列相匹配,说明成功扩增出高原鼯鼠和高原鼠兔的CYP3A25基因序列。

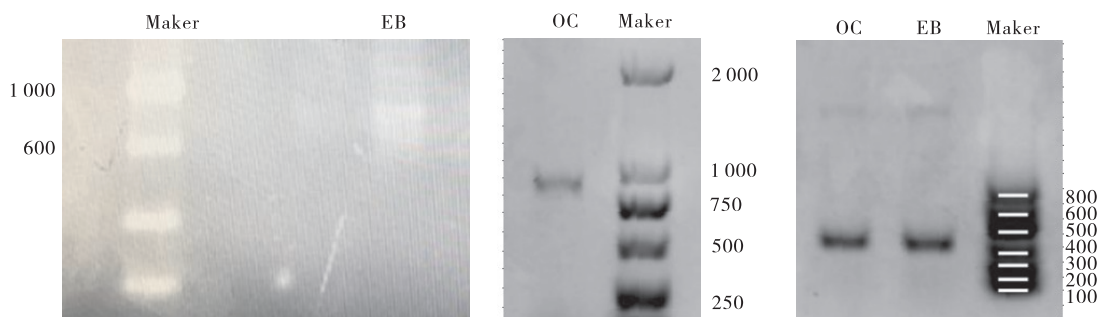


图1 CYP3A25 PCR产物琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Agarose electrophoresis results of CYP3A25 PCR product

注:M为DNA Marker。OC为高原鼠兔,EB为高原鼯鼠,下同。

2.2 系统发生树的重建

使用10个物种来构建系统进化树,其中包括9种啮齿动物和智人(*Homo sapiens*)。经过最大复合似然Neighbor-Join和BioNJ算法构建的CYP3A25基因进化树显示了高原鼯鼠和高原鼠兔的聚类拓扑结构(图2)。在进化树上,色列盲鼯鼠和高原鼯鼠在啮齿动物上属于同一分支。高原鼠兔和高原鼯鼠在

CYP3A25基因进化树上并没有趋同,高原鼠兔与智人属于同一分支,在啮齿动物和智人中趋同于智人。

2.3 种间CYP3A25基因变异情况

将拼接好的CYP3A25基因与7种啮齿动物和智人的CYP3A25基因编码区进行比对后发现。高原鼯鼠相较小家鼠存在50个氨基酸差异位点(图3),与小家鼠的氨基酸序列差异在19.6%,与高原鼠兔的氨基

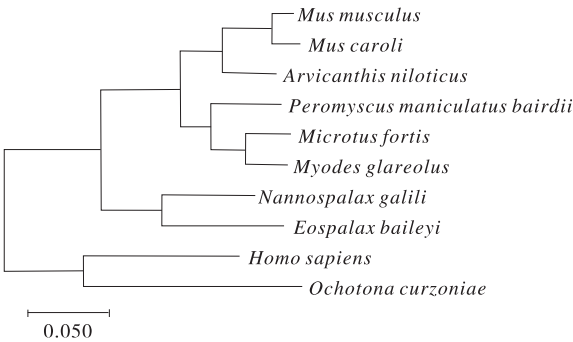


图2 基于贝叶斯模型的MrBayes构建细胞色素b
基因系统发育树

Fig. 2 Construction of cytochrome b gene phylogenetic tree
based on Bayesian model MrBayes

表2 本研究中高原鼯鼠、高原鼠兔及7种啮齿动物和智人CYP3A25基因编码区DNA序列(下三角)和
氨基酸序列(上三角)差异度

Table 2 The difference degree of DNA sequence (lower triangle) and amino acid sequence (upper triangle) in CYP3A25 gene
coding region of plateau zokors, plateau pikas, 7 species of rodents and Homo sapiens in this study

Specie	MM	PMB	NG	MF	MC	AN	MG	HS	OC	EB
MM		0.172	0.244	0.162	0.040	0.087	0.165	0.329	0.383	0.236
PMB	0.128		0.252	0.126	0.189	0.174	0.148	0.350	0.414	0.236
NG	0.197	0.186		0.257	0.257	0.238	0.265	0.335	0.350	0.167
MF	0.129	0.099	0.200		0.160	0.167	0.069	0.327	0.380	0.246
MC	0.030	0.131	0.203	0.130		0.101	0.167	0.341	0.401	0.244
AN	0.073	0.120	0.197	0.134	0.075		0.177	0.341	0.386	0.220
MG	0.134	0.100	0.203	0.061	0.132	0.135		0.338	0.395	0.249
HS	0.275	0.267	0.269	0.267	0.272	0.277	0.268		0.249	0.347
OC	0.312	0.305	0.288	0.316	0.316	0.310	0.314	0.213		0.365
EB	0.210	0.199	0.130	0.213	0.215	0.210	0.207	0.273	0.304	

注:MM为小家鼠,PMB为鹿鼠,NG为色列盲鼯鼠,MF为东方田鼠,MC为琉球小家鼠,AN为非洲草鼠,MG为棕背䟽,HS为智人,下同。

2.4 CYP3A25基因变异介导蛋白质空间构象改变

为了进一步了解CYP3A25蛋白质空间构象,将小家鼠,高原鼠兔和高原鼯鼠的CYP3A25氨基酸序列导入SWISS-MODEL进行分析。进一步探究SNP是否影响高原鼯鼠的蛋白质空间构象的改变,从而改变P450酶功能。然而,高原鼯鼠和高原鼠兔所有氨基酸序列差异只有3个氨基酸序列变异位点可以导致蛋白质空间构象的改变(图3)。结果表明,高原鼯鼠CYP3A25氨基酸相对小家鼠出现Ala262Asp,原本卷曲的侧链变直,导致在蛋白质空间构象上出现侧链冲突(图4-A,4-B)。相对小家鼠和高原鼠兔出现Gly283ASP和Gln284Lys,导致蛋白质侧链冲突(图4-A,4-B,4-C)。高原鼠兔CYP3A25氨基酸相对小家鼠

酸序列差异在37.3%(表2)。高原鼠兔相较小家鼠存在85个氨基酸变异位点,与小家鼠的序列差异在36.7%(表2,图3)。

在氨基酸序列差异上,高原鼠兔与智人的氨基酸差异度最小。高原鼯鼠虽然与色列盲鼯鼠在进化树上处于同一分支。但是在CYP3A25基因编码区所翻译的CYP3A25氨基酸序列水平中,与浅滩田鼠(Myodes)的氨基酸差异度最近。所有啮齿动物之间的CYP3A25都存在基因和氨基酸序列水平上较大的差异度。这说明不同种群的啮齿动物面对自己的生存环境有其特有的解毒代谢方式。

出现Ala262Lys,相对小家鼠出现蛋白质空间构象改变,但是对比高原鼯鼠无蛋白质构象改变(图4-A,4-C)。相对小家鼠和高原鼯鼠出现Gly283Glu和Gln284Ile,导致原本的侧链发生卷曲,蛋白质空间构象发生改变(图4-A,4-B,4-C)。

3 讨论

CYP3A是一种非常重要的细胞内解毒代谢基因家族,它可以影响细胞的代谢活性,以及药物的代谢和分布^[17]。对CYP3A25基因遗传变异分析,有助于对不同啮齿动物的管理和防控提供科学合理的解释^[18]。然而,关于CYP3A25基因在食草动物中的功能和作用研究远不如在人类中深入。在本研究中,检

结合活性和单加氧酶活性,是调节解毒代谢的关键基因^[19]。基于本研究检测的10个物种,高原鼯鼠的系统发育树与其他啮齿动物的系统发育树不同,与色列盲鼯鼠的系统发育树更接近。这可能是因为它们同属于鼯形鼠科。然而同为高原啮齿动物的高原鼠兔和高原鼯鼠的进化树也没有趋同,这可能是因为高原鼠兔属于兔形目,在系统发育分析中与同为啮齿动物的啮齿目没有趋同进化。这可能表示 *CYP3A25* 基因在进化过程中相对保守。

不同物种的P450基因差异所导致的P450解毒代谢酶功能改变能使其在生境中获得生存优势,以适应更为恶劣的生存环境^[20]。在食草动物中,P450基因的差异主要与肝脏的解毒代谢能力有关。Brian等^[21]2011发现 *CYP2C9* 基因的等位基因变异会使个体更易对抗凝血剂类药物敏感。这种变异主要影响P450酶空间构象的改变,导致P450酶对底物结合能力发生改变,从而使得个体产生解毒代谢能力差异^[22]。本研究中发现的高原鼯鼠和高原鼠兔的 *CYP3A25* 基因序列差异导致氨基酸Ala262、Gly283和Gln284位点改变,蛋白质结构呈不同方向叠加,螺旋打开,卷曲的侧链变直。使得P450酶在底物结合时发生静电相互作用的差异,这可能导致额外的水分子进入活性位点^[23-24]。因此,观察到 *CYP3A25* 基因序列差异将导致底物活化和酶转换的差异,就可能导致高原鼯鼠和高原鼠兔肝脏存在解毒代谢能力差异^[25]。而出现这种差异的原因则可能是因为高原鼯鼠和高原鼠兔取食宽度不同。这样的取食方式会使高原鼯鼠和高原鼠兔获得极强的肝脏解毒代谢能力,从而与其他物种产生细胞色素P450基因差异。所以对高原鼯鼠和高原鼠兔肝脏解毒代谢基因序列检测和蛋白质空间构象的分析也可以成为预测解毒代谢能力差异的潜在方式^[26-27]。然而食草动物肝脏解毒代谢能力是一个复杂的过程,本研究尚未分析 *CYP3A25* 基因序列差异导致肝脏实际解毒代谢速率不同。因此,还需要进一步的工作来分析基因差异和代谢能力之间的相关性。

啮齿类抗药性传统的检测多用敏感性测定,该方法需要进行捕捉、饲养和适口性分析等^[2],很难进行大规模的种群抗性评估,而生理生化酶活性的测定方法

也需要采集血样等进行分析,亦具有过程复杂等特点。随着分子生物学技术的发展,获得啮齿类DNA的技术和手段日趋完善和简便,这为分子检测提供了极大的便利。本研究在前期研究的基础上,候选影响啮齿动物解毒代谢能力潜在基因,并结合已知的变异位点,首次对高原鼯鼠和高原鼠兔进行了检测。同样,其他 *CYP3A2* 基因型的改变也可能在其他啮齿动物对抗凝血剂类药物产生适应能力差异中发挥作用。在分子抗性水平上的其他研究发现, *CYP3A2* 基因变异是对啮齿类动物对抗凝血杀鼠剂产生适应能力差异的重要原因之一, *CYP3A2* 基因编码的酶是维生素K环氧化物还原酶复合体亚基1,这种酶的蛋白复合体是负责减少维生素K 2,3-epoxide活性形式,从而有效控制凝血的过程^[28]。这种基因突变可能与维生素K依赖性凝血因子缺乏相关^[29]。因此其他基因型差异也会同样造成啮齿动物的解毒代谢能力产生差异。所以,针对解毒代谢能力产生差异的啮齿动物,还可以加大对种群的监控,或使用生物防治法如加大采用C型、D型肉毒素的防治或引入狐属(*Vulpes*)、鹰属(*Accipiter*)天敌等其他防治方法,来有效控制啮齿动物的种群数量。其次从环境治理方面,结合草地管理措施开展(清理啮齿动物的活动繁殖场所,或者通过草地改良补播等)基础综合控制和防治重点场所设施的完善,或者开展新药和新剂型的发展^[30],都可以对啮齿动物的种群数量进行有效的控制。

4 结论

在 *CYP3A25* 基因进化树分析中高原鼯鼠和色列盲鼯鼠趋同而高原鼠兔和人类趋同。基因和氨基酸序列中与其他7种啮齿动物差距一致,大部分差异位点均为有义突变。高原鼯鼠和高原鼠兔相较于小家鼠的Ala262、Gly283和Gln284处氨基酸差异影响了蛋白质空间构象改变,会对解毒代谢能力造成影响。研究结果为青藏高原地区草地鼠害防控提供了参考。

参考文献:

- [1] 熊巍,赵佳佳,王凌,等. 他莫昔芬药物基因组学研究进展[J]. 药学学报,2016,51(9):1356-1367.
- [2] Hu X, Ni J, Gao N, *et al.* The effect of *CYP3A4* genetic polymorphism and drug interaction on the metabolism of isradefylline[J]. Chem Biol Interact, 2022, 1(366):110123.

- [3] Qin X, Zhang Y, Lu J, *et al.* CYP3A deficiency alters bile acid homeostasis and leads to changes in hepatic susceptibility in rats[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, 15(429): 115703.
- [4] Lee S, An J U, Kim W H, *et al.* Different threats posed by two major mobilized colistin resistance genes —mcr—1.1 and mcr—3.1— revealed through comparative genomic analysis [J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2022, 23: 134—144.
- [5] Takeda K, Ikenaka Y, Tanikawa T, *et al.* Novel revelation of warfarin resistant mechanism in roof rats (*Rattus rattus*) using pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis [J]. *Pestic Biochem Phys*, 2016, 134: 1—7.
- [6] Smith G, Stubbins M J, Harries L W, *et al.* Molecular genetics of the human cytochrome P450 monooxygenase superfamily[J]. *Xenobiotica*, 1998, 28(12): 1129—1165.
- [7] Sakai N, Sakamoto K S. The importance of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K on cytochrome P450 2D2 gene regulation: its binding is reduced in dark agouti rats[J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37(8): 1703—1710.
- [8] Ozer N, Cam N, Tangurek B, *et al.* The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements in an adult Turkish population [J]. *Heart Vessels*, 2010, 25 (2): 155—162.
- [9] Sconce E A, Khan T I, Wynne H A, *et al.* The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen [J]. *Blood*, 2005, 106 (7): 2329—2333.
- [10] Trusov G A, Balakina L A, Shipelin V A, *et al.* Effect of resveratrol, carnitin, quercetin and aromatic amino acids on the xenobiotic metabolising and antioxidant enzymes in the liver during obesity in rats with different genotypes [J]. *Voprosy Pitaniia*, 2021, 90(2): 50—62.
- [11] Zangar R C, Davydov D R, Verma S. Mechanisms that regulate production of reactive oxygen species by cytochrome P450 [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2004, 199 (3): 316—331.
- [12] Zhang T Z, Lin G H, Nevo E, *et al.* Cytochrome b gene selection of subterranean rodent Gansu zokor *Eospalax cansus* (Rodentia, Spalacidae) [J]. *Zool Anz*, 2013, 252 (1): 118—122.
- [13] Tan Y C, Liu Q Q, Wang Z C, *et al.* Plateau zokors (*Eospalax baileyi*) respond to secondary metabolites from the roots of *Stellera Chamaejasme* by enhancing hepatic inflammatory factors and metabolic pathway genes [J]. *Comp Biochem Phys C*, 2022, 258: 109368.
- [14] 赵云, 张鹤山, 张德罡. 鼢鼠破坏对天祝高寒草地土壤营养的影响[J]. *草原与草坪*, 2009, 136(5): 17—19+22.
- [15] 王艳莉, 姚宝辉, 谭宇尘, 等. 高原鼢鼠阴道涂片 HE、瑞氏和快速革兰氏染色法比较[J]. *草原与草坪*, 2021, 41 (5): 119—124.
- [16] Speakman J R, Chi Q, Oldakowski Ł, *et al.* Surviving winter on the Qinghai—Tibetan Plateau: Pikas suppress energy demands and exploit yak feces to survive winter [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118 (30): e2100707118.
- [17] 李华. 中国鼢鼠亚科的分类研究[J]. *首都师范大学学报(自然科学版)*, 1995, 6(1): 75—80.
- [18] Takara K, Ohnishi N, Horibe S, *et al.* Expression profiles of drug—metabolizing enzyme CYP3A and drug efflux transporter multidrug resistance 1 subfamily mRNAs in rat small intestine[J]. *Drug Metab Dispos*, 2003, 31(10): 1235—1239.
- [19] Sugano S, Kobayashi T, Tanikawa T, *et al.* Suppression of CYP3A2 mRNA expression in the warfarin—resistant roof rat, *Rattus rattus*: possible involvement of cytochrome P450 in the warfarin resistance mechanism [J]. *Xenobiotica*, 2001, 31(7): 399—407.
- [20] Ishizuka M, Okajima F, Tanikawa T, *et al.* Elevated warfarin metabolism in warfarin—resistant roof rats (*Rattus rattus*) in Tokyo [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(1): 62—66.
- [21] Finkelman B S, Gage B F, Johnson J A, *et al.* Genetic warfarin dosing: tables versus algorithms[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(5): 612—618.
- [22] Roccatano D. Structure, dynamics, and function of the monooxygenase P450 BM—3: insights from computer simulations studies[J]. *J Phys Condens Matter*, 2015, 27(27): 273102.
- [23] Mokkawas T, de Visser S P. Melatonin Activation by Cytochrome P450 Isozymes: How Does CYP1A2 Compare to CYP1A1? [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 3651.
- [24] De Sciscio M L, Nardi AN, Parisi G, *et al.* Effect of Salts on the Conformational Dynamics of the Cytochrome P450 OleP [J]. *Molecules*, 2023, 28(2): 832.
- [25] 刘文波, 陈禹保, 邢玉华. 细胞色素 P450 基因多态性与药物代谢研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2016, 36 (12): 104—110.

- [26] Aiba T, Yoshinaga M, Ishida K, *et al.* Intestinal expression and metabolic activity of the CYP3A subfamily in female rats[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(2): 311—315.
- [27] Hartley J A B J. The size and age structure of rural populations of *Rattus Norvegicus* containing individuals resistant to the anticoagulant poison warfarin[J]. *J Anim Ecol*, 1976, 45: 623—646.
- [28] Song Y, Endepols S, Klemann N, *et al.* Adaptive introgression of anticoagulant rodent poison resistance by hybridization between old world mice[J]. *Curr Biol*, 2011, 21(15): 1296—1301.
- [29] Grandemange A, Lasseur R, Longin—Sauvageon C, *et al.* Distribution of VKORC1 single nucleotide polymorphism in wild *Rattus Norvegicus* in France [J]. *Pest Manag Sci*, 2009, 66(3): 270—276.
- [30] Ishizuka M, Tanikawa T, Tanaka K D, *et al.* Pesticide resistance in wild mammals—Mechanisms of anticoagulant resistance in wild rodent[J]. *J Toxicol Sci*, 2008, 33(3): 283—291.

Molecular characterization and functional analysis of *CYP3A2* gene in plateau zokor and plateau pika

TAN Yu-chen¹, WANG Chun-lin², WANG Jing², YAO Bao-hui¹,

SHI Shang-li¹, SU Jun-hu^{1*}

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China; 2. Lanzhou Vocational and Technical College, Lanzhou 730020, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to investigate the molecular structure and spatial conformation of the *CYP3A25* gene in plateau zokor (*Eospalax baileyi*) and plateau pikas (*Ochotona curzoniae*). 【Method】 Nucleotide sequences of the *CYP3A25* gene exons were detected in both species and, and amino acid sequences and protein spatial conformations were analyzed in comparison with seven other rodent species. 【Result】 PCR successfully amplified the CDS region of the 1 307 bp-long *CYP3A25* gene for both zokors and pikas, revealing differences in gene sequence and protein spatial conformation. A phylogenetic tree was constructed, demonstrating that the plateau zokor and the blind mole (*Nannospalax galili*) were closely related, while the plateau pika was more comparable to humans (*Homo sapiens*). Analysis of *CYP3A25* gene variation revealed three amino acid mutations in plateau zokor and plateau pika, resulting in changes to protein spatial conformation compared to *Mus*. 【Conclusion】 This study identifies significant sequence differences in the *CYP3A25* gene among different species, impacting the spatial conformation of proteins. These findings suggest important variations in molecular characteristics and potential detoxification metabolism across species, providing insights into genetic differences in detoxification pathways.

Key words: plateau zokor; adaptability difference; *CYP3A25* gene; amino acid sequence; protein spatial conformation.

(责任编辑:刘建荣)