

# 斑马鱼血管紧张素转换酶 (ACE) 的生物信息学分析

刘淑集<sup>1</sup>, 吴成业<sup>1</sup>, 单超<sup>2</sup>, 王爱荣<sup>2</sup>, 王宗华<sup>2</sup>

(1 福建省水产研究所, 福建 厦门 361012; 2 福建农林大学, 福建 福州 350002)

**摘要:** 采用生物信息学方法对模式生物斑马鱼中的血管紧张素转换酶进行了系列预测分析。结果表明, 斑马鱼中有两个 ACE 基因, 它们所编码的蛋白分别由 1 324 和 785 个氨基酸组成, 其中 1 个是酸性蛋白, 在水中不稳定, 没有信号肽, 属线粒体跨膜蛋白; 另一个为酸性水溶性稳定蛋白, 有信号肽。它们均含保守的 Pfam Pep tidase\_M2 结构域, 属于 M2 家族蛋白。通过 ESTs 搜索发现这两个基因在斑马鱼不同组织和不同发育期的表达情况存在较大的差异。同源性比对和系统发育分析表明, 斑马鱼 ACE 蛋白与低等脊椎动物 (红原鸡、热带爪蟾等)、高等脊椎动物 (人、鼠等) 的同源性较高, 达 60% 以上, 说明 ACE 蛋白在系统演化上比较保守。

**关键词:** 斑马鱼; 血管紧张素转换酶; 生物信息学

中图分类号: S 917

文献标识码: A

## Bioinformatic analysis of angiotensin converting enzyme in *Danio rerio*

LIU Shuji<sup>1</sup>, WU Chengye<sup>1</sup>, SHAN Chao<sup>2</sup>, WANG Ai rong<sup>2</sup>, WANG Zonghua<sup>2</sup>

(1. Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen, Fujian 361012, China; 2 Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

**Abstract:** Angiotensin converting enzyme (ACE) in *Danio rerio* was predicted and analyzed by using bioinformatic tools. The results showed that there were two ACE genes, i.e., wu: fb81h03 and danio: ace2, encoding 1324 and 782 amino acids, respectively, in *Danio rerio* genome. Wu: fb81h03 is an acidic, water soluble, unstable mitochondria trans membrane protein containing no signal peptide. On the other hand, danio: ace2 is an acidic, water soluble, stable and contains a signal peptide. Both of them include a conserved domain, Pfam Peptidase\_M2, indicating that they belong to M2 family proteins. Through the analysis of ESTs, these 2 genes were found to express differentially in different tissues and growth stages. Homology BLAST and phylogenetic analysis indicated that *D. rerio* ACE was close to ACEs from lower vertebrates (e.g., *Gallus gallus* and *Xenopus (Silurana) tropicalis*) and higher vertebrates (e.g., human and mouse). The homological percentage was more than 60%, suggesting that the ACE was conserved through the evolution process.

**Key words:** *Danio rerio*; angiotensin converting enzyme; bioinformatic analysis

血管紧张素转换酶 (Angiotensin converting enzyme, ACE), 最早是 Skeggs 于 1954 年从马的血液中发现的, 又称肽酰基二肽水解酶。之后, Soubrier 等<sup>[1]</sup>、Hubert 等<sup>[2]</sup>先后在 1988 年、1991 年成功地克隆了人的 ACE 基因<sup>[3]</sup>。ACE 是肾素-血管紧张素系统 (Renal Angiotensin System, RAS) 的重要组成部分, 是一种与细胞膜结合的含锌金属蛋白酶, 结构类似于蛋白羧化酶 A, 对血压、电解质和体液平衡、心血管系统发育和结构重塑起重要作用<sup>[4]</sup>。研究表明, 几乎所有哺乳动物的组织和体液中均有 ACE 存在。人 ACE 基因

位于染色体 17q23 上, 长 23 kb, 可编码 1 306 个氨基酸<sup>[5]</sup>, 含有 2 个同源结构域, 在羧基端有一疏水区, 可能是 ACE 与细胞膜结合的部位。由于 ACE 基因多态性与多种心脑血管疾病的发生发展密切相关<sup>[6]</sup>, 因此 ACE 已成为筛选降压药物的靶点, 筛选出来的 ACE 抑制剂类药物已成为常见的临床应用中的降压药物。2000 年 Donoghue 等<sup>[7-8]</sup>首先发现 ACE 的同系物, 命名为 ACE2。ACE2 与人 ACE 具有同源性, 其两个活性中心与 ACE 分别具有 42% 和 61% 的相似性, 但在生理功能上却有所不同<sup>[9-10]</sup>。此后, 在其他物种如兔、小鼠、

收稿日期: 2009-02-13 初稿; 2009-04-29 修改稿

作者简介: 刘淑集 (1981-), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事海洋生物学利用研究 (E-mail: cute506636@163.com)

通讯作者: 吴成业 (1953-), 男, 研究员, 主要从事水产品加工利用研究 (E-mail: wcy@fjscs.ac.cn)。

基金项目: 福建省自然科学基金 (2008J0251)

大鼠、鸡、牛、黑猩猩、果蝇等中均发现了 ACE-like 蛋白酶，且具有较高的同源性，均为含锌的蛋白，ACE 和这些同源物组成了 M2 糖锌家族<sup>[11]</sup>。

斑马鱼(*Danio rerio*)起源于印度，是一种小型的热带鱼类，基因组含有约 30 000 个基因，与人的基因数目相当，且基因型与人类非常类似，相似度达到 87%，许多基因与人体存在着一一对应的关系<sup>[12]</sup>。随着分子生物学的发展及科学家对斑马鱼的重视，斑马鱼已经成为一种重要的研究动物及人类发育或疾病的低等的模式脊椎动物，可以作为目的基因在脊椎动物中的表达和功能研究的重要材料。

本文利用生物信息学的方法，分析模式生物斑马鱼中 ACE 的序列，预测其结构、功能及其系统演化关系，有助于研究人员对于该蛋白及类似蛋白性质的了解，对进一步利用生物化学和分子生物学手段研究 ACE 的理化性质和分子生物学性质具有一定的理论指导作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 斑马鱼 ACE 基因序列的搜索及其理化特性预测

从美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的 GenBank 中检索获得到人 ACE 基因的核酸序列及蛋白质序列。将搜索到的序列在斑马鱼基因组中 BLAST 比对，查找分析斑马鱼中人类 ACE 基因的同源序列。

利用 Expert Protein Analysis System(ExPASy) Proteomics tools 分析预测斑马鱼 ACE 基因编码蛋白质氨基酸的相对分子质量、等电点、在溶液中的稳定性以及疏水性等理化性质<sup>[13]</sup>。应用 Target P 1.1 Serve 对其亚细胞定位进行预测。

### 1.2 斑马鱼 ACE 蛋白质信号肽、功能域与基序分析预测

利用 SignalP 软件<sup>[14]</sup>对斑马鱼 ACE 蛋白信号肽及跨膜螺旋区进行预测；通过 Pfam、SMART 软件<sup>[15]</sup>和 Scansite 软件分析预测斑马鱼 ACE 蛋白

的保守结构功能域。将斑马鱼 ACE 多肽序列提交 Scan Prosite 数据库，对一级结构中糖基化、脂酰化、磷酸化、硫酸化、GPI 锚着位点等修饰位点和模序<sup>[16]</sup>进行预测分析。

### 1.3 斑马鱼 ACE 蛋白的表达特点分析

利用斑马鱼数据库和 NCBI 已有的蛋白序列以及分析工具，通过对 EST 表达数目的分析，汇总表达的 EST 数目，得出斑马鱼 ACE 蛋白在不同组织和发育阶段的表达特点。

### 1.4 斑马鱼 ACE 蛋白质的空间结构预测

利用 SWISS-MODEL 工具向蛋白质立体结构数据库 PDB(Protein Data Bank) 提交 ACE 蛋白多肽序列获得同源模建的模板，以 Swiss-PdbViewer 软件评估修正模拟蛋白的空间构象<sup>[17]</sup>。

### 1.5 不同物种 ACE 基因进化关系的分析

用 NCBI 网站中的 BLAST 程序对斑马鱼 ACE 氨基酸序列进行同源性比对获得相似性、一致性较高的不同物种的 ACE 氨基酸序列。然后应用生物学软件 DNASTar 程序中 MegAlign 工具，将这些物种的 ACE 氨基酸序列进行“多序列”的同源性比对，绘制分子进化树，进行系统演化关系分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 斑马鱼 ACE 基因序列的获得，蛋白序列组成及理化特性预测

通过 NCBI 数据库检索，查找人 ACE 基因的核酸序列及蛋白质序列，得到人 ACE 基因的核酸登录号为 NM\_000789，蛋白质登录号为 NP\_000780。然后将序列在斑马鱼基因组中 BLAST 比对，获得斑马鱼中与人 ACE 基因同源的序列，有 2 个基因，分别为“wu: fb81h03”和“Angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 2 (danio: ace2)”，分别位于斑马鱼第 12 条和第 11 条染色体上，NCBI 登录号分别为 XP\_694336 和 NP\_001007298，分别编码 1 324 个氨基酸序列和 785 个氨基酸序列；其中 wu: fb81h03 有 19 个外显子编码，而 danio: ace2 有 14 个外显子编码(图 1)。

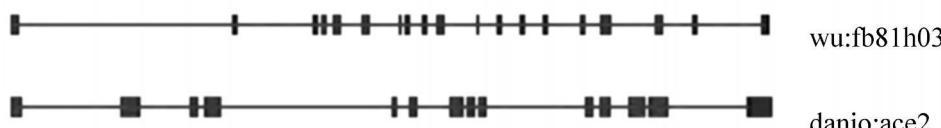


图 1 斑马鱼 ACE 基因结构图

Fig 1 Structure of *D. rerio* ACE gene

分别对斑马鱼 ACE 基因编码的氨基酸理化性质进行预测, 结果见表 1。预测 wu: fb81h03 蛋白等电点为 5.72, 酸性不稳定蛋白; danio: ace2 等电点为 5.09, 酸性稳定蛋白。根据 Kyte 和 Doolittle 的方法<sup>[18]</sup>, 对斑马鱼 wu: fb81h03 和 danio: ace2 的疏水/亲水性进行了分析, 结果显示, 疏水性平均值 (average hydrophobicity) 分别为 -0.467 和 -0.435, 根据 GRAVY 值的范围在 2 与 -2 之间, 正值表明此蛋白为疏水蛋白, 负值表明为亲水蛋白, 因此属于水溶性蛋白。应用 TargetP 对它们的亚细胞定位进行预测和分析发现, 斑马鱼的 ACE 蛋白“wu: fb81h03”定位于线粒体的可能性最大, 为 84.2%, 预测的可靠度等级为 3, 而 danio: ace2 定位于信号肽的可能性为 94.9%, 其可靠度等级为 1 (表 1)。

## 2.2 斑马鱼 ACE 蛋白质信号肽、功能域与基序分析

利用 SignalP 3.0 程序中神经网络模型 (NN) 和隐马科夫模型 (HMM), 对斑马鱼 ACE 多肽序列中的信号肽进行分析, 结果显示斑马鱼 wu: fb81h03 蛋白中不含信号肽, 不属于分泌蛋白, 但在 N 端有一小段跨膜螺旋结构, 因此该蛋白可能是跨

膜蛋白; 而预测 danio: ace2 为信号肽, 其剪切位点位于氨基酸 17~18 处的可能性为 57.6%。

以 Pfam、SMART 软件和 Scansite 软件对斑马鱼和人 ACE 蛋白保守结构功能域进行分析, 结果如图 2 和表 2。斑马鱼 wu: fb81h03 和人 ACE 蛋白都含有 2 个 Pfam Peptidase\_M2 结构域, 而 danio: ace2 蛋白结构较为简单, 只含 1 个 Pfam Peptidase\_M2(图 2)。每个 M2 结构域均有 2 个活性位点, 因此推测 M2 结构域是 ACE 蛋白最保守的结构域, 是所有生物中的 ACE 蛋白所共有的, 斑马鱼的 ACE 与人类及其他物种的 ACE 组成了 M2 蛋白家族。同时, 这 3 个蛋白都含有 HEXXH 结构, 属于含锌金属蛋白酶。此外, 斑马鱼 wu: fb81h03 蛋白结构较复杂, 还含有 Vac Fusion、ASHA1、DUF2216 和 DUF2133 序列(表 2), 与人 ACE 的结构较为相近。因此, 采用 Scan Prosites 数据库对 wu: fb81h03 蛋白进行基序分析, 预测其可能含有 7 类基序模式: 即 1 个氨基化位点, 1 个 cAMP- 和 cGMP 依赖型蛋白激酶磷酸化位点, 10 个 N- 糖基化位点, 21 个蛋白激酶 C 磷酸化位点, 29 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点, 4 个酪氨酸激酶磷酸化位点和 6 个 N- 肉豆蔻酰位点。

表 1 斑马鱼 ACE 蛋白的特性  
Table 1 Properties of *D. rerio* ACE protein

基因	分子量	分子式	等电点	酸碱性	稳定性	水溶性	亚细胞定位
wu: fb81h03	152 782.7	C <sub>69</sub> H <sub>1049</sub> N <sub>1799</sub> O <sub>2005</sub> S <sub>56</sub>	5.72	酸性	不稳定	水溶性	线粒体
danio: ace2	90 862.2	C <sub>4075</sub> H <sub>6309</sub> N <sub>1063</sub> O <sub>1208</sub> S <sub>45</sub>	5.09	酸性	稳定	水溶性	信号肽

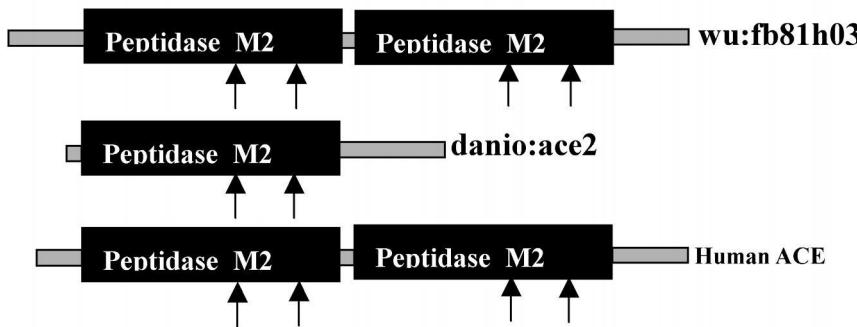


图 2 斑马鱼中 ACE 蛋白保守功能域示意图

Fig 2 A diagram of the conserved functional domains of *D. rerio* ACE

## 2.3 斑马鱼 ACE 蛋白的 EST 表达分析

对斑马鱼 ACE 蛋白进行 EST 搜索, 发现斑马鱼的两个 ACE 蛋白所对应的 EST 数目分别为 27 和 44 条 (表 3), 且它们的表达情况有较大差异。

danio: ace2 蛋白只在肠组织和肺组织中有表达, 且在肠组织中表达量较高; 而 wu: fb81h03 蛋白在眼睛、鳃和心脏中表达, 在心脏中的表达量最高。它们在斑马鱼的不同发育时期表达情况也不

同。 danio: ace2 蛋白只在成熟鱼中有表达, 而 wu: fb81h03 蛋白可在孵化期和成熟期表达, 且在孵化期的表达量更高(表 3, 表 4)。基于以上分析, 斑马鱼两个 ACE 基因 ESTs 的表达情况表现出了不同的分布模式, 这表明它们虽然结构相似, 但功能不同, 它们不是共调控的。

#### 2.4 斑马鱼 ACE 蛋白的空间结构预测结果

将 wu: fb81h03 的氨基酸序列提交 SWISS-MODEL 建模服务器, 得到 2 个合适的模板(2c6fB 和 2oc2A), 序列一致性分别为 67.049% 和 65.925%; 提交 danio: ace2 的氨基酸序列得到 1 个合适的模板(1r42A), 序列一致性为 100%。分别以 2c6fB 和 1r42A 为模板进行模建, 得到预测并修正后的模型(图 3)。

通过 PDB 查出模板 2c6fB<sup>[19]</sup>, 为人的体细胞 ACE 结构。从模拟结构图 3 的 a 和 b 可以看出, wu: fb81h 蛋白的空间结构与人 ACE 十分相似, 被分成 2 个“亚结构域”(I 和 II 如图 3 的 a 和 b), 主要由  $\alpha$ -螺旋和 4 个  $\beta$ -折叠组成, 其中 2 个  $\beta$ -结构很接近活性位点, 具有 HEXXX 锌结合区域, 其空间位置类似(箭头部分)。同样地, 1r42A 模板<sup>[20]</sup>为人的 ACE2 结构, danio: ace2 与其序列的一致性为 100%, 因此其结构几乎是一致的(图 3 的 c 和 d), 也可分为 I 和 II 两个部分, 具有 HEXXX 锌结合结构域(箭头部分)。因此可以推测, 斑马鱼和人血管紧张素转换酶的序列与三维空间结构的相似性, 可能暗示着功能上的保守性。

表 2 斑马鱼中 ACE 蛋白结构功能域

Table 2 Structure and functional domains of *D. rerio* ACE

wu: fb81h03		danio: ace2		Human ACE	
结构域	活性位点	结构域	活性位点	结构域	活性位点
Peptidase M2 (60–658)	E419 H548	Peptidase M2 (10–613)	E374 H504	Peptidase M2 (31–630)	E391 H520
Peptidase M2 (662–1256)	E1017 H1146			Peptidase M2 (634–1228)	E989 H1118
Vac Fusion				YcgL	
ASH A1				SPOC	
DU F2216				DUF2569	
DU F2133				DUF2335	
DU F2133				HupF HypC	
ZINC_PROTEASE (TVHH EM GH VQ) (1013–1022)		ZINC_PROTEASE (TVHH EM GH NQ) (370–379)		ZINC_PROTEASE TVHH EM GH IQ (387–396) VAH HEM GH IQ (985–994)	

表 3 斑马鱼 ACE 基因在不同组织中的 EST 表达情况分析

Table 3 EST expression profiles of *D. rerio* ACE in different living organisms

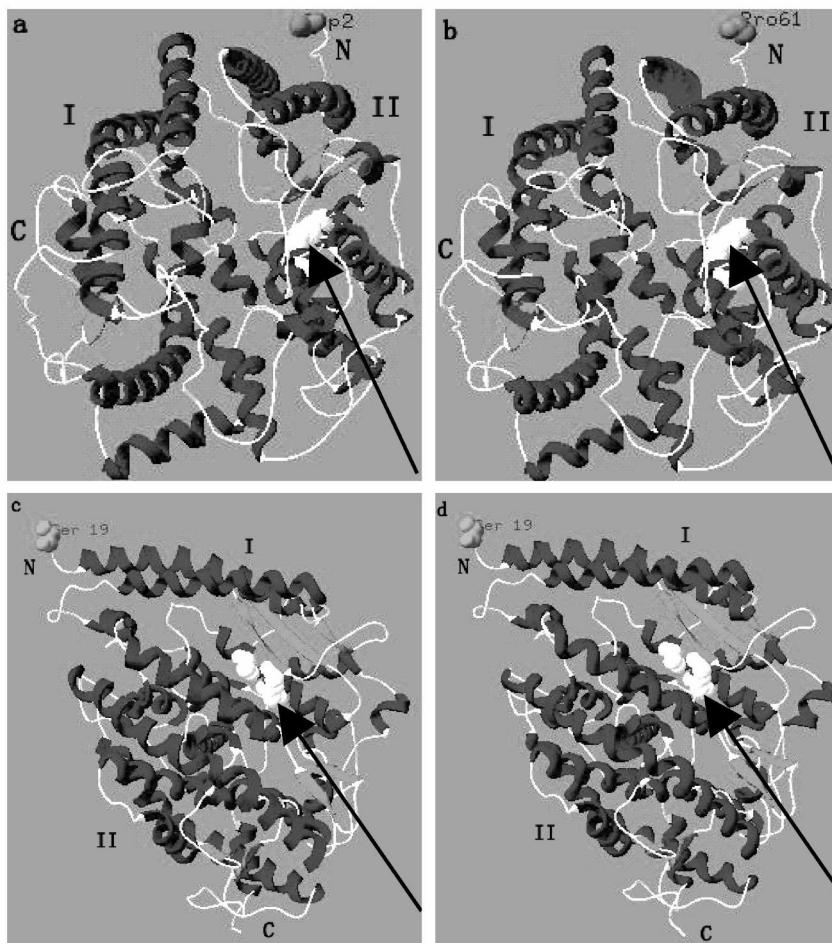
组织	wu: fb81h03(EST 数目: 27)			danio: ace2(EST 数目: 44)		
	TPM	TPM 点的强度	基因 EST/总 EST 池	TPM	TPM 点的强度	基因 EST/总 EST 池
骨	0		0/7709	0		0/7709
脑	0		0/90587	0		0/90587
眼镜	16		1/61310	0		0/61310
鳍	0		0/34034	0		0/34034
鳃	150		2/13281	0		0/13281
心脏	222		7/31491	0		0/31491
小肠	0		0/4162	1922		8/4162
肾脏	0		0/51710	0		0/51710
肝脏	0		0/17232	58		1/17232
淋巴系统	0		0/1206	0		0/1206
肌肉	0		0/122039	0		0/122039
嗅觉	0		0/35542	0		0/35542
生殖系统	0		0/182835	0		0/182835
皮肤	0		0/9424	0		0/9424

注: TPM 为每百万转录本。

表4 斑马鱼ACE基因在不同生长时期的EST表达情况  
Table 4 Homology analysis of ACEs from different growth stages

组织	wu: fb81h03(EST数目: 27)			danio: ace2(EST数目: 44)		
	TPM	TPM点的强度	基因EST/总EST池	TPM	TPM点的强度	基因EST/总EST池
卵	0		0/3866	0		0/3866
胚囊	0		0/7290	0		0/7290
分裂期	0		0/11216	0		0/11216
胚胎发育	0		0/25411	0		0/25411
孵化	156	●	7/44611	0		0/44611
幼虫	0		0/20172	0		0/20172
少年	0		0/7592	0		0/7592
成人	20	●	13/629186	38	●	24/629186

注: TPM 为每百万转录本。



注: ①a: 2c6fB, b: wu: fb81h, c: 1r42A, d: danio: ace2; ②wu: fb81h03 以 2c6fB. pdb (人) 为模板 src ; danio: ace2 以 1r42A. pdb (人) 为模板; ③空间构象被分为两个亚部分 I 和 II; ④箭头所示为锌指活性位点。

图3 斑马鱼ACE wu: fb81h03与danio: ace2的空间构象模拟

Fig 3 Modeling of three dimensional structure of *D. rerio* wu: fb81h03 and dimio: ace2

## 2.5 不同生物ACE基因进化关系的分析

将斑马鱼 wu: fb81h03 的序列在 GenBank 数据库中 BLAST<sup>[21]</sup> 同源搜索, 根据生物进化阶元选

择 10 个有代表性物种, 如斑马鱼 (*Danio rerio*)、人 (*Homo sapiens*)、黑青斑河豚 (*Tetraodon nigroviridis*)、低等脊椎动物原鸡 (*Gallus gallus*)、

家兔 (*Oryctolagus cuniculus*)、热带爪蟾 (*Xenopus (Silurana) tropicalis*)、哺乳类动物小家鼠 (*Mus musculus*)、褐家鼠 (*Rattus norvegicus*)、光棘球海胆 (*Strongylocentrotus purpuratus*)、无类囊体蓝藻 (*Gloeobacter violaceus*) 的血管紧张素转换酶氨基酸序列。结果发现斑马鱼 (*Danio rerio*)、人 (*Homo sapiens*)、低等脊椎动物原鸡 (*Gallus gallus*)、哺乳类动物小家鼠 (*Mus musculus*) 和褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 均含有 ACE 和 ACE2，其余物种只含有 1 个 ACE。<sup>wu: fb81h03</sup> 序列与所比对生物的 ACE 一致性高达 41%~73% (表 5)，说明它们同源性高。从绘制的分子进化树 (图 4) 可以看出，<sup>wu: fb81h03</sup> 与黑青斑河豚的 ACE 进化距离最近，与低等脊椎动物原鸡和热带爪蟾的 ACE 也有较近的进化距离，共同构成一个分支；人与家兔的 ACE 进化距离很近，并与鼠类 ACE 构成一分支；无脊椎动物棘皮动物门的光棘球海胆和藻类植物无类囊体蓝藻 ACE 与人、斑马鱼等脊椎动物的进化距离比较远，这与不同进化阶元的物种间的进化距离与种系演化进程相符，也可以说明从分子水平上绘制系统基本上代表了它们在经典分类上的地位。此外，在人、斑马鱼、低等脊椎动物原鸡、哺乳类动物小家鼠和褐家鼠中，人和斑马鱼 ACE2 距离较近，与鼠类 ACE2 不远，与低等脊椎动物原鸡 ACE2 较远，但是都属于 ACE 的旁系同源物 (paralogs)，因此与其他直系同源物 (orthologs) 距离较远。

表 5 ACE 基因的同源性分析

Table 5 Homology analysis of ACE from different species of living organisms

物种名称	基因登录号	序列一致性 (%)
斑马鱼 <i>D. rerio</i> wu: fb81h03	XP_694336	100.00
斑马鱼 <i>D. rerio</i> ace2	NP_001007298.1	43.00
现代人 <i>H. sapiens</i>	NP_000780.1	65.18
现代人 <i>H. sapiens</i> ace2	AAT45083.1	41.00
家兔 <i>O. cuniculus</i>	NP_001075864.1	64.51
热带爪蟾 <i>X. tropicalis</i>	NP_001116882.1	72.09
小家鼠 <i>M. musculus</i>	NP_997507.1	63.99
小家鼠 <i>M. musculus</i> ace2	NP_081562	44.00
褐家鼠 <i>R. norvegicus</i>	NP_036676.1	64.02
褐家鼠 <i>R. norvegicus</i> ace2	NP_001012006	44.00
低等脊椎动物原鸡 <i>G. gallus</i>	XP_418074.2	73.22
低等脊椎动物原鸡 <i>G. gallus</i> ace2	XP_416822	41.00
黑青斑河豚 <i>T. nigroviridis</i>	CAG04404	78.00
光棘球海胆 <i>S. purpuratus</i>	XP_001183730.1	45.73
无类囊体蓝藻 <i>G. violaceus</i>	NP_926089	48.00

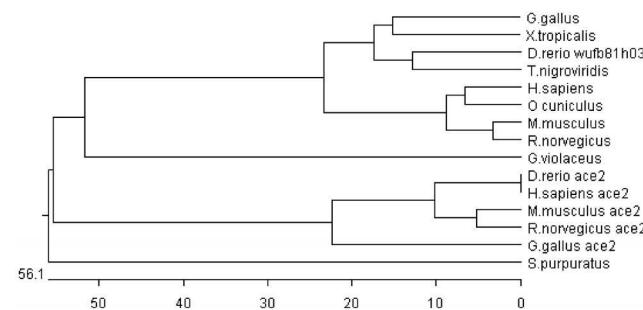


图 4 不同物种 ACE 与 ACE2 蛋白的系统发育树

Fig 4 Phylogenetic relationship of ACE and ACE2 from different species

### 3 讨 论

随着一批批模式生物基因组测序工作的陆续完成，鱼类分子生物学也取得了诸多进展<sup>[12]</sup>。当前，如何利用越来越丰富的基因组信息资源，揭示基因在不同物种间的遗传与进化规律、探索基因的生物学功能以及发现、鉴定新功能基因，已成为分子生物学研究的一个热点。生物可能是从共同祖先演化而来的，在进化上对生命活动起着重要作用的基因是保守的，表现出其结构和功能在不同生物中依然有一定的相似或同源性。因此，可以采用比较容易研究的生物作为模型来研究基因的结构及其生物学功能，然后将获得的信息应用于研究其他比较难以研究的生物基因的功能。

目前，斑马鱼和非洲爪蟾是最常用的两种模式低等脊椎动物。斑马鱼的基因数目及基因型与人类很接近，因此本文应用生物信息学的方法首次分析斑马鱼 ACE 核酸与氨基酸序列，对编码蛋白的理化性质、空间结构及系统演化关系等进行全面系统的生物信息学预测。通过分析发现斑马鱼 ACE 属于 Pfam Peptidase\_M2 家族，而 M2 家族蛋白是一种具 H H E X X H 锌结合体的锌金属蛋白催化酶，通常含有约 600 个氨基酸氨肽酶结构域的连续重复，具有催化水解十肽血管紧张素 I 转化成八肽血管紧张素 II 的活性<sup>[23~24]</sup>。斑马鱼的 ACE 蛋白是否具有此活性还有待于进一步的研究。斑马鱼的 ACE 蛋白中还含有 10 个糖基化位点等其他个磷酸化位点，这与已报道的 ACE 及其同源物构成 M2 糖锌家族相印证<sup>[11]</sup>。

利用 MegAlign 软件对处于不同进化阶元的 10 个典型物种 ACE 蛋白序列进行比对和进化关系分析可以看出，不同进化阶元物种的 ACE 和 ACE2 氨基酸序列保守性较强。斑马鱼与红原鸡、热带爪

蟾等低等脊椎动物起源于一个共同的进化分支节点,人、鼠和兔等高等脊椎动物起源于另一分支,与无脊椎动物和藻类植物的距离甚远,而且其进化距离符合脊椎动物的种系进化次序。由此可见,斑马鱼的ACE在物种进化过程中根据保守性原则遵循了进化秩序,既包含了决定其基本结构和功能的高度保守的氨基酸,也体现了与种系进化相一致的变异性。

**致谢:**感谢福建农林大学周洁老师,中国农业大学生物学院生物信息学教授张子一博士,山东省农业科学院赵传志硕士提出的宝贵意见。

## 参考文献:

- [1] SOUBRIER F, AHENG-GELAS F, HUBERT C, et al. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme reverted by molecular cloning [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85: 9386–9397.
- [2] HUBERT C, HOUTOT A, CORVO LP, et al. Structure of the angiotensin I converting enzyme gene [J]. J Biol Chem, 1991, 266: 15377–15388.
- [3] 王景明. 血管紧张素转换酶基因多态性的研究进展 [J]. 潍坊医学院学报, 2006, 28 (6): 461–466.
- [4] 杨海平, 许丽娟, 陈国生, 等. 血管紧张素转换酶分子生物学研究进展 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2004, 7 (5): 387–389.
- [5] RIGAT B, HUBERT C, CIRVO IP, et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCPI) [J]. Nucleic Acid Res, 1992, 20: 1443.
- [6] HERIBERT S. Polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and cardiovascular disease [J]. Mol Med, 1997, 75: 867–875.
- [7] DONOGHUE M, HSIEH F, BARONASE, et al. A novel angiotensin converting enzyme related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin II [J]. Circ Res, 2000, 87 (5): E1–E9.
- [8] TIPNIS SR, HOOPER NM, HYDE R, et al. A human homolog of angiotensin converting enzyme: cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (43): 33–38.
- [9] TUMER AJ, HOPPER NM. The angiotensin-converting enzyme gene family: genomics and pharmacology [J]. Trends Pharmacol Sci, 2002, 23: 177–183.
- [10] ZHANG H, WADA J, HIDAKA K, et al. Colletrin, a collecting duct specific transmembrane glycoprotein, is a novel homolog of ACE2 and is developmentally regulated in embryonic kidneys [J]. J Biol Chem, 2001, 276: 17132–17139.
- [11] 赵钰岚, 许传莲. 血管紧张素转换酶的结构功能及相关抑制剂 [J]. 生物工程学报, 2008, 24 (2): 171–176.
- [12] 江晓曦, 郑文岭, 崔东, 等. 斑马鱼——一种理想的分子生物学研究的脊椎动物模型 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14 (2): 74.
- [13] GASTEIGER E, GATTIKER A, HOOGLAND C, et al. EXPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis [J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31: 3784–3788.
- [14] BENDTSEN JD, NIELSEN H, VON HEIJNE G, et al. Improved prediction of signal peptides: SignalP 3.0 [J]. J Mol Biol, 2004, 340 (4): 783–795.
- [15] COMBET C, BLANCHET C, GEOURJON C, et al. NPS: Network Protein Sequence Analysis [J]. Trends in Biochemical Sci, 2000, 25 (3): 147–150.
- [16] HUOL N, SIGRIST CJ, LESAUX V, et al. Recent improvements to the prosite database [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32: 134–137.
- [17] ARNOLD, BORDOLI L, KOPP J, et al. The SWISS-MODEL Workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling [J]. Bioinformatics, 2006, 22: 195–201.
- [18] KYTE J, DOOLITTLE RV F. A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein [J]. J Mol Biol, 1982, 157: 105–132.
- [19] RAMMANATHAN N, SYLVA LU, SCHWAGER, et al. Crystal structure of the human angiotensin converting enzyme lisinopril complex [J]. Nature, 2003, 421: 551–554.
- [20] TOWLER P, STAKER B, PRASAD SG, et al. ACE2 X-ray structures reveal a large hinge bending motion important for inhibitor binding and catalysis [J]. The Journal of biological chemistry, 2004, 279: 17996–18007.
- [21] AHACHUL SF, MADDEN TL, SEHAFER A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25 (17): 3389–3402.
- [22] 周红娟, 余新炳, 徐劲, 等. 华支睾吸虫ATP合酶B亚基全长基因的生物信息学分析 [J]. 热带医学杂志, 2007, 7 (4): 315–318.
- [23] ISAAC RE, SCHOOLS L, WILLIAMS TA, et al. Toward a role for angiotensin-converting enzyme in insects [J]. Ann NY Acad Sci, 1988, 839: 288–292.
- [24] CORVOL P, WILLIAMS TA, SOUBRIER F. Peptidyl dipeptidase A: angiotensin I converting enzyme [J]. Methods Enzymol, 1995, 248: 283–305.

(责任编辑: 林海清)