

# Phylogenetic Analysis of Rab3A Gene

Zhanlong Qiao, Jingfen Yang, Zhiwei Wei, Tao Liu\*

College of Science, North China University of Science and Technology, Tangshan Hebei  
Email: \*create8010@qq.com

Received: Feb. 24<sup>th</sup>, 2018; accepted: Mar. 5<sup>th</sup>, 2018; published: Mar. 13<sup>th</sup>, 2018

## Abstract

Rab3A is the most abundant Rab protein in the animal's brain. Rab proteins play an important role in vesicular trafficking by exocytosis and endocytosis [1]. Thus, the Rab3A gene plays an important role in the regulation of animal memory. The original nucleotide sequence was downloaded from the NCBI database. Collinearity analysis was carried out by using Blast + homology alignment and ColinearScan and MCscanX. Using MEGA7.0 software Maximum Likelihood method, Neighbor-joining method to construct phylogenetic tree, due to the homology and collinearity analysis and comparison from the original data, a consistent phylogenetic tree was obtained. The phylogenetic tree of Rab3A gene is consistent with the species developmental tree. This shows that the evolution of the gene occurs along with the divergence of species, which is a relatively ancient gene.

## Keywords

Rab3A, System Evolution and Development, Genes, Animals

# 记忆基因(Rab3A)的系统发育分析

乔战龙, 杨静芬, 魏志伟, 刘 涛\*

华北理工大学理学院, 河北 唐山  
Email: \*create8010@qq.com

收稿日期: 2018年2月24日; 录用日期: 2018年3月5日; 发布日期: 2018年3月13日

## 摘 要

Rab3A是动物大脑中丰度最高的Rab蛋白, 而Rab蛋白通过胞吞和胞吐的方式在囊泡运输中起重要作用[1], 由此可见, Rab3A基因对于调控动物的记忆有很重要的作用。从NCBI数据库下载原始核苷酸序列, 运用Blast+同源比对、共线性分析软件ColinearScan、MCscanX进行共线性分析, 用MEGA7.0软件中\*通讯作者。

**Maximum Likelihood**法, **Neighbor-joining**法分别构建进化树, 由于从原始数据进行同源性、共线性分析比对, 所以得到了一致性的系统发育树。**Rab3A**基因的系统发育树与物种发育树一致, 由此说明该基因的进化是随着物种的分歧一同发生的, 是一种相对古老的基因。

## 关键词

**Rab3A**, 系统进化发育, 基因, 动物

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

Rab3 亚家族(subfamily)有 Rab3B、Rab3C 和 Rab3D。其中 Rab3A 由 220 个氨基酸构成, 是一种重要的功能性蛋白质[1]。Rab3A 广泛分布在各类神经细胞中, 在大脑中的丰度最高, 通过胞吞和胞吐的方式一起调控神经递质的释放和记忆力的表达。随着年龄的增加, 人类和灵长类动物都会出现记忆力的衰退, 最受关注的是衰老认知功能的改变和学习记忆能力的衰退。部分老人会出现阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD) [2]。当细胞带有 Rab3A 基因时, 细胞中的脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)会使相邻神经元的电讯息流量增加 200%~300%, 胞吞胞吐频率加快, 缺乏 Rab3A 基因的细胞, 则没有增加。BDNF 是一种在脑内合成的蛋白质, 它主要分布于机体中枢神经系统内, 在中枢神经系统发育过程中, 对大脑神经元的生长发育、存活分化等起着重要的作用[3]。

由此可见, Rab3A 对于灵长类动物的认知功能、记忆能力的表达和神经元的存活、发育和分化都起着十分重要的作用。通过从 NCBI 数据库下载原始数据, 进行序列比对, 构建系统发育树, 由于伦理问题, 以往对于 Rab3A 的研究都是以小鼠作为研究对象, 通过此系统发育分析研究, 希望为以后的研究做基础。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 数据来源

在 NCBI 数据库中下载人, 黑猩猩, 大猩猩等 12 种哺乳动物的核苷酸序列, 序列格式为 Fasta 格式。并且下载各个物种的基因组位置信息文件进行编辑。本研究涉及到的物种如表 1。

### 2.2. 数据处理

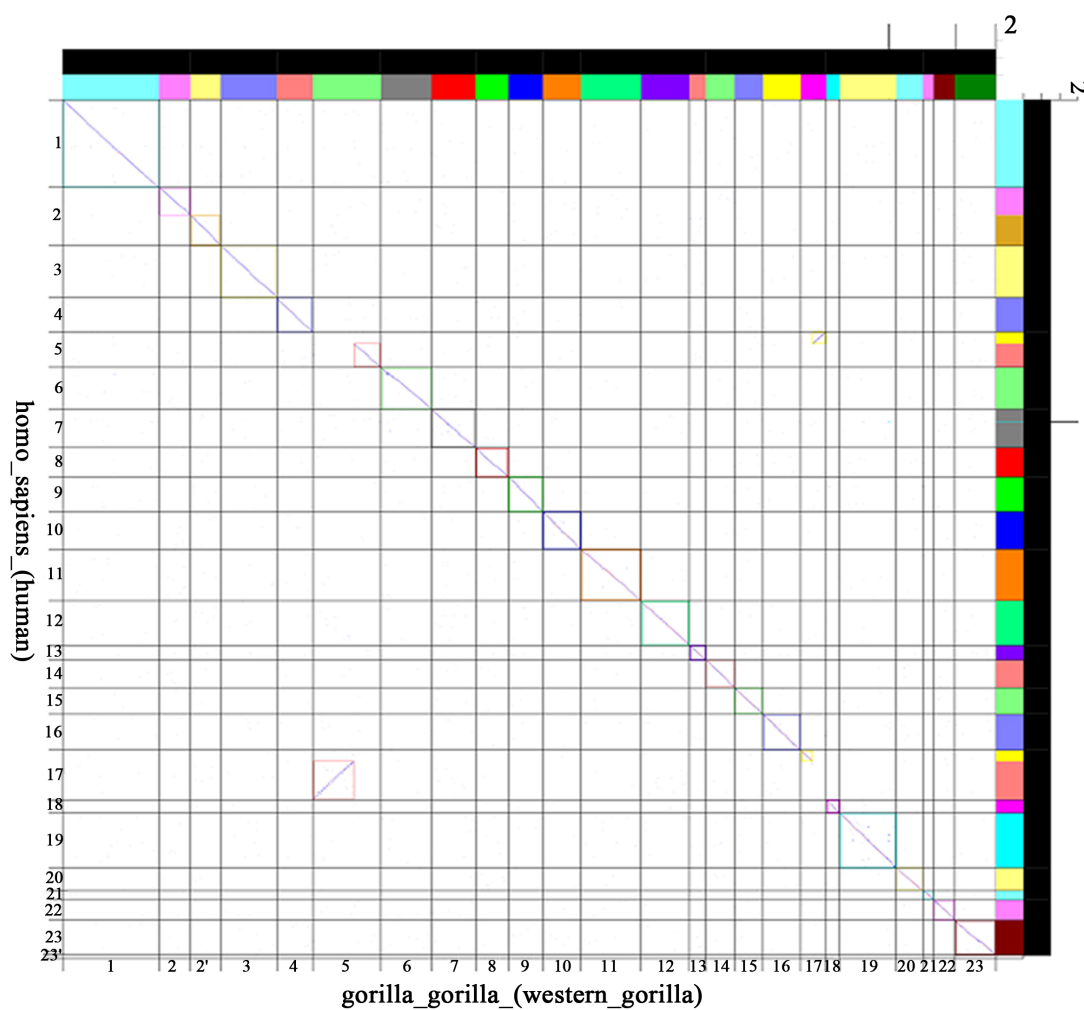
用 Perl 语言编写程序代码, 对 12 个物种的 Rab3A 基因注释文件进行处理, 确定每个基因在染色体上的位置, 对每个物种的 CDS 序列重命名, 使每个基因序列的名字与基因 ID 一致, 以便后续的分析工作。

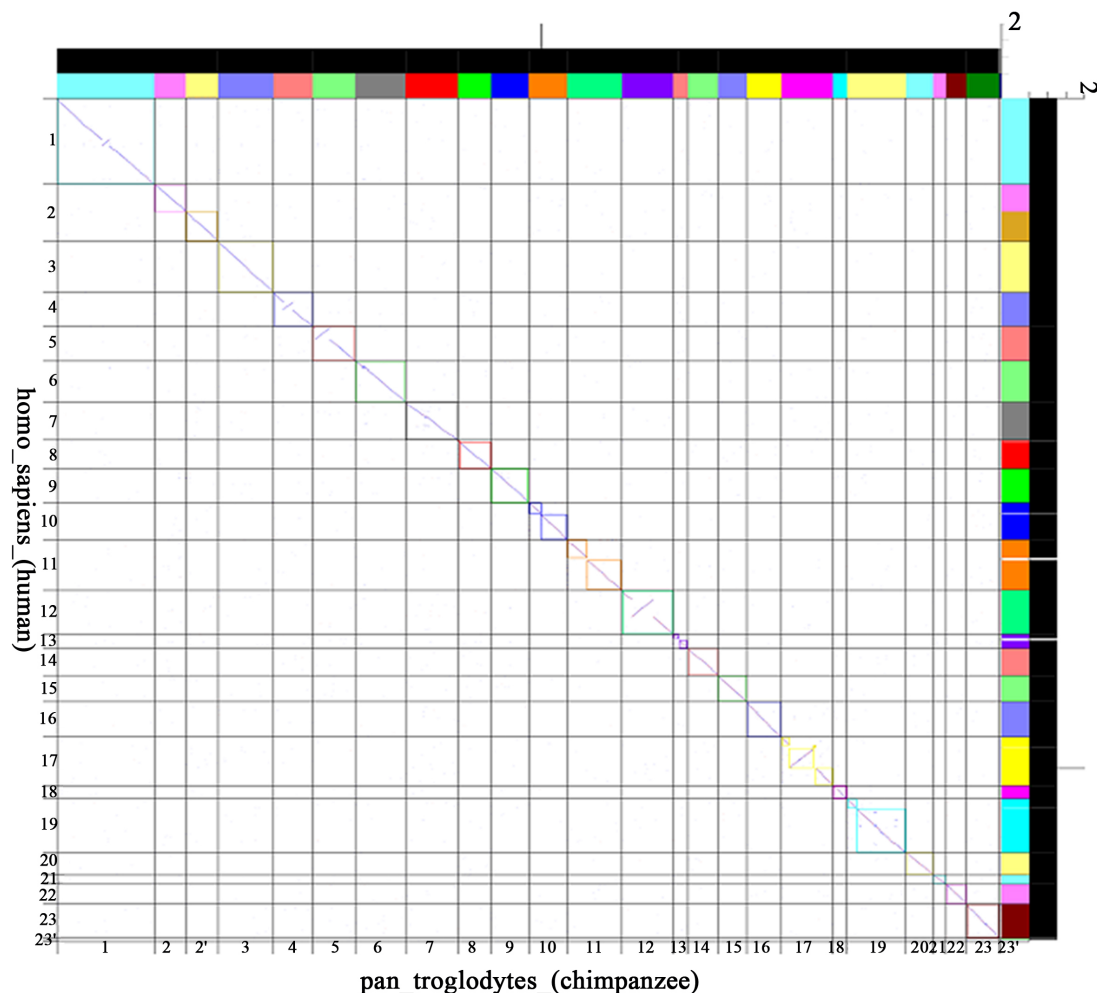
### 2.3. 方法

利用 Blast+软件比对得到 12 种动物的同源性, 再利用多重序列比对软件 clustalw 比对核苷酸序列, 利用共线性分析工具 MCscanX、Colinearscan 得到基因的共线性信息, 从而得到染色体中共线性片段(block), 最后分析确定基因组间的同源共线性信息, 在 Linux 系统下编辑 Perl 语言脚本用 dotplot 绘图算

**Table 1.** Species used in this study  
**表 1.** 本研究所用物种

物种	希腊文	简写
人	<i>Homo_sapiens</i>	Hs
黑猩猩	<i>Pan_troglodytes</i>	Pt
大猩猩	<i>Gorilla_gorilla</i>	Gg
猕猴	<i>Macaca_mulatta</i>	Mm
小家鼠	<i>Mus_musculus</i>	Mu
狗	<i>Canis_lupus</i>	Cl
绒猴	<i>Callithrix_jacchus</i>	Cj
白颊长臂猿	<i>Nomascus_leucogenys</i>	Nl
苏门答腊猩猩	<i>Pongo_abelii</i>	Pa
东非狒狒	<i>Papio_anubis</i>	Pn
褐家鼠	<i>Rattus_novegicus</i>	Rn
野猪	<i>Sus_scrofa</i>	Ss





**Figure 1.** Collinearity plot between dotplot of human and chimpanzee, gorilla

**图 1.** 人和黑猩猩、人和大猩猩的 dotplot 共线性图

法，绘制出 12 种动物之间的共线性关系图，基于 MEGA7.0 软件包中 Maximum Likelihood 法，Neighbor-joining 法分别构建进化树，得到相同的系统发育树，进而进行分析。

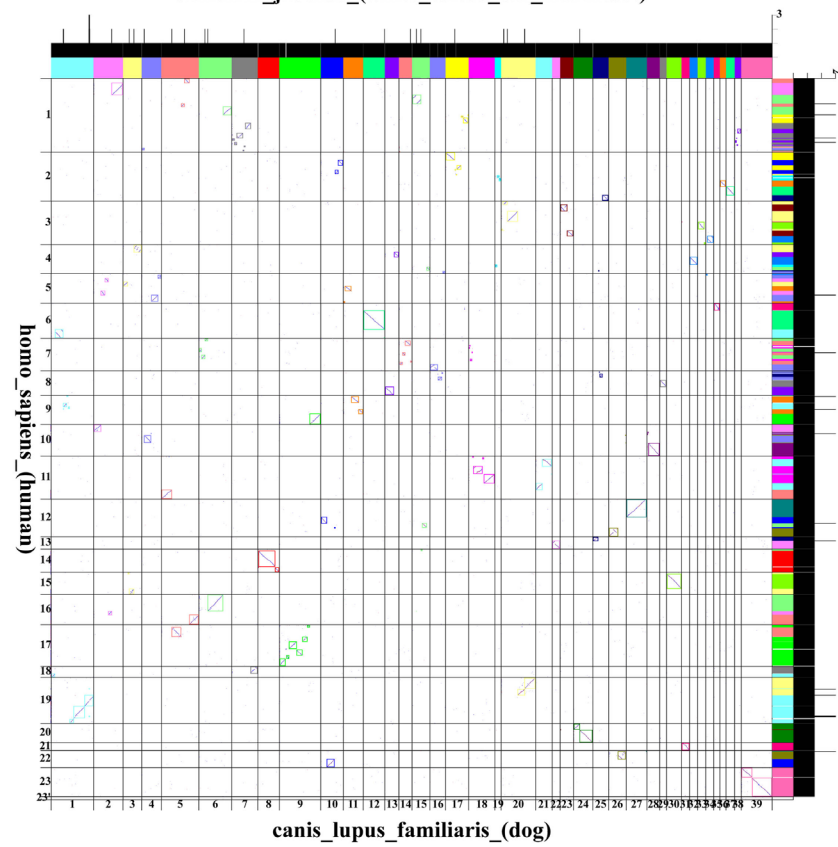
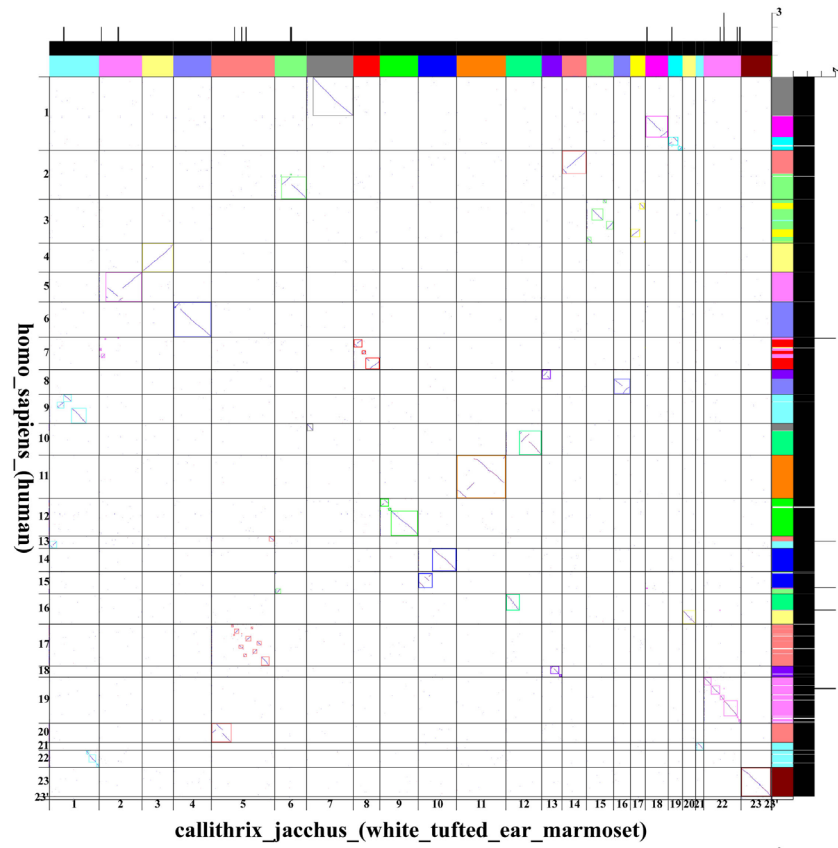
### 3. 结果分析

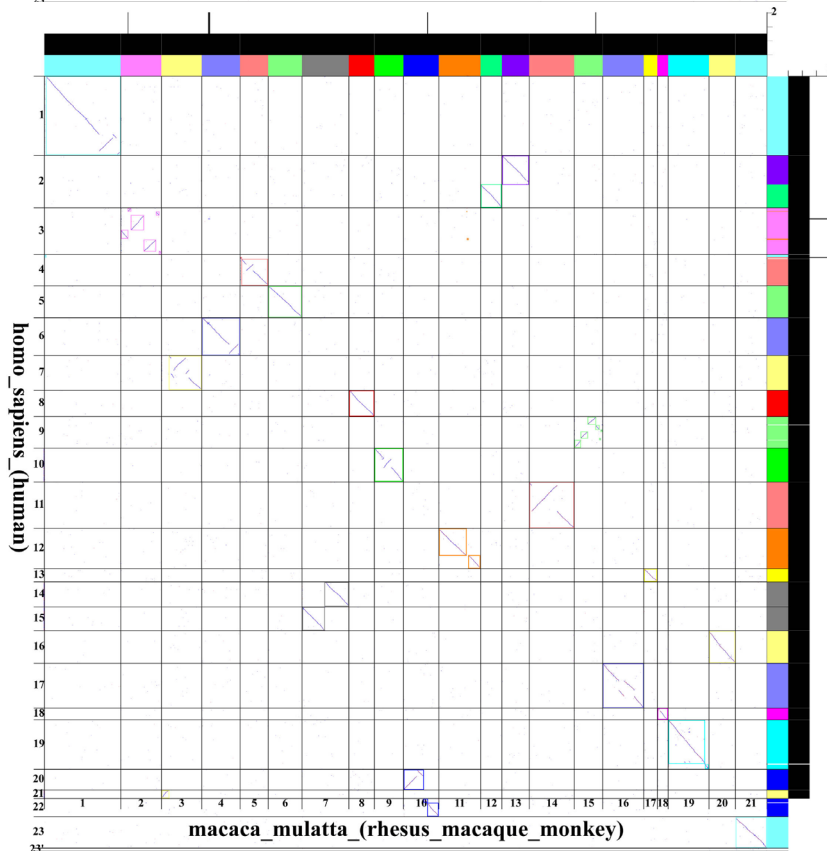
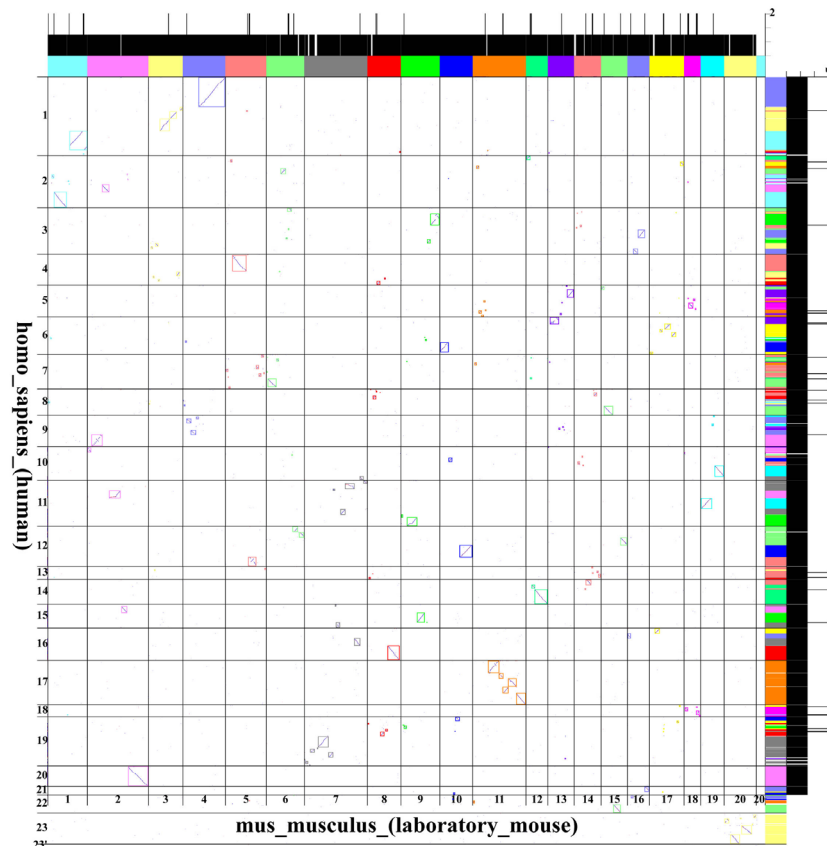
#### 3.1. 序列比对分析

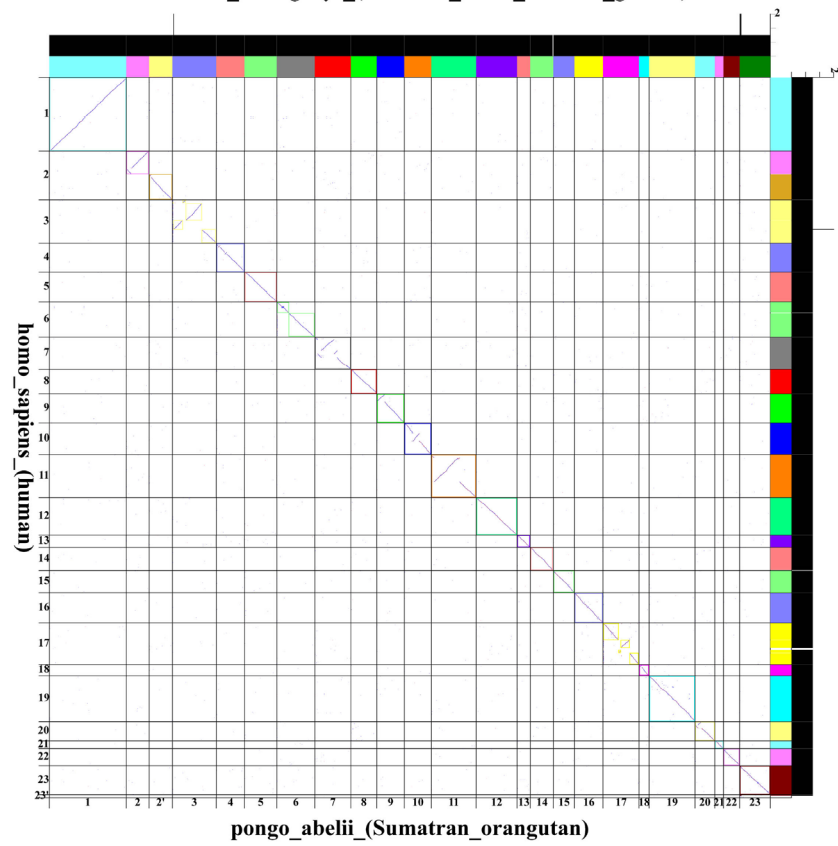
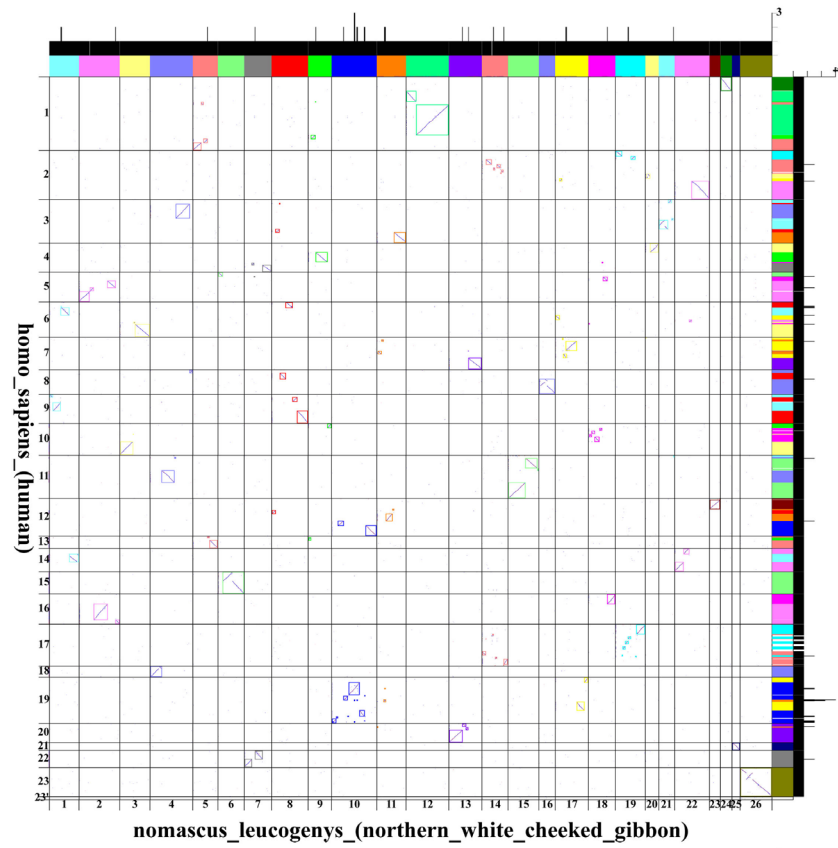
对 12 个哺乳类动物的 Rab3A 基因核苷酸序列进行比对，通过比对发现有一半的物种的 Rab3A 记忆基因存在于第 19 条染色体上。由此可见，这个基因属于一个相对古老的基因。利用 Perl 语言编写 dotplot 绘图算法，绘制出各个物种之间的点阵图，其中人和黑猩猩、大猩猩的同源共线性 dotplot 点阵图(如图 1)基本趋向于共线性。其他几种哺乳动物也具有类似的点阵共线性(如图 2)，但共线性表现在少数染色体之间。

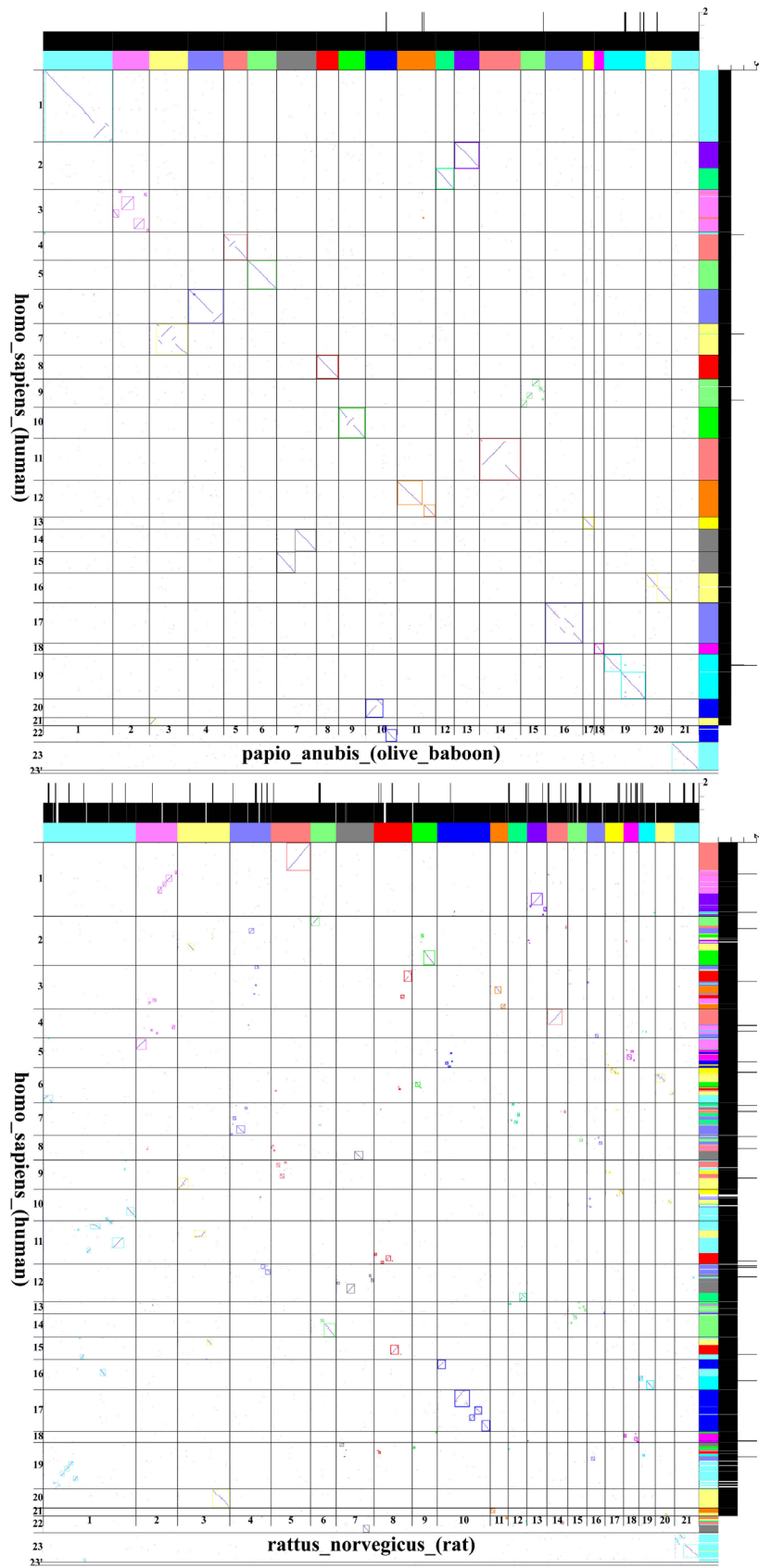
#### 3.2. 系统进化树分析

从 NCBI 数据库下载 12 种物种的原始数据：人、大猩猩、黑猩猩、小家鼠等等。利用同源性、共线性比对筛选出记忆基因 Rab3A 的核苷酸序列，找出其在物种中的位置。

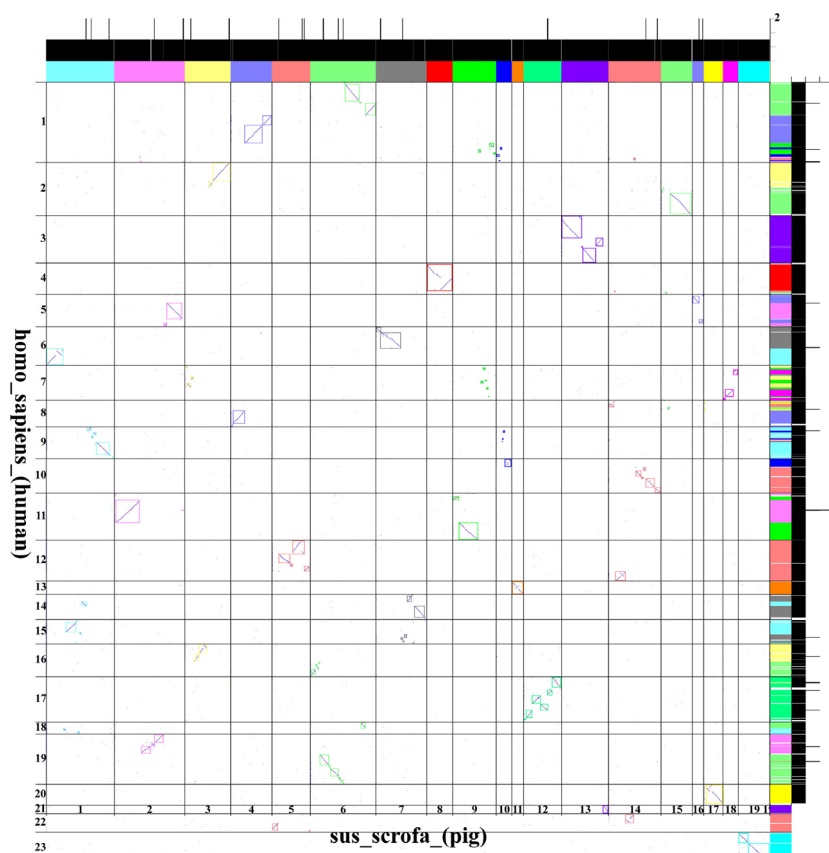




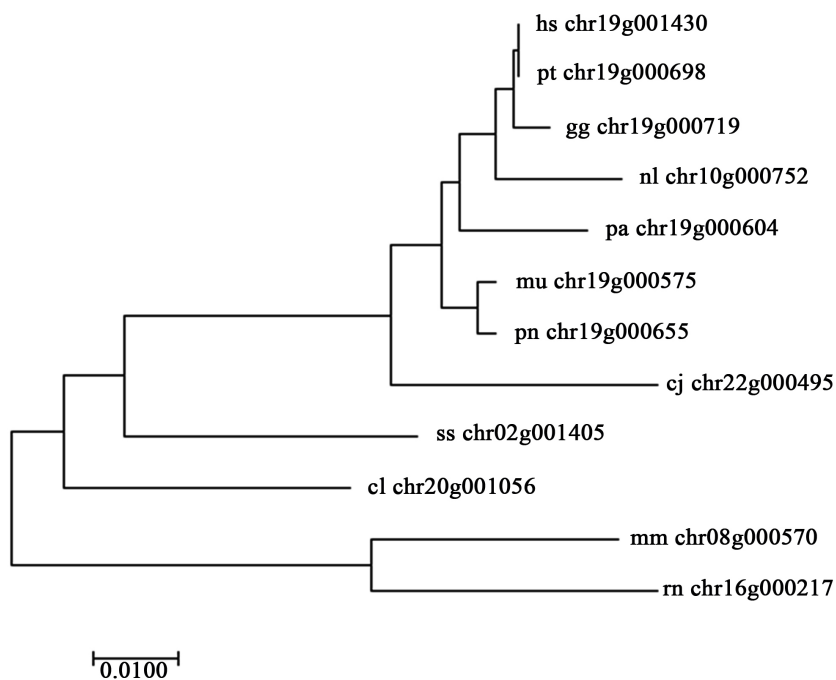








**Figure 2.** Additional dotplot collinearity maps for several other mammalian species  
**图 2.** 附其他几种哺乳动物点阵图



**Figure 3.** Phylogenetic tree of 12 mammalian species  
**图 3.** 12 种哺乳动物的系统进化树

用 Clustalw 软件对记忆基因 Rab3A 的核苷酸序列进行比对, 利用 MEGA7.0 软件包中 Maximum Likelihood 法, Neighbor-joining 法, 分别构建进化树, 对比两种进化树, 发现两种进化树具有高度的一致性, 如图 3 所示。使用 Tamura-Nei 距离模型[1]的最大似然方法可以推断出演化历史, 利用邻位连接和 BioNJ 算法, 选择具有较高对数似然值(-1428.44)的拓扑结构, 构建出以 Rab3A 为条件的系统进化树。由记忆基因(Rab3A)构建的进化树可以看出, 进化树主要分为两大分支, 一只为人、黑猩猩、大猩猩、猕猴、狗、绒猴、白颊长臂猿、苏门答腊猩猩、东非狒狒、野猪, 其中人和黑猩猩、大猩猩、白颊长臂猿、猕猴、东非狒狒、绒猴、苏门答腊猩猩 8 个物种之间亲缘关系比较近, 其中人和黑猩猩之间亲缘关系最为相近; 另一支为小家鼠和褐家鼠 2 种物种, 他们之间的亲缘关系最为相近。对比物种进化树可见, 基于记忆基因(Rab3A)构建的系统发育树能够很好的反应各个物种之间的亲缘关系。

#### 4. 讨论

对获得的记忆基因 Rab3A 的核苷酸序列进行系列的同源共线性分析比对发现, 哺乳动物的 Rab3A 核苷酸序列存在一定的同源性, 根据研究显示, Rab3A 是调控突触之间胞吞胞吐快慢的重要  $Ca^{2+}$  感受器[4], 有研究表明 Rab3A 是神经生长抑制因子(GIF)发挥活性的必需蛋白质, 而 GIF 的含量过低会使神经细胞的树突和轴突的生长过高, 导致神经元细胞死亡, 而 GIF 与阿尔兹海默症有着密切联系[5], 所以 Rab3A 与阿尔兹海默症的发病有一定联系。所以, 分析 Rab3A 基因的系统发育树和进化过程对探索学习记忆能力的减退以及阿尔兹海默症的治疗具有重要意义。系统发育树的分析结果可以表明各个哺乳动物在进化过程和分类地位上的关系, 本研究得到的以 Rab3A 基因为基础的基因系统进化树与已有的物种进化树具有较高的相似性, 可表明本研究数据和结果的准确性和可靠性。由于伦理限制问题, 以往关于记忆基因的研究都是以小鼠作为对象来研究, 本研究通过系统发育树将小鼠和人以及各种哺乳动物的关系联系在一起, 以希望为以后突破伦理限制的研究做出贡献。

综上所述, 该研究对多种哺乳动物的记忆基因(Rab3A)进行了多重序列比对、同源共线性分析和系统发育分析, 针对记忆基因的同源共性进行了准确的分析, 希望以此作为基础, 让更多学者进一步探究记忆基因在神经元之间的生长发育作用、学习认知能力的表达机制以及与阿尔兹海默症的发病的联系。

#### 基金项目

国家大学生创新项目基金支持。

#### 参考文献

- [1] 庞立岩, 茹炳根. G-蛋白 Rab3a 对神经生长抑制因子(GIF)抑制神经元细胞生长作用的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 2005, 32(11): 1069-1074.
- [2] 杨启纲. 年龄对 C57BL/6 小鼠和 SAMP8 小鼠学习记忆相关脑区 Synaptotagmin I 和 SUMO-3 蛋白含量影响的研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽医科大学, 2006.
- [3] Fumagalli, F., Madaschi, L., Caffino, L., et al. (2009) Acute Spinal Cord Injury Reduces Brain Derived Neurotrophic Factor Expression in Rat Hippocampus. *Neuro-Science*, **159**, 936-939.
- [4] Takai, Y., Sasaki, T., Shirataki, H., et al. (1996) Rab3A Small GTP-Binding Protein in  $Ca^{2+}$ -Dependent Exocytosis. Genes to Cells Devoted to Molecular Cellular Mechanisms.
- [5] 蔡斌. 人类神经生长抑制因子的结构、性质与功能[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学, 2006.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2164-5566，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[bp@hanspub.org](mailto:bp@hanspub.org)