

臧胜芹,陈晓勇,杨 凌,等. 绵羊 *Cytb* 基因生物信息学分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(18):24-27,37.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.18.007

绵羊 *Cytb* 基因生物信息学分析

臧胜芹^{1,2}, 陈晓勇¹, 杨 凌², 孙洪新¹, 敦伟涛¹, 梁瑞圆¹

(1. 河北省畜牧兽医研究所, 河北保定 071000; 2. 河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北邯郸 056038)

摘要:为进一步了解和研究绵羊线粒体细胞色素 b 基因的结构和功能,采用生物信息学方法构建了不同物种的 *Cytb* 基因系统发育树,并对绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质理化性质、二级结构、亚细胞定位、蛋白质磷酸化、三级结构等进行分析。结果表明:绵羊和山羊亲缘关系最近,其次是家牛,与原鸡、斑马鱼亲缘关系较远。绵羊 *Cytb* 基因共编码 379 个氨基酸,以亮氨酸含量最高;二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲占为主。综合分析,此蛋白质为酸性、不稳定性疏水性蛋白质,不存在信号肽,有 9 个跨膜结构域,主要在内质网、细胞核、线粒体内发挥其生物学作用。该蛋白质有较多的苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)磷酸化位点和相对较少的酪氨酸(Tyr)磷酸化位点。

关键词: *Cytb* 基因;绵羊;蛋白质;生物信息学

中图分类号: S826.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)18-0024-04

线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)具有分子量小、进化速度快、母性遗传等特点,因而 mtDNA 是研究分子进化的重要材料^[1-2]。mtDNA 的复制、转录及蛋白质合成均依赖于核基因编码的各类蛋白质因子的调控^[3]。细胞色素 b(cytochrome b, *Cytb*)是由 mtDNA 13 个多肽编码基因之一,编码产物为线粒体氧化磷酸化系统复合体 III 组成之一,也是其中唯一由线粒体基因组编码的蛋白质^[4],是线粒体呼吸链上进行电子传递的细胞色素之一。细胞色素 b 的结构特征都是以血红素 b 作为辅基而且并不通过卟啉环边基与蛋白链共价结合。研究得比较多的只有细胞色素 b₅(*Cytb*₅),它是一种膜蛋白质。根据晶体 X 射线分析推出,肽链组装成一个桶状构象把血红素部分盛在“桶”中:几片 β 片组成桶底,4 个短的 α 螺旋(α_1 、 α_3 、 α_4 及 α_5)构成四壁^[5]。*Cytb* 基因广泛应用于分子进化和系统发育研究,但有关绵羊 *Cytb* 基因编码产物的研究很少。

为此,本研究通过测定湖羊 *Cytb* 基因 CDS 区序列,利用生物信息学方法,进行不同物种 *Cytb* 基因系统发育分析,对绵羊 *Cytb* 基因 CDS 区序列蛋白质的理化性质、二级结构及多参数预测、蛋白质跨膜结构和信号肽预测、亚细胞定位和蛋白质磷酸化、功能结构域、三级结构等进行分析,旨在为绵羊 *Cytb* 基因结构与功能研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 *Cytb* 基因序列来源

采集湖羊血液,提取 DNA,参照文献[6]合成引物扩增

收稿日期:2017-05-17

基金项目:河北省科技支撑计划(编号:15226308D);河北省重点研发计划(编号:18226624D);石家庄市科学技术研究与发展项目(编号:171501002A)。

作者简介:臧胜芹(1991—),女,河北邢台人,硕士,从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:820712921@qq.com。

通信作者:陈晓勇,副研究员,从事动物遗传繁育及其生物技术研究。E-mail:chenxiaoyong-2000@163.com。

Cytb 基因,将 PCR 产物测序获得该基因序列。具体如下:上游引物:5'-GTCATCATCATTCTCACATGGAATC-3';下游引物:5'-CTCCTTCTCTGTTTACAAGACCAG-3'。产物序列长度 1 272 bp。由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系 30 μ L:DNA 2.4 μ L,10 \times PCR Buffer 3 μ L,dNTP (10 mmol/L) 0.6 μ L,上、下游引物(10 mmol/L)1.2 μ L,*Taq* DNA Polymerase (5 U/ μ L) 0.18 μ L,ddH₂O 21.42 μ L。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 20 s,退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。将扩增产物使用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测,120 V 电泳 35 min,使用凝胶成像仪检测结果后,送上海生工生物工程有限公司进行双向测序。并利用 DNAMAN 软件对测得的湖羊 *Cytb* 基因进行翻译获得氨基酸序列。

此外,从 NCBI 网站的 GenBank 下载山羊、家牛、野猪、家犬、家马、小家鼠、家猫、黑猩猩、大猩猩、人、原鸡、斑马鱼等 12 个物种 31 条相似度较高的(一般为 80% 以上) *Cytb* 基因 CDS 及其对应的氨基酸序列(表 1)。

1.2 分析方法

使用 NCBI 网站中的(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/orfig.cgi>)查找开放阅读框功能,利用 BioEdit Sequence Alignment Editor 对 32 条核苷酸序列和与之对应的 32 条氨基酸序列进行 Fas 格式转换,利用 NCBI 网站 Blast 软件进行核苷酸和氨基酸的同源性比对分析;利用 Clustal X^[7] 和 MEGA 6.0^[8] 软件的邻接法(neighbor-joining method, NJ)构建系统发育树;利用在线软件(<http://web.expasy.org/protparam/>)以及 DNASTar 里的 Protean 分析蛋白质理化性质;利用 JPred4 在线软件预测二级结构;利用 DNASTar 程序包里 Protean 软件分析亲水性、柔韧性、抗原指数和氨基酸表面可及性等参数;利用 TMHMM 在线软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)进行蛋白质跨膜结构分析;利用 SignalP 在线软件(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-4.0/>)进行蛋白质信号肽分析;利用 PSORT 进行亚细胞定位分析;利用 NetPhos 2.0 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)

表 1 12 个物种的 *Cytb* 基因序列来源

物种	序列数	序列号
山羊	5	EU130774.1, AB044308.1, JX286547.1, GU295658.1, DQ514545.1
家牛	3	DQ124415.1, AY885306.1, EU177846.1
野猪	3	AJ314557.1, EF375877.3, GU211925.1
家犬	2	JF342838.1, DQ480495.1
家马	6	JF511155.1, FJ765150.1, EU433666.1, DQ297653.1, AFA25705.1, EU433649.1
小家鼠	2	FJ374660.1, GQ871744.1
家猫	1	U20753.1
黑猩猩	1	D38113.1
大猩猩	1	D38114.1
人	3	KJ533544.1, KJ533545.1, AM948965.1
原鸡	3	EU839454.1, GU261705.1, AY235571.1
斑马鱼	1	AC024175.3

对 *Cytb* 基因编码蛋白质进行磷酸化位点预测;利用 SWISS - MODEL 预测蛋白质的三级结构。

2 结果与分析

2.1 绵羊 *Cytb* 基因开放阅读框分析

通过 ORF Finder 分析表明,绵羊 *Cytb* 基因的 ORF 长度为 1 140 bp,编码 379 个氨基酸。

2.2 绵羊 *Cytb* 基因序列同源性及分子进化分析

通过 NCBI 进行同源性在线分析,湖羊、人、山羊、家牛、斑马鱼、家马、家猫、原鸡、大猩猩、小家鼠、黑猩猩、野猪和家犬的 13 个物种 *Cytb* 基因序列以及氨基酸序列进行比对,结果显示,湖羊与山羊的相似性最高,其次是家牛,最后与原鸡和斑马鱼一致性最低(表 2)。系统发育树显示,湖羊和山羊亲缘关系最为接近,其次是家牛,与原鸡、斑马鱼等亲缘关系较远(图 1)。这与核苷酸一致性分析一致,符合物种进化规律。

2.3 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质结构分析

2.3.1 理化性质分析 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质由 379 个氨基酸残基组成,其分子式为 $C_{3\ 583}H_{6\ 028}N_{1\ 140}O_{1\ 451}S_{324}$ 分子量为 98.68 ku,理论等电点(pI)为 5.0,说明该蛋白质为酸性蛋白质。其不稳定系数为 64.20,说明该蛋白质为不稳定蛋白质,且预计在体外哺乳动物的网织红细胞内半衰期为 4.4 h,在酵母体内的半衰期 > 20 h,在大肠杆菌体内 > 10 h,脂溶指数为 31.49,总平均疏水指数 1.035,属于疏水蛋白质。含有 20 种常见氨基酸残基(图 2),其中 Leu(13.98%)含量最高,其次 Ile(11.87%)含量较高。带负电荷的氨基酸残基(Asp + Glu = 0)等于带正电荷的氨基酸残基(Arg + Lys = 0)。

表 2 绵羊 *Cytb* 基因核苷酸和氨基酸序列与其他动物的一致性分析

物种	核苷酸一致性(%)	氨基酸一致性(%)
山羊	89	88
家牛	83	85
野猪	81	84
家犬	80	84
家马	79	84
小家鼠	79	80
家猫	78	81
黑猩猩	75	72
大猩猩	74	72
人	75	72
原鸡	74	68
斑马鱼	72	69

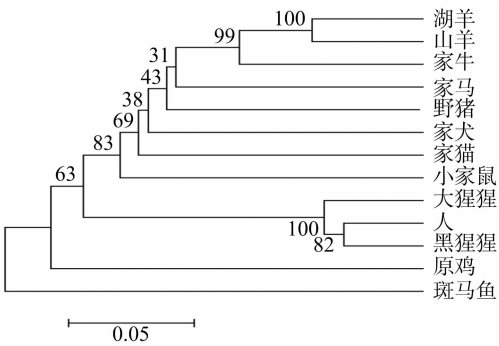


图1 不同物种 *Cytb* 基因系统发育树

其摩尔消光系数为 88 850 L/(mol · cm), 1A(280) = 0.48 mg/mL,等电点是 7.52, pH 值为 7 时,带电量为 1.78。

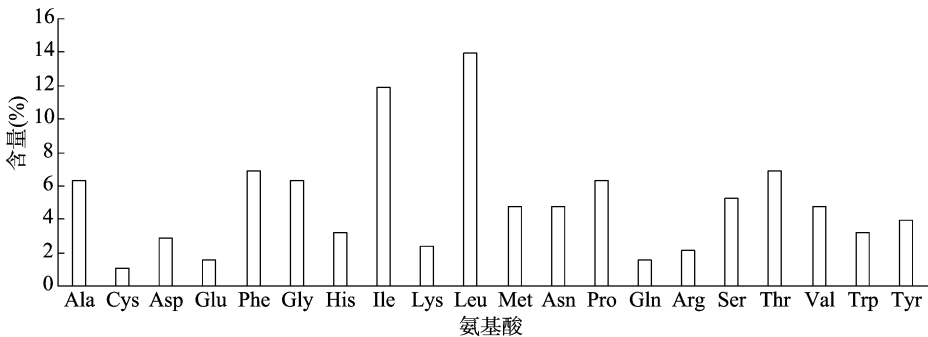


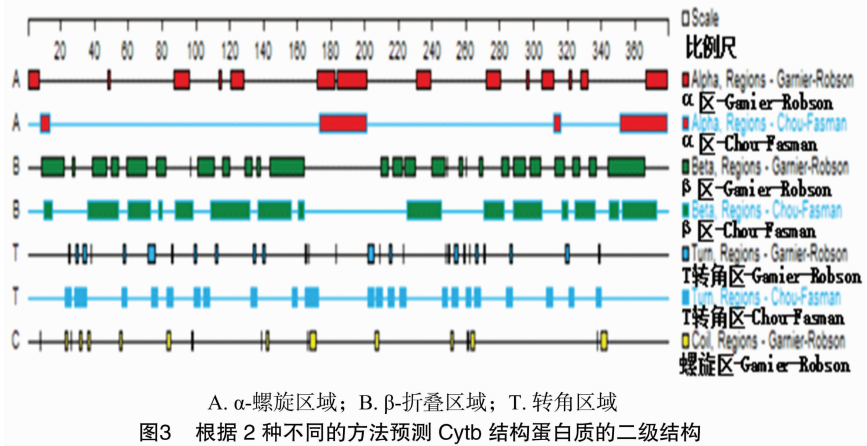
图2 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质氨基酸组成

2.3.2 Cytb 结构蛋白质二级结构及多参数分析 蛋白质二级结构是指蛋白质分子中多肽链本身的折叠方式,蛋白质分子的多肽链一般是部分卷曲盘旋成螺旋状(α-螺旋结构),或折叠成片层状(β-折叠结构),或以不规则卷曲结构存在于生物体内^[9]。

Gamier_Robson 方法是通过计算特定氨基酸残基在特定结构内部的可能性来预测蛋白质的二级结构的。用该方法预测 Cytb 结构蛋白质二级结构,发现它有 α 螺旋形成,同时有许多 β 折叠存在,且分布比较均匀,在各 β 折叠单元之间存

在长短不一的转角(图 3)。该方法预测的结果还显示,在该蛋白质的跨膜区有一些 α 螺旋结构形成。

Chou_Fasman 方法是通过序列氨基酸残基的晶体结构来预测二级结构,用该方法预测 Cytb 结构蛋白质二级结构,发现它有 α 螺旋结构形成,其位置分别在第 His 8 - Val 14、lys 172 - Glu 202、Gln 312 - Met 316 和 Gly351 - Trp379 区段(图 3)。相应地,用该方法预测的 β 折叠和转角结构就较少且主要处于该蛋白质的两端。



组成 Cytb 蛋白质二级结构的 α 螺旋 (HELIX, H)、β 折叠 (STRAND, E)、无规卷曲 (LOOP, L) 的比例为 64.91 : 0.79 : 34.30(图 4)。

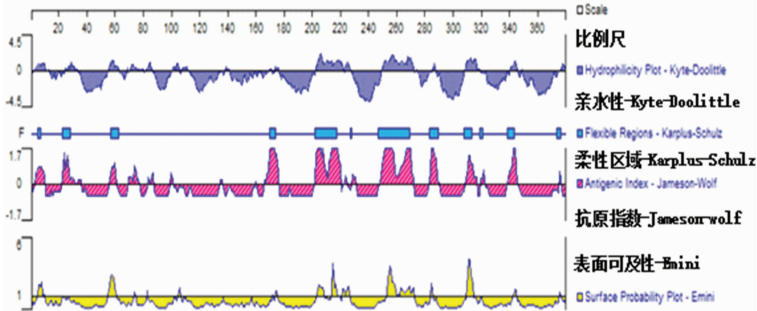
提示该区域暴露于表面的几率较大,作为抗原表位的可能性也最大(图 5)。

Cytb 结构蛋白质的表面可能性分析:在表面可能性较大的区域主要是 Ile 4 - Met 11、His 32 - Thr 60、Thr 203 - Lys 227、Leu 249 - Glu 271 和 Thr 309 - Met 315 区段,其他部位展示的可能性较小(图 5)。

Cytb 结构蛋白质骨架区的柔韧性分析:含有一些的柔韧性区域,且分布比较均匀,提示该蛋白质肽段有一定的柔韧性,可以发生扭曲、折叠,能形成比较丰富的二级结构(图 5)。

Cytb 结构蛋白质 B 细胞抗原表位的预测分析:通过联合以上蛋白质结构预测方法分析 Cytb 结构蛋白质潜在的蛋白质抗原决定簇,结果显示结构蛋白质含有一些抗原指数较高的区域,其中以羟基端的指数性最高,所跨区域也最大(Asp 248 - Glu 271),提示该区段含有潜在优势抗原表位,其他一些区段也可能含有一些潜在的抗原表位,如,Thr 203 - Lys 227 等,这些区域的抗原指数也比较高,蛋白质抗原指数较高的区域与其亲水性较高区域的分布较为一致,这些区域可能包含潜在优势的抗原表位(图 5)。

Cytb 结构蛋白质的亲水性分析:用 Kyte_Doolittle 方法对 Cytb 结构蛋白质的亲水性进行了分析。结果显示该蛋白质存在较少的亲水性区域,但其中亲水性较高的区域主要集中在:Glu 202 - Thr 225、Leu 249 - Glu 271 和 His 308 - Arg 318



2.3.3 蛋白质跨膜结构和信号肽分析 从图 6 可以看出, *Cytb* 蛋白质共存在 9 个典型的跨膜螺旋区, 氨基酸序号分别为 33–55、76–98、113–135、140–158、178–200、229–251、288–310、323–340 和 350–372。由此可推测, 绵羊 *Cytb* 基因 CDS 区所编码的蛋白质为跨膜蛋白质, 提示它可能作为膜受体起作用, 也可能是定位在膜上的锚定蛋白质或离子通道蛋白质。

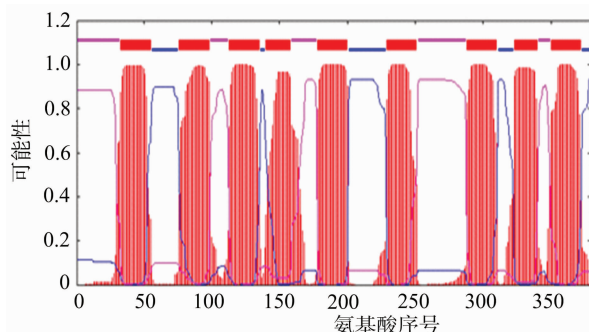


图6 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质的跨膜区域预测结果

从图 7 可以看出, *Cytb* 蛋白质的 C、Y 和 S 值的计算结果不具备信号肽的要求, 表明绵羊 *Cytb* 蛋白质不存在信号肽故该蛋白质为非分泌蛋白质。

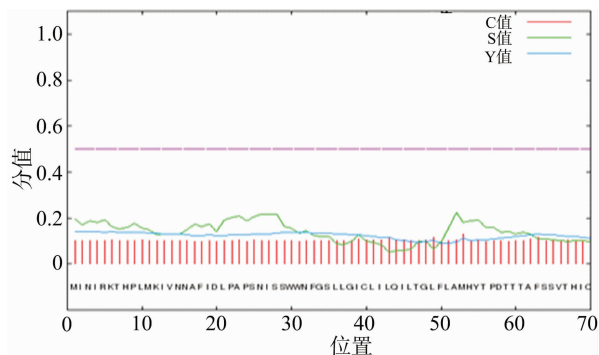


图7 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质的信号肽预测结果

2.3.4 亚细胞定位和蛋白质磷酸化分析 亚细胞定位可以明确某种蛋白质或表达产物在细胞内的具体存在部位。经亚细胞定位分析表明, 该序列主要在内质网 (77.8%)、细胞核 (11.1%)、线粒体 (11.1%) 内发挥其生物学作用。蛋白质磷酸化是调节和控制蛋白质活力和功能的重要机制。该蛋白质经磷酸化分析显示 (图 8), 绵羊 *Cytb* 蛋白质有较多的苏氨酸 (Thr) 以及丝氨酸 (Ser) 磷酸化位点和相对较少的酪氨酸 (Tyr) 磷酸化位点。

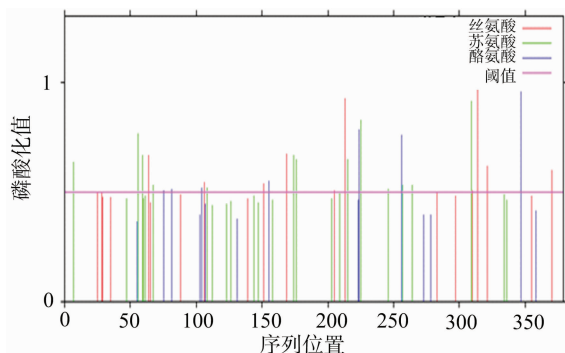


图8 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质磷酸化位点

2.3.5 高级结构预测与分析 利用 SWISS-MODEL 预测蛋白质的三级结构, 结果 (图 9) 显示, 绵羊 *Cytb* 蛋白质序列与 Blast 数据库中 5j4z. 53. A 模板序列相似性高达 61%, 该蛋白质存在较多的扭曲, 结构较为丰富, 该结果同时也表明了绵羊 *Cytb* 由 α -螺旋、 β -折叠和无规则卷曲组成, 与二级结构预测一致。而这些结构对其生物学功能的发挥有重要作用。



图9 绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质三级结构预测

3 讨论

在线粒体 DNA (mtDNA) 的 13 个蛋白质编码基因中, *Cytb* 的结构功能最为清楚^[10-11]。*Cytb* 主要存在于内膜磷脂中, 在线粒体蛋白质编码基因中有着十分重要的作用, 在氧化磷酸化过程中作为电子传递的重要媒介, 其自身可以在线粒体内进行转录和翻译。*Cytb* 基因的进化速度相对来说比较适中, 通常被人们用来研究种内、近缘种间以及种间亲缘关系, 成为一种重要的区分手段^[12]。在对不同物种同源性及系统发育分析可知, 湖羊与山羊亲缘关系最近, 其次是与牛亲缘关系最近, 其中偶蹄目最先聚为 1 支, 再与灵长类动物聚在一起, 最后与原鸡、斑马鱼等聚在一起。绵羊 *Cytb* 基因共编码 379 个氨基酸。

常见的蛋白质二级结构有 α -螺旋、 β -折叠、转角和无规则卷曲等。绵羊的 *Cytb* 基因编码蛋白质以 α -螺旋和无规则卷曲为主。蛋白质分子构象主要靠非共价键维持, 蛋白质结构的稳定在很大程度上有赖于分子内的疏水作用, 从各种因素的作用来看, 疏水作用是非常重要的^[13]。经分析绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质为酸性、不稳定性疏水蛋白质。一般信号肽位于分泌蛋白的 N 端, 通过判断蛋白质是否含有信号肽部分, 可以初步推测该蛋白质是否为分泌蛋白^[14], 结果分析表明, *Cytb* 蛋白质既不存在信号肽, 也不是分泌蛋白质。绵羊 *Cytb* 基因编码蛋白质有 9 个跨膜结构域, 这与刘安芳等对家鹅线粒体细胞色素 b 跨膜螺旋结构分析得出的结果^[15]一致。*Cytb* 主要在内质网、细胞核、线粒体内发挥其生物学作用, 与线粒体 DNA 的各种功能和调节有着密切的关系。蛋白质磷酸化的表达直接影响蛋白质活力和功能的调节, 是最重要的机制, 绵羊 *Cytb* 蛋白质的苏氨酸和丝氨酸磷酸化位点比较多, 酪氨酸的磷酸化位点相对较少, 苏氨酸和丝氨酸磷酸化的主要作用是激活蛋白质的活力, 结果表明该蛋白质酶活力较强^[16]。

参考文献:

- [1] 王备新, 杨莲芳. 线粒体 DNA 序列特点与昆虫系统学研究[J]. 应用昆虫学报, 2002, 39(2): 88–92.

- [5] Rosinski J A, Atchley W R. Molecular evolution of the Myb family of transcription factors; evidence for polyphyletic origin[J]. Journal of Molecular Evolution, 1998, 46(1): 74–83.
- [6] Hussain S S, Kayani M A, Amjad M. Transcription factors as tools to engineer enhanced drought stress tolerance in plants [J]. Biotechnology Progress, 2011, 27(2): 297–306.
- [7] Riano – Pachon D M, Correa L G, Mueller – Roeber B. Green transcription factors; a Chlamydomonas overview[J]. Genetics, 2008, 179(1): 31–39.
- [8] Green P J, Yong M H, Cuozzo M, et al. Binding site requirements for pea nuclear protein factor GT – 1 correlate with sequences required for light – dependent transcriptional activation of the *rbcS – 3A* gene[J]. EMBO Journal, 1988, 7(13): 4035–4044.
- [9] Tzafrir I, Pena – Muralla R, Dickerman A, et al. Identification of genes required for embryo development in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2004, 135(3): 1206–1220.
- [10] Zhou D X. Regulatory mechanism of plant gene transcription by GT – elements and GT – factors[J]. Trends in Plant Science, 1999, 4(6): 210–214.
- [11] Fang Y J, Xie K B, Hou X, et al. Systematic analysis of GT factor family of rice reveals a novel subfamily involved in stress responses [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2010, 283(2): 157–169.
- [12] Wang R, Hong G F, Han B. Transcript abundance of *rml1*, encoding a putative GT1 – like factor in rice, is up – regulated by Magnaporthe grisea and down – regulated by light [J]. Gene, 2004, 324(1): 105–115.
- [13] 贾海燕, 赵文芳, 马正强. 禾本科新型模式植物二穗短柄草的研究进展[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(6): 1123–1128.
- [14] 陈军营, 李香姐, 赵一丹, 等. 新型禾本科模式植物——二穗短柄草[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(4): 781–784.
- [15] Letunic I, Doerks T, Bork P. SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(Database issue): D302–D305.
- [16] Artimo P, Jonnalagedda M, Arnold K, et al. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(Database issue): W597–W603.
- [17] Bailey T L, Boden M, Buske F A, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37(Database issue): W202–W208.
- [18] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10): 2731–2739.
- [19] Crooks G E, Hon G, Chandonia J M, et al. WebLogo: a sequence logo generator[J]. Genome Research, 2004, 14(6): 1188–1190.
- [20] Lee T H, Tang H, Wang X, et al. PGDD: a database of gene and genome duplication in plants[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(Database issue): 1152–1158.
- [21] Krzywinski M, Schein J, Birol I, et al. Circos: an information aesthetic for comparative genomics[J]. Genome Research, 2009, 19(9): 1639–1645.
- [22] Green P J, Kay S A, Chua N H. Sequence – specific interactions of a pea nuclear factor with light – responsive elements upstream of the *rbcS – 3A* gene[J]. EMBO Journal, 1987, 6(9): 2543–2549.
- [23] 关秋玲, 陈焕新, 张毅, 等. 植物 GT 元件和 GT 因子的研究进展[J]. 遗传, 2009, 31(2): 123–130.
- [24] Nagano Y. Several features of the GT – factor trihelix domain resemble those of the Myb DNA – binding domain [J]. Plant Physiology, 2000, 124(2): 491–494.
- [25] 李月. 棉花逆境胁迫应答 Trihelix 转录因子的鉴定及功能分析[D]. 石河子: 石河子大学, 2013.
- [26] 陆婷婷. 水稻全长 cDNA 序列的比较分析. 相关数据库的构建植物与动物 trihelix 转录因子基因家族的比较研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2009.
- [27] Perisic O, Lam E. A tobacco DNA binding protein that interacts with a light – responsive box II element[J]. Plant Cell, 1992, 4(7): 831–838.
- [28] Le Gourriec J, Li Y F, Zhou D X. Transcriptional activation by Arabidopsis GT – 1 may be through interaction with TFIIA – TBP – TATA complex[J]. Plant Journal, 1999, 18(6): 663–668.

(上接第 27 页)

- [2] 陈复生, 付承玉, 汪泰初. 动物线粒体基因分子系统学研究进展[J]. 安徽农业科学, 2003, 3(4): 596–598.
- [3] 陈晓勇, 敦伟涛, 赵兴波. 哺乳动物线粒体基因组转录及其调控机制[J]. 中国草食动物科学, 2013, 33(2): 53–58.
- [4] Hatefi Y. The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system[J]. Annual Review of Biochemistry, 1985, 54(1): 1015–1069.
- [5] 孙炳松. 若干细胞色素 b 突变体蛋白的性质研究[D]. 上海: 复旦大学, 2000.
- [6] 陈晓勇. 绵羊产羔数性状线粒体基因效应研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
- [7] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research, 1998, 25: 4876–4882.
- [8] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725–2729.
- [9] 王菲露, 宋杨. 基于广义回归神经网络的蛋白质二级结构预测[J]. 计算机仿真, 2012, 29(2): 184–187.
- [10] Irwin D M, Koeher T D, Wilson A C. Evolution of the Cytochrome b gene of mammals[J]. Journal of Molecular Evolution, 1991, 32(2): 128–144.
- [11] Schoepp B, Breton J, Parot P, et al. Relative orientation of the hemes of the cytochrome_{b_c} complexes from *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodospirillum rubrum*, and beef heart mitochondria [J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(8): 5284–5290.
- [12] 于永亮. 黑格尔特七彩神仙鱼的线粒体基因组及与四种人工七彩神仙鱼 *Cytb*, 5S rDNA 的比较分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.
- [13] 王克夷. 疏水作用和蛋白质[J]. 生命的化学, 1999, 19(5): 233–235.
- [14] Thorton J M. From genome to function [J]. Science, 2001, 292(5524): 2095–2097.
- [15] 刘安芳, 王继文, 朱庆. 家鹅线粒体细胞色素 b 跨膜螺旋结构分析[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(2): 117–121.
- [16] 梁瑞圆, 陈晓勇, 孙少华, 等. 绵羊 *TFAM* 基因编码蛋白生物信息学分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(2): 575–581.