

山羊 *YWHAB* 基因克隆及生物信息学分析

唐正锭¹, 冯爱萍¹, 朱江江², 向 华^{1,2*}

(1. 西南民族大学动物医学四川省高等学校重点实验室, 成都 610041; 2. 青藏高原动物遗传资源保护与利用四川省重点实验室, 成都 610041)

摘要:旨在克隆山羊 *YWHAB* 基因后结合生物信息学分析, 为进一步探究该基因的功能奠定基础. 试验采用 Trizol 法提取山羊鼻甲骨细胞总 RNA 并反转录为 cDNA, 作为模板成功克隆获得山羊 *YWHAB* 基因, 并对测序鉴定正确的 *YWHAB* 基因序列进行生物信息学分析. 结果显示, 所获得的山羊 *YWHAB* 基因序列全长 973 bp (GenBank 登录号: PP453721.1), 其中 CDS 区为 741 bp, 编码 246 个氨基酸; 该蛋白分子量为 28 082.40 Da, 属于酸性不稳定亲水蛋白, 无信号肽和跨膜区; 修饰位点分析表明, 该蛋白含有 3 个 N-糖基化位点、31 个 O-糖基化位点及 42 个磷酸化位点; 二级结构预测显示, α -螺旋占比 68.70%, 无规则卷曲为 21.95%, 延伸链和 β -转角分别占 8.54% 和 0.81%; 亚细胞定位预测表明, 该蛋白主要分布于细胞质 (约占 72%), 细胞核和线粒体分别约占 17% 和 11%; 蛋白互作预测提示, *YWHAB* 可能与 FOXO3、TFEB、YAP1 等 10 个蛋白存在相互作用; 基于 *YWHAB* 基因序列构建的系统进化树显示, 与山羊亲缘关系最近的物种为绵羊, 其次依次为牛、鹿、羊驼和猪. 本研究成功克隆了山羊 *YWHAB* 基因并进行生物信息学分析, 为后续研究 *YWHAB* 基因在山羊鼻甲骨细胞中的调控机制及功能提供参考.

关键词: 山羊; *YWHAB*; 基因克隆; 生物信息学分析

中图分类号: S827

文献标志码: A

文章编号: 2095-4271(2026)05-0498-08

Cloning and bioinformatics analysis of goat *YWHAB* gene

Tang Zhengding¹, Feng Aiping¹, Zhu Jiangjiang², Xiang Hua^{1,2*}

(1. Sichuan Province Key Laboratory of Animal Medicines at Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China;
2. Qinghai-Xizang Plateau Animal Genetic Resource Reservation and Utilization Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610041, China)

Abstract: This study aimed to clone the goat *YWHAB* gene and conduct bioinformatics analysis, so as to provide a foundation for further functional studies. Total RNA was extracted from goat turbinate cells using the Trizol reagent and reverse-transcribed into cDNA, which was used as a template to successfully clone the goat *YWHAB* gene. Bioinformatics analysis was then performed on the *YWHAB* gene sequence that was correctly identified by sequencing. The results showed that the obtained sequence was 973 bp in length (GenBank accession No. PP453721.1), containing a 741 bp coding sequence (CDS) that encoded 246 amino acids. The encoded protein, with a molecular weight of 28 082.40 Da, was acidic, unstable, and hydrophilic, and lacked a signal peptide and transmembrane domains. Modification site analysis revealed three N-glycosylation sites, 31 O-glycosylation sites, and 42 phosphorylation sites. Secondary structure prediction showed that α -helices accounted for 68.70%, random coils for 21.95%, extended strands for 8.54%, and β -turns for 0.81%. Subcellular localization prediction

收稿日期: 2025-09-23

*通信作者, E-mail: xianghua2008411@163.com

基金项目: 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金-青年成长项目 (ZYN2025036)

引用格式: 唐正锭, 冯爱萍, 朱江江, 等. 山羊 *YWHAB* 基因克隆及生物信息学分析[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2026, 52(5): 498-505.

Tang Zhengding, Feng Aiping, Zhu Jiangjiang, et al. Cloning and bioinformatics analysis of goat *YWHAB* gene [J]. Journal of Southwest Minzu University (Natural Science Edition), 2026, 52(5): 498-505.

indicated that the protein was mainly distributed in the cytoplasm (approximately 72%), which was followed by the nucleus (17%) and mitochondria (11%). Protein-protein interaction prediction suggested that YWHAB might interact with ten proteins, including FOXO3, TFEB, and YAP1. Phylogenetic analysis based on the YWHAB gene sequence showed that sheep was the species having the closest relationship with goat, followed by cattle, deer, alpaca, and pig. In conclusion, the goat YWHAB gene was successfully cloned and bioinformatically analyzed, providing a reference for future studies on its regulatory mechanisms and functions in goat turbinate cells.

Keywords: goat; YWHAB; gene cloning; bioinformatics analysis

羊传染性脓疱(俗称“羊口疮”, *Orf*)是由羊传染性脓疱病毒(*Orf virus*, ORFV)感染引起的一种重要人兽共患病,在山羊和绵羊中传播迅速、分布广泛^[1]. 目前该病主要依靠疫苗接种防控,但仍存在“返毒”现象^[2]. 因此,深入解析 ORFV 与宿主相互作用的分子机制,是突破其“难防难治”困境的关键. 病毒的生命周期高度依赖于劫持宿主的细胞因子和信号通路,有研究表明 ORFV 编码的蛋白通过与宿主蛋白发生相互作用^[3],在病毒入侵、复制及免疫逃逸中发挥关键作用. 然而, ORFV 如何调控宿主细胞的核心信号网络,仍是当前研究的薄弱环节.

14-3-3 蛋白家族是一种广泛存在于真核细胞中的酸性蛋白,最初被认为是一种激活神经递质合成的信号分子^[4],在哺乳动物大脑中含量丰富,对细胞信号传导、细胞生长和细胞凋亡等多种生物学功能具有重要作用^[5]. 已知的哺乳动物 14-3-3 蛋白有 7 种(β 、 γ 、 ε 、 η 、 ζ 、 σ 和 τ)异构体,这些异构体有较高的同源性,是一类较为保守的蛋白家族^[6]. YWHAB 编码的 14-3-3 β 是 14-3-3 家族中重要成员之一,在蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络起到了关键作用^[7],是重要的信号转导因子,可以与一系列蛋白激酶、磷酸酶和其他信号蛋白相互作用,还可以与 DNA 相互作用调节 DNA 复制的起始^[8],其参与细胞周期、凋亡调控等多种生物学过程,并与恶性肿瘤的增殖和活力相关^[9]. 2013 年, Yang Zhang 等提出 YWHAB 可能参与了肝癌转移^[10],同年, Chengshan Xu 等发现,肺癌患者血清中 YWHAB 表达上调, YWHAB 作为 microRNA-129-5p (MiR-129-5p)的下游靶点,二者表达呈显著负相关, MiR-129-5p 被认为在调节肺癌细胞的增殖和迁移中有重要作用,其过表达引起 YWHAB 表达量降低,从而促进肺癌细胞凋亡^[11], 2023 年, Kellie Gallo 等发现,敲低 YWHAB 表达可以显著抑

制胶质母细胞瘤增殖,这可能是由于 14-3-3 β 的缺失引起肿瘤抑制因子 P27 表达增加造成的^[12]. PI3K 调控亚基 2 (PIK3R2) 是 PI3K/AKT 信号通路的激活子,在多种癌细胞中调控细胞增殖和凋亡, 2023 年, Xin Zhou 等提出, YWHAB 可以通过与 PIK3R2 结合影响结肠癌细胞的增殖、周期与凋亡,抑制 YWHAB 表达可以抑制结肠癌细胞的增殖,促进该细胞的凋亡并使细胞周期阻滞于 G0/G1 期^[13]. 2021 年, Linlin Ji 等发现 YWHAB 在体内外调节葡萄糖代谢中起到关键作用, YWHAB 通过对 FOXO1 的调节参与胰高血糖素受体 (Glucagon receptor, GCGR) 激活通路,从而抑制肝细胞进行糖异生^[14]. 值得注意的是, YWHAB 在病毒感染过程中亦扮演重要角色. 2019 年, 侯玉凤指出, YWHAB 可抑制 PCV2 感染引起的细胞凋亡、自噬和内质网应激等反应^[15], 2020 年, Kangkang Guo 研究发现 YWHAB 抑制 PCV2 的复制^[16]. 本实验室前期研究显示, ORFV129 蛋白可与宿主蛋白 C1QBP 相互作用,而 C1QBP 本身也能与 YWHAB 结合,并可在一定程度上抑制 ORFV 复制^[17]. 这提示我们,作为其互作蛋白的 YWHAB,也可能作为 ORFV 与宿主互作网络中的关键节点,参与了病毒感染过程. 此外,目前尚无关于山羊 YWHAB 基因功能的相关报道. 因此,本研究以山羊鼻甲骨细胞为材料,成功克隆获得山羊 YWHAB 基因序列,并对其进行系统的生物信息学分析,旨在为后续揭示 YWHAB 在 ORFV 感染过程中的分子机制,以及解析该基因在山羊中的生物学功能奠定基础.

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 山羊鼻甲骨细胞的复苏及培养

在四川省简阳市大哥大牧业有限公司随机选购

一只健康的 2 日龄雄性羔羊,于接回次日对羔羊实施安乐死,并无菌采集其鼻甲骨组织,随后采用组织块法培养,成功获得原代山羊鼻甲骨细胞^[18]。所有操作遵循实验动物伦理规范并获批准。

1.1.2 主要试剂与仪器

T4 DNA 连接酶购自北京宝日医生物技术有限公司;胶回收试剂盒购自北京天根生化公司;克隆载体 pMD19-T、2×T5 Super PCR Mix (Colony) 和 DH5 α 感受态细胞购自擎科生物成都分公司;总 RNA 提取试剂 Trizol、反转录试剂盒及 PCR 仪购自赛默飞世尔科技公司;DNA 分子量标准(DL2000)与筛选用氨苄青霉素购自兰杰柯科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 山羊原代鼻甲骨细胞总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

采用 Trizol 法提取山羊原代鼻甲骨细胞的总 RNA,并检测其浓度与纯度。要求 RNA 浓度不低于 200 ng/ μ L,且 OD260/OD280 比值介于 1.8~2.0 之间。测定 RNA 浓度后,取 4 ng RNA 按以下步骤进行反转录:第一步:将 4 ng RNA、1 μ L Oligo (dt)18 Primer,超纯水补至 11 μ L 后,充分混匀,PCR 仪 65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min,第二步:向上一部产物加入 4 μ L 5×Reaction Buffer、1 μ L RiboLock™、2 μ L 10 mM dNTP,最后加入 1 μ L Revert Aid™充分混匀,PCR 仪 42 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,再 70 $^{\circ}$ C 孵育 5 min。反应结束后,产物 cDNA 存于-20 $^{\circ}$ C 冰箱,以供后续扩增试验使用。

1.2.2 山羊 YWHAB 基因扩增以及产物回收

以 GenBank 中山羊 YWHAB 基因预测序列(XM_018057913.1)作为参考,通过 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物一对 PMD19-YWHAB-F: TGCTCG-CAAGGTTC;PMD19-YWHAB-R: TGCCGTGGCATTTA,由成都生工生物工程有限公司合成。以 1.2.1 中保存的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增反应,PCR 反应体系如下:cDNA 模板 1 μ L,上下游引物(10 μ M)各 1 μ L,2×T5 Super PCR Mix 12.5 μ L,最后加超纯水补至 25 μ L。扩增步骤:第一步进行 3 min 的预变性(95 $^{\circ}$ C);第二步共计循环 35 次,包括变性、退火、延伸(95 $^{\circ}$ C 30 s, 47 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min);最后进行 5 min 的终延伸(72 $^{\circ}$ C),4 $^{\circ}$ C 保存反应产物。扩增结束后,取 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳进行鉴定,使用胶回收试剂盒

对目的条带进行纯化回收,分光光度计测定其浓度。

1.2.3 pMD19-YWHAB 的连接及转化

取 1.2.2 获得的胶回收产物,与 pMD19-T 载体进行连接,连接反应体系如下:pMD19-T 0.5 μ L(约 25 ng)、胶回收产物 4.5 μ L、Solution I 5 μ L 轻柔混匀,置于金属浴中 16 $^{\circ}$ C 连接 12 h。将上述连接产物转化至 DH5 α 感受态细胞中,随后挑取单菌落在加入 5 μ L 超纯水的 PCR 管中进行稀释,取 1 μ L 稀释菌液作为模板,使用 1.2.2 所述的引物与 PCR 反应程序进行扩增,并通过琼脂糖凝胶电泳对产物进行初步鉴定,将鉴定为阳性的 3 个单菌落扩大培养,同步送至成都生工生物公司进行双向测序。将测序对比正确的菌落命名为 pMD19-YWHAB,并与等体积的 50% 甘油溶液混合,于-80 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 山羊 YWHAB 基因的生物信息学分析

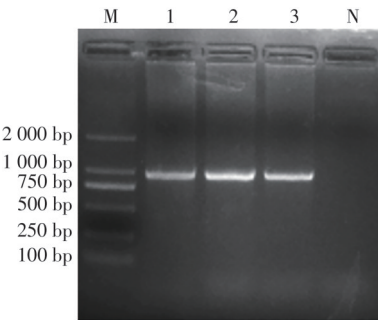
对山羊 YWHAB 蛋白进行全面的生物信息学特征分析,以系统了解其结构特征与潜在功能。首先,利用 ExPASy 的 ProtParam 工具对 YWHAB 蛋白的基本理化参数(分子量、等电点、氨基酸组成及半衰期)进行评估。通过 ProtScale 程序系统分析该蛋白的亲疏水特性,识别其潜在疏水区域。同时,使用 EBI 检测其蛋白信号肽是否存在。采用 TMHMM Server v.2.0 预测跨膜结构,分析其是否为跨膜蛋白。通过 NetPhos 3.1 预测丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的磷酸化位点,分析其潜在的修饰调控机制。应用 NetNGlyc 1.0 和 YinOYang 1.2 工具分别预测 N-连接与 O-连接糖基化修饰位点。对于蛋白质高级结构,采用 SOPMA 解析二级结构组成(α -螺旋、 β -折叠和无规卷曲),并通过 SWISS-MODEL 构建三维空间结构模型。采用 MEGA 5 软件构建系统发育树,评估其在进化过程中与绵羊(XM_027 977 229.3)、牛(NM_174 794.2)、猪(XM_005 672 961.3)、鹿(XM_043 882 906.1)和羊驼(XM_072 944 287.1)的保守性与亲缘关系。最后,利用 STRING 数据库挖掘山羊 YWHAB 蛋白的相互作用网络,探寻其可能的功能伙伴与参与的信号通路。

2 结果

2.1 山羊 YWHAB 基因的克隆及鉴定

试验成功获得连接转化后的阳性克隆,经 PCR 及凝胶电泳验证,其扩增产物与山羊 YWHAB 基因的目

的片段大小相符(图 1). 测序分析表明,所获得的 YWHAB 基因序列全长为 973 bp,其中编码区(CDS)长度为 741 bp. 该 CDS 序列经比对确认无误,已提交至 NCBI GenBank 数据库,并获收录(登录号:PP453721.1).



M: DNA 相对分子质量标准; N: 阴性对照; 1、2、3: YWHAB 基因扩增条带

图 1 山羊 YWHAB 基因克隆电泳图

Fig.1 Electrophoresis of goat YWHAB gene cloning

2.2 山羊 YWHAB 生物信息学分析

2.2.1 山羊 YWHAB 蛋白理化性质分析及氨基酸组成

ProtParam 工具分析结果显示, YWHAB 蛋白的理论等电点(pI)为 4.76, 分子量为 28 082.40 Da, 脂肪指数为 75.41. 半衰期评估结果表明, 该蛋白在不同生物系统中表现出良好的稳定性: 在哺乳动物网织红细胞体外系统中约为 30 h, 在酵母体内环境中大于 20 h, 而在大肠杆菌体内环境中也可维持在 10 h 以上. 对该蛋白的稳定性评估结果显示, 其不稳定指数(II)为 47.27, 根据标准可判定其为不稳定蛋白. 氨基酸组成分析显示, 该蛋白含 246 个氨基酸, 其中谷氨酸(Glu)含量最高(12.2%), 而色氨酸(Trp)含量最低(表 1).

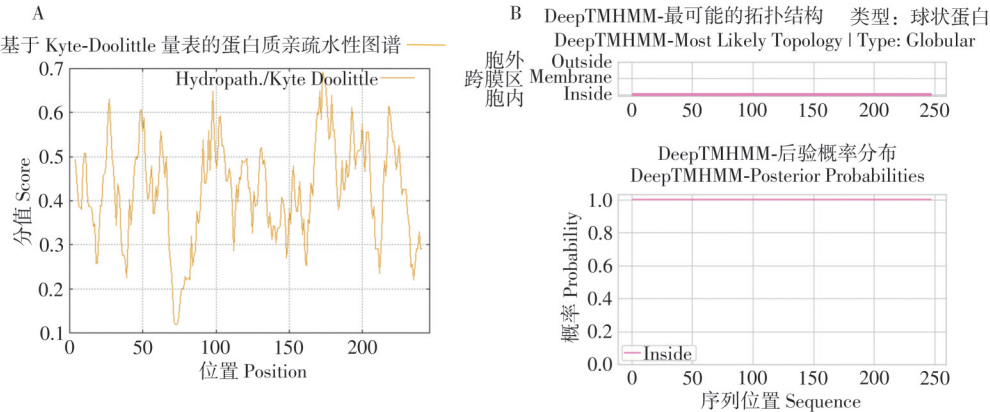
与预测的 YWHAB 基因序列(XM_018 057 913.1)对比分析发现, 存在三个核苷酸差异, 差异均位于密码子第 3 位, 由于遗传密码的简并性, 氨基酸并未改变, 最终二者的蛋白序列完全一致.

表 1 部分氨基酸占比

Table 1 Proportions of partial amino acids					
氨基酸	个数	占比/%	氨基酸	个数	占比/%
Ala(A)	21	8.5	Leu(L)	24	9.8
Arg(R)	10	4.1	Lys(K)	20	8.1
Asn(N)	14	5.7	Met(M)	8	3.3
Asp(D)	14	5.7	Phe(F)	6	2.4
Cys(C)	2	0.8	Pro(P)	5	2.0
Gln(Q)	15	6.1	Ser(S)	19	7.7
Glu(E)	30	12.2	Thr(T)	12	4.9
Gly(G)	10	4.1	Trp(W)	2	0.8
His(H)	2	0.8	Tyr(Y)	11	4.5
Ile(I)	10	4.1	Val(V)	11	4.5

2.2.2 山羊 YWHAB 蛋白结构和位点预测

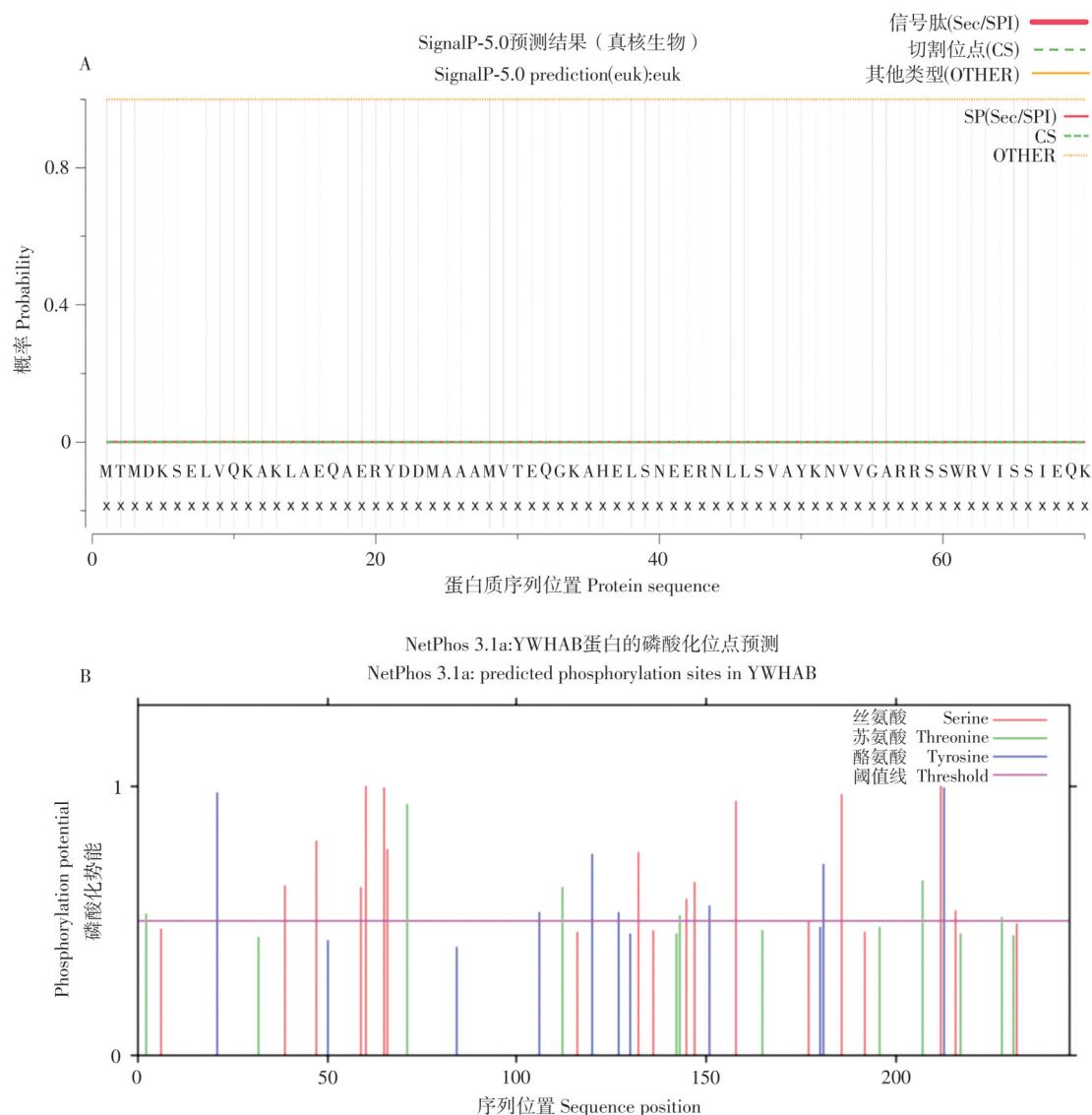
采用 ProtScale 分析山羊 YWHAB 蛋白的亲疏水性特性, 结果显示其平均亲水性系数(GRAVY)为 -0.729, 表明该蛋白为亲水性蛋白(图 2A), 通过 SignalP(EBI server)预测表明, 山羊 YWHAB 蛋白不存在信号肽结构(图 2B), 在结构域方面, 利用 TMHMM Server v.2.0 进行跨膜结构预测, 结果显示该蛋白不包含跨膜结构域, 表明其为非跨膜蛋白(图 2B), 通过 SignalP 预测表明, 山羊 YWHAB 蛋白不存在信号肽结构(图 3A), 进一步使用 NetPhos 3.1 对该蛋白的磷酸化位点进行系统预测, 共识别出 42 个潜在位点, 包括 19 个丝氨酸、12 个苏氨酸和 11 个酪氨酸位点(图 3B). 上述结果表明, 山羊 YWHAB 蛋白含有丰富的磷酸化位点, 具备作为多种激酶底物并参与复杂细胞信号调控的潜力.



A. 山羊 YWHAB 蛋白疏水性; B. 山羊 YWHAB 蛋白跨膜结构预测

图 2 山羊 YWHAB 蛋白亲水性与跨膜结构预测

Fig.2 Prediction of hydrophilicity and transmembrane domains of goat YWHAB protein



A. 山羊 YWHAB 蛋白信号肽结构; B. 山羊 YWHAB 蛋白磷酸化位点

图 3 山羊 YWHAB 蛋白序列分析

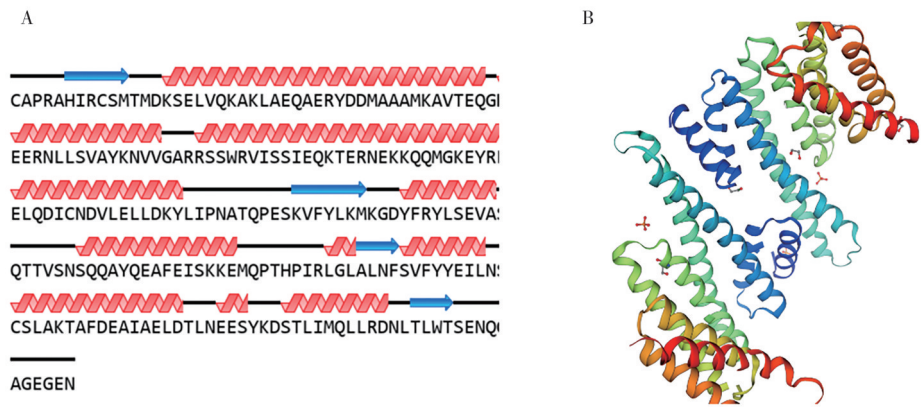
Fig.3 Goat YWHAB protein sequence analysis

采用NovoPro分析山羊YWHAB蛋白的二级结构,结果显示其组成如下: α -螺旋占68.70%,无规则卷曲占21.95%,延伸链与 β -转角分别占8.54%与0.81%(图4A).利用SWISS-MODEL构建的三级结构模型,其构象与二级结构预测结果相符(图4B).利用YinOY-ang 1.2预测发现,该蛋白存在31个潜在的O-糖基化位点(图5A),NetNGlyc 1.0预测结果显示,在第110、175和226位氨基酸处各有1个N-糖基化位点(图5B).

2.2.3 山羊 YWHAB 亚细胞定位、系统进化树和互作蛋白预测分析

基于WoLF PSORT的亚细胞定位预测显示,山羊

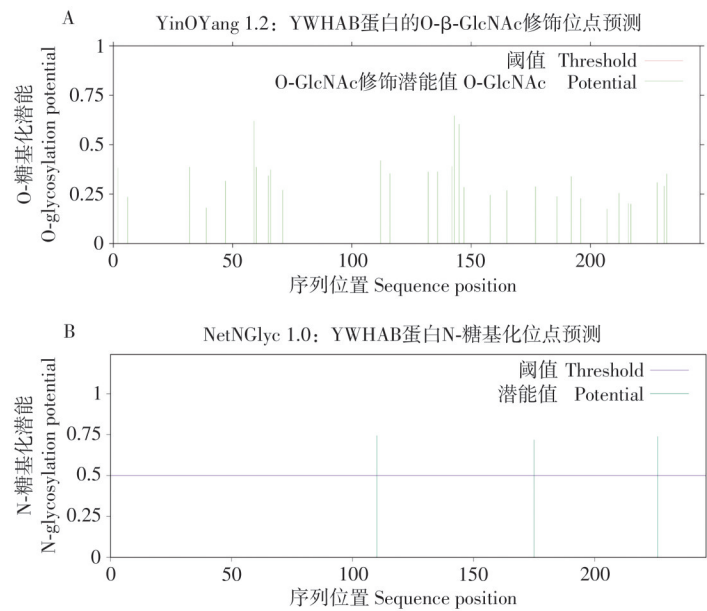
YWHAB蛋白主要分布于细胞质.进一步的定量分析表明,其在细胞质中的分布占比约为72%,而在细胞核和线粒体中分别约占17%和11%.结合TargetP与DeepLoc等工具的交叉验证支持,进一步确认了其胞质定位.基于MEGA 5构建的系统进化树分析表明,山羊YWHAB与绵羊的亲缘关系最近,与牛、鹿、羊驼和猪的亲缘关系依次递减(图6A).通过STRING数据库进行的蛋白互作网络分析预测,YWHAB可能与FOXO3、TFEB、YAP1、WWTR1、YWHAZ、YWHAQ、BAD、RAF1、BRAF及ARAF等10个蛋白存在相互作用(图6B).



A. 山羊 YWHAB 蛋白二级结构预测; B. 山羊 YWHAB 蛋白三级结构预测

图 4 山羊 YWHAB 蛋白多层次结构预测

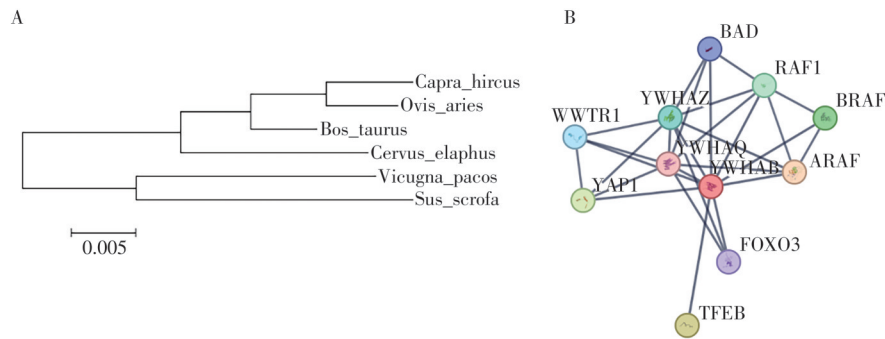
Fig.4 Hierarchical structure prediction of goat YWHAB protein



A. 山羊 YWHAB 蛋白 O-糖基化位点预测; B. 山羊 YWHAB 蛋白 N-糖基化位点预测

图 5 山羊 YWHAB 蛋白糖基化位点预测

Fig.5 Prediction of glycosylation sites in goat YWHAB protein



A. 不同物种间 YWHAB 基因系统进化树分析; B. YWHAB 相互作用蛋白预测

图 6 山羊 YWHAB 的进化与功能分析

Fig.6 Evolutionary and functional analyses of goat YWHAB

3 讨论

YWHAB 基因在人^[9,13,19]、鼠^[10,14]、猪^[16]和鸡^[20]上均有研究,但在山羊上暂无相关报道。本研究以简州大耳羊为研究对象,克隆得到山羊 *YWHAB* 基因 CDS 区 741 bp, 编码 246 个氨基酸残基。蛋白分子量为 28 082.40 Da, 为酸性不稳定亲水性蛋白, 有 42 个磷酸化位点, 涉及丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸; 无信号肽、无跨膜区, 推测该蛋白为非分泌性的胞内蛋白。二级结构结果显示该蛋白 α 螺旋占比较高, 提示该蛋白的结构较稳定^[21], STRING 数据库预测 *YWHAB* 可能与 FOXO3、TFEB、YAP1 等 10 个蛋白存在相互作用, 这些蛋白常被报道与信号通路调节、细胞凋亡的调控等相关。例如, 宁紫帆^[20]研究发现, *YWHAB* 作为 miR-128-3p 的关键功能靶点, 通过互作使磷酸化的 FoxO 蛋白(如 FoxO1/3/4)滞留于胞质, 抑制其转录活性, 从而促进鸡颗粒细胞的增殖; Xu Yang 等^[22]研究结果显示, 磷酸化的 TFEB 与 14-3-3 蛋白(如 *YWHAB*)相互作用而被滞留于细胞质, 干扰其互作会导致 TFEB 介导的下游靶基因及自噬活动异常激活; 2025 年, Lui Chang 等^[23]研究发现, 限制 *YWHAB* 介导的 YAP 细胞质保留是 OCPM 干性维持的关键机制, YAP 将是抑制 *YWHAB* 限制引起的 OCPM 干性的治疗靶点; 2023 年, Thomas C Frost 等^[24]在研究中提到, 肿瘤细胞的神经内分泌特性与 YAP1/WWTR1 的活性呈负相关, 激活 YAP1 或 WWTR1 可使其与 TEAD 形成复合物, 该复合物能直接抑制大 T 抗原的表达, 通过截断这一关键的促增殖信号, 最终引发癌细胞周期停滞; 2019 年, 王颖怡^[25]等研究表明, *YWHAB* 的下调可以抑制高糖诱导的肾小球系膜细胞增殖; 2022 年, 朱海涛^[26]等发现, 转染 si-*YWHAQ* 后, 细胞迁移受到明显抑制, 细胞凋亡率显著升高, 14-3-3 蛋白家族作为“分子胶水”, 通过形成二聚体识别磷酸化蛋白, 基于此特性, 推测 *YWHAB* 和 *YWHAQ* 等成员可能通过组建复合物来协同或竞争性地调控下游信号网络; 2014 年, 姜浩^[27]等研究证实, *YWHAB* 与 RAF1 存在直接相互作用, 在胃癌模型中敲低 *YWHAB* 会导致磷酸化 RAF1(P-Raf)水平下降, 并抑制癌细胞增殖; 尽管针对 *YWHAB* 与 BRAF 和 ARAF 直接互作的研究有限, 但鉴于 RAF 家族成员与 14-3-3 蛋白结合机制的保守

性, *YWHAB* 很可能以类似方式调控 BRAF 和 ARAF。综上所述, *YWHAB* 不仅具有广泛的蛋白互作能力, 还是多个关键信号通路的交汇点, 充分体现了 *YWHAB* 在细胞信号转导中的核心地位。

YWHAB 作为 14-3-3 蛋白家族中含量最高的成员, 在抗病毒感染等过程中发挥重要作用。在抗病毒感染中, *YWHAB* 通过与病毒的结构蛋白或非结构蛋白结合, 显著影响病毒的复制和增殖^[28]。例如, *YWHAB* 与 PMV 的 5M 蛋白相互作用抑制病毒粒子形成^[29], 与 SVCV 糖蛋白结合促进病毒侵入, 与 DENV 非结构蛋白 NS3 竞争性结合阻断抗病毒信号传递, 以及与 PCV2 的 ORF5 蛋白相互作用抑制病毒复制^[28]。以上研究提示 *YWHAB* 在多种病毒的复制过程中扮演重要角色。基于这些发现, 我们推测 *YWHAB* 也可能参与调控 ORFV 的复制周期。

4 结论

本试验成功克隆山羊 *YWHAB* 基因(GenBank 登录号: PP453721.1), CDS 区全长为 741 bp, 共计编码 246 个氨基酸残基。山羊 *YWHAB* 基因与绵羊亲缘关系最近, 其次为牛、鹿、羊驼、猪。*YWHAB* 蛋白被预测与 FOXO3、TFEB、YAP1、WWTR1、*YWHAB*、*YWHAQ*、BAD、RAF1、BRAF、ARAF 等 10 个蛋白有相互作用。

参考文献

- [1] 魏新宇. 基于 CRISPR/Cas9 基因编辑技术构建 ORFV009 基因缺失株及其免疫效果评价[D]. 长春: 吉林大学, 2020.
- [2] Bakar A M, Jesse F F A, Abdullah C A C, et al. Immunomodulatory strategies for parapoxvirus: Current status and future approaches for the development of vaccines against orf virus infection[J]. Vaccines, 2021, 9(11): 1341.
- [3] 但一听, 向华, 张焕容, 等. 羊口疮病毒 129 蛋白互作宿主蛋白的筛选与 C1QBP 基因的克隆分析[J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(1): 1-14.
- [4] Jeong B H, Jin H T, Choi E K, et al. Lack of association between 14-3-3 beta gene (*YWHAB*) polymorphisms and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)[J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(12): 10647-10653.
- [5] Yaffe M B. How do 14-3-3 proteins work? —Gatekeeper phosphorylation and the molecular anvil hypothesis[J]. FEBS Letters, 2002, 513(1): 53-57.
- [6] Safaei A, Rezaei Tavarani M, Zamanian Azodi M, et al. Diabetic

- retinopathy and laser therapy in rats: A protein-protein interaction network analysis[J]. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 2017, 8 (Suppl 1): S20-S21.
- [7] Aitken A. 14-3-3 proteins: A historic overview[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2006, 16(3): 162-172.
- [8] Yang X L, Cao W D, Lin H, et al. Isoform-specific expression of 14-3-3 proteins in human astrocytoma[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2009, 276(1-2): 54-59.
- [9] Berg D, Holzmann C, Riess O. 14-3-3 proteins in the nervous system[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2003, 4(9): 752-762.
- [10] Zhang Y, Li M L, Wei L L, et al. Differential protein expression in perfusates from metastasized rat livers[J]. *Proteome Science*, 2013, 11(1): 37.
- [11] Xu C S, Du Z L, Ren S M, et al. miR-129-5p sensitization of lung cancer cells to etoposide-induced apoptosis by reducing YWHAB[J]. *Journal of Cancer*, 2020, 11(4): 858-866.
- [12] Gallo K, Srinageshwar B, Ward A, et al. Inducible knockout of 14-3-3 β attenuates proliferation and spheroid formation in a human glioblastoma cell line U87MG[J]. *Brain Sciences*, 2023, 13(6): 868.
- [13] Zhou X, Chen A J, Zhang T T. YWHAB knockdown inhibits cell proliferation whilst promoting cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells through PIK3R2[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2023, 25(5): 193.
- [14] Ji L L, Wang Q Q, Liu M D, et al. The 14-3-3 protein YWHAB inhibits glucagon-induced hepatic gluconeogenesis through interacting with the glucagon receptor and FOXO1[J]. *FEBS Letters*, 2021, 595(9): 1275-1288.
- [15] 侯玉凤. YWHAB蛋白与PCV2 ORF5的互作研究及其对病毒复制的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [16] Guo K K, Zhang X P, Hou Y F, et al. A novel PCV2 ORF5-interacting host factor YWHAB inhibits virus replication and alleviates PCV2-induced cellular response[J]. *Veterinary Microbiology*, 2020, 251: 108893.
- [17] Dan Y X, Yang L, Zhang H R, et al. The orf virus 129 protein can inhibit immune responses by interacting with host complement C1q binding protein in goat turbinate bone cells[J]. *Veterinary Microbiology*, 2023, 283: 109782.
- [18] Wang J, Hu G D, Lin Z, et al. Characteristic and functional analysis of a newly established porcine small intestinal epithelial cell line[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110916.
- [19] Wang T, Zheng X, Li R D, et al. Integrated bioinformatic analysis reveals YWHAB as a novel diagnostic biomarker for idiopathic pulmonary arterial hypertension[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(5): 6449-6462.
- [20] 宁紫帆. MiR-128-3p通过14-3-3 β /FoxO和PPAR- γ /LPL信号通路调控鸡卵泡颗粒细胞功能[D]. 成都: 四川农业大学, 2023.
- [21] 金承昊, 冯宙, 姜舟婷. α 螺旋结构影响蛋白质稳定性的模拟研究[J]. *中国计量大学学报*, 2023, 34(2): 265-270.
- [22] Xu Y, Ren J Q, He X L, et al. YWHA/14-3-3 proteins recognize phosphorylated TFEB by a noncanonical mode for controlling TFEB cytoplasmic localization[J]. *Autophagy*, 2019, 15(6): 1017-1030.
- [23] Liu C, Shi L, Meng Z J, et al. Restriction of YWHAB-mediated YAP cytoplasmic retention is a novel mechanism underlying stemness maintenance and chemoresistance in ovarian cancer peritoneal metastasis[J]. *Genes & Diseases*, 2025, 12(5): 101519.
- [24] Frost T C, Gartin A K, Liu M F, et al. YAP1 and WWTR1 expression inversely correlates with neuroendocrine markers in Merkel cell carcinoma[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2023, 133(5): e157171.
- [25] 王颖怡, 李婧波, 张艳, 等. RNA干扰YWHAB基因对高糖诱导的肾小球系膜细胞凋亡及炎症因子的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(13): 1631-1635.
- [26] 朱海涛, 毛慧兰, 陶爽, 等. miR-16-5p通过靶向YWHAQ调控乳腺癌耐药细胞的凋亡与迁移能力[J]. *南方医科大学学报*, 2022, 42(10): 1476-1485.
- [27] 姜浩, 姚强, 包俊杰, 等. 14-3-3 β 蛋白通过影响P-Raf蛋白表达促进胃癌淋巴结转移的研究[C]//第9届全国胃癌学术会议暨第二届阳光长城肿瘤学术会议论文集. 北京, 2014: 264-265.
- [28] Chen B X, Li C, Wang Y D, et al. 14-3-3 β / α -a interacts with glycoprotein of spring viremia of carp virus and positively affects viral entry[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 81: 438-444.
- [29] Pei Z F, Harrison M S, Schmitt A P. Parainfluenza virus 5 m protein interaction with host protein 14-3-3 negatively affects virus particle formation[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(5): 2050-2059.

(责任编辑:和力新,殷锋,付强,张阳,肖丽;英文编辑:郑玉才,周序林)