



杜文苹, 曹然然, 胡晓玉, 张晨曦, 许春红, 杨岚, 雷艳茹, 康相涛, 李文婷. 鸡 *RUNX3* 基因组织表达及生物信息学分析[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(03): 125-133.

DU Wenping, CAO Ranran, HU Xiaoyu, ZHANG Chenxi, XU Chunhong, YANG Lan, LEI Yanru, KANG Xiangtao, LI Wenting. Tissue expression and bioinformatics analysis of the chicken *RUNX3* gene[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(03): 125-133.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.03.11

鸡 *RUNX3* 基因组织表达及生物信息学分析

杜文苹^{1,2} 曹然然^{1,2} 胡晓玉^{1,2} 张晨曦^{1,2} 许春红^{1,2} 杨岚^{1,2} 雷艳茹^{1,2}
康相涛^{1,2} 李文婷^{1,2*}

(1. 河南农业大学 动物科技学院, 郑州 450046;

2. 河南省农业科学院 神农种业实验室, 郑州 450046)

摘要 为探究 Runt 相关转录因子 3 (Runt-related transcription factors 3, *RUNX3*) 基因潜在功能, 本研究利用实时荧光定量技术 (Quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测鸡 *RUNX3* 基因在心脏、肝脏、脾脏、腿肌和十二指肠组织中的表达, 通过生物信息学软件构建 *RUNX3* 基因的系统进化树, 并对该基因所编码的蛋白质理化性质和结构功能进行分析。结果表明: 1) 鸡 *RUNX3* 基因在脾脏和十二指肠表达量较高, 显著高于其他组织 ($P < 0.05$)。2) 核苷酸序列的系统进化分析表明, 鸡 *RUNX3* 与火鸡的亲缘关系最近, 保守性较高。3) 理化性质分析显示, 鸡 *RUNX3* 基因编码蛋白属于稳定、亲水性蛋白; 结构域预测发现, 该蛋白不存在跨膜结构, 含有 2 个保守结构域, 二级结构和三级结构主要由无规卷曲组成, 预测含有 58 个磷酸化位点, 31 个丝氨酸位点、23 个苏氨酸位点和 4 个酪氨酸位点。4) 蛋白互作预测发现, *RUNX3* 与 SMAD3、CBFB、GATA3、EP300、SMAD2、CTNNB1 等蛋白之间有较强互作关系。综上, 鸡 *RUNX3* 在脾脏和十二指肠中高表达, 其核苷酸序列在禽类中具有高度保守性, *RUNX3* 蛋白属于稳定、亲水性的不跨膜蛋白, *RUNX3* 与 SMAD3、CBFB、GATA3 等蛋白之间有较强互作关系, 本研究为进一步探究鸡 *RUNX3* 在分子水平的作用机制提供理论依据。

关键词 鸡; *RUNX3* 基因; 组织表达谱; 生物信息学分析

中图分类号 S831.2

文章编号 1007-4333(2024)03-0125-09

文献标志码 A

Tissue expression and bioinformatics analysis of the chicken *RUNX3* gene

DU Wenping^{1,2}, CAO Ranran^{1,2}, HU Xiaoyu^{1,2}, ZHANG Chenxi^{1,2}, XU Chunhong^{1,2},
YANG Lan^{1,2}, LEI Yanru^{1,2}, KANG Xiangtao^{1,2}, LI Wenting^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China;

2. Shennong Laboratory, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450046, China)

Abstract To investigate the potential functions of the Runt-related transcription factor 3 (*RUNX3*) gene, this study utilized quantitative real-time PCR (qRT-PCR) to detect the expression of the chicken *RUNX3* gene in the heart, liver, spleen, leg and duodenum tissues. The evolutionary tree of the *RUNX3* gene was constructed using bioinformatics software, and the physicochemical properties and structural functions of the encoded protein were analyzed. The results showed that: 1) The expression level of the chicken *RUNX3* gene was significantly higher in the spleen and duodenum compared to other tissues ($P < 0.05$). 2)

收稿日期: 2023-08-09

基金项目: 河南省优秀青年科学基金项目(232300421034); 神农种业实验室一流课题(SN01-2022-05)

第一作者: 杜文苹 (ORCID: 0000-0002-6484-6414), 硕士研究生, E-mail: dwp202212@163.com

通讯作者: 李文婷 (ORCID: 0000-0001-5288-8310), 副教授, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: liwenting_5959@hotmail.com

Phylogenetic analysis of the nucleotide sequences showed that chicken *RUNX3* was most closely related to turkey and highly conserved. 3) Physicochemical property analysis showed that chicken *RUNX3* gene-encoded protein was a stable and hydrophilic protein. Structural domain prediction revealed that the protein did not have a transmembrane structure, contained two conserved structural domains, and the secondary and tertiary structure mainly consisted of random curls, and was predicted to contain 58 phosphorylation sites, 31 serine sites, 23 threonine sites, and 4 tyrosine sites. 4) Protein interactions prediction revealed that *RUNX3* was associated with SMAD3, CBFB, GATA3, EP300, SMAD2, CTNNB1 and other proteins. In conclusion, chicken *RUNX3* was highly expressed in spleen and duodenum, its nucleotide sequence was highly conserved in avian species, *RUNX3* protein was a stable, hydrophilic, non-transmembrane protein, and there was a strong interaction between *RUNX3* and proteins such as SMAD3, CBFB, and GATA3, etc. The present study provides a theoretical basis for the further study of the mechanism of action of chicken *RUNX3* at molecular level.

Keywords chicken; *RUNX3* gene; tissue expression profile; bioinformatics analysis

Runt相关转录因子3(Runt-related transcription factor 3, *RUNX3*),属于RUNX相关转录因子家族,主要表达于消化道组织的上皮细胞^[1]。*RUNX*转录因子家族包括*RUNX1*、*RUNX2*和*RUNX3*。研究表明,*RUNX1*转录因子可能会调控*GHR*基因的转录活性,从而调控牦牛生长发育^[2],*RUNX1*等基因能抑制鸡胚雌激素合成限速酶*CYP19A1*启动子活性,进而影响鸡胚雌激素的合成^[3]。*RUNX2*和肌细胞增强因子2C(*MEF2C*)被认为是调控肉鸡骨骼发育的转录因子^[4],*RUNX1/2/3*是诱导鸡主要与肥大和终末软骨细胞发育有关基因表达的转录因子^[5]。综上,*RUNX1*和*RUNX2*在畜禽生长发育领域发挥不同作用,而关于*RUNX3*功能研究较少。目前多项研究表明*RUNX3*在人类肠胃器官发育中发挥重要的调控作用。研究发现,*RUNX3*不仅参与细胞增殖、生长和凋亡,还参与信号转导。*RUNX3*作为重要的转录因子能够促进转化生长因子- β (Transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路的激活和Wnt信号通路的抑制,而这些通路的异常转导在结直肠癌的发生、发展中发挥关键作用^[6-7]。*RUNX3*是TGF- β 信号通路中的关键转录因子,缺失*RUNX3*直接导致TGF- β 信号通路失活,使得原本TGF- β 信号转导在细胞生长、分化和凋亡的作用瞬间失活,严重影响消化道上皮细胞正常更新代谢^[8-10]。多项研究均证实60%以上小肠癌、结肠癌等癌症患者消化道上皮细胞异常增生同时表现出*RUNX3*基因表达量降低和TGF- β 信号通路异常^[11-14]。TGF- β 信号通路也是维持胃肠道系统上皮细胞稳态的关键通路,TGF- β 敲除小鼠表现出肠道炎症IBD(Inflammation bowel disease)^[15],

与*IGF2BP1*敲除鼠引起的肠道IBD症状相似^[16]。有研究使用特定的CRISPR/Cas9系统构建*RUNX3*敲除细胞系,通过体细胞核移植产生*RUNX3*基因敲除仔猪^[17]。而关于*RUNX3*在鸡上的表达模式和功能研究,尚未见研究报道,因此本研究通过检测鸡*RUNX3*基因在不同组织中的表达规律,并对其蛋白功能进行预测分析,为进一步探究*RUNX3*基因在鸡组织中如何发挥功能奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究以河南农业大学家禽种质资源场保存的豫农M系肉鸡为试验材料,随机挑选12只鸡(公母各6只),采集其心脏、肝脏、脾脏、腿肌和十二指肠,迅速置于液氮中冷冻,并保存于液氮中备用。Trizol™ Reagent试剂、2× ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix、反转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);qRT-PCR仪(LightCycler96, 10520, 瑞士Roche公司);分光光度计(NanoDrop 2000, 美国Thermo公司)。

1.2 引物设计与合成

根据NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上鸡*RUNX3*的参考基因序列(XM_040690147.2),使用Primer-BLAST在线网址(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome)设计用于定量的特异性引物(表1)。引物设计完成后送擎科生物技术有限公司合成。

1.3 总RNA提取及反转录

根据Trizol法^[18]提取组织的总RNA,通过琼脂

表 1 qRT-PCR 引物信息
Table 1 Quantitative primer information

基因 Gene	GenBank 登录号 GenBank ID	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	目的片段/bp Product size	退火温度/℃ T _m
GAPDH	NM_204305.2	F: AGAACATCATCCCAGCGT	182	60
		R: AGCCTTCACTACCCTCTTG		
RUNX3	XM_040690147.2	F: TAATGAACCCCAACCTGGGC	119	60
		R: GTAGGGTCTCCAGACCGACT		

糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,使用 NanoDrop 2000 分光光度计测定其浓度,并按照反转录试剂盒说明书进行反转得到 cDNA,置于 -20℃ 冰箱保存,用于后续试验。

1.4 鸡 *RUNX3* 基因组织表达分析

以鸡的心脏、肝脏、脾脏、腿肌和十二指肠组织的 cDNA 为模板,选择 *GAPDH* 为内参基因,分析鸡 *RUNX3* 在各个组织的表达。qRT-PCR 反应体系: 2× ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 5 μL, 上、下游引物各 0.5 μL, cDNA 1 μL, 无 RNA 酶水

3 μL, 反应程序为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 30 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 40 个循环; 延伸温度 95℃ 10 s, 65℃ 60 s, 97℃ 1 s, 1 个循环; 37℃ 30 s。每个待测样本包含 3 个生物学重复。

1.5 鸡 *RUNX3* 基因生物信息学分析

利用生物信息学软件及在线网站对鸡 *RUNX3* 基因进行分析, 主要包含不同物种的 *RUNX3* 核苷酸序列分析、蛋白理化参数分析、蛋白结构及功能预测、磷酸化位点预测和蛋白互作分析(表 2)。

表 2 生物信息学分析工具
Table 2 Bioinformatics analysis tools

项目 Item	分析工具 Analysis tool
蛋白质二级结构预测	SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa%20_sopma.html)
蛋白质三级结构预测	SWISS-MODEL (https://swissmodel.expasy.org/)
蛋白质磷酸化点位预测	Net phos 3.1 (https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/)
跨膜结构预测	TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/)
蛋白的理化性质	ProtParam (http://www.expasy.org/tools/protparam.html)
亲水/疏水性预测	ExPASy ProtScale (Protscale (http://web.expasy.org/protscale/1))
构建系统进化树	MEGA 11.0
蛋白结构域预测	CD Search (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi)
互作蛋白预测	STRING (https://cn.string-db.org/)

1.6 定量数据统计分析

qRT-PCR 结果使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法分析, 用 SPSS 26 软件进行数据分析, 采用单因素方差分析方法进行差异显著性检验。其中, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P > 0.05$ 表示差异不显著。数值表示为平均数 ± 标

准差, 使用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 鸡 *RUNX3* 基因组织表达分析

结果表明, 鸡 *RUNX3* 基因在各个组织中均有

表达,在脾脏和十二指肠表达量较高,其次是肝脏、心脏和腿肌(图1)。

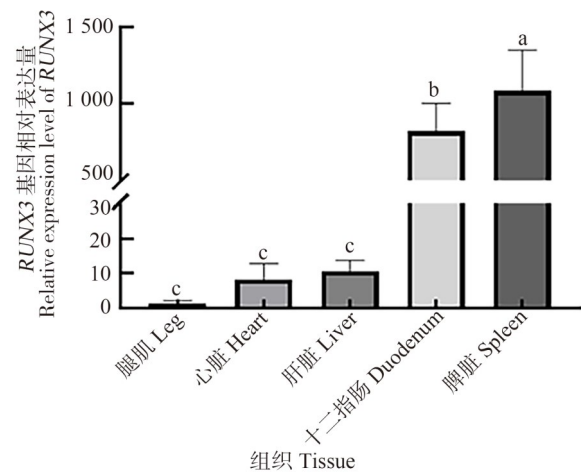


图1 6周龄鸡 *RUNX3* 基因的组织表达谱分析
Fig. 1 Tissue expression profiling analysis of the *RUNX3* gene in 6-week-old chickens

2.2 鸡 *RUNX3* 基因同源性分析及进化树构建

鸡 *RUNX3* 基因核苷酸序列与不同物种进化分析结果表明(图2),鸡 *RUNX3* 基因在进化过程中与火鸡亲缘关系最近,相似性达到99%。

2.3 鸡 *RUNX3* 蛋白理化性质分析

鸡 *RUNX3* 基因编码蛋白理化性质分析结果表明,其分子式为 $C_{1962}H_{3042}N_{576}O_{619}S_{18}$, 包含6217个原子,相对分子质量为45180.31 u,理论等电点(pI)为9.38,含有23种氨基酸(表3)。其中,丙氨酸(Ala)含量最高(7.7%),色氨酸含量最低(0.5%)。氨基酸不稳定性指数为42.31,表明该蛋白为不稳定蛋白。

2.4 鸡 *RUNX3* 蛋白结构预测分析

亲水性和疏水性分析结果显示,*RUNX3* 蛋白疏水性最大值为2.056,最小值为-3.744,总平均疏水性参数为-0.546(图3(a))。综合推测 *RUNX3* 蛋白为亲水性蛋白。跨膜结构分析表明,该蛋白没有跨膜结构(图3(b))。蛋白的二级结构预测显示, *RUNX3* 蛋白的二级结构共有 α 螺旋(Alphahelix, Hh)70个; β 折叠有(Extendedstrand, Ee)57个; β 转角(Beta turn)15个;无规则卷曲(Random coil)275个,分别占整个二级结构的16.79%、13.67%、3.60%和65.95%,二级结构以无规则卷曲为主(图3(c))。三级结构预测表明,无规卷曲为鸡 *RUNX3* 蛋白结构的主要组成(图3(d)),与二级结构预测结果一致。

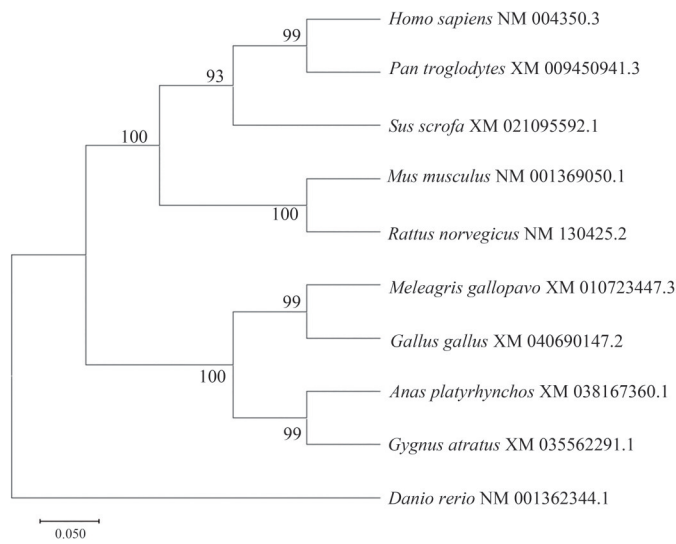


图2 *RUNX3* 基因系统进化树
Fig. 2 Phylogenetic tree of *RUNX3* gene

2.5 鸡 *RUNX3* 蛋白质磷酸化位点预测

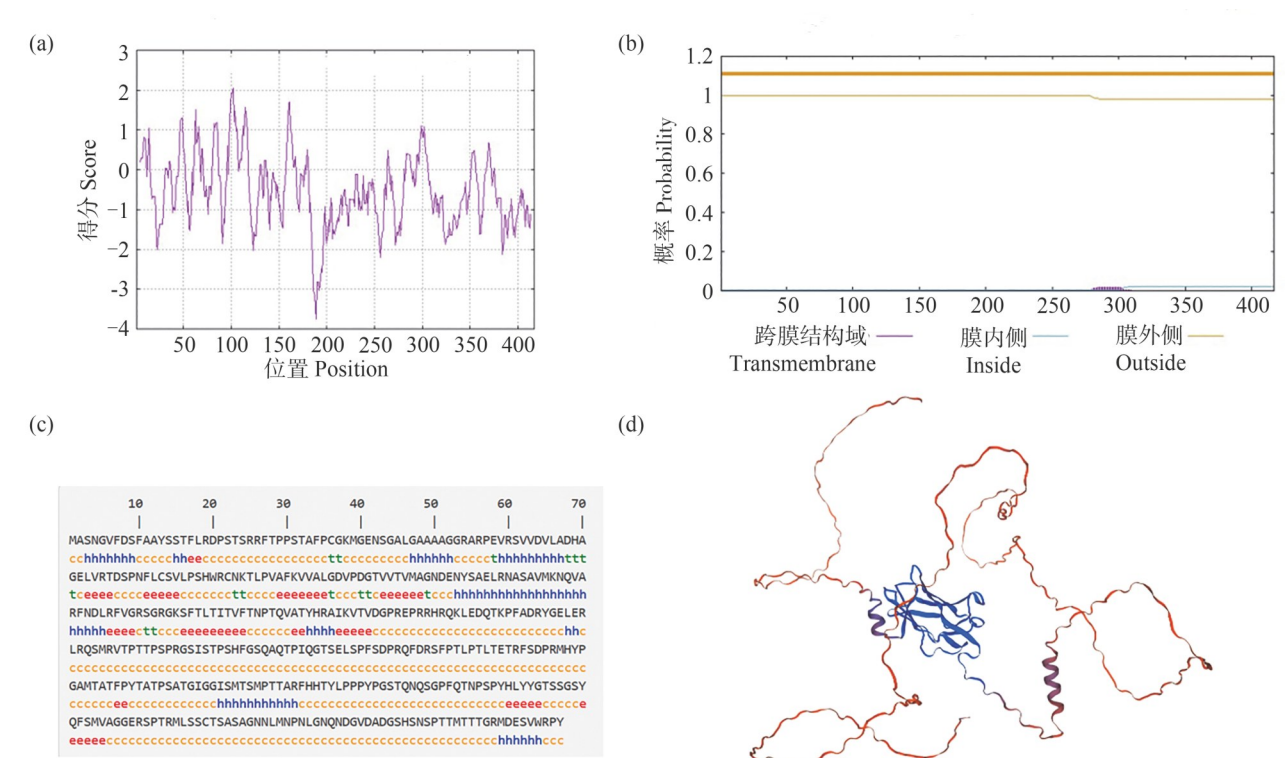
通过使用Net phos 3.1在线软件对 *RUNX3* 蛋白进行磷酸化点位预测。此结果表明, *RUNX3* 共

有58个磷酸化位点,其中包括31个丝氨酸(Serine)位点、23个苏氨酸(Threonine)位点和4个酪氨酸(Tyrosine)位点(图4)。

表 3 鸡 *RUNX3* 基因编码蛋白氨基酸组成

Table 3 Amino acid composition of *RUNX3* gene encoding protein of chicken

氨基酸 Amino acids	数量/个 Count	占比/% Ratio	氨基酸 Amino acids	数量/个 Count	占比/% Ratio
Ala (A)	32	7.70	Lys (K)	8	1.90
Arg (R)	32	7.70	Met (M)	14	3.40
Asn (N)	19	4.60	Phe (F)	21	5.00
Asp (D)	19	4.60	Pro (P)	38	9.10
Cys (C)	4	1.00	Ser (S)	46	11.00
Gln (Q)	14	3.40	Thr (T)	45	10.80
Glu (E)	13	3.10	Trp (W)	2	0.50
Gly (G)	34	8.20	Tyr (Y)	13	3.10
His (H)	10	2.40	Val (V)	25	6.00
Ile (I)	6	1.40	Pyl (O)	0	0.00
Leu (L)	22	5.30	Sec (U)	0	0.00



(a) 鸡 *RUNX3* 蛋白疏水性分析; (b) 鸡 *RUNX3* 基因编码蛋白跨膜结构预测; (c) 鸡 *RUNX3* 基因编码蛋白二级结构预测; (d) 鸡 *RUNX3* 基因编码蛋白三级结构预测。

(a) Hydrophobicity analysis of the chicken *RUNX3* protein; (b) Transmembrane structure prediction of the chicken *RUNX3* protein encoded by the gene; (c) Secondary structure prediction of the chicken *RUNX3* protein encoded by the gene; (d) Tertiary structure prediction of the chicken *RUNX3* protein encoded by the gene.

图 3 *RUNX3* 蛋白结构功能预测

Fig. 3 Structural and functional prediction of the *RUNX3* protein

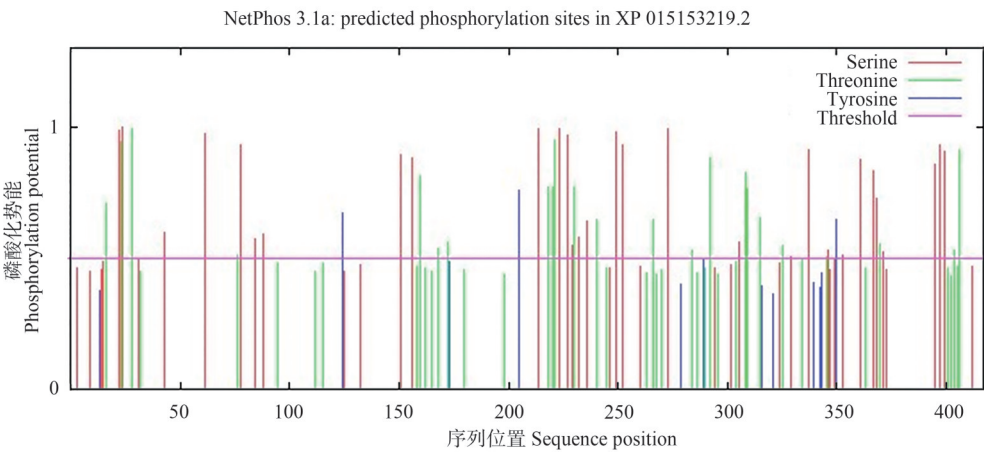


图4 鸡RUNX3蛋白磷酸化点预测图

Fig. 4 Predicted phosphorylation sites of chicken RUNX3 protein

2.6 鸡RUNX3互作蛋白分析

蛋白质的保守结构域预测结果表明,RUNX3蛋白含有1个Runt相关转录因子家族(Runt super family)结构域和1个Runt相关转录因子1(Runt-related transcription factor 1,RUNX1)结构域(图5)。STRING预测分析与RUNX3基因编码蛋白的互作

蛋白(图6),主要有SMAD3(Mothers against decapentaplectic homolog 3)、CBFB(Core-binding factor beta subunit)、GATA3(Gata-binding protein 3)、EP300(E1A binding protein p300)、SMAD2(Mothers against decapentaplectic homolog 2)、CTNNB1(Catenin beta 1)和BRD2(Bromodomain-containing protein 2)等。

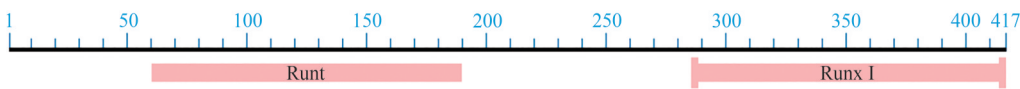


图5 鸡RUNX3蛋白保守结构域预测

Fig. 5 Predicted conserved domains of chicken RUNX3 protein

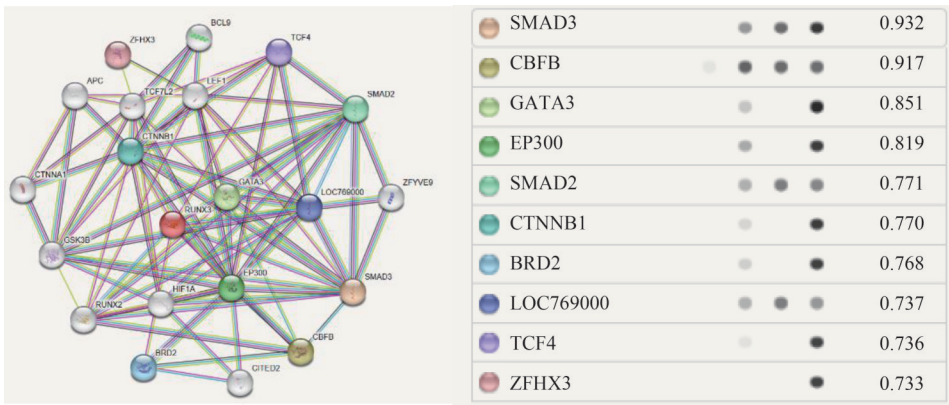


图6 鸡RUNX3蛋白的互作蛋白预测

Fig. 6 Predicted interacting proteins of chicken RUNX3 protein

3 讨论

RUNX3基因在肠胃器官发育中发挥重要的调控作用,先前的研究多集中在消化道肿瘤中的功

能。有研究表明RUNX3通过负调节HER2,下调VEGF抑制新血管生成,并且降低胃肠道肿瘤侵袭能力^[19]。另一项研究表明,RUNX3能抑制人直肠癌细胞HT-29的增殖、迁移和侵袭能力,其具体机

制是通过降低 MMP-2 和 MMP-9 的表达,抑制结肠癌细胞的侵袭和转移^[20]。有研究使用特定的 CRISPR/Cas9 技术构建 *RUNX3* 敲除细胞系,通过体细胞核移植产生 *RUNX3* 基因敲除仔猪^[17]。而关于 *RUNX3* 在鸡上的表达模式和功能研究,尚未见研究报道。本研究以鸡为研究对象,通过构建 *RUNX3* 组织表达谱,发现 *RUNX3* 在鸡的脾脏、肝脏、心脏、腿肌和十二指肠组织中的表达有不同程度的差异,其中在脾脏和十二指肠组织中特异性高表达。有研究证明, *RUNX3* 在免疫系统的发育、分化和维持中至关重要^[21-23]。研究表明, *RUNX3* 在人和小鼠的肠胃器官中高表达^[24],这与本研究中 *RUNX3* 基因的表达结果一致。

本研究利用在线软件分别对鸡 *RUNX3* 蛋白的理化性质、跨膜结构、亲/疏水性、二级结构和三级结构进行分析, *RUNX3* 蛋白编码 72 个氨基酸,预测该蛋白为亲水蛋白,不含跨膜结构,表明该蛋白不属于跨膜蛋白。不同物种间的核苷酸序列比对分析发现该基因与火鸡亲缘关系最近,符合生物进化特征。 *RUNX3* 蛋白是一种转录因子,有研究表明 *RUNX3* 可与许多增强子和启动子的核心位点 5'-PYG PYG GT-3' 进行结合,从而能抑制或促进基因的转录水平^[25-26]。 *RUNX3* 可以与 β -连环蛋白^[27-28] (WNT 途径的关键效应物) 和转录因子 4 (Transcription factor 4, TCF4) 结合形成复合物,以抑制 β -连环蛋白、TCF4 与靶 DNA 进行结合,从而可以削弱靶基因的转录^[29]。 *RUNX3* N 末端主要由高度保守的 Runt 同源结构域 (RHD)^[30] 组成,它是 *RUNX* 家族的特征结构,参与 DNA 的直接转录调控过程,这与本研究对 *RUNX3* 的结构域预测分析一致。 STRING 预测发现, *RUNX3* 与 SMAD3、CBFB、GATA3、EP300、SMAD2、CTNNB1 等蛋白之间有互作关系。已有研究报道, *RUNX3* 可以直接和 TGF- β 的效应分子 SMAD^[31-32] 家族成员 3 (SMAD family member 3, SMAD3) 进行结合,参与细胞生长分化过程^[33],这与本研究对 *RUNX3* 互作蛋白的预测分析吻合。有研究报道, TGF- β 信号通路也是维持胃肠道系统上皮细胞稳态的关键通路, TGF- β 敲除小鼠会表现出肠道炎症 (IBD)^[15]。 *RUNX3* 的异常表达通常会使 SMAD 家族蛋白功能受限,促使 TGF- β 进行信号转导,从而导致肿瘤的病变^[34-35]。通常 *RUNX3* 高度甲基化、基因缺失或

RUNX3 蛋白的细胞质分解都会导致该基因的彻底失活,而 *RUNX3* 蛋白从细胞核到细胞质间的定位差错也会致使 *RUNX3* 失活^[33],这就使得 *RUNX3* 基因在家禽中成为一种假定的可促进代谢因子,在黏附^[36]、侵袭^[37]、凋亡^[38]、转移^[39] 和血管生成^[40] 中发挥不同程度的作用。

4 结 论

本研究成功构建鸡 *RUNX3* 基因的组织表达谱,其在脾脏和十二指肠中高表达。该基因具有高度保守性,与火鸡的亲缘关系最近。 *RUNX3* 蛋白二级结构和三级结构均以无规则卷曲为主。 *RUNX3* 与 SMAD3、CBFB、GATA3、EP300、SMAD2、CTNNB1 等蛋白之间有较强的互作关系。本研究为进一步研究鸡 *RUNX3* 基因功能提供重要参考。

参考文献 References

- [1] Levanon D, Bernstein Y, Negreanu V, Bone K R, Pozner A, Eilam R, Lotem J, Brenner O, Groner Y. Absence of Runx3 expression in normal gastrointestinal epithelium calls into question its tumour suppressor function[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2011, 3(10): 593-604
- [2] 王福彬. 牦牛 GHR 基因启动子结构与功能研究[D]. 兰州: 西北民族大学, 2022
Wang F B. Study on structure and function of yak GHR gene promoter [D]. Lanzhou: Northwest University for Nationalities 2022 (in Chinese)
- [3] 程璐. 鸡芳香化酶基因在雌性性腺中的表达及其调控[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021
Cheng L. Expression and regulation of chicken aromatase gene in female embryo gonad [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021 (in Chinese)
- [4] 王翠月, 李明睿, 高玉时, 陈大伟. 肉鸡骨骼发育的调控机制[J]. 畜牧兽医学报, 2022, 53(7): 2057-2065
Wang C Y, Li M R, Gao Y S, Chen D W. Regulation mechanism of bone development in broilers [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2022, 53(7): 2057-2065
- [5] Liu C F, Samsa W E, Zhou G, Lefebvre V. Transcriptional control of chondrocyte specification and differentiation [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2017, 62: 34-49
- [6] Park J, Kim H J, Kim K R, Lee S K, Kim H, Park K K, Chung W Y. Loss of RUNX3 expression inhibits bone invasion of oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(6): 9079-9092
- [7] Ojima F, Saito Y, Tsuchiya Y, Kayo D, Taniuchi S, Ogoshi M, Fukamachi H, Takeuchi S, Takahashi S. Runx3 transcription factor regulates ovarian functions and ovulation in female mice [J]. *Journal of Reproduction and Development*, 2016, 62(5): 479-486
- [8] Li Q L, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K I, Chi X Z, Lee K Y, Nomura S, Lee C W, Han S B, Kim H M, Kim W J, Yamamoto H, Yamashita N, Yano T, Ikeda T, Itohara S, Inazawa J, Abe T, Hagiwara

- A, Ito Y. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer[J]. *Cell*, 2002, 109(1): 113-124
- [9] Krishnan V, Chong Y L, Tan T Z, Kulkarni M, Bin Rahmat M B, Tay L S, Sankar H, Jokhun D S, Ganesan A, Chuang L S H, Voon D C, Shivashankar G V, Thiery J P, Ito Y. TGF β promotes genomic instability after loss of RUNX3[J]. *Cancer Research*, 2018, 78(1): 88-102
- [10] Wang L K, Wu X L, Xu W G, Gao L, Wang X M, Li T. Combined detection of RUNX3 and EZH2 in evaluating efficacy of neoadjuvant therapy and prognostic value of middle and low locally advanced rectal cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 713335
- [11] Hantisteanu S, Dicken Y, Negreanu V, Goldenberg D, Brenner O, Leshkowitz D, Lotem J, Levanon D, Groner Y. Runx3 prevents spontaneous colitis by directing the differentiation of anti-inflammatory mononuclear phagocytes[J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0233044
- [12] Subramaniam M M, Chan J Y, Yeoh K G, Quek T, Ito K, Salto-Tellez M. Molecular pathology of RUNX3 in human carcinogenesis [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 2009, 1796(2): 315-331
- [13] Chen F F, Liu X, Bai J, Pei D S, Zheng J N. The emerging role of RUNX3 in cancer metastasis (Review) [J]. *Oncology Reports*, 2016, 35(3): 1227-1236
- [14] Xiao P, Meng Q H, Liu Q, Lang Q F, Yin Z J, Li G Q, Li Z B, Xu Y L, Yu Z, Geng Q, Zhang Y Y, Liu L W, Xie Y, Li L, Chen H, Pei T M, Sun B. IGF $_2$ BP $_1$ -mediated N6-methyladenosine modification promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression [J]. *Cancer Letters*, 2023, 557: 216075
- [15] Gough N R, Xiang X Y, Mishra L. TGF- β signaling in liver, pancreas, and gastrointestinal diseases and cancer[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(2): 434-452. e15
- [16] Singh V, Gowda C P, Singh V, Ganapathy A S, Karamchandani D M, Eshelman M A, Yochum G S, Nighot P, Spiegelman V S. The mRNA-binding protein IGF $_2$ BP $_1$ maintains intestinal barrier function by up-regulating occludin expression[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295(25): 8602-8612
- [17] Kang J T, Ryu J, Cho B, Lee E J, Yun Y J, Ahn S, Lee J, Ji D Y, Lee K, Park K W. Generation of RUNX3 knockout pigs using CRISPR/Cas9-mediated gene targeting[J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2016, 51(6): 970-978
- [18] 刘变枝, 李海洁, 郭家鸿, 郭朝辉, 冯建新, 杨雪冰, 张娇, 李明. 鲤 RNF2 基因的克隆、组织表达与生物信息学分析[J]. 河南农业大学学报, 2021, 55(3): 468-476, 484
- Liu B Z, Li H J, Guo J H, Guo C H, Feng J X, Yang X B, Zhang J, Li M. Cloning identification, tissue expression and bioinformatics analysis of RNF $_2$ gene of *Cyprinus carpio* [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2021, 55(3): 468-476, 484 (in Chinese)
- [19] Wu Y S, Xue J, Li Y R, Wu X L, Qu M, Xu D D, Shi Y Q. Expression, clinical significance and correlation of RUNX3 and HER2 in colorectal cancer [J]. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2021, 12(4): 1577-1589
- [20] Xue J, Wu X L, Qu M, Guo F, Han L, Sun G Y, Yuan Z L, Fan S, Li T. RUNX3 inhibits the invasion and metastasis of human colon cancer HT-29 cells by upregulating MMP-2/9[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2020, 2020: 5978131
- [21] Taniuchi I, Osato M, Egawa T, Sunshine M J, Bae S C, Komori T, Ito Y, Littman D R. Differential requirements for runx proteins in CD4 repression and epigenetic silencing during T lymphocyte development[J]. *Cell*, 2002, 111(5): 621-633
- [22] Woolf E, Brenner O, Goldenberg D, Levanon D, Groner Y. Runx3 regulates dendritic epidermal T cell development [J]. *Developmental Biology*, 2007, 303(2): 703-714
- [23] Ebihara T, Song C, Ryu S H, Plougastel-Douglas B, Yang L P, Levanon D, Groner Y, Bern M D, Stappenbeck T S, Colonna M, Egawa T, Yokoyama W M. Runx3 specifies lineage commitment of innate lymphoid cells[J]. *Nature Immunology*, 2015, 16(11): 1124-1133
- [24] Ito Y. RUNX3 is expressed in the epithelium of the gastrointestinal tract [J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2012, 4(7): 541-542; author reply 543-544
- [25] Hideura E, Suehiro Y, Nishikawa J, Shuto T, Fujimura H, Ito S, Goto A, Hamabe K, Saeki I, Okamoto T, Higaki S, Fujii I, Suzuki C, Hoshida T, Matsumoto T, Takami T, Sakaida I, Yamasaki T. Blood free-circulating DNA testing of methylated RUNX3 is useful for diagnosing early gastric cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(4): 789
- [26] 高树全, 张迎春, 张超, 王胜杰, 任伟, 原娜, 温军业. 新辅助放疗联合 TME 术对 III B 期直肠癌肿瘤组织内 RUNX3、Survivini、ki-67 的影响[J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(9): 1146-1150
- Gao S Q, Zhang Y C, Zhang C, Wang S J, Ren W, Yuan N, Wen J Y. Effect of neoadjuvant radiotherapy and chemotherapy combined with TME on RUNX3, survivini and Ki-67 in III B stage rectal cancer [J]. *Modern Digestion & Intervention*, 2020, 25(9): 1146-1150 (in Chinese)
- [27] 张燕平, 李宁, 邓文英, 韩黎丽, 田沛琦, 许勇飞, 杨姣, 申威, 魏辰, 罗素霞. 干细胞标志物 SOX-2、 β -catenin 表达与胃癌术后复发转移关系[J]. 中国癌症杂志, 2014, 24(9): 684-689
- Zhang Y P, Li N, Deng W Y, Han L L, Tian P Q, Xu Y F, Yang J, Shen W, Wei C, Luo S X. The expression of SOX-2 and β -catenin in gastric cancer and the relationship with recurrence and metastasis after operation [J]. *China Oncology*, 2014, 24(9): 684-689 (in Chinese)
- [28] 王震凯, 朱人敏, 汪芳裕, 刘炯, 张新华, 杨妙芳, 金鑫鑫, 何小平. β -连环蛋白在胃腺瘤和胃癌中的表达及其意义[J]. 胃肠病学, 2008, 13(1): 27-30
- Wang Z K, Zhu R M, Wang F Y, Liu J, Zhang X H, Yang M F, Jin X X, He X P. Expression and significance of β -catenin in gastric adenoma and gastric adenocarcinoma [J]. *Chinese Journal of Gastroenterology*, 2008, 13(1): 27-30 (in Chinese)
- [29] Sun J K, Li B B, Jia Z F, Zhang A L, Wang G X, Chen Z J, Shang Z D, Zhang C C, Cui J, Yang W D. RUNX3 inhibits glioma survival and invasion via suppression of the β -catenin/TCF-4 signaling pathway [J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2018, 140(1): 15-26
- [30] Ito Y. Molecular basis of tissue-specific gene expression mediated by the Runt domain transcription factor PEBP2/CBF [J]. *Genes to Cells*, 1999, 4(12): 685-696
- [31] Wasserman I, Lee L H, Ogino S, Marco M R, Wu C, Chen X, Datta J, Sadot E, Szeglin B, Guillem J G, Paty P B, Weiser M R, Nash G M, Saltz L, Barlas A, Manova-Todorova K, Uppada S P B, Elghouayel A E, Ntiamoah P, Glickman J N, Hamada T, Kosumi K, Inamura K, Chan A T, Nishihara R, Cercek A, Ganesh K, Kemeny N E, Dhawan P, Yaeger R, Sawyers C L, Garcia-Aguilar J, Giannakis M, Shia J R, Smith J J. SMAD4 loss in colorectal cancer patients correlates with recurrence, loss of immune infiltrate, and chemoresistance [J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2019, 25(6): 1948-1956
- [32] 申连东, 曹光材, 齐文海, 左春义, 白江江, 胡海峰, 董明清. TGF- β 1 磷

- 酸化 Smad4 调控结直肠癌对奥沙利铂的反应性[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2020, 28(6): 437-443
- Shen L D, Cao G C, Qi W H, Zuo C Y, Bai J J, Hu H F, Dong M Q. TGF- β 1 regulates the sensitivity of colorectal cancer cells to oxaliplatin by phosphorylating Smad4 [J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Digestion*, 2020, 28(6): 437-443 (in Chinese)
- [33] Mao X L, Huang T J. Exploiting mechanical biomarkers in microfluidics [J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(20): 4006-4009
- [34] Zheng J B, Mei Y H, Xiang P, Zhai G S, Zhao N, Xu C B, Liu M, Pan Z S, Tang K, Jia D S. DNA methylation affects metastasis of renal cancer and is associated with TGF- β /RUNX3 inhibition [J]. *Cancer Cell International*, 2018, 18(1): 1-11
- [35] Xu T S, Liang Y C, Huang Z Q, Huang Z X. RUNX3: A location-oriented genome coordinator[J]. *BIO Integration*, 2023, 4(1): 30-37
- [36] Chen F F, Bai J, Li W, Mei P J, Liu H, Li L L, Pan Z Q, Wu Y P, Zheng J N. RUNX3 suppresses migration, invasion and angiogenesis of human renal cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56241
- [37] Barlandas-Rendón E, Müller M M, Garcia-Latorre E, Heinschink A. Comparison of urine cell characteristics by flow cytometry and cytology in patients suspected of having bladder cancer [J]. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2002, 40(8): 817-823
- [38] 邱莲女, 周永列, 林慧君. 尿脱落细胞DNA流式细胞术分析对膀胱癌诊断的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2004, 8(5): 501-503
- Qiu L N, Zhou Y L, Lin H J. Potential of urine exfoliated cell DNA analysis in diagnosis of bladder cancer [J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2004, 8(5): 501-503 (in Chinese)
- [39] Cao Y, Guangqi E, Wang E F, Pal K, Dutta S K, Bar-Sagi D, Mukhopadhyay D. VEGF exerts an angiogenesis-independent function in cancer cells to promote their malignant progression [J]. *Cancer Research*, 2012, 72(16): 3912-3918
- [40] Peng Z H, Wei D Y, Wang L W, Tang H M, Zhang J, Le X D, Jia Z L, Li Q, Xie K P. RUNX3 inhibits the expression of vascular endothelial growth factor and reduces the angiogenesis, growth, and metastasis of human gastric cancer [J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2006, 12(21): 6386-6394

责任编辑: 秦梅



第一作者简介: 杜文苹, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖。目前以第一作者身份在“第二十二次全国动物遗传育种学术论坛”和“第二十一次全国家禽学术论坛会”等学术会议上发表多篇论文, 在 *Animals*、《畜牧兽医学报》等期刊参与发表学术论文, 参与国家专利申请4部。



通讯作者简介: 李文婷, 农学博士, 副教授, 硕士生导师。第七届中国科协青年人才托举工程入选者; 长期从事家禽泛基因组与经济性状基因定位研究, 构建了国际首个鸡泛基因组, 并解析首个影响鸡生长性状主效基因 *IGF2BP1* 原因突变, 开发了中国地方鸡专用基因组液相芯片, 受到国内外广泛关注。以第一作者或通讯作者在 *Molecular Biology and Evolution* (IF=16.24) 等国际著名期刊发表文章21篇, 累计影响因子超过100, 获批国家自然科学基金面上项目、青年项目、国家重点研发青年科学家项目课题, 河南省自然科学基金优秀青年科学基金等省部级以上项目10项。获吴常信动物遗传育种科技成果奖、河南省畜禽种业发展突出贡献奖、中国产学研合作创新成果奖、河南省优秀科技论文一等奖各1项。担任《中国畜禽种业》和 *Animal Research and One Health* 青年编委, *Life* 客座编辑。