

人类新型 $\beta 3$ 半乳糖基转移酶基因 $\beta 3GalT7$ 的克隆和鉴定 *

周嘉梁¹⁾ 黄超群 吴士良^{2)**} 孙其昌 雷 伟 金美芳 姜 智 沈宏杰

(¹⁾苏州大学医学院基础医学系生物化学与分子生物学教研室, 苏州 215007;

²⁾苏州大学生化工程研究所, 苏州 215007)

摘要 从人肺 cDNA 文库中克隆到人类 $\beta 3$ -半乳糖基转移酶家族中的一个新成员 $\beta 3GalT7$ (AY277592, EC2.4.1.-), 并对其进行了鉴定. 该基因定位在人类染色体 19q13.2. 它包含一个 1 191 bp 的开放阅读框 (ORF). 编码的蛋白质包括一个信号肽和一个半乳糖基转移酶结构域, 分子质量和等电点分别为 43.3 ku 和 8.37. 从原核表达中获得的融合蛋白的分子质量和预测相符. RNA 印迹杂交显示 $\beta 3GalT7$ 在肺、喉和回肠组织中高表达, 而在舌、乳房、子宫、睾丸等组织中表达较低. 此外半定量 RT-PCR 显示 $\beta 3GalT7$ 在人类不同的肿瘤细胞中转录水平有明显差异.

关键词 $\beta 3GalT7$, 克隆, RNA 印迹, 肿瘤细胞株

学科分类号 Q53

近年来, 糖生物学领域有了飞速的发展, 越来越多的糖基转移酶成员被克隆和鉴定. β 半乳糖基转移酶家族是糖基转移酶的一个家族, 其 $\beta 3$ -GalT 活性在动物广泛存在, 用以形成半乳糖 Gal 和氨基己糖 Hex (NAc) 之间的 α 或 β 连接. 这些活性包括 I 型链合酶活性 (Gal β 1-3GlcNAc β 1-R), 黏蛋白样核心 1 结构 (core1) 合酶活性 (Gal β 1-3GalNAc α 1-R) 和多种糖神经鞘脂活性. 这显示了 $\beta 3GalT$ 存在一个大的基因家族. 近来被验证的人类 $\beta 1$, 3 半乳糖基转移酶 ($\beta 3Gal$ -Ts) 家族由 6 个成员组成 ($\beta 3Gal$ -T1, T2, T3, T4, T5, T6)^[1-5]. $\beta 3Gal$ -T 基因家族各成员表现出不同的酶功能. 这些酶催化不同的供体物质 (UDP-Gal, UDP-GlcNAc) 和不同的糖受体 (GlcNAc, Gal, GalNAc) 之间的反应, 但都形成 $\beta 1$, 3 连接. 本文中, 我们克隆并鉴定了一种新的 $\beta 3$ 半乳糖基转移酶基因 $\beta 3GalT7$ (UDP-Gal:betaGal beta 1,3-galactosyltransferase polypeptide 7), 并揭示它可能是 $\beta 1$, 3 半乳糖基转移酶家族中第 7 个成员. 它的蛋白质序列和其他 $\beta 1$, 3 半乳糖基转移酶有很高的同源性, 并且在小鼠和大鼠中有存在的证据.

1 材料和方法

1.1 $\beta 3GalT7$ 基因的克隆

利用 TBLASTN 信息途径, 以信息探针 $\beta 3GalT1$ (GenBank 登录号: AF117222) 在 NCBI 的 EST 数据库中进行同源筛选, 找到两个没有已知半

乳糖基转移酶基因对应的 ESTs (CA431056, BM726913) 分别作为信息探针, 在 EST 数据库中进行同源筛选, 得到许多高度同源的人 EST. 将相互有重叠的 ESTs (登录号: BM478343, BM147124, BM726913, CA431056, BM771654, CA418485) 拼接成近全长的人 $\beta 3GalT7$ 基因的 cDNA 序列, 构建 EST-contig 图 (图 1). 在 EST 拼接的 cDNA 序列上设计 $\beta 3GalT7$ -A- 上游引物 (5' CACCAGAAACCAGCCCTAACACG 3', nt 142~164) 和 $\beta 3GalT7$ -B- 下游引物 (5' AAGACCTGGAA GGAGGGGCTGAG 3', nt 1 707~1 730) 并合成 (生工 BioTech, Com.). 在一些人 cDNA 文库中 (肺、结肠, Clontech Co.ltd.) 扩增序列. PCR 反应条件: 变性 94℃ 45 s, 复性 58℃ 45 s, 延伸 72℃ 100 s. 将 PCR 产物进行 T-A 克隆和测序.

1.2 组织 $\beta 3GalT7$ 的 RNA 印迹

人体 16 种组织 mRNA RNA 印迹膜 (MTRB Multiple Tissue Northern Blot), 所载的 mRNA 分别来自脑、心脏、肝脏、肺、脾、胃、睾丸、骨骼肌、肾脏、喉、回肠、舌、子宫、卵巢、乳房、胰腺等 16 种组织 (深圳市君轩生物技术有限公司 MB-1018). 以 $\beta 3GalT7$ 的全长编码段 cDNA 为模

*苏州大学医学发展基金资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0512-65263108, E-mail: shiliangwu@hotmail.com

收稿日期: 2004-07-07, 接受日期: 2004-09-30

板, 用随机引物标记试剂盒 (AMERSHAM 公司产品) 以随机引物标记法掺入 $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]$ dCTP 标记探针.

按照使用手册上的说明进行杂交反应. 同时标记 β -actin 探针进行杂交作为对照.

1	TCTTCTCCA	GCTGTTCCA	CAGGCTCCAT	TATTCAAAC	TTGGGGGAGG	AAATCAGGGC
61	TGGACAGATC	ATCAACTGCT	GCTGCTGACA	GACTGTGTTC	CTGCCATGAT	GGGGACAGGC
121	CTGCCCCAAA	CCAGGCTGTC	TCACCAGAAA	CCAGCCCTAA	CACGCCAGAG	CCCCATCTCT
181	CAGGTCGGCC	TCCTGCCCTC	CTCCCTCCCT	CCCTCCCTCC	CTCTCTCCTG	CCTCAGCCCC
241	GCCCCGGCCC	CTGGGGCCCT	CCCTGCTCCC	GCTCCACTCC	CCTCCCCGCC	CCTCTGGACT
301	GGCTGGGCAG	GGCTGGGCCC	CGCCGGTCGA	CAACACAGGG	GCTGGGGCAG	GCAGATCAGA
361	GGGAGCT AG	GGAGGCCTGA	CCTGAGGCCG	GCACCCGGAG	CTGGCGGGAG	CCAGACCCAG
				M R C P K C L L C •		
421	AGCTCCCGCG	GCCGCCCTTT	CCCTGGGCGG	GGTCATGCGC	TGCCCCAAGT	GCCTTCTCTG
	• L S A L L T L L G L			K V Y I E W T S E S •		
481	CCTGTCAGCA	CTGCTCACAC	TCCTGGGCCCT	CAAAGTGATC	ATCGAGTGGG	CATCCGAGTC
	• R L S K A Y P S P R			G T P P S P T P A N •		
541	CCGGCTCAGC	AAGGCTTACC	CCAGCCCTCG	GGGCACCCCG	CCAAGCCCCA	CGCCAGCCAA
	• P E P T L P A N L S			T R L G Q T I P L P •		
601	CCCTGAGCCC	ACCTTACCTG	CCAACCTCTC	CACCCGCTTG	GGCCAGACTA	TCCCGCTGCC
	• F A Y W N Q Q Q W R			L G S L P S G D S T •		
661	CTTTGCTTAC	TGGAACCAGC	AGCAGTGGCG	GCTGGGGTCC	CTGCCCCAGT	GGGACAGCAC
	• E T G G C Q A W G A			A A A T E I P D F A •		
721	TGAAACGGGG	GGCTGCCAGG	CTTGGGGGGC	CGCCGCCGCC	ACCGAGATCC	CTGACTTCGC
	• S Y P K D L R R F L			L S A A C R S F P Q •		
781	CTCCTACCCC	AAGGACCTCC	GCCGCTTCTT	GCTGTCAGCA	GCCTGCCGGA	GCTTCCCACA
	• W L P G G G S Q V			S S C S D T D V P Y •		
841	GTGGCTGCCT	GGAGGTGGTG	GCAGCCAAGT	CTCCAGCTGC	TCAGATACTG	ATGTCCCCTA
	• L L L A V K S E P G			R F A E R Q A V R E •		
901	CCTGCTGTTG	GCCGTCAAGT	CAGAACCAGG	GCGCTTTGCA	GAACGACAGG	CCGTGAGAGA
	• T W G S P A P G I R			L L F L L G S P V G •		
961	GACGTGGGGC	AGTCCAGCTC	CAGGGATCCG	GCTGCTCTTC	CTGCTAGGGT	CTCCGGTGGG
	• E A G P D L D S L V			A W E S R R Y S D L •		
1021	TGAGGCGGGG	CCTGACCTAG	ACTCACTAGT	GGCCTGGGAG	AGCCGTCGCT	ACAGTGACCT
	• L L W D F L D V P F			N Q T L K D L L L L •		
1081	GCTGCTCTGG	GACTTCCTCG	ACGTCCCATT	CAACCAGACG	CTCAAAGACC	TGCTGCTGCT
	• A W L G R H C P T V			S F V L R A Q D D A •		
1141	GGCCTGGCTG	GGCCGCCACT	GCCCCACCGT	GAGTTTGTTC	TTGCGAGCTC	AGGACGATGC
	• F V H T P A L L A H			L R A L P P A S A R •		
1201	CTTTGTACAC	ACCCCTGCCC	TGCTGGCTCA	CCTGCGGGCC	CTGCCACCTG	CCTCGGCCCG
	• S L Y L G E V F T Q			A M P L R K P G G P •		
1261	AAGCTCTTAC	CTGGGTGAGG	TCTTTACCCA	GGCCATGCCT	CTCCGGAAGC	CAGGAGGACC
	• F Y V P E S F F E G			G Y P A Y A S G G G •		
1321	CTTCTATGTG	CCCGAGTCCT	TCTTCGAAGG	TGGCTACCCA	GCCTATGCAA	GCGGGGTGG
	• Y V I A G R L A P W			L L R A A A R V A P •		
1381	CTACGTCATT	GCCGGGCGCC	TGGCACCCCTG	GCTGCTGCGG	GCGGCAGCCC	GTGTGGCACC
	• F P F E D V Y T G L			C I R A L G L V P Q •		
1441	CTTCCCCTTT	GAGGACGTCT	ACACTGGCCT	TTGCATCCGA	GCCCTGGGCC	TGGTGCCCCA
	• A H P G F L T A W P			A D R T A D H C A F •		
1501	GGCCACCCA	GGCTTCCTCA	CAGCCTGGCC	AGCAGACCGC	ACTGCGGACC	ACTGTGCTTT
	• R N L L L V R P L G			P Q A S I R L W K Q •		
1561	CCGCAACCTG	CTGCTGGTAC	GGCCCCCTGGG	CCCCAGGCC	AGCATTCGGC	TCTGGAACA
	• L Q D P R L Q C *					
1621	ACTGCAAGAC	CCAAGGCTCC	AGTGCTGACT	CTCATTGGGG	AGGGCGGAGG	TGCTGACCTG
1681	GCCTGGGCCT	CTGGGGCCCG	CCCCTGGCTC	AGCCCCCTCT	TCCAGGTCTT	GATGGGAGGG
1741	AGGAGGGCCC	AGAAGCTGGA	CAACTTAAGC	CACCTCCTTG	CCTCCCCCG	CCAGGGGCCCT
1801	GGGCAGGAAA	GATGGGGTGG	TGGACTGTTT	TTGCCTACTT	TTTGTTTTTG	AAAAACATGC
1861	ACTCCCCACT	CTGAAAAAAA	AAAAAATAAA	AAAA		

Fig.1 Nucleotide and amino acid sequences of $\beta 3\text{GALT}7$

A stop codon upstream of the ORF at the same reading frame are bolded. Asterisk represents the stop codon.

1.3 多种肿瘤细胞总 RNA 的抽提和半定量 RT-PCR 反应

12 种肿瘤细胞株和 1 种正常细胞株: 胃癌细胞株 SGC-7901, 慢性髓原白血病细胞株 K562, 大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞株 PC-12, 脑胶质瘤细胞

株 SHG-44, 卵巢癌细胞株 H0-9801, 小鼠胚成纤维细胞株 NIH3T3, 肺腺癌细胞株 SPCA-1、H1299 (P53 不表达)、A549, 小细胞肺癌细胞株 H446, 大细胞肺癌细胞株 H460, 原髓细胞白血病细胞株 HL-60 (购自美国 ATCC) 和单核白血病细胞株

SHI-1 (由江苏省血液研究所惠赠) 在本所常规培养. 取生长至对数期的细胞用 TRIzol 裂解细胞并按一步法抽提总 RNA. 对 RNA 定量并以甲醛变性凝胶电泳检测完整性. 取 2 μ g 总 RNA 加 1 μ g Superscript II RNase H-Reverse transcriptase (Gibco BRL)、dNTPs、六碱基随机引物、0.1 mol/L DTT 等试剂逆转录合成 cDNA. 以引物 β 3GalT7-RT-A (5' CTATGTGCCCCGAGTCCTTCTTCG 3') 和 β 3GalT7-RT-B(5' GCAGTTGTTTCCAGAGCCGAA TG 3') 将第一链 cDNA 在 PCR 仪 (PTC100) (美国 MJ 公司) 上扩增. PCR 反应条件: 预变性, 94 $^{\circ}$ C $\times$ 5 min; 变性 94 $^{\circ}$ C $\times$ 45 s, 复性 56 $^{\circ}$ C $\times$ 45 s, 延伸 72 $^{\circ}$ C $\times$ 1 min, 循环数 30; 延伸, 72 $^{\circ}$ C $\times$ 7 min. 利用半定量 RT-PCR 的方法, 我们把 β 微球蛋白引物与 β 3GalT7 特异引物同时进行 PCR 扩增. 然后利用相对表达量 (GalT7 表达量 / β 微球蛋白表达量) 作柱形图.

1.4 几种肿瘤细胞的 RNA 印迹杂交

6 种肿瘤细胞株: 慢性髓原白血病细胞株 K562, 大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞株 PC-12, 脑胶质瘤细胞株 SHG-44, 肺腺癌细胞株 SPCA-1, 小细胞肺癌细胞株 H446, 大细胞肺癌细胞株 H460 (购自美国 ATCC) 在本所常规培养. 取生长至对数期的细胞用 TRIzol 裂解细胞并按一步法抽提总 RNA. 对 RNA 定量并以甲醛变性凝胶电泳检测完整性. 将变性胶在碱性转移缓冲液 (0.01 mol/L NaOH-3 mol/L NaCl) 中转移至尼龙膜上. 按 DIG High Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit II 试剂盒 (Roche 公司产品) 操作说明标记探针并进行杂交反应. 以化学发光法检测结果. 实验中标记 β -MG 探针进行杂交以作为对照.

1.5 β 3GalT7 的原核表达

以 Pfu 聚合酶 (Stratagene Cloning Systems. La Jolla.CA) 对 β 3GalT7 编码序列进行 PCR 扩增. 引物: pGEX-6p-1- β GalT7-A (5' TCGAATTCATGCG

CTGCCCCAAGTG 3') 包含一个 *EcoR* I 酶切位点; pGEX-6p-1- β GalT7-B (5' TTCTCGAGGCACTGG AGCCTTGGGTC 3') 包含一个 *XhoI* I 酶切位点. PCR 产物用限制性内切酶 *EcoR* I 和 *XhoI* I 酶切, 连接入含有 *EcoR* I / *XhoI* I 酶切位点的 pGEX-6p-1 质粒中, 构成重组质粒 β GalT7- pGEX-6p-1, 重组质粒纯化后, 双酶切及测序验证. 重组质粒转化 BL21 菌株, 在 LB- 琼脂培养基 (100 g/L 氨苄青霉素) 上培养. 挑取单菌落, 接种于 5 ml (200 g/L 氨苄青霉素) LB 培养基中. 37 $^{\circ}$ C 摇床振荡培养过夜、转接, 以不同终浓度的 IPTG 诱导 5 h, 1 000 g 2 min 离心收集菌体, SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 检测表达.

2 结 果

2.1 人类 β 3GalT7 基因的克隆和序列分析

从人肺 cDNA 文库中扩增得到 β 3GalT7 基因, 将其克隆至 pMD18-T 载体 (TakaRa) 并测序. 测序结果与 contig 图吻合. 经人类基因组组织 (HUGO) 命名委员会认可, 该基因被命名为 β 3GalT7 (UDP-Gal:betaGal beta 1,3-galactosyltransferase polypeptide 7) 并被 GenBank 收录, 获得登录号 AY277592. β 3GalT7 基因全长 1 894 bp, 编码蛋白质 397 个氨基酸. 蛋白质分子质量和等电点分别为 43.3 ku 和 8.37. 该基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成 (表 1), 开放阅读框 (ORF) 从第 455 碱基到 1 645 碱基. 在起始密码子 ATG (445~457 bp) 之前有一个内框终止密码子 TGA (383~385 bp). 虽然没有典型的 polyA 信号, 但其 polyA 尾起始于第 1 873 碱基. 浏览 UCSC 基因组数据库 (<http://genome.ucsc.edu>) 可知该基因染色体定位为 1 913.2. 查询 SMART 数据库 (<http://smart.embl-heidelberg.de>) 显示 β 3GalT7 蛋白包含一个信号肽序列和一个半乳糖基转移酶结构域. PSORT (<http://psort.nibb.ac.jp>) 预测 β 3GalT7 蛋白位于细胞外.

Table 1 Nucleotide sequence of exon-intron junctions of human β 3GalT7

3' Splice acceptor	Exon	Size/bp	5' Splice donor	Intron	Size/bp
cDNAendTCTTCCTCCAGC	1	135	CCCCAAACCAGG gtggagtgaagg	1	1 025
cacccttccc ag CTGTCTCACCAG	2	287	CCAGACCCAGAG gtataaaaagcat	2	473
gctccctt gtag CTCCCGCGGCCG	3	1 452	TCCCCACTCTGAaaaaaaaaaaaaa	polyA	

Intron sequence is shown in lowercase and exon sequence in uppercase, respectively. Bold italic letters indicate donor and acceptor splice sites.

使用 NCBI 蛋白比对工具 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>), 将推导出的蛋白质序列在国际蛋白质数据库中进行搜索显示, 人 $\beta 3\text{GalT7}$ 与小鼠(60%相同, 65%相似)和大鼠(60%相同, 65%相

似)中的假设蛋白 MGC32391 有高度同源性。 $\beta 3\text{GalTs}$ 家族(图 2)的多序列比对也显示 $\beta 3\text{GalT7}$ 和该家族其他成员之间有较强的同源性。

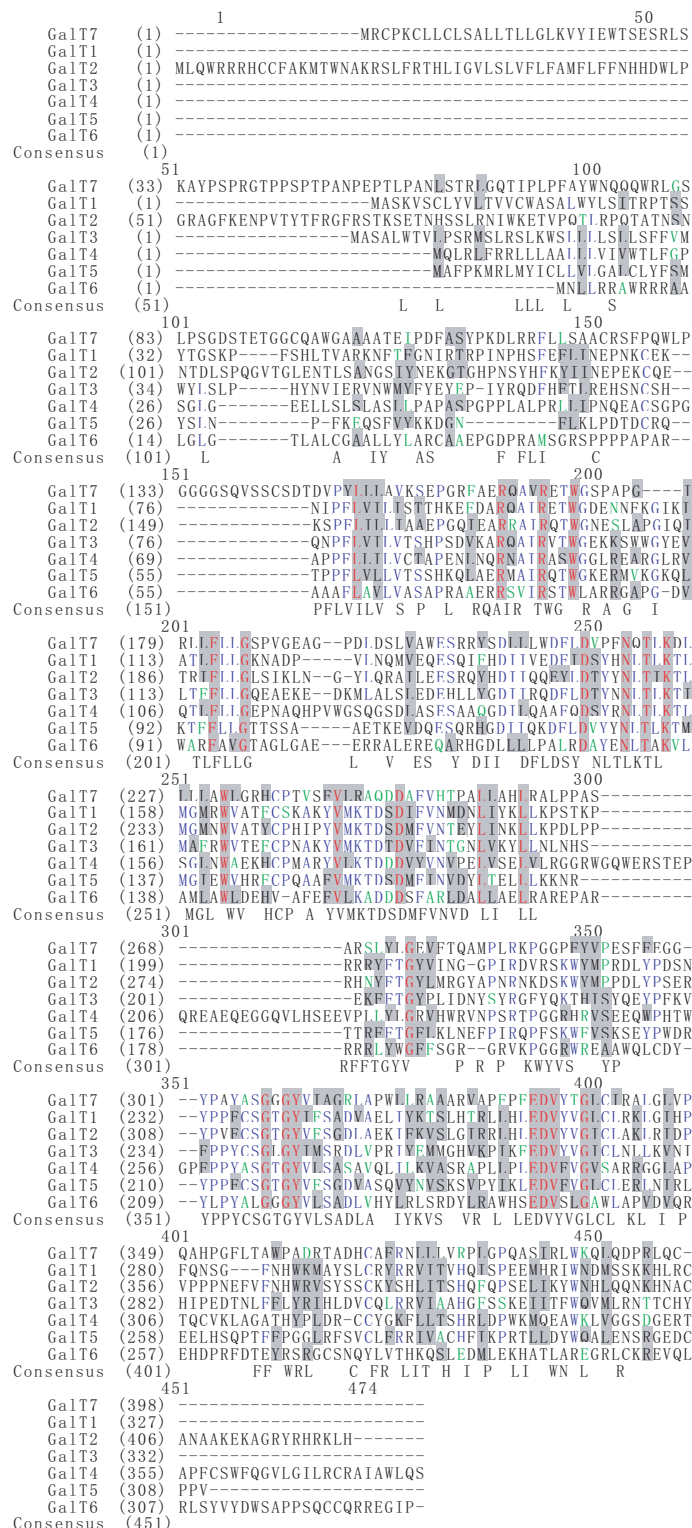


Fig.2 Alignment of the human $\beta 3\text{GalT7}$ protein and human $\beta 3\text{GalT1}$, $\beta 3\text{GalT2}$, $\beta 3\text{GalT3}$, $\beta 3\text{GalT4}$, $\beta 3\text{GalT5k}$, $\beta 3\text{GalT6}$ protein

Identical and similar amino acids are shaded in gray.

2.2 *β3GalT7* 基因的组织分布

对脑、心脏、肝脏、肺、脾、胃、睾丸、骨骼肌、肾脏、喉、回肠、舌、子宫、卵巢、乳房、胰腺等 16 种组织的 RNA 印迹 检测显示了 *β3GalT7*

mRNA 的组织分布图(图 3). 结果显示, *β3GalT7* 在肺, 喉和回肠组织中高表达, 而在舌, 乳房, 子宫, 睾丸等组织中表达较低. 转录本大小约为 1.9 kb. 在其他组织中基本没有检测到.

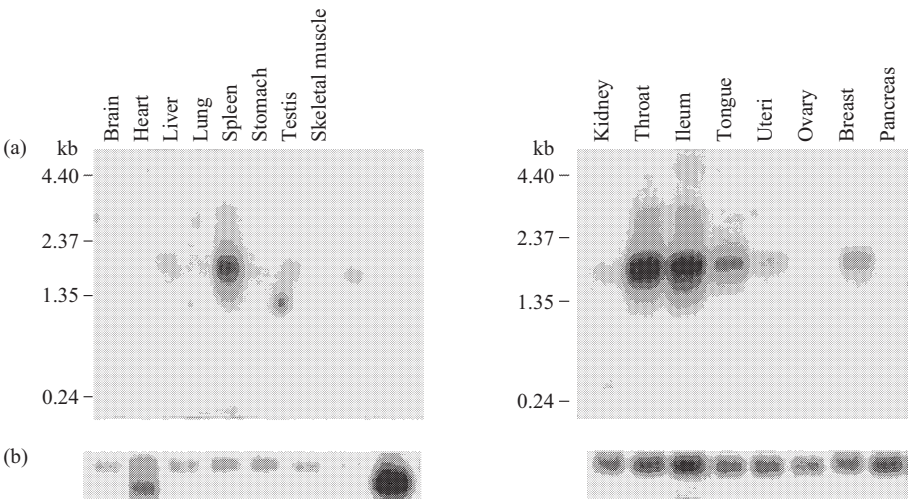


Fig.3 Northern blot analysis of *β3GalT7* mRNA in human sixteen tissues

(a) Northern blots containing mRNA from 16 human tissues were hybridized with a probe derived from *β3GalT7* cDNA. A 1.9 kb transcript was detected. (b) The same blots were hybridized with *β-actin* cDNA as a control.

2.3 肿瘤细胞中 *β3GalT7* 的 mRNA 表达谱

半定量 RT-PCR 法^[6]显示了 12 种肿瘤细胞株和 1 种正常细胞株中 *β3GalT7* 的 mRNA 表达水平 (图 4). 结果显示, *β3GalT7* 在肺癌细胞和一些白血病细胞中表达较高, 其中肺腺癌 A549 细胞株表达

最高, 在胃癌 SGC-7901 细胞株、白血病细胞 K562 细胞株、卵巢癌细胞 H09801 细胞株中有中度表达, 在神经细胞 PC-12 细胞株中有较弱表达, 在成纤维细胞 NIH3T3 和神经胶质瘤 SHG-44 细胞株中没有表达.

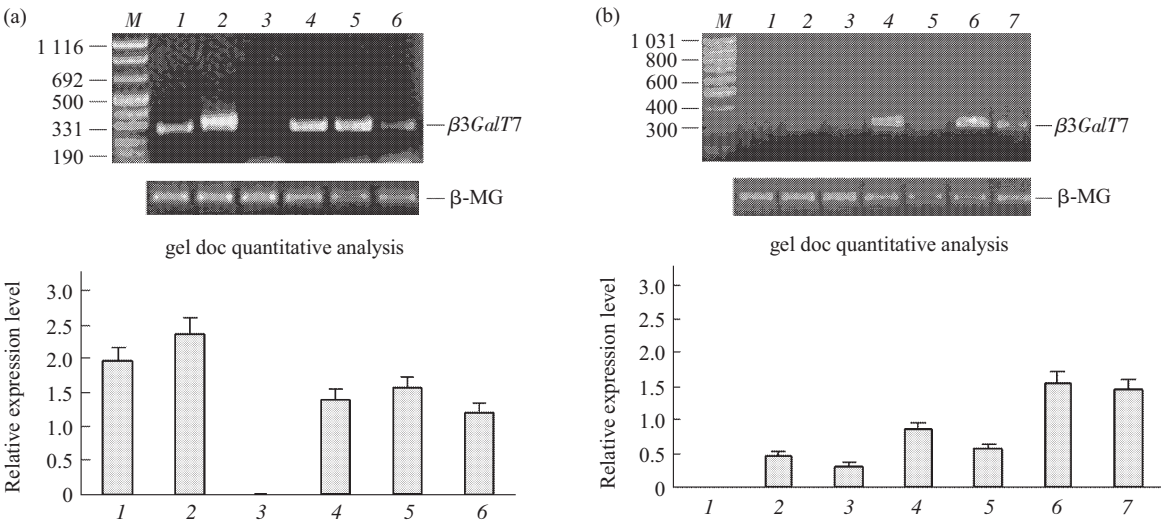


Fig.4 Expression of *β3GalT7* in twelve human tumor cell lines and one normal cell line

(a) M: DNA marker; 1: Lung adenocarcinoma H1299 which P53 is not expressed; 2: lung adenocarcinoma A549; 3: neuroglioma SHG-44; 4: large cell lung carcinoma H460; 5: lung adenocarcinoma SPCA-1; 6: small cell lung cancer H446. (b) M: DNA marker; 1: mouse embryo lung fibroblast-like cell NIH3T3; 2: ovary cancer H0-9801; 3: rat suprarenal gland pheochromocytoma PC-12; 4: stomach adenocarcinoma SGC-7901; 5: chronic myelogenous leukemia K562; 6: pro- myelocyte Leukemia HL-60; 7: mono- nuclei leukemia SHI-1.

RNA印迹显示了6种肿瘤细胞株中 $\beta 3GalT7$ 的mRNA表达水平(图5)。结果和半定量RT-PCR法相符。 $\beta 3GalT7$ 在肺癌细胞中表达相对较高,在神经细胞中低表达或不表达。

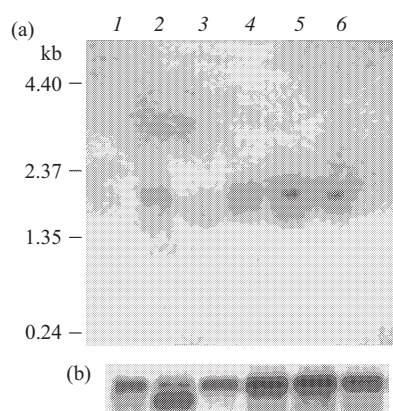


Fig.5 Northern blot analysis of $\beta 3GalT7$ mRNA in six tumor cell lines

(a) Northern blots containing mRNA from 16 human tissues were hybridized with a probe derived from $\beta 3GalT7$ cDNA. A 1.9 kb transcript was detected. (b) The same blots were hybridized with β -MG cDNA as a control (1: neuroglioma SHG-44; 2: chronic myelogenous leukemia K562; 3: rat suprarenal gland pheochromocytoma PC-12; 4: small cell lung cancer H446; 5: large cell lung carcinoma H460; 6: lung adenocarcinoma SPCA-1).

2.4 $\beta 3GalT7$ 融合蛋白的原核表达

$\beta 3GalT7$ 重组融合蛋白在 *E.coli* BL21 (DE3) 菌中被表达。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳显示该融合蛋白质分子质量约为 69 ku (图6)。其中 GST 蛋白约为 26 ku, 因此 $\beta 3GalT7$ 蛋白分子大小约为 43 ku, 与预测相符。

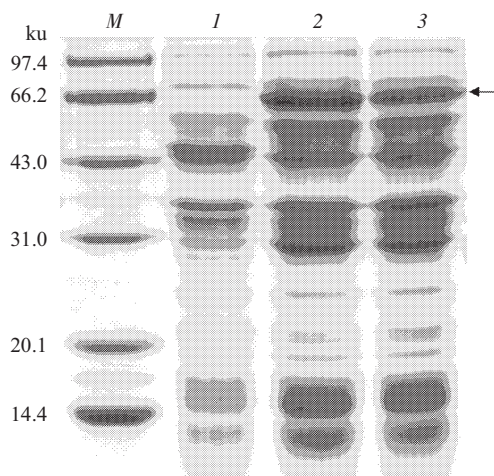


Fig.6 Expression of recombinant $\beta 3GalT7$ in *E.coli* strain BL21 (DE3)

Coomassie blue-stained SDS-PAGE gel of the $\beta 3GalT7$ expression construct. M: molecular mass markers; 1: not induced by IPTG; 2,3: induced by adding IPTG to a final concentration of 0.3 mmol/L.

3 讨 论

我们成功克隆并鉴定了一个新的人类 $\beta 3$ -galactosyltransferase 基因 $\beta 3GalT7$, 其基因定位于染色体 19q13.2. 它包含一个 1 191 bp 的 ORF, 编码的蛋白质有一个信号肽序列和一个半乳糖基转移酶结构域. $\beta 3GalTs$ 家族各成员多序列比对显示 $\beta 3GalT7$ 和该家族其他成员之间有同源性, 并发现了一些保守的短序列模序. $\beta 3GalT7$ 序列分析显示其编码区位于一个单独的外显子区域, 这和 $\beta 3GalT1$ 、 $\beta 3GalT2$ 、 $\beta 3GalT3$ 、 $\beta 3GalT4$ 、 $\beta 3GalT5$ 一致^[7]. $\beta 3GalTs$ 家族的各成员有不同的染色体定位: $\beta 3GalT1$ 在 2q31.1, T2 在 1q31, T3 在 3q25, T4 在 6p21.3, T5 在 21q22.3, T6 在 1p36.3. 这样庞大的基因家族似乎是酶在为了满足不同的功能而长期进化的结果. RNA 印迹检测到 $\beta 3GalT7$ 在肺, 喉和回肠组织中高表达, 而在舌, 乳房, 子宫, 睾丸等组织中表达较低. 这与该家族的其他成员的组织分布也不尽相同. $\beta 3GalT1$ 主要在脑表达^[2,7]; $\beta 3GalT2$ 主要在脑表达, 在心脏也有表达^[2,7,8]; $\beta 3GalT3$ 分布更广, 在脑、胰腺、肾脏和生殖器官都有表达^[2,8]; $\beta 3GalT4$ 似乎在所有组织都有表达, 然而在胰腺和脾脏最高^[9]; $\beta 3GalT5$ 表达在上皮组织包括胰腺和小肠^[4,10]; $\beta 3GalT6$ 也有广泛表达^[9]. 这些结果显示 $\beta 3GalTs$ 基因有不同的组织表达, 暗示了不同的 $\beta 3GalT$ 基因在不同的器官起不同的作用. 因此, $\beta 3GalTs$ 家族各成员虽然都形成 $\beta 1, 3$ 连接却具有不同的功能并不令人感到奇怪。

参 考 文 献

- 1 Sasaki K, Sasaki E, Kawashima K, *et al.* Japanese Patent, 0618759 A 940705. 1994-07-05
- 2 Kolbinger F, Streiff M B, Katopodis A G. Cloning of a human UDP-galactose:2-acetamido-2-deoxy-D-glucose 3-galactosyltransferase catalyzing the formation of type 1 chains. *J Biol Chem*, 1998, **273** (1): 433~440
- 3 Amado K, Almeida R, Carneiro F, *et al.* A family of human $\beta 3$ -galactosyltransferases. *J Biol Chem*, 1998, **273** (21): 12770~12778
- 4 Isshiki S, Togayachi A, Kudo T, *et al.* Cloning, expression, and characterization of a novel UDP-galactose: β -N-acetylglucosamine $\beta 1,3$ -galactosyltransferase ($\beta 3GalT5$) responsible for synthesis of type 1 chain colorectal pancreatic epithelia and tumor cells derived therefrom. *J Biol Chem*, 1999, **274** (18): 12499~12507
- 5 Bai X M, Zhou D P, Brown J R, *et al.* Biosynthesis of the linkage region of glycosaminoglycans. *J Biol Chem*, 2001, **276** (51): 48189~48195

- 6 Krauss T, Walther K, Lakoma C, *et al.* Circulating endothelial cell adhesion molecules as diagnostic markers for the early identification of pregnant woman at risk for development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 1997, **177** (2): 443 ~ 449
- 7 Amado M, Almeida R, Carneiro F, *et al.* A family of human β 3-galactosyltransferase: characterisation of four members of a UDP-galactose: β -N-acetylglucosamine/ β -N-acetylgalactosamine β 1,3-galactosyltransferase family. *J Biol Chem*, 1998, **273** (21): 12770~12778
- 8 Hennett T, Dinter A, Kuhnert P, *et al.* Genomic cloning and expression of three murine UDP-galactose: β -N-acetylglucosamine β 1,3-galactosyltransferase gene. *J Biol Chem*, 1998, **273** (1): 58~65
- 9 Miyaki H, Fukumoto S, Okada M, *et al.* Expression cloning of rat cDNA encoding UDP-galactose G (D2) β 1,3-galactosyltransferase that determines the expression of G (D1b)/G (M1)/G (A1). *J Biol Chem*, 1997, **272** (40): 24794~24799
- 10 Zhou D, Berger E G, Hennett T. Molecular cloning of a human UDP-galactose: GlcNAc β 1,3GalNAc β 1,3-galactosyltransferase gene encoding an O-linked core 3-elongation enzyme. *Eur J Biochem*, 1999, **263** (2): 571~576

Cloning and Characterization of a Novel Human β 3-Galactosyltransferase Gene β 3GALT7*

ZHOU Jia-Liang¹⁾, HUANG Chao-Qun, WU Shi-Liang^{2)**}, SUN Qi-Chang,
LEI Wei, JIN Mei-Fang, JIANG Zhi, SHEN Hong-Jie

¹⁾Department of Biochemistry and Molecular Biology, Soochow University, Suzhou 215007, China;

²⁾The Institute of Biochemistry Engineering, Soochow University, Suzhou 215007, China)

Abstract A novel human β 3-galactosyltransferase gene β 3GALT7 was isolated from human lung cDNA library and characterized. β 3GALT7 is mapped to chromosome 19q13.2 by browsing the UCSC genomic database. It contains an ORF with length of 1 191 bp, encoding a protein with a signal peptide sequence and galactosyl-T domain, and its molecular mass and isoelectric point are predicted to be 43.3 ku and 8.37 respectively. The molecular mass of recombinant β 3GALT7 protein expressed in prokaryote was coincide with the predicted. Northern blot showed that β 3GALT7 was highly expressed in lung, throat and ileum, while the expression level was low in tongue, breast, uteri, testis. In addition, it was also demonstrated that β 3GALT7 is differentially transcribed in human tumor cell lines.

Key words β 3-galactosyltransferase, clone, Northern blot, tumor cell line

*This work was supported by a grant from Medical Developing Fund of Soochow University.

**Corresponding author . Tel: 86-512-65263108, E-mail: shiliangwu@hotmail.com

Received: July 7, 2004 Accepted: September 30, 2004