

鼠 *mPC-1* 基因的克隆与特性分析*

梁瑞霞 周建光** 李杰之 黄翠芬

(军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100850)

摘要 为深入研究人前列腺癌相关基因 *PC-1* 的生物功能和进化保守状况, 从小鼠肾脏中克隆了全长 cDNA 序列, 命名为 *mPC-1* (GenBank Acc No. AY048852). *mPC-1* 基因 cDNA 全长为 2 193 bp, 主要定位于小鼠染色体 3A1-A2 区域. *mPC-1* 基因最大开放阅读框编码的蛋白质由 224 个氨基酸组成, 与人 *PC-1* 蛋白编码区存在 82% 的序列一致性, 含有 coiled-coil 结构域和 PEST 结构域. 生物信息学分析表明, 由 6 个外显子组成的 *mPC-1* 基因与 *mD52* 高度同源, 其中, 第一外显子代表该基因的特异性序列, 实验证据显示 *mPC-1* 基因具有自己的启动子, 推测 *mPC-1* 与小鼠 *mD52* 可能是重叠基因. 对小鼠 20 种组织器官和不同发育阶段的胚胎组织 cDNA 的 RT-PCR 检测证实, 该基因主要在前列腺、肾和眼组织中表达, 在胃和平滑肌中有少量表达, 在其他组织中表达很弱或不表达. 而 *mD52* 基因则几乎广泛存在于小鼠的各个组织器官中, 因此, 两个基因虽然序列上高度重叠却是独立调控的. 综上所述, *mPC-1* 基因可能是一个与人 *PC-1* 基因结构功能类似的新基因.

关键词 *mPC-1*, 新基因, 与 *hPC-1* 同源

学科分类号 Q75

前列腺癌的发生、发展和恶化可能与前列腺特异表达的基因相关^[1]. PSA (前列腺特异抗原) 已广泛应用于前列腺癌的临床诊断, 但其特异性不高. 因此, 寻找前列腺特异表达的新基因不仅能增进对发病及恶化机理的了解, 而且这些基因可能成为药物设计的特异性靶标. 周建光等在前期研究中通过 Microarray 发现了在高恶性前列腺癌 C4-2 细胞中表达上调的新基因 *PC-1*^[2]. 发现该分子的表达导致正常细胞恶性转化, 但其在正常前列腺中的生理功能以及在前列腺癌发展中的作用机理还不清楚. 如果能获得小鼠的 *PC-1* 同源基因, 不仅可以确证其进化上的保守性, 提示它的功能, 而且为建立 *PC-1* 转基因或基因剔除动物模型, 为进一步深入研究 *PC-1* 的生物功能奠定重要基础.

表达序列标签 (EST) 的电子克隆和定位克隆已经成为克隆新基因的重要方法^[3]. 目前美国国家生物信息中心 (NCBI) 的小鼠 EST 数据库已经拥有 2 396 221 条记录, 为寻找小鼠的新基因提供了基础. 本研究通过搜索与人 *PC-1* 基因 5' 端序列同源的小鼠 EST 序列, 分析该 EST 序列与鼠 *mD52* 基因交叠序列所提供的信息, 成功克隆了全长小鼠 *mPC-1* 基因, 经 Blast 分析, 它与人的前列腺癌相关基因有较高的同源性, 为研究 *PC-1* 基因的生物功能和前列腺癌的发病及恶化机制提供了一个新的候选基因.

1 材料与方法

1.1 材料

Trizol、pPUMC-T 载体购自上海生工公司, 反转录试剂盒购自 Promega 公司, DL-2000 购自 TaKaLa 公司, Mouse MTC panel I、II 购于 Clontech 公司, Super Taq DNA 聚合酶购自申能博采公司, DNA 纯化系统购自亿达公司, RNA 印迹试剂购自北京化学试剂公司, Balb/C 小鼠购自军事医学科学院动物中心.

1.2 生物信息学方法

通过与小鼠的 ESTs 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行同源性搜索, 挑选与人 *PC-1* 基因 5' 端序列同源并可能代表新基因的小鼠 EST 序列, 启动子和转录起始点预测应用 Neural Network Promoter Prediction (NNPP) 程序 (http://www.fruitfly.org/seq_tools/), 开放阅读框 (ORF) 预测采用 ORF finder 软件 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 蛋白质结构域分析采用 SMART 程序 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>), 蛋白质功能位点分析应用 Psite 程序 (<http://www.softberry.com/>), 蛋白质的亚细胞定位采用 PSORT 软件

* 国家自然科学基金资助项目 (30070296) 和国家高技术“863”计划基金资助项目 (2002AA223061).

** 通讯联系人.

Tel: 010-66931323, E-mail: zhoujgx@public.bta.net.cn

收稿日期: 2004-04-26, 接受日期: 2004-05-30

(<http://psort.nibb.ac.jp>).

1.3 总 RNA 的提取和反转录

取 Balb/C 小鼠肾脏, 按 Trizol 试剂盒说明提取总 RNA, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量, 紫外分光光度计检测定量 RNA 浓度, 取 1 μg 用随机引物进行反转录, 得到的 cDNA 作为模板.

1.4 PCR 扩增、产物克隆及测序

扩增全长 *mPC-1* 的上游引物为 5' CTC AGC CCG GGG CTC CCA GG 3', 下游引物为 5' ACT GAG ACA CAG ACT TTA TTA AGA TTT TCA C 3', 预期扩增片段长度为 2 193 bp. 用 Super Taq DNA 聚合酶, 按常规方法进行 PCR 反应. 经琼脂糖凝胶电泳回收 2 k 左右的扩增产物, 克隆至 pUMC-T 载体中, 转化大肠杆菌 DH5α, 先用 M13 正向引物 5' GTT GTA AAA CGA CGG CCA G 3' 和 M13 反向引物 5' CAG GAA ACA GCT ATG AC 3' 双向测序, 然后设计接力引物测出全序列.

1.5 RT-PCR 检测基因表达谱

以 Mouse MTC panel 中小鼠 20 种组织的 cDNA 为模板进行 RT-PCR. *mPC-1* 特异的上游引物 AW1 为 5' TCA GCT AGC ATG GAG TGC AG 3'; *mD52* 特异的上游引物 BE1 为 5' GAG GTG GCT CAG ACA TGG AC 3'; *mPC-1* 和 *mD52* 共同的下游 AWBE 为 5' GTT TCC GTC ACG TCT TGC C 3', 预

期扩增的 *mPC-1* 片段长度为 400 bp, *mD52* 片段长度近 300 bp. PCR 反应按常规方法进行. 各取 5 μl 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测. 以 GAPDH 作内参对照, GAPDH 的上游引物为 5' ACCACAGTCC-ATGCCATCAC 3'; 下游引物为 5' TCACCACCCTG-TTGCTGTA 3'.

1.6 RNA 印迹分析

提取小鼠肾脏总 RNA, 用 *mPC-1* 特异的上游引物 5' CTC AGC CCG GGG CTC CCA GG 3', 下游引物 5' AAC GTT CTG TGT AGG TGA ACC AGG CGG CG 3' 进行 PCR 反应, 合成 *mPC-1* 基因 5' 端特异的基因探针. 探针标记采用 Prime-a-Gene 试剂盒. RNA 印迹过程参阅文献 [4], 细胞总 RNA 的上样量为 30 μg.

2 结 果

2.1 EST 搜索及全长 cDNA 的克隆与序列分析

将人 *PC-1* 基因 5' 端 1 ~ 461 bp 的特异序列与小鼠 ESTs 数据库进行 Blast 分析, 结果搜索到名为 um92c01.y1、长 535 bp 的 EST 序列 (图 1). 该序列 5' 端 199 个碱基 (斜体字母表示的序列) 除了与人 *PC-1* 基因 5' 端特异序列 77% 的相同之外不与任何基因同源, 3' 端 366 个碱基与鼠 *mD52* 基因 97% 同源.

ctcagcccggggtccccagctgcccagcgcgcatgctgccttgctcgtgcttcagctagcctgagtgagtcagagatatggagttggctgatgattaccaatccccctttgattttgattctggagt
gaacaagaactacctctacctctctcacaaggcggaacacctcgcgcgcctgggtcacctacacagaacgttggtctgctgaagacagagccggfggccgaggaaggagagatgctgtaccatgct
cagtgtccagaggcgtgacgggaagagaggaagagagctgagggggagcttactaagtgfgaagaagaataccagactctgtcccaagtaftggccgcaaaagagaagcatctcgcggagct
caagcgggaagctcggcatctctcgtcctcaggaggtcgaagcagaacattgccaagggfeggaagacgtgacggcaaccaatgcatacaagaagacctctggaactctatcgcnagctggccagaaa
gccctncgtgcattttattttcgtggcc

Fig. 1 Imperfect sequence of *mPC-1* cDNA in mouse EST database

根据上述 EST 序列特征, 分别设计了与该序列 5' 端同源的上游 PCR 引物以及与小鼠 *mD52* 基因 3' 端同源的下游 PCR 引物, 从小鼠肾脏 cDNA 中成功地扩增出长度为 2 193 bp 的 cDNA 序列 (图 2 和图 3). 经同源性检索分析未发现与 *mPC-1* 有整体同源性的基因, 将全长序列发送至 GenBank, 登录号为 AY048852, 命名为 *mPC-1* 基因. *mPC-1* 基因 cDNA 的 GC 含量为 79.3%, 最大开放阅读框 (ORF) 位于 65 ~ 739 bp, 编码 224 个氨基酸残基. 在 2 174 bp 处有一加尾信号 AATAAA (图 3).

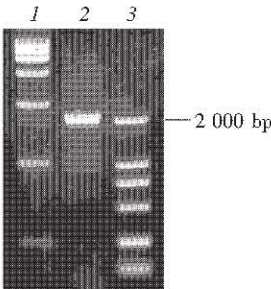


Fig. 2 Result of PCR identification of 2 193 bp cDNA of *mPC-1*
1: DNA marker (DL 15000);
2: PCR product; 3: DNA marker (DL 2000).

ctcagcccggggctcccaggtgccgcagcgccatgctcgcttgcctgccttcagctagcatggagtgagagatatggagttggctgatgattacc
 M E C R D M E L A D D Y
 aatccccctttgattttgattctggagtgaaacaagaactacctctacctctctccaagcgggaacacctcgccgctgttcacctacacagaacgttggtctg
 Q S P F D F D S G V N K N Y L Y L S P S G N T S P P G S P T Q N V G L
 ctgaagacagagccgggtggcggaggagaggagatgctgttaccatgctcagtgctccagaggcgctgacggaagaggagcaagaggagctgagg
 L K T E P V A E E G E D A V T M L S A P E A L T E E E Q E E L R
 cgggagcttactaagggtggaagaagaatccagactctgtcccaagtattggccgcaaaagagaagcatctcgccgagctcaagcggagctcgccatct
 R E L T K V E E E I Q T L S Q V L A A K E K H L A E L K R K L G I
 cctcgttcaggagttcaagcagaacattgccaaagggtggcaagacgtgacggcaaccaatgcatacaagaagacctctgaaactctatcgcaagctgg
 S S L Q E F K Q N I A K G W Q D V T A T N A Y K K T S E T L S Q A
 gcagaaggcctccgtgcatcttcacgtgttgctcagtcacacaaaagctggaagacgtgaaaaactccccactttcaagtcatttgaagaaaaagtt
 G Q K A S A A F S S V G S V I T K K L E D V K N S P T F K S F E E K V
 gaaaattaaagctaaagtaggaggagccaagcctgctggcggcgattttggagaagtcctgaattccacagccaacgctaccagtagcatgaccacaga
 E N L K S K V G G A K P A G G D F G E V L N S T A N A T S T M T T
 gcctcctcagaacagatgacagagagccccctgagctgccgactgtgctcgtgccactgccaggtgtgctcgccgcgagagccaagtacatcttgaca
 E P P P E Q M T E S P * (224)
 acgctcatggctgcggatttccaccagatgtgctttatttagcttattctttgaccaaatagttgatgaatgaacaaagtgaatcacttgacctccact
 ccagggaacactgttagcatgcatggaaggccctttgtataggaaacagcatcatagagcctctggtagatccctgcagggaactactgtgtttctcttaa
 aatcactgtacatctggattctagtttattctttactatctacatgaatcattgttttgggtctctgtacacttaatacatttcaacaaactgtcctttctaaattc
 tgggtattaaaagcttggaaatttctcctttcaaggagaaactaccagctacattttttctcggaataaacagttctgtgaggaccatacttgggtttctaa
 agacaccagactaaagtagacaggtgtgtatgcagttctatagttctgtaaatfaaaacatgcagacactcaaactccagttggggagagtggtggctcctgc
 tcttgccttgtaactgtcattttagtcatatctattgagctcaaatactgtatcagttatttattataccattctcacacattttttacagattaaaatttaattca
 ggtaattgagagaataaactgtgagttatgtatgatattacagtaagttggaatgttccacattcatcactgataattccaaaagtctaaacgtctttaggt
 ctatacagttataaaaaactgtaaaaaaaatccacataggggaattactgcctccattaaatccatttaacaccttttaggaaggacagaaagtctatgagaaa
 tacaacttgaatatttttataactaagggtgtgtataactccgaagctgcgagcgtgactatgactgagctgatcaggcagtttctgttctcagtggttagtg
 cctgagctgttctgtatgtagaaatcgttcccactctaagaactgtcggggctgtgagtcgaaagcttccagtggtcgtgtaagcccctctgttaactgtggtc
 actcctgactcactcctgtcttcttctgtgtgtatgtttatggcctatgaggtgtatctgttacttcttctattgtgttttaccagtgctccatgccaaatgttaact
 gccaaagcttgagtgacctaagccttttcagagcatggctagatttaattgagataagggttctgcaaacacagaattgaaaagccacagtgctcggtgtca
 caaaatgacatgctgccattcctggttctgctcggatgcaatggaactatgcttgattacatgtgaaaatctataataaagtctgtgtgtctcagt

Fig. 3 Nucleotide and deduced amino acid sequence of *mPC-1*

通过对小鼠基因组 BLAST 搜索, 发现 *mPC-1* 定位于小鼠染色体 3A1 ~ A2, 由 6 个外显子组成. *mPC-1* 的第 1 外显子位于 *mD52* 基因的第 1 个内含子中. 为了验证 *mPC-1* 和 *mD52* 是否为一个基因的不同剪切形式, 将 *mPC-1* 基因 5' 端上游的 5 000 bp (位于内含子之内) 的基因组 DNA 用 NNPP 程序预测启动子, 结果得到可能性为 80% ~ 100% 的 7 个候选启动子. 荧光素酶报道基因分析发现, *mPC-1* 基因 5' 端 1 100 碱基的 DNA 序列具有启动子活性 (文章另发表). 提示以上两个基因可能是由不同启动子驱动的重叠基因.

2.2 RNA 印迹鉴定 *mPC-1* 基因的分子大小

为确证 *mPC-1* 基因的分子质量大小, 从小鼠肾脏组织中提取总 RNA, 用 *mPC-1* 基因 5' 端特异的基因探针进行 RNA 印迹分析. 以 RNA 分子质量标准作待测 RNA 样品的分子质量参考对照, 结果显示, 在 2.1 kb 大小的位置附近出现一条主要的杂交条带 (图 4), 与我们克隆的 *mPC-1* 分子质量符合, 证明我们获得了全长 *mPC-1* 基因序列. 推

测在 RNA 印迹中出现的两条较弱的杂交条带, 有可能是与 *mPC-1* 基因 5' 端序列部分同源的分子, 或者是 *mPC-1* 基因的不同剪切形式.

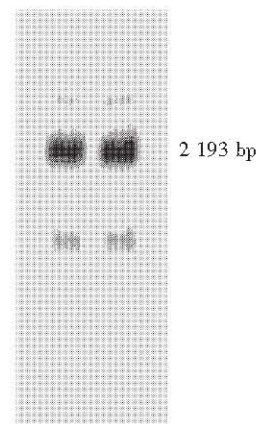


Fig. 4 Result of Northern blot of *mPC-1*

2.3 编码蛋白分析

mPC-1 最大 ORF 编码一个由 224 个氨基酸残

基组成的蛋白质, 理论分子质量为 24.313 ku, 等电点 pI 为 4.69. SMART 程序分析表明, 该蛋白质含有 TPD52 蛋白家族的结构域, 其中含有 coiled-coil 结构域及 PEST 结构域^[5] (图 5). Prosite 分析表明 mPC-1 蛋白含有 1 个酪氨酸硫酸化位点, 1 个真核和病毒天冬氨酸蛋白酶位点, 6 个酪蛋白激酶

II 磷酸化位点, 6 个 N 端-豆蔻酰基化位点, 1 个 cAMP 和 cGMP 依赖的蛋白激酶磷酸化位点, 2 个 N 端-糖基化位点和 2 个蛋白激酶 C 磷酸化位点, 而从整体轮廓 (profile) 看具有谷氨酸丰富区. PSORT 亚细胞定位程序分析结果显示, 在细胞核中定位的可能性为 89%.

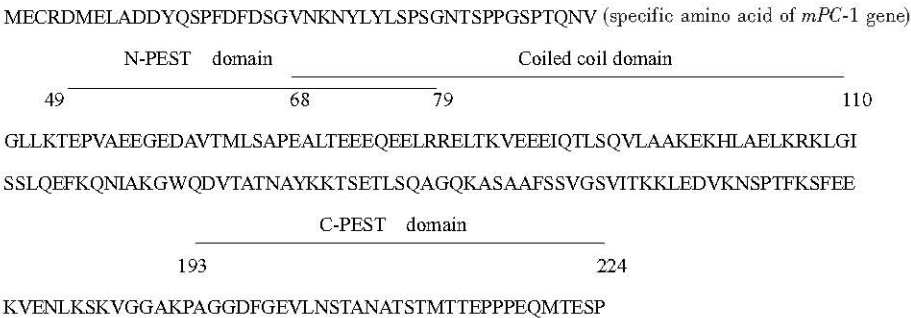


Fig. 5 Amino acid sequences and domain features of *mPC-1* gene

2.4 同源性比较

同源性检索未发现与 *mPC-1* 整体同源性的基因。其中 *mPC-1* 基因自 3' 端 2 057 bp 的序列与 *mD52* 基因序列 100% 同源, 与人 *PC-1* 编码区、人 *hD52/N8*、大鼠相似于 *PC-1* 的基因和 *CSPP28* 基因分别存在 82%、84%、90% 和 86% 的序列一致性 (表 1)。蛋白质水平上与 *mD52* 有 89% 的序列

一致性, 其中 mPC-1 的 N 端 45 个氨基酸具特异性, 而在 ORF 外的核酸序列不具有显著的同源性; 另外, 与人 hPC-1、人 hD52/N8、大鼠相似于 PC-1 的基因、兔 CSPP28 基因和鸡 R10 编码氨基酸的序列分别具有 50%、73%、80%、74%、79% 和 58% 的同源性 (表 2)。

Table 1 Comparison of homology in the maximum ORF sequence between *mPC-1* and other genes

		<i>mPC</i> -1	<i>mD52</i>	<i>mAMMO</i> *	<i>hPC</i> -1	<i>hD52</i> / <i>N8</i>	Rat norvegicus *	<i>CSPP28</i>
<i>mPC</i> -1	Identical ORF	675/675	540/675	368/675	578/675	446/675	500/675	392/675
	length of identical sequence	675/675	540/540	368/368	478/578	378/446	454/500	339/392
	Identities	100%	100%	100%	82%	84%	90%	86%

Table 2 Comparison of homology between mPC-1 and other proteins

		mPC-1	mD52	mAMMO *	hPC-1	hD52/N8	Rat. *	CSPP28	R10
mPC-1	Identical amino acid sequence	224/224	179/185	56/111	149/202	126/156	167/224	124/156	130/224
	Identities	100 %	89%	50%	73%	80%	74%	79%	58%
	Positives	100 %	89%	61%	79%	84%	76%	83%	65%

* mAMMO represents *Mus musculus* adult male medulla oblongata cDNA, RIKEN full-length. Rat norvegicus represents *Rattus norvegicus* similar to PC-1 (LOC294900) mRNA.

2.5 基因表达谱分析

为了研究 *mPC-1* 基因和人 *PC-1* 基因功能的相关性, 分析了 *mPC-1* 基因在小鼠 20 种组织器官中的表达情况. RT-PCR 结果表明, *mPC-1* 基因在小鼠前列腺、肾脏和眼组织中表达, 在胃和平滑肌少量表达, 在心、脑、脾、肺、肝、睾丸、胸腺、骨髓中不表达. 在 7 天、11 天和 15 天的鼠胚胎组

织中未检测到表达信号, 在 17 天胚胎、淋巴结、子宫中检测到微弱表达. 与 *mPC-1* 基因高度同源的 *mD52* 则在多种组织中表达, 其中肾脏和平滑肌中较高表达, 仅在睾丸中未检测到表达信号 (图 6), 上述结果表明, *mPC-1* 与人 *PC-1* 基因的表达谱十分相象, 提示它们可能是存在于不同物种间的功能类似基因.

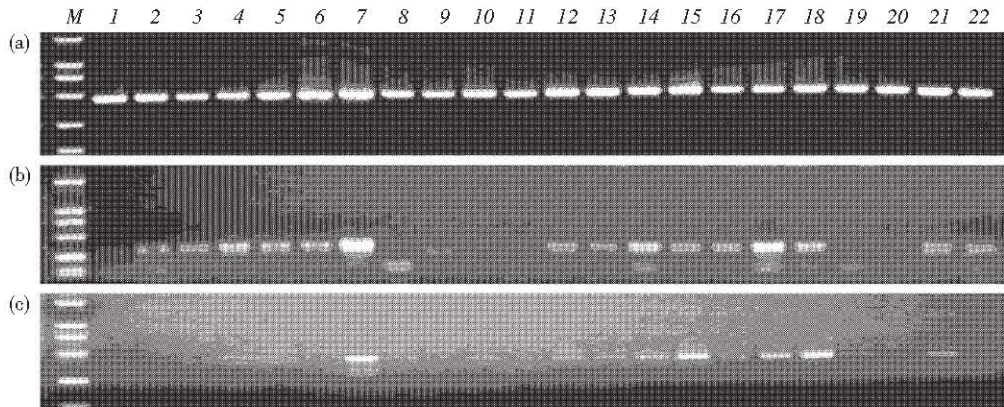


Fig. 6 Expression pattern of mouse *mPC-1* and *mD52* transcript

1: heart; 2: brain; 3: spleen; 4: lung; 5: liver; 6: skeletal muscle; 7: kidney; 8: testis; 9: 7-day embryo; 10: 11-day embryo; 11: 15-day embryo; 12: 17-day embryo; 13: control of panel I; 14: stomach; 15: eye; 16: lymph node; 17: smooth muscle; 18: prostate; 19: thymus; 20: bone marrow; 21: uterus; 22: control of panel II; M: DNA marker (DL 2000). The figure represent RT-PCR result of GAPDH (a), *mD52* (b) and *mPC-1* (c), respectively.

3 讨论

基因表达谱是揭示基因功能的重要线索. 在本研究中, 通过 EST 搜寻的信息, 克隆了小鼠新基因 *mPC-1*, RT-PCR 分析表明, 其主要在前列腺、眼和肾脏中表达, 在胃和平滑肌有少量表达, 在其他组织中表达很弱或不表达. 同源性分析表明, *mPC-1* 与 *hD52*、*mD52*、*CSPP28*、*R10* 等具有较高的同源性, C 端相当保守, 可变区存在于 N 端. 其中, *mD52* 在多种组织中广泛表达, 表明 *mPC-1* 是一个在不同组织中差异表达的转录本, 不可能是 DNA 污染造成的假象. 通过对 *mPC-1* 和 *mD52* 在小鼠染色体上的定位分析表明, *mPC-1* 基因定位于小鼠染色体 3A1 ~ A2, 由 6 个外显子组成, 第 1 外显子位于 *mD52* 的第 1 内含子内部, 其余 5 个外显子完全相同. 虽然 NNPP 程序没有预测到转录起始位点, 但是启动子活性分析实验表明, 翻译起始位点上游存在较高的转录激活功能, 结合表达谱分析表明, *mPC-1* 的编码区是一个完整的具一定功能的核苷酸序列. 由于 *mPC-1* 与 *mD52* 之间多个外显

子重合, 有可能属于重叠基因. 但值得一提的是, 先前报道的真核重叠基因多是 5' 端重合编码反向基因, 但 *mPC-1* 与 *mD52* 属于正向重叠, 至于其详细的机理尚需进一步探讨.

SMART 程序分析表明, *mPC-1* 蛋白具有 D52 家族的结构域, 即包括 N 端 coiled-coil 结构域以及 N 端和 C 端的 PEST 结构域. 其中, coiled-coil 结构域由两性的 α 螺旋组成, 利于蛋白质-蛋白质间形成同源或异源二聚体, 便于蛋白质间相互作用, 另外, 也可能参与钙信号转导及细胞增殖过程; 而 PEST 结构域提示了蛋白质裂解的信号, 由此决定细胞内蛋白质的丰度; N 端的 PEST 结构域与 coiled-coil 结构域存在部分重叠区, 可能通过蛋白质-蛋白质相互作用而有条件地降解胞内蛋白质. 另外, 前期的实验发现, 人 *PC-1* 能使转化的 NIH3T3 在软琼脂上形成集落并能促使裸鼠成瘤, 同源性分析显示, 小鼠 *mPC-1* 与人 *PC-1* 无论在核酸序列和蛋白质水平上都有较高的同源性, 分别为 82% 和 79%, 而 RT-PCR 结果提示, *mPC-1* 在小鼠的前列腺和肾脏中高表达, 因此, 对 *mPC-1* 的生

物学功能的研究具有重要意义, 将为前列腺癌的研究提供一个新的候选基因.

参 考 文 献

- 1 Primo N, Lara J R, Hsing-Jien K, *et al.* Molecular biology of prostate carcinogenesis. Critical Reviews in Oncology Hematology, 1999, **32** (3): 197 ~ 208
- 2 Zhou J G, Zhou H E, Lin B Y, *et al.* DNA microarray identified a novel *PC-1* gene differentially expressed by human prostate tissues and tumor cell lines. The Fifth Asian Congress on Urology, Beijing, 2000
- 3 张德礼, 丁培国, 凌伦奖, 等. 人类新基因 C17orf32 的电子克隆和编码区序列 RT-PCR 验证. 生物化学与生物物理进展,

2002, **29** (4): 543 ~ 549

Zhang D L, Ding P G, Ling L J, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2002, **29** (4): 543 ~ 549

- 4 J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿斯蒂. 金冬雁, 黎孟枫等译. 分子克隆实验指南. 第二版, 北京: 科学出版社, 1992. 363 ~ 373
- 5 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Translated by Jin D Y, *et al.* Molecular Cloning a Laboratory Manual. 2nd. Beijing: Science Press, 1992. 363 ~ 373
- Jennifer A B, Marie-Genevieve M, Paul B. Definition of the tumor protein D52 (*TPD52*) gene family through cloning of D52 homologues in Human (*hD53*) and Mouse (*mD52*). Genomics, 1996, **35** (3): 523 ~ 532

Cloning and Characterization of a Novel Gene: Mouse *mPC-1* *

LIANG Rui-Xia, ZHOU Jian-Guang **, LI Jie-Zhi, HUANG Cui-Fen

(Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract In order to study the biological function and conservation of homology to the human prostate and colon cancer-associated gene (*hPC-1*), the complete cDNA sequence from mouse kidney was cloned. The gene was named *mPC-1* (GenBank ACC No. AY048852), and its cDNA was 2 193 base pairs. The whole cDNA locus was mapped to mouse chromosome 3A1 ~ A2 by BLAST analysis to the mouse genome. The longest ORF of *mPC-1* encoded the putative protein of 224 amino acids, which is 82% identical to *hPC-1* coding region, with a coiled-coil domain and PEST domain in each. Bioinformatics analyses show that *mPC-1* is comprised of six exons and highly homologous to *mD52* and its first exon is a highly special gene sequence thereof. Special promoter of *mPC-1* has been verified experimentally, therefore, it was assumed that *mPC-1* is a gene overlapping with mouse *mD52*. RT-PCR performed in different mouse tissues or organs and various embryogenesis showed that the expression of the gene was strongly in prostate, kidney and eye, slightly low in stomach and smooth muscle, but not or very weakly in other tissues, however, the *mD52* gene almost expressed ubiquitously in mouse tissues or organs. Consequently, the gene sequence between *mPC-1* and *mD52* is markedly overlapping in large-scale but modulated independently. Taken together, the results suggest that *mPC-1* is a novel gene in coincidence to *hPC-1* either structure or function.

Key words *mPC-1*, novel gene, homology to *hPC-1*

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30070296) and State 863 High Technology R&D Project of China.

** Corresponding author. Tel: 86-10-66931323, E-mail: zhoujgx@public.bta.net.cn

Received: April 26, 2004 Accepted: May 30, 2004