

## 鸡硒蛋白 T 的硒代半胱氨酸插入序列元件、 蛋白结构与功能及组织表达差异

葛延松, 曹嫦妤, 王丽丽, 李楠, 江秀清, 李金龙\*

(东北农业大学动物医学学院, 哈尔滨 150030)

**摘要** 应用生物软件分析鸡和其他 11 种脊椎动物硒蛋白 T (selenoprotein T, SelT) 的硒代半胱氨酸插入序列 (selenocysteine insertion sequence, SECIS) 元件、SelT 核苷酸和氨基酸序列的同源性, 并分析鸡 SelT 的结构及功能; 采用实时荧光定量 PCR (fluorescent quantitative real-time PCR, fqRT-PCR) 方法检测 SelT 基因在 35 日龄鸡体内 30 种组织中的表达谱。结果显示: 脊椎动物 SelT 的 SECIS 元件均属于 II 型结构; 鸡 SelT 核苷酸序列与其他 11 种脊椎动物的同源性在 48.0%~85.1% 之间, 而氨基酸序列与非洲爪蟾、斑马鱼的同源性低于 90.0%, 与其他 9 种动物的同源性在 90.6%~94.9% 之间; 鸡 SelT 属于跨膜蛋白, 存在信号肽, 属于 RDx 家族, 酶活性分类为 EC 2.5.1.18, 具有氧化还原功能, 且存在 Ca<sup>2+</sup> 结合位点。SelT 在鸡各组织中广泛表达, 在睾丸中含量极其丰富, 提示鸡 SelT 在雄性生殖系统中可能发挥功能。

**关键词** 鸡硒蛋白 T; 硒代半胱氨酸插入序列元件; 结构与功能; 组织表达谱; 进化关系

**中图分类号** Q 956; S 856.5 **文献标志码** A

**Analysis of selenocysteine insertion sequence element, structures and functions and expression profiles of selenoprotein T in chicken.** Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2014, 40 (1): 9-15

Ge Yansong, Cao Changyu, Wang Lili, Li Nan, Jiang Xiuqing, Li Jinlong\* (College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Summary** Selenium (Se) was an important, biologically necessary trace element, which played an important biological roles in avian growth, reproduction, immune function and disease resistance. The biological significance of Se was attributed to its occurrence in selenoproteins in the form of selenocysteine (Sec) with a 21 amino acid genetic code. Se uses the stop codon UGA as the coding codon encoding Sec. Selenoproteins involved in many life processes such as antioxidant defense, cell signal transduction, metabolic pathway, development, immune function, and hormone regulates, and it was related to the occurrence and mechanism of many diseases. Selenoprotein T (SelT) was originally identified through silico studies, cloned and expressed in a mammalian cell line, confirmed as a selenoprotein. Previous studies have proved that SelT mainly occurred in Golgi apparatus and endoplasmic

**基金项目:** 教育部新世纪优秀人才培养计划 (NECT-1207-02); 黑龙江省普通高等学校新世纪优秀人才培养计划 (1252-NCET-009); 哈尔滨市科技创新人才研究专项 (2012RFQXN006); 东北农业大学博士启动基金资助项目 (2012RBC52)。

\* 通信作者 (Corresponding author): 李金龙, Tel: +86-451-55190407; E-mail: jinlongli@neau.edu.cn

第一作者联系方式: 葛延松, E-mail: 634283966@qq.com; 曹嫦妤 (同等贡献作者), E-mail: icaochangyu@126.com

收稿日期 (Received): 2013-07-18; 接受日期 (Accepted): 2013-10-28; 网络出版时间: 2014-01-15 18:03

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3785/j.issn.1008-9209.2013.07.182.html>

reticulum, with important biological function. SelT can act on the  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis, involved in neuroendocrine secretion. SelT has also been showed in alter cell adhesion. Up to now, 25 selenoprotein-encoding genes were identified in birds, however, only about half have been functionally characterized, most of which were involved in redox reactions. SelT was a Se-containing protein whose cellular function has not been characterized. Research on the structure and function of SelT was still in its infancy, but reports in mammals about SelT and the information about avian SelT were not clear. The purpose of this study is to explore the selenocysteine insertion sequence (SECIS) element, structures and functions of chicken SelT and the expression profiles of *SelT* in chicken tissues.

The chicken *SelT* sequence was used in the experiment. The SECIS elements of 12 vertebrates were analyzed by the SECISearch 2.19. The homologies of the molecule nucleotide and amino acid sequences on vertebrates were analyzed by DNASTar. The structure and functions of chicken SelT were predicted with the bioinformatics. The distribution of *SelT* in 30 tissues of 35-day-old chicken was analyzed by fluorescent quantitative real-time PCR (qRT-PCR).

The results showed that SECIS element of vertebrates belonged to the type II SECIS element. Compared with chicken and other 11 vertebrates, the nucleotide sequence homologies of *SelT* were 48.0% - 85.1%. The homologies of amino acid sequences of chicken SelT with *Xenopus laevis* or *Danio rerio* were less than 90.0% and with other nine kinds of animals were among 90.6%-94.9%. The chicken SelT was a transmembrane protein and had a signal peptide. It belonged to the RDx families and its enzyme classification was EC 2.5.1.18. SelT had binding sites with  $\text{Ca}^{2+}$ . The results of fqRT-PCR showed that the *SelT* was widely expressed in chicken tissues, and the expression level in testis was the highest.

In summary, the SECIS element of vertebrate *SelT* belongs to the type II and *SelT* is highly conserved in vertebrates. Avian SelT contains a CxxU motif in a thioredoxin-like fold, with glutathione S-transferase activity. SelT has binding sites with  $\text{Ca}^{2+}$ , it was predicted that avian SelT could regulate the  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis. Avian *SelT* is widely expressed in chicken tissues, and the testis has the highest expression level, suggesting that the chicken SelT has a special function in the male reproductive organs. This study provides a basis for further experimental analysis of the structure-function of avian SelT.

**Key words** chicken selenoprotein T; selenocysteine insertion sequence element; structure and function; tissue-specific expression profile; evolutionary relationship

硒利用终止密码子 UGA 为编码密码子,在硒代半胱氨酸插入序列(selenocysteine insertion sequence, SECIS)指导下,以硒代半胱氨酸(selenocysteine, Sec)形式掺入到蛋白质的多肽链中来发挥生物学作用,这类蛋白质被命名为硒蛋白<sup>[1]</sup>.硒蛋白参与了生物体内的抗氧化防御、细胞信号转导、代谢途径、发育过程、环境改变应答、免疫功能、激素调节等生命过程<sup>[2]</sup>,并与多种疾病的发生和病理机制相关<sup>[3-4]</sup>,同时,硒蛋白的表达也受到生物体内多种途径和信号的调节.硒蛋白 T (selenoprotein T, SelT)主要存在于细胞高尔基体和内质网中<sup>[5]</sup>.已有研究表明:SelT能够作用于 $\text{Ca}^{2+}$ 稳态,并参与神经内分泌过程<sup>[6]</sup>,低氧可诱导引起 SelT mRNA 增多<sup>[7]</sup>,SelT 的缺乏改变细胞黏附<sup>[8]</sup>.目前,关于 SelT 结构与功能的研究尚处于起步阶段,仅有哺乳动物 SelT 的相关研究报道<sup>[5-7]</sup>,而禽类 *SelT* 的相关信息仍不清楚.本研究应用生物

软件分析鸡和其他 11 种脊椎动物 *SelT* 的 SECIS 元件、*SelT* 核苷酸和氨基酸序列的同源性,并分析鸡 SelT 的结构及功能;采用实时荧光定量 PCR (fluorescent quantitative real-time PCR, fqRT-PCR)方法检测 *SelT* 基因在 35 日龄鸡体内 30 种组织中的表达谱,旨在揭示鸡 SelT 的基因特性、进化关系、蛋白结构功能及组织表达,为深入研究禽类 SelT 生物学功能及作用机制奠定基础.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验动物及样品采集

试验用鸡购自哈尔滨市先锋种鸡场 1 日龄海兰白雏鸡,经常规饲养,自由采食和饮水.35 日龄时颈静脉放血处死,采集大脑、丘脑、小脑、脑干、脊髓、垂体、坐骨神经、食管、嗉囊、腺胃、肌胃、十二指肠、回肠、盲肠、直肠、胰腺、肝、胸肌、翅肌、腿肌、心肌、胸

腺、法氏囊、脾、睾丸、卵巢、动脉、静脉、肾、肺等 30 个组织,经过非冰型组织 RNA 保存液 RNA locker 处理后保存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,用于组织表达谱检测。

## 1.2 主要试剂

RNAase 固相清除剂, RNA locker, RNAout 购于北京天恩泽基因科技有限公司; DEPC 购于 Sigma 公司; M-MLV 反转录试剂购于 TransGen Biotech 公司; GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master Mix 购于 Promega 公司。

## 1.3 SECIS 元件检索

应用 SECISearch 2.19 程序对 12 种脊椎动物 *SelT* 基因序列进行分析,12 种脊椎动物 *SelT* 基因序列信息来源分别为鸡 (*Gallus gallus*, NP\_001006557.3),牛 (*Bos taurus*, NP\_001096573.2),犬 (*Canis lupus familiaris*, NP\_001157959.1),灰地鼠 (*Cricetulus griseus*, NP\_001243780.1),斑马鱼 (*Danio rerio*, *SelT 1a* NP\_840075.2, *SelT 1b* NP\_840077.3, *SelT 2* NP\_001091957.2),人 (*Homo sapiens*, AAH36738.3),猕猴 (*Macaca mulatta*, NP\_001152886.1),小鼠 (*Mus musculus*, NP\_001035486.2),猩猩 (*Pongo abelii*, NP\_001186922.1),大鼠 (*Rattus norvegicus*, NP\_001014275.2),斑胸草雀 (*Taeniopygia guttata*, NP\_001186698.1),非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*, NP\_988868.2)。

## 1.4 物种间 *SelT* 进化关系分析

应用 DNASar 软件中 MegAlign 模块的 Clustal W 方法对上述 12 种脊椎动物 *SelT* 基因核苷酸及氨基酸序列进行同源性分析。

## 1.5 鸡 *SelT* 结构与功能分析

用 ExPASy-ProtParam Tool 工具对鸡 *SelT* 蛋白基本理化性质进行预测,应用 SignalP 在线软件进行鸡 *SelT* 的信号肽分析,应用 ProtScale 的网络版本对鸡 *SelT* 蛋白质进行疏水区域预测,应用 TMpred 在线软件分析鸡 *SelT* 蛋白的跨膜区,应用 PHD 在线软件进行鸡 *SelT* 的二级结构预测,应用 InterProScan 在线软件对鸡 *SelT* 蛋白结构域进行预测,应用 I-TASSER 在线软件预测该蛋白高级结构与功能。

## 1.6 鸡 *SelT* 组织表达谱检测

**1.6.1 引物设计与合成** 根据 GenBank 中鸡 *SelT*, *GADPH* (K01458) 基因序列,按照引物设计的基本要求设计 fqRT-PCR 引物,并由北京六合华大基因科技公司合成,引物序列见表 1。

表 1 鸡 *SelT* 基因 fqRT-PCR 分析用引物序列

Table 1 Primers for fqRT-PCR analysis of chicken *SelT* gene

引物 Primer	引物序列 Primer sequence	PCR 片段长度 PCR fragment length/bp
<i>SelT</i>	F:5'-CCGACATCCGCATCGAG-3'	123
	R:5'-CAAATGGATCCTTGCCGACA-3'	
<i>GADPH</i>	F:5'-AGAACATCATCCCAGCGT-3'	182
	R:5'-AGCCTTCACTACCTCTTG-3'	

**1.6.2 基因 fqRT-PCR 扩增** 取各组织样品,按 RNAout 试剂盒说明书提取总 RNA.取总 RNA 5  $\mu\text{g}$ ,采用 20  $\mu\text{L}$  反应体系,按照 TransGen Biotech 公司的 M-MLV 反转录试剂说明合成 cDNA 第 1 条链.以合成的 cDNA 第 1 条链为模板,按照 GoTaq<sup>®</sup> qPCR Master 试剂盒使用手册进行荧光定量 PCR.采用 20  $\mu\text{L}$  反应体系,反应条件为:95  $^{\circ}\text{C}$  2 min,95  $^{\circ}\text{C}$  15 s,60  $^{\circ}\text{C}$  1 min,40 个循环,反应结束后进行熔解曲线分析,计算采用 Pfaffl<sup>[9]</sup> 法,计算公式如下:

$$\text{比率} = \frac{E^{\Delta C_T \text{靶基因 (对照-样本)}}}{E^{\Delta C_T \text{GADPH (对照-样本)}}}$$

其中  $E = 10^{-1/\text{斜率}}$ 。

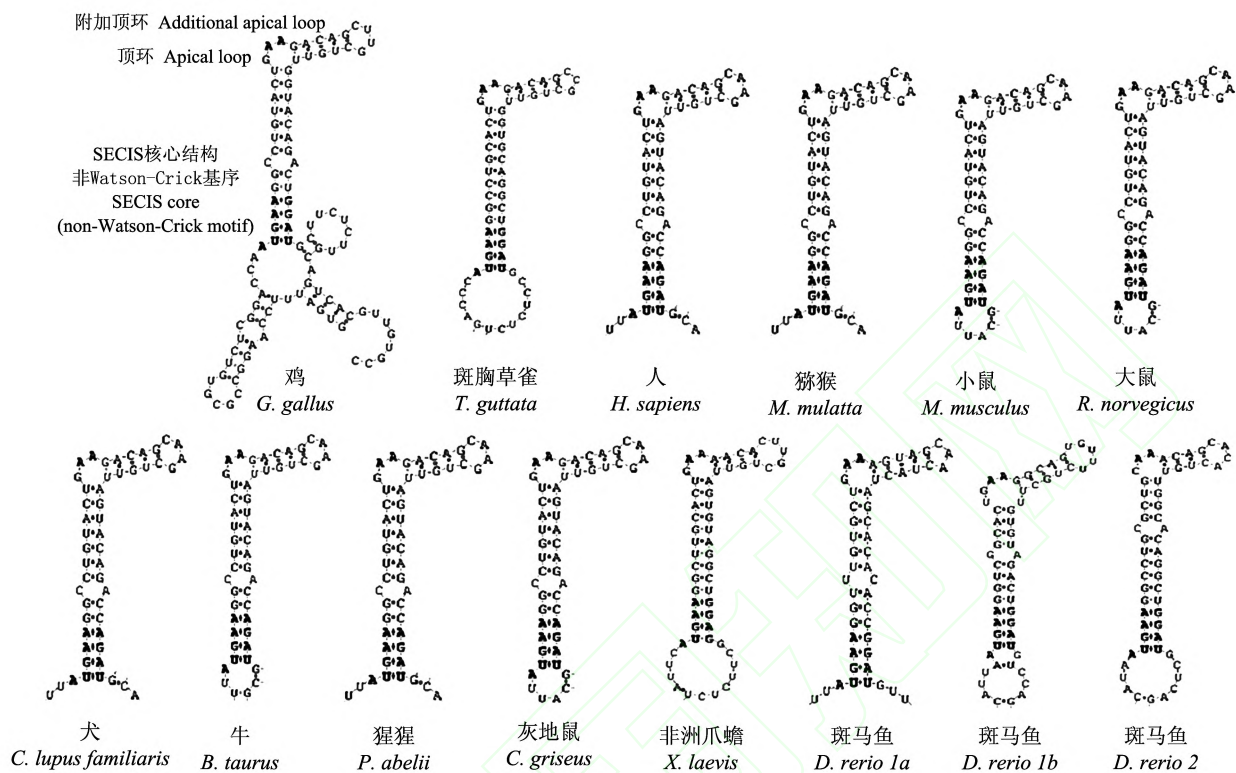
## 2 结果与分析

### 2.1 *SelT* 的 SECIS 元件检索结果

应用 SECISearch 2.19 在线软件对 12 种脊椎动物 *SelT* 全基因序列进行分析,可以得到各脊椎动物 *SelT* 的 SECIS 元件二级结构(图 1).结果表明,12 种脊椎动物 *SelT* 的 SECIS 元件二级结构顶环上均存在着一个附加的小茎环结构,属于 II 型 SECIS 结构.在鸡 *SelT* mRNA 的 3'-UTR 区域中,在其一级结构 670~760 位具有 AUGA\_AA\_GA 结构模式。

### 2.2 脊椎动物物种间 *SelT* 进化关系

通过比对鸡与其他 11 个物种的 *SelT*(图 2)发现,鸡与斑胸草雀、人、猕猴、猩猩、犬、牛、小鼠、大鼠、灰地鼠、非洲爪蟾和斑马鱼 (*1a*, *1b*, *2*) 的 *SelT* 核苷酸序列同源性分别为 85.1%,75.0%,73.1%,73.0%,72.5%,72.2%,69.9%,69.7%,69.7%,65.0%,56.9%,55.1%,48.0%(图 2A);氨基酸序列同源性分别为 94.9%,91.1%,91.1%,91.1%,90.6%,91.1%,91.1%,91.1%,90.6%,82.1%,75.1%,73.5%,51.0%(图 2B)。

图1 *SelT* SECIS元件的结构Fig.1 Structures of *SelT* SECIS element

### 2.3 鸡 *SelT* 结构与功能分析结果

经氨基酸组成及理化性质分析可知:鸡 *SelT* 蛋白由 199 个氨基酸组成,相对分子质量为 22 318.1,理论等电点为 8.44,负电荷氨基酸残基数为 15,正电荷氨基酸残基数为 17,分子式为  $C_{1009}H_{1579}N_{265}O_{271}S_{15}Se_1$ ,原子总数为 3 140,消光系数为 27 055,不稳定系数为 50.46,脂肪系数为 96.53,总平均亲水系数为 0.163.在鸡 *SelT* 的 N 末端存在一段由 19 个氨基酸组成的信号肽.鸡 *SelT* 的 C 端具有疏水性,而 N 端具有很强的亲水性,此蛋白具有 9 个疏水区域和有 3 个跨膜区域.在鸡 *SelT* 蛋白中,84 个氨基酸可能形成  $\alpha$ -螺旋,33 个氨基酸可能形成  $\beta$ -折叠,82 个可能形成无规则卷曲,即形成  $\beta_1$  (44 - 51)- $\alpha_1$  (55 - 68)- $\beta_2$  (73 - 76)- $\alpha_2$  (83 - 98)- $\alpha_3$  (110 - 113)- $\alpha_4$  (120 - 128)- $\alpha_5$  (137 - 148)- $\beta_3$  (153 - 157)- $\beta_4$  (162 - 165)- $\alpha_6$  (174 - 191)型的二级结构(图 3A).

对鸡 *SelT* 蛋白的结构功能域分析结果显示,鸡 *SelT* 属 RDx 家族成员,其序列中具有硫氧还蛋白样折叠,并且是一个非常保守的蛋白质.酶活性位点分析显示鸡 *SelT* 具有谷胱甘肽-S-转移酶活性,功能与该酶相似(图 3B, C).鸡 *SelT* 蛋白中第 78, 93, 146

位的氨基酸残基可与  $Ca^{2+}$  特异性结合(图 3D).

### 2.4 鸡 *SelT* 组织表达谱检测结果

fqRT-PCR 检测结果显示,在鸡神经、消化、呼吸、心血管、免疫系统、泌尿生殖器官及肌肉组织中均检测到 *SelT* 基因的表达(图 4),其在睾丸中含量极其丰富( $P < 0.001$ ),其含量高低依次为睾丸 > 胰腺 > 法氏囊 > 回肠 > 胸腺 > 翅肌 > 脊髓 > 垂体 > 小脑 > 嗉囊 > 丘脑 > 坐骨神经 > 肾 > 腿肌 > 脑干 > 直肠 > 十二指肠 > 心肌 > 肌胃 > 食管 > 动脉 > 肺 > 肝 > 卵巢 > 大脑 > 脾 > 静脉 > 腺胃 > 胸肌 > 盲肠.

## 3 讨论

硒与禽类的生长、发育、免疫、生殖、内分泌、营养代谢及抵抗外界环境应激等方面密切相关,硒蛋白是其在生物体内发挥生物学作用的具体形式<sup>[10]</sup>.*SelT* 最初是通过在哺乳动物细胞系表达而确认为硒蛋白<sup>[11]</sup>.已有研究表明 *SelT* 能够作用于  $Ca^{2+}$  稳态,参与神经内分泌过程<sup>[6]</sup>,*SelT* 缺乏将引起细胞黏附改变<sup>[8]</sup>.

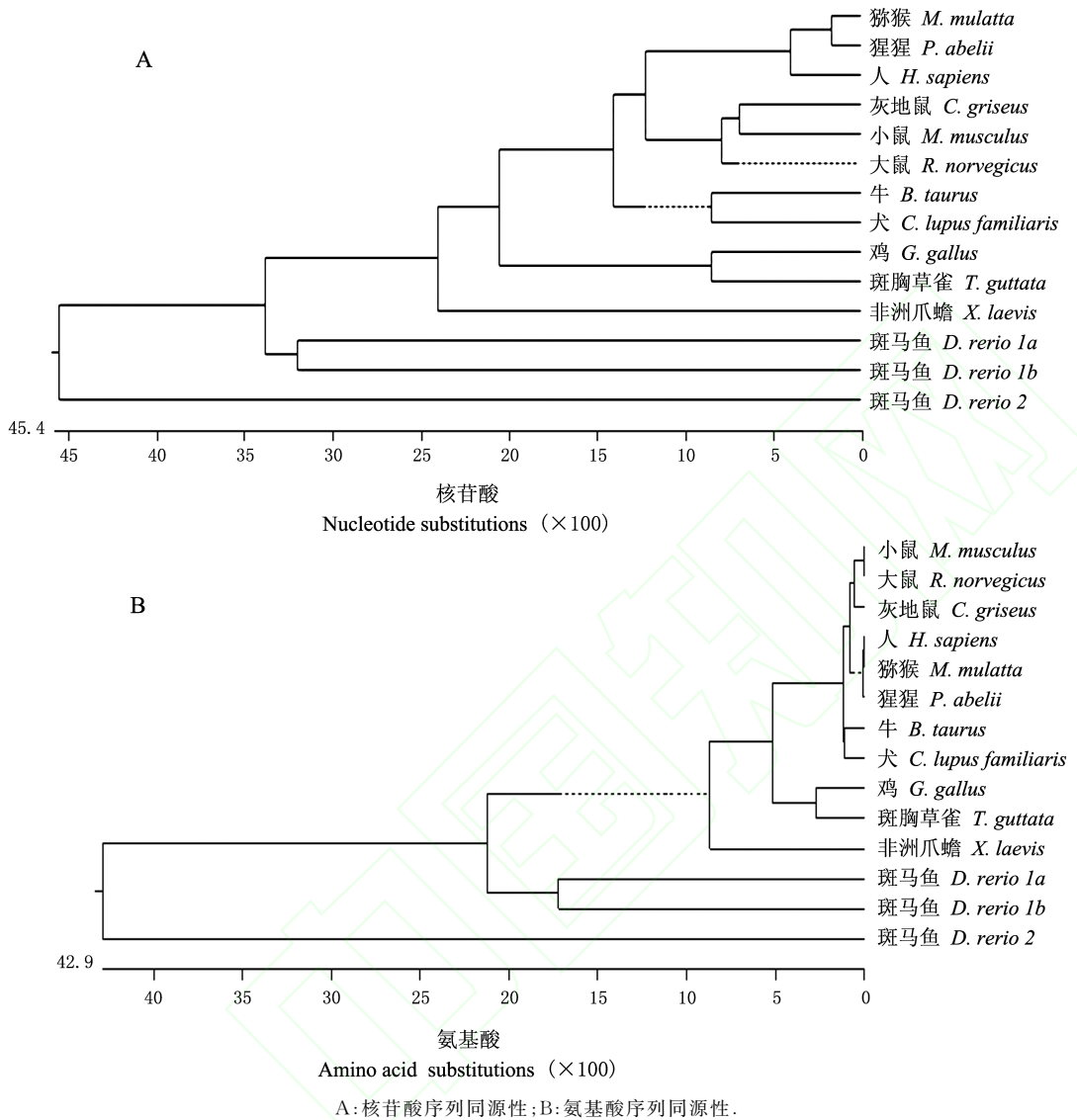
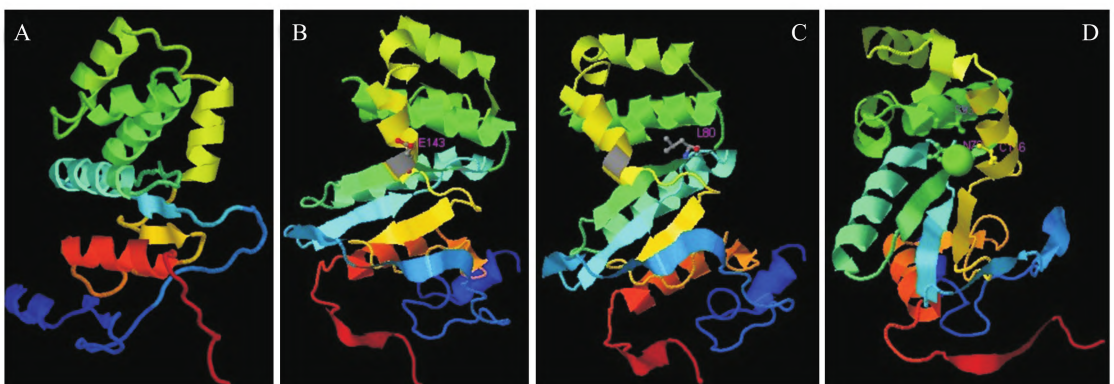


图 2 鸡与其他 11 种脊椎动物 *SelT* 的核苷酸及氨基酸序列比对结果

Fig. 2 Alignment of nucleotide and amino acid sequences of chicken *SelT* with other *SelT*s from 11 animals

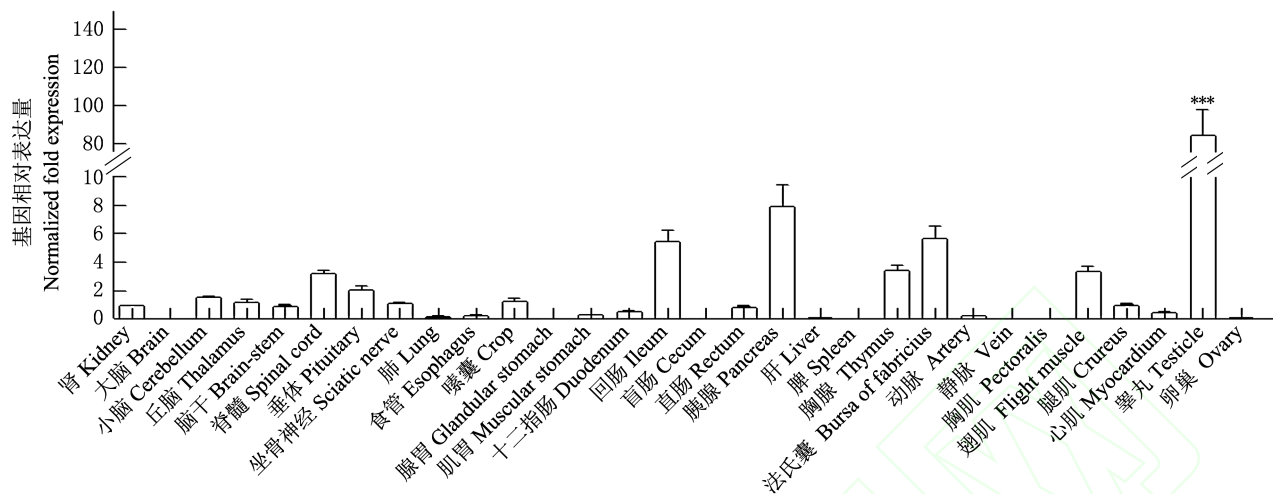


A: 高级结构; (B, C): 酶活性位点; D: 结合位点.

A: Senior structure; (B, C): Enzyme active site; D: Binding site.

图 3 鸡 *SelT* 蛋白结构与功能预测结果

Fig. 3 Predicted structure and function of chicken *SelT*



柱状图上的短栅表示标准差; \* \* \* 表示睾丸组织鸡 *SelT* 表达量与其他组织间在  $P < 0.001$  水平差异有统计学意义。

Standard deviation is denoted with lowercase letters above each bar. \* \* \* The expression level of *SelT* mRNA in testis was significantly different from other tissues in chicken at the 0.001 probability level.

图 4 鸡 *SelT* 组织表达谱

Fig. 4 Expression profile of *SelT* in chicken tissues

硒以 Sec 形式掺入到蛋白质多肽链中, Sec 作为掺入蛋白质的第 21 种氨基酸, 由硒蛋白 mRNA 上的 UGA 编码, 在 SECIS 指导下插入蛋白质的多肽链<sup>[1]</sup>. 真核 SECIS 元件被分成 2 个不同的亚型: I 型和 II 型<sup>[12]</sup>. 这 2 个亚型的区别在于其顶环的面积不同, 其中 II 型 SECIS 元件有一个附加的小尖端放置 AA. 在 helix II 的顶部上, 未成对 AA 核苷酸存在于小尖端和心尖环随后的凸起上. 分析真核生物代表性的 *SelT* 基因的 3'-非翻译区 (3'-UTRs)<sup>[13]</sup>, 结果显示 12 种脊椎动物 *SelT* 基因二级结构中心尖环均含有一个附加的小尖端, 表明脊椎动物 *SelT* SECIS 元件均属于 II 型, 其中鸡 *SelT* 的 SECIS 元件位于 3'-UTRs 的 670~760 位. 鸡与其他 11 种脊椎动物的 *SelT* 核苷酸序列同源性在 48.0%~85.1% 之间, 而氨基酸序列仅与非洲爪蟾、斑马鱼 *SelT* 1a、斑马鱼 *SelT* 1b、斑马鱼 *SelT* 2 同源性低于 90.0%, 其余均有较高的同源性, 表明 *SelT* 在脊椎动物中高度保守, 且鸡与斑胸草雀关系最近.

小鼠 *SelT*、*SelW* 和硫氧还蛋白含有一个共同的二级结构中心, 包括 4 个  $\beta$ -折叠和 3 个  $\alpha$ -螺旋以  $\beta_1$ - $\alpha_1$ - $\beta_2$ - $\alpha_2$ - $\beta_3$ - $\beta_4$ - $\alpha_3$  顺序构成的中央轴. 小鼠 *SelT* 有 2 个额外的插入片段, 一个由 35 个氨基酸伸展的 N 末端和一个由 67 个氨基酸组成的结构域 ( $\alpha_2$ - $\alpha_5$ )<sup>[14]</sup>. 本研究发现鸡 *SelT* 蛋白形成  $\beta_1$ - $\alpha_1$ - $\beta_2$ - $\alpha_2$ - $\alpha_3$ - $\alpha_4$ - $\alpha_5$ - $\beta_3$ - $\beta_4$ - $\alpha_6$  顺序的二级结构, 其中 CxxU 基序位

于  $\beta_1$ -折叠和  $\alpha_1$ -螺旋之间, 这与小鼠 *SelT* 的结构相同. 鸡 *SelT* 序列中具有一个保守 CxxU 基序, 在这种基序中 Cys(C) 残基和 Sec(U) 由 2 个其他氨基酸隔离. CxxU 基序在其他硒蛋白中也有发现, 包括 *SelM*, *SelH*, *SelV*, *SelW*<sup>[5, 13, 15]</sup>. *SelT* 属于 RDx 家族, 哺乳动物 *SelW*, *SelV*, *SelH* 也属于此家族. RDx 家族的蛋白质含有硫氧还蛋白样折叠和一个保守的 CxxU 基序, 提示这段基序中 Sec 残基具有氧化还原功能<sup>[5]</sup>.

*SelT* 能够进入钙网蛋白 (calreticulin, CRT)/钙联接蛋白 (calnexin, CNX) 循环发挥 *SelT* 对内质网的靶向作用<sup>[14]</sup>. 本研究结果显示鸡 *SelT* 具有与  $Ca^{2+}$  结合的位点, 这一结果进一步佐证了 *SelT* 在钙离子调控中的作用. 在沉默小鼠成纤维细胞中 *SelT* 表达后发现细胞黏附发生改变, 在缺乏 *SelT* 的细胞中 *SelW* 表达增强, 其表达增强可能是对 *SelT* 缺乏的功能补偿<sup>[8]</sup>. *SelT* 受垂体腺苷酸环化酶激活肽 (PACAP) 调节, 可能在细胞生长以及神经、内分泌和代谢组织的活性中发挥了至关重要的作用<sup>[16]</sup>. 鸡 *SelT* 酶活性分类为 EC 2.5.1.18, 即谷胱甘肽-S-转移酶, 其主要功能是催化某些内源性或外来有害物质的亲电子基团与还原型谷胱甘肽的巯基偶联, 增加其疏水性使其易于穿越细胞膜, 分解后排出体外, 从而达到解毒的目的<sup>[17]</sup>. 酶活性分析结果进一步证明了 *SelT* 的氧化还原功能, 这与小鼠 *SelT* 的氧化还原功能研究结果一致.

鸡 *SelT* 组织表达谱的分析显示,在鸡神经、消化、呼吸、心血管、免疫系统、泌尿生殖器官及肌肉等 30 个组织中均检测到 *SelT* 基因的表达,这证明在鸡体内 *SelT* 基因是一个广泛表达的基因,这与小鼠的研究结果一致<sup>[18]</sup>。其中 *SelT* 在睾丸中的含量远远高于其余组织,这提示鸡 *SelT* 在雄性生殖系统中可能发挥功能。

综上所述,脊椎动物 *SelT* SECIS 元件均属于 II 型结构,*SelT* 在脊椎动物中高度保守。鸡 *SelT* 属于跨膜蛋白,在其 N 末端存在信号肽,属于 RDx 家族,酶活性分类为 EC 2.5.1.18,具有氧化还原功能,且存在  $\text{Ca}^{2+}$  结合位点,即与机体内钙离子调控功能密切相关。*SelT* 在鸡各组织中广泛表达,并且在睾丸中含量极其丰富,提示鸡 *SelT* 在雄性生殖系统中可能发挥功能。本研究为进一步研究禽类 *SelT* 结构、功能及其作用机制提供了基础。

#### 参考文献(References):

- [1] Chambers I, Frampton J, Goldfarb P, *et al.* The structure of the mouse glutathione peroxidase gene: the selenocysteine in the active site is encoded by the 'termination' codon, TGA. *The EMBO Journal*, 1986, 5(6):1221-1227.
- [2] Stoytcheva Z R, Berry M J. Transcriptional regulation of mammalian selenoprotein expression. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1790(11):1429-1440.
- [3] Lescure A, Rederstorff M, Krol A, *et al.* Selenoprotein function and muscle disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1790(11):1569-1574.
- [4] Papp L V, Holmgren A, Khanna K K. Selenium and selenoproteins in health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2010, 12(7):793-795.
- [5] Dikiy A, Novoselov S V, Fomenko D E, *et al.* *SelT*, *SelW*, *SelH*, and *Rdx12*: genomics and molecular insights into the functions of selenoproteins of a novel thioredoxin-like family. *Biochemistry*, 2007, 46(23):6871-6882.
- [6] Grumolato L, Ghzili H, Montero-Hadjadje M, *et al.* *Selenoprotein T* is a PA-CAP-regulated gene involved in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization and neuroendocrine secretion. *FASEB Journal*, 2008, 22(6):1756-1768.
- [7] Ikematsu K, Tsuda R, Tsuruya S, *et al.* Identification of novel genes expressed in hypoxic brain condition by fluorescence differential display. *Forensic Science International*, 2007, 169(2/3):168-172.
- [8] Sengupta A, Carlson B A, Labunsky V M, *et al.*

- Selenoprotein T* deficiency alters cell adhesion and elevates *selenoprotein W* expression in murine fibroblast cells. *Biochemistry and Cell Biology*, 2009, 87(6):953-961.
- [9] Pfaffl M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(9):e45.
- [10] 李金龙. 硒蛋白 W 克隆表达及硒对其在鸡神经内分泌组织中转录的调控. 广州:华南农业大学, 2010.
- Li J L. Identification and clone of chicken *selenoprotein W* and the regulation of its transcription in the chicken nervous and endocrine tissues by selenium. Guangzhou: South China Agricultural University, 2010. (in Chinese with English abstract)
- [11] Kryukov G V, Kryukov V M, Gladyshev V N. New mammalian selenocysteine-containing proteins identified with an algorithm that searches for selenocysteine insertion sequence elements. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(48):33888-33897.
- [12] Berry M J, Banu L, Chen Y Y, *et al.* Recognition of UGA as a selenocysteine codon in type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. *Nature*, 1991, 353(6341):273-276.
- [13] Kryukov G V, Castellano S, Novoselov S V, *et al.* Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 2003, 300(5624):1439-1443.
- [14] Mohamed M E, Antar H A. A bioinformatics approach to characterize mammalian *selenoprotein T*. *Biochemical Genetics*, 2012, 50(9/10):736-747.
- [15] Lobanov A V, Hatfield D L, Gladyshev V N. Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, 1790(11):1424-1428.
- [16] Tanguy Y, Falluel-Morel A, Arthaud S, *et al.* The PACAP-regulated gene *selenoprotein T* is highly induced in nervous, endocrine, and metabolic tissues during ontogenetic and regenerative processes. *Endocrinology*, 2011, 152(11):4322-4335.
- [17] 杨海灵, 聂力嘉, 朱圣庚, 等. 谷胱甘肽硫转移酶结构与功能研究进展. 成都大学学报:自然科学版, 2006, 25(1):19-24.
- Yang H L, Nie L J, Zhu S G, *et al.* Structure and catalytic mechanism of the glutathione transferases. *Journal of Chengdu University: Natural Science*, 2006, 25(1):19-24. (in Chinese with English abstract)
- [18] Hoffmann P R, Höge S C, Li P A, *et al.* The selenoproteome exhibits widely varying, tissue-specific dependence on *selenoprotein P* for selenium supply. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(12):3963-3973.