

基于果蝇模式生物差异基因表达的刺玫果抗衰老作用机理研究

翟春梅, 怀雪, 孟祥瑛, 付敬菊, 秦蓁, 孟永海*

黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040

摘要:本研究以果蝇为模式生物,以果蝇行为学、基因测序技术为研究方法,考察刺玫果抗衰老活性以及引起的衰老相关基因表达的变化,阐明刺玫果抗衰老的作用机制。研究发现:给与刺玫果醇提物喂养的果蝇与空白对照组果蝇相比,共发现 128 个差异基因,其中包括 53 个上调,75 个下调。刺玫果可上调 HSP、HSP70、HSP73 等长寿基因和 IMP2 基因来提高了果蝇应激能力,可下调 ACTB-G1、Actin、HIPPO 等基因调控果蝇吞噬体内吞噬作用、光传导和 HIPPO 等信号通路,提供了正常喂养和刺玫果醇提物喂养的果蝇生长过程中的基因表达谱和差异表达信息。本研究揭示了刺玫果在抑制果蝇衰老过程中差异关键基因表达特征,为刺玫果等野生果类资源的再利用和深度产业化开发提供实验依据。

关键词:刺玫果;果蝇;转录组学;差异基因;机理

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)11-1896-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.11.013

Study on anti-aging mechanism of *Rosa davurica* Pall. based on differential gene expression in *Drosophila* model

ZHAI Chun-mei, HUAI Xue, MENG Xiang-ying, FU Jing-ju, QIN Zhen, MENG Yong-hai*

Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: In this study, to elucidate the anti-aging mechanism caused by *Rosa davurica* Pall., the examination of ethology and gene sequencing technology were used as research methods to investigate the anti-aging activity and the changes of anti-aging related genes by *Drosophila* as a model. The results found that a total of 128 differential genes were found in *Drosophila melanogaster* compared with blank group, including 53 up-regulated and 75 down-regulated. Ethanol extract of *Rosa davurica* can up-regulate longevity genes such as HSP, HSP70, HSP73 and IMP2 genes to improve the stress ability of *Drosophila*, and can down-regulate genes such as ACTB-G1, Actin, HIPPO and so on to regulate phagocytosis, light transmission and HIPPO signals. These pathways provide the gene expression profile and differential expression information during the growth of *Drosophila* affected by *Rosa davurica*. And it reveals the key gene expression characteristics during the inhibition of *Drosophila melanogaster* aging. This study can provide experimental basis for the reuse and deep industrialization development of *Rosa davurica* resources.

Key words: *Rosa davurica* pall.; *Drosophila*; transcriptome; differential gene; mechanism

刺玫果(*Rosa davurica* Pall.)野生资源丰富,主要分布于我国东北、华北地区,且营养丰富,民间大量采食或用于泡茶、泡酒等。刺玫果具有提高免疫力、改善人体疲劳等保健功能,是一种多营养、多功能、多用途的药食同源宝贵资源^[14],黑龙江省具有得天独厚的资源优势。课题组前期研究表明:刺玫

果醇提物可显著果蝇延长寿命。本研究进一步采用 RNA-Seq 技术从基因整体表达水平探求刺玫果醇提物是如何在果蝇体内引起一系列生物学变化从而达到延长果蝇寿命的作用机理,并从整体水平分析给予刺玫果醇提物后果蝇基因及蛋白表达与功能的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

Gene Expression Wash Pack (Agilent); RNeasy Mini Kit (Qiagen); RNA 提取试剂盒(赛默飞 Applied

收稿日期:2019-12-09 接受日期:2020-10-23

基金项目:哈尔滨市科技创新人才研究专项(2017RAQXJ125);黑龙江中医药大学骨干教师支持计划(yjscx2017060);黑龙江省博士后科研启动金资助项目(LBH-Q15137)

*通信作者 Tel:86-018846183892; E-mail:myhdx163@163.com

Biosystem);涡旋仪(上海达姆,型号:VORTEX4);磁力搅拌器(塞力斯,型号:TALBOYS);恒温金属浴(威泰克,型号:Block Heater HB-2);离心浓缩仪(德国 Eppendorf,型号:5301);电热恒温培养箱(上海精宏,型号:DNP-9022);-80 °C 冰箱(美国 Thermo,型号:902-ULTS);冷藏冰箱(美国 Thermo,型号:THM#REL5004V);超纯水系统(美国 Millipore 公司 Milli-Q plus)。刺玫果原料采于黑龙江省加格达奇大兴安岭地区,刺玫果醇提物实验室自制,制备方法见前期研究基础。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及处理

将羽化 12 h 内的新生果蝇雌雄分开,雌性果蝇随机保留 30 只,空白组与给药组各 15 只,空白组用普通培养基饲养,给药组在培养基中添加 0.46% 的刺玫果醇提物喂养,第三十天时,将雌果蝇饥饿 2 h 后移入液氮中 2 h,放置-80 °C 冰箱保存,每组做三个样品为平行试验。

1.2.2 文库质量检测与测序

为了保证数据结果的可靠性,应当确保文库的质量,经过检测的样本经 Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量,当文库的有效浓度可大于 2 nM 时,完成文库质量检测要求,才可通过 IlluminaHiSeq 软件进行上机测序。

1.2.3 原始数据的处理方法

1.2.3.1 原始数据质量控制要求

在数据分析之前,要保证 Reads 的质量足够高,这样才能使后续分析结果更精准。首先将含有接头的 Reads 去除干净,其次去除质量值 $Q \leq 10$ 的碱基数占整条 Read 的 50% 以上的 Reads 和 N 的比例大于 10% 的低质量的 Reads。经上述过程,得到高质量的 Clean Data。

1.2.3.2 将参考基因组序列与转录组数据对比

通过 TopHat2 软件将参考基因组与 Clean Reads 进行序列对比,以获取在基因上或者参考基因组的位置信息,再对比测序样品中序列特有信息,使 Reads 尽可能全面的比对到参考基因上,这样可使数据的利用率大大提高。

1.2.4 SNP/InDel 位点统计及预测

变异位点主要在基因组的基因间区、基因区和 CDS 区,可通过变异位在参考基因组上的位置或

者参考基因组上的基因位置信息来确定变异位点以及变异产生的同义或非同义影响。使用 TopHat2 软件统计与预测 SNP 位点,SAM-tools 软件查找 SNP 在基因区的潜在位点。结果对比分析,样品的可变剪切类型和表达量通过 ASprofile^[6] 软件获得。

1.2.5 基因结构优化分析与新基因注释

两个生物学条件之间的差异表达基因集是通过 DEseq 分析样本组间的差异表达得到的。其差异基因筛选标准同时满足 $\text{fold change} \geq 2$ 且 $\text{FDR} < 0.05$ 。使用 Cufflinks 软件对新基因进行注释发掘。将发掘的新基因与 Swiss-Prot、NR、COG、GO、KEGG、Pfam 数据库比对基因序列,用 HMMER 软件对比预测的氨基酸序列,得到新基因的注释信息。

1.2.6 差异表达基因功能注释和富集分析(Gene Ontology, GO)

将刺玫果给药组与空白组果蝇差异基因导入 DAVID 在线分析平台进行基因功能注释和富集分析。应用基因注释功能数据库,鉴别差异表达基因发生的生物学过程,对差异基因分别从细胞成分(CC)、分子功能(MF)、生物学过程(BP)三方面进行基因注释和 GO 功能聚类分析,采用 Fisher 检验的计算方法,计算每个 GO 显著性水平,并找出筛选的差异基因显著性 GO 与哪些生物学功能显著相关。

1.2.7 基于 KEGG 的信号通路富集分析(Pathway Analysis)

KEGG 是一个整合了系统功能信息、基因组和生物化学的数据库。它具有强大的功能,可把检测到的差异基因与更高级别的生物系统的功能水平关联起来。KEGG 数据库对差异基因进行筛选,并对差异基因进行 Pathway 注释,得到其全部参与的 Pathway,在鉴别差异基因参与的生化代谢途径和信号转导途径来解释说明差异基因对机体的影响。采用 Fisher 检验的计算方法,计算每个 Pathway 显著性水平,并找出筛选的差异基因显著性与哪些富集的 Pathway 显著相关。对差异表达基因 KEGG 的注释结果按照 KEGG 中通路类型进行分析,对代谢相关上调基因进行 KEGG 通路注释并筛选其所涉及的代谢过程及信号转导过程。

1.2.8 数据处理

采用 TopHat2、Cufflinks、ASprofile 等软件对

RNA-Seq 的剪切^[5],BLAST 软件是基本局部匹配查询工具,用来快速比较序列的生物学信息,DESeq 对 RNA 差异表达进行分析、EBSeg 对基于贝叶斯方法的 RNA 差异表达分析,topGO 软件对基因进行基因本体富集分析,采用 NR、Swiss-Prot 等数据库对非冗余蛋白质序列进行分析,采用 GO、COG、KOG、Pfam 等数据库对基因本体、同源蛋白质簇、蛋白质同源性聚类分析,采用 KEGG、STRING、Ensembl 对差异基因的功能及相互作用进行分析。

2 结果与分析

2.1 质量检测结果

空白和给药样品的 Clean Reads 中分别有 24 872 937 和 24 875 689 个,各样本 Q30 均大于 95.51%,GC 大于 54.17%。在测序数据统计中显示各样品 Q30 碱基百分比均大于 95.15%,符合样本要求。

2.2 SNP/InDel 位点统计及预测

表 1 统计各类型 SNP 位点所占的比例,SNP 注释结果统计图与 InDel 的注释结果统计图见图 1 与图 2。

表 1 各类型 SNP 位点统计

Table 1 Statistics of various types of SNPs

编号 ID	SNP 位点总数 Total SNP	基因区 SNP Genic SNP	基因间区 SNP Intergenic SNP	转换型 Transition (%)	颠换型 Transversion (%)	杂合型 Heterozygosity (%)
K1	110 049	107 602	2 447	66.22	37.78	59.02
K2	145 585	141 548	4 037	62.19	37.81	75.01
K3	127 267	124 787	2 480	62.61	37.39	75.92
R1	157 817	153 913	3 904	62.37	37.63	81.09
R2	149 905	146 923	2 982	62.63	37.37	81.50
R3	108 308	101 565	6 743	59.62	40.38	10.55

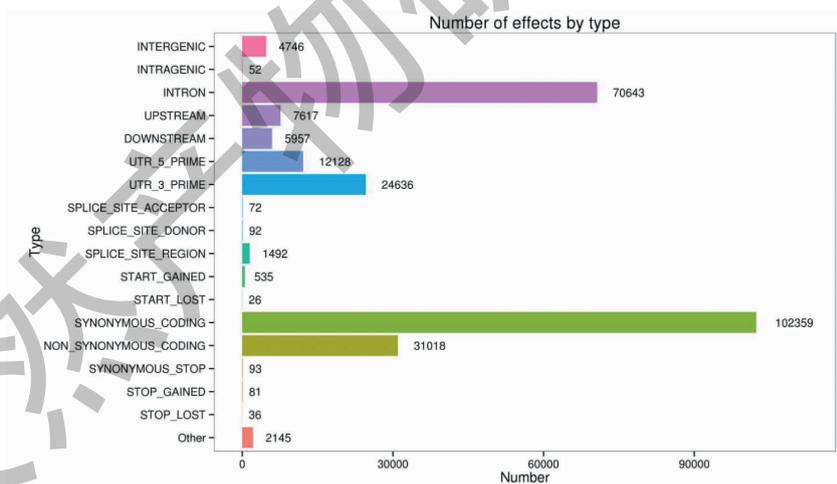


图 1 SNP 注释结果统计图

Fig. 1 Statistical chart of SNP annotation results

本实验研究对 6 个果蝇样品转录测序分析共得到可靠的 SNP 位点总数 798 931 个,其中 776 338 个 SNP 位点位于基因区。占总数的 97.17%。6 个样品中颠换型的 SNP 位点数约占总 SNP 位点数的 37%,转换型的 SNP 位点数量约占 62%,SNP 位点中杂合型 SNP 占 60% 以上。

2.3 基因结构优化分析与新基因注释结果

使用 Cufflinks 软件共注释发掘 614 个新基因。将发掘的新基因与 Swiss-Prot、NR、COG、GO、KEGG、Pfam 数据库比对基因序列,用 HMMER 软件对比预测的氨基酸序列,得到新基因的注释信息。统计如表 2。

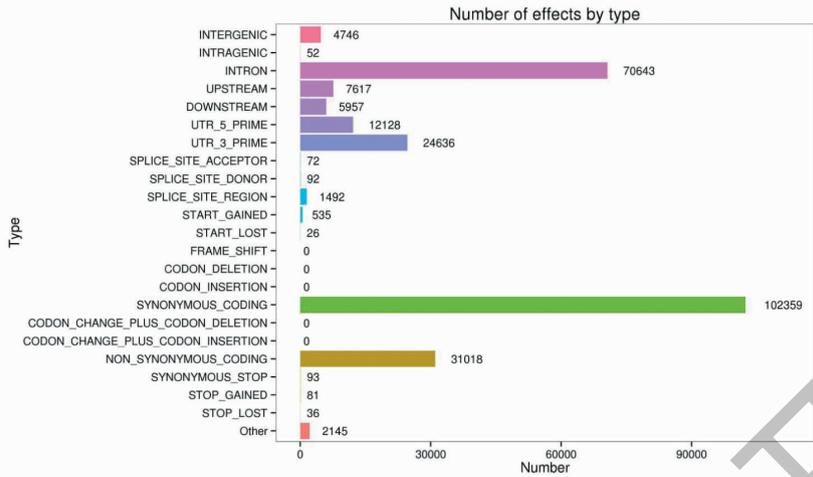


图2 InDel 的注释结果统计图

Fig. 2 InDel annotated result statistical map

表2 果蝇的新基因功能注释结果统计

Table 2 Statistics of annotated results of new gene functions in *Drosophila*

注释基因数据库 Annotated database	新基因数量 Number of new gene
COG	9
GO	97
KEGG	32
KOG	86
Pfam	89
Swiss-Prot	98
eggNOG	140
nr	368
All	371

2.4 差异基因统计结果

经 DEseq 及 Gene Ontology 分析结果发现刺玫果给药组与空白组相比差异基因为 128 个,显著下调的基因有 75 个,其基因分别为: CG8736 (FBgn0033308)、CG5172 (FBgn0030830)、RH61745 (FBgn0030829)、Acp1 (FBgn0014454)、Cpr97 Ea (FBgn0039480)、Flp2 (FBgn0000640)、stnA (FBgn0016976)、Flp1 P1 (FBgn0000639)、Cpr92F (FBgn0038819)等。显著上调基因有 53 个,其中新基因有 4 个,其余基因有 Hsp (FBgn0001230)、PH4alphaNE3 (FBgn0051017)、CG32199 (FBgn0052199)、anon-EST (FBgn0035257)、CG12783

(FBgn0038448)、CG14240 (FBgn0039435)、gsb-RA (FBgn0001148)、Sfp70A4 (FBgn0259970)、Acp54A1 (FBgn0083936)、CG6628 (FBgn0036072)、Acp BEST (FBgn0043825)等。

2.5 差异表达基因功能注释和富集分析结果

差异基因的 GO 富集分析见图 3。差异基因的 GO 富集共有 60 条注释信息。差异表达基因 GO 注释分类结果表明:在生物学过程中,细胞过程、生物学过程、生物学规律、进化过程、应激反应、细胞成分组织或生物合成、生物粘附、节律过程有明显差异;在细胞组分中,细胞代谢、组织、膜高分子组成、细胞间隙、膜封闭有明显差异;在分子功能中,结合活性、催化活性、受体活性、蛋白结合转录因子活性、结构分子活性、蛋白结合转录因子活性有明显差别。

2.6 差异基因 KEGG 注释和富集通路分析结果

结果表明,由 29 个基因注册到 19 条通路包括花生四烯酸代谢 (ko00590)、光传导-飞行通路 (ko04745)、磷酸盐与磷酸酯代谢 (ko00440)、精氨酸与脯氨酸代谢 (ko00330)、长寿调节途径-多物种 (ko04213)、甘油磷脂代谢 (ko00564)、剪接体 (ko03040)、蛋白表达通路 (ko03060)、醚脂代谢 (ko00565)、内吞作用 (ko04144)、内质网中的蛋白质加工 (ko04141)、氨基糖与核苷酸糖代谢 (ko00520)、谷胱甘肽代谢 (ko00480)、药物代谢-细胞色素 P450 (ko00982)、细胞色素 P450 (ko00980)、氧化磷酸化代谢通路 (ko00190)等(见表 3)。

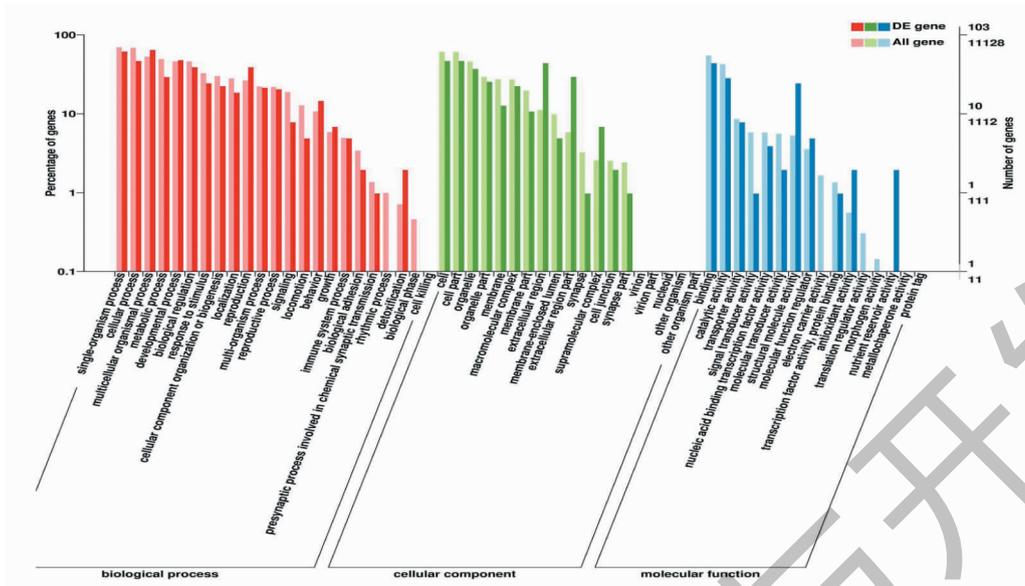


图 3 差异基因的 GO 富集分析

Fig. 3 Gene Ontology enrichment analysis of differentially expressed genes

表 3 差异表达基因的 KEGG 富集分析

Table 3 KEGG enrichment of differentially expressed genes

Pathway	KO	Enrichment	Q-value	Gene
Arachidonic acid metabolism	ko00590	36.055 556	0.023 947 23	2
Phototransduction - fly	ko04745	16.024 691	0.122 536 42	2
Phosphonate and phosphinatemetabolism	ko00440	72.111 111	0.262 366 84	1
Arginine and proline metabolism	ko00330	9.405 797	0.344 107 12	2
Longevity regulating pathway	ko04213	8.653 333	0.403 113 95	2
Glycerophospholipid metabolism	ko00564	8.320 513	0.434 115 05	2
Hippo signaling pathway	ko04391	7.866 667	0.482 439 21	2
Phagosome	ko04145	5.926 941	0.815 235 27	2
alpha-Linolenic acid metabolism	ko00592	21.633 333	0.861 692 24	1
Spliceosome	ko03040	4.200 647	1.000 000 00	2
Protein export	ko03060	11.385 965	1.000 000 00	1
Ether lipid metabolism	ko00565	11.385 965	1.000 000 00	1
Endocytosis	ko04144	3.969 419	1.000 000 00	2
Protein processing in endoplasmic reticulum	ko04141	3.729 885	1.000 000 00	2
Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	ko00520	5.031 008	1.000 000 00	1
Glutathione metabolism	ko00480	3.605 556	1.000 000 00	1
Drug metabolism - cytochrome P450	ko00982	3.605 556	1.000 000 00	1
Cytochrome P450	ko00980	3.605 556	1.000 000 00	1
Oxidative phosphorylation	ko00190	1.730 667	1.000 000 00	1

2.7 刺玫果对果蝇差异基因及通路网络生物学意义分析

根据“2.6”项下结果,选取了几条对于机体抗

氧化、新陈代谢、长寿调节方面的通路进行详细说明,如图 1 所示。

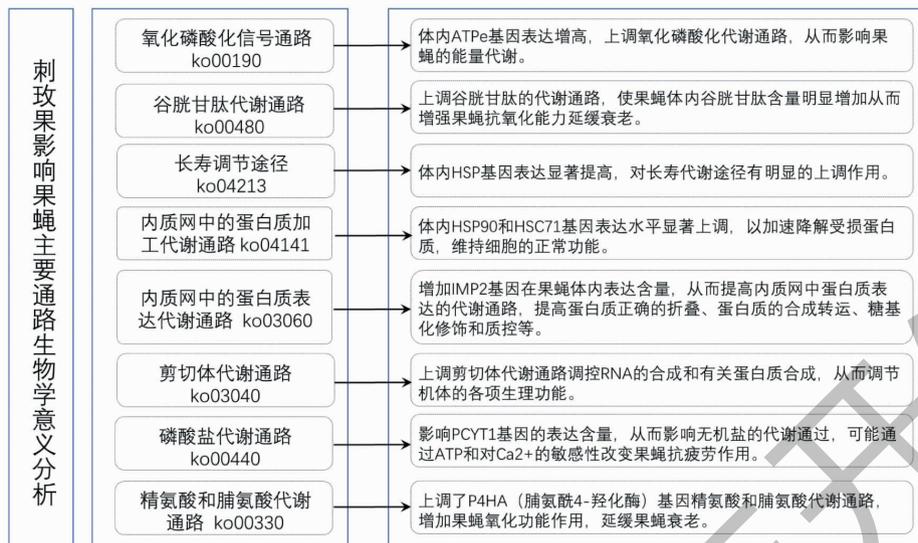


图1 刺玫果影响果蝇主要通路及生物学意义总结图

Fig. 1 Summary of main pathways and biological significance of *Drosophila* affected by *Rosa davurica* Pall.

2.7.1 刺玫果对氧化磷酸化信号通路的影响

氧化磷酸化在机体各组织能量代谢中的地位十分重要。氧化磷酸化是生物化学过程^[7],发生在原核生物的细胞质中,或发生在真核细胞的线粒体内膜上的偶联反应^[8],其作用是氧化糖、氨基酸、脂等有机物在分解释放能量,供给ADP与无机磷酸合成ATP的过程。磷酸化(phosphorylation)是指在生物氧化中生成ATP的作用。机体生成ATP有两种方式,一种是氧化磷酸化,通过呼吸链电子传递,偶联生成ATP。生物体ATP绝大多数来源这种形式。另一种是底物水平磷酸化,代谢物脱氢后,使分子内能量重新分布,无机磷酸酯化形成中间代谢,使ADP变成ATP的过程。刺玫果可影响ATPe基因的表达,调节ADP的电子传递、H⁺传递及氧的利用,从而产生H₂O和ATP,全身功能。通过测序结果我们发现,与空白组相比,给与刺玫果喂养的果蝇体内ATPe(F型H⁺转运ATP酶C亚单位)基因表达增高,上调氧化磷酸化代谢通路,从而影响果蝇的能量代谢。

2.7.2 刺玫果对谷胱甘肽代谢通路的影响

谷胱甘肽不仅能消除人体自由基^[9],还可以提高人体免疫力,维护健康,抗衰老,在老人迟缓化的细胞上所发挥的功效比年轻人。谷胱甘肽不仅可使血红蛋白不受自由基氧化从而维持氧气的运输,而且还可以保护红细胞膜上蛋白质的巯基处于还原状态,有效的防止溶血。给与刺玫果喂养的果蝇,体

内谷胱甘肽含量明显增加,提示其抗自由基活性增强,从而具有延缓衰老的作用。转录组测序结果表明,刺玫果影响果蝇体内GstS1(谷胱甘肽转移酶)基因,上调谷胱甘肽的代谢通路,使果蝇体内谷胱甘肽含量明显增加从而增强果蝇抗氧化能力延缓衰老。

2.7.3 刺玫果对长寿调节途径的影响

HSP是一种被热激或其他胁迫条件所诱导的分子伴侣,具有参与细胞运输、蛋白降解,亚基组成和蛋白折叠的功能调节蛋白的功能和活性^[10]。当机体受到外界刺激时,HSP可加速异常蛋白质的降解,抵抗细胞损伤以维持细胞的正常代谢。同时,HSP还可以与蛋白酶等构成细胞抗氧化防御体系,防止氧化自由基所致的蛋白损伤,起到抗衰老的作用^[11]。前期实验研究表明,给与刺玫果醇提物喂养的果蝇寿命得到了显著的延长,RNA-Seq结果显示与空白对照组相比,给药组果蝇体内HSP基因表达显著提高,对长寿调节途径有明显的上调作用,这无疑提高了果蝇应激能力和果蝇体内蛋白质空间构像,使果蝇体内蛋白质聚集折叠几率降低,促进跨膜运输,增加果蝇免疫能力和耐热性,保护细胞活动和细胞生存等方面延长果蝇寿命。

2.7.4 刺玫果对内质网中的蛋白质加工代谢通路的影响

研究表明,当果蝇给予一定剂量的刺玫果醇提物喂养后,与空白对照组相比老年果蝇体内HSP90

和 HSC71 基因表达水平显著上调,以加速降解受损蛋白质,维持细胞的正常功能。蛋白质二硫键异构酶 3 (PDIA3) 具有催化蛋白质二硫键形成、氧化还原及异构化的作用,是内质网中 PDI 家族的一员。Chichiarelli 等^[12] 已经发现 PDIA3 可通过结合特殊的 DNA 修复蛋白来参与应激反应,CCT3 属于 TCP1 的 Y 亚单位,是 HSP60 家族蛋白的分子伴侣复合体,与 ATP 依赖的方式和细胞骨架蛋白组装,对肌动蛋白等重要的蛋白质的折叠起着重要的作用。衰老会加速蛋白错误折叠及变性,对结构蛋白产生不可逆的不利影响,刺玫果醇提取物可通过上调 HSP 家族基因的表达,上调蛋白质加工通路来修复衰老引起的蛋白质受损。

2.7.5 刺玫果对在内质网中的蛋白质表达代谢通路的影响

IMP2 基因在脑、骨髓、肠、肌肉、胰腺、肾脏、肿瘤等人组织中广泛表达,IMP2 基因不仅与糖尿病和调节平滑肌细胞的粘附和运动相关,还在成肌细胞和骨骼肌细胞增殖过程中显示重要的作用,这个作用受到 HMGA2 基因的调节^[13-15]。刺玫果可增加 IMP2 基因在果蝇体内表达含量,从而提高内质网中蛋白质表达的代谢通路,提高蛋白质正确的折叠、蛋白质的合成转运、糖基化修饰和质控等。

2.7.6 刺玫果对剪切体代谢通路的影响

剪切体是在剪接过程的各个阶段随着 snRNA 的加入而形成的。也就是说在完整的 pre-mRNA 上形成的一个剪接中间体^[16]。剪接体本身需要一些不会翻译出任何蛋白的小核 RNA 的参与,这些小核 RNA 对调控遗传活动起着重要的作用。刺玫果醇提取物通过上调剪切体代谢通路调控 RNA 的合成和有关蛋白质合成,从而调节机体的各项生理功能。

2.7.7 刺玫果对磷酸盐代谢通路的影响

无机磷酸盐^[17] 可作为有氧代谢和糖酵解的激活剂。近年来运动时高能磷酸盐的代谢与运动性疲劳的产生有了较深刻的认识,磷酸盐代谢与肌肉收缩力和运动能力有密切关系。当人体进行大量的运动过后,体内肌细胞中的磷浓度比正常状态下高 3 倍以上,最高则高达 10 倍。这促使 Ca^{2+} 进入线粒体内,不但影响肌细胞中各亚细胞结构对 Ca^{2+} 的敏感性,而且还影响氧化磷酸盐产生 ATP 的效果,使肌肉能力降低。果蝇攀爬强度的爬运动可影响 PCYT1 (胆碱磷酸胞苷酰转移酶) 基因的表达含量,从而影响无机盐的代谢通过,可能通过 ATP 和对

Ca^{2+} 的敏感性改变果蝇抗疲劳作用,从而对果蝇攀爬能力产生影响。

2.7.8 刺玫果对精氨酸和脯氨酸代谢通路的影响

精氨酸在动物体内可以通过精氨酸酶分解成鸟苷酸和尿素。而合成胺类的前体就是鸟苷酸,它们促进细胞增殖,调节细胞生长,在细胞体内起着重要的作用。精氨酸^[18] 在相关酶作用可转化成谷氨酰胺、脯氨酸、腐胺,腐胺可以生成精胺和亚精胺,统称为多胺。谷氨酰胺可在三羧酸循环过程中氧化供能产生 CO_2 。精氨酸还可经一氧化氮合成酶的氧化途径,生成具有一定生物活性的一氧化氮,精氨酸还通过氧化途径,经一氧化氮合成酶 (NOS) 催化生成具有维持血管张力的恒定与调节血压稳定等重要生物活性的一氧化氮 (NO)。NO 作为内皮舒张因子可维持血管的通透性,改善肠道的缺氧和缺血功能。NO 也能在神经细胞系统间发挥作用,促进学习和记忆功能。研究表明,刺玫果醇提取物给药后,上调了 P4HA (脯氨酰 4-羟化酶) 基因精氨酸和脯氨酸代谢通路,增加果蝇氧化功能作用,延缓果蝇衰老。

3 讨论

给与刺玫果醇提取物喂养的果蝇与空白对照组果蝇相比,共发现 128 个差异基因,其中包括 53 个上调,75 个下调。其中 103 个差异基因的来源基因可注释到包括细胞进程、分子功能进程及生物进程在内的 60 个 GO 条目,上述来源基因还可注释到 19 条 KEGG 代谢通路,由 29 个基因注册到 19 条通路包括花生四烯酸代谢 (ko00590)、光传导-飞行通路 (ko04745)、磷酸盐与磷酸酯代谢 (ko00440)、精氨酸与脯氨酸代谢 (ko00330)、长寿调节途径-多物种 (ko04213)、甘油磷脂代谢 (ko00564)、海马信号通路 (ko04391)、吞噬体 (ko04145)、 α -亚麻酸代谢 (ko00592)、剪接体 (ko03040)、蛋白表达通路 (ko03060)、醚脂代谢 (ko00565)、内吞作用 (ko04144)、内质网中的蛋白质加工 (ko04141)、氨基糖与核苷酸糖代谢 (ko00520)、谷胱甘肽代谢 (ko00480)、药物代谢-细胞色素 P450 (ko00982)、细胞色素 P450 (ko00980)、氧化磷酸化代谢通路 (ko00190) 等。在果蝇行为学实验中,果蝇抗氧化能力增加且体内抗氧化指标谷胱甘肽、SOD 等氧化指标发生变化。通过果蝇 RNA-Seq 测序结果表明,刺玫果醇提取物可调控 ATPe、P450、HPGDS、P4HA 基因影响果蝇抗氧化能力。推测果蝇抗氧化应激能力提高,体内抗氧化指标谷胱甘肽等指标发生改变与

这些基因表达调控有关。

在果蝇行为学实验中其攀爬能力、果蝇体内肝、肌糖原、LDA 等能量代谢指标发生变化,基因测序结果表明刺玫果醇提取物可影响 ATPe、CHS1、PLA2G、PCYT1、P4HA、PTGS、HPGDS 基因的表达调节果蝇体内氨基酸糖、花生四烯酸、脂类和磷酸盐等能量代谢通路,推测果蝇体内肝、肌糖原、LDA 等能量代谢指标发生变化与这些基因的表达调控有关。

研究发现,刺玫果醇提取物使果蝇寿命延长还体现在可上调 HSP、HSP70、HSP73 等长寿基因和 IMP2 基因来提高了果蝇应激能力,调节蛋白质加工通路来修复衰老引起的蛋白质受损,调节细胞的生理功能维持细胞的生存能力,降低蛋白在表达过程中的出现异样的伸展、折叠和解聚等情况来延缓果蝇寿命。除此之外,刺玫果醇提取物提取物还可下调 ACTB-G1、Actin、HIPPO 等基因调控果蝇吞噬体内吞作用、光传导和 HIPPO 等信号通路,这些通路是如何作用在果蝇体内和果蝇的表现形式等一系列问题,有待更深入的研究。通过对正常喂养和刺玫果醇提取物喂养的 30 日龄果蝇的基因序列进行深入分析,提供了基因在正常喂养和刺玫果喂养的果蝇生长过程中的表达谱和差异表达信息。本研究结果为进一步阐明刺玫果抗衰老作用机制和综合开发利用野生刺玫果提供了一定的实验基础。

参考文献

- 1 Song JH, Lee SR. Anti-oxidant and inhibitory activity on NO production of extract and its fractions from *Rosa davurica* Pall. leaves [J]. Korean J Med Crop Sci, 2015, 23 (1): 20-26.
- 2 Zhang G, Zhou SM, Zheng SJ, et al. Astragalus on the anti-fatigue effect in hypoxic mice [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8:14030-14035.
- 3 Sa JH, Lee W, Shin IC, et al. Antioxidant effect of *Rosa davurica* Pall. extract on oxidation of human low density lipoprotein (LDL) [J]. Korean J Food Sci Technol, 2004, 36: 311-316.
- 4 Jiao SP, Chen B, Du PG, et al. Anti-lipid peroxidation effect of *Rosa davurica* Pall. fruit [J]. J Chin Integr Med, 2004, 2: 364-365.
- 5 Trapnell C, Williams BA, Pertea G, et al. Transcript assembly by quantification by RNA Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation [J]. Nat Biotechnol, 2010, 28: 511-515.
- 6 Simpson CG, Fuller J, Rapazote-Florrs P, et al. High-resolution RT-PCR analysis of alternative barley transcripts [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1900: 269-281.
- 7 Ferguson SJ. Paracoccus denitrificans oxidative phosphorylation: retentions, gains, losses, and lessons en route to mitochondria [J]. IUBMB life, 2018, 70: 1214-1221.
- 8 Kato J, Bu X, Moss J. Estrogen promotes tumorigenesis by ADP-ribosyl-acceptor hydrolase 1 (ARH1)-deficient cells and mice [J]. Cancer Res, 2014, 74: 2445-2445.
- 9 Yuan L, Liu J, Dong L, et al. Effects of APOE rs429358, rs7412 and GSTM1/GSTT1 Polymorphism on plasma and erythrocyte antioxidant parameters and cognition in old Chinese adults [J]. Nutrients, 2015, 7: 8261-8273.
- 10 Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein [J]. Science, 2002, 295: 1852-1858.
- 11 Walter S, Buchner J. Molecular chaperones-cellular machines for protein folding [J]. Angew Chem Int Edit, 2002, 41: 1098-1113.
- 12 Chichiarelli S, Ferraro A, Altieri F, et al. The stress protein ERp57/GRP58 binds specific DNA sequences in HeLa cells [J]. J Cell Physiol, 2007, 210: 343-351.
- 13 Li ZZ, Gilbert JA, Zhang YY, et al. An HMGA2-IGF2BP2 axis regulates myoblast proliferation and myogenesis [J]. Dev Cell, 2012, 23: 1176-1188.
- 14 Fujii Y, Kishi Y, Gotoh Y. IMP2 regulates differentiation potentials of mouse neocortical neural precursor cells [J]. Genes Cells, 2013, 18(2): 79-89.
- 15 Boudoukha S, Cuvellier S, Poleskaya A. Role of the RNA-binding protein IMP-2 in muscle cell motility [J]. Mol Cell Biol, 2010, 30: 5710-5725.
- 16 Xu JJ, Smeets MF, Tan SY, et al. Modeling human RNA spliceosome mutations in the mouse; not all mice were created equal [J]. Exp Hematol, 2019, 70: 10-23.
- 17 Giachelli CM, Jono S, Shioi A, et al. Vascular calcification and inorganic phosphate [J]. Am J Kidney Dis, 2001, 38: 534-537.
- 18 Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism [J]. Nature, 2005, 5: 641-654.