

文章编号:1674-7054(2014)02-0120-07

中缅树鼩 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因部分 序列进化亲缘关系比较

朱万龙 张 浩 王政昆

(云南师范大学 生命科学学院 云南 昆明 650000)

摘 要: 神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY)、阿片促黑色素原 (Pro-opiomelanocortin, POMC) 和可卡因-安他非明转录调节肽 (Cocaine and amphetamine regulated transcript peptide, CART) 是下丘脑调节能量稳态的重要神经肽, 在进化中非常保守, 能准确反映远缘物种间的亲缘关系。该研究通过 RT-PCR 扩增中缅树鼩 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因, 分别获得 133 bp, 276 bp 和 50 bp 的 cDNA 片段, 包含的开放阅读框 (open reading frame, ORF) 分别为 131 bp, 272 bp 和 48 bp, 各自编码 43, 90 和 16 个氨基酸。通过 BLAST 搜索, 所得中缅树鼩 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因 cDNA 序列与普通狨 (*Callithrix jacchus*)、猕猴 (*Macaca mulatta*)、苏门答腊猩猩 (*Pongo abelii*)、智人 (*Homo sapiens*)、东非狒狒 (*Papio Anubis*)、小耳大婴猴 (*Otolemur garnettii*)、白颊长臂猿 (*Nomascus leucogenys*)、灰仓鼠 (*Cricetulus griseus*) 和褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 的 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 氨基酸序列同源性很高 (同源性均为 95%)。本研究通过 ML 方法以 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 序列构建系统进化树, 发现中缅树鼩与灵长类聚为一支, 揭示了中缅树鼩与灵长类较近的亲缘关系。

关键词: 中缅树鼩; 神经肽 Y; 阿片促黑色素原; 可卡因-安他非明转录调节肽; 下丘脑

中图分类号: Q 955

文献标志码: A

下丘脑在维持能量代谢活动中发挥关键作用, 下丘脑核团之间通过神经肽形成的调控网络是能量平衡的基础, 其不同核团通过分泌神经肽以及神经元间的投射通路在机体摄食活动和能量活动中发挥调节作用^[1]。下丘脑内与机体能量平衡调节的核团和区域有弓状核 (ARC)、腹内侧核 (VMH)、背内侧核 (DMN)、室旁核 (PVN) 和下丘脑外侧区域 (LHA)。下丘脑神经元分泌的神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY) 主要存在于下丘脑 ARC, 是一类促进食欲的神经肽, 其可促使动物增加食物摄入量和抑制能量消耗^[2], 而阿片促黑色素原 (Pro-opiomelanocortin, POMC) 和可卡因-安他非明转录调节肽 (Cocaine and amphetamine regulated transcript peptide, CART) 是一类抑制食欲的神经肽, 可抑制食物摄入和刺激能量消耗^[3]。下丘脑内 *NPY*/AgRP 和 *POMC*/CART 的平衡代表了下丘脑能量调节平衡的正常状态^[4]。*NPY* 是于 1982 年首次从猪脑中提取纯化出的一种具有生物活性的内源性信息物质^[5], 是 1 个 36 个氨基酸的肽, 广泛分布于中枢和外周神经系统。*NPY* 与 AgRP 常处于 ARC 的同一神经元^[2], 多数 ARC 分泌 *NPY* 神经元的同时也表达 AgRP, 因此 *NPY* 和 AgRP 能表现出相同的变化。研究表明, 脑室内注射 *NPY*/AgRP 可增加食物摄入量, 并且 AgRP 可以选择性的增加脂类食物的摄入量^[6]。*POMC* 是一种由 267 个氨基酸组成的前体蛋白, *POMC* 系统的神经肽与 *NPY* 的作用相反, *POMC* 和 *CART* 都是分布于下丘脑的重要厌食性神经肽, 在动物的应急、摄食和能量代谢等的调节中起着重要作用, 可抑制动物的摄食行为, 降低体重^[7-8]。中缅树鼩 (*Tupaia belangeri*) 属攀鼯目 (Scandentia) 树鼯科 (Tupaiaidae), 是东洋界特有的小型哺乳动物, 从国内仅有

收稿日期: 2014-02-17

基金项目: 国家国际科技合作项目 (2014DFR31040); “十二五”国家支撑计划 (2014BAZ04815); 国家自然科学基金基金资助项目 (31360096)

作者简介: 朱万龙 (1983-) 男, 副教授, 研究方向: 动物生理生态学。

通信作者: 王政昆 教授, 研究方向: 动物生理生态学. E-mail: wzk_930@126.com

的现生中缅树鼩的分布特征来看,云贵高原及其附近的横断山地区可能构成了中缅树鼩的分布北限^[9]。由于树鼩在生理解剖、神经发育、肝炎病毒感染特性及心理应激模式等方面与灵长类高度相似,与人类也高度相似^[10],为此被广泛应用于人类医学实验研究的诸多领域。国内对中缅树鼩的相关研究主要集中于冷驯化条件下的代谢产热特征^[11-12]、蒸发失水^[13]、血清瘦素^[14]、光周期和能量代谢特征^[15]、季节性的体重和产热特征的变化^[16]以及基因组的克隆^[17]等研究,但对中缅树鼩下丘脑神经肽基因的研究报道还很少。笔者通过对中缅树鼩 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因进行部分序列扩增与分析,对其能量调节机制的揭示会有重要意义。本文报道了以中缅树鼩下丘脑为材料,运用 RT-PCR 技术从中缅树鼩下丘脑组织的总 RNA 中扩增出 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 3 个基因的表达序列 cDNA,并把该序列与其他物种进行了同源性比较,为进一步研究 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 3 个基因和中缅树鼩的能量代谢提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 中缅树鼩及其分布区概况 中缅树鼩捕自昆明禄劝县灌丛,海拔 1 879 m,北纬 25°26′~26°22′,东经 102°13′~102°57′。该地区位于滇中高原北部,气候属于北亚热带高原气候,年平均温度为 15.6℃;最热月为 7 月,平均气温 19.8℃,最冷月为 1 月,平均气温 7.8℃;气温垂直变化明显,年温差小,日温差大^[18]。

1.2 方法

1.2.1 RNA 的提取和 cDNA 的合成 中缅树鼩断颈处死后,迅速分离下丘脑组织,下丘脑总 RNA 的提取与纯化按照 RNeasy 高纯总 RNA 快速抽提试剂盒 (BioTeke Co.) 提供的方法进行。cDNA 第 1 链的合成以下丘脑总 RNA 为模板,oligo (dT)₁₈ 为反转录引物,按照 M-MLV First Strand Kit 试剂盒 (Invitrogen Co.) 提供方法进行。

1.2.2 *NPY*, *POMC*, *CART* 基因 cDNA 序列扩增 根据表 1 所列引物^[3]为模板进行 RT-PCR 扩增。扩增条件均为:95℃变性 5 min;95℃ 30 s,54~56℃ 1 min,72℃ 1.5 min,共 37 个循环;72℃ 延伸 10 min。扩增体系为 25 μL:其中含有 1 μL Template (10 ng·μL⁻¹), 2.5 μL 10×PCR Buffer, 1 μL MgCl₂ (25 mmol·L⁻¹), 2 μL dNTPs Mixture (10 mmol·L⁻¹, pH 8.0), 1 μL Primer 1 (10 pmol·μL⁻¹), 1 μL Primer 2 (10 pmol·μL⁻¹), 0.5 μL *Taq* enzyme (4 U·μL⁻¹, 购自北京博迈德生物公司), 16 μL ddH₂O。RT-PCR 产物以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测,并送至昆明硕阳科技有限公司进行正反两个方向的序列测定。

表 1 扩增中缅树鼩 *NPY*, *POMC*, *CART* 基因的引物

Tab. 1 Primers used for amplifying *NPY*, *POMC*, *CART* genes of *Tupaia belangeri*

引物 Primer	序列 Sequence
NPY01F	5'-TCGCTCTGTCCCTGCTCGTGTG-3'
NPY02R	5'-TCTCTTGCCGTATCTCTGCCTGGTG-3'
POMC01F	5'-CCTGTGAAGGTGTACCCCAATGTC-3'
POMC02R	5'-CACGTTCTTGATGATGGCGTTC-3'
CART01F	5'-AGAAGAAGTACGGCCAAGTCC-3'
CART02R	5'-CACACAGCTTCCCGATCC-3'

1.3 统计处理 对于获取的 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因 cDNA 序列,利用美国国家生物技术信息中心 (NCBI, National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 网站的 BLAST 软件进行同源性比对,采用 MEGA5 软件中的 ML 法与 GenBank 数据库中已公布的不同来源的 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因 cDNA 序列分别构建系统进化树,系统树各分支的数值由 1 000 次重复检验所得;用 ORF 软件 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/>) 推导编码蛋白的氨基酸序列。

2 结果与分析

2.1 下丘脑总 RNA 提取 根据 Bioteke 公司的 Total RNA Isolation Kit 试剂盒说明书提取中缅树鼩下丘

脑总 RNA 并以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测, 无条带弥散现象, 条带较单一, 18S 和 28S 处条带清晰(图 1)。所提 RNA 按照 M-MLV First Strand Kit 试剂盒(Invitrogen Co.) 提取, 电泳检测显示 250 ~ 2 000 bp 位置处有连续弥散状, 可作为模板用于后续试验。

2.2 序列比对及分子进化分析 采用 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因上下游引物进行 RT-PCR 扩增 *NPY*, *POMC* 和 *CART* 基因, 分别获得 133 276 50 bp 的 cDNA 片段, 包含的开放阅读框(open reading frame, ORF) 分别为 131 272 48 bp, 各自编码 43 90 和 16 个氨基酸(图 2)。

通过 BLAST 搜索, 所得中缅树鼩 *NPY* 基因 cDNA 序列与普通狨(*Callithrix jacchus* XP_002751528.1)、猕猴(*Macaca mulatta* NP_001027986.1)、苏门答腊猩猩(*Pongo abelii* XP_002818184.1)、智人(*Homo sapiens* NP_000896.1)、灰仓鼠(*Cricetulus griseus* XP_003498606.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus* NP_036746.1) *NPY* 氨基酸序列同源性很高, 均为 95% (图 3)。*POMC* 基因与东非狨(*Papio anubis* ABC54844.1)、

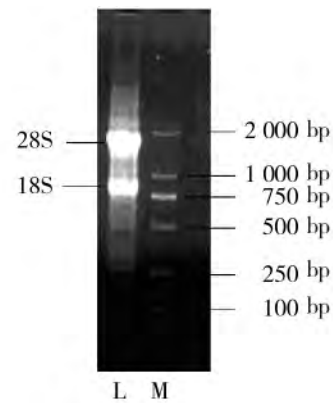


图 1 中缅树鼩总 RNA 的琼脂糖凝胶电泳图
M: 分子标记 BM2000; L: 中缅树鼩总 RNA

Fig.1 Agarose gel electrophoresis of total RNA from *Tupaia belangeri*

M: Molecular ladder BM2000; L: Total RNA of *Tupaia belangeri*

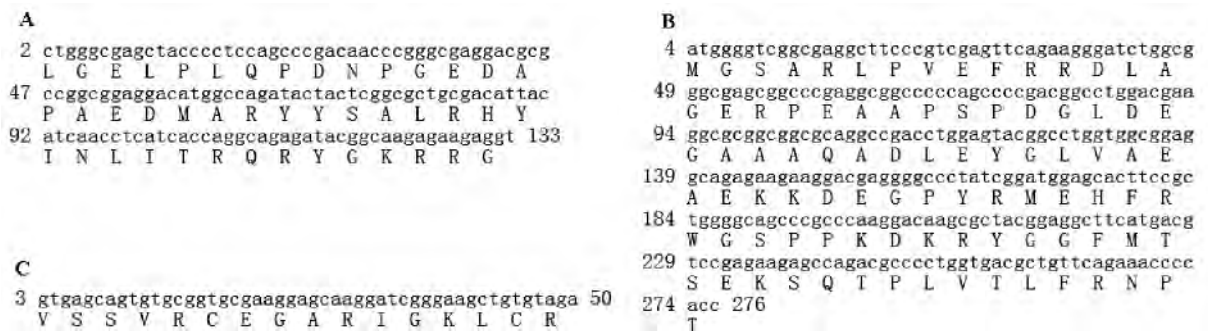


图 2 中缅树鼩 cDNA 文库中 ORF 核苷酸序列及对应氨基酸序列

A: *NPY*; B: *POMC*; C: *CART*

Fig.2 The nucleotide sequence of ORF and corresponding amino acid sequence from *Tupaia belangeri*

A: *NPY*; B: *POMC*; C: *CART*

* . * * * * * * * * * * * * * * * *	
PLQPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Tupaia belangeri</i>
PSKPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Callithrix jacchus</i>
PSKPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Macaca mulatta</i>
PSKPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Pongo abelii</i>
PSKPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Homo sapiens</i>
PSKPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Cricetulus griseus</i>
PSKPDNPGEDAPAE DMARYYSALRHYINLITRQRYGKR	<i>Rattus norvegicus</i>

图 3 中缅树鼩 *NPY* 基因氨基酸序列与普通狨(XP_002751528.1)、猕猴(NP_001027986.1)、苏门答腊猩猩(XP_002818184.1)、智人(NP_000896.1)、灰仓鼠(XP_003498606.1)和褐家鼠(NP_036746.1)的比对

* 表示相同氨基酸

Fig.3 Comparison of amino acid residues of *Tupaia belangeri* *NPY* gene with those of *Callithrix jacchus* (XP_002751528.1), *Macaca mulatta* (NP_001027986.1), *Pongo abelii* (XP_002818184.1), *Homo sapiens* (NP_000896.1), *Cricetulus griseus* (XP_003498606.1) and *Rattus norvegicus* (NP_036746.1)

* indicates the same amino acid residue

* _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ *	
PVEFRRDLAGERPEAAPSPDGLDEG-AAAQADLEY	<i>Tupaia belangeri</i>
PVEFKRELAGRWPEAALEPDSPAEG-AGALADLEN	<i>Otolemur garnettii</i>
PLEFKRELITGQRPREGDGPDPGADDGAGARADLEH	<i>Nomascus leucogenys</i>
PLEFKRELITGQRPRAAGDGPDPGADDGAGPRADLEH	<i>Macaca mulatta</i>
* _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ *	
GLVAEAEKKDEGPYRMEHFRWGSPPKDKRYGGFMT	<i>Tupaia belangeri</i>
GLELAVGKKDEGPYRMEHFRWGSPPKDKRYGGFMT	<i>Otolemur garnettii</i>
SLLVAAEKKDEGPYRMEHFRWGSPPKDKRYGGFMT	<i>Nomascus leucogenys</i>
SLLVAAEKKDEGPYRMEHFRWGSPPKDKRYGGFMT	<i>Macaca mulatta</i>
* _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ *	
SEKSQTPLVTL	<i>Tupaia belangeri</i>
SEKSQTPLVTL	<i>Otolemur garnettii</i>
SEKSQTPLVTL	<i>Nomascus leucogenys</i>
SEKSQTPLVTL	<i>Macaca mulatta</i>

图 4 中缅树鼩 *POMC* 基因氨基酸序列与小耳大婴猴 (XP_003787490.1)、白颊长臂猿 (XP_003270825.1) 和猕猴 (XP_001082745.1) 的比对

* 表示相同氨基酸

Fig. 4 Comparison of amino acid residues of *Tupaia belangeri POMC* gene with those of *Otolemur garnettii* (XP_003787490.1), *Nomascus leucogenys* (XP_003270825.1) and *Macaca mulatta* (XP_001082745.1)

* indicates the same amino acid residue

VSSVRCEGARIGKLC	<i>Tupaia belangeri</i>
QCAVR-KGARIGKLC	<i>Homo sapiens</i>
QCAVR-KGARIGKLC	<i>Macaca mulatta</i>
QCAVR-KGARIGKLC	<i>Pan troglodytes</i>
* _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ * _ *	

图 5 中缅树鼩 *CART* 基因氨基酸序列与智人 (NP_004282.1)、猕猴 (NP_001252806.1) 和黑猩猩 (XP_001155069.1) 的比对

* 表示相同氨基酸

Fig. 5 Comparison of amino acid residues of *Tupaia belangeri POMC* gene with that of *Homo sapiens* (NP_004282.1), *Macaca mulatta* (NP_001252806.1) and *Pan troglodytes* (XP_001155069.1)

* indicates the same amino acid residue

智人 (AFV77546.1)、小耳大婴猴 (*Otolemur garnettii* XP_003787490.1)、白颊长臂猿 (*Nomascus leucogenys* XP_003270825.1)、猕猴 (XP_001082745.1) *POMC* 氨基酸序列同源性分别为 97%、87%、77%、74%、74% (图 4)。*CART* 基因与智人 (NP_004282.1)、猕猴 (NP_001252806.1) 和黑猩猩 (XP_001155069.1) *CART* 氨基酸序列同源性均为 89% (图 5)。

将扩增得到的 *NPY* 序列与智人 (NM_000905.3)、人 (Human K01911.1)、猕猴 (NM_001032814.1)、短尾负鼠 (*Monodelphis domestica* XM_001369283.2)、褐家鼠 (NM_012614.1) 和小家鼠 (*Mus musculus* NM_023456.2) *NPY* 序列构建系统进化树,从图 6 可见,中缅树鼩与人、智人和猕猴处于同一分支,说明中缅树鼩的亲缘关系更接近灵长目。

将扩增得到的 *POMC* 序列与褐家鼠 (NM_139326.2)、小家鼠 (*Mus musculus* NM_008895.3)、金仓鼠

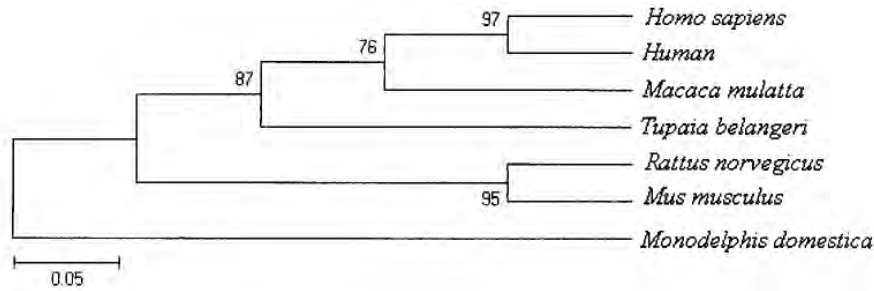


图6 NPY 系统进化树

各分支上的数字为 Bootstrap 1 000 个循环的自举检验值;图中标尺表示分支长度

Fig. 6 Phylogenetic tree of NPY gene

Data with the confident values of Bootstrap 1 000 indicate above each branch; Branch lengths (substitutions/site) are shown below branches

(*Mesocricetus auratus* AF134594.2)、小耳大婴猴(XM_003787442.1)、普通狨(XM_002757986.1)、猕猴(M19658.1)和智人(NM_001035256) *POMC* 序列构建系统进化树,由图7可见褐家鼠、小家鼠和金仓鼠聚在一起,形成啮齿目分支;中缅树鼩与智人、猕猴、小耳大婴猴和普通狨处于同一分支,说明中缅树鼩的亲缘关系更接近灵长目。

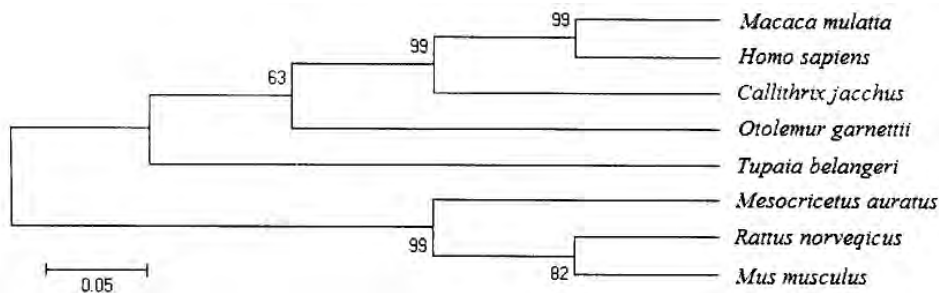


图7 POMC 系统进化树

各分支上的数字为 Bootstrap 1 000 个循环的自举检验值;图中标尺表示分支长度

Fig. 7 Phylogenetic tree of POMC gene

Data with the confident values of Bootstrap 1 000 indicate above each branch; Branch lengths (substitutions/site) are shown below branches

将扩增得到的 CART 序列与智人(NM_004291.3)、苏门答腊猩猩(XM_002815634.1)、人(U16826.1)、白颊长臂猿(XM_003266044)、普通狨(XM_002806621.2)、猕猴(NM_001265877.1)、小家鼠(NM_013732.6)和褐家鼠(NM_017110.1) *CART* 序列构建系统进化树,由图8可见,中缅树鼩与灵长目聚在一起。

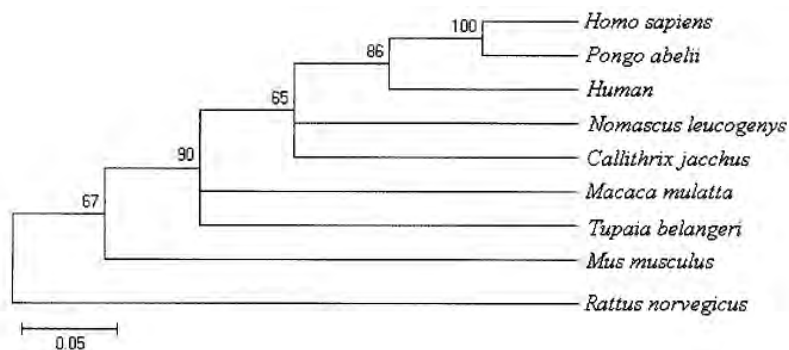


图8 CART 系统进化树

各分支上的数字为 Bootstrap 1 000 个循环的自举检验值;图中标尺表示分支长度

Fig. 8 Phylogenetic tree of CART gene

Data with the confident values of Bootstrap 1 000 indicate above each branch; Branch lengths (substitutions/site) are shown below branches

3 讨 论

在生物进化过程中,越是作用机理复杂、调控复杂、分布广泛的蛋白,其编码基因越保守,越能准确反映远缘物种间的亲缘关系远近^[19]。*NPY*、*POMC* 和 *CART* 基因在脊椎动物和无脊椎动物中分布广泛,是下丘脑调节能量稳态的重要神经元^[20]。通过不同物种间的序列比对发现,*NPY*、*POMC* 和 *CART* 序列高度保守,特别是发挥生物学活性的成熟肽序列部分。本研究从中缅树鼩脑组织 cDNA 文库中克隆得到了相似的序列,推测该序列在中缅树鼩体内发挥着和其他物种类似的生物学功能。

利用 NCBI 数据库中 Blast 进行基因同源性检索,结果发现中缅树鼩的 cDNA 与其他动物 *NPY*、*POMC*、*CART* 的 cDNA 序列具有很高的相似性,表明所扩增的序列为中缅树鼩的 *NPY*、*POMC*、*CART* 基因 cDNA 序列。通过同源性比较,发现中缅树鼩 *NPY* 与普通狨、猕猴、黑猩猩、智人、灰仓鼠和褐家鼠 *NPY* 氨基酸序列同源性很高,均为 95%,说明其核苷酸水平的突变在蛋白质水平,且多数情况下属同义突变,所编码的氨基酸种类保持不变,也表明该基因在物种间具有很高的保守性;*CART* 的氨基酸序列与智人、猕猴和黑猩猩 *CART* 的氨基酸序列同源性均为 89%;而 *POMC* 的氨基酸序列与小耳大婴猴、白颊长臂猿和猕猴 *POMC* 氨基酸序列同源性分别为 77%、74%、74%,这可能与碱基的缺失导致突变有关。从本研究选用的 *NPY*、*POMC*、*CART* 序列构建系统进化树可见,中缅树鼩与灵长类聚为一支,揭示了中缅树鼩与灵长类较近的亲缘关系。

参考文献:

- [1] DE L L, KILDUFF T S, PEYRON C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998, 95(1): 322–327.
- [2] BENOIT S C, AIR E L, COOLEN L M, et al. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2002, 22(20): 9048–9052.
- [3] TANG G B, CUI J G, WANG D H. Role of hypoleptinemia during cold adaptation in Brandt's voles (*Lasiodopomys brandtii*) [J]. *Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2009, 297(5): R1293–R1301.
- [4] BOURET S G, DRAPER S J, SIMERLY R B. Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding [J]. *Science*, 2004, 304(5667): 108–110.
- [5] TATEMOTO K. NEUROPEPTIDE Y. Complete amino acid sequence of the brain peptide [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1982, 79(18): 5485–5489.
- [6] TRACY A L, CLEGG D J, JOHNSON J D, et al. The melanocortin antagonist AgRP (83–132) increases appetitive responding for a fat, but not a carbohydrate, reinforcer [J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2008, 89(3): 263–271.
- [7] KRISTENSEN P, JUDGE M E, THIM L, et al. Hypothalamic *CART* is a new anorectic peptide regulated by leptin [J]. *Nature*, 1998, 393(6680): 72–76.
- [8] PRITCHARD L E, TURNBULL A V, WHITE A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signalling and obesity [J]. *Journal of Endocrinology*, 2002, 172(3): 411–421.
- [9] 王应祥, 李崇云, 马世来. 树鼩生物学 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1991: 21–70.
- [10] 徐林, 张云, 梁斌, 等. 树鼩实验动物和人类疾病的树鼩模型研究概述 [J]. *动物学研究*, 2013, 34(2): 59–69.
- [11] ZHANG L, LIU P F, ZHU W L, et al. Variations in thermal physiology and energetics of the tree shrew (*Tupaia belangeri*) in response to cold acclimation [J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2012, 182(1): 167–176.
- [12] ZHU W L, HUANG C M, ZHANG L, et al. Changes of energy metabolism, thermogenesis and body mass in the tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis* *Tupaiaidae*, *Scandebtia*) during cold exposure [J]. *Italian Journal of Zoology*, 2012, 79(2): 175–181.
- [13] ZHU W L, ZHANG L, WANG Z K. Thermogenic characteristics and evaporative water loss in the tree shrew (*Tupaia belangeri*) [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2010, 35(6): 290–294.
- [14] ZHANG L, ZHU W L, WANG Z K. Role of photoperiod on hormone concentrations and adaptive capacity in tree shrews, *Tupaia belangeri* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2012, 163: 253–259.
- [15] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳, 等. 光周期和温度对中缅树鼩产热能力的影响 [J]. *动物学报*, 1999, 45(3): 287–293.

- [16] ZHU W L, ZHANG H, WANG Z K. Seasonal changes in body mass and thermogenesis in tree shrews (*Tupaia belangeri*): The roles of photoperiod and cold[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2012, 37(7): 479–484.
- [17] FAN Y, HUANG Z Y, CAO C C, et al. Genome of the Chinese tree shrew[J]. *Nature Communications*, 2013(4): 1426.
- [18] 王政昆, 孙儒泳, 李庆芬, 等. 中缅树鼯静止代谢率的研究[J]. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 1994, 30(3): 408–414.
- [19] 黄春梅, 朱万龙, 杨盛昌, 等. 大绒鼠 *NPY*, *AgRP*, *POMC* 和 *CART* 基因部分序列扩增与分析[J]. *兽类学报*, 2013, 33(2): 186–192.
- [20] YU Y, DENG C, HUANG X F. Obese reversal by a chronic energy restricted diet leaves an increased Arc *NPY/AgRP*, but no alteration in *POMC/CART*, mRNA expression in diet-induced obese mice[J]. *Behavioural Brain Research*, 2009, 205(1): 50–56.

Comparison of Evolutionary Relationship of Partial cDNA Sequences of *NPY*, *POMC* and *CART* Genes in *Tupaia belangeri*

ZHU Wanlong, ZHANG Hao, WANG Zhengkun

(School of Life Sciences, Yunnan Normal University, Kunming 650000, China)

Abstract: Neuropeptide Y (*NPY*), pro-opiomelanocortin (*POMC*) and cocaine and amphetamine regulated transcript peptide (*CART*) are hypothalamic neuropeptides that play essential roles in the regulation of energy homeostasis, which is highly conserved in evolution and can accurately reflect the distant genetic relationship between species. Partial cDNA sequences of *Tupaia belangeri* *NPY*, *POMC* and *CART* genes were obtained by using the RT-PCR method. The resultant partial sequences of *NPY*, *POMC* and *CART* were 133 bp, 276 bp and 50 bp in length, respectively, which contain open reading frames (ORF) of 131 bp, 272 bp and 48 bp, separately. The proteins encoding these sequences included 43 amino acids in *NPY*, 90 amino acids in *POMC* and 16 amino acids in *CART*. A search of the BLAST database showed that the deduced sequences of *NPY*, *POMC* and *CART* from *T. belangeri* were very similar to those of *Callithrix jacchus*, *Macaca mulatta*, *Pongo abelii*, *Homo sapiens*, *Papio Anubis*, *Otolemur garnettii*, *Nomascus leucogenys*, *Cricetulus griseus* and *Rattus norvegicus*. A phylogenetic tree was constructed with the *NPY*, *POMC* and *CART* genes to determine the evolutionary position of *T. belangeri* by using ML method. The result showed that *T. belangeri* has a close relationship with primates.

Key words: *Tupaia belangeri*; *NPY*; *CART*; *POMC*; hypothalamus