

四川白鹅 *ENO1* 基因特征及其在 HPG 轴组织中发育性表达的研究

郑梦月, 姜冬梅, 康 波, 何 琿, 马 容

(四川农业大学 动物科技学院, 四川 雅安 625014)

摘要: 旨在研究鹅 *ENO1* 基因分子特征, 阐明不同繁殖期鹅下丘脑、垂体和卵巢组织 *ENO1* 表达规律。应用生物信息学技术分析并预测四川白鹅 *ENO1* 结构和功能, 实时荧光定量 PCR 技术检测产蛋前期(6 月龄)和产蛋期(8 月龄)鹅下丘脑、垂体和卵巢组织 *ENO1* 的表达量。结果表明, 四川白鹅 *ENO1* 是内源性蛋白质, 含 3 个 N-糖基化位点和 16 个磷酸化位点, 二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主, 主要分布于细胞质(73.9%)和细胞核(13.0%)。四川白鹅 *ENO1* 的 4 个 Mg^{2+} 结合位点和 1 个烯醇化酶标签进化保守, 但是其纤溶酶原受体结构域和 MBP-1 结构域分别与人类氨基酸序列存在 4 处(422Arg→Lys, 432Arg→Leu, 433Ile→Ala 和 434Asn→Lys) 和 5 处变异(124Ala→Val, 141Pro→Ser, 176Asp→Ala, 177Thr→Asn 和 223Ala→Gly)。产蛋期鹅下丘脑、垂体和卵巢组织 *ENO1* 表达量分别是产蛋前期的 1.80 ($P < 0.05$), 1.64 ($P < 0.05$) 和 3.05 倍($P < 0.05$)。四川白鹅 *ENO1* 是多功能的、进化保守的内源性蛋白质, *ENO1* 可通过调节 HPG 轴功能来参与调控鹅的繁殖功能。

关键词: 四川白鹅; *ENO1*; 生物信息学分析; 下丘脑-垂体-性腺轴; 基因表达

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2014)01-0093-05

Study on *ENO1* Characteristic and Its Developmental Expression Profiling in Tissues of HPG Axis of Sichuan White Goose

ZHENG Meng-yue, JIANG Dong-mei, KANG Bo, HE Hui, MA Rong

(College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China)

Abstract: The objective of this work was to elucidate the molecular characteristic and expression profiling of *ENO1* in hypothalamic, pituitary and ovarian tissues of geese during different reproductive stages. The structure and function of *ENO1* was analyzed by bioinformatics tools. The level of *ENO1* gene expression in hypothalamus, pituitary gland and ovary was demonstrated by quantitative real-time PCR in Sichuan white geese during prelaying (at 6 months of age) and laying (at 8 months of age) stages. *ENO1* of Sichuan white goose was an endogenous protein. It was predicted that 3 N-glycosylation sites and 16 phosphorylation sites might exist in the amino acid sequence of goose *ENO1*. α -helix and extended strand was predominant secondary structure of goose *ENO1*. *ENO1* was predicted to be primarily localized in the cytoplasm (73.9%) and nucleus (13.0%). *ENO1* included conserved 4 Mg^{2+} binding sites and one enolase signature. Compared with *ENO1* amino acid sequence in Homo Sapiens, there were four changes of amino acid residues in plasminogen receptor domain (422Arg→Lys, 432Arg→Leu, 433Ile→Ala and 434Asn→Lys) and five changes of amino acids occurred in the functional domain of MBP-1 (124Ala→Val, 141Pro→Ser, 176Asp→Ala, 177Thr→Asn and 223Ala→Gly) in goose *ENO1* amino acid sequence. *ENO1* expression of the hypothalamus, pituitary gland and ovary in laying geese was 1.80, 1.64 and 3.05 ($P < 0.05$) folds compared with prelaying geese, respectively. These results suggest that Sichuan white goose *ENO1* is a conserved, multi-functionally endogenous protein. *ENO1* may regulate the process of goose reproduction via mediating executive function of HPG axis.

收稿日期: 2013-11-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201798); 高等学校博士学科点专项科研基金资助课题项目(20105103120003)

作者简介: 郑梦月(1993-), 女, 四川广安人, 本科, 主要从事特种经济动物养殖研究。

通讯作者: 姜冬梅(1978-), 女, 黑龙江海林人, 实验师, 硕士, 主要从事动物生产研究。

康 波(1978-), 男, 黑龙江林口人, 副教授, 博士, 主要从事动物生理与环境生理、家禽遗传育种与繁殖领域研究。

Key words: Sichuan white goose; *ENO1*; Bioinformatics analysis; Hypothalamic-pituitary-gonadal axis; Gene expression

雌性动物卵巢发育和繁殖过程需要 ATP, 能量代谢尤其糖代谢是哺乳动物卵巢卵母细胞发育直至成熟所必须的供能途径^[1]。Herrick 等^[2]研究表明, 猪卵母细胞成熟依赖于糖代谢水平, 而且糖代谢产生的 5-磷酸核糖也是 DNA 和 RNA 合成所需的关键物质^[3]。可见, 糖酵解对于雌性动物繁殖具有重要调控作用。烯醇化酶 1 (Enolase 1 or α -enolase, *ENO1*) 是糖酵解途径中催化 2-磷酸甘油酸生成磷酸烯醇丙酮酸的关键蛋白水解酶, 其广泛表达于从古细菌到真核生物的各种动物机体中^[4]。越来越多的研究表明, *ENO1* 具有多种生物学功能: 可作为纤溶酶原受体参与纤溶过程, 并可作为癌症等多种疾病的治疗靶点和诊断标记^[5]; 可选择性表达为 c-myc 启动子结合蛋白 (c-myc promoter-binding protein 1, MBP-1), 参与调控细胞增殖和凋亡过程^[6]; 具有调控肌生成以及骨骼肌和心肌损伤后再生的功能^[7]。作者筛选产蛋前期和产蛋期籽鹅卵巢组织差异表达基因的结果表明, 产蛋期籽鹅卵巢组织中 *ENO1* 表达量显著高于产蛋前期^[8], 而且随着鹅卵泡的生长, *ENO1* 表达量呈现波动性的变化, 提示 *ENO1* 可能参与调控鹅卵巢功能和卵泡发育等繁殖过程。鉴于 *ENO1* 具有多重生物学功能的特点, 本研究利用生物信息学技术分析预测四川白鹅 *ENO1* 基因编码蛋白质的结构和功能, 并研究了产蛋前期和产蛋期四川白鹅下丘脑、垂体和卵巢组织中 *ENO1* 的表达规律, 不仅为进一步阐明鹅 *ENO1* 功能的研究奠定基础, 而且也能为鹅繁殖和疾病防治相关研究提供新的切入点。

1 材料和方法

1.1 *ENO1* 基因生物信息学分析

四川白鹅 *ENO1* 基因序列来自四川农业大学动物遗传育种与繁殖实验室, 其余序列来自 GenBank 数据库。利用 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 在线 Blast 软件和 ClustalX 2.1 软件分析 *ENO1* 基因及其氨基酸序列相似性; 利用 ProtParam 在线软件 (<http://web.expasy.org/>) 预测 *ENO1* 基因编码蛋白质的相对分子质量和理论等电点等理化性质; 利用 CBS Prediction Servers 蛋白序列分析工具 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/>) 在线预测 *ENO1* 蛋白质的糖基化位点和磷酸化位点; 利用 TMPRED 软件 (<http://www.ch.embnet.org>) 分析 *ENO1* 蛋白的

跨膜区域; 利用 SignalP 4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 和 WoLF PSORT (<http://psort.hgc.jp/form2.html>) 工具进行信号肽和亚细胞定位分析; 利用 PredictProtein 软件 (<https://www.predict-protein.org/>) 分析 *ENO1* 蛋白质的结构域和功能; 最后利用 MEGA 5.2 软件构建系统进化树。

1.2 试验动物

四川白鹅选自四川农业大学家禽育种场。选取同批孵化、相同条件下饲养的产蛋前期 (6 月龄) 和产蛋期产蛋 (8 月龄) 四川白鹅母鹅各 3 只, 颈部放血处死后, 采集下丘脑、垂体和卵巢组织样品, 液氮冷冻后置于 -80°C 冰箱保存备用。

1.3 总 RNA 的提取及反转录反应

参照 RNAiso Plus 试剂盒操作说明提取产蛋前期和产蛋期四川白鹅的下丘脑、垂体和卵巢组织总 RNA。取 $5.0\ \mu\text{L}$ 总 RNA 样品在 1.5% 的琼脂糖/EtBr 凝胶电泳检测总 RNA 质量。参照 PrimeScript 反转录试剂盒说明书反转录合成第一链 cDNA, 置于 -20°C 冰箱保存备用。

1.4 实时荧光定量 PCR

根据四川白鹅 *ENO1* 和 *GAPDH* 序列, 应用 Oligo 6.0 和 Primer 5.0 设计并合成引物。*ENO1* 引物为: Forward-5'-ACTTCAGGAACCCCTCGCATCAACT-3', Reverse-5'-GCTGCCCTCATCTTTCTAATACGG-3' (PCR 产物为 115 bp); *GAPDH* 引物为: Forward-5'-GCTGATGCTCCCATGTTTCGTGAT-3', Reverse-5'-GTGGTGCAAGAGGCATTGCTGAC-3' (PCR 产物为 86 bp)。实时荧光定量 PCR 采用 SYBR[®] Premix Ex Taq II 试剂盒, 在 Bio-Rad CFX96 实时荧光定量 PCR 仪上运行。反应体系为 $50\ \mu\text{L}$: SYBR[®] Premix Ex Taq ($2\times$) $25.0\ \mu\text{L}$, Forward、Reverse 引物 ($10\ \mu\text{mol/L}$) 各 $2.0\ \mu\text{L}$, cDNA 模板 $2.0\ \mu\text{L}$, 用 RNase Free 水补充至 $50.0\ \mu\text{L}$ 。反应条件为: 95°C 预变性 3 min; 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s (采集荧光), 40 个循环并绘制溶解曲线。

1.5 数据处理分析

用 *GAPDH* 作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法处理数据, 得出产蛋期鹅下丘脑、垂体和卵巢组织中 *ENO1* 基因相对于产蛋前期下丘脑组织的相对表达量。应用 SAS 9.2 统计分析软件中的 MEANS 过程进行描述性统计分析, ANOVA 过程进行方差分析和 Duncan 多重比较。*ENO1* 相对表达量结果

用平均值 \pm 标准差表示 (Mean \pm SD), $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 *ENO1* 序列相似性分析

四川白鹅 *ENO1* 基因编码区序列长 1 305 bp, 编码 434 个氨基酸, Blast 分析结果表明, 四川白鹅 *ENO1* 基因核酸序列与北京鸭 (M20749.1)、原鸡 (NM_205120.1)、火鸡 (XM_003212251.1)、人 (X66610.1) 和小鼠 (NM_023119.2) 核酸序列相似性分别为 97%, 94%, 94%, 90%, 84%; 四川白鹅 *ENO1* 氨基酸序列与北京鸭 (AAA49218.1)、原鸡 (NP_990451.1)、火鸡 (XP_003212299.1)、人 (NP_001419.1) 和小鼠 (NP_075608.2) 氨基酸序列相似性分别为 98%, 98%, 98%, 93%, 93%, 表明 *ENO1* 在不同哺乳动物中具有较高的进化保守性。

2.2 *ENO1* 编码蛋白的理化性质

ENO1 基因编码蛋白相对分子质量 47.267 9 kDa, 理论 pI 值 6.37, 不稳定系数为 35.57, 总平均亲水性为 -0.264, 表明四川白鹅 *ENO1* 是能稳定存在的亲水性蛋白质。*ENO1* 蛋白含有 3 个潜在的 N-糖基化位点 (17, 40, 102 位氨基酸残基) 和 16 个磷酸化位点 (丝氨酸位点 8 个: 14, 177, 263, 268, 272,

291, 349, 373 位; 酪氨酸位点 8 个: 25, 44, 57, 189, 200, 236, 252, 270 位)。*ENO1* 蛋白质的二级结构中含 43.78% 的 α -螺旋, 14.05% 的延展链和 42.17% 的无规则卷曲结构, *ENO1* 肽链中 α -螺旋和无规则卷曲占 85.95%, 是构成二级结构的主要结构元件。*ENO1* 蛋白质为内源性蛋白质, 无跨膜区和信号肽, 在细胞质中占 73.9%, 细胞核中占 13.0%, 线粒体中占 8.7%, 液泡中占 4.4%。

2.3 四川白鹅 *ENO1* 蛋白质关键功能结构域

由图 1 可知, 四川白鹅 *ENO1* 蛋白含有 4 个 Mg^{2+} 结合位点 (Ser40、Asp245、Glu293、Asp318), 1 个 MBP-1 功能结构域 (Met97 ~ Ser237)、1 个纤溶酶原受体结构域 (Ala405 ~ Asn434) 和 1 个烯醇化酶标签 (340LLLKVNQIGSVTES353)。四川白鹅 Mg^{2+} 结合位点和烯醇化酶标签与原鸡和人氨基酸序列一致; 四川白鹅纤溶酶原受体结构域与原鸡序列一致, 但与人序列存在 4 处变异 (422Arg \rightarrow Lys, 432Arg \rightarrow Leu, 433Ile \rightarrow Ala 和 434Asn \rightarrow Lys)。四川白鹅 MBP-1 结构域与原鸡只有 2 处变异 (100Ser \rightarrow Thr 和 177Ser \rightarrow Thr), 而与人序列存在 5 处变异 (124Ala \rightarrow Val, 141Pro \rightarrow Ser, 176Asp \rightarrow Ala, 177Thr \rightarrow Asn, 223Ala \rightarrow Gly)。

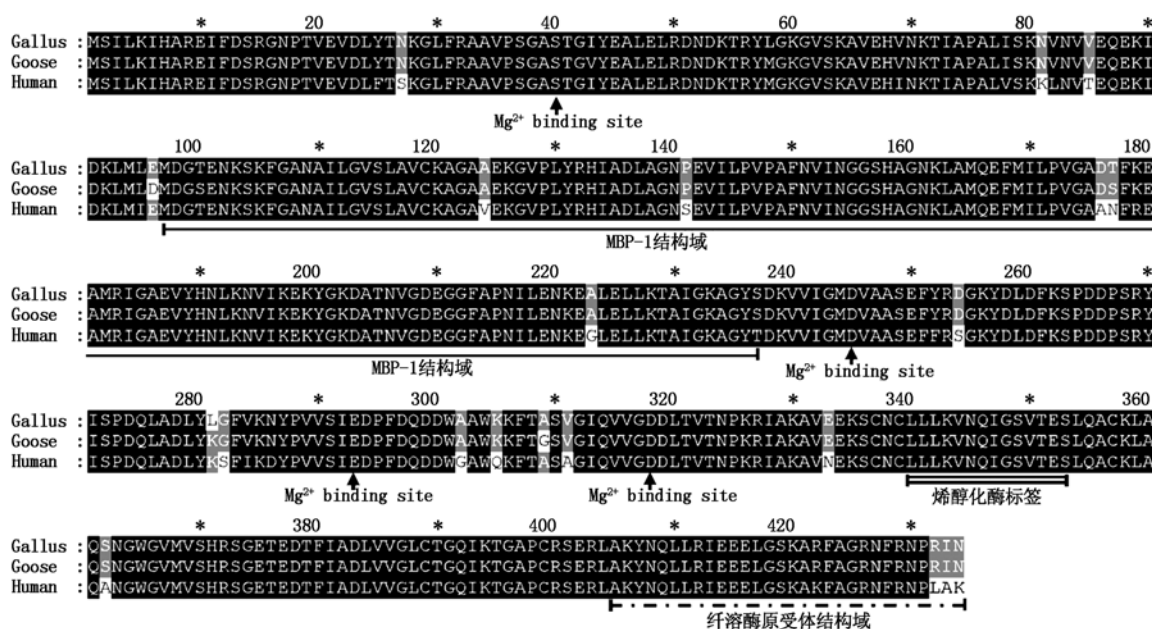


图 1 四川白鹅、人 (NP_001419.1) 和原鸡 (NP_990451.1) *ENO1* 蛋白质关键功能结构域

Fig.1 The key functional domains of *ENO1* in Sichuan white goose, human and gallus

2.4 *ENO1* 蛋白质进化分析

应用 MEGA 5.2 软件使用邻接法建立 14 个物种的 *ENO1* 蛋白质系统进化树。由图 2 可知, 北京鸭、四川白鹅、野鸽、鹌、斑胸草雀、原鸡和火鸡聚为一类, 说明四川白鹅与这些禽类亲缘关系最近, 而与

两栖纲的非洲爪蟾和斑马鱼距离较远, 与啮齿类动物和灵长类等哺乳纲动物距离最远。四川白鹅与北京鸭处于同一个小分支, 在系统进化树中的距离最近, 表明其亲缘关系也最近。

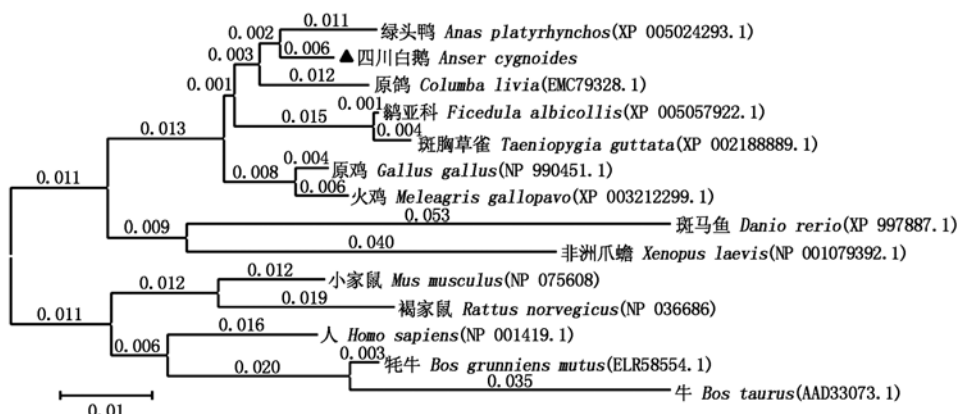


图2 四川白鹅 ENO1 蛋白质系统进化树(NJ 树)

Fig.2 The phylogenetic tree (Neighbor-Joining tree) of ENO1 in Sichuan white goose

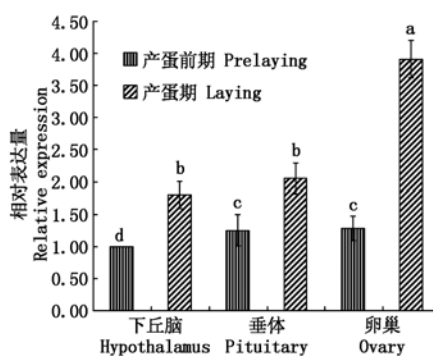
不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图3 产蛋前期和产蛋期四川白鹅下丘脑、垂体和卵巢组织 ENO1 表达

Fig.3 The levels of ENO1 gene expression in hypothalamus, pituitary and ovary in Sichuan white goose during prelaying and laying stages

2.5 产蛋前期和产蛋期鹅 HPG 轴褪黑素受体的相对表达量

由图3可知,产蛋前期四川白鹅垂体和卵巢组织 ENO1 表达量显著高于下丘脑 ($P < 0.05$),但垂体和卵巢之间差异不显著 ($P > 0.05$);产蛋期鹅卵巢 ENO1 表达量显著高于下丘脑和垂体 ($P < 0.05$),而下丘脑和垂体之间差异不显著 ($P > 0.05$);产蛋期四川白鹅下丘脑、垂体和卵巢组织 ENO1 表达水平均显著高于产蛋前期相应组织中 ENO1 表达量 ($P < 0.05$),分别是产蛋前期的1.8,1.64,3.05倍。

3 讨论

糖酵解酶在进化过程中是高度保守的,长期以来被认为是一种“钝化的”酶^[9]。ENO1不仅是糖酵解途径中关键的蛋白水解酶,而且也是鸟类眼睛晶状体中最重要的晶体蛋白^[10]。因此,ENO1的进化保守性有利于其在动物机体中稳定发挥参与糖酵解、维持晶状体结构和功能的重要调控作用。另外,系统进化树分析结果也表明,四川白鹅首先与北京

鸭聚为一类,再与原鸽、原鸡和火鸡聚为一类,与斑马鱼、鼠、人和牛等距离稍远,进一步证实 ENO1 在动物进化过程中高度保守的特点。四川白鹅 ENO1 蛋白质含3个糖基化位点和16个磷酸化位点,表明鹅 ENO1 具有多种翻译后修饰形式,并可通过这些位点的翻译后修饰来参与调控生物机体中多种生物学过程^[11-13]。四川白鹅 ENO1 蛋白质的二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主,无规则卷曲结构容易受侧链相互作用的影响而改变空间构象,推测可能是 ENO1 肽链中构成配体和受体结合的活性部位。本研究结果表明,四川白鹅 ENO1 为非分泌蛋白,无跨膜区和信号肽,主要分布于细胞质和细胞核中,这与 Kang 等^[14]报道的人 ENO1 结构和亚细胞定位结果一致。然而, Lopez-Villar 等^[15]应用遗传学、细胞生物学和蛋白质组学技术研究证实,虽然 ENO1 缺乏信号肽序列但是仍可表达于细胞表面,但是目前有关缺乏信号肽的 ENO1 在细胞表面表达的机制仍不清楚。

ENO1 是一种金属离子激活酶,其催化活性对 Mg^{2+} 具有绝对的依赖性。四川白鹅 ENO1 的 Mg^{2+} 结合位点与人类、原鸡完全一致,不存在任何变异,说明 Mg^{2+} 对于维持 ENO1 活性具有重要作用。四川白鹅 ENO1 的烯醇化酶标签序列与人和原鸡序列相比也不存在任何变异。c-myc 原癌基因是细胞生长和分化过程中的关键调控基因,MBP-1 可与 c-myc 的 P2 启动子结合,抑制 c-myc 表达,从而抑制肿瘤发生^[16]。本研究结果表明,四川白鹅 141 个氨基酸残基的 MBP-1 功能结构域与原鸡序列之间仅存在 2 处变异,但是与人类相比存在 5 处变异,这些氨基酸变异是否会影响鹅 ENO1 的 MBP-1 结构域的功能仍有待进一步研究阐明。另外,四川白鹅 ENO1 的纤溶酶原受体结构域与原鸡序列一致,而与人存在 4 处变异。研究表明,ENO1 与纤溶酶原结合是通过纤溶酶原 Kringle 结构域与 ENO1 羧基末端残基

Lys434 相互结合来完成的, Lys434 是 *ENO1* 发挥纤溶酶原受体功能的关键氨基酸残基, 而且 *ENO1* 与纤溶酶原的结合依赖于羧基末端 Lys420、Lys422 和 Lys434^[17-18]。本研究表明, 四川白鹅 *ENO1* 羧基末端 Lys422 和 Lys434 残基分别被 Arg 和 Asn 所取代, 这 2 处 Lys 残基缺失是否会导致家禽 *ENO1* 失去纤溶酶原受体活性有待进一步研究阐明。

不同繁殖期四川白鹅下丘脑、垂体和卵巢组织中 *ENO1* 差异表达的研究结果显示, *ENO1* 在产蛋前期和产蛋期鹅下丘脑、垂体、卵巢组织中均有表达, 并且卵巢组织中 *ENO1* 表达量均高于下丘脑和垂体, 说明虽然 *ENO1* 在各种组织和细胞中广泛分布, 但是其表达具有组织特异性和时空特异性的特点^[19]。HPG 轴作为繁殖功能轴在动物繁殖过程中发挥重要调控作用。在产蛋期, 鹅下丘脑、垂体和卵巢功能活动增强, 内分泌活动活跃, 能量代谢和糖代谢水平显著增加, 为机体提供更多的能量以维持正常的繁殖功能。本研究发现, 产蛋期四川白鹅下丘脑、垂体和卵巢组织中 *ENO1* 表达量显著高于产蛋前期, 该结果表明 *ENO1* 可能通过介导糖酵解过程, 为鹅繁殖提供能量。此外, 鹅卵泡发育过程中, 卵泡细胞代谢旺盛, 产蛋期四川白鹅卵巢组织 *ENO1* 的高表达可能与 *ENO1* 参与调控卵泡糖酵解功能有关^[20]。另外, 有研究表明 *ENO1* 具有促进了神经突生长的功能^[21], 而下丘脑中分布有大量的神经元, 产蛋期四川白鹅下丘脑 *ENO1* 的高表达是否与 *ENO1* 促神经突生长的功能有关, 仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Kogure K, Nakamura K, Ikeda S, *et al.* Glucose-regulated protein, 78-kilodalton is a modulator of luteinizing hormone receptor expression in luteinizing granulosa cells in rats [J]. *Biology of Reproduction*, 2013, 88(1): 8.
- [2] Herrick J R, Brad A M, Krisher R L. Chemical manipulation of glucose metabolism in porcine oocytes; effects on nuclear and cytoplasmic maturation in vitro [J]. *Reproduction*, 2006, 131(2): 289 - 298.
- [3] Sutton-Mcdowall M L, Gilchrist R B, Thompson J G. The pivotal role of glucose metabolism in determining oocyte developmental competence [J]. *Reproduction*, 2010, 139(4): 685 - 695.
- [4] Kaneko N, Gotoh A, Okamura N, *et al.* Potential tumor markers of renal cell carcinoma; alpha-enolase for postoperative follow up, and galectin-1 and galectin-3 for primary detection [J]. *International Journal of Urology: Official Journal of the Japanese Urological Association*, 2013, 20(5): 530 - 535.
- [5] Godier A, Hunt B J. Plasminogen receptors and their role in the pathogenesis of inflammatory, autoimmune and malignant disease [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*, 2013, 11(1): 26 - 34.
- [6] Sedoris K C, Thomas S D, Miller D M. Hypoxia induces differential translation of enolase/MBP-1 [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 157.
- [7] Diaz-Ramos A, Roig-Borrellas A, Garcia-Melero A, *et al.* Requirement of plasminogen binding to its cell-surface receptor alpha-enolase for efficient regeneration of normal and dystrophic skeletal muscle [J]. *PloS One*, 2012, 7(12): e50477.
- [8] Kang B, Guo J R, Yang H M, *et al.* Differential expression profiling of ovarian genes in prelaying and laying geese [J]. *Poultry Science*, 2009, 88(9): 1975 - 1983.
- [9] Pancholi V. Multifunctional alpha-enolase: its role in diseases [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2001, 58(7): 902 - 920.
- [10] Kim R Y, Lietman T, Piatigorsky J, *et al.* Structure and expression of the duck alpha-enolase/tau-crystallin-encoding gene [J]. *Gene*, 1991, 103(2): 193 - 200.
- [11] Gannon J, Staunton L, O'connell K, *et al.* Phosphoproteomic analysis of aged skeletal muscle [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2008, 22(1): 33 - 42.
- [12] Tomaino B, Cappello P, Capello M, *et al.* Circulating autoantibodies to phosphorylated alpha-enolase are a hallmark of pancreatic cancer [J]. *Journal of Proteome Research*, 2011, 10(1): 105 - 112.
- [13] Owen J B, Di Domenico F, Sultana R, *et al.* Proteomics-determined differences in the concanavalin-A-fractionated proteome of hippocampus and inferior parietal lobule in subjects with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: implications for progression of AD [J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(2): 471 - 482.
- [14] Kang H J, Jung S K, Kim S J, *et al.* Structure of human alpha-enolase (hENO1), a multifunctional glycolytic enzyme [J]. *Acta Crystallographica Section D, Biological Crystallography*, 2008, 64(Pt 6): 651 - 657.
- [15] Lopez-Villar E, Monteoliva L, Larsen M R, *et al.* Genetic and proteomic evidences support the localization of yeast enolase in the cell surface [J]. *Proteomics*, 2006, 6(Suppl 1): 107 - 118.
- [16] Feo S, Arcuri D, Piddini E, *et al.* *ENO1* gene product binds to the c-myc promoter and acts as a transcriptional repressor: relationship with Myc promoter-binding protein 1 (MBP-1) [J]. *FEBS Letters*, 2000, 473(1): 47 - 52.
- [17] Redlitz A, Fowler B J, Plow E F, *et al.* The role of an enolase-related molecule in plasminogen binding to cells [J]. *European Journal of Biochemistry / FEBS*, 1995, 227(1-2): 407 - 415.
- [18] Andronicos N M, Chen E I, Baik N, *et al.* Proteomics-based discovery of a novel, structurally unique, and developmentally regulated plasminogen receptor, Plg-RKT, a major regulator of cell surface plasminogen activation [J]. *Blood*, 2010, 115(7): 1319 - 1330.
- [19] Diaz-Ramos A, Roig-Borrellas A, Garcia-Melero A, *et al.* Alpha-Enolase, a multifunctional protein: its role on pathophysiological situations [J]. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2012, 2012: 156795.
- [20] Gillott D J, Eldib A, Iammarrone E, *et al.* Glycolytic enzyme expression in human granulosa cells [J]. *Fertility and Sterility*, 2008, 90(4 Suppl): 1405 - 1410.
- [21] Butterfield D A, Lange M L. Multifunctional roles of enolase in Alzheimer's disease brain: beyond altered glucose metabolism [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2009, 111(4): 915 - 933.