

如皋鸡不同时期肌肉组织生长 相关基因的表达谱分析

栾德琴¹, 常国斌¹, 盛中伟¹, 黄正洋¹, 周 伟¹, 龚琳琳¹, 陈丹艳²,
刘 岩³, 王克华⁴, 窦套存⁴, 陈国宏^{1*}

(1. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009; 2. 河海大学水利水电学院 水文水资源与水利工程科学国家重点实验室, 南京 210098; 3. 江苏省农业科学院 农业资源与环境研究所 数字农业工程技术研究中心, 南京 210014; 4. 中国农业科学院家禽研究所, 扬州 225125)

摘要: 旨在了解如皋鸡不同时期肌肉生长发育机制。本研究利用基因芯片技术, 分析在不同生长阶段下(2~12 周龄)如皋鸡肌肉组织基因的表达情况。获得了 13 379 个基因的差异表达动态图谱。在不同生长阶段下肌肉组织生长基因的表达发生变化, 与 2 周龄相比, 4 和 12 周龄下调表达的基因数量多于上调表达的基因数量, 6、8 和 10 周龄下调表达的基因数量少于上调表达的基因数量。同时对杂交数据进行多种聚类分析。利用实时荧光定量 PCR 验证 4 个基因的差异表达, 其结果和芯片杂交分析的结果基本一致。初步建立了不同时期肌肉生长应答基因的动态表达谱, 比较全面地获得了肌肉生长应答基因, 初步揭示了如皋鸡不同时期肌肉生长发育机制。

关键词: 如皋鸡; 肌肉生长; 基因芯片; 实时荧光定量 PCR

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)01-0014-08

Analysis of Gene Expression Profiles in Rugao Chicken Muscles during Different Periods

LUAN De-qin¹, CHANG Guo-bin¹, SHENG Zhong-wei¹, HUANG Zheng-yang¹, ZHOU Wei¹,
GONG Lin-lin¹, CHEN Dan-yan², LIU Yan³, WANG Ke-hua⁴, DOU Tao-cun⁴, CHEN Guo-hong^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
2. State Key Laboratory of Hydrology-water Resources and Hydraulic Engineering, College
of Water Conservancy and Hydropower, HoHai University, Nanjing 210098, China; 3. Engineering
Research Center for Digital Agriculture, Institute of Agricultural Resources and Environment,
Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 4. Institute of Poultry
Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225125, China)

Abstract: The objective of this experiment was to study the development mechanism of muscle in Rugao chicken. The gene expression of Rugao chicken in muscle was analyzed during the different periods (2-12 week old) by GeneChip. The expression profiles of 13 379 differentially expressed genes were obtained, and the great changes of gene expression in muscle took place at chicken different growth stages. Compared with 2 week old, the number of down-regulated genes at 4 and 12 week old were more than that of up-regulated genes, while the number of down-regulated genes at 6, 8 and 10 week old were less than that of up-regulated genes. The clustering analysis of hybridization data was also carried out to indicate gene expression at different growth stages. The differential expressions of four genes were confirmed by real-time quantitative PCR, and the results indicated that the expression changes of these genes were generally consistent with the

收稿日期: 2011-02-19

基金项目: 国家自然科学基金(30972088); 江苏省科学基金(BK2009190); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(畜牧学)

作者简介: 栾德琴(1985-), 女, 江苏南京人, 博士生, 主要从事生物信息学研究, E-mail: deqinluan@sina.com

* 通讯作者: 陈国宏, E-mail: ghchen@yzu.edu.cn

results of GeneChip. Expression profiles of different growth times were constructed in order to establish dynamic expression profiles, by which the responsive genes affecting muscle growth were entirely acquired, and the growth and development mechanisms of muscle at different growth stages were also revealed in Rugao chicken.

Key words: Rugao chicken; muscle growth; GeneChip; real-time fluorescence quantitative PCR

鸡不仅是重要的经济动物,同时也是一种很好的模式动物,因此,它被广泛地应用于基础理论和实际生产研究。鸡肌肉组织生长基因的功能是近年来鸡遗传育种学家研究的热点和难点,如何生产出人们所需要的品质优良、风味独特的禽肉产品,是世界范围内肉鸡业面临和亟需研究解决的重大问题之一,揭示鸡肌肉生长发育过程中相关基因的表达、调控以及各种组分的合成与分解,转运与沉积的分子机理,既是有效解决这一问题的途径,也有助于深入阐明肌肉生长的生理机制,为理解肌肉生长发育过程提供理论依据。早在 1979 年 Alberl 等^[1]对鸡骨骼肌纤维就开始进行研究,但直到 1993 年 Ono 等^[2]才发现肉用鸡早期不同部位肌纤维生长的一些基本规律,不少学者也有相关报道^[3-5]。但是,事实上,肌肉生长发育的分子机制至今仍不清楚,因此,从分子水平上研究鸡的肌肉发育机制具有很高的理论和应用价值。

肌肉生长发育和分子代谢是十分复杂的生命活动,受多基因、多途径、多阶段的影响。当前的研究以候选基因法和全基因组扫描法为主要方法,但是这 2 种方法因各自具有其局限性而不能彻底解决这一问题,解决的方法则是要从整体上研究影响肌肉生长发育和分子代谢的调控基因及其作用机制,为此,寻求一种高通量的差异表达基因筛选方法尤为重要,基因芯片的出现和应用为实现这一目标开辟了道路。基因芯片技术主要应用于表达差异基因的筛选、寻找新基因、基因测序、疾病的分子诊断、基因突变及多态性分析、新药开发等方面,其中用于表达基因筛选的基因表达谱芯片是目前应用最广的基因芯片,可以对来源于不同个体、组织、细胞周期、发育阶段、分化阶段、病变下细胞内的 mRNA 或逆转录产物 cDNA 进行检测,从而大规模对这些基因表达的特异性进行综合地分析和判断^[6-9]。基因芯片可以高通量、快速检测基因的差异表达^[10],从而得到基因组水平的基因表达谱数据。通过对这些数据的分析,能够了解基因的功能甚至基因之间的相互作用^[11]。但是,到目前为止,涉及利用基因芯片技术

研究鸡生长发育分子机制的报道较少,尤其是对我国地方鸡种研究更少,大大地制约了鸡肉品质研究的进展。

如皋鸡又称为如皋黄鸡,是我国地方良种鸡之一,因其黄羽、黄皮肤、黄脚,当地也简称为“三黄鸡”,该鸡外观靓丽,体型中等偏小,行动灵活,适应性强,耐粗饲,肉质鲜嫩,生长迅速,是中国地方鸡种的典型代表。本研究利用基因芯片技术从整体水平研究如皋鸡肌肉在不同生长时期基因表达的变化,进而研究其生长发育机制,对于了解如皋鸡肌肉生长发育的分子机制具有重要意义。本研究利用表达谱芯片技术分别对 2、4、6、8、10、12 周龄如皋鸡肌肉组织的差异表达基因进行筛选,探讨肌肉组织表达谱的差异及其可能的分子生物学内在联系与规律,以期为进一步研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

全同胞如皋鸡家系来自中国农业科学院家禽研究所育种基地,分别于 2、4、6、8、10、12 周龄时采取胸肌、腿肌组织样各 4 个,公母各半,液氮中速冻,−70 °C 保存备用。

1.2 总 RNA 的提取纯化及探针的制备

Trizol (Invitrogen) 法提取各样本的总 RNA,总 RNA 经 QIAGEN RNeasy Kit 纯化后,用 One-cycle cDNA Synthesis Kit 合成 cDNA,再纯化该 cDNA。纯化的 cDNA 按照 GeneChip IVT Labeling Kit 说明书来制备荧光标记的 cRNA。荧光标记的 cRNA 于 60 °C 温浴 30 min 进行片段化。片段化的 cRNA 即为杂交用探针。

1.3 芯片的杂交、洗脱、染色及检测

探针经片段化处理后用于与基因芯片 (Agilent 公司, 15K GeneChip) 杂交。利用 Agilent 公司生产的专用设备基因芯片检测工作站进行芯片的杂交、洗脱、染色及检测。

1.4 基因芯片的数据分析

采用 Agilent 扫描仪对芯片结果进行扫描,

Genespring 软件读取并处理数据。利用 Anova 和 t -test 统计方法进行差异基因的筛选,筛选标准是 $\log \text{ratio} \geq 2$ 为上调基因; $\log \text{ratio} \leq 0.5$ 为下调基因,且 $P < 0.01$ 。另外,运用 SAS 系统对数据进一步聚类分析,其中软件包括 heatmap、cluster 和 som,算法函数包括:cmdscale、皮尔森关联算法和 hclust,具体分析方法参考文献[12-17]。

1.5 实时荧光定量 PCR 验证芯片杂交数据

选取上调表达和下调表达的差异基因各 2 个,并依据其芯片上探针组对应的序列设计特异性引物(表 1),运用 SYBgreen 染料法进行实时荧光定量 PCR,3 次重复,PCR 程序为:95 °C 30 s,95 °C 15 s,60 °C 34 s,40 个循环。设置 60~90 °C 每隔 0.2 °C 读取荧光值 1 次,反应结束后分析荧光值变化曲线和熔解曲线。每个反应 3 次重复,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 算法分析结果。

表 1 用于实时定量 RT-PCR 分析的引物

Table 1 Primers used in real-time quantitative RT-PCR analysis

基因 Gene	探针组 Probe	引物序列(5'-3')Primer sequence	PCR 产物大小/bp PCR products size
LEPR	A_87_P079731	F:TCCAGAGCCACGGATCAGTTC R:CTTGTGCCCCACGAGCAATTC	190
ATIC	A_87_P009196	F:TCTCCGGGTGTAACGTGTACCAGAA R:TCTGCAGGATCACACAACTGTC	116
LPL	A_87_P056971	F:TGACCAAGGTAGACCAGCCATTC R:AGCAGGTCACCAATGTCCACTTC	145
THRSP	A_87_P154593	F:CCTGCACACGGAGACTCCAA R:CTCTGTGCTGGTCTGTGCAGAAG	108

2 结 果

2.1 如皋鸡不同时期肌肉基因表达谱

杂交数据显示,相对于 2 周龄,不同生长时间下基因的表达比例不同,差异基因表达情况见表 2。与 2 周龄相比,4 周龄,1 523 个基因上调表达,1 700 个基因下调表达;6 周龄,1 495 个基因上调表达,

1 376 个基因下调表达;8 周龄,1 755 个基因上调表达,1 462 个基因下调表达;10 周龄,1 842 个基因上调表达,1 703 个基因下调表达;12 周龄,1 252 个基因上调表达,1 480 个基因下调表达。数据分析表明,6、8、10 周龄时,上调表达基因的数量显著多于下调表达基因的数量,4 和 12 周龄时,上调表达基因的数量显著少于下调表达基因的数量。

表 2 不同生长时间下如皋鸡肌肉基因的表达变化

Table 2 The expression change of genes at different growth stages in Rugao chicken muscles

生长时间/周龄 Growth time	上调表达基因数 The number of up-regulated gene	下调表达基因数 The number of down-regulation gene
4	1 523±9.8	1 700±10.5**
6	1 495±11.1	1 376±7.4**
8	1 755±12.3	1 462±4.7**
10	1 842±8.4	1 703±9.6**
12	1 252±6.7	1 480±12.6**

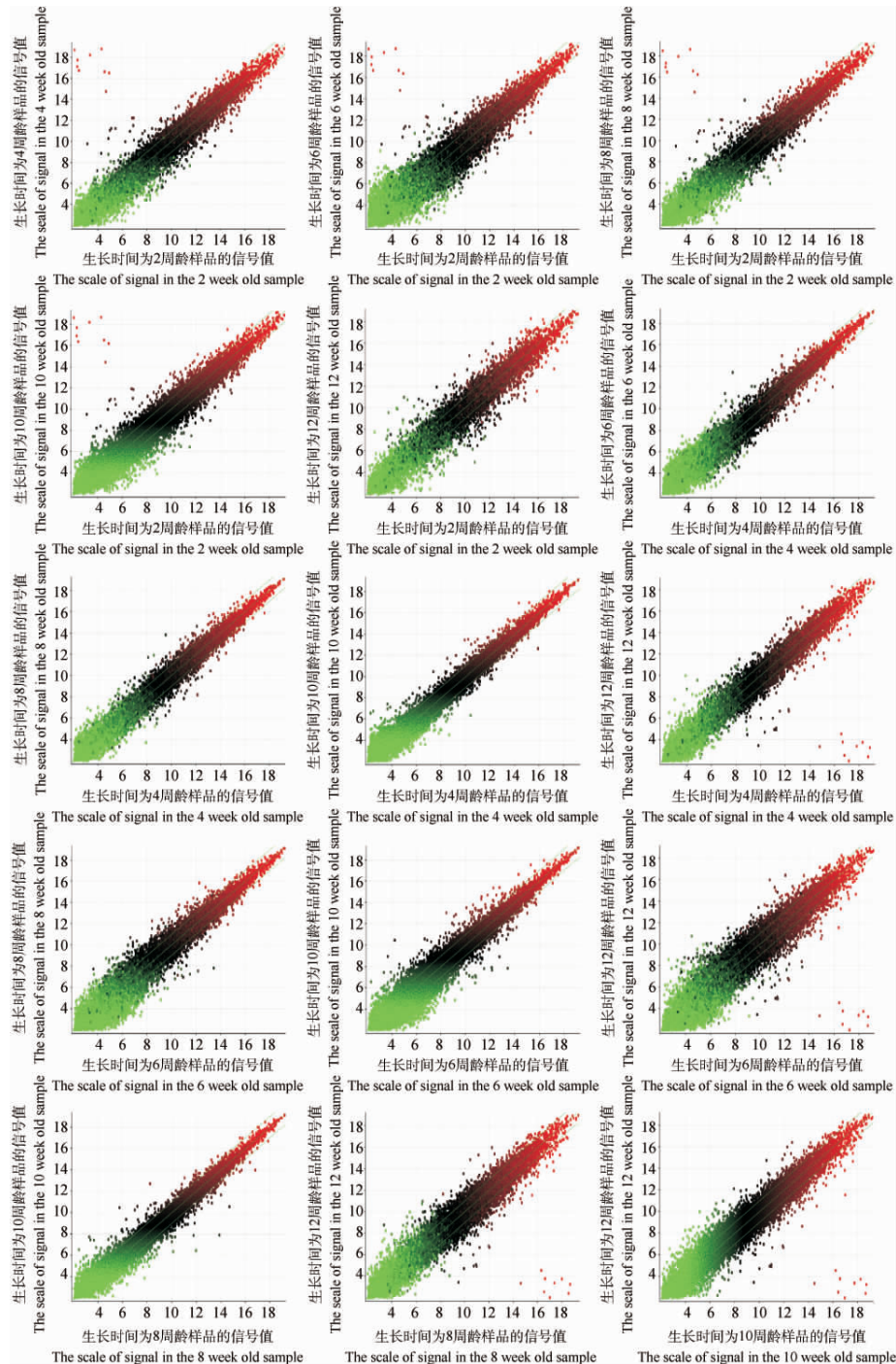
** . 表示同一行(即各周龄上、下调表达基因个数)显著性差异水平为 $P < 0.01$

** . Stands for the level of significant difference within the same line (the number of up-regulated and down-regulated genes at the same week) ($P < 0.01$)

2.2 肌肉基因在不同生长时间下的差异表达分析

将不同生长时间的信号强度进行两两比对,并作数据处理,对两两处理之间的数据比较分析(图1)。发现分布在各小图中间2条线之间的大部分基因,对于生长发育无明显的诱导或抑制效应。但任何2个

处理之间都有一定数量的基因存在表达差异,其中既有上调表达基因,也存在下调表达基因。而4、8和10周龄的差异表达基因的数量明显多于6和12周龄的差异表达基因数量。



中间两条直线范围内的点为2倍差异以内的探针信号点,在2倍差异直线以外的点是认为是有差异的基因

The plots between the middle two straight lines are considered to be no more than two-fold induction and repression and the other plots are differential genes

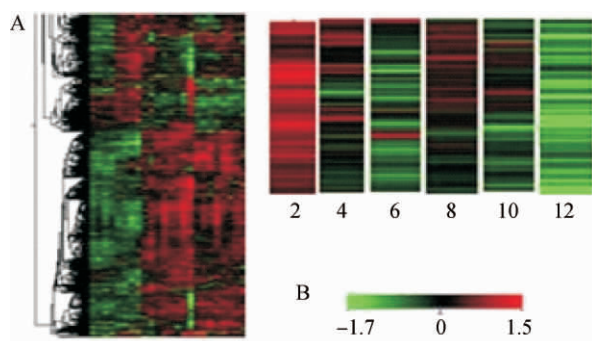
图1 如皋鸡肌肉在不同生长时间下的基因表达散点图

Fig. 1 The scatter graph of the genes expression change at different growth stages in Rugao chicken muscles

2.3 聚类分析

利用 Cluster and Tree View 软件对数据进行了聚类分析,包括分层聚类(Hierarchical clustering)、自组织映射聚类(Self organizing map, SOM)和主成分分析(Principal component analysis, PCA),以期找出表达变化趋势相似的基因,分析基因之间的相关性,探测相似基因的表达谱,以达到对基因功能的判定和分类。

2.3.1 分层聚类 利用分层聚类建立了不同生长时间下的基因表达图谱(图 2)。由图可知,同一基因在不同生长时间下的表达量存在很大的变化。比较分析趋势图可以将差异基因的表达趋势划分为 3 大类:第 1 类是在不同生长时间下总体趋势表现为下调表达,随着时间的延长,大部分基因下调表达程度越大,而 2~4 周龄内,抑制效应最为明显;第 2 类基因总体变化趋势为生长上调表达,而且多数基因在 4 周龄内,诱导效应明显,但在 6 周龄时,其表达水平基本回复至正常水平,而后又逐渐上调表达;第 3 类基因生长表达谱的变化趋势基本一致,表现为单一的上调表达或下调表达。



A. 在 2、4、6、8、10 和 12 周龄时如皋鸡肌肉基因的差异表达图谱;各样品之间同一水平线上的基因为同一基因。左图表示各个基因变化趋势的相近程度,连线越短越相近。B. 标尺。红色表示表达水平高,绿色表示表达水平低

A. The different expression profile of genes in Rugao chicken muscles at 2, 4, 6, 8, 10 and 12 week old; the genes in the same horizontal line stand for the same gene in different samples. The left graph indicates the similarity of gene change tendency. The shorter the line is, the more similar the genes are. B. Scale. Red color shows high expression level, while green color shows low expression level

图 2 不同生长时间下如皋鸡肌肉基因的表达图谱

Fig. 2 The expression profile of genes in Rugao chicken muscles at different growth stages

2.3.2 自组织映射聚类 SOM 聚类分析将表达

量发生变化的基因分为 12 类,每类为一个小图,每个小图的折线代表这类表达模式的主趋势(图 3)。从图中可以看出,不同基因变化趋势不同,同一基因在不同生长时间下的表达量不同。可见,基因的表达量随生长时间的不同而变化。

2.3.3 主成分分析 由图 4 可以看出,不同生长时间下样本的基因表达趋势不尽相同,2 周龄时样本的基因表达趋势与 12 周龄时比较类似,而这二者相比较,基因的表达趋势差异很大。可能是由于 2 周龄时,激活了大量起始因子,开启了大量不同的功能基因,使 12 周龄时的功能基因表达量增加。

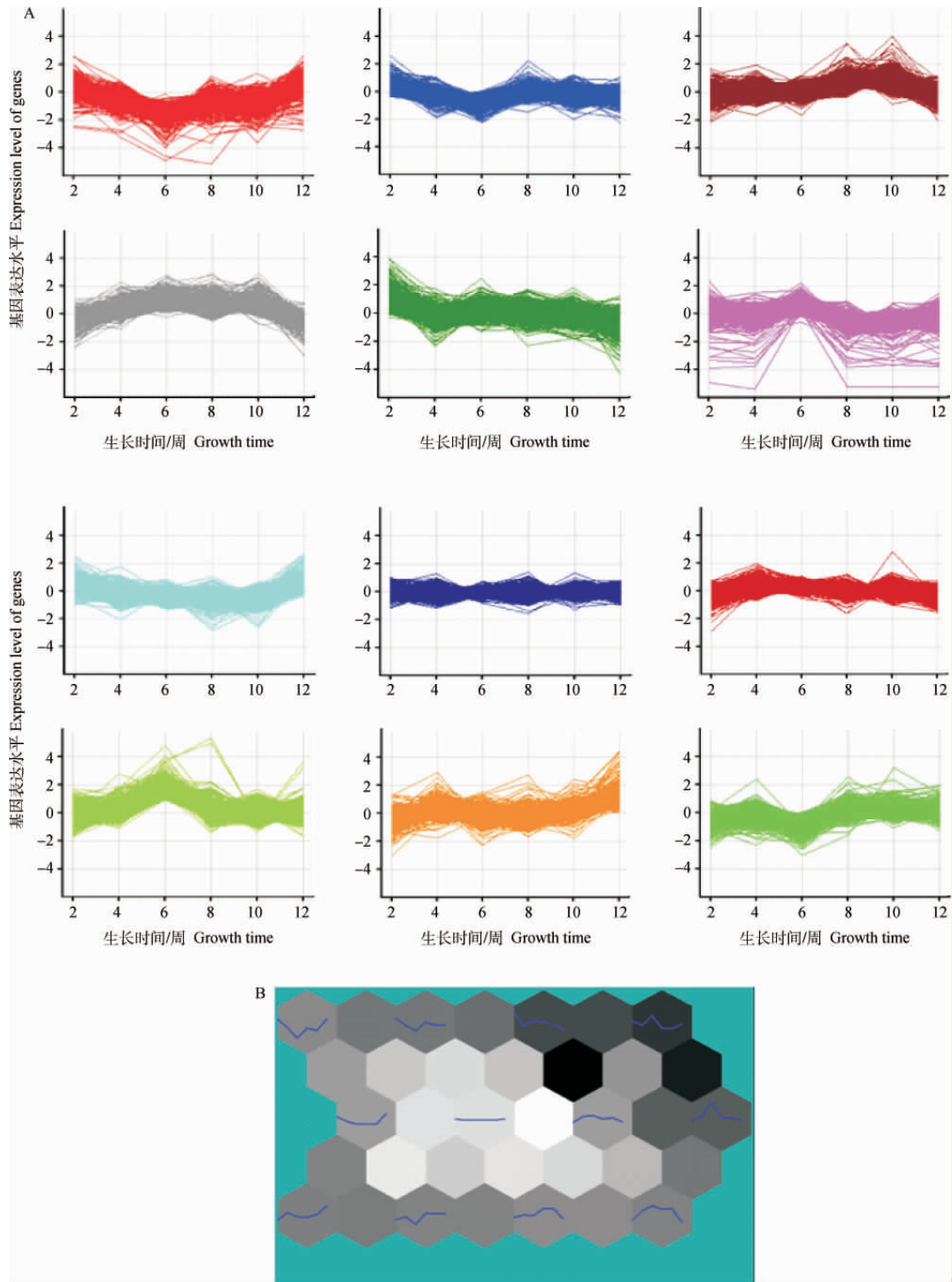
2.4 差异表达基因的实时荧光定量 PCR 分析

通过实时荧光定量 PCR 技术,比较分析了上调表达和下调表达各 2 个基因在不同生长时间及在对照中的表达量。结果表明,相较于 2 周龄,这 4 个基因的表达量改变倍数和芯片杂交中获得的差异表达倍数均基本一致(图 5),说明芯片杂交获得的基因表达谱信息具有较高的可靠性。

3 讨 论

动物机体生长发育是遗传因素与环境共同作用的结果,研究生长发育既涉及到基因类型及其表达,又涉及到影响基因表达的环境条件。所选用的研究策略一般为利用分子生物学手段研究同一品种不同时期的差异及造成这种差异的机制^[18]。本研究分别对 2、4、6、8、10、12 周龄如皋鸡肌肉组织的差异表达基因进行筛选,在这些差异中,相同基因的差异表达以及不同基因间的相互调控具有关键的作用。可见它们是研究鸡生长发育和分子代谢很好的动物模型。

通过对不同生长时间下如皋鸡肌肉组织相关基因表达谱分析发现(表 2),4 和 12 周龄时下调表达的基因数量多于上调表达的基因数量,6、8 和 10 周龄时下调表达的基因数量少于上调表达的基因数量,这与陈国宏等^[19]报道的鸡肌肉生长发育规律是一致的,在不同周龄,通过对鸡肌肉生长起不同生物学作用的基因数量的比较,旨在了解中国地方鸡种肌肉生长发育规律。脂蛋白酯酶(Lipoprotein lipase, LPL)是影响动物脂肪沉积的关键酶^[20]。它的主要功能是将血液中乳糜微粒(CM)和极低密度脂蛋白(VLDL)所携带的甘油三酯分解成甘油和脂肪酸,进而向脂肪组织提供合成甘油三酯所需

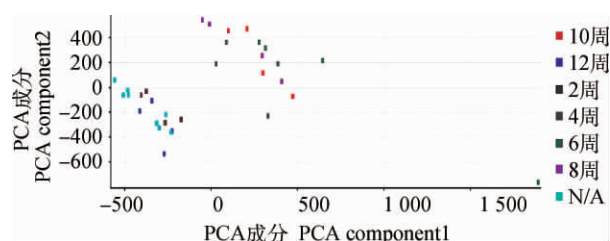


A. SOM 聚类分析; B. 不同 cluster 的相关性分析。将上图的每个趋势分别用蓝色的折线表示。每个趋势可以通过一个六边形同另外一个趋势连接。六边形的灰度表示相关性系数的大小, 白色: Correlation=1, 黑色: Correlation=0, 灰度表示不同的相关性系数。通过连接相邻 2 个趋势的六边形的灰度可以了解它们之间的相关性系数

A. The profile of SOM clustering analysis; B. The correlative analysis of different clusters. Each blue curve represents its tendency. Each tendency can be connected with another one by a hexagon. The grey scale of hexagon demonstrates the size of correlation. The correlation of white color is 1 and that of black color is 0. The correlations among them can be obtained by the connection of the grey scale of hexagons which are consecutive

图 3 SOM 聚类分析图

Fig. 3 The profile of SOM clustering analysis

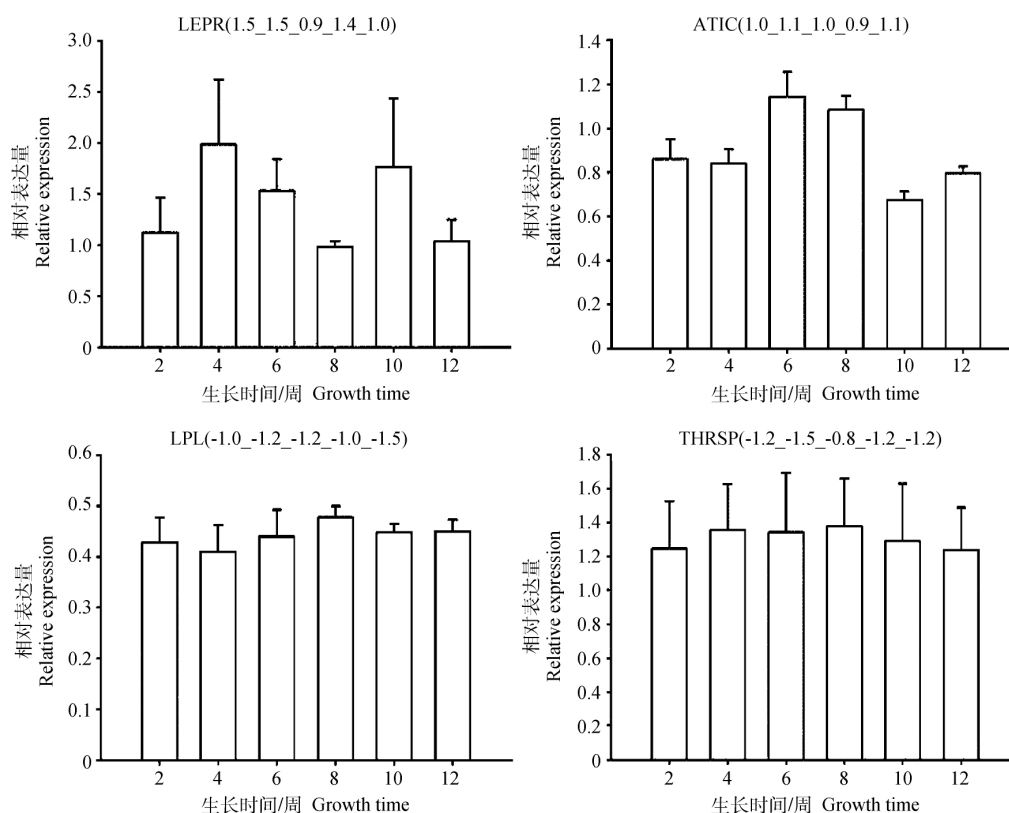


数值代表样本间的距离。不同的颜色表示不同的样本。样本间距离越近表示样本基因的表达趋势比较类似

The values stand for the distance of samples. Different color represents different sample. The distance of samples is closer, the expression tendency is more similar

图 4 PCA 聚类分析图

Fig. 4 The profile of PCA clustering analysis



芯片杂交获得的基因表达改变倍数标注在括号中,以2周龄为标准,负数表示下调表达

The change ratios for each of the transcripts investigated using microarray chip are indicated in the bracket, the negative number indicates down-regulation expression and 2 week old as the standard

图 5 4个基因的实时荧光定量PCR分析

Fig. 5 Analysis of the expression changes of four genes by real-time quantitative PCR

王洪宝等^[22]采用的cDNA芯片仅包含约9204个cDNA序列的信息,比本试验所采用的Agilent鸡肌肉组织基因芯片(包含13379个探针组)要少得多,而本试验研究的是2、4、6、8、10、12周龄时如皋鸡肌肉组织基因的表达情况。分析原因可能是在肌肉发育的不同时期,生长发育反应的分子调控机

制的原料。Friedlander等报道LPL基因突变可导致LPL活性降低,引起血脂水平增高,加快动脉粥样硬化的形成和发展^[21]。本研究应用RT-PCR的方法检测了LPL基因在2、4、6、8、10、12周龄时如皋鸡肌肉中的表达量情况,芯片研究结果一致结果与其他3个基因LEPR、ATIC、THRSP的芯片结果均与RT-PCR的结果基本一致,说明利用基因芯片技术筛选肌肉组织差异表达基因是一种快速、高效和比较可靠的方法。它从基因组水平分析基因的表达,探讨差异表达基因间的内在联系与规律,研究造成不同生长时间下如皋鸡肌肉组织基因差异的分子生物学机理,是研究肌肉生长发育的有力工具。

制可能存在较大的差异。

鸡肌肉生长发育往往由多基因控制,涉及到一系列基因的差异表达。本试验中,筛选到的差异基因经过GO(<http://www.geneontology.org/>)简单的功能分类,主要涉及生长发育、分子代谢、脂类代谢、细胞增殖、转录和剪接因子以及蛋白质合成与分

解等相关基因,在差异表达基因中,除已有功能注释并证实受不同生长时间影响表达的基因外,还有一部分是没有报道的基因序列,将这些序列与鸡的全基因组数据库进行比对后,发现其序列定位信息均可知,但对应的基因没有足够的信息,而且这些序列在人或鼠上也只是一种假设的基因,推测他们可能是鸡基因组中未知的新基因,且它们的差异表达原因及作用机制还不清楚,有待开展深入的研究。

4 结 论

本研究利用基因芯片技术分析了不同生长时间如皋肌肉组织基因的表达情况,获得了如皋鸡肌肉组织基因动态变化表达谱,并对其进行多种聚类分析。结果表明,在 4 周龄时差异表达基因数量较多,随着生长时间的延长差异表达基因数量减少,然后又逐渐增加,并且 4 和 12 周龄时的基因表达变化趋势比较类似;受生长时间影响,下调表达的基因数量多于上调表达的基因数量;6、8 和 10 周龄下调表达的基因数量少于上调表达的基因数量。同一基因在不同生长时间的表达量存在很大的变化。不同生长时间基因的表达趋势不尽相同,存在上调表达和下调表达。这些差异表达的基因很可能参与肌肉生长发育的应答反应。

参考文献:

- [1] ALBERL E D, ADDIS P B, SHOFFNER R N. Fiber types in skeletal muscles of broiler and layer type chicken [J]. *Poult Sci*, 1979, 58:1210-1212.
- [2] ONO Y, IWAMOTO H, TAKAHARA H. The relationship between muscle growth and the growth of different fiber types in chicken [J]. *Poult Sci*, 1993, 72: 566-576.
- [3] 杨公社. 肉类学[M]. 西安: 陕西科技出版社, 1996.
- [4] 谢菊兰, 孙宗炎. 湘白猪 I 系、IV 系肌肉组织学观察[J]. *中国畜牧杂志*, 1998, 34(2): 28.
- [5] MORGAN R W, SOFER L, ANDERSON A S, et al. Induction of host gene expression following infection of chicken embryo fibroblasts with oncogenic Marek's disease virus[J]. *J Virol*, 2001, 75(1): 533-539.
- [6] ATTWOOD T, 李 伟. 生物信息学的通天塔[M]. 世界科学, 2001, 1: 19-21.
- [7] 郝柏林, 张淑誉. 生物信息学手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 10-30.
- [8] 赵国屏. 生物信息学[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 6-22.
- [9] 王 巍, 蒋劲松. 第 12 届国际逻辑学、方法论与科学哲学大会纪实[J]. *哲学动态*, 2003, 11: 39-41.
- [10] ZHU T. Global analysis of gene expression using GeneChip microarrays [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2003, 6: 418-425.
- [11] 单文娟, 董春发, 施季森. 基因芯片筛选差异表达基因方法比较[J]. *遗传*, 2008, 30(12): 1640-1646.
- [12] DATTA S, DATTA S. Comparisons and validation of statistical clustering techniques for microarray gene expression data [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19: 459-466.
- [13] LEVENSTIEN M A, YANG Y, OTT J. Statistical significance for hierarchical clustering in genetic association and microarray expression studies [J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4: 62.
- [14] HORIMOTO K, TOH H. Statistical estimation of cluster boundaries in gene expression profile data [J]. *Bioinformatics*, 2001, 17: 1143-1151.
- [15] YEUNG K Y, RUZZO W L. Principal component analysis for clustering gene expression data [J]. *Bioinformatics*, 2001, 17: 763-774.
- [16] SHAROV A A, DUDEKULA D B, KO M S H. A web-based tool for principal component and significance [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(10): 2548-2549.
- [17] RAYCHAUDHURI S, STUART J M, ALTMAN R B. Principal components analysis to summarize microarray experiments: Application to sporulation time series [J]. *Pacific Symposium on Biocomputing*, 2000, 5:452-463.
- [18] FLORINIJ R, EWTON D Z, COOLICAN S A. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis [J]. *Endocr Rev*, 1996, 17: 481-517.
- [19] 陈国宏, 吴信生, 王克华, 等. 肖山鸡、白耳鸡肌肉生长发育规律研究[J]. *江苏农学院学报*, 1998, 19(4): 63-66.
- [20] KEITH N, FRAGN S, COPPOCK W. Coordinated regulation of hormonesensitive lipase and lipoprotein lipase in human adipose tissue *in vivo*: implications for the control of fat storage and fat mobilization[J]. *Advan Enzyme Regul*, 1995, 35:163-178.
- [21] FRIEDLANDER Y, TALMUD P J, EDWARDS K L, et al. Sib2 pair linkage analysis of longitudinal changes in lipoprotein risk factors and lipase genes in women twins [J]. *Lipid Res*, 2000, 41(8): 1302-1309.
- [22] 王洪宝, 王启贵, 李 辉. 利用基因芯片技术研究两品种鸡脂肪组织差异表达基因[J]. *生物工程学报*, 2005, 21(6): 979-982.

(编辑 郭云雁)