

民猪和 大白猪背最长肌差异表达基因的筛选与注释

张冬杰, 刘 娣*, 汪 亮, 何鑫淼, 王文涛

(黑龙江省农业科学院畜牧研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 为了筛选民猪和 大白猪背最长肌中的差异表达基因, 本研究采用高通量测序技术, 构建了民猪(脂肪型)和 大白猪(瘦肉型)背最长肌组织的数字基因表达谱, 对差异表达的数字基因进行了筛选与注释, 并进行了 GO 和通路的功能显著性富集分析。结果表明, 民猪和 大白猪分别获得 5 000 000 多条可用的标签数据(Clean tag), 其中拷贝数大于 100 的标签所占比例最高, 分别为 88.62% 和 84.62%; 完全比对到正义链上, 且 1 个标签仅比对到 1 个基因的分别为 2 351 788 和 2 388 175 条。以 大白猪为对照组, 民猪与之相比, 差异倍数在 2 倍以上的共有 1 098 个基因, 其中 44 个上调表达, 1 054 个下调表达, 有 11 个基因只在民猪中表达, 256 个基因只在 大白猪中表达, 差异表达基因中包括多个与肌内脂肪含量、脂类代谢、肉色、嫩度和肌肉生长发育相关的基因或转录子。民猪和 大白猪分别预测到了 23 853 个和 34 731 个定位在猪基因组不同位置的新转录本, 其中包含存在 1 个碱基错配的标签。民猪和 大白猪之间的差异基因在细胞所处位置方面显著富集的条目有细胞质、膜旁细胞器、色素粒、水解性液泡、部分细胞内等共计 18 个; 在基因分子功能方面显著富集的条目有蛋白结合和氧化还原酶活性 2 个; 在参与的生物过程方面显著富集的条目有对压力的应答、对活性氧的应答和羧酸代谢过程等 14 个。显著富集的通路共计 11 个, 按照 *P* 值从小到大的顺序, 溶酶体、PPAR 信号通路和胆汁酸合成通路为差异最显著的 3 个通路。本研究结果可为今后挖掘新基因和研究影响猪肉品质的遗传因素等提供理论依据。

关键词: 背最长肌; 差异表达; 新转录子; 高通量测序

中图分类号: S828; S813.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)02-0181-07

Screen and Annotation of Different Expression Genes in Min Pig and Yorkshire Pig *Longissimus dorsi* Muscle

ZHANG Dong-jie, LIU Di*, WANG Liang, HE Xin-miao, WANG Wen-tao

(Institute of Animal Husbandry, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to find the different expression genes in longissimus muscle of Min pig and Yorkshire pig. In this study, the digital gene expression(DGE) profile in *longissimus dorsi* muscle of Min pig (fat) and Yorkshire pig (lean) were built by high-throughout sequencing technology, the different expression genes were screened and annotation. Significant enrichment analysis of GO and Pathway were done. The results showed that more than 5 000 000 clean tags were obtained from Min pig and Yorkshire pig, the tags whose copy number were greater than 100 occupied the most percentage, Min pig and Yorkshire pig were 88.62% and 84.62%, respectively. Completely blast to the sense chain and one tag only blast to one gene, Min pig and Yorkshire pig were 2 351 788 and 2 388 175, respectively. Min pig compared to Yorkshire pig, different multiples more than two times were 1 098, among them, 44 were up-regulated genes and 1 054 were down-

收稿日期: 2012-06-28

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-36); 转基因生物新品种培育重大专项(2008ZX08006-003)

作者简介: 张冬杰(1980-), 女, 博士, 黑龙江佳木斯人, 副研究员, 主要从事猪分子遗传育种研究, E-mail: djzhang8109@163.com

* 通信作者: 刘 娣(1963-), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事猪遗传育种与繁殖研究, E-mail: liudi1963@163.com

regulated genes, 11 genes expressed only in Min pig, 256 genes expressed only in Yorkshire pig. Different expression genes included some genes and transcripts related to intramuscular fat content, lipid metabolism, meat color, tenderness and muscle growth. 23 853 and 34 731 novel transcripts located at the different sites of the pig genome were predicted in Min pig and Yorkshire pig, respectively, which including one base mismatch tags. Terms from the component ontology were 18, including cytoplasm, membrane-bounded organelle, pigment granule, lytic vacuole, extracellular region part, etc. Terms from the function ontology were 2, including protein binding and oxidoreductase activity. Terms from the process ontology were 14, including response to stress, response to reactive oxygen species and carboxylic acid metabolic process, etc. Terms from pathway were 11, according to the *P* value from small to large, lysosome, PPAR signaling pathway and primary bile acid biosynthesis were the most significantly different pathways. The results of this study could provide a theoretical basis for studying the novel genes or finding genetic factors affecting pork quality.

Key words: *longissimus dorsi* muscle; differential expression; novel transcripts; high-throughout sequencing

高通量测序技术(High-throughout sequencing technology)也被称为下一代测序技术(Next generation sequencing),可以同时为数百万个 DNA 分子进行测序,这使得对一个物种的转录子和基因组进行细致全面的分析成为可能^[1]。2011 年 A. J. Amaral 等通过大量的平行测序,从全基因组水平上分析了人工选育对家猪遗传基础造成的影响,推测大约有 7% 的基因组受到了人工选育的影响^[2],Illumina 公司也通过高通量测序技术研发了猪的 SNP60 基因分型芯片^[3]。全基因组测序完成后,首先要面对的就是转录组研究,因为它是研究基因功能及结构的基础和出发点。但是在大多数情况下,研究人员更关注某一特定的生物过程、发育阶段或处理后的基因表达变化情况。基因芯片技术曾在解决这一问题中提供了有力的技术支持,但它只能检测已知序列的特征,对于未知的序列无能为力。建立在高通量测序基础上的数字化基因表达谱(Digital gene expression profiling, DGEP)分析弥补了基因芯片的这一缺陷,可对任何生物整体转录活动进行检测,并可发现新的转录子。2011 年 X. J. Li 等人即通过 DGEP 分析筛选了影响猪脂肪沉积的关键基因^[4]。

背最长肌是人们研究和评价猪肉品质时最常用到的实验材料,通常采集倒数第二、三肋骨处的肌肉用于研究,测定指标包括肉色、大理石纹、失水率、pH、滴水损失、嫩度等^[5]。民猪是我国优良的地方猪种之一,在繁殖性能和猪肉品质方面均要显著优

于大白猪、长白猪等引进猪种。为了深入研究民猪优良肉质性状的遗传机制,本研究采用高通量测序技术,构建了民猪(脂肪型)和大白猪(瘦肉型)背最长肌组织的数字化基因表达谱,并对两者之间的差异基因进行了筛选与注释。

1 材料与方法

1.1 试验材料与测序

选择 8 月龄同期饲养的民猪和大白猪各 3 头,屠宰,取背最长肌 10 g 左右, -80 °C 贮存,提取各样品总 RNA,民猪和大白猪的总 RNA 分别等量混合,组成 2 个总 RNA 池,送交北京华大基因有限公司采用 Solexa 测序技术对样品进行测序。

1.2 数据整理与分析

1.2.1 原始数据的去杂 测序所获得的原始序列数据均带有一段 3' 接头序列,并且含有少量低质量序列以及各种杂质成分,经过数据处理,得到可用的干净的标签数据(Clean tag)。具体处理方法如下:去除 3' 接头序列、去除空载读长、去除低质量标签(含有未知碱基 N 的标签)、去除长度过小或过大的标签,取长度为 21 nt 的标签、去除拷贝数为 1 的标签(可能是测序错误)。

1.2.2 序列分布规律统计 标签的拷贝数反映了相应基因的表达量,可根据测得数据的分布情况评估整体数据是否正常。根据拷贝数的多少分为如下 6 类: $2 \leq n \leq 5$ 、 $6 \leq n \leq 10$ 、 $11 \leq n \leq 20$ 、 $21 \leq n \leq 50$ 、 $51 \leq n \leq 100$ 、 $n \geq 100$, 分别统计每类中标签所占

的比例。

1.2.3 标签的比对分析 将测得结果与猪的参考基因 (ftp://ftp.ncbi.nih.gov/repository/UniGene/Sus_scrofa/Ssc.seq.uniq.gz) 进行比对,利用软件检索 mRNA 上所有的 CATG 位点,生成 CATG+17 nt 碱基的参考标签数据库。将全部干净的标签数据与参考标签数据库比对,最多允许 1 个碱基错配,对其中比对到唯一 1 个基因的标签 (Unambiguous tags) 进行基因注释,统计每个基因对应的原始标签数,然后对原始标签数做标准化处理,获得标准化的基因表达量。标准化处理方法为:每个基因包含的原始标签数/该样本中总标签数 $\times 1\,000\,000$ 。

1.2.4 差异基因的筛选 参照北京华大提供的数字化基因表达谱差异基因检测方法,将 FDR (False discovery rate) 值设为 ≤ 0.001 ,且差异倍数在 2 倍及以上的基因定为差异表达基因,差异倍数按照如下公式计算: \log_2 (民猪基因标准化后的表达量/大白猪基因标准化后的表达量)。

1.2.5 反义转录本与新转录本分析 统计能比对到基因反义链的标签,推测这样的基因可能存在正义-反义 (Sense-antisense) 调控方式。将不能比对到参考基因和线粒体基因组的标签比对到核基因组,给出标签能唯一比对上的核基因组区域,判断相关区域是否存在未发现的新转录本。

1.2.6 GO 功能显著性富集分析 把所有差异表达基因向 Gene Ontology 数据库的各条目映射,计算每个条目的基因数目,然后应用超几何检验,找出与整个基因组背景相比,在差异表达基因中显著富集的 GO 条目,其计算公式为:

$$P = 1 - \sum_{i=0}^{m-1} \frac{\binom{M}{i} \binom{N-M}{n-i}}{\binom{N}{n}}$$

其中, N 为基因组中具有 GO 注释的基因数目; n 为 N 中差异表达基因的数目; M 为基因组中注释为某特定 GO 条目的基因数目; m 为注释为某特定 GO 条目的差异表达基因数目。计算得到的 P 值通过 Bonferroni 校正之后,以校正后的 P 值 ≤ 0.05 为阈值,满足此条件的 GO 条目定义为在差异表达基因中显著富集的 GO 条目。

1.2.7 通路显著性富集分析 以 KEGG 通路为单位,找出与整个基因组背景相比,在差异表达基因

中显著性富集的通路。计算公式与 GO 功能显著性富集分析相同,其中 N 为具有通路注释的基因数目; n 为 N 中差异表达基因的数目; M 为芯片中注释为某特定通路的基因数目; m 为注释为某特定通路的差异表达基因数目。 $Q \leq 0.05$ 的通路定义为在差异表达基因中显著富集的通路 (Q 表示错误比例, $Q = V/R$,其中, R 代表所挑选的差异基因个数, V 代表没有差异表达的基因个数,即假阳性结果)。

1.2.8 测序饱和度分析 根据测序数据产出量和基因比对的量进行饱和度分析,检验随着测序量的增加检测到的基因是否随之上升。

2 结果

2.1 测序质量评估

通过对成年民猪和 大白猪背最长肌组织进行高通量测序,分别获得原始标签数为 5 963 802 和 5 906 174 条,将原始序列经过去杂处理后,民猪和 大白猪所获得的可用于分析的序列标签数分别为 5 819 321 和 5 710 350 条,分别占总标签数的 97.58% 和 96.68%,说明测序获得的序列质量较高。

2.2 可用于分析的序列标签拷贝数分布统计

从表 1 可以看出,拷贝数大于 100 的标签数占总标签数比例最高,而拷贝数介于 6 和 10 之间的标签数占总标签数比例最低,2 品种间的分布规律相似,无显著差异。

表 1 可用于分析的序列标签拷贝数的分布

Table 1 Distribution of sequence tag copy number used in this study

拷贝数 (n) Copy number	民猪 Min pig		大白猪 Yorkshire pig	
	标签数 No. of tag	比例/% Percentage	标签数 No. of tag	比例/% Percentage
$2 \leq n \leq 5$	122 076	2.10	164 315	2.88
$6 \leq n \leq 10$	75 283	1.29	97 731	1.71
$11 \leq n \leq 20$	100 276	1.72	127 374	2.23
$21 \leq n \leq 50$	178 888	3.07	242 333	4.24
$51 \leq n \leq 100$	185 925	3.19	246 536	4.32
$n \geq 100$	5 156 873	88.62	4 832 061	84.62

2.3 可用于分析的序列标签的比对统计

参考基因组数据库共有基因 51 270 个,其中带

有 CATG 位点的基因 46 472 个,占总数的 90.64%,共有标签 175 933 条,其中清楚的可用于分析的标签共 164 908 条,占总数的 93.73%。将测得的民猪和大白猪可用于分析的标签分别比对到参考基因组数据库,其中民猪完全比对到正义链的 1 个标签,比对到 1 个基因的共计 2 351 788 条,占总数的 40.41%,大白猪为 2 388 175 条,占总数的 41.82%;在民猪上,1 个标签比对到基因组 1 个位置的为 354 272 条,占总数的 6.09%,大白猪为 496 803 条,占总数的 8.70%;没有比对上的标签,民猪为 379 449 条,占总数的 6.52%,大白猪为 457 812 条,占总数的 8.02%。

表 2 民猪和大白猪背最长肌 19 个基因表达情况

Table 2 Expression level of 19 genes in *longissimus dorsi* muscle of Min pig and Yorkshire pig

基因名称 Gene	基因符号 Symbol	标准化后的基因表达量		差异倍数 Fold change	基因功能 Gene function
		Expression level			
		大白猪 Yorkshire pig	民猪 Min pig		
肌球蛋白重链	MYHC	1.58	0.01	-7.303	肌纤维类型 ^[6]
I 型兰尼定受体	RYRI	2 222.28	1 294.48	-0.779	肌肉生长发育 ^[7]
脂肪细胞定向分化因子 1	ADD1	6.83	4.12	-0.729	肌内脂肪含量 ^[8]
脂肪酸合成酶	FAS	0.35	0.01	3.129	肌内脂肪含量 ^[9]
肌细胞生成素	MyoG	1.58	0.34	-2.216	终止成肌细胞的增殖 ^[10]
脂蛋白酯酶	LPL	5.08	1.03	-2.302	脂类代谢 ^[11]
真核细胞翻译起始因子	eIF4E	11.73	6.01	-0.965	起始蛋白质翻译 ^[12]
脂肪酸结合蛋白	FABP4	3.85	0.34	3.501	肌间脂肪 ^[13]
钙蛋白酶抑制蛋白	CAST	16.29	10.14	-0.684	肌肉嫩度 ^[14]
钙蛋白酶 1	CAPN1	1.23	0.01	-6.942	肌肉嫩度 ^[15]
活化转录因子 4	ATF4	997.49	1 735.6	0.799	脂肪和能量代谢 ^[16]
组织蛋白酶 B	CTSB	191.06	23.54	-3.021	参与肌肉蛋白质水解,影响肌肉嫩度 ^[17]
肌红蛋白	Mb	1 481.35	399.87	-1.889	肉色 ^[18]
血红蛋白	Hb	0.35	0.01	-5.129	肉色 ^[18]
胰岛素样生长因子结合蛋白 3	IGFBP3	0.01	0.34	5.087	肌肉生长发育 ^[19]
胰岛素样生长因子结合蛋白 5	IGFBP5	13.13	7.73	-0.764	肌肉生长发育 ^[19]
胰岛素样生长因子 2 受体	IGF2R	0.01	0.34	5.087	肌肉生长发育 ^[19]
小窝蛋白 1	Cav-1	171.27	26.81	2.675	脂肪在肌细胞中的沉积 ^[20]
抑肌素	MSTN	1.75	1.89	0.111	抑制肌肉生长 ^[21]

2.5 反义转录本与新转录本预测结果

民猪能比对到基因反义链的标签为 6 558 条,占可用于分析标签总数的 0.11%,大白猪比对到基因反义链的标签为 8 528 条,占可用于分析标签总数的 0.15%。民猪和大白猪分别预测到了 23 853

2.4 差异表达基因及部分功能基因的表达

通过对民猪和大白猪背最长肌 2 个 RNA 池的高通量测序,并进行差异基因筛选,结果发现,以大白猪为对照组,民猪与之相比,差异倍数在 2 倍以上的共有 44 个表达上调基因,1 054 个表达下调基因,其中,有 11 个基因只在民猪中表达,256 个基因只在大白猪中表达。

有很多转录因子和基因与肌内脂肪沉积、骨骼肌发育以及肌肉嫩度、肉色等相关,为了研究这些相关基因在民猪和大白猪背最长肌基因表达谱中的情况,本研究在前人研究的基础上,选择了 19 个基因进行分析,具体分析结果见表 2。

和 34 731 个定位在猪基因组不同位置的新转录本,其中包括含有 1 个碱基发生错配的标签。

2.6 GO 功能显著性富集分析

GO 总共有 3 个本体(Ontology),包括基因的功能、所处的细胞位置和参与的生物过程。民

猪和 大白猪之间的差异基因在细胞所处位置方面显著富集的条目有 18 个,主要有细胞质、膜旁细胞器、胞内膜旁细胞器、色素粒、水解性液泡、部分胞内等;在基因分子功能方面显著富集的条目有 2 个,一个是蛋白结合(Protein bining),另一个是氧化还原酶活性,供体为含硫基,受体为 NAD 或 NADP(Oxidoreductase activity, acting on a sulfur group of

donors, NAD or NADP as acceptor);在参与的生物过程方面显著富集的条目共计 14 个,排在前三位的分别为对压力的应答、对活性氧的应答和羧酸代谢过程。

2.7 通路显著性富集分析

民猪和 大白猪背最长肌间差异表达基因显著富集的通路共计 7 个,通路信息如表 3 所示。

表 3 民猪和 大白猪间差异基因显著富集的 7 个通路

Table 3 Enriched 7 pathways of different expression genes (DEGs) between Min pig and Yorkshire pig

编号 Number	通路名称 Pathway name	通路中有注释的差显 基因数目 Number of DEGs with pathway annotation	Q 值 Q value	通路 ID 号 Pathway ID	通路注释 Pathway annotation
1	溶酶体 Lysosome	31	0.007 8	ko04142	参与细胞膜上细胞表面分子与受体的调节以及抵御细胞外侵害
2	PPAR 信号通路 PPAR signaling pathway	23	0.007 8	ko03320	参与调节脂类代谢、机体免疫、细胞分化及细胞凋亡等
3	基本的胆汁酸合成 Primary bile acid biosynthesis	8	0.025 3	ko00120	合成胆汁酸
4	内吞作用 Endocytosis	45	0.025 3	ko04144	将细胞外物质转运入胞内
5	过氧化物酶体 Peroxisome	20	0.025 3	ko04146	参与脂肪酸的 β 氧化、解毒
6	氧化磷酸化 Oxidative phosphorylation	25	0.025 3	ko00190	有机物包括糖、脂、氨基酸等在分解过程中释放能量,驱动 ATP 合成
7	帕金森症 Parkinson's disease	27	0.036 1	ko05012	帕金森病

2.8 测序饱和度分析

当测序量达到 2 M 以上时,检测到的基因数目

趋于饱和,两者间没有差异(图 1)。

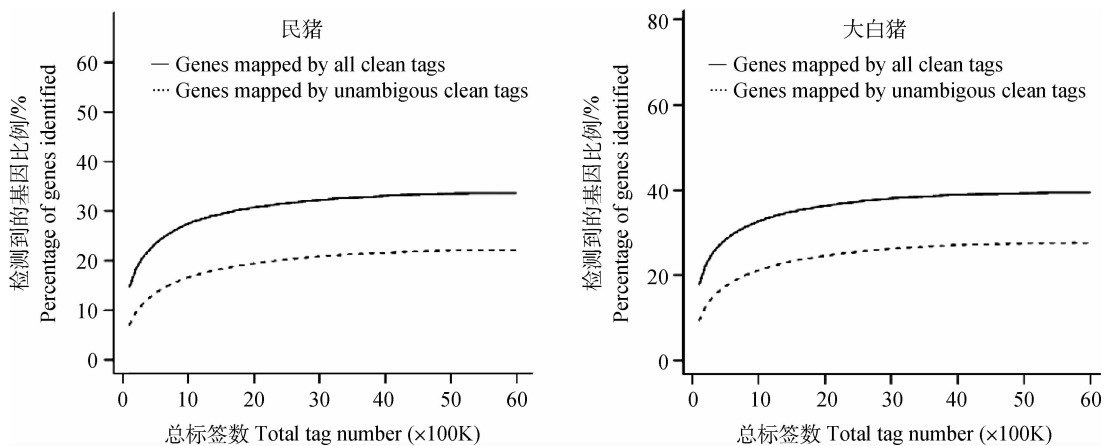


图 1 饱和度分析

Fig. 1 The analysis of saturation

3 讨论

3.1 高通量测序数据的初步分析

本研究通过高通量测序获得的猪背最长肌组织的总标签数(约5 750 000条)要高于已知的猪脂肪组织的检测结果(约3 500 000条)^[4],但低于猪肺组织的检测结果(约7 200 000条)^[22]。由于目前可用于参考的猪其他组织的测序结果还很有限,无法得出肯定的结论,但根据已有的检测结果推测,不同组织由于其发育和所行使的生理功能不同,所含的基因数目相差较大,但在基因拷贝数方面,三者均为拷贝数大于100的标签数占总标签数比例均最高。

编码蛋白的基因是细胞生命过程的主要控制者,但近年研究表明,非编码RNA也广泛的参与细胞转录或翻译水平的调控,这其中就包括反义链转录产物^[23]。如果测得的标签能比对到基因的反义链,则暗示该基因的反义链也包含转录本,该基因可能存在正-反义(Sense-antisense)的调控方式。全基因组范围内的天然反义链转录产物在各种动物和植物中都有报道,包括人类、小鼠、大鼠、鸡、果蝇、线虫、水稻、拟南芥和酵母等。科学家通过对转录元件重叠率的分析,预测反义链转录产物在动物中占5%~29%,在植物中占7%~9%^[24]。本研究中,在民猪和大白猪背最长肌中预测到的反义链转录本仅为0.1%左右,可见,猪背最长肌中虽然存在正-反义(Sense-antisense)的调控,但并不占主要调控位置,仍以编码蛋白调控为主。

3.2 部分差显基因或转录子的表达分析

本研究共获得了1 098个差异表达基因,其中还包括部分未知基因,因数据量庞大,很难对每个基因进行细致的分析和探讨。因此,我们选择了19个可能与脂类代谢、肌内脂肪沉积、肉色、嫩度等性状相关的基因进行比对和分析,结果发现,其中有8个基因在两者间表达差异不显著,11个差异显著。民猪与大白猪相比,一个显著特点就是“肉香”,而决定“肉香”的一个关键指标就是肌内脂肪含量,在11个差显基因中有3个与脂肪沉积相关的基因,即FAS、FABP4和Cav-1。虽然有研究表明,FAS表达水平的升高能够显著地增加甘油三酯在体内的沉积而导致肥胖,但陈杰等人在对苏太猪的研究中发现,FAS基因的表达水平与肌内脂肪含量之间并无显著相关^[9],但在本研究中,民猪FAS的表达水平要显著高于大白猪。FABP4和Cav-1是2个表达

量与肌内脂肪含量显著正相关的基因,本研究结果与前人相似,即脂肪型民猪FABP4和Cav-1的表达水平要显著高于瘦肉型大白猪。

3.3 GO和通路分析

GO和KEGG数据库分别是为了注释基因功能和研究基因作用通路而开发的。在本研究中,结合GO功能富集分析和通路富集分析对高通量测序技术获得的脂肪型猪与瘦肉型猪背最长肌间差异表达基因数据进行了生物信息学分析。结果发现,在细胞定位方面二者间显著富集的条目较多,但相对集中,多集中在各种细胞器、细胞核、还有各种膜上;在对另外2个本体进行差异基因的富集分析时发现,差异基因主要富集在氧化代谢方面,而且在后续的通路分析中,也检测到了如过氧化物酶体和氧化磷酸化这样的代谢通路,这说明在民猪和大白猪背最长肌中,存在显著差异的是一些基础的氧化代谢通路及其相关基因,而并不是我们最初设想的那些可影响肌内脂肪沉积、肉色、嫩度等的相关基因及调控通路。

在差异显著的通路中,我们发现了1个与调节脂类代谢显著相关的PPAR信号通路,这说明民猪和大白猪的背最长肌中,脂类代谢的差异主要还是因为PPAR信号通路上一些相关基因表达水平的差异。民猪与大白猪相比,除了RXR基因表达水平升高外,其他如LXR α 、ACS、CPT-2等20余个基因的表达水平均出现下降,该结果可为下一步研究脂类代谢及筛选主效功能基因提供参考。

猪是人类较为理想的医学模型,通过建立与人类疾病相似的猪医学模型,研究疾病发生的基因调控或作用机制,可为人类疾病防治提供科学依据。本研究中发现了27个在帕金森症通路中差异表达的基因,其中包括parkin^[25]、PINK1^[26]和LRRK2^[27]等已知的与帕金森病相关的基因,这也预示着我们可以考虑通过构建帕金森病猪模型,来研究该病的致病机理以及开发临床用药等。

4 结论

本研究筛选到了多个与肌内脂肪沉积相关的功能基因,同时也发现了1个与调节脂类代谢显著相关的PPAR信号通路,初步揭示了民猪与大白猪间肌肉组织的性状差异原因。

参考文献:

[1] 王兴春,杨致荣,王敏,等.高通量测序技术及其应

- 用[J]. 中国生物工程杂志,2012,32(1):109-114.
- [2] AMARAL A J, FERRETTI L, MEGENS H J, et al. Genome-wide footprints of pig domestication and selection revealed through massive parallel sequencing of pooled DNA [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(4): e14782. doi:10.1371/journal.pone.0014782.
- [3] RAMOS A M, CROOIJMANS R P M A, AFFARA N A, et al. Design of a high density SNP genotyping assay in the pig using SNPs identified and characterized by next generation sequencing technology [J]. *PLoS ONE*, 2007, 4(8): e6524. doi:10.1371/journal.pone.0006524.
- [4] LI X J, YANG H, LI G X, et al. Transcriptome profile analysis of porcine adipose tissue by high-throughput sequencing [J]. *Anim Genet*, 2011, 43(2): 144-152. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02240.x.
- [5] 郭建凤,武英,王继英,等. 专门化品系 ZFD 猪生长性能、胴体性能及不同部位肌肉品质研究[J]. 西北农业学报,2010,19(1):22-25.
- [6] 呼红梅,朱荣生,张印,等. 莱芜猪和杜洛克猪背最长肌肌球蛋白重链组成[J]. 中国农业科学,2008,41(11):3754-3759.
- [7] 蒋岸岸,李明洲,官久强,等. 2 个猪品种的背最长肌组织中兰尼定受体(RYR1)基因表达的发育性变化[J]. 基因组学与应用生物学,2010,29(3):485-489.
- [8] 陈杰,赵茹茜,杨晓静,等. *ADD1* 基因 PCR-SSCPs 标记与猪肌肉脂肪含量及背膘厚的关系[J]. 南京农业大学学报,2004,27(3):66-69.
- [9] 陈杰,杨晓静,佟辉,等. *FAS* 和 *HSL* mRNA 在猪背最长肌的表达及其与肌肉脂肪含量的关系[J]. 农业生物技术学报,2004,12(4):422-426.
- [10] 单立莉,张敏,苗志国,等. Myogenin mRNA 丰度在金华猪和长白猪背最长肌中的表达[J]. 中国兽医学报,2009,29(3):374-377.
- [11] 杜瑞平,高民,卢德勋. *t10*, *c12*-*CLA* 对猪皮下脂肪和背最长肌组织脂类代谢的影响[J]. 畜牧与饲料科学,2011,32(9-10):133-136.
- [12] 杨舟,王修启. 不同品种猪背最长肌 *eIF4E*、*PPARGC-1*、*VEGFA* 和 *C-Jun* mRNA 丰度比较研究[J]. 华北农学报,2010,25(增刊):258-262.
- [13] 徐秋良,张庆莉,陈玉林. 绵羊脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白基因(*FABP4*) cDNA 的克隆、表达及其结构模拟分析[J]. 农业生物技术学报,2011,19(3):483-489.
- [14] 刘香,虞德兵,邱新深,等. 苏太猪 *CAST* 基因多态性与肉质性状的相关性研究[J]. 畜牧与兽医,2010,42(4):15-18.
- [15] 武秀香,施雪奎,吴海涛,等. *CAPN1* 基因遗传变异及其对牛肉质性状的效应分析[J]. 中国农业科学,2011,44(7):1466-1473.
- [16] 陈超,吴望军,熊远著. 猪 *ATF4* 基因多态性与生产性状的关联及基因表达分析[J]. 遗传,2011,33(12):1347-1352.
- [17] 陈磊,王金勇,李学伟,等. 猪 *Cathepsin B* 基因和 *Cystatin B* 基因 mRNA 表达的发育性变化及组织差异[J]. 中国农业科学,2009,42(12):4341-4348.
- [18] 马文强,冯杰,许梓荣,等. 猪背最长肌肌红蛋白基因片段的克隆及甘氨酸铁对其表达的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2009,35(5):503-508.
- [19] 顾以韧,张凯,李明洲,等. 猪背最长肌中胰岛素样生长因子(IGFs)系统基因的发育表达模式[J]. 遗传,2009,31(8):837-843.
- [20] 王翀,梅盈洁,李莉,等. 猪小窝蛋白 1(*caveolin-1*) 的基因结构及在各组织中的表达分析[J]. 中国科学 C 辑:生命科学,2008,38(7):619-625.
- [21] 杨晓静,陈杰,胥清富,等. 二花脸猪和大白猪背最长肌中肌肉生长抑制素和生肌调节因子基因的表达及其性别特点[J]. 南京农业大学学报,2006,29(3):64-68.
- [22] XIAO S, JIA J, MO D, et al. Understanding PRRSV infection in porcine lung based on genome-wide transcriptome response identified by deep sequencing[J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(6): e11377. doi: 10.1371/journal.pone.0011377.
- [23] KATAYAMA S, TOMARU Y, KASUKAWA T, et al. Antisense transcription in the mammalian transcriptome [J]. *Science*, 2005, 309(5740):1564-1566.
- [24] 方宇峰. 新型隐球酵母 *LAC1* 基因正相关反义链的克隆与转录研究 [D]. 天津:南开大学,2010.
- [25] 唐北沙,严新翔,沈璐,等. 帕金森病 *parkin* 基因的突变分析[J]. 中华内科杂志,2001,40(12):799-801.
- [26] 刘越存,张玉虎,王丽娟. 帕金森病 *PINK1* 基因的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志,2008,35(1):79-83.
- [27] 刘鹏,秦川. *LRRK2* 基因与帕金森病[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(8):40-43.