

猪肉基因(组)研究进展及相关问题探讨

朱猛进,刘 榜,李 奎

(华中农业大学动物科技学院动物分子生物学与育种实验室,武汉 430070)

摘要:肌肉生长和品质是目前猪肉分子遗传基础研究的两个重要内容。通过候选基因法和基因组扫描法已鉴定出包括氟烷基因和酸肉基因在内的多个影响猪肉生长和品质的功能基因及若干 QTLs。猪肌肉和脂肪相关基因转录谱的研究亦初步展开。但是,这些研究在一定程度上均表现出某些不足。分子数量遗传学的研究过分强调单个基因的作用而忽略了多基因的系统表达模式,转录谱的研究则存在实验技术单一以及将肌肉和脂肪受控基因人为分离进行研究的缺陷。用系统的观点和方法对猪肉相关基因进行并行遗传学研究,揭示猪肉生长发育过程中骨骼肌细胞和脂肪细胞基因表达调控的分子互作机制将是今后猪肉基因(组)研究的重要方向。

关键词:猪肉;基因;转录谱;不足

中图分类号:S828.2

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2005)01-0137-06

Progress in Porky Genes and Transcriptome and Discussion of Relative Issues

ZHU Meng-Jin, LIU Bang, LI Kui

(Laboratory of Molecular Biology and Animal Breeding, College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: To date, research on molecular base of porky molecular development was mainly involved in muscle growth and meat quality. Some functional genes including *Hal* gene and *RN* gene and some QTLs controlling or associated with porky growth and quality were detected through candidate gene approach and genome-wide scanning. Genic transcriptome pertinent to porcine muscle and adipose also came into study. At the same time, these researches have befallen some shortcomings to some extent. Research from molecular quantitative genetics showed shortcomings that single gene was devilishly emphasized and co-expression pattern of multi-genes was ignored. Research applying transcriptome analysis tool also met two of limitations, one was the singleness of type of molecular experimental techniques, and another was that genes of muscle and adipose were artificially divided into unattached two parts. Thus, porky genes were explored by parallel genetics based on systemic views and techniques to specially reveal the interactional mechanism of porky genes respectively controlling muscle and adipose, which would be important issues of genes and genome researches on porky development in the near future.

Key words: pork; gene; transcriptome; shortcoming

猪肉是我国居民生活的重要动物蛋白食物来源,猪肉产量和品质是畜牧界最为关注的问题之一,

对猪肉生长品质的分子遗传基础研究具有十分重要的理论和实践意义。骨骼肌的生长速度是决定猪肉

收稿日期:2004-01-16;修回日期:2004-03-26

基金项目:国家自然科学基金重点项目(No. 30330440 和 No. 30371029)[Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30000119 and No. 30371029)]

作者简介:朱猛进(1974—),男,硕士,讲师。研究方向:动物遗传育种。Tel:027-87281306,E-mail:zhumengjin@mail.hzau.edu.cn

通讯作者:刘 榜(1963—),女,博士,教授,博士生导师。研究方向:动物遗传育种。Tel:027-87281306,E-mail:liubang@@public.wh.hb.cn

产量的主要因素,而肌内脂肪的相对含量亦是影响猪肉品质关键因素之一。脂肪和肌肉相关基因控制的性状在宏观上表现为生长、胴体和肌肉品质相关的性状。因此,对于猪肌肉生长和肌肉品质的分子遗传机制的研究主要围绕骨骼肌生长、胴体和肌肉品质相关性状而进行。近年来,对控制猪肌肉生长、脂肪沉积基因的研究一直是国内外学术界十分活跃的研究领域,特别是与猪肉品质有关的基因更是近几年来研究热点。本文就猪肌肉生长和品质相关基因(组)的研究进展进行了综述,同时对目前该领域存在的 key 问题进行了较为详细的探讨。

1 猪脂肪和肌肉相关基因研究进展

长期以来,建立在微效多基因模型基础上的传统数量遗传学缺乏剖解、分析单个数量性状基因的方法和手段,分子数量遗传学的出现则改变了这种局面。近年来,运用分子数量遗传学的研究方法挖掘、筛选数量性状基因或连锁标记一直是畜牧科学的研究热点。截至 2003 年,在猪的遗传图谱上已经有 924 个基因和 1641 个标记位点,物理图谱上已经有 1315 个基因和标记(<http://www.genome.iastate.edu/>)。猪基因作图结果的快速积累为其经济性状相关基因研究奠定了良好的基础。在有关脂肪和肌肉相关基因研究中,通过候选基因法(candidate gene approach)或基因组扫描法(genome-wide scan),在统计模型的支持下鉴定与生长、胴体和肌肉品质性状相关的基因或连锁标记,这方面的研究已积累了不少资料。

研究成果最显著的是两个近乎质量性状基因的肉质控制座位,即氟烷基因(*Hal*)和酸肉基因(*RN*)。氟烷基因(*Hal*)中的氟烷敏感等位基因(*Halⁿ*)已被 Fujii *et al.* (1991)^[1]和 Leach *et al.* (1996)^[2]证明能促进肌肉生长,抑制脂肪沉积并能导致 PSE 肉的发生,已清楚这些效应是由基因本身所致。酸肉基因(*RN*)是另一个可以确定为主效基因的少数基因之一,其中的等位基因 *RN⁻* 使得猪肉加工后失重多、引起酸肉状态,并在育种实践中成功应用^[3,4]。生长激素(growth hormone, *GH*)基因和类胰岛素生长因子(*IGF-Ⅱ*)基因由于在生长轴中调控地位的重要性而曾被当作肌肉生长性状的候选基因^[5~7]。心脏脂肪酸结合蛋白基因(heart fatty acid binding protein, *H-FABP*)和脂肪组织脂肪酸结合蛋白基因

(adipocyte fatty acid binding protein, *A-FABP*)作为肌内脂肪含量(intramuscular fat content, *IMF*)的候选标记已引起了国内外学者的关注,并有部分肯定性的研究结果^[8~11]。此外,te Pas 等(1999)认为肌细胞生成素基因(myogenin, *MYOG*)和初生重、生长速度及瘦肉率相关^[12]。钙蛋白酶抑制蛋白基因(calpastatin, *CAST*)和抑肌素基因(myostatin gene, *MSTN*)是肌肉生长的重要候选基因之一^[13]。与脂肪酸代谢有关酶类、结合蛋白基因是背膘厚和瘦肉率的重要候选基因,如激素敏感脂肪酶基因(hormone sensitive lipase, *HSL*)、肥胖基因(obese, *OB*)等。在 *QTL* 定位方面,De koning 等(1999)利用 127 个微卫星标记将背膘厚 *QTL* 定位在 7 号和 2 号染色体上,同时将肌内脂肪 *QTL* 定位在 2、4、6 和 7 号染色体上^[14]。还有研究者将肌纤维数 *QTL* 定位在 12 号染色体上,将肌肉嫩度 *QTL* 定位在 4、7 和 15 号染色体上,以及将平均背膘厚和腹肥肉率 *QTL* 定位在 4 号染色体上。

综合目前的研究文献看,与肌肉生长或脂肪沉积相关的 *QTL* 在 1、2、3、4、6、7、9、12、13、15 和 18 号染色体上均有发现。在这些研究中,*QTL* 的加性效应及在染色体上的位置的重复性不高、稳定性差。基因产生的生物学效应的分子机制多基于人为推测。除了氟烷基因(*Hal*)和酸肉基因(*RN* 基因)这类近乎质量性状基因的主基因外,对于肌肉生长、脂肪沉积这类典型数量性状的研究尚没有普遍认可的结果,所鉴定的基因或标记还远达不到分子育种应用的程度。

2 猪脂肪和肌肉相关基因转录谱及研究方法的研究概况

基因表达谱(expression profiles)包括转录谱(transcriptome or transcriptional profiles)和蛋白谱(proteome or proteomic profiles)两个方面。但在国内,人们并没有严格区分表达谱和转录谱的内涵,通常基因表达谱特指基因转录谱。基因转录谱一般指特定生物学过程的基因群表达。严格地讲,由于组成型基因不提供特异信息,因而基因转录谱特指目标组织或细胞在发育过程中奢侈基因(luxury gene)的顺序表达。这里的发育过程是广义的,除了自然生长与分化过程之外,还包括各种生理状态的转换过程,如正常与病理状态、正常与激活状态、疾病与

治疗状态的转换等。由于转录谱工具可以从基因表达水平系统研究猪肌肉发育的分子机制,因此从基因转录谱水平探讨猪肉相关性状分子遗传基础亦是近几年猪基础研究的重要内容之一。

研究肌肉和脂肪相关基因转录谱的方法有两类,一是基于生物信息学的电子信息杂交方法,即查询各类表达数据库,进行综合分析,研究基因的数字差异表达图谱^[15],这种方法可以对某些基因的生物学功能或肌肉和脂肪发育过程的参与基因进行鉴定^[16~18];二是分子生物学实验方法。用于基因表达研究的实验方法有 Northern 杂交、逆转录-PCR(RT-PCR)、差异显示 PCR 方法(differential display RT-PCR, DDRT-PCR)、消减杂交(subtractive hybridization, SH)、DNA 芯片技术(DNA chip technique)、基因表达系列分析(serial analysis of gene expression, SAGE)、表达序列标签串联排列连接(tandem arrayed ligation of expressed sequence tags, TALEST)^[19]和 GeneCalling 等。

在目前肌肉和脂肪相关基因转录谱的有关研究中,多为建立在小鼠和人中探讨具有潜在医学价值的特定基因,如 Jiang 等(2002)为了研究心肌耐氧能力用 SAGE 技术测定氧胁迫和经 HIF-1 α 处理心肌的基因表达差异^[20]、张芳林等(2002)为了延缓衰老而研究骨骼肌老龄化相关基因的表达谱、为治疗 Duchenne 型肌肉营养不良(DMD)而对营养失调病人骨骼肌和标本中的基因表达情况进行 cDNA microarray 分析(Noguchi, *et al.* 2003)等。而有关猪肌肉组织和脂肪细胞正常发育过程中基因表达谱的研究文献相对较少。Bai 等(2003)用 cDNA microarray 技术测定了猪不同类型骨骼肌中低等和中等丰度表达基因的差异转录谱,鉴定出一批可能参与肌肉表型决定(phenotype determination)的候选基因^[21]。本室潘佩文等(2001)用 mRNA 差异显示技术分析不同猪种肌肉发育过程中基因的表达差异,筛选出一批猪种特异表达和差异表达的 ESTs^[22]。我室赵书红等(2003)用 cDNA 宏阵列(cDNA macroarray)技术进行了相同目的的研究^[23]。Guo 等(2000)对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的基因转录谱进行了 cDNA/EST microarray 分析,发现脂肪细胞分化过程中约有 1/3 的基因在表达量上相差 5 倍以上^[24]。Ji 等(2000)就 BMP-2 诱导脂肪细胞表达进行了分析^[25]。Yao 等(2002)发展了从猪骨骼肌均

一化 cDNA 文库生成用于猪骨骼肌生长发育研究的载体 ESTs 的方法^[26]。此外,还有很多讨论基因差异表达研究技术问题的报道^[15,16,18,27~35]。

目前,肌肉细胞的普通生物学分化、发育过程是清楚的。哺乳动物肌细胞发育包括 3 个阶段,即成肌细胞(myoblast)分化形成阶段、成肌细胞迁移增殖阶段和肌管(myotube)形成阶段。目前已鉴定出 4 种控制肌细胞发育的基因,即 *myo D*、*myf 5*、*myogenin* 和 *mrf 4*。这些基因的表达产物形成同源二聚体或异源二聚体调节肌细胞特异基因转录,促进肌肉分化。*Myo D* 和 *myf 5* 促进成肌细胞的形成,肌管形成离不开 *myogenin*,这些基因的顺序表达对肌细胞的分化起关键的调节作用。不过,肌形成过程是极其复杂的,涉及很多胞质细胞因子,包括细胞凋亡过程。很多决定因子、增强因子和细胞周期调节因子还是未知的。影响肌纤维数量、肌纤维生长速度等对育种有重要意义的关键因子亦待鉴定。对于脂肪细胞的分化过程的部分分子基础亦较为清楚。脂肪细胞系起源于中胚层多能干细胞,经间充质前体细胞和前脂肪细胞,进而发育为成熟脂肪细胞。脂肪细胞的终末分化过程涉及 100 多种蛋白表达水平的改变。脂肪细胞的分化诱导涉及多种激素和生长因子,目前已经鉴定出 4 条信号传导途径。在细胞内部,C/EBP 转录因子家族、PPAR 转录因子家族是已鉴定出对脂肪细胞分化起调节作用的转录因子。一些抑制脂肪细胞分化的因子也被鉴定出来,如 *AP-2 α* 、*TNF- α* 、前脂肪细胞因子等。不过,很多脂肪细胞分化过程中的转录调控因子的功能尚待阐明,信号传导的胞内作用机制还缺乏足够的认识,而且在猪活体肌细胞和脂肪细胞的分化过程中,二者如何相互影响的分子机制都是需要研究的内容。

从这些研究进展可以发现,猪基因转录谱的研究主要局限于分子生物学实验方法,鲜见运用数字化研究方法的公开报道。而在已报道的分子生物学实验方法中,差异显示技术(DDRT-PCR 和消减杂交)检测基因数目有限,重复性差,不适合大规模的基因表达研究。而 GeneCalling 是一项受专利保护的技术。TALEST 除了部分流程外,与 SAGE 非常相似,但必须使用基于 Web 浏览器的软件,而且在猪的研究中目前尚无文献报道。DNA 芯片技术和 SAGE 技术是两大高通量检测技术,很适合用于猪

肌肉发育和品质相关性状的研究中,但在已公开的文献中,鲜见应用这两类技术探讨猪肉性状分子遗传基础的研究报道。尽管少数实验室开始在猪中运用 cDNA 阵列和 SAGE 这类基因高通量技术研究猪的基因转录谱,但那些旨在筛选猪经济性状主基因或关联标记的普通研究室很难承担 cDNA 阵列和 SAGE 技术带来的高昂实验成本。总而言之,目前有关猪肉性状基因转录谱的研究并不系统,侧重于分子生物学技术本身的研究较多,一些新的研究策略的运用相对不足。该领域的研究需要进一步加强和深入,直接以分子育种为目标的研究也需尽快开展。

3 猪脂肪和肌肉相关基因研究中的不足之处

3.1 分子数量遗传学研究的不足

目前猪脂肪和肌肉相关基因研究主要集中在分子数量遗传学研究方面,其中一个不足之处体现在将典型数量性状基因作为质量性状基因来处理,过分强调单个基因的作用,忽略了数量性状与质量性状的遗传基础差异。与质量性状不同,对于数量性状重要的不是性状的表现与否,而是性状的表现程度。这两个层面对应着性状构成物质的编码基因和编码基因的多级上游调节基因。因此将质量性状基因研究策略直接应用到数量性状基因研究是不合适的。数量性状受控于多基因,单个基因效应不如质量性状基因明显,对单个基因的操作难以实现数量性状的明显遗传改良。毫无疑问,目前此类研究的一个不足之处在于没有从基因表达调控的整体特征上进行把握,因而不能确定目标基因在肌肉和脂肪细胞分化发育过程中的相对重要性。肌肉和脂肪生长发育是一个由多基因参与的复杂生理过程,肌肉和脂肪细胞特异表达多基因之间表达调控的信息传递网络是肌肉和脂肪相关性状发育的分子基础。在目前猪脂肪和肌肉相关基因的研究中,过分关注单个基因。实际上,这种思路不符合数量性状多基因遗传的生物学基础。脂肪和肌肉相关性状属于典型的数量性状,受控基因较多,单个基因的效应不足以明显改变肌肉和脂肪的宏观性状(如明显提高肌肉生长速度或脂肪沉积速度、改善猪肉品质等)。到目前为止,质量性状基因的标志辅助选择是成功的,但对于典型的数量性状尚未见到经得起重复验证的报

道,原因之一就是过分注重单个基因的作用。

由于高等哺乳动物基因组中绝大部分基因在不同程度上存在染色体同源片段对应的进化事实,因此在结构基因组意义上,高等哺乳动物间的相同和同源基因数量和种类的差异是很小的,如在人和小鼠全套基因组的 3~4 万个功能基因中仅有 300 多个完全不同的基因。由此可见,具体性状的表现主要取决于多个基因不同的表达模式,而不是取决于参与基因的结构和种类,因此在探讨肌肉和脂肪相关基因的功能研究中,应注重功能基因的系统表达模式。因此,从基因调控表达网络着手,从整体上探讨肌肉和脂肪相关性状发育过程中有关基因的表达特征,这样有助于筛选那些在肌肉细胞和脂肪细胞分化和发育过程中起关键作用的重要功能基因。

3.2 基因转录谱研究策略的不足

从文献的数量上看,相对于分子数量遗传学的研究结果,猪肉相关性状基因转录谱的研究十分薄弱,而且这些研究尚存在诸多不足之处,其不足主要反应在两方面:(1)实验技术的不足。目前在猪中研究肌肉表达谱的研究多采用差异显示技术和 cDNA 阵列技术。差异显示技术检测基因数目有限,稳定性较差,不能满足规模化分析的要求。而 cDNA 阵列技术不属于“开放”结构检测技术,只能检测已点在载体上基因的表达量,对于未知基因的检测无能为力。(2)将肌肉和脂肪受控基因的转录谱分离开来,独立进行研究,这是目前运用基因转录谱技术研究肌肉和脂肪性状发育分子基础的又一缺陷。这类研究忽略了近年来内分泌学的一些新成果,即旁分泌(Paracrine secretion)和自分泌(Auto-secretion)的影响。实际上,猪肉中骨骼肌细胞控制基因和脂肪细胞控制基因是联系紧密、不可分割的。我国地方品种肌肉生长速度慢,但脂肪沉积较早且多,而西方现代猪种肌肉生长速度快,脂肪沉积量相对较少,从而影响了肌肉品质。显然,肌肉细胞控制基因和脂肪细胞控制基因是一个紧密联系、相互制约的平衡系统,二者的平衡点是肌肉品质的决定因素,最终反应了猪的生产类型。肌肉品质主要反应在到屠宰日龄肉块中肌肉和脂肪的相对比例。用动态的观点来看,问题的焦点体现在活体内肌肉细胞和脂肪细胞分化和生长相对速度的竞争上面,因此二者是一对相互拮抗的耦合体,是密不可分的整体。可见,目前同类研究的另一个不足之处就是将两者分离开

来。

4 结 语

目前,用分子数量遗传学方法数量基因进行定位的研究结果积累很快,但能得以确认的结果却很少(杨达,2003)^[36]。这种尴尬局面同样存在于猪肌肉相关性状的基因定位结果中。另一方面,用平行遗传学(parallel genetics)策略探讨猪肌肉多基因调控的研究仅初见端倪。总而言之,猪肉生长、发育(包括骨骼肌和脂肪细胞发育)研究中有许多尚未解决的问题,特别是猪肉性状中具有重要育种意义的具体生物学指标的分子遗传基础研究甚为欠缺,如肌纤维数量、肌纤维生长速度、脂肪在皮下和肌间等不同部位沉积的分子机理,以及骨骼肌细胞和脂肪细胞分化及生长发育的基因互作机制均有待阐明。典型数量性状拥有一套边界模糊、但相对独立的多基因调控系统,多基因的整体调控特性甚为重要。猪肉相关性状是典型的数量性状,受控于多基因调控系统,用新近出现的并行遗传学方法研究猪肉分子遗传特性是阐明骨骼肌和脂肪发育分子机理的重要手段和方法。和经典数量遗传学用黑箱思维处理多基因作用有本质的不同,用并行遗传学方法从整体特征上探索猪肉性状相关特性的分子遗传基础,是基于系统学的观点和方法。并行遗传学研究是建立在高通量分子生物学实验的应用基础之上的,所以今后该领域的一个十分重要的研究方向是运用高通量检测技术,解决猪肉生长、发育分子机理研究中仍然模糊的问题,特别是对猪骨骼肌细胞和脂肪细胞分化及生长发育的基因互作机制的系统解析。这将为猪生长速度和肌肉品质这对表型拮抗性状的共改良提供系统的理论依据。

参 考 文 献(References):

- [1] Fujii J, Otsu K, Zorzato F, de Leon S, Khanna V K, Weiler J E, O'Brien PJ, MacLennan D H. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 1991, 253(5018): 448~451.
- [2] Leach L M, Ellis M, Sutton D S, McKeith F K, Wilson E R. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. *J Anim Sci*, 1996, 74(5): 934~943.
- [3] Le Roy P, Naveau J, Elsen J M, Sellier P. Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genet Res*, 1990, 55(1): 33~40.
- [4] Milan D, Woloszyn N, Yerle M, Le Roy P, Bonnet M, Riquet J, Lahbib-Mansais Y, Caritez J C, Robic A, Sellier P, Elsen J M, Gellin J. Accurate mapping of the "acid meat" *RN* gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15. *Mamm Genome*, 1996, 7(1): 47~51.
- [5] Cheng W T, Lee CH, Hung C M, Chang T J, Chen C M. Growth hormone gene polymorphisms and growth performance traits in Duroc, Landrace and Tao-Yuan pigs. *Theriogenology*, 2000, 54(8): 1225~1237.
- [6] Knorr C, Moser G, Muller E, Geldermann H. Associations of *GH* gene variants with performance traits in F2 generations of European wild boar, Pietrain and Meishan pigs. *Anim Genet*, 1997, 28(2): 124~128.
- [7] Casas-Carrillo E, Prill-Adams A, Price S G, Clutter A C, Kirkpatrick B W. Relationship of growth hormone and insulin-like growth factor-1 genotypes with growth and carcass traits in swine. *Anim Genet*, 1997, 28(2): 88~93.
- [8] Gerbens F, Verburg F J, Van Moerkerk H T, Engel B, Buist W, Veerkamp J H, te Pas, Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs. *J Anim Sci*, 2001, 79(2): 347~354.
- [9] Gerbens F, Jansen A, van Erp A J, Harders F, Meuwissen T H, Rettenberger G. The adipocyte fatty acid-binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs. *Mamm Genome*, 1998, 9(12): 1022~1026.
- [10] Gerbens F, Rettenberger G, Lenstra J A, Veerkamp J H, te Pas M F. Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm Genome*, 1997, 8(5): 328~332.
- [11] Nechtelberger D, Pires V, Soolknet J, Stur, Brem G, Mueller M, Mueller S. Intramuscular fat content and genetic variants at fatty acid-binding protein loci in Austrian pigs. *J Anim Sci*, 2001, 79(11): 2798~2804.
- [12] te Pas M F, Soumilion A, Harders F L, Verburg F J, van den Bosch T J, Galesloot P, Meuwissen T H. Influences of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness, and lean weight of pigs. *J Anim Sci*, 1999, 77(9): 2352~2356.
- [13] Ernst C W, Mendez E A, Robic A, Rothschild M F. Rapid communication: myogenin (*MYOG*) physically maps to porcine chromosome 9q2.1-q2.6. *J Anim Sci*, 1998, 76(1): 328.
- [14] de Koning D J, Janss L L, Rattink A P, van Oers P A, de Vries B J, Groenen M A, van der Poel J J, de Groot P N, Brascamp E W, van Arendonk J A. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). *Genetics*, 1999, 152(4): 1679~1690.
- [15] Audic Stephane and Claverie Jean-Michel. The significance of digital gene expression profiles. *Genome Res*, 1998, 7: 986~995.

- [16] Bakay M, Zhao P, Chen J, Hoffman E P. A web-accessible complete transcriptome of normal human and DMD muscle. *Neuromuscul Disord*, 2002, 12(Suppl 1):S125~141.
- [17] Moreno J C, Pauws E, van Kampen A H, Jedlickova M, de Vijlder J J, Ris-Stalpers C. Cloning of tissue-specific genes using serial analysis of gene expression and a novel computational subtraction approach. *Genomics*, 2001, 75(1-3): 70~76.
- [18] Bortoluzzi S, d'Alessi F, Romualdi C, Danieli G A. The human adult skeletal muscle transcriptional profile reconstructed by a novel computational approach. *Genome Res*, 2000, 10(3): 344~349.
- [19] Spinella D G, Bernardino A K, Redding A C, Koutz P, Wei Y, Pratt E K, Myers K K, Chappell G, Gerken S, McConnell S J. Tandem arrayed ligation of expressed sequence tags (TALEST): a new method for generating global gene expression profiles. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(18):e22.
- [20] Jiang C, Lu H, Vincent K A. Gene expression profiles in human cardiac cells subjected to hypoxia or expressing a hybrid form of HIF-1 alpha. *Physiol Genomics*, 2002, 8(1): 23~32.
- [21] Bai Q, McGillivray C, Da Costa N, Dornan S, Evans G, Stear M J, Chang K C. Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray: analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles. *BMC Genomics*, 2003, 4(1):8.
- [22] PAN Pei-Wen. Separation, identification and location of differentially expressed ESTs in different developmental phase of porcine muscle and different pig breeds. Ph.D. Thesis of Huazhong Agricultural University, 2002.
潘佩文. 猪不同品种或发育阶段肌肉组织中差异表达 EST 的分离、鉴定和定位. 华中农业大学博士学位论文, 2002.
- [23] Zhao S H, Nettleton D, Liu W, Fitzsimmons C, Ernst C W, Raney N E, Tuggle C K. Complementary DNA macroarray analyses of differential gene expression in porcine fetal and postnatal muscle. *J Anim Sci*, 2003, 81(9): 2179~2188.
- [24] Guo X, Liao K. Analysis of gene expression profile during 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Gene*, 2000, 251(1):45~53.
- [25] Ji X, Chen D, Xu C, Harris S E, Mundy G R, Yoneda T. Patterns of gene expression associated with BMP-2-induced osteoblast and adipocyte differentiation of mesenchymal progenitor cell 3T3-F442A. *J Bone Miner Metab*, 2000, 18(3):132~139.
- [26] Yao J, Coussens P M, Saama P, Suchyta S, Ernst C W. Generation of expressed sequence tags from a normalized porcine skeletal muscle cDNA library. *Anim Biotechnol*, 2002, 13(2): 211~222.
- [27] Welle S, Brooks A, Thornton C A. Senescence-related changes in gene expression in muscle: similarities and differences between mice and men. *Physiol Genomics*, 2001, 5(2): 67~73.
- [28] Cheng G, Porter J D. Transcriptional profile of rat extraocular muscle by serial analysis of gene expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(4):1048~1058.
- [29] Moody D, Zou Z, McIntyre L. Cross-species hybridisation of pig RNA to human nylon microarrays. *BMC Genomics*, 2002, 3(1): 27.
- [30] Chismar J D, Mondala T, Fox H S, Roberts E, Langford D, Masliah E, Salomon D R. Analysis of result variability from high-density oligonucleotide arrays comparing same-species and cross-species hybridizations. *Biotechniques*, 2002, 33(3): 516~518, 520, 522 passim.
- [31] Zhao H, Hastie T, Whitfield M L, Borresen-Dale A L, Jeffrey S S. Optimization and evaluation of T7 based RNA linear amplification protocols for cDNA microarray analysis. *BMC Genomics*, 2002, 3(1): 31.
- [32] Dorris D R, Ramakrishnan R, Trakas D, Dudzik F, Belval R, Zhao C, Nguyen A. A highly reproducible, linear, and automated sample preparation method for DNA microarrays. *Genome Res*, 2002, 12(6):976~984.
- [33] Medhora M, Bousamra M 2nd, Zhu D, Somberg L, Jacobs E R. Upregulation of collagens detected by gene array in a model of flow-induced pulmonary vascular remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 282(2):H414~422.
- [34] Kothapalli R, Yoder S J, Mane S, Loughran T P. Microarray results: how accurate are they? *BMC Bioinformatics*, 2002, 3(1):22.
- [35] Lercher M J, Urrutia A O, Hurst L D. Clustering of housekeeping genes provides a unified model of gene order in the human genome. *Nat Genet*, 2002, 31(2):180~183.
- [36] YANG Da. Statistical analysis and experimental design for mapping genes of complex traits in domestic animals. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(12): 1183~1192.
杨达. 家养动物复杂性状基因定位的统计分析和实验设计. 遗传学报, 2003, 30(12):1183~1192.