

付言峰, 李 兰, 李碧侠, 等. 梅山猪胚胎着床期 *EphB6* 基因的 mRNA 和蛋白表达[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(3): 575-580.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2016.03.014

梅山猪胚胎着床期 *EphB6* 基因的 mRNA 和蛋白表达

付言峰^{1,2}, 李 兰^{3,4}, 李碧侠¹, 方晓敏¹, 王学敏¹, 赵为民¹, 任守文¹

(1.江苏省农业科学院畜牧研究所/动物品种改良和繁育重点实验室/江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏 南京 210014; 2.伊利诺伊大学厄巴纳-香槟分校动物科学实验室, 伊利诺伊 厄巴纳 61801; 3.中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 4.国家兽用生物制品工程技术研究中心, 江苏 南京 210014)

摘要: 为了研究促红细胞生成素产生肝细胞受体 B6 (*EphB6*) 在猪胚胎着床期子宫内膜上皮细胞和胚胎之间的迁移和粘附活动中是否发挥了作用, 本研究利用实时荧光定量 PCR 方法和蛋白免疫印迹方法, 分析了 *EphB6* 基因在太湖流域梅山猪胚胎着床前期 (妊娠第 13 d)、中期 (妊娠第 18 d) 和后期 (妊娠第 24 d) 子宫内膜和卵巢组织的 mRNA 和蛋白表达。结果表明, *EphB6* 在胚胎着床期猪子宫内膜着床点和着床点间的 mRNA 和蛋白均呈现先升高后降低的表达趋势, 即着床中期 (妊娠第 18 d) 的表达量极显著高于前期 (妊娠第 13 d) 和后期 (妊娠第 24 d) ($P < 0.01$); *EphB6* 在胚胎中的 mRNA 表达也是妊娠第 18 d 极显著高于妊娠第 24 d ($P < 0.01$); 而 *EphB6* 在卵巢中的 mRNA 和蛋白表达相反: mRNA 表达为先降低后升高, 蛋白表达为先升高后降低。说明, *EphB6* 基因很可能在猪胚胎着床过程中发挥着重要的调控作用, 可成为潜在的猪产仔数性状候选基因。

关键词: *EphB6* 基因; 表达; 梅山猪

中图分类号: S828.8⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)03-0575-06

The mRNA and protein expression patterns of *EphB6* during embryo implantation in Meishan sows

FU Yan-feng^{1,2}, LI Lan^{3,4}, LI Bi-xia¹, FANG Xiao-min¹, WANG Xue-min¹, ZHAO Wei-min¹, REN Shou-wen¹

(1. Institute of Animal Science/The Key Laboratory of Animal Breeding Improvement and Reproduction, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Germplasm Resources Protection and Utilization Platform, Nanjing 210014, China; 2. Animal Science Laboratory, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA; 3. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 4. National Research Center of Veterinary Biologicals Engineering and Technology, Nanjing 210014, China)

收稿日期: 2015-10-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201767); 江苏省农业科学院第 5 批留学基金项目; 国家生猪产业技术体系南京综合试验站项目 (CARS-36); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(13)2037]

作者简介: 付言峰 (1982-), 男, 山东聊城人, 博士, 副研究员, 主要从事猪遗传育种与繁殖研究。(E-mail) yanfeng8@illinois.edu。李兰为共同第一作者。

通讯作者: 任守文, 025-84390349; (E-mail) shouwenren@163.com

Abstract: To define the role of erythropoietin-producing hepatocellular receptor B6 (*EphB6*) in the migration and attachment between embryo and endometrium during porcine embryo implantation, the mRNA and protein expressions of *EphB6* in endometrium and ovary were detected in Meishan sows during pre-implantation (pregnancy 13 d, 13 d), mid-implantation (18 d) and post-implantation (24 d) using real-time quantitative PCR and Western blot. Both *EphB6* mRNA and protein in endometrium showed the same expression pattern, an in-

crease from pre-implantation to mid-implantation and a decrease from mid-implantation to post-implantation. In embryo, mRNA expression on day 18 was significantly higher than that on day 24 ($P < 0.01$). In ovary, *EphB6* mRNA expression level dropped and then picked up, which was quite the contrary for protein expression level. In conclusion, *EphB6* may play an important role in swine embryo implantation, and is a candidate gene for litter size in swine.

Key words: *EphB6*; embryo implantation; expression; Meishan swine

产仔数是猪育种工作中一个备受关注的性状,要提高产仔数,猪的高排卵数是基础,而高胚胎成活率是关键^[1]。影响胚胎成活率的重要时期有3个:一是胚胎着床前期(妊娠第9~13 d),二是胚胎器官形成期(妊娠第18~24 d),三是胎儿迅速生长期(妊娠第60~70 d)^[2-4]。而3个重要时期中有2个发生于猪的胚胎着床期(妊娠13~24 d),所以胚胎着床期成为影响猪产仔数的紧要时期,如何减少这一时期的胚胎死亡便成了一个亟待解决的问题^[5]。

EphB6 是一种受体酪氨酸激酶,也是 *Eph-Ephrin* 家族中的受体一员,此家族属于细胞表面因子^[6],在人^[7-8]、小鼠^[9]和大白猪^[10-11]的胚胎着床过程中发挥着重要作用。研究结果表明,*EphB6* 在多种细胞的迁移和粘附活动中发挥调控作用:*EphB6* (受体)与 *EphrinB2* (配体)相互协同能同时对人胚胎肾细胞的迁移和粘附发挥正调控和负调控作用^[12]。*EphB6* 会显著改变人乳腺癌细胞的侵入能力^[13]。*EphB6* 在鸡黑色素瘤细胞穿过血管或淋巴管的时期,会抵制此细胞的转移侵入^[14]。*EphB6* 和性激素协同作用,调控小鼠血管平滑肌收缩和调节血压^[15]。

但除此之外,我们还不清楚 *EphB6* 在胚胎着床期的子宫内膜上皮细胞和胚胎的迁移和粘附活动中是否发挥作用,其在猪繁殖组织中的时空表达规律是什么样的,其是否参与了猪胚胎着床的调控。基于这些疑问,本研究以高产仔数的梅山猪为研究对象,采用实时荧光定量 PCR 方法检测胚胎着床前期、中期、后期 *EphB6* 基因在子宫内膜等组织中的表达,并用 Western blot 进行相应的蛋白水平的验证。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物为来自江苏农林职业技术学院梅山猪保种场,母猪在同一条件下饲喂,分别在妊娠第13 d、18 d、24 d 屠宰,屠宰时遵循江苏省农业科学院实

验动物操作规定。屠宰后采集其子宫内膜(着床点和着床点间),卵巢和胚胎组织样,采集的样品立即置于液氮中保存。

1.2 主要试剂与仪器

主要试剂:AMV First Strand cDNA Synthesis Kit (BBI, China), SybrGreen PCR Master Mix (2X) (ABI, America), TRIzol (Invitrogen, America), 全蛋白抽提试剂盒 (KeyGEN, China), Ephrin-B2 Antibody (H-83) (Santa cruz), 琼脂糖 (Biowest, Spain)。乙醇、异戊醇、氯仿、75%乙醇、电泳缓冲液等试剂均为上海生工生物工程公司生产或自行配制。

主要仪器:Stepone plus 型荧光定量 PCR 仪 (ABI, America), Western blot 电泳仪 (Bio-Rad, America), 超净工作台 (苏州净化设备有限公司, 中国), 凝胶成像仪 (Tanon, 中国), 紫外光度仪 (Shimadzu, Japan), 微量加样器 (Eppendorf, Germany)。

1.3 引物设计

猪 *EphB6* 基因 (GenBank: XM_013985570, predicted) cDNA 全长 3 820 bp, 编码序列 (CDS) 范围为:1 070~3 820 bp。采用 Primer Premier 5.0 和 Oligo 6 软件设计 Real-time qPCR 的引物,上游引物:5'-GGGTGGGATGAAGTGAGTGTT-3',下游引物:5'-CTTTCCACGAAGTGTGTCTGC-3',产物长度 128 bp,退火温度 58 ℃。引物由上海生工生物工程公司合成。

1.4 Real-time qPCR

首先提取组织样中的总 RNA,然后将其反转录成 cDNA,再将 cDNA 样品稀释 8 倍作为模板上机检测。20 μl 反应体系如下:SybrGreen qPCR Master Mix (2X) 10 μl,上下游引物 (10 μmol/L) 各 1 μl, ddH₂O 7 μl,模板 (cDNA) 1 μl。PCR 反应程序如下:95 ℃ 2 min 热启动 Hot Star Taq 酶活性;融解 95 ℃ 10 s,煨火/延伸 60 ℃ 40 s,共 40 循环;45~95 ℃,读板时 0.1 ℃/s 进行溶解曲线分析。持家基因为 *GAPDH* (GenBank: NM_001206359)。Real-time

qPCR 的数据利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析。

1.5 蛋白提取和蛋白免疫印迹 (Western blot)

蛋白提取过程如下:(1) 切取 0.1 g 组织样本剪碎,加入 PBS 洗涤 2 次,1 500 g, 10 min, 弃上清液。(2) 加入 400 μ l 蛋白裂解液(0.05 mol/L Tris-HCl, NaCl 8.76 mg/ml, 1% TritonX-100 和 100 μ g/ml PMSF),置于匀浆器上 30 s,放置冰上 10~15 min。(3) 取组织匀浆液转移到 1.5 ml 预冷的离心管,10 000 r/min 4 $^{\circ}$ C 离心 5 min。(4) 取上清液转移至新的预冷的离心管中,即为全蛋白提取物。(5) 提取出的总蛋白用 BCA 蛋白定量试剂盒(In-vitrogen, USA)检测。Western blot 过程同文献[10]和[16],步骤包括 SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育、DAB 显色和 ECL 曝光。本试验所用的一抗为兔抗人多克隆抗体 (Santa Cruz, sc-25461),二抗为羊抗兔抗体-辣根过氧化物酶标记。

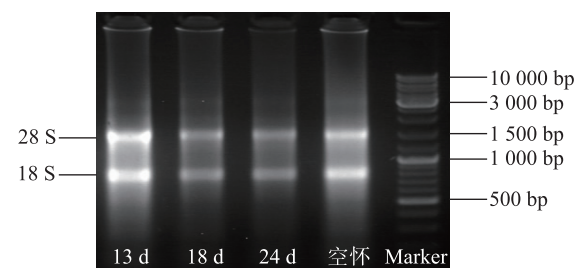
2 结果与分析

2.1 RNA 提取结果

利用琼脂糖凝胶电泳检测组织样中提取的总 RNA,结果(图 1)表明,凝胶上显示出两条清晰的条带,分别为 28S rRNA 和 18S rRNA,表明总 RNA 非常完整,含量较高,无降解,保证了后续相关试验的可靠性。

2.2 *EphB6* mRNA 表达

Real-time qPCR 结果(图 2)表明, *EphB6* 在梅山猪不同繁殖组织样中 mRNA 表达有显著差异。*EphB6* 在这些繁殖组织(猪子宫内膜着床点、着床点间、卵巢和胚胎)中均有表达,但 mRNA 表达量大



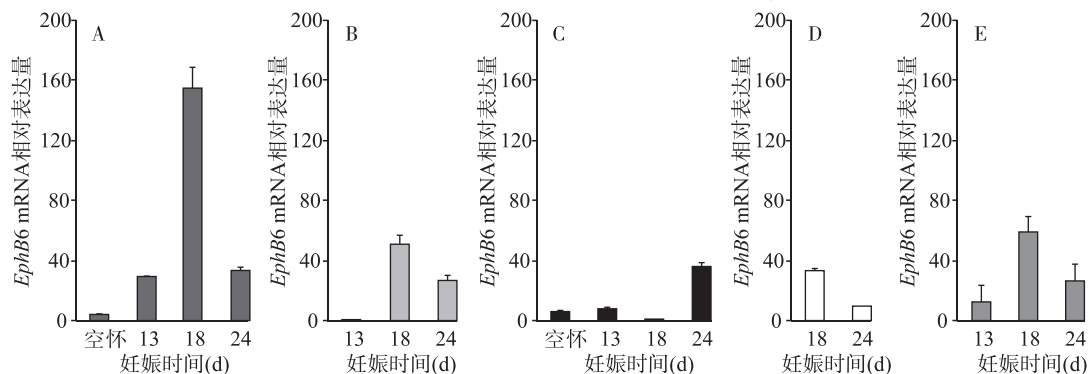
从左至右依次为:妊娠第 13 d、18 d、24 d 和空怀猪子宫内膜着床点。

图 1 梅山猪不同组织样提取的总 RNA 琼脂糖凝胶电泳检测结果

Fig.1 The agarose gel electrophoresis of total RNA extracted from different tissues of Meishan sows

小会随着组织样的不同而有显著的变化。按照在不同组织中的 mRNA 表达量大小排序为:子宫内膜着床点(图 2A)>子宫内膜着床点间(图 2B)>胚胎(图 2D)和卵巢(图 2C),其中子宫内膜着床点和卵巢间的 *EphB6* 表达量差异极显著 ($P<0.01$)。

胚胎着床不同时期 *EphB6* 也有着显著差异的 mRNA 表达。*EphB6* 在胚胎着床前期(妊娠第 13 d)、中期(妊娠第 18 d)和后期(妊娠第 24 d)均有表达,但 mRNA 平均表达量在这 3 个时期有显著的差异。*EphB6* mRNA 在所有组织中的表达曲线呈先升高后降低的趋势,即在胚胎着床早期至中期的过程中表达量持续升高,在胚胎着床中期至晚期的过程中表达量持续降低。其中妊娠第 18 d 的表达量最高,其次为妊娠第 24 d 的表达量,表达量最低为妊娠第 13 d,且 3 个妊娠日两两间的表达量差异均极显著 ($P<0.01$)。



A: 子宫内膜着床点; B: 子宫内膜着床点间; C: 卵巢; D: 胚胎; E: 所有组织样。

实时荧光定量 PCR 方法检测, GAPDH 为内参基因。

图 2 *EphB6* 在梅山猪胚胎着床期不同组织中的 mRNA 表达变化

Fig.2 The changes in *EphB6* mRNA expression levels in different tissues of Meishan sows during embryo attachment

对于单个组织样,胚胎着床不同时间的 mRNA 表达趋势多呈先升高后降低的超势。在子宫内膜着床点,妊娠第 18 d 的表达量极显著高于其他任何时期的任何组织样 ($P<0.01$),妊娠第 24 d 和 13 d 的表达无显著差异,作为对照组的空怀猪表达量最低。在子宫内膜着床点间,妊娠第 18 d 的表达量极显著高于妊娠第 24 d 和 13 d ($P<0.01$),妊娠第 24 d 的表达量极显著高于妊娠第 13 d ($P<0.01$)。卵巢组织总体表达量较低,其中妊娠第 24 d 的表达量最高,极显著高于妊娠第 13 d、妊娠第 18 d 和空怀猪。

胚胎组织中,妊娠第 18 d 的表达量极显著高于妊娠第 24 d ($P<0.01$)。

EphB6 的 Real-time qPCR 扩增曲线(图 3A)中可以看到明显的指数扩增期和平台期,整条曲线光滑,表明目的基因特异性很强;熔解曲线(图 3B)的 T_m 值为 90.83 °C,峰值只有 1 个,表明 PCR 扩增引物中没有二聚体,特异性强,且无特异性 PCR 产物。这两条曲线说明此 Real-time qPCR 的试验结果可信。

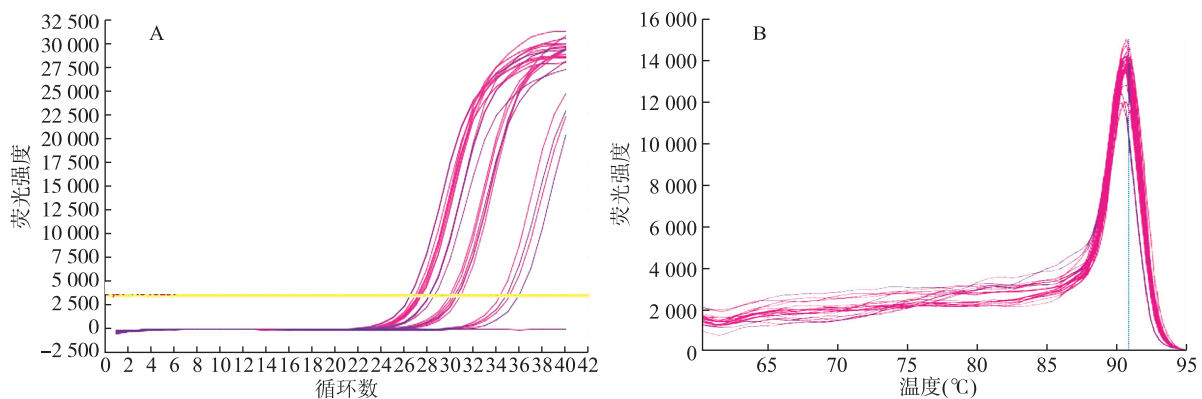


图 3 *EphB6* 基因的实时荧光定量 PCR 的扩增曲线(A)和熔解曲线(B)

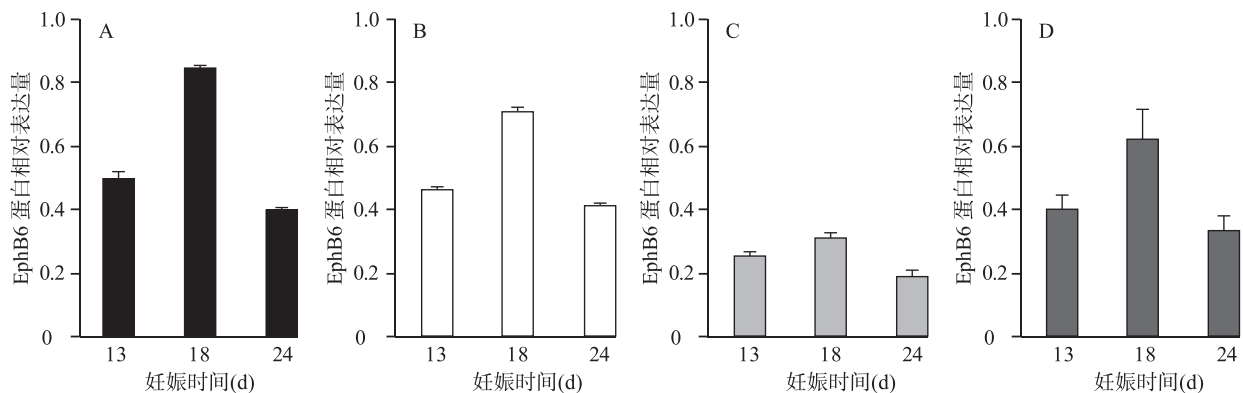
Fig.3 Amplification curves (A) and melting curves (B) of *EphB6* generated by real-time qPCR

综上所述,梅山猪胚胎着床中期(妊娠第 18 d)是 *EphB6* mRNA 的主要作用时期,子宫内膜着床点是 *EphB6* mRNA 的主要靶组织位点。

2.3 *EphB6* 蛋白表达

蛋白免疫印迹(Western blot)结果表明,*EphB6* 在梅山猪不同繁殖组织样中蛋白表达有显著差异。

EphB6 蛋白在这些繁殖组织[子宫内膜着床点(图 4A)、着床点间(图 4B)、卵巢中均有表达,但蛋白表达量大小会随着组织样的不同而有显著的变化。按照在不同组织中的蛋白表达量高低,子宫内膜着床点的 *EphB6* 蛋白表达量最高(图 4A),其次是子宫内膜着床点间(图 4B),最低的是卵巢(图 4C)。



A: 子宫内膜着床点; B: 子宫内膜着床点间; C: 卵巢; D: 所有组织样。GAPDH 为内参基因。

图 4 *EphB6* 在胚胎着床期梅山猪不同组织中的蛋白表达变化

Fig.4 The protein expression levels of *EphB6* in different tissues of Meishan sows during embryo attachment

胚胎着床不同时期 *EphB6* 蛋白表达也有着显著差异。*EphB6* 蛋白在梅山猪胚胎着床前期(妊娠第 13 d)、中期(妊娠第 18 d)和晚期(妊娠第 24 d)均有表达,但 *EphB6* 蛋白在所有组织中的平均表达量在这 3 个时间点有显著的差异,其中妊娠第 18 d 的表达量最高,其次为妊娠第 13 d 和妊娠第 24 d。即 *EphB6* 蛋白在子宫内膜中的蛋白表达曲线呈先升高后降低的趋势。

对于单个组织样,胚胎着床不同时期的 *EphB6* 蛋白表达趋势相同。在子宫内膜着床点,妊娠第 18 d 的表达量极显著高于其他任何时期的任何组织样($P<0.01$),妊娠第 13 d 和妊娠第 24 d 间表达量差异极显著($P<0.01$)。在子宫内膜着床点间,妊娠第 18 d 的表达量极显著高于妊娠第 13 d 和妊娠第 24 d($P<0.01$),妊娠第 13 d 和妊娠第 24 d 间表达量无显著差异。在卵巢,*EphB6* 蛋白表达趋势同前两个组织样的表达趋势相同,均为先升高后降低,但妊娠第 13 d、18 d 和 24 d 3 个时间点的 *EphB6* 蛋白表达量无显著差异。

综上所述,梅山猪胚胎着床中期(妊娠第 18 d)是 *EphB6* 蛋白的主要作用时期,子宫内膜着床点是 *EphB6* 蛋白的主要靶组织位点。

3 讨论

胚胎着床时期胚胎损失多少是影响猪产仔数高低的重要因素之一^[17],目前已报道了一些猪胚胎着床相关因子,如白血病抑制因子(Leukemia inhibitory factor)^[3]、黏液素 1(Muc1)^[18-19]、促红细胞生成素产生肝细胞配体 B2(EphrinB2)^[20]和瘦素及其受体(Obesity gene and obesity gene long form receptor)^[21]等。本试验所研究的 *EphB6* 属于 *Eph-Ephrin* 家族系统中的一员,与 EphrinB2 互为受体和配体,二者相互协同在人胚胎肾细胞的迁移和粘附活动中发挥正调控和负调控作用^[12]。

Real-time qPCR 结果表明, *EphB6* mRNA 在梅山猪繁殖组织(猪子宫内膜着床点、着床点间、卵巢和胚胎)中均有表达且差异显著,其中子宫内膜着床点的表达最高;在胚胎着床期(妊娠第 13 d、18 d、24 d)亦均有表达且差异显著,其中子宫内膜着床点、着床点间和胚胎均是妊娠第 18 d 的 mRNA 表达量最高,即表达趋势为先升高后降低,但 *EphB6* 在卵巢中的 mRNA 表达趋势与其相反,呈先降低后升

高的趋势。这说明 *EphB6* 很可能参与了猪胚胎着床过程中子宫内膜和胚胎之间的迁移和粘附活动,这与其调控人胚胎肾细胞^[12]、人乳腺癌细胞^[13]和鸡黑色素瘤细胞^[14]的迁移、粘附和侵入的作用类似,金属蛋白酶 3(TIMP-3)^[5]在胚胎着床期猪子宫内膜中也有类似的表达规律。*EphB6* 的配体 EphrinB2 在大白猪子宫内膜上的 mRNA 表达量显著高于子宫体、卵巢、输卵管^[20]。*EphB6* mRNA 在妊娠猪子宫内膜着床点的表达量显著高于空怀猪,这与 *Eph-Ephrin* 家族其他成员 *EphB2* 的表达趋势一致^[4]。

Western blot 的结果表明, *EphB6* 蛋白在子宫内膜着床点和着床点间的表达趋势与 mRNA 基本一致,即先升高后降低,表达高峰都在妊娠第 18 d,不一致之处是 mRNA 表达妊娠第 24 d 显著高于妊娠第 13 d,而蛋白表达是妊娠第 13 d 略高于妊娠第 24 d。在卵巢中 *EphB6* 蛋白的表达趋势与 mRNA 相反。大白猪胚胎着床期子宫内膜着床点先升高后降低的蛋白表达趋势也发生在 *EphA1*、*EphA2* 和 *EphA4* 中^[10]。同一蛋白表达与 mRNA 表达存在一定相关性(相关系数:0.31~0.51),但并不完全一致^[22],可能是 mRNA 翻译的速率、mRNA 的稳定性和翻译后修饰等因素影响造成的。

综上所述, *EphB6* 基因在猪的胚胎着床中期(妊娠第 18 d) mRNA 和蛋白表达量都最高,子宫内膜着床点是 *EphB6* mRNA 的主要靶组织位点,预示着其在猪着床期的胚胎-子宫内膜对话中发挥着重要作用,下一步将在细胞水平上对其进行功能验证。

参考文献:

- [1] WU Y, WANG A, LI N, et al. Association with *TGF- β 1* gene polymorphisms and reproductive performance of large white pig [J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2010, 45(6): 1028-1032.
- [2] GEISERTR, SCHMITTR. Early embryonic survival in the pig: can it be improved [J]. *Journal of Animal Science*, 2002, 80(Suppl. 1): 54-65.
- [3] LIN H, LIU G, WANG A, et al. Effect of polymorphism in the leukemia inhibitory factor gene on litter size in large white pigs [J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36(7): 1833-1838.
- [4] 付言峰, 周艳红, 王爱国, 等. 梅山猪胚胎着床期 *EphB2* 的组织表达及 RNA-seq 分析 [J]. *遗传*, 2014, 36(12): 1243-1248.
- [5] REN Q, GUAN S, FU J, et al. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 messenger RNA and protein in porcine endo-

- metrium during implantation [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(6): 3829-3837.
- [6] FOX B P, KANDPAL R P. A paradigm shift in EPH receptor interaction: biological relevance of *EPHB6* interaction with EPHA2 and EPHB2 in breast carcinoma cell lines [J]. Cancer Genomics-Proteomics, 2011, 8(4): 185-193.
- [7] FUJIWARA H, YOSHIOKA S, TATSUMI K, et al. Human endometrial epithelial cells express ephrin A1: possible interaction between human blastocysts and endometrium via Eph-ephrin system [J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2002, 87(12): 5801-5807.
- [8] RED-HORSE K, KAPIDZIC M, ZHOU Y, et al. EPHB4 regulates chemokine-evoked trophoblast responses: a mechanism for incorporating the human placenta into the maternal circulation [J]. Development, 2005, 132(18): 4097-4106.
- [9] FUJII H, TATSUMI K, KOSAKA K, et al. Eph-ephrinA system regulates murine blastocyst attachment and spreading [J]. Developmental Dynamics, 2006, 235(12): 3250-3258.
- [10] FU Y, FU J, REN Q, et al. Expression of Eph A molecules during swine embryo implantation [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(3): 2179-2185.
- [11] FU Y, FU J, WANG A. Association of EphA4 polymorphism with swine reproductive traits and mRNA expression of EphA4 during embryo implantation [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(3): 2689-2696.
- [12] MATSUOKA H, OBAMA H, KELLY M L, et al. Biphasic functions of the kinase-defective Ephb6 receptor in cell adhesion and migration [J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(32): 29355-29363.
- [13] FOX B, KANDPAL R. *EphB6* receptor significantly alters invasiveness and other phenotypic characteristics of human breast carcinoma cells [J]. Oncogene, 2009, 28(14): 1706-1713.
- [14] BAILEY C M, KULESA P M. Dynamic interactions between cancer cells and the embryonic microenvironment regulate cell invasion and reveal *EphB6* as a metastasis suppressor [J]. Molecular Cancer Research, 2014, 12(9): 1303-1313.
- [15] LUO H, WU Z, TREMBLAY J, et al. Receptor tyrosine kinase Ephb6 regulates vascular smooth muscle contractility and modulates blood pressure in concert with sex hormones [J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(9): 6819-6829.
- [16] FU Y, LI L, REN S. Effect of FTO expression and polymorphism on fat deposition in Suzhong pigs [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 2013, 26(10): 1365-1373.
- [17] 马喜山, 王爱国, 傅金恋. 猪 *HB-EGF* 基因多态性与产仔数的关联性分析 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(1): 274-282.
- [18] REN Q, GUAN S, FU J, et al. Temporal and spatial expression of Muc1 during implantation in sows [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(6): 2322-2335.
- [19] CHEN X, FU J, WANG A. Effect of VNTR polymorphism of the Muc1 gene on litter size of pigs [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(5): 6251-6258.
- [20] 付言峰, 王爱国, 方晓敏, 等. *Ephrin B2* 在猪不同组织中的表达谱和基因多态性与产仔数的关联分析 [J]. 江苏农业学报, 2012, 28(6): 1330-1337.
- [21] WANG H, FU J, WANG A. Expression of obesity gene and obesity gene long form receptor in endometrium of Yorkshire sows during embryo implantation [J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(3): 1597-1606.
- [22] ÖSTLUND G, SONNHAMMER E L. Quality criteria for finding genes with high mRNA-protein expression correlation and coexpression correlation [J]. Gene, 2012, 497(2): 228-236.

(责任编辑:陈海霞)