

赤点石斑鱼 *FAS* 基因的克隆及序列分析

陈斯钰, 张芮, 杨云霞* (浙江海洋大学水产学院, 浙江舟山 316022)

摘要 [目的]研究赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) *FAS* 基因的结构与表达特性。[方法]以前期获得的转录组序列作为数据库,应用 PCR 技术,获得赤点石斑鱼 *FAS* 基因的 cDNA 全序列。[结果]该序列与大黄鱼 (*Larimichthys scrocea*) *FAS* 基因的相似度最高,为 87%。该序列全长 8 505 bp,包括 712 bp 的 3'UTR 区、7 548 bp 的开放阅读框(ORF)以及 245 bp 的 5'UTR 区,可编码 2 515 个氨基酸。经预测,该蛋白分子量为 274.03 ku,等电点为 5.98,其属于亲水性蛋白。通过 Real-time PCR 方法获得 *FAS* 在赤点石斑鱼各个组织中的表达,结果显示,其在心脏中表达量最高,其次是在肝脏中。*FAS* 基因的进化与物种进化一致。[结论]该研究为进一步研究赤点石斑鱼脂肪代谢奠定理论基础,也为赤点石斑鱼在养殖方面的工作提供基础资料。

关键词 赤点石斑鱼; *FAS* 基因; 组织分布

中图分类号 S965.334 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)25-109-03

Cloning and Sequence Analysis of *FAS* Gene in *Epinephelus akaara*

CHEN Si-yu, ZHANG Rui, YANG Yun-xia* (College of Fishery, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022)

Abstract [Objective] To research the structure and expression characteristics of *FAS* (Fatty Acid Synthase) gene in *Epinephelus akaara*. [Method] With the transcriptome sequence obtained in previous research as the database, PCR technology was used to obtain the cDNA sequence of *FAS* gene in *E. akaara*. [Result] This sequence had high similarity with that of *Larimichthys scrocea* (87%). The total length of *FAS* gene was 8 505 bp, which included 712 bp 3'UTR, 7 548 bp open reading frame (ORF), and 245 bp 5'UTR. A total of 2 515 amino acids were encoded. The protein molecular weight was 274.03 ku, isoelectric point was 5.98, and it belonged to the hydrophilic protein. Results of Real-time PCR showed that *FAS* gene had the highest expression in heart, followed with liver. Evolution of *FAS* gene was in accord with that of species. [Conclusion] This research lays theoretical basis for the fat metabolism of *E. akaara*, and provides basic data for the cultivation of *E. akaara*.

Key words *Epinephelus akaara*; *FAS* gene; Tissue distribution

赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 俗称红斑、红过鱼,隶属于鲈形目(Perciformes) 鮨科(Serranidae) 石斑鱼属 (*Epinephelus*),是我国南方名贵的经济养殖鱼类^[1]。其属于亚热带暖温性底层鱼类,多生活于岩礁底质的海域,一般不结成成群,喜光线较暗区域,主要摄食鱼类和虾类^[2],主要分布于北太平洋西部,我国产于舟山群岛以南经台湾海峡至南海、北部湾一带海域。赤点石斑鱼富含 EPA、DHA 等高不饱和脂肪酸,可预防心血管疾病发生。赤点石斑鱼肉味鲜美,又因人们认为其身上的红斑为吉祥之意,故市场上售价很高,是香港、广东的主要养殖品种^[3]。

FAS (fatty acid synthetase) 基因是生物体内脂肪酸合成的关键酶,当其表达水平和活性升高时,会显著增加甘油三酯在体内的沉积^[4-6];当其活性受到抑制时,会阻滞生脂通路、减少脂肪的合成,还会造成丙二酰 COA 浓度的升高,降低食欲^[7]。为深入了解 *FAS* 基因,很多学者对 *FAS* 功能、表达活性、调控机制等方面进行了研究^[8-14]。迄今为止,人们已分离得到人脂肪酸合成酶代谢调控基因,发现其脂肪酸合成酶基因位于 17q25^[15],另外,牛的基因位于 19q22,鸡的基因位于 18 号染色体上^[16]。此外,还有学者对绵羊肌肉中 *FAS* 基因表达的发育性变化进行了研究,发现 *FAS* 基因 mRNA 水平在哈萨克羊肌肉中初生时最高 ($P < 0.05$),随日龄的增加呈下降趋势;在新疆细毛羊肌肉中, *FAS* mRNA 水平则表现出“下降-上升-下降-上升”的发育模式,其中,60 日

龄显著高于 90 日龄 ($P < 0.05$),其余日龄之间差异不显著^[17]。另有学者研究了不同填饲期肥肝鹅肝脏组织中不同脂肪酸沉积与脂肪酸合成酶 *FAS* 基因 mRNA 的表达丰度及相关性,发现 *FAS* 基因 mRNA 的表达对肥肝鹅肝脏中脂肪的沉积具有填饲前、中期快速增加,填饲后期下降的调控作用^[18]。熊文中等^[19]研究发现,猪脂肪组织中脂肪酸合成酶和酮体脂肪量具有极显著 ($P < 0.01$) 的正相关关系。

关于 *FAS* 基因在哺乳动物上的研究已很深入,而在鱼类上,研究者对 *FAS* 的研究仅局限于 *FAS* 活性研究,对其基因研究相对较少。目前,GenBank 数据库上仅见预测的斑马鱼 *Danio rerio* *FAS* 基因 mRNA 全序列 (GenBank: XM_001923608.2) 以及吉富罗非鱼 *Oreochromis niloticus* (GenBank: GU433188.1)、黑鲷 *Acanthopagrus schlegelii* (GenBank: EU780581.1)、军曹鱼 *Rachycentron roncanadum* (GenBank: FJ842647.1)、点带石斑鱼 *Epinephelus coioides* (GenBank: FJ196231.1)、黑青斑河豚 *Tetraodon nigroviridis* (GenBank: CAF94659.1) 等少数鱼类的 *FAS* 基因部分 mRNA 序列。关于赤点石斑鱼的 *FAS* 基因,目前尚未见相关方面的研究。笔者以赤点石斑鱼为研究对象,研究赤点石斑鱼 *FAS* 基因的克隆及序列分析,为进一步研究赤点石斑鱼脂肪代谢奠定理论基础,也为赤点石斑鱼在养殖方面的工作提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料 赤点石斑鱼来自浙江海洋大学分子生物学实验室。将赤点石斑鱼暂养 7 d 后,选择外观无明显病状、较为健康的赤点石斑鱼。在超净工作台上进行无 RNA 操作:将其解剖后,获得头肾、脑、肠、脾、腹肌、肝、鳃、胃、心脏、背肌等组织。将各组织用锡箔纸包裹,做好标记后,放入 -80℃ 的冰箱中冷冻保存备用。

基金项目 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目

(2016R411016);浙江海洋学院科研启动经费项目

(Q1418);浙江海洋大学大学生科技创新项目(xj201512)。

作者简介 陈斯钰(1995-),女,浙江绍兴人,本科生,专业:水产养殖。

* 通讯作者,讲师,博士,从事动物分子营养研究。

收稿日期 2016-07-08

1.2 引物设计 在NCBI网站上下载与赤点石斑鱼相似的其他鱼类 *FAS* 基因序列,即大黄鱼 (*Larimichthys crocea* KP889061.1)、军曹鱼 (*Rachycentron canadum* FJ842648.1)、罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* GU433188.1)、南极鳕鱼 (*Notothenia coriiceps* XM_010792091.1) 的 *FAS* 基因序列,遵循引物设计原则,采用引物设计软件 Primer Premier 5.0^[20] 和评估软件 PrimerSelect 设计上、下游引物。由测序结果获得 *FAS* 基因片段,同时结合转录组测序的结果,获得赤点石斑鱼 *FAS* 基因的开放阅读框 (Open read frame, ORF) 序列,设计半定量 RT-PCR 反应引物。引物序列由上海生工生物工程技术有限公司合成。EA-fas-CF: 3'-CTTGATGGGTGTG-GAGGTTTCG-5', EA-fas-CR: 3'-AGTCTCGGCTGATGT-TCTTGTG-5'; EA-fas-RT-ZF: 3'-GCCAACAGCAAGC-CAGAATCTC-5', EA-fas-RT-ZR: 3'-GCAGCAGTG-GAGCCCTCAAT-5'; β -actin-F: 3'-CGACCTCACAGACTAC-CT-5', β -actin-R: 3'-AACGGAACCTCTCATTGC-5'。

1.3 试验方法

1.3.1 总 RNA 的提取并检测。 取各新鲜组织于 Eppendorf 离心管中,采用 Trizol 法,通过取样、处理、去蛋白、沉淀、洗涤、干燥、溶解等步骤,提取各个组织的总 RNA。并将所提取的总 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3.2 cDNA 模板的制备及 *FAS* 基因序列全长的获得。 根据 RNA 的检测浓度,取各组织 RNA 2 μ L 于 Eppendorf 离心管中,再加入 2.0 μ L Buffer、0.5 μ L oligo (dT)、0.5 μ L Random. 6、0.5 μ L mix,最后加 4.5 μ L RNase FreedH₂O 补足。将 PCR 仪反应程序设置为 37 $^{\circ}$ C, 15 min; 85 $^{\circ}$ C, 5 s; 4 $^{\circ}$ C 后,进行反转录,得到 cDNA,最后加入 40.0 μ L ddH₂O 进行稀释,获得 cDNA 模板,放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱中备用。

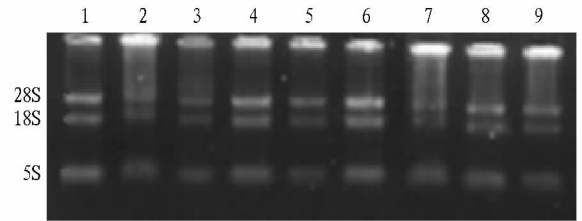
利用合成的引物 (EA-fas-CF、EA-fas-CR),并结合脑、胃、心脏等模板进行中间片段的 PCR 扩增。根据说明书添加如下反应体系: 10 \times Buffer 3.0 μ L、dNTP 2.0 μ L、上下引物各 0.4 μ L、*rTaq* 0.2 μ L、模板 0.6 μ L、ddH₂O 23.4 μ L。PCR 扩增反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 53 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min。当 PCR 扩增结束后,进行琼脂糖凝胶电泳检测,选择检测结果具有明亮条带的 PCR 产物,送上海生工生物工程技术有限公司进行纯化、克隆,获得基因序列,再以实验室前期获得的转录组序列作为数据库,搜索获得 *FAS* 基因序列,并通过 NCBI 数据库 Blast 程序进行序列验证。

1.3.3 RT-PCR 扩增。 以 β -actin 作为参考基因,重新设计 RT-PCR 引物 (EA-fas-RT-CF、EA-fasR-T-CR),以脑、肠、脾、腹肌、肝、鳃、胃、心脏、背肌作为模板进行 RT-PCR 扩增。每个样品进行 3 次重复扩增,每组反应体系: premix 7.5 μ L、模板 1.0 μ L、上下引物各 0.6 μ L、ddH₂O 6.3 μ L。RT-PCR 扩增反应程序: 95.5 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 40 个循环。

1.4 数据分析 所得数据采用 2^{- Δ CT} 法,计算 *FAS* 基因在赤点石斑鱼各组织中的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 总 RNA 检测结果 将所提取的总 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳检测,结果见图 1。由图 1 可知,在每个组织中均能观察到 28S、18S、5S 3 条明亮、清晰的条带。



注: 1. 脑; 2. 肠; 3. 脾; 4. 腹肌; 5. 肝; 6. 鳃; 7. 胃; 8. 心脏; 9. 背肌。
Note: 1. Brain; 2. Intestine; 3. Spleen; 4. Abdominal muscle; 5. Liver; 6. Gills; 7. Stomach; 8. Heart; 9. Back muscle.

图 1 赤点石斑鱼 9 个组织的总 RNA 电泳分析

Fig. 1 Electrophoretic analysis of total RNA expression in nine tissues of *Epinephelus akaara*

2.2 *FAS* 基因 cDNA 全长序列及其编码氨基酸序列 利用赤点石斑鱼肝脏的转录组数据,以及与其他物种 *FAS* 基因序列,通过 PCR 扩增和克隆测序分析,拼接得到 cDNA 全序列长度为 8 505 bp。由 ORF-Finder 检索得到,该序列由 7 548 bp 编码区、712 bp 的 3'UTR 区和 245 bp 的 5'UTR 区组成,共编码 2 515 个氨基酸。经 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>) 软件分析,预测赤点石斑鱼 *FAS* 蛋白质分子量为 274.03 ku,等电点为 5.98。利用 ProtScale (<http://web.expasy.org/protscale>) 在线预测赤点石斑鱼 *FAS* 的氨基酸亲/疏水性,结果显示,赤点石斑鱼 *FAS* 蛋白序列中疏水性氨基酸残基所占面积小于亲水性氨基酸残基,其中,疏水性最大值为 2.689,亲水性最大值为 3.000,可以推测该蛋白属于亲水性蛋白。此外,经过 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 在线预测,得知 *FAS* 蛋白有 2 个特有的结构域,一个是 PKS_ER 结构域 (位于第 1 549 ~ 1 864 个氨基酸); 另一个是 PKS_KR 结构域 (位于第 1 896 ~ 2 077 个氨基酸)。

2.3 *FAS* 基因的同源性和系统进化分析 利用 NCBI 数据库 Blast 程序进行序列验证,结果显示,该序列与大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)、深裂眶锯鲷 (*Stegastes partitus*)、罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 等的 *FAS* 基因核苷酸序列均有较高的相似度,分别为 87%、86%、83%。选取 NCBI 上已知的鱼类及其他高等脊椎动物的 *FAS* 基因序列,运用软件 ClustalX 进行多序列比对分析,并以 MEGA5.1 软件中的邻接法 (Neighbor Joining) 构建物种的 *FAS* 基因系统发生树 (图 2)。由图 2 可知,所获得的进化树由 2 个主要分支组成,其中一支主要分支又分为两分支,一支为各种鱼类,一支为原鸡和热带爪蟾,另一支主要分支为人和小鼠。

2.4 赤点石斑鱼 *FAS* 基因在各组织中的差异表达 为研究赤点石斑鱼不同组织 *FAS* 表达的差异性,通过 RT-PCR 对赤点石斑鱼 9 个组织的 *FAS* 相对表达量进行检测。结果表明,*FAS* 基因在各个组织中均有表达 (图 3),但不同组织中的表达量明显不同,心脏中相对表达量最高,为 0.069; 其次

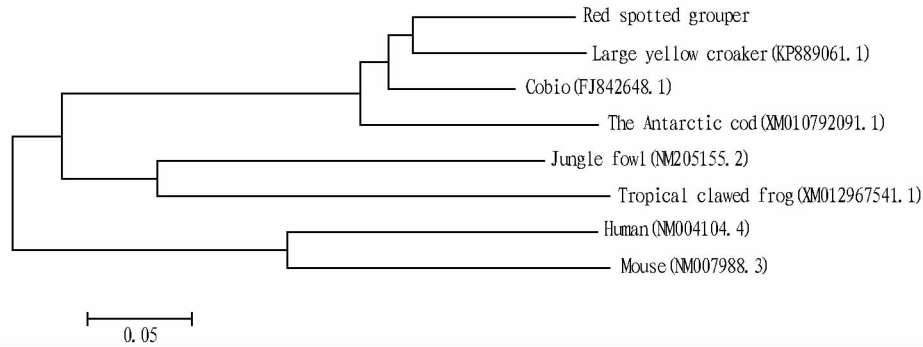


图2 基于 FAS 氨基酸序列构建脊椎动物系统进化树(NJ 树)

Fig.2 Phylogenetic tree of vertebrates based on FAS amino acid sequence

是肝和肠,表达量分别为 0.017 和 0.015;而脑与脾的表达量相同,均为 0.011;在腹肌、鳃、胃、背肌中的相对表达量差异不大,分别为 0.007、0.003、0.002、0.003。

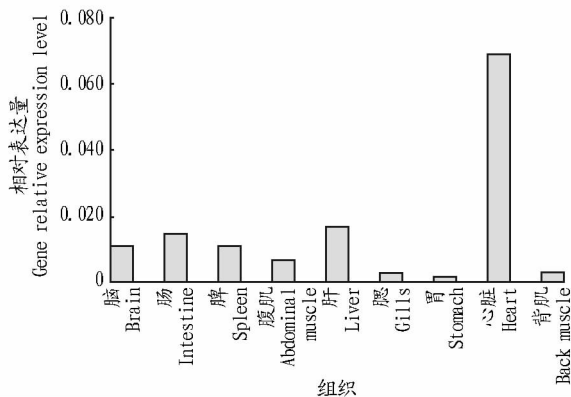


图3 赤点石斑鱼 FAS 基因在不同组织中的表达情况

Fig. 3 Tissue expression of FAS gene in different tissues of *Epinephelus akaara*

3 讨论

脂肪酸合成酶是一种多功能酶复合物,在动物生命活动中发挥重要作用,其最早是在鹅的肝脏中发现的,随后研究者对人、鼠、猪、牛也进行了相关方面的研究^[21-23]。该研究获得 FAS 基因全序列,其全长为 8 505 bp,由 712 bp 的 3'UTR 区、7 548 bp 的开放阅读框(ORF)以及 245 bp 的 5'UTR 区组成,共编码 2 515 个氨基酸。该序列与大黄鱼 FAS 基因序列相似度最高,为 87%,其高度保守性揭示鱼类 FAS 蛋白可能具有相似的功能和特性,在动物生长过程中起重要作用。经预测,FAS 蛋白属于亲水性蛋白,蛋白分子量为 274.03 ku,等电点为 5.98。且 FAS 蛋白具有 2 个特有的结构域,分别为 PKS_ER 结构域和 PKS_KR 结构域,这 2 个结构域在生物脂肪酸合成过程中起关键性作用。此外,通过构建 FAS 基因系统发育树,发现赤点石斑鱼与大黄鱼、军曹鱼亲缘关系更接近,与人和小鼠的亲缘关系最远,而与原鸡、热带爪蟾在 FAS 基因进化上比哺乳类有更近的亲缘关系。该结果不仅支持了硬骨鱼类的单系起源,也显示脊椎动物从水生到陆生的进化轨迹,反映了物种间的进化关系。

该研究通过 RT-PCR 扩增发现赤点石斑鱼 FAS 基因在脑、肠、脾、腹肌、肝脏、鳃、心脏、胃、背肌等组织中均有表达,

且在心脏中表达量最高,其次是在肝脏中。FAS 基因的表达直接影响脂肪酸合成酶的多寡,对鱼体内脂肪酸的合成具有极大影响。关于脂肪酸合成部位,研究表明,脂肪酸的合成部位在不同物种中具有差异性,哺乳动物主要在脂肪组织中合成脂肪酸,而家禽脂肪酸合成部位主要在肝脏,由肝脏合成的脂肪酸约占总量的 90%^[24]。研究发现,不同鱼类在不同组织中 FAS 基因 mRNA 表达量不同,瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)在肠道中表达量最高,且显著高于其他组织,肝脏组织中的表达量显著高于肌肉、脑组织和腹腔脂肪组织^[25];匙吻鲟(*Polyodon spathula*)在肝脏中表达量最高,其次是在腹腔脂肪中,在胃中表达量最低;而鳙(*Aristichthys nobilis*)在咽器官表达量最高,其次在肠道组织中,在鳃中表达量最低^[26]。研究发现,吉富罗非鱼肝脏中 FASmRNA 的表达丰度高于肌肉,且饲料脂肪水平能够抑制 FASmRNA 表达,脂肪水平越高抑制作用越明显^[27]。由于个体差异,不同物种在不同生长条件下,各个组织中 FAS 基因 mRNA 表达量不同。该研究对赤点石斑鱼不同组织中 FAS 基因不同表达量的探索,对脂肪酸合成调控研究具有一定的现实意义,通过对组织中脂肪酸合成酶量的调节,可以有效地控制鱼体内脂肪的沉积,从而提高鱼肉品质。因此,对 FAS 基因 mRNA 表达的时空性及不同条件下的表达调控需要在今后研究中进一步探索。

随着分子生物学技术的出现和不断成熟,人们从分子生物学水平对脂肪代谢的调控进行了一定探索性的研究。而该研究获得的赤点石斑鱼 FAS 基因全长序列,为进一步对赤点石斑鱼脂肪相关的研究以及育种提供了理论基础,同时也为今后研究赤点石斑鱼与鲈鱼目等近缘物种间分子进化和遗传分化奠定理论基础。

参考文献

- [1] 陈省平,丁少雄,陈嘉慧.赤点石斑鱼群体遗传结构的微卫星分析[J].中山大学学报(自然科学版),2012,51(3):83-89.
- [2] 林龙山.东山湾及其邻近海域常见游泳动物[M].北京:海洋出版社,2013:69.
- [3] 姚善成,从娇日.海水鱼类养殖技术[M].青岛:青岛海洋大学出版社,1998:100.
- [4] 颜新春,汪以真,许梓荣.动物脂肪酸合成酶(FAS)基因表达调控[J].动物营养学报,2002,14(2):1-4.
- [5] 罗建学,李春风,初晓辉,等.脂肪酸合成酶基因的研究进展[J].中国畜牧兽医,2011,38(6):118-123.

具有控制感,领域感较强,能提升学生交流、休息的使用感受。

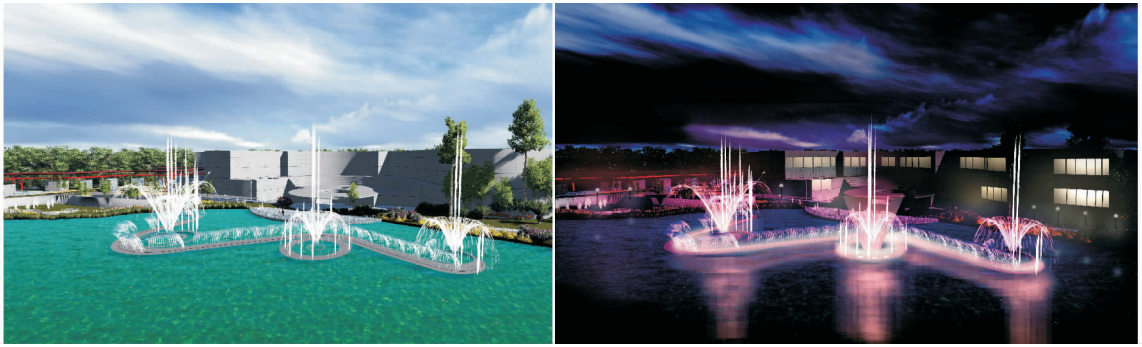


图10 海洋音乐喷泉及夜景效果

Fig. 10 Sea music fountain and night view effect

8 结语

学校作为育人场所,对户外学习的空间要求较高。广东海洋大学湖光校区的西湖为学生增加课余学习、健身活动和情感交流等场所,无疑为学校锦上添花。该项目用“游历”的设计手法向学生展现求学的游行体验,打破校园千篇一律的形态,赋予场地以声音、光效,结合园林建筑、园林小品和园林植物等,让行走其间的学生感受到学校“广学明德”的学习氛围、与时俱进的时代气息和“海纳厚为”的包容态度,突显校园文化与现代园林的完美结合,从而为学生在西湖可观赏、可学习、可休憩、可健身提供学习、学术、休闲和情感交流等于一体的校园的园中园现代游园场所。

参考文献

- [1] 张新鹏,王文莉,张运吉,等. 大学生对教学区庭院空间的利用现状调查[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2016,47(2):4.
- [2] 贺蓓. 广东5所高校93专业晋升一本[N]. 南方都市报,2016-04-08(AA01).
- [3] 李明洋. 五感体验式景观设计[J]. 科技信息,2011,14(5):15-24.
- [4] 王建国. 从城市设计角度看大学校园规划[J]. 城市规划,2002,12(5):11-24.
- [5] TURNER T. City as landscape[D]. London: E&FNSpon,1996:1-3.
- [6] HABRAKEN N J. The structure of the ordinary[D]. New York: Frutiger University,1998:1-2.
- [7] 苏珊·朗格. 情感与形式[M]. 北京: 中国社会科学出版社,1986:1-8.
- [8] 刘付东标,夏春华,李润唐. CAD专家模式操作在园林建筑与小品创作中的应用[J]. 黑龙江农业科学,2013(9):118-125.
- [9] 陆健健. 中国湿地[M]. 上海: 华东师范大学出版社,1990:21-34.
- [10] 石晓娜. 大学校园室外交往空间人性化设计研究[D]. 成都: 西南交通大学,2007:1-10.
- [11] 孟冬梅,王继文,李亚峰. 脂肪酸合成酶基因的研究进展[J]. 上海畜牧兽医通讯,2004(1):12-15.
- [12] 马慧敏,刘昌奇. 脂肪酸合成酶(FAS)基因的研究进展以及日粮成分对其表达的调控[J]. 饲料工业,2007,28(22):59-64.
- [13] WANG W,ZHAO X Y,WANG H Y, et al. Increased fatty acid synthase as a potential therapeutic target in multiple myeloma[J]. Journal of Zhejiang University Science B,2008,9(6):441-447.
- [14] HAUVERMALE A,KUNER J,ROSENZWEIG B, et al. Fatty acid production in *Schizochytrium* sp: Involvement of a polyunsaturated fatty acid synthase and a type I fatty acid synthase[J]. Lipids,2006,41(8):739-747.
- [15] SMITH S. The animal fatty acid synthase: One gene, one polypeptide, seven enzymes[J]. The FASEB journal,1994,8(15):1248-1259.
- [16] MORRIS S M,NILSON J H,JENIK R A, et al. Molecular cloning of gene sequences for avian fatty acid synthase and evidence for nutritional regulation of fatty acid synthase mRNA concentration[J]. Journal of biological chemistry,1982,257(6):3225-3229.
- [17] ALLAN E S,THOMAS A M,MARTA G T. Conversion of palmitate to unsaturated fatty acids differs in a *Neurospora crassa* mutant with impaired fatty acid synthase activity[J]. Lipids,1998,33(3):303-306.
- [18] MISRA S,SAKAMOTO K,MOUSTAÏD N, et al. Localization of sequences for the basal and insulin-like growth factor-I inducible activity of the fatty acid synthase promoter in 3T3-L1 fibroblasts[J]. The biochemical journal,1994,298(3):575-578.
- [19] ROLLAND V,LIEPVRE X L,JUMP D B, et al. A GC-rich region containing Sp1 and Sp1-like binding sites is a crucial regulatory motif for fatty acid synthase gene promoter activity in adipocytes. Implication in the overactivity of FAS promoter in obese Zucker rats[J]. The journal of biological chemistry,1996,271(35):21297-21302.
- [20] MATTHEW H H,CHIRALA S S,WAKIL S J. Human fatty-acid synthase gene[J]. The journal of biological chemistry,1996,271:13584-13592.
- [21] KAMEDA K,GOODRIDGE A G. Isolation and partial characterization of the gene for goose fatty acid synthase[J]. The journal of biological chemistry,1991,266(1):419-426.
- [22] 乔永,黄治国,李齐发,等. 绵羊肌肉中 FAS 基因和 HSL 基因的发育性变化及其对肌肉脂肪含量的影响(英文)[J]. 遗传学报,2007(10):909-917.
- [23] 舒常平,王宝维,李桢,等. 填饲鹅肝脏组织中脂肪酸沉积与 FAS 基因 mRNA 的表达丰度[J]. 中国农业科学,2012(10):2002-2011.
- [24] 熊文中,杨凤,周安国. 猪重组生长激素对不同杂交肥育猪脂肪代谢调控的研究[J]. 畜牧兽医学报,2001,32(1):4.
- [25] 任亮,朱宝芹,张轶博,等. 利用软件 Primer Premier 5.0 进行 PCR 引物设计的研究[J]. 锦州医学院学报,2004,25(6):43-46.
- [26] MORRIS C A,CULLEN N G,GLASS B C, et al. Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat[J]. Mammalian genome,2007,18(1):64-74.
- [27] MUNOZ G,OVILO C,NOGUERA J L, et al. Assignment of the fatty acid synthase (FASN) gene to pig chromosome12 by physical and Linkage mapping[J]. Animal genetics,2003,34(3):234-235.
- [28] ROY R,GAUTIER M,HAYES H, et al. Assignment of the fatty acid synthase (FASN) gene to bovine chromosome19(19q22) by in situ hybridization and confirmation by somatic cell hybrid mapping[J]. Cytogenetics and cell genetics,2001,93(1/2):141-142.
- [29] 张宜辉,张蕊,王健,等. 番鸭脂肪合成酶基因的克隆及填饲对其 mRNA 水平的影响[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(1):84-87.
- [30] 覃川杰. 瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*) 脂肪代谢相关基因 cDNA 的克隆及表达分析[D]. 上海: 华东师范大学,2010.
- [31] 施培松. 匙吻鲟和鳊的生长、肌肉品质比较及 FAS 基因克隆与表达[D]. 武汉: 华中农业大学,2013.
- [32] 王爱民,韩光明,韦信健,等. 吉富罗非鱼 FAS 基因的克隆及再投喂和饲料脂肪水平对其表达的影响[J]. 水产学报,2010(7):1113-1120.

(上接第111页)