

动物肌肉发育相关印记基因研究进展

贺花¹, 何帆^{2*}, 黄永震³, 姜艳芬¹, 郭抗抗¹, 王晶钰¹, 张彦明¹ (1. 西北农林科技大学动物医学院, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100; 3. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 就印记基因的发展过程、主要特点及作用机制进行了简要概述, 并主要介绍了与肌肉的生长发育密切相关的部分印记基因(DLK1、SNRPN、IGF2和H19), 印记基因的作用原理以及对肌肉发育的影响。

关键词 动物; 肌肉发育; 印记基因; 甲基化

中图分类号 S813 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)27-0029-03

Research Progress on Imprinted Gene Related to Development of Animal Muscle

HE Hua¹, HE Fan², HUANG Yong-zhen³ et al (1. College of Veterinary Medicine, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. College of Food Science and Engineering, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 3. College of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract Discovery process, main features and mechanism of action of imprinted genes were summarized. Part of imprinted genes (DLK1, SNRPN, IGF2 and H19) which was associated with the growth and development of animal muscle was introduced. Working principles and its influences to muscles were described.

Key words Animal; Muscle development; Imprinted gene; Methylation

随着科学研究的发展与进步, 科学家们逐渐意识到并发现了隐藏在人类基因中的一种特殊的基因, 即印记基因。研究表明, 来自亲本双方的两个等位基因, 在遗传过程中进行了修饰作用, 造成了子代中一个基因表达而另一个基因不表达或表达不显著的现象, 这一现象被叫做基因组印记(Genomic Imprinting)。其中, 父(母)源印记指的是来自父(母)方等位基因不表达者, 能产生印记效应的单等位表达基因称为印记基因(Imprinted Genes)。目前对发现的少数印记基因的研究表明, 印记基因功能强大且作用很广泛, 该发现对现代医学与生物学都做出了较大贡献。其中, 在动物肌肉生长发育的调控因素的研究中, 也发现了印记基因的关键作用, 引发了科学家在此领域的探索。

1 印记基因的发现及其特点

1.1 印记基因的发现 历史上关于印记基因现象的最早报道出现于1960年, Crouse^[1]在Sciara昆虫(属尖眼蕈蚊科尖眼蕈蚊属, 是一种双翅目的小型昆虫, 分布范围广, 食物来源繁杂, 通常繁殖并生存在畜粪丰富、垃圾多、潮湿及腐殖质丰富的地方)的X染色体中发现, 等位基因中来自于父方的基因不能正常表达发挥作用, 反而只有来自于母方的基因可以正常表达。在此之后, 于20世纪80年代, 科学家在对小鼠的细胞进行核移植的试验时, 发现了位于哺乳动物体内染色体上的印记基因。1984年, Barton等^[2]发现, 当2个细胞核来自同一个个体时, 其只能在初期发育, 到发育后期就会死亡; 而只有当2个细胞核来自2个不同个体时, 就得以正常

存活并继续生长发育。根据现在已有的科学研究得知, 同一来源的2个细胞核组成的个体之所以会在早期发育而后期死亡, 是由某些印记基因的作用引起的。继而于20世纪90年代初, 有3个试验室分别在对小鼠的试验中发现了3种具有重要意义印记基因, 分别是: 父源印记基因IGF2、母源印记基因IGF2R和H19。这一发现是印记基因的研究历史上的里程碑式的进步^[3-5]。

大量研究表明, 印记基因主要存在于4类物种中, 分别是真兽类哺乳动物、有袋类动物、种子植物和人类。2000年, Koski等^[6]发现鸡的IGF2基因在其胚胎发育期间表现出印记现象, 同年O'Neill等^[7]报道称IGF2基因在鸡的胚胎发育期是父源和母源的2个等位基因在同时表达, 而鸡的M6P/IGF2也没有出现印记现象。而有关鸟类的印记基因的研究则出现了一些矛盾的现象, 因此不能明确其是否真的具有印记基因。通常情况下认为鱼类、爬行类和两栖类(部分鲨鱼也是有胎盘的)等是不含有印记基因的。

1.2 印记基因的特点 印记基因的特点主要是以下几个方面: (1) 根据亲本来源, 在来自父方与母方的等位基因中, 仅有一方的等位基因会表达, 以使来自两方的基因组表达而表现不同的功能; (2) 富含CpG岛(CpG是胞嘧啶C-磷酸p-鸟嘌呤G的缩写, 常出现在真核生物编码基因的调控区), 十分容易被高度甲基化修饰, 表明在印记状态的维持上, 甲基化修饰发挥着重要的作用; (3) 在DNA基因组上, 印记基因很少单独存在, 而往往是多个相连着出现, 这表明印记基因相互之间存在着某种共线性的作用, 因此多个印记基因的区域才会相连出现^[8]; (4) 印记基因具有印记遗传的组织特异性, 具体来说, 在遗传印记的过程中, 相同的一对等位基因只在特定的个体部位表现印记效应, 即只表达父源或者母源一方的等位基因, 而在另外的组织器官等, 两者都会表达, 不显示印记效应^[9]; (5) 目前关于印记基因的研究, 大部分出现于小鼠或者人类, 可见印记基因具有物种间的保守性^[9]; (6) 存

基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(31601926); 中国博士后科学基金面上项目(2015M570856); 陕西省博士后科研资助基金(2016BSHYDZZ44); 陕西省自然科学基金研究计划一般项目(面上)(2017JM3012); 西北农林科技大学2017年大学生创新创业训练计划(S201710712086)。

作者简介 贺花(1985—), 女, 陕西咸阳市人, 实验师, 博士, 从事本科教学实验室管理和动物性食品卫生检验相关研究。*与第一作者具有同等的贡献。

收稿日期 2018-05-31; **修回日期** 2018-06-15

在包括 H19 基因在内的少量印记基因,它们不会最终翻译成蛋白质,但是转录生成 RNA 的过程却会发生^[9]; (7) 约有 15% 的印记基因的反义链是可以通过转录生成 RNA 的,并且这些 RNA 的生成也属于遗传印记,且是父方等位基因的表达,但不包括 Tsix (Xist 的反义序列, Xist 即 X-inactive specific transcript,失活 X 染色体特定转录, Tsix 为 Xist 的负向调节因子),其它多数印记基因的反义链都只转录不翻译^[9]。(8) 在 DNA 的复制过程中,印记基因具有复制时可以不同时发生的特性^[10]。

2 印记基因的印记机制

哺乳动物印记基因的印记过程,一般大致可以分为 3 个部分,分别是印记的形成、印记的维持与印记的去除。在哺乳动物成熟的配子中,印记已经形成,而且印记将持续存在直到出生以后。有一点值得说明的是,在卵母细胞的核移植试验中,科学家发现,当对应 DNA 被甲基化修饰后,才可以获得基因印记,反之则不能获得。而前文中也有提到过,对于印记基因的维持来说,甲基化是一个必要的因素。基因印记的去除发生在原始生殖细胞的早期阶段,而这个阶段中的印记基因的甲基化修饰还在继续维持。而在染色体复制时,甲基化修饰无法继续维持,因此,母方的去甲基化过程是被动的进行的。在囊胚阶段时,甲基化修饰会在内细胞团中重新进行。在受精时及受精后,甲基化修饰过的等位基因将继续其甲基化状态,没有被甲基化修饰过的等位基因将继续其非甲基化的状态。在囊胚期,遗传印记将建立。而在胚胎期之后,遗传印记仅出现于各组织器官,原始生殖细胞中的基因印记将被清除。

3 印记基因的调节机制

3.1 启动子修饰模式 印记基因的启动子中含有大量的鸟嘌呤和胞嘧啶,而且其往往在此中的某个等位基因中是高度甲基化的。该过程后,启动子无法和转录因子结合,从而抑制该等位基因转录,继而抑制基因的表达。甲基化 CpG 结合蛋白 2 (Methyl CpG binding Protein 2, MeCP2)、组蛋白去乙酰化酶 (Histone deacetylase, HDAC) 等构成复合体,在组蛋白 H4 上,发生去乙酰化修饰这一过程,最终使得染色体发生紧缩,从而基因转录生成 RNA 被抑制^[10]。

3.2 边界元件的作用模式 顺式阻遏效应是许多印记基因差异甲基化区域 (Differentially Methylated Region, DMR) 经过甲基化修饰后所具有的,通过甲基化修饰作用,个体自身的等位基因就不能够继续表达,失去了活性。但也有另一种作用效果,对于部分印记基因 DMR 来说,甲基化修饰会活化自身等位基因从而进行正常的表达作用。这一诱导作用主要通过隔离蛋白与边界元件之间的作用来进行。例如,隔离蛋白 CTCF 因子是边界元件 CCCTC 序列的基因特异性结合因子。在交互印记 IGF2/H19 中,印记中心 (Imprinting Center, IC) 是一段长约 2 kb 的 DNA 片段,位于 IGF2 和 H19 之间。在父方表达的等位基因中,通过甲基化修饰 IC,由于 CTCF 因子不再能够与其正常结合,因而使增强子优先作用于 IGF2 基因,于是 H19 基因被抑制正常作用,IGF2 基因开始表达。

相反,在母方表达的等位基因中,由于 IC 没有被甲基化修饰,不影响 CTCF 因子与之正常结合,因此 IGF2 基因被抑制转录,而在 H19 基因的启动子上增强子发挥作用, H19 基因能够正常表达^[10]。

4 与动物肌肉发育相关的印记基因作用机制及其研究进展

4.1 DLK1 DLK1 (Delta-like 1 Homologue) 是目前已知的印记基因中的其中一种,它表现为父源等位基因表达而母源等位基因沉默^[11]。研究表明,它参与了多种细胞的增殖、分化调节的过程,发挥不可忽视的作用^[12]。DLK1 属于表皮生长因子的一种。DLK1 与 GTL2 (Gene Traped Locus 2) 是一对印记基因,人的 DLK1 基因全长 1 557 bp,编码序列中含有 1 152 个核苷酸,编码 383 个氨基酸残基^[13]。

在 DLK1 与 GTL2 这对印记基因中,DLK1 是父源表达,母源沉默的印记基因 (此基因在人、羊、鼠中高度同源); 而 GTL2 印记基因是仅有母源表达的。DLK1 印记基因定位于人的 14 号染色体、小鼠的 12 号染色体以及绵羊的 18 号染色体^[13]。在人 14 号染色体上,目前已知 DLK1 印记基因有 3 个 DMR 区域,分别是 DLK1 基因 3' 端的 DMR 区域,位于 GTL2 基因上游 15 Kb 的基因间差异甲基化区以及包括了 GTL2 基因的启动子和第一外显子的 DMR 区域^[14]。这些甲基化区域调控着该基因印记的表达,决定了一对等位基因是由父源表达还是由母源表达。例如,位于小鼠 12 号染色体上的 DLK1 基因表达的是父源等位基因,由该基因编码合成是一种跨膜糖蛋白,与 Delta/Notch 信号转导有关,能够维持细胞的正常分化和增殖^[15]。经研究发现,DLK1 基因的作用机制与 GTL2 基因是紧密联系的,与位于小鼠 7 号染色体上的印记基因组 IGF2/H19 作用机制十分相似^[10]。DLK1 和 IGF2 基因同样都是在去甲基化修饰过程后,表达作用被抑制,从而间接地促进了 GTL2 基因和 H19 基因的表达^[13]。

研究表明,DLK1 基因能够调节肌细胞和人骨骼肌干细胞的分化,并且在胎盘类哺乳动物的生长发育过程中,对肌肉的发育有促进作用,而抑制脂肪组织的生长^[16-17]。

4.2 SNRPN SNRPN (encode Small Nuclear Ribonucleoprotein Polypeptide N) 基因是编码小核核糖核蛋白多肽 N 的印记基因,其作用是与前体 RNA 结合,从而影响 RNA 的选择性剪接^[18]。SNRPN 基因在鼠和人中均为父源等位基因表达^[19-20],其在鼠的肺、肝、脾、肾、子宫、睾丸和脑等组织器官中都有表达,但在脑中表达量最高^[21]。另一研究发现,仔猪的 SNRPN 基因在心脏、肌肉中的表达量均低于其他组织,心脏中的表达量较低这一现象在啮齿类动物中可能存在着种间差异^[22]。人的 SNRPN 基因定位于染色体 15 q11-q13 的 PWS/AS 区域^[18], Glenn 等^[23] 通过 Northern Blot 试验发现 SNRPN 在脑的不同部位都高表达,包括下丘脑,这表明 SNRPN 基因在下丘脑中极有可能发挥了重要的不可替代的作用。在对人和鼠中的研究试验中发现,该印记基因异常表达时是会影响到个体神经系统的发育进程的。同时相关研究表明,在猪中该基因在神经系统中高度表达,这说明该基因对神经系统的发育有着重要影响和作用^[22],而到个体成年

时,其各组织器官中该基因的表达达到了相对稳定,只有在心脏、骨骼肌中的表达量是略微低于其他组织器官中的表达量的^[24]。同时,研究发现 SNRPN 基因在猪的各个时期的胎盘中都能够稳定表达,没有大的起伏和变动,这可能与 SNRPN 基因的功能有一定关系^[22]。还有研究表明该基因同时与细胞的分化、细胞的增殖、胚胎的发育以及一些精神行为等有关联^[25-28]。由此可见,SNRPN 基因不仅在胎盘功能和仔猪生长发育过程中发挥着重要的作用,而且在肌肉的生长发育过程中也起到了重要作用。

同样在下丘脑中高度表达的还有 NDN (Necdin) 基因和 UBE3A (Ubiquitin-protein ligase E3A) 基因,虽然在肌肉中表达量较低,但也发挥了作用,促进生长^[22]。

4.3 IGF2 和 H19 IGF2 (Insulin-like Growth Factor 2) 基因是胰岛素样生长因子之一,主要在胎儿的发育时期、肿瘤细胞的增殖分化时期以及肌肉的生长方面发挥重要的调节作用。由于 IGF2 基因与肌肉的生长密切相关,因此该基因是影响猪胴体瘦肉率和背膘厚度的基因中重要的候选基因之一^[29],与之相关的试验也进一步说明了 IGF2 基因对肌肉生长的关键影响。研究表明,15~23 周龄的公猪,其 IGF2 基因印记浓度与背膘厚度呈负相关,说明 IGF2 基因对于脂肪组织的积累有反向调节作用^[30]。1986 年,Florini 等^[31]提出了 IGF2 基因的作用方式是通过对浓度的控制达到促进肌纤维的增殖和分化的目的。

H19 基因位于 IGF2 基因的下流,只转录 RNA,而不翻译成蛋白质,是母源表达、父源沉默的印记基因,H19 基因是以转录形成 RNA 的形式来发挥功能和作用的,一般认为 H19 基因参与了 IGF2 基因的表达调控^[32-34]。研究发现,H19 和 IGF2 基因是一对相互影响的印记基因组。在 H19 基因作用时,其抑制了母源染色体的转录过程,从而降低了 IGF2 印记的浓度^[29]。

通过对瘦肉型品种长白猪和脂肪型品种蓝塘猪的研究,可得知 IGF2 基因和 H19 基因在猪脂肪沉积和生长发育上发挥了重要作用和影响,同时发现其在猪早期的肌肉等组织的生长发育过程中起到了重要作用,证实了 IGF2 基因和 H19 基因与动物肌肉生长发育密切相关,从而发挥关键性作用^[28-29]。

5 印记基因应用前景

尽管印记基因的数量只占人体基因总数的很小的比例,但它们的表达会对个体的整个生长发育过程都有着重要影响,由此来看,印记基因的作用研究无疑将会是未来研究的重点。相信在生命科学技术日益发展和完善的今天,印记基因的研究与应用将成为科学家们的又一热门研究领域。除了生长发育,如果能在成体组织中对印记基因功能进行更深入的分析,或许将有助于了解动物遗传疾病、肿瘤等的发病机理,并使这些疾病能够得到一定的解决或改善。

参考文献

[1] CROUSE H V. The controlling element in sex chromosome behavior in *Sciara* [J]. *Genetics*, 1960, 45 (10): 1429-1443.
[2] BARTON S C, SURANI M A, NORRIS M L. Role of paternal and maternal

genomes in mouse development [J]. *Nature*, 1984, 311 (5984): 374-376.
[3] DECHIARA T M, ROBERTSON E J, EFSTRATIADIS A. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene [J]. *Cell*, 1991, 64 (4): 849-859.
[4] BARLOW D P, SRÖGER R, HERMANN B G, et al. The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the *Time* locus [J]. *Nature*, 1991, 349 (6304): 84-87.
[5] BARTOLOMEI M S, ZEMEL S, TILGHMAN S M. Parental imprinting of mouse H19 gene [J]. *Nature*, 1991, 351: 153-155.
[6] KOSKI L B, SASAKI E, ROBERTS R D, et al. Monoallelic transcription of the insulin-like growth factor-II gene (IGF2) in chick embryos [J]. *Molecular reproduction and development*, 2000, 56 (3): 345-352.
[7] O'NEILL M J, INGRAM R S, VRANA P B, et al. Allelic expression of IGF2 in marsupials and birds [J]. *Development genes and evolution*, 2000, 210 (1): 18-20.
[8] VERONA R I, MANN M R, BARTOLOMEI M S. Genomic imprinting: Intricacies of epigenetic regulation in clusters [J]. *Annual review of cell and developmental biology*, 2003, 19 (1): 237-259.
[9] 张守全, 冯定远, 田秀春, 等. 哺乳动物印记基因的研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2003, 23 (12): 48-54.
[10] 沈秀平, 林月霞, 徐琪. 印记基因研究进展 [J]. *上海农业学报*, 2012, 28 (1): 123-127.
[11] LABORDA J, SAUSVILLE E A, HOFFMAN T, et al. DLK, a putative mammalian homeotic gene differentially expressed in small cell lung carcinoma and neuroendocrine tumor cell line [J]. *The journal of biological chemistry*, 1993, 268 (6): 3817-3820.
[12] QI X F, CHEN Z X, LIU D D, et al. Expression of DLK1 gene in myelodysplastic syndrome determined by microarray, and its effects on leukemia cells [J]. *International journal of molecular medicine*, 2008, 22 (1): 61-68.
[13] 李雅琼, 王伟, 黄燕芳, 等. 印记基因 DLK1 的研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14 (9): 1775-1778.
[14] TAKADA S, TEVENDALE M, BAKER J, et al. *Delta-like* and *Gtl2* are reciprocally expressed, differentially methylated linked imprinted genes on mouse chromosome 12 [J]. *Current biology*, 2000, 10 (18): 1135-1138.
[15] LUCIFERO D, CHAILLET J R, TRASLER J M. Potential significance of genomic imprinting defects for reproduction and assisted reproductive technology [J]. *Human reproduction update*, 2004, 10 (1): 3-18.
[16] ANDERSEN D C, PETERSSON S J, JORGENSEN L H, et al. Characterization of DLK1+ cells emerging during skeletal muscle remodeling in response to myositis, myopathies, and acute injury [J]. *Stem cells*, 2009, 27 (6): 898-908.
[17] SHIN J, LIM S, LATSHAW J D, et al. Cloning and expression of delta-like protein 1 messenger ribonucleic acid during development of adipose and muscle tissues in chickens [J]. *Poultry science*, 2008, 87 (12): 2636-2646.
[18] ÖZÇELİK T, LEFF S, ROBINSON W, et al. Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N (SNRPN), an expressed gene in the Prader-Willi syndrome critical region [J]. *Nature genetics*, 1992, 2: 265-269.
[19] LEFF S E, BRANNAN C I, REED M L, et al. Maternal imprinting of the mouse *Snrpn* gene and conserved linkage homology with the human Prader-Willi syndrome region [J]. *Nature genetics*, 1992, 2 (4): 259-264.
[20] REED M L, LEFF S E. Maternal imprinting of human SNRPN, a gene deleted in Prader-Willi syndrome [J]. *Nature genetics*, 1994, 6 (2): 163-167.
[21] GLENN C C, DRISCOLL D J, YANG T P, et al. Genomic imprinting: Potential function and mechanisms revealed by the Prader-Willi and Angelman syndromes [J]. *Molecular human reproduction*, 1997, 3 (4): 321-332.
[22] 杨永升, 黄琛琛, 蒋曹德. 印记基因 SNRPN、NDN 和 UBE3A 在初生仔猪及胎盘中表达谱分析 [J]. *安徽农业科学*, 2013, 41 (7): 2844-2847.
[23] GLENN C C, SAITOH S, JONG M T, et al. Gene structure, DNA methylation, and imprinted expression of the human SNRPN gene [J]. *American journal of human genetics*, 1996, 58 (2): 335-346.
[24] WANG M, ZHANG X, KANG L, et al. Molecular characterization of porcine *NECD*, *SNRPN* and *UBE3A* genes and imprinting status in the skeletal muscle of neonate pigs [J]. *Molecular biology reports*, 2012, 39 (10): 9415-9422.

植物直接吸收利用,或者经简单转化后即可利用。因此蚯蚓处理为污泥的土地利用奠定了营养基础。

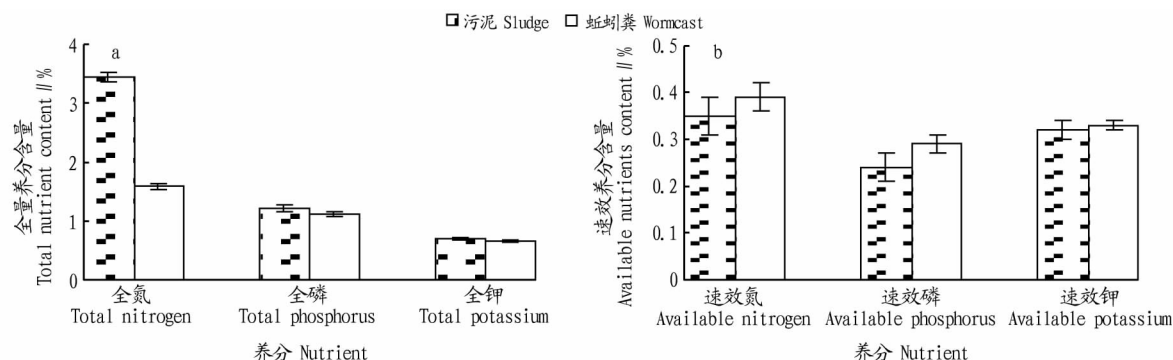


图1 蚯蚓处理前后污泥和蚓粪全量养分(a)和速效养分(b)含量的差异

Fig. 1 Differences of total nutrient (a) and available nutrients (b) content between sludge and earthworm manure before and after treatment by earthworm

3 讨论与小结

通过 30 d 的试验,蚯蚓在未经发酵的新鲜脱水污泥中能够正常生存,并且体重有所增加。所选污泥来自校园内生活污水处理产生的脱水污泥,重金属含量相对较低且病原微生物数量较少,污泥中富含有机质、氮、磷、钾等营养元素,有利于蚯蚓的生存和摄食。研究结果表明,脱水污泥不需进行堆肥发酵或其他预处理,可以直接喂食蚯蚓。

脱水城市污泥经过蚯蚓处理以后,理化性质发生明显改变,污泥的 pH 和 EC 值下降,有机质含量降低,性质更趋于稳定。细菌、放线菌、真菌的数量有不同幅度提高,粪大肠杆菌数量降低,说明蚯蚓处理使污泥的微生物活性增强,有害微生物得到抑制。处理后的污泥全氮、全磷、全钾养分含量降低,速效氮、速效磷和速效钾的含量增加,有利于在农业中应用。蚯蚓处理为城市污泥资源化利用拓展了一条有效途径。

参考文献

[1] 张芳芳,苏亚勋,陈庆斌. 污泥营养土对黑麦草生长和土壤理化性质的影响[J]. 天津农业科学,2017,23(7):33-36.
[2] 白莉萍,齐洪涛,伏亚萍,等. 北京地区不同城镇污水处理厂堆肥污泥的营养含量和重金属污染[J]. 环境科学,2014,32(12):4648-4654.
[3] 李桃,李伟,李筱梅,等. 山西省城市污泥农用潜力与安全施用[J]. 环

境工程学报,2015,9(7):3455-3460.
[4] 罗景阳,冯雷雨,陈银广. 污泥中典型新兴有机污染物的污染现状及对污泥土地利用的影响[J]. 化工进展,2012,31(8):1820-1827.
[5] 李雄伟,李俊,李冲,等. 我国污泥处理处置技术应用现状及发展趋势探讨[J]. 中国给水排水,2016,32(16):26-30,35.
[6] 姜玲玲,孙琳. 我国污泥处理处置现状及发展趋势分析[J]. 环境卫生工程,2015,23(3):13-14,17.
[7] 王涛. 污泥堆肥技术现状及应用中需注意的问题[J]. 中国环保产业,2014(2):30-35.
[8] 熊云武,林晓燕,龚亚龙,等. 城市污泥安全农用研究进展[J]. 现代农业科技,2016(3):228-229.
[9] 张旭东,明珠. 城市生活垃圾和污泥填埋场的恶臭污染问题及其控制对策探讨[J]. 环境与可持续发展,2013,38(6):67-69.
[10] 廖艳芬,漆雅庆,马晓茜. 城市污水污泥焚烧处理环境影响分析[J]. 环境科学学报,2009,29(11):2359-2365.
[11] 张可贵,张克峰,王洪波,等. 蚯蚓堆肥处置城市污泥研究进展[J]. 安徽农业科学,2013,41(28):11374-11376.
[12] 陆志波,邓德汉,陈巧燕,等. 蚯蚓处理污泥的环境适应性[J]. 同济大学学报(自然科学版),2009,37(5):646-650.
[13] GUPTA R, GARG V K. Stabilization of primary sewage sludge during vermicomposting [J]. Journal of hazardous materials, 2008, 153(3): 1023-1030.
[14] 邱江平. 蚯蚓及其在环境保护上的应用Ⅲ:蚯蚓在处理有机废弃物和生活污水上的应用[J]. 上海农学院学报,2000,18(1):53-58,66.
[15] 李娟,吴永胜,杨雪,等. 蚯蚓抗菌肽的研究进展[J]. 安徽农业科学,2016,44(3):62-63.
[16] 刘小丽. 蚯蚓处理对城市污泥肥效及重金属生物有效性的影响[D]. 武汉:华中农业大学,2003:31.

(上接第 31 页)

[25] TYCKO B, ASHKENAS J. Epigenetics and its role in disease [J]. The journal of clinical investigation, 2000, 105(3): 245-246.
[26] COULDREY C, LEE R S F. DNA methylation patterns in tissues from mid-gestation bovine foetuses produced by somatic cell nuclear transfer show subtle abnormalities in nuclear reprogramming [J]. BMC Developmental Biology, 2010, 10: 1-17.
[27] SAHER SUE HAMMOUD B S, JAHNVI PURWAR B S, CHRISTIAN PFLUEGER M S, et al. Alterations in sperm DNA methylation patterns at imprinted loci in two classes of infertility [J]. Fertility and sterility, 2009, 94(5): 1728-1733.
[28] SUZUKI J JR, THERRJEN J, FILIION F, et al. In vitro culture and somatic cell nuclear transfer affect imprinting of SNRPN gene in pre-and post-implantation stages of development in cattle [J]. BMC Developmental Biology, 2009, 9: 1-13.

[29] 吴婉丽,许继国,吴同山,等. 长白和蓝塘猪印记基因 *IGF2* 和 *H19* 的时空表达研究[J]. 华南农业大学学报,2013,34(3):388-393.
[30] OWENS P C, GATFORD K L, WALTON P E, et al. The relationship between endogenous insulin-like growth factors and growth of pigs [J]. Journal of animal science, 1999, 77(8): 2098-2103.
[31] FLORINI J R, EWTON D Z, FALEN S L, et al. Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins [J]. Journal of animal and veterinary advances, 1986, 250: 771-778.
[32] AYESH S, MATOUK I, SCHNEIDER T, et al. Possible physiological role of H19 RNA [J]. Molecular carcinogenesis, 2002, 35(2): 63-74.
[33] HARK A T, SCHOENHERR C, KATZ D J, et al. CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the H19/Igf2 locus [J]. Nature, 2000, 405(6785): 486-489.
[34] BELL A C, FELSENFELD G. Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the *Igf2* gene [J]. Nature, 2000, 405(6785): 482-485.