

松辽黑猪 *OOEP* 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析

张云鹏^{1,2}, 张琪², 金鑫², 刘庆雨², 高一², 张庆², 张树敏^{1,2*}

(1. 吉林农业大学动物科学技术学院, 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院, 长春 130033)

摘要:为探究 *OOEP* 基因多态性与松辽黑猪繁殖性状的关联性, 选取 130 头松辽黑猪母猪为研究对象, 利用 Sanger 直接测序法测序查找 *OOEP* 基因 3 个外显子的 SNP 位点, 使用 SPSS 19.0 软件对 *OOEP* 基因 SNP 位点与松辽黑猪繁殖性状关联性进行分析。结果显示, 松辽黑猪 *OOEP* 基因第 2 外显子 100 bp 和 136 bp 位点处存在 SNPs 位点, 分别命名为 C100T 和 A136C, 在 C100T 位点上检测到 3 种基因型, 分别为 CC、CT 和 TT; 在 A136C 位点上则检测到 AA、AC 和 CC 基因型。群体遗传参数分析及卡方适合性检验结果显示, 在松辽黑猪群体中 2 个 SNPs 位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P < 0.01$), C/T 和 A/C 突变位点杂合度处于中等水平, 属于中度多态 ($0.25 < PIC < 0.5$), 可提供少许遗传信息; 关联分析结果表明, 在 *OOEP* 基因第 2 外显子 C/T 和 A/C 突变位点上, 不同基因型在总产仔数、产活仔数、仔猪初生重、21 日龄重、断奶重及断奶仔猪数、乳头数上差异不显著 ($P > 0.05$), 其中 TT (CC) 基因型在总产仔数、产活仔数及断奶数均高于 CC (AA) 和 CT (AC) 基因型。综上所述, *OOEP* 基因第 2 外显子存在突变位点 C/T 和 A/C, 与松辽黑猪繁殖性状不存在显著差异, 能否作为繁殖性状的遗传标记, 需要在更大的群体进一步研究。

关键词: 松辽黑猪; *OOEP* 基因; 繁殖性状; 多态性; 关联分析; 遗传标记

中图分类号: S828

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2024)03-0065-06

Polymorphism of *OOEP* Gene and Its Association with Reproductive Traits in Songliao Black Pig

ZHANG Yunpeng^{1,2}, ZHANG Qi², JIN Xin², LIU Qingyu², GAO Yi², ZHANG Qing², ZHANG Shumin^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: To explore the association of *OOEP* gene polymorphism with reproductive traits in Songliao Black Pig. 130 sows were selected as the research object, and the SNP sites of three exons of *OOEP* gene were sequenced by Sanger direct sequencing method. The correlation analysis of *OOEP* gene SNP locus to reproductive traits of Songliao Black Pig was analyzed by SPSS 19.0 software. The results showed that SNPs were found in exon 2 of *OOEP* gene at 100 bp and 136 bp, named C100T and A136C, respectively. 3 genotypes were detected at C100T locus, CC, CT and TT. AA, AC and CC genotypes were detected at A136C. The results of population genetic parameter analysis and chi square fitness test showed that the two SNPs sites deviated from Hardy Weinberg equilibrium ($P < 0.01$), and the heterozygosity of C/T and A/C mutation sites was at the middle level, which was moderate polymorphism ($0.25 < PIC < 0.5$), which could provide a little genetic information. The results of correlation analysis showed that the mutation sites of C/T and A/C in exon 2 of *OOEP* gene were found, The difference of the total number of piglets, the number of live piglets, the first birth weight, the weight of three weeks, the weaning weight, the number of weaning piglets and the number of nipples were not significant ($P > 0.05$), TT (CC) genotype was higher than CC (AA) and CT (AC) genotype in total litter size, live litter size and weaning number. In conclusion, there are mutation sites C/T and A/C in exon 2 of *OOEP* gene, which is not significantly different from that of Songliao Black Pig. Whether it can be used as a genetic marker of reproductive traits needs further study in larger populations.

收稿日期: 2021-01-17

基金项目: 吉林省科技厅科技攻关项目(20190301036NY); 吉林省科技发展计划项目(20191001039XH); 吉林省科技厅地方科技创新与扶贫项目(20191001039XH)

作者简介: 张云鹏(1992-), 男, 在读硕士, 从事动物遗传育种与繁殖研究。

通信作者: 张树敏, 男, 博士, 研究员, E-mail: shumin1961@126.com

Key words: Songliao Black Pig; *OOEP* gene; Reproductive traits; Polymorphism; Association analysis; Genetic marker

卵母细胞表达蛋白(oocyte-expressed protein, *OOEP*)是卵母细胞特异的母源效应基因,又称 *FLOPED*。*OOEP* 基因分布在细胞质中,并定位于小鼠和人的卵母细胞的皮层下^[1]。在小鼠卵母细胞和胚胎干细胞中大量特异性表达。猪的 *OOEP* 基因位于1号染色体q53。*OOEP* 基因首先出现在进化迅速的欧亚哺乳动物,并且不存在于鱼类、鸟类和有袋动物的基因组中^[2]。Tong ZB等^[3-4]研究发现,小鼠卵母细胞 *OOEP* 基因的缺失不影响卵泡发生、排卵或受精,但会导致早期胚胎无法完成卵裂期发育,从而导致雌性小鼠出现不育。Li L等^[5]研究发现,*OOEP* 的消耗不仅损害原始卵泡和初级卵泡内的卵母细胞存活,而且影响减数分裂成熟和早期胚胎发育。另外,*OOEP* 属于皮质外源母体复合物(subcortical maternal complex, SCMC)的一员,SCMC 位于小鼠卵母细胞和着床前胚胎的皮层下,由四种母源效应基因编码的蛋白质组成,包括 *OOEP*、*NLRP5/MATER*、*TLE6* 和 *KHDC3/FILIA*。SCMC 在卵母细胞生长过程中,被认为是小鼠受精卵发育第一次胚胎细胞分裂所必需的,而 *OOEP* 基因敲除 SCMC 无法正常形成^[6-7]。说明 *OOEP* 基因在哺乳动物中卵子和早期胚胎发育中具有重要的生物学功能。

目前,针对 *OOEP* 基因的研究多集中在卵母细胞发育等方面,其在多态性与繁殖性能相关方面的研究鲜有报道。因此,选取松辽黑猪母猪为研究对象,利用 Sanger 直接测序法查找 *OOEP* 基因外显子多态性,并与松辽黑猪繁殖性状进行关联性分析,进一步寻找与松辽黑猪繁殖性状相关的候选基因或遗传标记。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选择130头松辽黑猪经产母猪作为样本,由吉林省农业科学院提供。

1.2 主要试剂

2×Taq Master Mix 购于北京康为世纪生物科技有限公司;DL Marker(2000)、DNA 提取试剂盒及琼脂糖粉购于 Axygeno 公司;无水乙醇及双蒸水购于长春鼎国生物技术责任有限公司。

1.3 主要仪器

凝胶成像分析仪(WD-9413A)、电泳槽

(DYC-31D)及普通电泳仪(DYY-6C)购于北京市六一仪器厂;超微量分光光度计 Quawell(Q5000)购于北京鼎盛生物技术有限责任公司;普通 PCR 仪(T100)购于上海伯乐生命医学产品有限公司;漩涡振荡器(XW-80A)购于海门市其林贝尔仪器制造有限公司;小型离心机(D1008E)购于 SCILOGEX 公司。

1.4 样品采集

对松辽黑猪母猪保定后用耳缺钳取黄豆样大小耳组织,放入已装有75%乙醇的2 mL离心管中,母猪耳标号对应离心管标号依次记录,-20 °C 冰箱保存。

1.5 基因组 DNA 提取

剪去耳组织表面毛发,在离心管中剪碎耳组织,使用 DNA 试剂盒提取 DNA,用 Quawell-Q5000 超微量分光光度计依次检测并记录 DNA 的浓度及纯度。随机挑取若干样品 DNA,进行电泳试验,检测电泳条带是否正常。

1.6 引物设计及合成

查找 GenBank 中已发表 *OOEP* 基因 DNA 序列(登录号:NM_001198917.1),用 Primer 5.0 软件设计 *OOEP* 基因外显子 1~3 扩增引物,见表 1。外显子引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成。

1.7 PCR 扩增及 SNP 位点检测

随机挑选松辽黑猪耳组织 40 个 DNA 样品,6 个样品一组分 7 组进行混池,取混池的 DNA 为模板,对 *OOEP* 基因 3 个外显子进行 PCR 扩增,PCR 反应体系(程序)见表 2。PCR 产物 4 °C 冰箱保存。制备 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳试验,选择符合要求的 PCR 产物,冰箱 -80 °C 保存 20 min,集中送至苏州金唯智生物科技有限公司进行测序。使用 DNAMAN 对测序结果进行核苷酸序列比对,对于突变位点处用 Chromas 软件分析波峰图。寻找突变位点的外显子,以该外显子引物和所有 DNA 样品为模板进行 PCR 扩增,选取符合要求的 PCR 产物,送出测序。记录不同样品突变位点基因型,无测序结果的进行二次测序。

1.8 统计学分析

基因频率是指某种基因在一个群体内所占百分比;基因型频率是指某种基因型的个体占群体内全部个体的百分比。通过基因(型)频率计算

表 1 引物序列信息

引物	引物序列(5'→3')	片段长度/bp	退火温度/°C
<i>OOEP</i> -1	F:CAAACAAGCGGGTGAGGC	406	64
	R:GAGCAGGAAGGACTGGAAGC		
<i>OOEP</i> -2	F:GGTCATCAGCCCAGTTCC	411	58
	R:ATGCTGGAATGAGGAAACTG		
<i>OOEP</i> -3	F:GAAATGATGTCGCCAGAG	451	58
	R:ACGGCAGAACTAAACCC		

表 2 PCR 反应体系(程序)

试剂	剂量/μL	程序	时间
2×Taq PCR MasterMix	10.0	94 °C预变性	5 min
dd H ₂ O	8.0	94 °C变性	30 s
上游引物	0.5	TM °C退火	30 s
下游引物	0.5	72 °C延伸	14 s
DNA 模板	1.0	34个循环	
总体积	20.0	72 °C延伸	8 min

有效遗传纯合度(H_0)、等位基因数(N_e)、多态信息含量(PIC)和遗传杂合度(H_e)。

$$H_0 = 1 - H_e$$

$$N_e = 1 / (1 - H_e)$$

$$PIC = H_e - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_j^i P_j^2$$

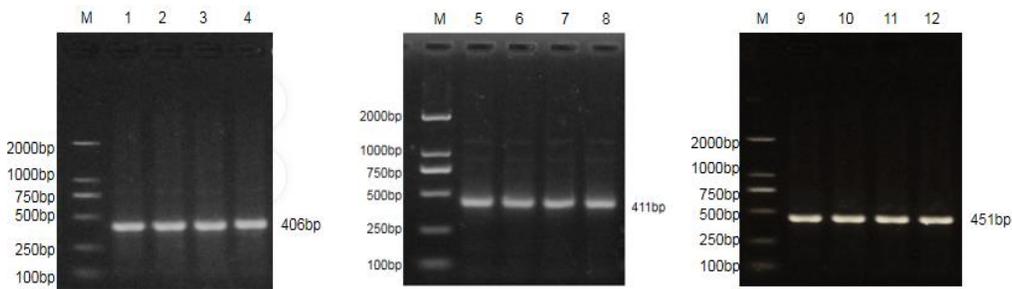
$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

利用 SPSS 19.0 软件分析不同基因型与松辽黑猪繁殖性状之间的相关性, 试验数据以“平均值±标准差”表示, 判断标准 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 DNA 浓度及 PCR 产物电泳

通过超微量分光光度仪检测 DNA 浓度 OD_{260/280} 值均为 1.8~2.2, 可用于后续试验。对松辽黑猪 *OOEP* 基因 PCR 扩增产物进行电泳检测, 结果显示 *OOEP* 基因 3 个外显子 PCR 扩增产物条带片段大小符合预期, 不同 DNA 样品 PCR 产物结果见图 1 (4 个技术重复)。



注: 1-4 为 *OOEP*-1 引物 PCR 扩增产物; 5-8 为 *OOEP*-2 引物 PCR 扩增产物; 9-12 为 *OOEP*-3 引物 PCR 扩增产物; M 为 DL2000 DNA Marker

图 1 *OOEP* 基因 PCR 产物电泳检测结果

2.2 目的片段 PCR 产物测序结果分析

通过 DANMAN 和 Chromas 软件对测序结果进行比对。在 *OOEP* 基因第 2 外显子 100 bp 和 136 bp 位点各发现 1 个 SNP, 在 100 bp 存在 C/T 突变, 有 CC、CT 和 TT 3 种基因型。在 136 bp 存在 A/C 突变, 有 AA、AC 和 CC 3 种基因型。DANMAN 序列比对结果见图 2、图 3、图 4, SNP 位点 C100T、A136C 测序结果见图 5, 氨基酸序列比对结果见图 6。

2.3 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子 2 的遗传学分析

对松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子 2 的 2 个 SNP

位点基因型进行分析, 发现基因型频率及基因频率相同, 见表 3。由表 3 可知, CC(AA)、CT(AC) 和 TT(CC) 基因型频率分别为 35.39%、28.46% 和 36.15%; C(A) 和 T(C) 基因频率分别为 49.62% 和 50.38%。*OOEP* 基因外显子 2 多态位点在群体中的遗传纯合度(H_0)、遗传杂合度(H_e)、有效等位基因数(N_e)和多态信息含量(PIC)见表 4。由表 4 可知, *OOEP* 基因外显子 2 突变位点遗传杂合度 H_e 处于中等水平; 多态信息含量 PIC 为 0.375 1(0.25 < PIC < 0.5), 表现为中度多态。

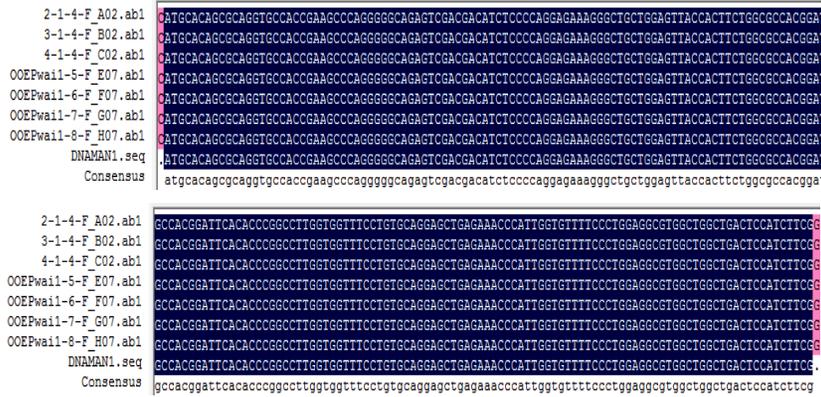


图2 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子1序列比对结果

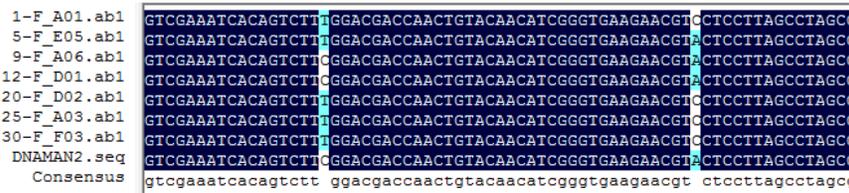
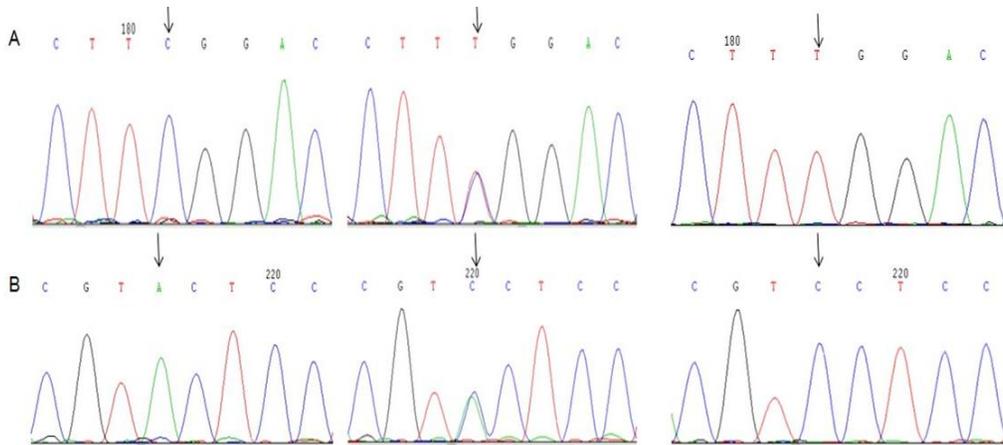


图3 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子2序列比对结果



图4 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子3序列比对结果



注:A为 *OOEP-2-C100T* 基因型测序图;B为 *OOEP-2-A136C* 基因型测序图

图5 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子2不同基因型测序图



图6 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子2氨基酸序列比对

表3 松辽黑猪 *OOEP* 基因型频率和基因频率

基因	样本量(头)	基因型频率(%)			基因频率(%)		χ^2
		CC(AA)	CT(AC)	TT(CC)	C(A)	T(C)	
<i>OOEP</i>	130	35.39	28.46	36.15	49.62	50.38	24.12

注: $X^2_{0.900}(2)=0.21$; $X^2_{0.100}(2)=4.61$

表4 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子2多态位点的遗传多样性

基因	遗传纯合度	遗传杂合度	有效等位基因数	多态信息含量
<i>OOEP</i>	0.500 2	0.499 8	1.999 6	0.375 1

2.4 *OOEP* 基因多态性与松辽黑猪繁殖性状的关联分析

OOEP 基因外显子2的SNPs多态性与松辽黑猪繁殖性状的关联分析结果见表5。由表5可知,

在C100T和A136C位点上,各基因型总产仔数、产活仔数、仔猪初生重、21日龄重、断奶重、断奶仔猪数及乳头数无显著差异($P>0.05$)。

表5 松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子6不同基因型与繁殖性状的相关性

性状	基因型		
	CC(AA)	CT(AC)	TT(CC)
总产仔数(头)	10.84±2.14	11.00±2.26	11.45±2.25
产活仔数(头)	10.69±1.98	10.86±2.03	11.28±2.22
仔猪初生重(kg)	1.37±0.27	1.34±0.29	1.34±0.26
21日龄重(kg)	5.10±1.62	4.88±1.89	4.91±1.85
断奶重(kg)	6.83±1.65	7.17±1.93	6.87±1.83
断奶仔猪数(头)	10.38±2.13	10.43±1.95	10.55±1.92
乳头数(对)	6.78±0.66	6.57±0.69	6.59±0.57

3 讨论

OOEP 蛋白是第一次卵裂和细胞分裂所必需的,并且仅在卵巢中表达,在卵巢组织中只存在发育的卵母细胞中^[8-9]。Zhu K和Zheng P等^[10-11]研究发现,*OOEP* 基因敲除的雌性小鼠是完全不育的,由于着床前胚胎的发育缺陷,在2细胞期卵裂较慢,卵裂球不对称,并停滞于2细胞期。Tashiro F和Wu X等^[12-13]研究发现,*OOEP*^{-/-}雌性的胚胎在卵裂期后无法进一步发育,在绵羊胚胎中2~4细胞期*OOEP* 转录物浓度的改变可能会影响正常发育,尽管在2细胞阶段*OOEP* mRNA的表达大大降低了,但在囊胚期的胚胎中检测到*OOEP*,说明*OOEP* 蛋白在整个着床前阶段均起作用。这表明*OOEP* 不仅在合子阶段起着重要作用,而且在着床前胚胎发育中也起着重要作用。说明*OOEP* 基因对于雌性生育至关重要。另外,*OOEP* 基因是小鼠卵母细胞同源重组修复途径的关键部分。卵母细胞中的DNA损伤会导致不育和先天缺陷。同源重组(homologous recombination, HR)介导的DNA双链断裂修复在维护卵母细胞数量和质量方面起着主要作用^[14-15]。*OOEP* 缺失影响卵母细

胞DNA双链断裂修复,在外源性DNA损伤下易发生凋亡。*OOEP* 和HR协同降低卵巢功能的衰竭和生殖老化。而且,*OOEP* 缺失卵母细胞表现出减数分裂成熟的延迟^[10,16]。因此,*OOEP* 通过维持基因组稳定性在维持卵母细胞数量和质量方面发挥了作用。*OOEP* 表达随雌性年龄的增长而降低,表明其参与了雌性衰老^[17-19]。另外,*OOEP* 基因的缺失引起小鼠胚胎干细胞遗传物种的不稳定,染色体也出现异常^[18,20-21]。说明*OOEP* 基因在繁殖性能上起重要作用。

本研究在松辽黑猪群体中检测*OOEP* 基因外显子的SNP位点,在第2外显子检测到C/T突变(C100T)和A/C突变(A136C),两者基因型频率相同,可能存在某种连锁遗传。在C100T位点上检测发现CC、CT、TT基因型,A136C位点上检测发现AA、AC、CC基因型,其中TT(CC)基因型频率最高,为优势基因型,等位基因T(C)为优势基因。C100T位点的突变引起氨基酸发生改变,由S(丝氨酸)转变L(亮氨酸),A136C位点的突变使Y(酪氨酸)转变S(丝氨酸)。亮氨酸和丝氨酸分别属于必需和非必需氨基酸,主要在肌肉修复及生长上发挥作用,并调节脂肪酸的新陈代谢^[22-23]。经 χ^2

适合性检验,松辽黑猪 *OOEP* 基因 2 个突变位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态,各 SNPs 遗传杂合度均位于中等水平,有效等位基因数接近 2 与检测到的等位基因数基本一致,并处于中度多态 ($0.25 < PIC < 0.5$),表明这些 SNPs 位点能够提供遗传信息,并且等位基因在群体中分布比较均匀。对该 2 个突变位点与松辽黑猪繁殖性状(总产仔数、产活仔数、仔猪初生重、21 日龄重、断奶重及断奶数、乳头数)进行关联分析,SNPs 位点与所有繁殖性状指标均无显著性差异,其中 TT(CC)基因型在总产仔数、产活仔数及断奶仔猪数均高于 CC(AA)和 CT(AC)基因型,而在断奶重杂合基因型 CT(AC)比纯合基因型 TT(CC)和 CC(AA)高出约 0.3~0.34 kg,具有一定的参考价值。综上所述,松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子 2 多态性对繁殖性状并不存在显著影响,可能由于样本数量太少,在后续工作中会扩大群体进一步验证。

4 结 论

本研究对松辽黑猪 *OOEP* 基因外显子进行了 PCR 扩增及 Sanger 直接测序,在松辽黑猪 *OOEP* 基因第 2 外显子上检测出 2 个 SNPs 位点分别为 C100T 和 A136C。2 个 SNPs 位点引起了氨基酸的变化,在松辽黑猪群体中偏离 Hardy-Weinberg 平衡状态。关联分析结果表明,*OOEP* 基因 2 个突变位点上不同基因型在繁殖性状上差异不显著,其中 TT(CC)基因型在总产仔数、产活仔数及断奶仔猪数均高于 CC(AA)和 CT(AC)基因型,该位点能否作为松辽黑猪繁殖性状的遗传标记,需要扩大样本群进一步验证。

参考文献:

- [1] Rajpal A, Cho Y A, Yelent B, et al. Transcriptional activation of known and novel apoptotic pathways by Nur77 orphan steroid receptor[J]. The EMBO Journal, 2003, 22(24): 6526-6536.
- [2] Pierre A, Gautier M, Callebaut I, et al. Atypical structure and phylogenomic evolution of the new eutherian oocyte- and embryo-expressed *KHDC1/DPPA5/ECAT1/OOEP* gene family [J]. Genomics, 2007, 90(5): 583-594.
- [3] Tong Z B, Gold L, Pfeifer K E, et al. Mater, a maternal effect gene required for early embryonic development in mice[J]. Nature Genetics, 2000, 26(3): 267-268.
- [4] Tong Z B, Nelson L M. A mouse gene encoding an oocyte antigen associated with autoimmune premature ovarian failure[J]. Endocrinology, 1999, 140(8): 3720-3726.
- [5] Li L, Baibakov B, Dean J. A subcortical maternal complex essential for preimplantation mouse embryogenesis[J]. Developmental Cell, 2008, 15(3): 416-425.
- [6] Mastroioco A, Cacopardo L, Martino N A, et al. One-step automated bioprinting-based method for cumulus-oocyte complex microencapsulation for 3D in vitro maturation[J]. PloS one, 2020, 15(9): e0238812.
- [7] Qin D, Gao Z, Xiao Y, et al. The subcortical maternal complex protein Nlrp4f is involved in cytoplasmic lattice formation and organelle distribution[J]. Development (Cambridge, England), 2019, 146(20): dev183616.
- [8] Xiong J, Wu M, Zhang Q, et al. Proteomic analysis of mouse ovaries during the prepubertal stages[J]. Experimental Cell Research, 2019, 377(1/2): 36-46.
- [9] Amoushahi M, Sunde L, Lykke Hartmann K. The pivotal roles of the NOD-like receptors with a PYD domain, NLRPs, in oocytes and early embryo development[J]. Biology of reproduction, 2019, 101(2): 284-296.
- [10] Zhu K, Yan L, Zhang X, et al. Identification of a human subcortical maternal complex[J]. Molecular human reproduction, 2015, 21(4): 320-329.
- [11] Zheng P, Dean J. Role of Filia, a maternal effect gene, in maintaining euploidy during cleavage-stage mouse embryogenesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(18): 7473-7478.
- [12] Tashiro F, Kanai Azuma M, Miyazaki S, et al. Maternal-effect gene *Ces5/Ooep/Moep19/Floped* is essential for oocyte cytoplasmic lattice formation and embryonic development at the maternal-zygotic stage transition[J]. Genes to Cells, 2010, 15(8): 813-828.
- [13] Wu X, Viveiros M M, Eppig J J, et al. Zygote arrest 1 (*Zar1*) is a novel maternal-effect gene critical for the oocyte-to-embryo transition[J]. Nature Genetics, 2003, 33(2): 187-191.
- [14] Adamson B, Smogorzewska A, Sigoillot F D, et al. A genome-wide homologous recombination screen identifies the RNA-binding protein RBMX as a component of the DNA-damage response[J]. Nature Cell Biology, 2012, 14(3): 318-328.
- [15] He D J, Wang L, Zhang Z B, et al. Maternal gene *Ooep* may participate in homologous recombination-mediated DNA double-strand break repair in mouse oocytes[J]. Zoological Research, 2018, 39(6): 387-395.
- [16] Zhao B, Zhang W D, Duan Y L, et al. Filia Is an ESC-Specific Regulator of DNA Damage Response and Safeguards Genomic Stability[J]. Cell Stem Cell, 2015, 16(6): 684-698.
- [17] Xu Q, Wang F, Xiang Y, et al. Maternal BCAS2 protects genomic integrity in mouse early embryonic development[J]. Development (Cambridge, England), 2015, 142(22): 3943-3953.
- [18] 黄涛,王亚东,薛明明,等. *OOEP* 基因的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(7): 49-52.
- [19] Terradas M, Martín M, Tusell L, et al. Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell? [J]. Mutation Research, 2010, 705(1): 60-67.
- [20] Crasta K, Ganem N J, Dagher R, et al. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis[J]. Nature: International weekly Journal of Science, 2012, 482(7383): 53-58.
- [21] Bouckenheimer J, Fauque P, Lecellier C H, et al. Differential long non-coding RNA expression profiles in human oocytes and cumulus cells[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 2202.
- [22] 胡成华,牟忠生,赵玉民,等. 不同肉牛品种杂交西门塔尔杂种牛肉质营养比较研究[J]. 吉林农业科学, 2012, 37(6): 47-50.
- [23] 张琪,刘庆雨,张庆,等. 集鲜黑猪选育初报[J]. 东北农业科学, 2020, 45(5): 73-74, 111.

(责任编辑:王 昱)