

## 圩猪 *OB* 基因 SNPs 检测及其与产仔性能的关系

严燕 张陈华 王阳 丁月云 殷宗俊\*

(安徽农业大学 动物科技学院,合肥 230036)

**摘要** 为探讨圩猪 *OB* 基因的单链核苷酸多态性及其与产仔性状之间的关系,本试验采用 PCR-SSCP 方法检测了 70 头圩猪 *OB* 基因第 2、3 外显子的遗传多态性。结果表明:1)圩猪群体 *OB* 基因外显子 2 上没有检测到突变,而外显子 3 所扩增的片段中存在 3 个突变位点(C3619G、G3620C 和 G3714T);2)在 G3714T 突变位点上检测出 AA、AB 和 BB 3 种基因型,其频率分别为 0.700 0、0.228 6 和 0.071 4;群体中 A 的基因频率为 0.814 3,B 的基因频率为 0.185 7;3) $\chi^2$  检验表明,本研究群体 *OB* 基因外显子 3 的多态位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态;4)最小二乘分析表明,G3714T 位点 3 种基因型在初产总产仔数、初产产活仔数及经产总产仔数、经产产活仔数性状上差异不显著( $P>0.05$ ),但呈现出 BB>AB>AA 的趋势。

**关键词** 猪; *OB* 基因; PCR-SSCP; 产仔数

中图分类号 S 814.7; S 828.89

文章编号 1007-4333(2010)06-0078-06

文献标志码 A

## SNPs detection of *OB* gene and its association with reproduction in Wei pig

YAN Yan, ZHANG Chen-hua, WANG Yang, DING Yue-yun, YIN Zong-jun\*

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract** To study the SNPs of the *OB* gene and its association with litter size in Wei pig, the polymorphisms of *OB* gene in Wei pig was analyzed by PCR-SSCP. The results showed that, 1) there was no mutation in the second exon and three SNPs existed in the third exon (C3619G, G3620C, G3714T). 2) There are three genotypes (AA, AB and BB) in populations with allele frequencies of 0.700 0, 0.228 6 and 0.071 4, respectively, where the frequency of the allele A is 0.814 3, and that of the allele B is 0.185 7. 3) The test of Hardy-Weinberg equilibrium showed that genotypic frequencies of the third exon of *OB* gene were in equilibrium. 4) The results of Least-square analysis in G3714T loci showed that, there were no significant ( $P>0.05$ ) difference among the three genotypes in total number born (TNB) of the first parity, number born alive (NBA) of the first parity, TNB of the latter parities and the NBA of the latter parities in Wei pigs, though the trend was BB>AB>AA.

**Key words** pig; *OB* gene; PCR-SSCP; litter size

瘦素(Leptin)-*OB* 基因的表达产物,由脂肪细胞分泌,在动物生殖器官发育、繁殖功能调节、妊娠、胚胎发育、食物摄取的抑制、机体能量平衡的调控、造血系统和代谢效率的提高等方面发挥着重要作用<sup>[1-5]</sup>。猪 *OB* 基因被定位于 18 号染色体上<sup>[6]</sup>,该基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成,5'端有 97 bp

的先导序列,3'端是 3.7 kb 的非编码序列。自 1994 年 Zhang 等<sup>[7]</sup>首次通过 *OB* 基因的定位克隆和定性研究得到小鼠的 cDNA 完整序列以来,*OB* 基因就成了国内外学者研究的热点。经研究发现,该基因序列上存在许多突变位点,并与肉质性状、生长性状和繁殖性状等多个经济性状进行了关联分析<sup>[8-19]</sup>。

收稿日期:2010-04-02

基金项目:教育部科学技术研究重点项目资助(208059);安徽省“十一五”科技攻关项目(07010302136);安徽省教育厅自然科学基金重点项目(KJ2009A114)

第一作者:严燕,硕士研究生,E-mail:yanyan84213@163.com

通讯作者:殷宗俊,教授,博士,主要从事动物遗传育种研究,E-mail:yinzongjun@ahau.edu.cn

其中,对繁殖性状的研究近年来已成为众多学者研究的热点,但这些变异是否存在于安徽地方猪中,特别是该基因多态是否与安徽地方猪的高产仔力相关尚未见报道。

圩猪是我国的优良地方猪种之一,具有繁殖力高、抗病性强、肉质优良、抗近交等种质特性,母猪护仔性强,泌乳力高,起卧谨慎,减少仔猪被压,且仔猪哺育率及育成率较高。目前,关于圩猪高繁殖力方面的相关报道很少,而从分子水平探索圩猪高繁殖力的研究至今尚未见报道。鉴于此,本研究采用聚合酶链反应-单链构象多态性 (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP) 方法对圩猪 *OB* 基因进行单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 检测,并结合繁殖性状进行分析,旨在寻找与圩猪繁殖性能相关的遗传标记,为圩猪的分子遗传多样性研究和 MAS 提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 样本来源

基因组 DNA 来自安徽安泰农业开发有限公司

随机选取的 70 头圩猪母猪,试验群体处于相同的饲养管理条件,并统计了对应个体 1~5 胎的产仔数记录。采集的耳组织块放置于装有 1 mL 70% (体积分数) 乙醇的 1.5 mL 离心管中, -20 ℃ 保存备用。

#### 1.1.2 主要试剂

蛋白酶 K (Proteinase K)、丙烯酰胺 (Acrylamide)、甲叉双丙烯酰胺购自 AMRESCO 公司(美国); *Taq* DNA 聚合酶、dNTP、DNA Marker 等购自北京全式金生物技术有限公司; 琼脂糖 (Agrose) 购自上海 Yito Bio-Instrument 公司; 引物、硝酸银购自上海生物工程技术有限公司。

#### 1.1.3 引物合成

根据 Bidwell 等发表的 *OB* 基因序列 (GenBank 登录号为 U66254), 参照文献 [9-10] 所发表的外显子 2 及外显子 3 的引物序列合成 2 对引物, 配合使用 Primer Premier 5.0 和 Oligo 6.0。引物由上海生物工程(上海)有限公司合成, 引物序列见表 1。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 DNA 提取

参照文献 [20] 方法, 采用酚-氯仿法提取圩猪耳组织 DNA, 溶于 TE 中, 利用紫外分光光度计对 DNA 的浓度和质量进行检测, 并稀释至 50 ng/ $\mu$ L。

表 1 圩猪 *OB* 基因的引物序列

Table 1 Primer sequences of *OB* gene in Wei pigs

基因	引物序列	长度/bp	扩增区域
<i>OB</i> (1)	F: 5'-GTG GTT CCC TCT GTT TCC-3'	223	Exon2
	R: 5'-GGT TCG ACC TTG TCT CCC-3'		U66254
<i>OB</i> (2)	F: 5'-GAA ATG TGA TCC AAA TAT CG-3'	240	Exon3
	R: 5'-CTT CAA GGC TTC AGC AGC-3'		U66254

注: F 为上游引物; R 为下游引物。

### 1.2.2 PCR 扩增条件

PCR 反应体系 (25  $\mu$ L): 模板 DNA (50 ng/ $\mu$ L), 3.0  $\mu$ L; 10 $\times$  PCR buffer (含  $Mg^{2+}$ ), 2.5  $\mu$ L; 4 $\times$  dNTPs (2.5 mmol/L), 2.0  $\mu$ L; 正向引物 F (66  $\mu$ g/ $\mu$ L), 1.0  $\mu$ L; 反向引物 R (66  $\mu$ g/ $\mu$ L), 1.0  $\mu$ L; *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ $\mu$ L), 0.5  $\mu$ L; ddH<sub>2</sub>O, 15  $\mu$ L。

反应条件: 首先 95 ℃ 预变性 5 min; 95 ℃ 变性 30 s, 54 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 1 min, 32 个循环; 最后 72 ℃ 延伸 10 min; 4 ℃ 保存。

### 1.2.3 SSCP 分析

待每对引物均获得特异性良好的 PCR 产物后, 进行 SSCP 分析。将 PCR 产物与 SSCP 上样液按体积比 2 : 4 混合, 98 ℃ 变性 10 min, 迅速冰浴 10 min, 点样。两对引物的 PCR 产物均在 12% (体积分数) 中性聚丙烯酰胺凝胶中电泳, 点样后, 300 V 电压预电泳 5 min, 随后 90~120 V 恒压电泳 11~14 h。电泳结束后, 进行银染显带。

### 1.2.4 克隆测序

根据 PCR-SSCP 的结果, 挑选不同基因型的

PCR 扩增产物经纯化后送交上海生物工程(上海)有限公司测序。

### 1.3 统计分析方法

#### 1.3.1 基因频率及基因型频率的计算

计算公式为:

$$P_i = [2(ii) + (ij_1) + (ij_2) + \dots + (ij_{n-1}) + (ij_n)]/2n$$

式中: $P_i$  为第  $i$  个等位基因的频率; $i$  为纯合复等位基因; $j_1, j_2, \dots, j_n$  为与  $i$  共显的第 1 到第  $n$  个等位基因。由于 PCR-SSCP 方法的检测结果为共显性等位基因,因此,表型频率即为基因型频率。基因型频率=基因型个体数/测定群体总数。

#### 1.3.2 基因频率及基因型频率的差异显著性检验 ( $\chi^2$ 独立性检验)

首先,根据基因频率计算各种基因型频率的理论值,然后计算  $\chi^2$ 。本研究资料的自由度  $df=1$ ,当某些基因型理论值小于 5 时,可采用矫正公式:

$$\chi^2 = \sum_i \frac{(|O_i - E_i| - 0.5)^2}{E_i}$$

式中: $E_i$  为理论值; $O_i$  为实际观察值; $n$  为等位基因数。

#### 1.3.3 OB 基因的杂合度、有效等位基因数和多态信息含量的计算

杂合度计算公式为:

$$He = 1 - H_0 = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

式中: $H_e$  为某一位点的杂合度, $P_i$  为某一位点上第  $i$  个等位基因频率, $n$  为某一位点的等位基因数, $H_0$  为遗传纯合度。

有效等位基因数计算公式为:

$$N_e = 1/H_0$$

多态信息含量 (polymorphism information content, PIC) 的计算是由 Bostein 等<sup>[21]</sup> 提出的用于度量群体多态程度的指标,一个标记在群体中的 PIC 是根据其等位基因频率来计算的。其公式:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i p_j$$

式中: $n$  为等位基因数目; $P_i$  和  $P_j$  分别为第  $i$  和第  $j$  个等位基因在群体中的频率。PIC 用于对标记基因多态性的估计,  $PIC > 0.5$  为高度多态,  $PIC < 0.25$  为低度多态,  $0.25 < PIC < 0.5$  为中度多态。

#### 1.3.4 OB 基因效应的统计分析

根据影响性状的因素,采用以下固定模型<sup>[22]</sup>:

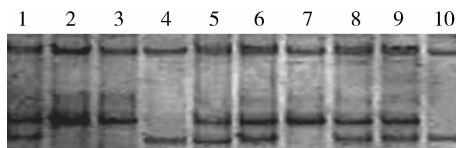
$$Y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + e_{ijk}$$

式中: $Y_{ijk}$  为性状值; $\mu$  为总体平均数; $S_i$  为基因型效应值; $P_j$  为胎次效应, $e_{ijk}$  为随机残差效应。采用 SPSS13.0 统计分析软件 GLM 过程对本试验不同 OB 基因型与部分繁殖性能的相关性进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR-SSCP 结果

对 PCR 扩增条带进行 SSCP 分析,发现引物 1 上无多态性,而引物 2 上存在 3 种基因型:AA 型、AB 型和 BB 型(图 1)。



1、5、6、8 和 9 为 AB 型;2、3 和 7 为 AA 型;4 和 10 为 BB 型。

图 1 OB 基因第三外显子 240 bp 片段的 SSCP 分析

Fig. 1 SSCP of the 240 bp in Exon3 for OB gene

### 2.2 测序结果

取 PCR 产物进行克隆测序,并将测序结果与猪 OB 基因 DNA 序列(GenBank 登录号为 U66254)进行比对,结果发现:在外显子 2 上无突变;外显子 3 上,找到 3 个多态性位点:C3619G、G3620C 和 G3714T,测序结果还表明,选取的 70 头圩猪样本在 3619 和 3620 位点,全部为突变型(3619G 和 3620C),而不存在野生型(C3619 和 G3620),但在 3714 位点则既有突变型也有野生型,本试验部分个体 OB 基因第 3 外显子测序结果见图 2。

根据 PCR-SSCP 和测序结果,将 3714 位点未发生突变的个体命名为 AA 型,而将 3714 位点发生 G 突变为 T 的个体命名为 BB 型。

### 2.3 群体遗传学分析

在圩猪群体 OB 基因 G3714T 位点处进行基因型检测,并计算其基因型频率、基因频率及 PIC 值、杂合度及有效等位基因数等,其结果见表 2、表 3。

由表 2 和表 3 可知,在圩猪群体中,AA 型即野生型占绝对优势,BB 型即突变型最少,使得 A 等位基因分布频率远高于 B 等位基因的分布频率。经卡方检验,  $\chi^2 = 4.18 (P > 0.05)$ ,表明圩猪群体 OB 基因在此位点的基因频率处于 Hardy-Weinberg 平衡状态;在 G3714T 位点处处于中度多态 ( $PIC = 0.2567$ ),  $H_e$  为 0.3025,  $N_e$  为 1.4336,因此该试

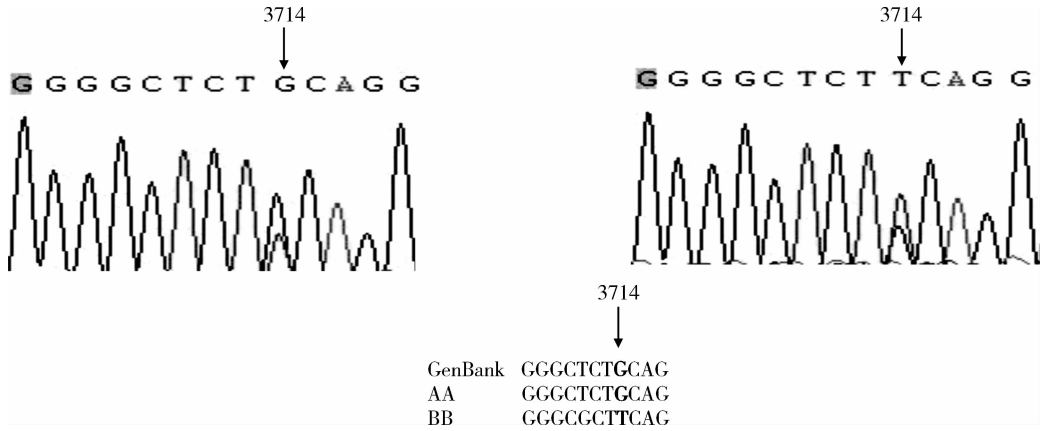


图 2 圩猪 OB 基因 G3714T 位点处序列比较

Fig. 2 Sequence comparison of OB gene at G3714T mutation in Wei Pig

表 2 圩猪 OB 基因在 G3714T 位点的等位基因频率和基因型频率

Table 2 Allele and genotype frequency of G3714T site of OB gene in Wei Pig

基因型分布			总计	基因频率		基因型频率		
AA	AB	BB		B	AA	AA	AB	BB
49	16	5	70	0.814 3	0.185 7	0.700 0	0.228 6	0.071 4

验结果在一定程度上可作为较有效的遗传标记用于该群体遗传资源评价的建议性指标。

表 3 G3714T 位点在圩猪中的遗传特性

Table 3 Genetic characteristics of G3717T site in Wei pig

$\chi^2 (p)$	多态信息含量	杂合度	有效等位基因数
4.18(0.123 9)	0.256 7	0.302 5	1.433 6

### 2.4 圩猪 OB 基因多态性与繁殖性能的相关分析

采用最小二乘方法 (SPSS13.0 中的 GLM 过

程)对圩猪群体 OB 基因 G3714T 位点多态性与母猪头胎产仔数、经产仔数进行相关性分析,结果见表 4 所示。

关联分析结果表明,在本试验样本中,3 种基因型母猪在头胎产仔数与经产仔数两性状上没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。但总体上,BB 型个体在这 2 个性状上的表现相对较好,呈现出  $BB > AB > AA$  的趋势,等位基因 B 为影响该品种猪遗传性状的有利等位基因。

表 4 圩猪 OB 基因 G3714T 位点与繁殖性状相关分析

Table 4 Association between G3714 site and reproduction traits of OB gene in Wei pig

基因型*	初产母猪		经产母猪	
	TNB	NBA	TNB	NBA
AA(49)	9.88±0.31 a	8.32±0.26 a	12.97±0.43 a	11.60±0.42 a
AB(16)	9.97±0.17 a	8.60±0.41 a	13.15±0.37 a	11.85±0.34 a
BB(5)	10.01±0.29 a	8.80±0.13 a	13.71±0.39 a	12.30±0.22 a

注:数值为最小二乘均值±标准误。同列中相同字母的数值间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。TNB 为总产仔数;NBA 为产活仔数。\* 括号内为基因型数量。

### 3 讨论

Jiang 等<sup>[16]</sup>检测发现,猪 OB 基因存在 4 个多态位点,即 C/T、A/G、C/T 和 G/T,分别位于 867、

1 112、3 469 和 3 714bp 处。本试验研究发现,圩猪 OB 基因 3714 位点处同样存在 G/T 变异,该群体存在 A 和 B 等位基因,表现为 3 种基因型(AA、AB 和 BB)。A 的基因频率为 0.814 3,B 的基因频率为

0.185 7,其中 A 等位基因对于圩猪是优势基因,此位点的多态性信息含量为 0.256 7,表现为中度多态。一般来说,一个品种的遗传基础越广泛,其 DNA 多态性就越丰富,本研究群体在这此位点的遗传变异较丰富,这可能与采样群体在近年来的开放保种有一定关系。另外,经  $\chi^2$  适应性检验表明,该群体 OB 基因外显子 3 的多态位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态( $P>0.05$ ),这可能是由于该群体在适应性方面具有遗传优势,并经过长期进化和选择达到了平衡状态。

OB 基因在机体内存在广泛的生理作用,不但对人类的许多疾病有影响,对动物的许多重要经济性状都有影响。猪的 OB 基因定位于 18 号染色体上,目前在染色体已定位的与生殖有关的基因为神经肽 Y(NPY)基因(18q<sup>24</sup>),NPY 基因的表达产物是 NPY,它能增强 GnRH 引起的 LH 释放,从而影响繁殖性状<sup>[23]</sup>。OB 基因的表达产物 *Leptin* 可激发或降低下丘脑 NPY 的表达,从而调节采食量和生殖激素的分泌<sup>[17,24]</sup>。本研究 T3714G SNP 对母猪头胎产仔数、经产仔数影响不显著( $P>0.05$ )该结果与张冰<sup>[9]</sup>、刘桂琼<sup>[18]</sup>研究结果基本一致,但与孙梅等<sup>[19]</sup>研究结果存在一定程度的差异,其原因可能与不同猪种的遗传背景及试验规模的相对较小有关。因此还需扩大样本含量和增加品种数量对 OB 基因 3714 位点处多态性与产仔性能间的关联做进一步的验证。用 DNAstar 软件分析发现 OB 基因 3714 位点处的 G/T 替换使密码子 GCG 变为 GCU,但两者编码的氨基酸都是 Ala,该突变属同义突变,以往的研究认为同义突变不能改变其编码的氨基酸序列,因而不影响蛋白质的活性,但据 Kimchi-Sarfaty 等<sup>[25]</sup>研究发现,虽然同义突变不改变氨基酸的组成,但改变了 mRNA 的碱基顺序,有可能影响 mRNA 本身的翻译速度和寿命,进而改变这种蛋白质的表达量,甚至还可能会改变蛋白质的空间结构。或者也可能通过影响 5' 端调节区或 3' 端非翻译区来影响瘦蛋白的浓度,从而影响猪的繁殖。因此,OB 基因 G3714T 位点处 G/T 替换是否是导致 OB 基因的表达效率发生改变,从而引起了 *Leptin* 量的变化,进而间接对生殖激素,如 LH,促卵泡素(FSH)产生影响,并进一步影响排卵数,最终表现为产仔数的差异等这一系列问题,将是下一阶段研究的重点。

## 4 结 论

本试验采用 PCR-SSCP 方法,在圩猪 OB 基因的第 3 外显子上发现了 3 个突变位点: C3619G、G3620C 和 G3714T。其中所有检测样本个体只存在 3619 位点和 3620 位点的突变型,不存在野生型;这 2 个位点的突变导致编码的氨基酸由 Arg 转变为 Ala;圩猪 OB 基因外显子 3 的多态位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态( $P>0.05$ );基因多态性与繁殖性能的相关分析表明,基因型对头胎产仔数与经产仔数两性状影响不显著( $P>0.05$ ),但均呈现出 BB 型>AB 型>AA 型的趋势。

## 参 考 文 献

- [1] Ducey P, Amling M, Takeda S, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass[J]. *Cell*, 2000, 100(2): 197-207
- [2] Korner J, Chua S C, Williams J A, et al. Regulation of hypothalamic proopiomelanocortin by Leptin in lean and obese rats[J]. *Neuroendocrinology*, 1999, 70(6): 377-383
- [3] Mercer J G, Moa K M, Ross A W. Photoperiod regulates arcuate nucleus POMC, AGRP, and Leptin receptor mRNA in siberian hamster hypothalamus[J]. *American Journal Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2000, 278(1): R271-R281
- [4] Chagnon Y C, Wilmore J H, Borecki J B. Associations between the Leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study[J]. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2000, 85(1): 29-34
- [5] Jin L, Zhang S, Burguera B G, et al. Leptin and Leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(1): 333-339
- [6] Neuenschwander S, Rettenberger G, Meijerink E, et al. Partial characterization of porcine *obesity* gene (OBS) and its localization to chromosome 18 by somatic cell hybrids[J]. *Animal Genetics*, 1996, 26(4): 265-268
- [7] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse *obese* gene and its human homologue[J]. *Nature*, 1994, 372: 425-432
- [8] 李景芬, 于浩, 刘娣. 野猪、家猪及野家杂种猪 Leptin 基因 2, 3 外显子的 SNPs 分析[J]. *遗传*, 2006, 28(4): 413-416
- [9] 张冰, 杨公社, 孙超, 等. *Leptin* 基因对陆川猪和大白猪

- 产仔数的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(6): 608-613
- [10] 刘德武, 杜颖军, 张豪, 等. 猪 *Leptin* 基因的 SNP 筛查及其与生长性状的关联分析[J]. 华中农业大学学报, 2008, 27(2): 251-257
- [11] 严燕. 安徽四个地方猪种 *Leptin* 基因多态性研究及其与产仔性状的关联分析[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2009
- [12] Terman A. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (*PRLR*) and *leptin* (*LEP*) genes on litter size in Polish pigs[J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2005, 122(6): 400-404
- [13] Szydlowski M, Stachowiak M, Mackowski M, et al. No major effect of the *leptin* gene polymorphism on porcine production traits [J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2004, 121: 149-155
- [14] Korwin-Kossakowska A, Kamyczek M, Cies' lak D, et al. The effect of the polymorphism of *leptin* (*LEP*), *leptin* receptor (*LEPR*) and osteopontin (*OPN*) genes on selected reproduction traits of synthetic Line 990 sows [J]. Animal Science Papers and Reports, 2002, 20: 159-168
- [15] Chen C C, Chang T, Su H Y. Genetic polymorphism in porcine *leptin* gene and their association with reproduction and production traits [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2004, 55: 699-704
- [16] Jiang Z H, Gibson J P. Genetic polymorphism in the *leptin* gene and their association with fatness in four pig breeds [J]. Mammalian Genome, 1999, 10(2): 191-193
- [17] Houseknecht K L. *Leptin* and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis [J]. Domestic Animal Endocrinology, 1998, 15(6): 457-475
- [18] 刘桂琼, 姜勋平, 丁家柯. 梅山猪 *ob* 基因多态性与繁殖性状的相关性研究[J]. 中国畜牧杂志, 2002, 38(4): 15-16
- [19] 孙梅, 陈杰, 赵茹茜, 等. 二花脸猪 *obese* 基因 3714 位点多态性与产仔性状的相关性[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(1): 71-73
- [20] Sambrook J, Russell D W. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂, 王嘉玺, 朱厚础, 等译. 3 版. 北京: 科学出版社, 2002: 479-485
- [21] Bostein D, White R L, Skolnick M, et al. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331
- [22] 张沅, 张勤. 畜禽育种中的线性模型[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 52-86
- [23] Stephens T W. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the *obese* product [J]. Nature, 1995, 377: 530-532
- [24] 杜清友, 王会信. 胰岛素样生长因子结合蛋白研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 1998, 25(2): 104-105
- [25] Kimchi-Sarfaty C, Oh J M, Kim I W, et al. A "Silent" polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity[J]. Science, 2007, 315(5811): 525-528