

CYP11A1、*CYP17A1*、*CYP19A1* 基因在小尾寒羊 下丘脑-垂体-卵巢轴的表达

田志龙^{1,2} 刘秋月¹ 王翔宇¹ 狄冉¹ 胡文萍¹ 王玉琴^{2*}
张效生³ 张金龙³ 储明星^{1*}

(1. 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所/农业部动物遗传育种与繁殖重点实验室,北京 100193;
2. 河南科技大学 动物科技学院,河南 洛阳 471003;
3. 天津市畜牧兽医研究所,天津 300381)

摘要 为揭示类固醇生成相关基因 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 在绵羊多羔繁殖中的作用,以不同繁殖力小尾寒羊为研究对象,采用实时荧光定量 PCR 技术检测 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 基因在小尾寒羊大脑、小脑、下丘脑、垂体、子宫、卵巢、输卵管中的表达。结果表明:*CYP11A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢、输卵管、子宫内表达;*CYP11A1* 基因在单羔小尾寒羊卵巢的表达极显著低于多羔群体($P < 0.01$),在子宫的表达量极显著高于多羔群体($P < 0.01$);*CYP17A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢、输卵管、下丘脑表达;*CYP17A1* 基因在多羔小尾寒羊群体下丘脑、子宫的表达量显著低于单羔群体($P < 0.05$)。*CYP19A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢、下丘脑表达。本研究结果提示 *CYP11A1*、*CYP17A1* 基因可能参与小尾寒羊多羔性状的调控。

关键词 小尾寒羊; 多羔; *CYP11A1*; *CYP17A1*; *CYP19A1*; 组织表达

中图分类号 S826 文章编号 1007-4333(2019)04-0087-07 文献标志码 A

Expression of *CYP11A1*, *CYP17A1* and *CYP19A1* genes in hypothalamus-pituitary-ovary axis of Small Tail Han sheep

TIAN Zhilong^{1,2}, LIU Qiuyue¹, WANG Xiangyu¹, DI Ran¹, HU Wenping¹,
WANG Yuqin^{2*}, ZHANG Xiaosheng³, ZHANG Jinlong³, CHU Mingxing^{1*}

(1. Institute of Animal Science/Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction of Ministry of Agriculture,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;
2. College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;
3. Tianjin Institute of Animal Sciences, Tianjin 300381, China)

Abstract To reveal the roles of *CYP11A1*, *CYP17A1* and *CYP19A1* genes in the high fecundity of sheep, Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) was performed to detect *CYP11A1*, *CYP17A1* and *CYP19A1* mRNA expressions in seven different tissues (brain, cerebellum, hypothalamus, pituitary, uterus, ovary and oviduct) of multiparous and uniparous Small Tail Han sheep. The results showed that *CYP11A1* was expressed in ovary, oviduct and uterus of Small Tail Han sheep. The expression of *CYP11A1* in ovary of multiparous Small Tail Han sheep was extremely significantly higher than that of uniparous Small Tail Han sheep ($P < 0.01$). However, the expression of *CYP11A1* in the uterus of multiparous Small Tail Han sheep was extremely significantly lower than that of uniparous

收稿日期: 2018-05-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31772580); 国家肉羊产业技术体系专项(CARS-38); 中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS13)

第一作者: 田志龙, 硕士研究生, E-mail: tianzl0515@163.com

通讯作者: 王玉琴, 教授, 主要从事绵、山羊繁殖育种研究, E-mail: wangyq6836@163.com

储明星, 研究员, 主要从事羊优异繁殖性状分子机理研究, E-mail: mxchu@263.net

Small Tail Han sheep ($P < 0.01$). The *CYP17A1* gene was mainly expressed in ovary, oviduct and hypothalamus of Small Tail Han sheep. The expression of *CYP17A1* in hypothalamus, uterus of multiparous Small Tail Han sheep was significantly lower than that of uniparous Small Tail Han sheep ($P < 0.05$). The *CYP19A1* gene was mainly expressed in ovary and hypothalamus of Small Tail Han sheep. In conclusion, the results suggested that *CYP11A1* and *CYP17A1* might be involved in the regulation of multiple births in Small Tail Han sheep.

Keywords Small Tail Han sheep; prolificacy; *CYP11A1*; *CYP17A1*; *CYP19A1*; tissue expression

绵羊繁殖力是极其复杂的性状,受遗传背景、营养水平、饲养管理等因素影响。遗传背景中排卵数尤为重要,直接影响母羊的产羔数^[1]。卵泡发育是一个极其复杂的过程,受类固醇激素、多种代谢酶类、局部生长因子等因素的共同调控^[2]。研究表明类固醇激素的生成与卵泡生长、闭锁及卵泡细胞的增殖、凋亡密切相关^[3]。类固醇激素合成急性调节蛋白介导胆固醇由线粒体外膜转运至线粒体内膜,然后在类固醇激素合成相关酶作用下,在卵巢内由卵泡膜细胞和颗粒细胞合成雌激素和孕酮^[4]。细胞色素 P450 侧链裂解酶 (Cytochrome P450_{Sec}, *CYP11A1*) 参与催化胆固醇转化成孕烯醇酮^[5],并且在卵泡发育过程中存在明显的表达变化^[6]。17 α -羟化酶 (Cytochrome P450_{c17}, *CYP17A1*) 作为雄激素合成的限速酶,不仅参与早期卵泡的生长发育,而且通过刺激颗粒细胞产生孕酮,从而影响排卵进程^[7]。细胞色素 P450 芳香化酶 (Cytochrome P450_{arom}, *CYP19A1*) 则参与不同时期牛卵泡的发生发育以及卵泡闭锁等行为^[8],在绵羊性腺发育中发挥着重要功能^[9-10],对马的睾丸细胞^[11]和黄体^[12]的发育也很重要。因此阐明 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 基因表达机制对于研究绵羊繁殖力非常重要。

1982年,Davis等对澳大利亚 Booroola 羊进行研究时发现了一个显著影响绵羊排卵数和产羔数的基因突变,在1989年正式命名为 *FecB* 基因^[13]。研究表明 *FecB* 基因位于 Bone morphogenetic protein receptor 1B (*BMPRI1B*) 基因上,是 *BMPRI1B* 基因编码区第 746 位发生 A-G 的突变,引起第 249 位氨基酸由谷氨酰胺变为精氨酸 (Q249R)^[14],最终导致绵羊排卵数增加。*FecB* 基因是第 1 个被发现的绵羊高繁殖力主效基因,与绵羊排卵数和产羔数的增加紧密相关,已被广泛应用于绵羊育种^[15]。研究表明,1 个 *FecB* 基因拷贝可以增加 1.3~1.6 枚排卵数,增加 0.9~1.2 只产羔数;2 个 *FecB* 基因拷贝可以增加排卵数 2.73 枚,增加 1.1~1.7 只产羔数^[13]。在实际生产中发现小尾寒羊群体中 *FecB* 基因野生

型个体存在产多羔(连续 3 胎均有产双羔及以上)的现象。使用 Taqman 探针法对小尾寒羊进行分型,经过连续观察并记录产羔数和黄体数(产羔数和黄体数均大于或等于 2,则定义为多羔),确定了一批小尾寒羊 *FecB* 基因突变野生型中产单羔和产多羔的个体。以此为研究对象,使用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术检测 *CYP11A1*、*CYP17A1* 和 *CYP19A1* 基因在不同繁殖力绵羊群体中的表达,期望从转录水平初步揭示 *CYP11A1*、*CYP17A1* 和 *CYP19A1* 基因在绵羊多羔中的作用,为深入研究绵羊多羔性状的机理提供参考。

1 材料与方 法

1.1 样品采集及主要试剂

小尾寒羊(*FecB* 基因突变野生型单羔和多羔)来自天津市畜牧兽医研究所种羊场,从中挑选健康状况良好成年母羊各 3 只,使用阴道孕酮栓 (Controlled Internal Drug Release, CIDR) 进行同期发情处理,12 d 后撤栓。在撤栓后 45 h 屠宰并立即采集下丘脑、垂体、卵巢等 7 种组织,液氮中保存,转移到 -80 °C 冰箱保存备用。

RNA 提取试剂盒购于天根生化科技有限公司 (北京),反转录试剂盒 (PrimeScript™ RT Reagent Kit) 和荧光定量染料 (SYBR® Premix Ex Taq™ II) 均购于 TaKaRa 公司 (大连)。

1.2 组织总 RNA 提取及检测

采用动物组织总 RNA 提取试剂盒 (天根,北京) 提取各组织总 RNA,并用 Nanodrop 2000 检测提取 RNA 的纯度和浓度,用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。

1.3 引物设计

根据 GenBank 提供的绵羊 *CYP11A1* 和 *CYP17A1* 以及 *CYP19A1* 基因 mRNA 序列 (登录号分别为: NM_001093789.1, NM_001009483.1, NM_001123000.1), 利用 Primer Premier 6.0 软件进行跨外显子引物设计,以 *RPL-19* (*XM_*

015089125.1)作为内参基因。同时引物设计参考 Drouilhet 等^[16],引物由北京天一辉远生物科技有

限公司合成。引物名称和序列、退火温度以及扩增片段大小见表1。

表1 绵羊 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 基因及内参基因引物信息

Table 1 Primers of *CYP11A1*, *CYP17A1*, *CYP19A1* and *RPL-19* genes in sheep

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')	退火温度/℃ T _m	扩增片段/bp Product size
<i>CYP11A1</i>	CGGACAAGTTTGACCCAACCAG GCCGGAAGACAAGGAAGATGG	60	243
<i>CYP17A1</i>	CTTACCATTGACAAAGGCACAGAC GCTTAATGATGGCGAGATGAGTTG	60	144
<i>CYP19A1</i>	TCATCCTGGTCACCCTTCTG CGGTCGCTGGTCTCGTCTGG	60	115
<i>RPL-19</i>	AATGCCAATGCCAACTC CCCTTTCGCTACCTATACC	60	154

1.4 cDNA 合成

利用反转录试剂盒反转录合成 cDNA,反转录体系总体积为 20.0 μL: PrimeScript RT Enzyme Mix I 1.0 μL, Oligo dT Primer 1.0 μL, Random 6 mers 1.0 μL, 5 × PrimeScript Buffer (for Real Time) 4.0 μL, 总 RNA 1.0 μg, RNase-Free ddH₂O 补足至总体积为 20 μL。反转录反应条件为: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 获得 cDNA 第一链。全程在冰上操作。反转录产物进行 5 倍稀释, 用持家基因 *RPL-19* 进行 PCR 检测, 将符合标准的 cDNA 置于 -20 °C 保存, 以用于检测目的基因的表达。

1.5 实时荧光定量 PCR

1.5.1 实时荧光定量 PCR 体系和程序

反应体系总体积为 20.0 μL: SYBR Premix Ex Taq II 10.0 μL, 上、下游引物各 0.8 μL, RNase-Free ddH₂O 6.4 μL, cDNA 模板 2.0 μL。PCR 程序为: 95 °C 预变性 5 s, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 30 s, 40 个循环; 反应结束后对溶解曲线进行分析。

1.5.2 实时荧光定量检测和数据分析

荧光定量检测利用 Roche Light Cycler[®] 480 II 型荧光定量 PCR 仪进行, 以 *RPL-19* 为内参基因, 每个样品重复检测 3 次。采用 2^{-ΔΔC_t} 法^[17] 计算目的基因相对表达量, 用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行单因素 ANOVA 分析, 使用 LSD 法进行多重比较, 所有数据使用“平均值 ± 标准误”来表示。

2 结果与分析

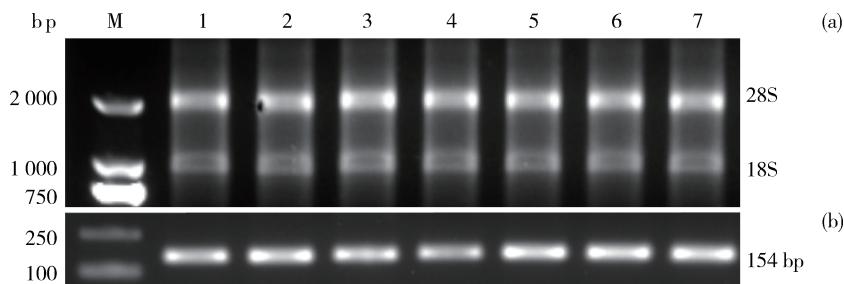
2.1 总 RNA 提取及 cDNA 合成

提取不同繁殖力绵羊各组织的总 RNA, 经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 28S 和 18S 条带清晰可见, 且灰度值约为 2:1, 而 5S 带几乎没有, 说明提取的总 RNA 无明显降解(图 1(a))。Nanodrop 2000 检测各组织 RNA, A260/A280 为 1.8~2.1, 表明提取的 RNA 纯度较高, 可用于后续的荧光定量 PCR。对提取组织 RNA 进行反转录合成 cDNA, 使用内参基因 *RPL-19* 检测合成的 cDNA 质量, 结果如图 1(b) 所示, *RPL-19* 基因在小尾寒羊不同组织表达扩增效果良好, 具有明显内参基因特征。

2.2 小尾寒羊下丘脑-垂体-卵巢轴相关组织中 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 基因的表达

类固醇生成相关基因 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 在卵泡期小尾寒羊下丘脑-垂体-卵巢轴的表达如图 2 所示。这 3 个类固醇生成相关基因在大脑、小脑、下丘脑、垂体、子宫、卵巢、输卵管中均有表达, 在不同组织表达规律不同。

CYP11A1 基因主要在小尾寒羊卵巢表达。*CYP11A1* 基因在单羔小尾寒羊卵巢的表达极显著低于多羔群体 ($P < 0.01$), 在子宫的表达量极显著高于多羔群体 ($P < 0.01$) (图 2(a))。*CYP17A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢、输卵管、下丘脑表达。*CYP17A1* 基因在多羔小尾寒羊群体下丘脑、子宫

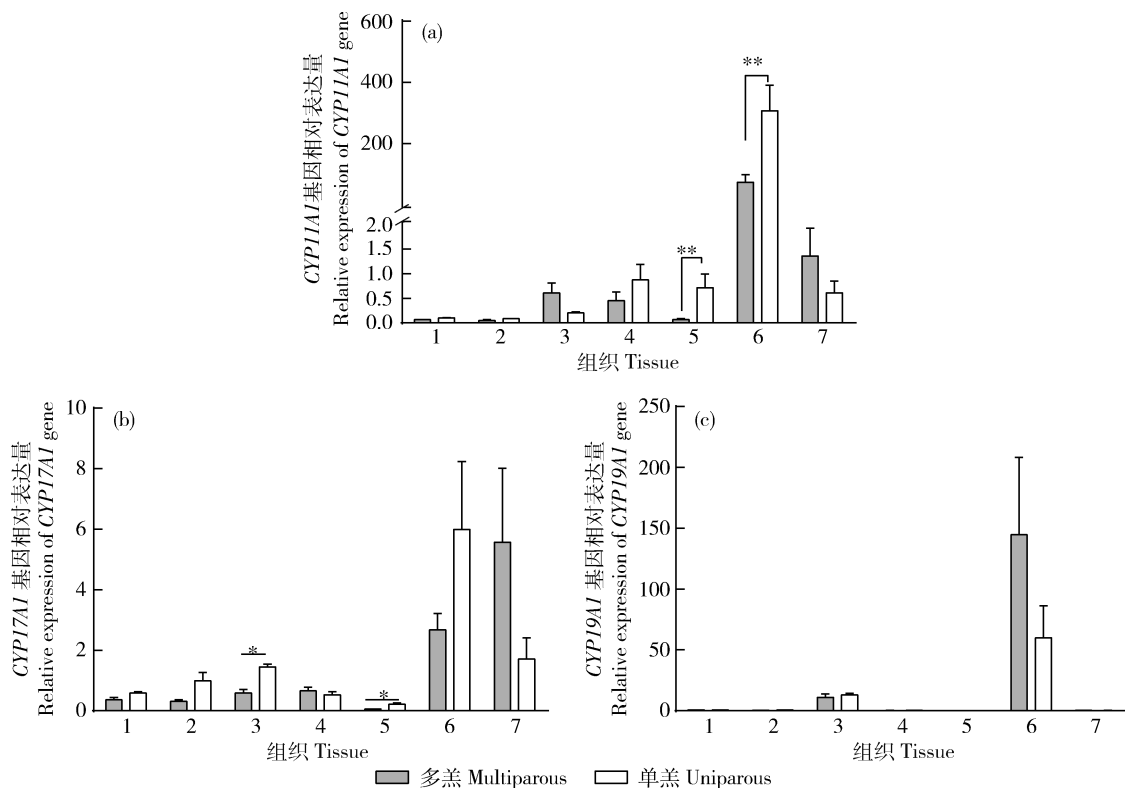


1~7:分别为大脑、小脑、下丘脑、垂体、子宫、卵巢、输卵管;M:DL2000 DNA 分子量标准。下同。

1-7:Brain, cerebellum, hypothalamus, pituitary, ovary, uterus, oviduct, respectively. M:DL2000 DNA Marker. The same below.

图1 小尾寒羊的 RNA 电泳(a)及 cDNA(b)检测

Fig.1 Electrophoresis of the RNA (a) and cDNA (b) in Small Tail Han sheep



* 表示差异显著($P < 0.05$); ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

* means significant difference ($P < 0.05$); ** means high significant difference ($P < 0.01$).

图2 *CYP11A1*、*CYP17A1*、*CYP19A1* 基因在小尾寒羊的组织表达

Fig.2 Expression of *CYP11A1*, *CYP17A1* and *CYP19A1* in different tissues of Small Tail Han sheep

的表达量显著低于单羔群体($P < 0.05$) (图 2(b))。*CYP19A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢、下丘脑表达,但未达到差异显著水平(图 2(c))。

3 讨论

3.1 *CYP11A1* 基因表达与动物繁殖

哺乳动物下丘脑-垂体-性腺轴(hypothalamic-

pituitary-gonadal axis, HPG)是哺乳动物生殖内分泌活动的中心,是控制哺乳动物性激素分泌的最重要的系统^[18]。其下丘脑分泌的促性腺激素释放激素(Gonadotropin-releasing hormone, GnRH)对促卵泡素(Follicle-stimulating hormone, FSH)和促黄体素(Luteinizing hormone, LH)等重要生殖激素的分泌起着重要调控作用^[19-20],卵巢又是雌性动物最

重要的生殖器官,是卵子生成及多种生殖激素(如雌激素、孕激素)等分泌的场所,对雌性动物的生殖能力有决定性的影响。*CYP11A1* 基因编码的细胞色素 P450 侧链裂解酶(P450_{scc}),是一种线粒体酶,在催化胆固醇转化成孕烯醇酮的调控中起着重要作用^[5]。家禽上的研究证实了 *CYP11A1* 在卵泡发育过程中存在明显的表达变化^[6],并且在卵泡中的表达受到激素调节^[21]。本研究发现 *CYP11A1* 基因在卵巢的表达量最高,其次是在输卵管组织,在下丘脑、垂体组织的表达量最低,这和前人的研究结果较为一致。李娟^[22]发现 *CYP11A1* 基因在豁眼鹅产蛋周期不同阶段卵巢组织存在表达差异,推测其可能参与豁眼鹅产蛋和繁殖机能的调控。刘锐等^[23]以藏猪和藏梅猪为研究对象,结果发现 *CYP11A1* 基因在高产的藏梅猪卵巢组织中表达最丰富,并且显著高于低产的藏猪($P < 0.05$)。这说明 *CYP11A1* 基因在猪卵巢组织发挥重要作用。本研究还发现 *CYP11A1* 基因在单羔小尾寒羊群体卵巢组织的表达极显著低于多羔群体,在子宫组织的表达量极显著高于多羔群体($P < 0.01$),暗示在发情或排卵过程中该基因对卵巢生理功能的发挥具有促进作用,对子宫发挥负向调节功能;在输卵管、垂体、下丘脑组织均有表达,提示 *CYP11A1* 基因的表达对卵泡期下丘脑、垂体、输卵管均是必需的,但具体机制需要更深入研究。

3.2 *CYP17A1* 基因表达与动物繁殖

卵巢产生的性类固醇激素对于建立和维持卵泡层次是必不可少的^[24]。其中雄激素在卵泡成熟过程中起着关键作用,不仅可以刺激早期卵泡生长发育,而且通过旁分泌或自分泌作用对类固醇生成起调控作用^[25]。雄激素可以增加促黄体激素(LH)刺激鸡排卵前卵泡颗粒细胞产生孕酮,从而影响排卵过程^[7]。作为雄激素合成的限速酶,细胞色素 P450_{c17} 在调节雌性禽类繁殖中起重要作用。在日本鹌鹑和鸭子中,随着胚胎发育,在雌性性腺中观察到 *CYP17* 蛋白表达增加^[26],表明 *CYP17* 蛋白对于性别分化和卵巢形成起到至关重要的作用。此外,在啮齿类动物中,*CYP17* 基因在所有发育中的卵泡中都有表达,而雄激素受体在早期卵泡中比在排卵前卵泡中丰富得多^[25]。这表明, *CYP17* 基因在不同发育阶段的卵泡中可能具有不同的作用。

为阐明 *CYP17A1* 基因对绵羊多羔性状的影响,

本研究通过荧光定量 PCR 检测了卵泡期小尾寒羊单羔和多羔群体下丘脑—垂体—卵巢轴繁殖调控组织 *CYP17A1* 基因的表达差异,结果发现 *CYP17A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢、输卵管、下丘脑组织表达。研究发现,*CYP17* 表达量和硬骨鱼类繁殖密切相关^[27]。温海深等^[28]在绿鳍马面鲷的研究发现 *CYP17-1* 主要在卵巢、精巢和脑中表达。王彩云等^[29]使用免疫组化技术对小鼠 *CYP17A1* 进行研究,结果在下丘脑部分区域检测到 *CYP17A1* 蛋白,同时发现卵巢黄体组织同样存在 *CYP17A1* 蛋白,这和本研究结果一致。

3.3 *CYP19A1* 基因表达与动物繁殖

由 *CYP19A1* 基因编码的芳香化酶是雌激素合成的酶,是一种单氧酶,能够催化许多与类固醇发生有关的反应^[30]并催化雄激素转化为雌激素。本研究选择卵泡期不同繁殖力小尾寒羊群体,发现 *CYP19A1* 基因主要在卵巢、下丘脑组织表达。研究表明,*CYP19A1* 参与到不同时期牛卵泡的发生发育以及卵泡闭锁等行为^[8],在绵羊性腺发育中发挥着重要功能^[9-10],对马的睾丸细胞^[11]和黄体^[12]的发育也很重要。苏节等^[31]研究发现水牛 *CYP19A1* 基因在垂体、大脑、肝脏、骨骼、卵巢、肌肉和心脏组织具有不同程度的表达,其中垂体和大脑表达量最高,骨骼和卵巢次之,肌肉表达最低。这和本研究的结果有出入,可能是由于 *CYP19A1* 基因在不同动物中发挥的作用有差异。包海声等^[32]研究发现 *Cyp19a1* 基因在中华鳖成体卵巢组织中高度特异性表达而且早于性腺分化时间。孙甜甜等^[33]对广西麻鸡的研究表明 *CYP19A1* 基因在产蛋期麻鸡卵巢中表达,这和本研究结果一致,暗示在发情或排卵过程中 *CYP19A1* 基因对卵巢生理功能的发挥具有促进作用,对下丘脑发挥负向调节功能。但由于本试验并未对 *CYP19A1* 蛋白的表达量做鉴定,因此 *CYP19A1* 基因在单、多羔的表达对繁殖的影响仍需进一步研究。

4 结 论

CYP11A1、*CYP17A1* 和 *CYP19A1* 基因主要在小尾寒羊卵巢表达。卵巢、子宫中 *CYP11A1* 基因的表达量在小尾寒羊单羔和多羔群体之间都存在极显著差异,下丘脑、子宫中 *CYP17A1* 基因的表达量在小尾寒羊单羔和多羔群体之间都存在显著差异,提示 *CYP11A1* 和 *CYP17A1* 基因可能参与小尾

寒羊多羔性状的调控。

参考文献 References

- [1] Hashem N M, El-Azrak K M, Nour El-Din A N M, Taha T A, Salem M H. Effect of GnRH treatment on ovarian activity and reproductive performance of low-prolific Rahmani ewes [J]. *Theriogenology*, 2015, 83(2):192-198
- [2] McNatty K P, Fidler A E, Juengel J L, Quirke L D, Smith P R, Heath D A, Lundy T, O'Connell A, Tisdall D J. Growth and paracrine factors regulating follicular formation and cellular function [J]. *Molecular & Cellular Endocrinology*, 2000, 163(1-2):11-20
- [3] Lebbe M, Taylor A E, Visser J A, Kirkman-Brown J C, Woodruff T K, Arlt W. The steroid metabolome in the isolated ovarian follicle and its response to androgen exposure and antagonism [J]. *Endocrinology*, 2017, 158(5):1474-1485
- [4] Stocco D M, Zhao A H, Tu L N, Morohaku K, Selvaraj V. A brief history of the search for the protein(s) involved in the acute regulation of steroidogenesis [J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2017, 441(2):7-16
- [5] O'hara L, York J P, Zhang P M, Smith L B. Targeting of GFP-Cre to the mouse Cyp11a1 locus both drives cre recombinase expression in steroidogenic cells and permits generation of Cyp11a1 knock out mice [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(1):e84541
- [6] Johnson A L, Woods D C. Dynamics of avian ovarian follicle development; Cellular mechanisms of granulosa cell differentiation [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2009, 163(1):12-17
- [7] Rangel P L, Rodriguez A, Gutierrez C G. Testosterone directly induces progesterone production and interacts with physiological concentrations of LH to increase granulosa cell progesterone production in laying hens (*Gallus domesticus*) [J]. *Animal Reproduction Science*, 2007, 102(1):56-65
- [8] Bao B, Garverick H A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: A review [J]. *Journal of Animal Science*, 1998, 76(7):1903-1921
- [9] Kwon J Y, McAndrew B J, Penman D J. Cloning of brain aromatase gene and expression of brain and ovarian aromatase genes during sexual differentiation in genetic male and female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2001, 59(4):359-370
- [10] Juengel J L, Hudson N L, Heath D A, Smith P, Reader K L, Lawrence S B, O'Connell A R, Laitinen M P, Cranfield M, Groome N P, Ritvos O, McNatty K P. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep [J]. *Biology of Reproduction*, 2002, 67(6):1777-1789
- [11] Hess M F, Roser J F. Immunocytochemical localization of cytochrome P₄₅₀ aromatase in the testis of prepubertal, pubertal, and postpubertal horses [J]. *Theriogenology*, 2004, 61(2-3):293-299
- [12] Albrecht B A, Daels P F. Immunolocalization of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, cytochrome P₄₅₀ 17 α -hydroxylase/17,20-lyase and cytochrome P₄₅₀ aromatase in the equine corpus luteum of dioestrus and early pregnancy [J]. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1997, 111(1):127-133
- [13] Davis G H, Galloway S M, Ross I K, Gregan S M, Ward J, Nimbkar B V, Ghalsasi P M, Nimbkar C, Gray G D, Inounu I. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation [J]. *Biology of Reproduction*, 2002, 66(6):1869-1874
- [14] Souza C, Macdougall C, Campbell B, Mcneilly A, Baird D. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene [J]. *Journal of Endocrinology*, 2001, 169(2):R1-R6
- [15] Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lanneluc I, Pisselet C, Riquet J, Monniaux D, Callebaut I, Cribiu E, Thimonier J, Teyssier J, Bodin L, Cognié Y, Chitour N, Elsen J-M. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérino ewes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(9):5104-5109
- [16] Drouilhet L, Taragnat C, Fontaine J, Duittoz A, Mulsant P, Bodin L, Fabre S. Endocrine characterization of the reproductive axis in highly prolific lacauine sheep homozygous for the FecLL mutation [J]. *Biology of Reproduction*, 2010, 82(5):815-824
- [17] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method [J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6):1101-1108
- [18] 曹素梅, 万雪萍, 严美姣, 李昂, 吴旭. miRNAs介导下丘脑-垂体-性腺轴调控动物生殖的研究进展 [J]. *中国畜牧杂志*, 2017, 53(1):1-6
Cao S M, Wan X P, Yan M J, Li A, Wu X. Research progress on miRNAs-mediated HPG axis in regulating animal reproduction [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(1):11-6 (in Chinese)
- [19] Herndon M K, Nilson J H. Maximal expression of Foxl2 in pituitary gonadotropes requires ovarian hormones [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e0126527
- [20] Hashem N M, El-Azrak K M, Nour El-Din A N M, Taha T A, Salem M H. Effect of GnRH treatment on ovarian activity and reproductive performance of low-prolific Rahmani ewes [J]. *Theriogenology*, 2015, 83(2):192-198
- [21] Sechman A, Pawlowska K, Hrabia A. Effect of 3,3',5-triiodothyronine and 3,5-diiodothyronine on progesterone production, cAMP synthesis, and mRNA expression of *STAR*, *CYP11A1*, and *HSD3B* genes in granulosa layer of chicken preovulatory

- follicles[J]. *Domestic Animal Endocrinology*, 2011, 41(3): 137-149
- [22] 李娟. 豁眼鹅卵巢组织产蛋性能相关基因的筛选及表达分析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016
- Li J. Screening and expression analysis of genes related to laying production in huoyan geese ovarian tissue [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016 (in Chinese)
- [23] 刘锐, 李江凌, 陈晓晖, 龚建军, 杨跃奎, 吕学斌. *CYP11A1* 基因在藏猪和藏梅猪卵巢, 子宫和输卵管组织表达差异[J]. 中国猪业, 2016, 11(12): 59-62
- Li R, Li J L, Chen X H, Fan J J, Yang Y K, Lv X B. Differential expression of *CYP11A1* gene in ovary, uterus, and oviduct of Tibetan and Tibetan mutators [J]. *China Swine Industry*, 2016, 11(12): 59-62 (in Chinese)
- [24] Iwade R, Maruo K, Okada G, Nakamura M. Elevated expression of P₄₅₀c17 (*CYP17*) during testicular formation in the frog [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2008, 155(1): 79-87
- [25] Gervásio C G, Bernuci M P, Silva-De-Sá M F, Rosa-E-Silva A C. The role of androgen hormones in early follicular development [J]. *Isrn Obstetrics & Gynecology*, 2014, (18): e818010
- [26] Nakamura K, Shibuya K, Saito N, Shimada K, Ohshima A, Hirai T, Nunoya T. mRNA expression of cytochrome P₄₅₀ 17 α hydroxylase, cytochrome P₄₅₀ aromatase, anti-müllerian hormone, estrogen receptor α , and androgen receptor in developing gonads of Japanese quail [J]. *The Journal of Poultry Science*, 2008, 45(4): 298-302
- [27] 王伟伟. 尼罗罗非鱼 *cyp17a2* 生物信息学和雌雄性腺表达差异分析[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(7): 103-106
- Wang W W. Bioinformatics analysis of *cyp17a2* in Nile Tilapia and differences of expression in gonads [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2016, 44(9): 103-106 (in Chinese)
- [28] 温海深, 任源远, 张冬茜, 赵梅琳. 绿鳍马面鲈 *CYP17-I* 基因克隆及其在繁殖周期中的表达[J]. 水产学报, 2014, (12): 1945-1955
- Wen H S, Ren Y Y, Zhang D Q, Zhao M L. Molecular cloning and expression patterns of the cytochrome *CYP17-I* gene during the reproductive cycle in Navodon septentrionalis [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, (12): 1945-1955 (in Chinese)
- [29] 王彩云, 潘登, 张召议, 范奎奎, 李婷, 杜晨光. 类固醇激素合成调节因子在小鼠下丘脑和卵巢上的分布[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(2): 29-32
- Wang C Y, Pan D, Zhang Z Y, Fan K K, Li T, Du C G. Expression of steroidogenic factor in mice ovary and brain [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2017, 53(2): 29-32 (in Chinese)
- [30] Bershtein L. Molecular-genetic aspects of estrogen production: Aromatase gene [J]. *Molecular Biology*, 1997, 31(5): 655-659
- [31] 苏节, 刘庆友, 朱鹏, 沈开元, 石德顺, 崔奎青. 沼泽型水牛 *CYP19A1* 基因克隆, 序列分析及组织表达研究[J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44(4): 514-521
- Su J, Liu Q Y, Zhu P, Sen K Y, Shi D S, Cui K Q. Cloning and sequence analysis of swamp buffalo *CYP19A1* gene and determination of its expression pattern in different tissues [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2013, 44(4): 514-521 (in Chinese)
- [32] 包海声, 蔡晗, 韩伟, 张海艳, 孙伟, 葛楚天, 钱国英. *Cyp19a1* 基因在中华鳖早期卵巢分化中的功能研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2017, 47(6): 640-649
- Bao H S, Cai H, Han W, Zang H Y, Sun W, Ge C T, Qian G Y. Functional characterization of *Cyp19a1* in female sexual differentiation in *Pelodiscus sinensis* [J]. *Scientia Sinica (Vita)*, 2017, 47(6): 640-649 (in Chinese)
- [33] 孙甜甜, 杨祝良, 邓继贤, 曾令湖, 蒋和生, 杨秀荣. 广西麻鸡 *CYP19A1* 基因的克隆、序列分析和组织表达谱研究[J]. 中国家禽, 2017, 39(18): 60-62
- Sun T T, Yang Z L, Deng J X, Zeng L H, Jiang H S, Yang X R. Cloning, sequence analysis and tissue expression of *CYP19A1* gene in Guangxi chicken [J]. *China Poultry*, 2017, 39(18): 60-62 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东