

中国部分山羊品种 *POU1F1* 基因的 分子遗传特征分析

李福勇¹, 张瀚元¹, 蓝贤勇¹, 陈 宏^{1,2}, 潘传英¹, 雷初朝¹, 刘少卿³, 张永斌³

(1 西北农林科技大学 动物科技学院 陕西省农业分子生物学重点实验室, 陕西 杨凌 712100;

2 徐州师范大学 细胞与分子生物学研究所, 江苏 徐州 221166;

3 鄂托克旗内蒙古阿尔巴白绒山羊种羊场, 内蒙古 鄂尔多斯 016100)

【摘 要】 【目的】探讨中国部分山羊品种 *POU1F1* 基因的分子遗传特征, 为山羊品种鉴定提供科学资料。【方法】以内蒙古白绒山羊(IMWC)、西农萨能奶山羊(Sa)、崂山奶山羊(LS)、关中奶山羊(GZ)、贵州黑山羊(GB)、马头山羊(MT)、板角山羊(BJ)、贵州白山羊(GW)和雷州山羊(LZ)为材料, 利用分子群体遗传学方法, 研究中国部分山羊品种 *POU1F1* 基因 *Dde* I 位点的分子遗传特征。【结果】PCR 扩增到 450 bp 的 *POU1F1* 基因(包括 Exon 6 和 3' UTR), 经限制性内切酶 *Dde* I 酶切后获得 D_1D_1 和 D_1D_2 2 种基因型, 各山羊品种 D_1 等位基因频率为 0.600~1.000, D_2 为 0.000~0.400, 纯合度(H_o)为 0.520~1.000, 杂合度(H_e)为 0.000~0.480, 有效等位基因数(N_e)为 1.000~1.923, 多态信息含量(PIC)为 0.000~0.365。独立 χ^2 分析显示, *POU1F1-Dde* I 位点的基因型和等位基因分布在不同山羊品种之间存在显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)差异。【结论】*POU1F1-Dde* I 位点的基因型分布和等位基因分布与山羊品种显著相关, 品种对山羊该位点的分子遗传特征有显著影响($P<0.05$)。

【关键词】 山羊; *POU1F1* 基因; PCR-RFLP; 遗传特征

【中图分类号】 S827.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)12-0006-05

Analysis of molecular genetic characteristics within *POU1F1* gene in several Chinese goat breeds

LI Fu-yong¹, ZHANG Han-yuan¹, LAN Xian-yong¹, CHEN Hong^{1,2},
PAN Chuan-ying¹, LEI Chu-zhao¹, LIU Shao-qing³, ZHANG Yong-bin³

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Institute of Cellular and Molecular Biology, College of Life Science,

Xuzhou Normal University, Xuzhou, Jiangsu 221166, China; 3 Inner Mongolia White Cashmere Goat

Breeding Farm, E'erdushi, Inner Mongolia 016100, China)

Abstract: 【Objective】 This research analyzed the molecular genetic characteristics of goat *POU1F1* gene in Chinese goat breeds, which will contribute to clarify breeds of goat. 【Method】 PCR-RFLP and molecular population genetics analysis were applied to study the molecular genetic characteristics of *Dde* I locus of *POU1F1* gene in several Chinese goat breeds including Inner Mongolia white cashmere (IMWC), Xinong Saanen dairy (Sa), Laoshan dairy (LS), Guanzhong dairy (GZ), Guizhou black (GB), Matou (MT), Banjiao (BJ), Guizhou white (GW) and Leizhou (LZ). 【Result】 The 450 bp PCR amplification products of goat *POU1F1* gene (including Exon 6 and 3'UTR) was digested by restriction enzyme *Dde* I and two dif-

* [收稿日期] 2009-04-15

[基金项目] 教育部高等学校博士点基金项目(200807120012); 陕西省“13115”科技创新项目(2008ZDKG-11); 江苏省自然科学基金项目(BK2008120); 西北农林科技大学博士启动基金项目(01140411); 国家大学生创新实验计划项目(G2007011)

[作者简介] 李福勇(1986—), 男, 山东潍坊人, 在读硕士, 主要从事分子生物学研究。

[通信作者] 陈 宏(1955—), 男, 陕西西安人, 教授, 博士, 主要从事动物遗传育种研究。E-mail: chen hong1212@263.net

ferent genotypes (D_1D_1 and D_1D_2) were found. Frequencies of allele D_1 , allele D_2 , Ho , He , Ne and PIC varied among breeds were from 0.600 to 1.000, from 0.000 to 0.400, from 0.520 to 1.000, from 0.000 to 0.480, from 1.000 to 1.923 and from 0.000 to 0.365, respectively. The chi-square analysis revealed that there were significant statistical differences ($P < 0.05$) or high significant statistical differences ($P < 0.01$) of distributions of genotype frequencies and allele frequencies at *POU1F1-Dde I* locus among analyzed goat populations. 【Conclusion】 Hence, breed factor had significant effect on the molecular genetics characteristics at *POU1F1-Dde I* locus in goat.

Key words: goat; *POU1F1* gene; PCR-RFLP; genetic characteristic

垂体转录释放因子-1 (POU1F1, 又称 Pit-1) 是 POU 结构域中几种同源异型蛋白之一, 其主要功能是正向调控促甲状腺激素 β 亚单位 (TSH β)、生长激素 (GH) 和催乳素 (PRL) 基因的表达^[1-2]。对人类和小鼠的研究揭示, *POU1F1* 基因突变与小鼠 dw 矮小和人类综合性垂体激素缺陷症 (CPHD) 相关^[1-2]。在猪^[3]和牛^[4]的研究中, *POU1F1* 基因多态性与生产性状显著相关。因此, 研究哺乳动物 *POU1F1* 基因遗传变异和分子遗传特征具有重要的理论和实践意义。目前, 国内外对山羊 *POU1F1* 基因遗传变异的研究很少, 仅见 Woolard 等^[5]和 Lan 等^[6-9]的报道。然而, 在 *POU1F1* 基因 *Dde I* 位点的分子遗传特征研究方面, 国内外尚未见报道。本研究以山羊 *POU1F1-Dde I* 座位为分析对象, 研究中国部分山羊品种 *POU1F1* 基因的分子遗传特征, 以期对山羊品种鉴定提供科学资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 801 份无血缘关系山羊血样来自 9 个品种: 452 份内蒙古白绒山羊 (Inner Mongolia white cashmere goat, IMWC)、74 份西农萨能奶山羊 (Xinong Saanen dairy goat, Sa)、62 份关中奶山羊 (Guanzhong dairy goat, GZ)、80 份崂山奶山羊 (Laoshan dairy goat, LS)、34 份雷州山羊 (Leizhou goat, LZ)、21 份贵州黑山羊 (Guizhou black goat, GB)、31 份贵州白山羊 (Guizhou white goat, GW)、25 份板角山羊 (Banjiao goat, BJ)、22 份马头山羊 (Matou goat, MT)。以上品种分别来自内蒙古、陕西、山东、广东、贵州、四川和湖北等 7 个省 (或自治区)。

1.1.2 试剂 *Taq* DNA 聚合酶、限制性内切酶 *Dde I* 等, 分别购自 MBI 和 TOYOBO 公司。

1.2 山羊基因组 DNA 的提取

山羊基因组 DNA 的提取参照苯酚-氯仿法。

1.3 山羊 *POU1F1* 基因的 PCR 和 *Dde I* PCR-RFLP

根据 Lan 等^[8]报道的山羊 *POU1F1* 基因的引物序列, 合成如下引物。F: 5'-CCATCATCTC-CCTTCTT-3' 和 R: 5'-AATGTACAATGTGCCT-TCTGAG-3', 预期扩增片段长度为 450 bp (包括 Exon 6 和 3' UTR)。PCR 反应体系为 25 μ L: 0.75 U *Taq* DNA 聚合酶, 25 mmol/L $MgCl_2$ 2.0 μ L, 10 $\times$ Buffer 2.5 μ L, 2.5 mmol/L dNTPs 1.5 μ L, 100 ng 基因组 DNA, 上下游引物各 0.25 μ mol/L。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}C$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}C$ 变性 30 s, 54.5 $^{\circ}C$ 复性 1 min, 72 $^{\circ}C$ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}C$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}C$ 保存。利用限制性内切酶 *Dde I* 对 PCR 产物进行酶切, 酶切反应体系为: PCR 产物 8.0 μ L, 10 $\times$ 缓冲液 (含 BSA) 1.5 μ L, *Dde I* (1.0 U/ μ L) 4.0 μ L, 补去离子水至 15.0 μ L。37 $^{\circ}C$ 恒温反应 5~8 h; *Dde I* 酶切产物用 120 g/L PAGE 电泳, 凝胶成像系统拍照, 确定酶切图谱的基因型^[8]。

1.4 分子群体遗传结构分析

利用 PopGene、Excel、SPSS (13.0) 软件分析遗传多态性指标, 涉及等位基因频率、基因型频率、群体平衡检验、遗传纯合度 (Ho)、杂合度 (He)、有效等位基因数 (Ne) 和多态信息含量 (PIC)^[10]; 利用 χ^2 独立性检验分析品种 (群体) 基因型频率和等位基因频率的分布; 两品种 (群体) 之间采用公式 (1), 多品种间采用公式 (2):

$$\chi^2 = \frac{T^2}{T_1 \times T_2} \left[\sum_{j=1}^{t_j} \frac{a_{ij}^2}{T_i} - \frac{T_j^2}{T} \right]; \quad (1)$$

$$\chi^2 = \left[\sum \frac{a_{ij}^2}{T_j \times T_i} - 1 \right]. \quad (2)$$

式中: T 为 2 个或多个品种 (群体) 的总个体数, T_1 、 T_2 分别为第 1 和第 2 个品种 (群体) 个体数, T_i 为 2 个或多个品种 (群体) 第 i 个基因型的总个体数, a_{ij} 为第 j 个品种 (群体) 第 i 个基因型的实际个体数,

T_j 为第 j 个品种(群体)的个体数。

2 结果与分析

2.1 山羊 *POU1F1*-*Dde* I 座位的 PCR-RFLP 分析

山羊 *POU1F1* 基因 PCR 产物长度为 450 bp, 与预期结果一致(图 1)。450 bp 的山羊 *POU1F1*

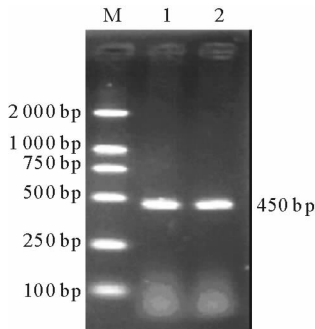


图 1 山羊 *POU1F1* 基因 PCR 产物的电泳结果

M, Marker DL2000;1,2. PCR 产物

Fig. 1 Electrophoresis of PCR amplification products of goat *POU1F1* gene

M, Marker DL2000;1,2. PCR products

2.2 山羊 *POU1F1*-*Dde* I 座位的遗传结构分析

在 9 个山羊品种的 *Dde* I PCR-RFLP 分析中, 除贵州黑山羊外, 其余供试品种均表现出多态性, 而

基因片段(含第 6 外显子)被 *Dde* I 酶切后表现多态性^[8], 具有 D_1D_1 和 D_1D_2 2 种基因型。 D_1D_1 基因型可切出 200, 118, 102, 20 和 11 bp; D_1D_2 基因型可切出 200, 118, 113, 102, 20 和 11 bp。在 120 g/L PAGE 电泳中, 20 和 11 bp 2 条带电泳出胶体, 113 和 102 bp 片段能明显地区别不同基因型(图 2)。

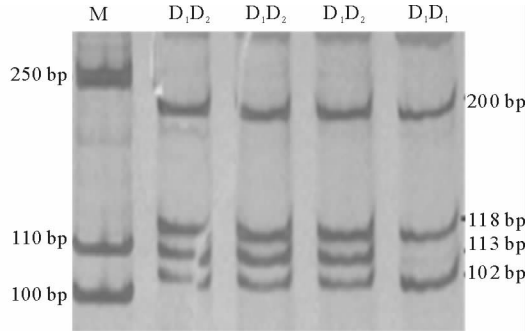


图 2 山羊 *POU1F1* 基因 PCR 产物的酶切分析

Fig. 2 Analysis of PCR amplification products by PCR-RFLP of goat *POU1F1* gene

表 1 山羊 *POU1F1*-*Dde* I 座位的遗传结构分析

Table 1 Genetic structure analysis at goat *POU1F1*-*Dde* I locus

品种 Breed	样本数量 Sample content		D_1/D_2 等位 基因频率 Allele frequency of D_1/D_2	H_o	H_e	N_e	PIC
	D_1D_1	D_1D_2					
内蒙古白绒山羊 Inner Mongolia white cashmere goat	339	113	0.875/0.125	0.781	0.219	1.280	0.195
西农萨能奶山羊 Xinong Saanen dairy goat	57	17	0.885/0.115	0.797	0.203	1.255	0.183
崂山奶山羊 Laoshan dairy goat	16	64	0.600/0.400	0.520	0.480	1.923	0.365
关中奶山羊 Guanzhong dairy goat	43	19	0.847/0.153	0.741	0.260	1.350	0.226
贵州黑山羊 Guizhou black	21	0	1.000/0.000	1.000	0.000	1.000	0.000
马头山羊 Matou goat	10	12	0.727/0.273	0.603	0.397	1.658	0.318
板角山羊 Banjiao goat	21	4	0.920/0.080	0.853	0.147	1.173	0.136
贵州白山羊 Guizhou white goat	11	20	0.706/0.294	0.563	0.437	1.776	0.342
雷州山羊 Leizhou goat	14	20	0.777/0.223	0.585	0.415	1.710	0.329

由表 1 可知, 除贵州黑山羊外, 其余 8 个山羊品种均存在多态性, 表明 *POU1F1* 基因多态性分布可能与品种有关, 这与猪 *POU1F1* 基因研究结果一致^[3]。分子群体遗传结构分析表明, 纯合度(H_o)为 0.520~1.000, 杂合度(H_e)为 0.000~0.480, 有效等位基因数(N_e)为 1.000~1.923; 多态信息含量(PIC)为 0.000~0.365, 由高到低依次为崂山奶山羊>贵州白山羊>雷州山羊>马头山羊>关中奶山羊>内蒙古白绒山羊>西农萨能奶山羊>板角山

且所有多态性品种仅表现 D_1D_1 和 D_1D_2 基因型, 未发现 D_2D_2 基因型, 各山羊品种的指标见表 1。

羊>贵州黑山羊, 其中马头山羊、雷州山羊、贵州白山羊和崂山奶山羊等品种的 PIC 值均在 0.250 以上。当 PIC 值大于 0.25 时, 认为该座位处于中度多态水平。为此, 马头山羊、雷州山羊、贵州白山羊和崂山奶山羊等山羊品种均处于中度多态水平, 暗示这些山羊品种整齐度还存在进一步提高的潜能。

2.3 山羊 *POU1F1*-*Dde* I 座位基因型和等位基因频率的分布

χ^2 独立性检验分析表明, 9 个山羊品种之间基

因型频率和等位基因频率分布都存在显著或极显著差异,基因型分布总 $\chi^2=131.607, P=0.000, df=8$;等位基因分布总 $\chi^2=109.848, P=0.000, df=8$ (表 2)。在基因型和等位基因频率分布上,西农萨能奶山羊与崂山奶山羊、马头山羊、贵州白山羊和雷州山羊之间均存在显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<$

0.01) 差异;崂山奶山羊与西农萨能奶山羊、关中奶山羊和内蒙古白绒山羊之间也存在显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 差异;内蒙古白绒山羊与 1 个奶山羊、4 个肉山羊之间也存在显著 ($P<0.05$) 或极显著 ($P<0.01$) 差异。

表 2 不同山羊群体 *POU1F1-Dde I* 座位基因型和等位基因频率分布的 χ^2 分析

Table 2 Distributions analysis of genotypes and allele frequencies between breeds at goat <i>POU1F1-Dde I</i> locus									
品种 Breed	Sa	LS	GZ	IMWC	GB	BJ	MT	GW	LZ
Sa		0.000**	0.415	0.819	0.036*	0.650	0.010*	0.000**	0.001**
LS	0.000**		0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.032*	0.144	0.034*
GZ	0.453	0.000**		0.424	0.010*	0.257	0.082	0.004**	0.013*
IMWC	0.832	0.000**	0.461		0.018*	0.436	0.005**	0.000**	0.000**
GB	0.046*	0.000**	0.016*	0.028*		0.164	0.000**	0.000**	0.000**
BJ	0.170	0.000**	0.297	0.470	0.173		0.013*	0.001**	0.002**
MT	0.020*	0.178	0.126	0.009**	0.000**	0.027*		0.655	0.968
GW	0.001**	0.361	0.013*	0.000**	0.000**	0.004**	0.737		0.829
LZ	0.002**	0.172	0.033*	0.000**	0.000**	0.009**	0.976	0.872	

注:右上部分为不同山羊品种基因型分布 P 值;左下部分为不同山羊品种等位基因分布 P 值。
Note: P value of distribution of genotypes frequency between two breeds(the up-right part); P value of distribution of different alleles between two breeds(the down-left part).

3 讨 论

2007 年,Lan 等^[7]利用 PCR-SSCP 和 DNA 测序方法研究 *POU1F1* 基因第 6 外显子的遗传多态性,结果揭示第 6 外显子第 60 个核苷酸存在 T→G 突变,及 *Dde I* 酶切多态位点。本研究进一步利用 PCR-RFLP 方法检测中国部分山羊品种 *POU1F1-Dde I* 座位的多态性,发现内蒙古白绒山羊 (IMWC)、西农萨能奶山羊 (Sa)、崂山奶山羊 (LS)、关中奶山羊 (GZ)、贵州黑山羊 (GB)、马头山羊 (MT)、板角山羊 (BJ)、贵州白山羊 (GW) 和雷州山羊 (LZ) 品种的 D1 等位基因频率变化在 0.600~1.000。

Yu 等^[10]发现,中国梅山猪 *POU1F1* 基因存在 *BamH I* 多态性,但 5 个美国猪种中未发现同样的多态基因座;Yu 等^[11]采用 PCR-RFLP 方法分析 *POU1F1* 基因 1 764 bp 片段多态性,发现 5 种美国猪种中存在 *Rsa I* 多态位点,而该位点在中国猪种中未表现多态。本研究中贵州黑山羊并未发现多态性,这除品种因素外,可能与样品量也有关系。从地域分布和亲缘关系看,贵州黑山羊和贵州白山羊是非常接近的品种,但它们之间却表现出显著的基因型分布差异。其原因主要是,在统计分析中贵州黑山羊群体的 D₁D₂ 型个体数为零。为此,在贵州黑山羊 *POU1F1* 基因 *Dde I* 座位的多态性分析中,需要加大样本量深入分析。

本研究发现,*Dde I* 多态的所有供试山羊品种中都缺少 D₂D₂ 基因型个体。笔者在山羊 *POU1F1* 基因的密码子分析中发现,TCT 是高频密码子,而 TCG 为低频密码子,因此推测,*Dde I* 座位可能导致高频密码子到低频密码子的改变,产生密码子偏性现象,从而影响 D₂D₂ 基因型个体胚胎的早期表达,导致该类型个体缺乏。这与密码子偏性的已有研究结论相吻合。通过近 30 多年的研究发现,基因的异源表达、分子进化、翻译调控、翻译速率、全基因组密码子偏性和基因表达水平相关性、蛋白质合成的速率等,与密码子偏性有重要关联^[12]。

不同山羊品种 *POU1F1-Dde I* 座位基因型分布的独立 χ^2 检测表明,基因型分布在不同山羊品种间存在显著差异;基因频率分布在不同品种间也存在显著差异。不仅该座位如此,*POU1F1* 基因的其他座位(如第 1 内含子区域、第 3 外显子区域、第 5 外显子和第 6 外显子 *Alu I* 座位)亦如此^[10]。表明 *POU1F1* 基因的基因型分布和等位基因分布与品种因素显著相关。因此认为,山羊品种对 *POU1F1* 基因的分子遗传特征有显著影响。为此,笔者建议将山羊 *POU1F1* 基因 *Dde I* 座位作为山羊品种鉴定的特征性 DNA 位点之一。在生产实践中,若将该特征性 DNA 座位与外貌特征(毛色、角型和尾型)和体型结构等表型特征综合应用,将更有利于山羊品种的鉴定与分类。

[参考文献]

- [1] Li S, Crenshaw E B, Rawson E J, et al. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene Pit-1 [J]. *Nature*, 1990, 347: 528-533.
- [2] Pfaffle R W, DiMattia G E, Parks J, et al. Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia [J]. *Science*, 1992, 257: 1118-1121.
- [3] Stancekova K, Vasicek D, Peskovicova D, et al. Effect of genetic variability of the porcine pituitary-specific transcription factor (PIT-1) on carcass traits in pigs [J]. *Anim Genet*, 1999, 30: 313-315.
- [4] Renaville R, Gengler N, Vrech E, et al. Pit-1 gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls [J]. *J Dairy Sci*, 1997, 80: 3431-3438.
- [5] Woollard J, Ponce de Leon F A, Tuggle C K A. Rapid communication: Localization of POU1F1 to bovine, ovine, and caprine 1q21-22 [J]. *J Anim Sci*, 2000, 78: 242-243.
- [6] Lan X Y, Li M J, Chen H, et al. Analysis of caprine pituitary specific transcription factor-1 gene polymorphism in indigenous Chinese goats [J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36 (4): 705-709.
- [7] Lan X Y, Pan C Y, Chen H, et al. *Dde* I polymorphism in coding region of goat POU1F1 gene and its association with production traits [J]. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 2007, 20(9): 1342-1348.
- [8] Lan X Y, Pan C Y, Chen H, et al. An *Alu* I PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POU1F1 locus and its association with production traits [J]. *Small Ruminant Research*, 2007, 73: 8-12.
- [9] 蓝贤勇. 山羊重要功能基因遗传分析及其与经济性状的关系 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- Lan X Y. Genetic analysis of key function genes and their associations with economic traits in goats [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2007. (in Chinese)
- [10] Yu T P, Rothschild M R, Tuggle C K. Rapid communication: a *Msp* I restriction fragment length polymorphism at the swine PIT-1 locus [J]. *J Anim Sci*, 1993, 71: 2275.
- [11] Yu T P, Schmitz C B, Rothschild M F, et al. Expression pattern, genomic cloning and RFLP analyses of the swine PIT-1 gene [J]. *Anim Genet*, 1994, 25: 229-233.
- [12] 吴宪明, 吴松峰, 任大明, 等. 密码子偏性的分析方法及相关研究进展 [J]. *遗传*, 2007, 29(4): 420-426.
- Wu X M, Wu S F, Ren D M, et al. The analysis method and progress in the study of codon bias [J]. *Hereditas*, 2007, 29 (4): 420-426. (in Chinese)
- [13] Dean W, Santos F, Stojkovic M, et al. Conservation of methylation reprogramming in mammalian development; aberrant reprogramming in cloned embryos [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 13734-13738.
- [14] Bourchis D, Le Bourhis D, Patin D, et al. Delayed and in complete reprogramming of chromosome methylation patterns in bovine cloned embryos [J]. *Curr Biol*, 2001, 11 (19): 1542-1546.
- [15] Wee G, Koo D B, Song B S, et al. Inheritable histone H4 acetylation of somatic chromatin in cloned embryos [J]. *Journal of Biological Chemical*, 2006, 281: 6048-6057.
- [16] Zhang L, Wang S H, Fan B L, et al. Global histone H4 acetylation of IGF1 and GH genes in lungs of somatic cell cloned calves [J]. *Asian_Aust J Anim Sci*, 2006, 19(8): 1090-1098.
- [17] Liu F J, Zhang Y, Zheng Y M, et al. Optimization of electrofusion protocols for somatic cell nuclear transfer [J]. *Small Rumin Res*, 2007, 73: 246-251.
- [18] Beaujean N, Taylor J, Gardner J, et al. Effect of limited DNA methylation reprogramming in the normal sheep embryo on somatic cell nuclear transfer [J]. *Biol Reprod*, 2004, 71(1): 185-193.
- [19] Nan X, Ng H H, Johnson C A, et al. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex [J]. *Nature*, 1998, 393: 386-389.
- [20] Johes P L, Veenstra G J C, Wade P A, et al. Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription [J]. *Nat Genet*, 1998, 19: 187-191.
- [21] Fuks F, Burgers W A, Brehm A, et al. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity [J]. *Nat Genet*, 2000, 24: 88-91.
- [22] Selker E U. Trichostatin A causes selective loss of DNA methylation in *Neurospora* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 9430-9435.
- [23] Shaker S, Bernstein M, Momparler L F, et al. Preclinical evaluation of antineoplastic activity of inhibitors of DNA methylation (5-Aza-2'-deoxycytidine) and histone deacetylation (trichostatin A, depsipeptide) in combination against myeloid leukemic cells [J]. *Leuk Res*, 2003, 27(5): 437-444.
- [24] Cameron E E, Bachman K E, Myohanen S, et al. Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the reexpression of genes silenced in cancer [J]. *Nature Genet*, 1999, 21: 103-107.
- [25] Yin H, Blanchard K L. DNA methylation represses the expression of the human erythropoietin gene by two different mechanisms [J]. *Blood*, 2000, 95(1): 111-119.
- [26] Rybouchkin A, Kato Y, Tsunoda Y. Role of histone acetylation in reprogramming of somatic nuclei following nuclear transfer [J]. *Biol Reprod*, 2006, 7(4): 1083-1089.

(上接第 5 页)