

清远麻鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因 mRNA 的差异表达研究

屠云洁^{1,2}, 苏一军^{1,2}, 王克华¹, 张学余^{1,2}, 李国辉^{1,2}

(1 中国农业科学院 家禽研究所, 江苏 扬州 225003; 2 国家地方禽种资源基因库, 江苏 扬州 225003)

[摘要] 【目的】分析心脏脂肪酸结合蛋白(H-FABP)和脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白(A-FABP)基因 mRNA 在不同日龄清远麻鸡不同组织中的差异表达量,为进一步阐明 H-FABP、A-FABP 在鸡 IMF 含量和腹脂沉积中的作用机制奠定基础。【方法】依据鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因及参照基因 GAPDH 序列设计引物,以鸡心肌、胸肌、腿肌、肝脏和腹脂 mRNA 逆转录合成的 cDNA 为模版,应用 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR,检测 56 和 120 日龄清远麻鸡 A-FABP、H-FABP 基因 mRNA 的差异表达量。【结果】H-FABP、A-FABP 和 GAPDH 的基因融解曲线均为单峰,无杂峰及二聚体,定量准确。120 d 时清远麻鸡的胸肌和腿肌的肌内脂肪(IMF)含量显著高于 56 d;H-FABP 基因 mRNA 120 d 时在心肌、胸肌和腿肌的差异表达量显著高于 56 d,且同一日龄时在心肌的差异表达量显著高于胸肌和腿肌($P < 0.05$)。120 d 时清远麻鸡 A-FABP 基因 mRNA 在腹脂和肝脏的差异表达量显著高于 56 d;同一日龄时,A-FABP 基因 mRNA 在腹脂的差异表达量显著高于肝脏,A-FABP 基因在心肌、胸肌和腿肌中不表达。相关分析表明,H-FABP 基因 mRNA 差异表达量与胸肌、腿肌 IMF 含量分别呈显著和极显著正相关,A-FABP 基因 mRNA 差异表达量与腹脂率呈极显著负相关。【结论】H-FABP 基因主要在鸡肌肉组织的肌内脂肪中表达,而且在心肌中高度表达,与 IMF 含量呈显著或极显著的正相关,其是 IMF 含量的下调基因;A-FABP 基因主要在腹脂与肝脏中表达,且在腹脂中高度表达,与腹脂率呈极显著负相关,是脂肪细胞的上调基因,且为正调控。

[关键词] 清远麻鸡;荧光定量逆转录 PCR;A-FABP 基因;H-FABP 基因;差异表达

[中图分类号] S831.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)04-0053-06

Study on the relative H-FABP and A-FABP mRNA gene expression in Qingyuan partridge

TU Yun-jie^{1,2}, SU Yi-jun^{1,2}, WANG Ke-hua¹, ZHANG Xue-yu^{1,2}, LI Guo-hui^{1,2}

(1 Poultry Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou, Jiangsu 225003, China;

2 National Poultry Genetic Resources, Yangzhou, Jiangsu 225003, China)

Abstract: 【Objective】Heart fatty acid-binding protein(H-FABP) and adipocyte fatty acid-binding protein and (A-FABP)gene expression of different tissues were analysed in Qingyuan patridge chicken at different ages. The study will establish a basis for clarifying H-FABP and A-FABP gene expression mechanism in IMF and abdomen fat deposition. 【Method】The primers were designed according to the sequences of H-FABP, A-FABP and GAPDH gene. The c-DNA fragment amplified from leg muscle, breast muscle, cardiac muscle, liver and abdominal fat was used as a standard template; H-FABP and A-FABP gene expression was detected using SYBR Green I real-time fluorescent quantification PCR. The relative expression in H-FABP, A-FABP gene was detected using real time quantitative RT-PCR in Qingyuan patridge chicken. 【Result】Melting curve analysis showed a single peak of the genes. IMF content in breast muscle

* [收稿日期] 2009-10-07

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BDA01A09, 2008BADC1B01, 2008BADC1B03); 国家“863”计划项目(2008AA101009-7)

[作者简介] 屠云洁(1974—), 女, 江苏睢宁人, 在读博士, 主要从事动物遗传资源评价保护与利用研究。

E-mail: tyj3030@126.com

and leg muscle of Qingyuan partridge on 120 d was higher than that of 56 d. However, the relative H-FABP mRNA level in these tissues was significantly lower than that of Qingyuan partridge on 56 d. The relative H-FABP mRNA level in Cardiac muscle was significantly higher than that of breast muscle and leg muscle. The relative A-FABP mRNA levels of abdomen fat and liver were significantly higher than that of the other tissues ($P < 0.05$). The relative A-FABP mRNA level in abdomen fat was higher than that in liver. H-FABP mRNA expression level was significantly positive to IMF contents. A-FABP mRNA expression level was significantly negative to abdomen fat and liver. 【Conclusion】 H-FABP gene mRNA was expressed in IMF of different muscle tissues. Moreover, the relative H-FABP mRNA level was much higher in Cardiac muscle. H-FABP mRNA expression level was significantly positive to IMF. Furthermore, it had negative effect on IMF content. A-FABP gene mRNA was expressed in abdomen fat and liver. Moreover, the relative A-FABP mRNA levels in abdominal fat was higher. A-FABP mRNA expression level was significantly negative to abdominal fat. A-FABP mRNA expression level had a significantly positive effect on abdominal fat rate.

Key words: Qingyuan partridge chicken; FQ-RT-PCR; A-FABP gene; H-FABP gene; gene expression

肌内脂肪(IMF)与肌肉的风味品质和食用价值关系密切,是影响肉质的重要因素。因此,进行 IMF 性状的研究,是改善生长速度快的大型(简称快大)鸡种肉质和保持地方鸡种特殊肉质风味的重要举措。IMF 含量具有较高的遗传力,但与生长速度呈负相关。由于活体测定 IMF 含量存在很大的难度,利用 DNA 标记进行辅助选择成为改进 IMF 含量行之有效的方法。很多研究者对心脏脂肪酸结合蛋白(H-FABP)和脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白(A-FABP)在 DNA 水平上作了一些研究^[1-2]。由于脂肪酸结合蛋白(FABPs)基因位点的突变最终将影响其基因表达水平的质或量的变化,所以在 mRNA 水平上研究 A-FABP 和 H-FABP 基因对 IMF 沉积的影响,具有十分重要的意义。尤溪麻鸡、鹿苑鸡和隐性白羽鸡品种间 A-FABP 基因第 3 外显子(1 805 位点)的 C 突变为 T(脯氨酸变为丝氨酸),影响氨基酸序列的变化^[3-5]。H-FABP 对长链脂肪酸具有很强的亲和力,具有转运长链脂肪酸和调节脂肪酸代谢平衡的功能^[6],其对脂肪酸的功能已经在小鼠上通过 H-FABP 基因敲除试验得到了证实^[7-8]。H-FABP 基因 mRNA 的表达水平与肌内脂肪含量显著相关。在 H-FABP 的各基因类型中,H-FABP 基因的 mRNA 及其蛋白质表达水平均无显著差异,但肌内脂肪含量在阉猪间差异显著^[9]。

实时荧光定量 PCR (Real time fluorescent quantitative PCR, FQ-PCR) 技术实现了 PCR 从定性到定量的飞跃,其与逆转录聚合酶链反应 (Reverse transcriptase PCR, RT-PCR) 相结合,使微量极微量的基因表达成为可能,已被广泛用于基因表

达差异分析^[10-11]等方面。国内外许多研究者对 A-FABP 和 H-FABP 基因进行了较多的研究,但这些研究大多集中在猪上,而对鸡的研究相对较少,目前尚未见关于清远麻鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因 mRNA 差异表达对肉质影响的研究报道。本研究利用实时荧光定量逆转录 PCR 技术,检测 H-FABP 和 A-FABP 基因在不同日龄清远麻鸡不同组织中的差异表达量,以期为进一步阐明 H-FABP、A-FABP 在鸡 IMF 含量和腹脂沉积中的作用机制奠定理论基础,为清远麻鸡的早期选育和品系培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验动物为清远麻鸡,由国家地方禽种资源基因库提供。试验鸡群采用网上平养方式,整个饲养周期采用肉鸡全价日粮饲养于同一试验场中。

1.2 屠宰性能测定及样品的采集

分别在 56 和 120 日龄时,随机抽取清远麻鸡 60 只(公母各半)屠宰取样。屠宰过程中,立即采集鸡心肌、胸肌、腿肌、腹脂和肝脏,保存于液氮中,随后转存到 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,用于总 RNA 的提取。采集完整的单侧胸肌和腿肌,去掉可见脂肪,绞碎后装袋,保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,用于肌内脂肪的提取。

1.3 H-FABP 及 A-FABP 基因 mRNA 差异表达的分析

1.3.1 总 RNA 的提取与 cDNA 第一链的合成
取 50~100 mg 心肌、腿肌、胸肌、腹脂和肝脏,采用 Tizol 法提取总 RNA,用体积分数 2% 琼脂糖凝胶

电泳进行检测。利用 AMLV 反转录酶试剂盒,将 mRNA 合成 cDNA 第一条链。反转录反应体系为 20 μ L:总 RNA 2 μ L,Oligo dT₍₁₈₎ 1 μ L,AMV 反转录酶 (200 U/L) 1 μ L,RNA 酶抑制剂 1 μ L,10 mmol/L dNTP Mix 2 μ L,5 $\times$ RT Buffer 4 μ L,DEPC 水 9 μ L。反转录条件为:42 $^{\circ}$ C 30 min,99 $^{\circ}$ C 5 min。

1.3.2 mRNA 的实时荧光定量 PCR (1)引物的设计与合成。H-FABP 基因上游引物:5'-CCT-TACCCACCACCATCAT-3';下游引物:5'-GTCTCCTTGGGATCCCACTT-3',预期扩增产物长度为 199 bp;A-FABP 基因上游引物:5'-TGTGGGGTTTGCTA-3',下游引物:5'-TAGGGAAATGACATTCAAAGT-3',预期扩增产物长度 189 bp;看家基因 GAPDH 上游引物:5'-ATGGCATC-CAAGGAGTGA-3',下游引物:5'-GGGAGA-CAGAAGGGAACAG-3',预期扩增产物长度为 141 bp。引物由上海生物技术有限公司合成。

(2)PCR 条件的优化。对合成的 cDNA 产物进行一系列浓度梯度稀释,使用 Mx3000P 荧光定量 PCR 仪进行定量分析预试验,结果稀释 500 倍的浓度较为适宜。每个样品的 A-FABP 和 H-FABP 基因的表达使用 GAPDH 基因作为内对照。首先按照 SYBR Green I 试剂盒(TaKaRa 公司)推荐的体系,在其他条件相同的情况下,对退火温度(53~63 $^{\circ}$ C)和引物浓度进行优化,然后以优化的退火温度、引物浓度进行试验。反应体系为 20 μ L:10 μ L 2 $\times$ SYBR Green I Master mix(试剂盒提供),上、下游引物(100 nmol/L)各 1 μ L,2 μ L cDNA 产物,6 μ L 灭菌超纯水,混合样品,不能使其产生气泡。反应条件为:95 $^{\circ}$ C 10 min;95 $^{\circ}$ C 30 s,55~60 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,40 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。阴性对照用 2 μ L 灭菌超纯水代替模板。不同组织的表达试验在同一批进行。不同种的组织来自 6 个个体,每个样品检测做 3 管平行试验。

1.4 数据统计与分析

样品设置相同的阈值线,根据电脑自动分析荧光信号,将其转换为 H-FABP 和 A-FABP 基因的起始拷贝数 C_i 值,根据各样品的 C_i 值,计算其起始模板拷贝数。应用 SPSS 16.0 计算重复样品间 C_i 均值及标准偏差,采用 $2^{-\Delta C_i}$ 方法处理数据^[11],分析基因相对表达差异量。mRNA 转录量用“平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm SD$)”表示,用单因素方差分析法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 清远麻鸡总 RNA 的提取

总 RNA 经体积分数 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,可见 RNA 有明显条带,其可用于反转录(图 1)。

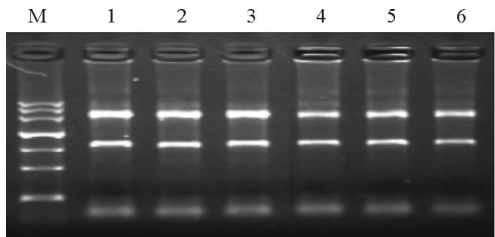


图 1 清远麻鸡总 RNA 的琼脂糖凝胶电泳检测结果
M, Marker;1~6. 胸肌 RNA 样品

Fig. 1 Agrose gel eletrophoretic analysis of RNA
M, Marker;1-6. RNA of breast muscle

2.2 H-FABP 和 A-FABP 基因扩增产物的特异性

对融解曲线(图 2、图 3)进行分析发现,H-FABP 和 A-FABP 基因及 GAPDH 基因的 PCR 产物均呈较为锐利的单一峰,排除了形成引物二聚体和非特异产物对结果的影响,同时说明设计的引物有很好的特异性,PCR 反应条件得到了较好的优化。H-FABP、A-FABP、GAPDH 基因的融解温度分别为 83.9,78.2,85.5 $^{\circ}$ C,阴性对照无扩增产物。

2.3 清远麻鸡胸肌、腿肌的 IMF 含量和腹脂率

56,120 d 清远麻鸡胸肌和腿肌的 IMF 含量及腹脂率见表 1。由表 1 可见,120 d 清远麻鸡胸肌、腿肌的 IMF 含量及腹脂率均显著高于 56 d($P < 0.05$)。

表 1 清远麻鸡腿肌、胸肌的
IMF 含量和腹脂率

Table 1 IMF of leg muscle,breast muscle and abdomen fat ratio in Qingyuan partridge on 56 and 120 d %

项目 Item	56 d	120 d
腿肌 IMF IMF content in leg muscle	0.674 $\pm$ 0.131 a	0.821 $\pm$ 0.168 b
胸肌 IMF IMF content in chest muscle	0.535 $\pm$ 0.061 c	0.643 $\pm$ 0.063 d
腹脂率 Ratio of abomen fat	1.128 $\pm$ 0.012 e	2.414 $\pm$ 0.019 f

注:同行数据后标不同小写字母者表示差异显著($P < 0.05$)。
Note: The different lowercase indicates significant difference ($P < 0.05$).

2.4 清远麻鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因 mRNA 在不同日龄、不同组织中的差异表达

清远麻鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因 mRNA 在不同日龄、不同组织的差异表达量见表 2。

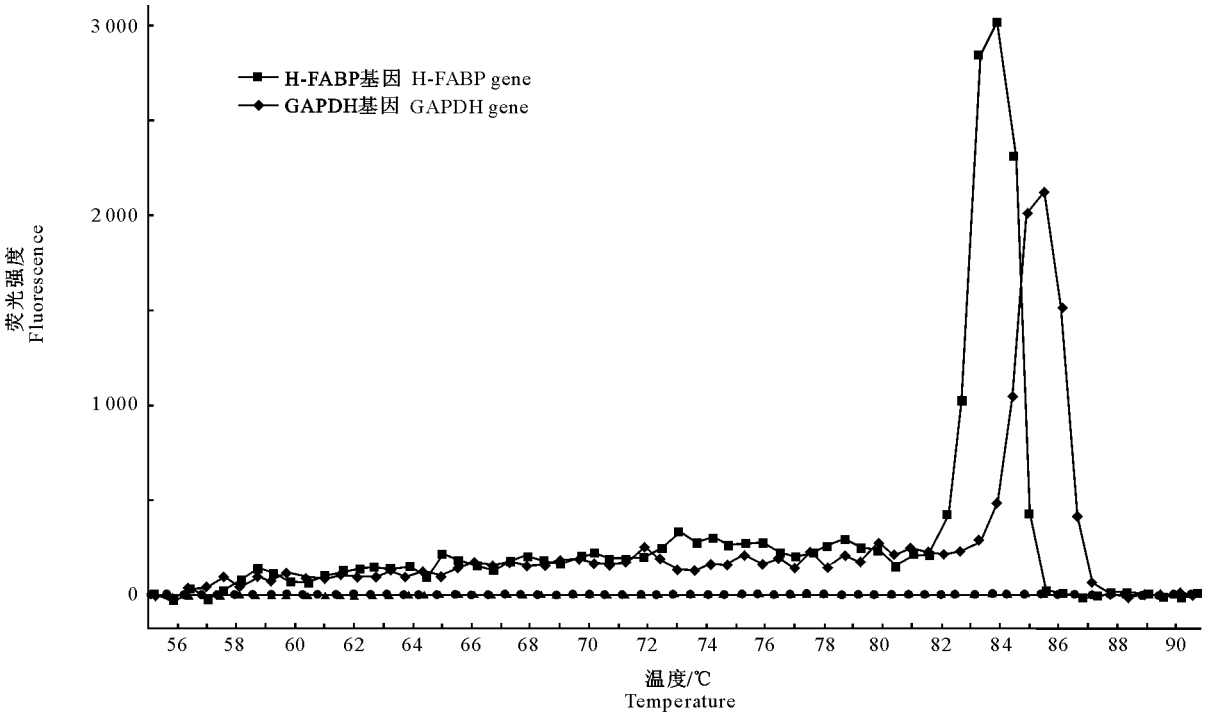


图 2 清远麻鸡 H-FABP 基因及内参基因 GAPDH 的融解曲线
Fig. 2 Melting curve of H-FABP and GAPDH gene

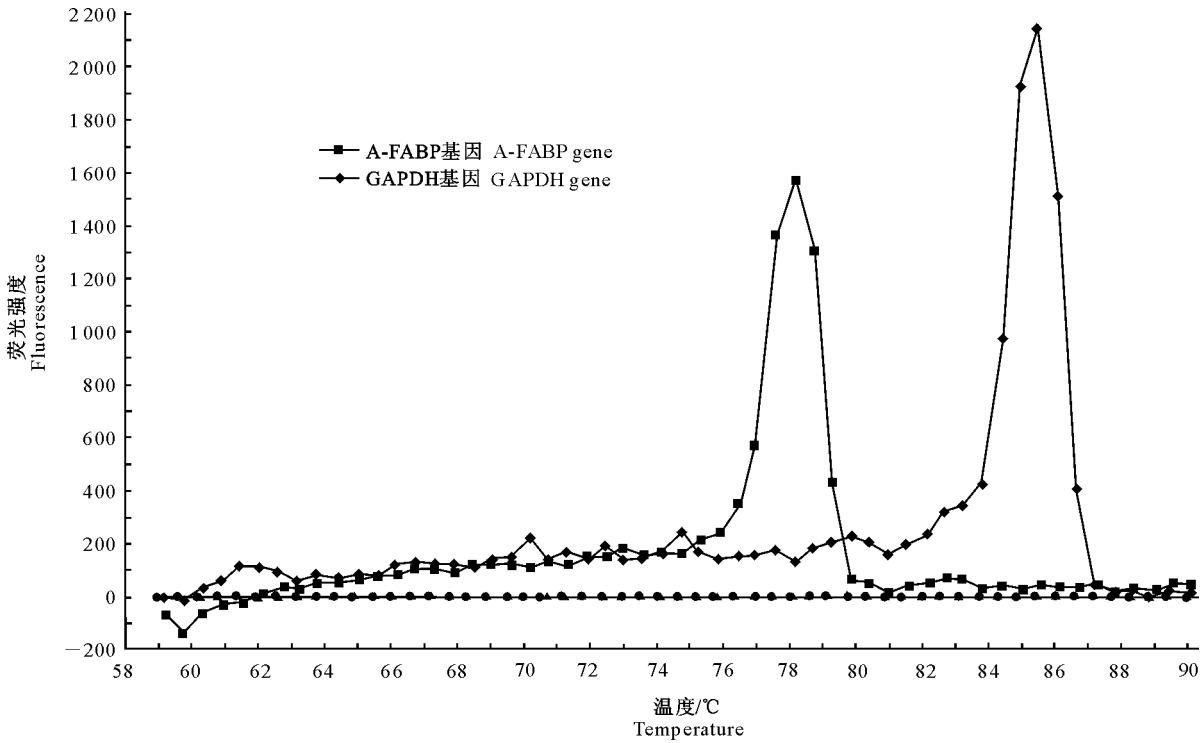


图 3 清远麻鸡 A-FABP 基因及内参基因 GAPDH 的融解曲线
Fig. 3 Melting curve of A-FABP and GAPDH gene

由表 2 可知,同一日龄,H-FABP mRNA 在胸肌和腿肌中的表达量差异不显著,在心肌的表达量显著高于胸肌和腿肌,在腹脂与肝脏中均不表达。120 d 清远麻鸡 H-FABP 基因 mRNA 在心肌、胸肌

和腿肌的差异表达量显著高于 56 d。同一日龄,A-FABP 基因 mRNA 在腹脂中的表达量显著高于肝脏,而在心肌、胸肌和腿肌中均不表达;120 d 时,其在腹脂和肝脏的表达量显著高于 56 d。

表 2 清远麻鸡 H-FABP 和 A-FABP 基因 mRNA 的差异表达量

Table 2 Relative variation of H-FABP and A-FABP in different tissues of Qingyuan partridge

项目 Item	56 d				
	胸肌 Chest muscle	心肌 Chest muscle	腿肌 Leg muscle	腹脂 Abdomen fat	肝脏 Liver
H-FABP	0.151±0.011 c	0.408±0.010 d	0.161±0.014 c	0.000	0.000
A-FABP	0.000	0.000	0.000	13.451±0.831 e	9.859±0.453 f

项目 Item	120 d				
	胸肌 Chest muscle	心肌 Chest muscle	腿肌 Leg muscle	腹脂 Abdomen fat	肝脏 Liver
H-FABP	0.175±0.0102 a	0.483±0.001 b	0.186±0.021 a	0.000	0.000
A-FABP	0.000	0.000	0.000	18.211±0.531 g	14.523±0.489 h

注:数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。

Note: The different lowercase indicate different significantly($P<0.05$).

2.5 清远麻鸡 H-FABP、A-FABP 基因 mRNA 的差异表达量与 IMF 含量和腹脂率的相关性分析

清远麻鸡 H-FABP、A-FABP 基因 mRNA 的差异表达量与 IMF 含量和腹脂率的相关性分析结果见表 3。由表 3 可见,H-FABP 基因 mRNA 的差异表达量与胸肌、腿肌 IMF 含量分别呈显著和极显著正相关,相关系数分别为 0.509 和 0.583,与腹脂率不相关;A-FABP 基因 mRNA 的差异表达量与腹脂率极显著负相关,相关系数为-0.574,与胸肌和腿肌 IMF 含量不相关。

表 3 清远麻鸡 H-FABP、A-FABP 基因 mRNA 的差异表达量与 IMF 含量和腹脂率的相关性分析

Table 3 Correlation between H-FABP, A-FABP gene mRNA expression and IMF content, abdomen fat in Qingyuan partridge

项目 Item	H-FABP 基因 mRNA H-FABP gene mRNA	A-FABP 基因 mRNA A-FABP gene mRNA
胸肌 IMF 含量 IMF content in chest muscle	0.509 *	—
腿肌 IMF 含量 IMF content in leg muscle	0.583 * *	—
腹脂率 Ratio of abdomen fat	—	-0.574 * *

注: * 表示显著相关($P<0.05$); * * 表示极显著相关($P<0.01$)。

Note: * Indicates significant correlation; * * Indicates extreme significant correlation.

3 讨论

本试验利用 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 检测 A-FABP 和 H-FABP 基因 mRNA 的差异表达。SYBR Green I 荧光染料的优点是简单、经济,无需设计复杂的探针,可用于多种目的基因的检测,缺点是由于其能够非特异性结合双链 DNA 而易产生假阳性,但可通过融解曲线分析来区分特异性与非特异性信号,或者设计高特异性的引物以消除非特异性扩增的影响。本研究所得到的融解曲线峰窄且尖,说明设计的引物有很好的特异性,PCR 反应条件得到了较好的优化,荧光定量准确。

H-FABP 基因主要在心肌和骨骼肌细胞表达,其主要存在于以下 3 种细胞之中: β 氧化速度高的细胞(如心肌、骨骼肌细胞),脂肪代谢强度高、尤其是类固醇合成旺盛的细胞(泌乳的乳腺、肾上腺皮质细胞)以及内胚层起源的细胞(肠细胞、肾远曲小管细胞等)^[12]。本研究结果表明,H-FABP 基因 mRNA 表达具有很强的组织特异性,在胸肌、腿肌和心肌等肌肉组织中均表达,且在心肌中高度表达,在腹

脂中不表达。随着日龄的增加,清远麻鸡 IMF 含量呈上升趋势,H-FABP 基因 mRNA 的差异表达量与胸肌和腿肌 IMF 含量呈显著正相关,且表达量呈上升趋势,但 120 d 时表达量只有 0.175~0.483,且均低于 0.5,说明 H-FABP 基因是 IMF 含量的下调基因。

A-FABP 基因 mRNA 在心肌和胸肌中均不表达,而在脂肪组织中表达,且在腹脂中高度表达^[9,13]。A-FABP 基因 mRNA 在脂肪细胞中高度表达,表明在脂肪细胞的分化过程中伴随着有关脂类代谢以及 A-FABP 活性的显著增强。而 A-FABP 活性及表达的差异可以影响脂肪酸的摄取与转运,更重要的是,A-FABP 可以调节脂肪酸的生理功能^[13]。此外,位于不同部位脂肪沉积的脂肪细胞对于脂溶解以及脂生成刺激因子的反应也有差异^[14],这使得局部改变脂肪分布成为可能。本研究结果表明,清远麻鸡 A-FABP 具有较强的组织特异性,主要在腹脂和肝脏表达,而在心肌、胸肌和腿肌均不表达,这与前人的研究结果一致^[9,13-14]。随着日龄的增长,清远麻鸡腹脂率呈上升趋势,A-FABP

基因 mRNA 表达量也呈明显上升趋势,表达量为 9.859~18.211,说明 A-FABP 基因是脂肪细胞表达的上调基因,且是正调控,但 A-FABP 基因 mRNA 表达量与腹脂率呈现显著负相关,这可能是由于随着年龄的增加,脂肪的沉积逐渐对 A-FABP 产生了抵抗性,通过减少表达和抑制 A-FABP 作用增加腹脂的沉积,且可能对肝脏的表达起到了很好的调控作用。

很多研究及文献资料报道,A-FABP 是影响 IMF 含量的候选基因,而本研究发现这种观点有待改正,因为 A-FABP 在心肌和胸肌中不表达,而在脂肪组织中表达,且在腹脂中高度表达。有很多其他研究者也证实了这一观点^[9-13,14],从而表明 A-FABP 是脂肪沉积的主要候选基因,而不是 IMF 含量的主要候选基因。

本研究仅从转录水平探讨了不同日龄清远麻鸡 H-FABP、A-FABP 基因 mRNA 表达对 IMF 和腹脂沉积的影响,而未在蛋白质水平上进行验证,故有必要进一步扩大品种范围及样本含量,从转录水平上进一步分析研究,并从蛋白质水平上进一步研究验证。

[参考文献]

[1] Fisher R M,Eriksson P,Hoffstedt J,et al. Fatty acid binding protein expression in different adipose tissue depots from lean and obese individuals [J]. Diabetologia Oct, 2001, 44 (10): 1268-1273.

[2] Hotamisligil G S,Johnson R S,Distel R J,et al. Uncoupling of obesity from insulin resistance through targeted mutation in aP2,the adipocyte fatty acid binding protein [J]. Science, 1996,274(5291):1377-1379.

[3] Tu Y J,Chen K W, Zhang S J,et al. Genetic diversity of Chinese 14 indigenous grey goose breeds based on microsatellite markers [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2006,26(1):1-6.

[4] 屠云洁,陈宽维,章双杰,等. 3 个鸡种 A-FABP 基因单核苷酸多态性的研究 [J]. 扬州大学学报:农业与生命科学版,2004,25 (4):44-46.

Tu Y J,Chen K W,Zhang S J,et al. Research on single nucleotide polymorphism of adipocyte fatty acid binding protein gene

in three chicken breeds [J]. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Sciences Edition,2004,25(4):44-46. (in Chinese)

[5] 陈宽维,章双杰,屠云洁,等. A-FABP 在不同鸡种中遗传多态性分析 [J]. 畜牧兽医学报,2006,37(11):1114-1117.

Chen K W,Zhang S J,Tu Y J,et al. Analysis on genetic variation of adipocyte fatty acid binding protein gene in different chicken breeds [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2006,37(11):1114-1117. (in Chinese)

[6] Haunerland N H,Spener F. Fatty acid-binding proteins—insights from genetic manipulations [J]. Progress in Lipid Research,2004,43:328-349.

[7] Schaap F G,Binas B,Danneberg H,et al. Impaired long-chain fatty acid utilization by cardiac myocytes isolated from mice lacking the heart-type fatty acid binding protein gene [J]. Circ Res,1999,85(4):329-337.

[8] Binas B,Danneberg H,McWhir J,et al. Requirement for the heart-type fatty acid-binding protein in cardiac fatty acid utilization [J]. FASEB J,1999,13(8): 805-812.

[9] Gerbens F,van Erp A J,Harders F L,et al. Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs [J]. Anim Sci, 1999,77(4):846-852.

[10] Mantke O D,Kallies R,Niklasson B,et al. A new quantitative real-time reverse transcriptase PCR assay and melting curve analysis for detection and genotyping of *Ljungan virus* strains [J]. Journal of Virological Methods,2006,141:71-77.

[11] Bao J Y,Li L,Wang Z L,et al. Development of one-step real-time RT-PCR assay for detection and quantitation of peste des petits ruminants virus [J]. Journal of Virological Methods, 2007,148:232-236.

[12] Zschesche W,Kleine A H,Spitzer E,et al. Histochemical localization of heart-type fatty-acid binding protein in human and murine tissues [J]. Histochem Cell Biol,1995,103(2): 147-156.

[13] Haunerland N H,Andolfatto P,Chisholm J M,et al. Fatty-acid-binding protein in locus flight muscle;Development changes of expression,concentration and intracellular distribution [J]. Eur J Biochem,1992,210(3):1045-1051.

[14] Pond C M,Mattacks C A. The effects of noradrenaline and insulin on lipolysis in adipocytes isolated from nine different adipose depots of guinea-pigs [J]. Int J Obes,1991,15(9):609-618.