

不同类型猪小肠组织差异 EST 的鉴定及其 SNPs 分析

朱银剑¹, 陈宏权^{1,2*}, 潘中婷¹, 陈 华¹, 焦明慧¹, 陈公伟¹, 谢亚男¹, 周 梅¹

(1. 安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036; 2. 安徽地方畜禽遗传资源保护与生物育种省级实验室, 合肥 230036)

摘 要: 采用 DDRT-PCR 技术, 对中国地方猪种和杜长大 (大白 × 长白 × 杜洛克) 猪的小肠组织进行差异 EST 分析。试验提取了地方猪和杜长大猪小肠组织的总 mRNA, 反转录成 cDNA, 利用 3 条锚定引物和 6 条随机引物组成 18 个引物对其进行 PCR 扩增, 对特异性差异条带进行测序分析和鉴定其 EST; 针对 EST 序列特征, 在不同产脂能力猪种中开展 SNPs 分析。结果表明, 18 个引物对共得到 180 多条 EST 序列, 其中地方猪种个体间差异 EST 为 6 条, 杜长大猪个体间差异 EST 为 12 条, 地方猪与杜长大猪间差异 EST 为 8 条。选取具有代表性的 3 条种群间差异 EST 进行序列研究, 结果显示, G24-300 在种群之间的表达量存在明显的差异, 是在杜长大猪群中高表达的 EST; G01-360 具有丰富的 SNPs, 并且其基因频率分布在不同类型猪群中存在明显的差异。

关键词: 地方猪种; 小肠组织; EST; SNP; 产脂能力

中图分类号: S828.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)04-0534-06

Identification and SNPs of EST in small intestine tissue of different pig-types

ZHU Yin-jian¹, CHEN Hong-quan^{1,2}, PAN Zhong-ting¹, CHEN Hua¹,

JIAO Ming-hui¹, CHEN Gong-wei¹, XIE Ya-nan¹, ZHOU Mei¹

(1. School of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Anhui Provincial Laboratory for Local Livestock and Poultry Genetic Resource Conservation and Breeding, Hefei 230036)

Abstract: The differential EST of small intestine tissue was investigated in Chinese native pig breeds and DLY (Duroc × Large white × Yorkshire) using DDRT-PCR. Total mRNA in small intestine tissue were extracted and reversely transcribed into cDNA. 18 primer pairs combined by three anchor primers and six random primers were employed for differential display of reverse transcriptional polymerase chain reaction (DDRT-PCR). The PCR products were sequenced and then the differential EST and its SNPs were analyzed. The results showed that more than 180 EST sequences were obtained, including 6 inter-individual differential ESTs of the local pig breed, 12 inter-individual differential ESTs of the DLY pigs. Eight differential ESTs between the local breed and DLY pig were detected in which 3 typical differential ESTs, G24-300, G01-360 and A12-340, were selected for further research. The expression level of G24-300 in the DLY was higher than that in local pigs, while the expression levels of G01-360 and A12-340 EST didn't differ between two pig-types. G01-360 had rich SNPs, and showed the difference between native pig breed and DLY.

Key words: pig; small intestine tissue; EST; SNP; lipogenesis ability

不同品种猪生产性能的高低, 其本质上是由基因在不同时间和空间上的选择性表达所引起的。猪脂肪沉积能力之差异具有品种特异性^[1], 与品种的培育过程及自然生态条件密切相关^[2-3], 这种特异性时常被人们用来作为培育不同类型猪品种的依据。

然而, 了解和挖掘控制脂肪沉积特性候选基因及其遗传机制则是有效利用不同类型猪品种重要前提。

近年来, 一些影响猪脂肪沉积的重要候选基因相继被发现, 其中包括 *OB* 基因^[4]、*THRSP* 基因^[5]、脂肪酸结合蛋白基因 (*FABP*)^[6]、解偶联蛋白 3 基

收稿日期: 2013-01-04

基金项目: 国家自然科学基金 (31172180) 和安徽省科技攻关项目 (12010302052) 共同资助。

作者简介: 朱银剑, 男, 硕士研究生。

* 通信作者: 陈宏权, 男, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: chqchq@ahau.edu.cn

因 (*UCP3*)^[7]、*PRKAG3* 基因^[8]等, 这些基因的表达水平及组织特异性对猪脂肪生成能力产生重要影响。研究发现, 对营养物质消化吸收起关键作用的小肠组织是众多基因争相表达的场所, 小肠组织对营养物质的消化能力除与日粮性质有关外, 还存在品种差异。为此, 作者通过 mRNA 差异显示技术 (Differential display of mRNA by PCR, DDRT-PCR)^[9-10]研究地方猪和外来猪小肠组织的基因表达差异, 以期筛选出相应的差显基因, 为充分认识不同猪种产脂肪能力的遗传机制提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试验猪、cDNA 和 DNA 制备 试验采集 3 头定远猪和 3 头瘦肉型商品杂交猪杜长大 (大白×长白×杜洛克) 的小肠组织, 采用 TRIZOL 法提取

mRNA, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳以及核酸仪 OD 值鉴定合格后, 立即用 QuantScript RT Kit 反转录成 cDNA 第一链, -20℃ 保存备用。

另采集定远猪 (49 头) 和杜长大猪 (77 头) 的耳组织, 采用酚-氯仿提取法提取 DNA, -20℃ 保存备用。

1.1.2 主要试剂 TRIzol Reagent (Life Technologies 公司)、QuantScript RT Kit (天根生化科技有限公司)、DNA Taq 酶 (北京全式金生物技术有限公司)、Marker (北京全式金生物技术有限公司)、p-EASY-T₁ 载体 (北京全式金生物技术有限公司)、Trans1 感受态细胞 (北京全式金生物技术有限公司)、差异显示分析基因引物 (生工生物工程有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 引物 选取 3 个锚定引物和扩增产物多态性丰富的随机引物 6 个 (见表 1) 进行差异条带筛选。

表 1 DDRT-PCR 扩增引物序列

Table 1 The sequences of DDRT-PCR primer pairs

引物种类 Type of primer	编号 Code	序列 Sequence	简称 Abbr.
锚定引物 Anchor primer	B0327	5'd (AAGCTTTTTTTTTTG) 3'	G
	B0328	5'd (AAGCTTTTTTTTTTAA) 3'	A
	B0329	5'd (AAGCTTTTTTTTTTTC) 3'	C
随机引物 Random primer	B0301	5'd (TACAACGAGG) 3'	01
	B0302	5'd (TGGATTGGTC) 3'	02
	B0304	5'd (TTTTGGCTCC) 3'	04
	B0309	5'd (TCGGTCATAG) 3'	09
	B0312	5'd (CTGCTTGATG) 3'	12
	B0324	5'd (GATCATGGTC) 3'	24

1.2.2 PCR 扩增 25μl PCR 扩增体系: 10×PCR Buffer 2.5 μL、dNTP Mix 2.0 μL (2.5 mmol·L⁻¹)、DNA Taq 酶 0.5 μL (5 U·μL⁻¹)、随机引物 1.0 μL (10 μmol·L⁻¹)、锚定引物 1.0 μL (10 μmol·L⁻¹)、cDNA 0.5 μL、ddH₂O 17.5 μL。PCR 扩增程序: (94℃ 1 min, 40℃ 4 min, 72℃ 1 min) ×1 个循环; (94℃ 30 s, 40℃ 2 min, 72℃ 30 s) ×33 个循环; 72℃ 5 min, 4℃ 保存。

1.2.3 聚丙烯酰胺凝胶 (29:1) 电泳 35 mL 体积配方: PAGE 溶液 14 mL, 甘油 1.75 mL, 10×TBE 3.5 mL, TEMED 20 μL, APS 20 μL, ddH₂O 15.75 mL。上样: 分别将 2 μL 6×Loading Buffer 与 8 μL PCR 产物混合, 用微量进样器上样, 电压 90 V, 过夜。之后用银染法显示条带。

1.2.4 目的片段的回收及扩增 回收: 观察比较两种类型之间条带片段的大小, 确定差异条带, 将差

异带切割后放入 PCR 小管, 加入 50 μL ddH₂O, 沸水煮沸 10 min。扩增: 吸取上述液体 2 μL 为模板, PCR 扩增体系及程序同上, 经纯化后得目的片段。

1.2.5 克隆测序 将目的片段连接、转化后, 过夜培养, 挑取阳性菌落, 用通用引物 M13R、M13F 扩增目的片段, 送测序。

1.2.6 多态性分析 根据测序结果, 重新设计 3 对引物:

G01-360: 上游引物 GCTGTGCAGGGGCTTTCA

下游引物 TTTGGC A CTGCACATGTCACTTAT

G24-300: 上游引物 GGCTCTTCGTACCATCCAG

下游引物 ACCAAG CAAACAGTTCTCTAAGTA

A12-340: 上游引物 GTGTCACTTATGTGGGCGATTA

下游引物 AGGG GCTTTCAGTTTTGATGTA

分别以 DNA 和 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 确认差异条带, 然后开展差异基因在群体中的 SNPs 分

析。

1.2.7 分析方法 对测定的序列在 GenBank 上比对, 分析其同源性; 利用 Chen 等的方法 (2012)^[3] 进行基因频率计算和分析。

2 结果与分析

2.1 差异表达基因的筛选

利用表 1 中的 3 种锚定引物和 6 种随机引物组成 18 个引物对, 共得到 180 多条 EST 序列, 其中

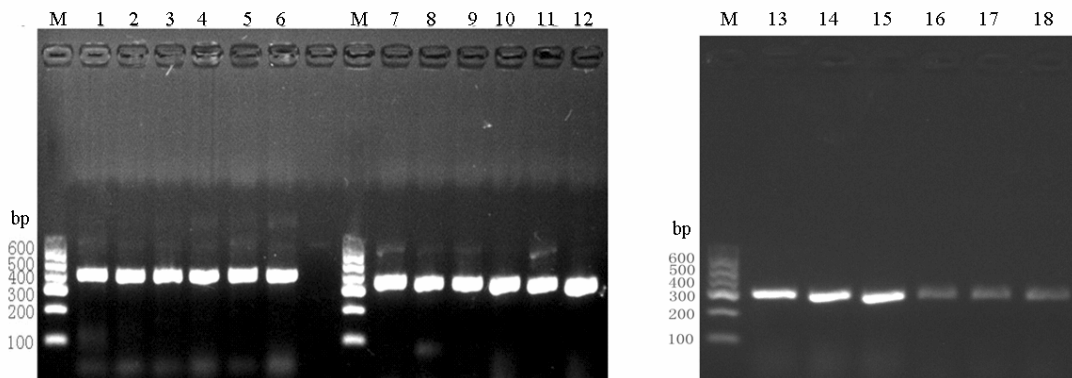
地方猪种个体间差异 EST 为 6 条, 杜长大个体间差异 EST 为 12 条, 地方猪与杜长大间差异 EST 为 8 条 (表 2)。

2.1.1 差异 EST 分析和确认 从不同类型猪间挑选 3 个条带特征明显的差异 EST, 即 G24-300、G01-360 和 A12-340, 通过 DNA 和 cDNA 为模板对比检测确认, EST G24-300 在猪类型之间的表达量存在明显的差异, 在杜长大猪群中高表达; 而 G01-360 和 A12-340 在种群内个体间和种群间的表达量一致。

表 2 不同类型猪的差异 EST

Table 2 The differential ESTs between native and introduced pig breeds

引物 Primer	地方猪 条带总数 Total bands of native pig breed	地方猪个体间 差异条带数 Differential bands among native individuals	杜长大猪 条带总数 Total bands of DLY	杜长大猪个体间 差异条带数 Differential bands among DLY individuals	种群间 差异条带数 Differential bands between pig-types
G01	10	0	11	1	1
G02	5	0	5	0	0
G04	9	0	9	0	0
G09	15	1	15	2	0
G12	27	2	29	2	2
G24	6	0	7	1	1
A01	17	0	17	0	0
A02	20	1	20	2	2
A04	0	0	0	0	0
A09	11	1	11	2	0
A12	21	0	22	0	1
A24	22	0	22	1	0
C01	0	0	0	0	0
C02	0	0	0	0	0
C04	0	0	0	0	0
C09	8	0	8	0	0
C12	0	0	0	0	0
C24	12	1	13	1	1



泳道 1、2、3、7、8、9、13、14 和 15 分别为杜长大猪 cDNA 扩增的产物, 泳道 4、5、6、10、11、12、16、17 和 18 分别为地方猪 cDNA 扩增的产物

Lane 1, 2, 3, 7, 8, 9, 13, 14 and 15 represent the amplification products of cDNA from DLY individuals, and lane 4, 5, 6, 10, 11, 12, 16, 17 and 18 represent the amplification products of cDNA from native individuals

图 1 EST G24-300 的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳鉴定

Figure 1 Electrophoresis appraisal with 1.5% agarose for the PCR products of G24-300 primer

ctagtgcagagagcagatgaaaggggtatcaacccaatgcagaaatcactttagcacatctgtaaactgcaggtcaaacattcatattactaacatacctcctagctatctctatctcatgtataagcgaagctcaatgcagaagfaaagactttcggctctcgtaccatccagccctcaagaacagctcaagcgaggtggtacggaatcacaaatcaacggtacatcaatataagaataaafataatgaatttattcattttgtcctggagaatgtattctagcacagaacatgaacagtagggagggaacacagacatgtgtcgaagagatagcctattaatcacaaacttagcactcaggttaatagctattagctcctctcagtagaaactatcggcgaattctaatattacttagagaactgtttgcttggtttttttaactcaaaagcaaaacagaataatggtgtttcctgttacatattgttgatgataaaatgaaaaaggtgtaca caagtcattaagcaacaacatagaagcctgtattgtagtaaaaaagatacattttgtgtatcattctccactctaattggcattgttttagtagagactgagaaatgataaacgatagctattcctttgaa catctggacatafacacaacgaccttgcattatggctgagtttagacaactacctaattcatttctcttatt

图 2 EST G24-300 的 DNA 序列

Figure 2 Sequence of EST G24-300

-105 actgtgctct cagcatacat tgtttccag gccagggatc aaaccgagc cagagaagtg
 -45 acaatgaca atctttaact gtaaggaac ccgaaactc caggatttg cactgcacat
 16 gtcacttatg tgggCgatta atccgcaaaa atagaggcag gaatgtataa tggggaaaag
 76 acagtatctt caaaacataa aaaccttgg gataactgga tAgctacatg caaaacaatc
 136 aaattggact actCgctcaa aCctAtaca aaaataaatt caaaatggat taagactta
 196 catgttaaga cctgaaacca tgaagtttt ggaagaacc acaggetgta tgetttttg
 256 acattagtct tagtaattTt tttttGata tgtctcttCa ggcaaggaa caaaagcaaa
 316 aataacaaa aggaactaca tcaaaactga aagccctgc acagcaaagg aaactataca
 376 gaaaatgcaa aggetateta cagaatagta gaagatactt gcaaataata tatatgataa
 436 ggcttaatat ccaaatatac aataacaatt caaaatcaag aaaccaacte tatttataaa
 496 tgggcagagg atctgaatag acatttttcc aaaaaaaaaa gctt

图 3 G01-360 序列

Figure 3 Sequence of G01-360

2.1.2 表达片段的序列分析 G24-300 序列见图 2。G24-300 片段长 782 bp。在 GenBank 上进行 blast, 结果显示, 其位于猪的 5 号染色体上, 介于血清应答因子结合蛋白 1 (serum response factor binding protein 1, SRFBP1) 基因和线粒体铁蛋白 (ferritin mitochondrial, FTMT) 基因之间, 在 SRFBP1 下游还存在赖氨酰氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 基因, 形成 FTMT-G24- SRFBP1- LOX 连锁群。

G01-360 序列见图 3。其片段长 702 bp, 在 GenBank 上比对显示: G01 位于猪的 13 号染色体上, 该片段与嗅觉受体 1、3 基因 (olfactory receptor 5K1、3-like) 连锁。

2.2 多态性分析

多态性分析显示, 在不同类型猪群中未发现 EST G24-300 存在 SNP 位点。检测到的 G01-360 的 SNPs 位点见图 3 和图 4 所示, 突变分别为位于 117 bp、149 bp、161 bp 和 282 bp 的 A117G, C149T, A161T 和 G282T。

通过对 126 头猪 G01-360 片段的 SNPs 分析, 发现 117 bp 位点 和 161 bp 位点为联合突变位点,

当 117 bp 位点出现纯合子 117AA 时, 161 bp 位点是纯合子 161AA, 当 117 bp 出现杂合子 117AG 时, 161 bp 出现杂合子 161AT。

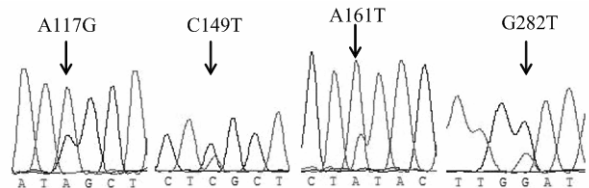


图 4 G01-360 突变位点序列

Figure 4 The mutation sites of G01-360

不同类型猪群 8 个位点的基因型和等位基因频率见表 3。在地方猪种中, 117AG, 149CT, 161AT 和 282GT 的杂合基因型频率分别为 0.8367、0.9184、0.8367 和 0.8367, 高于在杜长大猪群中的频率。两种类型猪在 117 bp、161 bp 和 282 bp 均未发现 117GG、161TT 和 282TT 纯合子。149TT 和 149CC 的基因型频率在地方猪种中比较低, 分别为 0.0612 和 0.0204; 在杜长大猪群中出现频率较高,

分别为 0.2567 和 0.2078。但 149T 和 149C 基因频率在地方猪(0.5204, 0.4796)和杜长大猪群(0.5259, 0.4741)非常相近。所有样本的 8 个位点都符合 Hardy-weinberg 平衡 ($P>0.05$)。

表 3 8 个突变位点的基因频率及其在不同类型猪群中的分布
Table 3 The gene frequencies of eight polymorphic sites and their distribution in different pig-types

项目 Item		地方猪群 Native breed	杜长大猪群 DLY breed
样本数 Sample size		49	77
基因型 Gene type	117AA	0.163 3	0.381 6
	117AG	0.836 7	0.618 4
等位基因 Allele gene	117A	0.581 6	0.690 8
	117G	0.418 4	0.309 2
基因型 Gene type	149TT	0.061 2	0.259 7
	149TC	0.918 4	0.532 5
	149CC	0.020 4	0.207 8
等位基因 Allele gene	149T	0.520 4	0.525 9
	149C	0.479 6	0.474 1
基因型 Gene type	161AA	0.163 3	0.381 6
	161AT	0.836 7	0.618 4
等位基因 Allele gene	161A	0.581 6	0.690 8
	161T	0.418 4	0.309 2
基因型 Gene type	282GG	0.163 3	0.394 7
	282GT	0.836 7	0.605 3
等位基因 Allele gene	282G	0.581 6	0.697 4
	282T	0.418 4	0.302 6
基因型 Gene type	30TT	0.219 5	0.355 3
	30TC	0.292 7	0.210 5
	30CC	0.487 8	0.434 2
等位基因 Allele gene	30C	0.634 2	0.539 4
	30T	0.365 8	0.460 6
	157CC	0.612 2	0.434 2
基因型 Gene type	157AC	0.387 8	0.565 8
	157C	0.806 1	0.717 1
等位基因 Allele gene	157A	0.193 9	0.288 9
	273GG	0.040 8	0.233 8
基因型 Gene type	273TG	0.918 4	0.467 5
	273TT	0.040 8	0.298 7
	273T	0.500 0	0.467 6
等位基因 Allele gene	273G	0.500 0	0.532 4
	294TT	0.020 4	0.207 8
基因型 Gene type	294TC	0.571 4	0.493 5
	294CC	0.408 2	0.298 7
	294T	0.306 1	0.454 6
等位基因 Allele gene	294C	0.693 9	0.545 4

3 讨论

本研究所发现的 G24-300 是在杜长大猪群中表达的 EST, 位于猪的 5 号染色体, 暂没发现有注释, 其与 *SRFBP1* 基因、*FTMT* 基因和 *LOX* 基因, 形成

FTMT-G24-SRFBP1-LOX 连锁群。Levi 等人^[11]首次报道了人类的一个无内含子的基因编码的新铁蛋白基因, 其成熟的表达产物定位在线粒体上, 因此命名为线粒体铁蛋白 (ferritin mitochondrial, *FTMT*), 主要在代谢旺盛、耗氧量多的胰岛、心脏、

平滑肌等细胞中表达, 且不在肝脏中表达, 这一结果表明 FTMT 可能与线粒体的功能有一定的相关性^[12]。有报道称, SRFBP1 蛋白作为血清应答因子的辅因子主要存在于心脏, 对 SRF 目标基因起调节作用^[13]。最新研究结果显示, SRFBP1 与 NDUFB1 相互作用, NDUFB1 是一个线粒体复合物 I 的亚基, 主要用于调节氧化还原状态下的 NAD/NADH 水平, SRFBP1 的过量表达将使 NAD/NADH 比下降, 同时导致 SRF 乙酰化的量减少^[14]。这些结果表明, SRFBP1 对 NAD 和 NADH 的调节起了至关重要的作用, 其与复合物 I 的亚基相互作用后直接影响细胞的基本过程, 包括细胞代谢、基因表达等。赖氨酰氧化酶(LOX)是一种铜依赖性氨基酸氧化酶, 主要由活性的平滑肌细胞和成纤维细胞产生^[15], 具有诱导细胞分化、迁移、转化等功能, 还可以稳定细胞外基质(ECM)免受基质金属蛋白酶降解。目前研究结果显示, LOX 表达活性的抑制可直接导致 ECM 结构的改变, 引起内皮功能障碍^[16]。如果参照连锁群基因功能进行推理的话, G24-300 可能与细胞代谢过程中的氧化还原反应有关, 而且在杜长大猪的小肠组织中高表达, 在地方猪种中弱表达。Paolo 等人认为在不同物种中 SRFBP1 受到 FTMT 的调节^[17]。本研究发现的 G24-300 位于 FTMT 和 SRFBP1 之间, 紧密连锁, 也将受到 FTMT 的调节, 具有相应的功能。

在本研究中 G01-360, 位于猪的 13 号染色体上。该片段在染色体上未被注释, 与嗅觉受体 1、3 基因 (olfactory receptor 5K1、3-like) 连锁, 并且存在多个 SNP 位点, 推测其功能与猪的嗅觉有关。值得一提的是, 该片段的一些 SNP 位点在不同类型猪中, 如瘦肉型和脂肪型猪中的等位基因分布存在差异, 这可能暗示瘦肉型和脂肪型猪对饲料及气味的嗅觉感受不同, 中国地方猪可能对饲料及气味更讲究。

参考文献:

- [1] 周倩倩, 陈宏权, 魏汉卿, 等. 猪甲状腺激素应答 Spot14 基因编码区多态性与猪产脂能力的关联性[J]. 生物化学与生物物理进展, 2011, 38(1): 84-90.
- [2] 陈宏权, 蒋模有. 不同生态环境中中国猪种的遗传多样性研究[J]. 应用生态学报, 1999, 10(5): 603-605.
- [3] Chen H Q, Qin J, Zhu Y J, et al. The polymorphisms of goat THRSP gene associated with ecological factors in Chinese indigenous goat breeds with different lipogenesis ability[J]. Asian J Anim Vet Adv, 2012, 7(9): 802-811.
- [4] 戴茹娟, 李宁, 吴常信. 猪 OB 基因 cDNA 的克隆与分析[J]. 遗传学报, 2000, 27(4): 290-297.
- [5] Seelig S, Liaw C, Towle H C, et al. Thyroid hormone attenuates and augments hepatic gene expression at a pre-translational level[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1981, 78(8): 4733-4737.
- [6] Gerbens F, Jansen A, Van Erp A J M, et al. The adipocyte fatty acid binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs[J]. Mamm Genome, 1998, 9(12): 1022-1026.
- [7] Previato L, Parrott C L, Santamarina-Fojo S, et al. Transcriptional regulation of the human lipoprotein lipase gene in 3T3-L1 adipocytes[J]. J Biol Chem, 1991, 266(28): 18958-18963.
- [8] Cheung P C, Salt I P, Davies S P, et al. Characterization of AMP-activated protein kinase gamma-subunit isoforms and their role in AMP binding[J]. J Biochem, 2000, 346(3): 659-669.
- [9] Liang P, Pardee A B. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction[J]. Science, 1992, 257(14): 967-971.
- [10] Strauss M, Bauer D, Muller H. Identification of differentially expressed mRNA species by an improved display technique DDRT-PCR[J]. Nucleic Acids Research, 1993, 21(18): 4272-42801.
- [11] Levi S, Corsi B, Bosio M, et al. A human mitochondrial ferritin encoded by an intronless gene[J]. J Biol Chem, 2001, 276(27): 24437-24440.
- [12] Santambrogio P, Biasiotto G, Sanvito F, et al. Mitochondrial ferritin expression in adult mouse tissues[J]. J Histochem Cytochem, 2007, 55(11): 1129-1137.
- [13] Zhang X, Azhar G, Zhong Y, et al. Identification of a novel serum response factor cofactor in cardiac gene regulation[J]. J Biol Chem 2004, 279(53): 55626-55632
- [14] Zhang Q, Piston D W, Goodman R H. Regulation of corepressor function by nuclear NADH[J]. Science 2002, 295(5561): 1895-1897.
- [15] Raposo B, Rodriguez C, Martinez-Gonzalez J, et al. High levels of homocysteine inhibit lysyl oxidase(LOX) and down-regulates LOX expression in vascular endothelial cells[J]. Atherosclerosis, 2004, 177(1):1-8.
- [16] Rodriguez C, Alcludia J F, Martinez-Gonzalez J, et al. Lysyl oxidase (LOX) down-regulation by TNFalpha: a new mechanism underling TNF alpha-induced endothelial dysfunction[J]. Atherosclerosis, 2008, 196(2): 558-564.
- [17] Santambrogio P, Biasiotto G, Sanvito F, et al. Mitochondrial ferritin expression in adult mouse tissues[J]. J Histochem Cytochem, 2007, 55(11): 1129-1137.