

毛昕妍, 郭振玉, 邓子优, 等. 产蛋间隔期母鸽卵黄前体及其受体基因的表达分析 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (10): 8-13.

MAO X Y, GUO Z Y, DENG Z Y, et al. Expression analysis of yolk precursors and receptor genes in female pigeons during egg laying interval [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (10): 8-13.

产蛋间隔期母鸽卵黄前体及其受体基因的表达分析

毛昕妍, 郭振玉, 邓子优, 吴薛蓓, 路淑敏, 陈静, 苗冬枝, 王莹*

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 旨在探究产蛋间隔期母鸽卵黄沉积相关基因的表达规律。选取 12 月龄白羽王鸽 48 对, 分别在产蛋间隔 (LI) 第 1 天 (LI1)、第 3 天 (LI3)、第 5 天 (LI5) 和第 7 天 (LI7) 4 个时期采集母鸽肝脏、卵巢、F1 卵泡颗粒层和 F1 卵泡膜层样本, 利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测载脂蛋白 B (APOB)、载脂蛋白极低密度脂蛋白 II (APO-VLDL II)、卵黄蛋白原 (VTG) 2 和极低密度脂蛋白受体 (VLDLR) 4 种基因的表达规律。结果: 肝脏中 APOB 的表达水平呈下降趋势, 在 LI7 期达到最低, 与 LI1 和 LI3 期差异显著 ($P < 0.05$); APO-VLDL II 在 LI1 期表达水平最高, 呈先下降后上升再下降趋势, 在 LI3 和 LI7 期达到最低, 与 LI1 和 LI5 期差异极显著 ($P < 0.01$); VTG2 的表达水平呈上升趋势, 在 LI7 期达到最高, 与 LI1、LI3 和 LI5 期差异极显著 ($P < 0.01$)。卵巢中 VLDLR 的表达水平呈先下降后上升再下降趋势, 在 LI3 时达到最高, 与 LI1、LI5 和 LI7 期差异极显著 ($P < 0.01$); 颗粒细胞层中 VLDLR 表达水平呈先下降后上升趋势, 在 LI3 期达到最低, 与 LI5 和 LI7 期差异极显著 ($P < 0.01$); 膜细胞层中 VLDLR 的表达水平呈先上升后下降趋势, 在 LI5 期达到最高, 与 LI3 期差异显著 ($P < 0.05$)。综上, 产蛋间隔前期 APOB 和 APO-VLDL II 表达水平较高, 启动载脂蛋白合成和运输, 后期卵黄沉积减缓, APOB 和 APO-VLDL II 表达水平下降, 同时雌激素诱导 VTG2 表达水平上升; 产蛋间隔前期卵巢 VLDLR 表达水平较高, 介导吸收卵黄前体物质, 后期颗粒细胞层和膜细胞层 VLDLR 表达水平较高, 介导卵黄前体进入卵泡最终形成卵黄。

关键词: 鸽; 卵黄沉积; APOB; APO-VLDL II; VTG2; VLDLR

中图分类号: S836 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)10-0008-06

Expression analysis of yolk precursors and receptor genes in female pigeons during egg laying interval

MAO Xinyan, GUO Zhenyu, DENG Ziyou, WU Xuebei, LU Shumin,

CHEN Jing, MIAO Dongzhi, WANG Ying*

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The aim of this study was to analyze the expression of genes related to yolk deposition in pigeons during the interval of laying eggs. Forty-eight pairs of 12-month-old royal pigeons were selected. On laying day 1 (LI1), day 3 (LI3), day 5 (LI5) and day 7 (LI7) of the laying interval (LI), The samples of liver, ovary, F1 follicular granulosa layer and F1 follicular membrane layer were collected from the pigeons. Then, the expression patterns of apolipoprotein B (APOB), apolipoprotein very low density lipoprotein II (APO-VLDL II), vitellinogen (VTG2) and very low density lipoprotein receptor (VLDLR) were detected by RT-qPCR. The results showed as follows: The expression level of APOB in the liver showed a decreasing trend, and reached the lowest level in the LI7 stage; the difference being significant ($P < 0.05$). The expression level of APO-VLDL II in the liver was the highest in the LI1 stage, decreasing first, increasing then and decreasing again, and reaching the lowest in the LI3 and LI7 stages, with a very significant difference ($P < 0.01$). The expression level of VTG2 in the liver showed an increasing trend, reaching the highest level in the LI7 stage, a very significant difference ($P < 0.01$). The expression level of VLDLR in the ovarian increased first and then decreased, reaching the highest level in the LI3 stage, with a very significant difference ($P < 0.01$). The expression level of VLDLR in the granular cell layer decreased first and then increased, reaching the lowest level in the LI3 stage, with a very significant difference ($P < 0.01$). The expression level of VLDLR in the membrane layer decreased first, increased then and decreased again, reaching the highest level in the LI5 stage, with a significant difference ($P < 0.05$). To sum up, the

收稿日期: 2023-12-18; 修回日期: 2024-07-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32372875); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (PAPD)

第一作者: 毛昕妍, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 王莹, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为家禽繁殖, E-mail: dkwangying@yzu.edu.cn.

expression levels of APOB and APO-VLDL II were high in the early stage of the laying interval, which initiated apolipoprotein synthesis and transport, and the yolk deposition was slowed down in the later stage. The expression levels of APOB and APO-VLDL II decreased, while estrogen induced the increase of VTG2 expression. In the early stage of the laying interval, the expression level of VLDLR in the ovary was higher, which mediated the absorption of yolk precursors. In the late stage, the expression level of VLDLR in the granular cell layer and the membrane cell layer was higher, which mediated the entry of yolk precursors into the follicle and finally the formation of yolk.

Keywords: female pigeons; vitelline deposition; APOB; APO-VLDL II; VTG2; VLDLR

家禽卵泡根据直径、功能及形态不同可分为等级前卵泡和等级卵泡。产蛋间隔期母鸽主要有2个等级卵泡和数个等级前卵泡(由大到小分别为F1、F2和SF卵泡)^[1]。等级卵泡主要由颗粒细胞层、膜细胞层和卵母细胞层组成,主要成分是卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG),极低密度脂蛋白y(VLDLy)和活性蛋白(主要包括 α 、 β 、 γ 蛋白)^[2]。其中VLDLy是由肝脏合成的复合物,由载脂蛋白B(apolipoprotein B, APOB),载脂蛋白极低密度脂蛋白II(apolipoprotein very low density lipoprotein II, APO-VLDL II)以及一些亲和力较弱的小分子载脂蛋白组成^[3]。APOB和APO-VLDL II主要由肝脏合成^[4-5],负责组装和转运卵泡中大部分脂质^[6-7]。家禽卵泡的发育对产蛋性能有较大的影响,而卵泡的生长发育在很大程度上是通过卵黄沉积完成的^[8],因此,研究母鸽卵黄合成相关基因的表达规律,对于进一步研究其卵黄沉积机制与卵泡发育具有十分重要的意义。

APOB、APO-VLDL II、VTG和极低密度脂蛋白受体(very low density lipoprotein receptor, VLDLR)是家禽卵黄沉积相关的重要基因。APOB和APO-VLDL II是VLDLy组装和转运过程中必需的载脂蛋白,APO-VLDL II在VLDLy表面的附着可以有效限制VLDLy的大小并保证完整性^[9]。VTG是卵黄的重要组成部分,其沉积影响家禽卵泡发育^[10]。VTG有3种亚型,分别为VTG1、VTG2和VTG3,其中VTG2对于卵黄前体物质的生成起主要作用^[11]。家禽卵母细胞自身无法合成内源性卵黄,VTG和VLDLy等卵黄前体物需由肝脏合成^[12],并通过血液循环运输至卵母细胞,卵母细胞通过胞吞作用吸收、分解并逐渐沉积形成卵黄^[13]。VLDLR是介导卵黄前体物从细胞外进入卵泡内的专一性受体,主要作用是与脂蛋白相结合,介导VTG与VLDLy吸收^[14]。VLDLy以完整脂蛋白颗粒的形式与卵母细胞膜上VLDLR结合,以胞吞形式进入卵母细胞并形成卵黄^[15]。

目前,家禽中卵黄沉积规律的研究主要集中于鸡、鸭等物种,在母鸽上鲜有报道。本研究以白羽王鸽作为试验对象,通过预试验发现母鸽产蛋间隔为8~10 d,形态观察结果表明,配对鸽通常有2个等级卵泡,F2卵泡从产蛋间隔第3天发育而来,并在第5

天被选择^[16],因此选择产蛋间隔(laying interval, LI)期不同节点(第1、3、5、7天),采集肝脏、卵巢、F1卵泡颗粒细胞层和膜细胞层组织,利用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测APOB、APO-VLDL II、VTG2和VLDLR基因相对表达水平变化,为进一步研究白羽王鸽卵黄沉积机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选取48对(12月龄)生产性能优良、产蛋规律、体重相近(550 g \pm 20 g)的白羽王鸽进行统一饲养,每笼公母配对,采用自然光照,自由采食与饮水。通过预试验发现母鸽的产蛋间隔为8~10 d,48 h后产第2枚蛋,产蛋间隔与产蛋性能无显著差异。分别在产蛋间隔第1天(LI1)、第3天(LI3)、第5天(LI5)和第7天(LI7)这4个时期采集母鸽的肝脏、卵巢(不包括卵泡)、F1卵泡膜细胞层和颗粒细胞层,每个时间节点12个重复,在液氮中速冻后,-80℃冻存备用。

1.2 主要试剂与仪器

TRIzol,购自Invitrogen公司;反转录试剂盒FastKing gDNA Dispelling RT SuperMix、荧光定量试剂盒SuperReal PreMix Plus,均购自天根生化(北京)科技有限公司;异丙醇、三氯甲烷、无水乙醇,均购自国药集团药业股份有限公司。

涡旋混合器,购自北方同正有限公司;水平电泳系统,购自Bio-Rad公司;微量RNA/DNA定量仪,购自Thermo公司;高速离心机,购自Eppendorf公司;凝胶成像系统,购自上海天能有限公司。

1.3 颗粒细胞层与膜细胞层采集

将母鸽卵巢取出,摘取F1卵泡放入培养皿中,PBS清洗5遍后,用灭菌镊子剥去卵泡外膜、结缔组织和血管外膜,再用灭菌剪刀将卵泡剪开1~2 cm的小口,翻转卵泡使卵黄流出,转移至新的培养皿并在预冷的PBS中不断摆动直至颗粒层脱落,剩余的组织即为卵泡膜细胞层。将颗粒细胞层和膜细胞层收集至15 mL离心管中,在液氮速冻后-80℃保存备用。

1.4 总RNA提取和cDNA合成

使用TRIzol法提取白羽王鸽各组织的总RNA后

进行反转录,按照反转录试剂盒 FastKing gDNA Dissolving RT SuperMix 说明书进行。体系为 20 μL : 5 \times FastKing-RT SuperMix 4 μL , 各组织总 RNA 2 μL , 无酶水 14 μL 。反应条件设置为: 42 $^{\circ}\text{C}$ 15 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min。

1.5 引物设计合成

通过 NCBI 网站找出已公布的 APOB、APO-

VLDL II、VTG2、VLDLR 基因序列,利用 Primer Premier 5.0 软件,根据预测序列找到合适的核苷酸片段作为 APOB、APO-VLDL II、VTG2、VLDLR 基因的 PCR 引物,以 GAPDH 作为内参设计扩增引物,具体序列见表 1。

表 1 目的基因的引物

基因	序列 (5'→3')	产物长度/bp	序列号
APOB	F: GGTACTCCCACGATGGCAA R: TCGCAGAAATGCCCTTCCTT	120	NW_004973598
APO-VLDL II	F: CAATGAAACGGCTAGACTCA R: AACACCGACTTTTCTTCCAA	108	NW_004973689
VTG2	F: TGAGGTGCGAATGATGGCTT R: AGATCAGCCACTGAACCTGC	387	NW_004973427
VLDLR	F: TGATTTTGTGTGCACCAGCG R: CTGGTTGACTGAGGACCAC	154	NW_004973424
GAPDH	F: CTCTACTCATGGCCACTTCCG R: ACAACGTATTGAGCACCAGC	187	NW_004973390

1.6 RT-qPCR 分析

按照荧光定量试剂盒 SuperReal PreMix Plus 说明书进行操作。体系为 20 μL : 各组织 cDNA 模板 2 μL , 上、下游引物各 0.6 μL , ROX 1 μL , SYBR 10 μL , 无酶水 5.8 μL 。qPCR 反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火/延伸 15 s, 40 个循环。样品重复数为 3。

1.7 数据统计与分析

用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法处理相对定量的结果,使用 SPSS 25.0 软件对产蛋间隔期内目标基因的表达进行分析。采用单因子方差分析 (One-way ANOVA, LSD) 法进行统计学分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。试验结果用“平均值 \pm 标准差”表示。

2 结果与分析

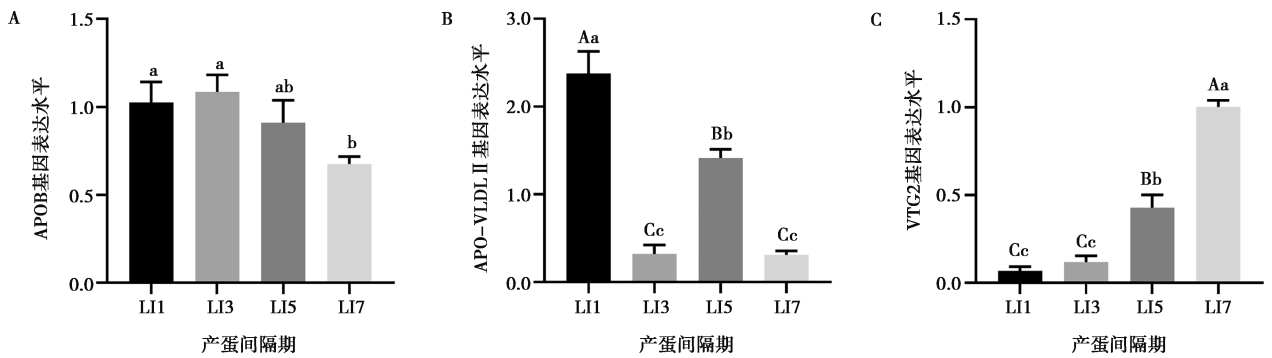
2.1 不同产蛋间隔期母鸽肝脏 APOB、APO-VLDL II、VTG2 基因的表达水平

由图 1 可知, APOB 在产蛋间隔期表达水平呈下降趋势,在 LI1 和 LI3 期表达水平较高,在 LI7 期表达水平达到最低且显著低于 LI1 和 LI3 期 ($P < 0.05$),但 LI1、LI3 和 LI5 期表达水平无显著差异 ($P > 0.05$)。APO-VLDL II 在产蛋间隔期表达水平呈

先下降后上升再下降趋势,在 LI1 期表达水平最高,LI1 期极显著高于其他时期 ($P < 0.01$),在 LI3 和 LI7 期表达水平较低 ($P > 0.05$),LI5 期极显著高于 LI3 和 LI7 期 ($P < 0.01$)。VTG2 在产蛋间隔期的表达水平呈上升趋势,且 LI7 期表达水平最高,LI7 期极显著高于 LI1、LI3 和 LI5 期 ($P < 0.01$),LI1 和 LI3 期无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.2 不同产蛋间隔期母鸽卵巢、F1 卵泡颗粒细胞层和膜细胞层 VLDLR 的表达水平

由图 2 可知,在卵巢中, VLDLR 的表达水平呈先上升后下降趋势,在 LI3 期表达水平最高且极显著高于 LI1、LI5 和 LI7 期 ($P < 0.01$),但 LI1、LI5 和 LI7 期无显著差异 ($P > 0.05$)。在颗粒细胞层中, VLDLR 的表达水平呈先下降后上升趋势,在 LI1 和 LI3 期表达水平较低 ($P > 0.05$),在 LI7 期表达水平较高且极显著高于 LI1、LI3 和 LI5 期 ($P < 0.01$),LI5 和 LI1 期无显著差异 ($P > 0.05$),但 LI5 期极显著高于 LI3 期 ($P < 0.01$)。在膜细胞层中, VLDLR 的表达水平呈先下降后上升再下降趋势,在 LI5 期表达水平最高且显著高于 LI3 期 ($P < 0.05$),LI1、LI3 和 LI7 期无显著差异 ($P > 0.05$),LI1、LI5 和 LI7 期无显著差异 ($P > 0.05$)。



注: 小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$), 不同表示差异显著 ($P<0.05$); 不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)。下同。

图1 不同产蛋间隔期肝脏中 APOB (A)、APO-VLDL II (B) 和 VTG2 (C) 基因的表达水平

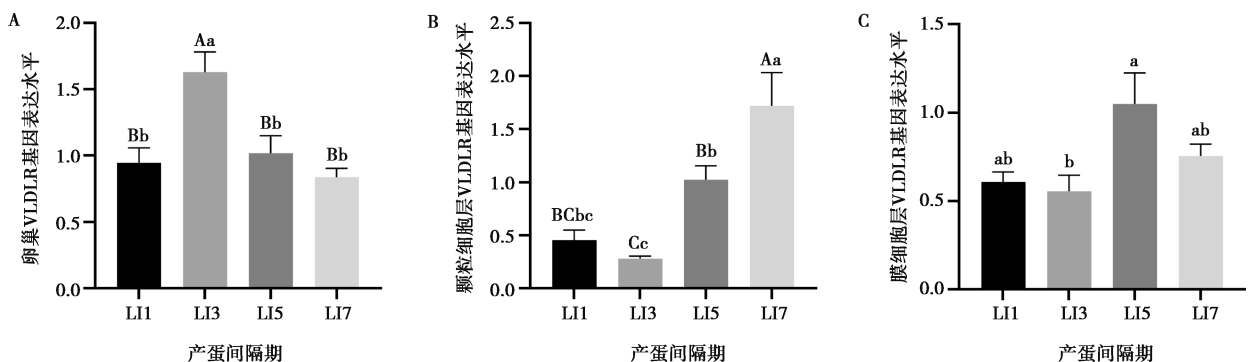


图2 不同产蛋间隔期卵巢 (A)、颗粒细胞层 (B) 和膜细胞层 (C) VLDLR 基因表达水平 ($n=6$)

3 讨论

APOB 是 VLDL_y 与 VLDLR 结合的关键物质, 可协助脂蛋白通过卵母细胞的基底膜进入卵母细胞并进行沉积^[17]。Liu 等^[18]研究表明, 在鸡产蛋期间, 90 日龄和 580 日龄鸡肝脏中 APOB mRNA 的表达水平显著低于 150 和 280 日龄的母鸡, 呈先上升后下降趋势; 相德才等^[19]的研究具有相似的表达趋势。本研究表明, APOB 在产蛋间隔期的表达水平呈先上升后下降趋势, 与上述研究结果相似, 说明在产蛋间隔前期, 肝脏中卵黄前体物质大量合成, APOB 对于卵黄前体物合成与转运具有较大作用, 产蛋间隔后期肝脏合成脂质作用减缓, APOB 表达水平下降, 符合母鸽卵泡发育特点。卵黄蛋白原受体可介导 APO-VLDL II 与胆固醇的结合物进入卵母细胞^[20]。家禽肝脏中 APO-VLDL II 可与 VLDL 颗粒结合, 并携带胆固醇穿过基底膜层, 防止 VLDL_y 在转运过程中被降解^[21]。有研究表明, APO-VLDL II 在蛋鸡产蛋前期表达水平最高, 在产蛋高峰表达水平下降, 产蛋后期表达水平升高, 但低于开产前期^[22]。本研究通过对 APO-VLDL II 表达规律分析发现, APO-VLDL II 的

表达水平呈先下降后上升趋势, 这一结果与日本鹌鹑产蛋期 APO-VLDL II 的表达水平趋势相一致^[23], 此结果说明, 在产蛋间隔前期, APO-VLDL II 对于卵黄前体物的合成与转运具有较大作用。产蛋间隔后期卵母细胞胞吞 VLDL_y 形成卵黄, APO-VLDL II 表达水平上升, 与母鸽卵泡发育特点相符。Nimpf 等^[24]研究表明, 蛋鸡 APOB 在转运过程中逐渐被鸡特有的组织蛋白酶-D 蛋白降解; 陈兴勇等^[22]研究发现, 开产前 APOB 和 APO-VLDL II 均高表达, 进入产蛋高峰期后 APOB 表达水平下降, APO-VLDL II 表达水平上升, 二者呈相反表达趋势, 本试验结果与上述研究结果一致; 同时 LI7 期 APOB 和 APO-VLDL II 表达水平均降低, 推测可能是由于此阶段接近产蛋间隔后期, 卵泡逐渐发育成熟, 卵黄沉积作用减缓。VTG 是卵黄前体的主要成分, 其含量的高低直接影响家禽的卵泡发育^[25]。鸡 VTG2 合成受到雌激素影响, 雌激素水平升高诱导肝脏合成 VTG2^[26]。Ren 等^[27]研究表明, 雌激素显著提高了 VTG2 基因的表达, 与 Harrington 等^[28]研究结果一致。郭振玉^[1]研究表明, 产蛋间隔期雌激素表达水平不断上升, 由此可推测, 产蛋间隔期 VTG2 表达水平随着雌激素升高, 与本试

验结果相符。

VLDLR 是卵母细胞膜上与 VLDLy 以及 VTG 结合的受体, 不仅参与脂质的代谢, 而且在细胞迁移、神经发育等诸多方面发挥重要作用^[29]。Liu 等^[30]研究表明, 黑番鸭产蛋高峰期 VLDLR 的表达水平极显著高于产蛋前期和产蛋后期。本试验研究发现, 在卵巢内, VLDLR 的表达水平呈先上升后下降趋势。曹顶国^[31]研究表明, 在鸡卵巢组织中, 产蛋高峰期 VLDLR 的表达水平高于产蛋前期。由此可推测, 在卵巢组织中, 该基因可能在产蛋间隔前期对介导卵黄前体物质进入卵巢具有重要作用。胡深强^[32]研究发现, 在鹅不同发育阶段的颗粒层细胞和膜细胞层中, VLDLR 的表达水平随着卵泡的发育呈现先下降后上升的趋势; 陈秋月^[33]研究表明, 产蛋高峰期鸡 VLDLR mRNA 在等级前卵泡颗粒细胞和膜细胞都有表达, 但在颗粒细胞中的表达显著高于膜细胞; Bujo 等^[34]有相同的研究结果。在本试验中, 颗粒细胞层 VLDLR 的表达水平呈先下降后上升趋势; 在膜细胞层中, VLDLR 在产蛋间隔后期呈先上升后下降趋势, 且 VLDLR 在产蛋间隔后期颗粒细胞层中的表达水平高于膜细胞层, 与上述研究结果一致。在颗粒细胞层和膜细胞层中的表达规律说明, 在产蛋间隔后期, VLDLR 在颗粒层与膜层中发挥主要作用, 介导 VLDL 和 VTG 沉积入卵并最终形成卵黄, 对卵泡的生长发育起重要作用。

综上所述, APOB、APO-VLDL II、VTG2 和 VLDLR 参与卵黄的合成与转运, 4 种基因在产蛋间隔期及各组织的表达差异对卵黄沉积有重要影响。这些基因可能是调控卵黄沉积的重要候选基因, 其作用机制还有待进一步研究。

4 结论

本试验探究了产蛋间隔期母鸽肝脏 APOB、APO-VLDL II、VTG2 以及卵巢、F1 卵泡颗粒细胞层和膜细胞层中 VLDLR 基因的表达规律, 证实肝脏中 APOB、APO-VLDL II 与 VTG2 在产蛋间隔期的表达水平呈负相关趋势, 卵巢中 VLDLR 的表达水平与颗粒细胞层和膜细胞层中的表达水平呈负相关趋势。研究结果为阐明鸽卵黄沉积机理提供了一定参考。

参考文献:

[1] 郭振玉. 产蛋间隔期鸽卵泡发育、生殖激素浓度及相关基因表达的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2023.

[2] 张俊楠, 孙志华, 徐桂云. 家禽卵泡发育与调控机制研究进展 [J]. 中国家禽, 2021, 43 (5): 1-7.

[3] 张金伟, 张克英. 产蛋鸡极低密度脂蛋白 Y 的转运与沉积机理

[J]. 动物营养学报, 2005, 17 (4): 10-15.

[4] 蒋拾贝, 龚道清. 家禽载脂蛋白 B 的研究进展 [J]. 家禽科学, 2012, 214 (8): 47-49.

[5] LIN C T, PALMER W, WU J Y, et al. Estrogen induction of very low density apolipoprotein II synthesis, a major avian liver yolk protein, involves the recruitment of hepatocytes [J]. Endocrinology, 1986, 118 (2): 538-544.

[6] CHOI S H, GINSBERG H N. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance [J]. Trends Endocrinol Metab, 2011, 22 (9): 353-363.

[7] TIWARI S, SIDDIQI S A. Intracellular trafficking and secretion of VLDL [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32 (5): 1079-1086.

[8] 茹盟, 曾文惠, 彭剑玲, 等. 蛋鸡卵泡发育及其表观遗传调控机制研究进展 [J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54 (9): 3613-3622.

[9] 程金花, 赵文明, 陈清, 等. 鸡 Apo VLDL II 基因内含子多态性与肉质关联分析 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2008, 29 (1): 37-40.

[10] 李艺雷. 鸡蛋卵黄提取物 VTG2 对骨骼肌发育影响的研究 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2022.

[11] EVANS M I, SILVA R, BURCH J B. Isolation of chicken vitellogenin I and III cDNAs and the developmental regulation of five estrogen-responsive genes in the embryonic liver [J]. Genes Dev, 1988, 2: 116-124.

[12] JOHNSON A L. Reproduction in the female [M] //Six Edition. SCANES C G. Sturkie's avian physiology. American Academic Press, 2015: 635-665.

[13] RATNA W N, BHATT V D, CHAUDHARY K, et al. Estrogen-responsive genes encoding egg yolk proteins vitellogenin and apolipoprotein II in chicken are differentially regulated by selective estrogen receptor modulators [J]. Theriogenology, 2016, 85 (3): 376-383.

[14] 任宇, 马思雨, 郭爱伟, 等. 家禽极低密度脂蛋白受体基因的研究进展 [J]. 中国家禽, 2020, 42 (12): 81-86.

[15] LIN X, MA Y, QIAN T, et al. Basic fibroblast growth factor promotes prehierarchal follicle growth and yolk deposition in the chicken [J]. Theriogenology, 2019, 139: 90-97.

[16] WANG Y, GUO Z Y, ZHANG C, et al. Characterization of ovarian follicles, serum steroid hormone concentration, and steroidogenic gene expression profiles in the developing ovarian follicles in White King pigeons [J]. Poult Sci, 2023, 102 (7): 102673.

[17] AL-RASADI K, AL-WAILI K, AL-ZIDI W A, et al. Low-density lipoprotein receptor gene mutation analysis and structure-function correlation in an Omani arab family with familial hypercholesterolemia [J]. Angiology, 2014, 65: 911-918.

[18] LIU X, LIN X, MI Y, et al. Age-related changes of yolk precursor formation in the liver of laying hens [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2018, 19 (5): 390.

[19] 相德才, 赵智勇, 张斌, 等. 盐津乌骨鸡 ADFP、FATP1 和 ApoB 基因表达水平变化及其与脂肪性状的相关分析 [J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53 (9): 33-37.

[20] TAHIR M H H. RT-PCR analysis of LDL receptor, SNP screening of candidates Apo VLDL-II and LPL genes for abdominal fat and biochemical serum in chickens [D]. 扬州: 扬州大学, 2007.

[21] 李宁. 苜蓿素对蛋鸡胆固醇代谢及其相关基因表达的影响

- [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [22] 陈兴勇, 杜叶叶, 梁维炜, 等. 产蛋相关激素对脂质合成基因及卵黄受体基因的表达调控研究 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2019, 40 (1): 62-66.
- [23] YANG S. Lipolysis and lipogenesis related genes regulation in different laying stages of Japanese quail [D]. Columbus: The Ohio State University, 2012.
- [24] NIMPF J, SCHEIDER W J. Receptor mediated lipoprotein transport in laying hens [J]. *J Nutr*, 1991, 121 (9): 1471-1474.
- [25] 陈东军. 鸡蛋含量相关性研究胆固醇代谢候选基因 SNPs 筛查及其与蛋黄胆固醇 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010.
- [26] LI J, LEGHARI I H, HE B, et al. Estrogen stimulates expression of chicken hepatic vitellogenin II and very low-density apolipoprotein II through ER- α [J]. *Theriogenology*, 2014, 82 (3): 517-524.
- [27] REN J, TIAN W, JIANG K, et al. Global investigation of estrogen-responsive genes regulating lipid metabolism in the liver of laying hens [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22 (1): 1-14.
- [28] HARRINGTON W R, SHENG S, BARNETT D H, et al. Activities of estrogen receptor alpha- and beta-selective ligands at diverse estrogen responsive gene sites mediating transactivation or transrepression [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2003, 206: 13-22.
- [29] HUSSAIN M M. Structural, biochemical and signaling properties of the low-density lipoprotein receptor gene family [J]. *Front Biosci*, 2001, 6 (3): 417-428.
- [30] LIU G, ZENG M, LI X, et al. Expression and analysis of ESR1, IGF-1, FSH, VLDLR, LRP, LH, PRLR genes in Pekin duck and Black Muscovy duck [J]. *Gene*, 2021, 769: 145183.
- [31] 曹顶国. 鸡繁殖性状相关基因功能分析及卵巢转录组和 miRNAs 鉴定 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2013.
- [32] 胡深强. 鹅 VLDLR 基因亚型序列分析及其在卵泡发育中的表达研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [33] 陈秋月. 采用转录组、蛋白质组和磷酸化蛋白质组方法分析鸡卵泡选择的分子机制 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [34] BUJO H, HERMANN M, KADERLI M O, et al. Chicken oocyte growth is mediated by an eight ligand binding repeat member of the LDL receptor family [J]. *EMBO J*, 1994, 13 (21): 5165-5175.