



基于肝脏转录组测序对不同海拔喜马拉雅旱獭的低氧适应性研究

赵坤钰, 李 优, 南新营, 李耀东*

(青海大学基础医学院, 西宁, 810016)

稿件运行过程

收稿日期: 2023-09-13

修回日期: 2023-10-20



关键词: 喜马拉雅旱獭;
低氧适应性;
转录组学;
肝脏

Key words: Himalayan marmot (*Marmota himalayana*);
Hypoxia adaptation;
Transcriptomics;
Liver

中图分类号: Q953

文献标识码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-02-0305-09

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240209

摘要

为探究低、中、高3个不同海拔梯度下喜马拉雅旱獭(*Marmota himalayana*)基因表达是否存在差异,筛选该物种与高原低氧及强紫外辐射环境适应的相关候选基因,采用Illumina HiSeq 2500高通量测序平台对喜马拉雅旱獭肝脏组织进行无参转录组学分析,通过对质控后测序数据与参考基因组的比较分析,筛选差异表达基因后进行GO功能注释和KEGG富集分析。结果显示:乐都样品(低海拔组,LD)、玉树样品(高海拔组,YS)喜马拉雅旱獭肝脏组织中差异表达基因差异较大,刚察样品(中海拔组,GC)与其他两组间均具有较小的基因表达差异模式。上调表达基因在19个GO Terms和6个KEGG通路上有显著富集,氧化磷酸化相关基因(*HiF-1 α* 、*MPKA3*)、矿物质吸收及脂质代谢相关基因(*PPARs*)在高海拔组中呈现上调表达,推测这些基因可能直接或间接在喜马拉雅旱獭适应高海拔低氧等极端环境中,通过调整细胞代谢、提高氧化还原能力以及增强免疫反应来维持自身的生理功能和生存能力,为后续深入研究高原野生动物基因多样性以及喜马拉雅旱獭低氧适应性提供基因组学数据。

Liver Transcriptome Sequencing-based Adaptation to Hypoxia in Himalayan Marmot at Different Altitudes

ZHAO Kunyu, LI You, NAN Xinying, LI Yaodong*

(College of Basic Medical Sciences, Qinghai University, Xining, 810016, China)

基金项目: 青海省科技计划项目(2018-ZJ-775)

第一作者简介: 赵坤钰(1998—),女,硕士研究生;主要从事高原低氧适应分子机制研究。E-mail:1015226624@qq.com

*通信作者: 李耀东, E-mail: Liyaodong6401@126.com

Abstract: To investigate the differences in gene expression in Himalayan marmot (*Marmota himalayana*) at three different altitudinal gradients and screen the candidate genes related to the adaptation of this species to the plateau low-oxygen and ultraviolet radiation environments, the non-referential transcriptomic analysis of liver tissues of *M. himalayana* were conducted by using the Illumina HiSeq-2500 high-throughput sequencing platform. By comparative analysis of the sequencing data after quality control and the reference genome, we screened the differentially expressed genes and then performed GO functional annotation and KEGG enrichment analysis. The results showed that the differentially expressed genes in the liver tissues of *M. himalayana* in the Ledu sample group (low altitude area, LD) and Yushu sample group (high altitude area, YS) differed greatly, while the difference of differentially expressed genes of this species in the Gangcha sample group (medium altitude area, GC) was small compared with the other two groups (high altitude and low altitude areas). The up-regulated genes were significantly enriched in 19 GO Terms and six KEGG pathways, and the oxidative phosphorylation-related genes (*HIF-1 α* , *MPKA3*), mineral uptake and lipid metabolism-related genes (*PPARs*) were up-regulated in the YS group. These genes may directly or indirectly play a role in the adaptation of *M. himalayana* to the extreme environment such as high altitude with low oxygen by adjusting the cellular metabolism, improving the redox capacity and enhancing the immune response to maintain their physiological functions and survival ability. The results of this study provide more genomic data for further research on genetic diversity of highland wildlife on hypoxic adaptation of *M. himalayana*.

喜马拉雅旱獭(*Marmota himalayana*)隶属于哺乳纲(Mammalia)啮齿目(Rodentia)松鼠科(Sciuridae)旱獭属(*Marmota*)。目前,世界范围内有2个亚种,分别是指名亚种(*M. h. himalayana*)和川西亚种(*M. h. rubustus*),指名亚种主要分布在我国甘肃西部、青海(柴达木盆地)及新疆等地,川西亚种主要分布在我国四川西部和西北部等地^[1]。作为青藏高原特有野生动物资源,其在生物医学领域中具有广泛应用^[2]。

2012年,王忠东^[3]首次通过旱獭活体肝脏穿刺术,成功建立实验技术与室内饲养管理技术,随后,刘海青等^[4]成功采用人工批量化繁育技术并建立人工繁育种群,为后续喜马拉雅旱獭实验动物化研究的开展提供基础技术支持。研究人员通过观测并分析该物种骨骼肌^[5]与心肌^[6]等组织学相关指标,发现经过长期的自然选择和进化,喜马拉雅旱獭在高原环境中表现出良好的适应性,获得适应低氧环境且稳定遗传的生物学特性。随着分子生物学技术的发展,李优等^[7]利用dd-RAD基因组学测序技术对青海省44例喜马拉雅旱獭进行遗传进化分析,揭示不同地区喜马拉雅旱獭种群之间存在遗传差异。尽管线粒体基因组在研究物种进化和亲缘关系等方面发挥了重要作用,但无法提供整体基因组完整信息^[8]。

现有喜马拉雅旱獭相关研究大多集中于传染病学及生物学等方面,包括病原体鉴定^[9]、疾病传播途径^[10]及遗传进化差异^[7]等。随着深度测序的市场化,RNA测序(RNA-Seq)利用高通量测序平台更精准全面地探索特定生物在特定条件下的基因表达和生物代谢,具有低成本、全面及高准确度的优势,现已成为探究物种进化调控机制的重要技术手段^[11],然而目前对不同海拔下喜马拉雅旱獭适应低氧的调控机制及整体性分析研究尚不深入。本研究基于转录组学测序技术,通过对3个不同海拔梯度下的喜马拉雅旱獭肝脏组织进行无参转录组学分析,初步筛选出喜马拉雅旱獭与低氧适应有关的候选基因,为进一步挖掘高原土著动物低氧适应机制及相关功能基因奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集

在海东市乐都区引胜乡[海拔1992 m;36°35' N,102°24' E;3例;记为低海拔组(LD组)]、海北藏族自治州刚察县[海拔3127 m;35°29' N,102°16' E;3例;记为中海拔组(GC组)]和玉树州曲麻莱县麻多乡[海拔4101 m;35°1' N,96°22' E;3例;记为高海拔组(YS组)]3个地区采集喜马拉雅旱獭新鲜肝脏

组织,共9例(图1),分别装入2 mL冻存管内($n=3$),液氮速冻后按照分组标记,置于冰箱中 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存

备用。取样过程与青海省地方病预防控制所合作,遵循动物伦理相关法规(PJ20230306)。

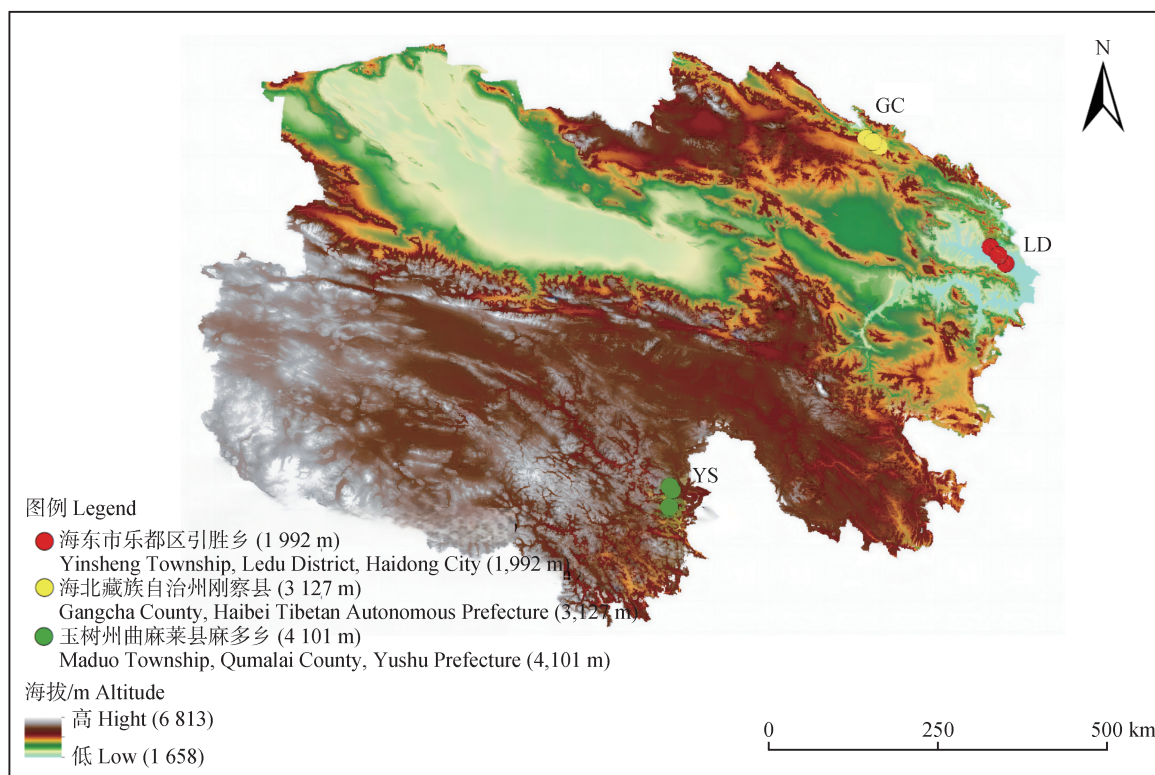


图1 采样点分布

Fig. 1 Distribution of sampling points

1.2 RNA提取与质控

使用TRIzol法提取喜马拉雅旱獭肝脏组织中的总RNA,1%琼脂糖凝胶电泳初步分析RNA降解及污染程度,采用Agilent 2100生物分析仪与NanoDrop设备检测RNA的完整性(RNA integrity number, RIN)及纯度。建库要求为动物组织样本不得少于250 mg, $OD_{260/280}$ 为1.8~2.2, RIN值 ≥ 7 , $28S:18S \geq 7$ 。

1.3 文库构建与基础分析

利用Oligo(dT)磁珠富集法富集mRNA,使用Ragmentation Buffer随机打断mRNA,通过AMPure XP beads纯化PCR产物后,构建cDNA文库。采用Illumina HiSeq 2500高通量测序平台同时进行合成与测序。测序原始数据(raw reads)经过滤后得到优质测序数据(clean reads)。使用Trinity软件对clean reads进行拼接,得到Unigenes转录本,获取后续分析参考序列。

1.4 差异表达基因分析

采用DESeq2(1.6.3)软件筛选差异表达基因

(differentially expressed genes, DEGs),显著差异表达阈值为 $p < 0.05$ 且 $|\log_2\text{FoldChange}|$ 值大于1。为分析差异表达基因的功能特性和参与的生理生化代谢途径,对DEGs进行GO功能注释和KEGG富集分析,展现3组喜马拉雅旱獭种群间差异表达基因序列在两数据库中的分布状况,在DEGs中显著富集的阈值(q)不超过0.05。所有统计分析均用SPSS 18.0软件进行,使用两两独立样本 t 检验进行比较,同时用GraphPad Prism 8.0软件绘图, $p < 0.05$,差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 总RNA质检结果

从LD组、GC组及YS组喜马拉雅旱獭肝脏组织中提取的总RNA无DNA等杂质污染,纯度($OD_{260/280}$ 为2.02~2.08, $OD_{260/230}$ 为2.33~2.35)、浓度(545.9~584.1 ng/ μL)和检测的RIN值(8.8~9.6)满足建库及测序要求。

2.2 功能注释分析

质控后转录组分析数据总量为 20.38 Gb, $Q_{20} \geq 96.45\%$, GC 比例介于 47.63% ~ 48.20%, 碱基错误率低, 数据质量合格, 表明测序数据整体质量较好, 可用于后续分析(表 1)。将质控后数据与 NT、NR、

KO、PFAM、KOG 和 Swiss Prot 六个数据库比对, 统计各数据库占比情况并可视化处理(图 2), 注释结果表明: NT 数据库注释信息较为丰富, 转录本平均占比最高, KOG 数据库信息匹配率较低, 转录本平均占比最低。

表 1 不同海拔地区喜马拉雅旱獭的转录组文库基本信息

Tab. 1 Basic information of transcriptome libraries of *Marmota himalayana* at different altitudes

| 项目 Term | LD 组 | GC 组 | YS 组 |
|---|---------|--------|--------|
| 原始数据过滤后的碱基/Gb Bases filtered from raw data | 6.65 | 6.86 | 6.87 |
| Phred 值大于 20 的碱基比例(Q_{20})(%) Proportion of bases with a Phred value >20 | 96.45 | 96.68 | 96.82 |
| 优质序列 GC(%) High quality sequence GC content | 48.20 | 47.63 | 47.68 |
| 总 Unigene/条 Total Unigener | 109 488 | 84 753 | 85 064 |
| NR 注释的基因/个 NR-annotated genes | 26 963 | 23 008 | 24 603 |
| NT 注释的基因/个 NT-annotated genes | 46 373 | 38 403 | 39 651 |
| KO 注释的基因/个 KO-annotated genes | 15 755 | 13 818 | 13 461 |
| Swiss Prot 注释的基因/个 Swiss Prot-annotated genes | 24 479 | 21 059 | 22 571 |
| PFAM 注释的基因/个 PFAM-annotated genes | 17 571 | 16 790 | 17 007 |
| KOG 注释的基因/个 KOG-annotated genes | 10 328 | 10 146 | 10 561 |

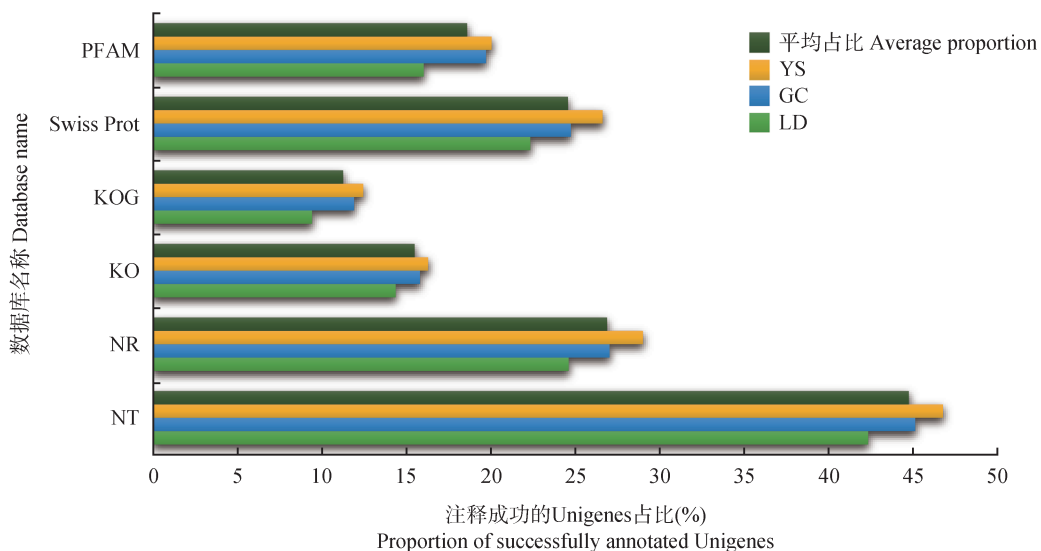


图 2 LD、GC、YS 组 Unigenes 与六大数据库比对注释及占比

Fig. 2 Comparison notes and proportion statistics of Unigenes in LD, GC and YS groups with six databases

2.3 差异表达基因的筛选及聚类分析

对LD、GC、YS两两组间交集差异表达基因关联后,将信息整合绘制 Venn 图(图3),其中3组共表达基因有 991 个。对 DEGs 进行表达模式聚类分析(图4),发现LD、YS组喜马拉雅旱獭的表达模式区别显著,推测是相邻海拔梯度间环境氧含量变化程度较为温和所致。

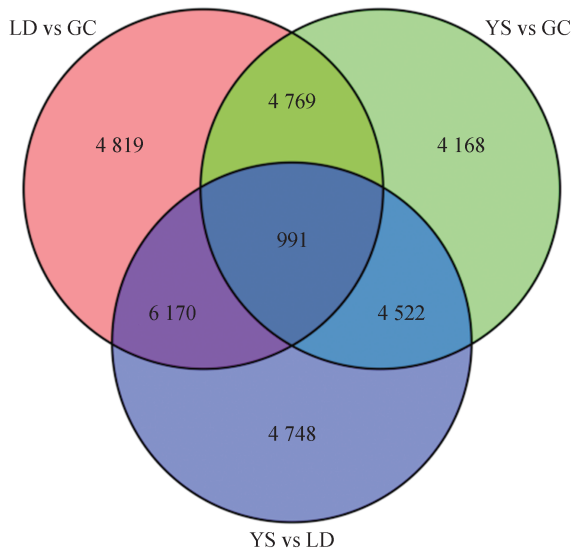


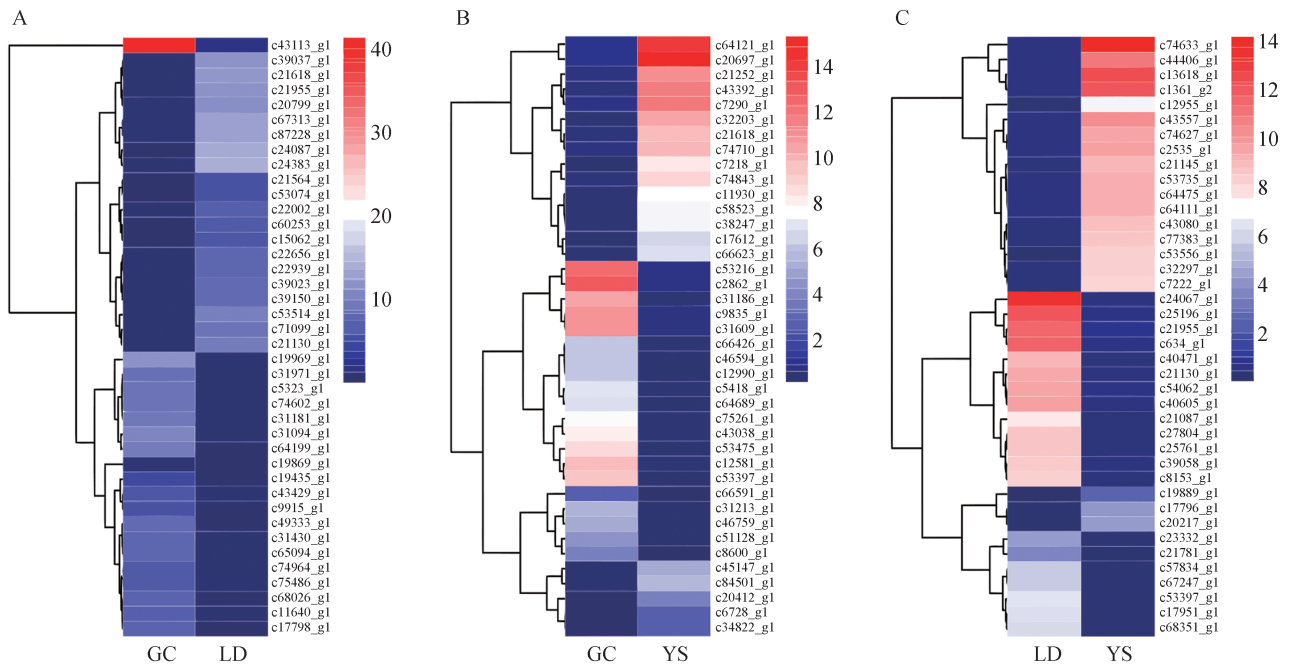
图3 差异基因共表达 Venn 图

Fig. 3 Venn diagram of gene co-expression

2.4 差异表达基因的GO富集分析

将喜马拉雅旱獭差异表达基因与GO数据库进行比对,差异基因注释结果被分为生物过程(BP)、细胞组分(CC)及分子功能(MF)三大功能类别,主要显著富集在外切脱氧核酸酶Ⅶ复合物部分DNA降解、DNA 修饰、芳香氨基酸家族代谢和赖氨酸代谢、脱氧核糖核酸酶以及结合血红素部分活性等生物学过程(图5)。

上调差异表达基因主要富集在线粒体电子传递(GO:0006120)、矿物质吸收(GO:0055072)以及DNA降解(GO:0006308)等生物学过程,表明机体通过上调线粒体电子传递链的活性,增加线粒体数量来维持低氧环境下HIF-1 α 基因的稳定,以优化氧气的吸收和运输能力,从而更有效地利用有限的氧气资源,保持正常的能量代谢。下调基因显著富集在分子功能(MF)分类中,主要是DNA依赖的转录调控(GO:0006355)、小GTP酶介导的信号转导(GO:0007264)、DNA定向DNA聚合酶活性(GO:0003887)以及DNA结合(GO:0003677)等方面,说明可能在低氧低压条件下机体通过抑制DNA损伤过程,以及下调小GTP活性状态降低高原环境中喜马拉雅旱獭的一些基因表达以及生理代谢过程(表2)。



A. LD组与GC组;B. YS组与GC组;C. LD组与YS组。

A. LD vs GC;B. YS vs GC;C. LD vs YS.

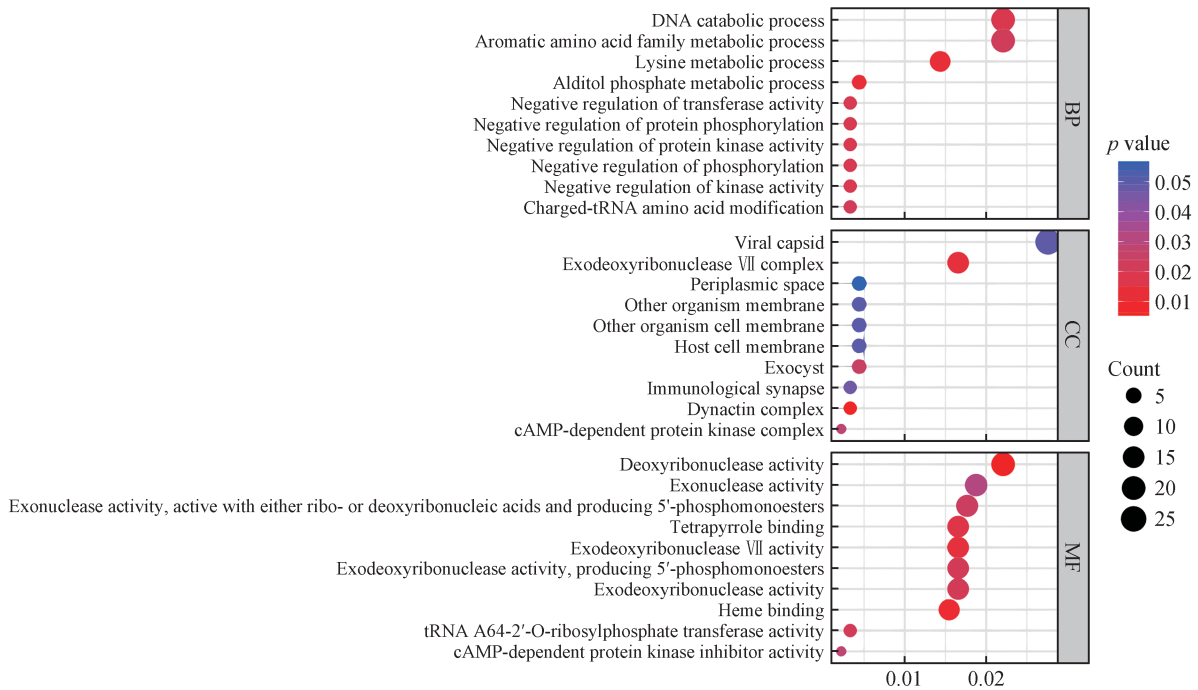
图4 不同海拔地区喜马拉雅旱獭间差异表达基因(DEGs)热图分析

Fig. 4 Heat map analysis of differentially expressed genes (DEGs) among *Marmota himalayana* at different altitudes

表 2 喜马拉雅旱獭上/下调差异表达基因(DEGs)GO富集结果

Tab. 2 GO enrichment results of up/down-regulated differentially expressed genes (DEGs) in *Marmota himalayana*

| DEGs(up/down) | GO Term | GO ID |
|--|--|--|
| 上调表达基因 Up-regulated DEGs | 呼吸器电子传递链 Respirator electron transport chain | GO:0022904 |
| | 细胞内一氧化氮合酶活性 Intracellular nitric oxide synthase activity | GO:0006123 |
| | 代谢调节 Metabolic regulation | GO:0006123 |
| | 胆碱酯酶抑制剂 Cholinesterase inhibitor | GO:0022900 |
| | 一氧化氮合酶活性 Nitric oxide synthase activity | GO:0015992 |
| | 细胞钠离子稳态 Cellular sodium ion homeostasis | GO:0006879 |
| | 电子转移活性 Electron transfer activity | GO:0009055 |
| | 铜离子结合 Copper ion binding | GO:0005507 |
| | 细胞色素-c 氧化酶活性 Cytochrome-c oxidase activity | GO:0004129 |
| | 铁离子运输调节 Iron ion transport regulation | GO:0020037 |
| | 亚铁离子结合 Ferric iron binding | GO:0008199 |
| | 细胞质 Cytoplasm | GO:0008199 |
| | 细胞膜 Cell membrane | GO:0016020 |
| | 呼吸链复合物 Respiratory chain complex | GO:0045277 |
| | 细胞光合膜 Cellular photosynthetic membrane | GO:0070469 |
| | 细胞器膜 Integral component of membrane | GO:0016021 |
| | 线粒体电子传递 Mitochondrial electron transport | GO:0006120 |
| | 矿物质吸收 Mineral absorption | GO:0055072 |
| | DNA 降解 DNA degradation | GO:0006308 |
| | 下调表达基因 Down-regulated DEGs | DNA 依赖的转录调控 Regulation of transcription, DNA-templated |
| 小GTP酶介导的信号传导 Small GTPase mediated signal transduction | | GO:0007264 |
| 蛋白质二聚化活性 Protein dimerization activity | | GO:0046983 |
| 核酸结合 Nucleic acid binding | | GO:0003676 |
| 磷脂酰肌醇结合 Phosphatidylinositol binding | | GO:0035091 |
| GTP结合 GTP binding | | GO:0005525 |
| DNA 定向DNA聚合酶活性 DNA-directed DNA polymerase activity | | GO:0003887 |
| DNA 结合转录因子活性 DNA-binding transcription factor activity | | GO:0003700 |
| DNA 结合 DNA binding | | GO:0003677 |
| 细胞膜 Cell membrane | | GO:0016020 |
| 细胞大分子定位 Cell macromolecular localization | | GO:0042575 |
| 转录因子复合物 Transcription factor complex | | GO:0005667 |



BP. 生物过程;CC. 细胞组分;MF. 分子功能,颜色越红圆圈越大表示基因功能越富集。

BP. Biological process; CC. Cellular component; MF. Molecular function, the larger reddish circle incolour indicates the enrichment of gene function.

图5 喜马拉雅旱獭肝脏组织差异表达基因GO富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis of differentially expressed genes in *Marmota himalayana* liver tissues

2.5 差异表达基因的KEGG富集分析

为探究差异基因参与影响的信号转导通路或生物学功能,进行KEGG富集分析后发现这些基因显著富集在乙酰乙酸和二羧酸代谢通路,缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸的降解代谢,胰岛素信号通路,真核生物中核糖体生物合成等通路(图6)。

3 讨论

青藏高原的低氧环境对本土动物施加选择压力,使其在分子水平上表现出趋同进化等遗传特性,在长期低氧及强紫外辐射等极端气候环境中,高原土著动物形成稳定可遗传的适应性机制^[12]。KEGG通路富集分析表明,不同海拔梯度下喜马拉雅旱獭差异表达基因显著富集在氧化磷酸化(ko00190)、细胞周期(ko04110)、铁调控信号通路(ko04927)、PI3K-Akt信号通路(ko04151)、脂质代谢(ko00061)以及细胞凋亡(ko04210)等通路(表3)。

线粒体作为“能量工厂”为机体提供ATP,支撑高原哺乳动物的正常生命活动,能量产生方式主要依赖于氧化磷酸化及三羧酸循环^[13]。文禹梁^[14]在藏绵羊实验中发现,氧化磷酸化的上调表达可维持藏

表3 喜马拉雅旱獭上调差异表达基因KEGG富集结果

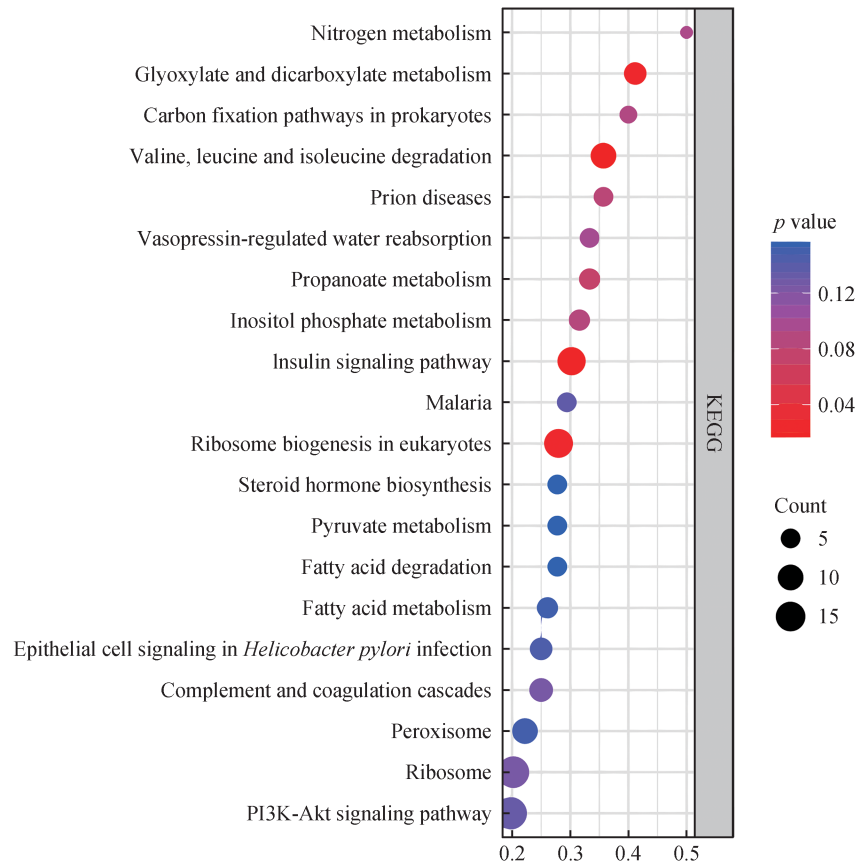
Tab. 3 Results of KEGG enrichment of up-regulated differentially expressed genes in *Marmota himalayana*

| KEGG通路 KEGG pathway | 基因名称 Gene name | 通路ID Pathway ID |
|--|-------------------------------|--------------------|
| 氧化磷酸化作用 Oxidative phosphorylation | <i>HIF-1α</i> <i>MPKA3</i> | ko00190 |
| 细胞周期 Cell cycle | <i>TP53</i> <i>CHEK1</i> | ko04110 |
| 铁调控信号通路 Iron regulatory signaling pathway | <i>TFR1</i> <i>HIF-2α</i> | ko04927 |
| PI3K-Akt信号通路 PI3K-Akt signaling pathway | <i>VEGF</i> <i>Akt</i> | ko04151 |
| 脂质代谢 Lipid metabolism | <i>PPARs</i> | ko00061 |
| 细胞凋亡 Apoptosis | <i>P53</i> | ko04210 |

绵羊日常生理需求使机体表现出低氧适应性。*HIF-1α*作为缺氧时下游基因的主要激活因子,通过调控多个靶基因的转录活性并上调表达增加机体对ATP的依赖性,形成低氧适应性机制^[15],在藏绵羊^[16]、藏鸡^[17]等高原土著动物的研究中该基因均受到正选择影响。此外,研究发现MAPK信号通路和PI3K-Akt

信号转导通路等与低氧适应有关联的通路显著富集。细胞通过 MAPK 信号转导通路响应外部刺激,参与细胞增殖、分化及凋亡等多种生物学反应^[18]。PI3K-Akt 信号通路是调节细胞增殖、分化和凋亡的重要细胞内信号通路,具有在缺氧条件下保护机体免受细胞凋亡影响的作用^[19]。张倩等^[20]在牦牛大脑

皮质组织转录学研究中证明,MAPK 信号通路和 PI3K-Akt 信号转导通路促进低氧适应机制的形成。青藏地区氧气稀薄且海拔较高,大气层厚度变薄,对入射辐射的吸收和散射能力减弱^[21],Song 等^[22]研究表明,高原土著生物通过修复基因的高表达,消除紫外诱导下 DNA 损伤等不良反应,获得强紫外辐射适应性优势。



点的颜色表示富集的显著程度,点的大小表明注释到该通路的基因数量。

The color of the dots indicates the significance of the enrichment and the size of the dots indicates the number of genes annotated to the pathway.

图6 喜马拉雅旱獭肝脏组织差异表达基因的KEGG富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes in liver tissues of *Marmota himalayana*

综上,本研究利用RNA-Seq技术对LD、GC和YS三组不同海拔梯度下喜马拉雅旱獭肝脏组织进行转录组学分析,检测出大量与能量代谢及细胞维稳相关的DEGs,KEGG富集分析结果表明这些基因主要富集在氧化磷酸化、DNA损伤感应与信号转导通路及PI3K-Akt等途径,GO注释分析中也发现了相似的结果,这可能提示成年喜马拉雅旱獭通过增强氧化应激、维护细胞基因组稳定性等生理机制维持自身稳定,获得高原环境适应优势。以上结果有助于更好地理解喜马拉雅旱獭在高海拔环境中的适应生存

策略,进一步对研究高原生物适应性机制提供更多的参考,为高原野生动物基因多样性的保护和管理奠定基础。

参考文献:

- [1] 魏辅文, 杨奇森, 吴毅, 等. 中国兽类分类与分布[M]. 北京: 科学出版社, 2022: 236.
WEI F W, YANG Q S, WU Y, *et al.* Taxonomy and distribution of mammals in China[M]. Beijing: Science Press, 2022: 236.
- [2] 刘海青, 范微, 张静宵, 等. 喜马拉雅旱獭实验动物化的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(11): 64-68.
LIU H Q, FAN W, ZHANG J X, *et al.* Research progress on do-

- mestication of *Marmota himalayana* [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2015, 25(11): 64-68.
- [3] 王忠东. 喜马拉雅旱獭动物实验技术与饲养管理[J]. 医学动物防制, 2012, 28(6): 653-656.
WANG Z D. Feeding management and animal experiments of *Marmota himalayana* [J]. Journal of Medical Pest Control, 2012, 28(6): 653-656.
- [4] 刘海青, 范微, 张静宵, 等. 喜马拉雅旱獭的人工繁育技术[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(11): 59-63;9.
LIU H Q, FAN W, ZHANG J X, et al. Scale breeding and the establishment of breeding population of *Marmota himalayana* [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2015, 25(11): 59-63;9.
- [5] 秦鸿楠, 周娟, 李琳, 等. 喜马拉雅旱獭骨骼肌低氧适应的组织学特点[J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(9): 23-28.
QIN H N, ZHOU J, LI L, et al. Histological characteristics of hypoxic adaptation of skeletal muscle of Himalayan marmot [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2022, 58(9): 23-28.
- [6] 李琳, 秦鸿楠, 周娟, 等. 喜马拉雅旱獭心肌低氧适应的组织学特点[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2023(5): 127-131;140.
LI L, QIN H N, ZHOU J, et al. Histological characteristics of myocardial hypoxic adaptation in *Marmota himalayana* [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2023(5): 127-131;140.
- [7] 李优, 南新营, 赵坤钰, 等. 基于简化基因组测序技术的喜马拉雅旱獭遗传多样性分析[J]. 野生动物学报, 2023, 44(1): 68-75.
LI Y, NAN X Y, ZHAO K Y, et al. Genetic diversity of *Marmota himalayana* based on simplified genome sequencing technique [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2023, 44(1): 68-75.
- [8] SMITH D R. The past, present and future of mitochondrial genomes: Have we sequenced enough mtDNAs? [J]. Briefings in Functional Genomics, 2016, 15(1): 47-54.
- [9] 李翔, 赵海红, 徐小青, 等. 青海省乌兰县与同德县鼠疫噬菌体分离及流行病学比较分析[J]. 医学动物防制, 2024, 40(2): 113-116;121.
LI X, ZHAO H H, XU X Q, et al. Comparative analysis of isolation and epidemiology of *Yersinia pestis* phage in Wulan County and Tongde County of Qinghai province [J]. Journal of Medical Pest Control, 2024, 40(2): 113-116;121.
- [10] 李胜, 靳娟, 何建, 等. 我国喜马拉雅旱獭鼠疫疫源地鼠疫噬菌体遗传特征研究[J]. 中国热带医学, 2023, 23(9): 916-921.
LI S, JIN J, HE J, et al. Genetic study of *Yersinia pestis* strains isolated from the Himalayan marmot natural focus area and domestic rat plague focus area in southern China [J]. China Tropical Medicine, 2023, 23(9): 916-921.
- [11] HRDLICKOVA R, TOLOUE M, TIAN B. RNA-Seq methods for transcriptome analysis [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews RNA, 2017, 8(1). DOI: 10.1002/wrna.1364.
- [12] LYU T S, ZHOU S Y, FANG J H, et al. Convergent genomic signatures of high-altitude adaptation among six independently evolved mammals [J]. Animals, 2022, 12(24): 3572.
- [13] 李勃深, 张宇轩, 范容晖, 等. 高原对线粒体功能及能量代谢影响研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(10): 106-113.
LI B S, ZHANG Y X, FAN R H, et al. Research progresses on the effects of high altitude on mitochondrial function and energy metabolism [J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2023, 33(10): 106-113.
- [14] 文禹梁. 基于mRNA/miRNA调控网络、线粒体动力学和功能解析藏绵羊低氧适应机制[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2022.
WEN Y L. Adaptation mechanism of hypoxia based on mRNA/miRNA regulation network, mitochondrial dynamics and functions on Qinghai-Tibet Plateau in Tibetan sheep [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2022.
- [15] XIAO B, WANG S Y, YANG G S, et al. *HIF-1 α* contributes to hypoxia adaptation of the naked mole rat [J]. Oncotarget, 2017, 8(66): 109941-109951.
- [16] ZHAO P F, HE Z H, XI Q M, et al. Variations in *HIF-1 α* contributed to high altitude hypoxia adaptation via affected oxygen metabolism in Tibetan sheep [J]. Animals, 2021, 12(1): 58.
- [17] ZHANG Y, ZHANG H L, ZHANG B, et al. Identification of key *HIF-1 α* target genes that regulate adaptation to hypoxic conditions in Tibetan chicken embryos [J]. Gene, 2020, 729: 144321.
- [18] 高黎, 赵志英. MAPK信号转导通路及其意义[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(53): 25-27.
GAO L, ZHAO Z Y. MAPK signal transduction pathway and its significance [J]. World Latest Medicine Information, 2015, 15(53): 25-27.
- [19] 邓军, 陈中叶, 拉门措, 等. 青藏高原强紫外辐射适应机制研究进展[J]. 青海草业, 2023, 32(2): 41-43;52.
DENG J, CHEN Z Y, LA M C, et al. Advances in research on the adaptation mechanism of strong ultraviolet radiation on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Qinghai Prataculture, 2023, 32(2): 41-43;52.
- [20] 张倩, 崔燕, 余四九, 等. 初生及成年牦牛大脑皮质的转录组分析[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(11): 4605-4614.
ZHANG Q, CUI Y, YU S J, et al. Transcriptome analysis of the cerebral cortex in newborn and adult yaks (*Bos grunniens*) [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2023, 54(11): 4605-4614.
- [21] 吴娟. 紫外辐射对不同海拔高原林蛙的影响及其生理机制研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2023.
WU J. A study on the effects of ultraviolet radiation on *Rana kukunoris* at different altitudes and its physiological mechanisms [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2023.
- [22] SONG H P, CHU Z G, ZHANG D X, et al. PI3K-AKT pathway protects cardiomyocytes against hypoxia-induced apoptosis by MitoKATP-mediated mitochondrial translocation of pAKT [J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2018, 49(2): 717-727.