

# 麝鼠前列腺在繁殖期和非繁殖期转录组差异分析

张宇, 白素英, 马跃

东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040

**摘要:** 麝鼠(*Ondatra zibethicus* L.)是季节性繁殖动物。成年雄性麝鼠在尿生殖孔上方肌肉与背皮之间有一对香腺, 在繁殖期能分泌麝鼠香。与其他鼠类相比, 麝鼠在繁殖期时前列腺—精囊腺组织极其发达。研究发现, 经腹腔注射麝鼠香后, 能够明显促进雄性小鼠的前列腺—精囊腺发育, 表明两者之间可能存在一定的相关性。本研究利用 RNA-seq 技术对麝鼠繁殖期和非繁殖期的前列腺样品进行了转录组测序, 对差异表达的基因进行 GO 分析和 KEGG 通路分析。结果显示, 共筛选出 1629 个显著差异表达基因, 涉及多种信号转导和能量代谢相关基因, 其中 *OBP2*、*Bcl-2* 家族和肿瘤坏死因子受体超家族成员的差异表达提示麝鼠前列腺发育受多种机制调控, 由香腺分泌的麝鼠香可能参与了前列腺的发育调节。

**关键词:** 麝鼠; RNA-seq; 前列腺; 繁殖期; 非繁殖期

## Comparative analysis on the transcriptomes of the prostates of muskrats at breeding stage and non-breeding stage

Yu Zhang, Suying Bai, Yue Ma

College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** The muskrat (*Ondatra zibethicus* L.) is a seasonal breeding animal. Adult male muskrat has a pair of scent glands between the muscle and skin above the urogenital tract, which secrete muskrat musk during the breeding stage. Compared with other rodents, the muskrat prostates and seminal vesicles are very well developed throughout the breeding stage. Studies have shown that intraperitoneal injection of muskrat musk can readily promote the development of the prostates and seminal vesicles in the male mice, suggesting a tight correlation between musk secretion and the development of the prostates and seminal vesicles in the muskrat. In this study, RNA-seq technology was used to analyze the gene expression patterns were further investigated by gene ontology (GO) analysis and KEGG pathway analysis. The results showed that 1629 genes were significantly and differentially expressed and were involved in a variety of signal transductions and energy metabolism pathways. The differential expression patterns of the *OBP2* gene, and members of the *Bcl-2* family and tumor necrosis factor receptor superfamily suggest that the prostate development in muskrat is controlled by a variety of molecular mechanisms; and the musk secreted by the muskrat scent glands might participate in the regulation of such developmental processes.

收稿日期: 2017-12-20; 修回日期: 2018-04-23

作者简介: 张宇, 硕士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: zynefuzx@163.com

通讯作者: 白素英, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 野生动物种质资源保护与分子育种技术。E-mail: baisynefu@qq.com

DOI: 10.16288/j.ycz.17-409

网络出版时间: 2018/5/24 9:11:46

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180524.0911.002.html>

**Keywords:** muskrat; RNA-seq; prostate; breeding stage; non-breeding stage

麝鼠(*Ondatra zibethicus* L.)又称青根貂、水耗子,原产于北美地区,20世纪50年代末引入中国。成年雄性麝鼠在尿生殖孔上方肌肉与背皮之间有一对香腺,在繁殖期(每年3~10月)时能够分泌麝鼠香<sup>[1]</sup>。因此麝鼠的繁殖期也称为泌香期,非繁殖期也称为非泌香期。雄性麝鼠利用麝鼠香吸引雌性麝鼠交配,同时麝鼠香中含有麝香酮<sup>[2]</sup>,麝香酮是天然麝香中的主要活性成分。在麝科动物种质资源遭到极大破坏的情况下,麝鼠香具有成为天然麝香替代品的巨大潜力。

目前,针对麝鼠的相关研究尚处于初级阶段,大多集中于组织形态学观察、分类与进化、毛皮和麝鼠香的药用价值等方面,而对麝鼠前列腺发育调节的相关研究鲜见报道。华树芳等<sup>[1]</sup>研究发现,麝鼠的前列腺—精囊腺发育情况随着繁殖期和非繁殖期发生周期性变化,繁殖期时前列腺—精囊腺非常发达。陈玉山等<sup>[3]</sup>研究表明,麝鼠香与麝香相同,都具有雄激素样的作用,经腹腔注射后,能够明显促进雄性小鼠的前列腺—精囊腺发育。由此推测,麝鼠发达的前列腺—精囊腺与雄性麝鼠周期泌香可能存在相关性。

本研究对繁殖期和非繁殖期的麝鼠前列腺组织进行RNA-seq测序分析,通过构建繁殖期和非繁殖期麝鼠前列腺组织的转录图谱,筛选出差异表达基因,探究麝鼠香与前列腺发育的关系,为新基因的进一步挖掘和功能研究提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

分别于4月末和10月末在黑龙江省哈尔滨市呼兰区麝鼠养殖场购买体态相近的1岁龄成年雄性麝鼠,共计6只。4月末为繁殖期,3只麝鼠标记为A1、A2和A3;10月末为非繁殖期,3只麝鼠标记为B1、B2和B3。将麝鼠保定后,乙醚吸入麻醉,无菌条件下采集左右两侧前列腺背侧叶,组织离体后立即液氮速冻,并迅速转移至-80℃保存。

### 1.2 RNA提取

分别取麝鼠繁殖期和非繁殖期的前列腺背侧叶组织100 mg,液氮研磨后利用RNA提取试剂盒(Thermo Scientific, USA)提取总RNA。DNase I消除总RNA中潜在DNA污染,利用RNA提取试剂盒中的纯化柱纯化RNA。通过Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, USA)检测RNA纯度( $OD_{260/280}$ 、 $OD_{260/230}$ ),用Bioanalyzer 2100 (Agilent, USA)检测RNA片段完整性。

### 1.3 文库构建及测序

使用带有Oligo(dT)的磁珠富集mRNA,通过酶促法使mRNA片段化。利用随机引物反转录合成cDNA。纯化片段大小为150~300 bp的cDNA,并以切割3'突出端和补平5'突出端的方式将cDNA片段两端修复为平末端。将末端修复后的cDNA片段3'端加上A碱基,利用T4 DNA连接酶在DNA两端添加Y型测序接头。测序接头连接后,为满足测序需求,需要对测序文库进行PCR扩增和富集,去除多余的扩增引物和测序接头。使用Agilent 2100对文库的插入片段大小进行检测,当片段大小符合预期时,通过实时荧光定量PCR(qRT-PCR)对文库的有效浓度进行精确定量。测序文库质检完成后通过Illumina高通量测序平台进行测序,得到原始数据raw reads。

### 1.4 麝鼠转录组数据分析

使用Fastx\_toolkit软件对raw reads进行质控处理,过滤含接头的reads、N比例过大和低质量碱基数过多的reads,得到clean reads。对clean reads进行分析,主要包括:Trinity转录本拼接;Unigene功能注释;利用皮尔森积矩相关系数分析生物学重复间相关性;应用每百万片段中来自某一基因每千碱基长度的片段数目(FPKM)算法对繁殖期(A组)和非繁殖期(B组)转录本进行表达量标准化,以 $P\_value < 0.05$ 为标准比较分组间差异表达基因,统计显著差异表达的基因;利用Cluster V3.0软件和

Tree View 软件构建显著差异表达基因聚类热图,预测未知转录本潜在功能;分别采用 GOseq R 软件包和 ClusterProfiler R 软件包对筛选结果进行 GO 分类注释和 KEGG 分析等。转录本注释所参照的数据库为 NR、NT、KO、Swissprot、Pfam、KOG 和 GO。显著差异表达的判定标准为:如两者 FPKM 值大于 1 且两者比值大于 3 则认为差异显著;如其中一组 FPKM 值小于 1 而另一组 FPKM 值大于 3 也认为差异显著。

### 1.5 实时荧光定量 PCR 验证

在测序结果中随机选择 5 个差异表达基因的转录本,利用 Primer Premier V 6.0 软件设计引物(表 1),对 RNA-seq 结果进行 qRT-PCR 验证。内参基因为 *β-actin*,内参引物参考文献<sup>[4]</sup>。扩增体系为:2× SYBR GREEN I Supermix (BIO-RAD)10 μL,上下游引物各 0.2 μL (10 μmol/μL),cDNA 模板 2 μL,7.6 μL 水补足体系。扩增程序:98 30 s,98 10 s,60 1 min,40 个循环。利用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算表达差异倍数。

## 2 结果与分析

### 2.1 转录本拼装

在麝鼠繁殖期与非繁殖期前列腺组织样品(繁殖期 3 份,非繁殖期 3 份)的测序结果中, clean reads

均 ≥90%,测序质量满足分析要求。利用 Trinity 软件对测序结果进行从头组装,产生 301 662 条 transcripts 和 282 577 条 Unigenes。以 Trinity 拼接得到的转录本作为参考序列(ref),将每个样品的 clean reads 参照参考序列进行比对映射,统计结果见表 2。

### 2.2 差异表达基因筛选

在麝鼠繁殖期和非繁殖期的前列腺组织中,共鉴定得到 130 827 条转录本,其中繁殖期(A 组)转录本数量为 73 810 条,非繁殖期(B 组)为 101 179 条,两组共有转录本数量为 44 162 条(图 1)。麝鼠在繁殖期和非繁殖期前列腺组织样品的生物学重复间皮尔森积矩相关系数平方均大于 0.95 (图 2),因此认定生物学重复满足统计学要求,可用于下游数据分析。利用 FPKM 算法标准化繁殖期和非繁殖期基因转录水平差异,共筛选出转录水平显著差异的基因 1629 个。其中 A 组与 B 组相比,显著差异表达的基因中

表 2 序列比对情况统计

Table 2 Statistics for mapped sequences

样品名称	总读段数	比对读段数	百分比(%)
A1	47 295 796	31 329 322	66.24
A2	51 176 432	35 534 334	69.43
A3	50 930 182	33 493 652	65.76
B1	50 972 724	33 988 504	66.68
B2	50 292 570	33 601 490	66.81
B3	49 952 898	33 176 016	66.41

A1~A3 来源于 3 只不同的繁殖期雄性麝鼠; B1~B3 来源于 3 只不同的非繁殖期雄性麝鼠。

表 1 本文所用的引物信息

Table 1 Primers used in this study

引物名称	引物序列(5'→3')
OBP2F	GCAACATCATCAACTCTGG
OBP2R	ATGGAAGCAATCACCTAAGT
TNFRSF4F	TCCAGTCCACCACAGTCT
TNFRSF4R	GCCAGCAGAACAGTCAAG
TNFRSF13bF	GTTGAGCCAGCCTACATC
TNFRSF13bR	CTAGACTCCGCACTCTGT
TTPαF	AGTACCTGTTCCAGTGTATC
TTPαR	GGCTTCTTCTGCTGTTCA
GHRF	TCCGAGGTCTCAGGTATG
GHRR	TTATCTCCTTCTGTCCAGTAG
ActbF	AGCCATGTACGTAGCCATCC
ActbR	CTCTCAGTGTGGTGGTGAA

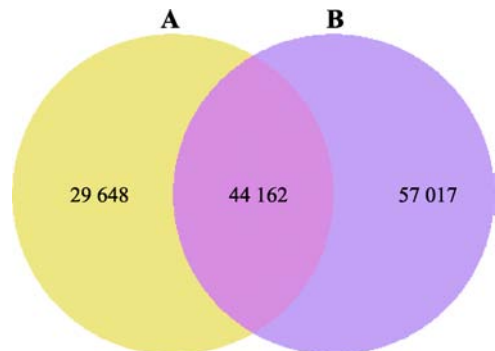


图 1 A 组和 B 组转录本韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of group A and B transcripts

A: 繁殖期; B: 非繁殖期。

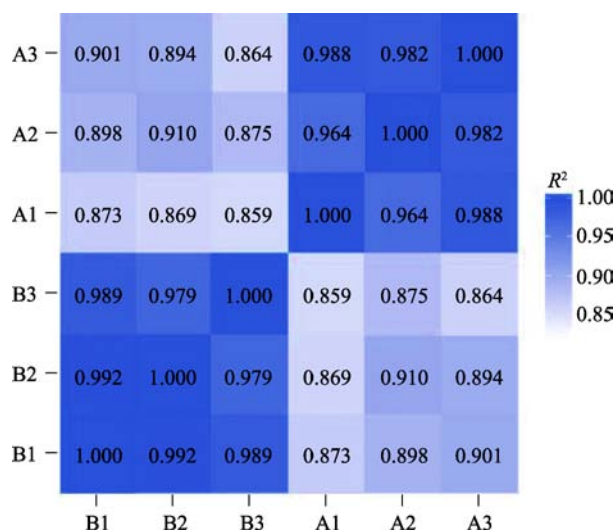


图 2 麝鼠前列腺组织样品间皮尔森相关系数

Fig. 2 The Pearson correlation coefficient between samples of muskrat prostate tissues

A1~A3: 繁殖期麝鼠前列腺组织样品; B1~B3: 非繁殖期麝鼠前列腺组织样品。

表达上调基因共有 837 个, 表达下调基因共有 792 个。

### 2.3 基因分类注释结果

分别在 NR、NT、KO、Swissprot、Pfam、KOG 和 GO 7 个数据库中对 Unigenes 进行注释, 得到注释的 Unigenes 比例分别为 10.60%、34.17%、4.71%、7.89%、7.18% 和 5.48%, 其中至少得到一条注释的 Unigenes 比例为 35.32%。Unigenes 中共有 20 287 条转录本在 GO 数据库中得到了归类注释, 其中显著差异表达基因注释涉及生物学过程、细胞组成和分子功能。繁殖期显著高表达基因注释结果显示, 与氧化还原酶活性、转运活性和底物特异性跨膜转运蛋白活性相关的基因富集最为明显, 同时离子转运条目中也出现显著富集(图 3A)。在非繁殖期显著高表达基因中, 与膜、细胞进程和信号转导相关的基因出现明显富集(图 3B)。

基于 KEGG 通路分析, 发现 Unigenes 中富集于细胞信号转导和翻译这两个通路的基因比例最大, 其中差异表达基因 KEGG 富集散点图结果显示, 大量差异表达基因在多种信号转导通路中被显著富集(图 4)。结合 GO 分析和 KEGG 分析发现, 麝鼠的前列腺组织在繁殖期受到多种机制的调控, 涉及大量

细胞信号转导, 繁殖期显著高表达基因在氧化还原酶活性等条目的显著富集, 提示在繁殖期时麝鼠前列腺合成和分泌功能旺盛。

由于生物学重复样品间的重复性良好, 因此先将繁殖期与非繁殖期生物学重复分别合并, 然后对转录水平存在差异的转录本进行聚类并绘制聚类热图(图 5)。根据图 5 可知, 通过表达模式预测未能得到注释的转录本功能。

### 2.4 qRT-PCR 验证

为验证 RNA-seq 测序结果的可信度, 选择繁殖期和非繁殖期麝鼠前列腺组织中的生长激素受体基因(*GHR*)、气味结合蛋白 2 基因(*OBP2*)、 $\alpha$ -生育酚转运蛋白基因(*TTP $\alpha$* )、肿瘤坏死因子受体超家族成员 4 基因(*TNFRSF4*)和肿瘤坏死因子受体超家族成员 13b (*TNFRSF13b*)基因的转录本进行 qRT-PCR 验证。结果显示: 在繁殖期(A 组), *GHR*、*OBP2* 和 *TTP $\alpha$*  基因的转录水平分别约为非繁殖期的 2.2 倍、163.8 倍和 1.8 倍; 在非繁殖期, *TNFRSF4* 和 *TNFRSF13b* 基因的转录水平分别约为繁殖期的 3.9 倍和 11 倍。*GHR*、*OBP2*、*TNFRSF4* 和 *TNFRSF13b* 基因转录水平差异情况与 RNA-seq 结果相符, 而 *TTP $\alpha$*  差异倍数明显小于 RNA-seq 结果(图 6, 表 3), RNA-seq 测序正确率为 80%。同时对这些基因的 cDNA 进行扩增测序, 测序结果与 RNA-seq 结果经 BLAST 比对后相似度为 100%。因此认为 RNA-seq 测序结果可靠。

## 3 讨 论

本研究构建了麝鼠前列腺组织在繁殖期和非繁殖期的转录组文库, 通过 RNA-seq 测序共筛选出 1629 个显著差异表达的基因, 其中在繁殖期表达上调的基因共有 837 个, 在繁殖期表达下调的基因共有 792 个。对测序结果进行生物信息学分析, 发现麝鼠前列腺组织在繁殖期大量信号转导通路上的相关基因出现明显高表达, 如 Ras 基因超家族中调节囊泡转运的 ADP 核糖基化因子 6 基因(*ARF6*)<sup>[5]</sup>; 在细胞外竞争性的与细胞膜表面 Fz 受体结合, 抑制 Wnt 信号通路激活的分泌型卷曲相关蛋白 5 基因

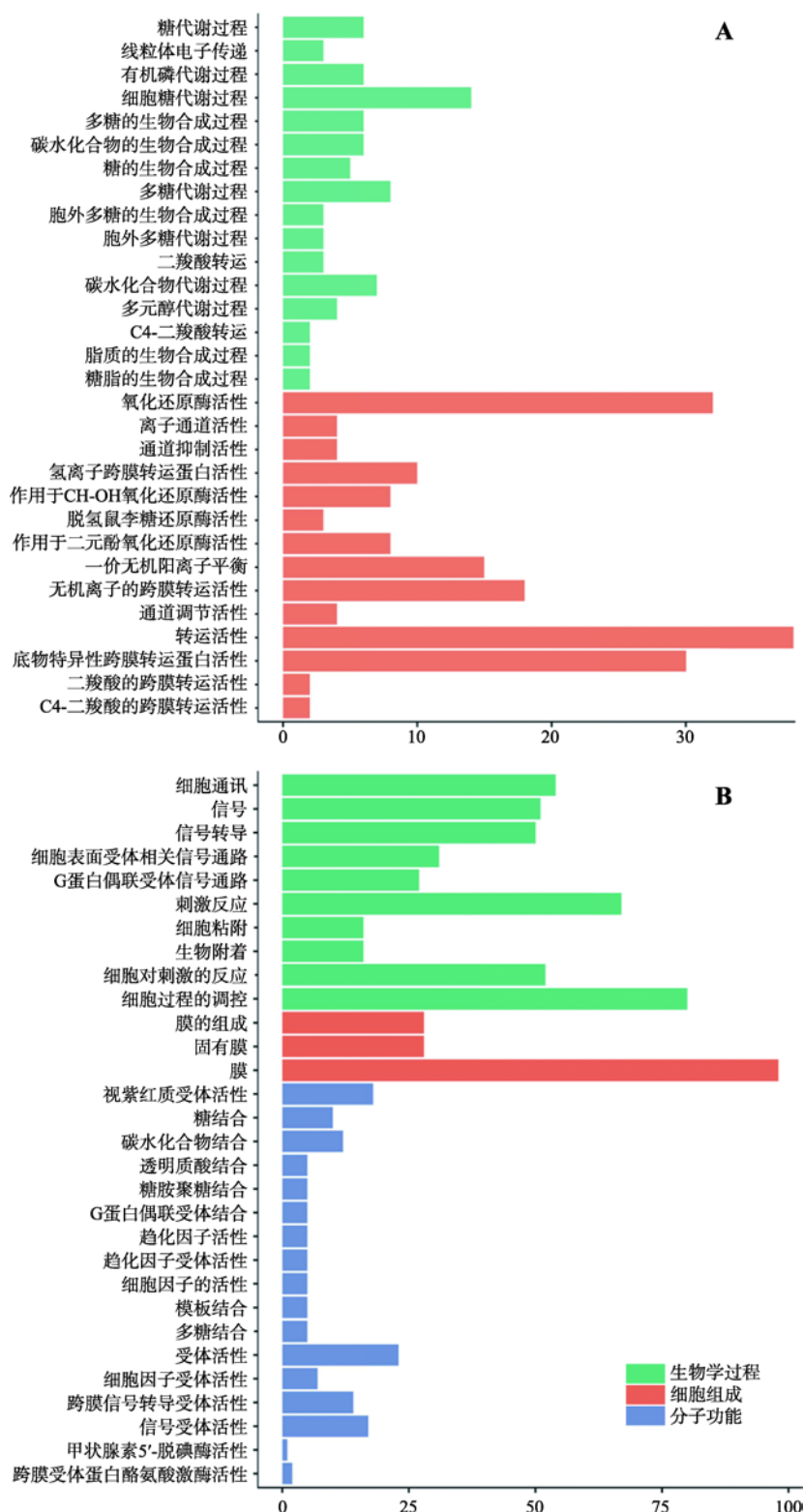


图 3 麝鼠繁殖期和非繁殖期前列腺组织中差异表达基因 GO 富集分析

Fig. 3 GO analysis of differentially expressed genes of muskrat prostate tissues between breeding stage and non-breeding stage

A: 繁殖期高表达基因 GO 富集; B: 非繁殖期高表达基因 GO 富集。Y 轴代表 GO 条目; X 轴代表富集基因数。



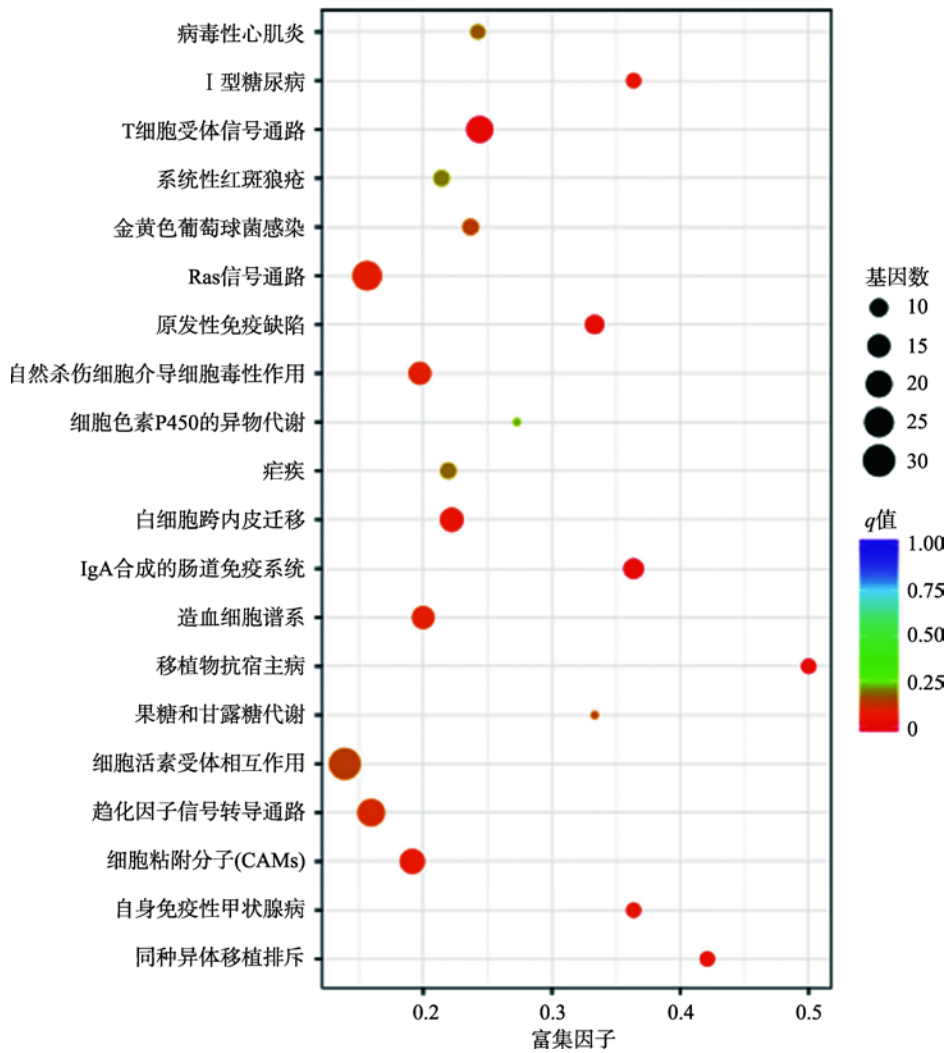


图 4 麝鼠繁殖期和非繁殖期前列腺组织中差异表达基因 KEGG 通路分析  
Fig. 4 KEGG pathway analysis of differentially expressed genes of muskrat prostate tissues between breeding stage and non-breeding stag

X 轴代表富集因子；Y 轴代表 Pathway 名称。气泡大小和颜色分别反映了富集在某通路差异表达基因数量及富集显著性。

(SFRP5)<sup>[6]</sup>。同时，参与三羧酸循环的柠檬酸合酶基因(*citrate synthase*)、线粒体电子传递链的细胞色素 b 基因(*Cytb*)和前列腺特异性酸性磷酸酶基因(*PAP*)等多种氧化还原酶基因和能量代谢相关基因也显著高表达。这些结果提示：在繁殖期，麝鼠的前列腺组织合成和分泌功能旺盛；在非繁殖期，包括死亡受体在内的多种肿瘤坏死因子受体超家族成员的转录水平有所上升，提示肿瘤坏死因子受体超家族在麝鼠前列腺组织非繁殖期的萎缩过程中可能起到了重要的调节作用。

在麝鼠繁殖期和非繁殖期前列腺组织中，Bcl-2/

Bax 基因家族和气味结合蛋白基因(*OBPs*)转录水平出现了显著差异。Bcl-2/Bax 基因家族参与细胞凋亡的调控过程，以 *Bcl-2* 基因为代表的一类基因可以抑制细胞的凋亡，而以 *Bax* 基因为代表的一类基因可以促进细胞凋亡<sup>[7]</sup>。气味结合蛋白(*OBPs*)是在鼻腔上皮细胞中分离发现的，通过 Northern blotting 也已经证明其 mRNA 在鼻腔上皮细胞中表达<sup>[8]</sup>。对昆虫的研究结果表明，*OBPs* 功能是结合并运输亲脂性的气味分子通过感器淋巴液到达膜结合受体<sup>[9]</sup>，且 *OBPs* 对于气味分子的结合情况具有选择性<sup>[10]</sup>，*OBPs* 在昆虫体内很多部位都有表达，故推测 *OBPs*

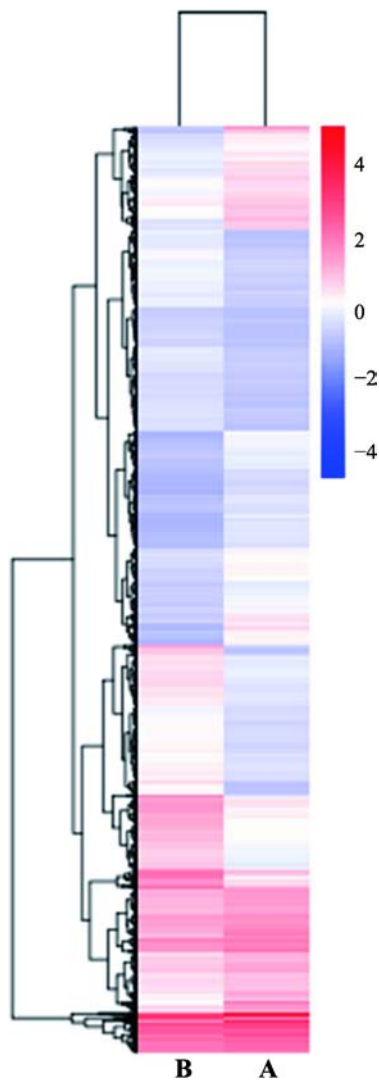


图 5 麝鼠繁殖期和非繁殖期前列腺组织中差异表达基因聚类图

Fig. 5 The clustering maps of differentially expressed genes of muskrat prostate tissues between breeding stage and non-breeding stage

A：繁殖期；B：非繁殖期。

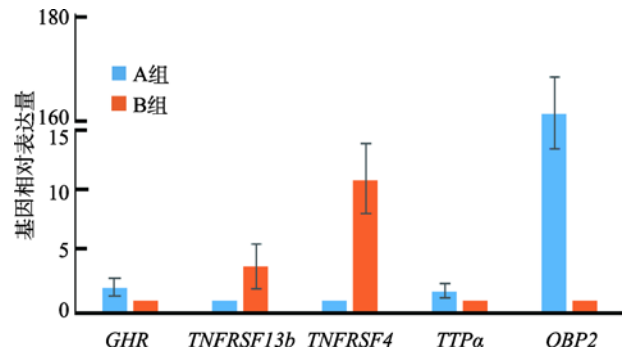


图 6 麝鼠在繁殖期和非繁殖期前列腺组织中 5 个差异表达基因 qRT-PCR 验证

Fig. 6 qRT-PCR verification of five differentially expressed genes between breeding stage and non-breeding stage of muskrat prostatic tissue

A 组：繁殖期；B 组：非繁殖期。

可能具有除嗅觉以外的其他功能<sup>[11]</sup>。因此，麝鼠在繁殖期时前列腺组织中 *OBPs* 基因的高表达提示其在前列腺发育过程中可能存在重要作用。

袁玲等<sup>[12]</sup>研究证明，麝鼠香可以调控 Bcl-2/Bax 蛋白的表达，从而抑制大鼠心肌细胞的凋亡。杨营等<sup>[13]</sup>研究结果显示，雄麝膀胱穿刺所得的尿液样品中含有麝香酮。因此，本文推测麝科动物和麝鼠在繁殖期血液中可能都含有麝香酮。结合 RNA-seq 测序分析结果，推测麝鼠香除了具有外激素的作用，很可能具有调节自身生理过程的作用，麝鼠香中的麝香酮等亲脂性气味分子随血液循环到达前列腺组织，*OBPs* 在这一过程中起到亲脂性气味分子载体的作用，帮助其与细胞膜表面的受体结合，通过调节 Bcl-2/Bax 家族基因的表达，从而调节前列腺组织的发育过程。麝鼠在繁殖期前列腺—精囊腺十分发达，这是否与其自身合成分泌的麝鼠香有关还值得进行

表 3 麝鼠繁殖期和非繁殖期前列腺组织中 5 个转录本的 FPKM 值

Table 3 The FPKM value of five transcripts of muskrat prostate tissues between breeding stage and non-breeding stage

基因	转录本编号	样品					
		A1	A2	A3	B1	B2	B3
<i>GHR</i>	c122040_g9	53.93	63.99	47.55	20.61	26.33	20.61
<i>TNFRSF13b</i>	c109922_g1	3.01	2.98	3.37	9.29	12.09	10.93
<i>TNFRSF4</i>	c115647_g1	1.02	1.75	1.09	10.38	8.97	10.96
<i>TTPα</i>	c119872_g1	14.07	20.35	15.52	3.2	3.96	4.26
<i>OBP2</i>	c75134_g2	3756.43	4587.44	4355.14	16.61	28.71	34.07

深入的研究探讨。目前, 本实验室已经通过实验证明麝鼠香可以抑制麝鼠前列腺细胞的凋亡(待发表), 并将继续进行深入研究来验证以上推测。

本文通过 RNA-seq 测序, 对麝鼠前列腺在繁殖期和非繁殖期的转录组进行差异表达分析, 为深入研究麝鼠前列腺发育机制提供了重要的基础资料。本研究发现的气味结合蛋白等显著差异表达的基因对前列腺发育的调控作用将成为未来研究的重点。

## 参考文献(References):

- [1] 华树芳, 佟煜人. 麝鼠生殖系统解剖及公母的识别. 毛皮动物饲养, 1985, (1): 35-37. [DOI]
- [2] Zhao WG, Chen YS, Zhao M, Li XW, Liu DY. Study on the comparison for the muskrat perfume secretion of fragrant gland cell cultured in vitro and that in nature. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2009, 31(4): 50-53.  
赵伟刚, 陈玉山, 赵蒙, 李晓文, 刘大有. 体外细胞分泌与自然分泌的麝鼠香化学成分比较研究. 特产研究, 2009, 31(4): 50-53. [DOI]
- [3] 陈玉山, 金顺丹, 董万超, 佟煜人, 华树芳, 王琛玲. 麝鼠香对动物生长的影响. 特产研究, 1990, (1): 456. [DOI]
- [4] Lu L. The regulation of sexual steroid hormones to scented glandular functions of Muskrats (*Ondatra zibethicus*) [Dissertation]. Beijing Forestry University, 2014.  
陆路. 性类固醇激素对麝鼠泌香腺功能的调节作用[学位论文]. 北京林业大学, 2014. [DOI]
- [5] Wang L, Su HY, Wang CL, Mu CH. The structure and functional mechanism of ADP-ribosylation factor. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2007, 29(5): 675-681.  
王磊, 宿红艳, 王昌留, 穆春华. ADP 核糖基化因子的结构及其功能机制. 细胞生物学杂志, 2007, 29(5): 675-681. [DOI]
- [6] Bai B, Wu XM, Guo YM, Zhou WC, Li X, Li XY, Ma RH. Secreted frizzled-related protein 5 plays a role in pathogenesis of metabolic diseases through regulating Wnt signaling pathway. *J Lanzhou University (Medical Sciences)*, 2015, 41(1): 14-17, 22.  
白冰, 吴新民, 郭亚明, 周文策, 李汛, 李兴源, 马荣花. 分泌型卷曲相关蛋白 5 通过调控 Wnt 信号通路对代谢性疾病发病的影响. 兰州大学学报(医学版), 2015, 41(1): 14-17, 22. [DOI]
- [7] Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev*, 1999, 13(15): 1899-18911. [DOI]
- [8] Pevsner J, Reed RR, Feinstein PG, Snyder SH. Molecular cloning of odorant-binding protein: member of a ligand and carrier family. *Science*, 1988, 241(4863): 336-339. [DOI]
- [9] Wang B. Mechanism analysis of interaction between olfactory associated protein in *Holotrichia obliqua* (Falderman) [Dissertation]. Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.  
王冰. 华北大黑鳃金龟嗅觉相关蛋白互作机制研究[学位论文]. 中国农业科学院, 2013. [DOI]
- [10] Vogt RG, Prestwich GD, Lerner MR. Odorant-binding protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects. *J Neurobiol*, 1991, 22(1): 74-84. [DOI]
- [11] Zhou JJ. Chapter Ten – Odorant-Binding Proteins in Insects. *Vitamins & Hormones*, 2010, 83: 241-272. [DOI]
- [12] Yuan L, Nan Y, Wu Y. Muskrat musk regulates the expression of Bcl-2/Bax and inhibited apoptosis of myocardial ischemia in rats. *Journal of Ningxia Medical University*, 2010, 32(1): 1-3, 11.  
袁玲, 南一, 吴洋. 麝鼠香调控 Bcl-2/Bax 蛋白表达抑制缺血性大鼠心肌细胞凋亡. 宁夏医科大学学报, 2010, 32(1): 1-3, 11, 插 2. [DOI]
- [13] Yang Y, Cai YH. Study on the new ways of promoting musk yield. *Sichuan Animal & Veterinary Sciences*, 2011, 38(9): 23-25.  
杨营, 蔡永华. 促进麝香增产的新途径研究. 四川畜牧兽医, 2011, 38(9): 23-25. [DOI]

(责任编辑: 吴强)