

绵羊 *APOA4* 基因的生物信息学分析

王国秀, 陈占玉, 黄永亮, 李冲

(甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为进一步探索绵羊 *APOA4* 基因及其编码蛋白的生物学功能, 给 *APOA4* 基因与绵羊健康和生长发育的关系提供依据, 以绵羊载脂蛋白 A-IV(Apolipoprotein A-IV, *APOA4*) 基因为研究对象, 采用生物信息学数据库及分析软件进行生物信息学分析, 预测绵羊 *APOA4* 基因基本结构、理化特性和生物学特征。结果显示, 绵羊 *APOA4* 基因 ORF 编码 380 个氨基酸残基, 编码蛋白为不稳定亲水蛋白, 存在信号肽, 不存在跨膜结构, 为分泌性蛋白, 主要在细胞外发挥生物学作用, 二级结构和三级结构均以 α -螺旋为主。绵羊 *APOA4* 基因编码蛋白与山羊和牛的同源性最高。

关键词: 绵羊; *APOA4* 基因; 生物信息学分析; 载脂蛋白

中图分类号: S826

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2022)07-0072-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2022.07.017

Bioinformatic Analysis of *APOA4* Gene in Sheep

WANG Guoxiu, CHEN Zhanyu, HUANG Yongliang, LI Chong

(College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: To further explore the Apolipoprotein A-IV gene (*APOA4*) functions and the biological characteristics of its encoded protein in sheep and to provide reference for the relationship between *APOA4* and sheep health and development, in this study, the basic structure, physical and chemical characteristics and biological characteristics of sheep *APOA4* were predicted by bioinformatic database and analysis software. The results showed that the ORF of sheep *APOA4* encoded 380 amino acids. The protein encoded by *APOA4* was an unstable hydrophilic protein with signal peptide but no transmembrane structure. It's a secretory protein, which mainly played a biological role in extracellular cells. Both secondary structure and tertiary structure were dominated by α -helix. Sheep *APOA4* had the highest homology with that in the goat and the cattle.

Key words: Sheep; *APOA4* gene; Bioinformatic; Apolipoprotein

载脂蛋白(Apolipoprotein, APO)是构成血浆脂蛋白的蛋白质组分, 基本功能是运载脂类物质及稳定脂蛋白的结构, 在血浆脂蛋白的代谢中能促进脂类运输并调节酶活性^[1]。其主要在肝脏和小肠中合成, 可分为 A、B、C、D、E 五类, 能够影响血脂代谢和利用, 从而引起冠心病、糖尿病等的发生^[2]。

载脂蛋白 A-IV(Apolipoprotein A-IV, *APOA4*) 是 1974 年由 Swaney 等人在大鼠的高密度脂蛋白中首次发现的, 经过水解后生成酸性糖蛋白, 主要存在于乳糜微粒、极低密度脂蛋白和高密度脂蛋白中^[3-4]。*APOA4* 基因与 *APOA1* 和 *APOC3* 基因连锁^[5]。众多研究表明, *APOA4* 基因上的多态

现象与血糖、血浆脂蛋白、胆固醇以及甘油三酯等的水平相关, 也有研究发现 *APOA4* 基因多态性变异可能会影响胆固醇的吸收和分解^[6]。另外, *APOA4* 基因的缺陷可直接导致血浆中的载脂蛋白 A-IV 水平的下降或活性的改变, 其他一些脂蛋白和胆固醇的水平相应升高, 从而大大提高患高脂蛋白血症和冠心病的风险^[2]。近年来, 学者研究还发现, 除小肠以外脂类的吸收还可以刺激下丘脑合成 *APOA4*^[5]。

脂质代谢和能量平衡是羊生长发育的重要限制因素, 同时绵羊肌肉脂肪的沉积受肌肉组织中代谢酶和功能基因的调控, 深入全面地了解绵羊脂肪代谢和肌肉脂肪沉积的机制及影响因素, 对

收稿日期: 2022-05-15

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(31660670)。

作者简介: 王国秀(1987—), 女, 甘肃天水人, 实验师, 主要从事绵羊生产研究与教学工作。联系电话: (0931)7631225。Email: wanggx@gsau.edu.cn

通信作者: 李冲(1986—), 男, 甘肃平凉人, 副教授, 主要从事绵羊生理与营养研究工作。Email: lichong@gsau.edu.cn。

生产高品质肉产品至关重要^[7]。APOA4 基因作为载脂蛋白家族基因成员,有可能对绵羊脂类代谢和能量平衡发挥重要作用。但目前对 APOA4 基因的研究大多局限于人类医学,而绵羊 APOA4 基因方面的研究和分析较少。有研究通过转录组测序发现热应激条件下湖羊肝脏的差异表达 lncRNA Lnc_001782 可能正向影响 APOA4 的表达,共同调节肝脏功能^[8]。但专门针对绵羊 APOA4 基因及其编码产物理化特性和生物功能的研究未见报道。生物信息学是利用数学方法处理和分析生物数据,基于人们现有对分子生物学的认识和构建生物模型,进而分析其生物学特性的方法^[9-10]。我们用生物信息学方法对绵羊 APOA4 基因及其编码产物的理化性质、序列特征、蛋白质结构以及生物学功能进行分析,以期为进一步探索 APOA4 基因及其编码蛋白的生物学功能,以及 APOA4 基因和绵羊健康与生长发育的关系提供线索。

1 材料与方法

1.1 序列来源

从美国国立生物技术信息中心(NCBI)GenBank 数据库中检索绵羊、山羊、牛、马、猪、鸡、人、猫、狗、小鼠、兔、鸭等 12 个物种的 APOA4 基因 mRNA 序列。物种名称及 GenBank 登录号见表 1。

表 1 12 个物种 APOA4 基因的 GenBank 登录号

物种	登录号
绵羊	XM_004016047.5
鸡	NM_204938.3
人	NM_000482.4
牛	NM_001037480.1
猪	NM_214388.1
狗	XM_038664797.1
鸭	XM_021270123.3
马	XM_001502453.4
兔	NM_001171410.1
小鼠	NM_007468.2
山羊	XM_005689482.3
猫	XM_019811320.3

1.2 研究方法

绵羊 APOA4 基因开放阅读框 (Open reading frame, ORF) 采用 ORFfinder 程序预测 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder>), APOA4 基因编码产物的理化性质采用 Bioedit 程序分析 (<https://www.expasy.org/resources/protparam>), 蛋白潜在信号肽剪切位点采用 Signalp 3.0 程序分析 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-3.0>), 蛋白跨膜螺旋结构采用 TMHMM Server v. 2.0 程序分析 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM>), 蛋白保守结构域采用 Smart 程序分析 (<http://smart.embl-heidelberg.de>), 蛋白亲疏水性采用 ProtScale 工具分析 (<http://ca.expasy.org/tools/protscale.html>)。不同物种间多序列比对和同源性分析采用 DNAMAN 软件完成。蛋白二级结构采用 Jpred 软件分析预测, 蛋白三级结构采用 Swiss-model 软件分析预测。

2 结果与分析

2.1 绵羊 APOA4 基因开放阅读框分析

从 ORF 分析结果可以看出(图1), 绵羊 APOA4 基因序列共识别出 4 个 ORF。其中 ORF2 有 1 143 bp, 起始密码子位于 201 bp 处, 终止密码子位于 1 343 bp 处, 推测其编码 380 个氨基酸残基。

2.2 APOA4 蛋白基本理化性质分析

蛋白质的基本性质包括其相对分子质量、氨基酸组成、等电点基因编码产物半衰期和不稳定指数等^[9]。对绵羊 APOA4 蛋白的理化性质进行分析, 结果表明绵羊 APOA4 蛋白共 380 个氨基酸, 其分子式为 C₁₈₈H₃₀₅₁N₅₃₅O₅₉₄S₅, 分子质量为 42 825.44 kDa, 理论等电点 pI 为 5.36。其氨基酸组成如表 2 所示, 其中含量最多的是 Leu (亮氨酸), 所占比例为 13.66%; 含量最少的是 Cys (胱氨酸), 含量为 0。负电荷残基总数 (Asp+Glu) 为 59, 正电荷残基总数 (Arg+Lys) 为 48。基因编码产物半衰期为 30 h, 不稳定指数为 53.11, 不稳定指数为 53.11 > 40.00, 属不稳定蛋白。

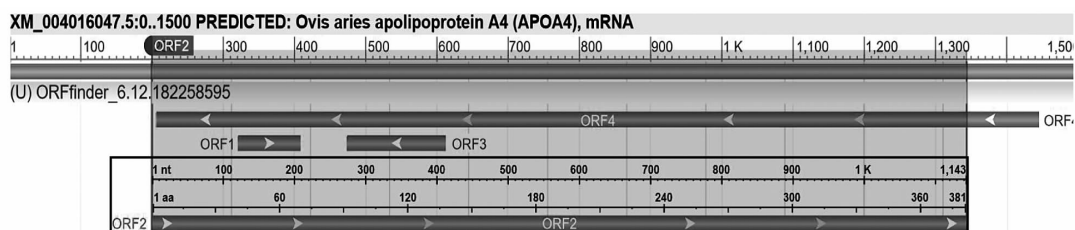


图 1 绵羊 APOA4 基因序列的 ORF 分析

表2 绵羊 APOA4 基因编码蛋白的氨基酸组成

氨基酸	比例 /%	氨基酸	比例 /%	氨基酸	比例 /%
Ala	9.21	Gly	4.74	Pro	3.95
Arg	5.53	His	1.84	Ser	5.00
Asn	3.42	Ile	1.84	Thr	4.74
Asp	4.74	Leu	13.66	Trp	0.26
Cys	0	Lys	7.11	Tyr	2.11
Gln	9.74	Met	1.32	Val	7.37
Glu	10.79	Phe	2.63		

2.3 绵羊 APOA4 蛋白亲/疏水性分析

通过 ProtScale 工具分析 APOA4 基因编码蛋白质的亲疏水性。结果(图2)表明,该基因编码蛋白疏水性最大值为 2.978(第9位),最小值为 -2.522(第97位)。多数位点疏水性值为负值,即该基因编码的蛋白属于亲水蛋白。

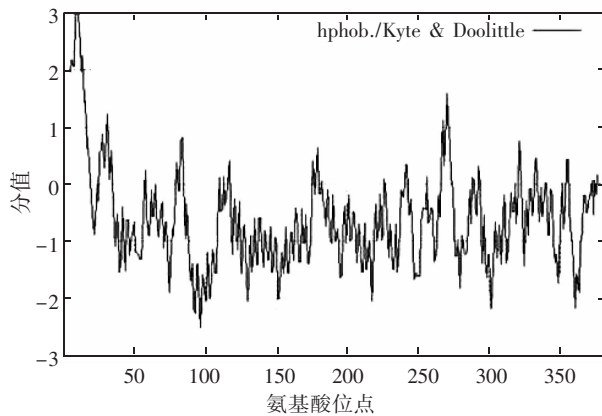


图2 绵羊 APOA4 基因编码蛋白质疏水性/亲水性预测分析

2.4 绵羊 APOA4 蛋白潜在信号肽剪切位点预测

信号肽序列是起始密码子后一段编码疏水性氨基酸序列的 RNA 区域,负责把蛋白质引导到细胞含不同膜结构的亚细胞器内,或被分泌到细胞外发挥功能^[11]。通过 Signalp 3.0 程序分析检测绵羊 APOA4 蛋白潜在信号肽的存在情况,分析 APOA4 基因编码产物是否是分泌蛋白和跨膜蛋白以及跨膜蛋白的基本信息。从绵羊 APOA4 基因蛋白潜在信号肽剪切位点分析结果可以看出(图3),

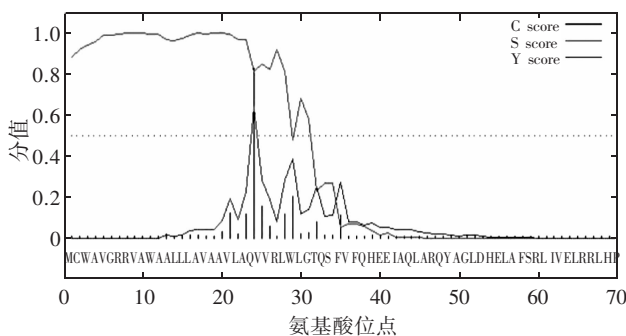


图3 绵羊 APOA4 蛋白潜在信号肽剪切位点分析

该基因编码产物的 C 值、Y 值和 S 值分别为 0.826、0.638 和 0.999,绵羊 APOA4 蛋白存在信号肽剪切位点,位于第 23 和第 24 个氨基酸之间(VLA-QVV)。

2.5 绵羊 APOA4 蛋白跨膜螺旋结构预测

从 TMHMM 2.0 软件的分析结果可以看出(图4),APOA 蛋白没有跨膜螺旋结构,所有序列均在膜外,该序列编码的是分泌性蛋白。

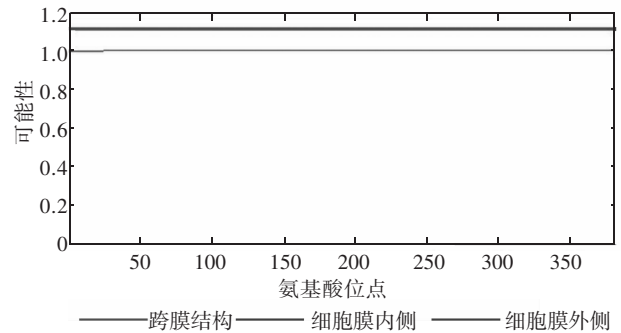


图4 绵羊 APOA4 蛋白跨膜螺旋结构分析结果

2.6 绵羊 APOA4 蛋白亚细胞定位预测

从绵羊 APOA4 蛋白的亚细胞定位预测结果可以看出(表3),绵羊 APOA4 蛋白分布于细胞外的可能性为 66.77%,分布于细胞质的可能性为 11.1%,分布于内质网的可能性为 11.1%,分布于液泡的可能性也为 11.1%。由此推断,绵羊 APOA4 基因编码蛋白为胞外蛋白,主要在细胞外发挥生物学作用。

表3 绵羊 APOA4 蛋白质亚细胞定位预测分析

亚细胞分布	概率 /%
细胞质	11.1
内质网	11.1
液泡	11.1
细胞外	66.77

2.7 绵羊 APOA4 蛋白结构域分析

通过 Smart 软件分析,绵羊 APOA4 蛋白包含 3 个结构域(图5)。其中第 1 个结构域位于第 3~18 位,为低复杂性结构域(low-complexity domain);第 2 个结构域和第 3 个结构域分别位于 83~114 和 237~265 位,为卷曲螺旋结构域(coiled coil)。

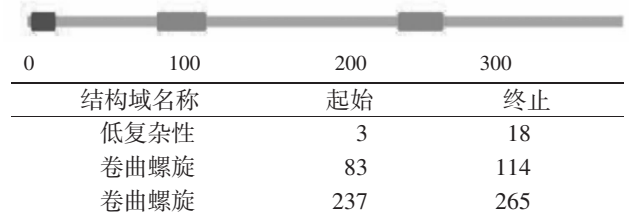


图5 绵羊 APOA4 蛋白保守结构域分析

2.8 绵羊 APOA4 编码产物的同源性分析及系统发育分析

采用 DNAMAN 软件对绵羊、山羊、牛、马、猪、鸡、人、猫、狗、家鼠、兔和野鸭 APOA4 蛋白进行多序列比对, 结果如图 6、图 7 所示。

APOA4 基因在这 12 个物种中均有表达, 且绵羊与牛和山羊的 APOA4 蛋白氨基酸序列同源性较高(图6)。APOA4 编码产物同源树也表明(图7), 在分析中选取的 12 个物种中, 绵羊、山羊和牛的 APOA4 蛋白氨基酸序列同源性最高。

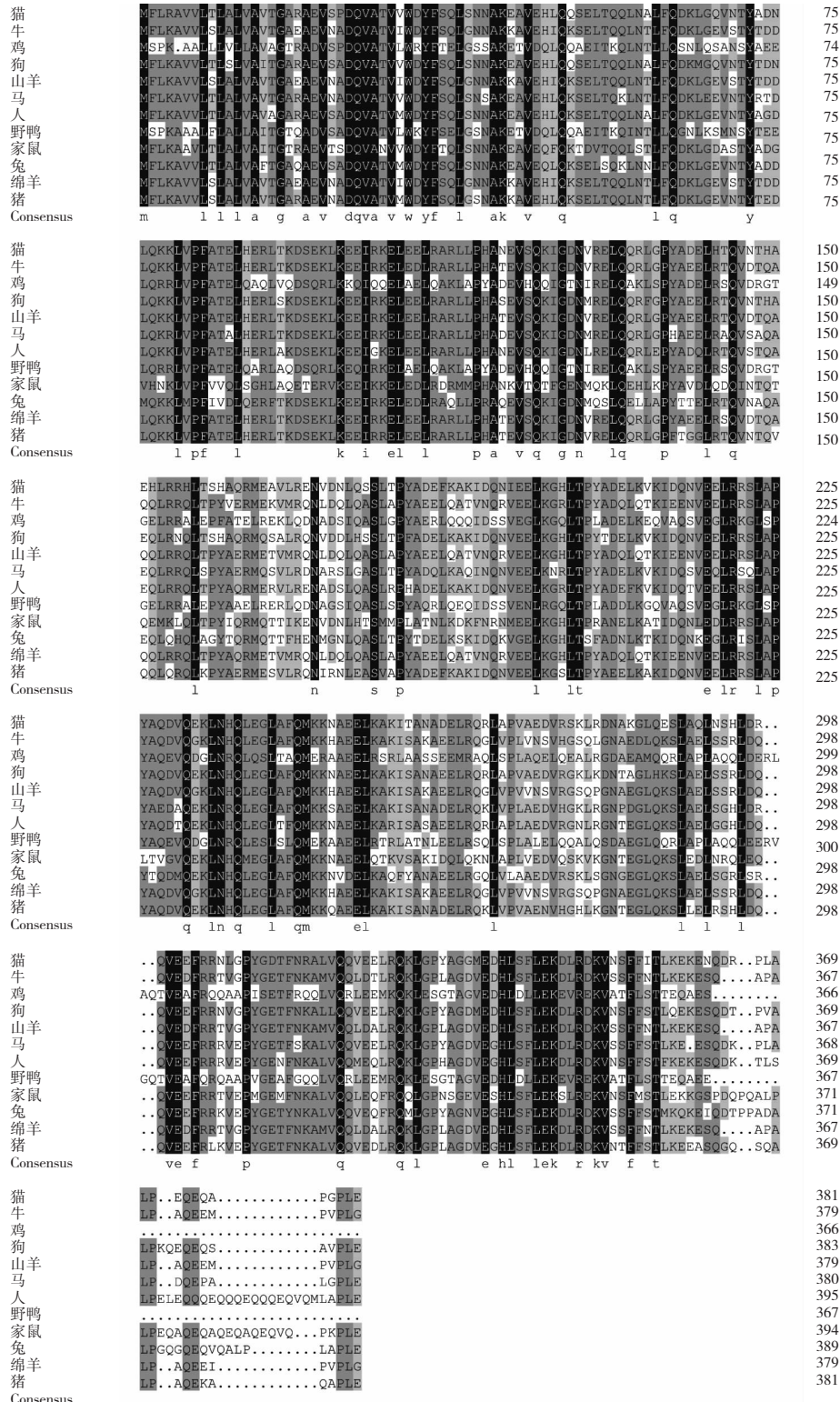


图 6 12 个物种的 APOA4 基因编码序列比对

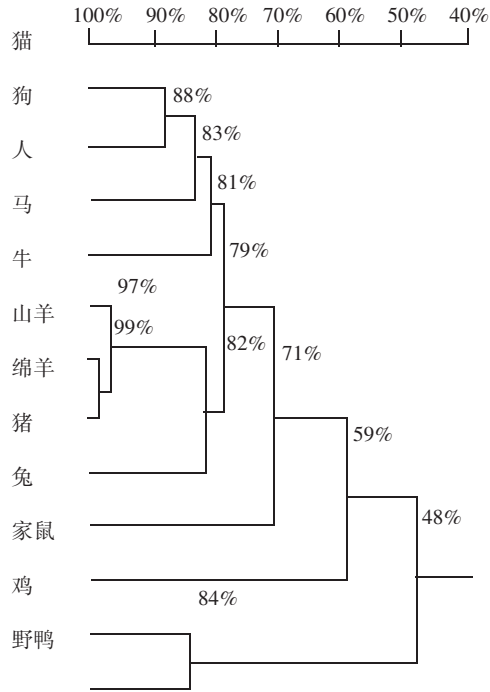


图7 12个物种的APOA4基因编码产物序列的同源树

2.9 绵羊APOA4蛋白二级结构的预测

二级结构(secondary structure)是蛋白质分子中的局部区域内氨基酸残基的有规则的排列[10]。通过Jpred软件分析可知(图8),绵羊APOA4蛋白二级结构α-螺旋(α-helix, Hh)和无规卷曲(random coil, Cc)分别占比98.16%和1.84%,不存在β-折叠。即绵羊APOA4蛋白的二级结构以α-螺旋为主。



图8 绵羊APOA4蛋白二级结构预测

2.10 绵羊APOA4蛋白三级结构预测与分析

三级结构(tertiary structure)是指蛋白质在二级结构基础上的进一步折叠,通过将二级结构元素组装在一起形成每个蛋白质特有的三维构象[12]。由分析结果可知(图9),APOA4蛋白的三级结构主要由α-卷曲折叠缠绕形成。



图9 APOA4蛋白的三级结构的分析结果

3 小结与讨论

对绵羊APOA4基因生物信息学的分析结果表明,绵羊APOA4基因的ORF编码380个氨基酸残基,编码蛋白分子质量为32 825.44 kDa,理论等电点为5.36,为不稳定的亲水蛋白;存在信号肽,不存在跨膜结构,为分泌性蛋白,主要在细胞外发挥生物学作用。二级结构和三级结构都以α-螺旋为主,与山羊和牛的同源性最高。

绵羊作为草食反刍动物,体内能量平衡对于健康和生长发育非常关键,而脂质的吸收、转运和代谢是能量平衡的重要组成部分。APOA4作为载脂蛋白家族的一员,在人类医学的研究中已发现它具有许多生理功能,包括体外激活卵磷脂-胆固醇酰基转移酶和胆固醇转移蛋白;在小鼠动物模型中发挥食欲和饱足调节作用,在体外和小鼠动物模型中显示抗氧化和抗动脉粥样硬化特性,以及调节肠细胞和肝细胞间脂质转运的效率的作用[13-14]。本研究表明,绵羊APOA4基因编码蛋白分子质量为32 825.44 kDa,理论等电点为5.36,为酸性亲水性蛋白。载脂蛋白的主要功能是作为脂蛋白的结构成分,赋予脂质以可溶的形式,通过血液和淋巴运输脂质,此外还可作为细胞表面受体的配体和酶的辅助因子[15]。本研究下APOA4蛋白的理化特性和亲疏水性与载脂蛋白的主要功能是一致的,能够实现引导血浆脂蛋白同细胞表面受体结合的基本功能要求。

本研究表明,APOA4蛋白为不稳定蛋白。蛋白质的稳定性指的是蛋白质抵抗各种因素的影响,保持其生物活力的能力,蛋白质的稳定性通常由蛋白质的空间结构决定。近年来有研究认为,当系统的自由度很低时,蛋白质的功能敏感性和稳定性之间不存在矛盾[16]。蛋白质在发挥功能时

候,常常对于外界的扰动和噪声有高度的敏感性,甚至表现出类似于临界态的高敏感性特征,并能根据外界环境中的扰动做出相应的构象变化^[17];与此同时,蛋白质分子在面临着内部的扰动时,常常表现出较高的稳定性。蛋白质的结构相对不稳定,意味着对环境或突变敏感,也意味着随环境变化状态的可塑性,有可能与蛋白质分子的生物学功能有关。本研究下 APOA4 蛋白的三级结构主要由 α 卷曲折叠缠绕形成,较高的不稳定指数与该蛋白调节脂质代谢效率和能量平衡等生物学功能的关系仍需进一步研究。

本研究表明, APOA4 蛋白存在信号肽及剪切位点,没有跨膜螺旋结构,亚细胞定位预测分析也表明该蛋白主要在细胞外发挥生物学作用。根据以上生物信息学分析结果,推测 APOA4 为分泌性蛋白, APOA4 基因在翻译时首先合成的是 N 末端带有疏水氨基酸残基的信号肽,被内质网膜上的受体识别并与其相结合,信号肽经由膜中蛋白质形成的孔道到达内质网腔,随即被位于腔表面的信号肽酶水解;由于信号肽的引导,新生的肽链通过内质网膜进入腔内,加工后成熟的蛋白质再以液泡运至细胞膜,以胞吐的方式运出细胞外,在细胞外发挥生物学功能^[18]。结合 APOA4 的弱酸性和亲水性特征,推测 APOA4 分泌到细胞外与脂类结合,其亲水性特征赋予脂类可溶的形式,从而促进脂类的运输,并可能具有引导血浆脂蛋白与细胞表面受体结合的作用。有研究认为猪 APOA1 存在跨膜螺旋结构,为跨膜蛋白,且不存在信号肽^[19],与本研究结果不一致;但更多的研究表明载脂蛋白主要在肝脏和小肠合成,作为分泌性蛋白进入血液,构成血浆脂蛋白的重要组分,在血浆脂质运输和脂质代谢中发挥重要作用,与本研究预测的绵羊 APOA4 蛋白的上述特征相符合。

本研究下绵羊 APOA4 基因序列与山羊和牛的同源性较高,这也说明它们在进化过程具有较近的亲缘关系。绵羊、山羊和牛均为反刍动物,脂质代谢方式具有较高的相似性。反刍动物日粮中通常脂质含量较低,脂质在瘤胃中会在微生物作用下被广泛水解为游离脂肪酸和甘油,不饱和脂肪酸会涉及微生物的生物氢化作用,同时小肠内的脂肪酶相对于猪、禽等单胃动物通常活性较低^[20]。本研究表明了绵羊 APOA4 基因与禽类的同源性较低。不同物种间有可能是脂肪消化代谢

的方式导致的自然选择过程中 APOA4 基因在进化中出现了变异,但具体的进化机制,以及差异位点对该基因在脂肪代谢中发挥的生物学功能的影响和相关机理仍需进一步研究。

APOA4 基因作为载脂蛋白基因家族的成员,有可能对绵羊脂质代谢和能量平衡具有重要作用。以 APOA4 基因作为绵羊抗应激能力的分子标记选育开展分子标记辅助选育,有可能加快绵羊育种进程,改善绵羊饲料利用效率,提高生产性能。然而 APOA4 基因编码蛋白的生物学功能、表达调控以及 APOA4 基因多态性与绵羊健康与生长发育的关系仍有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 付琳,李瑾.载脂蛋白基因多态性与冠心病发病风险关系的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(4):667-672.
- [2] 胡维诚.载脂蛋白与载脂蛋白病[J].山东医药,1988(2):42-43.
- [3] 刘鑫,李剑,刘娜,等. ApoA IV 在早孕期小鼠和女性妊娠不同时期的变化规律及其作用[J].重庆医科大学学报,2017,42(8):929-935.
- [4] SWANEY J B, REESE H, EDER H A. Polypeptide composition of rat high density lipoprotein: Characterization by SDS-gel electrophoresis[J]. Biochemical and biophysical research communications, 1974, 59(2): 513-519.
- [5] 欧华静. APOA5/A4/C3/A1 基因簇及 APOB 基因多态性与血脂紊乱的关系[D]. 石河子:石河子大学,2014.
- [6] WEINBERG R B, GEISSINGER B W, KASALA K, et al. Effect of apolipoprotein A-IV genotype and dietary fat on cholesterol absorption in humans[J]. Journal of lipid research, 2000, 41(12): 2035-2041.
- [7] 李鹏涛,范逸婷,张宁宁,等.影响牛羊肌内脂肪沉积因素的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2021(5):48-52.
- [8] LI Y, KONG L, DENG M, et al. Heat stress-responsive transcriptome analysis in the liver tissue of Hu sheep[J]. Genes, 2019, 10(5):.
- [9] 张小雪,李发弟,王维民.绵羊 ANXA10 基因生物信息学分析[J].甘肃农业科技,2016(6):5-8.
- [10] 张司龙,张小雪,宋其志,等.绵羊 RXRG 基因的生物信息学分析[J].甘肃农业科技,2020(2-3):31-37.
- [11] 叶方寅.信号肽假说的提出及证实[J].国外医学分子生物学分册,1999,21(6):377-379.
- [12] 孔繁良.基于二级结构的蛋白质三级结构预测[D].济南:济南大学,2016.
- [13] ELSHOURBAGY NA, WALKER DW, PAIK YK, et al. Structure and expression of the human apolipoprotein

牛结节性皮肤病全球流行现状及免疫策略

李 伟

(郸城县农业农村局, 河南 郸城 477150)

摘要: 牛结节性皮肤病 (LSD) 是由牛结节性皮肤病病毒感染引起牛的一种急性、亚急性传染病。我国于 2019 年 8 月首次在新疆伊犁发现, 并在短时间内蔓延到数个省份, 目前对我国养牛业造成严重影响。为了给我国 LSD 的防控提供借鉴, 保障我国畜牧业的健康发展, 通过查阅文献资料, 梳理了牛结节性皮肤病病原学、全球流行现状、免疫策略等方面的研究, 并提出了今后防控牛结节性皮肤病(LSD)的研究方向。

关键词: 牛结节性皮肤病; 流行病学; 免疫策略

中图分类号: S823; S851.31

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2022)07-0078-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2022.07.018

Global Epidemic Status and Immunization Strategy of Lumpy Skin Disease

LI Wei

(Bureau of Agriculture and Rural Affairs of Dancheng County, Dancheng Henan 477150, China)

Abstract: Lumpy skin disease (LSD) is an acute and subacute infectious disease of cattle caused by lumpy skin disease virus (LSDV). In August 2019, China reported the first outbreak of LSD in Yili, Xinjiang, and it spread to several provinces in a short period of time, which had severe damage on cattle industry. To provide reference for the prevention and control of LSD and to sustain the healthy development of cattle industry in China, by sorting out the etiology, global epidemic status, and vaccine immunization strategies of this disease, research orientation for the prevention and control of LSD was proposed in this paper.

Key words: Lumpy skin disease; Epidemiology; Immunization strategy

牛结节性皮肤病(Lumpy skin disease, LSD)又被称为牛疙瘩性皮肤病、牛结节性皮炎和牛结节疹, 是由痘病毒科羊痘病毒属中的牛结节性皮肤病病毒(Lumpy skin disease virus, LSDV)感染引起牛的一种急性、亚急性传染病。世界动物卫生组织(WHO)将其列为法定报告的动物疫病, 我国农业农村部暂时将其作为二类动物疫病管理, 并采取

相应的防控措施。2019年8月我国首次在新疆维吾尔自治区伊犁州确诊暴发LSD疫情, 并在短时间内波及数省, 给我国养牛业造成严重经济损失^[1]。目前该病已在我国周边印度、尼泊尔、不丹等东南亚国家流行^[2]。鉴于该病在国外流行长达接近百年的历史, 有的国家和地区通过疫苗免疫措施并一度消除了LSD疫情。现对LSDV的病原及在

收稿日期: 2022-02-20

作者简介: 李 伟(1979—), 女, 河南郸城人, 高级兽医师, 主要从事动物防疫和畜产品安全监管以及畜牧兽医技术推广工作。联系电话: (0)13608429667。Email: 1277796735@qq.com。

- tein A-IV gene[J]. J Biol Chem. 1987, 262(17): 7973-7981.
- [14] 李 慧. 中国居民血清 apoA-IV 水平及其与肥胖的关系[D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [15] RAMASAMY I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism[J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(12): 1695-1727.
- [16] TANG QY, HATAKEYAMA T, KANEKO K. Functional sensitivity and mutational robustness of proteins [J]. Phys Rev Research, 2020(2): e033452.
- [17] TANG QY, ZHANG YY, WANG J, et al. Critical fluctuations in the native state of proteins[J]. Physical Review Letters, 2017, 118(8): e088102.
- [18] OWJI H, NEZAFAT N, NEGANDARIPOUR M, et al. Comprehensive review of signal peptides: Structure, roles, and applications[J]. European Journal of Cell Biology, 2018, 97(6): 422-441.
- [19] 张名媛, 韦东力, 司景磊, 等. 广西巴马小型猪 *ApoA1* 基因克隆及其生物信息学分析[J]. 南方农业学报, 2019, 50(6): 1339-1346.
- [20] 穆淑琴, 滕佳伍. 反刍动物脂类营养研究进展[J]. 饲料研究, 2007(12): 13-17.