畜牧兽医学报 2009,40(6):855-861
Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica

肉种鸡饲养方式对子代胚肝蛋白表达谱的影响

黄建珍[1,2]，唐 雪[1]，阮记明[2]，马海田[1*]，邹思湘[1]
(1.南京农业大学动物医学院，南京 210095；2.江西农业大学动物科技学院，南昌 330045)

摘 要：挑选40周龄体况良好的产蛋三黄肉种鸡200只，随机分为对照组(笼养)和试验组(平养)，饲喂相同的肉种鸡日粮。收集受精种蛋各300枚并孵化，分别取9、14、19胚龄和出壳时的肝脏，经2D-PAGE分离后，对经胶体考马斯亮蓝G-250染色的图像用PDquest7.3软件进行差异表达分析，取差异表达的蛋白质斑点进行胶内酶切和MALDI-TOF-MS分析。结果表明，试验组和对照组在9、14和19胚龄时，胚质量和肝质量均无显著差异；出壳时，试验组胚质量、肝质量均显著小于对照组($P<0.05$)。蛋白表达谱分析发现29个在试验组和对照组间表达量存在两倍以上差异的蛋白斑点，其中22个得到鉴定。在这些被鉴定的蛋白中，大多涉及到机体内基础代谢的酶、能量产生及信号传导等。

关键词：肉鸡；饲养方式；2D-PAGE
中图分类号：S831.4 **文献标识码**：A **文章编号**：0366-6964(2009)06-0855-07

Effect of Maternal Rearing on the Proteins Profiles of Liver in Offspring Broiler during Embryonic Development

HUANG Jian-zhen[1,2], TANG Xue[1], RUAN Ji-ming[2], MA Hai-tian[1*], ZOU Si-xiang[1]
(1. *College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing* 210095, *China*; 2. *College of Animal Science, Jiangxi Agricultural University, Nanchang* 330045, *China*)

Abstract: Forty-week healthy Sanhuang (SH) broilers were randomly divided into floor-reared (treatment) and cage-reared groups (control), and feed with the same diet. During the experimental period, 300 fertile eggs were randomly collected from each group and directly incubated in an electric forced-draft incubator. Livers were collected on day-9, 14, 19 of incubation and the hatching, respectively. Proteins were extracted and separated by 2D-PAGE and stained with colloidal Coomassie Brilliant Blue. Then, the stained gels were scanned and analyzed using PDQuest7.3 software. The differential protein spots with in-gel trypsin digestion were subsequently identified by MALDI-TOF-MS. The results indicated that the embryo and absolute liver weight of floor-reared group was significantly lower than that of the control at hatching, although no significant differences were observed in both embryo and absolute liver weight between the floor-reared group and the control on day 9, 14 and 19 of embryonic development. The result of offspring broiler liver protein profiles showed that twenty-nine proteins had expressed at least 2.0-fold variance compared to the control during embryonic development and twenty-two of them were identified. Most of these proteins were highly related to carbohydrate metabolism, energy production and signal transduction.

Key words: broilers; rearing; 2D-PAGE

收稿日期：2008-05-22
基金项目：国家重点基础研究发展规划项目(2004CB117505)；(973计划项目)国家自然科学基金项目(30600439)资助
作者简介：黄建珍(1974-)，女，博士生，主要从事动物营养生理生化研究，E-mail：hjzh0722@yahoo.com.cn
* **通讯作者**：马海田，E-mail：mahaitian@njau.edu.cn

自上世纪八十年代开始，为了满足市场对鸡肉产品数量的需求，养殖业为了提高肉鸡生产性能和产品数量，肉鸡的饲养从原来的传统饲养方式逐渐向集约化方向发展。目前肉种鸡饲养主要有笼养和平养两种方式，平养是传统的肉鸡饲养方式；笼养是肉鸡行业近几年来发展起来的一种饲养方式。平养的活动空间大，能量消耗多，脂肪氧化能力增强。然而，违反动物福利原则的高密度笼养，由于其活动空间狭小，肉鸡长期处于应激状态，加之运动量小，能量主要贮存在体内，因而导致肉鸡免疫力下降及肉产品品质的下降[1]。与平养肉种鸡相比，笼养肉种鸡种蛋破壳率减少，产蛋数增加，产蛋性能提高[2-3]。李晓伟[4]指出，笼养受精率比平养显著高 4.7%。孟长泽等[5]报道，采用笼养方式生产肉种鸡死淘率低、平均受精率高、后期产蛋下降缓慢。研究表明，运动量的增加导致机体脂肪沉积的减少，同时胸肌率、腿肌率也会明显增加，这是因为运动时的能量代谢显著增加，而脂肪是机体运动中最主要的能量来源[6]。鸡胚在封闭的蛋壳中发育，是脊椎动物胚体发育研究的主要模式材料，其生长发育所需能量的90%来自其卵黄中的脂类，而肝脏是其脂类代谢的重要器官。

目前的研究多集中在饲养方式对屠宰性能、肌肉常规品质等肉鸡生产性能方面的影响。饲养方式对肉鸡子代胚胎时期肝脏蛋白表达影响的研究尚未见报道。本试验以三黄肉鸡为试验动物，研究笼养和平养方式对子代胚胎期肉种鸡肝脏蛋白表达谱的影响，旨在分析肉种鸡饲养方式对子代胚胎期肉鸡肝脏脂类代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

二硫苏糖醇(DTT)、胰蛋白酶为 Promega 公司产品；CHAPS、载体两性电解质(CA)、碘乙酰胺(IAM)、IPG 胶条、尿素、矿物油为 Bio-Rad 公司产品；牛血清白蛋白(BSA)、三氟乙酸(TFA)、碳酸氢铵、蛋白酶抑制剂(Protease Inhibitor Cocktail Set III)购自 Sigma 公司；乙腈(ACN)为 Fisher 公司产品；考马斯亮蓝 G-250 购自 Amresco；其它试剂均为分析纯。

1.2 试验材料

挑选 40 周龄体况良好的产蛋三黄肉种鸡 200 只，随机平均分为对照组(笼养，CR)和试验组(平养，FR)，饲喂肉种鸡的日粮按《国际肉种鸡营养水平》配制，饲养于江苏无锡祖代种鸡场。预试 2 周后开始收集种蛋，每组随机选择 300 枚进行编号，置实验室内进行孵化，温度为 37.6 ℃，相对湿度为 50%～70%。

入孵后 24 h 定为 1 胚龄(E1)，出生 24 h 内定为 1 日龄(H1)。分别于 E9、E14、E19 及 H1 取其肝脏，每个胚龄每个处理各取 30 个胚肝，并用预冷生理盐水洗 3 次，于液氮中冻存后转到－80 ℃冰箱中保存。

1.3 蛋白质样品制备

取 E9、E14、E19 及 H1 肝脏组织(各组各胚龄分别挑选肝质量较均一的胚肝 15 个)，分别用含 PMSF 的预冷生理盐水冲洗 3 次，每个组的每个胚龄挑选出的 15 个胚肝混合，按 1∶5(W/V)加入适量裂解液(7 mol・L^{-1} 脲，2 mol・L^{-1} 硫脲，2% CHAPS，50 mmol・L^{-1} DTT，0.8% CA，1 mmol・L^{-1} PMSF，0.3% Protease Inhibitor Cocktail Set III)，冰浴中匀浆。4 ℃静置 30 min，15 000 g 离心 30 min 取上清液直接上样或－80 ℃保存。用 Bradford 法进行蛋白定量[7]。

1.4 双向凝胶电泳及图像分析

取含 850 μg 蛋白样品的 320 μL 上清液上样，用 IPG 胶条(pH3-10NL，17 cm)在 20 ℃按以下程序进行第一向等电聚焦分离：50 V 电压下水化 13 h；250 V 电压除盐 1 h，500 V 电压再次除盐 1 h，2 000 V电压 1 h，线性升压 2 h 至 8 000 V；8 000 V 电压下，聚焦至 60 000 Vh。第一向等电聚焦结束后，将 IPG 胶条分别放入平衡缓冲液Ⅰ(6 mol・L^{-1} 脲，50 mmol・L^{-1} pH8.8 Tris-HCl，2%SDS，30%甘油，2% DTT)和Ⅱ(6 mol・L^{-1} 脲，50 mmol・L^{-1} pH8.8 Tris-HCl，2%SDS，30%甘油，2.5%IAM)中各 15 min。平衡后的 IPG 胶条转移到 1 mm 厚 12.5%T 的 SDS-PAGE 胶上进行第二向垂直电泳。电泳结束后用胶体考马斯亮蓝 G-250 染色。脱色后用扫描仪扫描图像，应用 PDQuest7.3 软件按参考文献[8]描述的方法对图像进行分析。每个样品重复 3 次，分析同一蛋白点的定量值在重复内的变异度，选择重复内差异不显著的蛋白点在不同样品间进行差异表达分析。对那些蛋白点的质量分数大于 50、且表达丰度差异大于 2.0 倍的蛋白点作进一步的分析。

1.5 胶内酶解

将枪头尖部剪成合适大小的孔,用其挖取凝胶上蛋白点放在 0.5 mL 的 Ependorf (EP)管中。蛋白点先用 100 mmol · L^{-1} NH_4HCO_3/50% ACN 溶液脱色,直到胶块变为白色。脱色后的胶块置 20 mmol · L^{-1} DTT 溶液中 56 ℃还原 1 h,再用 55 mmol · L^{-1} IAM 溶液室温下烷基化处理 45 min,然后依次用超纯水、100 mmol · L^{-1} NH_4HCO_3洗、ACN 脱水处理,真空干燥。向 EP 管中加入合适体积的测序级胰蛋白酶溶液(12.5 ng · μL^{-1}胰蛋白酶溶于 40 mmol · L^{-1} NH_4HCO_3)覆盖胶块。置于 4 ℃冰箱 45 min 后吸去多余酶液,补加 40 mmol · L^{-1} NH_4HCO_3溶液以覆盖胶块。最后在 37 ℃恒温箱下酶解 12～16 h。

1.6 MALDI-TOF-MS 分析

上述差异蛋白点的酶解物送至厦门大学生命科学院进行 MALDI-TOF-MS 分析。质谱仪型号为 ReFlexTM Ⅲ 型,采用正离子、反射模式进行分析。

1.7 肽质指纹图谱数据的蛋白鉴定

对蛋白点的 PMF 数据用 MS-fit (http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml3.4/ms-fit.htm/)、ProFound(http://129.85.19.192/profound_bin/)及 Mascot (http://www.matrixscience.com/)检索 NCBInr 蛋白数据库。最后,根据检索蛋白的分子量、等电点及序列覆盖率这 3 个因素来确定蛋白身份。一个被确认的蛋白一般应满足分子量变化范围小于 20%、等电点变化范围±1、至少有 4 个肽段匹配、序列覆盖率大于 20%。

2 结　果

2.1 胚胎期肉鸡胚质量与肝质量的发育性变化及品种特点

如表 1 所示,试验组和对照组的胚质量随着发育均显著增加($P<0.05$),各胚龄间差异显著($P<0.05$)。组间比较显示,试验组和对照组胚质量在 9、14 和 19 胚龄时无显著差异($P>0.05$);而出壳时,试验组胚质量显著小于对照组($P<0.05$)。

表 1　种鸡饲养方式对后代胚胎期肉鸡胚质量、肝质量的影响

Table 1　Effect of maternal rearing on embryo and liver weight in offspring broilers during embryonic development

组别 Group		E9	E14	E19	H1
胚质量/g	对照组 Control	1.68±0.020[a]	10.25±0.13[b]	24.26±0.42[c]	35.82±0.76[d*]
Embryo weight	试验组 Treatment	1.67±0.020[a]	10.24±0.12[b]	24.19±0.36[c]	28.69±0.57[d]
绝对肝质量/g	对照组 Control	0.048±0.001 0[a]	1.12±0.012[b]	1.66±0.020[c]	1.85±0.025[d*]
Absolute liver weight	试验组 Treatment	0.048±0.001 0[a]	0.96±0.010[b]	1.57±0.020[c]	1.58±0.024[d]

同一处理不同日龄差异显著用不同字母表示($P<0.05$);*. 表示同一日龄不同处理差异显著($P<0.05$)(n=15)

Means without the same letter differ significantly between different age groups($P<0.05$). *. Indicating differences between treatments at the same age($P<0.05$)(n=15)

与胚质量呈相似发育性变化,试验组和对照组绝对肝质量在整个鸡胚发育阶段呈显著增加趋势($P<0.05$),各胚龄间差异显著($P<0.05$)。组间比较显示,试验组和对照组在 9、14 和 19 胚龄时无显著差异($P>0.05$);出壳时,试验组绝对肝质量显著小于对照组($P<0.05$)。

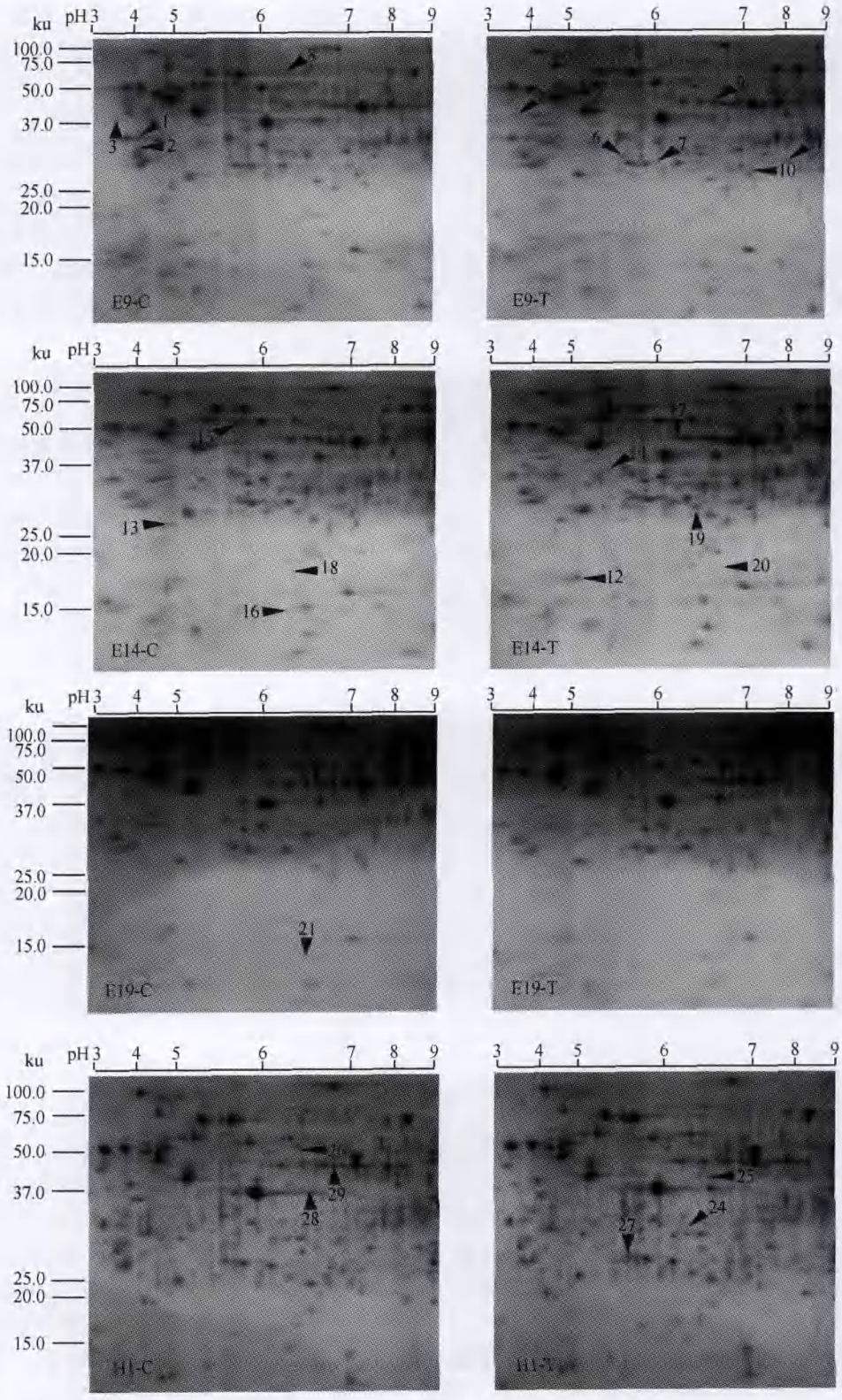
2.2 种鸡饲养方式对后代胚胎期肉鸡肝脏蛋白表达谱的影响

在相同试验条件下,经双向凝胶电泳分离(图 1),采用 PDQuest7.3 软件分析,以其中一块胶为参考胶进行斑点匹配,并经过逐个手工校准和蛋白点质量检查后,平均匹配率为 70%以上。相同样品的 3 次重复之间的相关系数均大于 0.75。

比较试验组和对照组鸡胚肝脏组织的不同胚龄间每个蛋白点相对定量的平均值,得到 29 个表达丰度差异大于 2.0 倍的蛋白点。蛋白点 1、2、3、4、5、8、15、26 和 29 在对照组肉鸡胚肝中上调表达,其余的 20 个差异蛋白点在试验组中上调表达(图 1、图 2)。

2.3 差异表达蛋白点的质谱鉴定

对上述 29 个差异蛋白点的质谱分析采用 MS-fit (prospector)、Mascot 和 ProFound 检索了 NCBInr 蛋白数据库。其中 22 个差异蛋白得到阳性鉴定,鉴定得到的蛋白均来自鸡(*Gallus gallus* (Chicken))(表 2)。

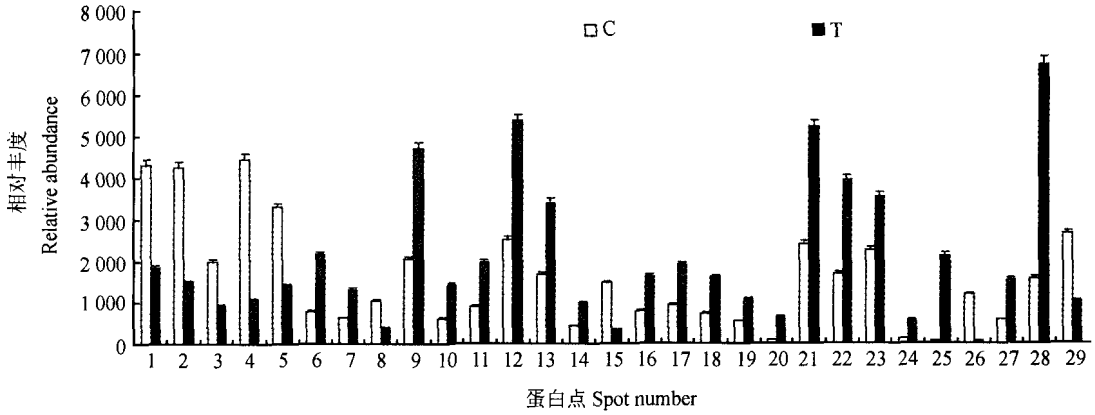


C. 表示对照组；T. 表示试验组。图中箭头所示为表达丰度大于 2.0 倍差异的蛋白点

C. The control; T. The treatments. Arrows indicate the proteins with at least 2.0-fold change in the four development stages

图 1 种鸡饲养方式对后代胚胎期肉鸡肝脏组织蛋白表达谱的差异分析

Fig. 1 Effect of maternal rearing on the proteins profiles of liver in offspring broiler during embryonic development



每一个柱状顶端的"T"形记号表示标准误大小

The T-ticks on the top of each bar indicate the standard error

图 2　差异表达蛋白质点表达丰度变化柱状图

Fig. 2　Histograms showing the expression abundance changes of 29 differentially displayed spots from 2-DE

表 2　差异蛋白点的质谱鉴定结果

Table 2　Differentially-expressed proteins identified by PMF query

蛋白点 Spot number	上调或下调 Up or down in expression	蛋白 Protein name	试验值 Experimental Mr/pI	理论值 Theoretic Mr/pI	序列覆盖度 Sequence coverage/%	登录号 Accession No.
3	up	Hypothetical protein	39.5/4.0	44.83/4.8	23	CAG32002
5	up	Tubulin beta-1 chain (Beta-tubulin class-I)	53/4.5	50.35/4.8	36	P09203
6	down	Hypothetical protein	29/5.0	28.80/4.7	43	CAG31396
7	down	PREDICTED: similar to sepiapterin reductase	28/5.2	29.28/5.8	69	XP_423038
8	up	Annexin A6	72/5.5	75.66/5.4	28	NP_990061
10	down	PREDICTED: similar to LOC495096 protein isoform 3	26/6.8	28.44/6.5	38	XP_419013
11	down	Hypothetical protein	28/7.8	29.05/7.0	45	CAG31362
13	down	Hypothetical protein	24/4.7	23.31/5.2	55	CAG30962
14	down	Alpha-tropomyosin	34/4.7	32.84/4.7	31	AAA48578
16	down	Hypothetical protein LOC416325	14.6/5.5	16.54/5.2	26	NP_001007079
17	up	Enolase 1	47/5.9	47.63/6.2	44	NP_990451
18	down	Hypothetical protein	18/5.4	16.88/5.2	52	CAG32271
19	down	Hypothetical protein	25/5.6	24.71/5.6	44	CAG32762
21	down	Histidine ammonia-lyase	16/5.8	73.57/6.2	26	NP_989735
22	down	Adenosine kinase	47/5.9	40.46/6.1	51	NP_001006501
23	down	PREDICTED: similar to ubiquinol-cytochrome c reductase	47.1/6.2	53.43/6.6	64	XP_414356
24	down	PREDICTED: hypothetical protein	31.1/5.8	33.49/5.8	55	XP_416283
25	down	Sulfotransferase	39/6.5	36.34/5.9	48	NP_990391
27	down	PREDICTED: similar to Prohibitin isoform 2	28/5.4	29.94/5.6	74	XP_418103
28	down	Sulfotransferase	36/5.6	36.34/5.9	57	NP_990391
29	up	Enolase 1	47/6.8	47.63/6.2	49	NP_990451

2.4　差异表达蛋白的功能分类及参与的主要代谢途径

表 2 检出的 21 个蛋白,根据其功能可分为 5 类(表 3)。其中涉及基础代谢的蛋白主要有烯醇化酶及硫酸基转移酶,它们主要参与体内的物质代谢。

从表 2 还可以看出,在三黄鸡胚肝组织中检测

到了蛋白质同质异构体，蛋白点25和28均匹配为硫酸基转移酶，该同型异构体蛋白点均表现为在试验组表达上调，其分子量几乎相同，但等电点存在较大差异。蛋白点17和29均匹配为烯醇化酶，该同型异构体蛋白点在不同胚龄的试验组和对照组间表现出不同的表达趋势，其分子量几乎相同，但等电点存有差异。这种现象可能是由于同一种蛋白质分子经过不同的化学修饰、或与其它小分子结合等原因导致其迁移到不同的等电点位置或不同的分子量位置；或者这类蛋白点是属于同一家族的蛋白，只是其分子量和等电点有差别。

表3 鉴定蛋白的功能分类及比例

Table 3 Functional classification of the identified proteins and the proportion of each class

功能分类 Functional classification	总计 Total
基础代谢 Primary metabolism	28.6%
信号传导 Signal transduction	14.3%
能量 Energy	4.8%
细胞结构 Cell structure	9.5%
功能未知 Unnamed	42.9%

3 讨 论

本研究结果显示，肉种鸡饲养方式对子代胚质量和肝质量的影响体现在胚胎发育后期，且平养肉种鸡子代显著小于笼养肉种鸡子代。这可能与平养肉种鸡活动空间较大，能量消耗较多，种蛋中贮存的营养物质较少，卵黄中的脂类也较少等因素有关。

蛋白表达谱分析发现29个在试验组和对照组间表达量存在2倍以上差异的蛋白斑点，其中22个得到鉴定。在这些被鉴定的蛋白中，大多涉及到机体内基础代谢的酶、能量生成及信号传导等。在鉴定涉及基础代谢的酶中，检测到烯醇化酶及硫酸基转移酶的同工酶。

烯醇化酶(enolase)催化糖代谢过程中2-磷酸-甘油酸向磷酸烯醇式丙酮酸的相互转化，在细胞能量代谢过程中起重要作用[9]。Piast等[10]研究报道在脊椎动物中，烯醇化酶存在3种同功酶(α、β、γ)，分别由3种不同的基因所编码。α-enolase在许多组织均存在，β-enolase几乎仅见于肌肉组织，γ-enolase则主要存在于神经元和神经内分泌组织。所有的烯醇化酶的活性形式均为二聚体，即由2个亚基组成，目前已知有5种形式的组合：αα，ββ，γγ，αβ，αγ[11]。Keller等[12]研究指出烯醇化酶随着个体发育阶段的不同而表现不同组合形式，胚胎时期以αα为主。本试验中检测到烯醇化酶的2种同质异构体，并且在试验组和对照组分别以不同的同工酶形式存在，提示肉种鸡饲养方式可改变烯醇化酶的同工酶含量，但其不同形式的同工酶在糖代谢中的作用是否存在差异尚需进一步研究。

硫酸基转移酶(SULTs)是机体催化多种内源性和外源性生物活性物质硫酸化的关键酶[13-15]。人类SULTs超家族，包括至少12种基因，编码13种不同的同工酶。其中主要包括酚类SULTs亚家族(SULT1A、SULT1B和SULT1C)、雌激素SULT亚家族(SULT1E1)、羟基类固醇SULTs亚家族(SULT2A1和SULT2B1)和尚不知功能的孤儿SULT(SULT4A1)[16-17]。SULT2A1在肝脏大量表达，有着广泛的底物特异性，催化底物DHEA硫酸化生成DHEAS；SULT2B1作用的底物则是胆固醇[13,15]。Wilson等[18]研究报道鸡的硫酸基转移酶属于SULT1B和SULT1C，SULT1B和SULT1C的具体功能目前还不很清楚，但许多文献已将SULT1B称为“碘化甲状腺氨酸－硫酸基转移酶”[19-20]。Duanmu等[21]报道，硫酸基转移酶的表达随着人肝脏的发育而增加；Stanley等[19]研究表明，发育中的胎儿硫酸基转移酶的表达比成人高的多，并且SULT1C2只在胎儿的肝脏组织高表达，而在成人肝脏中不表达。提示硫酸基转移酶对胚胎的正常发育起到关键的作用，尤其对肝脏的发育和其功能的正常行使至关重要。本试验中检测到硫酸基转移酶的2种同工酶形式。在胚胎后期，试验组的硫酸基转移酶(pH6.5)表达上调，提示肉种鸡饲养方式可能影响后代胚胎期肝脏一些物质的硫酸化反应，但其是否影响一些蛋白的脂类代谢还有待于进一步研究。

泛醌-细胞色素C还原酶(ubiquinol-cytochrome C reductase)位于线粒体链酶系的中段，催化电子从还原型泛醌向氧化型细胞色素C的传递，是研究能量偶联机制的重要模型。本试验结果显示，该酶在试验组上调表达，提示试验组胚肝线粒体能量生成高于对照组。这可能与平养的活动空间大，能量消耗多，因此需要更多的能量生成以满足机体的需要。鸡胚生长发育所需能量的90%来源于种蛋卵黄中的脂类[6]，表明试验组脂肪的氧化能力

强于对照组。

总之,笼养与平养方式对子代胚胎期肉鸡生长性能的影响主要表现在出壳时,出壳时平养肉种鸡后代胚胎期肉鸡胚质量和肝质量均显著小于笼养肉种鸡后代。胚肝蛋白表达谱表明,泛醌-细胞色素 C 还原酶在平养肉种鸡后代胚胎期肉鸡肝脏中上调表达,表明平养肉种鸡后代胚胎期肉鸡肝脏的脂肪分解代谢强于笼养肉种鸡后代。同时,肉种鸡饲养方式影响烯醇化酶及硫酸基转移酶(pH6.5)同工酶的表达,但是否因此影响胚肝脂类代谢还有待于进一步研究。此外,鉴定的蛋白中,还有一大类为功能未知的蛋白,而其是否和肉种鸡子代胚肝的脂类代谢和能量代谢存在关联也有待于进一步分析。

参考文献:

[1] 孙　楼.不同饲养方式对肉鸡生产效果的研究[D].北京:中国农业大学,2005.

[2] HEYER B S, WARSOWE J, SOLTER D, et al. New member of the Snf1/AMPK kinase family, Melk, is expressed in the mouse egg and preimplantation embryo[J]. *Mol Reprod Dev*, 1997, 47(2):148-156.

[3] VAN HORNE P L. Production and economic results of commercial flocks with white layers in aviary systems and battery cages[J]. *British Poultry Science*, 1996, 37(2):255-261.

[4] 李晓伟.肉种鸡产蛋期笼养与平养利弊分析[J].中国家禽,2003,6:17-18.

[5] 孟长泽,孔向军,王淑霞,等.肉种鸡笼养与平养对比试验[J].养禽与禽病防治,2005,2:20-21.

[6] NOBLE R C, COCCHI M. Lipid metabolism and the neonatal chicken[J]. *Prog Lipid Res*, 1990, 29:107-140.

[7] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.

[8] 杨永新,陶金忠,张　勇,等.奶牛乳腺组织蛋白质样品的制备及 2-DE 图像分析[J].畜牧兽医学报,2007,38(6):846-850.

[9] SUBRAMANIAN A, MILLER D M. Structural analysis of alpha-enolase. Mapping the functional domains involved in down-regulation of the c-myc protooncogene[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(8):5958-5965.

[10] PIAST M, KUSTRZEBA-WOJCICKA I, MATUSIEWICZ M, et al. Molecular evolution of enolase [J]. *Acta Biochim Pol*, 2005, 52(2):507-513.

[11] FOUGEROUSSE F, EDOM-VOVARD F, MERKULOVA T, et al. The muscle-specific enolase is an early marker of human myogenesis[J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2001, 22(6):535-544.

[12] KELLER A, ROUZEAU J D, FARHADIAN F, et al. Differential expression of alpha-and beta-enolase genes during rat heart development and hypertrophy [J]. *Am J Physiol*, 1995, 269(2):H1843-1851.

[13] COUGHTRIE M W. Sulfation through the looking glass-recent advances in sulfotransferase research for the curious[J]. *Pharmacogenomics J*, 2002, 2(5):297-308.

[14] STROTT C A. Sulfonation and molecular action[J]. *Endocr Rev*, 2002, 23(5):703-732.

[15] BLANCHARD R L, FREIMUTH R R, BUCK J, et al. A proposed nomenclature system for the cytosolic sulfotransferase (SULT) superfamily[J]. *Pharmacogenetics*, 2004, 14(3):199-211.

[16] IIDA A, SEKINE A, SATITO S, et al. Catalog of 320 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 20 quinone oxidoreductase and sulfotransferase genes [J]. *J Hum Genet*, 2001, 46(4):225-240.

[17] FALANCY C N, HE D, DUMAS N, et al. Human cytosolic sulfotransferase 2B1: isoform expression, tissue specificity and subcellular localization[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 102(1-5):214-221.

[18] WILSON L A, REYNS G E, DARRAS V M, et al. cDNA cloning, functional expression, and characterization of chicken sulfotransferases belonging to the SULT1B and SULT1C families[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2004, 428(1):64-72.

[19] STANLEY E L, HUME R, COUGHTRIE M W. Expression profiling of human fetal cytosolic sulfotransferases involved in steroid and thyroid hormone metabolism and in detoxification[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 240(1-2):32-42.

[20] KESTER M H, KAPTEIN E, ROEST T J, et al. Characterization of human iodothyronine sulfotransferases[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1999, 84(4):1357-1364.

[21] DUANMU Z, WECKLE A, KOUKOURITAKI S B, et al. Developmental expression of aryl, estrogen, and hydroxysteroid sulfotransferases in pre-and postnatal human liver[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(3):1310-1317.