

Amplification of PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II and PGC-1 α Genes *Tupaia belangeri*

Di Zhang, Hao Zhang, Wanlong Zhu*

School of Life Science, Yunnan Normal University, Kunming

Email: zwl_8307@163.com

Received: Aug. 12th, 2014; revised: Aug. 29th, 2014; accepted: Sep. 10th, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

In the present study, partial cDNA sequence of PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II and PGC-1 α genes in *Tupaia belangeri* were amplified and analyzed. The obtained partial sequences of PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II and PGC-1 α in *T. belangeri* were 184 bp, 84 bp, 358 bp, 212 bp and 271 bp, respectively. The coding protein of these sequences included 61 amino acids in PRDM16; 27 amino acids in BMP7; 119 amino acids in PPAR α , 70 amino acids in COX II and 87 amino acids in PGC-1 α . Comparison of the amino acids of PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II and PGC-1 α with the amino acids in many mammals found that the homology of amino acids was higher. The PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II and PGC-1 α genes were used to reconstruct phylogenetic trees which showed that *T. belangeri* had the closest relationship relative to primates.

Keywords

Tupaia belangeri, Adipose Tissue, Amplification

中缅树鼩PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II及PGC-1 α 基因的扩增研究

章迪, 张浩, 朱万龙*

云南师范大学生命科学学院, 昆明

Email: zwl_8307@163.com

*通讯作者。

收稿日期：2014年8月12日；修回日期：2014年8月29日；录用日期：2014年9月10日

摘要

本研究对中缅树鼩PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II及PGC-1 α 基因的部分序列进行扩增和分析，获得中缅树鼩PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II及PGC-1 α 片段分别为184 bp、84 bp、358 bp、212 bp、271 bp，推测其分别编码61、27、119、70、87个氨基酸。将PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II及PGC-1 α 基因编码氨基酸序列分别与多种哺乳动物对应的氨基酸序列进行同源性比较分析发现氨基酸的同源性较高。以获得的PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II及PGC-1 α 基因序列分别构建系统进化树，结果显示中缅树鼩与灵长类动物的亲缘关系较近。

关键词

中缅树鼩，脂肪组织，扩增

1. 引言

栖息于季节性变化的环境中小型哺乳动物应对冬季的冷胁迫，脂肪组织在其能量稳态调节过程中发挥着重要的作用[1]。哺乳动物的脂肪组织主要包含两种类型的脂肪细胞：白色脂肪细胞和褐色脂肪细胞，两者形态、生物学功能截然不同。白色脂肪细胞，主要是以三酰甘油为主的化学能的储库，当机体需要能量时输出化学能，从而满足机体对能量的需要，而褐色脂肪细胞，是解偶联呼吸的主要部位，化学能以热能的形式散失。褐色脂肪组织是非颤抖性产热的主要部位，对于小型哺乳动物抵抗低温环境具有重要作用[2][3]。

白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)广泛分布在皮下组织及内脏周围；而褐色脂肪组织(Brown adipose tissue, BAT)则主要分布于肩胛、颈部、腋窝、纵隔及肾脏周围；在某些部位褐色脂肪组织和白色脂肪组织是混合存在的[4]。过去认为人体仅仅在新生儿阶段具有BAT，成体退化消失，但是，2009年采用PT-CT在成年人体内也发现了具有功能的BAT组织和细胞，并且该结果被美国《时代周刊》评为“2009年世界医学十大重大发现之一”，并且认为BAT是治疗人类肥胖症和II型糖尿病极为重要的靶器官[5]-[7]。白色脂肪细胞和褐色脂肪细胞拥有一个共同的前体细胞间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)，通过不同的调控机制转化而来。白色脂肪细胞由成脂肪细胞分化而来，而褐色脂肪细胞则与骨骼肌细胞有共同的分化来源Myf5+成肌细胞[2]。PRDM16、BMP7、COXII、PPAR α 、PGC-1 α 是褐色脂肪细胞分化与代谢中的关键调控因子。

PRDM16 (PRdomain-containing 16)锌指蛋白在BAT中特异性表达，可触发BAT细胞中PGC-1 α (Peroxisome proliferators-activated receptor- γ coactivator-1)和解偶联蛋白1(Uncoupling protein 1, UCP1)基因等的表达[8]，是促进褐色脂肪细胞形成的关键调控因子。BMP7 (Bone morphogenetic proteins 7)也可激活PRDM16和PGC-1 α 等基因的表达，刺激BAT细胞分化及产热增强[9]。COX II(cyclooxygenase-2)、PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor α)、PGC-1 α 是褐色脂肪细胞分化与代谢中的关键调控因子。在WAT中COX II是肾上腺素信号通路的一个效应分子[10]，对于WAT中诱导形成褐色脂肪细胞是必需的。PPAR α 在BAT中的表达水平高于WAT，能诱导BAT中的产热相关基因的表达及原代褐色脂肪细胞的生成[11]。PGC-1 α 也能诱导WAT中褐色脂肪细胞的形成，在褐色脂肪细胞分化的过程中

PGC-1 α 表达量上升[12]。目前对褐色脂肪细胞的研究已成为生物学领域研究的一个热点问题,本实验以中缅树鼩为研究对象,分别对 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因进行扩增,为了解这些基因的组成、结构和生物学功能奠定一定的基础。

2. 研究方法

2.1. 实验动物

中缅树鼩(*Tupaia belangeri*)属攀鼩目(Scandentia)树鼩科(Tupaiidae),是东南亚树鼩中分布最北的一个种,为东洋界特有的小型哺乳动物[13]-[16]。中缅树鼩捕自昆明禄劝县灌丛(北纬 25°26'~26°22'; 东经 102°13'~102°575'),海拔 1679 m。

2.2. 实验动物处理

捕获的实验动物带回云南师范大学生科院实验动物房(昆明),室温条件下单只饲养于饲养笼(300 mm × 120 mm × 200 mm),光照 12L:12D,中缅树鼩饲料的配制根据邹如金等[17]的报导,并每隔 1 日加喂少许的水果。所有实验动物均为成年的非繁殖期个体。

2.3. 方法

2.3.1. RNA 提取及纯度鉴定

实验动物断颈处死,于腹部大网膜提取皮下脂肪组织,脂肪组织总 RNA 的提取与纯化按照 RNAPure 高纯总 RNA 快速抽提试剂盒(BioTeke Co.)提供方法进行。琼脂糖凝胶电泳进行 RNA 纯度和完整性检验。提取的总 RNA 于-80℃保存。

2.3.2. cDNA 第一链合成

cDNA 第一链的合成以皮下脂肪组织总 RNA 为模板,按照 FastQuant RT Kit(With gDNase)试剂盒提供方法进行。

按表 1 的基因组 DNA 的去除体系配制混合液,彻底混匀。简短离心,并置于 42℃,孵育 3 min。然后置于冰上放置。

按照表 2 的反转录反应体系配制混合液。

将反转录反应中的 mix 加到 gDNA 去除步骤的反应液中,充分混匀。42℃,孵育 15 min,95℃,孵育 3 min 之后放于冰上,得到的 cDNA 低温保存。

2.3.3. PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因 cDNA 序列的扩增

根据已知脊椎动物 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因氨基酸保守序列设计引物,所涉引物见表 3。以上述 cDNA 第一链为模板进行 RT-PCR,RT-PCR 产物送至昆明硕阳科技有限公司进行正反向测序。

2.3.4. 数据处理

对于获取的 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因 cDNA 序列,用美国国家生物技术信息中心(NCBI, National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)网站的 BLAST 软件进行同源性比对,同时用该生物技术信息中心的 ORF 软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/>)对序列进行在线分析,推导编码蛋白的氨基酸序列。用 ClustalX1.81 软件进行 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因 cDNA 序列的对位排列,再经过 MEGA5 软件以 NJ 法运算 1000 次分别构建以上基因的系统进化树。

Table 1. The reaction system with gNase
表 1. gDNA 去除反应体系

配制体积	10 (μ l)
5 \times gDNA Buffer	2 μ l
Total RNA	4 μ l
Rnase-Free ddH ₂ O	4 μ l

Table 2. The reaction system of reverse transcription
表 2. 反转录反应体系

配制体积	10 (μ l)
10 \times Fast RT Buffer	2 μ l
RT Enzyme Mix	1 μ l
FQ-RT Primer Mix	2 μ l
Rnase-Free ddH ₂ O	5 μ l

Table 3. Primers used for amplifying PRDM16, BMP7, PPAR α , COX II, PGC-1 α genes of *T. belangeri*
表 3. 扩增中缅树鼩 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II、PGC-1 α 所用引物

引物 Primer	序列 Sequence
PRDM16F	5'-CTGTCACAGCTGGAGCAGCACAT-3'
PRDM16R	5'-GGTAGGGTGTCTGTGCACGTTACC-3'
BMP7F	5'-ACATCACAGCCACCAGCAA-3'
BMP7R	5'-CACCATCCAGCGTCTCCA-3'
PPAR α F	5'-GCTCCGATGGGTCTGTTAT-3'
PPAR α R	5'-GGTGAGGATTTCCGCTTT-3'
COX IIF	5'-CATGAAGTTTGTATCCAGAGCTG-3'
COX IIR	5'-CTGAATGACTCAACAAACTGGG-3'
PGC-1 α F	5'-GTGTCACCACCCAAATCCTTA-3'
PGC-1 α R	5'-ATTCTTCCCTCTTCAGCCTCT-3'

3. 结果

3.1. 脂肪组织总 RNA 提取

中缅树鼩皮下脂肪组织总 RNA 提取根据 Bioteke 公司的 Total RNA Isolation Kit 试剂盒说明书进行, 提取的总 RNA 以 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳检测显示 250~2000 bp 位置有连续弥散状, 可作为模板用于后续试验(图 1)。将脂肪组织 RNA 模板以 FastQuant RT Kit(With gDNase)试剂盒推荐方法建立 cDNA 文库。

3.2. 中缅树鼩 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 序列比对及分子进化分析

扩增 PRDM16、BMP7、PPAR α 、COX II 及 PGC-1 α 基因分别获得 184 bp、84 bp、358 bp、212 bp、271 bp 的 cDNA 片段, 推测其编码的氨基酸序列分别为 61、27、119、70、87 个氨基酸。通过 BLAST

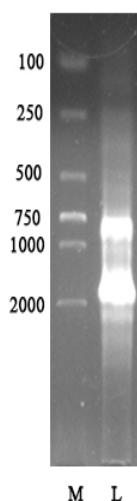


Figure 1. Electrophoretogram of adipose tissue total RNA in *T. belangeri*; M: BM 2000 DNA marker; L: adipose tissue total RNA
图 1. 中缅树鼩脂肪组织总 RNA 电泳图; M: BM2000 分子量标准; L: 脂肪组织总 RNA

搜索, 所得中缅树鼩 PRDM16 基因编码的氨基酸序列与绵羊(*Ovis aries* XP_004014087.1)、智人(*Homo sapiens*, EAW71451.1)、家牛(*Bos taurus*, XP_003583293.2)、裸鼯鼠(*Heterocephalus glaber*, XP_004863837.1)、小家鼠(*Mus musculus*, NP_001171466.1)、食蟹猴(*Macaca fascicularis*, XP_005545046.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, XP_002726668.2)、大猩猩(*Gorilla gorilla gorilla*, XP_004024575.1)、原鸡(*Gallus gallus*, XP_417551.3)、家犬(*Canis lupus familiaris*, XP_005620489.1) PRDM16 氨基酸同源性很高, 均为 95% 以上。

中缅树鼩 BMP7 基因与家兔(*Oryctolagus cuniculus*, AAL24500.1)、食蟹猴(*Macaca fascicularis*, EHH65220.1)、智人(*Homo sapiens*, NP_001710.1)、灰仓鼠(*Cricetulus griseus*, XP_003501484.1)、苏门答腊猩猩(*Pongo abelii*, XP_002830501.1)、家犬(*Canis lupus familiaris*, NP_001183981.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, AAD27804.1)、小家鼠(*Mus musculus*, NP_031583.2)、大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*, XP_002915590.1)、绵羊(*Ovis aries*, XP_004014818.1) BMP7 氨基酸序列同源性均为 97% 以上。

所得中缅树鼩 PPAR α DNA 序列与灰鼠猴(*Saimiri boliviensis boliviensis*, XP_003932800.1)、九带犭狨(*Dasybus novemcinctus*, XP_004478041.1)、智人(*Homo sapiens*, XP_006724334.1)、东非狒狒(*Papio Anubis*, XP_003905752.1)、猕猴(*Macaca mulatta*, NP_001028201.1)、野猪(*Sus scrofa*, AAF73404.1)、家马(*Equus caballus*, NP_001229482.1)、家猫(*Felis catus*, XP_003989443.1)、裸鼯鼠(*Heterocephalus glaber*, XP_004900845.1)、白颊长臂猿(*Nomascus leucogenys*, XP_003278613.1) PPAR α 氨基酸序列比较, 发现中缅树鼩 PPAR α 与多种哺乳 PPAR α 氨基酸序列在 90% 以上。

中缅树鼩 COX II 基因与家马(*Equus caballus*, BAA94762.1)、智人(*Homo sapiens*, AAA58433.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, AAA40947.1)、山羊(*Capra hircus*, AEX88630.1)、灰仓鼠(*Cricetulus griseus*, ERE72779.1)、苏门答腊猩猩(*Pongo abelii*, XP_002809734.1) COX II 氨基酸同源性为 93% 以上。

所得中缅树鼩 PGC-1 α 基因编码的氨基酸序列与苏门答腊猩猩(*Pongo abelii*, NP_001125407.1)、猕猴(*Macaca mulatta*, XP_001105289.1)、东非狒狒(*Papio anubis*, XP_003898591.1)、食蟹猴(*Macaca fascicularis*, XP_005554648.1)、智人(*Homo sapiens*, XP_005248191.1)、白颊长臂猿(*Nomascus leucogenys*, XP_003258587.1) PGC-1 α 氨基酸序列的同源性较高, 均在 97% 以上。

将扩增所得 PRDM16 序列与智人(*Homo sapiens*, AF294278.1)、苏门答腊猩猩(*Pongo abelii*, XM_002811586.2)、东非狒狒(*Papio Anubis*, XM_003891017.1)、家马(*Equus caballus*, XM_001492978.3)、绵羊(*Ovis aries*, XM_004014038.1)、家牛(*Bos Taurus*, XM_002694178.2)、草原田鼠(*Microtus ochrogaster*,

XM_005368644.1)、小家鼠(*Mus musculus*, BC059838.1)、灰仓鼠(*Cricetulus griseus*, XM_003515575.1)、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*, XM_005478277.1)、斑马鱼(*Danio rerio*, XM_005167308.1)、褐背拟地鸦(*Pseudopodoces humilis*, XM_005528354.1)、原鸽(*Columba livia*, XM_005514328.1) PRDM16 序列构建系统进化树, 由图 2 可以看出中缅树鼩与智人、苏门答腊猩猩、东非狒狒处于同一分支, 说明中缅树鼩与灵长类亲缘关系更为接近。

扩增得到的 BMP7 基因序列与智人(*Homo sapiens*, NM_001719.2)、苏门答腊猩猩(*Pongo abelii*, XM_002830455.1)、白颊长臂猿(*Nomascus leucogenys*, XM_003253450.2)、家犬(*Canis lupus familiaris*, D17697.1)、家马(*Equus caballus*, HM582229.1)、灰仓鼠(*Cricetulus griseus*, XM_003501436.1)、天竺鼠(*Cavia porcellus*, XM_003463644.2)、原鸽(*Columba livia*, HQ840930.1)、原鸡(*Gallus gallus*, AF205877.1)、非洲爪蟾(*Xenopus laevis*, NM_001087397.1)、热带爪蟾(*Xenopus tropicalis*, NM_203866.1) BMP7 序列构建系统进化树, 由图 3 可知, 中缅树鼩与灵长类动物聚在一起, 表明中缅树鼩可能与人类具有较近的亲缘关系。

扩增得到的 PPAR α 序列与智人(*Homo sapiens*, NM_001001928.2)、家牛(*Bos taurus*, NM_001034036.1)、小家鼠(*Mus musculus*, NM_001113418.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, NM_013196.1)、猕猴(*Macaca mulatta*, NM_001033029.1)、家犬(*Canis familiaris*, AF350327.1) PPAR α 序列构建系统进化树, 中缅树鼩先与灵长类动物聚为一分支, 再与其它哺乳动物聚为一支(图 4)。

扩增得到的 COX II 序列与智人(*Homo sapiens*, M90100.1)、天竺鼠(*Cavia porcellus*, Y07896.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, AF233596.1)、家猫(*Felis catus*, 121955990)、小家鼠(*Mus musculus*, NM_011198.3)、山羊(*Capra hircus*, JN793538.1) COX II 序列构建进化树, 结果显示, 树鼩与智人亲缘关系较近(图 5)。

将中缅树鼩、智人(*Homo sapiens*, HQ695733.1)、白颊长臂猿(*Nomascus leucogenys*, XM_003258539.2)、

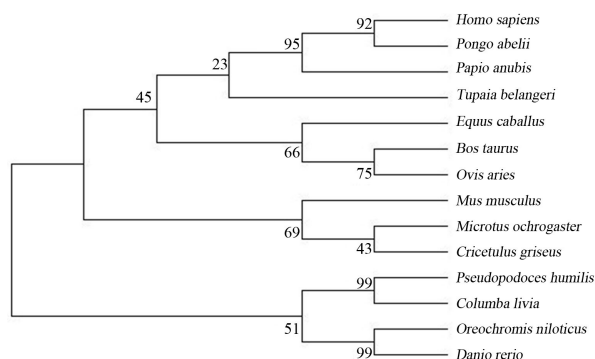


Figure 2. Phylogenetic tree of PRDM16 gene

图 2. PRDM16 系统进化树

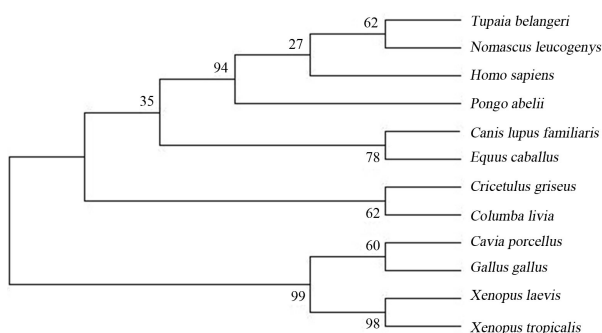


Figure 3. Phylogenetic tree of BMP7 gene

图 3. BMP7 系统进化树

苏门答腊猩猩(*Pongo abelii*, NM_001131935.1)、鼠兔(*Ochotona princeps*, XM_004579176.1)、家马(*Equus caballus*, XM_001499929.3)、灰仓鼠(*Cricetulus griseus*, XM_003507779.1)、家猫(*Felis catus*, XM_003985488.1)、小家鼠(*Mus musculus*, XM_006503774.1)、褐家鼠(*Rattus norvegicus*, XM_006251040.1) PGC-1 α 序列构建系统进化树,由图 6 可见,中缅树鼩先与智人、苏门答腊猩猩、白颊长臂猿聚为一分支,说明树鼩与灵长类动物亲缘关系更为接近。

4. 讨论

PRDM16、BMP7、COX II、PPAR α 、PGC-1 α 是褐色脂肪细胞分化与代谢中的关键调控因子。由于它们的作用机理相对简单且分布广泛,在进化过程中面临的选择压力较小,编码的基因较为保守,故通过 PRDM16、BMP7、COX II、PPAR α 、PGC-1 α 构建系统进化树能较为准确的反映物种间的亲缘关系的远近。

中缅树鼩具有真兽亚纲古生及现生动物的某些特征,它的系统发育地位一直以来颇受争议。以 PRDM16、BMP7、COX II、PPAR α 、PGC-1 α 构建系统进化树的结果显示,中缅树鼩先与灵长类聚为一分支,再与啮齿类等其余哺乳动物聚为一支。这与中缅树鼩 UCP1[18]基因和 UCP2[19]基因构建的系统树的研究结果一致。但也与某些学者的研究结果有差异。Adkins 等[20]通过比较同形态学数据,认为树鼩与灵长类的关系没有比与皮翼目更近。Pupko[21]和 Bock[22]等的研究结果则表明树鼩与兔形目、啮齿目的亲缘关系比灵长类更为接近。这种差异的原因可能是由于基因组的起源相当复杂,每个基因都有自己的独特进化方式[23]。PRDM16 和 BMP7 在褐色脂肪细胞分化过程中具有重要作用[24]。目前关于脂肪

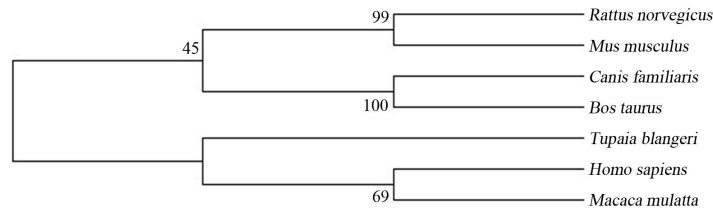


Figure 4. Phylogenetic tree of PPAR α gene
图 4. PPAR α 系统进化树

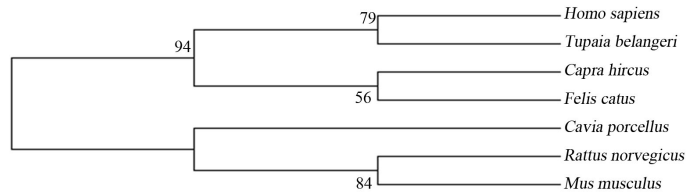


Figure 5. Phylogenetic tree of COX II gene
图 5. COX II 系统进化树

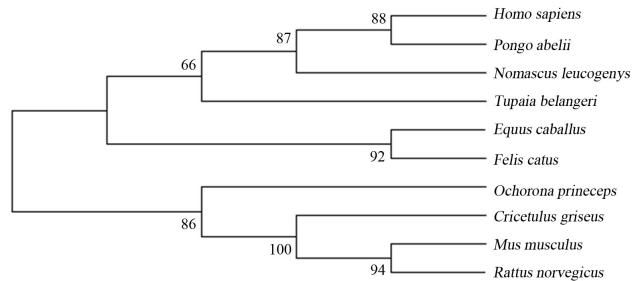


Figure 6. Phylogenetic tree of PGC-1 α gene
图 6. PGC-1 α 系统进化树

组织已有的研究资料大多来自于啮齿类动物,对 PRDM16 和 BMP7 蛋白等褐色脂肪细胞分化过程中转录及辅助因子的生理作用及分子机制的认识,为了解小型哺乳动物生存适应对策提供了一定的基础资料。

总之,基于 PRDM16、BMP7、COX II、PPAR α 、PGC-1 α 基因核苷酸序列构建的系统进化树显示树鼩与灵长类动物的亲缘关系较近,为树鼩可作为生物医学研究的实验动物提供了一定的依据。且本研究所扩增的序列可以作为一种借鉴,为 PRDM16、BMP7、COX II、PPAR α 、PGC-1 α 基因 5'端和 3'端调控区序列的克隆提供了条件,同时也为中缅树鼩的脂肪转化研究提供一定的条件。

基金项目

本研究受到国家国际科技合作项目(No. 2014DFR31040); 十二五国家支撑计划(No. 2014BAI01B00); 国家自然科学基金资助项目(No. 31360096); 云南省应用基础研究重点项目(No. 2013FA014)的资助。

参考文献 (References)

- [1] Wunder, B.A. (1984) Strategies form, and environmental cueing mechanisms of seasonal changes in thermoregulatory parameters of small mammals. In: Merritt, J.F., Ed., *Winter Ecology of Small Mammals*, Special Publication of Carnegie Museum of Natural History, 165-172.
- [2] Seale, P., Bjork, B., Yang, W., et al. (2008) PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*, **454**, 961-967.
- [3] Nicholls, D.G. and Locke, R.M. (1984) Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiological Reviews*, **64**, 1-64.
- [4] Bachman, E.S., Dhillon, H. and Zhang, C.Y. (2002) Beta AR signaling required for diet-induced thermogenesis and obesity resistance. *Science's STKE*, **297**, 843.
- [5] Farmer, S.R. (2008) Molecular determinants of brown adipocyte formation and function. *Genes & Development*, **22**, 1269-1275.
- [6] Tran, T.T. and Kahn, C.R. (2010) Transplantation of adipose tissue and stem cells: Role in metabolism and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, **6**, 195-213.
- [7] Seale, P., Kajimura, S. and Yang, W. (2007) Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metabolism*, **6**, 38-54.
- [8] Kajimura, S., Seale, P. and Tomaru, T. (2008) Regulation of the brown and white fat gene programs through a PRDM16/CtBP transcriptional complex. *Gene & Development*, **22**, 1397-1409.
- [9] Canalis, E., Economides, A.N. and Gazzerro, E. (2003) Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocrine Reviews*, **24**, 218-235.
- [10] Liang, H. and Ward, W.F. (2006) PGC-1 α : A key regulator of energy metabolism. *Advances Physiology Education*, **30**, 145-151.
- [11] Kleiner, S., Nguyen-Tran, V., Baré, O., et al. (2009) PPAR δ agonism activates fatty acid oxidation via pgc-1 α but does not increase mitochondrial gene expression and function. *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 18624-18633.
- [12] Lin, J.D., Wu, P.H., Tarr, P.T., et al. (2004) Defects in adaptive energy metabolism with CNS-linked hyperactivity in PGC-1 α null mice. *Cell*, **119**, 121-135.
- [13] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳 (1999) 光周期和温度对中缅树鼩产热能力的影响. *动物学报*, **3**, 287-293.
- [14] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳 (1995) 中缅树鼩的非颤抖性产热及细胞呼吸特征. *动物学研究*, **3**, 408-414.
- [15] 王政昆, 孙儒泳, 李庆芬 (1994) 中缅树鼩静止代谢率的研究. *北京师范大学学报: 自然科学版*, **3**, 408-414.
- [16] 张武先, 王政昆, 徐伟江 (2002) 冷驯化对中缅树鼩能量代谢的影响. *兽类学报*, **2**, 123-129.
- [17] 邹如金, 季维智, 严晔, 沙临力, 陆锦明, 杨克勤 (1991) 树鼩的饲养与繁殖. In: 邹如金, 季维智, 严晔, 沙临力, 陆锦明, 杨克勤, Eds., *树鼩生物学*, 云南科技出版社, 昆明, 71-130.
- [18] Zhang, L., Wang, R., Zhu, W.L., Liu, P., Cai, J., Wang, Z., et al. (2011) Adaptive thermogenesis of the liver in a tree shrew (*Tupaia belangeri*) during cold acclimation. *Animal Biology*, **61**, 385-401.
- [19] 余婷婷, 张麟, 高文荣, 黄春梅, 杨盛昌, 朱万龙, 王政昆 (2013) 中缅树鼩 UCP2 cDNA 核心片段的序列分析. *动物学杂志*, **3**, 480-486.
- [20] Adkin, R.M. and Honeycutt, R.L. (1991) Molecular phylogeny of the superorder Archonta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **88**, 10317-10321.
- [21] Pupko, T., Huchon, D., Cao, Y., et al. (2002) Combining multiple data sets in a likelihood analysis: Which models are

the best? *Molecular Biology and Evolution*, **19**, 2294-2307.

- [22] Bock, Y., Prawirodirdjo, L., Genrich, J.F., *et al.* (2003) Crustal motion in Indonesia from global positioning system measurements. *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*, **108**.
- [23] 钟扬, 王莉, 张亮, 译 (2003) 生物信息学. 高等教育出版社, 北京.
- [24] Farmer, S.R. (2008) Brown fat and skeletal muscle: Unlikely cousins? *Cell*, **134**, 726-727.