

CMAH 基因在小鼠不同组织中的转录水平分析

李一帆^{1,2}, 杨娜^{1,2}, 王瑶^{1,2}, 尹德琦^{1,2}, 赵旭^{1,2}, 桑晓宇^{1,2*}, 汉丽梅^{1,2*}

(1. 沈阳农业大学畜牧兽医学院, 沈阳 110866; 2. 辽宁省人兽共患病研究重点实验室, 沈阳 110866)

【摘要】 目的 哺乳动物细胞中所含唾液酸及其衍生物主要包括 N-乙酰神经氨酸 (N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac)、N-羟乙酰神经氨酸 (N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc) 和脱氨神经氨酸 (deaminoneuraminic acid, KDN), 其中 Neu5Ac 可在胞苷单磷酸-N-乙酰神经氨酸羟化酶 (cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase, *CMAH*) 的催化下合成 Neu5Gc。本研究应用相对荧光定量 PCR 方法检测 BALB/c 小鼠不同组织中 *CMAH* 基因的转录水平, 为进一步分析不同组织中所含 Neu5Gc 含量差异提供参考依据。**方法** 在 NCBI 数据库中查找 *CMAH* 基因 mRNA 序列并设计特异引物, 选择小鼠 β -actin 为内参基因, 应用相对荧光定量 PCR 方法检测正常 BALB/c 小鼠 9 种组织中 *CMAH* 基因 mRNA 的转录情况。**结果** 在 9 种不同的小鼠组织中, 肝脏组织中 *CMAH* 基因 mRNA 转录水平最高, 其分别为脾脏的 2.46 倍、肾脏的 3.17 倍、气管的 5.14 倍、肺脏的 11.70 倍、心肌的 21.12 倍、骨骼肌的 31.37 倍、小肠的 66.90 倍以及脑组织的 1055.99 倍。**结论** 本研究确定 BALB/c 小鼠 *CMAH* 基因在多种组织中均有转录且差异较大。

【关键词】 *CMAH*; 唾液酸; 相对荧光定量 PCR; BALB/c 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 01-0070-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.01.012

Analysis of transcriptional levels of *CMAH* in different organ tissues of mice

LI Yifan^{1,2}, YANG Na^{1,2}, WANG Yao^{1,2}, YIN Deqi^{1,2}, ZHAO Xu^{1,2}, SANG Xiaoyu^{1,2*}, HAN Limei^{1,2*}

(1. College of Animal Science & Veterinary Medicine, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China;

2. Liaoning Provincial Key Laboratory of Zoonosis, Shenyang 110866)

【Abstract】 Objective Sialic acid and its derivatives in mammalian cells mainly include N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac), N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc) and deaminoneuraminic acid (KDN), among which Neu5Ac can be catalyzed by cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase (*CMAH*) for the synthesis of Neu5Gc. In this study, the transcriptional level of *CMAH* in different tissues of BALB/c mice were determined by relative fluorescence quantitative PCR, to provide a reference for further analysis of Neu5Gc levels in different tissues. **Methods** The mRNA sequence of *CMAH* was searched in the NCBI database and specific primers were designed. The mouse β -actin was selected as an internal control, and the transcriptional levels of *CMAH* in 9 different organ tissues of BALB/c mice were detected by relative fluorescence quantitative PCR using SYBR Green dye. **Results** Among the 9 mouse organs, the transcriptional level of *CMAH* in the liver tissue was the highest, which was 2.46 times higher of that in the spleen, 3.17 times of the kidney, 5.14 times of the trachea, 11.70 times of the lung, 21.12 times of the myocardium, 31.37 times of the skeletal

【基金项目】 校博士科研启动经费 (编号: 880416012)。

【作者简介】 李一帆 (1991 —), 女, 硕士, 研究方向: 动物生物化学与分子生物学。E-mail: li_yifan11@163.com

【通信作者】 汉丽梅 (1968 —), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 动物机能调控, E-mail: Limeihan@hotmail.com; 桑晓宇 (1986 —), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 疟原虫致病机制, E-mail: xysang2012@163.com。* 共同通信作者

muscles, 66.90 times of the small intestine and 1056.99 times of the brain tissue, respectively. **Conclusions** *CMAH* is transcribed in many organ tissues of mice, and its transcriptional levels vary in a quite wide range.

【Key words】 cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase, *CMAH*; sialic acid; relative fluorescence quantitative PCR; BALB/c mice

唾液酸(sialic acid)是通过 N 末端或 O 末端连接在糖蛋白或糖脂末端单糖家族的总称。唾液酸的核心结构包含 9 个碳原子,并且通常在第 4、5、7、8 和 9 号位的碳原子发生修饰可形成不同的唾液酸衍生物^[1]。根据 5 号位的碳原子连接的基团不同,可以将唾液酸初步分为 N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac)、N-羟乙酰神经氨酸(N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc)和脱氨神经氨酸(deaminoneuraminic acid, KDN)^[2]。在哺乳动物细胞中唾液酸的主要存在形式包括 Neu5Ac 和 Neu5Gc,并且在胞苷单磷酸-N-乙酰神经氨酸羟化酶(cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase, *CMAH*)的作用下 CMP-Neu5Ac 可生成 Neu5Gc^[3]。研究者已经在猪气管上皮细胞^[4]、鸭结肠的隐窝上皮细胞、马气管上皮细胞和鸽子的结肠与气管中检测到 Neu5Gc。不仅如此,研究者应用高效液相色谱(HPLC)在鸡的气管和肠道表面也检测到 Neu5Gc^[5]。由于人体内的 *CMAH* 基因丢失了 92 bp,导致人失去了合成 Neu5Gc 的能力^[4]。最近研究表明,与人类的情况类似,雪貂也不能合成 Neu5Gc^[6]。

研究表明多种病原微生物都能利用在哺乳动物细胞表面广泛存在的唾液酸作为受体,包括细菌、寄生虫和病毒等^[7],与之结合并入侵宿主细胞,但不同的病原选择不同的唾液酸衍生物作为受体^[8]。A 型和 B 型流感病毒主要识别宿主细胞表面以 2, 3 糖苷键或 2, 6 糖苷键连接的 Neu5Ac,而马流感病毒主要结合受体是 Neu5Gc^[9]。研究表明在 A549 细胞表面外源表达的 Neu5Gc 受体能够抑制 A 型流感病毒的感染^[10]。不仅如此,有研究表明人体红细胞表面缺少 Neu5Gc 受体的表达,能够限制诺氏疟原虫的跨种传播^[11]。相反,多瘤病毒、轮状病毒等同时能够识别 Neu5Ac 和 Neu5Gc 并作为入侵宿主的受体^[12]。由此可见,宿主细胞表面唾液酸受体的类型与病原的入侵密切相关。

不同物种或同一物种的不同组织中细胞表面多聚糖末端结合的 Neu5Gc 和 Neu5Ac 所占比例都不同。在老鼠和大鼠组织中 Neu5Gc 和 CMP-Neu5Ac 的表达比例主要依靠 *CMAH* 的活性水

平^[13]。尽管脑组织中的唾液酸含量非常高^[14],但在大多数哺乳动物脑组织内很少能够检测到 Neu5Gc。在神经组织中起到非常重要作用的神经节苷脂和神经细胞粘附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)中的多聚唾液酸仅包含 Neu5Ac。本研究通过应用相对荧光定量 PCR 的方法检测 Neu5Gc 合成途径中关键酶(*CMAH*)的基因在不同小鼠组织中转录水平,为进一步分析不同组织中所含 Neu5Gc 含量差异提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

采用辽宁省实验动物资源中心培育的 5 只 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠,体重 18 ~ 20 g [SCXK (辽) 2015 - 0001], [SYXK (辽) 2015 - 0001], 质量检测单位:中国食品药品检定研究院。

1.2 主要试剂与仪器

BIOZOL Total RNA Extraction Reagent (TRIzol) 购于 Bio Flux 公司; PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser (反转录试剂盒)与 SYBR® Premix Ex Taq™ II (荧光定量 PCR 试剂盒)均购于 Takara 公司; 2 × RNA Loading Buffer 购于 Solarbio 公司; DEPC 购于 Amresco 公司。

实时荧光定量 PCR 仪器: Thermo Fisher 公司 QuantStudio® 6 Flex; 电泳仪: 北京六一生物技术有限公司 DYY-7C 型; 凝胶成像仪: UVP 公司 GelDoc-It2 Imager 型; 低温离心机: 德国 Eppendorf 公司 Centrifuge 5427R 型。

1.3 实验方法

1.3.1 实验样本的采集

组织样品采集于 5 只健康的 SPF 级 BALB/c 鼠。实验过程中按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀。各样品均采集于不同脏器的相同部位。为保证提取 RNA 的质量,用乙醚致晕小鼠后对其断颈处死,立即采集其肝脏、心脏、脾脏、肺脏、肾脏、小肠、骨骼肌、气管及脑组织,并用预冷的生理盐水漂洗血液,后迅速剪成小块(约 0.1 g),浸入液氮速冻后,立刻投入装有 TRIzol 的 2 mL 去酶离心管,于 -80℃ 冻存备用。

表 1 *CMAH* 与 β -actin 基因荧光定量 PCR 引物Tab. 1 Sequences of primers for detection of *CMAH* and β -actin by relative fluorescence quantitative PCR

引物名称 Primers	引物序列(5'→3') Primer sequences (5'→3')	序列位置 Sequence sites	产物大小(bp) Product size
<i>CMAH</i> -F	AGACATTCCCATTATGTTGGCG	642 ~ 664	290
<i>CMAH</i> -R	ACATGCACTCAGACCACCTG	931 ~ 911	
β -actin-F	CGTTGACATCCGTAAAGAC	858 ~ 879	110
β -actin-R	TAGGAGCCAGAGCAGTAATC	949 ~ 967	

1.3.2 RNA 的提取、检验与反转录

采用 TRIzol 法提取各组织中的 RNA;采用 Nano Drop 2000c 检测其浓度,通过 OD_{260}/OD_{280} 与 OD_{260}/OD_{230} 的比值初步判断 RNA 是否有降解和污染;并运用 RNA 甲醛变性琼脂糖凝胶(1%)电泳对其完整性进行检验,电泳条件为:预电泳 80 V(15 min),正式电泳 50 V(50 min)。采用 PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser 反转录试剂盒进行反转录:首先 42℃,2 min 去除基因组 DNA;再选择随机引物经 37℃,15 min 进行反转录;最后经 85℃,5 s 终止反应。

1.3.3 荧光定量 PCR 方法

(1) 引物设计:根据 GenBank 中登录的小鼠 *CMAH* 基因序列(NM_001111110)和 β -actin 基因序列(NM_007393),应用 ABI Primer Express 3.0 实时荧光定量 PCR 引物设计软件设计荧光定量 PCR 引物,其中以 β -actin 作为内参基因。对所设计引物的特异性和扩增效率等因素进行分析,选择引物序列如表 1 所示。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

(2) 制作相对荧光定量 PCR 标准曲线:根据实验需求与条件选用 SYBR Green, $2^{-\Delta Ct}$ 相对定量法进行荧光定量 PCR 检测。将原始 cDNA 模板作 3 倍梯度稀释后进行荧光定量 PCR 扩增,分别制作 2 对引物标准曲线,探索退火温度使各对引物的扩增效率在其它各项指标的允许范围内接近 100%,最终确定反应体系为 SYBR Premix Ex Taq II(2 ×) 10 μ L, ROX Reference Dye II(50 ×) 0.4 μ L, PCR forward primer(10 μ mol/L) 0.8 μ L, PCR reverse primer(10 μ mol/L) 0.8 μ L, template 2 μ L, ddH₂O 6 μ L;最佳反应条件为:预变性 95℃,30 s;PCR 反应 95℃,5 s,60℃,30 s,72℃,30 s,共 40 个循环,在每个循环结束时采集荧光信号;之后进行溶解曲线分析,95℃,15 s,60℃,60 s,95℃,15 s。

(3) qPCR 相对定量检测:阴性对照以水为模板,20 μ L 反应体系,分别做 5 个生物学重复及 3 个组内重复。

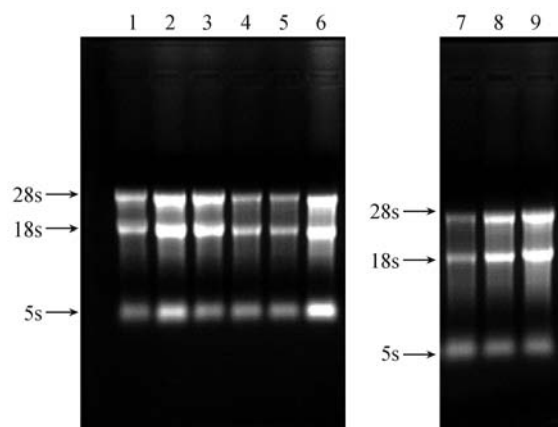
1.4 统计学方法

所得 qPCR 相对定量数据应用 SPSS 软件进行 One-way ANOVA 分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性,应用 GraphPad Prism 5 软件制图。

2 结果

2.1 RNA 的质量与完整性检测结果

检测所提取各组织总 RNA 的 OD_{260}/OD_{280} 比值均介于 1.90 ~ 2.10 之间, OD_{260}/OD_{230} 的比值均介于 1.90 ~ 2.20 之间,且稍大于 OD_{260}/OD_{280} 的比值,其浓度也满足反转录需要。将 BALB/c 小鼠各组织总 RNA 进行甲醛变性琼脂糖凝胶,完整性检测如图 1 所示,各样品中的 28s、18s、5s 三条特异性条带均清晰可见,且 28s 亮度约为 18s 的 2 倍,说明所提取的总 RNA 完整性较好,无明显降解,满足后续实验需求。



注:1:心肌;2:肝脏;3:气管;4:小肠;5:肾脏;6:脑组织;7:骨骼肌;8:肺脏;9:脾脏。

图 1 总 RNA 完整性检验

Note. 1: Myocardium; 2: Liver; 3: Trachea; 4: Small intestine; 5: Kidney; 6: Brain; 7: Skeletal muscle; 8: Lung; 9: Spleen.

Fig. 1 Integrity of the total RNA

2.2 相对标准曲线的建立

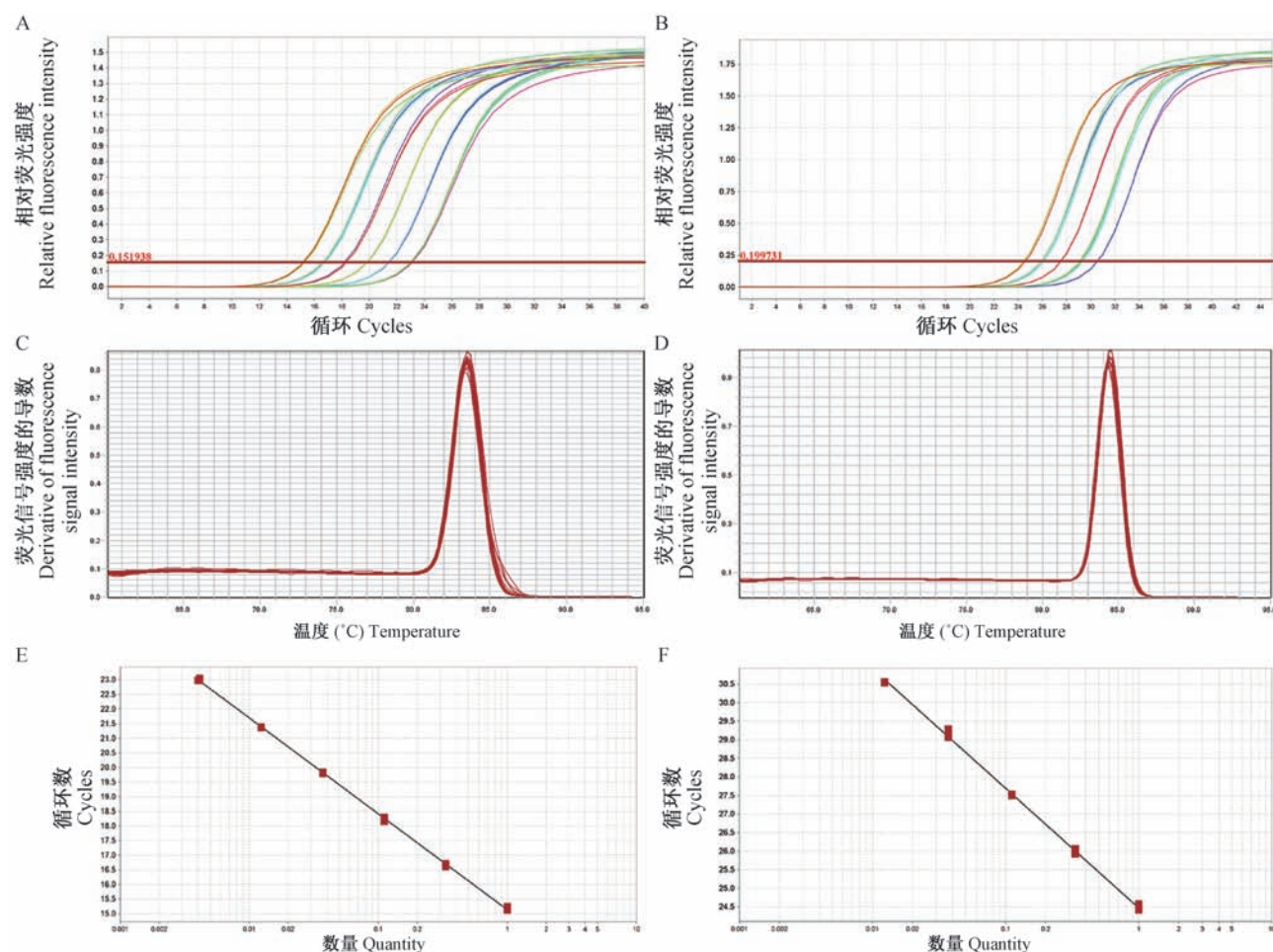
本实验选择 SYBR Green 染料法,以 3 倍梯度稀释肝脏组织的原始 cDNA,不少于 5 个稀释点,以水

为模板作阴性对照,均重复三个加样孔,分别制作 *CMAH* 与 β -*actin* 两对引物的相对标准曲线。扩增曲线如图 2A、2B 所示,模板 3 倍梯度稀释扩增曲线重复性好,间距一直。溶解曲线如图 2C、2D 所示,各引物均为特异性的单峰,无非特异性扩增,说明各对引物特异性良好,并且无引物二聚体等结构。两基因相对标准曲线如图 2E、2F 所示, β -*actin* 与 *CMAH* 引物的扩增效率分别为 101.728%、104.210%,接近 100%,组内差距小,重复性好。

以上数据证明本试验实验所选 2 对荧光定量 PCR 引物及其相应反应条件可满足 SYBR Green、 $2^{-\Delta C_t}$ 相对定量法进行荧光定量 PCR 检测的条件,实验结果真实可信。

2.3 qPCR 相对定量检测结果

根据上文中所建立的相对荧光定量 PCR 的实验条件,分别对小鼠的肝脏、脾脏、肾脏、气管、肺脏、心肌、骨骼肌、小肠和脑组织的 *CMAH* 与 β -*actin* 基因进行荧光定量 PCR 检测,检测结果如表 2 所示,并选择 $2^{-\Delta C_t}$ 进行差异表达分析。实验结果如图 3 所示;*CMAH* 基因在 BALB/c 小鼠肝脏内表达最为丰富,后依此为脾脏、肾脏、气管、肺脏、心肌、骨骼肌和小肠,而脑组织中表达量极低。其中肝脏组织 *CMAH* 基因表达量分别达到脾脏的 2.46 倍;肾脏的 3.17 倍;气管的 5.14 倍;肺脏的 11.70 倍;心肌的 21.12 倍;骨骼肌的 31.37 倍;小肠的 66.90 倍;脑组织的 1055.99 倍。



注:A: β -*actin* 基因的扩增曲线;B:*CMAH* 基因的扩增曲线;C: β -*actin* 基因的溶解曲线;D:*CMAH* 基因的溶解曲线;E: β -*actin* 基因的相对标准曲线;F:*CMAH* 基因的相对标准曲线。

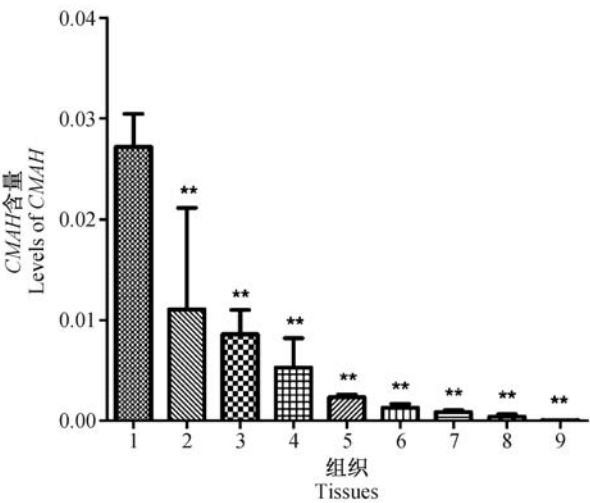
图 2 相对标准曲线的建立

Note. A: Amplification curve of β -*actin*. B: Amplification curve of *CMAH*. C: Dissolution curve of β -*actin*. D: Dissolution curve of *CMAH*. E: Standard curve of β -*actin*. F: Standard curve of *CMAH*.

Fig. 2 Establishment of the relative standard curves

表 2 BALB/c 小鼠各组织脏器 *CMAH*/ β -actin 基因荧光定量 PCR 检测结果
Tab.2 Transcriptional levels of *CMAH* and β -actin in different tissues of BLAB/c mice detected by relative fluorescence quantitative PCR

样本 Samples	基因 Target genes	Ct 值 Ct value					Ct 平均值 Average Ct value	标准差 Standard deviation	变异系数 Coefficient of variation
		1	2	3	4	5			
肝脏 Liver	<i>CMAH</i>	21.9512	22.0889	23.1300	22.6798	23.0454	22.5791	0.4848	0.0215
	β -actin	16.9014	17.0600	17.6183	17.4443	17.8199	17.3688	0.3488	0.0201
肾脏 Kidney	<i>CMAH</i>	22.8110	22.9521	24.1243	23.8982	22.7161	23.3003	0.5906	0.0253
	β -actin	16.2630	16.2982	16.5416	16.5921	16.1767	16.3743	0.1827	0.0112
骨骼肌 Skeletal muscle	<i>CMAH</i>	28.7941	27.8184	29.7857	28.2813	29.5134	28.8386	0.7474	0.0259
	β -actin	18.1877	17.9087	19.2667	18.3860	19.4330	18.6364	0.6099	0.0327
心肌 Myocardium	<i>CMAH</i>	26.3729	26.6830	25.9482	27.9926	28.0796	27.0153	0.8727	0.0323
	β -actin	16.6017	17.0304	16.9810	18.3089	17.8587	17.3561	0.6293	0.0363
肺脏 Lung	<i>CMAH</i>	23.6768	23.8583	23.9885	24.4241	24.3907	24.0677	0.2965	0.0123
	β -actin	14.8747	15.0789	15.1297	15.5397	15.9300	15.3106	0.3781	0.0247
脾脏 Spleen	<i>CMAH</i>	21.6225	23.0312	23.2581	23.6476	21.6225	22.6364	0.8502	0.0376
	β -actin	14.9452	15.2816	15.6733	16.1257	16.5717	15.7195	0.5863	0.0373
气管 Trachea	<i>CMAH</i>	23.9777	24.6929	23.9205	24.6934	25.3678	24.5305	0.5542	0.0226
	β -actin	16.8402	16.2377	17.2369	16.9636	16.4483	16.7453	0.3610	0.0216
脑 Brain	<i>CMAH</i>	31.7162	31.6440	31.5322	31.3223	31.0169	31.4463	0.3545	0.0113
	β -actin	16.2358	16.5510	15.8286	15.9193	16.2750	16.1620	0.2698	0.0167
小肠 Small intestine	<i>CMAH</i>	26.3988	26.4151	27.0486	27.2965	26.6342	26.7586	0.3601	0.0135
	β -actin	16.0543	14.7423	15.0410	14.1277	15.9463	15.1823	0.7330	0.0483



注:1:肝脏;2:脾脏;3:肾脏;4:气管;5:肺脏;6:心肌;7:骨骼肌;8:小肠;9:脑。以内参(β -actin)的转录水平为 1 并对其他转录水平进行校正。与肝脏比较,** $P < 0.01$ 。

图 3 *CMAH* 基因在不同组织中的转录水平
Note. 1: Liver; 2: Spleen; 3: Kidney; 4: Trachea; 5: Lung; 6: Myocardium; 7: Skeletal muscle; 8. Small intestine; 9: Brain. Transcriptional levels of *CMAH* were normalized to those of the internal control (β -actin). Compared with the liver, ** $P < 0.01$.
Fig.3 Transcriptional levels of *CMAH* in different tissues

3 讨论

细胞表面的唾液酸可参与细胞-细胞、细胞-病

原体之间的信息交换^[15]、免疫反应、炎症反应及大量粘附过程。当前研究表明,细胞表面两种重要唾液酸衍生物就是 Neu5Ac 和 Neu5Gc。*CMAH* 可催化 Neu5Ac 发生羟基化合成 Neu5Gc,此过程具有高度特异性。在不同种动物相同组织内及在同种动物不同组织内,Neu5Ac 与 Neu5Gc 所占比例均有差异^[16]。由于 *CMAH* 基因碱基缺失、*CMAH* 蛋白表达障碍或失活等原因,包括人在内的一些动物(雪貂、海豹、部分爬行动物和鸟类等)都不能合成 Neu5Gc^[17],但在其他哺乳动物中 *CMAH* 基因却可以高效表达并且 Neu5Gc 含量丰富^[18],但是又有明显的组织差异性。已有研究表明,小鼠血清中含有 Neu5Gc,说明小鼠 *CMAH* 基因能够表达具有生物学功能的羟化酶,但对不同组织中 *CMAH* 基因转录水平的研究较少^[7]。本研究中,通过相对定量 PCR 方法能够在正常 BLAB/c 小鼠的 9 种组织中检测到 *CMAH* 基因的转录,但其转录情况差异较大,肝脏中的转录水平最高,其次依次为脾脏、肾脏、气管,而肺脏、心肌、骨骼肌、小肠和脑组织中的转录水平都比较低,此结果与先前发表文章的实验结果相一致^[18]。当前,我们尚未完全阐明不同物种或者同一个体间不同组织的 Neu5Gc 表达差异的调控机制,但宿主细胞表面的唾液酸组成类型确实能够影响不同病原与宿主之间的相互作用,值得我们进一步探索。

荧光定量 PCR 方法自建立以来已经广泛应用检测基因表达调控的初步探索,根据中心法则,我们知道基因转录情况的分析不能完全反映出蛋白表达情况,但是与 Western blot 等免疫学方法相比较,荧光定量 PCR 方法可以快速检测出目的基因转录情况,以此来初步评估蛋白的表达水平。因此,本研究成功建立 BALB/c 小鼠 *CMAH* 基因相对荧光定量 PCR 检测方法,并确定其在多种组织中均有转录但差异较大,此结果为进一步分析 BALB/c 小鼠不同组织中所含 Neu5Gc 差异提供参考依据。

参考文献:

- [1] Takahashi T, Takano M, Kurebayashi Y, et al. N-glycolylneuraminic acid on human epithelial cells prevents entry of influenza A viruses that possess N-glycolylneuraminic acid binding ability [J]. J Virol, 2014, 88(15): 8445–8456.
- [2] Wasylnka JA, Simmer MI, Moore MM. Differences in sialic acid density in pathogenic and non-pathogenic *Aspergillus* species [J]. Microbiology, 2001, 147(Pt 4): 869–877.
- [3] 程铨, 高春芳. 唾液酸的生物学意义及其在肝病中的研究进展 [J]. 检验医学, 2013, 28(4): 333–336.
- [4] Wasik BR, Barnard KN, Parrish CR. Effects of sialic acid modifications on virus binding and infection [J]. Trends Microbiol, 2016, 24(12): 991–1001.
- [5] Malykh YN, Shaw L, Schauer R. The role of CMP-N-acetylneuraminic acid hydroxylase in determining the level of N-glycolylneuraminic acid in porcine tissues [J]. Glycoconj J, 1998, 15(9): 885–893.
- [6] 范晓琳, 苏如婷, 韩晓骏. 糖尿病慢性肾脏疾病患者血清唾液酸的变化及其与血管内皮功能关系的研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2015, 23(8): 717–719.
- [7] Ng PS, Böhm R, Hartley-Tassell LE, et al. Ferrets exclusively synthesize Neu5Ac and express naturally humanized influenza A virus receptors [J]. Nat Commun, 2014, 5: 5750.
- [8] 宋宇, 周洁, 高诚, 等. 哺乳动物呼肠孤病毒外壳蛋白和受体研究进展 [J]. 实验动物与比较医学, 2010, 30(1): 68–72.
- [9] Diaz SL, Padler-Karavani V, Ghaderi D, et al. Sensitive and specific detection of the non-human sialic acid N-glycolylneuraminic acid in human tissues and biotherapeutic products [J]. PLoS One, 2009, 4(1): e4241.
- [10] Varki A. Sialic acids in human health and disease [J]. Trends Mol Med, 2008, 14(8): 351–360.
- [11] Dankwa S, Lim C, Bei AK, et al. Ancient human sialic acid variant restricts an emerging zoonotic malaria parasite [J]. Nat Commun, 2016, 7: 11187.
- [12] 杨威. N-乙酰神经氨酸衍生物的合成及其在快速检测流感病毒中的应用 [D]. 东北师范大学, 2009.
- [13] Kavalier S, Morinaga H, Jih A, et al. Pancreatic β -cell failure in obese mice with human-like CMP-Neu5Ac hydroxylase deficiency [J]. FASEB J, 2011, 25(6): 1887–1893.
- [14] 科技日报. 斑马鱼研究首次识别出新遗传病 唾液酸确认有助大脑与骨骼发育 [J]. 江西饲料, 2016, 23(4): 43.
- [15] 宋战昀, 丁壮. 病毒细胞膜唾液酸受体研究进展 [C]. 中国畜牧兽医学学会家畜传染病学分会第六届理事会第二次会议暨教学专业委员会第六届代表大会论文集. 2006.
- [16] 许永华, 张东辉, 是文辉, 等. Wistar 大鼠和昆明种小鼠血清唾液酸频率分布与参考值 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(9): 541–543.
- [17] 占玲俊, 邓巍, 鲍琳琳, 等. 唾液酸受体并非流感病毒各亚型在雪貂组织中播散分布的决定因子 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(4): 23–26.
- [18] Kwon DN, Chang BS, Kim JH. Gene expression and pathway analysis of effects of the *CMAH* deactivation on mouse lung, kidney and heart [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e107559.

[收稿日期] 2017–06–19