

猪 *HIF-1 α* 基因启动子区及编码区的生物信息学分析

刘京鸽, 吴结革, 徐世永, 陈 清, 张金璧

(金陵科技学院动物科学与食品工程学院, 江苏 南京 210038)

摘 要: 利用生物信息学方法, 对 NCBI 中公布的猪缺氧诱导因子 *HIF-1 α* 基因的 5' 端上游 2 000 bp 长度的候选启动子区进行了核心启动子及转录结合位点的预测; 同时对其所编码蛋白的理化性质、亚细胞定位、跨膜结构域、信号肽、高级结构及进化关系进行了分析。结果显示: 猪 *HIF-1 α* 基因 5' 端上游存在潜在启动子区, 存在 CpG 岛, 存在多个转录因子结合位点, 编码的蛋白为亲水性蛋白; 蛋白质等电点为 5.11, 共由 824 个氨基酸组成, 含量最高的为亮氨酸。HIF-1 α 蛋白主要定位于细胞核内, 不存在跨膜结构域, 为非跨膜蛋白, 不存在信号肽, 二级结构主要为 α -螺旋及无规卷曲。此外通过对猪 *HIF-1 α* 基因序列的同源性比较发现, 与猪 *HIF-1 α* 基因同源性最近的是绵羊, 同源性最远的是原鸡。此研究为猪 *HIF-1 α* 基因结构和功能的探索提供了一定的理论依据。

关键词: 猪; *HIF-1 α* 基因; 启动子; 编码区; 生物信息学分析

中图分类号: S823.85

文献标识码: A

文章编号: 1672-755X(2022)01-0085-08

Bioinformatics Analysis of Promoter Region and Coding Region of *HIF-1 α* Gene in the Pig

LIU Jing-ge, WU Jie-ge, XU Shi-yong, CHEN Qing, ZHANG Jin-bi

(Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China)

Abstract: Using the method of bioinformatics, the core promoter and transcription binding site are predicted in the candidate promoter region with a length of 2 000 bp upstream of the 5' end of the pig hypoxia inducible factor *HIF-1 α* published in NCBI. The physicochemical properties, subcellular localization, transmembrane domain, signal peptide, advanced structure and evolutionary relationship of the protein encoded by *HIF-1 α* are analyzed. The results show that there is a potential promoter region at the upstream of 5' end of pig's *HIF-1 α* . There are CpG islands and multiple transcription factor binding sites. The protein encoded by *HIF-1 α* is a hydrophilic protein with an isoelectric point of 5.11. It is composed of 824 amino acids, and the highest content is leucine. HIF-1 α protein is mainly located in the nucleus, and there is no transmembrane domain, so it is a non transmembrane protein. There is no signal peptide in the HIF-1 α protein, and its secondary structure is mainly α -spiral and random curl. In addition, through the comparison of *HIF-1 α* sequence homology, it is found that sheep has the closest homology with pig's *HIF-1 α* gene and the original chicken has the furthest homology. In conclusion, the study provides a theoretical basis for the exploration of structure and function of pig's *HIF-1 α* gene.

Key words: pig; *HIF-1 α* gene; promoter; coding region; bioinformatics analysis

缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) 是缺氧诱导因子 1 的活性亚基及调节亚基, 在

收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 国家自然科学基金 (32002175); 金陵科技学院博士科研启动基金 (jit-b-202035); 金陵科技学院科教融合项目 (2021KJRH32, 2021KJRH33); 江苏省大学生创新创业训练计划项目 (202113573059Y)

作者简介: 刘京鸽 (1984—), 女, 江苏徐州人, 讲师, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

缺氧或低氧的条件下被诱导表达,它参与动物机体多种生理(如糖代谢、脂代谢、血管生成、细胞增殖、细胞存活等)及病理(如肿瘤细胞增殖、肿瘤细胞转移等)的调控过程^[1]。*HIF-1 α* 基因的稳定性和活性受到翻译后的修饰(如羟基化、泛素化、乙酰化和磷酸化等)调节^[2-3]。在常氧条件下,氧依赖降解域(oxygen-dependent degradation domain, ODDD)中的脯氨酸残基的羟基化和赖氨酸残基的乙酰化触发 *HIF-1 α* 基因与 VHL(von hippel-lindau)蛋白相结合,并通过泛素化—蛋白酶体途径进行降解。在缺氧条件下,*HIF-1 α* 蛋白质亚基变得稳定,被移至细胞核中,与稳定表达的 *HIF-1 β* 蛋白质相结合,从而发挥调节作用^[4-6]。

卵泡的发育与血管密切相关,每个卵泡可以独立调节血管的生长。在排卵前,始基卵泡和原始卵泡主要依靠间质血管供血,此时,微血管还未产生,待原始卵泡开始发育后,微血管逐渐出现在卵泡膜层,并随着卵泡直径的增长和原始卵泡的进一步发育,卵泡周围的微血管的密度和血管分支也逐渐增多^[7-8],最终形成巨大的微血管网,分布在卵泡膜层,并没有突破基膜进入到颗粒细胞层中,这给卵泡发育提供足够的养分^[9-11],对卵泡发育起着至关重要的作用。血管内皮细胞的减少能够致使卵泡颗粒细胞凋亡,进而导致卵泡闭锁。卵泡闭锁在卵泡发育的早期启动,并且贯穿于整个卵泡的发育过程^[6,12-13]。

研究发现 *HIF-1 α* 基因可通过 VEGF 路径来调控卵泡膜表面血管的生成,进而调控大卵泡的发育,表明 *HIF-1 α* 基因与卵泡的发育和成熟密切相关。本研究对 NCBI 中公布的猪缺氧诱导因子 *HIF-1 α* 基因 5'端上游 2 000 bp 长的候选启动子区和 CDS 区进行了核心启动子及转录结合位点的预测;同时对 *HIF-1 α* 基因所编码蛋白质的理化性质、亚细胞定位、跨膜结构域、信号肽、高级结构及进化关系进行了分析。此为进一步深入研究 *HIF-1 α* 基因对卵泡发育的影响及 *HIF-1 α* 基因参与卵泡发育的分子调控奠定了基础。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

猪 *HIF-1 α* 基因 5'端及编码区序列来自 NCBI 数据库,登录号为 NC_010443.5。

1.2 实验方法

利用在线分析工具(表 1)及 MEGA 软件对猪 *HIF-1 α* 基因的启动子区、蛋白质的理化性质、跨膜结构域、亚细胞定位、信号肽及高级结构进行分析。在 NCBI 数据库下载人、小鼠、家兔等 11 个物种的 *HIF-1 α* 基因编码域序列(coding domain sequence, CDS)(表 2),进行同源性分析和系统进化树的构建。

表 1 生物信息学分析软件

功能	软件	网址
启动子区预测	Neural network	http://www.fruitly.org/seq_tools/promoter.html
	Promoter 2.0	https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?Promoter-2.0
调控元件预测	PLACE	http://www.dna.affre.go.jp/ht-docs/PLACE/
转录因子结合位点预测	NSITE	http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=nsite&group=programs&subgroup=promoter
	AliBaba2.1	http://gene-regulation.com/pub/programs/alibaba2/index.html
	PROMO	http://algggen.lsi.upc.es/cgi-bin/promo_v3/promo/promoinit.cgi?dirDB=TF_8
	JASPAR	https://jaspar.genereg.net/
CpG 岛预测	MethPrimer	http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi
蛋白质理化性质	ProtParam	http://www.expasy.org/tools/protparam.html
蛋白质疏水性 ^[14]	ProtScale	http://web.expasy.org/protscale/
蛋白质跨膜结构域	TMHMM Server v. 2.0	http://www.cbs.dtu.dk/services/netPhos/
蛋白质亚细胞定位 ^[15]	PSORT II	http://psort.hgc.jp/form2.html
蛋白质磷酸化位点	NetPhos 3.1 server	http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/

续表 1

功能	软件	网址
蛋白质信号肽	SignalP4.1	http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/
蛋白质二级结构	GOR4	http://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_gor4.html
蛋白质三级结构	SWISS-MODEL	http://www.expasy.ch/swissmod/SWISS-MODEL.html

表 2 不同物种 *HIF-1 α* 基因 NCBI 登录号

物种	登录号	物种	登录号
猪(<i>Sus scrofa</i>)	NM_001123124.1	家猫(<i>Felis catus</i>)	XM_003987716.6
牛(<i>Bos gaurus</i>)	NM_174339.3	人(<i>Homo sapiens</i>)	NM_001243084.2
野牦牛(<i>Bos mutus</i>)	NM_173754.1	褐家鼠(<i>Rattus norvegicus</i>)	XM_006240196.4
山羊(<i>Capra hircus</i>)	NM_001285718.1	小鼠(<i>Mus musculus</i>)	NM_001313919.1
绵羊(<i>Ovis aries</i>)	XM_042252586.1	原鸡(<i>Gallus</i>)	NM_001396327.1
家犬(<i>Canis lupus familiaris</i>)	NM_001287163.1		

2 结果与分析

2.1 猪 *HIF-1 α* 基因的启动子区生物信息学分析

启动子预测结果显示:猪 *HIF-1 α* 基因的核心启动子区位于-1 793~-1 804 bp(表 3),并存在多个调控元件(表 4),可见真核生物启动子区的典型结构为顺式原件 TATA 盒(TATA box)和 CAAT 盒(CAAT box)。转录因子结合位点的预测结果显示:猪 *HIF-1 α* 基因中存在 4 个转录因子,其中-572~-563 bp 处的 C/EBPA 和-191~-182 bp 处的 Sp1 可能性最大(表 5)。CpG 岛预测结果显示:猪 *HIF-1 α* 基因启动子中共存在 4 个 CpG 岛(图 1、表 6)。

表 3 猪 *HIF-1 α* 基因启动子区的预测结果

软件	位置/bp	得分
Promoter 2.0	-200	0.600
	-900	0.730
	-1 300	0.634
Neural network	-758~-808	0.870
Promoter 2.0	-1 793~-1 804	0.890
	-1 803~-1 853	0.830

表 4 猪 *HIF-1 α* 基因调控元件的预测结果

调控元件	位置/bp	序列	调控元件	位置/bp	序列
CAAT box	-6	CAAT	CAAT box	-631	TTGAC
	-54	CAAT		-699	CCTTTT
	-112	CAAT		-829	ATGGTA
	-162	GATA		-963	CAAT
	-322	CAAT		-1 125	CAAT
	-361	CAAT		-1 321	GTAC
	-365	CAAT		-1 556	CTCTT
	-409	CAAT		-1 659	AGAAA
	-452	AAAG		-1 852	TGAC
	-459	ACGT		-1 899	GGGCCC
	-496	CANNTG		-1 928	TTAATGG
	-518	CAAT	TATA box	-176	TATAAAT
	-559	GAAAAA		-243	TAACTG
	-594	AAAGAT		-406	TATAAAT

表 5 猪 *HIF-1α* 基因转录因子结合位点的预测结果

不同软件 预测的位置/bp	不同软件预测的结合位点			
	AliBaba2.1	NSITE	PROMO	JASPAR
−572~−563	C/EBPA	C/EBPA	C/EBPA	C/EBPA
−449~−440	ISGF-3	ISGF-3	—	—
−346~−332	Sp1	Sp1	—	Sp1
−191~−182	Sp1	Sp1	—	Sp1

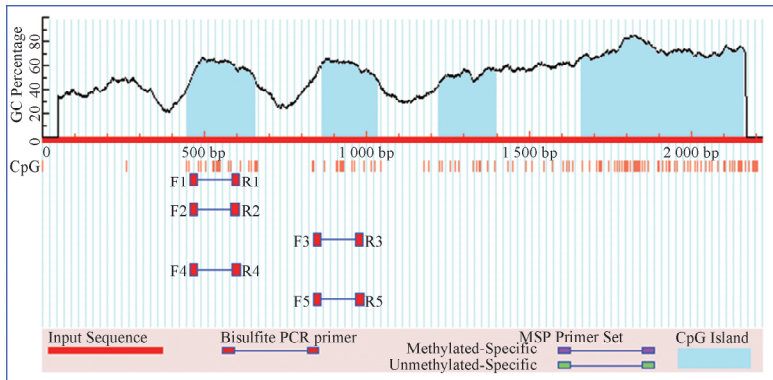


图 1 猪 *HIF-1α* 基因 CpG 岛的预测结果

表 6 猪 *HIF-1α* 基因 CpG 岛的预测结果

位置/bp	片段大小/bp
−449~−655	207
−862~−1 033	172
−1 220~−1 397	178
−1 661~−2 160	500

2.2 猪 *HIF-1α* 基因编码区序列及蛋白质理化性质分析

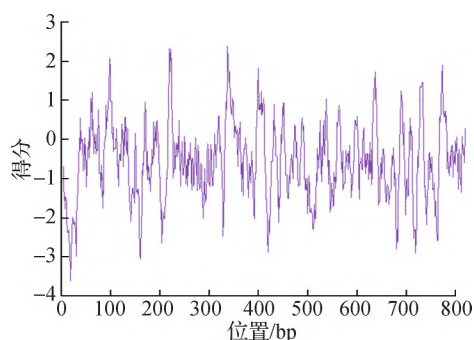
利用 NCBI 中的 ORF Finder 对猪 *HIF-1α* 基因的开放阅读框进行定位,起始密码子位于第 148 个核苷酸,终止密码子位于第 2 622 个核苷酸。

由表 7 可知:猪 *HIF-1α* 蛋白的氨基酸共有 824 个;其中亮氨酸(Leu)含量最高,达到 9.7%;色氨酸(Trp)含量最低,仅为 0.4%。

猪 *HIF-1α* 蛋白的分子式为 $C_{4\ 014}H_{6\ 379}N_{1\ 097}O_{1\ 302}S_{44}$,相对分子质量为 92 249.01,理论等电点为 5.11,消光系数为 48 790,不稳定系数为 54.86,说明猪 *HIF-1α* 蛋白质不稳定,容易发生降解或变性。猪 *HIF-1α* 蛋白的脂溶性系数为 74.31,平均亲水性为 −0.551,推测其为亲水性蛋白。猪 *HIF-1α* 蛋白的 N 末端为甲硫氨酸(Met),在哺乳动物生物体外的网织红细胞中的半衰期为 30 h。通过 ProtScale 在线工具,利用 Hphob./Kyte & Doolittle 算法分析猪 *HIF-1α* 蛋白的亲水性和疏水性,结果发现大部分位点所对应的值都小于 0,再次证明该蛋白为亲水性蛋白(图 2)。

表 7 猪 *HIF-1α* 基因编码的蛋白质氨基酸组成

氨基酸种类	数量/个	含量/%	氨基酸种类	数量/个	含量/%
Ala(A)	41	5.0	Leu(L)	80	9.7
Arg(R)	34	4.1	Lys(K)	50	6.1
Asn(N)	33	4.0	Met(M)	28	3.4
Asp(D)	57	6.9	Phe(F)	26	3.2
Cys(C)	16	1.9	Pro(P)	53	6.4
Gln(Q)	43	5.2	Ser(S)	77	9.3
Glu(E)	61	7.4	Thr(T)	67	8.1
Gly(G)	36	4.4	Trp(W)	3	0.4
His(H)	21	2.5	Tyr(Y)	21	2.5
Ile(I)	36	4.4	Val(V)	41	5.0



注:负值表示亲水性,正值表示疏水性,绝对值越大表示性能越强

2.3 猪 *HIF-1 α* 基因编码区的结构与功能预测

信号肽主要是负责把蛋白质引入到不同亚细胞器内,利用 SignalP 4.1 工具对猪 HIF-1 α 蛋白进行分析,结果显示原始剪切位点的得分(C)、信号肽的得分(S)、被结合剪切位点的得分(Y)均未达到信号肽的要求,说明此猪 HIF-1 α 蛋白质不存在信号肽,为非分泌型蛋白。

二硫键预测结果显示,猪 HIF-1 α 蛋白存在 16 个半胱氨酸(Cys),可以形成 6 对二硫键。利用在线网站 TMHMM 2.0 对猪 HIF-1 α 蛋白进行分析发现,其蛋白结构上不存在跨膜结构域,由此推断猪 HIF-1 α 基因编码的蛋白质为非跨膜蛋白。

使用在线网站 PSORT II 对猪 *HIF-1 α* 基因编码蛋白进行细胞内定位发现,该蛋白分别位于细胞核、细胞质、细胞骨架、线粒体及分泌小泡上,占比分别为:73.9%、8.7%、8.7%、4.3%和 4.3%。可见猪 *HIF-1 α* 蛋白主要位于细胞核内。

利用 DNAMAN 软件对猪 HIF-1 α 蛋白进行高级结构的预测,结构表明其二级结构主要由无规卷曲、 α -螺旋、链延伸和 β -转角组成(图 3),占比分别为 48.91%、32.16%、15.05%、3.88%。可见无规卷曲和 α -螺旋是猪 HIF-1 α 蛋白的主要二级结构。



注:h; α -螺旋;e;链延伸;c;无规卷曲;t; β -转角

图3 猪 *HIF-1 α* 基因编码的蛋白质二级结构预测结果

2.4 猪 *HIF-1 α* 基因序列同源性比较和遗传进化树的构建

利用 Megalign 和 MEGA 7.0 软件对猪、牛、羊、鸡、鼠等 11 个物种的 *HIF-1 α* 基因进行同源性分析及遗传进化树构建。从同源性分析结果(表 8)来看,与猪 *HIF-1 α* 基因同源性最近的是绵羊,其基因序列相似度达到 95.4%,同源性最远的是原鸡,相似度仅为 78.5%,说明 *HIF-1 α* 基因编码区在不同物种中具有较高的保守性。

系统进化树同源性分析具有相似的结果,与猪 *HIF-1 α* 基因同源性最亲近的是绵羊,同源关系最远的是原鸡(图 4),进一步说明 *HIF-1 α* 基因在不同物种之间既存在保守性,又存在一定程度的差异。

表 8 11 个物种中 *HIF-1 α* 基因的同源性分析

物种	序号	相似度/%										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
猪(<i>Sus scrofa</i>)	1		94.5	94.4	95.2	94.8	94.1	93.7	87.0	87.2	95.4	78.5
牛(<i>Bos gaurus</i>)	2	94.5		94.5	95.5	93.9	93.3	92.7	86.4	86.1	97.7	78.2
野牦牛(<i>Bos mutus</i>)	3	94.4	94.5		95.1	93.2	91.2	90.5	85.6	84.6	96.5	78.1
山羊(<i>Capra hircus</i>)	4	95.2	95.5	95.1		93.2	94.3	93.5	87.0	87.5	94.1	78.8
家犬(<i>Canis lupus familiaris</i>)	5	94.8	93.9	93.2	93.2		96.2	94.0	87.6	87.3	94.8	78.6
家猫(<i>Felis catus</i>)	6	94.1	93.3	91.2	94.3	96.2		93.2	87.0	86.7	94.3	78.0
人(<i>Homo sapiens</i>)	7	93.7	92.7	90.5	93.5	94.0	93.2		87.5	87.1	93.6	78.0
褐家鼠(<i>Rattus norvegicus</i>)	8	87.0	86.4	85.6	87.0	87.6	87.0	87.5		92.3	87.2	75.5
小鼠(<i>Mus musculus</i>)	9	87.2	86.1	84.6	87.5	87.3	86.7	87.1	92.3		87.0	74.1
绵羊(<i>Ovis aries</i>)	10	95.4	97.7	96.5	94.1	94.8	94.3	93.6	87.2	87.0		78.9
原鸡(<i>Gallus</i>)	11	78.5	78.2	78.1	78.8	78.6	78.0	78.0	75.5	74.1	78.9	

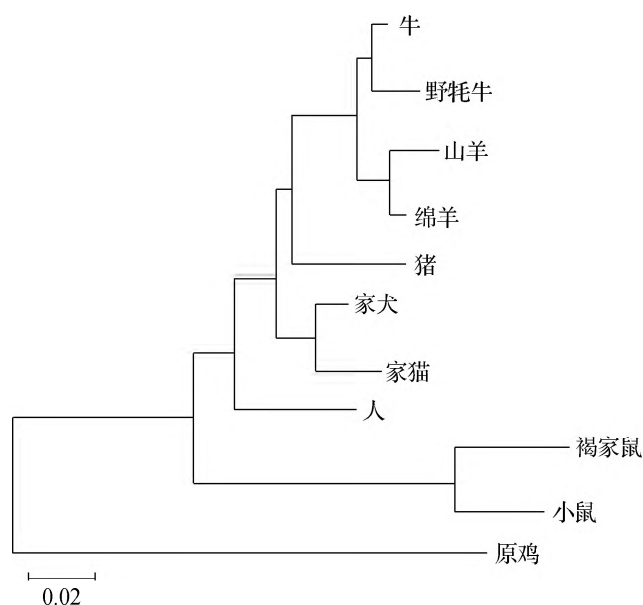


图 4 11 个物种 *HIF-1 α* 基因的系统进化树

3 结论与讨论

雌性动物在性成熟后,卵巢在神经和体液的调节下会出现周期性的卵泡成熟和排卵。伴随着每次的卵泡成熟和排卵,卵巢会发生一系列形态和机能的变化,同时动物出现周期性的性行为,称为发情周期^[16-17]。通常将其划分为卵泡期和黄体期,排卵过程是卵泡期和黄体期的分界线。黄体是排卵后由卵泡

迅速转变成富有血管的腺体样结构^[18]。排卵后残留的卵泡壁塌陷,卵泡膜的结缔组织、毛细血管等伸入到颗粒层,此时,卵泡在促黄体生成素(LH)的作用下演变成体积较大,富含毛细血管,并具有内分泌功能的细胞团,细胞团新鲜时显黄色,称黄体。黄体的细胞多为颗粒细胞,体积大,着色浅,分泌孕酮;泡膜黄体细胞小,细胞数量少,大部分位于黄体外周,分泌雌激素^[19]。

卵泡发育效率制约着家畜的繁殖能力,而卵泡发育与血管生成是密不可分的,血管用来供给卵泡发育足够的养分^[20],血管内皮生长因子(VEGF)是参与血管生成与微循环的重要因子^[8]。*HIF-1 α* 蛋白是缺氧诱导因子 1 的活性亚基及调节亚基,在缺氧或低氧的条件下被诱导表达,VEGF 是其重要的下游靶向因子。Zimmermann 等^[21]研究表明 *HIF-1 α* 基因可以通过调控 VEGF 的表达从而调控卵泡的发育。在此调控过程中,卵泡刺激素(FSH)通过结合受体来增加环磷酸腺苷(cAMP)的量,从而激活蛋白激酶 A 和 cAMP 响应元件^[22]。*HIF-1 α* 基因通过抑制酪氨酸激酶(TK)来激活细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)^[23],同时它也刺激了磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)和蛋白激酶 B(AKT)的通路^[24-25]。FSH 通过 PI3K 信号通路调节多个靶向因子(如 mTOR、MDM2 等),从而刺激 *HIF-1 α* 基因的信号通路,使其增加转录活性来调控 VEGF。综上所述,*HIF-1 α* 基因在卵泡发育过程中发挥着重要作用,因此对其表达调控进行研究为探索猪 *HIF-1 α* 基因的结构和功能提供了一定的理论依据。

本研究通过生物信息学分析发现,猪 *HIF-1 α* 基因具有潜在核心启动子区,其上存在多个顺式作用元件,具备启动子区的典型结构,如控制转录起始的 TATA 盒及调控转录频率的 CAAT 盒。该基因同时存在转录因子 C/EBPA 和 Sp1 结合位点,它们在转录起始中具有重要作用。CpG 岛预测发现,启动子序列内存在 4 个 CpG 岛,此处序列容易发生甲基化修饰,从而调控基因的表达。猪 *HIF-1 α* 基因的 CDS 区全长为 2 475 bp,所编码的蛋白质含有 20 种共 824 个氨基酸,等电点为 5.11,为亲水性蛋白质,为非分泌型的、含硫非跨膜蛋白,主要定位于细胞核、细胞质、细胞骨架、线粒体及分泌小泡等细胞器中。预测 *HIF-1 α* 蛋白的高级结构发现,其二级结构中存在大量 α -螺旋、无规卷曲等多样化结构。通过对不同物种基因序列进行同源性分析及遗传进化树构建发现,猪 *HIF-1 α* 基因与绵羊同源性比较近,与原鸡同源性较远,可见 *HIF-1 α* 基因保守性较高。

参考文献:

- [1] 刘福乐,王钢. *HIF-1 α* 调控恶性肿瘤糖代谢的相关机制及研究进展[J]. 中国医学创新,2021,18(27):173-176
- [2] 陈冬茹,吴莉萍. 低氧诱导因子-1 α 和反义低氧诱导因子-1 α 的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志,2016,43(5):589-593
- [3] 孙微,师永红. 去泛素化酶影响低氧诱导因子-1 α 泛素化过程的研究进展[J]. 临床与病理杂志,2015,35(11):2018-2022
- [4] COCKMAN M E, MASSON N, MOLE D R, et al. Hypoxia inducible factor- α binding and ubiquitylation by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein[J]. J Biol Chem, 2000, 275(33):25733-25741
- [5] ZIELLO J E, JOVIN I S, HUANG Y. Hypoxia-inducible factor(HIF)-1 regulatory pathway and its potential for therapeutic intervention in malignancy and ischemia[J]. Yale J Biol Med, 2007, 80(2):51-60
- [6] TANG Z, XU R, ZHANG Z, et al. HIF-1 α protects granulosa cells from hypoxia-induced apoptosis during follicular development by inducing autophagy[J]. Front Cell Dev Biol, 2021(9):e631016
- [7] LI C, ZHOU J, LIU Z, et al. FSH prevents porcine granulosa cells from hypoxia-induced apoptosis via activating mitophagy through the HIF-1 α -PINK1-Parkin pathway[J]. FASEB J, 2020, 34(3):3631-3645
- [8] NISHIMURA R, OKUDA K. Hypoxia is important for establishing vascularization during corpus luteum formation in cattle[J]. J Reprod Dev, 2010, 56(1):110-116
- [9] KIM S O, TRAU H A, DUFFY D M. Vascular endothelial growth factors C and D may promote angiogenesis in the primate ovulatory follicle[J]. Biol Reprod, 2017, 96(2):389-400

- [10] KUO S W, KE F C, CHANG G D, et al. Potential role of follicle-stimulating hormone (FSH) and transforming growth factor (TGF β 1) in the regulation of ovarian angiogenesis[J]. J Cell Physiol, 2011, 226(6): 1608—1619
- [11] TAMANINI C, AMBROGI M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum[J]. Reprod Domest Anim, 2004, 39(4): 206—216
- [12] BERISHA B, SCHAMS D, RODLER D, et al. Angiogenesis in the ovary—the most important regulatory event for follicle and corpus luteum development and function in cow—an overview[J]. Anat Histol Embryol, 2016, 45(2): 124—130
- [13] REYNOLDS L P, GRAZUL-BILSKA A T, REDMER D A. Angiogenesis in the corpus luteum[J]. Endocrine, 2000, 12(1): 1—9
- [14] 王亚琪, 郭敏, 刘铮铸, 等. 美洲水貂 *TYRP1* 基因编码蛋白质结构及功能的生物信息学分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(20): 28—32
- [15] 魏彦辉, 周荣艳, 锡建中, 等. 不同物种 *LH- β* 基因的生物信息学分析[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(9): 21—26
- [16] AJAYI A F, AKHIGBE R E. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents; an update[J]. Fertil Res Pract, 2020(6): 50—64
- [17] AURICH C. Reproductive cycles of horses[J]. Anim Reprod Sci, 2011, 124(3—4): 220—228
- [18] SOEDE N M, LANGENDIJK P, KEMP B. Reproductive cycles in pigs[J]. Anim Reprod Sci, 2011, 124(3—4): 251—258
- [19] LAUDERDALE J W. A review of patterns of change in luteal function[J]. J Anim Sci, 1986, 62(2): 79—91
- [20] SUZUKI T, SASANO H, TAKAYA R, et al. Cyclic changes of vasculature and vascular phenotypes in normal human ovaries[J]. Hum Reprod, 1998, 13(4): 953—959
- [21] ZIMMERMANN R C, HARTMAN T, KAVIC S, et al. Vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis is essential for gonadotropin-dependent follicle development[J]. J Clin Invest, 2003, 112(5): 659—669
- [22] WU W B, CHEN H T, LIN J J, et al. VEGF concentration in a preovulatory leading follicle relates to ovarian reserve and oocyte maturation during ovarian stimulation with GnRH antagonist protocol in *Vitro* fertilization cycle[J]. J Clin Med, 2021, 10(21): 235—243
- [23] RICO C, DODELET-DEVILLERS A, PAQUET M, et al. HIF1 activity in granulosa cells is required for FSH-regulated VEGFA expression and follicle survival in mice[J]. Biol Reprod, 2014, 90(6): 135—147
- [24] LI C, LIU Z, LI W, et al. The FSH-HIF-1 α -VEGF pathway is critical for ovulation and oocyte health but not necessary for follicular growth in mice[J]. Endocrinology, 2020, 161(4): 78—89
- [25] MEIDAN R, KLIPPER E, ZALMAN Y, et al. The role of hypoxia-induced genes in ovarian angiogenesis[J]. Reprod Fertil Dev, 2013, 25(2): 343—350

(责任编辑: 谭彩霞)