

胶原糖基化Glc α 1和2Gal β 1修饰基因 (GLT25D1) 敲低小鼠模型的制备 与基因型鉴定

叶小慧¹, 李玉凤², 张一帆¹, 何玲玲², 张曼卡³, 马慧敏⁴, 肖凡⁵, 黄玉波⁶, 魏红山^{1,2} (1.北京大学地坛医院教学医院 消化科, 北京 100015; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 消化科, 北京 100015; 3.北京大学地坛医院教学医院 中西医结合中心, 北京 100015; 4.首都医科大学附属北京地坛医院 中西医结合中心, 北京 100015; 5.首都医科大学附属北京地坛医院 传染病研究所, 北京 100015; 6.首都医科大学附属北京地坛医院 肝病中心, 北京 100015)

摘要: 目的 建立介导胶原糖基化Glc α 1、2Gal β 1修饰基因(GLT25D1)敲低小鼠模型, 为研究其在肝脏疾病中的作用奠定基础。方法 基于Cre-loxp重组酶系统, 采用胚胎干细胞线性打靶技术, 获得同源重组的干细胞, 繁殖嵌合体, 获得杂合子GLT25D1^{+/-}小鼠。随后将GLT25D1^{+/-}小鼠自交。通过PCR凝胶电泳技术对子代小鼠的基因型进行鉴定。采用Western blot技术检测GLT25D1在WT型小鼠(wild type, WT)和杂合子GLT25D1^{+/-}小鼠各组织的表达。比较WT和GLT25D1^{+/-}小鼠的生育情况、子代小鼠基因型比例及出生20天的体重差异。结果 GLT25D1^{+/-}小鼠配笼繁殖的264只子代小鼠中, 杂合子GLT25D1^{+/-}小鼠152只, WT小鼠112只, 无GLT25D1^{-/-}小鼠。GLT25D1^{+/-}小鼠数量和WT小鼠数量的比值低于孟德尔遗传定律的2:1 ($\chi^2 = 9.818$, $P = 0.002$)。Western blot示GLT25D1蛋白在WT小鼠的心、肝、脾、肺、肾、脑和淋巴结等重要组织中均有表达, 其中在肝、脾和肺中高表达, 肾和淋巴结中度表达, 心和脑弱表达, GLT25D1^{+/-}小鼠各组织表达水平平均低于WT型小鼠。WT和GLT25D1^{+/-}小鼠在外观和行为上无显著差异, GLT25D1^{+/-}小鼠出生后20天体重显著低于WT型小鼠 ($t = 2.520$, $P = 0.0177$)。GLT25D1^{+/-}小鼠交配后平均每窝出生的鼠仔数目为4只, 低于WT小鼠平均鼠仔数7只 ($t = -8.482$, $P < 0.001$)。结论 GLT25D1基因敲低后会导致GLT25D1^{-/-}胚胎致死, 且影响部分GLT25D1^{+/-}小鼠正常出生, GLT25D1^{+/-}小鼠出生后20天体重减轻, 繁殖能力下降。

关键词: GLT25D1; 糖基化; 胶原; 纤维化; 小鼠

Preparation and genotyping identification of collagen glycosylated Glc α 1 and 2Gal β 1 modified gene (GLT25D1) knockdown mice

YE Xiao-hui¹, LI Yu-feng², ZHANG Yi-fan¹, HE Ling-ling², ZHANG Man-ka³, MA Hui-min⁴, XIAO Fan⁵, HUANG Yu-bo⁶, WEI Hong-shan^{1,2} (1.Department of Gastroenterology, Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 2.Department of Gastroenterology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 3.Department of Center of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 4.Department of Center of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 5.Department of Institute of Infectious Disease, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 6.Center of Hepatology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Objective To build the collagen glycosylated Glc α 1 and 2Gal β 1 modified gene (GLT25D1) knockdown mice model to investigate its role in liver diseases. **Methods** Based on Cre-loxp recombinase system, embryonic stem cell line targeting technology was implemented to obtain homologous recombination stem cells,

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2018.02.005

基金项目: 国家自然科学基金(81271901、3087224); 北京市自然科学基金(7152073)

通讯作者: 魏红山 Email: drwei@ccmu.edu.cn

reproduce chimeras and obtain heterozygous GLT25D1^{+/-} mice. Then the heterozygote GLT25D1^{+/-} mice were inbred and the genotype of offspring mouse was identified by PCR technique. The expression of GLT25D1 protein in WT mice (wild type, WT) and heterozygote GLT25D1^{+/-} mice in tissues were detected by Western blot technique. The fertility of the WT and GLT25D1^{+/-} mice, the proportion of genotypes in the offspring mouse and the weight at 20 days after birth were compared. **Results** Total of 264 mice were reproduced, including 152 GLT25D1^{+/-}, 112 WT and 0 GLT25D1^{-/-}. The ratio of the number of GLT25D1^{+/-} mice to the number of WT mice was lower than that of Mendel's genetic law 2 : 1 ($\chi^2 = 9.818$, $P = 0.002$). Western blot showed that GLT25D1 protein expressed in heart, liver, spleen, lung, kidney, brain and lymph nodes of WT mice, which were high expressed in liver, spleen and lung, medium expressed in kidney and lymph nodes, and weak expressed in heart and brain. The expression level of GLT25D1 in GLT25D1^{+/-} mice tissues was generally lower than that in WT mice. There was no significant difference on the appearance and behavior of two genotype mouse. The weight of GLT25D1^{+/-} mice at 20 days after birth was lower than that of the WT mice ($t = 2.520$, $P = 0.0177$). After GLT25D1^{+/-} mating, the number of mice born per litter was 4, which was less than that of WT mice ($t = -8.482$, $P < 0.001$). **Conclusions** The GLT25D1^{+/-} mice showed a relatively low reproductive capability and abnormal development. Compared with the WT mice, the weight of GLT25D1^{+/-} mice decreased.

Key words: GLT25D1; Glycosylation; Collagen; Fibrosis; Mice

各类肝脏疾病是导致全球人类死亡、危害人类健康的主要原因之一。我国肝病患者已高达3亿^[1]。病毒性肝损伤、酒精性肝损伤、免疫性肝损伤和药物性肝损伤等若长期反复存在将导致肝纤维化^[2]。肝纤维化是机体对各种病因引起慢性肝脏损伤后的一种自我修复反应,主要由肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)合成大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝脏内弥漫性沉积所致^[3],其中胶原是ECM的主要成分^[4]。胶原蛋白在翻译后分泌到细胞外交联成为成熟的胶原纤维前,需在网内质网中进行胶原单糖和双糖糖基化修饰,即在羟赖氨酸残基上连接O-β-D-半乳糖(O-β-D-galactosylhydroxylysine)和2-O-α-葡萄糖基-O-β-D-半乳糖(2-O-α-glucosyl-O-β-galactosylhydroxylysine)^[5]。2009年Schegg等^[6]首次证实GLT25D1糖基转移酶和GLT25D2糖基转移酶是催化胶原Glcα1和2Galβ1糖基化修饰的两种酶。但这仅限于体外研究,并且胶原的糖基化修饰缺陷对肝纤维化的影响尚未可知。鉴于基因敲除是研究基因功能的金标准,本课题组基于Cre-loxp重组酶系统制备GLT25D1敲低小鼠,为研究胶原糖基化修饰在肝纤维化发生发展中的作用及可能的分子机制奠定基础,以期寻找治疗肝纤维化的药物作用靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 委托南京大学南京生物医药研究院模式生物所采用胚胎干细胞线性打靶技术制备C57BL/6小鼠GLT25D1基因敲低模型,获得杂合子GLT25D1^{+/-}小鼠4只,其中雌雄各2只。

1.2 饲养与繁殖 杂合子GLT25D1^{+/-}小鼠饲养于北京大学医学部实验动物中心,在无特定病原体(SPF)环境下饲养。系统温度控制在20~25℃,湿度(50±15)%;饲料和饮水均经高温消毒灭菌。

1.3 GLT25D1基因敲低小鼠基因型鉴定

1.3.1 小鼠基因组DNA提取 繁殖后子代小鼠满2周后,剪取0.2~0.5 cm鼠尾组织,按照E.Z.N.A.T[®]issue DNA Kit(OMEGA)试剂盒步骤提取DNA,提取后的DNA保存于-20℃备用。

1.3.2 PCR扩增与基因型鉴定 提取后的DNA进行PCR扩增,引物序列见表1。PCR反应体系如下:2×TaqMix 12.5 μl,上游引物2.5 μl,下游引物2.5 μl,ddH₂O 5.5 μl,鼠尾DNA 2.0 μl。PCR反应条件为:预变性98℃ 5分钟,变性95℃ 30秒,退火55℃ 30秒,延伸72℃ 1分钟,40个循环,72℃ 5分钟,4℃保存。

1.4 Western blot 留取不同基因型小鼠的心、肝、脾、肺、肾、脑及淋巴结等重要组织,提取各组组织蛋白后检测GLT25D1表达。其中,一抗为兔抗GLT25D1(Proteintech, 1:1000),内参为兔抗

表 1 PCR 引物序列

引物名称	序列
A1	5' -ACTCAAGTCTCTACCGGAGGGA-3'
A2	5' -AGCAGCAACTTGCTACTAACG-3'
D1	5' -ACTCAAGTCTCTACCGGAGGGA-3'
D2	5' -TCGCTACACTCCAAGCCTGTT-3'

GAPDH (Cell Signaling Technology, 1:1000), 二抗为山羊抗兔(中杉金桥, 1:5000)。

1.5 观察指标 统计杂合子GLT25D1^{+/+}小鼠自交后子代不同基因型小鼠的出生比例及出生20天后体质量的差异。记录GLT25D1^{+/+}小鼠自交繁殖40窝鼠仔中每窝鼠仔的出生数目,与文献报道的WT型小鼠自交后平均每窝鼠仔数(7只)进行比较^[7]。

1.6 统计学处理 采用SPSS 18.0软件进行数据分析。采用Kolmogorov-Smirnov检验对两种基因型小鼠20天体重和GLT25D1^{+/+}小鼠自交后子代每窝产仔数进行正态性检验。小鼠体重等计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用F检验对两种基因型小鼠20天体重进行方差齐性分析。成组t检验比较两种基因型小鼠20天体重差异,采用单样本t检验比较GLT25D1^{+/+}小鼠自交后每窝产仔数与WT型小鼠自交产仔数平均值的差异,采用 χ^2 检验分析各基因型小鼠出生比率的差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GLT25D1^{+/+}小鼠自交后子代小鼠基因型的鉴定 各基因型小鼠基因PCR产物的琼脂糖凝胶电泳结果如图2-1所示,若只在629 bp出现条带则为GLT25D1^{-/-}小鼠,若629 bp和511 bp均出现条带则为GLT25D1^{+/+}小鼠,若只在511 bp出现条带则为WT小

鼠。

2.2 GLT25D1在各组织的表达 Western blot结果显示GLT25D1蛋白在WT小鼠心、肝、脾、肺、肾、脑和淋巴结等重要组织中均有表达,其中在肝、脾和肺中高表达,肾和淋巴结中度表达,心和脑弱表达,其中GLT25D1^{+/+}小鼠以上各组织GLT25D1表达量普遍低于WT小鼠(图2A)。GLT25D1^{+/+}小鼠肝组织中GLT25D1表达量明显低于WT小鼠(图2B)。

2.3 子代小鼠出生比例 将GLT25D1^{+/+}小鼠合笼后共获得264只子代小鼠,其中WT型小鼠112只,GLT25D1^{+/+}小鼠152只,未得到GLT25D1^{-/-}小鼠。子代GLT25D1^{+/+}小鼠和WT小鼠的比例低于孟德尔遗传定律的2:1($\chi^2 = 9.818$, $P = 0.002$)。

2.4 GLT25D1^{+/+}小鼠生长发育 子代WT和GLT25D1^{+/+}小鼠在外观和行为上并无显著差异。出生后20天GLT25D1^{+/+}小鼠体重[(8.314 ± 0.3597) g]显著低于WT型小鼠[(9.338 ± 0.3533) g, $t = 2.520$, $P = 0.0177$],见图3。

2.5 GLT25D1^{+/+}小鼠的繁殖 观察记录GLT25D1^{+/+}小鼠交配繁殖40窝产仔数,发现平均每窝产仔4只,低于WT型每窝子代6~12只(平均7只)($t = -8.482$, $P < 0.001$),见表2。

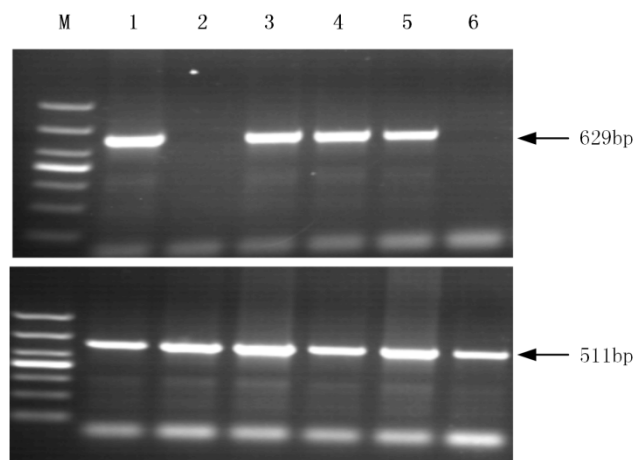


图1 GLT25D1^{+/+}小鼠自交后子代小鼠基因PCR电泳结果

注: M为最大分子量为1000 bp的Marker, 1、3、4、5为GLT25D1^{+/+}小鼠, 2、6为WT小鼠

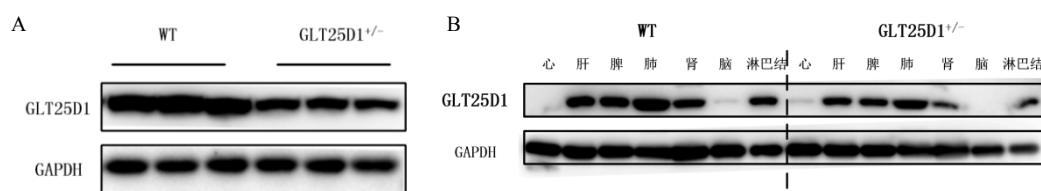


图2 WT和GLT25D1^{+/+}小鼠各组织中GLT25D1的表达

注: A. GLT25D1在两种基因型小鼠肝组织中的表达; B. WT和GLT25D1^{+/+}小鼠各组织中GLT25D1的表达

3 讨论

由水、蛋白质和蛋白聚糖构成的细胞外基质是各组织器官的非细胞成分^[7]，其形成复杂结构为细胞提供结构支撑^[8]。ECM通过与细胞表面受体及基质成分间的相互作用调节细胞的分化、增殖、黏附、迁移和生长，从而具有多重生物学功能^[9]。其中，应激和损伤中ECM介导的组织重塑和修复对维持肝功能和解剖完整性具有重要作用^[8]，如小鼠ECM中的角蛋白8/18糖基化修饰障碍将加重肝损伤^[10]。在ECM复杂成分中，胶原作为ECM主要的纤维蛋白，是哺乳动物组织中的主要结构蛋白，约占机体总蛋白量的30%^[4]。胶原的生物合成是极为复杂的生物过程，其翻译后组装成成熟的胶原纤维前在内质网中经历链间二硫键的形成、肽基脯氨酰基顺反异构化、赖氨酸和脯氨酸残基羟基化及羟赖氨酸糖基化等翻译后修饰^[11,12]。

异常的蛋白糖基化修饰与多种疾病的发生发展密切相关。如糖尿病患者体内高密度脂蛋白糖基化异常可导致乳腺癌细胞的黏附性能降低，并促进乳腺癌细胞的转移^[13]。脑动脉O-GlcNAc糖基化修饰水平增加将导致血管功能紊乱，促使代谢性疾病的发生^[14]。本课题组前期也发现，随着Child-Pugh

评分增加，肝硬化患者血清中N-糖基化修饰蛋白gp73相应降低^[15]。XVII型胶原是半桥粒中的一类II型跨膜蛋白，其N-糖基化缺失将导致该分子无法整合到细胞膜，临床表现为交界性大疱性表皮松懈症（junctional EB, JEB）^[16]，而胶原分子的O-糖基化修饰则与胶原蛋白的交联和组装有关，其缺失后会导致脆性增加，骨折发生概率升高^[17]。2009年Schegg等^[6]首次在体外实验中证实GLT25D1和GLT25D2是催化此步胶原糖基化修饰的两种酶。但胶原糖基化修饰的精确位置及其在肝脏疾病中的生物学功能迄今尚未可知。此外，本课题组早期发现临床上慢性乙型肝炎患者血清中GLT25D1含量随肝纤维化程度的增加而升高^[18]。鉴于探究基因功能的金标准是基因敲除模型，本研究制备了GLT25D1^{+/-}小鼠，在GLT25D1^{+/-}小鼠自交中以期望获得GLT25D1^{-/-}纯合子小鼠。但264只子代小鼠中尚无GLT25D1^{-/-}小鼠，推测GLT25D1全身敲除会使GLT25D1^{-/-}小鼠胚胎致死。这一结果与既往文献报道的胶原糖基化修饰减少将影响骨肉瘤细胞增殖和活性，同时沉默细胞的GLT25D1和GLT25D2基因将导致细胞无法存活相吻合^[19]。

以往研究表明细胞外基质蛋白中的纤维连接蛋白FN、玻连蛋白VTN分别通过与胚胎干细胞上的整合素α5（ITGA5）、整合素αV（ITGAV）相互作用来促进内胚层的分化^[20]。据此可推测GLT25D1基因敲低后影响ECM中蛋白糖基化修饰，导致其和整合素家族蛋白相互作用发生障碍，最终影响内胚层向各个重要组织脏器的分化。在本研究中，GLT25D1^{+/-}和WT小鼠的比例显著低于孟德尔遗传定律的2：1（ $\chi^2 = 9.818$, $P = 0.002$ ）。这表明GLT25D1敲低后不仅导致GLT25D1^{-/-}小鼠胚胎致死，还影响部分GLT25D1^{+/-}小鼠的正常出

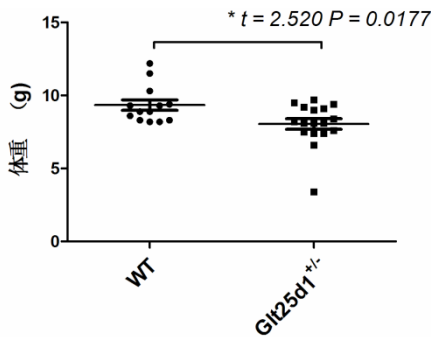


图3 不同 GLD25D1 基因型小鼠出生 20 天体重比较

表2 GLT25D1^{+/-} 小鼠交配后每窝产仔数

子代窝别	产仔数（只）	子代窝别	产仔数（只）	子代窝别	产仔数（只）	子代窝别	产仔数（只）
1	4	11	7	21	2	31	5
2	1	12	6	22	5	32	5
3	3	13	3	23	4	33	7
4	3	14	5	24	6	34	3
5	3	15	5	25	6	35	7
6	1	16	6	26	6	36	6
7	2	17	4	27	3	37	3
8	1	18	2	28	8	38	5
9	3	19	5	29	8	39	3
10	4	20	6	30	4	40	7

生。GLT25D1^{+/-}小鼠交配后繁殖,平均每窝出生的鼠仔数显著低于WT型小鼠^[7] ($t = -8.482$, $P < 0.001$), GLT25D1^{+/-}小鼠繁殖能力下降。

有研究证实将人脂肪前体细胞株内GLT25D1基因沉默后,在早期将导致高分子脂联素分泌障碍,而高分子脂联素在脂质代谢中发挥重要作用^[21]。此外,早有研究证实ECM在脂肪合成、代谢和脂肪组织功能中发挥重要作用。如脂肪合成时,ECM合成增加并发生重塑^[22,23],其中层粘连蛋白是组成ECM的一种重要糖蛋白,和IV型胶原一起构成基膜。将编码小鼠层粘连蛋白 $\alpha 4$ 肽链的基因敲除后,小鼠脂肪堆积减少,体重下降^[24]。本研究中心子代GLT25D1^{+/-}小鼠出生后20天体重显著低于WT型 ($t = 2.520$, $P = 0.0177$),推测可能是由于GLT25D1敲低影响了ECM的合成和重塑进而影响脂肪的堆积和代谢,从而导致小鼠体重下降。

综上所述, GLT25D1基因敲低后导致GLT25D1^{+/-}胚胎致死,且影响部分GLT25D1^{+/-}小鼠正常出生, GLT25D1^{+/-}小鼠出生20天体重减轻,繁殖能力下降。成功制备出GLT25D1敲低小鼠为研究GLT25D1介导胶原糖基化修饰在肝脏疾病的作用及可能药物治疗靶点奠定基础。

参考文献

- [1] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [2] Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(6): 1655-1669.
- [3] Perepelyuk M, Terajima M, Wang AY, et al. Hepatic stellate cells and portal fibroblasts are the major cellular sources of collagens and lysyl oxidases in normal liver and early after injury[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 304(6): G605-G614.
- [4] Arriazu E, Ruiz de Galarreta M, Cubero FJ, et al. Extracellular matrix and liver disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(7): 1078-1097.
- [5] Risteli L, Mylly R and Kivirikko KI. Partial purification and characterization of collagen galactosyltransferase from chick embryos[J]. *Biochem J*, 1976, 155(1): 145-153.
- [6] Schegg B, Hulsmeier AJ, Rutschmann C, et al. Core glycosylation of collagen is initiated by two beta(1-O)galactosyltransferases[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(4): 943-952.
- [7] 郝荣光. 实验动物学[M]. 2版. 上海:第二军医大学出版社, 2004: 114.
- [8] Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils[J]. *Science*, 2009, 326(5957): 1216-1219.
- [9] Issa R, Zhou X, Constandinou CM, et al. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: Evidence for incomplete resolution associated with matrix cross-linking[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(7): 1795-1808.
- [10] Rozario T, DeSimone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view[J]. *Dev Biol*, 2010, 341(1): 126-140.
- [11] Ku NO, Toivola DM, Strnad P, et al. Cytoskeletal keratin glycosylation protects epithelial tissue from injury[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(9): 876-885.
- [12] Myllyharju J, Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms[J]. *Trends Genet*, 2004, 20(1): 33-43.
- [13] Hudson DM, Eyre DR. Collagen prolyl 3-hydroxylation: a major role for a minor post-translational modification[J]. *Connect Tissue Res*, 2013, 54(4-5): 245-251.
- [14] Pan B, Ren H, He Y, et al. HDL of patients with type 2 diabetes mellitus elevates the capability of promoting breast cancer metastasis[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(5): 1246-1256.
- [15] Lima VV, Giachini FR, Matsumoto T, et al. High-fat diet increases O-GlcNAc levels in cerebral arteries: a link to vascular dysfunction associated with hyperlipidaemia/obesity[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(11): 871-880.
- [16] 翟庆玲, 黄玉波, 郝晓花, 等. 血清GP73对HBV相关失代偿性肝硬化的诊断价值[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2014, 28(2): 85-86.
- [17] Franzke CW, Has C, Schulte C, et al. C-terminal truncation impairs glycosylation of transmembrane collagen XVII and leads to intracellular accumulation[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(40): 30260-30268.
- [18] Saito M, Marumo K, Kida Y, et al. Changes in the contents of enzymatic immature, mature, and non-enzymatic senescent cross-links of collagen after once-weekly treatment with human parathyroid hormone (1-34) for 18 months contribute to improvement of bone strength in ovariectomized monkeys[J]. *Osteoporos Int*, 2011, 22(8): 2373-2383.
- [19] 张仁雯, 郝晓花, 刘燃, 等. GLT25D1血清水平与慢性乙型肝炎肝纤维化进程相关性分析[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2013, 22(4): 360-366.
- [20] Baumann S, Hennot T. Collagen accumulation in osteosarcoma cells lacking GLT25D1 collagen galactosyltransferase[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(35): 18514-18524.
- [21] Brafman DA, Phung C, Kumar N, et al. Regulation of endodermal differentiation of human embryonic stem cells through integrin-ECM interactions[J]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(3): 369-381.
- [22] Webster JA, Yang Z, Kim YH, et al. Collagen beta (1-O) galactosyltransferase 1 (GLT25D1) is required for the secretion of high molecular weight adiponectin and affects lipid accumulation[J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(3). pii: BSR20170105. doi: 10.1042/BSR20170105.
- [23] Chavey C, Mari B, Montheuil MN, et al. Matrix metalloproteinases are differentially expressed in adipose tissue during obesity and modulate adipocyte differentiation[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(14): 11888-11896.
- [24] Kawaguchi N, Toriyama K, Nicodemou-Lena E, et al. De novo adipogenesis in mice at the site of injection of basement membrane and basic fibroblast growth factor[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(3): 1062-1066.
- [25] Vaicik MK, Thyboll Kortessmaa J, Moverare-Skrtic S, et al. Laminin alpha4 deficient mice exhibit decreased capacity for adipose tissue expansion and weight gain[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109854.

收稿日期: 2018-01-30

叶小慧, 李玉凤, 张一帆, 等. 胶原糖基化GlcA1和2Galβ1修饰基因 (GLT25D1) 敲低小鼠模型的制备与基因型鉴定[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2018, 10(2): 25-29.