

多鳍鱼 Shh 基因克隆与同源性分析

张昌盛^{1,2}, 刘 群¹, 李湘涛², 翟 红², 王俊杰², 孙永华²

1. 中国农业大学动物医学院, 北京 100094

2. 北京自然博物馆, 北京 100050

[摘要] 根据已报道的软骨鱼、硬骨鱼、两栖类、鸟类、哺乳类和人的 Sonic hedgehog (Shh) 基因序列, 在 Shh 基因保守区设计一对简并性引物, 利用 PCR 技术从多鳍鱼 cDNA 中扩增 Shh 基因。结果显示, 多鳍鱼 Shh 基因全长 1 263bp, 编码 421 个氨基酸。通过同源性比较发现, 多鳍鱼与肺鱼的同源性最高, 为 82.5%, 二级结构分析表明, Shh 蛋白含有 30.71% 的 α 螺旋, 21.67% 的扩展线条和 47.62% 的无规卷曲, 不含 β 片层; 并以蛋白质结构数据库 (PDB) 中已解析的 Shh 蛋白的三维结晶结构 (3D) 为模板, 利用 <http://www.expasy.org/swissmod/SWISS-MODEL.html> 同源模建 Shh 蛋白的三维结构, 为进一步研究 Shh 基因在胚胎体节发育和肢芽图式形成中的功能奠定了基础。

[关键词] 多鳍鱼; Shh 基因; 分子进化; 同源性分析

[中图分类号] Q341, Q959.46*2

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)12-0023-05

Cloning and Polymorphistic Analysis of Shh Gene from Senegal Bichir

ZHANG Changsheng^{1,2}, LIU Qun¹, LI Xiangtao², ZHAI Hong², WANG Junjie², SUN Yonghua²

1. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China

2. Beijing Museum of Natural History, Beijing 100050, China

Abstract: A pair of degenerated primers was designed according to the reported Shh gene order of elasmobranch, teleost, amphibians, avifauna, mammalia and human, to amplify the Shh gene from Senegal bichir cDNA by PCR. The result shows that the Senegal bichir Shh gene is of 1 263 bp in length, with 421 amino acids. From a comparison by homology, it can be seen that lungfish and Senegal bichir share the highest homology of 82.5%. A secondary structure analysis shows Shh albumen consists of 30.71% of α helix, 21.67% of extended line and 47.62% of random coil, without β slice. To construct the three dimensional structure of Shh protein by homology using <http://www.expasy.org/swissmod/SWISS-MODEL.html> one establishes a good foundation for further studies on Shh gene functions in the embryonic development and the limb bud schema.

Key Words: senegal bichir; Shh gene; molecular evolution; polymorphistic analysis

CLC Numbers: Q341, Q959.46*2

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)12-0023-05

Hedgehog (Hh) 是果蝇发育中一种必需的体节极性基因^[1], Hedgehog 编码的蛋白在胚胎体节发育和肢芽图式形成中起着重要作用^[2-4], 在高等脊椎动物中, Hedgehog 基因家族至少含有 Shh (Sonic hedgehog)、Ihh (Indian hedgehog)、Dhh (Desert hedgehog) 3 种成分^[3-6]。

音猬因子 (Sonic hedgehog, Shh) 是 Hh 在脊椎动物中的同源基因之一, 是胚胎发育过程中由脊索产生的一种因子, 已相继在斑马鱼、鸡、鼠、人等不同物种中被发现^[7]。Shh 是 Hh 家族中表达最广泛的基因, 在 Hh 信号传导通路中起主要作用。分泌性糖蛋白 Shh 作为一种胞

收稿日期: 2007-03-24

基金资助: 北京市科学技术研究院萌芽计划项目资助

作者简介: 张昌盛, 北京崇文门天桥南大街 126 号北京自然博物馆, 助理研究员, 主要从事动物分子系统学研究;

E-mail: zhangdoudou77@sina.com

刘 群 (通讯作者), 北京市圆明园西路 2 号中国农业大学动物医学院, 教授, 主要从事动物医学研究; E-mail: qunliu63@sina.com

外信号因子^[8]参与脊椎动物胚胎发育的许多过程,它与细胞在肢体、体节、神经管发育中的分化建立有关,调节着神经管 D-V(dorsal-ventral)发育模式、肢体 A-P(anterior-posterior)发育模式、胚胎早期不对称发育模式和体节形成模式^[9],与多种器官如脑、脊索、肺脏、毛发、眼、颌面结构、牙齿、四肢等的形态形成有关^[10-12]。

多鳍鱼(Senegal bichir)的背鳍由一系列尖棘状小鳍组成,每1小鳍由1鳍轴骨支持着,并有一前后扁平的硬鳍条;臀鳍较短,位于鱼体的后下部;胸鳍基部呈肉质叶;腹鳍肉质叶较胸鳍小,距胸鳍较远;尾鳍呈歪形。多鳍鱼体被菱形的厚硬鳞覆盖,是远古时代遗留下来的鱼类之一,由于其在进化关系上的地位特殊,所以有活化石之称。为了探明 Shh 基因的结构和定义该基因能否作为分子信标基因,本文从多鳍鱼的 cDNA 中克隆了 Shh 基因(Sebi-Shh),并对其基因序列与氨基酸序列进行了分析,为进一步研究多鳍鱼分子进化规律奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 多鳍鱼

本文共使用 12 尾多鳍鱼,来自北京自然博物馆水生生物馆。

1.2 RNA 提取与 cDNA 合成

首先用 Trizol 试剂(GibcoRBL)从多鳍鱼肌肉组织中提取总 RNA,以总 RNA 为模板,用 pd(N)6 随机引物、First-Strand cDNA Synthesis 试剂盒(Pharmacia Biotech)反转录合成第一链 cDNA(fcDNA)。

1.3 简并性引物设计

根据已报道的软骨鱼、硬骨鱼、两栖类、鸟类、哺乳类和人 Shh 基因序列,在 Shh 基因保守区设计一对引物。上游引物:5'-ATGCKGCTBHKGACVAGA-3';下游引物:5'-TCAVCTBGVVKDTACYCMCAT-3'。其中 K 代表 T 或 G;B 代表 G,T 或 C;H 代表 T,C 或 A;V 代表 A 或 G;D 代表 G,T 或 A;Y 代表 T 或 C;M 代表 A 或 C。

以 fcDNA 为模板,用上、下游引物,参照 TakaRa ExTaq PCR 试剂盒(TakaRa)进行 PCR 扩增。PCR 反应总体积为 50 μ L,模板添加量为 0~5 μ g。PCR 程序如下:首先 98℃热变性 8 min,加入 ExTaq 酶;再 94℃热变性 1 min,然后 55℃退火 1 min、72℃延伸 3 min。PCR 反应在 PCR Express 仪上进行 30 个循环。反应产物经 2% 琼脂糖电泳,用 GENECLAN 试剂盒(BIO101)回收 1 200bp 左右的条带,然后与 T-Easy 载体(Promega)连接,转化 JM109 感受态细胞;再用 QIAEX II 试剂盒(QIAGEN)纯化重组质粒,用 ABI PRISM Big Dye Primer Cycle Sequencing Ready Reaction 试剂盒和 ABI 377 型 DNA 自动测序仪(Perkin Elmer 公司)从 T7 引物

端测定阳性克隆基因序列。

1.4 Shh 基因序列分析与分子进化系统树的构建

根据已报道的软骨鱼、硬骨鱼、两栖类、鸟类、哺乳类和人 Shh 氨基酸序列,利用 DNAMAN 软件,采用 UPG 法绘制分子系统树。

1.5 Shh 基因二级结构的预测与三级结构的同源构建

应用 EXPASY 服务器(<http://www.expasy.ch/tools/>)上的 GOR 法预测 Shh 蛋白的二级结构。以蛋白质结构数据库(PDB)中已解析的 Shh 蛋白的三维结晶结构(3D)为模板,利用 <http://www.expasy.org/swissmod/SWISS-MODEL.html> 同源建模 Shh 蛋白的三维结构,应用 Rasmol 法分析软件绘制其结构图。

2 结果

2.1 Shh 基因的扩增与酶切鉴定

以多鳍鱼 cDNA 为模板,用上、下游引物进行 PCR 扩增,产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,在 1 200 bp 左右处有一特异性条带。将扩增产物回收、纯化,插入 T 载体,经 *Eco*RI 酶切鉴定,在大约 3 000 bp 和 1 200 bp 处分别有一条特异性的条带,与预期结果相符(图 1)。

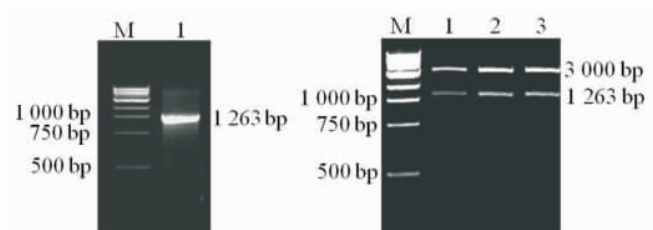


图 1 Shh 基因的扩增与酶切鉴定

Fig. 1 Electrophoresis of Shh gene RT-PCR product and recombinant T-easy-vectors digested by *Eco*RI

2.2 Shh 基因序列分析

将鉴定阳性克隆进行基因测序,并输入 DDBJ/EMBL/GenBank 进行 blast 比对分析,结果显示,多鳍鱼 Shh 基因全长 1 263 bp,编码 421 个氨基酸,在第 24,51,102,183,198,345 和 373 位氨基酸处分别含有一个半胱氨酸,可以形成 3 对二硫键,结果如图 2 所示。

2.3 Shh 基因同源性比较

将多鳍鱼 Shh 氨基酸序列与已报道的软骨鱼、硬骨鱼、两栖类、鸟类、哺乳类和人 Shh 氨基酸序列进行比较,结果发现:多鳍鱼与爬行类的同源性最高,达 82.3%;和哺乳类的同源性在 65.9%~66.4%之间(图 3)。值得一提的是,所有动物的 Shh 基因在 1~200 氨基酸处高度保守,同源性达 90%以上。这可能是脊椎动物所特有的保守区域,还没有研究表明无脊椎动物的 Shh 基因有相应的结构。

```

10      20      30      40      50      60      70      80      90
ATGCTGCTGTTGACAAGAAATTCTGCTGGGCAGGTTGATCAGTGTGTTTTTGGTCCACTCCGGGGTGACTTGCGGACCTGGCAGAGGCTTT
M L L L T R I L L G R L I S V F L V H S G V T C G P G R G F
100     110     120     130     140     150     160     170     180
GAAAAAGGAGGCACCCCAAAAGCTCACCCCGTCAGCCTATAAGCAGTTTATCCCAATGTGCGGAGAGAAGACCTTAGGGGCCAGCGGC
E K G G T P K S S P R Q P I S S L F P M C A E K T L G A S G
190     200     210     220     230     240     250     260     270
AGATACGAGGGCAAGATCACACGCAAGTCCGAGAGATTTAAAGAAGTACTCCAAATTACAAGCCGACATTATTTTAAAGGATGAAGAG
R Y E G K I T R K S E R F K E L T P N Y K P D I I F K D E E
280     290     300     310     320     330     340     350     360
AACACGGGCGGACAGACTCATGACACAGAGATGCAAGACAAGCTGAAGTCCCTGGCCATCTCTGTAATGAACCAAGTGGCCAGGGGTG
N T G A D R L M T Q R C K D K L N S L A I S V M N Q W P G V
370     380     390     400     410     420     430     440     450
AAACTGCGTGTGACAGAGGGTGGGATGAGGATGGCCATCAGTCCGAAGAATCACTCCACTACGAGGGTGGGCTGTGTATATCACCACC
K L R V T E G W D E D G H Q S E S L H Y E G R A V D I T T
460     470     480     490     500     510     520     530     540
TCTGATCGAGACAAGAGCAATATGGGACACTCTCTCGGTTAGCTGTGGAAGCTGGATTGACTGGGTCTATTACGAGTCCAAAGCGCAC
S D R D K S K Y G T L S R L A V E A G F D W V Y Y E S K A H
550     560     570     580     590     600     610     620     630
ATCCATTGCTCCGTCAAAGCAGAAAAGTCTGGTTCGGGCGAAATCTGGAGGCTGCTTCCAGGTTCCGGCTCAGTCGCGCTCAAAGACGGA
I H C S V K A E N S V A A K S G G C F P G S A S V A L K D G
640     650     660     670     680     690     700     710     720
CCGAGAAAGACGGTGAAGGACCTCGCAGAGGTGACAAGGTGCTGGCAGCGGAGTCGCTAGGGAAGCGTCGTTTCAGCGACTTCATCATG
P Q K T V K D L A R G D K V L A A E S L G K R R F S D F I M
730     740     750     760     770     780     790     800     810
TTCAGCGACCGAGTCCGCGACGCGACGCGTGTTCACGTGATAGAAACGAAAGAACCCGTCGAAAAGATCACCTCACCAGTGTCTCAC
F S D Q D S A T R R V F Y V I E T K E P V E K I T L T A A H
820     830     840     850     860     870     880     890     900
CTCCTTTTGTCTCGACAACCTCAACGACGTCGTCCTCGACCATGACCGCCGCTTGGCAGCAGTGTGAGAGCCGACAAAAGGTGATG
L L F V L D N S T D V V S T M T A A F A S S V R A G Q K V M
910     920     930     940     950     960     970     980     990
GTCAGCGATCATCGGGAGCGCAGCTGCTTCAATCTGTCATCGTGGAGCGGATATACACGGAGGAGGCGTCCGGAGCGTACGCACCAAGTG
V S D H R G A Q L L Q S V I V E R I Y T E E A S G A Y A P V
1000    1010    1020    1030    1040    1050    1060    1070    1080
ACTGCTCATGGAACATTGTGTCGACCGGGTGTGGCGTCTGTTCGGCCGTAATGCAGGACCACAGTTGGGCCCATTTGGCCTTCGCG
T A H G T I V V D R V L A S C S A V M Q D H S W A H L A F A
1090    1100    1110    1120    1130    1140    1150    1160    1170
CCCGTCAGGCTCCGAGATCACGTGTCTTCTTCTGTGCCAGATGGGGCCATCCCTACTGCCGCCGCACTTTACAACAGGAAGGAGTC
P V R L R D H V S S F L C P D G A I P T A A A T L Q Q E G V
1180    1190    1200    1210    1220    1230    1240    1250    1260
CACTGGTACTCCAAGCTCCTGTTTCAAGTTGGAACGTGGCTTTTGACAGCCGATGATCCATCTCTTGGGATGGTGGCACCAGGCCAGC
H W Y S K L L F Q V G T W L L D S R M I H P L G M V A P A S
1270
TGA

```

图 2 Shh 基因序列分析

Fig. 2 Nucleotide sequence and amino acid of Shh gene from sanegal bichir

2.4 Shh 基因分子系统进化树的构建

根据已报道的软骨鱼、硬骨鱼、两栖类、鸟类、哺乳类和人 Shh 氨基酸序列,利用 DNAMAN 软件,采用 UPG 法绘制分子系统树,结果如图 4 所示。

2.5 Shh 基因二级结构的预测与三级结构的同源构建

应用 EXPASY 服务器上的 GOR 法预测 Shh 蛋白的二级结构,Shh 蛋白含有 30.71%的 α 螺旋,不含 β 片层,21.67%的扩展线条和 47.62%的无规卷曲;并以蛋白质结构数据库(PDB)中已解析的 Shh 蛋白的三维结晶结构(3D)为模板,利用 <http://www.expasy.org/swissmod/>

SWISS-MODEL.html 同源模建 Shh 蛋白的三维结构,结果如图 5 所示。

3 讨论与结论

Shh 是胚胎发育过程中由脊索产生的一种因子,它是一种重要的发育调控因子,参与体内多种发育过程,包括神经管的定型、肢体的发育、细胞表型的定向诱导等^[2]。本研究首先克隆了在动物进化上有特殊位置的多鳍鱼 Shh 基因,对其多态性、三级结构进行了量化分析。Shh 基因分子系统进化树所表现出的物种之间的亲

House mouse	**MLLLARC	FLVILASSLL	VCPGLACGPG	RGFGKRRHPK	KLTPLAYKQF	IPNVAEKTIG	58		
Mongolian gerbil	**P	V					58		
Norway rat	**	A		Q			58		
Human	***M	L-LV-V	S				57		
Bastard halibut	***M-WT-I	V-AGVICLS	SS-MG	Y-R			57		
Common carp	***MR-MT-V	L-SPL-LS	VS	Y-R-K			57		
Fugu rubripes	***M-WT-I	V-G-LCLS	SS-MG	Y-R			57		
Mexican tetra	***MM	S-A-LAALALS	***AM	Y-R-K			54		
Senegal bichir	***M	T-I L-GR-I-VF	HS-VT	E-GGT	SSPRQPISSL	F-MC	57		
Zebrafish	***MR	T-V L-S-LTIS	VS	Y-R			57		
Chicken	MVEM	T-I L-GFICA	SS-T	I			60		
Lepidosauria	MDEM	T-I L-GFICA	SS-T	I			60		
House mouse	ASGRYEGKIT	RNSERFKELT	PNYNPDIIFK	DEENTGADRL	MTQRCKDKLN	ALAISVMNQW	118		
Mongolian gerbi							118		
Norway rat							118		
Human		S					117		
Bastard halibut			T			S	117		
Common carp						S	117		
Fugu rubripes			T			S	117		
Mexican tetra			I			S	114		
Senegal bichir		K	K			S	117		
Zebrafish						S	117		
Chicken							120		
Lepidosauria			S				120		
House mouse	PGVKLRVTEG	WDEDGHSE	SLHYEGRVD	ITTSDDRDRSK	YGMLARLAVE	AGFDWVYYES	178		
Mongolian gerbil							178		
Norway rat							178		
Human							177		
Bastard halibut		F		K	T-S		177		
Common carp		F		K	T-S		177		
Fugu rubripes		F		K	T-S		177		
Mexican tetra		F		K	T-S		174		
Senegal bichir		Q		K	T-S		177		
Zebrafish		F		K	T-S		177		
Chicken							180		
Lepidosauria							180		
House mouse	KAHIHCSVKA	ENSVAAKSGG	CFPGSATVHL	EQGGTKLVKD	LRPGDRVLAA	DDQGRLLYS	238		
Mongolian gerbil							238		
Norway rat	-R	D			S		238		
Human					S		237		
Bastard halibut			S-T	QD-TK-P-A	QT	AH-QPV-T	237		
Common carp			L-A	KD-RQ-A	N-K	GN-K-VF	237		
Fugu rubripes			S-T	QD-TK	H-S	D-NPT-T	237		
Mexican tetra			SH-R	KDSRQ-AL	K-S-S	ES-N-V	234		
Senegal bichir			S-A	KD-PQ-T	AR-K	ESL-KRRF	237		
Zebrafish			L-S	QD-Q-A	N-K	SA-N-VF	237		
Chicken				H	S	AD	240		
Lepidosauria		*****	*****	*****	*****	*****	195		
House mouse	FLTFLDRDEG	AKKVIFYVIET	LEPRERLLLT	AAHLLFVAPH	NDS*****	*****G*	282		
Mongolian gerbil			R		G-*****	*****	282		
Norway rat			R		*****	*****	282		
Human		D	R		ATGEPEA	SSGSGPPS*	296		
Bastard halibut	-IM-I-Q-ST	TRRL	*DSGQKIT		G**	*****	***HSNSTER	281	
Common carp	-I*-T-SA	TRR	K-V-KIT		L**	*****	***D*NSTD*	279	
Fugu rubripes	-IM-V-ST	TRRLYH	*DSGQKIT		Y**	*****	***R*NGTE*	279	
Mexican tetra	-IM-T-PS	TRR	KA-VQKIT		I-IL**	*****	***NNSTQST QANANYAN-A	289	
Senegal bichir	-IM-S-Q-SA	TRR	K-V-KIT		L**	*****	***DNSTD	280	
Zebrafish	-IM-T-ST	TRR	Q-V-KIT		L**	*****	***D*NSTE*	280	
Chicken		MDS SR-L	RQ-A		Q	HNQ*****	*****SEAT*	288	
Lepidosauria	*****	*****	*****	*****	*****	*****	195		
House mouse	PTPGPSALFA	SRVRPGQVRY	VVAERGGDRR	LLPAAVHSVT	LREEEAGAYA	PLTAHGTILI	342		
Mongolian gerbil	GPI		A		A	P-K	342		
Norway rat	P				A	D	342		
Human	GAL-R		D		S-A	Q	356		
Bastard halibut	AHR-M-V	Q	T-F	L*DAER**L	*Q-VT-KRI*	YTQ-HE-SF	V-Q-VVV	336	
Common carp	DLHSM-T-A	S-A-K-M	*D*DSGPL	*KSVI-ERI*	YT-HQ-SF	V-V	VV	335	
Fugu rubripes	*GD-M-V	Q-R-K-I	S*DPERS-L	*E-VT-ERI*	YTQ-HV-S	V-VQ-SVVV	335	335	
Mexican tetra	QAMVMTST	N-V-K-L	*D-N-CQL	*N-VV-ERI*	YM-HQ-S	V-S	VV	346	
Senegal bichir	VVSTMT-A	S-A-K-M	S*DHR-AQL	*QSVI-ERI*	YT-AS	V-V	VV	338	
Zebrafish	DLHTMT-AY	S-A-K-M	*D*DSGQL	*KSVI-QRI*	YT-QR-SF	V-V	VV	336	
Chicken	S-S-Q*	N-K	LG**GQQ	S-S	AS	Q	345	345	
Lepidosauria	*****	*****	*****	*****	*****	*****	195		
House mouse	NRVLASCYAV	IEEHSWAHRA	FAPFRLAHAL	LAALAPARTD	*****	GGGGGSIP*A	391		
Mongolian gerbil	K	P			*****	*	391		
Norway rat					*****	*	391		
Human					RGGDSGGDR	RVALT	416		
Bastard halibut	DQ	QD-EL-W	L-V	WV	SSL-FS****	SQPQASAKQD	VHWY-KILY	392	
Common carp	D-I	D-L-L	V	YYDV	SSV-F-KNFI	SQSNATLQQE	VHWY-KLLF	395	
Fugu rubripes	DEI	D-DL-W	L-V	WV	SSL-SR****	SQPGGGGQKD	VHWY-RLLY	391	
Mexican tetra	DQ	QD-WL-W	V	S	SSL-L*QSS	QPSNSTQLD	IHWY-RLLY	405	
Senegal bichir	D	S	MQD	L	V-RDHV	SSF-C-DGAI	PTAAATLQQE	VHWY-KLLF	398

图 3 Shh 氨基酸序列比较分析

注：“*”表示缺失；“-”表示同源

Fig. 3 Alignment of Shh gene from the senegal bichir and different vertebrate

Note: “*”absent; “-”homologous

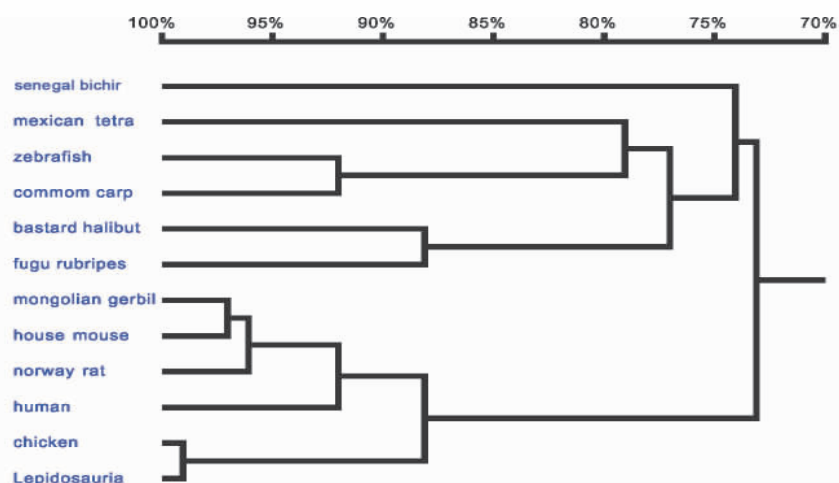


图 4 Shh 基因分子进化系统树的构建

Fig. 4 Molecular phylogenetic tree of Shh gene

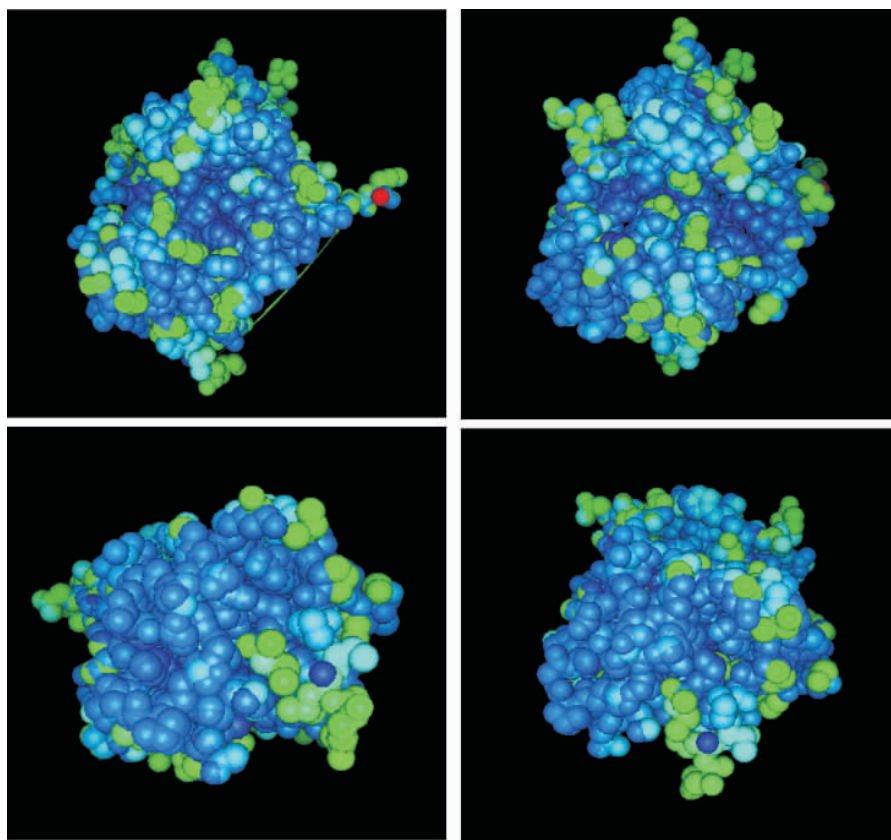


图 5 Shh 蛋白三级结构的同源构建

Fig. 5 Predicted 3D structure of Shh protein

缘关系与传统形态学研究得到的结果有很高的符合率。本文的研究结果表明:Shh 基因可以作为一种可靠的分子信标基因用于对动物分类学的研究,为进一步进行多鳍鱼的进化研究奠定了基础。

参考文献 (References)

- [1] NUSSLEIN-VOLHARD C, IESCHAUS E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila* [J]. Nature, 1980, 287: 795-801.
- [2] SPINELLA-JAEGLE S, RAWADI G, KAWAI S, *et al.* Sonic hedgehog in-

creases the commitment of pluripotent mesenchymal cells into the osteoblastic lineage and abolishes adipocytic differentiation [J]. J Cell Sci, 2001, 114: 2085-2094.

- [3] ALTABA A R. Catching a gli-mpse of hedgehog [J]. Cell, 1997, 90: 193-196.
- [4] YAMAGUCHI A, KOMORI T, SUDA T, *et al.* Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs and cb-fal[J]. Endoc Rev, 2000, 21 (4): 393-411.
- [5] McMAHON A P. More surprises in the hedgehog signaling pathway [J]. Cell, 2000, 100: 185-188.
- [6] TAIPALE J, BEACHY P A. The hedgehog and wnt signaling pathways in cancer [J]. Nature, 2001, 411: 349-354.
- [7] POWNALL M E. More to patterning than sonic hedgehog [J]. Bioessay, 1994, 16(6): 381-383.
- [8] INGHAM P W. Transducing hedgehog: the story so far [J]. EMBO J, 1998, 17(13): 3505-3511.
- [9] INGHAM P W, McMAHON A P. Hedgehog signaling in animal development: Paradigms and principles (Review) [J]. Genes Dev, 2001, 15 (23): 3059-3087.
- [10] MILENKOVIC L, GOODRICH L V, HIGGINS K M, *et al.* Mouse patched1 controls body size determination and limb patterning [J]. Development, 1999, 126(20): 4431-4440.
- [11] MING J E, ROESSLER E, MUENKE M. Human developmental disorders and the sonic hedgehog pathway [J]. Mol Med Today, 1998, 4 (8): 343-349.
- [12] NASRALLAH I, GOLDEN J A. Brain, eye, and face defects as a result of ectopic localization of Sonic hedgehog protein in the developing rostral neural tube [J]. Teratology, 2001, 64 (2): 107-113.

(责任编辑 王 芷)