

网络出版时间:2015-12-02 14:25 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2016.01.001
网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20151202.1425.002.html

秦川牛 *SIRT3* 基因 SNPs 检测及其与体尺和肉质性状的关联分析

邓冠群¹, 咎林森^{1,2}, 王洪宝¹, 桂林生¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 国家肉牛改良中心, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】研究秦川牛 *SIRT3* 基因的多态性及其对秦川牛体尺、肉用性状的影响, 以探索改善秦川牛体尺、肉用性状的分子育种方法。【方法】随机选择相近饲喂条件下 468 头 18~24 月龄健康秦川母牛, 采用 DNA 直接测序技术进行 *SIRT3* 基因全区域遗传变异检测。运用 SPSS16.0 软件中最小二乘法拟合线性模型, 对 *SIRT3* 基因不同基因型与秦川牛体尺(体斜长、体高、腰高、尻长、腰角宽、胸深、胸围和坐骨端宽)和肉质性状(背膘厚、眼肌面积和肌肉脂肪含量)进行关联分析。【结果】经 DNA 测序发现, 秦川牛 *SIRT3* 基因在第 4 内含子上存在 2 个突变位点, 分别为 C22522T 突变和 C22680G 突变, 均存在 3 种基因型。 χ^2 检验表明, C22522T 和 C22680G 位点均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态($P < 0.01$)。关联性分析表明, 秦川牛 *SIRT3* 基因 2 个突变位点的不同基因型与体斜长、体高、尻长、腰角宽、胸深、胸围和背膘厚、眼肌面积、肌肉脂肪含量有显著或极显著相关关系。【结论】*SIRT3* 基因对秦川牛部分体尺、肉质性状有显著的影响, 可以尝试作为秦川肉牛新品系培育的主要候选基因。

[关键词] 秦川牛; *SIRT3* 基因; SNPs; 体尺性状; 肉质性状

[中图分类号] S823.8⁺12

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2016)01-0001-06

Association of *SIRT3* gene polymorphism with body measurements and meat traits of Qinchuan cattle

DENG Guan-qun¹, ZAN Lin-sen^{1,2}, WANG Hong-bao¹, GUI Lin-sheng¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 National Beef Cattle Improvement Center in China, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The study investigated the polymorphism of *SIRT3* gene and the association with body measurements and meat traits of Qinchuan cattle to find molecular breeding methods for improving body measurements and meat traits of Qinchuan cattle. 【Method】In this study, 468 Qinchuan heifers with the age of 18 to 24 months under similar feeding conditions were randomly selected. Direct DNA sequencing methods were used to detect the polymorphisms in *SIRT3* gene. Least squares fitting linear model incorporated in SPSS16.0 program was used to analyze the relationship of genotype with body measurements and meat traits. 【Result】Two SNPs, C22522T and C22680G, were detected in *SIRT3* gene. PCR-RFLP analysis showed that three genotypes were found in C22522T and C22680G, respectively. χ^2 test showed C22522T and C22680G were in Hardy-Weinberg disequilibrium ($P < 0.01$). The genotypes of dif-

[收稿日期] 2014-05-09

[基金项目] “十二五”国家“863”计划项目(2013AA102505, 2011AA100307-02); 国家科技支撑计划项目(2011BAD2804-03); 国家自然科学基金项目(31272411); 国家转基因育种专项(2011ZX08007-002); 国家肉牛牦牛产业技术体系项目(CARS-38); 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2011KTCL02-07)

[作者简介] 邓冠群(1991—), 男, 湖南娄底人, 硕士, 主要从事动物生物技术研究。E-mail: dengguanqun.789@163.com

[通信作者] 咎林森(1963—), 男, 陕西扶风人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事肉牛遗传改良与种质创新研究。
E-mail: zanlinsen@163.com

ferent mutations in *SIRT3* gene were found to be significantly related to body length, withers height, hip height, rump length, pin bone width and back-fat thickness, lion muscle area, and intramuscular fatty content. 【Conclusion】 SNPs of the *SIRT3* gene had significant effects on body measurements and meat traits of Qinchuan cattle. Thus, it could be used as a major candidate gene for new strain breeding of Qinchuan cattle.

Key words: Qinchuan cattle; *SIRT3* gene; polymorphism; body measurement; meat trait

Sirtuins 是一类高度保守的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+)依赖的去乙酰化酶,可调节如寿命和代谢等生物学功能^[1]。研究表明,Sirtuins 在进化过程中高度保守,自细菌到人类的生物机体内均存在其同源体,其家族包含 7 个细胞定位和靶蛋白各不相同的成员(*SIRT1*~*SIRT7*),其中,*SIRT1* 和 *SIRT2* 定位于细胞质和细胞核中,*SIRT3*、*SIRT6* 和 *SIRT7* 定位于线粒体基质中,而 *SIRT4* 和 *SIRT5* 则定位于线粒体中,该基因家族各成员参与基因沉默、DNA 双链断裂修复、组蛋白去乙酰化、细胞周期调节和抗衰老等生理生化过程^[2]。

众所周知,线粒体是细胞能量代谢最重要的细胞器,在细胞代谢、能量产生、细胞凋亡和胞内信号转导等生理过程中发挥着重要的作用。作为 Sirtuins 家族重要的成员之一,*SIRT3* 定位于线粒体基质中,通过对多种细胞因子去乙酰化作用,进而调控机体的能量代谢^[3]。敲除 *SIRT3* 基因会导致机体的线粒体过度乙酰化,造成细胞能量代谢及有丝分裂过程发生异常。乙酰辅酶 A 合成酶 2 (*AceCS2*)是 *SIRT3* 基因的重要底物,对其去乙酰化作用后,机体的三羧酸循环产能进程受到影响^[4],这说明 *SIRT3* 在 ATP 的生成中发挥着重要的调控作用。此外,*SIRT3* 基因通过作用于过氧化物酶体增殖子激活受体(*PGC1- α*),能间接促进线粒体生物合成和脂肪酸氧化代谢^[5]。白藜芦醇作为一种有效的抗氧化剂,可以调控线粒体活性并上调 *SIRT3* 基因的表达量,而 *SIRT3* 被证实能够抑制 3T3-L1 脂肪细胞的脂肪形成并且能改变脂肪量^[6]。以上研究表明,*SIRT3* 通过在线粒体中发挥一系列作用,可调控机体的能量和脂质代谢。

但目前有关 *SIRT3* 基因多态性的研究尚未见报道。鉴于 *SIRT3* 基因在机体能量代谢过程中的重要调控机制,本研究将该基因作为影响秦川牛肉用性状的一个候选基因,研究其多态性与秦川牛生长及肉质性状间的多态性效应,为加快秦川牛肉用性状的改善提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 血样的采集 从陕西省秦川肉牛良种繁育中心、陕西省农牧良种场和西北农林科技大学国家肉牛改良中心良种繁育场随机选择饲喂条件相近的 18~24 月龄健康秦川母牛 468 头,颈静脉采血 10 mL/头,ACD 抗凝($V(\text{ACD}):V(\text{血液})=1:6$),轻微振荡混匀后 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.1.2 主要试剂和仪器 蛋白酶 K 购自德国默克公司;EDTA、Tris 饱和酚、Tris、N,N'-亚甲基双丙烯酰胺(Bis)、硼酸、二甲基亚砷(DMSO)、N,N,N,N'-四甲基乙二胺(TEMED)、含染料 Reaction MIX、DNA Marker、甲醛、琼脂糖等,均购自天根生化科技(北京)有限公司;十二烷基磺酸钠(SDS)、去离子甲酰胺,均购自北京鼎国昌盛生物科技有限公司。

凝胶成像系统(Bio-Rad 公司,美国),PCR 仪(Bio-Rad 公司,美国),冷冻高速离心机(CENTURION,英国),电泳槽、稳流稳压电泳仪(北京市六一仪器厂,北京),恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司,上海)。

1.2 秦川牛体尺指标及肉质指标的测定

实地测量秦川牛体斜长、体高、腰高、尻长、腰角宽、胸深、胸围和坐骨端宽等体尺指标,并使用兽用 B 超仪活体测定相应个体的背膘厚、眼肌面积和肌间脂肪含量等肉质指标。

1.3 秦川牛基因组 DNA 的制备

采用传统的酚氯仿抽取法提取牛的血样基因组 DNA^[7],用 TE 缓冲液溶解后,用 0.5% 琼脂糖凝胶电泳检测其纯度,同时用紫外分光光度计测定其质量浓度并调整到 $50\text{ ng}/\mu\text{L}$, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.4 秦川牛 *SIRT3* 基因的序列分析

1.4.1 引物的设计与合成 参考 GenBank 中提供的牛 *SIRT3* 基因序列(GenBank 登录号:NM_001206669.1),利用 Primer 5.0 软件设计编码区引物,引物由上海生工生物工程技术有限公司合

成,其相关信息见表 1。

表 1 秦川牛 *SIRT3* 基因突变区域引物信息

Table 1 Information of primers for mutation region of Qinchuan cattle <i>SIRT3</i> gene					
突变位点 Mutation site	引物序列(5'→3') Sequence of primer(5'→3')	位置 Location	产物定位/bp Location of production	扩增产物长度/bp Production size	退火温度/℃ <i>T</i> _m
C22522T C22680G	F:CCCTTTTCAAGTGTGCCG R:CCAGAGTGTCACCACG	外显子 4 Exon 4	22 455~22 762	307	60.1

1.4.2 *SIRT3* 基因的 PCR 扩增 PCR 反应体系为 15 μ L:0.5 U *Taq* DNA 聚合酶(含 0.20 mg dNTPs),2.5 mmol/L MgCl₂ 的 Mix 7.5 μ L,DNA (50 ng/ μ L)1.0 μ L,5 μ mol/L 混合引物(上、下游引物浓度均为 10 pmol/ μ L)0.6 μ L,ddH₂O 5.9 μ L。PCR 反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,60.9 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 35 s,37 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶以 5 V/cm 电泳 20 min 检测。引物序列、扩增产物长度、退火温度和位置见表 1。

1.4.3 PCR 产物纯化与测序 随机选取 8 个 DNA 样本构建 DNA 池进行 PCR 扩增,PCR 产物使用凝胶回收试剂盒回收纯化,并送上海生工生物工程技术服务有限公司进行测序。使用 SeqMan (5.2) 软件对测序结果进行比对以寻找突变位点,结果显示,第 4 内含子上存在 2 个突变位点,分别是 22 522 位核苷酸 C→T 的突变和 22 680 位核苷酸 C→G 的突变,由于在这 2 个突变位点上未发现合适的酶切位点,且 SSCP 方法复杂等原因,本试验 468 个样本采用直接测序法分析,测序公司为上海生工生物工程技术服务有限公司。

1.5 数据统计分析

运用遗传多样性分析软件(Genpop 32)统计各突变位点的等位基因频率和基因型频率,同时计算有效等位基因数(*N_e*)、多态信息含量(*PIC*)、遗传纯合度(*H_o*)和遗传杂合度(*H_e*)。其中,*PIC*>0.5 时说明该突变位点处于高度多态,0.25<*PIC*≤0.5 为中度多态,*PIC*≤0.25 为低度多态。运用 SPSS16.0 软件对不同位点基因型的分布进行 χ^2 检验,当 $\chi^2 < \chi^2_{0.05}$ 说明该位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态; $\chi^2_{0.05} \leq \chi^2 < \chi^2_{0.01}$ 时为 Hardy-Weinberg 不平衡状态; $\chi^2_{0.01} \leq \chi^2$ 时为 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态。采用 SPSS(16.0 version)程序中最小二乘法拟合线性模型对 *SIRT3* 基因不同基因型与秦川牛体尺性状(体斜长、体高、腰高、尻长、腰角宽、胸深、胸围和坐骨端宽)和肉质性状(背膘厚、眼肌面积和肌间脂肪含量)进行关联分析。最小二乘法拟合线性模型如下:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + F_j + e_{ij}。$$

式中:*Y_{ij}* 为个体表型值, μ 为群体均值,*G_i* 为标记基因型效应,*F_j* 为牧场种群效应,*e_{ij}* 为随机误差。

2 结果与分析

2.1 秦川牛 *SIRT3* 基因的 PCR 扩增结果

图 1 显示,PCR 扩增获得了 307 bp 的片段,长度与预期结果一致,且条带清晰、特异性好,可直接用于后期的 DNA 直接测序。

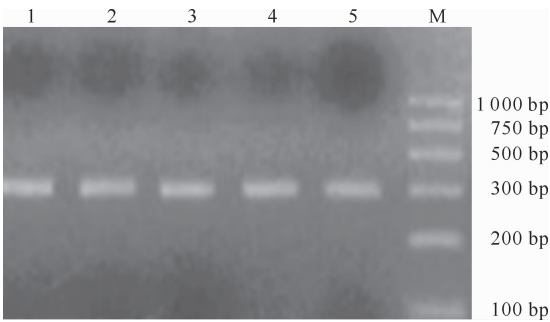


图 1 秦川牛 *SIRT3* 基因的 PCR 扩增部分结果
1~5. 307 bp 扩增片段;M. DNA Marker DL1000

Fig.1 Partial results of PCR amplification of *SIRT3* gene in Qinchuan cattle

1—5. Amplification fragment of 307 bp;M. DNA Marker DL1000

2.2 秦川牛 *SIRT3* 基因的测序及序列分析

通过使用 SeqMan(5.2)软件,对比分析秦川牛 *SIRT3* 基因的测序结果,发现了 2 个多态位点,均处于第 4 内含子,分别命名为 C22522T (B1)和 C22680G (B2)。分析发现,B1 位点存在 CC、CT 和 TT 3 种基因型,B2 位点存在 CC、CG 和 GG 3 种基因型(图 2)。

2.3 秦川牛 *SIRT3* 基因突变区域遗传多态性分析

从群体遗传学角度分析秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点的基因型频率、等位基因频率、遗传纯合度、遗传杂合度、有效等位基因数和多肽信息含量等遗传指标,结果(表 2)显示,B1 位点 TT 是优势基因型,T 为优势等位基因,位点处于低度多态状态;B2 位点 CC 是优势基因型,C 为优势基因,位点处于中度多态状态。 χ^2 检验表明,B1、B2 处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态(*P*<0.01)。

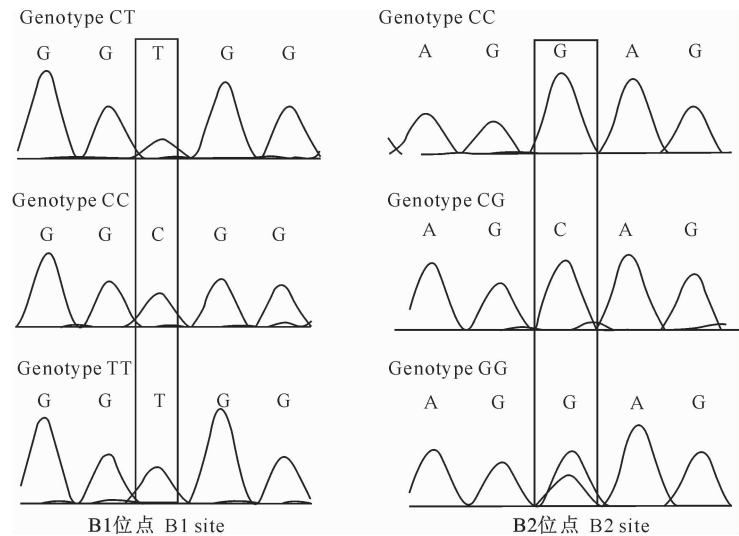


图 2 秦川牛 *SIRT3* 基因突变区域基因型突变序列比对

Fig. 2 Sequence comparison between different genotypes of mutational regions of *SIRT3* gene in Qinchuan cattle

表 2 秦川牛 *SIRT3* 基因 B1 和 B2 位点突变的遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of B1 and B2 sites at *SIRT3* gene in Qinchuan cattle

突变位点 Mutation site	基因型频率 Genotypic frequency			等位基因频率 Allele frequency		遗传 纯合度 <i>H</i> _o	遗传 杂合度 <i>H</i> _e	有效等位 基因数 <i>N</i> _e	多态信息 含量 <i>PIC</i>	χ^2 检验 χ^2 -test
B1	CC	CT	TT	C	T	0.740	0.260	1.352	0.227	15.044 **
	0.047(11)	0.214(122)	0.739(335)	0.154	0.846					
B2	CC	CG	GG	C	G	0.568	0.432	1.762	0.339	97.529 **
	0.566(219)	0.235(202)	0.199(47)	0.684	0.312					

注:括号中数字表示样本数目; $\chi^2_{0.05}=5.99, \chi^2_{0.01}=9.21, df=2$ 。* * 表示该突变处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态。

Note:The digits in brackets mean sample numbers. $\chi^2_{0.05}=5.99, \chi^2_{0.01}=9.21, df=2$ 。* * means the polymorphism is in highly Hardy-Weinberg disequilibrium ($P<0.01$).

2.4 秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点不同基因型与
体尺和肉质性状的关联分析

2.4.1 秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点不同基因型
与体尺性状的相关性 由表 3 可知,B1 位点不同基
因型在体斜长、体高、尻长、腰角宽和胸深方面差异
显著($P<0.05$),胸围方面差异极显著($P<0.01$),
CC 基因型个体均值显著高于 TT 基因型个体均值;
而在其他体尺性状方面基本遵循 CC 基因型个体均
值略高于 TT 基因型个体均值的趋势,但无统计学
差异($P>0.05$)。B2 位点不同基因型在体高、尻
长、腰角宽、胸深和胸围方面差异显著($P<0.05$),
体斜长方面差异极显著,CC 基因型个体均值显著高
于 CG 基因型个体均值;而在其他体尺性状方面遵
循 CC 基因型个体均值略高于 CG 基因型个体均值的
趋势,但无统计学差异($P>0.05$)。关联性分析
表明:秦川牛 *SIRT3* 基因不同突变位点的不同基因
型个体与体斜长、体高、尻长、腰角宽、胸深和胸围显

著相关($P<0.05$)或极显著相关($P<0.01$)。

2.4.2 秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点不同基因型
与肉质性状的相关性 由表 4 可知,B1 位点的 TT
基因型个体在背膘厚方面显著高于 CC 基因型个体
($P<0.05$),在肌间脂肪含量方面显著高于 CT 基
因型个体($P<0.05$),而在眼肌面积方面 CC 基因型个
体均值略高于 CT 和 TT 基因型个体均值,但无统
计学差异($P>0.05$)。B2 位点不同基因型在眼肌
面积方面差异极显著($P<0.01$),CC 基因型个体平
均值显著高于 GG 基因型个体平均值;而在背膘
厚和肌间脂肪含量 CC 基因型个体均值略高于 CG
和 GG 基因型个体均值,但无统计学差异($P>
0.05$)。关联性分析表明:秦川牛 *SIRT3* 基因不同
突变位点的不同基因型与背膘厚、眼肌面积和肌间
脂肪含量显著相关($P<0.05$)或极显著相关($P<
0.01$)。

表 3 秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点不同基因型与体尺性状的关联性分析

Table 3 Associations of different mutation site genotypes of *SIRT3* gene with meat traits of Qinchuan cattle cm

突变位点 Mutation site	基因型 Genotype	体斜长 BL	体高 WH	腰高 HH	尻长 RL
B1	CC	132.901±8.272 a	119.590±6.571 a	123.021±6.483	42.034±2.982 a
	CT	133.072±9.061 a	119.334±8.107 a	122.281±6.304	41.723±3.546 ab
	TT	127.713±6.362 b	116.147±8.643 b	120.612±5.982	40.246±3.821 b
B2	CC	135.039±16.905 A	118.923±8.106 a	122.346±7.878	43.692±5.964 a
	CG	129.053±10.403 Bb	115.803±14.339 b	120.996±5.582	40.811±3.905 b
	GG	132.219±10.401 a	119.656±7.159 a	122.709±6.495	41.635±4.177 ab
突变位点 Mutation site	基因型 Genotype	腰角宽 HW	胸深 CD	胸围 CC	坐骨端宽 PBW
B1	CC	38.734±1.647 a	58.462±2.147 a	163.032±13.211 A	18.563±1.325
	CT	37.981±1.793 ab	58.821±2.961 a	161.785±14.753 A	18.374±1.027
	TT	36.052±2.651 b	56.293±4.041 b	155.571±14.031 B	17.271±1.113
B2	CC	40.462±6.319 a	59.692±10.562 a	166.360±14.944 a	18.846±3.955
	CG	37.123±4.969 b	56.721±5.556 b	162.559±15.921 b	17.516±2.776
	GG	38.138±5.213 ab	58.524±6.673 ab	164.952±12.655 ab	18.935±2.816

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下同。
Note:Different lowercase letters mean significant difference ($P<0.05$);while different uppercase letters mean extremely significant difference($P<0.01$). The same below.

表 4 秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点不同基因型与肉质性状的关联性分析

Table 4 Associations of different mutation site genotypes of *SIRT3* gene with meat traits of Qinchuan cattle

突变位点 Mutation site	基因型 Genotype	背膘厚/cm BFT	眼肌面积/cm ² EMA	肌间脂肪含量/% IFC
B1	CC	0.797±0.062 b	43.199±2.774	7.454±0.720 ab
	CT	0.845±0.071 ab	42.598±3.001	7.292±0.584 b
	TT	0.882±0.062 a	45.207±3.881	7.561±0.560 a
B2	CC	0.888±0.096	45.689±2.442 A	7.526±0.685
	CG	0.865±0.058	44.759±3.116 a	7.458±0.559
	GG	0.826±0.077	41.083±2.320 Bb	7.492±0.616

3 讨论与结论

蛋白质组学研究显示,乙酰化在线粒体中是一种常见的翻译后修饰,大概有三分之一以上的蛋白质出现乙酰化,且参与代谢的蛋白质优先发生乙酰化^[8-9]。作为最主要的一种 NAD⁺ 依赖性的去乙酰化酶^[10],SIRT3 被证实可以与诸多底物结合,如 LCAD、SOD2、GDH 及 OTC 等^[11-14],并调节其乙酰化水平,进而在动物主要的代谢途径(包括糖酵解、三羧酸循环、尿素循环、脂肪酸代谢以及糖原代谢)中发挥关键的调控作用^[13]。基于此,笔者预测 *SIRT3* 基因可能在牛糖脂代谢过程中发挥重要的作用,进而影响其生长发育和肉质性状。作为本试验的研究对象,秦川牛以屠宰率高、肉用潜力较大、遗传稳定、耐粗饲和抗逆性强而著称,为我国五大黄牛品种之一。然而,相对于国外商业品种(如日本和牛)而言,秦川牛同样存在后躯不充实、载肉率和肌间脂肪含量低等缺陷^[15]。因此,运用标记辅助选择(Marker assisted selection, MAS)方法对秦川牛育种效率进行改良和提高意义重大。

目前,针对 *SIRT3* 基因的研究主要集中在老鼠和人,尚未发现关于牛 *SIRT3* 基因多态分析的相关报道。本研究利用 DNA 直接测序技术,对秦川牛 *SIRT3* 基因全区域进行 SNPs 筛查,结果在第 4 内含子上发现 2 个突变位点,分别为 C22522T 和 C22680G,关联性分析结果显示这 2 个突变均能够影响秦川牛生长发育和肉质性状。尽管这 2 个位点位于内含子区域,均不编码蛋白质序列,然而随着现在的深入研究,到目前为止,内含子的传统观念已被打破,越来越多的试验结果表明内含子可能在基因表达调控中发挥着重要的作用。研究发现,内含子突变能够影响附近的剪切供体和调节原件^[16],进而导致基因编码蛋白发生改变^[17]。目前诸多研究验证了这一结论。Mohr 等^[18] 研究发现,牛的 CSN1S1 第 4 内含子剪切供体末端(+6)的一个碱基突变引起了前体 mRNA 加工过程中上游外显子的跳读,导致了奶牛 α s1-casein A 蛋白表达量的下降。高建斌等^[19] 发现,秦川牛 *DKK1* 基因的 G523A 位于第 1 内含子上,该位点突变对体高和尻长有显著的影响。本研究中,基于 *SIRT3* 基因检测

到的 2 个突变位点对秦川牛部分生长及肉质形状的分析结果,推测可能是由于这 2 个突变导致了某些基因的表达水平或者调控机制发生了变化,具体作用机制有待进一步研究分析。

本试验研究结果表明,秦川牛 *SIRT3* 基因 B1 和 B2 位点均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态($P < 0.01$),可能是由于这 2 个突变基因型的个体在自然选择和人工选育过程中容易被淘汰,也可能是本试验样本量不足,导致杂合子过少所致。秦川牛虽然经过长期肉用选育,效果显著,但是其群体生长和生产性能还有待进一步提高。因此,加大选择强度是提高秦川牛生长和生产性能的必要手段。本研究秦川牛 *SIRT3* 基因各突变位点不同基因型与体尺和肉质性状的关联性分析结果表明,不同位点的不同基因型与体斜长、体高、腰角宽、尻长、胸深、胸围、背膘厚、眼肌面积和肌间脂肪含量显著($P < 0.05$)或极显著相关($P < 0.01$)。由此推测,C22522T 位点的等位基因 T、C22680G 位点的等位基因 G 都可能影响秦川牛的体尺和肉质性状指标,因此 *SIRT3* 基因可能是影响体斜长、体高、尻长、腰角宽、胸深和胸围等体尺性状,以及背膘厚、眼肌面积和肌间脂肪含量等肉质性状的主效 QTL 或与之紧密连锁。因此,*SIRT3* 可考虑用于选育秦川肉牛新品种(系)标记辅助选择的主效候选基因。

秦川牛 *SIRT3* 基因 2 个 SNPs 对秦川牛体斜长、体高、尻长、腰角宽、胸深和胸围的体尺性状以及背膘厚、眼肌面积和肌肉脂肪含量的肉质性状均有不同程度的影响,可以尝试将其作为秦川肉牛新品种系培育的主效候选基因或与主基因紧密连锁的分子标记。由于本试验样本量较少,且仅限于对秦川牛体尺和肉质性状的关联性分析,未与其他品种的牛进行比较,所以本研究结果还需要进一步验证分析,以便有效地提高选择准确性,更好地为秦川肉牛新品种的培育提供理论依据和技术支撑。

参考文献

- [1] Shi T, Wang F, Stieren E, et al. *SIRT3*, a mitochondrial *SIRT*-uin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(14): 13560-13567.
- [2] Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: Insights into their biological function [J]. *Biochemical Journal*, 2007, 404(1): 1-13.
- [3] Lombard D B, Alt F W, Cheng H L, et al. Mammalian Sir2 homolog *SIRT3* regulates global mitochondrial lysine acetyla-

- tion [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27(24): 8807-8814.
- [4] Jin L, Wei W, Jiang Y, et al. Crystal structures of human *SIRT3* displaying substrate-induced conformational changes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(36): 24394-24405.
- [5] Sauve, Anthony A. Pharmaceutical strategies for activating sirtuins [J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2009, 15(1): 45-56.
- [6] Rayalam S, Yang J Y, Ambati S, et al. Resveratrol induces apoptosis and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Phytotherapy Research*, 2008, 22(10): 1367-1371.
- [7] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南: 上、下册 [M]. 黄培堂, 译. 北京: 科学出版社, 2002.
- Sambrook J, Russell D W. *Molecular cloning a laboratory manual*; Upper and lower volumes [M]. Huang P T, translated. Beijing: Science Press, 2002. (in Chinese)
- [8] Zhao S, Xu W, Jiang W, et al. Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation [J]. *Science*, 2010, 327(5968): 1000-1004.
- [9] Anderson K A, Hirschey M D. Mitochondrial protein acetylation regulates metabolism [J]. *Essays in Biochemistry*, 2012, 52(1): 23-35.
- [10] Haigis M C, Guarente L P. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction [J]. *Genes & Development*, 2006, 20(21): 2913-2921.
- [11] Hirschey M D, Shimazu T, Goetzman E, et al. *SIRT3* regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation [J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 121-125.
- [12] Qiu X, Brown K, Hirschey M D, et al. Calorie restriction reduces oxidative stress by *SIRT3*-mediated *SOD2* activation [J]. *Cell Metabolism*, 2010, 12(6): 662-667.
- [13] Rardin M J, Newman J C, Held J M, et al. Label-free quantitative proteomics of the lysine acetylome in mitochondria identifies substrates of *SIRT3* in metabolic pathways [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(16): 6601-6606.
- [14] Hallows W C, Yu W, Smith B C, et al. Sirt3 promotes the urea cycle and fatty acid oxidation during dietary restriction [J]. *Molecular Cell*, 2011, 41(2): 139-149.
- [15] 王国庆. 秦川牛 *SIX1* 和 *SIX4* 基因 SNPs 检测及其与体尺和肉质性状的关联分析 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- Wang G Q. The polymorphisms of *SIX1* and *SIX4* and their association analysis with body measurements and meat quality traits of qinchuan cattle [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2014. (in Chinese)
- [16] Barbosa-Morais N L, Irimia M, Pan Q, et al. The evolutionary landscape of alternative splicing in vertebrate species [J]. *Science*, 2012, 338(6114): 1587-1593.
- [17] Xiong H Y, Alipanahi B, Lee L J, et al. The human splicing code reveals new insights into the genetic determinants of disease [J]. *Science*, 2015, 347(6218): 1254806.

2) *BMPR-IB* 基因编码区第 864 位点的突变在不同产羔性状绵羊中的分布存在显著差异,其是否可以作为控制绵羊繁殖力的潜在遗传标记位点,需进一步探索。

[参考文献]

[1] Piter L R, Bindon B M, Davis G H. The single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino [M]//Land R B, Robinson D W. Genetics of reproduction in sheep. London: Butterworths, 1985: 115-125.

[2] 田秀娥, 孙红霞, 王永军. 3 个绵羊群体 *BMPR-IB* 基因的遗传多态性及其对产羔数的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(11): 31-36.

Tian X E, Sun H X, Wang Y J. Genetic polymorphism of *BM-PR-IB* gene and effect on litter size in three sheep breeds [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2009, 37(11): 31-36. (in Chinese)

[3] 赵有璋. 羊生产学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.

Zhao Y Z. Yang Shengchanxue [M]. 3rd ed. Beijing: China Agricultural University Press, 2011. (in Chinese)

[4] Kumar D, Joshi A, Naqvi S M K, et al. Sperm motion characteristics of Garole×Malpura sheep evolved in a semi-arid tropical environment through introgression of *FecB* gene [J]. Anim Reprod Sci, 2007, 100(1/2): 51-60.

[5] Chu M X, Jia L H, Zhang Y J, et al. Polymorphisms of coding region of *BMPR-IB* gene and their relationship with litter size in sheep [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38: 4071-4076.

[6] Asadpour R, Jafari-joozani R, Alijani S, et al. Detection of polymorphism in Booroola gene (*FecB*) and its association with litter size in zel sheep breed in iran [J]. Slovak J Anim Sci, 2012, 45(2): 63-66.

[7] Fabre S, Pierre A, Mulsant P, et al. Monniaux D regulation of ovulation rate in mammals: Contribution of sheep genetic models [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2006, 4: 20.

[8] Galloway S M, McNatty K P, Cambridge L M, et al. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (*BMP15*) cause in-

creased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner [J]. Nat Genet, 2000, 25(3): 279-283.

[9] 储明星, 狄 冉, 叶素成, 等. 绵羊多胎主效基因 *FecB* 分子检测方法的建立与应用 [J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(1): 52-58.

Chu M X, Di R, Ye S C, et al. Establishment of molecular detection methods for high prolificacy major gene *FecB* in sheep and its application [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2009, 17(1): 52-58. (in Chinese)

[10] 何小龙. 蒙古羊 *BMPR-IB*、*FSH β* 基因克隆与表达及卵巢组织差异表达基因研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.

He X L. Study on cloning and expression of *BMPR-IB*, *FSH β* gene and differentially expressed genes of ovary in Mongolian sheep [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2010. (in Chinese)

[11] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2003.

Sambrook J, Russell D W. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. 3rd ed. Beijing: Science Press, 2003. (in Chinese)

[12] 杨燕燕, 邵 凯, 达 来, 等. *BMP15* 基因作为影响蒙古羊双羔性状候选基因的研究 [J]. 华北农业学报, 2010, 25(1): 44-49.

Yang Y Y, Shao K, Da L, et al. Study on the *BMP15* gene as candidate genes for fecundity in Mongolian sheep double-lambs group [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(1): 44-49. (in Chinese)

[13] 何小龙, 刘永斌, 王 峰, 等. 蒙古羊 *FSH β* 基因 cDNA 克隆与序列分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010, 39(3): 39-41.

He X L, Liu Y B, Wang F, et al. Mongolian sheep *FSHB* gene cDNA cloning and sequence analysis [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2010, 39(3): 39-41. (in Chinese)

[14] Davis G H. Fecundity genes in sheep [J]. Animal Reproduction Science, 2004, 82-83: 247-253.

[15] Kimchi-Sarfaty C, Oh J M, Kim I W, et al. A “Silent” polymorphism in the *MDR1* gene changes substrate specificity [J]. Animal Science, 2007, 315(5811): 525-528.

(上接第 6 页)

[18] Mohr U, Koczan D, Linder D, et al. A single point mutation results in a allele-specific exon skipping in the bovine α s1-casein mRNA [J]. Gene, 1994, 143(2): 187-192.

[19] 高建斌, 咎林森, 杨 宁, 等. 秦川牛 *DKK1* 基因 SNPs 检测及其与体尺、肉质性状的关联分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44

(3): 81-82.

Gao J B, Zan L S, Yang N, et al. Polymorphisms of *DKK1* gene and its association with body measurement and meat quality traits in Qinchuan cattle [J]. Animal Husbandry and Veterinary Science, 2013, 44(3): 81-82. (in Chinese)