网络出版时间:2017-12-27　09:55　　DOI:110.13207/j.cnki.jnwafu.2018.03.001
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20171227.0953.002.html

秦川肉牛 *FABP*3 及 *FABP*4 基因 SNP 与肉质性状的关联性

余横伟[1],桂林生[1],胡　言[1],昝林森[1,2,3]

(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;
3 陕西省肉牛工程技术研究中心,陕西 杨凌 712100)

[摘　要] 【目的】探索脂肪酸结合蛋白 3(Fat acid binding proteins 3,FABP3)及脂肪酸结合蛋白 4(FABP4)基因对秦川牛肉用新品系肉用性状的影响,为秦川肉牛的选育提供理论基础。【方法】随机选择 18～24 月龄健康的秦川肉牛 571 头,尾静脉采血 10 mL/头,提取血液 DNA,PCR 扩增 *FABP*3 及 *FABP*4 基因,检测其单核苷酸多态性(SNP)位点,并分析 SNP 位点基因型和单倍型组合对肉牛肉用性状(背膘厚、眼肌面积、肌间脂肪含量)的影响。【结果】测序发现,在 *FABP*3 基因第 3 个内含子上检测出 1 个 SNP 位点:g.60298C>T。在 *FABP*4 基因第 1 个内含子上检测出 2 个 SNP 位点:g.2686A>T 和 g.2834C>G;在第 4 外显子上检测出 1 个 SNP 位点:g.4220A>G。*FABP*3 基因 g.60298C>T 位点不同基因型的肌内脂肪含量差异显著($P<0.05$),TT 基因型显著高于 CT 和 CC 基因型。对 FABP4 基因而言,g.2834C>G 位点上的 CC 基因型肉用性状表现较优,其眼肌面积极显著高于 GG 和 CT 基因型($P<0.01$),肌内脂肪含量显著高于 GG 和 CG 基因型($P<0.05$);g.4220A>G 位点上的 TT 基因型的肉用性状较优,其背膘厚显著高于 CC 和 CT 基因型($P<0.05$)。H_1H_1 是最优秀的单倍型组合,其眼肌面积和肌内脂肪含量分别极显著高于单倍型组合 H_3H_3 和 H_3H_7($P<0.01$)。【结论】*FABP*3 及 *FABP*4 基因与秦川牛肉用新品系肉用性状关联紧密。

[关键词] 秦川牛肉用新品系;*FABP*3 基因;*FABP*4 基因;多态性;关联分析

[中图分类号] S823.9+2　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1671-9387(2018)03-0001-07

SNP detection of *FABP*3 and *FABP*4 genes of Qinchuan and their association with meat traits beef cattle

YU Hengwei[1],GUI Linsheng[1],HU Yan[1],ZAN Linsen[1,2,3]

(1 *College of Animal Science and Technology*,*Northwest A&F University*,*Yangling*,*Shaanxi* 712100,*China*;
2 *National Beef Cattle Improvement Center*,*Yangling*,*Shaanxi* 712100,*China*;
3 *Research Center of Beef Cattle Engineering and Technology in Shaanxi*,*Yangling*,*Shaanxi* 712100,*China*)

Abstract:【Objective】In this study,the effects of *FABP*3 and *FABP*4 genetic variations on meat traits of Qinchuan beef cattle were evaluated to provide basis for breeding of Qinchuan beef cattle.【Method】A total of 571 Qinchuan beef cattle at the age of 18－24 months were chosen and blood samples with 10ml were collected at the tail vein. Then,we extracted DNA of blood and the genes were cloned by PCR. The SNPs of *FABP*3 and *FABP*4 genes were amplified and effects of haplotypes and combined genotypes on meat traits (backfat thickness,ultrasound lean muscle area and intramuscular fat) were analyzed.【Result】

[收稿日期] 2017-01-20
[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2015BAD03B04);国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-38);陕西省科技统筹创新工程计划项目(2014KTZB02-02-01)
[作者简介] 余横伟(1992－),男,陕西商洛人,在读硕士,主要从事肉牛养殖与育种研究。E-mail:2289191537@qq.com
[通信作者] 昝林森(1963－),男,陕西扶风人,教授,博士,博士生导师,主要从事动物生长发育调控及牛遗传育种与繁殖研究。E-mail:zanlinsen@163.com

There was one SNP (g. 60298C>T) in FABP3 third intron, while there were three SNPs sites in FABP4 totally, located at g. 2686A>T and g. 2834C>G of first intron and g. 4220A>G of fourth exon. Single nucleotide polymorphism (g. 60298C>T) of *FABP*3 was positively correlated with intramuscular fat ($P<0.05$), and the individuals with TT homozygotes had significantly higher IMF than those with CT genotype and CC genotype ($P<0.01$). At g. 2834C>G locus of *FABP*4, the individuals with CC homozygotes had higher ultrasound lean muscle area than GG and CG genotype significantly ($P<0.05$). At g. 4220A>G locus, the individuals with TT homozygotes had higher backfat thickness than CC and CT genotype significantly ($P<0.05$). H_1H_1 (ACA-ACA) diplo type had better performance than H_3H_3 (AGA-AGA) in ULA ($P<0.01$) and H_3H_7 (AGA-TGA) in IMF ($P<0.01$). H_1H_1 was the most superior combined genotype. 【Conclusion】SNPs mutations in *FABP*3 gene and *FABP*4 had significant impacts on meat traits of Qinchuan beef cattle.

Key words: Qinchuan beef cattle; *FABP*3 genes; *FABP*4 genes; polymorphism; association analysis

脂肪酸结合蛋白3(Fat acid binding proteins 3, FABP3)又称为心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)[1],可与血浆长链脂肪酸(Long-chain fatty acid, LCFA)结合。作为机体主要的能量来源,LCFA维持着心脏的正常功能,敲除小鼠的*FABP*3基因,会导致其LCFA代谢过程发生紊乱[2]。在大鼠实验模型中发现,血清*FABP*3的水平与大鼠遭电击后的血压显著相关[3]。此外,在小鼠的心脏舒张过程中,*FABP*3基因的缺失能够明显抑制心脏对棕榈酸的吸收和氧化,而心肌细胞对葡萄糖的吸收和利用却提高了80%[4],这说明*FABP*3基因在维持机体内脂肪酸代谢的动态平衡方面发挥着重要的调控作用。

脂肪酸结合蛋白4(FABP4),又被称为A-FABP,同FABP3一样,也是FABPs家族的重要成员之一,其能够在各种细胞区室如过氧化物酶体、线粒体、内质网、脂质液滴、核内[5-6]结合脂肪酸和相关化合物。*FABP*4基因最早由Spiegelman等于1983年在脂肪细胞中检测到,与脂肪酸具有高度亲和性,参与LCFA的合成代谢[7]。*FABP*4基因在脂肪细胞中的表达受脂肪酸和胰岛素水平的调控[8]。以肥胖小鼠为模型,敲除*FABP*4基因能导致其胰岛素和血浆葡萄糖水平显著下降,且胰岛素抗性增强[9]。*FABP*4是肥胖相关代谢综合征的关键介质,研究表明该蛋白在2型糖尿病患者体内的表达水平显著高于正常人,导致患者血浆甘油三酯和胆固醇的水平降低,这说明胰腺β细胞受到保护,机体的脂质代谢被改善[10-11]。在3T3-L1细胞中发现,过表达*FABP*4基因可增强线粒体功能,进而促进脂肪细胞分化和脂质沉积,干扰*FABP*4基因则表现出相反的效果[12]。

鉴于*FABP*3和*FABP*4基因在机体脂质代谢过程中所发挥的关键作用,笔者推测其可以作为候选基因,用于畜禽肉用性状的选育研究中。因此,本研究以*FABP*3和*FABP*4为目标基因,检测其单核苷酸多态性(SNP),分析不同基因型及单倍型组合对秦川牛肉用新品系(以下简称"秦川肉牛")肉用性状的影响,以期为秦川肉牛分子育种提供新的理论方法和技术途径。

1 材料与方法

1.1 血样的采集及DNA的提取

在西北农林科技大学国家肉牛改良中心和陕西省秦川肉牛良繁中心,随机选择18~24月龄健康的秦川肉牛571头,尾静脉采血10 mL/头,样品采集完毕后置于-80 ℃保存。使用TIANamp Blood DNA kit试剂盒(北京,天根)提取血样DNA,DNA质量和浓度分别采用0.5%琼脂糖凝胶电泳及紫外分光光度计进行检测。

1.2 *FABP*3和*FABP*4基因的PCR扩增

根据GenBank公布的牛*FABP*3基因序列(基因组DNA登录号为:AC_000159.1,mRNA登录号为:NM_174313.2)和*FABP*4的基因序列(基因组DNA登录号为:AC_000171.1,mRNA登录号为:NM_174314.2),利用Primer 5.0软件设计引物(表1),交由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

PCR反应体系为30.0 μL:含有核酸染料的dNTPs、*Taq* DNA聚合酶、10×Buffer的Mix 15.0 μL,ddH_2O 11.8 μL,上游、下游引物(10 pmol/μL)各0.6 μL,模板DNA(50 ng/μL)2.0 μL。PCR反应条件如下:95 ℃预变性5 min;94 ℃ 30 s,退火30 s(退火温度见表1),72 ℃30 s,35个循环;72 ℃延

伸 10 min，4 ℃保存。PCR 扩增产物用 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测。

表 1　秦川肉牛 *FABP*3 和 *FABP*4 基因引物序列信息

Table 1　Sequence information of primers of *FABP*3 and *FABP*4 genes in Qinchuan beef cattle

基因 Gene	引物序列(5′→3′) Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增区域 Product position
*FABP*3	F：TGTCAAGAACCTGGCACAT R：AGGGTGCTCTGAGGTCAAT	64.5	部分第 3 内含子和部分 3′非翻译区 Part of intron 3 and Part of 3′UTR region
*FABP*4	F：AAAATTAACAATGGGTCTCC R：ATGGCTTTCCTCCTTCTA	56.5	部分第 1 内含子和第 2 外显子 Part of intron 1 and exon 2
*FABP*4	F：ATCAACCACCATAAAGAG R：GTATCCAGCAGAAAGTCA	62.3	部分第 3 内含子、第 4 外显子和部分 3′非翻译区 Part of intron 3，exon 4 and Part of 3′UTR region

1.3　SNP 位点的检测

将扩增的 PCR 产物送至上海生工生物工程技术服务有限公司进行纯化并测序，测序结果使用 DNAMAN 软件进行对比分析，寻找 SNP 位点。

1.4　秦川肉牛肉用性状指标的测定

肉用性状包括背膘厚(BF)、眼肌面积(ULA)和肌内脂肪(IMF)含量 3 个指标，按照桂林生等[13]的检测方法进行测定。

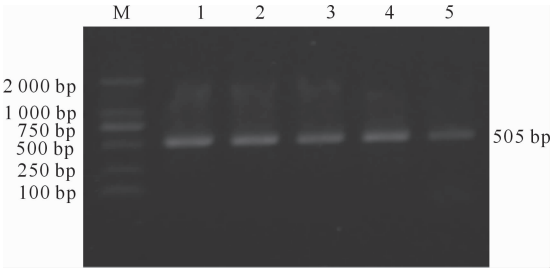
1.5　数据统计与分析

根据基因型统计结果，计算基因型频率、等位基因频率、多态信息含量(*PIC*)、遗传杂合度(*He*)和有效等位基因数(*Ne*)，并进行 Hardy-Weinberg 平衡适应性检验(HWE)[14]。同时，使用 HAPLOVIEW 3.32软件对 *FABP*4 基因的 SNP 位点进行连锁不平衡分析及单倍型分析。采用 SPSS13.0 软件中的 GLM 模型，分别对 *FABP*3 和 *FABP*4 基因突变位点的基因型与秦川肉牛肉用性状(背膘厚、眼肌面积和肌间脂肪含量)进行相关性分析，采用邓肯法(Duncan's) 进行均数间的多重比较。结果用"平均数±标准误"表示，以 $P<0.05$ 为差异显著水平进行差异显著性分析。GLM 模型如下：$Y_{ijk}=u+G_i+A_j+E_{ijk}$，其中$Y_{ijk}$为个体表型值，$u$为群体均值，$G_i$ 为标记基因型效应，A_j 为年龄效应，E_{ijk} 为随机误差。

2　结果与分析

2.1　*FABP*3 和 *FABP*4 基因 PCR 产物检测

图 1、2 和 3 为本试验 3 对引物的 PCR 扩增结果，目的片段的长度分别为 505，491 和 521 bp。结果显示，扩增产物电泳条带清晰，特异性较好，可以用作后续测序分析。

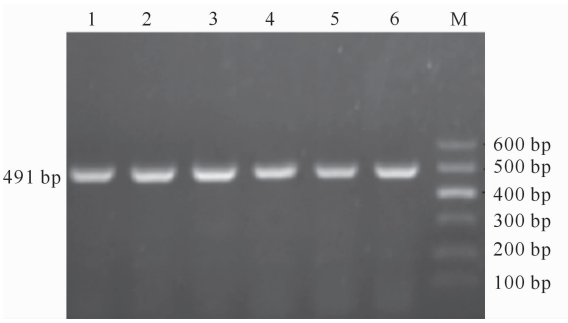


M. DNA Marker；1～5. PCR 产物

M. DNA Marker；1－5. PCR product

图 1　秦川肉牛 *FABP*3 基因部分第 3 内含子和部分 3′非翻译区的 PCR 扩增

Fig. 1　Part of intron 3 and part of 3′UTR region individuals of *FABP*3 in Qinchuan beef cattle

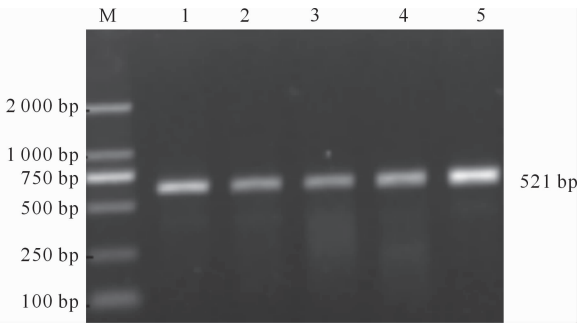


M. DNA Marker；1～6. PCR 产物

M. DNA Marker；1－6. PCR product

图 2　秦川肉牛 *FABP*4 基因部分第 1 内含子和第 2 外显子的 PCR 扩增

Fig. 2　Part of intron 1 and exon 2 of *FABP*4 gene in Qinchuan beef cattle



M. DNA Marker；1～5. PCR 产物

M. DNA Marker；1－5. PCR product

图 3　秦川肉牛 *FABP*4 基因部分第 3 内含子、第 4 外显子和部分 3′非翻译区的 PCR 扩增

Fig. 3　Part of intron 3，exon 4 and part of 3′UTR region of *FABP*4 gene in Qinchuan beef cattle

2.2 *FABP*3 和 *FABP*4 基因的 SNP 位点分析

牛 *FABP*3 基因位于第 2 号染色体上,基因全长 60 606 bp,含 4 个外显子。本研究在 *FABP*3 基因第 3 内含子上检测出 1 个 SNP,即 g.60298C>T(图 4)。牛 *FABP*4 基因位于第 14 号染色体上,基因全长 4 389 bp,同样含 4 个外显子。本试验在 *FABP*4 基因第 1 内含子上检测到 2 个 SNP,分别是 g.2686A>T(图 5)和 g.2834C>G(图 6);在第 4 外显子上检测出 1 个 SNP,即 g.4220A>G(图 7)。在检测到的 4 个 SNP 中,g.2686A>T 只有 2 种基因型,分别是 AA 和 AT 基因型,TT 基因型缺失,其他 3 个位点均有 3 种基因型。

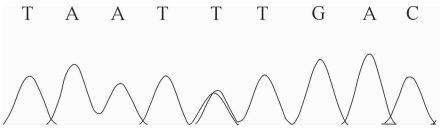


图 4 秦川肉牛 *FABP*3 基因的 SNP 位点 g.60298C>T

Fig.4 SNP (g.60298C>T) of *FABP*3 gene in Qinchuan beef

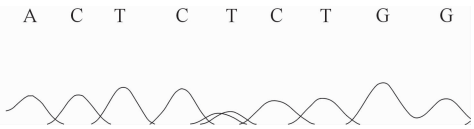


图 5 秦川肉牛 *FABP*4 基因的 SNP 位点 g.2686A>T

Fig.5 SNP (g.2686A>T) of *FABP*4 gene in Qinchuan beef

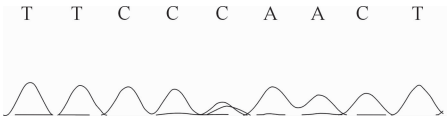


图 6 秦川肉牛 *FABP*4 基因的 SNP 位点 g.2834C>G

Fig.6 SNP(g.2834C>G) of *FABP*4 gene in Qinchuan beef cattle

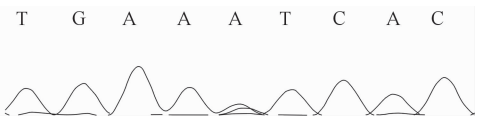


图 7 秦川肉牛 *FABP*4 基因的 SNP 位点 g.4220A>G

Fig.7 SNP(g.4220A>G) of *FABP*4 gene in Qinchuan beef cattle

本研究分析了以上 4 个 SNP 位点的基因型频率、等位基因频率、杂合度、有效等位基因数和多态信息含量等遗传指标,并用卡方检验检测 Hardy-Weinberg 平衡状态。表 2 显示,在 *FABP*3 基因 g.60298C>T 中,CC 为优势基因型,C 是该位点的优势基因;在 *FABP*4 基因 g.2686A>T 和g.4220A>G 中,AA 为优势基因型,A 为优势基因;在 *FABP*4 基因 g.2834C>G 中,GG 为优势基因型,G 为该位点优势基因。卡方检验(表 3)表明,除g.2686A>T 位点 χ^2 值(11.673)大于自由度为 2 时 $\chi^2_{0.05}$ 值(5.991),处于不平衡状态外,其余 3 个位点均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。

表 2 秦川肉牛 *FABP*3 和 *FABP*4 基因 SNP 位点的基因型和等位基因分布频率

Table 2 Genotype and allele frequencies of *FABP*3 and *FABP*4 genes for SNPs in Qinchuan beef cattle

位点 Loci	基因型频率 Genotype frequency								等位基因频率 Allele frequency			
	CC	CT	TT	AA	AT	GG	CG	AG	A	T	C	G
*FABP*3 g.60298C>T	0.527	0.419	0.054	—	—	—	—	—	—	0.264	0.736	—
*FABP*4 g.2686A>T	—	—	0.000	0.750	0.250	—	—	—	0.875	0.125	—	—
*FABP*4 g.2834C>G	0.140	—	—	—	—	0.452	0.408	—	—	—	0.344	0.656
*FABP*4 g.4220A>G	—	—	—	0.580	—	—	0.081	0.340	0.750	—	—	0.250

表 3 秦川肉牛 *FABP*3 和 *FABP*4 基因 4 个 SNPs 的遗传参数

Table 3 Genetic parameters among four SNPs loci within *FABP*3 and *FABP*4 genes in Qinchuan beef cattle

位点 Loci	杂合度 *He*	有效等位基因数 *Ne*	多态信息含量 PIC	Hardy-Weinberg 平衡性检验 χ^2 值 HWE χ^2 value
*FABP*3 g.60298C>T	0.388	1.634	0.312	3.492
*FABP*4 g.2686A>T	0.218	1.280	0.194	11.673
*FABP*4 g.2834C>G	0.451	1.822	0.349	5.267
*FABP*4 g.4220A>G	0.375	1.601	0.305	5.157

注:Hardy-Weinberg 平衡检验当自由度为 2 时,$\chi^2_{0.05}=5.991$,$\chi^2_{0.01}=9.21$。

Note:Hardy-Weinberg disequilibrium:when freedom is 2,$\chi^2_{0.05}=5.991$,$\chi^2_{0.01}=9.21$.

2.3　*FABP*3 和 *FABP*4 基因 SNP 位点基因型对秦川肉牛肉用性状的影响

将秦川肉牛的 3 个肉用性状分别与 *FABP*3 基因突变位点的基因型进行关联分析。结果（表 4）显示，g. 60298C>T 位点不同基因型个体的背膘和眼肌面积无显著差异，肌内脂肪含量差异显著（$P<0.05$），其中 TT 基因型个体显著高于 CT 和 CC 基因型个体。对 *FABP*4 基因而言，g. 2834C>G 位点上的 CC 基因型个体肉用性状较优，其眼肌面积极显著高于 GG 和 CG 基因型个体（$P<0.01$），肌内脂肪含量显著高于 GG 和 CG 基因型个体（$P<0.05$）；g. 4220A>G 位点上的 TT 为优良基因型，其背膘厚显著高于 CC 和 CT 基因型（$P<0.05$）。

表 4　*FABP*3 和 *FABP*4 基因的 SNP 位点对秦川肉牛肉质性状的影响

Table 4　Effects of SNPs of *FABP*3 and *FABP*4 genes on meat quality traits in Qinchuan beef cattle

位点 Locus	基因型（样本数） Genotypes(Sample)	背膘厚/cm BF	眼肌面积/cm² ULA	肌内脂肪含量/% IMF
FABP3 g. 60298C>T	CC (301)	0.972±0.018	51.505±0.857	7.412±0.048 bA
	CT (239)	0.965±0.021	51.774±0.962	7.636±0.054 bA
	TT (31)	0.962±0.058	49.062±1.672	8.232±0.150 aA
FABP4 g. 2686A>T	AA (429)	0.960±0.015	51.206±0.718	7.627±0.041
	AT (142)	0.992±0.027	52.326±1.248	7.317±0.071
FABP4 g. 2834C>G	CC (80)	1.024±0.036	56.978±1.642 aA	7.752±0.095 aA
	CG (233)	0.973±0.021	51.644±0.962 bB	7.539±0.056 bA
	GG (258)	0.946±0.020	49.637±0.915 bB	7.498±0.053 bA
FABP4 g. 4220A>G	CC (331)	0.948±0.036 bA	51.630±0.818	7.530±0.047
	CT (194)	0.958±0.023 bA	51.053±1.069	7.591±0.061
	TT (46)	1.156±0.047 aA	52.262±1.194	7.566±0.126

注：同列数据后标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），标不同大写字母表示差异极显著（$P<0.01$），标相同字母或未标字母者表示差异不显著（$P>0.05$）。下表同。

Notes: Different lowercase letter indicate significant difference ($P<0.05$), different uppercase letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$), while same letters or no letter mean insignificant difference ($P>0.05$). The following below.

2.4　*FABP*4 基因 SNP 位点的单倍型和连锁不平衡分析

通过 HAPLOVIEW 3.32 软件对 *FABP*4 基因上的 3 个 SNP 位点进行单倍型分析，总共检测到 8 种单倍型，分别为 Hap1～Hap8（表 5）。表 5 显示，单倍型 Hap3 的发生频率最高，为 0.428；其次为单倍型 Hap1 和 Hap4，发生频率分别为 0.233 和 0.140。由于发生频率低于 0.050 的单倍型在统计学分析中没有意义，故删除单倍型 Hap5、Hap6 和 Hap8，保留其他单倍型用于后续分析。

表 5　秦川肉牛 *FABP*4 基因单倍型分析

Table 5　Haplotypes of *FABP*4 genes and their frequencies in Qinchuan beef cattle

单倍型 Haplotype	g. 2686A>T	g. 2834C>G	g. 4220A>G	发生频率 Frequency
Hap1	A	C	A	0.233
Hap2	A	C	G	0.074
Hap3	A	G	A	0.428
Hap4	A	G	G	0.140
Hap5	T	C	A	0.024
Hap6	T	C	G	0.012
Hap7	T	G	A	0.063
Hap8	T	G	G	0.026

对 *FABP*4 基因中的 g. 2686A>T、g. 2834C>G、g. 4220A>G 3 个 SNP 位点两两进行连锁不平衡分析，结果 r^2 值均小于 0.330（表 6）。基于 r^2 值大于 0.330，表明 2 个 SNP 位点间具有较强的连锁不平衡效应的原则[15]，可知以上 3 个 SNP 位点间不存在强的连锁性。

2.5　*FABP*4 基因 SNP 位点单倍型组合对秦川肉牛肉用性状的影响

经分析得出，*FABP*4 基因中 3 个 SNP 位点共有 19 种单倍型组合，将发生频率低于 5.00% 的不具有统计分析意义的 12 种单倍型组合删除，对剩余的 7 个单倍型组合进行关联性分析，结果见表 7。

由表7可知,7种单倍型组合背膘厚无显著差异;单倍型组合 H_1H_1 个体的眼肌面积极显著高于单倍型组合 H_3H_3 个体($P<0.01$),并且显著高于单倍型组合 H_1H_3、H_1H_4、H_1H_7 和 H_3H_4 个体($P<0.05$);肌内脂肪含量方面,单倍型组合 H_1H_1 个体极显著高于单倍型组合 H_3H_7($P<0.01$)。因此,在本试验群体中,H_1H_1 可被视为一种最为优秀的单倍型组合。

表6 秦川肉牛 *FABP*4 基因 SNP 位点的连锁不平衡分析 r^2 值

Table 6 Estimated values of LD for SNPs of *FABP*4 gene in Qinchuan beef cattle

位点 Locus	g.2686A>T	g.2834C>G	g.4220A>G
g.2686A>T	—	0.001	0.001
g.2834C>G	—	—	0.000
g.4220A>G	—	—	

表7 *FABP*4 基因单倍型组合对秦川肉牛肉质性状的影响

Table 7 Effects of Diplotype of *FABP*4 genes on meat quality traits in Qinchuan beef cattle

单倍型组合(样本数) Diplotype (Sample)	背膘厚/cm BF	眼肌面积/cm² ULA	肌内脂肪含量% IMF
H_1H_1(43)	0.993±0.047	56.385±2.187 aA	7.843±0.130 aA
H_1H_3(98)	0.963±0.031	51.701±1.448 bA	7.618±0.086 aA
H_1H_4(60)	0.924±0.040	50.479±1.851 bA	7.536±0.110 aA
H_1H_7(38)	0.959±0.050	49.822±2.326 bA	7.314±0.138 aA
H_3H_3(112)	0.947±0.029	48.145±1.355 bB	7.528±0.081 aA
H_3H_4(69)	0.909±0.037	50.107±1.726 bA	7.661±0.103 aA
H_3H_7(34)	0.954±0.053	52.571±2.459 bA	7.133±0.146 bB

3 讨 论

*FABP*3 基因在动物的心脏、骨骼肌和乳腺组织中呈现高水平表达,参与脂肪酸的转运,促进脂肪酸的合成,对脂肪沉积、转运及基因的转录具有重要的调控作用[16]。在 *H-FABP* 基因中鉴定的新 SNP 位点与北京油鸡的大腿和胸肌的 IMF 含量相关[17]。Cho 等[18]克隆出猪 *FABP*3 基因的 mRNA,并检测出了6个 SNP 位点,通过关联性分析发现,位于第2外显子上编码80号位氨基酸的 G>A 突变可显著影响背膘厚。同样以猪为研究对象,Li 等[19]在 *FABP*3 基因的第2内含子上发现了4个 SNP 位点,其均与背最长肌的嫩度、含水量和风味密切相关。Blecha 等[20]在肉牛 *FABP*3 基因中检测出3个 SNP 位点,其中位点 rs109315289 显著影响牛的眼肌面积。本试验对秦川牛 *FABP*3 基因全长进行了多态性分析,结果在其第3内含子上发现1个 SNP 位点 g.60298C>T,该位点不同基因型的肌内脂肪含量差异显著($P<0.05$),基因型 TT 个体显著高于基因型 CT 和 CC。

作为膜周边蛋白,FABP4 可与长链脂肪酸、脂肪氧化产物和环氧化酶等疏水性化合物相结合,参与其代谢及信号转导过程,在调控糖脂代谢和胰岛素分泌方面发挥着重要作用[21]。目前,在人和小鼠上对该蛋白研究得比较全面。Matsumotoa 等[22]在 *FABP*4 基因的启动子区域发现了2个 SNP 位点,分别为 g.−259A>G 和 g.−287A>G,这2个 SNP 位点均能影响转录因子的结合,进而影响日本和牛的大理石花纹。Gao 等[23]在用 PCR-SSCP 研究白猪 Junmu 1 号的过程中发现,*A-FABP* 位点3 481 bp 的点突变对肌内脂肪(IMF)含量有显著的影响。在3个中国山羊品种中,Xu 等[24]通过 SSCP 技术,在 *FABP*4 基因第1内含子上检测到1个 SNP 位点,该位点与山羊的肌内脂肪含量紧密相关。Oh 等[25]在韩国牛 *FABP*4 基因外显子上检测到3个 SNP 位点,其均显著影响牛肉脂肪酸组成。本试验在秦川肉牛 *FABP*4 基因上检测到 g.2686A>T、g.2834C>G 和 g.4220A>G 3个 SNP 位点,除g.2686A>T 外,其余2个 SNP 位点与秦川肉牛肉用性状紧密关联,其中 g.2834C>G 可以显著影响眼肌面积和肌内脂肪含量,g.4220A>G 则可以显著影响背膘厚。单倍型组合关联性分析发现,单倍型组合 H_1H_1 个体眼肌面积和肌内脂肪含量显著高于其余单倍型组合。

值得注意的是,本试验检测出的可显著影响秦川肉牛肉用性状的3个 SNP 位点(g.60298C>T、g.2686A>T 和 g.2834C>G)中,g.60298C>T 和 g.2834C>G 分别定位于 *FABP*3 和 *FABP*4 基因的内含子上,且为同义突变。这2个位点影响肉用性状的机制可能是:内含子 SNP 位点可能与同一染色体上其他基因上存在的 SNP 位点呈现完全连锁状态[26];内含子 SNP 位点可能影响剪接供体位点或其附近区域[27],导致翻译过程发生改变。

4 结　论

本研究发现，*FABP*3 基因 g. 60298C＞T 和 *FABP*4 基因 g. 2834C＞G、g. 4220A＞G 在秦川肉牛中存在多态性，与肉用性状紧密关联。*FABP*4 基因 3 个 SNP 位点的优势单倍型组合为 H_1H_1（ACA-ACA），其个体眼肌面积和肌间脂肪含量极显著或显著高于其他单倍型组合，故可将 *FABP*3 和 *FABP*4 基因作为影响肉用性状的候选基因用于标记辅助选择，以加速秦川肉牛定向高效选育和群体遗传改良。

[参考文献]

[1] 姜延志，刘晓研，李芳琼，等. 猪 *H-FABP* 基因多态性及其与肌内脂肪含量的相关研究 [J]. 畜牧兽医学报，2010，41(7)：792-796.
Jian Y Z，Liu X Y，Li F Q，et al. The genetic relationship between polymorphism of *H-FABP* gene andint-ramuscular fat content in pig [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica，2010，41(7)：792-796.

[2] Binas B，Danneberg H，McWhir J，et al. Requirement for the heart-type fatty acid binding protein incardiac fatty acid utilization [J]. The FASEB Journal，2013，8：805-812.

[3] Caglar O，Hasim A，Cevat Y，et al. Heart-type fatty acid binding protein and cardiac- troponin I may have a diagnostic value in electrocution：A rat model [J]. Journal of Forensic and Legal Medicine，2016，39：76-79.

[4] Chaap F G，Binas B，Danneberg H，et al. Impaired long-chain fatty acid utilization by cardiamyo-cytes isolated from mice lacking the heart-type fatty acid binding protein gene [J]. Circulation research，1985，4：329-337.

[5] Kralisch S，Fasshauer M. Adipocyte fatty acid binding protein：a novel adipokine involved in the pathogenesis of metabolic and vascular disease? [J]. Diabetologia，2013，1：10-21.

[6] Furuhashi M，Furuhashi M，Saitoh S，et al. Fatty acid-binding protein 4 （FABP4）：pathophysiological insights and potent clinical biomarker of metabolic and cardiovascular diseases [J]. Clinical Medicine Insights：Cardiology，2015，3：23-33.

[7] Piegelman B M，Frank M，Green H. Molecular cloning of mRNA from 3T3 adipocytes regulation of mRNA content for glycerop hosphate dehydrogenase and other differentiation-dependent proteins during adipocyte development [J]. The Journal of Biologica Chemistry，1983，258(16)：10083-10089.

[8] Haunerland N H，Spener F. Fatty acid-binding proteins-insights from genetic manipulations [J]. Progress in Lipid Research，2004，43(4)：328-349.

[9] Hotamisligil G S，Johnson R S，Distel R J，et al. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2，the adipocyte fatty acidbinding protein [J]. Science，1996，274(5291)：1377-1379.

[10] Young C K，Yong K C，Won Y L，et al. Serum adipocyte-specific fatty acidbinding protein is associated with nonalcoholic fatty liver disease in apparently healthy subjects [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry，2011，22(3)：289-292.

[11] Ysal K T，Scheja L，Wiesbrock S M，et al. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2 [J]. Endocrinology，2000，141(9)：3388-3396.

[12] 谈　笑. FABP4 对 3T3-L1 脂肪细胞中脂肪酸代谢和线粒体功能的影响 [D]. 陕西杨凌：西北农林科技大学，2014.
Tan X. Regulation of FABP4 on fatty acid metabolism and mitochondrial function in 3T3-L1 adipocytes [D]. Yangling，Shaanxi：Northwest A&F University，2014.

[13] 桂林生，昝林森，王洪宝，等. *SIRT*1 和 *SIRT*2 基因多态性及合并基因型与秦川牛肉用性状的关联分析 [J]. 畜牧兽医学报，2015，46(10)：1741-1749.
Gui L S，Zan L S，Wang H B，et al. Effects of single and combined genotypes of *SIRT*1 and *SIRT*2 genes on meat quality traits in Qinchuan cattle [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences，2015，46(10)：1741-1749.

[14] Hardy H G. Mendelian proportions in a mixed population [J]. Science，1908(28)：49-50.

[15] Flint G S A. Structure of linkage disequilibrium in plants [J]. Annu Rev Plant Biol，2003(54)：357-374.

[16] 李　娟，杜新华，陈　燕，等. 牛 *FABP*3 转基因小鼠的遗传及表达特性研究 [J]. 畜牧兽医学报，2015，46(10)：1750-1758.
Li J，Du X H，Chen Y，et al. Study on genetic characteristic and expression of bovine *FABP*3 gene in transgenic mice [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences，2015，46(10)：1750-1758.

[17] Ye M H，Chen J L，Zhao G P，et al. Associations of A-FABP and H-FABP markers with the contnt of intramuscular fat in Beijing-You chicken [J]. Anim Biotechnol，2010，21(1)：14-24.

[18] Cho K H，Kim M J，Jeon G J，et al. Association of genetic variants for *FABP*3 gene with back-fat thickness and intramuscular fat content in pig [J]. Molecular Biology Reports，2011，38：2161-2166.

[19] Li X P，Kim S W，Choi J S，et al. Investigation of porcine *FABP*3 and *LEPR* gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content [J]. Molecular Biology Reports，2010，37：3931-3939.

[20] Blecha I M Z，Siqueira F，Ferreira A B R，et al. Identification and evaluation of polymorphisms in *FABP*3 and *FABP*4 in beef cattle [J]. Genetics and Molecular Research，2015，14(4)：16353-16363.

[21] Zhang J，Yang J H，Huang Y L，et al. Effects of different diet forms on growth performance and nutrient digestibility in hepu Geese [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition，2010，22(3)：586-594.

（下转第 15 页）

casein gene exon4 and its correlation with milk production traits in Chinese Holsteins [J]. Hereditas, 2008, 30(10): 1312-1318.

[22] Yie S M, Li L H, Xiao R, et al. A single base-pair mutation in the 30-untranslated region of HLA-G mRNA is associated with preeclampsia [J]. MHR: Basic Science of Reproductive Medicine, 2008, 14(6): 49-53.

[23] 徐晨希，王梦琦，朱小瑞，等. 中国荷斯坦牛 *FADS*2 基因 3′端 SNP 突变对乳中脂肪酸组成的影响 [J]. 中国农业科学，2016，49(11)：2194-2202.
Xu C X, Wang M Q, Zhu X R, et al. *FADS*2 gene 3′ end effects of SNP on milk fatty acids composition in Chinese Holstein [J]. Chinese Agricultural Science, 2016, 49(11): 2194-2202.

[24] Gui L S, Hao R J, Zhang Y R, et al. Haplotype distribution in the class 1 sirtuin genes and their associations with ultrasound carcass traits in Qinchuan cattle (*Bos taurus*) [J]. Molecular and Cellular Probes, 2015, 29(3): 167-171.

[25] Ren G, Chen H, Zhang L Z, et al. Acoding SNP of *LHX*4 gene is associated with body weight and body length in bovine [J]. Mol Biol Rep, 2010, 37(4): 17-22.

（上接第 7 页）

[22] Matsumotoa H, Nogib T, Tabuchib I, et al. The SNPs in the promoter regionsof the bovine *FADS*2 and *FABP*4 genes are associated with beef quality traits [J]. Livestock Science, 2014, 163: 34-40.

[23] Gao Y, Zhang Y H, Zhang S, et al. Association of *A-FABP* gene polymorphism in intron 1 with meat quality traits in Junmu No. 1 white swine [J]. Gene, 2011, 11: 170-173.

[24] Xu Q L, Tang G W, Zhang Q L, et al. The *FABP*4 gene polymorphism is associated with meat tenderness in three Chinese native sheep breeds [J]. Czech Journal of Animal Science, 2011, 56: 1-6.

[25] Oh D Y, Lee Y S, La B M, et al. Identification of the SNP (Single Nucleotide Polymorphism) for fatty acid composition associated with beef flavorrelated *FABP*4 (Fatty Acid Binding Protein 4) in Korean cattle [J]. Animal Science, 2012, 25: 913-920.

[26] Li M X, Sun X M, Hua L S, et al. *SIRT*1 gene polymorphisms are associated with growth traits in Nanyang cattle [J]. Molecular and Cellular Probes, 2013, 27: 215-220.

[27] Cao F, Zhang H, Feng J, et al. Association study of three microsatellite polymorphisms located in introns 1, 8, and 9 of *DISC*1 with schizophrenia in the Chinese Han population [J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2013, 17: 407-411.