

网络出版时间:2022-04-27 14:26

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2022.11.001

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20220426.1622.014.html

欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性及其与生长性状的关联分析

谭义洲¹, 丁考仁青², 褚敏¹, 郭宪¹, 马晓明¹, 包鹏甲¹, 阎萍¹, 梁春年¹

(1 中国农业科学院 兰州畜牧与兽药研究所, 甘肃 兰州 730050; 2 甘南州畜牧科学研究所, 甘肃 甘南 747000)

【摘要】【目的】探索欧拉型藏羊解偶联蛋白 2(*UCP2*)和解偶联蛋白 3(*UCP3*)基因的多态性及其与生长性状的关联性,为运用分子标记辅助育种方法提高欧拉型藏羊的生长性状提供理论依据。【方法】以 239 头成年欧拉型藏羊为试验对象,采用 PCR 产物直接测序技术检测 *UCP2* 和 *UCP3* 基因的遗传多态性,并将其与体质量、体高、体斜长和胸围生长性状进行关联性分析。【结果】在欧拉型藏羊 *UCP2* 基因上筛选出 2 个 SNPs 位点,分别为 g.52130414 C>T 和 g.52130584 G>A,其中 g.52130414 C>T 位点产生 TT、CT 和 CC 3 种基因型,g.52130584 G>A 位点产生 AA、AG 和 GG 3 种基因型;在 *UCP3* 基因上筛选出 1 个 SNP 位点 g.52157335 C>T,产生 CC、CT 和 TT 3 种基因型。基因多态性分析表明,3 个 SNPs 位点均为错义突变位点,属于中度多态,且均符合 Hard-Weinberg 平衡适应性检验($P>0.05$)。关联分析结果显示,*UCP2* 基因 g.52130414 C>T 位点 TT 基因型欧拉型藏羊体质量显著高于 CT 基因型($P<0.05$);g.52130584 G>A 位点 AA 基因型欧拉型藏羊体质量和体斜长均极显著高于 AG 和 GG 基因型($P<0.01$),AA 和 GG 基因型欧拉型藏羊胸围均显著高于 AG 基因型($P<0.05$);*UCP3* 基因 g.52157335 C>T 位点 CC 基因型欧拉型藏羊体质量显著高于 CT 基因型($P<0.05$),TT 基因型欧拉型藏羊胸围显著高于 CT 基因型($P<0.05$)。3 个多态位点基因型组合分析发现,5 个发生频率较高的双倍型中,D5 型欧拉型藏羊体质量极显著高于 D1、D2、D3 型($P<0.01$),体高显著高于 D3 型($P<0.05$),体斜长显著高于 D1、D3、D4 型($P<0.05$)且极显著高于 D2 型($P<0.01$)。【结论】*UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性与欧拉型藏羊的部分生长性状显著相关,*UCP2* 和 *UCP3* 基因可作为欧拉型藏羊生长性状选育的候选基因。D5 双倍型为优势基因型,可在选育工作中优先考虑。

【关键词】 欧拉型藏羊;*UCP2*;*UCP3*;基因多态性;生长性状;关联分析

【中图分类号】 S826.8⁺3;S813.3

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2022)11-0001-08

Association of *UCP2* and *UCP3* gene polymorphisms and growth traits in Oula-type Tibetan sheep

TAN Yizhou¹, DINGKAO Renqing², CHU Min¹, GUO Xian¹, MA Xiaoming¹,
BAO Pengjia¹, YAN Ping¹, LIANG Chunlian¹

(1 Lanzhou Institute of Animal Husbandry and Veterinary Drug, Chinese Academy of Agricultural Sciences,
Lanzhou, Gansu 730050, China; 2 Gannan Institute of Animal Science, Gannan, Gansu 747000, China)

Abstract: 【Objective】 This study explored the polymorphisms of uncoupling protein 2 (*UCP2*) and uncoupling protein 3 (*UCP3*) genes and their association with growth traits in Oula-type Tibetan sheep to provide basis for future use of molecular marker-assisted breeding in improving growth traits. 【Method】 A total of 239 adult Oula-type Tibetan sheep were selected, PCR product direct sequencing was used to detect

【收稿日期】 2021-11-19

【基金项目】 国家重点研发计划子项目(2018YFD0502403);中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-01);甘肃省草食畜产业技术体系项目(CAR-008)

【作者简介】 谭义洲(1996—),男(侗族),贵州铜仁人,硕士,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:guo773740298@qq.com

【通信作者】 梁春年(1973—),男,甘肃武威人,研究员,博士,主要从事动物遗传育种研究。E-mail:chunlian2006@163.com

the genetic polymorphism of *UCP2* and *UCP3* genes, and the correlations with body weight, body height, body slanting length and chest circumference were analyzed. 【Result】 Two SNPs loci of g. 52130414 C>T and g. 52130584 G>A were screened on *UCP2* gene of Oula-type Tibetan sheep, and g. 52130414 C>T produced three genotypes of TT, CT and CC and g. 52130584 G>A produced AA, AG and GG. One SNP site on *UCP3* was identified as g. 52157335 C>T, which produced three genotypes of CC, CT and TT. The polymorphism analysis showed that the three SNPs sites were missense mutation sites, in moderate polymorphism and conforming to the Hard-Weinberg balance ($P > 0.05$). Association analysis showed that body weight of sheep with *UCP2* gene g. 52130414 C>T locus TT genotype was significantly higher than that of CT genotype ($P < 0.05$), and body weight and body length of g. 52130584 G>A AA genotype were significantly higher than those of AG and GG genotypes ($P < 0.01$). Chest circumference of AA and GG genotypes was significantly higher than that of AG genotypes ($P < 0.05$). The weight of sheep with *UCP3* gene g. 52157335 C>T CC genotype was significantly higher than that of CT genotype ($P < 0.05$), and chest circumference of TT genotype was significantly higher than that of CT genotype ($P < 0.05$). Genotype combination analysis of three polymorphic loci found that the body weight of D5 type was significantly higher than that of D1, D2 and D3 types ($P < 0.01$). Body height of D5 was significantly higher than that of D3 type ($P < 0.05$). Body oblique length of D5 type was also very significantly higher than that of D2 type ($P < 0.01$), and significantly higher than those of D1, D3 and D4 types ($P < 0.05$). 【Conclusion】 The polymorphisms of *UCP2* and *UCP3* genes were related to partial growth traits of Oula-type Tibetan sheep, and *UCP2* and *UCP3* genes could be used as candidate genes for growth traits selection. D5 diplotype was the dominant genotype and could be considered preferentially in breeding.

Key words: Oula-type Tibetan sheep; *UCP2*; *UCP3*; gene polymorphisms; growth traits; association analysis

藏羊(Tibetan sheep)是中国三大粗毛绵羊品种之一,具有悠久的养殖历史。目前藏羊主要分布在我国西藏、青海、甘肃等高海拔地区^[1],依据其生态环境,结合自身的生产及经济特点可分为高原型、山谷型和欧拉型 3 大类。藏羊对高海拔地区的各种极端环境适应性很强,且具有生长发育快、育肥性能好等特点,是高原畜牧业中的珍贵物种资源^[2-3],目前有关藏羊遗传学和分子生物学方面的研究仍处于较低水平。

解偶联蛋白(uncoupling protein, UCPs)是一种线粒体内膜蛋白,广泛分布在动物各种组织中。其能消除线粒体内膜两侧的跨膜质子浓度差,导致利用质子浓度差驱动的氧化磷酸化过程减慢,阻碍了三磷酸腺苷(ATP)的正常产生,使能量以热量形式消散^[4]。UCP2 是 UCPs 家族里的一员,其在调节能量代谢、胰岛素分泌、活性氧(ROS)产生以及细胞代谢、细胞增殖和细胞死亡等不同细胞过程中发挥着重要作用^[5-6]。UCP3 和 UCP2 基因紧密连锁定位于藏羊的 15 号染色体上,当受到脂肪酸刺激时,UCP3 基因表达量上调,且其蛋白会参与脂肪酸和其他阴离子的跨膜转运^[7]。UCP3 基因的活性对氨

基酸代谢和脂肪酸氧化及相关的生化途径具有重要调节作用^[8]。国鹏等^[9]研究发现,黑安格斯牛 *UCP2*-655 和 *UCP3*-5465 基因多态性位点与其生长性状显著相关。艾锦新等^[10]采用直接测序法检测黔北麻羊 *UCP2* 基因的 SNP 位点,发现 4 个 SNPs 位点对生长性状有显著影响。郝军等^[11]通过直接测序法对麦洼牦牛 *UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性位点进行检测,共发现 4 个突变位点,其中 *UCP2* 基因 T1499C 位点 CT 基因型个体的体质量显著高于 TT 型。

目前对于藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性与其生长性状的关联分析尚未见报道,本研究以 *UCP2* 和 *UCP3* 作为候选基因,测定欧拉型藏羊的生长性状,探讨该基因多态性与藏羊生长性状的关联性,以期筛选欧拉型藏羊分子育种良好的辅助分子标记,进而为欧拉型藏羊的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

自甘南地区采集自然放牧的成年健康欧拉型藏羊 239 头,每头使用含有 ACD 抗凝的真空采血管颈静脉采血 10 mL,轻微振荡摇匀后置 -20 °C 冰箱保

存备用。同时测定并记录每头藏羊的体质量、体高、体斜长、胸围等体尺性状。

1.2 主要试剂及仪器

EasyPure[®]Blood Genomic DNA Kit 血液基因组 DNA 提取试剂盒、2×*EasyTaq*[®]PCR SuperMix, 均购自全式金生物技术有限(北京)公司;NanoDrop 2000 紫外分光光度计、PCR 仪,均购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;DYY-6C 型电泳仪,购自北京市六一仪器厂;天能 Tanon2500 全自动数码凝胶成像分析系统,购自上海天能科技有限公司。

1.3 血液样品 DNA 的提取

采用 *EasyPure*[®]Blood Genomic DNA Kit 血液

基因组 DNA 提取试剂盒,对欧拉型藏羊的全血基因组 DNA 进行提取,用紫外分光光度计检测其质量和浓度,将合格的 DNA 置于 1.5 mL 离心管中,−20 ℃ 冰箱保存备用。

1.4 引物设计与合成

根据 GenBank 公布的藏羊 *UCP2* (登录号为 NM_001280682.1)、*UCP3* (GenBank 登录号为 NM_001308581.1)及试验已知信息,分别对 *UCP2* 基因第 4,5,6 和 7 外显子以及 *UCP3* 基因第 3,4 外显子和部分内含子区域设计特异性引物(表 1),引物送西安擎科泽西生物科技有限责任公司合成。

表 1 本研究引物序列信息

Table 1 Primer sequence information in this study

基因 Gene	引物序列(5′→3′) Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	片段长度/bp Fragment length
<i>UCP2</i>	F1:TCATCACCTTTCCCTGGATACTGC	62.5	631
	R1:GGGATGATACCACCTGCTCCTGAAG		
	F2:TCCTGTTCTTGCTCTGTCCCAG	63.1	777
	R2:TGCCTCTGAGTCGTTTGGCC		
	F3:ATGGGCAAAACGACTCAGAGGC	63.0	635
	R3:TAGAGGGGGAGAAAACACAGGTCAT		
<i>UCP3</i>	F1:GCTGACCTCCTCACCTTTCC	61.1	282
	R1:AATCCGGGTAACGATGCTGG		
	F2:CGACTCCGTCAAGCAGTTCT	60.4	314
	R2: TTCCTCGTGATGTTGGGCAG		

1.5 *UCP2* 和 *UCP3* 基因 PCR 扩增及遗传多态性分析

PCR 扩增体系 10 μL; 2×*EasyTaq*[®]PCR SuperMix 5 μL,DNA 模板(100 ng/μL)0.8 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 0.4 μL,蒸馏水 3.4 μL。PCR 扩增程序:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,不同退火温度(表 1)下退火 30 s,72 ℃ 延伸 30 s,35 个循环;72 ℃ 终延伸 10 min,4 ℃ 冰箱保存备用。将 PCR 扩增产物送西安擎科泽西生物科技有限责任公司测序。使用 SeqMan 软件拼接测序所得结果序列并筛选其套峰位点,再采用 MEGA 5.1 软件与参考序列进行对比,初步确定其 SNP 位点,再以其为模板扩增相应的序列,对每个 SNP 位点进行分型。根据基因型统计分析结果计算基因型频率、等位基因频率、多态信息含量(PIC)(PIC>0.5 为高度多态;0.5>PIC>0.25 为中度多态;PIC<0.25 为低度多态)、基因杂合度(*He*)和有效等位基因数(*Ne*),并进行 Hard-Weinberg 平衡(HWE)适应性

检验。

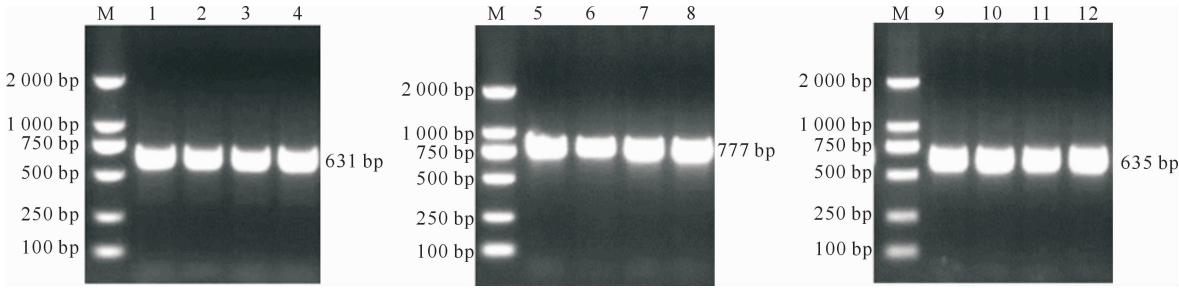
1.6 数据统计与分析

利用 SPSS 21.0 中 GLM 模型的单因素方差分析(One-Way ANOVE),结合 Duncan’s 对不同基因型个体的生长性状进行差异显著性分析,试验结果用“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因的 PCR 扩增

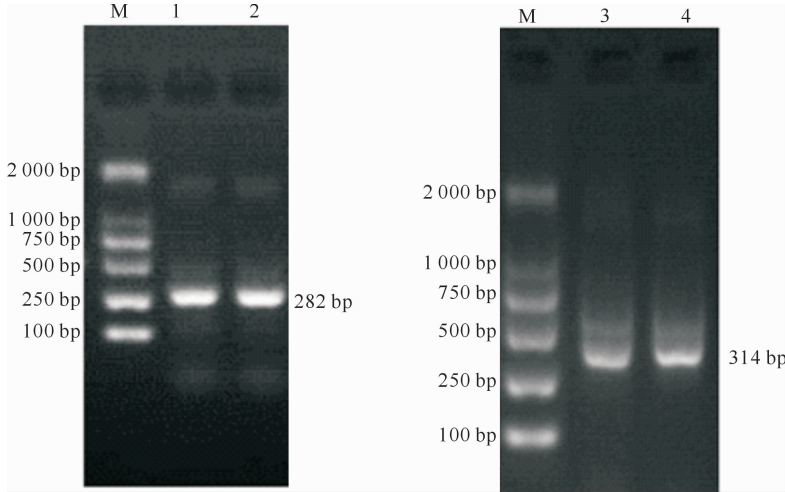
以欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增,所得扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测,结果如图 1 和图 2 所示。由图 1 可知,*UCP2* 基因第 4 外显子扩增条带大小为 631 bp,第 5,6 外显子扩增条带大小为 777 bp,第 7 外显子扩增条带大小为 635 bp。由图 2 可知,*UCP3* 基因第 3 外显子扩增条带大小为 282 bp,第 4 外显子扩增条带大小为 314 bp。扩增产物与预期目的条带大小一致,可直接用于后续试验。



M, DL2000 DNA Marker;1~4. 第 4 外显子;5~8. 第 5,6 外显子;9~12. 第 7 外显子
M, DL2000 DNA Marker;1-4. Exon 4;5-8. Exons 5 and 6;9-12. Exon 7

图 1 欧拉型藏羊 *UCP2* 基因的 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of *UCP2* genes of Oula-type Tibetan sheep



M, DL2000 DNA Marker;1~2. 第 3 外显子;3~4. 第 4 外显子
M, DL2000 DNA Marker;1-2. Exons 3;3-4. Exons 4

图 2 欧拉型藏羊 *UCP3* 基因的 PCR 扩增

Fig. 2 PCR amplification of *UCP3* genes of Oula-type Tibetan sheep

2.2 欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因 PCR 扩增产物进行测序,再根据测序结果进行 SNPs 位点筛选和基因分型分析,结果见图 3 和图 4。

通过对欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因 PCR 产

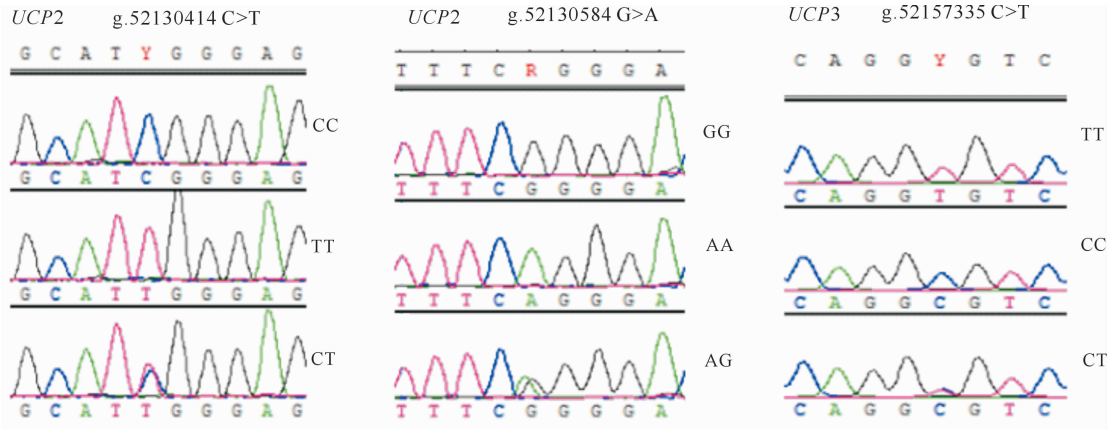


图 3 欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因突变位点的测序峰图

Fig. 3 Sequence peak of *UCP2* and *UCP3* mutation sites of Oula-type Tibetan sheep

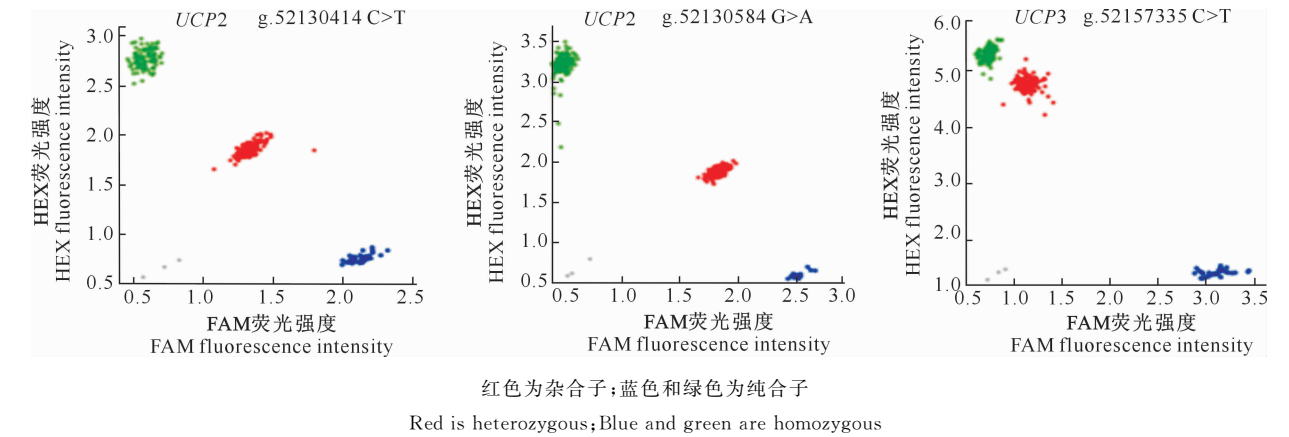


图 4 欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因的分型分析

Fig. 4 Genotyping analysis of *UCP2* and *UCP3* genes of Oula-type Tibetan sheep

图 3 显示,在 *UCP2* 基因的扩增产物 g. 52130414 C>T、g. 52130584 G>A 和 *UCP3* 基因的扩增产物 g. 52157335 C>T 均发现 SNP 位点,即测序峰图出现不同类型的峰。由图 4 可见, g. 52130414 C>T 产生了 CC、CT 和 TT 3 种基因型, g. 52130584 G>A 产生了 AA、AG 和 GG 3 种基因型, g. 52157335 C>T 产生了 CC、CT 和 TT 3 种基因型。

2.3 欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因遗传多态性分析

对欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因确定的 3 个突变位点进行遗传多态性分析,结果(表 2)表明,在 *UCP2* 基因 g. 52130414 C>T 突变位点中,等位基

因 C 为优势等位基因,CT 为优势基因型,纯合度为 0. 535,杂合度为 0. 465,有效等位基因数为 1. 87,多态信息含量为 0. 357,属于中度多态位点;在 *UCP2* 基因 g. 52130584 G>A 突变位点中,等位基因 G 为优势等位基因,GG 为优势基因型,纯合度为 0. 643,杂合度为 0. 357,有效等位基因数为 1. 554,多态信息含量为 0. 293,属于中度多态位点;在 *UCP3* 基因 g. 52157335 C>T 突变位点中,等位基因 T 为优势等位基因,TT 为优势基因型,纯合度为 0. 561,杂合度为 0. 439,有效等位基因数为 1. 784,多态信息含量为 0. 343,也属于中度多态位点。卡方(χ^2)检验结果显示,3 个 SNPs 位点均符合 Hard-Weinberg 平衡(HWE)适应性检验($P>0.05$)。

表 2 欧拉型藏羊 *UCP2*、*UCP3* 基因多态位点遗传多态性分析

Table 2 Genetic polymorphism analysis of *UCP2* and *UCP3* in Oula-type Tibetan sheep

基因 Gene	SNPs 位点 SNPs site	等位基因 Allele		基因型 Genotype		纯合度 (<i>H_o</i>) Homozy- gosity	杂合度 (<i>H_e</i>) Heterozy- gosity	有效等位(<i>N_e</i>) 基因数 Number of effective alleles	多态信息含量(PIC) Polymorphic information content
		类型 Type	频率 Frequency	类型 Type	频率 Frequency				
<i>UCP2</i>	g. 52130414 C>T	T	0. 368	TT	0. 142	0. 535	0. 465	1. 87	0. 357
		C	0. 632	CT	0. 452				
				CC	0. 406				
	g. 52130584 G>A	A	0. 232	AA	0. 059	0. 643	0. 357	1. 554	0. 293
		G	0. 768	AG	0. 347				
				GG	0. 594				
<i>UCP3</i>	g. 52157335 C>T	C	0. 326	CC	0. 130	0. 561	0. 439	1. 784	0. 343
		T	0. 674	CT	0. 393				
				TT	0. 477				

2.4 欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因 SNPs 位点不同基因型与生长性状的关联分析

将欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因 SNP 位点不同基因型与其体质量、体高、体斜长和胸围 4 个生长性状指标进行关联分析,结果如表 3 所示。由表 3 可知,*UCP2* 基因 g. 52130414 C>T 位点 TT 基因型体质量显著高于 CT 基因型 ($P<0.05$);

g. 52130584 G>A 位点 AA 基因型体质量和体斜长均极显著高于 AG 和 GG 基因型 ($P<0.01$),AA 和 GG 基因型胸围均显著高于 AG 基因型;*UCP3* 基因 g. 52157335 C>T 位点 CC 基因型体质量显著高于 CT 基因型 ($P<0.05$),TT 基因型胸围显著高于 CT 基因型 ($P<0.05$)。其余生长性状在各基因型之间差异均不显著 ($P>0.05$)。

表 3 *UCP2* 和 *UCP3* 基因 SNPs 位点多态性与欧拉型藏羊生长性状的关联分析

Table 3 Association analysis of SNPs polymorphisms of *UCP2* and *UCP3* genes with growth traits of Oula-type Tibetan sheep

基因 Gene	SNPs 位点 SNPs site	基因型(数目) Genotype(Number)	体质量/ (kg·头 ⁻¹) Body weight	体高/cm Body height	体斜长/cm Body oblique length	胸围/cm Chest circumference
<i>UCP2</i>	g. 52130414 C>T	TT(34)	61.16±8.02 a	77.18±4.47 a	76.09±3.65 a	100.38±4.96 a
		CT(108)	58.13±7.36 b	75.69±4.22 a	74.74±3.59 a	99.64±5.97 a
		CC(97)	58.50±7.29 ab	76.45±4.08 a	75.00±3.89 a	100.64±5.57 a
	g. 52130584 G>A	AA(14)	65.09±7.11 A	77.86±4.94 a	77.79±3.14 A	102.29±3.93 a
		AG(83)	57.69±7.13 B	75.83±4.35 a	74.65±3.38 B	98.98±5.93 b
		GG(142)	58.67±7.43 B	76.27±4.06 a	74.99±3.88 B	100.62±5.57 a
<i>UCP3</i>	g. 52157335 C>T	CC(31)	61.20±8.57 a	76.97±4.88 a	76.07±3.78 a	100.33±5.54 ab
		CT(94)	57.94±7.37 b	75.67±4.31 a	74.78±3.49 a	99.11±6.03 b
		TT(114)	58.70±7.16 ab	76.46±3.93 a	74.98±3.90 a	100.97±5.29 a

注:同列数据后标不同小写字母表示同一 SNP 位点不同基因型之间差异显著($P<0.05$),标不同大写字母表示同一 SNP 位点不同基因型之间差异极显著($P<0.01$)。

Note:Different lowercase letters indicate significant difference between different genotypes for the same SNP($P<0.05$),and different capital letters indicate significant differences among different genotypes of the same SNP($P<0.01$).

2.5 欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因 SNPs 位点基因型组合与生长性状的关联分析

生物的生长性状并非只由单个位点进行调控,而是多个位点共同调控的结果^[12]。将 3 个 SNPs 位点组合成双倍型进行分析,结果发现 *UCP2* 和 *UCP3* 的 SNPs 位点基因型组合共有 11 种,因不具备统计意义,剔除其中发生频率低于 0.05 的 6 种组合,再对剩余 5 种基因型组合与欧拉型藏羊进行生长性状的关联分析,结果见表 4。

表 4 欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 多态性位点基因型组合与其生长性状的关联分析

Table 4 Association analysis of *UCP2* and *UCP3* polymorphic loci genotype combinations with Oula-type Tibetan sheep growth traits

双倍型(数目) Diplotype (Number)	基因型 Genotype			体质量/ (kg·头 ⁻¹) Body weight	体高/cm Body height	体斜长/cm Body oblique length	胸围/cm Chest circumference
	g. 52130414 C>T	g. 52130584 G>A	g. 52157335 C>T				
D1(93)	CC	GG	TT	58.46±7.19 Bb	76.52±4.07 ab	75.01±3.89 ABb	100.69±5.37
D2(62)	CT	AG	CT	57.71±7.32 Bb	76.02±4.47 ab	74.61±3.40 Bb	99.03±6.12
D3(22)	CT	GG	CT	58.14±8.05 Bb	74.91±4.09 b	75.18±3.89 ABb	99.09±5.92
D4(19)	CT	GG	TT	60.03±7.22 ABb	76.21±3.38 ab	74.95±4.21 ABb	102.42±4.94
D5(14)	CT	AA	CC	65.09±7.11 Aa	77.86±4.94 a	77.79±3.14 Aa	102.29±3.93

注:同一性状不同基因型相比,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($P<0.01$)。

Note:Compared with different genotypes of the same character,different lowercase letters after the datas indicate significant difference ($P<0.05$),different capital letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

由表 4 可知,D5 型欧拉型藏羊体质量极显著高于 D1、D2、D3 型($P<0.01$);D5 型欧拉型藏羊体高显著高于 D3 型($P<0.05$);D5 型欧拉型藏羊体斜长极显著高于 D2 型($P<0.01$),且显著高于 D1、D3、D4 型($P<0.05$);各双倍型欧拉型藏羊胸围差异均不显著。

3 讨论

生长性状不仅是衡量畜禽个体生长发育的重要指标,同时也在畜禽育种中发挥着重要的作用,能反映其育种价值及经济效益。本研究将基因多态性与生长性状进行关联分析,可直观地筛选出良好的分子标记以提高欧拉型藏羊的育种效率,对欧拉型藏羊的选育具有重要意义。欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因位于 15 号染色体上,分别由 8 和 7 个外显子组成。对于 *UCP2* 和 *UCP3* 基因,目前研究较为成熟的多是其与人体疾病的关系^[13-15],对欧拉型藏羊的相关研究仍处于初级阶段。已有研究结果表明,*UCP2* 和 *UCP3* 基因与畜禽机体的生长发育和脂肪沉积息息相关。张继等^[16]对江口萝卜猪的研究发现,*UCP2* 基因表达量的增加不利于脂肪沉积,导致肉质变差;蒋秋斐等^[17]对西门塔尔杂种牛 *UCP3* 基因的 G5465A、T8162C 位点进行分析,发现 GA 和 CC 基因型会影响其体高和体斜长等性状

以及后期的体质量增加速度;Kowalewska-Luczak 等^[18]对泽西奶牛、波兰荷斯坦奶牛 *UCP2* 和 *UCP3* 基因与产奶性状的关联分析发现,2 种基因均与产奶量和乳脂含量存在显著相关性。赵伟等^[19]对延边黄牛 *UCP2* 和 *UCP3* 基因与生长性状进行关联分析,发现 2 基因均存在一处突变,且对延边黄牛的发育具有显著影响;Wang 等^[20]将秦川牛 *UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性与肉质性状进行关联分析,证实 *UCP2* 和 *UCP3* 基因与秦川牛的肉质性状密切相关。

本研究以 *UCP2* 和 *UCP3* 基因为候选基因,通过 DNA 直接测序法对 239 头成年欧拉型藏羊进行检测,在 *UCP2* 基因第 5 外显子上发现 2 个 SNPs 位点,根据其在染色体上的位置分别命名为 g. 52130414 C>T 和 g. 52130584 G>A,其中 g. 52130414 C>T 产生 TT、CT 和 CC 3 种基因型, g. 52130584 G>A 产生 AA、AG 和 GG 3 种基因型;在 *UCP3* 第 3 外显子上发现 1 个 SNP 位点,命名为 g. 52157335 C>T,其产生 CC、CT 和 TT 3 种基因型。3 个 SNPs 位点均是位于编码区的错义突变位点,因为编码区的核苷酸序列发生改变会导致蛋白质结构的变化,从而影响蛋白质的功能^[21]。由此推测,这 3 个 SNPs 位点的突变会影响欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 蛋白的生理学功能。

遗传多态性是指在同一群体中,某个基因座上存在 2 个或 2 个以上的等位基因,且等位基因的频率大于 0.01 的现象,其形成机制是基因突变。通过对遗传多态性的各项指标进行分析可从不同角度得到群体的遗传变异程度。群体的遗传变异程度越高,表明群体的遗传多样性越丰富,选择潜力越好,对育种改良的进行就更有利^[22]。本试验对 3 个 SNPs 位点遗传多态性的分析发现,3 个 SNPs 位点均属于中度多态位点,说明其遗传变异程度较大,具有一定的选育潜力,且 3 个 SNPs 位点均符合 Hardy-Weinberg 平衡适应性检验。

近年来,随着分子生物技术的发展,分子育种技术已广泛运用到畜禽生产中,大大提高了育种效率,加快了育种进程^[23]。目前,国内对 *UCP2* 和 *UCP3* 基因的研究多在人体上或牛、猪等畜禽上^[24-26],本研究对 *UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性与欧拉型藏羊生长性状的关联分析发现,*UCP2* 基因 g. 52130414 C>T 位点 TT 基因型体质量显著高于 CT 基因型 ($P<0.05$);g. 52130584 G>A 位点 AA 基因型体质量和体斜长均极显著高于 AG 和 GG 基因型

($P<0.01$),AA 和 GG 基因型胸围均显著高于 AG 基因型($P<0.05$)。*UCP3* 基因 g. 52157335 C>T 位点 CC 基因型体质量显著高于 CT 基因型($P<0.05$),TT 基因型胸围显著高于 CT 基因型($P<0.05$)。体质量和胸围都是直接反映畜禽生长情况的重要指标,在基因型组合分析中,双倍型 D5 型的体质量极显著高于 D1、D2、D3 型($P<0.01$),体高显著高于 D3 型($P<0.05$),体斜长极显著高于 D2 型($P<0.01$),同时且显著高于 D1、D3、D4 型($P<0.05$);各双倍型藏羊胸围间均无显著差异($P>0.05$)。综上所述,*UCP2* 基因 g. 52130414 C>T 位点的 TT 基因型个体在体质量、体高、体斜长和胸围生长性状上较 CT 和 CC 基因型具有更好的优势;g. 52130584 G>A 位点的 AA 基因型个体在体质量、体高、体斜长和胸围生长性状上较 AG 和 GG 基因型具有良好的优势;*UCP3* 基因 g. 52157335 C>T 位点的 CC 基因型个体在各项生长性状指标上均较 CT 和 TT 基因型具有较好的优势,因此可以分别选择 TT、AA 和 CC 基因型作为后期育种中筛选的目的基因型。根据基因型组合分析可知,D5 双倍型为优势基因型,在各生长性状上均明显优于其他双倍型,可在后期选育工作中予以优先考虑。

4 结 论

研究分析了欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因多态性与生长性状的关联性,在 *UCP2* 基因第 5 外显子筛选出 g. 52130414 C>T 和 g. 52130584 G>A 2 个 SNPs 位点,在 *UCP3* 基因第 3 外显子筛选出 g. 52157335 C>T 1 个 SNP 位点,3 个 SNPs 位点均属于中度多态位点,且属于错义突变,表明其具有较大的选育潜力,可改变欧拉型藏羊 *UCP2* 和 *UCP3* 基因表达蛋白的生理学功能。3 个突变位点对欧拉型藏羊体质量、体高、体斜长和胸围皆具有显著影响;D5 双倍型为优势基因型,对生长性状影响显著。可将 *UCP2*、*UCP3* 基因作为影响欧拉型藏羊生长性状的候选遗传标记用于育种辅助选择,为后续欧拉型藏羊的分子育种提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 胡 亮,孙 伟,马月辉.藏系绵羊群体遗传多样性及遗传结构分析[J].畜牧兽医学报,2019,50(6):1145-1153.
Hu L,Sun W,Ma Y H. Genetic diversity and genetic structure analysis of Tibetan sheep population [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica,2019,50(6):1145-1153.
- [2] 张剑搏,丁学智,Ahmad A,等.高原土著动物适应性进化的研

- 究进展 [J]. 畜牧兽医学报, 2019, 50(9): 1723-1736.
- Zhang J B, Ding X Z, Ahmad A, et al. Advances in research on adaptive evolution of native animals of Tibetan Plateau [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2019, 50(9): 1723-1736.
- [3] 李蕾蕾. 青南牧区混播饲草青贮和对欧拉型藏羊补饲效果的研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- Li L L. Study on mixed forage silage and supplementary feeding effect of oula type Tibetan sheep in Qingnan grazing area [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.
- [4] Emre Y, Nübel T. Uncoupling protein UCP2: when mitochondrial activity meets immunity [J]. FEBS Letters, 2010, 584(8): 1437-1442.
- [5] Palanisamy A P, Cheng G, Sutter A G. Mitochondrial uncoupling protein 2 induces cell cycle arrest and necrotic cell death [J]. Metab Syndr Relat Disord, 2014, 12(2): 132-142.
- [6] Li J, Jiang R, Cong X, et al. UCP2 gene polymorphisms in obesity and diabetes, and the role of UCP2 in cancer [J]. FEBS Letters, 2019, 593(18): 2525-2534.
- [7] Lapice E, Monticelli A, Coccozza S, et al. The combination of UCP3-55CT and PPAR γ 2 Pro12Ala polymorphisms affects BMI and substrate oxidation in two diabetic populations [J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2016, 26(5): 400-406.
- [8] Aguer C, Piccolo B D, Fiehn O, et al. A novel amino acid and metabolomics signature in mice overexpressing muscle uncoupling protein 3 [J]. The FASEB Journal, 2016, 31(2): 814-827.
- [9] 国 鹏, 封 元, 顾亚玲, 等. 黑安格斯牛 UCP 基因多态性位点与生长性状的关联分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019(15): 6-9.
- Guo P, Feng Y, Gu Y L, et al. Correlation analysis between UCP polymorphic loci and growth traits in Black Angus cattle [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2019(15): 6-9.
- [10] 艾锦新, 龙安炬, 罗卫星, 等. 黔北麻羊 UCP2 基因组织表达及其多态性与生长性状的关联分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47(7): 2093-2103.
- Ai J X, Long A J, Luo W X, et al. Tissue expression of UCP2 gene and its association analysis between polymorphism and growth traits in Qianbei Ma goats [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2020, 47(7): 2093-2103.
- [11] 郝 军, 柴志欣, 王吉坤, 等. 麦洼牦牛 UCP 基因多态性及其与生长性状的遗传效应分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019(21): 149-153.
- Hao J, Chai Z X, Wang J K, et al. Analysis of UCP gene polymorphism and its genetic effects associated with growth traits in Maiwa yak [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2019(21): 149-153.
- [12] 王梓伟, 苟盼盼, 杨 金, 等. 红鳍东方鲀生长激素释放激素 (GHRH) 基因多态性及其与生长性状的关联分析 [J/OL]. 大连海洋大学学报, 2021: 1-11 [2021-12-02]. <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2021-205>.
- Wang Z Y, Gou P P, Yang J, et al. Correlation analysis between GHRH gene SNPs and growth traits of *Takifugu rubripes* [J/OL]. Journal of Dalian Ocean University, 2021: 1-11 [2021-12-02]. <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2021-205>.
- [13] 罗 玮, 姚勇利, 达哇卓玛, 等. UCP-2 基因启动子区 -866G/A 多态性与中高海拔地区 2 型糖尿病关系的研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(12): 887-891.
- Luo W, Yao Y L, Da W Z M, et al. Association of -866G/A polymorphism in uncoupling protein 2 gene with type 2 diabetes mellitus in medium and high altitude regio [J]. Chinese Journal of Diabetes, 2020, 28(12): 887-891.
- [14] 付 娟, 任向军, 杨 琨, 等. 2 型糖尿病合并牙周感染患者 IL-1 β 和 UCP3 基因多态性 [J]. 中华医院感染学杂志, 2021, 31(14): 2119-2123.
- Fu J, Ren X J, Yang K, et al. Gene polymorphisms of IL-1 β and UCP3 in type 2 diabetes mellitus patients complicated with periodontal infection [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2021, 31(14): 2119-2123.
- [15] Pravednikova A E, Shevchenko S Y, Kerchev V V, et al. Association of uncoupling protein (UCP) gene polymorphisms with cardiometabolic diseases [J]. Molecular Medicine, 2020, 26(1): 51.
- [16] 张 继, 吴 雪, 邱淦远, 等. 江口萝卜猪 UCP2 基因多态性与基因表达量及肉品质的相关性研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2019, 55(10): 71-77.
- Zhang J, Wu X, Qiu G Y, et al. Correlation between UCP2 gene polymorphism and gene expression and meat quality in Jiangkou Luobo pig [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2019, 55(10): 71-77.
- [17] 蒋秋斐, 洪 龙, 封 元, 等. 西门塔尔杂种牛 UCP3 基因多态性与生长性状的关联性分析 [J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(4): 642-651.
- Jiang Q F, Hong L, Feng Y, et al. Polymorphism in UCP3 gene and its association with growth traits in hybrid Simmental cattle (*Bos taurus*) [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2018, 26(4): 642-651.
- [18] Kowalewska-Luczak I, Głosińska J I, Czerniawska-Piątkowska E. Effect of UCP2 and UCP3 genes polymorphisms on functional traits in dairy cattle [J]. Russian Journal of Genetics, 2018, 54(7): 853-857.
- [19] 赵 伟, 王寒寒, 刘 磊, 等. 延边黄牛 UCP2, UCP3 基因多态性及其与生长性状的关联分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(10): 3691-3698.
- Zhao Y, Wang S H, Liu L, et al. Polymorphism of UCP2 and UCP3 genes and its association with growth traits in Yanbian Yellow cattle [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 48(10): 3691-3698.
- [20] Wang Y N, Yang W C, Gui L S, et al. Association and expression analyses of the Ucp2 and Ucp3 gene polymorphisms with body measurement and meat quality traits in Qinchuan cattle [J]. Journal of Genetics, 2016, 95(4): 939-946.

- Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(3): 377-381.
- [16] 杨莹莹, 刘永刚, 郝立沙, 等. 猪圆环病毒 2 型 Cap 蛋白的原核表达、纯化及抗原性分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(5): 14-19.
- Yang Y Y, Liu Y G, Hao L S, et al. Prokaryotic expression, purification and antigenicity analysis of the Cap protein of porcine *Circovirus* type 2 [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2016(5): 14-19.
- [17] 陈春丽, 郭宇飞, 陈筱薇, 等. 利用 SUMO 系统高效表达可溶性猪圆环病毒 2 型 Cap 蛋白 [J]. 华南农业大学学报, 2012, 33(3): 393-397.
- Chen C L, Guo Y F, Chen X W, et al. Efficient expression of cap gene of porcine *Circovirus* type 2 by pCold-SUMO expression vector [J]. Journal of South China Agricultural University, 2012, 33(3): 393-397.
- [18] Beach N M, Smith S M, Ramamoorthy S, et al. Chimeric porcine circoviruses (PCV) containing amino acid epitope tags in the C *Terminus* of the capsid gene are infectious and elicit both anti-epitope tag antibodies and anti-PCV type 2 neutralizing antibodies in pigs [J]. Journal of Virology, 2011, 85(9): 4591-4595.
- [19] Huang L P, Lu Y H, Wei Y W, et al. Construction and biological characterisation of recombinant porcine *Circovirus* type 2 expressing the V5 epitope tag [J]. Virus Research, 2011, 161(2): 115-123.
- [20] Finsterbusch T, Mankertz A. Porcine circoviruses: small but powerful [J]. Virus Research, 2009, 143(2): 177-183.
- [21] Lekcharoensuk P, Morozov I, Paul P S, et al. Epitope mapping of the major capsid protein of type 2 porcine *Circovirus* (PCV₂) by using chimeric PCV₁ and PCV₂ [J]. Journal of Virology, 2004, 78(15): 8135-8145.
- [22] Shang S B, Jin Y L, Jiang X T, et al. Fine mapping of antigenic epitopes on capsid proteins of porcine *Circovirus*, and antigenic phenotype of porcine *Circovirus* type 2 [J]. Molecular Immunology, 2009, 46(3): 327-334.
- [23] Wang N D, Zhan Y, Wang A B, et al. In silico analysis of surface structure variation of PCV2 capsid resulting from loop mutations of its capsid protein (Cap) [J]. The Journal of General Virology, 2016, 97(12): 3331-3344.
- [24] 任春晓, 冯 华, 张 腾, 等. 中和表位串联的 PCV2b 病毒样颗粒在昆虫细胞中的表达与鉴定 [J]. 河南农业科学, 2021, 50(7): 154-160.
- Ren C X, Feng H, Zhang T, et al. Expression and identification of PCV2b virus-like particles with neutralizing epitopes in tandem in insect cells [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2021, 50(7): 154-160.
- [25] Li G P, Liu L, Xu B J, et al. Displaying epitope B and epitope 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on virus like particles of porcine *Circovirus* type 2 provides partial protection to pigs [J]. The Journal of Veterinary Medical Science, 2021, 83(8): 1263-1272.
- [26] 杜恩岐, 李折折, 石聿勇, 等. 一种热处理去除 PCV2 VLPs 中非 VLPs 蛋白的方法: CN108588154A [P]. 2018-09-28.
- Du E Q, Li Z Z, Shi Y Y, et al. A method for removing non-VLPs proteins by heat treatment: CN108588154A [P]. 2018-09-28.

(上接第 8 页)

- [21] 高爱琴, 李金泉, 李 宁, 等. 绵羊 *FGF5* 基因 SNP 的生物信息学分析 [J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44(5): 5-7.
- Gao A Q, Li J Q, Li N, et al. Bioinformatics analysis of SNP in sheep *FGF5* gene [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2008, 44(5): 5-7.
- [22] 艾锦新, 龙安炬, 罗卫星, 等. 黔北麻羊 FABP3 基因多态性及其与生长性状的相关性研究 [J]. 畜牧与兽医, 2021, 53(1): 13-18.
- Ai J X, Long A J, Luo W X, et al. Polymorphism of the FABP3 gene and its correlation with the growth traits of Qianbei Ma goat [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 53(1): 13-18.
- [23] 冯 贺, 赵英哲, 孙学钊, 等. ASB12 基因 SNPs 位点多态性与延边黄牛生长性状关联分析 [J]. 畜牧与兽医, 2019, 51(9): 11-16.
- Feng H, Zhao Y Z, Sun X Z, et al. Polymorphism of the ASB12 gene and its association with growth traits of Yanbian Yellow cattle [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2019, 51(9): 11-16.
- [24] 罗 柳, 黄 鹏, 王婷婷, 等. 母亲糖尿病及 *UCP2* 基因多态性与子代先天性心脏病关联的病例对照研究 [J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(10): 1092-1099.
- Luo L, Huang P, Wang T T, et al. Association of maternal diabetes mellitus and *UCP2* gene polymorphism with congenital heart disease in offspring: a case-control study [J]. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2020, 22(10): 1092-1099.
- [25] 吴 雪, 张 继, 邱淦远, 等. 江口萝卜猪 *UCP2* 基因启动子变异分析 [J]. 南方农业学报, 2019, 50(10): 2314-2321.
- Wu X, Zhang J, Qiu G Y, et al. *UCP2* gene promoter variation in Jiangkou Luobo pig [J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(10): 2314-2321.
- [26] 张 娟, 母 童, 蔡正云, 等. *UCP* 基因多态性及与黑安格斯牛生长性状的关联分析 [J]. 农业生物技术学报, 2018, 26(7): 1195-1202.
- Zhang J, Mu T, Cai Z Y, et al. The polymorphism of *UCP* gene and its association with growth traits of Black Angus cattle (*Bos taurus*) [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2018, 26(7): 1195-1202.