

UCP2 基因遗传多态性与西门塔尔牛生长相关性状的遗传效应分析

陈 翠, 张立敏, 陈晓杰, 刘喜冬, 张 猛, 李 姣, 袁峥嵘, 张路培,
高 雪, 高会江, 李俊雅, 许尚忠*

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所 农业部畜禽遗传资源与利用重点开放实验室, 北京 100193)

摘 要: 本研究旨在分析 *UCP2* 基因 SNPs 及其单倍型与肉牛饲料转化率和体尺等生长相关性状的相关性。以 118 头西门塔尔牛为试验材料, 利用 DNA 池和 PCR-RFLP 方法检测 *UCP2* 基因 G118A、C161T、C215G、C305T 位点多态性, 构建单倍型并与生长性状进行相关分析。结果表明, G118A、C161T 和 C305T 位点均与饲料转化率显著相关 ($P < 0.05$), 其中杂合个体均值显著高于纯合个体且料肉比较高, 而纯合个体之间差异不显著。位点 C161T 和 C305T 对胸围和腹围发挥主要影响作用, 在差异显著表型性状中, TT 基因型显著大于 CC 基因型个体。所构建的单倍型与单个 SNP 分析结果较为一致。综合考虑饲料转化率、平均日增体质量、胸围和腹围, 建议将 C161T 和 C305T 位点的纯合个体 TT 基因型作为提高肉牛生长性状的候选分子标记。

关键词: *UCP2*; 生长性状; 单倍型; 关联分析

中图分类号: S823; Q343.15

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)05-0708-09

Associations of *UCP2* Gene Polymorphisms with Growth Traits in Simmental

CHEN Cui, ZHANG Li-min, CHEN Xiao-jie, LIU Xi-dong, ZHANG Meng, LI Jiao,

YUAN Zheng-rong, ZHANG Lu-pei, GAO Xue, GAO Hui-jiang, LI Jun-ya, XU Shang-zhong*

(Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Utilization of Ministry of Agriculture, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: The aim of this study was to analyze the association of *UCP2* gene polymorphisms and haplotypes with feed conversion ratio (FCR) and growth traits in beef cattle. In this study, 118 Simmental were used, four SNPs of *UCP2* gene (G118A, C161T, C215G, C305T) were genotyped by PCR-RFLP in Simmental to investigate the associations of SNPs and haplotypes with FCR and growth traits. The results showed that G118A, C161T and C305T were significantly associated with FCR ($P < 0.05$). Compared with the individuals with homozygote, the values of FCR of individuals with the heterozygote were significantly higher. However, the difference between the individuals with homozygotes were not significant. The locus C161T and C305T had an major affect on heart girth and circumference of abdomen. Among the phenotypes which were significantly different, individuals with TT genotype had a significantly higher average value than that of individuals with AA genotype. Association analysis of haplotypes indicated similar results with that of SNPs. Considered the FCR, ADG and body size traits, it was suggested that the TT genotype at locus C161T and C305T of *UCP2* gene were important candidate molecular markers for improving growth traits.

收稿日期: 2011-08-15

基金项目: 国家科技支撑计划(2011BAD28B04); 现代农业(肉牛)产业技术体系岗位科学家(CARS-38); 肉牛脂肪沉积相关基因的转基因研究(2008ZX0807-2); 优质高效转基因肉牛新品种培育(2009ZX08007-005B)

作者简介: 陈 翠 (1985-), 女, 山东济宁人, 硕士生, 主要从事生物技术与动物遗传育种研究, E-mail: sweeteforyou@163.com

* 通讯作者: 许尚忠, E-mail: simmenta@vip.sina.com

Key words: UCP2; growth trait; haplotype; association analysis

在家畜生产育种中,饲料的利用效率是非常重要的经济性状。其中饲料费用的支出大约占总支出的 60%~65%,因此节省饲料资源,提高动物饲料的利用效率,降低饲料成本是饲料生产者与饲养者不断追求的共同目标。饲料的利用效率有很多种评价方法,饲料转化率(Feed conversion ratio, FCR)便是其中的一种,通常被定义为饲料投入与产出之比。利用候选基因法分离鉴定与饲料转化率相关的 DNA 分子标记是提高家畜饲料利用效率的有效手段之一。在畜禽育种中,体尺性状良好的个体备受青睐,体况优秀的个体不仅生长速度较快,而且对家畜的选种选育发挥重要作用。

UCPs 是机体组织特异表达的线粒体内膜蛋白,其作为质子转运体,可降低质子电化学梯度,使呼吸链与 ATP 合成过程解偶联,因此氧化磷酸化合成 ATP 的效率下降,能量以热的形式散发。简言之,UCPs 的功能是决定氧化磷酸化反应即 ATP 的生成还是产热散能^[1-2]。UCPs 家族成为能量调控的靶蛋白,对机体能量代谢,静止代谢率和饲料转化效率等性状具有显著的影响^[3]。到目前为止,UCP 基因家族中共发现了 6 个成员,包括 UCP1~UCP6,它们分布在动物、植物、鱼类、真菌和原生动物中^[4-5]。自 Tu 等^[6]用小鼠 UCP1 基因敲除试验证实了 UCPs 的解离氧化磷酸化偶联的功能,揭示了其在体内供热代谢途径中的机制以来,UCPs 很快引起了遗传学家和营养学家们的关注^[7]。研究发现,UCP2 或 UCP3 基因的碱基突变可引起肥胖,例如人 UCP2 基因外显子 4 的 Ala/Val 错义突变和外显子 8 非翻译区 3' 端 45 bp 片段的插入或缺失,UCP3 外显子 3 的 C/T 突变都可影响能量代谢^[6-7]。Argyropoulos 等^[8]对人肥胖症和糖尿病患者进行了研究,发现 UCP2 和 UCP3 基因变异可引起肥胖和 2 型糖尿病。目前在人类中已发现了因 UCP2 或 UCP3 基因突变而引起的肥胖^[9]。1997 年,Heury 等^[10]发现了人的 UCP2 基因,并定位于 11 号染色体 11q3 上。德国 Lentjes 研究小组用 PCR 和序列分析法获得了人的 UCP2 基因结构,UCP2 基因全长 8.7 kb,由 8 个外显子组成,其中有 2 个不翻译的外显子,编码 309 个氨基酸,与 UCP1 有 55% 的氨基酸同源性。UCP2 广泛存在于动物脑、肌肉、白脂等组织中,主要通过改变活性氧种类,

控制脂毒性和氧化损害,阻止脂肪酸氧化和脂质累积^[11-12]。Mostyn 等采用 Northern 法分析了 UCP2 在小鼠不同组织中的表达,发现 UCP2 在小肠、肺脏、脾脏、白脂肪中表达量较大,这也说明 UCP2 在能量平衡、体质量和热量调节过程中产生作用^[13]。牛的 UCP2 基因序列至少包括 6 个外显子和 5 个内含子,定位在 15 号染色体。目前还鲜见关于牛 UCP2 基因多态性与肉牛饲料转化率和体尺等生长性状的相关性报道。

本研究旨在将体尺性状与饲料转化率性状综合考虑,筛选出有利基因型,在保证生长性状的基础上,降低饲养成本。通过对牛 UCP2 基因第 2 内含子的 SNPs 检测,比较不同基因型频率的差异,为从分子遗传学角度探讨肉牛的能量消耗机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试动物

1.1.1 饲养数据收集 实验牛群为北京大兴金维畜牧有限公司的 118 头 12 月龄西门塔尔育肥牛。所有实验动物按照 NRC(2000)营养标准分别在上午 05:30 和下午 16:30 饲喂 2 次,自由饮水。试验中对实验牛进行隔栏栓饲,单槽饲喂,集中育肥 3 个月,每周连续 3 d 收集个体采食量数据。试验期间随机收集 4 次正常饲喂饲料,送到中国农业科学院北京畜牧兽医研究所分析中心进行化验分析,检测样品水分及初水分含量。

个体的平均采食量 = 试验期内记录个体每天采食量之和 / 记录次数;

个体干物质摄入量(DMI) = 个体的平均采食量 × ((1 - 第 1 次饲养样品水分) × (1 - 第 1 次饲料样品初水分) + (1 - 第 2 次饲养样品水分) × (1 - 第 2 次饲料样品初水分) + (1 - 第 3 次饲养样品水分) × (1 - 第 3 次饲料样品初水分) + (1 - 第 4 次饲养样品水分) × (1 - 第 4 次饲料样品初水分) / 4);

饲料转化率(FCR) = DMI / ADG。

1.1.2 体尺测定 试验期间,按照体尺测量标准^[14],由同一人在试验群体大约 8、12 和 15 月龄时收集体尺性状数据,并使用 SAS 软件的 GLM 自编程程序将每头牛的体尺数据矫正到 8、12 和 15 月龄。

1.1.3 体质量测定 试验期为 3 个月,分别在正式试验第 1、45 和 90 天的早晨对试验牛称重,空腹

测定,分别记为 W1、W2 和 W3。平均日增体质量 (ADG) = (W2-W1)/45 + (W3-W2)/45/2。

1.1.4 DNA 提取 对每头牛颈静脉采血 10 mL, ACD 抗凝,低温下快速送回实验室,于 -20 °C 保存。基因组 DNA 按照常规酚/氯仿方法抽提,检测质量和浓度后稀释成 20 ng · μL⁻¹的工作液,4 °C 保存备用。

1.2 主要试剂

Taq DNA 聚合酶、10×Buffer、1.5 mmol · L⁻¹ Mg²⁺ 和 dNTPs 均购自北京赛百盛生物有限公司。

1.3 引物合成

根据 GenBank 上公布的牛 UCP2 基因 DNA 序列 (NC_007313.4),用 Primer5.0 软件设计 1 对引物 (表 1),用于扩增内含子 2 部分片段。引物由北京赛百盛技术有限公司合成。

1.4 基因型检测

采用 DNA 池混合测序的方法,将部分目标片段 PCR 产物混合后测序,在 UCP2 第 2 内含子区发现 6 个 SNPs 位点,分别为:C77T、G118A、C161T、

C215G、C305T 和 G315A。

采用 PCR-RFLP 方法对 G118A、C161T、C215G 和 C305T 位点所有个体进行基因型检测 (表 1),PCR 反应体系为 25 μL:基因组 DNA 40 ng,10 × buffer 1.5 μL,1.5 mmol · L⁻¹ Mg²⁺ 1.5 μL,0.5 mmol · L⁻¹ dNTP 0.5 μL,Taq DNA 聚合酶 1.0 U,1 μmol · L⁻¹ 的上下游引物各 1 μL。PCR 反应程序:94 °C 预变性 5 min;32 个循环 (94 °C 变性 30 s,65 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 45 s);72 °C 延伸 10 min;4 °C 保存。7 μL PCR 产物加入 5 U · L⁻¹ 的限制性内切酶 1.0 μL,Buffer 1.0 μL,混匀后于 37 °C 恒温水浴锅中酶切过夜,次日用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,Kodak 凝胶成像系统照相分析。根据特征条带类型判定基因型。

根据酶切结果,选取 3 种不同基因型个体的 PCR 产物进行纯化,并交由北京华大基因公司测序。随后对测定的序列进行 BLAST 分析,以验证基因型判定的准确性。

表 1 PCR 扩增引物信息

Table 1 The information of primers used by PCR in the study

基因 Gene	引物序列 (5'-3') Primer sequence	退火温度/°C T _m	产物长度/bp Product length	内切酶 Restriction enzyme
UCP2	F: TGTCAACTGTGCTGAGCTGGT R: CAGGGCAGAGTTCATGTATCTCG	65	481	<i>Tsc</i> I
				<i>Bgl</i> I
				<i>Hinf</i> I
				<i>Tsp</i> E I

1.5 统计分析

利用 PHASE V2.0 (<http://www.stat.washington.edu/stephens/software.html>) 分析各基因的 SNPs 在群体中组成的单倍型情况^[15]。利用 HAPLOVIEW 4.2 软件对 4 个位点之间的连锁不平衡进行分析^[16]。

标记与性状间的相关分析采用 SAS-GLM 程序,根据性状及试验群体的特点构建线性分析模型: $y_{ijkl} = \mu + M_i + G_j + W_k + e_{ijk}$ 。其中, y_{ijkl} 为性状表型值, μ 为总体均值, M_i 为月龄效应, G_j 为基因型效应, W_k 为出生体质量协变量, e_{ijk} 为随机误差。不同基因型间的比较分析采用最小二乘法,结果用“最小二乘均值 ± 标准误”表示。试验动物均在同一饲养条件下饲养,饲料相同,营养水平相当,因此没有考虑饲养因素的影响。

2 结果

2.1 西门塔尔牛 UCP2 基因 SNPs 基因型判定

UCP2 第 2 内含子扩增片段 481 bp,在 G118A、C161T、C215G 和 C305T 突变位点处使用相应的限制性内切酶进行酶切分型,各位点酶切情况见表 2,PCR-RFLP 检测结果见图 1。

2.2 在群体中不同基因型频率分析

UCP2 基因第 2 内含子位点的遗传结构分析见图 2 和表 2。在西门塔尔牛群体中,4 个候选位点均有 2 种等位基因,3 种基因型。其中 G118A 位点 AA 型为优势基因型,A 为优势等位基因,测序表明该等位基因是第 118 位核苷酸发生 G → A 突变;C161T 位点,TT 型为优势基因型,T 等位基因为优势基因,测序表明等位基因 C 是由等位基因 T 在第

161 位核苷酸发生 T→C 突变;C215G 位点 GG 型为优势基因型,G 等位基因为优势基因,测序表明等位基因 C 是由等位基因 G 在第 215 位核苷酸发生 G→C 突变;C305T 位点 TT 型为优势基因型,T 等位基因为优势基因,测序表明等位基因 C 是由等位

基因 T 在第 305 位核苷酸发生 T→C 突变。优势基因型个体料肉比均值均较低。由多态信息含量 (PIC)可知,除 C215G 位点外,其余 3 个位点均处于中度多态。

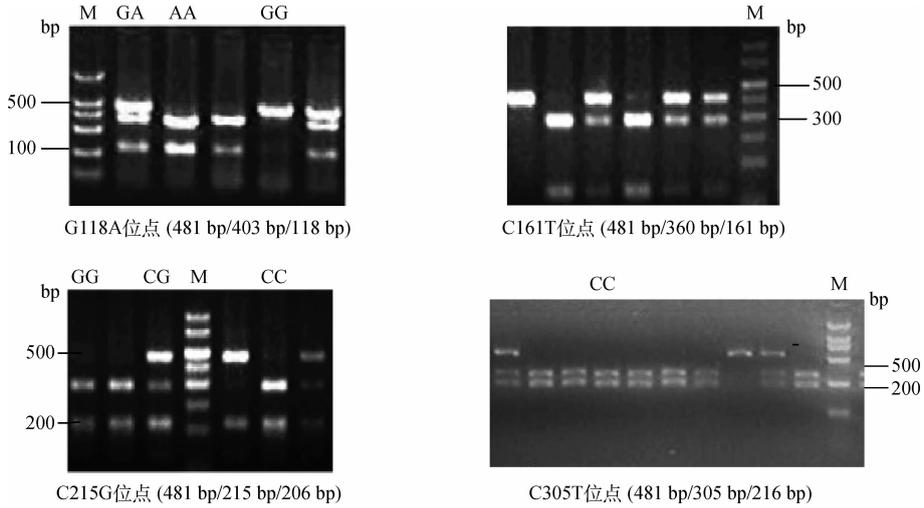
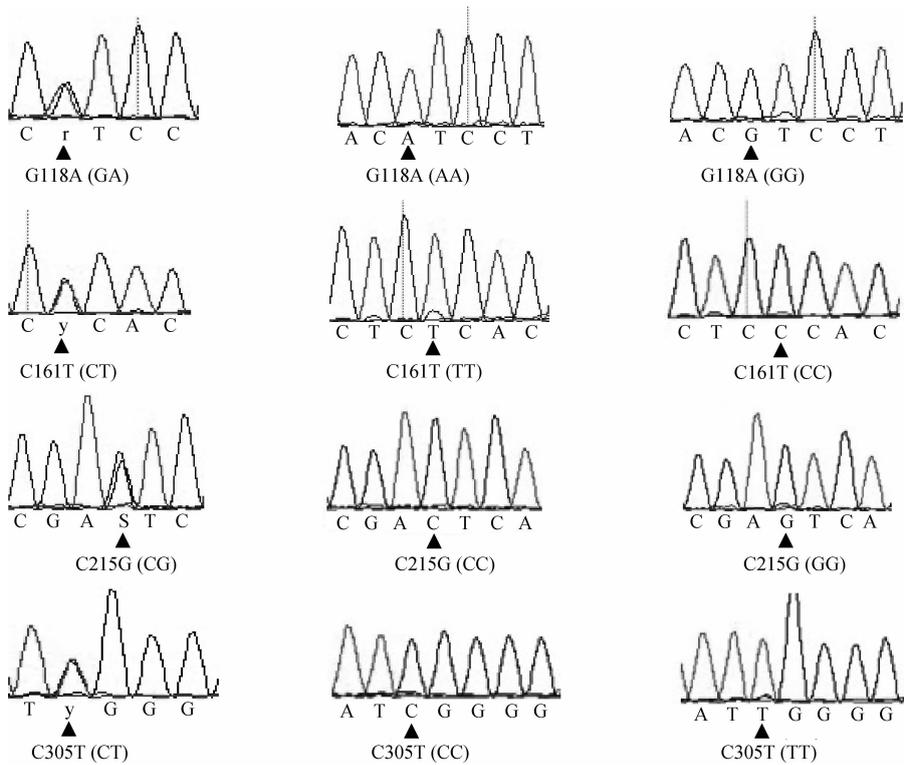


图 1 UCP2 基因 SNPs 位点的 RFLP 电泳图谱
Fig. 1 RFLP map of four SNPs for UCP2 gene



C215G 位点混合池测序中没有检测到 CG 基因型
The GG genotype is not identified at C215G locus of UCP2 gene by DNA pooling

图 2 UCP2 基因 SNPs 测序峰图
Fig. 2 UCP2 gene SNPs sequencing

表 2 西门塔尔牛 *UCP2* 基因第 2 内含子 SNPs 等位基因及基因型频率Table 2 Allele and genotype frequencies of the polymorphisms in intron2 of *UCP2* gene in Simmental

个体数/头 Number	位点 Locus	基因型频率(个体数) Genotype frequency						等位基因频率 Allele frequency			PIC
		GG (84) 0.71	GA(22) 0.19	AA(12) 0.10	CC (10) 0.09	GC(9) 0.075	CC(9) 0.075	G 0.805 1	A 0.194 9	C 0.216 1	
118	G118A	GG (84) 0.71	GA(22) 0.19	AA(12) 0.10	CC (10) 0.09	GC(9) 0.075	CC(9) 0.075	G 0.805 1	A 0.194 9	C 0.216 1	0.26
	C161T	TT (77) 0.65	TC(31) 0.26	CC (10) 0.09	T 0.783 9	C 0.216 1					0.28
	C215G	GG (100) 0.85	GC(9) 0.075	CC(9) 0.075	G 0.887 5	C 0.112 5					0.18
	C305T	TT (60) 0.51	TC(48) 0.41	CC(10) 0.08	T 0.745 8	C 0.254 2					0.31

2.3 *UCP2* 基因各位点 PCR-RFLPs 多态性与生长性状的相关性分析

2.3.1 *UCP2* 基因各位点 PCR-RFLPs 多态性与饲料转化率(FCR)和平均日增体质量(ADG)的相关性分析 对 *UCP2* 基因 4 个位点与 FCR 和 ADG 进行关联分析,结果见表 3。4 个候选位点中,除 C215G 以外,其余 3 个位点与 FCR 和 ADG 均显

著相关。G118A、C161T 和 C305T 位点与 FCR 极显著相关($P < 0.01$),杂合个体 FCR 均值均极显著高于纯合个体,纯合个体之间差异不显著。这 3 个位点与 ADG 显著相关($P < 0.05$),其中杂合个体日增体质量均值显著小于纯合个体,与饲料转化率影响一致。

表 3 *UCP2* 基因位点多态性与生长性状的相关性Table 3 Associations of *UCP2* gene polymorphisms with growth traits

月龄 Age	性状 Trait	G118A			C161T			C215G			C305T		
		AA	GA	GG	CC	CT	TT	CC	CG	GG	CC	CT	TT
15 月龄 15-month-old	FCR	7.00±	9.59±	7.48±	7.74±	9.55±	7.52±	7.82±	7.95±	7.97±	7.37±	9.41±	7.52±
		0.45 ^A	2.40 ^B	0.26 ^A	0.42 ^A	1.60 ^B	0.45 ^A	0.56	2.10	0.47	0.27 ^A	1.19 ^B	0.45 ^A
	ADG	1.20±	0.97±	1.15±	1.32±	0.99±	1.19±	1.13±	1.15±	1.12±	1.14±	0.91±	1.19±
		0.08 ^a	0.08 ^b	0.02 ^a	0.03 ^a	0.06 ^b	0.06 ^a	0.03	0.13	0.06	0.03 ^a	0.05 ^b	0.06 ^a
	体高/cm	126.75±	126.59±	125.46±	125.16±	126.23±	129.30±	125.56±	127.89±	126.44±	125.37±	126.26±	126.30±
		0.69	1.01	0.51	0.53 ^a	0.81 ^{ab}	0.80 ^b	0.46	1.42	0.88	0.65	0.60	0.80
	胸围/cm	184.03±	184.82±	183.96±	183.45±	185.42±	189.00±	184.22±	183.67±	184.67±	183.73±	184.38±	189.00±
		1.91	1.43	0.80	0.84 ^a	1.13 ^{ab}	2.04 ^b	0.71	2.47	2.25	1.01 ^a	0.88 ^a	2.04 ^b
	腹围/cm	221.33±	219.73±	220.06±	219.55±	220.13±	224.30±	220.02±	220.44±	221.56±	219.83±	219.57±	224.30±
		1.87	1.55	0.78	0.83 ^a	1.22 ^a	2.01 ^b	0.71	2.43	2.09	0.94 ^a	1.00 ^a	2.02 ^b
体高/cm	119.92±	117.95±	117.65±	117.50±	118.55±	122.50±	117.67±	119.13±	119.89±	117.10±	118.72±	119.50±	
	1.26	0.87	0.51	0.52 ^a	0.73 ^a	1.57 ^{ab}	0.46	0.83	1.70	0.55	0.67	1.57	
胸围/cm	172.75±	169.14±	170.10±	169.40±	169.62±	175.50±	169.76±	167.38±	175.00±	169.63±	169.25±	175.50±	
	2.65	1.36	0.86	0.86 ^a	1.30 ^a	2.84 ^b	0.74	3.08	3.12	0.99 ^a	1.05 ^a	2.84 ^b	
腹围/cm	198.50±	197.24±	199.72±	198.69±	199.78±	206.10±	199.25±	198.13±	205.22±	199.36±	198.56±	207.10±	
	3.22 ^a	1.64 ^b	1.00 ^{ab}	1.01 ^A	1.54 ^A	3.63 ^{AB}	0.88	3.26	3.94	1.20 ^a	1.16 ^a	3.63 ^b	
体高/cm	105.75±	104.90±	104.86±	104.60±	105.77±	105.60±	104.96±	104.62±	107.89±	104.66±	105.29±	107.60±	
	1.76	1.29	0.49	0.57 ^a	0.75 ^{ab}	2.13 ^b	0.48	1.80	2.36	0.64	0.66	2.13	
胸围/cm	142.75±	142.67±	141.58±	141.30±	145.20±	147.80±	141.83±	139.25±	140.67±	141.45±	141.71±	147.80±	
	3.38	1.80	0.95	1.00 ^a	1.46 ^{ab}	3.61 ^b	0.85	3.10	4.04	1.20 ^a	1.10 ^a	3.61 ^b	
腹围/cm	181.75±	180.81±	180.50±	179.63±	182.20±	186.30±	180.61±	179.25±	185.44±	180.33±	180.44±	186.30±	
	3.97	2.34	1.11	1.21 ^a	1.62 ^{ab}	4.67 ^b	0.98	5.01	0.13	1.45 ^a	0.25 ^a	4.67 ^b	

FCR. 饲料转化率; ADG. 平均日增体质量。表中数值为“平均值±标准误”。不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。表 6 同

FCR. Feed conversion ratio; ADG. Average daily gain. The data in table are showed as “mean±SE”. a, b. Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$); A, B. Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.01$). The same as Table 6

综上所述,G118A、C161T 和 C305T 位点中纯合个体料肉比较低且具有较高的日增体质量,为优势基因型,利于肉牛生长。

2.3.2 UCP2 基因各位点 PCR-RFLPs 多态性与体尺性状的相关性分析 由表 3 可知,UCP2 基因 C161T 位点对 15、12 和 8 月龄的体高、胸围和腹围性状影响显著($P < 0.05$),其中 TT 基因型个体的体高、胸围和腹围均值显著高于 CC 基因型个体;C305T 位点对 15、12 和 8 月龄的胸围和腹围性状影响显著($P < 0.05$),其中 TT 基因型的胸围和腹围值显著大于 CC 基因型。此外,通过分析发现,G118A 位点只对 12 月龄腹围影响显著,对 15 和 8 月龄腹围性状却没有显著影响。这可能与样品量较少和人为测定产生的误差有关。

2.4 单倍型分析

利用 HAPLOVIEW4.2 软件对西门塔尔牛 UCP2 基因中的 4 个 SNPs 位点所形成的单倍块与 LD 进行分析。结果显示,在这 4 个 SNPs 位点中仅预测到 1 个单倍块,如图 3。LD 分析表明,C215G 与 C305T 位点处于紧密连锁状态($r^2 = 0.95$)。

基于 PHASE 软件的分析表明,G118A、C161T、C215G、C305T 位点在西门塔尔牛群体中,共构建 10 种单倍型组合,其中频率大于 1%的单倍型有 7 种(表 4),单倍型 1(GCCC)为主要的单倍型,占总数的 71%。由于一些单倍型数量较少,在进行关联分析时,只选取样本含量大于 3 的单倍型组合,所以选取 1-1、1-2、1-3、1-6、1-7 和 8-8 单倍型

组合与生长性状进行关联分析,结果见表 5。

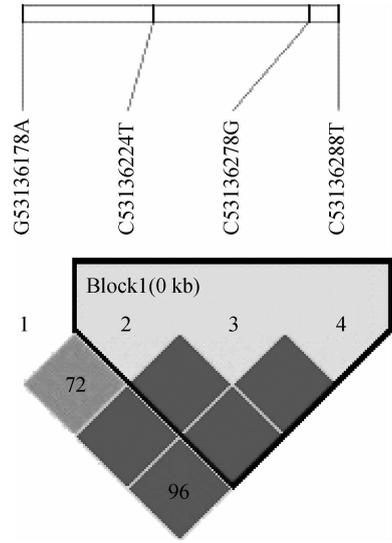


图 3 UCP2 基因 SNPs 之间连锁不平衡(LD)分析
Fig. 3 The LD analysis for SNPs of UCP2 gene

2.4.1 UCP2 基因单倍型组合与饲料转化率(FCR)和平均日增体质量(ADG)的相关性分析

对 UCP2 基因各单倍型组合与 FCR 和 ADG 的关联分析见表 6。各单倍型组合对 FCR 和 ADG 的影响一致,其中 1-1、1-6、8-8 组合料肉比均值显著低于 1-2、1-3 和 1-7 组合($P < 0.05$),1-1、1-6 和 8-8 组合日增体质量均值显著高于 1-2、1-3 和 1-7 组合($P < 0.05$),而 1-1、1-6 和 8-8 组合之间与 1-2、1-3 和 1-7 组合之间差异不显著($P > 0.05$)。

表 4 UCP2 基因第 2 内含子单倍型频率分析

Table 4 Frequencies of the haplotype in intron2 of UCP2 gene

单倍型序号 Haplotype number	单倍型 Haplotype	单倍型频率 Haplotype frequency	标准误 Standard error
1	GCCC	0.710 342	0.003 165
2	GCCT	0.052 833	0.002 161
3	GTCC	0.000 141	0.000 806
4	GTCT	0.043 287	0.002 055
5	GTGT	0.009 354	0.000 613
6	ACCC	0.010 945	0.003 192
7	ACCT	0.032 450	0.002 212
8	ATCC	0.000 189	0.000 926
9	ATCT	0.046 039	0.002 104
10	ATGT	0.094 339	0.000 062

2.4.2 *UCP2* 基因单倍型组合与体尺性状的相关性分析 对 *UCP2* 基因单倍型组合与 15、12 和 8 月龄的体高、胸围和腹围等体尺性状进行关联分析可知,8-8 单倍型组合对各月龄胸围和腹围均有显著影响,其各项指标均值高于其他单倍型组合 ($P < 0.05$)。8-8 单倍型组合只在 12 月龄体高上表现出

优势,这可能与选取的群体规模较小和人为测量误差有关。

综上,单倍型组合与生长性状的相关分析发现,单倍型 8-8 组合为优良单倍型,具有较低的料肉比,较高的日增体质量和较好的体尺性状,这与单位点分析的结果较为一致。

表 5 单倍型组合统计

Table 5 The statistics for haplotype

项目 Item	单倍型组合 Haplotype combination									
	1-1	1-2	1-3	1-4	1-6	1-7	1-8	5-7	5-8	8-8
样本量 No.	63	14	13	2	10	13	1	1	1	9
组合单倍型频率 Frequency	0.534	0.117	0.110	0.017	0.085	0.110	0.008	0.008	0.008	0.076

表 6 *UCP2* 基因单倍型与生长性状的关联分析

Table 6 Association of *UCP2* haplotype with growth traits

月龄 Age	性状 Trait	组合单倍型 Haplotype combination						
		1-1	1-2	1-3	1-6	1-7	8-8	
15 月龄 15-month-old	FCR	7.68±	9.39±	9.53±	7.41±	9.59±	7.61±	
		0.93 ^a	4.09 ^b	1.53 ^b	1.94 ^a	1.87 ^b	1.58 ^a	
	ADG	1.14±	0.97±	0.92±	1.12±	0.92±	1.15±	
		0.03 ^a	0.09 ^b	0.09 ^b	0.14 ^a	0.14 ^b	0.07 ^a	
	体高/cm	125.18±	125.30±	125.00±	125.14±	126.75±	126.44±	
	Withers height	0.68	0.91	1.34	1.56	1.99	0.88	
	胸围/cm	183.64±	183.00±	188.25±	181.43±	183.88±	188.67±	
Heart girth	1.05 ^a	1.76 ^a	2.54 ^{ab}	1.88 ^a	2.13 ^a	2.25 ^b		
12 月龄 12-month-old	腹围/cm	219.45±	219.60±	223.66±	216.14±	224.75±	224.56±	
	Circumference of abdomen	0.98 ^a	1.54 ^a	2.51 ^{ab}	3.26 ^a	2.71 ^{ab}	2.11 ^b	
	体高/cm	116.88±	117.78±	117.14±	117.29±	118.13±	119.89±	
	Withers height	0.57 ^a	1.86 ^{ab}	1.28 ^{ab}	1.55 ^{ab}	1.85 ^{ab}	1.70 ^b	
	胸围/cm	169.67±	174.11±	169.57±	167.43±	169.50±	175.00±	
	Heart girth	1.03 ^a	2.09 ^{ab}	3.89 ^a	1.70 ^a	1.63 ^a	3.12 ^b	
	腹围/cm	194.17±	196.98±	204.71±	194.00±	205.25±	205.22±	
8 月龄 8-month-old	Circumference of abdomen	1.24 ^a	2.34 ^a	3.41 ^{ab}	2.28 ^a	2.40 ^{ab}	3.94 ^b	
	体高/cm	104.56±	105.90±	104.75±	103.17±	106.38±	107.89±	
	Withers height	4.89	3.87	2.82	6.30	6.07	7.07	
	胸围/cm	141.40±	146.80±	147.75±	139.00±	140.50±	147.67±	
	Heart girth	9.14 ^a	5.82 ^{ab}	9.25 ^{ab}	8.32 ^a	7.83 ^a	12.11 ^b	
	腹围/cm	179.96±	185.70±	178.65±	177.17±	184.92±	185.44±	
	Circumference of abdomen	10.91 ^a	6.60 ^{ab}	8.40 ^a	8.08 ^a	9.74 ^a	15.40 ^b	

3 讨论

在现代养牛生产中,将优质饲料转化为牛的体

增质量是极其重要的,尤其是饲料成本居于高位时显得更为重要,鉴于此,如何提高肉牛的饲料转化是养牛工作者一直追求的目标。饲料转化率被公认为

是大多数饲料和生长性能记录系统一个必不可少的指标。体尺性状作为衡量个体生长发育的重要指标,在家畜育种中发挥重要作用。将饲料转化率和体尺性状综合考虑,选育出体增质量效果好且体况良好的个体,这对肉牛选种选育具有重要的意义。

本试验通过对 UCP2 基因第 2 内含子基因多态性与西门塔尔牛生长性状的相关性研究显示,UCP2 基因 C161T 和 C305T 位点与肉牛的饲料转化率,平均日增体质量和胸围、腹围显著相关。这与 UCP2 基因的生理功能是密不可分的。大量的研究证实 UCP 系统对机体的生长发育和生长、脂肪沉积有一定的影响。人类的研究表明,UCP2 基因 5' 调控区 -866G/A 突变对肥胖和糖尿病有关^[17-19],GG 基因型个体可以导致糖尿病的发生。但 UCP2 基因多态在家畜方面的报道较少,Sherman 等指出,UCP2 基因第 2 外显子 465 处的 T/G 的突变对 FCR 和 ADG 有显著影响,其中 GG 基因型具有较低的 FCR 值和较高的 ADG 值,对肉牛育肥性状选择有利^[20]。本研究在筛选 UCP2 基因 SNP 位点时,在第 2 外显子没有发现突变,这可能与群体所处的环境和群体规模有关,但在第 2 内含子的 4 个候选位点中,除 C215G 位点外,其余位点均与饲料转化率和平均日增体质量显著或极显著相关,其中纯合个体均值显著优于杂合个体。这与 UCP2 基因在生长调控方面发挥机制的报道一致。

除 FCR 和 ADG 外,本研究结合部分体尺性状进行综合分析,期望找到影响肉牛体尺及生长育肥一致的位点。对 15、12 和 8 月龄体高、胸围和腹围体尺性状分析可知,位点 C161T 和 C305T 发挥主要影响作用。其中 C161T 和 C305T 位点 TT 基因型个体各月龄的胸围和腹围表型值显著大于 CC 型个体,为优势基因型,对控制胸围和腹围有影响。综上所述,鉴于 FCR 和 ADG 表型,向肉用方向选育,我们应选择纯合个体(TT 或 CC 基因型)进行纯繁和扩群饲养,淘汰杂合个体。再综合考虑胸围和腹围性状,建议选择 TT 型个体,以保证 FCR 值较低,ADG 较高,胸围和腹围状况良好。

仅以单一 SNP 位点对性状进行估测可能受到其他 SNPs 的影响,本研究对 4 个位点进行连锁不平衡分析,C215G 与 C305T 位点处于紧密连锁状态($\gamma^2=0.95$),有 1 个单倍型模块。对单倍型进行优化后,选取 6 种单倍型组合对目标性状分析,综合考虑各生长性状,其中 8-8 组合表现为料肉比较低,日

增体质量较高,胸围和腹围良好。这与单位点检测结果较为一致。这说明 UCP2 基因的 C215G 与 C305T 位点对中国西门塔尔牛的生长性状选育具有重要意义。

4 结 论

本研究鉴定了西门塔尔牛 UCP2 基因第 2 内含子多态性,并与饲料转化率、胸围和腹围等生长性状进行关联分析。4 个候选位点中,C161T 和 C305T 位点影响显著,为主效位点,2 个位点中 TT 基因型为优势基因型,料肉比较低,日增体质量较高,同时具有较好的胸围和腹围性状,建议将该位点用于西门塔尔牛生长性状标记辅助选择。

参考文献:

- [1] 屈金亭. 解偶联蛋白研究进展 [J]. 湖北体育科技, 2008,27(3):267-269.
- [2] 李艳华, 鄢汉杰, 赵兴波, 等. 猪 UCP2 基因 5 调控区和外显子 1 的遗传变异研究 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2006,33(3):262-266.
- [3] RIEQUIER D, BOUILLAUD F. The mitochondrial uncoupling protein: structural and genetic studies [J]. *Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1997, 56: 83-108.
- [4] ENERBACK S, JACOBSSON A, SIMPSON E M, et al. Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese [J]. *Nature*, 1997, 387: 90-94.
- [5] GURA T. Uncoupling proteins provide new clue to obesity's causes [J]. *Science*, 1998, 280(5368):1369-1370.
- [6] TU N, CHEN H, WINNIKES U, et al. Structural organization and mutational analysis of the human uncoupling protein-2(hUCP2) gene [J]. *Science*, 1999, 64(3): 41-50.
- [7] URHANMAER S A, DALGAARD L T, SORENS-EN T I, et al. Organization of the coding exons and mutational screening of the uncoupling protein 3 gene in 142 Bouillaud E UCP1, UCP2 and UCP3: are they true uncouplers of respiration [J]. *Obes Relat Metab Disord*, 1999, 23(6): 19-23.
- [8] ARGYROPOULOS G, BROWN A M, WILLI S M, et al. Effects of mutation in the human uncoupling protein 3 gene on the respiratory quotient and fat oxidation in severe obesity and type 2 diabetes [J]. *Clin Invest*, 1998, 102: 1345-1351.
- [9] WALDER K, NORARMA N, HANSON R L, et al.

- Association between uncoupling protein polymorphisms (*UCP2-UCP3*) and energy metabolism/obesity in Pima Indians [J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7: 1431-1435.
- [10] HEURY C, NEVEMVA M, COLLINS S, et al. Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia [J]. *Nat Genet*, 1997, 15(3): 269-272.
- [11] DANIEL R, FREDRIC B. The uncoupling protein homologues; *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *StUCP* and *AtUCP* [J]. *Biochemistry*, 2000, 345: 161-179.
- [12] MOSTYN A, LITTEN J C, PERKINS K S, et al. Influence of genotype on the differential ontogeny of uncoupling protein 2 and 3 in subcutaneous adipose tissue and muscle in neonatal pigs [J]. *Endocrine*, 2004, 183(1): 121-131.
- [13] MOSTYN A, LITTEN J C, PERKINS K S, et al. Influence of size at birth on the endocrine profiles and expression of uncoupling proteins in subcutaneous adipose tissue, lung, and muscle of neonatal pigs [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288(6): 1536-1542.
- [14] GILBERT R P, BAILEY D R, SHANNON N H, et al. Linear body measurements of cattle before and after 20 years of selection for post weaning gain when fed two different diets [J]. *Anim Sci*, 1993, 71: 1712-1720.
- [15] STEPHENS M, SMITH N J, DONNELLY P, et al. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 68: 978-989.
- [16] BARRETT J C, FRY B, MALLER J, et al. Hapview: analysis and visualization of LD and haplotype maps [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21: 263-265.
- [17] ZHANG C, BAFFY G, PERRET P, et al. Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes [J]. *Cell*, 2001, 105: 745-755.
- [18] KREMLER F, ESTERBAUER H, WEITGASSER R, et al. A functional polymorphism in the promoter of *UCP2* enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle-aged humans [J]. *Diabetes*, 2002, 51: 3331-3335.
- [19] SCHAUBLE N, GELLER F, SIEGFRIED W H, et al. No evidence for involvement of the promoter polymorphism -866 G/A of the *UCP2* gene in childhood-onset obesity in humans [J]. *Diabetes*, 2003, 111: 73-76.
- [20] SHERMAN E L, NKRUMAH J D, MURDOC B M, et al. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle [J]. *Anim Sci*, 2008, 86:1-16.

(编辑 郭云雁)