

不同尾型绵羊全基因组选择信号检测

刘真¹, 王慧华¹, 刘瑞嵩¹, 吴明明^{1,2}, 张淑珍¹, 张莉¹, 赵福平¹, 杜立新¹, 魏彩虹^{1*}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193; 2. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193)

摘要: 为研究不同尾型绵羊群体遗传分化程度, 检测全基因组选择信号, 以挖掘不同尾型绵羊重要性状相关的候选基因。本研究基于蒙古羊(短脂尾)和藏羊(瘦尾)群体的 Illumina Ovine SNP 50K 芯片分型数据, 借助遗传分化系数 F_{ST} 法进行群体间选择信号检测, 寻找选择信号区域内的重要基因, 并对其中与脂肪代谢相关的基因 *PPARG*、*PDGFD* 在呼伦贝尔羊(大尾和小尾品系; 肥尾)与藏羊(瘦尾)尾脂进行 mRNA 相对表达量研究。结果, (1) 465 个 SNPs 被选择, 基因注释找到 448 个候选基因, 筛选到 50 个与脂类代谢相关的基因, GO 功能富集分析发现, 主要富集在脂类生物合成过程、磷脂代谢、脂质结合等条目, 此外发现 4 个基因 (*PPARG*、*RXRG*、*SLC27A2* 和 *ACSL6*) 富集到 PPAR 信号通路。(2) 肥瘦尾之间, 呼伦贝尔羊(大尾和小尾品系) *PPARG* 和 *PDGFD* 基因表达量均显著高于藏羊 ($P < 0.01$), 而大小肥尾之间, 呼伦贝尔羊大尾品系 *PPARG* 基因表达量显著高于小尾品系 ($P < 0.05$), *PDGFD* 基因表达量则无明显差异。通过 F_{ST} 法有效检测到受选择的基因, 部分与绵羊重要性状相关, 相对定量试验证明 *PPARG* 和 *PDGFD* 基因与尾部脂肪沉积密切相关, 可以作为尾型选育的候选基因, 为绵羊育种及改良提供重要参考。

关键词: 全基因组; 选择信号; 候选基因; 脂肪沉积; 群体分化指数 (F_{ST})

中图分类号: S826.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2015)10-1721-12

Genome-wide Detection of Selection Signatures of Distinct Tail Types in Sheep Populations

LIU Zhen¹, WANG Hui-hua¹, LIU Rui-zao¹, WU Ming-ming^{1,2}, ZHANG Shu-zhen¹,

ZHANG Li¹, ZHAO Fu-ping¹, DU Li-xin¹, WEI Cai-hong^{1*}

(1. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;
2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: This experiment was conducted to study genetic differentiation between 2 sheep populations with distinct tail types by genome-wide detection of selection signatures and to search the candidate genes related to important traits of sheep. Based on the Illumina Ovine SNP 50K Breadchip genotyping data of Mongolian sheep and Tibetan sheep, population differentiation index F_{ST} was adopted to detect the selection signatures, and to found the genes located in selection signature regions. Based on the tail adipose tissue of Hulun Buir sheep (fat-tailed sheep, include large fat-tailed sheep and small fat-tailed sheep) and Tibetan sheep (thin-tailed sheep), the relative expression study was adopted to explore the difference of gene relative expression level of *PPARG* and *PDGFD*, which were related to fat metabolism. This result showed that: (1) 465 selected SNPs were found, 448 candidate genes were detected by gene annotation. And 50 genes related to lipid metabolism were selected from these candidate genes, the analysis of GO showed that these genes were related to lipid biosynthetic process, phospholipid metabolic process and lipid binding.

收稿日期: 2014-11-28

基金项目: 优质肉、毛羊新品种(系)选育与关键技术研究及示范项目(2011BAD28B05-2); 肉羊产业体系岗位科学家

作者简介: 刘真(1990-), 男, 山东单县人, 硕士, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: liuzhenky@163.com; 王慧华(1984-), 男, 江苏东台人, 博士, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: wangyang_4@hotmail.com。二者为并列第一作者

* 通信作者: 魏彩虹, 副研究员, E-mail: weicaihong@caas.cn

In addition, 4 genes were found, *PPARG*, *RXRG*, *SLC27A2* and *ACSL6*, and enriched into the PPAR signaling pathway. (2) The gene relative expression levels of *PPARG* and *PDGFD* from Hulun Buir sheep was significantly higher than that of Tibetan sheep ($P < 0.01$), between fat-tailed and thin-tailed sheep, the gene relative expression level of *PPARG* from lager fat-tailed Hulun Buir sheep was significantly higher than that of small fat-tailed Hulun Buir sheep ($P < 0.05$), but the gene relative expression level of *PDGFD* had no significant difference between lager fat-tailed and small fat-tailed Hulun Buir sheep. F_{ST} could be used to detect the genes with selection signatures and some of the candidate genes were related to important traits in sheep. *PPARG* and *PDGFD* genes were proved to be closely related to tail fat deposition through the relative expression studies, these genes could be used as candidate genes for different tailed sheep breeding. This study can provide theoretical references for sheep breeding or breed improvement.

Key words: whole genome; selection signatures; candidate gene; fat deposition; population differentiation index F_{ST}

绵羊是最早被驯化的草食家畜^[1],可上溯至 11 000 年前的中石器时代末期^[2]。在漫长的驯化过程中,动物的行为习惯、体型外貌及重要性状因受到人工选择而发生巨大变化^[3]。不同品种在受到人工选择的过程中,表型改变是对目标基因强烈定向选择的结果,而与选择相对应的基因组信息,即所谓的“选择信号”(Selection signature),是选择在基因组上留下的印迹,通常表现为某些位点或 DNA 片段多态的降低或者基因的纯合^[4]。

检验正向选择的检测方法有很多,包括 HKA 检验、Tajima's D 检验、Fu & Li's D 检验、H 检验、Ka/Ks 检验、M. K 检验、LRH 检测和 F_{ST} 检验等。目前对多个群体进行选择信号检测最常用的方法是群体分化指数(F_{ST})法。群体遗传分化是指物种群体间存在明显的等位基因频率差异,通常遗传漂变和选择过程均可造成群体间的遗传分化。基于 F_{ST} 法对全基因组范围内的单个位点估算 F_{ST} 值,就能分析其分化程度,最终实现选择信号检测^[5]。 F_{ST} 检验已经被证实是最简单且有效的群体遗传指标之一^[6],用 F_{ST} 检验进行群体间选择信号的检测最初运用于人类进化遗传学研究^[7],现已在各种畜禽中得到了广泛应用^[8-13]。

研究表明,野生绵羊最早是瘦尾羊,由于自然选择和人类驯化,瘦尾羊部分进化为脂尾型绵羊^[14]。绵羊脂尾(臀)性状是在恶劣自然环境中生存的必需性状,在天寒地冻、营养匮乏等恶劣生态环境下,脂尾型绵羊能够消耗脂肪提供能量来维持自身的新陈代谢,起到“保命”作用。但是近些年,随着人们生活水平的不断提高以及对危害人类健康的心血管疾病

等的高度关注,高脂肉类逐渐受到冷落,脂尾(臀)型绵羊品种也越来越不受消费者欢迎。此外牧民定居点不断扩建、牧草种植等配套设施不断完善,尾(臀)脂的“保命”作用也已不值一提。而且从饲养成本考虑,生产 1 kg 脂肪消耗的饲草可产生 2 kg 瘦肉,显然过多的尾脂沉积也会加大饲养成本^[15]。因此,低脂型肉羊品种将成为今后的培育方向,研究绵羊尾部脂肪的沉积规律及分子调控机制,以减少尾部不必要的脂肪沉积,对低脂肉用绵羊的培育具有重要的理论价值与实际意义。

本研究利用蒙古羊和藏羊的全基因组 SNP 芯片数据,基于 F_{ST} 法检测 2 个品种间的遗传分化程度,检测其基因组上的选择信号,运用 GO 功能富集分析筛选受到选择的且与绵羊重要性状相关的候选基因,并采集呼伦贝尔羊(大尾和小尾品系)和藏羊尾脂组织,对其中与脂肪合成代谢相关的重要候选基因进行 mRNA 表达量研究,以期获得与脂肪沉积相关的候选基因,为绵羊尾型选育及品种改良提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

分别选取 60 只蒙古羊和 60 只藏羊为试验材料,采用颈静脉采血,EDTA 抗凝, -20 °C 保存,用于基因组 DNA 提取。提取的 DNA 用于 SNP 50K 芯片基因型检测。采集呼伦贝尔羊大、小尾品系(呼伦贝尔鄂温克旗畜牧站羊场)和藏羊(青海祁连藏羊保种场)尾脂组织各 10 只,浸泡于 RNA later(QIAGEN), -70 °C 保存,提取 mRNA 后用于候选基因

相对表达量分析。

1.2 试验方法

1.2.1 基因型检测 利用血液基因组提取试剂盒(天根)提取血液样品中基因组 DNA,使用 Illumina Ovine SNP50K 芯片进行分析获得 SNP 分型数据,采用 GenomeStudio 软件进行数据筛选和 SNP 等位基因频率的分析,剔除未定位的 SNPs 位点,用 PLINK 软件进行质量控制。质量控制的标准是:平均检出率大于 0.9,平均最小等位基因频率大于 0.01。为了能更好地对现有绵羊基因组(*Ovis aries* 3.1)注释,SNP 位置又重新按照 *Ovis aries* 3.1 的位置进行调整,最终共计 46 355 个 SNPs 用于后续的分析。

1.2.2 选择信号检测 群体分化指数 F_{ST} 是用来度量群体的分化程度,用亚群体和整个群体的两个等位基因相关来表示。通过估计群体间杂合性大小与整个群体杂合性大小的差异,来检测不同群体的分离程度,反应不同群体经历不同的育种目标和进化历史。

本研究按照 B. S. Weir 等^[16]描述的无偏估计 F_{ST} 方法对筛选留下的 SNP 位点进行计算,得到两个群体的每一个 SNP 位点的群体分化指数 F_{ST} 值。其计算公式:

$$F_{ST} = \frac{MSP - MSG}{MSP + (n_c - 1)MSG}$$

其中 MSG 为检测的群体内部位点的误差均方,其计算公式:

$$MSG = \frac{1}{\sum_{i=1}^S (n_i - 1)} \sum_{i=1}^S n_i P_{Ai} (1 - P_{Ai})$$

MSP 是检测的群体之间位点的均方差,其计算公式:

$$MSP = \frac{1}{S - 1} \sum_{i=1}^S n_i (P_{Ai} - \bar{P}_A)^2$$

n_c 指校正后的群体间平均样本大小,其计算公式:

$$n_c = \frac{1}{S - 1} \left[\sum_{i=1}^S n_i - \frac{\sum_{i=1}^S n_i^2}{\sum_{i=1}^S n_i} \right]$$

上述各式中, i 是总亚群数 S 的一个群体, $i=1,2,\dots,S$; P_{Ai} 是第 i 个亚群中 SNP 等位基因 A 的频率; n_i 是亚群体 i 的平均样本大小; \bar{P}_A 是各群体中 P_A 的加权平均值,即 $\bar{P}_A = n_i P_{Ai} / \sum_{i=1}^S n_i$ 。

本研究的 F_{ST} 数据计算基于 R 语言(<http://www.r-project.org/>) pegas 软件包完成,画图基于 R 语言 ggplot 软件包完成。

1.2.3 候选基因检测和注释 对计算出的 F_{ST} 值进行统计分析,绘制曼哈顿分布图。将筛选出的前 1% SNPs 作为受选择位点。参照 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=ovis%20aries>) 和 CSIRO 数据库(<http://www.livestockgenomics.csiro.au/sheep/oar3.1.php>) 的 *Ovis aries* 3.1 基因组数据库,对筛选出来的受选择位点进行基因注释。以选择信号发生区域核心 SNP 为中心,上下游各扩展 50 kb 为选择区段。将落在这个选择区段内的基因定义为选择信号的“候选基因”。

1.2.4 候选基因富集分析 利用 DAVID v6.7 (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/summary.jsp>) 数据库对候选基因进行 GO (Gene Ontology) 分析和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路分析。GO 功能富集分析主要包括生物学过程 (Biological process)、细胞组分 (Cellular component) 和分子功能 (Molecular function) 分析。

1.2.5 引物设计与合成 根据绵羊 *PPARG* 基因 mRNA 序列 (GenBank 登录号: NM_001100921.1) 和 *PDGFD* 基因 mRNA 序列 (GenBank 登录号: XM_004015965.1) 设计引物,选用 18S rRNA 基因作为内参基因。采用 Primer3 plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) 在线软件设计引物,由北京赛百盛基因技术有限公司合成。引物序列、退火温度及 PCR 产物长度见表 1。

1.2.6 RNA 的提取和反转录 采用 Trizol (TaKaRa 公司) 法提取组织样的总 RNA,测定总 RNA 的浓度和纯度。按照 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒 (TaKaRa 公司) 进行反转录。反转录为 20 μ L 体系,第一步 (10 μ L): 包括 4 μ L 总 RNA, 1 μ L dNTP Mixture, 0.5 μ L Oligo dT Primer, 0.5 μ L Random 6 Primers, 4 μ L RNase Free dH₂O, 反应条件: 65 $^{\circ}$ C 5 min, 冰上急冷 2 min; 第二步 (20 μ L): 包括上述反应液 10 μ L, 4 μ L 5 \times PrimeScript II Buffer, 0.5 μ L RNase Inhibitor, 1 μ L PrimeScript II RTase, 4.5 μ L RNase Free dH₂O, 反应条件: 42 $^{\circ}$ C 50 min, 95 $^{\circ}$ C 5 min。反转录产物 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

表 1 引物序列、退火温度及 PCR 产物长度

Table 1 Primer sequence, annealing temperature and PCR product size

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度/°C Annealing temperature	产物长度/bp Products length
<i>PPARG</i>	F:CCCTGGCAAAGCATTTGTAT R:ACTGACACCCCTGGAAGATG	60	222
<i>PDGFD</i>	F:GCGGATGCTCTGGACAAA R:AGGCAGCGTGGAAAGAAG	60	272
18S rRNA	F:CAGACAAATCACTCCACCAA R:GAAGGGCACCACCAGGAGT	60	159

1.2.7 实时荧光定量 PCR 反应 荧光定量 PCR 在 Bio-Rad 公司 ICycler IQ™5 荧光定量 PCR 仪上进行。反应体系:SYBR® Green PCR Master Mix 10 μ L, 上、下游引物各 0.4 μ L, RNase Free dH₂O 7.2 μ L, cDNA 模板 2 μ L。反应程序:95 °C 15 s, 60 °C 30 S, 40 个循环。熔解曲线分析:95 °C 10 s, 60 °C 1 min, 然后以 0.5 °C/10 s 的速率从 60 °C 缓慢升温到 95 °C。每个样品做 3 个重复。

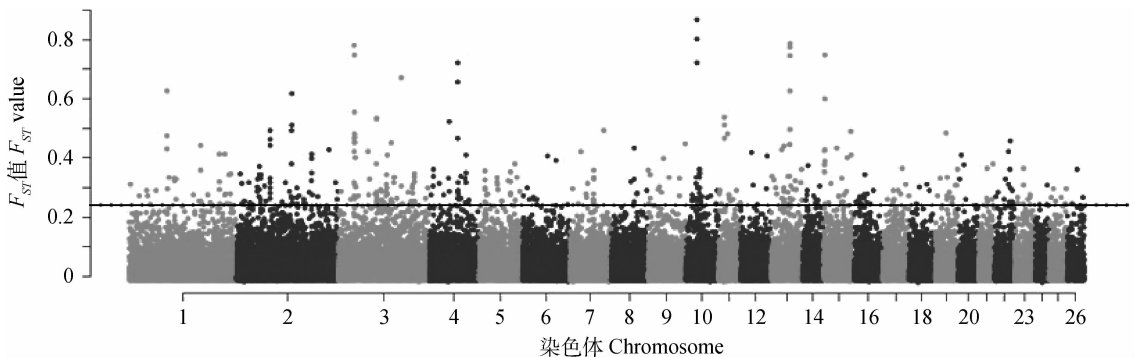
1.2.8 实时荧光定量 PCR 数据统计与分析 首先将组内尾脂组织的实时荧光定量数据中每个样品的 3 个重复进行比较, 去除极端值后用于后续数据

处理, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。运用 SPSS17.0 软件 (SPSS Science, Chicago, IL, USA) 的 ANOVA 过程进行单变量方差分析。

2 结果

2.1 候选基因的确定及功能富集分析

本试验共有 46 355 个常染色体 SNPs 参与 F_{ST} 计算, F_{ST} 平均值为 0.029, 最高值为 10 号染色体 OAR10_29511510.1 位点 ($F_{ST}=0.865$, 图 1)。其中 465 个 F_{ST} 值在前 1% SNP 位点定义为受选择和差异位点。



图中横线代表 TOP 1% 划分线

The abscissa represents the TOP 1% dividing line

图 1 全基因组 F_{ST} 值分布情况

Fig. 1 Genome-wide distribution of F_{ST} values

按照 *Ovis aries* 3.1 基因组数据信息进行基因注释, 共找到 448 个基因。注释标准为以选择信号发生区域核心 SNP 为中心, 上下游各扩展 50 kb 为选择区段。部分候选基因与绵羊重要性状相关, 主要包括繁殖性状 (*RXRG*、*FGFR2*、*SOX6*)、肉质性状 (*PPARG*、*PDGFD*)、生长发育性状 (*BMP2*、*PPP1CC*、*FGF7*)、体形外貌性状 (*MSRB3*、*RXFP2*、*MITF*) 及免疫抗病性状 (*BCAP29*、*NF1*) 等。

2.2 脂肪合成代谢相关候选基因筛选及功能富集分析

本研究重点关注脂肪代谢合成相关候选基因。发现在 448 个候选基因中有 50 个基因与脂肪合成代谢相关 (表 2), 占有所有候选基因的 10% 以上。将这 50 个基因进行 GO 富集分析, P 阈值设定为 0.01, 共得到 52 个 GO 条目, 部分结果见表 3。GO 富集分析结果发现, 这些基因主要富集在脂类生物

表 2 筛选出的与脂肪合成代谢相关的候选基因

Table 2 The candidate genes related to lipid metabolism under selection

脂肪合成代谢相关候选基因(50 个) A total of 50 candidate genes related to lipid metabolism						
<i>ACLY</i>	<i>ACSBG2</i>	<i>ACSL6</i>	<i>AKAP2</i>	<i>ALOX12</i>	<i>ATP8B4</i>	<i>AVPR1A</i>
<i>BBS4</i>	<i>CDS2</i>	<i>CHN1</i>	<i>CYP19A1</i>	<i>DOLK</i>	<i>DPM1</i>	<i>ENPP2</i>
<i>FGF7</i>	<i>GAP43</i>	<i>GBA2</i>	<i>GRK7</i>	<i>HINT2</i>	<i>HMGCR</i>	<i>HP</i>
<i>HSD3B</i>	<i>MAP1LC3C</i>	<i>OMG</i>	<i>PAFAH1B1</i>	<i>PDE6A</i>	<i>PDGFD</i>	<i>PDZD8</i>
<i>PGAP1</i>	<i>PI4KB</i>	<i>PITPNM2</i>	<i>PLCB4</i>	<i>PLEK</i>	<i>PPARG</i>	<i>PPP3R1</i>
<i>PRKCA</i>	<i>RAN</i>	<i>RBL1</i>	<i>RECK</i>	<i>RPL36</i>	<i>RPS18</i>	<i>RPS6KC1</i>
<i>RXRG</i>	<i>SAMD8</i>	<i>SLC27A2</i>	<i>SOD1</i>	<i>SPTLC3</i>	<i>STARD13</i>	<i>TGFBR3</i>
<i>WNT5A</i>						

表 3 脂肪代谢相关候选基因 GO 富集分析

Table 3 The result of GO enrichment analysis of candidate genes related to lipid metabolism

GO 功能分类 GO function terms	基因数目 Gene number	P 值 P value
GO 生物学过程 GO biological process		
GO:0008610~lipid biosynthetic process 脂类生物合成过程	12	5.97E-09
GO:0006644~phospholipid metabolic process 磷脂代谢过程	8	2.79E-06
GO:0019637~organophosphate metabolic process 有机磷代谢过程	8	3.92E-06
GO:0008654~phospholipid biosynthetic process 磷脂生物合成过程	6	2.12E-05
GO:0046486~glycerolipid metabolic process 甘油酯代谢过程	6	1.92E-04
GO:0019216~regulation of lipid metabolic process 脂质代谢调节过程	5	5.11E-04
GO:0048609~reproductive process in a multicellular organism	8	1.04E-03
GO:0048609~多细胞生物生殖过程	8	1.04E-03
GO:0032504~multicellular organism reproduction 多细胞生物繁殖	8	1.04E-03
GO:0046474~glycerophospholipid biosynthetic process	4	1.48E-03
GO:0046474~甘油磷脂生物合成过程	4	1.48E-03
GO:0003006~reproductive developmental process 生殖发育过程	6	1.70E-03
GO:0030384~phosphoinositide metabolic process 磷酸肌醇代谢过程	4	1.82E-03
GO:0006928~cell motion 细胞运动	7	4.63E-03
GO:0008361~regulation of cell size 细胞大小调节	5	4.78E-03
GO:0051174~regulation of phosphorus metabolic process 磷代谢过程调节	7	5.12E-03
GO:0000902~cell morphogenesis 细胞形态发生	6	6.32E-03
GO:0007242~intracellular signaling cascade 胞内级联反应	11	7.18E-03
GO:0051338~regulation of transferase activity 转移酶活性调节	6	7.58E-03
GO:0046489~phosphoinositide biosynthetic process	3	7.79E-03
GO:0046489~磷酸肌醇生物合成过程	3	7.79E-03
GO 细胞组分 GO cellular component		
GO:0000267~cell fraction 细胞组分	13	2.66E-04
GO:0005783~endoplasmic reticulum 内质网	12	3.83E-04
GO:0005624~membrane fraction 膜组分	11	4.09E-04
GO:0005829~cytosol 细胞液	13	1.69E-03
GO:0005777~peroxisome 过氧化物酶体	4	5.64E-03
GO 分子功能 GO molecular function		
GO:0016877~ligase activity,forming carbon-sulfur bonds	4	9.37E-05
GO:0016877~形成 C-S 键的连接酶活性	4	9.37E-05
GO:0015645~fatty-acid ligase activity 脂肪酸连接酶活性	3	5.78E-04
GO:0008289~lipid binding 脂质结合	8	6.27E-04
GO:0034452~dynactin binding 动力蛋白激活蛋白结合	2	6.61E-03

合成、磷脂代谢、细胞形态发生、生殖过程及细胞调节等生物学过程。在细胞组分富集分析方面主要富集在细胞组分、内质网、膜组分等。从分子功能富集分析看出 20 个候选基因主要富集于脂肪酸连接酶活性、脂质结合、激活蛋白结合等。值得注意的是：其中有 5 个条目包含 *RRARG* 基因，分别为脂质代谢调节过程、转移酶活性调节、细胞大小调节(生物

学过程富集)和脂质结合(分子功能富集)及细胞液(细胞组分富集)；另有 2 个条目包含 *PDGFD* 基因，分别为磷酸盐代谢过程调节和磷代谢过程调节(生物学过程富集)。此外，通过 KEGG 通路分析还得到一个与脂肪合成代谢有关的 PPAR 信号通路(图 2)，包括基因 *PPARG*、*RXRG*、*SLC27A2* 和 *ACSL6*。

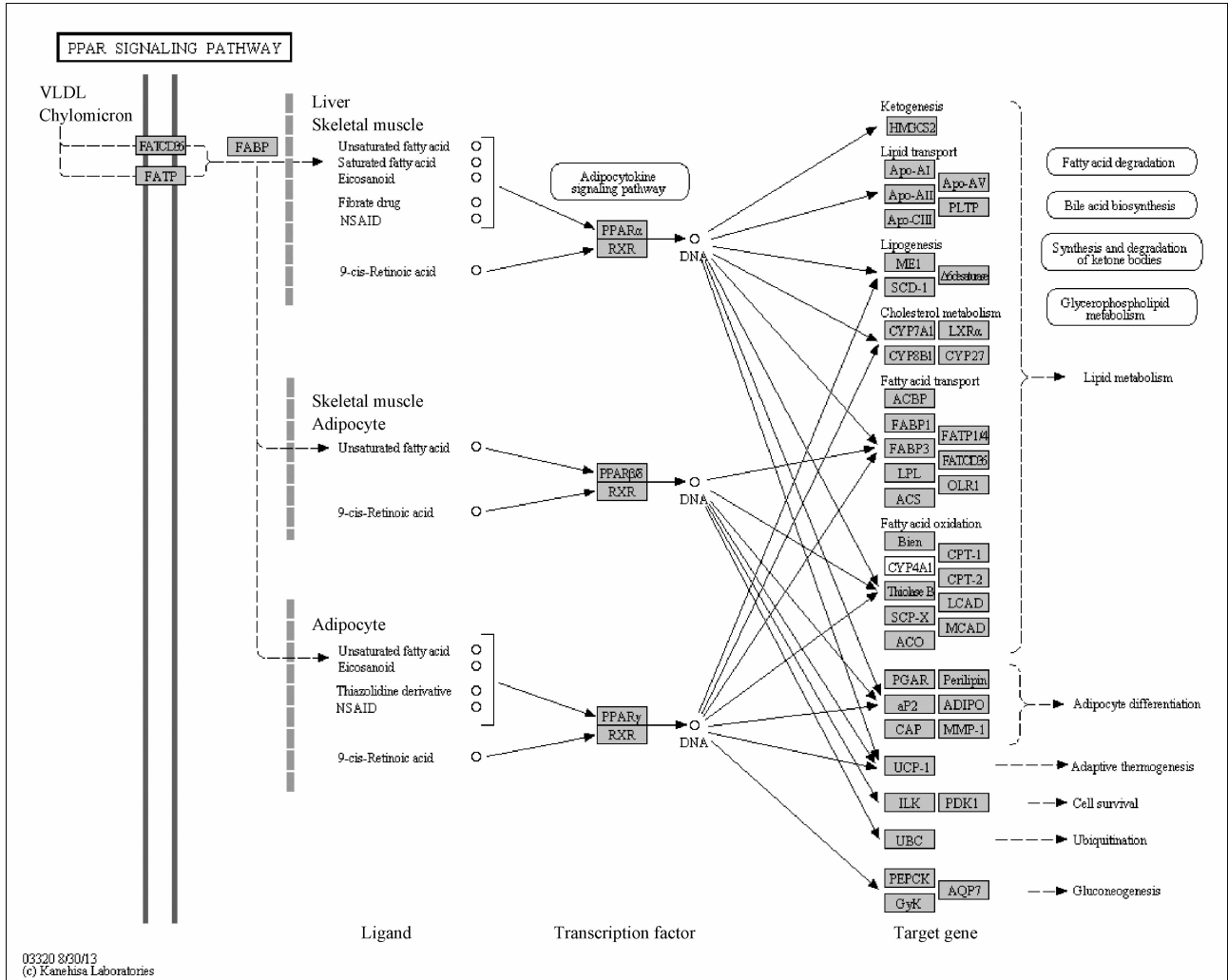


图 2 PPAR 信号通路

Fig. 2 PPAR signaling pathway

2.3 *PPARG* 和 *PDGFD* 尾脂组织表达量差异

本研究共筛选到 448 个候选基因，GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析均表明，*PPARG* 基因 ($F_{ST} = 0.31$) 与脂肪合成代谢密切相关，前人研究也发现，*PPARG* 能够促进脂肪细胞合成，加快脂肪分化和沉积^[17-19]。另外一个受到显著选择的基因 *PDGFD*， F_{ST} 值为 0.59，处于总 SNP 的前 0.1%。研究表明，*PDGFD* 基因能够促进脂肪前体细胞增

殖并抑制其分化^[20-21]，而且其在人类脂肪组织中的表达量比除甲状腺组织之外的其他组织都要高^[22]，故把这两个基因作为与脂肪合成代谢相关的重点候选基因，并在呼伦贝尔羊(大尾和小尾品系；肥尾)尾脂和藏羊(瘦尾)尾脂中分别研究 *PPARG* 和 *PDGFD* 的表达量差异(图 3 和图 4)，以探索 *PPARG* 和 *PDGFD* 的调控作用。

图 3 给出了 *PPARG* 基因在 3 个不同尾型绵羊

群体尾脂中的表达量差异。可见,呼伦贝尔羊大尾及小尾品系尾脂 *PPARG* 表达量均显著高于藏羊 ($P < 0.01$),且呼伦贝尔羊大尾品系尾脂 *PPARG* 表达量显著高于小尾品系 ($P < 0.05$)。

图 4 给出了 *PDGFD* 基因在 3 个不同尾型绵羊群体尾脂中的表达量差异。可见,呼伦贝尔羊大尾及小尾品系尾脂 *PDGFD* 表达量均显著高于藏羊 ($P < 0.01$),约 4 倍,而呼伦贝尔羊大尾品系尾脂 *PDGFD* 表达量与小尾品系无明显差异。

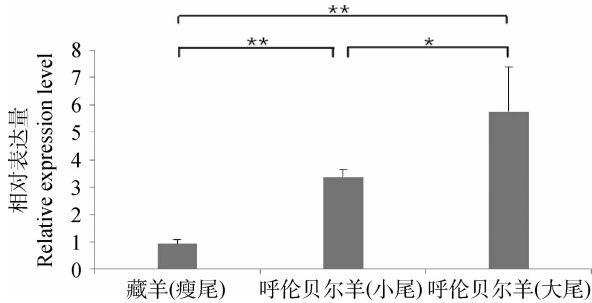


图 3 3 个不同尾型绵羊群体 *PPARG* 表达量差异

Fig. 3 The relative expression difference of *PPARG* in 3 sheep populations with distinct tail types

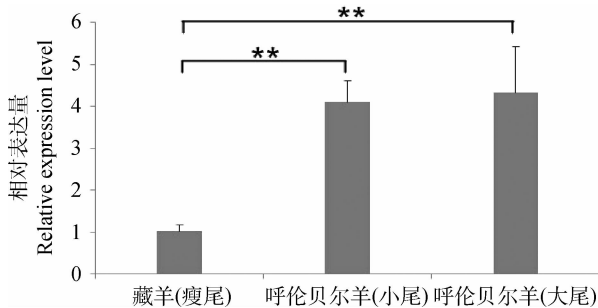


图 4 3 个不同尾型绵羊群体 *PDGFD* 表达量差异

Fig. 4 The relative expression difference of *PDGFD* in 3 sheep populations with distinct tail types

3 讨论

3.1 群体分化指数 (F_{ST}) 检验方法在家畜中的应用

随着 J. M. Akey 等^[7]在基因组水平利用 SNP 的 F_{ST} 经验分布检测到 174 个候选基因构成第一张人类正选择基因图谱的问世,其他物种全基因组 SNP 芯片得到广泛应用,用来探究群体内或亚群间受选择的基因。基因组水平的研究,不同的统计分析方法效率不同,得到的结果有时也会不同。K. R. Thornton 等^[6]研究表明,群体分化指数 F_{ST} 是群体基因组研究中最简单有效的群体遗传分化指标之一。其原理是中性条件下的遗传漂变 (Genetic

drift)造成了群体间的 F_{ST} 值,群体在候选基因及附近遗传标记特异的正选择作用可能引起 F_{ST} 值的增大^[23-24]。近几年,该方法在家畜中得到广泛应用^[8-13]。李秀领等^[25]利用 F_{ST} 方法对商用品种大白猪和地方品种通城猪的全基因组 SNP 芯片数据进行分析,检测两个品种的遗传分化程度,共得到 76 个候选基因,其中部分基因与生长繁殖性状及免疫应答有关,其研究结果为猪产肉、抗病等性状候选基因的深入挖掘提供了有益参考。刘喜冬等^[26]利用 F_{ST} 检验方法分析西门塔尔牛群体的遗传分化,共检测到 3 064 个群体特异的候选基因,部分基因与牛肉质及繁殖性状相关,构建了我国肉牛的全基因组选择信号图谱,为深入研究人工选择和生物进化提供了线索。曾滔等^[27]采用群体分化指数 F_{ST} 法对苏尼特羊、德国肉用美利奴羊和杜泊羊进行群体间选择信号检测分析,得到 365 个候选基因,其中部分与绵羊生长、繁殖及肉质性状相关,为绵羊育种提供了有益参考。

3.2 不同尾型绵羊群体选择信号分析

本研究利用 F_{ST} 法对蒙古羊和藏羊进行选择信号分析,共检测到 448 个候选基因。利用 DAVID 在线软件对筛选出的 448 个候选基因进行 GO 富集分析,共得到 43 个 GO 条目。结果表明,这些基因主要富集在发育过程、细胞形态建成、大分子分解代谢、转录调控、性别分化等生物学过程。细胞组分富集分析发现 7 个受选择的基因,富集在初级纤毛、细胞桥粒。此外,在分子功能富集分析方面,发现 13 个基因,主要富集于活性亚硫酸盐细胞膜转运活性、硫酸盐细胞膜转运活性及形成有活性的 C-S 键。本研究重点关注绵羊脂肪沉积代谢,故从中挑选出与脂肪合成代谢相关的候选基因,共 50 个,包括 *PPARG*、*PDGFD*、*RXRG* 等。GO 分析结果发现,这些基因主要富集在脂类生物合成、磷脂代谢、细胞形态发生、生殖过程及细胞调节等生物学过程,细胞组分富集分析方面主要富集在细胞组分、内质网、膜组分等,分子功能富集分析方面主要富集于脂肪酸连接酶活性、脂质结合、激活蛋白结合等。

本研究筛选到的候选基因中,部分基因已经在其他相关文献中得到报道。如 J. W. Kijas 等^[12]通过选择信号检测对世界多个绵羊品种进行全基因组分析得到的一些基因及相关基因,包括 *NPR2*、*MSRB3*、*ABCG2*、*RXFP2*、*NF1*、*BMP2*、*MITF*、*FGF7* 等,均在本次研究中被筛选到。*NPR2* 为鸟

苷酸环化酶受体,与小鼠卵母细胞减数分裂的阻滞相关^[28]。L. A. Doyle 等首先发现 ABCG2(ATP 结合转运蛋白 G 超家族成员 2)与肿瘤细胞耐药有关^[29],H. G. Olsen 等后来发现 ABCG2A 与产乳量、乳蛋白率及乳脂率紧密相关^[30]。NF1 与人类神经纤维瘤相关^[31]。FGF7 为成纤维细胞生长因子 7,能够刺激小鼠乳腺上皮细胞和肌上皮细胞的增殖^[32]。同时,也检测到 S. Qanbari 等^[33]对不同国家多个奶牛及肉牛品种进行选择信号检测发现的 ADAMTS6 基因。ADAMTS6 基因与肿瘤发育相关^[34]。另外,与 M. H. Moradi 等^[14]对伊朗脂尾和瘦尾绵羊品种进行全基因组选择性清除扫描检测到的与脂肪沉积相关候选基因中部分基因保持一致,包括 SPAG8、HINT2 等。研究表明,SPAG8 为精子关联抗原 8,在雄性生殖细胞分化时产生,可能在精子发生的细胞分裂中起到一定作用^[35]。HINT2 在小鼠体内能够影响血糖调节和线粒体功能^[36]。此外,将本次研究检测的候选基因与 L. Zhang 等^[37]获得的绵羊肉用性状全基因组关联分析结果相比较,也发现一些相关基因,包括 GRM8、CRADD、RPL36、RPL3、RPL23A、EPB41L2、LRRC58、LRRC8A、LRRC18、SHISA3 等。

本研究检测到的候选基因中,部分基因与绵羊的生长发育性状(BMP2、PPP1CC)、繁殖性状(RXRG、FGFR2)、体形外貌性状(MSRB3、RXFP2、MITF)及肉质性状(PDGFD、PPARG)等重要性状相关。BMP2 为骨发育形态蛋白 2,参与骨骼形态和体型发育^[12]。PPP1CC 基因为蛋白磷酸酶 1 的催化亚基,它是广泛存在于骨骼肌中的一种糖原相关磷酸酶,具有去磷酸化及糖原合成酶后期失活作用^[38]。PPP1CC 是骨骼肌收缩作用所需成分之一^[39],且可能与细胞周期阻滞、凋亡及组织的缺氧有关^[40]。最新研究表明,PPP1CC 是骨骼肌强度性状相关的候选基因位点^[41]。RXRG 基因作为视黄酸的一种受体(RXR)的配体激活转录因子,结合到靶基因的特定应答序列(DNA)上,调节基因的转录表达,是细胞分化和组织形态发生的主要调节因子。视黄酸是细胞分化和组织形态发生的主要调节因子,在上皮细胞生长、细胞分化、组织维持、视觉、胎儿发育及繁殖等过程中发挥着重要作用^[42]。黄荫等^[43]研究表明,RXRG 基因 AB 基因型鲁西牛比 AA 基因型个体更易产生双胞胎,鲁西牛单双胞胎群体中的基因型组成对双胞胎性状的影响极显

著,表明 RXRG 对牛的繁殖力有显著的影响。另外,本次研究发现 RXR 基因富集在 PPAR 信号通路(图 2)中,表明其可能与脂肪代谢沉积相关。FGFR2 是胚胎中最早表达并传导 FGF 信号的一种 FGF 受体。研究表明靶向断裂纯合 FGFR2 基因致使小鼠胚胎附植后不久便死亡^[44]。在牛上的研究发现,FGF2 可能通过与 FGFR2 作用,促进滋养外胚层细胞 DNA 的合成反应^[45],有利于胚胎存活。FGFR2 在胚胎血管形成和维持胚胎血管完整性方面起重要作用,抑制 FGFR2 表达,则导致上皮细胞迁移的抑制,增加细胞凋亡^[46]。MSRB3 为蛋氨酸亚砷还原酶 B3,研究表明,MSRB3 与人类耳聋相关^[47]。最新全基因组关联分析(GWAS)表明,MSRB3 在犬^[48-49]和猪上作为与耳型相关的候选基因。S. E. Johnston 等^[50]发现 RXFP2 与绵羊角的缺失相关,此外,RXFP2 可能与生殖相关,M. Gauthier 等^[51]发现 RXFP2 能够影响雄性动物繁殖力。文献表明,MITF 可与 KIT 基因互作影响黑色素细胞发育,导致猪、牛色斑表型的形成^[52]。

3.3 尾脂组织 PDGFD 和 PPARG 基因的相对表达量

PDGFD 是 PDGF 4 个家族成员中促进增殖作用最强的一个,它最早是在人类血小板中被检测并纯化出来,隐藏在 α 颗粒中并释放出来对血小板起到激活作用^[53-54]。研究表明,PDGF 基因能够促进脂肪前体细胞增殖并抑制其分化^[20-21]。实时定量 PCR 研究表明,PDGFD 在人类脂肪组织中的表达量比除甲状腺组织之外的其他组织都要高^[22]。PPARG 属于过氧化物酶体增殖物激活受体家族的一员,是诱导脂肪分化的充分且必需条件,能够启动脂肪细胞的分化^[55]。P. Tontonoz 等^[18]研究发现,PPARG 可以促进纤维母细胞转化成脂肪细胞。J. R. Jones 等^[56]研究发现,PPARG 基因敲除小鼠喂食高脂肪食物情况下,体重和体脂肪含量显著低于对照组。另外,PPARG 能促进小脂肪细胞生成^[57],可以调节脂蛋白脂酶、乙酰-CoA 合成酶、脂肪酸结合蛋白及脂肪酸转运蛋白等的表达^[58]。这些研究充分表明,PPARG 能够调控脂肪细胞的生长分化过程。

PPARG 在蛋白质、葡萄糖及脂质的代谢过程中也具有重要调控作用^[59],能够调控细胞增殖、细胞周期和生长发育过程中部分相关基因的表达^[60-61]。林娉娉等^[61]在不同脂尾型绵羊脂肪组织

中对 *PPARG* 的发育性表达研究表明, *PPARG* 的表达在品种间存在差异, 广灵大尾羊(长脂尾型)尾脂组织中 *PPARG* 的表达量高于小尾寒羊(短脂尾型)尾脂组织, 而且月龄对 *PPARG* 的表达无显著影响。本次研究中, 重点挑选与脂肪代谢合成相关的候选基因, 对其中检测到的 *PPARG* 和 *PDGFD* 基因利用呼伦贝尔羊大尾和小尾品系尾脂及藏羊尾脂进行了表达量分析。呼伦贝尔羊大尾和小尾品系均属于短脂尾型绵羊, 尾部沉积大量脂肪, 且呼伦贝尔羊大尾品系尾脂含量明显高于小尾品系, 而藏羊属于短瘦尾型绵羊, 尾部沉积脂肪非常少。结果显示, 对于 *PPARG* 基因, 呼伦贝尔羊大尾及小尾品系尾脂表达量均显著高于藏羊, 且呼伦贝尔羊大尾品系显著高于小尾品系; 对于 *PDGFD* 基因, 呼伦贝尔羊大尾及小尾品系尾脂表达量显著高于藏羊, 而呼伦贝尔羊大尾品系与小尾品系尾脂表达量无明显差异, 这与文献报道一致^[20-22, 55-57, 61], 进一步说明 *PPARG* 和 *PDGFD* 与绵羊的尾部脂肪沉积有关, 可作为绵羊尾型选育的候选基因, 为绵羊尾型和肉质改良提供了重要参考。

3.4 选择信号检测展望

目前基因组水平选择信号的检测还处于起始阶段。由于家畜的大部分驯化性状受到多个基因的共同影响, 且基因之间的互作造成基因表达的不确定, 再加上受到分子、细胞、组织、个体及生态环境甚至客观因素等多层面多因素的复杂影响, 使得选择信号的检测难度很大, 检测结果的准确性也受到一定影响。另外, F_{ST} 法本身也有局限性, 如果基因在完成选择的群体中已经固定下来, 基因周围的连锁不平衡就会被充分的重组降解, 得到的 F_{ST} 值就比较小, 候选基因就检测不到。随着高密度 SNP 芯片的进一步发展及统计分析方法的进一步改进, 更多的群体遗传分化奥秘将会被揭开, 更多的选择信号位点将会被检测到, 也将得到更多与绵羊重要性状相关的候选基因, 更好地促进我国绵羊的育种与改良。

4 结 论

本研究利用蒙古羊和藏羊群体的 SNP 芯片分型数据, 基于遗传分化系数 F_{ST} 法进行群体间选择信号检测并进行基因注释, 共找到 448 个候选基因, 从中筛选出 50 个与脂类代谢相关的基因, GO 分析发现, 它们主要富集在脂类生物合成过程、磷脂代谢、脂质结合等条目, 其中 4 个基因 (*PPARG*、

RXRG、*SLC27A2* 和 *ACSL6*) 富集在 PPAR 信号通路中。对与脂类代谢相关的重要候选基因 *PPARG* 和 *PDGFD* 进行相对表达量分析, 结果表明这两个基因与脂肪沉积密切相关, 可以作为尾型选育的候选基因。本研究筛选到的候选基因中部分与绵羊重要性状相关, 为绵羊尾型选育、品种改良及功能基因组研究提供了重要参考依据。

参考文献 (References):

- [1] CHESSA B, PEREIRA F, ARNAUD F, et al. Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations [J]. *Science*, 2009, 324 (5926): 532-536.
- [2] 国家畜禽遗传资源委员会. 中国畜禽遗传资源志·羊志[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011. China National Commission of Animal Genetic Resources. Animal Genetic Resources in China. Sheep and Goat [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2011. (in Chinese)
- [3] MEGENS H J, CROOIJMANS R P, SAN CRISTOBAL M, et al. Biodiversity of pig breeds from China and Europe estimated from pooled DNA samples: differences in microsatellite variation between two areas of domestication[J]. *GSE*, 2008, 40(1): 103-128.
- [4] 马云龙, 张 勤, 丁向东. 利用高密度 SNP 检测不同猪品种间 X 染色体选择信号[J]. *遗传*, 2012, 34(10): 33-42. MA Y L, ZHANG Q, DING X D, et al. Detecting selection signatures on X chromosome in pig through high density SNPs[J]. *Hereditas*, 2012, 34(10): 33-42. (in Chinese)
- [5] 许忠能. 生物信息学[M]. 北京: 清华大学出版社, 2008. XU Z N. Bioinformatics[M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2008. (in Chinese)
- [6] THORNTON K R, JENSEN J D. Controlling the false-positive rate in multilocus genome scans for selection[J]. *Genetics*, 2007, 175(2): 737-750.
- [7] AKEY J M, ZHANG G, ZHANG K, et al. Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection[J]. *Genome Res*, 2002, 12(12): 1805-1814.
- [8] AMARAL A J, FERRETTI L, MEGENS H J, et al. Genome-wide footprints of pig domestication and selection revealed through massive parallel sequencing of pooled DNA[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(4): e14782.
- [9] FLORI L, FRITZ S, JAFFREZIC F, et al. The ge-

- nome response to artificial selection: a case study in dairy cattle[J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(8): e6595.
- [10] GU J, ORR N, PARK S D, et al. A genome scan for positive selection in thoroughbred horses [J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(6): e5767.
- [11] KARLSSON E K, BARANOWSKA I, WADE C M, et al. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(11): 1321-1328.
- [12] KIJAS J W, LENSTRA J A, HAYES B, et al. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection[J]. *PLoS Biol*, 2012, 10(2): e1001258.
- [13] PARISET L, JOOST S, MARSAN P A, et al. Landscape genomics and biased F_{ST} approaches reveal single nucleotide polymorphisms under selection in goat breeds of North-East Mediterranean[J]. *BMC Genet*, 2009, 10: 7.
- [14] MORADI M H, NEJATI-JAVAREMI A, MORADI-SHAHRBABA M, et al. Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition [J]. *BMC Genet*, 2012, 13: 10.
- [15] 甘尚权, 张伟, 沈敏, 等. 绵羊 X 染色体 59383635 位点多态性与脂尾性状的相关性分析[J]. *遗传*, 2013, 35(10): 1209-1216.
- GAN S Q, ZHANG W, SHEN M, et al. Correlation analysis between polymorphism of the 59383635th locus on X chromosome and fat-tail trait in sheep[J]. *Hereditas*, 2013, 35(10): 1209-1216. (in Chinese)
- [16] WEIR B S, HILL W G. Estimating F-statistics [J]. *Ann Rev Genet*, 2002, 36: 721-750.
- [17] HUA X, WU J, GOLDSTEIN J L, et al. Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein-1 (*SREBF1*) and localization of *SREBF1* and *SREBF2* to chromosomes 17p11.2 and 22q13 [J]. *Genomics*, 1995, 25(3): 667-673.
- [18] TONTONOZ P, HU E, SPIEGELMAN B M. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by *PPAR gamma* 2, a lipid-activated transcription factor [J]. *Cell*, 1994, 79(7): 1147-1156.
- [19] TONTONOZ P, KIM J, GRAVES R, et al. *ADD1*: a novel helix-loop-helix transcription factor associated with adipocyte determination and differentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 1993, 13(8): 4753-4759.
- [20] ARTEMENKO Y, GAGNON A, AUBIN D, et al. Anti-adipogenic effect of *PDGF* is reversed by PKC inhibition [J]. *J Cell Physiol*, 2005, 204(2): 646-653.
- [21] HOLMSTRÖM T E, MATTSSON C L, FÄLTING J M, et al. Differential signalling pathways for *EGF* versus *PDGF* activation of Erk1/2 MAP kinase and cell proliferation in brown pre-adipocytes [J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314(19): 3581-3592.
- [22] LAROCHELLE W J, JEFFERS M, MCDONALD W F, et al. *PDGF-D*, a new protease-activated growth factor [J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(5): 517-521.
- [23] LEWONTIN R C, KRAKAUER J. Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms [J]. *Genetics (Print)*, 1973, 74(1): 175-195.
- [24] CAVALLI-SFORZA L L. Population structure and human evolution [J]. *Proc Royal Soc London, Series B; Biol Sci*, 1966, 164: 362-379.
- [25] 李秀领, 杨松柏, 唐中林, 等. 大白猪和通城猪全基因组选择性清扫分析 [J]. *遗传*, 2012, 34(10): 53-63.
- LI X L, YANG S B, TANG Z L, et al. Genome-wide selective sweep analysis on Large White and Tongcheng pigs [J]. *Hereditas*, 2012, 34(10): 53-63. (in Chinese)
- [26] 刘喜冬, 王志鹏, 樊惠中, 等. 基于高密度 SNP 标记的肉牛人工选择痕迹筛查 [J]. *遗传*, 2012, 34(10): 86-95.
- LIU X D, WANG Z P, FAN H Z, et al. Artificial selection for cattle based on high-density SNP markers [J]. *Hereditas*, 2012, 34(10): 86-95. (in Chinese)
- [27] 曾滔, 赵福平, 王光凯, 等. 基于群体分化指数 F_{ST} 的绵羊全基因组选择信号检测 [J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(12): 1891-1899.
- ZENG T, ZHAO F P, WANG G K, et al. Genome-wide detection of selection signatures in sheep populations with use of population differentiation index F_{ST} [J]. *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 2013, 44(12): 1891-1899. (in Chinese)
- [28] ZHANG M, SU Y Q, SUGIURA K, et al. Estradiol promotes and maintains cumulus cell expression of natriuretic peptide receptor 2 (*NPR2*) and meiotic arrest in mouse oocytes *in vitro* [J]. *Endocrinology*, 2011, 152(11): 4377-4385.
- [29] DOYLE L A, YANG W, ABRUZZO L V, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(26): 15665-15670.
- [30] OLSEN H G, NILSEN H, HAYES B, et al. Genetic support for a quantitative trait nucleotide in the AB-

- CG2 gene affecting milk composition of dairy cattle [J]. *BMC Genet*, 2007, 8:32.
- [31] YANG F C, INGRAM D A, CHEN S, et al. Nf1-dependent tumors require a microenvironment containing *Nf1* +/- and c-kit-dependent bone marrow [J]. *Cell*, 2008, 135(3):437-448.
- [32] PALMIERI C, ROBERTS-CLARK D, ASSADI-SABET A, et al. Fibroblast growth factor 7, secreted by breast fibroblasts, is an interleukin-1beta-induced paracrine growth factor for human breast cells [J]. *J Endocrinol*, 2003, 177(1):65-81.
- [33] QANBARI S, GIANOLA D, HAYES B, et al. Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle [J]. *BMC Genomics*, 2011, 12(1):318.
- [34] BEVITT D J, LI Z, LINDROP J L, et al. Analysis of full length *ADAMTS6* transcript reveals alternative splicing and a role for the 5' untranslated region in translational control [J]. *Gene*, 2005, 359:99-110.
- [35] LI R, TANG X L, MIAO S Y, et al. Regulation of the G2/M phase of the cell cycle by sperm associated antigen 8 (*SPAG8*) protein [J]. *Cell Biochem Function*, 2009, 27(5):264-268.
- [36] MARTIN J, MAURHOFER O, BELLANCE N, et al. Disruption of the histidine triad nucleotide-binding *hint2* gene in mice affects glycemic control and mitochondrial function [J]. *Hepatology*, 2013, 57(5):2037-2048.
- [37] ZHANG L, LIU J, ZHAO F, et al. Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(6):e66569.
- [38] NEWGARD C B, BRADY M J, O'DOHERTY R M, et al. Organizing glucose disposal: emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1 [J]. *Diabetes*, 2000, 49(12):1967-1977.
- [39] NIKOLA A, SERENA Z, LORENA Z, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates skeletal muscle regeneration *in vivo* [J]. *Mol Therapy*, 2004, 10(5):844-854.
- [40] COMERFORD K M, LEONARD M O, CUMMINS E P, et al. Regulation of protein phosphatase 1gamma activity in hypoxia through increased interaction with *NIPP1*: implications for cellular metabolism [J]. *J Cell Physiol*, 2006, 209(1):211-218.
- [41] AN W, GUNTHER D M, WIM H, et al. Identification and prioritization of *NUAK1* and *PPP1CC* as positional candidate loci for skeletal muscle strength phenotypes [J]. *Physiol Genomics* (Online), 2011, 43(17):981.
- [42] WIRTANEN L, SÉGUIN C. Cloning of cDNAs encoding retinoic acid receptors *RARγ1*, *RARγ2*, and a new splicing variant, *RARγ3*, from *Ambystoma mexicanum* and characterization of their expression during early development [J]. *BBA-Gene Struct Exp*, 2000, 1492(1):97-101.
- [43] 黄 萌, 许尚忠, 咎林森, 等. 牛 *RXRγ* 基因遗传变异与双胎性状的关联分析 [J]. *遗传*, 2008, 30(2):190-194.
- [44] HUANG M, XU S Z, ZAN L S, et al. Genetic variation in *RXRγ* gene and its relationship with twinning trait in cattle [J]. *Hereditas*, 2008, 30(2):190-194. (in Chinese)
- [45] ARMAN E, HAFFNER-KRAUSZ R, CHEN Y, et al. Targeted disruption of fibroblast growth factor (*FGF*) receptor 2 suggests a role for FGF signaling in pregastrulation mammalian development [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95(9):5082-5087.
- [46] MICHAEL D D, ALVAREZ I M, OCON O M, et al. Fibroblast growth factor-2 is expressed by the bovine uterus and stimulates interferon-tau production in bovine trophectoderm [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(7):3571-3579.
- [47] LEE S H, SCHLOSS D J, SWAIN J L. Maintenance of vascular integrity in the embryo requires signaling through the fibroblast growth factor receptor [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(43):33679-33687.
- [48] AHMED Z M, YOUSAF R, LEE B C, et al. Functional null mutations of *MSRB3* encoding methionine sulfoxide reductase are associated with human deafness *DFNB74* [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(1):19-29.
- [49] BOYKO A R, QUIGNON P, LI L, et al. A simple genetic architecture underlies morphological variation in dogs [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(8):e1000451.
- [50] VAYSSE A, RATNAKUMAR A, DERRIEN T, et al. Identification of genomic regions associated with phenotypic variation between dog breeds using selection mapping [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(10):e1002316.
- [51] JOHNSTON S E, MCEWAN J, PICKERING N K, et al. Genome-wide association mapping identifies the genetic basis of discrete and quantitative variation in sexual weaponry in a wild sheep population [J]. *Mol Ecol*, 2011, 20(12):2555-2566.
- [52] GAUTIER M, NAVES M. Footprints of selection in the ancestral admixture of a New World Creole cattle

- breed[J]. *Mol Ecol*, 2011, 20(15): 3128-3143.
- [52] HAYES B J, PRYCE J, CHAMBERLAIN A J, et al. Genetic architecture of complex traits and accuracy of genomic prediction: coat colour, milk-fat percentage, and type in Holstein cattle as contrasting model traits [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(9): e1001139.
- [53] ANTONIADES H N. Human platelet-derived growth factor (PDGF): purification of PDGF-I and PDGF-II and separation of their reduced subunits [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1981, 78(12): 7314-7317.
- [54] ROSS R, GLOMSET J, KARIYA B, et al. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells *in vitro* [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1974, 71(4): 1207-1210.
- [55] TONTONOZ P, SPIEGELMAN B M. Fat and beyond: the diverse biology of PPAR γ [J]. *Annu Rev Biochem*, 2008, 77: 289-312.
- [56] JONES J R, BARRICK C, KIM K A, et al. Deletion of PPAR γ in adipose tissues of mice protects against high fat diet-induced obesity and insulin resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(17): 1107-1115.
- [57] OKUNO A, TAMEMOTO H, TOBE K, et al. Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(6): 1354.
- [58] PETERS J M, HENNUYER N, STAELS B, et al. Alterations in lipoprotein metabolism in peroxisome proliferator-activated receptor α -deficient mice [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(43): 27307-27312.
- [59] DESVERGNE B, WAHLI W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism 1 [J]. *Endocrine Rev*, 1999, 20(5): 649-688.
- [60] YANG W L, FRUCHT H. Activation of the PPAR pathway induces apoptosis and COX-2 inhibition in HT-29 human colon cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22(9): 1379-1383.
- [61] 林娉娉, 高中元, 袁亚男, 等. PPAR α 和 PPAR γ 基因在不同脂尾型绵羊脂肪组织中的发育性表达研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(9): 1369-1376.
- LIN P P, GAO Z Y, YUAN Y N, et al. Developmental expression of PPAR α and PPAR γ mRNA in adipose tissues of different fat-tailed sheep [J]. *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 2012, 43(9): 1369-1376. (in Chinese)

(编辑 郭云雁)