

# ADIPOQ 基因单体型与不同性别 绵羊生长性状的关联分析

安清明<sup>1,2</sup>, 周辉通<sup>2,3</sup>, 刘秀<sup>2</sup>, 李少斌<sup>2</sup>, 罗玉柱<sup>2\*</sup>, Jon G. Hickford<sup>2,3\*</sup>

(1. 铜仁学院乌江学院, 铜仁 554300; 2. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃草食动物生物技术重点实验室, 兰州 730070; 3. 林肯大学基因标记实验室, 林肯 7646)

**摘要:**旨在探讨 ADIPOQ 基因单体型对绵羊生长性状的性别差异, 筛选出对绵羊生长性状具有性别差异的单体型, 为提高绵羊生产效率及加速遗传改良进程提供依据。本研究以 1 185 只新西兰罗姆尼羊(公 556 只, 母 629 只)为研究对象, 利用 PCR-SSCP 方法检测不同性别绵羊中 ADIPOQ 基因变异及单体型分型情况。利用 GLMs 模型进行单体型与不同性别绵羊生长性状的关联分析。评估单体型对生长性状的表型影响效应, 筛选出对绵羊生长性状具有性别差异的单体型。结果表明, 绵羊 ADIPOQ 基因具有丰富的核苷酸变异及单体型构型, 且单体型构型分布频率在不同性别绵羊中存在差异(本试验中单体型 D<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 及 D<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 只在母羔中检测到); 关联分析结果表明, ADIPOQ 基因单体型对绵羊生长性状的影响存在性别特异性。结果显示, 存在单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 的公羔群体具有较低的断尾重( $P=0.033$ )、断奶重( $P=0.020$ )和断奶前生长速度( $P=0.026$ ); 其它单体型未发现对公羔生长性状具有显著性别特异性, 且所有被检测的单体型对母羔生长性状均无显著影响。结果提示, ADIPOQ 基因单体型构型分布频率在绵羊公、母羔中存在性别差异, 且其对绵羊生长性状也具有性别特异性, 存在单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 的公羔生产性能较低, 可以以此作为提高公羔生产性能的理论指导依据。

**关键词:** ADIPOQ 基因; 单体型; 性别差异; 生长性状

中图分类号: S826.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)04-0825-08

## Effect of Haplotypes of ADIPOQ on Growth Traits in Ovine with Different Genders

AN Qing-ming<sup>1,2</sup>, ZHOU Hui-tong<sup>2,3</sup>, LIU Xiu<sup>2</sup>,

LI Shao-bin<sup>2</sup>, LUO Yu-zhu<sup>2\*</sup>, JON G. Hickford<sup>2,3\*</sup>

(1. Faculty of Wujiang, Tongren University, Tongren 554300, China; 2. Gansu Key Laboratory of Herbivorous Animal Biotechnology, College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Gene-Marker Laboratory, Lincoln University, Lincoln 7646, New Zealand)

**Abstract:** The aims of this study were to analyze the effect of haplotypes of ADIPOQ gene on growth traits in male and female lambs, to filter haplotypes of ADIPOQ gene which had different effects on growth traits of male and female lambs, and to provide basis for improving the efficiency of production and breeding improvement. The mutations and haplotypes of ADIPOQ gene were detected in total 1 185 New Zealand Romney lambs (556 male and 629 female) by using PCR-SSCP method. The relationship between haplotypes and growth traits of male and female lambs was

收稿日期: 2017-10-09

基金项目: 甘肃省自然科学基金(1606RJZA074); 甘肃省农业生物技术项目(GNSW-2016-24); 贵州省教育厅自科项目(黔教合 KY 字[2017] 089); 铜仁市科技计划项目(铜市科研[2016]18号-5); 铜仁学院博士科研启动项目(trxyDH1624); 甘肃农业大学自立项目(GSAU-ZL-2015-031)

作者简介: 安清明(1987-), 男, 甘肃景泰人, 博士, 副教授, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: anqingming2009@163.com

\* 通信作者: 罗玉柱, 教授, 博士生导师, Tel: 0931-7632483, E-mail: luoyz@gsau.edu.cn; Jon G. Hickford, 教授, 博士生导师, E-mail: Jon.hickford@lincoln.ac.nz

investigated using GLMs model. The effects of haplotypes of *ADIPOQ* on ovine growth traits were estimated and the haplotypes which had different effects on growth traits of male and female lambs were identified. The results showed that ovine *ADIPOQ* gene had rich nucleotide mutations and haplotypes, and the frequencies of haplotypes were different in male and female lambs (haplotypes  $D_1 - A_2$  and  $D_1 - C_2$  were only detected in female lambs in this study). The associations analysis results showed that haplotypes of ovine *ADIPOQ* gene had different effects on growth traits of male and female lambs. In male lambs, the presence of  $A_1 - A_2$  was associated with decreased tailing weight ( $P=0.033$ ), weaning weight ( $P=0.020$ ) and pre-weaning growth rate ( $P=0.026$ ). No associations were detected between the other haplotypes and growth traits of male lambs. No associations were found between the *ADIPOQ* haplotypes and growth traits of female lambs. Frequencies of ovine *ADIPOQ* haplotypes are different, and haplotypes may have different effects on growth traits of male and female lambs. The presence of  $A_1 - A_2$  is associated with decreased growth production, and may be used as a theoretical guidance for improving the growth performance of male lambs.

**Key words:** *ADIPOQ* gene; haplotype; gender-specific; growth traits

近年来,如何提高畜禽的生产性能并改善其产品质量已逐渐成为动物学家们的主要研究目标,而从人类营养学角度来分析,畜禽脂肪组成成分的研究已成一种有效的手段。其中,脂肪组织因能够分泌具有生物活性的脂肪因子而调节机体能量代谢,因此受到一定的关注,在脂肪因子调控过程中,包括了诸多相关基因的调控。脂联素(Adiponectin, *ADIPOQ*、*Acrp30* 或 *APM1*)是一种脂肪细胞因子家族的成员,主要由 *ADIPOQ* 基因编码,*ADIPOQ* 基因最初于人类染色体上发现,定位于 3q27,全长约 17 kb,包含 3 个外显子和 2 个内含子<sup>[1-2]</sup>,其 CDS 区共编码 247 个氨基酸。*ADIPOQ* 蛋白分子量约为 30 ku,主要包括 4 个结构域:信号肽、可变区、N-胶原蛋白三螺旋区域和 C-球状区域。*ADIPOQ* 主要分为两种不同的蛋白:低分子量(LMW: low-molecular-weight)与高分子量(HMW: high-molecular-weight)蛋白,其不同的结构特性使得两种不同蛋白在机体内具有各自独特的生物学功能<sup>[3-4]</sup>。

*ADIPOQ* 主要通过与其受体(*ADIPOR-1* 和 *ADIPOR-2*)结合协同调节其生理功能。研究表明,*ADIPOQ* 通过与 *ADIPOR* 相结合,能够调节 AMP 激酶与 PPAR 配体活性,间接调节脂肪酸氧化和糖类摄取<sup>[5]</sup>,也参与胰岛素的分泌调节<sup>[6]</sup>。同时,有研究表明,*ADIPOQ* 可以通过调节 PPAR- $\alpha$  刺激肌肉组织及肾中的脂肪酸氧化、减少甘油三酯的含量,从而改变生物体对胰岛素的敏感度<sup>[7]</sup>。在家畜中,*ADIPOQ* 基因遗传变异对生产性状具有一

定影响。研究发现,猪 *ADIPOQ* 基因定位于 13 号染色体,能够影响猪的背脂肪厚度、背最长肌脂肪酸链长度的相关 QTL 区域<sup>[8-9]</sup>,同时发现,启动子区核苷酸 c. -67G/A 和 c. -892C/T 变异对猪胴体性状及肉质具有显著影响<sup>[10]</sup>,内含子 g. 1735A/G 与猪肩部脂肪量具有显著相关性<sup>[11]</sup>;牛 *ADIPOQ* 启动子区核苷酸 c. -176A/G 与胴体性状有相关性,c. -199C/T,c. -34G/A 与背膘厚、眼肌面积具有一定相关性<sup>[12-13]</sup>。

绵羊 *ADIPOQ* 基因多态性变异已有报道,但其相关变异与绵羊生产性状关联性和性别差异关联性的研究却少有报道。本研究以新西兰罗姆尼羊为研究对象,通过 PCR-SSCP 技术对罗姆尼羊群体进行遗传变异及相关性分析,探究 *ADIPOQ* 基因单体型对不同性别罗姆尼羊生长性状的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验样品及表型测定

试验于 2014 年 6 月—2015 年 8 月在新西兰林肯大学基因标记实验室完成。1 185 只新西兰罗姆尼羊来自于新西兰南岛同一牧场的 17 只优秀种公羊的子一代。羔羊出生 12 h 之内佩戴耳标,测定记录初生重、耳号、出生日期、性别和出生等级(单羔、双羔或三羔)。3 周龄左右断尾并记录断尾重,同时用 FTA 卡收集血样。3 月龄断奶,测定断奶重,并计算所有羔羊断奶前生长速度。由于在后期的相关性测定及单体型分析中,部分羔羊缺乏相关表型

数据,因此,参与结果分析的具体羔羊数量与总数量存在一定差异。

## 1.2 试验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 羔羊断尾时用 FTA 卡采集血液,父本公羊从颈静脉采血滴于 FTA 卡,自然晾干后置于阴凉处保存待用。基因组 DNA 采用 H. Zhou 等<sup>[14]</sup>所描述的两步法提取。

1.2.2 引物设计及 PCR 扩增 根据绵羊全基因组序列中 ADIPOQ 基因序列(GenBank 登录号: NC\_019458.1),应用 Primer 5.0 自行设计 2 对不同区域引物(启动子区和部分外显子 3 区),用于基因多态性、单体型及相关性分析,引物由 Integrated DNA Technologies (Coralville, IA, USA) 合成。引物 1: F: 5'-TTCCTGCTTCTGATCTTGACC-3'; R: 5'-CAGCCTAGAAATTGAATCAGTC-3'; 引物 2: F: 5'-GGTCTTCTTGTCTCTAGGTC-3'; R: 5'-TGGTCCACGTTCTGGTCTG-3'。

PCR 反应体系(20  $\mu$ L): 其中 1.2 mm DNA disk 模板 1 个, 2  $\mu$ L 10 $\times$ buffer 缓冲液, 2  $\mu$ L 5 $\times$ Q 溶液, 1.2  $\mu$ L 3  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub> 溶液, 1.2  $\mu$ L 150  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs, 1  $\mu$ L 0.25  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 上下游混合引物, 0.1  $\mu$ L 0.5 U *Taq* 聚合酶和 12.5  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O。

PCR 扩增条件: 94  $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火(引物 1 和引物 2 均为 58  $^{\circ}$ C) 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 37 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4  $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 PCR 产物的 SSCP 检测 在 20  $\mu$ L PCR 扩增产物中加入 80  $\mu$ L 变性缓冲液(98% 去离子甲酰胺、10 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> EDTA、0.025% 二甲苯氰、0.025% 溴酚蓝), 经 105  $^{\circ}$ C 热变性 5 min 后立即置于冰水混合物中, 然后将 10  $\mu$ L 变性产物上样于不同浓度聚丙烯酰胺凝胶中, 在相应引物所需条件下进行 SSCP 电泳(引物 1: 300 V 电压 17.0  $^{\circ}$ C 温控环境电泳 19 h; 引物 2: 200 V 电压 20.0  $^{\circ}$ C 温控环境电泳 19 h)。结束后根据 S. O. Byun 等<sup>[15]</sup>描述具体步骤进行银染显色, 判断相应基因型。

1.2.4 单体型判定 若所检测子代两个不同区域之间的基因型有任何一段区域的基因型为纯合型, 可直接判定 ADIPOQ 基因两段区域之间的单体型。如: 子代区域 1 的基因型为 A<sub>1</sub>A<sub>1</sub>, 而区域 2 的基因型为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>, 那么子代的单体型可直接推断为 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 和 A<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>。若所检测的子代两个不同区域之间的基因型均为杂合型, 那么可根据父本单体型

及同一公羊生育子代单体型来判断该子代单体型。如父本的单体型为 A<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>/B<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>, 那么子代有 50% 的概率继承其中的一条单体型, 同时根据同一父本产生后代来推断该子代单体型。

## 1.3 数据分析

本研究利用 Minitab (Version 16, Minitab Inc., Pennsylvania) 一般线性混合效应模型评估特定单体型的存在/缺失对生长性能的影响。对某一特定性状存在(1)、缺失(0)分析模型中, 单体型、家系影响、出生等级/初生重为固定因素, 遵从下列模型进行最小二乘方差分析:

$$Y_{iknm} = \mu + G_i + M_k + F_m + X_n + e_{iknm}$$

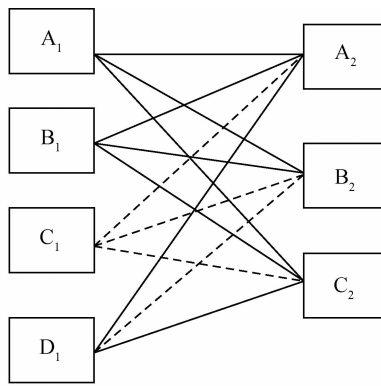
其中,  $Y_{iknm}$  为相应性状表型值,  $\mu$  为群体均值,  $G_i$  为家系效应,  $M_k$  为出生等级效应/初生重(取决于谁对模型更具影响力),  $F_m$  为单体型或双体型,  $X_n$  为因素间互作效应,  $e_{iknm}$  为随机误差。

在进行特定单体型存在/缺失分析时, 对  $P < 0.2$  的单体型要进行互作效应校正相关性数据。如进行 ADIPOQ 基因某一单体型对初生重的相关分析时, 若单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>、A<sub>1</sub>-B<sub>2</sub> 和 B<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 的  $P$  值分别为 0.003、0.014 和 0.450 时, 那么应在模型中同时校正分析单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 和 A<sub>1</sub>-B<sub>2</sub> 对初生重的影响  $P$  值。在分析双体型对性状的影响时, 只对频率大于 10.00% 的双体型进行分析。所有数据均采用“平均值 $\pm$ 标准误”表示,  $P < 0.05$  为显著水平,  $P < 0.2$  为有影响趋势,  $P > 0.2$  为无影响。

## 2 结果

### 2.1 不同性别羔羊 ADIPOQ 基因单体型频率分析

在所检测的 1 185 只羔羊中, 共检测到 8 种由区域 1 中的 4 个等位基因(A<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>、C<sub>1</sub> 和 D<sub>1</sub>; 已提交 GenBank, 序列号为: KP903754~KP903757) 和区域 2 中的 3 个等位基因(A<sub>2</sub>、B<sub>2</sub> 和 C<sub>2</sub>; 已提交 GenBank, 序列号为: KP903762~KP903764) 构成的不同单体型, 分别为 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>、A<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>、A<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>、D<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 和 D<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> (其余推断也应存在的 4 种单体型在本试验没有检测到), 单体型分型示意结果见图 1, SSCP 检测结果见图 2。本试验所检测到的 8 种单体型中 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>、A<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 和 B<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 最为普遍, 其它 4 种单体型较为稀少(频率小于 5.00%), 且单体型 D<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 和 D<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 只在母羔中检测到, 具体频率见表 1。



区域1变异序列—约11 kb—区域2变异序列

——代表本试验检测到的单体型；……代表本试验没有检测到的单体型

—— Represents the haplotypes detected in this study; ..... Represents the haplotypes not detected in this study

图1 罗姆尼羊 *ADIPOQ* 基因单体型

Fig. 1 Haplotypes of *ADIPOQ* in Romney sheep

表1 不同性别羔羊 *ADIPOQ* 基因横跨区域1与区域2的单体型频率

Table 1 Haplotypes frequencies of male and female lambs *ADIPOQ* spanning region 1 to region 2

单体型 Haplotype	公羔频率/% Frequency in male lambs	母羔频率/% Frequency in female lambs
A <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	37.41	36.25
A <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	8.59	8.53
B <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	46.21	46.87
B <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	6.66	6.33
A <sub>1</sub> -B <sub>2</sub>	0.30	0.30
B <sub>1</sub> -B <sub>2</sub>	0.83	1.12
D <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	0.00	0.30
D <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	0.00	0.30

## 2.2 不同性别羔羊 *ADIPOQ* 基因单体型与生长性状关联性分析

本试验所检测到的8种单体型中, A<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>、D<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>和D<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>在罗姆尼羊中的频率小于5.00%, 样本较为稀少, 不能用于相关性分析, 因此, 本试验只对单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>、A<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>、B<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>和B<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>进行性别差异的生长性状关联性分析, 数据分析时将所有公羔和母羔置于同一群体模型中与本试验结果分析比较校正, 将性别作为影响因素进行GLMs混合模型分析, 结果表明, 所有检测单体型均对羔羊生长性状无显著影响(结果未列出)。

对具有完整数据及基因单体型特征的456只公

羔和450只母羔进行单体型存在与缺失分析, 结果表明, 公羔中存在单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 的群体具有较低的断尾重(存在:(12.91±0.55) kg, 缺失:(13.54±0.55) kg; P=0.033), 断奶重(存在:(30.28±0.91) kg, 缺失:(31.41±0.91) kg; P=0.020)和断奶前生长速度(存在:(287.3±9.4) g·d<sup>-1</sup>, 缺失:(298.6±9.4) g·d<sup>-1</sup>; P=0.026); 未发现单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 与羔羊初生重有显著相关性。其它3种单体型在公羔中均没有发现与罗姆尼羊生长性状具有显著相关性。在母羔中, 4种单体型均没有发现与生长性状具有显著相关性(表2)。

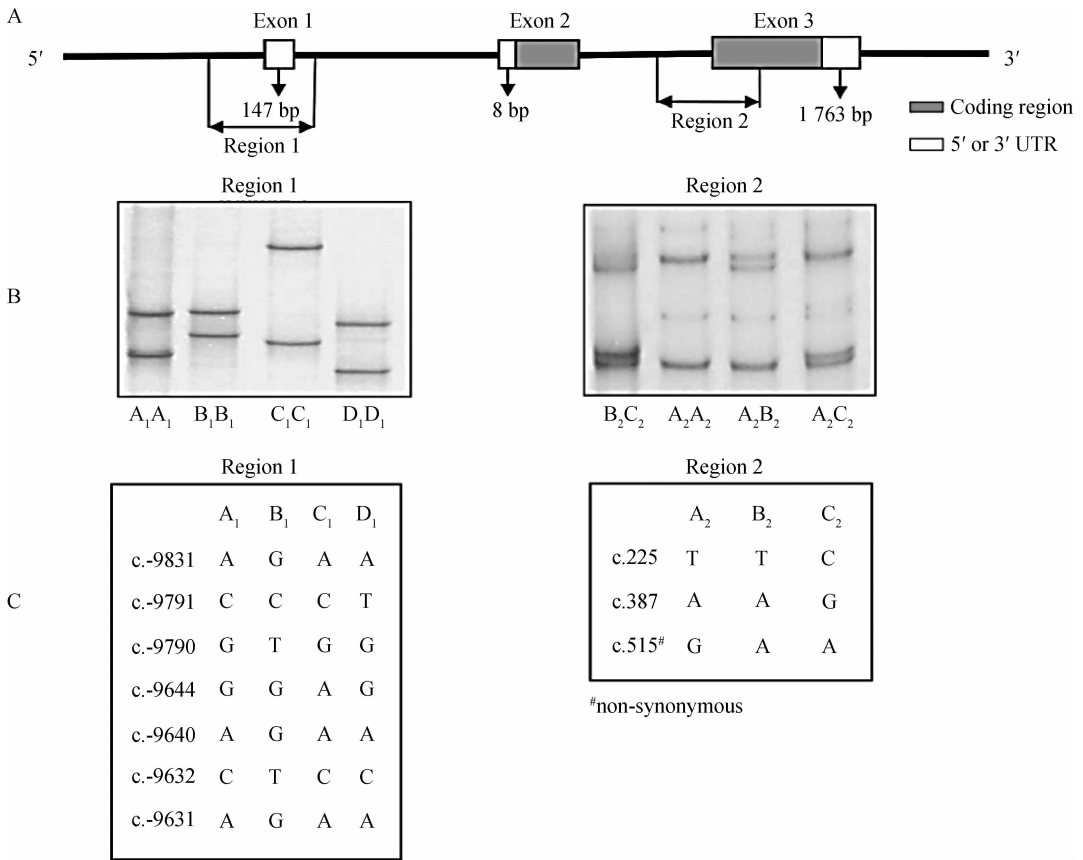
双体型检测结果表明, 公、母羔的生长性状与双体型之间均没有显著相关性(结果未列出)。

## 3 讨论

单体型(Haplotype)是指在遗传学上同一染色体上多个基因座位或一个基因中多个位点共同连锁的变异, 具有比单核苷酸变异更高的多态性信息含量, 能够运用连锁的多个基因或位点进行协同基因标记, 因此, 单体型较单个SNP位点具有更高的遗传标记意义及可靠性<sup>[16-18]</sup>。

本研究检测了绵羊 *ADIPOQ* 基因不同区域单体型的变异情况, 同时分析了不同性别羔羊 *ADIPOQ* 基因单体型差异对生长性状的影响。本试验选取间隔约11 kb的两段区域进行单体型检测, 理论上讲, 两段区域可以共建12种不同单体型, 但本试验中只检测到8种不同单体型, 与Q. M. An等<sup>[19]</sup>已报道的单体型稍有不同, Q. M. An等检测到D<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>的单体型在本研究中没有检测到与之相对应的单体型, 且另外4种单体型本试验中亦没有检测到, 这可能由于本研究只对单一绵羊品种(罗姆尼羊)进行单体型检测, 也可能是由于该单体型在罗姆尼羊中存在的频率较低, 本研究所选用的群体中没有包含, 或者是该单体型对绵羊的经济性状有一定的影响, 牧民在长期人工选择的过程中已将含有该单体型的羊只淘汰, 因此, 在更多绵羊群体或种群中进一步研究绵羊 *ADIPOQ* 基因单体型的进化史和变异是必要的, 其或许能更进一步证实本研究的结果。

本试验检测得到的10个SNPs位点中7个位于启动子区, 3个位于编码区, 虽然目前很难具体确定启动子区域内核苷酸突变的具体生物学功能, 但已有研究表明, 在人类 *ADIPOQ* 基因启动子区域,



A. *ADIPOQ* 基因扩增区域示意图; B. 2 个不同区域的特异扩增 *ADIPOQ* 基因对应 SSCP 示意图; C. 所检测 2 个区域 SNPs 位点示意图

A. Diagram showing the regions of *ADIPOQ* amplified; B. PCR-SSCP banding patterns for the two regions of ovine *ADIPOQ* amplified; C. The SNPs detected for ovine *ADIPOQ* in the two regions

图 2 *ADIPOQ* 基因 SSCP 检测示意图

Fig. 2 Diagram of SSCP detection of *ADIPOQ* gene

存在许多具有一定生理学功能的位点,如 SP1、SREBP、AP1 及 C/EBP 等位点<sup>[20]</sup>。本研究在启动子区所检测到的突变位点与人类 *ADIPOQ* 基因检测到的突变位点(c. -11377C/G、c. -19166T/G、c. -11426A/G和 c. -11391G/A)位置极其相近,其中核苷酸突变位点 c. -11377C/G 已被确认存在于 SP1 结合位点上,且其碱基 G 突变导致 SP1 结合位点的改变,能够降低 *ADIPOQ* 的生物活性<sup>[21]</sup>;而其它 3 个核苷酸突变位点(c. -19166T/G、c. -11426A/G 和 c. -11391G/A)已被检测与 II 型糖尿病及肥胖有一定的关联性<sup>[22]</sup>。3 个位于编码区的核苷酸突变中 2 个核苷酸突变(c. 225 和 c. 387)为同义突变,另外 1 个(c. 515G/A)为非同义突变,其突变导致了 172 位赖氨酸(Lys)/精氨酸(Arg)改变,且该氨基酸突变位于 *ADIPOQ* 蛋白的球状结构域中,其可能会改变 *ADIPOQ* 蛋白的空间结构,进而可能会影响

到蛋白的生物学功能。如已有研究表明,人类 *ADIPOQ* 基因第 2 外显子 rs2241766 G/T 和第 3 外显子 rs17366743 C/T 的核苷酸突变与多个人群的 *ADIPOQ* 表达水平有一定关联性<sup>[23]</sup>,因此,本研究中发现的 3 个编码区突变值得进一步确定其具体的生理功能。

本试验共检测到 8 种单体型,且其在公羔与母羔群体之间的分布存在差异。单体型 D<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 和 D<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 只在本试验母羔群体中检测到。这可能是本试验的公羔群体数量较少,没有检测到该单体型,或者是由于这两种单体型在绵羊群体中本身就存在性别差异。而单体型与生长性状关联性分析结果表明,单体型 A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub> 与公羔群体的断尾重、断奶重及断奶前生长速度存在显著关联性,而对母羔群体的生长性状无显著影响,这进一步表明,*ADIPOQ* 基因单体型在绵羊群体中存在性别差异。人类 *ADIPOQ*

表 2 ADIPOQ 基因单体型与罗姆尼公/母羔羊生长性状关联性分析

Table 2 Association of ovine ADIPOQ haplotypes with growth traits (mean  $\pm$  SE) of male and female Romney lambs

生长性状 Growth trait	单体型 Haplotype	公羔 Male lamb				母羔 Female lamb					
		存在 Presence(1)	数目 N	缺失 Absence(0)	数目 N	P 值 P-value	存在 Presence(1)	数目 N	缺失 Absence(0)	数目 N	P 值 P-value
初生重/kg	A <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	5.44±0.17	284	5.47±0.17	172	0.785	5.22±0.08	273	5.12±0.09	177	0.209
Birth weight	A <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	5.37±0.19	68	5.48±0.16	388	0.416	5.09±0.12	68	5.20±0.07	382	0.339
	B <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	5.51±0.16	316	5.37±0.17	140	0.139	5.19±0.08	309	5.16±0.09	141	0.721
断尾重/kg	B <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	5.36±0.21	38	5.46±0.16	418	0.474	5.05±0.15	35	5.20±0.07	415	0.338
	A <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	<b>12.91±0.55</b>	<b>284</b>	<b>13.54±0.55</b>	<b>172</b>	<b>0.033</b>	11.46±0.23	273	11.56±0.26	177	0.680
Tailing weight	A <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	13.44±0.64	68	13.18±0.54	388	0.565	11.43±0.36	68	11.51±0.22	382	0.823
	B <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	13.16±0.54	316	13.35±0.57	140	0.558	<i>11.64±0.23</i>	<i>309</i>	<i>11.22±0.27</i>	<i>141</i>	<i>0.113</i>
断奶重/kg	B <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	14.03±0.70	38	13.17±0.53	418	0.284	11.87±0.46	35	11.45±0.21	415	0.370
	A <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	<b>30.28±0.91</b>	<b>284</b>	<b>31.41±0.91</b>	<b>172</b>	<b>0.020</b>	26.24±0.39	273	26.21±0.44	177	0.944
Weaning weight	A <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	31.13±1.06	68	30.79±0.90	388	0.645	25.80±0.61	68	26.33±0.37	382	0.386
	B <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	30.76±0.91	316	31.04±0.95	140	0.598	26.38±0.38	309	25.94±0.46	141	0.331
断奶前生长速度/(g·d <sup>-1</sup> )	B <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	32.06±1.16	38	30.77±0.88	418	0.219	25.72±0.78	35	26.29±0.36	415	0.462
	A <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	<b>287.3±9.4</b>	<b>284</b>	<b>298.6±9.4</b>	<b>172</b>	<b>0.026</b>	241.3±4.1	273	243.2±4.7	177	0.674
Pre-weaning growth rate	A <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	294.0±10.9	68	292.8±9.2	388	0.879	238.1±6.6	68	242.9±4.0	382	0.464
	B <sub>1</sub> -A <sub>2</sub>	292.9±9.3	316	293.5±9.7	140	0.910	242.6±4.1	309	241.0±5.0	141	0.750
	B <sub>1</sub> -C <sub>2</sub>	300.5±12.0	38	292.5±9.1	418	0.346	237.1±8.3	35	242.6±3.9	415	0.506

数值为“平均值±标准误”；粗体表示有显著相关性( $P < 0.05$ )，斜体表示有影响趋势( $0.05 < P < 0.2$ )；N 表示样本数量

Values are given as “Mean±SE”；Statistically significant correlation are in bold ( $P < 0.05$ ) and significant trends are in italics ( $0.05 < P < 0.2$ )；N: The number of observed

sheep

基因性别差异研究结果表明,在非洲裔美国人群中,ADIPOQ 基因变异对其在机体中表达水平与肥胖具有性别差异,其变异与非洲裔美国人群体的妇女肥胖有一定关联性<sup>[24]</sup>。同样,目前在一些对肌肉生长具有调控作用的基因中也发现其存在一定的性别差异性,如 S. Reisz-Porszasz 等<sup>[25]</sup>发现,MSTN 基因只在雄性小鼠中发现,可能对其肌肉具有抑制作用,J. Han 等<sup>[26]</sup>发现,MSTN 基因变异在罗姆尼羊中存在性别比例差异。沈留红等<sup>[27]</sup>发现,脂联素(ADIPOQ 基因)mRNA 和蛋白表达水平对奶牛犊牛的初生重有较大影响,Y. S. Lee 等<sup>[28]</sup>发现,WFIKKN2 基因变异与不同时期小鼠的肌肉重存在性别关联性差异,J. Q. Wang 等<sup>[29]</sup>发现,WFIKKN2 基因变异与罗姆尼羊生长性状存在性别差异。因此,可以推断本研究分析所得 ADIPOQ 基因单体型对绵羊生长性状的影响具有性别差异有一定依据,有必要进一步加大群体数量研究其变异在性别差异中的有效机制,从而验证本研究的结果。

单体型与生长性状关联性分析结果表明,单体型与公羔群体断尾重、断奶重和断奶前生长速度存在显著关联性,且存在单体型 A<sub>1</sub> - A<sub>2</sub> 的公羔群体较缺失群体有较低的断尾重、断奶重和断奶前生长速度。若羔羊在 100 日龄断奶,且忽略初生重之间的差异,那么存在单体型 A<sub>1</sub> - A<sub>2</sub> 的群体断奶重较缺失群体少 1.13 kg,生长速度每天少增长 11.3 g,即从出生到断奶每只绵羊平均少增长 1.13 kg 体重。而在实际育种生产过程中,一般在断奶期屠宰体重达标的公羔,降低群体饲养成本提高收益,而将母羔留作繁殖母体进行群体繁殖,从而提高实际收益及育种效率。因此,本研究结果在实际生产中,运用单体型 A<sub>1</sub> - A<sub>2</sub> 的存在与否,可在绵羊育种过程中筛选出断奶前生长速度较快的公羔群体,从而提高绵羊生产性能,增加经济收益。

#### 4 结 论

本研究通过绵羊 ADIPOQ 基因单体型检测,共发现 ADIPOQ 基因的 8 种单体型构型,且其对绵羊生长性状的影响存在性别差异,结果表明,单体型只对绵羊公羔群体生长性能存在显著影响,该结果在生产育种中对提高公羔生长性能、增加屠宰产出具有理论指导意义。

#### 参考文献(References):

- [1] SCHERER P E, WILLIAMS S, FOGLIANO M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(45): 26746-26749.
- [2] HSUEH W C, ST. JEAN P L, MITCHELL B D, et al. Genome-wide and fine-mapping linkage studies of type 2 diabetes and glucose traits in the Old Order Amish: evidence for a new diabetes locus on chromosome 14q11 and confirmation of a locus on chromosome 1q21 - q24 [J]. *Diabetes*, 2003, 52(2): 550-557.
- [3] PAJVANI U B, DU X L, COMBS T P, et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin implications for metabolic regulation and bioactivity[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(11): 9073-9085.
- [4] WANG Z V, SCHRAW T D, KIM J Y, et al. Secretion of the adipocyte-specific secretory protein adiponectin critically depends on thiol-mediated protein retention[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(10): 3716-3731.
- [5] YAMAUCHI T, KAMON J, ITO Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects[J]. *Nature*, 2003, 423(6941): 762-769.
- [6] KHARROUBI I, RASSCHAERT J, EIZIRIK D, et al. Expression of adiponectin receptors in pancreatic  $\beta$  cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 312(4): 1118-1122.
- [7] YAMAUCHI T, HARA K, KUBOTA N, et al. Dual roles of adiponectin/Acrp30 *in vivo* as an antidiabetic and anti-atherogenic adipokine [J]. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*, 2003, 3(4): 243-254.
- [8] LIU G, JENNEN D G J, THOLEN E, et al. A genome scan reveals QTL for growth, fatness, leanness and meat quality in a Duroc-Pietrain resource population[J]. *Anim Genet*, 2007, 38(3): 241-252.
- [9] GUO T, REN J, YANG K, et al. Quantitative trait loci for fatty acid composition in longissimus dorsi and abdominal fat: results from a White Duroc  $\times$  Erhualian intercross F<sub>2</sub> population [J]. *Anim Genet*, 2009, 40(2): 185-191.
- [10] CIESLAK J, FLISIKOWSKA T, SCHNIEKE A, et al. Polymorphisms in the promoter region of the adiponectin (ADIPOQ) gene are presumably associated

- with transcription level and carcass traits in pigs[J]. *Anim Genet*, 2013, 44(3): 340-343.
- [11] DAI L H, XIONG Y Z, DENG C Y, et al. Association of the A-G polymorphism in porcine adiponectin gene with fat deposition and carcass traits[J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2006, 19(6): 779-783.
- [12] MORSCI N S, SCHNABEL R D, TAYLOR J F. Association analysis of *adiponectin* and *somatostatin* polymorphisms on BTA1 with growth and carcass traits in Angus cattle[J]. *Anim Genet*, 2006, 37(6): 554-562.
- [13] SHIN S, CHUNG E. Novel SNPs in the bovine *ADIPOQ* and *PPARGC1A* genes are associated with carcass traits in Hanwoo (Korean cattle)[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(7): 4651-4660.
- [14] ZHOU H, HICKFORD J G H, FANG Q. A two-step procedure for extracting genomic DNA from dried blood spots on filter paper for polymerase chain reaction amplification[J]. *Anal Biochem*, 2006, 354(1): 159-161.
- [15] BYUN S O, FANG Q, ZHOU H, et al. An effective method for silver-staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels[J]. *Anal Biochem*, 2009, 385(1): 174-175.
- [16] MORRIS R W, KAPLAN N L. On the advantage of haplotype analysis in the presence of multiple disease susceptibility alleles[J]. *Genet Epidemiol*, 2002, 23(3): 221-233.
- [17] ZHOU H T, HICKFORD J G H, FANG Q, et al. Allelic variation of the ovine Toll-like receptor 4 gene [J]. *Dev Comp Immunol*, 2007, 31(2): 105-108.
- [18] GONG H, ZHOU H T, YU Z D, et al. Identification of the ovine keratin-associated protein KAP1-2 gene (*KRTAP1-2*) [J]. *Exp Dermatol*, 2011, 20(10): 815-819.
- [19] AN Q M, ZHOU H T, HU J, et al. Haplotypes and sequence variation in the ovine adiponectin gene (*ADIPOQ*) [J]. *Genes*, 2015, 6(4): 1230-1241.
- [20] BARTH N, LANGMANN T, SCHÖLMERICH J, et al. Identification of regulatory elements in the human adipose most abundant gene transcript-1 (*apM-1*) promoter: role of SP1/SP3 and TNF- $\alpha$  as regulatory pathways[J]. *Diabetologia*, 2002, 45(10): 1425-1433.
- [21] ZHANG D Y, MA J, BRISMAR K, et al. A single nucleotide polymorphism alters the sequence of SP1 binding site in the adiponectin promoter region and is associated with diabetic nephropathy among type 1 diabetic patients in the Genetics of Kidneys in Diabetes Study[J]. *J Diabetes Complications*, 2009, 23(4): 265-272.
- [22] CHUNG H F, LONG K Z, HSU C C, et al. Adiponectin gene (*ADIPOQ*) polymorphisms correlate with the progression of nephropathy in Taiwanese male patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 105(2): 261-270.
- [23] GU H F. Biomarkers of adiponectin: plasma protein variation and genomic DNA polymorphisms[J]. *Biomark Insights*, 2009, 4: 123-133.
- [24] RIESTRA P, GEBREAB S Y, XU R H, et al. Gender-specific associations between *ADIPOQ* gene polymorphisms and adiponectin levels and obesity in the Jackson Heart Study cohort[J]. *BMC Med Genet*, 2015, 16: 65.
- [25] REISZ-PORSZASZ S, BHASIN S, ARTAZA J N, et al. Lower skeletal muscle mass in male transgenic mice with muscle-specific overexpression of myostatin [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, 285(4): E876-E888.
- [26] HAN J, ZHOU H, FORREST R H, et al. Effect of Myostatin (*MSTN*) g + 6223G > A on production and carcass traits in New Zealand Romney Sheep[J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2010, 23(7): 863-866.
- [27] 沈留红, 江涛, 巫晓峰, 等. 奶牛胎盘脂联素、瘦素、内脂素与犊牛初生重相关性研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(1): 185-192.
- SHEN L H, JIANG T, WU X F, et al. The correlation between adiponectin, leptin, visfatin in placenta and calf birth weight [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(1): 185-192. (in Chinese)
- [28] LEE Y S, LEE S J. Regulation of GDF-11 and myostatin activity by GASP-1 and GASP-2[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(39): E3713-E3722.
- [29] WANG J Q, ZHOU H T, FANG Q, et al. Effect of variation in ovine *WFIKKN2* on growth traits appears to be gender-dependent[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12347.