

张世勇,王明华,钟立强,等. 斑点叉尾鲟 *MSTN* 基因 4 个 SNP 位点及其与生长性状的相关性[J]. 江苏农业科学,2017,45(1):30-33.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.009

# 斑点叉尾鲟 *MSTN* 基因 4 个 SNP 位点 及其与生长性状的相关性

张世勇<sup>1,2</sup>, 王明华<sup>1,2</sup>, 钟立强<sup>1,2</sup>, 秦 钦<sup>1,2</sup>, 潘建林<sup>1,2</sup>, 陈校辉<sup>1,2</sup>, 边文冀<sup>1,2</sup>

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏南京 210017; 2. 江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏南京 210014)

**摘要:**采用 DNA 混池测序法筛选斑点叉尾鲟肌肉生长抑制素(*MSTN*)基因 SNP 位点,同时使用 SNaPshot 法将筛选到的 SNP 多态性位点进行分型,最后与生长性状进行关联分析。共筛选到 4 个 SNP 位点,即 g. 3501 T>G、g. 3844 T>A、g. 4297 C>G、g. 4355 G>C。其中,g. 3501 T>G 位于第一内含子;g. 3844 T>A 位于第二外显子,并造成密码子 GUA 变为 GAA,氨基酸由缬氨酸(Val)变为谷氨酸(Glu);g. 4297 C>G、g. 4355 C>G 位于第二内含子。关联分析结果表明,SNP 位点 g. 4355 G>C 与斑点叉尾鲟的体质量和体长呈显著性负相关,具有 GG 基因型个体的体质量和体长显著性低于 CC 型和 CG 型( $P<0.05$ ),该位点可作为斑点叉尾鲟分子育种的候选分子标记。

**关键词:**斑点叉尾鲟;*MSTN*;SNP;SNaPshot;生长性状;关联分析

**中图分类号:** Q953;S917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)01-0030-03

肌肉生长抑制素(myostatin, *MSTN*)是骨形成蛋白家族(bone morphogenetic protein family)和 TGF- $\beta$  超家族成员之一,又被称为生长分化因子 8(growth and differentiation factor 8, GDF-8)。*MSTN* 基因是肌肉生长发育的关键基因,它编码的蛋白是骨骼肌生长的负性调控因子。McPherron 等敲除小鼠的 *MSTN* 基因,发现小鼠骨骼肌生长加快<sup>[1]</sup>;在斑马鱼中进行的 *MSTN* 基因敲除试验具有类似的试验结果<sup>[2]</sup>。脊椎动物中 *MSTN* 基因的结构和功能具有较高的保守性<sup>[3]</sup>,因此可将 *MSTN* 基因作为哺乳动物及鱼类等物种的候选生长相关基因。

斑点叉尾鲟(*Ictalurus punctatus*)别称美洲鲇、沟鲇,属于鲇形目(Siluriformes)鲇科(Ictaluridae),原产于美国,是一种重要的水产经济类物种,具有肉质细腻、适温范围广、生长速度快、抗病能力强等特点,2013 年全世界养殖产量为 419 215 t<sup>[4]</sup>。斑点叉尾鲟自 1984 年引入国内后,养殖规模和产量逐年增加,2013 年我国养殖产量占全世界的一半以上,产量达 224 132 t<sup>[5]</sup>。随着我国斑点叉尾鲟养殖产业的快速发展,已经出现明显的生长减慢、体色分化、规格不齐等种质衰退现象<sup>[6]</sup>;因此,培育生长快、抗逆性强的斑点叉尾鲟新品种(系)已成为当前斑点叉尾鲟产业可持续发展亟待解决的重要问题。本研究将 *MSTN* 基因作为斑点叉尾鲟生长发育性

状的候选基因进行了 SNP 多态性检测,并将筛选到的 SNP 位点与生长性状进行关联分析,旨在为斑点叉尾鲟分子标记辅助育种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

供试斑点叉尾鲟样本均来自江苏省淡水水产研究所禄口试验基地。于 2013 年 6 月进行家系培育,为减小环境对斑点叉尾鲟生长的影响,苗种培育按照同一标准进行,即均一的换水速率、投喂量、养殖密度、充氧量、水温。待稚鱼日龄为 30 d 时,每个家系随机选取 300 尾于室外水泥池进行培育。家系日龄达到 120 d 时,每个家系随机选取 50 尾鱼注射 RFID 电子标记,并记录每尾鱼的电子编号、家系编号、体质量、体长等信息。标记后将鱼移至土池培育,家系平均日龄为 520 d 时,扫描并记录存活个体编号,测量个体的体质量、体长等信息。同时采集每尾鱼的尾鳍组织,放入 95% 乙醇中,于 -20 ℃ 下保存。

### 1.2 基因组 DNA 提取

斑点叉尾鲟尾鳍 DNA 的提取使用 UNIQ-10 型柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒(上海生工生物工程有限公司),按照试剂盒说明书进行操作。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取效果,采用紫外分光光度计测定 DNA 样品浓度。

### 1.3 引物设计

根据 NCBI GenBank 数据库公布的斑点叉尾鲟 *MSTN* 基因序列(AF396747.1),采用 Primer Premier 5 软件设计 2 对引物(表 1)。第 1 对引物(P1)主要用于扩增第一外显子及 5' 非编码区、第一内含子部分序列,第 2 对引物(P2)主要用于扩增第二外显子、第二内含子、第三外显子及第一内含子、3' 非编码区部分序列。

### 1.4 PCR 扩增及测序

随机抽取 40 尾斑点叉尾鲟的 DNA 样品,将每个样品的

收稿日期:2015-12-04

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD26B03-04);江苏省科技支撑计划(编号:BE2013445);江苏省农业科技自主创新资金(编号:CX[15]1013);江苏省水产三新工程项目(编号:Y2014-25);江苏省六大人才高峰项目(编号:2014-NY-008)。

作者简介:张世勇(1987—),男,安徽六安人,研究实习生,主要从事水产动物遗传育种研究。Tel:(025)86581569;E-mail:shiyongzhang@hotmail.com。

通信作者:陈校辉,E-mail:cxiaohui416@hotmail.com;边文冀,E-mail:js6060@sina.com。

表 1 用于筛选 SNP 位点的引物

引物	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)	退火温度(℃)
P1	5':TGAGACCTGACCTGGCTGATCATG;3':GCTATGAAGCAGTAGTAAAGGGAC	466	55
P2	5':GTGAACCGTCCCGTGTTAATTC;3':AAGAAGTCAGTGAGAGGAAGCG	1 696	56

质量浓度调整至 100 ng/μL,各取 1 μL 混合构建 DNA 池。以 DNA 池和 20 尾个体基因组 DNA 为模板,利用所设计的 2 对引物进行 PCR 扩增。采用即用型 *UltraTaq* 酶 PCR 试剂盒(上海捷瑞生物工程有限公司)进行 PCR 扩增。40 μL PCR 反应体系为:2 × *UltraTaq* Master Mix 试剂 20 μL、基因组 DNA 2 μL、上游及下游引物(质量浓度为 10 pmol/μL)各 2 μL、ddH<sub>2</sub>O 14 μL。采用 BIOMETRA T1 型 PCR 扩增仪进行扩增,PCR 扩增条件为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,退火 30 s,72 ℃ 延伸 60 s,30 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,利用凝胶成像仪观察电泳结果。PCR 产物纯化后送至生工生物工程(上海)股份有限公司,直接采用 ABI 3730XL 型测序仪测序。所得结果使用 Chromas 软件观察测序峰图,并结合使用 ClustalX 软件进行 DNA 序列比对,判断 SNP 位点的碱基类型。

1.5 SNaPshot 法 SNP 分型

采用 SNaPshot 法对 4 个家系共 176 尾鱼进行 SNP 位点分型。根据 SNP 位点侧翼序列设计扩增引物,使扩增片段长度为 200 ~ 500 bp。延伸引物 3' 端第 1 个碱基紧邻待测 SNP 位点,*T<sub>m</sub>* 值为 50 ℃ 以上,并且在引物的 5' 末端加上不同长度的 Poly C 或 Poly T。

采用 Touchdown PCR 程序进行多重 PCR 扩增,20 μL 反应体系为:0.8 μL MgCl<sub>2</sub>(50 mmol/L)、2 μL 10 × PCR buffer (Mg<sup>2+</sup> free)、0.5 μL dNTP(10 mmol/L)、0.5 μL 混合引物、1 μL 模板 DNA、0.5 μL Platinum *Taq*(5 U),其余用 ddH<sub>2</sub>O 补足。PCR 反应程序为:95 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火 15 s,72 ℃ 延伸 30 s,30 个循环;共 11 个循环,每个循环退火温度降低 0.5 ℃;94 ℃ 变性 15 s,54 ℃ 退火 15 s,72 ℃ 延伸 30 s,共 24 个循环;72 ℃ 延伸 5 min。反应完成后进行 PCR 产物纯化,10 μL 反应体系为:FastAP(Thermosensitive Alkaline Phosphatase, Fermentas)0.8 μL、*Exo* I 0.2 μL、*Exo* I buffer 0.7 μL、PCR 产物 3 μL、H<sub>2</sub>O 5.3 μL。反应条件为 37 ℃ 15 min,80 ℃ 15 min,纯化后进行延伸反应,并预先

混匀延伸引物。

SNP 分型采用 ABI SNaPshot Multiplex PCR 试剂盒(美国应用生物系统公司),6 μL 反应体系为:Snapshot Mix 1 μL、延伸引物 0.1 μL、多重 PCR 产物 2 μL、ddH<sub>2</sub>O 2.9 μL。反应条件为:96 ℃ 预变性 1 min;96 ℃ 变性 10 s,52 ℃ 退火 5 s,60 ℃ 延伸 30 s,共 30 个循环。反应结束后加入 1 U FastAP,并以 37 ℃ 60 min、85 ℃ 15 min 条件进行纯化。以 GeneScan - 120Liz Size Standard(ABI)为内标,取 1 μL 产物与 9 μL 含有 Liz 的 Hi - Di(GS - 120Liz : Hi - Di = 1 : 200)混合,95 ℃ 变性 3 min,立即冰浴 3 min 后上测序仪。采用 ABI PRISM 3730 XI 型自动遗传分析系统进行检测及分析,并利用 Genemapper v4.1 软件进行分型。

1.6 数据统计

利用 R(3.0.1)软件对试验斑点叉尾鲷 SNP 位点的各基因型体质量、体长进行方差齐性分析(homogeneity of variance test)和单因素 ANOVA(one - way ANOVA)分析。采用均值多重比较(multiple comparisons of means)方法分析 SNP 位点各基因型与生长性状的关联程度。统计分析模型为:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$$

式中:*Y<sub>ij</sub>*为某个性状第 *i* 个标记第 *j* 个个体观测值, $\mu$  为试验观测所有个体的平均值(即总体平均值),*G<sub>i</sub>* 为第 *i* 个标记的效应值,*e<sub>ij</sub>* 为对应于观察值的随机残差效应。

2 结果与分析

2.1 *MSTN* 基因 SNP 位点筛选

利用所设计的 2 对引物对 40 尾斑点叉尾鲷构建的 DNA 池及 20 尾个体进行 PCR 扩增和测序分析。共筛选出 4 个 SNP 位点,即 g. 3501 T > G、g. 3844 T > A、g. 4297 C > G、g. 4355 G > C,且所有位点均由第 2 对引物扩增得到。其中,g. 3501 T > G 位于第一内含子;g. 3844 T > A 位于第二外显子,密码子 GUA 变为 GAA,氨基酸由缬氨酸(Val)变为谷氨酸(Glu);g. 4297 C > G、g. 4355 C > G 位于第二内含子(图 1)。

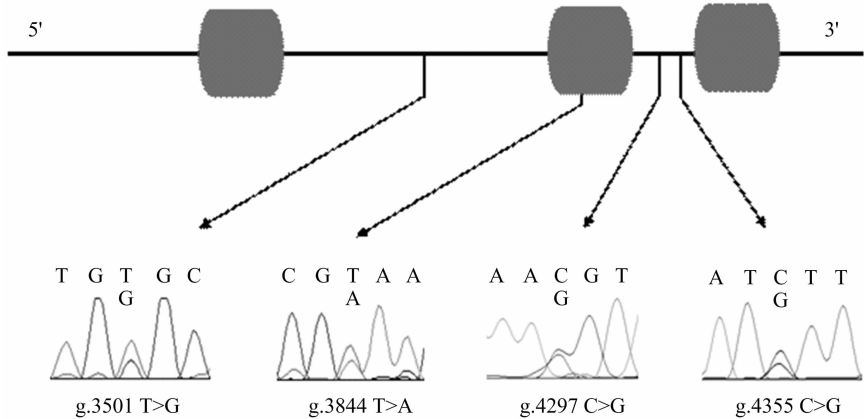


图 1 *MSTN* 基因 4 个 SNPs 测序峰图及所处位置

## 2.2 SNP 位点的关联分析

对斑点叉尾鲟 4 个家系 176 尾鱼的体质量和体长进行统计分析,数据以“平均值  $\pm$  标准误”表示。体质量、体长分别为  $(280.63 \pm 13.21)$  g、 $(31.26 \pm 0.56)$  cm。采用 R 软件将筛选得到的 4 个 SNP 位点与测量的斑点叉尾鲟体质量、体长进行单因素 ANOVA 分析,并结合均值多重比较分析得出,4 个 SNPs 中的 1 个(g. 4355 G > C)与斑点叉尾鲟体质量、体长呈显著性负相关(表 2)。在 SNP 位点 g. 4355 G > C,具有 GG 基因型个体的体质量、体长显著性低于 CC 型和 CG 型( $P < 0.05$ )。

表 2 斑点叉尾鲟 *MSTN* 基因 SNP g. 4355 G > C 位点不同基因型生长性状的关联分析

基因型	个体数 (尾)	基因型 频率	体质量 (g)	体长 (cm)
CC	101	0.57	$289.51 \pm 13.54a$	$31.73 \pm 0.47a$
CG	59	0.34	$286.56 \pm 19.74a$	$31.33 \pm 0.68a$
GG	16	0.09	$195.31 \pm 31.81b$	$28.03 \pm 1.40b$

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

## 3 结论与讨论

*MSTN* 基因具有多种重要功能,它在哺乳动物中的主要功能为调节胚胎发育过程中肌纤维的数量,以及抑制肌纤维的生长<sup>[1]</sup>。*MSTN* 基因多态性及其与生长性状的关联分析研究最早于哺乳动物中进行,绵羊、猪、中国肉牛等<sup>[7-11]</sup>均已发现突变位点与生长性状之间存在相关性。近年来,在鲤鱼、罗非鱼、黄颡鱼、圆斑星鲃、鲈鱼、鳊鱼等<sup>[3,12-18]</sup>重要的水产动物中也开展了相关研究。唐永凯等在吉富罗非鱼中筛选到 1 个与增质量显著相关的 SNP 位点<sup>[13]</sup>。朱媛媛等、陈校辉等先后对黄颡鱼 *MSTN* 基因进行研究,均发现了造成不同个体间生长性状显著性差异的 SNP 位点<sup>[14-15]</sup>。

本研究在斑点叉尾鲟 *MSTN* 基因中共筛选到 4 个 SNP 位点,其中 1 个 SNP 位点位于第二外显子,其余 3 个均位于内含子区域。将筛选到的 SNP 位点与生长性状进行关联分析,结果表明 SNP g. 4355 C > G 与生长性状显著相关。具有 GG 型个体的体质量、体长显著低于 CC 型和 CG 型,GG 型个体的平均体质量、平均体长分别比 4 个家系所有个体体质量、体长的平均值小 30%、10%。4 个家系中的个体以 CC 型和 CG 型为主,具有 GG 型的个体较少。综合推测该位点 GG 型属于隐性突变,由于该位点碱基突变造成 *MSTN* 基因的表达量升高,进而抑制了斑点叉尾鲟的生长。这种现象也存在于猪<sup>[9]</sup>、牛<sup>[11]</sup>、红鳍东方鲀<sup>[3]</sup>的研究中。

本研究获得的与生长性状显著关联的 SNP 位点位于内含子区域。尽管内含子不具有编码蛋白质的能力,但其发生单核苷酸突变能够显著影响基因的表达效率。已有研究表明,内含子的功能主要为转录调控,即在转录阶段对相应的基因进行调控进而影响生长性状<sup>[19]</sup>。越来越多的试验结果证明,内含子在调控 mRNA 剪切、转录、基因表达方面起着重要作用<sup>[20-21]</sup>,例如内含子长链非编码 RNA (intronic lncRNA) 发生单核苷酸突变将使其调控的转录本表达水平发生改变。然而,本研究中该 SNP 位点参与调控 *MSTN* 基因功能的具体机制有待进一步研究。

*MSTN* 基因 g. 4355 C > G 位点的多态性与斑点叉尾鲟的生长性状显著相关。在斑点叉尾鲟的育种过程中,可尝试淘汰该位点具有 CG 型和 GG 型的亲本或进行相应配组,从而避免出现小规格的后代。该位点可作为斑点叉尾鲟分子育种的候选分子标记,该位点的发现为斑点叉尾鲟分子标记辅助育种提供了重要依据。

## 参考文献:

- [1] McPherron A C, Lawler A M, Lee S J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- $\beta$  superfamily member[J]. Nature, 1997, 387(6628): 83-90.
- [2] Acosta J, Carpio Y, Borroto I, et al. Myostatin gene silenced by RNAi show a zebrafish giant phenotype[J]. Journal of Biotechnology, 2005, 119(4): 324-331.
- [3] Wang Y, Wang X L, Meng X Y, et al. Identification of two SNPs in myostatin (*MSTN*) gene of *Takifugu rubripes* and their association with growth traits[J]. Molecular and Cellular Probes, 2014, 28(4): 200-203.
- [4] Food and Agriculture Organization (FAO). FAO Yearbook - fishery and aquaculture statistics; summary tables [EB/OL]. [2015-11-20]. <ftp://ftp.fao.org/fi/stat/summary/default.htm>.
- [5] 农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴:2013[M]. 北京:中国农业出版社, 2013:31.
- [6] 栾生, 边文冀, 邓伟, 等. 斑点叉尾鲟基础群体生长和存活性状遗传参数估计[J]. 水产学报, 2012, 36(9): 1313-1321.
- [7] Sjakste T, Paramonova N, Grislis Z A, et al. Analysis of the Single-Nucleotide polymorphism in the 5'UTR and part of intron I of the sheep *MSTN* gene[J]. DNA and Cell Biology, 2011, 30(7): 433-444.
- [8] Stinckens A, Luyten T, Bijttebier J, et al. Characterization of the complete porcine *MSTN* gene and expression levels in pig breeds differing in muscularity[J]. Animal Genetics, 2008, 39(6): 586-596.
- [9] Klosowska D, Kuryl J, Elminowska W G, et al. An association between genotypes at the porcine loci *MSTN* (GDF8) and CAST and microstructural characteristics of m. longissimus lumborum; a preliminary study[J]. Archives of Animal Breeding, 2005, 48(1): 50-59.
- [10] Zhang R F, Chen H, Lei C Z, et al. Association between polymorphisms of *MSTN* and *MYF5* genes and growth traits in three Chinese cattle breeds[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2007, 20(12): 1798-1804.
- [11] Esmailzadeh A K, Bottema C, Sellick G, et al. Effects of the myostatin F94L substitution on beef traits[J]. Journal of Animal Science, 2008, 86(5): 1038-1046.
- [12] Sun Y H, Yu X M, Tong J O. Polymorphisms in myostatin gene and associations with growth traits in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(11): 14956-14961.
- [13] 唐永凯, 李建林, 俞菊华, 等. 吉富罗非鱼 *MSTN* 基因结构及其多态性与生长性状的相关性[J]. 中国水产科学, 2010(1): 44-51.
- [14] 朱媛媛, 梁宏伟, 李忠, 等. 黄颡鱼 *MSTN* 基因多态性及其与生长性状的相关性分析[J]. 遗传, 2012, 34(1): 72-78.
- [15] 陈校辉, 刘朋朋, 王明华, 等. 黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) *MSTN* 基因 SNP 位点与体重的相关性分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(6): 1566-1569.

李向阳, 汤 宏, 张国辉. 比较基因组分析斯氏假单胞菌遗传多样性及固氮基因岛进化机制[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(1): 33–38.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.010

# 比较基因组分析斯氏假单胞菌遗传多样性 及固氮基因岛进化机制

李向阳<sup>1,2</sup>, 汤 宏<sup>1</sup>, 张国辉<sup>1</sup>

(1. 凯里学院环境与生命科学学院, 贵州凯里 556011; 2. 复旦大学环境科学与工程系, 上海杨浦 200433)

**摘要:**对 5 株固氮与 11 株非固氮斯氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)基因组开展综合比较分析,从基因组水平上研究斯氏假单胞菌种内遗传多样性及其固氮基因岛进化机制。核心与元基因组分析发现,16 个斯氏假单胞菌拥有的独特基因数占元基因数的 46.37%;基于平均核苷酸相似度分析,这 16 个菌株被划分为 11 种不同的基因组变异型,表明斯氏假单胞菌基因组异质化程度高。固氮基因岛及进化树分析表明,5 株固氮菌属于 3 种不同基因组变异型,它们的固氮基因岛及其侧翼序列保守性好,而且固氮酶基因进化树与菌株谱系进化树呈现高度一致性。据此推测,斯氏假单胞菌祖先可能通过水平基因转移的方式获得固氮基因岛,从而转变为固氮菌,但是在后期进化过程中,绝大部分固氮菌株丢失了固氮基因岛。

**关键词:**斯氏假单胞菌;固氮基因岛;比较基因组;基因组变异型;多样性

**中图分类号:** S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)01-0033-06

斯氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)属  $\gamma$  变形菌亚门( $\gamma$ -Proteobacteria)假单胞菌属(*Pseudomonas*),是革兰氏阴性菌。它广泛分布于土壤、湖泊和海洋,甚至临床环境中<sup>[1-2]</sup>,是研究细菌反硝化作用机制的主要模式菌株之一,同时也是假单胞菌属中为数不多的具备生物固氮能力的菌种<sup>[3-4]</sup>。代谢功能多样性是斯氏假单胞菌的典型特征,这些代谢功能使得斯氏假单胞菌在农业生产和环境修复领域具有重要应用价值<sup>[3]</sup>。例如,斯氏假单胞菌的生物固氮和反硝化代谢作用广泛参与氮元素的地球化学循环;一些斯氏假单胞菌能够降解芳香族化合物(如萘、苯并蒽、喹唑)<sup>[5]</sup>并参与重(类)金属循环与转化<sup>[6]</sup>。此外,很多菌株具有自然转化(自然吸收外界 DNA)的能力,如自然转化菌株 *P. stutzeri* DSM

10701<sup>[7]</sup>、*P. stutzeri* 28a24<sup>[8]</sup>。

基于 16S rRNA 基因及多位点序列分析发现,斯氏假单胞菌在遗传水平上呈现高度异质性<sup>[9-10]</sup>。因为在分类学上暂时没有发现明确的表型来支持新种的划分,所以研究者暂时采用基因组变异型对这些斯氏假单胞菌进行分类<sup>[3]</sup>。目前斯氏假单胞菌被划分为多达 19 种不同的基因组变异型<sup>[3,11]</sup>,如该种的典型菌株 *P. stutzeri* ATCC 17588 和固氮菌株 *P. stutzeri* A1501 为基因组变异型 1 的菌株<sup>[12-13]</sup>; *P. stutzeri* ATCC 14405 为基因组变异型 2 的菌株<sup>[14]</sup>;固氮菌株 *P. stutzeri* NF13 为基因组变异型 19 的菌株<sup>[15]</sup>。

自 2008 年中国农业科学院首次完成联合固氮斯氏假单胞菌 A1501 基因组序列测定以来<sup>[13]</sup>,目前累计已对十几株分离于不同环境的斯氏假单胞菌完成了基因组序列的测定,其中包括 5 株固氮菌,分别是菌株 *P. stutzeri* A1501、*P. stutzeri* DSM4166、*P. stutzeri* BISMN1、*P. stutzeri* NF13、*P. stutzeri* KOS6<sup>[13,15-18]</sup>。对 *P. stutzeri* A1501 菌株的固氮基因岛分析显示,它由 49 个成簇分布的基因组成。通过与假单胞菌属其他菌株基因组序列比较并结合 GC 含量分析,推测菌株 A1501 的固氮基因岛可能通过水平基因转移的方式获得<sup>[13]</sup>。

虽然众多斯氏假单胞菌完成了基因组测序,但是目前还

收稿日期:2015-12-27

基金项目:国家自然科学基金(编号:21507012);中国博士后科学基金(编号:黔教合 KY 字[2015]395);贵州省教育厅自然科学基金项目[重点项目][编号:KY2015395];凯里学院博士专项基金(编号:BS201412)。

作者简介:李向阳(1984—),男,湖北监利人,博士,副教授,主要从事环境微生物学及比较基因组学研究。E-mail:lixiangyang1984@gmail.com。

- [16] Li H J, Fan J F, Liu S X, et al. Characterization of a myostatin gene (*MSTN1*) from spotted halibut (*Verasper variegatus*) and association between its promoter polymorphism and individual growth performance [J]. Comparative Biochemistry and Physiology B—Biochemistry & Molecular Biology, 2012, 161(4): 315–322.
- [17] 于凌云, 白俊杰, 樊佳佳, 等. 大口黑鲈肌肉生长抑制素基因单核苷酸多态性位点的筛选及其与生长性状关联性分析[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 845–851.
- [18] Liu L S, Yu X M, Tong J O. Molecular characterization of myostatin (*MSTN*) gene and association analysis with growth traits in the big-

head carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(9): 9211–9221.

- [19] Tokunishi S, Yamada R, Chang X, et al. An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis [J]. Nature Genetics, 2003, 35(4): 341–348.
- [20] Nott A, Meislin S H, Moore M J. A quantitative analysis of intron effects on mammalian gene expression [J]. RNA, 2003, 9(5): 607–617.
- [21] 咎林森, 张佳兰, 刘新武. 牛 *AGPAT6* 基因遗传特征与奶牛产奶性能相关性研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1498–1503.