

杨颖, 陆江, 李湘萍, 等. 中国南阳黄牛 *HDAC1* 基因 SNP 检测及与生长性状的相关性分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(16): 25–30.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.16.006

# 中国南阳黄牛 *HDAC1* 基因 SNP 检测及与生长性状的相关性分析

杨颖<sup>1,2</sup>, 陆江<sup>3</sup>, 李湘萍<sup>1</sup>, 余纳<sup>3</sup>, 唐核心<sup>3</sup>, 石德顺<sup>1</sup>, 吕祁峰<sup>2</sup>, 徐照学<sup>4</sup>

(1. 广西大学动物科学技术学院, 广西南宁 530004; 2. 上海交通大学附属上海市第九人民医院, 上海 200002;

3. 湖北医药学院麻醉学研究所及附属太和医院麻醉科, 湖北十堰 442000; 4. 河南省畜牧研究所, 河南郑州 476800)

**摘要:**采用 DNA 测序比对和 PCR-SSCP 分析技术, 以 15 头南阳黄牛为样本, 探讨 *HDAC1* 基因第 5 外显子、第 11 外显子、3'-UTR 序列的单核苷酸多态性以及南阳黄牛经济性状的关联性。结果显示, 南阳黄牛 *HDAC1* 基因纯合子 TT 型频率比例最小, 纯合子 CC 型频率比例最大; C 等位基因占多数。南阳黄牛 *HDAC1* 基因第 5 外显子没有多态性位点; 第 11 外显子在第 110 bp 处存在 A/G 突变位点, 为同义突变。南阳黄牛 *HDAC1* 基因 mRNA 3'-UTR 非翻译区存在 2 个突变: 199 bp 处的 T/C 多态性位点, 其中 TT 型基因型频率 > TG 型; 以及 49 bp 处的 A/C 多态性位点, 其中 AA 型基因型频率 > AC 型。南阳黄牛 *HDAC1* 基因第 11 外显子基因多态性位点与其生长性状关联分析显示: AG 和 AA 基因型群体中腰角宽、体长有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), GG 基因型比 AG 基因型群体在日增质量水平有显著提高 ( $P < 0.05$ ); 在腰角宽、体长、日增质量上加性效应及显性效应水平显著 ( $P < 0.05$ ); 其余性状均值在不同基因型群体中差异不显著。南阳黄牛 *HDAC1* 基因 mRNA 3'-UTR 非翻译区 T/C (199 bp) 处位点多态性与生长性状关联性分析发现, 各性状在不同基因型群体的均值均无显著差异; A/G (49 bp) 处位点多态性与其生长性状关联分析表明: AC 和 AA 基因型群体中在体高、尻长、十字部高和日增质量经济性状上差异显著 ( $P < 0.05$ ), 体长性状二者差异极显著 ( $P < 0.01$ )。研究结果证实了南阳黄牛经济性状与其 *HDAC1* 基因片段中的一些 SNP 位点差异或多态性有关, 这些 SNP 位点可以考虑为潜在的南阳黄牛分子育种目标位点。

**关键词:** 南阳黄牛; *HDAC1* 基因; 单核苷酸多态性; 生长性状

**中图分类号:** S813.1; S823.8<sup>+</sup>12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)16-0025-06

南阳黄牛为中国五大良种黄牛之一, 2006 年被列入国家畜禽遗传资源保护名录, 役肉兼用。肉牛的生长性状和屠宰性状是其最重要经济性状之一。而牛的胴体和肉质都受遗传因素影响, 并可以从 DNA 水平上加以选择、操作<sup>[1-2]</sup>。组蛋白去乙酰化在基因转录及信号转导、细胞增殖和细胞分化方面发挥重要作用<sup>[3-6]</sup>。组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 与基因的转录活动有关。研究表明, 不活跃的染色质呈去乙酰化状态, 而转录活跃区域核小体组蛋白高度乙酰化<sup>[3-6]</sup>。本试验主要探讨南阳黄牛 *HDAC1* 基因的区域位点多态性, 以及其与经济

性状的关联性, 以期南阳黄牛的遗传育种和改良提供参考, 为新品系的培育提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

河南南阳纯种黄牛血液样品 15 头份, 均来自南阳黄牛保种场。

### 1.2 引物设计

*HDAC1* 基因 Intron 4-Intron 5 区扩增片段引物:

上游引物: 5'-GGACTTTGTGACAGGCTTG-3', 下游引物: 5'-GGAGAGGGAAGTGGGAAC-3',  $T_m$ : 60 °C。

*HDAC1* 基因 Intron 10-Intron 11 区扩增片段引物:

上游引物: 5'-CCACACACCCCTAATTGAA-3', 下游引物: 5'-GCAAGTCAGAAGAGCCTACA-3',  $T_m$ : 57 °C。

*HDAC1* 基因 3'UTR 区扩增片段引物:

上游引物: 5'-GGGCACACATTACTTTTCTAGTA-3', 下游引物: 5'-TGTACCATTATTACAAAGATTC-3',  $T_m$ : 55 °C。

### 1.3 PCR 扩增产物处理及 DNA 序列比对

由北京艾德莱生物科技有限公司琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒完成纯化、回收, 回收后由宝生物公司进行 DNA 测序, 经过 Ebi 在线软件比对分析。

收稿日期: 2017-02-22

基金项目: 国家肉牛牦牛产业技术体系专项 (编号: CARS-38); 国家教育部 2016 年度第二批国家级大学生创新创业训练计划项目 (编号: 201610929005); 国家教育部 2012 年度第二批国家级大学生创新创业训练计划项目 (编号: 201210929004); 湖北医药学院自然科学基金 (编号: 2011QDZR-2); 湖北省十堰市科学技术研究与开发项目 (编号: 14Y13); 湖北医药学院 2015 年学科建设资助项目 (学科英才成长); 2017 年度湖北医药学院附属太和医院科学研究基金。

作者简介: 杨颖 (1983—), 女, 河南商丘人, 硕士, 实验师, 主要研究方向动物胚胎生物技术。E-mail: yangying\_1983@126.com。

通信作者: 徐照学, 研究员, 主要研究方向为胚胎生物工程, E-mail: xuzhaoxue11@163.com; 陆江, 博士, 讲师, 主要研究方向医学胚胎工程与干细胞, E-mail: luljiangjiang@163.com。

1.4 SSCP – PAGE

蛋白产物加入变性缓冲液后高温变性,10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,随后硝酸银染色。

1.6 统计方法

依据参考文献[1 – 2]所述方法利用 SAS 统计软件进行分析,具体模型: $Y=\mu+G+bX+e$ ,其中  $Y$  为性状表型值, $\mu$  为平均值, $G$  为基因型效应(包括加性效应和显性效应), $b$  为屠

宰体质量的回归系数, $X$  为屠宰体质量, $e$  为残差。

2 结果与分析

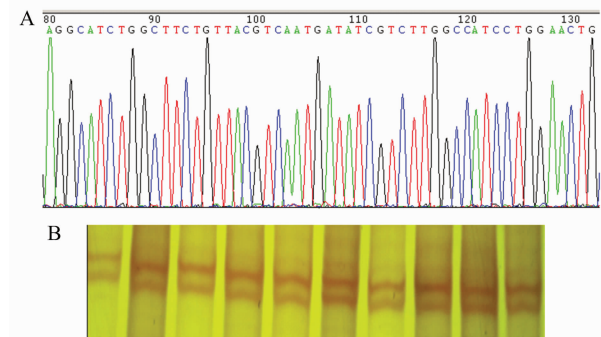
2.1 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 4 – Intron 5 片段位点多态性检测

通过测序比对分析,未发现 Intron 4 – Intron 5 片段存在位点多态性(表 1)。

表 1 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 4 – Intron 5 片段序列比对

样品号	碱基位置(bp)	测序序列结果比对
PIH1	1 ~ 60	G GACTTTGTGACAGGCTTGTGTTCTTTCTTCCGGTGCCAGCAAGTGCTGTGAAACTTAA
PIH3	1 ~ 60	G GACTTTGTGACAGGCTTGTGTTCTTTCTTCCGGTGCCAGCAAGTGCTGTGAAACTTAA
PIH2	1 ~ 60	G GACTTTGTGACAGGCTTGTGTTCTTTCTTCCGGTGCCAGCAAGTGCTGTGAAACTTAA
PIX22	1 ~ 60	G GACTTTGTGACAGGCTTGTGTTCTTTCTTCCGGTGCCAGCAAGTGCTGTGAAACTTAA
PIX45	61 ~ 120	G GACTTTGTGACAGGCTTGTGTTCTTTCTTCCGGTGCCAGCAAGTGCTGTGAAACTTAA
PIH1	61 ~ 120	T AAGCAGCAGACGGACATCGCTGTGAATTGGGCTGGGGGCTACACCATGCAAAGAAGTC
PIH3	61 ~ 120	T AAGCAGCAGACGGACATCGCTGTGAATTGGGCTGGGGGCTACACCATGCAAAGAAGTC
PIH2	61 ~ 120	T AAGCAGCAGACGGACATCGCTGTGAATTGGGCTGGGGGCTACACCATGCAAAGAAGTC
PIX22	61 ~ 120	T AAGCAGCAGACGGACATCGCTGTGAATTGGGCTGGGGGCTACACCATGCAAAGAAGTC
PIX45	61 ~ 120	T AAGCAGCAGACGGACATCGCTGTGAATTGGGCTGGGGGCTACACCATGCAAAGAAGTC
PIH1	121 ~ 180	CGAGGCATCTGTTTCTGTTACGTCAATGATATCGTCTTGGCCATCCTGGAAGTGCTAAAG
PIH3	121 ~ 180	CGAGGCATCTGTTTCTGTTACGTCAATGATATCGTCTTGGCCATCCTGGAAGTGCTAAAG
PIH2	121 ~ 180	CGAGGCATCTGTTTCTGTTACGTCAATGATATCGTCTTGGCCATCCTGGAAGTGCTAAAG
PIX22	121 ~ 180	CGAGGCATCTGTTTCTGTTACGTCAATGATATCGTCTTGGCCATCCTGGAAGTGCTAAAG
PIX45	121 ~ 180	CG AGGCATCTGTTTCTGTTACGTCAATGATATCGTCTTGGCCATCCTGGAAGTGCTAAAG
PIH1	181 ~ 242	T ATGCTGCCTGGCCTTGTCTCTTGGAGGAGCACCTTAGGCCAGGTTCCCACTTCCCTCTCC
PIH3	181 ~ 242	T ATGCTGCCTGGCCTTGTCTCTTGGAGGAGCACCTTAGGCCAGGTTCCCACTTCCCTCTCC
PIH2	181 ~ 242	T ATGCTGCCTGGCCTTGTCTCTTGGAGGAGCACCTTAGGCCAGGTTCCCACTTCCCTCTCC
PIX22	181 ~ 242	T ATGCTGCCTGGCCTTGTCTCTTGGAGGAGCACCTTAGGCCAGGTTCCCACTTCCCTCTCC
PIX45	181 ~ 242	T ATGCTGCCTGGCCTTGTCTCTTGGAGGAGCACCTTAGGCCAGGTTCCCACTTCCCTCTCC

南阳黄牛混合 DNA *HDAC1* 基因 Intron 4 – Intron 5 片段 PCR – SSCP 检测结果显示,未发现复合多条带,未出现多态性(图 1 – B)。结合 DNA – PCR 产物测序和 PCR – SSCP 方法,在已测南阳黄牛群体中,*HDAC1* 基因在 Intron 4 – Intron 5 片段无多态性位点。



根据测序图谱判断,多态性位点基因型分别为:GG 纯合子、AA 纯合子和 AG 杂合子 3 种基因型(图 2 – B 至图 2 – D)。

2.3 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3’ – UTR 非翻译区多态性位点检测

南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3’非翻译区扩增产物纯化回收后测序,经过 Ebi 在线软件比对分析结果。由表 3 可知,在南阳黄牛目标群体中 *HDAC1* 基因 3’ – UTR 非翻译区序列有 2 个突变位点。结合测序图谱,依自己测序顺序的第 49 bp 处位点基因型分别存在 A/C 碱基型突变,基因型分别为 AA 纯合子、AC 杂合子(图 3 – B、图 3 – C);第 199 bp 处位点存在 T/C 碱基多态性,基因型为 TT 纯合子和 TC 杂合子(图 3 – D、图 3 – E)。

2.4 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区和 3’ – UTR 非翻译区基因型频率分布

统计分析,南阳黄牛 *HDAC1* 基因的 Intron 10 – Intron 11 区和 3’ – UTR 非翻译区的碱基多态性位点基因及基因型频率。由表 4 可知,Intron 10 – Intron 11 区 110 bp 处的 A/G 多态性位点基因型为 GG 的个体占 53%,基因型为 AG 的个体占 33%,纯合子 AA 基因型占比最小,仅占 14%。其中 G 等位基因核苷酸占总碱基数的 70%,A 等位基因核苷酸占总碱基数的 30%。

由表 5 可知,在 3’ – UTR 非翻译区的 2 个 SNP 位点中,在 49 bp 位点处的 A/C 突变,AA 基因型频率(67%)远大于

图 1 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 4 – Intron 5 片段测序部分图示(A)及 PCR – SSCP 电泳结果部分图示(B)

2.2 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 片段的位点多态性检测

南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 片段 PCR 扩增产物纯化回收测序,经 Ebi 在线软件比对分析得出,*HDAC1* 基因在 Intron 10 – Intron 11 片段依自己测序顺序的第 110 bp 处有 1 个多态性位点,为 A/G 突变(表 2)。

表 2 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 片段序列比对

样品号	碱基位置 (bp)	测序序列结果比对
P2H1	1 ~ 60	CCACACACCCCTAATTGAACATTTTCAGGCTCCGGTTGGTCCCTGACCAGAGCCCAGCCAA
P2H4	1 ~ 60	CCACACACCCCTAATTGAACATTTTCAGGCTCCGGTTGGTCCCTGACCAGAGCCCAGCCAA
P2H3	1 ~ 60	CCACACACCCCTAATTGAACATTTTCAGGCTCCGGTTGGTCCCTGACCAGAGCCCAGCCAA
P2H2	1 ~ 60	CCACACACCCCTAATTGAACATTTTCAGGCTCCGGTTGGTCCCTGACCAGAGCCCAGCCAA
P2H1	61 ~ 120	CCTCTCTACCATTGGCCATAGACAGCGGCTGTTTCGAGAACCTGAGAATGCTGCCCCACGC
P2H4	61 ~ 120	CCTCTCTACCATTGGCCATAGACAGCGGCTGTTTCGAGAACCTGAGAATGCTGCCCCACGC
P2H3	61 ~ 120	CCTCTCTACCATTGGCCATAGACAGCGGCTGTTTCGAGAACCTAAGAATGCTGCCCCACGC
P2H2	61 ~ 120	CCTCTCTACCATTGGCCATAGACAGCGGCTGTTTCGAGAACCTAAGAATGCTGCCCCACGC
P2H1	121 ~ 180	G CCTGGGCTCCAGATGCAGGCCATCCCCGAGGACGCCATTCCAGAGGAGACTGCTGATGA
P2H4	121 ~ 180	G CCTGGGCTCCAGATGCAGGCCATCCCCGAGGACGCCATTCCAGAGGAGACTGCTGATGA
P2H3	121 ~ 180	G CCTGGGCTCCAGATGCAGGCCATCCCCGAGGACGCCATTCCAGAGGAGACTGCTGATGA
P2H2	121 ~ 180	G CCTGGGCTCCAGATGCAGGCCATCCCCGAGGACGCCATTCCAGAGGAGACTGCTGATGA
P2H1	181 ~ 240	GGATGAAGAAGACCCTGACAAGCGCATCTCAAGTAAGACCCAAACCTCGGGGGCCTCTGC
P2H4	181 ~ 240	GGATGAAGAAGACCCTGACAAGCGCATCTCAAGTAAGACCCAAACCTCGGGGGCCTCTGC
P2H3	181 ~ 240	GGATGAAGAAGACCCTGACAAGCGCATCTCAAGTAAGACCCAAACCTCGGGGGCCTCTGC
P2H2	181 ~ 240	GGATGAAGAAGACCCTGACAAGCGCATCTCAAGTAAGACCCAAACCTCGGGGGCCTCTGC
P2H1	241 ~ 270	CTCCCTACTCTGTAGGCTCTTCTGACTTGC
P2H4	241 ~ 270	CTCCCTACTCTGTAGGCTCTTCTGACTTGC
P2H3	241 ~ 270	CTCCCTACTCTGTAGGCTCTTCTGACTTGC
P2H2	241 ~ 270	CTCCCTACTCTGTAGGCTCTTCTGACTTGC

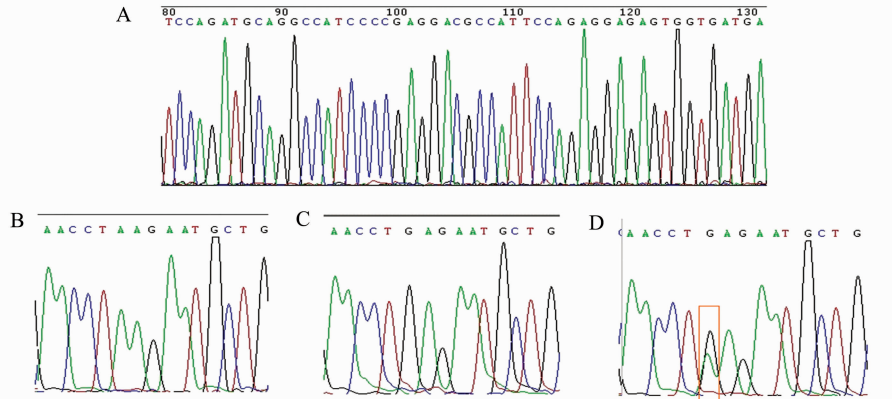


图2 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区部分测序峰图图谱(A)及第 110 bp 处 A/G 核苷酸多态性位点基因型图谱(B: GG 纯合子; C: AA 纯合子; D: AG 杂合子)

AC 基因型(33%),而 CC 基因型的频率为 0%;在核苷酸总百分比上,84% 为 A 核苷等位基因,C 核苷等位基因仅占 16%。

由表 6 可知,在 3' – UTR 非翻译区第 199 bp 位点处的 T/C 多态性突变中,未发现 CC 基因型,TT 基因型和 TC 基因型分别占到了 58% 和 42%;在总核苷酸数量的比例上,T 核苷等位基因占到了 79%,C 核苷等位基因仅占到了 21%。

2.5 南阳黄牛 *HDAC1* 基因多态位点与经济性状关联分析

2.5.1 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区 A/G (110 bp) SNP 突变位点与经济性状关联性分析 应用 SAS 软件 reg 和 glm 程序,进行南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区不同突变位点基因型与包括胸围、坐骨端宽、体高、体长等表现型性状进行遗传效应估计和关联性分析。结果表明,AG 基因型的南阳黄牛,腰角宽 (cm) 和体长 (cm) 明显高于 AA 基因型 ( $P < 0.05$ )。GG 基因型的南阳黄牛,日增质量 (kg) 明显高于 AG 基因型 ( $P < 0.05$ )。其余生长性状在不同基因型个体中比较无显著差异。A 加性效应和 A/G 显

性效应在体长 (cm)、腰角宽 (cm)、日增质量 (kg) 生长性状上存在差异显著 (表 7)。上述加性和显性效应结果提示此 SNP 突变位点可为分子育种培育优秀品种提供一定的参考价值。

2.5.2 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3' – UTR 区 A/C (49bp) SNP 突变位点与经济性状关联性分析 分析发现,体长性状 AC 基因型群体比 AA 基因型群体明显升高,二者差异极显著 ( $P < 0.01$ )。体高 (cm)、尻长 (cm)、十字部高 (cm) 和日增质量 (kg),AC 基因型群体比 AA 基因型群体升高明显,差异达显著水平 ( $P < 0.05$ ),但它们均没能达到极显著水平。AC 基因型相较于 AA 基因型群体,在经济性状方面有如此多的显著优异特性,提示此 SNP 多态性位点可为分子育种提供参考 (表 8)。

2.5.3 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3' – UTR 区 T/C (199 bp) SNP 突变位点与经济性状关联性分析 由表 9 可知,与生长性状关联分析发现不同基因型个体在各性状中均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 3 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′-UTR 非翻译区序列比对

样品号	碱基位置(bp)	测序序列结果比对
P3H2	1 ~ 60	G GGCACACATTACTTTTCTAGTAGCTGCCTTGCAACCCGTCCTCCCAAACCTCTTGAACC
P3H6	1 ~ 60	G GGCACACATTACTTTTCTAGTAGCTGCCTTGCAACCCGTCCTCCCAAACCTCTTGAACC
P3H5	1 ~ 60	G GGCACACATTACTTTTCTAGTAGCTGCCTTGCAACCCGTCCTCCCAAACCTCTTGAACC
P3H8	1 ~ 60	G GGCACACATTACTTTTCTAGTAGCTGCCTTGCAACCCGTCCTCCCAAACCTCTTGAACC
P3H4	1 ~ 60	G GGCACACATTACTTTTCTAGTAGCTGCCTTGCAACCCGTCCTCCCAAACCTCTTGAACC
P3H7	1 ~ 60	G GGCACACATTACTTTTCTAGTAGCTGCCTTGCAACCCGTCCTCCCAAACCTCTTGAACC
P3H2	61 ~ 120	C TAATGGGTACTGGGTAAAAGGGATCCACTTAAGCAGCCATAGGACAAAAATCTTGAAGTG
P3H6	61 ~ 120	C TAATGGGTACTGGGTAAAAGGGATCCACTTAAGCAGCCATAGGACAAAAATCTTGAAGTG
P3H5	61 ~ 120	C TAATGGGTACTGGGTAAAAGGGATCCACTTAAGCAGCCATAGGACAAAAATCTTGAAGTG
P3H8	61 ~ 120	C TAATGGGTACTGGGTAAAAGGGATCCACTTAAGCAGCCATAGGACAAAAATCTTGAAGTG
P3H4	61 ~ 120	C TAATGGGTACTGGGTAAAAGGGATCCACTTAAGCAGCCATAGGACAAAAATCTTGAAGTG
P3H7	61 ~ 120	C TAATGGGTACTGGGTAAAAGGGATCCACTTAAGCAGCCATAGGACAAAAATCTTGAAGTG
P3H2	121 ~ 180	CCTGCTTCATAGCTTTGAAAAGGTGCCCTTGCTGAGCATTGAGAAGGGGTGGCTGGGTC
P3H6	121 ~ 180	CCTGCTTCATAGCTTTGAAAAGGTGCCCTTGCTGAGCATTGAGAAGGGGTGGCTGGGTC
P3H5	121 ~ 180	CCTGCTTCATAGCTTTGAAAAGGTGCCCTTGCTGAGCATTGAGAAGGGGTGGCTGGGTC
P3H8	121 ~ 180	CCTGCTTCATAGCTTTGAAAAGGTGCCCTTGCTGAGCATTGAGAAGGGGTGGCTGGGTC
P3H4	121 ~ 180	CCTGCTTCATAGCTTTGAAAAGGTGCCCTTGCTGAGCATTGAGAAGGGGTGGCTGGGTC
P3H7	121 ~ 180	CCTGCTTCATAGCTTTGAAAAGGTGCCCTTGCTGAGCATTGAGAAGGGGTGGCTGGGTC
P3H2	181 ~ 240	T TCAGGGACTCCCTGTTGTGTTTAGGCTCTTAAGTAACATCAGCCATTTTTAGATTGGT
P3H6	181 ~ 240	T TCAGGGACTCCCTGTTGTGTTTAGGCTCTTAAGTAACATCAGCCATTTTTAGATTGGT
P3H5	181 ~ 240	T TCAGGGACTCCCTGTTGTGTTTAGGCTCTTAAGTAACATCAGCCATTTTTAGATTGGT
P3H8	181 ~ 240	T TCAGGGACTCCCTGTTGTGTTTAGGCTCTTAAGTAACATCAGCCATTTTTAGATTGGT
P3H4	181 ~ 240	T TCAGGGACTCCCTGTTGTGTTTAGGCTCTTAAGTAACATCAGCCATTTTTAGATTGGT
P3H7	181 ~ 240	T TCAGGGACTCCCTGTTGTGTTTAGGCTCTTAAGTAACATCAGCCATTTTTAGATTGGT
P3H2	241 ~ 300	TCTGTTCTCATGCCTGCCCTCTCTGTCTTTCCCCAGTTCTGCAGGTGAAGATTGGTA
P3H6	241 ~ 300	TCTGTTCTCATGCCTGCCCTCTCTGTCTTTCCCCAGTTCTGCAGGTGAAGATTGGTA
P3H5	241 ~ 300	TCTGTTCTCATGCCTGCCCTCTCTGTCTTTCCCCAGTTCTGCAGGTGAAGATTGGTA
P3H8	241 ~ 300	TCTGTTCTCATGCCTGCCCTCTCTGTCTTTCCCCAGTTCTGCAGGTGAAGATTGGTA
P3H4	241 ~ 300	TCTGTTCTCATGCCTGCCCTCTCTGTCTTTCCCCAGTTCTGCAGGTGAAGATTGGTA
P3H7	241 ~ 300	TCTGTTCTCATGCCTGCCCTCTCTGTCTTTCCCCAGTTCTGCAGGTGAAGATTGGTA
P3H2	301 ~ 360	GTCTAGTTTCCATTTTGAGATACTATATTTCATTTTGTGAGAATCTTTGTAATAAAATG
P3H6	301 ~ 360	GTCTAGTTTCCATTTTGAGATACTATATTTCATTTTGTGAGAATCTTTGTAATAAAATG
P3H5	301 ~ 360	GTCTAGTTTCCATTTTGAGATACTATATTTCATTTTGTGAGAATCTTTGTAATAAAATG
P3H8	301 ~ 360	GTCTAGTTTCCATTTTGAGATACTATATTTCATTTTGTGAGAATCTTTGTAATAAAATG
P3H4	301 ~ 360	GTCTAGTTTCCATTTTGAGATACTATATTTCATTTTGTGAGAATCTTTGTAATAAAATG
P3H7	301 ~ 360	GTCTAGTTTCCATTTTGAGATACTATATTTCATTTTGTGAGAATCTTTGTAATAAAATG
P3H2	361 ~ 365	GTACA
P3H6	361 ~ 365	GTACA
P3H5	361 ~ 365	GTACA
P3H8	361 ~ 365	GTACA
P3H4	361 ~ 365	GTACA
P3H7	361 ~ 365	GTACA

3 结论与讨论

基因加性效应又称为“育种值”,是等位基因的累加效应,上下代可以固定遗传。本研究中南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区 A/G (110 bp) SNP 突变位点出现 3 种基因型,杂合子 AG 和纯合子 AA、纯合子 GG。结果表明,AG 基因型的南阳黄牛在腰角宽 (cm) 和体长 (cm) 显著高于 AA 基因型 ( $P < 0.05$ )。GG 基因型的南阳黄牛日增质量 (kg) 显著高于 AG 基因型 ( $P < 0.05$ )。其余生长性状在不同基因型个体中比较无显著差异。A 加性效应正值说明纯合型 AA 比 GG 有增加性状值的趋势,负值则反之。若加性效应达到显

著水平 ( $P < 0.05$ ),表示其可信度  $> 95\%$ ,育种值高。A 加性效应和 A/G 显性效应在体长 (cm)、腰角宽 (cm)、日增质量 (kg) 生长性状上存在差异显著<sup>[1-2]</sup>。显性效应是基因位点内等位基因之间的互作效应,能遗传但不能固定,是主要产生杂种优势的部分<sup>[1-2]</sup>。本研究中南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区 A/G (110 bp) SNP 突变位点 A/G 显性效应在体长 (cm)、腰角宽 (cm)、日增质量 (kg) 生长性状上存在差异显著。上述加性效应和显性效应结果提示,此南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区 A/G (110 bp) SNP 突变位点可能为分子育种培育优秀品种提供一定的参考价值<sup>[7-10]</sup>。

本试验在南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′ – UTR 区发现了 2 个

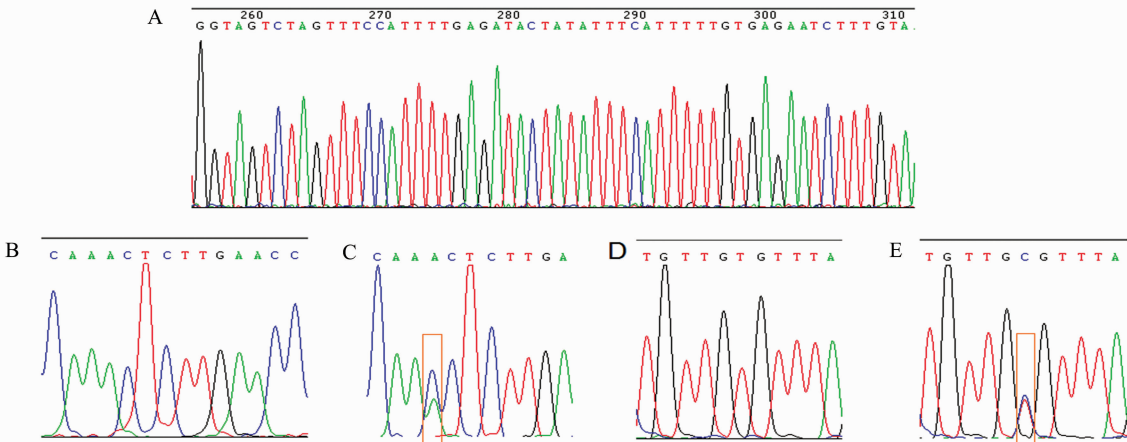


图3 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′ -UTR 非翻译区测序部分峰图图谱 (A) ; 及第 49 bp 处 A/C 核苷酸多态性基因型部分图谱 (B: AA 纯合子; C: AC 杂合子) ; 第199 bp 位点处 T/C 核苷酸多态性基因型部分图谱 (D: TT 纯合子; E: TC 杂合子)

表 4 南阳黄牛 Intron 10 – Intron 11 区 A/G (110 bp) 多态性位点基因型频率和等位基因频率分布

样品数 (头)	A/G 等位基因频率		A/G 基因型数量(头)及频率		
	G	A	GG	AG	AA
15	0.70	0.30	8(0.53)	5(0.33)	2(0.14)

表 5 南阳黄牛 3′ -UTR 非翻译区 A/C (49 bp) 突变位点基因型频率和等位基因频率分布

样品数 (头)	A/C 等位基因频率		A/G 基因型数量(头)及频率		
	A	C	AA	AC	CC
12	0.84	0.16	8(0.67)	4(0.33)	0(0.00)

表 6 南阳黄牛 3′ -UTR 非翻译区 T/C (199 bp) 突变位点基因型频率和等位基因频率分布表

样品数 (头)	T/C 等位基因型频率(%)		T/C 基因型数量(头)频率(%)		
	T	C	TT	TC	CC
12	79	21	7(58)	5(42)	0(0)

突变位点,分别为 A/C(49 bp)SNP 和 T/C(199 bp)SNP 突变位点<sup>[1,11-15]</sup>。应用 SAS 软件分析了南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′ -UTR 区 A/C(49 bp)SNP 和 T/C(199 bp)SNP 2 个突变位点与腰角宽、尻长、十字部高、日增质量、体质量、体长、体高、

表 7 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 Intron 10 – Intron 11 区 A/G (110 bp) SNP 突变位点与经济性状关联性分析结果

性状	基因型			基因效应	
	GG 基因型 (基因型频率:53%)	AG 基因型 (基因型频率:33%)	AA 基因型 (基因型频率:14%)	加性效应	显性效应
体长(cm)	155.95 ± 2.51	160.77 ± 3.17a	150.28 ± 5.04b	-2.83 ± 2.83 *	3.83 ± 2.11 *
体高(cm)	133.39 ± 1.83	133.77 ± 2.31	129.52 ± 3.67	-1.94 ± 2.06	1.156 ± 1.54
胸围(cm)	189.69 ± 2.57	187.18 ± 3.26	186.29 ± 5.14	-1.72 ± 2.89	-0.41 ± 2.16
腰角宽(cm)	48.42 ± 1.75	52.24 ± 2.21a	42.23 ± 3.51b	-3.09 ± 1.97 *	3.46 ± 1.47 *
坐骨端宽(cm)	30.22 ± 0.61	30.71 ± 0.77	30.09 ± 1.22	-0.07 ± 0.68	0.28 ± 0.51
尻长(cm)	45.54 ± 1.48	48.35 ± 1.86	42.46 ± 2.96	-1.54 ± 1.66	2.17 ± 1.24
十字部高(cm)	138.50 ± 2.07	139.18 ± 2.61	135.56 ± 4.15	-1.47 ± 2.33	1.08 ± 1.74
管围(cm)	19.73 ± 0.41	19.92 ± 0.51	19.55 ± 0.81	-0.09 ± 0.46	0.14 ± 0.34
日增质量(kg)	5.45 ± 0.43a	4.39 ± 0.54b	4.86 ± 0.85	-0.29 ± 0.48 *	-0.38 ± 0.36 *

注:估计值均为最小二乘均值 ± 标准误。在同一比较组内,字母不同表示二者之间差异显著;其中小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),大写字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。在基因效应比较中,加性效应正值表示 A 等位基因升高性状表型值;加性效应负值表示 A 等位基因降低性状表型值;“\*”表示  $P < 0.05$ ,效应显著。下表同。

胸围、坐骨端宽、管围等生长性状的关联评估分析发现,南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′ -UTR 区 A/C(49 bp)SNP 突变位点对南阳黄牛体长性状产生极显著影响,即 AC 基因型群体比较于 AA 基因型群体,体长增加极显著 ( $P < 0.01$ )。在体高(cm)、尻长(cm)、十字部高(cm)和日增质量(kg)方面,AC 基因型比 AA 基因型升高亦明显,差异达显著水平 ( $P < 0.05$ ),但没能达极显著水平。AC 基因型相较于 AA 基因型群体,在经济性状方面有如此多的显著优异特性,提示此 SNP 多态性位点

可为分子育种提供重要参考,可作为提高经济性状的优良育种目标基因选择<sup>[1,16-20]</sup>。

南阳黄牛 *HDAC1* 基因 mRNA 3′ -UTR 非翻译区 T/C (199 bp)SNP 位点与生长性状关联性分析发现,各性状在不同基因型群体的均值均无显著差异。因此,本研究提示此 SNP 多态性位点不可成为分子育种的理想基因型标记选择。

单核苷酸多态性(SNP)可能直接影响表达水平或蛋白质结构变化<sup>[7-10,16-20]</sup>。本研究在南阳黄牛 *HDAC1* 基因

表 8 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′-UTR 区 A/C(49 bp) SNP 突变位点与经济性状关联性分析

性状	基因型	
	AA 基因型( 基因型频率:67% )	AC 基因型( 基因型频率:33% )
体长( cm )	154. 45 ± 1. 92A	167. 10 ± 2. 95B
体高( cm )	131. 58 ± 1. 43a	138. 60 ± 2. 19b
胸围( cm )	191. 21 ± 2. 64	188. 84 ± 4. 04
腰角宽( cm )	49. 38 ± 1. 98	51. 99 ± 3. 04
坐骨端宽( cm )	30. 46 ± 0. 63	31. 58 ± 0. 97
尻长( cm )	44. 74 ± 1. 32a	49. 76 ± 2. 02b
十字部高( cm )	136. 50 ± 1. 46a	144. 25 ± 2. 24b
管围( cm )	19. 78 ± 0. 32	20. 36 ± 0. 50
日增质量( kg )	4. 87 ± 0. 54a	5. 77 ± 0. 83b

注:CC 基因型频率为 0%。

表 9 南阳黄牛 *HDAC1* 基因 3′-UTR 区 T/C(199 bp) SNP 突变位点与经济性状关联性分析

性状	基因型	
	CT 基因型( 基因型频率:42% )	TT 基因型( 基因型频率:58% )
体长( cm )	163. 04 ± 2. 81	155. 54 ± 2. 35
体高( cm )	136. 10 ± 1. 98	132. 36 ± 1. 66
胸围( cm )	189. 77 ± 3. 15	190. 88 ± 2. 64
腰角宽( cm )	51. 07 ± 2. 38	49. 66 ± 1. 99
坐骨端宽( cm )	30. 90 ± 0. 78	30. 78 ± 0. 65
尻长( cm )	47. 89 ± 1. 74	45. 36 ± 1. 46
十字部高( cm )	141. 29 ± 2. 11	137. 51 ± 1. 76
管围( cm )	20. 03 ± 0. 40	19. 91 ± 0. 33
日增质量( kg )	5. 38 ± 0. 66	5. 01 ± 0. 55

注:CC 基因型频率为 0%。

Intron 4 - Intron 5 区 SNP 位点多态性的检测中,使用 PCR - SSCP 的方法分析是否存在多态性,以及联合 PCR 产物直接测序方法同时使用,可以尽量避免假阴性结果。

参考文献:

[1] Barendse W, Bunch R J, Thomas M B, et al. A splice site single nucleotide polymorphism of the fatty acid binding protein 4 gene appears to be associated with intramuscular fat deposition in longissimus muscle in Australian cattle[J]. Animal Genetics,2009, 40(5):770-773.

[2] Lariepe A, Mangin B, Jasson S, et al. The genetic basis of heterosis: multiparental quantitative trait loci mapping reveals contrasted levels of apparent overdominance among traits of agronomical interest in maize (*Zea mays* L.)[J]. Genetics,2012,190(2):795-835.

[3] Ma P, Schultz R M. Histone deacetylase 1(HDAC1) regulates histone acetylation, development, and gene expression in preimplantation mouse embryos[J]. Developmental Biology,2008,319(1):110-120.

[4] Shen Q, Yao Q H, Sun J, et al. Downregulation of histone deacetylase 1 by microRNA-520h contributes to the chemotherapeutic effect of doxorubicin[J]. FEBS Letters,2014,588(1):184-191.

[5] Nohata N, Hanazawa T, Kinoshita T, et al. Tumour - suppressive mi184croRNA-874 contributes to cell proliferation through targeting of histone deacetylase 1 in head and neck squamous cell carcinoma

[J]. British Journal of Cancer,2013,108(8):1648-1658.

[6] Wang A G, Kim S U, Lee S H, et al. Histone deacetylase 1 contributes to cell cycle and apoptosis [J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin,2005,28(10):1966-1970.

[7] Hackett C A M K, Bryan G J. Linkage analysis and QTL mapping using SNP dosage data in a tetraploid potato mapping population[J]. PLoS One,2013,8(5):e63939.

[8] Xu Z, Taylor J A. SNPinfo: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies[J]. Nucleic Acids Research,2009,37:W600-W605.

[9] Pan C Y, Lan X Y, Chen H, et al. A *Taq* I PCR-RFLP detecting a novel SNP in exon 2 of the bovine *POU1F1* gene[J]. Biochemical Genetics,2008,46(7/8):424-432.

[10] Grimmer M K, Trybush S, Hanley S, et al. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to Beet necrotic yellow vein virus[J]. Theoretical and Applied Genetics,2007,114(7):1151-1160.

[11] Morcillo - Suarez C, Alegre J, Sangros R A, et al. SNP analysis to results (SNPator): a web - based environment oriented to statistical genomics analyses upon SNP data [J]. Bioinformatics, 2008, 24(14):1643-1644.

[12] Niederstatter H, Coble M D, Grubwieser P, et al. Characterization of mtDNA SNP typing and mixture ratio assessment with simultaneous real - time PCR quantification of both allelic states [J]. International Journal of Legal Medicine,2006,120(1):18-23.

[13] Divne A M, Allen M. A DNA microarray system for forensic SNP analysis [J]. Forensic Science International, 2005, 154(2/3):111-121.

[14] Pampfer S, Fan W, Schubart U K, et al. Differential mRNA expression of the phosphoprotein p19/SCG10 gene family in mouse preimplantation embryos, uterus, and placenta [J]. Reproduction Fertility and Development,1992,4(2):205-211.

[15] Kadowaki T K H, Taylor S I. A nonsense mutation causing decreased levels of insulin receptor mRNA: detection by a simplified technique for direct sequencing of genomic DNA amplified by the polymerase chain reaction[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA,1990,87(2):658-662.

[16] Santana J, Eler J P, Bignardi A B, et al. Multi - trait linear reaction norm model to describe the pattern of phenotypic expression of some economic traits in beef cattle across a range of environments [J]. Journal of Applied Genetics,2015,56(2):219-229.

[17] Ramayo - Caldas Y, Fortes M, Hudson N J, et al. A marker - derived gene network reveals the regulatory role of PPARGC1A, HNF4G, and FOXP3 in intramuscular fat deposition of beef cattle [J]. Journal of Animal Science,2014,92(7):2832-2845.

[18] Nalaila S M, Stothard P, Moore S S, et al. Whole - genome QTL scan for ultrasound and carcass merit traits in beef cattle using Bayesian shrinkage method [J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2012,129(2):107-119.

[19] Hou G Y, Yuan Z R, Zhou H L, et al. Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle[J]. Molecular Biology Reports,2011,38(7):4705-4708.

[20] Gan Q F, Zhang L P, Li J Y, et al. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle[J]. Journal of Applied Genetics,2008,49(3):251-255.