

徐荣甲, 陈蓉, 杜有家, 等. 不同月龄云上黑山羊体重与肌内 CNTD1 基因表达的相关性 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (10): 1-5.

Xu R J, Chen R, Du Y J, et al. Correlation between body weight and intramuscular CNTD1 gene expression in Yunshang Black goats at different months of age [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (10): 1-5.

不同月龄云上黑山羊体重与肌内 CNTD1 基因表达的相关性

徐荣甲¹, 陈蓉¹, 杜有家¹, 杨红远^{2*}, 王绍卿^{3*}

(1. 云南农业大学动物科学技术学院, 云南 昆明 650201;

2. 云南省畜牧兽医科学院, 云南 昆明 650224; 3. 云南农业大学动物医学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 旨在探索云上黑山羊肌肉中细胞周期相关蛋白 CNTD1 基因含量与其生长发育的相关性, 为云上黑山羊的进一步选育工作提供基础研究资料。本研究以云上黑山羊为研究对象, 分别选取 4、5、8、9、18、19 月龄的公羔各 5 只, 采用活体采样方式获取股二头肌组织样本, 并运用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术, 系统检测不同月龄公羊肌肉组织中 CNTD1 基因的相对表达量。结果: CNTD1 基因在各月龄公羊肌肉中的表达量存在明显差异, 该基因表达量由高到低依次为: 18 月龄>19 月龄>8 月龄>9 月龄>4 月龄>5 月龄, 整体呈现出随生长进程逐步上升的变化趋势; 将各月龄云上黑山羊的体重数据与对应 CNTD1 基因表达量进行相关性分析, 结果显示二者的相关系数 r 为 0.853 2, 且显著性检验 P 值为 0.030 8 ($P<0.05$), 达到统计学显著水平。综上, CNTD1 基因的表达量与云上黑山羊的体重增长水平之间存在显著正相关关系, 该研究结果可推测 CNTD1 基因的月龄表达差异, 为云上黑山羊分子标记辅助选育工作提供潜在的理论参考, 亦有望为后续选育方案的优化及品种生产性能的提升奠定研究基础。

关键词: 月龄; 云上黑山羊; CNTD1; 基因表达

中图分类号: S827

文献标志码: A

文章编号: 0529-5130(2026)10-0001-05

Correlation between body weight and intramuscular CNTD1 gene expression in Yunshang Black goats at different months of age

XU Rongjia¹, CHEN Rong¹, DU Youjia¹, YANG Hongyuan^{2*}, WANG Shaoqing^{3*}

(1. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Yunnan Academy of Animal Husbandry and Veterinary Sciences, Kunming 650224, China;

3. College of Animal Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: This study aimed to explore the correlation between the expression level of the CNTD1 gene in the muscle and the growth and development of Yunshang Black goats, so as to provide basic research data for subsequent breeding of this breed. A total of 30 male Yunshang Black goats were selected, including 5 goats in each of 6 age groups (4, 5, 8, 9, 18, and 19 months old). Biceps femoris tissue samples were obtained by *in vivo* sampling, and the relative expression level of the CNTD1 gene in the muscle tissue of the rams at different months of age was systematically detected using quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The qPCR results showed that there were significant differences in the expression level of the CNTD1 gene in the muscle of the rams at different months of age. The order of expression levels from high to low were: 18 months old>19 months old > 8 months old > 9 months old > 4 months old > 5 months old; which showed an overall increasing trend with the growth process. Further correlation analysis between the body weight data of the Yunshang Black goats at each month of age and the corresponding CNTD1 gene expression level revealed a correlation coefficient (r) of 0.853 2 and a significance test P -value of 0.030 8 ($P<0.05$), reaching a statistically significant level. In conclusion, there is a significant positive correlation between the expression level of the CNTD1 gene and the body weight gain of Yunshang Black goats. The results of the present study suggested that the age-related expression difference of the CNTD1 gene might provide a potential theoretical reference for marker-assisted selection of Yunshang Black

收稿日期: 2025-11-24; 修回日期: 2026-07-31

基金项目: 云南省科技人才和平台计划项目 (202205AD160004); 云财教〔2025〕12 号施甸县农民院士科技服务站项目 (A2025008); 云南省现代农业肉羊产业技术体系育种岗位项目 (20161105560368); 云南省重大科技专项计划项目 (202602AE090048); 省科技人才和平台计划项目 (2018IC108)

第一作者: 徐荣甲, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 王绍卿, 副教授, 硕士生导师, 主要从事动物学方面的研究及相关教学工作, E-mail: wsq231@126.com; 杨红远, 硕士, 主要从事羊遗传育种研究, E-mail: maomao7836@sina.com。

goats, and might be expected to lay a research foundation for optimization of subsequent breeding programs and improvement of breed production performance.

Keywords: different ages; Yunshang Black goat; CNTD1; gene expression

我国黑山羊地方性品种主要包括广东雷州山羊、重庆大足黑山羊、重庆渝东黑山羊、四川金堂黑山羊、湖南仓山黑山羊、贵州黑山羊,还有云南的云岭黑山羊与努比亚黑山羊等^[1]。黑山羊的肉质营养价值高,胆固醇含量低^[2],脂肪含量较少。作为我国自主培育的首个肉用黑山羊品种云上黑山羊,是以云岭黑山羊为母本、努比亚山羊为父本,经过 22 年的科学选育,最终成为兼具优良特性的肉用山羊新品种^[3]。云上黑山羊具有产肉性能好、繁殖率高、耐粗饲、抗病力强、适应性广的特点^[4],对地域环境的适应性极强,从南方海拔不足 1 000 m 的河谷低地,到海拔约 2 000 m 的冷凉区域,都能很好地适应。云上黑山羊具有广阔的发展前景,带动了云南省畜牧业经济的发展^[5]。

2012 年, Yokoo 等^[6]在秀丽隐杆线虫中鉴定了一个细胞周期相关蛋白,命名为 COSA-1,而在动物中的 COSA-1 同源物即为 CNTD1。2014 年, Kim 等^[7]研究显示, CNTD1 是染色体交叉成熟和稳定的关键调节因子,小鼠 CNTD1 的缺失会导致初级精母细胞减数分裂的中断,使得染色体交叉数量急剧减少和不育。2020 年, Gray 等^[8]通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 与 Western blot 验证出小鼠胚胎期肌肉卫星细胞中 CNTD1 表达水平较高,出生后下调但持续维持基础水平,调控肌肉卫星细胞激活与增殖的有丝分裂进程。2020 年, Yaghootkar 等^[9]研究发现, CNTD1 与男性血液瘦素浓度显著相关,这种关联可能是由于 CNTD1 与肥胖之间的联系。qRT-PCR 作为广泛应用的基因表达定量技术,由于其特异性、敏感性、准确性和可重复性被认为是基因表达分析的金标准^[10-11]。基于上述报道,本研究以不同生长阶段的云上黑山羊公羊为研究对象,运用 qRT-PCR 技术检测 CNTD1 基因在其肌肉组织中的表达水平,旨在探究该基因表达与山羊生长发育的关联,为进一步提升该品种的生产性能提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 试验动物及样品采集

30 只云上黑山羊公羔由云南省畜牧兽医科学院提供,3 月龄断奶后分群饲养,全舍饲,饲料根据羊群发育情况而定的外购颗粒料。试验分别随机选取生长肥育前期(4~5 月龄)、生长肥育后期(8~9 月龄)、青年期末(18 月龄)和成年期初(19 月龄)

的健康云上黑山羊公羊为研究对象,每个月龄组各设 5 只重复。活体采集所有试验羊的股二头肌组织 2 份,大小如黄豆粒,立即将样本放入预先标号的无菌试剂管中,并置于液氮中进行速冻处理,随后转移至 -80 ℃ 冻存备用。整个试验过程严格遵守中华人民共和国科学技术部《关于善待实验动物的指导性意见》([2006] 398 号)》中的相关规定与操作程序,充分保障试验动物福利。

1.2 总 RNA 提取与检测

肌肉组织总 RNA 提取严格参照生工生物工程(上海)股份有限公司提供的 TRIzol 试剂盒说明书进行,将所得到的 RNA 溶液置于 -70 ℃ 冰箱保存。各取 3 μL 股二头肌组织的总 RNA 样本与适量 RNA Loading Buffer 充分混匀后,通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析 RNA 完整性及是否存在基因组 DNA 污染;使用微量分光光度计(Merinton Instrument, Inc, 北京)测定总 RNA 浓度及纯度。

1.3 引物设计

内参基因 GAPDH 在牛骨骼肌卫星细胞中表达稳定^[12],因此选择 GAPDH 作为本研究的内参基因。参照 NCBI 提供的 CNTD1 基因 mRNA 序列,目的基因 CNTD1 及内参基因 GAPDH 的引物^[13]均利用 Primer Premier 5.0 软件设计,详见表 1。目标引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 CNTD1 及内参基因引物设计

基因	引物序列 (5'→3')	产物	退火
		大小/bp	温度/℃
GAPDH	F: TGTTTGATGATGGGCGTGAA	173	58.4
	R: AGTCTTCTGGGTGGCAGTGAT		58.4
CNTD1	F: CTGCTGAACAATGGTGTCTGG	182	57.7
	R: CGCAGGATAAACTGTTGAAAA		57.9

1.4 cDNA 合成

采用逆转录酶试剂盒(赛默飞世尔科技)将 RNA 按照 200 ng 反转转为 cDNA,于 -20 ℃ 保存备用。

1.5 qRT-PCR 检测

将 cDNA 样品用无 RNase 超纯水(或相应缓冲液)稀释 10 倍,充分混匀后备用。PCR 扩增体系 10.0 μL; 2 × SGFast qPCR MasterMix (B639271, BBI, Roche 罗氏) 5.0 μL, 10 μmol/L 上下游引物各 0.2 μL, cDNA 模板 1.0 μL, ddH₂O 补足。扩增

程序：95 ℃ 预变性 3 min；95 ℃ 变性 5 s，60 ℃ 退火/延伸 30 s，共 45 个循环。将配制完成的反应混合液置于 LightCycler 480 II 实时荧光定量 PCR 仪（Roche 罗氏）中，按上述程序进行扩增反应。

1.6 数据统计和分析

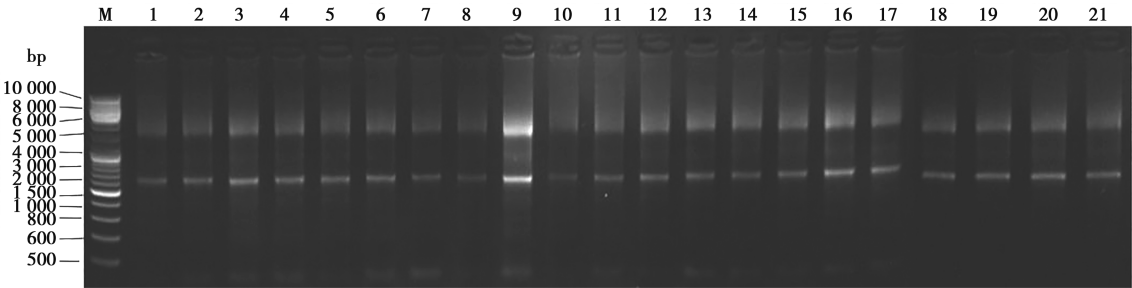
通过 Excel 对目的基因 CNTD1 和内参基因 GAPDH 的 qRT-PCR Ct 值进行汇总统计；依据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量方法，以 GAPDH 为内参校正样本间差异，计算得到 CNTD1 基因在不同样本中的相对表达量及组间差异倍数，所得数据以“平均值±标准误”形式表示，并在 SPSS 23.0 中进行单因素方差分析（One-way ANOVA）。采用 Pearson 相关性分析方法，对数据进行显著性分析，在 Pearson 相关性分析中，相关系数 r 的取值范围为 $[-1, 1]$ ，其中 r 值越接近

1，表明 2 个变量间的正相关程度越强； P 值则用于判断相关性结果的统计学显著性，当 $P<0.05$ 时，可认为二者间的相关性具有统计学意义。采用 GraphPad Persimmon 软件绘图。

2 结果

2.1 总 RNA 提取的完整性检测

由图 1 可以看到 28S 和 18S 条带清晰，且亮度之比近似 2：1，说明 RNA 无降解，质量良好，无其他杂质污染。经微量分光光度计检测，所有样本的 OD_{260}/OD_{280} 值均维持在 1.9~2.0 之间，表明提取的总 RNA 中蛋白质等杂质污染较少，RNA 纯度符合反转录要求，可进行下一步试验^[14]。



M. 核酸 Marker；1~4. 4 月龄；5~8. 5 月龄；9~12. 8 月龄；13~15. 9 月龄；16~18. 18 月龄；19~21. 19 月龄。

图 1 各月龄云上黑山羊肌肉组织总 RNA 凝胶电泳

2.2 基因扩增

以云上黑山羊 RNA 反转录产物为模板，采用 qRT-PCR 技术对内参基因 GAPDH 及目的基因 CNTD1 进行检测。图 2 和图 3 分别为这 2 个基因的扩增曲线与熔解曲线。结果显示，2 个基因的扩增曲线均呈现出典型的“S”型特征，且不同重复样本的

扩增曲线之间保持了良好的平行性，说明本试验 Ct 值可信度高，定量准确；拐点清楚，说明扩增过程正常。熔解曲线的曲线峰值单一，呈尖峰状，说明扩增产物特异性较好，产物单一，无引物二聚体和非特异性产物的影响，结果可靠准确，可用于下一步试验分析^[15]。

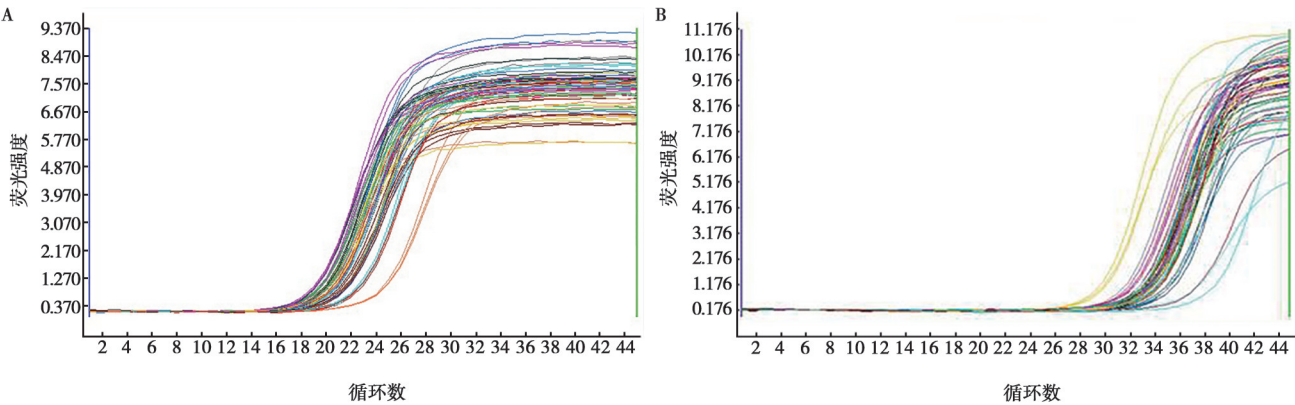


图 2 内参基因 GAPDH（A）和目的基因 CNTD1（B）扩增曲线

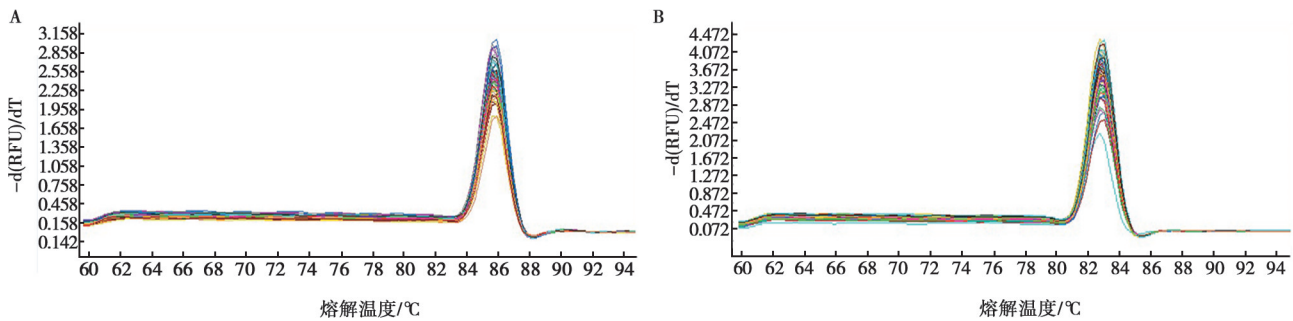


图3 内参基因 GAPDH (A) 和目的基因 CNTD1 (B) 溶解曲线

2.3 不同生长时期云上黑山羊肌肉组织中 CNTD1 基因的表达差异分析

表2呈现了云上黑山羊不同月龄的体重增长数据及CNTD1基因表达量的差异性对比结果。由表2可知,CNTD1基因在各月龄的相对表达量存在差异,具体排序为18月龄>19月龄>8月龄>9月龄>4月龄>5月龄,该基因表达量在生长过程中虽有小幅波动,但整体保持上升态势。与体重数据对比发现,当9~18月龄山羊体重增长速率达到峰值时,CNTD1基因表达量也同步达到最高;而当体重增长速率放缓

后,其表达量则出现小幅下降。
2.4 云上黑山羊体重与 CNTD1 基因表达相关性分析

对云上黑山羊体重和肌肉中CNTD1表达量采用Pearson相关分析发现,云上黑山羊体重与CNTD1基因表达量的相关系数 $r=0.853\ 2$, $P=0.030\ 8$ 。据此可判定,云上黑山羊肌肉组织中CNTD1基因的表达量与其体重之间存在显著正相关性,即随着云上黑山羊体重的增加,其股二头肌中CNTD1基因的表达量也总体呈显著上升趋势。

表2 云上黑山羊各月龄体重及 CNTD1 基因相对表达量

项目	4月龄	5月龄	8月龄	9月龄	18月龄	19月龄
体重/kg	23.67±2.33 ^c	26.99±2.51 ^c	37.52±2.08 ^b	39.96±2.04 ^b	53.00±3.00 ^a	54.95±2.85 ^a
CNTD1 相对表达量	2.31±0.92 ^b	2.16±0.86 ^b	3.09±0.89 ^b	2.40±0.57 ^b	3.91±0.81 ^a	3.30±0.68 ^a

注:同行比较,字母不同表示差异显著($P<0.05$),字母相同表示差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 CNTD1 基因在云上黑山羊肌肉中的表达

本试验结果显示,云上黑山羊公羊各个生长发育阶段股二头肌中CNTD1基因的表达量存在差异,表达量依次为18月龄>19月龄>8月龄>9月龄>4月龄>5月龄;云上黑山羊公羊股二头肌中CNTD1基因的差异表达与体重之间显著相关可能与CNTD1主要在成年雄性动物睾丸中大量表达有关^[6]。有研究表明,CNTD1在减数分裂中的作用及对动物生殖系统的影响具有一定关联^[16];Yaghootkar等^[9]研究发现,CNTD1与男性血液瘦素浓度显著相关,这与本研究体重增长速率最大时CNTD1基因表达量最高有相似之处。减数分裂过程中,大量DNA双链断裂需要在修复过程中形成染色体交叉进行同源染色体的确认,CNTD1蛋白对减数分裂过程的正常进行至关重要^[6]。CNTD1基因虽在动物生长发育方面的研究较少,但Gray等^[8]早在对小鼠的研究中就发现,其在

整个减数分裂前期起到不可或缺的作用。另外CNTD1基因还影响雄性小鼠睾丸中精母细胞的分裂过程,通过与SCF复合物相互作用调节细胞周期进程,结合本研究结果可推测云上黑山羊的生长发育过程会受到CNTD1调控。CNTD1不同时期表达的差异性可能又处在不同时期云上黑山羊组织的发育调节之下^[17]。

3.2 云上黑山羊生长发育与 CNTD1 基因表达量的相关性分析

探索不同基因在各不同组织、不同时间段下的表达与动物的相关性,有望找到能够影响调控动物生长的各个性状的候选基因,从而通过分子标记技术降低了育种成本,提高了育种速率,是一项具有重大意义的育种方法^[18]。例如:利用CRISPR/Cas9敲除斑马鱼CNTD1,通过减数分裂交叉缺陷诱导多倍体,为通过CNTD1基因育种提供新策略^[19]。本研究结果可为云上黑山羊的分子育种工作奠定理论基础。

CNTD1基因表达量整体伴随体重增长呈现稳步

上升趋势,这与 Yaghootkar 等^[9]对于 CNTD1 基因的存在影响 leptin 浓度从而影响肥胖的研究一致,也与 Yokoo 等^[6]对于雌性动物卵泡发育过程中 CNTD1 基因进行表达的研究结果重合。但云上黑山羊 9 月龄表达量低于 8 月龄,这可能因为 8~9 月龄是云上黑山羊性成熟关键期,与激素水平波动有关——睾酮促进肌肉卫星细胞增殖,而 CNTD1 与肌肉卫星细胞 DNA 损伤修复、细胞周期调控直接相关^[7];另外,19 月龄云上黑山羊 CNTD1 表达量低于 18 月龄,这可能与云上黑山羊进入成年期后肌肉生长速度下降有关,此结果同斑马鱼成鱼阶段肌肉组织 CNTD1 转录本水平显著低于胚胎期类似^[19],结合 CNTD1 编码细胞周期蛋白 N 端结构域,功能上参与细胞周期调控^[8],推测 CNTD1 基因表达量 19 月龄低于 18 月龄可能同哺乳动物骨骼肌中多数细胞周期调控类基因均表现出幼龄阶段高表达,随个体发育成熟转录水平逐步回落并维持基础水平的特征相关^[20-21]。综上,CNTD1 基因表达可能对云上黑山羊生长发育有正向调控作用。

4 结论

本研究检测了不同月龄云上黑山羊公羊肌肉组织中 CNTD1 基因的表达水平,结果显示,各月龄 CNTD1 基因表达量存在明显差异,其排序为 18 月龄>19 月龄>8 月龄>9 月龄>4 月龄>5 月龄,整体呈现出随月龄增加而上升的变化趋势。进一步对不同月龄云上黑山羊股二头肌中 CNTD1 基因表达量与其体重进行 Pearson 相关性分析,结果表明 CNTD1 基因表达量与云上黑山羊体重增长水平之间存在显著正相关关系。本研究结果可为云上黑山羊的分子标记辅助选育工作提供重要的理论依据。

参考文献:

- [1] 蓝贤勇. 山羊重要功能基因遗传分析及其与经济性状的关系 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- [2] 字品文, 江炎庭, 相德才, 等. 云南黑山羊肉品质的研究 [J]. 中国草食动物科学, 2017, 37 (5): 21-25.
- [3] 胡诚威. 云上黑山羊新品种通过国家审定 [J]. 农村百事通, 2019 (23): 26.
- [4] 邵庆勇. 云上黑山羊羔羊精细化管理关键技术 [J]. 致富天地, 2022 (4): 71-72.

- [5] 贡旭江, 苑荣. 云上黑山羊 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 443.
- [6] Yokoo R, Zawadzki K A, Nabeshima K, et al. COSA-1 reveals robust homeostasis and separable licensing and reinforcement steps governing meiotic crossovers [J]. Cell, 2012, 149 (1): 75-87.
- [7] Holloway J K, Sun X, Yokoo R, et al. Mammalian CNTD1 is critical for meiotic crossover maturation and deselection of excess pre-crossover sites [J]. J Cell Biol, 2014, 205 (5): 633-641.
- [8] Gray S, Santiago E R, Chappie J S, et al. Cyclin N-terminal domain-containing-1 coordinates meiotic crossover formation with cell-cycle progression in a cyclin-independent manner [J]. Cell Rep, 2020, 32 (1): 107858.
- [9] Yaghootkar H, Zhang Y, Spracklen C N, et al. Genetic studies of leptin concentrations implicate leptin in the regulation of early adiposity [J]. Diabetes, 2020, 69 (12): 2806-2818.
- [10] Taylor S C, Nadeau K, Abbasi M, et al. The ultimate qPCR experiment: producing publication quality, reproducible data the first time [J]. Trends Biotechnol, 2019, 37 (7): 761-774.
- [11] 王瑜. 聚合酶链反应检验应用于肺结核早期诊断的准确性评价 [J]. 实用检验医师杂志, 2022, 14 (4): 361-364.
- [12] 盛辉, 张林林, 郭益文, 等. 干扰 MSTN 的牛骨骼肌卫星细胞实时荧光定量 PCR 内参基因的筛选 [J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47 (2): 381-391.
- [13] 陈蓉. 云上黑山羊早期生长曲线拟合及 CNTD1 基因表达研究 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2023.
- [14] 孙雅婕, 董磊. 两种从多种组织提取总 RNA 的方法比较 [J]. 山东畜牧兽医, 2024, 45 (7): 17-19.
- [15] 江炎庭, 王思宇, 杨红远, 等. 云上黑山羊 MSTN 基因的表达差异与发育性变化研究 [J]. 中国草食动物科学, 2019, 39 (5): 10-13.
- [16] Small C L, Shima J E, Uzumcu M, et al. Profiling gene expression during the differentiation and development of the murine embryonic gonad [J]. Biol Reprod, 2005, 72 (2): 492-501.
- [17] 彭洪洋. 杜寒杂交羊与小尾寒羊生长、肉质相关基因表达及瘤胃菌群差异研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [18] 贺名扬, 刘爱菊, 张鑫, 等. RPL35A 基因在不同月龄寒泊羊肌肉组织中的表达及其生物信息学分析 [J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57 (4): 85-90.
- [19] Ou Y, Li H, Li J, et al. Formation of different polyploids through disrupting meiotic crossover frequencies based on cntd1 knockout in zebrafish [J]. Mol Biol Evol, 2024, 41 (3): msae047.
- [20] Jones J C, Kroscher K A, Dilger A C. Reductions in expression of growth regulating genes in skeletal muscle with age in wild type and myostatin null mice [J]. BMC Physiol, 2014, 14: 3.
- [21] Lee J E, Yoon S H, Shim K S, et al. Regulatory landscapes of muscle satellite cells: from mechanism to application [J]. Int J Stem Cells, 2025, 18 (3): 237-253.