



楼梦雨, 张思欢, 郑琪, 朱翠云, 凌英会. 转录组测序筛选萨湖杂交羊肌肉和生长性能提升的关键基因[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(07): 47-57.
LOU Mengyu, ZHANG Sihuan, ZHENG Qi, ZHU Cuiyun, LING Yinghui. Transcriptome sequencing screens key genes for muscle and growth performance enhancement in Sahu crossbred sheep[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(07): 47-57.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.07.05

转录组测序筛选萨湖杂交羊肌肉和生长性能提升的关键基因

楼梦雨 张思欢 郑琪 朱翠云 凌英会*

(安徽农业大学 动物科技学院/地方畜禽遗传资源保护与生物育种安徽省重点实验室, 合肥 230036)

摘要 为解析萨湖杂交羊较湖羊肌肉和生长性能提升的关键基因和调控通路,本研究对出生2日龄和8月龄的萨福克和湖羊的杂种F₁代(SH)和纯繁湖羊(H)的体重、体高、体长、胸围和管围等生长数据进行比较分析。选取2日龄和8月龄绵羊每组各3只(共12只),利用RNA-seq对背最长肌进行转录组测序,并对测序数据进行生物信息学分析。随机选取10个差异表达基因,通过qRT-PCR对其表达量进行验证。结果表明:1)出生2日龄和8个月的SH的体重、胸围、管围均极显著高于H($P < 0.001$)。2)在2日龄和8月龄SH与H中分别筛选得到684和248个基因显著差异表达,包括与骨骼肌生长发育相关的*CDH1*、*GSTA1-1*、*GPX2*、*CDH17*和*MX2*等基因。3)GO和KEGG分析结果显示2日龄SH和H差异表达基因主要富集在控制肌肉生长发育的细胞分化、核小体组织、肌动蛋白丝调控等类别中,8月龄SH和H差异表达基因主要富集在细胞-细胞粘附、谷胱甘肽代谢和PPAR信号通路等类别中。4)qRT-PCR试验结果与转录组测序相一致。综上,萨湖杂交羊在生长性能方面优于湖羊,*CDH1*、*GSTA1-1*和*GPX2*等基因通过G蛋白偶联受体、细胞-细胞粘附、谷胱甘肽代谢通路在萨湖杂交羊肌肉发育过程中发挥重要作用,本研究为探究调控杂交绵羊生长性能的关键基因和功能通路提供参考。

关键词 萨湖杂交F₁代; 湖羊; 转录组; 生长性能; 关键基因; 代谢通路

中图分类号 S858.26

文章编号 1007-4333(2024)07-0047-11

文献标志码 A

Transcriptome sequencing screens key genes for muscle and growth performance enhancement in Sahu crossbred sheep

LOU Mengyu, ZHANG Sihuan, ZHENG Qi, ZHU Cuiyun, LING Yinghui*

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University/ Anhui Provincial Key Laboratory of Local Livestock and Poultry Genetic Resources Protection and Biological Breeding, Hefei 230036, China)

Abstract To analyze the key genes and regulatory pathways involved in the muscle and growth performance enhancement of Sahu crossbred sheep compared to Hu sheep, in the study, the growth data of body weight, body height, body length, chest circumference and cannon circumference of F₁ generation of Suffolk and Hu sheep hybrids (SH) and Hu sheep (H) at 2 days and 8 months of age were compared and analyzed. Three sheep of 2-day-old and 8-month-old were randomly selected from each group (12 sheep in total). RNA-seq was used to sequence the transcriptome of longissimus dorsi muscle, and bioinformatics analysis was performed on the sequencing data. Ten differentially expressed genes were randomly selected and their expression levels were verified by qRT-PCR. The results showed that: 1) The body weight, chest circumference and cannon circumference of Sahu hybrid sheep at 2 days and 8 months were significantly higher than those of Hu sheep ($P < 0.001$). 2) A total of 684 and 248 genes with

收稿日期: 2023-11-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD1300202); 国家现代肉羊产业技术体系项目(CARS-38, 2021-2025); 安徽省肉羊良种联合攻关项目(2021-2025)

第一作者: 楼梦雨(ORCID: 0000-0002-7348-1779), 硕士研究生, E-mail: lmy000706@163.com

通讯作者: 凌英会(ORCID: 0000-0003-0127-0275), 教授, 主要从事羊遗传育种与繁殖方向研究, E-mail: lingyinghui@ahau.edu.cn

significant differential expression were screened in 2-day-old and 8-month-old SH and H, respectively, including *CDH1*, *GSTA1-1*, *GPX2*, *CDH17*, *MX2* and other genes related to skeletal muscle growth and development. 3) GO and KEGG analysis showed that the differentially expressed genes were mainly enriched in the categories of cell differentiation, nucleosome organization and actin filament regulation controlling muscle growth and development in 2-day-old SH and H, while the differentially expressed genes were mainly enriched in the categories of cell-cell adhesion, glutathione metabolism and PPAR signaling pathway in 8-month-old SH and H. 4) The results of qRT-PCR were consistent with the transcriptome sequencing. In summary, the growth performance of Sahu hybrid sheep is better than that of Hu sheep. *CDH1*, *GSTA1-1* and *GPX2* genes play important roles in muscle development of Sahu crossbred sheep through G protein-coupled receptors, cell-cell adhesion, and glutathione metabolic pathways. The study provides a reference for exploring the key genes and functional pathways that regulate the growth performance of hybrid sheep.

Keywords Sa-Hu hybrid F_1 ; Hu sheep; transcriptome; growth performance; key genes; metabolic pathways

绵羊肉因其蛋白质含量高、脂肪和胆固醇含量少、肉质鲜嫩等优点而广受消费者的喜爱。近年来,羊肉已经成为中国消费者主要的食用肉类之一^[1]。杂交可以提高绵羊的生产性能和肉质,广泛应用于绵羊生产。王海波等^[2]探究了湖羊与三元杂交绵羊夏杜湖和夏澳湖的肉质特性,发现三元杂交绵羊能够显著改善肉品质。刘孟君等^[3]通过比较藏绵羊及其与萨福克羊杂交后代的屠宰性能和肉品质,发现萨藏杂交羊的产肉性能高于藏绵羊。研究发现以乌骨绵羊为父本、湖羊为母本的乌湖杂交羊在生长、繁殖和屠宰性能方面均显著优于纯繁湖羊^[4]。

近年来, RNA 测序技术已被应用于探索杂交羊杂种优势产生的机制^[5]。对杜波羊 $\times$ 小尾寒羊的杂交羊(DP $\times$ STH)和萨福克 $\times$ 小尾寒羊杂交羊(SFK $\times$ STH)的背最长肌进行转录组分析表明, DP $\times$ STH 绵羊的肉质优于 SFK $\times$ STH 绵羊, *PER3* 和 *EGR1* 等基因可能是影响绵羊肉质性状的关键候选基因^[6]。Shi 等^[7]通过转录组测序筛选出 *FGFRL1*、*SIX1*、*PLCB1* 等 13 个调控 DP $\times$ STH 和 MG $\times$ STH 2 种不同杂交绵羊生长发育和肉质的候选基因。晁哲等^[8]通过转录组测序分析海南黑山羊与其 F_1 代杂交羊皮下脂肪的遗传差异, 获得与山羊皮下脂肪沉积相关的 lncRNAs 作用靶基因。

湖羊具有四季发情、耐湿热等优点, 已成为我国南方地区乃至全国发展肉羊产业的首选母本^[9]。萨福克羊是世界著名的肉羊品种, 具有生长发育快、产肉多、抗逆性强等特征, 常作为优质父本参与杂交育种^[10]。研究表明利用湖羊的常年发情和萨

福克的肉用性状来获取萨福克肉羊和湖羊的杂交后代, 能够缩短世代间隔, 加快育种进程^[11]。王生明等^[12]研究舍饲条件下萨福克羊与湖羊杂交后代的生产性能时发现, 萨湖 F_1 代羔羊初生重及 2、3、4、6 月龄体重和 0~6 月龄日增重均显著高于纯繁湖羊, 萨福克羊和湖羊杂交可显著提高 F_1 代生长和产肉性能^[13]。桂东城等^[14]发现在相同的饲养管理条件下萨湖杂交 F_1 代杂种优势较湖羊明显, 其生长发育各阶段体重、体尺均比湖羊有明显提高。但目前关于萨福克羊和湖羊杂交羊的杂种优势, 以及杂种优势产生机制的探索仍未见报道。本研究引进萨福克羊与湖羊进行杂交, 对 2 日龄和 8 月龄萨湖杂交羊和纯繁湖羊的生长性能相关数据进行分析, 利用转录组测序技术对其背最长肌进行生物信息学分析, 以期为探究调控杂交绵羊生长性能的关键基因和功能通路提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物准备与样本的采集

本研究以出生 2 日龄和 8 月龄的萨湖杂交绵羊(S $\times$ H, $n=50$)和纯繁湖羊(H, $n=50$)为研究对象, 所有绵羊均在相似的管理条件下饲养, 在绵羊空腹状态下测量了以上羊只的体重、体高、体长、胸围和管围。每组随机选取 3 只(共 12 只), 宰前 12 h 禁食, 3 h 禁水, 对其进行麻醉后颈部放血致死, 采集其背最长肌作为试验样本。将所有样品用含有 $1\times$ 青霉素和链霉素的磷酸盐缓冲液(DPBS)漂洗 3 次, 置于冻存管中后再放入液氮罐中冷冻, 并迅速将样品转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA提取、文库构建及测序

将背最长肌样本研磨成粉状,加入 Trizol(北京艾德莱生物)提取总 RNA,并用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检验其污染和降解情况。所提取 RNA 的纯度和浓度在 Nanodrop One 微量紫外可见分光光度计(Thermo Fisher Scientific,美国)中测定,最后利用 Agilent2100 生物测定仪精确测定 RNA 的完整性和总量。

从每个样品中提取 5 μg 的 RNA 作为原始材料用来构建文库。首先通过 Oligo(dT)磁珠富集带有 polyA 尾的 mRNA。以 dNTPs 为原料合成双链 cDNA,并对纯化后的 cDNA 分别进行末端修复、加 polyA 接头。筛选 370~420 bp 左右的 cDNA 进行 PCR 扩增来构建 cDNA 文库。对文库进行质检后在 Illumina Hiseq 2000 平台上对 RNA 样本进行测序。文库构建及测序工作由北京诺禾致源公司完成。

1.2.2 数据质控及转录本组装拼接

使用 CASAVA 碱基识别将测序数据转化为序列数据(reads),从原始 reads 中过滤得到净 reads,过滤内容如下:去除带接头的和无法确定碱基信息的 reads;去除 Qphred ≤ 20 的碱基数占整个 read 长度的 50% 以上的 reads。最后,计算净 reads 的 Q20、Q30 和 GC 含量。

在 NCBI 中下载绵羊的参考基因组和基因注释文件(GCF_016772045.1)。在 Hisat2(v2.0.5)中构建参考基因组的索引并将配对末端的净 reads 与有参基因组比对。接着使用 StringTie(1.3.3b)对转录本进行组装。

1.2.3 序列数据的挖掘与分析

基因的表达水平表示为每千碱基的每百万映射读值(Fragments Per Kilobase of exon model per Million mapped fragments, FPKM)的转录本片段,通过 featureCounts(1.5.0-p3)计算。使用 DESeq2(1.20.0)对转录本进行差异分析。校正后的 P 值(P value) < 0.05 和 $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1.5$ 被设置为显著差异表达的阈值。

1.2.4 差异表达基因的 GO 分类和 KEGG 富集分析

采用 clusterProfiler(3.8.1)软件对差异基因集进行 GO(<http://www.geneontology.org>)富集分析

和 KEGG(<http://www.kegg.jp>)通路分析。设定 $P < 0.05$ 为显著富集, $P < 0.01$ 为极显著富集^[15]。

1.2.5 RNA反转录和 qRT-PCR 验证

用 Trizol(北京艾德莱生物)从组织中提取总 RNA,然后根据生产商(MonScript™ RTIII All-in-One Mix with dsDNase)的说明使用逆转录酶和寡聚-dT 引物合成 cDNA。引物序列(表 1)在 NCBI 网站中设计后由 TsingKe 生物技术公司(南京合成部)合成,以 GAPDH 基因作为内参对照。使用 2 $\times$ Q3 SYBR qPCR Master Mix 预混液(TOLOBIO)和荧光定量 PCR 仪 CFX Connect Real-Time PCR Detection System(BioRad, 美国)进行 qRT-PCR。设定反应体系如下: 2 $\times$ Q3 SYBR qPCR Master Mix 5 μL , ddH₂O 4.1 μL , cDNA 0.5 μL , 上下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 0.2 μL 。并按下列 3 个反应程序进行 qRT-PCR: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s 进行溶解曲线分析。

2 结果与分析

2.1 萨湖杂交羊的生长性能显著优于湖羊

对 2 日龄和 8 月龄萨湖杂交羊群体和湖羊的生长性能进行了测定。2 个绵羊品种的体高和体长没有明显差异。但 2 日龄(简称 B2)和 8 月龄(简称 M8)萨湖羊的体重、胸围、管围等指标均极显著高于湖羊($P < 0.001$)(表 2)。这些结果表明,萨湖杂交羊群体的生长性能优于纯繁湖羊。

2.2 转录组测序数据分析

由表 3 可知,经转录组测序,2 日龄湖羊平均获得 4 372 万个原始 reads,2 日龄萨湖杂交羊平均获得 4 447 万个原始 reads,8 月龄湖羊平均获得 4 370 万个 reads,8 月龄萨湖杂交羊平均获得 4 501 万个原始 reads,筛选后分别得到 4 158 万、4 224 万、4 170 万和 4 250 万个 clean reads。数据整体测序错误率均在 0.03% 以下, Q20 $> 97.19\%$, Q30 $> 90.61\%$,表明测序数据有效,可用于进一步的生物信息学分析。

2.3 萨湖杂交羊和湖羊背最长肌差异表达基因筛选

在 2 日龄萨湖杂交羊与纯繁湖羊两组试验样本中共鉴定到 14 864 个基因,显著差异表达基因共 684 个,其中杂交羊较纯繁湖羊上调表达 248 个,下调表达 436

表1 本研究中用到的引物信息
Table 1 Primer information used in this study

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequences(5'-3')	退火温度/℃ Annealing temperature	产物长度/bp Product length
<i>GAPDH</i>	F: CCACGCCATCACTGCCACCC R: CAGCCTTGGCAGCGCCAGTA	62.5	249
<i>CDH1</i>	F: GACACCCGATTCAAAGTGC R: ATGGTGGGAGCCAGGAAATG	55	229
<i>ULK1</i>	F: TGCAGTCACCCACCCAGTAT R: TCAGGGATGGTTCCGACCTG	57	196
<i>KIF1C</i>	F: CTGATACAGCTCCCCTGGTCT R: GGGATTGATGATGGAGGTGGTG	58	183
<i>GPX2</i>	F: TTCACCCAACTCAACGAGC R: CAGGTAGGCGAAGACAGGAT	56	219
<i>MYOM1</i>	F: GGATTGAAGACCGGCCAGAG R: TGGTGGTGCAATAGCAGCTT	58	117
<i>MB</i>	F: AATAGCTTCCATACTGCGCC R: GTCTCGGGATGACCTGTGAA	56.5	139
<i>IL32</i>	F: AATCCCTGCAGGAGTCCAGT R: TCAGCACATCCCAACACCTC	57	186
<i>GSTA1-1</i>	F: GCCAACTTCCCTCTGCTGAA R: GCAGCCCTGCTTGCTTTATTTA	58.5	162
<i>SERPINB1</i>	F: GAGCAGCGGCCTCACC R: AGAGGAAGATGTTTCCGGCAG	58	107
<i>SPIDR</i>	F: TGTGTGGTCCTTGGGTAAGGC R: TCTCAAGAGGCTCTCCCCTC	57	179

表2 萨湖杂交羊和纯繁湖羊生长性能差异
Table 2 Differences in growth performance between SH crossbred sheep and Hu sheep

指标 Index	B2		<i>P</i> value	M8		<i>P</i> value
	S×H(<i>n</i> =50)	H(<i>n</i> =50)		S×H(<i>n</i> =9)	H(<i>n</i> =9)	
体重/kg Body weight	3.55±0.71	3.11±0.35	<0.001	47.44±3.82	40.17±2.83	<0.001
体高/cm Body height	37.17±2.19	37.45±1.38	0.436	68.69±0.92	66.99±2.53	0.075
体长/cm Body length	27.37±2.00	27.14±0.85	0.467	72.72±1.79	70.5±2.59	0.050
胸围/cm Chest circumference	36.00±2.44	34.38±1.11	<0.001	86.89±2.56	80.70±3.47	<0.001
管围/cm Cannon circumference	5.73±0.42	5.36±0.29	<0.001	8.93±0.28	8.03±0.40	<0.001

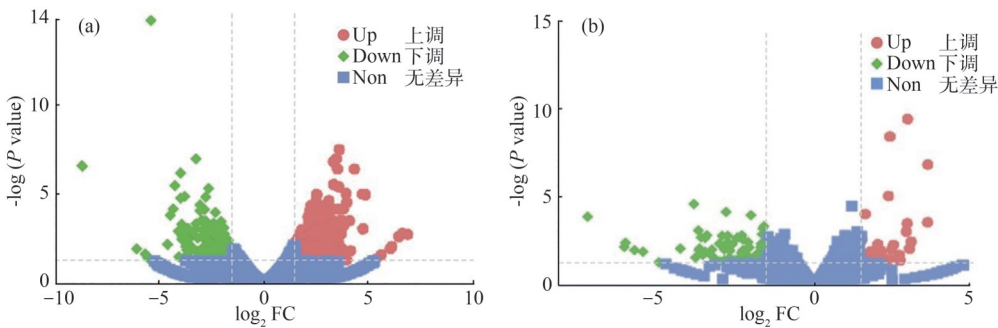
表 3 转录组测序序列与参考序列比对

Table 3 Comparison of sequenced transcriptome sequences with reference sequences

名称 Sample	原始读长 Raw reads	过滤后读长 Clean reads	错误率/% Error rate	Q20/%	Q30/%	GC 含量/% GC percentage	比对率/% Total map
B2_H_1	40 568 476	38 434 208	0.03	97.19	92.61	52.08	95.88%
B2_H_2	44 815 972	42 519 010	0.03	97.38	93.07	52.89	96.26%
B2_H_3	45 777 022	43 787 030	0.03	97.28	92.79	51.04	95.73%
B2_SH_1	42 313 086	40 079 474	0.03	97.30	92.91	50.19	95.50%
B2_SH_2	46 228 846	44 051 102	0.03	97.66	93.74	49.47	95.45%
B2_SH_3	44 875 812	42 592 718	0.03	97.37	93.04	52.20	96.06%
M8_H_1	44 434 682	42 528 134	0.03	96.54	90.61	49.99	96.08%
M8_H_2	42 283 360	40 151 204	0.03	97.80	93.70	48.82	96.37%
M8_H_3	44 388 700	42 448 198	0.03	97.86	93.96	52.15	96.63%
M8_SH_1	45 826 994	43 457 688	0.03	97.82	94.03	53.47	95.56%
M8_SH_2	45 586 156	42 974 844	0.03	97.85	94.00	52.75	96.17%
M8_SH_3	43 633 010	41 076 424	0.03	97.97	94.10	49.20	96.59%
均值 Mean	44 227 676	42 008 336	0.03	97.50	93.21	51.19	96.02%

个。8月龄萨湖杂交羊与纯繁湖羊两组试验样本中共鉴定到 14 581 个基因,显著差异表达基因共 146 个,杂交

绵羊较纯繁湖羊上调表达 40 个,下调表达 106 个(图 1)。差异基因包括 *CDH1*、*ELF5*、*GSTA1-1* 和 *GPX2* 等。



(a) 2 日龄差异表达基因;(b) 8 月龄差异表达基因。

(a) Differentially expressed genes at 2 days of age; (b) Differentially expressed genes at 8 months of age.

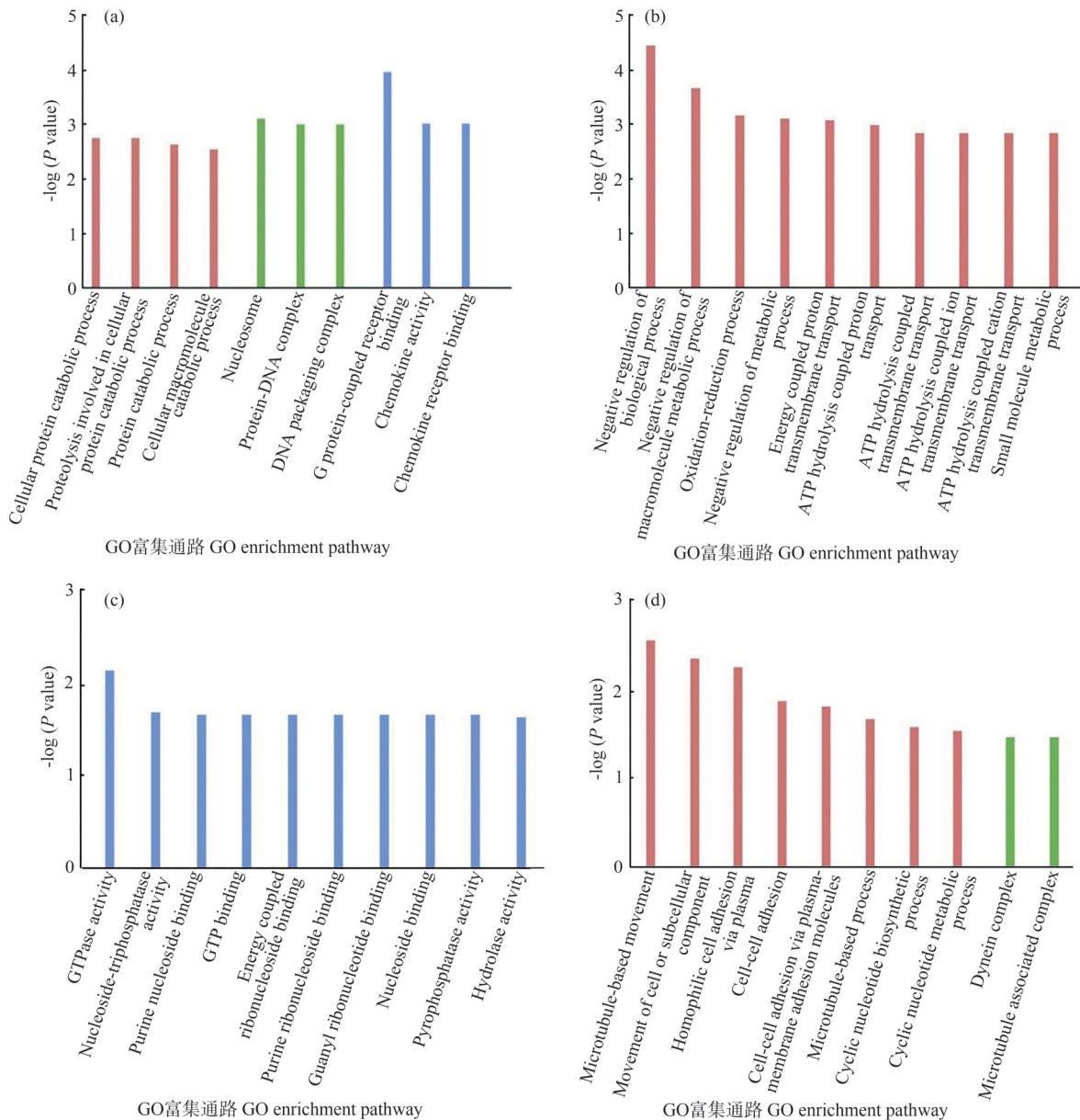
图 1 萨湖杂交羊和湖羊差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcano map of differentially expressed genes between Sahu hybrid sheep and Hu sheep

2.4 差异表达基因功能富集分析

为了进一步确定 DEGs 的功能,利用 GO 对所有 DEGs 进行了分类注释。结果显示 GO 在生物学过程 (Biological process)、分子功能 (Molecular function) 和细胞成分 (Cellular component) 中均显著富集。其中 2 日龄萨湖 F₁ 代与纯繁湖羊比较中上调

差异基因主要参与核小体组装,细胞-细胞粘附,G 蛋白偶联受体结合等通路(图 2(a)),下调差异基因主要参与细胞氧化还原稳态、肌动蛋白丝解聚的调节、ATP 代谢过程(图 2(b))。8 月龄萨湖 F₁ 代与纯繁湖羊差异基因极显著富集到 GTP 酶活性、核苷三磷酸酶活性通路(图 2(c),2(d))。



(a)2日龄上调差异基因;(b)2日龄下调差异基因;(c)8月龄上调差异基因;(d)8月龄下调差异基因。

(a) Up-regulated differential genes in 2-day-old; (b) Down-regulated differential genes in 2-day-old; (c) Up-regulated differential genes in 8-month-old; (d) Down-regulated differential genes in 8-month-old.

图2 萨湖羊和湖羊差异表达基因GO分析

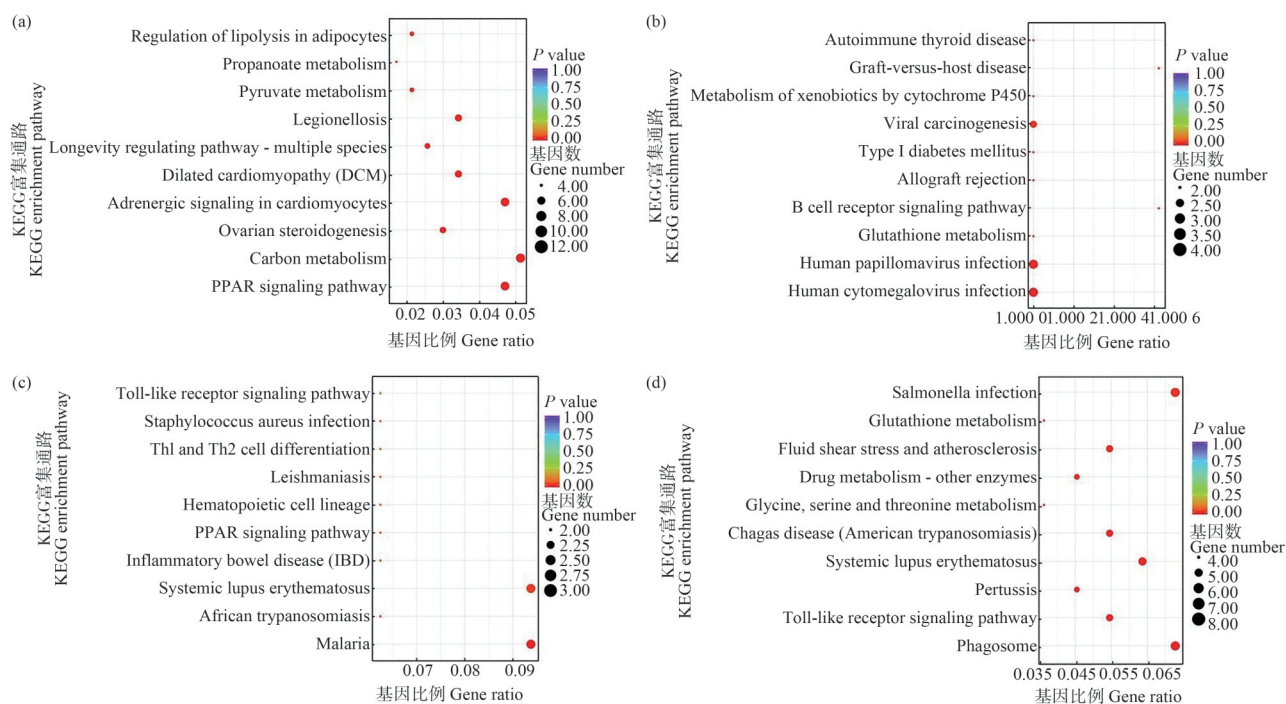
Fig.2 GO analysis of differentially expressed genes between Sahu hybrid sheep and Hu sheep

对差异基因进行KEGG通路富集分析,2日龄萨湖F₁代与纯繁湖羊共得到73条通路($P<0.05$),选取前20条信号通路以富集散点图的形式展示(图3(a),3(b))。8月龄萨湖F₁代与纯繁湖羊差异基因共富集到27条通路($P<0.05$),选取20条P值最小的信号通路以富集散点图的形式展示(图3(c)和3(d))。结合GO富集度和KEGG通路的分析结果以及以往的研究,本研究选择了与

肌肉组织生长发育、骨骼肌能量代谢等生物学过程相关的差异表达基因作为候选基因,供进一步研究(图4)。

2.5 qRT-PCR验证转录组测序结果的准确性

随机选择了10个差异表达基因,通过qRT-PCR验证RNA-seq数据的准确性。这10个基因的表达模式与RNA-seq数据一致(图5)。这些结果表明RNA-seq数据是可信的。



(a) 2 日龄上调差异基因; (b) 2 日龄下调差异基因; (c) 8 月龄上调差异基因; (d) 8 月龄下调差异基因。

(a) Up-regulated differential genes in 2-day-old; (b) Down-regulated differential genes in 2-day-old; (c) Up-regulated differential genes in 8-month-old; (d) Down-regulated differential genes in 8-month-old.

图 3 2 日龄和 8 月龄萨湖羊和湖羊差异表达基因 KEGG 富集分析

Fig.3 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes in 2-day-old and 8-month-old Sahu hybrid sheep and Hu sheep

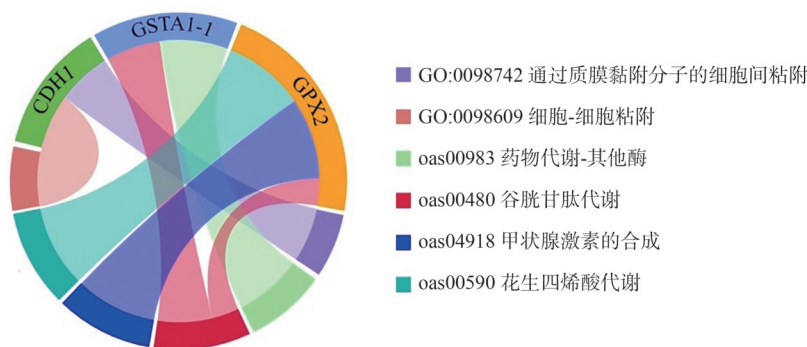


图 4 调控萨湖杂交羊生长性能关键通路和候选基因弦图

Fig. 4 Key pathways and candidate gene chord maps regulating growth performance of Sahu hybrid sheep

3 讨论

本研究对不同发育阶段萨湖杂交羊和纯繁湖羊的生长性能相关数据进行分析,并对背最长肌进行比较转录组学分析,以阐明萨湖杂交羊和湖羊之间的遗传差异以及筛选杂种优势形成的关键基因。

对 2 日龄萨湖杂交 F₁ 代和纯繁湖羊的差异基因进行 GO 功能富集,结果显示上调差异基因显著富集在 G 蛋白偶联受体和细胞-细胞粘附等通路中。

G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor, GPCR) 是细胞膜受体中最大的一类,作为重要介质参与组织发育和再生,在脂质储存和组织葡萄糖摄入等与代谢相关的多种生理功能中发挥关键作用。多项研究表明 GPCR 已成为肌肉干细胞 (Muscle stem cells, MuSCs) 和肌肉再生的重要调节因子^[16-18]。细胞-细胞粘附是高等生物体内生成和维持有序的三维组织所必需的,对维持胚胎发育早期组织的完整性起着良好的协调作用^[19-20]。其中, E-

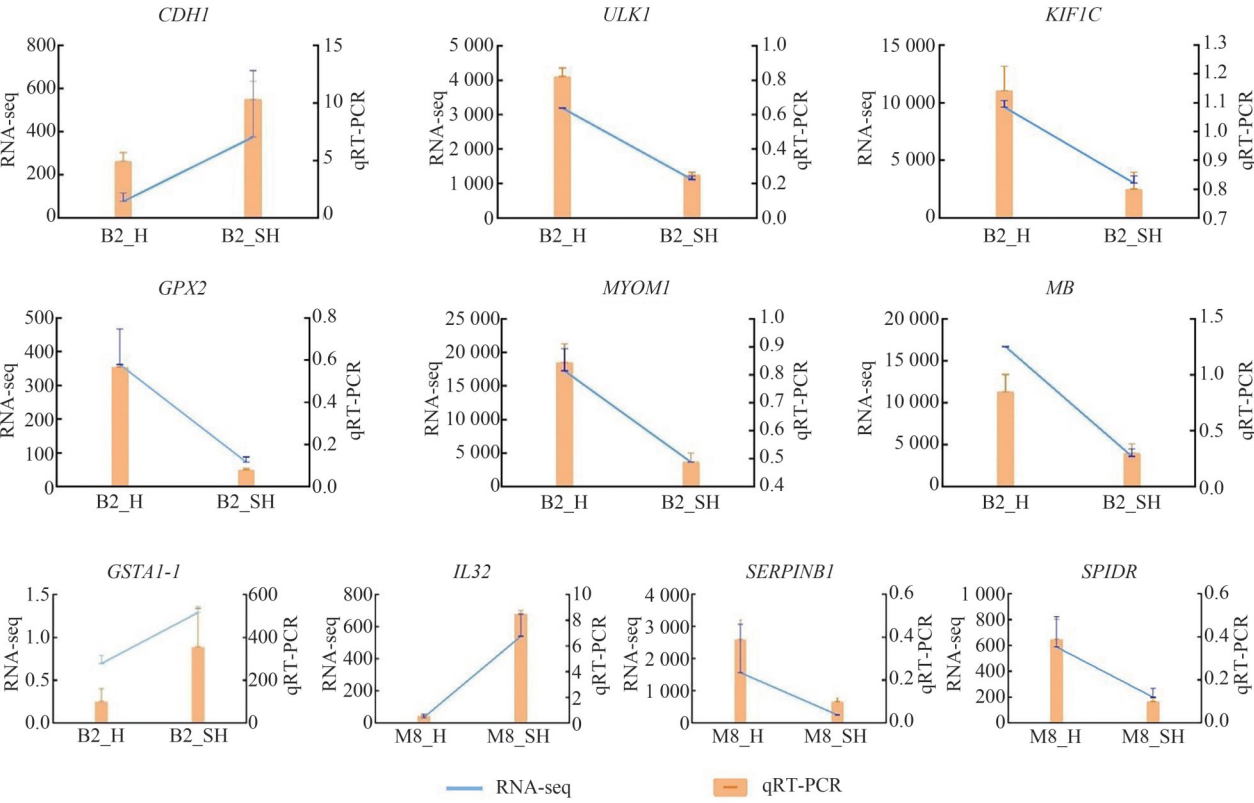


图5 差异表达基因qRT-PCR和RNA-seq结果比对图

Fig. 5 Comparison of qRT-PCR and RNA-seq results of differentially expressed genes

粘附蛋白(Cadherin 1,CDH1)可通过N端细胞外结构域促进钙介导的细胞-细胞粘附。研究表明CDH1在细胞分化过程中发挥重要作用,可通过与底物MYF5(Myogenic factor 5)相互作用来控制肌源性分化^[21]。本研究中2日龄试验组GO富集分析结果显示,CDH1富集于细胞-细胞粘附通路中,且在萨湖杂交F₁代绵羊中的表达量显著高于纯繁湖羊,表明CDH1在促进萨湖杂交F₁代绵羊胚胎早期发育方面发挥重要作用,细胞-细胞粘附是调节杂交绵羊生长、发育的关键通路。

对萨湖杂交F₁代和纯繁湖羊的差异基因进行KEGG功能富集,结果显示2日龄试验组上调差异基因显著富集在谷胱甘肽代谢和甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等与能量代谢相关通路中。8月龄试验组上调差异基因极显著富集在谷胱甘肽代谢通路中。随着年龄的增长,MuSCs从静止状态激活的速度越来越慢,从而导致肌肉修复缺陷^[22]。骨骼肌纤维衰老的特征之一是氧化应激和损伤的增加^[23-26]。谷胱甘肽抗氧化系统能够通过中和自由基减少过氧化损伤,在细胞防御活性氧ROS方面发挥着重要

作用^[27]。Benjamin等^[28]利用多组学对年轻和年老小鼠(*Mus musculus*)分离的静止骨骼肌干细胞进行分析,强调谷胱甘肽代谢是逆转MuSCs衰老的一个可及靶点。丝氨酸参与糖酵解、核苷酸生物合成、碳代谢和谷胱甘肽合成等生物过程,对维持免疫系统的正常功能至关重要^[29]。硒在多种生理过程中发挥着关键作用,包括抗氧化和免疫系统的调节和功能^[30]。丝氨酸作为必需底物参与硒半胱氨酸的转录和翻译过程^[31]。多项研究表明,丝氨酸通过提高谷胱甘肽过氧化物酶的合成,在啮齿动物和猪(*Sus*)上发挥抗氧化作用^[32-36]。膳食中补充丝氨酸可降低生长期幼猪的氧化应激^[37]。GPX2(Glutathione peroxidase 2)编码的蛋白质属于谷胱甘肽过氧化物酶家族,具有催化谷胱甘肽还原有机氢过氧化物和过氧化氢(H₂O₂)的作用,从而保护细胞免受氧化损伤^[38]。GSTA1-1(Microsomal glutathione-S-transferase 1-1)具有抵御氧化应激和参与细胞分化的作用,可通过抑制ASK1(Apoptosis signal-regulating kinase 1,细胞凋亡信号调节激酶1)来调节细胞信号传导^[39-40]。研究表明,

细胞汇合后期 *GSTA1* 表达水平逐渐升高, 证明 *GSTA1* 的表达可能会控制细胞分化^[41]。本研究发现 *GSTA1-1* 在出生后表达量显著提高, 与出生后骨骼肌处于生长发育最关键阶段一致。 *GSTA1-1* 和 *GPX2* 均极显著富集在谷胱甘肽代谢信号通路中, 且分别在 2 日龄和 8 月龄试验组中呈上调表达, 表明萨湖杂交 F₁ 代绵羊与纯繁湖羊相比具有更强的抗氧化应激能力。

4 结 论

本研究发现, 萨湖杂交羊在肉质和生长性能方面均优于纯繁湖羊。萨湖杂交羊和湖羊的差异表达基因显著富集在肌细胞增殖和分化、肌蛋白质合成和能量代谢过程中。最终筛选得到 3 个调控萨湖杂交羊肌肉和生长性能提升的关键基因(*CDH1*、*GSTA1-1* 和 *GPX2*), 其中, *CDH1* 与肌细胞增殖和分化相关, *GSTA1-1* 和 *GPX2* 与能量代谢相关。本研究为探究调控杂交绵羊生长性能的关键基因和功能通路提供参考, 未来还需进一步验证候选基因的功能。

参考文献 References

- [1] 郑琪. 胎儿到羔羊七个阶段的山羊背最长肌组织学特性及 mRNA 和 lncRNA 调控网络分析[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2020
Zheng Q. Analysis of histological characteristics and mRNA and lncRNA regulatory network of goat longissimus dorsal muscle in seven stages from fetuses to kids [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [2] 王海波, 占今舜, 谷志勇, 陈新锋, 潘月, 贾浩滨, 钟小军, 李开嵘, 赵生国, 霍俊宏. 湖羊与三元杂交绵羊夏杜湖、夏澳湖肉质特性比较研究[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(1): 110-119
Wang H B, Zhan J S, Gu Z Y, Chen X F, Pan Y, Jia H B, Zhong X J, Li K R, Zhao S G, Huo J H. Comparative study on meat quality characteristics of three-way hybrid sheep Charolais × duper × hu and Charolais × Australian white × hu and hu sheep[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2024, 55(1): 110-119 (in Chinese)
- [3] 刘孟君, 扎西央宗, 尼珍, 阚向东, 次旺仁增, 达娃顿珠, 任越. 天然放牧条件下河谷型藏绵羊及其与萨福克羊杂交后代肉品质的比较[J]. 动物营养学报, 2022, 34(5): 3077-3095
Liu M J, Zha X, Nizhen, Kan X D, Ci W, Dawadunzhu, Ren Y. Comparison of meat quality of valley-type Tibetan sheep and its hybrid progeny with Suffolk sheep under natural grazing condition [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(5): 3077-3095 (in Chinese)
- [4] 朱爱文, 刘海霞, 王步忠, 张斌, 杨豫欣. 乌湖杂交羊与湖羊生长、繁殖及屠宰性能的比较分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021(9): 60-63
Zhu A W, Liu H X, Wang B Z, Zhang B, Yang Y X. Comparative analysis of growth, reproduction and slaughter performance between Wuhu hybrid sheep and Hu sheep[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2021(9): 60-63 (in Chinese)
- [5] Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(1): 57-63
- [6] Shi J P, Wang X Y, Song Y L, Liu T, Cheng S R, Zhang Q W. Excavation of genes related to the mining of growth, development, and meat quality of two crossbred sheep populations based on comparative transcriptomes [J]. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 2021, 11(6): 1492
- [7] Shi J P, Zhang Q W, Song Y L, Lei Z M, Fu L J, Cheng S R. Exploring effects of different male parent crossings on sheep muscles and related regulatory genes using mRNA-Seq[J]. *Animal Bioscience*, 2022, 35(8): 1129-1140
- [8] 晁哲, 任钰为, 孙瑞萍, 魏立民, 刘海隆, 邢漫萍, 黄丽丽, 郑心力. 海南黑山羊与其 F1 代杂交羊皮下脂肪转录组测序比较分析[J]. 畜牧与兽医, 2023, 55(3): 1-7
Chao Z, Ren Y W, Sun R P, Wei L M, Liu H L, Xing M P, Huang L L, Zheng X L. Comparative analysis of transcriptome in subcutaneous fat between Hainan black goat and Nubian × Hainan black hybrid goat [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2023, 55 (3): 1-7 (in Chinese)
- [9] 王钊, 刘静, 于昊, 李鹏, 牛伟强, 万永杰, 张艳丽, 茆达干. 日粮添加蚕豆皮对湖羊生长性能、屠宰性能、器官发育和肉品质的影响[J]. 草业学报, 2023, 32(10): 162-172
Wang Z, Liu J, Yu H, Li P, Niu W Q, Wan Y J, Zhang Y L, Mao D G. Effects of dietary broad bean skin on growth rate, slaughter performance, organ development and meat quality of Hu sheep[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, 32(10): 162-172 (in Chinese)
- [10] Yang H, Yang Y L, Li G Q, Yu Q, Yang J Z. Identifications of immune-responsive genes for adaptative traits by comparative transcriptome analysis of spleen tissue from Kazakh and Suffolk sheep [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 3157
- [11] 杨永林, 陈玲香, 倪建宏, 白丁平, 何其宏, 张永胜, 王惠, 刘正山. 萨湖杂交后代母羊非繁殖季节同期发情配种效果分析[J]. 草食家畜, 2008(3): 35-36
Yang Y L, Chen L X, Ni J H, Bai D P, He Q H, Zhang Y S, Wang H, Liu Z S. Analysis on the effect of estrus synchronization and artificial insemination in hybrid progeny ewes of Suffolk and Hu sheep in anoestrus season[J]. *Grass-Feeding Livestock*, 2008(3): 35-36 (in Chinese)
- [12] 王生明, 任强, 苏卫杰, 王成耀, 葛守宏, 张恩平. 湖羊与杜泊或萨福克羊杂交 F1 代羔羊生产性能分析[J]. 家畜生态学报, 2019, 40(10): 37-41
Wang S M, Ren Q, Su W J, Wang C Y, Ge S H, Zhang E P. Analysis on production performance of F1 lambs of hybrid between dorper or Suffolk and Hu sheep[J]. *Journal of Domestic Animal Ecology*, 2019, 40 (10): 37-41 (in Chinese)
- [13] 蔡树东, 赵龙飞, 李文, 罗生金. 杜泊羊、萨福克羊与国内绵羊二元杂交生产利用研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2023(22): 25-30, 35
Cai S D, Zhao L F, Li W, Luo S J. Research progress on production and utilization of Dorper sheep, Suffolk sheep and domestic mutton sheep binary hybridization [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2023(22): 25-30, 35 (in Chinese)
- [14] 桂东城, 杨华, 宋文富, 张华, 杨保华, 谭现宁. 新疆规模羊场萨福克与湖羊杂交应用试验[J]. 草食家畜, 2015(1): 52-55
Gui D C, Yang H, Song W F, Zhang H, Yang B H, Tan X N. Study on

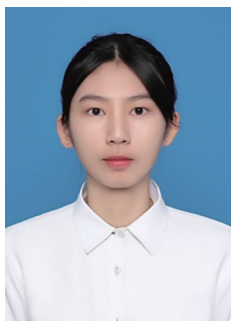
- comparison of growth and development in crossbreeding offspring between Suffolk and hu sheep in Xinjiang scale sheep farm [J]. *Grass-Feeding Livestock*, 2015(1): 52-55 (in Chinese)
- [15] Pan P C, Qin Z X, Xie W, Chen B J, Guan Z H, Xie B K. Identification of differentially expressed genes in the longissimus dorsi muscle of Luchuan and duroc pigs by transcriptome sequencing[J]. *Genes*, 2023, 14 (1): 132
- [16] Meister J, Bone D B J, Knudsen J R, Barella L F, Liu L, Lee R, Gavrilova O, Chen M, Weinstein L S, Kleinert M, Jensen T E, Wess J. *In vivo* metabolic effects after acute activation of skeletal muscle G_s signaling[J]. *Molecular Metabolism*, 2022, 55: 101415
- [17] Doze V A, Perez D M. GPCRs in stem cell function[J]. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2013, 115: 175-216
- [18] Sénéchal C, Fujita R, Jamet S, Maiga A, Dort J, Orfi Z, Dumont N A, Bouvier M, Crist C. The adhesion G-protein-coupled receptor Gpr116 is essential to maintain the skeletal muscle stem cell pool[J]. *Cell Reports*, 2022, 41(7): 111645
- [19] Bhattacharyya S, Mote R D, Freimer J W, Tiwari M, Bansi Singh S, Arumugam S, Narayana Y V, Rajan R, Subramanyam D. Cell-cell adhesions in embryonic stem cells regulate the stability and transcriptional activity of β -catenin[J]. *FEBS Letters*, 2022, 596(13): 1647-1660
- [20] Niessen C M, Leckband D, Yap A S. Tissue organization by cadherin adhesion molecules: Dynamic molecular and cellular mechanisms of morphogenetic regulation [J]. *Physiological Reviews*, 2011, 91 (2): 691-731
- [21] Li W Q, Wu G, Wan Y. The dual effects of Cdh1/APC in myogenesis [J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2007, 21(13): 3606-3617
- [22] Benjamin D I, Brett J O, Both P, Benjamin J S, Ishak H L, Kang J, Kim S, Chung M, Arjona M, Nutter C W, Tan J H, Krishnan A K, Dulay H, Louie S M, de Morree A, Nomura D K, Rando T A. Multiomics reveals glutathione metabolism as a driver of bimodality during stem cell aging[J]. *Cell Metabolism*, 2023, 35(3): 472-486
- [23] Hamilton R T, Walsh M E, Van Remmen H. Mouse models of oxidative stress indicate a role for modulating healthy aging[J]. *Journal of Clinical & Experimental Pathology*, 2012, Suppl 4: 005
- [24] Bellanti F, Romano A D, Buglio A L, Castriotta V, Guglielmi G, Greco A, Serviddio G, Vendemia G. Oxidative stress is increased in sarcopenia and associated with cardiovascular disease risk in sarcopenic obesity[J]. *Maturitas*, 2018, 109: 6-12
- [25] Jang Y C, Lustgarten M S, Liu Y H, Muller F L, Bhattacharya A, Liang H Y, Salmon A B, Brooks S V, Larkin L, Hayworth C R, Richardson A, Van Remmen H. Increased superoxide in vivo accelerates age-associated muscle atrophy through mitochondrial dysfunction and neuromuscular junction degeneration [J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2010, 24(5): 1376-1390
- [26] Arthur P G, Grounds M D, Shavlakadze T. Oxidative stress as a therapeutic target during muscle wasting: Considering the complex interactions[J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2008, 11(4): 408-416
- [27] Bao B W, Kang Z B, Zhang Y, Li K, Xu R, Guo M Y. Selenium deficiency leads to reduced skeletal muscle cell differentiation by oxidative stress in mice[J]. *Biological Trace Element Research*, 2023, 201(4): 1878-1887
- [28] Benjamin D I, Brett J O, Both P, Benjamin J S, Ishak H L, Kang J, Kim S, Chung M, Arjona M, Nutter C W, Tan J H, Krishnan A K, Dulay H, Louie S M, de Morree A, Nomura D K, Rando T A. Multiomics reveals glutathione metabolism as a driver of bimodality during stem cell aging[J]. *Cell Metabolism*, 2023, 35(3): 472-486
- [29] 周辉, 关鹏, 王晨昱, 侯若鑫, 李铁军, 印遇龙, 何流琴. 丝氨酸对宫内发育迟缓哺乳仔猪生长性能、肠道形态结构和免疫相关指标的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(10): 4220-4232
- Zhou H, Guan P, Wang C Y, Hou R X, Li T J, Yin Y L, He L Q. Effects of serine on growth performance, intestinal morphology and immune related indexes of suckling piglets with intrauterine growth retardation[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2023, 54(10): 4220-4232 (in Chinese)
- [30] Kieliszek M, Błażej S. Current knowledge on the importance of selenium in food for living organisms: A review[J]. *Molecules*, 2016, 21 (5): 609
- [31] Long J, Liu Y H, Zhou X H, He L Q. Dietary serine supplementation regulates selenoprotein transcription and selenoenzyme activity in pigs [J]. *Biological Trace Element Research*, 2021, 199(1): 148-153
- [32] Zhou X H, He L Q, Zuo S N, Zhang Y M, Wan D, Long C M, Huang P, Wu X, Wu C R, Liu G, Yin Y L. Serine prevented high-fat diet-induced oxidative stress by activating AMPK and epigenetically modulating the expression of glutathione synthesis-related genes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Basis of Disease*, 2018, 1864 (2): 488-498
- [33] Zhou X H, He L Q, Wu C R, Zhang Y M, Wu X, Yin Y L. Serine alleviates oxidative stress via supporting glutathione synthesis and methionine cycle in mice [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2017, 61(11): 10
- [34] Zhou X H, Zhang H W, He L Q, Wu X, Yin Y L. Long-term l-serine administration reduces food intake and improves oxidative stress and Sirt1/NF κ B signaling in the hypothalamus of aging mice[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018, 9: 476
- [35] Zhou X H, Zhang Y M, Wu X, Wan D, Yin Y L. Effects of dietary serine supplementation on intestinal integrity, inflammation and oxidative status in early-weaned piglets [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 2018, 48(3): 993-1002
- [36] He L Q, Long J, Zhou X H, Liu Y H, Li T J, Wu X. Serine is required for the maintenance of redox balance and proliferation in the intestine under oxidative stress[J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2020, 34 (3): 4702-4717
- [37] Long J, Liu Y H, Zhou X H, He L Q. Dietary serine supplementation regulates selenoprotein transcription and selenoenzyme activity in pigs [J]. *Biological Trace Element Research*, 2021, 199(1): 148-153
- [38] Esworthy R S, Doroshov J H, Chu F F. The beginning of GPX2 and 30 years later[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2022, 188: 419-433
- [39] Yang Y Z, Yang Y S, Trent M B, He N G, Lick S D, Zimniak P, Awasthi Y C, Boor P J. Glutathione-S-transferase A4-4 modulates oxidative stress in endothelium: Possible role in human atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2004, 173(2): 211-221
- [40] Alqarni M H, Foudah A I, Muharram M M, Labrou N E. The

interaction of human glutathione transferase GSTA1-1 with reactive dyes
[J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2399

apoptosis in Caco-2 cells[J]. *The Biochemical Journal*, 2006, 400(1):
135-141

[41] Romero L, Andrews K, Ng L, O' Rourke K, Maslen A, Kirby G.
Human GSTA1-1 reduces c-Jun N-terminal kinase signalling and

责任编辑: 秦梅



第一作者简介: 楼梦雨,安徽农业大学动物科技学院在读硕士研究生,本科毕业于安徽农业大学动物科技学院。主要研究方向是羊遗传育种与繁殖。获得安徽农业大学硕士研究生一等奖学金2次。以第一作者身份发表中文核心论文2篇,参与发表SCI论文2篇。参与安徽省重大基础研究项目1项。



通讯作者简介: 凌英会,博士,教授,安徽农业大学动物科技学院副院长,博士研究生导师。安徽省学术与技术带头人、全国畜牧业标准化技术委员会委员、安徽省青年科技奖获得者,主要从事肉羊育种研究。近年来先后主持4项国家自然科学基金项目、3项安徽省自然科学基金项目、1项国家重点研发项目子课题等10多项国家与省级科技项目。获得安徽省科技进步一等奖、全国农牧渔业丰收奖二等奖等。发表科研论文40多篇,其中SCI论文20多篇。授权国家审定新品种1项,获批发明专利6件,制定安徽省地方标准和企业标准6项,具有“种草养羊生态管理系统”等农业软件著作权4项。