



彭玉薇,王尚龙,王渊锋,等.策勒黑羊 X 染色体多胎性状的关联分析[J].黑龙江农业科学,2024(3):39-45.

# 策勒黑羊 X 染色体多胎性状的关联分析

彭玉薇<sup>1</sup>,王尚龙<sup>1</sup>,王渊锋<sup>1</sup>,王权锋<sup>2</sup>,杨建礼<sup>2</sup>,马正委<sup>2</sup>,佐建明<sup>2</sup>,刘书东<sup>1</sup>

(1.塔里木大学 动物科学与技术学院/新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室,新疆阿拉尔 843300; 2.和田地区津垦牧业科技有限公司,新疆 策勒 848300)

**摘要:**为促进多胎性状策勒黑羊品种的培育,以策勒黑羊多胎性状和 X 染色体分子标记为对象,探究策勒黑羊多胎性状在 X 染色体上的遗传解析。选择 100 只策勒黑羊进行基因分型,利用 PLINKv1.90 进行质量控制,同时对 X 染色体上的 SNP 位点和策勒黑羊的多胎性状进行关联分析,选取  $P < 0.01$  的 SNP 位点进行标记,将筛选出的 SNP 位点附近的基因进行注释和分析,获得 X 染色体多胎性的候选基因。结果表明,有 14 个 SNPs 与策勒黑羊 X 染色体多胎性状在全基因组范围内显著相关。共筛选出 20 个候选基因,对 20 个候选基因进行生物学功能分析,多胎性状相关联的候选基因 6 个,其中, *FTH1* 基因已有文献报道是多胎性状的候选基因。

**关键词:**策勒黑羊;多胎性状;X 染色体;候选基因;

策勒黑羊作为南疆和田地区特有的地方品种,能够适应本地区干旱炎热气候还具有常年发情、繁殖率高等特点,充分利用其品种特性不但能促进当地的经济发展对未来新疆养羊业的发展也具有十分重要的意义。目前关于策勒黑羊常染色体上与多胎性状相关联的基因研究较为广泛,吴正明等<sup>[1]</sup>通过 PCR-RFLP 技术对保山猪 *ESR* 基因的多态性进行研究发现其与产子数显著相关,可作为保山母猪产子数的主效基因。张辉等<sup>[2]</sup>研究发现 *GDF9* 基因中的 g.41769833 位点与策勒黑羊多胎性状显著相关。易鸣等<sup>[3]</sup>通过混合 DNA 池测序和直接测序法在贵州黑山羊 *RBP4* 基因上筛选 SNPs 位点进行生物信息学和群体遗传参数分析后发现其有两个位点可能与产羔数相关。*Woodlands (Fec X2<sup>w</sup>)* 是母系印迹基因,位于 X 染色体上,其突变后可增加后代母羊的产羔数<sup>[4]</sup>。马晓菲等<sup>[5]</sup>以寒泊羊群体为研究对象,揭示其 *BMPR-IB* 基因的 SNP 位点与产羔数的关系,结果发现群体母羊携带 *BMPR-IB* 基因中 *B* 基因数量与产羔数呈正相关。郭晓红等<sup>[6]</sup>采用 PCR-SSCP 技术分析了 *RARG* 基因对小尾寒羊高繁殖力的影响,结果推测 *RARG* 基因可能是与小尾寒羊多胎性状相关的一个主效基因或标记。然而 X 染色体上携带了大量的遗传物质若其缺失或发生异常则会导致母畜卵巢先天性的发育不全、流产、不孕不育等,因此探究 X 染色体上有关

绵羊繁殖性状的基因是十分必要的<sup>[7-8]</sup>。而策勒黑羊经过新疆南疆地区长期的自然选择和人工培育,其适应在干燥和恶劣的环境下生存,但随着市场需求的变化和选育工作的滞后,近些年来策勒黑羊的存栏数越来越少,其多胎率也随之下降。

因此研究并培育策勒黑羊的各种优良性状和特性对保护新疆和田地区的优良品种具有十分重要的意义,本研究主要以分析策勒黑羊 X 染色体基因对多胎性状的调控为目的,通过 SNP 芯片在基因层面与多胎性状相关的分子标记,筛选调控多胎性状的候选基因,期望提高策勒黑羊的多胎性能和繁殖机制,以期为实现新疆南疆策勒黑羊品种的选育以及策勒黑羊的养殖发展提供参考,同时也为和田地区畜牧业增收奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本试验以新疆策勒和田地区昆仑绿源羊管家长牧 100 只营养水平一致,健康状况良好且年龄在 1.5~3.0 岁的策勒黑羊母羊对其进行颈静脉采血,标记后存放于 -15℃ 的冰箱内备用。

### 1.2 DNA 的提取与检测

使用 TIANGEN 公司的 TIANampBlood DNA Kit(血液基因组 DNA 提取试剂盒,离心柱型,50preps)进行 DNA 的提取,并用紫外分光光度计对 DNA 样品的浓度与纯度进行检测(浓度

收稿日期:2023-11-27

基金项目:国家自然科学基金项目(32060743);新疆维吾尔自治区农区高效肉羊品种选育项目(xjnqy-g-2006);2022 科技行动自治区乡村振兴产业发展(2022NC110)。

第一作者:彭玉薇(1999—),女,硕士研究生,从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:1679691889@qq.com。

通信作者:刘书东(1988—),男,博士,副教授,硕导,从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:liushudong63@126.com。

大于  $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ , 纯度  $\text{OD}_{260\text{ nm}}/\text{OD}_{280\text{ nm}}$  在 1.6~2.0 之间)。

### 1.3 PLINK 质量控制

使用 PLINKv1.90 软件进行质量控制, 去掉 0(线粒体 DNA)染色体的 SNP 数据; 筛选个体和 SNP 缺失的位点; 去掉最小等位基因频率  $<0.05$  的位点; 过滤掉检出率  $<0.95$  的位点; 只留下 X 染色体。

### 1.4 X 染色体关联分析

采用 TASSEL 5.0 软件(<https://www.maize-genetics.net>)进行混合线性模型进行分析<sup>[9]</sup>。

$Y = \mu + Mu + Xg + e + W$   
式中,  $Y$  为表型向量, 表示多胎性状;  $\mu$  为产仔数均值向量;  $u$  为多基因效应向量;  $g$  为固定环境效应向量;  $e$  为残差。  $M$ 、 $W$  和  $X$  分别为  $u$ 、 $b$  和  $g$  的关联矩阵;  $b$  是 SNP 效应向量。  $U \sim N(0, s^2 K)$ ,  $s^2$  为全基因组关联分析加性遗传方差,  $K$  为亲缘关系的关联矩阵。  $e \sim N(0, s^2 G)$ ,  $s^2$  为剩余方差,  $G$  为残差的关联矩阵。

以  $2[-\log_{10}(0.01)]$  为阈值, 将策勒黑羊 X 染色体上  $P$  值小于 0.01 的所有 SNP 位点确定为与多胎性状显著相关的 SNP 位点。确定阈值后, 利用 R 语言工具绘制策勒黑羊 X 染色体的曼哈顿图和 Q-QPlot 图。

### 1.5 基因注释

全基因组关联分析与多胎性状显著相关的 SNP 位点上下游 50 kb 附近的基因选定为候选基因, 利用绵羊参考基因组 (Oar\_v4.0), 对筛选出的 SNP 位点的基因进行注释。

### 1.6 关联候选基因的注释分析

将注释的 20 个候选基因进行生物信息学分析, 所有获得 SNPs 基于 Oar\_v4.0 (<https://www.sheepmap.org/>) 进行注释。基因的功能分析参考 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>)、OMIM 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)以及相应的参考文献。使用 DAVID 工具<sup>[10]</sup> (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 进行 GO 和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 DNA 的提取、检测和质控结果

将策勒黑羊 100 份颈静脉血液样品分别进行 DNA 的提取, 经基因组 DNA 凝胶电泳检测合格后, 经过 Illumina Ovine SNP 50 K 芯片 SNP 分型后获得 52 084 个 SNPs。经过 Plink 质量控制后, 26 对常染色体上剩余 47 909 个 SNPs, X 染色体上剩余 1 249 个 SNPs。图 1 所示为策勒黑羊绵羊基因组 DNA 凝胶电泳检测结果, 从图中可以看出 M 孔为 DM 2 000, 1~10 泳道为样本孔, 条带清晰适合于后续 DNA 芯片的构建。

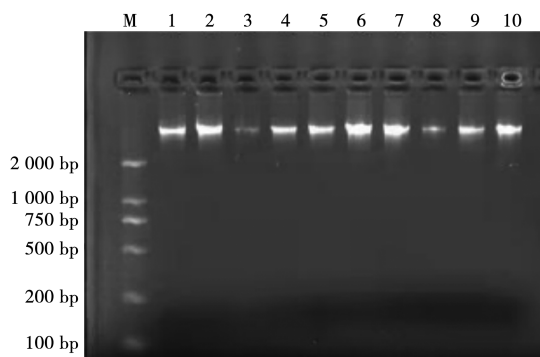


图 1 策勒黑羊绵羊基因组 DNA 凝胶电泳检测结果

### 2.2 X 染色体关联分析结果

经过筛选后, 获得 14 个策勒黑羊 X 染色体多胎性状上显著相关 SNP 位点。图 2 为策勒黑羊 X 染色体 SNP 位点的 Manhattan 图, X 轴表示策勒黑羊 X 染色体所有 SNP 位点, Y 轴表示与所有位点相关的统计显著性  $P$  值。图中的水平线即为设定的显著性阈值线  $2[-\log_{10}(0.01)]$ , 高于这条水平线的位点为与表型显著相关的位点。

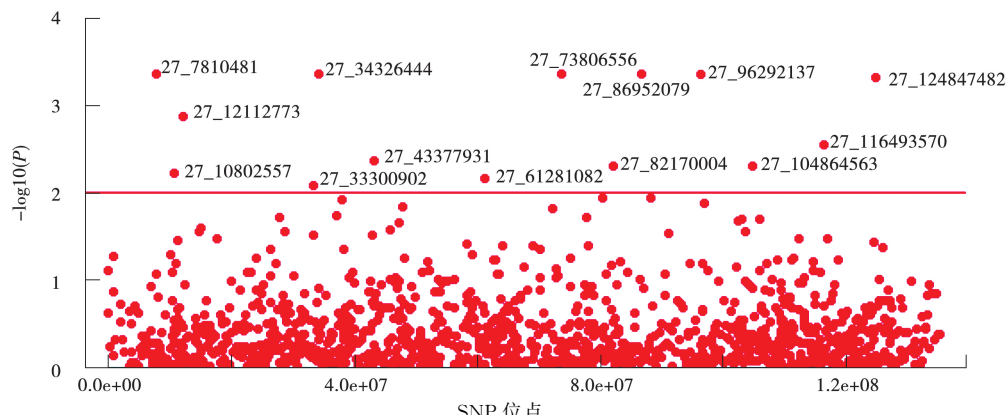


图 2 策勒黑羊 X 染色体 SNP 位点 Manhattan 图

图 3 为对多胎性状绘制的 Q-QPlot 图,横坐标表示预期值与取对数后的观测值之间的差异,而纵坐标表示实际观测值与取对数后的观测值之间的差异,从图中可以观察到在 2~3 之间实际值和预期值结果之间存在较大的偏离,这说明有更多的 SNPs 与该性状有较大的关联(14 个位点较为显著),结果准确可靠。

2.3 基因注释结果分析

全基因组关联分析与多胎性状显著相关的 SNP 位点上下游 50 kb 附近的基因选择为候选基因,使用绵羊参考基因组 (Oar\_v4.0),对筛选出的 SNPs 进行基因注释。基因注释结果如表 1 所

示,共筛选出 14 个 SNP 位点与多胎性状显著相关且每个位点附近均有两个候选基因。

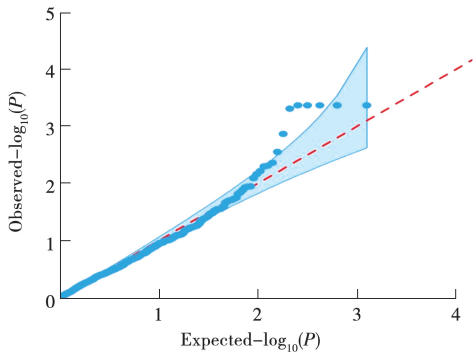


图 3 策勒黑羊 X 染色体 SNP 位点 Q-Q Plot 图

表 1 筛选候选基因

染色体	SNPs 位点	P	物理距离/bp	开始	结束	SNPs 附近候选基因
X	ChrX_7810481	0.000435	7810481	7439275	7709731	<i>PRDM9</i>
				7940970	8078003	<i>MID1</i>
X	ChrX_10802557	0.006130	10802557	10723120	10766469	<i>Uncharacterized</i>
				10849978	10870015	<i>EGFL6</i>
X	ChrX_12112773	0.001370	12112773	12014676	12180216	<i>GLRA2</i>
				12291339	12308108	<i>FANCB</i>
X	ChrX_33300902	0.008180	33300902	33281809	33282771	<i>MAGEB16</i>
				33368126	33876644	<i>CXORF22</i>
X	Chr_343264	0.000435	34326444	34267389	34272651	<i>ST6GAL1</i>
				34339997	34340653	<i>FTH1</i>
X	Chr_43377931	0.004420	43377931	43183911	43339669	<i>ZXDB</i>
				43517980	43520388	<i>ZXDB</i>
X	chr_61281082	0.006990	61281082	61077659	61079561	<i>Uncharacterized</i>
				61318806	61320506	<i>RGAG4</i>
X	Chr_73806556	0.000435	73806556	73668241	73911042	<i>CHM</i>
				73943824	73944215	<i>Uncharacterized</i>
X	Chr_82170004	0.004940	82170004	82009985	82017324	<i>AFF2</i>
				82577575	82674926	<i>FMR1NB</i>
X	Chr_86952079	0.000435	86952079	86415995	86417283	<i>GLUD1</i>
				86990338	86992851	<i>SLITRK4</i>
X	Chr_96292137	0.000435	96292137	96289505	96364877	<i>Uncharacterized</i>
				96383680	96417364	<i>GPC4</i>
X	Chr_104864563	0.005100	104864563	104555795	104557186	<i>DCAF12L2</i>
				104906917	104907903	<i>DCAF12L2</i>
X	Chr_116493570	0.002850	116493570	116310630	116311495	<i>Uncharacterized</i>
				116744320	116929746	<i>TRPC5</i>
X	Chr_124847482	0.000493	124847482	124755784	124788004	<i>MUMIL1</i>
				124901579	124902974	<i>Uncharacterized</i>

2.4 多胎性状关联候选基因结果

与多胎性状方面相关的候选基因有 6 个,分别

为 *FTH1*、*PRDM9*、*MID1*、*EGFL6*、*GLUD1* 和 *ST6GAL1*。其生物功能如表 2 所示。

表 2 候选基因生物学功能分析

基因名称	生物学功能分析
<i>FTH1</i>	参与细胞增殖、胚胎发育,与动物的生长、繁殖生产、产羔数显著相关
<i>PRDM9</i>	参与生殖细胞的减数分裂,影响动物生殖育种
<i>MID1</i>	参与胚胎发育过程中高度表达,发挥其主要功能,影响动物器官发育
<i>EGFL6</i>	参与调控了细胞周期、增殖、分化、凋亡,与癌症的发生密切相关
<i>GLUD1</i>	促进细胞代谢和增殖
<i>ST6GAL1</i>	参与子宫内膜组织细胞的增殖,抑制子宫组织细胞的凋谢

3 讨论

3.1 *FTH1* 基因

*FTH1* (*Ferritin Heavy Polypeptide 1*) 位于绵羊 X 染色体 34 339 997~34 340 653 bp 范围内,*FTH1* 具有调节细胞增殖、胚胎发育以及动物机体的生长和繁殖的作用。通过 Ferreira 等<sup>[11]</sup>研究发现,敲除 *FTH1* 基因后,小鼠胚胎发育至 3.5~9.5 d 之间时死亡,说明 *FTH1* 基因对小鼠胚胎神经早期发育起着重要作用。杨宏星<sup>[12]</sup>通过对猪的卵泡腔形成的分子筛选实验研究发现,*FTH1* 基因还可能参与卵泡囊腔的形成。Feng 等<sup>[13]</sup>通过对多胎的济宁青山羊和单胎的辽宁绒山羊的研究,发现 *FTH1* 基因与济宁青山羊的多胎性存在密切的关联。目前,关于 *FTH1* 基因与多胎繁殖性状相关性的研究在人及家禽上颇多,而在绵羊多胎性等方面的研究却鲜有报道<sup>[14]</sup>。王丽等<sup>[15]</sup>研究表明,*FTH1* 基因 g. 163-5 G>A 位点的突变和湖羊产羔数显著相关,推测 *FTH1* 基因可作为影响绵羊繁殖力的候选基因,为近一步培育提高策勒黑羊的繁殖力提供了研究方向。

3.2 *PRDM9* 基因

*PRDM9* (*PR Domaincontaining 9*) 位于绵羊 X 染色体 7 439 275~7 709 731 bp 范围内。关于 *PRDM9* 基因的研究多与减数分裂和杂交不育相关。*PRDM9* 是一种组蛋白甲基转移酶,可启动减数分裂重组<sup>[16]</sup>,通过其 C 端锌指 (*ZnF*) 结构域直接结合 DNA。实验研究发现敲除了 *PRDM9* 基因的雄性小鼠是不育的,因其阻碍了 DNA 双链的修复途径、同源染色体的配对等导致减数分裂无法继续进行<sup>[17]</sup>。

3.3 *MID1* 基因

*MID1* (*Midline-1*) 位于绵羊 X 染色体 7 940 970~8 078 003 bp 范围内,*MID1* 基因是一组被称为三重基序 (*TRIM*) 家族基因的一部分,这组家族基因产生的蛋白质参与了许多细胞活动。*MID1* 在早期胚胎阶段表达分布广泛,与器官形成过程和疾病相关组织的发育有关,乔英英<sup>[18]</sup>的小鼠实验表明,*MID1* 基因的敲除有可能会致小鼠胚胎早期发育停止。Quaderi 等<sup>[19]</sup>已经确定 *MID1* (*Midline-1*) 是 X 连锁的 Oritz(G/BBB) syndrome(OS) 的致病基因,与胚胎颜部及中枢神经发育相关是导致面部畸形的相关基因之一。胚胎发生是一个漫长而复杂的过程,其中一系列重塑事件以顺序方式发生,*MID1* 蛋白广泛存在于各类胚胎组织中,尤其在增殖中的组织中高水平表达<sup>[20]</sup>。通过谭海萍<sup>[21]</sup>的 CCK8 法检测细胞增殖情况实验可以看出 *MID1* 沉默影响细胞增殖,即 *MID1* 能够促进细胞的增殖。

3.4 *EGFL6* 基因

*EGFL6* 位于绵羊 X 染色体 10 849 978~10 870 015 bp 范围内。*EGFL6* 是 EGF 蛋白质超家族的成员,*EGFL6* 蛋白参与细胞膜的形成以及氨基酸的形成,在形成上皮细胞组织和细胞移植中有重要作用<sup>[22-23]</sup>。*EGFL6* 基因同时也与肿瘤组织的形成有关系,比如在卵巢癌等组织中表达显著,特别是在卵巢癌 TEC 中表达明显<sup>[24-25]</sup>。通过激活 ERK 途径触发 EC 迁移和血管生成,*EGFL6* 基因在成骨样细胞上显著表达,促进了内皮细胞血管生成和移植,同时作为类表皮生长因子域重复超家族中的一员,参与调控了细胞周期、增殖、分化、迁移、侵袭和凋亡过程,在多种肿瘤细胞与正常组织细胞相比表达明显增多<sup>[26]</sup>。



### 3.5 *GLUD1* 基因

谷氨酸脱氢酶 1(*GLUD1*) 基因位于 X 染色体 86 415 995~86 417 283 bp 范围内。研究表明,*GLUD1* 与细胞代谢和增殖有关。谷氨酰胺在细胞成骨分化过程中主要提供能量,也是细胞形成蛋白质的主要途径<sup>[27]</sup>。经研究发现,谷氨酰胺的缺失会抑制动物成骨细胞的矿化形成<sup>[28]</sup>。经谷氨酸脱氢酶基因编码的谷氨酸脱氢酶(Glutamate Dehydrogenase, GDH)是谷氨酰胺代谢中使谷氨酸转化为  $\alpha$  酮戊二酸的关键酶,该酶可通过调节谷氨酰胺的代谢水平,提供能量,促进细胞代谢和增殖<sup>[29]</sup>。

### 3.6 *ST6GAL1* 基因

*ST6GAL1* 基因位于绵羊 X 染色体 34 267 389~34 272 651 bp 范围内。是 N-糖链上形成  $\alpha 2,6$ -连接唾液酸的主要唾液酸转移酶的一种,而 SNA 凝集素可以特异性识别  $\alpha 2,6$ -唾液酸结构。谭喜红<sup>[30]</sup>使用 RNA 干扰技术进行细胞增殖的检测,发现 *ST6GAL1* 基因介导的  $\alpha 2,6$ -唾液酸结构对子宫上皮细胞增殖具有调控作用,从而影响胚胎在子宫内的附植情况。

### 3.7 其他候选基因

与 X 染色体连锁的 *GlyRa2* 亚单位基因(*GLRA2*)具有控制发育中的皮层和脊髓中的细胞更新、神经元迁移和突触发生的功能,其罕见的错义突变和微缺失与人类自闭症谱系障碍(ASD)、癫痫等疾病相关,在小鼠上敲除 *GLRA2* 严重影响动作电位的形状从而影响神经信号的传递<sup>[31-32]</sup>。

*FANCB* 基因促进了肺腺癌的发生及发展并与范可尼贫血相关<sup>[33-34]</sup>,其致病变异与胚胎的多发畸形遗传病相关。高璐等<sup>[35]</sup>认为 *FANCB* 基因 c.1162del(p. Y388Tfs \* 7)半合子变异可能与胎儿肢体畸形合并心脏发育异常的遗传病因相关。

*AFF2*(*FRAXE*)是 *ALF* 转录因子旁系同源物、参与神经发生和发育基因表达的转录超延伸复合物的组分之一,*AFF2*(*FRAXE*)基因是与 X 连锁的导致智力发育障碍基因之一,且被证实了可能与孤独症谱系障碍的发生有关<sup>[36-37]</sup>。

*TRPC5* 经典瞬时电位受体通道 5(*TRPC5*)是在细胞膜上的一种非选择性阳离子通道蛋白,

其在心血管系统有着广泛的分布。王晟<sup>[38]</sup>研究发现 *TRPC5* 在肥胖状态下对血管收缩具有调控作用,以小鼠为实验对象发现 *TRPC5* 参与了肥胖小鼠的主动脉收缩反应。同时 *TRPC5* 对摄入高糖引起的代谢失衡具有保护作用,并与肾脏疾病和血压调节有关<sup>[39-40]</sup>。

癌/睾丸抗原 *FMR1NB* 在多种肿瘤中异常表达,而在除睾丸外的正常组织中不表达。有研究发现 *FMR1NB* 与胶质瘤的发生和发展密切相关将来可作为胶质瘤和大肠癌的潜在靶向治疗点,而在小鼠身上进行敲除实验后观察到 *FMR1NB* 与性取向相关<sup>[41-43]</sup>。

磷脂酰肌醇蛋白聚糖-4(*GPC4*)是一种与胰岛素受体相互作用的脂肪因子,可影响蛋白聚糖的胰岛素敏感性,*GPC4* 通过与胰岛素受体相互作用和通过脂肪细胞分化来调节胰岛素信号,对 2 型糖尿病(T2DM)具有一定影响<sup>[44]</sup>。Simpson-Golabi-Behmel 综合征(SGBS)是一种罕见的过度生长综合征,临床特征为多种先天性异常、出生前/出生后过度生长、独特的颅面特征、小头畸形和器官肥大,而 *GBC4* 基因的重排与发生 SGBS 有一定的关系<sup>[45]</sup>。

截至目前发现 *GLRA2*、*FANCB*、*AFF2*、*FMR1NB*、*GPC4* 和 *TRPC5* 等基因大多与疾病相关联,在多胎繁殖性能方面的功能还没有发现,在将来可作为策勒黑羊多胎性状方面相关候选基因的研究,期望能够发现与策勒黑羊相关联的基因,为绵羊分子选育提供了参考,为策勒黑羊多胎性状方面的发展提供研究基础。

## 4 结论

本研究解析策勒黑羊多胎性状和 X 染色体分子标记的关联性,筛选出 14 个与策勒黑羊 X 染色体多胎性状相关的 SNPs,发现 6 个与多胎性状相关的候选基因,为进一步研究并培育策勒黑羊多胎的优良性状、促进南疆地区经济发展和保护新疆和田地区的优良品种奠定一定基础,最终通过基因生物学功能分析发现 *FTH1* 可作为影响策勒黑羊 X 染色体多胎性状的候选基因。

### 参考文献:

- [1] 吴正明,龚绍荣,周威斌,等.保山猪 *ESR* 基因与产仔数的关联分析[J].中国畜牧杂志,2023,59(10):207-210.
- [2] 张辉,狄冉,王凤艳,等.策勒黑羊 *GDF9* 和 *BMP15* 基因多

- 态性与产羔数关联分析[J]. 安徽农业大学学报, 2022, 49(2): 265-271.
- [3] 易鸣, 张继, 袁润, 等. *RBP4* 基因多态性与贵州黑山羊产羔性状关联性分析[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(10): 41-46.
- [4] 王建英, 曹顶国, 刘昭华, 等. 绵羊多羔性状候选基因的研究进展[J]. 草食家畜, 2017(3): 1-8.
- [5] 马晓菲, 陈晓勇, 刘爱菊, 等. 寒泊羊群体中 *BMPRII* 基因多态性及其对胎产羔数的影响[J]. 畜牧与兽医, 2020, 52(8): 6-11.
- [6] 郭晓红, 储明星, 周忠孝, 等. 小尾寒羊高繁殖力候选基因 *RARG* 的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(8): 756-760.
- [7] 何晨鹏, 李柏珍, 刘杰, 等. 母猪繁殖障碍综合征的主要发病原因及机制研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2023, 54(8): 3139-3151.
- [8] LIAMBI S, POSTIGLIONI A, 贾初朝. 荷斯坦牛脆性 X 染色体断裂点的定位[J]. 黄牛杂志, 1997, 23(2): 70-71.
- [9] TUERSUNTUOHETI M, ZHANG J H, ZHOU W, et al. Exploring the growth trait molecular markers in two sheep breeds based on Genome-wide association analysis [J]. PLoS One, 2023, 18(3): e0283383.
- [10] HUANG D W, SHERMAN B T, TAN Q N, et al. DAVID bioinformatics resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists[J]. Nucleic Acids Research, 2007, 35 (Web Server Issue): W169-W175.
- [11] FERREIRA C, BUCCHINI D, MARTIN M E, et al. Early embryonic lethality of H ferritin gene deletion in mice[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(5): 3021-3024.
- [12] 杨宏星. 猪腔前卵泡体外培养体系优化及参与卵泡腔形成的分子筛选[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- [13] FENG T, CAO G L, CHU M X, et al. Identification and verification of differentially expressed genes in the caprine hypothalamic-pituitary-gonadal axis that are associated with litter size[J]. Molecular Reproduction and Development, 2015, 82(2): 132-138.
- [14] 胡瑞雪, 乐祥鹏, 李万宏, 等. 湖羊和小尾寒羊 *FTH1* 基因多态性分析[C]//中国畜牧兽医学会养羊学分会. 2017 年全国养羊生产与学术研讨会暨养羊学分会第七次全国会员代表大会论文集. 兰州大学草地农业科技学院, 2017: 65.
- [15] 王丽, 李万宏, 李发弟, 等. *FTH1* 基因多态性与湖羊和小尾寒羊产羔数的关联分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(4): 1529-1534.
- [16] PARVANOV E D, TIAN H, BILLINGS T, et al. *PRDM9* interactions with other proteins provide a link between recombination hotspots and the chromosomal axis in meiosis[J]. Molecular Biology of the Cell, 2017, 28(3): 488-499.
- [17] HAYASHI K, YOSHIDA K, MATSUI Y. A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase [J]. Nature, 2005, 438 (7066): 374-378.
- [18] 乔英英. Opitz 综合征基因 *MID1* 对早期颌面部发育的影响及其分子功能[D]. 广州: 暨南大学, 2021.
- [19] QUADERI N A, SCHWEIGER S, GAUDENZ K, et al. Opitz G/BBB syndrome, a defect of midline development, is due to mutations in a new *RING* finger gene on Xp22 [J]. Nature Genetics, 1997, 17(3): 285-291.
- [20] BAUDAT F, BUARD J, GREY C, et al. *PRDM9* is a major determinant of meiotic recombination hotspots in humans and mice[J]. Science, 2010, 327(5967): 836-840.
- [21] 谭海萍. 唇腭裂相关基因 *MID1* 和 *IRF6* 对细胞增殖、凋亡、移行和 EMT 的影响[D]. 广州: 暨南大学, 2016.
- [22] AN J N, DU Y, FAN X J, et al. *EGFL6* promotes breast cancer by simultaneously enhancing cancer cell metastasis and stimulating tumor angiogenesis[J]. Oncogene, 2019, 38: 2123-2134.
- [23] TANGC T, ZHANG Q W, WU S, et al. Thalidomide targets *EGFL6* to inhibit *EGFL6/PAX6* axis-driven angiogenesis in small bowel vascular malformation [J]. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS, 2020, 77(24): 5207-5221.
- [24] WANG X C, GONG Y, WANG D J, et al. Analysis of gene expression profiling in meningioma: deregulated signaling pathways associated with meningioma and *EGFL6* overexpression in benign meningioma tissue and serum [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52707.
- [25] BUCKANOVICH R J, SASAROLI D, O'BRIEN-JENKINS A, et al. Tumor vascular proteins as biomarkers in ovarian cancer[J]. Journal of Clinical Oncology, 2007, 25(7): 852-861.
- [26] WU B H, ZHANG L G, YU Y F, et al. MiR-6086 inhibits ovarian cancer angiogenesis by downregulating the OC2/VEGFA/EGFL6 axis[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11(5): 345.
- [27] CHIM S M, QIN A, TICKNER J, et al. *EGFL6* promotes endothelial cell migration and angiogenesis through the activation of extracellular signal-regulated kinase [J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(25): 22035-22046.
- [28] BROWN P M, HUTCHISON J D, CROCKETT J C. Absence of glutamine supplementation prevents differentiation of murine calvarial osteoblasts to a mineralizing phenotype[J]. Calcified Tissue International, 2011, 89(6): 472-482.
- [29] HENSLEY C T, WASTI A T, DeBERARDINIS R J. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2013, 123(9): 3678-3684.
- [30] 谭喜红. *ST6GAL1* 介导的  $\alpha 2, 6$ -唾液酸修饰对猪胚胎附植期子宫内膜上皮细胞增殖的调控作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [31] CHEN X M, WILSON K A, SCHAEFER N, et al. Loss, gain and altered function of GlyR  $\alpha 2$  subunit mutations in

- neurodevelopmental disorders[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2022, 15: 886729.
- [32] SCHAEFERMEIER P, HEINZE S. Hippocampal characteristics and invariant sequence elements distribution of *GLRA2* and *GLRA3* C-to-U editing[J]. *Molecular Syndromology*, 2017, 8(2): 85-92.
- [33] COMHAIR J, DEVOGHT J, MORELLI G, et al. Alpha2-containing Glycine receptors promote neonatal spontaneous activity of striatal medium spiny neurons and support maturation of glutamatergic inputs[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2018, 11: 380.
- [34] 苏联椿. *CDH1*、*FANCB* 和 *APC* 基因多态性与肺癌易感性的关系和 *FANCB* 在肺腺癌中的表达与功能研究[D]. 石河子:石河子大学,2023.
- [35] 高璐,俞冬熠,刘娜,等. *FANCB* 基因半合子变异致多发畸形胎儿 1 例的分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2023, 40(10):1257-1262.
- [36] ZOU D F, QIN B, WANG J, et al. *AFF2* is associated with X-linked partial (focal) epilepsy with antecedent febrile seizures[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2022, 15: 795840.
- [37] 黄丽,李佳敏,朱华,等. 通过外显子组测序对 1 例孤独症谱系障碍患者的致病基因分析[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(12):2242-2245.
- [38] 王晟. *TRPC5* 在肥胖状态下对血管功能的调控作用及机制研究[D]. 无锡:江南大学,2023.
- [39] ARAÚJO M C, SOCZEK S H S, PONTES J P, et al. Analysis of the effect of the *TRPC4/TRPC5* blocker, ML204, in sucrose-induced metabolic imbalance[J]. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(8): 1100.
- [40] ANDO C, MA S H, MIYOSHI M, et al. Postnatal nutrition environment reprograms renal DNA methylation patterns in offspring of maternal protein-restricted stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1134955.
- [41] BI S Q, PENG Y, WEI Z D, et al. *FMR1NB* involved in glioma tumorigenesis is a promising target for prognosis and therapy[J]. *Current Medical Science*, 2022, 42(4): 803-816.
- [42] 罗彬,云翔,范蓉,等. 顶体素结合蛋白和脆性 X 智障基因 1 邻近蛋白在大肠癌中的表达及意义[J]. *广东医学*, 2014, 35(7):1071-1074.
- [43] HU S H, LI H M, YU H L, et al. Discovery of new genetic loci for male sexual orientation in Han population [J]. *Cell Discovery*, 2021, 7(1):103.
- [44] LEE S A, KOH G, CHO S J, et al. Correlation of glypican-4 level with basal active glucagon-like peptide 1 level in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Endocrinology and Metabolism*, 2016, 31(3): 439-445.
- [45] TENORIO J, ARIAS P, MARTÍNEZ-GLEZ V, et al. Simpson-Golabi-Behmel syndrome types I and II [J]. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2014, 9: 138.

## Correlation Analysis of X Chromosome Multiple Embryonic Traits in Qira Black Sheep

PENG Yuwei<sup>1</sup>, WANG Shanglong<sup>1</sup>, WANG Yuanfeng<sup>1</sup>, WANG Quanfeng<sup>2</sup>, YANG Jianli<sup>2</sup>, MA Zhengwei<sup>2</sup>, ZUO Jianming<sup>2</sup>, LIU Shudong<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Tarim University / Key Laboratory Tarim Animal Husbandry Science and Technology Xinjiang Production & Construction Corps, Aral 843300, China; 2. Hotan Jinken Pasture Science and Technology Company Limited, Celle 848300, China)

**Abstract:** In order to breed the Qira black sheep breed for multiple birth traits, the genetic resolution of multiple birth traits on the X chromosome of Qira black sheep was investigated by using multiple birth traits and X chromosome molecular markers. One hundred Qira black sheep were selected for genotyping, and PLINKv1.90 was used for quality control. At the same time, SNP loci on the X chromosome and multiparity trait of Qira black sheep were analyzed by association, and SNP loci with  $P < 0.01$  were selected for labeling, and genes near the screened SNP loci were annotated and analyzed, so as to obtain the candidate genes for multiparity on the X chromosome. The results showed that 14 SNPs were significantly associated with X chromosome multiparity in Qira black sheep on a genome-wide scale. A total of 20 candidate genes were screened and analyzed for their biological functions. Six candidate genes were associated with the multiple birth trait, among which, the *FTH1* gene has been reported in the literature as a candidate gene for the multiple birth trait.

**Keywords:** Qira black sheep; multiple embryonic traits; X chromosome; candidate gene