

黄牛 *SH2B1* 基因多态性及其与体尺性状的关联性分析

张毅威, 桂林生, 郭文莉, 胡 言, 余横伟, 杨武才, 咎林森, 赵春平*

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:为探讨 *SH2B1* 基因在黄牛中的组织表达规律和遗传多态性, 采集 3 头 2 周岁秦川母牛的 6 种组织, 构建 *SH2B1* 基因的组织表达谱; 此外, 以 4 个中国地方黄牛品种为研究对象, 包括秦川牛、郫县红牛、巴山牛和南阳牛, 结合 DNA 测序技术检测 *SH2B1* 基因的多态位点, 并将其与秦川牛生长发育的指标进行了关联分析。qPCR 结果表明, *SH2B1* 基因在秦川牛组织中呈泛表达状态, 并在背最长肌组织中表达最高。DNA 测序分析在 *SH2B1* 基因的第 4 内含子和 3'UTR 共发现了 2 个单核苷酸多态位点, 分别命名为 C6073T 和 T8067C。关联性分析结果表明, C6073T 能够显著影响体长、坐骨端宽和胸围, 而 T8067C 能够显著影响体长和体高。综上所述, 笔者推测 *SH2B1* 基因可以作为影响秦川牛生产性能的遗传标记候选基因。

关键词: *SH2B1* 基因; 表达模式; SNP; 体尺性状

中图分类号: S823.8⁺1; Q347 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9111(2019)04-0001-06

SH2B 衔接因子蛋白 1 (Src homology 2 B adaptor protein 1, *SH2B1*) 属于 SH2B 接头蛋白家族, 该家族蛋白含有 SH2 和 PH 结构域^[1]。SH2B1 蛋白在小鼠的中枢神经和外周组织中广泛表达, 在脂肪和肌肉等组织含量丰富^[2]。研究发现 *SH2B1* 的 SH2 结构域能够与多种生长因子受体或细胞因子结合, 其中包括胰岛素受体 (IR)、IR 底物 (IRS) 1 和 2、Janus 激酶 (JAK) 1 和 2, 参与多种激素和多个细胞因子的信号通路, 从而在生长发育、食欲、体重、代谢平衡、免疫调节等方面发挥着重要作用^[3]。

近年来, 国内外在人和小鼠上开展了大量关于 *SH2B1* 基因功能的研究^[3-4]。研究发现完全敲除 *SH2B1* 基因的小鼠表现为胰岛素抵抗、瘦素抵抗、脂肪代谢紊乱、葡萄糖耐受性丧失等一系列与肥胖症相关的症状。如果让 *SH2B1* 仅在小鼠神经组织中表达, 则可逆转这些肥胖相关的症状。如果让 *SH2B1* 在神经组织中过表达, 将明显的缓解由 HFD 给药所引起的瘦素抵抗和肥胖^[2]。此外, Song 等通

过对 *SH2B1* 敲除小鼠进行研究, 发现 *SH2B1* 缺失小鼠表现为代谢能力下降、生长发育迟缓、体型明显变小、存活率降低、寿命变短等特征, 表明 *SH2B1* 对代谢和生长亦有调控作用^[1]。还有研究表明, *SH2B1* 参与调控脂肪细胞分化, 如果去除或者阻断 *SH2B1* 的作用, 将导致脂肪干细胞分化为成熟的脂肪细胞困难并妨碍脂肪细胞中脂质的累积, 表明 *SH2B1* 在脂肪细胞分化和脂肪沉积中发挥着作用^[5-6]。*SH2B1* 基因内的多个 SNP 位点与肥胖密切相关。在人上, *SH2B1* 基因上的 5 个完全连锁的 SNP 与腰围、体重、血清瘦素水平和体内脂肪含量等显著相关^[7]。目前在家畜上也开展了 *SH2B1* 基因相关的研究。在探讨 *SH2B1* 基因在牛生长发育等方面的作用中, 杨明娟等分析了 *SH2B1* 基因在南阳牛等群体中的遗传变异及其与生长性状的关系, 发现 *SH2B1* 基因第 2 795 bp 处存在 G > A 的错义突变, 导致相应的氨基酸由 Ala 突变为 Thr。关联分析显示, 该突变位点与生长性状显著相关, 认为该基因可

收稿日期: 2019-01-16 修回日期: 2019-01-25

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2018ZDXM-NY-046); 杨凌示范区协同创新重大项目 (2017CXY-14); 国家重点研发计划项目 (2018YFD0501700); 杨凌示范区科技计划项目 (2016NY-03); 国家肉牛牦牛产业技术体系项目 (CARS-37)

作者简介: 张毅威 (1994—), 男, 内蒙古呼和浩特人, 在读研究生, 主要从事奶牛营养研究。E-mail: joseph.zhangyiwei@gmail.com

* 通讯作者: 赵春平 (1975—), 男, 陕西长武人, 副教授, 主要从事肉牛、奶牛遗传育种与健康养殖方面的教学科研工作。E-mail: zhao.chunping@foxmail.com

作为南阳牛体尺、体重和日增重选择的分子育种候选标记^[8]。

鉴于 *SH2B1* 基因在肥胖症、脂肪代谢、生长发育中的重要作用,为深入探讨该基因在中国黄牛的组织表达规律和遗传多态性,本研究拟分析 *SH2B1* 基因在秦川牛不同组织中的相对表达量;此外,以 4 个中国地方黄牛品种为研究对象,包括秦川牛、郟县红牛、巴山牛和南阳牛,检测 *SH2B1* 基因在 4 个黄牛群体中的多态性,并分析不同基因型对秦川牛体尺性状的影响,以期为深入研究 *SH2B1* 的功能及分子标记辅助选择打下了基础,为秦川牛选育改良提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采集 3 头 2 周岁秦川牛的 6 种组织,包括肾脏、肝脏、背最长肌、小肠、脂肪、心脏。采集 18~24 月龄的 4 个地方黄牛品种共 1 062 头的血样,包括秦川牛 476 头、郟县红牛 335 头、巴山牛 142 头、南阳牛 109 头。对秦川牛进行体尺测量,测定性状包括体长(BL)、体高(WH)、腰高(HH)、臀长(RL)、坐骨端宽(HW)、胸深(CD)、胸围(CC)^[9]。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA 的提取和组织表达的分析 采用 TRIzol 试剂盒提取总 RNA,再经过反转录得到 cD-

NA^[9]。利用实时荧光定量 PCR 仪检测基因表达。反应体系总体积为 20 μ L,包括:2.0 μ L cDNA (50 ng),0.8 μ L 上、下游引物 (0.4 μ mol/L),10 μ L SYBR Premix Ex TaqTM II,0.4 μ L ROX reference dye 和 6 μ L 水。具体扩增步骤为:95 $^{\circ}$ C,30 s;然后 95 $^{\circ}$ C,5 s,40 个循环;最后 60 $^{\circ}$ C,45 s。每个样品重复 3 次, β -actin 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 *SH2B1* 基因的相对表达水平^[10]。

1.2.2 基因组 DNA 的提取及检测 本试验采用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取包括秦川牛在内的共 1 062 头的血样基因组 DNA,提取后的 DNA 用 TE 缓冲液溶解,采用 0.5 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,测定 DNA 浓度后,-20 $^{\circ}$ C 保存备用^[9]。

1.2.3 引物设计合成及 PCR 扩增 参照 GeneBank 中公布的牛 *SH2B1* 的序列 (AC_000182.1),利用 Primer 5.0 软件设计引物见表 1,引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,PCR 反应体系 30 μ L,包括:含有核酸染料的 dNTPs、TaqDNA 聚合酶、10 $\times$ Buffer 的 Mix 15.0 μ L,dd H₂O 11.8 μ L,10.0 μ mol/L 混合引物 (上游引物和下游引物各 10.0 pmol/ μ L) 1.2 μ L,模板 DNA (50 ng/ μ L) 2.0 μ L。PCR 反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C,30 s,最适温度退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存,用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。

表 1 牛 *SH2B1* 基因引物序列及相关信息

引物	引物序列(5'-3')	片段大小/bp	位置	$T_m/^{\circ}$ C
β -actin	CACCAACTGGGACGACAT ATACAGGGACAGCACAGC	202	CDS	61.0
qPCR	CAGCCACAGGGTCCTTACTG GTCCATGAAGGGGGTTCAGG	445	CDS	58.0
P1-SNP1	TTGGGAAGCTCGGGAGGAAG GGCTCGCCTTGGAACAGTAAG	1037	Intron & exon	60.0
P2-SNP2	ATCCCAGAGCCATAAATAAC ATGGAAGTGAATAAACCTT	927	3'UTR	61.9

1.2.4 数据统计与分析 运用遗传多样性分析软件 (Genpop 32) 统计各突变点的等位基因频率和基因型频率,同时计算多态信息含量 (PIC)、有效等位基因数 (Ne)、遗传杂合度 (He) 和遗传纯合度 (Ho)。使用 SPSS 16.0 软件对不同位点基因型的分布进行 Hardy-Weinberg 平衡适应性检验^[11]。

利用 SPSS 19.0 软件检验各基因座位的基因型

频率和秦川牛的体尺性状指标的关联性,数学模型为:

$$Y_{ijm} = \mu + G_i + A_j + S_m + E_{ijm} \quad (1)$$

式中: Y_{ijm} 为每头牛测量的性状; μ 为性状的平均值; G_i 为与基因型相关固定效应; A_i 为由于年龄造成的固定效应; S_m 为父本的固定效应; E_{ijm} 为随机误差^[12]。

2 结果与分析

2.1 *SH2B1* 基因 PCR 扩增片段测序结果

牛 *SH2B1* 基因位于 25 号染色体上,基因全长 8 550 bp,含 8 个外显子。参考 NCBI 数据库中 GenBank 公布的牛 *SH2B1* 基因序列(AC_000182.1),对测序结果进行 DNA 序列比对和突变位点分析,共检测到 2 个 SNP 位点,分别是在扩增序列的第 6 073 位处发生一处单碱基 C > T 的突变(图 1),该 SNP 位于 *SH2B1* 基因第 4 内含子区域;另外在序列第 8 067 位处发生一处 T > C 突变(图 2),该 SNP 位于 *SH2B1* 基因的 3'UTR 区域。

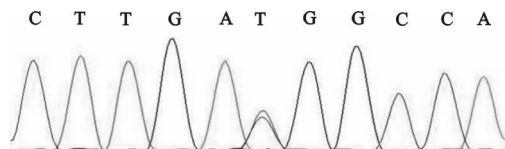


图 1 多态位点 C6073T 序列图

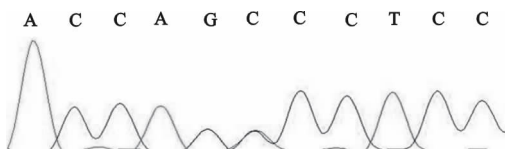


图 2 多态位点 T8067C 序列图

2.2 秦川牛 *SH2B1* 基因 mRNA 的组织表达分析

SH2B1 基因在秦川牛 6 种组织中表达情况分析结果见图 3。从图 3 可以看出,*SH2B1* 基因在各组织中呈泛表达状态,表明该基因在体组织中分布广泛,其表达量从高到低依次为心脏、背最长肌、肾脏、脂肪、肝脏、小肠。

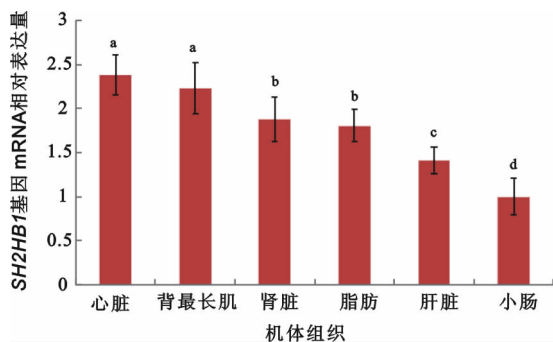


图 3 秦川牛 *SH2B1* 基因 mRNA 的组织表达分析

2.3 *SH2B1* 基因多态位点的遗传学分析

4 个黄牛群体中 *SH2B1* 基因 2 个多态位点的基因频率和遗传多态性统计结果见表 2。由表 2 可知,秦川牛群体中,SNP1 和 SNP2 位点均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P > 0.05$)。在 SNP1 位点上,C 和 T 等位基因的频率分别为 67.86% 和

32.14%;CC、CT、TT 基因型频率分别为 48.32%,39.08%,12.61%;基因杂合度和有效等位基因分别是 0.436 2 和 1.773 8。在 SNP2 位点上,T 和 C 等位基因频率分别为 78.36% 和 21.64%;TT、TC、CC 等位基因频率分别为 63.03%,30.67%,6.30%;基因杂合度和有效等位基因分别为 0.339 1 和 1.513 1。秦川牛群体中 *SH2B1* 基因在 2 个 SNPs 位点多态信息含量分别为 0.341 1 和 0.281 6,均属于中度多态。

郫县红牛群体中,*SH2B1* 基因在第 1 个多态位点有 3 种基因型,即 CC、CT 和 TT,他们的频率分别为 57.01%,32.24%,10.75%,等位基因 C 和 T 的频率分别为 73.13% 和 26.87%。该位点的多态信息含量、基因杂合度和有效等位基因数分别为 0.315 8,0.393 0,1.647 3。因为 $0.25 < PIC \leq 0.5$,故属于中度多态。从表 2 中还可得出,第 1 个多态位点处于 Hardy-Weinberg 极不平衡状态 ($P < 0.01$)。在第 2 个多态位点,TT、TC、CC 的频率分别为 51.04%,39.49%,9.55%,等位基因 T 和 C 的频率分别为 70.75% 和 29.25%,该位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,该位点的多态信息含量、基因杂合度和有效等位基因数分别为 0.328 3,0.413 9,1.706 2。

巴山牛群体中,在 SNP1 上,C 和 T 等位基因的频率分别为 69.37% 和 30.63%,CC、CT、TT 基因型频率分别为 51.41%,35.92%,12.68%;在 SNP2 上,T 和 C 等位基因频率分别为 76.76% 和 23.24%,TT、TC、CC 基因型频率分别为 65.49%,22.54%,11.97%;巴山牛群 *SH2B1* 基因在 2 个 SNPs 位点的多态信息含量(PIC)分别为 0.334 7 和 0.293 1,皆属于中度多态。在第 1 个多态位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,在第 2 个多态位点处于 Hardy-Weinberg 极不平衡状态 ($P < 0.01$)。2 个 SNP 位点的基因杂合度和有效等位基因数分别为 0.425 0,1.739 1 和 0.356 8,1.554 7。

南阳牛群体中,在 SNP1 上,CC、CT、TT 基因型频率分别为 48.62%,32.11%,19.27%;在 SNP2 上,TT、TC、CC 基因型频率分别为 59.63%,32.11%,8.26%。Hardy-Weinberg 的结果与巴山牛不同,在第 1 个多态位点处于 Hardy-Weinberg 极不平衡状态 ($P < 0.01$),而在第 2 个多态位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。南阳牛群 *SH2B1* 基因在 2 个 SNPs 位点的多态信息含量(PIC)分别为 0.352 5 和 0.300 3,皆属于中度多态。在 SNP1,基因杂合度和有效等位基因分别是 0.456 9 和 1.841 3,而在 SNP2,这两项指标分别为 0.368 0 和 1.582 3。

表 2 *SH2B1* 基因各多态位点在 4 种黄牛群体的基因型频率

多态位点	品种	头数/头	基因型频率/%			等位基因频率/%		χ^2 (HWE)	多态信息含量 (PIC)	基因杂合度 (He)	有效等位基因数 (Ne)
SNP1	QC	476	CC 48.32	CT 39.08	TT 12.61	C 67.86	T 32.14	5.1713	0.3411	0.4362	1.7738
	JX	335	CC 57.01	CT 32.24	TT 10.75	C 73.13	T 26.87	10.8048	0.3158	0.3930	1.6473
	BS	142	CC 51.41	CT 35.92	TT 12.68	C 69.37	T 30.63	3.4076	0.3347	0.4250	1.7391
	NY	109	CC 48.62	CT 32.11	TT 19.27	C 64.68	T 35.32	9.6295	0.3525	0.4569	1.8413
SNP2	QC	476	TT 63.03	TC 30.67	CC 6.30	T 78.36	C 21.64	4.3459	0.2816	0.3391	1.5131
	JX	335	TT 51.04	TC 39.40	CC 9.55	T 70.75	C 29.25	0.7734	0.3283	0.4139	1.7062
	BS	142	TT 65.49	TC 22.54	CC 11.97	T 76.76	C 23.24	19.2681	0.2931	0.3568	1.5547
	NY	109	TT 59.63	TC 32.11	CC 8.26	T 75.69	C 24.31	1.7720	0.3003	0.3680	1.5823

注: HWE 表示哈温伯格平衡; $\chi^2_{0.05} = 5.991$, $\chi^2_{0.01} = 9.210$ 。

2.4 *SH2B1* 基因 2 个多态位点突变与秦川牛体尺性状的相关性分析

对秦川牛的 7 个体尺性状进行测定, 并对 *SH2B1* 基因 2 个多态位点不同基因型与体尺性状进行关联分析, 结果(表 3)表明, 在 C6073T 多态位点, CC 型个体($n=230$) 在体长(BL)、腰高(HH)、坐骨端宽(HW)都显著优于 TT 型($P<0.05$), 而 CC 个体和 TT 型个体之间, 胸围(CC) 差异极显著($P<0.01$)。此外, TT 个体的坐骨端宽(HW)与其他个

体之间差异也显著($P<0.05$), 显著小于 CC 和 CT 型。

对秦川牛的第 2 个多态位点(T8067C) 和不同基因型之间进行关联性分析, 分析结果(表 3)表明, TT 型个体在体长(BL) 这项指标与 TC 型($n=146$) 差异不显著, 但 CC 型个体($n=30$) 与其他个体之间差异极显著($P<0.01$); 体高(WH) 这项指标, TT 型与 TC 型个体对 CC 型个体差异显著($P<0.05$), CC 型个体与其他个体间差异极显著($P<0.01$)。

表 3 秦川牛 *SH2B1* 基因各多态位点不同基因型与体尺性状的关联分析

多态位点	基因型	n	BL/cm	WH/cm	HH/cm	RL/cm	HW/cm	CD/cm	CC/cm
SNP1	CC	230	133.35 ± 0.83a	119.60 ± 0.93	124.27 ± 0.51a	41.52 ± 0.32	39.51 ± 0.51a	59.81 ± 0.61	165.55 ± 1.43A
	CT	186	131.58 ± 0.77	119.33 ± 0.87	122.48 ± 0.58	41.35 ± 0.32	38.77 ± 0.34a	57.97 ± 0.54	161.58 ± 1.24
	TT	60	128.13 ± 0.61b	118.77 ± 0.62	117.21 ± 0.35b	41.33 ± 0.25	35.85 ± 0.30b	57.18 ± 0.42	157.43 ± 0.96B
SNP2	TT	300	133.05 ± 0.86A	121.15 ± 1.17Aa	123.14 ± 0.62	41.59 ± 0.47	38.92 ± 0.53	59.45 ± 0.63	163.38 ± 1.54
	TC	146	132.25 ± 0.77A	118.36 ± 0.81Ab	122.25 ± 0.47	41.25 ± 0.33	38.68 ± 0.43	56.883 ± 0.50	162.42 ± 1.23
	CC	30	120.28 ± 0.66B	106.80 ± 0.65B	120.17 ± 0.39	40.71 ± 0.24	37.55 ± 0.35	59.883 ± 0.38	161.63 ± 0.89

注: 同列数据后标注不同小写字母表示差异显著($P<0.05$); 同列数据后标注不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

BL(体长), WH(体高), HH(腰高), RL(臀长), HW(坐骨端宽), CD(胸深), CC(胸围)。

3 讨论

SH2B 衔接因子蛋白 1 是一种信号分子,参与多种信号传导,在体内能量代谢调节等过程中发挥着重要的作用。细胞实验表明,*SH2B1* 基因可以参与生长激素诱导的 JAK2 活化、延缓 IR 酪氨酸及 IRS 的去磷酸化、增强 IRS 的磷酸化^[6,13-14]。*SH2B1* 敲除鼠的实验表明,*SH2B1* 对血糖、血脂、肥胖、胰岛素、瘦素等具有重要的调节作用^[15-16]。杨明娟等分析了 *SH2B1* 基因在中国黄牛群体中的遗传变异及其与生长性状的关系,发现 *SH2B1* 基因上存在的错义突变与生长性状显著相关,认为该基因可作为中国黄牛生产性状的分子育种候选标记^[8]。因此,本试验研究了秦川牛、郫县红牛、巴山牛和南阳牛 4 个中国地方品种 *SH2B1* 基因的多态性,在该基因的第 4 内含子和 3'UTR 共发现了 2 个多态位点,即 C6073T 和 T8067C,这 2 个多态位点处于中度多态,因此,在生产中可以对 *SH2B1* 基因进行进一步加强选择。进行卡方检验之后发现在 C6073T 多态位点上郫县红牛和南阳牛均处于 Hardy-Weinberg 极不平衡状态,这可能是经过了长期选育以后造成的基因频率的改变,也有可能是牛品种自身的原因,还有可能是不同地区人为对牛性状的不同选育而造成的;相反巴山牛和秦川牛处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,说明在人工选育、迁徙和遗传漂变等外界因素作用下,这个 C6073T 多态位点的基因型处于动态平衡中^[8]。

经过长期选育以后,秦川牛等地方牛品种的生产性能得到了快速提高。此外,加大对特定基因的选择强度必定成为提高秦川牛以及其他地方黄牛生产性状的一个有效手段。*SH2B1* 基因各突变位点不同基因型与秦川牛体尺的关联性分析表明:C6073T 位点与秦川牛的体长、髀高、坐骨端宽显著相关,对秦川牛的胸围影响极显著。而 T8067C 位点对于秦川牛体长、体高影响显著,并且 T8067C 的显性纯合子相对于杂合子在体高方面影响显著。通过对 C6073T 和 T8067C 2 个多态位点有关于体长、体高、髀高、臀长、坐骨端宽、胸深、胸围的体尺相关性分析后,笔者认为,*SH2B1* 基因可能是影响秦川牛体长的主效基因或与之紧密连锁,可以尝试把 *SH2B1* 基因作为秦川牛新品系培育的辅助选择分子标记。

测序和序列比对表明,2 个 SNPs 位于内含子区域和 3'UTR 区域,并未改变其编码的蛋白质的结构。然而,最近的研究提供的证据表明,在 3'UTR 的基因突变可能通过影响 mRNA 的稳定性和翻译,

从而有可能影响蛋白表达及表型^[17-19]。例如,牛 *NUCB2* 基因上的 2 个无意突变与秦川牛和南阳牛的体尺及生长性状显著相关^[20],*OBR* 基因内含子 8 上的 2 个多态位点与肉鸡的腹脂重和腹脂率显著相关^[21],*PAX3* 基因内含子上的 1 个 SNP 与草原红牛和南阳牛的体长和体高相关^[22]。本研究发现 *SH2B1* 基因的内含子区域和 3'UTR 区域的突变,与秦川肉牛的体尺性状显著相关,笔者推测这 2 个 SNP 位点可能对 *SH2B1* 蛋白表达、折叠或功能具有一定的影响。

在对秦川牛的不同组织进行了实时定量 PCR 分析后,笔者发现 *SH2B1* 基因在各组织中广泛表达,表达量最高的组织是背最长肌和心脏组织,在小肠中表达量最少,在肾脏、肝脏与脂肪组织中表达量中等,这一结果表明该基因在牛组织中的表达情况和人上的类似^[2],即在许多组织中广泛表达,这也与 *SH2B1* 参与多种信号途径传递的功能相一致。

本试验只对秦川牛 *SH2B1* 基因与体尺指标做了相关性分析,并没有对郫县红牛、巴山牛和南阳牛 *SH2B1* 基因对于体尺指标进行相关性分析,所以在秦川牛身上得出的结论是否可以推广到其他 3 个地方品种的育种方面,还有待进一步研究。

4 结论

研究通过 qPCR,对 *SH2B1* 基因在不同组织中的表达进行分析,并利用 DNA 测序技术在 4 个黄牛群体中检测了 *SH2B1* 基因的多态性,结果表明该基因在秦川牛各组织中广泛表达。此外在 *SH2B1* 基因的第 4 内含子和 3'UTR 各发现了 1 个单核苷酸多态位点,分别是 C6073T 和 T8067C,并分析了这 2 个多态位点在 4 个黄牛群体中的等位基因频率、多态信息含量、基因杂合度、有效等位基因数,进行了哈温伯格平衡检验。在秦川牛群体中,就 *SH2B1* 基因各多态位点不同基因型与体尺性状进行关联型分析,结果表明这 2 个位点与秦川牛某些体尺性状有显著相关性。因此,*SH2B1* 基因可以作为影响秦川牛生产性状的遗传标记候选基因。

参考文献:

- [1] Song W, Ren D C, Li W J, et al. *SH2B* regulation of growth, metabolism, and longevity in both insects and mammals[J]. *Cell Metabolism*, 2010, 11(5):427-437.
- [2] Ren D C, Zhou Y J, Morris D, et al. Neuronal *SH2B1* is essential for controlling energy and glucose homeostasis[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2007, 117(2):397-406.
- [3] 钱丽娜,张春雷,房兴堂,等. *SH2B* 衔接因子蛋白 1(*SH2B1*) 研究进展[J]. *中国牛业科学*, 2011, 37(2):54-56.

- [4] 李世蕊,邢小燕. SH2 衔接蛋白 1 基因在体内能量代谢调节中的作用[J]. 中华糖尿病杂志,2014,6(3):187-190.
- [5] Wang J, Riedel H. Insulin-like growth factor-I receptor and insulin receptor association with a Src homology-2 domain-containing putative adapter[J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(6): 3136-3139.
- [6] Ahmed Z, Pillay T S. Adapter protein with a pleckstrin homology (PH) and an Src homology 2 (SH2) domain (APS) and SH2-B enhance insulin-receptor autophosphorylation, extracellular-signal-regulated kinase and phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling[J]. Biochemical Journal, 2003, 371(2): 405-412.
- [7] Jamshidi Y, Snieder H, Ge D L, et al. The *SH2B* gene is associated with serum leptin and body fat in normal female twins[J]. Obesity, 2007, 15(1): 5-9.
- [8] 杨明娟. 中国黄牛 *SH2B1* 基因遗传变异及 *MYOG* 基因表达研究[D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [9] Gui L S, Wang H B, Wei S J, et al. Molecular characterization, expression profiles, and analysis of Qinchuan cattle *SIRT1* gene association with meat quality and body measurement traits (*Bos taurus*) [J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(8): 5237-5246.
- [10] Gui L S, Hong J Y, Raza S H A, et al. Genetic variants in *SIRT3* transcriptional regulatory region affect promoter activity and fat deposition in three cattle breeds [J]. Molecular and Cellular Probes, 2017, 32: 40-45.
- [11] 桂林生, 笱林森, 王洪宝, 等. *SIRT1* 和 *SIRT2* 基因多态性及合并基因型与秦川牛肉用性状的关联分析[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 46(10): 1741-1749.
- [12] Zhao C P, Gui L S, Li Y K, et al. Associations between allelic polymorphism of the BMP Binding Endothelial Regulator and phenotypic variation of cattle[J]. Molecular and Cellular Probes, 2015, 29(6): 358-364.
- [13] Li M H, Li Z Q, Morris D L, et al. Identification of SH2B2 β as an inhibitor for SH2B1- and SH2B2 α -promoted Janus kinase-2 activation and insulin signaling[J]. Endocrinology, 2007, 148(4): 1615-1621.
- [14] Li Z Q, Zhou Y J, Carter-Su C, et al. SH2B1 enhances leptin signaling by both Janus kinase 2 Tyr⁸¹³ phosphorylation-dependent and-independent mechanisms [J]. Molecular Endocrinology, 2007, 21(9): 2270-2281.
- [15] Duan C J, Yang H Y, White M F, et al. Disruption of the *SH2-B* gene causes age-dependent insulin resistance and glucose intolerance [J]. Molecular and Cellular Biology, 2004, 24(17): 7435-7443.
- [16] Ren D, Li M, Duan C, et al. Identification of SH2-B as a key regulator of leptin sensitivity, energy balance, and body weight in mice[J]. Cell Metabolism, 2005, 2(2): 95-104.
- [17] Yie S M, Li L H, Xiao R, et al. A single base-pair mutation in the 3'-untranslated region of HLA-G mRNA is associated with pre-eclampsia[J]. Molecular Human Reproduction, 2008, 14(11): 649-653.
- [18] Rigo F, Martinson H G. Functional coupling of last-intron splicing and 3'-end processing to transcription in vitro: The poly (A) signal couples to splicing before committing to cleavage[J]. Molecular and Cellular Biology, 2008, 28(2): 849-862.
- [19] Chamary J, Hurst L D. Evidence for selection on synonymous mutations affecting stability of mRNA secondary structure in mammals[J]. Genome Biology, 2005, 6(9): R75.
- [20] Li F, Chen H, Lei C, et al. Novel SNPs of the bovine *NUCB2* gene and their association with growth traits in three native Chinese cattle breeds [J]. Molecular Biology Reports, 2010, 37(1): 541-546.
- [21] Wang Y, Li H, Gu Z L, et al. Correlation analysis between single nucleotide polymorphism of the leptin receptor intron 8 and fatness traits in chickens[J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(3): 265-269.
- [22] Xu Y, Cai H F, Zhou Y, et al. SNP and haplotype analysis of paired box 3 (*PAX3*) gene provide evidence for association with growth traits in Chinese cattle [J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(7): 4295-4303.

Association of SNPs in *SH2B1* Gene with Growth Traits in Yellow Cattle

ZHANG Yi-wei, GUI Lin-sheng, GUO Wen-li, HU Yan,

YU Heng-wei, YANG Wu-cai, ZAN Lin-sen, ZHAO Chun-ping*

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: To investigate the expression pattern and genetic polymorphism of *SH2B1* gene in yellow cattle, six kinds of tissues were collected from three 2-year-old Qinchuan cattle. Then RNAs were extracted and qPCR was conducted after transcription to obtain the expression pattern in these six tissues. Additionally, DNAs were extracted from four local yellow cattle, Qinchuan, Jiaxian, Bashan, and Nanyang cattle. PCR combined with DNA sequencing to detect the polymorphisms of *SH2B1* gene and analyzed the genetic diversity. Later, the association of different genotypes of SNPs in *SH2B1* with growth traits in Qinchuan cattle was studied. qPCR results showed that *SH2B1* gene generally expressed in these six kinds of tissues. DNA sequencing identified two SNPs in the fourth intron and 3' UTR, namely C6073T and T8067C. Association study results showed that C6073T can significantly affect body length, ischial end width and chest circumference, while T8067C can significantly affect body length and height. To summarize, *SH2B1* gene could be a candidate gene used for production traits in Qinchuan cattle.

Key words: *SH2B1* gene; expression pattern; SNP; growth traits