

# 鸡 miR-17-92 基因簇宿主基因启动子的甲基化及其功能分析

邢天宇, 崔婷婷, 黄佳新, 闫晓红, 李辉, 王宁\*

(农业部鸡遗传育种重点实验室, 黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室, 东北农业大学动物科学技术学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

**摘要:** 为研究鸡脂肪组织 miR-17-92 基因簇宿主基因 (*MIR17HG*) 启动子的甲基化情况, 实验以东北农业大学高、低腹脂双向选择品系肉鸡为实验材料, 采用 Sequenom MassARRAY 法检测鸡腹部脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区 CpG 岛的甲基化; 利用 CpG 甲基转移酶处理 *MIR17HG* 启动子片段, 采用报告基因技术检测 DNA 甲基化对 *MIR17HG* 启动子活性的影响。结果表明: 高、低脂鸡脂肪组织中 *MIR17HG* 启动子区都存在一定程度的甲基化, 其中 2 周龄低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区的整体甲基化程度显著高于高脂鸡 ( $P < 0.05$ ), 4 个 CpG 位点 (25、26、27、28) 的甲基化在高、低脂鸡脂肪组织间差异均显著 ( $P < 0.05$ ); 3 周龄高、低脂鸡脂肪组织中 *MIR17HG* 启动子区的甲基化程度无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 7 周龄低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的 2 个 CpG 位点 (41 和 42) 的甲基化程度显著低于高脂鸡 ( $P < 0.05$ )。总体看, 高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 的启动子甲基化随年龄增长呈下降趋势; 体外甲基化分析发现, DNA 甲基化抑制 *MIR17HG* 启动子活性。

**关键词:** 鸡; miR-17-92 基因簇宿主基因; 启动子; DNA 甲基化

**中图分类号:** S831.2

**文献标识码:** A

**DOI 编号:** 10.19556/j.0258-7033.2018-11-049

DNA 甲基化是表观遗传学的重要研究内容之一, 其参与基因转录抑制、基因组印迹、细胞分化和发育的调控等多种生物学过程<sup>[1]</sup>。DNA 甲基化在脂肪组织的生长发育中具有重要作用<sup>[2]</sup>。DNA 甲基化通过调控脂肪细胞分化相关基因的表达, 进而调控脂肪的生长发育<sup>[3]</sup>。*PPAR $\gamma$*  是脂肪生成和脂肪组织发育的关键调控因子。对哺乳动物研究发现, DNA 甲基化调控 *PPAR $\gamma$*  基因的表达<sup>[4-5]</sup>。前期研究发现, 在东北农业大学高、低脂系肉鸡中, 脂肪组织 *PPAR $\gamma$*  基因启动子 DNA 甲基化与 *PPAR $\gamma$*  基因表达呈负相关<sup>[6]</sup>。了解脂肪组织 DNA 甲基化对探究脂肪生长发育的分子机制以及控制动物肥胖症具有重要意义。

miR-17-92 基因簇是一个高度保守的 miRNA 基因

簇, 可编码 7 个不同的成熟 miRNA<sup>[7]</sup>。哺乳动物研究表明, 该基因簇参与调控细胞增殖、分化及凋亡等多种生物学过程<sup>[8]</sup>。研究发现, 鸡 miR-17-92 基因簇参与调控鸡脂肪细胞的增殖和分化<sup>[8-10]</sup>。实验室前期获得了鸡 miR-17-92 基因簇上游的 gap 区序列, 鉴定出了鸡 miR-17-92 基因簇宿主基因 (*MIR17HG*) 的启动子区<sup>[11]</sup>。目前, 对于人、鼠及鸡 *MIR17HG* 启动子区是否存在 DNA 甲基化以及是否受到 DNA 甲基化的调控都还不清楚。本研究对东北农业大学高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的 DNA 甲基化进行分析, 为揭示鸡脂肪组织生长发育的分子机制提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 实验材料 DNA Marker 购自 TransGen。Prime Script<sup>TM</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser、限制性内切酶 *Kpn* I、*Sma* I 和 T4 DNA 连接酶购自 TaKaRa。质粒小量制备试剂盒、DNA 纯化回收试剂盒购自 Axygen。Dual-Luciferase<sup>®</sup> Report 自美国 Promega。Lipofectamine<sup>TM</sup>2000

收稿日期: 2018-05-25; 修回日期: 2018-06-10

资助项目: 国家自然科学基金项目 (31372299)

作者简介: 邢天宇 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种, E-mail: xingtianyu.215@qq.com

\* 通讯作者: 王宁, E-mail: wangning@neau.edu.cn

购自美国 Invitrogen。DMEM、Opti-MEM、0.25% Trypsin-EDTA 购自美国 Gibco。FBS 购自美国 BI。*BstU I* 酶及 CpG Methyltransferase (M.SssI) 购自 NEB。甲基化酶缺失的大肠杆菌 (dam-/dcm-) 购自全式金公司 (北京); DF1 细胞 (鸡胚成纤维细胞) 为本实验室保存。鸡脂肪组织来自本实验室培育的东北农业大学 19 世代高、低脂鸡, 其中 2 周龄低脂鸡 5 只, 高脂鸡 10 只; 3 周龄高、低脂鸡各 5 只; 7 周龄高、低脂鸡各 15 只的腹部脂肪组织。鸡 *MIR17HG* 启动子报告基因载体 pGL3-c*MIR17HG* (-4428/-2506) 和 A/T 富集区启动子报告基因载体 (PGL3-AT-MIR17-92(-440/-1)) 为本实验室保存的载体。

1.2 主要分子生物学软件 Primer Premier 5.0; GraphPad Prism 5; NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>); UCSC (<http://genome.ucsc.edu/>); JASPAR (<http://jaspar.binf.ku.dk/>); EMBOSS ([http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss\\_cpplot/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss_cpplot/))。

### 1.3 实验方法

1.3.1 CpG 岛预测分析 从 NCBI 数据库获得 *MIR17HG* 启动子区序列, 利用 CpG 岛在线预测软件 ([http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss\\_cpplot/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss_cpplot/)) 预测鸡 *MIR17HG* 启动子区 3 300 bp (转录起始位点上游 3 000 bp 和转录起始位点下游 300 bp) CpG 岛的位置及数量, 参数设置为 Observed/Expected ratio > 0.60, Percent C+Percent G > 50.00, Length > 200。

1.3.2 Sequenom MassARRAY 甲基化检测 利用 sequenom®EpiDesigner 程序对该序列进行引物设计, 上游引物序列: 5'-AGGAAGAGAGGTAGTTTATGGTGGTTG TAGGAAG-3'; 下游引物序列: 5'-CAGTAATACGACT CACTATAGGGAGAAGGCTCCCTCATTAATAAAAA AACAAAATAC-3'。扩增 DNA 片段长度为 399 bp, 覆盖 64 个 CpG 位点。采集东北农业大学 19 世代高、低脂肉鸡腹部脂肪组织 20 mg, 提取基因组 DNA 2 μg。利用 NaHSO<sub>3</sub> 处理样本, 低速短暂离心后进行 PCR 反应, 体系如下 (8 μL): ddH<sub>2</sub>O 4.90 μL, 10×PCR Buffer 0.80 μL, dNTPs (200 μmol/L) 0.80 μL, PCR Enzyme (5 U/μL) 0.10 μL, 上、下游引物各 0.20 μL (10 μmol/L), DNA 模板 1 μL。PCR 反应条件: 94°C 预变性 4 min, 94°C 20 s, 56°C 30 s, 72°C 1 min, 共 45 个循环, 72°C 延伸 3 min。SAP 反应及 T 切反应/RNase A 消化后,

在 Sequenom Mass ARRAY 平台上进行芯片点样及数据输出、分析等实验工作。每个位点的甲基化程度表示检测到的甲基化与未甲基化总和的百分比, 从 0~1 表示, 数值越大代表甲基化程度越高。

1.3.3 甲基化报告基因载体的构建 为了确定 DNA 甲基化对 *MIR17HG* 启动子活性的影响, 将前期构建的 *MIR17HG* 启动子报告基因载体 pGL3-c*MIR17HG* (-4428/-2506) 转化到甲基化酶缺失的大肠杆菌 (dam-/dcm-) 中, 获得未甲基化的 miR-17-92 基因簇启动子报告基因载体。利用 *Kpn I* 和 *Sma I* 对未甲基化的 miR-17-92 基因簇启动子报告基因载体进行双酶切, 获得未甲基化的 miR-17-92 基因簇启动子片段, 并利用 CpG 甲基转移酶 [CpG Methyltransferase (M.SssI)] 在 37°C 条件下处理未甲基化的 miR-17-92 基因簇启动子片段, 制备完全甲基化的 miR-17-92 基因簇启动子片段。分别将未甲基化与完全甲基化的启动子片段纯化, 并连接 pGL3-basic, 得到 miR-17-92 基因簇启动子片段未甲基化或完全甲基化的报告基因载体。本研究选择 pGL3-AT-MIR17-92 (-440/-1) 报告基因载体作为阴性对照, 该载体所携带的启动子为 AT-MIR17-92 (-440/-1), 该启动子无 CpG 位点, 因此, 其启动子的活性不受 DNA 甲基化影响。M.SssI 甲基转移酶反应体系为 0.5 μg DNA, 10×Buffer 2 2 μL, 10×SAM 2 μL, CpG 甲基转移酶 1 μL, 加水至 20 μL。37°C 温育, 3 h, 60°C 放置 15 min 使酶失活。采用限制性内切酶 *BstU I* 来检测体外 DNA 甲基化是否成功。*BstU I* 可以酶切未甲基化启动子片段, 但不能切割完全甲基化的启动子片段。经 *BstU I* 酶切鉴定证实启动子片段被完全 DNA 甲基化后, 用于后续报告基因活性分析。

1.3.4 细胞培养、转染及报告基因活性检测 采用含有 10% 胎牛血清和终浓度为 100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素的 DMEM/High glucose 培养基培养 DF1 细胞, 在 37°C 含 5% CO<sub>2</sub> 和 90% 相对湿度的条件下培养。待细胞汇合度达到 80%~90%, 用 0.25% 胰蛋白酶/EDTA 消化, 将 DF1 细胞接种至 24 孔培养板, 待细胞汇合度达到约 70% 时, 采用 Lipofectamine™2000 转染试剂, 分别将 *MIR17HG* 启动子的未甲基化和甲基化的报告基因载体 pGL3-c*MIR17HG* (-4428/-2506) (0.4 μg) 以及对照报告基因载体 pGL3-AT-MIR17-92 (-440/-1) (0.4 μg) 分别转染 DF1 细胞, 48 h 后收集细胞裂解液, 参照

Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega) 说明书检测报告基因活性。

1.4 统计分析 运用 GraphPad Prism5 软件处理数据, 2组数据差异比较采用 *t* 检验方法,  $P < 0.05$  (\*) 为差异显著,  $P < 0.01$  (\*\*) 为差异极显著。

## 2 结果与分析

2.1 鸡 *MIR17HG* 启动子区的 CpG 岛分析 利用 CpG 岛在线预测软件 ([http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss\\_cpgplot/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss_cpgplot/)) 分析发现鸡 *MIR17HG* 启动子区存在 1 个 CpG 岛, 大小为 710 bp, 共有 64 个 CpG 位点。该 CpG 岛位于转录起始位点上游 457 bp 至转录起始位点下游 252 bp 处 (图 1)。CpG 岛的分析结果提示, 鸡 *MIR17HG* 启动子可能会发生 DNA 甲基化。为确认鸡 *MIR17HG* 启动子是否存在甲基化, 采用 Sequenom MassARRAY 技术检测东北农业大学高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的甲基化情况。由于序列原因, 只能检测 miR-17-92 基因簇上游 3 056 ~3 500 bp 区域的 31 个 CpG 位点的甲基化。

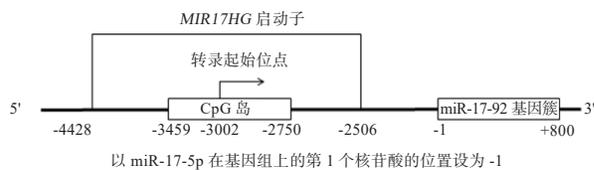
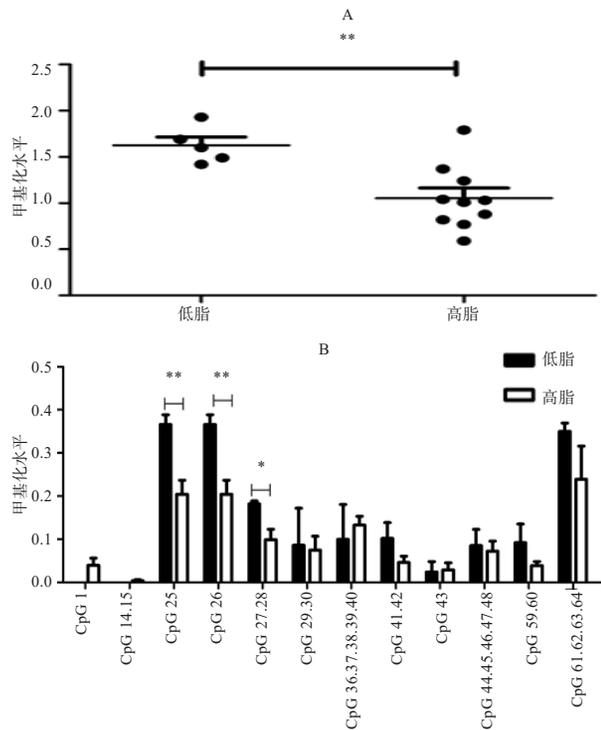


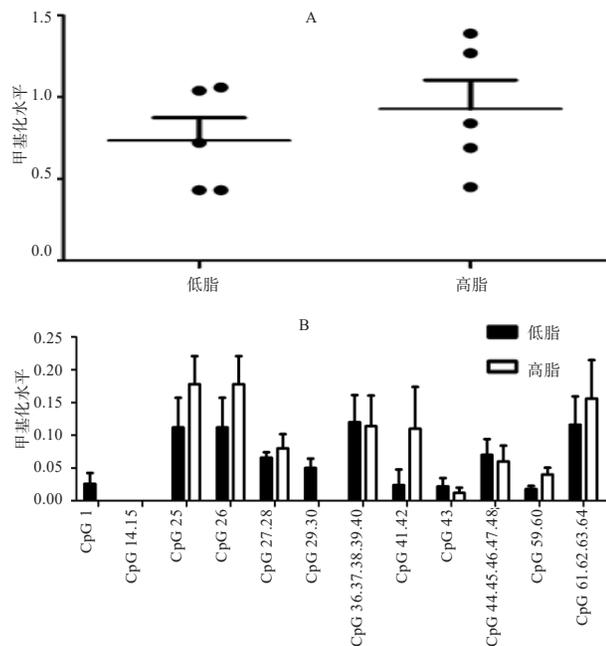
图 1 鸡 *MIR17HG* 启动子区的 CpG 岛分析

2.2 鸡 *MIR17HG* 启动子的甲基化分析 2 周龄低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的总体甲基化水平显著高于高脂鸡 (图 2-A), 且 CpG 位点 25、26、27、28 的低脂甲基化程度显著高于高脂 ( $P < 0.05$ ) (图 2-B)。3 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子甲基化总体水平差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (图 3)。7 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的甲基化总体水平差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (图 4-A), 但低脂鸡 *MIR17HG* 启动子的 CpG 位点 41 和 CpG 位点 42 的甲基化程度显著低于高脂鸡 ( $P < 0.05$ ) (图 4-B)。从整体看, 2 周龄低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的甲基化总体水平极显著高于 3、7 周龄低脂鸡 ( $P < 0.01$ ); 2 周龄高脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的总体甲基化水平也显著高于 7 周龄高脂鸡 ( $P < 0.05$ ) (图 5)。



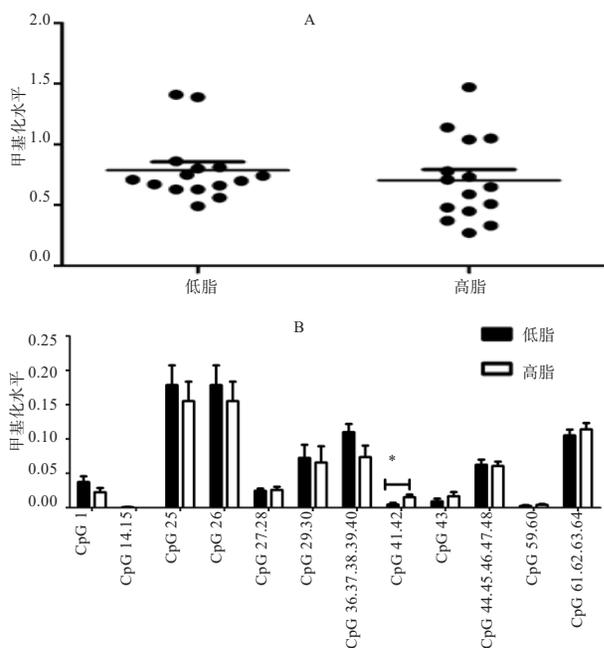
A 为 2 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区的甲基化分析, B 为 2 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区 CpG 位点的甲基化分析

图 2 2 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的甲基化比较分析



A 为 3 周龄高、低脂鸡的脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区甲基化分析, B 为 3 周龄高、低脂鸡的脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区 CpG 位点的甲基化分析

图 3 3 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的甲基化比较分析



A 为 7 周龄高、低脂鸡的脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区的甲基化分析, B 为 7 周龄高、低脂鸡的脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区 CpG 位点的甲基化分析

图 4 7 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子的甲基化比较分析

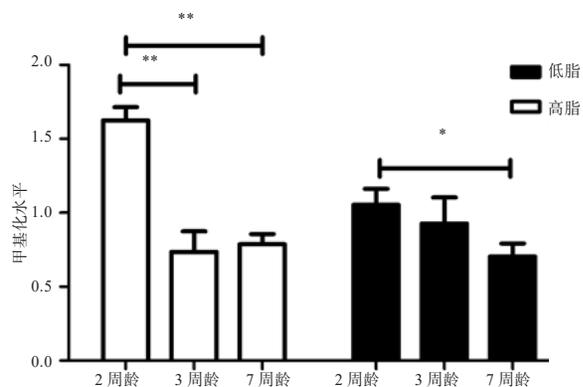


图 5 *MIR17HG* 启动子在高、低脂鸡脂肪组织生长发育过程中 DNA 甲基化的比较分析

### 2.3 DNA 甲基化对鸡 *MIR17HG* 启动子活性的影响

为了确定 DNA 甲基化对 *MIR17HG* 启动子活性的影响, 将未甲基化与甲基化的 *MIR17HG* 启动子片段 (图 6-A) 分别与报告基因载体 pGL3-basic 连接后, 转染细胞进行报告基因活性分析。AT-MIR17-92 (-440/-1) 为无 CpG 位点的启动子对照。报告基因活性检测显示, 与预期一致, 甲基化和非甲基化处理对报告基因载体 pGL3-AT-MIR17-92 (-440/-1) 的荧光素酶活性无显著变化, 但是甲基化的 *MIR17HG* 启动子报告基因 pGL3-cMIR17HG (-4428/-2506) 活性极显著低于未甲基化启

动子的报告基因活性 ( $P < 0.01$ ) (图 6-B)。这一结果提示 DNA 甲基化抑制 *MIR17HG* 启动子活性。

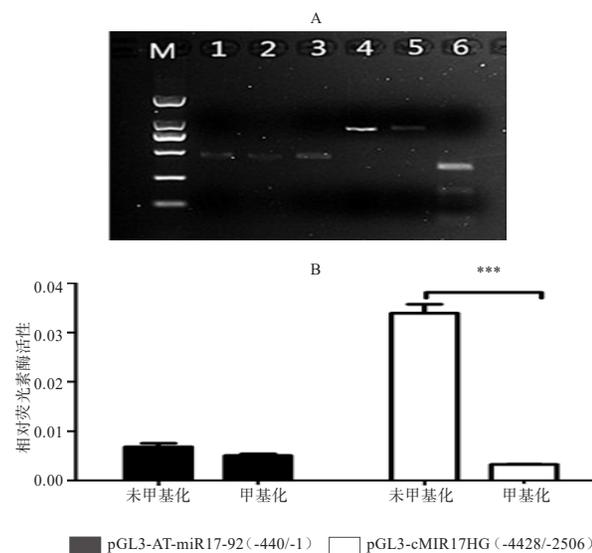


图 A 为甲基化 *MIR17HG* 启动子片段的酶切鉴定, 其中 M 为 DNA marker (2 kb), 泳道 1 为未甲基化 A/T 富集区启动子片段 (AT-miR17-92(-440/-1)), 泳道 2 为甲基化的 A/T 富集区启动子片段的 *BstU* I 酶切结果, 泳道 3 为未甲基化 A/T 富集区启动子片段的 *BstU* I 酶切结果, 泳道 4 为未甲基化的 *MIR17HG* 启动子片段 (-4428/-2506), 泳道 5 为甲基化的 *MIR17HG* 启动子片段的 *BstU* I 酶切结果, 泳道 6 为未甲基化的 *MIR17HG* 启动子片段的 *BstU* I 酶切结果; 图 B 为 DNA 甲基化对 *MIR17HG* 启动子活性的影响

图 6 DNA 甲基化对 *MIR17HG* 启动子活性的影响

### 3 讨论

miR-17-92 基因簇在哺乳动物和鸡脂肪生成中发挥重要作用<sup>[10,12]</sup>。大量研究发现, DNA 甲基化能够调控约 50% miRNAs 的表达, DNA 甲基化的改变影响 miRNA 及其下游靶 mRNAs 的表达<sup>[3,13]</sup>。研究发现东北农业大学高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区存在 DNA 甲基化。东北农业大学高、低脂鸡的体重没有明显差异, 但是脂肪性状存在显著差异, 高脂鸡的腹脂率是低脂鸡 5 倍以上<sup>[14-15]</sup>。本研究发现, 2 周龄高、低脂鸡 *MIR17HG* 启动子的甲基化总体水平明显不同, 且部分 CpG 位点的甲基化程度在高、低脂鸡间存在较大差异; 3、7 周龄低脂鸡 *MIR17HG* 启动子的甲基化总体水平与高脂鸡虽然没有明显的差异, 但 7 周龄高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子也存在甲基化程度差异显著的 CpG 位点, 提示 DNA 甲基化可能调控 *MIR17HG* 基因的表达。

有研究表明, 同一组织在不同生长发育阶段其 DNA 的甲基化水平不同, 大多数脊椎动物基因组 DNA

的甲基化随着年龄增加而逐渐下降<sup>[16]</sup>。与此相一致,本研究发现高、低脂鸡脂肪组织中 *MIR17HG* 启动子的甲基化程度也随着年龄增加而呈下降趋势。

本研究中, DNA 甲基化抑制 *MIR17HG* 启动子的活性。目前已知启动子区 DNA 甲基化可导致 DNA 构象发生变化, 从而影响转录因子与启动子的结合从而抑制基因转录或导致转录效率下降<sup>[17]</sup>; 另外, DNA 甲基化结合蛋白 (MBD/McCP) 可与启动子区的甲基化 DNA 序列结合, 从而使转录因子无法结合, 导致基因表达抑制<sup>[2]</sup>。为了揭示高、低脂鸡脂肪性状的差异, 未来将采用生物信息学方法分析高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区差异甲基化的 CpG 位点, 确定可能受到影响的转录因子, 并采用 EMSA 和 ChIP 技术验证 DNA 甲基化是否影响这些转录因子的结合进而导致基因表达的改变; 还将采用 ChIP 技术比较分析高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区 DNA 甲基化结合蛋白的结合情况。

#### 4 结论

鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区存在 DNA 甲基化, 且高、低脂鸡脂肪组织 *MIR17HG* 启动子区的甲基化存在一定的差异。体外研究证实, DNA 甲基化抑制 *MIR17HG* 启动子活性。

#### 参考文献:

- [1] 颜斌, 曹仁贤, 文格波. DNA 甲基化与基因转录抑制 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2006, 26(6): 524-526.
- [2] 高媛, 孙婴宁, 李辉, 等. DNA 甲基化与脂肪组织生长发育 [J]. 中国细胞生物学学报, 2012(9): 916-923.
- [3] Teplyuk N M, Mollenhauer B, Gabriely G, et al. MicroRNAs in cerebrospinal fluid identify glioblastoma and metastatic brain cancers and reflect disease activity[J]. Neuro Oncol, 2012, 14(6): 689-700.

- [4] Zhu J, Xia L, Ji C, et al. Differential DNA methylation status between human preadipocytes and mature adipocytes[J]. Cell Biochem Bioph, 2012, 63(1): 1.
- [5] 崔婷婷, 邢天宇, 褚衍凯, 等. PPAR $\gamma$  在脂肪生成中的遗传和表观遗传调控 [J]. 遗传, 2017, 39(11): 1066-1077.
- [6] Sun Y N, Gao Y, Qiao S P, et al. Epigenetic DNA methylation in the promoters of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in chicken lines divergently selected for fatness[J]. J Anim Sci, 2014, 92(1): 48-53.
- [7] Megraw M, Sethupathy P, Corda B, et al. miRGen: a database for the study of animal microRNA genomic organization and function[J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35(Database issue): D149.
- [8] 张振武, 安洋, 滕春波. miR-17-92 基因簇 microRNAs 对哺乳动物器官发育及肿瘤发生的调控 [J]. 遗传, 2009, 31(11): 1094-1100.
- [9] 张潇飞, 宋鹤, 刘静, 等. 鸡 miR-17-92 基因簇靶基因 ZFPM2 的鉴定及功能分析 [J]. 遗传, 2017, 39(4): 333-345.
- [10] Zhang X, Song H, Qiao S, et al. MiR-17-5p and miR-20a promote chicken cell proliferation at least in part by upregulation of c-Myc via MAP3K2 targeting[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 15852.
- [11] 程敏, 张文建, 邢天宇, 等. 鸡 miR-17-92 基因簇上游调控区功能分析 [J]. 遗传, 2016, 38(8): 724-735.
- [12] Koza R A, Nikonova L, Hogan J, et al. Changes in gene expression foreshadow diet-induced obesity in genetically identical mice[J]. PLoS Gen, 2006, 2(5): e81.
- [13] Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylome[J]. Human Mol Gen, 2007, 16(1): R50.
- [14] Liang M J, Wang Z P, Xu L, et al. Estimating the genetic parameters for liver fat traits in broiler lines divergently selected for abdominal fat[J]. Gen Mol Res Gmr, 2015, 14(3):9646-9654.
- [15] Wang W, Du Z Q, Cheng B, et al. Expression profiling of preadipocyte micrnas by deep sequencing on chicken lines divergently selected for abdominal fatness[J]. PLoS One, 2015, 10(2):e0117843.
- [16] Bollati V, Schwartz J, Wright R, et al. Decline in genomic DNA methylation through aging in a cohort of elderly subjects[J]. Mech Aging Dev, 2009, 130(4): 234-239.
- [17] 田媛. 关于人脑胶质瘤中 miR-144/451 启动子区甲基化水平的实验研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2015.

#### DNA Methylation and Functional Analysis of Promoter Region of Chicken *miR-17-92* Cluster Host Gene

XING Tian-yu, CUI Ting-ting, HUANG Jia-xin, YAN Xiao-hong, LI Hui, WANG Ning\*

(Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction, Education Department of Heilongjiang Province, College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Heilongjiang Harbin 150030, China)

**Abstract:** The aim of this study was to investigate DNA methylation of the promoter region of chicken *miR-17-92* cluster host gene (*MIR17HG*). In this study, promoter methylation of *MIR17HG* in adipose tissue of the broilers from the Northeast Agricultural University (NEAU) broiler lines divergently selected for abdominal fat content (NEAUHLF) was detected by Sequenom Mass ARRAY. In addition, chicken *MIR17HG* promoter fragment was methylated in vitro by CpG

# 豫粉1号蛋鸡祖代D系用作优质肉鸡母本的杂交效果分析

马雪杰<sup>1</sup>, 蒋瑞瑞<sup>1\*</sup>, 韩瑞丽<sup>1</sup>, 田亚东<sup>1</sup>, 孙桂荣<sup>1</sup>, 康相涛<sup>1</sup>, 马翔<sup>2</sup>, 孙建<sup>2</sup>

(1. 河南农业大学牧医工程学院, 河南省家禽种质资源创新工程研究中心, 河南郑州 450002;

2. 河南三高农牧股份有限公司, 河南固始 465200)

**摘要:** 本试验以豫粉1号蛋鸡祖代D系(青胫矮脚黄麻羽)为母本, S<sub>1</sub>系(青胫快大黄麻羽)、Y系(广西瑶鸡, 青胫)、H<sub>2</sub>系(青胫快大黄麻羽)为父本, 配套组成S<sub>1</sub>♂×D♀(S<sub>1</sub>D)、Y♂×D♀(YD)、H<sub>2</sub>♂×D♀(H<sub>2</sub>D) 3个配套组合, 每个配套组合随机选取公、母鸡各100只, 在相同环境下饲养至14周屠宰, 测定体型外貌、生产性能、胴体性状及肉品质。结果表明: 3个配套组合的公、母鸡基本符合青胫黄羽肉鸡的外貌特征要求; S<sub>1</sub>D公、母鸡在饲养期各个阶段的体重均极显著大于YD和H<sub>2</sub>D ( $P<0.01$ ); 3个配套组合公、母鸡产肉率均为S<sub>1</sub>D>H<sub>2</sub>D>YD, 其中S<sub>1</sub>D母鸡在脂肪含量、屠体重、半净膛重、全净膛重、胸肌重、腿肌重、肌间脂带宽和皮下脂肪厚显著或极显著大于H<sub>2</sub>D ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), S<sub>1</sub>D公鸡在屠体重、半净膛重、全净膛重、胸肌重、腿肌重、腹脂重显著或极显著大于YD ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ); S<sub>1</sub>D的公、母鸡滴水损失和干物质均最小, S<sub>1</sub>D母鸡胸肌的肌内脂肪含量极显著高于H<sub>2</sub>D ( $P<0.01$ ), S<sub>1</sub>D公鸡胸肌的pH<sub>24h</sub>显著大于H<sub>2</sub>D ( $P<0.05$ ), S<sub>1</sub>D公鸡腿肌的pH<sub>45min</sub>显著大于H<sub>2</sub>D和YD ( $P>0.05$ )。综合可知, 以D系作为优质肉鸡母本时, S<sub>1</sub>系为最佳父本。该配套组合在一定程度上能够满足消费者对外貌和生长性能的要求, 适宜于目标市场。

**关键词:** 青胫黄羽肉鸡; 外貌特征; 生产性能; 胴体性状; 肉质性状

**中图分类号:** S831.2

**文献标识码:** A

**DOI 编号:** 10.19556/j.0258-7033.2018-11-054

早在20世纪80年代初, 我国就开始运用简单的二元、三元杂交等方法对黄羽肉鸡开展选育工作。截止

到2017年, 共培育出54个黄羽肉鸡新品种(配套系), 培育品种68周龄平均产蛋量约160枚, 与白羽肉鸡68周产蛋量200枚相差较大<sup>[1]</sup>。在制定育种方案时, 如何充分考虑商品代鸡苗的制种成本和生产效益, 对提高肉鸡品种的市场竞争力有重大意义。

黄羽肉鸡是我国的特色肉鸡, 著称三黄鸡, 具有非常鲜明的地方品种的体型外貌, 肉品质优良, 味道鲜美。优质的青胫黄麻羽肉鸡在我国大部分地区很受欢迎, 包括青胫的广西瑶鸡Y系、青胫快大黄麻羽肉鸡H<sub>2</sub>系、青胫快大黄麻羽肉鸡S<sub>1</sub>系等。豫粉1号蛋鸡祖代D系

收稿日期: 2018-03-30; 修回日期: 2018-05-21

资助项目: 河南省重大科技专项(151100110800); 教育部创新团队发展计划(IRT16R23); 国家蛋鸡产业技术体系遗传育种岗位专项资金(CARS-40-K04)

作者简介: 马雪杰(1992-), 女, 河南周口人, 硕士, 主修家禽分子育种, E-mail: 1462809592@qq.com

\*通讯作者: 蒋瑞瑞(1982-), 女, 河南信阳人, 博士, 副教授, 主要研究方向为地方鸡资源创新利用与营养调控, E-mail: jrcaas@163.com

methyltransferase, the effect of DNA methylation on the promoter activity was assessed by reporter gene assay. The results showed, at two weeks of age, the promoter methylation level of *MIR17HG* in adipose tissue was significantly higher in lean line than in fat line, and the methylation levels of CpG site 25, CpG site 26, CpG site 27 and CpG site 28 were significantly different ( $P<0.05$ ) between the lean and fat lines. At three weeks of age, no difference in the overall promoter methylation level of *MIR17HG* in adipose tissue was observed between the lean and fat lines ( $P>0.05$ ). At seven weeks of age, the overall promoter methylation levels of *MIR17HG* in adipose tissue in both lean and fat lines were similar, but the methylation levels of CpG site 41 and CpG site 42 were significantly lower in lean line than in fat line ( $P<0.05$ ). On the whole, the methylation levels of chicken *MIR17HG* promoter in both chicken lines increased with age. Reporter assay showed that DNA methylation inhibited *MIR17HG* promoter activity.

**Keywords:** Chicken; miR-17-92 cluster host gene; Promoter; DNA methylation