

网络出版时间:2017-01-16 09:40

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2017.03.001

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20170116.0940.002.html>

中国荷斯坦牛 *FADS2* 基因 c. 908 C>T 突变对泌乳性能和乳中脂肪酸组成的影响

王梦琦, 朱小瑞, 邢世宇, 王文强, 刘贤慧, 张慧敏, 杨章平, 毛永江

(扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

[摘要] **【目的】**探讨中国荷斯坦牛脂肪酸脱氢酶 2(*FADS2*)基因编码区 c. 908 C>T 突变对泌乳性能和乳中脂肪酸组成的影响。**【方法】**以江苏某大型奶牛场 865 头中国荷斯坦牛为材料,用飞行时间质谱法对 *FADS2* 基因编码区 c. 908 C>T 突变位点进行检测,并用最小二乘模型分析该位点对泌乳性状和乳中脂肪酸组成的影响。**【结果】***FADS2* 基因 c. 908 C>T 位点有 3 种基因型:CC、CT 和 TT,优势基因型为 CT 型,C 基因为优势等位基因。关联分析发现,该位点对日产奶量、体细胞评分(SCS)及乳脂、乳糖、总固体含量 5 个性状的影响均达到显著水平($P<0.05$),对乳蛋白和乳中尿素氮含量的影响不显著($P>0.05$)。多重比较表明:CC 型个体日产奶量及乳糖、总固体含量均显著低于 TT 型个体,而 SCS 显著高于 CT 和 TT 型个体;该位点突变对乳中 C14:1、C16:0、C16:1、C18:0、C18:3 等 5 种脂肪酸含量和 C14、C16 和 C18 不饱和指数的影响均达到极显著水平($P<0.01$),TT 基因型个体乳中 C16:1 含量、C16 和 C18 不饱和指数极显著高于 CC 和 CT 型个体($P<0.01$)。**【结论】***FADS2* 基因编码区 c. 908 C>T 突变对中国荷斯坦牛泌乳性能和乳中脂肪酸组成有重要影响,TT 基因型具有较高的日产奶量、总固体和 C16:1 含量及 C16 和 C18 不饱和指数。

[关键词] *FADS2* 基因;单核苷酸多态性;泌乳性能;脂肪酸组成;中国荷斯坦牛

[中图分类号] S823.9⁺1

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2017)03-0001-06

Effects of *FADS2* c. 908 C>T mutation on milk production traits and fatty acids composition in milk of Chinese Holstein

WANG Mengqi, ZHU Xiaorui, XING Shiyu, WANG Wenqiang, LIU Xianhui,
ZHANG Huimin, YANG Zhangping, MAO Yongjiang

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: **【Objective】**The objective of this study was to investigate the effects of *FADS2* c. 908 C>T mutation on milk production traits and fatty acids compositions in milk of Chinese Holstein. **【Method】**A total of 865 Chinese Holstein cows were genotyped using Sequenom MassARRAY (Sequenom Inc., San Diego, CA) for the SNP mutation of *FADS2* c. 908 C>T, and the associations between SNPs and milk production traits, fatty acids composition, and unsaturated indexes of fatty acids in milk were analyzed by the least squares method. **【Result】**There were three genotypes (CC, CT and TT) of *FADS2* c. 908 C>T. CT was the dominant genotype, and allele C was dominant allele with the frequency of 0.592. The *FADS2* c. 908 C>T showed significant association with daily milk yield, fat percentage, protein percentage, total solid content, and SCS ($P<0.05$). The individuals with genotype CC had lower daily milk yield, lactose

[收稿日期] 2015-12-31

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31372286, 31272407, 31472067);江苏省研究生实践创新计划项目(SJZZ15_0182)

[作者简介] 王梦琦(1993—),女,江苏徐州人,在读硕士,主要从事奶牛遗传育种研究。E-mail:770406499@qq.com

[通信作者] 毛永江(1974—),男(苗族),贵州江口人,教授,主要从事奶牛遗传育种研究。E-mail:cattle@yzu.edu.cn

content, and total solid content than genotypes TT ($P < 0.05$), but higher SCS than genotypes CT and TT. The *FADS2* c. 908 C > T also showed very significant associations with percentages of C14:1, C16:0, C16:1, C18:0, C18:3 and unsaturated indexes of C14, C16 and C18 ($P < 0.01$). The individuals with genotype TT had higher content of C16:1, and unsaturated indexes of C16 and C18 than genotypes CC and CT ($P < 0.01$). 【Conclusion】 The *FADS2* c. 908 C > T mutation had significant genetic effects on milk production traits and fatty acids composition in milk. The individuals with genotype CC had higher daily milk yield, total solid, content of C16:1, and unsaturated indexes of C16 and C18.

Key words: *FADS2* gene; single nucleotide polymorphism (SNP); milk production traits; composition of fatty acids; Chinese Holstein

乳脂是牛奶重要的组成部分,乳脂的营养价值主要决定于乳中脂肪酸(Fatty acid, FA)的构成。脂肪酸按其饱和程度可分为饱和脂肪酸(Saturated fatty acid, SFA)、单不饱和脂肪酸(Mono unsaturated fatty acid, MUFA)和多不饱和脂肪酸(Poly unsaturated fatty acid, PUFA),按其链长度可分为长链脂肪酸(Long chain fatty acids, LCFA, 13 碳以上)、中链脂肪酸(Middle chain fatty acids, MCFA, 含 6~12 碳)和短链脂肪酸(Short chain fatty acids, SCFA, 6 碳以下)^[1]。研究发现,普通牛奶中 SFA、MUFA 和 PUFA 的含量比通常为 70 : 25 : 5^[2]。牛奶中不饱和脂肪酸以十八碳系列的脂肪酸为主,主要有油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、亚麻酸(C18:3),当然多不饱和脂肪酸中还含有对人体很有益的花生四烯酸(C20:4)和二十二碳六烯酸(C22:6, 简称 DHA)^[2]。随着对乳脂的深入研究,乳中 PUFA 的营养保健作用及其对乳制品结构和风味的影响作用开始受到人们的普遍关注。最近的研究表明,PUFA 具有促进动物生长发育、调控编码脂类代谢相关基因的表达、抑制炎症反应及促进免疫机能、提高动物的繁殖性能等作用^[3]。牛奶中 FA 的组成受到环境因素的影响,但更多地受内在因素的影响,如物种、品种、基因、泌乳阶段、胎次、挤奶频率等^[4-6]。脂肪酸脱氢酶(Fatty acid desaturases, FADS)是一类能催化脂肪酸生成 PUFA 的关键酶,包括 *FADS1* 和 *FADS2*,其中 *FADS2* 是多不饱和脂肪酸合成代谢途径中关键的限速酶。*FADS2* 可催化 2 种必需脂肪酸亚油酸(LA, C18:2)和 α -亚麻酸(ALA, C18:3)转化为 γ -亚麻酸(GLA, C18:3)和十八碳四烯酸(C18:4),并进一步脱氢形成长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFAS),包括花生四烯酸(C20:4n-6)、二十碳五烯酸(C20:5n-3)和二十二碳六烯酸(C22:6n-3)等^[7-10]。Nwankwo 等^[11]、Nakayama 等^[12]的研究表明,人 *FADS2* 基因 SNP 突

变影响人体脂肪组织及血浆中 PUFA 的含量,从而影响人类健康。最近人类全基因组关联分析(Genome-wide association studies, GWAS)也证实了 *FADS2* 基因对脂类代谢疾病的作用^[13-15]。在奶牛 *FADS2* 研究方面, Ibeagha-Awemu 等^[16]对加拿大荷斯坦牛 *FADS2* 基因 SNP 多态性及其与乳中 FA 含量进行了关联分析,结果发现 *FADS2* 基因共有 5 个 SNP 突变,其中包括编码区 c. 908 C > T 非同义突变^[16]。在国内,仅见 Zhu 等^[17]对鸡 *FADS2* 基因的相关研究,未见其他物种 *FADS2* 基因的研究。为此,本研究对中国荷斯坦牛 *FADS2* 基因编码区 c. 908 C > T 突变进行了检测,并分析了该突变对泌乳性能和乳中脂肪酸组成的影响,以期为中国荷斯坦牛泌乳性能的提高及针对乳中脂肪酸含量的分子标记辅助选择提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 采样及数据收集

于 2011-03-05 从江苏省某大型奶牛场采集中国荷斯坦牛血样共 865 头份,尾静脉采血 10 mL/头,酸性柠檬酸葡萄糖(Acid citrate glucose, ACD)抗凝, -20 ℃ 冷冻保存,备用。采样时,同时选择体况评分(Body condition score, BCS)相近(BCS 为 (3.0 ± 0.5) 分)、无临床乳房炎、胎次在 2~3 胎、处于泌乳中后期(产奶 100~300 d)的中国荷斯坦牛共 300 头,在进行奶牛群生产性能(Dairy herd improvement, DHI)测定时,取全天混合奶样(早、中、晚奶样体积比为 4 : 3 : 3) 100 mL,其中 50 mL 送上海光明 DHI 中心进行乳成分及乳中体细胞数(Somatic cell counts, SCC)测定,另外 50 mL 用于实验室脂肪酸含量测定。牧场基本情况如下:全场共有奶牛 6 000 余头,其中成年泌乳奶牛近 3 000 头,散栏饲养,转盘式挤奶大厅进行挤奶,日挤奶 3 次,采用全混合日粮(Total mixed ration, TMR)饲

喂。同时,收集采样牛只 2010—2013 年 4 个年度的 DHI 记录,包括牛号、测定日期、日产奶量、乳中体细胞数及乳脂、乳蛋白、乳糖、总固体含量(以质量分数表示)和乳中尿素氮含量等指标,共收集到采样牛只 DHI 记录 26 688 条。

1.2 *FADS2* 基因编码区 c.908 C>T 突变的检测

采用常规酚氯仿法提取奶牛血液基因组 DNA, TE 溶解,取部分 DNA 样品稀释至 100 ng/ μ L, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

根据 GenBank 公布的牛的 *FADS2* 基因 DNA 序列(GenBank 登录号:BC123735.1),参考 Ibeagha-Awemu 等^[16]对加拿大荷斯坦牛 *FADS2* 基因 c.908 C>T 检测到的 SNP 位点信息,采用飞行时间质谱法进行检测(仪器型号:MassARRAY[®] MALDI-TOF System, Sequenom, Inc., USA)。为保证 SNP 分析结果的可靠性,对其中 40 个样本重复测定 2 次,结果表明该方法 SNP 分型结果准确性为 100%。飞行时间质谱法主要利用了基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS)技术,其主要检测过程如下:向 PCR 扩增的产物中加入特异的延伸引物,在 SNP 位点上延伸 1 个碱基;将前述制备好的样品分析物与芯片基质共结晶,置入质谱仪的真空管中,并激发强激光,基质分子通过辐射所吸收的能量,使基质晶体升华,从而导致核酸分子解吸并转变为亚稳态离子,因离子质荷比率不同进而在非电场漂移区内得以分离,最终在真空小管中飞行到达检测器。该套 MassARRAY[®] SNP 分型检测的质谱范围为 5 000~8 500 u,检测重复性>99%。

1.3 脂肪酸的测定

脂肪酸测定在采样后 3 个月内完成。根据我国婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定(GB 5413.27-2010)^[18]标准,用气相色谱仪(美国 Agilent7890A,色谱柱为 DB-23,30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m)检测,检测时升温程序见文献^[19]。以 37 种脂肪酸甲酯混标(Sigma 公司)作为标准品,对样品中所有脂肪酸进行定量分析。

1.4 数据统计分析

用遗传学软件 Shesis 进行常规群体遗传学统计分析(包括基因频率、基因型频率、Hardy-Weinberg 平衡检测等)^[20]。利用一般线性模型分析 *FADS2* 基因 c.908 C>T 突变对泌乳性状的影响,模型如下:

$$Y = \mu + YS + P + L + CS + G + e。$$

式中:Y 为测定日产奶量等泌乳性状的观察值, μ 为群体均值,YS 为年季效应,P 为胎次效应,L 为泌乳阶段效应(每 100 d 划分为一个泌乳阶段),CS 为泌乳牛本胎次产犊季节效应,G 为 c.908 C>T 基因型效应,e 为残差效应。统计分析采用 SPSS 软件(Ver 16.0)完成,用 LSD 法对不同基因型个体泌乳性状进行多重比较。根据当地气候特点,产犊季节划分如下:3—5 月为春季,6—8 月为夏季,9—11 月为秋季,12—次年 2 月为冬季。在进行数据关联分析时,为保证结果的可靠性,将项目不完整的 DHI 数据剔除,然后在剩余数据中选取满足泌乳时间为产后第 7 天到第 360 天、日产奶量为 5~60 kg/头、乳脂率为 2%~7%、乳蛋白率为 2%~6%、SCC 为 $(1 \sim 9\,999) \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$ (分析时将 SCC 利用如下公式转换为体细胞评分(Somatic cell score, SCS): $\text{SCS} = \lg(\text{SCC}/100) + 3$)的 DHI,最终获得 20 532 条数据。

FADS2 基因多态性对乳中脂肪酸组成影响的分析模型如下:

$$Y = \mu + L + P + G + e。$$

式中:Y 为原料乳脂肪酸的含量,其他字母意义如前所述。由于部分牛个体乳中体细胞数大于 50 万 mL^{-1} ,初步认定其患有隐性乳房炎,在进行关联分析时删除这部分个体的数据,最后用于 *FADS2* 基因 SNP 多态与脂肪酸含量分析的个体数为 275 头。用 LSD 法比较不同基因型间脂肪酸含量差异的显著性。C14、C16、C18 和 C20 不饱和指数计算公式如下: C14 不饱和指数 = $\text{C14:1}/(\text{C14:0} + \text{C14:1}) \times 100\%$, C16 不饱和指数 = $\text{C16:1}/(\text{C16:0} + \text{C16:1}) \times 100\%$, C18 不饱和指数 = $(\text{C18:1} + \text{C18:2} + \text{C18:3})/(\text{C18:0} + \text{C18:1} + \text{C18:2} + \text{C18:3}) \times 100\%$, C20 不饱和指数 = $\text{C20:0}/(\text{C20:0} + \text{C20:3} + \text{C20:4}) \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 *FADS2* 基因 c.908 C>T 位点突变情况

奶牛 *FADS2* 基因 c.908 C>T 位点有 2 种等位基因:C 和 T,其中 C 为优势等位基因,其等位基因频率为 0.592;存在 3 种基因型:CC、CT 和 TT,其中 CT 为优势基因型,其基因型频率为 0.484。 χ^2 检验表明,该群体 *FADS2* 基因型分布处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P > 0.05$)。经比对分析,*FADS2* 基因 c.908 C>T 位点突变导致 *FADS2* 基因外显子 7 第 294 位氨基酸序列从丙氨酸(Ala)变

化为缬氨酸(Val)。

2.2 *FADS2* 基因 c. 908 C>T 位点突变对泌乳性能及 SCS 的影响

由表 1 可知,*FADS2* 基因 c. 908 C>T 位点对日产奶量、SCS 及乳脂、乳糖、总固体含量 5 个性状

的影响均达到显著水平($P<0.05$),CC 型个体日产奶量及乳糖、总固体含量均显著低于 TT 型个体($P<0.05$),而 SCS 显著高于 CT 和 TT 型个体($P<0.05$);该位点对蛋白和乳中尿素氮含量的影响不显著($P>0.05$)。

表 1 中国荷斯坦牛 *FADS2* 基因 c. 908 C>T 位点突变对泌乳性能及 SCS 的影响

Table 1 Effects of *FADS2* c. 908 C>T on SCS and milk production traits of Chinese Holstein

基因型 Genotypes	DHI 记录数 Records number	日产奶量/(kg·头 ⁻¹) Daily milk yield	乳脂含量/% Fat content	乳蛋白含量/% Protein content
CC	7 348	31.90±0.12 b	4.27±0.01 a	3.35±0.01
CT	9 795	32.36±0.11 a	4.22±0.01 b	3.35±0.01
TT	3 389	32.37±0.19 a	4.27±0.01 a	3.34±0.01
基因型 Genotypes	SCS	乳糖含量/% Lactotose content	总固体含量/% Total solid content	乳中尿素氮含量/(mg·dL ⁻¹) MUN content
CC	2.07±0.02 a	4.93±0 b	13.78±0.02 b	12.18±0.04
CT	2.01±0.02 b	4.95±0 a	13.75±0.01 b	12.14±0.03
TT	1.96±0.03 b	4.96±0 a	13.84±0.03 a	12.22±0.06

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note:Data in each column with lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

2.3 FA 的测定

本研究用气相色谱仪在原料乳中共检出 23 种 FA(表 2),其中棕榈酸(C16:0)所占比例最大(29.56%),其次是油酸(C18:1n9c,24.32%),再次是硬脂酸(C18:0)、豆蔻酸(C14:0)和亚油酸(C18:2n6c),而长链多不饱和脂肪酸(C20:3、C20:4 和 C22:6)含量相对较少。就不饱和指数而言,C20

的不饱和指数最高((88.18±1.06)%),其次为 C18 ((70.13±0.41)%),C14 为(8.22±0.20)%,C16 最低((4.66±0.21)%).SFA、MUFA 和 PUFA 的比例分别为 66.68%,27.43%和 5.89%,SCFA、MCFA 和 LCFA 的比例分别为 3.30%,17.12%和 79.58%。

表 2 中国荷斯坦牛原料乳中 FA 的组成

Table 2 Ratio of each milk fatty acid in raw milk of Chinese Holstein

FA 种类 Types of FA	比例 Ratio	FA 种类 Types of FA	比例 Ratio	FA 种类 Types of FA	比例 Ratio
C4:0	3.30±0.04	C16:0	29.56±0.22	C20:3	0.12±0.01
C6:0	2.03±0.03	C16:1	1.47±0.08	C20:4	0.08±0.00
C8:0	1.21±0.02	C17:0	0.66±0.03	C22:6	0.02±0.00
C10:0	2.72±0.05	C17:1	0.21±0.01	SFA	66.68±0.38
C11:0	0.08±0.00	C18:0	12.68±0.21	MUFA	27.43±0.29
C12:0	3.14±0.06	C18:1n9c	24.32±0.29	PUFA	5.89±0.24
C13:0	0.10±0.00	C18:2t	0.35±0.05	SCFA	3.30±0.04
C14:0	9.92±0.13	C18:2n6c	5.00±0.25	MCFA	17.12±0.38
C14:1	0.88±0.03	C18:3	0.39±0.01	LCFA	79.58±0.38
C15:0	1.09±0.02	C20:0	0.10±0.01		

注:SFA. 饱和脂肪酸;MUFA. 单不饱和脂肪酸;PUFA. 多不饱和脂肪酸;LCFA. 长链脂肪酸;MCFA. 中链脂肪酸;SCFA. 短链脂肪酸。

表 3 同。

Note:SFA. Saturated Fatty Acid;MUFA. Mono Unsaturated Fatty Acid;PUFA. Poly Unsaturated Fatty Acid;LCFA. Long Chain Fatty Acid;MCFA. Middle Chain Fatty Acid;SCFA. Short Chain Fatty Acid. The same for Table 3.

2.4 *FADS2* 基因 c. 908 C>T 突变对乳中 FA 组成及其不饱和指数的影响

由表 3 和表 4 可知,c. 908 C>T 位点突变对乳中 C14:1、C16:0、C16:1、C18:0、C18:3 等 5 种脂肪酸含量和 C14、C16、C18 不饱和指数的影响均达到极显著水平($P<0.01$),TT 基因型个体乳中 C16:1

含量、C16 和 C18 不饱和指数极显著高于 CC 和 CT 型个体,但 C18:3 含量极显著低于 CC 和 CT 型个体($P<0.01$);CC 型个体乳中 C14:1、C16:0 含量及 C14 不饱和指数极显著高于 CT 型个体($P<0.01$);c. 908 C>T 位点突变对其他不同类型脂肪酸含量及 FA 不饱和指数均无显著影响($P>0.05$)。

表 3 中国荷斯坦牛 *FADS2* 基因 c. 908 C>T 位点突变对乳中 FA 组成的影响

Table 3 Effects of *FADS2* c. 908 C>T on milk fatty acids composition in raw milk of Chinese Holstein %

FA 种类 Types of FA	CC 基因型 CC genotype	CT 基因型 CT genotype	TT 基因型 TT genotype	FA 种类 Types of FA	CC 基因型 CC genotype	CT 基因型 CT genotype	TT 基因型 TT genotype
C4:0	3.32±0.06	3.29±0.06	3.29±0.13	C18:1n9c	23.57±0.50	24.77±0.40	24.48±0.72
C6:0	2.08±0.05	2.01±0.05	2.02±0.08	C18:2t	0.27±0.01	0.43±0.10	0.27±0.02
C8:0	1.25±0.04	1.20±0.03	1.19±0.05	C18:2n6c	4.57±0.34	4.94±0.36	6.31±0.79
C10:0	2.83±0.08	2.69±0.08	2.55±0.13	C18:3	0.39±0.02 A	0.41±0.01 A	0.33±0.03 B
C11:0	0.08±0.01	0.07±0.00	0.08±0.01	C20:0	0.09±0.01	0.1±0.01	0.12±0.02
C12:0	3.30±0.10	3.08±0.09	2.97±0.15	C20:3	0.14±0.01	0.12±0.01	0.09±0.01
C13:0	0.10±0.01	0.10±0.00	0.10±0.01	C20:4	0.07±0.01	0.07±0.01	0.10±0.01
C14:0	10.18±0.20	9.83±0.20	9.58±0.26	C22:6	0.01±0.01	0.01±0.00	0.03±0.02
C14:1	1.00±0.06 A	0.77±0.02 B	0.98±0.08 A	SFA	67.66±0.62	66.56±0.54	64.67±0.93
C15:0	1.09±0.03	1.11±0.03	1.02±0.03	MUFA	26.92±0.49	27.54±0.42	28.28±0.65
C16:0	30.68±0.37 A	28.79±0.29 B	29.67±0.56 AB	PUFA	5.41±0.33	5.90±0.35	7.05±0.76
C16:1	1.56±0.13 B	1.23±0.05 B	2.16±0.41 A	SCFA	3.32±0.06	3.29±0.06	3.29±0.13
C17:0	0.60±0.02	0.71±0.06	0.60±0.02	MCFA	18.14±0.63	16.96±0.52	15.19±1.05
C17:1	0.20±0.01	0.21±0.01	0.21±0.02	LCFA	79.20±0.42	80.73±1.03	86.23±1.05
C18:0	11.97±0.37 B	13.47±0.29 A	11.41±0.42 B				

注:同行数据后标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note:Data in each row with uppercase letters indicate very significant difference ($P<0.01$).

表 4 中国荷斯坦牛 *FADS2* 基因 c. 908 C>T 位点突变对脂肪酸不饱和指数的影响

Table 4 Effects of *FADS2* c. 908 C>T on unsaturated indexes of fatty acids of Chinese Holstein

基因型 Genotype	样本量 N	C14 不饱和指数 C14 unsaturated index	C16 不饱和指数 C16 unsaturated index	C18 不饱和指数 C18 unsaturated index	C20 不饱和指数 C20 unsaturated index
CC	94	9.06±0.44 A	4.77±0.36 B	70.53±0.75 B	90.35±1.64
CT	144	7.43±0.18 B	4.10±0.15 B	69.12±0.56 B	87.94±1.44
TT	37	9.15±0.61 A	6.52±1.12 A	73.08±0.90 A	86.92±3.46

注:同列数据后标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note:Data in each column with uppercase letters indicate very significant difference ($P<0.01$).

3 讨 论

一般而言,牛奶中 SFA 主要在乳腺组织中通过从头途径合成,而不饱和脂肪酸(Unsaturated fatty acids,UFA)除部分从奶牛日粮中获得外,机体自身合成也是其重要来源之一,尤其是 PUFA。PUFA 对机体构成以及正常生理功能的维持(特别是脂类代谢)有着非常重要的作用。 $\Delta 6$ 脂肪酸脱氢酶对于 PUFA 合成至关重要^[16]。

从本研究结果来看,*FADS2* c. 908 C>T 位点优势等位基因频率与 Ibeagha-Awemu 等^[16]对加拿大荷斯坦牛的报道结果(C 等位基因频率为 0.597)差异不大。从关联分析结果来看,本研究 c. 908 C>T 位点突变对日产奶量、SCS 及乳脂、乳糖、总固体含量 5 个性状的影响均达到显著水平,TT 型个体拥有较高的产奶量及乳脂、乳糖和总固体含量,且乳中 SCS 也较低,为有利的基因型。同时,该位点突变对乳中 C14:1、C16:0、C16:1、C18:0、C18:3 等 5 种脂肪酸含量和 C14、C16、C18 不饱和指数的影响

均达到极显著水平($P<0.01$),TT 基因型个体乳中 C16:1 含量及 C16 和 C18 不饱和指数极显著高于 CC 和 CT 型个体。而 Ibeagha-Awemu 等^[16]认为,该位点对乳中脂肪酸含量无显著影响,与本研究结果不同,其原因可能与采样、测定时间、群体遗传基础等差异有关。

本研究结果初步表明,*FADS2* 基因编码区 c. 908 C>T 突变对中国荷斯坦牛泌乳性能有显著影响,对乳中脂肪酸含量和部分脂肪酸不饱和指数有极显著影响,但由于原料乳中 FA 测定的样本量相对较少,所得结果需要在更大群体中验证。因此,有必要对大样本奶牛群体进行每月一次的跟踪测定,并在不同基因型乳腺细胞系验证其基因功能。

4 结 论

中国荷斯坦牛 *FADS2* 基因编码区 c. 908 C>T 突变对泌乳性能及乳中脂肪酸含量和部分脂肪酸不饱和指数有重要影响,TT 基因型具有较高的日产奶量、乳脂和总固体含量、C16:1 含量及 C16 和 C18

不饱和指数,可作为影响中国荷斯坦牛乳中脂肪酸组成和泌乳性能的主效基因加以利用。

[参考文献]

- [1] Harvatine K J, Boisclair Y R, Bauman D E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis [J]. *Animal*, 2009, 3: 40-54.
- [2] Woods V B, Fearon A M. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: a review [J]. *Livestock Science*, 2009, 126: 1-20.
- [3] Lee H, Park W J. Unsaturated fatty acids, desaturases, and human health [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2014, 17(2): 189-197.
- [4] Talpur F N, Bhanger M I, Khoocharo A A, et al. Seasonal variation in fatty acid composition of milk from ruminants reared under the traditional feeding system of Sindh [J]. *Pakistan Livestock Science*, 2008, 118: 166-172.
- [5] Talpur F N, Bhanger M I, Khuhawar M Y. Comparison of fatty acid and cholesterol content in the milk of Pakistani cow breeds [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19: 698-703.
- [6] Haddad I, Mozzon M, Strabioli R, et al. Stereospecific analysis of triacylglycerols in camel (*Camelus dromedarius*) milk fat [J]. *International Dairy Journal*, 2010, 20: 863-867.
- [7] Guillou H, Rioux V, Catheline D, et al. Conversion of hexadecanoic acid to hexadecenoic acid by rat Delta 6-desaturase [J]. *The Journal of Lipid Research*, 2003, 44(3): 450-454.
- [8] Dandrea S, Guillou H, Jan S, et al. The same rat Delta6-desaturase not only acts on 18- but also on 24-carbon fatty acids in very-long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis [J]. *Biochemical Journal*, 2002, 361(1): 49-55.
- [9] Martinelli N, Girelli D, Malerba C, et al. FADS genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008, 88: 941-949.
- [10] Kohama T, Olivera A, Edsall L, et al. Molecular cloning and functional characterization of marine sphingosine kinase [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(37): 23722-23728.
- [11] Nwankwo J O, Spector A A, Domann F E. A nucleotide insertion in the transcriptional regulatory region of *FADS2* gives rise to human fatty acid delta-6-desaturase deficiency [J]. *The Journal of Lipid Research*, 2003, 44(12): 2311-2319.
- [12] Nakayama K, Bayasgalan T, Tazoe F, et al. A single nucleotide polymorphism in the *FADS1/FADS2* gene is associated with plasma lipid profiles in two genetically similar Asian ethnic groups with distinctive differences in lifestyle [J]. *Human Genetics*, 2010, 127: 685-690.
- [13] Illig T, Gieger C, Zhai G, et al. A genome-wide perspective of genetic variation in human metabolism [J]. *Nature Genetics*, 2010, 42(2): 137-141.
- [14] Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, et al. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans [J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(2): 189-197.
- [15] Tanaka T, Shen J, Abecasis G R, et al. Genome-wide association study of plasma polyunsaturated fatty acids in the InCHIANTI study [J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(1): e1000338.
- [16] Ibeagha-Awemu E M, Akwanji K A, Beaudoin F, et al. Associations between variants of *FADS* genes and omega-3 and omega-6 milk fatty acids of Canadian Holstein cows [J]. *BMC Genetics*, 2014, 15: 25.
- [17] Zhu S K, Tian Y D, Zhang S, et al. Adjacent SNPs in the transcriptional regulatory region of the *FADS2* gene associated with fatty acid and growth traits in chickens [J]. *Genetics Molecular Research*, 2014, 13(2): 3329-3336.
- [18] 食品安全国家标准-婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定. GB 5413. 27-2010. 中华人民共和国国家标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
National Food Safety Standard-Determination of Fatty Acids in Foods for Infants and Young Children, Milk and Milk Products. GB 5413. 27-2010. The people's Republic of China National Standard [S]. Beijing: Standards Press of China, 2010.
- [19] 林秋萍, 李 瑾, 冯书惠. 气相色谱法快速测定牛奶中脂肪酸 [J]. *食品科学*, 2005, 26(8): 346-348.
Lin L P, Li J, Feng S H. Fast quantitative determination of fatty acid in milk [J]. *Food Science*, 2005, 26(8): 346-348.
- [20] Shi Y Y, He L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci [J]. *Cell Research*, 2005, 15(2): 97-98.