

李隐侠, 乔永, 张俊, 等. 湖羊肌肉 *UCP3* 基因序列特征分析及其在肌肉中的表达[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(5):1078-1083.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.05.021

湖羊肌肉 *UCP3* 基因序列特征分析及其在肌肉中的表达

李隐侠^{1,2}, 乔永³, 张俊^{1,2}, 钱勇^{1,2}, 孟春花^{1,2}, 王慧利^{1,2}, 钟声^{1,2}, 曹少先^{1,2}, 李齐发³

(1. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏省农业科学院动物品种改良和繁育重点实验室, 江苏 南京 210014; 3. 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 为了获得湖羊 *UCP3* 基因编码区全序列并分析其序列特征, 同时研究其在湖羊不同部位肌肉中的表达变化, 选取初生与 1、2、3、4、5 和 6 月龄湖羊公羔各 5 只, 提取屠宰后背最长肌、腰大肌、前腿肱二头肌和后腿股二头肌 RNA, 用 TA 克隆技术获得湖羊 *UCP3* 基因编码区序列, 用 DNAMAN 软件分析 *UCP3* 基因在哺乳动物间的保守性, 同时基于 *UCP3* 蛋白质序列用 MEGA5.1 软件构建系统发育树, 用 Real-time PCR 检测湖羊不同肌肉部位 *UCP3* 基因的表达水平并分析其不同发育时期的变化。结果显示: 湖羊 *UCP3* 基因编码区全长 936 bp, 编码 311 个氨基酸残基, 在哺乳动物中相对保守。根据 *UCP3* 蛋白质氨基酸序列构建的系统发育树显示湖羊与牛的亲缘关系最近。Real-time PCR 结果显示, 初生至 6 月龄的湖羊不同部位肌肉 *UCP3* 基因的表达模式基本相似, 即在出生时有较低的水平, 然后上升, 随着月龄的增加又下降, 但 *UCP3* 基因在后腿股二头肌中的表达量整体偏低, 在腰大肌中表达水平变化较大, 3 月龄的表达水平显著高于初生和 5 月龄。

关键词: *UCP3*; 序列特征; 系统进化; real-time PCR; 湖羊

中图分类号: S826.8⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)05-1078-06

Characterization of *UCP3* gene sequence and its expression in Hu lamb muscles

LI Yin-xia^{1,2}, QIAO Yong³, ZHANG Jun^{1,2}, QIAN Yong^{1,2}, MENG Chun-hua^{1,2}, WANG Hui-li^{1,2}, ZHONG Sheng^{1,2}, CAO Shao-xian^{1,2}, LI Qi-fa³

(1. Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Key laboratory of Animal Breeding and Reproduction/Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. Academy of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: This study aims to obtain the full coding region of *UCP3* gene in Hu sheep, characterize its sequence and investigate the mRNA level in sheep muscles. Each five male Hu lamb at 0 to 6 months ages were chosen and slaughtered, and total RNA from longissimus muscles, psoas muscles and front and rear leg biceps femoris muscles were extracted. The coding region of *UCP3* gene of Hu sheep was cloned using TA cloning technology, and its conservation among different mam-

mals was analyzed using DNAMAN software. Its mRNA level of different muscles of Hu sheep was investigated using real time PCR. The results showed that the coding region of *UCP3* gene in Hu sheep was 936 bp, encoding 311 amino acid residues, and was relatively conserved in mammals. Phylogenetic tree constructed based on protein sequence of *UCP3* showed that the genetic relationship between Hu

收稿日期: 2015-03-03

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(15)1007]; 江苏省自然科学基金项目(BK20140750); 科技副总(企业创新岗)项目; 苏州市吴中区农业科技计划项目(WN201301)

作者简介: 李隐侠(1979-), 女, 河南固始人, 博士, 助理研究员, 主要从事动物遗传育种与繁殖方面的研究。(Tel) 025-84390095; (Email) liyxmh@126.com

sheep and cattle was the closest. Real-time PCR results revealed that *UCP3* in different parts of muscles of differently-aged Hu sheep shared similar mRNA expression patterns, which were low at birth, and went up slightly and down afterwards over age. The expression level of *UCP3* gene was relatively low in the rear leg biceps femoris muscles, and fluctuated in psoas muscles. *UCP3* gene showed higher levels in 3-month-old sheep than those in the newborns and 5-month-old sheep.

Key words: *UCP3*; sequence characterization; phylogenetic evolution; real-time PCR; Hu sheep

解偶联蛋白质(Uncoupling protein, UCPs)是一类位于线粒体内膜的质子转运蛋白质,参与机体的能量代谢。目前,在哺乳动物中已发现的解偶联蛋白质基因家族成员包括 *UCP1*、*UCP2*、*UCP3*、*UCP4* 和 *UCP5*,其中 *UCP3* 基因在啮齿类动物和人类的骨骼肌、白色脂肪组织、棕色脂肪组织及心肌中均有表达,尤其是在骨骼肌中高效、专一表达,是骨骼肌线粒体内膜的重要转运蛋白质^[1-2],可能参与脂肪代谢的调节^[3]。*UCP3* 蛋白质能够提供非颤抖的生热作用,是体内产热的重要调节因子,被认为是参与骨骼肌能量代谢的重要靶蛋白质物质,并显著影响机体能量平衡涉及的体质量(肥胖)、静止代谢率和体脂代谢等^[4]。Liu 等^[5]在肥胖人群中发现,*UCP3* 基因多态对体质量指数有显著影响,表明 *UCP3* 多态使肥胖者体质量有增加的危险。Rudofsky 等^[6]研究认为,人 *UCP3* 基因调节能量平衡,与肥胖和糖尿病有关。有研究表明 *UCP3* 基因可能是影响猪胴体和肉质性状的主效基因或是与主效基因连锁的基因标记^[7]。陈哲等^[8]研究发现 *UCP3* 基因第四内含子 Bcc I 多态位点与长白猪 6~7 背膘厚极显著相关。陈翠等^[9]研究发现西门塔尔牛 *UCP3* 基因的 *Bgl* I 酶切位点表现多态性,而且此位点与平均日增质量、胴体长、胴体胸深、后腿宽和背膘厚性状显著相关。金成吉等^[10]研究发现,*UCP3* 基因表达减少与 2 型糖尿病模型 OLETF 鼠早期肥胖有关。本研究以早期生长发育较快的湖羊为研究对象,克隆测序获得湖羊 *UCP3* 基因编码区序列,并对序列特征进行分析,解析 *UCP3* 基因在湖羊不同部位肌肉中的表达变化,为绵羊的育种工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物为健康纯种湖羊,选自江苏省苏州市东太湖羊资源保种区,初生、1、2、3、4、5 和 6 月龄的各 5 只,共 35 只羊,试验动物由东太湖羊资源保种区统一饲料管理,营养以及管理水平保持一致。屠

宰后记录屠宰数据,采取背最长肌(第 12 肋骨后)、腰大肌(8~12 肋骨处)、前腿肱二头肌和后腿股二头肌样品,迅速置于液氮中保存,带回后置于 -70 °C 冰箱保存备用。

1.2 RNA 提取及反转录

用 Trizol 法提取各肌肉 RNA,紫外分光光度计测定总 RNA 浓度和纯度($OD_{260}/OD_{280}=1.8\sim 2.0$)。

用随机引物对总 RNA 进行反转录,反应体系为 25 μ l:2 μ g 总 RNA,1 μ g 随机引物,0.4 mmol/L dNTP,20 U RNase 抑制剂,200 U MMLV 反转录酶,5 μ l 5 \times RT buffer (250.0 mmol/L Tris-HCl pH 8.3, 50.0 mmol/L MgCl₂, 250.0 mmol/L KCl, 50.0 mmol/L DTT, 2.5 mmol/L 亚精胺)。先加 RNA 模板、dNTP 和随机引物,70 °C 变性 5 min 后立即放冰上冷却,再加其余试剂,混匀后于 41 °C 下放置 40 min。RT 产物保存于 -20 °C 备用。

1.3 引物设计与 PCR 反应

从 GenBank 中检索绵羊 *UCP3* (GenBank 序列号:KF015729) 和 *GAPDH* [看家基因 3-磷酸甘油醛脱氢酶基因 (GenBank 序列号:AF030943)] mRNA 序列,用 Primer premier 5.0 软件设计引物(表 1),由上海捷瑞生物技术有限公司合成。

反应体系为 20 μ l:1 μ l RT 产物,1U *Taq* DNA 聚合酶,2 μ l 10 \times PCR buffer (100 mmol/L Tris-HCl pH 8.3, 500 mmol/L KCl),0.5 mmol/L dNTP,1.4 mmol/L MgCl₂,上、下游引物各 0.5 μ mol/L。反应程序为:94 °C 预变性 5 min; 94 °C 30 s, 59 °C 30 s, 72 °C 30 s,共 35 个循环;最后再 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳分离,EB 染色后用凝胶成像系统照相。

1.4 PCR 产物回收及克隆测序

PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳分离,紫外灯下割取目的片段,用 Karroten DNA 凝胶回收试剂盒纯化。将回收纯化的目的片段与 PCR 2.1 载体充分混匀,在恒温金属浴中 16 °C 连接过夜,将全部连接液转化到感受态细胞,涂于含氨苄抗性的 LB 板

37 °C 过夜培养。挑取单克隆菌提取质粒,PCR 鉴定 为阳性克隆送美吉生物公司测序。

表 1 *UCP3* 基因的引物参数

Table 1 Parameters of oligo-nucleotide primer pairs of *UCP3* and *GAPDH*

基因名称	引物名称	引物序列 (5'→3')	退火温度 (°C)	片段大小 (bp)	用途
<i>UCP3-1</i>	P1	F:CTACAGCCTTCTCCATGCAC	59	1 107	cDNA cloning
		R:CGTGACCCACTGCTTTATT			
<i>UCP3-2</i>	P2	F:TGTCAACTGTGGGTGAGATGGTG	62	105	Real-time PCR
		R: CCAAAGGCAGAGACAAAGTGG			
<i>GAPDH</i>	P3	F:ACTTTGGCATCGTGGAGG	58	379	Real-time PCR
		R:GAAGAGTGAGTCTCGCTGTTG			

1.5 序列分析与系统发育树的构建

用 DNAMAN6.0 软件进行序列翻译和与其他动物的核苷酸和氨基酸序列进行比对。开放阅读框的预测在 NCBI 的 ORF Finder (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>) 中进行,利用 NCBI BLAST 服务器从 GenBank 中挑选 8 个来源于不同动物的 *UCP3* 所编码的氨基酸序列,利用 DNASTar 软件进行多序列比对分析和编辑校正,采用 MEGA5.1 软件包^[11]中的邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建系统发育树,自举分析 (Bootstrap test) 采用 1 000 次重复抽样检验获得置信度 (BP)。

1.6 Real-time PCR

Real-time PCR 反应体系为 20 μl:1 μl RT 产物,1 U *Ex Taq* HS DNA 聚合酶,4 μl 5×PCR buffer,0.30 mmol/L dNTP,3.75 mmol/L MgCl₂,上游和下游引物各 0.50 μmol/L,1 μl 20×SYBR green I。反应程序为:95 °C 预变性 1 min;95 °C 10 s,退火 10 s,

72 °C 15 s,45 个循环;然后再 72 °C 延伸 5 min。融解曲线分析:65 ~ 94 °C,每隔 0.2 °C 读板 1 次(温度恒定 1 s 后读板);最后 72 °C 延伸 5 min。每个样品 2 个重复,取平均值进行计算。

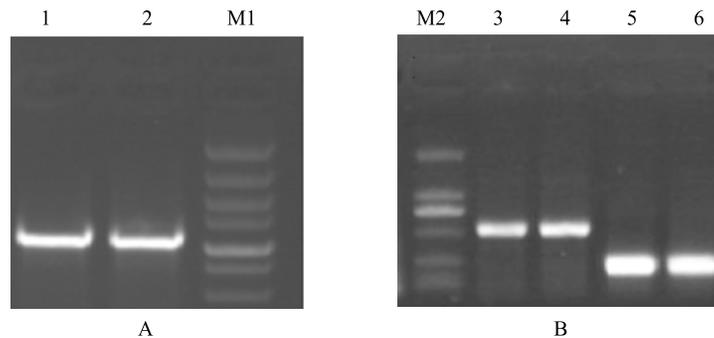
1.7 数据分析

用 SPSS11.5 For Windows 软件进行分析,其中同一肌肉部位不同月龄间的基因表达差异用 One-way ANOVA 进行分析。

2 结果与分析

2.1 绵羊 *UCP3* 基因和 *GAPDH* 基因扩增结果

以湖羊肌肉总 RNA 为模板,用所设计的 *UCP3* 基因引物 P1、P2 和 P3 进行基因扩增,PCR 产物琼脂糖电泳图见图 1。由图 1 可以看出,*UCP3* 基因编码区序列片段和 *GAPDH* 基因片段在湖羊肌肉组织中均有很好的扩增。



A: 绵羊肌肉 *UCP3* 基因克隆扩增电泳图;B: 湖羊内参 *GAPDH* 及 *UCP3* 基因的 RT-PCR 电泳图。M1: 5 000 bp DNA 分子量标记;1 ~ 2 为扩增湖羊编码区片段。M2: 1 000 bp DNA 分子量标记;3 ~ 4 为 *GAPDH* 在湖羊中的扩增片段;5 ~ 6 为湖羊 *UCP3* 基因 Real-time PCR 片段。

图 1 绵羊肌肉 *UCP3* 基因克隆扩增电泳图和 *GAPDH*、*UCP3* 基因的 RT-PCR 电泳图

Fig.1 The amplification profile of *UCP3* gene and RT-PCR of *GAPDH* and *UCP3* mRNA in sheep muscle

2.2 绵羊 UCP3 基因编码区序列分析

UCP3 基因扩增片断克隆于 PCR2.1 载体, PCR 鉴定后测序,用 DNASTAR 对测序结果与引物设计源序列进行同源性比较,得到 UCP3 基因编码区全序列。ORF Finder 在线软件预测发现测定的序列含有湖羊 UCP3 基因完整的开放阅读框,长度为 936 bp,编码 311 个氨基酸残基

(图 2)。通过 NCBI 查找其他哺乳动物的 UCP3 的编码区序列, DNAMAN 比对发现湖羊与牛和人的核苷酸序列同源性分别为 97.25%、88.61%,氨基酸序列同源性分别为 95.63% 和 87.54%,表明 UCP3 基因在物种间具有一定的保守性。

牛	MVGLQPSERFPTTIVKFLCAGTAACFADLITFPLDTAKVRLQIQGENQAALARSQCYRQVGLGTLTMTVRTEGFCSTLYSGLMAGLQRQMSFA	92
湖羊	MVGLQPSERFPTTIVKFLCAGTAACFADLITFPLDTAKVRLQIQGENQVAVQVRSACYRQVGLGTLTMTVRTEGFCSTLYSGLMAGLQRQMSFA	92
人类	MVGLQPSDFPPTMIVKFLCAGTAACFADLITFPLDTAKVRLQIQGENQAVQVQVRSACYRQVGLGTLTMTVRTEGFCSTLYSGLMAGLQRQMSFA	92
牛	SIRIGLYDSVKQFYTPKGSDESSITRILAGCTTGAMAVTCAQPTDVVKTRFQASMHITGLG.SNRKYSGMTDAYRTIAREEGVRGLWKGILF	183
湖羊	SIRIGLYDSVKQFYTPKGSDESSITRILAGCTTGAMAVTCAQPTDVVKTRFQASMHITGPG.SNRKYSGMTDAYRTIAREEGVRGLWKGILF	183
人类	SIRIGLYDSVKQFYTPKGSDESSITRILAGCTTGAMAVTCAQPTDVVKTRFQASMHITGSRSDRKYSGMTDAYRTIAREEGVRGLWKGITL	184
牛	NITRNAIVNCEELVITYDILKEKLLDYHLLTDNFPCHFVSFAFGAGFCATLVASPVVDVVKTRYMNSPPGQYFSEFDCMKMVLQEGPTAFYKGF	275
湖羊	NITRNAIVNCEELVITYDILKEKLLDYHLLTDNFPCHFVSFAFGAGFCATLVASPVVDVVKTRYMNSPPGQYFSEFDCMKMVLQEGPTAFYKGF	275
人类	NITRNAIVNCEELVITYDILKEKLLDYHLLTDNFPCHFVSFAFGAGFCATLVASPVVDVVKTRYMNSPPGQYFSEFDCMKMVLQEGPTAFYKGF	276
牛	TPSFRLRGSWNVVMEVITYEQMKRALMKVQMLRISPF	311
湖羊	TPSFRLRGSWNVVMEVITYEQMKRALMKVQMLRISPF	311
人类	TPSFRLRGSWNVVMEVITYEQMKRALMKVQMLRISPF	312

图 2 不同哺乳动物 UCP3 基因所编码的氨基酸序列同源性比较

Fig. 2 Alignment of amino acid sequences of UCP3 gene from different mammals

2.3 哺乳动物 UCP3 进化与系统发育树分析

以鱼类(斑马鱼)为外类群,采用 MEGA 5.1 软件中的 NJ 法构建哺乳动物 UCP3 蛋白质的系统发育树,结果(图 3)显示聚类结果与经典分类学结果基本一致。湖羊与 8 个哺乳动物聚在一起,而外类

群鱼类自成一类;在哺乳动物中,鼠科自成一类,3 种家畜品种和 3 个灵长类物种聚在一起;在 3 种家畜中,湖羊首先和牛聚为一类,然后再与猪聚为一类;而灵长类中的人类、黑猩猩首先聚在一起,然后再和猕猴聚为一类。

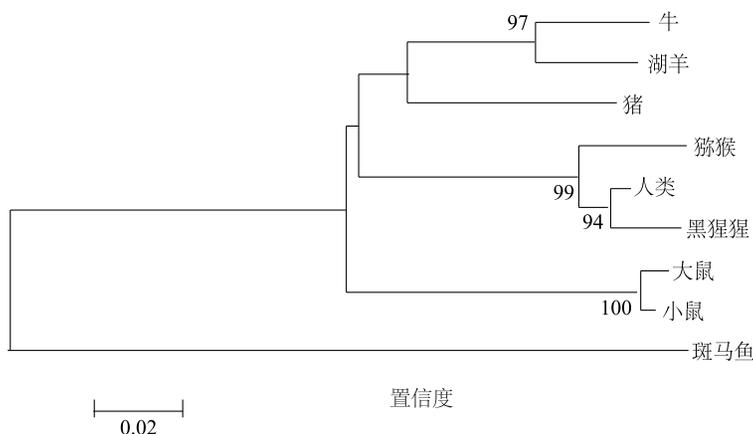


图 3 9 个物种 UCP3 蛋白质氨基酸序列 NJ 系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on nucleotide sequences of UCP3 coding region from nine species by NJ method

2.4 湖羊羔羊不同部位肌肉 *UCP3* 基因表达的变化

用 Real-time PCR 法对湖羊羔羊初生、1、2、3、4、5 和 6 月龄时背最长肌、腰大肌、前腿肱二头肌和后腿股二头肌 4 个部位肌肉的 *UCP3* 基因 mRNA 表达量进行分析,结果(图 4)显示,*UCP3* 基因 mRNA 在湖羊羔羊肌肉不同部位中的发育变化模式基本相似,即在出生时有较低的水平,然后略有上升,随着月龄的增加又下降。在背最长肌中,1 月龄时达到最高,4 月龄时下降到最低;在腰大肌中,刚出生时 *UCP3* 基因表达水平最低,3 月龄时最高,然后下降;在前腿肱二头肌中,*UCP3* 基因表达水平 2 月龄时最高,3 月龄时最低;在后腿股二头肌中,*UCP3* 基因表达水平出生时最低,2 月龄时最高。另外,初生至 6 月龄间 *UCP3* 基因在后腿股二头肌中的整体表达量偏低,在腰大肌中的表达水平变化较大,3 月龄时 *UCP3* 基因表达水平显著高于初生和 5 月龄。

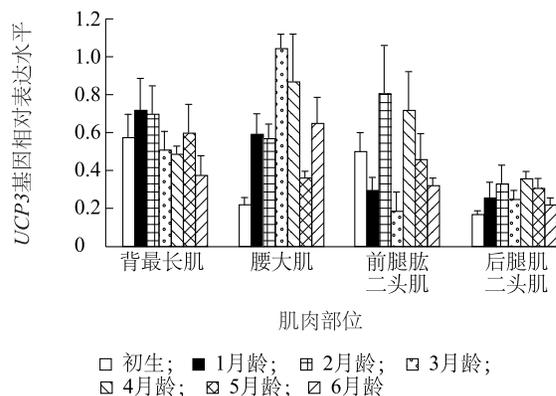


图 4 湖羊羔羊不同肌肉不同月龄 *UCP3* 基因表达的变化

Fig. 4 Changes of *UCP3* mRNA expression levels in different muscles of differently-aged Hu lamb

3 讨论

UCP3 作为肌肉组织线粒体内膜的重要转运蛋白质,对维持肌肉的能量代谢与平衡具有重要的作用^[12]。*UCP3* 与肌肉组织中脂肪酸的氧化代谢紧密相关,研究结果表明 *UCP3* 在肌肉中表达量的增加能明显增加肌肉中脂肪酸的氧化, Son 等通过转基因的方法使小鼠肌肉高表达 *UCP3*, 发现 *UCP3* 表达水平高于正常表达水平 18 倍的小鼠能明显减少因饮食增加引起的肥胖, 认为 *UCP3* 可能是未来治疗肥胖疾病

的 1 个有用工具^[13]。Nakayama 等研究结果表明 *UCP3* 基因 55C/T 位点多态性影响日本成年人的肥胖^[14]。Udaqawa 等研究结果表明 *UCP3* 基因与家犬体内总胆固醇水平相关^[15]。人的 *UCP3* 基因位于 11q13, 包含 6 个外显子和 5 个内含子^[16]; 猪的 *UCP3* 基因定位在 9P21 ~ P24, 开放阅读框为 936 bp, 编码 311 个氨基酸残基^[17]。本研究获得了湖羊 *UCP3* 基因编码区序列, 湖羊中 *UCP3* 基因编码区长度为 936 bp, 编码 311 个氨基酸残基, 其起始密码子为 ATG, 终止密码子为 TGA, 在哺乳动物间是相对保守的^[16]。Esterbauer 等^[18] 研究发现人 *UCP3* 基因存在长型和短型 2 种剪接体, 而鼠类中只有长型 *UCP3* 基因剪接体, 没有检测到短型的 *UCP3*, 本研究在湖羊中也只发现 1 种剪接方式。根据 *UCP3* 蛋白质序列构建的哺乳动物系统发育树结果显示, 聚类结果与经典的分类结果基本一致, 即湖羊与 8 个哺乳动物聚在一起, 而外类群鱼类自成一类; 在哺乳动物中, 鼠科自成一类, 3 种家畜和 3 个灵长类物种聚在一起; 在 3 种家畜中, 湖羊首先和牛聚为一类, 然后再与猪聚为一类, 此分类结果与李隐侠等^[19] 研究结果一致。

UCP3 基因在肌肉中的表达受多种因素的影响, 品种、营养水平和环境温度等都会影响其表达。Mostyn 等^[20] 研究了出生后 0、4、7、14 和 21 日龄时商品猪和梅山猪 *UCP3* 基因表达模式, 发现在脂肪组织中, 7 日龄以前 2 个品种猪 *UCP3* 的表达量相似, 7 日龄以后梅山猪显著高于商品猪, 表明 *UCP3* 基因表达具有品种特异性。本研究发现, 湖羊羔羊肌肉 *UCP3* 的表达模式在不同部位具有较明显的差异, 在背最长肌中, 出生时 *UCP3* 表达量较高, 然后缓慢上升后下降, 到 4 月龄时最低, 然后又有所回升; 在腰大肌和后腿股二头肌中, 刚出生的羔羊 *UCP3* 表达量较低, 随月龄的增加上升, 腰大肌在 3 月龄时升到最高, 股二头肌在 5 月龄时升到最高; 在前腿肱二头肌中, 出生时较高, 1 月龄时下降, 到 2 月龄时升到最高, 3 月龄时又降到最低, 4 月龄时又上升, 表现出波动变化的特征, 表明 *UCP3* 基因在湖羊肌肉中表达的变化呈明显的组织特异性, 与前人的研究结果一致^[20-21]。*UCP3* 基因在腰大肌中 3 月龄时的基因表达水平显著高于 0 月龄和 5 月龄, 表明 *UCP3* 基因可能参与脂肪代谢的调节^[3]。

以上研究结果表明, 湖羊 *UCP3* 基因编码区长度为 936 bp, 编码 311 个氨基酸残基, 在哺乳动物间

相对保守;根据 *UCP3* 蛋白质序列构建的哺乳动物进化树结果与经典的拓扑结构一致;*UCP3* 基因在湖羊肌肉中的 mRNA 的表达变化具有明显的组织特异性。

参考文献:

- [1] BOSS, SAMEC S, PAOLONI-GIACOBINO A, et al. Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression[J]. FEBS Letters, 1997, 408: 39-42.
- [2] GONG DW, HE Y, KARAS M, et al. Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormone, β 3-adrenergic agonist, and leptin[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272: 24129-24132.
- [3] HIMMS-HAGEN J, HARPER M E. Physiological role of *UCP3* may be export of fatty acids from mitochondria when fatty acid oxidation predominates: an hypothesis[J]. Experimental Biology and Medicine, 2001, 226: 78-84.
- [4] 李波, 李华, 李学伟, 等. 猪解偶联蛋白 3 (*UCP3*) 基因的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2006(8): 28-30.
- [5] LIU Y J, LIU P Y, LONG J. Linkage and association analyses of the *UCP3* gene with obesity phenotypes in Caucasian families[J]. Physiol Genomics, 2005, 22 (2): 197-203.
- [6] RUDOFISKY G J, SCHROEDTER A, SCHLOTTERER A, et al. Functional polymorphisms of *UCP2* and *UCP3* are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type I diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29 (1): 89-94.
- [7] 涂荣剑, 邓昌彦, 熊远著. 猪 *UCP3* 基因部分编码区序列分析及单核苷酸多态与胴体、肉质性状的遗传效应[J]. 遗传学报, 2004, 31 (8): 807-812.
- [8] 陈哲, 于峰祥, 于建宁, 等. 猪 *UCP3* 基因第 4 内含子 Bcc I 多态性检测及其与胴体和肉质性状的关联分析[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(6): 1338-1343.
- [9] 陈翠, 张立敏, 陈晓杰, 等. *UCP3* 基因遗传多态性与中国西门塔尔牛生长及育肥性状的遗传效应分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(5): 13-18.
- [10] 金成吉, 王晓梅, 李湘, 等. *UCP1* 蛋白和 *UCP3* 基因表达减少与 OLETF 鼠早期肥胖有关[J]. 基础医学与临床, 2011, 31(31): 286-290.
- [11] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Mol Biol Evol, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [12] 李秋玲, 许尚忠, 管林森, 等. 3 个牛品种 *UCP3* 基因第 5 内含子和第 6 外显子部分序列的多态性研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 11(34): 11-14.
- [13] SON C, HOSODA K, ISHIHARA K, et al. Reduction of diet-induced obesity in transgenic mice overexpressing uncoupling protein 3 in skeletal muscle[J]. Diabetologia, 2004, 47: 47-54.
- [14] NAKAYAMA K, MIYASHITA H, IWAMOTO S. Seasonal effects of the *UCP3* and the *RPTOR* gene polymorphisms on obesity traits in Japanese adults[J]. J Physiol Anthropol, 2014, 33(1): 38.
- [15] UDAGAWA C, TADA N, ASANO J, et al. The genetic association study between polymorphisms in uncoupling protein 2 and uncoupling protein 3 and metabolic data in dogs [J]. BMC Res Notes, 2014, 7: 904.
- [16] SOLANES G, VIDAL-PUIG A, GRUIC D, et al. The human uncoupling protein-3 gene, genomic structure, chromosomal localization, and genetic basis for short and long form transcripts [J]. J Biol Chem, 1997, 272(41): 25433-25436.
- [17] CEPICA S, YERLE M, STRATIL A, et al. Regional localization of porcine *MYOD1*, *MYF5*, *LEP*, *UCP3* and *LCN1* genes [J]. Anim Genet, 1999, 30(6): 476-478.
- [18] ESTERBAUER H, OBERKOFER H, KREMLER F, et al. The uncoupling protein-3 gene is transcribed from tissue-specific promoters in humans but not in rodents [J]. J Biol Chem, 2000, 275: 36394-36399.
- [19] 李隐侠, 张俊, 李静心, 等. 乌骨绵羊 *NR5A2* 基因编码区序列克隆及特征分析[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(6): 1375-1382.
- [20] MOSTYN A, LITTEN J C, PERKINS K S, et al. Influence of size at birth on the endocrine profiles and expression of uncoupling proteins in subcutaneous adipose tissue, lung, and muscle of neonatal pigs[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005, 288(6): 1536-1542.
- [21] MOSTYN A, LITTEN J C, PERKINS K S, et al. Influence of genotype on the differential ontogeny of uncoupling protein 2 and 3 in subcutaneous adipose tissue and muscle in neonatal pigs[J]. J Endocrinol, 2004, 183: 121-131.

(责任编辑:袁伟)