



基于转录组测序挖掘影响獭兔和伊高乐肉兔杂交后代粗毛率关键基因的研究

杜宝宝¹, 杨孟哲¹, 孙秀柱², 任战军¹, 王淑辉^{1*}

(1. 西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学草业与草原学院, 杨凌 712100)

摘要: 旨在探究獭兔与伊高乐肉兔杂交后代毛皮品质的差异及其影响粗毛率的潜在分子机制, 以期为杂交兔毛皮品质研究提供参考。本研究选用獭兔和伊高乐肉兔杂交产生的12只165日龄的F₂代兔, 测定被毛长度、被毛细度及粗毛率等毛皮品质指标。随后依据粗毛率统计结果, 挑选10只母兔开展皮肤组织转录组测序分析。其中, 粗毛率 $\geq 10\%$ 的5只归为高粗毛率组, 粗毛率 $< 10\%$ 的5只归为低粗毛率组。比较两组样本之间的差异表达基因, 并对其进行功能富集分析和蛋白互作网络构建; 采用荧光定量PCR技术对测序结果准确性进行验证。研究结果显示, 獭兔与伊高乐肉兔杂交所获得的F₂代兔中, 粗毛率与被毛长度呈极显著正相关($P < 0.01$), 与被毛细度呈显著正相关($P < 0.05$), 与其他指标相关性不显著($P > 0.05$)。在粗毛率高低组间共鉴定出281个差异表达基因, 这些基因在GO功能注释中显著富集于药物转运、成肌细胞增殖调控、收缩纤维、糖胺聚糖结合等功能条目, 在KEGG通路分析中显著富集于糖酵解/糖异生、类固醇激素生物合成、运动蛋白及PPAR信号通路等重要生物学过程。构建差异蛋白相互作用(PPI)网络, 获得4个候选基因, 分别是*FGF7*、*MMP3*、*MMP13*及*FOXP3*。RT-qPCR结果显示5个DEGs表达趋势与RNA-seq结果基本一致。以上结果提示, *FGF7*、*MMP3*、*MMP13*及*FOXP3*基因可能是影响粗毛率性状的重要候选基因。本研究为獭兔与伊高乐肉兔杂交后代的皮毛品质评价提供了数据支持, 同时也为杂交品种毛皮性状的改良提供了借鉴。

关键词: 獭兔; 伊高乐肉兔; 杂交后代; 毛皮品质; 粗毛率; RNA-seq

中图分类号: S829.1

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2026)01-0221-13

Elucidating Key Genes Affecting Coarse Hair Percentage in Rex and Hycle Meat Rabbit Hybrid Offspring via Transcriptome Sequencing

DU Baobao¹, YANG Mengzhe¹, SUN Xiuzhu², REN Zhanjun¹, WANG Shuhui^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

2. College of Grassland Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: This study aimed to investigate the differences in fur quality and the potential molecular mechanisms influencing the coarse hair percentage of hybrid offspring of Rex rabbits and Hycle meat rabbits, in order to provide a reference for research on fur quality of hybrid rabbits. Twelve 165-day-old F₂-generation rabbits produced by crossing Rex rabbits and Hycle meat rabbits were selected. Fur quality indicators, including hair length, hair fineness, and coarse hair percentage, were measured. Based on the statistical result of coarse hair percentage, 10 female rabbits were further

收稿日期: 2025-06-03

基金项目: 农业农村部政府购买服务项目: 家兔肉质性状表型鉴定(19240889); 陕西省农业科技创新专项资金项目: 利用组学技术提高兔肉用性能与新品种培育(纵20231494)

作者简介: 杜宝宝, 硕士生, 主要从事畜牧专业的研究, E-mail: 18794097425@nwfau.edu.cn

* 通信作者: 王淑辉, 主要从事特种经济健康养殖与繁育方向的研究, E-mail: wangshuhui252@163.com

selected for transcriptomic sequencing of skin tissues. Among them, 5 individuals with coarse hair percentage $\geq 10\%$ were classified as the high coarse hair percentage group, and 5 with coarse hair percentage $<10\%$ were classified as the low coarse hair percentage group. Differentially expressed genes (DEGs) between the two groups were compared, followed by functional enrichment analysis and protein-protein interaction (PPI) network construction. The accuracy of the sequencing results was verified using quantitative real-time PCR. The results showed that in the F2 hybrid rabbits, coarse hair percentage was extremely significantly positively correlated with hair length ($P<0.01$) and significantly positively correlated with hair fineness ($P<0.05$), but not significantly correlated with other indicators ($P>0.05$). A total of 281 DEGs were identified between the high and low coarse hair percentage groups. Gene Ontology (GO) enrichment analysis revealed these genes were significantly enriched in functional terms such as drug transport, regulation of myoblast proliferation, contractile fiber, and glycosaminoglycan binding. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis showed significant enrichment in important biological processes including glycolysis/gluconeogenesis, steroid hormone biosynthesis, motor proteins, and the PPAR signaling pathway. A protein-protein interaction (PPI) network of the differentially expressed proteins was constructed, and 4 candidate genes were identified (*FGF7*, *MMP3*, *MMP13* and *FOXP3*). RT-qPCR results confirmed that the expression trends of these 5 DEGs were largely consistent with the RNA-seq data. These results suggest that the *FGF7*, *MMP3*, *MMP13* and *FOXP3* genes may be important candidate genes influencing the coarse hair percentage trait. This study provides data support for evaluating the fur quality of hybrid offspring between Rex and Hycole meat rabbits and offers insights for improving fur traits in hybrid breeds.

Keywords: Rex rabbit; Hycole meat rabbits; hybrid offspring; fur quality; coarse hair percentage; RNA-seq

* **Corresponding author:** WANG Shuhui, E-mail: wangshuhui252@163.com

在家兔育种领域,长期存在肉用性能与毛皮品质难以协同改良的育种难题。獭兔作为世界著名的裘皮专用兔种,其被毛具有“短、平、密、细、美、牢”的典型特征^[1],绒毛细腻、密度高、粗毛率低,平整美观且皮板牢固,是高端裘皮服装业的重要原料,鞣制后皮质柔软而富有弹性,深受市场欢迎;然而,其产肉性能普遍低于专用肉兔品种。伊高乐肉兔是从法国引进的肉兔配套性,具有生长速度快、饲料转化率高、屠宰率高、产仔效率高等优点^[2],但毛皮品质较差,普遍存在绒毛稀疏、粗毛率高、被毛均匀性及平整度不足等问题,在加工过程中易出现掉毛、起球等现象,因此仅适用于低端毛皮制品或工业用毛原料,毛皮经济附加值偏低。我国是世界兔业生产与贸易大国,根据中国海关统计数据在线查询平台(<http://www.customs.gov.cn/>)公布的数据显示,2024年我国出口兔皮136.77万张,兔毛86.30吨,出口兔毛制品7.79万件,在世界纺织业中

占有重要地位。因此,通过构建獭兔和伊高乐肉兔杂交群体实现性状互补,对探索培育兼具肉用性能与优质毛皮的新型家兔品种具有重要意义。

家兔毛皮品质的优劣直接影响其经济价值和市场需求。粗毛率是衡量毛皮品质的一个重要指标,直接影响毛皮的柔软性、光泽度及加工性能。粗毛率越高,毛纤维的平均细度越大,兔毛越粗^[3]。兔毛纤维细度在13~14 μm 左右为细毛,适合作为精纺原料,更受市场欢迎^[4]。然而,较高的粗毛率会导致毛皮表面粗糙、光泽度下降,触感生硬,不符合高端市场对“柔软细腻”的需求。另外,粗毛突出易形成“刺手感”,影响消费者对毛皮品质的直观判断。因此,降低粗毛率在兔的毛皮产业中是一个值得重视且急需解决的问题。

转录组测序(RNA-seq)是鉴定不同组织和状态中功能基因的强大工具^[5-6]。常用于研究品种、处理等因素对基因表达的影响,确定不同品种或处理

间差异表达基因,并建立相应的关联^[7]。近年借助 RNA-seq 开展的家兔毛皮品质研究已取得不少进展,WNT、Shh、p53、TGF- β 、Notch、BMP 等毛囊相关信号通路已被广泛报道^[8],同时也筛选出多个毛皮品质相关候选基因。针对毛囊与皮肤发育的研究中,Zhao 等^[9]通过分析獭兔背部与腹部组织的转录组差异,筛选出 *FRP2*、*FRZB*、*CACNG1*、*PTPLA*、*PTP4A3* 等相关基因,为理解毛囊发育机制提供了线索。在毛长差异研究中,Ding 等^[10]通过对比短毛兔与长毛兔的转录组,发现 KRT 家族(*KRT23*、*KRT25* 等)及 *FGF5*、*BAMBI*、*SMAD7* 可能是调控毛长的关键候选基因;Zhao 等^[11]对皖西安哥拉兔(长毛)与白色獭兔(短毛)杂交后代的毛长分组分析显示,*WNT5A*、*WNT11*、*BMP4*、*FGF5* 等基因可能参与毛长调控。在毛纤维直径差异研究中,Huang 等^[12]对安哥拉兔粗、细毛组的分析确定了 *LEF1*、*FZD3*、*SMAD3*、*ITGB6* 和 *BMP4* 等候选基因;王源朗等^[13]则挖掘出 *SHH*、*LGR5*、*CTSB*、*ACTA2* 和 *CRNN* 与长毛兔粗、细毛分化相关的候选基因。然而,目前尚未见利用 RNA-seq 开展獭兔和伊高乐肉兔杂交后代粗毛率研究的报道。因此,本研究选取獭兔和伊高乐肉兔连续杂交获得的 F₂ 代作为研究对象,测定其毛皮品质并探讨粗毛率与其它毛皮品质的相关性,同时,利用 RNA-seq 技术筛选不同粗毛率个体的差异表达基因;结合蛋白互作分析以及已报道的基因功能等,进一步鉴别影响粗毛率的关键候选基因。本研究结果可为揭示家兔兔毛粗毛率分子遗传基础奠定基础,并为培育出具有毛皮品质优良的兔种提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物及设计

本试验选用来源于甘肃省天水市俊鑫养殖合作社的獭兔和来源于陕西禾草源牧业科技有限公司的伊高乐肉兔作为亲本,饲养于西北农林科技大学畜牧教学试验基地兔场。通过连续杂交试验构建 F₂ 代杂交兔群体后,随机选取 12 只健康状况一致的 165 日龄 F₂ 代杂交母兔进行屠宰处理。屠宰后先开展毛皮品质相关指标测定,同时采集每只兔背中部皮肤组织 2 块(每块约 1 cm²):其中一块立即置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,用于后续石蜡切片制备及毛囊数量观测;另一块迅速投入液氮中速冻,随后转移至 -80 °C 超低温冰箱保存,备用于皮肤组织

RNA-seq。随后统计 12 只母兔的毛皮性状,依据粗毛率统计结果,挑选 10 只母兔开展 RNA-seq 分析。其中,粗毛率 $\geq 10\%$ 的 5 只归为粗毛率高组(CH),粗毛率 $< 10\%$ 的 5 只归为粗毛率低组(CL)。

1.2 毛皮品质测定

毛皮重量:以环剥法剥皮后,去除皮上的残肉和脂肪,称量鲜重得到皮重^[14];皮张面积:将称重后的兔皮自然平铺,用软尺测量自颈部中间至尾根的长度得到皮长,腰部中间两边缘之间的距离得到皮宽,皮长与皮宽之积即为皮张面积^[15];皮张厚度:在肩、背、臀部取样用游标卡尺测量皮肤厚度取平均值;被毛长度:固定同一位置,利用直尺测量被毛根部至被毛尖部的距离,测 3 次取平均值^[14];被毛细度:利用显微镜测微尺在 400 倍镜下测量毛纤维直径;粗毛率:选取背中部一撮毛,均匀铺置于载玻片上,加盖盖玻片固定,制成临时切片。将切片置于显微镜载物台,利用显微镜测微尺逐根测量毛纤维直径,分别统计直径 $\geq 30 \mu\text{m}$ (粗毛)和直径 $< 30 \mu\text{m}$ (细毛)的纤维根数。粗毛率(%) = 毛样中粗毛根数/毛样纤维总根数 $\times 100\%$ 。

切片制作与毛囊密度统计:取样后迅速用 PBS 清洗,立即置于 4% 多聚甲醛中固定 12 h 后,再用 PBS 漂洗 3 次,每次 30 min。之后进行乙醇脱水,完成以上步骤后用二甲苯透明,随后浸蜡处理,最后用硬蜡包埋。随后用石蜡切片机切片调整切片厚度为 2~5 μm ,在不同部位连续切片。将可用的切片进行染色,步骤分为脱蜡、染色和脱水封片,干燥后进行观察。制作好的切片在显微镜下进行观察,然后利用 Slide Viewer 看图软件中的 Draw an open polygon 测量工具对初级毛囊密度、次级毛囊密度进行统计^[16]。毛囊密度(个 $\cdot\text{mm}^{-2}$) = 每个视野毛囊个数/视野毛囊面积。

1.3 转录组 RNA 提取及文库构建

采用 Trizol 法提取皮肤组织中的总 RNA,随后对 RNA 样品进行严格质控,质控方式主要是通过 Agilent2100 bioanalyzer 精确检测 RNA 完整性和总量。使用 Oligo dT 磁珠从总 RNA 中富集 mRNA。在片段化之后,使用随机六聚体引物合成第一链 cDNA,随后进行第二链 cDNA 的合成。经过末端修复、加 A 尾、接头连接、片段选择、扩增和纯化后,文库准备就绪。文库通过 Qubit 仪和实时荧光定量 PCR 进行定量,并通过生物分析仪进行片段大小分布检测。库检合格后,于 Illumina 测序平台开展测

序。建库及测序工作均由北京诺禾致源生物科技有限公司完成。

1.4 转录组数据质量控制

测序获得的原始数据中包含少量带有测序接头或测序质量较低的 reads,为了保证数据分析的质量及可靠性,需要对原始数据进行过滤,去除带接头、碱基信息不明及低质量的 reads,获得高质量序列数据(clean reads)。利用比对软件 HISAT2v 2.0.5 将 clean reads 比对到兔参考基因组上,使用 String Tie 进行新基因预测和转录本组装。利用 Feature Counts 计算映射到每个基因的读数,并根据基因长度计算每个基因的 FPKM 值(fragments per kilobase of transcript per million mapped reads, FPKM)。

1.5 差异基因筛选及功能富集分析

使用 DESeq2 包对数据进行标准化,计算两组间基因表达量的差异倍数并判断差异是否显著,以 $P<0.05$ 、 $\log_2|\text{FoldChange}|>1$ 为标准筛选粗毛率高、低组间的 DEGs。本研究使用诺禾云平台(<https://magic.novogene.com/>)对 DEGs 进行 GO (Gene Ontology, 基因本体)功能和 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, 京都基因与基因组百科全书)通路富集分析,以 $P<0.05$ 筛选富

集分析结果,获得显著富集的 GO 条目和 KEGG 通路。

1.6 蛋白互作分析

为进一步筛选在调控粗毛率性状的过程中起关键作用的基因,本试验将筛选得到的 DEGs 利用在线软件 STRING 12.0 (<https://cn.string-db.org/>)构建粗毛率差异表达基因的蛋白互作(PPI)网络^[17],分析参数选用软件默认值。利用 Cytoscape (v3.10.3)软件(<https://cytoscape.org/>)对蛋白互作网络进行可视化,并通过 Cytoscape 软件中 cytoHubba 插件的 4 种分析算法(MCC、DMNC、MNC 和 Degree)计算网络中的中心基因^[18]。

1.7 实时荧光定量 RT-qPCR

差异表达基因实时荧光定量 PCR 验证(RT-qPCR)根据 NCBI 查询到的基因序列设计引物,由上海生工(生物)技术有限公司合成。引物序列见表 1,内参基因为 GAPDH,按照 TaKaRa Bio 公司的产品 TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR 说明书对目的基因进行 RT-qPCR 检测。反应体系为 25 μL :cDNA 2 μL , TB Green Premix Ex Taq II Fast qPCR(2X)12.5 μL ,上、下游引物各 1 μL ,加灭菌水补足 25 μL ,按照其说明设置反应程序,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行相对表达量计算。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table1 Primers for quantitative real-time PCR

基因 Gene	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物长度/bp Product size
GAPDH	F: TCGTCTCCTGCGACTTCAAC R: ACCCTGTTGCTGTAGCCAAA	130
FOXP3	F: TTCCGAAACCACCCTGCTAC R: AACTCATCCACGGTCCACAC	113
CENPE	F: AACAGTGCGGAGCATGACCTG R: ATGGGTGTCAGATGCCAAGG	98
MMP13	F: TCACGCTTTTCCTCCTGGAC R: CAAGCCCTAAGGAATGGCCA	134
MMP3	F: CCACTCCCTGGGTCTGTTTC R: GCCGGTCCATAGAGGGATTG	135
FGF7	F: GCCCTGAGCGACATACAAGA R: CCAACTGCCACAGTCCTGAT	175

1.8 统计与分析

采用 Excel 2024 软件对试验数据进行整理,采用 SPSS 22.0 软件对毛皮品质试验数据进行统计并

进行显著性分析。使用 R 语言对粗毛率与被毛细度、被毛长度等毛皮品质指标进行 Pearson 相关性分析和相关显著性检验。

2 结 果

2.1 毛皮品质结果统计

本研究测试了12只母兔的毛皮品质相关指标。

根据表2可知,粗毛率最小值3%,最大值14%,中位数12%,平均值±标准差为 $9.17\% \pm 4.30\%$,变异系数46.94%,表明不同个体之间粗毛率存在差异。相比粗毛率,其他指标表型变异系数较小。

表2 F2代杂交兔毛皮品质表型统计

Table 2 Statistics of fur quality phenotypes of F2-generation hybrid rabbits

性状 Trait	最小值 Minimum value	最大值 Maximum value	中位数 Median	平均值±标准差 Mean±Standard error	变异系数/% Coefficient of variation
被毛长度/cm Hair length	1.71	2.76	2.33	2.33 ± 0.32	13.53
皮张鲜重/g Fresh pelt weight	195.00	490.00	365.50	374.00 ± 80.42	21.50
皮板厚度/mm Dermis thickness	2.00	3.34	2.48	2.63 ± 0.41	15.75
皮张长度/cm Pelt length	32.10	42.10	37.55	37.31 ± 2.70	7.24
皮张宽度/cm Pelt width	21.90	28.00	26.05	25.53 ± 1.92	7.51
皮张面积/cm ² Pelt area	702.99	1 092.00	974.36	953.38 ± 106.32	11.15
被毛细度/ μm Hair fineness	16.54	32.46	20.21	21.95 ± 5.02	22.85
初级毛囊密度/(个·mm ⁻²) Primary hair follicle density	3.00	6.00	3.84	4.17 ± 0.97	23.25
次级毛囊密度/(个·mm ⁻²) Secondary hair follicle density	82.67	146.00	108.84	110.94 ± 19.02	17.15
S/P值 S/P ratio	18.31	38.55	27.49	27.73 ± 6.91	24.92
粗毛率/% Coarse hair percentage	3.00	14.00	12.00	9.17 ± 4.30	46.94

由图1表型相关系数矩阵图可知,粗毛率与被毛长度呈极显著正相关($P < 0.01$),与被毛细度呈显著正相关($P < 0.05$),与其他指标相关性不显著。皮张鲜重与皮张面积、被毛细度呈显著正相关($P < 0.05$),皮板厚度与皮张长度呈显著正相关($P < 0.05$),皮张面积与皮张鲜重呈显著正相关($P < 0.05$),初级毛囊密度与S/P值极显著负相关($P < 0.01$)。

2.2 测序数据质量分析

各样本转录本测序数据的质控情况如表3所示。各样本平均得到47 583 044.8个Raw reads,其中CH均值为46 767 512,CL均值为48 398 577.6。原始数据碱基数raw bases的均值为7.14 G,其中CH均值为7.02 G,CL均值为7.26 G。原始数据的过滤后读段Clean reads均值44 996 496,CH均值为43 395 001,CL均值为46 597 990。原始数据过滤后的碱基数Clean bases平均为6.75 G,其中CH为6.51 G,CL为6.99 G。测序错误率的CH和CL均为0.01,Q20和Q30检查,CH和CL均值分别为98.81%、98.78%和96.84%、96.76%。CH和CL的Clean read中G与C占四种碱基的百分比(GC-pct)均值分别为54.69%、55.20%。以上结果表明

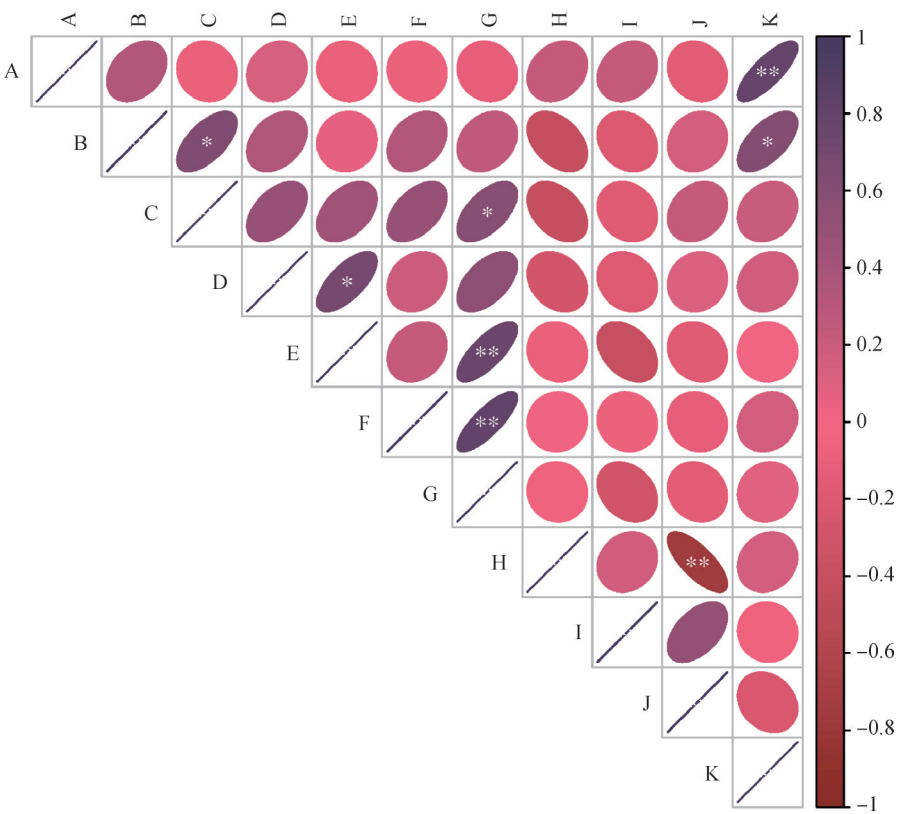
测序数据质量可靠,可用于后续所有分析。

2.3 粗毛率高、低组间差异表达基因筛选

按照不同粗毛率水平对兔只进行分组,选择粗毛率高、低两组各5只兔进行皮肤差异表达基因筛选。如表4所示,粗毛率高组的粗毛率平均为 $12.80\% \pm 0.84\%$,粗毛率低组的粗毛率平均为 $4.40\% \pm 1.14\%$,两组间差异极显著($P < 0.01$)。此外,以粗毛率高、低分组,被毛长度在两组间差异显著($P < 0.05$),被毛细度在两组间差异极显著($P < 0.01$),与上述粗毛率与被毛长度和被毛细度的相关性分析类似。其他指标差异不显著($P > 0.05$)。

按照粗毛率对毛囊密度进行分组,如表5所示,两组之间初级毛囊密度、次级毛囊密度、S/P值差异均不显著($P > 0.05$)。

在 $|\log_2(\text{Fold Change})| > 1$ 且 $P < 0.05$ 的阈值下,对CH和CL两组进行差异表达基因筛选,共筛选到281个差异表达基因,其中与CH相比,CL有114个基因显著上调,167个基因显著下调(图2)。对样本和差异表达基因进行聚类分析,结果如图3所示,CH和粗CL的样本间聚类情况明显,呈现不同的基因表达模式,说明可分为两组。



A. 被毛长度;B. 被毛细度;C. 皮张鲜重;D. 皮板厚度;E. 皮张长度;F. 皮张宽度;G. 皮张面积;H. 初级毛囊密度;I. 次级毛囊密度;J. S/P值;K. 粗毛率。 **表示极显著相关($P<0.01$), *表示显著相关($P<0.05$)

A represents the hair length; B represents the hair fineness; C represents the fresh weight of the skin; D represents the thickness of the skin plate; E represents the length of the skin; F represents the width of the skin; G represents the area of the skin; H represents the density of primary hair follicles; I represents the density of secondary hair follicles; J represents the S/P value; K represents the coarse hair percentage. ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$), * indicates significant correlation ($P<0.05$)

图1 毛皮品质相关性分析

Fig. 1 Correlation analysis of fur quality

表3 测序数据质量

Table 3 Sequencing data quality

样本名称 Sample name	原始读段 Raw reads	原始碱基数/G Raw bases	过滤读段 Clean reads	过滤碱基数/G Clean bases	测序错误率 Error rate	Q20	Q30	GC pct
C1	467 94 086	7.02	43 611 690	6.54	0.01	98.98	97.20	55.97
C2	46 771 506	7.02	44 099 066	6.61	0.01	98.83	96.84	54.02
C3	42 685 678	6.40	39 925 176	5.99	0.01	98.74	96.67	55.97
C4	53 288 656	7.99	48 225 400	7.23	0.01	98.68	96.55	55.19
C5	44 297 634	6.64	41 113 674	6.17	0.01	98.84	96.92	52.28
X1	46 946 412	7.04	44 517 474	6.68	0.01	98.82	96.87	54.52
X2	45 152 604	6.77	42 733 180	6.41	0.01	98.77	96.72	55.10
X3	50 136 554	7.52	50 006 982	7.50	0.01	98.74	96.67	56.81
X4	47 641 854	7.15	47 552 784	7.13	0.01	98.78	96.74	55.54
X5	52 115 464	7.82	48 179 530	7.23	0.01	98.79	96.80	54.01

表4 粗毛率高组与粗毛率低组毛皮品质表型统计

Table 4 Statistics of fur quality phenotypes in the high coarse hair percentage group and the low coarse hair percentage group

项目 Item	粗毛率高组 CH	粗毛率低组 CL	P 值 P-value
被毛长度/cm Hair length	2.51±0.22	2.08±0.26	0.023 [*]
被毛细度/ μm Hair fineness	26.99±3.39	18.52±1.46	0.001 ^{**}
皮张鲜重/g Fresh pelt weight	415.20±62.14	349.20±99.86	0.245
皮板厚度/mm Dermis thickness	2.64±0.46	2.54±0.32	0.702
皮张长度/cm Pelt length	37.00±2.36	36.92±2.84	0.963
皮张宽度/cm Pelt width	26.18±1.87	25.04±1.97	0.376
皮张面积/ cm^2 Pelt area	969.71±105.62	928.66±136.42	0.610
粗毛率/% Coarse hair percentage	12.80±0.84	4.40±1.14	0.000 ^{**}

*表示CH与CL组间差异显著, $P < 0.05$; **表示CH与CL组间差异极显著, $P < 0.01$

* indicates a significant difference between the CH and CL groups, $P < 0.05$; ** indicates that the difference between the CH and CL groups is extremely significant, $P < 0.01$

表5 粗毛率高组与粗毛率低组毛囊密度分析

Table 5 Analysis of hair follicle density between the high coarse hair percentage group and the low coarse hair percentage group

项目 Item	粗毛率高组 CH	粗毛率低组 CL	P 值 P-value
初级毛囊密度/(个 $\cdot\text{mm}^{-2}$) Primary hair follicle density	3.87±0.80	3.93±0.86	0.900
次级毛囊密度/(个 $\cdot\text{mm}^{-2}$) Secondary hair follicle density	109.40±24.08	112.93±19.92	0.807
S/P 值 S/P ratio	28.53±4.47	29.99±8.61	0.745

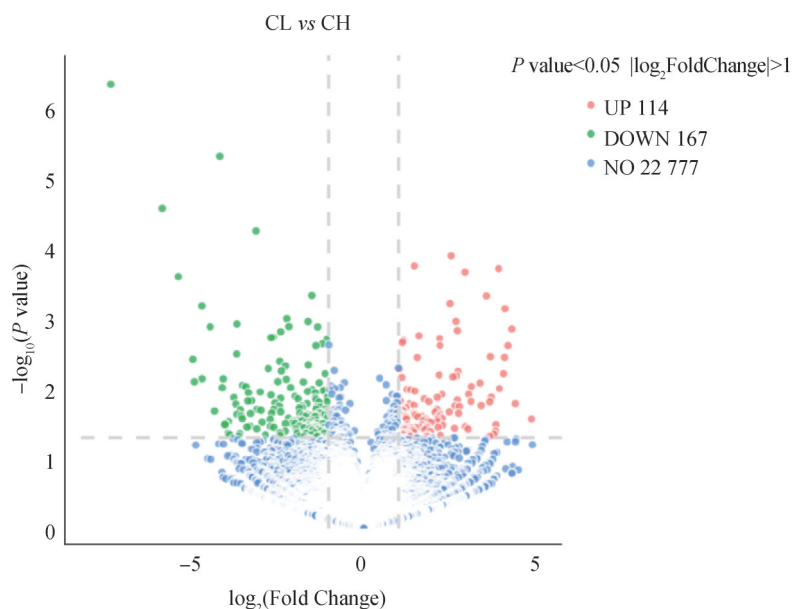


图2 粗毛率高组与粗毛率低组差异表达基因火山图

Fig. 2 The volcano map of differentially expressed genes between the high coarse hair percentage group and the low coarse hair percentage group

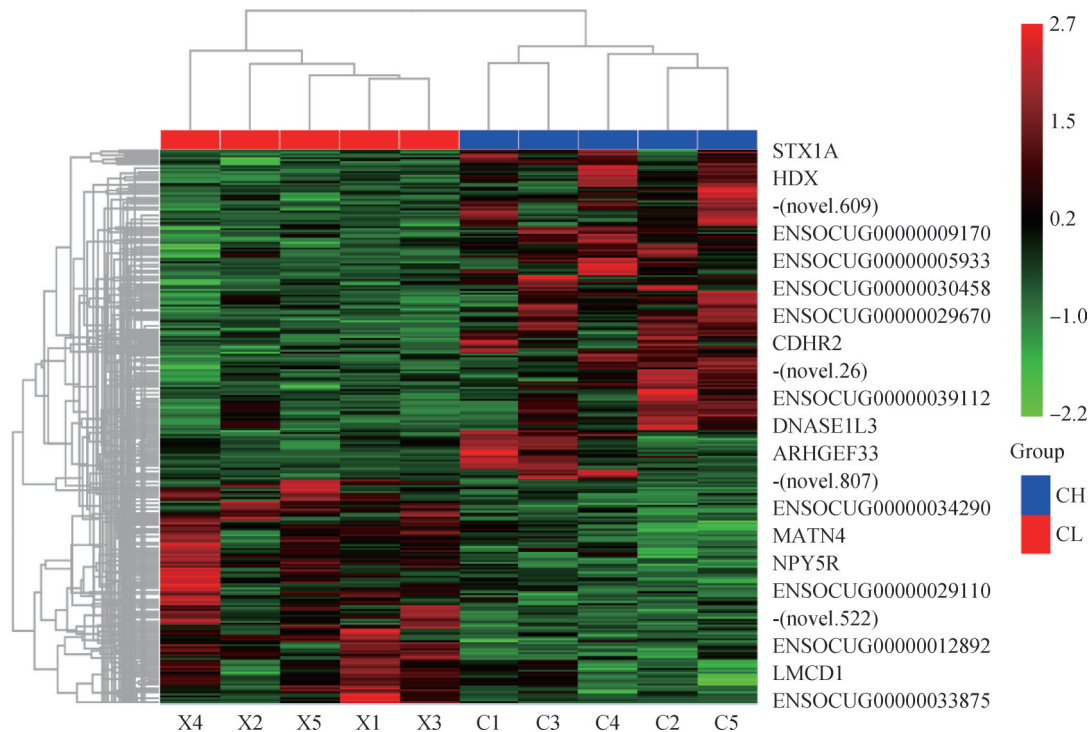


图3 粗毛率高组与粗毛率低组差异表达基因聚类分析图

Fig. 3 The clustering analysis of differentially expressed genes between the high coarse hair percentage group and the low coarse hair percentage group

2.4 差异表达基因 GO 和 KEGG 富集分析

GO 是描述基因功能的综合性数据库,可分为生物过程 (biological process, BP) 和细胞组成 (cellular component, CC) 分子功能 (molecular function, MF) 3 个部分^[19]。对筛选到的差异基因进行 GO 富集分析,结果显示,生物过程、分子功能、细胞组分 3 个方面均富集到了 DEGs,但是富集的条目数量存在差异。其中 BP 显著富集 179 个条目,CC 显著富集 12 个条目,MF 显著富集 29 个条目。如图 4 所示,对每一分类中所富集到的前 10 个条目进行展示。BP 显著富集到药物转运 (drug transport)、成肌细胞增殖调控 (regulation of myoblast proliferation) 及成肌细胞增殖 (myoblast proliferation) 条目;CC 显著富集到收缩纤维 (contractile fiber)、神经元突起 (neuron projection) 等条目;MF 显著富集到肽酶调节活性 (peptidase regulator activity)、肽酶抑制活性 (peptidase inhibitor activity)、糖胺聚糖结合 (glycosaminoglycan binding) 等条目。

KEGG 是一个整合了基因组、化学和系统功能信息的数据库^[20-21]。为了更进一步探究差异表达基因的生物学功能,对 DEGs 进行 KEGG 通路富集分析发现,共参与了 153 条信号通路,其中有 9 条显著

富集的通路 ($P < 0.05$)。如图 5 所示,对前 10 条信号通路进行展示,可见显著富集的通路有糖酵解/糖异生 (glycolysis/gluconeogenesis)、类固醇激素生物合成 (steroid hormone biosynthesis)、运动蛋白 (motor proteins)、PPAR 信号通路 (PPAR signaling pathway) 等。差异表达基因 *PCK2*、*ALDOC* 参与糖酵解/糖异生通路;*CYP2C30* 参与类固醇激素生物合成通路;*DNALI1*、*DNAI4*、*CENPE* 参与运动蛋白;*FABP7*、*PCK2* 参与 PPAR 信号通路。

2.5 DEGs 的 PPI 分析

为更好地了解 DEGs 之间的相互作用,找到其中发挥关键作用的基因,本试验对筛选到的 DEGs 进行 PPI 分析,并通过 Cytoscape 软件对结果进行展示 (图 6)。进一步采用 CytoHubba 插件中的 MCC、MNC、Degree 和 EPC 算法获得排名前 20 的基因。对 4 种算法获得的前 20 个基因进行分析,发现有 15 个基因 *CENPE*、*EXO1*、*SPC25*、*PCLAF*、*IL13*、*CDCA2*、*FOXP3*、*MMP3*、*TLR9*、*IDO1*、*FGF7*、*PARPBP*、*SNRPD3*、*SELE* 及 *MMP13* 在 4 种算法中都能找到,说明这 15 个基因在 PPI 网络中占有重要位置,是重要的 hub 基因。其中有 4 个基因 (*FGF7*、*FOXP3*、*MMP3*、*MMP13*) 可能与毛发生长相关。

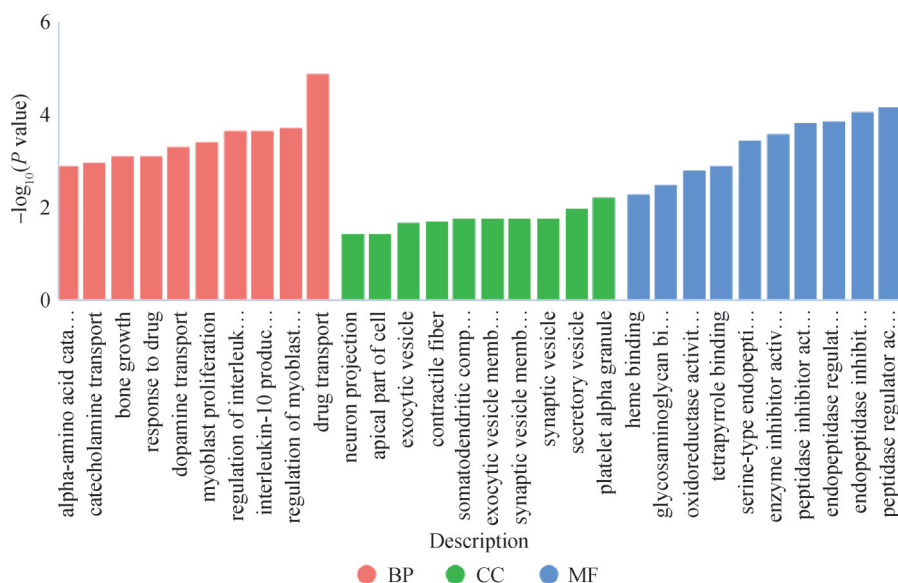


图4 差异表达基因GO功能分析柱状图

Fig. 4 Bar chart of GO functional analysis of the differentially expressed genes

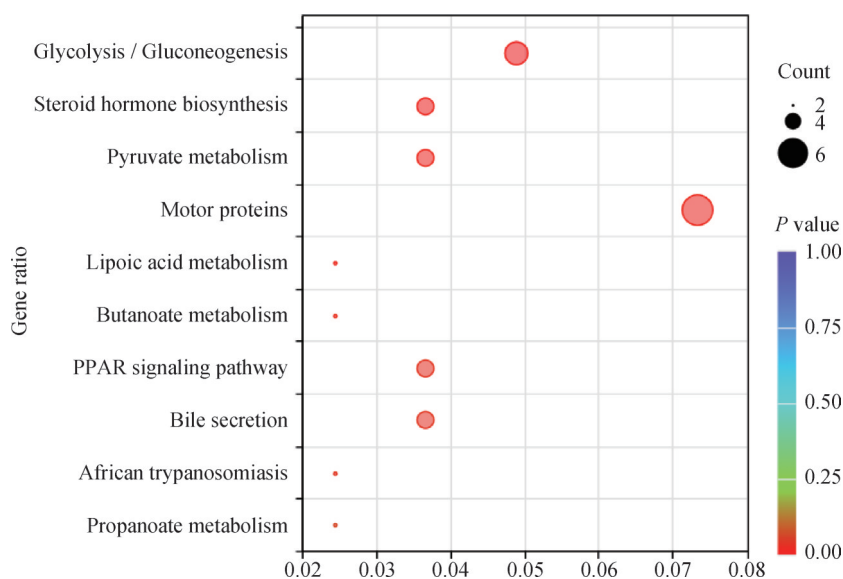


图5 差异表达基因KEGG富集分析图

Fig. 5 KEGG enrichment analysis diagram of differentially expressed genes

2.6 RT-qPCR 结果验证

为验证RNA-seq数据的可靠性,挑选5个差异表达基因 *CENPE*、*FGF7*、*FOXP3*、*MMP13* 和 *MMP3* 进行 RT-qPCR 验证(图7)。*CENPE*、*FGF7*、*FOXP3*、*MMP13* 和 *MMP3* 基因上调表达,其RT-qPCR结果与测序结果趋势基本一致。

3 讨论

兔毛作为一种优质的天然动物纤维,具有手感柔软、表面光滑、优秀的保暖性能,在纺织行业具有

重要的市场地位^[22]。粗毛率是影响獭兔毛皮品质的一个重要指标,粗毛率越低,毛皮品质越好^[23]。较高的粗毛率会影响毛皮外观、手感和保暖性能,不符合人们对高品质獭兔毛皮的需求。在本研究中,相较于其他毛皮品质,獭兔和伊高乐肉兔杂交的F2代兔粗毛率变异系数较大,表明不同品种杂交所产后代被毛粗毛率存在差异,需重点关注。对粗毛率和其他毛皮品质进行相关性分析发现,粗毛率与被毛长度呈极显著正相关,与被毛细度存在显著正相关。粗毛的直径通常比绒毛大,所以粗毛率越

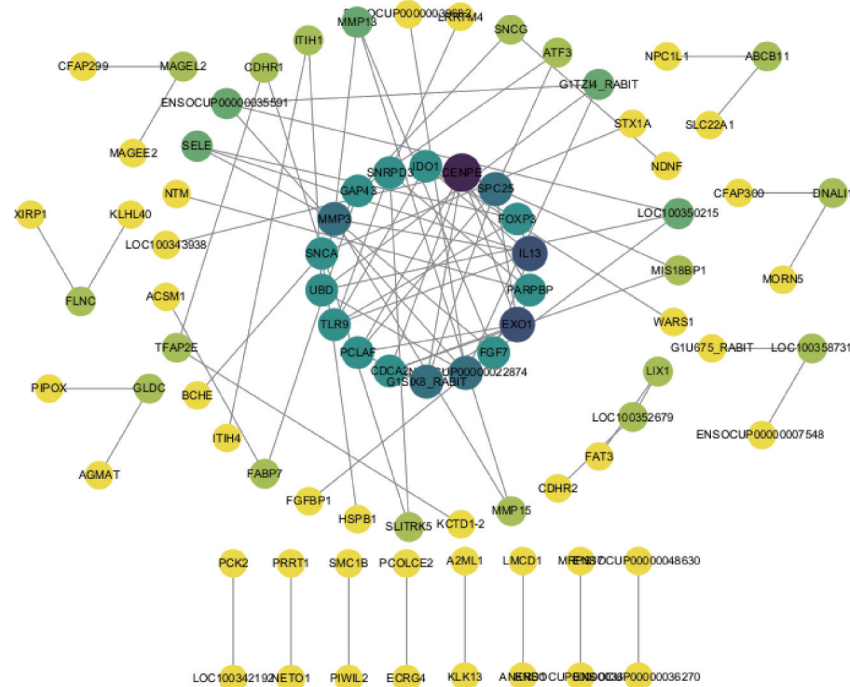


图6 差异表达基因PPI网络分析图

Fig. 6 PPI network analysis diagram of differentially expressed genes

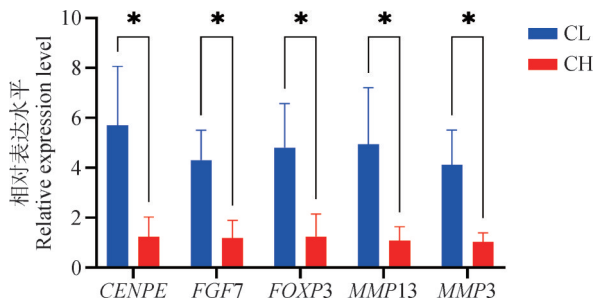
*, $P < 0.05$

图7 基因RT-qPCR验证

Fig. 7 Gene RT-qPCR verification

高,整体被毛细度的平均值可能会越大^[3]。此外,粗毛通常比绒毛更粗且长,一定程度的粗毛率有助于增加被毛的整体长度。在曹亮等^[23]对海狸色獭兔与白色獭兔杂交试验的研究中,被毛长度和粗毛率同样也有类似趋势。以上说明粗毛率对被毛细度和被毛长度具有重要影响,并且以毛皮品质为主的新品种选育过程中粗毛率是值得重点关注的指标。

本研究通过对CH和CL组的皮肤进行转录组测序,共筛选到281个差异表达基因,其中与CH相比,CL有114个基因显著上调,167个基因显著下调。对差异表达基因进行GO功能富集分析结果显示,差异基因主要富集在成肌细胞增殖调控、收缩纤维、糖胺聚糖结合等条目。成肌细胞是骨骼肌发

育和再生的前体细胞,其增殖调控在肌肉形成、修复及稳态维持中起核心作用^[24]。收缩纤维是细胞中执行机械收缩的核心结构,在毛发结构中,毛囊周围存在一些平滑肌细胞,如立毛肌。立毛肌中的收缩纤维可以使毛发直立,并且还可通过收缩进行体温调节^[25]。糖胺聚糖是细胞外基质的重要组成部分,在毛发的生长过程中,细胞外基质中的糖胺聚糖可以结合多种生长因子和信号分子,调节毛囊生长周期^[26]。同时,本研究也发现了细胞外基质(EMC)、细胞外结构组织、胶原蛋白代谢等与细胞外基质和结构相关的条目。而已有研究表明,许多EMC相关基因,包括胶原蛋白、层粘连蛋白和纤连蛋白,在初级和次级毛囊真皮细胞之间差异表达,导致真皮增大^[27],而真皮控制基质细胞的数量,从而控制毛囊的大小^[28]。此外,还有脂质分解代谢过程调节、脂肪酶活性调节等与脂肪代谢有关的条目。而有研究指出,脂质代谢对毛发的生长有影响且脂质组成的变化可导致毛囊发育的改变^[29]。这些条目富集的差异基因作用于两组间,可能导致了粗毛率出现差异。进一步对差异表达基因进行KEGG分析发现,显著富集的通路有糖酵解/糖异生、类固醇激素生物合成、PPAR信号通路等。糖酵解/糖异生是机体能量代谢一个非常核心的通路,

然而有研究指出,此通路与毛发生长也存在关系。Ryu等^[30]研究发现激活糖酵解代谢可显著缩短小鼠毛发周期,促进毛囊再生。此外,Guo等^[31]在对细毛羊毛囊发育的研究中也发现,许多基因在糖酵解/糖异生途径中显著富集。这与本研究结果一致,表明糖酵解/糖异生途径可能是参与毛发生长的重要途径之一。类固醇激素生物合成通路是体内合成类固醇激素(如性激素、肾上腺皮质激素等)的关键代谢途径,而研究表明毛发周期和毛囊结构受到各种激素(雄激素、雌二醇)的影响^[32],因此,类固醇激素生物合成通路可能也是参与毛发生长的重要途径。同样,PPAR信号通路也参与毛发生长,研究指出其通过调控脂质代谢和相关基因表达,在毛囊细胞增殖、分化及纤维直径形成中发挥重要作用^[33]。

为进一步探究DEGs的功能,对其进行了PPI网络分析,挑选出4个(*FGF7*、*FOXP3*、*MMP3*、*MMP13*)与毛发相关的核心基因。其中*FGF7*基因属于成纤维细胞生长因子家族,成纤维细胞生长因子*FGF7*、*FGF10*和*FGF2*被认为是诱导头发生长的分泌蛋白^[34],研究表明,*FGF7*与毛发生长期伸长、毛发胚芽增殖有关^[35],是毛囊生长周期的关键调控因子,直接促进毛囊从休止期进入生长期,刺激毛干角质细胞增殖。作为毛囊的重要组成部分,细胞外基质受基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)及其抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)的调控^[36]。基质金属蛋白酶(MMP)是锌依赖性内肽酶家族,其可由皮肤中的许多不同类型的细胞产生,包括成纤维细胞、角质形成细胞、巨噬细胞、内皮细胞、肥大细胞和嗜酸性粒细胞^[37]。有研究指出在ECM降解和重塑后,MMP-2和MMP-9通过从ECM释放生长因子以及通过刺激细胞迁移^[38]或激活生长因子如TGF- β ^[39]来影响毛发周期,这表明MMP-2和MMP-9在毛发生长周期中起重要作用。在本研究中MMP3和MMP13在PPI中作为核心基因出现,可能参与分解毛囊基底膜和周围结缔组织,促进毛囊的退化、缩小和干细胞群的保留,在毛囊周期性重塑中起关键作用。FOXP3是一种转录调控因子,对调节性T细胞(Treg)的发育和抑制功能至关重要。有研究报道,皮肤中的调节性T细胞(Tregs)通过增强皮肤干细胞的增殖和分化来促进毛囊再生^[40],这说明FOXP3可能间接参与毛发相

关的生理过程。综上所述,*FGF7*、*MMP3*、*MMP13*和*FOXP3*可能参与粗毛率有关的调控,可作为影响粗毛率的关键候选基因。

4 结 论

本研究发现,獭兔和伊高乐肉兔杂交F2代兔之间粗毛率变异较大,并且与被毛长度呈极显著正相关,与被毛细度呈显著正相关。共鉴定出281个差异表达基因,这些基因显著富集在糖酵解/糖异生、类固醇激素生物合成、PPAR信号通路等。筛选到*FGF7*、*MMP3*、*MMP13*和*FOXP3*可能与粗毛率有关。本研究为獭兔和伊高乐肉兔杂交后代对粗毛率性状的遗传改良提供了重要候选基因,有利于优化毛皮性状的育种策略,培育出毛皮品质优良且生长速度快的复合型品种,提升养殖效益。

参考文献(References):

- [1] 吴晓静. 饲料维生素D添加水平对獭兔毛囊发育和脂肪代谢的影响[D]. 泰安:山东农业大学,2022.
WU X J. Effects of dietary vitamin D supplementation on hair follicle development and fat metabolism in Rex rabbits [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [2] 张 晶,荆战星,尹华山,等. 伊拉、伊高乐、伊普吕三种法国配套系父母代在重庆同一环境下的性能测定分析[J]. 中国养兔,2019(3):7-9.
ZHANG J, JING Z X, YIN H S, et al. Analysis on the performance of Hyla, Hycole, Hyplus three French matching parents in Chongqing in the same environment [J]. *China Rabbit Farming*, 2019(3): 7-9. (in Chinese)
- [3] 吴淑琴,赵月平,杨翠军,等. 不同毛色獭兔被毛品质比较研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2018(13):202-204.
WU S Q, ZHAO Y P, YANG C J, et al. Comparative study on wool quality of Rex rabbits with different coat colors [J]. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2018(13):202-204. (in Chinese)
- [4] 武拉平,王建勋,秦应和. 2022年兔产业生产概况、2023年发展趋势及政策建议[J]. 中国畜牧杂志, 2023,59(3):348-352.
WU L P, WANG J X, QIN Y H. Production overview of the rabbit industry in 2022, development trend in 2023 and policy recommendations [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2023,59(3):348-352. (in Chinese)
- [5] KIM T H, KIM N S, LIM D, et al. Generation and

- analysis of large-scale expressed sequence tags (ESTs) from a full-length enriched cDNA library of porcine backfat tissue[J]. *BMC Genomics*, 2006, 7:36.
- [6] WANG Z, GERSTEIN M, SNYDER M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(1):57-63.
- [7] 曾建红. 蜀兴1号肉兔和伊拉兔生产性能及其背最长肌转录组学和代谢组学的比较研究[D]. 成都:西南民族大学, 2023.
- ZENG J H. Comparative study on production performance and transcriptomics and metabolomics of longissimus dorsi muscle between Shuxing No. 1 meat rabbit and Hyla Rabbit [D]. Chengdu: Southwest Minzu University, 2023. (in Chinese)
- [8] RISHIKAYSH P, DEV K, DIAZ D, et al. Signaling involved in hair follicle morphogenesis and development [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(1):1647-1670.
- [9] ZHAO B, CHEN Y, YAN X, et al. Gene expression profiling analysis reveals fur development in rex rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) [J]. *Genome*, 2017, 60(12):1060-1067.
- [10] DING H, ZHAO H, CHENG G, et al. Analyses of histological and transcriptome differences in the skin of short-hair and long-hair rabbits [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20:140.
- [11] ZHAO B, CHEN Y, HAO Y, et al. Transcriptomic analysis reveals differentially expressed genes associated with wool length in rabbit [J]. *Anim Genet*, 2018, 49(5):428-437.
- [12] HUANG D, DING H, WANG Y, et al. Hair follicle transcriptome analysis reveals differentially expressed genes that regulate wool fiber diameter in angora rabbits [J]. *Biology*, 2023, 12(3):445.
- [13] 王源朗, 丁海生, 齐平平, 等. 长毛兔粗、细毛毛囊转录组比较分析 [J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(1):142-152.
- WANG Y L, DING H S, QI P P, et al. Comparative analysis of transcriptomes in coarse and fine hair follicles of angora rabbits [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025, 30(1):142-152. (in Chinese)
- [14] 刘洪丽, 付朝辉, 刘磊, 等. 饲料中谷氨酰胺添加水平对断奶至3月龄獭兔毛皮品质和肠道屏障的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29(5):1803-1809.
- LIU H L, FU C H, LIU L, et al. Effects of dietary glutamine supplementation levels on fur quality and intestinal barrier of Rex rabbits from weaning to 3 months of age [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(5):1803-1809. (in Chinese)
- [15] 隋啸一, 刘磊, 高琴, 等. 饲料铜添加水平对生长獭兔生长性能、毛皮品质、肌肉品质及氮代谢的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28(11):3687-3693.
- SUI X Y, LIU L, GAO Q, et al. Effects of dietary copper supplementation levels on growth performance, fur quality, muscle quality and nitrogen metabolism of growing Rex rabbits [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(11):3687-3693. (in Chinese)
- [16] 吴博华, 何兆华, 赵鹏飞, 等. 甘肃高山细毛羊毛囊形态结构比较分析 [J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(9):180-184.
- WU B H, HE Z H, ZHAO P F, et al. Comparative analysis of hair follicle morphological structure of Gansu Alpine Fine-wool sheep [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2024, 60(9):180-184. (in Chinese)
- [17] SZKLARCZYK D, GABLE A L, NASTOU K C, et al. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 49(D1):D605-D612.
- [18] CHIN C H, CHEN S H, WU H H, et al. Cytohubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome [J]. *BMC Syst Biol*, 2014, 8 (Suppl 4):S11.
- [19] ASHBURNER M, BALL C A, BLAKE J A, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium [J]. *Nat Genet*, 2000, 25(1):25-29.
- [20] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(1):27-30.
- [21] KANEHISA M, SATO Y, KAWASHIMA M, et al. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44 (D1):D457-462.
- [22] 王英龙, 刘津玮, 隗广飞, 等. 新型改良兔毛的结构和性能研究 [J]. 毛纺科技, 2024, 52(8):1-5.
- WANG Y L, LIU J W, KUI G F, et al. Study on the structure and properties of novel modified rabbit hair [J]. *Wool Textile Journal*, 2024, 52(8):1-5. (in Chinese)
- [23] 曹亮, 李燕平, 郑建婷, 等. 海狸色獭兔与白色獭兔杂交试验研究 [J]. 中国养兔, 2019(2):11-13, 16.
- CAO L, LI Y P, ZHENG J T, et al. Crossbreeding

- experiment between beaver and white Rex rabbits[J]. *China Rabbit Farming*, 2019 (2) : 11-13, 16. (in Chinese)
- [24] 程春芳, 万娟, 丁恺志, 等. 成肌细胞增殖与分化及其调控机制[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(14): 2200.
- CHENG C F, WAN J, DING K Z, et al. Proliferation and differentiation of myoblasts and their regulatory mechanisms [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2023, 27(14):2200. (in Chinese)
- [25] TORKAMANI N, RUFAUT N W, JONES L, et al. Beyond goosebumps: does the arrector pili muscle have a role in hair loss?[J]. *Int J Trichol*, 2014, 6(3): 88-94.
- [26] FERNÁNDEZ-MARTOS S, CALVO-SÁNCHEZ M, GARCÍA-ALONSO K, et al. Sustained human hair follicle growth ex vivo in a glycosaminoglycan hydrogel matrix[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7):1741.
- [27] ZHU B, XU T, YUAN J, et al. Transcriptome sequencing reveals differences between primary and secondary hair follicle-derived dermal papilla cells of the cashmere goat (*capra hircus*) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):e76282.
- [28] ELLIOTT K, STEPHENSON T J, MESSENGER A G. Differences in hair follicle dermal papilla volume are due to extracellular matrix volume and cell number: implications for the control of hair follicle size and androgen responses [J]. *J Invest Dermatol*, 1999, 113(6):873-877.
- [29] STENN K S, KARNIK P. Lipids to the top of hair biology [J]. *J Invest Dermatol*, 2010, 130(5): 1205-1207.
- [30] RYU Y C, KIM Y R, PARK J, et al. Pyruvate kinase M2 promotes hair regeneration by connecting metabolic and Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(12):2774.
- [31] GUO T, HAN J, YUAN C, et al. Comparative proteomics reveals genetic mechanisms underlying secondary hair follicle development in fine wool sheep during the fetal stage [J]. *J Proteomics*, 2020, 223: 103827.
- [32] GRYMOWICZ M, RUDNICKA E, PODFIGURNA A, et al. Hormonal effects on hair follicles [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15):5342.
- [33] WU X, GU Y, LI S, et al. RNA-Seq reveals the roles of long non-coding RNAs (lncRNAs) in cashmere fiber production performance of cashmere goats in China [J]. *Genes*, 2023, 14(2):384.
- [34] PARK S, PARK H W, SEO D B, et al. *In vitro* hair growth-promoting effects of araliadiol via the p38/PPAR- γ signaling pathway in human hair follicle stem cells and dermal papilla cells [J]. *Front. Pharmacol*, 2024, 15:1482898.
- [35] GUO L, YU Q C, FUCHS E. Targeting expression of keratinocyte growth factor to keratinocytes elicits striking changes in epithelial differentiation in transgenic mice [J]. *EMBO J*, 1993, 12(3):973.
- [36] HOU C, MIAO Y, WANG X, et al. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in the hair cycle. [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(1):231-237.
- [37] KÄHÄRI V M, SAARIALHO-KERE U. Matrix metalloproteinases in skin [J]. *Exp Dermatol*, 1997, 6(5):199-213.
- [38] YAMAZAKI M, TSUBOI R, LEE Y R, et al. Hair cycle-dependent expression of hepatocyte growth factor (HGF) activator, other proteinases, and proteinase inhibitors correlates with the expression of HGF in rat hair follicles [J]. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 1999, 4(3):312-315.
- [39] WANG M, ZHAO D, SPINETTI G, et al. Matrix metalloproteinase 2 activation of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and TGF-beta1-type II receptor signaling within the aged arterial wall [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(7): 1503-1509.
- [40] ALI N, ZIRAK B, RODRIGUEZ R S, et al. Regulatory T cells in skin facilitate epithelial stem cell differentiation [J]. *Cell*, 2017, 169(6):1119-1129. e11.
- (编辑 郭云雁)