网络出版时间:2026-03-13 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.09.010

基于 RNA-seq 的绵羊肌苷酸代谢相关基因筛选

王丁香,李承隆,聂玮,孟科,冯登侦,康晓龙
(宁夏大学 动物科技学院 宁夏回族自治区反刍动物分子细胞育种重点实验室,宁夏 银川 750021)

[摘 要] 【目的】解析绵羊肌苷酸(inosine monophosphate,IMP)代谢相关基因及通路,为绵羊肉品质相关的 IMP 调控研究提供参考。【方法】以杜泊羊、滩羊、小尾寒羊为研究对象,采集其背最长肌样品,测定其 IMP 和胆固醇的含量。构建羊 cDNA 文库,进行转录组测序,筛选差异表达 mRNAs(DE mRNAs)和差异表达 lncRNAs(DE lncRNAs),预测 DE lncRNAs 的靶基因,对 DE mRNAs 和 DE lncRNAs 的靶基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。对 DE mRNAs 与 DE lncRNAs 进行互作分析。采用 RT-qPCR 方法检测相关 DE mRNAs 和 DE lncRNAs 的转录水平,以验证测序数据的可靠性。【结果】3 个绵羊品种背最长肌胆固醇含量差异不显著;杜泊羊 IMP 含量显著低于滩羊和小尾寒羊($P<0.05$),后二者间无显著差异。在杜泊羊与滩羊、杜泊羊与小尾寒羊的比较中选出差异表达 mRNA 和 lncRNA,两组取交集后获得 232 个 DE mRNAs 和 278 个 DE lncRNAs。GO 富集分析结果显示,DE mRNAs 显著富集于 92 个功能条目,其中包括半胱氨酸型内肽酶抑制剂活性等;KEGG 分析结果表明,DE mRNAs 参与 159 条通路,其中包括色氨酸代谢、TNF 信号通路和亚油酸代谢等可能与 IMP 代谢相关的通路。对 DE lncRNAs 的靶基因进行预测,共得到 1 657 个靶基因(803 个反式靶基因、854 个顺式靶基因)。DE lncRNA 反式和顺式靶基因分别显著富集于 129 和 137 个 GO 条目,其中包括 rRNA 加工、核糖体生物合成和细胞内信号转导等,并且分别富集到 228 和 226 条 KEGG 通路,其中包括 RIG-I 样受体信号通路、MAPK 信号通路、催乳素信号通路等。这些信号通路和生物学过程涉及多个与肌肉发育和 IMP 代谢密切相关的基因。对 6 个 DE mRNAs 和 6 个 DE lncRNAs 进行 RT-qPCR 验证,结果与转录组测序结果一致,表明转录组测序结果是可靠的。【结论】试验揭示了绵羊背最长肌的 DE mRNAs 和 DE lncRNAs 及相关信号通路,筛选了部分基因(*IGFBP7*、*CRB1*、*NRG4* 等)及 lncRNA(TCONS_00048011、TCONS_00062426、TCONS_00039964、TCONS_00076277 等)可能与绵羊 IMP 代谢调控相关。

[关键词] 绵羊;肉品质;肌苷酸;转录组测序;mRNA;lncRNA
[中图分类号] S826.2 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)09-0100-10

Screening of IMP metabolism-related genes in sheep based on RNA-seq

WANG Dingxiang, LI Chenglong, NIE Wei, MENG Ke,
FENG Dengzhen, KANG Xiaolong
(*Key Laboratory of Molecular and Cellular Breeding of Ruminants in Ningxia Hui Autonomous Region, College of Animal Science and Technology, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia* 750021, *China*)

Abstract: 【Objective】 This research aims to analyze genes and pathways related to inosine monophosphate (IMP) metabolism in sheep, to provide a reference for IMP regulation studies concerning sheep meat quality. 【Method】 With Dorper sheep, Tan sheep, and Small-tailed Han sheep as research subjects, samples of their longissimus dorsi muscle were collected, and their IMP and cholesterol levels were measured. A cDNA library was

[收稿日期] 2025-07-08 [修回日期] 2025-09-11
[基金项目] 宁夏自然科学基金项目(2020AAC03082);宁夏回族自治区农业育种专项(nxnyyz20150101)
[作者简介] 王丁香(2001—),女,陕西咸阳人,在读硕士,主要从事动物遗传育种研究。E-mail:xiang1031@foxmail.com
[通信作者] 康晓龙(1982—),男,宁夏吴忠人,教授,博士生导师,主要从事动物分子育种与表观遗传调控研究。E-mail:kangxl9527@126.com

constructed for transcriptome sequencing to screen differentially expressed mRNA（DE mRNAs）and defferentially expressed long non-coding RNAs（DE lncRNAs）. Target gene of DE lncRNAs were predicted，and GO and KEGG enrichment analysis were performed on DE mRNAs and the target genes of DE lncRNAs. Interaction analysis was conducted on DE mRNAs and DE lncRNAs. RT-qPCR was used to detect the transcription levels of relevant DE mRNAs and DE lncRNAs，thereby validating the reliability of the sequencing data.【Result】There were no significant differences in cholesterol content in longissimus dorsi muscles among the three sheep breeds. However，the IMP content in Dorper sheep was significantly lower than those in Tan sheep and Small-tailed Han sheep（$P<0.05$），while no significant difference was observed between Tan sheep and Small-tailed Han sheep. DE mRNAs and DE lncRNAs were selected from comparisons between Dorper and Tan sheep，and between Dorper and Small-tailed Han sheep. The intersection of these two groups contained 232 DE mRNAs and 278 DE lncRNAs. GO enrichment analysis revealed that DE mRNAs were significantly enriched in 92 functional entries，including cysteine-type endopeptidase inhibitor activity. KEGG analysis indicated that DE mRNAs were involved in 159 pathways，including tryptophan metabolism，TNF signaling pathway，and linoleic acid metabolism，which were potential pathways related to IMP metabolism. Target gene prediction for DE lncRNAs yielded 1 657 target genes（803 trans-target genes and 854 cis-target genes）. Enrichment analysis revealed that trans- and cis-acting factors of DE lncRNA were significantly enriched in 129 and 137 GO entries，respectively，including rRNA processing，ribosome biogenesis，and intracellular signal transduction. They were also enriched in 228 and 226 KEGG pathways，respectively，encompassing RIG-I-like receptor signaling pathway，MAPK signaling pathway，and prolactin signaling pathway. These pathways and biological processes involve multiple genes closely related to muscle development and IMP metabolism. RT-qPCR validation of 6 DE mRNAs and 6 DE lncRNAs produced results consistent with the transcriptomic sequencing results，demonstrating the reliability of the sequencing data.【Conclusion】This study identified the DE mRNAs and DE lncRNAs in sheep longissimus dorsi muscle and the associated signaling pathways. Certain genes（*IGFBP7*，*CRB1*，*NRG4*，etc.）and lncRNAs（TCONS_00048011，TCONS_00062426，TCONS_00039964，TCONS_00076277，etc.）were screened as potential candidates involved in sheep muscle IMP metabolic regulation.

Key words：sheep；meat quality；IMP；RNA-seq；mRNA；lncRNA

羊肉作为人们生活中重要的肉品之一，其品质对满足消费者的饮食需求作用重大。杜泊羊肉质优良，生长性能佳。滩羊是我国著名肉毛兼用绵羊，产二毛裘皮和美味羊肉，分布在宁夏中部及周边地区的干旱半干旱草原。小尾寒羊适应性和繁殖力强，抗逆性优良且耐粗饲，深受养殖户喜爱，但生长慢，产肉量低，生产效率不高，因此需在养殖中适当开展杂交改良与精准饲喂，以提高生产效率[1]。

肌苷酸（inosine monophosphate，IMP）是评价肉品鲜味的重要指标，其作用效果是谷氨酸钠的50倍，并且与谷氨酸钠有较强的协同效应。同时，外源添加IMP能刺激动物味觉，促进动物进食和生长，提高畜禽的肉用性能，改善肉品风味。近年来，围绕IMP含量调控肉品质的研究已在鸡[2-3]和鱼[4]等物种中取得进展，在牛上的探索也在逐步深入。李光辉等[5]通过多组学联合分析揭示，丙糖磷酸异构酶1（TPI1）基因可负向调控IMP的合成代谢，嘌呤代谢通路是影响肉质风味形成的关键途径之一。向倩等[6]研究指出，牛腺苷酸琥珀酸裂解酶（ADSL）是一种不稳定的亲水蛋白，可催化IMP合成，并可与腺苷酸代琥珀酸合成酶（ADSS）、磷酸核糖甘氨酰胺甲酰转移酶（GART）等多种蛋白互作调节IMP含量，进而显著影响牛肉的鲜味和整体品质。此外，腺苷酸活化蛋白激酶信号通路（AMPK）与动物宰后肌肉中IMP的积累密切相关，高永芳等[7]在西杂牛中发现，AMPK能够感知宰后肌肉能量状态的变化（如ATP降解和AMP/ADP积累），其一方面可加速糖酵解以恢复能量平衡，另一方面也可间接促进ATP降解途径中IMP的生成与积累，从而影响肌肉品质；安宇凡等[8]的研究结果也进一步证实了AMPK对肌肉品质具有调控作用。

近年来，高通量测序技术广泛用于动物肉类性状研究。长链非编码RNA（long non-coding RNA，lncRNA）和mRNAs的相互调控在IMP代谢中可能

起着关键作用。WANG等[9]借助转录组测序(RNA-seq)方法探索和牛与安格斯牛杂交后代肌内脂肪(intramuscular fat,IMF)沉积的分子机制,筛选出与脂质代谢、PPAR信号通路、甘油酸代谢等通路相关的基因,并构建了肝-IMF调控网络。ZHANG等[10]通过转录组测序和生物信息学分析,从静原鸡中鉴定出39个差异表达的miRNAs和574个差异表达的mRNAs,并发现差异表达的丙酮酸激酶M2基因(*PKM*2)通过嘌呤代谢、氨基酸生物合成、丙酮酸代谢和糖酵解/糖异生这4条通路协同gga-miR 107-3p-KLHDC2因子调控IMP的合成。王燕燕等[11]采用RNA-seq方法筛选出了在陶湖杂交F_1代和萨湖杂交F_1代2种杂交羊中差异表达的基因,获得众多富集在AMPK信号通路、脂类代谢信号通路等与肉质相关的基因,为培育出肉质风味更优的羊品种提供了理论依据。目前,IMP在羊上的相关研究仍较为有限,现有研究主要聚焦在滩羊上。为系统解析不同品种羊肉中IMP含量差异及其遗传机制,本研究以杜泊羊、滩羊和小尾寒羊为研究对象,采用转录组测序技术筛选与IMP含量相关的关键基因和信号通路,旨在从分子水平揭示IMP积累的机制,为培育高IMP含量绵羊品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

受试绵羊饲养于宁夏石嘴山市威震肉羊繁育场。选用饲养管理条件一致、健康无疾病的8月龄滩羊(T,n=7)、杜泊羊(D,n=8)和小尾寒羊(H,n=7)共计22只绵羊作为研究对象,屠宰后采集右侧第3到第12肋骨间的背最长肌组织(500 g/只),用于IMP含量的测定。在各品种中分别选取3只绵羊的背最长肌样本,切取少量肉样装于无RNA酶的2 mL冻存管中,标号后迅速置于液氮罐中储存,用于转录组测序。

1.2 试验方法

1.2.1 IMP和胆固醇含量测定 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography,HPLC)对绵羊背最长肌中的IMP和胆固醇含量进行测定。利用SPSS(V25.0)软件对绵羊群体背最长肌中IMP含量进行方差分析,数据以"平均值±标准差"表示,以$P<0.05$为差异显著性判断标准。

1.2.2 羊cDNA文库构建和转录组测序 采用Trizol试剂盒(Invitrogen)提取绵羊背最长肌组织RNA。使用Nanodrop和Agilent 2100 bioanalyzer及1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA样品的浓度、纯度、完整性。检测合格的RNA去除核糖体RNA(rRNA)后,构建cDNA文库,具体流程如下:将片段化的RNA以随机引物反转录为cDNA第一链,再以DNA聚合酶I合成cDNA第二链;随后进行末端修复、A尾添加与接头连接,完成Illumina®测序文库构建。反转录反应体系为:5×g DNA Eraser Buffer 2.0 μL,PrimeScript RT Enzyme Mix I 0.5 μL,Oligo dT Primer 0.5 μL,Random 6 mers 0.5 μL,Total RNA 1 μL,无RNase蒸馏水5.5 μL;反应程序为:37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s。最终在Illumina测序平台上进行PE150模式的双末端转录组测序。

1.2.3 差异表达mRNAs和lncRNAs筛选 为了获得高质量的有效读段(clean reads),使用fastp(V0.18.0)进行质控过滤,并借助Bowtie2(V2.5.3)去除rRNA序列,随后通过HISAT2(V2.1.0)将剩余序列比对至绵羊参考基因组(*Ovis aries*,ARS-UI-Ramb-v2.0)。利用DESeq2(v1.36.0)进行差异表达基因分析,筛选标准为显著性$P<0.05$且|lb FC|≥1。基于IMP含量结果,将D(IMP含量最低)分别与T、H比较,得到差异表达mRNAs(DE mRNAs)和差异表达lncRNAs(DE lncRNAs)。取杜泊羊和滩羊(D vs T)、杜泊羊和小尾寒羊(D vs H)DE mRNAs、DE lncRNAs交集(D vs T & D vs H)进行后续分析。

1.2.4 DE lncRNAs靶基因预测 为探究lncRNA功能,本研究通过顺式和反式2种方式对DE lncRNAs进行靶基因预测。顺式作用分析中,将lncRNA上下游100 kb范围内的蛋白编码基因进行识别并视为潜在顺式靶基因(cisG)。反式作用分析则基于表达相关性,筛选与DE lncRNAs相关系数大于0.95的DE mRNAs作为反式靶基因(tranG)。

1.2.5 DE mRNAs、DE lncRNAs靶基因功能富集分析 使用在线网站(http://kobas.cbi.pku.edu.cn)对DE mRNAs和DE lncRNAs进行GO和KEGG富集分析。GO条目分为3类,分别为生物过程(biological process,BP)、细胞组成(cellular component,CC)和分子功能(molecular function,MF)。

1.2.6 DE lncRNAs与DE mRNAs互作分析 基于lncRNA与mRNA的靶向关系,用Cytoscape(V3.8.2)绘制DE lncRNAs与DE mRNAs的互作图。

1.2.7 RNA-seq数据的验证 选取9个绵羊背最

长肌RNA样本，使用天根生物公司反转录试剂盒将其反转录为cDNA，置于－20 ℃冰箱保存备用。随机选取6个DE mRNAs和DE lncRNAs，通过实时荧光定量PCR（reverse transcription-quantitative PCR，RT-qPCR）对转录组测序数据进行验证。从GenBank上查找CDS序列，使用Primer 5.0软件设计引物，以*GAPDH*作为内参基因，引物由北京擎科生物科技有限公司合成（表1）。采用SYBR Green染料法对DE mRNAs和DE lncRNAs进行RT-qPCR反应，RT-qPCR在96孔CFX Connect（美国）仪器上进行，反应体系为TB Green *Taq* Ⅱ 10 μL，Rox Dye Ⅱ 0.4 μL，200 ng/μL cDNA 2 μL，上下游引物各0.8 μL，加ddH_2O至总体积20 μL。RT-qPCR反应条件：95 ℃ 预变性30 s；95 ℃变性5 s，60 ℃退火30 s，40个循环。RT-qPCR扩增反应结束后进行60～95 ℃熔解曲线分析。试验重复3次。对qPCR得到的*Ct*值进行标准化处理，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算基因相对表达量。

表1　RT-qPCR试验所用引物信息

Table 1　Primer information for RT-qPCR

基因 Genes		引物序列（5′→3′） Primer sequences（5′→3′）	产物长度/bp Product length
GAPDH		F：TCGGAGTGAACGGATTCGG，R：TGATGACGAGCTTCCCGTTC	162
DE mRNA	*ENTPD3*	F：TGCAATGTGAAAGGCTCTGG，R：TGTGCCCCTTGACTTTTTGC	97
	NT5DC3	F：TAGTGACCTGGCGGACTTGACC，R：TGAACCTGCATCTGCTCCAATAACC	159
	PTGS2	F：CCATCCATGCCAGAATCGAGGTG，R：TGTCGGGAGTGGGTTTCAGGAG	149
	SOS1	F：CCGGCATACCACTAATCTCACTCTG，R：ACTGACAACCTCAAGGACACCATTG	154
	RAB25	F：GTCTTCAAGGTGGTGCTGATCGG，R：CATGACAGTGCGGGTGGAGAAC	132
	SLC2A9	F：CCTTCGGCTCCTCCTTCCTCTAC，R：TGGACACGGTCACAGACGAGAG	156
DE lncRNA	TCONS_00172842	F：AGTTCCTCAGTTCAGTTCAGTTCAG，R：GCCTGGTGTGCTGCGATTC	78
	TCONS_00182504	F：ATGCCAAAGAATGCTCAGACTACC，R：TCACGGTTCACATATTGCGGAAG	106
	TCONS_00022256	F：GGTGGCTCAGGCAGTAAAGAATC，R：GTGTTAGTCGCTCAGTGGTGTC	77
	TCONS_00038332	F：CCTGCTTGTTTGCGGGCTAC，R：TCTCTGCTTCCTTCCTGTCCATC	148
	TCONS_00057689	F：TGTTGTTCAGTCACTCAGTCATGTC，R：ACAGAGGACGAGATGGTTGGATG	148
	TCONS_00008702	F：GGGACAGGGATAGTTACAGAGTTTG，R：GCCACATTACATTGAGCAGAGTTC	112

2　结果与分析

2.1　3个绵羊品种IMP和胆固醇含量差异分析

由表2可知，胆固醇含量在3个绵羊品种间差异不显著（$P>0.05$）；杜泊羊IMP含量显著低于滩羊和小尾寒羊（$P<0.05$），滩羊和小尾寒羊间无显著差异。

表2　3个绵羊品种与肉质性状间的单因素方差分析

Table 2　One-way ANOVA between the three sheep breeds and meat quality traits　　μg/g

品种 Species	IMP含量 IMP content	胆固醇含量 Cholesterol content
杜泊羊 Dorper sheep	1 491.59±226.39 b	311.25±11.34 a
滩羊 Tan sheep	1 902.12±110.24 a	338.82±25.09 a
小尾寒羊 Small-tailed Han sheep	2 080.90±117.17 a	317.13±20.18 a

注：同列数据后标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

Note：Different lowercase letters after data in the same column indicate significant differences（$P<0.05$）.

2.2　DE mRNAs和DE lncRNAs筛选

2.2.1　DE mRNA筛选　试验结果表明，D vs T组筛选出578个DE mRNAs，其中313个表达上调，265个表达下调；D vs H组筛选出816个DE mRNAs，其中511个表达上调，305个表达下调。对D vs T和D vs H DE mRNAs取交集，得到232个DE mRNAs。

2.2.2　DE lncRNA筛选　试验结果表明，D vs T组筛选出700个DE lncRNAs，其中344个表达上调，356个表达下调；D vs H组筛选出797个DE lncRNAs，其中388个表达上调，409个表达下调。对D vs T和D vs H DE lncRNAs取交集，共得到278个DE lncRNAs。

2.3　DE mRNA的功能分类与富集分析

对D vs T、D vs H中共同存在的232个DE mRNAs进行GO功能富集和KEGG信号通路分析。GO结果显示，232个DE mRNAs共富集到1 172个GO条目，其中显著富集的GO条目有92个，选取其中30个条目（10个BP、10个CC及10个MF）绘图，

结果见图1。由图1可知,在BP条目中,主要富集到调节细胞增殖、对蛋白质代谢过程的积极调节等子条目;在CC条目中,主要富集到小亚基加工体、核糖核蛋白复合物和前核糖体等子条目;在MF条目中,主要富集到半胱氨酸型内肽酶抑制剂活性、胆绿素还原酶活性等子条目。3个条目中的一些子条目与肌肉生长发育、IMP代谢显著相关,如MF条目中的半胱氨酸型内肽酶抑制剂活性等。

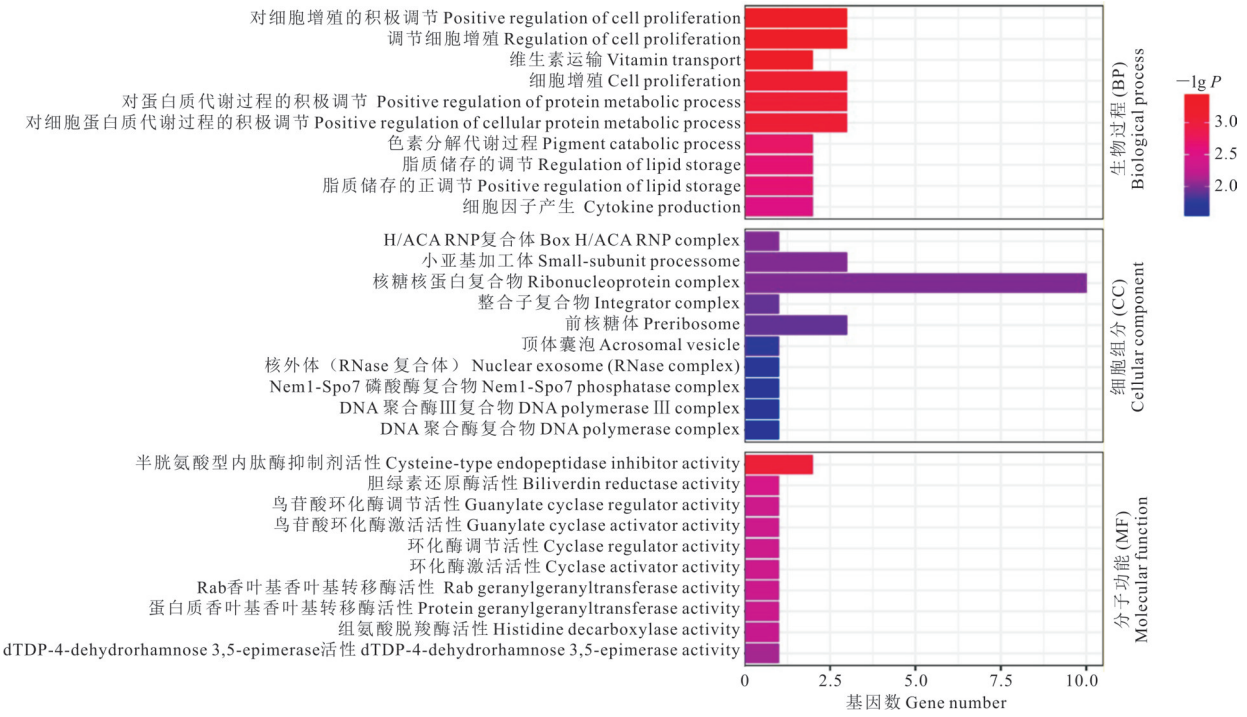


图1 D vs T和D vs H共有DE mRNAs的GO富集分析

Fig. 1 Results of GO enrichment analysis for shared DE mRNAs in D vs T and D vs H

KEGG结果显示,232个DE mRNAs显著富集于159条信号通路中,从DE mRNAs富集的信号通路中按P值从小到大排序后,选取P值排名前20的信号通路作图,结果见图2。由图2可知,DE mRNAs主要富集在亚油酸代谢、色氨酸代谢、TNF信号通路、MAPK信号通路、血清能突触、催乳素信号通路等通路,其中亚油酸代谢、MAPK信号通路等可能与IMP代谢有关。

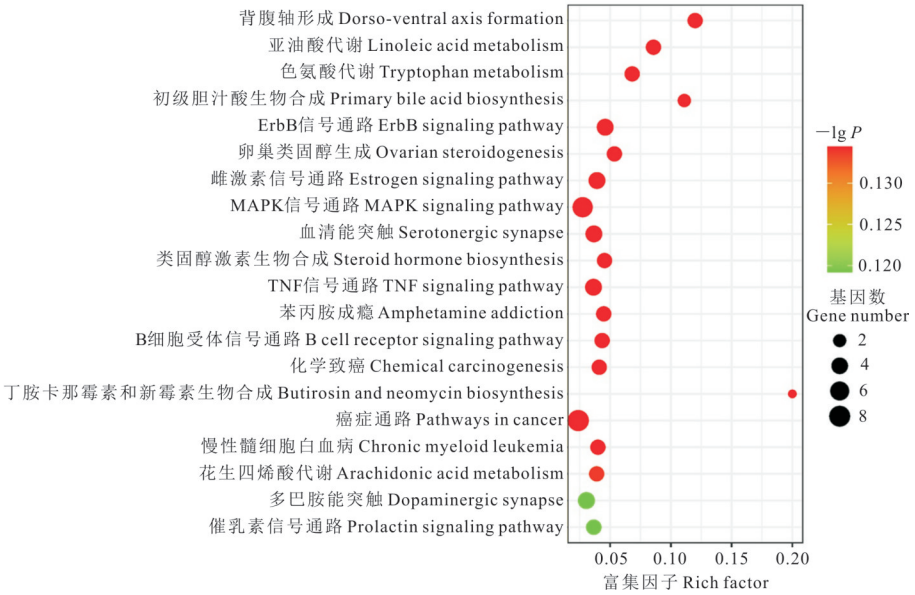


图2 D vs T和D vs H共有DE mRNAs的KEGG富集分析

Fig. 2 Results of KEGG enrichment analysis for shared DE mRNAs in D vs T and D vs H

2.4　DE lncRNA 靶基因的功能分类与富集分析

依据反式法则（共表达）和顺式法则（共位置），预测 DE lncRNAs 的靶基因。278 个 DE lncRNA 共预测到 1 657 个靶基因，其中包括反式靶基因 803 个，顺式靶基因 854 个。

2.4.1　*反式靶基因的功能分类和富集分析*　803 个反式靶基因共富集到 2 170 个 GO 条目，其中显著富集的 GO 条目有 129 个，选取其中 30 个（10 个 BP，10 个 CC 及 10 个 MF）绘图，结果见图 3。由图 3 可知，在 BP 条目中，主要富集到 rRNA 加工、rRNA 代谢过程、核糖体生物合成等子条目；在 CC 条目中，主要富集到大分子复合物、核腔等子条目；在 MF 条目中，主要富集到 DNA 结合、S-腺苷蛋氨酸依赖性甲基转移酶活性等子条目。3 个条目中的一些子条目与肌肉生长发育、IMP 代谢有关，如 BP 条目中 rRNA 加工、rRNA 代谢过程、核糖体生物合成等。KEGG 分析结果显示，803 个反式靶基因共富集于 228 条信号通路中，从 DE lncRNAs 富集的信号通路中按 *P* 值从小到大排序后，选取 *P* 值排名前 20 的信号通路作图，结果见图 4。

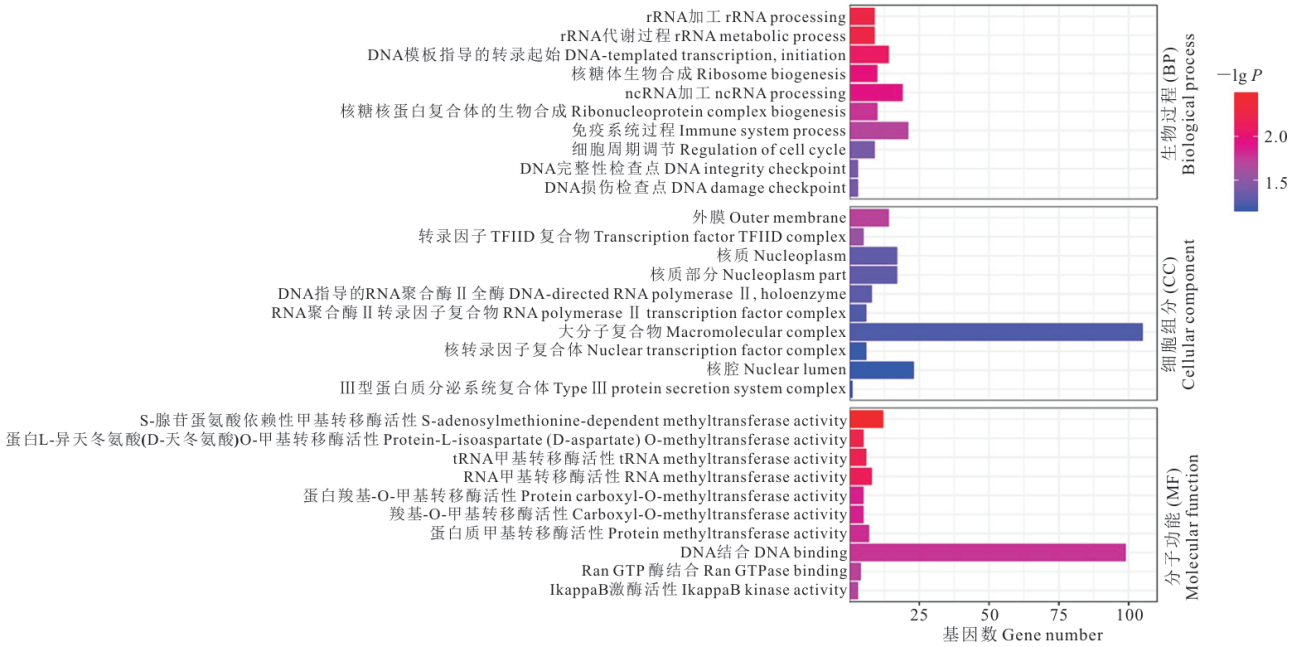


图 3　D vs T 和 D vs H 共有 DE lncRNAs 反式靶基因的 GO 富集分析

Fig. 3　GO enrichment analysis for trans-target genes of shared DE lncRNAs in D vs T and D vs H

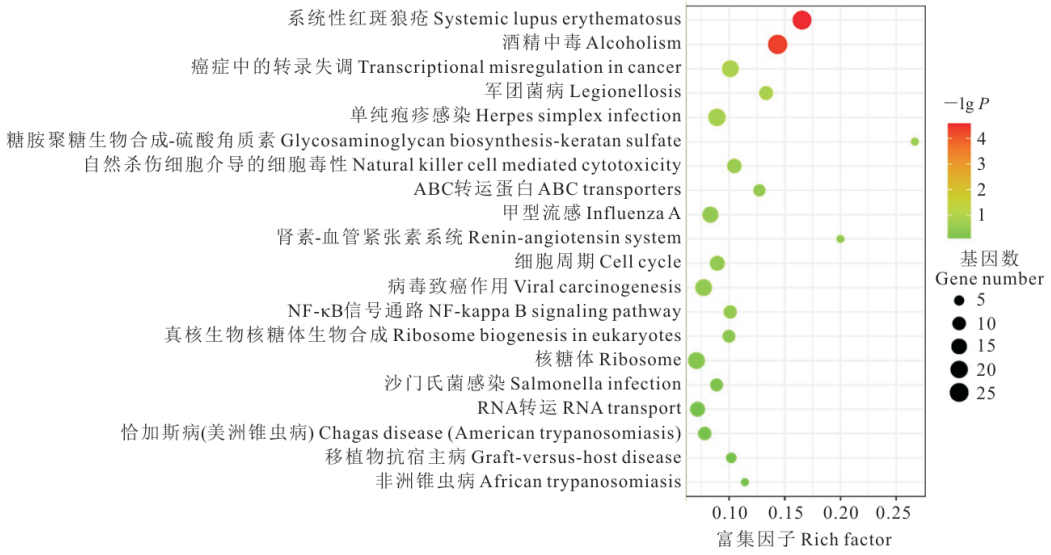


图 4　D vs T 和 D vs H 共有 DE lncRNAs 反式靶基因的 KEGG 富集分析

Fig. 4　KEGG enrichment analysis for trans-target genes of shared DE lncRNAs in D vs T and D vs H

由图 4 可知,DE lncRNAs 反式靶基因主要富集在肾素-血管紧张素系统、真核生物核糖体生物合成等通路。

2.4.2 顺式靶基因的功能分类和富集分析 854 个顺式 lncRNA 靶基因共富集到 2 104 个 GO 条目,其中显著富集的条目有 137 个,选取其中 30 个(10 个 BP,10 个 CC 及 10 个 MF)绘图,结果见图 5。由图 5 可知,在 BP 条目中,主要富集到小 GTP 酶介导的信号转导、细胞内信号转导等子条目;在 CC 条目中,主要富集到细胞器膜、膜结构等子条目;在 MF 条目中,主要富集到阳离子跨膜转运蛋白活性、蛋白质结合等子条目。3 个条目中的一些子条目与肌肉的生长发育、IMP 代谢相关,如 BP 条目中细胞内信号转导等。

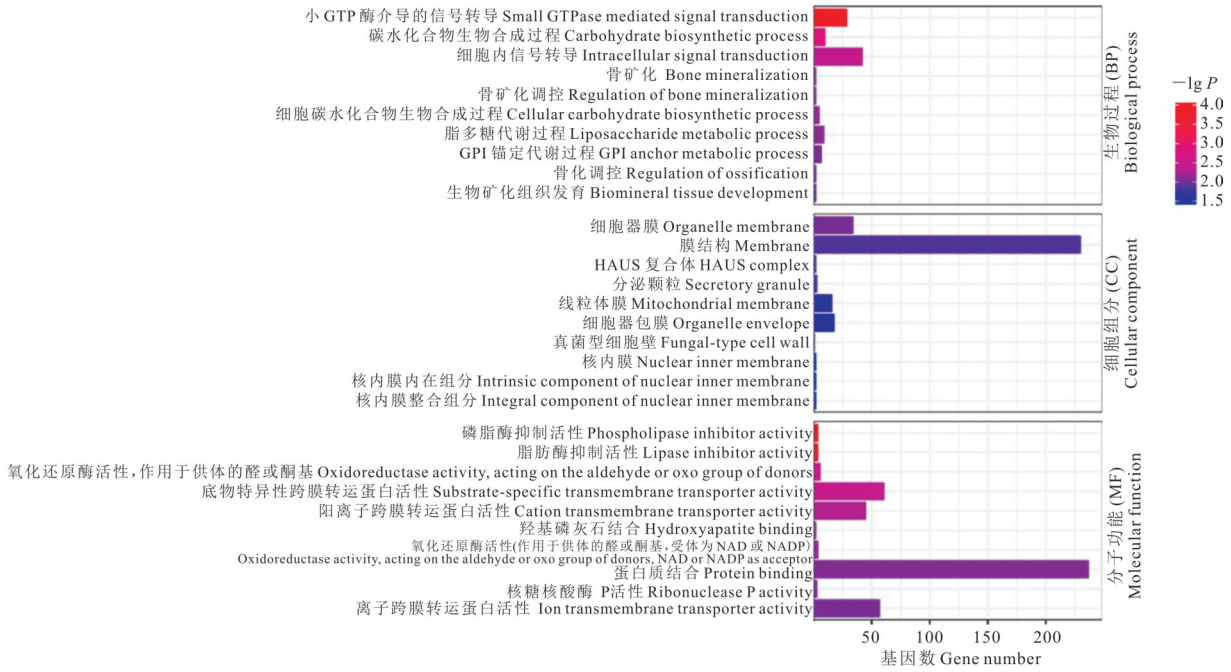


图 5 D vs T 和 D vs H 共有 DE lncRNAs 顺式靶基因的 GO 富集分析

Fig. 5 GO enrichment analysis for cis-target genes of shared DE lncRNAs in D vs T and D vs H

KEGG 结果显示,854 个顺式 lncRNA 靶基因富集于 226 条信号通路中,从 DE lncRNAs 富集的信号通路中按 P 值从小到大排序后,选取 P 值排名前 20 的信号通路作图,结果见图 6。

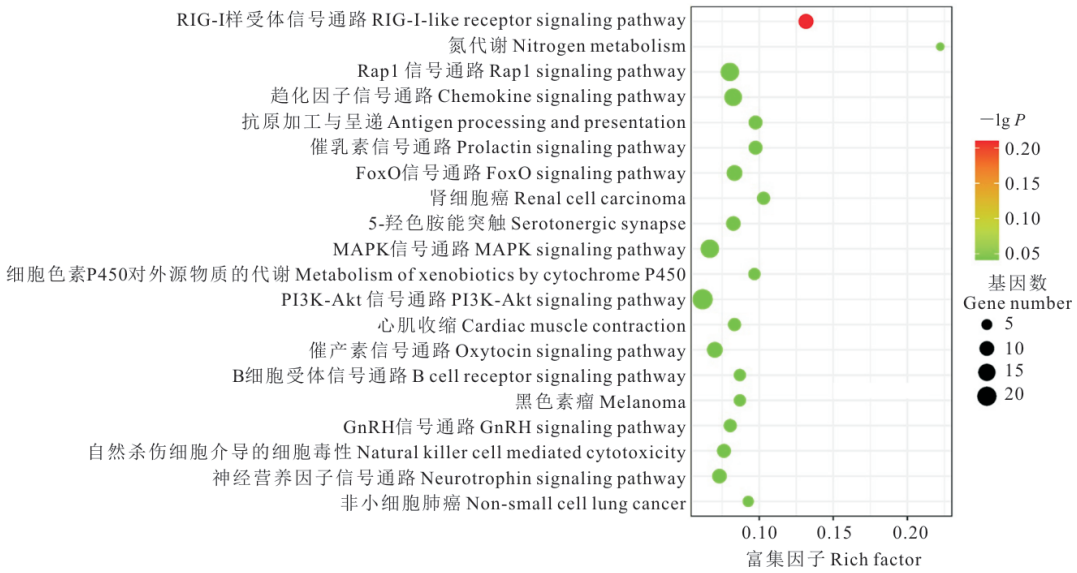


图 6 D vs T 和 D vs H 共有 DE lncRNAs 顺式靶基因的 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment pathway analysis for cis-target genes of shared DE lncRNAs in D vs T and D vs H

由图 6 可知，DE lncRNAs 顺式靶基因主要富集在 RIG-I 样受体信号通路、Rap1 信号通路、催乳素信号通路、MAPK 信号通路、心肌收缩、PI3K-Akt 信号通路等，其中 MAPK 信号通路可能和 IMP 代谢相关。

2.5　DE lncRNAs 与 DE mRNAs 互作网络分析

为深入探究影响 IMP 代谢的关键基因，本研究对 D vs T 和 D vs H 共有的 DE mRNAs 和 DE lncRNAs 进行互作分析，以更精准地剖析他们间的关系，结果见图 7。由图 7 可知，*CA5A*、*TRAT1* 与 TCONS_00081739 存在互作关系；*FAM3B*、*CRB1* 与 TCONS_00039964 存在互作关系；*NRG4* 与 TCONS_00076277 存在互作关系；*C8B* 与 TCONS_00177140、TCONS_00009206、TCONS_00164001 存在互作关系；*IGFBP7* 与 TCONS_00048011、TCONS_00062426 存在互作关系；*NT5DC3*、*SHC3* 与 TCONS_00081700 存在互作关系。本试验通过 IMP 差异富集得到众多基因，其在心肌细胞功能调节、骨骼肌相关代谢与生长等诸多方面发挥作用。目前虽然未发现这些基因与 IMP 的直接关系，但基于其在肌肉生理过程中的重要作用，推测其与 IMP 存在潜在联系。

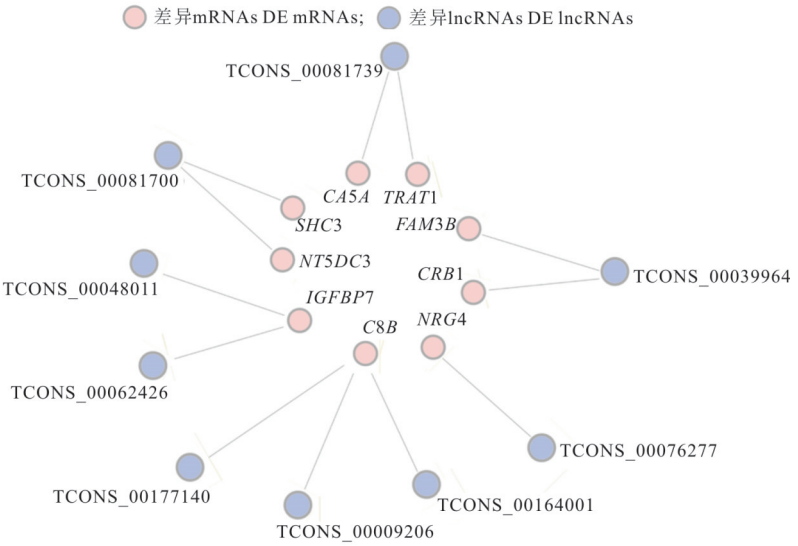


图 7　D vs T 和 D vs H 共有 DE mRNAs、DE lncRNAs 互作分析

Fig. 7　Intersection network of shared DE mRNAs, DE lncRNAs in D vs T and D vs H

2.6　DE mRNAs 和 DE lncRNAs RT-qPCR 验证

为验证转录组测序结果，随机选择 6 个 DE mRNAs（*SLC2A9*、*ENTPD3*、*NT5DC3*、*PTGS2*、*SOS1*、*RAB25*）和 6 个 DE lncRNAs（TCONS_00182504、TCONS_00057689、TCONS_00172842、TCONS_00008702、TCONS_00038332、TCONS_00022256）进行 RT-qPCR 试验。结果（图 8，9）显示，RT-qPCR 结果与转录组测序结果的表达趋势一致，表明转录组测序结果的可靠性较高。

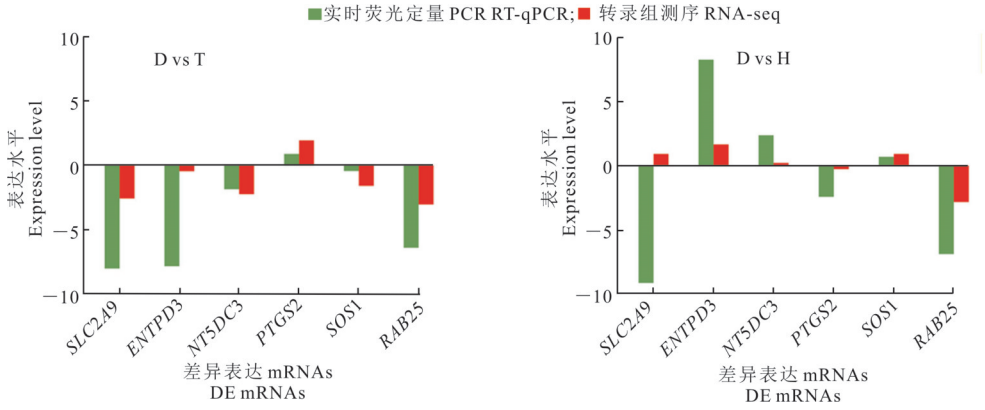


图 8　DE mRNA 的 RT-qPCR 验证

Fig. 8　RT-qPCR validation of DE mRNAs

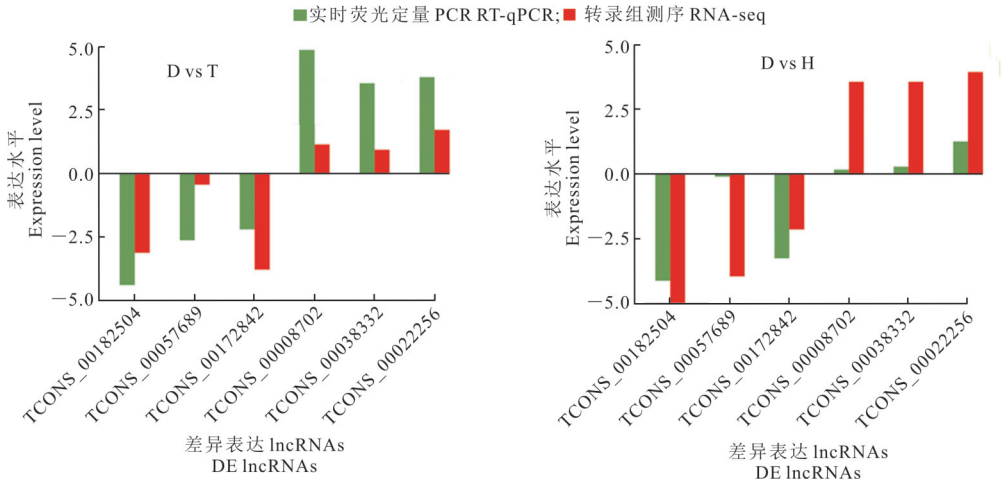


图 9 DE lncRNA 的 RT-qPCR 验证

Fig. 9 RT-qPCR validation of DE lncRNAs

3 讨 论

羊肉品质受 IMP 含量影响显著,但其在绵羊中的 lncRNA 调控机制尚不明确。本研究以杜泊羊、滩羊和小尾寒羊为对象开展转录组测序分析,共鉴定出 232 个 DE mRNAs 和 278 个 DE lncRNAs,其中 lncRNA 预测到 1 657 个靶基因(803 个反式靶基因和 854 个顺式靶基因)。GO 富集分析显示,与 IMP 调控相关的 GO 条目有半胱氨酸型内肽酶抑制剂活性、rRNA 加工、蛋白质结合、脂质储存的调节、离子跨膜转运蛋白活性、核糖体生物合成、免疫系统过程、细胞内信号转导等条目。KEGG 富集分析表明,色氨酸代谢、RIG-I样受体信号通路、PI3K-Akt 信号通路、亚油酸代谢、抗原加工与呈递、MAPK 信号通路等多个通路可能与 IMP 调控相关。MAPK 通路不仅参与骨骼肌线粒体生物发生和能量代谢的调控[12],也是影响滩羊宰后肌肉 pH 值、滴水损失和色泽等肉品质性状的核心通路[13]。RIG-I样受体信号通路在多项肉质风味性状的研究中被提到[14-15]。PI3K-Akt 信号通路除在心肌纤维化[16]、氧化损伤[17]等方面发挥作用外,在鲫鱼中可改善肌肉质地并提升 IMP 含量[18],胰岛素样生长因子结合蛋白 7(insulin-like growth factor binding protein 7,IGFBP7)基因可通过影响 PI3K-Akt 信号通路来维持细胞生长和肌肉发育[19],具体而言,*IGFBP7* 基因可促进鸡原代成肌细胞和肌内前脂肪细胞的增殖和分化[20]。此外,史金平等[21]基于 RNA-seq 技术挖掘影响绵羊肉质风味的遗传基础,发现 PI3K-Akt 信号通路被显著富集,并找到关键基因 *IGFBP7*,这再次佐证了该基因在肌肉品质形成中的潜在作用。组氨酸脱羧酶在肌肉相关过程中具有重要作用,其可催化组氨酸转化为组胺,这一过程参与调控肌肉保鲜及风味形成[22]。本研究 crumbs 细胞极性复合体组分 1(crumbs cell polarity complex component 1,CRB1)富集到组氨酸脱羧酶活性条目。另有研究发现,盐度可通过调控组氨酸脱羧酶等关键酶的活性进一步影响肌肉中氨基酸与核苷酸的代谢平衡,从而调控 IMP 等风味物质的形成与积累[23]。有研究显示,在羊背最长肌的冷藏过程中,组氨酸与嘌呤的生物碱合成通路被激活,从而促进了 IMP 等风味物质积累[24]。另外 CRB1 同源蛋白 CRB3 已被证实可在多种上皮及骨骼肌组织中表达[25]。神经调节蛋白-4(neuregulin 4,NRG4)是表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)家族的一种脂肪因子,其在棕色脂肪组织、白色脂肪组织、胰腺、肺和心脏等组织器官均有表达[26],其可与 ErbB4 受体结合,激活 PI3K/MAPK 与 AMPK 等多条下游通路,参与调控细胞增殖、凋亡、能量代谢及炎症反应等过程[27]。NRG4 在心肌细胞中发挥多重保护作用,包括抗肥大、抗纤维化、抗炎(通过抑制 NF-κB)[28]以及抗凋亡和抗铁死亡[29]。除在能量代谢和疾病中的作用外,NRG4 在肉品质调控中的功能也日益受到关注,已有研究证实其为肝脏脂质合成的关键负调控因子[30]。因此推测,*NRG4* 可能通过调控脂代谢间接影响 IMP 等风味物质,进而影响肉品质。

[参考文献]

[1] 王慧华,赵福平,张莉,等. 中国地方绵羊品种的地域分布及肉用相关性状的多元分析[J]. 中国农业科学,2015,48(20):4170-4177.

WANG H H, ZHAO F P, ZHANG L, et al. The geographical distribution and multivariate analysis of Chinese indigenous sheep breeds and their meat-related traits[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(20): 4170-4177.

[2] MALILA Y, THANATSANG K V, SANPINIT P, et al. Differential expression patterns of genes associated with metabolisms, muscle growth and repair in Pectoralis major muscles of fast-and medium-growing chickens[J]. PLoS One, 2022, 17(10): e0275160.

[3] HUANG Z W, CAI Z Y, ZHANG J, et al. Integrating proteomics and metabolomics to elucidate the molecular network regulating of inosine monophosphate-specific deposition in Jingyuan chicken[J]. Poultry Science, 2023, 102(12): 103118.

[4] DU X D, WU J L, HE J, et al. Marine cage culture leads to higher IMP content and ADSL gene expression in the muscle of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) compared with freshwater pond culture[J]. Aquaculture Research, 2022, 53(18): 6797-6802.

[5] 李光辉. 延边牛肉质和风味性状多维组学分析及遗传机制研究[D]. 长春：吉林大学，2024.
LI G H. Multidimensional omics analysis and genetic mechanism of Yanbian beef quality and flavor traits[D]. Changchun: Jilin University, 2024.

[6] 向倩，田军，贾明亮，等. 牛ADSL基因的生物信息学分析[J]. 当代畜禽养殖业，2024(4): 31-35.
XIANG Q, TIAN J, JIA M L, et al. Bioinformatics analysis of bovine ADSL gene[J]. Modern Animal Husbandry, 2024(4): 31-35.

[7] 高永芳，宫玉霞，杨雅媛，等. AMPK活性对宰后牛肉糖酵解、肌肉内环境及品质的影响[J]. 食品科学，2019, 40(17): 45-52.
GAO Y F, GONG Y X, YANG Y Y, et al. Effect of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activity on glycolysis, intramuscular environment and quality of beef during postmortem aging[J]. Food Science, 2019, 40(17): 45-52.

[8] 安宇凡，毛衍伟，杨啸吟，等. 宰后肌肉能量代谢相关信号通路对肉嫩度的影响及机制研究进展[J]. 食品科学，2025, 46(5): 310-318.
AN Y F, MAO Y W, YANG X Y, et al. Research progress on the impact and mechanism of energy metabolism-related signaling pathways in postmortem muscle on meat tenderness[J]. Food Science, 2025, 46(5): 310-318.

[9] WANG S W, LIU T T, PENG P, et al. Integrated transcriptomic analysis of liver and muscle tissues reveals candidate genes and pathways regulating intramuscular fat deposition in beef cattle[J]. Animals, 2025, 15(9): 1306.

[10] ZHANG J, HU H H, MU T, et al. Correlation analysis between AK1 mRNA expression and inosine monophosphate deposition in Jingyuan chickens[J]. Animals, 2020, 10(3): 439.

[11] 王燕燕，杨军祥，徐建峰，等. 陶湖杂交F1代与萨湖杂交F1代羔羊背最长肌转录组分析[J]. 饲料研究，2022, 45(11): 56-60.
WANG Y Y, YANG J X, XU J F, et al. Transcriptome analysis of longissimus dorsi muscle of Taohu F1 and Sahu F1 lambs[J]. Feed Research, 2022, 45(11): 56-60.

[12] WAINGERTEN-KEDEM L, AVIRAM S, BLAU A, et al. P38α MAPK coordinates mitochondrial adaptation to caloric surplus in skeletal muscle[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(14): 7789.

[13] 王彦云. 滩羊宰后肌细胞代谢机制计算机模拟及可视化系统设计[D]. 银川：宁夏大学，2024.
WANG Y Y. Design of computer simulation and visualization system for post-slaughter myocyte metabolic mechanism in Tan lamb[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2024.

[14] 严丹. 转录组测序鉴定鸭肌肉生长性状的功能基因及关键基因MYOZ2的功能验证[D]. 江苏扬州：扬州大学，2022.
YAN D. Transcriptome sequencing identifies functional genes of duck muscle growth traits and verify the function of MYOZ2[D]. Yangzhou, Jiangsu: Yangzhou University, 2022.

[15] 姚新洲. 复合植物蛋白替代鱼粉和饲料中补充裂壶藻对凡纳滨对虾生长性能、抗氧化能力、全转录组学和肌肉品质的影响[D]. 广东湛江：广东海洋大学，2023.
YAO X Z. The impact of composite plant protein as a replacement for fishmeal and supplementation of schizochytrium limacinum on the growth performance, antioxidant capacity, transcriptomics, and muscle quality of litopenaeus vanname[D]. Zhanjiang, Guangdong: Guangdong Ocean University, 2023.

[16] 董凤梅，韩凌. 鬼针草总黄酮调控PI3K/Akt/mTOR自噬通路对高血压大鼠心肌纤维化的影响[J]. 广东医学，2023, 44(6): 720-728.
DONG F M, HAN L. Effects of total flavonoids of Stipium Bidens bipinnata L on myocardial fibrosis in hypertensive rats by regulating autophagy pathway of PI3K/Akt/mTOR[J]. Guangdong Medical Journal, 2023, 44(6): 720-728.

[17] 邢燕，历飞，林大勇，等. 甘草次酸通过PI3K-AKT途径抑制H_2O_2所致大鼠心肌细胞氧化损伤[J]. 现代生物医学进展，2018, 18(6): 1044-1049.
XING Y, LI F, LIN D Y, et al. Glycyrrhetinic acid decreases H_2O_2-induced oxidative injury of H9C2 cells through PI3K-AKT pathway[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2018, 18(6): 1044-1049.

[18] CAI W J, WANG X, LIU H K, et al. Dietary supplementation with glutamate improves the flesh quality of gibel carp (*Carassius gibelio*) by altering muscle texture characteristics and increasing the deposition of flavour substances[J]. Journal of Nutritional Science, 2025, 14: e47.

[19] CHEN Z, LI L, WU W, et al. Exercise protects proliferative muscle satellite cells against exhaustion via the Igfbp7-Akt-mTOR axis[J]. Theranostics, 2020, 10(14): 6448-6466.

[20] GENG W Z, GUO Y L, CHEN B T, et al. IGFBP7 promotes the proliferation and differentiation of primary myoblasts and intramuscular preadipocytes in chicken[J]. Poultry Science, 2024, 103(12): 104258.

（下转第 131 页）