

伊犁马 *ACTN3* 基因外显子多态性研究

王建文^{1,2}, 李林玲¹, 王镜力¹, 孟 军^{1,2}, 曾亚琦^{1,2}, 姚新奎^{1,2*}, 辛雅莉¹

(1. 新疆农业大学动物科学学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业大学马产业研究院, 乌鲁木齐 830052)

摘要: 旨在鉴定新疆伊犁马 *ACTN3* 基因外显子多态位点及其单倍型, 分析不同单倍型对 mRNA 表达量和蛋白质结构的影响, 为进一步探究其基因型与运动性能的关联奠定基础。以 38 匹伊犁马为研究对象, 通过直接测序法筛选 *ACTN3* 基因多态性位点并进行基因型分析, 并通过 haploview 4.2 软件进行单倍型分析; 利用在线软件 (RNAfold 和 sopm) 进行生物信息学分析。结果表明, 在伊犁马 *ACTN3* 基因的外显子中共发现了 8 个多态位点, 其中 T9059G 为错义突变, 其余均为同义突变; A6206G 和 A11517G 之间存在强的连锁, 其余各突变间也存在一定程度的连锁关系; 构建出的 14 种单倍型中, 单倍型 H1 (GGATCCCG) 为优势单倍型, 各单倍型使得 *ACTN3* 基因 mRNA 二级结构和最小自由能发生改变, 且 T9059G 使得蛋白质二级结构改变。结果提示, T9059G 突变位点影响 *ACTN3* 蛋白质的二级结构, 可能是对伊犁马运动性能产生影响的重要功能位点。

关键词: 伊犁马; *ACTN3* 基因; 遗传多态性; 生物信息学

中图分类号: S821.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)06-1299-08

Analysis on *ACTN3* Gene Exon Polymorphism of Yili Horse

WANG Jian-wen^{1,2}, LI Lin-ling¹, WANG Jing-li¹, MENG Jun^{1,2},

ZENG Ya-qi^{1,2}, YAO Xin-kui^{1,2*}, XIN Ya-li¹

(1. College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;
2. Institute of Horse Industry, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: The aims of this study were to identify genetic variants and construct haplotypes of polymorphic sites of *ACTN3* gene exon in Yili horse, and determine different haplotypes effects on the mRNA expression level and protein secondary structure of *ACTN3*, which would provide a theoretical basis for further researching the influence of the gene expression on athletic performance. Direct sequencing was taken to detect the polymorphic sites of *ACTN3* of 38 Yili horse and analyze its genotypes. The haplotypes and bioinformation were analyzed by haploview 4.2 and online software (RNAfold and sopm), respectively. A total of 8 SNPs were identified from the *ACTN3* gene exon, only T9059G was the missense mutant, and the other 7 were synonymous mutants. Based on the 8 SNPs, linkage analysis showed that the strong linkage between A6206G and A11517G, and the different linkage relationship among the other SNPs. There was 14 haplotypes by the 8 SNPs, H1 (GGATCCCG) was the dominant haplotype, and the different haplotypes could cause the change of mRNA secondary structure and minimum free energy of *ACTN3* gene. The missense mutation of T9059G changed the secondary structure of *ACTN3* protein. The result indicate that the T9059G is one of the important functional sites affecting athletic performance, which affect the secondary structure of *ACTN3* protein.

收稿日期: 2017-11-30

基金项目: 新疆维吾尔自治区重大科技专项 (2017A01002-1); 新疆维吾尔自治区天山创新团队计划; 中国博士后基金委、新疆维吾尔自治区大学生创新创业训练计划项目 (201710758086)

作者简介: 王建文 (1988-), 男, 湖北天门人, 博士生, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: 275139618@qq.com

* 通信作者: 姚新奎, 教授, E-mail: yxk61@126.com

Key words: Yili horse; ACTN3 gene; genetic polymorphism; bioinformatics

辅肌动蛋白(ACTN)是近年来在细胞骨架与细胞运动研究中的热点蛋白。目前的研究结果表明,在哺乳动物中主要存在 4 种不同类型的辅肌动蛋白,其中辅肌动蛋白-2(ACTN2)和辅肌动蛋白-3(ACTN3)为骨骼肌 Z 线的主要组成部分,且这两种蛋白具有高度的相似性(81% 序列一致)^[1-3]。ACTN3 基因仅在骨骼肌快肌纤维中表达,且其多态性与肌肉力量有关,可能依赖于其对纤维类型比例的控制功能,与纤维分布和肌肉力量有显著关联,在 ACTN3 基因敲除小鼠中三羧酸循环、线粒体电子信号传递链和脂肪酸氧化代谢途径中的关键酶一直较高^[4-5]。与此同时,ACTN3 蛋白缺乏对骨骼肌结构^[6]、新陈代谢^[7]及钙通路^[8]等均会产生一定的影响。Gu 等^[9]通过对纯血马进行研究,结果显示,ACTN3 基因在纯血马中有 4 个突变位点。Mata 等^[10]通过对法国骑乘马的研究表明,ACTN3 基因的 cDNA 有 8 个突变位点,其中 6 个外显子突变位点均为同义突变。Thomas 等^[11]的研究结果表明,5 个澳大利亚品种马中共发现 34 个突变位点,其中启动子 g. 1104G>A 突变后,纯血马中未发现 AA 基因型,重挽型品种(夏尔马和克莱兹代尔马)中未发现 GG 基因型,其中纯血马为优秀的速度型运动马,而夏尔马和克莱兹代尔马则为挽用型,赵启南等^[12]通过对蒙古马进行调教训练的研究也显示,ACTN3 基因的表达上调,这些研究在一定程度上显示,ACTN3 基因可能会对运动性能具有重要的意义。

伊犁马是我国知名运动马品种,其以哈萨克马为母本,通过与奥尔洛夫马、顿河马、阿哈捷金马等轻型马品种进行杂交培育而成,并与纯血马、新吉尔吉斯马等品种进行杂交改良^[13],现为我国优良的国产骑乘马品种^[14],具有良好的运动性能。现对伊犁马运动性能的研究主要集中在调教训练、血液生化等方面,对分子标记研究相对较少。因此,针对 ACTN3 基因的结构与功能,并将其运用于实际生产具有重大意义。

本研究以伊犁马为试验动物,通过测序法对 ACTN3 基因多态性位点进行筛选,并进行连锁不平衡及生物信息学分析,探究伊犁马 ACTN3 基因多态性,为伊犁马的早期运动选材及分子选育等提供相关理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 38 匹健康伊犁马为研究对象,其中公马 16 匹,母马 22 匹,均为 2016 年伊犁马常态化赛事参赛马匹。通过枸橼酸钠采血管采集静脉血样 5 mL,混匀后,置于-20℃保存。

1.2 引物设计与 PCR 扩增

通过 DNA 提取试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司)提取血液 DNA。根据 NCBI 公布的纯血马 ACTN3 序列(HQ005425)采用 Primer-BLAST 对所有外显子进行引物设计,当相邻两个外显子之间间隔较小(小于 350 bp)时,两个外显子通过同一对引物进行扩增(表 1)。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司进行合成。通过降落 PCR 进行扩增,PCR 体系(25 μL):上下游引物各 0.5 μL,dNTP(10 mmol·L⁻¹)0.5 μL,Taq Buffer 2.5 μL,Taq 酶(5 U·μL⁻¹)0.2 μL,ddH₂O 加至 25 μL。PCR 扩增程序:95℃预变性 3 min;94℃变性 30 s,63℃退火 45 s,共计 10 个循环,每个循环降低 0.5℃,72℃延伸 1 min,94℃变性 30 s,58℃退火 45 s,72℃延伸 1 min,30 个循环,72℃修复延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1.5%TAE 琼脂糖电泳进行检测。

1.3 扩增产物测序和 BLAST 分析

将所有扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,并利用 DNASTar 软件对所测得结果进行校正,与马 ACTN3 基因序列进行对比(HQ005425),通过 BLAST 分析并确定突变位点。

1.4 伊犁马群体遗传结构分析

通过 haploview 4.2 软件根据测序情况计算杂合度、有效等位基因数、多态信息含量、基因(型)频率及检测 Hardy-Weinberg 平衡状态(当 $P > 0.05$ 时判定处于 Hardy-Weinberg 平衡状态)。

1.5 连锁不平衡及单倍型分析

通过 HaploView 4.2 软件对所测外显子区域突变位点进行连锁不平衡分析及单倍型构建。

1.6 生物信息学分析

利用 NCBI 中的 ORF find 确定寻找马 ACTN3 基因的编码区,并进行氨基酸的翻译,利用 BioXM 2.6 对突变位点编码的氨基酸序列进行比对,通过在

表 1 扩增引物信息

Table 1 PCR primer information

上游引物序列(5'→3')	下游引物序列(5'→3')	片段长度/bp	所扩增外显子
Forward primer sequence	Reverse primer sequence	Length	Amplified exon
TTCCAGTGCCCCAGATTCT	CAGAGGACGGATGGGCAGA	497	1
CCTCATCCAAACTGGGACCTG	TGGTCCCTACACTCCCTCCTG	732	2,3
CTGAACCCGTGAAGCTGGACT	GTTCAACATTGACTCAGTCCTCTA	625	4,5
TGGCGCAAGTCTGGTAATGAA	GAAGGATTCTGACCAGGGAGTG	527	6,7
AGTGGCTGTGACTAAATGTCTCTG	GGGTGAAGATGGCAGGAGAAG	753	8,9
TACTGGTCCCTGGACTCAGAAAT	CATCACGGTTCACCCATTGTA	537	10
TCCAGCTCTGCCGATGTTCC	AGACACTGTGGCCCAAAGACG	427	11
AGGGTAGACTGGGCAGGTGTG	GAGACAGGGTTACGGGAGGAG	479	12
CCTATCTACCCTGGCTGTCTCAT	TCCCGTCCCCATTCTCAG	561	13,14
AGTGTGGGCTGGGAGACA	GCAGACTCCAGATCCGAAGGT	451	15
AGGTTGAATAACTTGCCAGGA	GTCACTTCCACTTGCTAGGTCTC	701	16,17
ATCATCAAACCTTAAGGCAGGGA	GGCGTGATGAGGAGGAAGTG	595	18,19
GACGGTCTATGGAGAAAGGAAG	TAAGCACTTGGCTGGTCATTCT	650	20,21

线软件 RNAfold 预测不同单倍体 mRNA 二级结构 (<http://rna.tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>)及最小自由能,运用在线软件 sopm 预测蛋白质二级结构 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)。

2 结果

2.1 伊犁马 *ACTN3* 基因测序及 SNP 鉴定

所测序列与马 *ACTN3* 基因序列(HQ005425)

具有高度同源性,可以确定 PCR 产物为马 *ACTN3* 的基因序列。通过对测序结果进行比对分析,结果显示,在本试验中 *ACTN3* 基因共发现有 8 个外显子突变位点,各突变位点的具体信息如表 2 所示。其中位于第 15 外显子的 T9059G 突变为错义突变,突变使得 *ACTN3* 蛋白质的第 594 个氨基酸由甘氨酸变为半胱氨酸,其余各突变位点均为同义突变。

表 2 *ACTN3* 基因外显子突变位点信息Table 2 The information of SNPs of *ACTN3* gene exon

位点	分布	EquCab 2.0 位置	参考位置	SNP	突变类型	氨基酸位置
Site	Distribution	EquCab 2.0 position	Reference position		Substitution type	Amino acid position
SNP1	外显子 4	26 516 534	3 334	G/A	同义突变	129
SNP2	外显子 10	26 519 406	6 206	A/G	同义突变	366
SNP3	外显子 14	26 521 808	8 608	A/G	同义突变	534
SNP4	外显子 15	26 522 259	9 059	T/G	错义突变	594
SNP5	外显子 15	26 522 291	9 091	C/G	同义突变	604
SNP6	外显子 19	26 523 860	10 660	C/T	同义突变	778
SNP7	外显子 20	26 524 504	11 304	C/T	同义突变	814
SNP8	外显子 21	26 524 717	11 517	A/G	同义突变	858

2.2 伊犁马 *ACTN3* 突变位点的遗传学分析

对检测出的突变位点的基因(型)频率及多态信息含量等参数进行计算,如表 3 所示。在伊犁马中

G3334A、A8608G、T9059G、C9091G 和 C11304T 5 个突变位点均只检测到两种基因型,其余 3 个突变位点检测到 3 种基因型。G3334A、A6206G 和

A11517G 的优势等位基因为 G, G3334A 的优势基因型为 GG, A6206G 和 A11517G 的优势基因型为 AG. A8608G 的优势等位基因为 A, 优势基因型为 AA. T9059G 的优势等位基因为 T, 优势基因型为 TT. C9091G、C10660T 和 C11304T 的优势等位基

因为 C, 优势基因型为 CC. 根据多态信息含量 (PIC) 的分类, A6206G 和 A11517G 属于中度多态 ($0.25 < PIC < 0.50$), 其余各突变均为低度多态 ($PIC < 0.25$). 根据卡方检验的结果显示, 所检测各位点均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P > 0.05$).

表 3 伊犁马 *ACTN3* 突变位点分析

Table 3 SNPs analysis of *ACTN3* in Yili horse

位点 Site	基因型频率/% Genotype frequency			等位基因频率/% Allele frequency		杂合度 <i>He</i>	有效等位基因数 <i>Ne</i>	多态信息含量 <i>PIC</i>	H-E <i>P</i> 值 <i>P</i> value
G3334A	GG	AG	AA	G	A	0.233 7	1.305 1	0.206 4	0.993 0
	72.97(27)	27.03(10)	0.00(0)	86.49	13.51				
A6206G	AA	AG	GG	A	G	0.450 1	1.818 6	0.348 8	0.551 4
	7.89(3)	52.64(20)	39.47(15)	34.21	65.79				
A8608G	AA	AG	GG	A	G	0.026 0	1.026 7	0.025 6	1.000 0
	97.37(37)	2.63(1)	0.00(0)	98.68	1.32				
T9059G	TT	TG	GG	T	G	0.051 2	1.054 0	0.049 9	1.000 0
	94.74(36)	5.26(2)	0.00(0)	97.37	2.63				
C9091G	CC	CG	GG	C	G	0.026 0	1.026 7	0.025 6	1.000 0
	97.37(37)	2.63(1)	0.00(0)	98.68	1.32				
C10660T	CC	CT	TT	C	T	0.145 4	1.170 1	0.134 9	0.383 6
	86.84(33)	10.53(4)	2.63(1)	92.11	7.89				
C11304T	CC	CT	TT	C	T	0.208 8	1.263 9	0.187 0	1.000 0
	76.32(29)	23.68(9)	0.00(0)	88.16	11.84				
A11517G	AA	AG	GG	A	G	0.498 6	1.994 4	0.374 3	0.212 8
	15.79(6)	63.16(24)	21.05(8)	47.37	52.63				

2.3 伊犁马 *ACTN3* 各位点连锁不平衡分析与单倍型构建

通过 haploview 4.2 软件构建伊犁马 *ACTN3* 外显子的连锁不平衡图谱, 并进行连锁不平衡分析, 如图 1 和表 4 所示. 在各突变位点中存在不同程度的连锁, 其中 A6206G 和 A11517G 间存在强的连锁不平衡 ($D' > 0.75$, $r^2 > 0.33$), 其余各突变位点间连锁关系相对较弱. 通过 haploview 4.2 软件对各突变位点进行单倍型构建, 结果如表 5 所示, 在伊犁马 *ACTN3* 基因外显子中共构建 14 个单倍型, 各单倍型频率为 0.012~0.477, 其中优势单倍型为 H1 (GGATCCCG).

2.4 伊犁马 *ACTN3* mRNA 和蛋白的生物信息学分析

通过 RNAfold 对所构建 14 种单倍型的 mRNA 二级结构进行分析, 如图 2 所示. 在所构建的单倍型中, 各二级结构间存在一定程度的改变, 且其最小

自由能也存在一定的差异, 最小自由能为 $-4\ 719.22 \sim -4\ 694.56\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, 其中单倍型 H9 (GAAGCCCA) 的二级结构最小自由能最大, 单倍型 H13 (GGGTCCTA) 的二级结构最小自由能最小.

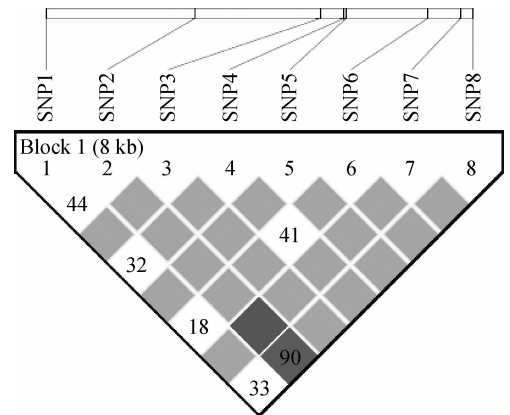


图 1 *ACTN3* 各位点连锁不平衡分析
Fig. 1 Linkage disequilibrium analysis of *ACTN3* SNPs

表 4 ACTN3 基因多态位点配对连锁不平衡分析

Table 4 Analysis of pairwise linkage disequilibrium of ACTN3 gene SNPs

位点 Site	G3334A	A6206G	A8608G	T9059G	C9091G	C10660T	C11304T	A11517G
G3334A		0.448	1.000	0.323	1.000	0.181	1.000	0.332
A6206G	0.016		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.909
A8608G	0.002	0.026		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
T9059G	0.019	0.052	0.000		1.000	0.414	1.000	1.000
C9091G	0.002	0.026	0.000	0.000		1.000	1.000	1.000
C10660T	0.018	0.045	0.001	0.054	0.156		1.000	1.000
C11304T	0.022	0.258	0.099	0.004	0.002	0.012		1.000
A11517G	0.019	0.477	0.015	0.030	0.015	0.095	0.149	

对角线右上方为 D' , 左下方为 r^2

D' data are above the diagonal for SNPs, r^2 data are below the diagonal for SNPs

表 5 ACTN3 基因单倍型频率分析

Table 5 Haplotype frequencies of ACTN3 gene

项目 Item	单倍型 Haplotype						
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
序列 Sequence	GGATCCCG	GAATCCCA	GAATCCTA	GGATCTCA	AGATCCCA	AGATCCCG	AAATCCCA
频率 Frequency	0.477	0.189	0.092	0.039	0.038	0.036	0.034
	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14
序列 Sequence	GGATCCCA	GAAGCCCA	AGATCTCA	GAATCCTG	GGATGTCA	GGGTCCTA	AGAGCTCA
频率 Frequency	0.015	0.014	0.014	0.014	0.013	0.013	0.012

通过 sopm 对不同基因型所编码 ACTN3 蛋白质的二级结构进行预测,结果如表 6 所示。结果表明, T9059G 为错义突变,由于氨基酸的变化使得 ACTN3 蛋白质的二级结构发生了改变。 β 折叠由 5.65% 变为 5.88%; α 螺旋由 64.63% 变为 64.19%; 无规卷曲度由 19.29% 变为 19.40%; 伸展度由 10.42% 变为 10.53%。

3 讨论

ACTN3 蛋白的主要功能之一是维持细胞骨架结构^[15-16],在人基因中定位于 11q13.1 染色体,小鼠基因中定位于 194.12 cM,且对人和小鼠的相关研究表明其对运动性能有着显著影响^[17-21]。ACTN 蛋白最重要的作用是结合肌动蛋白并使其链接成束^[16],维持不同细胞特定的形态,并赋予细胞一定的韧性与强度。同时还能结合如胞质蛋白、膜受体和信号分子等蛋白分子,参与细胞活动,对肌动蛋白丝的形成与定位具有重要作用。Ebashi 等^[22]首次从兔肉中提取出 α -辅肌动蛋白,并认定其

为肌动蛋白和肌球蛋白体外结合的必需蛋白。

在 ACTN3 外显子中共鉴定出 8 个突变位点,其中 3 个突变位点与前人的研究结果一致^[10-11],新发现 5 个多态位点(G3334A、A8608G、T9059G、C9091G 和 C10660T)。8 个多态位点所对应编码的氨基酸分别处于 ABD 域、中心杆状域(RLs 域)和“EF”手型域,ABD 域的主要生理作用是维持 Z 线完整性及肌纤维组织^[23],能与其它 Z 线蛋白^[24]和磷脂、磷脂酰肌醇二磷酸^[25-26]相交联。RLs 域由 4 个血影蛋白组成^[27],其二级结构显示为 3 个 α 螺旋^[28],主要通过 K 相关蛋白质相互作用影响糖酵解酶活性^[29]，“EF”手型域结合 Ca^{2+} ,对肌动蛋白^[30]及其它蛋白的动力学进行调节,从而影响肌纤维类型^[31]。这表明,以上突变位点可能会影响到马 ACTN3 蛋白质结构与功能,影响肌纤维结构、信号传导及氧化代谢等,从而影响马匹的运动性能。

多数情况下,基因对性能的影响是多个突变共同作用的结果^[32]。本研究通过对所检测到的 8 个多态位点进行连锁不平衡分析表明,各突变之间存

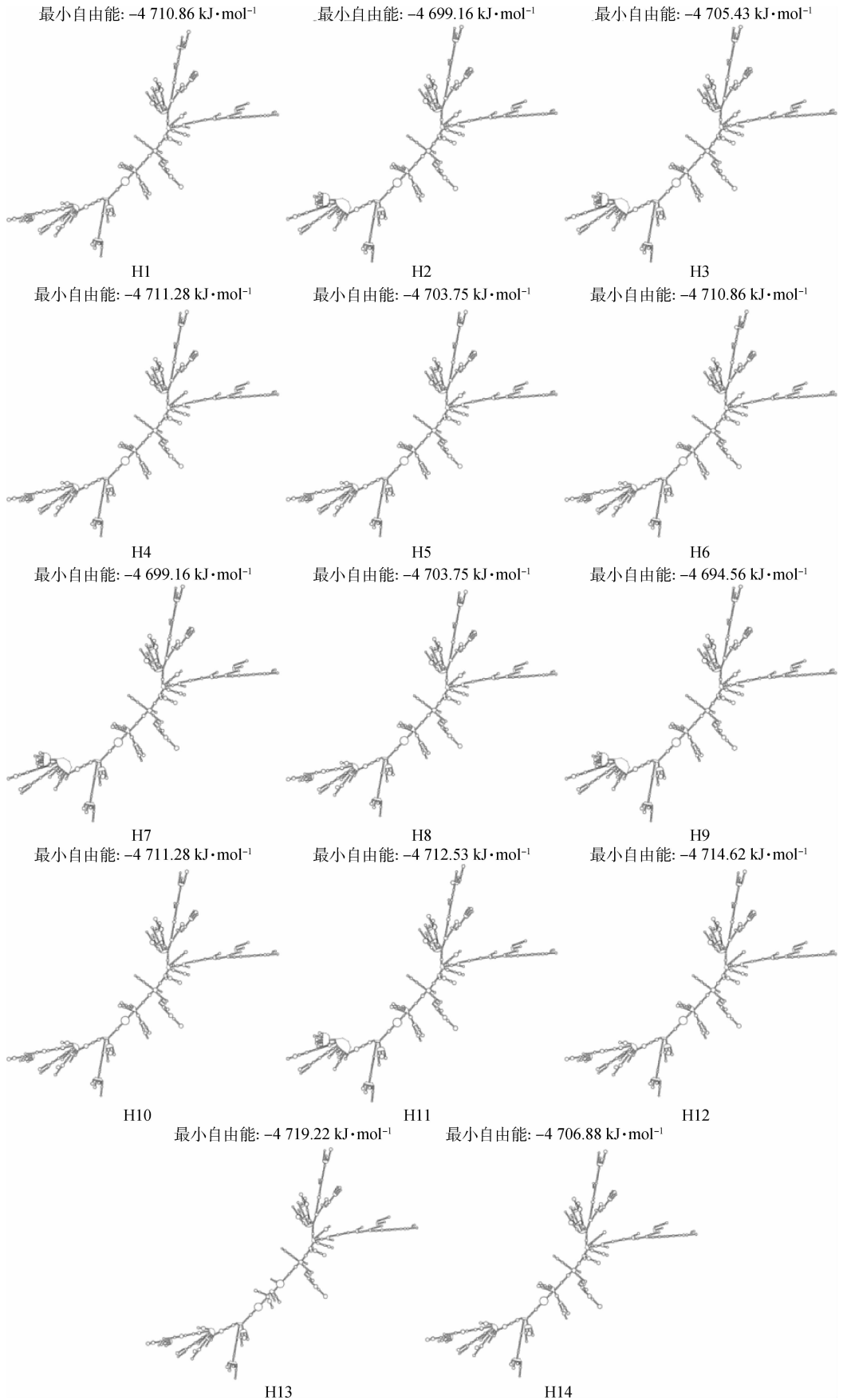


图 2 ACTN3 不同单倍型 mRNA 二级结构图

Fig. 2 mRNA secondary structure of different haplotypes of ACTN3

表 6 突变前后 ACTN3 蛋白质二级结构分析

Table 6 Prediction of ACTN3 protein secondary structure before and after mutation

时间 Time	β 折叠 Beta turn	α 螺旋 Alpha helix	无规卷曲度 Random coil	伸展度 Extended strand
突变前 Before mutation	5.65	64.63	19.29	10.42
突变后 After mutation	5.88	64.19	19.40	10.53

在一定程度上连锁,并构建出 14 种单倍型。通过对不同单倍型 mRNA 进行二级结构分析显示,各单倍型间二级结构与最小自由能有一定的差异,其中单倍型 H9(GAAGCCCA)的最小自由能最高,这表明单倍型 H9(GAAGCCCA)的二级结构稳定性最低,而单倍型 H13(GGGTCCTA)的最小自由能最低,因此其 mRNA 的二级结构最为稳定。

通过进一步对各突变导致的蛋白质二级结构进行分析,结果显示,所检测到的 8 个多态位点中有 7 个为同义突变,其氨基酸并未发生改变,其蛋白质结构与功能是否发生改变及其对运动性能的影响还有待于进一步的研究明确。而 T9059G 为错义突变,通过在线软件进行预测分析,结果显示,其 mRNA 最小自由能增大,稳定性降低,在蛋白质翻译过程中会导致第 594 号氨基酸由甘氨酸变为半胱氨酸,对二级结构的预测分析结果显示,其二级结构发生改变,这有可能会影响蛋白质三级结构改变,从而影响到氧化酶活性,使得马匹的运动性能受到影响。

4 结 论

在伊犁马 ACTN3 基因中共发现 8 个多态位点,共可组成 14 种单倍型,其中单倍型 H1(GGATCCCG)为优势单倍型,不同单倍型 mRNA 的二级结构与最小自由能有一定的差异。在 8 个突变位点中, T9059G 为错义突变,使得编码 ACTN3 蛋白质的二级结构发生改变,可能对马 ACTN3 蛋白质功能产生影响,从而影响马匹的运动性能,该突变位点可能是与马匹运动性能相关的重要功能位点。

参考文献 (References):

[1] BEGGS A H, BYERS T J, KNOLL J H, et al. Cloning and characterization of two human skeletal muscle alpha-actinin genes located on chromosomes 1 and 11 [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(13): 9281-9288.

[2] DEL COSO J, VALERO M, SALINERO J J, et al. ACTN3 genotype influences exercise-induced muscle

damage during a marathon competition[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2017, 117(3): 409-416.

- [3] MARCHLER-BAUER A, LU S, ANDERSON J B, et al. CDD: a Conserved Domain Database for the functional annotation of proteins[J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(D1): D225-D229.
- [4] GINEVICENE V, JAKAITIENE A, AKSENOV M O, et al. Association analysis of ACE, ACTN3 and PPARGC1A gene polymorphisms in two cohorts of European strength and power athletes [J]. *Biol Sport*, 2016, 33(3): 199-206.
- [5] MIN S K, LIM S T, KIM C S. Association of ACTN3 polymorphisms with BMD, and physical fitness of elderly women [J]. *J Phys Ther Sci*, 2016, 28(10): 2731-2736.
- [6] GARTON F C, NORTH K N. The Effect of heterozygosity for the ACTN3 null allele on human muscle performance [J]. *Med Sci Sport Exer*, 2016, 48(3): 509-520.
- [7] The PLoS Genetics Staff. Correction: altered Ca²⁺ kinetics associated with α -actinin-3 deficiency may explain positive selection for ACTN3 null allele in human evolution [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(6): e1005312.
- [8] HEAD S I, CHAN S, HOUWELING P J, et al. Altered Ca²⁺ kinetics associated with α -actinin-3 deficiency may explain positive selection for ACTN3 null allele in human evolution [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(2): e1004862.
- [9] GU J, MACHUGH D E, MCGIVNEY B A, et al. Association of sequence variants in CKM (creatine kinase, muscle) and COX4I2 (cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2) genes with racing performance in thoroughbred horses [J]. *Equine Vet J*, 2010(38): 569-575.
- [10] MATA X, VAIMAN A, DUCASSE A, et al. Genomic structure, polymorphism and expression of the horse alpha-actinin-3 gene [J]. *Gene*, 2012, 491(1): 20-24.
- [11] THOMAS K C, HAMILTON N A, NORTH K N, et al. Sequence analysis of the equine ACTN3 gene in

- Australian horse breeds [J]. *Gene*, 2014, 538 (1): 88-93.
- [12] 赵启南, 芒来, 白东义, 等. 蒙古马高负荷运动训练前后转录组差异表达分析[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(6): 1007-1016.
- ZHAO Q N, MANG L, BAI D Y, et al. Mongolian horses transcriptome differential expression analysis before and after a high load exercise training[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(6): 1007-1016. (in Chinese)
- [13] 姚新奎, 韩国才. 马生产管理学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008.
- YAO X K, HAN G C. Horse production and management [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2008. (in Chinese)
- [14] 中华人民共和国农业部. NY/T 2831-2015 伊犁马[S]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. NY/T 2831-2015 Yili Horse[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2015. (in Chinese)
- [15] DE MORAES V N, FERRARI G D, CHIARATTO T, et al. Association of genetic polymorphisms with physical capacities and body composition in older women [J]. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum*, 2016, 18(1): 11-19.
- [16] BAUMERT P, LAKE M J, STEWART C E, et al. Genetic variation and exercise-induced muscle damage: implications for athletic performance, injury and ageing [J]. *Eur J Appl Physiol*, 2016, 116 (9): 1595-1625.
- [17] PICKERING C, KIELY J. ACTN3: more than just a gene for speed[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 1080.
- [18] DIONÍSIO T J, THIENGO C R, BROZOSKI D T, et al. The influence of genetic polymorphisms on performance and cardiac and hemodynamic parameters among Brazilian soccer players[J]. *Appl Physiol Nutri Metab*, 2017, 42(6): 596-604.
- [19] KIKUCHI N, MIYAMOTO-MIKAMI E, MURAKAMI H, et al. ACTN3 R577X genotype and athletic performance in a large cohort of Japanese athletes[J]. *Eur J Sport Sci*, 2016, 16(6): 694-701.
- [20] PAPADIMITRIOU I D, LUCIA A, PITSILADIS Y P, et al. ACTN3, R577X and ACE I/D gene variants influence performance in elite sprinters: a multi-cohort study[J]. *Bmc Genomics*, 2016, 17: 285.
- [21] SETO J T, QUINLAN K G R, LEK M, et al. ACTN3 genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(10): 4255-4263.
- [22] EBASHI S, EBASHI F. α -actinin, a new structural protein from striated muscle; I. Preparation and action on actomyosin-ATP interaction[J]. *J Biochem*, 1965, 58(1): 7-12.
- [23] NORTH K. Why is α -actinin-3 deficiency so common in the general population? The evolution of athletic performance[J]. *Twin Res Hum Genet*, 2008, 11(4): 384-394.
- [24] LIN Z, HIJIKATA T, ZHANG Z, et al. Dispensability of the actin-binding site and spectrin repeats for targeting sarcomeric α -actinin into maturing Z bands *in vivo*: implications for *in vitro* binding studies[J]. *Dev Biol*, 1998, 199(2): 291-308.
- [25] YANG N, GARTON F, NORTH K. α -actinin-3 and performance[J]. *Med Sport Sci*, 2009, 54: 88-101.
- [26] YIN H L, JANMEY P A. Phosphoinositide regulation of the actin cytoskeleton [J]. *Annu Rev Physiol*, 2003, 65(1): 761-789.
- [27] BARON M D, DAVISON M D, JONES P, et al. The sequence of chick alpha-actinin reveals homologies to spectrin and calmodulin[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262 (36): 17623-17629.
- [28] DJINOVIC-CARUGO K, GAUTEL M, YLÄNNE J, et al. The spectrin repeat: a structural platform for cytoskeletal protein assemblies [J]. *FEBS Lett*, 2002, 513(1): 119-123.
- [29] HOGARTH M W, HOUWELING P J, THOMAS K C, et al. Evidence for ACTN3 as a genetic modifier of Duchenne muscular dystrophy [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14143.
- [30] TANG J H, TAYLOR D W, TAYLOR K A. The three-dimensional structure of α -actinin obtained by cryoelectron microscopy suggests a model for Ca^{2+} -dependent actin binding 1 [J]. *J Mol Biol*, 2001, 310(4): 845-858.
- [31] GARTON F C, SETO J T, QUINLAN K G R, et al. α -Actinin-3 deficiency alters muscle adaptation in response to denervation and immobilization [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(7): 1879-1893.
- [32] 轩俊丽, 马晓萌, 王慧华, 等. 绵羊季节性繁殖相关基因 TSHR 外显子多态性研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2016, 47(7): 1342-1353.
- XUAN J L, MA X M, WANG H H, et al. Study on exon polymorphism of seasonal breeding related gene TSHR in sheep [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2016, 47(7): 1342-1353. (in Chinese)