

中甸牦牛 *HIF-1 α* 基因表达差异分析

唐嘉¹, 杨宇¹, 杨凯², 和占星², 金显栋², 亏开兴^{2*}, 王昕^{1*}

(1. 陕西省动物遗传育种与繁殖重点实验室, 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2. 云南省草地动物科学研究院, 昆明 650212)

摘要: [目的] 以云南省迪庆州香格里拉市高山放牧和昆明市东郊小哨示范牧场圈养育肥 1.5 年以上的成年中甸牦牛为研究对象, 比较两种饲养条件下组织器官中 *HIF-1 α* 基因 mRNA 表达差异。[方法] 采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术检测 *HIF-1 α* 基因在不同饲养条件下中甸牦牛不同组织中的表达水平。[结果] 结果表明: 中甸牦牛不同器官组织 *HIF-1 α* 基因的相对表达量差异极显著 ($P < 0.01$); 在不同饲养条件下相对表达量差异显著, 高山放牧显著高于异地圈养育肥 ($P < 0.05$); 在高山放牧的中甸牦牛肝脏中相对表达量显著高于圈养育肥的 ($P < 0.05$)。[结论] 中甸牦牛不同组织器官中 *HIF-1 α* 基因广泛表达且具有组织特异性, 在不同海拔饲养的相对表达量具有显著差异, 为牦牛的耐低氧机制研究提供了理论依据。

关键词: 中甸牦牛; *HIF-1 α* 基因; RT-qPCR; 表达差异

中图分类号: S823 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9111(2021)03-0001-05

中甸牦牛是云南省迪庆州高原藏区独有的牦牛品种, 是高寒地区的役、乳、肉兼用型地方优良品种^[1-2]。中甸牦牛适应高山自然气候环境, 主要生活在海拔 3 000 ~ 4 300 m 高原和高山垂直带, 具有耐严寒、耐低氧、耐放牧、耐粗饲、采食能力强等优良特点^[3-4]。牦牛养殖业是高度适应高寒生态条件的特定生态养殖模式, 是广大农牧民世代经营并赖以生存和发展的基础产业, 发展牦牛业对提高藏区人民生活水平、繁荣藏区经济和文化遗产等具有重要作用。但其目前仍存在生产性能低、牧场载畜力下降、新技术推广迟缓等问题^[3,5], 中甸牦牛的基础研究薄弱。

低氧诱导因子-1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) 是一种基本的螺旋-环-螺旋蛋白, 由 α 和 β 两种蛋白质的异质体组成, 是在研究低氧诱导的 EPO (促红细胞生成素, erythropoietin) 基因表达时被发现的^[6]。*HIF-1 α* 基因受缺氧信号的调控, 是 HIF-1 的活性亚基; HIF-1 β 亚基在细胞内稳定表达, 起

结构性作用。*HIF-1 α* 亚基在翻译后会被降解, 因而在正常氧饱和度下的细胞中基本检测不到 *HIF-1 α* 亚基的表达; 而在缺氧状态下, *HIF-1 α* 亚基的降解被抑制, α 和 β 亚基形成有活性的 HIF-1, 转移到细胞核内调节多种基因的转录^[7,9]。通过氧分压对 HIF-1 活性的控制是通过改变 *HIF-1 α* 亚基的水平来实现的^[8,10]。HIF-1 缺氧诱导的特异性和敏感性在哺乳动物转录因子中独一无二, 作为急、慢性缺氧生理反应的重要介导因子, HIF-1 是介导这些反应的包括心脏和血管的系统发育所必需的。无论是在细胞还是在机体的局部水平, HIF-1 都是低氧信号传递的重要枢纽, 而 *HIF-1 α* 被认为是细胞低氧感应所必需的核心转录因子^[8,10-12]。

牦牛具有很多生理学特征使它们适应高海拔地区的生活, 包括心肺体积大、觅食能力强、对外界环境敏感和能量代谢高等, 在天然的低氧环境经过长期的进化也形成了特有的耐低氧适应机制, 牦牛对低氧环境在分子层面上做出的适应性和调控是极其

收稿日期: 2020-08-07 修回日期: 2020-08-15

基金项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才培养计划 (2018HB045); 云南省重大科技专项 (2019ZG011); 云南省现代农业奶牛产业技术体系营养与饲料岗位 (2019KJTX0014); 科技部重点研发 (2018YFD0502405) 资助。

作者简介: 唐嘉 (1997—), 女, 在读硕士, 专业方向: 动物遗传育种。

* 通讯作者: 亏开兴 (1975—), 男, 研究员, 从事动物遗传育种。王昕 (1975—), 女, 教授, 从事动物遗传育种。

复杂多样的^[13-14]。然而高原地区常年缺草缺料,牦牛产业处于传统“夏肥-秋壮-冬困-春乏”的恶性循环中,寻求草料丰富的农区进行异地育肥势在必行,可大幅度提高牦牛生产力,缩短饲养周期,同时改善牛肉品质,获取较高的养殖效益^[5,15]。本试验为了比较中甸牦牛 *HIF-1 α* 基因在不同饲养条件下的心脏、肝脏、肺脏、肾脏、背脂、胰脏和眼肌等组织器官中的差异表达水平,以揭示牦牛这一高原土著哺乳动物的耐低氧、高海拔及对不同饲养条件下的分子适应机制,为探讨异地驯养牦牛的生产问题提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品采集 样本采自于高山放牧海拔 > 3 200 m 云南省香格里拉市(年均气温 5.8 ℃)的成年中甸牦牛 7 头(> 5 岁,年均气温 5.8 ℃)和异地圈养于 1 910 m 昆明小哨示范牧场 1.5 年以上(年均气温 14.92 ℃)育肥的中甸牦牛 2 头(> 3.5 岁)。屠宰后取其心脏、肝脏、肺脏、肾脏、背脂、胰脏和眼肌等组织器官,剪碎后放入冻存管进液氮罐保存,带

回实验室 -80 ℃ 保存备用。

1.1.2 主要试剂 RNAiso Plus 购自宝生物工程(大连)有限公司(Cat. No. 9109);DEPC 水购自 Sigma 公司(Cat. No. V900882)。荧光定量 PCR 相关试剂:反转录试剂 iScript™ cDNA Synthesis Kit 购自 BIO-RAD 公司(Cat. No. 170-8891);荧光染料 SsoFastTMEvaGreen Supermix 购自 BIO-RAD 公司(Cat. No. 172-5201AP)。

1.1.3 主要仪器 超净工作台(SW-CJ-1FD)购自苏州净化设备有限公司;高速冷冻离心机(75005440)购自 Thermo Fisher Scientific 公司;凝胶成像系统(Tanon-1600)购自天能科技有限公司;电泳仪(DYY-7C)购自北京六一仪器厂;移液器(KA0052521)购自 DRAGON 公司;荧光定量 PCR 仪(580BR 12007)购自 BIO-RAD 公司、恒温水浴锅(HWS12)购自上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 引物设计 根据 NCBI GenBank 中公布的 *HIF-1 α* 基因序列(NC_037337.1)和以 GAPDH 基因(NM_001034034)为内参设计引物(表 1)用于 PCR 检测,引物由昆明硕擎生物科技有限公司合成。

表 1 引物信息表

基因	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
<i>HIF-1α</i>	F: GAACCTCCTATAGCCACCGTC	182
	R: GGTGAGGCTGTCCGACTTC	
GAPDH	F: CACTCACTCTTCTACCTT	91
	R: GCCAAATTCATTGTCGTA	

1.2.2 RNA 提取及反转录 剪取 100 mg 左右解冻组织样品加入到研磨器中,待组织样品研碎后加入 1 mL RNAiso Plus(TRIZOL),震荡使其缓冲液与样本均匀混合。将离心管横放在架子上,4 ℃ 静置 20 min 后,12 000 r/min 离心 10 min。取上清(600 ~ 800 μ L),取上清过程中尽量不要吸到组织碎片,加入 200 μ L 氯仿,在震荡器上震荡混匀后,4 ℃ 静置 10 min,12 000 r/min 离心 15 min。离心结束后,用移液器小心吸取上层无色溶液(400 ~ 600 μ L)于无 RNase 的 1.5 mL 离心管中,加入与上清等体积的异丙醇,上下颠倒充分摇匀,4 ℃ 静置 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,使 RNA 沉淀于离心管底部。小心倒去上清,向离心管内加 1 mL 75% 乙醇进行洗涤,颠倒混匀后 4 ℃ 静置 10 min,12 000 r/min 离心 10 min。弃去上清,轻甩,用吸水纸吸干离心管壁上的液体,可以在底部看到 RNA 沉淀,根据沉淀的大小,用不同体积的 DEPC 水(50 ~ 100 μ L)溶解。将

溶解后的 RNA 分装到 PCR 管后冻存于 -80 ℃。按照反转录试剂盒(iScript™ cDNA Synthesis Kit)说明书,将提取的 RNA 反转录为 cDNA,反应体系如表 2 所示。

表 2 反转录反应体系

组分	用量/(μ L)
5 $\times$ PrimeScript Buffer I	2.0
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5
Random 6 mers (100 μ mol/L)	0.5
Oligo dT Primer (50 μ mol/L)	0.5
RNase free water	3.5
Total RNA(500 ng)	3.0
反应体系	10.0

1.2.3 实时荧光定量 PCR 反应 反应体系如下: SYBR 10 μ L,上游引物 0.8 μ L,下游引物 0.8 μ L,

cDNA 1.5 μL, DEPC 水 6.9 μL, 反应总体系为 20 μL。荧光定量 PCR 反应程序:95 ℃ 预变性 90 s; 95 ℃ 变性 15 s, 95 ℃ ~55 ℃ 梯度退火 20 s; 循环 35 次; 收集溶解曲线 65 ℃ 升高到 95 ℃, 每 5 s 升高 0.5 ℃。

1.3 数据处理

首先计算 *HIF-1α* 基因的相对表达量, 再采用 SAS 9.2 软件的 GLM 程序分析不同器官组织和不同饲养条件对中甸牦牛 *HIF-1α* 基因相对表达量的影响, 模型如下:

$$Y_{ijkl} = \mu + t_i + a_j + ta_k + e_{ijkl}$$

其中: Y_{ijkl} 为 *HIF-1α* 基因相对表达量; μ 为总体均值效应; t_i 为不同组织器官效应; a_j 为不同饲养条

件效应; ta_k 为不同组织器官和不同饲养条件的互作效应; e_{ijkl} 为随机残差效应。结果用“最小二乘均值 ± 标准差”表示, 并进行多重比较; $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 *HIF-1α* 基因在不同饲养条件下及不同组织器官中的表达分析

由表 3 可看出, *HIF-1α* 基因在不同饲养条件下的中甸牦牛不同组织器官相对表达量的最小二乘方差分析结果表明, 不同组织器官的 *HIF-1α* 基因相对表达量有极显著的差异 ($P < 0.01$), 异地饲养对 *HIF-1α* 基因相对表达量有显著影响 ($P < 0.05$)。

表 3 不同饲养条件下中甸牦牛不同组织器官 *HIF-1α* 基因相对表达量的最小二乘分析

	组织器官		饲养条件		组织器官 * 饲养条件	
	均方 MS	自由度 df	均方 MS	自由度 df	均方 MS	自由度 df
相对表达量	12.344 **	7	17.877 *	1	11.335 ns	7

注: * 表示影响显著 ($P < 0.05$), ** 表示影响极显著 ($P < 0.01$), ns 表示影响不显著 ($P > 0.05$)

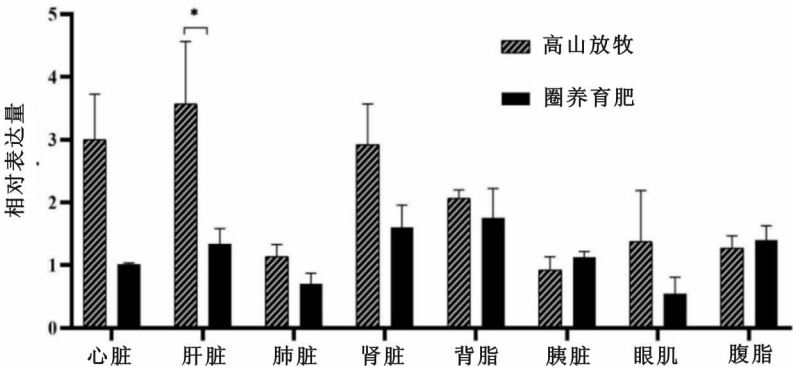


图 1 中甸牦牛 *HIF-1α* 基因在不同饲养条件下及不同组织器官中的表达量

由图 1 可见, 通过比较 *HIF-1α* 基因在不同饲养条件下及不同组织器官中的相对表达量, *HIF-1α* 基因的相对表达量在高山放牧的中甸牦牛肝脏中显著高于圈养育肥的 ($P < 0.05$), 其余组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 *HIF-1α* 基因在不同组织器官中的表达分析

由表 4 看出, *HIF-1α* 基因在中甸牦牛不同组织器官中相对表达量的最小二乘均值 (LSM) 及多重比较结果表明, *HIF-1α* 基因在中甸牦牛的肝脏、肾脏、心脏和背脂中表达量较其它组织器官的高 ($P < 0.05$), 肝脏中的相对表达量极显著高于腹脂、眼肌、肺脏、胰脏中 ($P < 0.01$), 显著高于腹脂、眼肌中 ($P < 0.05$); 在肺脏、胰脏、眼肌和腹脂之间的表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 以胰脏、肺脏和

眼肌的表达量最少。

表 4 中甸牦牛不同组织器官 *HIF-1α* 基因相对表达量的最小二乘分析

组织器官	亮相对表达量
心脏	2.323 ± 0.476 ^{ABa}
肝脏	2.840 ± 0.476 ^{Aa}
肺脏	0.807 ± 0.476 ^{Cbc}
肾脏	2.390 ± 0.476 ^{ABa}
背脂	1.761 ± 0.476 ^{ABCab}
胰脏	0.732 ± 0.476 ^{Cbc}
眼肌	0.957 ± 0.476 ^{BCbc}
腹脂	1.064 ± 0.476 ^{BCb}

注: 同列不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$), 相同大写字母表示没有极显著差异 ($P > 0.01$); 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 相同小写字母表示无显著差

异($P>0.05$)。下表同。

2.3 *HIF-1 α* 基因在不同饲养条件下的表达分析

由表 5 看出,*HIF-1 α* 基因在不同饲养条件的中甸牦牛中相对表达量的 LSM 及多重比较结果表明,*HIF-1 α* 基因在高山放牧的中甸牦牛中的相对表达量显著高于圈养育肥的中甸牦牛,是异地圈养表达量的 1.7 倍($P<0.05$)。

表 5 不同饲养条件下中甸牦牛 *HIF-1 α* 基因相对表达量的最小二乘分析

饲养条件	相对表达量
高山放牧	2.034 $\pm$ 0.186 ^a
圈养育肥	1.186 $\pm$ 0.347 ^b

3 讨论

HIF-1 α 是作为低氧应答信号通路中的关键基因,通过调节下游基因的表达水平,还能介导能量代谢、细胞生长和凋亡、血管新生、氧的摄取和运输等表达,以及氧平衡状态的调节。常氧状态下,*HIF-1 α* 经泛素化后迅速被蛋白酶降解,而在低氧高寒条件下 *HIF-1 α* 在核内迅速积累,与 *HIF-1 β* 结合形成功能性转录因子复合体 *HIF-1*,呈高度表达,是维持低氧条件下氧平衡的关键性转录因子^[10-11,16-18]。通过研究高原动物对环境的适应性机制,有人发现机体并不依赖某些器官功能的变化,更主要的是通过调整细胞代谢、低氧诱导因子 *HIF-1 α* 信号通路的基因表达等分子水平的改变而适应高原环境,所进化的适应性机制主要有肌红蛋白(Mb)及血红蛋白(Hb)含量增加、血红蛋白氧亲和力增加、血管内皮生长因子(VEGF)及舒张因子(EDRF)含量增加、细胞代谢及内呼吸适应等^[11,16-18]。研究发现,低氧应答信号通路中的重要基因 *HIF-1 α* 在牦牛以及藏族人群中都受到剧烈的正向选择,表明该基因在高海拔适应性中具有重要作用^[19-20]。高原地区地理位置独特、自然环境恶劣,因而牦牛需要克服低氧、低温、高紫外线辐射等恶劣因素,除了生理形态上适应,其基因组也发生了极大的变化^[21]。

HIF-1 α 基因 mRNA 表达为揭示高原土著哺乳动物的适应性机制提供了分子基础,在各种哺乳动物如藏羚羊、高原鼠兔、鼯鼠、牦牛等的不同组织中广泛表达,具有组织特异性^[22-31]。在各种组织中的 *HIF-1 α* 基因表达水平不一,对于藏羚羊,*HIF-1 α* 基因表达以肺脏最高,显著高于藏绵羊和平原绵羊,而通过驯化的藏绵羊的基因表达水平也显著低于藏羚羊^[23],马岗鹅 *HIF-1 α* 基因表达以肺脏和胰腺较高^[24]。而在牦牛的报道中,*HIF-1 α* 基因在麦洼牦牛肝脏和脑中高度表达^[25],在青海家牦牛睾丸和脾脏中的表达量高于其他组织器官^[26],而在甘南牦牛

中其在心脏中表达量高于骨骼肌和肝脏,肝脏中的表达量在三者中最低^[27]。本研究首次建立中甸牦牛 *HIF-1 α* 基因表达差异的检测方法,高山放牧和异地饲养的中甸牦牛在不同组织器官中均有表达,在肝脏、肾脏、心脏中显著高表达,在眼肌、胰脏和肺脏中的表达量较少。因此,推测不同高原土著动物的 *HIF-1 α* 基因在组织中表达的特异性可能对于维持体内 *HIF-1 α* 高水平有一定的调节作用,而且不同高原土著动物中 *HIF-1 α* 基因的组织差异性较大,其遗传机制需进一步研究。

本研究通过将原本在海拔 $>3\,200\text{ m}$ 、年均气温 5.8°C 的迪庆州高山放牧的中甸牦牛异地圈养于海拔 $1\,910\text{ m}$ 、平均气温 14.9°C 小哨示范牧场,通过比较二者 *HIF-1 α* 基因的相对表达量,首次发现高山放牧的中甸牦牛中显著高于圈养育肥(昆明饲养时间 >1.5 年)的表达水平,相差 1.7 倍多,跟鼯鼠的低氧调节机制接近^[31];同时,发现高山放牧的中甸牦牛 *HIF-1 α* 基因在肝脏的相对表达量显著高于圈养育肥的水平。本研究结果与藏鸡胚胎的表达模式不一样^[32],与短时间(7 d)饲喂的高原鼠兔的表达水平也相去甚远^[33]。本研究结果可能从一个侧面反应了中甸牦牛适应异地饲养的分子变化水平,但要全面综合探讨高原动物不同组织器官中 *HIF-1 α* 基因表达差异,有待考虑更多基因的表达水平。

4 结论

作为低氧应答信号通路中的关键基因,*HIF-1 α* 基因在中甸牦牛不同组织器官中广泛表达且具有组织特异性,其在不同海拔饲养条件的相对表达量具有显著差异。

参考文献:

- [1] 《云南省家畜家禽品种志》编写委员会. 云南省家畜家禽品种志[M]. 昆明:云南科技出版社,1987:88-94.
- [2] 杨国荣,杨繁,杨晓峰,等. 中甸牦牛资源及开发利用建议[J]. 中国奶牛,2015(7): 47-49.
- [3] 陈学礼,和嘉华,邹淑昆,等. 中甸牦牛产业现状及发展思路[J]. 安徽农业科学,2018,46(10): 194-195.
- [4] 孙丽媛,袁再美,全伟,等. 中甸牦牛体型外貌调查及生长发育规律分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2020(23): 139-142.
- [5] 亏开兴,廖祥龙,钟绍丽,等. 中甸牦牛季节性体重变化动态分析[J]. 草食家畜,2020(5): 10-15.
- [6] SRINIVAS V, ZHU X, SALCEDA S, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha (*HIF-1alpha*) is a non-heme iron protein. Implications for oxygen sensing[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(10): 6519-6525.
- [7] 马玲,金玉楠,于艳秋. 缺氧诱导因子新进展[J]. 解剖科学进展,2009,15(2): 237-241.
- [8] SEMENZA GL, AGANI F, BOOTH G, et al. Structural and functional analysis of hypoxia-inducible factor 1[J]. Kidney International, 1997, 51(2): 553-555.

- [9] SALCEDA S, CARO J. Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(36): 22642-22647.
- [10] KE Q, COSTA M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) [J]. Molecular Pharmacology, 2006, 70(5): 1469-1480.
- [11] LYER NV, KOTCH LE, AGANI F, et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha[J]. Genes & Development, 1998, 12(2): 149-162.
- [12] GUILLEMIN K, KRASNOW MA. The hypoxic response: huffing and HIFing[J]. Cell, 1997, 89(1): 9-12.
- [13] 马秀梅, 贺芷慧, 田迷, 等. 牦牛高海拔下基因调控研究进展[J]. 畜牧兽医科学, 2019(18): 4-6.
- [14] QIU Q, ZHANG G, MA T, et al. The yak genome and adaptation to life at high altitude[J]. Nature Genetics, 2012, 44(8): 946-949.
- [15] 和占星, 赵刚, 王安奎, 等. 中甸犏牛“异地育肥、反季出栏”模式的初步研究[J]. 中国牛业科学, 2015, 41(6): 11-18.
- [16] WANG GL, JIANG BH, RUE EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension[J]. Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America, 1995, 92(12): 5510-5514.
- [17] SEMENZA GL, SHIMODA LA, PRABHAKAR NR. Regulation of gene expression by HIF-1 [J]. Novartis Foundation Symposium, 2006, 272: 2-8.
- [18] 魏登邦, 马建宾. 哺乳动物对高海拔低氧适应的分子机制研究进展[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2001, 19(1): 15-17.
- [19] BRUGNIAUX JV, HODGES ANH, HANLY PJ, et al. Cerebrovascular responses to altitude[J]. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2007, 158(2): 212-223.
- [20] SIMONSON TS, YANG Y, HUFF CD, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet [J]. Science, 2010, 329(5987): 72.
- [21] 龙科任. 从 miRNA 转录组层面揭示多物种的高海拔适应性机制[D]. 雅安: 四川农业大学, 2018.
- [22] Wang DP, Li HG, Li YJ, et al. Hypoxia-inducible factor 1 α cDNA cloning and its mRNA and protein tissue specific expression in domestic yak (*Bos grunniens*) from Qinghai-Tibetan plateau [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 348(1): 310-319.
- [23] 刘芳, 乌仁塔娜, 马兰, 等. 藏羚羊低氧诱导因子 1 α 基因的克隆与组织表达[J]. 生理学报, 2011, 63(06): 565-573.
- [24] 郭德淑, 陈世健, 杨晨, 等. 鹅 *HIF-1 α* 基因克隆与组织表达分析[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2020, 33(2): 15-20.
- [25] 柏玛, 胡明军, 杨远潇, 等. 牦牛低氧适应相关基因启动子甲基化程度与组织差异表达关系研究[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(12): 67-72.
- [26] 王德朋, 李红阁, 郭松长, 等. 青海家牦牛 *HIF-1 α* 基因组织特异性表达[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(29): 9173-9175.
- [27] 贺芷慧, 田迷, 汪喜卫, 等. 牦牛代谢调控酶与低氧相关基因表达间的关联性研究[J]. 现代畜牧兽医, 2020(11): 23-26.
- [28] 赵晓萌, 买雨晨, 乔自林, 等. 缺氧诱导因子-1 α 在牦牛肺脏中的表达及分布情况[J]. 甘肃畜牧兽医, 2020, 50(9): 44-47.
- [29] ZHAO TB, NING HX, ZHU SS, et al. Cloning of hypoxia-inducible factor 1alpha cDNA from a high hypoxia tolerant mammal-plateau pika (*Ochotona curzoniae*) [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 316(2): 565-572.
- [30] XIONG X, FU M, LAN D, et al. Yak response to high-altitude hypoxic stress by altering mRNA expression and DNA methylation of hypoxia-inducible factors [J]. Animal Biotechnology, 2015, 26(3): 222-229.
- [31] SHAMS I, AVIVI A, NEVO E. Hypoxic stress tolerance of the blind subterranean mole rat; expression of erythropoietin and hypoxia-inducible factor 1 alpha [J]. Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(26): 9698-9703.
- [32] 王存芳, 吴常信, 李宁. 鸡缺氧诱导因子-1 α 基因的差异表达与低氧适应性[J]. 遗传, 2007, 29(1): 75-80.
- [33] 赵同标, 赵新全, 常智杰, 等. 常氧下高原鼠兔 *HIF-1 α* mRNA 的表达[J]. 动物学研究, 2004, 25(2): 132-136.

Differential Expression of HIF - 1 α Gene in Zhongdian Yaks under Different Feeding Conditions

TANG Jia¹, YANG Yu¹, YANG Kai¹, HE Zhan-xing²,
JIN Xian-dong², QU Kai-xing^{2*}, WANG Xin^{1*}

(1. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction of Shaanxi Province, College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Yunnan Academy of Grassland and Animal Science, Kunming, Yunnan 650212)

Abstract: [Objective] In this study, adult Zhongdian yaks grazing on alpine pasture in Shangri-La of Diqing prefecture, and fattening more than 1.5 years in captivity on the eastern suburb of Kunming, were used to reveal the expression differences of *HIF-1 α* gene from different tissues under two different feeding conditions. [Methods] Real time PCR (RT-qPCR) was used to determine the expression levels of the *HIF-1 α* gene in different tissues from Zhongdian yak under different feeding conditions. [Result] The results showed that the relative expression of the *HIF-1 α* gene in Zhongdian yak varied significantly in different tissues ($P < 0.01$), and it was significantly higher in Alpine grazing than that the captive animals under different feeding conditions ($P < 0.05$), and it was significantly higher in liver from alpine grazing than that in captive animals ($P < 0.05$). [Conclusion] *HIF-1 α* gene was widely expressed in different tissues in Zhongdian yak with significant tissue-specificity. There were significant differences of relative expression of *HIF-1 α* from different altitudes, providing a theoretical basis for the mechanism of hypoxia tolerance in yaks.

Key words: Zhongdian yak; *HIF-1 α* gene; RT-qPCR; expression difference