

# DNA 甲基化在肉牛分子遗传与育种中的研究进展

房希碧, 杨润军\*

(吉林大学动物科学学院, 吉林长春 130062)

**摘要:** DNA 甲基化是真核生物表观遗传的重要修饰方式之一, 该文概述了真核生物 DNA 甲基化的修饰原理以及现阶段 DNA 甲基化的检测方法和技术手段, 进一步对 DNA 甲基化修饰模式和参与基因表达调控的研究现状进行了阐释。目前, DNA 甲基化的研究是畜禽经济性状研究领域的热点之一, 猪肌肉发育、羊体尺性状以及奶牛乳房炎等研究获得了多个 DNA 甲基化标记。此外, DNA 甲基化与肉牛发育和脂肪沉积相关研究定位和筛选了大量的候选甲基化修饰区域, 这些研究结果为肉牛分子遗传研究奠定了基础, 也为肉牛生物育种提供了表观遗传学候选标记。

**关键词:** 肉牛; DNA 甲基化; 表观遗传; 分子育种

自《全国肉牛遗传改良计划(2011—2025)》实施以来, 我国初步建立了肉牛联合育种体系, 结合人工授精和胚胎移植的应用, 有力推进了我国肉牛种业的发展。但是, 目前我国地方肉牛品

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 国家自然科学基金(31972993); 吉林省重大科技专项(农业领域)(YDZJ202203CGZH037)。

作者简介: 房希碧(1989—), 女, 博士, 研究方向: 动物遗传与分子育种。

\*通信作者: 杨润军(1979—), 博士, 教授, 研究方向: 动物遗传与分子育种。

- 征[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2022.
- [31] Zhu C, Petracci M, Li C, et al. An Untargeted Metabolomics Investigation of Jiulong Yak (*Bos grunniens*) Meat by 1H-NMR[J]. *Foods*, 2020, 9(4):481.
- [32] Zhu C, Preissl S, Ren B. Single-cell multimodal omics: the power of many[J]. *Nat Methods*, 2020, 17(1):11-14.
- [33] Lyu P, Qi Y, Tu Z J, et al. Single-cell RNA Sequencing Reveals Heterogeneity of Cultured Bovine Satellite Cells[J]. *Front Genet*, 2021, 12:742077.
- [34] Cai C, Wan P, Wang H, et al. Transcriptional and open chromatin analysis of bovine skeletal muscle development by single-cell sequencing[J]. *Cell Prolif*, 2023, 1:e13430.
- [35] 罗锦堂. 肌肉发育分化关键 cncRNA 及其编码微肽的多组学联合鉴定分析及调控作用研究[D]. 天津:天津农学院, 2022.
- [36] Fonseca P A S, Id-Lahoucine S, Reverter A, et al. Combining multi-OMICs information to identify key-regulator genes for pleiotropic effect on fertility and production traits in beef cattle [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10):e0205295.
- [37] Mullins Y, Keogh K, Blackshields G, et al. Transcriptome assisted label free proteomics of hepatic tissue in response to both dietary restriction and compensatory growth in cattle [J]. *J Proteomics*, 2021, 232:104048.
- [38] Cónovas A, Reverter A, DeAtley K L, et al. Multi-tissue omics analyses reveal molecular regulatory networks for puberty in composite beef cattle[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e102551.

种的肌肉脂肪沉积能力与国外优良的肉牛品种仍然存在差距, 优质肉牛品种的培育依然是我国肉牛种业振兴和发展的方向。现代生物育种新技术的研究及应用大幅度提高了我国肉牛育种效率, 为进一步推进我国肉牛优良品种选育和新品种培育进程, 保证生物育种新技术的顺利实施, 获得具有突破性的分子基础理论和关键技术手段是我国肉牛品种培育和改良的关键。表观遗传调控在不改变 DNA 序列的前提下改变了表型。在畜禽的研究中发现受表观遗传调控的基因与一些表型性状相关, 其中包括肌肉品质和脂肪沉积<sup>[1]</sup>。表观遗传机制, 即 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 介导的基因表达调控。DNA 甲基化是真核生物中基因组主要的修饰方式之一, 也是一种重要的表观遗传学机制, 其可以通过在不同条件下改变染色质结构或转录效率, 参与基因表达的调节, 参与重要的生物过程, 包括胚胎发育, 肌肉的生长和脂肪的积累等。我国已经初步建立了肉牛联合育种体系, 结合人工授精和胚胎移植的应用, 有力推进了我国肉牛种业的发展, 优质肉牛品种的培育依然是我国肉牛分子遗传与育种发展的方向。随着畜禽遗传领域筛查和鉴定与经济性状密切相关 DNA 甲基化研究的深入, 其将为畜禽育种开启表观遗传水平的品种改良和选育的崭新篇章。

## 1 DNA 甲基化概述

真核生物中, 甲基化是基因组主要的修饰方式之一, 也是一种重要的表观遗传学机制, 对基因的表达调控具有重要的作用。DNA 甲基化是将甲基基团添加到 DNA 分子的过程, 是最早发现的表观遗传修饰途径之一。胞嘧啶甲基化在真核生物和原核生物中广泛存在, 但在各物种间的修饰程度存在较大差异。5 甲基胞嘧啶的功能最早在 20 世纪 70 年代被提出, 在植物, 动物和其他

生物中, 三种不同的序列背景中存在 DNA 甲基化, 包括 CG (或 CpG), CHG 或 CHH (其中 H 对应于 A, T 或 C)。在哺乳动物中, DNA 甲基化主要存在于 CpG 二核苷酸中, 两条链上的胞嘧啶通常被甲基化。然而, 非 CpG 甲基化可以在胚胎干细胞中观察到<sup>[2-4]</sup>, 并且这一现象也在神经发育中被发现<sup>[5]</sup>。此外, 在造血祖细胞中也观察到非 CpG 甲基化, 并且它主要发生在 CpApC 序列中<sup>[6]</sup>。DNA 甲基化的作用本质上与甲基化的建立, 维持, 移动机制是连锁的。并且已有证据表明, DNA 甲基化以及许多同一时期的 DNA 甲基转移酶被认为是从早期原始 RNA 甲基化活动演变的<sup>[7]</sup>。甲基化转移酶已经在多年前被认知, 包括称为重新 DNA 甲基化酶的 DNMT3A 和 DNMT3B, 随着研究的深入, DNMT3A 和 DNMT3B 也参与甲基化的维持<sup>[8]</sup>。编码 OCT4 和 NANOG 基因的转录因子基本维持在胚胎干细胞的状态, 最近研究表明, OCT4 和 NANOG 启动子可能被 AID 或者 TET3 去甲基化<sup>[9]</sup>。然而, 一些组织特异性基因在精子和胚胎干细胞中甲基化, 仅在该基因表达的特殊组织去甲基化<sup>[10]</sup>。

## 2 DNA 甲基化检测的方法

准确的检测 DNA 甲基化和改变 DNA 甲基化模式是了解其对基因表达和细胞表型调控作用的重要手段。基因特异性甲基化模式的检测方法相对简单: 亚硫酸盐测序 (Sanger 测序) 和几种基于 PCR 的方法, DNA 测序作为一种重要的实验技术, 在生物学研究中有着广泛的应用, 然而随着 DNA 甲基化研究领域的发展, 传统的 Sanger 测序已经不能完全满足研究的需求。随着后基因组时代的到来, 转录组学、蛋白质组学、表观组学、代谢组学等各种组学技术相继出现, 在过去十年中, 开发和研究 DNA 甲基化的方法方面取得了显著的进展。二代测序技术的应用使得能够

以前所未有的规模对甲基化标记进行分析,人甲基化 450K 基因芯片是目前全基因组 DNA 甲基化分析比较流行的方法,它提供了关于 482421 个 CpG 位点的信息<sup>[1]</sup>,450k 仅用于人类样品的分析,近几年也已经开发了小鼠和牛等多个物种的甲基化芯片。在此之前,已经开发包括基因甲基化芯片和二代测序技术,用以研究全基因组 DNA 甲基化。目前,用于描述基因座特异性甲基化的几种方法现在已经使用高通量测序或阵列平台升级到全基因组水平,全基因组亚硫酸氢盐测序(WGBS)可能是目前研究甲基化的最强有力的方法,因为它允许检测基因组中的每个 CpG 位点(通常在可绘制的人类基因组中覆盖 20 百万~22 百万个 CpG)。除了亚硫酸氢盐转化的额外步骤,WGBS 文库可以与正常全基因组测序类似地制备。WGBS 方法的变体是 T-WGBS(基于转座酶的文库构建)和 PBAT(后亚硫酸氢盐接头标记,其可以用少至 125pg 的输入 DNA 进行)<sup>[32]</sup>。

此外,随着表观遗传学研究的深入,包括 ATAG-Seq、CHIP-Seq、Hi-C 等技术也与 DNA 甲基化检测技术联合应用分析,将 DNA 甲基化水平研究与组蛋白修饰和染色体可及性分析染色质的修饰信息全面系统的信息呈现出来。此外,低细胞数或单细胞 DNA 甲基化分析将成为在未来几年的研究热点,这些技术在细胞中深入研究表观遗传具有相当大的影响。然而,由于多种技术存在,研究人员面临的挑战是评估每种技术的潜在优点或局限性,并选择适当的方法进行分析。精确测量 DNA 甲基化的新技术的发展一直是这一领域研究的焦点,现有方法的变体或新方法将继续被开发和应用。其中,人类医学领域开发用于标记物测试和临床应用的简单且方便的 DNA 甲基化测量技术非常重要,对于畜禽研究遗传领域筛查和鉴定与经济性状密切相关的 DNA 甲基化标记,DNA 甲基化检测技术的发展将为畜

禽育种工作者们开展表观遗传水平的品种改良和选育提供新策略。

### 3 DNA 甲基化与基因表达调控

DNA 甲基化是一种稳定的表观遗传学机制,其在调节基因表达和确定细胞的表型中起重要作用,某些 DNA 甲基化异常也是一些疾病的病因。DNA 甲基化的作用是细胞功能的基础,如基因组印记,X 染色体失活,组织分化,表型可塑性和疾病易感性<sup>[11-17]</sup>,甲基化对基因的表达调控具有非常重要的作用,一般认为存在启动子与第一外显子的甲基化普遍导致转录沉默。基因组范围的研究存在甲基化与表达水平负相关的假说<sup>[18]</sup>,重新分析数据表明这种基因表达和甲基化的相关性在全基因组范围是非常明显的<sup>[19]</sup>。通过 DNA 甲基化使基因保持在一个稳定抑制状态,启动子上 CG 岛甲基化,导致基因失活的机制被广泛研究。在 DNA 装配到核小体后,转录因子起始位点甲基化,基因将不能起始转录<sup>[20]</sup>。甲基化的启动子在转录起始位点拥有核小体<sup>[21]</sup>,具有 H3K9me3 的抑制标记,并通过甲基化的 DNA 结合蛋白稳定,反过来在该区域富集了组蛋白脱乙酰酶<sup>[22]</sup>。在非 CG 岛启动子稳定失活基因的表达状态与甲基化变化的因果关系一直被争论。由于转录因子能结合甲基化的 DNA 序列,随后导致这些区域的被动去甲基化<sup>[23]</sup>,这个甲基化的改变是否是转录的结果或者是它们稳定转录的无功能状态尚不清楚。非 CG 岛区域甲基化对于转录因子结合靶位点有直接影响,MYC 结合它的同源序列直接抑制甲基胞嘧啶的出现<sup>[24]</sup>,但是,SP1 并没有表现这种作用<sup>[25]</sup>。然而,在基因转录研究中,转录因子结合位点甲基化可以降低基因的表达量,研究指出在转录起始位点 CpG 甲基化和基因表达的因果关系,但是关于这个过程可能存在的机制仍然需要讨论。

此外, 早先研究认为基因体甲基化是基因转录的特征<sup>[26]</sup>, 在基因体甲基化和活跃转录存在广泛的正相关这一现象, 已经在 X 染色体活化<sup>[27]</sup>和植物和动物鸟枪法亚硫酸盐测序被证实<sup>[28]</sup>。许多基因没有 CG 岛, 也有少数例外。当 CG 岛位于内含子区域, 它们被认为不被甲基化。大多数基因结构不是 CG 岛, 除少数 CG 岛位于基因内区域时, 认为它们是未被甲基化的。然而, 最近一些研究改变了这个观念, 他们认为, 在人的脑组织中, 34%的内含子 CG 岛是被甲基化的<sup>[29]</sup>, 但这些组织特异性的甲基化的作用目前仍不清楚。在癌症中, 内含子 CG 岛也能优先被重新甲基化<sup>[30]</sup>。尽管基因结构的 CG 岛被广泛甲基化, 但是这种类型的 DNA 甲基化不能阻碍基因转录, 但当它们出现在转录起始位点时, 它们染色质仍具有与转录抑制相关的特点<sup>[29]</sup>, 这导致甲基化在启动子抑制转录, 而在基因上与促进转录存在明显的矛盾。因此, 在哺乳动物中, DNA 甲基化是通过转录起始, 而不是转录延伸来沉默基因。也有研究结果表明在基因结构上的 DNA 甲基化不仅限于沉默基因内重复 DNA 序列的功能, 可能具有调控转录和剪接的作用。

#### 4 畜牧产业中 DNA 甲基化的研究进展

我国具有丰富的肉牛地方品种和培育品种资源, 这些品种具有独特的生长、肉质、抗病和乳品质等优良性状。随着细胞工程和分子标记等现代分子育种技术的发展, 肉牛育种正朝着常规选育方法与分子生物学、生物信息学和计算机信息技术相结合的方向发展。大多数分子育种的研究和应用以在基因组水平变异作为标记, 较少关注非 DNA 序列信息改变引起的生物学效应, 导致一些重要经济性状的研究未能获得有效的提高生产性能的标记, 阻碍了分子育种进程。作为表观遗传学重要机制, 畜禽育种领域对甲基化的研究

近年来取得了突飞猛进的进展。多个物种的全基因组 DNA 甲基化已经被报道, 如牛 (胎盘, 乳腺组织, 肌肉, 外周血)<sup>[33-37]</sup>, 猪 (脂肪和肌肉)<sup>[38-41]</sup>, 羊 (肌肉)<sup>[42]</sup>等。研究表明  $\alpha$ s1-casein、CD4 基因启动子的甲基化与奶牛乳房炎症密切相关<sup>[34, 35]</sup>, NRG1, MST1 和 NAT9 基因的甲基化可以作为金黄色葡萄球菌引起的隐性乳房炎的标记物<sup>[43]</sup>。目前, 全世界的牛分子育种工作仍在集中在基因组和转录组水平, 对于表观遗传水平的研究和应用尚处于初级阶段, 畜禽的某些重要经济性状仍然无法通过基因组序列变异给予完整的解释, 因此, 深入研究表观遗传修饰对畜禽经济性状的作用显得尤为重要。目前, 陆续发现一些表观遗传参与调控肉牛重要经济性状的形成过程, 增加了对肉牛基因组遗传信息研究的维度, 为已知基因作用机制的阐明及对新基因的鉴定提供了新思路。

在肉牛研究中, 牛体尺和胴体性状相关的 LCORL 基因启动子区 DNA 甲基化水平与 mRNA 进行了分析<sup>[44]</sup>, 通过比较胎儿和成年牛的甲基化图谱发现, 牛发育过程中与牛的肌肉发育有关, 同时这些甲基化差异区域可能通过 microRNA 调节基因的表达水平<sup>[45]</sup>。随着组学技术的发展, 研究者利用 MeDIP-Seq 技术展示了牛胎盘的全基因组 DNA 甲基化的蓝图<sup>[33]</sup>。不同脂肪沉积能力的日本和牛与草原红牛背最长肌全基因组 DNA 甲基化的研究中, 筛选获得与牛肉质性状密切相关的大量候选 DNA 甲基化区域和候选基因<sup>[37]</sup>。随着探索 DNA 甲基化在牛的生长发育和繁殖中的作用的增加, 牛各组织 DNA 甲基化结果的相继发表, Haluškova 等<sup>[46]</sup>统计了前期的关于牛各组织 DNA 甲基化的研究数据, 并进一步整合分析, 为研究者们提供了牛各组织 DNA 甲基化模式。此后, 荷斯坦牛各组织的 DNA 甲基化组学分析中, 也获得了各组织的 DNA 甲基化模式, 并

发现在各组织间的甲基化模式存在较大差异,而亲缘关系近的物种间的相同组织的甲基化模式更为接近,此外,精子中的某些甲基化水平的改变是为了更好的将潜在转录因子结合域暴露,从而影响基因的表达调控<sup>[47]</sup>。最新研究发现,牛 DNA 甲基化受到遗传和年龄的影响<sup>[48]</sup>,且与牛的形态学适应性状密切相关<sup>[49]</sup>,这提示 DNA 甲基化可能成为表型预测的重要指标。以上研究为牛 DNA 甲基化和表观遗传学的研究提供了大量的分子理论依据。

虽然牛的各发育阶段和各组织样品的全基因范围内的 DNA 甲基化已经展开研究,并且筛选获得了与牛生长发育和经济性状等密切相关的候选修饰区域和功能基因,但是由于表观遗传修饰受到环境影响较大,且目前针对 DNA 甲基化修饰在个体之间的稳定性以及亲代和子代之间的遗传规律等知之甚少,使得进一步深入挖掘 DNA 甲基化的遗传方式和作用机制受到一定程度的制约。此外,开发新的、有效的、精确的、快速的和低成本 DNA 甲基化检测技术也将为 DNA 甲基化的深入研究和应用提供重要途径。

## 5 小结

综上所述, DNA 甲基化是表观遗传学领域研究的热点问题,针对研究的需求开发了多种检测的技术。目前,研究表明 DNA 甲基化与畜禽生产性状密切相关,并且在多个物种的研究也积累了大量的数据,取得了一定的研究基础。随着遗传学的发展以及表观遗传研究的深入,与表观遗传密切相关的经济性状的研究逐步发掘和验证, DNA 甲基化将会成为阐释肉牛经济性状发展和形成的重要遗传学机制。但是 DNA 甲基化在机体的生长发育过程存在动态的变化,具有组织的特异性等特性,且基因组范围内大量的 DNA 甲基化与性状之间的关系尚未得到进一步的分析和验证,

关于肉牛的 DNA 甲基化的研究处于初级阶段。因此, DNA 甲基化分子标记挖掘和验证依然是肉牛遗传和育种中的重要研究方向。在今后的牛分子育种工作中, DNA 甲基化的研究成果将为表观遗传学标记的发展和理论应用奠定理论基础。

### 参考文献:

- [1] 金美林,李桃桃,孙东晓,等.表观遗传调控在畜禽脂肪沉积机制中的研究进展[J].畜牧兽医学报,2023,54(3):855-867.
- [2] Dodge J E, Ramsahoye B H, Wo Z G, et al. De novo methylation of MMLV provirus in embryonic stem cells: CpG versus non-CpG methylation[J]. Gene, 2002, 289(1-2):41.
- [3] Haines T R, Rodenhiser D I, Ainsworth P J. Allele-specific non-CpG methylation of the NF1 gene during early mouse development[J]. Developmental biology, 2001, 240(2):585.
- [4] Lister R, Pelizzola M, Dowen R H, et al. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences [J]. Nature, 2009, 462(7271):315-322.
- [5] Lister R, Mukamel E A, Nery J R, et al. Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development[J]. Science, 2013, 341(6146):629.
- [6] Kulis M, Merkel A, Heath S, et al. Whole-genome fingerprint of the DNA methylome during human B cell differentiation[J]. Nature Genetics, 2015, 47(7):746.
- [7] Rana A K, Ankri S. Reviving the RNA world: An insight into the appearance of RNA methyltransferases[J]. Front Genet, 2016, 7 (a003574):99.
- [8] Jones P A, Liang G. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained[J]. Nature Reviews Genetics, 2009, 10(11):805.
- [9] Bhutani N, Brady J J, Damian M, et al. Reprogramming towards pluripotency requires aid-dependent DNA demethylation [J]. Nature, 2010, 463(7284):1042-1047.
- [10] Han H, Cortez C C, Yang X, et al. DNA methylation directly silences genes with non-CpG island promoters and establishes a nucleosome occupied promoter [J]. Human Molecular Genetics, 2011,

- 20(22):4299–4310.
- [11] Carrel L, Willard H F. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females[J]. *Nature*, 2005, 434(7031):400.
- [12] Rollins R A, Haghghi F, Edwards J R, et al. Large-scale structure of genomic methylation patterns [J]. *Genome research*, 2006, 16(2):157–163.
- [13] Suzuki M M, Bird A. DNA methylation landscapes: Provocative insights from epigenomics[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2008, 9(6):465.
- [14] Igarashi J, Muroi S, Kawashima H, et al. Quantitative analysis of human tissue-specific differences in methylation[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2008, 376(4):658–664.
- [15] Aniruddha Chatterjee I M M. Monozygotic twins: Genes are not the destiny?[J]. *Bioinformatics*, 2011, 7(7):369–370.
- [16] Chatterjee A, Eccles M R. DNA methylation and epigenomics: New technologies and emerging concepts[J]. *Genome Biology*, 2015, 16(1):1–5.
- [17] Chatterjee A. Conference scene: Epigenetic regulation: From mechanism to intervention[J]. *Epigenomics*, 2015, 4(5):487.
- [18] Weber M, Davies J J, Wittig D, et al. Chromosome-wide and promoter-specific analyses identify sites of differential DNA methylation in normal and transformed human cells[J]. *Nature Genetics*, 2005, 37(8):853–862.
- [19] Gal-Yam E N, Egger G, Iniguez L, et al. Frequent switching of Polycomb repressive marks and DNA hypermethylation in the PC3 prostate cancer cell line [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(35):12979.
- [20] Hashimshony T, Zhang J, Keshet I, et al. The role of DNA methylation in setting up chromatin structure during development[J]. 2003, 34(2):187–192.
- [21] Lin J C, Jeong S, Liang G, et al. Role of nucleosomal occupancy in the epigenetic silencing of the mlh1 CpG island[J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(5):432.
- [22] Wade P A, Wolffe A P. Recognizing methylated DNA[J]. *Nature Structural Biology*, 2001, 8(7):575.
- [23] Hsieh C L. Dynamics of DNA methylation pattern [J]. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2000, 10(10):224–228.
- [24] Prendergast G C, Ziff E B. Methylation-sensitive sequence-specific DNA binding by the c-Myc basic region[J]. *Science*, 1991, 251(4990):186.
- [25] Harrington M A, Jones P A, Imagawa M, et al. Cytosine methylation does not affect binding of transcription factor Sp1 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1988, 85(7):2066–2070.
- [26] Wolf S F, Jolly D J, Lunnen K D, et al. Methylation of the hypoxanthine phosphoribosyl transferase locus on the human X chromosome: Implications for X-chromosome inactivation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1984, 81(9):2806–2810.
- [27] Hellman A, Chess A. Gene body-specific methylation on the active X chromosome[J]. *Science*, 2007, 315(5815):1141.
- [28] Feng S, Cokus S J, Zhang X, et al. Conservation and divergence of methylation patterning in plants and animals [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(19):8689–8694.
- [29] Maunakea A K, Nagarajan R P, Bilenky M, et al. Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters [J]. *Nature*, 2010, 466(7303):253.
- [30] Nguyen C T, Gonzales F A, Jones P A. Altered chromatin structure associated with methylation-induced gene silencing in cancer cells: Correlation of accessibility, methylation, MeCP2 binding and acetylation[J]. *Nucleic acids research*, 2001, 29(22):4598–4606.
- [31] Tsan C. High density DNA methylation array with single CpG site resolution[J]. *Genomics*, 2011, 98(4):288–295.
- [32] Lee E J, Pei L, Srivastava G, et al. Targeted bisulfite sequencing by solution hybrid selection and massively parallel sequencing[J]. *Nucleic acids research*, 2011, 39(19):e127.
- [33] Su J, Wang Y, Xing X, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation in bovine placentas[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15:12.
- [34] Vanselow J, Yang W, Herrmann J, et al. DNA-remethylation

- around a STAT5-binding enhancer in the  $\alpha$ S1-casein promoter is associated with abrupt shutdown of  $\alpha$ S1-casein synthesis during acute mastitis [J]. *Journal of molecular endocrinology*, 2006, 37(3): 463-477.
- [35] Wang X, Zhang Y, He Y, et al. Aberrant promoter methylation of the CD4 gene in peripheral blood cells of mastitic dairy cows[J]. *Genetics and molecular research: GMR*, 2013, 12:6228-6239.
- [36] Nayan V, Singh K, Iquebal M A, et al. Genome-wide DNA methylation and its effect on gene expression during subclinical mastitis in water buffalo[J]. *Front Genet*, 2022, 13:828292.
- [37] Fang X, Zhao Z, Yu H, et al. Comparative genome-wide methylation analysis of longissimus dorsi muscles between Japanese black (wagyu) and Chinese red steppes cattle [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8):e0182492.
- [38] Li M, Tian S, Jin L, et al. Genomic analyses identify distinct patterns of selection in domesticated pigs and Tibetan wild boars[J]. *Nature genetics*, 2013, 45(12):1431-1438.
- [39] Corbett R J, Ford L M, Raney N E, et al. Pig fetal skeletal muscle development is associated with genome-wide DNA hypomethylation and corresponding alterations in transcript and microRNA expression[J]. *Genome*, 2023, 66(4):68-79.
- [40] Jin L, Jiang Z, Xia Y, et al. Genome-wide DNA methylation changes in skeletal muscle between young and middle-aged pigs [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1):653.
- [41] Li M, Wu H, Luo Z, et al. An atlas of DNA methylomes in porcine adipose and muscle tissues [J]. *Nature Communication*, 2012, 3:850.
- [42] 贾文超, 刘亮亮, 吴贤锋, 等. 山羊 STAT3 基因克隆、生物信息学分析及甲基化修饰研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(3):457-466.
- [43] Song M. P2016 Combined analysis of DNA methylome and transcriptome reveal novel candidate genes relevant with susceptibility to bovine subclinical mastitis [J]. *Journal of animal science*, 2016, 94(supplement4):45-45.
- [44] 韩玉娇. 秦川牛 LCORL 基因的多态性、mRNA 表达及启动子区甲基化研究[D]. 西安:西北农林科技大学, 2016.
- [45] Huang Y Z, Sun J J, Zhang L Z, et al. Genome-wide DNA methylation profiles and their relationships with mRNA and the microRNA transcriptome in bovine muscle tissue (*Bos taurine*)[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4:6546.
- [46] Halušková J, Holečková B, Staničová J. DNA methylation studies in cattle[J]. *J Appl Genet*, 2021, 62(1):121-136.
- [47] Zhou Y, Liu S, Hu Y, et al. Comparative whole genome DNA methylation profiling across cattle tissues reveals global and tissue-specific methylation patterns[J]. *BMC Biol*, 2020, 18(1):85.
- [48] Ribeiro A M F, Sanglard L P, Wijesena H R, et al. DNA methylation profile in beef cattle is influenced by additive genetics and age[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):12016.
- [49] Capra E, Lazzari B, Milanesi M, et al. Comparison between indicine and taurine cattle DNA methylation reveals epigenetic variation associated to differences in morphological adaptive traits[J]. *Epigenetics*, 2023, 18(1):2163363.