

NCOA1、OPN 和 RBP4 基因对仔猪初生重和 30 日龄体重的影响

杨国伟

(黑龙江省农业科学院 畜牧研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:采用 PCR-RFLP 方法检测了 NCOA1 基因,OPN 基因和 RBP4 基因的多态性,并且分析了不同基因型对仔猪出生重和 30 日龄体重效应的大小。结果表明:NCOA1 基因可显著影响仔猪的 30 日龄体重,AA 型个体比 BB 型个体增重显著($P<0.05$)。而 OPN 和 RBP4 基因的不同基因型对这 2 个性状的效应差异均不显著。在试验群体内,NCOA1 基因可作为一个有效的候选基因进行研究应用,而 OPN 和 RBP4 基因还需进一步扩大样本量进行相关性分析。

关键词:猪;NCOA1;OPN;RBP4;PCR-RFLP

中图分类号:S813.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)06-0005-03

核受体辅激活蛋白 1 基因(nuclear receptor coactivator 1 gene,NCOA1)可以增加雌激素受体基因(ESR)的活性,也因此可诱导一些专门与雌激素发生作用的基因活性和间接的、后续的生理反应^[1]。骨桥蛋白基因(Osteopontin,OPN)是细胞外基质中的一种重要的功能性蛋白,与心血管疾病、肿瘤的发生发展、抗炎以及损伤修复等有着密切的关系。近年来随着研究的深入,人们发现 OPN 基因在生殖领域中也有重要的作用^[2]。视黄醇结合蛋白是一个转录蛋白,它可以与视黄醇特异的结合并将其从肝脏中转运至靶组织,帮助视黄醇实现转运和在细胞中新陈代谢。据此,人们推测 RBP4 基因也是影响猪繁殖性状的候选基因之一^[3]。该研究以影响猪繁殖性状的候选基因 NCOA1、OPN 和 RBP4 基因为目的基因,采用 PCR-RFLP 的方法,检测和分析了不同基因型对仔猪初生重和 30 日龄体重效应的大小,为今后的分子标记辅助选择和猪育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用猪及耳样来自黑龙江省农业科学院畜

牧研究所野猪与大白猪杂交的 F₁ 选育群,选择了 2008 年 6 月 1~30 日产下的 25 窝共计 248 头健康仔猪个体(公猪 129 头,母猪 119 头),跟踪记录它们的初生重和 30 日龄体重。所采耳样用常规的酚/氯仿抽提法分别提取基因组 DNA,并纯化、检测浓度,稀释成 100 ng·mL⁻¹ 备用。

1.2 PCR 扩增

每个基因的 PCR 扩增用引物序列见表 1。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min,94℃ 变性 30 s,55~58℃ 复性 30 s,72℃ 延伸 40 s,返回到变性过程,运行 30~35 个循环,72℃ 后延伸 10 min。

1.3 PCR 产物酶切与分型

由于酶切后片段大小不同,使用的琼脂糖凝胶浓度也不相同。NCOA1 使用 1.5% 的琼脂糖凝胶,OPN 使用 0.8% 的琼脂糖凝胶,RBP4 使用 16.0% 的丙烯酰胺凝胶,其它信息详见表 1。

2 结果与分析

2.1 3 个基因的 PCR-RFLP 结果

NCOA1、OPN 和 RBP4 基因经各自的限制性内切酶酶切后所获得的带型图见图 1~图 3。

2.2 基因型频率与基因频率

通过表 2 可知,RBP4 基因的 A、B 基因频率基本相同,均接近于 0.5。NCOA1 基因的 A 为优势等位基因,OPN 的 B 为优势等位基因。

收稿日期:2010-03-29

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划重点资助项目(2008B ADB2B02)

作者简介:杨国伟(1976-),男,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,助理研究员,从事动物营养与遗传研究。E-mail: ygw800129@163.com。

表 1 3 个基因的相关信息基因座

基因座	引物序列(5'-3')	内切酶	基因型带型		
			AA	AB	BB
NCOA1	AGG GGC TAC CCT CCT GTA AG	Rsa I (5)	440	440,282,158	282,158
	CTT CTC TGC CAG TTC TCC AGT C				
OPN	GAG CAA GAT GGA ATG GGT T	—	971	971,665	665
	CTC GGT GTC TGT AAA GGT G				
RBP4	CAG GCT CAT GTA TTC GCT CAT TC	Msp I (4)	190,156,135,40,24,11,9	190,156,135,111,45,40,24,11,9	190,135,111,45,40,24,11,9
	TAC CAT CCG TCT CCT CAC TTT CC				

注:下划线为用于分型的可见带。

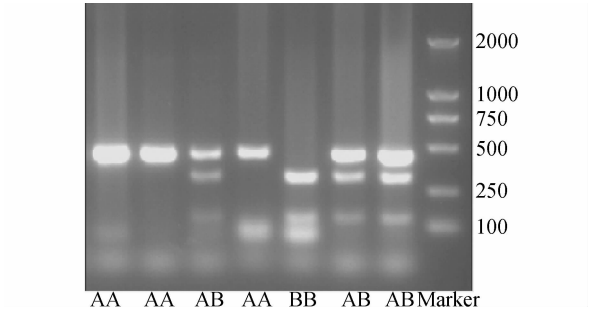


图 1 NCOA1 基因的 PCR-RFLP 多态性检测结果

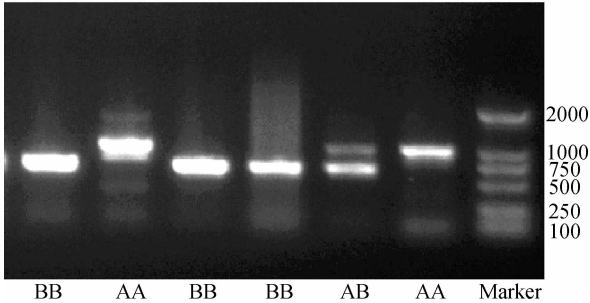


图 2 OPN 基因的多态性检测结果

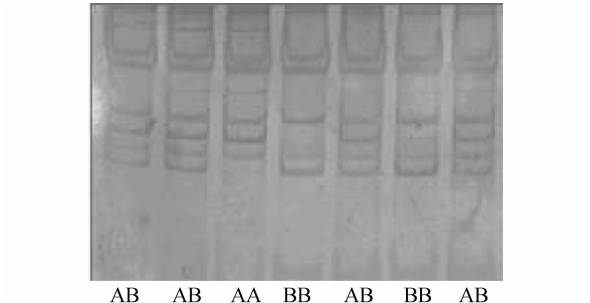


图 3 RBP4 基因的 PCR-RFLP 多态性检测结果

表 2 3 个基因的基因型频率和基因频率

基因	检出数	基因型频率			基因频率	
		AA	AB	BB	A	B
NCOA1	248	0.36	0.56	0.08	0.64	0.36
OPN	247	0.13	0.34	0.53	0.30	0.70
RBP4	237	0.26	0.54	0.20	0.53	0.47

2.3 不同基因型对仔猪初生重和 30 日龄体重的效应

分别计算 *NCOA1*, *OPN* 和 *RBP4* 基因的基因型仔猪初生重和 30 日龄体重,结果表明(见表 3),*NCOA1* 基因的 AA 型个体 30 日龄体重显著高于 BB 型个体($P<0.05$);而 *OPN* 和 *RBP4* 基因的不同基因型对仔猪的初生重和 30 日龄体重效应差异均不显著。

表 3 3 个基因不同基因型的初生重与 30 日龄体重

基因座	基因型	初生重/kg	30 日龄体重/kg
NCOA1	AA	1.92±0.07a	6.75±0.28a
	AB	1.99±0.06a	6.05±0.23ab
	BB	2.19±0.22a	4.46±0.57b
OPN	AA	2.04±0.14a	6.14±0.20a
	AB	1.97±0.08a	6.46±0.28a
	BB	1.95±0.06a	5.99±0.25a
RBP4	AA	1.93±0.08a	5.94±0.33a
	AB	1.91±0.06a	6.26±0.26a
	BB	2.15±0.12a	6.18±0.38a

注:同列数据后所标字母相异表示差异显著($P<0.05$),所标字母相同表示差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

2006 年施启顺等人在 158 头大白猪和 224 头长白猪中进行了相关研究,结果发现 A 为优势等位基因(0.766 7/0.828 1),AA 型母猪的总产仔数和产活仔数均显著高于 BB 型母猪^[4]。与施启顺等人的结果相比,该研究中 A 基因频率略有下降,推测可能是野猪血统的引入在一定程度上降低了该等位基因频率,与仔猪的初生重和 30 日龄

体重性状进行相关性分析后表明,AA 型个体同样也是有益型个体,可显著增加 30 日龄体重,这与前人在其它相关性状上的研究结果类似,因相关研究报道很少,所以无法进行更多的比较分析。可在今后的研究中可通过加大样本量,增加测定的性状来进一步分析。

Knoll 等人^[5]首次发现 *OPN* 基因第 6 内含子处存在一个 305 bp 片断的插入性多态。该研究中 A 等位基因频率显著低于 B 等位基因频率,这与罗仍卓么等^[6]在大白猪群体中的研究结果基本一致(0.296 1/0.703 9),推测野猪血统的引入并没有改变 *OPN* 基因在大白猪群体内的原有频率。性状相关性分析表明,虽然 AA 型个体可在一定程度上提高仔猪初生重,AB 型个体可提高 30 日龄体重,但因均没有达到显著水平,所以还无法定论。*RBP4* 基因的 *Msp* I 酶切多态性首次由 Rothschild 等人^[7]发现,在 PIC 的商品系中,优势等位基因 A 可以显著提高母猪的产仔数。该研究中,BB 型和 AB 型可分别提高仔猪的出生重和 30 日龄体重,但均没有达到显著水平,这与 Drogemuller 等^[8]的研究结果类似。

参考文献:

[1] Melville J S, Gibbins A M V, Robinson J A B, et al. A

Meishan positive QTL for prolificacy traits found at the *NCOA1* locus on SSC 3 [C]// 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier,2002.

[2] 何荣环,黄荷凤. 骨桥蛋白与生殖[J]. 国外医学(计划生育分册),2004,23(2):99-101.

[3] Trout W E, McDonnell J J, Kramer K K, et al. The retinol-binding protein of the expanding pig blastocyst: molecular cloning and expression in trophectoderm and embryonic disc [J]. Molecular Endocrinology, 1991, 5: 1533-1540.

[4] 施启顺,柳小春,刘志伟,等. 5 个与猪产仔数相关基因的效应分析[J]. 遗传,2006,28(6):652-658.

[5] Knoll A, Stratil A, Cepica S, et al. Length polymorphism in an intron of the porcine osteopontin (*SPP1*) gene is caused by the presence or absence of a SINE (PRE-1) element [J]. Anim Genet, 1999, 30(6):466.

[6] 罗仍卓么,王立贤,孙世铎. 猪 *OPN* 基因与繁殖性状的关联分析[J]. 农业生物技术学报,2008,16(3):412-416.

[7] Rothschild M F, Messer L, Day A, et al. Investigation of the retinol-binding protein 4 (*RBP4*) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs [J]. Mammalian Genome, 2000, 11(1): 75-77.

[8] Drogemuller C, Hamann H, Distl O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines[J]. Journal of Animal Science, 2001, 79: 2565-2570.

Effects of *NCOA1*, *OPN* and *RBP4* Genes on Birth Weight and Weight on 30 d in Piglet

YANG Guo-wei

(Animal Husbandry Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: The polymorphism of nuclear receptor coactivator 1 gene (*NCOA1*), osteopontin (*OPN*) and retinol-binding protein 4 (*RBP4*) genes were tested by PCR-RFLP and the relationship between genotypes and birth weight, litter weight on 30 d was analyzed. The results showed that *NCOA1* had a moderate effect on the weight on 30 d trait, AA genotype could significantly increased the weight($P<0.05$) compared with AB and BB genotype, but *OPN* and *RBP4* genes had no effect on these two trait. In this experiment group, *NCOA1* could be seen as an effective candidate gene in future research and application, but *OPN* and *RBP4* needed more associatively analysis in larger sample.

Key words: pig; *NCOA1*; *OPN*; *RBP4*; PCR-RFLP