

民猪 *BMP2* 基因的冷诱导研究

张冬杰

(黑龙江省农业科学院 畜牧研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:以 75 日龄民猪为试验材料,将骨形成蛋白 2(*BMP2*)基因作为影响民猪抗寒特性的候选基因,对其在低温冷诱导后在民猪肌肉组织内的表达变化情况进行了分析。结果表明:*BMP2* 基因在民猪冷诱导前后表达水平没有显著变化。

关键词:民猪;*BMP2* 基因;表达;冷诱导

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)11-0004-02

东北民猪是起源于东北的一个古老的地方猪种,是我国华北型地方猪种的主要代表。民猪与我国其他地方猪种相比,一个最为明显的特征就是抗寒性强^[1]。但多年来,人们对民猪抗寒性的研究还一直局限在对其表观性状的观察与分析,该研究采用实时定量 PCR 技术,对可能影响民猪抗寒特性的候选基因——骨形成蛋白 2(*BMP2*) 在常温和低温时表达水平变化进行了研究,这对于进一步深入研究民猪抗寒特性的遗传机理,以及充分合理利用民猪资源,丰富我国在低温生物学研究领域的研究成果都具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

75 日龄民猪 3 窝共计 12 头,将每窝个体随机分成 2 组即常温组和低温组,每组各 6 头,均由黑龙江省农业科学院畜牧研究所提供。2009 年 12 月 25 日到 2010 年 1 月 6 日期间,将常温组置于正常舍内饲养,温度控制在 10℃ 左右,低温组在舍外半敞式大棚内饲养,平均温度为 -20℃,两组均饲喂相同的饲料。处理结束后,屠宰,取肌肉组织各 10 g 左右,液氮带回实验室, -80℃ 冰箱冻存。

1.2 方法

1.2.1 RNA 的提取与反转录 按照 TRIZOL 试剂的操作手册进行肌肉组织的 RNA 提取,获得 RNA 后,进行质量和浓度的测定,随后参照反转录试剂盒说明书进行 cDNA 的合成,合成后 -20℃ 储存备用。

1.2.2 引物的设计与合成 根据 GenBank 上已公布的猪的 *BMP2* 基因 (AY669080) 和 β -actin 基因 (AK240355) 序列设计引物,引物序列如下: *BMP2* F: 5'-AACCTGCAACAGCCAAC-3', *BMP2* R: 5'-GTGACTAGCAAGGGTCTTATTT-3'; *actin* F: 5'-CGGGACCTGACCGACTACCT-3', *actin* R: 5'-GGGCCGTGATCTCCTTCTG-3'。送交上海生工合成。

1.2.3 Real-time PCR 反应体系与反应条件 反应体系:上、下游引物各 0.8 μ L, Mix 10 μ L, 模板 0.8 μ L, H₂O 7.6 μ L, 共计 20 μ L。反应程序如下:95℃ 10 min, 95℃ 30 s, 60℃ 1 min, 40 个循环。试验结果表示为 $\Delta\Delta Ct = (Ct, \text{目的基因} - Ct, \text{管家基因})_{\text{实验组}} - (Ct, \text{目的基因} - Ct, \text{管家基因})_{\text{对照组}}$, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 *BMP2* 基因 mRNA 相对表达水平。反应条件为 95℃ 10 min, 40 个循环:95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 循环终止, 加熔解曲线。

1.2.4 *BMP2* 基因冷诱导后表达变化 将常温组和低温组不同个体肌肉的 cDNA 分别混合, 获得 2 个 cDNA 池, 分别为常温民猪 (CM) 和低温民猪 (DM)。分别以这 2 个 cDNA 池为模板, 进行 Real-time PCR 反应, 每个反应重复 3 次。

2 结果与分析

利用 Real-time PCR 方法对 *BMP2* 基因在常温民猪 (CM) 和低温民猪 (DM) 的肌肉组织内的表达变化进行了检测 (见图 1)。采用配对样本 T 检验统计分析后发现, *BMP2* 基因在民猪的常温组和低温组之间差异不显著 ($P = 0.177$)。可见, 民猪的 *BMP2* 基因在低温冷诱导后表达无显著变化。

3 结论与讨论

骨形态发生蛋白 (BMP) 是 TGF- β 超家族中

收稿日期:2010-07-26

作者简介:张冬杰(1980-),女,黑龙江省佳木斯市人,博士,助理研究员,从事猪的分子遗传育种研究。E-mail: djzhang8109@163.com。

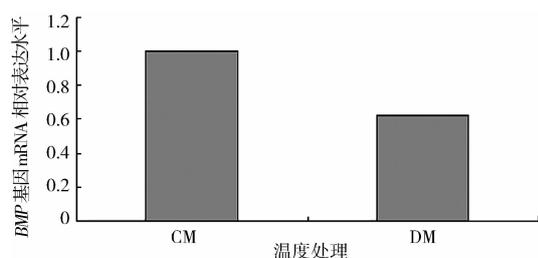


图1 低温诱导后 BMP2 基因的表达变化

最大的分泌型信号传导分子家族,最早是从骨提取物中分离获得的,目前已有 20 多个成员。人的骨形成蛋白是具有多种生物学功能的生物因子,在胚胎发育、细胞分化和组织修复过程中发挥重要作用^[2]。目前,在动物上研究较多的是将其作为与绒羊毛囊发育有关的候选基因进行研究^[3]和将其作为一个与羊的排卵数有关的候选基因进行研究^[4],但在猪上相关的研究报道较少。该试验考虑到 BMP2 是 BMP 基因家族中活性最强的一个基因,所以将其作为可能是影

响民猪抗寒特性的一个候选基因进行了研究。但结果表明,BMP2 基因在民猪肌肉组织的 mRNA 转录水平在冷诱导前后并没有发生显著的变化。推测产生这种结果的原因一方面可能是因为 BMP2 基因根本就不参与民猪的产热过程,另一方面也可能是因为 BMP2 基因在民猪的产热过程中仅仅起着协同作用,而非主效作用。

参考文献:

- [1] 周传臣,张玉芝,高健. 东北民猪的优良特性[J]. 养殖技术顾问,2005(2):10.
- [2] 陈峻江,刘丹平,崔大祥,等. hBMP2 转基因载体的构建及其在兔骨髓基质细胞中的表达[J]. 中国实验动物学报,2006,14(1):44-46.
- [3] 苏蕊,李金泉,张文广,等. 骨形态发生蛋白 2(BMP2)基因在内蒙古绒山羊不同时期皮肤毛囊中的表达[J]. 中国农业科学,2008,41(2):559-563.
- [4] 徐业芬,李齐发,李二林,等. 湖羊 BMP2、BMP4、BMP6 和 BMP7 基因 mRNA 表达水平与排卵数关系的研究[J]. 中国农业科学,2009,42(10):3655-3661.

Expression of BMP2 in Min Pig during Cold Induced

ZHANG Dong-jie

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

Abstract: Taking 75 days Min pig as experimental material, the bone morphogenetic protein-2(BMP2) was seen as a candidate gene for cold resistance, the expression of BMP2 during cold induced was analyzed. The result showed that the expression level of BMP2 was not different after cold induced.

Key words: Min pig; BMP2 gene; expression; cold induced

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

欢迎订阅 2011 年《黑龙江农业科学》

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊。是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国科学引文数据库、中国核心期刊(遴选)数据库等多家权威数据库收录。



本刊内容丰富,栏目新颖,信息全面,可读性强。月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14-61,每期定价 5.00 元,全年 60.00 元;国外发行代号 BM8321,每期定价 8.00 美元,全年 96.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另外,还有少量 2007~2009 年合订本珍藏版。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部

邮编:150086 电话:0451-86668373 信箱:nykx13579@sina.com 网址:www.haasep.cn