



魏天,马惠海,鲍志鸿,等.小尾寒羊 *MyoG* 基因外显子 1 的克隆及多态性分析[J].黑龙江农业科学,2019(12):15-17.

小尾寒羊 *MyoG* 基因外显子 1 的克隆及多态性分析

魏 天¹,马惠海¹,鲍志鸿²,曹 阳¹,张 国³,李 瑶⁴,林志影⁴,赵中利¹

(1.吉林省农业科学院,吉林 长春 130124;2.双辽市动物疾病预防控制中心,吉林 双辽 136400;3.双辽市永加乡畜牧兽医工作站,吉林 双辽 136400;4.长春市宽城区兰家镇政府,吉林 长春 130000)

摘要:为促进畜禽育种工作的发展,采用测序法和群体遗传学方法进行数据分析,提取 12 月龄绵羊血液 DNA,依据 GenBank 中羊 *MyoG* 基因序列扩增外显子 1,研究小尾寒羊肌细胞生成素(Myogenin, *MyoG*)基因外显子在群体中的多态性。结果表明:在外显子 1 第 211 bp 位存在 C>T 的突变,共得到 AA、AB、BB 三种基因型。绵羊 AA、AB、BB 基因型频率分别为 0.529、0.353、0.118;等位基因 A 和 B 的基因频率分别为 0.706 和 0.294;其中 AA 基因型频率在 0.5 以上,为优势基因型。纯合度(Ho)为 0.584;杂合度(He)为 0.416;有效等位基因(Ne)为 1.712;多态信息含量(PIC)为 0.330,在 0.25~0.50,为中度多态。DNASar 软件对片段同源性对比分析发现其与山羊的同源性为 99%,与牦牛的同源性为 97%,与猪的同源性为 92%。

关键词:绵羊;*MyoG* 基因;外显子 1;单核苷酸多态性(SNPs)

骨骼肌纤维是多核细胞,其所含有的纤维数量和直径与畜禽产品的产肉量和肉品质呈显著正相关^[1]。生肌调节因子(Myogenic regulatory factors, MRFs)家族是骨骼肌纤维生长发育的重要调节因子,在骨骼肌细胞的分化和发育过程中起着重要的调节作用。其中,肌细胞生成素基因(Myogenin, *MyoG*)是 MRFs 基因家族中,唯一能够在所有骨骼肌细胞中均表达的基因,是骨骼肌生长发育的关键性调控因子^[2-4],近年来已作为畜禽生长性状的主要基因或遗传标记来进行研究。本试验分析绵羊 *MyoG* 基因外显子 1 的多态性并对该区域与其他物种同源性进行对比分析,为实验室畜禽育种工作提供了基因储备。今后还将从肉质性状上进一步进行分析,从遗传因素的角度上进行育种,对畜禽的产肉力、肉质及风味的改善具有重要指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用小尾寒羊由延边龙腾牧业提供,试验采集 100 只小尾寒羊血液样品,送实验室进行

检测。

主要试剂主要有 ExTaq DNA 聚合酶、DNA Marker, TaKaRa 公司生产;质粒提取试剂盒, Axygen 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 依据 GenBank 上羊 *MyoG*(登录号为 NC_030823.1)基因序列,以 *MyoG* 基因 Exon1 为目的区域。利用 Oligo 6 设计引物,序列为: F5'-GTTGGCTATATTTATCTCTGGT-TCC-3', R5'-GGGTCCCCTGAGGCTGTCCA GATGC-3'。

1.2.2 外显子 1 的克隆 以血液提取 DNA 为模版,PCR 总体积(20 μ L):10 pmol $\cdot\mu$ L⁻¹上、下游引物各 0.5 μ L, ExTaq DNA Polymerase Mix 10 μ L,模板 0.5 μ L(45 ng),加 ddH₂O 补至 20 μ L。反应条件为:95 $^{\circ}$ C 5 min;95 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 40 s,72 $^{\circ}$ C 35 s,共 30 个循环;72 $^{\circ}$ C 8 min。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳进行鉴定,合格产物送天津金唯智公司进行序列测定,依据测序结果分析群体中的多态性。

1.2.3 群体遗传学方法分析群体多态性 对 *MyoG* 基因 Exon1 的基因型进行统计分析。

1.2.4 同源性分析 利用 NCBI BLAST 软件对比片段与山羊、牦牛、猪的同源性。

2 结果与分析

2.1 PCR 的检测结果

对 *MyoG* 基因 Exon1 进行 PCR 扩增,所得

收稿日期:2019-09-08

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0502100);吉林省科技发展计划技术攻关项目(20190301006NY);吉林省科技发展计划技术攻关项目(20170203007NY)。

第一作者简介:魏天(1988-),女,硕士,助理研究员,从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:595972178@qq.com。

通讯作者:赵中利(1980-),男,博士,副研究员,从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail:zhaozhongli954@sohu.com。

产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳鉴定,由图 1 可知,扩增片段与目的片段(约 600 bp)一致,特异性较好。

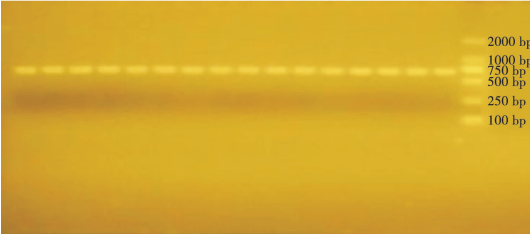


图 1 PCR 扩增结果
Fig.1 PCR amplification results

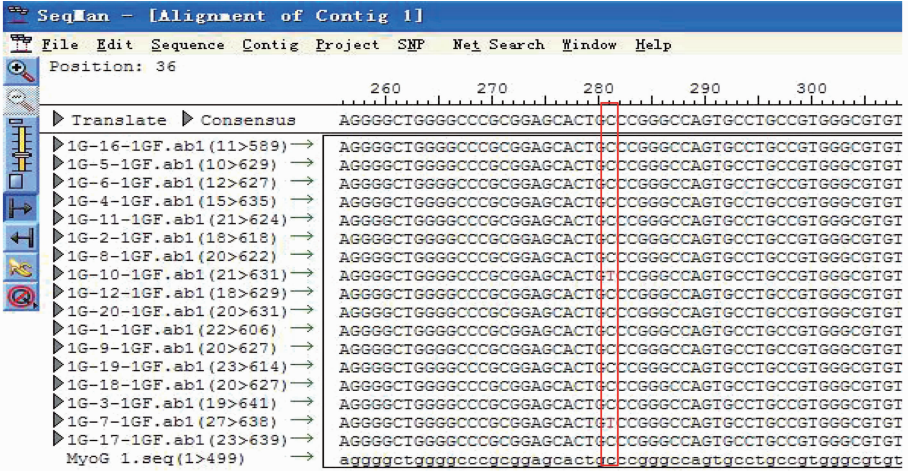


图 2 测序结果对比
Fig.2 Comparison of sequencing results

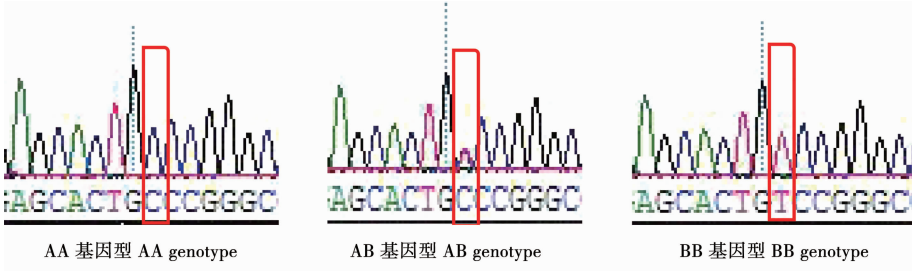


图 3 测序结果对比
Fig.3 Comparison of sequencing results

表 1 基因型频率和基因频率

Table 1 Genotype frequency and gene frequency						
品种 Breed	等位 基因	基因型频率			基因频率	
	Alleles	Genotype frequency			Gene frequency	
		AA	AB	BB	A	B
小尾寒羊	2	0.529	0.353	0.118	0.706	0.294

2.4 遗传多态性的参数分析

由表 2 可知,延边地区小尾寒羊群体的纯合度稍高,多态信息含量 0.25~0.50,为中度多态。

2.2 测序结果的分析与判型

在羊 *MyoG* 基因 Exon1 第 211 bp 处存在 C>T 突变(图 2),将位点为 C 碱基的纯和型命名为 AA 基因型,突变点 T 碱基的纯和型命名为 BB 基因型,杂合子为 AB 基因型(图 3)。

2.3 羊 *MyoG* 基因外显子 1 基因型频率和基因频率的分析

由表 1 结果可知,延边地区小尾寒羊群体中,AA、AB、BB 基因型频率分别为 0.529,0.353,0.118,等位基因 A 和 B 的基因频率分别为 0.706,0.294。

表 2 遗传多态性的参数分析

Table 2 Parameter analysis of genetic polymorphism				
品种 Breed	纯合度 Ho	杂合度 He	有效等位 基因数 Ne	多态信息 含量 PIC
小尾寒羊	0.584	0.416	1.712	0.330

2.5 同源性的对比结果

DNAStar 软件对片段同源性对比分析发现,其与山羊的同源性为 99%,与牦牛的同源性为

97%,与猪的同源性为 92%。

3 结论与讨论

在畜牧业生产中,肉质性状占据极其重要的位置,家畜新品种的培育将大大降低畜牧业的成本,促进畜牧业的健康、可持续发展。要从遗传本质上提高畜禽的肉质性状,需要积累更多的肉质相关的候选基因,才能让分子育种工作更好的开展。*MyoG* 基因是与肉质生长性能相关的重要基因之一,在家畜中具有较高的同源性^[5-7]。在本研究中,羊 *MyoG* 基因 Exon1SNPs 的发现,以及对优势等位基因和优势基因型的认定、遗传多态性参数分析,为实验室以后的育种工作提供了信息储备,今后将从肉质性状上进一步进行分析。

参考文献:

[1] 王静,宋新磊,崔焕先,等. 骨骼肌卫星细胞的特性及其增殖与分化的调控[J]. 细胞生物学杂志,2007(29):497-502.
[2] Bergstrom D A, Tapscott S J. Molecular distinction between specification and differentiation in the myogenic basic helix-

loop-helix transcription factor family[J]. Molecular & Cellular Biology,2001,21(7):2404-2412.
[3] Marotta M, Sarria Y, Ruiz-roig C, et al. Laser microdissection-based expression analysis of key genes involved in muscle regeneration in mdx mice[J]. Neuromuscular Disorders, 2007,17(9-10):707-718.
[4] Yosuke N, Partridge T A, Ryoichi M, et al. Entry of muscle satellite cells into the cell cycle requires sphingolipid signaling[J]. Journal of Cell Biology,2006,174(2):245-253.
[5] Soumilion A, Erkens J H F, Lenstra J A, et al. Genetic variation in the porcine myogenin gene locus[J]. Mammalian Genome Official Journal of the International Mammalian Genome Society,1997,8(8):564-568.
[6] Kerstin L T, Wade C M, Mikkelsen T S, et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog[J]. Nature,2005,438(7069):803-19.
[7] Gibbs R A, Weinstock G M, Metzker M L, et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution[J]. Nature,2004,428(6982):493-521.

Cloning and Polymorphism Analysis of *MyoG* Gene Exon 1 in Small Tailed Han Sheep

WEI Tian¹, MA Hui-hai¹, BAO Zhi-hong², CAO Yang¹, ZHANG Guo³, LI Yao⁴, Lin Zhi-ying⁴, ZHAO Zhong-li¹,

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130124, China; 2. Shuangliao Animal Disease Prevention and Control Center, Shuangliao 136400, China; 3. Animal Husbandry and Veterinary Workstation, Yongjia Township, Shuangliao 136400, China; 4. Lanjia Town Government of Kuancheng District, Changchun 130000, China)

Abstract: In order to promote the development of livestock and poultry breeding, data analysis was carried out by sequencing method and population genetics method. Blood DNA of 12-month-old sheep was extracted. *MyoG* gene exon 1 was amplified, according to GenBank. It was studied the polymorphism of myogenin (*MyoG*) gene exon in population of Small Tailed Han Sheep. The results showed that C>T mutation at 211 bp in exon 1, and AA, AB and BB genotypes were obtained. The results showed that the genotype frequencies of AA, AB and BB were 0.529, 0.353 and 0.118, respectively. The frequency of alleles A and B was 0.706 and 0.294, respectively. The AA genotype frequency was above 0.5, which was the dominant genotype. The homozygosity (Ho) was 0.584; The heterozygosity (He) was 0.416. The effective allele (Ne) was 1.712. Polymorphic information content (PIC) was 0.330 and moderate polymorphic between 0.25 and 0.50. Comparative analysis of fragment homology by DNASTar software showed that the homology of the fragment was 99% with goats, 97% with yaks, and 92% with pigs.

Keywords: sheep; *MyoG* gene; exon 1; single nucleotide polymorphism (SNPs)