

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00087

猪 *IGF2* 基因内含子 3 变异的遗传效应分析

虞德兵¹, 何宗亮¹, 张伟峰², 贾晓旭¹, 邱新深¹, 王林云¹, 黄瑞华¹, 刘红林¹

1. 南京农业大学动物科技学院, 南京 210095;
2. 河北工程大学农学院动科系, 邯郸 056038

摘要: 采用错配 PCR-RFLP 技术鉴别了长白猪和大白猪纯种以及长白 × 大白猪杂交后代去势公猪胰岛素样生长因子 2(*IGF2*) 基因内含子 3 的 3072 位点变异, 分析了遗传来自父本不同等位基因个体间的相关性状差异及不同等位基因的遗传效应。结果表明: 在后代个体中, 与遗传父本 *G* 等位基因的 *G* 型个体相比, 遗传父本 *A* 等位基因的 *A* 型个体胸围和体躯指数分别增加了 3.06% ($P<0.05$) 和 3.01% ($P<0.05$)。A 型个体臀部膘厚、胸腰部膘厚和 6~7 肋膘厚比 *G* 型个体分别薄 15.31% ($P<0.01$)、23.74% ($P<0.01$) 和 20.27% ($P<0.05$); 但 A 型个体肩部膘厚比 *G* 型个体厚 7.97% ($P<0.05$)。A 型个体比 *G* 型个体皮薄 9.38% ($P<0.01$), 眼肌面积大 22.58% ($P<0.01$), 活体瘦肉率高 2.18% ($P<0.01$), 嫩度低 17.32% ($P<0.05$)。A 型个体的肌纤维横截面积和肌纤维直径比 *G* 型个体分别大 32.70% ($P<0.01$) 和 15.38% ($P<0.01$), 而 A 型个体肌纤维密度比 *G* 型个体小 20.03% ($P<0.01$)。结果提示, 猪 *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点来自父源 *A* 等位基因有助于后代猪群的体躯发育粗壮, 并通过增加单个肌纤维面、眼肌面积和减少皮厚、背膘来影响猪整体肌肉含量和脂肪沉积的。

关键词: 猪; 胰岛素样生长因子 2; 错配 PCR-RFLP; 遗传效应

The genetic effects of *IGF2* gene intron3 variance in pigs

YU De-Bing¹, HE Zong-Liang¹, ZHANG Wei-Feng², JIA Xiao-Xu¹, QIU Xin-Shen¹, WANG Lin-Yun¹, HUANG Rui-Hua¹, LIU Hong-Lin¹

1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;
2. Depart of Animal Science and Technology, College of Agronomy, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China

Abstract: A mispairing PCR-RFLP technique was applied in this study to determine the Insulin-like Growth Factor 2(*IGF2*) gene intron3 G3072A mutation in an outbred Landrace and Large White, and the gelded boars from Landrace × Large White cross. The difference of corresponding traits and the genetic effects of the boars inherited from parental *A* allele and inherited from parental *G* allele were analyzed. The results indicated that comparing with the boars inherited from parental *G* allele, the boars inherited from parental *A* allele increased significantly in the circumference 3.06% ($P<0.05$) and index of body 3.01% ($P<0.05$), respectively. The boars inherited from parental *A* allele had a significantly less average buttock fat thickness (15.31%, $P<0.01$), thorax-waist fat thickness (23.74%, $P<0.01$), skin thickness 9.38% ($P<0.01$), fiber density (20.03%, $P<0.01$) and had more less 6th~7th rib fat thickness (20.27%, $P<0.05$), tenderness (17.32%, $P<0.05$), and had more thick shoulder fat thickness (7.97%, $P<0.05$), and had bigger the loin eye area (22.58%, $P<0.01$) and fiber cross-sectional area (32.70%, $P<0.01$) and fiber diameter (15.38%, $P<0.01$) and lean meat (2.18%, $P<0.01$) than the boars inherited from parental *G* allele. The results were suggested that the parental *A* allele has highly significant genetic effects in improving pig body development and carcass lean percent by increasing fiber diameter and the loin eye area, and decreasing the skin thickness and fat percent.

收稿日期: 2007-04-17; 修回日期: 2007-09-18

基金项目: 江苏省高新技术研究项目(编号: BG2004317)[Supported by high-technology research of Jiangsu Province(No.BG2004317)]

作者简介: 虞德兵(1979-), 男, 安徽天长人, 博士研究生, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: yudb79@163.com

通讯作者: 刘红林(1966-), 男, 江苏人, 博士, 教授, 研究方向: 动物遗传育种。Tel: 025-84395106; E-mail: LiuHonglin@263.net

Keywords: pig; insulin-like growth factor 2; mispairing PCR-RFLP; genetic effects

许多猪的基因定位实验研究表明,影响肌肉含量和脂肪性状的 QTL 分布于 10 个猪染色体上^[1]。最近的试验发现在欧洲野猪与大白猪的杂交后代以及皮特兰与大白猪的杂交后代中存在一个影响猪肌肉生长和脂肪沉积的 QTL,为父源表达,并定位在猪 2 号染色体短臂末端(SSC2p)胰岛素样生长因子 2(*IGF2*)基因座上^[2~5]。后来由 de Koning 等^[6]和 Thomsen 等^[7]所证实。近来,Laere 等^[8]研究发现,*IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点的一单碱基突变(G→A)正好位于高度保守的调控区域,影响猪骨骼中 *IGF2* 的表达,并且对出生后的肌肉形成起重要作用;这一突变的单核苷酸与瘦肉率存在相关性,可增加 3%~4%的瘦肉量。这一变异位点的发现引起众多学者的重视^[9~11]。鼠的纤维原细胞体外实验结果表明,在 IGFs 信号通路中,*IGF2* 的高表达可以刺激下游蛋白激酶 B(Akt)丝氨酸(Ser)和 IGF-IR 跨膜苏氨酸(Tyr)的磷酸化,从而促进成肌因子(Myod)家族的基因表达,使单核成肌细胞融合成多核肌管,最终形成肌肉;而当 *IGF2* 水平较低或抑制时,则阻碍肌肉生成^[12]。本研究选择长×大杂交猪群体,建立错配 PCR-RFLP 法分析猪 *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点,分析其变异对不同等位基因传递的后代个体生长性能及肌肉相关性状的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物来源及 DNA 提取

实验动物为江苏省宝应县兴泰种猪场大白、长白种公猪和种母猪及长×大二元杂交后代去势公猪。本实验先检测种公猪 47 头及与配种母猪 50 头的 *IGF2* 基因的基因型(公猪和母猪群均为长白和大白猪纯系),最终筛选出 3 头杂合子和 3 头纯合子公猪及 12 头纯合子与配母猪;根据场方资料查找其后代二元杂去势公猪共 52 头,采集猪耳样,利用常规的苯酚/氯仿抽提方法提取基因组 DNA, DNA 样品被稀释成 50 ng/μL 用于基因型分析。将杂交后代试验猪于相同环境条件下饲养,在 6 月龄左右选出 45 头健康猪进行分批屠宰测定。宰前进行称重、体尺测量以及采用超声波进行瘦肉率估计;宰后进行现场的肉质性状、胴体等级性状和胴体性状测定。测定

方法根据国家标准《瘦肉型种猪性能测定技术规程》(GB8467287) 进行^[13]。测定指标包括屠宰体重、4 点(肩部最厚处、6~7 肋间、胸腰椎间、臀部最厚处)背膘厚、胴体组成、肉质性状等(表 1)。活体瘦肉率估计:宰前称重后,用 Piglog105(丹麦 SFK 公司生产)B 超测定仪进行活体估测方法。测定部位: A 点 第 3~4 腰椎距背中线 4 cm 处边膘厚(fat-1); B 点 倒数第 3~4 胸椎距背中线 4 cm 处边膘厚(fat-2)和眼肌厚。屠宰时采最后胸椎处眼肌中部肌肉组织块至 10%多聚甲醛固定液中,用于制备肌纤维石蜡组织切片。

1.2 试验方法

1.2.1 错配 PCR 引物设计

根据 GenBank 中检索到的猪 *IGF2* 基因(序列号: AY242109)DNA 序列,用 Primer Premier 5.0 软件在 *pIGF2* intron3 G3072A 位点附近设计引物。采用错配 PCR 即在 SNP 特异性引物的 3'端区域引入了 1 个人为错配碱基,当 3'端的某一碱基引入错配时, DNA 聚合酶虽是按照模板的指令去合成 DNA 新链,但错配的碱基仍然可以跳过这一错配的碱基,而不影响其目的基因片段的扩增。这样引入错配碱基后,就可以使之与含 SNP 突变的一种基因型一起构造出新的酶切位点,然后即可用限制性内切酶进行酶切(RFLP)。*IGF2* intron3 G3072A 位点的引物序列为: F: 5'-TCCCCAAGCAAACTGGTTTCGCC-3', R: 5'-CCACGCGCTCCCACGCTG-3';其中下游引物 R 的第 13 个碱基由原来的 G 改为 A,以期在猪 *IGF2* intron3 的 3072 nt 位点 PCR 扩增产物中引进 *Dra* 酶切点。引物由上海英骏生物技术有限公司合成,去离子水溶解, -20℃ 保存。

1.2.2 PCR 反应

PCR 反应体系(TaKaRa 公司)总体积 10 μL,其中模板 DNA 50~100 ng, 2×GC buffer 5.0 μL(含 MgCl₂), dNTP 0.45 mmol/L, DNA LA Taq 酶 1.0 U,引物 F 和 R 均为 0.3 μmol/L;加双蒸水至 10 μL。PCR 反应程序: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 30 s, 59.5℃ 30 s, 72℃ 30 s, 循环 34 次; 72℃ 延伸 5 min。PCR 反应程序:预变性 94℃ 3 min; 35 个循环(94℃ 30 s, 59.5℃

表 1 测定性状的名称及缩写
Table 1 Names and abbreviation of traits

性状名称 Name	缩 写 Abbreviation	单 位 Unit
眼肌面积 Longissimus dorsi area	LDA	cm ²
瘦肉率 Lean meat percentage	LMP	%
屠宰率 Carcass percentage	CP	%
肩部膘厚 Shoulder fat thickness	SFT	mm
6~7 肋处膘厚 6th~7th rib fat thickness	RFT	mm
胸腰部膘厚 Thorax-waist fat thickness	TFT	mm
臀部膘厚 Buttock fat thickness	BFT	mm
背最长肌 pH 值 Muscle pH for longissimus dorsi (LD)	pH _{lh}	pH
背最长肌肉色 Muscle color for LD	MC	—
嫩度 Tenderence	Tn	—
系水力 Water holding capacity	WHC	%
肌肉脂肪 Intramuscular fat	IMF	%
体斜长 Carcass length	CL	cm
体长 Body length	BL	cm
体高 Body high	BH	cm
胸围 Circumference	C	cm
体长指数 Index of body length	IBL	%
胸围指数 Index of circumference	IC	%
体躯指数 Index of body	IB	%

30 s, 72℃ 30 s) 反应; 72℃继续延伸 5 min。每次 PCR 反应后取 PCR 产物 5 μL 经 8%聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染显色检测。

1.2.3 PCR-RFLP 分析

取 5 μL PCR 产物, 加入限制性内切酶 *Dra* (NEB 公司产品)5 U, 10×buffer 2.5 μL,加水至总体积 20 μL, 混匀后 37℃消化 16 h, 经 8%聚丙烯酰胺凝胶电泳后银染显色, 拍照保存。

1.2.4 组织染色及肌纤维计数

将 10%多聚甲醛固定的猪背最长肌样品修块后经常规脱水浸腊、石蜡包埋; 用莱卡 RM 2235 石蜡切片机对所采肌肉进行横切片, 切片厚度为 6 μm, 38 烤片 8 h 至干燥常温保存; 然后进行 HE 染色, 树脂封片后, 将玻片置于 40×10 倍和 10×10 倍显微镜下, 拍照后输入计算机保存, 用 Image-Tool 2.00 软件进行统计 40×10 倍下的肌纤维面积, 每个样品随机测量大、中、小各式各 15 根完整肌纤维; 用

Photoshop 6.0 软件进行统计 10×10 倍下的单位面积内的肌纤维根数。所有统计数据经单位换算后求其平均值。

1.2.5 数据处理

体尺性状考虑了初生重、品种正反交和日龄的影响; 胴体和肉质性状考虑屠宰体重, 屠宰批次和品种正反交等因素的影响, 所有性状采用 SA S 8.2 软件进行分析,比较采用 GLM 程序进行分析, 不同基因型比较采用 *t* 检验。

2 结 果

2.1 错配 PCR-RFLP 鉴别猪 *IGF2* 基因的基因型

本实验采用过一般的 PCR 方法扩增含 *IGF2* intron3 G3072A 位点的基因片段, 约 170 bp, 由 Primer Premier 5.0 软件找出 *Tse* 限制性内切酶, 经酶切后能够完全鉴别该位点基因型(其结果未显示)。但是要想大规模地检测猪 *IGF2* 基因, 使用该

内切酶将需较大的检测成本,而且使得 *IGF2* 基因不能大范围地应用于猪生产。因此,本研究采用错配 PCR 扩增含 *IGF2* intron3 G3072A 位点的基因片段,其 PCR 产物电泳均可见 191 bp 的 DNA 条带(图 1A),与预期大小相符。产物经 *Dra* 酶切,在非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳后,共检出 191 bp 和 172 bp 两条带,另外还有 1 个 19 bp 的带太小,胶上电泳显示不出来。因此,定义等位基因 A 为(172 bp)、G(191 bp)和 GA(191+172 bp)(图 1: B)。这一结果与用未错配的 PCR 扩增产物经 *Tse* 酶酶切后的结果一致(其结果未显示)。本实验中将遗传父本 A 等位基因的个体定义为 A 型个体;将遗传父本 G 等位基因的个体定义为 G 型个体。根据上述基因型鉴别方法,结果检测出:在 47 头公猪亲本中,AA 型 29 头,GA 型 17 头,GG 型 1 头;在 50 头母猪亲本中,AA 型 23 头,GA 型 21 头,GG 型 6 头。由于公猪亲本中 GG 型个体太少,所以本实验从公亲本中选取了 3 头 AA 型和 3 头 GA 型公猪与 12 头母猪(AA 型 9 头,GG 型 3 头)进行

杂交。在其后代中共选留公猪 52 头,其中 A 型个体 33 头和 G 型个体 19 头。屠宰个体中含 A 型个体 30 头,G 型个体 15 头。

2.2 基因型与部分体尺性状的关联分析

猪体尺性状的表型值是用来反映家畜躯体各部位发育情况及相互间的关系和变化。体长指数(%)=体长/体高 \times 100%,表示体长与体高的相对发育程度。胸围指数(%)=胸围/体高 \times 100%,表示体躯宽度与高度的相对比例;体躯指数(%)=胸围/体长 \times 100%,表示体躯发育的粗壮程度。由表 2 可以看出,A 型和 G 型个体之间体长、体高没有差异;胸围性状在两种基因型个体间有显著差异,A 型个体胸围比 G 型个体高 3.06% ($P < 0.05$)。体躯指数在两基因型个体间也有显著差异($P < 0.05$),A 型个体胸围比 G 型个体高 3.01% ($P < 0.05$);但体长指数和胸围指数在两种基因型个体间的差异均不显著($P > 0.05$)。

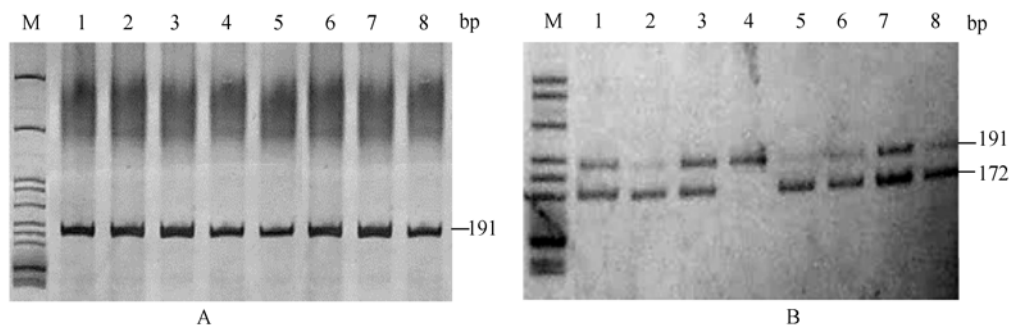


图 1 pIGF2 intron3-G3072A 位点 PCR-RFLP 结果

A: 错配 PCR 扩增产物 PAGE 胶电泳结果。1~8: PCR 扩增产物; M: pBR322/ *MSP* markers。

B: *Dra* 酶消化 pIGF2 基因的 PCR-RFLP 结果。M 为 pBR322-*Msp* digest DNA maker, 泳道 1、3、7 为 GA 基因型, 泳道 2、5、6、8 为 AA 基因型, 泳道 4 为 GG 基因型。

Fig. 1 The PCR-RFLPs patterns at pIGF2 intron3-G3072A locus

A: mispairing PCR products on PAGE. 1~8: PCR products; M: pBR322/ *MSP* markers.

B: The PCR-RFLP profile of pIGF2 gene with *Dra* digestion. M: pBR322-*Msp* digest DNA maker; Lane 1, 3, 7: GA genotype; Lane 2, 5, 6, 8: AA genotype; Lane 4: GG genotype.

表 2 *IGF2* 基因 intron3-3072 位点不同基因型对猪体尺性状的影响

Table 2 Effect of different genotype on *IGF2* intron3-3072 on body size in pigs

基因型 Genotype	样本数 N	体长 BL	体高 BH	胸围 BC	体长指数 IBL	胸围指数 IC	体躯指数 IB
A	30	121.50 \pm 1.20	63.23 \pm 0.49	111.00 \pm 0.66 ^a	186.75 \pm 6.61	170.68 \pm 6.08	91.57 \pm 0.90 ^a
G	15	120.07 \pm 1.44	61.87 \pm 0.57	106.73 \pm 1.29 ^b	194.23 \pm 2.90	172.60 \pm 1.71	88.89 \pm 0.01 ^b

注: 数值为平均数 \pm 平均标准误,字母相同表示差异不显著,小写字母表示差异显著,大写字母表示差异极显著(下表同)。

Notes: Data in the table are showed as LS means \pm mean standard error. Values in each line with different lower case superscripts are significantly different at $P < 0.05$; and with capital superscripts different at $P < 0.01$.

2.3 基因型与背膘性状的关联分析

由表 3 可以看出, 臀部膘厚和胸腰部膘厚在 *IGF2* 基因 A 型个体与 *IGF2* 基因 G 型个体间差异极显著($P < 0.01$), 而 6~7 肋膘厚和肩部膘厚在两基因型个体间达到显著水平($P < 0.05$)。A 型个体臀部膘厚、胸腰部膘厚和 6~7 肋膘厚比 G 型个体分别薄 15.31%、23.74%和 20.27%; 但 A 型个体肩部膘厚比 G 型个体厚 7.97%。

2.4 基因型与部分胴体和肉质性状的关联分析

由表 4 可以看出, 在本实验所测定的部分胴体性状中, 皮厚、眼肌面积和活体瘦肉率在 *IGF2* 基因 A 型个体和 G 型个体间的差异达极显著水平($P < 0.01$); 但胴体斜长和屠宰率在两基因型个体间均无统计意义上的显著差异($P > 0.05$)。在肉质性状上, 两基因型个体之间系水力、肌内脂肪含量、 PH_{1h} 值和肉色均没有差异; 嫩度在两基因型个体间差异显著($P < 0.05$), A 型个体比 G 型个体低 17.32%。

2.5 基因型与肌纤维性状的关联分析

苏木精-伊红染色法(HE 染色)是最为常用的组织切片染色方法, 也是适合研究肌纤维的一种染色方法, 苏木精将肌纤维细胞核染成蓝紫色, 伊红将肌纤维细胞质染成桃红色, 白色树状线为血管和结缔组织, 两种组织对比十分明显(图 2)。由表 5 可以看出, 肌纤维横截面积、肌纤维直径和肌纤维密度在长×大猪背最长肌不同基因型间差异均极显著($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 *IGF2* 基因单碱基突变的研究

IGF2 基因多态性研究已成为猪育种中值得关注的焦点之一。Knoll 等^[14]通过连锁分析, 确定了猪 *IGF2* 基因内含子 2 的一个单核苷酸多态(G→A 转换), 这一转换导致了 *Nci* I 限制性酶切位点的改变, 并在所检测的 12 头皮特兰猪中只出现了 BB 基因型; Olga 等^[15]研究结果表明, 大白猪群体中 *IGF2* 基因内含子 2 的 AA 型、AB 型和 BB 型的基因型频率分别为 1.65%、33.88%和 64.46%。刘桂兰等^[16]采用 PCR-RFLP 技术, 对大白梅山猪 F₂ 代资源家系群体的 *IGF2* 基因第 8 内含子的研究中, 发现两个 *Nci* I 酶切位点均具有多态性, 且各位点的等位基因频率差异较大。近来, Laere 等^[8]研究发现, 猪 *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点的一单碱基替代(G→A); 本实验采用错配 PCR-RFLP 方法, 对长白、大白及长×大杂交猪个体 *IGF2* 基因含子 3 的 3072 位点变异(G→A)进行分析, 在 47 头公猪亲本中, AA 型 29 头, GA 型 17 头, GG 型 1 头; 在 50 头母猪亲本中, AA 型 23 头, GA 型 21 头, GG 型 6 头。由此可见, A 等位基因在长白和大白猪群体中为优势等位基因, 这一结果与 Yang 等^[17]检测 10 个中外猪群的研究发现, 二花脸和里岔黑猪群体含有极低频率的 A 等位基因, 而大白、长白和杜洛克猪中 A 等位基因占明显优势的结果相符。

表 3 *IGF2* 基因 intron3-3072 位点不同基因型对猪膘厚的影响

Table 3 Effect of different genotype on *IGF2* intron3-3072 locus on backfat thickness in pigs

基因型 Genotype	样本数 N	6~7 肋间 RFT	肩部最厚处 SFT	胸腰椎间 TFT	臀部最厚处 BFT
A	30	1.48±0.09 ^a	2.71±0.06 ^a	1.39±0.03 ^A	1.96±0.06 ^A
G	15	1.78±0.12 ^b	2.51±0.42 ^b	1.72±0.08 ^B	2.26±0.09 ^B

表 4 *IGF2* 基因 intron3-3072 位点不同基因型对猪部分胴体和肉质性状的影响

Table 4 Effect of different genotype on *IGF2* intron3-3072 on part carcass and meat characteristics in pigs

胴体性状 Carcass traits		<i>IGF2</i> 基因型 <i>IGF2</i> genotype		肉质性状 Meat traits	<i>IGF2</i> 基因型 <i>IGF2</i> genotype	
		A	G		A	G
样本数	N	30	15	n	30	15
皮厚	ST	0.29±0.01 ^B	0.32±0.01 ^A	系水力 WHC	58.58±1.22	61.00±1.27
胴体斜长	CL	91.33±0.53	89.73±0.53	肌内脂肪含量 IMF	1.79±0.12	2.10±0.20
眼肌面积	LDA	64.50±1.33 ^A	52.62±3.20 ^B	嫩度 Tn	3.21±0.24 ^a	2.73±0.10 ^b
屠宰率	CP	73.73±0.27	74.35±1.45	PH-mean PH	6.67±0.03	6.69±0.08
瘦肉率	LMP	62.23±0.43 ^A	60.90±0.51 ^B	肉色 MC	3.87±0.12	4.16±0.10

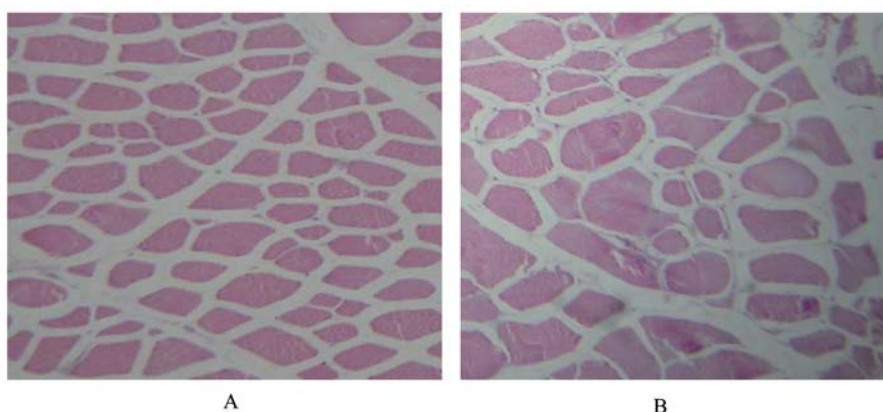


图 2 不同基因型猪肌肉组织经苏木精-伊红染色的石蜡切片

A: 遗传父源等位基因 *G* 的猪背最长肌组织切片横断面, 10×40; B: 遗传父源等位基因 *A* 的猪背最长肌组织切片横断面, 10×40.

Fig. 2 The muscular transverse paraffin section dyed by hematoxylin and eosiny

A: An image of the muscular transverse paraffin section in the boar from parental *A* allele, 10×40;

B: An image of the muscular transverse paraffin section in the boar from parental *G* allele, 10×40.

表 5 *IGF2* 基因 intron3-3072 位点不同基因型对猪肌纤维性状的影响

Table 5 Effect of different genotype on *IGF2* intron3-3072 locus on muscle fiber characteristics in pigs

基因型 Genotype	样本数 N	肌纤维横截面积(mm ²) Fiber cross-sectional area(mm ²)	肌纤维直径(μm) Fiber diameter (μm)	肌纤维密度 (根/mm ²) Fiber density (number/mm ²)
A	30	1685.49±81.44 ^A	68.92±1.68 ^A	288.15±11.53 ^A
G	15	1270.16±98.04 ^B	59.73±2.29 ^B	360.30±16.53 ^B

3.2 *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点的变异是在转录水平上影响 *IGF2* 基因的表达

IGF2 基因在哺乳动物中的遗传方式属于父源表达的印记基因, 即仅来源于父方的单等位基因表达, 而来源于母方的等位基因失活或表达受抑制。研究表明, 猪 *IGF2* 基因含有 4 个启动子, 其中 *P*₃ 启动子位于内含子 3 的 3072 位点下游约 5 kb 处, 且在肌肉中能引发 *IGF2* 转录; 在体外实验发现, 启动子 *P*₃ 的转录水平受到内含子 3 的 3072 位点变异 (*G*→*A*) 的影响^[8]。Braunsch 等^[10]研究发现, *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点的变异对猪出生后肌肉中 *IGF2-AS* 的转录表达有显著影响。因此, *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点的变异是在转录水平上影响 *IGF2* 基因的表达, 影响肌肉相关调节基因的表达和肌肉沉积。

3.3 猪 *IGF2* 基因变异是通过单个肌纤维面积增粗和背膘减少来影响猪整体肌肉含量和脂肪沉积

Olga 等^[15]对大白猪群体 *IGF2* 基因内含子 2 的研究结果表明, 仅发现 *AA* 型个体与 *AB* 型个体之间的试验前活体重差异显著 ($P < 0.05$), 而对日增重、瘦肉率和背膘厚等均无显著相关性。刘桂兰等^[16]采用

PCR-RFLP 技术, 对大白梅×山猪 *F*₂ 代资源家系群体的 *IGF2* 基因第 8 内含子的研究结果表明, *IGF2* 基因 *B* 位点酶切未突变个体均比酶切突变的个体背膘薄 18.28% ($P < 0.01$), 肥肉率低 22.43% ($P < 0.01$), 瘦肉率高 81.71% ($P < 0.01$), 位点 *A* 具有相同的影响趋势; *IGF2* 基因发挥作用的方式主要为加性效应, 可作为猪提高瘦肉率的候选基因。近来, Laere 等^[8]研究发现, *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点的一单碱基替代 (*G*→*A*) 与猪瘦肉率存在相关性, 替代的个体瘦肉率比野生型个体高 3%~4%。Jungerius 等^[9]研究了这一变异对梅山×欧洲白猪杂交后代个体的背膘厚有显著影响, 而对乳头数性状无明显作用。本实验对长×大杂交猪个体 *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点变异 (*G*→*A*) 的研究结果发现, 在后代个体中, 遗传父本 *A* 等位基因的 *A* 型个体的生长发育、胴体、肉质和肌纤维相关性状较遗传父本 *G* 等位基因的 *G* 型个体有显著影响。胸围性状在两种基因型个体间有显著差异, *A* 型个体胸围和体躯指数分别比 *G* 型个体高 3.06% 和 3.01%。*A* 型个体臀部膘厚、胸腰部膘厚和 6~7 肋膘厚比 *G* 型个体分别薄 15.31%、23.74% 和 20.27%; 但 *A* 型个体肩部膘厚比 *G* 型个体厚 7.97%。*A* 型个体的皮厚、眼肌面积和活体瘦肉率分别比 *G*

型个体薄 9.38%、大 22.58%和高 2.18%; 但 A 型个体嫩度比 G 型个体低 17.32%。A 型个体的肌纤维横截面积和肌纤维直径比 G 型个体分别大 32.70%和大 15.38%, 而 A 型个体肌纤维密度比 G 型个体小 20.03%。本实验结果提示, 猪 *IGF2* 基因内含子 3 的 3072 位点变异(G→A)有利于猪的体骼发育粗壮, 皮和背膘变薄, 眼肌面积增大, 肌纤维横截面积和肌纤维直径变大, 但肌纤维密度降低, 因而嫩度也显著下降。结果进一步提示, *IGF2* 基因变异是通过单个肌纤维面积增粗和背膘减少来影响猪整体肌肉含量和脂肪沉积的。

参考文献(References):

- [1] Bidanel JP, Rothschild M. Current status of quantitative trait locus mapping in pigs. *Pig News Inf*, 2002, 23(2): 39–54.
- [2] Jeon JT, Carlborg O, Törnsten A, Giuffra E, Amarger V, Chardon P, Andersson-Eklund L, Andersson K, Hansson I, Lundström K, Andersson L. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the *IGF2* locus. *Nat Gene*, 1999, 21(2): 157–158. [\[DOI\]](#)
- [3] Nezer C, Moreau L, Brouwers B, Coppieters W, Detilleux J, Hanset R, Karim L, Kvasz A, Leroy P, Georges M. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the *IGF2* locus in pigs. *Nat Genet*, 1999, 21(2): 155–156. [\[DOI\]](#)
- [4] Andersson L, Haley CS, Ellegren H, Knott SA, Johansson M, Andersson K, Andersson-Eklund L, Edfors-Lilja I, Fredholm M, Hansson I. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, 1994, 263(5154): 1771–1774. [\[DOI\]](#)
- [5] Alexander LJ, Troyer DL, Rohrer GA, Smith TP, Schook LB, Beattie CW. Physical assignments of 68 porcine cosmid and lambda clones containing polymorphic microsatellites. *Mamm Genome*, 1996, 7(5): 368–372. [\[DOI\]](#)
- [6] de Koning DJ, Rattink AP, Harlizius B, van Arendonk JA, Brascamp EW, Groenen MA. Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(14): 7947–7950. [\[DOI\]](#)
- [7] Thomsen H, Lee HK, Rothschild MF, Malek M, Dekkers JC. Characterization of quantitative trait loci for growth and meat quality in a cross between commercial breeds of swine. *J Anim Sci*, 2004, 82(8): 2213–2228.
- [8] van Laere AS, Nguyen M, Braunschweig M, Nezer C, Collette C, Moreau L, Archibald AL, Haley CS, Buys N, Tally M, Andersson G, Georges M, Andersson L. A regulatory mutation in *IGF2* causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*, 2003, 425 (6960): 832–836. [\[DOI\]](#)
- [9] Jungerius BJ, van Laere AS, Te Pas MF, van Oost BA, Andersson L, Groenen MA. The *IGF2-intron3-G3072A* substitution explains a major imprinted QTL effect on backfat thickness in a Meishan × European white pig intercross. *Genet Res*, 2004, 84(2): 95–101. [\[DOI\]](#)
- [10] Braunschweig MH, van Laere AS, Buys N, Andersson L, Andersson G. *IGF2* antisense transcript expression in porcine postnatal muscle is affected by a quantitative trait nucleotide in intron 3. *Genomics*, 2004, 84(6): 1021–1029. [\[DOI\]](#)
- [11] Estelle J, Mercade A, Noguera JL, Perez-Enciso M, Ovilo C, Sanchez A, Folch JM. Effect of the porcine *IGF2-intron3-G3072A* substitution in an outbred Large White Population and in an Iberian x Landrace cross. *J Anim Sci*, 2005, 83(12): 2723–2728.
- [12] Wilson EM, Hsieh MM, Rotewein P. Autocrine growth factor signaling by insulin-like growth factor- mediates MyoD-stimulated myocyte maturation. *J Biol Chem*, 2003, 278(42): 41109–41113. [\[DOI\]](#)
- [13] GB8467287. Technical Testing Rule of Lean Meat Pig. Beijing: Chinese Standard Press, 1985.
GB8467287. 瘦肉型种猪性能测定技术规程. 北京: 中国标准出版社, 1985.
- [14] Knoll A, Putnova L, Dvorak J, Cepica S. A Nei PCR-RFLP within intron 2 of the porcine insulin-like growth factor - 2 (*IGF2*) gene. *Anim Genet*, 2000, 31 (2): 150–151. [\[DOI\]](#)
- [15] Kolarikova O, Putnova L, Urban T, Adamek J, Knoll A, Dvorak J. Associations of the *IGF2* gene with growth and meat efficiency in Large White pigs. *J Appl Genet*, 2003, 44(4): 509–513.
- [16] LIU Gui-Lan, JIANG Si-Wen, XIONG Yuan-Zhu, ZHENG Rong, QU Yan-Chun. Association of PCR-RFLP polymorphisms of *IGF2* gene with fat deposit related traits in pig resource family. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(12): 1107–1112.
刘桂兰, 蒋思文, 熊远著, 郑嵘, 屈彦纯. *IGF2* 基因 PCR-RFLP 多态性与脂肪沉积相关性状的关联分析. 遗传学报, 2003, 30(12): 1107–1112.
- [17] Yang GC, Ren J, Guo YM, Ding NS, Chen CY, Huang LS. Genetic evidence for the origin of an *IGF2* quantitative trait nucleotide in Chinese pigs. *Anim Genet*, 2006, 37(2): 179–180. [\[DOI\]](#)