

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.01579

## 秦川牛 *IGF2* 基因 SNPs 检测及其与胴体、肉质性状的相关性

韩瑞华, 咎林森, 杨大鹏, 郝荣超

西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100

**摘要:** 采用 PCR-SSCP 方法对 186 头 24 月龄秦川牛 *IGF2* 基因进行了 SNPs 多态性检测, 并将其与部分胴体和肉质性状进行关联分析。在 *IGF2* 基因 120 碱基处发现 C→T 突变, 在 279 碱基处发现 A→G 突变。方差分析结果表明: *BB*、*DD* 两个位点与胴体性状中与宰前活重、胴体重、胴体长、胴体胸深、眼肌面积显著相关 ( $P<0.05$ ), 其中背部皮下脂肪厚度达到差异极显著 ( $P<0.01$ ); 与肉质性状大理石花纹、嫩度、pH<sub>24</sub> (牛肉排酸 24 h 后的酸度值) 显著相关 ( $P<0.05$ )。但是在胴体深、系水力指标中差异不显著 ( $P>0.05$ )。A、D 等位基因是群体中的优势等位基因, AA、DD 基因型是优势基因型, 而含有 B、D 等位基因的个体的胴体和肉质性状优于其他个体, 尤其有着极强脂肪沉积能力

**关键词:** *IGF2* 基因; 秦川牛; PCR-SSCP; SNPs

## SNPs detection of *IGF2* gene and its relationship with carcass and meat quality traits in Qinchuan cattle

HAN Rui-Hua, ZAN Lin-Sen, YANG Da-Peng, HAO Rong-Chao

College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

**Abstract :** PCR-SSCP technology was used to analyze the correlation of polymorphisms *IGF2* (Insulin-like growth factor ) gene with carcass and meat quality traits in 186 Qinchuan cattle at the age of 24-month. C T mutation in 120 and A G mutation in 279 of *IGF2* gene. Statistical analysis indicated that Qinchuan cattle with genotype BB and DD had significant differences in slaughter weight, carcass weight, carcass length, carcass chest depth and eye muscle area ( $P<0.05$ ). The difference in thickness of back fat was significant ( $P<0.01$ ). Significant differences in marbling, tenderness, pH<sub>24</sub> of meat quality ( $P<0.05$ ), but the differences in carcass depth and water holding capacity were not significant ( $P>0.05$ ). Genotype AA, DD were predominant genotypes and A, D were predominant alleles. The population containing B, D allele had more excellent carcass and meat quality than others, especially in the capacity of fat accumulate

**Keywords :** *IGF2* gene; Qinchuan cattle; PCR-SSCP; SNPs

胰岛素样生长因子 (Insulin-like growth factor, IGF), 是一种促细胞分裂的多肽, 具有促进有丝分

裂、诱导细胞分化、调节生长及在许多组织和特定细胞类型中维持不同功能的作用<sup>[1,2]</sup>。它主要由肝脏

收稿日期: 2008-03-03; 修回日期: 2008-06-02

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目 (863 计划) (编号: 2006AA10Z1A1)、陕西省 2006 年重大科技专项 (编号: 2006KZ07-G1) 和西北农林科技大学拔尖人才支持计划基金资助 [Supported by High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2006AA10Z1A1), Project for Key Science and Technology of Shaanxi Province in 2006 (No. 2006KZ07-G1), and Sustaining Program for Topnotch Persons of Northwest A&F University]

作者简介: 韩瑞华 (1981-), 女, 陕西扶风人, 硕士研究生, 专业方向: 生物技术与家畜育种。E-mail: hanruihua1106@163.com

通讯作者: 咎林森 (1963-), 男, 博士生导师, 研究方向: 动物生长发育调控及牛的遗传育种与繁殖。Tel: 029-87091923; E-mail: Zanls@yahoo.com.cn

产生,并分泌到循环系统,然后再与靶组织细胞表面特异性受体互作,起内分泌作用。除内分泌功能外,IGFs 还有自分泌和旁分泌作用方式<sup>[1]</sup>。IGF 是生长激素发挥作用的中间信使,即生长激素首先作用于 IGF,再由 IGF 作用于靶器官,进而发挥促进生长发育的作用<sup>[3]</sup>。IGF1 和 IGF2 之间大约有 70% 同源氨基酸<sup>[4]</sup>,其结构和功能与胰岛素类似,在所有胰岛素的靶细胞中都能发挥作用<sup>[5~7]</sup>。IGF2 由 67 个氨基酸组成,在胎儿生长发育、肿瘤细胞增殖、肌肉生长和分化、基因组印迹等方面具有重要的调控作用<sup>[8~10]</sup>。IGF2 以浓度依赖的方式刺激肌纤维的增殖与分化<sup>[11]</sup>。IGF2 基因是一种父本表达印记基因,全长 8.8 kb,由 10 个外显子和 9 个内含子组成。外显子 7、8、9 编码 IGF2 前体,外显子 1~6 和 4b 为非编码前导外显子(Leader exon)。其中,外显子 1、4、5、6 分别对应该基因的 4 个启动子(P1-P4)在不同生长发育时期翻译出不同组成的蛋白质<sup>[12]</sup>。

秦川牛是我国五大优良黄牛品种之一,具有耐粗饲、抗逆性强、肉质鲜美等优点。但后躯不发达、屠宰率低等缺点严重影响了秦川牛的经济效益。单链构型多态性(Single strand conformation polymorphism, SSCP)技术是确定 DNA 序列多态性的有效方法。为了改善秦川牛的产肉性能,尽快将其培育成为优良的肉用牛品种,本研究利用 PCR-SSCP 方法首次分析秦川牛 IGF2 基因多态性与胴体、肉质性状的关系,旨在加快秦川牛肉质改良并为育种工作提供可靠的标记辅助选择手段。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

选取出生于相同季节的 24 月龄纯种秦川牛的血样 186 份,采自陕西省秦川肉牛良种繁育中心。颈静脉采血,每头牛采血 10 mL,ACD 抗凝(ACD:血液 = 1:6),-80 °C 保存备用。牛只屠宰后经 4 °C、24 h 排酸嫩化处理后,对其中 124 头牛的宰前活重(Slaughter weight)、胴体重(Carcass weight)、胴体长(Carcass length)、胴体胸深(Carcass chest depth)、胴

体深(Carcass depth)、背部皮下脂肪厚(Thickness of back fat)、眼肌面积(Eye muscle area)等胴体性状进行测定;在第 12~13 胸椎处采集外脊肉样,测定大理石花纹(Marbling)、嫩度(Tenderness)、pH<sub>24</sub>(牛肉排酸 24 h 后的酸度值)、系水力(Water holding capacity, WHC)等肉质性状。

### 1.2 主要试剂

蛋白酶 K, Taq DNA 聚合酶, 10 × buffer(含 Mg<sup>2+</sup>)(mmol/L), dNTPs, Marker 均购自北京鼎国生物工程有限公司。

### 1.3 牛血样基因组 DNA 提取

牛血样基因组 DNA 的提取用常规的酚氯仿抽提法<sup>[13]</sup>,提取后的 DNA 用 TE 缓冲液溶解后,采用 0.5% 琼脂糖凝胶电泳检测和紫外分光光度计测定浓度后,-4 °C 保存备用。

### 1.4 引物的设计与合成

参考 Goodall 等<sup>[14]</sup>设计的引物为 IGF2 基因第 2 外显子扩增引物;根据牛 IGF2 基因序列(GenBank 登录号: DQ298739),用 Primer 5.0 软件设计 IGF2 基因第 2 内含子扩增引物。引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,引物信息见表 1。

PCR 扩增体系为 15 μL: 其中 10×PCR buffer (Mg<sup>2+</sup>)(10 μmol/L)1.5 μL, dNTPs(4 mmol/μL) 0.6 μL, Primer F、R (10 pmol/μL) 0.3 μL, Taq 酶 (5 U/μL) 0.3 μL, 模板 DNA(50 ng/μL) 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 10 μL。PCR 扩增程序为 95 °C 5 min, 94 °C 30 s, 68 °C/63 °C 30 s, 72 °C 30 s, 34 个循环后, 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。取 2 μL PCR 产物与 0.5 μL 溴酚兰上样缓冲液混匀,点样于 1.5 %琼脂糖凝胶(含 0.05%EB),电泳 0.5 h 后,紫外灯下观察其扩增结果,并拍照。

### 1.5 单核苷酸多态链式反应

取 4 μL PCR 产物和 8 μL loading buffer (95%去离子甲酰胺、1 mmol EDTA (pH 8.0)、0.025%二甲苯菁、0.025%溴酚蓝、10%甘油), 98 °C 变性 10 min, 迅速放入碎冰中,冰浴 15 min, 使之保持单链状态。然

表 1 引物序列、产物大小及复性温度

Table 1 Primer sequence, product sizes and annealing temperature

引物名称 Primer	引物序列 Sequence of primer(5' - 3')	产物长度 Length of product(bp)	复性温度 Annealing temperature ( °C )
IGF2-exon 2	F: CCTCAGCCTCATCCCTCCTTTC R: CTGTGCTCTATTGCTGTGTTGCT	217	68
IGF2-intron 2	F: CCCTCCTTGCTTCCGTTCA R: CTCCTCGTCCTCAAGTCAACA	453	63

后将冰浴的变性混合样全部在非变性聚丙烯酰胺凝胶(Acr:Bis=39:1)中电泳。先进行 200 V、10 min 的高压电泳, 后 120 V 电泳 15 h, 银染显色。

### 1.6 扩增产物的回收测序

经 SSCP 分析后, 挑选特异性较好的各基因型产物送上海生工生物工程技术服务有限公司进行纯化后测序。

### 1.7 数据统计分析

根据文献[15]计算基因频率和基因型频率。运用 SPSS 软件对数据进行分析, 根据最小二乘线性模型, 分析 *IGF2* 基因型效应, 建立双因素方差分析的模型如下:  $Y_{ijk} = \mu + \text{breed}_j + \text{marker}_k + e_{ijk}$ 。其中:  $Y_{ijk}$ , 个体表型的记录值;  $\mu$ , 群体平均值;  $\text{breed}_j$ , 种群效应;  $\text{marker}_k$ , 标记基因型效应;  $e_{ijk}$ , 随机误差。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 扩增产物检测结果

所合成的引物以基因组 DNA 为模板进行扩增, 所得产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 片段长度与预期的大小一致, 条带清晰特异性好, 可以直接进行 SSCP 分析(图 1)。

### 2.2 *IGF2* 基因 PCR-SSCP 分析及测序结果

对各引物扩增的 PCR 产物分别进行 SSCP 分析, 发现 *IGF2* 基因的 2 对引物的扩增片段均存在单核苷酸多态性。*IGF2*-exon 2 扩增片段有 3 种基因型, 分别定义为 AA、AB 和 BB(图 2), *IGF2*-intron 2 扩增片段有两种基因型, 分别定义为 DD、DE(图 3)。

根据 PCR-SSCP 结果, 选择扩增效果好的基因型个体的 PCR 产物进行纯化、回收及测序(双向), 经与序列(登录号: DQ298739)比较发现: *IGF2*-exon 2 扩增片段 120 位发生 C→T 突变(图 4), *IGF2*-intron 2 扩增片段 279 位发生 A→G 突变(图 5)。

### 2.3 *IGF2* 基因多态位点的遗传分析

由表 2 可以看出, 在秦川牛群体中, *IGF2*-exon 2 位点的纯合子 AA 型个体最多达到 70, BB 型纯合子型个体最少只有 28。*IGF2*-intron 2 位点的纯合子 DD 型个体达到 154, DE 杂合子型个体只有 32。由计算所得的等位基因频率可以看出, 秦川牛群体中优势基因是 A、D 等位基因, 相应的 AA、DD 基因型为优势等位基因型。在 *IGF2*-exon 2 位点 PIC 值属于中度多态, 而在 *IGF2*-Intron 2 位点 PIC 值属于低度多态。

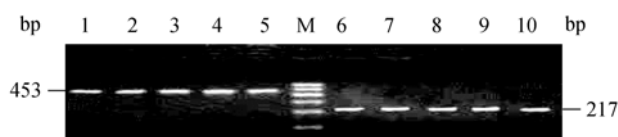


图 1 *IGF2* 基因第 2 外显子和第 2 内含子的扩增产物  
M:DGL600 marker; 1~5: *IGF2*-intron 2 扩增产物; 6~10: *IGF2*-exon 2 扩增产物。

Fig. 1 The amplified products of *IGF2* exon 2 and intron 2 gene

M: DGL600 marker; 1~5: Amplified products of *IGF2*-intron 2; 6~10: Amplified products of *IGF2*-exon 2.

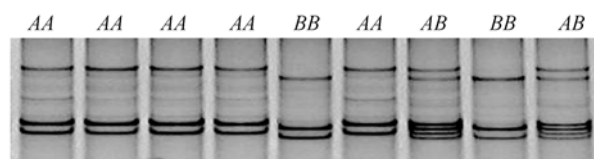


图 2 *IGF2*-exon 2 基因 SSCP 电泳结果

Fig. 2 SSCP electrophoresis patterns of *IGF2*-exon 2 gene

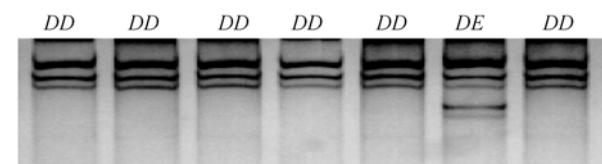


图 3 *IGF2*-intron 2 基因 SSCP 电泳结果

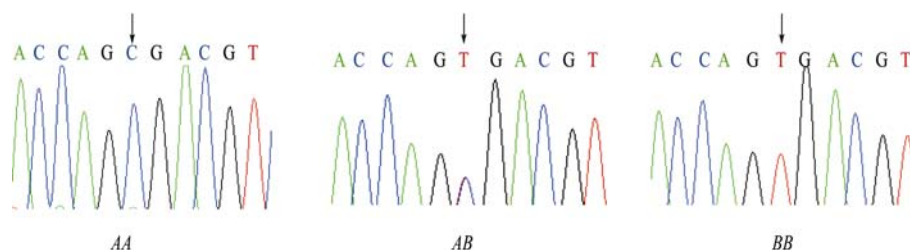
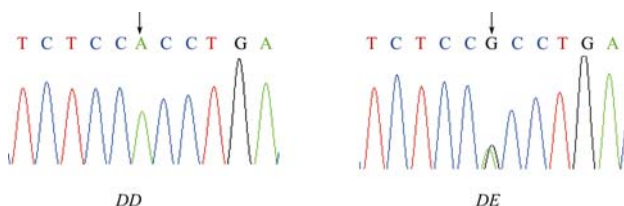
Fig. 3 SSCP electrophoresis patterns of *IGF2*-intron 2 gene

### 2.4 *IGF2* 基因与胴体、肉质性状相关性分析

通过构建最小二乘线性模型, 测定屠宰牛的宰前活重、胴体重、胴体长、胴体胸深、胴体深、背部皮下脂肪厚、眼肌面积 7 个胴体性状; 大理石花纹、嫩度、pH<sub>24</sub>、系水力 4 个肉质性状。分析 *IGF2* 基因多态性与秦川牛胴体、肉质性状的关系, 并对不同基因型群体进行相关性显著性检验。

*IGF2*-exon 2 位点多态性与秦川牛及其杂种牛胴体、肉质性状的关系。结果表明(表 4), 在胴体性状方面, BB 型个体在宰前活重、胴体重、胴体长、胴体胸深、眼肌面积显著高于 AA、AB 型个体( $P < 0.05$ ), BB 型个体背部皮下脂肪厚极显著高于 AA、AB 型个体( $P < 0.01$ ); 在肉质性状方面, AB 型个体的大理石花纹、pH<sub>24</sub> 均显著高于 AA、BB 型个体( $P < 0.05$ ), BB 型和 AB 型个体的嫩度要显著优于 AA 型个体( $P < 0.05$ ), 胴体深、系水力差异不显著( $P > 0.05$ )。

*IGF2*-intron 2 位点多态性与秦川牛及其杂种牛胴体、肉质性状的关系。结果表明(表 5), 在胴体性状方面, DD 型个体的背部皮下脂肪厚、眼肌面积积极

图 4 *IGF2*-exon 2 基因 AA、AB、BB 基因型序列的测序图Fig. 4 *IGF2*-exon 2 gene sequence comparison of AA, AB, BB图 5 *IGF2*-intron 2 基因 DD、DE 基因型序列的测序图Fig. 5 *IGF2*-intron 2 gene sequence comparison of DD, DE

显著高于 DE 型个体 ( $P < 0.01$ ), DD 型个体的宰前活重、胴体重、胴体长、胴体胸深、胴体深中显著高于 DE 型个体 ( $P < 0.05$ ); 在肉质性状方面, DD 型个体的 pH<sub>24</sub> 极显著高于 DE 型个体 ( $P < 0.01$ ), DD 型个体的大理石花纹、嫩度显著高于 DE 型个体 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 秦川牛 *IGF2* 基因的群体遗传结构分析

本研究以 *IGF2* 基因作为影响胴体和肉质的候选基因, *IGF2* 基因第 2 外显子在 120 位发生 C→T 突变, 检测到两种等位基因(A 和 B), 3 种基因型(AA、AB、BB)。*IGF2* 基因第 2 内含子在 279 位发生 A→G

突变, 同时检测到两种基因型(D、E), 两种基因型(DD、DE)的等位基因数就越接近, 所检测到的等位基因数的绝对数, 其值为纯合度的倒数。本文中两个位点的 DE)。可以看出秦川牛以 A、D 等位基因为优势基因。相应地 AA、DD 型为优势基因型。B、C、E 基因在秦川牛群体内属于非优势等位基因。BB、DE 基因型个体是否在早期选择的过程中予以淘汰, 还有待于扩大群体数量后进一步研究。

群体多态信息含量(PIC)与群体杂合度(He)一样都是反映群体遗传多样性的标记, 它们数值的大小表明群体中遗传变异水平的高低, 数值大说明遗传多样性丰富, 具有较高的选择潜力。*IGF2* 基因两个位点的杂合度分别为 0.4746 和 0.1572, *IGF2*-exon 2 呈现中度多态( $0.25 < PIC < 0.5$ ), 但 *IGF2*-intron 2 呈现低度多态。说明 *IGF2* 基因第 2 外显子更适合作为性状与标记间连锁分析的候选标记。同时也说明秦川牛群体多态性较高、遗传变异较大、可选择的空间很大。在秦川牛向肉用方向培育改良中应加大人工选择的强度, 坚决淘汰肉用生产性能不高和肉质性状不好的个体。有效等位基因数是检测等位基因在群体中分布均匀程度, 等位基因数分布越均匀, 有

表 2 秦川牛 *IGF2* 基因型频率和基因频率Table 2 Genotype and allele frequencies of *IGF2* gene in Qinchuan cattle populations

座位 Locus	基因型 Genotype	样本数 No. of samples	基因型频率 Genotype frequency	等位基因 Allele	基因频率 Allele frequency
<i>IGF2</i> -exon 2	AA	70	0.3763	A	0.6129
	AB	88	0.4731		
	BB	28	0.1505	B	0.3871
<i>IGF2</i> -intron 2	DD	154	0.8280	D	0.9140
	DE	32	0.1720	E	0.0860

表 3 秦川牛群体 *IGF2* 基因多态性分析Table 3 Genetic diversity of *IGF2* gene in Qinchuan cattle populations

座位 Locus	位点纯合度 Homozygosity	位点杂合度 Heterozygosity	有效等位基因数 $N_e$	多态信息含量 PIC
<i>IGF</i> -exon 2	0.5254	0.4746	1.9033	0.3619
<i>IGF</i> -intron 2	0.8428	0.1572	1.1866	0.1449

PIC>0.5: 高度多态; 0.25<PIC<0.5: 中度多态; PIC<0.25: 低度多态。

PIC>0.5: High diversity; 0.25<PIC<0.5: Moderate diversity; PIC<0.25: Low diversity.

表 4 *IGF2* 基因第 2 外显子不同基因型对胴体性状和肉质性状的影响

Table 4 Effects of different genotypes at *IGF2* gene locus on carcass and meat quality traits

性状 Traits	基因型 Genotype			平均值 Mean
	AA	BB	AB	
宰前活重 Slaughter weight (kg)	378.512±46.741 <sup>b</sup>	399.542±78.042 <sup>a</sup>	381.676±41.098 <sup>b</sup>	386.576
胴体重 Carcass weight (kg)	183.943±61.481 <sup>b</sup>	195.712±30.245 <sup>a</sup>	184.343±42.345 <sup>b</sup>	187.999
胴体长 Carcass length (cm)	121.333±11.112 <sup>b</sup>	129.845±8.749 <sup>a</sup>	120.333±12.123 <sup>b</sup>	123.837
胴体胸深 Carcass chest depth (cm)	55.079±2.466 <sup>b</sup>	61.450 ±2.927 <sup>a</sup>	56.362±4.613 <sup>b</sup>	57.630
胴体深 Carcass depth (cm)	62.303±3.056	64.523±2.429	63.405±2.664	63.744
背部皮下脂肪厚 Thickness of back fat (cm)	1.377±0.16 <sup>A</sup>	1.412±0.05 <sup>A</sup>	1.351±0.07 <sup>B</sup>	1.380
眼肌面积 Eye muscle area (cm <sup>2</sup> )	65.057±17.378 <sup>c</sup>	74.035±23.487 <sup>a</sup>	72.946±40.396 <sup>ab</sup>	70.679
大理石花纹 Marbling	2.307 ±0.453 <sup>ab</sup>	3.005 ±0.135 <sup>a</sup>	2.174 ±0.467 <sup>b</sup>	2.495
嫩度 Tenderness	1.425±0.536 <sup>a</sup>	1.243±0.411 <sup>ab</sup>	1.355±0.256 <sup>a</sup>	1.341
pH <sub>24</sub>	5.89±0.42 <sup>b</sup>	6.42±0.93 <sup>a</sup>	5.97±0.61 <sup>b</sup>	6.093
系水力 Water holding capacity (%)	76.547±6.576	78.751±5.836	77.145±5.741	77.481

注: 同行中不同小写字母表示差异显著,不同大写字母表示差异极显著。

Notes: Values within the same line with different lower case superscripts are significantly different at  $P < 0.05$ ; and with capital superscripts different at  $P < 0.01$ .

表 5 *IGF2* 基因第 2 内含子不同基因型对胴体性状和肉质性状的影响

Table 5 Effects of different genotypes at *IGF2* gene locus on carcass and meat quality traits

性状 Traits	基因型 Genotype		平均值 Mean
	DD	DE	
宰前活重 Slaughter weight (kg)	399.504±48.256 <sup>a</sup>	387.156±50.44 <sup>b</sup>	393.330
胴体重 Carcass weight (kg)	196.805±59.704 <sup>a</sup>	179.834±62.462 <sup>b</sup>	188.319
胴体长 Carcass length (cm)	125.148±12.069 <sup>a</sup>	120.490±11.162 <sup>b</sup>	122.819
胴体胸深 Carcass chest depth (cm)	61.304±3.510 <sup>a</sup>	55.907±2.645 <sup>b</sup>	58.606
胴体深 Carcass depth (cm)	60.789±2.719	60.308±3.506	60.549
背部皮下脂肪厚 Thickness of back fat (cm)	1.388±0.591 <sup>A</sup>	1.317±0.272 <sup>B</sup>	1.353
眼肌面积 Eye muscle area (cm <sup>2</sup> )	71.548±20129 <sup>A</sup>	66.705±17.316 <sup>B</sup>	69.127
大理石花纹 Marbling	2.442±0.112 <sup>a</sup>	2.247 ±0.534 <sup>b</sup>	2.344
嫩度 Tenderness	1.301±0.212 <sup>b</sup>	1.425±0.366 <sup>a</sup>	1.363
pH <sub>24</sub>	6.097±0.589 <sup>A</sup>	5.752±0.847 <sup>B</sup>	5.925
系水力 Water holding capacity (%)	75.662±5.147	75.547±6.750	75.604

注: 同行中不同小写字母表示差异显著, 不同大写字母表示差异极显著。

Notes: Values within the same line with different lower case superscripts are significantly different at  $P < 0.05$ , and with capital superscripts different at  $P < 0.01$ .

有效等位基因数也不同, *IGF2* 基因第 2 外显子为 1.9033, *IGF2* 基因第 2 内含子为 1.1866。说明 *IGF2* 第 2 外显子在此技术背景下等位基因分布均匀, 在同样规模的样本条件下, 该位点更适合用于分析多态性与胴体、肉质性能的关系, 以及用于数量遗传座位的定位研究。综上, 笔者认为 *IGF2* 基因第 2 外显子更适合候选标记作进一步分析。

3.2 *IGF2* 基因多态性与胴体、肉质性状的关系

Knoll 等<sup>[16]</sup>在猪中通过连锁分析, 确定了 *IGF2* 基因内含子 2 中的一个单核苷酸多态性(G→A 转换), 这一转换所导致了 *Nci* I 限制性酶切位点的改变。刘桂兰等<sup>[17]</sup>研究表明, *IGF2* 基因内含子 8 上 *Nci* I 多态性位点的基因型间脂肪沉积和瘦肉量差异显著。Vykoukalova 等<sup>[18]</sup>研究表明, *IGF2* 基因内

含子 7 上多态性位点的基因型间背膘厚及瘦肉率的差异显著。薛慧良等<sup>[19]</sup>研究 *IGF2* 基因 exon 4b 上检测到的多态性位点基因型间背膘厚的差异显著。动物机体摄入的能量在分配给合成脂肪还是合成蛋白质方面是受调控因子调节的, 例如摄入的能量分配给合成脂肪组织的增加, 分配给肌肉组织蛋白质的则减少<sup>[20]</sup>。Magri 等<sup>[9]</sup>和 Grrard 等<sup>[21]</sup>研究表明, *IGF2* 是一种胎儿生长激素, 在胚胎的正常发育过程中起着至关重要的作用, 当该基因失活时, 出生时胎儿体重仅为野生型胎儿的 60%。

*IGF2* 基因多态性与秦川牛胴体和肉质性状的相关分析表明: 在胴体性状中与宰前活重、胴体重、胴体长、胴体胸深、胴体深、眼肌面积显著相关 ( $P<0.05$ ); 其中背部皮下脂肪厚中达到差异极显著 ( $P<0.01$ ), 这也证明了 *IGF2* 基因是对脂肪沉积相



关性状非常有用的分子标记。而在肉质性状中与大理石纹、嫩度、pH<sub>24</sub> 显著相关( $P < 0.05$ )。但是在胴体深、系水力中差异不显著( $P > 0.05$ )。本研究中, A、D 等位基因是群体中的优势等位基因, 而含有 B、D 等位基因的个体的胴体和肉质性状体征指标优于其它个体, 尤其有着极强脂肪沉积能力。因此, 我们推测等位基因 B、D 可能影响肉牛的体重和脂肪沉积, 其结果需进一步验证。这也与秦川牛的现状相符, 绝大多数的个体不符合肉用品种的要求, 产肉性能低下。向肉用方向选育, 我们应选择 BB、DD 型个体, 进行纯繁和扩群饲养, 不断提高 B、D 等位基因在群体中的频率, 最终育成秦川牛肉用新品系。因此, 建议在改良秦川牛品种时, 应加强 IGF2 基因位点选择强度, 促使 IGF2 基因第 2 外显子座位纯度增加, 将可能有利于加快秦川牛肉用性能的改良。

由以上研究结果可见, IGF2 基因单核苷酸变异影响秦川牛及其杂种牛的肉牛胴体、肉质性状, 可以用该多态性位点(IGF2-exon 2)对肉牛的胴体、肉质性状进行分子标记辅助选择, 并对指导肉牛的育种工作具有重要的实践意义。

#### 参考文献(References):

- [1] Werner H, Adamo M, Roberts Jr CT, LeRoith D. Molecular and cellular aspects of insulin-like growth factor action, *Vitam Horm*, 1994, 48: 1–58. [\[DOI\]](#)
- [2] Dechiara TM, Efstratiadis A, Robertson EJ. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor gene. *Cell*, 1991, 64: 849–849. [\[DOI\]](#)
- [3] Vasilatos-Youngken R, Scanes CG. Growth hormone and insulin-like in poultry growth: required, optimal or neffective. *Poult Sci*, 1991, 70: 1764–1780.
- [4] CHEN Cai-Yong, WANG Tian. Insulin-like growth factor and embryo development of mammal. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, 38(5): 119–123.  
陈才勇, 王恬. 胰岛素样生长因子与哺乳动物的胚胎发育. *动物学杂志*, 2003, 38(5): 119–123.
- [5] Rinderknecht E, Humbel RE. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem*, 1978, 253(8): 2769–2776.
- [6] Rinderknecht E, Humbel RE. Primary structure of human insulin-like growth factor. *FEBS Lett*, 1978, 89(2): 283–286. [\[DOI\]](#)
- [7] Blundell TL, Bedarkar S, Rinderknecht E, Humbel RE. Insulin-like growth factor: a model for tertiary structure accounting for Immunoreactivity and receptor binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1978, 75(1): 180–184. [\[DOI\]](#)
- [8] Florini JR, Magri KA, Ewton DZ, James PL, Grindstaff K, Rotwei PS. “Spontaneous” differentiation of skeletal myoblast is dependent upon autocrine secretion of insulin-like growth factor-. *J Biol Chem*, 1991, 266(24): 15917–15923.
- [9] Magri KA, Benedict MR, Ewton DZ. Negative feedback regulation of insulin-like growth factor- gene expression in differentiating myoblasts *in vitro*. *Endocrinology*, 1994, 135(1): 53–62. [\[DOI\]](#)
- [10] LIU Gui-Lan, JIANG Si-Wen, XIONG Yuan-Zhu, QU Yan-Chun. The character of heredity and biological function of insulin-like growth factor 2. *Hereditas(Beijing)*, 2002, 24(2): 211–213.  
刘桂兰, 蒋思文, 熊远著, 屈彦纯. 胰岛素样生长因子 2 的遗传学特征与生物学作用. *遗传*, 2002, 24(2): 211–213.
- [11] Florini JR, Ewton DZ, Falen SL, Van Wyk JJ. Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins. *Am J Physiol*, 1986, 250(5 Pt 1): C771–778.
- [12] Amarger V, Nguyen M, Van Laere AS, Braunschweig M, Nezer C, Georges M, Andersson L. Comparative sequence analysis of the INS-IGF2-H19 gene cluster in pigs. *Mamm Genome*, 2002, 13(7): 388–398. [\[DOI\]](#)
- [13] Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Beijing: Science Press, 2002.  
[美]J 萨姆布鲁克, DW 拉塞尔. 分子克隆实验指南(上、下册). 北京: 科学出版社, 2002.
- [14] Goodall JJ, Schmutz SM. Linkage mapping of IGF2 on cattle chromosome 29. *Anim Genet*, 2003, 34 (4): 313–313. [\[DOI\]](#)
- [15] GUO Man-Cai, YUAN Zhi-Fa, CHEN Hong. Study on genetic differentiation indexes system. *Animal Biotechnology Bulletin*, 2002, 8 (1): 359–364.  
郭满才, 袁志发, 陈宏. 遗传多样性指标体系研究. *动物生物技术通讯*, 2002, 8(1): 359–364.
- [16] Knoll A, Putnova L, Dvorak J, Cepica S. A Nci I PCR-RFLP within intron2 of the porcine insulin-like growth factor 2 (IGF2) gene. *Anim Genet*, 2000, 31(2): 150–151. [\[DOI\]](#)
- [17] 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): 1107–1121.
- [18] Vykoukalova Z, Knoll A, Dvorak J, Cepica S. New SNPs in the IGF2 gene and association between this gene and backfat thickness and lean meat content in Large White pigs. *J Anim Breed Genet*, 2006, 123(3): 204–207. [\[DOI\]](#)
- [19] XUE Hui-Liang, XU Lai-Xiang. Genetic polymorphisms and genetic effects of exon4b of IGF2 gene in pigs. *Biotechnology Bulletin*, 2007, 5(1): 148–152.  
薛慧良, 徐来祥. 猪 IGF2 基因外显子 4b 的遗传多态性及其遗传效应. *动物生物技术通讯*, 2007, 5(1): 148–152.
- [20] Etherton TD, Louveall, Sorensen MT, Chaudhuri S. Mechanisms by which somatotropin decreases adipose tissue growth. *Am J Clin Nutr*, 1993, 58(2): 287–293.
- [21] Gerrard DE, Okamura CS, Ranalletta MA, Grant AL. Developmental expression and location of IGF- I and IGF- II mRNA and protein in skeletal muscle. *J Anim Sci*, 1998, 76(4): 1004–1011.