

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00137

绵羊 *PRNP* 遗传多样性与抗病育种研究进展

管峰¹, 潘磊¹, 石国庆², 刘守仁², 杨利国³

1. 中国计量学院生命科学院, 杭州 310018;
2. 新疆兵团绵羊繁育生物技术重点实验室, 石河子 832000;
3. 华中农业大学农业动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 武汉 430070

摘要: 朊蛋白(Prion protein, PrP)是近年来被确认的引起人畜共患病的新型病原体,也是目前证明的具有自我复制和传播能力的蛋白质。PrP 在多种动物体内表达并具有重要生理作用,其空间结构改变被认为是可传播性海绵状脑病(Transmissible spongiform encephalopathies, TSEs)的根源,研究发现朊蛋白编码基因(*PRNP*)遗传多样性与绵羊对瘙痒病的抗病性具有显著相关性。文章主要介绍了绵羊 *PRNP* 遗传多样性与痒病抗病性的关系以及 *PRNP* 遗传多样性对繁殖力和其他主要生产性能的影响等方面的研究成果,旨在为绵羊抗病育种研究提供理论参考。

关键词: 绵羊; *PRNP*; 遗传多样性; 抗病性; 繁殖力

Research progress on genetic diversity of sheep *PRNP* and resistance breeding

GUAN Feng¹, PAN Lei¹, SHI Guo-Qing², LIU Shou-Ren², YANG Li-Guo³

1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China;
2. The Key Sheep Breeding and Reproduction Biotechnology Laboratory of Xinjiang Production and Construction Group, Shihezi 832000, China;
3. Key Laboratory of Agriculture Animal Heredity, Breeding and Reproduction, Ministry of Education, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China

Abstract: Prion protein (PrP) is a pathogen identified in recent years, which infects both mankind and other mammals. It has been proved that PrP is a sole protein able to duplicate and propagate with itself. PrP can express in many tissues and has important physiological functions in many species of animals. The conformation change of PrP is the origin of transmissible spongiform encephalopathies (TSEs). It has been proved that the sheep genetic diversity of prion protein gene (*PRNP*) is significantly associated with the resistance to scrapie. In this review, the evidence of association between polymorphisms of *PRNP* and resistance or susceptibility to scrapie and its effects on reproduction and performance traits were focused. The aim is to provide theory guidance for sheep breeding resistant to disease.

Keywords: sheep; *PRNP*; genetic diversity; resistance; reproduction traits

收稿日期: 2008-05-04; 修回日期: 2008-06-26

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划)(编号: 2008AA101011)和国家自然科学基金项目(编号: C120103)资助

作者简介: 管峰(1977-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 动物分子遗传学。Tel: 0571-86835772; E-mail: jlguanfeng@yahoo.com.cn

Prion 是近年来证明的一种蛋白质侵染因子,一般将其译为朊蛋白(Prion protein, PrP)或朊病毒,由于英国“疯牛病”的发生使得此蛋白备受研究人员的关注。PrP 编码基因突变及其空间构象改变可引发多种动物和人类可传播性海绵状脑病(Transmissible spongiform encephalopathies, TSEs),其主要包括羊瘙痒病和牛海绵状脑病(即“疯牛病”)以及人库鲁氏病、克雅氏病和新型克雅氏病等。研究发现绵羊朊蛋白编码基因(*PRNP*)遗传多样性与瘙痒病的抗病性/易感性显著相关,且抗病基因型对繁殖力等主要生产性能无显著影响,这一发现为分子标记辅助抗病育种研究提供了重要思路和方法。因此,欧盟国家 2003 年开始执行一项选育抗痒病绵羊品种的育种计划,之后许多国家对此进行了研究。文章对目前绵羊 *PRNP* 遗传多样性和抗病性关系及对繁殖等性能的影响做一综述,望能对绵羊抗瘙痒病育种研究提供理论参考。

1 PrP 及 *PRNP* 生物学特征

PrP 是一类小分子疏水性糖蛋白质,它具有和一切已知传统病原体不同的异常特性。PrP 对多种因素的灭活作用具有较强的抗性,对物理因素如紫外线照射、电离辐射、超声波以及 80~100 °C 高温均有相当的耐受能力。对化学试剂与生化试剂,如甲醛、羟胺、核酸酶类等表现出强抗性;对蛋白酶 K、尿素、苯酚、氯仿等不具抗性。在生物学特性上,PrP 能造成慢病毒性感染而不表现出免疫原性;巨噬细胞能降低甚至灭活朊蛋白的感染性,但使用免疫学技术又不能检测出有特异性抗体存在,不诱发干扰素的产生,也不受干扰素作用。总体来说,凡能使蛋白质消化、变性、修饰而失活的方法,均可导致朊蛋白失活;凡能作用于核酸并使之失活的方法,均不能使朊蛋白失活^[1-3],所有物理性质表明朊蛋白是一种蛋白质。

PrP 由动物体内单一基因组基因即 *PRNP* 编码,目前已对多种动物的 *PRNP* 进行了研究。人类和小鼠的 *PRNP* 分别位于第 20 号和第 2 号染色体^[4]。绵羊 *PRNP* 定位于 13 号染色体,该染色体全长约 130 cM, *PRNP* 总长 31 kb, 3 个外显子(长度分别为 52、98 和 4 028 bp)被 2 个内含子(分别为 2 421 和

14 031 bp)隔开,前 2 个为非编码外显子,第 3 个为包含开放阅读框的外显子,编码 236 个氨基酸^[5]。小鼠的 *PRNP* 在 1985 年被成功克隆,该基因含有 3 个外显子,开放阅读框(ORF)全部位于第 3 个外显子。在已研究的哺乳动物中, *PRNP* 是一个高度保守的基因,所有动物的 ORF 都编码一个大小约 250 个氨基酸的蛋白,编码 PrP 的 ORF 中的 DNA 和氨基酸序列的相似性分别达到 90% 和 95% 以上^[6],推测该基因在维持动物生理功能和内环境稳定性方面可能具有重要作用。

比较基因组学研究发现,在绵羊 13 号染色体上 *PRNP* 附近有许多影响重要动物生产性能的基因和标记,在已知 51 个 QTL 中有 2 个和免疫功能有关、21 个和寄生虫抗病性有关、1 个和骨骼畸形有关、4 个和被毛颜色有关、11 个和羊毛纤维发育相关、1 个和乳房炎相关、2 个和乳蛋白相关、8 个和繁殖力相关及 1 个和角生长有关^[7]。另外,更详细的图谱研究表明,13 号染色体上 110 cM 和 36 cM 位置上分别存在影响羊毛细度和抗沙门氏菌的 QTL^[8]; *PRNP* 临近还有影响羊毛细度的 QTL(*OAREAI6*),并且 *PRNP* 基因型还和 Saoy 山羊及 Shetland 绵羊的毛色有关^[9]。基于上述研究,很多人认为在该染色体上还存在影响其他性能的重要基因,如 *PRNP* 和 *GnRH* 基因可能存在连锁,影响性成熟时的体重,对乳腺分化、母性行为、免疫特征及细胞凋亡都存在影响^[10]。

2 绵羊 *PRNP* 多样性与抗病性

TSEs 的发生是由于位于细胞表面的正常朊蛋白(Cell prion protein, PrP_C)构象发生改变,转变为致病性朊蛋白(Scrapie prion protein, PrP_{Sc}), PrP_{Sc} 在宿主中枢神经系统积聚,从而引发宿主出现临床症状。研究表明,羊瘙痒病的发生与 *PRNP* 遗传多样性具有显著相关,主要表现在绵羊 *PRNP* 第 136、154 和 171 位密码子组成的 *PRNP* 基因型与绵羊对痒病的抗病性/易感性相关^[11-13]。具体来说, *PRNP* 编码区第 136(A136V)、154(R154H)和 171(Q171R 或 Q171H)位密码子发生不同氨基酸取代,这些变化与绵羊对痒病的抗病性/易感性密切相关,该位置上基因型为 VRQ 的个体具有最高的易感性,而基

因型为 ARR 的个体则具有最好的抗病性,二者在自然状态下的感染率为1:0.4^[11,14]。 $PRNP$ 第171位密码子的多态性与许多品系绵羊痒病的潜伏期具有明显的相关性,不同绵羊品种的不同基因型也可能在痒病的易感性和抵抗性方面存在差异,其中的原理尚不清楚,可能与痒病的毒株有一定的关系^[15]。常见的绵羊 $PRNP$ 基因136、154和171位密码子组成的基因型包括 ARQ 、 ARR 、 AHQ 、 ARH 和 VRQ ,其中 ARR 与痒病的抗性有关,而 AHQ 、 ARQ 、 ARH 和 VRQ 则被认为是易感的基因型^[16]。同时,研究还表明, $PRNP$ 其他位点的突变对 ARQ 型绵羊的抗病性产生影响^[17]。2004年6月,在挪威发现的非典型痒病中发现了 $PRNP$ 基因141位点和154位点的基因多态性与非典型痒病高度相关,在非典型痒病病例中154位点等位基因组氨酸(H)占较高的比例,后来这种情况出现在多个国家的研究报告中。

对于 $PRNP$ 多态性与发病机理的关系,有学者认为点突变的发生增加了不稳定的中间分子的数量,同时加快了PrPc向PrPsc的转换速率,从而形成稳定性更好的PrPsc构象^[18];TSEs还与朊蛋白的表达及翻译后的修饰有关,主要是编码蛋白转换成了反常状态, β 折叠含量增加,对蛋白酶K水解性抗性增加。

3 绵羊 *PRNP* 多样性与主要生产性能的关系

绵羊的繁殖力和生产性能是决定绵羊养殖业效益的主要指标,包括产羔数、屠宰率和生长速度及产奶量等。绵羊 $PRNP$ 遗传多样性与痒病抗性关系的发现为抗病育种提供了重要手段和方法,但 $PRNP$ 多样性对繁殖力和生产性能的影响尚不清楚;同时 ARR 型群体数量较少也会给抗病育种造成近交等不利影响,研究人员还担心在选择抗病性状的同时会给动物的繁殖等优良特性带来不利影响^[10,19]。鉴于13号染色体和诸多QTL的关系及已有发现并证明的多个影响排卵数和产羔数的相关基因均不在13号染色体上^[20],许多国家的多个研究小组对绵羊 $PRNP$ 多样性与繁殖等生产性能的关系展开了研究。

对多胎INRA 401和Belclare绵羊的研究表明, ARR 及其他基因型对排卵数和产羔数等性状无显著

影响,包括该研究在内的29份研究报告中,只在Suffolk和Texel等4个品种的绵羊中发现了 $PRNP$ 部分基因型和产羔数存在显著相关性^[10],总体研究表明对绵羊抗病群体的选育不会对生产性能产生影响。

Sweeney等^[21]研究了多胎品种Belclare绵羊的 $PRNP$ 多样性与产羔数的关系,通过分析366只母羊的2418次排卵数和353只母羊875次产羔数记录和14种 $PRNP$ 基因型的关系,结果表明抗病 ARR 型和产羔数之间没有显著相关性。Vries等^[19]对东方Friesian奶绵羊的繁殖性能和羊毛性状及产肉性能进行了线性模型分析,未见和 $PRNP$ 抗病基因型显著相关的性状。Lipsky等^[22]研究了德国9个品种的4961个个体的繁殖性状,只在Merinoland羊中发现部分 $PRNP$ 基因型和产死胎有关,对抗病群体的选育不会影响繁殖性能。同样,对部分肉用绵羊品种的繁殖力和Scottish Blackface羔羊的肉用性能及西班牙Churra羊产奶性能研究中也未发现 $PRNP$ 抗病基因型对繁殖和生产性能的不利影响^[23-25]。Brandssma等^[26]通过测定Texel大量群体(8919个样本)的产羔数期望育种值,发现 VRQ/ARR 和 VRQ/ARQ 两种杂合型群体期望育种值最高, ARQ/ARQ 基因型最低,而抗病基因型 ARR/ARR 居中。对多个绵羊品种 $PRNP$ 基因第171位氨基酸多样性和繁殖相关性研究也表明抗病 ARR 群体与繁殖性能间无显著相关关系^[10]。

$PRNP$ 遗传多样性与生产性能的关系在两项Texel羊的研究中未发现 $PRNP$ 基因型和产羔数的相关性^[22,23],但在另外对Texel羊的研究结果表明 ARR 型产羔数育种值显著高于 ARQ 和 ARH 型,单拷贝 ARR 基因可以增加0.03个产羔数,双拷贝增加0.06个产羔数^[27]。在Suffolk绵羊群体中发现171位点为Q的易感群体产羔数显著高于该位点为R杂合型的群体^[28]。对纯种Ripollesa羊的研究表明, ARH 型群体的产羔数显著高于其他基因型群体,抗病性和产羔性状负相关^[29],而在Scottish Blackface羔羊中, ARQ 杂合型个体比非携带者具有显著高的成活率, ARR 纯合子成活率显著低于 ARR 杂合子和非携带者^[10]。

目前对 $PRNP$ 多样性与绵羊繁殖力等生产性能

关系的研究表明,不同品种间可能存在一定差异,但多数研究表明二者之间不存在显著相关性。针对部分品种中发现与产羔数的相关性,相比已有报道中多数研究结果,大多研究者认为 *PRNP* 多样性与繁殖力没有相关性,对性成熟年龄、产羔间隔和公羊精液品质等均无影响^[10],与其他生产性能如产奶量、乳脂率、乳蛋白含量、乳房形态、乳头位置、乳房深度等以及羊毛产量、羊毛细度和羊毛长度等也无显著影响^[30, 31]。

4 展 望

通过对 PrP 和绵羊 *PRNP* 遗传多样性与抗病性关系以及对生产性能的影响等研究和了解,对于选育不同生产性能的绵羊抗病新品种具有指导意义。TSEs 还可能通过污染的食品或者其他途径进行传播,而培育抗病品种是从源头控制该类疾病的根本,也是最有效的手段之一。欧盟国家在法律中明确了选择抗 TSE 病个体的绵羊选育计划,同时也在执行甚至在欧洲消灭 TSE 疾病的育种计划。

我国绵羊品种资源丰富,不仅品种多样而且生产性能各有所长,在新品种培育方面有着丰富的基础资源。*PRNP* 遗传多样性与抗病性关系以及对生产性能等影响的研究为抗病育种奠定了理论基础,但是我国目前抗痒病育种研究方面开展较少。因此,我国在今后的绵羊育种中也应加强对抗痒病育种的研究和重视。

参考文献(References):

- [1] Taylor JP, Hardy J, Fischbeck KH. Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science*, 2002, 296 (5575): 1991–1995.[\[DOI\]](#)
- [2] 刘卓宝, 洪琪, 何华松, 丁瑾瑜. Prion 蛋白分子生物学机制研究进展. 上海预防医学杂志, 2004, 16(6): 295–299.
- [3] 张东威, 南善姬, 赵节绪. 朊蛋白的细胞生物学研究. 生命科学, 2004, 12(4): 96–100.
- [4] Sparkes RS, Simon M, Cohn VH, Fournier RE, Lem J, Klisak I, Heinzmann C, Blatt C, Lucero M, Mohandas T. Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83 (19): 7358–7362.[\[DOI\]](#)
- [5] Iannuzzi L, Di Meo GP, Perucatti A, Schibler L, Incarnato D, Cribiu EP. Comparative FISH mapping in river buffalo and sheep chromosomes: assignment of forty autosomal type loci from sixteen human chromosomes. *Cytogenet Cell Genet*, 2001, 94(1–2): 43–48.[\[DOI\]](#)
- [6] Lee IY, Westaway D, Smit AF, Wang K, Seto J, Chen L, Acharya C, Ankener M, Baskin D, Cooper C, Yao H, Prusiner SB, Hood LE. Complete genomic sequence and analysis of the prion protein gene region from three mammalian species. *Genome Res*, 1998, 8 (10): 1022–1037.
- [7] <http://sphinx.vet.unimelb.edu.au/QTldb/>[consulted November 2007].
- [8] Vitezica ZG, Moreno CR, Lantier F, Lantier I, Schibler L, Roig A, François D, Bouix J, Allain D, Brunel JC, Barillet F, Elsen JM. Quantitative trait loci linked to *PRNP* gene controlling health and production traits in INRA 401 sheep. *Genet Sel Evol*, 2007, 39 (4): 421–430.[\[DOI\]](#)
- [9] Bell L, Goodman T, Martin J H, Moritz C, Moussalli A, Yeates DK. A survey of scrapie PrP genotype results and their relationships with coat colour and hornedness in selected UK rare sheep breeds. In: Proc of the British Society of Animal Science. United Kingdom, 2005, 124.
- [10] Sweeney T, Hanrahan JP. The evidence of associations between prion protein genotype and production, reproduction, and health traits in sheep. *Vet Res*, 2008, 39(4): 28–46.
- [11] Vaccaria G, Contea ML, Morellia G, Di Guardo G, Petraroli R, Agrimi U. Primer extension assay for prion protein genotype determination in sheep. *Mol Cell Probe*, 2004, 18(1): 33–37.[\[DOI\]](#)
- [12] Westaway D, Zuliani V, Cooper CM, Da Costa M, Neuman S, Jenny AL, Detwiler L, Prusiner SB. Homozygosity for prion protein alleles encoding glutamine-171 renders sheep susceptible to natural scrapie. *Genes Dev*, 1994, 8 (8): 959–969.[\[DOI\]](#)
- [13] Tranulis MA. Influence of the prion protein gene, Prnp, on scrapie susceptibility in sheep. *Apmis*, 2002, 110(1): 33–43.[\[DOI\]](#)
- [14] Jasik A, Reichert M. Application of temperature-gradient gel electrophoresis for detection of prion protein gene polymorphisms in Polish Swiniarka sheep. *J Vet Diagn Invest*, 2006, 18(3): 270–274.
- [15] Zhang L, Li N, Fan B, Fang M, Xu W. PRNP polymorphisms in Chinese ovine scaprine and bovine breeds. *Anim Genet*, 2004, 35(6): 457–461.[\[DOI\]](#)
- [16] Le Dur A, Beringue V, Andreoletti O, Reine F, Lai TL, Baron T, Bratberg B, Vilotte JL, Sarradin P, Benestad SL, Laude H. A newly identified type of scrapie agent can

- naturally infect sheep with resistant PrP genotypes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(44): 16031–16036. [\[DOI\]](#)
- [17] Vaccari G, D Agostino C, Nonno R, Rosone F, Conte M, Di Bari MA, Chiappini B, Esposito E, De Grossi L, Giordani F, Marcon S, Morelli L, Borroni R, Agrimi U. Prion protein alleles showing a protective effect on the susceptibility of sheep to scrapie and bovine spongiform encephalopathy. *J Virol*, 2007, 81(13): 7306–7309. [\[DOI\]](#)
- [18] Telling GC, Scott M, Mastrianni J, Gabizon R, Torchia M, Cohen FE, DeArmond SJ, Prusiner SB. Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell*, 1995, 83(1): 79–90. [\[DOI\]](#)
- [19] De Vries F, Hamann H, Drogemüller C, Ganter M, Distl O. Analysis of associations between the prion protein genotypes and production traits in East Friesian milk sheep. *J Dairy Sci*, 2005, 88(1): 392–398
- [20] Montgomery GW, Galloway SM, Davis GH, McNatty KP. Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction*, 2001, 121(6): 843–852. [\[DOI\]](#)
- [21] Sweeney T, Hanrahan JP, O Doherty E. Is there a relationship between prion protein genotype and ovulation rate and litter size in sheep. *Anim Reprod Sci*, 2007, 101(1–2): 153–157. [\[DOI\]](#)
- [22] Lipsky S, Brandt H, Lühken G, Erhardt G. Analysis of prion protein genotypes in relation to reproduction traits in local and cosmopolitan German sheep breeds. *Anim Reprod Sci*, 2008, 103(1–2): 69–77. [\[DOI\]](#)
- [23] De Vries F, Hamann H, Drogemüller C, Andrzejewski M, Ganter M, Distl O. Influence of prion protein gene polymorphisms on performance traits in German meat sheep breeds. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 2004, 111(9): 349–354.
- [24] Alvarez L, Gutiérrez-Gil B, San Primitivo F, de la Fuente LF, Arranz JJ. Influence of prion protein genotypes on milk production traits in Spanish Churra sheep. *J Dairy Sci*, 2006, 89(5): 1784–1791. [\[DOI\]](#)
- [25] Sawalha RM, Brotherstone S, Man WY, Conington J, Bunger L, Simm G, Villanueva B. Associations of polymorphisms of the ovine prion protein gene with growth, carcass, and computerized tomography traits in Scottish Blackface lambs. *J Anim Sci*, 2007, 85(3): 632–640.
- [26] Brandssma JH, Janss LL, Visscher AH. Association between PrP genotypes and litter size and 135 days weight in Texel sheep. *Livest Prod Sci*, 2004, 85(1): 59–64. [\[DOI\]](#)
- [27] Casellas J, Caja G, Bach R, Francino O, Piedrafita J. Association analyses between the prion protein locus and reproductive and lamb weight traits in Ripollesa sheep. *J Anim Sci*, 2007, 85(3): 592–597. [\[DOI\]](#)
- [28] Alexander BM, Stobart RH, Russell WC, O'Rourke KI, Lewis GS, Logan JR, Duncan JV, Moss GE. The incidence of genotypes at codon 171 of the prion protein gene (PRNP) in five breeds of sheep and production traits of ewes associated with those genotypes. *J Anim Sci*, 2005, 83(2): 455–459.
- [29] Casellas J, Caja G, Bach R, Francino O, Piedrafita J. Association analyses between the prion protein locus and reproductive and lamb weight traits in Ripollesa sheep. *J Anim Sci*, 2007, 85(3): 592–597.
- [30] Salaris S, Casu S, Carta A. Investigating the relationship between the prion protein locus and udder morphology traits and milk yield in Sardinian sheep. *J Anim Sci*, 2007, 85(1): 2840–2845. [\[DOI\]](#)
- [31] De Vries F, Borchers N, Hamann H, Drogemüller C, Reinecke S, Lüppling W, Distl O. Associations between the prion protein genotype and performance traits of meat breeds of sheep. *Vet Rec*, 2004, 155(5): 140–143.