

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00500

## 绵羊微卫星 *BMS2508* 和 *FecB* 基因的多态及连锁分析

李延璐<sup>1</sup>, 储明星<sup>2</sup>, 陈宏权<sup>1</sup>, 方丽<sup>2</sup>, 狄冉<sup>2</sup>, 马月辉<sup>2</sup>, 李奎<sup>2</sup>

1. 安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036;

2. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 农业部畜禽遗传资源与利用重点开放实验室, 北京 100193

**摘要:** 文章分析与绵羊高繁殖力主效基因 *FecB* 紧密连锁的微卫星座位 *BMS2508* 在高繁殖力绵羊品种(小尾寒羊)和低繁殖力绵羊品种(特克塞尔、多赛特和中国美利奴)中的遗传多态性, 同时探讨该微卫星座位与小尾寒羊 *FecB* 基因的连锁不平衡关系。高繁殖力品种小尾寒羊在骨形态发生蛋白受体 IB(Bone morphogenetic protein receptor IB, *BMPR-IB*)基因编码序列第 746 位碱基处发生了与 Booroola Merino 绵羊相同的 *FecB* 突变(A746G), 而在低繁殖力的特克塞尔、多赛特和中国美利奴绵羊中没有检测到该突变; 小尾寒羊 *BB*、*B+*、*++* 的基因型频率分别为 0.485、0.398 和 0.117。微卫星座位 *BMS2508* 在 4 个绵羊品种的 438 个个体中共检测到 8 个等位基因和 15 种基因型, 最小等位基因为 94 bp, 最大等位基因为 116 bp; 小尾寒羊(*n* = 307)、特克塞尔(*n* = 45)、多赛特(*n* = 46)、中国美利奴(*n* = 40)和 *BB* 型(*n* = 149)、*B+* 型(*n* = 122)、*++* 型(*n* = 36)小尾寒羊群体中优势等位基因分别是 100 bp、94 bp、94 bp、112 bp、100 bp、100 bp、112 bp, 其频率分别为 0.453、0.544、0.802、0.475、0.483、0.439、0.389。连锁不平衡分析显示小尾寒羊 *FecB* 基因 *B* 等位基因与 *BMS2508* 微卫星座位 100 bp 等位基因之间存在一定的连锁不平衡( $D \leq 0.408$ ), 而 + 等位基因与 *BMS2508* 微卫星座位 110 bp 和 114 bp 等位基因均存在一定的连锁不平衡( $D \leq 0.513$ )。

**关键词:** 绵羊; 多羔性; *FecB* 基因; *BMS2508*; 连锁不平衡

## Polymorphic and linkage analysis of microsatellite *BMS2508* and *FecB* gene in sheep

LI Yan-Lu<sup>1</sup>, CHU Ming-Xing<sup>2</sup>, CHEN Hong-Quan<sup>1</sup>, FANG Li<sup>2</sup>, DI Ran<sup>2</sup>, MA Yue-Hui<sup>2</sup>, LI Kui<sup>2</sup>

1. College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

2. Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Utilization of Ministry of Agriculture, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

**Abstract:** Genetic polymorphisms of microsatellite locus *BMS2508*, which was closely linked to the ovine fecundity gene *FecB*, were detected in prolific (Small Tail Han sheep) and non-prolific breeds of sheep (Texel, Dorset and Chinese Merino). The linkage disequilibrium between microsatellite locus *BMS2508* and *FecB* gene of Small Tail Han sheep was also analyzed. There was the same mutation (A746G) of *BMPR-IB* gene in Small Tail Han sheep as that of *FecB* in Booroola Me-

收稿日期: 2008-12-15; 修回日期: 2009-03-15

基金项目: 国家科技基础条件平台建设计划(编号: 2005DKA21101)、国家现代肉羊产业技术体系建设专项(编号: 农科教发[2008]10 号)、国家 863 计划(编号: 2005AA211080)、国家 973 计划(编号: 2006CB102105)、国家科技支撑计划(编号: 2006BAD01A11、2006BAD13B08、2008BADB2B01)、国家自然科学基金项目(编号: 30300248)、北京市科委科技计划(编号: D07050550000701、Y0705003041131)、北京市农委科技计划(编号: BJNY2006-03)和北京市自然科学基金项目(编号: 5042017)资助。

作者简介: 李延璐(1983—), 女, 安徽霍邱人, 硕士生, 研究方向: 分子遗传学。E-mail: liyanlu\_amber@163.com

通讯作者: 储明星(1968—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 分子数量遗传学。E-mail: mxchu@263.net

rino ewes, but the *FecB* mutation was absent in Texel, Dorset and Chinese Merino sheep. The genotype frequencies of *BB*, *B+* and *++* were 0.485, 0.398 and 0.117 in Small Tail Han sheep, respectively. There were eight alleles varied from 94 bp to 116 bp and 15 genotypes detected at *BMS2508* locus in four sheep breeds totally 438 individual. The preponderant allele was 100 bp, 94 bp, 94 bp, 112 bp, 100 bp, 100 bp, 112 bp, and the frequency was 0.453, 0.544, 0.802, 0.475, 0.483, 0.439, 0.389 in Small Tail Han ( $n=307$ ), Texel ( $n=45$ ), Dorset ( $n=46$ ), Chinese Merino ( $n=40$ ), and *BB* group ( $n=149$ ), *B+* group ( $n=122$ ), *++* group ( $n=36$ ) from Small Tail Han, respectively. In Small Tail Han sheep, linkage analysis indicated that there was certain linkage disequilibrium between 100 bp allele of microsatellite *BMS2508* and *B* allele of *FecB* gene ( $D = 0.408$ ), and certain linkage disequilibrium between 110 bp and 114 bp alleles of microsatellite *BMS2508* and *+* allele of *FecB* gene ( $D = 0.513$ ).

**Keywords:** sheep; prolificacy; *FecB* gene; *BMS2508*; linkage disequilibrium

*Booroola* 基因是在绵羊中识别出的第一个高繁殖力主效基因, 该主效基因已被绵羊和山羊遗传命名委员会定名为 *FecB* (即 *Fec*=fecundity, *B*=Booroola)。该基因被定位于绵羊 6 号染色体上对应于人染色体 4q22-23 的区间, 该区间包含骨形态发生蛋白受体 IB (Bone morphogenetic protein receptor IB, *BMPR-IB*) 基因<sup>[1]</sup>。两个 *FecB<sup>B</sup>* 拷贝的携带者用 *FecB<sup>B</sup>/FecB<sup>B</sup>* 表示, 简记为 *BB*; 一个 *FecB<sup>B</sup>* 拷贝的携带者用 *FecB<sup>B</sup>/FecB<sup>+</sup>* 表示, 简记为 *B+*; 非携带者用 *FecB<sup>+</sup>/FecB<sup>+</sup>* 表示, 简记为 *++*。*FecB* 基因效应对排卵数是加性的, 对产羔数是部分显性的<sup>[2-5]</sup>。*FecB* 突变 (A746G 或 Q249R) 存在于 Booroola Merino 绵羊 (澳大利亚)<sup>[1, 6, 7]</sup>、Garole 绵羊 (印度)<sup>[8]</sup>、Kendrapada 绵羊 (印度)<sup>[9]</sup>、Javanese 绵羊 (印度尼西亚)<sup>[8]</sup>、小尾寒羊 (中国)<sup>[10-16]</sup> 和湖羊 (中国)<sup>[11, 13, 14, 17-19]</sup> 中。Mulsant 等<sup>[1]</sup> 证明 *BMS2508* 是距 *FecB* 基因两端最近的微卫星标记之一, 遗传距离为 1.5 cM。

小尾寒羊具有常年发情、性早熟和多羔特性, 是我国独特的遗传资源。据《中国羊品种志》记载, 山东小尾寒羊平均产活羔数为 2.61 只, 中国美利奴羊平均产活羔数为 1.22 只<sup>[20]</sup>。Casas 等<sup>[21]</sup> 报道多赛特羊平均产活羔数为 1.45 只, 特克塞尔羊平均产活羔数为 1.41 只。*BMS2508* 作为距 *FecB* 基因较近的绵羊 6 号染色体上的一个微卫星座位, 其与 *FecB* 基因之间的连锁关系在国内外文献中还鲜有报道。本研究以高繁殖力绵羊品种 (小尾寒羊) 和低繁殖力绵羊品种 (特克塞尔、多赛特和中国美利奴) 为实验材料, 分析微卫星 *BMS2508* 在这些不同绵羊品种以及同一品种不同 *FecB* 基因型中的遗传多态性, 旨在阐明该微卫星座位与 *FecB* 基因之间的连锁关系, 为绵羊高繁殖力的标记辅助选择提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验材料

307 只小尾寒羊母羊血样采自山东省嘉祥县种羊场、北京市门头沟区种羊场、北京市昌平区北京盛世富民清真食品有限责任公司、北京市顺义区北京奥鑫牧业有限公司、北京市顺义区北京高特牧业有限公司; 46 只多赛特和 45 只特克塞尔母羊血样均采自北京高特牧业有限公司; 40 只中国美利奴母羊血样采自新疆石河子市新疆生产建设兵团农八师紫泥泉种羊场。颈静脉采血, 所采血样均为 10 mL/只, 用柠檬酸葡萄糖抗凝,  $-20^{\circ}\text{C}$  冻存。用酚氯仿抽提法提取基因组 DNA, 溶于 TE buffer [10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0), 1 mmol/L EDTA (pH 8.0)],  $4^{\circ}\text{C}$  保存。

#### 1.1.2 主要试剂

限制性内切酶 *Ava<sup>I</sup>*、*Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、pGM-T 载体、DNA 片段回收纯化试剂盒、质粒提取纯化试剂盒等均购自北京天根生物技术有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 *FecB* 基因的检测与分型

采用 PCR-RFLP 方法检测 *FecB* 基因型, 具体方法和步骤参见文献<sup>[16]</sup>。

#### 1.2.2 微卫星分析

从 NCBI 网站 STS 数据库 (UniSTS 登录号: 81993) 获得微卫星 *BMS2508* 的引物序列, Forward:

5'-TTTCTGGGATTACAAAATGCTC-3'; Reverse:  
5'-TTTCTTAGGGGAGTGTGATTC-3'。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。

PCR 扩增体系为 12.5  $\mu\text{L}$ , 包括: 5  $\mu\text{mol/L}$  上下游引物各 1.0  $\mu\text{L}$ ; 50 ng/ $\mu\text{L}$  DNA 模板 3.0  $\mu\text{L}$ ; 2  $\times$  Taq PCR Mastermix 6.25  $\mu\text{L}$ , Mastermix 专用超纯水 1.25  $\mu\text{L}$ 。

PCR 扩增条件: 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 58  $^{\circ}\text{C}$  复性 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 15 s, 共 34 个循环; 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 7 min; 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

取 PCR 产物 5  $\mu\text{L}$  经 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染显色。DNA Marker 为 pBR322/*Hae*。显影后用凝胶成像系统 AlphaImager<sup>TM</sup> 2200 and 1220 Documentation and Analysis Systems (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, CA, USA) 对图片进行分析, 判断个体基因型。

### 1.2.3 统计分析

#### 1.2.3.1 遗传参数的计算

微卫星标记呈等显性遗传, 其基因型频率和等位基因频率及等位基因数( $n$ )可根据电泳图谱统计得到。多态信息含量( $PIC$ )、遗传杂合度( $h$ )和有效等位基因数( $E$ )是根据其等位基因频率来计算的, 公式如下:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2;$$

$$h = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2;$$

$$E = 1 / \sum_{i=1}^n P_i^2$$

其中  $P_i$  和  $P_j$  分别为第  $i$  个和第  $j$  个等位基因的频率,  $n$  为等位基因数。

#### 1.2.3.2 连锁不平衡分析

用 Arlequin 3.1 软件分析 *FecB* 基因与 *BMS2508* 微卫星座位在小尾寒羊中的连锁不平衡 (Linkage disequilibrium, LD) 关系。标准化的连锁不平衡系数  $D'$  和相关系数  $r^2$  的计算公式如下<sup>[22]</sup>:

$$D' = \frac{D}{D_{\max}}, \text{ 其中, } D = p_{ij} - p_i p_j;$$

当  $D \geq 0$  时,  $D_{\max} = \min(p_i p_j, (1-p_i)(1-p_j))$ ;

当  $D < 0$  时,  $D_{\max} = \min((1-p_i)p_j, p_i(1-p_j))$ ;

$$r^2 = \frac{D^2}{p_i(1-p_i)p_j(1-p_j)}$$

其中,  $p_i$  表示 *FecB* 基因第  $i$  个等位基因的频率,  $p_j$  表示 *BMS2508* 座位第  $j$  个等位基因的频率,  $p_{ij}$  表示同时携带 *FecB* 基因第  $i$  个等位基因和 *BMS2508* 座位第  $j$  个等位基因的单倍型频率。 $D'$  的取值范围在  $-1 \sim 1$  之间。 $D'$  等于 1 时, 表示两个位点之间没有重组发生, 即两个位点处于“完全连锁不平衡”(complete LD); 当  $D'$  介于 0.5 到 1 时, 表示 LD 程度较高;  $D'$  为负值表明两位点处于连锁不稳定状态或某种选择劣势。 $r^2$  的取值范围在  $0 \sim 1$  之间, 其数值表示一个位点可反映另一位点信息量的程度, 在某种程度上可看作  $D'$  的补充,  $r^2$  等于 1 称为“完全连锁不平衡”(perfect LD), 这时只观察一个标记即可提供另一个标记的全部信息;  $r^2 > 1/3$  被遗传学家认为是“最小的有用连锁不平衡”值。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 扩增和 RFLP 检测

用 *BMPR-IB* A746G 突变引物对绵羊基因组 DNA 进行扩增, PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。结果发现其特异性扩增良好, 片段长度为 140 bp, 与预期的相符。用 *Ava* II 内切酶对 *BMPR-IB* A746G 突变引物的 PCR 扩增产物 (140 bp) 进行酶切, 用 3% 琼脂糖凝胶对酶切产物进行检测, 结果表现出 3 种基因型, 分别表示为 ++ (140 bp/140 bp)、B+ (140 bp/110 bp)、BB (110 bp/110 bp)。其过程和图谱详见 Chu 等<sup>[16]</sup> (2007)。

### 2.2 *FecB* 基因的检测与分型

对小尾寒羊、特克塞尔、多赛特和中国美利奴绵羊进行了 *FecB* 基因型检测, 计算了不同绵羊品种的基因型频率和等位基因频率, 统计结果见表 1。

由表 1 可见, 小尾寒羊有 3 种基因型 (BB、B+ 和 ++), 特克塞尔、多赛特和中国美利奴绵羊都只有 ++ 型。高繁殖力的小尾寒羊 B 等位基因频率为 0.684, + 等位基因频率为 0.316; 特克塞尔、多赛特和中国美利奴绵羊 B 等位基因频率均为 0, + 等位基因频率均为 1。结果显示 *FecB* 基因 B 等位基因仅存在于小尾寒羊这个高繁殖力品种中。

表 1 4 个绵羊品种 *FecB* 基因的等位基因频率和基因型频率

品种	数量	等位基因频率		基因型频率		
		<i>B</i>	+	<i>BB</i>	<i>B+</i>	++
小尾寒羊	307	0.684	0.316	0.485(149)	0.398(122)	0.117(36)
特克塞尔	45	0	1	0(0)	0(0)	1(45)
多赛特	46	0	1	0(0)	0(0)	1(46)
中国美利奴	40	0	1	0(0)	0(0)	1(40)

注: 括号内的数字是基因型的个体数。

2.3 微卫星 *BMS2508* 的 PCR 扩增

*BMS2508* 微卫星座位 PCR 扩增获得了特异性的产物, 片段长度在 94~116 bp 之间, 并且没有非特异性扩增条带, 可以直接进行微卫星分析, 扩增结果见图 1。

2.4 微卫星 *BMS2508* 的多态性分析

图 2 给出了绵羊 *BMS2508* 微卫星座位的主要基因型。从图 2 中可以看出, 电泳条带清晰, 分型清楚, 可以用于基因型分析。

表 2 给出了微卫星座位 *BMS2508* 在 4 个绵羊品种中的扩增结果, 表 3 给出了 *BMS2508* 在这 4 个绵羊品种中的遗传参数。

由表 2 可见, 在小尾寒羊、特克塞尔、多赛特

和中国美利奴 4 个绵羊品种的 438 个个体中共检测到 8 个等位基因和 15 种基因型, 等位基因片段大小从 94 bp 到 116 bp。其中在 307 只小尾寒羊中共检测到 8 个等位基因和 15 种基因型, 100 bp/112 bp 基因型频率最高为 0.407, 100 bp 等位基因频率最高为 0.453; 在 45 只特克塞尔绵羊中共检测到 4 个等位基因和 7 种基因型, 94 bp/94 bp 基因型频率最高为 0.311, 94 bp 等位基因频率最高为 0.544; 在 46 只多赛特绵羊中共检测到 5 个等位基因和 5 种基因型, 94 bp/94 bp 基因型频率最高为 0.630, 94 bp 等位基因频率最高为 0.804; 在 40 只中国美利奴绵羊中共检测到 4 个等位基因和 6 种基因型, 94 bp/112 bp 基因型频率最高为 0.600, 112 bp 等位基因频率最高为 0.475。

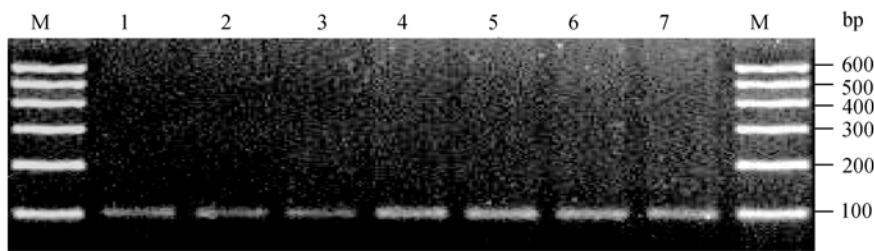


图 1 绵羊 *BMS2508* 微卫星座位的 PCR 产物  
1~7: PCR 产物; M: 600 bp DNA Marker。

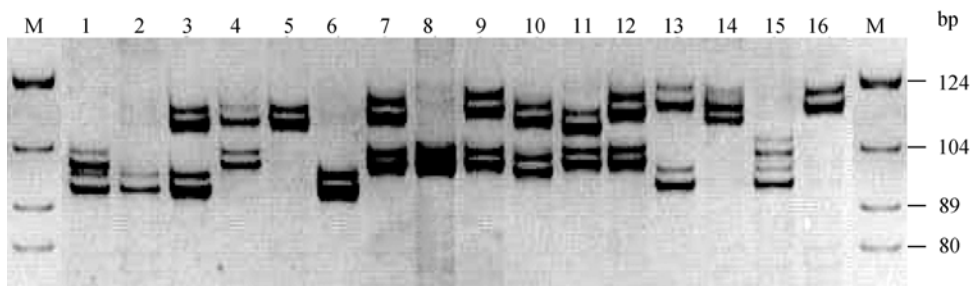


图 2 绵羊 *BMS2508* 微卫星座位的主要基因型  
1:94 bp/100 bp; 2:94 bp/94 bp; 3:94 bp/112 bp; 4:100 bp/112 bp; 5:112 bp/112 bp; 6:94 bp/94 bp; 7:100 bp/114 bp; 8:100 bp/100 bp; 9:100 bp/116 bp; 10:98 bp/112 bp; 11:100 bp/110 bp; 12:100 bp/114 bp; 13:94 bp/116 bp; 14:112 bp/112 bp; 15:94 bp/102 bp; 16:116 bp/116 bp;  
M:pBR322/*Hae*。

表 2 微卫星座位 *BMS2508* 在 4 个绵羊品种中的扩增结果

品种	基因型(bp/bp)(频率)	等位基因(bp)(频率)
小尾寒羊 (n = 307)	94/94(0.023), 94/100(0.046), 94/102(0.003), 94/112(0.036), 94/116(0.007), 98/112(0.003), 100/100(0.186), 100/102(0.007), 100/110(0.020), 100/112(0.407), 100/114(0.020), 100/116(0.036), 102/112(0.007), 112/112(0.195), 116/116(0.007)	94(0.068)
		98(0.002)
		100(0.453)
		102(0.008)
		110(0.010)
		112(0.421)
		114(0.010)
		116(0.028)
		94(0.544)
		100(0.167)
特克塞尔 (n = 45)	94/94(0.311), 94/100(0.222), 94/112(0.244), 100/100(0.022), 100/112(0.067), 110/110(0.022), 112/112(0.111)	110(0.022)
		112(0.267)
		94(0.804)
		100(0.120)
多赛特 (n = 46)	94/94(0.630), 94/100(0.217), 94/102(0.043), 94/112(0.087), 100/114(0.022)	102(0.022)
		112(0.043)
		114(0.011)
		94(0.388)
中国美利奴 (n = 40)	94/94(0.025), 94/100(0.125), 94/112(0.600), 100/112(0.100), 102/112(0.05), 112/112(0.100)	100(0.112)
		102(0.025)
		112(0.475)

表 3 微卫星座位 *BMS2508* 在 4 个绵羊品种中的遗传参数

品种	个体数	遗传参数			
		<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>N</i>	<i>E</i>
小尾寒羊	307	0.535	0.612	8	2.576
特克塞尔	45	0.541	0.604	4	2.528
多赛特	46	0.315	0.337	5	1.508
中国美利奴	40	0.533	0.611	4	2.568

表 4 微卫星座位 *BMS2508* 在不同 *FecB* 基因型小尾寒羊中的扩增结果

<i>FecB</i> 基因型	基因型(bp/bp)(频率)	等位基因(bp)(频率)
<i>BB</i> (n = 149)	94/100(0.027), 94/112(0.027), 94/116(0.007), 98/112(0.007), 100/100(0.221), 100/102(0.007), 100/110(0.013), 100/112(0.430), 100/114(0.013), 100/116(0.034), 102/112(0.013), 112/112(0.195), 116/116(0.007)	94(0.030)
		98(0.003)
		100(0.483)
		102(0.010)
		110(0.007)
		112(0.433)
		114(0.007)
		116(0.027)
		94(0.078)
		100(0.439)
<i>B+</i> (n = 122)	94/94(0.025), 94/100(0.041), 94/102(0.008), 94/112(0.049), 94/116(0.008), 100/100(0.164), 100/102(0.008), 100/110(0.025), 100/112(0.410), 100/114(0.025), 100/116(0.041), 112/112(0.189), 116/116(0.008)	102(0.008)
		110(0.012)
		112(0.418)
		114(0.012)
		116(0.033)
		94(0.194)
		100(0.375)
++ (n = 36)	94/94(0.111), 94/100(0.139), 94/112(0.028), 100/100(0.111), 100/110(0.028), 100/112(0.306), 100/114(0.028), 100/116(0.028), 112/112(0.222)	110(0.014)
		112(0.389)
		114(0.014)
		116(0.014)

由表 3 可见, 该微卫星标记在小尾寒羊、特克塞尔和中国美利奴绵羊品种中均为高度多态, 而在多赛特绵羊中表现为中度多态。

结合 *FecB* 基因分型结果, 将小尾寒羊分为 *BB*、*B+*和++型 3 个群体, 表 4 给出了微卫星 *BMS2508*

在不同 *FecB* 基因型的小尾寒羊群体中基因型及等位基因的分布情况, 表 5 给出了 *BMS2508* 在不同 *FecB* 基因型的小尾寒羊群体中的遗传参数。

由表 4 可见, 在个体数为 149 的小尾寒羊 *BB* 型群体中检测到 13 种基因型和 8 个等位基因, 100 bp/112 bp

表 5 微卫星座位 *BMS2508* 在不同 *FecB* 基因型小尾寒羊中的遗传参数

<i>FecB</i> 基因型	个体数	遗传参数			
		<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>N</i>	<i>E</i>
<i>BB</i>	149	0.488	0.577	8	2.366
<i>B+</i>	122	0.552	0.625	7	2.667
<i>++</i>	36	0.605	0.670	6	3.029

基因型频率最高为 0.430, 100 bp 等位基因频率最高为 0.483; 在个体数为 122 的小尾寒羊 *B+* 型群体中检测到 13 种基因型和 7 个等位基因, 100 bp/112 bp 基因型频率最高为 0.410, 100 bp 等位基因频率最高为 0.439; 在个体数为 36 的 *++* 型群体中检测到 9 种基因型和 6 个等位基因, 100 bp/112 bp 基因型频率最高为 0.306, 112 bp 等位基因频率最高为 0.389。结果显示, *BMS2508* 座位 100 bp/112 bp 基因型和 100 bp 等位基因在小尾寒羊 *BB* 和 *B+* 群体中都处于绝对优势; 在小尾寒羊 *++* 群体中, 112 bp 成为该群体的优势等位基因, 100 bp 等位基因的频率在该群体中下降到 0.375。

由表 5 可见, 该微卫星标记在小尾寒羊 *B+* 和 *++* 两个群体中均为高度多态, 而在 *BB* 群体中为中度多态。

2.5 微卫星座位 *BMS2508* 与 *FecB* 基因的连锁不平衡分析

表 6 给出了小尾寒羊 *FecB* 基因与微卫星 *BMS2508* 各等位基因间标准化的连锁不平衡系数 *D* 和相关系数  $r^2$  及 *P* 值。

由表 6 可知, *FecB* 基因 *B* 等位基因与 *BMS2508* 微卫星座位 100bp 等位基因标准化的连锁不平衡系数为  $D = 0.408$ , 呈现出一定的连锁不平衡关系,  $\chi^2$  值为 39.060,  $P = 0.000$ , 极显著, 但  $r^2$  仅为 0.064, 没

有达到最小的有用连锁不平衡值, 因此 *BMS2508* 微卫星 100 bp 等位基因不能完全反映 *FecB* 的信息量。*BMS2508* 微卫星座位 98 bp 等位基因仅在 *BB* 型小尾寒羊中检测到 1 个, 不具有统计学价值, 不予考虑。*B* 等位基因与 *BMS2508* 微卫星座位其余等位基因的 *D* 都呈现负值, 说明其处于连锁不稳定状态或某种选择劣势。*FecB* 基因+等位基因与 *BMS2508* 微卫星座位 110 bp、114 bp 等位基因标准化的连锁不平衡系数 *D* 都是 0.513, 呈现出一定的连锁不平衡关系,  $\chi^2$  值都为 3.448,  $P = 0.063$ , 不显著,  $r^2$  也仅为 0.006, 同样这两个等位基因也不能完全反映 *FecB* 的信息量。

3 讨论

作为绵羊第一个高繁殖力主效基因, *FecB* 基因首先在澳大利亚 Booroola Merino 绵羊中被发现。1993 年, Montgomery 等<sup>[23]</sup>首先发现 *FecB* 基因与微卫星座位 *OarAE101* 和 *OarHH55* 紧密连锁, 遗传距离分别为 13 cM 和 20 cM。1994 年, Montgomery 等<sup>[24]</sup>采用连锁分析法将 *FecB* 基因定位到 *OarAE101* 和 EGF(表皮生长因子)/IF(补体因子 1)之间的区域, 趋向于绵羊 6 号染色体的着丝粒。1998 年, Lord 等<sup>[25]</sup>通过在 EGF 和微卫星标记 *OarAE101* 之间加入两个微卫星座位 *McM53* 和 *OarJL1A* 以及一个基因座位着丝粒自身抗原 E, 进一步将 *FecB* 基因精确定位在

表 6 小尾寒羊 *FecB* 基因与 *BMS2508* 微卫星座位连锁不平衡参数  $D'$ ( $r^2$ )及 *P* 值

等位基因	<i>BMS2508</i> 微卫星座位							
	94 bp	98 bp	100 bp	102 bp	110 bp	112 bp	114 bp	116 bp
<i>B</i>	-0.130	1.000	0.408	-0.123	-0.513	-0.224	-0.513	-0.226
	(0.003)	(0.001)	(0.064)	(0.000)	(0.006)	(0.032)	(0.006)	(0.003)
	$P=0.200$	$P=0.496$	$P=0.000$	$P=0.6848$	$P=0.063$	$P=0.000$	$P=0.063$	$P=0.1643$
	N=25	N=1	N=226	N=3	N=2	N=152	N=2	N=9
+	0.130	-1.000	-0.408	0.123	0.513	0.224	0.513	0.226
	(0.003)	(0.001)	(0.064)	(0.000)	(0.006)	(0.032)	(0.006)	(0.003)
	$P=0.200$	$P=0.496$	$P=0.000$	$P=0.6848$	$P=0.063$	$P=0.000$	$P=0.063$	$P=0.1643$
	N=17	N=0	N=52	N=2	N=4	N=107	N=4	N=8

N 为等位基因频数。



绵羊 6 号染色体着丝粒区的微卫星标记 *OarAE101* 和 *BM1329* 之间一个 10 cM 区间内。2001 年, Mulsant 等<sup>[1]</sup>将 *FecB* 基因定位于该区域微卫星座位 *471U* 和 *300U* 之间小于 1 cM 的区间内; 而座位 *BMS2508* 和 *LSCV43* 为位于 *FecB* 基因区域两端最近的标记, 遗传距离分别为 1.5 cM 和 2.3 cM; 微卫星座位 *GC101* 则位于 *FecB* 基因突变区内。2001 年, Wilson 等<sup>[2]</sup>将 Booroola 绵羊半同胞家系、回交家系和国际定位作图羊群的 6 号染色体标记数据合并起来, 使用多态的微卫星和已知的基因标记, 将 *FecB* 基因定位到绵羊 6 号染色体的一个狭窄区域内 6q23-q31 (大约 1.64 cM), 该区域与人染色体 4q21-q25 同线性; QTL 定位数据和单倍型分析表明微卫星 *OarJL36* 是与 *FecB* 最紧密连锁的标记, 且 *OarJL36* 与 *FecB* 之间没有重组。2006 年, 殷子惠等<sup>[15]</sup>首先在小尾寒羊中分析了 *FecB* 基因与微卫星标记 *OarJL36* 的连锁关系, 结果显示 *FecB* 基因 *B* 等位基因与 *OarJL36* 仍然存在重组, 但其研究群体仅为 72 只 *BB* 型的小尾寒羊, 具有一定的局限性。本研究虽然在 307 只小尾寒羊中证明微卫星座位 *BMS2508* 与 *FecB* 基因之间存在一定的连锁不平衡关系, 但由于其遗传距离还不够接近, 微卫星座位 *BMS2508* 只能在一定程度上反映 *FecB* 的信息量。

2001 年, Mulsant 等<sup>[1]</sup>在 Booroola 绵羊的回交群体中检测到 *BMS2508* 的 3 个等位基因。2007 年, 管峰等<sup>[26]</sup>在 101 只湖羊中检测到 *BMS2508* 的 6 个等位基因, *BMS2508* 的多态信息含量是 0.604。本研究中, 微卫星座位 *BMS2508* 在小尾寒羊 ( $n = 307$ )、特克塞尔 ( $n = 45$ )、多赛特 ( $n = 46$ )、中国美利奴 ( $n = 40$ ) 中的等位基因数分别是 8、4、5、4, 多态信息含量分别是 0.535、0.541、0.315、0.533。本研究结果初步表明微卫星座位 *BMS2508* 的 100 bp 等位基因与小尾寒羊高繁殖力主效基因 *FecB* 的 *B* 等位基因之间存在一定的连锁不平衡关系。100 bp 等位基因是与小尾寒羊多羔主效基因连锁的一个遗传标记, 对于绵羊高繁殖力的标记辅助选择具有一定的应用价值。

#### 参考文献(References):

- [1] Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lan-neluc I, Pisselet C, Riquet J, Monniaux D, Callebaut I, Cribiu E, Thimonier J, Teyssier J, Bodin L, Cognie Y, Chitour N, Elsen JM. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2001, 98(9): 5104–5109. [\[DOI\]](#)
- [2] Davis GH, Montgomery GW, Allison AJ, Kelly RW, Bray AR. Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1982, 25(4): 525–529.
- [3] Piper LR, Bindon BM. The Booroola Merino and the performance of medium non-Peppin crosses at Armidale. In: *The Booroola Merino* (ed. by L.R. Piper, B.M. Bindon and R.D. Nethery), CSIRO, Melbourne, Australia. 1982: 9–20.
- [4] Piper LR, Bindon BM, Davis GH. The single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino. In: *Genetics of Reproduction in Sheep* (ed. by R.B. Land and D.W. Robinson), Butterworths, London, UK, 1985: 115–125.
- [5] Bindon BM. Biology of the Booroola Merino sheep. *Australian Journal of Biological Sciences*, 1984, 37(3): 163–189.
- [6] Souza CJH, MacDougall C, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. The Booroola (*FecB*) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1B (BMPR-IB) gene. *Journal of Endocrinology*, 2001, 169(2): R1–R6. [\[DOI\]](#)
- [7] Wilson T, Wu XY, Juengel JL, Ross IK, Lumsden JM, Lord EA, Dodds KG, Walling GA, McEwan JC, O'Connell AR, McNatty KP, Montgomery GW. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 2001, 64(4): 1225–1235. [\[DOI\]](#)
- [8] Davis GH, Galloway SM, Ross IK, Gregan SM, Ward J. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (*FecB*) mutation. *Biology of Reproduction*, 2002, 66(6): 1869–1874. [\[DOI\]](#)
- [9] Kumar S, Mishra AK, Kolte AP, Dash SK, Karim SA. Screening for Booroola (*FecB*) and Galway (*FecX<sup>G</sup>*) mutations in Indian sheep. *Small Ruminant Research*, 2008, 80(1–3): 57–61. [\[DOI\]](#)
- [10] 柳淑芳, 姜运良, 杜立新. BMPR-IB 和 BMP15 基因作为小尾寒羊多胎性能候选基因的研究. *遗传学报*, 2003, 30(8): 755–760.
- [11] 王根林, 毛鑫智, Davis GH, 赵宗胜, 张利军, 曾永庆. DNA 分析发现我国湖羊和小尾寒羊存在 Booroola (*FecB*) 多胎基因. *南京农业大学学报*, 2003, 26(1): 104–106.
- [12] Jia CL, Li N, Zhao XB, Zhu XP, Jia ZH. Association of

- single nucleotide polymorphisms in exon 6 region of BMPR-IB gene with litter size traits in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2005, 18(10): 1375-1378.
- [13] 闫亚东, 储明星, 曾勇庆, 方丽, 叶素成, 王利民, 国庆坤, 韩代勤, 张兆新, 王西筠, 张新珍. 小尾寒羊和湖羊高繁殖力候选基因 BMPR-IB 的研究. *农业生物技术学报*, 2005, 13(1): 66-71.
- [14] Davis GH, Balakrishnan L, Ross IK, Wilson T, Galloway SM. Investigation of the Booroola (*FecB*) and Inverdale (*FecX<sup>1</sup>*) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Animal Reproduction Science*, 2006, 92(1-2): 87-96. [\[DOI\]](#)
- [15] 殷子惠, 姜运良, 樊新忠, 王玉, 唐辉, 岳永生. 小尾寒羊 BMPR-IB 基因的多态性、效应及连锁分析. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(5): 510-513.
- [16] Chu MX, Liu ZH, Jiao CL, He YQ, Fang L, Ye SC, Chen GH, Wang JY. Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (*Ovis aries*). *Journal of Animal Science*, 2007, 85(3): 598-603.
- [17] 王启贵, 钟发刚, 李辉, 王新华, 刘守仁, 陈晓军. 绵羊 BMPR-IB 基因多态性与其产羔数的相关研究. *草食家畜*, 2003(2): 20-23.
- [18] 王启贵, 钟发刚, 李辉, 王新华, 刘守仁, 陈晓军, 甘尚泉. 绵羊产羔性状主效基因检测研究. *遗传*, 2005, 27(1): 80-84.
- [19] Guan F, Liu SR, Shi GQ, Ai JT, Mao DG, Yang LG. Polymorphism of *FecB* gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33(2): 117-124. [\[DOI\]](#)
- [20] 《中国羊品种志》编写组. 中国羊品种志. 上海: 上海科学技术出版社, 1989: 50-52, 70-73.
- [21] Casas E, Freking BA, Leymaster KA. Evaluation of Dorset, Finnsheep, Romanov, Texel, and Montadale breeds of sheep: II. Reproduction of F<sub>1</sub> ewes in fall mating seasons. *Journal of Animal Science*, 2004, 82(5): 1280-1289.
- [22] Pritchard JK, Przeworski M. Linkage disequilibrium in humans: models and data. *American Journal of Human Genetics*, 2001, 69(1): 1214.
- [23] Montgomery GW, Crawford AM, Penty JM, Dodds KG, Ede AJ, Henry HM, Pierson CA, Lord EA, Galloway SM, Schrack AE, Sise JA, Swarbrick PA, Hanrahan V, Buchanan FC, Hill DF. The ovine Booroola fecundity gene (*FecB*) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Nature Genetics*, 1993, 4(4): 410-414. [\[DOI\]](#)
- [24] Montgomery GW, Lord EA, Penty JM, Dodds KG, Broad TE, Cambridge LM, Sunden SLF, Stone RT, Crawford AM. The Booroola fecundity (*FecB*) gene maps to sheep chromosome 6. *Genomics*, 1994, 22(1): 148-153. [\[DOI\]](#)
- [25] Lord EA, Davis GH, Dodds KG, Henry HM, Lumsden JM, Montgomery GW. Identification of Booroola carriers using microsatellite markers. *Wool Technology and Sheep Breeding*, 1998, 46: 245-249.
- [26] 管峰, 石国庆, 艾君涛, 刘守仁, 杨利国. 湖羊 6 号染色体微卫星标记多样性与产羔数的关系. *遗传*, 2007, 29(10): 1230-1236.

## •综合信息•

### 中国环境诱变剂学会第十四届学术交流会议将在哈尔滨举行

中国环境诱变剂学会第十四届学术交流会议定于 2009 年 7 月 10-13 日在哈尔滨举行, 会议主题为“环境·基因·健康”, 大会特邀了英国、韩国等国外专家作相关领域的报告。

#### 国内专家的报告如下:

1、肿瘤研究的新挑战, 程书钧院士(中国医学科学院肿瘤医院); 2、环境生态健康与公共卫生策略, 张胜年研究员(上海市疾病预防控制中心); 3、重庆地区环境污染物致男(雄)性生殖损害的流行病学和相关机制研究, 曹佳教授(第三军医大学军事预防医学院); 4、代谢组学技术在毒理学中的应用, 孙长颢教授(哈尔滨医科大学公共卫生学院); 5、自然选择在环境·基因与健康中的作用, 王爱平研究员(中国医学科学院北京协和医学院新药安全评价研究中心); 6、纳米材料的靶器官选择性及其毒性效应, 浦跃朴教授(东南大学公共卫生学院); 7、维生素 E 琥珀酸酯诱导胃癌细胞凋亡及其信号途径, 吴坤教授(哈尔滨医科大学公共卫生学院)。

#### 注册与食宿:

会议收取注册费 800 元/人, 会员(凭会员证)、学生(凭学生证)可减免 50 元; 会议代表的交通和住宿费自理。另外, 7 月份是哈尔滨的旅游旺季, 房源紧张, 提醒参会的代表提前将回执发给会务组。

第三轮通知将根据回执地址在 6 月上旬发给每位参会代表。

#### 组委会联系方式:

地址: 哈尔滨市南岗区保健路 157 号哈尔滨医科大学公共卫生学院(150081)

联系人: 赵秀娟, 李莉 电话: 0451-87502730, E-mail: lili\_bb@sina.com