

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00615

大白猪 *BF* 基因多态性与繁殖性状及胎盘效率关联研究

陈来华^{1,2}, 王立贤¹, 季跃光³, 张龙超¹, 颜华¹

1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;
2. 新疆农业大学动物科技学院, 乌鲁木齐 830052;
3. 新疆畜牧科学院畜牧所, 乌鲁木齐 830000

摘要: 文章以 *BF* 基因为产仔数的候选基因, 运用 PCR-RFLP 方法对大白猪 *BF* 基因内含子 1 序列进行分析, 发现内含子 1 第 79 bp 处发生了 C→T 突变, 命名为 *BF*-intron 1-C79T。所扩增 PCR 产物经 *Sma* I 酶切后, 可分出 3 种基因型, 分别为 *CC*、*CT* 和 *TT*。经 χ^2 适合性检验, 大白猪群体在该位点达到了 Hardy-Weinberg 平衡状态。将不同基因型与总产仔数(TNB)、产活仔数(NBA)、初生重(BW)和胎盘效率(PE)进行关联分析, 结果发现, 初产母猪在该位点上, *CC* 基因型比 *CT* 基因型个体的 TNB 和 NBA 均多 3.10 头, 但差异不显著 ($P>0.05$); 在 BW 和 PE 上, *CC* 基因型均高于 *CT* 基因型, 差异不显著 ($P>0.05$)。经产母猪在该位点上, *CC* 基因型比 *TT* 基因型个体的 TNB 和 NBA 分别多 3.45 头和 3.92 头, PE 高 23.80%, 均达到显著水平; 但 *CT* 基因型个体与 *CC* 和 *TT* 个体之间的 TNB、NBA 和 PE 差异不显著 ($P>0.05$)。因此, *BF*-intron 1-C79T 位点可作为繁殖性状及胎盘效率的潜在分子育种标记, 具有很大的研究价值。

关键词: *BF* 基因; 多态性; 繁殖性状; 胎盘效率

Association of polymorphism for porcine *BF* gene with reproductive traits and placental efficiency in Large White

CHEN Lai-Hua^{1,2}, WANG Li-Xian¹, JI Yue-Guang³, ZHANG Long-Chao¹, YAN Hua¹

1. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;
2. College of Animal Science and Technology, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;
3. Xinjiang Academy of Animal Science, Urumqi 830000, China

Abstract: Taking *BF* gene as one of the candidate genes influencing on reproductive traits in present study, this study used PCR-RFLP analyzed the polymorphism of intron 1 of *BF* gene in Large White sows. A single nucleotide polymorphism (SNP) named as *BF*-intron 1-C79T was detected. And the three genotypes of *CC*, *CT*, *TT* got fitted Hardy-Weinberg equilibrium with χ^2 -fitness test. An association analysis was tested between the genetic polymorphism at intron 1 and total number born (TNB), number born alive (NBA), born weight (BW) and placental efficiency (PE) respectively. It showed that, at first parity, the TNB, NBA, BW and PE with *CC* genotype were higher than those with *CT* genotype but not significant ($P>0.05$). Meanwhile, in multiparous sow population, the TNB, NBA and PE with *CC* genotype were significantly more than those with *TT* genotype ($P<0.05$), with increase of 3.45, 3.92, and 23.80%, respectively. Thus *BF*-intron 1-C79T is suggested to be a potential genetic marker for the breeding on the reproductive traits and placental efficiency.

Keywords: *BF* gene; polymorphism; reproductive traits; placental efficiency

收稿日期: 2008-11-26; 修回日期: 2009-03-03

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(编号: 2006BAD01A08)和国家高科技研究发展计划(863)项目(编号: 2006AA10Z199)资助

作者简介: 陈来华(1982-), 男, 硕士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: C.laihua@gmail.com

通讯作者: 王立贤(1965-), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 猪遗传育种。Tel: 010-62816011; E-mail: iaswlx@263.net

备解素因子(Properdin, *BF*)基因属于SLA- 类基因, 位于猪 7 号染色体 7 cM处^[1], 有研究表明*BF*基因与繁殖性状如窝产仔数、排卵率和发情期的QTL区域交迭^[2~4]。对小鼠的研究表明, *BF*基因在繁殖性状上具有一个重要的生理功能就是影响子宫上皮细胞的生长, 并且与其他基因联合影响小鼠的窝产仔数^[5, 6]。Buske等^[7]研究表明, *BF*基因在商品猪群中与总产仔数和产活仔数呈显著的正相关, 因此*BF*基因可作为产仔数的候选基因。*BF*基因是补系统替代途径中一种血浆蛋白, 在增加血管生成中起着重要的作用。胎盘和子宫内膜血管密度的增加, 是母猪妊娠过程中胎儿获取更多营养的前提, 是造就高胎盘效率的基础^[8]。目前很多的研究已表明猪的窝产仔数与胎盘效率呈正相关^[9, 10], 高的胎盘效率是母猪高产的基础, 因此以胎盘效率为育种指标开展对窝产仔数的选育是十分有效的^[11~14]。

母猪的繁殖能力是影响养猪生产效率的关键因素, 已成为猪育种工作的重点, 但由于遗传力低, 常规选择效果不理想, 而胎盘效率的测定又费时、费力。因此本研究探讨了 *BF* 基因与母猪产仔数、胎盘效率的关系, 旨在寻找与繁殖性状及胎盘效率相关的分子标记, 为开展繁殖性能的标记辅助选择提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验猪群及其耳组织样均来自中国农业科学院北京畜牧兽医研究所昌平实验基地种猪场, 本实验样品的采集均在 2007 年 5~6 月份之间完成, 共 117 头母猪。

1.2 方法

1.2.1 胎盘采集及重量测定

根据配种记录, 待产母猪提前一周进入产房, 24 h 监测, 准备接产。母猪分娩时, 待仔猪一产出, 迅速用止血钳分别在母体一端和仔猪一端将脐带夹住, 立即用带有标签的肠线打结, 然后从中间剪断脐带, 让带有标签的脐带缩回产道。按顺序对仔猪编号, 使仔猪编号与脐带标签号一致, 以便每个胎盘产出后都能与仔猪匹配。等待全部胎盘产出, 剥离单个的胎盘, 在脐带基部剪断脐带, 剪掉胎盘膜和胎盘之间的连接系膜^[12]。用初生重与胎盘重的比

率表示胎盘效率。仔猪的初生重是在初生后吃初乳前全身被毛干爽之后, 用电子天平称量三次取平均值, 同时记录同窝的窝总产仔数和窝产活仔数。

1.2.2 基因组 DNA 提取

用酚-氯仿抽提法从母猪耳组织样中提取基因组 DNA, 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测其纯度, 用紫外分光光度计估计含量, 稀释 DNA 样品至 50 ng/ μ L。

1.2.3 引物设计

根据Jiang等^[15]的报道设计引物, 引物序列为F: 5'-ACTGCTATGACGGTTACTCTCCG-3', R: 5'-TCCAAGAGCCACCTTCCTGG-3'。引物由上海英骏生物技术有限公司北京合成部合成, 超纯水溶解至浓度为 10 μ mol/L, 4 $^{\circ}$ C 保存。

1.2.4 PCR 扩增

反应体系: 10 \times buffer(含Mg²⁺) 2.5 μ L, 10 mmol/L dNTPs(购自天根生物技术有限公司) 0.4 μ L, 10 pmol/ μ L上、下游引物各 1 μ L, 模板DNA 50 ng, *Taq* DNA 聚合酶(购自天根生物技术有限公司)0.3 μ L, 超纯水至 25 μ L。PCR反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 55 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测, UVP凝胶成像系统进行凝胶成像。

1.2.5 PCR-RFLP

酶切体系: PCR 产物 4 μ L, *Sma* 内切酶(购自MBI 公司)(10 U/ μ L) 0.5 μ L, 10 \times buffer 1 μ L, 超纯水至 10 μ L, 25 $^{\circ}$ C 过夜消化, 12%聚丙烯酰胺(39:1)凝胶 160 V 电泳过夜, 照像, 统计基因型。

1.2.6 群体遗传学相关分析

用POPGENE1.31 计算基因频率、基因型频率、多态信息含量、有效等位基因数、群体杂合度。经 χ^2 适合性检验符合Hardy-Weinberg平衡, 并按照文献^[16]的方法进行基因效应的估计。

根据影响繁殖性能的因素, 利用SAS软件^[17]的GLM(General Linear Model)过程, 配合下列模型进行最小二乘方差分析, 比较大白猪的总产仔数(TNB)、产活仔数(NBA)、初生重(BW)和胎盘效率(PE)在各基因型之间的差异。

$$y_{ijk} = \mu + p_i + g_j + e_{ijk}$$

其中 y_{ijk} 为性状观察值, μ 为群体均值, P_i 为胎次效应, G_j 为基因型效应, e_{ijk} 为随机残差效应。

2 结果与分析

2.1 *BF* 基因的 PCR 扩增及序列测定

以整个实验猪群的基因组 DNA 为模板进行扩增, PCR 扩增的产物经 1.5% 的琼脂糖凝胶检测, 均获得与预期片段大小一致的产物, 经测序大小为 390 bp (GenBank 登录号: M59240) 产物带清晰且无杂带, 稳定性和特异性好, 可以直接用于 RFLP 酶切检测。

分析序列结果可知, *BF* 基因在该 DNA 特异性片段序列的第 1 内含子第 79 bp 处发生 C/T 的碱基突变 (图 1)。将第 79 位的碱基为 C 时的纯合个体命名为 *CC* 型, 而在该处的碱基为 T 时的纯合个体命名为 *TT* 型。

2.2 *BF* 基因内含子 1 的 PCR-RFLP 结果

BF 基因内含子 1 扩增片段经 *Sma* 酶切后, 得到 3 种带型: 237 bp/153 bp、390 bp/237 bp/153 bp 和 390 bp, 分别为 *TT*、*CT* 和 *CC* 型 (图 2)。由于扩增片段的 79 bp 处发生 C/T 的突变, 使酶切位点消失, 从而产生多态, 将其命名为 *BF*-intron 1-C79T。

2.3 大白猪 *BF* 基因的基因频率和基因型频率

BF 基因的基因频率和基因型频率见表 1。可见, 大白猪群体中的优势等位基因为 C; *CC* 基因型频率最大, *TT* 基因型频率最小, *CT* 基因型介于两者之间。

2.4 大白猪 *BF* 基因座位的群体遗传特性

检测 *BF* 基因座位在大白猪群体中的杂合度、有效等位基因数、多态信息含量及 χ^2 检验。结果, 在大白猪中多态信息含量小于 0.25, 杂合度为 0.12;

且经过 χ^2 适合性检验, 大白猪群体的 χ^2 值为 2.63 小于临界值 5.99, 说明这个群体在该位点的突变已达到 Hardy-Weinberg 平衡状态。

2.5 大白猪 *BF* 基因多态性、产仔性状和胎盘效率之间的关系分析

由 SAS 统计结果, 大白猪的 TNB、NBA 与 PE 之间呈正相关 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.31 和 0.42, 均属于中等正相关。

BF 基因在大白猪中的不同基因型的 TNB、NBA、BW 和 PE 的最小二乘均值及标准误列于表 2。可见, 初产母猪中, *CC* 型个体比 *CT* 型的 TNB 和 NBA 分别多产 3.10 头和 3.16 头, 但差异不显著。在 BW 和 PE 上也均差异不显著, 并未检出 *TT* 基因型; 经产母猪中, *CC* 基因型比 *TT* 基因型个体的 TNB、NBA 和 PE 分别多产 3.45 头、3.92 头和高 23.80%, 它们间的差异均达到显著水平 ($P < 0.05$); *CC* 型和 *CT* 型及 *CT* 和 *TT* 型个体的 TNB、NBA 和 PE 之间差异均不显著, 各基因型个体的 BW 差异均不显著。C 等位基因在 TNB、NBA、PE 表现为正效应, T 等位基因表现为负效应, 而 BW 则相反。

3 讨论

3.1 *BF* 基因多态性与繁殖性状的分析

BF 基因被定位于猪 7 号染色体上 [18-20], 是新鲜血清中一种经活化后具有酶活性的蛋白质, 与繁殖性状密切相关。Brunsch 等 [21] 认为影响窝产仔数杂种优势的 QTL 位于鼠的 17 号染色体, 它与猪 7 号染色体主要相容性复合体是同源的。Buske 等 [7] 表明在 SSC7 可能有一个或多个基因影响窝产仔数, 注意到

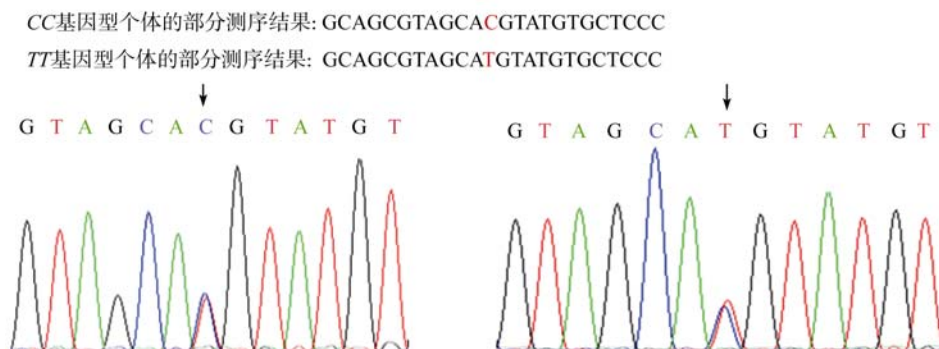


图 1 *BF*-intron 1-C79T 的测序结果

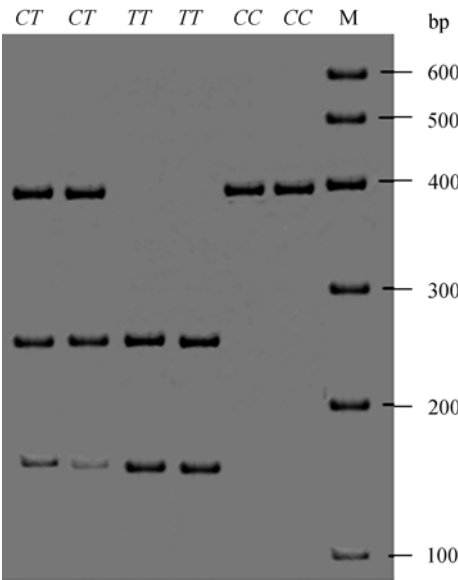


图 2 *BF* 基因内含子 1 扩增产物 *Sma* I 酶切结果

表 1 *BF* 基因的基因型频率和基因频率

个体数	基因型分布			基因型频率			等位基因频率	
	<i>TT</i>	<i>CT</i>	<i>CC</i>	<i>TT</i>	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
117	2	11	104	0.02	0.10	0.88	0.06	0.94

猪 7 号染色体着丝粒区域与繁殖性状关联, 并检测到 *BF* 基因 *B* 等位基因频率在杂交商品猪群中为 0.89。*BF* 基因所编码的蛋白质对子宫上皮细胞生长起着重要的作用, 而 *BF* 基因恰是位于猪 7 号染色体短臂靠近着丝粒位置。本研究结果发现在大白猪中, *C* 等位基因占优势, 其频率为 0.94; 基因型分布情况, *CC*>*CT*>*TT*; 在经产猪的 TNB、NBA 和 PE 上, *CC*>*CT*>*TT*, 且 *CC* 型和 *TT* 型之间的差异显著。对于 BW, 情况正好相反。这不难理解, 对于母猪而言, 子宫容积一定的情况下, 要求其有较高的窝产仔数,

必然会降低仔猪的初生重。在初产母猪中, 各基因型之间差异不显著, 可能由于样本含量小所致。

3.2 基因对胎盘效率的影响

对于基因与胎盘效率的研究, 国内未见有报道, 国外相关的文献也很少。2002 年, van Rens 等^[22]报道了 *PRLR* 的基因型对母猪的平均胎盘重和胎盘效率有影响。van Rens 等^[23]以 62 头大白猪 × 梅山猪母猪及其 615 头后代为群体, 研究了 *ESR* 基因的基因型与窝产仔数和胎盘性状之间的关系, 结果表明, *ESR* 基因对胎盘效率有显著影响。本实验的结果表明, 在经产母猪中 *BF* 基因 *CC* 型个体的胎盘效率显著高于 *TT* 基因型个体, *CT* 基因型个体的胎盘效率与 *CC* 型和 *TT* 型个体的胎盘效率差异不显著; 初产母猪中各基因型之间的胎盘效率差异不显著。分析其原因可能是, 经过选育的母猪发情早, 产第一胎时母猪子宫环境并没有稳定下来, 也可能是样本含量小, 需要在更大的群体中进一步验证。

3.3 窝产仔数与胎盘效率的关系

胎盘效率是对猪窝产仔数进行间接选择的方法之一。1998 年, 美国 Iowa 州的研究小组发现在中国梅山猪中高的胎盘效率可以解释其多产性能, 他们认为正是因为梅山猪胎儿比约克夏占据更小的子宫空间, 相对扩大了子宫容积, 所以才使更多的胎儿存活下来^[13]。Ford^[12]在研究多产梅山猪时也得出同样的结论。在这些研究基础上, Wilson 等^[14]设计一个选择实验, 结果发现, 胎盘效率高低与胚胎成活率密切相关, 是影响窝产仔数的重要因素之一。根据 Wilson 等^[14]和 Vallet 等^[24]的报道, 胎盘效率的遗

表 2 不同基因型个体繁殖性状及胎盘效率的最小二乘均值差异显著性检验和基因效应

基因座	初产				经产			
	TNB	NBA	BW	PE	TNB	NBA	BW	PE
<i>TT</i>					6.41±0.07 ^a	5.50±0.09 ^a	1.54±0.00	4.78±0.11 ^a
<i>CT</i>	6.28±0.20	5.71±0.22	1.88±0.04	6.15±0.07	7.66±0.15 ^{ab}	7.56±0.17 ^{ab}	1.22±0.01	5.85±0.01 ^{ab}
<i>CC</i>	9.38±0.29	8.87±0.04	1.28±0.04	6.40±0.11	9.86±0.22 ^b	9.42±0.21 ^b	1.21±0.02	6.28±0.10 ^b
d	1.59	1.28	1.24	2.96	-0.48	0.10	-0.15	0.33
a	4.69	4.69	0.64	3.20	1.73	1.96	-0.16	0.75
T	-3.09	-0.38	-0.12	-0.39	-2.02	-0.12	0.02	-0.06
C	0.22	5.17	1.60	5.37	0.13	1.93	-0.28	0.97

注: d 为显性效应, a 为加性效应; T 为等位基因 *T* 的效应; C 为等位基因 *C* 的效应, 其中 $d = CT - (CC + TT) / 2$, $a = (CC - TT) / 2$, $T = c[a + d(t - c)]$, $C = -t[a + d(t - c)]$, (t, c 为 *T, C* 的等位基因频率)。同列数据上标无相同字母者, 表示差异显著 ($P < 0.05$)。

传力分别为 0.37 和 0.29。王立贤等^[9]研究了大白猪的胎盘效率具有高遗传力(0.46), 而且选择的高胎盘效率组产仔数提高 1 头。研究表明胎盘效率与窝产仔数呈中等正相关, 进一步说明高的胎盘效率是高窝产仔数的基础之一。

综上所述, 本研究结果表明 *BF* 基因第 1 内含子 79 bp 的突变可能是窝产仔数和胎盘效率的一个标记。不同基因型之间产仔数和胎盘效率有比较大的差异, 可以作为一个潜在分子标记, 为对大白猪繁殖性能开展标记辅助选择分子育种提供研究基础, 为加快遗传育种进展提供理论依据。

参考文献(References):

- [1] Pinton P, Schibler L, Crihiu E, Gellin J, Yerle M. Localization of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pig, and goats. *Mamm Genome*, 2000, 11(4): 306–315. [\[DOI\]](#)
- [2] De Koning DJ, Rattink AP, Harlizius B, Groenen MAM, Brascamp EW, Van Arendonk JAM. Detection and characterization of quantitative trait loci for growth and reproduction traits in pigs. *Livest Prod Sci*, 2001, 72(3): 185–198. [\[DOI\]](#)
- [3] Wilkie PJ, Paszek AA, Beattie CW, Alexander LJ, Wheeler MB, Schook LB. A genomic scan of porcine reproductive traits reveals possible quantitative trait loci(QTLs) for number of corpora lutea. *Mamm Genome*, 1999, 10(6): 573–578. [\[DOI\]](#)
- [4] Cassady JP, Johnson RK, Pomp D, Rohrer GA, Van Vleck LD, Spiegel EK, Gilson KM. Identification of quantitative trait loci affecting reproduction in pigs. *J Anim Sci*, 2001, 79(3): 623–633.
- [5] Hasty LA, Brockman WW, Lambris JD, Lyttle CR. Hormonal regulation of complement factor B in human endometrium. *Am J Reprod Immunol*, 1993, 30(2–3): 63–67.
- [6] Matsumoto M, Fukuda W, Circolo A, Goellner J, Strauss-Schoenberger J, Wang X, Fujita S, Hidvegi T, Chaplin DD, Colten HR. Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(16): 8720–8725. [\[DOI\]](#)
- [7] Buske B, Brunsch C, Zeller K, Reinecke P, Brockmann G. Analysis of properdin(BF) genotypes associated with litter size in a commercial pig cross population. *J Anim Breed Genet*, 2005, 122(2): 259–263. [\[DOI\]](#)
- [8] Biensen NJ, Wilson ME, Stephen PF. The impacts of uterine environment and fetal genotype on conceptus size and placental vascularity during late gestation in pigs. *J Anim Sci*, 1999, 77(4): 954–959. [\[DOI\]](#)
- [9] 王立贤, 李光全, 刘剑峰. 猪胎盘效率用于选择产仔数的研究. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(5): 487–490.
- [10] 李光全, 王立贤, 刘剑峰. 大白猪胎盘效率遗传规律的初步研究. *畜牧与兽医*, 2002, (12): 5–6.
- [11] 张守全, 陈文广, 冯定远, 吴同山, 陈运棣, 曹镜溪. 长白、大白母猪胎盘效率与产仔数关系的研究. *养猪*, 2002, (2): 14–15.
- [12] Ford SP. Embryonic and fetal development in different genotypes in pigs. *J Reprod Fertil Suppl*, 1997, 52: 165–176. [\[DOI\]](#)
- [13] Wilson ME, Biensen NJ, Youngs CR, Ford SP. Development of Meishan and Yorkshire littermate conceptuses in either a Meishan or Yorkshire uterine environment to days 90 of gestation and to term. *Biol Reprod*, 1998, 58(4): 905–909.
- [14] Wilson ME, Biensen NJ, Ford SP. Novel insight into the control of litter size in pigs, using placental efficiency as a selection tool. *J Anim Sci*, 1999, 77(7): 1654–1658.
- [15] Jiang ZH, Gibson JP. Rapid communication: a PCR-RFLP marker at the porcine complement factor B gene locus shows between-population frequency variation. *J Anim Sci*, 1998, 76(7): 1716–1717.
- [16] 刘桂琼, 曹勤忠, 姜勋平, 王金玉. 小梅山猪促卵泡素 β 基因多态性及其与繁殖性能的关系. *中国畜牧杂志*, 2004, 40(12): 6–8.
- [17] SAS Institute Inc, Cary NC. SAS/STAT User's Guide: Statistics. Release 8.2. SAS Institute 2001.
- [18] Lie WR, Rothschild MF, Warner CM. Mapping of C2, Bf, and C4 genes to the swine major histocompatibility complex (swine leukocyte antigen). *J Immunol*, 1987, 139 (10): 3388–3395.
- [19] Peelman LJ, Mattheeuws M, Van Zeven VA, De Weghe AV, Bouquet Y. Conservation of the RD-BF-C2 organization in the pig MHC class-III region: mapping and cloning of the pig RD gene. *J Anim Genet*, 1996, 27(1): 35–42.
- [20] Wu L, Rothschild MF, Warner CM. Mapping of the SLA complex class III region by pulsed field gel electrophoresis. *Mamm Genome*, 1995, 6(9): 607–610.
- [21] Brunsch C, Philipp U, Moser G, Leuthold G, Geldermann H, Reinecke P. Identification of QTLs with Association to Heterosis in Litter Size in Mice. *Internations to Conference on Animal Genetics*, Auckland, New Zealand, 1998, 9–14.
- [22] Van Rens BT, van der Lende T. Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenology*, 2002, 57(2): 883–893. [\[DOI\]](#)
- [23] Van Rens BT, van der Lende T. Piglet and placental traits at term in relation to the estrogen receptor genotype in gilts. *Theriogenology*, 2002, 57(4): 1651–1667. [\[DOI\]](#)
- [24] Vallet JL, Leymaster KA, Cassady JP, Christenson RK. Are hematocrit and placental efficiency selection tools for uterine capacity in swine? *J Anim Sci*, 2001, 79(Suppl.1): 64.