

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00375

猪 *FIT1* 基因第 2 外显子多态性与猪脂肪沉积性状的相关性

李德臻, 何君贤, 雷明刚, 徐德全, 蒋思文, 熊远著

华中农业大学农业部猪遗传育种重点开放实验室, 武汉 430070

摘要: 在养猪业中, 与脂肪沉积相关的性状如背膘厚、肥肉率等具有重要的经济价值。因此, 研究与脂肪沉积有关的基因具有重要的理论和实践意义。*FIT1*(Fat-inducing transcript 1)基因, 即脂肪诱导转录基因, 在脂肪滴打包形成过程中具有重要作用。文章以 *FIT1* 基因作为脂肪沉积的候选基因, 通过序列比较, 发现该基因在第二外显子 590~595 bp 处存在 CACTCC 的插入/缺失突变。对该位点的多态性进行了 PCR-SSCP 检测, 并在 F₂“大白×梅山”资源家系中作了性状关联分析。结果表明: 在所检测的所有个体中, 梅山猪均为 CACTCC 插入, 定为 A 等位基因, 而在大白猪中主要为 CACTCC 缺失, 定为 B 等位基因; 在“大白×梅山”F₂ 资源家系群体中进行的性状关联分析表明该位点与肥肉率、6~7 腰椎间膘厚、臀部平均膘厚、板油重、内脂合计、内脂率(%)等脂肪沉积性状的相关性达到极显著水平($P<0.01$)。以上结果提示, *FIT1* 基因在脂肪沉积方面可能具有较大的应用价值, 有必要对其进行更深入的功能研究, 为分子标记辅助选择提供理论依据。

关键词: *FIT1* 基因; PCR-SSCP; 脂肪沉积; 关联分析

Polymorphism in exon 2 of pig *FIT1* gene and its association with fat-deposition-related traits

LI De-Zhen, HE Jun-Xian, LEI Ming-Gang, XU De-Quan, JIANG Si-Wen, XIONG Yuan-Zhu

Key Laboratory of Swine Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: In pig industry, fat deposition related traits such as back fat thickness and fat rate are of great economic importance. Thus, research on genes related with fat deposition can offer many useful values theoretically and practically. Gene *FIT1* (Fat-inducing transcript 1) plays an important role in packaging lipid droplets. Here, we used *FIT1* gene as the candidate gene for fat deposition. Sequence comparison revealed that an insertion/deletion mutation occurred at 590~595 bp of the second exon. We then carried out PCR-SSCP analysis followed by association analysis in F₂ “Large white × Meishan” resource family. In all the individuals tested, all Meishan pigs possessed the insertion, which was designated allele A, while most Large white pigs possessed the deletion and was named as allele B. Association analysis in F₂ resource family showed that this site was highly associated with fat percentage (FP), 6~7 rib fat thickness (RFT), buttock fat thickness (BFT), leaf fat weigh (LFW), total internal fat weigh (TFW), and internal fat rate (IFR) ($P<0.01$). These results indicated that *FIT1* gene may have some important values for application. Further and deep research is necessary for revealing more information on this gene in order to provide a new marker for molecular marker-assisted selection breeding.

Keywords: *FIT1*; PCR-SSCP; fat deposition; association analysis

收稿日期: 2009-09-04; 修回日期: 2010-01-05

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2006CB102102)资助

作者简介: 李德臻(1985-), 女, 硕士研究生, 专业方向: 分子生物学与动物育种。E-mail: lidezhen85@163.com

通讯作者: 熊远著(1930-), 男, 中国工程院院士, 教授, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: xiongyzh@mail.hzau.edu.cn

脂肪性状是动物肉质的主要指标之一。哺乳动物中脂肪组织是最大的能源库,能量以甘油三酯(TG)的形式贮存在脂肪组织中,占脂肪细胞总体积95%以上^[1]。甘油三酯的合成和降解如果不平衡,就会造成脂肪代谢性疾病,如果合成大于分解,就会造成脂肪沉积,导致肥胖、脂肪肝等^[2]。

在所有真核细胞的细胞浆中均有大小不一、数量不等的脂滴。胞内脂滴被认为是一种具有代谢功能的亚细胞器。脂滴的核心是由甘油三酯和胆固醇酯形成的脂核^[3]。脂滴表面包被单层磷脂膜,且覆有多种蛋白如脂滴包被蛋白Perilipin、脂肪分化相关蛋白ADRP(Adipocyte differentiation-related protein)和47 kDa的尾连蛋白TIP47(Tail-interacting protein of 47 kDa)。因这3种蛋白质氨基端结构具有很高的同源性,所以取其首字母命名为PAT家族,除了PAT家族,还有其他一些蛋白包被在脂滴表面^[3]。将脂肪以脂滴的形式储存是非常重要的,因为这个过程可以让细胞很方便地将脂肪作为能量来源。从酵母到人类,将脂肪分割成脂滴是动物界一个普遍特征,在人类,如果我们的脂肪组织获得多余的脂滴,将会导致肥胖^[2]。

在所有的真核细胞生物中,从最简单的酵母到最复杂的人类,细胞内脂滴储存脂肪的过程都是最基本的生物学过程^[4]。之前科学家已经确定了很多脂肪合成相关的基因,如肥胖基因(*ob*)^[5]、瘦蛋白受体基因(*ob-R*)^[6]、脂肪酸结合蛋白基因(*FABP*)^[7]、促黑素皮质素受体-4基因(*MC4R*)^[8]、激素敏感性脂肪酶基因(*HSL*)^[9]、脂蛋白脂酶基因(*LPL*)^[10]等。但是细胞内脂肪如何被“打包”成脂滴,即细胞是如何调控磷脂蛋白层包装脂肪成为脂滴一直未得到满意的解释。

Kadereit等^[11]发现了两个将脂肪打包成脂滴的关键基因,分别命名为*FIT1*和*FIT2*(Fat-inducing transcript 1 and 2),又称*FITM1*和*FITM2*基因(Fat storage-inducing transmembrane protein)。猪*FIT1*基因位于Ssc7q21-25,包含2个长度分别为266 bp和607 bp的外显子和1个374 bp内含子,编码290个氨基酸。NCBI数据库已收录其881 bp mRNA序列(NM_001128470),但对该基因的多态性分析、性状关联分析及组织表达情况等未见报道。基于*FIT1*基因在人、小鼠和斑马鱼等生物中的重要生物学功能,

我们有理由相信,猪*FIT1*基因在脂肪代谢、脂肪沉积等方面也具有十分重要的功能。本文对猪*FIT1*基因作了多态性、性状相关性研究,以期加深对猪*FIT1*基因重要功能的了解。

1 材料和方法

1.1 材料

所有实验猪均来自华中农业大学实验猪场。用于等位基因频率分布分析的猪群为2002年屠宰的30头大白猪和22头梅山猪;用于性状关联分析的猪群为2003年和2004年屠宰且有性状记录的“大白×梅山”F₂代资源家系,分别为140头和174头。实验猪群的性状测定方法根据《种猪测定原理与方法》进行^[12]。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取

从猪血液白细胞中提取基因组DNA,采用常规的酚/氯仿法分离,TE溶液溶解,-20℃储存备用。

1.2.2 引物设计

根据NCBI中*FIT1*的mRNA序列和猪全基因组测序公布的序列设计引物,扩增包含完整CDS(Coding sequence)区域的基因组序列。引物序列为P1: 5'-AAGGGGACACAGGACTGAG-3'和P2: 5'-CACCAAGCAAATGATGAG-3',引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.2.3 PCR扩增及序列分析

PCR扩增体系:50 ng模板,1.0 μL primer (10 μmol/L),0.5 μL dNTP(10 mmol/L),12.5 μL GC buffer和1 U *Taq* DNA聚合酶,加水至总体积25 μL。

PCR扩增程序:94℃预变性4 min;然后94℃变性40 s,59℃复性40 s,72℃延伸1 min 30 s,共35个循环;最后72℃延伸10 min,4℃保存。

对PCR产物进行回收,纯化,连接pMD18-T载体,转化到大肠杆菌DH5α感受态细胞,挑取阳性克隆送北京奥科生物技术有限责任公司进行序列测定。

利用Clustal W软件对比6头梅山猪和6头大白猪的测序结果,进行序列比对,寻找有价值的SNP位点。

1.2.4 PCR-SSCP 分析及验证

重新设计包含 CACTCC 插入/缺失突变位点在内的扩增引物作 PCR-SSCP 分析, 引物序列为 P3: 5'-GGTCATCTATTTCCACCAGTA-3' 和 P4: 5'-CGTG CCTTTATTTCTTTTCAG-3'。

PCR 扩增体系为: 2.5 μ L 10 \times PCR buffer(with NH_4^+), 2.5 μ L 25 mmol/L MgCl_2 , 0.5 μ L 10 mmol/L dNTP, 0.5 μ L 上下游引物(10 μ mol/L), 1.0 U *Taq* DNA polymerase 和 50 ng DNA, 加水至 25 μ L。

PCR 扩增程序为: 94 预变性 4 min; 94 变性 40 s, 56 复性 40 s, 72 延伸 30 s, 共 35 个循环; 最后 72 延伸 10 min, 4 保存。

扩增的产物用 10% 的聚丙烯酰胺凝胶进行电泳, 电泳条件为 4 、150 V 过夜。电泳结束后银染显色。

为验证 PCR-SSCP 基因型分型结果的可靠性, 针对聚丙烯酰胺凝胶电泳中出现的 3 种基因型条带, 随机挑选 PCR 产物直接测序, 序列测定由奥科公司完成。

1.2.5 统计分析

根据 Liu^[13]所述方法建立单标记回归统计模型, 采用 SAS 统计软件(SAS Institute Inc, Version 8.0) glm 程序进行单标记方差分析, 同时采用 reg 程序计算基因加性效应和显性效应, 并进行显著性检验。由于进行多次检验会使总的犯 I 型错误的概率上升, 所以采用 Bonferroni 方法对显著性水平进行校正^[14]。单标记回归统计所采用模型为:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + F_j + S_k + Y_l + b_{ijkl}X_{ijkl} + e_{ijkl}$$

其中, Y_{ijkl} 为性状表型值, μ 为群体均值, G_i 为基因型效应, S_k 、 Y_l 、 F_j 分别为性别、年度、家系效应, b_{ijkl} 为屠宰体重的回归系数, X_{ijkl} 为屠宰体重, e_{ijkl} 为残差效应。

2 结果与分析

2.1 猪 *FIT1* 基因的扩增及 SNPs 检测

以大白、梅山猪的 DNA 为模板, 利用引物 P1 和 P2 进行 PCR 扩增, 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 扩增片段大小符合预期结果, 扩增产物回收纯化后克隆测序, 测序结果显示片段长度为 1 566 bp 或 1 560 bp。

利用 Clustal W 软件对所获得的大白与梅山两个猪种的 *FIT1* 基因序列进行比对, 发现该序列存在多处突变, 其中, 在第二外显子 590~595 bp 处存在 6 bp 的 CACTCC 的插入/缺失突变, 梅山猪为插入突变, 定为 A 等位基因; 大白猪多为缺失突变, 定为 B 等位基因。该突变正好引起两个氨基酸的增加或者减少, 即梅山猪的蛋白中多了组氨酸(H)和丝氨酸(S)。部分测序图谱如图 1 所示。

2.2 猪 *FIT1* 基因的 PCR-SSCP 检测及验证

为了提高 SNP 的检测效率, 重新设计引物 P3 和 P4 对基因组 DNA 进行扩增, 扩增产物经 3.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 大小符合预期结果, 分别为 179 bp(插入型)和 173 bp(缺失型)。然后将扩增产物用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 结果发现有 3 种不同的基因型, 分别为 AA、AB 和 BB 型。大白 \times 梅山 F_2 代个体 PCR-SSCP 部分分型结果如图 2 所示。

为验证 PCR-SSCP 基因分型结果的可靠性, 随机从聚丙烯酰胺凝胶电泳中出现的 3 种基因型中挑选相应的 PCR 产物直接测序, 测序结果与 PCR-SSCP 结果完全一致。

2.3 不同猪种中基因型频率和等位基因频率的检测

在成功建立了可靠的 PCR-SSCP 基因分型方法

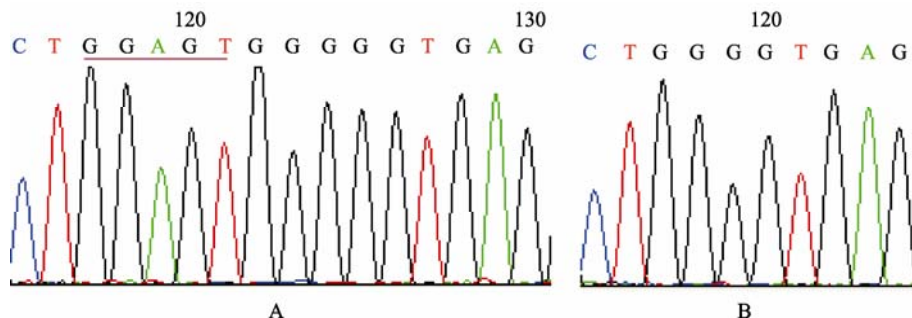


图1 *FIT1* 基因部分测序结果(反向测序图)

A: 梅山猪种的测序图谱; B: 大白猪种的测序图谱。梅山中的 CACTCC 的插入用下划线标出。

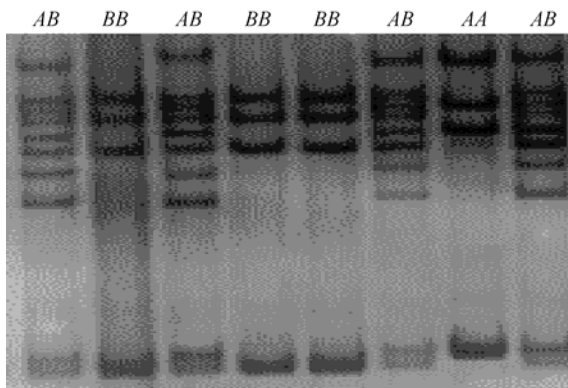


图 2 大白×梅山 F_2 代个体 PCR-SSCP 部分分型结果

后, 我们检测了梅山猪和大白猪 *FIT1* 基因第二外显子 590~595 bp 插入/缺失突变的多态性分布频率, 其结果如表 1 所示。所检测的梅山猪个体全为 AA 基因型, 而在大白猪种中主要为 BB 基因型和 AB 基因型, 未检测到 AA 基因型。在所检测的 314 头大白×梅山 F_2 代个体中, AA 基因型 36 头, AB 基因型 152 头, BB 基因型 126 头。

表 1 猪 *FIT1* 基因的多态性在不同群体中的分布结果

| 品种 | 数目 | 基因型 | | | 等位基因频率 | |
|---------------|-----|-----|-----|-----|--------|------|
| | | AA | AB | BB | A | B |
| 大白 | 30 | 0 | 9 | 21 | 0.15 | 0.85 |
| 梅山 | 22 | 22 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 大白×梅山 F_2 代 | 314 | 36 | 152 | 126 | 35.7 | 64.3 |

表 2 猪 *FIT1* 基因第二外显子 590~595 bp 插入/缺失突变多态性与猪脂肪沉积性状的关联分析

| 性状 | 基因型值(最小二乘均值±标准误) | | | 基因效应值(最小二乘均值±标准误) | |
|-----------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------|---------------|
| | AA | AB | BB | 加性效应 | 显性效应 |
| 肥肉率 | 18.570±1.072 ^A | 22.398±0.538 ^{AB} | 24.086±0.598 ^B | 2.616±0.635** | -0.397±0.422 |
| 瘦肉率 | 57.175±0.789 | 56.460±0.396 | 56.618±0.440 | -0.229±0.455 | 0.175±0.303 |
| 瘦肥肉比例 | 3.228±0.174 | 2.702±0.088 | 2.509±0.097 | -0.336±0.103 | 0.060±0.069 |
| 肩部最厚处膘厚 | 3.070±0.157 | 3.376±0.079 | 3.457±0.087 | 0.178±0.092 | -0.042±0.061 |
| 6-7 腰椎间膘厚 | 2.193±0.133 ^A | 2.628±0.067 ^{AB} | 2.840±0.074 ^B | 0.300±0.083* | -0.034±0.055 |
| 胸腰椎间膘厚 | 1.517±0.127 | 1.894±0.065 | 2.020±0.071 | 0.237±0.075 | -0.048±0.050 |
| 臀部平均膘厚 | 1.344±0.155 ^A | 1.873±0.078 ^{AB} | 2.098±0.087 ^B | 0.344±0.094* | -0.054±0.063 |
| 平均背膘厚 | 1.923±0.463 | 2.705±0.233 | 2.513±0.259 | 0.253±0.268 | -0.201±0.179 |
| 板油重 | 0.595±0.066 ^A | 0.816±0.033 ^{AB} | 0.996±0.037 ^B | 0.188±0.044** | 0.00048±0.029 |
| 花油重 | 0.871±0.062 | 0.958±0.031 | 1.024±0.035 | 0.068±0.039 | 0.003±0.026 |
| 内脂合计 | 1.465±0.102 ^A | 1.774±0.051 ^{AB} | 2.020±0.057 ^B | 0.256±0.069* | 0.003±0.046 |
| 内脂率(%) | 2.286±0.153 ^A | 2.723±0.077 ^{AB} | 3.041±0.085 ^B | 0.369±0.089** | -0.022±0.059 |
| 眼肌高(cm) | 9.690±0.166 | 9.482±0.083 | 9.520±0.092 | -0.104±0.097 | 0.079±0.065 |
| 眼肌宽(cm) | 4.482±0.140 | 4.626±0.070 | 4.830±0.078 | 0.141±0.090 | 0.047±0.060 |
| 眼肌面积 | 30.410±1.092 | 30.660±0.548 | 32.356±0.609 | 0.698±0.713 | 0.631±0.474 |

注: 数值上标的字母相同表示差异不显著, 字母不同时, 大写字母表示差异极显著, 小写字母表示差异显著; 加性效应负值表示 B 等位基因降低性状表型值, 其上标*表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$ 。

2.4 猪 *FIT1* 基因多态性与脂肪沉积性状的相关性

运行 SAS 软件 glm 和 reg 程序, 对猪 *FIT1* 基因第二外显子 590~595 bp 插入/缺失突变的不同基因型与猪脂肪沉积性状的关联性进行分析, 并采用 Bonferroni 方法对显著性水平进行了校正, 结果如表 2 所示。*FIT1* 基因多态性对肥肉率、6~7 腰椎间膘厚、臀部平均膘厚、板油重、内脂合计、内脂率(%)的效应达到极显著水平($P<0.01$), 且该位点在资源家系中以加性效应为主, 其中肥肉率、板油重、内脂率(%)的加性效应达到极显著水平($P<0.01$), 6-7 腰椎间膘厚、臀部平均膘厚、内脂合计的加性效应达到显著水平($P<0.05$)。

3 讨论

分子标记辅助选择的基础是可靠的分子标记, 本研究从基因的生理生化功能出发, 通过对与猪脂肪沉积相关的候选基因 *FIT1* 进行研究, 筛选、鉴定

基因内的单核苷酸多态标记(SNP), 并将标记与猪脂肪沉积相关性状关联分析, 以期用于分子标记辅助选择。SNP作为一种新型的分子遗传标记, 越来越受到关注, 是近年来研究的热点之一^[15], 它既能被用作重要的遗传学工具, 也是功能基因组学研究的对象^[16]。

我们通过比对大白、梅山 *FIT1* 基因的序列发现了一处存在于第二外显子 590~595 bp 位点处 6 bp 的插入/缺失突变。在纯种梅山猪和纯种大白猪中对该基因的分布频率分析发现, 所有的梅山猪个体均为插入型(AA 型), 所有的大白猪个体均为缺失型或者为杂合型(BB 型或 AB 型)。在 F_2 代资源家系中所做的性状关联分析发现, 该多态位点与多个脂肪性状存在极显著或显著的相关性, 提示该基因在脂肪代谢过程中具有十分重要的作用。分析发现在该位点没有相应的内切酶, 所以本研究采用 PCR-SSCP 方法来检测该位点的多态性。为了验证结果的准确性, 我们将在聚丙烯酰胺凝胶电泳中呈现出的不同带型的原 PCR 产物作了直接测序验证, 结果表明 PCR-SSCP 方法能够很好地鉴定出该位点的多态性。

人的 *FIT1* 基因定位于 14q12, 编码 292 个氨基酸; 小鼠的 *FIT1* 基因的定位于 14 C3, 编码 292 个氨基酸, 二者的基因结构相似, 均由两个外显子和一个内含子构成^[11]。由于 *FIT1* 基因编码蛋白较小, 所以关于其功能的研究并不多。正是由于 Silver 等的工作, 使得 *FIT1* 基因在脂肪滴打包形成过程中的重要作用被发现, 针对 *FIT1* 基因的研究才重新引起学界的重视。

在人类细胞中, 过度表达 *FIT* 基因会导致脂肪储存明显增加, 在小鼠体内敲除 *FIT* 基因会明显减少脂滴内的脂肪储存。在人体细胞中过表达 *FIT1* 和 *FIT2*, 发现过表达细胞与正常细胞在脂肪合成速率方面没有任何差别, 但在脂滴储存方面, 过表达细胞中的脂滴数量是正常细胞的 4~6 倍^[11], 这进一步证明了该基因在脂肪代谢过程中的重要性。

我们发现在梅山猪种中 A 等位基因占优势, 在瘦肉型大白猪种中 B 等位基因占优势, 而不同基因型与猪脂肪沉积性状的关联分析却表明 BB 基因型比 AA 基因型有更高的肥肉率、6~7 腰椎间膘厚、臀部平均膘厚、板油重、内脂合计、内脂率(%)等。我们的研究结论正好可以对前人的一些研究作出很好的

印证。猪 *FIT1* 基因位于 SSc7q21-25, 该区段存在与脂肪性状相关的 QTL。Bidanel 等^[17]利用微卫星标记对 6 头非亲缘的大白公猪和 6 头低亲缘的梅山猪杂交产生的 1 000 头 F_2 代个体进行基因组扫描, 将肌内脂肪含量主效基因定位于 7 号染色体上。猪 7 号染色体上已发现了很多与猪生长性状、胴体性状、肉质性状有关的 QTLs, (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/draw_chromap)^[18]。Yue 等^[19]在“梅山×皮特兰”和“欧洲野猪×梅山”两个资源家系中, 发现在 CYPB/CYPD-TNFB-S0102 区域存在影响肥度性状的 QTL。但是, 与亲代性状正好相反的是, 来自梅山的 QTL 等位基因在 F_2 代资源群体中却与背膘厚存在负相关关系。作者推测, 在脂肪型的梅山猪基因组中存在着可以降低胴体脂肪含量的基因。在我们对 *FIT1* 基因第二外显子 590~595 bp 位点处的插入/缺失多态性的检测中发现, 梅山猪全部为插入型(AA 型), 而大白猪全部为缺失或者杂合型(BB 或者 AB 型), 在 F_2 代资源群体中所做的关联分析发现, A 等位基因与脂肪性状存在极显著或者显著的负相关性, 据此, 我们可以对 Yue 等在 2003 年提出的假说作进一步补充, 即在脂肪型的梅山猪中, 除了存在与脂肪性状呈负相关的基因外, 还存在着一些与脂肪性状呈负相关的突变位点。这些突变很可能发生在与脂肪代谢有关的基因中, 通过进化的方式被保留下来。脂肪组织除了具有能储和保护的功能外, 还能够分泌很多脂肪因子。这些脂肪因子对包括糖代谢、炎症反应、繁殖等在内的诸多生理过程都有重要的调节作用^[2]。过多的脂肪组织将导致肥胖, 由此会带来诸多并发症。在肥胖病中, 脂肪因子的表达和由白色脂肪所介导食源性糖类和脂类的处理会失调, 从而导致高血糖、高血脂、胰岛素耐受和慢性炎症反应的发生^[2]。*FIT1* 基因虽然与脂肪的合成无关, 但是在脂滴储存方面却发挥了重要的作用^[2], 由于 A 等位基因具有保护作用, 在长期自然选择和人类选择压力下, 脂肪型梅山猪种中 *FIT1* 基因的 A 等位基因获得了进化优势, 否则肥胖的梅山猪种将会合成的较多脂肪储存, 出现过肥胖的情况, 而过度肥胖往往带来诸多不利影响^[2]。另外, 在本研究中, 用于基因型和性状关联分析的个体数比较有限, 我们不能排除 B 基因型在梅山猪种中存在的可能。扩大研究的群体规模数可以进一步明了 A、B 基因型在梅

山和大白猪种中的真实分布情况。另外, 扩大脂肪型品种和瘦肉型品种的研究范围可以对 *FIT1* 基因的功能作出更加准确的结论, 为 *FIT1* 基因在育种实践上的应用提供更加丰富的支撑数据。

蛋白质是生命活动的直接执行者, 参与几乎所有生命活动过程。氨基酸作为构成蛋白质的基本单元, 其增加、减少或替换都将可能对蛋白结构产生影响, 或者会影响蛋白的亲/疏水性、跨膜结构域、糖链结合的位置、化学因子作用位点等。梅山猪 *FIT1* 基因第二外显子 590~595 bp 处 CACTCC 的插入, 导致梅山 *FIT1* 蛋白中增加了组氨酸 H 和丝氨酸 S。利用 SOPMA 软件进行二级结构分析发现, 梅山猪 *FIT1* 蛋白末端氨基酸的变化使蛋白二级结构中减少了 β 折叠, 增加了 β 转角, 而且引起了 O 型糖链的连接位点的改变。蛋白结构的上述改变很可能是导致大白、梅山 *FIT1* 蛋白功能差异的原因。针对 *FIT1* 基因功能的研究正在进行中。

本文对猪 *FIT1* 基因的研究只是一个开端, 从我们现有的实验结果来看, *FIT1* 基因具有十分重要的理论和实践价值。但是, 有必要扩大群体规模, 增加瘦肉型和脂肪型猪品种范围对该基因与肥度性状的相关性作进一步的分析。

参考文献(References):

- [1] Beckman M. Cell biology. Great balls of fat. *Science*, 2006, 311(5765): 1232-1234. [\[DOI\]](#)
- [2] Lefterova MI, Lazar MA. New developments in adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20(3): 107-114. [\[DOI\]](#)
- [3] Tholpady SS, Katz AJ, Ogle RC. Mesenchymal stem cells from rat visceral fat exhibit multipotential differentiation *in vitro*. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 2003, 272(1): 398-402. [\[DOI\]](#)
- [4] Duncan RE, Ahmadian M, Jaworski K, Sarkadi-Nagy E, Sul HS. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu Rev Nutr*, 2007, 27: 79-101. [\[DOI\]](#)
- [5] Lonnqvist F, Arner P, Nordfors L, Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nat Med*, 1995, 1(9): 950-953. [\[DOI\]](#)
- [6] Chua SC Jr, Chung WK, Wu-Peng XS, Zhang Y, Liu SM, Tartaglia L, Leibel RL. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science*, 1996, 271(5251): 994-996. [\[DOI\]](#)
- [7] Becker MM, Kalinna BH, Waine GJ, McManus DP. Gene closing, gene cloning, overproduction and purification of a functionally active cytoplasmic fatty-acid-binding protein (Sj-FABPC) from the human blood fluke *Schistosoma japonicum*. *Gene*, 1994, 148(2): 321-325. [\[DOI\]](#)
- [8] Lee YS. The role of leptin-melanocortin system and human weight regulation: lessons from experiments of nature. *Ann Acad Med Singapore*, 2009, 38(1): 34-11.
- [9] Clifford GM, Londos C, Kraemer FB, Vernon RG, Yeaman SJ. Translocation of hormone-sensitive lipase and perilipin upon lipolytic stimulation of rat adipocytes. *J Biol Chem*, 2000, 275(7): 5011-5015. [\[DOI\]](#)
- [10] Haemmerle G, Zimmermann R, Strauss JG, Kratky D, Riederer M, Kniping G, Zechner R. Hormone-sensitive lipase deficiency in mice changes the plasma lipid profile by affecting the tissue-specific expression pattern of lipoprotein lipase in adipose tissue and muscle. *J Biol Chem*, 2002, 277(15): 12946-12952. [\[DOI\]](#)
- [11] Kadereit B, Kumar P, Wang WJ, Miranda D, Snapp EL, Severina N, Torregroza I, Evans T, Silver DL. Evolutionarily conserved gene family important for fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(1): 94-99. [\[DOI\]](#)
- [12] 熊远著, 邓昌彦. 种猪测定原理与方法. 北京: 中国农业出版社, 1999, 57-118.
- [13] Liu BH. Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press, 1998.
- [14] Narum SR. Beyond Bonferroni: Less conservative analyses for conservation genetics. *Conserv Genet*, 2006, 10(5): 783-787. [\[DOI\]](#)
- [15] 杨昭庆, 洪坤学. 单核苷酸多态性的研究进展. 国外医学遗传学分册, 2000, 23(1): 4-8.
- [16] Swamy BP, Sarla N. Yield-enhancing quantitative trait loci (QTLs) from wild species. *Biotechnol Adv*, 2008, 26(1): 106-120. [\[DOI\]](#)
- [17] Bidanel JP, Milan D, Chevalet C. Mapping of quantitative trait loci (Qtl) in F_2 crosses between Meishan and Large White pig breeds in France. *Proc of Intern Conf Pig Product*, 1998: 51-55.
- [18] 苏玉虹, 熊远著, 张勤, 蒋思文, 雷明刚, 余雳, 郑嵘, 邓昌彦. 猪胴体脂肪沉积性状的 QTL 定位. 遗传学报, 2002, 29(8): 681-684.
- [19] Yue GH, Beeckmann P, Moser G, Muller E, Bartenschlager H, Cepica S, Schroffell J, Stratil A, Geldermann H. QTL alleles on chromosome 7 from fatty Meishan pigs reduce fat deposition. *Sci China*, 2003, 46(1): 10-17.