

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00879

猪整合素 β_1 基因CRS-PCR多态性与产仔数的关联性分析

郭良勇, 傅金奎, 王爱国

中国农业大学动物科学技术学院, 畜禽育种国家工程实验室, 农业部畜禽遗传育种重点开放实验室, 北京 100193

摘要: 文章采用CRS-RFLP技术对长白猪、大白猪和杜洛克猪 3 个品种的整合素 β_1 基因第 5 外显子T32207C位点及第 7 外显子A35230G位点进行单核苷酸多态性分析, 并将基因多态性与猪的产仔数进行关联分析。结果表明: 32207 多态位点的基因型效应对 3 个品种的总产仔数(TNB)和产活仔数(NBA)影响均不显著; 35230 多态位点的基因型效应对大白猪和长白猪头胎、二胎及所有胎次的TNB和NBA的影响达到显著($P<0.05$)或者极显著水平($P<0.01$), 基因型GG、AG与AA对产仔数的影响存在差异, 其效应为GG, AG>AA。可见整合素 β_1 基因 35230 位点的G等位基因对大白猪和长白猪的产仔数性状有显著影响。

关键词: CRS-PCR; 整合素 β_1 基因; 多态性; 产仔数; 猪

Analysis of association between CRS-PCR polymorphisms of integrin β_1 gene and litter size in pigs

GUO Liang-Yong, FU Jin-Luan, WANG Ai-Guo

College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, National Engineering Laboratory for Animal Breeding, The Key Laboratory of Animal Genetics and Breeding of Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China

Abstract: Single nucleotide polymorphisms of exon 5 T32207C and exon 7 A35230G of integrin β_1 gene were detected in Landrace, Large White and Duroc by CRS-RFLP. Association between the polymorphism and litter size was analyzed by the method of least square means. At 32207 polymorphic loci, there was no significant difference on TNB and NBA between the genotypes in Landrace, Large White, and Duroc. At 35230 polymorphic loci, there was significant difference ($P<0.05$) or greatly significant difference ($P<0.01$) on TNB and NBA between genotypes in the first, second, and all parities in Large White and Landrace. The effects of GG and AG genotypes were different from that of AA genotypes with the order of GG, AG>AA. These results suggested that the effect of G allele of integrin β_1 gene on litter size is significant in Large White and Landrace.

Keywords: CRS-PCR; integrin β_1 gene; polymorphism; Litter size; pig

收稿日期: 2011-11-30; 修回日期: 2012-03-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31172176)和国家现代农业产业技术体系项目(编号: CARS-36)资助

作者简介: 郭良勇, 硕士研究生, 专业方向: 动物分子遗传育种。Tel: 15901019691; E-mail: glyong@126.com

通讯作者: 王爱国, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: agwang@cau.edu.cn

网络出版时间: 2012-5-31 02:27:19

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120531.1427.004.html>

整合素(Integrin)是一类广泛分布于细胞表面的粘性分子受体,由 α 、 β 两个跨膜亚基组成的异二聚体分子,有细胞黏附^[1]和信号传递^[2,3]两大基本功能。整合素通过和细胞外基质成分(Extracellular matrix, ECM)的相互作用促进细胞的粘附、生长、迁徙、增殖及分化,从而在胚胎着床中起着重要的作用。整合素 β_1 是整合素家族成员之一,它与滋养层细胞浸润子宫内膜和子宫容受性改变密切相关^[4]。研究发现,在介导滋养层细胞黏附以及迁移的整合素中,整合素 β_1 具有非常重要的作用^[5,6]。整合素 β_1 在子宫内壁的表达与卵巢功能变化相一致,且分泌期的表达量明显强于增生期,在着床期也有一定程度的增强^[7]。子宫内壁局部分泌整合素 β_1 不足,可能会导致子宫内壁功能成熟落后,内膜容受性下降,从而影响绒毛滋养层细胞穿透母体子宫内壁而导致着床失败。猪整合素 β_1 基因位于 10 号染色体上,长约 52 kb,包括 16 个外显子和 15 个内含子。到目前为止,有关猪整合素 β_1 基因的研究较少,特别是对于整合素 β_1 基因能否作为猪产仔数标记辅助选择中的候选基因,还未见相关报道。

本研究以长白猪、大白猪和杜洛克猪为研究对象,采用创造酶切位点(Created restriction site PCR, CRS-PCR)技术对猪整合素 β_1 基因 32207 及 35230 位点进行单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)检测,分析其多态性与产仔数的关系,旨在从分子水平揭示整合素 β_1 基因与猪产仔数性状之间是否存在关联,从而为猪产仔数性状的标记辅助选择提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究所用的 643 头母猪来自北京华都种猪繁育有限公司,包括 257 头大白猪、253 头长白猪和 133 头杜洛克猪。采取每头猪的耳组织样浸泡于 70% 乙醇, -20℃ 冷冻保存。采用高盐法提取猪基因组 DNA,溶于 TE 中,4℃ 冰箱中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 方法原理

CRS-PCR-RFLP是根据引物碱基错配技术设计的检测单碱基突变的方法。其原理是根据单碱基突

变位点的碱基替代情况设计引物,其中一条引物根据突变位点邻近序列设计,人为引入错配碱基,使得引物 3'端和单碱基突变的一种突变型在PCR扩增后形成一个酶切位点,然后应用相应的内切酶进行酶切鉴定^[8]。

1.2.2 序列查找及引物设计

在NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)网站查找到了猪整合素 β_1 基因的全序列,利用DNA池测序技术对第 2~9 外显子序列进行SNP位点筛选,在第 5 和第 7 外显子各发现一个突变位点,分别位于 32 207 bp(T/C)和 35 230 bp(A/G)处。利用创造酶切位点法针对第 5 和第 7 外显子分别设计 1 对特异性引物,将 32207 位点的上游引物 3'末端第 3 个碱基人为地由A变为G,在PCR扩增后,可与 32207 位点形成如下序列GGC(T/C),可被限制性内切酶HaeIII所识别,扩增产物长度为 111 bp。将 35230 位点的上游引物 3'末端第 2 个碱基人为地由C变为T,在PCR扩增后,可与 35230 位点形成如下序列TC(A/G)A,可被限制性内切酶TaqI所识别,扩增产物长度为 100 bp;引物由上海英潍捷基贸易有限公司合成。引物序列为:

32207 F: 5'-TACGTTGAAATTCAAGCGGGC-3';
32207 R: 5'-TCTGTTCCAAGGCTTTTCAC-3';
35230 F: 5'-AAACTTGGTGGCATTGTTTTATC-3';
35230 R: 5'-ATGTGAGGAAGTAAGCACTTAC-3'。

反应体系均为 15 μ L: 2 \times PCR Mix 7.5 μ L, 上游引物(10 pmol/L)0.3 μ L, 下游引物(10 pmol/L)0.3 μ L, 模板 DNA(100 ng/ μ L)1 μ L, 加灭菌双蒸水至 15 μ L。PCR 扩增条件为: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 30 s, 62℃(32207)/60℃(35230)复性 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环; 72℃ 延伸 4 min; 4℃ 保存。

1.2.3 整合素 β_1 基因的RFLP分析

利用限制性内切酶HaeIII(酶切位点为GG↓CC)和TaqI(酶切位点为T↓CGA)分别对 2 种PCR产物进行酶切。酶切反应体系均为 15 μ L, HaeIII酶切反应体系: HaeIII 0.4 μ L(10 U/L), 10 \times 缓冲液 1.5 μ L, PCR产物 4 μ L, ddH₂O 9.1 μ L, 37℃ 条件下酶切 2.5 h; TaqI酶切反应体系: TaqI 0.4 μ L(10 U/L), 100 \times BSA 0.15 μ L, 10 \times 缓冲液 1.5 μ L, PCR产物 4 μ L, ddH₂O 8.95 μ L,

65℃条件下酶切 2.5 h。酶切产物进行 5%的琼脂糖凝胶电泳检测(75 V, 80 min), EB染色, 紫外灯下观察、拍照, 根据电泳带型判断基因型, 并选取不同基因型的PCR产物送北京天一辉远生物科技有限公司进行测序。

1.2.4 数据统计分析

基因频率、基因型频率和 χ^2 值的计算方法参见文献[9, 10]。采用SAS(Version 8.02)的GLM程序对整合素 β_1 基因多态性与产仔数进行关联分析, 不同基因型对应的产仔数用最小二乘均数 \pm 标准误(LSM \pm SE)来表示, 其线性模型如下:

$$y_{ijkl} = \mu + YS_i + P_j + G_k + e_{ijkl}$$

其中, y_{ijkl} 为第*i*个年-季的*k*基因型个体*l*的第*j*胎次的产仔数(TNB或NBA)观察值; μ 为群体均值; YS_i 为第*i*个年-季的效应; P_j 为第*j*胎次的效应; G_k 为基因型*k*的效应; e_{ijkl} 为随机残差。

2 结果与分析

2.1 PCR-RFLP 分析结果

对提取的基因组 DNA 样品进行 PCR 扩增, 产物经 2%琼脂糖凝胶电泳, 结果显示 2 对引物可分别扩增出 1 条长约 100 bp 的条带, 与预期(111 bp 和 100 bp)相符。

32207 位点 PCR 产物经 *Hae* 酶切, 得到 3 种基因型(图 3)。91 和 20 bp 的片段为 *CC* 基因型, 111、91 和 20 bp 的片段为 *TC* 基因型, 111 bp 的片段为 *TT* 基因型, 因 20 bp 的片段很短, 电泳时间较长, 故在凝胶中发生弥散, 图像中不能清晰看到(下文的 21 bp 片段情况相同)。35230 位点 PCR 产物经 *Taq* 酶切, 得到 3 种基因型(图 4)。78 和 22 bp 的片段为 *GG* 基因型, 100、78 和 22 bp 的片段为 *AG* 基因型, 100 bp 的片段为 *AA* 基因型。

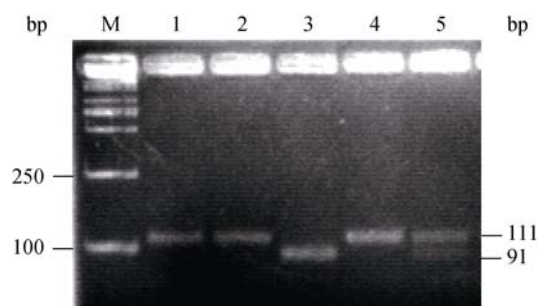
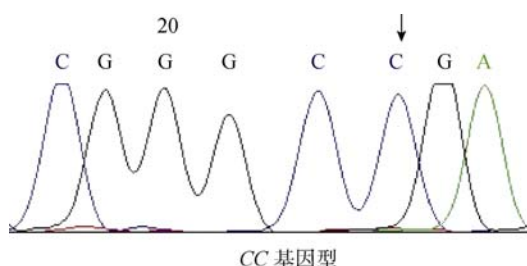


图1 *Hae* 酶切产物的琼脂糖凝胶电泳图
1、2、4: *TT* 基因型; 3: *CC* 基因型; 5: *TC* 基因型; M: DM2000 DNA marker。

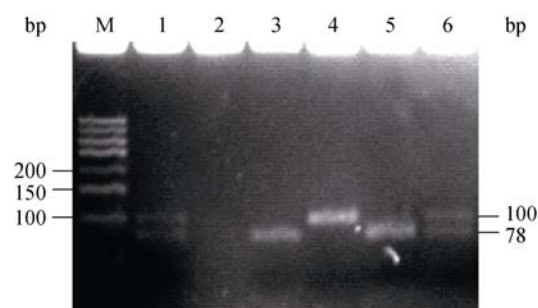


图2 *Taq* I 酶切产物的琼脂糖凝胶电泳图
1、6: *AG* 基因型; 3、5: *GG* 基因型; 4: *AA* 基因型; M: 50 bp DNA marker。

2.2 测序结果

32207 位点 *CC*、*TT* 基因型和 35230 位点 *AA*、*GG* 基因型分别见图 3、图 4。

2.3 不同基因型和等位基因频率统计结果

利用 PCR-RFLP 方法进行多态性检测, 分型后分别计算 2 个多态位点的基因型频率和基因频率(表 1 和表 2)。经 Hardy-Weinberg 平衡性检验, 结果发现: 在 32207 位点, 大白猪处于不平衡状态; 在 35230 位点, 杜洛克猪处于不平衡状态。

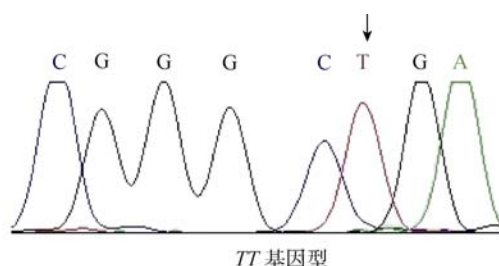


图 3 32207 位点 2 种基因型的反向测序图(箭头所示为 SNP 位点)

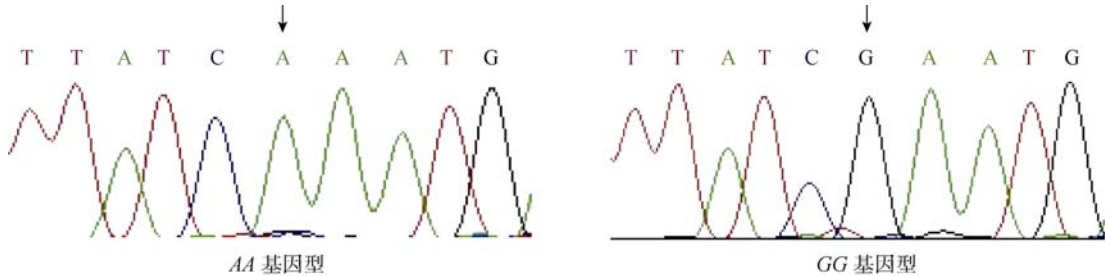


图 4 35230 位点 2 种基因型的反向测序图(箭头所示为 SNP 位点)

表 1 整合素 β_1 基因 32207 位点的基因型频率和等位基因频率

品种	母猪数	基因型分布			基因型频率			基因频率		χ^2 值
		TT	TC	CC	TT	TC	CC	T	C	
长白猪	216	144	71	1	0.667	0.328	0.005	0.831	0.169	4.513*
大白猪	199	61	99	39	0.307	0.497	0.196	0.555	0.445	0.010*
杜洛克猪	91	38	42	11	0.418	0.462	0.120	0.649	0.351	0.014*

注：*表示达到显著水平($P>0.05$); $df=1$, $\chi^2_{0.05}=3.84$, $\chi^2_{0.01}=6.63$ 。

表 2 整合素 β_1 基因 35230 位点的基因型频率和等位基因频率

品种	母猪数	基因型分布			基因型频率			基因频率		χ^2 值
		GG	AG	AA	GG	AG	AA	G	A	
长白猪	216	129	69	18	0.597	0.320	0.083	0.757	0.243	3.754*
大白猪	195	36	102	57	0.185	0.523	0.292	0.446	0.554	0.673*
杜洛克猪	86	53	33	0	0.616	0.384	0	0.808	0.192	4.812*

注：*表示达到显著水平($P>0.05$); $df=1$, $\chi^2_{0.05}=3.84$, $\chi^2_{0.01}=6.63$ 。

2.4 整合素 β_1 基因多态性与产仔数的关联分析

由表 3 和表 4 可见, 在 32207 多态位点, 对于长白猪、大白猪和杜洛克猪 3 个品种, 3 种基因型个体的 TNB 之间和 NBA 之间差异均不显著。在 35230 多态位点, 对于长白猪, 头胎的 GG 型个体的 TNB 和 NBA 分别比 AA 型个体高出 1.50 头($P<0.01$)和 1.64 头($P<0.01$), AG 型个体的 TNB 和 NBA 分别比 AA 型个体高出 1.34 头($P<0.05$)和 1.45 头($P<0.05$); 二胎的 GG 型个体的 TNB 和 NBA 分别比 AA 型个体的 TNB 和 NBA 分别比 AA 型个体高出 2.17 头($P<0.01$)和 1.45 头($P<0.05$), AG 型个体的 TNB 和 NBA 分别比 AA 型个体高出 1.49 头($P<0.01$)和 1.36 头($P<0.05$); 3-6 胎 AG 型个体的 NBA 比 AA 型个体高出 1.02 头($P<0.05$); 在所有胎次中, GG 型个体的 TNB 和 NBA 分别比 AA 型个体高出 1.09 头($P<0.05$)和 0.98 头($P<0.01$), AG 型个体的 TNB 和 NBA 分别

比 AA 型个体高出 0.99 头($P<0.01$)和 0.99 头($P<0.01$)。对于杜洛克猪, 只发现 GG 和 AG 两种基因型, 且二胎 GG 和 AG 基因型个体 TNB 之间的差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

猪产仔数受排卵数、受精率、胚胎死亡率、子宫容积和胎盘效率等各种因素的影响。研究表明猪的产仔数只占其排卵数的一半, 导致这种现象的主要原因可能是胚胎的成活率较低, 而胚胎死亡大部分发生在附植阶段^[11,12], 这说明胚胎附植阶段是影响猪产仔数的关键时期。胚胎附植的顺利进行又依赖于胚胎和子宫内膜的同步发育^[13], 所谓胚胎和子宫内膜的同步发育即活化状态的胚泡能及时与处于接受状态的子宫内膜建立紧密联系。调控胚胎附植的机理十分复杂, 与之有关的因素较多。除胚胎和

表 3 32207 位点多态性与产仔数的关联分析

品 种	基因型	第 1 胎			第 2 胎			3 胎以上			所有胎次		
		窝数	TNB	NBA	窝数	TNB	NBA	窝数	TNB	NBA	窝数	TNB	NBA
长白猪	TT	142	11.10±0.20	10.38±0.20	72	11.35±0.47	10.85±0.43	91	11.91±0.43	11.24±0.39	308	11.62±0.30	10.90±0.28
	TC	71	10.95±0.27	11.38±0.28	34	11.54±0.56	10.94±0.51	31	12.27±0.51	11.25±0.47	137	11.83±0.34	11.06±0.32
	CC	1	12.12±2.02	11.47±2.07							1	12.65±2.42	11.97±2.29
大白猪	TT	61	11.56±0.33	11.10±0.31	35	11.59±0.64	11.09±0.60	39	11.59±0.53	10.96±0.51	133	11.82±0.38	11.11±0.36
	TC	99	11.18±0.28	10.47±0.26	42	11.68±0.57	11.19±0.54	61	11.66±0.45	10.78±0.44	205	11.79±0.35	10.94±0.34
	CC	39	11.42±0.39	10.74±0.37	19	11.52±0.66	10.55±0.61	26	12.04±0.60	11.17±0.58	83	11.97±0.39	11.08±0.38
杜洛克猪	TT	38	10.77±0.35	10.17±0.39	12	10.42±0.46	10.12±0.42	18	10.38±0.43	10.09±0.43	68	10.24±0.28	9.85±0.29
	TC	42	10.46±0.35	10.00±0.39	15	11.85±0.50	11.11±0.45	23	10.31±0.35	9.59±0.34	80	10.52±0.28	9.98±0.29
	CC	11	10.12±0.61	9.33±0.67	7	11.24±0.68	10.89±0.61	15	10.48±0.47	10.07±0.47	33	10.32±0.34	9.90±0.35

注: 同一品种同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$); TNB: 总产仔数, NBA: 产活仔数。

表 3 32207 位点多态性与产仔数的关联分析

品 种	基因型	第 1 胎			第 2 胎			3 胎以上			所有胎次		
		窝数	TNB	NBA	窝数	TNB	NBA	窝数	TNB	NBA	窝数	TNB	NBA
长白猪	TT	142	11.10±0.20	10.38±0.20	72	11.35±0.47	10.85±0.43	91	11.91±0.43	11.24±0.39	308	11.62±0.30	10.90±0.28
	TC	71	10.95±0.27	11.38±0.28	34	11.54±0.56	10.94±0.51	31	12.27±0.51	11.25±0.47	137	11.83±0.34	11.06±0.32
	CC	1	12.12±2.02	11.47±2.07							1	12.65±2.42	11.97±2.29
大白猪	TT	61	11.56±0.33	11.10±0.31	35	11.59±0.64	11.09±0.60	39	11.59±0.53	10.96±0.51	133	11.82±0.38	11.11±0.36
	TC	99	11.18±0.28	10.47±0.26	42	11.68±0.57	11.19±0.54	61	11.66±0.45	10.78±0.44	205	11.79±0.35	10.94±0.34
	CC	39	11.42±0.39	10.74±0.37	19	11.52±0.66	10.55±0.61	26	12.04±0.60	11.17±0.58	83	11.97±0.39	11.08±0.38
杜洛克猪	TT	38	10.77±0.35	10.17±0.39	12	10.42±0.46	10.12±0.42	18	10.38±0.43	10.09±0.43	68	10.24±0.28	9.85±0.29
	TC	42	10.46±0.35	10.00±0.39	15	11.85±0.50	11.11±0.45	23	10.31±0.35	9.59±0.34	80	10.52±0.28	9.98±0.29
	CC	11	10.12±0.61	9.33±0.67	7	11.24±0.68	10.89±0.61	15	10.48±0.47	10.07±0.47	33	10.32±0.34	9.90±0.35

注: 同一品种同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$); TNB: 总产仔数, NBA: 产活仔数。

表 4 35230 位点多态性与产仔数的关联分析

品种	基因型	第 1 胎				第 2 胎			
		窝数	TNB	P 值	NBA	窝数	TNB	P 值	NBA
长白猪	GG	129	11.40±0.19 ^{Aa}	$P_{GGAG}=0.5672$	10.76±0.20 ^{Aa}	64	11.15±0.45 ^{ABa}	$P_{GGAG}=0.3149$	10.71±0.43 ^A
	AG	69	11.24±0.24 ^{ABa}	$P_{GGAa}=0.0037$	10.57±0.26 ^{ABa}	33	11.72±0.54 ^{Aa}	$P_{GGAa}=0.0156$	11.08±0.52 ^A
	AA	18	9.90±0.45 ^{Bb}	$P_{AGAA}=0.0123$	9.12±0.51 ^{Bb}	14	9.33±0.77 ^{Bb}	$P_{AGAA}=0.0036$	8.17±0.74 ^B
大白猪	GG	36	11.77±0.39	$P_{GGAG}=0.7396$	11.19±0.37 ^a	15	12.97±0.66 ^A	$P_{GGAG}=0.2876$	11.75±0.63 ^a
	AG	102	11.63±0.26 ^a	$P_{GGAa}=0.0690$	11.03±0.25 ^a	41	12.29±0.48 ^A	$P_{GGAa}=0.0025$	11.66±0.46 ^a
	AA	57	10.92±0.32 ^b	$P_{AGAA}=0.0440$	10.27±0.30 ^b	28	10.80±0.47 ^B	$P_{AGAA}=0.0074$	10.30±0.45 ^b
杜洛克猪	GG	53	10.41±0.33	$P_{GGAG}=0.4122$	9.88±0.35	20	11.45±0.41 ^b	$P_{GGAG}=0.2483$	10.94±0.38
	AG	33	10.78±0.40		9.96±0.41	15	10.27±0.58 ^a		10.19±0.54
品种	基因型	3 胎以上				所有胎次			
		窝数	TNB	P 值	NBA	窝数	TNB	P 值	NBA
长白猪	GG	88	12.00±0.36	$P_{GGAG}=0.9033$	11.28±0.33	281	11.71±0.22 ^A	$P_{GGAG}=0.4778$	10.92±0.22 ^A
	AG	30	11.98±0.51	$P_{GGAa}=0.2502$	11.14±0.46	132	11.88±0.28 ^A	$P_{GGAa}<0.0001$	11.00±0.28 ^A
	AA	16	11.23±0.71	$P_{AGAA}=0.3462$	10.58±0.65	44	10.23±0.39 ^B	$P_{AGAA}<0.0001$	9.33±0.39 ^B
大白猪	GG	13	11.36±0.80	$P_{GGAG}=0.3759$	10.49±0.76	63	12.46±0.46 ^A	$P_{GGAG}=0.7162$	11.79±0.44 ^A
	AG	62	12.07±0.46	$P_{GGAa}=0.7811$	11.20±0.43 ^a	206	12.35±0.38 ^A	$P_{GGAa}=0.0017$	11.79±0.36 ^A
	AA	46	11.13±0.53	$P_{AGAA}=0.0688$	10.18±0.50 ^b	116	11.37±0.40 ^B	$P_{AGAA}=0.0002$	10.80±0.38 ^B
杜洛克猪	GG	23	10.26±0.41	$P_{GGAG}=0.2761$	9.68±0.40	94	10.37±0.28	$P_{GGAG}=0.2519$	9.97±0.27
	AG	37	10.77±0.32		10.36±0.31	85	10.70±0.26		10.20±0.27

注：同一品种同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)；TNB：总产仔数，NBA：产活仔数。

重要的调控作用^[14]。本课题组长期以来一直从事有关猪产仔数候选基因方面的研究,已经发现多个与产仔数潜在相关的非激素类因子,比如肝素结合性表皮生长因子(Heparin-binding EGF-like growth factor, HB-EGF)^[15]和白细胞介素-8(Interleukin-8, IL-8)^[16],这两个因子在胚胎附植的粘附过程发挥重要作用。整合素是一类广泛分布于细胞表面的粘性分子受体,它参与细胞的增殖、分化、粘附和迁移等过程,在胚胎附植中起着重要作用,本试验将整合素家族成员之一的 β_1 基因作为猪的候选基因进行研究。

创造酶切位点技术是根据引物碱基错配技术设计的检测单碱基突变的简单易行的方法,本试验利用该技术研究了整合素 β_1 基因第2~9外显子序列的碱基突变,结合测序发现,在32207位点发现了一个T/C替代,在35230位点发现了一个A/G替代,且均为沉默突变。应用SAS软件对整合素 β_1 基因不同基因型对产仔数的影响进行关联分析,结果显示:在32207多态位点,长白猪、大白猪和杜洛克猪3个品种不同基因型之间的总产仔数和产活仔数差异均不显著($P>0.05$)。在35230多态位点,在大白猪和长白猪群体中,共发现GG、AG和AA3种基因型,其中GG和AG母猪头胎、二胎及所有胎次的TNB和NBA均显著或极显著高于AA母猪($P<0.05$ 或 $P<0.01$),GG和AG之间TNB和NBA差异不显著,说明G等位基因是大白猪和长白猪产仔数性状的优势等位基因,GG和AG为优势基因型。在长白猪群体中,等位基因G频率远远高于A,GG占绝对优势,AA极少;而在大白猪群体中,GG所占的比例较小,G等位基因频率也较低,可以通过分子育种进一步提高GG的频率。在杜洛克猪群体中,只发现基因型GG与AG,没发现AA,这可能是由于AA为劣势基因型,在选择的过程中已经逐渐被淘汰了,也有可能检测的样本含量较小有关。而二胎AG母猪的总产仔数显著高于GG($P<0.05$),这可能是由于用于试验的杜洛克猪样本含量有限,导致统计误差较大,结果不具备很强的代表性,因此需要进一步扩大样本含量,深入分析该位点对杜洛克猪产仔数性状的影响。同时也可以对其他品种的猪,尤其是具有高产仔性能的中国地方猪种进行多态性检测,分析该基因是否对其它猪种的产仔数性状也有影响。

本研究表明,整合素 β_1 基因35230位点的G等位基因对大白猪和长白猪的产仔数性状有显著影响。对35230多态位点的方差组分的分析发现,对大白猪和长白猪,该位点的总产仔数和产活仔数的遗传均是加性效应和显性效应综合作用的结果,因此该位点能否作为分子标记位点还需要综合考虑其他因素。虽然本研究发现整合素 β_1 基因35230位点的突变对产仔数存在着显著影响,但该突变并未引起氨基酸的变化,为沉默突变。有研究发现,分泌期子宫内膜中整合素 β_1 表达水平的降低,可能会影响子宫内膜对胚泡的识别、粘附,导致子宫内膜容受性的降低,使着床失败引起不孕^[17,18]。因此推测该突变有可能影响母猪整合素 β_1 基因的转录和表达,从而影响胚胎的顺利附植。所以能否将整合素 β_1 基因作为影响猪产仔数性状的候选基因来进行应用,还需要在表达水平对猪整合素 β_1 基因做深入的研究。可以利用半定量或定量以及免疫组化方法,在发情周期和妊娠周期不同阶段,对3种基因型个体的卵巢、子宫内膜以及与生殖器官中的mRNA和蛋白质的表达情况进行分析,从而为进一步分析基因多态性与猪产仔数性状的关系提供更有说服力的依据与参考。

参考文献(References):

- [1] 雷彩霞, 张伟, 王丽. 整合素与子宫内膜容受性关系的研究进展. 中国妇幼保健研究, 2006, 17(1): 54-56. DOI
- [2] Gottschalk KE, Kessler H. Evidence for hetero-association of transmembrane helices of integrins. *FEBS Lett*, 2004, 557(1-3): 253-258. DOI
- [3] Vogel V, Thomas WE, Craig DW, Krammer A, Baneyx G. Structural insights into the mechanical regulation of molecular recognition sites. *Trends Biotechnol*, 2001, 19(10): 416-423. DOI
- [4] Yoshimura Y, Miyakoshi K, Hamatani T, Iwahashi K, Takahashi J, Kobayashi N, Sueoka K, Miyazaki T, Kuji N, Tanaka M. Role of beta1 integrins in human endometrium and decidua during implantation. *Horm Res*, 1998, 50 (Suppl. 2): 46-55. DOI
- [5] Das C, Basak S. Expression and regulation of integrin receptors in human trophoblast cells: role of estradiol and cytokines. *Indian J Exp Biol*, 2003, 41(7): 748-755. DOI
- [6] Soghomonians A, Barakat AI, Thirkill TL, Blankenship TN, Douglas GC. Effect of shear stress on migration and integrin expression in macaque trophoblast cells. *Biochim*

- Biophys Acta*, 2002, 1589(3): 233–246. [DOI](#)
- [7] Yoshimura Y, Shiokawa S, Nagamatsu S, Hanashi H, Sawa H, Koyama N, Katsumata Y, Nakamura Y. Effects of beta-1 integrins in the process of implantation. *Horm Res*, 1995, 44(Suppl. 2): 36–41. [DOI](#)
- [8] 赵春江, 李宁, 邓学梅. 应用创造酶切位点法检测单碱基突变. *遗传*, 2003, 25(3): 327–329. [DOI](#)
- [9] Yang DY, Chen H, Wang XZ, Tian ZH, Tan LG, Zhang ZF, Lei CZ, Zhang ZL, Wang YM. Association of polymorphisms of *leptin* gene with body weight and body sizes indexes in Chinese indigenous cattle. *J Genet Genomics*, 2007, 34(5): 400–405. [DOI](#)
- [10] Rupp R, Hernandez A, Mallard BA. Association of bovine leukocyte antigen (BoLA) DRB3.2 with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins. *J Dairy Sci*, 2007, 90(2): 1029–1038. [DOI](#)
- [11] 王爱国. 现代实用养猪技术 (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2009: 58–62. [DOI](#)
- [12] 任倩. 胚胎附植相关因子在母猪妊娠早期的表达研究 [学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2010. [DOI](#)
- [13] Simmen RCM, Simmen FA, Ko Y, Bazer FW. Differential growth factor content of uterine luminal fluids from large white and prolific Meishan pigs during the estrous cycle and early pregnancy. *J Anim Sci*, 1989, 67(6): 1538–1545. [DOI](#)
- [14] Simón C, Valbuena D, Krüssel J, Bernal A, Murphy CR, Shaw T, Pellicer A, Polan ML. Interleukin-1 receptor antagonist prevents embryonic implantation by a direct effect on the endometrial epithelium. *Fertil Steril*, 1998, 70(5): 896–906. [DOI](#)
- [15] 马喜山, 王爱国, 刘桂芬, 傅金恋. 猪HB-EGF基因多态性与产仔数的关联性分析. *中国农业科学*, 2009, 42(1): 274–282. [DOI](#)
- [16] 张承华, 王爱国, 傅金奎, 马喜山. 猪 *I L-8* 基因多态性与产仔数的关联性分析. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(9): 8–11. [DOI](#)
- [17] 刘伟, 林其德. 子宫内整合素与不孕症. *国外医学: 计划生育分册*, 1999, 18(1): 20–24. [DOI](#)
- [18] 李莹, 朱润庆. 整合素 β_1 和层粘连蛋白在不孕症患者子宫内膜和正常早孕蜕膜组织中表达的研究. *数理医学杂志*, 2007, 20(5): 640–642. [DOI](#)

•封面说明•

2012年第7期《遗传》封面说明

核质运输是细胞核与细胞质之间蛋白质等生物分子进行主动运输的过程。被运输的蛋白等生物分子在其自身携带的定位信号介导下, 如核定位信号或核外运信号, 分别被内运蛋白或外运蛋白识别后转运进入细胞核或运出细胞核。核质运输是真核细胞的重大基本生命活动, 在正常组织发育、病毒感染以及癌症发生等过程中具有重要作用。核质运输小分子抑制剂不仅可以广泛应用并促进相关机制研究, 同时也为相关疾病的药物开发提供有利线索。然而, 目前针对核质运输的商业化小分子仅有 Leptomycin B 一种, 其小分子筛选平台的靶点也过于单一; 因此, 建立一个针对整个核质运输通路的小分子筛选平台, 将有利于筛选与获得多种干扰核质运输的小分子。

将绿色荧光蛋白 GFP 拆分成 N-GFP 和 C-GFP 两段, 分别接上亮氨酸拉链后形成 NZGFP 和 CZGFP; 二者单独表达均无荧光, 共表达后则可以重组成具有荧光的完整 GFP。利用 GFP 片段荧光重组的特性, 构建 NZGFP-NES 和 CZGFP-NLS, 将 NZGFP 和 CZGFP 分别定位在细胞质与细胞核中; 当核质运输通路被干扰, NZGFP 和 CZGFP 定位发生改变并聚集重组为具有荧光的 GFP。该方法为针对整个核质运输通路的高通量小分子筛选提供了一个有效平台。封面图片显示的是 NZGFP-NES 和 CZGFP-NLS 分别在 NES 和 NLS 信号肽的介导下定位在细胞质与细胞核中, 其中 NES-DsRed 作为细胞质参照。详见本期第 927–934 页罗敏, 张全仓, 卢智刚的“针对核质运输的高通量小分子筛选方法”一文。

(罗敏, 张全仓, 卢智刚)