

陈则东,沈晓鹏,穆洪云. 鸡 *IGF2* 基因外显子 1 的多态性及其与生产性能的相关性[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):331-332.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.094

鸡 *IGF2* 基因外显子 1 的多态性 及其与生产性能的相关性

陈则东,沈晓鹏,穆洪云
(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:为研究胰岛素样生长因子 2 基因 (*IGF2*) 多态性及其对鸡生产性能的影响,采用 DNA 测序、PCR-单链构象多态性 (PCR-SSCP) 技术分析基因单核苷酸多态性,并对鸡的生产性能进行相关分析。结果可知:共发现 2 个 SNPs 位点,P1 位点对 4 周龄鸡体质量具有显著影响 ($P < 0.05$)。研究结果初步表明:*IGF2* 基因可能是影响鸡生长繁殖性状的 1 个主效基因或是与其存在紧密遗传连锁的 1 个标记。

关键词:鸡;*IGF2* 基因;外显子 1;遗传多态性;生产性能

中图分类号: S831.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)06-0331-02

IGF2 (insulin-like growth factor2) 基因是最早发现的内源性印迹基因^[1],*IGF2* 为单链多态,分子量 7.5 ku^[2]。研究发现,*IGF2* 是影响动物胚胎生长分化的重要因子,参与多种代谢的调节^[3]。*IGF2* 基因表达具有时间特异性,如小鼠胚胎中 *IGF2* 基因开始为双等位基因表达,但在胚胎形成后期则表现为母源单等位基因表达^[4-5]。本研究以鸡为研究对象,以 *IGF2* 基因为候选基因,采用 PCR-单链构象多态性 (PCR-SSCP) 方法^[6] 检测基因是否存在单核苷酸多态性,探讨不同基因型与鸡生产性能的相关性。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

210 羽母鸡血样采自翔龙企业有限公司,同时记录其生长性状(初始质量、4、8、12、16 周龄体质量)及繁殖性状(开产日龄、开产体质量、开产蛋质量、300 日龄产蛋数);翅静脉采集血样 1.5 mL,肝素钠抗凝,-20℃保存;DNA 提取试剂盒 [Omega Blood DNA Kit(200 次)] 法抽提基因组 DNA。

1.2 引物设计

根据 GenBank 中鸡的 *IGF2* 基因 (GenBank 登录号: NC_006092) 设计 *IGF2* 基因第 1 外显子引物 P1,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。引物的详细信息:F: 5'-TGTGCTGCCAGGCAGATAC-3'; R: 5'-CCCCAAC-CCAGCTCTATCT-3'。

作用[J]. 水资源保护,2008,24(6):64-67.

[7] 王智,张志勇,张君倩,等. 两种水生植物对滇池草海富营养化水体水质的影响[J]. 中国环境科学,2013,33(2):328-335.

[8] 张志勇,刘海琴,严少华,等. 水葫芦去除不同富营养化水体中氮、磷能力的比较[J]. 江苏农业学报,2009,25(5):1039-1046.

[9] Petrucio M M, Kstevf F A. Uptake rates of nitrogen and phosphorus in the water by *Eichhomia crassipes* and *Salvinia auriculata*[J]. Revista Brasileira de Biologia,2000,60(2):229-236.

[10] 朱浩,刘兴国,王健,等. 池塘养殖水体不同水层水质变化研究[J]. 渔业现代化,2012,39(4):12-15.

[11] 李文朝. 富营养水体中常绿水生植被组建及净化效果研究[J]. 中国环境科学,1997,17(1):55-59.

[12] 朱伟,张兰芳,操家顺,等. 水污染对菹草及伊乐藻生长的影响[J]. 水资源保护,2006,22(3):36-39.

[13] 刘从玉,刘平平,刘正文,等. 沉水植物在生态修复和水质改善中的作用[J]. 安徽农业科学,2008,36(7):2908-2910.

[14] 王传海,李宽意,文明章,等. 苦草对水中环境因子影响的日变化特征[J]. 农业环境科学学报,2007,26(2):798-800.

收稿日期:2015-05-19

作者简介:陈则东(1985—),男,江苏宿迁人,硕士,助教,从事实验动物科学与教学研究。E-mail:ml5852953053@163.com。

30% 以下。本试验采用伊乐藻和轮叶黑藻混合搭配栽培模式,利用不同水草之间的特性差异达到优势互补作用,总体效果优于单一水草栽培模式,从而实现饵料、净水、栖息等综合生态环境的优化。混合搭配水草的种类以 2~3 种为宜。

参考文献:

[1] 蒋胡. 河蟹养殖中选用水草有讲究[J]. 渔业致富指南,2003(14):30.

[2] 林连升,岳春梅,缪为民. 轮叶黑藻及其在水产养殖上的利用[J]. 水利渔业,2005,25(5):33-34.

[3] 王彦波,许梓荣,邓岳松. 水产养殖中氨氮和亚硝酸盐氮的危害及治理[J]. 饲料工业,2002,23(12):46-48.

[4] 邹金虎. 从水化学角度看河蟹池中水草的作用[J]. 渔业致富指南,2011(23):47.

[5] Qiu D R, Wu Z B, Liu B Y, et al. The restoration of aquatic macrophytes for improving water quality in a hypertrophic shallow lake in Hubei Province, China[J]. Ecological Eng: neering, 2001, 18(2): 147-156.

[6] 赵联芳,朱伟,莫妙兴. 沉水植物对水体 pH 值的影响及其脱氮

1.3 PCR-SSCP 分析

将 3 μ L PCR 产物加入 7 μ L 变性缓冲液中, 98 $^{\circ}$ C 变性 10 min, 然后迅速冰浴 5 min。将变性好的 PCR 产物点样加入到 10% 聚丙烯酰胺凝胶中, 于 140 V 电泳 12 h。在电泳结束后, 进行银染色并拍照记录结果。

1.4 IGF2 基因统计分析

配合以下模型进行方差分析:

$$y_{ijk} = \mu + G_i + G_j + G_{ij} + e_{ijk}$$

式中: y_{ijk} 为性状测定值; μ 为群体平均值; G_i 、 G_j 为基因型效应; G_{ij} 为位点 i 与位点 j 间的交互效应; e_{ijk} 为第 i 个品种在第 j 个环境、第 k 次重复的试验误差。

2 结果与分析

2.1 PCR-SSCP 结果

P1 引物扩增片段采用 PCR-SSCP 分析。由图 1 可知, P1 扩增片段有 3 种带型, 分别定义为 AA、AB、BB。

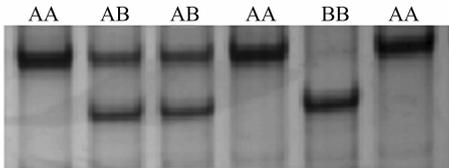


图1 SSCP分析结果(引物P1)

2.2 序列分析结果

测序结果(图2)显示, P1 引物扩增的 *IGF2* 基因外显子 1 检测到 2 个突变位点: 1 个为 C-A 突变, 导致苏氨酸变化为赖氨酸; 另一个为 G-A 突变, 导致丙氨酸变成苏氨酸。

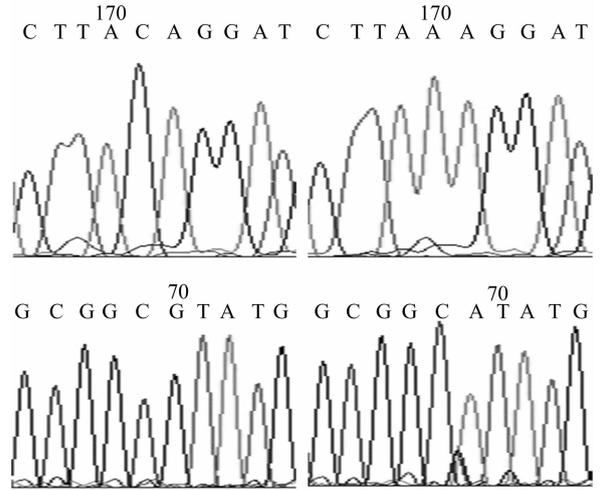


图2 不同基因型测序结果(P1引物)

2.3 IGF2 基因 P1 引物扩增的不同基因型与生产性能的关联分析

由表 1 可知: 在 4 周龄, AA 基因型体质量显著低于 AB 基因型 ($P < 0.05$)。

表 1 不同基因型鸡生长、繁殖性状与蛋壳质量性状的关联分析结果 (P1 引物)

基因型	0 周龄体质量 (g)	4 周龄体质量 (g)	8 周龄体质量 (g)	12 周龄体质量 (g)	16 周龄体质量 (g)	蛋形指数	蛋壳厚度 (μ m)
AA	32.58 \pm 3.39	145.14 \pm 33.83a	398.60 \pm 67.42	718.48 \pm 113.99	983.13 \pm 117.01	1.24 \pm 0.38	0.011 \pm 0.004 4
AB	32.59 \pm 3.24	156.28 \pm 23.46b	404.92 \pm 74.19	732.82 \pm 118.06	1 010.98 \pm 125.06	1.21 \pm 0.41	0.010 \pm 0.003 5
BB	33.00 \pm 2.52	154.50 \pm 19.18ab	428.14 \pm 49.58	732.71 \pm 105.93	1 007.22 \pm 124.40	1.36 \pm 0.06	0.011 \pm 0.000 9
基因型	蛋壳质量 (g)	蛋壳强度 (kg/cm ²)	开产日龄 (d)	300 日龄蛋数 (枚)	300 日龄蛋质量 (g)	66 周龄蛋数 (枚)	
AA	4.12 \pm 0.50	3 717.61 \pm 944.91	131.41 \pm 9.86	110.26 \pm 15.93	49.91 \pm 3.79	191.36 \pm 21.25	
AB	4.05 \pm 0.40	3 731.14 \pm 894.13	130.39 \pm 8.28	111.87 \pm 13.28	49.37 \pm 3.11	195.09 \pm 18.70	
BB	4.17 \pm 0.34	3 979.78 \pm 1 419.44	133.00 \pm 11.58	110.22 \pm 14.41	50.18 \pm 2.94	194.22 \pm 15.18	

注: 同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

SNPs 指基因组中单个核苷酸的变异引起的 DNA 序列多态性, 包括碱基转换 (A 与 G 之间或 T 与 C 之间的替换)、颠换 (嘌呤和嘧啶之间的替换)、单碱基插入或缺失等变化, 而且其中最少的一种等位基因在群体中的频率不低于 1%。研究表明, DNA 序列中单个碱基发生转换、颠换约占 DNA 变异的 90% 以上, 是最常见的一种变异形式^[7]。本试验在鸡的 *IGF2* 基因外显子 1 中检测到 2 个突变位点, 1 个为 C-A 颠换, 导致苏氨酸变化为赖氨酸, 另一个为 G-A 转换, 导致丙氨酸变化为苏氨酸; P1 位点 AA 型个体 4 周龄体质量显著低于 AB 型 ($P < 0.05$), 因此初步认为 AB 与 4 周龄体质量呈正相关。

参考文献:

[1] 杨玉华, 何小兵. 印记基因 *IGF2* 和 *H19* 的研究进展[J]. 医学分

子生物学杂志, 2002, 24(4): 254-256.

- [2] 李 璠. 胰岛素样生长因子 II 与人及实验动物的肝细胞癌[J]. 临床与实验病理学杂志, 1998, 14(5): 86-87.
- [3] O'Dell S D, Day I N M. Molecules in focus insulin-like growth factor II (IGF-II)[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 1998, 30(7): 767-771.
- [4] 李志辉, 王启贵, 赵建国, 等. 类胰岛素生长因子 II (IGF2) 基因多态性与鸡体脂性状的相关研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(4): 600-604.
- [5] 杨风萍, 李其松, 戴国俊, 等. 京海黄鸡 *IGF-II* 基因 SNPs 及其与生产性能关系研究[J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(11): 1470-1475.
- [6] 王利红, 袁旭红, 魏萍萍, 等. 苏姜猪 *Lrh-1* 基因 PCR-SSCP 多态性及其与产仔数的关系[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(5): 21-25.
- [7] 雷秋霞, 周 艳. 浅谈数量遗传学与家禽育种[J]. 家禽科学, 2009(3): 45-47.