

DOI: 10.1360/yc-007-0052

FUT1 基因多态性及其与产仔性状的关联性研究

张引红¹, 周忠孝², 曹果清²

1. 山西医科大学实验动物中心, 太原 030001;
2. 山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801

摘要: 采用 PCR-RFLP 技术 6 个中外品种共 245 头猪的 *FUT1* 基因进行了研究, 结果表明, *Hin* 6 I 位点上, 大白猪、长白猪和杜洛克猪 3 个外来猪种均存在多态, 且以敏感型(GG 型和 AG 型)居多; 山西黑猪、太原花猪和马身猪 3 个本地猪种的所有检测样品都表现为 GG 型。用方差分析方法分析 *FUT1* 基因型、品种和胎次与产仔性状之间的关系, 基因型和品种对猪的总产仔数的影响显著, 胎次对总产仔数影响不显著。而基因型、品种和胎次对产活仔数影响均不显著。

关键词: 猪; *FUT1* 基因; PCR-RFLP; 产仔性状

FUT1 gene polymorphism and its association with litter size in pigs

ZHANG Yin-Hong¹, ZHOU Zhong-Xiao², CAO Guo-Qing²

1. Department of Laboratory Animal Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001 China;
2. College of Animal Science and Technology, Shanxi Agriculture University, Taigu 030801 China

Abstract: The genetic variations of *FUT1* gene at nucleotide position 307 of its open reading frame were investigated by PCR-RFLP in a total of 245 pigs from 3 exotic pig breeds and 3 Chinese native pig breeds. Results showed that the genetic polymorphisms of the *FUT1* locus were only detected in the 3 exotic pig breeds. There were 3 different genotypes and the majority were the susceptible forms including GG and AG. All Chinese native pig breeds only presented the susceptible genotype GG. Univariate analysis of variance components indicated that *FUT1* gene and the type of breeds significantly affected total number born, whereas parities did not. None of these factors significantly affected the number of liveborns.

Keywords: pig; *FUT1* gene; polymorphisms; litter trait

仔猪腹泻和水肿病是一种重要的传染病, 此病从出生到断奶这一阶段的死亡率高达 11.5%~29.5%^[1]。仔猪腹泻和水肿病主要是由肠毒素型大肠杆菌的特定抗原F18 的不同血清型引起的, 其病原学、流行病学、病理学和免疫疫苗等问题已基本弄清^[2]。F18 抗原的致病原因主要是大肠杆菌菌株进入猪肠道后, 依靠其菌毛在肠上皮粘附, 进而定居繁

殖并产生毒素, 引起仔猪发病^[3,4]。

在断奶仔猪及水肿病的抗病育种方面, Vögeli^[5]和 Meijerink^[6]发现 2 α -(1,2) 岩藻糖转移酶基因 (fucosyltransferase gene, *FUT1*) 可作为 F18 介导的粘附呈敏感性或抗性遗传性状的一个候选基因。用 PCR-RFLP 分析法可对猪进行抗病性选择。

杜洛克猪、长白猪和大白猪是我国较早从国外

收稿日期: 2006-04-04; 修回日期: 2006-10-08

基金项目: 山西省科技厅攻关项目(编号: 991016)资助[Supported by Key Project of the Department of Science and Technology of Shanxi Province(No. 991016)]

作者简介: 张引红(1972—), 女, 山西稷山人, 实验师, 硕士, 研究方向: 分子数量遗传学。Tel: 0351-4135919; E-mail: sxndzyh@163.com

通讯作者: 周忠孝(1935—), 男, 山东泰安人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 分子数量遗传学。Tel: 0354-6288585; E-mail: tzgzzx@public.yz.sx.cn

引进培育的优良瘦肉型猪种,常用于商品生产的杂交亲本。山西黑猪和太原花猪是山西本地的培育品种,马身猪是山西省的特有地方品种。为提高猪种质量,使猪种间杂交更科学、更合理,最大限度地降低上述两种疾病的影响,降低或完全剔除 F18 抗原敏感基因,培育抗性猪种品系则势在必行。

本文对猪的抗病基因之一——肠毒素型大肠杆菌 F18 受体基因(enterotoxigenic *Escherichia Coli* F18 receptor, ECF18R)的一个候选基因— α -(1,2)岩藻糖转移酶基因 *FUT1* 在中外 6 个猪种中的基因多态性进行研究,并把其与产仔性状的关联性做以分析。

1 材料和方法

1.1 样本来源

本次实验采用 6 个猪种共 245 个个体作为实验用。分别为:大白猪 62 头、长白猪 50 头、杜洛克猪 27 头、山西黑猪 33 头、太原花猪 35 头、马身猪 38 头。均取耳组织样。

1.2 猪耳组织 DNA 的提取

按常规酚氯仿法提取法进行。

1.3 PCR 扩增

根据 GenBank 公布的 ECF18R 序列,本文所扩增的 *FUT1* 基因片段为 421 bp。所用的引物参照 Vögeli 等^[5]的设计,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,引物的序列如下:

正向引物: 5'-CTTCAGCCAGGGCTCCTTTAAG-3'; 反向引物: 5'-CTTCCTGAACGTCTATCAAGACC-3'。

PCR 扩增反应体系为 25 μ L, 其中含有 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, MgCl₂ (25 mmol/L) 2.0 μ L, dNTP (2 mmol/L) 2.0 μ L, 引物(100 μ mol/L) 0.8 μ L, *Taq* 酶(5 U/ μ L) 0.2 μ L, DNA 模板 2.0 μ L(约 50 ng), ddH₂O 15.5 μ L。

反应条件: 样品经 94 变性 3 min 后,按照下列程序进行扩增; 94 变性 1 min, 60 复性 1 min, 72 延伸 1 min, 36 个循环后, 72 延伸 10 min, 4 保温。

1.4 限制性内切酶酶切

反应体系总体积为 11 μ L, 其中 10 \times buffer 0.1 μ L, *Hin*6 内切酶 0.4 μ L(4 U), PCR 产物 10 μ L,

ddH₂O 0.5 μ L。37 反应过夜。用 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物。

1.5 统计分析

繁殖性状包括总产仔数、活产仔数等性状。用 SPSS 统计软件包,进行单因素方差分析。所用模型为 $y_{ij} = \mu + x_j + e_{ij}$, 其中 y_{ij} 为性状表型值, μ 为平均值, x_j 为固定效应包括品种效应、胎次效应和基因型效应, e_{ij} 为残差效应。

2 结果

2.1 PCR-RFLP 酶切结果

根据 GenBank 公布的 ECF18R 序列,本实验所扩增的 *FUT1* 基因片段为 421 bp, 通常有 2 个 *Hin* 6 酶切位点, 产生 241 bp、93 bp 和 87 bp 这 3 个片段, 其中第 307 位碱基处系多态性酶切位点, 当此酶切位点因变异(由 G 突变成 A)而消失时, 241 bp 和 87 bp 的片段合并产生 328 bp 片段。而第 857 碱基处的酶切位点无多态性, 即是 *Hin* 6 的固定酶切位点。A 等位基因为 328 bp 和 93 bp 两条带, G 等位基因为 241 bp、93 bp 和 87 bp 3 条带, 所以 AA 基因型为 328 bp 和 93 bp 两条带, AG 基因型为 328 bp、241 bp、93 bp 和 87 bp 4 条带, GG 基因型为 241 bp、93 bp 和 87 bp 3 条带。由于 93 bp 和 87 bp 两条带分子量相差较小, 所以在琼脂糖凝胶上不能区分这两条带, 实际看到 AA 和 GG 纯合子均为两条带, AG 杂合子为 3 条带, 但 3 种基因型可明显区分(图 1)。本实验选用 *Hin* 6 限制性内切酶对扩增的 PCR 产物进行消化反应后, 检测酶切产物的多态性。结果发现在 3 个外来猪种中, 该基因存在多态性, 且 3 种基因型均存在。而 3 个本地猪种均呈现一致的单态, 即只有 GG 型。酶切图谱见图 1。

2.2 *FUT1* 基因座位的基因型频率和基因频率

各猪种 *FUT1* 基因的 PCR-RFLP 基因型分布和基因频率的统计分析结果见表 1。

结果表明, 3 个本地猪种 106 个样品所扩增的 *FUT1* 基因片段均存在 2 个 *Hin* 6 酶切位点, 只发现 G 等位基因, 说明 3 个本地猪种该基因第 307 位碱基处不存在 G A 的突变, 而 3 个外来猪种均存在 A 和 G 等位基因, 即存在多态性, 只是基因频率分布不同。由表 1 可以看出, G 等位基因在这 3 个

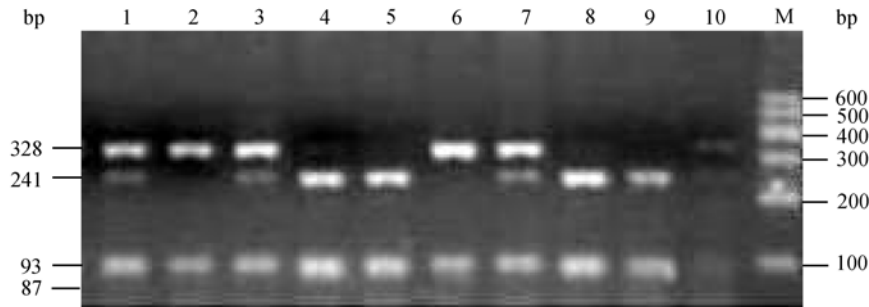


图 1 *FUT1* 基因 PCR-RFLP 酶切图谱

M: 100 bp 标准分子量; 泳道 2、6: AA; 泳道 1、3、7、10: AG; 泳道 4、5、8、9: GG。

Fig. 1 The genotyping results of *FUT1* gene in pigs

M: 100 bp DNA ladder markers; 2,6: AA; 1,3,7,10: AG; 4,5,8,9: GG.

表 1 6 个中外猪种 *FUT1* 基因的基因型和基因频率分布

Table 1 Genotype distribution and allele frequencies of *FUT1* gene in six pig breeds

品 种 Breed	样本数 Sample size	基因型频率 Genotype frequency			基因频率 Allele frequency	
		AA	AG	GG	A	G
杜洛克猪 Duroc	27	3(0.11)	9(0.33)	15(0.56)	0.28	0.72
长白猪 Landrace	50	2(0.04)	19(0.38)	29(0.58)	0.23	0.77
大白猪 Large white	62	7(0.11)	15(0.24)	40(0.65)	0.23	0.77
太原花猪 Taiyuanhua	35	0(0.00)	0(0.00)	35(1.00)	0(0.00)	1.00
山西黑猪 Shanxihei	33	0(0.00)	0(0.00)	33(1.00)	0(0.00)	1.00
马身猪 Mashen	38	0(0.00)	0(0.00)	38(1.00)	0(0.00)	1.00

外来猪群中频率较高, 为优势基因。基因型分布趋势为 $GG > AG > AA$ 。

2.3 *FUT1* 基因对猪产仔数的影响

由于 3 个本地猪种的 *FUT1* 基因呈单态分布, 故不对其做基因型与产仔性状的关联性分析。对 3 个

外来猪种的产仔记录进行整理, 剔除超出平均值 $\pm 2SD$ 范围之外的数据, 将其总产仔数和活产仔数分别进行统计分析。用 SPSS 中的 GLM 做方差分析。

结果显示, 基因型和品种对猪的总产仔数的影响显著, 胎次对总产仔数影响不显著。而基因型、品种和胎次对产活仔数影响均不显著。

表 2 以品种、基因型和胎次为固定效应对总产仔数的统计分析

Table 2 Effect of the type of breeds, genotypes and parities on the total number born

变异来源 Source of variation	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值	显著性 Sig
品种 Breed	53.247	2	26.623	4.674	0.010
基因型 Genotype	34.768	2	17.384	3.052	0.049
胎次 Parity	35.017	3	11.672	2.049	0.108
误差 Error	1361.296	252	5.696		

表 3 以品种、基因型和胎次为固定效应对产活仔数的统计分析

Table 3 Effect of type of breeds, genotypes and parities on the liveborn litter size

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值	显著性 Sig
品种 Breed	27.285	2	13.642	1.973	0.141
基因型 Genotype	41.162	2	20.581	2.976	0.053
胎次 Parity	50.148	3	16.716	2.417	0.067
误差 Error	1652.781	239	6.915		

3 讨论

本研究对猪种的检测可清楚地分为AA、AG和GG 3种基因型。基因型分布趋势为AA<AG<GG。A、G等位基因频率分布差异较大,其中A基因频率平均为0.25,G基因频率平均为0.75,G为优势基因。山西黑猪、太原花猪和马身猪猪3个地方猪种*FUT1*基因的PCR-RFLP检测结果全为GG纯合子型,G等位基因的频率为1,缺乏等位基因A,在该位点上表现为极强的一致性,说明3个地方猪种在该位点上不存在变异,反应出目前这3个中国地方猪种在遗传品质上的纯质性和保守性。而3个外来猪种在该位点上均表现为多态,存在遗传变异,且3个外来猪种均含有相当高的G等位基因频率,平均为0.60,AA抗性型个体占少数,平均为0.09,表明猪群中G A的突变频率并不高,突变型个体(AA型)只是少数,这与外来品种猪大多数个体易患泻痢的现状是相符的。同时也表明*ECF18*抗性基因有可能起源于西方猪种。一般而言,在中国的养猪生产实践中,中国地方猪种的仔猪抗水肿与腹泻病能力普遍强于外来猪种,那么地方猪种应该含有较高的A基因频率,或者只含有AA型。而本研究结果与之相矛盾,主要原因可能为:(1)外来猪种与地方猪种的遗传背景存在较大的差异,这一客观原因降低了两者的可比性;(2)设计引物的局限性。根据*ECF18R*基因序列的报道,该基因1501 bp^[4],而这对引物所扩增的产物只是整个序列的一部分,该引物根据外来品种设计,可能只适用于外来品种;(3)本实验样本含量不够大,引起抽样误差,未能检测到其他基因型;(4)*ECF18R*可能并不是水肿病与仔猪腹泻症的重要病原体的基因;(5)本地猪种有其他导致遗传抗性的突变或其他抗性基因。因此,本实验的研究结果为进一步探讨*FUT1*的功能提供了有利的参考。同时提示有必要对中国地方猪种所具备的上述遗传抗性做更深入的

研究,寻找、定位其相应的QTL和抗性基因。所以*FUT1*基因对各种生产性能的影响还有待进一步研究。本研究中有关外来品种*FUT1*基因频率分布与Vögeli等^[3]的研究报道基本趋势一致,但我们检测的3个外来猪种的A等位基因频率中,长白、杜洛克猪的高(分别为0.23和0.07、0.28和0.09)。比周仲儿等^[7]检测的杭州大观山种猪场的长白猪的高(0.23和0.12),与施启顺等^[8]的相比,本实验中杜洛克猪A等位基因频率较低(分别为0.28和0.35)、长白猪的较高(0.23和0.15)。与晏学明等^[9]相比杜洛克猪、长白猪A等位基因频率较高(分别为0.28和0.15,0.23和0.07)。这种差异可能是实验猪群之间的遗传差异,品种引入时间、培育程度及样本含量大小不同等原因所致。而大白猪的检测结果与施启顺等的完全一致(0.23和0.23),与晏学明等的基本一致(0.23和0.22)。这可能是由于本研究中大白猪样本数较大有一定程度的代表性。

采集样本虽然有的来自不同猪场,但由于不是完全交叉,所以所建模型不考虑场际效应。

根据统计结果可得出:*FUT1*基因的多态性对猪的总产仔数影响显著,对猪的活产仔数的影响不显著。从不同基因型猪产仔数的多重比较分析看,AA与GG产仔数差异显著,AA与AG、AG与GG产仔数差异不显著。3种基因型猪产仔数均值多少依次为AA>AG>GG,这可能是由于(1)系统环境效应被归结到基因型效应中;环境因素(如猪场所在地区的气候和海拔高度、繁殖季节、饲养管理(如母猪妊娠后期管理不善或营养不足等,都可以引起胎儿死亡)和疾病传染(如病理性的繁殖障碍)等因素对猪的繁殖形状的是不容忽视的,因此尽量保证环境效应较低的情况下,加大样本数,能更好的反映*FUT1*基因、品种和胎次对总产仔数和活产仔数影响的大小;(2)该基因与某一影响繁殖性状的基因连锁;(3)样本

数较少, 结果可能纯属偶然; (4)数据来源的可靠性, 如数据记录的完整性, 记录依据的差异等。因此对本研究结果有待进一步证实。

在猪的繁殖和生长性状方面, 一些已知生理功能的基因已被克隆并在不同的群体中得到了较为深入的研究, 这样的候选基因将用来评估它们对这些性状的遗传贡献量。生理遗传学和统计遗传学的发展与融合, 将有助于对遗传效应和环境效应的深入剖析, 更确切的了解基因的功能与作用, 丰富和发展标记辅助选择。

参考文献(References):

- [1] National Swine Survey. Morbidity/mortality and health management of swine in the United States: *USDA-APHIS-VS*, 1992.
- [2] Wray C, Moris JA. Aspects of colibacillosis in farm animals. *J Hyg Camb*, 1985, 95: 577—593.
- [3] Bertin AM, Ducher-Suchaux MF. Relationship between virulence and adherence of various enterotoxigenic *Escherichia coli*: strains to isolated intestinal epithelial cells from Chinese Meishan and European large white pigs. *Am J Vet Res*, 1991, 52: 45—49.
- [4] Nagy B, Fekete PZ. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animal. *VET Res*, 1999, 30: 259—284.
- [5] Vögeli P, Meijerink E, Fries R. A molecular test for the detection of *E.coli* F18 receptors: a breakthrough in the struggle against edema disease and postweaning diarrhea in swine. *Scheiz Arch Tierheikd*, 1997, 139: 479—484.
- [6] Meijerink E, Fries R, Vögeli P, Masabanda J, Wigger G, Stricker C, Neuenschwander S, Bertschinger HU, Stranzinger G. Two (1, 2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and *Escherichia coli* F18 receptor (*ECF18R*) loci. *Mamm Genome*, 1997, 8: 736—741. [DOI](#)
- [7] ZHOU Zhong-Er, LIU Yue-Huan. Report for genotype of *E. Coli* F18 receptor gene in different pig breeds. *Bulletin of Animal Biotechnology*, 2000, 7: 107—109.
周仲儿, 刘月环. 猪大肠杆菌 F18 受体基因型测定初报. *动物生物技术公报*, 2000, 7: 107—109.
- [8] SHI Qi-Shun, HUANG Sheng-Heng, LIU Xiao-chun, HE Chang-Qing, JIANG Juan. Polymorphism of *E. Coli* F18 Receptor gene in different pig breeds. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(3): 221—224.
施启顺, 黄生强, 柳小春, 贺长青, 蒋隽. 不同猪种 *E.coli* F18 受体基因的多态性. *遗传学报*, 2003, 30(3): 221—224.
- [9] YAN Xue-Ming, REN Jun, GUO Yuan-Mei, DING Neng-Shui, CHEN Ke-Fei, GAO Jun, AI Hua-Shui, CHEN Cong-Ying, MA Jun-Wu, HUANG Lu-Sheng. Research on the genetic variation of α -1-fucosyltransferase (*FUT 1*) gene in 26 pig breeds. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30: 830—834.
晏学明, 任军, 郭源梅, 丁能水, 陈克飞, 高军, 艾华水, 陈从英, 麻骏武, 黄路生. 猪 α -(1,2)岩藻糖转移酶基因 (*FUT 1*) 在 26 个中外猪种中的遗传变异研究. *遗传学报*, 2003, 30: 830—834.