

猪显性白毛调控基因(*KIT*)的研究

邓素华, 黄路生, 任 军, 陈克飞, 丁能水

(江西农业大学 江西省动物生物技术重点开放实验室, 南昌 330045)

摘 要:猪的白毛色性状由显性基因 *KIT* 决定。本文从 *KIT* 基因的定位、突变分析、分子基础和作用机制等方面综述了对该基因的研究现状, 叙述了 *KIT* 基因的研究意义。

关键词:猪; 毛色; *KIT* 基因

中图分类号: S828.038

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)06-0434-03

Existing Situation of *KIT* Gene Controlling Dominant White Coat Color in Pigs

DENG Su-hua, HUANG Lu-sheng, REN Jun, CHEN Ke-fei, DING Neng-shui

(The Provincial Key Laboratory for Animal Biotechnology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: The dominant coat color in pigs is controlled by *KIT* gene. The current status of *KIT* gene is expressed in location, mutation, molecular basis and mechanism. Significance of *KIT* gene is also discussed in this paper.

Key words: pig; coat color; *KIT* gene

猪的显性白毛色遗传研究早在本世纪初已有报道。1906年, Spillman建立了显性白毛色的杂交检测家系: 泰姆华斯 × 约克夏^[1], 在此基础上, Wright(1918)认为猪的白毛色由两个显性基因控制^[2]。在显性白色座位 *I* 上, 提出过多种等位基因。Hetzer于1945年证实: 显性白色仅由颜色抑制基因 *I* 控制, 同时提出了控制灰色沙毛(黑、白混杂毛色)的 *I'* 等位基因^[3-5]。污白毛的曼格利察猪的毛色表型控制基因 *I''* 由 Berge于1961年提出^[6]。二十多年后, 随着生命科学与生物技术的蓬勃发展, 毛色研究一改过去由表型判断基因型的方法, 直接从分子水平上提出了控制毛色的 *I* 位点的三个等位基因: *I*、*I'*、*i*, 其中 *I* 调控显性白毛色, *I'* 控制斑块表型, *i* 允许色素正常沉着。并证明 *KIT* 基因(编码肥大/干细胞生长因子受体)等同于 *I* 基因, 调控猪的显性白毛色; 分析了 *I* 位点的突变, 建立起 PCR-RFLP 检测程序, 为这一性状的标记辅助选择(marker-assisted selection, MAS)提供了条件, 有利于缩短新品种培育过程中对毛色的选择进程, 从而节省了大量的人力、财力, 加速了毛色性状的选择进程, 加快了育种进展。

1 *KIT* 基因的作用机理

猪的显性白毛色类似于小鼠的显性白点(*W*)突变、人的

花斑性状(PBT), 由 *KIT* 位点调控^[7-9]。与人、猪不同的是, 小鼠的 *W* 位点除了影响着色外, 也对造血细胞和生殖细胞产生多效性影响^[10]。*KIT* 原癌基因编码能够表达黑色素细胞前体物的“肥大/干细胞生长因子受体(mast/stem cell growth factor receptor, *c-kit*)”, 该受体属酪氨酸激酶受体(RTKs)家族。肥大/干细胞生长因子受体的配体为“青灰细胞生长因子(steel cell growth factor, SCF)”。黑色素细胞前体物为神经嵴衍生物之一, 它的正常迁移与存活依赖于 *KIT* 的表达及其配体的可利用程度, 即特定神经嵴细胞亚群的迁移依赖于酪氨酸激酶受体的差异表达(differential expression)及其配体的活性。不同的受体影响相异的神经嵴细胞亚群的表达。肥大/干细胞生长因子的配体 SCF 由上皮生皮节临时产生, 先于黑色素细胞前体在生皮节与上表皮间的通道间扩散。黑色素细胞前体物如能在生皮节与上表皮间的通道正常迁移, 将产生黑色素细胞。SCF 存在分泌型和膜结合型两种形式, 前者决定黑色素细胞前体的迁移, 后者决定黑色素细胞前体的存活。当 SCF 缺乏时, 黑色素细胞前体物便不能迁移; 当两种形式的 SCF 存在时, 可引导黑色素细胞前体物的迁移, 确保前体物的存活。反之, *c-kit* 的异位表达或 SCF 转换产物(如小鼠中的青灰等位基因)将扰乱 SCF 在通道中的扩散, 黑色素细胞的迁

收稿日期: 1999-09-20; 修改日期: 1999-12-08

基金项目: 本研究受江西省跨世纪学术和技术带头人培养计划及国家自然科学基金项目(39860063)资助

作者简介: 邓素华(1974-), 女, 江西省南昌市人, 硕士研究生, 专业: 动物遗传育种, E-mail: dengsh@fm365.com; Tel: 0791-3818116。

移模式随之改变,后来的成活也受到影响^[11]。此模式为禽类和哺乳动物提供了黑色素细胞前体物的迁移机制。

猪的毛色表型与黑色素的形成与否有关。被覆有色毛的野生型猪,毛根和毛囊中可见成熟黑色素细胞,黑色素细胞中充满黑色素颗粒。而被覆白色毛的猪,毛囊中没有黑色素细胞,并且毛囊细胞较有色猪的小,其 *KIT* 基因发生变异,扰乱了 SCF 在生皮节与上表皮通道间的扩散,黑色素细胞不能存活。导致毛根中缺乏黑色素细胞及其前体物,呈现白毛色。

2 猪 *KIT* 基因的定位与突变分析

小鼠中已证明显性白点(*W*)位点编码肥大/干细胞生长因子受体,块状(*Ph*)位点编码血小板源生长因子受体 α (*PDGFRA*),这两个位点和白尾(*Rw*)位点紧密连锁在 5 号染色体上。1992 年, Maria Johansson 等人建立了野生猪与大白猪的杂交家系,用以分析猪的显性白 *I* 基因分离。通过比较图谱发现紧密连锁的 *ALB* 基因、*PDGFRA* 基因、*I* 基因位于猪的 8 号染色体上,与人的 4 号染色体、鼠的 5 号染色体、马的连锁群 II 呈现同源性。并检测了这三个位点的 lod 值,但没有测出它们在染色体上的排列顺序^[12,13]。随后的研究表明,猪的 8 号染色体与人的 4 号染色体具有保守的共线性,但其基因顺序发生了重排。纤维素荧光原位杂交(fibre-FISH)技术已将 *KIT* 基因和紧密连锁的 *PDGFRA* 基因定位于猪 8 号染色体短臂 1.2 区(8p12)。将另一紧密连锁的 *ALB* 基因定位于 8 号染色体的长臂 1.2 区(8q12) 据着丝点 0.5cM 处,并已阐明此着丝点区段重组率很低^[14]。

Moller M. J. 等人根据人和鼠的 *KIT* 保守外显子序列,设计了 7 对引物,扩增野公猪与大白母猪杂交家系个体该基因 180~2700bp 处的外显子片段,发现四对引物存在特异扩增片段。在 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶中,对 PCR 产物进行了单链构象多态(SSCP)分析。分析发现,片段 1 电泳时出现四条带,而片段 2 电泳时出现了包括这四条带在内的 8 条带。并测定野公猪为纯合子 1/1,大白母猪中 6 头为 2/2 纯合子,2 头为 1/2 杂合子。随后的克隆和序列分析揭示表型为显性白及斑点的猪含有片段 1 和 2,有色毛表型对应片段 1,片段 2 为片段 1 的全长拷贝。并且发现显性白表型的片段 2 拷贝,内含子 18 处与片段 1 相比缺失 4 个碱基,而对应于斑点表型的片段 2 在该处不存在缺失。定量 Southern blot 杂交及定量 PCR 分析进一步证实了白色及花斑表型中 *KIT* 拷贝的存在^[14]。

Marklund S. 等人对汉普夏(*i/i*)和白猪(*I/I*) 大白与长白的杂交后代杂交家系个体 *KIT* 基因的 2892bp 的编码序列进行了克隆和 RT-PCR 产物分析,新发现白猪 mRNA 的 *KIT* 基因的一个拷贝中缺少外显子 17。这促使学者们对该基因 DNA 外显子 17 及其侧翼序列进行序列分析,并阐明该突变源于内含子 17 第一个核苷酸处的碱基替换,此替换产生了 Nla III 酶的识别位点,可用于 PCR-RFLP 分析,检测不同毛

色猪种间该位点的多态^[15]。

3 猪 *KIT* 基因功能的分子基础

KIT 基因与 *I* 基因等位。猪的 *KIT* 基因由 21 个外显子组成,整个编码序列长 2919bp。已对编码序列中 2892bp 的片段进行了克隆和 RT-PCR 产物测序。该位点上存在三个等位基因 *I*, *I'*, *i*。它们的显性等级为 $I > I' > i$ 。等位基因 *I* 对应于完全显性白毛色,分子结构上除带有正常 *KIT* 基因(称为 *KIT1*)外,还携带含有两种突变的全长拷贝(*KIT2*),突变之一发生在内含子 18 上,缺失四个碱基,导致 *KIT* 基因表达失调,称为调节突变(regulatory mutation)。另一突变发生在内含子 17 的第一个核苷酸位置上,导致 G→A 的剪接突变(splice mutation),剪接时忽略外显子 17,致使酪氨酸激酶活性受损,称为结构突变(structure mutation)。mRNA 前体的剪接位点由三因素决定:内含子的 5'和 3'剪接位点及分支点(位于 3'剪接位点上游 20 和 50 个核苷酸之间)的序列^[16]。等位基因 *I* 内含子 17 处的突变发生在 5'剪接位点上,打乱了高度保守的 GT 对,破坏了 mRNA 前体剪接位点的决定因素,最终使 mRNA 前体在剪接过程中忽略外显子 17(123bp, 41 个密码子),产生符合读框的突变(in-frame mutation),缺失 41 个氨基酸。*I'* 等位基因表现为白色或有色毛的斑块或斑点性状,斑块及斑点分界处明显,无缓冲区带。分子结构上既有正常 *KIT* 基因,还带有一个完全一样的 *KIT* 基因全长拷贝,该拷贝增加了 *KIT* 基因的表达量,从而影响肥大干细胞生长因子之配体的可利用性,扰乱黑色素细胞前体物的迁移与存活,产生斑块或斑点表型。*i* 等位基因仅携带正常 *KIT* 基因,黑色素细胞前体物能正常迁移与存活,表现出正常毛色。

KIT1 与 *KIT2* 序列的高度同源性(99.8%~100%)表明:紧密相连的串联基因簇与非等价基因转换(gene conversion)进化的一致性。将来的研究很有可能会进一步揭示出 *KIT* 基因遗传的趋异性^[14,15]。

4 *KIT* 基因的研究在动物生产中的意义

小鼠中 *KIT* 基因的变异不仅导致毛色的失调,而且当 *KIT* 突变纯合时,往往对小鼠产生致死或半致死作用。另外对小鼠的造血细胞、原生殖细胞、小肠间质细胞也产生多效影响,听力同样受到影响。而猪中显性白等位基因在纯合条件下,完全能存活且能育。但 Marklund 等人的研究表明,在 *I/I* 纯合的猪中白细胞的数量普遍减少。因此白毛色猪中 *KIT* 基因的变异是否会产生温和的多效性影响很值得进一步研究。因为很大比例的培育品种或商品猪将携带此基因,既使是温和的多效性影响,它对养猪生产的作用也是巨大的。这一研究意义重大,不容忽视。

KIT1 与 *KIT2* 序列的高度同源性(99.8%~100%)说明,白毛色选择发生并不早,很可能是在家养猪出现以后。野生猪中没有完全显性白毛色(目前已知),这也说明:自然条件对白毛色的选择很不利。人们对显性白性状的喜好,有可能

是由于同其紧密连锁的基因对人类有益的原因,但具体的连锁基因检测,目前还未见报道。

白毛色猪的优点表现在:吸收阳光中紫外线的能力强,抗佝偻病能力高;发病易从皮肤变化看出;乳腺无色素,胴体美观,国际市场上受欢迎^[17]。国外屠宰场偏爱白毛色的猪,有色猪的宰杀费更高^[18]。

猪毛色是品种的重要标志,在进行杂交育种或利用杂种优势时,如能弄清各种毛色的遗传规律,将有利于获得所需要的毛色类型。

5 结束语

小鼠的显性白点表型位点位于 5 号染色体上 *W* 位点,由 *c-kit* 原癌基因突变所致。以额发及腹底部黑色素沉着为特征的人类花斑表型与 4 号染色体上 *c-kit* 原癌基因的突变有关。小鼠和人中 *KIT* 基因与猪 *KIT* 基因的对比分析,将有力地促进猪中 *KIT* 基因的研究。随着进一步研究的深入,猪 *KIT* 基因变异是否产生温和多效性影响及与该基因紧密连锁基因的分析等问题将会逐步明了。猪的毛色表型由多基因、多位点控制。相对于控制毛色的其它基因,白毛色基因有显性上位作用。结合毛色位点的主效基因 *MC1R* (黑素皮质激素受体 1 基因) 及白环带基因的共同分析,将会使毛色的选择方法越来越清晰地展现在人们面前。

参考文献:

- [1] Spillman W J. Inheritance of Coat Colour in Swine[J]. Science, 1906, 24: 441 ~ 443.
- [2] Wright S. Colour Inheritance in Mammals VIII Swine[J]. Journal of Heredity, 1918, 9: 33 ~ 38.
- [3] Hetzer H O. Inheritance of Coat Color in Swine. II. Results of Landrace by Poland China Crosses [J]. Journal of Heredity, 1945, 36: 187 ~ 192.
- [4] Hetzer H O. Inheritance of Coat Color in Swine. III. Results of Landrace by Berkshire Crosses [J]. Journal of Heredity, 1945, 36: 255 ~ 256.
- [5] Hetzer H O. Inheritance of Coat Color in Swine. IV. Analysis of Hybrids of Landrace and Large Black[J]. Journal of Heredity, 1945, 36: 309 ~ 312.
- [6] Berge S. Heredity of Color in Pigs (in Norwegian)[J]. Tidsskrift. Norske Landbruk, 1961, 68: 159 ~ 188.
- [7] Edwin N Geissler, et al. The Dominant-White Spotting (*W*) Locus of the Mouse Encodes the *c-kit* Proto-Oncogene[J]. Cell, 1998, 55: 185 ~ 192.
- [8] Lutz B Giebel, et al. Mutation of the *KIT* (mast/stem cell growth factor receptor) Protooncogene in Human Piebaldism[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1991, 88: 8696 ~ 8699.
- [9] Roger A. Fleischman et al. Deletion of the *c-kit* Protooncogene in the human developmental defect piebald trait[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 10885 ~ 10889.
- [10] Ian J. Jackson. Mouse Coat Colour Mutations: A Molecular Genetic Resource Which Spans The Centuries[J]. BioEssays, 1991, 13:

439 ~ 446.

- [11] Bernhard Wehrle-Haller, et al. Receptor Tyrosine Kinase-dependent Neural Crest Migration in Response to Differentially Localized Growth Factors[J]. BioEssays, 1997, 19(4): 337 ~ 345.
- [12] Regina Duttlinger, et al. The *Wsh* and *Ph* Mutations Affect the *c-kit* Expression Profile: *c-kit* Misexpression in Embryogenesis Impairs Melanogenesis in *Wsh* and *Ph* Mutant Mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 3754 ~ 3758.
- [13] Maria Johansson, et al. The Gene for Dominant White Color in the Pig Is Closely Linked to *ALB* and *PDGFRA* on Chromosome 8[J]. Genomics, 1992, 14: 965 ~ 969.
- [14] M. Johansson Moller, et al. Pigs with the Dominant White Coat Color Phenotype Carry A Duplication of the *KIT* Gene Encoding the Mast/ Stem Cell Growth Factor Receptor[J]. Mammalian Genome, 1996, 7: 822 ~ 830.
- [15] Stefan Marklund, et al. Molecular Basis for the Dominant White Phenotype in the Domestic Pig[J]. Genome Research, 1998, 8: 826 ~ 833.
- [16] 阎隆飞, 张玉麟. 分子生物学[M]. 中国农业大学出版社, 1997
- [17] 张永泰. 高效养猪大全[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [18] Rothchild M F. Proc 6th WCGALP, 1998, 26: 403 ~ 409.

《遗传》杂志网址开通

[http:// www.ycjournal.com](http://www.ycjournal.com)

《遗传》杂志(刊号: ISSN 0253-9772, CN11-1913/R)为中国科学院主管、中国科学院遗传研究所和中国遗传学会主办的科技期刊(双月刊), 全国自然科学核心期刊。主要报道人类与医学遗传、动植物遗传与育种及分子与微生物遗传等领域的最新成果与进展。主要栏目有: 研究报告、技术与方法、争鸣与讨论、遗传学教学、综述与专论、重点实验室介绍、品种介绍、成果交流、会议信息、图书信息等。读者对象为基础医学、生物制药、农林牧渔、细胞学、生物化学、生物技术等专业的科研、教学、开发、管理人员, 大专院校生物系师生与中学生物教师等。欢迎供稿, 欢迎订阅, 欢迎刊登广告。广告价黑白版每面 1000 元, 彩版每面 2000 元。

《遗传》为大 16 开本, 80 页, 每期定价 10.00 元, 全年 60.00 元。国内外公开发行, 国内邮发代号: 2-810, 国外发行代号: BM62。个人直接向编辑部自费订阅 7 折优惠, 汇款 120 元可订 3 年杂志。

《遗传》编辑部地址 北京市安定门外大屯路 917 大楼;
邮编: 100101; 联系人 李绍武; 电话/传真 010-64889348;
手机: (0)13601221912; <http://www.ycjournal.com>。