

猪的雌雄连锁图谱的比较研究

郭晓令^{1,2}, 徐宁迎¹, LOOFT Christian², REINSCH Norbert², KALM Ernst²

(1. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310029; 2. 德国基尔大学畜牧兽医研究所, 基尔 24098)

摘要:用统计的方法,对以一个商品猪群为参考家系,采用 163 个微卫星标记和 3 个 I-型分子标记 *RYR1*、*PRK-AG3*、*PIT1* 构建的猪常染色体雌、雄连锁图谱的长度进行了比较。结果表明,常染色体的雌性连锁图谱的总长度为 2625.9 cm,雄性连锁图谱的总长度为 2259.7 cm,二者比率为 1.16:1;除了 1 号和 14 号染色体以外,其余染色体的雌性连锁图谱的长度均比雄性连锁图谱长。1、3、5、6、7、8、10、11、12、13、14、16、17、18 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异极显著 ($P < 0.01$);9 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异为显著 ($P < 0.05$);2、4、12、15 号染色体的雌雄图谱的长度差异不显著。

关键词:猪;微卫星;雌性连锁图谱;雄性连锁图谱

中图分类号:Q963

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2004)05-0644-03

Comparison between the Female- and Male-linkage Maps in Pigs

GUO Xiao-Ling^{1,2}, XU Ning-Ying¹, LOOFT Christian², REINSCH Norbert², KALM Ernst²

(1. College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. Institute of Animal Breeding and Husbandry, Christian-Albrechts-University 24098 Kiel, Germany)

Abstract: The difference between the length of female- and male-linkage map, which was created with a reference pedigree based on a commercial porcine population and using 163 microsatellite markers as well as 3 type-I markers (*RYR1*, *PRKAG3*, *PIT1*), was statistic analyzed. The results showed that the total length of female linkage map of autosomes is 2625.9 cm and the total length of the male linkage map is 2259.7 cm; the ratio between the total length of the female- and male-linkage maps is 1.16:1; except for the chromosomes 1 and 14, the female linkage maps of the other chromosomes are longer than the male linkage maps. The difference between the length of female-and male-linkage maps of chromosomes 1,3,5,6,7,8,10,11,12,13,14,16,17 and 18 is very significant ($P < 0.01$) and the difference of chromosome 9 is significant ($P < 0.05$); but there is no significance on chromosomes 2,4,12 and 15.

Key words: pig; microsatellite; female linkage map; male linkage map

连锁图谱 (linkage map) 的构建是基因组扫描 (genome scanning) 的前提,而基因组扫描是进行家畜经济性状基因位点定位的有效手段之一^[1]。随着分子生物技术的发展,新型的分子标记不断地发现,特别是大量微卫星 DNA 标记的发现,已经能够建立起有效的连锁图谱,为进行数量性状的基因位点定位提供扎实的基础^[2~5]。遗传图谱 (genetic map) 是

通过遗传重组所得到的基因线性排列图,若以遗传、重组值作为基因间的距离,则可获得连锁图谱。连锁图谱根据所用的动物的性别不同可以分为 3 类,即雌性连锁图谱 (female linkage map)、雄性连锁图谱 (male linkage map) 以及性平均连锁图谱 (sex averaged map)。根据所采用的家系的类型的不同,应用不同性别连锁图谱进行基因组扫描。一

收稿日期:2004-03-31;修回日期:2004-05-12

基金项目:德国 H. WILHELM SCHAUMANN 基金会资助 [Supported by the H. WILHELM SCHAUMANN Foundation of Germany]

作者简介:郭晓令 (1968—),男,山东莱州人,博士学位,专业:动物遗传。Tel: 0571-86971109, E-mail: xguo@email.com

通讯作者:KALM Ernst, E-mail: ekalm@tierzucht.uni-kiel.de

些研究表明,雌雄连锁图谱的长度存在着较大的差异^[6,7]。本文利用商品猪群建立的参考系,采用 163 个微卫星标记和 3 个 I-型分子标记(*RYR1*、*PRK-AG3*、*PIT1* 基因),应用 CRIMAP 软件分别构建了常染色体雌性连锁图谱、雄性连锁图谱以及性平均连锁图谱,利用统计的方法对雌雄连锁图谱的长度进行比较。

1 材料和方法

1.1 参考家系的建立

商品猪群的饲养管理在德国基尔大学的畜牧兽医所的实验场进行。由 19 头杂种公猪(皮特兰 × (皮特兰 × 汉普夏)和 52 头杂种母猪(Leicoma × (大约克 × 长白)杂交产生 332 头后代。

1.2 分子标记的分型

用 EDTA 抗凝管在猪前腔静脉采血 9 mL, -23 °C 保存。全血 DNA 的提取采用 Puregene DNA Isolation Kit (Blood Kit) 试剂盒(Firma Gentra Systems, Inc.)。样本 DNA 浓度用 Tris-HCl 缓冲液(pH = 8.5)调整到 40 ng/μL, -20 °C 保存。在进行 PCR 反应前,进一步稀释为 10 ng/μL,每个 PCR 管分样 5 μL (约 50 ng DNA)。然后 50 °C 烘箱烘干,室温保存。微卫星标记引物由美国猪基因组项目协调人 M. F. Rothschild 教授赠送。根据 USDA 猪染色体连锁图谱,参考微卫星标记的位置,等位基因数,分型的难易,荧光标记的颜色及其进行多重 PCR 的可能性选择 163 微卫星 DNA 标记。微卫星 DNA 片段用 PCR 仪(Thermocycler GeneAmp PCR System 9600, Perkin Elmer Cetus)利用多重 PCR 的方法进行扩增。多重 PCR 扩增产物的分离在 ABI 377 测序仪上进行。电泳参数为电压 3000 V, 电流 60 mA, 凝胶的温度控制为 51 °C, 激光强度为 40 mW。用 Genescan 3.0 和 Genotyper 2.0 软件进行基因型检测。用 PCR-RFLP 的方法对 *RYR1*、*PIT1*、*PRKAG3* 基因进行基因型测定^[8,9]。分型数据经检验后输入数据库 ADRDB^[10]。

1.3 连锁图谱的构建

用 CRIMAP 软件(version 2.4)^[11]进行雌性连锁图谱、性平均连锁图谱和雄性连锁图谱的构建。

1.4 统计分析

以染色体的标记区间(marker interval)的性平

均图谱长度为期望值,以标记区间数为自由度进行

$$\chi^2 \text{ 检验: } \chi^2 = \sum \frac{(Q_i - E_i)^2}{E_i}$$

2 结果与讨论

应用 CRIMAP 作图软件构建的猪常染色体雌性、雄性以及性平均连锁图谱结果列于表 1。从表中可知,性平均连锁图谱的总长度为 2368.70 cm; 常染色体的雌性连锁图谱的总长度为 2625.9 cm, 雄性连锁图谱的总长度为 2259.7 cm, 二者的比率为 1.16 : 1。除了 1 号和 14 号染色体以外,其余染色体的雌性连锁图谱的均比雄性性连锁图谱长。以性平均图谱长度为期望值,标记区间数为自由度的雌雄连锁图谱长度差异的 χ^2 检验表明:1、3、5、6、7、8、10、11、12、13、14、16、17、18 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异极显著($P < 0.01$); 9 号染色体为显著($P < 0.05$); 2、4、12、15 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异不显著; 常染色体的雌雄连锁图谱的总长度的差异为极显著($P < 0.01$) (表 1)。Marklund 等(1996)的雌雄连锁图谱长度差异的 χ^2 检验结果为:1、3、4、5、7、9、10、12 号染色体雌雄连锁图谱的长度差异极显著($P < 0.001$), 6、8、15 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异显著性水平为 $P < 0.01$, 16 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异显著性水平为 $P < 0.05$; 2、11、13、18 号染色体的雌雄连锁图谱的长度差异无显著性^[7]。虽然本研究的结果与 Marklund 等(1996)不完全一致^[7], 但可以看出,一些常染色体的雌雄连锁图谱的长度存在显著性差异。

本研究的结果为常染色体的雌雄连锁图谱的总长度的比率为 1.16 : 1。只有 1 号和 14 号染色体的雄性连锁图谱比雌性连锁图谱长,但这个结果分别与相对应的 Beeckman(2000)、Nezer 等(2002)以及 Dragos-Wendrich(2001)的结果一致^[12~14]。造成连锁图谱的偏离主要有两个原因,其一为:染色体的不同区段交换频率有很大区别;例如,近端粒区和远端粒区有较高的重组率。其二为:雌性与雄性之间染色体的交换频率在同一位点存在差异。另外,同一染色单体发生多起交换现象可导致连锁图谱距离减少的假象^[15]。

表 1 猪的连锁图谱的统计分析

Table 1 Summary statistics of the pig linkage map

染色体 Chromo- some	座位数 No. of loci	图谱长度 Map length(Kosambi cm)			性别差异 Sex difference χ^2 df
		平均 Average	雌性 Female	雄性 Male	
1	12	143.00	126.30	158.00	34.4 ₁₀ *
2	14	155.90	159.30	157.20	13.4 ₈ ^{NS}
3	9	135.30	148.10	129.60	30.6 ₇ *
4	10	186.00	198.60	180.90	12.7 ₈ ^{NS}
5	9	126.90	147.10	110.40	30.1 ₇ *
6	12	238.70	265.30	246.90	71.0 ₁₀ *
7	6	122.30	133.00	112.70	71.2 ₄ *
8	12	129.50	136.30	131.50	3.7 ₁₀ ^{NS}
9	10	137.30	174.40	131.30	16.7 ₈ *
10	9	118.70	131.30	114.60	74.8 ₇ *
11	6	85.20	89.30	83.00	26.9 ₄ *
12	8	97.60	137.60	73.00	21.8 ₆ *
13	13	195.10	197.90	193.10	59.5 ₁₁ *
14	6	146.60	138.40	156.80	14.0 ₄ *
15	8	110.50	130.10	99.20	8.7 ₆ ^{NS}
16	8	90.10	117.00	68.80	28.4 ₆ *
17	8	76.50	108.80	51.40	26.9 ₆ *
18	6	73.50	87.10	61.30	22.8 ₄ *
总计 Total	166	2368.70	2625.90	2259.70	567.6 ₁₄₇ *

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; NS = 差异不显著, not significant.

参考文献(References):

- [1] Andersson L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews. Genetics*, 2001, 2(2): 130~138.
- [2] GUO Xiao-Ling, Looft Christian, Reinsch Norbert, Kalm Ernst. A porcine linkage map of microsatellite markers using a commercial population as a reference. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(7): 653~656.
郭晓令, Looft Christian, Reinsch Norbert, Kalm Ernst. 用商品群作为参考系构建猪的微卫星连锁图谱. *遗传学报*, 2003, 30(7): 653~656.
- [3] SU Yu-Hong, XIONG Yuan-Zhu, ZHANG Qin, XIA Xuan-Yan, JIANG Si-Wen, DENG Chang-Yan, ZHENG Rong, LEI Ming-Gang, YANG Ze-Ming. Construction of linkage map of chromosomes 1 and 3 in large white \times meishan reference family. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(1): 16~20.
苏玉虹, 熊远著, 张勤, 夏宣炎, 蒋思文, 邓昌彦, 郑嵘, 雷明刚, 杨泽明. 猪 1、3 号染色体微卫星位点多态性及遗传连锁图谱的构建. *遗传学报*, 2002, 29(1): 16~20.
- [4] QU Yan-Chun, DENG Chang-Yan, XIONG Yuan-Zhu, SU Yu-Hong, ZHENG Rong, LIU Gui-Lan. The microsatellite polymorphism research on porcine chromosome 1 and the construction of its genetic map. *Hereditas (Beijing)*, 2002, 24(5): 539~542.
屈彦纯, 邓昌彦, 熊远著, 苏玉虹, 郑嵘, 刘桂兰. 猪 1 号染色体微卫星多态性研究及遗传连锁图谱的构建. *遗传*, 2002, 24

(5): 539~542.

- [5] QU Yan-Chun, DENG Chang-Yan, XIONG Yuan-Zhu, ZHENG Rong, YU Li, SU Yu-Hong, LIU Gui-Lan. The construction of the genetic map and QTL locating analysis on chromosome 2 in swine. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(11): 972~976.
屈彦纯, 邓昌彦, 熊远著, 郑嵘, 余雳, 苏玉虹, 刘桂兰. 猪 2 号染色体遗传连锁图谱的构建与 QTL 定位分析. *遗传学报*, 2002, 29(11): 972~976.
- [6] Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, Millasseau P, Marc S, Hazan J, Seboun E, Lathrop M, Gyapay G, Morissette J, Weissenbach J. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature*, 1996, 380(6570): 152~154.
- [7] Marklund L, Johansson Moller M, Hoyheim B, Davies W, Fredholm M, Juneja RK, Mariani P, Coppieters W, Ellegren H, Andersson L. A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig-Large White intercross. *Animal Genetics*, 1996, 27(4): 255~269.
- [8] Fabuel Peñalver, E. Kartierung von QTL in einer Fünfrassenkreuzung beim Schwein. Schriftenreihe des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Heft 115, 1999. 德国基尔大学畜牧兽医所博士论文系列(第 115 册), 1997.
- [9] Guo X. Kartierung von Genorten mit einem Einfluss auf Schlachtkörperwert-, Fleischbeschaffenheits- und Exterieurmerkmale beim schwein. Schriftenreihe des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Heft 136, 2002. 德国基尔大学畜牧兽医所博士论文系列(第 136 册), 1997.
- [10] Reinsch N. A multiple species, multiple project database for genotypes of codominant loci. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 1999, 116: 425~435.
- [11] Green P, Falls K, Crooks S. Documentation for CRI-MAP (Version 2.4). Washington University School of Medicine, 1990, St. Louis, USA.
- [12] Beeckmann P. Kartierung von Geneffekten auf quantitative Merkmale beim Schwein (*Sus scrofa* L.) mit Hilfe von Markerloci - Chromosomen 1, 3 und 8 - . Shaker Verlag, Aachen, Dissertation, Universität Hohenheim, 2000.
- [13] Nezer C, Moreau L, Wagenaar D, Georges M. Results of a whole genome scan targeting QTL for growth and carcass traits in a Piétrain \times Large White intercross. *Genetics Selection Evolution*, 2002, 34(3): 371~387.
- [14] Dragos-Wendrich, M. Kartierung von Markerloci und QTL für die Chromosomen 10, 11, 14 und 18 beim Schwein. Shaker Verlag, Aachen, Dissertation, Universität Hohenheim, 2001.
- [15] YANG Jin-Shui. Genomics. Beijing: High Education Press, 2002, 37~52.
杨金水. 基因组学. 北京: 高等教育出版社, 2002, 37~52.