

鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因的 SNP 搜寻及其遗传多样性分析

刘三凤, 任 军, 郭源梅, 杨 艳, 张志燕, 黄路生*

(江西农业大学动物生物技术国家重点实验室培育基地, 南昌 330045)

摘 要: 硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (Stearoyl-CoA desaturase, *SCD*) 和 *Sirt1* 基因是位于鸡 6 号染色体的两个与脂肪代谢相关的功能基因。本研究以泰和丝毛乌骨鸡、杏花鸡、隐性白洛克鸡为研究材料, 利用 DNA 池比较测序技术对鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因的整体编码区进行 SNPs 搜寻, 共检测出鸡 *SCD* 基因 SNPs 13 个, 其中 5 个编码区 SNPs (cSNPs), 2 个为错义突变, 10 个为新发现的 SNPs; 检测出鸡 *Sirt1* 基因 SNPs 35 个, 其中 10 个 cSNPs, 2 个为错义突变, 18 个为新发现的 SNPs, 另外有 3 处插入/缺失多态。对 *SCD* c. 492G>A 和 *Sirt1* c. 1753G>A 位点在隐性白洛克鸡、杏花鸡、泰和丝毛乌骨鸡、白耳黄鸡、康乐鸡、南城黑鸡等 271 个个体中进行了 PCR-SSCP 检测, 发现它们具有丰富的多态性, 为这个染色体区域进一步的关联性分析提供了新的标记。

关键词: 鸡; *SCD*; *Sirt1*; SNP; 遗传多样性

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)03-0278-08

Identification of Single Nucleotide Polymorphisms of *SCD* and *Sirt1* and Evaluation of Their Genetic Diversities in Chickens

LIU San-feng, REN Jun, GUO Yuan-mei, YANG Yan, ZHANG Zhi-yan, HUANG Lu-sheng*

(Candidate of National Key Laboratory for Animal Biotechnology,

Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Stearoyl-CoA desaturase (*SCD*) and Sirtuin 1 (*Sirt1*) on the chicken chromosome 6 are two functional genes that are associated with fat deposition. In this study, single nucleotide polymorphisms (SNPs) were screened by comparative sequence analysis using DNA pool of three divergent chicken breeds including Taihe Silk, White Recessive Rock and Xinghua. A total of 13 SNPs were identified in the *SCD* gene, of which 5 SNPs were in the coding region (2 missense mutations) and 10 SNPs were novel SNPs. And 35 SNPs were identified in the *Sirt1* gene including 10 SNPs in the coding region (2 missense mutations), 3 InDels and 18 novel SNPs. The *SCD* c. 492 G>A and the *Sirt1* c. 1753 G>A polymorphism were genotyped in six chicken breeds (White Recessive Rock, Xinghua, Taihe Silk, Baier Huang, Kangle, Nancheng Black) using single stranded-conformation polymorphism (SSCP) assay. The results showed that the genetic polymorphisms were abundant, providing new markers for further association analysis in this genomic region.

Key words: chicken; *SCD*; *Sirt1*; SNP; genetic diversity

硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (Stearoyl-CoA desaturase, *SCD*) 是合成单不饱和脂肪酸的限速酶, 催

化饱和脂肪酸的脂酰辅酶 A 脱氢, 其首选底物是软脂酰和硬脂酰辅酶 A, 分别在 C⁹-C¹⁰ 脱氢转化生成

收稿日期: 2007-02-06

基金项目: 国家自然科学基金 (30425045; 30400312) 资助

作者简介: 刘三凤 (1967-), 女, 江西寻乌人, 博士, 副教授, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: liusanfeng@hotmail.com

* 通讯作者: 黄路生, 博士, 教授, 主要从事分子遗传学和动物育种研究, Tel: 0791-3805967, E-mail: Lushenghuang@hotmail.com

棕榈油酸(Palmitoleate)($\Delta^9 16:1$)与油酸(Oleate)($\Delta^9 18:1$),这两者是合成膜磷脂、胆固醇酯和三酰甘油的底物^[1]。由于饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的比例可影响膜磷脂的组成,因此,*SCD* 基因具有广泛的生理作用。多个物种的 *SCD* 基因相继被分离,包括人^[2]、小鼠^[3-4]、大鼠^[5]、绵羊^[6]、山羊^[7-8]、猪^[9-10]和鸡^[11]等。鸡 *SCD* 基因 cDNA 长 1 418 bp, 包含 1 074 bp 的开放阅读框,编码 357 个氨基酸,有 6 个外显子和 5 个内含子,位于鸡 6 号染色体 18573466-18589084 区域(cDNA NM_204890)^[12]。

在酵母、线虫和果蝇中,沉默信息调节蛋白 2 (*Sir2*) 具有依赖于 NAD^+ 的组蛋白去乙酰化酶活性,参与交配型基因的沉默、端粒区和 rDNA 沉默、rDNA 重组的抑制以及 DNA 损伤的修复等^[13]。哺乳动物的 *Sirtuin* 基因家族在进化上与 *Sir2* 基因高度同源,共有 7 个家族成员 (*Sirt1-Sirt7*),其中 *Sirt1* 基因功能的研究较多。人 *Sirt1* 基因可将 p53^[14]、NF- κ B^[15]、FOXO1 等去乙酰化^[16],还可以通过与核内受体辅阻抑物 1 和 2(Nuclear receptor Co-repressor 1 and 2, NcoR1 and NcoR2) 相互作用,抑制过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR- γ)的作用,使得在热量摄入减少的情况下,促进白色脂肪组织中的脂肪动员^[17]。鸡 *Sirt1* 基因 cDNA 长 2 271 bp,包含 2 271 bp 的开放阅读框,编码 756 个氨基酸,有 9 个外显子和 8 个内含子,位于鸡 6 号染色体 7709371-7730940 区域(cDNA NM_001004767)^[12]。

Zhou 等^[18]和 Lsgarrigue 等^[19]的研究结果表明 6 号染色体存在影响腹脂重等脂肪沉积性状的 QTL。鉴于 *SCD* 和 *Sirt1* 基因均与脂肪代谢密切相关,且它们均处在 6 号染色体上,本研究旨在搜寻 *SCD* 和 *Sirt1* 基因编码区 SNPs,分析这些多态位点在不同鸡种的遗传变异,为下一步进行这些位点的基因型和单倍型与脂肪沉积的关联性分析研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物

1 个外来鸡种(隐性白洛克鸡 42 羽)、5 个中国地方鸡种(江西泰和丝毛乌骨鸡 36 羽、江西康乐鸡 76 羽、江西南城黑鸡 42 羽、江西白耳黄鸡 32 羽和广东杏花鸡 43 羽)共计 271 个样本。江西地方鸡种均来自原种鸡场,隐性白洛克鸡、杏花鸡血由华南农

业大学张细权教授馈赠。采用随机采样法,翅静脉采血,全血裂解带回,-20℃冷冻保存。采用常规的酚/氯仿抽提方法提取基因组 DNA,然后稀释为终浓度 50 ng/ μ L。将同一品种两个个体的 DNA 等量混合,构建了 1 个泰和乌骨鸡、3 个杏花鸡、4 个隐性白鸡共 8 个 DNA 池,用于 SNPs 的搜寻。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 SNPs 搜寻所用引物是根据 <http://www.genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>^[12]网站上公布的鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因序列设计的,*SCD* 基因为 cDNA NM_204890 和 chr6:18573466-18589084, *Sirt1* 基因为 cDNA NM_001004767 和 chr6:7709371-7730940,在各外显子两侧的 DNA 序列,采用 Oligo 软件设计。各对引物序列和扩增片段大小如表 1 所示。

SCD 基因第 4 外显子 c.492G>A 位点和 *Sirt1* 基因第 8 外显子 c.1753G>A 位点进行遗传多样性分析所用引物是根据突变位点的侧翼序列设计而成,引物名称和序列分别为 SCDF40:5'GTT TCT GCT CAT CTT GCC TTG C 3', SCDR40:5'GAA GCC CCG CAT AGC ATT GTG 3' 和 *Sirt1*F85:5'TAC TTC GGT GGT GCC CTC AG 3', *Sirt1*R85:5'GGA TGC CTG TGT GTC TTG AAG C 3'。

1.2.2 PCR 扩增及 SNP 搜寻 SNP 搜寻的 PCR 反应体系为 25 μ L,其中 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, MgCl₂ 1~2.5 mmol/L(见表 1),dNTPs 0.2 mmol/L,引物各 0.12 μ mol/L, *Taq* 酶 1 U,模板 DNA 25 ng。循环参数:95℃ 3 min;94℃ 30 s, 58~64℃(见表 1) 30 s, 72℃ 40 s, 35 个循环;72℃ 7 min。PCR 产物经胶回收纯化后寄北京华大中生科技发展有限公司测序,将测序结果用 DNASTar 的 SeqMan 和 clustalx 软件比对进行 SNPs 的搜寻。

1.2.3 多态位点检测 两个多态位点扩增的 PCR 反应体系为 20 μ L: 10 \times PCR buffer 2.0 μ L, MgCl₂ 1.6 mmol/L, dNTPs 0.075 mmol/L, 引物各 0.15 μ mol/L, *Taq* 酶 0.75 U, 模板 DNA 25 ng, ddH₂O 14.55 μ L。循环参数为:95℃ 3 min; 94℃ 15 s, 64.8℃ 15 s, 72℃ 18 s, 41 个循环;72℃ 5 min。因 *SCD* c.492G>A 位点和 *Sirt1* c.1753G>A 位点均未改变酶切位点,故采用单链构象多态(Single-Strand Conformation Polymorphism, SS-CP)判定这两个位点的基因型。取 2.1 μ L PCR 产

物,加入 7 μL 的上样缓冲液(含 98% 去离子甲酰胺、2% 甘油、pH 8.0, 10 mmol/L 的 EDTA、溴酚蓝和二甲苯青少许),混匀离心,98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,然后迅速插入冰中 5 min,使之保持变性状态,然后上样于 12% 聚丙烯酰胺凝胶(Acr : Bis = 29 : 1)中,4 $^{\circ}\text{C}$ 电泳过夜。电泳结束后,将凝胶置于 70% 乙醇中固定 15~20 min,去离子水漂洗 3 次后用硝酸银溶液染色 30~40 min,再漂洗 3 次后加入显色液(200 mL 蒸馏水中加入 1% 柠檬酸钠 1 mL 和甲醛溶液 100 μL)显色,直至出现清晰条带。清洗后拍照,用保鲜膜封好。

1.2.4 统计分析 基因杂合度(Heterozygosity) H

$$= 1 - \sum (P_i)^2,$$

多态信息含量(Polymorphism information content) $PIC = 1 - \sum (P_i)^2 - 2P_{12}P_{22}$

式中 P_i ($i=1,2$) 为各等位基因的基因频率。

采用 SigmaStat 软件进行各鸡种基因型分布的独立性卡方检验,即对不同鸡种基因型频率分布进行两两比较,分析各鸡种之间基因型频率显著性差异。采用 SNPAnalyzer 软件在 <http://snp.istech.info/snp/SNPAnalyzer.html> 网站上进行各品种的基因型频率分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律的检验。

表 1 引物序列和扩增产物
Table 1 Primers and amplified products

引物 Primers	引物序列(5'-3') Primer sequences (5'-3')	外显子 Exons	产物大小(外显子大小)/bp Amplified size (Exon size)	Mg ²⁺ / (mmol/L)	Tm/ $^{\circ}\text{C}$
SirtF2	GCA ATG GAT TAC AAC TTT AGG	2	283(118)	1.0	58
SirtR2	CAA GGA AGA ATT AAG CAA GTG				
SirtF3	CTC TGA CTT TTC CAA CAA TCC	3	637(242)	1.5	62
SirtR3	GTC ATT TCC AGT TTA AGC TCC				
SirtF4	TTG TGT TTC TGT GCT GTC TCC	4	683(153)	2.0	64
SirtR4	TCC TTT GAA TCA GAG AGC CAC				
SirtF5	ATG CAA AGG GGA TGA TTA CAG	5	477(148)	2.5	62
SirtR5	TTC TCA GCC TCT TTC TCT ATG				
SirtF6	TGT ACT GTT TTT CGT TAG CAC C	6	302(80)	2.0	62
SirtR6	GCT TTT TCA ATC ATG TGC CTT C				
SirtF7	GTG CAG GCT AGA GTA AGA AAT G	7	451(187)	2.5	62
SirtR7	GCG TAG AAA AAG CAC TCA GAA C				
SirtF8	GTA AAA CCA AAA TGC CTG TCT TC	8	891(561)	2.0	64
SirtR8	TAA CCT AAA CCT CCC CTG TCT C				
SirtF9	TCT AGT TGC CCC TGT TTG AG	9	524(320)	2.5	62
SirtR9	ATC CTT ATG GTT TCC TTG CTC				
SCDF1	CTC CCC AGC CGC ACA ACT C	1	399 (27+86)	1.0	62
SCDR1	CCT CGC CAA ACC CTC TCC G				
SCDF2	CGC AGC CCA TCA CTA CAT TCC	2	596 (277)	2.0	64
SCDR2	AGT CCC TGT CAA ATC CTT CTC C				
SCDF3	GCC TTT CTG TTG CTT TGT CTG	3	293 (131)	2.0	64
SCDR3	TCT TGT GCC CTG TAT CTG AAA C				
SCDF4	GGC AAT CCC AGG AAA AGT AAG	4	922 (206)	2.0	62
SCDR4	CAT AGT CCA CCA AAG GCT CC				
SCDF5	CTG CTT GAT TTT CCC TGT ATG	5	501 (233)	2.5	60
SCDR5	TGC CCT TAT GTA CTC ACT GAC				
SCDF6	GAA ACT GGG CTG AGA GAA GAG	6	649 (200)	2.5	60
SCDR6	GGA GGC AGG GAT GAA GTA AAG				

2 结果

2.1 鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因 SNPs 的搜寻、鉴别结果

用构建好的 8 个 DNA 池做模板,分别用 14 对引物进行 PCR 扩增,将 PCR 产物经胶回收纯化后寄北京华大中生科技发展有限公司测序,测序结果

用 DNASTar 的 SeqMan 和 clustalx 软件比对进行 SNPs 的搜寻。

结果共检测到鸡 *SCD* 基因 SNPs 13 个(5 个 cSNPs,2 个错义突变),其中 10 个为新发现的 SNPs。在这些新发现的 SNPs 中,4 个为 cSNPs,2 个为错义突变(表 2)。

表 2 鸡 *SCD* 基因 SNPs 的搜寻结果

Table 2 Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in chicken *SCD* gene

顺序 Order	碱基突变 Mutation	位置 Location	6 号染色体内位置 Position in the chromosome 6	编码区位置/bp Code position	氨基酸改变 Change of amino acid
1	G→C*	内含子 1	18588865		
2	G→T*	内含子 1	18588808		
3	G→A*	内含子 1	18588789		
4	A→G*	外显子 2	18585357	132	无
5	C→T*	外显子 2	18585261	228	无
6	T→C	内含子 2	18585175		
7	C→A*	外显子 3	18579177	355	精氨酸/丝氨酸
8	T→A*	外显子 3	18579143	389	亮氨酸/谷氨酰胺
9	C→A*	内含子 3	18579064		
10	G→A	外显子 4	18576182	492	无
11	G→A	内含子 5	18575026		
12	C→T*	内含子 5	18573966		
13	C→G*	内含子 5	18573939		

* 新发现的 SNP,下同 * Novel SNPs. The same as below

本研究还鉴别到 35 个鸡 *Sirt1* 基因的 SNPs 和 3 处缺失/插入多态,其中 18 个 SNPs 和 2 处缺失/插入多态为新发现的。在新发现的 SNPs 中,4 个是 cSNPs,1 个为错义突变(表 3)。其中 1 个 SNP (*Sirt1* g. 7719689A > C) 和 1 个 2 碱基缺失 (g. 7724104-7724108) 是进行测序比对的序列相同,但与网上公布序列不同,也为新发现的多态位点。

2.2 SSCP 结果

2.2.1 *SCD* c. 492G>A 位点 SSCP 检测结果 用 SCDF40/SCDR40 引物对进行 *SCD* c. 492G>A 位点的扩增,扩增产物片段大小为 114 bp,采用 SSCP 判型,如图 1。

根据以上方法对 6 个鸡种的 250 个个体进行基因型判定,各品种的基因型和等位基因频率见表 4。

由表 4 可以看出,这次检测的 6 个鸡品种中,唯一的外来快大型肉鸡品种—隐性白洛克鸡在 *SCD* c. 492G>A 位点的 AA 基因型和 A 等位基因的频率最高,康乐鸡、南城黑鸡的 AA 基因型和 A 等位

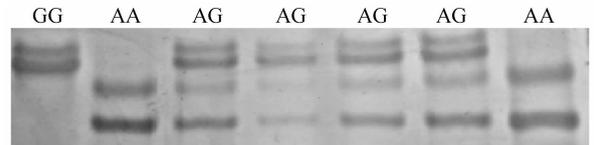


图 1 鸡 *SCD* c. 492G>A 位点的 PCR-SSCP 结果
Fig. 1 SSCP patterns at the chicken *SCD* c. 492G>A site

基因的频率均较低。基因型频率独立性卡方检验结果显示,隐性白洛克鸡与杏花鸡、康乐鸡、南城黑鸡基因型频率分布差异极显著,而与泰和丝毛乌骨鸡和白耳黄鸡差异不显著;杏花鸡与隐性白洛克鸡、南城黑鸡差异极显著,与泰和丝毛乌骨鸡、白耳黄鸡没有显著差异;泰和丝毛乌骨鸡和白耳黄鸡均与康乐鸡、南城黑鸡的差异极显著,与隐性白洛克鸡和杏花鸡差异不显著,它们之间的差异亦不显著;康乐鸡与隐性白洛克鸡、泰和丝毛乌骨鸡、白耳黄鸡、南城黑鸡差异极显著,与杏花鸡差异不显著;南城黑鸡在

表 3 鸡 *Sirt1* 基因 SNPs 的搜寻结果
Table 3 Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in chicken *Sirt1* gene

顺序 Order	碱基突变 Mutation	位置 Location	6 号染色体位置 Position in the chromosome 6	编码区位置/bp Code position	氨基酸改变 Change of amino acid
1	A→G*	内含子 1	7727932		
2	A→G*	外显子 2	7727905	487	异亮氨酸/缬氨酸
3	G→C	内含子 2	7727770		
4	G→A	内含子 2	7724189		
5	G→T*	内含子 2	7724162		
6	G→C	内含子 2	7724131		
7	C→T	内含子 2	7724128		
8	C→T	内含子 2	7724129		
9	T→C*	内含子 2	7724126		
10	G→T	内含子 2	7724120		
11	A→G*	内含子 2	7724115		
12	CC 缺失	内含子 2	7724112-7724113		
13	T→A*	内含子 2	7724109		
14	T→A*	内含子 2	7724110		
15	TCTGT 缺失*	内含子 2	7724104-7724108		
16	C→T	内含子 2	7724091		
17	C→T	内含子 2	7724085		
18	G→A*	外显子 3	7724058	600	无
19	G→T	外显子 3	7724019	639	无
20	T→C	外显子 3	7723908	750	无
21	T→C	外显子 3	7723839	819	无
22	A→G*	内含子 3	7723808		
23	C→T*	内含子 3	7723797		
24	A→G*	内含子 3	7723748		
25	G→T*	内含子 3	7723698		
26	T→C*	内含子 3	7722693		
27	T→C	外显子 4	7722594	864	无
28	A→C	外显子 4	7722401	957	无
29	C→T	内含子 4	7722428		
30	G→A	内含子 4	7722249		
31	A→C* [△]	内含子 4	7719689		
32	T→C*	外显子 5	7719647	984	无
33	TT 缺失* [△]	内含子 5	7719468-7719467		
34	A→G	内含子 5	7717260		
35	G→T*	内含子 7	7712672		
36	G→A	外显子 8	7711186	1 753	甘氨酸/精氨酸
37	C→T*	外显子 8	7711034	1 905	无
38	C→T*	内含子 8	7710976		

[△]为测序结果相同,但与网上公布序列不同 [△] Nucleotide(s) are different from those in the database

表 4 *SCD* c. 492G>A 位点在 6 个鸡种中的基因型频率及基因频率Table 4 Genotype and allele frequencies at the chicken *SCD* c. 492G>A site in 6 chicken breeds

品种 Breeds	样本数 No.	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency		杂合度 Heter- ozygosity	多态信 息含量 PIC	HWE <i>P</i> 值 <i>P</i> -value	独立性 卡方检验 Chi-square
		AA	AG	GG	A	G				
		隐性白洛克鸡 White Recessive Rock	37	0.432	0.432	0.135				
杏花鸡 Xinghua	37	0.162	0.432	0.405	0.378	0.622	0.470	0.359	0.620	BF
泰和丝毛乌骨鸡 Taihe Silk	35	0.257	0.543	0.200	0.529	0.471	0.498	0.374	0.594	AB
白耳黄鸡 Baier Huang	26	0.346	0.462	0.192	0.577	0.423	0.488	0.369	0.779	AB
康乐鸡 Kangle	76	0.053	0.474	0.474	0.290	0.710	0.412	0.327	0.178	CF
南城黑鸡 Nancheng Black	39	0.026	0.128	0.846	0.090	0.910	0.091	0.078	0.171	D

HWE *P* 值. 哈代-温伯格平衡定律检验的 *P* 值; 独立性卡方检验结果: 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)

HWE is Hardy-Weinberg Equilibrium Test; Chi-square: Different capital letters represent for significant difference ($P < 0.01$)

该位点的基因型频率表现得最为不同, 与其它 5 个品种的差异均极显著。各品种的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律 ($P > 0.05$)。

隐性白洛克鸡、杏花鸡、泰和丝毛乌骨鸡、白耳黄鸡、康乐鸡的多态信息含量和杂合度非常接近, 南城黑鸡的多态信息含量和杂合度都较低。

2.2.2 *Sirt1* c. 1753G>A 位点 SSCP 检测结果
用 SirtF85/SirtR85 引物对进行 *Sirt1* c. 1753G>A 位点的 PCR 扩增, 扩增产物的片段大小为 115 bp, 采用 SSCP 判型如图 2。

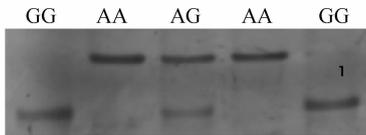


图 2 鸡 *Sirt1* c. 1753G>A 位点的 PCR-SSCP 结果
Fig. 2 SSCP patterns at the chicken *Sirt1* c. 1753G>A site

根据以上方法对 6 个鸡种的 260 个个体进行基因型判定, 各品种的基因型和等位基因频率见表 5。

由表 5 可以看出, 所检测的 6 个鸡种中, *Sirt1* c. 1753G>A 位点的 GG 基因型频率明显高于 AA 基因型。除泰和丝毛乌骨鸡 AA 基因型频率为 0.194 外, 其余均低于 0.05, 有 2 个品种为 0。独立

性卡方检验结果显示, 泰和丝毛乌骨鸡的各基因型频率与白耳黄鸡、康乐鸡、南城黑鸡差异极显著, 与隐性白鸡、杏花鸡差异显著; 白耳黄鸡与康乐鸡、南城黑鸡差异显著, 其余各品种间差异不显著。除白耳黄鸡 ($P < 0.01$), 其余各品种的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律 ($P > 0.05$)。

泰和丝毛乌骨鸡的多态信息含量和杂合度最高, 杏花鸡次之, 白耳黄鸡的多态信息含量和杂合度最低。

3 讨论

3.1 鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因的 SNPs 分析

本研究共搜寻到鸡 *SCD* 基因 SNPs 13 个, 其中 cSNPs 5 个, 2 个为错义突变; 鸡 *Sirt1* 基因 SNPs 35 个, 其中 cSNPs 10 个, 2 个为错义突变, 同时还有 3 处缺失/插入多态。*SCD* 基因 13 个 SNPs 有 7 个为转换, 6 个为颠换; *Sirt1* 基因 35 个 SNPs 有 24 个为转换, 11 个为颠换。

在 ensembl 网站上查寻到 *SCD* 基因的 3 个 SNPs (其中 1 个 cSNP) 和 *Sirt1* 基因的 17 个 SNPs (6 个为 cSNPs) 与本研究搜寻到的 SNP 位点相同。可见本研究搜寻到的 *SCD* 基因 13 个 SNPs 有 10 个为新发现的 SNPs, 在这些新发现的 SNPs 中, 4

表 5 6 个鸡种在 *Sirt1*c. 1753G>A 位点的基因型频率及等位基因频率Table 5 Genotype and allele frequencies at the chicken *Sirt1* c. 1753G>A site in 6 chicken breeds

品种 Breeds	样本数 No.	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency		杂合度 Heterozygosity	多态信息含量 PIC	HWE P 值 P-value	独立性卡方检验 Chi-square
		AA	AG	GG	A	G				
		隐性白洛克鸡 White Recessive Rock	42	0.048	0.151	0.762				
杏花鸡 Xinghua	43	0.047	0.279	0.674	0.186	0.814	0.303	0.280	0.603	ab
泰和丝毛乌骨鸡 Taihe Silk	36	0.194	0.361	0.444	0.375	0.625	0.469	0.359	0.160	c
白耳黄鸡 Baier Huang	32	0.031	0.063	0.906	0.063	0.937	0.118	0.111	0	a
康乐鸡 Kangle	65	0	0.308	0.692	0.154	0.846	0.261	0.227	0.134	bd
南城黑鸡 Nanchen Black	42	0	0.333	0.677	0.167	0.833	0.278	0.239	0.187	bd

独立性卡方检验结果:字母相同表示差异不显著($P > 0.05$);字母不同表示差异显著或极显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)

The same letter means the difference is not significant ($P > 0.05$), Different letters represent for significant difference ($P < 0.05$ or $P < 0.01$)

个为 cSNPs, 2 个为错义突变; *Sirt1* 基因 35 个 SNPs 和 3 处缺失/插入多态, 有 18 个 SNPs 和 2 处缺失/插入多态是新发现的。在新发现的 SNPs 中, 4 个是 cSNPs, 1 个为错义突变。

鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因的编码区分别为 1 074 bp 和 2 271 bp, 分别搜寻到 5 和 10 个 SNPs, 可见其突变率均较高, 且较接近。另外, 从这些测序结果看, SNP 的产生是不均匀的, 有时存在较为明显的集中趋势, 如 *Sirt1* 基因 242 bp 处的第 3 外显子含 4 个 SNPs, 特别是在第 2 内含子 7724189-7724085 区域(紧临第 3 外显子)存在 12 个 SNPs 和 2 处缺失/插入多态, 而该基因许多外显子和内含子上没有 SNP。初步分析表明 *Sirt1* 第 2 内含子(7724189)至第 3 外显子(7723839)区段的 16 个 SNPs 和 2 处缺失/插入多态是由两种不同的单倍型所致, 在杏花鸡、隐性白洛克鸡中出现突变的单倍型块(ATCT-TCTG-AA-TTATCC), 杏花鸡、隐性白洛克鸡也有野生型的单倍型块(GGGCCTGACCTTCTCT-GTCCGGTT)。这些单倍型块是否与鸡的某一生产性能有一定的关联性、它们是否在起源上有什么共同的特征? 这些问题将在下一步工作中进行更深入的研究。

3.2 鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因的遗传多样性分析

鸡 *SCD* 和 *Sirt1* 基因的遗传多样性的研究尚未见报道。从 6 个鸡种 271 个个体的检测结果可以看出, *SCD* 和 *Sirt1* 基因在所检测的 c. 492G>A 和 c. 1753G>A 位点表现出丰富的多态性, 特别是 *SCD* c. 492 G>A 位点。对于一个只有两个等位片段的标记或基因来说, 其最大的多态信息含量(PIC)只有 0.375, 而隐性白洛克鸡、杏花鸡、泰和丝毛乌骨鸡、白耳黄鸡、康乐鸡在 *SCD* c. 492 G>A 位点的多态信息含量为 0.327~0.374, 泰和丝毛乌骨鸡在 *Sirt1*c. 1753G>A 位点的 PIC 为 0.359, 说明这两个位点的多态信息含量较高, 可以作为分子标记。各个品种的基因型频率与等位基因频率差异较大, 这为下一步进行这两个位点的基因型和单倍型与鸡生长和脂肪沉积的关联性分析研究提供了重要的参考。

致谢: 本研究用杏花鸡、隐性白洛克鸡样本由华南农业大学张细权教授馈赠, 在此表示衷心的感谢! 同时感谢华南农业大学聂庆华副教授给予的许多帮助!

参考文献:

- [1] ENOCH H G, CATALA A, STRITTMATTER P. Mechanism of rat microsomal stearyl-CoA desaturase[J]. Biol Chem, 1976, 251: 5 095-5 103.

- [2] ZHANG L, GE L, TRAN T, et al. Isolation and characterization of the human stearyl-CoA desaturase gene promoter: requirement of a conserved CCAAT cis-element[J]. *Biochem*, 2001, 357:183-193.
- [3] NTAMBI J M, BUHROW S A, KAESTNER K H, et al. Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes: characterization of differentially expressed gene encoding stearyl-CoA desaturase[J]. *Biol Chem*, 1988, 263:17 291-17 300.
- [4] KAESTNER K H, NTAMBI J M, KELLY T J, et al. Differentiation-induced gene expression in 3T3-L1 preadipocytes: a second differentially expressed gene encoding stearyl-CoA desaturase[J]. *Biol Chem*, 1989, 264: 14 755-14 761.
- [5] MIHARA K. Structure and regulation of rat liver microsomal stearyl-CoA desaturase gene[J]. *Biochem*, 1990, 108: 1 022-1 029.
- [6] WARD R J, TRAVERS M T, RICHARDS S E, et al. Stearyl-CoA desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genome[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1 391: 145-156.
- [7] BERNARD L, LEROUX C, HAYES H, et al. Characterization of the caprine stearyl-CoA desaturase gene and its mRNA showing an unusually long 3'-UTR sequence arising from a single exon[J]. *Gene*, 2001, 281:53-61.
- [8] YAHYAOUI M H, SANCHEZ A, FOLCH J M. Partial nucleotide sequence of the goat stearyl coenzyme A desaturase cDNA and gene structure[J]. *Anim Sci*, 2002, 80: 866-867.
- [9] REN J, KNORR C, HABERMANN F A, et al. Assignment of the porcine stearyl-CoA desaturase (SCD) gene to SSC14q27 by fluorescence *in situ* hybridization and by hybrid panel mapping[J]. *Anim Genet*, 2003, 34: 471-473.
- [10] REN J, CHRISTOPH K, HUANG L S, et al. Isolation and molecular characterization of the porcine stearyl-CoA desaturase gene [J]. *Gene*, 2004, 340: 19-30.
- [11] FILLON V, LANGLOIS P, DOUAIRE M, et al. Assignment of stearyl Coenzyme A Desaturase gene (SCD1) to chicken chromosome R-band 6q14 by *in situ* hybridization [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1997, 78:229-230.
- [12] <http://www.genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>.
- [13] BLANDER G, GUARENTE L. The Sir2 family of protein deacetylases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73:417-435.
- [14] VAZIRI H, DESSAIN S K, NG CATON E, et al. hSIR2 (SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase [J]. *Cell*, 2001, 107:149-159.
- [15] YEUNG F, HOBERG J E, RAMSEY C S, et al. Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase [J]. *EMBO Journal*, 2004, 23:2 369-2 380.
- [16] YANG Y H, HOU H Y, HALLER E M, et al. Suppression of FOXO1 activity by FHL2 through SIRT1-mediated deacetylation [J]. *EMBO Journal*, 2005, 24:1 021-1 032.
- [17] PICARD F, KURTEV M, CHUNG N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ [J]. *Nature*, 2004, 429: 771-776.
- [18] ZHOU H, DEEB N, EVOCK-CLOVER C M, et al. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken II Body composition [J]. *Poult Sci*, 2006. 85: 1 712-1 721.
- [19] LAGARRIGUE S, PITEL F, CARRE W, et al. Mapping quantitative trait loci affecting fatness and breast muscle weight in meat-type chicken lines divergently selected on abdominal fatness [J]. *Genet Sel Evol*, 2006, 38(1):85-97.