

# H-FABP 基因型对中畜黑猪 I 系生长性能的影响

刘剑锋<sup>1,2</sup>, 王立贤<sup>1\*</sup>, 张贵香<sup>1</sup>, 赵克斌<sup>1</sup>, 张 沅<sup>2</sup>

(1. 中国农业科学院畜牧研究所, 北京 100094; 2. 中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100094)

**摘要:** 利用 PCR-RFLP 技术(限制性内切酶采用 *Hinf* I 和 *Hae* III) 检测了培育品种 77 头中畜黑猪 I 系的心肌脂肪酸结合蛋白(H-FABP) 基因座位的遗传变异, 同时对 H-FABP 的不同 PCR-RFLP 基因型对生产性能的影响作了初步统计分析, 旨在探讨利用 H-FABP 进行肉质性状辅助选择, 是否对生产性能产生不利影响。结果表明, 在 H-FABP 基因 5' 上游和内含子 2 区段, 均发现 *Hinf* I-RFLP 和 *Hae* III-RFLP、*Hinf* I<sup>\*</sup>-RFLP; 结果显示, 在 *Hinf* I-RFLP 位点上, HH 和 hh 2 种基因型间个体 170 日龄体重差异显著 ( $P < 0.05$ ), 除此之外, 未发现其它酶切位点的不同基因型个体生长性能之间的显著差异。研究结果为今后开展猪肉质性状和生产性能的分子辅助选育奠定应用基础。

**关键词:** H-FABP 基因; 猪; PCR-RFLP 分析; 生长性状

**中图分类号:** S828.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0366-6964(2005)06-0555-04

脂肪酸结合蛋白(fatty acid-binding protein, FABP) 属小分子细胞内蛋白, 参与细胞内脂肪酸运输, 主要功能是将脂肪酸从细胞膜运送至脂肪酸氧化和甘油三脂及磷脂的合成部位<sup>[1]</sup>。猪 H-FABP 基因位于 6 号染色体, 由 1.6 kb 的上游调控序列、0.2 kb 的 3'-端非翻译区、4 个外显子(分别编码含 24、58、34、17 个氨基酸的多肽片段) 和 3 个内含子(4.2、2.3、1.5 kb) 组成<sup>[2]</sup>。Gerbens 等<sup>[3-5]</sup> 研究表明, H-FABP 基因的遗传多态性与重要的肉质性状肌内脂肪(Intramuscular fat, IMF) 含量密切相关, 在杜洛克猪中存在 *Msp* I、*Hae* III、*Hinf* I 酶 3 个酶切多态位点, 并初步发现 H-FABP 基因的纯合基因型 aa/dd/HH 与 IMF 含量呈显著正相关, 可作为 IMF 含量的候选基因。曹红鹤等<sup>[6]</sup> 验证了 H-FABP 基因的 *Hae* III-RFLP 和 *Hinf* I-RFLP, 但未发现 *Msp* I-RFLP, 同时在皖南花猪和大白猪中发现了新的 *Hinf* I<sup>\*</sup> 酶切位点。

我国培育品种中畜黑猪 I 系以高 IMF 含量(3% 以上)、风味佳著称, 本研究对该品种的 H-FABP 基因 5' 上游区和内含子 2 进行了 *Hae* III-RFLP、*Hinf* I-RFLP 和 *Hinf* I<sup>\*</sup>-RFLP 分析, 并

对各类 H-FABP 基因型个体生产性能进行了初步统计分析, 主要目的在于: 为今后利用 H-FABP 开展猪肉质性状分子选育的同时, 探讨该基因是否存在与生产性能的遗传拮抗, 为制订可行育种方案提供一定的理论依据, 从而在育种实践中使肉质性状和生产性能同时获得遗传进展。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

采用中国农业科学院畜牧研究所种猪场 77 头中畜黑猪 I 系作为试验材料。在 60~100 日龄时进行前腔静脉采血 10 mL, 现场加入等体积裂解液保存, 按常规酚-仿抽提法提取基因组 DNA。参加试验个体分别记录出生重、30 日龄断奶体重、70 日龄体重、170 日龄活体背膘厚(左侧倒数 3-4 肋骨位置, B 超仪测定) 和体重。

### 1.2 主要试剂

限制性内切酶购自美国 Promega 公司。PCR 反应所用 2 对引物按 Gerbens 发表的序列, 由北京赛百盛生物工程公司合成, 引物序列、扩增产物长度和位置见表 1。

### 1.3 PCR 扩增

PCR 扩增反应体系为 25  $\mu$ L, 其中含有约 50 ng 模板 DNA, 10 pmol/L 引物, 200  $\mu$ mol/L dNTPs, 1.25 U *Taq* 酶, 样品经 94  $^{\circ}$ C 变性 3 min 后按下列程序扩增: 94  $^{\circ}$ C 变性 1 min, 62  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 32 个循环后; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

收稿日期: 2005-04-28

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(2004BA514A-13); “863”项目(2003AA243030)

作者简介: 刘剑锋(1972-), 男, 江苏东台人, 博士生, 从事动物遗传育种研究

\* 通讯作者: 王立贤, Tel: 010-62816011; E-mail: iaswlx@263.net

表 1 PCR-RFLP 分析的引物序列、产物大小及位置

Table 1 Primers sequences, length of amplified fragments and their locations in PCR-RFLP analysis

	引物 Primer	产物大小/bp Length of amplified fragment	产物位置 Location of fragment
<i>Hinf</i> I	5'-GGACCCAAGATGCCTACGCCG-3' 5'-CTGCATCTTTGACCAAGAGG-3'	693	5'上游区 1 125~ 1 817
<i>Hinf</i> I <sup>*</sup> , <i>Hae</i> III	5'-ATTGCTTCGGTGTGTTTGAG-3' 5'-TCAGGAATGGGAGTTATTGG-3'	816	内含子 2 1 401~ 2 216

1.4 扩增产物的酶切

酶切反应体系为 12 μL, 其中扩增产物 10 μL, 限制核酸酶 2 μL, 37 °C 反应过夜, 酶切产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳分析。

1.5 数据处理

30 日龄断奶体重、70 日龄体重、170 日龄活体背膘厚和体重经校正后以出生重为协变量、分别以 3 类基因型进行分组, 用 SAS v6. 12 软件进行单因子的协方差分析。

2 结果

5'-上游区的 *Hinf* I-RFLP: 分析 X98558 猪的 H-FABP 基因序列可知, 在所扩增的 693 bp 的片段中共有 4 个 *Hinf* I 切点, 其中 I 的 322 位为多态性切点。将该切点存在时产生的片段定为等位基因 H, 消失时产生的片段定为等位基因 h, 酶切片段的长度见表 2, 酶切产物的琼脂糖凝胶电泳见图 1。

表 2 3 种 PCR-RFLPs 的等位基因及酶切片段的长度

Table 2 Three kinds of PCR-RFLP alleles of H-FABP gene and their restriction fragment length

	等位基因 Alleles	片段大小** Restriction fragment length
<i>Hinf</i> I	H	339+ 172+ 98+ 59+ 25
	h	339+ 231+ 98+ 25
<i>Hae</i> III	D	683+ 117+ 16
	d	405+ 278+ 117+ 16
<i>Hinf</i> I <sup>*</sup>	B	521+ 217+ 47+ 32
	b	521+ 264+ 32

\*\* 斜体加粗的数值为多态片段的大小

内含子 2 的 *Hae* III RFLP 和 *Hinf* I<sup>\*</sup>-RFLP: 分析 Y16180 猪的 H-FABP 基因序列可知, 从内含子 2 所扩增的片段存在 3 个 *Hae* III 切点, 多

态性切点在 1 811 位, 该切点存在时产生的片段定为等位基因 d, 消失时产生的片段定为等位基因 D, 酶切片段的长度见表 2, 酶切产物的琼脂糖凝胶电泳见图 2。据曹红鹤等<sup>[6]</sup>报道, 在该区所扩增的片段中除在 1 921, 2 185 位存在 2 个 *Hinf* I<sup>\*</sup> 切点外, 在大白猪和皖南花猪中还出现了第 3 个 *Hinf* I<sup>\*</sup> 切点, 并为多态切点。当 3 个切点存在时, 产生的片段为等位基因 B, 无多态切点时, 产生等位基因 b。酶切产物的琼脂糖凝胶电泳见图 3。

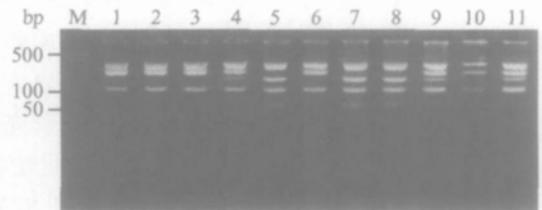


图 1 H-FABP 基因 PCR1 *Hinf* I-RFLP 酶切  
Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of *Hinf* I digested PCR1 product of H-FABP gene

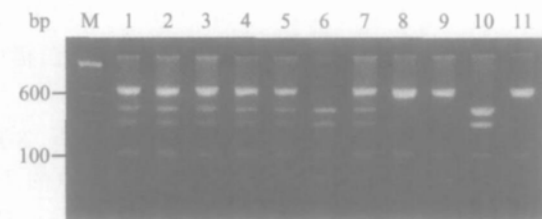


图 2 H-FABP 基因 PCR2 *Hae* III RFLP 酶切  
Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of *Hae* III digested PCR1 product of H-FABP gene

试验群 H-FABP 基因的 PCR-RFLP 基因型分布及基因频率的统计、3 类 PCR-RFLP 不同基因型与生产性能(30 日龄断奶重、70 日龄体重、170 日龄体重和背膘厚)相关的统计分析分别见表 2-3。

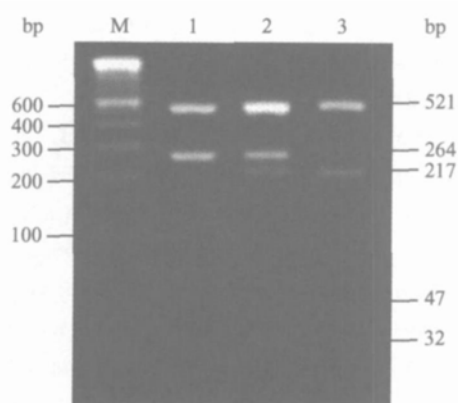


图 3 H-FABP 基因 PCR $Hinf I^*$ -RFLP 酶切

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of  $Hinf I^*$  digested PCR1 product of H-FABP gene

表 3 中畜黑猪 I 系 H-FABP 基因 PCR-RFLP 基因型及基因频率的分布

Table 3 Distribution of different PCR-RFLP genotype frequencies and allele frequencies of H-FABP gene among Zhongxu Black Line I experiment population

	基因型分布 Distribution of genotypes			基因频率 Allele frequencies	
	$Hinf I$	HH	Hh	hh	H
	57	10	10	0.805 2	0.194 8
$Hae III$	DD	Dd	dd	D	d
	17	30	30	0.415 6	0.584 4
$Hinf I^*$	BB	Bb	bb	B	b
	20	20	37	0.389 6	0.610 4

表 4 中畜黑猪 I 系 H-FABP 基因 PCR-RFLPs 各类基因型的生产性能统计分析

Table 4 Statistical analysis on production performances of different PCR-RFLP genotypes of H-FABP gene in Zhongxu Black Line I experiment population

基因型 Genotype	30 日龄断奶重/kg Weaning weight at 30 d age	70 日龄体重/kg Body weight at 70 d age	170 日龄体重/kg Body weight at 170 d age	170 日龄背膘厚/mm Back fat thick at 170 d age
HH	7.63 ± 1.56 <sup>a</sup> (n= 54)	19.00 ± 6.02 <sup>a</sup> (n= 55)	71.91 ± 15.11 <sup>b</sup> (n= 46)	16.84 ± 5.44 <sup>a</sup> (n= 46)
Hh	7.88 ± 0.73 <sup>a</sup> (n= 10)	20.73 ± 2.23 <sup>a</sup> (n= 10)	81.61 ± 12.88 <sup>ab</sup> (n= 9)	19.09 ± 4.19 <sup>a</sup> (n= 8)
hh	7.77 ± 1.42 <sup>a</sup> (n= 9)	19.86 ± 2.51 <sup>a</sup> (n= 9)	86.34 ± 9.75 <sup>a</sup> (n= 8)	17.24 ± 4.88 <sup>a</sup> (n= 9)
BB	7.26 ± 1.62 <sup>a</sup> (n= 18)	17.85 ± 4.16 <sup>a</sup> (n= 19)	72.14 ± 19.53 <sup>a</sup> (n= 15)	16.14 ± 6.01 <sup>a</sup> (n= 15)
Bb	7.59 ± 1.12 <sup>a</sup> (n= 18)	18.54 ± 3.26 <sup>a</sup> (n= 20)	74.12 ± 15.82 <sup>a</sup> (n= 19)	16.75 ± 5.53 <sup>a</sup> (n= 19)
bb	7.94 ± 1.47 <sup>a</sup> (n= 37)	20.60 ± 6.54 <sup>a</sup> (n= 35)	74.34 ± 11.95 <sup>a</sup> (n= 29)	18.00 ± 4.57 <sup>a</sup> (n= 29)
DD	7.64 ± 1.27 <sup>a</sup> (n= 16)	20.68 ± 2.91 <sup>a</sup> (n= 16)	81.45 ± 17.43 <sup>a</sup> (n= 12)	15.34 ± 4.02 <sup>a</sup> (n= 12)
Dd	7.87 ± 1.41 <sup>a</sup> (n= 28)	18.53 ± 3.30 <sup>a</sup> (n= 30)	74.37 ± 16.02 <sup>a</sup> (n= 29)	16.64 ± 5.43 <sup>a</sup> (n= 29)
dd	7.52 ± 1.59 <sup>a</sup> (n= 29)	19.44 ± 7.67 <sup>a</sup> (n= 28)	72.69 ± 11.91 <sup>a</sup> (n= 22)	18.91 ± 5.18 <sup>a</sup> (n= 22)

相同列右上角不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

我国地方品种中畜黑猪 H-FABP 基因在 5' 上游和内含子 2 分别存在  $Hinf I$  和  $Hae III$  的 RFLP, 并且在内含子 2 同样存在第 3 个  $Hinf I^*$  切点, 且为多态切点; 进一步验证了曹红鹤等<sup>[6]</sup> 的报道。

据 Gerbens 等报道<sup>[2]</sup>, 在杜洛克群体中 H-FABP 的 HH 型 IMF 比 hh 型个体高 0.4% 左右, 可作为 IMF 的候选基因。值得注意的是, 在本研究中, HH 型个体的 170 日龄体重显著低于 hh 型个体 ( $P < 0.05$ ), 由此间接验证了肉质性状与生长速度存在的不利相关, 应在选育方案中加以关注。

除 5'-上游区的  $Hinf I$ -RFLP 不同基因型的生长速度具有差异外, 内含子 2 的  $Hae III$  RFLP 和  $Hinf I^*$ -RFLP 不同基因型间个体生长性能均无明显差异。因此在该品种内开展较大规模肉质测定试验, 进一步确定 H-FABP 不同基因型与肉质性状的关系, 从而有望为今后将 H-FABP 应用于肉质性状的标记辅助选择, 同时获得生长性能和肉质的选择进展提供初步依据。

迄今为止, 对肉质性状尤其是 IMF 的候选基因多态性座位的筛选还远不能满足性状选育的需要。此外由于候选基因与性状相关的供试群体均存在局限性, 候选基因与肉质性状及与其它生产性能的相关还需扩大品种和群体规模加以验证。考虑到以我国品种资源为主要育种素材的培育品种具有高 IMF

以及外来品种生长性状和体型结构优势突出的特点,如建立地方品种与外来品种的资源家系开展肉质性状主效基因的研究,可望取得突破性进展。

在猪育种中,生长性能始终是最重要经济性状之一,寻找和验证影响生长性能的主效基因历来是猪分子育种研究的重要内容,近年来在此研究领域取得许多重要成果<sup>[7-10]</sup>。对本研究中发现 *Hinf*I-RFLP 的 2 种不同基因型(HH 和 hh)个体 170 日龄体重存在显著差异,该研究结论目前尚无其它类似报道,但由于试验群体的不均衡性较大,并且受到试验规模的限制,因此有待于通过扩大试验规模和提高试验组的均衡度来作进一步验证,对于这 2 种基因型对生长速度的遗传效应和影响机理有待于深入研究并通过多世代选择试验加以证实,可望有助于揭示国内外某些品种在生产性能和肉质性能的遗传差异。

#### 参考文献:

- [1] Veerkamp J H, Maatman R G. Cytoplasmic fatty acid binding proteins: their structure and genes[J]. *Progress in Lipid Research*, 1995, 34: 17~ 52.
- [2] Gerbens F, Rettenberger G, Lenstra J A, et al. Characterization, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid binding protein gene[J]. *Mamm Genome*, 1997, 8 (5): 328~ 332.
- [3] Gerbens F, van Erp A J, Harders F L, et al. Effect of genetic variants of the heart acid binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs[J]. *Animal Sci*, 1999, 77: 846~ 852.
- [4] Gerbens F, de Koning D J, Harders F L, et al. The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs[J]. *Anim Sci*, 2000, 78(3): 552~ 559.
- [5] Gerbens F, Verburg F J, Van Moerkerk H T, et al. Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs[J]. *Anim Sci*, 2001, 79(2): 347~ 354.
- [6] 曹红鹤,张贵香,王立贤,等.猪 H-FABP 基因多态性片段的序列分析[J]. *遗传*, 2002, 24(2): 146~ 148.
- [7] 腾勇,宋成义,经永斌.猪 POU1F1 基因第 3 内含子 *Msp*I 酶切酶切片断多态特征及其与生长性能相关性的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(2): 205~ 208.
- [8] 李楨,曹红鹤,储明星.中外 11 个猪种 H-FABP, PCR-RFLP 的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2003, 34(4): 313~ 317.
- [9] 林万华,丁能水,等. H-FABP 基因型对二花脸猪相关性性状影响的初步分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2003, 34(4): 318~ 324.
- [10] Rohrer G A. Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of backfat and weight in a Meishan-White Composite resource population [J]. *J Anim Sci*, 2000, 78: 2 547~ 2 553.

### Influence of PCR-RFLP Genotypes of Porcine H-FABP Gene on Production Performances in Zhongxu Black Line I Population

LIU Jian-feng<sup>1, 2</sup>, WANG Li-xian<sup>1\*</sup>, ZHANG Gu-xiang<sup>1</sup>, ZHAO Ke-bin<sup>1</sup>, ZHANG Yuan<sup>2</sup>

(1. *Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China;*  
2. *College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China*)

**Abstract:** In this study, the genetic variation of porcine heart fatty acid-binding protein(H-FABP) gene was detected by PCR-RFLP with *Hinf*I and *Hae*III in 77 pigs of Zhongxu Black Line I. Meanwhile, effects of different PCR-RFLP genotypes of H-FABP gene on main growth traits were analyzed in order to investigate whether they have unfavorable effects on growth traits or not during making meat qualities assistant selection by H-FABP gene. The results showed three variant restriction sites of porcine H-FABP gene including *Hinf*I-RFLP in 5'-upstream, *Hae*III-RFLP and *Hinf*I<sup>\*</sup>-RFLP in intron 2, were confirmed by PCR-RFLP method. Statistic significant difference( $P < 0.05$ ) of product performance (weight of 170 days) was found among animals grouped by different genotype at the *Hinf*I-RFLP site, while groups divided by any other genotypes had no significant differences among all product performance. Conclusion made in this paper will contribute to molecular assistant selection of economic traits including meat quality and production performance in pig breeding.

**Key words:** H-FABP gene; porcine; PCR-RFLP analysis; growth traits

\* Corresponding author