

# 鸡 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达与 肌内脂肪含量相关研究

李文娟, 李宏宾, 文 杰\*, 陈继兰, 赵桂苹, 郑麦青

(中国农业科学院畜牧研究所 动物营养学国家重点实验室, 北京 100094)

**摘 要:** 选用 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因作为影响鸡肌内脂肪沉积的候选基因, 以北京油鸡、矮脚鸡、白莱航鸡和 AA 肉鸡为研究群体, 利用 RT-PCR 和实时荧光定量 PCR 技术, 分别对 56、90、120 日龄 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因 mRNA 进行定量分析, 结合 IMF 含量及屠体性状测定, 分析 *H-FABP* 及 *A-FABP* 基因表达水平对 IMF 含量等的影响。结果表明: *H-FABP* 基因 mRNA 随日龄的增长表达量显著降低, 而 *A-FABP* 基因 mRNA 随日龄的增长表达量显著升高, 并表现出显著的品种效应 ( $P < 0.01$ ), 性别因素对 *A-FABP* 基因表达影响显著。北京油鸡、白莱航鸡和 AA 鸡群体的 *H-FABP* 基因 mRNA 表达水平与 IMF 含量及屠体重呈现显著的负相关, 而 *A-FABP* 基因 mRNA 表达水平与屠体重显著相关, 与 IMF 含量没有显著的相关性。矮脚鸡 *A-FABP* 基因 mRNA 水平与 IMF 含量呈现显著的负相关, 其 *H-FABP* 基因 mRNA 水平对屠体重影响显著, 表现出显著的品种差异。

**关键词:** 鸡; *H-FABP*; *A-FABP*; 基因表达; 肌内脂肪

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2006)05-0417-07

## Association of the *H-FABP* and *A-FABP* Gene Expression with Intramuscular Fat Content in Chickens

LI Wen-juan, LI Hong-bin, WEN Jie\*, CHEN Ji-lan, ZHAO Gui-ping, ZHENG Mai-qing

(Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences,

State Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing 100094, China)

**Abstract:** Four chicken breeds, including Beijing Fatty, Dwarf, White Leghorn and Arber Acres chickens were used as experimental populations. RT-PCR and real-time fluorescence quantity PCR technique were used to study genetic expression in heart and adipocyte fatty acid-binding protein (*H-FABP*, *A-FABP*) genes at 56, 90 and 120 day of age. The associations between genetic expression level and intramuscular fat content and slaughter traits were analyzed by using partial correlated analysis. Statistical analyses showed, for genes expression, the *H-FABP* mRNA level is significant increasing and *A-FABP* mRNA level is markedly reducing with age rise. Breeds had remarkably effect on the *H-FABP* and *A-FABP* genes expression. Moreover, the sexes had a significant effect on the *A-FABP* mRNA expression but not *H-FABP* gene's. The *H-FABP* gene expression levels were significantly negative correlation with IMF contents and carcass weight, however, *A-FABP* mRNA level had a significantly effect on the carcass weight but not IMF content in Beijing Fatty, White Leghorn and Arber Acres chicken. The *A-FABP* mRNA expression was negatively related significantly with IMF% and *H-FABP* mRNA level had

收稿日期: 2005-06-03

基金项目: 国家“863”计划(2001AA243080; 2003AA243080); 国家“973”计划(2002BA514A-9-1; 2004CB117506; TG2000016104); 国家科技基础条件平台工作面上项目(2003DED6J 078) 资助

作者简介: 李文娟(1978-), 女, 博士生, 主要从事家禽肉品质研究工作

\* 通讯作者: 文 杰, E-mail: wenjoffice@263.net

marked relation with carcass weight in Dwarf chicken.

**Key words:** chicken; *H-FABP*; *A-FABP*; gene expression; intramuscular fat

肌内脂肪(IMF)是影响肉质性状的主要因素。研究证明:肌内脂肪可以提高肉的嫩度<sup>[1,2]</sup>和风味<sup>[3~7]</sup>,一方面,肌内脂肪在氧化时有溶解肌纤维束的作用,从而提高肌肉嫩度和多汁性。另一方面,肌内脂肪含有大量多不饱和脂肪酸,其富含磷脂,能通过 Maillard 反应而产生香味<sup>[3,5]</sup>。心脏型脂肪酸结合蛋白(*H-FABP*)基因及脂肪型脂肪酸结合蛋白(*A-FABP*)基因是影响 IMF 含量的候选基因<sup>[6,8,9]</sup>,猪 *H-FABP* 基因多态性对 IMF 含量存在显著性影响<sup>[6,8]</sup>,且 *H-FABP/A-FABP* 在 mRNA 表达水平对 IMF 含量影响显著<sup>[10]</sup>。同样对绵羊进行试验结果表明被检测出来的 *H-FABP* 基因 SNPs 多态位点对肌内脂肪含量影响显著<sup>[11]</sup>。由于 *FABPs* 基因上的遗传变化最终将影响它们基因表达水平质或量的变化<sup>[12]</sup>,所以在 mRNA 水平上研究 *H-FABP* 基因和 *A-FABP* 基因对 IMF 沉积的影响作用,具有十分重要的意义。

本研究利用 Taqman 探针实时荧光定量 PCR 技术,分析不同品种、性别鸡 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达在不同生长阶段的变化规律,并结合屠宰试验,分析 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达水平对 IMF 含量的影响,去寻找地方鸡种肉质性状相关候选基因的更丰富的遗传信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选用北京油鸡、矮脚鸡、白菜航和 AA 鸡(共 700 只)作为试验群体。北京油鸡、矮脚鸡、白菜航蛋鸡来自中国农业科学院畜牧研究所保种鸡场,AA 鸡来自于华都原种鸡场。试验鸡采用网上平养方式,整个饲养周期采用肉鸡全价日粮饲养于同一试验场中。

### 1.2 屠宰性能测定及样品采集

分别在 56、90 和 120 日龄屠宰取样。每个屠宰水平,矮脚鸡、白菜航鸡和北京油鸡公、母各屠宰 25 只。由于 AA 鸡生长速度较快,42 日龄体重就可达 2 kg 以上,所以试验 AA 鸡仅在 56 日龄进行屠宰取样(共 64 只,公母各半)。随机抽取试验鸡,禁食 12 h 后颈静脉放血屠宰。准确称量屠体重后立即取各屠体的腹脂、心肌组织放置于液氮,并转存于

-80 ℃超低温冰箱中保存,用于 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达分析。取完整的右侧胸肌和腿肌置于 4 ℃冰箱内,剥离腹脂后取出嗦囊和其他脏器(除肺和肾脏),对各屠体指标进行测定并记录,包括:活重、屠体重、净膛重、腹脂重、胸肌重、腿肌重。

### 1.3 IMF 含量测定

屠宰后 24 h,取部分胸肌及腿肌,去除可见脂肪,鲜样粉碎后采用索氏浸提法分别测定胸肌及腿肌的肌内脂肪含量。最后根据公式:IMF = (提前总重 - 提后总重) / 提前样品干物质总重 × 100 计算干物质中 IMF 的含量。

### 1.4 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达分析

1.4.1 总 RNA 提取和纯化和 cDNA 第一链的合成和检测 取约 50~100 mg 心肌组织/腹脂,采用 TriZol 一步法分别进行总 RNA 提取,取出 1 μL 粗提总 RNA 在 0.7%琼脂糖凝胶上电泳检测完整性,利用分光光度计进行 RNA 的浓度检测。总 RNA 经过无 RNA 酶的 DNA 酶 I 的消化和酚-氯仿纯化后,再次用 0.7%琼脂糖凝胶上电泳检测完整性和测定其 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 值在 1.7~1.9 之间<sup>[13]</sup>。

利用反转录酶转录活性,将 mRNA 转录成 cDNA 第一链。反转录反应体系为 25 μL,包括总 RNA 2 μL;Oligo dT18(25 μmol/L) 2 μL;DEPC(0.1%)处理水 12.75 μL;M-MLV(200 U/μL)反转录酶 1 μL;RNA 酶抑制剂 1 μL;10 mmol/L dNTP Mix 1.25 μL;5×RT Buffer 5 μL。反转录条件为:70 ℃ 5 min,迅速加入反转录酶后在 42 ℃ 温浴 1 h,72 ℃ 15 min。反应产物置于 -20 ℃ 冰箱保存。用三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)基因设计特异性引物进行普通 PCR 扩增,检测 cDNA 的存在,扩增产物在 2%琼脂糖凝胶上电泳检测,片段大小为 206 bp。

1.4.2 试验所用引物和探针 以 mRNA 为模板,使用 Beacon Designer 2.1 引物设计软件进行引物和探针的同步设计。其中 *H-FABP*、*A-FABP* 基因定量引物跨越内含子,经 DNA 与 RNA 的 PCR 对比后,扩增产物片段大小不同,探针不能与 DNA 模板结合,从而排除了 DNA 干扰,保证 mRNA 定量的可靠性。

表 1 PCR 所用引物及探针序列、产物大小及位置

Table 1 Primer sequences, corresponding PCR product size and position

Gene	Primers (5'→3')	Product/bp	GenBank No.
GAPDH *	F: TCACAAGTTTCCCGTTCTCA R: GGAACACTATAAAGGCGAGAT	205	AF047874
<i>H-FABP</i>	F: ACGGCCAATTTTCGATGAGTACA R: TCTCTGTGTTCTTGAAGGTGCTAT Probe: Fam-CTTCACCGTCGCCTTGTCGCCATC-Tamra	148	AY648562
<i>A-FABP</i>	F: GCCTGACAAAATGTGCGACC R: GCCACACCAGCCATCTTCC Prob: Fam-TGTGGGCACCTGGAAGCTCCTTTCT-Tamra	120	NM204290
GAPDH	F: CTTTCCGTGTGCCAACCCC R: CAGCAGCAGCCTTCACTACC Probe: Fam-TCTCTGTTGTTGACCTGACCTGCCGT-Tamra	106	AF047874

\*. 检测 cDNA 第一链所用的引物 \*. Means analysis primer of cDNA

1.4.3 定量标准品的制备 用总 RNA 做模板,设计体系较大、总 RNA 含量较高的反转录体系进行 RT-PCR 分析,检测 cDNA 第一链的浓度。产物用柱离心式 PCR 产物回收试剂盒回收纯化。将回收得到的目的片段进行 20 倍梯度的稀释至 8 个梯度,在普通 PCR 仪上设计 26 个循环检测稀释效果。初步检测合格后使用 GeneAmp7900 荧光定量 PCR 仪进一步检测稀释效果,要求标准曲线相关系数  $R^2 > 0.995$ 。

1.4.4 相关基因定量分析 定量试验反应体系为  $15 \mu\text{L}$ ,反应条件为:  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  2 min;  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  10 min;  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  0.15 min,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  1 min, 40 循环;  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。根据 PCR 反应的动力学曲线图、线性图谱和半对数图谱选择适当的  $C_T$  值和域值,以得到理想的标准曲线图。各样品的  $C_T$  值与标准曲线进行比较得出其起始模板拷贝数,将此结果保存并输入到 Excel 表中进行后续分析。

## 1.5 数据处理

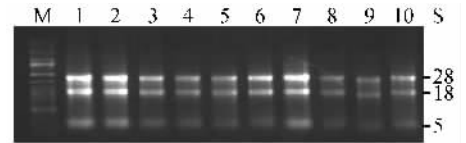
针对所测定的群体中两种基因 mRNA 的表达情况,根据影响观测性状的因素,采用固定模型  $Y_{ijkl} = \mu + \text{Day}_i + \text{Breed}_j + \text{Sex}_k + \text{Quantity}_l + e_{ijklm}$  对肌肉脂肪含量进行分析,其中  $Y_{ijkl}$  为个体表型记录、 $\text{Day}_i$  为日龄效应、 $\text{Breed}_j$  为品种效应、 $\text{Sex}_k$  为性别效应、 $\text{Quantity}_l$  为基因表达效应、 $e_{ijklm}$  为随机误差。运用 SAS 软件对数据进行统计分析; Duncan 多重比较检验不同小组的显著性,相关分析使用 Pearson 检验的偏相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 RNA 提取与 RT-PCR 结果分析

总 RNA 通过 0.7% 琼脂糖凝胶电泳检测,见样

品总 RNA 有明显的 3 条带(如图 1),可进行反转录。使用 *GAPDH* 基因引物对反转录产物进行 PCR 反应,2% 琼脂糖凝胶电泳检测结果显示 cDNA 存在。



M. 1kb 的 RNA marker; 1~7. 心脏组织提取总 RNA 样; 8~10. 腹脂提取总 RNA

M. 1kb RNA marker; 1~7. Total RNA of heart of chicken; 8~10. Total RNA of abdominal fat of chicken

图 1 总 RNA 琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1 Total RNA agarose gel electrophoretic analysis

### 2.2 标准曲线梯度稀释检测分析

设计普通 PCR 检测标准品的稀释效果表明,扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶检测亮度呈现由高到低浓度的递减趋势(如图 2)。进一步在 GeneAmp7900 荧光定量 PCR 仪上进行检测标准曲线的相关性,得  $R^2 = 0.998$ ,可用于样品的定量研究。

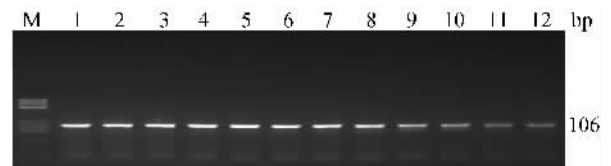


图 2 标准样品梯度稀释琼脂糖凝胶检测

Fig. 2 Standard sample PCR agarose gel electrophoretic analysis

### 2.3 IMF 含量和 *H-FABP*、*A-FABP* 基因表达水平分析

通过 *GAPDH* 基因校正,结果表明(见表 2):日龄、品种及日龄和品种的交互作用对 *H-FABP* 基

因 mRNA 表达量有显著的影响( $P < 0.01$ ),性别效应对 *H-FABP* 基因表达水平影响不显著。日龄、品种、性别及日龄×品种×性别的交互作用对 *A-FABP* 基因 mRNA 含量有显著的影响( $P < 0.05$ )。

表 2 日龄、品种、性别对 IMF 含量及 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达影响的显著性检验

Table 2 Testing of significant difference of IMF content, *H-FABP* and *A-FABP* gene expression with days, breeds and sexes

	胸 IMF/%	腿 IMF/%	H-mRNA	A-mRNA
标准误均数(MSE)	2.609	8.268	0.020	195.357
P 值检验 (P value)	日龄	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$
	品种	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$
	性别	NS	$P < 0.01$	NS
	日龄×品种	NS	NS	$P < 0.01$
	日龄×性别	$P < 0.01$	$P < 0.01$	NS
	品种×性别	NS	NS	NS
	日龄×品种×性别	NS	NS	NS
				$P < 0.01$

NS 表示不显著 NS means no significant different

随日龄的增长 IMF 含量显著增加,90 日龄和 120 日龄 IMF 含量显著高于 56 日龄 IMF 含量( $P < 0.05$ ),120 日龄 IMF 含量比 90 日龄 IMF 含量略微有些下降,但差异不显著。此外,胸肌与腿肌中 IMF 含量差异较大,明显表现出组织间差异,腿肌 IMF 含量约是胸肌 IMF 含量的 3~4 倍。

*H-FABP* 基因 mRNA 丰度随着日龄的增长含量显著降低,56、90、120 日龄基因表达差异显著( $P < 0.05$ ),而 *A-FABP* 基因 mRNA 随着鸡日龄增大表达量增高,120 日龄比 90 日龄 *A-FABP* 基因 mRNA 含量有显著地增长。

表 3 不同日龄 IMF 含量、*H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达量的显著检验

Table 3 IMF content, *H-FABP* and *A-FABP* genes expression testing of significant difference with different days

	胸 IMF/%	腿 IMF/%	H-mRNA	A-mRNA
56 d	3.489±1.759 <sup>a</sup> (n=146)	12.645±3.386 <sup>a</sup> (n=146)	0.406±0.191 <sup>a</sup> (n=50)	13.095±9.061 <sup>a</sup> (n=61)
90 d	4.955±1.689 <sup>b</sup> (n=122)	14.330±3.970 <sup>b</sup> (n=122)	0.328±0.127 <sup>b</sup> (n=49)	14.102±19.578 <sup>a</sup> (n=43)
120 d	4.856±1.881 <sup>b</sup> (n=119)	14.292±4.379 <sup>b</sup> (n=119)	0.136±0.065 <sup>c</sup> (n=38)	24.425±17.744 <sup>b</sup> (n=35)

表中相同字母表示多重比较差异不显著( $P > 0.05$ ),下同

Means with the same letter are not significantly different. The same as below

品种效应对 IMF 含量、*H-FABP*、*A-FABP* 基因表达影响显著(见表 4)。AA 鸡、矮脚鸡、白菜航和北京油鸡胸肌、腿肌 IMF 含量差异显著( $P < 0.05$ );胸肌中,56 日龄 AA 鸡胸肌 IMF 含量显著低于矮脚鸡、白菜航鸡和北京油鸡胸肌 IMF 含量,矮脚鸡胸肌 IMF 含量显著高于其它 3 个品种,北京油鸡次之;腿肌中,白菜航鸡腿肌 IMF 含量显著低于 AA 鸡、矮脚鸡和北京油鸡腿肌 IMF 含量,与胸肌组织 IMF 含量相同,矮脚鸡腿肌 IMF 含量显著高于 AA 鸡、白菜航、北京油鸡,北京油鸡腿肌 IMF 含量次之。

如表 4 所示,在 4 个品种中,56 日龄 AA 鸡 *H-FABP* 基因 mRNA 含量显著高于生长较慢的矮脚

鸡、白菜航鸡和北京油鸡;北京油鸡 H 型表达量显著性高于矮脚鸡和白菜航蛋鸡;矮脚鸡及白菜航 *H-FABP* 基因表达在 4 个品种中表达量最低,与 AA 鸡、北京油鸡差异显著。与 *H-FABP* 基因表达相同,*A-FABP* 基因表达水平受品种效应的影响也是显著的( $P < 0.01$ ),白菜航鸡、北京油鸡 *A-FABP* 基因 mRNA 表达量相当,其水平显著性高于矮脚鸡 *A-FABP* 基因表达水平,矮脚鸡此基因表达量在 4 个品种中最低。56 日龄 AA 鸡 *A-FABP* mRNA 含量介于矮脚鸡、北京油鸡和白菜航之间,但 *A-FABP* 基因表达量差异不存在显著性。

性别因素对不同组织部位肌内脂肪含量的影响

存在差异(见表 4)。总地来说,母鸡胸肌和腿肌 IMF 含量略高于公鸡胸肌和腿肌 IMF 含量,胸肌中公母鸡 IMF 含量差异不显著,而腿肌中母鸡 IMF

含量显著高于公鸡( $P < 0.05$ )。*H-FABP* 基因表达水平在不同性别间差异不显著,而 *A-FABP* 基因表达水平公鸡显著高于母鸡。

表 4 不同品种和性别 IMF 含量、*H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达量的显著检验

Table 4 IMF content, *H-FABP* and *A-FABP* genes expression testing of significant difference with different breeds and sex

	胸 IMF/%	腿 IMF/%	H-mRNA	A-mRNA
AA 鸡	2.880±0.871 <sup>a</sup>	11.779±2.453 <sup>a</sup>	0.532±0.215 <sup>a</sup>	14.66±9.252 <sup>ab</sup>
Arber Acres chicken	(n=31)	(n=31)	(n=11)	(n=17)
矮脚鸡	5.230±1.762 <sup>b</sup>	17.083±3.802 <sup>b</sup>	0.224±0.148 <sup>b</sup>	7.852±6.627 <sup>b</sup>
Dwarf chicken	(n=117)	(n=117)	n=39	(n=35)
白菜航鸡	3.930±1.978 <sup>c</sup>	10.781±2.405 <sup>c</sup>	0.239±0.162 <sup>b</sup>	20.807±15.334 <sup>a</sup>
White Leghorn chicken	(n=119)	(n=119)	(n=42)	(n=45)
北京油鸡	4.529±1.699 <sup>d</sup>	14.013±3.008 <sup>d</sup>	0.373±0.134 <sup>c</sup>	19.041±18.061 <sup>a</sup>
Beijing Fatty chicken	(n=121)	(n=121)	(n=45)	(n=42)
公鸡	4.288±1.868 <sup>a</sup>	13.146±3.879 <sup>a</sup>	0.286±0.216 <sup>a</sup>	19.453±17.744 <sup>a</sup>
Male	(n=190)	(n=190)	(n=72)	(n=69)
母鸡	4.349±1.888 <sup>a</sup>	14.111±3.990 <sup>b</sup>	0.324±0.217 <sup>a</sup>	13.111±13.033 <sup>b</sup>
Female	(n=202)	(n=202)	(n=65)	(n=70)

## 2.4 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达水平与 IMF 含量等的相关分析

将屠宰批次、品种和性别作为固定效应对总体数值进行偏相关分析,结果表明:*H-FABP* 基因 mRNA 含量与肌内脂肪呈现显著的负相关,*H-FABP* mRNA 水平与胸肌 IMF 含量、腿肌 IMF 含量、腹脂偏相关系数分别为-0.38( $P < 0.01$ )、-0.24( $P < 0.05$ )和-0.29( $P < 0.01$ ),*A-FABP* 基因表达对 IMF 影响不显著,但对鸡屠体重( $R = 0.27$ )、净膛率( $R = 0.27$ )存在显著影响,并且 *H-FABP* 基因表达与 *A-FABP* 基因呈现负相关, $R = -0.25$ ( $P < 0.05$ )。

不同品种间 *H-FABP* 与 *A-FABP* 基因表达水平对 IMF 含量及生长性状的作用强度不同。将性

别、批次作为固定效应,分析结果如下所示(见表 5)。北京油鸡 *H-FABP* 基因 mRNA 水平与胸肌及腿肌存在显著负相关( $R_{\text{胸肌}} = -0.43$ ,  $P < 0.05$ ;  $R_{\text{腿肌}} = -0.41$ ,  $P < 0.05$ ), *A-FABP* 基因 mRNA 水平对 IMF 含量无显著影响,但与屠体重( $R = 0.38$ ,  $P < 0.05$ )、净膛率( $R = 0.47$ ,  $P < 0.05$ )存在显著的正相关。白菜航蛋鸡 *H-FABP* 基因表达水平与腿肌 IMF 含量存在显著的相关( $R = -0.51$ ,  $P < 0.05$ ), *A-FABP* 基因表达对 IMF 含量和屠体重影响均不显著。矮脚鸡 *H-FABP* mRNA 含量对 IMF 影响作用不显著,与屠体重显著相关( $R = 0.55$ ,  $P < 0.01$ )。 *A-FABP* 基因 mRNA 水平与 IMF 之间存在显著的负相关( $R = -0.49$ ,  $P < 0.05$ )。

表 5 不同品种 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因 mRNA 含量与相关性状偏相关分析(将品种和性别作为固定效应)

Table 5 Correlation analysis among performance traits, *H-FABP* and *A-FABP* mRNA levels in different breeds

		北京油鸡		白菜航鸡		矮脚鸡	
		H-mRNA	A-mRNA	H-mRNA	A-mRNA	H-mRNA	A-mRNA
胸 IMF/%	R	-0.43*	—	—	—	—	-0.49*
腿 IMF/%	R	-0.41*	—	-0.51*	—	—	—
腹脂率/%	R	—	—	—	—	—	—
净膛率/%	R	—	0.47*	—	—	—	—
胸肌率/%	R	0.45*	—	—	—	—	—
腿肌率/%	R	—	—	—	—	—	—
屠体重	R	—	0.38*	—	—	0.55**	—

\*.  $P < 0.05$ ; \*\* .  $P < 0.01$

### 3 讨论

研究证明:*H-FABP* 基因、*A-FABP* 基因可以作为影响鸡肌内脂肪含量的候选基因<sup>[14,15]</sup>,本试验进一步对 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因 mRNA 表达水平进行研究。考虑日龄、品种和性别对鸡肉风味有很大的影响<sup>[4,5]</sup>,肌内脂肪含量在这些因素的影响下沉积量存在很大差异<sup>[3,5,16]</sup>,试验进行了 4 个肉质风味差异较大的品种(双性别)在不同生长阶段的 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因表达水平分析,以及基因表达和 IMF 含量等相关指标的相关分析,探讨鸡 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因对肌内脂肪的作用机制。

本试验北京油鸡为纯种北京油鸡,其生长周期长、肉味鲜美,矮脚鸡选用性状表达稳定、生长速度中等的育成品种—京星 100,AA 鸡使用品种较纯的父母代,使用白菜航蛋鸡品种也较纯,共同作为研究群体。对各品种 IMF 含量分析结果表明,鸡腿肌 IMF 含量高于胸肌,AA 肉鸡和白菜航蛋鸡肌内脂肪含量显著低于优质地方品种—北京油鸡、矮脚鸡,试验结论与研究报道一致<sup>[3,14,15]</sup>。将 IMF 含量分析结果和肉质性状相联系,进一步说明 IMF 含量是影响肉品质风味的重要因素。

总的来说,*H-FABP* 基因表达水平和 IMF、屠体重存在显著的负相关,即:*H-FABP* 基因表达量减少可引起北京油鸡、白菜航鸡和 AA 鸡肌内脂肪含量增加,这一结果与 Gerbens 进行不同 *H-FABP* 基因型表达水平的研究结论相符。在对猪 *H-FABP* 基因进行 PCR-RFLP 分析时发现 *Hae* III-PCR-RFLP 位点上具有 dd 基因型个体的背最长肌 IMF 显著的高于 DD、Dd 型的个体,然而其 mRNA 含量却显著的低于 DD、Dd 基因型,并且具有 dd 基因型的个体体重显著地高于 DD 型的个体<sup>[10]</sup>。此结论说明在 *Hae* III-PCR-RFLP 位点 *H-FABP* 基因表达高的个体,IMF 含量低,体重低。由于对 *H-FABP* 基因从基因表达研究上出发,对生产性状影响的报道少,有必要进一步扩大样本含量进一步分析研究。

本试验数据表明,*A-FABP* 基因表达整体水平变异较大,由于目前对鸡 *A-FABP* 基因表达水平研究甚少,没有相关文献报道其表达规律,*H-FABP* 和 *A-FABP* 基因的表达总是与其功能相符<sup>[12]</sup>,*A-FABP* 只在脂肪细胞中表达,对游离长链脂肪酸水

平变化的反应较快,并且调控脂肪酸功能可表现在多种方面,鉴于家禽脂肪组织(主要是腹脂)中脂肪酸的代谢强度高、差异大,推测可能与家禽腹脂沉积有关。*A-FABP* 基因表达水平在研究中主要表现在对体重、屠体重、净膛率等指标的影响上,除矮脚鸡外 *A-FABP* 基因表达水平对体重、屠体重、净膛重、胸肌率、腿肌率等都有不同程度的影响,而对 IMF 含量影响不显著。这与猪 *A-FABP* 基因表达研究结论存在差异:猪 *A-FABP* 基因的 mRNA 含量与猪背最长肌 IMF 含量显著相关<sup>[10]</sup>。家禽脂肪代谢不同于猪,家禽脂肪的合成主要在肝脏组织,而猪主要合成部位在脂肪组织,诸多方面脂肪酸代谢差异可能是造成种间 *A-FABP* 基因表达水平研究结果不一致的原因。此外,有研究显示:IMF 含量和体重的影响密切相关,*A-FABP* 基因表达对鸡屠体重、净膛率存在显著的正相关,因此鸡 *A-FABP* 基因表达水平对 IMF 含量的影响作用需值得进一步研究。

矮脚鸡 IMF 含量分析结果显示矮脚鸡腹脂率和 IMF 含量显著性高于 AA 鸡、北京油鸡、白菜航鸡,与相关文献报道一致<sup>[4,14]</sup>。矮脚鸡 *A-FABP* 基因 mRNA 表达量总体较低,而肌内脂肪显著高与正常鸡,偏相关分析显示 *A-FABP* 基因表达水平与 IMF 含量呈现显著的负相关,而在北京油鸡、白菜航及 AA 鸡群体中 *A-FABP* 对 IMF 的影响不显著,*H-FABP* 基因表达与 IMF 含量显著相关。在动物机体内各种 FABPs 存在着相互补充和抑制的作用<sup>[12]</sup>,矮脚鸡 *H-FABP* 基因和 *A-FABP* 基因 mRNA 表达水平对 IMF 含量的影响的反差说明 *H-FABP* 和 *A-FABP* 基因是相互作用的,由分析数据可知两者呈现显著的负相关( $R = -0.25$ ,  $P < 0.05$ ),对何种原因引起 *H-FABP* 基因和 *A-FABP* 基因表达不同与正常鸡,推测可能与矮脚鸡含有 DW 基因有关。矮脚鸡是自然鸡群中含有 DW 基因的群体,DW 基因对各种骨骼的生长有抑制作用,主要对长骨的生长抑制作用较强,造成腿骨较短<sup>[17]</sup>。研究表明:矮脚鸡的生长鸡脂肪沉积能力高于正常鸡,但成年矮脚母鸡腹脂率明显低于正常型鸡,矮脚鸡的肌内脂肪含量高于其它品种<sup>[18]</sup>。造成矮脚鸡 *H-FABP* 基因和 *A-FABP* 基因表达的这种差异是否与 DW 基因有关还需要进一步的研究加以证实。

## 参考文献:

- [1] 杨 焯. 优质鸡肌内脂肪代谢调控及其与肉质性状关系的研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2005.
- [2] DeVol DL, Mckeith P, Bechtel P J, *et al.* Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses[J]. *J Animal Science*, 1988,66:385~395.
- [3] 陈继兰. 肌肉肌苷酸和肌内脂肪含量遗传规律及相关候选基因的研究[D]. 北京:中国农业大学, 2004.
- [4] 陈继兰, 文 杰, 王述柏, 等. 肌肉肌苷酸和肌肉脂肪沉积规律研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(8): 843~845.
- [5] 李建军. 优质肉鸡风味特性研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2003.
- [6] Gerbens F, Jansen A, van Erp A J, *et al.* The adipocyte fatty acid-binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs [J]. *Mamm Genome*, 1998b, 9(12): 1 022~1 026.
- [7] Eikelenboom G, Hoving-Bolink A H. The effect of intramuscular fat on eating quality of pork[M]. *The Hague N L: Proc. 40 IcoMST, Paper S. IVB*, 1994, 30.
- [8] Gerbens F, Harders F L, Groenen M A, *et al.* A dimorphic microsatellite in the porcine *H-FABP* gene at chromosome 6[J]. *Anim Genet*, 1998a, 29(5): 408.
- [9] 仇雪梅. 影响生长核肉质性状的主要候选基因的研究[D]. 北京:中国农业大学, 2004.
- [10] Gerbens F, Verburg F J, Van Moerkerk H T B, *et al.* Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs [J]. *J Animal Science*, 2001, 79(2): 347~354.
- [11] Calvo J H, Marcos S, Jurado J J, *et al.* Association of the heart fatty acid-binding protein (FABP3) gene with milk traits in Manchega breed sheep[J]. *Animal Genetics*, 2004, 35: 347~349.
- [12] Haunerland N H, Spener F. Fatty acid-binding proteins-insights from genetic manipulations [J]. *Prog Lipid Res*, 2004, 43: 328~349.
- [13] Sambrook J, Russell D W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* [M]. 3rd ed. 北京: 科学出版社, 2001. 516~532.
- [14] 叶满红. 鸡脂肪酸结合蛋白基因的克隆及其与肌内脂肪的关系[D]. 北京:中国农业科学院, 2003.
- [15] 罗桂芬. 鸡 *AMPD1* 基因和 *A-FABP* 基因 PCR-SSCP 分析及其相关性状的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
- [16] 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]. *J Animal Science*, 2000, 78: 552~559.
- [17] Merat P. The sex-linked dwarf gene in the broiler chicken industry [J]. *World Poultry Science J*, 1984, 40: 10~16.
- [18] 王清华, 李 辉. 矮小基因在黄羽肉鸡育种中的应用[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2004, 5: 61~62.

## 动物疫情速递

### 巴西暴发猪瘟

2006年3月7日巴西向OIE通报了其境内的猪瘟疫情。本次疫情始于2006年2月22日,于3月6日确诊。疫区位于Paraiba的Cuitegi。感染畜群属小型养殖群体(培育和繁育),感染动物在66~120日龄,疑似动物有131只,病例66只,死亡46只。所用诊断手段:临床诊断、剖检、实验室诊断。实验室诊断在Pernambuco Recife的国家农业实验室进行,采用的方法有ELISA病毒分离和免疫荧光。现已采取了检疫和区域化措施,并即将施行扑杀。

### 瑞典检出高致病性禽流感病毒

2006年3月20日瑞典向OIE通报自某场地(栅栏内区域)猎鸟中分离出H5亚型高致病性禽流感病毒。该场地位于K almar县oskarshamn municipality的Gasshult,共有500只野鸭、30只鸽、10只母鸡和2只孔雀。50份检测样品取自野鸭和野鸡,其中1份来自野鸭检出H5亚型高致病性禽流感病毒。因该地区野鸟中检出病毒,该场地已于2006年2月24日实施了监测。本次事件始于2006年2月24日,于3月17日确认,涉及的629只动物已全部销毁。实验室检验在设在Uppsala的国家兽医研究所进行,所用手段包括PCR和测序。本次感染来源于接触野鸟。瑞典采取的措施有控制野生动物、扑杀、国内限制移动、筛选、区域化和疫区消毒。该地区没有商业家禽养殖场。取样时所有鸟只均为临床健康状态,并且当地野鸟也未出现高死亡率。目前样品已送往设在Weybridge的禽流感参考实验室(VLA)进行确认。