

采用全基因组扫描法定位影响猪后腿质量 QTL

肖石军, 高 军, 祁文杰, 段艳宇, 毛辉荣, 周利华, 李 琳, 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: 为研究影响猪后腿质量的 QTL, 采用分布于猪全基因组 19 对染色体上的 183 个微卫星标记, 对白色杜洛克(♂)×二花脸(♀)资源家系群体 1 028 头 F₂ 代个体及其亲本进行基因型检测, 利用最小二乘线性回归分析, 通过置换试验确定显著性域值, 对影响猪后腿质量的数量性状位点(QTL)进行了定位分析。共检测到 10 个 QTL 位点, 其中在猪 2、4、7、8、18 号染色体上检测到 5 个 1% 基因组显著水平的 QTLs, 在 5 和 7 号染色体上检测到 2 个 5% 基因组显著水平 QTLs。影响效应最大的 QTL 位于 7 号染色体 58 cM 处, 置信区间仅为 5 cM, 这些结果为下一步的精细定位和位置候选基因的分离奠定了基础。

关键词: 猪; 后腿质量; 数量性状位点

中图分类号: S828; Q343.17

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2009)10-1435-05

Genome-wide Identification for Quantitative Trait Loci Affecting Ham Weight in Pigs

XIAO Shi-jun, GAO Jun, QI Wen-jie, DUAN Yan-yu, MAO Hui-rong,
ZHOU Li-hua, LI Lin, HUANG Lu-sheng*

(Candidate of National Key Laboratory for Animal Biotechnology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: To detect the QTL for ham weight (HW), a total of 1 028 F₂ animals at 240 days of age from a White Duroc × Erhualian resource population were measured for phenotypic data. All F₂ individuals and their parents and grandparents were genotyped for 183 informative microsatellite markers on 19 pairs of porcine chromosomes. Quantitative trait loci (QTL) for ham weight were identified by using an interval mapping method based on least-squares regression. The threshold values of significance were determined empirically by a permutation test. In total, 10 QTLs were detected including five 1% genome-wide significant QTLs on pig chromosomes (SSC) 2, 4, 7, 8 and 18 and two QTLs at the 5% genome-wide significant level on SSC5 and SSC7. The most significant QTL was found at 58 cM on SSC7 with a confidence interval of 5 cM. The results provide a start point to refine the QTLs for the interest traits and isolate positional candidate genes.

Key words: pig; ham weight; QTL

随着国际猪基因组计划的展开, 猪高密度遗传连锁图谱的构建为猪数量性状位点(Quantitative Trait Locus, QTL)定位和功能基因的克隆提供了坚实的基础。在过去的十多年中, 大量与猪生长发育、繁殖、肉质、行为、免疫能力及疾病抗性性状相

关的 QTLs 被定位于相应染色体区域(<http://www.animalgenome.org/QTLdb/pig.html>)。一些 QTL 区域内的位置候选基因相继被克隆, 少量数量性状核苷酸(Quantitative Trait Nucleotides, QTN), 如猪 IGF-2 第 3 内含子第 3 072 位核苷酸

收稿日期: 2008-08-04

基金项目: 国家杰出青年基金项目(30425045); 973 前期专项(2006CB708213)

作者简介: 肖石军(1973-), 男, 江西于都人, 博士生, 助理研究员, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: shjx_jxau@hotmail.com

* 通讯作者: 黄路生, E-mail: Lushenghuang@hotmail.com

G/A 突变,被鉴别并通过功能验证^[1]。

现代种猪生产中,后腿大小、外形与体质量是影响猪胴体价值的重要指标。具有结实健壮、发育良好的后肢是优良种猪的必备条件^[2],同时,猪后腿也是火腿加工的重要原料,猪后腿的产肉量与整个胴体产肉量呈强相关。猪后腿占胴体质量的比值称为腿臀比,腿臀比的遗传力为 0.4~0.5,经系统选择的猪种腿臀比大于 30%,如杜洛克猪的腿臀比为 32.93%;未经选育的大部分地方猪种腿臀比一般小于 30%,如两广花猪的腿臀比为 25.90%^[3]。本研究拟利用中国地方猪种二花脸猪和西方瘦肉型猪种白色杜洛克猪构建的大规模 F₂ 代资源家系,采用全基因组扫描技术,检测影响猪后腿质量的 QTL,为种猪后腿质量的遗传改良提供前期工作基础。

1 材料与方 法

1.1 试验动物

所有试验动物均来自白色杜洛克×二花脸资源家系,该家系以 2 头白色杜洛克公猪和 17 头二花脸母猪为祖代,白色杜洛克由 PIC 国际种猪改良公司赠送,二花脸猪购自江苏省锡山市、常熟市、江阴市畜牧良种场。这些祖代个体杂交产生 F₁ 代,随机选择 9 头 F₁ 代公猪和 59 头 F₁ 代母猪,横交产生 1 912 头 F₂ 代个体,所有个体 46 日龄断奶,公猪 90 日龄阉割,这些个体都饲养于江西农业大学动物生物技术国家重点实验室培育基地猪场,按常规饲养方法饲养,肉猪配合料含可消化能 13 MJ·kg⁻¹ 以上,粗蛋白含量在 15% 以上,种猪配合料相应可消化能为 12 MJ·kg⁻¹,粗蛋白含量为 14% 以上。所有个体在相同条件下进行管理,猪栏均为水泥地面,有小运动场。其中 1 028 头 240 日龄 F₂ 代个体在江西国鸿集团有限公司绿色食品加工厂屠宰,在猪胴体劈半后,取右侧胴体在最后腰椎与荐椎接合处和背线成直角作垂直切割后,取后腿称重、记录质量。采集每个个体的耳组织样品 0.5~1.0 g,放入盛有 75% 乙醇的 1.5 mL Eppendorf 管内,低温保存带回实验室。采用常规的酚/氯仿法提取基因组 DNA。

1.2 微卫星标记和基因型判定

采用均匀分布于猪 19 对染色体上的 183 个微卫星标记,对白色杜洛克×二花脸资源家系所有 3 代个体进行全基因组扫描。微卫星标记选自于美国 USDA-MARC 公布的猪遗传连锁图谱,微卫星引物

由上海生工生物工程有限公司和美国 ABI 公司合成(因数量过多,引物序列在此不再一一列出)。PCR 反应体系 20 μL,其中模板 DNA 100 ng,10× buffer 2.0 μL, Mg²⁺ 1.5 mmol·L⁻¹, dNTPs 0.2 mmol·L⁻¹, 引物 0.3 μmol·L⁻¹, Taq 酶 0.75 U。反应条件为 95 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 40 s, 最佳退火温度 30 s, 72 °C 延伸 40 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 ABI 3130 XL 遗传分析仪(ABI, USA) pop-7 胶电泳分离、判型,利用 GeneMapper 软件读取和收集数据。

1.3 统计分析

使用 CRIMAP (Version 2.4) 软件构建遗传连锁图谱^[4]。采用在线 QTL Express 软件 (<http://qtl.cap.ed.ac.uk/>) 进行 QTL 区间作图。该软件采用最小二乘法线性回归模型分析实现对 QTL 位点的检测,通过置换试验(permutation)确定显著性阈值^[5]。QTL 模型如下:

$$Y = \mu + \text{batch} + \text{covariate} + C_a a + C_d d + e$$

式中, Y 为性状的表型值; μ 为性状的总体均值; batch 为影响性状的固定效应,即批次; covariate 为影响性状的校正变量,以宰后胴体质量作为校正变量; a 、 d 分别为加性、显性效应; C_a 、 C_d 分别为加性、显性效应系数; e 为残差效应。

2 结 果

本试验共检测到 10 个影响白色杜洛克×二花脸资源家系 F₂ 群体的后腿质量 QTLs,其中 5 个达 1% 基因组显著水平,分布于 4、7、8、18 号染色体; 2 个达 5% 基因组显著水平,位于 5 和 7 号染色体,定位结果见表 1 和图 1。

2.1 1% 基因组显著水平 QTL

我们在 4 号染色体的 73 cM 处定位到了 1 个 1% 基因组显著水平的 QTL,其加性效应为负值,表明该位点来自白色杜洛克亲本的等位基因更有利于猪后腿的生长,其解释的表型变异为 7.42% (表 1 和图 1B)。

在 7 号染色体 58 和 121 cM 处分别检测到 1 个 5% 基因组显著水平的 QTL, 2 位点的加性效应均为正值,表明有利等位基因均来自二花脸亲本。此外, 58 cM 处的 QTL 的 F 值在所有检测到的 QTL 中最高 ($F = 58.42$), 置信区间仅为 5 cM (57.0~62.0), 其加性效应解释的表型变异达 9.04% (表 1 和图 1C)。

在 8 号染色体的 37 cM 处存在 1 个 1% 基因组显著水平的 QTL, 来自白色杜洛克父本的等位基因为有利等位基因, 解释了 4.28% 的表型变异(表 1 和图 1D)。此外, 在 18 号染色体的 21 cM 处(表 1 和图 1E)和 2 号染色体的 36 cM 处(表 1 和图 1A)分别检测到 1% 基因组显著水平的 QTL, 解释的表型变异分别为 2.35% 和 1.59%, 其有利等位基因均来自父本白色杜洛克。

2.2 其它 QTL

我们在 5 号染色体的末端 114 cM 处定位了 1

个 5% 基因组水平 QTL, 来自白色杜洛克父本的等位基因为有利等位基因, 解释 1.23% 的表型变异(表 1)。此外, 在第 12、15 和 17 号染色体上分别检测到了 1 个染色体水平显著的 QTL, 其中后 2 个位点达到 1% 显著水平, 另 1 位点为建议水平的 QTL, 它们所解释的表型变异分别为 0.82%、1.04% 和 0.96%。3 个位点加性效应表明来自父本白色杜洛克的等位基因更有利于后腿的生长(表 1)。

表 1 猪后腿质量 QTL 定位结果

Table 1 Details of QTL for pig ham weight

染色体 SSC	位置 Position/cM	F 值 F-value	置信区间 Confidence interval	加性效应 Additive effect	显性效应 Dominant effect	表型变异/% Variance
2	36	12.09****	21.0 - 58.0	-0.10±0.21	-0.03±0.03	1.59
4	73	49.46****	64.0 - 76.0	-0.22±0.02	-0.04±0.03	7.42
5	114	9.39***	21.0 - 114.0	-0.08±0.02	0.05±0.03	1.23
7	58	58.42****	57.0 - 62.0	0.22±0.02	0.08±0.03	9.04
7	121	9.05***	51.0 - 127.0	0.09±0.02	-0.01±0.03	1.25
8	37	30.00****	32.0 - 51.0	-0.16±0.02	-0.00±0.03	4.28
12	34	6.63*	32.0 - 85.0	-0.07±0.02	0.02±0.03	0.82
15	87	8.34**	37.0 - 106.0	-0.08±0.02	0.02±0.03	1.04
17	76	7.69**	19.5 - 83.0	-0.08±0.02	-0.03±0.03	0.96
18	21	17.30****	13.0 - 43.0	-0.14±0.02	0.00±0.04	2.35

*. 5% 染色体显著水平; **. 1% 染色体显著水平; ***. 5% 基因组显著水平; ****. 1% 基因组显著水平

*. 5% chromosome-wide significant level; **. 1% chromosome-wide significant level; ***. 5% genome-wide significant level; ****. 1% genome-wide significant level

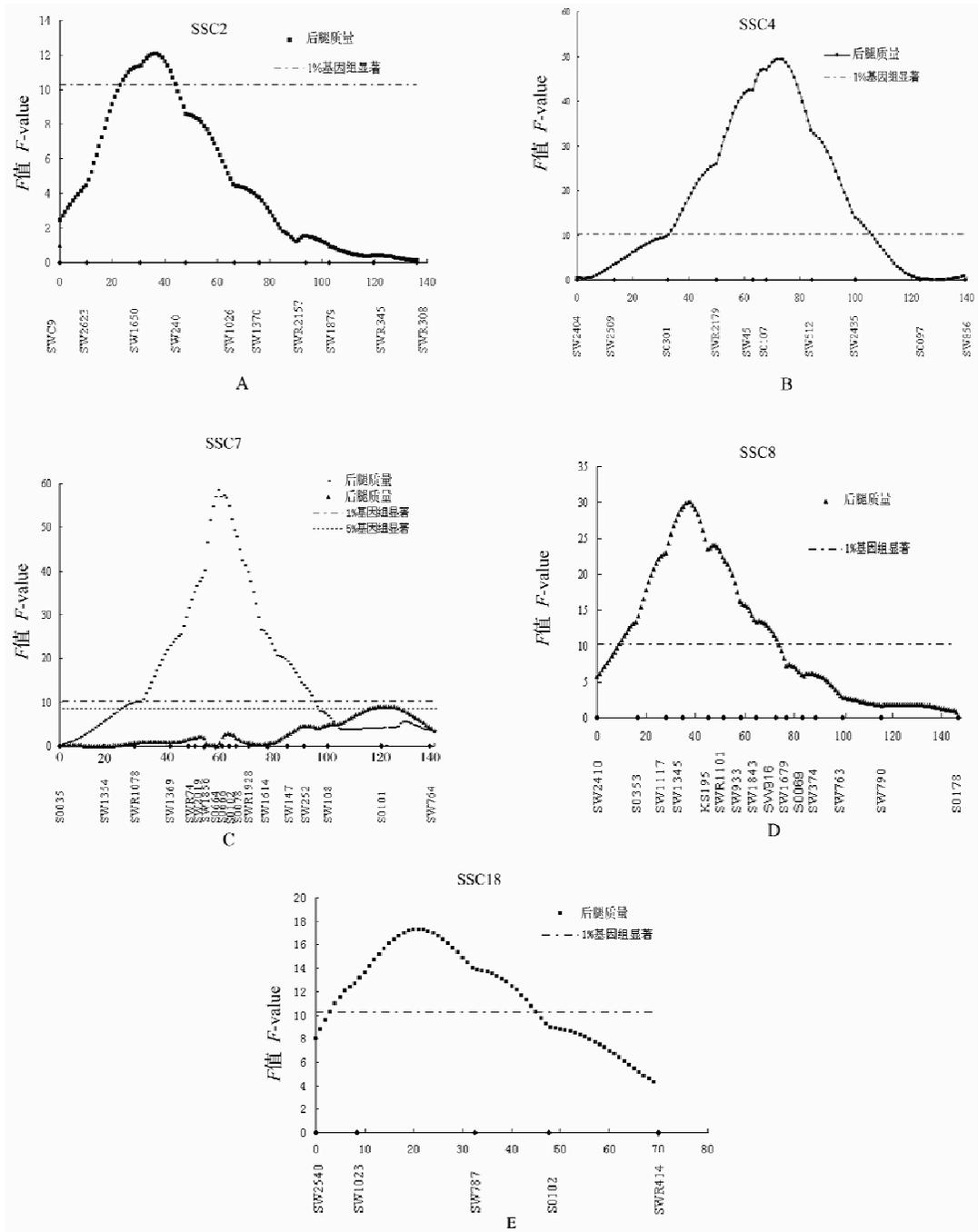
3 讨论

本研究利用白色杜洛克和二花脸猪构建的 F₂ 代资源群体, 对 1 028 头 F₂ 代 240 日龄猪的后腿质量进行了屠宰测定。并通过全基因组扫描对影响猪后腿质量的 QTL 进行了定位分析, 结果共检测到 10 个 QTL, 这些位点分布于 9 对不同染色体上, 这表明后腿质量为数量性状, 受多个遗传位点的共同影响。

采用常规的回归模式, 我们在 2 号染色体 36 cM 处检测到影响后腿质量的 QTL。van Laere 等^[1]在 SSC2 P 末端鉴别到影响胴体肌肉生长的因果突变基因 *IGF-2*, 呈独特的父本表达印迹遗传模式。我们进一步采用印迹 QTL 定位的模型重新分析 2 号染色体上后腿质量 QTL, 发现该 QTL 印迹

效应不显著(数据未显示)。此外, Lee 等^[6]分别在该染色体 31.2 及 85 cM 处, van Wijk 等^[7]在 1 和 100 cM 处报道了影响猪后腿质量性状的 QTL。这些结果表明 SSC2 上除了 *IGF-2* 基因外, 还有影响肌肉生长的其它主效基因。

本研究在 4 号染色体 73 cM(64~76 cM)处鉴定的 QTL 与 Cepica 等^[8]利用由梅山、皮特兰和欧洲野猪所构建的 3 代资源群体所报道的结果一致。在该 QTL 区间靠近中心位置存在 2 个与肌肉生长显著相关的位置候选基因, 分别为 ATP 酶 $\beta 1$ 亚基(ATP1 $\beta 1$)和 ATP 酶 $\alpha 2$ 亚基(ATP1 $\alpha 2$)。它们编码 Na⁺, K⁺-ATP 酶跨膜酶复合体的 2 个亚基。Cepica 和 Geldermann^[8-9]等在此染色体的其它位置也检测到了显著影响这一性状的 QTL, 但在本研究中没有检测到。



X 轴表示染色体上遗传距离(cM),Y 轴代表 F 值

The relative positions in cM on the linkage map are indicated in the x-axis, and the F values are given in the y-axis

图 1 猪 2、4、7、8、18 号染色体上显著影响猪后腿质量 QTL 的定位区间图

Fig. 1 Evidence of significant QTL for ham weight on pig chromosomes 2, 4, 7, 8, and 18

在 7 号染色体上发现 2 个基因组水平显著的 QTL 位点,其中 1 个 1%基因组显著水平 QTL 中心位置在 58 cM(57.0~62.0 cM)处,这与 Milan、Yue 及 Sanchez^[10-12]等所定位结果在同一染色体位置,尽管中心位置不尽相同。本研究所定位的 QTL 置信区间(5 cM)均远小于前人的报道。同时,所检

测到的该染色体上 121 cM(51~127 cM)处 QTL 位点此前未见报道。

本研究在猪 8 号染色体 37 cM 处发现的 1%基因组水平显著影响猪后腿的 QTL,中心位置在 37 cM,临近标记 SW1345,这与 Beekmann 和 Milan^[10, 13]等在该染色体的 QTL 定位结果不同。我

们在 18 号染色体上 21 cM 处定位到的 QTL, 在其它研究中未见报道, 可能是新定位的 QTL。此外, 还在猪 12、15 及 17 号染色体上定位到此前未报道的 QTL。根据最新 <http://www.animalgenome.org/QTLdb/> 所公布的数据, 在猪 1、3、6、9、10、13、14 号及 X 染色体上均存在影响猪后腿质量的 QTL 位点, 这些位点在本研究中没有检测, 这些不同的 QTL 定位结果可能与各研究小组所用试验群体中亲本的遗传差异有关。

4 结 论

本研究通过对影响猪后腿质量 QTL 的定位分析, 获得了多个显著影响这一性状的 QTL, 增加了对影响该性状遗传基础的了解。同时, 为下一步的精细定位和位置候选基因的分离奠定了基础。

致谢:感谢江西农业大学任军博士对论文的修改;感谢参与江西农业大学动物生物技术国家重点实验室培育基地白色杜洛克×二花脸资源家系构建的所有老师和研究生。

参考文献:

- [1] van LAERE A S, NGUYEN M, BRAUNSCHWEIG M, et al. A regulatory mutation in *IGF2* causes a major QTL effect on muscle growth in the pig [J]. *Nature*, 2003, 425(6960): 832-836.
- [2] 彭中镇. 猪的遗传改良[M]. 北京:农业出版社, 1994.
- [3] 盛志廉, 陈瑶生. 数量遗传学[M]. 北京:科学出版社, 1999.
- [4] HALEY C S, KNOTT S A, ELSEY J M. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares [J]. *Genetics*, 1994, 136(3): 1195-1207.
- [5] CHURCHILL G A, DOERGE R W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping [J]. *Genetics*, 1994, 138(3): 963-971.
- [6] LEE S S, CHEN Y, MORAN C, et al. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 2 [J]. *J Animl Breed Genet*, 2003, 120 (Suppl 1): 11-19.
- [7] van WIJK H J, DIBBITS B, BARON E E, et al. Identification of quantitative trait loci for carcass composition and pork quality traits in a commercial finishing cross [J]. *J Anim Sci*, 2006, 84(4): 789-799.
- [8] CEPICA S, STRATIL A, KOPECNY M, et al. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 4 [J]. *J Anim Breed Genet*, 2003, 120 (Suppl 1): 28-37.
- [9] GELDERMANN H, MULLER E, MOSER G, et al. Genome-wide linkage and QTL mapping in porcine F2 families generated from Pietrain, Meishan and Wild Boar crosses [J]. *J Animl Breed Genet*, 2003, 120:363-393.
- [10] MILAN D, BIDANEL J P, IANNUCELLI N, et al. Detection of quantitative trait loci for carcass composition traits in pigs [J]. *Genetic Selection Evolution*, 2002, 34(6): 705-728.
- [11] YUE G, STRATIL A, CEPICA S, et al. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 7 [J]. *J Anim Breed Genet*, 2003, 120 (Suppl 1): 56-65.
- [12] SANCHEZ M P, RIQUET J, IANNUCELLI N, et al. Effects of quantitative trait loci on chromosomes 1, 2, 4, and 7 on growth carcass, and meat quality traits in backcross Meishan × Large White pigs [J]. *J Anim Sci*, 2006, 84(3): 526-537.
- [13] BEECKMANN P, MOSER G, BARTENSCHLAGER H, et al. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 8 [J]. *J Anim Breed Genet*, 2003, 120(Suppl 1): 66-73.