

牛 *PON1* 基因对生长和胴体性状的影响

姬爱国^{1,2}, 周正奎¹, 张路培¹, 杨润军¹, 许尚忠^{1*}, 王淑辉³, 高雪¹, 李俊雅¹

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193;
2. 晋城职业技术学院, 晋城 048026; 3. 中国农业大学, 北京 100193)

摘要: 克隆了牛 *PON1* 基因, 检测其外显子上的 SNPs, 对 *EcoRV* 和 *Alu I* 2 种限制性内切酶酶切 *PON1* 基因后的等位基因频率和所产生的基因型频率进行估计, 并对 *EcoRV* 和 *Alu I* 2 种酶酶切后所产生的多态性对生长和胴体性状的影响进行分析。实验动物为 30 头安格斯、30 头海福特和 28 头西门塔尔牛。关联分析应用 SAS9.1 的 GLM 过程中最小二乘均数 Tukey's 检验进行分析。结果表明, *PON1* 基因克隆获得 1 205 bp 的 cDNA 序列, 其编码区为 1 068 bp, 编码 355 个氨基酸; 外显子 SNPs 检测表明, 仅在其第 6 外显子区域存在 2 个突变位点, 且没有引起氨基酸变异, 但可分别被 *EcoRV* 和 *Alu I* 2 种酶酶切。*EcoRV* 位点, AG 基因型的个体有着较高的试验前体质量 (329.97 ± 6.08) kg, 宰前质量 (577.56 ± 8.32) kg, 净肉质量 (275.89 ± 4.05) kg 和较为适宜的嫩度 (3.10 ± 0.19) kg ($P < 0.05$); *Alu I* 位点, AA 基因型的个体也有着较高的试验前体质量 (333.37 ± 8.93) kg, 宰前质量 (576.82 ± 13.18) kg, 净肉质量 (275.49 ± 6.43) kg 和平均日增质量 (0.68 ± 0.02) kg · d⁻¹ ($P < 0.05$); 并在此位点不同的基因型个体间肉色评分有着显著的差异 ($P < 0.05$)。在品种和基因型之间除了全骨质量、眼肉质量、大理石花纹评分、眼肌面积和肉色评分外, 其它性状均存在显著的差异 ($P < 0.05$)。连锁分析表明, 作为一个新陈代谢功能基因, *PON1* 基因的单核苷酸多态性可能直接影响肉牛的背膘厚, 如 A_cA_cG_aG_a 基因型。

关键词: 肉牛; *PON1* 基因; SNPs; 关联分析; 生长性状; 胴体性状

中图分类号: S823.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2009)01-0122-07

PON1 Gene SNPs and Association with Growth and Carcass Traits in Beef Cattle

Ji Ai-guo^{1,2}, Zhou Zheng-kui¹, Zhang Lu-pei¹, Yang Run-jun¹,
Xu Shang-zhong^{1*}, Wang Shu-hui³, Gao Xue¹, Li Jun-ya¹

(1. Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Jincheng Vocational and Technological Institute, Jincheng 048026, China; 3. China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: In order to estimate the allelic and genotypic frequencies at the *PON1/EcoRV* and *PON1/AluI* loci and association analysis between these SNPs and growth and carcass traits. The cDNA of bovine *PON1* gene was cloned, and the SNPs in its exons were detected. Genotyping was performed on 30 Angus, 30 Hereford and 28 Simmental cattles using the GLM procedure of SAS and the least square means of the genotypes were compared by the Tukey's test. 1 205 bp cDNA sequence were obtained, including 1 068 bp ORF region and which encodes 355 amino acids residues, and was accessed by GenBank, the accession number is EU289337. Two SNPs were detected in exon6 only. Individuals with AG genotype at the *PON1/EcoRV* locus have higher weight at the time of entry into the fattening corrals (329.97 ± 6.08) kg and close to the time of slaughter (577.56 ± 8.32) kg and net meat weight (275.89 ± 4.05) kg, fitted tenderness ($3.10 \pm$

收稿日期: 2007-12-07

基金项目: “863”计划(2006AA10Z197); “十一五”国家科学技术支撑计划(2006BAD01A10)

作者简介: 姬爱国(1970-), 男, 博士, 主要从事生物技术与动物育种研究, E-mail: jag700915@hotmail.com

* 通讯作者: 许尚忠(1950-), 研究员, 博士生导师, Tel: 010-62890940, E-mail: simmenta@vip.sina.com

0.19)kg ($P<0.05$); Individuals with AA genotype at *PON1/Alu I* locus has higher weight at the time of entry (333.37 ± 8.93)kg and slaughter (576.82 ± 13.18)kg and net meat weight (275.49 ± 6.43)kg, and average daily gain (0.68 ± 0.02)kg \cdot d⁻¹ ($P<0.05$). The meat color score is also significant higher ($P<0.05$). Between genotypes and breeds, there were significant difference observed except TBW, REMG, MBS, REA and MCS ($P<0.05$). As a metabolism gene, genotypes of the SNPs of *PON1* gene might be reflecting BFT directly, such as A_cA_cG_aG_a genotype.

Key words: beef cattle; *PON1* gene; SNPs; association analysis; growth traits; carcass traits

对氧磷酶 1 (Paraoxonase-1, PON1) 类似于脂蛋白酯酶 (Lipoprotein lipase, LPL), 在哺乳动物的生长生理和新陈代谢过程中起着关键的作用^[1]。近来, 人类 PON 变异重组体的晶体结构已探明, PON 是一个有 6 个叶片的 β -螺旋结构, 每个叶片含有 4 个 β -片层, 酶的中心通道中含有 2 个钙原子, 是结构的稳定性和催化活性的关键组成成份。螺旋的顶端有 3 个 α -螺旋, 与 HDL 粒子的结合有关^[1]。这一晶体结构的发现直接表明了 PON1 蛋白对广泛作用底物有着催化作用^[1]。并有研究表明, 其基本作用是对环状内脂的水解^[2]。且这一分子功能与芳香基三磷酸酯酶活性、磷酸酯酶活性、A-酯酶活性、对氧磷水解酶活性和对氧磷酶活性相关: (1) 催化反应: 芳基二烷基磷酸盐 + 水 = 二烷基磷酸盐 + 1 芳基乙醇; (2) 催化反应: 1 乙酸苯酯 + 水 = 1 苯酚 + 醋酸盐。例如, 可以催化水解各种共价键: 碳-氧, 碳-氮, 碳-碳, 还有磷酐键等。而水解酶则是关于 EC 系统分类中的一种系统名称 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/disposim.cgi?id=168820>)^[3]。PON1 还与胰岛素、胰酯酶、生长激素、脂蛋白酯酶和瘦素之间有着协同效应^[4-6]。另外, PON1 可以使脂质在细胞内、细胞间直接地自由出入^[7-8]。尽管在人类生命方面主要集中在对心脏病作用机理的研究上, 但是, PON2 蛋白与新生儿体质量方面的相关性已得到证实^[9-11]。本研究的目的是克隆 *PON1* 基因的 cDNA, 并检测 *PON1* 基因多态性对肉牛部分生长和胴体性状的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

血样来自 3 个不同品种的 88 头公牛个体, 其中包括 30 头安格斯, 30 头海福特和 28 头西门塔尔牛。这些公牛是来自 45 个不同公牛的后代。试验是在北京三元公司进行的。小牛为自由采食, 210 d

断奶。预试期开始时间大约在 430 d, 并对各个牛个体进行标识和体内外寄生虫清除, 以及根据试验牛个体的大小分为 5 个饲养群。为了达到日增质量在 1.2 kg 以上, 日粮饲喂采用英国标准 (NRC, 1996)^[12], 同时按品种的不同进行分别饲养。预试期大约为 20 d 左右。试验期为 348 d, 并在标准的屠宰场进行屠宰, 这时牛只的平均年龄为 2.5 岁。试验牛分别于正式试验开始 (Body weight at the beginning of confinement, BW1) 和宰前 (Body weight at the time of slaughter, SBW) 进行称重, 并依据两者质量与试验天数计算平均日增质量 (Average daily gain, ADG)。眼肌面积 (Rib eye area, REA) 和背膘厚 (Backfat thickness, BFT) 于宰前按 Gresham 修正了的 Perkin 法进行测算^[13]。宰后进行热胴体质量 (Hot carcass weight, HCW) 和嫩度 (Tenderness, TN) 的测量。在胴体分割时进行眼肉质量 (Rib eye meat weight, REMW)、净肉质量 (Net meat weight, NMW)、全骨质量 (Total bone weight, TBW)、肉色评分 (Meat color score, MCS, 分 1-5 级)、大理石花纹评分 (Marbling score, MBS, 分 1-6 级) 和脂肪颜色评分 (Fat color score, FCS, 分 1-6 级)。以西门塔尔牛的肝脏组织为材料提取组织总 RNA。

1.2 组织总 RNA 的提取与基因克隆

采用 TRIzol 法提取组织总 RNA。并根据人的 *PON1* 基因的 mRNA 序列与牛的 EST 比对结果获得牛 *PON1* 基因的 Contig 序列, 并以此为模板, 应用 Primer 5.0 软件设计 2 对引物用于 cDNA 的扩增, 其产物的大小分别为 1 087 和 410 bp。上游引物: 5'-CAGGTGAGTGAAGAGCAAT-3', 下游引物 5'-GGCATTCTTCAGGGATTACC-3'; 上游引物 5'-GGCTCACCACCAGCAGGTACA-3', 下游引物 5'-GTCCCAGACCATGGCGAAGCT-3'。反应产物经扩增并纯化后, 送诺赛生物公司直接测序。

1.3 基因组 DNA 的提取与酶切分型

用含有 7.5 mg EDTA 的真空管采集 5 mL 牛的左侧颈静脉血,基因组 DNA 采用常规的酚-氯仿抽提法提取。根据牛 *PON1* 基因的 mRNA 序列,通过与基因组比对,在跨第 6 外显子两侧区域设计引物,扩增片段大小为 376 bp。引物序列为:上游引物,5'-TTCAAGCCTCCCTCAGACCAACT-3',下游引物,5'-AGCATGTGACTTCCAAAGACCCC-3'。PCR 反应程序为:95 °C 变性 5 min;(94 °C 变性 30 s,57.3 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s)35 个循环;72 °C 延伸 10 min。整个反应在 PTC-200 Pelletier Thermal Cycler (Bio-RAD, USA) PCR 仪上进行。反应产物经回收纯化后直接测序。

1.4 统计学分析方法

计算每个 SNP 位点的基因型和等位基因频率,并应用 POPGENE32 Version 1.31^[14] 计算种群内及种群间等位基因频率的差异与哈代-温伯格平衡 χ^2 独立性检验。

运用 SAS9.1 中的 GLM 过程中的最小二乘均方 Tukey's 检验对经济性状与基因型之间进行关联分析^[15]。在模型中包括基因型效应和群效应(包含品种及组效应),统计模型如下:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + B_j + e_{ijk}$$

其中, Y_{ijk} 为经济性状观察值, μ 为总体均值, G_i 为第 i 个基因型固定效应, B_j 为第 j 个品种的固定效应, e_{ijk} 为随机残差效应。频率过低的基因型不计入模型。

2 结果

2.1 *PON1* 基因 cDNA 克隆

扩增产物经回收、克隆和测序后,经 SeqMan 软件拼接,得到 1 205 bp 的 *PON1* 基因 cDNA 全 CDS 序列。用 NCBI 的 ORF Finder 程序对已经克隆的牛 *PON1* 基因 cDNA 序列进行了开放阅读框分析,发现该序列包含 1 个 1 068 bp 的开放阅读框,编码 355 个氨基酸残基,通过生物信息学方法分析发现,牛 *PON1* 蛋白的分子量为 39 822.5 u,等电点 5.12。并将该序列提交 GenBank,获得登录号:EU289337。

2.2 *PON1* 基因外显子 SNPs 扫描

根据克隆所获取的 *PON1* 基因的 cDNA 序列

与牛基因组进行比对分析,发现其具有较高的保守性,仅在其第 6 外显子区域扫描到 2 个单核苷酸突变位点,分别位于第 6 外显子的 147 和 162 位,这 2 处突变没有引起氨基酸的变异。经分析,这 2 个位点可分别用 *EcoRV* 和 *AluI* 进行酶切。以下是其 cDNA 突变检测图(图 1)。

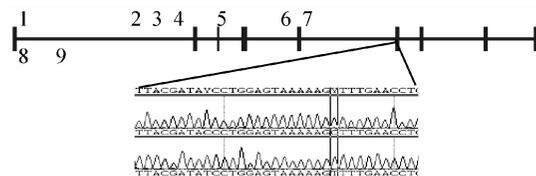


图 1 基因型序列比较

Fig. 1 Sequence comparison of genotypes in the exon6 of *PON1* gene at 147 and 162 site

2.3 PCR 产物分型分析

扩增产物经 *EcoRV* 酶切,用聚丙烯酰胺凝胶电泳检测酶切产物,获得 3 种带型:AA、GG 和 AG 基因型。GG 型表现为 226 和 150 bp 2 条带,AA 型表现为 1 条 376 bp 的片段,AG 型包含 376、226 和 150 bp 3 条带(图 2)。

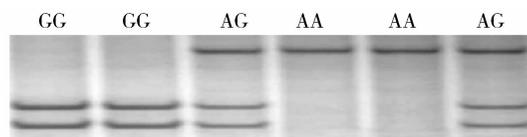


图 2 *PON1* 376 bp 在 3 个牛品种中 *EcoRV* 酶切产物聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig. 2 *PON1* 376 bp RFLP products with *EcoRV* in Angus, Hereford and Simmental

等位基因 A 的频率在西门塔尔牛群体中显著地高于等位基因 G 的频率 ($P < 0.05$, 表 1)。G 等位基因频率在西门塔尔牛与安格斯牛和海福特牛之间存在显著的差异 ($P < 0.05$)。 *EcoRV* 位点各基因型和等位基因频率见表 1。

扩增产物经 *AluI* 酶切,用琼脂糖凝胶电泳检测到 3 种基因型:GG、GA 和 AA。其中 GG 型为野生型 376 bp;GA 包含 376、153、134 和 89 bp 4 条带;AA 型则含有 153、134 和 89 bp 3 条带。由于 89 bp 的带型与引物二聚体重叠,图中将其删去(图 3)。

该位点的等位基因频率和基因型频率(表 2)无论在 3 个品种中还是在品种间均处于平衡状态。

表 1 3 个牛品种在 *PON1/EcoRV* 位点的等位基因频率和基因型频率Table 1 Allelic and genotypic frequency at the *PON1/EcoRV* locus obtained in the three breeds

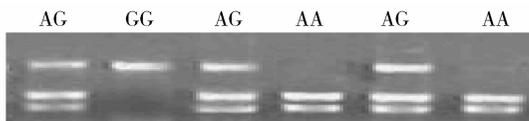
品种 Breed	等位基因频率 Allele frequency		基因型频率 Genotype frequency		
	A	G	AA	AG	GG
安格斯 Angus	0.516 7 ^a	0.483 3 ^a	0.262 7	0.507 9	0.229 4
海福特 Hereford	0.516 7 ^a	0.483 3 ^a	0.262 7	0.507 9	0.229 4
西门塔尔 Simmental	0.540 0 ^a	0.460 0 ^b	0.286 5	0.506 9	0.206 5
总计 Total	0.523 5 ^a	0.476 5 ^b	0.272 6	0.501 8	0.225 5

表中频率具有不同上标者差异显著 ($P < 0.05$)

Frequencies with different superscript differ ($P < 0.05$)

表 2 3 个牛品种在 *PON1/Alu I* 位点的等位基因频率和基因型频率Table 2 Allelic and genotypic frequencies at the *PON1/Alu I* locus obtained in the three breeds

品种 Breed	等位基因频率 Allele frequency		基因型频率 Genotype frequency		
	A	G	AA	AG	GG
安格斯 Angus	0.450 0	0.550 0	0.198 3	0.504 3	0.298 3
海福特 Hereford	0.566 7	0.433 3	0.316 9	0.499 4	0.183 6
西门塔尔 Simmental	0.420 0	0.580 0	0.171 4	0.497 1	0.331 4
总计 Total	0.482 4	0.517 6	0.231 2	0.502 3	0.266 5

图 3 *PON1* 376 bp 在 3 个牛品种中 *Alu I* 酶切产物琼脂糖凝胶电泳图Fig. 3 Polymorphism of *PON1* 376 bp RFLP products with *Alu I* in Angus, Hereford and Simmental

2.4 单核苷酸多态性与生长和胴体性状关联分析

表 3 和 4 中分别列出了生长和胴体性状与 *EcoRV* 和 *Alu I* 2 个位点多态性相对应的最小二乘均值及其标准误。对所有 *EcoRV* 位点的 3 种基因型均与生长和胴体性状进行了分析, BW1, SBW, NMW 和 TN 在 *EcoRV* 位点不同基因型间均存在显著差异 ($P < 0.05$)。且 AG 基因型个体在 BW1, SBW, NMW 等性状比 AA 和 GG 基因型个体表现

表 3 *PON1/EcoRV* 和 *Alu I* 位点相对应的各基因型的生长性状的最小二乘均值及其标准误及关联分析Table 3 Least squares means (\pm standard errors) of growth traits obtained for the genotype at the *PON1/EcoRV* and *Alu I* sites

多态位点 Locus	基因型 Genotype	生长性状/kg Growth trait						
		试验前质量 BW1	宰前质量 SBW	热胴体质量 HCW	净肉质量 NMW	全骨质量 TBW	眼肉质量 REMW	平均日增质量 ADG/($\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$)
<i>PON1/EcoRV</i>	AA(30)	309.97 \pm 6.19 ^a	555.72 \pm 11.79 ^a	300.18 \pm 6.49 ^a	265.19 \pm 5.71 ^a	25.33 \pm 0.49 ^a	1.38 \pm 0.03 ^a	0.66 \pm 0.02 ^a
	AG(32)	329.97 \pm 6.08 ^b	577.56 \pm 8.32 ^b	313.55 \pm 5.54 ^a	275.89 \pm 4.05 ^b	25.77 \pm 0.43 ^a	1.43 \pm 0.03 ^a	0.67 \pm 0.01 ^a
	GG(26)	311.54 \pm 6.49 ^a	553.92 \pm 9.19 ^a	300.22 \pm 6.58 ^a	264.06 \pm 4.44 ^a	25.80 \pm 0.49 ^a	1.38 \pm 0.05 ^a	0.65 \pm 0.01 ^a
<i>PON1/Alu I</i>	AA(19)	333.37 \pm 8.93 ^a	576.82 \pm 13.18 ^a	311.81 \pm 7.66 ^a	275.49 \pm 6.43 ^a	25.82 \pm 0.58 ^a	1.38 \pm 0.03 ^a	0.68 \pm 0.02 ^a
	AG(46)	320.85 \pm 4.64 ^a	566.01 \pm 7.46 ^{ab}	305.92 \pm 4.87 ^a	270.08 \pm 3.61 ^{ab}	25.85 \pm 0.35 ^a	1.43 \pm 0.03 ^a	0.67 \pm 0.01 ^a
	GG(23)	289.48 \pm 6.63 ^b	546.07 \pm 11.76 ^b	297.73 \pm 7.39 ^a	260.52 \pm 5.67 ^b	25.02 \pm 0.59 ^a	1.36 \pm 0.05 ^a	0.63 \pm 0.01 ^b

同一位点内标有不同肩标者差异显著 ($P < 0.05$)

Means with different superscript within the same locus differ ($P < 0.05$)

好 ($P < 0.05$)。而在其它性状, 与基因型间没有发现显著的关联性。

Alu I 位点各基因型对 BW1, SBW, NMW, ADG 和 MCS 有着显著的生物学效应 ($P < 0.05$)。

且 AA 和 AG 基因型个体对这些性状比 GG 型个体 更具优势。而其它性状则与此位点的多态性无关。

表 4 *PON1/EcoRV* and *Alu I* 位点对应各基因型的胴体性状的最小二乘均值及其标准误及关联分析

Table 4 Least square means (\pm standard errors) of carcass traits obtained for the genotype at the *PON1/EcoRV* and *Alu I* sites

多态位点 Locus	基因型 Genotype	胴体性状 Carcass trait					
		眼肌面积 REA/cm ²	背膘厚 BFT/cm	嫩度 TN/kg	大理石花纹 MBS	肉色评分 MCS	脂肪评分 FCS
<i>PON1/EcoRV</i>	AA(30)	64.60 \pm 1.08 ^a	0.85 \pm 0.08 ^a	3.73 \pm 0.23 ^a	2.27 \pm 0.18 ^a	4.16 \pm 0.16 ^a	1.25 \pm 0.06 ^a
	AG(32)	65.03 \pm 1.32 ^a	0.94 \pm 0.07 ^a	3.10 \pm 0.19 ^b	2.33 \pm 0.15 ^a	4.44 \pm 0.15 ^a	1.28 \pm 0.06 ^a
	GG(26)	62.24 \pm 1.68 ^a	0.84 \pm 0.07 ^a	3.31 \pm 0.19 ^{ab}	2.48 \pm 0.20 ^a	4.04 \pm 0.15 ^a	1.17 \pm 0.06 ^a
<i>PON1/Alu I</i>	AA(19)	64.05 \pm 1.57 ^a	1.01 \pm 0.12 ^a	3.36 \pm 0.34 ^a	2.24 \pm 0.22 ^a	4.58 \pm 0.19 ^a	1.26 \pm 0.08 ^a
	AG(46)	64.85 \pm 1.11 ^a	0.83 \pm 0.04 ^a	3.25 \pm 0.14 ^a	2.33 \pm 0.14 ^a	4.22 \pm 0.13 ^{ab}	1.26 \pm 0.05 ^a
	GG(23)	62.74 \pm 1.55 ^a	0.88 \pm 0.10 ^a	3.65 \pm 0.21 ^a	2.50 \pm 0.19 ^a	4.00 \pm 0.14 ^b	1.17 \pm 0.06 ^a

同一位点内标有不同肩标者差异显著 ($P < 0.05$)

Means with different superscript within the same locus differ ($P < 0.05$)

表 5, 6 为 *EcoRV* 和 *Alu I* 两个位点多态性在品种间和双位点基因型比较的各种性状的最小二乘均值及差异性检验。

从表 5 中可以看出专门化的肉用品种(如安格斯和海福特)比兼用牛品种有着更为明显的生长特性。胴体性状方面,西门塔尔牛除在背膘厚、嫩度、

全骨质量、眼肌面积和肉色性状外,其它性状存在相对劣势。表 6 中的双位点基因型分析表明,始质量的差异的某种基因型个体表现出潜在的生长势。并且作为一个参与新陈代谢的基因,*PON1* 基因的 SNPs 可能直接影响牛的背膘厚,如本研究中的 A_cA_cG_aG_a 基因型。

表 5 3 个不同品种之间生长和胴体性状的最小二乘均值及效应分析

Table 5 Least square means (\pm standard errors) of growth and carcass traits obtained for three breeds

品种 Breed	始质量 BW1/kg	宰前质量 SBW/kg	日增质量 ADG/(kg·d ⁻¹)	热胴体质量 HCW/kg	全骨质量 TBW/kg	净肉质量 NMW/kg	眼肉质量 REMW/kg
安格斯 Angus	326.87 \pm 5.55 ^a	576.55 \pm 7.88 ^a	0.66 \pm 0.01 ^{ab}	319.10 \pm 4.91 ^a	25.84 \pm 0.47 ^b	275.70 \pm 7.67 ^a	1.42 \pm 0.03 ^{ab}
海福特 Hereford	332.03 \pm 6.82 ^a	592.12 \pm 8.77 ^a	0.70 \pm 0.01 ^a	317.33 \pm 5.98 ^a	26.68 \pm 0.37 ^a	282.72 \pm 4.26 ^a	1.50 \pm 0.04 ^a
西门塔尔 Simmental	292.54 \pm 3.86 ^b	517.70 \pm 7.79 ^b	0.63 \pm 0.01 ^b	276.88 \pm 4.34 ^b	24.28 \pm 0.46 ^b	246.71 \pm 3.73 ^b	1.32 \pm 0.03 ^b

品种 Breed	背膘厚 BFT/cm	嫩度 TN/kg	大理石纹 MBS	眼肌面积 REA/cm ²	肉色评分 MCS	脂肪评分 FCS
安格斯 Angus	0.99 \pm 0.06 ^a	2.76 \pm 0.13 ^b	1.97 \pm 0.13	66.80 \pm 1.44	4.33 \pm 0.16	1.32 \pm 0.06
海福特 Hereford	0.99 \pm 0.09 ^a	3.29 \pm 0.16 ^{ab}	2.65 \pm 0.18	62.27 \pm 1.29	4.08 \pm 0.15	1.16 \pm 0.06
西门塔尔 Simmental	0.64 \pm 0.04 ^b	4.13 \pm 0.26 ^a	2.45 \pm 0.19	63.25 \pm 1.20	4.16 \pm 0.15	1.23 \pm 0.06

^{a, b}. 标有不同肩标者差异显著 ($P < 0.05$)

^{a, b}. Means with different superscript within the same locus differ ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 *PON1/EcoRV* 位点多态性及相关分析

PON1/EcoRV 位点多态性是 *PON1* 基因第 6 外显子第 147 位 A 到 G 的转换造成的。本研究中首次计算了该位点不同基因型和各等位基因的频

率,哈代-温伯格平衡 χ^2 独立性检验表明该位点在品种间和西门塔尔牛 ($P = 0.022\ 307$) 中处于不平衡状态。这可能是由选择压造成的。当然,样本误差也是一个非常关键的影响因素。适合性检验模型中,品种效应相对于基因型效应来说对所有性状还是非常重要的。

表 6 *PON1/EcoRV* 和 *Alu I* 双位点基因型对生长和胴体性状的效应分析Table 6 Least square means and standard errors of growth and carcass traits obtained for the linkage genotype at the *PON1/EcoRV* and *Alu I* sites

基因型 Genotype	始质量 BW1/kg	宰前质量 SBW/kg	日增质量 ADG/(kg·d ⁻¹)	热胴体质量 HCW/kg	全骨质量 TBW/kg	净肉质量 NMW/kg	眼肉质量 REMW/kg
A _c A _c A _a A _a	345.29±16.15 ^a	575.93±28.80	0.70±0.03	306.86±16.99	25.33±0.70	275.30±14.11	1.33±0.07
A _c A _c A _a G _a	301.29±6.05 ^b	558.96±14.88	0.67±0.02	300.54±7.27	25.76±0.69	266.61±7.18	1.43±0.05
A _c A _c G _a G _a	296.00±7.59 ^b	534.94±23.29	0.62±0.07	294.42±14.12	24.67±1.13	255.13±11.11	1.34±0.05
A _c G _e A _a A _a	330.63±11.33 ^{ab}	582.81±16.58	0.69±0.07	317.05±8.95	25.87±1.15	273.47±7.99	1.41±0.03
A _c G _e A _a G _a	334.82±8.11 ^{ab}	582.91±9.69	0.69±0.05	316.02±7.28	25.85±0.51	278.53±4.66	1.46±0.04
A _c G _e G _a G _a	317.43±15.52 ^{ab}	558.57±24.20	0.62±0.10	303.54±15.95	25.48±0.91	266.54±11.90	1.38±0.08
G _e G _e A _a A _a	318.00±24.34 ^{ab}	566.38±26.46	0.66±0.06	310.00±15.96	26.59±1.16	264.89±12.86	1.39±0.13
G _e G _e A _a G _a	323.27±7.28 ^{ab}	553.43±14.07	0.65±0.04	299.49±10.31	25.95±0.64	263.73±6.80	1.38±0.07
G _e G _e G _a G _a	282.71±5.03 ^b	5547.86±9.91	0.66±0.02	296.19±7.31	25.02±1.06	261.42±4.68	1.37±0.12

基因型 Genotype	背膘厚 BFT/cm	嫩度 TN/kg	大理石纹 MBS	眼肌面积 REA/cm ²	肉色评分 MCS	脂肪评分 FCS
A _c A _c A _a A _a	1.20±0.26 ^{ab}	3.96±0.86	2.07±0.43	65.43±2.26	4.86±0.32	1.29±0.15
A _c A _c A _a G _a	0.81±0.08 ^{ab}	3.69±0.22	2.11±0.20	65.71±1.50	3.89±0.23	1.25±0.10
A _c A _c G _a G _a	0.65±0.10 ^b	3.61±0.26	2.67±0.39	62.22±2.09	4.06±0.23	1.22±0.09
A _c G _e A _a A _a	0.91±0.12 ^{ab}	2.93±0.24	2.31±0.35	63.75±2.34	4.63±0.28	1.25±0.13
A _c G _e A _a G _a	0.82±0.07 ^{ab}	2.97±0.26	2.35±0.22	66.88±1.43	4.38±0.24	1.29±0.07
A _c G _e G _a G _a	1.26±0.22 ^a	3.64±0.59	2.29±0.29	62.00±4.16	4.36±0.18	1.29±0.15
G _e G _e A _a A _a	0.85±0.20 ^{ab}	3.20±0.24	2.38±0.38	62.25±4.96	4.00±0.35	1.25±0.14
G _e G _e A _a G _a	0.86±0.09 ^{ab}	3.15±0.30	2.50±0.31	61.73±2.55	4.33±0.20	1.23±0.08
G _e G _e G _a G _a	0.80±0.16 ^{ab}	3.72±0.26	2.50±0.29	64.14±1.91	3.43±0.17	1.00±0.00

表中最小均值具有不同上标者差异显著 ($P < 0.05$)

LSM with different superscript differ ($P < 0.05$)

本研究结果表明,该位点中的 AG 基因型相对于其它 2 种基因型在生长和胴体方面可能为优势基因型。具有这种基因型的个体有着大的始质量,这可能是因为它们本身具有较大的断奶质量,并且尽管日增质量有所不同,但它们还是具有了较大的宰前质量。这样就导致它们会具有较大的净肉质量,从而提高经济效益。同时具有这种基因型的个体的嫩度要优于 AA 和 GG 基因型个体。

3.2 *PON1/AluI* 位点多态性及相关分析

PON1/Alu I 位点多态性是由第 6 外显子 162 位的 G 转变为 A 引起的。对该突变所引发的多态进行分析,存在 2 种等位基因和 3 种基因型。且哈代-温伯格 χ^2 显著性检验证明该位点在品种间和品种内均处于平衡状态。但小样本和选择压对它造成的影响仍须关注,这需要进一步利用大群体来检测。

关联分析暗示了该位点 AA 和 AG 基因型对肉牛的始质量、宰前质量、净肉质量以及肉色等性状有

着显著的生物学意义 ($P < 0.05$),并较 GG 基因型为好。同时,该位点的 AA 基因型个体在高的生长性能和胴体品质都较其它基因型要好。

由于在同一年龄水平上,品种效应,基因型与品种互作效应以及连锁分析对始质量所产生的不同作用,可能存在两方面的原因:早期营养水平和品种差异。连锁效应分析中背膘厚的差异可能是单倍型对其产生的基因型效应。

PONs 基因家族现已被证实与人的初生质量和妊娠缩短的新生儿体质量有关^[9]。*PON2* 蛋白中 Ser311Ser 在新生儿中与短的妊娠期高度相关^[10]。低活性的 *PON1* 蛋白或是 *PON1* 192 的人的尿酸二乙基磷酸盐与过低的初生质量高度相关,二甲基磷酸盐与短小体尺高度相关^[16]。这些结果暗示了 *PONs* 蛋白可能在家畜中有着相似的功能,基于这些事实,可以做进一步的相关研究,以期用于家畜的早期选择。

参考文献:

- [1] HAREL M, AHARONI A, GAIDUKOV L, et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11: 412-419.
- [2] KHERSONSKY O, TAWFIK D S. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON1 suggest that its native activity is lactonase [J]. *Biochemistry*, 2005, 44: 6371-6382.
- [3] National Center for Biotechnology Information (NCBI), 1999. OMIM Detailed, available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/disponim.cgi?id=168820>.
- [4] CHEONG H S, YOON D, KIM L H, et al. Titin-cap (TCAP) polymorphisms associated with marbling score of beef [J]. *Meat Science*, 2007, 77: 257-263.
- [5] CURIA R A, DE OLIVEIRAB H N, SILVEIRA A C, et al. Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle [J]. *Livestock Production Science*, 2005, 94: 159-167.
- [6] CURI R A, PALMIERI D A, SUGUISAWA L, et al. Effects of GHR gene polymorphisms on growth and carcass traits in Zebu and crossbred beef cattle [J]. *Livestock Science*, 2006, 101: 94-100.
- [7] JONATHAN Q P, DAVID S W, PATRICIA B, et al. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(12):5747-5752.
- [8] PAUL H B. The inflammatory consequences of psychologic stress; Relationship to insulin resistance, obesity, atherosclerosis and diabetes mellitus, type II [J]. *Medical Hypotheses*, 2006, 67: 879-891.
- [9] BUSCH C P, RAMDATH D D, RAMSEWAK S, et al. Association of PON2 variation with birth weight in Trinidadian neonates of South Asian ancestry [J]. *Pharmacogenetics*, 1999, 9(3):351-356.
- [10] LIANG H Y, WU BY, CHEN D F, et al. Association of CYP2E1 and PON2311 Polymorphisms in Neonates with Preterm [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(10):847-853.
- [11] HIMBERGEN T M, TITS L J H, ROEST1 M, et al. The story of poN1; how an organophosphate-hydrolysing enzyme is becoming a player in cardiovascular medicine [J]. *The Netherlands Journal of Medicine*, 2006, 64(2): 34-38.
- [12] NRC. Nutrient Requirement of Beef Cattle [M]. National Academy Press, Washington, DC, USA, 1996.
- [13] GRESHAM J D. Study Guide; Real-Time Ultrasound Training Conference [R]. Bovine Applications, University of Tennessee, Martin 1998; 20.
- [14] YE H F C, RONG-CAI Y. POPGENE VERSION 1.31-Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis [C]. University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International Forestry Research, 1999.
- [15] SAS, Statistical Analysis System, System for Windows [M]. 2002-2003, SAS Instit. Inc., Cary NC.
- [16] WOLFF M S, ENGEL S, BERKOWITZ G, et al. Prenatal pesticide and PCB exposures and birth outcomes [J]. *Pediatr Res*, 2007, 61(2):243-250.