

不同猪种肉质相关基因 *Hal*、*RN* 和 *FTO* 的多态性研究

陶 新, 邓 波, 门小明, 徐子伟*

(浙江省农业科学院畜牧兽医研究所, 杭州 310021)

摘要: 为了明确肉质相关基因氟烷基因(*Hal*)、酸肉基因(*RN*)和脂肪肥胖相关基因(*FTO*)在国内外不同猪种群体间的遗传变异特性,本研究以大约克、长白、杜洛克和金华猪等猪种群体为研究对象,应用 PCR-RFLP 技术分别检测了 *Hal*、*RN* 和 *FTO* 基因的多态性,并分析了 *FTO* 基因上 2 个多态位点 g. 276G>T 和 c. 594C>G 的遗传变异情况。结果表明:(1) 在杜洛克猪中发现了 *Hal* 的基因型 Hal^NHalⁿ,其频率为 0.166,但未发现基因型 HalⁿHalⁿ,其它猪种群体中仅检测到了基因型 Hal^NHal^N;(2)在已检测的所有猪种群体中只检测到 *RN* 基因的 rn/rn 基因型,未发现 rn/*RN* 和 *RN*/*RN* 基因型;(3)在 *FTO* 的 g. 276G>T 位点上,金华猪呈现单态,其它猪种群体均呈现多态。在 *FTO* 的 c. 594C>G 位点上,4 个猪种群体均呈现多态,3 个外来猪种群体均以 CC 基因型频率较高,而金华猪则以 GG 基因型频率较高。研究结果提示,由于 *Hal* 基因在养猪生产中的利弊双重性,因此在某些猪种群体中仍然存在较高频率的 Hal^NHalⁿ 基因型。此外,结合 *FTO* 基因的生理功能和已有的研究结果,可在特定的猪群中将其作为影响猪肉肉质性状的候选基因。本研究发现 *FTO* 的基因型分布在我国优良地方猪种金华猪与国外 3 个种猪种群间存在较大差异,为深入研究不同品种猪的肉质形成机理提供了基础数据。

关键词: *FTO* 基因; *Hal* 基因; *RN* 基因; PCR-RFLP; 猪

中图分类号: S828; Q343.15

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)05-0676-08

Research on Polymorphism of *Hal*, *RN* and *FTO* Genes Related to Meat Quality in Different Pig Breeds

TAO Xin, DENG Bo, MEN Xiao-ming, XU Zi-wei*

(Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: To investigate the genetic variability of *Hal*, *RN* and *FTO* genes related to meat quality among foreign and Chinese pig breeds, the polymorphism of these genes in four pig breeds including Duroc, Landrace, Large Yorkshire and Jinhua pig were detected by PCR-RFLP, respectively. The genetic variation of g. 276G>T and c. 594C>G in *FTO* gene were analyzed. The results showed as follows: (1) For *Hal* gene, Hal^NHalⁿ genotype was detected and its frequency was 0.166, but no HalⁿHalⁿ genotype was detected in Duroc pig. Only Hal^NHal^N genotype was found in Landrace, Large Yorkshire and Jinhua pig. (2) For *RN* gene, only rn/rn genotype was detected in four pig breeds. (3) At g. 276G>T site in *FTO* gene, three breeds including Duroc, Landrace and Large Yorkshire pig had polymorphism, but Jinhua pig had no polymorphism. At c. 594C>G site in *FTO* gene, all the breeds had polymorphism. However, higher CC genotype frequency was found in Duroc, Landrace and Large Yorkshire pig, but in Jinhua pig GG genotype frequency was higher. These results indicate that higher frequency of Hal^NHalⁿ

收稿日期: 2011-08-04

基金项目: 国家自然科学基金(31172220); 国家现代农业产业技术体系(CARS-36); 浙江省重点科技创新团队项目(2010R50027)

作者简介: 陶 新(1975-), 女, 山东东阿人, 副研究员, 博士, 主要从事生猪健康养殖研究, Tel: 0571-86419028, E-mail: xindragon@126.com

* 通讯作者: 徐子伟, E-mail: xzwfyfz@sina.com

genotype has existed in some pig breeds because *Hal* gene show benefits and defects for pig production. Moreover, *FTO* gene could be regarded as a candidate gene affecting meat quality in special pig populations according to its known functions and the previous reports. This result show that the genotypes of *FTO* are very significantly different between the foreign breeds and Chinese indigenous breeds, which provide some data for further study on the molecular mechanism of meat quality of different pig breeds.

Key words: *FTO* gene; *Hal* gene; *RN* gene; PCR-RFLP; pig

猪的肉质性状多数是数量性状,由多基因控制,但也存在主效基因。目前已明确的对肉质产生不良影响的主效基因包括氟烷基基因(*Hal*)和酸肉基因(*RN*)。其中携带有氟烷基基因隐性纯合子($Hal^l Hal^l$)的猪,一般具有较高的瘦肉率、生长速度和饲料报酬,但易产生应激综合症,严重影响猪的存活率和猪肉品质,导致猪的应激死亡和产生白肌肉(PSE肉)及黑干肉(DFD肉)^[1]。而酸肉基因则呈显性遗传,其中的等位基因 RN^+ 可使猪肉最终 pH 降低,猪肉加工后失重多、引起酸肉状态^[2]。这 2 个肉质不良主效基因均已经在育种实践中成功应用。脂肪肥胖相关基因 *FTO*(Fatso, fat mass and obesity associated gene)是 2007 年新发现的与人类肥胖相关的基因^[3],在人类和鼠上的研究表明该基因在控制食欲和能量消耗方面具有重要作用^[4-6]。*FTO* 在猪上的研究起步较晚,猪 *FTO* 基因定位在 6 号染色体上^[7],这一染色体区域被认为是调控许多脂肪性状的数量性状位点的区域^[8]。猪 *FTO* (GenBank NM001112692)的 cDNA 全长 2 848 bp,该序列与人和小鼠的 cDNA 序列同源性分别为 88%和 83%。在猪的肌肉、大脑、小脑、海马、肝脏、肾脏和心脏等多个组织器官中均检测到了较高的 *FTO* mRNA 丰度^[9]。国外对猪 *FTO* 基因的遗传变异与其肌内脂肪(IMF)、肌间脂肪的沉积、大理石评分、滴水损失及瘦肉率等猪肉品质性状关系的研究已有零星报道^[10-11],在意系杜洛克和巴克夏×约克夏二元杂交猪群上的检测结果表明,猪 *FTO* 基因的第 3 外显子和第 4 内含子的 2 个多态位点与肌内脂肪和肌间脂肪的沉积存在相关关系^[12-15]。

因此,本研究旨在明确 *Hal* 和 *RN* 在具有不同肉质的国内外不同猪种群体间的分布情况,并进一步了解 *FTO* 基因上与肉质相关的 2 个多态位点在不同种群间的遗传变异特性,为不同品种猪的肉质改良研究奠定基础,并为下一步利用标记辅助选择(MAS)进行早期选种提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品收集

采用国内外具有不同肉质性状的 4 个猪种群体为试验材料,其中中国地方猪种金华公猪 28 头采自浙江加华种猪有限公司;外来猪种大约克 58 头(公 20 头,母 38 头)、长白 32 头(公 12 头,母 20 头)和台系杜洛克 70 头(公 30 头,母 40 头)均采自浙江省农业科学院海宁科技牧场。前腔静脉采血 2 mL, EDTA 抗凝, -20 °C 保存备用。

1.2 猪的基因组 DNA 提取

按常规的酚-氯仿法从全血中提取基因组 DNA^[16],分别用紫外分光光度计和 1%琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的浓度和质量,稀释成 50 ng· μL^{-1} 浓度作为 PCR 扩增的模板。

1.3 引物合成与 PCR 扩增

分别根据相关参考文献合成 *Hal*^[17]、*RN*^[18] 和 *FTO*^[10-11] 基因的引物(表 1),引物序列由上海生物工程技术服务有限公司合成。

PCR 分别扩增 *Hal* 的 659 bp 片段、*RN* 的 258 bp 片段及 *FTO* 基因第 3 外显子 240 bp 和第 4 内含子 397 bp 的基因片段。PCR 扩增反应体系均为 25 μL ,模板 DNA 约 100 ng,20 pmol dNTPs,上下游引物各 2.5 pmol,1.5 U 的 *Taq* DNA 聚合酶。PCR 扩增程序:94 °C 预变性 5 min;然后 30 个循环,每个循环 94 °C 变性 30 s,退火(表 1)30 s,72 °C 延伸 30 s;最后 72 °C 延伸 5 min。扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 RFLP 试验

利用 *Hha*I 限制性内切酶酶切 *Hal* 基因 659 bp 的扩增产物;*Bsr*B I 限制性内切酶酶切 *RN* 基因 258 bp 的扩增产物;分别利用 *Tai* I 和 *Bst*u I 限制性内切酶酶切 *FTO* 基因 397 和 240 bp 的扩增产物。酶切反应体系均为 20 μL ;其中 PCR 扩增产物为 10 μL ,限制性内切酶为 4 U,37 °C (*Tai* I 限制性

内切酶为 65 ℃) 反应 8 h。酶切产物用 3% 琼脂糖凝胶电泳分析并确定基因型。

表 1 *Hal*、*RN* 和 *FTO* 基因 PCR-RFLP 分析选用的引物信息

Table 1 Primer information for PCR-RFLP analysis of *Hal*, *RN* and *FTO* genes

基因 Gene	扩增片段/bp Size	退火温度/℃ T _m	引物序列(5'-3') Primer sequence
<i>Hal</i>	659	58	F: TCCAGTTTGCCACAGGTCCTACCA
			R: ATTCACCGGAGTGGAGTCTCTGAG
<i>RN</i>	258	58	F: GGAGCAAATGTGCAGACAAG
			R: CCCACGAAGCTCTGCTT
<i>FTO</i>	240	60	F: TGCAGATTGAGACCATCCAG
			R: TCTTCCCCATGCCAAAGTAG
<i>FTO</i>	397	60	F: ACAGGCCCTGAAGAGGAAAG
			R: AGTAACCTGGAGTTCCTGTGG

1.5 数据统计和分析

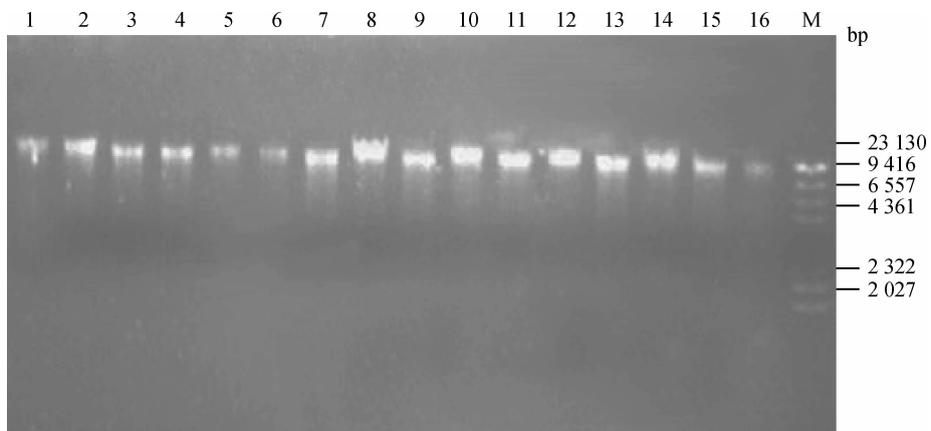
分别统计不同猪种群体 *Hal*、*RN* 及 *FTO* 基因 g. 276G>T 和 c. 594C>G 位点的基因型频率和等位基因频率, 并对 *FTO* 基因上 2 个多态位点的基因型频率分布使用 POPGENE3.1 统计分析软件进行 Hardy-Weinberg 平衡 χ^2 和 G^2 检验。利用 SPSS17.0 对 *FTO* 基因上 2 个多态位点的基因型进行不同猪种群体间的卡方检验(Chi-square Test)。

2 结果

2.1 不同猪种群体全血基因组 DNA 提取及 *Hal*、*RN* 和 *FTO* 基因的 PCR 扩增结果

不同猪种群体全血基因组 DNA 提取结果经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 基因组 DNA 的大小在 23 kb 左右, 且基因组 DNA 的完整性较好(图 1)。

Hal 和 *RN* 基因, 及 *FTO* 基因上的 g. 276G>T 和 c. 594C>G 2 个多态位点的扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 分别在 659、258、397 和 240 bp 左右出现 1 条清晰、特异性较好的 DNA 条带(图 2)。

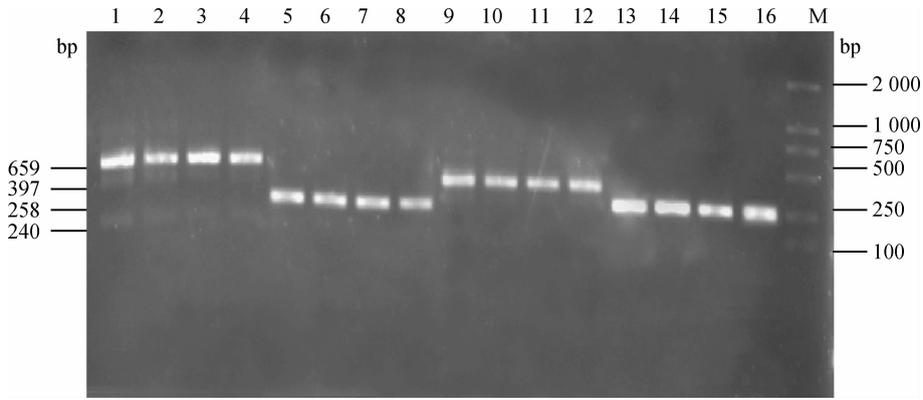


1~4. 大约克猪; 5~8. 长白猪; 9~12. 杜洛克猪; 13~16. 金华猪; M. DNA 相对分子质量标准 λ -Hind III digest marker

1-4. Large Yorkshire pig; 5-8. Landrace pig; 9-12. Duroc pig; 13-16. Jinhua pig; M. λ -Hind III digest DNA marker

图 1 不同猪种群体全血基因组 DNA 提取的琼脂糖电泳图

Fig. 1 Agrose gel image of blood genomic DNA of different pig breeds



1~4. 659 bp *Hal* 基因 PCR 扩增产物;5~8. 258 bp *RN* 基因 PCR 扩增产物;9~12. 397 bp *FTO* 基因 PCR 扩增产物;13~16. 240 bp *FTO* 扩增 PCR 产物;M. DNA 相对分子质量标准 DL2000

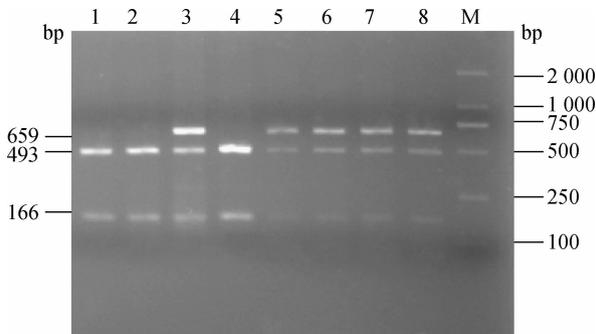
1-4. 659 bp *Hal* PCR products; 5-8. 258 bp *RN* PCR products; 9-12. 397 bp *FTO* PCR products; 13-16. 240 bp *FTO* PCR products; M. DNA marker DL2000

图 2 *Hal*、*RN* 及 *FTO* 基因 PCR 扩增产物的琼脂糖电泳图

Fig. 2 Agrose gel image of PCR product of *Hal*, *RN* and *FTO* genes

2.2 *Hal*、*RN* 和 *FTO* 基因 PCR 扩增产物的酶切结果

若 *Hal* 基因未发生突变, *Hha* I 限制性内切酶可将 659 bp 长度的 *Hal* DNA 片段切为 493 和 166 bp 2 条带, 即基因型为 $Hal^N Hal^N$ 。如果基因型为 $Hal^n Hal^n$, 由于扩增产物不能被 *Hha* I 内切酶识别, 对 PCR 产物不能酶切, 所以只得到 659 bp 1 条带。而对于杂合子 $Hal^N Hal^n$, 酶切电泳时可得到 659、493 和 166 bp 3 条带。不同猪种血液样本 DNA 的扩增产物经 *Hha* I 限制性内切酶酶切的部分电泳结果见图 3。



1, 2, 4. $Hal^N Hal^N$ 基因型; 3, 5~8. $Hal^N Hal^n$ 基因型; M. DNA 相对分子质量标准 DL2000

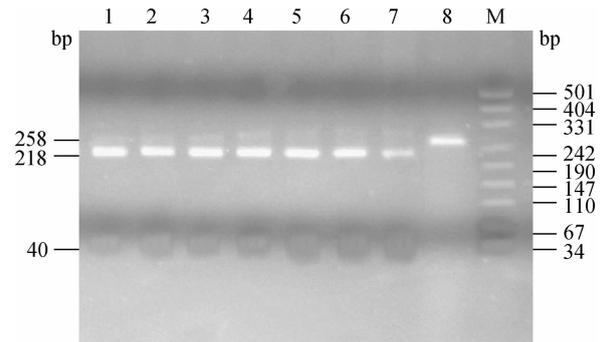
1, 2, 4. $Hal^N Hal^N$; 3, 5-8. $Hal^N Hal^n$; M. DNA marker DL2000

图 3 *Hal* 基因 PCR 产物的酶切电泳图

Fig. 3 Agrose gel image of digestion of *Hal* gene

同样, *RN* 基因使用 *Bsr*B I 酶切后, rn/rn 基因型被酶完全切开, 出现 218 和 40 bp 2 条特异性条

带; 杂合子 RN/rn 基因型则被内切酶不完全酶切, 出现 258、218 和 40 bp 3 条带; RN/RN 基因型则完全不能被酶切开, 形成 1 条带。不同猪种血液样本 DNA 的扩增产物经 *Bsr*B I 限制性内切酶酶切的部分电泳结果见图 4。



1~7. rn/rn 基因型; 8. *RN* 基因 PCR 产物; M. DNA 相对分子质量标准 DL501

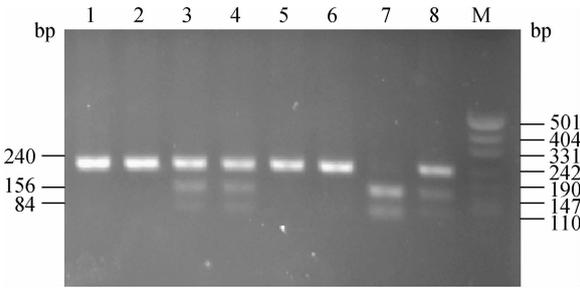
1-7. rn/rn ; 8. *RN* PCR products; M. DNA marker DL501

图 4 *RN* 基因 PCR 产物的酶切电泳图

Fig. 4 Agrose gel image of digestion of *RN* gene

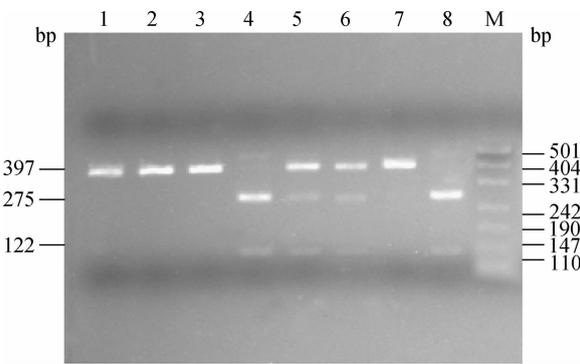
本研究利用 *Bst*u I 和 *Tai* I 2 种限制性内切酶分别对 *FTO* 基因的第 3 外显子和第 4 内含子的基因片段进行酶切。利用 *Bst*u I 酶切 PCR 产物后, *FTO* 的基因型及相应酶切片段长度分别为 CG: 240/156/84 bp, GG: 156/84 bp, CC: 240 bp; 利用 *Tai* I 酶切 PCR 产物后, *FTO* 的基因型及相应酶切片段长度分别为 TG: 397/275/122 bp, GG: 275/122 bp, TT: 397 bp。不同种猪血液样本 DNA 的扩增产物经 *Bst*u I 和 *Tai* I 2 种限制性内

切酶酶切的部分电泳结果见图 5 和图 6。



1、2、5、6. CC 基因型;3、4、8. CG 基因型;7. GG 基因型;M. DNA 相对分子质量标准 DL501

1、2、5、6. CC; 3、4、8. CG; 7. GG; M. DNA marker DL501
图 5 *FTO* 基因 g. 276G>T 位点 PCR 产物的酶切电泳图
Fig. 5 Agrose gel image of digestion at g. 276G>T site of *FTO* gene



1~3、7. TT 基因型;4、8. GG 基因型;5、6. TG 基因型;M. DNA 相对分子质量标准 DL501

1-3, 7. TT; 4, 8. GG; 5, 6. TG; M. DNA marker DL501
图 6 *FTO* 基因和 c. 594C>G 位点 PCR 产物酶切电泳图
Fig. 6 Agrose gel image of digestion at c. 594C>G site of *FTO* gene

2.3 等位基因和基因型频率

经分析,在 *Hal* 基因的 *Hha* I 酶切位点上,在所检测的 70 头台系杜洛克群体中发现了氟烷基因的杂合子 $Hal^N Hal^n$, 其基因型频率为 0.166, 但未发现纯合的隐性氟烷基因 $Hal^n Hal^n$; 在已检测的大约克、长白和金华猪等种猪群体中只存在纯合的显性氟烷基因 $Hal^N Hal^N$, 未发现 $Hal^N Hal^n$ 及 $Hal^n Hal^n$ 的基因型。在 *RN* 基因的 *Bsr*BI 酶切位点上,在已检测的大约克、长白、杜洛克和金华猪等 4 个种猪群体中均只存在 rn/rn 的隐性纯合子, 未检测到 RN/RN 和 RN/rn 的基因型。

各猪种 *FTO* 基因上 g. 276G>T 和 c. 594C>G 位点的 PCR-RFLP 基因型频率及等位基因频率的统计结果见表 2。在 g. 276G>T 位点上,金华猪只出现 GG 型 1 种基因型,大约克、长白和杜洛克等 3 个种猪群体均出现 GG、GT 和 TT 3 种基因型,而且都表现为等位基因 T 的频率较高。在 c. 594C>G 位点上,4 个猪群都出现 CC、CG 和 GG 3 种基因型。

4 个中外猪种 g. 276G>T 和 c. 594C>G 多态位点的 Hardy-Weinberg(HD)平衡状态分析结果见表 3。经 χ^2 和 G^2 适合性检验的大约克、长白和杜洛克 3 个国外猪种均在 g. 276G>T 多态位点处于 HD 平衡状态($P>0.05$)。在 c. 594C>G 多态位点上,大约克和杜洛克种猪群体表现出 HD 平衡状态($P>0.05$),而长白猪和金华猪在此位点处于不平衡状态($P<0.05$)。

表 2 *FTO* 基因 g. 276G>T 和 c. 594C>G 位点不同基因型频率及等位基因频率在不同猪种群间的分布

Table 2 Genotype and allele frequencies of g. 276G>T and c. 594C>G sites for porcine *FTO* gene in different pig breeds

位点 Loci	品种 Breed	供试动物头数 Number	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency	
			TT	TG	GG	T	G
g. 276G>T	大约克 Large Yorkshire	58	0.672 4	0.258 6	0.069 0	0.801 7	0.198 3
	长白 Landrace	32	0.562 5	0.281 3	0.156 3	0.703 1	0.296 9
	杜洛克 Duroc	70	0.414 3	0.414 3	0.171 4	0.621 5	0.378 5
	金华猪 Jinhua	28	0	0	1.000 0	0	1.000 0
c. 594C>G	大约克 Large Yorkshire	58	0.069 0	0.344 8	0.586 2	0.241 4	0.758 6
	长白 Landrace	32	0.125 0	0.125 0	0.750 0	0.187 5	0.812 5
	杜洛克 Duroc	70	0.171 4	0.428 6	0.400 0	0.385 7	0.614 3
	金华猪 Jinhua	28	0.678 6	0.142 9	0.178 6	0.750 0	0.250 0

表 3 *FTO* 基因 g. 276G>T 和 c. 594C>G 在不同猪种群中的 Hardy-Weinberg 平衡状态分析Table 3 Hardy-Weinberg equilibrium at g. 276G>T and c. 594C>G sites of *FTO* gene in different pig breeds

品种 Breed	g. 276G>T				c. 594C>G			
	χ^2	<i>P</i>	<i>G</i> ²	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>	<i>G</i> ²	<i>P</i>
大约克 Large Yorkshire	2. 256 6	0. 133 0	2. 015 1	0. 155 7	0. 264 9	0. 606 8	0. 256 8	0. 612 3
长白 Landrace	3. 797 1	0. 0513	3. 604 6	0. 057 6	12. 254 6	0. 000 4	9. 765 2	0. 001 8*
杜洛克 Duroc	1. 125 7	0. 288 7	1. 117 2	0. 290 5	0. 741 0	0. 389 3	0. 736 8	0. 390 7
金华猪 Jinhua	—	—	—	—	11. 666 9	0. 000 6	10. 554 1	0. 001 2*

—表示该位点为单态,没有计算 χ^2 值; * . *P* < 0. 05

—Indicate the loci is single polymorphic, no χ^2 value; * . *P* < 0. 05

2. 4 *FTO* 在猪种群体间的遗传变异关系

对各猪种 *FTO* 基因 g. 276G>T 和 c. 594C>G 位点的 PCR-RFLP 基因型分布进行卡方检验的差异显著性结果见表 4 和表 5。在 g. 276G>T 位点上,长白和大约克、杜洛克猪之间的卡方值均无显著差异(*P*>0. 05),而杜洛克与大约克猪之间表现出显著差异(*P*<0. 05),金华猪与外来的 3 个猪种两两之间均在 *P*<0. 01 的水平上表现出极显著差异。在 c. 594C>G 位点上,大约克与杜洛克、长白猪之间的卡方值无显著差异(*P*>0. 05),而长白与杜洛克猪之间表现出极显著差异(*P*<0. 01),金华猪与其它 3 个猪种两两之间也均在 *P*<0. 01 的水平上表现出极显著差异。

表 4 *FTO* 基因 g. 276G>T 位点不同基因型在不同猪种群体间的分布卡方检验表Table 4 Chi-square test of genotype distribution at g. 276G>T site of *FTO* gene in different pig breeds

	长白 Landrace	杜洛克 Duroc	金华 Jinhua
大约克 Large Yorkshire	2. 004	8. 878*	70. 060**
长白 Landrace		2. 121	49. 955**
杜洛克 Duroc			56. 840**

*. *P*<0. 05, **. *P*<0. 01。下同

*. *P*<0. 05, **. *P*<0. 01. The same as below

3 讨 论

猪品种的遗传特征是在一定的自然和社会条件下,通过人们不断选育而形成的。但环境的改变和

人为选育的影响,品种遗传多样性也会发生一些变化。据调查,不同猪种 *Hal* 基因的频率不同,大约克氟烷基因的频率约为 0. 1,长白猪约为 0. 2,杜洛克约为 0. 02,而我国地方猪种不含隐性氟烷基因或频率极低^[19]。本试验中,在长白、大约克和金华猪等 3 个猪种群体中均未发现隐性氟烷基因的纯合子和杂合子,但在台系杜洛克猪种群体中却发现了较高频率的氟烷基因杂合子的存在。这主要是由于氟烷基因杂合型与正常猪相比,其饲料利用率高、胴体产量和胴体瘦肉率高^[20],这种差异可能在台系杜洛克猪种中表现的极为突出,从而通过人为选育得到合理利用的结果。而在大约克和长白猪中,由于携带有氟烷基因杂合子的猪种生产性能和产肉性能与正常猪相比差异不显著或者在生产过程中容易发生猪热应激综合症,而得到了净化和剔除。据报道,在我国的地方猪种中,大多数品种不存在隐性氟烷基因或频率很低,但部分品种也存在隐性氟烷基因且频率较高,如民猪^[21],不过至今未见在金华猪上发现隐性氟烷基因的报道。

表 5 *FTO* 基因 c. 594C>G 位点不同基因型在不同猪种群体间的分布卡方检验表Table 5 Chi-square test of genotype distribution at c. 594C>G site of *FTO* gene in different pig breeds

	长白猪 Landrace	杜洛克 Duroc	金华 Jinhua
大约克 Large Yorkshire	5. 324	5. 504	35. 919**
长白 Landrace		11. 650**	22. 062**
杜洛克 Duroc			23. 879**

RN 基因也是影响猪肉品质性状的一个主效基因,该基因呈显性遗传,可导致猪肉最终 pH 降低,加工后引起酸肉状态,且使肌肉滴水损失增加约 20%,肌肉的净化损失增加约 25%。*RN* 基因首次发现于汉普夏猪,在美国该猪种中其显性等位基因(*RN*)的频率可高达 0.63^[22]。此外,在长白、和大约克猪中也检测到了一定频率的 *RN* 显性等位基因,特别是在中国地方猪种岔路黑猪中发现其等位基因频率可达 0.37^[23]。但在本研究中,长白猪、大约克和台系杜洛克等 3 个外来猪种群体酸肉基因的基因型均为 *rn/rn* 隐性纯合,未发现 *RN* 显性等位基因,说明在长期的选种选育过程中 *RN* 基因明显受到了人为定向的淘汰。此外,目前很多育种公司已将改善肉质作为育种的主要目标之一,从而也进一步降低了酸肉基因的分布。而且,本次试验也并未在金华猪群中检测到 *RN* 显性等位基因,也未见类似报道。有可能是金华猪本身就不存在 *RN* 基因,但由于本试验样本量偏小,因此该结果尚需进一步验证。

肌肉脂肪和肌间脂肪含量已成为评价猪肉品质的重要指标,其沉积与机体的能量代谢密切相关。而 *FTO* 基因具有控制机体能量消耗的作用,国外已有大量报道证实 *FTO* 基因的单核苷酸多态性(SNP)与儿童和成年人的肥胖有着很强的相关性^[24]。在猪上的研究发现 *FTO* 基因的 2 个多态位点 *g. 276G>T* 和 *c. 594C>G* 与肌肉脂肪和肌间脂肪的沉积呈显著相关。已有的研究报道表明在 *FTO* 的 *g. 276G>T* 位点上,大约克、长白、大白、汉普夏和皮特兰等猪种群体中都呈现多态,但梅山猪上只表现单态,均为 *GG* 型^[11]。与此相一致,在本试验中已检测的大约克、长白和杜洛克猪种群体中均在 *g. 276G>T* 位点上表现为多态,而中国地方猪种金华猪则表现为单态,同样均为 *GG* 型。在 *FTO* 的 *c. 594C>G* 位点上,本试验中已检测的 3 个外来猪种大约克、长白和杜洛克猪及中国地方猪种金华猪均呈现多态,但 3 个外来猪种中等位基因 *C* 的频率较高,而中国地方猪种金华猪的等位基因 *G* 频率较高。Hardy-Weinberg 平衡状态分析结果表明在 *g. 276G>T* 这个多态位点上,3 个外来猪种群体均处于 HD 平衡状态,这可能是由于这几个群体在适应性方面具有遗传优势,并在长期进化和选择过程中达到了平衡状态。而在 *c. 594C>G* 这个多态位点上,长白猪和金华猪则处于 Hardy-Weinberg 不

平衡状态,可能是由于长白猪和金华猪在长期进化过程中受到人为选育的影响造成的,特别是在金华猪的选育上,肉质一直被作为一个极为重要的经济性状而不容忽视。但由于本试验选取的几个猪群的样本量均较小,因此该结果仍需要在大群体中进行检验和验证。

4 结 论

在台系杜洛克猪种群体中发现了较高频率的氟烷基因杂合子存在,但在长白猪、大约克和金华猪中均未发现隐性氟烷基因的纯合子及杂合子,该研究结果表明 *Hal* 基因在养猪生产中的利弊双重性,因此在某些种猪群体中仍存在较高频率。而在已检测的国内外 4 个猪种群体中,酸肉基因均为 *rn/rn* 隐性纯合。在 *FTO* 基因的 *g. 276G>T* 位点上,除金华猪表现为单态外,其它 3 个外来猪种均表现为多态;而在 *FTO* 的 *c. 594C>G* 位点上,已检测的 4 个猪种均呈现多态,但金华猪的等位基因 *G* 频率较高,而其它 3 个外来猪种等位基因 *C* 的频率较高。提示 *FTO* 基因在国内外不同种猪群体间的这种差异极有可能是其肉质性状形成的遗传背景之一。

参考文献:

- [1] GELDERMANN H, MÜLLER E, BEECKMANN P, et al. Mapping of quantitative-trait loci by means of marker genes in F₂ generations of Wild boar, Pietrain and Meishan pigs [J]. *J Anim Breed Genet*, 1996, 113: 381-387.
- [2] LE ROY P, NAVEAU J, ELSEN J M, et al. Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs [J]. *Genet Res*, 1990, 55:33-40.
- [3] FRAYLING T M, TIMPSON N J, WEEDON M N, et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity [J]. *Science*, 2007, 316: 889-894.
- [4] KLÖTING N, SCHLEINITZ D, RUSCHKE K, et al. Inverse relationship between obesity and *FTO* gene expression in visceral adipose tissue in humans [J]. *Diabetologia*, 2008, 51: 641-647.
- [5] OLSZEWSKI P K, FREDRIKSSON R, OLSZEWSKA A M, et al. Hypothalamic *FTO* is associated with the regulation of energy intake not feeding reward [J]. *BMC Neurosci*, 2009, 27:129-140.
- [6] FISCHER J, KOCH L, EMMERLING C, et al. Inactivation of the *FTO* gene protects from obesity [J].

- Nature*, 2009, 458:894-898.
- [7] DU Z Q, FAN B, ZHAO X, et al. Association analyses between type 2 Diabetes genes and obesity traits in pigs[J]. *Obesity*, 2008, 17:323-329.
- [8] HU Z L, REECY J M. Animal QTLdb: beyond a repository—a public platform for QTL comparisons and integration with diverse types of structural genomic information [J]. *Mamm Genome*, 2007, 18:1-4.
- [9] MADSEN M B, BIRCK M M, FREDHOLM M, et al. Expression studies of the obesity candidate gene *FTO* in pig [J]. *Anim Biotechnol*, 2010, 21:51-63.
- [10] FAN B, DU Z Q, ROTHSCHILD M F. The fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene is associated with intramuscular fat content and growth rate in the pig [J]. *Anim Biotechnol*, 2009, 20:58-70.
- [11] FONTANESI L, SCOTTI E, BUTTAZZONI L, et al. The porcine fat mass and obesity associated (*FTO*) gene is associated with fat deposition in Italian Duroc pigs [J]. *Anim Genet*, 2009, 40:90-93.
- [12] FONTANESI L, SCOTTI E, BUTTAZZONI L. Confirmed association between a single nucleotide polymorphism in the *FTO* gene and obesity-related traits in heavy pigs [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 461-466.
- [13] ZHANG L F, MIAO X T, HUA X C, et al. Polymorphism in 5' regulatory region of the porcine fat mass and obesity associated(*FTO*)gene is associated with intramuscular fat content in a Jinhua×Pietrain F2 Reference population [J]. *J Anim Vet Adv*, 2009, 8:2329-2334.
- [14] FAN B, LKHAGVADORJ S, CAI W, et al. Identification of genetic markers associated with residual feed intake and meat quality traits in the pig [J]. *Meat Sci*, 2010, 84:645-650.
- [15] SWITONSKI M, STACHOWIAK M, CIESLAK J, et al. Genetics of fat tissue accumulation in pigs: a comparative approach [J]. *J Appl Genet*, 2010, 51: 153-168.
- [16] 卢圣栋. 现代分子生物学技术[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 1999.
- [17] FUJII J, OTSU K, ZORZATO F, et al. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia [J]. *Science*, 1991, 253:448-451.
- [18] LE ROY P, ELSEEN J M, CARITEZ J C, et al. Comparison between the three porcine *RN* genotypes for growth, carcass composition and meat quality traits [J]. *Genet Sel Evol*, 2000, 32:165-186.
- [19] 刘红林, 陈 杰, 徐银学, 等. 猪肉品质及其影响因素 [J]. 畜牧与兽医, 2000, 32(6): 38-40.
- [20] LEACH M, ELLIS M, SUTTON D S, et al. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negativer pigs [J]. *J Anim Sci*, 1996, 74:934-943.
- [21] 李来记, 张 沅, 李 宁. 猪恶性高温综合征 (MHS) 基因群体检测及部分片段 DNA 序列研究 [J]. 中国兽医学报, 1996, 16(6): 540-545.
- [22] HAMILTON D N, ELLIS M, MILLER K D, et al. The effect of the Halothane and Rendement Napole genes on carcass and meat quality characteristics of pigs [J]. *J Anim Sci*, 2000, 78:2862-2867.
- [23] 赵 进, 罗玉衡, 张金枝, 等. 岔路黑猪酸肉基因的多态性分析[J]. 养猪, 2005, (6): 25-26.
- [24] DINA C, MEYRE D, GALLINA S, et al. Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity [J]. *Nat Genet*, 2007, 39:724-726.

(编辑 郭云雁)