

## 鸡 *GH* 和 *POU1F1* 基因多态性及基因聚合对产蛋数的影响

李国辉<sup>1</sup>, 魏岳<sup>2</sup>, 张学余<sup>1\*</sup>, 韩威<sup>1</sup>, 屠云洁<sup>1</sup>, 苏一军<sup>1</sup>

(1.中国农业科学院 家禽研究所, 江苏 扬州 225003; 2.扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 以 *GH* 和 *POU1F1* 作为影响鸡繁殖性状的候选基因, 采用 PCR-SSCP 方法, 检测白耳鸡 *GH* 外显子 4 和 *POU1F1* 外显子 3 区域的单核苷酸多态性, 并利用最小二乘法分析 *GH*、*POU1F1* 单基因型和两基因聚合基因型与 72 周龄产蛋数的关联。结果表明, *GH* 基因 exon4 (C2338G\C2341T) 的突变和 *POU1F1* 基因 exon3 的突变 (A5331T) 基因型 CC 与白耳鸡的 72 周龄产蛋数显著相关 ( $P < 0.05$ )。基因型 AA、CC 对产蛋数的加性效应分别为 3.80 和 3.57。聚合基因型 AACCC 个体 72 周龄产蛋数 (除基因型 ABCCC 外) 与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。两基因间的互作效应不显著 ( $P > 0.05$ )。扩繁  $F_1$  代聚合基因型 AACCC 个体 72 周龄产蛋数与前一世代相当。

**关键词:** *GH* 基因; *POU1F1* 基因; 白耳鸡; 基因聚合; 产蛋数

中图分类号: S831.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)04-0445-04

### Effect of single and pyramiding genotypes of *GH* and *POU1F1* on egg production of Baier chicken

LI Guo-hui<sup>1</sup>, WEI Yue<sup>2</sup>, ZHANG Xue-yu<sup>1\*</sup>, HAN Wei<sup>1</sup>, TU Yun-jie<sup>1</sup>, SU Yi-jun<sup>1</sup>

(1. Poultry Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Yangzhou, Jiangsu 225003, China; 2. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

**Abstract:** The chicken *GH* and *POU1F1* gene was selected as candidate genes, PCR-SSCP method was used to identify the polymorphism sites in the exon4 region of *GH* gene and in the exon3 region of *POU1F1* gene. Association between the founded polymorphism sites as well as pyramiding genotypes and egg production traits were tested by least square analysis. The results showed the founded polymorphism sites (C2338G\C2341T) of *GH* gene exon4 had a significant correlation with the egg number at 72 weeks ( $P < 0.05$ ). Additive effects of genotype AA for *GH* genes were 3.80. The founded polymorphism sites (A5331T) *POU1F1* gene exon3 had a significant correlation with egg production at 72 weeks age. Additive effects of genotype CC for *POU1F1* genes were 3.57. The pyramiding genotype AACCC had higher 72 weeks of age egg production compared to that of other pyramiding genotypes ( $P < 0.05$ ). Its interactive effect was not significant ( $P > 0.05$ ). Egg production of generation  $F_1$  was much the same as that of their motherhood.

**Key words:** *GH*; *POU1F1*; Baier chicken; gene pyramiding; eggs production

生长激素 (growth hormone, GH) 与生长激素受体结合, 通过类胰岛素生长因子的媒介作用促进细胞的增生与分化<sup>[1]</sup>。GH 编码基因全长 3 901 bp, 包括 5 个外显子和 4 个内含子, 编码 191 个氨基酸<sup>[2]</sup>。GH

基因变异对家畜、家禽的生长发育、繁殖和其他生产性状的可能影响越来越受到关注。垂体特异性转录因子 (POU1F1) 参与调节机体细胞的生长与发育, 并对垂体激素分泌细胞的基因转录起重要调节作

收稿日期: 2010-03-05

基金项目: 国家“863”计划项目 (2008AA101009-7)、(2006AA10Z1D8); 国家科技支撑计划项目 (2008BADB2B01); 江苏省科技支撑计划项目 (BE2008361)

作者简介: 李国辉 (1979—), 男, 内蒙古赤峰人, 助理研究员, 主要从事家禽遗传育种与家禽资源保护研究, sahui2008@163.com;

\*通讯作者, zhangxueyu5697@sina.com

用<sup>[3-4]</sup>。POUIF1与垂体中GH、TSH以及POUIF1自身的启动子结合,通过调节这些基因的表达对家禽的生长、发育、繁殖和免疫<sup>[5]</sup>等起重要作用。基因聚合在植物中已经得到应用,并取得了良好的效果<sup>[6]</sup>,但在动物育种中的研究甚少,单个基因标记辅助育种却很多。中国农业大学李宁领导的研究小组,采用基因组分析技术,在确定基因ESR和FSH的聚合基因型对猪产仔数提高效应的基础上,设计了聚合基因型DNA诊断试剂盒。洪坤月等<sup>[7]</sup>的研究结果表明,产蛋量较高的聚合基因型AADD可以作为太湖鸡选育的参考。基因ESR、NPY的聚合基因型AAAC具有最高的300日龄产蛋数、400日龄产蛋数和平均连产时间<sup>[8]</sup>。笔者以国家地方禽种资源基因库保存的白耳鸡为试验材料,分析GH和POUIF1基因多态性及两基因聚合对产蛋数的影响,以期进一步提高白耳鸡产蛋性能。

表1 候选基因引物序列及相关信息

基因	引物序列	片段长度/bp	染色体	退火温度/℃
GH	F: 5'-AATCCCTTTGTCAATTCAGG-3'	210	1号 <sup>[9]</sup>	58.0
	R: 5'-CGCAGGCTTCCATCAGTA-3'			
POUIF1	F: 5'-TCTCAGAGCTCCAACGTATGA-3'	240	1号 <sup>[3]</sup>	60.0

### 1.2.3 PCR-SSCP反应体系及反应条件

20 μL扩增反应体系:基因组DNA模板(100 ng/μL)1.0 μL, 10×Buffer(25 mmol/L)2.0 μL, dNTP 0.8 μL, Mg<sup>2+</sup> (10 pmol/μL)2.2 μL, 上下游引物(10 mmol/L)Taq 1 μL, 酶(5 U/μL)0.2 μL, 灭菌蒸馏水 12.8 μL。反应条件:94℃预变性5 min, 94℃变性50 s, 58℃(GH)/60℃(POUIF1)退火50 s, 72℃延伸50 s, 共35个循环, 72℃延伸10 min, 4℃保存, 2%琼脂糖检测PCR扩增产物。取产物4 μL加入8 μL的变性液, 98℃变性10 min, 放入冰水中淬灭5 min, 直接上样, 10%聚丙烯酰胺凝胶120 V电泳过夜, 银染显带。

### 1.2.4 基因聚合

在试验群标记基因GH和POUIF1个体基因型鉴定及与72周产蛋数关联分析的基础上,将GH产蛋数高的优势基因型AA与POUIF1产蛋数高的优势基因型CC进行聚合配种,在试验群检测聚合基因型AACCC的数量,在AACCC型公鸡×ABCD型母鸡扩繁

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

白耳鸡试验群来源于中国农业科学院家禽研究所国家地方禽种资源基因库白耳鸡保种群,共400只(公鸡180只,母鸡220只),12周龄翅静脉采血0.5 mL/只,血样冷冻保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因组DNA的提取

采用酚-氯仿抽提法提取白耳鸡基因组DNA, TE溶解后于4℃冰箱储存备用。

#### 1.2.2 引物的设计与合成

根据GnBank GH基因(登录号D10484)和POUIF1基因(登录号NC006088)提交的序列,分别设计1对引物(表1)。引物由上海生工生物工程有限公司合成。

F<sub>1</sub>代中,以AACCC型群体为试验组,以得到的其他3种聚合基因型群体为对照组,每组随机选出30只母鸡,记录个体72周龄的产蛋数。

#### 1.2.5 统计分析

开产后每天记录每只鸡的产蛋数,直至72周龄末。采用SPSS11.5软件,对不同基因型的产蛋数进行LSD多重比较,用最小二乘法,分析各基因型与产蛋数的关联。分析模型 $Y_{ik}=u+G_i+I_k+B_{ik}+E_{ik}$ ,其中, $Y_{ik}$ 为个体产蛋数; $u$ 为群体产蛋数; $G_i$ 为GH标记基因的固定效应; $I_k$ 为POUIF1标记基因的固定效应; $B_{ik}$ 为2种标记基因的互作效应; $E_{ik}$ 为随机参差效应。

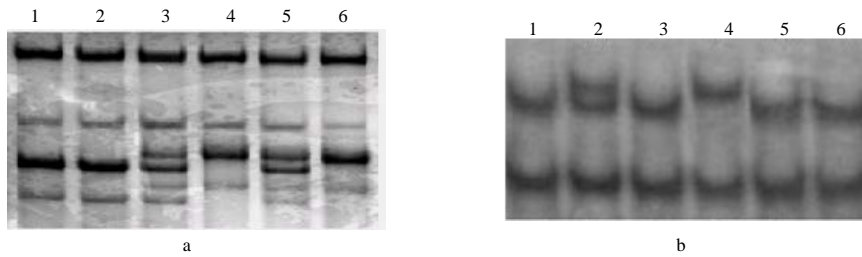
## 2 结果与分析

### 2.1 多态位点基因型分布对产蛋数的影响

PCR-SSCP检测结果显示, GH和POUIF1都存在3个基因型(图1)。将DNA测序所得序列与GenBank发表序列进行对比(图2),结果显示, GH

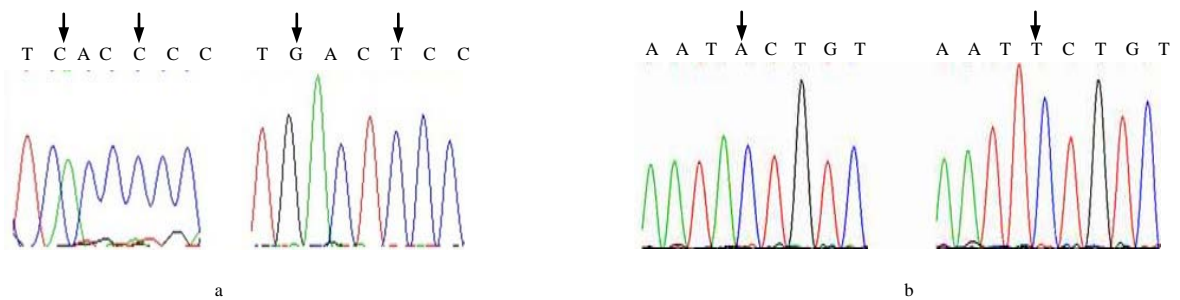
在 exon4 存在着 C2338G 和 C2341T 的突变，POU1F1 在 exon3 存在着 A5331T 的突变。将突变

型定义为 AA 型和 CC 型 杂合子为 AB 型和 CD 型，无突变的为 BB 型和 DD 型。



a GH(1、2 为 AA 基因型，3、5 为 AB 基因型，4、6 为 BB 基因型)；b POU1F1(1、3、5、6 为 CC 基因型，2 为 CD 基因型，4 为 DD 基因型)。

图 1 GH 和 POU1F1 引物扩增片段的 SSCP 多态性检测结果  
Fig.1 SSCP analysis of PCR amplification using GH and POU1F1 primers



a GH 基因 2 338 bp 处 C-G 的突变和 2 341 bp 处 C-T 的突变；b POU1F1 基因 5 331 bp 处 A-T 的突变。

图 2 GH 和 POU1F1 的不同基因型测序结果  
Fig.2 Sequence alignment of GH and POU1F1 in different genotypes

将 GH 的多态位点与产蛋数进行关联分析，LSD 多重比较结果(表 1)表明，GH 中基因型 AA 个体的产蛋数显著高于基因型 BB、AB 个体( $P<0.05$ )；POU1F1 中基因型 CC 与 72 周龄产蛋数显著相关，基因型 CC 个体的产蛋数显著高于 DD、CD 个体( $P<0.05$ )。GH 的 AA 基因型和 POU1F1 的 CC 基因型在白耳鸡群体中的分布比例分别为 37% 和 25%。

表 1 GH 和 POU1F1 不同基因型的产蛋数

Table 1 Egg production in different genotypes of GH and POU1F1 genes

基因	基因型	基因型频率	样本数/只	72 周龄产蛋数/个
GH	AA	0.37	81	(154.72±12.03)a
	AB	0.45	99	(150.88±12.20)b
	BB	0.18	40	(147.13±12.60)b
POU1F1	CC	0.25	56	(155.59±11.43)a
	CD	0.46	101	(151.37±12.82)b
	DD	0.29	63	(148.46±11.94)b

单基因效应(表 2)表明，GH 基因对产蛋数表现为正的加性效应(3.80)和负的显性效应(-0.01)，POU1F1 基因表现为正的加性效应(3.57)和负的显

性效应(-0.66)。基因型 AA 和 CC 间的互作效应(表 3)不显著( $P>0.05$ )。

表 2 GH 和 POU1F1 基因效应分析

Table 2 Effect analysis of single GH and POU1F1 genes

基因	基因效应		
	加性效应	显性效应	显性度
GH	3.80	-0.05	-0.01
POU1F1	3.57	-0.66	-0.18

表 3 GH 和 POU1F1 有利聚合基因型效应分析

Table 3 Effect analysis of GH and POU1F1 advantageous pyramiding genotypes

变异来源	平方差	均方	F 值	P 值	$Eta^2$	效能
GH 有利基因型 AA	707.72	707.72	4.94	0.027	0.017	0.61
POU1F1 有利基因型 CC	1 062.29	1 062.29	7.42	0.007	0.025	0.78
2 种有利基因型互作	50.81	50.81	0.36	0.552	0.001	0.12

## 2.2 GH 和 POU1F1 的聚合基因型对 72 周龄产蛋数的影响

将影响产蛋数的 GH 和 POU1F1 的优势基因型 AA 和 CC 进行聚合，并以 8 组其他聚合基因型作对照，结果(表 4)表明，在 9 种聚合基因型中，单基因

聚合后的 AACC 基因型的 72 周龄产蛋数,除 ABCC 型外,其余都显著高于其他 8 组聚合基因型个体,比 GH 单基因 AA 型的产蛋数提高了 3.70 个,比 POU1F1 单基因 CC 型产蛋数提高了 2.83,但差异都未达到显著水平( $P < 0.05$ )。

表 4 GH 和 POU1F1 聚合基因型个体 72 周龄的产蛋数  
Table 4 Eggs production for pyramiding genotypes of GH and POU1F1 at age of 72 weeks

基因型	测定个体数/个	72周龄产蛋数/个	备注
AACC	21	(158.42±10.04)a	有利聚合基因型
AACD	40	(151.25±12.28)bc	其他聚合基因型
AADD	20	(149.40±12.33)bc	其他聚合基因型
ABCC	22	(155.81±11.45)ac	其他聚合基因型
ABCD	43	(151.51±13.26)bc	其他聚合基因型
ABDD	34	(148.73±12.11)b	其他聚合基因型
BBCC	13	(149.77±12.06)bc	其他聚合基因型
BBDD	18	(150.38±13.75)bc	其他聚合基因型
BBDD	9	(148.33±17.97)bc	其他聚合基因型

扩繁 F<sub>1</sub> 代中, GH 和 POU1F1 有利聚合基因型 AACC 的 72 周龄产蛋数高于扩繁的其他聚合基因型的(表 5)。

表 5 扩繁 F<sub>1</sub> 代中 GH 和 POU1F1 有利聚合基因型个体 72 周龄的产蛋数

Table 5 Effect of GH and POU1F1 advantageous pyramiding genotypes of the generation F<sub>1</sub>

基因型	测定个体数/个	72周龄产蛋数/个	备注
AACC	30	(157.97±11.21)a	有利聚合基因型
AACD	30	(152.07±11.27)b	其他聚合基因型
ABCC	30	(155.01±12.23)ab	其他聚合基因型
ABCD	30	(151.90±12.85)b	其他聚合基因型

### 3 讨论

通过表现型间接对基因型进行选择的传统育种方法周期长、效率低。近年来,基因聚合、基因转移等技术手段的应用,使得分子标记辅助选择(MAS)应用于遗传改良已成为现实<sup>[10]</sup>。通过分析白耳鸡群体 GH 和 POU1F1 标记基因各基因型与产蛋数的关联,确定 GH 和 POU1F1 的有利单基因型 AA 和 CC 在白耳鸡群体中的分布分别达 37% 和 25%,且基因 GH 和 POU1F1 对 72 周龄产蛋数都表现为正的加性效应和负的显性效应, A 和 C 等位基因对 72 周龄产蛋数表现为负效应。2 种有利单基因型间的互作效应不显著( $P > 0.05$ ),聚合基因型较单基因对

产蛋数的主效作用( $Eta^2_{GH*POU1F1} < Eta^2_{GH} < Eta^2_{POU1F1}$ )有减弱趋势,有利基因对产蛋数的贡献 POU1F1 基因大于 GH 基因,且观测能效值分别为 0.61 和 0.78,样本数量适中。扩繁 F<sub>1</sub> 代优势聚合基因型 AACC 的 72 周龄产蛋数与上一代聚合基因型 AACC 的产蛋数相当,表明通过分子标记手段,对与产蛋数关联的 POU1F1 和 GH 基因的有利单基因型进行基因聚合育种,能使白耳鸡的产蛋数提高,为基因聚合在家禽育种中的应用提供了理论依据。

### 参考文献:

- [1] Scanes C G, Proudman J A, Radecki S V. Influence of continuous growth hormone insulin-like growth factor I administration in adult female chickens[J]. General and Comparative Endocrinology, 1999, 114: 315-323.
- [2] Lamb I C, Galehouse D. Chicken growth hormone cDNA Sequence[J]. Nue Acids Res, 1988, 16: 9339.
- [3] 姜润深, 杨宁. 垂体特异性转录因子 POU1F1 研究进展[J]. 遗传, 2004, 26(6): 957-961.
- [4] Steinfeld H L, Radovick S. Hormonal regulation of the thyrotropin subunit gene by phosphorylation of the pituitary specific transcription factor (PIT-1) [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1992, 89: 5942-5945.
- [5] Liu H C, Kung H J, Fulton J E, et al. Growth hormone interacts with the Marek's disease virus SORF2 protein and is associated with disease resistance in chicken [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98: 9203-9208.
- [6] 廖晓兰, 朱水芳, 罗宽. 基因突变和单核苷酸多态性分析技术新进展[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2002, 28(5): 447-451.
- [7] 洪坤月, 汪峰, 虞得兵, 等. 太湖鸡 GH、GHR 和 FSH $\beta$  基因多态与前期产蛋性状关系研究[J]. 西北农业学报, 2007, 16(5): 11-14.
- [8] 于吉英, 陈宽维, 肖小军, 等. ESR、POU1F1 基因对文昌鸡繁殖性状的遗传效应分析[J]. 畜牧兽医, 2008, 40(4): 49-51.
- [9] Shaw E M. Mapping of the growth hormone gene by in situ hybridization to chicken chromosome[J]. Heredity, 1991, 82(6): 505-508.
- [10] 刘志文, 傅延栋. 作物分子标记辅助选择的研究进展影响因素及其发展策略[J]. 植物学通报, 2005, 22(8): 89-92.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 罗文翠