

DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).201906009

宣和猪 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 多态性及其与生长性状的关联分析*

李俄然^{1#}, 曾韦植^{1#}, 王孝义¹, 鲁绍雄^{1,2}, 胡伟¹, 何家书³, 严达伟^{1,2}, 李明丽^{1**}
(1. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南省动物营养与饲料重点实验室, 云南 昆明 650201;
3. 云南省宣威市畜牧兽医局, 云南 宣威 655400)

摘要:【目的】揭示 *PLIN2* 基因对宣和猪生长性状的影响。【方法】以 357 头宣和猪为试验材料, 采用 PCR 产物直接测序法检测了 *PLIN2* 基因的 5'-UTR 和 3'-UTR 多态性, 分析了各 SNP 位点不同基因型的生长性状差异。【结果】在 5'-UTR 检测到 2 个 SNP 位点 (G158A、T491G)、3'-UTR 检出 1 个 SNP 位点 (G5689A), 上述 3 个 SNP 位点分别以 GG、TT 和 GG 基因型频率最高, G、T 和 G 为优势等位基因; 除 G158A 位点未达到 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P < 0.01$) 外, 其余 2 个突变位点均处于平衡状态 ($P > 0.05$), 且杂合度较高、遗传多样性较为丰富。在 6 月龄体重、4—6 月龄日增重和 70 日龄—6 月龄日增重上, G158A 位点的 GG 型、T491G 位点的 TT 型和 G5689A 位点的 GG 型均显著高于同位点其他基因型 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 且 3 个 SNP 位点不同单倍型组合对生长性状的影响呈现了明显的协同作用, 即 GTG/GTG 组合的 6 月龄体重、4—6 月龄日增重和 70 日龄—6 月龄日增重最高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。【结论】研究结果从 *PLIN2* 基因多态性角度印证了宣和猪新品种选育工作的有效性, 初步证实 *PLIN2* 基因与宣和猪生长性状间存在显著关联。

关键词: 宣和猪; *PLIN2* 基因; 非翻译区; 单核苷酸多态性; 生长性状

中图分类号: S 828.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X (2020) 01-0068-07

Polymorphisms of 5'-UTR and 3'-UTR of *PLIN2* Gene and Their Associations with Growth Traits in Xuanhe Pig

LI Eran¹, ZENG Weizhi¹, WANG Xiaoyi¹, LU Shaoxiong^{1,2}, HU Wei¹, HE Jiashu³,
YAN Dawei^{1,2}, LI Mingli¹

(1. Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed, Kunming 650201, China;
3. Animal Husbandry and Veterinary Bureau of Xuanwei City, Xuanwei 655400, China)

Abstract: [Purpose] The aim of the present study was to reveal the effect of *PLIN2* gene polymorphisms on the growth traits of Xuanhe pigs. [Method] A sample of 357 Xuanhe pigs were used to screen the polymorphisms of 5'-untranslated region (UTR) and 3'-UTR of *PLIN2* gene by PCR products directed sequencing, and the differences of growth traits of different genotypes at each single nucleotide polymorphism (SNP) locus were analyzed. [Result] Three SNPs were identified at 5'-

收稿日期: 2019-06-10 修回日期: 2019-11-13 网络首发时间: 2020-01-09 14:57:41

*基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0501206); 云南省生猪产业技术体系建设项目 (2019KJTX0013); 云南省科技厅重点研发项目 (2018BB003)。

作者简介: #对本文文献等同, 为并列第一作者。李俄然 (1991—), 男, 云南红河人, 硕士, 主要从事动物生产研究。E-mail: 2397015837@qq.com; 曾韦植 (1992—), 男, 甘肃民勤人, 在读硕士研究生, 主要从事动物生产研究。E-mail: 1439644291@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 李明丽 (1969—), 女, 云南富民人, 硕士, 副教授, 主要从事动物生产研究。E-mail: xiaolucao@126.com

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20200109.1012.002.html>



UTR and 3'-UTR of *PLIN2* gene, which two (G158A, T491G) at the 5'-UTR and one (G5689A) at the 3'-UTR. For the the three SNPs, the genotype frequencies of GG, TT and GG genotypes were the highest, and the alleles G, T and G were dominant alleles, respectively; the loci T491G and G5689A were medium polymorphic and abundant in genetic diversity, and were in equilibrium ($P>0.05$), except the locus G158A. The genotype GG of G158A, TT of T491G and GG of G5689A were significantly higher than the other genotypes of the same locus on the body weight (BW) at 6 months, average daily gain (ADG) of 4 to 6 months and ADG of 70 days to 6 months ($P<0.01$ or $P<0.05$). In addition, there were obvious synergistic effects on the growth traits for different haplotype combinations of the three SNP loci, and the GTG/GTG was the highest among the all combinations on the BW at 6 months, ADG of 4 to 6 months and ADG of 70 days to 6 months ($P<0.01$ or $P<0.05$).

[**Conclusion**] The present results further confirmed the effectiveness of the breeding of the new breed Xuanhe pig from the polymorphisms of *PLIN2* gene, and preliminarily confirmed the significant association of *PLIN2* gene with growth traits in Xuanhe pigs.

Keywords: Xuanhe pig; *PLIN2* gene; untranslated region (UTR); single nucleotide polymorphism (SNP); growth trait

宣和猪是为了满足日益增长的优质猪肉市场需求和解决宣威火腿产业优质原料长期不足的问题而培育的新品种。该品种较好地集中了地方猪种乌金猪适应性强、耐粗饲、肉质优良及引进猪种长白猪生长快、生产效率高的优良特性, 以其鲜腿为原料腌制的宣威火腿品质突出, 优质高效特征明显。鉴于 DNA 分子标记辅助选择在猪主要经济性状遗传改良上的潜在优势, 对一些可能影响猪主要经济性状的基因开展系统研究尤为重要。脂肪分化相关蛋白 (adipose differentiation related protein, ADRP/*PLIN2*) 属于 PAT 蛋白家族成员。1992 年, JIANG 等^[1]采用差别杂交技术, 从 1246 脂肪细胞中分离得到 *PLIN2* 蛋白。*PLIN2* 存在于脂肪分化的前期, 是脂滴表面的结构蛋白^[2], 主要通过阻断脂肪细胞甘油三酯水解酶与脂滴表面的接触, 实现对脂滴的生理屏障功能^[3]。据报道, *PLIN2* 基因的表达受过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)、胆固醇酰基转移酶 1 (Acy1 Coenzyme A: Cholesterol Acyltransferases1, ACAT1) 和中性胆固醇酯水解酶 (neutral cholesteryl ester hydrolase, nCEH) 等蛋白分子的调控; *PLIN2* 可在外界信号的刺激下, 通过 PKC 和 PPARr 两种途径合成脂滴; 在脂滴形成初期 *PLIN2* 大量表达于脂滴表面、协同其他相关分子共同促进脂滴的形成, 而在脂滴成熟后

PLIN2 发生分解被 *PLIN1* 所替代^[4]。SCHULTZ 等^[5]研究发现: *PLIN2* mRNA 和蛋白在鼠肺组织中的发育性表达伴随着肺组织中甘油三酯的沉积; CHANG 等^[6]研究发现: 敲除 *PLIN2* 基因的小鼠, 其脂肪组织分化和脂解并没有发生改变, 而肝甘油三酯的储存量减少了 60%, 且对食物引起的脂肪肝有抗性; 在人上的研究发现: *PLIN2* 具有促进脂肪酸摄入和脂滴内甘油三酯存储的功能, 被确定为人类骨骼肌上的脂滴标记^[7]。此外, 研究发现 *PLIN2* 参与肌细胞、肝细胞、乳腺细胞和卵母细胞等体内多种细胞的脂质代谢^[8-10], 因此, 有学者认为其为非脂肪细胞的脂质积累标志。

猪的 *PLIN2* 基因位于 1 号染色体上, 全长 23.088 kb, 包含 9 个外显子和 8 个内含子。DAVOLI 等^[11]对 5 个品种猪 *PLIN2* 基因的 SNP 进行了检测, 检出 6 个新的 SNP 位点, 其中位于 3'端非翻译区 (untranslated region, UTR) 的 g.98G>A 位点与意系杜洛克猪的平均日增重、料重比、胴体瘦肉率和后腿重的估计育种值 (estimated breeding value, EBV) 显著关联 ($P<0.01$)。基于 *PLIN2* 基因可能存在的遗传效应, GOL 等^[12]研究了 *PLIN2* 基因对猪生长速度、胴体及肉质性状间的关联, 结果进一步证实 *PLIN2* 基因 3'-UTR g.98G>A 的 A 等位基因具有显著提高猪胴体瘦肉重和后腿重的效应, 并提出 *PLIN2* 基因是猪瘦肉生长的 1 个可用标记。钟婷婷等^[13]研究发现: 猪 *PLIN2* 基因

的表达量与心型脂肪酸结合蛋白 (*H-FABP*) 基因多态性相关联。

迄今为止, 有关猪 *PLIN2* 基因多态性对生长性状影响的研究报道仍不多见, 已有研究基本集中在 3'-UTR 的 g.98G>A 位点上。基于 *PLIN2* 的生理功能及前人研究结果, 本研究以 *PLIN2* 基因作为宣和猪生长性状的候选基因, 对其 5'-UTR 和 3'-UTR 的 SNP 位点进行检测, 并分析各变异位点与生长性状的关联, 以揭示相应 SNP 位点的具体效应, 为利用分子标记信息促进宣和猪的进一步选育提供一定的基础和依据。

1 材料与方法

1.1 试验猪群与样品采集

所用的 357 头宣和猪 (♂246 头, ♀111 头) 来自宣威市海河良种猪扩繁场。试验猪群系谱清楚、健康状况良好、生长发育正常。每头猪采集约 2 g 耳组织样, 装入盛有 75% 乙醇的冻存管中, 带回实验室储于 -80 °C 冰箱中保存备用。

1.2 生长性能测定

试验宣和猪的生长性能测定在宣威市海河良种猪扩繁场完成, 猪群饲养管理条件基本一致。猪生长性能的测定按照《全国生猪遗传改良计划工作手册》^[14]要求进行, 测定性状包括 70 日龄、4 月龄和 6 月龄体重; 在试验猪达 6 月龄时, 采用 Renco 背膘仪 (美国) 测定猪的活体背膘厚。

1.3 基因多态性检测

1.3.1 基因组 DNA 的提取

采用动物基因组 DNA 提取试剂盒 (TSINGKE) 从耳组织样品中提取 DNA, 于 -20 °C 冰箱保存。

1.3.2 引物设计与合成

根据 Ensembl 数据库 (<http://asia.ensembl.org/index.html>) 中的猪 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 序列, 采用 Primer Premier 5.0 软件设计 2 对引物 (表 1), 由北京擎科 (昆明) 生物技术有限公司合成。

1.4 PCR 反应体系及条件

PCR 扩增反应的总体积为 25 μL: Mg²⁺的 10×Buffer (25 mmol/L) 2.5 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 引物 F 和 R (20 μmol/L) 各 1 μL, 基因组 DNA 模板 1 μL, *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/μL) 0.5 μL, ddH₂O 17 μL。反应条件为: 95 °C 预变性 4 min, 95 °C 变性 50 s, 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环, 72 °C 延伸 8 min, 4 °C 保存。

表 1 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 分段扩增引物

Tab. 1 Segmental amplification primers of 5'-UTR and 3'-UTR in *PLIN2* gene

引物 primer	引物序列 (5'→3') sequence of primers	产物大小/bp size of PCR products	退火温度/°C annealing temperature
5'-UTR	F: GGGTTATAAAGCCAGGCG R: CATGTTAAACTAAAGCTGC	765	49.3
3'-UTR	F: CTCTTCACGCTCCCACTT R: CTCTACTCTGCCATTACC	1 395	56.6

1.5 统计分析

1.5.1 基因型与基因频率计算

根据各 SNP 位点的基因型检测结果, 统计各位点不同基因型的个体数, 并据此计算出各位点的基因型频率和基因频率、杂合度 (heterozygosity, *H*) 和多态信息含量 (polymorphic information content, PIC) 的计算参照文献^[15]进行, 采用 χ^2 检验进行 Hardy-Weinberg 平衡检验。

1.5.2 单倍型分析

采用 Phase 2.0 软件对 *PLIN2* 基因 3 个 SNP 位点进行单倍型分析, 获得单倍型及其组合类型, 并据此计算相应的频率。

1.5.3 不同基因型 (单倍型组合) 性状的差异分析

宣和猪 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 各 SNP 位点基因型的生长性状差异, 采用以下最小二乘模型进行分析:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + e_{ijk} \quad (1)$$

式中, Y_{ijk} 为性状表型值; μ 为群体均值; G_i 为 *PLIN2* 基因单个 SNP 位点的基因型或 3 个位点的单倍型组合效应 (分析单个 SNP 时, G_i 为该 SNP 位点的第 i 基因型效应; 分析 3 个 SNP 位点的单倍型组合时, G_i 为第 i 种单倍型组合效应), S_j 为第 j 性别效应; e_{ijk} 为随机误差, 假定服从 $N(0, \sigma_e^2)$ 分布。

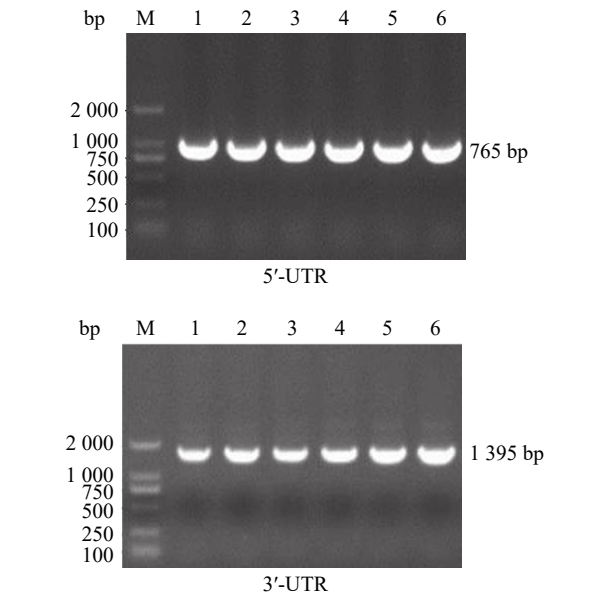
根据上述模型, 采用 SAS 9.0 统计分析系统的 GLM 过程^[16]计算出各基因型 (单倍型组合) 性状的最小二乘均数及其标准误, 并进行差异显著性检验, 差异显著性判断标准为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 目标片段扩增与 SNP 位点检测

PLIN2 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 序列的 PCR 扩增产物分别为 765 和 1 395 bp (图 1), 与预期目标片段大小相符, 符合测序要求。

PCR 产物测序结果显示: 在 *PLIN2* 基因的 5'-



注: M. Trans 2 K DNA Marker; 1~6. PCR 扩增产物。
Note: M. Trans 2 K DNA Marker; 1~6. PCR products.

图 1 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 引物 PCR 扩增产物

Fig. 1 PCR amplified results of 5'-UTR and 3'-UTR of *PLIN2* gene

UTR 和 3'-UTR 共检出 3 个 SNP 位点, 其中 2 个位于 5'-UTR, 分别为 158 bp 处的 G→A (G158A) 和 491 bp 处的碱基 T→G (T491G); 1 个位于 3'-UTR, 即 5 689 bp 处的 G→A (G5689A)。3 个位点均检出 3 种基因型, 即 G158A 位点 GG、GA 和 AA 基因型, T491G 位点的 TT、TG 和 GG 基因型, G5689A 位点的 GG、GA 和 AA 基因型 (图 2)。

2.2 5'-UTR 和 3'-UTR 多态性分析

由表 2 可知: 3 个 SNP 位点的基因型频率均呈现为野生型 (GG、TT 和 GG) 高于突变型 (AA、

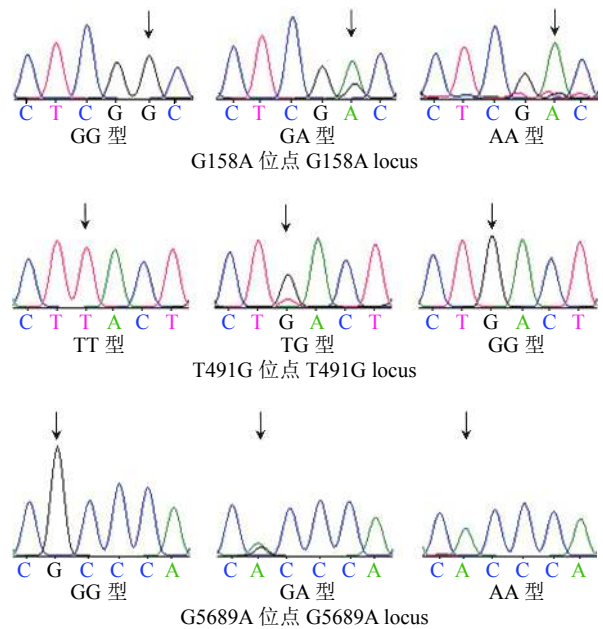


图 2 *PLIN2* 基因 5'-UTR G158A、T491G 和 G5689A 位点的多态性

Fig. 2 Polymorphisms of G158A, T491G and G5689A locus in 5'-UTR of *PLIN2* gene

GG 和 AA)。G158A 位点的 PIC 和 *H* 均较低, 未达到 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P<0.01$), T491G 和 G5689A 位点均为中度多态、遗传多样性丰富且处于平衡状态 ($P>0.05$)。G、T、G 分别为 G158A、T491G、G5689A 位点的优势等位基因。

2.3 5'-UTR 和 3'-UTR 多态位点的单倍型分析

由表 3、4 可知: 宣和猪 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR G158A、T491G 和 G5689A 3 个 SNP 位点共有 8 种单倍型、18 种单倍型组合类型。其中以 GTG 单倍型的频率最高, ATA 单倍型最低;

表 2 各 SNP 位点的基因型及基因频率
Tab. 2 The genotype and allele frequencies at each SNP

SNP 位点 SNP	基因型 genotype	基因型频率 genotypic frequency	等位基因 allele	等位基因频率 allelic frequency	χ^2	<i>H</i>	PIC
G158A	AA	0.039 2 (14)	A	0.088 2	13.153 3**	0.161 0	0.148 1
	GA	0.098 0 (35)					
	GG	0.862 7 (308)	G	0.911 8			
T491G	GG	0.257 7 (92)	G	0.493 0	0.614 3	0.499 9	0.375 0
	TG	0.470 6 (168)					
	TT	0.271 7 (97)	T	0.507 0			
G5689A	AA	0.232 5 (83)	A	0.444 0	3.673 1	0.493 7	0.371 8
	GA	0.423 0 (151)					
	GG	0.344 5 (123)	G	0.556 0			

注: 括号内的数据为该基因型的个体数。 χ^2 值中, **代表 $P<0.01$, 无肩标则表示 $P>0.05$ 。
Note: The data in the parentheses is the individual number of the genotype. The symbol ** means the significance level of $P<0.01$ and the data with no symbol means $P>0.05$.

单倍型组合则以 GGA/GTG 组合的频率最高，GTG/ATG、GTA/ATA、AGG/ATG 均只检出 1 GTG/GTG 次之，4 种单倍型组合 GGA/AGG、 个个体。

表 3 单倍型及其频率
Tab. 3 The haplotypes and their frequencies

单倍型 haplotype	GGG	GGA	GTG	GTA	AGG	AGA	ATG	ATA
频率 frequency	0.071 7	0.337 7	0.465 4	0.037 1	0.015 8	0.067 8	0.003 2	0.001 4

表 4 单倍型组合及其频率
Tab. 4 The haplotype combinations and their frequencies

单倍型组合 haplotype combination	个体数/头 number of individual	频率 frequency	单倍型组合 haplotype combination	个体数/头 number of individual	频率 frequency
GGG/GGG	9	0.025 2	GTG/GTG	81	0.226 9
GGG/GGA	7	0.019 6	GTG/GTA	11	0.030 8
GGG/GTG	21	0.058 8	GTG/AGG	8	0.022 4
GGG/AGG	2	0.005 6	GTG/AGA	2	0.005 6
GGA/GGA	40	0.112 0	GTG/ATG	1	0.002 8
GGA/GTG	130	0.364 1	GTA/GTA	3	0.008 4
GGA/GTA	6	0.016 8	GTA/ATA	1	0.002 8
GGA/AGG	1	0.002 8	AGG/ATG	1	0.002 8
GGA/AGA	20	0.056 0	AGA/AGA	13	0.036 4

2.4 各 SNP 位点不同基因型的生长性状差异

由表 5 可知：宣和猪 *PLIN2* 基因 G158A 位点 GG 基因型个体的 6 月龄体重、4—6 月龄 ADG 和 70 日龄—6 月龄 ADG 均显著高于 AA 和 GA 基因型 ($P<0.05$)；T491G 位点 TT 基因型个体的 4 月龄体重、6 月龄体重、70 日龄—4 月龄 ADG、4—6 月龄 ADG 和 70 日龄—6 月龄 ADG 均显著高于 GG 型 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，且在 6 月龄体重、4—6 月龄 ADG 和 70 日龄—6 月

龄 ADG 上，TT 型个体也显著高于 TG 型 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)；G5689A 位点的 GG 基因型个体 6 月龄体重、70 日龄—4 月龄 ADG、4—6 月龄 ADG 和 70 日龄—6 月龄 ADG 均显著高于 AA 型个体 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，且在 6 月龄体重、4—6 月龄 ADG 和 70 日龄—6 月龄 ADG 上，GG 型个体也显著高于 GA 型个体 ($P<0.05$)。各位点不同基因型在其他生长性状上则无显著差异 ($P>0.05$)。

表 5 各 SNP 位点不同基因型的生长性状
Tab. 5 Growth traits of different genotypes of each SNP

位点 site	基因型 genotype	70 日龄体重/kg body weight at 70 days	4 月龄体重/kg body weight at 4 months	6 月龄体重/kg body weight at 6 months	6 月龄背膘厚/mm backfat thickness at 6 months	70 日龄—4 月龄日增重/g ADG of 70 days to 4 months	4—6 月龄日增重/g ADG of 4 to 6 months	70 日龄—6 月龄日增重/g ADG of 70 days to 6 months
G158A	AA(14)	23.68±0.58 a	49.55±1.15 a	88.21±2.36 b	13.06±0.34 a	517±19 a	645±35 b	587±22 b
	GA(35)	23.86±0.37 a	50.77±0.73 a	89.85±1.51 b	12.65±0.22 a	538±12 a	652±23 b	600±14 b
	GG(308)	23.49±0.13 a	51.07±0.26 a	93.37±0.54 a	13.04±0.08 a	552±4 a	706±8 a	635±5 a
T491G	GG(92)	23.64±0.23 a	50.12±0.45 b	90.84±0.93 B	12.83±0.14 a	530±8 bB	679±14 bB	611±9 B
	TG(168)	23.56±0.17 a	51.05±0.33 ab	92.46±0.69 B	13.01±0.10 a	550±6 aAB	691±10 bAB	626±6 B
	TT(97)	23.38±0.23 a	51.72±0.45 a	95.58±0.93 A	13.18±0.14 a	567±8 aA	731±14 aA	657±9 A
G5689A	AA(83)	23.67±0.24 a	50.40±0.48 a	90.90±0.98 bB	12.9±0.14 a	535±8 b	676±15 b	612±9 bB
	GA(151)	23.39±0.18 a	50.89±0.36 a	92.38±0.73 bAB	13.01±0.11 a	550±6 ab	692±11 b	627±7 bAB
	GG(123)	23.64±0.20 a	51.51±0.40 a	94.79±0.83 aA	13.08±0.12 a	557±7 a	722±13 a	647±8 aA

注：表中数据在同一位点内同列比较，不同字母表示差异显著（小写字母表示 $P<0.05$ ，大写字母表示 $P<0.01$ ）；下同。
Note: The data in the same column within a certain locus are compared. The data with different letters are different significantly (lowercase and capital letters indicate $P<0.05$ or $P<0.01$, respectively); the same as below.

2.5 不同单倍型组合的生长性状差异

由表 6 可知: 除 70 日龄体重和 6 月龄背膘厚外, 3 个 SNP 位点不同单倍型组合在其他生长性状上都存在显著差异 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。其中, 70 日龄和 4 月龄体重以 GTG/AGG 组合最

高, GGG/GGA 组合最低; 6 月龄体重、4—6 月龄和 70 日龄—6 月龄 ADG 以 GTG/GTG 组合最高, 而最低组合则不同; 6 月龄背膘厚和 70 日龄—4 月龄 ADG 分别以 GGA/GTA 和 GTG/GTA 组合最高, 最低组合则不同。

表 6 不同单倍型组合的生长性状

Tab. 6 Growth traits of different haplotype combinations

单倍型组合 haplotype combination	70 日龄体重/kg body weight at 70 days	4 月龄体重/kg body weight at 4 months	6 月龄体重/kg body weight at 6 months	6 月龄背膘厚/mm backfat thickness at 6 months	70 日龄—4 月龄 日增重/g ADG of 70 days to 4 months	4—6 月龄日增重 /g ADG of 4 to 6 months	70 日龄—6 月龄 日增重/g ADG of 70 days to 6 months
GGG/GGG	23.20±0.73 a	50.89±1.43 ab	92.81±2.96 ab	12.69±0.44 a	554±24 ab	697±45 ab	633±28 abc
GGG/GGA	22.77±0.83 a	47.73±1.61 b	87.37±3.33 bA	12.77±0.49 a	499±27 b	661±51 ab	587±31 bcA
GGG/GTG	23.99±0.48 a	51.28±0.93 ab	93.55±1.92 ab	12.97±0.28 a	546±15 ab	706±29 ab	633±18 abc
GGA/GGA	23.80±0.35 a	50.44±0.68 ab	92.53±1.40 bA	12.89±0.21 a	533±11 bc	702±21 ab	625±13 bcA
GGA/GTG	23.41±0.19 a	50.95±0.38 ab	92.53±0.78 bB	13.01±0.12 a	551±6 ab	693±12 bA	628±7 bcB
GGA/GTA	23.75±0.89 a	51.38±1.75 ab	92.03±3.61 ab	13.31±0.53 a	553±29 ab	679±55 ab	623±34 abc
GGA/AGA	23.64±0.49 a	50.41±0.95 ab	89.34±1.97 bB	12.59±0.29 a	535±16 ab	649±30 bB	598±18 bcB
GTG/GTG	23.53±0.25 a	51.80±0.49 a	95.99±1.01 aA	13.21±0.15 a	565±8 a	737±15 aA	659±9 aA
GTG/GTA	22.92±0.67 a	51.75±1.30 ab	94.94±2.69 ab	13.10±0.40 a	577±22 ac	721±41 ab	656±25 abB
GTG/AGG	24.50±0.77 a	51.81±1.51 ab	90.27±3.12 ab	12.98±0.46 a	546±25 ab	641±47 ab	597±29 bcA
AGA/AGA	23.72±0.61 a	49.43±1.18 ab	88.09±2.44 bB	13.18±0.36 a	514±20 b	645±37 bA	585±23 cB

3 讨论

3.1 宣和猪 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 多态性

宣和猪 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 区域检出的 G158A、T491G 和 G5689A 位点分别以 G、T 和 G 为高频等位基因; 相应地, 3 个位点的单倍型也以 GTG 型的频率最高。宣和猪是在杂交创新基础上经多个连续世代选育而成的新品种, 其生长速度作为主选目标性状获得了大幅提高^[17]。结合各位点等位基因及其单倍型频率, 初步推断宣和猪 *PLIN2* 基因 G158A 位点的 G 等位基因、T491G 位点的 T 等位基因、G5689A 位点的 G 等位基因及其单倍型 GTG 可能具有提高增重速度的效应, 这在后续的关联分析结果中也进一步得到了印证。从多态性角度看, 3 个位点的平均 *H* 和 PIC 分别为 0.484 9 和 0.298 3, 这表明在宣和猪新品种选育过程中, 主要性能得以有效改进的同时, 其群体内的遗传多样性也得以有效保持, 猪群仍具有较大的进一步选育提升的潜力。

3.2 *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 多态性对生长性状的影响

PLIN2 存在于未分化的脂肪细胞中, 是非常重要的 PAT 家族蛋白, 能促进脂肪酸摄入和脂滴

内甘油三酯的存储。在已经发现的 PAT 家族 5 个成员中, *PLIN2* 基因在猪上的研究相对甚少, 主要还是集中在人和小鼠上。据报道, *PLIN2* 基因 mRNA 表达于人类的骨骼肌细胞中, 调节人体运动时候的能量平衡^[18]; 敲除 *PLIN2* 基因的小鼠, 其肝甘油三酯的储存量大幅降低^[6]。猪 *PLIN2* 基因位于 1 号染色体上影响生长性状的 QTL 所在区域^[19], 且已有研究结果显示杜洛克猪的 *PLIN2* 基因与生长和胴体性状显著相关^[11-12]。结合 *PLIN2* 基因的生理功能, 可考虑将 *PLIN2* 基因作为猪生长性状的候选基因。基因的表达调控是多层次的, 真核生物 mRNA 的 5'-UTR 和 3'-UTR 的功能复杂多样, 5'-UTR 保护 mRNA 免遭核酸酶的破坏, 为 mRNA 的核输出提供转运信号, 提高翻译模板的稳定性和翻译效率^[20]; 3'-UTR 不仅能调控 mRNA 的稳定性、控制 mRNA 的亚细胞定位, 而且还在特定氨基酸的编码过程中起着指导作用^[21]。

本研究表明: *PLIN2* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 的 3 个 SNP 位点不同基因型对宣和猪的生长性状有不同程度的影响。G158A 位点的 GG 型、T491G 位点的 TT 型和 G5689A 位点的 GG 型为生长速度的增效基因型。在存在显著差异的 5 个

性状上, GTG/GTG 组合的 6 月龄体重、4—6 月龄日增重和 70 日龄—6 月龄日增重均为各单倍型组合之最高, 携带有 GTG 单倍型的组合各性状也都处于较高水平。这表明 GTG 单倍型具有提高宣和猪生长速度的效应, 3 个 SNP 位点对生长性状的影响呈现明显的协同效应。就某一基因对特定性状的影响而言, 很多情况下并不是由于某一单个位点的突变所引起, 某些时候单个位点的效应可能会很小, 而多个位点的联合效应则可能会对目标性状产生显著的影响^[22]。

综合猪群 3 个 SNP 位点等位基因和单倍型频率以及关联分析结果, 可初步推断 *PLIN2* 基因对宣和猪的生长性状具有显著影响, 并从 *PLIN2* 基因多态性角度印证了新品种选育工作的有效性。鉴于当前有关猪 *PLIN2* 基因与生长性状关联研究的相关报道仍较鲜见, 若能综合考虑 *PLIN2* 基因相邻区域的其他基因或 SNP 标记, 并在不同品种猪群中加以研究确认, 将有助于更加深入地揭示 *PLIN2* 基因对猪生长性状的确切效应, 对阐明该基因在育种实际中应用的可行性具有重要意义。

[参考文献]

- JIANG H P, SERRERO G. Isolation and characterization of a full-length cDNA coding for an adipose differentiation-related protein[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(17): 7856. DOI: [10.1073/PNAS.89.17.7856](#).
- 赵小玲. 鸡 *ADFP* 和 *PLIN* 基因与脂肪组织生长发育关系的遗传学研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2008.
- 蔡雯祎, 陈通, 石仙, 等. 牦牛 *PLIN2* 基因的克隆及其在卵巢不同发情阶段的表达[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(3): 782. DOI: [10.16431/j.cnki.1671-7236.2017.03.023](#).
- 刘志强, 刘清南, 陶媛, 等. PAT 家族蛋白研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2012, 40(2): 199. DOI: [10.15972/j.cnki.43-1509/r.2012.02.007](#).
- SCHULTZ C J, TORRES E, LONDOS C, et al. Role of adipocyte differentiation-related protein in surfactant phospholipid synthesis by type II cells[J]. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2002, 283(2): L288. DOI: [10.1152/ajplung.00204.2001](#).
- CHANG B H J, LI L, PAUL A, et al. Protection against fatty liver but normal adipogenesis in mice lacking adipose differentiation-related protein[J]. Molecular and Cellular Biology, 2006, 26(3): 1063. DOI: [10.1128/MCB.26.3.1063-1076.2006](#).
- SHAW C S, SHERLOCK M, STEWART P M, et al. Adipophilin distribution and colocalisation with lipid droplets in skeletal muscle[J]. Histochemistry and Cell Biology, 2009, 131(5): 575. DOI: [10.1007/s00418-009-0558-4](#).
- DE WILDE J, SMIT E, SNEPVANGERS F J M, et al. Adipophilin protein expression in muscle—a possible protective role against insulin resistance[J]. The FEBS Journal, 2010, 277(3): 761. DOI: [10.1111/j.1742-4658.2009.07525.x](#).
- RUSSELL T D, SCHAACK J, ORLICKY D J, et al. Adipophilin regulates maturation of cytoplasmic lipid droplets and alveolae in differentiating mammary glands[J]. Journal of Cell Science, 2011, 124(19): 3247. DOI: [10.1242/jcs.082974](#).
- MILAKOVIC I, JESETA M, HANULAKOVA S, et al. Energy status characteristics of porcine oocytes during *in vitro* maturation is influenced by their meiotic competence[J]. Reproduction in Domestic Animals, 2015, 50(5): 812. DOI: [10.1111/rda.12592](#).
- DAVOLI R, GANDOLFI G, BRAGLIA S, et al. New SNP of the porcine perilipin2 (*PLIN2*) gene, association with carcass traits and expression analysis in skeletal muscle[J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(3): 1575. DOI: [10.1007/s11033-010-0266-0](#).
- GOL S, ROS-FREIXEDES R, ZAMBONELLI P, et al. Relationship between perilipin genes polymorphisms and growth, carcass and meat quality traits in pigs[J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2016, 133(1): 24. DOI: [10.1111/jbg.12159](#).
- 钟婷婷, 高士争, 黄英, 等. 不同 H-FABP 基因型滇南小耳猪脂滴蛋白相关基因表达差异研究[J]. 畜牧与兽医, 2013, 45(10): 26.
- 王宗礼, 郑爱民, 左玲玲, 等. 全国生猪遗传改良计划工作手册[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2013.
- BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms[J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32(3): 314. DOI: [10.1016/0165-1161\(81\)90274-0](#).
- 鲁绍雄, 连林生. SAS 统计分析系统在畜牧科学中的应用[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003.
- 鲁绍雄, 连林生, 李庆科, 等. 基于乌金猪深度发掘的优质高效新品种选育[J]. 猪业科学, 2016, 33(12): 120. DOI: [10.3969/j.issn.1673-5358.2016.12.038](#).
- GJELSTAD I M F, HAUGEN F, GULETH H L, et al. Expression of perilipins in human skeletal muscle *in vitro* and *in vivo* in relation to diet, exercise and energy balance[J]. Archives of Physiology and Biochemistry, 2012, 118(1): 22. DOI: [10.3109/13813455.2011.630009](#).
- LIU G, JENNEN D G J, THOLEN E, et al. A genome scan reveals QTL for growth, fatness, leanness and meat quality in a Duroc-Pietrain resource population[J]. Animal Genetics, 2007, 38(3): 241. DOI: [10.1111/j.1365-2052.2007.01592.x](#).
- 郑超星, 马小凤, 张永华, 等. 真核生物 mRNA 翻译起始机制研究进展[J]. 遗传, 2018, 40(8): 607. DOI: [10.16288/j.yczz.17-393](#).
- 王海震, 王莹, 刘定干. 真核生物 mRNA 3'非翻译区的功能[J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(9): 980. DOI: [10.3321/j.issn:1000-3282.2008.09.002](#).
- 闫霞. 猪 *CCK* 和 *CCKAR* 基因多态性及其与生长性状的关联研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2014.

责任编辑: 何馨成