

鸡 *FABP2* 基因单倍型与生长和体组成性状的相关分析*

徐松松,安荣荣,陈耀峰,程敏,李辉**,王守志**

(东北农业大学动物科学技术学院,农业部鸡遗传育种重点实验室,黑龙江省普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:为探讨鸡 *FABP2* 基因多态性对肉鸡生长和体组成性状的影响,以东北农业大学 F_2 资源群体为试验材料,对鸡 *FABP2* 基因 3 个多态性位点(c.601A>T, c.1018C>T 和 c.3267G>A)利用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)方法进行基因型分析,利用 3 个多态性位点基因型信息构建单倍型并分析单倍型与鸡生长和体组成性状的相关性。结果:*FABP2* 基因 3 个多态性位点构建的单倍型对鸡 2~12 周龄体重、龙骨长和 4 周龄跖骨长有显著影响($P<0.05$);对 8 和 10 周龄跖骨长、跖骨围、胸宽、腹脂率、胫骨长有一定的影响($P<0.2$)。由此推断:影响鸡体重和骨骼性状的 QTL 可能位于此单倍型区域内,ACG 单倍型为提高体重和骨骼性状的有利单倍型。

关键词:鸡;肠型脂肪酸结合蛋白(*FABP2*);单倍型;体重;骨骼

中图分类号 S831.2

文献标识码:A

文章编号:1004-6364(2016)08-05-05

Association of Haplotypes of *FABP2* Gene with Growth and Body Composition Traits in Chickens*

XU Songsong, AN Rongrong, CHEN Yaofeng, CHENG Min, LI Hui**, WANG Shouzhi**

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction of Education Department of Heilongjiang Province, Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding of Ministry of Agriculture, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of polymorphisms of *FABP2* gene on growth and body composition traits in broiler chickens. MALDI-TOF-MS method was used to detect the polymorphisms of *FABP2* gene and the genotypes of 3 SNPs (c.601A>T, c.1018C>T and c.3267G>A) were obtained in Northeast Agricultural University F_2 resource population. Haplotypes were constructed using their genotypes, and the association analysis between the haplotypes and the growth and body composition traits was performed. The association analysis showed that haplotypes were significantly

收稿日期:2016-02-09

修回日期:2016-03-22

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(31572394);现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-42);东北农业大学东农学者计划“学术骨干”项目(15XG13)

**通讯作者, E-mail: lihui@neau.edu.cn;

shouzhawang@126.com

associated with body weight (BW) at 6 to 12 weeks of age, keel length (KeL) and metatarsus length (MeL) at 4 weeks of age ($P < 0.05$), and suggestively significantly associated with metatarsus length (MeL) at 8 to 10 weeks of age, metatarsus circumference (MeC), chest width (ChWi), abdominal fat percentage (AFP), shank bone length (ShL) in chickens ($P < 0.2$). Therefore, it was concluded that the QTL affecting growth and development of body weight and skeleton traits in chickens might reside in the haplotype region and ACG might be favorite haplotype for improving body weight and skeleton traits in chickens.

Key words: chicken; intestinal fatty acid binding protein (FABP2); haplotype; body weight; skeleton

脂肪酸结合蛋白(Fatty acid binding proteins, FABPs)属于脂结合蛋白超家族成员,是一类分子量较小而对脂肪酸有高亲和力的蛋白质^[1]。在细胞质内它们与脂肪酸特异性结合并将其运输到脂肪酸氧化、脂化成甘油三酯或磷脂的位置,或者进入细胞核内发挥其可能的调控功能。FABPs对脂类代谢具有重要的调控作用,同时在细胞的生长和分化等生理过程中也发挥重要的作用^[2]。

肠型脂肪酸结合蛋白(Intestinal fatty acid binding protein, I-FABP, 又称 FABP2)是脂肪酸结合蛋白家族成员之一。王启贵^[3]首次克隆了鸡的 *FABP2* 基因,该基因位于鸡4号染色体上。研究发现该基因与人和小鼠等哺乳动物的 *FABP2* 基因结构相似,由4个外显子和3个内含子构成,共编码132个氨基酸。研究发现,在中国农业大学 F₂ 资源群体中 *FABP2* 基因的内含子1和内含子2中发现2个单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNPs),它们与鸡的生长和屠体性状显著相关。

单倍型是单倍体基因型的简称,即同一染色体上能够共同遗传的多个基因座上等位基因的组合。单倍型与性状相关性分析检测 QTL 具有统计效率高^[4]、检测效率高^[5]等优点。在连锁程度较低的情况下,利用单倍型的相关性分析检测 QTL 明显优于常规的单标记分析^[6]。

本研究以东北农业大学 F₂ 资源群体为试验材料,利用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF-MS)方法对鸡 *FABP2* 基因的 c.601A>T, c.1018C>T 和 c.3267G>A 位点进行基因分型,获得基因型后构建单倍型,开展单倍型与鸡生长和体组成性状的相关性研究,寻找与鸡生长和体组成性状相关的遗传标记,为肉鸡生长和体组成遗传基础研究和分子育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验鸡群与性状测定

以东北农业大学 F₂ 资源群体 339 只鸡为试验材料,试验鸡群按常规方法进行饲养管理。12 周龄时翅静脉采血,EDTA 抗凝,酚、氯仿抽提 DNA 之后,TE 溶解,-20 °C 保存。测定初生重,1~12 周龄体重,4、6、8、10 和 12 周龄跖骨长、跖骨围,屠宰后测量屠体重、龙骨长、胸宽、股骨长、股骨重、胫骨长、胫骨重和跖爪重,并除以 12 周龄活重计算相应的比率。

1.2 多态性检测及基因型分型

对本课题组先前报道的 *FABP2* 基因 3 个 SNPs 位点在东北农业大学 F₂ 资源群体中进行基因分型,其中 c.601A>T 和 c.1018C>T 分别位于内含子 1 和内含子 2 中,c.3267G>A 位于 3' 侧翼区^[7]。分型工作由北京毅新兴业科技有限公司利用 MALDI-TOF-MS 方法完成。

1.3 统计分析

针对东北农业大学 F₂ 资源群体的 3 个 SNPs 位点,利用 SAS 9.1.3^[8] 软件进行单倍型构建。

根据 F₂ 资源群体的特点,构建单倍型效应分析统计模型:

$$Y = \mu + H + S + H \times S + F + D(F) + e$$

其中:Y 为性状观测值, μ 为群体均值,H 为单倍型固定效应,S 为性别效应,H×S 为单倍型与性别的互作效应,F 为家系的随机效应,D(F) 为家系内母鸡的随机效应,e 为随机效应。使用统计软件 JMP 4.0 检验单倍型对性状的影响,并估计性状的最小二乘均值。 $P < 0.2$ 为建议显著, $P < 0.05$ 为显著, $P < 0.01$ 为极显著。

2 结果与分析

2.1 SNPs 分型结果

利用 MALDI-TOF-MS 反应检测 3 个 SNPs 位点,再通过 Typer 4.0 软件检测质谱峰,并根据质谱峰图判读各样本目标位点基因型。结果 3 个

SNPs位点成功获得基因型,其中2个SNPs位点发现3种基因型(c.1018C>T基因型为CC、TC和TT;c.3267G>A基因型为AA、AG和GG(见图1)),另外1个SNPs位点发现2种基因型(c.601A>T基因型为AA和AG)。

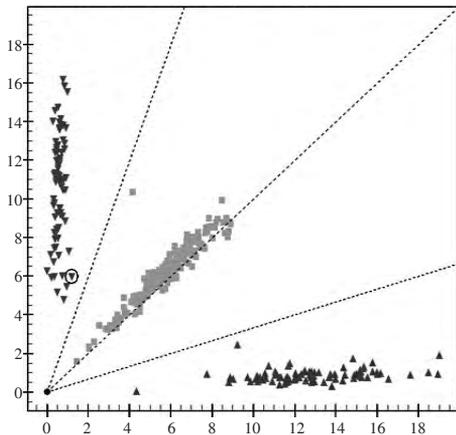


图1 c.3267G>A质谱分型效果图

2.2 FABP2基因突变位点的单倍型构建

利用FABP2基因3个SNPs位点构建单倍型,理论上应该有8种单倍型,即ACA、ACG、ATA、ATG、GCA、GCG、GTA、GTG。实际构建单倍型后,发现ATG、GCA、GTA、GTG的单倍型频率小于0.01,故做相关性分析时被排除。四种主要单倍型分别为ACA、ACG、ATA、GCG(见表1)。

2.3 FABP2基因单倍型多态性与鸡生长和体组成性状的相关分析

利用东北农业大学F₂资源群体鸡只进行单倍

表1 FABP2基因单倍型信息

单倍型	频率
ACA	0.3213
ACG	0.1967
ATA	0.4039
GCG	0.0781

型与鸡生长和体组成性状相关分析结果表明,单倍型效应对鸡体重、腹脂、骨骼有不同程度的影响(见表2)。单倍型对2~12周龄的体重、4周龄跖骨长、龙骨长有显著或极显著影响($P<0.05$ 或 $P<0.01$),对8周龄和10周龄跖骨长、跖骨围、胸宽、腹脂率、胫骨长有一定影响($P<0.2$)。不同单倍型间各性状的最小二乘均值比较结果(见表3)表明:ATA和ACG单倍型个体的2~12周龄体重、龙骨长显著高于ACA单倍型个体($P<0.05$);ACG单倍型个体的4周龄跖骨长显著高于ACA和GCG单倍型个体($P<0.05$)。

表2 FABP2基因单倍型对鸡生长和体组成性状的影响

性状	P值	性状	P值
2周龄体重	0.0344	12周龄体重	0.0024
3周龄体重	0.0032	龙骨长	0.0411
4周龄体重	0.0047	4周龄跖骨长	0.0253
5周龄体重	0.0014	8周龄跖骨长	0.1844
6周龄体重	0.0061	10周龄跖骨长	0.1326
7周龄体重	0.0113	跖骨围	0.1203
8周龄体重	0.0117	胸宽	0.1177
9周龄体重	0.0086	腹脂率	0.1549
10周龄体重	0.0008	胫骨长	0.0724
11周龄体重	0.0021		

注: $P<0.05$ 表示差异显著; $P<0.2$ 表示有一定影响。

表3 FABP2基因单倍型对鸡生长和体组成性状的影响

性状	ACA(214)	ATA(131)	ACG(269)	GCG(52)
2周龄体重(g)	166.24±2.17 ^b	171.90±2.47 ^a	170.77±2.47 ^a	168.12±3.40 ^{ab}
3周龄体重(g)	303.85±4.02 ^b	314.27±4.56 ^a	315.76±3.80 ^a	307.69±6.17 ^{ab}
4周龄体重(g)	472.24±6.60 ^b	488.32±7.35 ^a	489.87±6.28 ^a	477.51±9.97 ^{ab}
5周龄体重(g)	628.40±7.25 ^b	653.96±8.46 ^a	654.62±6.70 ^a	644.04±12.16 ^{ab}
6周龄体重(g)	828.06±9.73 ^b	857.49±11.23 ^a	857.72±9.13 ^a	843.62±16.01 ^{ab}
7周龄体重(g)	1 071.37±13.19 ^b	1 105.16±15.19 ^a	1 110.45±12.31 ^a	1 094.00±21.66 ^{ab}
8周龄体重(g)	1 260.97±14.95 ^b	1 300.18±17.54 ^a	1 307.18±13.92 ^a	1 285.41±25.00 ^{ab}
9周龄体重(g)	1 509.38±17.83 ^b	1 557.81±21.01 ^a	1 568.37±16.56 ^a	1 549.80±30.69 ^{ab}
10周龄体重(g)	1 682.92±20.35 ^b	1 748.61±23.70 ^a	1 761.68±18.91 ^a	1 739.09±34.52 ^{ab}
11周龄体重(g)	1 878.72±21.72 ^b	1 955.71±25.66 ^a	1 960.12±19.96 ^a	1 935.62±38.32 ^{ab}
12周龄体重(g)	2 052.85±24.51 ^b	2 130.50±28.78 ^a	2 142.73±22.65 ^a	2 110.93±42.48 ^{ab}
龙骨长(cm)	13.55±0.07 ^b	13.72±0.08 ^a	13.73±0.07 ^a	13.65±0.12 ^{ab}
4周龄跖骨长(cm)	5.67±0.04 ^b	5.69±0.04 ^{ab}	5.73±0.04 ^a	5.63±0.05 ^b

注:1.括号内为相应单倍型的数量;2.同行肩注无相同字母表示差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)方法是近年来发展起来的一种新型的软电离生物质谱,目前主要应用于分子量测定、蛋白质组学中的质谱技术以及寡核苷酸的分析。应用MALDI-TOF-MS方法进行基因型检测具有简单、快速、准确、灵敏的优点,但分型的SNPs位点上下游100 bp内不能有其他突变是该方法的局限性^[9]。

小肠型脂肪酸结合蛋白(FABP2)是小肠上皮细胞中极其丰富的胞质蛋白,研究表明,哺乳动物FABP2与食物中长链脂肪酸的吸收、靶向运输及代谢密切相关^[10-12],该基因序列变异与人类高脂血症、II型糖尿病和肥胖等有直接关系^[13]。Ríos-González等^[14]发现FABP2基因1个SNP与人类高血压患者中的总胆固醇含量显著相关。Damcott等^[15]研究发现FABP2基因5'侧翼区的3个SNPs与人的形体指数显著相关。王振辉等^[16]在探讨中老年人FABP2基因多态性频率分布与血清血脂水平的关系研究中发现Thr54Ala多态位点与高血脂有关。常晓彤等^[17]研究发现,在2型糖尿病患者的FABP2基因外显子54位密码子的突变使苏氨酸替代丙氨酸,该突变对血清脂质水平有一定的影响,可能是促进2型糖尿病患者心血管病变进程的一个潜在因素。

本研究结果表明,FABP2基因c.601A>T、c.1018C>T和c.3267G>A共3个SNPs构建的单倍型对鸡2~12周龄的体重有显著或极显著影响($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。本实验室前期研究表明,FABP2基因c.822G>A(本研究该位点命名为c.3267G>A)多态性对东北农业大学肉鸡高、低脂双向选择品系第9世代的肉仔鸡5、7周龄体重和屠体重有显著影响($P<0.05$),对出生重、1和3周龄体重有一定的影响($P<0.2$)^[7]。Carlborg等^[18]定位了影响鸡3~6周龄生长性状的QTL,经查询FABP2基因位于该QTL区域中。这些结果表明,该基因可能是影响鸡体重性状的重要的候选基因。此外,本研究发现,ATA和ACG单倍型个体的2~12周龄体重显著高于ACA单倍型个体($P<0.05$),说明ATA和ACG单倍型为提高鸡体重性状的有利单倍型,可以尝试在实际育种中加以选择利用。目前,关于禽类FABP2基因多态性与体尺性状相

关的研究已有未报道。廖秀冬等^[19]研究发现北京鸭FABP2基因外显子3中的1个SNP对北京鸭的体斜长、胫围、颈长有显著影响。本研究发现FABP2基因的单倍型对部分骨骼性状有显著或接近显著的影响,进一步发现ATA和ACG单倍型个体的龙骨长显著高于ACA单倍型个体($P<0.05$),ACG单倍型个体的4周龄跖骨长显著高于ACA和GCG单倍型个体($P<0.05$)。因此,ACG单倍型可作为鸡龙骨长和4周龄跖骨长的有利单倍型。

许多研究表明,鸡的体重性状和体尺性状具有很高的表型相关或遗传相关^[20]。性状间相关的遗传机制本质上是基因具有一因多效的作用。本研究发现,FABP2基因的单倍型对鸡周龄体重和部分骨骼性状都有显著影响,提示该基因可能对鸡的体重性状和体尺性状具有一因多效的作用。

哺乳动物中研究发现,FABP2与长链脂肪酸、运输和脂类的合成、分解代谢有关^[21]。Rubin等^[22]研究发现FABP2基因启动子区的多态性位点构建单倍型对人体的中链脂肪酸甘油三酯和长链脂肪酸甘油三酯含量有显著影响。徐云鹏等^[23]研究发现FABP2基因在幼年大鼠小肠组织不同区段表达量不同;高脂饮食使幼年大鼠小肠组织FABP2 mRNA表达水平降低,体重增加,血清TG水平升高,提示FABP2可能参与大鼠脂类代谢。在鸡上的研究表明,FABP2基因c.-561A>C位点和ACACA基因c.2292G>A位点互作效应在东北农业大学高、低脂双向选择品系第九世代和第十世代的低脂系中与腹脂重和腹脂率达到显著或者接近显著的影响^[24]。本研究发现FABP2基因c.601A>T、c.1018C>T和c.3267G>A构建的单倍型对腹脂率有一定影响($P<0.2$),但未达到显著水平,分析其原因可能有三方面:一是本研究只检测了FABP2基因部分序列的多态性,所以不能由此肯定FABP2基因的其他序列变异与腹脂性状不相关;二是基因调控生物生长发育的途径是多种多样的,FABP2基因可能是通过其它作用方式对鸡脂肪组织的生长发育进行调控;三是鸡只有白色脂肪,而在人和小鼠大多研究的是棕色脂肪,在发育模式上,两种脂肪组织是有区别的^[25]。

4 结论

鸡FABP2基因3个SNPs位点(c.601A>T、c.1018C>T和c.3267G>A)构建单倍型与鸡生长和

体组成性状相关分析结果表明,该区域可能存在影响鸡体重和骨骼性状的QTL;ACG单倍型为鸡体重和骨骼性状的有利单倍型,可以尝试应用于标记辅助选择。

参考文献:

1 高研,高永宏,李毅,等. 脂肪酸结合蛋白研究进展[J]. 动物医学进展,2007,28(1):64-67.

2 CHMURZY S A. The multigene family of fatty acid-binding proteins(FABPs):Function, structure and polymorphism[J]. J Appl Genet,2006,47(1):39- 48.

3 王启贵. 鸡 FABP 基因克隆、表达特性及功能研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2004.

4 HORNE B D, CAMP N J. Principal component analysis for selection of optimal SNP-sets that capture intragenic genetic variation[J]. Genetic Epidemiology,2004,26(1):11-21.

5 PHILLIPS M S, LAWRENCE R, SACHIDANANDAM R, et al. Chromosome-wide distribution of haplotype blocks and the role of recombination hot spots[J]. Nature Genetics,2003(33):382-387.

6 张森,李辉. 单倍型在QTL检测中的应用研究[J]. 中国农业科学,2007(4):815-820.

7 初丽丽,王启贵,李辉,等. *I-FABP* 基因侧翼区多态性与鸡生长和胴体组成性状的相关研究[J]. 东北农业大学学报,2008,39(9):70-74.

8 SAS Institute. SAS/Genetics TM 9.1 User's Guide[M]. Cary: SAS Publishing,2004.

9 陈曦,张慧,李辉,等. 鸡视网膜母细胞瘤基因1(RB1)多态性与体重性状的相关性[J]. 遗传,2012(10):102-109.

10 ALPERS D H, BASS N M, ENGLE M J, et al. Intestinal fatty acid binding protein may favor differential apical fatty acid binding in the intestine[J]. BBA-Mol Cell Biol L,2000,1483(3):352-362.

11 LEVY E, MENARD D, DELVIN E, et al. The polymorphism at codon 54 of the *FABP2* gene increases fat absorption in human intestinal explants[J]. J Biol Chem,2001,276(43):39679-39684.

12 BAIER L J, BOGARDUS C, SACCHETTINI J C. A polymorphism in the human intestinal fatty acid binding protein alters fatty acid transport across Caco-2 cells[J]. J Biol Chem,1996,271(18):10892-10896.

13 WEISS E P, BROWN M D, SHULDINER A R, et al. Fatty acid binding protein-2 gene variants and insulin resistance: gene and gene-environment interaction effects [J]. Physiol Genomics,2002,10(3):145-157.

14 RIOS-GONZALEZ B E, IBARRA-CORTES B, RAMIREZ-LOPEZ G, et al. Association of polymorphisms of genes involved in lipid metabolism with blood pressure and lipid values in mexican hypertensive individuals[J]. Dis Markers,2014:150358.

15 DAMCOTT C M, MOFFETT S P, FEINGOLD E, et al. Genetic variation in fatty acid-binding protein-4 and peroxisome proliferators activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in males[J]. Metabolism,2004,53(3):303-309.

16 王振辉,常晓彤,侯小平,等. 中老年人群 *IFABP* 基因 Ala54Thr 多态性对血脂水平的影响[J]. 解放军医学杂志,2006,3(1):32-34.

17 常晓彤,侯丽娟,王振辉,等. *IFABP* 基因单核苷酸多态性与2型糖尿病患者血清脂质水平的关系[J]. 中国糖尿病杂志,2007,15(5):285-288.

18 CARLBORG O, HOCKING P M, BURT D W, et al. Simultaneous mapping of epistatic QTL in chickens reveals clusters of QTL pairs with similar genetic effects on growth[J]. Genet Res,2004,83(3):197-209.

19 廖秀冬,任立明,黄银花,等. 北京鸭 *FABP2* 基因多态性与体尺和屠体性状的相关性研究[J]. 中国家禽,2012,34(17):23-26.

20 吴兆林,赵振华,黎寿丰,等. 优质肉鸡体重优质肉鸡体重、体尺生长曲线拟合与相关性分析[J]. 中国家禽,2015,37(8):16-18.

21 MONTOUDIS A, SEIDMAN E, BOUDREAU F, et al. Intestinal fatty acid binding protein regulates mitochondrion β -oxidation and cholesterol uptake[J]. Journal of Lipid Research,2008(49):961-972.

22 RUBIN D, HELWIG U, PFEUFFER M, et al. The effect of *FABP2* promoter haplotype on response to a diet with medium-chain triacylglycerols[J]. Genes Nutr,2012,7(3):437-445.

23 徐云鹏,王文栋,郝敏,等. 高脂饮食对幼年大鼠小肠组织 *FABP2* mRNA 表达的影响[J]. 卫生研究,2014,43(5):749-753.

24 HU G, WANG S, LI H, et al. Epistatic effect between *ACA-CA* and *FABP2* gene on abdominal fat traits in broilers[J]. Journal of Genetics and Genomics,2010,37(8):505-12.

25 程博涵,冷丽,李辉,等. *BMP7* 基因多态性与肉鸡生长和体组成性状的关联研究[J]. 中国家禽,2013,35(3):6-10.

