

鸭 *LXRα* 基因 3'-UTR 多态对生长和肉质性状的影响

张依裕^{1,2}, 张华均¹, 李万贵^{1,2}, 杨毅¹, 赵陈¹

(1. 贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025; 2. 高原山地动物遗传育种与繁殖省部共建教育部重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 肝 X 受体 α (*LXRα*) 在动物生命代谢活动中起着重要的调控作用, 对动物的生长和肉质有重要影响。采用 PCR-SSCP 法和 DNA 直接测序相结合检测 *LXRα* 基因 3'-UTR 多态, 并分析其多态性对鸭生长和肉质性状的影响。结果发现, 3'-UTR 存在 1396 C>G 突变, 三穗鸭和兴义鸭群体中产生 3 种基因型 CC、CG 和 GG, 樱桃谷鸭群体中仅检测到 CC 基因型; 关联分析结果显示, 1396 C>G 突变对鸭的胸深、胫长和胸肌剪切力值有显著影响, G 等位基因是生长性状的有利等位基因, 可能作为提高鸭生长性状的一个标记性辅助选择位点。

关键词: 鸭; *LXRα* 基因; 多态性; 生长性状; 肉质性状

中图分类号: S834.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)06-1033-05

Polymorphism of *LXRα* gene 3'-UTR affects duck growth and meat quality

ZHANG Yiyu^{1,2}, ZHANG Huajun¹, LI Wangui^{1,2}, YANG Yi¹, ZHAO Chen¹

(1. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025;

2. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract: Liver X receptor alpha (*LXRα*) plays an important role in animal life and metabolic activity and influences the animal growth and meat quality. The polymorphism of *LXRα* gene 3'-UTR was detected using PCR-SSCP and DNA direct sequencing method and its effect on duck growth and meat quality was analyzed. A 1396 C>G mutation in 3'-UTR was detected. This mutation resulted in three genotypes of CC, CG and GG in Xingyi duck and Sansui duck and one CC genotype in Cherry Valley duck. Correlation analysis showed that the 1396 C>G mutation had a significant effect on duck breast depth, shank length, and shear force, indicating that G allele may benefit duck growth and might have potential to be a maker for selection of improved growth traits in ducks.

Key words: duck; *LXRα* gene; polymorphism; growth traits; meat quality traits

肝 X 受体 (LXRs) 是核受体超家族配体激活转录因子, 有 *LXRα* 和 *LXRβ* 两种亚型, 它们与视黄醇 X 受体 (RXR) 形成异二聚体后结合到 LXR 信号传导通路中的靶基因启动子区的 LXR 反应元件上而发挥生物学功能, LXR 的内源性激动剂包括各种氧化固醇衍生物对其具有调控作用^[1]。近年来, LXRs 被证实是调节脂质和碳水化合物代谢的关键转录调控因子。在肝脏中, LXRs 具有甾醇传感器的功能, 胆固醇过量时通过促进胆固醇逆向转运, 激活其转化为胆汁酸, 从而维持机体胆固醇的稳定^[2]。在啮齿类动物动脉粥样硬化模型中, LXR 激动

剂作为有效的抗动脉粥样硬化剂而被广泛认识, 然而, LXR 激活剂可通过固醇调节元件结合蛋白-1c (SREBP-1c) 促进脂肪合成而导致脂肪肝与高脂血症^[3]。在啮齿类动物 II 型糖尿病和胰岛素抵抗模型中, LXR 激动剂维持血糖正常水平和提高胰岛素敏感度具有重要作用^[4]。功能研究证实, *LXRα* 的生物学功能比 *LXRβ* 更为突出, 特别是在鱼类和禽类基因组中均未能发现 *LXRβ* 的表达^[5], 因此, 近年的研究主要集中在 *LXRα* 的研究上。本研究首次对鸭 *LXRα* 基因 3'-UTR 进行多态性检测, 并分析其多态对生长和肉质的遗传效应, 探讨其能否用于鸭的分

收稿日期: 2014-06-16

基金项目: 贵州省自然科学基金(黔科合 J 字[2011]2220 号), 国家自然科学基金(31160453)和贵州大学“大学生创新创业训练计划”项目(贵大创字(2013)012 号)共同资助。

作者简介: 张依裕, 博士, 副教授。E-mail: zyy8yyc@163.com

子育种工作。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

同批孵化出雏的兴义鸭 100 只(公母各半)来源于贵州大学家禽研究所,逐只编号后相同饲养管理条件下进行半封闭式饲养,10 周龄时分别对健康无病的 88 只兴义鸭(♂48,♀40)禁食 12 h,期间自由饮水,测定生长性状,翅静脉采血后屠宰,血液用 ACD 抗凝,-20℃保存,宰后取胸肌备肉质测定用。樱桃谷鸭 80 只和三穗鸭 150 只均采于天柱县养殖农户。DreamTaP Green PCR Master Mix(2x)、引物及其他常用试剂均购自贵州鼎国生物有限公司。

1.2 性状测定

生长性状:宰前体重、体斜长、半潜水长、胸宽、胸深、龙骨长、胫长和胫围的测定按中华人民共和国农业行业标准《家禽生产性能名词术语和度量统计方法》(NY/T 823-2004)进行;肉质性状:pH 值、失水率、剪切力值、肌肉水分、肌内脂肪、不饱和脂肪酸、必需脂肪酸和多不饱和脂肪酸按张依裕等^[6]报道的方法进行测定。

1.3 基因组 DNA 提取

采用常规酚/氯仿法对所有个体的基因组 DNA 进行提取,1%的琼脂糖凝胶电泳检测,NanoDrop ND-1000 测定仪测定其浓度,稀释成终浓度为 100 ng·μL⁻¹,4℃保存备用。

1.4 引物设计和 PCR 扩增

根据家鸭 *LXRα* 基因 mRNA 序列(GenBank No. FJ 966078)设计引物扩增兴义鸭 *LXRα* 基因 3'-UTR,片段大小预计为 284 bp,F: 5'-GTG TCC CAG CCT TTG CTA AC-3',R: 5'-ATC CCC AGG ACA TGC TTA GA -3'。PCR 反应体系: DreamTaP Green PCR Master Mix(2x) 8 μL,上下游引物(10 μmol·μL⁻¹)各 1 μL,加 dd H₂O 至总体积 20 μL。PCR 反应程序: 94℃预变性 10 min; 94℃变性 45 s,退火 45 s,72℃延伸 45 s,共 35 个循环; 72℃延伸 5 min; 10℃保存。

1.5 SSCP 分型

5 μL PCR 扩增产物中加入 8 μL 上样缓冲液(98%甲酰胺、2%甘油、10 mmol·L⁻¹ EDTA、0.025%溴酚蓝和 0.025%二甲苯青),98℃变性 12 min,-20℃放置 15 min,12%非变性聚丙烯酰胺凝胶(Acr:Bis=39:1)电泳 12 h(130 V),银染显色,判型,选取不同基因型个体的 PCR 产物进行回收纯

化,送上海生物工程有限公司进行正反向测序。

1.6 数据统计与分析

采用 DNAMAN 软件查找 SNP 位点,PopGen32 v1.31 软件计算基因型和等位基因频率、有效等位基因数(N_e)、位点杂合度(H)和多态信息含量(PI_C),卡方(χ^2)检验计算器 v1.61 软件计算基因型分布的 Hardy-Weinberg 平衡检验。Excel 电子表格 T -检验法分析性别间各性状的差异。利用 SPSS 17.0 软件对各性状值与基因型间的关系进行最小二乘法估计,LSD 法进行差异显著性检验。结果以平均值±标准误表示。

2 结果与分析

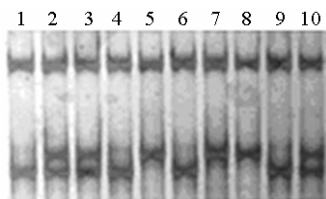
2.1 性别对兴义鸭生长和肉质性状的影响

通过对 10 周龄兴义鸭公、母之间的生长和肉质性状进行统计,结果见表 1。由表 1 可知,公、母鸭之间所有性状的差异均未达到显著水平($P>0.05$),但表现为公鸭的必需脂肪酸和多不饱和脂肪酸低于母鸭,其他性状均表现为公鸭高于母鸭。

表 1 性别对兴义鸭生长和肉质性状的影响

Table 1 The effect of sex on the growth and meat quality traits of Xingyi duck

| 性状 Trait | 公鸭 Male duck | 母鸭 Female duck |
|---|-----------------|-------------------|
| 宰前体重/g Slaughter weight | 1296.24±40.96 | 1227.92±31.45 |
| 体斜长/cm Body slope length | 20.86±0.26 | 20.04±0.27 |
| 半潜水长/cm Half-diving depth | 34.50±0.30 | 32.59±0.25 |
| 胸宽/cm Breast width | 8.05±0.10 | 7.68±0.14 |
| 胸深/cm Breast depth | 5.98±0.11 | 5.60±0.18 |
| 龙骨长/cm Fossil bone length | 11.40±0.22 | 10.90±0.19 |
| 胫长/cm Shank length | 6.77±0.04 | 6.44±0.07 |
| 胫围/cm Shank circumference | 3.74±0.04 | 3.49±0.09 |
| pH 值 pH value | 6.21±0.06 | 6.19±0.04 |
| 失水率/% Percentage of water loss | 12.63±0.66 | 13.88±0.77 |
| 剪切力值 kg/cm ² Shear force | 2.33±0.14 | 2.12±0.12 |
| 肌肉水分/% Percentage of muscle water | 6.57±0.33 | 6.37±0.45 |
| 肌内脂肪/% Intramuscular fat content | 72.65±2.34 | 71.43±2.10 |
| 不饱和脂肪酸/% Unsaturated fatty acid | 59.05±1.12 | 57.25±0.76 |
| 必需脂肪酸/% Essential fatty acid | 20.35±0.55 | 20.63±0.35 |
| 多不饱和脂肪酸/% Polyunsaturated fatty acid | 20.74±0.56 | 21.08±0.37 |



GG 基因型: 1, 4, 6 和 9; CG 基因型: 2, 3 和 10;
CC 基因型: 5, 7 和 8
GG genotype: 1, 4, 6 and 9; CG genotype: 2, 3 and 10; CC
genotype: 5, 7 and 8

图 1 PCR-SSCP 电泳图谱

Figure 1 Electrophoresis pattern of PCR-SSCP

2.2 PCR 产物的 SSCP 分析

通过对 PCR 扩增产物进行检测表明 PCR 产物片段大小与预期目的片段相符, 条带清晰明亮, 无明显的非特异性条带。进一步进行 SSCP 分型, 显现出 3 种带型, 命名为 GG、CG 和 CC 基因型 (见图 1), 双向直接测序和序列比对结果发现 1 个 SNP 位点: 1396 C>G, 处于 3'-UTR 区 (见图 2), 已提交 GenBank 数据库 (ss 831878776)。

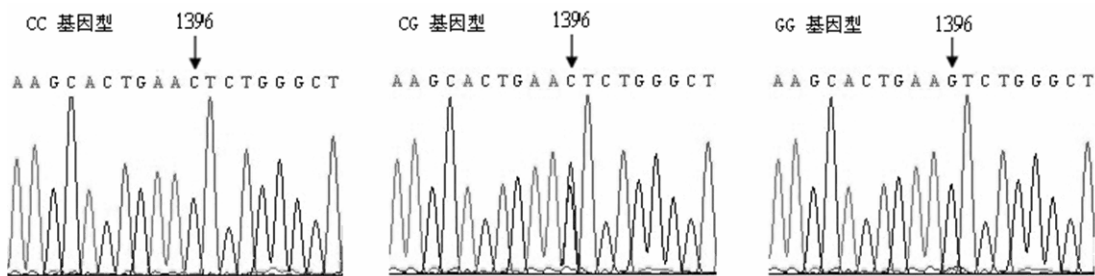


图 2 3 种基因型的序列比对结果

Figure 2 Sequence alignment of three genotypes

表 2 *LXRα* 基因 1396 C>G 位点的遗传特性

Table 2 Characteristics of 1396 C>G locus of *LXRα* gene

| 群体 Population | 基因型频率 Genotypic frequency | | | 等位基因频率 Allelic frequency | | <i>H</i> | <i>Ne</i> | <i>PIC</i> | χ^2 |
|-------------------------|------------------------------|--------|--------|-----------------------------|--------|----------|-----------|------------|----------|
| | CC | CG | GG | C | G | | | | |
| 兴义鸭 Xingyi duck | 0.3636 | 0.4091 | 0.2273 | 0.5682 | 0.4318 | 0.4907 | 1.9635 | 0.3700 | 1.51 |
| 三穗鸭 Sansui duck | 0.3067 | 0.4200 | 0.2733 | 0.5167 | 0.4833 | 0.4993 | 1.9972 | 0.3746 | 0.59 |
| 樱桃谷鸭 Cherry Valley duck | 1.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 1.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 1.0000 | 0.0000 | 0.00 |

注: $\chi^2_{0.05(2)}=5.99$ 。Note: $\chi^2_{0.05(2)}=5.99$ 。

3 讨论

在禽类, 许多与生长和肉质性状相关的 QTL 已被报道^[7], 对今后采用分子育种与常规育种相结合改善家禽肉品质和提高生长速度有着极其重要的价值。*LXRα* 对体内胆固醇、脂肪酸和葡萄糖的稳定及免疫反应有重要的调控作用。最近的研究显

2.3 *LXRα* 基因 1396 C>G 位点的遗传统计量

通过分析 *LXRα* 基因 1396 C>G 位点在 3 个鸭品种中的遗传统计量, 结果见表 2。由表 2 可知, 外来品种樱桃谷鸭中仅检测到 CC 基因型, 表现为单态; 贵州 2 个地方鸭品种兴义鸭和三穗鸭中均检测到 3 种基因型, C 均为优势等位基因, 频率分别为 0.5682 和 0.5167, 多态信息含量(PIC)分别为 0.3700 和 0.3746 ($PIC > 0.25$), 均为中度多态位点, 卡方 (χ^2) 检验表明 *LXRα* 基因 1396 C>G 突变产生的 3 种基因型在 2 个贵州地方鸭品种中的分布均未偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$)。

2.4 *LXRα* 基因 1396 C>G 突变与鸭生长和肉质性状的关联性分析

通过最小二乘法分析 *LXRα* 基因 1396 C>G 突变对兴义鸭生长和肉质性状的遗传效应分析结果见表 3。由表 3 可知, CC 基因型个体的胸深和胫长显著低于 GG 基因型个体 ($P < 0.05$), 剪切力值显著高于 GG 基因型个体 ($P < 0.05$), 各基因型个体间其他指标未能达到显著性差异 ($P > 0.05$)。

示, *LXRα* 基因对哺乳动物的生长、胴体和肉质性状有重要影响。Yu 等^[8]报道 *LXRα* 基因内含子 8 的 HpyCH4 III 酶切位点突变对猪的眼肌面积有显著影响, 外显子 2 的 *BsI* 突变对猪背最长肌和大理石纹有显著效应。Hoashi 等^[9]报道日本褐牛 *LXRα* 基因外显子 4 的 G>A 突变导致 133 位的缬氨酸转变为异亮氨酸, 显著影响肌肉中亚油酸 (C18:2 n-6)

的含量。黄磊等^[10]报道 *LXRα* 基因外显子 2 的 T1530C 突变对秦川牛背膘厚、胴体长和大理石纹有显著遗传效应。Han 等^[11]研究显示 *LXRα* 基因外显子 4 的 G>A 突变对肉牛中顺式 9-反式 11-共轭亚油酸和顺式-11-二十碳烯酸有显著影响。Ma 等^[12]报道, *LXRα* 基因 g.1028 T>C 和 g.1514 T>C 突变对

中国地方牛的体高、体长、臀围有显著效应。然而, 禽类 *LXRα* 基因多态对经济性状的影响仅见赵文明等^[13]对吉安红毛鸭 *LXRα* 基因内含子 6 多态性及其与体重和体尺性状的关联分析的报道, 结果显示内含子 6 的 G239A 突变对半潜水长、胸宽、胸深和骨盆宽有显著效应。

表 3 兴义鸭 *LXRα* 基因 1396 C>G 突变对生长和肉质性状的遗传效应分析结果

Table 3 Genetic effects of 1396 C>G locus of *LXRα* gene on the growth and meat quality of Xingyi duck (Mean±S.E)

| 性状 Trait | 基因型 Genotype | | |
|--------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | CC (32) | CG (36) | GG (20) |
| 宰前体重/g Slaughter weight | 1234.59±44.98 | 1296.38±40.47 | 1241.00±53.53 |
| 体斜长/cm Body slope length | 20.21±0.33 | 20.29±0.30 | 21.08±0.39 |
| 半潜水长/cm Half-diving depth | 33.18±0.45 | 33.66±0.41 | 33.86±0.54 |
| 胸宽/cm Breast width | 7.72±0.15 | 7.88±0.14 | 8.06±0.18 |
| 胸深/cm Breast depth | 5.40±0.21 ^a | 5.87±0.18 ^{ab} | 6.21±0.24 ^b |
| 龙骨长/cm Fossil bone length | 10.87±0.34 | 11.167±0.31 | 11.52±0.41 |
| 胫长/cm Shank length | 6.45±0.13 ^a | 6.59±0.12 ^{ab} | 6.88±0.16 ^b |
| 胫围/cm Shank circumference | 3.52±0.14 | 3.59±0.12 | 3.82±0.16 |
| pH 值 pH value | 6.18±0.06 | 6.25±0.06 | 6.17±0.07 |
| 失水率/% Percentage of water loss | 12.86±0.89 | 12.89±0.86 | 13.72±1.02 |
| 剪切力值/kg·cm ⁻² Shear force | 2.48±0.12 ^a | 2.17±0.14 ^{ab} | 1.98±0.12 ^b |
| 肌肉水分/% Percentage of muscle water | 72.90±1.69 | 69.25±2.12 | 73.72±2.51 |
| 肌内脂肪/% Intramuscular fat content | 6.40±0.37 | 6.55±0.42 | 6.58±0.59 |
| 不饱和脂肪酸/% Unsaturated fatty acid | 59.03±1.13 | 57.34±1.06 | 58.19±1.32 |
| 必需脂肪酸/% Essential fatty acid | 20.81±0.52 | 20.33±0.49 | 20.55±0.61 |
| 多不饱和脂肪酸/% Polyunsaturated fatty acid | 21.24±0.54 | 20.77±0.51 | 20.96±0.63 |

注: 同行数据肩标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。

Note: In the same line, the different superscripts means significant difference ($P<0.05$).

本研究以作者前期克隆获得的 *LXRα* 基因序列 (GenBank No. FJ 966078) 设计引物扩增其 3'-UTR, 通过多态性检测发现 1 个 SNP: 1396 C>G, 关联分析显示该 SNP 对兴义鸭的胸深、胫长和胸肌剪切力值有显著影响, 性别没有对所测性状产生显著影响。综合所有体尺性状, G 等位基因是生长性状的有利等位基因, 可能作为鸭生长性状的一个标记性选择位点用于育种工作。3'-UTR 具有转录调节功能, 对 mRNA 的稳定起着重要的调控作用, 现在研究表明 1396 C>G 突变能够改变序列构象, 但是否能改变 mRNA 的表达水平尚需要通过建立 3'-UTR SNP 荧光素酶报告载体来进行验证。同时应更深一步研究 microRNA 对该基因的调控机制, 探索这个 SNP 位点是否位于 microRNA 的结合位点, 进一步验证该 SNP 对生产性能的遗传效应。在证实本研究结果的同时进一步筛查 *LXRα* 基因与鸭经济性状显著相关的多态位点或单倍型, 并开展验证工作, 为今后实现肉鸭分子标记辅助选择育种提供理

论依据。

参考文献:

- [1] Baranowski M. Biological role of liver X receptors[J]. J Physiol Pharmacol, 2008, 59 (7): 31-55.
- [2] Calkin A C, Tontonoz P. Transcriptional integration of metabolism by the nuclear sterol-activated receptors LXR and FXR[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(4): 213-224.
- [3] Hyun W B, Eun M H, Soo H P, et al. Pravastatin activates the expression of farnesoid X receptor and liver X receptor alpha in Hep3B cells[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2014, 13(1): 65-73.
- [4] Korach-André M, Archer A, Barros R P, et al. Both liver-X receptor (*LXR*) isoforms control energy expenditure by regulating brown adipose tissue activity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(1): 403-408.
- [5] Cruz-Garcia L, Minghetti M, Navarro I, et al. Molecular cloning, tissue expression and regulation of liver X receptor (*LXR*) transcription factors of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].

- Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2009, 153(1): 81-88.
- [6] 张依裕, 李万贵, 潘兰兵, 等. 兴义鸭 *LPL* 基因外显子 8 多态性与生长和肉质性状的关联性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2013, 32(5): 589-593.
- [7] Huang Y, Haley C S, Wu F, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting carcass and meat quality traits in Beijing ducks (*Anas platyrhynchos*)[J]. Anim Genet, 2007, 38(2): 114-119.
- [8] Yu M, Geiger B, Deeb N, et al. Liver X receptor alpha and beta genes have the potential role on loin lean and fat content in pigs[J]. J Anim Breed Genet, 2006, 123(2): 81-88.
- [9] Hoashi S, Hinenoya T, Tanaka A, et al. Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese black cattle[J]. BMC Genet, 2008, 9(1): 84.
- [10] 黄磊, 咎林森, 王洪宝, 等. 秦川牛 *LXR α* 基因第二外显子多态性及其与部分胴体、肉用性状关联性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(5): 531-535.
- [11] Han C, Vinsky M, Aldai N, et al. Association analyses of DNA polymorphisms in bovine *SREBP-1*, *LXR α* , *FADS1* genes with fatty acid composition in Canadian commercial crossbred beef steers[J]. Meat Science, 2013, 93: 429-436.
- [12] Ma Y, Chen N B, Li R R, et al. *LXR α* gene expression, genetic variation and association analysis between novel SNPs and growth traits in Chinese native cattle[J]. J Appl Genetics, 2014, 55: 65-74.
- [13] 赵文明, 陈昌义, 李欣玉, 等. 吉安红毛鸭 *LXR α* 基因内含子 6 多态性及其与体重和体尺性状的关联分析[J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(23): 14-16.