

付言峰, 李 兰, Robert V. Knox, 等. 猪脂肪沉积和胚胎附植期 *FTO* 基因的表达及碱基突变检测[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(3): 591-598.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.03.016

猪脂肪沉积和胚胎附植期 *FTO* 基因的表达及碱基突变检测

付言峰¹, 李 兰², Robert V. Knox³, 李碧侠¹, 方晓敏¹, 任守文¹

(1.江苏省农业科学院畜牧研究所/动物品种改良和繁育重点实验室/江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏 南京 210014; 2.江苏省农业科学院动物免疫工程研究所, 江苏 南京 100193; 3.美国伊利诺伊大学, 伊利诺伊 厄巴纳-香槟 61801)

摘要: 为了研究脂肪肥胖相关基因 (*FTO*) 对猪脂肪沉积和胚胎附植的影响, 本研究以太湖流域 10 头苏山猪和 3 头梅山猪母猪为试验对象, 利用 Real-time qPCR 方法分析了该基因在脂肪沉积过程中苏山猪不同组织样和胚胎附植过程中梅山猪各组织样中的 mRNA 的表达, 并用克隆测序方法检测了苏山猪群中 *FTO* 编码序列上的遗传变异。结果表明, 脂肪沉积过程中, 苏山猪 16 种组织样中均检测到 *FTO* 的 mRNA 表达, 且背膘中的表达量极显著高于其他任何组织 ($P < 0.01$), 高脂猪背最长肌中的 *FTO* 表达量显著高于低脂猪 ($P < 0.05$)。胚胎附植时期, 梅山猪 15 种组织样中均检测到 *FTO* 的 mRNA 表达, 且繁殖组织中的表达量显著高于其他组织 (下丘脑除外) ($P < 0.05$), 表达量前 2 位组织样依次为: 子宫、胚胎。苏山猪 *FTO* 编码序列 (15~1 532 bp) 上共发现 10 个 cSNPs 突变, 其中有 8 个直接引起了编码氨基酸的变化。综上所述, *FTO* 作用广泛, 很可能在猪脂肪沉积和胚胎附植过程中发挥着重要的作用, 其 cSNPs 可成为潜在的猪肉肉质性状和繁殖性状育种的分子标记。

关键词: 猪; *FTO*; 脂肪沉积; 胚胎附植; 表达

中图分类号: Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)03-0591-08

Detection of *FTO* expression and SNPs during fat deposition and embryo implantation in pigs

FU Yan-feng¹, LI Lan², ROBER V. Knox³, LI Bi-xia¹, FANG Xiao-min¹, REN Shou-wen¹

(1. Institute of Animal Science/The Key Laboratory of Animal Breed Improvement and Reproductive, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Germplasm Resources Protection and Utilization Platform, Nanjing 210014, China; 2. Institute of Animal Immune Engineering, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 100193, China; 3. Department of Animal Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA)

Abstract: In order to study the effect of fat mass and obesity associated gene (*FTO*) on fat deposition and embryo

收稿日期: 2017-09-22

基金项目: 国家生猪现代产业技术体系南京综合试验站项目 (CARS-36); 国家科技支撑计划项目 (2015BAD03B01-08); 国家自然科学基金项目 (31201767); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(17)2002]; 江苏省科技计划重点及面上项目 (BE2017324)

作者简介: 付言峰 (1982-), 男, 山东聊城人, 博士, 副研究员, 主要从事猪遗传育种与繁殖研究。 (Tel) 025-84391941; (E-mail) fuyanfang2013@foxmail.com。李兰为共同第一作者。

通讯作者: 任守文, (E-mail) shouwenren@163.com

implantation in pigs, the mRNA expression of porcine *FTO* was analyzed by real-time quantitative PCR during fat deposition and embryo implantation in Sushan and Meishan pigs. Besides, the genetic variation in *FTO* coding sequences (CDS) was investigated by cloning and sequencing in Sushan pigs. The results showed that during fat deposition, *FTO* mRNA was expressed in all 16 tissues of Sushan pigs, the expression level in backfat was significantly higher than that in any other tissue ($P < 0.01$), and expression level in high-fat pigs was significantly higher

than that in low-fat pigs ($P < 0.05$). During embryo implantation, *FTO* mRNA was expressed in all 15 tissues of Meishan pigs, expression level in reproduction tissues was significantly higher than that in any other tissue ($P < 0.05$), and the first two tissues were uterus and embryo. Ten cSNPs were found in *FTO* coding sequences (15–1 532 bp), and eight cSNPs could directly cause changes in the encoded amino acid. In conclusion, *FTO* has a wide function, and it may play an important role in the regulation of fat deposition and embryo implantation, and cSNPs could become potential molecular markers for meat traits and reproduction traits breeding in pigs.

Key words: pig; *FTO*; fat deposition; embryo implantation; expression

近些年来,随着人们对猪肉品质的要求越来越高,肉质性状也越来越被养猪企业所关注^[1-2],而影响猪肉品质性状(眼肌面积、背膘后、瘦肉率、肌间脂肪含量等)的一个关键因素是脂肪沉积^[3],脂肪沉积非常复杂,每一种类型的脂肪沉积都对应一种不同的沉积过程^[4-5]。另外,猪产仔数是一个重要的繁殖性状和经济性状^[6],而影响猪产仔数的一个关键因素是胚胎附植^[7],因为很多胚胎在这个过程中死亡^[8],而这些胚胎的死亡是导致产仔数下降的一个重要原因^[9-11]。此外,猪作为一个良好的新型模式动物,在研究人类疾病(如肥胖和流产)的过程中也发挥着重要的作用^[12]。

作为一个同时影响猪肉品质性状和繁殖性状的基因,脂肪肥胖相关基因(*FTO*)于2007年被发现与肥胖相关^[13],在人类和小鼠上的研究结果表明该基因在控制食欲和能量消耗方面具有重要作用^[14-15]。*FTO*基因可以通过调控脂肪细胞成脂功能,从而调节人类肥胖的发生^[16]。国外对猪*FTO*基因的遗传变异与其肌肉脂肪、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的关系研究已有零星报道^[17],国内对猪*FTO*基因的遗传变异在不同品种猪群中的多态性分布也有一些报道^[18]。

除了影响脂肪代谢以外,*FTO*还影响机体的繁殖性能^[19]。人和大鼠中的研究结果表明,胎盘组织中的*FTO*基因在子宫内环境与胎儿生长发育之间发挥了桥梁作用^[20];在小鼠中,原位杂交和 Real-time qPCR 结果表明,*FTO*在胚胎组织中表达量很高^[12];在山羊中,研究发现妊娠第110 d时,胎盘组织中的*FTO*表达与胎儿体质量有很强的相关性^[21];在荷斯坦牛中,*FTO*多态性影响乳脂量^[22]。

鉴于*FTO*在脂肪代谢和繁殖过程中的生物学功能,本研究采用 Real-time qPCR 方法分析了*FTO*在脂肪沉积过程中的苏山猪组织样中的表达,*FTO*在胚胎附植过程中的梅山猪组织样中的表达,克隆测序了

苏山猪*FTO*基因的全长编码序列(CDS),并推测了编码序列上 SNPs 突变所引发的氨基酸变化。这些结果将有助于人们进一步了解*FTO*的功能。

1 材料与方法

1.1 试验动物

脂肪沉积研究所用试验动物来自江苏洪泽鑫象猪业有限公司,选用10头体质量达 (95 ± 2) kg、6月龄的半同胞健康苏山猪,分成2组,即:5头高脂猪(活体测定背膘厚度最高的前5头猪)和5头低脂猪(活体测定背膘厚度最低的后5头猪),这些试验猪在同一猪场进行统一的饲喂和管理,同时在自由采食及饮水条件下,进行疾病防治和行为体况观察。将供试猪电昏后在同一天快速屠宰,然后用无 RNase 的手术器械参照屠宰程序^[23]采集苏山猪的16种组织样(背膘、背最长肌、心、肝、脾、肺、胃、大肠、小肠、肾、膀胱、卵巢、输卵管、子宫体、子宫颈和子宫内膜)。上述组织样采集后,立即用液氮冷冻保存,用于后续的 RNA 提取。

胚胎附植研究的试验动物来自于江苏农林职业技术学院梅山猪保种场,以3头梅山猪母猪(第5胎次~第7胎次)为研究对象,按猪场常规条件进行饲喂和管理,同时在自由采食及饮水条件下,进行疾病防治和行为体况观察。在同场、相同管理条件下进行单圈饲养,进行同期发情处理,相同种公猪精液授精妊娠。以最后一次配种为0 d计,在配种第18 d(附植中期)进行屠宰,采集全身20种组织样(子宫体、胚胎、子宫内膜附着点、子宫内膜非附着点、卵巢、子宫角、大脑、下丘脑、垂体、脊髓、心、肝、脾、肺、胃、大肠、小肠、肾上腺、肾和膀胱)。样品采集后,立即用液氮保存。

1.2 主要试剂与仪器

主要试剂有 TRIzol (Invitrogen, America)、AMV First Strand cDNA Synthesis Kit (BBI, Canada)、SybrGreen PCR Master Mix 2X (ABI, America)、琼脂

糖 (Biowest, Spain)、DEPC (KeyGen, China)、*Premix Taq* (TaKaRa, Japan), 1×TAE 等缓冲液为自配,其他常规试剂为南京化学试剂有限公司生产。

荧光定量 PCR 检测系统 (ABI, America)、凝胶成像仪 (Tanon 3500, China)、紫外分光光度计 (Shimadzu, Japan)、超纯水仪 (Millipore, USA)、自动灭菌锅 (博讯 YXQ-LS-50A, China)、高速冷冻离心机 (Eppendorf, Germany)。

表 1 猪 *FTO* 基因实时荧光定量 PCR 分析用引物序列及反应条件

Table 1 Primer and PCR conditions used in real-time quantitative PCR analysis of porcine fat mass and obesity associated gene (*FTO*)

引物	引物序列 (5'→3')	退火温度 (°C)	产物长度 (bp)
FTO_fat deposition	GAGCCGCCTACAACCTAACTTT	59.3	136
	GCTGACCTGTCCACCAGATTT		
FTO_embryo implantation	GGTGGGACCCATGTCTGTCT	60.0	190
	ACGGCCGGCATTCTGGCTTC		
GAPDH	CCTGGAGAAACCTGC AAAATA	57.8	100
	AACCTGGTCCTCAGTGTAGCC		

1.4 RNA 提取与反转录成 cDNA

总 RNA 用 TRIzol/氯仿方法^[24]从猪组织样品中提取,之后用超微量紫外分光光度计 (Thermo NANO-DROP 2000 Spectrophotometer, 美国) 检测提取 RNA 浓度,再用 1.5% 的琼脂糖电泳检测 RNA 完整性。

RT-PCR 中的 RT (反转录),使用总 RNA 为模板合成 cDNA 第一链,采用“AMV First Strand cDNA Synthesis Kit”试剂盒,21 μl 反转录反应体系,分两步进行, (1) Total RNA 5 μl, Rnase-free ddH₂O 5 μl, 随机引物 (10 pmol/μl) 各 1 μl, 70 °C 温浴 5 min。 (2) 冰浴 10 s, 离心加入下列试剂: 5×Reaction Buffer 4 μl, dNTP Mix (10 mmol/L) 2 μl, Rnase inhibitor (20 U/μl) 1 μl, AMV Reverse Transcriptase (10 U/μl) 2 μl。 (3) 37 °C 温浴 5 min, 42 °C 温浴 60 min, 70 °C 温浴 10 min。终止反应。-20 °C 保存。

1.5 实时荧光定量 PCR

为了保证样品的可靠性,对反转录生成的 cDNA 先进行预试验。为减少干扰,每个 cDNA 样本都稀释 10 倍 (5 μl cDNA + 45 μl H₂O), 每个样品做 3 个重复,并用 ddH₂O 代替 cDNA 模板做阴性对照,以检测是否有外源 DNA 污染。

以 cDNA 为模板,分别定量 PCR 扩增基因目的片段,20 μl PCR 反应体系如下: SybrGreen qPCR Mas-

1.3 引物设计

猪 *FTO* (GenBank: NM_001112692) 和 *GAPDH* (持家基因) 的 Real-time quantitative PCR 引物均由 Primer Premier 5.0 软件设计,其中 *FTO_fat deposition* 引物用于脂肪沉积的研究, *FTO_embryo implantation* 引物用于胚胎附植的研究。引物 (表 1) 由上海英潍捷基 (Invitrogen) 生物公司合成。

ter Mix (2X) 10.0 μl, 上下游引物 (10 μmol/L) 各 1.0 μl, 模板 (cDNA 稀释 10 倍) 1.0 μl, *Taq* DNA Polymerase 0.3 μl, 加 Rnase-free ddH₂O 到 20.0 μl。反应程序如下: 95 °C 2 min 热启动 HotStar *Taq* 酶活性; 95 °C 溶解 10 s, 60 °C 煇火/延伸 40 s, 循环 40 次; 45~95 °C, 读板时 0.1 °C/s 进行溶解曲线分析。

1.6 数据统计

实时荧光定量 PCR 的数据利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析, 得到 *FTO* 的 mRNA 相对表达量, 内参基因为 *GAPDH* ^[25-26]。不同组织间 mRNA 表达量的差异性显著水平通过 SAS 8.2 统计软件包进行 GLM 分析, 结果以最小二乘均值±标准差表示。

2 结果与分析

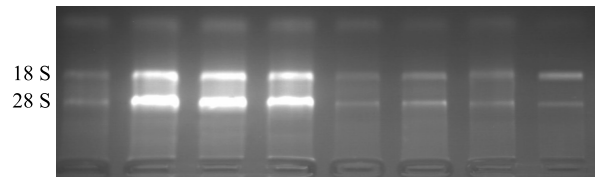
2.1 RNA 提取结果

组织样中提取的总 RNA 利用分光光度计测定出的 OD_{260}/OD_{280} 结果大都处于 1.8~2.1, 表明提取的 RNA 浓度和质量都较高。随机选取 8 种组织样提取的总 RNA, 进行琼脂糖电泳检测, 结果显示总 RNA 在凝胶上显示出 2 条清晰的条带, 分别为 28 S 和 18 S rRNA, 且同一组织样的 2 条带的灰度值比值 (28 S/18 S) 大都处于 1.0~1.5, 表明总 RNA 基本完整, 可以满足后续的反转录和 Real-time PCR 试验的

要求(图 1)。

2.2 *FTO* 在猪脂肪沉积过程中的 mRNA 表达

半定量 PCR 结果表明,*FTO* 的 mRNA 在苏山猪的 11 种组织样中均有表达,其 mRNA 相对表达量(两条带灰度值比值 *FTO*/*GAPDH*)由大到小排序为:卵巢(0.91)、肺(0.89)、输卵管(0.86)、子宫内膜(0.83)、大肠(0.66)、子宫体(0.65)、子宫颈(0.64)、脾(0.57)、膀胱(0.50)、胃(0.42)和小肠(0.04)。其中,卵巢、输卵管、子宫内膜等繁殖组织样中的表达量高于其他组织样(图 2)。



从左至右依次为:脊髓、大脑、小肠、大肠、膀胱、心、背最长肌和脾脏。

图 1 不同组织样提取的总 RNA 的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测结果

Fig.1 Results of 1.5% agarose gel electrophoresis for total RNA extracted from different swine tissues

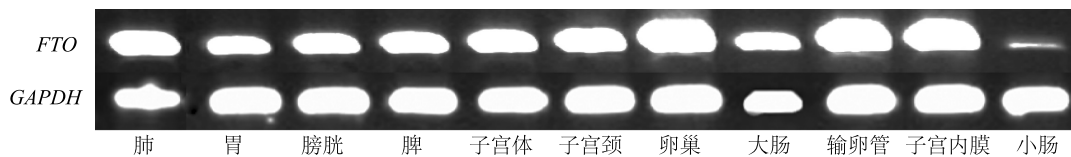
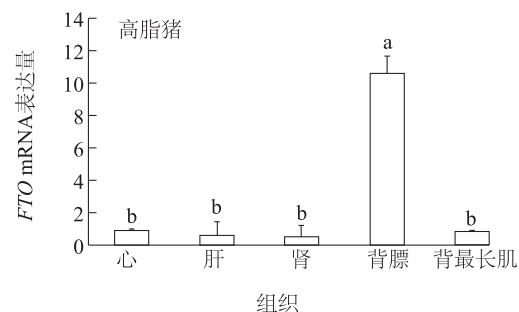
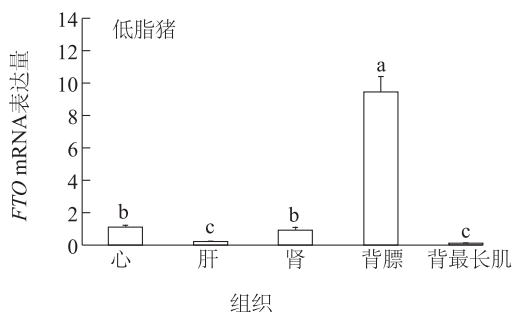


图 2 *FTO* 基因在苏山猪不同组织中的 mRNA 表达量

Fig.2 The mRNA expression level of *FTO* in different tissues of Sushan pigs

定量 PCR (Real-time qPCR) 结果表明,*FTO* 的 mRNA 在苏山猪的另外 5 种组织样中也均有表达,包括:背膘、心、肾、背最长肌和肝。按照 mRNA 表达量由大到小排序,低脂猪为:背膘(9.44)、心脏(1.00)、肾脏(0.92)、肝脏(0.20)、背最长肌(0.08);高脂猪为:背膘(10.59)、心脏(0.85)、背最长肌(0.81)、肝脏(0.58)、肾脏(0.51)。对 2

种脂肪类型猪综合分析,背膘中的 mRNA 表达量最高,且极显著高于其他任何组织($P < 0.01$);背最长肌中的 mRNA 表达量,高脂猪显著大于低脂猪($P < 0.05$)(图 3)。*FTO* 的表达量越高,脂肪含量越高,眼肌面积和瘦肉率越低(表 2),*FTO* 的高表达似乎促进猪的脂肪沉积。



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 3 *FTO* 基因在苏山猪不同组织样中的定量 PCR 结果

Fig.3 Quantitative PCR results of *FTO* in different tissues of Sushan pigs

2.3 *FTO* 在猪胚胎附植过程中的 mRNA 表达

Real-time quantitative PCR 结果显示,胚胎附植中期(妊娠第 18 d),在梅山猪 15 种组织样中均检测到 *FTO* 基因的 mRNA 表达,按表达量从高到低,依次为:子宫体、胚胎、下丘脑、子宫内膜附植点、子宫内膜非附植点、卵巢、子宫角、大脑、膀胱、脊髓、肾

上腺、脾、垂体、背膘和心。在这些组织样中,子宫体、胚胎、子宫内膜附植点、非附植点和卵巢等繁殖组织样中 mRNA 的表达量显著高于其他组织样(下丘脑除外)($P < 0.05$),这说明胚胎附植期繁殖组织样是 *FTO* 的主要靶组织。

另外,*FTO* 在下丘脑组织中的表达量排名第

三,在垂体中也有较高的表达量(图4),表明,*FTO* mRNA 的表达在胚胎附植调控中发挥一定作用,调控途径很可能是下丘脑-垂体-性腺轴。另外,*FTO* 在猪脂肪沉积过程和胚胎附植过程中所展现出的不同的表达趋势,表明其作用广泛,在机体生长发育、妊娠维持等方面均发挥着重要作用。

表 2 用于 *FTO* 表达研究的苏山猪的脂肪沉积相关肉质性状

Table 2 Meat quality traits related with fat deposition in Sushan pigs for *FTO* expression trial

类别	眼肌面积 (cm ²)	瘦肉率 (%)	背膘厚(cm)			大理石花 纹评分
			肩部最厚处	胸腰椎结合处	腰荐椎结合处	
高脂猪	48.52±3.57b	49.42±2.39b	5.20±1.21b	2.70±0.56	3.20±0.80b	4.72±1.33
低脂猪	61.86±2.46a	56.62±1.35a	3.90±0.53a	2.40±0.46	2.10±0.48a	4.71±1.12

同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

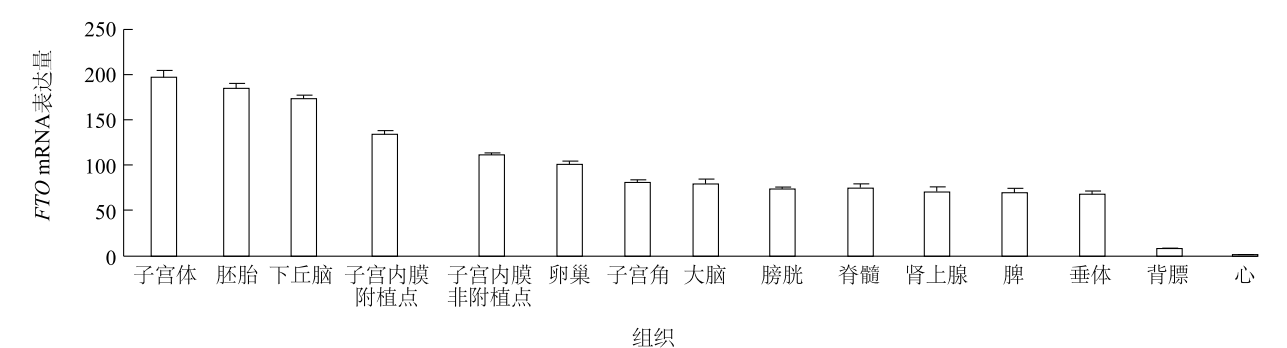


图 4 胚胎附植期 *FTO* 基因在梅山猪不同组织样中的 mRNA 表达
Fig.4 The mRNA expression of *FTO* in different tissues of Meishan pigs during embryo implantation

2.4 *FTO* 的单核苷酸突变 (cSNPs) 及引起的氨基酸突变

本研究使用克隆测序法,在 51 头苏山猪群中检测了 *FTO* 编码序列(即 CDS 区,范围:15~1 532 bp)上的单核苷酸突变(cSNPs),并对这些突变引起的氨基酸水平的突变进行了分析。结果表明,苏山

猪 *FTO* 编码序列(GenBank: JX873956)上共发现 10 个 cSNPs,依次为:*G52A* (*FTO* cDNA 序列第 52 位的 G→A 突变)、*A227G*、*C523T*、*C608G*、*G628A*、*A655G*、*A810G*、*A886G*、*G1002A* 和 *A1344G*。这 10 个 cSNPs 分布于第 1、第 3、第 4、第 6、第 8 外显子上,其中有 8 个突变引起了所编码氨基酸的变化(表 3)。

表 3 苏山猪群中检测到的 *FTO* 基因 cSNPs 及其引起的氨基酸突变

Table 3 The cSNPs detection of *FTO* in Sushan pig population and amino acid mutation caused by cSNPs

编码序列单核苷酸突变	位置	突变前后碱基	所在外显子	突变前后密码子	突变前后氨基酸
<i>G52A</i>	52	G→A	1	GGA→GAA	Gly→Glu
<i>A227G</i>	227	A→G	3	GCA→GCG	Ala→Ala
<i>C523T</i>	523	C→T	3	GCG→GTG	Ala→Val
<i>C608G</i>	608	C→G	3	GCC→GCG	Ala→Ala
<i>G628A</i>	628	G→A	3	AGC→AAC	Ser→Asn
<i>A655G</i>	655	A→G	3	TAC→TGC	Tyr→Cys
<i>A810G</i>	810	A→G	4	AAT→GAT	Asn→Asp
<i>A886G</i>	886	A→G	4	CAA→CGA	Gln→Arg
<i>G1002A</i>	1002	G→A	6	GCC→ACC	Ala→Thr
<i>A1344G</i>	1344	A→G	8	ACT→GCT	Thr→Ala

2.5 *FTO* 第 3 外显子 cSNPs 的基因和基因型频率

通过直接测序法,本研究检测了 51 头苏山猪群中的 *FTO* 第 3 外显子中的 4 个 cSNPs (*A227G*、*C523T*、*C608G* 和 *G628A*)。结果(表 4)表明,在 *A227G* 和 *G628A* 位点均检测到 3 种基因型,而在

C523T 和 *C608G* 位点均只检测到 2 种基因型。卡方 (χ^2) 检验结果表明,*A227G*、*C523T* 和 *G628A* 位点的基因和基因型频率均处于哈代-温伯格平衡分布,而 *C608G* 位点则处于哈代-温伯格不平衡分布 ($P<0.01$)。

表 4 苏山猪群中检测到的 *FTO* 基因 cSNPs 位点的基因频率和基因型频率

Table 4 Allele and genotype frequencies of *FTO* cSNPs in Sushan pigs

突变	猪头数	基因型频率						基因频率				χ^2
		AA	AG	GG	CG	CC	CT	A	G	C	T	
<i>A227G</i>	51	0.59	0.35	0.06				0.76	0.24			0.03
<i>C523T</i>	51					0.96	0.04			0.98	0.02	0.02
<i>C608G</i>	51			0.06	0.31	0.63			0.37	0.63		11.64**
<i>G628A</i>	51	0.98	0.02	0				0.99	0.01			0.01

$\chi^2(df=2)_{0.01}=9.21$, $\chi^2(df=2)_{0.05}=5.99$; ** 表示差异极显著 ($P<0.01$)。

3 讨论

脂肪沉积可以影响猪背膘厚、背最长肌横截面积、瘦肉率等肉质性状^[3]。胚胎附植可以影响猪窝产仔数、终生产仔数、母猪利用年限等繁殖性状^[27-28]。随着定位克隆、物理作图和候选基因等分子生物学技术的发展,研究人员已成功发现一些同时影响猪脂肪性状和繁殖性状的候选基因,如过氧化物酶体增殖物活化受体基因 (*PPAR*)^[29-30]、瘦素受体基因 (*LEPR*)^[31-32] 和组蛋白去乙酰化酶基因 (*SIRT1*)^[33-34] 等。

FTO 在猪脂肪沉积过程中的 mRNA 表达结果表明,苏山猪 16 种组织样中均检测到 *FTO* 的 mRNA 表达,且背膘中的表达量最高,并极显著高于其他任何组织 ($P<0.01$),说明 *FTO* 作用广泛,且主要在易脂肪沉积的组织中发挥作用;在背最长肌中的 mRNA 表达量,高脂猪显著大于低脂猪 ($P<0.05$),说明 *FTO* 基因的高表达量与猪脂肪沉积量呈正相关,即 *FTO* 的高表达有利于脂肪沉积。在德国哥廷根小型猪中,研究者发现脂肪沉积时期,其肌肉、大脑、肝、肾和心脏中均表达 *FTO* 的 mRNA,且组织间表达量差异显著 ($P<0.05$)^[12]。在苏格兰黑脸绵羊中,肥胖羊相较于普通羊,有更高的 *FTO* mRNA 表达量^[35]。在蛋鸡中,4~8 周龄的快速生长期,垂体、下丘脑、肌肉、脂肪、睾丸等组织样中均检测到 *FTO* 的 mRNA 表达^[36]。

FTO 在猪胚胎附植过程中的 mRNA 表达结果

表明,胚胎附植中期梅山猪 15 种组织样中均检测到 *FTO* 基因的 mRNA 表达,且繁殖组织中的表达量显著高于其他组织(下丘脑除外) ($P<0.05$),也显著高于空怀猪。另外 *FTO* 在下丘脑中的表达量排名第三位,在垂体中也有表达,这说明 *FTO* 很可能通过下丘脑-垂体-性腺轴在猪胚胎附植调控中发挥着重要的作用。Bassols 等发现,人的子宫组织中 *FTO* 的 mRNA 表达量显著高于其他组织,且 *FTO* 在子宫中的高表达量与不断增加的胎儿体质量和长度显著相关^[37]。在大鼠中,妊娠时期肥胖的母鼠生下的断奶仔鼠,在下丘脑和肝脏中均检测到更高的 *FTO* mRNA 表达量^[38]。在大鼠和人中,胎盘组织中 *FTO* 的表达说明其可能是子宫内环境和胎儿生长之间相互联系的桥梁^[20]。

FTO 的 cSNPs 及引起的氨基酸突变分析结果表明,苏山猪 *FTO* 编码序列(15~1 532 bp)上共发现 10 个 cSNPs 突变,其中有 8 个直接引起了编码氨基酸的变化,这些突变可能会进一步引发基因功能的变化^[39];另外 2 个 cSNPs 也可能通过连锁不平衡与直接影响繁殖性状的位点相作用,从而间接影响到氨基酸直至蛋白质的变化^[40-41]。*FTO* 第 3 外显子中的 4 个 cSNPs 在苏山猪群中均检测到 2 种以上的基因型,说明其可在苏山猪、金华猪^[18] 等某些特定猪群中作为影响猪肉质和繁殖性状的候选基因。

综上所述,猪 *FTO* 是一个动态表达的基因,作用广泛,脂肪沉积时期主要在脂肪组织中表达,胚胎附植时期主要在子宫、胚胎等繁殖组织中表达,在这

2 个机体活动中都发挥着重要的作用。在苏山猪群编码序列中发现的 8 个直接引起编码氨基酸变化的 cSNPs 会在分子标记选择辅助育种中发挥重要作用。

参考文献:

- [1] 付言峰,李 兰,周艳红,等. 瘦素受体对苏钟猪脂肪沉积调控的影响 [J]. 南京农业大学学报,2015, 38(6):986-992.
- [2] VAN WIJK H, DIBBITS B, BARON E, et al. Identification of quantitative trait loci for carcass composition and pork quality traits in a commercial finishing cross [J]. J Anim Sci,2006, 84(4):789-799.
- [3] WOOD J, ENSER M, FISHER A, et al. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review [J]. Meat Science,2008, 78(4):343-358.
- [4] HAUSMAN G, POULOS S. Recruitment and differentiation of intramuscular preadipocytes in stromal-vascular cell cultures derived from neonatal pig semitendinosus muscles [J]. J Anim Sci,2004, 82(2):429-437.
- [5] 付言峰,李 兰,王学敏,等. 苏钟猪 *FTO* 基因的 mRNA 表达、克隆测序及其生物信息学分析 [J]. 华北农学报, 2013, 28(1):128-134.
- [6] FU Y, LI L, LI B, et al. Long form leptin receptor and SNP effect on reproductive traits during embryo attachment in Suzhong sows [J]. Animal Reproduction Science, 2016, 168(2):57-65.
- [7] LIM W, BAE H, BAZER F W, et al. Functional roles of eph A-ephrin A1 system in endometrial luminal epithelial cells during early pregnancy [J]. Journal of Cellular Physiology, 2016, 232(6):1527-1538.
- [8] CARDENAS H, POPE W. Increased ovulation rate in gilts treated with dihydrotestosterone [J]. Reproduction,2002, 123(4):527-533.
- [9] GEISERT R, SCHMITT R. Early embryonic survival in the pig: Can it be improved [J]. Journal of Animal Science,2002, 80(1):54-65.
- [10] FU Y, FU J, YANG L, et al. Expression of Eph-Ephrin a molecules in endometrium during swine embryo implantation examined using Real-Time RT-PCR [J]. Agricultural Sciences in China, 2011, 10(9):1445-1451.
- [11] LIN H, WANG H, WANG Y, et al. Transcriptomic analysis of the porcine endometrium during embryo implantation [J]. Genes, 2015, 6(4):1330-1346.
- [12] MADSEN M B, BIRCK M M, FREDHOLM M, et al. Expression studies of the obesity candidate gene *FTO* in pig [J]. Anim Biotechnol,2009, 21(1):51-63.
- [13] 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(5826):889-894.
- [14] FISCHER J, KOCH L, EMMERLING C, et al. Inactivation of the *Fto* gene protects from obesity [J]. Nature,2009, 458(7240):894-898.
- [15] 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(4):641-647.
- [16] LIU Y, LIU Z, SONG Y, et al. Meta-analysis added power to identify variants in *FTO* associated with type 2 diabetes and obesity in the Asian population [J]. Obesity,2010, 18(8):1619-1624.
- [17] FAN B, DU Z Q, ROTHSCCHILD 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(2):58-70.
- [18] 陶 新,邓 波,门小明,等. 不同猪种肉质相关基因 *Hal*, *RN* 和 *FTO* 的多态性研究 [J]. 畜牧兽医学报,2012, 43(5):676-683.
- [19] BARTON S J, MOSQUERA M, CLEAL J K, et al. Relation of *FTO* gene variants to fetal growth trajectories: findings from the southampton women's survey [J]. Placenta,2016, 38(2):100-106.
- [20] MAYEUR S, CISSE O, GABORY A, et al. Placental expression of the obesity-associated gene *FTO* is reduced by fetal growth restriction but not by macrosomia in rats and humans [J]. J Dev Orig Health Dis,2013, 4(2):1-5.
- [21] SEBERT S, HYATT M, CHAN L, et al. Influence of prenatal nutrition and obesity on tissue specific fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene expression [J]. Reproduction,2010, 139(1):265-274.
- [22] ZIELKE L G, BORTFELDT R H, REISSMANN M. Impact of variation at the *fto* locus on milk fat yield in holstein dairy cattle [J]. PLoS One,2013, 8(5):e63406.
- [23] FU Y, FU J, REN Q, et al. Expression of Eph A molecules during swine embryo implantation [J]. Molecular Biology Reports,2012, 39(3):2179-2185.
- [24] SAMBROOK J, RUSSELL D W. Molecular cloning: a laboratory manual [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [25] LIVAK K, SCHMITTGEN T. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods,2001, 25(4):402-408.
- [26] SCHMITTGEN T, LIVAK K. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method [J]. Nature Protocols,2008, 3(6):1101-1108.
- [27] 马喜山,王爱国,傅金恋. 猪 HB-EGF 基因多态性与产仔数的关联性分析 [J]. 中国农业科学,2009, 42(1):274-282.
- [28] 付言峰,王爱国,李 兰,等. 胚胎附植期 Eph-Ephrin A 基因家族在猪子宫内膜中的 mRNA 表达变化 [J]. 江苏农业学报, 2013, 29(1):93-100.
- [29] MANDARD S, MÜLLER M, KERSTEN S. Peroxisome proliferator-activated receptor a target genes [J]. Cell Mol Life Sci,2004,

- 61(4):393-416.
- [30] WANG G, KONG L, HU P, et al. Effect of polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene on litter size of pigs [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(3):1807-1812.
- [31] 付言峰, 方晓敏, 李碧侠, 等. 瘦素受体表达量在苏钟猪脂肪沉积调控中的作用 [J]. 中国兽医学报, 2012, 32(9):1266-1271.
- [32] LI Y, GENG J, WANG Y, et al. The role of leptin receptor gene polymorphisms in determining the susceptibility and prognosis of NSCLC in Chinese patients [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 138(2):311-316.
- [33] 李碧侠, 赵芳, 付言峰, 等. 猪卵巢颗粒细胞中 *SIRT1* 基因表达量与雌激素分泌的相关性 [J]. 江苏农业学报, 2013, 29(3):555-558.
- [34] OH W K, CHO K B, HIEN T T, et al. Amurensin G, a potent natural SIRT1 inhibitor, rescues doxorubicin responsiveness via down-regulation of multidrug resistance [J]. Mol Pharmacol, 2010, 78(5):855-864.
- [35] SÉBERT S, HYATT M, CHAN L, et al. Influence of prenatal nutrition and obesity on tissue specific fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene expression [J]. Reproduction, 2010, 139(1):265-274.
- [36] TIWARI A, KRZYSIK-WALKER S, RAMACHANDRAN R. Cloning and characterization of chicken fat mass and obesity associated (*Fto*) gene: fasting affects *Fto* expression [J]. Domest Anim Endocrinol, 2012, 42(1):1-10.
- [37] BASSOLS J, PRATS-PUIG A, VAZQUEZ-RUIZ M, et al. Placental *FTO* expression relates to fetal growth [J]. Int J Obes, 2010, 34(9):1365-1370.
- [38] CARUSO V, CHEN H, MORRIS M J. Early hypothalamic *FTO* overexpression in response to maternal obesity - potential contribution to postweaning hyperphagia [J]. PLoS One, 2011, 6(9):e25261.
- [39] CHEN X, WANG X, LI Z, et al. Molecular cloning, tissue expression and protein structure prediction of the porcine 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase *HMGR* gene [J]. Gene, 2012, 495(2):170-177.
- [40] NIU B, YE L, LI F, et al. Identification of polymorphism and association analysis with reproductive traits in the porcine *RNF4* gene [J]. Animal Reproduction Science, 2009, 110(4):283-292.
- [41] FU Y, FU J, WANG A. Association of *EphA4* polymorphism with swine reproductive traits and mRNA expression of *EphA4* during embryo implantation [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39(3):2689-2696.

(责任编辑:陈海霞)