

周春宝, 刘林雨, 胡廷延, 等. 苏姜猪 *MC4R* 基因多态性及其与生产性状的关联分析[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(4): 929-935.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.04.015

苏姜猪 *MC4R* 基因多态性及其与生产性状的关联分析

周春宝¹, 刘林雨¹, 胡廷延^{1,2}, 倪黎纲¹, 徐 盼¹

(1. 江苏农牧科技职业学院动物科技学院, 江苏 泰州 225300; 2. 扬州大学动物科技学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 本研究旨在探讨 *MC4R* 基因多态性对苏姜猪生产性状的影响, 以期能够筛选出可用于提高苏姜猪生产性状的分子标记。利用 DNA 混合池和 Sanger 测序法对 *MC4R* 基因外显子进行单核苷酸多态性(SNP)检测, 分析 SNP 的遗传多态性及其与生产性状的关联性。结果显示, 苏姜猪 *MC4R* 基因外显子中共检测到 6 个 SNP 位点, 其中 1 个错义突变[*rs81219178 G>A(Asp298Asn)*], 5 个 3'UTR 突变(*rs325999553 G>A*, *rs344775772 T>A*, *rs334536177 A>C*, *rs335628164 C>T* 和 *rs81221063 A>T*), 均包含 3 种基因型, 且符合 Hardy-Weinberg 平衡, 2 个 SNP 位点为低度多态, 4 个 SNP 位点为中度多态。关联分析结果显示, *rs81219178 G>A(Asp298Asn)* 位点对胸围和胸宽有显著影响, 5 个 3'UTR 突变位点对体质量、体高和胸围有显著影响。*rs325999553 G>A* 和 *rs344775772 T>A* 呈现高度连锁, *rs334536177 A>C*, *rs335628164 C>T* 和 *rs81221063 A>T* 呈现高度连锁。结果提示, *MC4R* 基因对苏姜猪的部分生产性状有显著影响, 可作为苏姜猪早期选育的分子标记。

关键词: 苏姜猪; *MC4R*; 单核苷酸多态性; 生产性状

中图分类号: S858.28 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)04-0929-07

Analysis on *MC4R* gene polymorphism and its association with production traits in Sujiang pigs

ZHOU Chun-bao¹, LIU Lin-yu¹, HU Ting-yan^{1,2}, NI Li-gang¹, XU Pan¹

(1. School of Animal Science and Technology, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China; 2. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: This study was aimed to explore the effect of *MC4R* gene polymorphism on the production traits of Sujiang pigs, as so to screen molecular markers that can be used to improve the production traits of Sujiang pigs. Single nucleotide polymorphism (SNP) in the exons of *MC4R* gene was detected by DNA pooling and Sanger sequencing to analyze the genetic polymorphism of SNP and its association with production traits. The results showed that six SNP loci were detected in the exons of *MC4R* gene of Sujiang pigs, including one missense mutation [*rs81219178 G>A(Asp298Asn)*], five 3'UTR mutations (*rs325999553 G>A*, *rs344775772 T>A*, *rs334536177 A>C*, *rs335628164 C>T* and *rs81221063 A>T*), which all contained three genotypes and conformed to Hardy-Weinberg equilibrium. Two SNP loci were low polymorphic and four SNP loci were moderate polymorphic. Association analysis results indicated that *rs81219178 G>A(Asp298Asn)* locus had significant effects on chest circumference and chest width, and five 3'UTR mutational loci had significant effects on body weight, body height and chest circumference. There showed high linkages between *rs325999553 G > A* and *rs344775772 T > A*, among *rs334536177 A>C*, *rs335628164 C>T* and *rs81221063 A>T*. The results suggest that *MC4R* gene has a significant effect on some production traits of Sujiang pigs and can be used as a molecular marker in early breeding of Sujiang pigs.

收稿日期: 2021-01-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31702089); 江苏省第五期“333 高层次人才培养工程”项目; 江苏高校“青蓝工程”项目; 江苏省大学生创新创业训练计划项目(202012806026Y)

作者简介: 周春宝(1973-), 男, 江苏高邮人, 博士, 教授, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。(E-mail) zhou_tz@163.com。刘林雨为共同第一作者。

通讯作者: 徐 盼, (E-mail) panxu_nj@hotmail.com

There showed high linkages between *rs325999553 G > A* and *rs344775772 T > A*, among *rs334536177 A>C*, *rs335628164 C>T* and *rs81221063 A>T*. The results suggest that *MC4R* gene has a significant effect on some production traits of Sujiang pigs and can be used as a molecular marker in early breeding of Sujiang pigs.

Key words: Sujiang pig; *MC4R*; single nucleotide polymorphism (SNP); production traits

黑素皮质素受体-4 (Melanocortin-4 receptor, MC4R) 是黑素皮质素受体家族的 5 种亚型之一, 是下丘脑分泌的一种肽类物质, 为跨膜神经受体^[1]。MC4R 蛋白是 Leptin 蛋白调节采食量和刺激下丘脑神经原活性调控通路的下游物质, 具有介导 Leptin 蛋白的功能, 在人和动物体内主要参与调控食欲、体质量和能量代谢等生物学过程。

Vaisse 等^[2]、Geller 等^[3] 和 Young 等^[4] 发现 MC4R 基因的移码突变和错义突变与人的显性遗传学肥胖显著相关。靶向缺失 MC4R 基因的小鼠表现出食欲亢进、高胰岛素血症和高血糖症等肥胖相关的症状^[5]。Qiu 等^[6] 发现鸡 MC4R 基因 5'UTR 和编码区的突变与体质量、生长性状和胴体性状显著相关。Kim 等^[7-8] 报道, MC4R 基因中的错义突变 Asp298Asn 与猪的背膘厚、生长速度和采食量显著相关。因此, MC4R 基因是影响人和动物生长发育的重要候选基因之一。

苏姜猪是以姜曲海猪、枫泾猪、杜洛克为亲本, 采用继代选育方法, 经过 6 个世代继代选育而成的新品种猪^[9]。由于猪的遗传改良已经从表型选择发展到分子标记辅助选择 (Marker-assisted selection, MAS) 和全基因组选择等方法, 因此在苏姜猪持续选育的过程中, 建立苏姜猪分子育种的分子标记重要且必要。基于 MC4R 基因的功能, 本研究对 MC4R 基因外显子的单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphisms, SNP) 进行检测, 并对 MC4R 基因 SNP 与 7 个生产性状进行关联分析, 以期在苏姜猪群体中应用分子标记进行辅助选择奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物为来自江苏苏姜种猪有限公司的 365

头苏姜猪, 记录日龄 (180±5) d 时的体质量 (BW)、体长 (BL)、体高 (BH)、胸围 (CC)、胸宽 (CW)、臀宽 (HW) 和背膘厚 (BF) 7 个生产性状的数据^[9]。采集猪耳组织, 保存于 -20 °C 冰箱内待用。

1.2 主要试剂及仪器

基因组 DNA 提取试剂盒 (DP304)、2×Taq PCR Mastermix (KT201) 和 D2000 DNA Marker (MD114) 购自天根生化科技 (北京) 有限公司, 溴化乙锭 (E808961) 购自上海麦克林生化科技有限公司, Bio-west 西班牙琼脂糖 (111860) 购自南京迈克沃德生物科技有限公司, 50×TAE 缓冲液 (T1060) 购自北京索莱宝科技有限公司。

Biodrop 超微量核酸蛋白分析仪 (BD-1000, 北京五洲东方科技发展有限公司产品), Veriti 96 孔热循环仪 (4375786, 美国赛默飞世尔科技公司产品), 电泳仪 (DYY-7C, 北京六一生物科技有限公司产品), 凝胶成像系统 (GelDocIt 310, 美国 UVP 公司产品)。

1.3 基因组 DNA 提取及 DNA 混合池构建

采用血液/组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒提取猪耳组织 DNA, DNA 经 Biodrop 超微量核酸蛋白分析仪和琼脂糖凝胶电泳检验合格后稀释至 50 ng/μl, -20 °C 冰箱保存备用。每头猪取 1 μl DNA 构建 DNA 混合池, 共构建 10 个 DNA 混合池。

1.4 引物设计及合成

根据 Ensembl^{ASIA} (<http://asia.ensembl.org/index.html>) 中猪 MC4R 基因序列 (登录号: ENSSCG00000051798), 利用 Primer Premier 5.0 软件设计 3 对引物扩增 MC4R 基因外显子, 引物序列见表 1。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

表 1 引物序列

Table 1 Primers sequences

引物名称	引物序列 (5'→3')	扩增区域 (1 号染色体)	产物大小 (bp)	退火温度 (°C)
MC4R-1	F: ATTCAAAGAACTGAGGGGTAA R: CTGTGAACTCTGTGCGTCC	160 771 720~160 772 900	1 181	59
MC4R-2	F: TGGAACCGCAGCACCTAC R: AATCCATTGTGCCTATAACCTG	160 772 591~160 773 749	1 180	61
MC4R-3	F: AGCCAAGAACTGAGGAAAACC R: CTGAAATACCTGTGCGATAGA	160 773 461~160 774 620	1 181	61

1.5 PCR 扩增

25.0 μl PCR 反应体系包括 $2\times\text{Taq}$ PCR Master-mix 12.5 μl , 上游引物 (F) 1.0 μl , 下游引物 (R) 1.0 μl , 模板 DNA 1.5 μl , ddH₂O 水 9.0 μl 。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 退火 30 s (退火温度见表 1), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 35 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.6 *MC4R* 基因多态性检测

将 PCR 产物送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行 Sanger 测序, 测序结果用 DNASTAR.Lasergene.v7.1 软件和 Chromas.v2.22 软件进行分析。

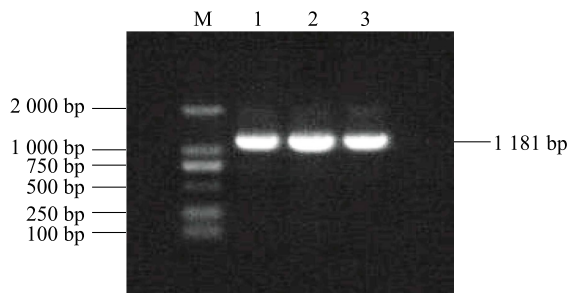
1.7 统计分析

根据测序结果, 使用 Microsoft Excel 计算苏姜猪 *MC4R* 基因的基因型频率及等位基因频率。使用 χ^2 检验进行哈迪-温伯格平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) 检验。使用 PopGene 32 分析苏姜猪群体 *MC4R* 基因纯合度、杂合度、有效等位基因数和多态信息含量等遗传多样性参数^[10]。使用 SPSS 19.0 的单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 统计苏姜猪群体中 *MC4R* 基因不同基因型与生产性状的关联性^[11-12], 结果用平均值 \pm 标准差表示, 使用邓肯氏新复极差法 (Duncan's) 进行各组平均值之间的差异显著性分析, 当 $P<0.05$ 时表示差异显著。利用 Haploview 软件 (<https://www.broadinstitute.org/haploview/haploview>) 对 *MC4R* 基因 SNP 位点进行连锁不平衡性分析。

2 结果与分析

2.1 *MC4R* 基因的 PCR 扩增结果

PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳结果见图 1, PCR 扩增产物条带单一, 产物大小与目的片段大小相符。



M: D2 000 DNA marker; 1~3: *MC4R* 基因 PCR 扩增产物。

图 1 *MC4R* 基因电泳检测结果

Fig.1 Electrophoresis detection results of *MC4R* gene

2.2 *MC4R* 基因的多态性 SNP 位点

MC4R 基因外显子区域检测到 6 个 SNP 位点, 分别为 *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*)、*rs325999553 G>A*、*rs344775772 T>A*、*rs334536177 A>C*、*rs335628164 C>T* 和 *rs81221063 A>T*, 其中 *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*) 是错义突变, 其余 5 个 SNP 是 3'UTR 突变 (表 2)。

表 2 *MC4R* 基因单核苷酸多态性 (SNP) 统计

Table 2 Single nucleotide polymorphism (SNP) statistics of *MC4R* gene

单核苷酸多态性 (SNP) 位点	位置	突变类型	引物名称
<i>rs81219178 G>A</i> (<i>Asp298Asn</i>)	160 773 437	错义突变	<i>MC4R-2</i>
<i>rs325999553 G>A</i>	160 773 559	3'UTR 突变	<i>MC4R-2</i> 、 <i>MC4R-3</i>
<i>rs344775772 T>A</i>	160 773 562	3'UTR 突变	<i>MC4R-2</i> 、 <i>MC4R-3</i>
<i>rs334536177 A>C</i>	160 773 730	3'UTR 突变	<i>MC4R-2</i> 、 <i>MC4R-3</i>
<i>rs335628164 C>T</i>	160 773 885	3'UTR 突变	<i>MC4R-3</i>
<i>rs81221063 A>T</i>	160 773 971	3'UTR 突变	<i>MC4R-3</i>

2.3 *MC4R* 基因 SNP 的遗传多态性分析

由表 3 可知, SNP 位点 *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*) 有 3 种基因型, 分别为 GG、GA 和 AA, 其中 GG 为优势基因型, 有 2 种等位基因, 分别为 G 和 A, 其中 G 为优势等位基因; *rs325999553 G>A* 有 3 种基因型, 分别为 GG、GA 和 AA, 其中 GG 为优势基因型, 有 2 种等位基因, 分别为 G 和 A, 其中 G 为优势等位基因; *rs344775772 T>A* 位点有 3 种基因型, 分别为 TT、TA 和 AA, 其中 TT 为优势基因型, 有 2 种等位基因, 分别为 T 和 A, 其中 T 为优势等位基因; *rs334536177 A>C* 位点有 3 种基因型, 分别为 AA、AC 和 CC, 其中 AA 为优势基因型, 有 2 种等位基因, 分别为 A 和 C, 其中 A 为优势等位基因; *rs335628164 C>T* 位点有 3 种基因型, 分别为 CC、CT 和 TT, 其中 CC 为优势基因型, 有 2 种等位基因, 分别为 C 和 T, 其中 C 为优势等位基因; *rs81221063 A>T* 位点有 3 种基因型, 分别为 AA、AT 和 TT, 其中 AA 为优势基因型, 有 2 种等位基因, 分别为 A 和 T, 其中 A 为优势等位基因。经 χ^2 检验, 6 个 SNP 在苏姜猪群体中符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P>0.05$)。

由表 4 可知, *rs81219178 G>A* 在 6 个 SNP 中纯合度最低, 杂合度最高, 有效等位基因数最多, 多态性信息含量 (PIC) 最高; *rs325999553 G>A* 和

rs344775772 T>A 属于低度多态 ($PIC < 0.250$), 其余 4 个位点属于中度多态 ($0.250 \leq PIC \leq 0.500$)。

表 3 *MC4R* 基因多态性位点基因型频率和等位基因频率

Table 3 Genotype frequency and allele frequency of single nucleotide polymorphism (SNP) in *MC4R* gene

单核苷酸多态性 (SNP) 位点	基因型频率			等位基因频率		P
<i>rs81219178 G>A (Asp298Asn)</i>	GG (0.537)	GA (0.392)	AA (0.071)	G (0.733)	A (0.267)	0.990
<i>rs325999553 G>A</i>	GG (0.732)	GA (0.241)	AA (0.027)	G (0.852)	A (0.148)	0.404
<i>rs344775772 T>A</i>	TT (0.732)	TA (0.241)	AA (0.027)	T (0.852)	A (0.148)	0.404
<i>rs334536177 A>C</i>	AA (0.668)	AC (0.307)	CC (0.025)	A (0.822)	C (0.178)	0.357
<i>rs335628164 C>T</i>	CC (0.652)	CT (0.321)	TT (0.027)	C (0.812)	T (0.188)	0.327
<i>rs81221063 A>T</i>	AA (0.652)	AT (0.321)	TT (0.027)	A (0.812)	T (0.188)	0.327

表 4 *MC4R* 基因多态性位点的群体遗传参数

Table 4 Genetic parameter of *MC4R* gene polymorphic loci

单核苷酸多态性 (SNP) 位点	纯合度	杂合度	有效等位基因数 (个)	多态性信息含量
<i>rs81219178 G>A (Asp298Asn)</i>	0.608	0.392	1.643	0.315
<i>rs325999553 G>A</i>	0.748	0.252	1.337	0.220
<i>rs344775772 T>A</i>	0.748	0.252	1.337	0.220
<i>rs334536177 A>C</i>	0.707	0.293	1.414	0.250
<i>rs335628164 C>T</i>	0.695	0.305	1.439	0.258
<i>rs81221063 A>T</i>	0.695	0.305	1.439	0.258

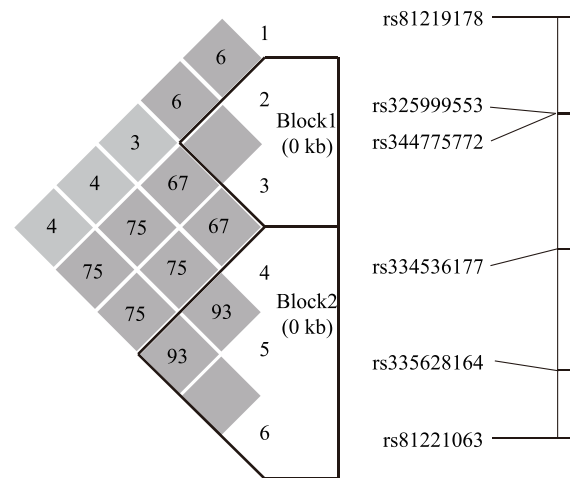


图 2 苏姜猪 *MC4R* 基因 6 个 SNP 的连锁不平衡分析

Fig.2 Linkage disequilibrium analysis of six single nucleotide polymorphism (SNP) of *MC4R* gene

2.4 *MC4R* 基因 6 个 SNP 连锁不平衡分析

图 2 的连锁不平衡分析结果显示, *rs325999553 G>A* 和 *rs344775772 T>A* 呈现高度连锁, *rs334536177 A>C*、*rs335628164 C>T* 和 *rs81221063 A>T* 呈现高度连锁。

2.5 苏姜猪 *MC4R* 基因 6 个 SNP 与生产性状的关联分析

由表 5 可知, SNP 位点 *rs81219178 G>A (Asp298Asn)* AA 和 GA 基因型个体胸围、胸宽显著高于 GG 基因型 ($P < 0.05$), 其余性状不同基因型之间差异均不显著 ($P > 0.05$); *rs325999553 G>A* 位点 GG 基因型个体体质量、体高、胸围显著高于 AA 基因型 ($P < 0.05$), GG 基因型体高显著高于 GA 基因型 ($P < 0.05$), 其余性状不同基因型之间差异均不显著 ($P > 0.05$); *rs344775772 T>A* 位点 TT 基因型个体体质量、体高、胸围显著高于 AA 基因型 ($P < 0.05$), TT 基因型个体体高显著高于 TA 基因型 ($P < 0.05$), 其余性状不同基因型之间差异均不显著 ($P > 0.05$);

rs334536177 A>C 位点 AA 基因型和个体体质量、体高、胸围显著高于 CC 基因型 ($P < 0.05$), AC 基因型个体体高、胸围显著高于 CC 基因型 ($P < 0.05$), 其余性状不同基因型之间差异均不显著 ($P > 0.05$); *rs335628164 C>T* 位点 CC 基因型个体体质量、体高、胸围显著高于 TT 基因型 ($P < 0.05$), CT 基因型个体体高、胸围显著高于 TT 基因型 ($P < 0.05$), 其余性状不同基因型之间差异均不显著 ($P > 0.05$); *rs81221063 A>T* 位点 AA 基因型个体体质量、体高、胸围显著高于 TT 基因型 ($P < 0.05$), AT 基因型个体体高、胸围显著高于 TT 基因型 ($P < 0.05$), 其余性状不同基因型之间差异均不显著 ($P > 0.05$)。

表 5 苏姜猪 *MC4R* 基因 6 个 SNP 与生产性状的关联分析Table 5 Association analysis between six single nucleotide polymorphism (SNP) of *MC4R* gene and production traits in Sujiang pigs

单核苷酸多态性 (SNP) 位点	基因型	体质量 (kg)	体长 (cm)	体高 (cm)	胸围 (cm)	胸宽 (cm)	臀宽 (cm)	背膘厚 (mm)
<i>rs81219178 G>A</i> (<i>Asp298Asn</i>)	GG	77.77(196)	99.02(196)	59.54(130)	99.29(196)b	28.60(130)b	27.34(130)	16.68(180)
	GA	81.13(143)	99.35(143)	59.63(88)	101.90(143)a	29.88(88)a	27.85(88)	17.52(123)
	AA	81.31(26)	98.10(26)	58.95(10)	103.39(26)a	30.80(10)a	27.95(10)	19.29(20)
<i>rs325999553 G>A</i>	GG	80.02(267)a	99.37(267)	59.86(159)a	100.89(267)a	29.52(159)	27.79(159)	16.79(233)
	GA	78.00(88)ab	98.32(88)	59.03(62)b	100.15(88)ab	28.66(62)	27.18(62)	18.30(80)
	AA	73.06(10)b	97.95(10)	57.00(7)b	96.95(10)b	26.43(7)	25.93(7)	16.77(10)
<i>rs344775772 T>A</i>	TT	80.02(267)a	99.37(267)	59.86(159)a	100.89(267)a	29.52(159)	27.79(159)	16.79(233)
	TA	78.00(88)ab	98.32(88)	59.03(62)b	100.15(88)ab	28.66(62)	27.18(62)	18.30(80)
	AA	73.06(10)b	97.95(10)	57.00(7)b	96.95(10)b	26.43(7)	25.93(7)	16.77(10)
<i>rs334536177 A>C</i>	AA	79.64(244)a	99.35(244)	59.81(146)a	100.83(244)a	29.44(146)	27.63(146)	16.83(214)
	AC	79.33(112)ab	98.62(112)	59.27(75)a	100.50(112)a	28.96(75)	27.59(75)	17.96(100)
	CC	71.26(9)b	97.39(9)	57.00(7)b	95.83(9)b	26.43(7)	25.93(7)	16.16(9)
<i>rs335628164 C>T</i>	CC	79.59(238)a	99.37(238)	59.79(142)a	100.78(238)a	29.48(142)	27.64(142)	16.82(208)
	CT	79.38(117)ab	98.58(117)	59.35(79)a	100.57(117)a	28.91(79)	27.57(79)	17.88(105)
	TT	73.06(10)b	97.95(10)	57.00(7)b	96.95(10)b	26.43(7)	25.93(7)	16.77(10)
<i>rs81221063 A>T</i>	AA	79.59(238)a	99.37(238)	59.79(142)a	100.78(238)a	29.48(142)	27.64(142)	16.82(208)
	AT	79.38(117)ab	98.58(117)	59.35(79)a	100.57(117)a	28.91(79)	27.57(79)	17.88(105)
	TT	73.06(10)b	97.95(10)	57.00(7)b	96.95(10)b	26.43(7)	25.93(7)	16.77(10)

同一列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 括号内数字为个体数(头)。

3 讨论

猪 *MC4R* 基因位于 1 号染色体, 含 1 个外显子和 2 个内含子, 编码 332 个氨基酸, 被认为是影响猪生长发育的候选基因, 具有较高的生产应用价值^[8,13-15]。相同基因或分子标记在不同品种(品系)的猪群体中对表型的影响不一致。本研究以苏姜猪为研究对象, 验证猪 *MC4R* 基因对其生产性状的影响。作为继限制性片段长度多态性(Restriction fragment length polymorphism, RFLP)和微卫星标记后的新一代分子标记, 单核苷酸多态性已广泛应用于猪的育种领域, 但在筛选开发 SNP 时样本量大会导致工作量大、成本高。作为随基因诊断技术的发展而建立起来的一种快速高效的检测技术, DNA 混合池适用于基因型分型、突变检测、连锁分析、基因定位等^[16-17]。研究结果表明, 大部分功能变异都潜藏在外显子中^[18-20]。因此, 本研究采用 DNA 混合池和 Sanger 测序法对苏姜猪 *MC4R* 基因外显子区域 SNP

进行检测, 共发现 6 个 SNP, 包括 1 个错义突变和 5 个 3' UTR 突变。*MC4R* 基因的 6 个 SNP 均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P>0.05$), 表明苏姜猪群体未发生 *MC4R* 基因的遗传漂变, 群体未经过 *MC4R* 基因辅助选择。6 个 SNP 的纯合度高于杂合度, 表明苏姜猪群体 *MC4R* 基因的 6 个 SNP 遗传均匀性较高。6 个 SNP 中有 4 个 SNP (*rs81219178 G>A*、*rs334536177 A>C*、*rs335628164 C>T*、*rs81221063 A>T*) 属于中度多态 ($0.250 \leq PIC \leq 0.500$), 表明该 4 个位点具有较大的选育潜力。

错义突变位点 *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*) 已在多项研究中被报道与猪的生长发育相关。Kim 等^[8]研究发现西方品种猪中 *MC4R* 基因 *Asp298Asn* 位点 AA 基因型个体与 GG 基因型个体相比有更厚的背膘和更快的生长速度。杨晓慧等^[21]在 333 头商品猪群体中发现 AA 基因型个体的背膘厚显著高于 AG 和 GG 基因型个体。闫德超^[22]的研究结果表明, 在美系大白猪和法系大白猪群体中, AA 基因型

个体的背膘厚显著高于 AG 和 GG 型个体。熊琪等^[23]在大白猪×清平猪 F₂ 黑色群体中发现, AA 基因型个体的背膘厚显著高于 AG 和 GG 基因型个体。赵聪哲等^[12]在分析 *MC4R* 基因多态性与生长性状的关联性时发现, AA 型大白猪 6 月龄的体质量显著高于 GG 型。本研究中, *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*) 突变位点对苏姜猪生产性状的影响与上述研究结果相符, 苏姜猪群体中 AA 基因型个体与 AG 和 GG 基因型个体相比背膘更厚、体质量更大, 但差异未达到显著水平, 其原因可能是试验群体中 AA 基因型个体的数量较少, 下一步试验应扩大样本量进行验证分析。另有多项报道显示, *G* 等位基因和背膘厚显著相关^[8, 24], 也有多项研究结果表明, *MC4R* 基因 *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*) 突变位点对猪的背膘厚和生长速度无显著影响^[25-26]。因此, *MC4R* 基因 *rs81219178 G>A* (*Asp298Asn*) 突变位点对不同品种猪的生长发育影响不同, 该突变不是影响猪生产性状的因果突变, 但可能与因果突变连锁。

本研究中的 6 个 SNP 中有 5 个 3'UTR 突变。3'UTR 参与转录后基因的表达调控, 影响 mRNA 稳定性、亚细胞定位和蛋白翻译效率等生物学过程^[27-29]。大量研究表明, 3'UTR 与畜禽生产性能密切相关。Cui 等^[30]在鸡 *HMGR* 基因 3'UTR 发现的 SNP 对血清和肌肉中胆固醇含量有显著影响。Hou 等^[31]发现山羊 *MTHFR* 基因 3'UTR 的 2 个 miR-SNP 突变与产奶性状相关。Li 等^[32]在牛 *HMGB1* 基因 3'UTR 鉴定到与奶牛乳房炎相关的分子标记。Zang 等^[33]在猪 *DGAT2* 基因 3'UTR 发现的多态位点与猪背膘厚和瘦肉率显著相关。Zhang 等^[34]的研究结果表明, miRNA-29c 通过靶向 *YY1* 基因参与猪肌肉发育。本研究中 5 个 3'UTR 突变对体质量、体高和胸围有显著影响。3'UTR 是 miRNA 的结合区域, miRNA 是内源性的具有调控功能的非编码 RNA, 介导 mRNA 的降解和阻遏翻译^[35], 下一步试验应进行 5 个 3'UTR 突变的靶向 miRNA 研究。

SNP 参考文献:

- [1] YEO G S, FAROOQI I S, CHALLIS B G, et al. The role of melanocortin signalling in the control of body weight: evidence from human and murine genetic models [J]. QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians, 2000, 93(1): 7-14.
- [2] VAISSE C, CLEMENT K, DURAND E, et al. Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2000, 106(2): 253-262.
- [3] GELLER F, REICHWALD K, DEMPFLER A, et al. Melanocortin-4 receptor gene variant I103 is negatively associated with obesity [J]. The American Journal of Human Genetics, 2004, 74(3): 572-581.
- [4] YOUNG E H, WAREHAM N J, FAROOQI S, et al. The V103I polymorphism of the *MC4R* gene and obesity: population based studies and meta-analysis of 29 563 individuals [J]. International Journal of Obesity, 2007, 31(9): 1437-1441.
- [5] HUSZAR D, LYNCH C A, FAIRCHILD-HUNTRESS V, et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice [J]. Cell, 1997, 88(1): 131-141.
- [6] QIU X, LI N, DENG X, et al. The single nucleotide polymorphisms of chicken melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene and their association analysis with carcass traits [J]. Science in China (Series C: Life Sciences), 2006, 49(6): 560-566.
- [7] KIM K S, LARSEN N J, ROTHSCCHILD M F. Rapid communication: linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene [J]. Journal of Animal Science, 2000, 78(3): 791-792.
- [8] KIM K S, LARSEN N, SHORT T, et al. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits [J]. Mammalian Genome, 2000, 11(2): 131-135.
- [9] XU P, NI L, TAO Y, et al. Genome-wide association study for growth and fatness traits in Chinese Sujiang pigs [J]. Animal Genetics, 2020, 51(2): 314-318.
- [10] 陈露露, 王 会, 柴志欣, 等. 牦牛 *MDH I* 基因多态性及其与生长性状的关联分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(9): 2658-2664.
- [11] 易恒洁, 李 辉, 赵忠海, 等. 高坡猪肌肉生长抑制素基因多态性及其与肉质性状的相关性分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(4): 1102-1107.
- [12] 赵聪哲, 罗晓彤, 李兆华, 等. 大白猪 *MC4R*, *CDC16* 基因多态性及其与生长性状的关联分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(3): 792-799.
- [13] HOUSTON R D, CAMERON N D, RANCE K A. A melanocortin-4 receptor (*MC4R*) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected Large White pig populations [J]. Animal Genetics, 2004, 35(5): 386-390.
- [14] SWITONSKI M, MANKOWSKA M, SALAMON S. Family of melanocortin receptor (MCR) genes in mammals-mutations, polymorphisms and phenotypic effects [J]. Journal of Applied Genetics, 2013, 54(4): 461-472.
- [15] JOKUBKA R, MAAK S, KERZIENE S, et al. Association of a melanocortin 4 receptor (*MC4R*) polymorphism with performance traits in Lithuanian White pigs [J]. Journal of Animal Breeding and Genetics, 2006, 123(1): 17-22.

- [16] DARVASI A, SOLLER M. Selective DNA pooling for determination of linkage between a molecular marker and a quantitative trait locus [J]. *Genetics*, 1994, 138(4): 1365-1373.
- [17] 童大跃. 混合 DNA 样品池扩增法及其应用 [J]. *生物技术通讯*, 1999(3): 213-216.
- [18] BOTSTEIN D, RISCH N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease [J]. *Nature Genetics*, 2003, 33(S3): 228-237.
- [19] WANG J L, YANG X, XIA K, et al. *TGM6* identified as a novel causative gene of spinocerebellar ataxias using exome sequencing [J]. *Brain*, 2010, 133(12): 3510-3518.
- [20] LIU Y, GAO M, LYU Y M, et al. Confirmation by exome sequencing of the pathogenic role of *NCSTN* mutations in acne inversa (*hidradenitis suppurativa*) [J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2011, 131(7): 1570-1572.
- [21] 杨晓慧, 刘源, 唐辉, 等. 猪 *MC4R* 基因 *Asp298Asn* 位点的多态性及其与商品猪背膘厚的关系 [J]. *农业生物技术学报*, 2008, 16(3): 407-411.
- [22] 闫德超. 大白猪 *MC4R*、*IGF2* 和 *VRTN* 基因的多态性及其与生产性状的关联分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [23] 熊琪, 陈文娟, 彭健, 等. *MC4R* 和 *NR6A1* 基因与大白猪×清平猪 F₂ 黑色群体的经济性性状关联分析 [J]. *湖北农业科学*, 2019, 58(5): 90-93.
- [24] 李星润, 兰国湘, 王孝义, 等. 猪 *MC4R* 基因 *Asp298Asn* 位点多态性及其与生长性状的关联 [J]. *畜牧与兽医*, 2016, 48(2): 23-27.
- [25] PARK H B, CARLBORG Ö, MARKLUND S, et al. Melanocortin-4 receptor (*MC4R*) genotypes have no major effect on fatness in a Large White×Wild Boar intercross [J]. *Animal Genetics*, 2015, 33(2): 155-157.
- [26] STACHOWIAK M, SZYDŁOWSKI M, OBARZANEK-FOJT M, et al. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful [J]. *Animal Genetics*, 2010, 37(1): 55-57.
- [27] VOGEL C, ABREU RDE S, KO D, et al. Sequence signatures and mRNA concentration can explain two-thirds of protein abundance variation in a human cell line [J]. *Molecular Systems Biology*, 2010, 6: 400.
- [28] QUATTRONE A, DASSI E. Introduction to bioinformatics resources for post-transcriptional regulation of gene expression [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2016, 1358: 3-28.
- [29] MIGNONE F, GISSI C, LIUNI S, et al. Untranslated regions of mRNAs [J]. *Genome Biology*, 2002, 3(3). doi: 10.1186/gb-2002-3-3-review50004.
- [30] CUI H X, YANG S Y, WANG H Y, et al. The effect of a mutation in the 3'-UTR region of the *HMGR* gene on cholesterol in Beijing-you chickens [J]. *Animal Biotechnology*, 2010, 21(4): 241-251.
- [31] HOU J X, AN X P, SONG Y X, et al. Two mutations in the caprine *MTHFR* 3'-UTR regulated by MicroRNAs are associated with milk production traits [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133015.
- [32] LI L M, HUANG J M, ZHANG X J, et al. One SNP in the 3'-UTR of *HMGB1* gene affects the binding of target *bta-miR-223* and is involved in mastitis in dairy cattle [J]. *Immunogenetics*, 2012, 64(11): 817-824.
- [33] ZANG L, WANG Y D, SUN B X, et al. Identification of a 13 bp indel polymorphism in the 3'-UTR of *DGAT2* gene associated with backfat thickness and lean percentage in pigs [J]. *Gene*, 2016, 576(2): 729-733.
- [34] ZHANG W Y, WEI W Y, ZHAO Y Y, et al. The microRNA, miR-29c, participates in muscle development through targeting the *YYI* gene and is associated with postmortem muscle pH in pigs [J]. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2015, 2(4): 311-317.
- [35] DJURANOVIC S, NAHVI A, GREEN R. miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay [J]. *Science*, 2012, 336(6078): 237-240.

(责任编辑: 陈海霞)