

CAPN1 基因在寿光鸡群体中的遗传变异分析

郭彦, 周国利, 吕鑫, 刘霞
(聊城大学 生命科学学院, 山东 聊城 252059)

摘要: 采用 PCR-SSCP 方法对寿光鸡 *CAPN1* 基因进行多态性检测, 并分析它们的多态性与部分肉质性状的关系。结果表明, 含有 *CAPN1* 基因外显子 5 的引物 CE5 扩增的座位在群体中检测到 3 种基因型 AA、AB 和 BB, 基因型频率分别为 0.266、0.520 和 0.214; 等位基因 A 和 B 的频率分别为 0.524 和 0.476。CE8 引物扩增的座位在群体中也检测到 3 种基因型 AA、AB 和 BB, 基因型频率分别为 0.378、0.510 和 0.112; 等位基因 A 和 B 的频率分别为 0.633 和 0.367。关联分析结果表明: 含有 *CAPN1* 基因外显子 5 的引物 CE5 座位对肌内脂肪含量和腿肌蒸煮损失存在显著性影响 ($P < 0.05$), CE8 座位对胸肌蒸煮损失存在显著性影响 ($P < 0.05$)。

关键词: *CAPN1* 基因; 寿光鸡; 肉质性状; 遗传变异; 多态性

中图分类号: S831.8 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2011)01-0154-03

Genetic Variation Analysis of *CAPN1* Gene in Shouguang Chicken

GUO Yan, ZHOU Guoli, LÜ Xin, LIU Xia
(College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract: PCR-SSCP method was used to detect the polymorphism of *CAPN1* gene in Shouguang chicken, and its relationship with some meat quality traits of Shouguang chicken was also analyzed. Three genotypes AA, AB and BB were detected at CE5 locus. Frequencies of three genotypes were 0.266, 0.520 and 0.214, respectively. Frequencies of allele A and B were 0.524 and 0.476, respectively. Three genotypes AA, AB and BB were detected at CE8 locus. Frequencies of three genotypes were 0.378, 0.510 and 0.112, respectively. Frequencies of allele A and B were 0.633 and 0.367, respectively. Statistical analysis indicated that the CE5 locus showed a significant effect on intramuscular fat content and cooking loss of leg muscle ($P < 0.05$). The CE8 locus showed a significant effect on cooking loss of chest muscle ($P < 0.05$).

Key words: *CAPN1* gene; Shouguang chicken; Meat quality traits; Genetic variation; Polymorphism

候选基因法在动物育种中已经被运用, 目的是加速符合人类需要的基因型个体的选择速度。在对肉质性状的研究中, 基因对于肌原纤维蛋白质水解路径的影响已经被证实^[1]。组织蛋白酶和钙蛋白酶 (calpain) 基因已被证实是影响肉品质的候选基因^[2]。自从得知钙蛋白酶能够降解肌肉蛋白质以来, 更多的研究已经集中到钙蛋白酶的基因上。随着分子生物学的发展, 国内已经开始了 calpain 系统基因水平的研究^[2-3]。本研究以鸡钙蛋白酶 I 基因

(*CAPN1*) 为肉质性状候选基因, 对寿光鸡 *CAPN1* 基因进行多态性检测, 并分析其遗传变异与肉质性状的关系, 旨在为寿光鸡肉品质的标记辅助选择研究积累分子基础数据。

1 材料和方法

1.1 材料

以同一条件下饲养的 9 周龄左右的 143 只寿光鸡为材料, 翅静脉采血, ACD 抗凝, 置于冰盒内带回

收稿日期: 2010-09-16

基金项目: 山东省自然基金项目 (Y2007D33)

作者简介: 郭彦 (1974), 女, 吉林松原人, 副教授, 硕士, 主要从事遗传学研究。E-mail: guoyan2001@lcu.edu.cn

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

实验室用于 DNA 的提取。肉质性状的测定包括胸肌 pH_u 值、腿肌 pH_u 值、肌红蛋白含量、肌内脂肪含量、胸肌剪切力、腿肌剪切力、胸肌失水率、胸肌蒸煮损失和腿肌蒸煮损失。

1.2 引物设计和 PCR 扩增

根据鸡 *CAPN1* 基因的 DNA 序列 (GenBank

No. : NC_006090) , 用 DNAMan5.0 和 Oligo6.0 软件设计鸡 *CAPN1* 基因外显子 5 和 8 的特异引物 (包括外显子 5 和 8 两侧的部分内含子区域) , 引物合成由北京华大基因有限公司完成(表 1)。

鸡血样基因组 DNA 的提取用柱式全血基因组抽提试剂合提取(上海生工生物工程技术服务有限公

表 1 用于 PCR-SSCP 多态性检测的引物序列及反应条件

引物名称	引物序列(5'-3')	片段大小/bp	退火温度/℃
CE5	上游: TGTGCCCTCATCACCTCAGC	211	58
	下游: ATGGAGCAGCCCAGCAGG		
CE8	上游: CGGCTATTCCAGTTCTTCC	161	55
	下游: GTTCTCTTTCAGGTTCCCAT		

司), 提取后的 DNA 用 TE 缓冲液溶解, - 20℃ 保存备用。PCR 扩增反应体系为 25 μL, 其中基因组 DNA 0.5 μL, 上、下游引物各 0.5 μL, dNTPs 2 μL, 10× 扩增缓冲液 2.5 μL, *Taq* 酶 1.25 U, 然后用灭菌双蒸水补足 25 μL。PCR 反应条件为: 样品经 94℃ 变性 3 min 后, 按下列程序进行扩增: 94℃ 变性 30 s, X℃ 退火 30 s(退火温度见表 1), 72℃ 延伸 30 s, 34 个循环后, 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 PCR-SSCP 多态性检测

取 2 μL PCR 产物和 5 μL 的上样缓冲液(98% 甲酰胺、0.025% 溴酚蓝、0.025% 二甲苯氰、10 mmol/L EDTA (pH 8.0)、10% 甘油) 置于 PCR 管中, 离心混匀, 98℃ 变性 10 min, 迅速插入冰中, 放置 10 min, 使之保持变性状态。样品用最佳胶浓度为 29: 1 (丙烯酰胺: 甲叉双丙烯酰胺) 的 14% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测。电泳结束后, 进行银染显带, 之后拍照、进行基因型分析并记录结果。

1.4 统计分析

配合下列模型进行最小二乘方差分析, 比较肉质性状在不同基因型之间的差异: $Y_{ij} = \mu + Genotype_i + e_{il}$ 。其中, Y_{il} 为性状的观察值; μ 为群体平均值; $Genotype_i$ 为第 i 种标记基因型的固定效应; e_{il} 为随机残差效应。用 SPSS 11.0 的 GLM (General Liner Model) 过程完成。

2 结果与分析

2.1 *CAPN1* 基因的 PCR-SSCP 检测结果

用设计的 2 对引物 CE5 和 CE8 分别对不同鸡个体的基因组 DNA 进行 PCR 扩增, 所得 PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。结果发现, 扩增片段与目的片段大小一致, 目的条带清晰, 特异性好, 可直接用于 SSCP 分析。对扩增产物用 14% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳检测, 发现 *CAPN1* 基因 CE5 引物含有 3 种不同基因型, 分别命名为 AA、AB 和 BB; CE8 引物也含有 3 种不同基因型, 分别命名为 AA、AB 和 BB (图 1) 。

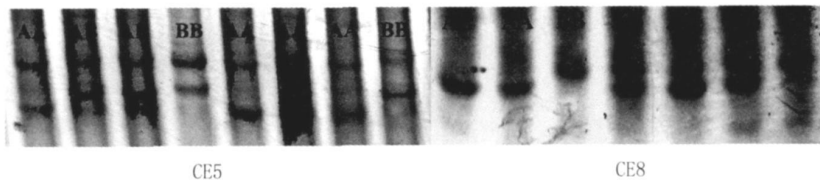


图 1 CE5 和 CE8 引物扩增片段的 PCR-SSCP 电泳图谱

2.2 *CAPN1* 基因的 PCR-SSCP 遗传多态性分析

在寿光鸡群体中, *CAPN1* 基因在 CE5 和 CE8 引物扩增座位的群体遗传参数见表 2。由表 2 可以看出, 在寿光鸡群体中, CE5 座位的等位基因 A 和 B 的频率相差不大。CE8 座位的等位基因 A 的基因频率为 0.633, 为优势等位基因。适合性 χ^2 检验

结果表明, 群体在这 2 个座位上的基因频率均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P > 0.05$)。

2.3 *CAPN1* 基因的 PCR-SSCP 多态性与肉质性状的分析

由表 3 可见, 在寿光鸡群体 CE5 座位中, BB 基因型个体的肌内脂肪含量 (4.85%) 显著高于 AA 基

表 2 CAPNI 基因在寿光鸡中的群体遗传学参数

座位	AA	AB	BB	A	B	Hardy- Weinberg 平衡检验
CE5	0.266(38)	0.517(74)	0.217(31)	0.524	0.476	$\chi^2=0.186(P>0.05)$
CE8	0.378(54)	0.510(73)	0.112(16)	0.633	0.367	$\chi^2=0.935(P>0.05)$

表 3 CAPNI 基因不同基因型肉质性状的最小二乘均值及标准误

肉质性状	CE5 座位的基因型(LSM±SE)			CE8 座位的基因型(LSM±SE)		
	AA	AB	BB	AA	AB	BB
胸肌 pHu	6.14±0.07	6.22±0.05	6.14±0.08	6.26±0.06	6.15±0.05	6.11±0.11
腿肌 pHu	6.53±0.12	6.37±0.09	6.28±0.13	6.29±0.10	6.44±0.09	6.48±0.19
肌红蛋白含量/(μmol/g)	2.27±0.17	1.95±0.12	1.90±0.19	2.06±0.15	2.03±0.13	1.87±0.27
肌内脂肪含量/%	3.07±0.59b	3.86±0.42ab	4.85±0.66a	4.04±0.50	3.83±0.43	3.43±0.92
胸肌剪切力/kgf	1.74±0.11	1.60±0.08	1.58±0.12	1.60±0.09	1.61±0.08	1.82±0.16
腿肌剪切力/kgf	1.60±0.08	1.61±0.06	1.47±0.09	1.55±0.07	1.60±0.06	1.58±0.12
胸肌失水率/%	6.51±0.37	6.77±0.26	6.82±0.41	6.87±0.31	6.54±0.27	6.98±0.57
胸肌蒸煮损失/%	21.55±0.90	21.16±0.65	22.07±1.01	22.57±0.74a	21.00±0.64ab	19.82±1.36b
腿肌蒸煮损失/%	24.14±1.40a	19.68±1.00b	21.83±1.56ab	21.34±1.22	21.54±1.05	20.26±2.23

注:同行字母不同表示差异显著($P<0.05$);同行未标字母者表示差异不显著($P>0.05$);pHu 表示屠宰 24h 后 pH 值

因型个体的肌内脂肪含量(3.07%)($P<0.05$),AB 基因型个体的腿肌蒸煮损失(19.68%)显著低于 AA 基因型个体的腿肌蒸煮损失(24.14%)($P<0.05$),其他性状指标在不同基因型之间差异不显著。在 CE8 座位中,BB 基因型个体的胸肌蒸煮损失(19.82%)显著低于 AA 基因型个体的胸肌蒸煮损失(22.57%)($P<0.05$),其他性状指标在不同基因型之间差异不显著。

3 讨论

研究表明,CAPNI 基因在不同鸡品种中都存在多态性^[4-5]。本研究率先分析了寿光鸡群体 CAPNI 基因的多态性,结果表明,寿光鸡群体在 CE5 和 CE8 2 个座位上都存多态性,所研究的寿光鸡群体在 2 个座位上都处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。

在鸡的群体中,关于准确影响肉质性状的标记还不是非常明确,研究者也在进行大量的研究来寻找影响鸡肉质性状的相关标记^[6-8]。本研究中的 CE5 多态性座位与鸡的肌内脂肪含量、腿肌蒸煮损失性状呈显著相关($P<0.05$)。CE8 多态性座位与鸡的胸肌蒸煮损失呈显著相关($P<0.05$)。而且肌内脂肪含量和蒸煮损失与肉的嫩度呈正相关^[9]。许多报道显示,肌内脂肪含量对肉类食品品质有积极的影响,肌内脂肪对肉的嫩度、多汁性和风味特性均具有改善作用^[10-13]。从这个角度来说,CE5 和 CE8 座位的 BB 基因型对于肉质嫩度和多汁性等具有一定改善作用,但是否会满足不同消费群体的需求,还需根据不同的育种目标来进行确定。

参考文献:

[1] Mikami M A,Whiting H,Taylor M A J.Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsine L and lysosomal lysates[J]. Meat Science, 1987, 21: 81-97.

[2] 李兰会,李祥龙,周荣艳,等. α -calpain 生物学性质及其活性调控[J]. 肉类研究, 2008(1): 11-14.

[3] 翟峰,张勇. 钙蛋白酶抑制蛋白与肉嫩度相关性[J]. 中国饲料, 2007(16): 11-19.

[4] 张增荣,朱庆. 钙蛋白酶(CAPNI)基因在不同鸡品系中的遗传多态性分析[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2008(3): 27-29.

[5] 束婧婷,李慧芳,张莹,等. 鸡肉嫩度候选基因 CAPNI 多态性的检测研究[J]. 家畜生态学报, 2010, 31(2): 16-20.

[6] 张增荣,朱庆,蒋小松,等. 钙蛋白酶(CAPNI)基因多态性与鸡肉嫩度和屠体性状的相关研究[J]. 遗传, 2007, 29(8): 982-988.

[7] Zhang Z R, Liu Y P, Zhu Q. Study on correlation analysis of single nucleotide polymorphism of CAPNI gene and meat quality and carcass traits in chickens[J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(6): 101-105.

[8] Zhang Z R, Liu Y P, Jiang X S, et al. Study on association of single nucleotide polymorphism of CAPNI gene with muscle fiber and carcass traits in quality chicken populations[J]. J Anim Breed Genet, 2008, 125: 258-264.

[9] 程丰,赵云焕,易本驰,等. 猪 CAST 基因 PCR-RFLPs 与肉质相关性的分析[J]. 河南农业科学, 2006(2): 105-108.

[10] 王日君,段修军,董飏,等. 四川白鹅与莱茵鹅遗传多态性的比较[J]. 河南农业科学, 2008(12): 119-122.

[11] 怀文辉,王中才,王启发. 蜂花粉对生长肥育猪生长性能及肉质的影响[J]. 现代农业科技, 2005(12): 65-66.

[12] 陶明芳,周光胜,王伟禄,等. 中国本土猪种猪肉肉质参数的研究及其进展[J]. 现代农业科技, 2009(15): 319.

[13] 孙永风,李立勇,武明宇. 猪肉品质的影响因素与改善措施[J]. 现代农业科技, 2007(23): 191-192, 194.