

# DRD2 基因 14 个多态位点与鸡产蛋性状的相关性

徐海平<sup>1</sup>, 周敏<sup>2</sup>, 方梅霞<sup>1,3</sup>, 曾华<sup>1</sup>, 聂庆华<sup>1</sup>, 张德祥<sup>1</sup>, 张细权<sup>1\*</sup>

(1. 华南农业大学动物科学学院, 广州 510642; 2. 江西教育学院生物技术研究所, 南昌 330029; 3. 暨南大学医学院 实验动物管理中心, 广州 510632)

**摘要:** 本研究旨在分析 DRD2 基因与鸡产蛋性状的相关性, 寻找可作为鸡产蛋性状的重要标记。在该基因上选取了 14 个多态位点, 采用 PCR-RFLP 及 PCR 测序等方法在宁都三黄鸡母系 644 个个体中进行了鸡产蛋性状的关联分析。结果表明: 位于该基因 5' 调控区的 4 个突变位点 G-38560C、T-38326G、T-32751C 和 A-16105G 与鸡的开产日龄显著或极显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ) 相关, 位点 A-16105G 还与 300 日龄总产蛋数显著相关 ( $P < 0.05$ ); 由 G-38560C、G-38544A、I-38463D 与 T-38326G 这 4 个位点组成的单倍型块与开产日龄呈极显著相关 ( $P = 0.0065 < 0.01$ )。研究结果提示: G-38560C、T-38326G、T-32751C 和 A-16105G 这 4 个突变位点以及由 G-38560C、G-38544A、I-38463D 与 T-38326G 组成的单倍型块可作为产蛋性状标记辅助选择的有效分子标记。

**关键词:** DRD2 基因; 多态位点; 单倍型; 产蛋性状

中图分类号: S831.2; Q343.15

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2010)08-0944-07

## Association of 14 Polymorphic Sites of the DRD2 Gene with Chicken Egg Laying Traits

XU Hai-ping<sup>1</sup>, ZHOU Min<sup>2</sup>, FANG Mei-xia<sup>1,3</sup>, ZENG Hua<sup>1</sup>, NIE Qing-hua<sup>1</sup>,  
ZHANG De-xiang<sup>1</sup>, ZHANG Xi-quan<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;  
2. Department of Biological Technology, Jiangxi Institute of Education, Nanchang 330029, China;  
3. Department of Laboratory Animal Science, Medical College of Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The purpose of this study was to analyze the associations of the DRD2 gene with chicken egg laying traits and find important markers for these traits. Fourteen polymorphic sites of this gene were selected, and the association analysis was performed in 644 chickens of Ningdu Sanhuang female line by PCR-RFLP and sequencing methods. The results showed that 4 mutation sites in the 5' regulatory region of the DRD2 gene, G-38560C, T-38326G, T-32751C and A-16105G, were significantly associated with the age of first egg (AFE) ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). A-16105G was also significantly associated with total egg number at 300 days (EN300) ( $P < 0.05$ ). The haplotype block consisting of G-38560C, G-38544A, I-38463D and T-38326G was significantly associated with AFE ( $P < 0.05$ ). It was suggested that G-38560C, T-38326G, T-32751C and A-16105G on the DRD2 gene and the haplotype block consisting of G-38560C, G-38544A, I-38463D and T-38326G could be used as effective molecular markers in marker assisted selection (MAS) for egg laying traits.

**Key words:** DRD2 gene; polymorphic site; haplotype; egg laying trait

收稿日期: 2009-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(30471241); 973 项目(2006CB102107); 863 项目(2006AA10A120)

作者简介: 徐海平(1981-), 女, 湖南衡阳人, 博士, 主要从事分子遗传与动物育种研究, Tel: 020-85280277, E-mail: music-three@163.com

\* 通讯作者: 张细权, E-mail: xqzhang@scau.edu.cn

鸡开产日龄、产蛋量等产蛋性状是优质鸡育种中重点考虑的性状,开产日龄是高遗传力性状,其遗传力估计值在 0.15~0.56 之间<sup>[1-2]</sup>;而产蛋量属于低遗传力限性性状,研究发现 300 日龄产蛋量与开产日龄存在较高的遗传负相关<sup>[1]</sup>。随着分子生物学和基因组研究的发展,分子遗传标记辅助选择为提高低遗传力性状的遗传进展提供了一个新的途径和方法。产蛋性状为多基因控制的复杂性状,近年来众多研究表明许多候选基因都与产蛋性状有密切关系:如神经肽 Y 基因<sup>[3]</sup>、催乳素(prolactin, PRL)基因<sup>[4]</sup>、血管活性肠肽 I 型受体(Vasoactive intestinal peptide receptor-1, VIPR-1)基因<sup>[5]</sup>等等。而多巴胺(dopamine, DA)也是这一性状中的重要因子。

DA 是中枢神经系统中主要的神经递质,对人及其它动物神经系统、内分泌和繁殖起着重要调节作用<sup>[6-8]</sup>。DA 通过其受体促进下丘脑血管活性肠肽神经元合成并释放血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP),VIP 通过腺垂体细胞膜上的受体促进垂体前叶分泌 PRL。高水平的 PRL 使母禽表现出就巢行为的同时抑制垂体促性腺激素如卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和黄体生成素(luteinizing hormone, LH)的分泌,导致血液中 LH 水平下降,下丘脑 GnRH 的合成减少,使卵巢萎缩,排卵停止,最终停止产蛋<sup>[9-10]</sup>。与其他众多肽类激素一样,DA 也需要与其受体结合,才能发挥其一系列的生物学效应。研究表明多巴胺受体共有 5 种,多巴胺受体 2(dopamine receptor 2, DRD2)是其中重要的一种。鸡 DRD2 定位于 24 号染色体上,有 7 个外显子。Youngren 等<sup>[11-12]</sup>报道鸟类 DA 通过兴奋 DRD2 抑制垂体中 VIP 和 PRL 的分泌,从而对鸟类的繁殖性状起调控作用。本研究以 DRD2 基因作为早期产蛋性状的候选基因,以宁都三黄鸡为材料,探讨了该基因的 14 个突变位点与早期产蛋性状的相关性,为采用标记辅助选择的方法提高选育效果提供一定的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验鸡群

实验鸡群来自广东温氏南方家禽育种公司以江西宁都三黄鸡为素材选育的 N406 母本品系,共 644 个个体,分两次孵化,按照公司种鸡饲养标准饲养,全程笼养,77 d 前自由采食,77 d 后限制饲养。育雏育成阶段喂温氏肉鸡料(16.5% 粗蛋白,每千克

饲料的代谢能 11.723 MJ),77 d 限制饲养后过渡到喂温氏种鸡料(15.0% 粗蛋白,每千克饲料的代谢能 12.141 MJ)。300 日龄从每个个体鸡翅下静脉中抽取约 1 mL 血液用于基因组 DNA 抽提。

### 1.2 性状分析

数据测定:90 日龄母鸡转入产蛋舍个体笼后至 300 日龄,对每只鸡的开产日龄、产蛋量及畸形蛋进行测定。数据资料剔除了中途死亡记录不全及记录有明显错误的鸡。

分析的早期产蛋性状包括开产日龄、300 日龄总产蛋数、300 日龄总正常蛋数和 300 日龄总畸形蛋数这 4 个参数。开产日龄指个体第一次产蛋时的日龄。300 日龄总产蛋数、300 日龄总正常蛋数和 300 日龄总畸形蛋数分别是指母鸡 90~300 日龄期间,每只母鸡生产的总蛋数、合格蛋数及畸形蛋数,畸形蛋包括双黄蛋、软壳蛋、沙壳蛋、过大或过小的蛋。

### 1.3 引物与 PCR 扩增

选取 DRD2 基因上 14 个多态位点<sup>[13]</sup>根据 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上鸡 DRD2 基因序列(登录号:EU313425),合成 7 对引物检测鸡 DRD2 基因在宁都三黄鸡母系 644 个个体中的基因型情况。检测的位点、引物序列、扩增长度以及检测方法如表 1。所有引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

PCR 反应体系:2.5  $\mu\text{L}$  10 $\times$  PCR Buffer,0.5  $\mu\text{L}$  (10 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ ) dNTPs,上下游引物混合液(上下游引物浓度均为 50 pmol)1  $\mu\text{L}$ ,MgCl<sub>2</sub> (25 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1.5  $\mu\text{L}$ ,Taq DNA 聚合酶 1 U,基因组 DNA 模板 1  $\mu\text{L}$ (10~100 ng),加去离子水至 25  $\mu\text{L}$ 。反应程序为:94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s;特定温度(各引物的退火温度见表 1)退火 30~45 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30~45 s;32 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5~7 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

位点 C-38685T、A-38600G、G-38560C、G-38544A、I-38463D、T-38326G 和 C-38158A 采用 PCR 产物直接测序的方法进行基因型分型。其他 7 个位点采用 PCR-RFLP 方法分型(各位点所用内切酶见表 1),反应体系为:PCR 产物 6.5  $\mu\text{L}$ ,内切酶 1.5  $\mu\text{L}$ ,10 $\times$  buffer 缓冲液 1.0  $\mu\text{L}$ 。37  $^{\circ}\text{C}$  (BseG I 与 BseM II 酶为 55  $^{\circ}\text{C}$ ,Taq I 酶为 65  $^{\circ}\text{C}$ ) 恒温箱放置过夜。2%~3% 的琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物,凝胶成像系统拍照,根据带型判定基因型。

表1 用于基因型检测的引物序列

Table 1 Details of primers for genotyping of chicken DRD2 gene

引物 Name	引物序列(5'→3') Primer sequence	扩增长度/bp Length	位置 Location	位点 Site <sup>1</sup>	检测方法 Method	退火温度/°C Annealing temperature
I3-E5	F:TGGGGGGACTAAACTTCAAATTG R:GCCAGTGGAGGTGCTAAGCTTC	698	5' 调控区	C-38685T A-38600G G-38560C G-38544A I-38463D T-38326G C-38158A	sequencing	62.0
507	F:TGCACATAAAAGCCCACTCACTG R:GCCTGAGCTGGTGGGGGG	223	5' 调控区	T-32751C	<i>BseG</i> I	60.0
504	F:CCCCGGCAGGCAGAGCAC R:ACGCGATCTGGGAGCAAACCTTC	233	5' 调控区	A-16105G	<i>BseM</i> II	64.0
502	F:AAGGGGACACAAGAATGCAGCAG R:GCCAGTGCTGCTCAAATTTCAA	404	5' 调控区	A-6543G C-6539T	<i>BseG</i> I <i>Mva</i> I	56.0
II-11	F:TGGTCATGCCCTGGGTGGTCTAT R:GCAAAGGTTCCAGCCAGATATAA	1 490	Intron 1	T+619C	<i>Taq</i> I	60.0
II-26	F:TCCCCTGTCCCTGGCTGG R:AGCCCGTGTCACATCAGCAGTT	234	Intron 1	T+1259C	<i>BsiE</i> I	63.0
I3	F:CGCCGTGGTCTGGGTGCTCT R:GGGTTTCGGGCTCGCTGC	206	Intron 3	A+2794G	<i>Eam</i> 1104 I	64.0

位点<sup>1</sup>. 以基因的 ATG 起始位点为 +1 计,以 ATG 上游的第 1 个核苷酸为 -1 计

Site<sup>1</sup>. The first nucleotide of the translation start codon was designated as +1 with the next upstream nucleotide being -1

#### 1.4 群体中单倍型的分析与构建

经 Haploview V 3.32 (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/>) 软件分析得到的单倍型块内的位点,利用 PHASE V 2.1 (<http://www.stat.washington.edu/stephens/software.html>, 2006 年 12 月) 软件分析不同块内位点在江西宁都三黄鸡母系 644 个个体中的单倍型情况。

#### 1.5 数据统计分析

由于所观察群体具有相同的遗传背景,饲养标准相同,且单笼饲养,因而标记与各性状间的关联分析采用 SAS 8.1 GLM 程序进行统计分析,模型为:  $Y_{ij} = \mu + G_i + H_j + e_{ij}$ 。其中,  $Y_{ij}$  为性状表型值,  $\mu$  为该性状的总体均值,  $G_i$  为基因型或单倍型效应值,  $H_j$  为批次效应值,  $e_{ij}$  为残差效应。基因型效应分析

中加性效应 (additive effect, a) = (AA - BB)/2, 显性效应 (dominant effect, d) = AB - (AA + BB)/2。

## 2 结果

### 2.1 群体产蛋性状的表型差异

该鸡群产蛋性状的表型参数见表 2, 开产日龄变异系数为 7.86%<sup>[5]</sup>, 但早熟个体和迟熟个体之间的开产日龄相差大, 最早开产日龄为 94 d, 最迟的开产日龄却是 170 d。300 日龄总产蛋数及总正常蛋数性状变异较大, 变异系数分别为 23.91% 和 24.12%。表型数据测定表明开产日龄及产蛋量性状表现出较大的表型变异, 说明这些性状的遗传变异相对较大, 该群体适合用于标记与性状的关联分析。

表2 宁都三黄鸡产蛋性状的表型参数

Table 2 Parameters of phenotype on egg laying traits in Ningdu Sanhuang chickens

性状 Trait	样本数 Number	最小值 Min	最大值 Max	平均数 Average	标准差 Std.	变异系数/% C. V
开产日龄 AFE	644	94	170	136.34	10.71	7.86 <sup>[5]</sup>
300 日龄总产蛋数 EN300	644	18	240	113.92	27.24	23.91
300 日龄总正常蛋数 QEN300	644	9	223	110.18	26.58	24.12
300 日龄总畸形蛋数 OEN300	644	0	37	3.74	5.31	142.05

AFE. 开产日龄; EN300. 300 日龄总产蛋数; QEN300. 300 日龄总正常蛋数; OEN300. 300 日龄总畸形蛋数。下同

AFE. Age of first egg; EN300. Total egg number from 90 to 300 d of age; QEN300. Total number of qualified eggs from 90 to 300 d of age; OEN300. Total number of abnormal eggs from 90 to 300 d of age. The same as below

## 2.2 14 个位点与宁都三黄鸡产蛋性状的相关性

对鸡 DRD2 基因上 14 个突变位点与宁都三黄鸡母系的 4 个产蛋性状:开产日龄、300 日龄总产蛋

数、总正常蛋数和总畸形蛋数进行关联分析,结果表明 G-38560C、T-38326G、T-32751C 和 A-16105G 这 4 个位点与开产日龄存在显著或极显著相关(表 3)。

表 3 DRD2 基因突变位点与产蛋性状的相关性(P 值)

Table 3 Association of the DRD2 gene mutations with the chicken egg laying traits (P value)

位点 Site	开产日龄 AFE	总产蛋数 EN300	总正常蛋数 QEN300	总畸形蛋数 OEN300
C-38685T	NS	NS	NS	NS
A-38600G	NS	NS	NS	NS
G-38560C	0.013 5	NS	NS	NS
G-38544A	0.078 0	NS	NS	NS
I-38463D	NS	NS	NS	NS
T-38326G	0.014 4	NS	NS	NS
C-38158A	0.097 9	NS	NS	NS
T-32751C	0.004 6	NS	NS	NS
A-16105G	0.021 0	0.043 1	0.056 6	NS
A-6543G	0.067 2	NS	NS	NS
C-6539T	NS	NS	NS	NS
T+619C	NS	NS	NS	NS
T+1259C	0.090 5	NS	NS	NS
A+2794G	NS	0.084 3	0.074 1	NS

NS 表示  $P > 0.05$

NS.  $P > 0.05$

2.2.1 位点 G-38560C 与产蛋性状的相关性 位点 G-38560C 与开产日龄呈显著相关( $P=0.013 5 < 0.05$ ),CC 基因型个体比 GC 和 GG 基因型个体的平均开产日龄分别推迟了 5.09 和 4.58 d,差异都极显著( $P < 0.01$ );加性效应值为 2.29,显性效应值为 -2.80(表 4)。该位点与 300 日龄总产蛋数、总正常蛋数及总畸形蛋数都不相关。

2.2.2 位点 T-38326G 与产蛋性状的相关性 位点 T-38326G 与开产日龄呈显著相关( $P=0.014 4 < 0.05$ ),TT 基因型个体比 TG 和 GG 基因型个体的平均开产日龄分别推迟了 4.88 和 4.34 d,差异显著( $P < 0.05$ ),该位点的加性效应值为 2.07,显性效应值为 -1.14(表 4)。该位点与 300 日龄总产蛋数、总正常蛋数及总畸形蛋数都不相关。

2.2.3 位点 T-32751C 与产蛋性状的相关性 位点 T-32751C 与开产日龄呈极显著相关( $P=0.004 6 < 0.01$ ),各基因型开产日龄为:CC > TC > TT,多重比较分析结果显示:CC 基因型个体比 TC 基因型

个体的平均开产日龄推迟了 3.20 d,差异极显著( $P < 0.01$ ),该位点的加性效应值为 2.07,显性效应值为 -1.14,C 等位基因有利于增加开产日龄(表 4)。位点 T-32751C 与 300 日龄总产蛋数、总正常蛋数及总畸形蛋数都不相关。

2.2.4 位点 A-16105G 与产蛋性状的相关性 位点 A-16105G 与开产日龄呈显著相关( $P=0.021 0 < 0.05$ ),AG 基因型个体比 GG 基因型个体的平均开产日龄提前了 3.32 d,差异极显著( $P < 0.01$ )。位点 A-16105G 与 300 日龄总产蛋数显著相关( $P=0.043 1 < 0.05$ ),与 300 日龄总正常蛋数不相关( $P=0.056 6 > 0.05$ ),与总畸形蛋数不相关( $P > 0.05$ ),多重比较分析发现:AG 基因型个体比 GG 基因型个体的总产蛋数多 5.71 个,总正常蛋数多 5.52 个,差异显著( $P < 0.05$ )。从该位点对早期产蛋性状的作用方式看,这个位点对这 4 个性状主要是以显性方式起作用,且均表现超显性现象,杂合子有利于这 4 个性状(表 4)。

表4 各位点基因型与笼养宁都三黄鸡产蛋性状的相关性

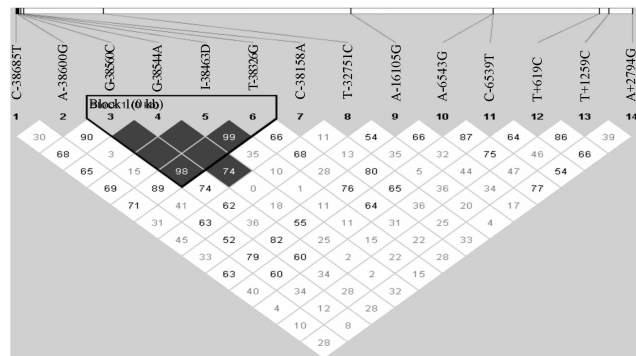
Table 4 Association of genotypes with egg laying traits in Ningdu Sanhuang chickens under cage condition

位点 Site	基因型 Genotype	开产日龄/d AFE	总产蛋数/枚 EN300	总正常蛋数/枚 QEN300	总畸形蛋数/枚 OEN300
G-38560C	CC <sup>1</sup> (42)	140.66±1.61 <sup>A</sup>	115.25±3.16 <sup>a</sup>	110.54±3.14 <sup>a</sup>	4.71±0.84 <sup>a</sup>
	GC <sup>1</sup> (236)	135.57±0.71 <sup>B</sup>	114.38±1.38 <sup>a</sup>	110.64±1.38 <sup>a</sup>	3.74±0.37 <sup>a</sup>
	GG <sup>1</sup> (343)	136.08±0.57 <sup>B</sup>	112.30±1.13 <sup>a</sup>	108.61±1.12 <sup>a</sup>	3.69±0.30 <sup>a</sup>
	a <sup>2</sup>	2.29	1.48	0.97	0.51
	d <sup>3</sup>	-2.80	0.61	1.07	-0.46
T-38326G	TT <sup>1</sup> (45)	140.45±1.55 <sup>A</sup>	116.08±3.05 <sup>a</sup>	111.76±3.04 <sup>a</sup>	4.32±0.81 <sup>a</sup>
	TG <sup>1</sup> (251)	135.57±0.68 <sup>B</sup>	113.24±1.34 <sup>a</sup>	109.38±1.33 <sup>a</sup>	3.86±0.35 <sup>a</sup>
	GG <sup>1</sup> (322)	136.11±0.59 <sup>B</sup>	112.89±1.16 <sup>a</sup>	109.25±1.15 <sup>a</sup>	3.64±0.31 <sup>a</sup>
	a <sup>2</sup>	2.17	1.60	1.26	0.34
	d <sup>3</sup>	-2.71	-1.25	-1.13	-0.12
T-32751C	CC <sup>1</sup> (480)	136.97±0.50 <sup>A</sup>	112.91±0.99 <sup>a</sup>	109.11±0.98 <sup>a</sup>	3.80±0.26 <sup>a</sup>
	TC <sup>1</sup> (136)	133.77±0.90 <sup>B</sup>	114.20±1.77 <sup>a</sup>	110.38±1.76 <sup>a</sup>	3.81±0.47 <sup>a</sup>
	TT <sup>1</sup> (8)	132.84±3.82 <sup>AB</sup>	117.44±7.51 <sup>a</sup>	115.56±7.47 <sup>a</sup>	1.88±1.99 <sup>a</sup>
	a <sup>2</sup>	2.07	-2.27	-3.23	0.96
	d <sup>3</sup>	-1.14	-0.98	-1.96	0.97
A-16105G	AA <sup>1</sup> (201)	136.38±0.75 <sup>AB</sup>	112.82±1.47 <sup>ab</sup>	109.01±1.46 <sup>ab</sup>	3.81±0.39 <sup>a</sup>
	AG <sup>1</sup> (341)	135.31±0.61 <sup>A</sup>	114.87±1.18 <sup>a</sup>	111.04±1.18 <sup>a</sup>	3.83±0.32 <sup>a</sup>
	GG <sup>1</sup> (102)	138.63±1.06 <sup>B</sup>	109.06±2.06 <sup>b</sup>	105.52±2.05 <sup>b</sup>	3.54±0.55 <sup>a</sup>
	a <sup>2</sup>	-1.13	1.88	1.75	0.14
	d <sup>3</sup>	-2.20	3.93	3.78	0.16

<sup>1</sup>. 最小二乘均值±标准误; ()内数字表示基因型的个体数;各位点3种基因型间相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ ),不同字母表示差异显著,大写字母表示差异极显著( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );<sup>2</sup>. 加性效应 =  $(AA-BB)/2$ ; <sup>3</sup>. 显性效应 =  $AB-(AA+BB)/2$   
<sup>1</sup>. Least-square Means ± SE. Number in brackets means the numbers of tested individuals of each genotype. Values within a row with no common superscript differ significantly ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ); <sup>2</sup>. Additive effect =  $(AA-BB)/2$ ; <sup>3</sup>. Dominant effect =  $AB-(AA+BB)/2$

2.3 单倍型与产蛋性状的相关性

单倍型分析发现, G-38560C、G-38544A、I-38463D与T-38326G这4个位点在宁都三黄鸡中组成一个单倍型块(图1),频率大于1%的单倍型有5种,分别为H1(GGIG, 43.2%)、H2(CGDT, 25.4%)、H3(GGDG, 18.2%)、H4(GGDT, 2.0%)和H5(GAIG, 10.7%),构建的单倍型组合有14种(616个个体中119个H1H1、100个H1H3、15个H1H4、48个H1H5、134个H1H2、18个H3H3、1个H3H4、29个H3H5、60个H3H2、4个H4H5、5个H4H2、8个H5H5、35个H5H2及40个H2H2)。与早期产蛋性状的相关性分析发现:由这4个位点组成的单倍型块与开产日龄呈极显著的相关( $P=0.0065<0.01$ ),H3H4型个体开产日龄比其它单倍型个体极显著提前;该单倍型块与300日龄总产蛋数、总正常蛋数及总畸形蛋数不相关( $P$ 值分别为0.3578、0.2257和0.8437),但在300日龄总产蛋数、300日龄总正常蛋数这2个性状上,不同单倍型间差异显著(表5)。



方格中的数字代表的是  $r^2 \times 100$  的值;根据四配子原则,分析发现位点3、4、5与6(对应于G-38560C、G-38544A、I-38463D与T-38326G这4个位点)位于同一个单倍型块内  
 Number in each square indicated  $r^2 \times 100$  value. Based on four gamete test, G-38560C, G-38544A, I-38463D, T-38326G were found in a haplotype block

图1 DRD2基因上14个突变位点在宁都三黄鸡中的单倍型块结构

Fig. 1 Haplotype block structure within the 14 polymorphic sites of DRD2 gene in Ningdu Sanhuang chicken population

表 5 单倍型与产蛋性状的相关性

Table 5 Association of haplotypes with egg laying traits in Ningdu Sanhuang chickens

单倍型 Haplotype	开产日龄 <sup>1</sup> /d AFE	总产蛋数 <sup>1</sup> /枚 EN300	总正常蛋数 <sup>1</sup> /枚 QEN300	总畸形蛋数 <sup>1</sup> /枚 OEN300
<i>P</i> 值	0.006 5**	0.357 8	0.225 7	0.843 7
H1H1(119)	136.07 ± 0.95 <sup>B</sup>	111.24 ± 1.82 <sup>ab</sup>	106.86 ± 1.81 <sup>ab</sup>	4.38 ± 0.49 <sup>a</sup>
H1H3(100)	135.14 ± 1.03 <sup>B</sup>	113.81 ± 1.98 <sup>b</sup>	110.43 ± 1.97 <sup>b</sup>	4.39 ± 0.54 <sup>ab</sup>
H1H4(15)	136.89 ± 2.62 <sup>B</sup>	101.80 ± 5.05 <sup>a</sup>	96.90 ± 5.03 <sup>a</sup>	4.90 ± 1.37 <sup>ab</sup>
H1H5(48)	136.44 ± 1.47 <sup>B</sup>	111.21 ± 2.84 <sup>ab</sup>	108.61 ± 2.83 <sup>b</sup>	2.60 ± 0.77 <sup>b</sup>
H1H2(134)	136.44 ± 0.90 <sup>B</sup>	112.51 ± 1.73 <sup>b</sup>	108.59 ± 1.72 <sup>b</sup>	3.92 ± 0.47 <sup>ab</sup>
H3H3(18)	135.34 ± 2.39 <sup>B</sup>	112.63 ± 4.61 <sup>ab</sup>	109.20 ± 4.59 <sup>ab</sup>	3.42 ± 1.25 <sup>ab</sup>
H3H4(1)	106.04 ± 10.2 <sup>A</sup>	122.21 ± 19.6 <sup>ab</sup>	121.94 ± 19.49 <sup>ab</sup>	0.27 ± 5.32 <sup>ab</sup>
H3H5(29)	139.31 ± 1.89 <sup>B</sup>	117.17 ± 3.64 <sup>b</sup>	113.22 ± 3.62 <sup>B</sup>	3.95 ± 0.99 <sup>ab</sup>
H3H2(60)	134.84 ± 1.32 <sup>B</sup>	115.57 ± 2.54 <sup>b</sup>	111.75 ± 2.53 <sup>B</sup>	3.82 ± 0.69 <sup>ab</sup>
H4H5(4)	139.00 ± 5.07 <sup>B</sup>	110.75 ± 9.78 <sup>ab</sup>	106.00 ± 9.73 <sup>ab</sup>	4.75 ± 2.65 <sup>ab</sup>
H4H2(5)	137.20 ± 4.55 <sup>B</sup>	126.41 ± 8.76 <sup>b</sup>	121.95 ± 8.72 <sup>b</sup>	4.47 ± 2.38 <sup>ab</sup>
H5H5(8)	129.56 ± 3.59 <sup>B</sup>	118.46 ± 6.92 <sup>ab</sup>	117.04 ± 6.88 <sup>b</sup>	1.41 ± 1.88 <sup>ab</sup>
H5H2(35)	132.17 ± 1.73 <sup>b</sup>	117.54 ± 3.33 <sup>B</sup>	113.76 ± 3.31 <sup>B</sup>	3.78 ± 0.90 <sup>ab</sup>
H2H2(40)	140.27 ± 1.62 <sup>B</sup>	114.95 ± 3.12 <sup>b</sup>	110.65 ± 3.10 <sup>b</sup>	4.30 ± 0.85 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup>. 最小二乘均值 ± 标准误;()内数字表示单倍型的个体数;各单倍型间相同字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ),不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ );\*\*表示极显著相关( $P < 0.01$ )

<sup>1</sup>. Least-square Means ± SE. Number in brackets means the numbers of tested individuals of each haplotype. Values within a column with no common superscript differ significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); \*\*. Indicated  $P < 0.01$

### 3 讨论

人、老鼠等物种的 DRD2 基因都是由 8 个外显子和 7 个内含子组成,从外显子 2 的中间部分开始编码,内含子 1 的长度超过 50 kb。通过与人的 DRD2 基因序列比较分析发现目前得到的鸡 DRD2 基因的序列只含 7 个外显子,对应于人 DRD2 基因的外显子 2 到外显子 8,说明鸡的 DRD2 基因很有可能也含有 8 个外显子,不参与编码的外显子 1 未被发现。本研究结果发现的产蛋性状存在不同程度相关的位点 G-38560C、T-38326G、T-32751C 和 A-16105G 可能都位于内含子 1 上。部分学者认为内含子的功能主要是有利于物种的进化选择<sup>[14]</sup>。近年来许多研究表明,内含子含有基因表达的调控元件,能够起到类似增强子或其它顺式调控元件的功能,从而对基因的表达有着重要的调控作用<sup>[15-17]</sup>。本研究中这 4 个位点的突变可能影响到鸡 DRD2 基因表达,进而影响到鸡的产蛋性状,但这需要进一步的试验来论证。位点 A-16105G 除与开产日龄显著相关外,还与产蛋量参数有不同程度相关,AG 基因型个体比 GG 型个体的平均开产日龄提前了 3.32 d,总产蛋数多 5.71 个,总正常蛋数多 5.52 个。徐海平<sup>[13]</sup>研究发现该位点与就巢率显著相关

( $P < 0.05$ ),AG 基因型个体比 GG 型个体就巢率低 3.91%。与本研究结果相比,3 种基因型的各性状表型值变化趋势相符,即 AG 基因型个体开产最早,就巢率最低,其 300 日龄总产蛋数及总正常蛋数最多,GG 基因型个体开产最晚,就巢率最高,其 300 日龄总产蛋数及总正常蛋数最少。因而位点 A-16105G 应可作为该品种早期产蛋性状的一个重要的候选分子标记,用于标记辅助选择,以提高经济效益。但这一结果还需在更大规模群体中进行深入验证。

单倍型指基因组内处于连锁不平衡状态的一组紧密连锁的等位基因,它不易受重组影响,而是作为一个整体或一个单元遗传<sup>[18]</sup>。单倍型包含着多个突变位点的遗传信息,研究发现许多表型性状并不是由单个突变位点引起的,常常是多个位点相互作用的结果,特别是在一个单倍型块中,是一组突变位点在染色体的某一区域相互作用导致的<sup>[19]</sup>。利用多个相邻多态性位点构建单倍型块,已成为目前研究复杂性状相关基因的有效策略。本研究在位点的单个效应分析中发现位点 G-38560C 和 T-38326G 与开产日龄显著相关( $P < 0.05$ ),位点 G-38544A 与开产日龄有一定相关趋势,I-38463D 与开产日龄不相关,而由这 4 个位点组成的单倍型块与开产日龄极显著相关( $P < 0.01$ ),且不同的单倍型组合在早

期产蛋性状观察的4个参数中存在不同程度的差异,说明组成单倍型的各个多态位点之间可能存在一定程度的互作。由此可以看出,在与复杂性状的相关分析中,采用单倍型比单个突变位点具有更好的分析效果和可信度<sup>[20-21]</sup>。另外,用PLINK软件分析还发现位点C-6539T与G-38544A及A-16105G在开产日龄上有显著的相互作用,尽管位点C-6539T与开产日龄无显著相关,但它可以通过与G-38544A及A-16105G互作从而影响到开产日龄。

#### 4 结 论

本研究通过对DRD2基因14个多态位点与优质鸡宁都三黄鸡早期产蛋性状的相关分析,发现有4个多态位点不同基因型对母鸡的产蛋性状存在显著或极显著影响,由4个位点G-38560C、G-38544A、I-38463D与T-38326G组成的单倍型块对开产日龄有极显著影响,为利用分子遗传标记辅助选择来提高鸡的产蛋性能提供了新的参考。

#### 参考文献:

- [1] 曾 华. 鸡繁殖性状的单核苷酸多态性关联分析[D]. 广州:华南农业大学,2008.
- [2] 李房全,谢金防,江大德. 余干黑羽乌骨鸡主要经济性状遗传参数的估测[J]. 中国家禽,1998,20(3):4-6.
- [3] DUNN I C, MIAO Y W, MORRIS A, et al. A study of association between genetic markers in candidate genes and reproductive traits in one generation of a commercial broiler breeder hen population [J]. *Heredit*, 2004, 92:128-134.
- [4] CUI J X, DU H L, LIANG Y, et al. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production [J]. *Poult Sci*, 2006, 85(1):26-31.
- [5] 周 敏,梁菲菲,饶友生,等. VIPR-1基因12个多态位点与鸡早期产蛋性状的相关性 [J]. 畜牧兽医学报,2008,39(9):1-7.
- [6] MARGARET R S, MICHELLE A D, PATRICIA P, et al. Variant alleles of the D2 dopamine receptor gene and obesity [J]. *Nutri Res*, 2000, 20(3):371-380.
- [7] KAMPMAN O, ANTTILA S, ILLI A, et al. Dopamine receptor D2 -141C Insertion/Deletion polymorphism in a Finnish population with schizophrenia [J]. *Psychiatry Res*, 2003, 121(1):89-92.
- [8] HANSEN K A, ZHANG Y, COLVER R, et al. The dopamine receptor D2 genotype is associated with hyperprolactinemia [J]. *Fertil Steril*, 2005, 84(3):711-718.
- [9] 施振旦,梁少东,毕英佐. 下丘脑5-羟色胺和多巴胺调控鸡就巢机理的研究 [J]. 畜牧兽医学报,2001,31(6):487-492.
- [10] AL KAHTANE A, CHAISEHA Y, EL HALAWANI M. Dopaminergic regulation of avian prolactin gene transcription [J]. *J Mol Endocrinol*, 2003, 31(1):185-196.
- [11] YOUNGREN O M, PITTS G R, PHILLIPS R E, et al. The stimulatory and inhibitory effects of dopamine on prolactin secretion in the turkey [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1995, 98(1):111-117.
- [12] YOUNGREN O M, PITTS G R, PHILLIPS R E, et al. Dopaminergic control of prolactin secretion in the turkey [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1996, 104(2):225-230.
- [13] 徐海平. 多巴胺受体2基因对家鸡就巢性状的遗传效应[D]. 广州:华南农业大学,2008.
- [14] DEUTSCH M, LONG M. Intron-exon structures of eukaryotic model organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(15):3219-3228.
- [15] HAIGH C L, WRIGHT J A, BROWN D R. Regulation of prion protein expression by noncoding regions of the Prnp gene [J]. *J Mol Biol*, 2007, 368(4):915-927.
- [16] LI K, CAI R, DAI B B, et al. SATB1 regulates SPARC expression in K562 cell line through binding to a specific sequence in the third intron [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 356(1):6-12.
- [17] CHANG K C. Critical regulatory domains in intron 2 of a porcine sarcomeric myosin heavy chain gene [J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 2000, 21(5):451-461.
- [18] WANG Y, ZHAO L P, DUDOIS S. A fine-scale linkage-disequilibrium measure based on length of haplotype sharing [J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 78:615-628.
- [19] JOHNSON G C, ESPOSITO L, BARRATT B J, et al. Haplotype tagging for the identification of common disease genes [J]. *Nat Genet*, 2001, 29:233-237.
- [20] ZHANG K, CALABRESE P, NORDBORG M, et al. Haplotype block structure and its applications to association studies: power and study designs [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 71:1386-1394.
- [21] HOEHE M R. Haplotypes and the systematic analysis of genetic variation in genes and genomes [J]. *Pharmacogenomics*, 2003, 4(5):547-570.