

DOI: 10.1360/yc-007-0995

## 鸭脂联素基因单核苷酸多态性检测及群体遗传分析

董彪<sup>1,2</sup>, 龚道清<sup>2</sup>, 孟和<sup>3</sup>, 郁建锋<sup>1</sup>, 赵旭庭<sup>4</sup>, 段修军<sup>4</sup>, 顾志良<sup>1</sup>

1. 常熟理工学院生物系, 常熟 215500;
2. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009;
3. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240;
4. 江苏畜牧兽医职业技术学院, 泰州 225300

**摘要:** 以昆山麻鸭、樱桃谷鸭、高邮鸭、荆江麻鸭、金定鸭, 山麻鸭、龙白鸭和白羽番鸭 8 个鸭品种为实验材料, 根据鸭脂联素基因开放阅读框序列设计 5 对引物, 用 PCR-SSCP 方法进行单核苷酸多态性分析, 并对不同品种群体进行群体遗传学分析。结果发现引物 4 扩增片段上共存有 7 个单碱基突变, 第 430、457、523 处的 G-A、A-G、T-C 单碱基突变导致第 144、153、175 个氨基酸分别由丙氨酸(A)变为苏氨酸(T)、异亮氨酸(I)变为缬氨酸(V)、酪氨酸(Y)变为组氨酸(H); 而 C507T, T540C, C576T 和 C597T 4 个单碱基突变为沉默突变。鸭群中表现出 AA、AB、AC、BB、BC、CC、DD、DE 8 种基因型。8 种基因型在 8 个鸭品种间分布存在极显著的差异( $P < 0.01$ )。除金定鸭外, 其他品种均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。群体遗传分析表明金定鸭的纯合度最高, 高邮鸭最低, 其他各群体的纯合度较相近; 金定鸭为低度多态, 高邮鸭为高度多态, 其他品种为中度多态。表明鸭脂联素基因不同品种中具有丰富的单核苷酸多态性, 可以进一步作为候选基因来分析其与脂肪性状的相关性。

**关键词:** 鸭; 脂联素基因; 单核苷酸多态性; 遗传分析; 脂肪性状

## Identification and genetic analysis of SNPs in duck adiponectin gene

DONG Biao<sup>1,2</sup>, GONG Dao-Qing<sup>2</sup>, MENG He<sup>3</sup>, YU Jian-Feng<sup>1</sup>, ZHAO Xu-Ting<sup>4</sup>, DUAN Xiu-Jun<sup>4</sup>, GU Zhi-Liang<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China;
2. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
3. College of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China;
4. Jiangsu Animal Science and Veterinary Medicine College, Taizhou 225300, China

**Abstract:** Single nucleotide polymorphisms (SNPs) within the duck adiponectin gene were detected by single strand conformation polymorphism (SSCP) using 5 pairs of primers to amplify an area spanning the open reading frame. Eight duck breeds, including Kunshan Sheldrake, Cherry Valley Meat duck, Gaoyou duck, Shanma duck, Jinding duck, Longbai duck, Jingjiang Sheldrake and White feather Muscovy duck, were used. Seven nucleotide variations were found, of which G430A, A457G, and T523C resulted in amino acid changes of A144T, I153V, and Y175H, respectively. The remaining 4 SNPs were C507T, T540C, C576T and C597T. Eight genotypes (AA, AB, AC, BB, BC, CC, DD, and DE) were detected in the 8 breeds.

收稿日期: 2006-12-04; 修回日期: 2007-01-19

基金项目: 江苏省自然科学基金(编号: BK2005026)和江苏省高校自然科学研究计划项目(编号: 03KJB230004)资助[Supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province(No.BK2005026) and the Research Project of University Natural Science of Jiangsu Province (No.03KJB230004)]

作者简介: 董彪(1982-), 男, 江苏扬州人, 硕士研究生, 研究方向: 分子标记与动物育种。E-mail: dongbiao8201@126.com

通讯作者: 顾志良(1968-), 男, 江苏常熟人, 副教授, 博士, 研究方向: 动物分子遗传学。Tel: 0512-52251562;  
E-mail: zhiliangu88@hotmail.com

$\chi^2$  analysis showed that the distribution of the eight genotypes was very different among the different breeds ( $P < 0.01$ ). Except for the Jingding duck, all breeds were in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium. Genetic analysis indicated that homozygosity was highest in the Jinding duck, lowest in the Gaoyou duck and similar in other breeds. Polymorphism information content (PIC) was low in the Jinding, high in the Gaoyou and intermediate in other breeds. These results showed that the adiponectin gene had a high level of polymorphism in different duck breeds, and could be used as a candidate gene to analyze the correlation between its polymorphism and fat traits in duck.

**Keywords:** duck; adiponectin gene; SNPs; genetic analyses; fattiness trait

我国肉鸭品种生长速度的选择育种中出现了皮下脂肪沉积过多, 肉质下降的问题, 影响了肉鸭生长的进一步发展。标记辅助选择是一种有效而简便的可行方法, 而通过性状的候选基因, 找到与性状基因座相连锁的分子遗传标记, 则是实现标记辅助选择的重要途径。脂联素(Adiponectin<sup>[1]</sup>, 又名ACRP30<sup>[2]</sup>、AdipoQ<sup>[3]</sup>、apM1<sup>[4]</sup>、GBP28<sup>[5]</sup>)属于胶原样血浆蛋白, 是脂肪组织高度表达分泌的一种活性物质<sup>[6]</sup>, 其能够影响机体处理糖类和脂肪的能力<sup>[7]</sup>。脂联素除了直接作用于外周组织, 也通过作用于脑来提高葡萄糖代谢和减轻体重, 还能通过循环进入脑脊髓液而作用于神经元细胞。研究表明这些中枢释放的脂联素能够提高能量消耗使老鼠的体重减轻, 脂肪减少<sup>[8]</sup>。gACRP30 是脂联素的蛋白水解产物, 属于其球形单位, 药理学研究发现, gACRP30 可通过线粒体刺激肌肉游离脂肪酸的氧化来调节能量平衡, 这可能是 $\beta$ 氧化或氧化磷酸化途径相关酶表达增加的缘故。高糖、高脂饮食的小鼠每天注射低剂量 gACRP30 会引起血糖、游离脂肪酸和甘油三酯下降, 使小鼠在摄食量不变的情况下体重降低, 但是, 完整的脂联素注射对血浆 FFA 水平和肌肉脂肪酸氧化无显著影响<sup>[9]</sup>。脂联素敲除虽然降低了小鼠肌肉和肝脏中 FFA 的 $\beta$ -氧化作用, 但是高脂饮食对小鼠的血糖无显著影响<sup>[10]</sup>。

人和哺乳动物脂联素基因包括 3 个外显子和 2 个内含子<sup>[11,12]</sup>。人的脂联素基因被定位于 3q27<sup>[13]</sup>, 而这一区域被证明是糖尿病的易感区<sup>[14,15]</sup>。对脂联素基因突变的研究主要集中在其与导致肥胖和疾病(2 型糖尿病、胰岛素抵抗、动脉粥样硬化)的关系方面, 目前报道其至少存在 11 个点突变<sup>[11,16~22]</sup>。鸡的脂联素基因近两年才被克隆和测序<sup>[23~25]</sup>, 而鸭脂联素基因最近被我们克隆和测序, 序列分析发现鸡和鸭禽类的脂联素基因结构与人和哺乳动物不同, 只包含了 2 个外显子和 1 个内含子<sup>[23]</sup>, 目前尚未见有

关畜禽脂联素基因单核苷酸多态方面的研究报道。

脂联素基因在糖类和脂肪代谢方面起着重要的作用, 因此研究畜禽脂联素基因结构和功能是非常有意义的。本实验根据我们最新克隆并测序的鸭脂联素基因序列(GenBank No. DQ452618)设计引物, 以樱桃谷鸭、昆山麻鸭、高邮鸭、荆江麻鸭、金定鸭、山麻鸭、龙白鸭和白羽番鸭 8 个品种为实验材料, 用单链构象多态(single strand conformation polymorphism, SSCP)方法对鸭脂联素基因的编码区进行了单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)检测, 得到不同品种鸭该基因整个开放阅读框的变异, 并分析该基因 SNPs 在不同鸭品种群体中的分布情况及群体遗传多态性, 为进一步研究该基因的功能及用于鸭脂肪等性状育种工作奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 供试鸭群及基因组 DNA

以江苏丰达种鸭场的樱桃谷鸭 57 只, 昆山麻鸭 92 只, 高邮鸭 37 只, 荆江麻鸭 20 只, 金定鸭 39 只, 白羽番鸭 38 只, 山麻鸭、龙白鸭各 40 只为实验材料。各品种翅静脉采血, 4% EDTA 抗凝, 离心去血浆后酚氯仿提取 DNA, 于 TE 中溶解,  $-20^\circ\text{C}$  保存。

#### 1.1.2 主要试剂

rTaq 聚合酶、dNTP、pMD18-T 购自宝生物工程(大连)有限公司, DNA 片段回收试剂盒、质粒提取纯化试剂盒购自上海华舜生物工程有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 引物的设计与合成

根据我们克隆的鸭脂联素基因 DNA 序列(GenBank No. DQ452618)设计 5 对引物(表 1), 扩增区域覆盖整个编码区。引物由北京奥科生物上海分公司合成。

表 1 引物核苷酸序列表  
Table 1 Sequences of primers

引物 Primer	扩增长度 Product size(bp)	序列 Sequence (5'→3')
引物 1 Primer1	230	F:CACTTCAGGAACGCACCATG R:ACCTTGCTCTCCTTCTCTC
引物 2 Primer2	195	F:GGACGGGAAAGATGGAAAAG R:CTTTGGAGCCTTGCAAACCT
引物 3 Primer3	220	F:AGGTTTGCAAGGCTCCAAAG R:GTCGTAGTGGTTCTGCTCGT
引物 4 Primer4	205	F:ACGAGCAGAACCACACTACGAC R:CTGAGGTGCAGCAAGACAGA
引物 5 Primer5	179	F:TCTGTCTTGCTGCACCTCAG R:GCTGCTGTGCTTCTTCCGT

### 1.2.2 PCR-SSCP 法检测单核苷酸多态

PCR 扩增体系为 25  $\mu$ L, 包括 10  $\times$  PCR buffer (不含  $Mg^{2+}$ ) 2.5  $\mu$ L、10 mmol/L dNTPs 2  $\mu$ L、25 mmol/L  $MgCl_2$  1.5  $\mu$ L、10 pmol/L 上下游引物各 1  $\mu$ L、5 U/ $\mu$ L *rTaq* 酶 0.16  $\mu$ L、50 ng/ $\mu$ L DNA 模板 1  $\mu$ L、加 ddH<sub>2</sub>O 至 25  $\mu$ L。PCR 扩增条件为 94  $^{\circ}$ C 变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 30 s, 60~64  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s 共 30 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ C 保温。PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳, 结束后用 UVP 凝胶成像系统检测扩增结果。

SSCP 分析采用 2  $\mu$ L PCR 产物和 5~6  $\mu$ L 的 loading buffer [98%甲酰胺、0.025% 溴酚蓝、0.025% 二甲苯青、10 mmol/L EDTA (pH 8.0)、2%甘油], 98  $^{\circ}$ C 变性 10 min, 迅速插入冰中, 放置 5 min, 使之保持变性状态。变性后 PCR 产物在 12%非变性聚丙烯酰胺凝胶(Acr:Bis=29:1)中电泳。10 V/cm 电泳 8~9 h 后, 银染显色。

### 1.2.3 对有多态性片段的克隆和测序

将不同基因型的纯合子片段在 2%的琼脂糖凝胶中电泳并回收, pMD18-T 载体连接, 转化到大肠杆菌 DH5 $\alpha$ 上, PCR、酶切鉴定后于北京奥科生物上海分公司测序。

### 1.2.4 数据统计分析

统计有多态的 PCR 扩增片段 SSCP 出现的每种基因型的数量, 利用 SPSS11.0 软件统计各种基因型在不同鸭品种间的分布情况, 计算纯合度、杂合度、有效等位基因含量和多态信息含量, 并检验群体内基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR-SSCP 检测结果

用 5 对引物对上述鸭种基因组 DNA 进行 PCR

扩增, 在 2%琼脂糖电泳上检测, 扩增片段与目的片段大小一致且特异性好, 可以直接进行 SSCP 分析。

用 5 对引物 PCR 扩增产物进行 SSCP 检测, 结果只在引物 4 扩增的片段上发现多态, SSCP 分析出现 8 种基因型, 4 种纯合型分别定义为 AA、BB、CC 和 DD 型, 杂合型定义为 AB、AC、BC 和 DE 型(图 1)。

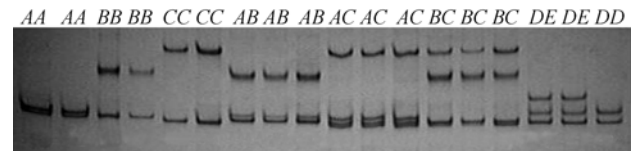


图 1 引物 4 对不同品种鸭扩增片段的 SSCP 分析

Fig. 1 SSCP analysis of adiponectin gene in different duck breeds using PCR products amplified by primer4

### 2.2 多态性基因片段的克隆和测序

取 AA、BB、CC、DD 和 DE(得出 EE 型)5 种基因型的 PCR 产物片段进行克隆、测序。运用生物学软件 DNAMAN 分析测序结果, 发现这 5 种基因型间共有 7 个位点发生了单碱基突变, 其中 BB 型与 GenBank (DQ452618) 中的序列一致; AA 型与 BB 型相比在第 430 处的 G A 单碱基突变导致第 144 个氨基酸由丙氨酸(A)变为苏氨酸(T), 第 507 处发生了 C T 突变, 但是氨基酸无变化, 为沉默突变(Silent mutation); CC 型与 BB 型相比在第 457、523、540 处分别发生了 A G、T C、T C 的单核苷酸突变, 后两个突变导致第 153、175 个氨基酸分别由异亮氨酸(I)变为缬氨酸(V)、酪氨酸(Y)变为组氨酸(H); DD 型与 BB 型相比在第 540 处发生了 T C 的单核苷酸突变, 在第 507、576、579 处都发生了 C T 的单核苷酸突变, 但是氨基酸均无变化, 为沉默突变; EE 型与 BB 型相比在第 540 处发生了 T C 的单核苷酸突变, 在第 507、579 处都发生了 C T 的单核苷酸突变, 但是氨基酸无变化, 为沉默突变。具体结果见图 2。

### 2.3 不同基因型(基因)频率在各鸭群中的分布

对不同品种分别进行基因型的检测, 计算了不同鸭品种的基因型频率和基因频率(表 2)。A 等位基因频率在昆山麻鸭、高邮鸭中分布较多, B、C 等位基因频率在龙白鸭、荆江麻鸭中分布较多, C 等位基因频率在樱桃谷鸭、山麻鸭、金定鸭中分布较多, D、E 两个等位基因仅存于白羽番鸭中, 而白羽番鸭又以 D 等位基因频率分布较多。

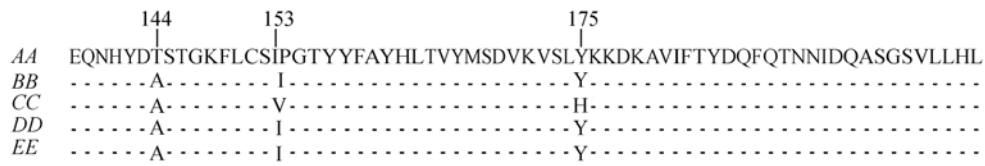


图 2 不同基因型间引物 4 氨基酸序列的比较

Fig. 2 Alignment of amino acid sequences deduced from primer 4 amplicons in different genotypes

表 2 不同基因型及等位基因在各品种间的分布

Table 2 Genotypes and allele frequency distribution in different duck breeds

鸭种 Breed	昆山麻鸭 KSS	樱桃谷鸭 CVM	山麻鸭 SM	高邮鸭 GY	金定鸭 JD	龙白鸭 LB	荆江麻鸭 JJS	白羽番鸭 WFM
样本数 N	92	57	40	37	39	40	20	38
AA	37	2	0	9	1	0	0	0
AB	28	2	2	8	0	3	0	0
AC	16	14	1	5	2	2	3	0
BB	5	3	2	4	0	7	7	0
BC	6	15	20	7	1	19	7	0
CC	0	21	15	4	35	9	3	0
DD	0	0	0	0	0	0	0	23
DE	0	0	0	0	0	0	0	15
$\chi^2$	671.5 > $\chi^2_{(49)0.01}$							
P	0.001							
A	0.6413	0.1754	0.0375	0.4189	0.0513	0.0625	0.075	0
B	0.2391	0.2018	0.325	0.3108	0.0128	0.45	0.525	0
C	0.1196	0.6228	0.6375	0.2703	0.9359	0.4875	0.4	0
D	0	0	0	0	0	0	0	0.8026
E	0	0	0	0	0	0	0	0.1974

KSS: Kunshan Sheldrake; CVM: Cherry Valley Meat duck; SM: Shanma duck; GY: Gaoyou Duck; JD: Jinding duck; LB: Longbai duck; JJS: Jingjiang Sheldrake; WFM: White feather Muscovy duck.

表 3 所测鸭种脂联素基因的纯合度、杂合度、有效等位基因数和多态信息含量

Table 3 The genetic polymorphism parameters of the adiponectin gene in duck breeds

鸭种 Breed	纯合度 Homozygosity	杂合度 Heterozygosity	有效等位基因数 Effective number of alleles	多态信息含量 PIC
昆山麻鸭 KSS	0.4828	0.5172	2.0715	0.4568
樱桃谷鸭 CVM	0.4594	0.5406	2.1769	0.4827
山麻鸭 SM	0.5134	0.4866	1.9477	0.3993
高邮鸭 GY	0.3451	0.6549	2.8974	0.5812
金定鸭 JD	0.8787	0.1213	1.1380	0.1164
龙白鸭 LB	0.4441	0.5559	2.2519	0.4562
荆江麻鸭 JJS	0.4413	0.5588	2.2663	0.4656
白羽番鸭 WFM	0.6832	0.3168	1.4638	0.2666

PIC > 0.5 为高度多态, 0.5 > PIC > 0.25 为中度多态, PIC < 0.25 为低度多态。

PIC > 0.5 indicates a high level of polymorphism, 0.5 > PIC > 0.25 indicates an intermediate level of polymorphism, PIC < 0.25 indicates a low level of polymorphism.

不同基因型在不同鸭群体间分布独立性检验( $\chi^2$  检验)结果: 不同鸭品种间差异极显著( $P < 0.001$ )。对总  $\chi^2$  分割比较结果: 除龙白鸭与山麻鸭、荆江麻鸭外, 其它群体两两之间存在显著差异( $P < 0.05$ ), 多数群体间差异水平达极显著( $P < 0.01$ )。

不同鸭品种脂联素基因 Hardy-Weinberg 平衡状态的检验可知, 昆山麻鸭、樱桃谷鸭、山麻鸭、高邮鸭、龙白鸭、靖江麻鸭、白羽番鸭均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态( $P > 0.05$ ), 金定鸭偏离了 Hardy-Weinberg 平衡状态( $P < 0.05$ )。

#### 2.4 联素基因遗传特性分析

群体遗传分析表明: 金定鸭的纯合度最高, 白羽番鸭次之, 高邮鸭最低, 其他各群体的纯合度较相近; 金定鸭  $PIC < 0.025$ , 为低度多态; 高邮鸭  $PIC > 0.5$ , 为高度多态, 其它品种的  $PIC$  在  $0.25 \sim 0.5$  之间, 为中度多态, 详细数据见表 3。

### 3 讨论与结论

本研究以鸭脂联素基因作为影响鸭脂肪性状的候选基因, 采用 PCR-SSCP 法分析了覆盖该基因开放阅读框的单核苷酸位点突变, 结果得出引物 4 扩增的 PCR 产物存在多态, 共检测到 7 个位点突变, 其中有 4 个突变并没有使其所编码的氨基酸发生改变, 即属于沉默突变。独立性检验表明不同群体基因型频率、基因频率分布存在差异, 这种基因型频率、基因频率的差异是由于育种者对这些品种向不同方向的选择所造成的。樱桃谷鸭是外来引进的肉用品种, 白羽番鸭为法国引进品种, 其他鸭种均为我国地方品种, 多为肉蛋兼用型品种。

在本实验中, 唯有金定鸭偏离了 Hardy-Weinberg 平衡状态, 可能是该基因位点受到了选择的影响; 也可能受到突变和外源基因导入的影响; 可能是群体较小, 无法处于完全随机交配。

从群体遗传多态性角度分析, 如果  $PIC$  高, 等位基因数目多, 杂合度大, 表明该群体在该位点的遗传变异高, 有较大的选择余地, 可以利用该位点进行与生产性状相关的标记辅助选择。

Botstein 等提出了衡量基因变异程度高低的多态信息含量指标( $PIC$ )。当  $PIC > 0.5$  时, 该位点为高度多态位点, 当  $0.5 > PIC > 0.25$  时, 该位点为中度多态位点, 当  $PIC < 0.25$  时, 该位点为低度多态位点。

本实验对脂联素基因的研究中发现, 高邮鸭在该基因的杂合度、有效等位基因数、多态信息含量均处于最高位置, 说明了高邮鸭在脂联素基因方面选择的遗传潜力最大; 而金定鸭与之相反, 说明了金定鸭在该基因方面难以进一步加以选择; 其他品种为中度多态, 说明了这些品种在该基因还可以进一步加以选择。

本实验结果表明, 脂联素基因在不同的品种中具有丰富的多态性, 这为我们进一步分析其与脂肪等性状的关系, 进而确定能否用于鸭的脂肪沉积的选择标记奠定了基础。

#### 参考文献(References):

- [1] Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1999, 257: 79-83.
- [2] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270 (45): 26746-26749.
- [3] Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271 (18): 10697-10703.
- [4] Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (Adipose most abundant gene transcript 1). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1996, 221 (2): 286-289.
- [5] Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *Journal of Biochemistry(Tokyo)*, 1996, 120 (4): 803-812.
- [6] Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*, 2001, 104 (4): 531-543.
- [7] Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2002, 13 (2): 84-89.
- [8] Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, Scherer PE, Ahima RS. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nature Medicine*, 2004, 10 (5): 524-529.
- [9] Fruebis J, Tsao TS, Javarschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight

- loss in mice. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98 (4): 2005–2010.
- [10] Ma K, Cabrero A, Saha PK, Kojima H, Li L, Chang BH, Paul A, Chan L. Increased beta-oxidation but no insulin resistance or glucose intolerance in mice lacking adiponectin. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277 (38): 34658–34611
- [11] Takahashi M, Arita Y, Yamaqata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 2000, 24 (7): 861–868.
- [12] Das K, Lin Y, Widen E, Zhang YH, Scherer PE. Chromosomal localization, expression pattern, and promoter analysis of the mouse gene encoding adipocyte-specific secretory protein Acrp30. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 280 (4): 1120–1129.
- [13] Saito K, Tobe T, Minoshima S, Asakawa S, Sumiya J, Yoda M, Nakano Y, Shimizu N, Tomita M. Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene*, 1999, 229 (1-2): 67–73.
- [14] Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of Amreica*, 2000, 97 (26): 14478–14483.
- [15] Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ibe T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nature Medicine*, 2001, 7 (8): 941–946.
- [16] Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, Boutin P, Vaxillaire M, Lepretre F, Dupont S, Hara K, Clement K, Bihain B, Kadowaki T, Froguel P. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Human Molecular Genetics*, 2002, 11 (21): 2607–2614.
- [17] Stumvoll M, Tschrutter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F, Haring H. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002, 51 (1): 37–41.
- [18] Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Haqura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Naqai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*, 2002, 51 (2): 536–540.
- [19] Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V, Doria A. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 2002, 51 (7): 2306–2312.
- [20] Kondo H, Shimomura I, Matsukawa Y, Kumada M, Takahashi M, Matsuda M, Ouchi N, Kihara S, Kawamoto T, Sumitsuji S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 2002, 51 (7): 2325–2328.
- [21] Waki H, Yamauchi T, Kaon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278 (41): 40352–40363.
- [22] Nakatani K, Noma K, Nishioka J, Kasai Y, Morioka K, Katsuki A, Hori Y, Yano Y, Sumida Y, Wada H, Nobori T. Adiponectin gene variation associates with the increasing risk of type 2 diabetes in nondiabetic Japanese subjects. *International Journal of Molecular Medicine*, 2005, 15 (1): 173–177.
- [23] Yuan J, Liu W, Liu ZL, Li N. cDNA cloning, genomic structure, chromosomal mapping and expression analysis of ADIPOQ (adiponectin) in chicken. *Cytogenetic and Genome Research*, 2006, 112 (1-2): 148–151.
- [24] Maddineni S, Metzger S, Ocon O, Hendricks G 3rd, Ramachandran R. Adiponectin gene is expressed in multiple tissues in the chicken: food deprivation influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. *Endocrinology*, 2005, 146 (10): 4250–4256.
- [25] Jacobi SK, Ajuwon KM, Weber TE, Kuske JL, Dyerl CJ, Spurlock M E. Cloning and expression of porcine adiponectin, and its relationship to adiposity, lipogenesis and the acute phase response. *Journal of Endocrinology*, 2004, 2 (1): 133–144.